



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Vergleich der Pharmakokinetik von Erlotinib bei zwei
verschiedenen Dosierungen“

verfasst von

Manuela Gili

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreut von: ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Martin Czejka

Danksagung

Mein Dank gilt vor allem Herrn Univ.-Prof. Mag. Dr. Martin Czejka für die Ermöglichung der Durchführung dieser Diplomarbeit und die geduldige und sehr gute Begleitung.

Weiters möchte ich mich auch herzlich bei Frau Mag. Azra Sahmanovic-Hrgovic für die fortlaufenden Unterstützung und die Erteilung von Ratschlägen im Laufe der praktischen Arbeit und die nützlichen Hinweise, die für das Verfassen der Arbeit von großem Nutzen waren, bedanken.

Auch bedanken möchte ich mich bei Frau Mag. Veronika Schreiber und Herrn Mag. Philipp Buchner.

Abschließend gilt mein Dank noch meinen Eltern und Geschwistern, die mir im Laufe des Studiums immerzu zur Seite gestanden sind.

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner Prüfungsbehörde vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Wien, im August 2013

Inhaltsverzeichnis

1. Theoretischer Teil	1
1.1. Das Pankreaskarzinom	1
1.1.1. Vorkommen und Häufigkeit	1
1.1.2. Lokalisation und Symptomatik.....	1
1.1.3. Risikofaktoren und Diagnostik	2
1.1.4. Therapie.....	2
1.2. Eigenschaften von Erlotinib.....	3
1.2.1. Anwendungsgebiete.....	4
1.2.2. Pharmakodynamik.....	4
1.2.3. Pharmakokinetik	6
1.2.4. Nebenwirkungen	7
1.2.5. Dosierung	8
1.2.6. Interaktionen.....	8
1.2.7. Prämedikation und Comedikation	10
1.2.8. Plasmaproteinbindung	12
2. Rationale	13
3. Experimenteller Teil	14
3.1. Studiendesign	14
3.2. Arzneistoffdosierung und Arzneistoffeinnahme	14
3.3. Blutabnahmedaten.....	16
3.4. Patientendaten.....	16
3.5. Laborausstattung.....	17
3.6. Probenanalytik	19
3.6.1. Festphasenextraktion.....	19
3.6.2. Herstellung des Eluenten für die HPLC	21
3.6.3. Hochleistungsflüssigchromatographie.....	21

3.6.4. Eichgerade	22
3.6.5. Prämedikation	23
3.6.6. Ultrafiltration.....	24
3.6.6. Software	25
3.6.7. Pharmakokinetische Parameter	26
4. Ergebnisse und Diskussion.....	27
4.1. Eichgeraden von Erlotinib und OSI-420	27
4.1.1. Eichgeraden für die HPLC-Anlage EZChrom Elite	27
4.1.2. Eichgeraden für die HPLC-Anlage LaChrom MERCK-HITACHI	28
4.2. Patientenproben	30
4.2.1. Tagesablauf	30
4.2.2. Patientenproben aus den Dose-Levels 3, 7 und 8.....	33
4.2.3. Vergleich der unterschiedlichen Dosierungen	55
4.3. Wochenproben.....	62
4.3.1. Vergleich der Wochenproben	76
4.4. Ergebnisse der Untersuchung der Prämedikation	76
4.5. Bestimmung der Plasmaproteinbindung mittels Ultrafiltration	78
5. Zusammenfassung	79
6. Summary	80
Abkürzungsverzeichnis.....	81
Abbildungsverzeichnis.....	83
Tabellenverzeichnis	86
Literaturverzeichnis.....	88
Lebenslauf	92

1. Theoretischer Teil

1.1. Das Pankreaskarzinom

1.1.1. Vorkommen und Häufigkeit

Das Pankreaskarzinom ist der häufigste Tumor der Bauchspeicheldrüse und ist vierthäufigste Todesursache männlicher und fünfhäufigste Todesursache weiblicher Karzinompatienten. In Europa ist es Ursache von etwa 32.500 Todesfällen pro Jahr und die jährliche Inzidenz aller bösartigen Tumore des Pankreas beträgt ungefähr 10 pro 100.000 Patienten. Das entspricht 10 % aller malignen Tumore des Verdauungstraktes. Die Prognose der Erkrankung ist besonders ungünstig. Nach Diagnosestellung beträgt die durchschnittliche Lebenserwartung der Betroffenen in der Regel nur noch wenige Monate. Die jährlichen Zahlen für Todesfälle entsprechen der Anzahl neu diagnostizierter Patienten. [1] [2]

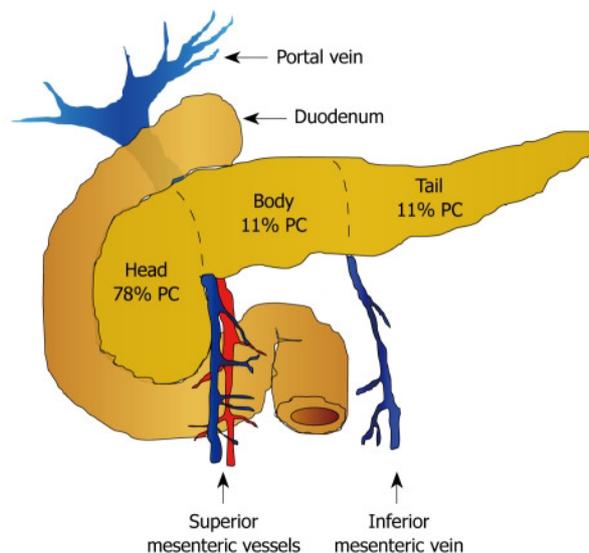


Abb. 1: Graphische Darstellung des Pankreas und Häufigkeit des Auftretens des Pankreaskarzinoms [6]

1.1.2. Lokalisation und Symptomatik

Es handelt sich in der Regel um ein Adenokarzinom. In den meisten Fällen ist es im Pankreaskopf (60-70%) lokalisiert. Weniger häufig betrifft es Korpus und Kauda. Die bevorzugt in der Frühphase auftretenden uncharakteristischen Symptome werden wesentlich von der Lokalisation des Tumors bestimmt. Bei etwa der Hälfte der Patienten tritt als erstes Zeichen ein Verschluss-Ikterus auf. Ebenso häufig beobachtet wird Gewichtsverlust, wobei es sich hierbei bereits um ein Spätsymptom handelt. Typisch ist auch das gemeinsame Erscheinen von Oberbauch- und Rückenschmerzen. Weiters sind das

plötzliche Auftreten eines Diabetes mellitus sowie einer akuten Pankreatitis als Symptome zu beobachten. [1] [2]

1.1.3. Risikofaktoren und Diagnostik

Risikofaktoren des Pankreaskarzinoms beinhalten Alter, Geschlecht, ethnische Faktoren, Rauchen, Ernährungsgewohnheiten, Exposition zu Chemikalien am Arbeitsplatz und positive Familienanamnese.

In Abhängigkeit von Lokalisation und Grad an Obstruktion kommt es zu einer Erhöhung von Serum Bilirubin, alkalischer Phosphatase und γ -Glutamyl-Transferase. Bei Stenosierung des Pankreasganges ist ein Anstieg der Pankreas-Amylase und Pankreas-Lipase zu beobachten.

Sind Bereiche des Körpers und Schwanzes betroffen, besteht lange Zeit ein normales Laborbild. Ferner ist die Bestimmung des Tumormarkers CA 19-9 im Serum spezifisch für das Vorliegen eines Pankreaskarzinoms.

Zur Diagnose herangezogen werden unter anderem die Multidetektor-Computertomographie (MD-CT) und die Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie (MRCP). [2] [3]

1.1.4. Therapie

Die kurative Resektion stellt nach wie vor die einzige Möglichkeit dar, das Überleben nach Diagnosestellung signifikant zu verlängern. Doch bei nur 15-20 % der Patienten besteht die Möglichkeit einer Resektion und das 5-Jahres-Überleben beträgt hierbei lediglich 10-20 %. Bei Patienten mit inoperablen Pankreaskarzinomen ermöglicht die neoadjuvante Chemo- bzw. Radiochemotherapie eine operationsermöglichende Tumorreduktion. Weiters wird ein positiver Einfluss auf das Überleben nach präoperativer Chemo- bzw. Radiochemotherapie primär operabler Patienten beobachtet. Abhängig von der Lokalisation erfolgt die Diagnose in der Mehrzahl der Pankreaskarzinome erst spät im Krankheitsverlauf. In den meisten Fällen liegt zur Zeit der Diagnose ein fortgeschrittenes Pankreaskarzinom vor. Beim Auftreten der Symptome ist das Pankreaskarzinom üblicherweise bereits inoperabel und kurative Operationen sind für den Großteil der Patienten auszuschließen. Somit verbleibt die palliative Therapie mittels Chemotherapie oder Strahlentherapie in Kombination mit Chemotherapie meist als einzige Option.

Ursprünglich wurde 5-Fluorouracil zur Behandlung des fortgeschrittenen Pankreaskarzinoms eingesetzt. Es zeigte jedoch eine nur sehr geringe Ansprechrate. Nach einer randomisierten Studie im Jahr 1997 entwickelte sich Gemcitabin zur Standardtherapie. Die Gemcitabin-Monotherapie führte zu einer stärkeren Linderung der Symptomatik im Vergleich zu 5-FU, trug jedoch nur zu einer marginalen Steigerung des mittleren Gesamtüberlebens bei. Infolgedessen wurden verschiedene Gemcitabin-Kombinationen in Form klinischer Studien untersucht. Es konnte keine Verbesserung des Gesamtüberlebens und der Lebensqualität verglichen mit Gemcitabin-Monotherapie beobachtet werden. Eine Ausnahme bildet hierbei die Kombinationstherapie mit Capecitabin.

Im weiteren Verlauf wurden auf molekularer Ebene gezielt wirkende Medikamente, sogenannte „Molecular targeted therapies“ entwickelt. Einerseits wirken Substanzen wie beispielsweise Erlotinib durch Blockade des „Epidermal growth factor receptors“ (EGFR), der eine zentrale Rolle bei Wachstum, Apoptose und Dissemination von Tumoren spielt. Weiters durch Blockade des „vascular endothelial growth factors“ durch Bevacizumab, der die Tumorausbreitung durch Blockade der Neoangiogenese verhindert. Erlotinib zeigte als erstes Medikament dieser Gruppe der „molecular targeted agents“ einen signifikanten Vorteil in der palliativen Therapie des Pankreaskarzinoms. [2] [3] [4] [5]

1.2. Eigenschaften von Erlotinib

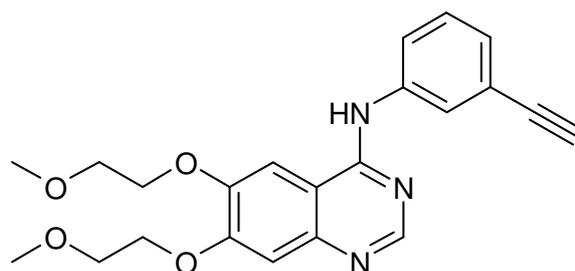


Abb. 2: Chemische Struktur von Erlotinib

Erlotinib-hydrochlorid hat ein Molekulargewicht von 429,90 g/mol mit der Summenformel $C_{22}H_{23}N_3O_4 \cdot HCl$. Das Molekül besitzt einen pK_a -Wert von 5,42 bei einer Temperatur von 25 °C und ist löslich in Wasser und Methanol und praktisch unlöslich in Acetonitril, Aceton, Ethylacetat und Hexan.

Erlotinib (Tarceva®) ist in den Dosierungsstärken 25 mg, 100 mg und 150 mg erhältlich. [8]

1.2.1. Anwendungsgebiete

Erlotinib wird zur Behandlung des Nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms (NSCLC) sowie zur Behandlung des Pankreaskarzinoms eingesetzt. Die Zulassung durch die „Food and Drug Administration“ (FDA) zur Therapie bei Patienten mit Chemotherapie-refraktärem, fortgeschrittenen NSCLC erfolgte im November 2004 und zur Behandlung des fortgeschrittenen Pankreaskarzinoms in Kombination mit Gemcitabin im November 2005. [9] [13]

1.2.2. Pharmakodynamik

Erlotinib ist ein Inhibitor der Tyrosinkinase des epidermalen Wachstumsfaktors Typ 1 (EGFR). Der EGFR wird bei verschiedenen Tumorarten, beispielsweise beim Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom, Kolon-, Prostata-, Ovarialkarzinom sowie bei Kopf-Hals-Tumoren in großer Menge gebildet. [10]

Der „epidermal growth factor receptor“ (EGFR) ist ein Mitglied der ErbB-Familie. Diese Familie unterteilt sich in vier strukturell homologe Rezeptortyrosinkinasen: ErbB-1 (EGFR, HER1), ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3 (HER3) und ErbB-4 (HER4). Es handelt sich hierbei um funktionell inaktive Monomere, die sich aus einer extrazellulären Ligandenbindungsstelle, einer hydrophoben transmembranären Domäne und einer intrazellulären Tyrosinkinasedomäne zusammensetzen. Die Liganden (z.B.: EGF, TGF- α) binden aktiv einen oder mehrere Rezeptoren der ErbB-Familie. Durch die Bindung erfolgt eine Homo- oder Heterodimerisierung des EGFR. Die darauf folgende Phosphorylierung des Tyrosinrestes innerhalb der ATP-bindenden Kinasedomäne aktiviert die Kinaseaktivität und führt zur Autophosphorylierung des Tyrosinrestes am cytoplasmatischen Ende. Diese Tyrosinreste dienen als Andockstellen für eine Reihe von Proteinen. Die folgenden Signalwege des EGFR können unterteilt werden in den MAP-Kinase-, Phosphatidylinositol-3-kinase/AKT- und Jak2/STAT3-Signalweg. Schlussendlich werden Gen-Transkriptionsprozesse beeinflusst.

Eine Aktivierung dieses komplexen Netzwerks fördert die Regulation zellulärer Prozesse, wie Proliferation, Differenzierung, Zell-Beweglichkeit und Überleben. Eine Fehlregulation dieses Netzwerkes führt hingegen zu unkontrolliertem Zellwachstum, das zu einer Umwandlung normaler Zellen in maligne Tumorzellen führen kann. [9] [11]

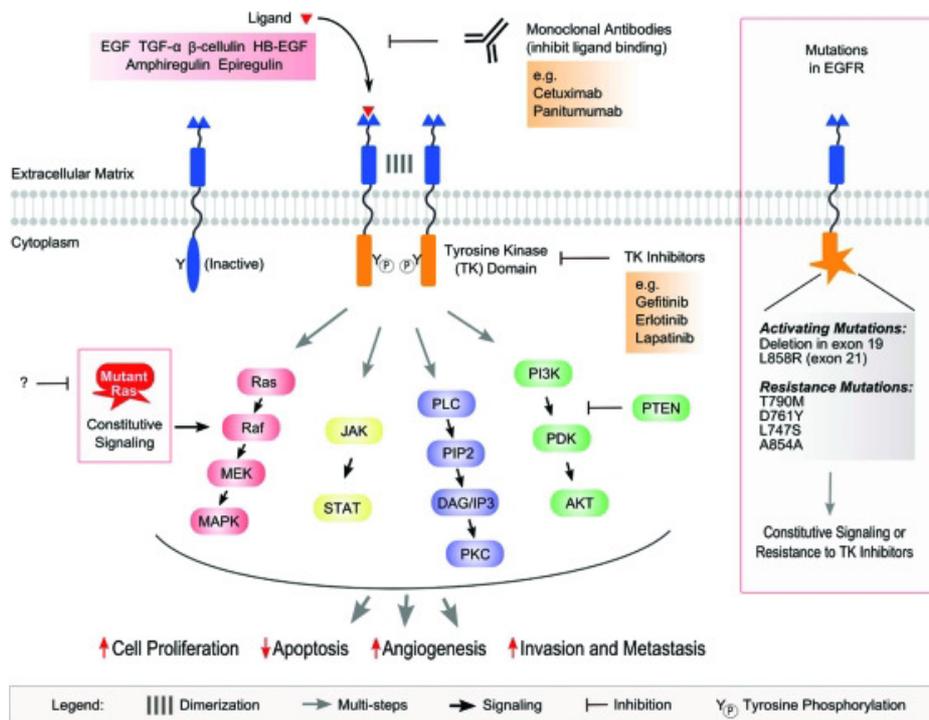


Abb. 3: Graphische Darstellung des EGFR-Signalweges [7]

Die Fehlregulation der EGFR-Signaltransduktionskaskade beeinflusst mehrere Prozesse im Zusammenhang mit dem Fortschreiten einer Krebserkrankung. Dazu zählen unter anderem Proliferation, Inhibition der Apoptose, Invasion, Angiogenese und Metastasierung.

Eine unkontrollierte Signaltransduktion durch ErbB1- und ErbB2-Rezeptoren wurde bisher am besten untersucht und scheint bei der Pathogenese einiger Tumortypen eine Rolle zu spielen. So wird eine Überexpression des EGFR beim Pankreaskarzinom mit einer erhöhten Tumoraggressivität und einer schlechteren Prognose in Zusammenhang gebracht.

Man unterscheidet zwei Hauptmechanismen, die zu einer gezielten Blockade des EGFR führen. Einerseits durch monoklonale Antikörper, wie etwa Cetuximab und Panitimumab und andererseits durch niedermolekulare Tyrosinkinaseinhibitoren, wie z.B. Erlotinib und Gefitinib.

Erlotinib blockiert selektiv die EGFR-Tyrosinkinase und blockiert EGF-abhängig die Proliferation von Zellen in submikromolaren Konzentrationen und blockiert Zell-Zyklus-Progression in der G1-Phase. Die Substanz bindet reversibel die Adenosintriphosphat-Bindungstelle des EGFR und inhibiert somit die Autophosphorylierung durch die EGFR-Tyrosinkinase. Dies resultiert in einer Blockade des EGFR-Signaltransduktionsweges, Arretierung des Zellzyklus und Inhibition der Angiogenese. [9] [11] [12]

1.2.3. Pharmakokinetik

Resorption

Erlotinib wird oral verabreicht und maximale Plasmakonzentrationen werden nach etwa 4 Stunden erreicht. Nach einer Gabe einer 150 mg-Dosis werden maximale Konzentrationen von $1,733 \pm 0,777 \mu\text{g/ml}$ und nach einer Gabe von 100 mg-Dosis Werte von $1,39 \pm 0,039 \mu\text{g/ml}$ erreicht. Die Bioverfügbarkeit beträgt etwa 60 %, wobei diese bei gleichzeitiger Nahrungsaufnahme signifikant erhöht sein kann (auf bis zu 100 %). Dadurch kann das Risiko der Arzneimittel-Nebenwirkungen erhöht sein. Daher sollte Erlotinib eine Stunde vor oder zwei Stunden nach einer Mahlzeit eingenommen werden. [12] [13] [14] [25]

Distribution

Das scheinbare Verteilungsvolumen beträgt durchschnittlich 232 Liter und Erlotinib diffundiert in menschliches Tumorgewebe. Die Plasmaproteinbindung beläuft sich auf 95 %. Erlotinib bindet sowohl an Serumalbumin als auch an α_1 -saures Glykoprotein. [13]

Metabolismus

Erlotinib wird im Menschen durch die hepatischen Cytochrome, hauptsächlich CYP3A4 und in geringerem Ausmaß CYP1A2, metabolisiert. Extrahepatischer Metabolismus erfolgt durch CYP4A4 im Darm, durch CYP1A1 in der Lunge und durch CYP1B1 im Tumorgewebe.

Der Metabolismus kann in drei Hauptstoffwechselwege eingeteilt werden:

1. O-Demethylierung einer oder beider Seitenketten und darauf folgende Oxidation zu den Carbonsäuren
2. Oxidation des Acetylenanteils und darauf folgende Hydrolyse zur Aryl-Carbonsäure
3. aromatische Hydroxylierung des Phenyl-Acetylenanteils

Konjugation der oxidierten Metaboliten mit Glucuronsäure und Schwefelsäure spielen nur eine geringe Rolle im Metabolismus des Erlotinibs.

Die durch O-Demethylierung einer Seitenkette gebildeten Hauptmetaboliten des Erlotinibs OSI-420 und OSI-413 wiesen in Studien und Tumormodellen eine dem Erlotinib vergleichbare Wirkung auf. Im Plasma liegen sie in Konzentration vor, die weniger als 10 % von Erlotinib ausmachen und zeigen eine ähnliche Pharmakokinetik wie die Muttersubstanz. [13] [14]

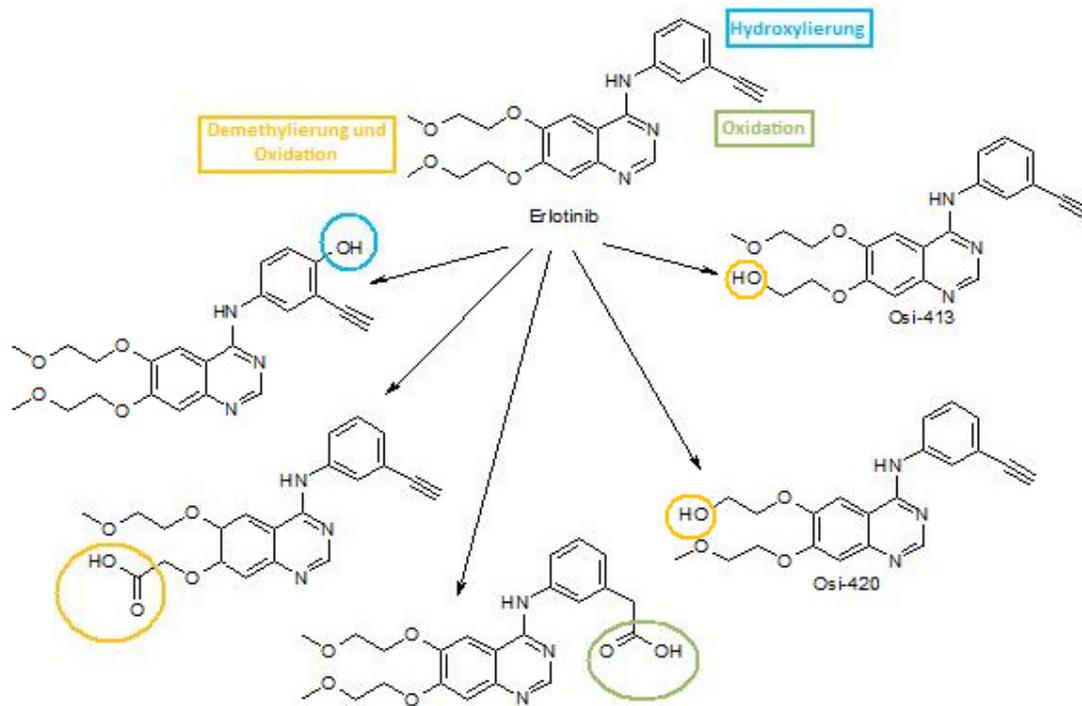


Abb. 4: Hauptmetabolisierungswege des Erlotinibs

Elimination

Erlotinib wird größtenteils in Form der Metaboliten über die Fäzes ausgeschieden (< 90 %). Nur etwa 9 % der oralen Dosis werden renal eliminiert. Die Ausgangssubstanz wird zu weniger als 2 % der oral verabreichten Dosis ausgeschieden. Eine populationspharmakokinetische Untersuchung an 591 Patienten, die Tarceva als Monotherapie erhielten, ergab die durchschnittliche scheinbare Clearance von 4,47 l/h bei einer mittleren Halbwertszeit von 36,2 Stunden. Somit ist mit einer Zeitspanne von etwa 7 - 8 Tagen zu rechnen, bis sich Plasmakonzentrationen im Steady State einstellen. [13]

1.2.4. Nebenwirkungen

Zu den häufigsten Nebenwirkungen im Zuge der Behandlung des Pankreaskarzinoms zählen Hautausschlag („Rash“), Müdigkeit und Diarrhoe. Weiters konnten Übelkeit, Anorexie, Gewichtsverlust, Infektionen, Ödeme, Knochenschmerzen, Stomatitis, Myalgie beobachtet werden.

Der durch Erlotinib hervorgerufene Hautausschlag ist ein Klasseneffekt der EGFR-Inhibitoren. Es kommt zu einem Akne-ähnlichen Hautausschlag. Der „Rash“ tritt gewöhnlich im Bereich des Gesichtes und des Oberkörpers auf. In Studien konnte beobachtet werden, dass das

Auftreten und die Intensität des Hautausschlages mit dem Ansprechen des Medikaments korrelieren. [11] [13]

1.2.5. Dosierung

Die empfohlene tägliche Dosis von Tarceva® zur Behandlung des Pankreaskarzinoms beträgt 100 mg in Kombination mit einer Gemcitabinbehandlung. Wenn eine Dosisanpassung erforderlich ist, sollte die Dosis in Schritten von 50 mg herabgesetzt werden.

Dosis-limitierende Effekte sind das Auftreten schwerer Nebenwirkungen wie Diarrhö und Hautausschlag.

In Form einer Phase-1-Studie konnte festgestellt werden, dass eine Tagesdosis von 200 mg zu Dosis-limitierenden Nebenwirkungen führt. Bei einer täglichen Dosis von 150 mg traten Nebenwirkungen in einem kontrollierbaren Ausmaß auf. Ein weiterer Vorteil der 150-mg-Dosis ist, dass diese die minimale Plasmakonzentration von 0,5 µg/ml überschreitet, die mit einer EGFR-Inhibition und Antitumoraktivität assoziiert werden konnte. Plasmakonzentrationen in diesem Bereich konnten weniger häufig durch die Gabe von Tagesdosen von 50 mg oder 100 mg beobachtet werden.

In Kombination mit Gemcitabin wurden Dosierungen von 100 mg sowie 150 mg in Form von Phase I-Studien als verträglich empfunden. Die Mehrzahl dieser Kombinationstherapien wurde aber mit einer Dosis von 100 mg durchgeführt. In einer weiteren Kombinationsstudie mit Capecitabin bei Gemcitabin-refraktären Patienten mit fortgeschrittenem Pankreaskarzinom wurde eine Dosierung von 150 mg Erlotinib eingesetzt. Von den 23 teilnehmenden Patienten musste eine Anzahl von 11 Personen einer Dosisreduktion auf Grund von Nebenwirkungen unterzogen werden. An Hand dieser Studie kann vermutet werden, dass eine erhöhte Dosierung mit einer erhöhten Toxizität einhergeht. Bestätigt werden können diese Beobachtungen durch eine weitere Kombinationsstudie mit Capecitabin, die mit einer gleichzeitigen Strahlentherapie verbunden war. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde eine Dosis von 100 mg verglichen mit 150 mg Erlotinib als klinisch verträglicher erachtet. [11] [13] [15] [16] [25]

1.2.6. Interaktionen

Erlotinib ist ein starker Inhibitor von CYP1A1 und ein moderater CYP3A4- und CYP2C8-Inhibitor, sowie ein starker Inhibitor der Glucuronisierung durch UGT1A1 in vitro. Weiters ist

Vorsicht geboten, wenn starke oder moderate CYP1A2-Inhibitoren mit Erlotinib verabreicht werden.

Erlotinib wird wie bereits besprochen durch hepatische und extrahepatische Cytochrome metabolisiert. Dadurch können Wechselwirkungen mit Wirkstoffen auftreten, die durch diese Enzyme verstoffwechselt werden oder bei denen es sich um Inhibitoren oder Induktoren dieser Enzyme handelt. Stark wirksame CYP3A4-Induktoren, wie beispielsweise Rifampicin, Phenytoin und Barbiturate, können die Wirksamkeit von Erlotinib vermindern, wohingegen starke CYP3A4-Inhibitoren zu erhöhter Toxizität führen können. Als Beispiele hierfür wären Azol-Antimykotika und Erythromycin zu nennen. Daher sollte die gleichzeitige Behandlung mit dieser Art von Substanzen vermieden werden.

Die Inhibierung der Glucuronisierung kann Interaktionen mit Substanzen verursachen, die Substrate von UGT1A1 sind und ausschließlich auf diesem Weg eliminiert werden.

Weiters handelt es sich beim Erlotinib um ein Substrat des Wirkstoff-Transporters P-Glykoprotein. Die simultane Gabe von Inhibitoren von P-Glykoprotein, wie etwa Cyclosporin und Verapamil, kann zu einer veränderten Verteilung sowie Elimination von Erlotinib führen. Ferner wurden Wechselwirkungen mit Antikoagulantien auf Cumarinbasis sowie mit Statinen beobachtet.

Auch Kombinationspartner in der Chemotherapie können zu Wechselwirkungen führen. Capecitabin beispielsweise kann die Erlotinibkonzentration erhöhen. Die Kombinationsgabe dieser beiden Substanzen führte zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der AUC von Erlotinib sowie einer grenzwertigen Erhöhung der c_{max} verglichen zu den Werten einer Studie mit Erlotinib als Monotherapeutikum. In Verlauf einer Studie mit den Kombinationspartnern Gemcitabin, Capecitabin und Bevacizumab konnten keine pharmakokinetischen Interaktionen mit Erlotinib beobachtet werden. [13] [17]

Die Plasmakonzentrationen von Erlotinib sind bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern signifikant niedriger. Daher sollte das Rauchen möglichst vor Beginn der Behandlung mit Tarceva eingestellt werden.

Erlotinib zeigt weiters eine verminderte Löslichkeit bei einem pH-Wert über 5. Arzneimittel, die eine Veränderung des pH-Wertes im oberen Gastrointestinaltrakt hervorrufen, können die Löslichkeit und somit auch die Bioverfügbarkeit von Erlotinib verändern. Dazu zählen Arzneistoffgruppen wie Protonenpumpenhemmer (z.B. Omeprazol, Pantoprazol), H₂-

Antagonisten (z.B. Ranitidin, Famotidin) und Antazida. Wenn der Einsatz während der Behandlung mit Tarceva® als nötig erachtet wird, sollte die Einnahme wenigstens 4 Stunden vor oder 2 Stunden nach der täglichen Tarceva-Dosis erfolgen. Bisher sind nur sehr limitierte Daten bezüglich möglicher Interaktionen verfügbar. Es ist noch unklar, ob Interaktionen zwischen Säure-reduzierenden Substanzen und Erlotinib zu einem Scheitern der Erlotinib-Therapie führen. [13] [18]

1.2.7. Prämedikation und Comedikation

Im Folgenden werden Arzneimittel beschrieben, die häufig in Form einer Prä- und Comedikation verabreicht werden.

Diclofenac ist eine nichtsteroidale Substanz mit antirheumatischen, antiphlogistischen, analgetischen und antipyretischen Eigenschaften. Nach intramuskulärer Applikation werden maximale Plasmakonzentrationen nach etwa 10 bis 30 Minuten erreicht. Die Proteinbindung beträgt 99,7 %. Überwiegend wird die Substanz in der Leber metabolisiert, wobei die Plasmahalbwertszeit 1-2 Stunden beträgt. Etwa 60 % des Wirkstoffes wird in Form von Metaboliten und weniger als 1 % unverändert über die Niere ausgeschieden. Der Rest wird über die Galle und Fäzes eliminiert.

Dexamethason ist ein synthetisches Corticosteroid mit vorwiegend glucocorticoiden Eigenschaften. Es wirkt inflammatorisch, immunsuppressiv und antiproliferativ. Die Substanz zählt zu den langwirksamen Glucocorticoiden. Die Bioverfügbarkeit beträgt 90 % und die Plasmahalbwertszeit etwa 3-4,5 Stunden. Dexamethason ist zu 77 % an Plasmaproteine gebunden. Nach einer intravenösen Applikation werden nach 4 Stunden maximale Dexamethason-Konzentrationen erreicht (etwa 15-20 % der Plasmakonzentration). Die Substanz wird extensive in der Leber metabolisiert und bis zu 65 % einer Dosis werden innerhalb von 24 Stunden renal eliminiert. Die Eliminationshalbwertszeit des Dexamethasons beträgt 3-5 Stunden.

Metamizol ist ein Pyrazolonderivat mit analgetischen, antipyretischen und spasmolytischen Wirkeigenschaften. Metamizol wird zum pharmakologisch wirksamen 4-N-Methylaminoantipyrin (MAA) hydrolysiert und die Bioverfügbarkeit dieses Hauptmetaboliten beträgt 90%. Die Plasmaproteinbindung beträgt für MAA 58 %. Nach intravenöser Gabe beträgt die Plasmahalbwertszeit für Metamizol etwa 14 Minuten. Etwa 96 % werden nach intravenöser Gabe im Urin und etwa 4 % in den Fäzes wiedergefunden.

Pantoprazol ist ein Benzimidazolderivat, das die Sekretion der Salzsäure im Magen hemmt. Die Substanz wird im sauren Kompartiment der Belegzelle in seine aktive Form umgewandelt und hemmt dort die H^+/K^+ -ATPase. Ebenso wie andere Protonenpumpenhemmer führt Pantoprazol zu einer Reduktion der Azidität des Magens und eine zur Säurereduktion proportionale Erhöhung des Gastrins. Pantoprazol wird rasch absorbiert und durchschnittlich wird nach etwa 2,5 Stunden die maximale Serumkonzentration von 2-3 $\mu\text{g/ml}$ erreicht. Das Verteilungsvolumen beträgt 0,15 l/kg, die Clearance liegt bei etwa 0,1 l/h/kg. Die terminale Eliminationshalbwertszeit beträgt etwa 1 Stunde. Pantoprazol besitzt eine lineare Kinetik. Die Serumproteinbindung des Pantoprazols liegt bei 98 %. Die Substanz wird fast ausschließlich durch die Leber abgebaut und der größte Teil der Metaboliten wird renal ausgeschieden.

Beim **Metoclopramid** handelt es sich um einen zentralen D_2 - und 5-HT_3 -Antagonisten. Weiters zeigt es einen peripheren 5-HT_4 -Antagonismus. Es steigert den Druck des unteren Ösophagussphinkters und relaxiert den Pylorus. Die Magenentleerung wird beschleunigt und die Passagezeit des Speisebreis verkürzt. Ferner wirkt Metoclopramid gegen Übelkeit und Erbrechen. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt etwa 4,5 Stunden und die Plasmaproteinbindung ist gering. Metoclopramid wird zu 80 % über die Nieren ausgeschieden. Es passiert die Blut-Hirn-Schranke und tritt in die Muttermilch über.

Famotidin ist ein kompetitiver H_2 -Antagonist. Es hemmt während mehr als 12 Stunden die basale sowie die stimulierte Magensäuresekretion und verringert die Menge an Magensaft und Pepsin. Das Arzneimittel befreit bei säurebedingten Erkrankungen des oberen Gastrointestinaltraktes schnell von Schmerzen und führt in den meisten Fällen innerhalb von 4 Wochen zu einer Abheilung von Ulcera. Die Substanz wird nach oraler Gabe rasch resorbiert und die Bioverfügbarkeit beträgt etwa 40-45 %. Nach 2-3 Stunden werden maximale Plasmakonzentrationen erreicht. Die mittlere Plasma-Eliminationshalbwertszeit liegt bei etwa 3 Stunden. Famotidin wird in unveränderter Form mit dem Harn ausgeschieden.

Lovenox ist ein niedermolekulares Heparin mit einem mittleren Molekulargewicht von 4500 Dalton. Es ist durch selektive Beeinflussung des Gerinnungsablaufes gekennzeichnet. Lovenox hemmt vor allem den Faktor Xa. Nach subkutaner Injektion wird die Substanz komplett resorbiert und erreicht nach 3 Stunden seine maximale Plasmaaktivität. Die Anti-

Xa-Aktivität bleibt über einen Zeitraum von 24 Stunden nachweisbar. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt im Mittel 4 Stunden. [13]

1.2.8. Plasmaproteinbindung

Die meisten Pharmaka werden im Plasma in unterschiedlichem Ausmaß reversibel an Proteine gebunden. Hierbei kommt dem Albumin eine besondere Rolle zu. Aber auch andere Plasmaproteine, wie beispielsweise saures α_1 -Glykoprotein, spielen eine Rolle. Der große und wenig lipophile Protein-Pharmakon-Komplex kann biologische Membranen kaum durchdringen und dadurch weder zum Wirkort gelangen noch ausgeschieden werden. Somit kann eine hohe Plasmaproteinbindung die Elimination eines Arzneistoffes verlangsamen. Nachdem sich aber das Gleichgewicht zwischen freiem und gebundenem Anteil sehr rasch einstellt, werden bei einer Abnahme der freien Konzentration gebundene Substanzen wieder aus der Bindung freigesetzt. Das Ausmaß der Plasmaproteinbindung kann durch verschiedene Faktoren verändert werden. So findet man etwa bei Neugeborenen und bei Erkrankungen der Niere und Leber eine verringerte Bindung vieler Substanzen. Saures α_1 -Glykoprotein kann bei Entzündungen, Tumoren und Herzinfarkt zunehmen. Ferner können sich Arzneistoffe auch gegenseitig aus der Bindung verdrängen.

Die Plasmaproteinbindung von Arzneistoffe ist bedeutsam für vollständige pharmakokinetische Evaluierungen sowie wenn zur Therapiekontrolle Plasmakonzentrationen gemessen werden („drug monitoring“). Dies beruht darauf, dass bei vielen Arzneistoffen die therapeutische sowie die toxische Antwort besser mit dem ungebundenen Anteil als mit der totalen Substanzkonzentration korreliert. Wenn es somit in Folge eines „drug monitorings“ auf Grund einer verringerten Plasmaproteinbindung der Substanz zur Abnahme der Plasmakonzentration kommt, ist keine Dosiserhöhung notwendig, da es zu keiner Veränderung der freien und somit wirksamen Konzentration gekommen ist. [27] [28]

2. Rationale

Ziel dieser Diplomarbeit ist der Vergleich der Pharmakokinetik von Erlotinib bei den Dosierungen von 100 mg und 150 mg. Weiters die Untersuchung der pharmakokinetischen Wechselwirkungen zwischen Erlotinib und ausgewählten Arzneistoffen und Bestimmung der Plasmaproteinbindung von Erlotinib mittels Ultrafiltration.

3. Experimenteller Teil

3.1. Studiendesign

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden Plasmaproben von Patienten aus dem Kaiser-Franz-Josef-Krankenhaus sowie aus dem Krankenhaus Hietzing bearbeitet. Die Auswertung erfolgte am Department für klinische Pharmazie und chemische Diagnostik.

Es handelt sich um eine klinische Studie von Patienten mit lokal fortgeschrittenem, inoperablem und/oder metastasiertem Pankreaskarzinom, die einer Dreifachkombinationstherapie mit Erlotinib, Capecitabin und Bevacizumab unterliegen.

Diese Phase-1-Studie wurde im Zeitraum zwischen Dezember 2008 und Juni 2013 durchgeführt und unterteilt sich in sechs unterschiedliche Dose-Levels, wobei im Zuge dieser Arbeit die Dose-Levels 3, 7 und 8 besprochen werden. Die Dose-Levels 5 und 6 wurden seitens der Klinik ausgelassen.

Die Therapie besteht aus drei zweiwöchigen Zyklen.

Tabelle 1: Studiendesign

Zyklus	1		2		3	
Woche	1	2	3	4	5	6
DL 3	CCB	CCB	CCB	CCB	CCB	CCB
	ERL	ERL	ERL	ERL	ERL	ERL
	BVC		BVC		BVC	
DL 7	CCB	CCB	CCB	CCB	CCB	CCB
	ERL	ERL	ERL	ERL	ERL	ERL
	BVC		BVC		BVC	
DL 8	CCB	CCB	CCB	CCB	CCB	CCB
	ERL	ERL	ERL	ERL	ERL	ERL
	BVC		BVC		BVC	

3.2. Arzneistoffdosierung und Arzneistoffeinnahme

Die Verabreichung von Capecitabin und Erlotinib erfolgt kontinuierlich, wohingegen Bevacizumab am Beginn jedes Zyklus gegeben wird.

Im Dose-Level 3 erhalten die Patienten Erlotinib in der Dosierungsstärke von 100 mg und in den Dose-Levels 7 und 8 in der Dosierungsstärke von 150 mg.

Tabelle 2: Dosierungsschema

DL 3	ERL	100 mg peroral, 1 x täglich
	CCB	800 mg/m ² peroral, 2 x täglich
	BVC	5 mg/kg 2 h intravenös, 1. Tag jedes 14-tägigen Zyklus
DL7	ERL	150 mg peroral, 1 x täglich
	CCB	800 mg/m ² peroral, 2 x täglich
	BVC	5 mg/kg 2 h intravenös, 1. Tag jedes 14-tägigen Zyklus
DL8	ERL	150 mg peroral, 1 x täglich
	CCB	800 mg/m ² peroral, 2 x täglich
	BVC	10 mg/kg 2 h intravenös, 1. Tag jedes 14-tägigen Zyklus

Tabelle 3: Einnahmeschema von Erlotinib (Tarceva®) und Capecitabin (Xeloda®)

morgens	FRÜHSTÜCK
	30 min Pause
	XELODA®-Tabletten
	mind. 2 h Pause "nüchtern"
	TARCEVA®-Tabletten
mind. 1 h Pause "nüchtern"	
mittags	MITTAGESSEN
abends	ABENDESSEN
	30 min Pause
	XELODA®-Tabletten

3.3. Blutabnahmedaten

Tabelle 4: Blutabnahmedaten

T1 / 0 h	0 h	T2 / 0 h	24 h
T1 / 1 h	1 h	T2 / 4 h	28 h
T1 / 2 h	2 h	T3 / 0 h	48 h
T1 / 3 h	3 h	T3 / 4 h	52 h
T1 / 4 h	4 h	T4 / 0 h	72 h
T1 / 5 h	5 h	T4 / 4 h	76 h
T1 / 6 h	6 h	T5 / 0 h	96 h
T1 / 7 h	7 h	T5 / 4 h	100 h
T1 / 8 h	8 h	T6 / 0 h	120 h
		T6 / 4 h	124 h
		T7 / 0 h	144 h
		T7 / 4 h	148 h
		T8 / 0 h	168 h
		T8 / 4 h	172 h

3.4. Patientendaten

Dose-Level 3 setzt sich aus sieben, Dose-Levels 7 und 8 jeweils aus drei Patienten zusammen.

Tabelle 5: Patientendaten: DL 3

DL 3	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7
Geburtsjahr	1946	1931	1963	1952	1937	1939	1956
Geschlecht	Mann	Mann	Mann	Frau	Mann	Frau	Frau
Gewicht [kg]	84	70	90	55,8	65	61,5	47
Größe [cm]	183	170	186	170	170	165	170
Körperoberfläche [m ²]	2,06	1,81	2,22	1,65	1,75	1,68	1,528
Ethnische Herkunft	Kaukasier						
Diagnose	Fortgeschrittenes Pankreaskarzinom						

Tabelle 6: Patientendaten: DL 7 und 8

DL 7 + DL 8	Patient 8	Patient 9	Patient 10	Patient 11	Patient 12	Patient 13
Geburtsjahr	1942	1943	1957	1946	1961	1945
Geschlecht	Mann	Mann	Mann	Mann	Frau	Frau
Gewicht [kg]	72,5	60	71	64	65	58
Größe [cm]	174,5	179	178	175	156	162
Körperoberfläche [m ²]	1,88	1,76	1,88	1,78	1,65	1,61
Ethnische Herkunft	Kaukasier					
Diagnose	Fortgeschrittenes Pankreaskarzinom					

Tabelle 7: Prä- bzw. Comedikation der Patienten aus DL 3, 7 und 8

Prämedikation/Comedikation (Auswahl)		
DL 3	Patient 1	Ulcusan, Lovenox
	Patient 2	Pantoprazol, Dexamethason, Metamizol
	Patient 3	Metamizol, Diclofenac, Dexamathason, Metoclopramid
	Patient 4	Novalgine
	Patient 5	Pantoloc
DL 7 +8	Patient 9	Dexamethason
	Patient 10	Paspertin , Novalgine, Pantoloc
	Patient 11	Paspertin, Pantoloc, Lovenox
	Patient 12	Pantoloc, Paspertin
	Patient 13	Pantoloc, Metoclopramid

3.5. Laborausstattung

Tabelle 8: Parameter der HPLC-Anlagen

	LaChrom MERCK-HITACHI Interface D-7000	EZChrom Elite HPLC-System
Säulenofen	CTO-10A Shimadzu Column oven	Jetstream 2
Pumpe	MERCK-HITACHI, LaChrom L-7120	MERCK-HITACHI, L-2130 Pump
Detektor	MERCK-HITACHI, LaChrom L-4000	MERCK-HITACHI, L-2450 Diode Array Detektor
Autosampler	MERCK-HITACHI, LaChrom L-7200	MERCK HITACHI, L-2200 Auto-Sampler
Retentionszeit Erlotinib	ca. 9,0	ca. 7,6
Retentionszeit OSI-420	ca. 6,7	ca. 10,6
Software	HPLC System Manager, © Hitachi Ltd. 1994-2001, Version 4.1.	EZChrom Elite
Vorsäule	LiCrospher® 100 RP-18 , Lichro-CART-System, 5 µm	
Trennsäule	Nucleosil 18 CC250/4100, 5 µm	
Säulenofen (Temperatur)	37 °C	
Durchflussgeschwindigkeit	0,6 ml/min	
Wellenlänge	λ = 348 nm	
Druck	80 bar	
Injektionsvolumen	30,00 µl	
Laufzeit	15 min	
Eluent	Acetonitril-Wasser- H ₃ PO ₄	
Waschflüssigkeit	90% Methanol	

Tabelle 9: Verwendete Reagentien und Chemikalien

Reagentien & Chemikalien	Hersteller
Aqua bidestillata	Department für Pharmakognosie Universität Wien
Methanol	Merck KGaA
Acetonitril	Merck KGaA
Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	Merck KGaA
Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 1 \text{H}_2\text{O}$)	Merck KGaA

Tabelle 10: Verwendete Mischungen und Lösungen

Mischungen & Lösungen	
für HPLC	Eluent: 550 ml Acetonitril, 450 ml Aqua bidest., 1 ml 8,5 % H_3PO_4
für SPE	Eluent: Methanol: NaH_2PO_4 (10 mmol) 9:1 %, v/v
	Na_2HPO_4 -Lösung: 10 mmol Na_2HPO_4 in 1 l Aqua bidest.
	NaH_2PO_4 -Lösung: 10 mmol NaH_2PO_4 in 1 l Aqua bidest.

Tabelle 11: Verwendete Substanzen der Prämedikation

Bezeichnung	Wirkstoff
Diclofenac Genericon 75 mg-Ampullen	Diclofenac-Natrium
Dexamethason "Nycomed" 4 mg-Ampullen	Dexamethason
Novalgin 1,0 g-Ampullen	Metamizol-Natrium . 1 H ₂ O
Pantoloc 40 mg-Trockenstechampullen	Pantoprazol Natrium
Paspertin 10 mg-Ampullen	Metoclopramidhydrochlorid . 1 H ₂ O
Ulcusan 20 mg-Trockenstechampullen mit Lösungsmittel zur i.v. Injektion oder Infusion	Famotidin
Lovenox 40 mg Spritzampullen	Enoxaparin-Natrium

Tabelle 12: Verwendete Materialien und Geräte

Materialien & Geräte	Bezeichnung	Hersteller
Analysenwaage	Sartorius handy H110	Sartorius Mechatronics Austria GmbH
Magnetrührer	MR 3001 K	Heidolph Instruments GmbH & Co.KG
Ultraschallbad	BANDELIN SONOREX RX 510	BANDELIN electronic GmbH & Co.KG
Heizblock	DRI-BLOCK® DB 2A	Techne
Zentrifuge (klein)	Galaxy 16DH	VWR® INTERNATIONAL
Zentrifuge (groß)	Labofuge 400 FUNCTION line	Heraeus INSTRUMENTS GmbH
Kartuschen	Oasis® HLB 1cc, 30 mg sorbent 30 µm particle size	Waters Corporation
	Chromabond® HR-X, 1 ml / 30 mg 45 µm particle size	MACHEREY NAGEL GmbH & Co.KG
Vakuumkammer	Vakuum-Festphasen-Extraktionseinheit	ALLTECH
Vakuumpumpe	Diaphragma Vakuumpumpe	Vacuubrand GmbH & CO
Mikropipetten	Eppendorf Research: 2-20 µl, 100 - 1000 µl	Eppendorf AG
Pipettenspitzen	Universal: gelb (2-200 µl), blau (50-1000 µl)	VWR® INTERNATIONAL
Eprovetten	Reagenzgläser starkwandig, 165 mm Durchmesser	Assisten®
Mini-Shaker	Vortex Wizard continuous-sensor	VELP® Scientifica
Vials	Chromacol Braunglas 1,5 ml mit Teflonseptum	CHROMACOL®
Ultrafiltrationsröhrchen	Centrisart®I, MWCO 20.000 Da	Sartorius Stedim Biotech GmbH

3.6. Probenanalytik

3.6.1. Festphasenextraktion

Die Festphasenextraktion (SPE = solid phase extraction) ist eine leistungsfähige, unkomplizierte und gut automatisierte Methode zur Probenvorbereitung. Sie kann unter geringem Lösungsmittelverbrauch für viele Substanzklassen verwendet werden.

Um ein Gleichgewicht zwischen stationärer (Sorbens) und mobiler Phase herzustellen, wird das Sorbens zuerst konditioniert. Danach kann die Probe aufgetragen werden. Die Analyte werden durch verschiedene Wechselwirkungen zurückgehalten und angereichert. Danach kann durch vorsichtiges Waschen der Säule mit „milden“ Lösungsmitteln eine Abtrennung

der Störsubstanzen erfolgen, wobei keine Desorption der Analyte ausgelöst wird. Schließlich erfolgt mit Hilfe „starker“ Lösungsmittel eine selektive Desorption der Analyte. Die SPE-Apparatur besteht aus einer Glaskammer, in der mittels einer Pumpe ein Unterdruck erzeugt wird. Dadurch werden die Extraktionsröhrchen zügig eluiert. Die Kartuschen bestehen aus Polypropylen oder Glas und beinhalten die stationäre Phase, die oberhalb und unterhalb mit Filterfritten abgedeckt sind. Ziel der Festphasenextraktion ist es, mögliche Verunreinigungen sowie unerwünschte Begleitstoffe von den Analyten abzutrennen. [19]

Im vorliegenden Fall dient die SPE der Abtrennung der Matrixbestandteile vom Analyten.

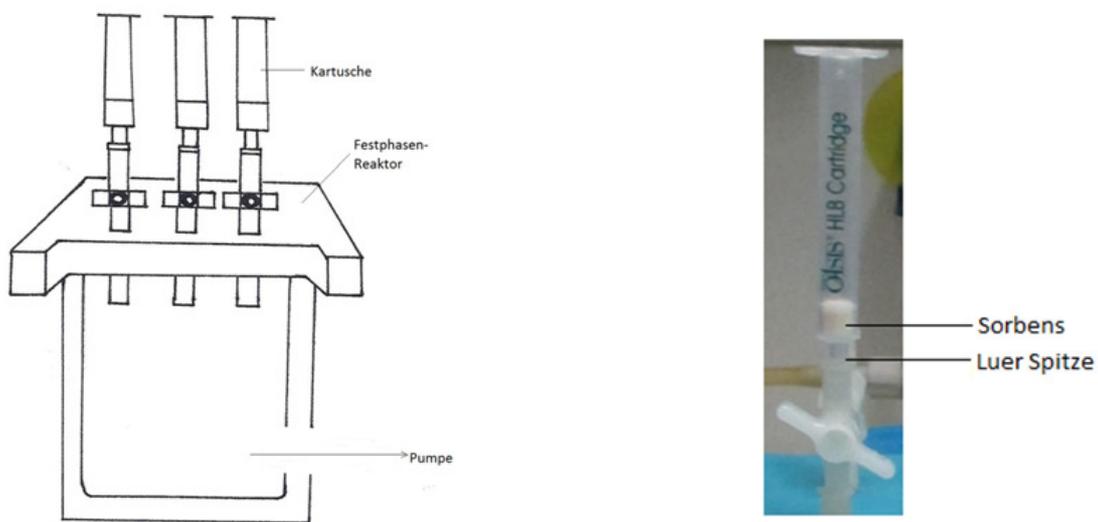


Abb. 5: Festphasenextraktions-Apparatur (links), Kartusche (rechts)

Im Verlauf der praktischen Durchführung werden die Plasmaproben aus dem Tiefkühlfach (-81 °C) entnommen und am Heizblock bei 35 °C aufgetaut. Dann werden sie bei 1200 Umdrehungen pro Minute 2 Minuten lang zentrifugiert. Jetzt können sie der Festphasenextraktion unterzogen werden.

Zuerst erfolgt das Aufsetzen der Kartuschen auf die Vakuumkammer. Danach wird die Vakuumpumpe eingeschaltet und ein Vakuum von -92 mbar angelegt. Die Hähne werden geöffnet und es erfolgt die Aktivierung der Kartuschen mit 1,0 ml Methanol. Im zweiten Schritt wird mit 1,0 ml Na₂HPO₄-Lösung (10 mmol) vorkonditioniert. Daraufhin werden 0,9 ml der Plasmaprobe aufgetragen und dann wird mit 0,9 ml Na₂HPO₄-Lösung (10 mmol) gewaschen. Die Hähne werden geschlossen und die Elution erfolgt mit 0,9 ml Methanol:NaH₂PO₄-Lösung (1/9, v/v).

Die Kartuschen werden in Eprouvetten gegeben und bei 1500 Umdrehungen/Minute zwei Minuten lang zentrifugiert. Die fertig aufgetrennten Lösungen werden mittels Mixer durchgemischt und in Vials überführt. Diese Lösungen können dann für die HPLC-Analyse herangezogen werden.

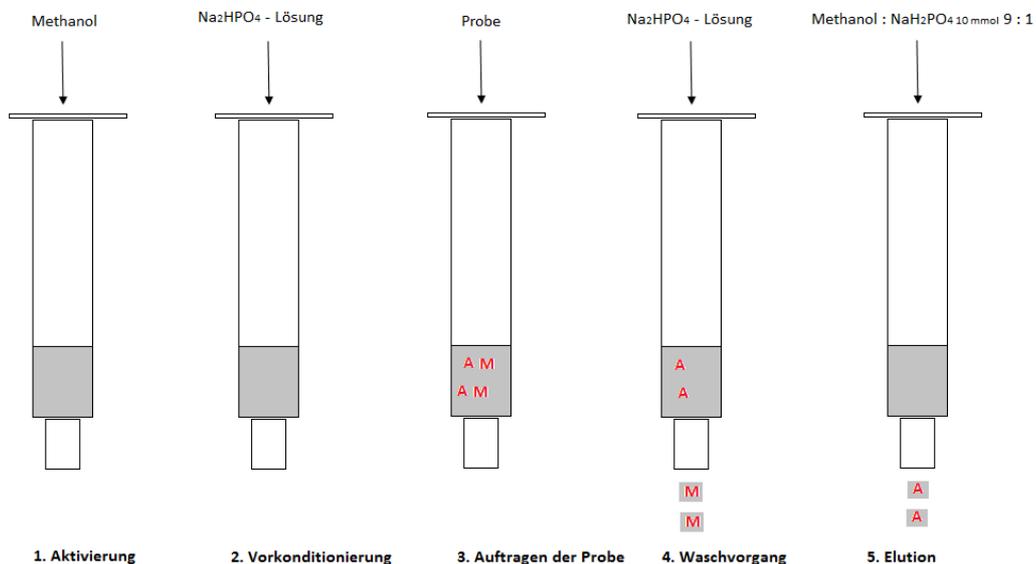


Abb. 6: Vorgang der Festphasenextraktion

3.6.2. Herstellung des Eluenten für die HPLC

Zur Herstellung eines Liters des Eluenten werden 550 ml Acetonitril, 450 ml Aqua bidestillata und 1 ml 8,5%iger H₃PO₄ zusammengefügt. Die Mischung wird dann mit Hilfe eines Magnetrührers durchmischt und anschließend zum Entgasen 45-60 Minuten in ein Ultraschallbad gestellt.

3.6.3. Hochleistungsflüssigchromatographie

Die Hochleistungsflüssigchromatographie ist eine Form der Säulenchromatographie. Hierbei wird das Elutionsmittel mittels Pumpen durch die Trennsäule gedrückt. Wie alle chromatographischen Verfahren dient die HPLC der Trennung von Substanzgemischen und deren qualitativer und quantitativer Analyse. Als Ergebnis der Trennung wird im Chromatogramm die Intensität des Detektorsignals in Abhängigkeit der Zeit registriert. Zur Durchführung der Hochleistungsflüssigchromatographie werden Elutionsmittel, Pumpensystem, Probeneinlasssystem, Trennsäule, Detektor, Schreiber, Integrator und Auswertesystem benötigt. [20]

Durch Veretherung der hydrophilen OH-Gruppen mit langen Kohlenwasserstoffketten erhält man unpolare Trägermaterialien, sogenannte Umkehrphasen (reverse Phasen). Bei der „reversed-phase-Chromatographie“ kommt es zu einer hydrophoben Wechselwirkung des Analyten mit der unpolaren stationären Phase im polaren, wässrigen Lösungsmittel. Die Elution erfolgt mittels eines unpolaren organischen Lösungsmittels, das mit der adsorbierten Substanz um die Bindungsstelle konkurriert. [21]



Abb. 7: HPLC-Anlage (links), Säule (rechts)

Die durch die Festphasenextraktion aufgereinigten Proben werden mit Hilfe der HPLC-Anlage analysiert, wobei die Trennung der Substanzen durch Umkehrphasenchromatographie erfolgt.

3.6.4. Eichgerade

Bei einer Kalibrierung wird die Intensität des analytischen Signals in Abhängigkeit von der Konzentration des Analyten durch eine Kalibrierfunktion modelliert. Im Normalfall handelt es sich bei der Kalibrierfunktion um eine Gerade. Um diese Kalibrierungsgerade zu erstellen, werden mehrere Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen aus einer Stammlösung hergestellt. Die Analytkonzentrationen der Proben können dann auf Basis dieser Kalibrierfunktion errechnet werden. [22]

Zur Herstellung der unterschiedlichen Verdünnungen werden Stammlösungen von Erlotinib und OSI-420 in Plasma herangezogen. Die Konzentration der Stammlösungen beträgt

500 µg/ml. Werden nun jeweils 20 µl Erlotinib-Stammlösung und 20 µl OSI-420-Stammlösung mit 1960 µl Plasma in einer Epruvette zusammengeführt, so erhält man eine Konzentration der beiden Substanzen von 5 µg/ml. Diese Lösung stellt die erste Konzentration der Verdünnungsreihe dar. Daraus werden durch schrittweises Verdünnen noch weitere acht Lösungen hergestellt.

Tabelle 13: Schema der Verdünnungsreihe

1	5 µg/ml	Verdünnung aus Stammlösung
2	2,5 µg/ml	1 ml von 1 und 1 ml Leerplasma
3	1,25 µg/ml	1 ml von 2 und 1 ml Leerplasma
4	0,625 µg/ml	1 ml von 3 und 1 ml Leerplasma
5	0,312 µg/ml	1 ml von 4 und 1 ml Leerplasma
6	0,156 µg/ml	1 ml von 5 und 1 ml Leerplasma
7	0,078 µg/ml	1 ml von 6 und 1 ml Leerplasma
8	0,039 µg/ml	1 ml von 7 und 1 ml Leerplasma
9	0,020 µg/ml	1 ml von 8 und 1 ml Leerplasma

Das Leerplasma und die Stammlösungen von Erlotinib und OSI-420 werden aus dem Gefrierfach geholt und am Heizblock aufgetaut. Dann können die Verdünnungen an Hand des obigen Schemas (Tabelle 13) hergestellt werden. Die Epruvetten mit den Lösungen werden jeweils mittels Vortexer gemischt und dann einer Festphasenextraktion unterzogen. Diese erfolgt analog wie in 3.6.1. beschrieben.

Gemeinsam mit den aus der HPLC erhaltenen Werten (Peakfläche) und den eingesetzten Konzentrationen kann dann die Eichgerade erstellt werden. Die graphische Darstellung erfolgt mit Hilfe des Programmes GraphPad Prism 6.

Auf Grund des linearen Zusammenhangs zwischen Konzentration und Peakfläche, lässt sich eine Gerade mit der Gleichung $y = kx + d$ aufstellen. Wobei die Variable y für die Peakfläche, die Variable x für die Konzentration stehen, k beschreibt die Steigung (slope) der Geraden und d entspricht dem Ordinaten-Abschnitt der Geraden – verläuft die Gerade durch den Nullpunkt nimmt d den Wert Null an. Durch Umformung der Formel auf $x = y/k$, lassen sich die Konzentrationen der Proben errechnen.

3.6.5. Prämedikation

Es wurden zwei verschiedene Konzentrationen der ausgewählten Substanzen (Vgl. Tab. 11) durch Verdünnen mit Wasser und später Leerplasma hergestellt. Es wurden Konzentrationen

im Bereich der maximalen Plasmakonzentrationen der jeweiligen Arzneistoffe einerseits und $c_{max}/2$ andererseits verwendet. In einem weiteren Ansatz wurden die Substanzen gemeinsam mit Erlotinib, wiederum im Bereich der zuvor verwendeten Konzentrationen, mit Leerplasma gemischt. Die Konzentration von Erlotinib wurde jeweils auf $0,25 \mu\text{g/ml}$ eingestellt. Diese Ansätze wurden dann einer SPE unterworfen und mittels HPLC analysiert.

3.6.6. Ultrafiltration

Die Ultrafiltration ist zur schnellen Konzentrierung von Proteinlösungen geeignet. Die zu trennenden Lösungen werden durch die Flussrate des Lösungsmittels durch die Ultrafiltrationsmembran getrieben. Die asymmetrischen Membranen mit verschiedenen großen Poren an Unter- und Oberseite und verschiedenen Ausschlussgrenzen bestehen aus Cellulose, Celluloseester, Polyethersulfon oder Polyvinylidenfluorid. Dazu werden Salze, sowie Moleküle mit Molekulargewichten deutlich unter der Ausschlussgrenze, zusammen mit dem Wasser durch die Membran gepresst und Proteine werden zurückgehalten. Die Flüssigkeit wird mittels Überdruck, Vakuum oder Zentrifugation durch die Membran gedrückt. [29]

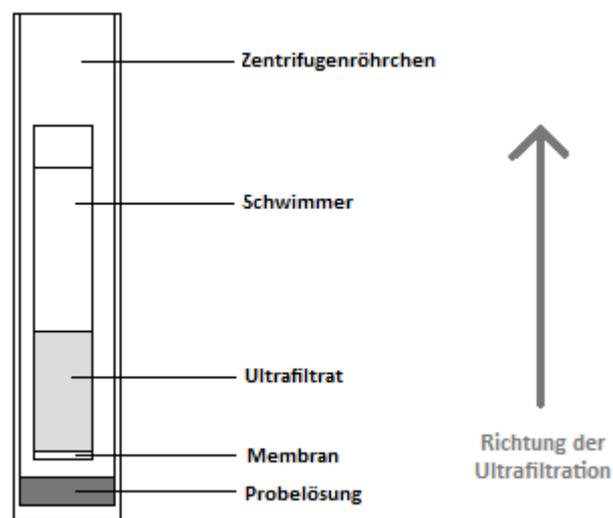


Abb. 8: Schematische Darstellung einer Ultrafiltrationseinheit

Die Ultrafiltration wurde zur Ermittlung der Plasmaproteinbindung von Erlotinib durchgeführt. Zuerst erfolgt das Waschen der Membran. Dazu wird das Innenröhrchen (Schwimmer) mit Hilfe einer Pinzette aus dem Außenröhrchen (Zentrifugenröhrchen) herausgenommen und es wird $1000 \mu\text{l}$ gereinigtes Wasser in das Außenröhrchen pipettiert.

Dann wird der Schwimmer wieder in das Zentrifugenröhrchen zurückgegeben, sodass die Membran in die Flüssigkeit eintaucht. Daraufhin wird bei 2500 Umdrehungen/min fünf Minuten lang zentrifugiert und sodann das Waschwasser verworfen. Dann kann die Probe hineinpipettiert werden und es wird bei 2500 Umdrehungen pro Minute 10 Minuten lang ultrafiltriert. Das Ultrafiltrat, das sich im Innenröhrchen befindet, kann dann gesammelt und in HPLC-Vials übergeführt werden. Daraufhin kann eine HPLC-Analyse durchgeführt werden. [30]

Die Erlotinib-Stammlösung wurde einerseits mit Wasser andererseits mit Leerplasma auf 0,5 µg/ml eingestellt. Diese beiden Ansätze wurden dann nach obiger Anleitung behandelt. Dann wurden noch drei Waschvorgänge durchgeführt und die erhaltenen Lösungen wurden gesammelt. Es wurden somit sowohl für den Ansatz im Wasser, als auch für den Ansatz im Leerplasma jeweils vier Ultrafiltrate erhalten, die dann für eine HPLC-Analyse verwendet werden konnten. Weiters wurden noch ein Standard in Wasser und ein Standard in Leerplasma in HPLC-Vials gefüllt, die zur entsprechenden Errechnung der Plasmaproteinbindung dienen sollten.

3.6.6. Software

- Microsoft® Office Word 2003: zur Verfassung der Diplomarbeit
- Microsoft® Office Excel 2003: zur Erstellung der Tabellen
- Microsoft® Office Paint 2003: zur Bearbeitung der Abbildungen und Chromatogramme
- GraphPad Prism® 6.0: Zum Erstellen der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven und Eichgeraden sowie zur Bearbeitung der Chromatogramme
- Phoenix™ WinNonlin®: zur Berechnung der Pharamakokinetik-Parameter
- MDL ISIS Draw 2.5: Zur Anfertigung der chemischen Formeln

3.6.7. Pharmakokinetische Parameter

Tabelle 14: Erläuterung wichtiger pharmakokinetischer Parameter [26]

Cmax	Maximal beobachtete Konzentration, die zum Zeitpunkt Tmax auftritt
Tmax	Zeitpunkt der maximal beobachteten Konzentration
Tlast	Zeitpunkt der letzten gemessenen Konzentration
Clast	Letzte messbare Konzentration, die sich auf Tlast bezieht
AUClast	Fläche unter der Kurve (Area under the curve) vom Zeitpunkt der Verabreichung des Arzneimittels bis zur letzten messbaren Konzentration
AUCINF_obs	Fläche unter der Kurve vom Zeitpunkt der Verabreichung des Arzneimittels extrapoliert gegen Unendlich
Vz_F_obs	Verteilungsvolumen, basierend auf der terminalen Eliminationsphase
MRTlast	Mittlere Verweildauer (Mean residence time) vom Zeitpunkt der Verabreichung des Arzneimittels bis Tlast
Cl_F_obs	Gesamtkörperclearance bei extravaskulärer Gabe
Rsq	"goodness of fit"-Statistik für die terminale Eliminationsphase
Corr_XY	Korrelation zwischen der Zeit (X) und dem Logarithmus der Konzentration (Y) für die Punkte, die zur Berechnung von Lambda_z verwendet wurden
Lambda_z	Geschwindigkeitskonstante 1. Ordnung, in Zusammenhang mit dem terminalen Abschnitt der Kurve
No_points_lambda_z	Anzahl der Punkte, die zur Ermittlung von Lambda_z herangezogen werden
HL_Lambda_z	Eliminationshalbwertszeit

Die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter erfolgte mit dem Programm Phoenix™ WinNonlin® in Form einer nichtkompartimentellen Datenanalyse.

Die nichtkompartimentelle Datenanalyse kann eingesetzt werden, wenn eine genügend große Anzahl an Messwerten nach Applikation eines Pharmakons zur Verfügung steht. Es erfolgt die Abschätzung der terminalen Eliminationsgeschwindigkeitskonstante (Lambda_z) über die terminale Steigung, die Abschätzung der AUC mittels Trapezregel. Mit Hilfe von Lambda_z und AUC können dann die pharmakokinetischen Parameter wie beispielsweise Clearance, Verteilungsvolumen und terminale Halbwertszeit berechnet werden. [31]

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Eichgeraden von Erlotinib und OSI-420

4.1.1. Eichgeraden für die HPLC-Anlage EZChrom Elite

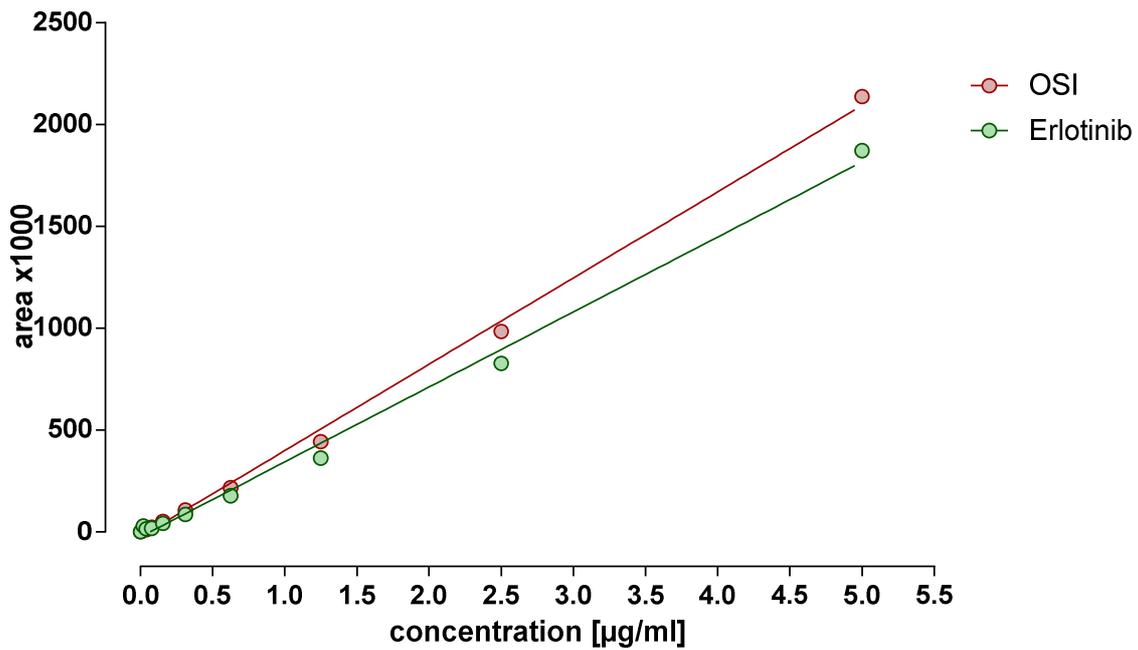


Abb. 9: Eichgeraden von OSI-420 und Erlotinib: HPLC EZChrom Elite

Tabelle 15: Statistische Parameter der Eichgerade für HPLC-System EZChrom Elite

	OSI-420	Erlotinib
Best-fit values		
Slope	424.9 ± 8.012	372.3 ± 10.40
Y-intercept when X=0.0	-28.52 ± 15.42	-38.63 ± 21.22
X-intercept when Y=0.0	0.06712	0.1038
95% Confidence Intervals		
Slope	405.9 to 443.8	346.8 to 397.7
Y-intercept when X=0.0	-64.98 to 7.949	-90.56 to 13.30
X-intercept when Y=0.0	-0.01920 to 0.1493	-0.03728 to 0.2342
Goodness of Fit		
r ²	0.9975	0.9953
Data		
Number of X values	9	8

4.1.2. Eichgeraden für die HPLC-Anlage LaChrom MERCK-HITACHI

In diesem Fall wurden die Eichgeraden unter Verwendung zweier unterschiedlicher Kartuschen durchgearbeitet: Oasis® HLB 1cc, 30 mg sorbent und Chromabond® HR-X, 1 ml/30 mg.

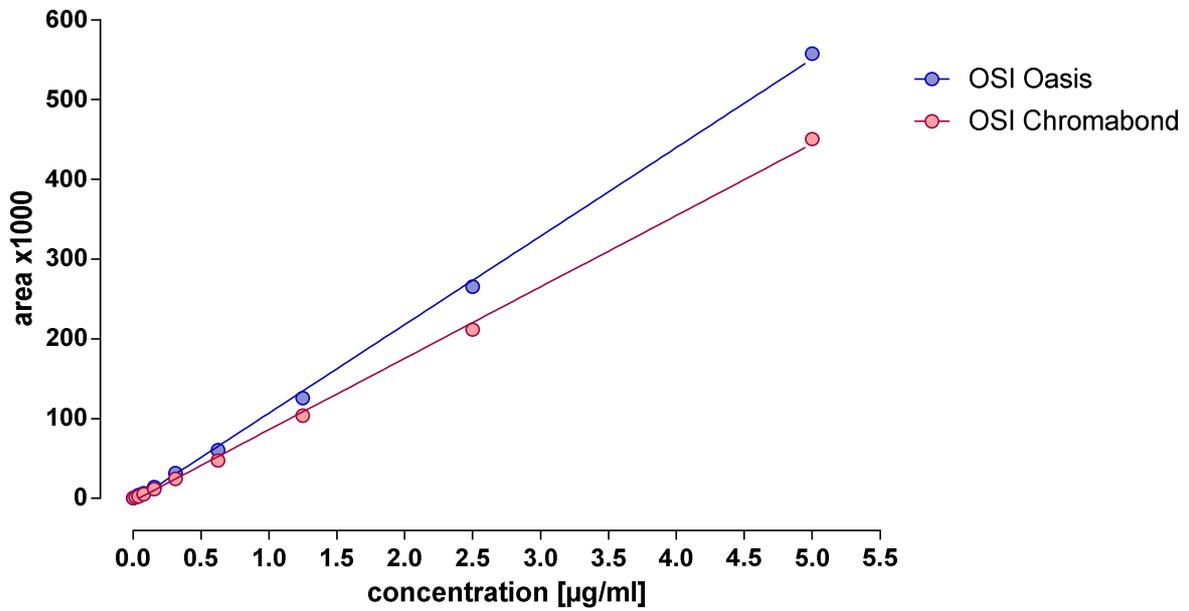


Abb. 10: Eichgeraden von OSI-420: HPLC LaChrom MERCK-HITACHI

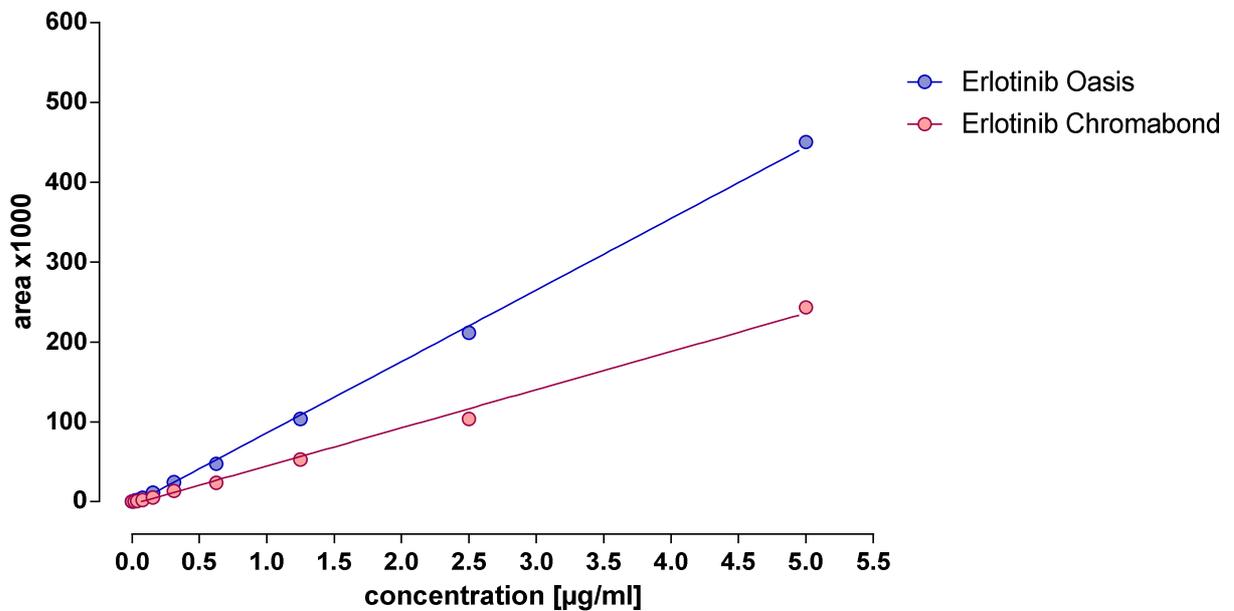


Abb. 11: Eichgeraden von Erlotinib: HPLC LaChrom MERCK-HITACHI

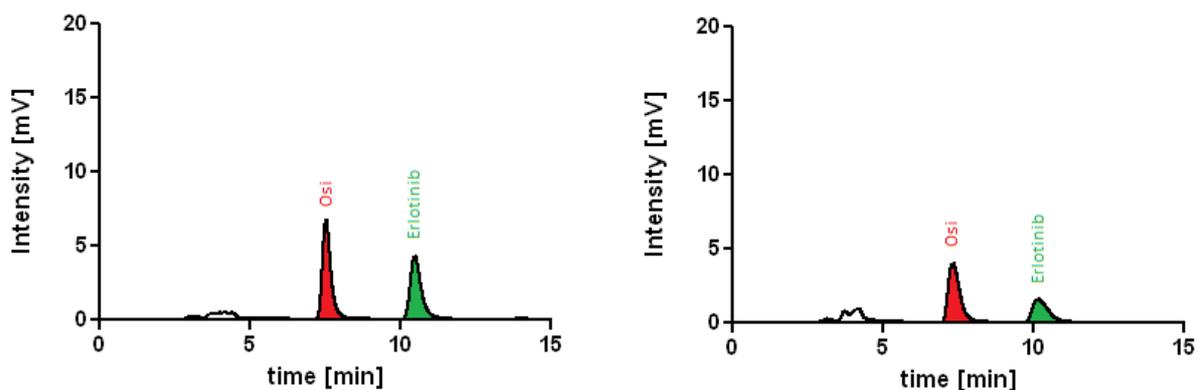


Abb. 12: Verwendung von Oasis-Kartuschen (links) und Chromabond-Kartuschen (rechts)

Tabelle 16: Statistische Parameter der Eichgerade für das HPLC-System LaChrom MERCK-HITACHI

	OSI-420 Oasis	Erlotinib Oasis	OSI-420 Chromabond	Erlotinib Chromabond
Best-fit values				
Slope	111.0 ± 1.187	89.63 ± 1.018	89.67 ± 0.8718	47.54 ± 1.473
Y-intercept when X=0.0	-4.251 ± 2.168	-3.739 ± 1.858	-3.875 ± 1.592	-3.436 ± 2.689
X-intercept when Y=0.0	0.03829	0.04171	0.04322	0.07229
95% Confidence Intervals				
Slope	108.3 to 113.8	87.29 to 91.98	87.66 to 91.68	44.14 to 50.93
Y-intercept when X=0.0	-9.250 to 0.7474	-8.023 to 0.5457	-7.546 to -0.2048	-9.638 to 2.766
X-intercept when Y=0.0	-0.006823 to 0.08223	-0.006176 to 0.08828	0.002313 to 0.08316	-0.06059 to 0.1957
Goodness of Fit				
r ²	0.9991	0.999	0.9992	0.9924
Data				
Number of X values	10	10	10	10

Es wurden jeweils 2 ml der neun Verdünnungen der Eichgerade hergestellt und die Festphasenextraktion wurde mit den zwei verschiedenen Kartuschen durchgeführt. Hierbei konnte beobachtet werden, dass die Oasis-Kartuschen besser für die Substanz Erlotinib und dessen Metaboliten OSI-420 geeignet sind. Dies zeigen einerseits die Diagramme der Eichgeraden (Abb. 11 und 12) sowie der Vergleich der Chromatogramme (Abb. 13). Die Chromatogramme zeigen jeweils die Peaks der Substanzen Erlotinib und OSI-420 bei der Konzentration von 1,25 µg/ml. Die Peaks der Chromatogramme bei denen Chromabond-Kartuschen verwendet wurden, sind signifikant kleiner und somit weniger geeignet für die Substanzen. Im weiteren Verlauf der praktischen Arbeit wurde somit die Festphasenextraktion immer mit den Oasis-Kartuschen durchgeführt.

4.2. Patientenproben

4.2.1. Tagesablauf

Die folgenden Chromatogramme veranschaulichen den Therapieverlauf des Zyklus 1 eines Patienten (Patient 13) aus der zu bearbeitenden Studie.

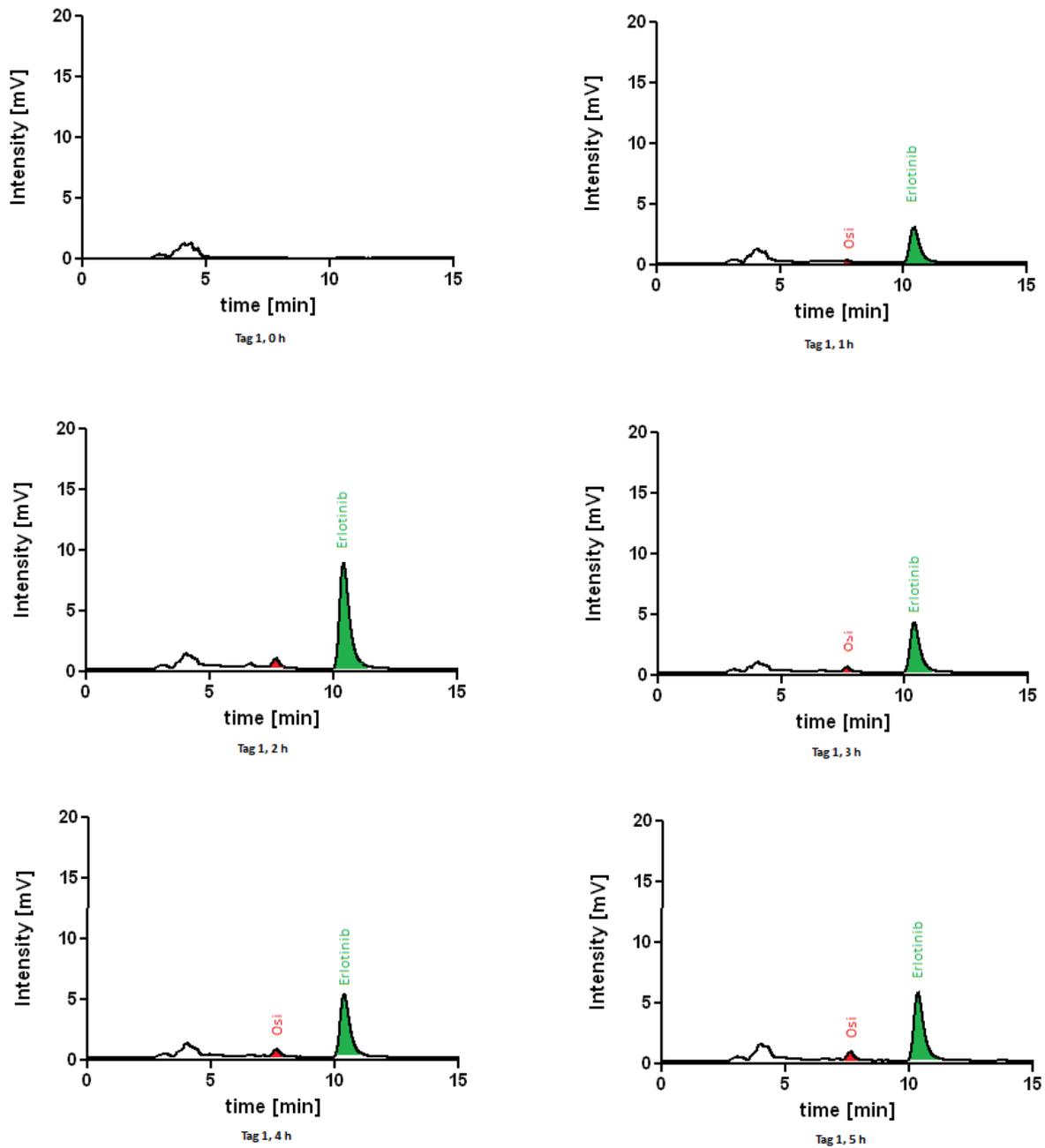


Abb. 13: Verlauf von Erlotinib und OSI-420: Tag 1

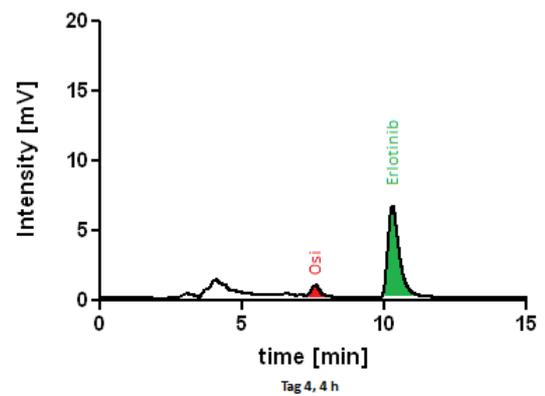
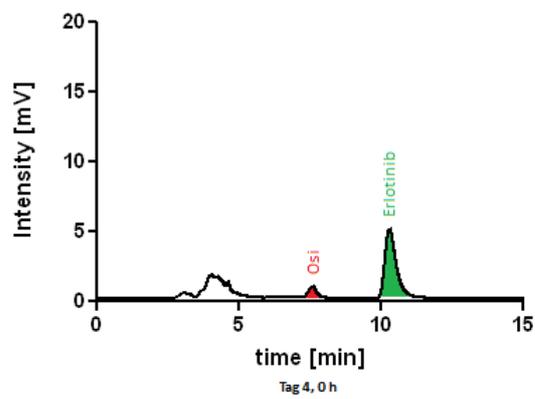
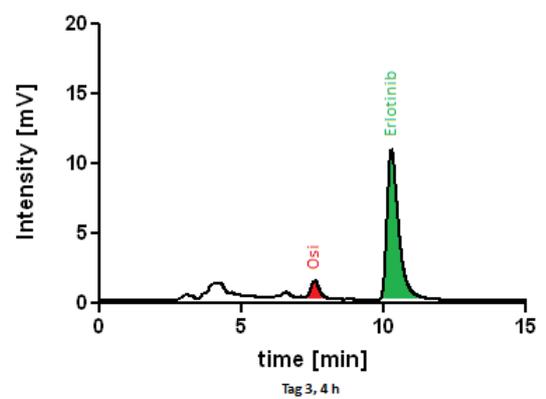
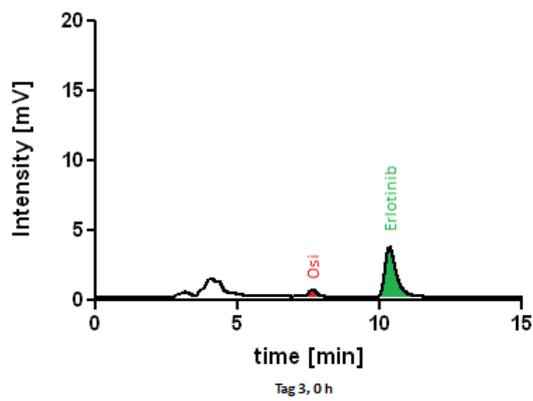
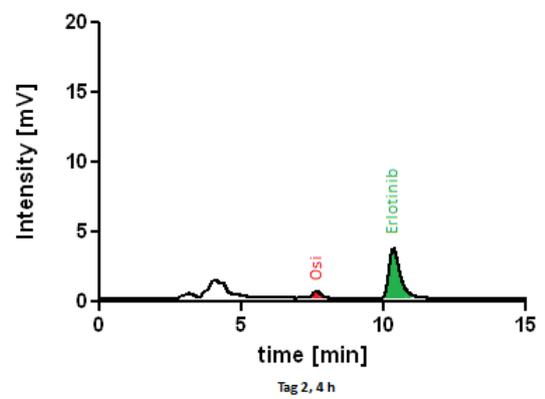
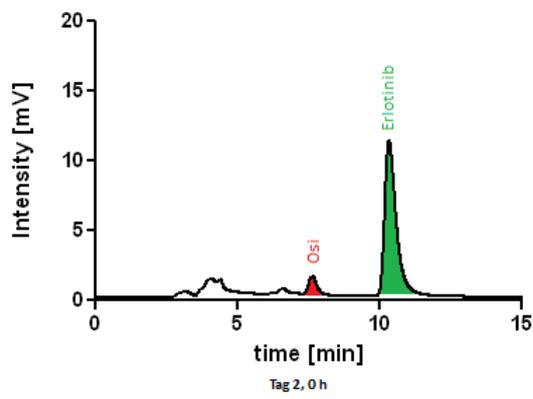
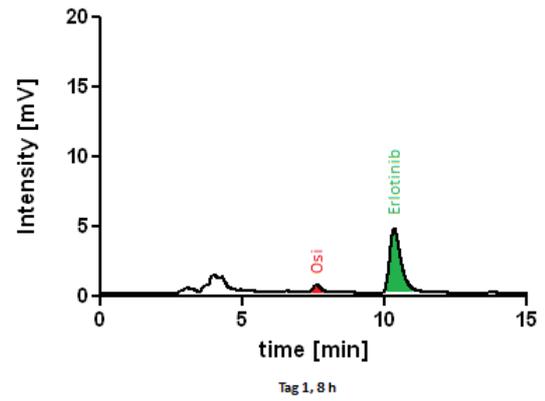
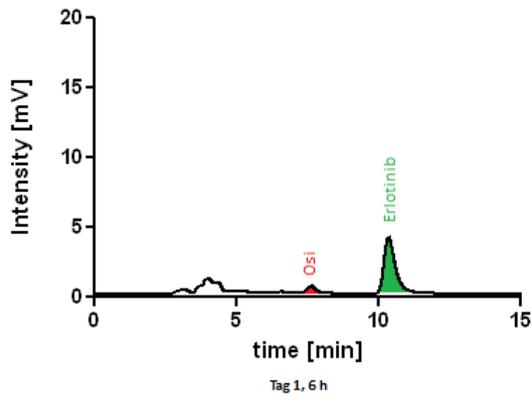


Abb. 14: Verlauf von Erlotinib und OSI-420: Fortsetzung Tag 1, Tage 2-4

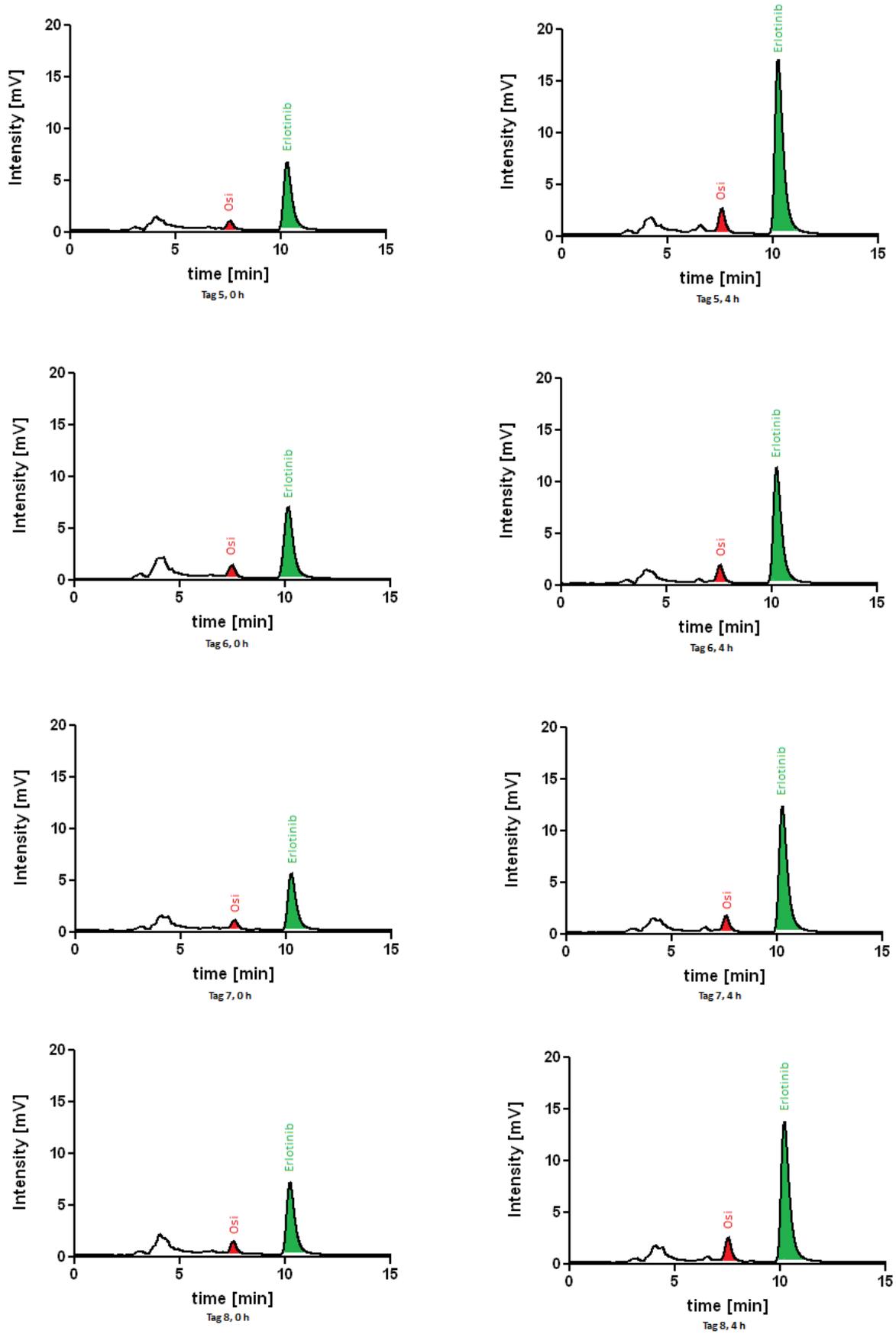


Abb. 15: Verlauf von Erlotinib und OSI-420: Tage 5-8

4.2.2. Patientenproben aus den Dose-Levels 3, 7 und 8

Tabelle 17: Patient 1: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	240,238	10,684	0,645	0,025
2	547,655	30,606	1,471	0,072
3	498,308	26,557	1,338	0,063
4	391,914	23,670	1,053	0,056
5	427,504	21,879	1,148	0,051
6	435,661	22,916	1,170	0,054
8	321,930	16,129	0,865	0,038
24	171,901	8,444	0,462	0,020
28	402,778	17,911	1,082	0,042
48	188,170	7,180	0,505	0,017
52	426,715	20,965	1,146	0,049
72	213,537	8,816	0,574	0,021
76	427,507	19,780	1,148	0,047
96	229,713	10,869	0,617	0,026
100	324,680	12,928	0,872	0,030
120	301,239	14,761	0,809	0,035
124	615,438	26,456	1,653	0,062
144	372,590	17,266	1,001	0,041
148	684,113	33,979	1,838	0,080
168	425,658	20,992	1,143	0,049
172	667,658	36,344	1,793	0,086

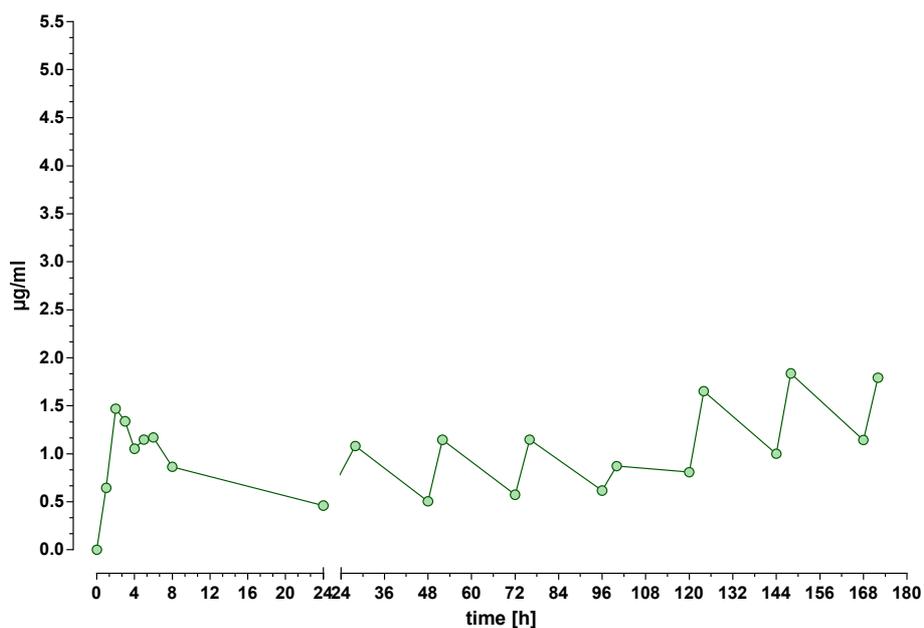


Abb. 16: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

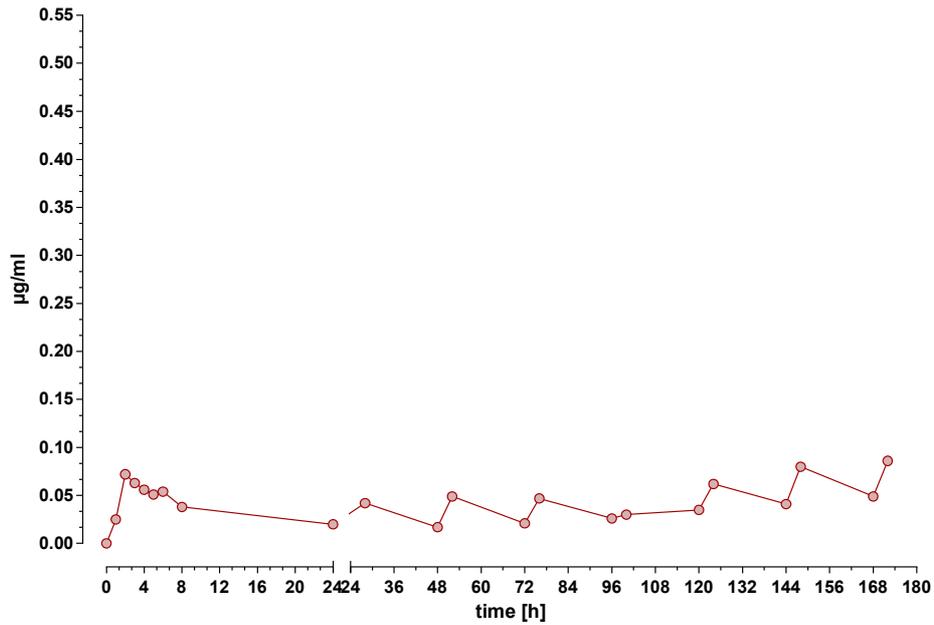


Abb. 17: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 18: Patient 2: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	13,668	0,234	0,037	0,001
2	34,364	0,449	0,092	0,001
3	134,56	5,336	0,361	0,013
4	149,126	9,603	0,401	0,023
5	159,82	10,991	0,429	0,026
6	181,836	11,468	0,488	0,027
8	159,987	12,800	0,430	0,030
24	108,85	9,936	0,292	0,023
28	386,083	38,284	1,037	0,090
48	185,104	20,258	0,497	0,048
52	463,413	57,272	1,245	0,135
72	232,097	27,427	0,623	0,065
76	507,757	52,524	1,364	0,124
96	223,626	24,725	0,601	0,058
100	428,251	44,217	1,150	0,104
120	237,572	26,137	0,638	0,062
124	453,433	45,646	1,218	0,107
144	295,646	29,622	0,794	0,070
148	691,661	69,009	1,858	0,162
168	297,74	30,634	0,800	0,072
172	547,435	51,217	1,470	0,121

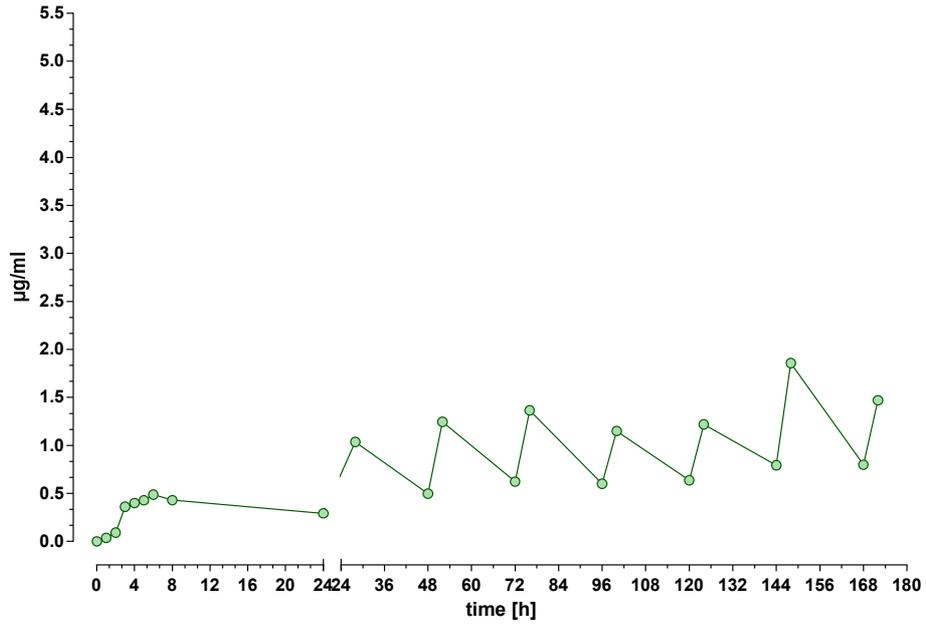


Abb. 18: Patient 2: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

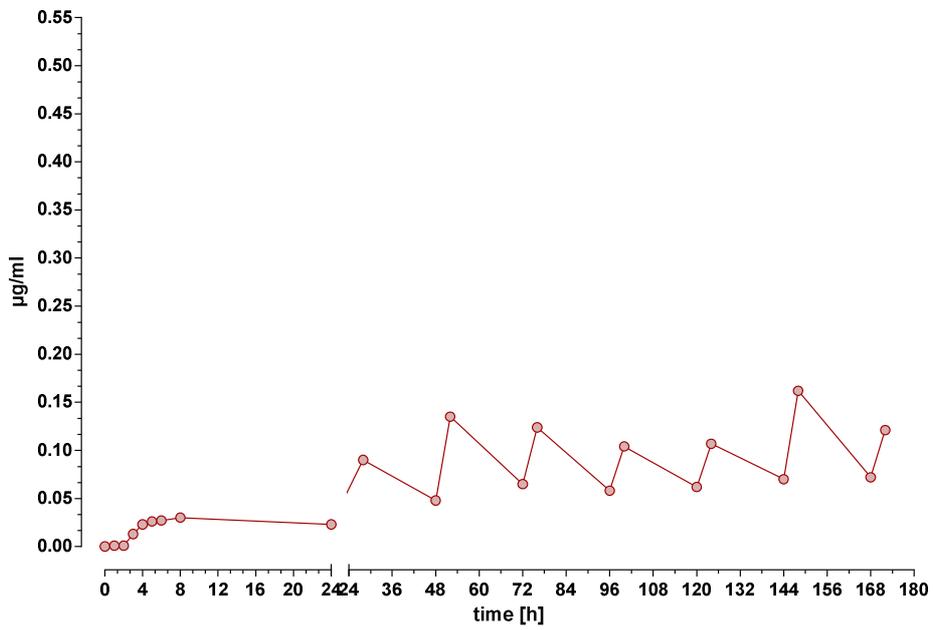


Abb. 19: Patient 2: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 19: Patient 3: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	16,692	0,279	0,045	0,001
2	105,218	10,270	0,283	0,024
3	164,433	20,587	0,442	0,048
4	192,801	25,319	0,518	0,060
5	336,616	44,466	0,904	0,105
6	360,727	46,918	0,969	0,110
8	255,960	41,768	0,688	0,098
24	15,557	1,914	0,042	0,005
28	179,387	29,417	0,482	0,069
48	5,247	0,000	0,014	0,000
52	294,194	54,405	0,790	0,128
72	16,127	3,450	0,043	0,008
76	251,860	40,630	0,676	0,096
96	45,436	8,783	0,122	0,021
100	313,505	26,641	0,842	0,063
120	243,988	43,236	0,655	0,102
124	841,505	79,572	2,260	0,187
144	196,044	38,264	0,527	0,090
148	1283,764	208,366	3,448	0,490
168	239,120	47,143	0,642	0,111
172	1384,376	167,989	3,718	0,395

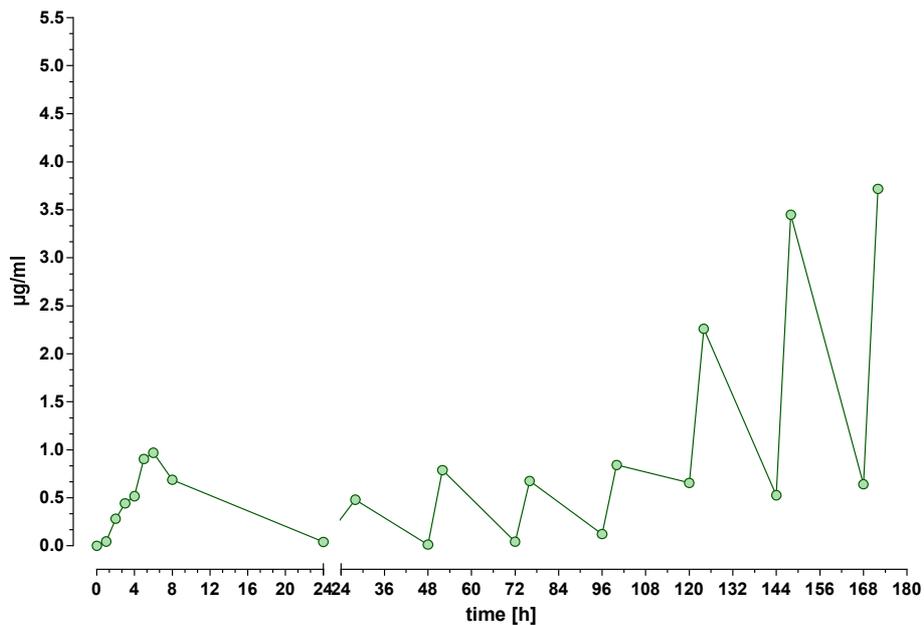


Abb. 20: Patient 3: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

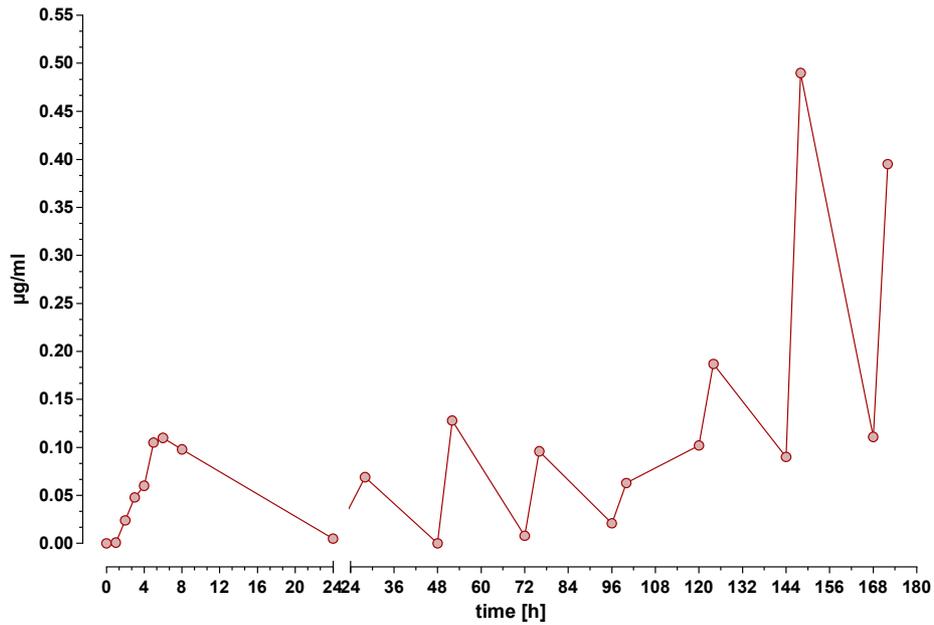


Abb. 21: Patient 3: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 20: Patient 4: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	234,193	15,747	0,628	0,037
2	235,658	13,229	0,632	0,031
3	162,213	10,940	0,435	0,026
4	180,236	10,688	0,483	0,025
5	164,387	8,804	0,441	0,021
6	160,543	10,598	0,431	0,025
8	162,437	8,577	0,436	0,020
24	95,466	4,996	0,256	0,012
28	229,180	11,262	0,615	0,027
48	190,540	9,185	0,511	0,022
52	329,331	18,372	0,883	0,043
72	204,373	10,752	0,548	0,025
76	463,684	31,977	1,243	0,075
96	228,734	12,922	0,613	0,030
100	477,987	35,614	1,282	0,084
120	185,487	9,105	0,497	0,021
124	463,150	27,361	1,242	0,064
144	200,054	9,698	0,536	0,023
148	420,775	26,722	1,128	0,063
168	122,195	6,211	0,328	0,015
172	472,604	30,389	1,267	0,072

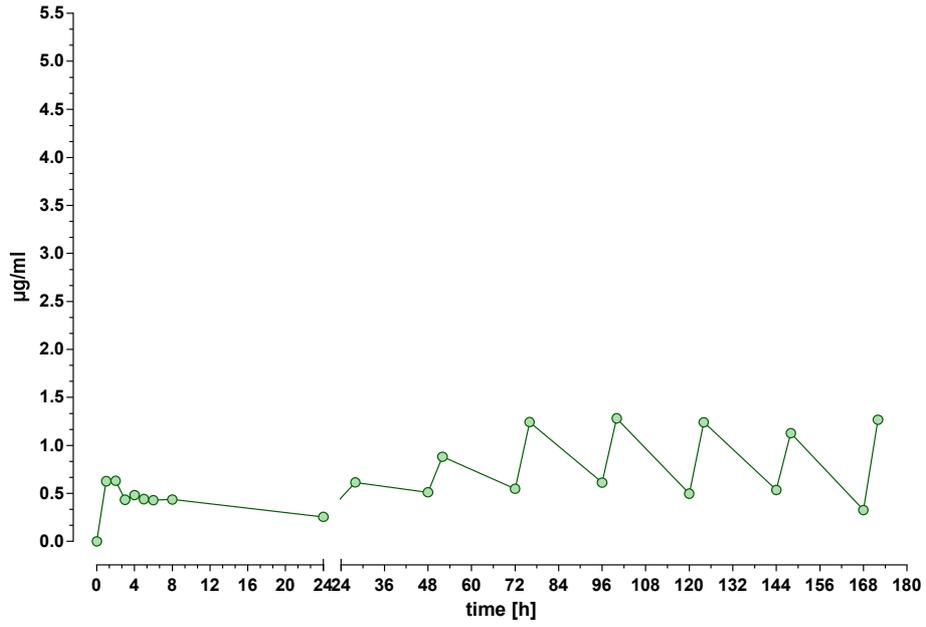


Abb. 22: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

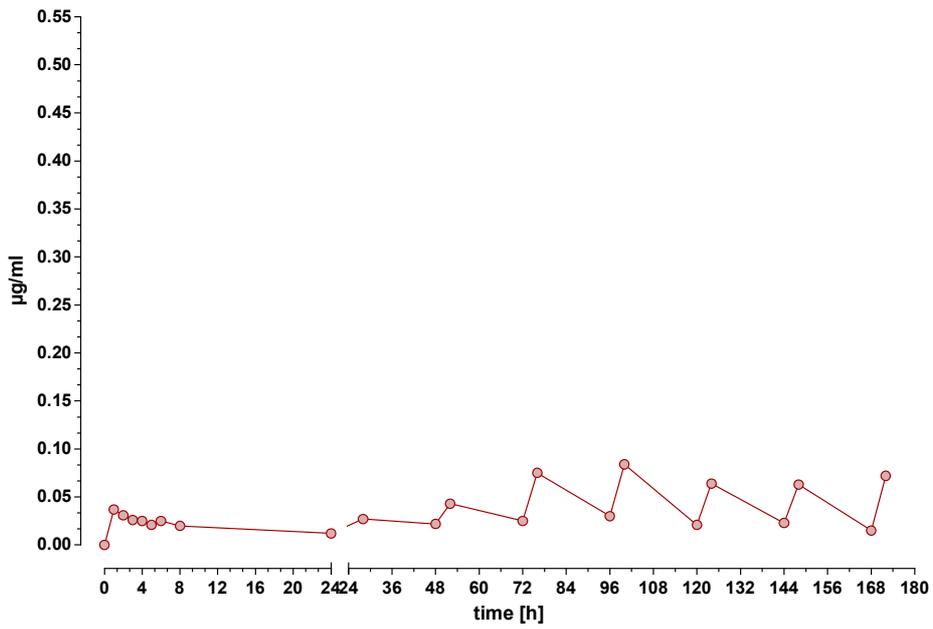


Abb. 23: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 21: Patient 5: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	166,530	7,739	0,447	0,018
2	314,272	23,509	0,844	0,055
3	295,821	25,302	0,795	0,060
4	337,729	28,689	0,907	0,068
5	311,420	28,358	0,836	0,067
6	319,785	32,156	0,859	0,076
8	0,000	0,000	0,000	0,000
24	90,998	8,481	0,244	0,020
28	321,868	25,894	0,865	0,061
48	157,586	14,202	0,423	0,033
52	527,697	50,809	1,417	0,120
72	252,328	24,178	0,678	0,057
76	513,858	45,308	1,380	0,107
96	397,434	43,232	1,068	0,102
100	683,518	72,348	1,836	0,170
120	334,673	39,649	0,899	0,093
124	653,020	70,977	1,754	0,167
144	343,882	41,145	0,924	0,097
148	460,398	45,755	1,237	0,108
168	292,901	35,024	0,787	0,082
172	516,679	53,593	1,388	0,126

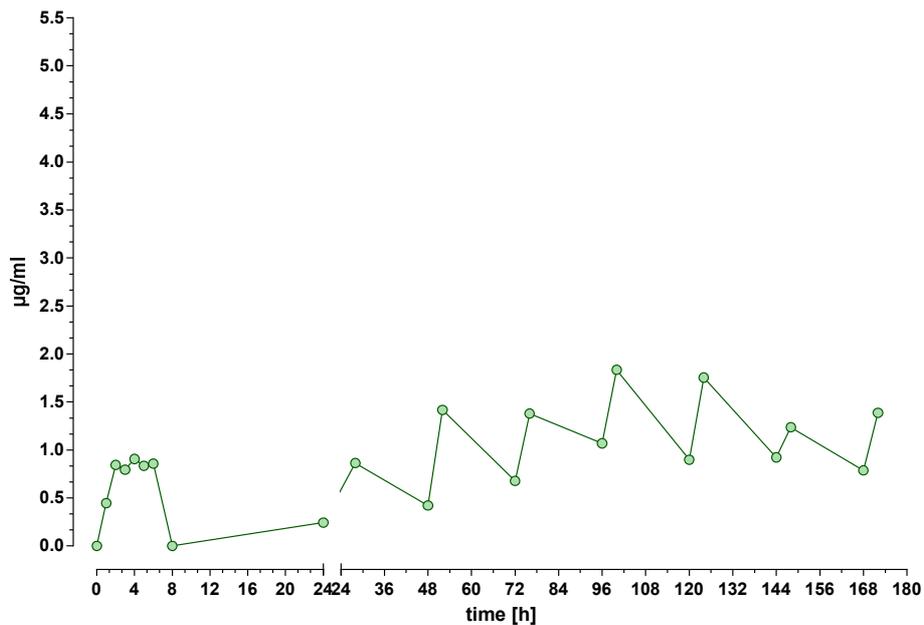


Abb. 24: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

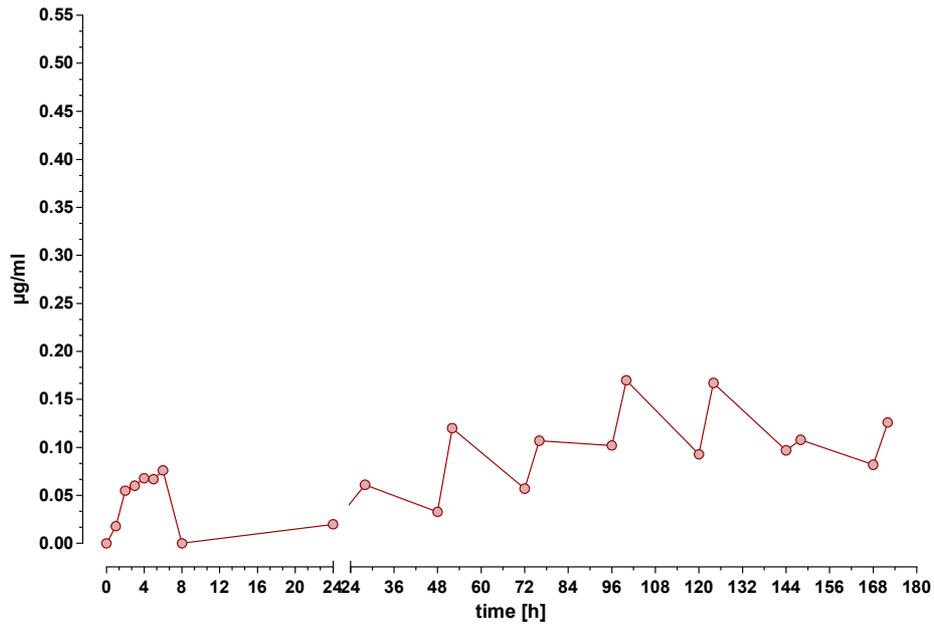


Abb. 25: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 22: Patient 6: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	134,904	8,409	0,362	0,020
2	137,562	10,019	0,369	0,024
3	73,764	6,868	0,198	0,016
4	86,228	6,720	0,232	0,016
5	85,630	7,506	0,230	0,018
6	100,564	8,637	0,270	0,020
8	98,210	9,081	0,264	0,021
24	43,029	4,985	0,116	0,012
28	158,901	15,870	0,427	0,037
48	123,112	8,006	0,331	0,019
52	240,721	21,009	0,647	0,049
72	132,167	12,686	0,355	0,030
76	266,338	27,267	0,715	0,064
96	215,878	20,083	0,580	0,047
100	359,764	37,650	0,966	0,089
120	239,069	25,612	0,642	0,060
124	375,501	47,369	1,009	0,111
144	282,718	33,274	0,759	0,078
148	440,968	51,358	1,184	0,121
168	341,189	49,733	0,916	0,117
172	715,204	99,087	1,921	0,233

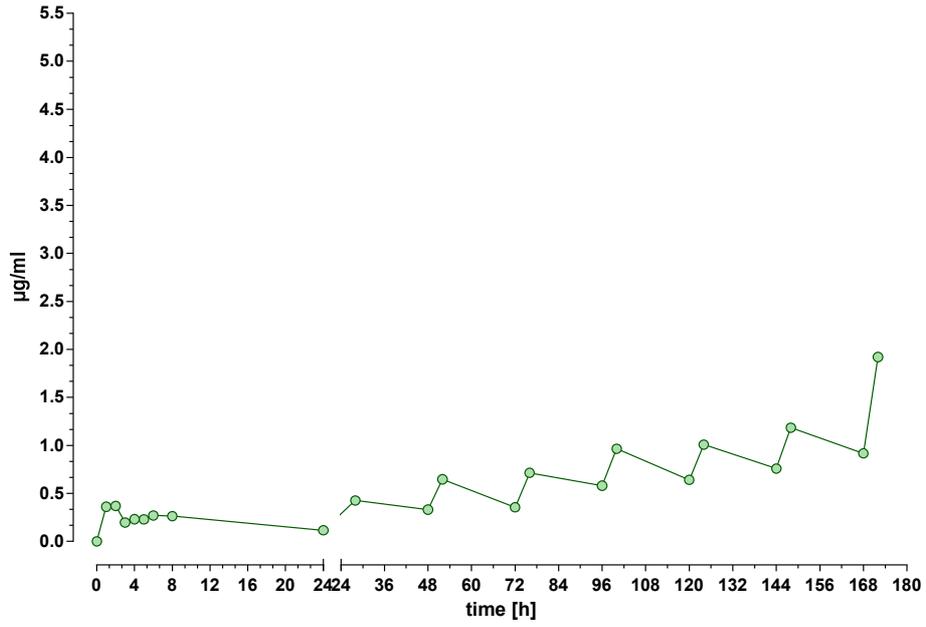


Abb. 26: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

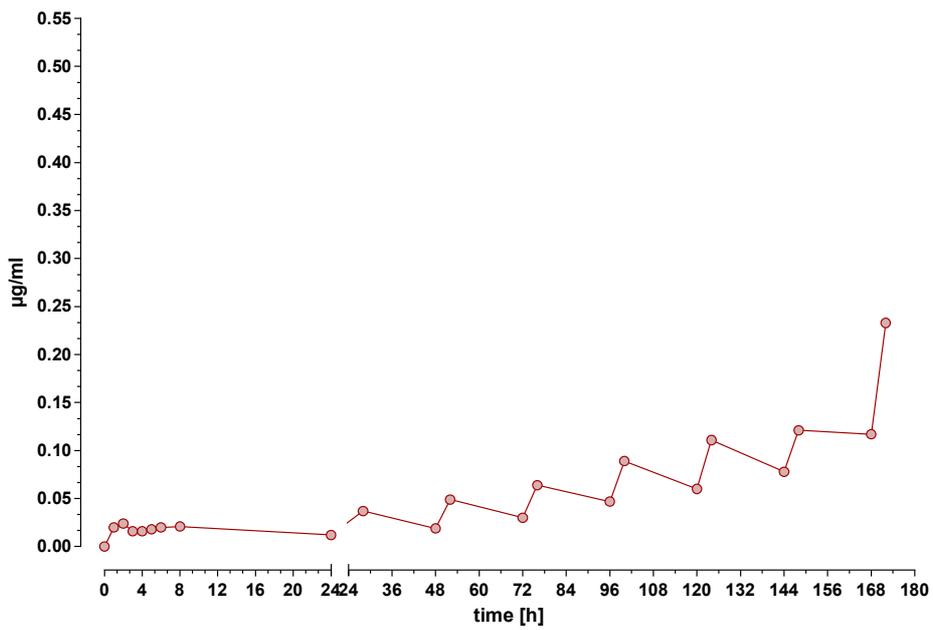


Abb. 27: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 23: Patient 7: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	194,872	5,854	0,523	0,014
2	161,358	6,913	0,433	0,016
3	130,872	3,790	0,352	0,009
4	107,718	4,118	0,289	0,010
5	101,069	5,196	0,271	0,012
6	104,748	5,762	0,281	0,014
8	92,804	1,124	0,249	0,003
24	41,446	0,502	0,111	0,001
28	264,926	13,948	0,712	0,033
48	99,321	2,380	0,267	0,006
52	247,078	9,045	0,664	0,021
72	134,386	2,133	0,361	0,005
76	175,420	7,182	0,471	0,017
96	113,793	2,087	0,306	0,005
100	407,928	27,391	1,096	0,064
120	162,648	6,002	0,437	0,014
124	400,569	24,277	1,076	0,057
144	214,885	7,370	0,577	0,017
148	381,490	15,751	1,025	0,037
168	125,859	3,693	0,338	0,009
172	212,078	7,830	0,570	0,018

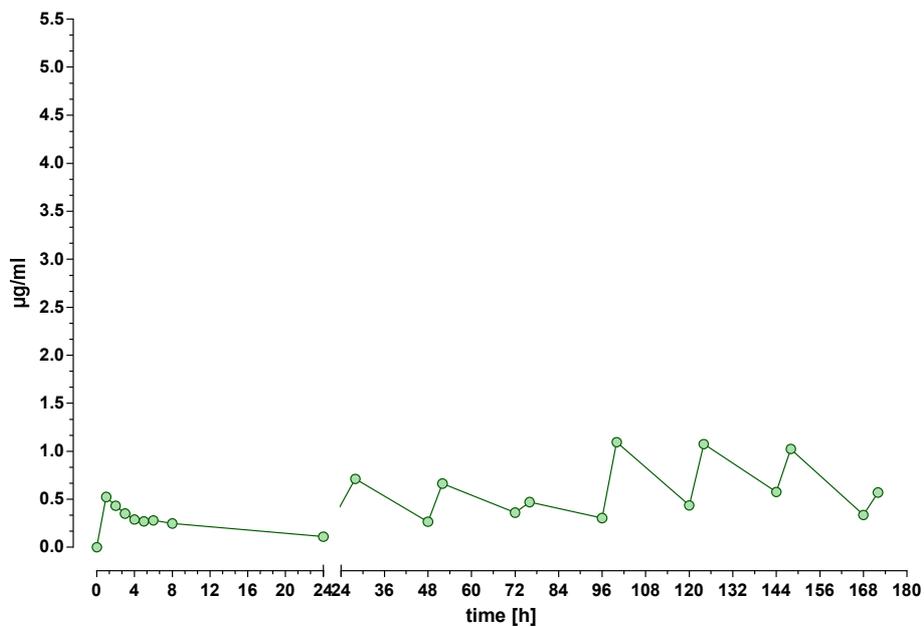


Abb. 28: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

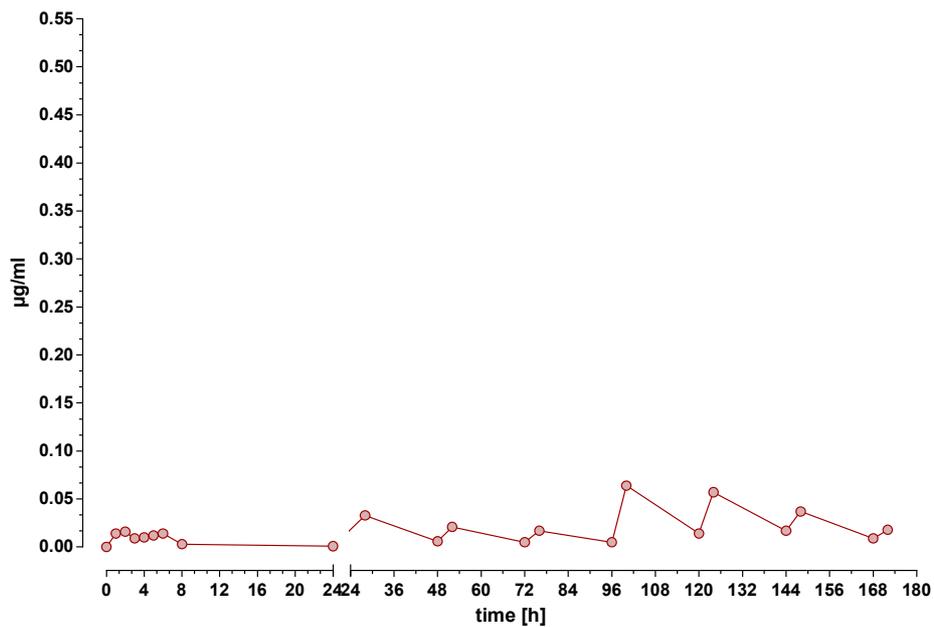


Abb. 29: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 24: Patient 8: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	39,814	2,709	0,107	0,006
2	92,320	6,493	0,248	0,015
3	100,882	4,405	0,271	0,010
4	103,753	6,263	0,279	0,015
5	116,429	7,460	0,313	0,018
6	149,010	10,430	0,400	0,025
8	114,881	8,840	0,309	0,021
24	91,719	5,136	0,246	0,012
28	563,202	53,854	1,513	0,127
48	285,715	32,479	0,767	0,076
52	371,607	39,425	0,998	0,093
72	243,610	22,354	0,654	0,053
76	563,738	50,025	1,514	0,118
96	290,838	33,186	0,781	0,078
100	674,488	64,570	1,812	0,152
120	406,002	55,532	1,091	0,131
124	334,450	41,963	0,898	0,099
144	125,181	12,873	0,336	0,030
148	516,388	39,073	1,387	0,092
168	283,843	35,108	0,762	0,083
172	802,114	102,947	2,154	0,242

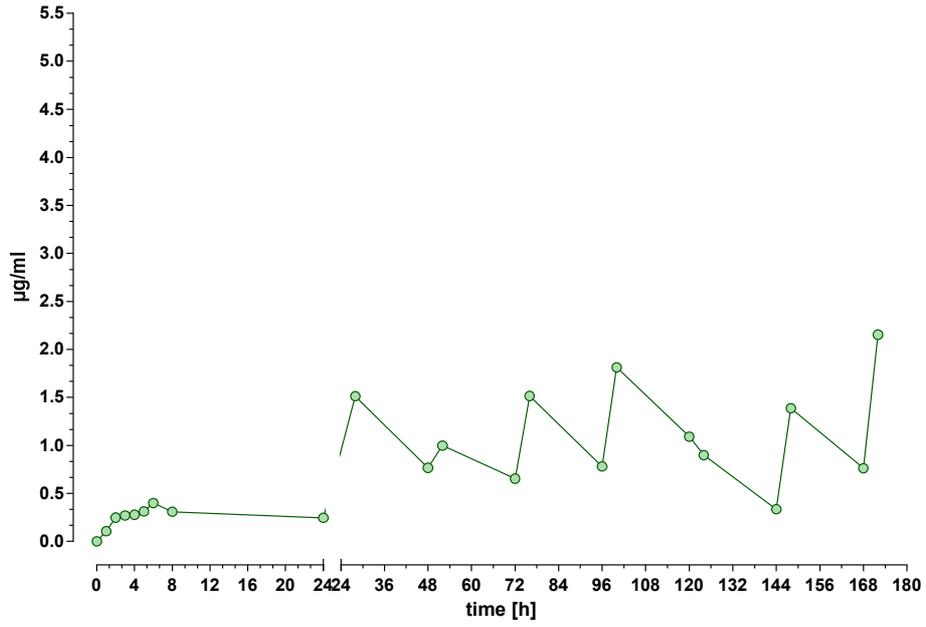


Abb. 30: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

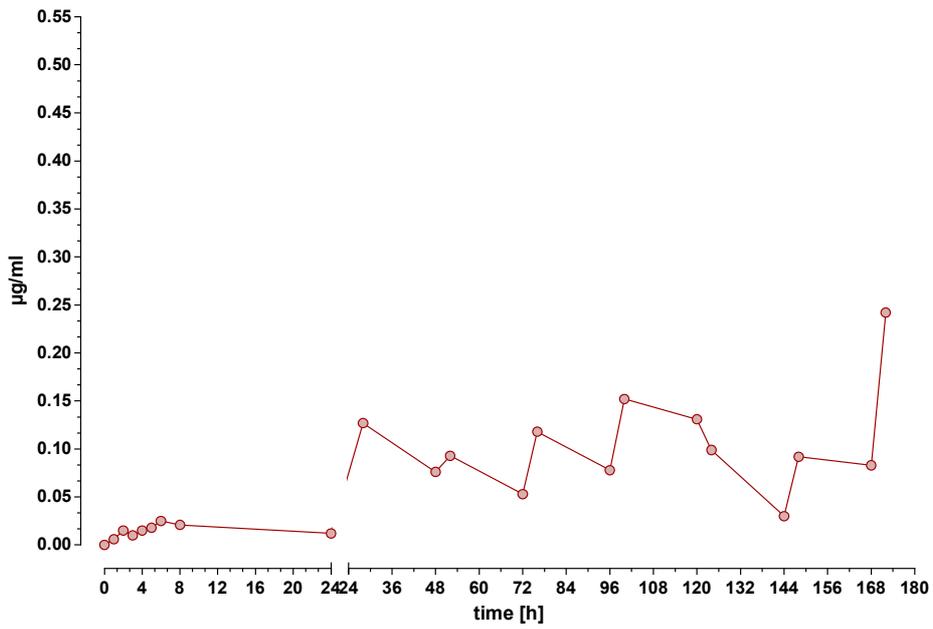


Abb. 31: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 25: Patient 9: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	0,000	0,000	0,000	0,000
2	142,950	3,457	0,384	0,008
3	231,491	7,257	0,622	0,017
4	261,308	11,244	0,702	0,026
5	233,452	11,661	0,627	0,027
6	222,752	16,054	0,598	0,038
8	189,834	11,514	0,510	0,027
24	83,289	4,000	0,224	0,009
28	75,218	4,769	0,202	0,011
48	331,375	29,205	0,890	0,069
52	535,820	37,736	1,439	0,089
72	314,005	25,637	0,843	0,060
76	612,017	55,049	1,644	0,130
96	211,980	18,410	0,569	0,043
100	455,653	25,972	1,224	0,061
120	223,916	18,283	0,601	0,043
124	268,072	15,098	0,720	0,036
144	446,585	30,291	1,200	0,071
148	642,472	33,571	1,726	0,079
168	497,287	34,399	1,336	0,081
172	626,533	37,909	1,683	0,089

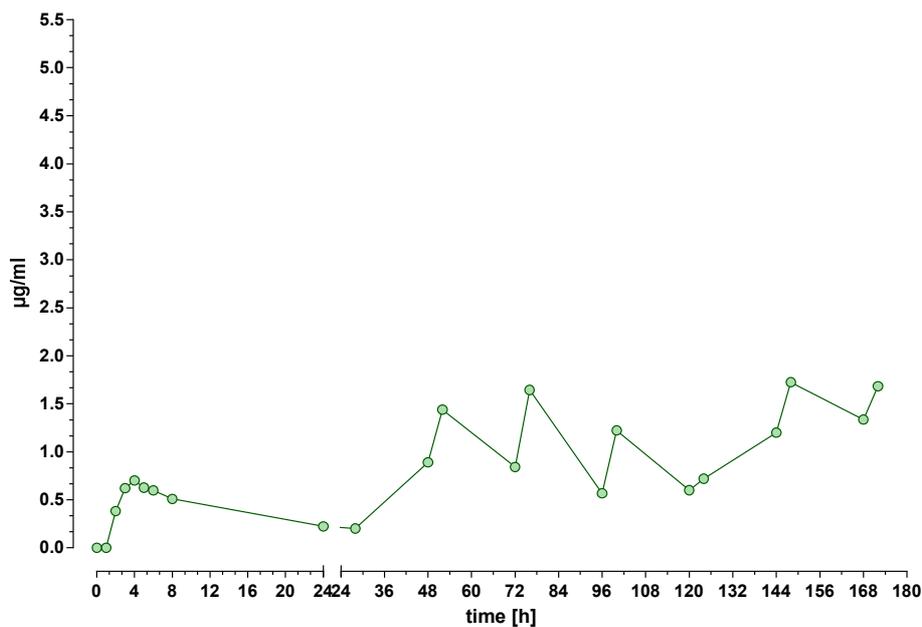


Abb. 32: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

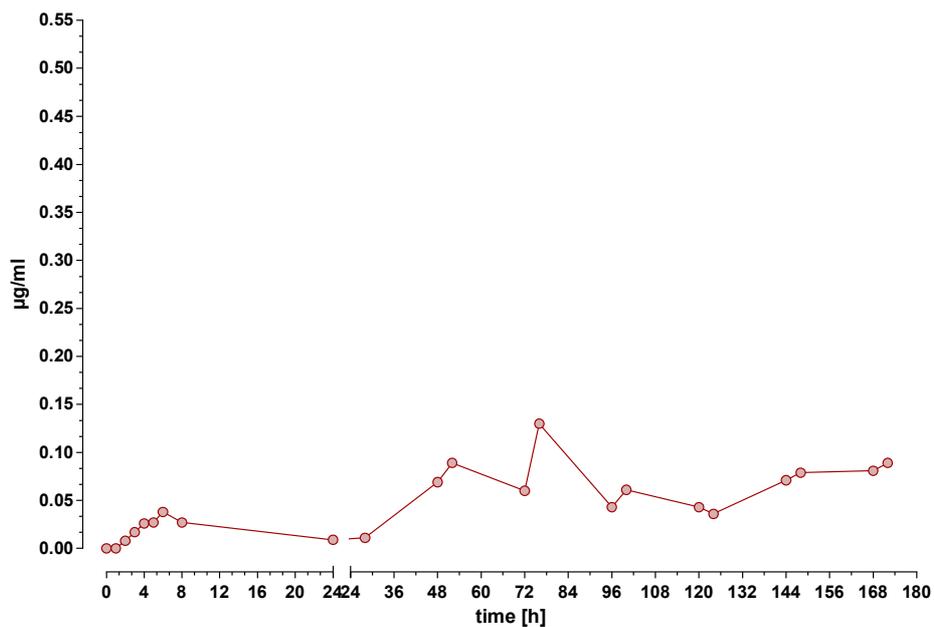


Abb. 33: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 26: Patient 10: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	96,831	1,273	0,260	0,003
2	218,521	6,327	0,587	0,015
3	246,220	11,066	0,661	0,026
4	274,990	13,828	0,739	0,033
5	289,044	13,774	0,776	0,032
6	268,099	16,455	0,720	0,039
8	236,031	12,706	0,634	0,030
24	106,094	3,820	0,285	0,009
28	522,107	33,668	1,402	0,079
48	247,200	10,264	0,664	0,024
52	838,634	55,479	2,253	0,131
72	218,240	10,285	0,586	0,024
76	451,323	35,435	1,212	0,083
96	96,211	5,005	0,258	0,012
100	202,368	13,038	0,544	0,031
120	169,460	8,324	0,455	0,020
124	306,580	19,783	0,823	0,047
144	104,286	8,848	0,280	0,021
148	399,010	22,362	1,072	0,053
168	118,273	4,205	0,318	0,010
172	536,015	35,977	1,440	0,085

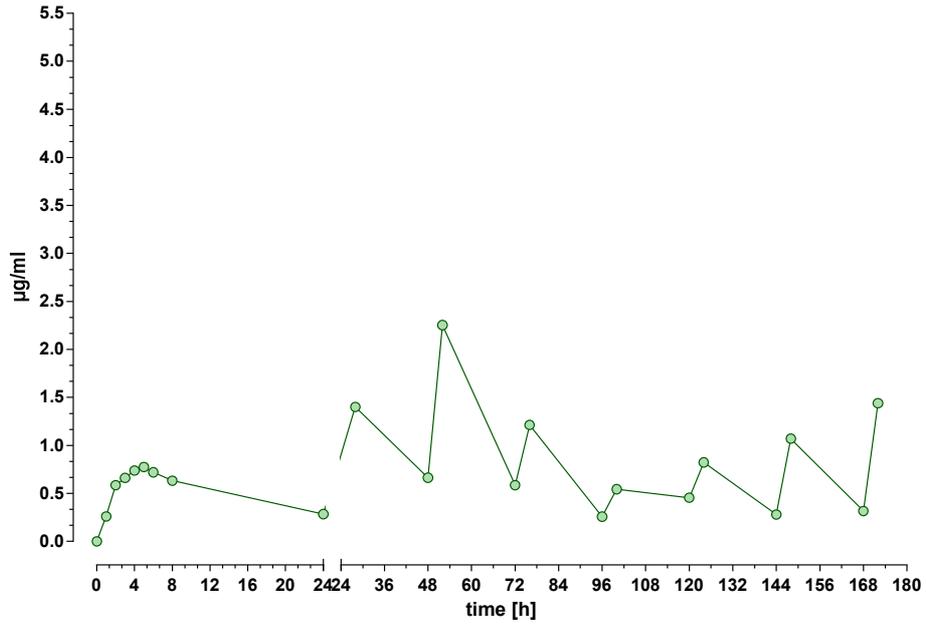


Abb. 34: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

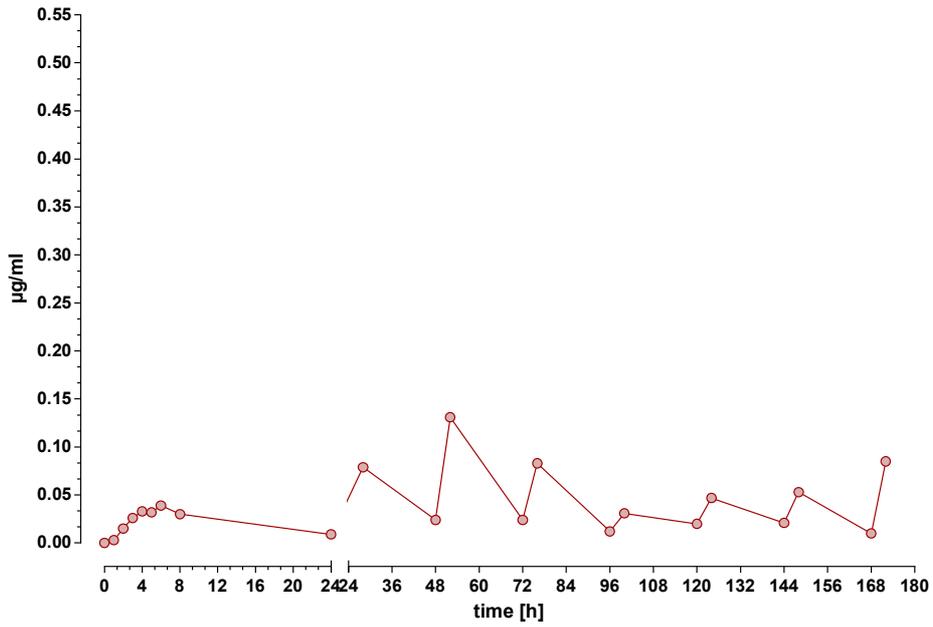


Abb. 35: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 27: Patient 11: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	363,493	35,646	0,976	0,084
2	497,886	44,285	1,337	0,104
3	427,722	45,767	1,149	0,108
4	407,607	45,822	1,095	0,108
5	377,376	40,940	1,014	0,096
6	361,444	36,552	0,971	0,086
8	325,963	31,996	0,876	0,075
24	100,774	11,898	0,271	0,028
28	535,856	60,832	1,439	0,143
48	123,902	13,508	0,333	0,032
52	596,780	68,891	1,603	0,162
72	146,272	14,004	0,393	0,033
76	768,523	83,812	2,064	0,197
96	193,825	19,420	0,521	0,046
100	912,683	107,111	2,451	0,252
120	246,664	30,663	0,663	0,072
124	418,020	44,541	1,123	0,105
144	346,041	42,082	0,929	0,099
148	1185,667	139,944	3,185	0,329
168	370,645	47,684	0,996	0,112
172	547,682	59,668	1,471	0,140

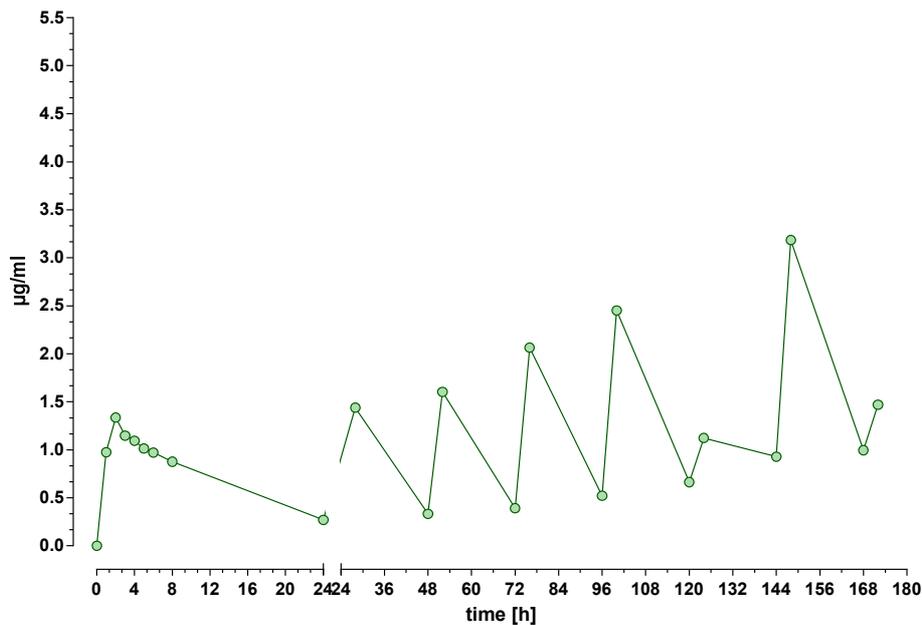


Abb. 36: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

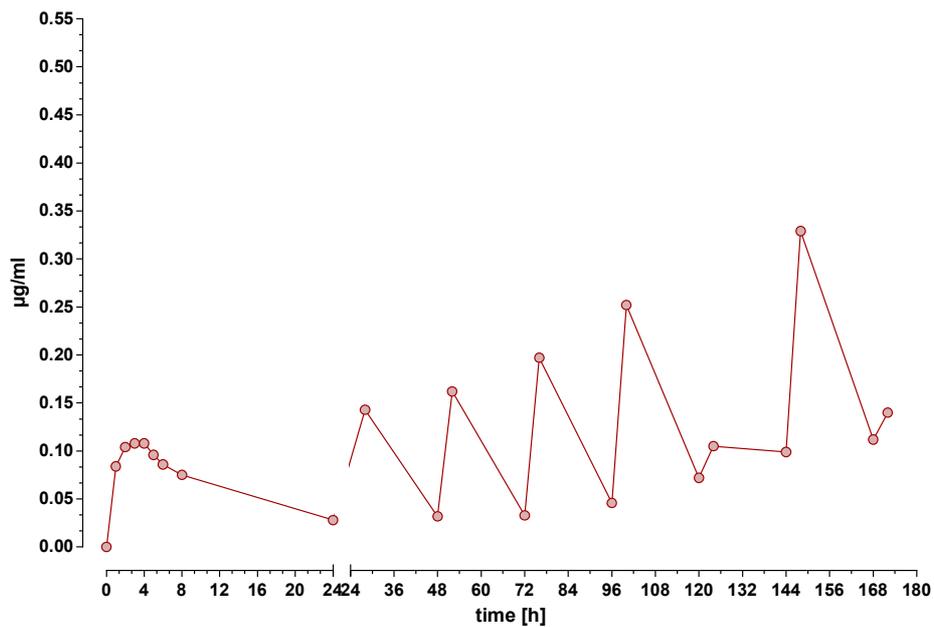


Abb. 37: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 28: Patient 12: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	45,437	1,809	0,122	0,004
2	268,613	18,837	0,721	0,044
3	474,778	39,484	1,275	0,093
4	440,595	40,261	1,183	0,095
5	392,391	40,003	1,054	0,094
6	381,416	36,732	1,024	0,086
8	357,709	33,461	0,961	0,079
24	247,384	24,603	0,664	0,058
28	587,541	52,648	1,578	0,124
48	366,207	33,267	0,984	0,078
52	1252,440	101,710	3,364	0,239
72	616,462	73,826	1,656	0,174
76	1147,528	121,566	3,082	0,286
96	826,708	93,280	2,221	0,220
100	1272,870	137,689	3,419	0,324
120	965,644	122,241	2,594	0,288
124	1758,874	181,260	4,724	0,427
144	990,952	135,953	2,662	0,320
148	1432,230	176,114	3,847	0,414
168	1005,221	149,248	2,700	0,351
172	1863,352	225,227	5,005	0,530

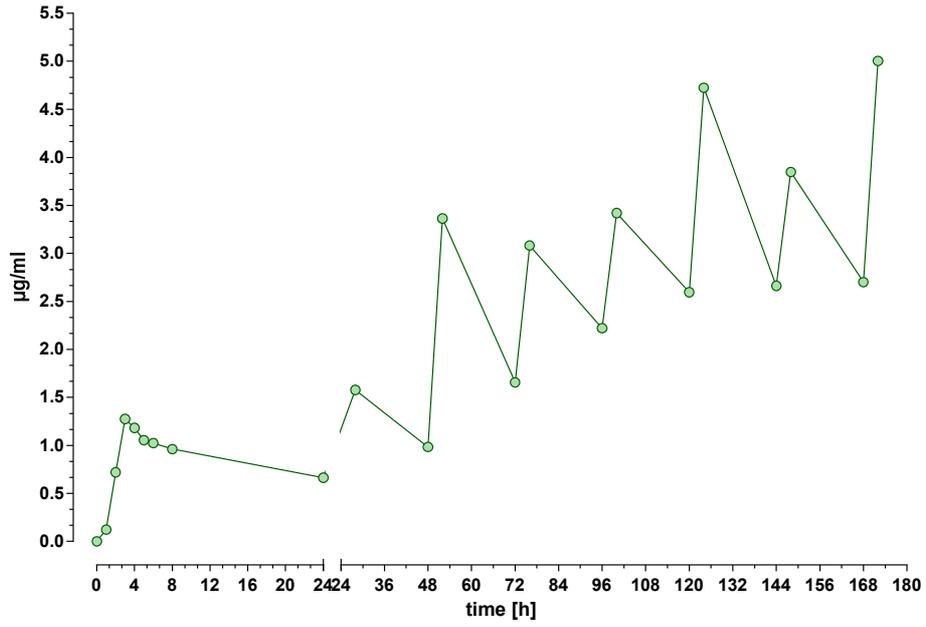


Abb. 38: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

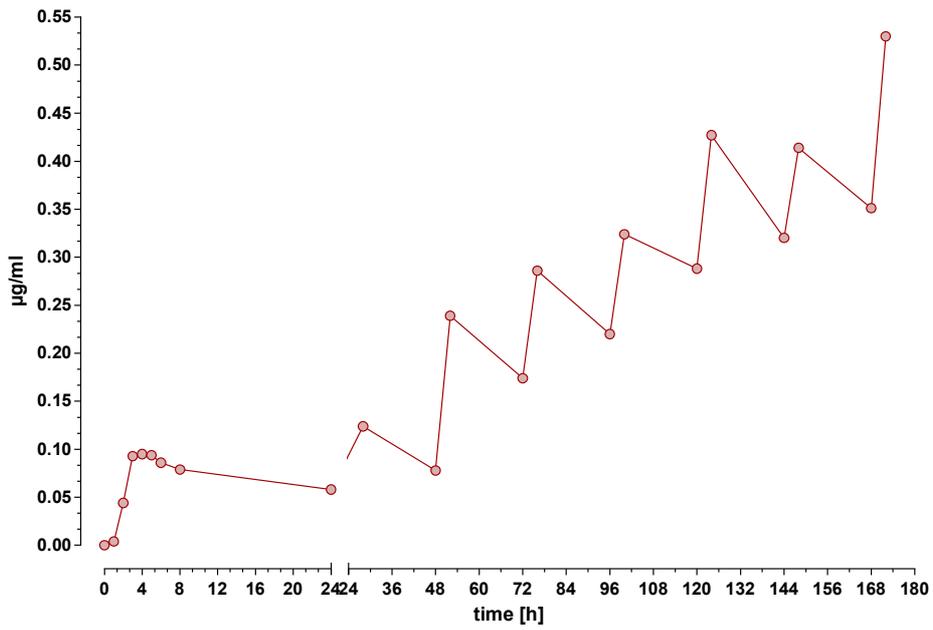


Abb. 39: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Tabelle 29: Patient 13: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420

time [h]	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	78,742	2,126	0,879	0,019
2	233,808	14,010	2,609	0,126
3	105,654	7,672	1,179	0,069
4	135,512	10,283	1,512	0,093
5	146,907	11,568	1,639	0,104
6	104,120	8,670	1,162	0,078
8	115,948	9,422	1,294	0,085
24	61,383	4,536	0,685	0,041
28	298,145	24,879	3,326	0,224
48	87,320	8,105	0,974	0,073
52	291,538	22,707	3,253	0,205
72	128,316	14,827	1,432	0,134
76	173,146	14,302	1,932	0,129
96	131,342	15,771	1,465	0,142
100	454,093	43,774	5,066	0,394
120	204,458	22,172	2,281	0,200
124	301,304	32,332	3,362	0,291
144	147,582	16,278	1,647	0,147
148	335,528	28,346	3,743	0,255
168	178,299	22,234	1,989	0,200
172	369,260	43,760	4,120	0,394

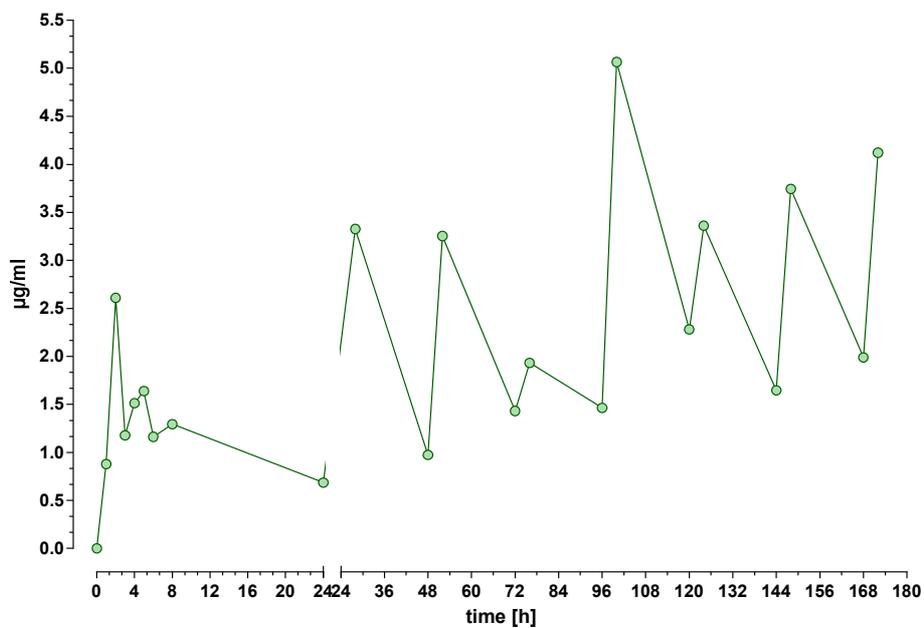


Abb. 40: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8

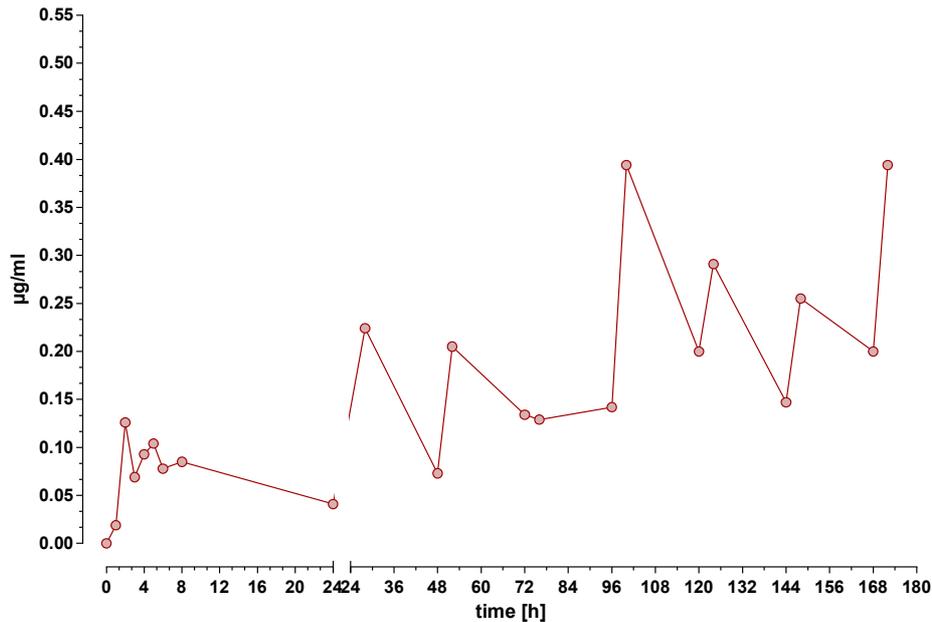


Abb. 41: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8

Die Area-Werte der Patienten 1 bis 11 wurden der Arbeit von Mag. Azra Sahmanovic-Hrgovic entnommen. [24]

Im Folgenden werden die Patientenproben einzeln besprochen.

Die Patienten 1, 4 und 6 erreichen am Tag 1 ihre maximalen Plasmakonzentrationen für die Substanz Erlotinib jeweils in Stunde 2.

Bei **Patient 1** beträgt das c_{\max} am Tag 1 1,471 µg/ml für Erlotinib und 0,072 µg/ml für den Metaboliten OSI-420. Die Erlotinib-Konzentration erreicht am Tag 7 (Stunde 148) den Maximalwert von 1,838 µg/ml, wohingegen bei OSI-420 erst am Tag 8 (Stunde 172) der Höchstwert von 0,086 µg/ml beobachtet wird. Es erfolgt jeweils ein kontinuierlicher Anstieg von Stunde 0 auf Stunde 4. Am Tag 5 (Stunde 100) beobachtet man jedoch einen niedrigen 4-Stunden-Wert, wobei an diesem Tag die Blutabnahme zum 0-Stundenwert verspätet nach Einnahme von Tarceva® durchgeführt wurde.

Der **Patient 4** zeigt am Tag 1 ein c_{\max} von 0,632 µg/ml für Erlotinib und am Tag 5 (Stunde 100) erreicht er den Maximalwert von 1,282 µg/ml. Der Maximalwert wird bei OSI-420 ebenso am Tag 5 erreicht mit einer Konzentration von 0,084 µg/ml und am Tag 1 zur Stunde 1 wird ein Wert von 0,037 µg/ml gemessen.

Am Tag 1 beobachtet man bei **Patient 6** Werte von 0,369 µg/ml für Erlotinib und

0,024 µg/ml für OSI-420. Der Maximalwert innerhalb der ersten acht Tage beträgt für Erlotinib 1,921 µg/ml und für OSI-420 0,233 µg/ml. Diese Werte werden in beiden Fällen erst am Tag 8 erreicht.

Ein t_{\max} von 6 Stunden beobachtet man bei den Patienten 2 und 3.

Patient 2 erreicht am Tag 1 den Maximalwert von 0,448 µg/ml und im Verlauf der acht Tage einen Höchstwert von 1,858 µg/ml für Erlotinib. Dieser Wert wird am sechsten Tag erreicht und beträgt bei OSI-420 0,162 µg/ml. Das c_{\max} von Tag 1 wird bei OSI-420 zur Stunde 8 mit einem Wert von 0,030 µg/ml gemessen. In den Tagen 5 und 6 sind leichte Erniedrigungen im Kurvenverlauf zu beobachten.

Der Maximalwert am Tag 1 liegt bei **Patient 3** für Erlotinib bei 0,969 µg/ml und für OSI-420 bei 0,110 µg/ml. Am Tag 8 (Stunde 172) wird der Höchstwert von 3,718 µg/ml für Erlotinib und am Tag 7 (Stunde 148) für OSI-420 bei 0,490 µg/ml erreicht. Dieser Patient weist die höchsten Plasmakonzentrationen des Dose-Levels 3 - innerhalb des Zyklus 1 - auf, wobei vor allem ab Tag 6 (Stunde 120) ein starker Anstieg der Konzentrationen zu beobachten ist.

Patient 5 erreicht am Tag 1 nach 4 Stunden einen Wert von 0,907 µg/ml für Erlotinib und einen Wert von 0,068 µg/ml für OSI-420. In der Stunde 8 konnten keine Konzentrationen gemessen werden. Der Maximalwert wird sowohl für Erlotinib (1,836 µg/ml) als auch für OSI-420 (0,170 µg/ml) am Tag 5 (Stunde 100) erreicht.

Patient 7 erreicht sein c_{\max} bereits zur Stunde 1 mit einem Wert von 0,523 µg/ml. OSI-420 folgt eine Stunde später bei 0,016 µg/ml. Die Maximalwerte werden nach einer Woche am Tag 5 (Stunde 100) bei 1,096 µg/ml für Erlotinib und 0,064 µg/ml für OSI-420 erreicht. Niedrige Plasmakonzentrationen sind zur Stunde 76 zu beobachten, wobei hier die Gabe von Erlotinib erst nach der Blutabnahme für den 0-Stundenwert erfolgte.

Die maximale Plasmakonzentration am Tag 1 wird bei **Patient 8** in Stunde 6 erreicht und beträgt für Erlotinib 0,400 µg/ml und für OSI-420 0,025 µg/ml. Am Tag 8 (Stunde 172) wird der Maximalwert von Erlotinib bei 2,154 µg/ml und von OSI-420 bei einer Konzentration von 0,242 µg/ml beobachtet. Niedrige Plasmakonzentrationen werden am Tag 4 (Stunde 52) und vor allem am Tag 6 (Stunde 124) ermittelt. Die Einnahme von Tarceva® wurde hier erst nach der Blutabnahme des 0-Stunden-Wertes durchgeführt.

Patient 9 erreicht am Tag 1 in der Stunde 4 einen Maximalwert von Erlotinib mit einer Konzentration von 0,702 µg/ml. Der Metabolit OSI-420 erreicht den höchsten Wert von

0,038 µg/ml in Stunde 6. In der Stunde 1 wurden keine Werte für Erlotinib und OSI-420 gemessen. Der Höchstwert der ersten acht Tage wird für Erlotinib am Tag 7 (Stunde 148) mit 1,726 µg/ml erreicht. Ein Wert nahe an diesem maximalen Plasmakonzentrationswert wird bereits am Tag 4 gemessen (1,644 µg/ml). Bei OSI-420 beobachtet man schon am Tag 4 (Stunde 76) den Höchstwert. Hierbei nimmt die Konzentration einen Wert von 0,130 µg/ml ein. Der Abstand zwischen 0- und 4-Stunden-Wert ist an den Tagen 1 und 6 bei Erlotinib und OSI-420 und zusätzlich für OSI-420 an den Tagen 7 und 8 gering. In den Blutabnahme- und Tabletteneinnahme-Daten sind keine Unregelmäßigkeiten auffindbar beziehungsweise fehlen die Blutabnahmedaten der Tage 6 bis 8.

Bei **Patient 10** erhält man am Tag 1 ein c_{\max} von 0,776 µg/ml für Erlotinib nach Stunde 5. OSI-420 folgt in Stunde 6 mit 0,039 µg/ml. Die Maximalwerte werden bereits am Tag 3 (Stunde 52) beobachtet und betragen für Erlotinib 2,253 µg/ml und für OSI-420 0,131 µg/ml. Niedrige Werte im Kurvenverlauf erkennt man am Tag 5 (Stunde 100).

Die Patienten 11 und 13 erreichen am Tag 1 ihre maximalen Plasmakonzentrationen von Erlotinib in Stunde 2.

Der Höchstwert von Erlotinib am Tag 1 für **Patient 11** beträgt 1,337 µg/ml. OSI-420 erreicht sowohl nach Stunde 3 als auch nach Stunde 4 den Wert von 0,108 µg/ml. Die maximale Plasmakonzentration im gesamten Zyklus 1 wird am Tag 7 (Stunde 148) gemessen und beträgt für Erlotinib 3,185 µg/ml und für OSI-420 0,329 µg/ml. Niedrige Konzentrationen werden zu den Stunden 125 und 172 gemessen.

Patient 13 erreicht am Tag 1 für Erlotinib die maximale Konzentration von 2,609 µg/ml und für OSI-420 den Wert 0,126 µg/ml. Maximalwerte werden am Tag 5 (Stunde 100) für Erlotinib bei 5,066 µg/ml und OSI-420 0,394 µg/ml erreicht. Patient 13 weist somit die höchsten Plasmakonzentrationen aller Patienten auf. Der Kurvenverlauf zeigt einen niedrigen Wert am Tag 4, wobei die Protokolle auf keine Unregelmäßigkeiten hinweisen.

Patient 12 erreicht den Höchstwert am Tag 1 nach Stunde 3 mit der Konzentration von 1,275 µg/ml und OSI-420 folgt mit einem Wert von 0,095 µg/ml zur Stunde 4. Die Maximalwerte des ersten Zyklus werden erst am Tag 8 erreicht, wobei der Kurvenverlauf bis zum Tag 8 sehr stark ansteigt (sowohl die 0- als auch die 4-Stundenwerte), mit etwas geringeren Konzentrationen an den Tagen 4, 5 und 7. Die Höchstkonzentrationen betragen bei Erlotinib 5,005 µg/ml und bei OSI-420 0,530 µg/ml.

4.2.3. Vergleich der unterschiedlichen Dosierungen

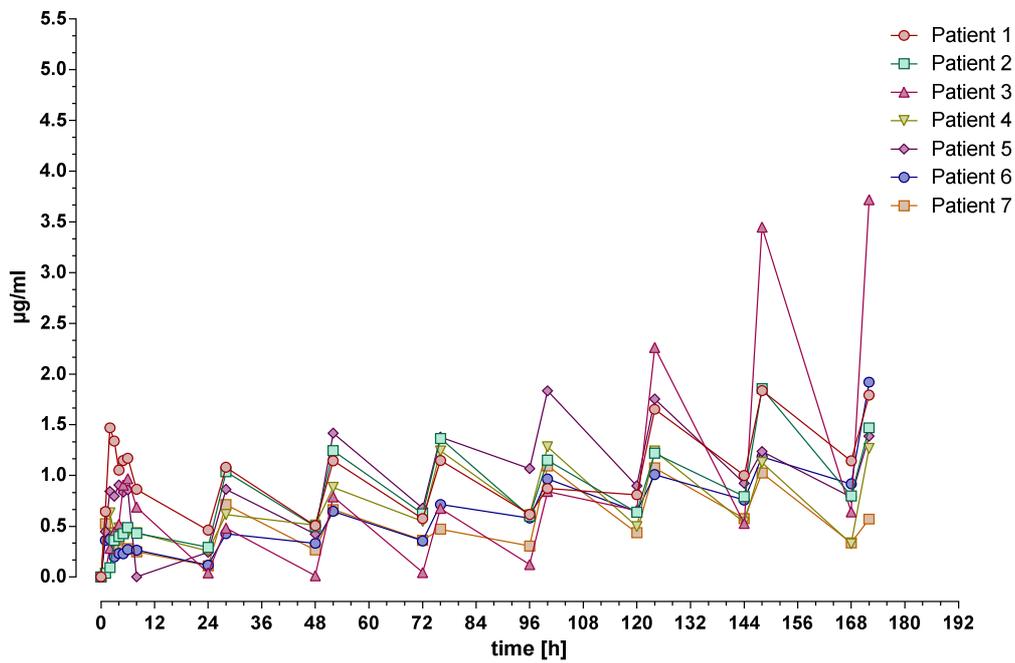


Abb. 42: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib der Patienten aus DL 3 Tag 1-8

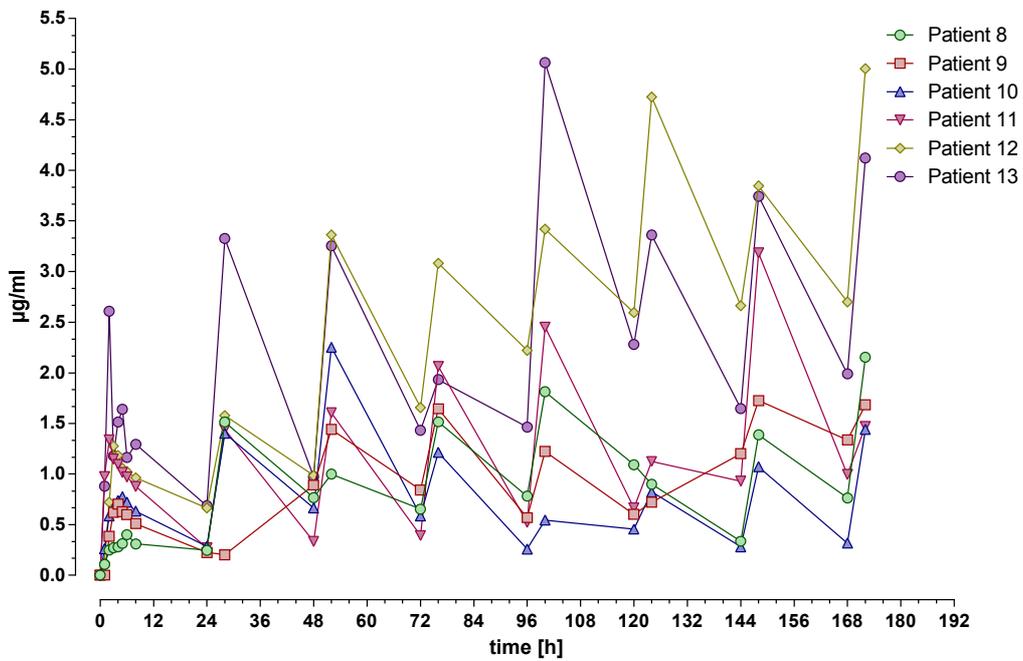


Abb. 43: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib der Patienten aus DL 7 + 8 Tag 1-8

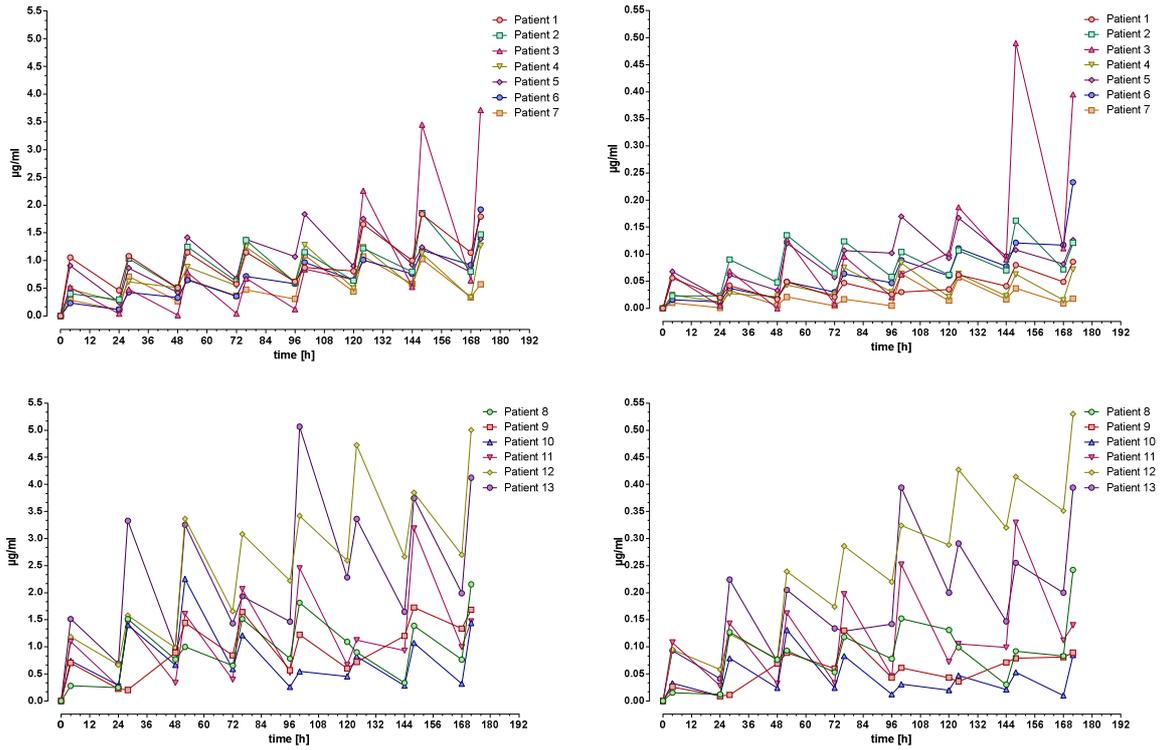


Abb. 44. Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib (links) und OSI-420 (rechts) der Patienten aus DL 3 (oben) und DL 7+8 (unten) T1-8 0h-4h

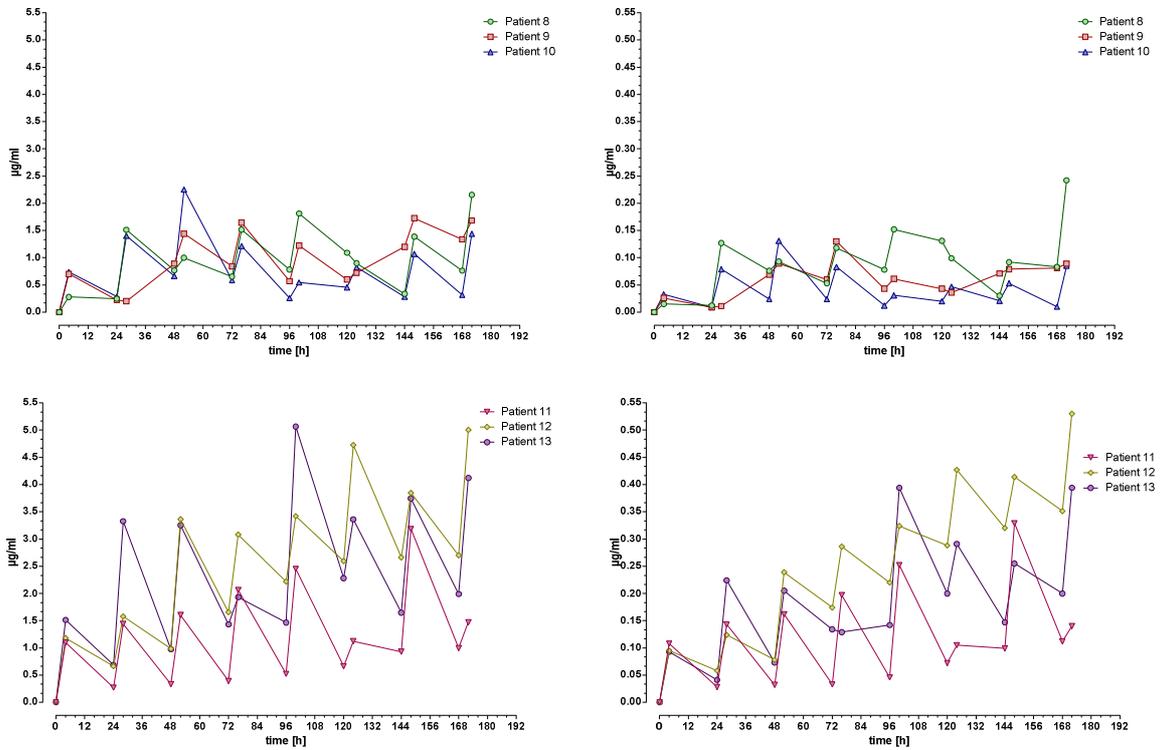


Abb. 45: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib (links) und OSI-420 (rechts) der Patienten aus DL 7 (oben) und DL 8 (unten) T1-8 0h-4h

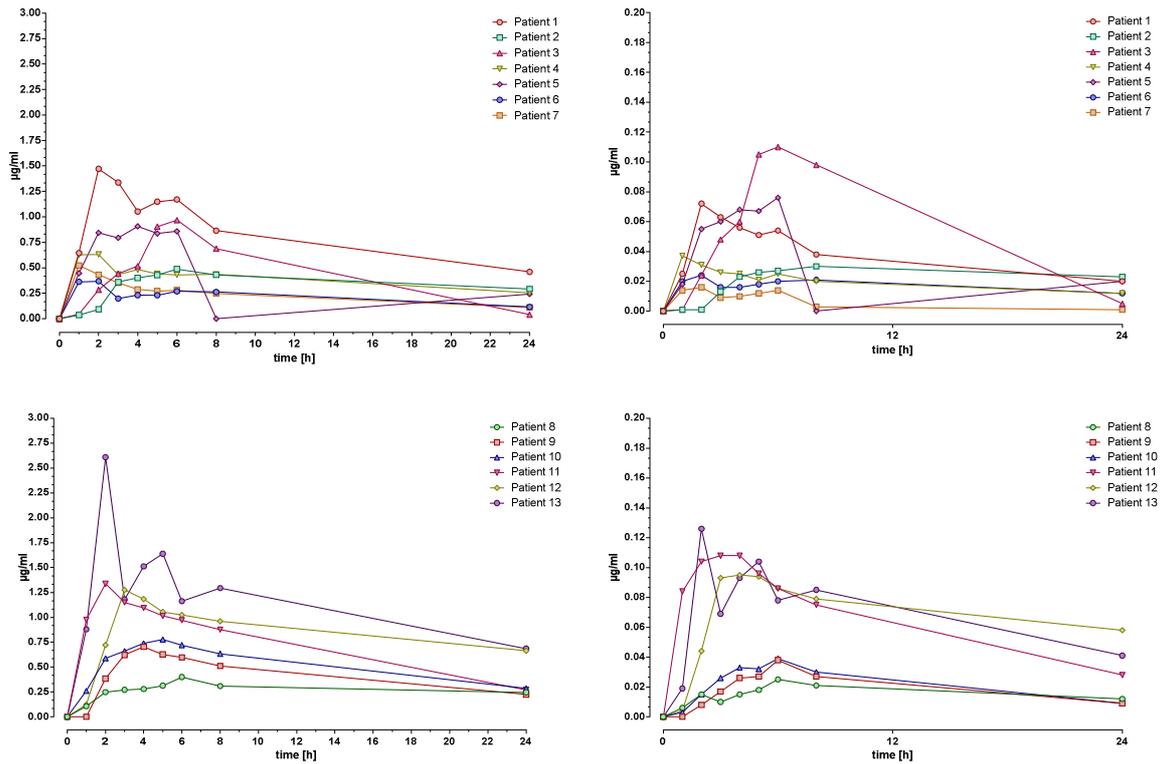


Abb. 46: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib (links) und OSI-420 (rechts) der Patienten aus DL 3 (oben) und DL 7+8 (unten) T1 0h-24h

Tabelle 30: Tmax und Cmax aus Zyklus 1

	tmax Erlo [h]	tmax OSI [h]	cmax Erlo [µg/ml]	cmax OSI [µg/ml]
Patient 1	148	172	1,838	0,086
Patient 2	148	148	1,858	0,162
Patient 3	172	148	3,718	0,490
Patient 4	100	100	1,282	0,084
Patient 5	100	100	1,836	0,170
Patient 6	172	172	1,921	0,233
Patient 7	100	100	1,096	0,064
MW	134,3	134,3	1,936	0,184
SD	33,5	33,5	0,850	0,148
Patient 8	172	172	2,154	0,242
Patient 9	148	76	1,762	0,130
Patient 10	52	52	2,253	0,131
Patient 11	148	148	3,185	0,329
Patient 12	172	172	5,005	0,530
Patient 13	100	100	5,066	0,394
MW	132	120	3,238	0,293
SD	47,2	51,3	1,469	0,157

Tabelle 31: Pharmakokinetische Parameter von Erlotinib aus Dose-Level 3 (0-24 h)

Parameter	Einheit	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7
Rsq		0,979	1,000	1,000	0,991	0,998	0,997	1,000
Corr_XY		-0,989	-1,000	-1,000	-0,996	-0,999	-0,999	-1,000
No_points_lambda_z		5	2	2	5	3	3	3
Lambda_z	1/h	0,044	0,024	0,175	0,030	0,067	0,049	0,051
HL_Lambda_z	h	15,64	28,80	3,96	22,85	10,33	14,11	13,60
Tmax	h	2	6	6	2	4	2	1
Cmax	µg/ml	1,471	0,488	0,969	0,632	0,907	0,369	0,523
Tlast	h	24	24	24	24	24	24	24
Clast	µg/ml	0,462	0,292	0,042	0,256	0,244	0,116	0,111
AUClast	h*µg/ml	18,53	8,19	8,01	9,10	7,07	4,93	5,27
AUCINF_obs	h*µg/ml	28,95	20,33	8,24	17,54	10,72	7,28	7,46
Vz_F_obs	l	77,96	306,46	103,95	281,89	208,68	419,60	394,68
MRTlast	h	10,31	12,37	8,69	10,70	9,47	10,39	9,56
Cl_F_obs	l/h	3,45	7,38	18,20	8,55	14,00	20,61	20,11

Tabelle 32: Pharmakokinetische Parameter von Erlotinib aus den Dose-Levels 7 und 8 (0-24 h)

Parameter	Einheit	Patient 8	Patient 9	Patient 10	Patient 11	Patient 12	Patient 13
Rsq		1,000	0,999	1,000	1,000	0,999	0,948
Corr_XY		-1,000	-0,999	-1,000	-1,000	-0,999	-0,974
No_points_lambda_z		2	4	3	3	4	5
Lambda_z	1/h	0,014	0,053	0,051	0,072	0,024	0,037
HL_Lambda_z	h	49,25	12,97	13,66	9,61	29,03	18,52
Tmax	h	6	4	5	2	3	2
Cmax	µg/ml	0,400	0,702	0,776	1,337	1,275	2,609
Tlast	h	24	24	24	24	24	24
Clast	µg/ml	0,246	0,224	0,285	0,271	0,664	0,685
AUClast	h*µg/ml	6,54	9,49	11,72	16,14	19,71	26,06
AUCINF_obs	h*µg/ml	24,05	13,67	17,33	19,89	47,54	44,36
Vz_F_obs	l	295,48	136,81	113,68	69,68	88,10	60,24
MRTlast	h	12,17	10,68	10,77	9,40	11,76	10,62
Cl_F_obs	l/h	4,16	7,31	5,77	5,03	2,10	2,25

Tabelle 33: MW der pharmakokinetischen Parameter für Erlotinib (0-24 h)

Parameter	Einheit	MW: DL3	MW:DL7+8	MW:DL7	MW:DL8
Rsq		0,995	0,991	1,000	0,982
Corr_XY		-0,998	-0,995	-1,000	-0,991
No_points_lambda_z		3,286	3,500	3,000	4,000
Lambda_z	1/h	0,063	0,042	0,039	0,044
HL_Lambda_z	h	15,614	22,174	25,293	19,055
Tmax	h	3,286	3,667	5,000	2,333
Cmax	µg/ml	0,766	1,183	0,626	1,740
Tlast	h	24,000	24,000	24,000	24,000
Clast	µg/ml	0,218	0,396	0,252	0,540
AUClast	h*µg/ml	8,728	14,944	9,250	20,637
AUCINF_obs	h*µg/ml	14,360	27,809	18,352	37,265
Vz_F_obs	l	256,175	127,332	181,988	72,676
MRTlast	h	10,215	10,900	11,207	10,593
Cl_F_obs	l/h	13,185	4,437	5,747	3,128

Tabelle 34: SD der pharmakokinetischen Parameter für Erlotinib (0-24 h)

Parameter	Einheit	SD: DL3	SD:DL7+8	SD:DL7	SD:DL8
Rsq		0,008	0,021	0,001	0,030
Corr_XY		0,004	0,011	0,000	0,015
No_points_lambda_z		1,254	1,049	1,000	1,000
Lambda_z	1/h	0,051	0,021	0,022	0,025
HL_Lambda_z	h	8,125	14,892	20,753	9,722
Tmax	h	2,059	1,633	1,000	0,577
Cmax	µg/ml	0,381	0,784	0,199	0,753
Tlast	h	0,000	0,000	0,000	0,000
Clast	µg/ml	0,141	0,217	0,031	0,233
AUClast	h*µg/ml	4,586	7,190	2,596	5,024
AUCINF_obs	h*µg/ml	8,238	14,488	5,262	15,127
Vz_F_obs	l	133,085	87,077	98,961	14,170
MRTlast	h	1,170	0,974	0,832	1,182
Cl_F_obs	l/h	6,816	2,034	1,578	1,646

Die obigen Tabellen und Abbildungen sollen einen direkten Vergleich der DL 3, 7 und 8 ermöglichen, wobei hierbei vor allem auch auf die Unterschiede bei Gabe einer 100 mg Dosis von Erlotinib im Dose-Level 3 und einer Gabe von 150 mg in den Dose-Levels 7 und 8 eingegangen werden soll. Da die Werte innerhalb der 150-mg-Dosierung im Dose-Level 7 und 8 teilweise starken Schwankungen unterliegen, werden diese unter anderem auch gesondert betrachtet und Mittelwerte und Standardabweichungen wurden innerhalb dieser beiden Dose-Levels zusätzlich getrennt berechnet.

Die pharmakokinetischen Parameter wurden für Erlotinib jeweils für den ersten Tag (0-24 Stunden) berechnet.

Tabelle 35: Pharmakokinetische Parameter für Erlotinib [12] [13] [25]

c_{max} [µg/ml]	t_{max} [h]	V_z [l]	CL [l/h]	t 1/2 [h]	t bis C_{ss} [d]
1,733 ± 0,777	ca. 3-4	232	4,47	36,2	ca. 7-8

Die maximalen Plasmakonzentrationen am Tag 1 schwanken im Dose-Level 3 zwischen 0,369 µg/ml und der in diesem Dose-Level hohen Konzentration von 1,471 µg/ml, die bei Patient 1 beobachtet wird. Es ergibt sich ein Mittelwert von 0,766 µg/ml. Im Vergleich zum Dose-Level 7, bei dem ein Mittelwert von 0,626 µg/ml errechnet wurde, wird in diesem Fall mit der 100-mg-Dosierung durchschnittlich sogar ein höherer Wert erreicht. Auch wenn der Patient 1 aus den Berechnungen ausgeschlossen wird, wird ein Wert von 0,643 µg/ml erreicht, der somit auch den Mittelwert des Dose-Levels 7 übertrifft. Die Werte des Dose-Levels 8 übersteigern jene der Dose-Levels 3 und 7 mit einem Mittelwert von 1,740 µg/ml und mit dem Höchstwert bei Patient 8 mit einer Konzentration von 2,609 µg/ml. Dieser Höchstwert übersteigt die Werte, die in der Literatur zu c_{max} zu finden sind, die im Bereich von bis zu 2 µg/ml liegen sollten. Erreicht werden diese Maximalwerte im Dose-Level 3 durchschnittlich nach etwa 3,3 Stunden in den Dose-Levels 7 und 8 nach durchschnittlich 3,7 Stunden. Wobei im Dose-Level 8 spätestens zur Stunde 3 der maximale Plasmawert erreicht wird und im Dose-Level 7 frühestens zur Stunde 4.

Die Eliminationshalbwertszeit unterliegt auch innerhalb der einzelnen Dose-Levels starken Schwankungen, ist aber durchschnittlich in den Dose-Level 7 und 8 – getrennt und einzeln betrachtet – höher. Erwähnenswert sind hierbei der hohe Wert von 49,25 Stunden des Patienten 8 und der niedrige Wert von 3,96 Stunden des Patienten 3. Insgesamt werden verglichen zur Literaturangabe geringere Halbwertszeiten erreicht. Nachdem es sich bei der

Eliminationshalbwertszeit aber auch um eine Größe handelt, die von Verteilungsvolumen und Clearance abhängt, können auch diese zu Veränderungen der Eliminationshalbwertszeit beitragen.

Das Verteilungsvolumen unterliegt ebenso einer breiten Streuung. Im Dose-Level 8 werden deutlich die niedrigsten Werte erhalten, der Mittelwert beträgt hier 72,676 Liter. Auch Dose-Level 7 erreicht niedrigere Werte als im Dose-Level 3. Indem höhere Plasmakonzentrationen erreicht werden, sinkt somit das Verteilungsvolumen entsprechend ab. Der Literaturwert entspricht eher dem Wert, der mit der 100-mg-Dosierung erreicht wird, ausgenommen von Patient 8, der auch einen hohen Wert erreicht.

Beim Vergleich der Clearance-Werte erhält man niedrige Werte in den Dose-Levels 7 und 8 und entsprechend höhere im Dose-Level 3. Die Eliminationsleistung ist somit unter Verwendung der 150-mg-Dosierung verringert.

Ausgeglichene Werte in den verschiedenen Dose-Levels können bei der MRT beobachtet werden und betragen durchschnittlich 10-11 Stunden.

Vergleicht man die Konzentrationen die durchschnittlich im Zyklus 1 erreicht werden, dann erhält man hier im Dose-Level 3 für Erlotinib den durchschnittlichen Wert von 1,936 µg/ml und für OSI-420 0,184 µg/ml und in den Dose-Levels 7 und 8 3,238 µg/ml für Erlotinib und 0,293 µg/ml für OSI-420. Es werden somit entsprechend höherer maximale Plasmakonzentration bei einer Gabe von 150 mg Erlotinib erreicht. Maximale Plasmakonzentrationen werden vorwiegend an den Tagen 5 (Stunde 100), 7 (Stunde 148) und 8 (Stunde 172) erreicht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass man zwar teilweise deutliche Unterschiede zwischen der Verwendung einer 150- bzw. einer 100-mg-Dosierung erkennen kann, doch auch innerhalb des Dose-Levels 3 beziehungsweise Dose-Levels 7 und 8 Schwankungen beobachtet werden. Die Schwankungen innerhalb der einzelnen Dose-Levels kann auch auf die stark interindividuelle Pharmakokinetik von Erlotinib zurückgeführt werden. [32]

Die Dosierung von Capecitabin ist in den drei Dose-Levels ident und kann somit nicht Grund für die Unterschiede sein. Im Dose-Level 8 wurde jedoch die Dosis von Bevacizumab von 5 mg/kg im Dose-Level 7 auf 10 mg/kg erhöht. Dies kann somit mitunter ein Grund für die doch stark schwankenden Werte dieser beider Dose-Levels sein, wobei sich jedoch in der Literatur keine Anzeichen für Wechselwirkungen zwischen den beiden Substanzen finden lassen.

4.3. Wochenproben

Tabelle 36: Patient 1: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-8

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3	31,6	2,8	0,538	0,028
W4	36,2	2,6	0,616	0,026
W5	51,9	3,5	0,883	0,035
W6	0,0	0,0	0,000	0,000
W7	37,7	2,9	0,642	0,029
W8	8,0	0,6	0,136	0,006

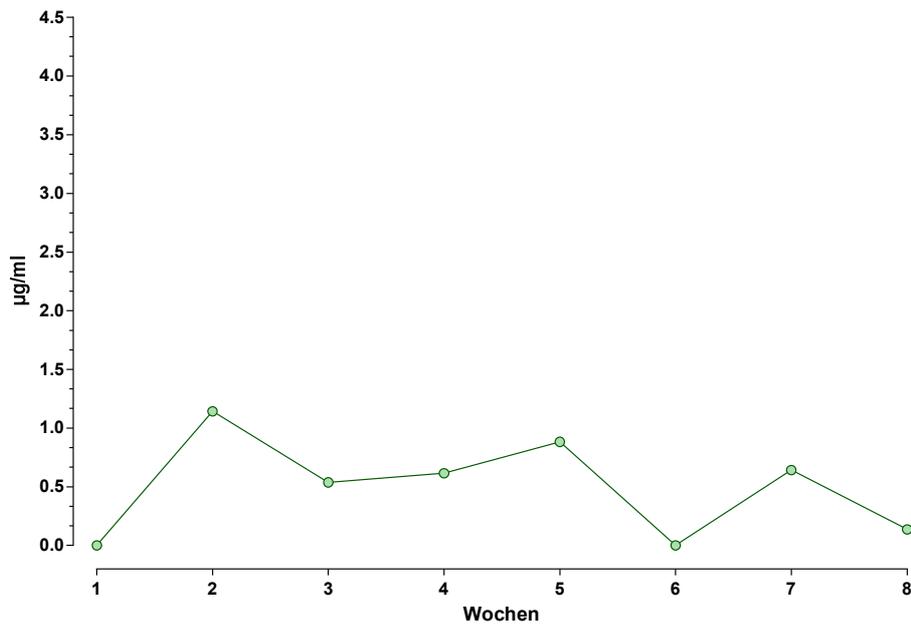


Abb. 47: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-8

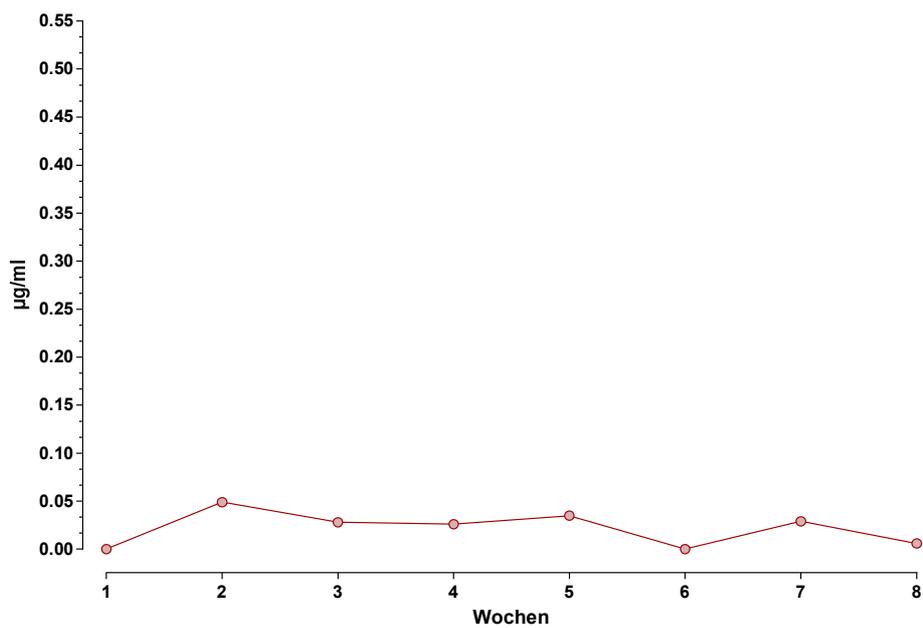


Abb. 48: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-8

Tabelle 37: Patient 4: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 4-7

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W4	14,6	1,0	0,248	0,010
W5	27,1	1,0	0,461	0,010
W6	229,1	22,9	3,899	0,228
W7	183,3	13,2	3,119	0,131

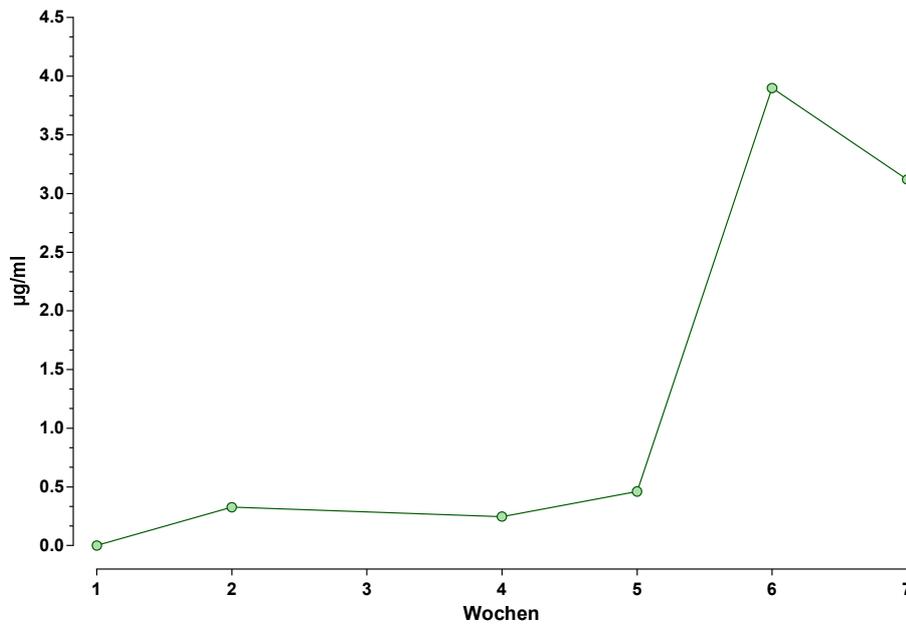


Abb. 49: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-7

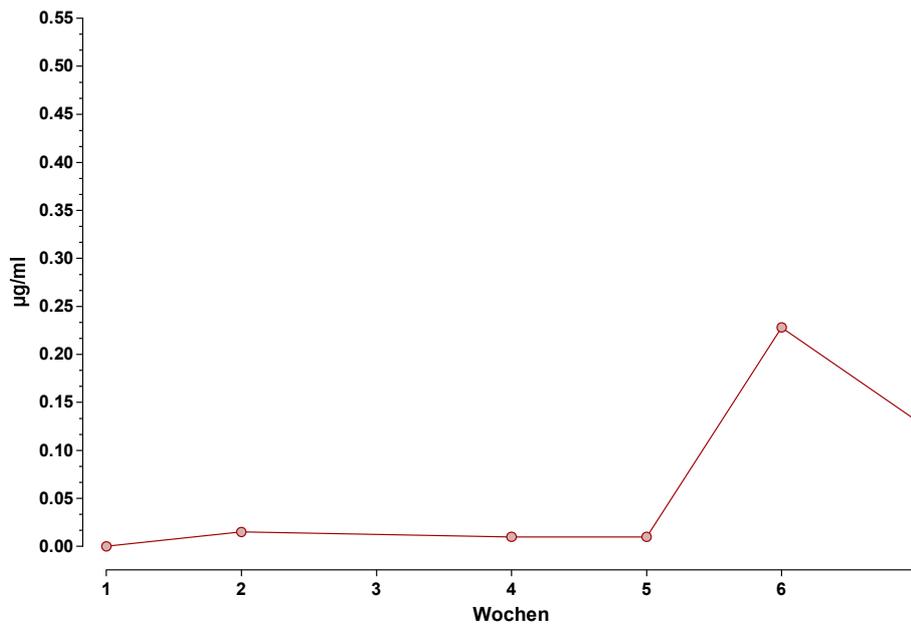


Abb. 50: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-7

Tabelle 38: Patient 5: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-8

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3	115,7	13,5	1,969	0,134
W4	125,1	20,5	2,129	0,204
W5	179,8	17,1	3,060	0,170
W6	249,1	26,9	4,239	0,268
W7	113,5	20,7	1,932	0,206
W8	73,7	6,5	1,254	0,065

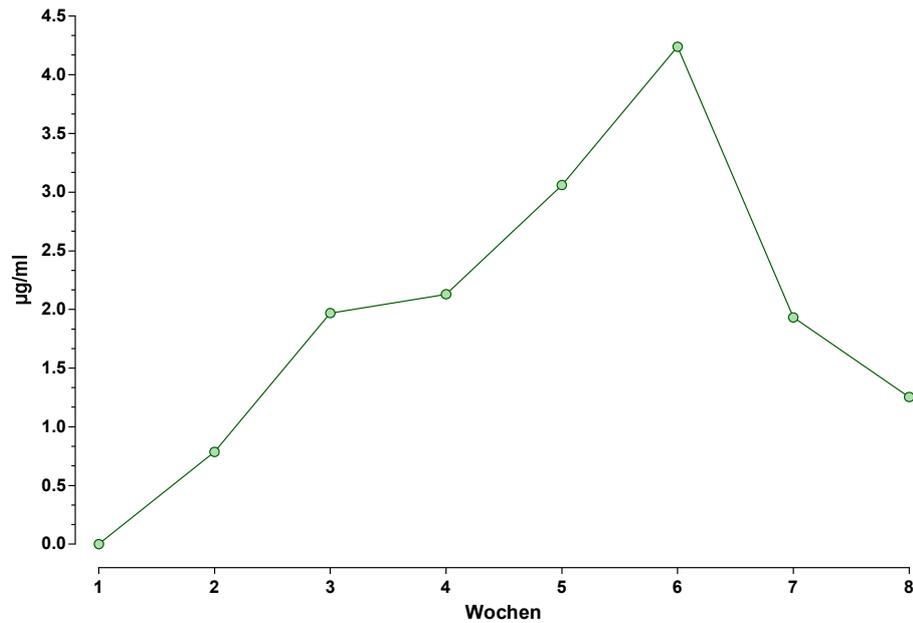


Abb. 51: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-8

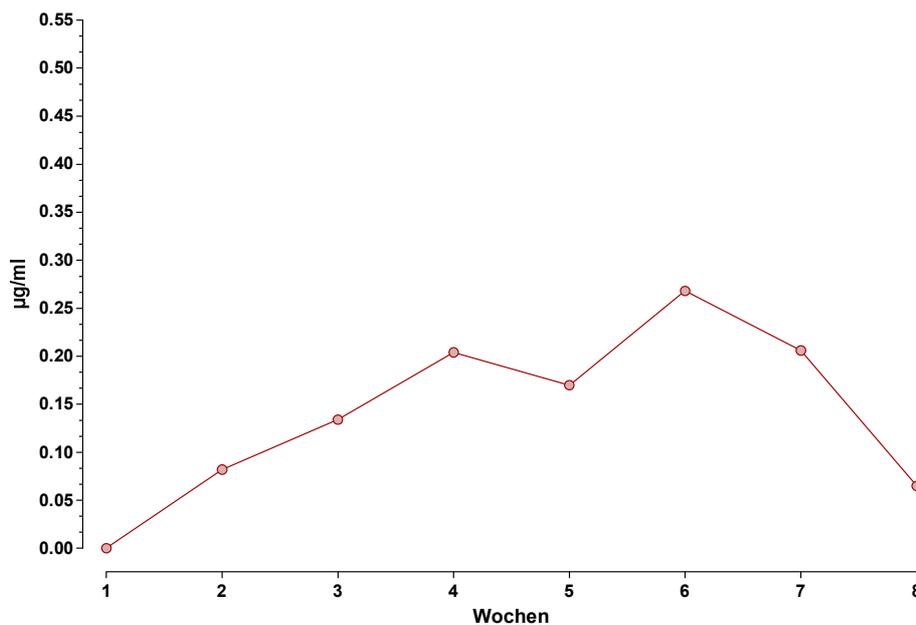


Abb. 52: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-8

Tabelle 39: Patient 6: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-8

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3	87,1	6,8	1,482	0,068
W4	145,0	6,8	2,468	0,068
W5	61,1	3,9	1,040	0,039
W6	30,1	1,4	0,512	0,014
W7	85,3	4,7	1,452	0,047
W8	5,3	1,0	0,090	0,010

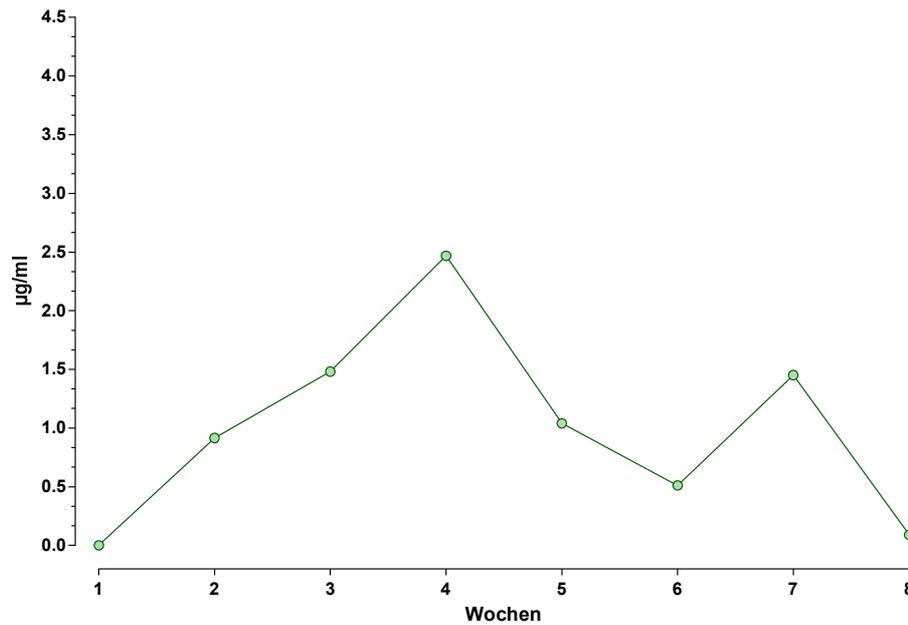


Abb. 53: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-8

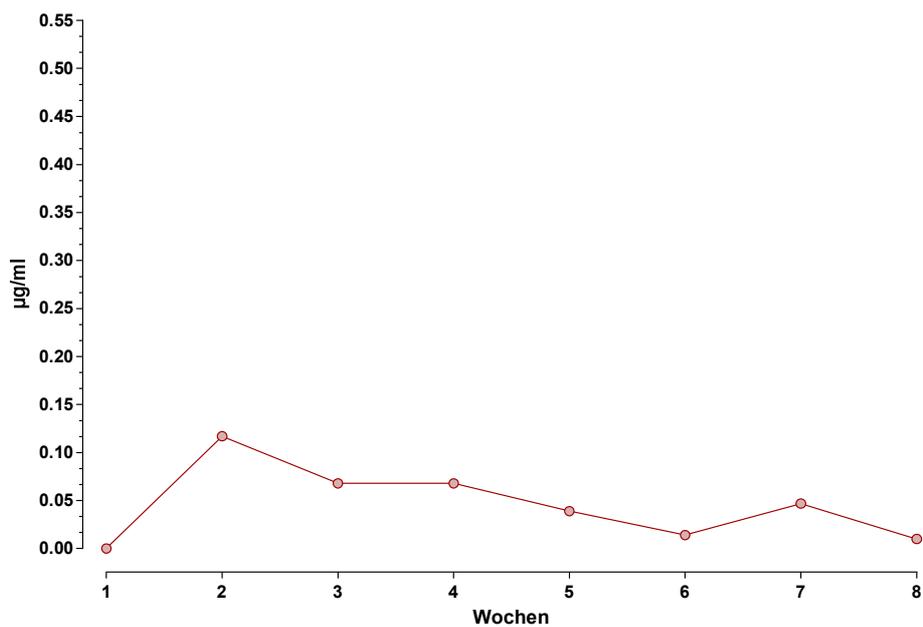


Abb. 54: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-8

Tabelle 40: Patient 7: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-9

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3	89,0	4,5	1,515	0,045
W4	62,8	1,3	1,069	0,013
W5	65,0	1,9	1,106	0,019
W6	106,0	2,7	1,804	0,027
W7	80,5	2,7	1,370	0,027
W8	83,5	3,2	1,421	0,032
W9	105,9	3,1	1,802	0,031

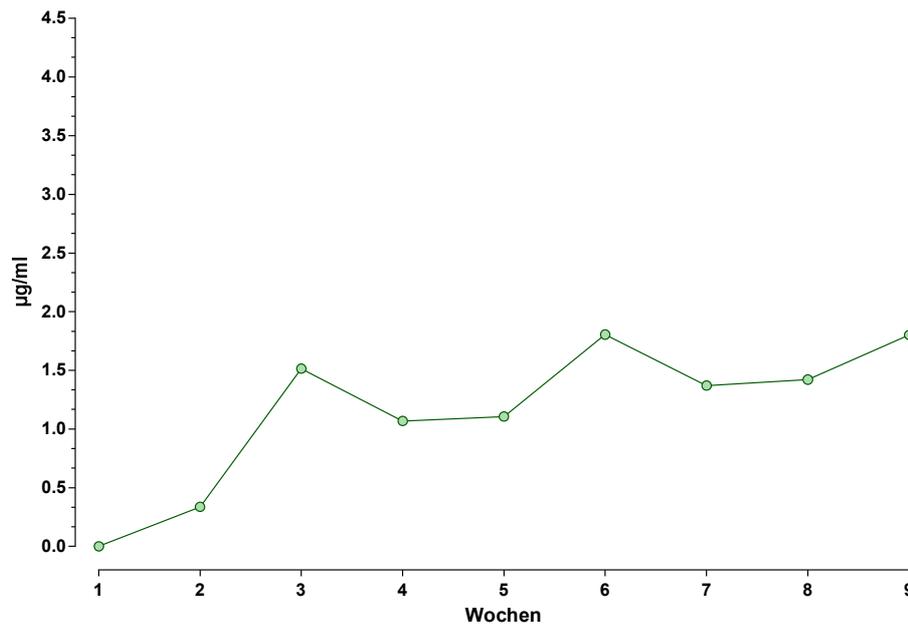


Abb. 55: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-9

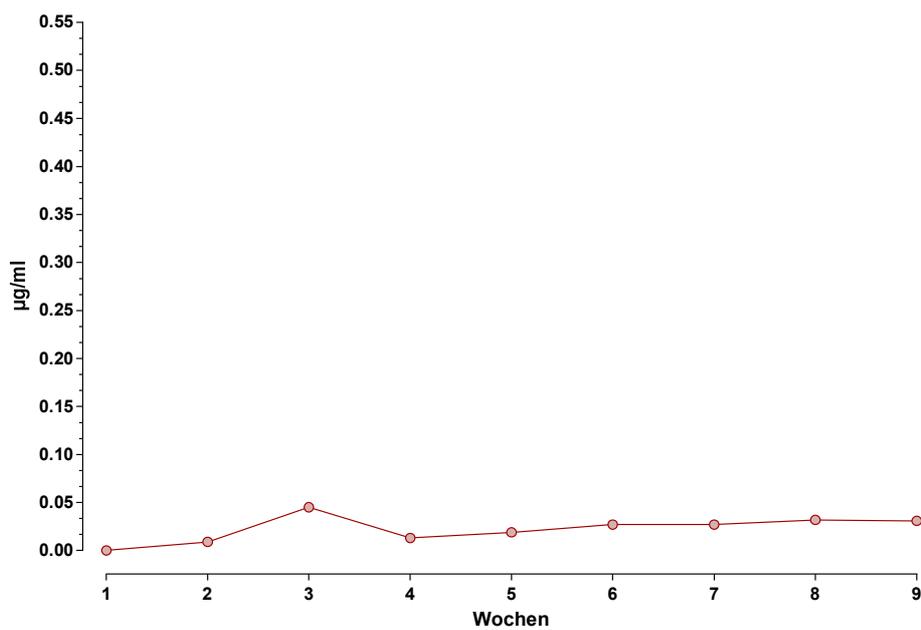


Abb. 56: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-9

Tabelle 41: Patient 8: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-18

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3	381,940	46,987	1,026	0,111
W4	294,547	33,679	0,791	0,079
W5	629,019	64,469	1,690	0,152
W6	447,160	66,020	1,201	0,155
W7	464,760	48,755	1,248	0,115
W8	473,854	37,094	1,273	0,087
W9	0,000	0,000	0,000	0,000
W10	0,000	0,000	0,000	0,000
W11	1325,775	165,388	3,561	0,389
W12	1473,818	166,932	3,959	0,393
W13	742,944	108,627	1,996	0,256
W14	0,000	0,538	0,000	0,001
W15	0,000	1,253	0,000	0,003
W16	926,245	74,533	2,488	0,175
W17	165,924	0,000	0,446	0,000
W18	0,000	0,000	0,000	0,000

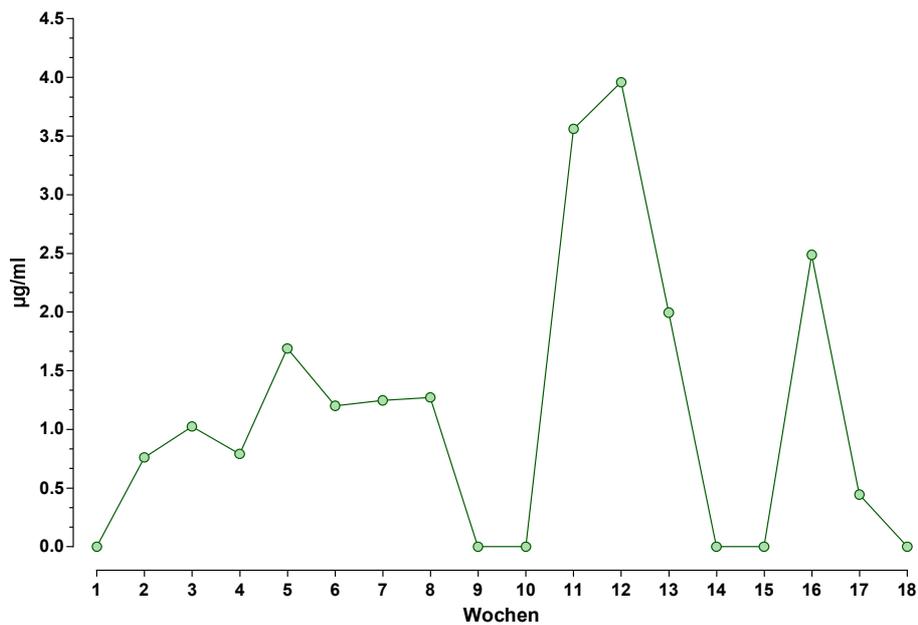


Abb. 57: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-18

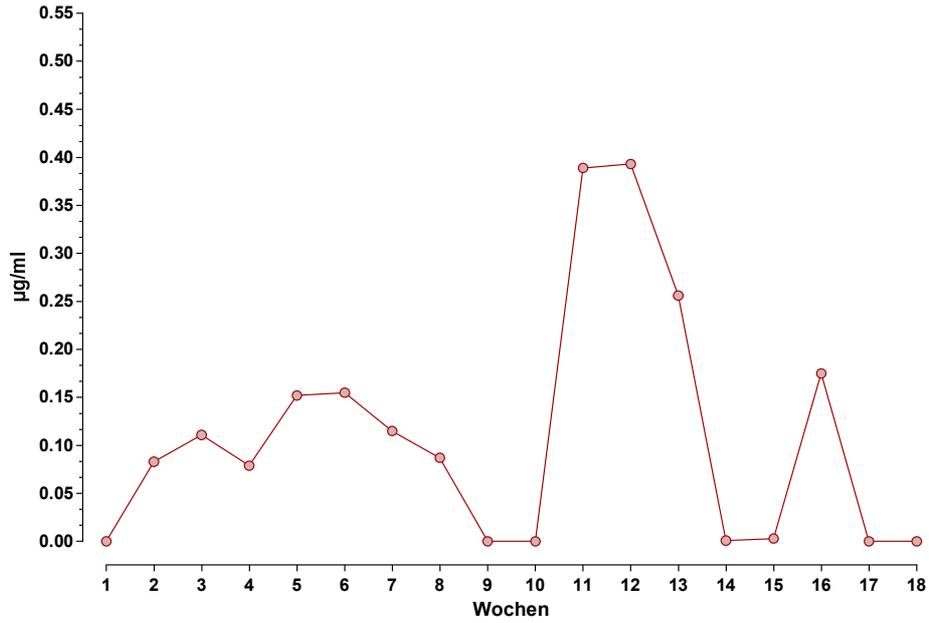


Abb. 58: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-18

Tabelle 42: Patient 9: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 11-12

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
W11/0h	35,410	2,499	0,395	0,023
W11/4h	41,797	2,615	0,466	0,024
W12/0h	160,560	13,044	1,791	0,118

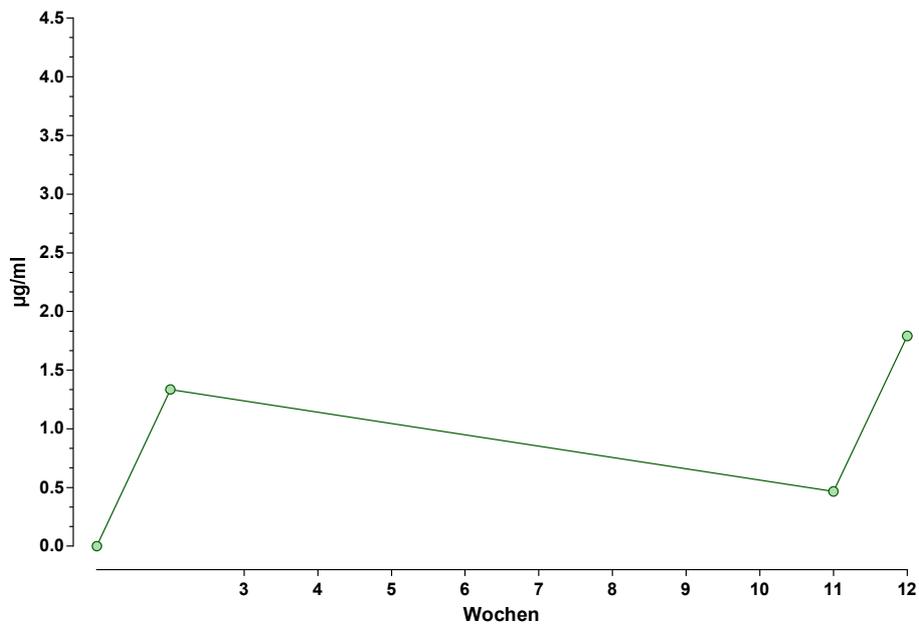


Abb. 59: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-12

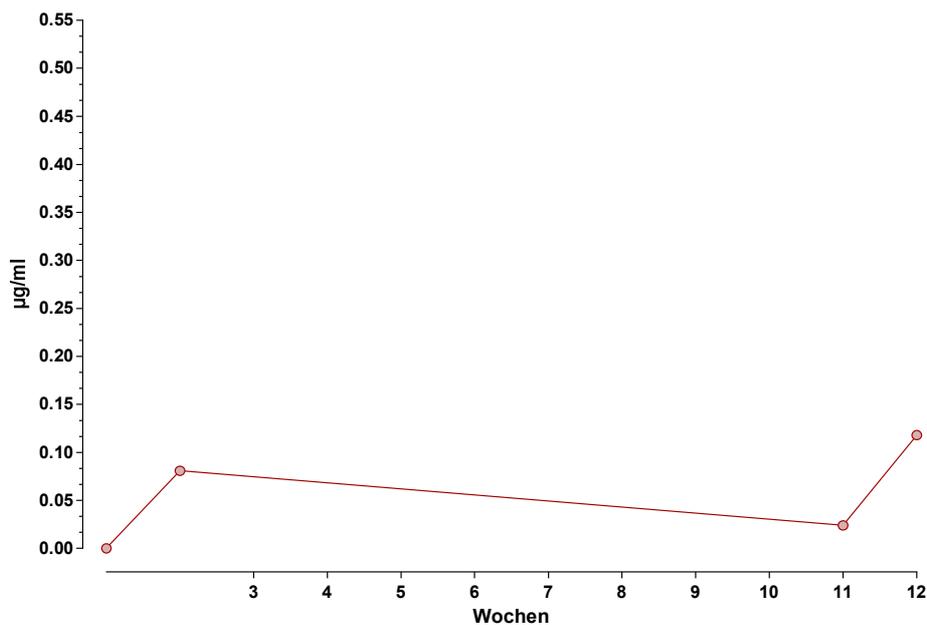


Abb. 60: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-12

Tabelle 43: Patient 10: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-22

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [µg/ml]	conc OSI [µg/ml]
W3	165,477	13,393	0,444	0,032
W4	14,118	0,000	0,038	0,000
W5	149,665	9,962	0,402	0,023
W6	67,772	7,266	0,182	0,017
W7	54,069	0,000	0,145	0,000
W8	58,459	12,186	0,157	0,029
W9	214,480	48,654	0,576	0,115
W10	115,412	8,887	0,310	0,021
W11	71,442	0,000	0,192	0,000
W12	15,746	0,000	0,042	0,000
W13	46,050	3,001	0,124	0,007
W14	8,504	0,000	0,095	0,000
W15	0,000	0,000	0,000	0,000
W16	7,580	0,000	0,085	0,000
W17	0,775	0,000	0,009	0,000
W18	4,006	0,000	0,045	0,000
W19	4,347	0,000	0,048	0,000
W20	12,950	0,000	0,144	0,000
W21	10,263	0,000	0,115	0,000
W22	0,000	0,000	0,000	0,000

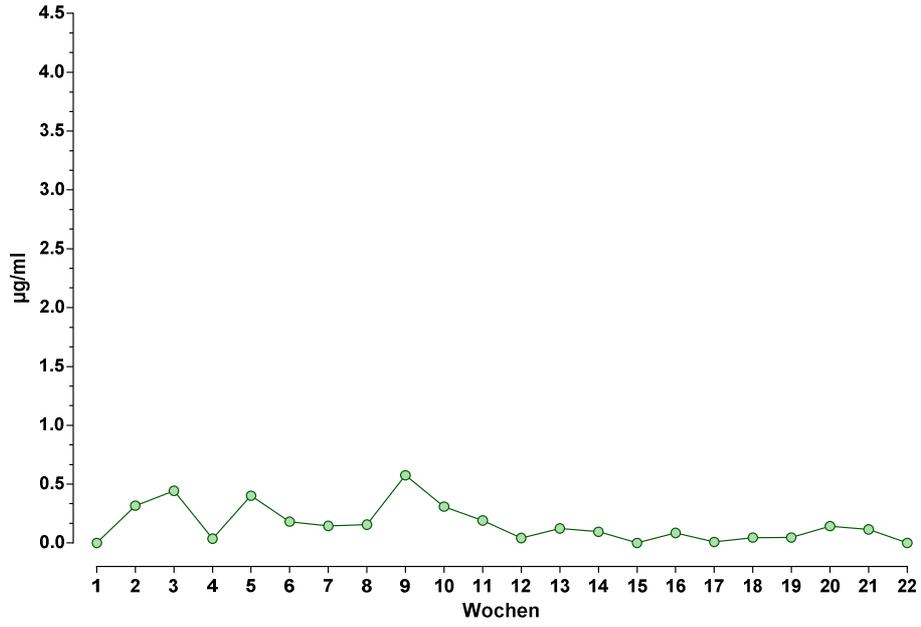


Abb. 61: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-22

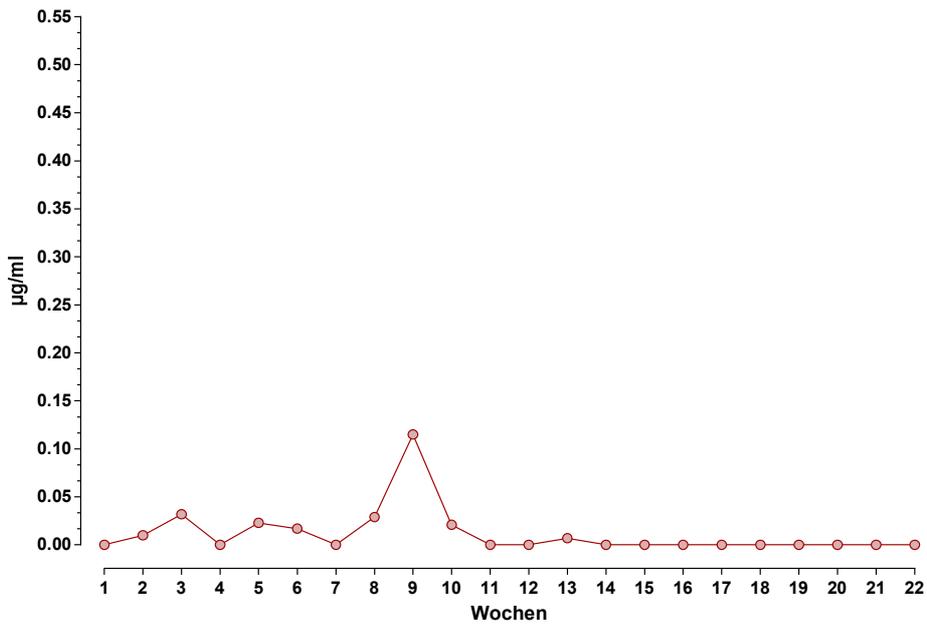


Abb. 62: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-22

Tabelle 44: Patient 11: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-6

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3	274,128	33,038	0,736	0,078
W4	481,440	58,370	1,293	0,137
W5	449,198	0,000	1,207	0,000
W6	240,083	0,000	0,645	0,000

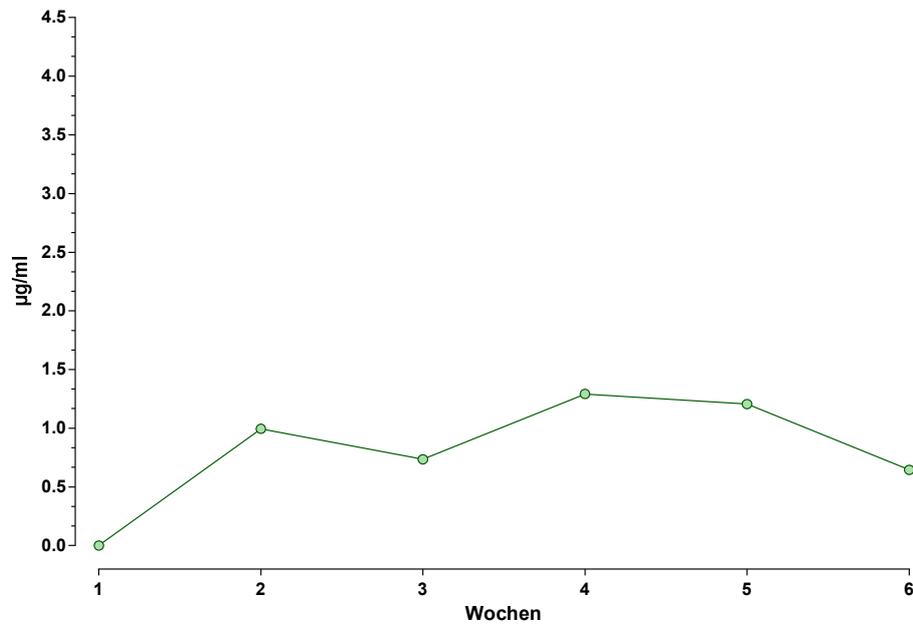


Abb. 63: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-6

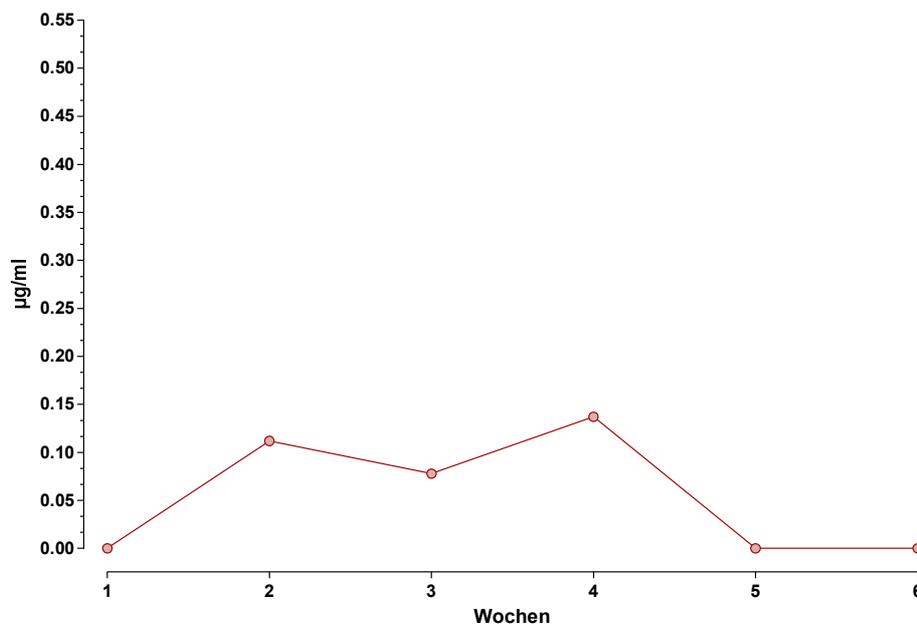


Abb. 64: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-6

Tabelle 45: Patient 12: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-6

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3	198,753	15,389	2,217	0,139
W4	261,803	21,422	2,921	0,193
W5	238,239	30,242	2,658	0,272
W6	392,353	46,358	4,377	0,418

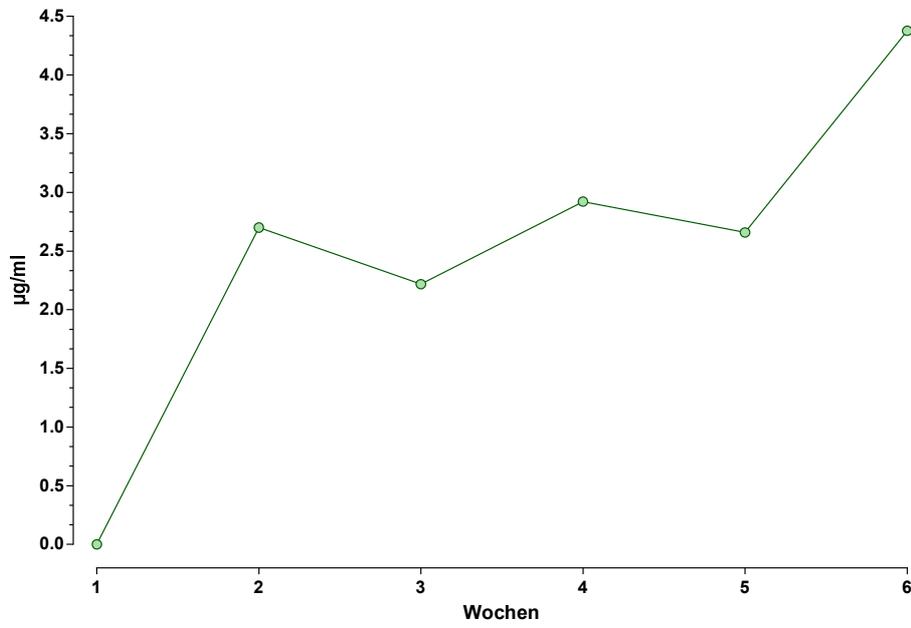


Abb. 65: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-6

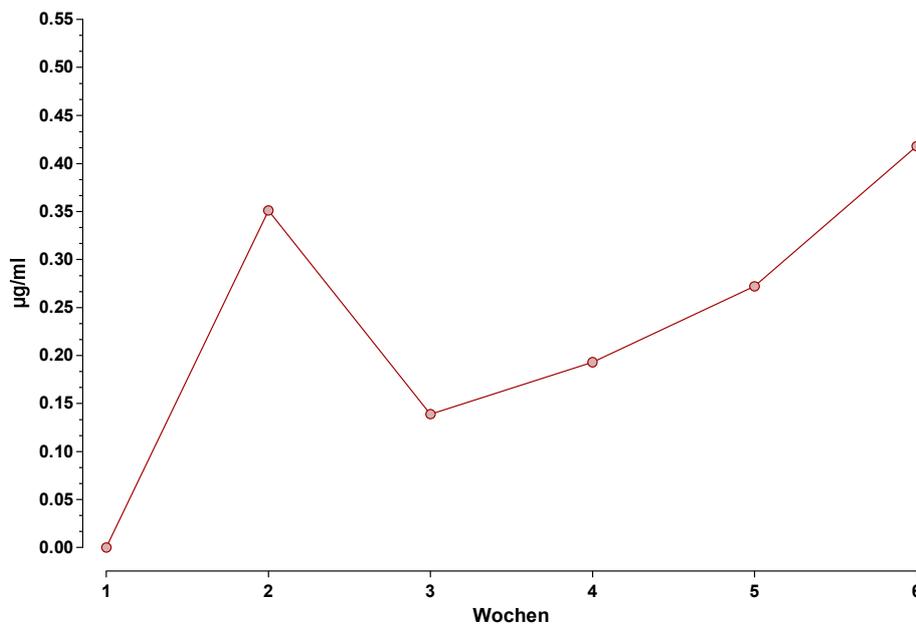


Abb. 66: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-6

Tabelle 46: Patient 13: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-4

Woche	area Erlo	area OSI	conc Erlo [$\mu\text{g/ml}$]	conc OSI [$\mu\text{g/ml}$]
W3/0h	194,178	20,014	2,166	0,180
W3/4h	289,116	32,468	3,226	0,293
W4/0h	179,520	18,170	2,003	0,164
W4/4h	346,860	37,362	3,870	0,337

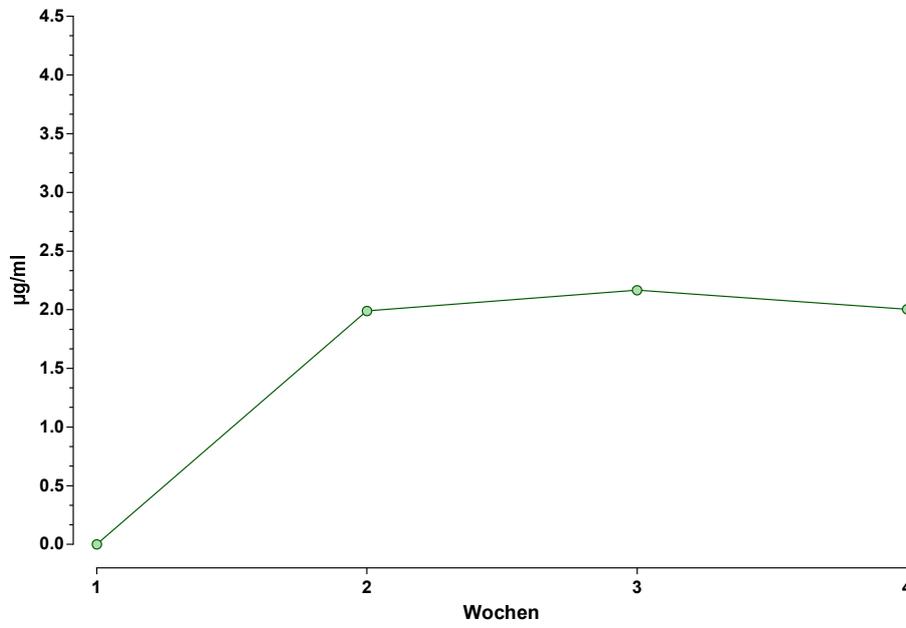


Abb. 67: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-4

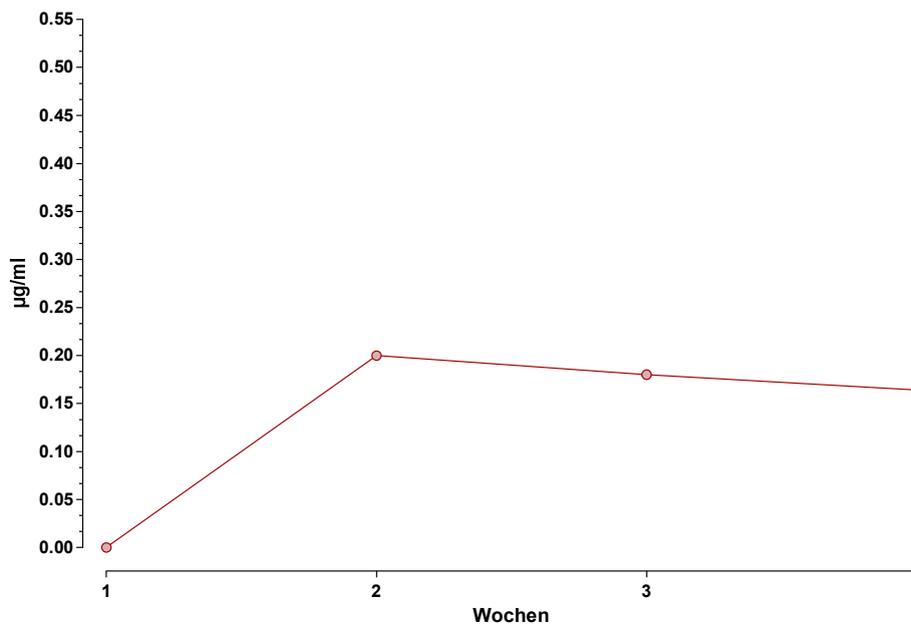


Abb. 68: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-4

Im Folgenden werden die Wochenproben der Patienten besprochen. In die Abbildungen wurden jeweils auch die 0-Stunden-Werte aus Woche 1 und 2 der entsprechenden Patientenproben miteinbezogen.

Die Area- und Plasmakonzentrationswerte des Dose-Levels 3 wurden der Arbeit von Nairi Baroian [23] entnommen und Teile der Dose-Levels 7 und 8 jener von Frau Mag. Azra Sahmanovic-Hrgovic [24].

Bei **Patient 1** konnten in der Woche 6 keine Plasmakonzentrationswerte erhalten werden. Dieser Nullwert lässt sich jedoch dadurch erklären, dass nach Blutabnahme in Woche 5 ein neuntägiger Einnahmestopp stattfand und somit keine entsprechenden Plasmakonzentrationen entstehen konnten. Der niedrige Wert in Woche 8 ist unklar, da hier keine Daten zur Tabletteneinnahme zur Verfügung stehen.

Patient 4 zeigt bis zur Woche 5 einen konstanten Verlauf. In Woche 6 kommt es zu einer starken Erhöhung von Erlotinib sowie dessen Metaboliten OSI-420. Hier erfolgte die Blutabnahme stark verspätet und auch die Tabletteneinnahme wurde ungewöhnlich spät durchgeführt, wodurch sich der weiterhin erhöhte Wert in Woche 7 erklären lässt.

Der **Patient 5** lässt sich besonders schwer interpretieren, da hier laut Protokolle möglicherweise eine unbekannte Anzahl an Medikamenten nicht eingenommen wurde. In Woche 4 und 7 erfolgte die Blutabnahme nach der Tabletteneinnahme und die Konzentrationen entsprechen somit nicht einem 0-Stunden-Wert. Weiters erfolgte die Blutabnahme in der Woche 6 verspätet.

Der hohe Erlotinib-Wert in Woche 4 des **Patienten 6** lässt sich wiederum auf eine stark verspätete Blutabnahme bei vorheriger Einnahme von Tarceva® erklären. In den Wochen 5 und 6 sinken die Werte dann wieder ab, um in Woche 7 wieder anzusteigen, wobei hierfür keine Protokolle vorhanden waren.

Bei **Patient 7** erfolgte ab Woche 3 die Tabletteneinnahme immer vor der Blutabnahme und in unregelmäßigen Abständen. Hierbei kann man im Vergleich zum Wert in Woche 2, wo ein Null-Stunden-Wert zur Verfügung steht, einen Anstieg in der Konzentration beobachten.

Patient 8 aus dem Dose-Level 7 vertrug Tarceva® schlecht und die Medikation wurde somit häufig auf Grund starker Nebenwirkungen ausgesetzt. Zwischen Woche 8 und Woche 10

wurde Tarceva® nicht eingenommen, was in den Nullwerten der Blutabnahme in Wochen 9 und 10 resultiert. Weiters erfolgte ab Woche 13 eine 15-tägige Therapiepause, wodurch sich wiederum keine Konzentrationen feststellen ließen, wobei OSI-420 ganz geringe Konzentrationen zeigt. Am Tag der Blutabnahme der Woche 16 wurde das Medikament wiederum nicht eingenommen und zu Woche 17 und 18 sind keine Informationen verfügbar, wobei aber die Nullwerte in Woche 18 wieder auf ein Absetzen des Medikaments schließen lassen. Die hohen Werte in Woche 11 und 12 lassen sich auf eine verspätete Blutabnahme zurückführen.

Zu **Patient 9** sind erst wieder Wochenproben aus Woche 11 und 12 verfügbar und man beobachtet einen Konzentrationsabfall in Woche 11. Es ist unklar, welchen Verlauf die Kurve zwischen Wochen 3 und 10 eingenommen hat.

Patient 10 umfasst eine große Anzahl an Wochenproben. Hierbei werden ab Woche 14 bei OSI-420 nur Nullwerte gemessen. Weiters auch in Woche 4 und 7. Erlotinib-Konzentrationen hingegen konnten nur in Woche 15 und 22 einen Nullwert ergeben. Die Einnahme von Tarceva® erfolgte laut Protokoll unabgesetzt. Wobei ab Woche 18 keine Daten zur Verfügung stehen.

Abgesehen von der verspäteten Blutabnahme in Woche 4, erfolgte bei **Patient 11** alles nach vorgeschriebenen Blutabnahme- und Tabletteneinnahmeplan. Es sind auch keine allzu großen Schwankungen im Kurvenverlauf zu beobachten. Jedoch konnten für OSI-420 in Woche 5 und 6 keine Konzentrationen quantifiziert werden.

Patient 12 zeigt ab Woche 3 einen kontinuierlichen Anstieg. Da die Blutabnahme-Daten nicht zur Verfügung stehen, lassen sich der Anstieg und der hohe Wert in Woche 6 nicht erklären.

Patient 13 zeigt in den Wochenproben gleichmäßige Konzentrationen von Erlotinib und OSI-420.

4.3.1. Vergleich der Wochenproben

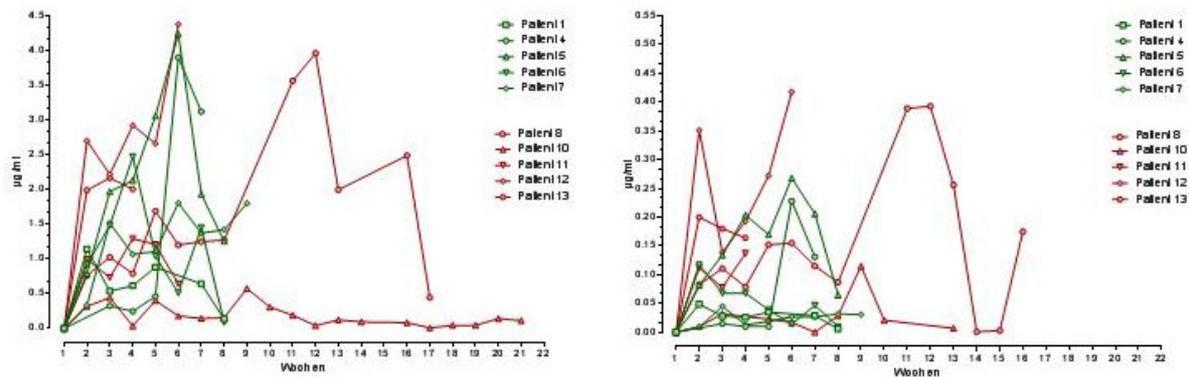


Abb. 69: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven der Wochenproben der Patienten aus DL 3, 7 und 8 Erlotinib (links) und OSI-420 (rechts)

Ein Vergleich zwischen den Dose-Levels ist schwer bis kaum möglich. Dies liegt daran, dass einen unterschiedliche Anzahl an Wochenproben vorhanden ist, oft keine Null-Stunden-Werte zur Verfügung stehen oder die Blutabnahmedaten und Medikamenteneinnahmen starken Schwankungen unterlegen sind beziehungsweise entsprechende Protokolle unzureichend sind. Teilweise ist es auch unklar, ob die Patiententagebücher vollständig waren und die Tabletteneinnahmedaten richtig eingetragen wurden. Weiters spielt natürlich wiederum die variable Pharmakokinetik von Erlotinib eine Rolle. Die Abbildung 69 veranschaulicht die starken Unterschiede innerhalb der Patienten nur allzu deutlich.

4.4. Ergebnisse der Untersuchung der prämedizierten Arzneistoffe

Bereits die Reinsubstanzen zeigten keine Peaks im Chromatogramm und auch in einem Gemisch mit Erlotinib konnten keine signifikanten Änderungen des Erlotinib-Peaks beobachtet werden.

Die Substanzen, die untersucht wurden, konnten im Verlauf dieser Versuchsreihe somit keine Peak-Interferenzen mit Erlotinib zeigen. Auch der Protonenpumpenhemmer Pantoprazol und der H₂-Antagonist Famotidin, die laut Literatur zu potentiellen Interaktionen führen, sollen laut diesen Ergebnissen keine Wechselwirkungen mit Erlotinib eingehen. [18]

Somit sind für diese Patienten keine Interaktionen zu befürchten.

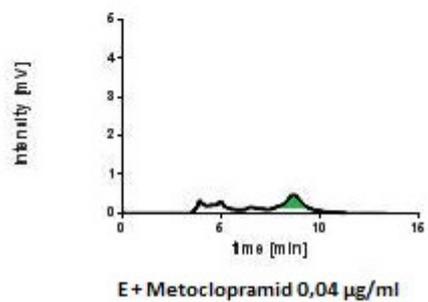
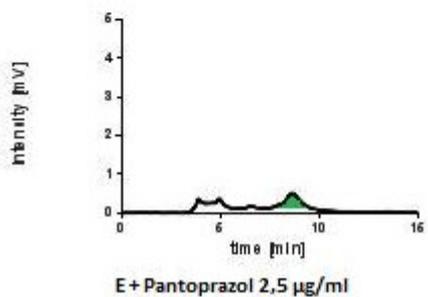
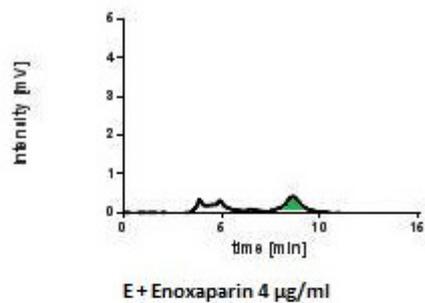
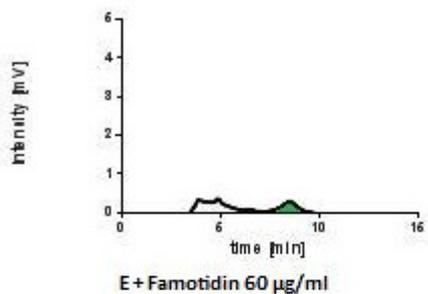
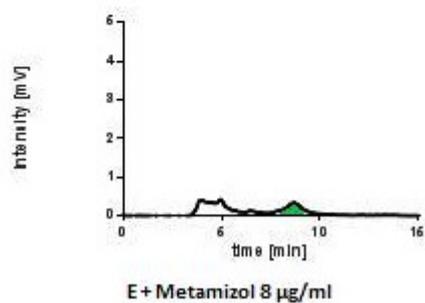
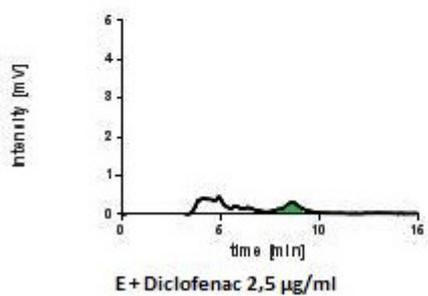
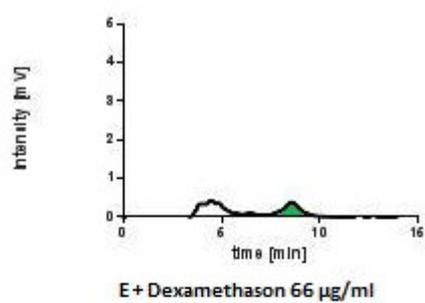
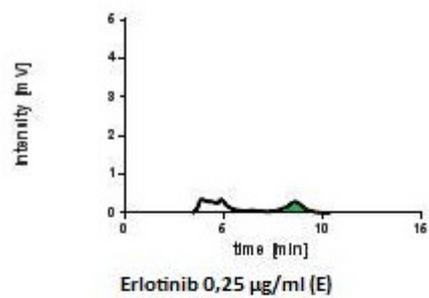


Abb. 70: Chromatogramme: Substanzen der Prämedikation mit Erlotinib

4.5. Bestimmung der Plasmaproteinbindung mittels Ultrafiltration

Nachdem Erlotinib eine sehr hohe Plasmaproteinbindung aufweist, erfolgte mittels Ultrafiltration die Bestimmung dieser. Es wurde mit einer Konzentration von 0,5 µg/ml (entspricht 500 ng) gearbeitet. Von den laut Literatur gebundenen 98 % Prozent liegen somit 2 % der Substanz in freier Form vor. Dies entspricht 10 ng Erlotinib. Die Analyse der Ultrafiltrate im Plasma führte zu keinen Peaks in den Chromatogrammen. Die Standards zeigten die entsprechenden Erlotinib-Peaks. Somit kann man schließen, dass Erlotinib die hohe Plasmaproteinbindung von 98 % aufweist und diese Beobachtungen stimmen mit den Literaturdaten überein.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Diplomarbeit befasst sich mit der Auswertung von Plasmaproben von Pankreaskarzinompatienten, die eine Kombinationschemotherapie der Substanzen Erlotinib, Capecitabin und Bevacizumab unterliefen. Hauptziel der Arbeit war der Vergleich der Pharmakokinetik zweier unterschiedlicher Dosierungen des Tyrosinkinasehemmers Erlotinib (Tarceva®). Dazu wurden drei Dose-Levels einer klinischen Studie zum Vergleich herangezogen, wobei sieben Patienten eine 100-mg-Dosis (Dose-Level 3) und 6 Patienten eine 150-mg-Dosis erhielten (Dose-Levels 7 und 8). Untersucht wurden einerseits die Einzelgabe (0-24 Stunden aus Tag 1) sowie die Tage 1-8 (entsprechende Woche 1 der Studie) und die Langzeitgabe über Monate andererseits.

Die Untersuchungen der Woche 1 zeigten, dass die Patienten, die eine 150-mg-Dosis erhielten durchschnittlich höhere Plasmakonzentrationen erreichten und es konnten auch Unterschiede wichtiger pharmakokinetischer Parameter zwischen den beiden Dosierungen festgestellt werden. Jedoch konnten auch Unterschiede innerhalb der Dose-Levels beobachtet werden. Die Schwankungen zwischen den Dose-Levels 7 und 8 könnten auf eine Interaktion mit Bevacizumab hinweisen, da sich die Dosierung dieses Arzneistoffes in diesen Dose-Levels unterschied. Die Literatur liefert aber keine Angaben zu möglichen Wechselwirkungen. Daher kann auch die variable Pharmakokinetik, die der Substanz Erlotinib zugeschrieben wird, Grund für die Verschiedenheiten sein.

Die Ergebnisse der Langzeitgabe zeigten sehr starke Schwankungen der Konzentrationen innerhalb der Dose-Levels und somit auch im Vergleich der beiden Dosierungen.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurden Peak-Interferenzen zwischen Erlotinib und ausgewählten Substanzen der Prämedikation und Comedikation untersucht. Darunter die Substanzen Diclofenac, Dexamethason, Metamizol, Pantoprazol, Metoclopramid, Famotidin und Enoxaparin. Es wurden keine Peak-Interferenzen beobachtet.

Schließlich wurde noch die Plasmaproteinbindung von Erlotinib mittels Ultrafiltration untersucht. Unter Verwendung der Ultrafiltrationsröhrchen (Centrisart®) konnte die Plasmaproteinbindung, die laut Literatur 98 % beträgt, bestätigt werden.

6. Summary

The present diploma thesis focuses on the evaluation of blood samples of patients with diagnosed pancreatic carcinoma, who have undergone a chemotherapy including the substances erlotinib, capecitabine and bevacizumab. The principal aim of this thesis was the comparison of the pharmacokinetics between two different dosages of the tyrosine kinase inhibitor erlotinib (Tarceva®). Three different dose levels were examined in a clinical trial. Seven patients were treated with a 100 mg dose (dose level 3) and six further patients received a 150 mg dose (dose level 7 and 8). An examination of a single dose (0-24 hours of day 1) and the days 1-8 (first week of the study) as well as a long-term supplementation (months) was performed.

The investigations of the first week showed higher average concentrations in patients receiving a 150 mg dose and there were further differences between the pharmacokinetic parameters of the two dosages to be found. However, there were differences within the dose levels as well. The fluctuations between dose level 7 and 8 could suggest a possible interaction between bevacizumab and erlotinib, as the doses of this substance tell apart within dose level 7 and 8. But there are no interactions between the two substances to be found in literature. Thus the interindividual pharmacokinetics of erlotinib also could be the reason for those results.

The examination of the long-term supplementation resulted in strong fluctuations of the concentration within the dose levels and the two different dosages respectively.

Furthermore this diploma thesis examined the analytical interferences between erlotinib and premedicated or comedicated drugs, including the substances diclofenac, dexamethasone, metamizol, pantoprazole, metoclopramide, famotidine and enoxaparin. It could be shown that there are no interactions between the drugs and erlotinib.

Finally the plasma protein binding of erlotinib was examined by means of ultrafiltration. The results of this examination corresponded with the data from the literature.

Abkürzungsverzeichnis

µg/ml	Mikrogramm pro Milliliter
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
5-FU	5-Fluorouracil
5-HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
Aqua bidest.	Aqua bidestillata
ATP	Adenonsinriphosphat
AUC	Area under the curve
BVC	Bevacizumab
bzw.	beziehungsweise
CA	Carboanhydrase
CCB	Capecitabin
CL	Clearance
cm	Zentimeter
Cmax	maximale Plasmakonzentration
conc	Konzentration
Css	steady state concentration
CYP	Cytochrom P450
D	Dopamin
d	Tag(e)
Da	Dalton
DL	Dose-Level
EGF	epidermal growth factor
EGFR	epidermal growth factor receptor
ErbB	epidermal growth factor receptor
ERL	Erlotinib
Erlo	Erlotinib
FDA	Food and Drug Administration
h	Stunde
H ₂	Histamin

H ₃ PO ₄	Phosphorsäure
HER	human epidermal growth factor receptor
HPLC	high performance liquid chromatography
Jak	Januskinase
kg	Kilogramm
l	Liter
MAA	4-N-Methylaminoantipyrin
MAP-Kinase	Mitogen aktivierte Proteinkinase
mbar	Millibar
MD-CT	Multidetektor-Computertomographie
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie
MWCO	Molecular Weight Cut Off
Na ₂ HPO ₄ · 2 H ₂ O	Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat
NaH ₂ PO ₄ · 1 H ₂ O	Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat
NSCLC	Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom
RP	Reversed Phase (Umkehrphase)
SPE	solid phase extraction
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
t ½	Halbwertszeit
T	Tag
t	Zeit
TGF-α	transforming growth factor α
Tmax	Zeitpunkt, der maximalen Plasmakonzentration
UGT	Uridindiphosphat-Glucuronosyltransferasen
V _D	Verteilungsvolumen
z.B.	zum Beispiel

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Graphische Darstellung des Pankreas und Häufigkeit des Auftretens des Pankreaskarzinoms	1
Abb. 2: Chemische Struktur von Erlotinib	3
Abb. 3: Graphische Darstellung des EGFR-Signalweges	5
Abb. 4: Hauptmetabolisierungswege des Erlotinibs	7
Abb. 5: Festphasenextraktions-Apparatur und Kartusche	20
Abb. 6: Vorgang der Festphasenextraktion	21
Abb. 7: HPLC-Anlage und Säule	22
Abb. 8: Schematische Darstellung einer Ultrafiltrationseinheit	24
Abb. 9: Eichgeraden von OSI-420 und Erlotinib: HPLC EZChrom Elite	27
Abb. 10: Eichgeraden von OSI-420: HPLC LaChrom MERCK-HITACHI	28
Abb. 11: Eichgeraden von Erlotinib: HPLC LaChrom MERCK-HITACHI	28
Abb. 12: Verwendung von Oasis-Kartuschen und Chromabond-Kartuschen	29
Abb. 13: Verlauf von Erlotinib und OSI-420: Tag 1	30
Abb. 14: Verlauf von Erlotinib und OSI-420: Fortsetzung Tag 1, Tage 2-4	31
Abb. 15: Verlauf von Erlotinib und OSI-420: Tage 5-8	32
Abb. 16: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	33
Abb. 17: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	34
Abb. 18: Patient 2: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	35
Abb. 19: Patient 2: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	35
Abb. 20: Patient 3: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	36
Abb. 21: Patient 3: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	37
Abb. 22: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	38
Abb. 23: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	38
Abb. 24: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	39
Abb. 25: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	40
Abb. 26: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	41
Abb. 27: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	41
Abb. 28: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	42
Abb. 29: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	43

Abb. 30: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	44
Abb. 31: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	44
Abb. 32: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	45
Abb. 33: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	46
Abb. 34: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	47
Abb. 35: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	47
Abb. 36: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	48
Abb. 37: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	49
Abb. 38: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	50
Abb. 39: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	50
Abb. 40: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Tag 1-8	51
Abb. 41: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Tag 1-8	52
Abb. 42: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib der Patienten aus DL 3 Tag 1-8	55
Abb. 43: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib der Patienten aus DL 7 + 8 Tag 1-8.....	55
Abb. 44. Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib (links) und OSI-420 der Patienten aus DL 3 und DL 7+8 T1-8 0h-4h	56
Abb. 45: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib und OSI-420 der Patienten aus DL 7 und DL 8 T1-8 0h-4h	56
Abb. 46: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven Erlotinib und OSI-420 der Patienten aus DL 3 und DL 7+8 T1 0h-24h	57
Abb. 47: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-8.....	62
Abb. 48: Patient 1: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-8.....	62
Abb. 49: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-7.....	63
Abb. 50: Patient 4: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-7.....	63
Abb. 51: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-8.....	64
Abb. 52: Patient 5: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-8.....	64
Abb. 53: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-8.....	65
Abb. 54: Patient 6: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-8.....	65
Abb. 55: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-9.....	66
Abb. 56: Patient 7: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-9.....	66
Abb. 57: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-18.....	67
Abb. 58: Patient 8: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-18.....	68

Abb. 59: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-12.....	68
Abb. 60: Patient 9: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-12.....	69
Abb. 61: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-22.....	70
Abb. 62: Patient 10: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-22.....	70
Abb. 63: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-6.....	71
Abb. 64: Patient 11: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-6.....	71
Abb. 65: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-6.....	72
Abb. 66: Patient 12: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-6.....	72
Abb. 67: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve Erlotinib Woche 1-4.....	73
Abb. 68: Patient 13: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve OSI-420 Woche 1-4.....	73
Abb. 69: Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven der Wochenproben der Patienten aus DL 3, 7 und 8 Erlotinib und OSI-420	76
Abb. 70: Chromatogramme: Substanzen der Prämedikation mit Erlotinib.....	77

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Studiendesign	14
Tabelle 2: Dosierungsschema.....	15
Tabelle 3: Einnahmeschema von Erlotinib (Tarceva®) und Capecitabin (Xeloda®)	15
Tabelle 4: Blutabnahmedaten	16
Tabelle 5: Patientendaten: DL 3	16
Tabelle 6: Patientendaten: DL 7 und 8.....	16
Tabelle 7: Prä- bzw. Comedikation der Patienten aus DL 3, 7 und 8.....	17
Tabelle 8: Parameter der HPLC-Anlagen	17
Tabelle 9: Verwendete Reagentien und Chemikalien.....	18
Tabelle 10: Verwendete Mischungen und Lösungen.....	18
Tabelle 11: Verwendete Substanzen der Prämedikation.....	18
Tabelle 12: Verwendete Materialien und Geräte	19
Tabelle 13: Schema der Verdünnungsreihe	23
Tabelle 14: Erläuterung wichtiger pharmakokinetischer Parameter	26
Tabelle 15: Statistische Parameter der Eichgerade für HPLC-System EZChrom Elite.....	27
Tabelle 16: Statistische Parameter der Eichgerade für das HPLC-System LaChrom MERCK- HITACHI.....	29
Tabelle 17: Patient 1: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	33
Tabelle 18: Patient 2: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	34
Tabelle 19: Patient 3: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	36
Tabelle 20: Patient 4: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	37
Tabelle 21: Patient 5: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	39
Tabelle 22: Patient 6: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	40
Tabelle 23: Patient 7: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	42
Tabelle 24: Patient 8: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	43
Tabelle 25: Patient 9: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	45
Tabelle 26: Patient 10: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	46
Tabelle 27: Patient 11: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	48
Tabelle 28: Patient 12: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	49
Tabelle 29: Patient 13: Plasmakonzentrationen und Area von Erlotinib und OSI-420.....	51

Tabelle 30: Tmax und Cmax aus Zyklus 1	57
Tabelle 31: Pharmakokinetische Parameter von Erlotinib aus Dose-Level 3 (0-24 h).....	58
Tabelle 32: Pharmakokinetische Parameter von Erlotinib aus den Dose-Levels 7+8 (0-24 h)	58
Tabelle 33: MW der pharmakokinetischen Parameter für Erlotinib (0-24 h).....	59
Tabelle 34: SD der pharmakokinetischen Parameter für Erlotinib (0-24 h)	59
Tabelle 35: Pharmakokinetische Parameter für Erlotinib	60
Tabelle 36: Patient 1: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-8 ..	62
Tabelle 37: Patient 4: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 4-7 ..	63
Tabelle 38: Patient 5: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-8 ..	64
Tabelle 39: Patient 6: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-8 ..	65
Tabelle 40: Patient 7: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-9 ..	66
Tabelle 41: Patient 8: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-18	67
Tabelle 42: Patient 9: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib + OSI-420 Woche 11-12...	68
Tabelle 43: Patient 10: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib +OSI-420 Woche 3-22 ...	69
Tabelle 44: Patient 11: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-6	71
Tabelle 45: Patient 12: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-6	72
Tabelle 46: Patient 13: Area und Plasmakonzentrationen Erlotinib und OSI-420 Woche 3-4	73

Literaturverzeichnis

- [1] Mutschler E., Schaible H.-G., Vaupel P.: Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen, 6., völlig überarbeitete und erweiterte Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2007, p. 453

- [2] Sahara K., Trenkwitz D., Akan B., Kühner I., Götzinger P., Gnant M.: Moderne Tumortherapie des Pankreaskarzinoms, Journal für Gastroenterologische und Hepatologische Erkrankungen 2008, 6 (3), p. 17-24

- [3] Cartwright T., Richards D.A., Boehm K.A.: Cancer of the Pancreas: Are We Making Progress? A Review of Studies in the US Oncology Research Network, Cancer Control, October 2008, Vol. 15, No.4, p. 308-313

- [4] Ying J.-E., Zhu L.-M., Liu B.-X.: Developments in metastatic pancreatic cancer: Is gemcitabine still the standard?, World Journal of Gastroenterology, Volume 18, Issue 8, February 2012, p. 736-745

- [5] Saif M.W.: Pancreatic Cancer: Is This Bleak Landscape Finally Changing?, Journal of the Pancreas, Vol.8, No.4, July 2007 p. 365-373

- [6] Sharma C., Eltawil K. M., Renfrew P. D., Walsh M. J., Molinari M.: Advances in diagnosis, treatment and palliation of pancreatic carcinoma: 1990-2010, World Journal of Gastroenterology, February 2011, Volume 17, Issue 7, p. 867-897, Figure 1

- [7] Cranmer L. D., Engelhardt C., Morgan S. S.: Treatment of Unresectable and Metastatic Cutaneous Squamous Cell Carcinoma, The Oncologist, 2010; 15, p. 1320-1328, Figure 1

- [8] Product Monograph: Tarceva, erlotinib hydrochloride tablets, erlotinib 25, 100, 150 mg, Hoffmann-La Roche Limited, Canada, February 13, 2013 p. 1-50

- [9] Bareschino M.A., Schettino C., Troiani T., Martinelli E., Morgillo F., Ciardiello F.: Erlotinib in cancer treatment, *Annals of Oncology*, Volume 18, Supplement 6, June 2007, p. vi35-vi41
- [10] Mutschler E., Geisslinger G., Kroemer H. K., Ruth P., Schäfer-Korting M.: Mutschler Arzneimittelwirkungen, *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 9., vollständig neu bearbeitete und erweiterte Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2008, p. 946
- [11] Starling N., Neoptolemos J., Cunningham D.: Role of erlotinib in the management of pancreatic cancer, *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2006: 2(4), p. 435-445
- [12] Hirte H. W.: Profile of Erlotinib and its potential treatment of advanced ovarian carcinoma, *OncoTargets and Therapy*, 2013:6, p. 427-435
- [13] Austria Codex Fachinformation 2008/2009, Österreichische Apotheker Verlagsgesellschaft m.b.H. Wien 2008
- [14] Ling J., Johnson K. A., Miao U., Rakhit A., Pantze M. P., Hamilton M., Lum B. L., Prakash C.: Metabolism and excretion of erlotinib, a small molecule inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in healthy male volunteers, *Drug Metabolism and Disposition*, Vol. 34, No. 3, 2006, p. 420-426
- [15] Ma W. W., Herman J. M., Jimeno A., Laheru D., Messersmith W. A., Wolfgang C. L., Cameron J. L., Pawlik T. M., Donehower R. C., Rudek M. A., Hidalgo M.: A Tolerability and Pharmacokinetic study of Adjuvant Erlotinib and Capecitabine with Concurrent Radiation in Resected Pancreatic Cancer, *Translational Oncology*, Vol. 3., No. 6, December 2010, p. 373-379
- [16] Kulke M. H., Blazzkowsky L. S., Ryan D. P., Clark J. W., Meyerhardt J. A., Zhu A. X., Enzinger P.C., Kwak E. L., Muzikansky A., Lawrence C., Fuchs C. S.: Capecitabine Plus

Erlotinib in Gemcitabine-Refractory Advanced Pancreatic Cancer, *Journal of Clinical Oncology*, 25, 2007, p. 4787-4792

- [17] Starling N., Watkins D., Cunningham D., Thomas J., Webb J., Brown G., Thomas K., Oates J., Chau I.: Dose Finding and Early Efficacy Study of Gemcitabine Plus Capecitabine in Combination With Bevacizumab Plus Erlotinib in Advanced Pancreatic Cancer, *Journal of Clinical Oncology*, 27, 2009, p. 5499-5505
- [18] Duong S., Leung M.: Should the concomittant use of erlotinib and acid-reducing agents be avoided? The drug interaction between erlotinib and acid-reducing agents, *Journal of Oncology and Pharmacy Practice*, 17 (4), August 2010, p. 448-452
- [19] Gey M. H.: *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik*, 2. überarbeitete Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg 2008, S. 66-71
- [20] Rücker, Neugebauer, Willems: *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2008, S. 446, 448
- [21] Lottspeich F., Engels J.W.: *Bioanalytik*, 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Elsevier GmbH, München, 2006, S. 224
- [22] Gey, M. H.: *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik*, 2. überarbeitete Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg 2008, S. 168
- [23] Baroian N., *Pharmakokinetik und Metabolismus von Erlotinib nach single- und multiple-dose*, Universität Wien Diplomarbeit, Department für klinische Pharmazie und Diagnostik, Wien (2012)
- [24] Sahmanovic-Hrgovcic A., *Universität Wien Dissertation*, Department für klinische Pharmazie und Diagnostik

- [25] Timmers et al: The use of erlotinib in daily practice: a study on adherence and patients' experiences, *BMC Cancer* 2011, 11:248
- [26] Phoenix™ WinNonlin® 4.1. (Certara, Inc., 9666 Olive Blvd., Suite 425, St. Louis, MO 63132, U.S.A.). User's Guide: Noncompartmental Analysis. Computational details for pharmacokinetic parameters
- [27] Barré J., Chamouard J. M., Houin G., Tillement J. P.: Equilibrium Dialysis, Ultrafiltration, and Ultracentrifugation Compared for Determining the Plasma-Protein-Binding Characteristics of Valproic Acid, *Clinical Chemistry*, Vol. 31, no. 1, 1985, p. 60-64
- [28] Aktories, Förstermann, Hofmann, Starke: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 10. überarbeitete Auflage, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, München, 2009, S. 47, 74
- [29] Lottspeich F., Engels J.W.: *Bioanalytik*, 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Elsevier GmbH, München, 2006, S. 27
- [30] Centrisart®I: *Gebrauchsanleitung*, Sartorius Stedim Biotech GmbH
- [31] Jaehde, Radziwill, Kloft: *Klinische Pharmazie, Grundlagen und Anwendung*, 3. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2010
- [32] Li J., Zhao M., He P., Differential Metabolism of Gefitinib and Erlotinib by Human Cytochrome P450 Enzymes, *Clinical Cancer Research* 2007, 13:3731, p. 3731-3737

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Manuela Gili
Staatsbürgerschaft: Österreich

Schulbildung:

1995-1996 Vorschule Waizenkirchen
1996-1998 Volksschule Waizenkirchen
1998-2000 Volksschule Gunskirchen
2000-2008 Bundesgymnasium und Bundesrealgymnasium Wels – Anton-Bruckner-Straße (Matura – 16. Juni 2008)

Ausbildung:

2008-2013: Pharmaziestudium an der Universität Wien

Praktika:

2010-2011: 1-monatige Praktika: Adler-Apotheke Wels, Fritsch & Co KG

Tutorium:

WS 2012: Tutorium am Department für klinische Pharmazie (Universität Wien)

Sonstige Qualifikationen

Sprachkenntnisse: Englisch (fließend)
Französisch (Kenntnisse)