

Aus der Abteilung für Klinische Pharmakologie  
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. W. Siegmund)  
Institut für Pharmakologie  
der Medizinischen Fakultät der  
Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Regioselektive intestinale Absorption von Talinolol bei  
gesunden Probanden

**Inauguraldissertation**

zur  
Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)  
an der Medizinischen Fakultät  
der  
Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald  
Greifswald  
2008

vorgelegt von:  
Katja Bobermien  
geboren am 05.10.1976  
in Zittau

Dekan:	Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer (Greifswald)
1. Gutachter:	Prof. Dr. med. W. Siegmund (Greifswald)
2. Gutachter:	Prof. Dr. med. Fleck (Jena)
(3. Gutachter):	
Ort, Raum:	Greifswald, Hörsaal Pharmakologie
Tag der Disputation:	16. Juli 2008

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
2	Aufgabenstellung	13
3	Methoden und Studiendurchführung	14
3.1	Studiendesign	14
3.2	Probanden	15
3.2.1	Probandencharakteristik	15
3.2.2	Einschlussuntersuchung	16
3.2.3	Einschlusskriterien / Ausschlusskriterien	17
3.2.4	Abschlussuntersuchung	18
3.3	Ethische und gesetzliche Bedingungen	19
3.3.1	Rechtlich-ethische Aspekte	19
3.3.2	Probandenversicherung	19
3.3.3	Datenschutz / Qualitätskontrolle / Archivierung	19
3.4	Studiendurchführung	20
3.4.1	Allgemeine Bedingungen und Abläufe	20
3.4.2	Standarddiät	20
3.4.3	Prüfpräparate	21
3.4.4	Pharmakokinetische Untersuchungen	21
3.5	Arzneistoffanalytik	22
3.5.1	Geräte und Chemikalien	22
3.5.2	Kalibratoren und Qualitätskontrollproben	24
3.5.3	Probenaufbereitung	26
3.5.4	Auswertung	26
3.5.5	Qualität der Analytik	28
3.6	Biometrische Methoden	29
3.6.1	Pharmakokinetische Auswertung	29
3.6.2	Statistische Methoden	30
4	Ergebnisse	31
4.1	Compliance und Verträglichkeit der Medikamente	31
4.2	Vergleich der Pharmakokinetik von Talinolol nach Gabe als konventionelle Hartkapsel, magensaft-resistente Kapsel und Suppositorium	31
4.3	Pharmakokinetik von Talinolol im Vergleich zu Paracetamol nach Gabe als konventionelle Hartkapsel, magensaftresistente Kapsel und als Suppositorium	34

5	Diskussion	37
5.1	Methodenkritik	37
5.1.1	Art der Studiendurchführung	37
5.1.2	Eignung von Talinolol	38
5.1.3	Eignung von Paracetamol	40
5.2	Diskussion der Ergebnisse	40
5.2.1	Konventionelle Hartkapsel	40
5.2.2	Magensaftresistente Kapsel	42
5.2.3	Suppositorium	45
5.3	Schlussfolgerung	48
6	Zusammenfassung	50
7	Literaturverzeichnis	52
8	Anhang	I

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABC	ATP binding cassette, Transporter-Superfamilie
ABCB1	P-Glykoprotein (neue Nomenklatur) = P-gp
ABCC2	Multidrug resistance-associated protein 2 (neue Nomenklatur) = MRP2
A <sub>e</sub>	kumulative Urinausscheidung von Talinolol und seiner Metabolite
AIDS	Acquired immune deficiency syndrome
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve
AV	atrioventrikulär
BMI	Body mass index
Ca	Kalzium
CL/F	totale Körperclearance
CL <sub>M</sub>	metabolische Clearance
CL <sub>R</sub>	renale Clearance
C <sub>max</sub>	Maximale Serumkonzentration
CYP	Cytochrom- P-450
Da	Dalton
EKG	Elektrokardiogramm
γ-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GCP	Good Clinical Practice
GLP	Good Laboratory Practice
GT	Glutamyl-Transferase
HBsAg	Oberflächen-Antigen des Hepatitis-B-Virus
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Human immunodeficiency virus
HPLC	High pressure liquid chromatography
IE	Internationale Einheiten
i.v.	intravenös
K	Kalium
MDR1	<u>M</u> ultidrug <u>r</u> esistance Gen, welches für P-Glykoprotein kodiert
MRP2	<u>M</u> ultidrug <u>r</u> esistance-associated <u>p</u> rotein 2, = ABCC2
Na	Natrium
OATP1B1	Organic anion transporting polypeptide 1B1 (neue Nomenklatur), = OATP-C
OATP2B1	Organic anion transporting polypeptide 2B1 (neue Nomenklatur), = OATP-B
OATPs	Organic anion transporting polypeptides
OATs	Organic anion transporters
OCTs	Organic cation transporters
p.a.	post applicationem
p.o.	oral
P-gp	P-Glykoprotein = ABCB1 (neue Nomenklatur)
SA	sinuatrial
SLC	solute carrier
SOP	Standard operating procedure, Standardarbeitsanweisung

$t_{1/2}$	terminale Halbwertszeit
Tab.	Tabelle
TAL	Talinolol
$t_{max}$	Zeitpunkt der maximalen Serumkonzentration
UV	Ultraviolett
z.B.	zum Beispiel

## 1 Einleitung

Aktuelle Forschungsbemühungen in der Pharmakologie verfolgen das Ziel, auf der Grundlage bestehender Behandlungsstandards eine Pharmakotherapie zu entwickeln, die den individuellen Bedürfnissen des einzelnen Patienten gerecht wird. Das heißt, jeder Patient sollte sein Arzneimittel zur richtigen Zeit in der für ihn notwendigen Dosierung erhalten. Die Kenntnis der pharmakokinetischen Eigenschaften eines Arzneimittels, also der Besonderheiten seiner Absorption, Verteilung, Verstoffwechselung und Ausscheidung, sind dazu eine unabdingbare Voraussetzung (Lennernas *et al.*, 1995 ; Levine, 1970 ; Yu *et al.* 1999).

Ob ein Arzneistoff die ihm zugedachte therapeutische Wirkung zu erbringen vermag, hängt in entscheidendem Maße davon ab, ob die Gabe einer bestimmten Dosis zu einer Serumkonzentration führt, die im therapeutischen Bereich liegt, ob also ein hinreichend großer Anteil der verabreichten Arzneistoffmenge die systemische Zirkulation erreicht, „bioverfügbar“ wird (Lobenberg *et al.*, 2000; Dressman *et al.*, 2000). Da die oral applizierte Dosis im Allgemeinen nicht der Menge entspricht, die aus dem Darm auch absorbiert wird (Absorptionsrate), und diese wiederum nicht dem Betrag gleicht, der letztlich systemisch verfügbar wird, sind es vor allem Phänomene der Absorption, die zu einem erheblichen Anteil die interindividuelle Variabilität in der Pharmakokinetik einer Substanz bedingen.

Dies liegt darin begründet, dass die Aufnahme von Arzneimitteln aus dem Gastrointestinaltrakt einen komplexen Prozess darstellt, der durch zahlreiche physiologische und physikochemische Faktoren beeinflusst wird (Macheras *et al.*, 1997; Zhou, 2003). Dazu zählen:

- das unterschiedliche Freisetzungsverhalten von Arzneistoffzubereitungen (Caliph *et al.*, 2000)
- Nahrungsaufnahme und Flüssigkeitszufuhr (Davis *et al.*, 1986; Fagerholm *et al.*, 1995; Lennernas *et al.*, 1995; Takanaga *et al.*, 2000; Welling *et al.*, 1977)
- die zeitliche Variabilität der Magenentleerung und Motilitätsunterschiede im Magen-Darm-Trakt (Wagner, 1968; Mellander *et al.*, 2001;

Marathe *et al.*, 2000; Hunt *et al.*, 1986; Charman *et al.*, 1997; Callreus *et al.*, 1999)

- die unterschiedlichen pH-Werte in den einzelnen Darmsegmenten (Charman *et al.*, 1997; Dressman *et al.*, 1990; Ovesen *et al.*, 1986; Russel *et al.*, 1993)
- Schwankungen der Freisetzung von Galle- und Pankreassekret und deren hormonelle Regulierung (Malagelada *et al.*, 1976; Bakatselou *et al.*, 1991; Walker *et al.*, 2001)
- Existenz von Absorptionsfenstern entlang des Gastrointestinaltraktes (Roberts *et al.*, 2002; Oberle *et al.*, 1987; Gramatte *et al.*, 1994)
- die aktive Sekretion in den Darm durch Arzneimitteltransporter (Gramatte *et al.*, 1996; Chan *et al.*, 2004; Dietrich *et al.*, 2003)
- Interaktionen zwischen verschiedenen Medikamenten (Szymura-Oleksiak *et al.*, 2001; Polk *et al.*, 2001; Niemi *et al.*, 2001; Albengres *et al.*, 1998; Gramatte *et al.*, 1999)
- Interaktionen zwischen Medikamenten und Nahrungsmitteln (Bhardwaj *et al.*, 2002 ; Kane *et al.*, 2000).

Die Aufklärung der Funktion von Transportproteinen aus der Superfamilie der ABC-Transporter (ATP binding cassette) und aus anderen Transportsystemen wie den OATPs (organic anion transporting polypeptide ) und den OCTs (organic cation transporter) erbrachte neue Einsichten in die Mechanismen der Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von Wirkstoffen beim Menschen. So stellt die aktive Sekretion, ein Efflux von bereits in die Epithelzelle der Dünndarmschleimhaut aufgenommenen Substanzen wieder zurück ins Darmlumen, vermittelt durch Transporter wie P-gp oder MRP2 eine mögliche Erklärung für die inkomplette Absorption von Arzneistoffen dar. Transportproteine können auf diese Weise die Pharmakokinetik zahlreicher Medikamente beeinflussen.

Der bekannteste und am besten charakterisierte Vertreter der Transportproteine der ABC-Familie ist das *MDR1*-Genprodukt P-Glykoprotein (P-gp, ABCB1). Dieser Arzneistofftransporter wurde ursprünglich als Ursache der primären und sekundären



*multidrug resistance* im Rahmen der Tumorthherapie beschrieben (Juliano und Ling, 1976).

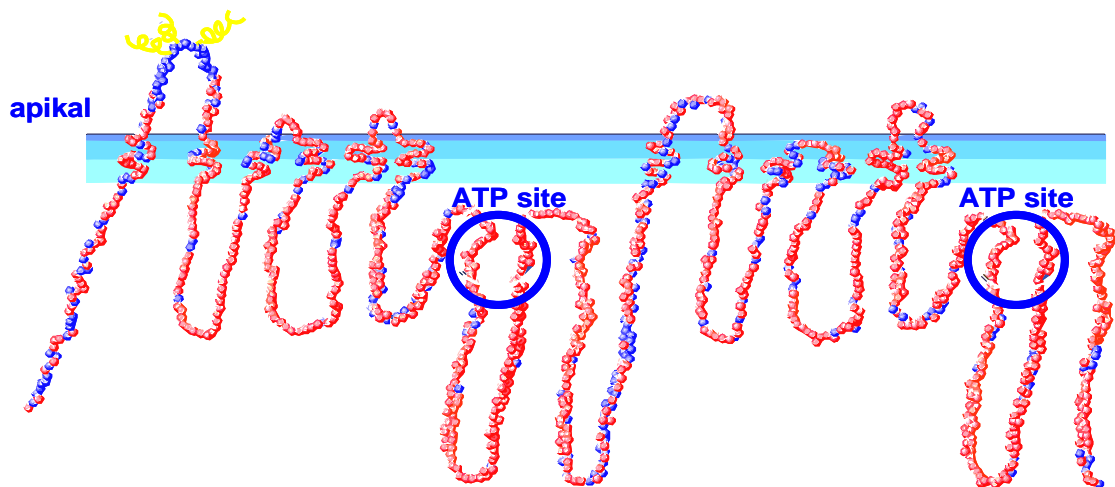
P-gp ist ein transmembranäres, aus 1280 Aminosäuren (Molekulargewicht 170 kD) bestehendes Integralprotein, welches seine Substrate unter ATP-Verbrauch entgegen dem Konzentrationsgradienten aus der Zelle transportiert. Aufgrund seiner apikalen Lokalisation in Zellen mit sekretorischer Funktion wie den Enterozyten des Darmes, den Epithelzellen der Gallenkanälchen oder den proximalen Nierentubuluszellen, kann es Aufnahme- und Ausscheidungsvorgänge von Wirkstoffen deutlich verändern (Thiebaut *et al.*, 1987; Sugawara, 1990; Cordon-Cardo *et al.*, 1990). Weiterhin verhindert es Verteilungsvorgänge durch Endothelzellen von Blutkapillaren im Gehirn, in den Ovarien, den Testes, im Herzen oder durch Synzytiotrophoblasten der Plazenta (Cordon-Cardo *et al.*, 1989; Mylona *et al.*, 1996). Die physiologische Bedeutung von P-gp mag somit in der Behinderung der Aufnahme von Schadstoffen aus der Nahrung sowie ihrer Verteilung im Gewebe bzw. in der Förderung ihrer Ausscheidung über den Stuhl bzw. Urin liegen.

P-Glykoprotein ist beim Menschen von pharmakologischer und klinischer Bedeutung,

1. weil eine Vielzahl an Arzneistoffen Substrate von P-gp sind. Insbesondere amphiphile, bevorzugt kationische Verbindungen mit einem mittleren Verteilungskoeffizienten (N-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient,  $\log D \geq 1$ ) und einem Molekulargewicht von 250 - 1900 D werden durch P-gp transportiert. Die Substratpalette des Transporters umfasst sowohl  $\beta$  - Rezeptorenblocker (Carvedilol, Celiprolol, Talinolol, Timolol), Antiarrhythmika und Calciumantagonisten (Diltiazem, Nicardipin, Verapamil), natürliche Glukokortikoide, HIV-Proteaseinhibitoren, Immunsuppressiva (Ciclosporin, Sirolimus, Tacrolimus), Zytostatika (Paclitaxel, Doxorubicin, Vinblastin) als auch nicht-metabolisierte Arzneistoffe wie Digoxin, Ranitidin oder Fexofenadin (Kim, 2002; Schinkel und Jonker, 2003).
2. weil genetische Polymorphismen existieren. P-gp wird von dem *MDR1*-Gen kodiert, welches auf Chromosom 7 Abschnitt q21.1 lokalisiert ist. Systematische Sequenzierungen des *MDR1*-Genes deckten bislang 28 SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) in 27 Positionen auf (Hoffmeyer *et al.*, 2000; Cascorbi *et al.*, 2001; Sakaeda *et al.*, 2002). Der Einfluss des *MDR1*-

Genotyps auf die Expression und Funktion von P-gp wird aber sehr kontrovers diskutiert (Cascorbi *et al.*, 2003; Eichelbaum *et al.*, 2004; Ieiri *et al.*, 2004; Marzolini *et al.*, 2004).

3. weil Expression und/oder Funktion von P-gp krankheitsbedingten Veränderungen unterliegen, z. B. bei entzündlichen Darmerkrankungen, Therapie-refraktärer Epilepsie, Lupus erythematoses oder Alzheimer-Erkrankung (Tisher *et al.*, 1995; Yacyshyn *et al.*, 1999; Farrell *et al.*, 2000; Diaz-Borjon *et al.*, 2000; Llorente *et al.*, 2000; Vogelgesang *et al.*, 2002).
4. weil die Expression und/oder Funktion des Arzneistofftransporters P-gp durch induzierende bzw. inhibierende Arzneimittel, pflanzliche Wirkstoffe oder Nahrungsbestandteile beeinflusst werden kann (Kim, 2002; Siegmund *et al.*, 2003; Chan *et al.*, 2004).



**Abb. 1:** Aufbau des P-Glykoprotein und Kennzeichnung seiner ATP-Bindungsstellen

Ein Modellarzneimittel, dessen Eigenschaften geeignet erscheinen, Erkenntnisse bezüglich P-gp-abhängiger Absorptionsvorgänge zu gewinnen, ist Talinolol. Talinolol (Cordanum®) ist ein gut verträglicher, razemischer, selektiver  $\beta_1$ -Adrenorezeptorblocker, welcher seit 1975 zur Behandlung der arteriellen Hypertonie, der koronaren Herzkrankheit und tachykarder Herzrhythmusstörungen mit einer oralen Tagesdosis von 50 bis 300 mg eingesetzt wird (Gramatte *et al.*, 1996; Haustein *et al.*, 1979). Es ist eine schwache Base (pKa 9.4) mit einer mittleren pH-abhängigen Lipidlöslichkeit (N-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient  $\log P = 12$ ) (Gramatte *et al.*, 1996) und liegt im Darm bei einem pH-Wert von etwa 7,14 als Kation vor (Gramatte *et al.*, 1999). Die Pharmakokinetik von Talinolol ist nichtlinear. Dies ist in Dosierungen bis zu 50 mg durch einen sättigungsfähigen Prozess in der Absorption bedingt (de Mey *et al.*, 1995).

Die absolute Bioverfügbarkeit von Talinolol beträgt trotz ausreichender Lipidlöslichkeit nur ca. 55 - 70% (Gramatte *et al.*, 1996). Die biliäre Elimination liegt zwischen 3,7 - 24,7 % und ca. 50 % werden unverändert renal ausgeschieden.

Die unzureichende Bioverfügbarkeit des Arzneimittels wird aufgrund der nur geringen Biotransformation von Talinolol durch CYP3A4 (< 1 % der Gesamtclearance) als Folge einer inkompletten Absorption gewertet (Trausch *et al.*, 1995; de Mey *et al.*, 1995; Weigmann *et al.* 1998, Zschiesche *et al.*, 2002), welche durch einen intestinalen Rücktransport der Substanz in den Darm durch Transportproteine wie P-gp und MRP2 (ABCC2) erklärt werden kann.

In vitro wurden an Caco-Zellen P-gp-typische Transportvorgänge von Talinolol von der basolateralen zur apikalen Zellseite nachgewiesen. In vivo konnte die intestinale Sekretion von Talinolol nach intravenöser und oraler Gabe durch Komedikation von Rifampicin und Verapamil induziert bzw. gehemmt werden (Westphal *et al.*, 2000, Gramatte *et al.*, 1999). Talinolol ist daher als valide Modellsubstanz zur Untersuchung von P-gp-abhängigen intestinalen Transportvorgängen charakterisierbar.

Mit Hilfe der Triple-Lumen-Technik gelang erstmals der direkte Nachweis eines sekretorischen Transportes von Talinolol in vivo sowie der Hinweis auf Absorptionsunterschiede in Abhängigkeit vom Applikationsort des Medikamentes im Darm (Gramatte *et al.*, 1996). Bei Applikation von Talinolol in distale Darmabschnitte

(Ileum) wurde eine niedrigere Plasmakonzentration beobachtet. Als Ursache dafür wird eine höhere P-gp-Aktivität in den tieferen Darmabschnitten angenommen (Fricker und Miller, 2002 ; Mouly und Paine, 2003; Paine *et al.*, 1997).

## 2 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit war es, den Ort der Wirkstofffreisetzung als Marker für die Variabilität in der Absorption von Arzneistoffen zu charakterisieren. Durch Gabe einer konventionellen Hartkapsel, einer magensaftresistenten Kapsel und eines Suppositoriums im Rahmen einer kontrollierten, randomisierten klinischen Studie an acht gesunden, männlichen Probanden sollte gezeigt werden, dass das P-gp-Substrat Talinolol in tieferen Darmabschnitten schlechter absorbiert wird.

Alle Arzneiformen enthielten neben Talinolol auch noch Paracetamol und Retinylpalmitat. Da Paracetamol in allen Teilen des Darmes schnell und vollständig absorbiert wird, diente es als Referenzsubstanz zur Festlegung des Zeitpunktes der Wirkstofffreisetzung. (Gramatte *et al.*, 1994 ; Naslund *et al.*, 2000)

Retinylpalmitat ist ein Marker für lymphatische Absorption. (Blomhoff, 1994) Der Vergleich mit der Kinetik von Retinylpalmitat sollte Rückschlüsse darüber erlauben, ob möglicherweise ein Teil des Talinolols über die Lymphe aufgenommen wird und so die Entstehung eines zweiten Peaks (Doppelpeak-Phänomen) in der Serumkonzentrations-Zeit-Kurve von Talinolol nach etwa 3-5 h verursacht. Zur Stimulation der Lymphdrainage wurde den Probanden in einem vierten Studienarm die konventionelle Hartkapsel eine Stunde vor einem fettreichen Frühstück verabreicht.

Die mögliche Beeinflussung der Pharmakokinetik von Talinolol durch lymphatischen Transport ist jedoch Gegenstand einer weiteren Dissertation und soll daher im Ergebnis- und Diskussionsteil dieser Arbeit unerwähnt bleiben.

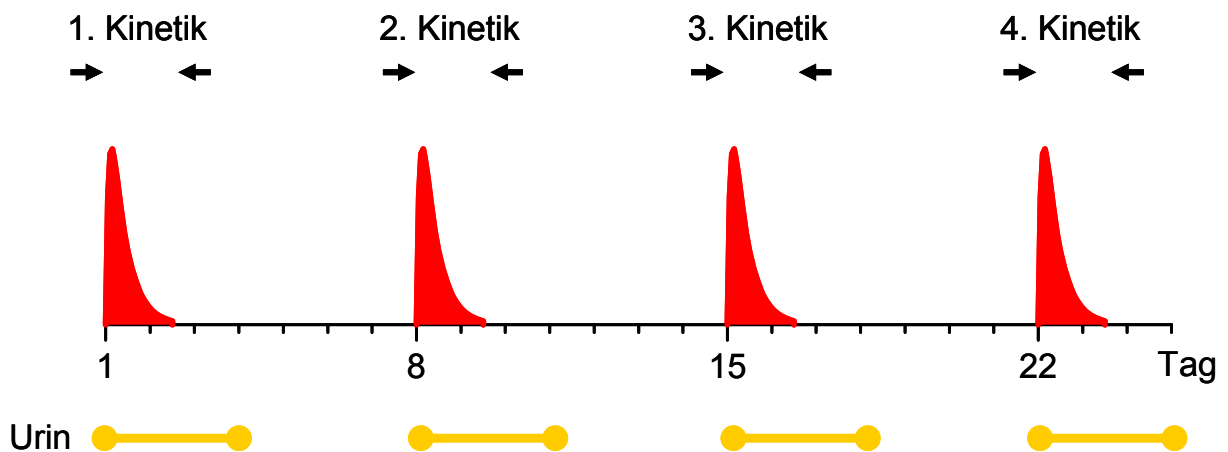
Die Aufgaben der vorliegenden Arbeit bestanden darin,

1. die Pharmakokinetik von Talinolol nach Gabe als konventionelle Hartkapsel, magensaftresistente Kapsel und als Suppositorium miteinander zu vergleichen,
2. die Pharmakokinetik von Talinolol mit der von Paracetamol nach gemeinsamer Gabe in drei verschiedenen Arzneiformen zu vergleichen,
3. auf der Grundlage dieser vergleichenden Betrachtungen Schlussfolgerungen über die regioselektive Absorption von Talinolol zu ziehen.

### 3 Methoden und Studiendurchführung

#### 3.1 Studiendesign

Die Durchführung der klinischen Untersuchung erfolgte im Rahmen einer offenen, kontrollierten, randomisierten, vierarmigen cross-over Studie an acht gesunden männlichen Probanden entsprechend dem Schema in Abbildung 2. Weibliche Probanden wurden aufgrund einer möglichen teratogenen Wirkung von Retinylpalmitat von der Teilnahme an der Studie ausgeschlossen.



**Abb. 2:** Ablaufschema der klinischen Studie

Die Untersuchungen liefen in 6 Abschnitten ab:

1. Einschlussuntersuchung (bis maximal 4 Wochen vor Beginn der Studie)
- 2.– 5. Pharmakokinetische Studienperioden
6. Nachuntersuchung (5 – 14 Tage nach individuellem Prüfende)

Zwischen den pharmakokinetischen Studienperioden lag jeweils eine einwöchige Auswaschphase.

Zusätzlich zur Bestimmung des Talinololspiegels im Serum wurde die Ausscheidung von Talinolol und seiner Metabolite im Urin erfasst. Die Sammelintervalle für den Urin betrugen 0-24 h, 24-48 h und 48-72 h.

Jeder Studienteilnehmer absolvierte alle vier pharmakokinetischen Untersuchungen, wobei die individuelle Reihenfolge der Behandlungsabschnitte unter den Probanden zufällig verteilt war (siehe Randomisierungsliste im Anhang).

**Tabelle 1:** Darreichungsformen der Prüfmedikation

Behandlung A	Hartkapsel mit 200 ml Tafelwasser
Behandlung B	Hartkapsel mit 200 ml Tafelwasser 1 h vor einem fettreichen Frühstück
Behandlung C	magensaftresistente Kapsel mit 200 ml Tafelwasser
Behandlung D	Suppositorium

Alle Arzneiformen enthielten:

- 100 mg Talinolol
- 100 mg Paracetamol
- 100.000 IE Retinylpalmitat.

## 3.2 Probanden

### 3.2.1 Probandencharakteristik

Studienteilnehmer waren acht gesunde männliche Freiwillige der weißen Rasse (Alter 21 - 29, Größe 180 – 189 cm, Gewicht 68 – 86 kg), die zum Probandenstamm des Institutes für Pharmakologie gehörten.

Sowohl die Anamnese als auch die klinischen Untersuchungen der einzelnen Probanden ergaben keinerlei Hinweise auf das Vorliegen akuter oder chronischer Erkrankungen. Bezüglich der erhobenen Laborparameter (siehe 3.2.2) gab es keine klinisch relevanten Normabweichungen. Die Serologie (HBV-, HCV- und HIV-Screening) war unauffällig. Drogenkonsum wurde nicht nachgewiesen.

Vor Beginn erfolgte eine ausführliche mündliche und schriftliche Aufklärung der Teilnehmer über Zielstellung und Ablauf der Studie sowie mögliche Wirkungen und Nebenwirkungen der applizierten Arzneimittel. Offene Fragen wurden vollständig im Rahmen eines persönlichen Gesprächs beantwortet. Die Prüfungsteilnahme war freiwillig. Die Probanden hatten das Recht, jederzeit und ohne Angabe von Gründen

von der Studie zurückzutreten, und dokumentierten ihr Einverständnis zur Teilnahme an der klinischen Studie mit ihrer Unterschrift.

### 3.2.2 Einschlussuntersuchung

Die Einschlussuntersuchung erfolgte innerhalb von 4 Wochen vor Beginn der Studie und umfasste

- die Erhebung der Anamnese,
- die klinische Untersuchung,
- die Ableitung eines Standard 12-Kanal-EKG,
- die Durchführung eines Drogenscreenings (Untersuchung auf Barbiturate, Benzodiazepine, Kokain, Opiate, Amphetamine/Metamphetamine, Cannabinoide, Methadon und trizyklische Antidepressiva),
- die Bestimmung von Laborparametern (siehe Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Übersicht der erhobenen Laborparameter

Klinische Chemie	Natrium, Kalium, Kalzium, Chlorid, Kreatinin, Harnstoff, Albumin, Amylase, Glukose, alkalische Phosphatase, $\gamma$ -GT, ASAT, ALAT
Hämatologie	Differentialblutbild, Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten, Hämoglobin, Hämatokrit
Hämostaseologie	Thromboplastinzeit (Quick), partielle Thrombinzeit (PTT)
Urin	Leukozyten, Urobilinogen, Bilirubin, Ketonkörper, Nitrit, Protein, Glukose, Erythrozyten
Serologie	HIV, HBV, HCV

Die Bestimmung der in Tabelle 2 aufgeführten Parameter erfolgten im Institut für Klinische Chemie und im Institut für Medizinische Mikrobiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald. Das Drogenscreening wurde im Institut für Pharmakologie durchgeführt.



### 3.2.3 Einschlusskriterien / Ausschlusskriterien

Ein Proband wurde nur dann zur Teilnahme an der klinischen Studie zugelassen, wenn er die nachstehend aufgeführten Ein- und Ausschlusskriterien erfüllte.

Zu den Einschlusskriterien gehörten:

- Alter: 18 - 45 Jahre,
- Geschlecht: männlich,
- Rasse: kaukasisch ,
- Körpergewicht: +/- 20% nach Broca,
- Probanden, die durch die Befunde der klinischen Untersuchung, EKG und Bestimmung von Laborparametern nach ärztlichem Ermessen als gesund beurteilt werden konnten,
- das Vorliegen der schriftlichen Einverständniserklärung.

Ausgeschlossen von der Studie wurden:

- Probanden mit bekannter Allergie gegen die eingesetzten Wirk- und Hilfsstoffe,
- Probanden mit Herzinsuffizienz und / oder Lungenerkrankungen in der Anamnese,
- Probanden mit einer Bradykardie ( < 60 / min),
- Probanden mit Erregungsbildungs- und Erregungsleitungsstörungen (Sinusknotensyndrom, SA- oder AV- Block),
- Probanden mit Blutdruckwerten systolisch > 140 / < 100 und diastolisch > 90 / < 65 mmHg,
- Probanden mit einer Bluterkrankung und / oder erhöhter Blutungsneigung (z.B. häufiges Nasenbluten, Neigung zu Hämatomen),
- Probanden mit peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen,
- Probanden mit Erkrankungen des Magen-Darm-Kanals in der Anamnese (außer Appendektomie),
- Probanden mit einer akuten / chronischen Infektionskrankheit (z.B. Hepatitis, AIDS),
- Probanden mit Leber- und / oder Nierenerkrankungen,

- Probanden mit Erkrankungen, die die Absorption, den Stoffwechsel oder die Exkretion der Prüfpräparate während der Untersuchung beeinflussen,
- Probanden mit Neigung zu orthostatischer Dysregulation und / oder Ohnmachtsanfällen,
- Probanden mit einem Alkoholkonsum von > 40 g / Tag,
- Probanden, die > 10 Zigaretten / Tag (oder Äquivalent) rauchen,
- Probanden mit speziellen einseitigen Diätgewohnheiten, z.B. Vegetarier, unterkalorische Ernährung,
- Probanden, die in den letzten 14 Tagen akut erkrankt waren,
- Probanden, die systemisch oder örtlich wirkende Medikamente innerhalb von 2 Wochen vor Beginn der Prüfung angewendet haben (oder 10 x Halbwertszeit des betreffenden Medikamentes),
- Probanden, die in den letzten 8 Wochen Blut gespendet haben,
- Probanden, die wegen Teilnahme an einer anderen klinischen Studie gesperrt sind, mindestens aber 4 Wochen nach deren Beendigung oder 10 x Halbwertszeit des betreffenden Medikamentes,
- Probanden mit mangelndem Interesse an der Studie und mangelnder Bereitschaft, mit dem Studienpersonal zu kooperieren,
- Probanden bei denen das Drogen-, HIV-, HBV- und HCV - Screening positiv ist oder nicht durchgeführt wurde.

### **3.2.4 Abschlussuntersuchung**

Die Abschlussuntersuchung fand 5 – 14 Tage nach dem individuellen Prüfen statt und entsprach in ihrem Umfang der Aufnahmeuntersuchung. Auf ein nochmaliges Drogen-, HBV-, HCV- und HIV- Screening wurde verzichtet.

Sowohl die klinische Untersuchung, die Laborparameter als auch das abschließende EKG ergaben bei keinem der Probanden Befunde, die in klinisch relevanter Weise von der Einschlussuntersuchung abwichen.

### **3.3 Ethische und gesetzliche Bedingungen**

#### **3.3.1 Rechtlich-ethische Aspekte**

Die Planung und Durchführung der vorgelegten Studie entsprachen den Bestimmungen der §§ 40 und 41 der damals geltenden 10. Novelle des deutschen Arzneimittelgesetzes. Die Empfehlungen der Deklaration von Helsinki (Somerset West 1996) und die europäischen GCP – Richtlinien (ICH Topic E6, CPMP/ ICH/ 135/95, 1997) wurden berücksichtigt.

Ein positives Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Mecklenburg / Vorpommern an der Universität Greifswald zur Durchführung der Studie lag vor. Die Studie wurde dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte und der Landesbehörde in Mecklenburg-Vorpommern (Arzneimittelüberwachungs- und Prüfstelle Schwerin) gemeldet.

#### **3.3.2 Probandenversicherung**

Zum Schutz der Probanden vor Gesundheitsschäden, die im Zusammenhang mit der klinischen Prüfung auftreten können, wurde eine Versicherung bei der Allianz Versicherungs-AG (Versicherungsnummer: IHA 90/445/8797139) abgeschlossen.

#### **3.3.3 Datenschutz / Qualitätskontrolle / Archivierung**

Zur Einhaltung der Datenschutzbestimmungen wurde jedem der Probanden ein Studiencode (siehe Anhang) bestehend aus den Initialen des Namens und einer studienspezifischen Probandennummer zugeordnet. Die gewonnenen Daten wurden mit Hilfe der elektronischen Datenverarbeitung gespeichert und ausgewertet.

Gesundheitsbehörden und der Schweigepflicht unterliegenden Mitarbeitern des Instituts für Pharmakologie wurde die Möglichkeit eingeräumt, prüfungsbezogene Aufzeichnungen zum Zweck der Qualitätskontrolle der klinischen Prüfung einzusehen. Über die Verwendung der erhobenen Daten zu Publikationszwecken wurden die Probanden informiert und gaben in schriftlicher Form ihr Einverständnis. Während der Prüfperiode unterlag die Dokumentation aller Daten einer internen Qualitätskontrolle. Alle studienbezogenen Unterlagen werden im Archiv des Institutes für Pharmakologie für 15 Jahre verwahrt.

### **3.4 Studiendurchführung**

#### **3.4.1 Allgemeine Bedingungen und Abläufe**

Nach einer 12-stündigen Nüchternpause fanden sich die Probanden an den pharmakokinetischen Untersuchungstagen um 7:00 Uhr auf der Probandenstation im Institut für Pharmakologie ein. Zunächst erfolgten ein Aufnahmegespräch, eine kurze körperliche Untersuchung sowie das Legen einer Venenverweilkanüle, die der Blutentnahme zu den festgelegten Zeitpunkten diente. Danach begann die Bettruhe (sitzend mit geneigtem Oberkörper) mit kontinuierlichem EKG-Monitoring über 5 h sowie der regelmäßigen Messung von Blutdruck und Herzfrequenz. Die Gabe der Prüfmedikation erfolgte an allen Untersuchungstagen um 8.00 Uhr.

Entsprechend der Randomisierungsliste erhielten die Probanden mit der Behandlung B (siehe 3.1) 60 min nach Einnahme der Kapsel ein fettreiches Frühstück (siehe 3.4.2).

Die Standardmahlzeiten wurden nach Beendigung von Kreislaufüberwachung und Bettruhe jeweils um 13:00 Uhr (Mittagessen), um 16:00 (Kaffee) und um 19:00 Uhr (Abendbrot) eingenommen. Der stationäre Aufenthalt endete für alle Probanden um 24 Uhr nach einer letzten Blutentnahme.

Jeweils 24 h und 36 h nach Medikamentenapplikation wurde nochmals unter ambulanten Bedingungen eine Blutentnahme durchgeführt. Urin wurde in den Zeitabschnitten 0-24 h, 24-48 h und 48-72 h gesammelt.

#### **3.4.2 Standarddiät**

Die Probanden erhielten folgende Standarddiät:

- Frühstück (nur in B): 2 Rühreier, 2 Würstchen, 2 Brötchen, Butter, Malzkaffee
- Mittag: Suppe, Hühnerfrikassee mit Reis und Mischgemüse, Fruchtjoghurt
- Kaffee: Kuchen und Malzkaffee
- Abendessen: Brot, Margarine, Käse, Salami, Gemüse, Früchtetee

Zusätzlich durften maximal 1,5 l kohlensäurefreies Wasser 4 Stunden nach der Arzneimittelgabe über den Tag verteilt zu sich genommen werden.

### **3.4.3 Prüfpräparate**

Die Herstellung der drei verschiedenen Applikationsformen erfolgte in der Abteilung für Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie im Institut für Pharmazie der Universität Greifswald. Dabei handelte es sich im einzelnen um konventionelle Hartkapseln (harte Gelatinekapseln), magensaftstabile Kapseln (harte Gelatinekapseln mit einem Überzug aus Eudragit L 100) und Suppositorien (weiche Glycerol-Gelatine-Kapseln), die jeweils 100 mg Talinolol, 100 mg Paracetamol sowie 100.000 IE Retinylpalmitat enthielten. Nicht verwendete Prüfpräparate wurden durch die Universitätsapotheke entsorgt.

### **3.4.4 Pharmakokinetische Untersuchungen**

An den Studientagen 1, 8, 15 und 22 erfolgte um 8:00 Uhr die Gabe der Prüfmedikation. Zuvor wurde ein Leerwert abgenommen. Die weiteren Blutentnahmen fanden nun 0.25 h, 0.5 h, 0.75 h, 1 h, 1.5 h, 2 h, 2.5 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 11 h, 12 h, 16 h, 24 h und 36 h p.a. statt. Es wurden jeweils 5.5 ml Blut in einer Serum-Monovette (Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen und diese anschließend 10 min bei 3200 U/min in einer Kühlzentrifuge (4 °C) zentrifugiert. Danach wurde das gewonnene Serum in zwei Kryoröhrchen (Nalgene Cryogenic Vials, Nalge Company, Rochester, USA) zu je 2 ml abpipettiert und bis zur analytischen Weiterverarbeitung bei -20 °C gelagert.

Zur Bestimmung der mit dem Urin ausgeschiedenen Talinololmenge wurde im Zeitraum von 0 – 24 h, 24 – 48 h und 48 - 72 h p.a. der gesamte Urin gesammelt. Pro Sammelintervall wurde die Gesamtmenge dokumentiert, der pH-Wert bestimmt und ca. 7 ml asserviert und ebenfalls bei -20 °C bis zur analytischen Aufarbeitung gelagert.

### 3.5 Arzneistoffanalytik

Die Konzentrationsbestimmungen von Talinolol und seinen Metaboliten 3-*trans*-Hydroxytalinolol, 4-*trans*-Hydroxytalinolol, 2-*cis*-Hydroxytalinolol, 3-*cis*-Hydroxytalinolol und 4-*cis*-Hydroxytalinolol in Urin sowie die Konzentrationsbestimmungen von Talinolol, Paracetamol und Retinylpalmitat in Serum wurden mittels validierter HPLC-Methoden (high performance liquid chromatography) mit Fluoreszenz- (Talinolol) bzw. UV-Detektion (Paracetamol und Retinylpalmitat) durchgeführt.

Die Qualitätskontrolle der jeweils verwendeten analytischen Verfahren erfolgte entsprechend den internationalen Anforderungs- und Akzeptanzkriterien, wie sie für bioanalytische Bestimmungsverfahren der internationalen GLP-Richtlinien sowie in den GLP-Dokumenten des Institutes für Pharmakologie (good laboratory practice) formuliert sind.

Alle erhobenen Primärdaten fanden erst nach Freigabe durch die interne Qualitätskontrolle Verwendung.

#### 3.5.1 Geräte und Chemikalien

Eine detaillierte Beschreibung und Spezifikation der verwendeten Geräte, Chemikalien und Probenaufarbeitungsvorschriften findet sich in den jeweiligen Validierungs- und analytischen Berichten sowie SOP's (standard operating procedures) des analytischen Labores.

Gültige Analysenzertifikate für die Test- und Standardsubstanzen lagen vor.

Folgende Chemikalien fanden während der analytischen Arbeiten Verwendung:

- Talinolol
- Retinylpalmitat
- Paracetamol
- Propranolol  
(Interner Standard der Talinololbestimmung (IS): 43,84 ng/ml gelöst in ml)
- $\beta$ - Hydroxyethyltheophyllin  
(interner Standard der Paracetamolbestimmung (IS): 50 mg gelöst in 50 ml Methanol)
- Natriumbikarbonat

- Acetonitril
- Essigsäureethylester
- Diethylether
- Tetrahydrofuran
- Triethylammoniumphosphatpuffer (0,025 mM; pH 3)
- Ammoniumacetatpuffer (1 %)

Die HPLC Messungen erfolgten mit nachfolgender Gerätekonfiguration:

- |                         |                                 |
|-------------------------|---------------------------------|
| • Pumpe                 | L 6200                          |
| • Probengeber           | AS 2000A,<br>mit Peltierkühlung |
| • Säulenthermostat      | Mitu jetstream                  |
| • UV-Detektor           | L 4250                          |
| • Dioden-Array-Detektor | L 4500                          |
| • Fluoreszenzdetektor   | F 1050                          |
| • Interface, Software   | D 6500                          |

Die speziellen analytischen Bedingungen bezüglich der jeweiligen Bestimmungsmethoden sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

**Tabelle 3:** Spezifische Charakteristika der analytischen Methoden

	<b>Talinolol &amp; Metabolite</b>	<b>Paracetamol</b>	<b>Retinylpalmitat</b>
<b>Trennsäule</b>	RP–18 select B, LiChroCart 250 – 4, LiChrospher 60, Korngröße 5 µm	RP–18 e, Eco Cart 125 – 3, LiChrospher 100, Korngröße 5 µm	RP–18, LiChroCart 125 – 4, LiChrospher 100, Korngröße 5 µm
<b>Säulen- Temperatur</b>	30°	35°	35°
<b>Mobile Phase</b>	A) Triethylammonium- phosphatpuffer (0,025 mM, pH 3) B) Acetonitril isokratisch (v/v 77:23)	A) Wasser / H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (pH 3) B) Methanol isokratisch (v/v 77:23)	A) Ammoniumacetat puffer (1%-ig) B) HF/AcN/Isopropanol (v/v/v 98/1/1) isokratisch (v/v 17:83)
<b>Fluss</b>	1,0 ml/min	1,0 ml/min	1,5 ml/min
<b>Detektion</b>	Fluoreszenz Anregung: 252 nm Emission: 332 nm	UV, 245 nm	DAD, 230 nm

### 3.5.2 Kalibratoren und Qualitätskontrollproben

Alle Kalibratoren und Qualitätskontrollproben wurden in humanem Leerserum bzw. Leerurin hergestellt. Die Präparation der Kalibratoren erfolgte am jeweiligen Bearbeitungstag, die Qualitätskontrollproben wurden vor Beginn der Analytik im Pool angesetzt, anschließend aliquotiert und bei - 18 °C tiefgefroren. Am jeweiligen Bearbeitungs- bzw. Messtag wurde ein Satz Qualitätskontrollen aufgetaut und mit den Kalibratoren sowie Patientenproben aufgearbeitet und vermessen.

Die für die Kalibrationsreihen verwendeten Konzentrationen bzw. Qualitätskontrollproben sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Die statistische Auswertung der jeweiligen Qualitätskontrollmesswerte bzw. Kalibratoren wurden zur Beurteilung der Qualität der Analytik hinsichtlich Linearität, Präzision und Richtigkeit herangezogen.



**Tabelle 4:** Dosierung der Kalibratoren (K) und Qualitätskontrollproben (Q) für die Bestimmungen in Serum und Urin

Kalibratoren (Serum)									
Konzentration (ng/ml)									
	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	K-6	K-7	K-8	K-9
Talinolol	5	10	25	50	100	250	500	750	1000
Retinylpalmitat	52,9	99	198	396	825	1650	3300	6600	
Paracetamol	100	200	500	750	1000	1500	2000		
Qualitätskontrollen (Serum)									
Konzentration (ng/ml)									
	Q-1			Q-2			Q-3		
Talinolol	25			250			750		
Retinylpalmitat	99			396			1650		
Paracetamol	200			750			1500		
Kalibratoren (Urin)									
Konzentration (ng/ml)									
	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	K-6	K-7		
Talinolol	5	10	25	50	100	250	500		
2-cis-OH-Talinolol	5	10	25	50	100	250	500		
3-cis-OH-Talinolol	5	10	25	50	100	250	500		
4-cis-OH-Talinolol	5	10	25	50	100	250	500		
3-trans-OH-Talinolol	5	10	25	50	100	300	500		
4-trans-OH-Talinolol	5	10	25	50	100	250	500		
Qualitätskontrollen (Urin)									
Konzentration (ng/ml)									
	Q-1			Q-2			Q-3		
Talinolol	10			50			300		
2-cis-OH-Talinolol	10			50			300		
3-cis-OH-Talinolol	10			50			300		
4-cis-OH-Talinolol	10			50			300		
3-trans-OH-Talinolol	10			50			300		
4-trans-OH-Talinolol	10			50			300		

### **3.5.3 Probenaufbereitung**

#### Talinololbestimmung in Serum:

Nach dem Auftauen der entsprechenden Patienten- bzw. Qualitätskontrollproben bei Raumtemperatur wurden 0,5 ml in ein 10 ml Schliffröhrchen pipettiert. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0,025 ml Interner Standardlösung (SL-IS, Propranolol 43,84 ng/ml) sowie 0,1 ml gesättigter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – Lösung.

Nach kurzem Durchmischen wurde einmal mit 5 ml Diethylether extrahiert (Horizontalschüttler 10 min; Raumtemperatur). Nach Separation der organischen Phase und anschließender Einengung zur Trockne im Luftstrom bei 40 °C erfolgte die Resuspension in 120 µl mobiler Phase sowie anschließende Injektion eines 20 µl Aliquotes in das chromatographische System.

#### Bestimmung von Talinolol und seinen Metaboliten im Urin:

Nach dem Auftauen der entsprechenden Patienten- bzw. Qualitätskontrollproben bei Raumtemperatur wurden 0,5 ml in ein 10 ml Schliffröhrchen pipettiert. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0,025 ml Interner Standardlösung (AL-IS, Metoclopramid 250 ng/ml) sowie 0,05 ml gesättigter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – Lösung.

Nach kurzem Durchmischen wurde einmal mit 4 ml Chloroform extrahiert (Horizontalschüttler 5 min; Raumtemperatur). Nach Separation der organischen Phase und anschließender Einengung zur Trockne im Luftstrom bei 40 °C erfolgte die Resuspension in 120 µl mobiler Phase sowie anschließende Injektion eines 20 µl Aliquotes in das chromatographische System.

#### Retinylpalmitatbestimmung in Serum:

Nach dem Auftauen der zu messenden Patientenproben bei Raumtemperatur wurden 0,2 ml in einem 1,5 ml Eppendorfgefäß pipettiert und mit 0,2 ml Essigsäureethylester überschichtet.

Nach kurzem intensiven Durchmischen und anschließender Phasentrennung wurde die organische Phase separiert und 50 µl davon direkt in das chromatographische System injiziert.

#### Paracetamolbestimmung in Serum:

Nach Auftauen der entsprechenden Patienten- bzw. Qualitätskontrollproben bei Raumtemperatur wurden 0,5 ml in ein 10 ml Schliffröhrchen pipettiert und mit 0,05 ml IS-SL (Stammlösung interner Standard;  $\beta$ -Hydroxyethyltheophyllin) versetzt. Anschließend erfolgte eine Proteinfällung durch Zugabe von 1 ml Acetonitril. Nach 5 minütiger Zentrifugation (4000 U/min) und Separation des Fällungsrückstandes wurde zweimal mit Essigsäureethylester (10 min Horizontalschüttler; Raumtemperatur) extrahiert und die Proben anschließend zentrifugiert (5 Minuten bei 4000 U/min). Die vereinigten organischen Extrakte wurden anschließend im Luftstrom bei 70 °C eingeeengt, in 120  $\mu$ l mobiler Phase resuspendiert und ein Aliquot von 20  $\mu$ l in das chromatographische System injiziert.

#### **3.5.4 Auswertung**

Die verwendeten chromatographischen Bestimmungsmethoden waren jeweils spezifisch für Retinylpalmitat sowie Talinolol und Paracetamol und den dafür verwendeten internen Standard. Die Berechnung der Konzentrationen der pharmakokinetischen Untersuchung erfolgte mittels gewichteter linearer Regression (Wichtungsfaktor  $1/x$ ;  $x$  = Konzentration) aus den erhaltenen Chromatogrammen (Rohdaten) der Kalibrationsreihen über die jeweiligen Peak-Höhenverhältnisse (phr; Analyt / interner Standard).

Als Qualitätskriterien der Analytik wurden Präzision und Richtigkeit sowohl within- als auch between-day über die entsprechenden Kalibrationswerte sowie Qualitätskontrollen bestimmt. Entsprechend international geltender Richtlinien sollten Abweichungen von 15 % nicht überschritten werden. Detaillierte Angaben zur Präzision und Richtigkeit sind in Tabelle 5 aufgeführt.

### 3.5.5 Qualität der Analytik

**Tabelle 5:** Angaben zur Präzision und Richtigkeit der Arzneimittelassays

<b>Serum</b>	<b>Präzision (%)</b>	<b>Richtigkeit (%)</b>
Talinolol		
within-day	0,7 - 4,7	-7,3 - 4,2
between-day	2,4 - 4,6	5,4 - 7,0
Paracetamol		
within-day	0,7 - 1,3	-0,9 - 1,3
between-day	2,5 - 3,2	-0,9 - 4,0
Retinylpalmitat		
within-day	1,3 - 9,2	-1,7 - 1,7
between-day	12,1 - 17,8	-7,0 - 2,2
<b>Urin</b>	<b>Präzision (%)</b>	<b>Richtigkeit (%)</b>
Talinolol		
between-day	3,0 - 7,9	3,9 - 6,3
2-cis-OH-Talinolol		
between-day	0,3 - 9,8	-6,0 - 6,9
3-cis-OH-Talinolol		
between-day	0,0 - 8,7	-11,1 - 5,2
4-cis-OH-Talinolol		
between-day	0,3 - 10,3	-13,4 - 7,3
3-trans-OH-Talinolol		
between-day	0,7 - 8,6	-12,8 - 6,0
4-trans-OH-Talinolol		
between-day	0,8 - 8,0	-10,8 - 10,1

### 3.6 Biometrische Methoden

#### 3.6.1 Pharmakokinetische Auswertung

Folgende pharmakokinetische Parameter von Talinolol wurden bestimmt:

- die Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve ( $AUC_{0-\infty}$ ),
- die maximale Serumkonzentration ( $C_{max}$ ),
- die Zeitpunkte der maximalen Serumkonzentrationen ( $t_{max1}$ ,  $t_{max2}$ ),
- die terminale Eliminationshalbwertszeit ( $t_{1/2}$ ),
- die renale Clearance von Talinolol ( $CL_R$ ),
- die metabolische Clearance von Talinolol ( $CL_M$ ),
- die kumulative Urinausscheidung von Talinolol und seiner Metaboliten ( $A_e$ )

#### *Berechnungsmethoden*

Die maximale Serumkonzentration und die Zeitpunkte der maximalen Serumkonzentration (bei konventioneller Hartkapsel  $t_{max1}$  und  $t_{max2}$  wegen des Doppelpeakphänomens) wurden direkt aus den Serum-Konzentrations-Zeitkurven entnommen. Die Fläche unter der Kurve wurde mit Hilfe der Trapezregel bis zum letzten Messpunkt mit einer Konzentration oberhalb der quantitativen Nachweisgrenze berechnet und mittels Standardtechniken bis unendlich extrapoliert. (Sauter *et al.*, 1992)

Die Gesamt  $AUC_{0-\infty}$  wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\hat{C}_{last} = C_z \cdot e^{-\lambda_z \cdot t_{last}}$$

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t_{last}} + \frac{\hat{C}_{last}}{\lambda_z}$$

$AUC_{0-t_{last}}$  = Fläche unter der Kurve von 0 bis  $t_{last}$

$C_{last}$  = für den Zeitpunkt  $t_{last}$  errechnete Serumkonzentration

$t_{last}$  = Zeitpunkt des letzten Messwertes oberhalb der quantitativen Nachweisgrenze

$\lambda_z$  = terminale Eliminationskonstante

$C_z$  = fiktive Konzentration zum Zeitpunkt 0

$\lambda_z$  und  $C_z$  wurden durch log-lineare Approximation ermittelt.

Als  $t_{lag}$  wird diejenige Zeit bezeichnet, die nach Gabe einer magensaftresistenten Zubereitungsform bis zum Auftreten der ersten messbaren Serumkonzentration verstreicht. Sie wird daher direkt aus der Serum-Konzentrations-Zeitkurve entnommen.

Die biologische Halbwertszeit  $t_{1/2}$  ergibt sich aus folgender Formel:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{\lambda_z}.$$

Die renale ( $CL_R$ ) und metabolische Clearance ( $CL_M$ ) von Talinolol wurden anhand der jeweils im Urin ausgeschiedenen Substanzmenge berechnet:

$$CL_R = \frac{Ae_{(Talinolol)}}{AUC_{0-\infty}}.$$

$$CL_M = \frac{Ae_{(Metabolite \text{ von Talinolol })}}{AUC_{0-\infty}}.$$

### 3.6.2 Statistische Methoden

Die erhobenen Daten wurden mit den Programmen Microsoft® Excel und SPSS statistisch ausgewertet. Die Beschreibung der Stichproben erfolgte durch Berechnungen der arithmetischen Mittelwerte und der Standardabweichungen sowie der geometrischen Mittelwerte. Statistische Vergleiche erfolgten mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummen-Test für verbundene Stichproben. Ein Signifikanzniveau von  $p < 0.05$  wurde einheitlich festgelegt.

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Compliance und Verträglichkeit der Medikamente**

Alle Untersuchungen wurden an jedem Probanden entsprechend den Vorgaben des Prüfplanes durchgeführt. Die Einnahme der Prüfmedikation erfolgte unter Aufsicht eines Prüfarztes.

Die Prüfpräparate wurden von allen Probanden gut vertragen. Im Verlauf der Studie traten bei drei Probanden Kopfschmerzen auf, Müdigkeit wurde von einem Probanden beschrieben. In diesen Fällen kann ein möglicher Zusammenhang zur Einnahme der Prüfmedikation nicht ausgeschlossen werden. Ein weiterer Studienteilnehmer hatte Durchfall, der in keinem kausalen Zusammenhang mit der verabreichten Prüfmedikation zu sehen war.

### **4.2 Vergleich der Pharmakokinetik von Talinolol nach Gabe als konventionelle Hartkapsel, magensaftresistente Kapsel und Suppositorium**

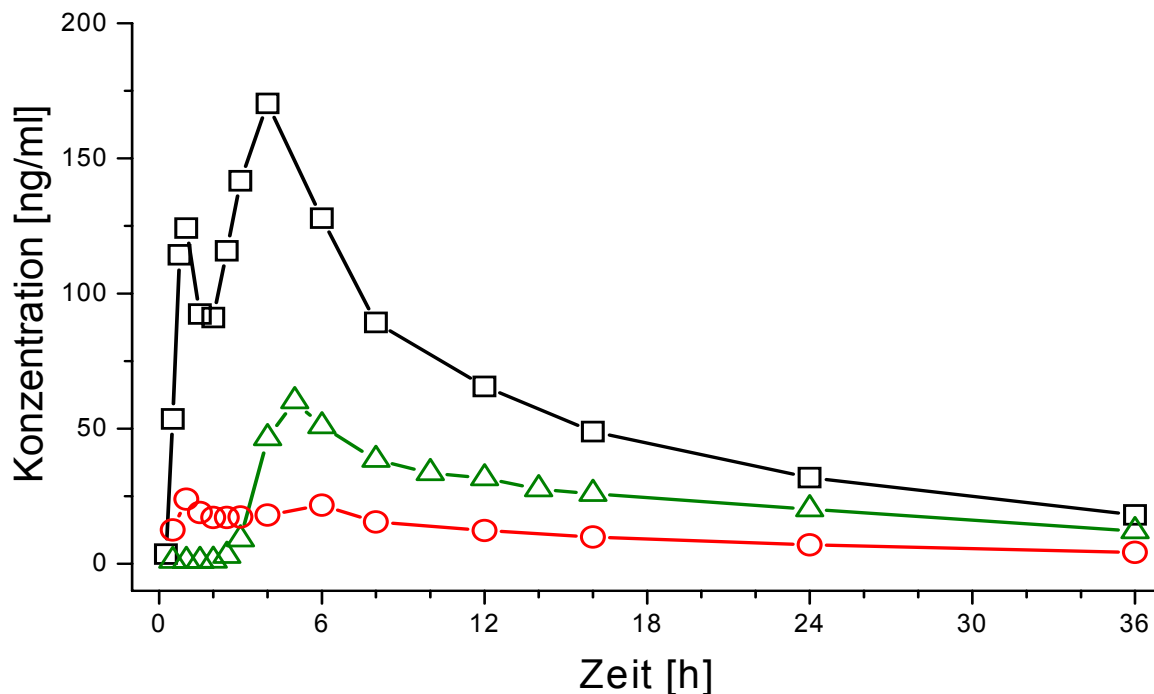
Talinolol wurde aus dem Magen-Darm-Trakt sehr unregelmäßig aufgenommen, unabhängig von der Art der verabreichten Arzneiform. Der Verlauf der Serumkonzentrations-Zeit-Kurven der einzelnen Probanden wies starke interindividuelle Schwankungen auf (Anhang Abb. A1).

Nach Gabe der konventionellen Hartkapsel trat bei fast allen Probanden das bekannte Doppel-Peak-Phänomen auf mit einem ersten Konzentrationsmaximum nach etwa 1 h und einem zweiten Peak nach 3-6 h, welches nach Gabe als magensaftresistente Kapsel nicht zu beobachten war. Nach rektaler Gabe von Talinolol war vereinzelt ein Doppel-Peak-Effekt erkennbar (siehe Abb. 3).

Die Einnahme einer magensaftstabilen Kapsel führte bei drei Probanden zur Ausbildung flacher Plateaus, während bei den anderen fünf deutliche Peaks entstanden, deren Höhe in zwei Fällen sogar den  $C_{\max}$ -Wert nach Einnahme der Hartkapsel überstiegen.

Die Absorption von Talinolol nach Gabe eines Suppositoriums war extrem unregelmäßig. Es traten Doppel-Peaks, flache Plateaus und auch reguläre Peaks auf, die ihren Maximalwert zum Teil aber erst nach einem sehr langsamen Anstieg über

sechs Stunden hinweg erreichten, während der  $C_{\max}$ -Wert bei anderen Probanden deutlich früher auftrat.



**Abb. 3:** Serumkonzentrations-Zeit-Kurven von 8 Probanden (geometrische Mittel) nach Gabe von 100 mg Talinolol als konventionelle Hartkapsel (schwarz), magensaftresistente Kapsel (grün) und Suppositorium (rot)

Die wesentlichen pharmakokinetischen Parameter von Talinolol finden sich in Tabelle 6. Die Einnahme von Talinolol war verbunden mit einem signifikanten Abfall der relativen Bioverfügbarkeit ( $AUC_{0-\infty}$ ) von 2635 ng×h/ml nach Gabe als Hartkapsel auf 1330 ng×h/ml nach Gabe einer magensaftresistenten Kapsel sowie auf 540 ng×h/ml nach rektaler Applikation. Die maximale Serumkonzentration ( $C_{\max}$ ) fiel nach rektaler Gabe um 80% signifikant ab. Nach Einnahme als magensaftresistente Kapsel war ein Abfall der maximalen Serumkonzentration um 50% zu verzeichnen, der allerdings nicht signifikant war.

Bei der Betrachtung der Einzelwerte (Anhang Tabelle A15 und A16) fiel bei Proband 13 ein erhebliches Absorptionsdefizit nach Einnahme der Hartkapsel auf. Er erreichte



hier nur eine AUC von 877 ng×h/ml, während bei den anderen Probanden Werte zwischen 2200 ng×h/ml und 3500 ng×h/ml auftraten.

Im Vergleich zur konventionellen Hartkapsel war das erste bzw. einzige Konzentrationsmaximum nach Gabe der anderen Applikationsformen zeitlich von  $0.84 \pm 0.23$  h auf  $2.88 \pm 2.59$  h nach rektaler Zufuhr und auf  $4.88 \pm 1.55$  h nach oraler Aufnahme als magensaftresistente Kapsel signifikant nach hinten verlagert.

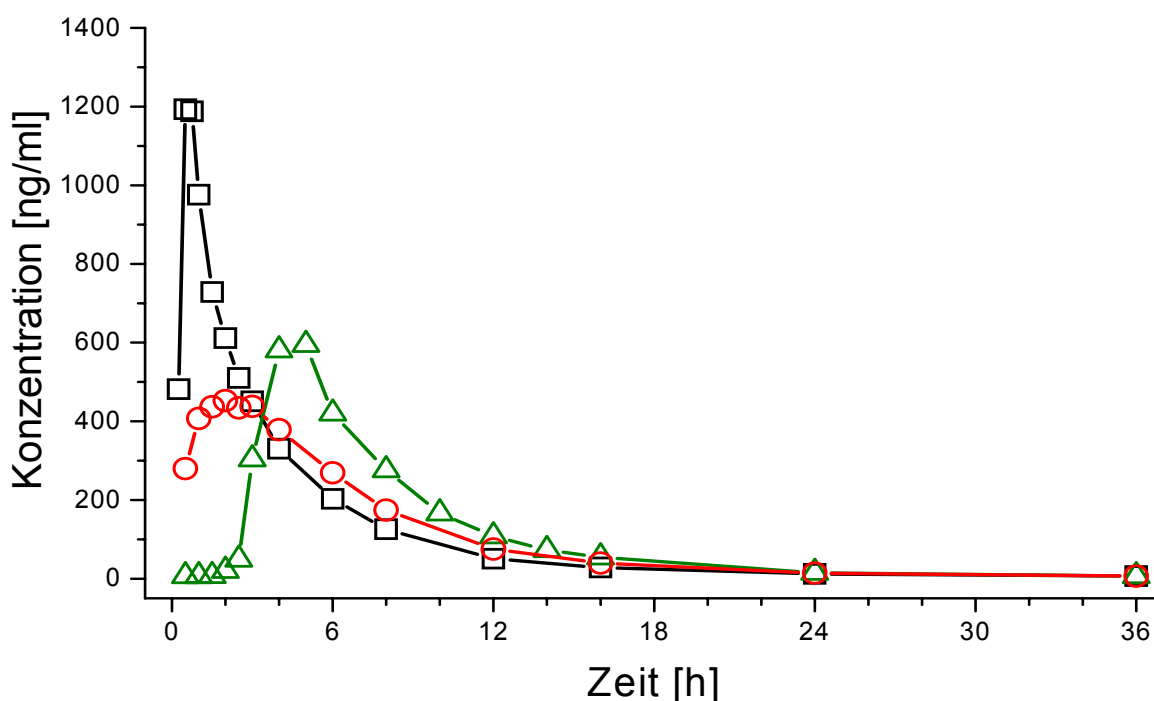
Zudem fiel eine Abnahme der renalen Clearance von Talinolol nach Einnahme als magensaftresistente Kapsel sowie eine Zunahme der metabolischen Clearance nach Gabe als Suppositorium in signifikantem Umfang auf.

**Tabelle 6:** Pharmakokinetische Daten nach Gabe von 100 mg Talinolol als konventionelle Hartkapsel, magensaftresistente Kapsel und Suppositorium (n = 8, Angabe von Mittelwert  $\pm$  SD, \* p < 0.05 zur Hartkapsel)

	Hartkapsel	Magensaftresistente Kapsel	Suppositorium
<b>AUC<sub>0-∞</sub></b> [ng×h/ml]	<b>2635 <math>\pm</math> 832</b>	<b>1330 <math>\pm</math> 590*</b>	<b>540 <math>\pm</math> 263*</b>
<b>C<sub>max</sub></b> [ng/ml]	<b>223 <math>\pm</math> 75.8</b>	<b>121 <math>\pm</math> 94.0</b>	<b>35.8 <math>\pm</math> 24.3*</b>
<b>C<sub>max</sub>/AUC</b> [h <sup>-1</sup> ]	<b>0.087 <math>\pm</math> 0.016</b>	<b>0.081 <math>\pm</math> 0.038</b>	<b>0.066 <math>\pm</math> 0.027</b>
<b>t<sub>max1</sub></b> [h]	<b>0.84 <math>\pm</math> 0.23</b>	<b>4.88 <math>\pm</math> 1.55*</b>	<b>2.88 <math>\pm</math> 2.59*</b>
<b>t<sub>max2</sub></b> [h]	<b>3.75 <math>\pm</math> 1.16</b>	-	-
<b>t<sub>lag</sub></b> [h]	-	<b>3.31 <math>\pm</math> 0.92</b>	-
<b>t<sub>1/2</sub></b> [h]	<b>12.3 <math>\pm</math> 1.39</b>	<b>17.5 <math>\pm</math> 3.18*</b>	<b>14.8 <math>\pm</math> 5.15</b>
<b>CL<sub>R</sub></b> [ml/min]	<b>179 <math>\pm</math> 26.3</b>	<b>130 <math>\pm</math> 45*</b>	<b>201 <math>\pm</math> 121</b>
<b>CL<sub>M</sub></b> [ml/min]	<b>2.94 <math>\pm</math> 1.66</b>	<b>3.54 <math>\pm</math> 1.98</b>	<b>10.8 <math>\pm</math> 14.9*</b>
<b>A<sub>e</sub></b> [mg]	<b>28.2 <math>\pm</math> 9.0</b>	<b>10.0 <math>\pm</math> 4.6*</b>	<b>6.89 <math>\pm</math> 6.11*</b>
<b>A<sub>e</sub> Talinolol</b> [mg]	<b>27.7 <math>\pm</math> 8.9</b>	<b>9.8 <math>\pm</math> 4.5*</b>	<b>6.7 <math>\pm</math> 6.2*</b>
<b>A<sub>e</sub> Metabolite</b> [mg]	<b>0.43 <math>\pm</math> 0.23</b>	<b>0.26 <math>\pm</math> 0.13*</b>	<b>0.22 <math>\pm</math> 0.14*</b>

#### 4.3 Pharmakokinetik von Talinolol im Vergleich zu Paracetamol nach Gabe als konventionelle Hartkapsel, magensaftresistente Kapsel und als Suppositorium

Die Aufnahme von Paracetamol zeichnete sich durch ein hohes Maß an Regelmäßigkeit aus. Bei jedem Probanden zeigte der Verlauf der Serumkonzentrations-Zeit-Kurve nach Gabe aller drei Arzneiformen einen regulären Peak. Damit war Paracetamol ein zuverlässiger Indikator für die Freisetzung des Wirkstoffes (siehe Abb. 4; Einzelkurven im Anhang Abb. A2).



**Abb. 4:** Serumkonzentrations-Zeit-Kurven von 8 Probanden (geometrische Mittel) nach Gabe von 100 mg Paracetamol als konventionelle Hartkapsel (schwarz), magensaftresistente Kapsel (grün) und Suppositorium (rot)

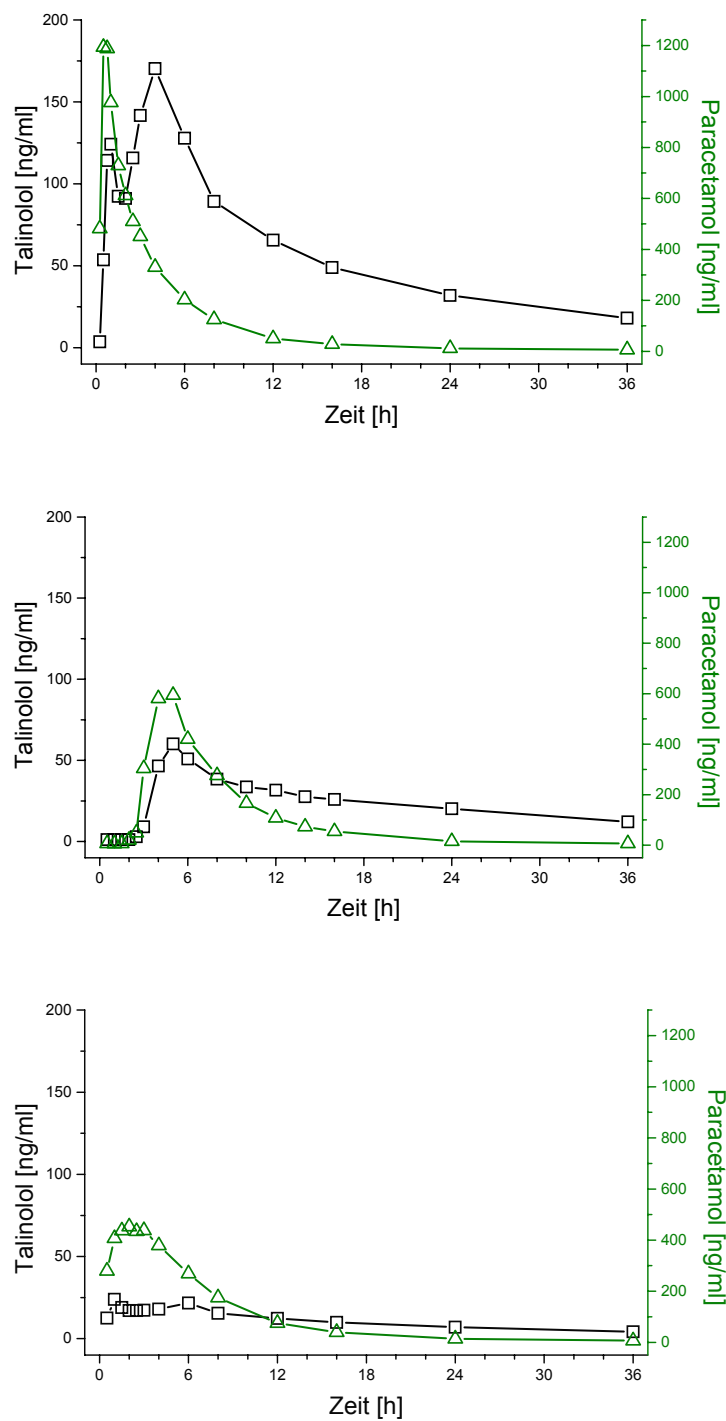
Paracetamol wurde nach Gabe von allen drei Arzneiformen in gleichem Umfang aufgenommen. Die AUC blieb nahezu unverändert (siehe Tabelle 7). Es änderten sich jedoch die Höhe des erreichten Spitzenspiegels (signifikanter Abfall von  $C_{\max}$  bei

magensaftstabiler Kapsel und beim Suppositorium) und damit die Geschwindigkeit der Absorption (signifikanter Abfall von  $C_{max}/AUC$  bei magensaftstabiler Kapsel und beim Suppositorium).

Im direkten Vergleich der Serumkonzentrations-Zeit-Kurven von Talinolol und Paracetamol nach Gabe der drei Arzneiformen (siehe Abbildung 5) imponierte das nahezu zeitgleiche Auftreten der maximalen Serumkonzentration beider Arzneimittel nach Gabe als konventionelle Hartkapsel (bei Talinolol hier  $t_{max1}$ ) und als magensaftstabile Kapsel, während nach Gabe eines Suppositoriums die Resorption von Talinolol verglichen mit Paracetamol deutlich verzögert war ( $t_{max} = 2,88$  h gegenüber 1,75 h bei Paracetamol).

**Tabelle 7:** Pharmakokinetische Daten nach Gabe von 100 mg Paracetamol als konventionelle Hartkapsel, magensaftresistente Kapsel und Suppositorium (n = 8, Angabe von Mittelwert  $\pm$  SD, \* p < 0.05 zur Hartkapsel)

	Kapsel	Magensaftresistente Kapsel	Suppositorium
<b>AUC<sub>0-∞</sub></b> [ng×h/ml]	<b>3958 <math>\pm</math> 764</b>	<b>3721 <math>\pm</math> 803</b>	<b>3748 <math>\pm</math> 757</b>
<b>C<sub>max</sub></b> [ng/ml]	<b>1387 <math>\pm</math> 98.4</b>	<b>774 <math>\pm</math> 290*</b>	<b>498 <math>\pm</math> 79.7*</b>
<b>C<sub>max</sub>/AUC</b> [h <sup>-1</sup> ]	<b>0.36 <math>\pm</math> 0.07</b>	<b>0.21 <math>\pm</math> 0.06*</b>	<b>0.13 <math>\pm</math> 0.01*</b>
<b>t<sub>max</sub></b> [h]	<b>0.59 <math>\pm</math> 0.13</b>	<b>4.13 <math>\pm</math> 0.64*</b>	<b>1.75 <math>\pm</math> 0.80*</b>
<b>t<sub>lag</sub></b> [h]	-	<b>3.00 <math>\pm</math> 0.71</b>	-
<b>t<sub>1/2</sub></b> [h]	<b>2.59 <math>\pm</math> 0.28</b>	<b>2.80 <math>\pm</math> 0.64</b>	<b>3.73 <math>\pm</math> 0.62*</b>



**Abb. 5:** Vergleich der Serumkonzentrations-Zeit-Kurven von 8 Probanden (geometrisches Mittel) nach Gabe von 100 mg Talinolol (schwarz) und Paracetamol (grün) als konventionelle Hartkapsel (oben), magensaftresistente Kapsel (Mitte) und Suppositorium (unten)

## **5 Diskussion**

### **5.1 Methodenkritik**

#### **5.1.1 Art der Studiendurchführung**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Beeinflussung der Absorption eines Arzneimittels durch den Ort der Wirkstofffreisetzung auf der Grundlage einer unterschiedlichen Expression von Transportproteinen in verschiedenen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes zu charakterisieren. Zu diesem Zweck erhielten acht gesunde, männliche Probanden im Rahmen einer randomisierten, kontrollierten Studie eine Hartkapsel, eine magensaftstabile Kapsel und ein Suppositorium, die jeweils 100 mg Talinolol und 100 mg Paracetamol enthielten. Durch Messung des Serumkonzentrations-Zeit-Verlaufes und anschließender Bestimmung der AUC sollten Aussagen zur regioselektiven Absorption des P-gp-Substrates Talinolol gewonnen und diese mit den entsprechenden Daten der Referenzsubstanz Paracetamol verglichen werden, von der eine gute und rasche Absorption in allen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes bekannt ist.

Der gewählte Ansatz erlaubt daher nur die Bestimmung einer relativen Bioverfügbarkeit der einzelnen Arzneiformen. Die absolute Bioverfügbarkeit konnte nicht bestimmt werden, da eine zusätzliche intravenöse Gabe von Talinolol nicht vorgesehen war. Die im Folgenden getroffenen Aussagen zur Absorption von Talinolol aus unterschiedlichen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes sind daher ausschließlich AUC-basiert.

Aufgrund der fehlenden i.v.-Gabe ließ sich auch die systemische Clearance nicht berechnen. Dies hätte Angaben über den unterschiedlichen Anteil der einzelnen Eliminationsprozesse (renal, nicht-renal) ermöglicht und eine Abschätzung der Menge erlaubt, welche präsystemisch eliminiert wird. Dazu zählt neben der Metabolisierung von Talinolol in den Dünndarmzotten, die vom Umfang her eher gering einzuschätzen ist, vor allem der Anteil der Muttersubstanz, die durch Effluxtransporter wie P-gp wieder ins Darmlumen zurückgeworfen und via Fäzes ausgeschieden wird. Da insbesondere die Beeinflussung der Absorption durch regional unterschiedlich stark exprimierte Transportproteine Gegenstand dieser

Arbeit war, wäre eine Quantifizierung der mit dem Stuhl ausgeschiedenen Talinololmenge sehr aussagekräftig gewesen.

In einer kürzlich publizierten Studie unserer Abteilung (Bernsdorf *et al.*, 2006) konnte gezeigt werden, dass Talinolol etwa zu gleichen Teilen mit dem Urin und dem Stuhl ausgeschieden wird. Zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Studie jedoch war die Messung von Talinolol im Stuhl noch nicht etabliert.

Mit den genannten Limitationen trägt diese Studie daher nur deskriptiven Charakter. Eine vollständige Bilanzierung der eingesetzten Substanzen war nicht angestrebt und konnte mit dieser Art der Studiendurchführung auch nicht realisiert werden.

### **5.1.2 Eignung von Talinolol**

Talinolol gilt neben Digoxin als gut charakterisiertes Modellarzneimittel zur Untersuchung P-gp-vermittelter Transportvorgänge. Es zeichnet sich durch eine geringe Proteinbindung, eine geringe Biotransformation, eine relativ kurze Halbwertszeit, das Vorhandensein einfacher analytischer Bestimmungsmethoden sowie eine gute Verträglichkeit beim Einsatz an gesunden Probanden aus. (Zschiesche *et al.*, 2002)

An Caco-2-Monolayern, in Tierversuchen mit Rattendarmschlingen, *mdr1a/b* knockout-Mäusen und in klinischen Studien am Menschen konnte gezeigt werden, dass die mangelnde Bioverfügbarkeit von Talinolol durch aktive Transportprozesse im Darm verursacht wird, die durch bekannte Inhibitoren und Induktoren von P-gp beeinflussbar sind. (Westphal *et al.*, 2000; Spahn-Langguth *et al.*, 1998; Wetterich *et al.*, 1996; Hanafy *et al.*, 2001; Troutman and Thakker, 2003)

In einer Studie an 12 gesunden Probanden wurde nach oraler Gabe von 25, 50, 100 und 400 mg Talinolol gezeigt, dass die Bioverfügbarkeit von Talinolol in der Dosierung von 25 und 50 mg durch einen kapazitätslimitierenden Prozess begrenzt wird, da die AUC bei Dosiserhöhung überproportional anstieg, während die terminale Halbwertszeit unverändert blieb (Wetterich *et al.*, 1996). Als Ursache der verminderten Absorption sahen die Autoren einen aktiven intestinalen durch P-gp vermittelten Prozess, der in subtherapeutischer Dosierung sättigungsfähig war.

Mit Hilfe der Triple-Lumen-Perfusionstechnik konnte direkt am Menschen demonstriert werden, dass Talinolol aktiv gegen einen hohen Konzentrationsgradienten zurück in das Darmlumen gepumpt wird. (Gramatte *et al.*, 1996)

Effluxtransporter wie P-gp werden an verschiedenen Organschränken exprimiert, z.B. an der intestinalen Absorptionsbarriere, der Blut-Hirn-Schranke, der Plazentaschranke, der Blut-Hoden-Schranke und der Cornea-Schranke. Hier schützen sie den Organismus bzw. bestimmte Organsysteme vor der Aufnahme von Xenobiotika. Deren Ausscheidung wiederum wird durch Auswärtstransporter in Nierentubuli und in Gallekanälchen beschleunigt. (Kim, 2002; Siegmund *et al.*, 2003; Chan *et al.*, 2004; Bart *et al.*, 2004; Karla *et al.*, 2007).

Ausgehend von dieser Schutz- und Eliminationsfunktion weist P-gp ein relativ breites Substratspektrum auf, das auch Überlappungen mit dem Spektrum anderer Auswärtstransporter aufweist. So sind z.B. HIV-Protease-Inhibitoren (Ritonavir, Saquinavir), Grepafloxacin, Octreotid oder Cyclosporin A gemeinsame Substrate von P-gp und MRP2 (Lee *et al.*, 1998; Gutmann *et al.*, 2000; Lowes und Simmons, 2002; Huisman *et al.*, 2002; Fricker and Miller, 2002; Akashi *et al.*, 2006).

Es kann daher vermutet werden, dass die Beeinflussung der Absorption von Talinolol durch Transportproteine nicht ausschließlich ein Effekt von P-gp ist. So wurde zum Beispiel in einem Tierversuch mit *mdr1a/b-knock-out*- und Wildtyp-Mäusen entgegen der Erwartung eine Abnahme der Talinolol-Serumkonzentration auch bei den Wildtyp-Mäusen nach Zusatz des P-gp-Inhibitors Verapamil nachgewiesen. (Schwarz *et al.*, 2001) Eine andere Studie zeigte, dass sich Talinolol wesentlich besser in viele Organe von MRP2-defizienten Ratten (GY/TR<sup>-</sup>) im Vergleich zum Wildtyp verteilt. (Bernsdorf *et al.*, 2003)

Inwieweit weitere Effluxtransporter, wie die im Darm exprimierten MRP 1-3 und BCRP in die Kinetik von Talinolol eingreifen, lässt sich gegenwärtig genauso wenig einschätzen wie der Einfluss von Aufnahmetransportern aus der Familie der *solute carrier* (SLC) wie OATPs (*Organic anion transporting polypeptide*) und OCTs (*Organic cation transporters*), die nachweislich ebenfalls an der Regulation der Absorption von Xenobiotika beteiligt sind. (Chan *et al.*, 2004; Stephens *et al.*, 2001; Chandra und Brouwer, 2004; Koepsel, 2004; Taipalensuu *et al.*, 2001)

Eine kürzlich veröffentlichte Arbeit beschreibt eine deutlich geringere Bioverfügbarkeit von Talinolol bei Einnahme mit Grapefruit-Saft ohne Veränderung der intestinalen P-gp-Expression. (Schwarz *et al.*, 2005) Dies deutet darauf hin, dass die Effekte von Aufnahmetransportern den P-gp und MRP-2 vermittelten Sekretionsprozeß in der Kinetik von Talinolol überlagern können.

### **5.1.3 Eignung von Paracetamol**

Paracetamol wird in allen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes vollständig absorbiert. Eine präsystemische Elimination durch intestinale Metabolisierung ist ebenso wenig bekannt wie eine Beeinflussung der Aufnahme von Paracetamol durch Transportproteine. Es stellt daher eine geeignete Referenzsubstanz für den Zeitpunkt der Wirkstofffreisetzung nach Gabe in unterschiedlichen Arzneiformen dar. (Naslund *et al.*, 2000; Gramatte *et al.*, 1994) Die Verträglichkeit bei gesunden Probanden ist sehr gut.

## **5.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **5.2.1 Konventionelle Hartkapsel**

Die in dieser Arbeit gewonnenen pharmakokinetischen Basisdaten von Talinolol nach Gabe einer Hartkapsel stimmten im Wesentlichen mit den Ergebnissen anderer Studien überein, in denen 100 mg Talinolol oral verabreicht wurden. (Siegmond *et al.*, 2002; Gießmann *et al.*, 2004; Bernsdorf *et al.*, 2006). Dabei lag die AUC am unteren Ende der Vergleichswerte (etwa 30 % unter den Ergebnissen der Arbeit von Bernsdorf *et al.*), während die renale Clearance im Vergleich zu allen drei Studien um etwa 20% erhöht war. Die deutlich höhere metabolische Clearance bei Bernsdorf *et al.* (9,57 ml/min vs. 2.94 ml/min in dieser Studie) war darauf zurückzuführen, dass in jener Studie erstmals auch die fäkal ausgeschiedenen Metabolite berücksichtigt wurden.

Nach Gabe als konventionelle Hartkapsel zeigte Talinolol ein typisches Doppel-Peak-Phänomen. (Terhaag *et al.*, 1989; Westphal *et al.*, 2000) Der erste Talinolol-Peak erschien bereits 15 min nach dem Konzentrationsmaximum von Paracetamol. Dies weist darauf hin, dass der erste Teil der absorbierten Talinololmenge unmittelbar nach der Magenentleerung nahezu zeitgleich mit dem Paracetamol im Duodenum



bzw. im proximalen Jejunum in die systemische Zirkulation gelangte. Im oberen Dünndarm scheint somit, wie schon von anderen Autoren vermutet, ein „Absorptionsfenster“ für Pgp-Substrate wie Talinolol zu existieren. (Mouly und Paine, 2003; Stephens *et al.*, 2002; Ho *et al.*, 2003) Durch Selbiges wurden 50% mehr Talinolol nach Einnahme einer Hartkapsel verglichen mit der Zufuhr als magensaftresistente Kapsel absorbiert.

Das zweite Konzentrationsmaximum trat 3 - 6 h nach Verabreichung der Hartkapsel auf. Die Entstehung dieses zweiten Peaks ist noch nicht im Detail geklärt. Zwar unterliegt Talinolol einer enterohepatischen Rezirkulation, die typischerweise einen zwei- oder mehrgipfligen Verlauf der Serumkonzentrations-Zeit-Kurve verursachen kann, doch werden nur etwa 10% einer intravenös verabreichten Dosis über die Galle ausgeschieden (Terhaag 1989). Dieser Betrag ist zu gering, um als Erklärung für den erheblichen zweiten Peak dienen zu können. Zudem müsste sich in diesem Fall auch nach Gabe der magensaftstabilen Kapsel ein Doppel-Peak zeigen, was wir in unserer Arbeit nicht beobachten konnten (siehe Anhang Abb. A1).

Ebenso unwahrscheinlich ist die spätere Absorption von Talinolol in tieferen Dünndarmabschnitten, da P-gp mit zunehmender Tiefe des Dünndarmes stärker exprimiert wird, was zu einer abnehmenden Absorption von Talinolol führen müsste (Gramatte *et al.*, 1996; Mouly und Paine, 2003, Thörn *et al.*, 2005; Zimmermann *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2006).

Die Annahme, dass Talinolol durch ein weiteres „Absorptionsfenster“ im proximalen Colon reabsorbiert wird und somit den beobachteten Doppelpeak verursacht, konnte durch Untersuchungen in unserem Institut mit Aktivkohle nach oraler und intravenöser Applikation von Talinolol ausgeschlossen werden. Der Zusatz von Aktivkohle 1, 2 und 3 h nach Talinololgabe sorgte für eine Bindung des im Darm befindlichen Talinolols und verhinderte auf diese Weise eine weitere Absorption desselben. Dies führte jedoch weder zu einer Abnahme der Bioverfügbarkeit noch zu einer Veränderung der Serumkonzentrations-Zeit-Kurve (unveröffentlichte Daten).

Am ehesten lässt sich das ungewöhnliche Absorptionsverhalten durch eine präsystemische Zwischenspeicherung von Talinolol erklären, aus welcher der Wirkstoff zu einem späteren Zeitpunkt freigesetzt wird. So könnte der Enterozyt als Zwischenspeicher für Talinolol fungieren. Allerdings bleibt unklar, auf welchen

Stimulus hin die Ausschüttung von Talinolol erfolgt. Roberts *et al.* beschreiben eine Freisetzung von Nahrungsfetten aus dem Enterozyten nach Gabe von Glukose (Roberts *et al.*, 2003). Die Probanden, die an dieser Studie teilnahmen, erhielten ihre erste Mahlzeit jedoch erst fünf Stunden nach Gabe der Prüfmedikation. Dies ist in fast allen Fällen nach dem Beginn, ja sogar meist nach dem Maximum des zweiten Peaks (siehe Anhang Tabelle A16).

### 5.2.2 Magensaftresistente Kapsel

Arzneimittel in magensaftresistenten Zubereitungsformen werden hauptsächlich im distalen Jejunum oder Ileum freigesetzt. (Wilding *et al.*, 1992) Dies entspricht der von uns bestimmten  $t_{lag}$  (Zeit, die nach Gabe einer magensaftstabilen Arzneiform bis zum Auftreten der ersten messbaren Serumkonzentration verstreicht). Der erste Serumspiegel von Paracetamol wurde nach 3.0 h, der von Talinolol nach 3.31 h gemessen.

Obwohl beide Substanzen nach Auflösung der magensaftresistenten Kapsel nahezu zeitgleich aufgenommen wurden, erreichte Talinolol im Vergleich zur Gabe als Hartkapsel nur eine relative Bioverfügbarkeit von 50%, während Paracetamol in nahezu unverändertem Umfang absorbiert wurde. Unter der Voraussetzung, dass beide Substanzen gemeinsam in einer Arzneiform appliziert wurden, kommen als mögliche Ursachen für die beobachtete schlechtere Absorption von Talinolol nach Gabe als magensaftstabile Kapsel im Vergleich zur Hartkapsel in Frage:

- schlechtere Auflösung des Wirkstoffes
- eine verstärkte (präsystemische) Metabolisierung durch intestinale Enzyme
- eine Zunahme der aktiven Sekretion durch Transportproteine

Voraussetzung für die Resorption ist die Auflösung eines Arzneistoffes. Diese hängt zum einen vom Vorliegen eines geeigneten Lösungsmittels in ausreichender Menge und zum anderen von der Löslichkeit des Arzneistoffes ab, d.h. von seiner Fähigkeit, sich in einem Lösungsmittel homogen zu verteilen. In dieser Eigenschaft unterscheiden sich Talinolol und Paracetamol erheblich voneinander, denn die errechnete Löslichkeit von Talinolol [0.62 g/l; pH = 8] in Wasser ist deutlich schlechter als die von Paracetamol [10,0 g/l; pH = 8] (Scifinder Scholar 2006).

Verabreicht man Talinolol als konventionelle Hartkapsel, so löst sich diese im Magensaft auf und der Arzneistoff kann in Lösung gehen. Lösungsmedium liegt in ausreichender Menge vor. Die magensaftstabile Kapsel hingegen passiert den Magen unversehrt und löst sich erst im distalen Jejunum oder Ileum auf. Während sich die Flüssigkeit im Magen im Antrumbereich sammelt, verteilt sie sich im Verlaufe des Dünndarms jedoch sehr unregelmäßig.

So konnten Schiller *et al.* zeigen, dass sich im Dünndarm von gesunden Probanden unter Nüchternbedingungen etwa 50-130 ml Wasser befinden, die sich auf 3-5 Nester verteilen. Von den verabreichten Testkapseln waren im Bereich des Dünndarms ca. 50% vollständig von Flüssigkeit umgeben, etwa 25% hatten jedoch keinerlei Flüssigkeitskontakt (Schiller *et al.*, 2005). Je weniger Wasser aber am Ort der Kapselauflösung vorhanden ist, desto schlechter sind insbesondere die Bedingungen für die Auflösung von Talinolol.

Die im Vergleich zu Paracetamol deutlich geringere Löslichkeit von Talinolol könnte im Zusammenhang mit der diskontinuierlichen Verteilung von Wasser im Dünndarm eine mögliche Erklärung dafür sein, dass Talinolol nach Gabe einer magensaftstabilen Zubereitungsform eine signifikant erniedrigte Bioverfügbarkeit aufwies, die zudem erheblichen interindividuellen Schwankungen unterlag. So zeigten die Einzelkurven (Anhang Abb. A1) bei drei Probanden flache Plateaus, während bei den anderen fünf nach der Auflösung der Kapsel deutliche Peaks auftraten, die bei zwei Probanden (4 und 5) sogar zu höheren  $C_{\max}$ -Werten führten als nach Gabe der Hartkapsel (Anhang Tabelle A16 und A18).

Doch selbst in diesen beiden Fällen lagen die AUC-Werte mit 2215 ng×h/ml und 2230 ng×h/ml (Anhang Tabelle A18) deutlich unter dem Durchschnittswert, der nach Gabe der Hartkapsel bei acht Probanden berechnet wurde (2635 ng×h/ml). Es muss also noch weitere Faktoren geben, welche die erniedrigte Bioverfügbarkeit von Talinolol nach Gabe einer magensaftstabilen Kapsel im Vergleich zur Hartkapsel erklären.

Eine verstärkte Metabolisierung durch intestinale Enzyme im unteren Dünndarm kann für Talinolol ausgeschlossen werden. Talinolol wird zwar prinzipiell durch

CYP3A4 metabolisiert, doch erfolgt dies nur in sehr geringem Umfang (Oertel und Richter, 1995; Trausch *et al.*, 1995).

In einer 2006 publizierten Studie betrug die Gesamtmenge der Talinololmetabolite (2-*cis*-, 3-*cis*-, 3-*trans*-, 4-*cis* und 4-*trans*-Hydroxytalinolol), die nach oraler Gabe von 100 mg Talinolol in den Urin und in den Stuhl ausgeschieden wurden, etwa 2 mg (Bernsdorf *et al.*, 2006). Von einer erheblichen Steigerung dieser per se niedrigen Metabolisierung von Talinolol bei Freisetzung in tieferen Darmabschnitten ist nicht auszugehen, da die Expression von CYP 3A4 im proximalen Dünndarm am höchsten ist und dann nach distal abnimmt (Paine *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1999; Nakamura *et al.*, 2002; Thörn *et al.*, 2005; Berggren *et al.*, 2007).

Eine verstärkte intestinale Sekretion durch Effluxtransporter wie z.B. P-gp ist hingegen eine sehr wahrscheinliche Ursache für die schlechtere Absorption von Talinolol nach Gabe als magensaftstabile Kapsel. Denn im Unterschied zu CYP3A4 ist die P-gp-Expression in proximalen Dünndarmabschnitten am geringsten und nimmt im Jejunum und Ileum zu, was in mehreren Studien bestätigt werden konnte:

- Zunahme der P-gp-Expression im menschlichen Dünndarm (Duodenum / proximales Jejunum < mittleres / distales Jejunum < Ileum) nachgewiesen mit Hilfe monoklonaler Antikörper im Western-Blotting-Verfahren (Mouly und Paine, 2003)
- höchste Expression der ABCB1mRNA bei gesunden Probanden im Ileum; im Colon noch signifikant höher als im Duodenum (Zimmermann *et al.*, 2005)
- Zunahme der P-gp Expression im menschlichen Gastrointestinaltrakt: Magen < Duodenum < rechtes Colon < linkes Colon (Thörn *et al.*, 2005)
- höchste Expression der ABCB1mRNA im menschlichen Ileum; signifikant geringere Expression in Duodenum und Colon (Englund *et al.*, 2006)

Nur vereinzelt konnten keine regionalen Unterschiede in der ABCB1mRNA-Expression verifiziert werden. (Lindell *et al.*, 2003)

Der starke Abfall der Bioverfügbarkeit des P-gp-Substrates Talinolol nach Gabe als magensaftstabile Kapsel ist daher unserer Meinung nach vor allem auf eine erhöhte Expression von P-Glykoprotein in tieferen Dünndarmabschnitten zurückzuführen.

### 5.2.3 Suppositorium

Die Absorption von Talinolol nach Gabe als Suppositorium erfolgte verzögert und war von starker Unregelmäßigkeit und erheblichen interindividuellen Schwankungen geprägt. Die Auswertung der Einzelwerte zeigte, dass die maximale Serumkonzentration bei fünf Probanden bereits nach einer Stunde auftrat, während bei den übrigen drei Studienteilnehmern der  $C_{\max}$ -Wert erst nach sechs Stunden, nach einem sehr langen Anstieg des Serumspiegels gemessen wurde (Anhang Tabelle A20). Dies erklärt, dass der mittlere  $t_{\max}$ -Wert von Talinolol (2.88 h) über eine Stunde nach dem entsprechenden Wert der Vergleichssubstanz Paracetamol (1.75 h) liegt.

In rektaler Zubereitungsform wurde Talinolol im Vergleich zur Hartkapsel auch langsamer aufgenommen, was unter anderem durch eine verzögerte Wirkstofffreisetzung aus dem Glycerol-Gelatine-Suppositorium erklärt werden kann. Im Unterschied zu Talinolol bildete Paracetamol in jedem Fall regelmäßige Peaks aus und erschien in nahezu unveränderter Menge im Blut, während die relative Bioverfügbarkeit von Talinolol nach Gabe als Suppositorium auf 20% des Wertes nach Applikation als Hartkapsel fiel.

Zur Interpretation dieser drastisch verschlechterten Absorption von Talinolol nach rektaler Gabe soll auch hier wie unter 5.2.2 der Einfluss von Löslichkeit, prä-systemischer Metabolisierung und gesteigerter aktiver Sekretion durch Efflux-transporter diskutiert werden.

Die wichtigste Voraussetzung für die Auflösung eines Arzneistoffes, das Vorhandensein eines geeigneten Lösungsmittels in ausreichender Menge, ist im Rektum nicht gegeben. Flüssigkeitsnester, wie sie im Dünndarm und vereinzelt auch im Dickdarm auftreten, gibt es hier nicht. Abgesehen vom Defäkationsreflex, der die Füllung des Rektums einleitet, ist das Rektum leer. Für die Auflösung von Arzneistoffen steht demzufolge nur die Feuchtigkeit der Rektalschleimhaut zur Verfügung.

Diese reichte aus, um im Falle des gut wasserlöslichen Paracetamols eine vollständige Absorption zu gewährleisten, die aber auch hier deutlich langsamer erfolgte und zu signifikant niedrigeren  $C_{\max}$ -Werten führte im Vergleich zur

Hartkapsel. Das deutlich schlechter wasserlösliche Talinolol konnte unter diesen Bedingungen kaum noch aufgenommen werden. Die Werte von AUC und  $C_{\max}$  brachen um etwa 80% ein.

Um die Bioverfügbarkeit von Talinolol nach rektaler Administration zu erhöhen, hätte der Stoff bereits in gelöster Form verabreicht werden müssen. Dieses Prinzip wird angewandt, wenn schlecht wasserlösliche Verbindungen in eine rektale Zubereitungsform gebracht werden wie z.B. Diazepam, das zur Therapie von akuten Krampfanfällen oder von Fieberkrämpfen bei Kindern als Lösung rektal verabreicht werden kann (Rey *et al.*, 1999; Knudsen, 2000).

Die Umgehung der primären Leberpassage ist einer der Vorteile der rektalen Applikation von Arzneistoffen, da der venöse Abfluss aus den unteren zwei Dritteln des Rektums direkt in die Vena cava inferior erfolgt. Arzneistoffe, die einem ausgeprägten hepatischen First-pass-Metabolismus unterliegen, können so nach rektaler Gabe eine höhere Bioverfügbarkeit als nach oraler Einnahme erreichen. So erhöhten sich die AUC und die Maximalkonzentration ( $C_{\max}$ ) von Tacrolimus bei Ratten um das 4 - 7fache im Vergleich zur oralen Administration (Sakai *et al.*, 2004). In unserer Studie führte die rektale Gabe von Talinolol zu einer signifikanten Zunahme der mit dem Urin ausgeschiedenen Talinololmetabolite. Da die AUC im Vergleich zu den anderen beiden Darreichungsformen jedoch stark erniedrigt war und es keinen Anhalt für eine drastische Steigerung des Leberstoffwechsels gab, wurde Talinolol nach Gabe als Suppositorium möglicherweise verstärkt durch CYPs in der Rektalschleimhaut verstoffwechselt, was offenbar durch die längere Verweildauer des Arzneistoffes vor Ort infolge der nur sehr langsamen Resorption begünstigt wurde.

Obwohl sich unter diesen Bedingungen der  $CL_M$ -Wert im Vergleich zur Einnahme einer Hartkapsel mehr als verdreifachte, so war die Menge des unverstoffwechselt ausgeschiedenen Talinolols immer noch 30mal größer als die der ausgeschiedenen Metabolite. Eine verstärkte Metabolisierung des Talinolols nach rektaler Gabe kann daher nicht den starken Abfall der Bioverfügbarkeit von Talinolol erklären.

Zur P-gp-Expression in der Rektalschleimhaut finden sich in der Literatur nur vereinzelte Angaben (Fojo *et al.*, 1987; Thörn *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2007). Quantifizierbare Aussagen über einen intraindividuellen Vergleich der Ausprägung an verschiedenen Loci des Gastrointestinaltraktes fanden wir nur in zwei Publikationen vor. Thörn *et al.* beschreiben eine Zunahme der Expression der ABCB1mRNA ausgehend vom Magen über das Duodenum und das Colon ascendens bis hin zum Colon descendens. In der Rektalschleimhaut nimmt die P-gp-Expression hingegen wieder etwas ab (Thörn *et al.*, 2005). Allerdings ist die Menge an ABCB1mRNA im Rektum immer noch viermal höher als im Duodenum. Angaben über das Ileum, welches von anderen Autoren als Ort der höchsten P-gp-Expression angegeben wird (Mouly und Paine 2003; Zimmermann *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2006) finden sich in dieser Arbeit nicht.

Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Fojo zeigen ein vergleichbares Niveau der ABCB1mRNA-Expression im Jejunum und im Rektum, während der Gehalt im Colon etwa 50% über diesem liegt (Fojo *et al.*, 1987). Wir nehmen daher an, dass auch die Rektalschleimhaut über eine quantitative Ausstattung mit P-gp verfügt, welche die Absorption von Arzneistoffen zu beeinflussen vermag. Die deutlich verminderte Bioverfügbarkeit von Talinolol nach Gabe als Suppositorium im Vergleich zur konventionellen Hartkapsel mag damit zumindest teilweise auf eine stärkere Expression von P-gp im Rektum zurückzuführen sein.

Ob auch der Unterschied der AUC-Werte zwischen magensaftstabiler Kapsel und Suppositorium (sie differieren immerhin um den Faktor 2.5) mit einer verstärkten P-gp-Expression erklärt werden kann, ist spekulativ. In diesem Fall müsste der P-gp-Gehalt des Rektums deutlich über dem Niveau der tieferen Dünndarmabschnitte liegen, was in der Literatur so nicht belegt ist. Hingegen scheint uns die eingeschränkte Löslichkeit von Talinolol nach rektaler Applikation eine plausible Erklärung für die stark erniedrigte Bioverfügbarkeit zu sein. Wir gehen daher davon aus, dass dies entscheidend für den Abfall der AUC-Werte von Talinolol nach Gabe eines Suppositoriums im Vergleich zur magensaftstabilen Kapsel ist.

### 5.3 Schlussfolgerungen

Paracetamol wurde nach Gabe der drei verschiedenen Arzneiformen in gleichem Umfang aus dem Magen-Darm-Trakt absorbiert. Hingegen beobachteten wir bei Talinolol eine progrediente Abnahme der Bioverfügbarkeit, je weiter distal der Wirkstoff freigesetzt wurde.

Während der Abfall der AUC von durchschnittlich 2635 ng×h/ml nach Gabe einer Hartkapsel auf 1330 ng×h/ml nach Einnahme einer magensaftstabilen Kapsel vermutlich in erster Linie auf die verstärkte Expression von P-gp in tieferen Dünndarmabschnitten zurückgeführt werden kann, so ist für die weitere Abnahme der AUC von 1330 ng×h/ml auf 540 ng×h/ml nach Gabe eines Suppositoriums vor allem die im Vergleich zu Paracetamol deutlich eingeschränkte Löslichkeit von Talinolol verantwortlich. Diese führte unter den Bedingungen einer rektalen Applikation, bei der die Freisetzung des Arzneistoffes in einem Milieu erfolgte, in dem nur geringste Mengen an Lösungsmittel vorlagen, einerseits zu einer Verzögerung und andererseits zu einer erheblichen Verminderung der Absorption.

Eine genaue Abgrenzung der Anteile einer verstärkten Sekretion durch Effluxtransporter und einer eingeschränkten Löslichkeit als mögliche Ursachen für den beobachteten starken Abfall der Bioverfügbarkeit von Talinolol lässt sich in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht vornehmen. Dies hängt auch damit zusammen, dass die Expression von Transportproteinen in den verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes erheblichen interindividuellen Schwankungen unterliegt. In der Arbeit von Thörn lagen zwischen dem Minimum und dem Maximum der duodenalen P-gp-Expression bei 27 Patienten fünf Zehnerpotenzen. Dies lässt natürlich nur eine indirekte Schlussfolgerung über die Situation bei unseren acht Probanden zu.

Um die hier vorgenommene Interpretation der Studienergebnisse mit weiteren Fakten zu erhärten, wären fortführende Untersuchungen notwendig. So würde eine Bestimmung der fäkalen Ausscheidung von Talinolol und seiner Metabolite wichtige Aufschlüsse über die Wirkung von Effluxtransportern und das Ausmaß der intestinalen Metabolisierung liefern können. Um Aussagen über den tatsächlichen Einfluss von P-gp zu gewinnen, wäre die kombinierte Gabe der Arzneiformen mit einem P-gp-Hemmer denkbar. Ob die schlechte Bioverfügbarkeit von Talinolol nach



Gabe eines Suppositoriums hauptsächlich ein Problem der Löslichkeit ist, wie wir vermuten, ließe sich durch die rektale Applikation von Talinolol-Lösung verifizieren.

Die regioselektive Absorption von Wirkstoffen ist von mehreren Autoren untersucht worden. Während Nifedipin und Rivastigmin nach Applikation in verschiedene Abschnitte des Magen-Darm-Traktes keine Veränderungen ihrer Bioverfügbarkeit im Vergleich zur oralen Gabe zeigten (Bode 1996, Lee 2004), nahm die Absorption von Cyclosporin A vom Magen über Jejunum/Ileum bis hin zum Colon ab. Dieses Verhalten wurde von den Autoren mit einer zunehmenden P-gp-Expression von proximal nach distal erklärt. (Fricker *et al.*, 1996). Auch das P-gp-Substrat Fexofenadin wurde im Ileum und Colon schlechter absorbiert als nach jejunaler Applikation (Petri *et al.*, 2006). Mit der vorliegenden Arbeit konnte der Beweis erbracht werden, dass auch das P-gp-Substrat Talinolol schlechter in die systemische Zirkulation aufgenommen wird, wenn die Wirkstofffreisetzung in tieferen Darmabschnitten erfolgt.

Die regional abgestufte Expression von Transportproteinen kann somit in signifikanter Weise die Pharmakokinetik von Wirkstoffen beeinflussen. Dieser Umstand ist insbesondere bei der Entwicklung von Arzneiformen mit verzögerter Wirkstofffreisetzung bzw. mit einer definierten Zielregion (magensaftstabile Mikropellets, Rektalschaum, Rektalklysma) von Bedeutung.

## 6 Zusammenfassung

Die weitaus größte Zahl von Medikamenten wird heute als orale Darreichungsform angeboten. Welche Wirkstoffmenge nach der Einnahme per os tatsächlich in die systemische Zirkulation gelangt und damit für den Patienten erst nutzbar wird, hängt jedoch von sehr vielen Faktoren ab. Die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffes nach oraler Gabe weist daher eine sehr hohe interindividuelle Variabilität auf.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Ort der Wirkstofffreisetzung als eine wichtige Einflussgröße für die Absorption von Arzneistoffen zu charakterisieren. Bezugnehmend auf die unterschiedliche Expression von Transportproteinen in den einzelnen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes sollten Erkenntnisse über die regioselektive Absorption des P-gp-Substrates Talinolol nach Gabe verschiedener Arzneizubereitungsformen gewonnen werden.

Dazu wurde in einer kontrollierten, randomisierten klinischen Studie an acht gesunde, männliche Probanden je eine konventionelle Hartkapsel, eine magensaft-resistente Kapsel und ein Suppositorium verabreicht. Jede Arzneiform enthielt neben Talinolol auch noch Paracetamol, das als Referenzsubstanz für die Bestimmung des Zeitpunktes der Wirkstoffliberation diente.

Paracetamol wurde nach Gabe aller drei Arzneiformen in gleichem Umfang absorbiert. Es zeigte in jedem Fall regelmäßige Peaks und war ein zuverlässiger Indikator für die Freisetzung des Wirkstoffes aus der Arzneiform. Der Verlauf der Serumkonzentrations-Zeit-Kurven von Talinolol war insgesamt weitaus weniger regelmäßig als der von Paracetamol. Im interindividuellen Vergleich fielen insbesondere nach Gabe der magensaftstabilen Kapsel und des Suppositoriums erhebliche Schwankungen auf. Dabei sank die relative Bioverfügbarkeit nach Gabe der magensaftstabilen Kapsel auf 50%, nach Gabe des Suppositoriums sogar auf 20% des Wertes nach Einnahme einer konventionellen Hartkapsel.

Die Auflösung von magensaftstabilen Zubereitungsformen erfolgt vorrangig im distalen Jejunum oder Ileum. Nach Aussage mehrerer Autoren ist hier die P-gp-Expression im Vergleich zum Duodenum deutlich erhöht. Dies könnte unserer Meinung nach die verminderte Bioverfügbarkeit des P-gp-Substrates Talinolol nach Einnahme einer magensaftresistenten Kapsel erklären. Der noch stärkere Abfall des

AUC-Wertes nach Gabe eines Suppositoriums kann indes nur teilweise auf die rektale Expression von P-gp zurückgeführt werden, die zwar höher als im Duodenum, aber nicht höher als im Jejunum/Ileum ist. Hauptursache für die schlechte Absorption scheint hier die im Vergleich zu Paracetamol schlechte Löslichkeit von Talinolol zu sein, die wohl auf die Bedingungen der rektalen Zufuhr des nicht gelösten Arzneistoffes zurückzuführen ist.

Eine genaue Abgrenzung des möglichen Einflusses von Effluxtransportern und einer eingeschränkten Löslichkeit auf die Bioverfügbarkeit von Talinolol nach Gabe als magensaftstabile Kapsel und als Suppositorium ließ sich in der vorliegenden Arbeit nicht vornehmen. Einen weiteren Aufschluss darüber würden die Bestimmung der mit dem Stuhl ausgeschiedenen Talinololmenge und die Untersuchung der Pharmakokinetik nach rektaler Gabe einer Talinolol-Lösung ermöglichen.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Talinolol in tieferen Darmabschnitten schlechter absorbiert wird. Eine solche regioselektive Absorption wurde auch bei anderen Wirkstoffen beobachtet. Dies ist bei der Entwicklung von Arzneizubereitungsformen bedeutsam, welche den Arzneistoff in einem bestimmten Abschnitt des Magen-Darm-Traktes freisetzen sollen.

## 7 Literaturverzeichnis

Akashi M, Tanaka A, Takikawa H. Effect of cyclosporin A on the biliary excretion of cholephilic compounds in rats. *Hepatol Res* 34:193-198 (2006)

Albengres E, Le Louet H, Tillement JP. Systemic antifungal agents. Drug interactions of clinical significance. *Drug Safety* 18:83-97 (1998)

Bakatselou V, Oppenheim RC, Dressman JB. Solubilization and wetting effects of bile salts on the dissolution of steroids. *Pharm Res* 8:1461-1469 (1991)

Bart J, Hollema H, Groen HJ, de Vries EG, Hendrikse NH, Sleijfer DT, Wegman TD, Vaalburg V, van der Graaf WT. The distribution of drug-efflux pumps, P-gp, BCRP, MRP1 and MRP2, in the normal blood-testis barrier and in primary testicular tumours. *Eur J Cancer*. 40:2064-2070 (2004)

Berggren S, Gall C, Wollnitz N, Ekelund M, Karlbom U, Hoogstraate J, Schrenk D, Lennernäs H. Gene and protein expression of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and CYP3A4 in the small and large human intestine. *Mol Pharm.* 4:252-257 (2007)

Bernsdorf A, Giessmann T, Modess C, Wegner D, Ingelbring S, Hecker U, Haenisch S, Cascorbi I, Terhaag B, Siegmund W. Influence of simvastatin on intestinal expression of p-glycoprotein and MRP2 and disposition of talinolol after chronic medication in healthy subjects genotyped for ABCB1, ABCC2 and SLCO1B1. *Br J Clin Pharmacol* 2006

Bernsdorf A, May K, Kunert-Keil C, Moritz KU, Kroemer HK, Siegmund W. Expression of P-glycoprotein and MRP2 and distribution of talinolol in MRP2-deficient rats (GY/TR). *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 367:R110 (2003)

Bhardwaj RK, Glaeser H, Becquemont L, Klotz U, Gupta SK, Fromm M. Piperine, a major constituent of black pepper, inhibits human P-glycoprotein and CYP3A4. *J Pharmacol Exp Ther* 302:645-650 (2002)

Blomhoff R. Transport and metabolism of vitamin A. *Nutr Rev.* 52:13-23 (1994)

Bode H, Brendel E, Ahr G, Fuhr U, Harder S, Staib AH. Investigation of nifedipine absorption in different regions of the human gastrointestinal (GI) tract after simultaneous administration of <sup>13</sup>C- and <sup>12</sup>C-nifedipine. *Eur J Clin Pharmacol* 50:195-201 (1996)

Caliph SM, Charman WN, Porter CJ. Effect of short-, medium-, and long-chain fatty acid-based vehicles on the absolute oral bioavailability and intestinal lymphatic transport of halofantrine and assessment of mass balance in lymph-cannulated and non- cannulated rats. *J Pharm Sci* 89:1073-1084 (2000)

Callreus T, Lundahl J, Hoglund P, Bengtsson P. Changes in gastrointestinal motility influence the absorption of desmopressin. *Eur J Clin Pharmacol* 55:305-309 (1999)

Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, et al. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 69:169-174 (2001)

Cascorbi I, Kroemer HK and Siegmund W. Pharmacogenetics of P-Gp-Mediated Drug Transport. *Nova Acta Leopoldina* 87:93-100 (2003)

Chandra P, Brouwer KLR. The complexities of hepatic drug transport: Current knowledge and emerging concepts. *Pharm Res* 21:719-735 (2004)

Chan LMS, Lowes S, Hirst BH. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *Eur J Pharmaceut Sciences* 21:25-51 (2004)

Charman WN, Porter CJ, Mithani S, Dressman JB. Physiochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: the role of lipids and pH. *J Pharm Sc.* 86:269-282 (1997)

Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Boccia J, Casals D, Bertino JR, Melamed MR. Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *J Histochem Cytochem* 38:1277-1287 (1990)

Cordon-Cardo C, O'Brien J P, Casals D, Rittman-Grauer L, Biedler J L, Melamed M R and Bertino J R. Multidrug-Resistance Gene (P-Glycoprotein) Is Expressed by Endothelial Cells at Blood-Brain Barrier Sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:695-698 (1989)

Davis SS, Hardy JG, Fara JW. Transit of pharmaceutical dosage forms through the small intestine. *Gut* 27:886-892 (1986)

de Mey C, Schroeter V, Butzer R, Jahn P, Weisser K, Wetterich U, Terhaag B, Mutschler E, Spahn-Langguth H, Palm D. Dose-effect and kinetic-dynamic relationships of the beta-adrenoceptor blocking properties of various doses of talinolol in healthy humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 26:879-888 (1995)

Diaz-Borjon A, Richaud-Patin Y, de la Barrera CA, Jakez-Ocampo J, Ruiz-Arguelles AR, Llorente L. Multidrug resistance-I (MDR-I) in rheumatic autoimmune disorders. *Joint Bone Spine* 67:40-48 (2000)

Dietrich CG, Geier A, Oude Elferink RPJ. ABC od oral bioavailability : Transporters as gatekeepers in the gut. *Gut* 52:1788-1795 (2003)

Dressman JB, Berardi RR, Dermentzoglou LC, Russell TL, Schmaltz SP, Barnett JL, Jarvenpaa KM. Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. *Pharm Res* 7:756-761 (1990)

Dressman JB, Reppas C. In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *Eur J Pharm Sci* 11 Suppl 2:S73-S80 (2000)

Englund G, Rorsman F, Rönnblom A, Karlbom U, Lazorova L, Grasjö J, Kindmark A, Artursson P. Regional levels of drug transporters along the human intestinal tract: Co-expression of ABC and SLC transporters and comparison with Caco-2 cells. *Eur J Pharm Sci* 29:269-277 (2006)

Englund G, Jacobson A, Rorsman F, Artursson P, Kindmark A, Rönnblom A. Efflux transporters in ulcerative colitis: decreased expression of BCRP (ABCG2) and Pgp (ABCB1). *Inflamm Bowel Dis* 13:291-297 (2007)

Eichelbaum M, Fromm M F and Schwab M. Clinical Aspects of the MDR1 (ABCB1) Gene Polymorphism. *Ther Drug Monit* 26:180-185 (2004)

Fagerholm U, Borgstrom L, Ahrenstedt O, Lennernas H. The lack of effect of induced net fluid absorption on the in vivo permeability of terbutaline in the human jejunum. *J Drug Target* 3:191-200 (1995)

Farell RJ, Murphy A, Long A, Donnelly S, Chirikuri A, O'Toole D, et al. High multidrug resistance (P-glycoprotein 170) expression in inflammatory bowel disease patients who fail medical therapie. *Gastroenterology* 118:279-288 (2000)

Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci* 84:265-269 (1987)

Fricker G, Drewe J, Huwyler J, Gutmann H, Beglinger C. Relevance of p-glycoprotein for the enteral absorption of cyclosporin A: in vitro – in vivo correlation. *Brit J of Pharmacol* 118:1841 – 1847 (1996)

Fricker G, Miller DS. Relevance of multidrug resistance proteins for intestinal drug absorption in vitro and in vivo. *Pharmacol. Toxicol.* 90:5-13 (2002)

Fricker G, Nobmann S, Miller DS. Permeability of porcine blood brain barrier to somatostatin analogues. *Br J Pharmacol* 135:1308-1314 (2002)

Giessmann T, May K, Modess C, Wegner D, Hecker U, Zschiesche M, Dazert P, Grube M, Schroeder E, Warzok R, Cascorbi I, Kroemer HK, Siegmund W. Carbamazepine regulates intestinal P-glycoprotein and multidrug resistance protein MRP2 and influences disposition of talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther* 76:192-200 (2004)

Gramatte T, Richter K. Paracetamol absorption from different sites in the human small intestine. *Br J Clin Pharmacol.* 37:608-611 (1994)

Gramatte T, El-Desoky E., Klotz U. Site-dependent small intestinal absorption of ranitidine. *Eur J Clin Pharmacol.* 46 :253-259 (1994)

Gramatte T, Oertel R, Terhaag B, Kirch W. Direct demonstration of small intestinal secretion and site-dependent absorption of the beta-blocker talinolol on humans. Clin Pharmacol Ther. 59:541-549 (1996)

Gramatte T, Oertel R. Intestinal secretion of intravenous talinolol is inhibited by luminal R-verapamil. Clin Pharmacol Ther 66:239-245 (1999)

Gutmann H, Miller DS, Droulle A, Drewe J, Fahr A, Fricker G. P-glycoprotein- and mrp2-mediated octreotide transport in renal proximal tubule. Br J Pharmacol 129:251-256 (2000)

Hanafy A, Langguth P, Spahn-Langguth H. Pretreatment with potent P-glycoprotein ligands may increase intestinal secretion in rats. Eur J Pharm Sci 12 :405-415 (2001)

Haustein KO, Fiehring H, Oltmanns G, Femmer K. On the clinical pharmacology talinolol, a new beta1-adrenoceptor blocking agent. Int J Clin Pharmacol Biopharm 17:465-470 (1979)

Ho GT, Moodie FM, Satsangi J. Multidrug resistance 1 gene (P-glycoprotein 170): an important determinant in gastrointestinal disease? Gut 52:759-766 (2003)

Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmüller J, Johné A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U, et al. Functional polymorphism of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of the allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. Proc Natl Acad Sci 97:3473-3478 (2000)

Huisman MT, Smit JW, Crommentuyn KM, Zelcer N, Wiltshire HR, Beijnen JH, Schinkel AH. Multidrug resistance protein 2 (MRP2) transports HIV protease inhibitors, and transport can be enhanced by other drugs. AIDS 16:2295-2301 (2002)

Hunt JN, Knox MT. Control of gastric emptying. Am J Dig Dis 13:372-375 (1986)

Ieiri I, Takane H and Otsubo K. The MDR1 (ABCB1) Gene Polymorphism and Its Clinical Implications. Clin Pharmacokinet 43:553-576 (2004)



Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochem Biophys Acta* 455:152-162 (1976)

Kane GC, Lipsky JJ. Drug-grapefruit interactions. *Mayo Clin Proc* 75:933-942 (2000)

Karla PK, Pal D, Quinn T, Mitra AK. Molecular evidence and functional expression of a novel drug efflux pump (ABCC2) in human corneal epithelium and rabbit cornea and its role in ocular drug efflux. *Int J Pharm* 336:12-21 (2007)

Kim RB. Drug as P-glycoprotein substrates, inhibitors and inducers. *Drug Metab Rev* 34:47-54 (2002)

Knudsen FU. Febrile seizures: treatment and prognosis. *Epilepsia* 41:2-9 (2000)

Koepsel H. Polyspecific organic cation transporters: their functions and interactions with drugs. *Trends Pharmacol Sci* 25:375-381 (2004)

Lee CG, Gottesman MM, Cardarelli CO, Ramachandra M, Jeang KT, Ambudkar SV, Pastan I, Dey S. HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 multidrug transporter. *Biochemistry* 37:3594-3601 (1998)

Lee L, Hossain M, Wang Y, Sedek G. Absorption of rivastigmine from different regions of the gastrointestinal tract in humans. *J Clin Pharmacol* 44:599-604 (2004)

Lennernas H. Does fluid flow across the intestinal mucosa affect quantitative oral drug absorption? Is it time for a reevaluation? *Pharm Res* 12:1573-1582 (1995)

Lennernas H, Crison JR, Amidon GL. Permeability and clearance views of drug absorption: a commentary. *J Pharmacokinet Biopharm* 23:333-343 (1995)

Levine RR. Factors affecting gastrointestinal absorption of drugs. *Am J Dig Dis* 15:171-188 (1970)

Lindell M, Lang M, Lennernäs H. Expression of gene encoding for drug metabolising cytochrome P450 enzymes and P-glycoprotein in the rat small intestine; comparison to the liver. *Eur J Drug Metab Pharmacokin* 28:1595-1599 (2003)

Llorente L, Richaud-Patin Y, Diaz-Borjon A et al. Multidrug resistance-I (MDR-I) in rheumatic autoimmune disorders. *Joint Bone Spine* 67:30-39 (2000)

Lobenberg R, Kramer J, Shah VP, Amidon GL, Dressman JB. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: dissolution behavior of glibenclamide. *Pharm Res* 17:439-444 (2000)

Lowes S and Simmons NL. Multiple pathways for fluoroquinolone secretion by human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Br J Pharmacol* 135:1263-1275 (2002)

Macheras P., Argyrakos P. Gastrointestinal drug absorption: Is it time to consider heterogeneity as well as homogeneity? *Pharm Res* 14:842-847 (1997)

Makhey VD, Guo A, Norris DA, Hu P, Yan J, Sinko PJ. Characterization of the Regional Intestinal Kinetics of Drug Efflux in Rat and Human Intestine and in Caco-2 Cells. *Pharm Res* 15:1160-1167 (1998)

Malagelada JR, DiMagno EP, Summerskill WH, Go VL. Regulation of pancreatic and gallbladder functions by intraluminal fatty acids and bile acids in man. *J Clin Invest* 58:493-499 (1976)

Marathe PH, Wen Y, Norton J, Greene DS, Barbhuiya RH, Wilding IR. Effect of altered gastric emptying and gastrointestinal motility on metformin absorption. *Br J Clin Pharmacol* 50:325-332 (2000)

Marzolini C, Paus E, Buclin T and Kim R B. Polymorphisms in Human MDR1 (P-Glycoprotein): Recent Advances and Clinical Relevance. *Clin Pharmacol Ther* 75:13-33 (2004)

Mellander A, Jarbur K, Hemlin M, Sjoval H. Effects of motility on epithelial transport in the human descending duodenum. *Acta Physiol Scand* 172:69-80 (2001)

Mouly S, Paine MF. P-Glykoprotein increases from proximal to distal regions of human small intestine. *Pharm Res.* 20:1595-1599 (2003)

Mylona P, Glazier J D, Greenwood S L, Sides M K and Sibley C P. Expression of the Cystic Fibrosis (CF) and Multidrug Resistance (MDR1) Genes During Development and Differentiation in the Human Placenta. *Mol Hum Reprod* 2:693-698 (1996)

Nakamura T, Sakaeda T, Ohmoto N, Tamura T, Aoyama N, Shirakawa T, Kamigaki T, Nakamura T, Kim KI, Kim SR, Kuroda Y, Matsuo M, Kasuga M, Okumura K . Real-time quantitative polymerase chain reaction for MDR1, MRP1, MRP2, and CYP3A-mRNA levels in Caco-2 cell lines, human duodenal enterocytes, normal colorectal tissues, and colorectal adenocarcinomas. *Drug Metab Dispos* 30:4-6 (2002)

Naslund E, Bogefors J, Gryback P, Jacobsson H, Hellstrom PM. Gastric emptying: comparison of scintigraphic, polyethylene glycol dilution and paracetamol tracer assessment technique. *Scand J Gastroenterol.* 35:375-379 (2000)

Niemi M, Backman JT, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen PJ, Kivisto KT. Effects of fluconazole and fluvoxamine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glimepiride. *Clin Pharmacol Ther* 69:194-200 (2001)

Oberle RL, Amidon GL. The influence of variable gastric emptying and intestinal transit rates on the plasma level curve of cimetidin; an explanation for the double peak phenomenon. *J Pharmacokinet Biopharm* 15:529-544 (1987)

Oertel R, Richter K, Trausch B, Berndt A, Gramatte T, Kirch W. Elucidation of the structure of talinolol metabolites in man: determination of talinolol and hydroxylated talinolol metabolites in urine and analysis of talinolol in serum. *J Chromatogr* 660:353-363 (1994)

Oertel R and Richter K. [The metabolism of the beta receptor blocker talinolol in humans--relationship between structure, polarity and amount excreted]. *Pharmazie* 50:637-638 (1995)

Ovesen L, Bendtsen F, Tage-Jensen U, Pedersen NT, Gram BR, Rune SJ. Intraluminal pH in the stomach, duodenum, and proximal jejunum in normal subjects and patients with exocrine pancreatic insufficiency. *Gastroenterology* 90:958-962 (1986)

Paine MF, Khalighi M, Fisher JM, Shen DD, Kunze KL, Marsh CL, Perkins JD, Thummel KE. Characterization of interintestinal and intrainestinal variations in human CYP3A-dependent metabolism. *J Pharmacol Exper Ther* 283:1552-1562 (1997)

Petri N, Borga O, Nyberg L, Hedeland M, Bondesson U, Lennernas H. Effect of erythromycin on the absorption of fexofenadine in the jejunum, ileum and colon determined using local intubation in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther* 44:71-79 (2006)

Polk RE, Brophy DF, Israel DS, Patron R, Sadler BM, Chittick GE, Symonds WT, Lou Y, Kristoff D, Stein DS. Pharmacokinetic Interaction between amprenavir and rifabutin or rifampin in healthy males. *Antimicrob Agents Chemother* 45:502-508 (2001)

Rey E, Tréluyer JM, Pons G. Pharmacokinetic optimization of benzodiazepine therapy for acute seizures. Focus on delivery routes. *Clin Pharmacokinet* 36:409-424 (1999)

Roberts MS, Magnusson BM, Burczynski FJ, Weiss M. Enterohepatic circulation: physiological, pharmacokinetic and clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* 41:751-790 (2002)

Robertson MD, Parkes M, Warren BF, Ferguson DJ, Jackson KG, Jewell DP, Frayn KN. Mobilisation of enterocyte fat stores by oral glucose in humans. *Gut* 52:834-839 (2003)

Russell TL, Berardi RR, Barnett JL, Dermentzoglou LC, Jarvenpaa KM, Schmaltz SP, Dressman JB. Upper gastrointestinal pH in seventy-nine healthy, elderly, North American men and women. *Pharm Res* 10:187-196 (1993)

Sakaeda T, Nakamura T and Okumura K. MDR1 Genotype-Related Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Biol Pharm Bull* 25:1391-1400 (2002)

Sakai M, Hobara N, Hokama N, Kameya H, Ohshiro S, Sakanashi M, Saitoh H. Increased bioavailability of tacrolimus after rectal administration in rats. *Biol Pharm Bull* 27:1480-1482 (2004)

Sauter R, Steinijans VW, Diletti E, Bohm A, Schulz HU. Presentation of results from bioequivalence studies. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 30:233-56 (1992)

Schiller C, Fröhlich CP, Giessmann T, Siegmund W, Mönnikes H, Hosten N, Weitschies W. Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment Pharmacol Ther* 22:971-979 (2005)

Schinkel AH and Jonker J W. Mammalian Drug Efflux Transporters of the ATP Binding Cassette (ABC) Family: an Overview. *Adv Drug Deliv Rev* 55:3-29 (2003)

Schwarz UI, Dresser GK, Oertel R. Talinolol-verapamil interaction is not solely due to p-glycoprotein inhibition. *Clin Pharmacol Ther* 69:PIII-86 (2001)

Schwarz UI, Seemann R, Oertel R, Miehle S, Kuhlisch E, Fromm MF, Kim RB, Bailey DG, Kirch W. Grapefruit juice ingestion reduces talinolol serum concentration. *Clin Pharmacol Ther* 77:OI-B-1 (2005)

Siegmund W, Altmannsberger S, Paneitz A, Hecker U, Zschiesche M, Franke G, Meng W, Warzok R, Schroeder E, Sperker B, Terhaag B, Cascorbi I and Kroemer H K. Effect of Levothyroxine Administration on Intestinal P-Glycoprotein Expression: Consequences for Drug Disposition. *Clin Pharmacol Ther* 72:256-264 (2002)

Siegmund W, Weitschies W and Kroemer HK. Hemmung und Induktion von Metabolismus und Transport. *MMP* 26:93-91 (2003)

Spahn-Langguth H, Baktir G, Radschuweit A, Okyar A, Terhaag B, Ader P, Hanafy A, Langguth P. P-glycoprotein transporters and the gastrointestinal tract: Evaluation of the potential in vivo relevance of in vitro data employing talinolol as model compound. *Int J Clin Pharmacol Ther* 36:16-24 (1998)

Stephens RH, O'Neill, Warhurst A, Carlson GL, Rowland M, Warhurst G. Kinetic Profiling of P-glycoprotein-Mediated Drug Efflux in Rat and Human Intestinal Epithelia. *J Pharmacol Exp Ther* 296:584-591 (2001)

Stephens RH, Tanianis-Hughes J, Higgs NB, Humphrey M, Warhurst G. Region-Dependent Modulation of Intestinal Permeability by Drug Efflux Transporters: In Vitro Studies in *mdr1a* (-/-) Mouse Intestine. *J Pharmacol Exp Ther* 303:1095-1101 (2002)

Sugawara I. Expression and Functions of P-Glycoprotein (Mdr1 Gene Product) in Normal and Malignant Tissues. *Acta Pathol Jpn* 40:545-553 (1990)

Szymura-Oleksiak J, Wyska E, Wasieczko A. Pharmacokinetic interaction between imipramine and carbamazepine in patients with major depression. *Psychopharmacology (Berl)* 154:38-42 (2001)

Taipalensuu J, Törnblom H, Lindberg Gerger, Einarsson C, Sjöqvist F, Melhus H, Garberg P, Sjöström B, Lundgren B, Artursson P. Correlation of Gene Expression of Ten Drug Efflux Proteins of the ATP-Binding Cassette Transporter Family in Normal Human Jejunum and in Human Intestinal Epithelial Caco-2 Cell Monolayers. *J Pharmacol Exp Ther* 299:164-170 (2001)

Takanaga H, Ohnishi A, Matsuo H, Murakami H, Sata H, Kuroda K, Urae A, Higuchi S, Sawada Y. 2000. Pharmacokinetic analysis of felodipine-grapefruit juice interaction based on an irreversible enzyme inhibition model. *Br J Clin Pharmacol* 49:49-58 (2000)

Terhaag B, Richter K, Feller K. Untersuchungen zum pharmakokinetischen Verhalten des selektiven beta-Rezeptorblockers Talinolol (Cordanum®) am Menschen. *Z Klin Med* 44:187-189 (1989)

Terhaag B, Gramatte T, Richter K, Voss J, Feller K. The biliary elimination of the selektive beta-receptor blocking drug talinolol in man. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 27:170-172 (1989)

Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product p-glycoprotein in normal tissues. *Proc Natl Acad Sci* 84:7735-7738 (1987)

Thörn M, Finnström N, Lundgren S, Rane A, Lööf L. Cytochromes P450 and MDR1 mRNA expression along the human gastrointestinal tract. *Br J Clin Pharmacol* 60:54-60 (2005)

Tisher DM, Weinberg KI, Hinton DR, Barbaro N, Annett GM, Raffel C. MDR1 gene expression in brain of patients with medically intractable epilepsy. *Epilepsia* 36:1-6 (1995)

Trausch B, Oertel R, Richter K, Gramatte T. Disposition and bioavailability of the  $\beta_1$ -adrenoceptor antagonist talinolol in man. *Biopharm Drug Dispos* 16:403-414 (1995)

Troutman MD, Thakker DR. Efflux ratio cannot assess P-glycoprotein-mediated attenuation of absorptive transport: asymmetric effect of P-glycoprotein on absorptive and secretory transport across Caco-2 cell monolayers. *Pharm Res* 20:1200-1209 (2003)

Vogelgesang S, Cascorbi I, Schroeder E, Pahnke J, Kroemer H K, Siegmund W, Kunert-Keil C, Walker L C and Warzok R W. Deposition of Alzheimer's Beta-Amyloid Is Inversely Correlated With P- Glycoprotein Expression in the Brains of Elderly Non-Demented Humans. *Pharmacogenetics* 12:535-541 (2002)

Wagner A. [Physiology of fat digestion and fat resorption]. *Hippokrates*. 39:869-876 (1968)

Walker GF, Ledger R, Tucker IG. Activity of pancreatic endopeptidases towards luteinizing hormone- releasing hormones. *Int J Pharm* 216:77-82 (2001)

Weigmann I, Terhaag B, Wierich W, Herrmann WM. [Antihypertensive action of various talinolol dosages after four week's treatment in comparison with placebo]. *Arzneimittelforschung* 48:240-244 (1998)

Welling PG, Huang H, Koch PA, Craig WA, Madsen PO. Bioavailability of ampicillin and amoxicillin in fasted and nonfasted subjects. *J Pharm Sci* 66:549-552 (1977)

Westphal K, Weinbrenner A, Zschesche M, Franke G, Knoke M, Oertel R, Fritz P, von Richter O, Warzok R, Hachenberg T, Kaufmann HM, Schenk D, Terhaag B, Kroemer HK, Siegmund W. Induction of P-glycoprotein by rifampicin increases intestinal secretion of talinolol in human beings: A new type of drug/drug interaction. *Clin Pharmacol Ther* 68:345-355 (2000)

Westphal K, Weinbrenner A, Gießmann T, Stuhr M, Franke G, Zschesche M, Oertel R, Terhaag B, Kroemer HK, Siegmund W. Oral bioavailability of digoxin is enhanced by talinolol: Evidence for involvement of intestinal P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther* 68:6-12 (2000)

Wetterich U, Spahn-Langguth H, Mutschler E, Terhaag B, Rosch W, Langguth P. Evidence for intestinal secretion as an additional clearance pathway of talinolol enantiomers: concentration- and dose-dependent absorption in vitro and in vivo. *Pharm Res* 13:514-522 (1996)

Wilding IR, Hardy JG, Sparrow RA, Davis SS, Daly PB, English JR. In vivo evaluation of enteric-coated naproxen tablets using gamma scintigraphy. *Pharm Res* 9:1436-1441 (1992)

Yacyshyn B, Maksymosych W, Bowen-Yacyshyn B. Differences in P-glycoprotein-170 expression and activity between Crohn's disease and ulcerative colitis. *Hum Immunol* 60:677-687 (1999)

Yu LX, Amidon GL. A compartmental absorption and transit model for estimating oral drug absorption. *Int J Pharm* 186:119-125 (1999)

Zhang QY, Dunbar D, Ostrowska A, Zeisloft S, Yang J, Kaminsky LS. Characterization of human small intestinal cytochromes P-450. *Drug Metab Dispos* 27:804-809 (1999)

Zhou H. Pharmacokinetic strategies in deciphering atypical drug absorption profiles. *J Clin Pharmacol*. 43:211-227 (2003)



Zimmermann C, Gutmann H, Hruz P, Gutzwiller JP, Beglinger C, Drewe J. Mapping of multidrug resistance gene 1 and multidrug resistance-associated protein isoform 1 to 5 mRNA expression along the human intestinal tract. *Drug Metab Dispos* 33:219-224 (2005)

Zschiesche M, Lemma GL, Klebingat KJ, Franke G, Terhaag B, Hoffmann A, Gramatte T, Kroemer HK, Siegmund W. Stereoselective disposition of talinolol in man. *J Pharm Sci* 91:303-311 (2002)