

Kurztitel:

Phytopharmaka-Interaktionen

Thema bzw. Fragestellung:

Vergleichende Untersuchungen zur Validität von In-vitro-Methoden bezüglich der Inhibition von Cytochrom P450-Enzymen und P-Glykoprotein durch pflanzliche Zubereitungen
Forschungsschwerpunkt: Methodenforschung
Modul: Neue Prüfmethode

Verantwortliche Wissenschaftler/in:

Dr. Matthias Unger, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie der Universität Würzburg;
PD Dr. Werner Knöss, BfArM

Abstract:

Extrakte aus Arzneipflanzen, wie zum Beispiel Echinacea oder Kamille, zeigen in-vitro eine dem Grapefruitsaft vergleichbare Inhibition von Cytochrom P450 (CYP)-Enzymen. Die hierzu publizierten Daten und deren Auswirkungen auf die Bioverfügbarkeit bzw. Anwendung von synthetischen Arzneimitteln werden derzeit kontrovers diskutiert. Bei CYP-Enzymen wird die In-vitro-Inhibition bestimmt, indem die enzymatische Bildung der Produkte (Metaboliten) in Anwesenheit potenzieller Inhibitoren quantifiziert wird. Werden Substrate verwendet, die durch die CYP-Enzyme zu fluoreszierenden Produkten metabolisiert werden, kann die inhibitorische Aktivität der Pflanzenextrakte direkt durch Bestimmung der Fluoreszenzintensität in Mikrotiterplatten erfolgen. Da diese Fluoreszenz-Assays eigentlich für die Testung von isolierten, chemisch-synthetischen Reinsubstanzen entwickelt wurden, ist die Anwendung bei Pflanzenextrakten umstritten. Problematisch ist besonders die Eigenfluoreszenz oder Reduktion der Fluoreszenzintensität (Quenching) durch ubiquitär verbreitete Pflanzeninhaltsstoffe, wie zum Beispiel Cumarine oder Flavonoide. Deshalb soll überprüft werden, ob eine chromatographische Trennung von Metaboliten und Pflanzenmatrix vor der eigentlichen Fluoreszenz-Detektion eine selektive Bestimmung der Metabolite gewährleistet. Hierfür soll eine HPLC-Methode mit fluorimetrischer Detektion entwickelt werden. Gleichzeitig soll die Validität der erhaltenen Daten mit einer bereits etablierten und validierten LC/MS-basierten Methode überprüft werden.

Für die Untersuchung der Inhibition von P-Glykoprotein (P-gp) durch Pflanzenextrakte wurde in den letzten Jahren eine Mikrotiterplatten-basierte Methode angewendet, bei der die für den aktiven Transport von Substraten notwendige ATPase-Aktivität in Anwesenheit eines P-gp-Substrats und dem Inhibitor bestimmt wird. Das durch die Spaltung von ATP freigesetzte Phosphat wird nach Derivatisierung kolorimetrisch bestimmt. Allerdings können farbige Pflanzeninhaltsstoffe ein falsch negatives Ergebnis vortäuschen. Zusätzlich ist bei der unempfindlichen photometrischen Detektion die benötigte Menge an rekombinantem P-gp sehr hoch. Deshalb soll eine Methode entwickelt und validiert werden, bei der nicht Phosphat, sondern ADP nach vorhergehender chromatographischer Trennung fluorimetrisch oder massenspektrometrisch detektiert und quantifiziert wird.

Vorgesehene Laufzeit:

3 Jahre