



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Pharmakokinetik von Capecitabin und seinen
Metaboliten in der kombinierten Chemotherapie“

verfasst von / submitted by

Eva-Maria Pemmer

angestrebter akademischer Grad /

in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2016 / Vienna, 2016

Studienkennzahl lt. Studienblatt /

degree programme code as it appears on

the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /

degree programme as it appears on

the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Martin Czejka

Danksagung

Hiermit möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die zur Erstellung dieser Diplomarbeit einen wesentlichen Beitrag geleistet haben.

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Betreuer ao. Univ.-Prof. Mag. pharm. Dr. rer. nat. Martin Czejka. Er gab mir die Möglichkeit an der Division klinische Pharmazie des Departments Pharmazeutische Chemie an einer so interessanten und zeitgerechten Studie mitarbeiten zu dürfen. Mit Geduld begleitete er mich bei der praktischen Diplomarbeit und gab mir hilfreiche Ratschläge für das Verfassen.

Ein herzliches Danke möchte ich an Frau Mag. pharm. Dr. Veronika Rachar aussprechen. Mit ihrer höflichen und offenen Art war sie stets für mich da.

Herrn Mag. pharm. Dr. Philipp Buchner möchte ich ebenfalls meinen Dank für die Hilfestellung bei den Berechnungen aussprechen.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Mag. Marie Kathrin Kitzmüller bedanken, die mir besonders bei der Fertigstellung meiner Diplomarbeit zur Seite stand.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie und allen meinen Freunden, die mir während meiner gesamten Studienzeit eine große Stütze waren.

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich, Eva-Maria Pemmer, diese Diplomarbeit selbstständig verfasst habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde bisher weder in gleicher noch in ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und wurde auch noch nicht veröffentlicht.

Wien, 2016

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	- 8 -
1.1	Dickdarmkrebsstatistik Österreich	- 8 -
1.2	Capecitabin	- 9 -
1.2.1	Dosierung	- 9 -
1.2.2	Metabolismus.....	- 9 -
1.2.3	Nebenwirkungen	- 11 -
1.3	Cetuximab (CTX)	- 12 -
1.3.1	Wirkmechanismus.....	- 12 -
1.4	Oxaliplatin (OxPt).....	- 14 -
1.4.1	Wirkmechanismus.....	- 14 -
2	Rationale	- 15 -
3	Experimenteller Teil	- 16 -
3.1	Studiendesign	- 16 -
3.1.1	Therapieschema der Gruppen.....	- 16 -
3.1.2	Blutabnahme.....	- 17 -
3.1.3	Patientencharakteristik	- 18 -
3.2	Analyse	- 19 -
3.2.1	Festphasenextraktion.....	- 19 -
3.2.2	HPLC	- 21 -
3.2.3	Laborausstattung	- 23 -
3.2.4	Eluentenherstellung	- 25 -

3.2.5	Eichgeraden.....	- 25 -
3.2.6	Biometrische Berechnungen & metabolische Aktivierung	- 28 -
3.2.7	Verwendete Software	- 29 -
4	Ergebnisse	- 30 -
4.1	Eichgeraden von Capecitabin und den Metaboliten.....	- 30 -
4.1.1	Eichgerade von Capecitabin.....	- 30 -
4.1.2	Eichgerade von DFUR	- 31 -
4.1.3	Eichgerade von DFUR	- 31 -
4.2	Chromatogramme	- 33 -
4.2.1	Chromatogramme von Capecitabin am Tag 1.....	- 34 -
4.2.2	Chromatogramme von Capecitabin am Tag 5.....	- 36 -
4.2.4	Chromatogramme von DFUR und DFUR am Tag 1	- 37 -
4.2.5	Chromatogramme von DFUR und DFUR am Tag 5.....	- 39 -
4.3	Plasmakonzentrationen der Patienten & graphische Darstellung.....	- 40 -
4.3.1	Patient 16 (Arm A).....	- 40 -
4.3.3	Patient 17 (Arm A).....	- 43 -
4.3.4	Patient 18 (Arm B).....	- 46 -
4.3.5	Patient 19 (Arm A).....	- 49 -
4.3.6	Patient 20 (Arm A).....	- 52 -
5	Datenauswertung und Diskussion	- 55 -
5.1	Pharmakokinetische Parameter.....	- 56 -
5.1.1	Zyklus 1: Monotherapie mit Capecitabin.....	- 56 -

5.1.2	Zyklus 2: Kombinationstherapie Capecitabin und Cetuximab	- 58 -
5.1.3	Zyklus 3: Kombinationstherapie Capecitabin, Cetuximab und Oxaliplatin...	- 60 -
5.1.4	Gegenüberstellung und Diskussion der einzelnen Parameter	- 62 -
5.2	Metabolische Aktivierung.....	- 65 -
5.2.1	Zyklus 1	- 65 -
5.2.2	Zyklus 2	- 65 -
5.2.3	Zyklus 3	- 66 -
6	Zusammenfassung.....	- 67 -
7	Summary.....	- 68 -

1 Einleitung

1.1 Dickdarmkrebsstatistik Österreich

Jährlich wird in Österreich bei etwa 38.000 Menschen Krebs diagnostiziert, dabei stellt Dickdarmkrebs eine der häufigsten Formen dar. Bei Männern tritt es nach Prostata- und Lungenkrebs als dritthäufigste Krebsform, bei Frauen folgend dem Brustkrebs sogar als zweithäufigste Form auf.

Generell liegt die Inzidenz als auch die Mortalitätsrate jener Krebsform bei Männern höher als bei Frauen. Im Jahre 2011 wurde bei 2.465 Männern und bei 1.883 Frauen in Österreich Dickdarmkrebs festgestellt. Sterbefälle in jenem Jahr betrugen 1.168 bei den Männern und 1.007 bei den Frauen.

Sowohl die Neuerkrankungs- als auch die Sterberate ging in den letzten Jahren zurück. Aufgrund der Früherkennung an Dickdarmkrebs durch Darmspiegelung wird die Inzidenz ebenso herabgesetzt. [1]

1.2 Capecitabin

Capecitabin (=CCB) ist ein Fluoropyridincarbamat und fungiert als Prodrug bei metastasierendem Mamma-, Magen- und Kolonrektalkarzinom. Es ist unter dem Handelsnamen Xeloda® bekannt und besitzt eine Bioverfügbarkeit von 80 %. [2,3]

1.2.1 Dosierung

Das Medikament wird peroral verabreicht und ist als 150 mg oder als 500 mg Filmtablette erhältlich. Als Monotherapeutikum eingesetzt beträgt die Dosierung zweimal täglich über 14 Tage 1250 mg/m² Körperoberfläche, wobei darauf eine siebentägige Pause erfolgt. In der Kombinationstherapie wird die Dosis stufenweise reduziert. [2,4]

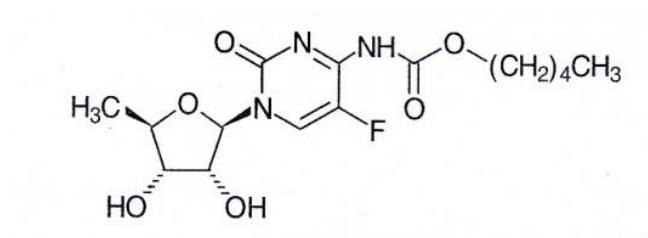


Abbildung 1: Struktur von Capecitabin [2]

1.2.2 Metabolismus

Der Arzneistoff Capecitabin wird nach oraler Gabe rasch resorbiert und in die Metaboliten 5'DFCR (=5'-Deoxy-5-fluorocytidin) und 5'DFUR (=5'-Deoxy-5-fluorouridinil), dessen Folgemetabolit 5-FU (= 5-Fluorouracil) ist, umgewandelt.

Dies erfolgt in drei Schritten, wobei zunächst Capecitabin durch Carboxylesterase in der Leber zu 5'DFCR abgebaut wird. Dem folgend wird durch die Cytidin-Deaminase, die sowohl in der Leber als auch im Tumorgewebe vorkommt, 5'DFUR gebildet. Weiters erfolgt durch Thymidin-Phosphorylase eine Zuckerabspaltung und es resultiert das wirksame 5-FU. [3,4]

Es herrschen Anzeichen vor, dass es durch die Biotransformation von 5-FU zur Bildung von Thymidilsäure kommt, welche Einfluss auf die Synthese der Desoxyribonukleinsäure (DNS) hat. Des Weiteren erfolgt durch den Einbau von 5-FU eine RNS- und Proteinsynthesehemmung. Dies hat die Verhinderung von Zellteilung und Zellwachstum zur Folge, was schließlich den Zelltod hervorruft. Am stärksten davon betroffen sind jene Zellen, die schneller proliferieren und 5-FU schneller metabolisieren. [4]

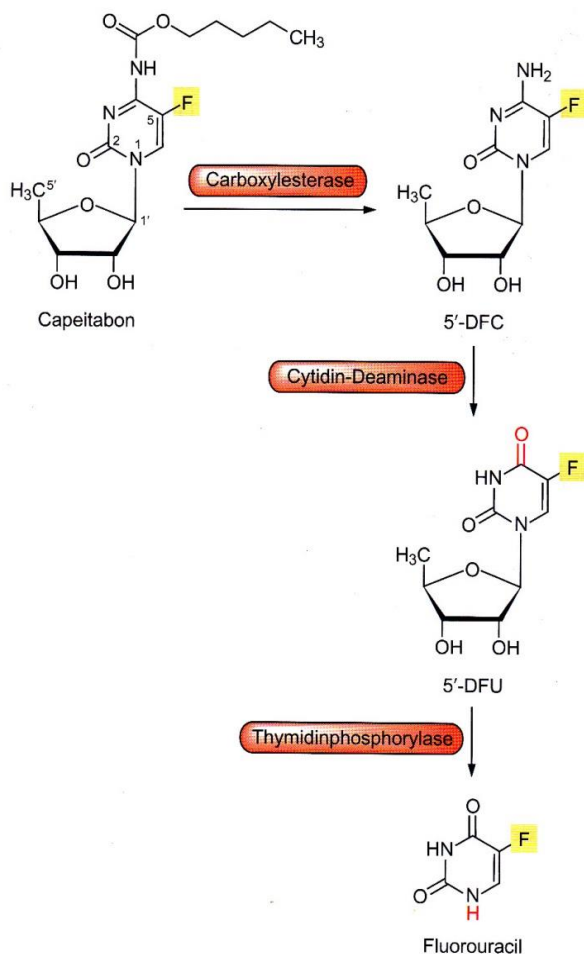


Abbildung 2: Metabolismus von Capecitabin [3]

1.2.3 Nebenwirkungen

Durch die Einnahme dieses Medikamentes treten häufig Nebenwirkungen wie Anorexie, Diarrhö, Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen, Abgeschlagenheit u.a. auf.

[2]

1.3 Cetuximab (CTX)

Cetuximab (Erbix®) ist ein monoklonaler, chimärer Antikörper, der gegen den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor EGFR gerichtet ist.

Intravenös verabreicht wird es sowohl in der Mono- als auch in der Kombinationstherapie zur Behandlung des fortgeschrittenen metastasierenden kolonrektalen Karzinoms eingesetzt. Vor der Behandlung muss der Nachweis der Expression des HER-1-Rezeptors in den Tumorzellen erfolgen. [3,5]

Als Nebenwirkungen treten häufig Akne ähnliche Hautreaktionen, selten allergische Reaktionen, sowie Übelkeit und Erbrechen auf. [5]

1.3.1 Wirkmechanismus

Cetuximab bindet mit einer circa fünf- bis zehnfach höheren Affinität an den EGF Rezeptor als endogene Liganden, wodurch die Hemmung der Rezeptorfunktion erfolgt. Außerdem kann es gezielt zytotoxische Effektorzellen des Immunsystems auf die Tumorzelle lenken, was zur Antikörper-abhängigen Zytotoxizität führt.

In der Signaltransduktionskette von EGFR spielt das K-Ras Gen eine wichtige Rolle, da es eines der am häufigsten aktivierten Onkogene bei Krebspatienten darstellt. Durch die Aktivierung von K-Ras kommt es zur gesteigerten Proliferation, zum Überleben von Zellen, sowie zur Angiogenese.

Mutationen dieses K-Ras Gens bewirken die Aktivierung des Proteins trotz fehlender EGF-Bindung. [4,5]

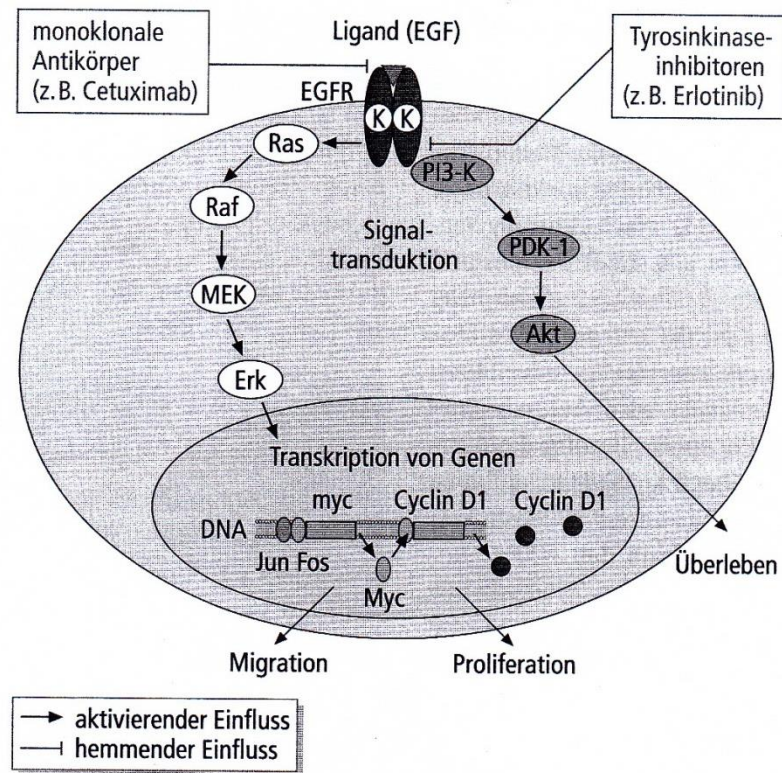


Abbildung 3: Aktivierung/Hemmung der Rezeptorkinase [5]

Infolge der Bindung an den Rezeptor hemmt Cetuximab die Produktion von Angiogenesefaktoren und die Proliferation von Zellen, außerdem führt es zur Apoptose der Tumorzellen. [4,Band 3, S.5201; 5]

1.4 Oxaliplatin (OxPt)

Der Wirkstoff Oxaliplatin (Eloxatin®) wird zu den Platinverbindungen gezählt. Das Platinatom ist dabei mit einer Oxalgruppe und mit 1,2-Diaminocyclohexan („DACH“) komplexiert. Eingesetzt wird es in Kombination mit 5-Fluorouracil und Folsäure bei Patienten mit metastasierendem Dickdarmkrebs.

Ebenso wie alle anderen Platinpräparate wird Oxaliplatin durch intravenöse Infusion verabreicht und diffundiert rasch ins Gewebe. Danach bindet es zum größten Teil irreversibel an Erythrozyten. Die Ausscheidung erfolgt primär über die Niere.

Die Platinverbindung weist einige Nebenwirkungen wie kumulative Neurotoxizität sowie sensorische periphere Neuropathien an Extremitäten und im Mundbereich auf.

[3]

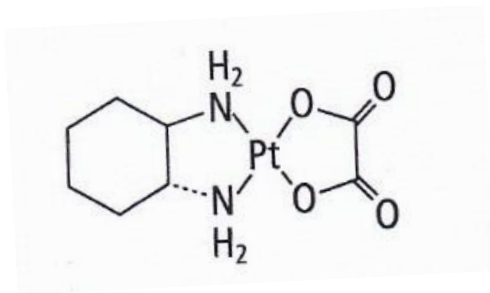


Abbildung 4: Strukturformel von Oxaliplatin [5]

1.4.1 Wirkmechanismus

Obwohl der Wirkmechanismus noch nicht vollständig geklärt ist, geht aus Studien hervor, dass Aquaderivate mit DNA interagieren und Quervernetzungen bilden. Dadurch erfolgt ein Abbruch der DNA Synthese, wodurch Zytotoxizität und antitumoralen Wirkung entsteht. [5]

2 Rationale

Diese Diplomarbeit hat zum Ziel, die Pharmakokinetik des Prodrug Capecitabin, sowie dessen metabolische Aktivierung bei Patienten mit kolonrektalem Karzinom zu untersuchen und die erhaltenen Ergebnisse der diversen Therapieschemata zu vergleichen. Die Behandlung der Patienten erfolgte nach Unterteilung in zwei Gruppen durch Monotherapie mit Capecitabin und Kombinationstherapien mit Cetuximab und Oxaliplatin.

3 Experimenteller Teil

3.1 Studiendesign

Die Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Kaiser Franz Joseph Krankenhaus und dem AKH Wien. Dort wurden ausgewählten Patienten, die an Dickdarmkrebs erkrankten und einer bestimmten Therapie unterlagen, Blutproben abgenommen, zentrifugiert, bei -80 °C gelagert und anschließend an die Universität Wien geliefert.

Am der Division klinische Pharmazie des Departments Pharmazeutische Chemie angelangt, wurden die Proben schließlich von mehreren Studenten, unter der Aufsicht von Dissertierten und dem leitenden Professor analysiert.

3.1.1 Therapieschema der Gruppen

Die Therapiedauer eines Studienteilnehmers betrug insgesamt neun Wochen, unterteilt in drei Zyklen mit jeweils drei Wochen. Die Patienten wurden randomisiert in zwei Gruppen, Arm A und Arm B, eingeteilt.

In der Gruppe A wurde in den Wochen 1, 2, 4, 5, 7 und 8 Capecitabin verabreicht. Ab der dritten Woche fügte man Cetuximab zur Therapie hinzu und in der siebten Woche zusätzlich noch Oxaliplatin.

Bei der Gruppe B erhielten die Studienteilnehmer Capecitabin und Oxaliplatin in denselben Wochen wie Arm A, jedoch erfolgte die Gabe von Cetuximab nur in den Wochen 1, 8 und 9.

Die Patienten nahmen Capecitabin peroral, zweimal täglich, jeweils 30 Minuten nach einer Mahlzeit ein. Cetuximab und Oxaliplatin wurden intravenös verabreicht.

	Zyklus 1			Zyklus 2			Zyklus 3		
Woche	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Arm A	CCB			CCB			CCB		
			CETUX						
							OxPt		
Arm B	CCB			CCB			CCB		
	CETUX							CETUX	
							OxPt		

Abbildung 5: Therapieschema Arm A und Arm B

3.1.2 Blutabnahme

Den Patienten wurde in den Wochen 1, 4 und 7 jeweils am ersten und am fünften Tag Blut zur Analyse abgenommen. Am Tag 1 erfolgte die Abnahme nach Einnahme des Medikamentes von Minute 0 bis 180 halbstündig und anschließend stündlich bis zur Minute 360. Am Tag 5 nahm man den Teilnehmern insgesamt nur fünf Blutproben ab.

Blutabnahmeschema in Minuten					
Woche 1		Woche 4		Woche 7	
Tag 1	Tag 5	Tag 1	Tag 5	Tag 1	Tag 5
0	0	0	0	0	0
30	30	30	30	30	30
60	60	60	60	60	60
90	90	90	90	90	90
120	120	120	120	120	120
150		150		150	
180		180		180	
210		210		210	
240		240		240	
300		300		300	
360		360		360	

Tabelle 1: Zeitschema der Blutabnahme

Das entnommene Blut wurde anschließend im Tiefkühlschrank bei – 80°C bis hin zur Analyse aufbewahrt.

3.1.3 Patientencharakteristik

Folgende Patienten, welche einheitlich ein Kolonrektalkarzinom mit Wildtyp K-Ras aufwiesen, wurden für die vorliegende Diplomarbeit herangezogen und deren Plasmaproben analysiert. Die Messergebnisse der Studienteilnehmer 17 bis 20 stammen aus eigener Analytik. Um auf eine höhere Patientenanzahl und zu präziseren Aussagen zu gelangen wurden die Daten des Patienten 16 aus einer vorhergehenden Studie [6] übernommen.

	Alter	Geschlecht	Gewicht (kg)	Größe (cm)	Arm
Patient 16	70	w	62	162	A
Patient 17	64	m	90	176	A
Patient 18	62	m	96	178	B
Patient 19	57	m	79	176	A
Patient 20	?	w	51	156	A

Tabelle 2: Patientenprofile

3.2 Analyse

3.2.1 Festphasenextraktion

3.2.1.1 a) Theorie

Die Festphasenextraktion oder auch solid phase extraction (=SPE) wird zur Extraktion von Substanzen aus einem komplexen Stoffgemisch verwendet. Die Durchführung erfolgt mittels Kartuschen, welche meistens aus Kunststoff bestehen. Abhängig von der zu bestimmenden Substanz, werden als Sorbens polare Phasen wie Kieselgel, aber auch Umkehrphasen oder Ionenaustauschphasen verwendet. Die Kartuschen werden auf eine Vorrichtung gesteckt, an welche ein leichtes Vakuum gelegt wird, um die Flüssigkeiten durch das Sorbens zu transportieren. [7]

Die 4 Arbeitsschritte beim Extraktionsverfahren:

Konditionierung des Sorbens: Anfeuchten der festen Phase mit der Matrix

Probenaufgabe: Die Probe wird durch die feste Phase gedrückt oder gezogen

Waschen des Sorbens: erfolgt mit einem Fließmittel mit geringer Elutionskraft

Elution der Probe: ein Fließmittel mit ausreichender Elutionskraft wird benötigt [7,8]

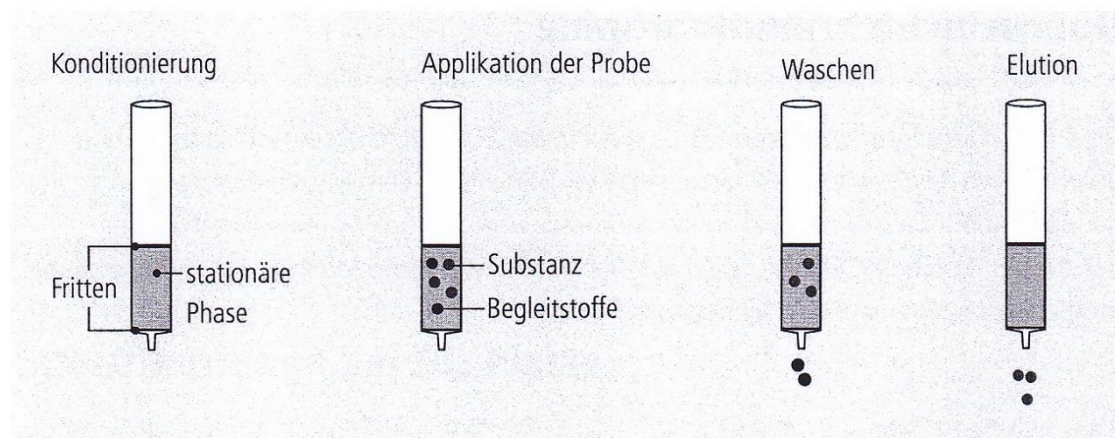


Abbildung 6: Prinzip der Festphasenextraktion [7]

Währendem die Analytmoleküle am Sorbens angereichert werden, weisen die Begleitsubstanzen und das Lösungsmittel keine Wechselwirkung mit der festen Phase auf. Diese werden ausgewaschen und im letzten Schritt wird der Analyt mit einem geeigneten Lösungsmittel eluiert. [8]

3.2.1.2 Praktische Durchführung

Festphasenextraktion der Metaboliten DFCR und DFUR:

Die Blutproben der Patienten wurden aus dem Tiefkühlschrank genommen, im Dri-Block® schonend aufgetaut, auf Körpertemperatur (37°C) erwärmt und darauffolgend 3,5 min lang bei 5000 Drehungen zentrifugiert. In der Zwischenzeit setzte man bei einem niedrigen Vakuum von <5 mmHg die OASIS-Kartuschen auf die Vorrichtung für die Festphasenextraktion. Die Aktivierung der festen Phasen wurde mit 1 ml MeOH durchgeführt und anschließend erfolgte die Konditionierung mit 1 ml bidestilliertem Wasser. Die Proben (0,9 ml) wurden aufgetragen und das Vakuumventil geschlossen. Danach erfolgte die Elution der Metaboliten mittels einer 0,9 ml Mischung aus 95% Aqua bidest. und 5% MeOH (v/v). Die Kartuschen wurden abgenommen, in Epruvetten gesteckt und bei 1000 rpm drei Minuten zentrifugiert.

Festphasenextraktion von Capecitabin:

Die ersten Schritte der SPE von Capecitabin bis einschließlich der Probenauftragung erfolgten ebenso wie oben genannt. Danach wurde mit 0,9 ml Aqua bidest/Methanol (95%/5%, v/v) gewaschen, die Vakuumpumpe abgestellt und mit 0,9 ml MeOH das Capecitabin eluiert. Schließlich erfolgte wiederum die Zentrifugation.

Das gesamte Volumen wurde in Vials pipettiert und diese anschließend mit Septum verschlossen in den Sample Table sortiert. Somit standen sie der HPLC-Analyse zur Verfügung.

3.2.2 HPLC

Die HPLC (= high performance liquid chromatography) bzw. die Hochleistungs-Flüssigchromatographie ist eine Säulenchromatographie, bei der es sich um ein Verfahren, das der Trennung von Stoffgemischen, dem Nachweis und der quantitativen Bestimmung von Einzelkomponenten dient, handelt. Bei jeder chromatographischen Analyseverfahren gibt es eine stationäre und eine mobile Phase. Während die erst genannte durch eine feste, im System befindliche Phase definiert wird, stellt ein Eluent oder ein Elutionsmittel die mobile Phase dar. Bei der HPLC wird das Elutionsmittel durch die Trennsäule gepumpt, um bei großer Packungsdichte der kleinen Partikel ausreichende Strömungsgeschwindigkeit zu gewährleisten. Die Untersuchungslösung wird zunächst in eine Probenschleife injiziert und durch Umschalten eines Ventils gelangt die Probe mittels dem Eluentenstrom zur Trennsäule. Die Substanzen gelangen nach der Trennung zum Detektor, welcher ein elektrisches Signal erzeugt, das vom PC oder Schreiber erfasst wird. [7,9,10]

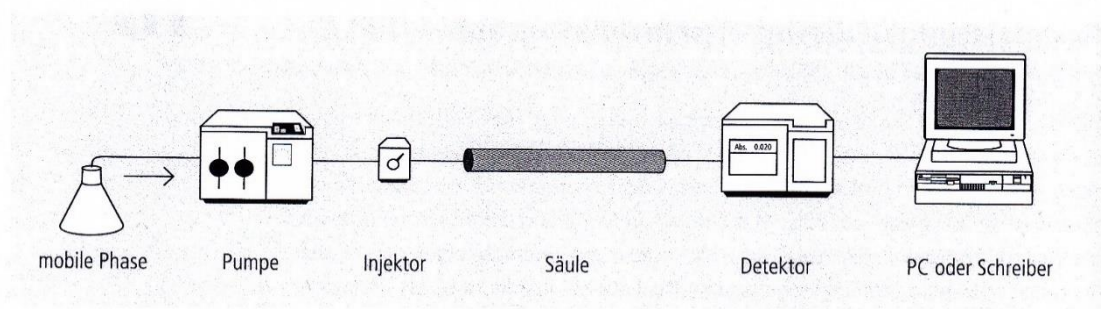


Abbildung 7: Schematischer Aufbau einer HPLC-Säulenchromatographie [7]

Während beim üblichen Absorptionssystem die stationäre Phase polar ist, erscheint diese im Umkehrphasensystem unpolar. Was zur Folge hat, dass die mobile Phase hier, im Gegensatz dazu, polar ist (z.B. Ethanol, Acetonitril). Daher lässt sich schließen, umso unpolarer, also weniger löslich die zu analysierenden Stoffe sind, desto mehr werden sie im RP (=reversed phase) zurückgehalten. [10]

Methode für die Bestimmung von CCB:

Vorsäule: RP-18

Trennsäule: RP-18

Eluent: Wasser- Methanol, 50%+ 50%, isogratisch

Flussrate: 0.8 ml/min 36°C

Injektionsvolumen: 10 µl

Detektion: 240 nm

Methode für die Bestimmung von DFCR und DFUR:

Vorsäule: RP-18

Trennsäule: RP-Amid C16

Eluenten: Eluent A= Ammonacetat- Methanol, 90%+ 10%, v/v

Eluent B = Ammonacetat- Methanol, 10%+ 90%, v/v

Flussrate: 0,8 ml/min, 36°C

Injektionsvolumen: 30µl

Detektion: 280nm

Durch die HPLC Analyse erhält man Chromatogramme, bei denen die Peakflächen integriert werden. Anschließend kann man mit Hilfe der Eichgeraden die Konzentration von Capecitabin und seinen Metaboliten errechnen.

3.2.3 Laborausstattung

Materialien & Geräte	Typ	Hersteller
Analysenwaage	Sartorius handy 110	Sartorius Mechatronics Austria GmbH
Heizblock	DRI-BLOCK® DB 2A	Techne
Epruvetten	100 x 16 mm	Assisten®
Zentrifuge (klein)	Galaxy 16DH	VWR® INTERNATIONAL
Mikropipetten	Eppendorf Research; 2-20µl, 100-1000µl	Eppendorf AG
Pipettenspitzen	Universal; gelb (2-200µl), blau (50-1000µl)	VWR® INTERNATIONAL
Kartuschen	Oasis® HLB 1cc, 30mg sorbent, 30µm particle size	Waters Corporation
Magnetrührer	MR 3001 K	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG
Vakuumkammer	Vakuum-Festphasen-Extraktionseinheit	ALLTECH
Vakuumpumpe	Saugvermögen MZ 2C/1,7	Vaccubrand®
Vials	2-SV(A)	CHROMACOL®
Septum	8-ST 15	CHROMACOL®
Vialverschluss	8-SC	CHROMACOL®
Zentrifuge (groß)	Labofuge 400 FUNCTION Line	Heraeus INSTRUMENTS GmbH
Ultraschallbad	BANDELIN SONOREX RK 510	BANDELIN electronic GmbH & Co. KG
Schüttler	Vortex Mixer	VELP® SCIENTIFICA
Verschlussfolie	Parafilm M Laboratory Film	Bemsis®

Tabelle 3: Materialien & Geräte

Reagentien	Hersteller
Capecitabin MRS (Xeloda)	Roche Austria GmbH
DFCR	AK Scientific Inc. (Union City, California, USA)
DFUR	TCI Europe (Eschborn, Germany)
Ammonacetat	ALDRICH® Chemie
Aqua bidest.	Department für Pharmakognosie, Universität Wien
Methanol	Merck KGaA
Leer-Plasma	Rotes Kreuz, Wien
Acetonitril	Merck KGaA

Tabelle 4: verwendete Reagenzien

VWR® HITACHI Chromaster HPLC-System		
	CCB (isokratisch)	DFCR/DFUR (Gradient)
Vorsäule	LiChroCART® 4-4	
	LiChrospher® 100 RP-18 (5µm)	
Trennsäule	EcoCart® 125-3 LiChrospher® 100 RP-18e (5µm) (Merck KGaA)	Discovery® RP Amide C16 (15cm x 4.6mm, 5µm) (SUPELCO® Analytical)
Säulenofen	5310	
Säulentemperatur	36°C	
Eluent	MeOH/Aqua bidest. (50/50%, v/v)	A: Ammonacetat/MeOH (90/10%, v/v)
		B: Ammonacetat/MeOH (10/90%, v/v)
Flussrate	0.8 ml/min.	
Druck	ca. 55-60 bar	
Injektionsvolumen	10 µl	30 µl
Wellenlänge	240 nm	280 nm
UV Detektor	5410	
Analysenzeit	10 min.	30 min.
Retentionszeiten	ca. 5,4 min.	DFCR: ca. 5,5 min.
		DFUR: ca. 6,2 min
Pumpe	5110	
Auto Sampler	5210	
Software	Chromaster	

Tabelle 5: HPLC System

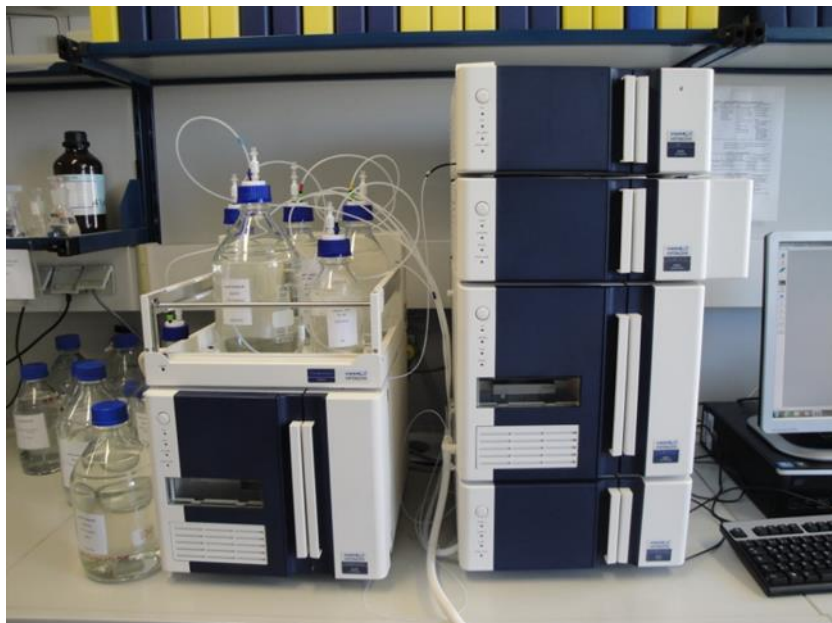


Abbildung 8: HPLC Anlage am Department für klinische Pharmazie

3.2.4 Eluentenherstellung

Für den Capecitabin-Eluenten gab man 500 ml Aqua bidestillata zu 500 ml Methanol, dieses wurde einige Minuten lang am Magnetprüher vermischt und danach, mit einem Parafilm bedeckt, für eine Stunde lang ins Ultraschallbad zur Entgasung gestellt.

Für die Analyse der Metaboliten DFCR und DFUR wurden zwei diverse Eluenten benötigt. Dafür hat man 770 mg Ammonacetat eingewogen und löste dieses in 1000 ml Aqua bidestillata. Daraus wurden 100 ml entnommen und mit 900 ml Methanol versetzt. Dem Rest (900 ml Gemisch) fügte man 100 ml Methanol hinzu.

Beide Eluenten wurden wiederum mit dem Magnetprüher vermischt und anschließend gelangten sie für eine Stunde ins Ultraschallbad.

Es resultierten folgende Eluenten:

MeOH/Aqua bidest. (50/50%, v/v) für Capecitabin

A: Ammonacetat/MeOH (90/10%, v/v) für DFCR/DFUR

B: Ammonacetat/MeOH (10/90%, v/v) für DFCR/DFUR

3.2.5 Eichgeraden

Eichgeraden sind sowohl für die Auswertung der Chromatogramme, als auch für die Berechnung der Konzentration von Capecitabin, DFCR und DFUR essentiell. Daher wurden Verdünnungsreihen der gewünschten Komponenten angesetzt und diese auf die gleiche Weise wie die Patientenproben, mittels Festphasenextraktion und HPLC, analysiert.

Capecitabin-Eichgerade:

Zuerst wurde eine Stammlösung mit einer Konzentration von 1 mg/ml aus Capecitabin und Aqua bidestillata angefertigt. Dieser entnahm man 20 µl und vermischte dieses mit 1980 µl Leerplasma, woraus sich eine Konzentration von 10 µg/ml (a) ergab. Die anschließend angefertigte Verdünnungsreihe kann man nun aus der folgenden Tabelle entnehmen:

Konzentration:		Herstellung:
a	10,000µl/ml CCB	
b	5,000µl/ml CCB	1ml von a + 1ml Leerplasma
c	2,500µl/ml CCB	1ml von b + 1ml Leerplasma
d	1,250µl/ml CCB	1ml von c + 1ml Leerplasma
e	0,625µl/ml CCB	1ml von d + 1ml Leerplasma
f	0,312µl/ml CCB	1ml von e + 1ml Leerplasma
g	0,156µl/ml CCB	1ml von f + 1ml Leerplasma

Tabelle 6: Verdünnungsreihe Capecitabin

Diese sechs Verdünnungsstufen wurden mittels HPLC analysiert und somit erhält man die Eichgerade für Capecitabin.

Metaboliten-Eichgerade:

Für die Erstellung dieser Eichgerade wurden von den angefertigten Stammlösungen, (mit der Konzentration von 1mg/ml) 20µl DFCR und 20 µl DFUR entnommen und zu 1960 µl Leerplasma hinzugefügt.

Die entstandene Konzentration betrug 10 µl/ml DFCR+DFUR. Aus dieser Ausgangslösung wurden wiederum sechs Verdünnungsstufen erstellt, die anschließend zur Analyse bereitstanden.

Konzentration:		Herstellung:
a	10,000µl/ml DFCR+DFUR	
b	5,000µl/ml DFCR+DFUR	1ml von a + 1ml Leerplasma
c	2,500µl/ml DFCR+DFUR	1ml von b + 1ml Leerplasma
d	1,250µl/ml DFCR+DFUR	1ml von c + 1ml Leerplasma
e	0,625µl/ml DFCR+DFUR	1ml von d + 1ml Leerplasma
f	0,312µl/ml DFCR+DFUR	1ml von e + 1ml Leerplasma
g	0,156µl/ml DFCR+DFUR	1ml von f + 1ml Leerplasma

Tabelle 7: Verdünnungsreihe Metaboliten

3.2.6 Biometrische Berechnungen & metabolische Aktivierung

Aus den analysierten Patientenproben und dadurch erhaltenen Konzentrationen von Capecitabin, DFCR und DFUR wurden mittels nicht-kompartimente Datenanalyse diverse Parameter berechnet:

Parameter	Einheit	Definition
Tmax	min	Zeitpunkt der Cmax
Cmax	µg/ml	Maximalkonzentration
AUClast	min*µg/ml	Area under the curve
AUC0-120	min*µg/ml	AUC von Minute 0 bis 120
Vz_F_obs	ml	Verteilungsvolumen
Cl_F_obs	ml/min	Clearance
HL_Lambda_z	min	Eliminationshalbwertszeit
MRTlast	min	Mittlere Verweildauer

Tabelle 8: Pharmakokinetische Parameter

Für die Wirkung von Capecitabin ist die Umwandlung zu DFCR und DFUR und des Weiteren zur aktiven Form Fluorouracil essentiell. Folgende Formeln wurden zur Berechnung der metabolischen Aktivierung von Capecitabin herangezogen:

$RhCES = \frac{AUC_{DFCR}}{AUC_{CCB}}$	$RCytDA = \frac{AUC_{DFUR}}{AUC_{DFCR}}$
hCES.....humane Carboxylesterase AUC.....Fläche unter der Kurve	CytDA.....Cytidindesaminase

Tabelle 9: Formeln zur Berechnung der metabolischen Aktivierung

Die Aktivität der Enzyme humane Carboxylase und Cytidindesaminase wurde berechnet, indem man die Flächen unter der Kurve (AUC) des Metaboliten durch die des jeweiligen Vorläufers dividiert. Für jeden Patienten konnten nun diese beiden Werte ermittelt werden und dadurch wurde der Rückschluss auf die metabolische

Aktivierung des Medikamentes möglich.

Damit Tag 1 und Tag 5 miteinander vergleichbar wurden, verwendete man zur Berechnung nur die AUC von Minute 0 bis 120, da die Blutabnahme am Tag 5 nur bis Minute 120 erfolgte.

3.2.7 Verwendete Software

Folgende Programme wurden zur Erstellung dieser Diplomarbeit herangezogen:

Microsoft Office Word 2013: Erstellen der Diplomarbeit

Microsoft® Office Excel 2013: Erstellen von Tabellen; Berechnungen, Statistik

GraphPad Prism® 6.0: Berechnungen und Erstellen von Kurven und Layouts

Microsoft® Office Paint 2010: Anfärben von Peakflächen

HSM® Steuerungs- und Integrationssoftware: Software des HPLC-Systems

Phoenix™ WinNonlin® 6.1: Berechnung der pharmakokinetischen Parameter

4 Ergebnisse

4.1 Eichgeraden von Capecitabin und den Metaboliten

Aus den sechs Verdünnungsstufen von Capecitabin, DFUR und DFUR erhielt man mittels HPLC Analyse Chromatogramme, dessen Peakflächen integriert und anschließend den entsprechenden Konzentrationen gegenübergestellt wurden. Daraus resultierten folgende Eichgeraden.

4.1.1 Eichgerade von Capecitabin

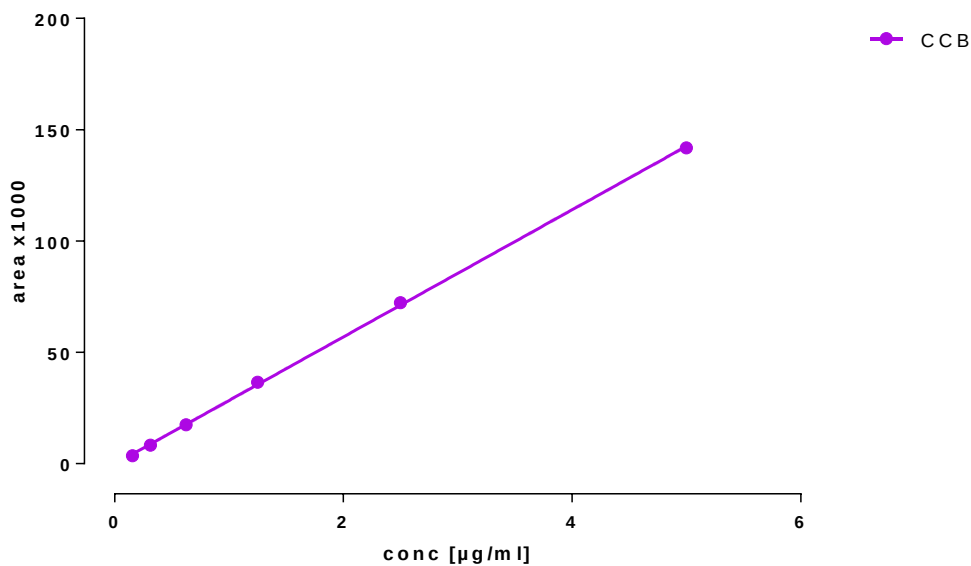


Abbildung 9: Capecitabin Eichgerade

4.1.2 Eichgerade von DFCR

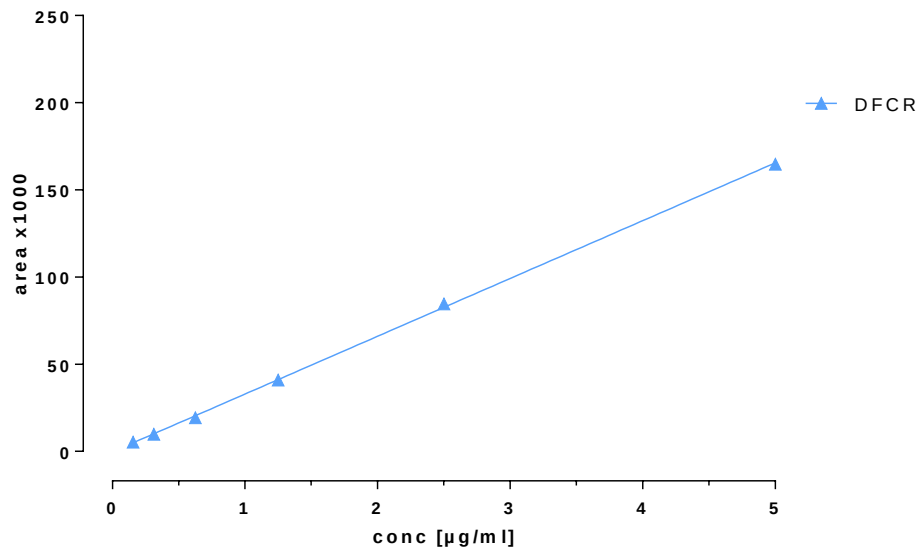


Abbildung 10: DFCR Eichgerade

4.1.3 Eichgerade von DFUR

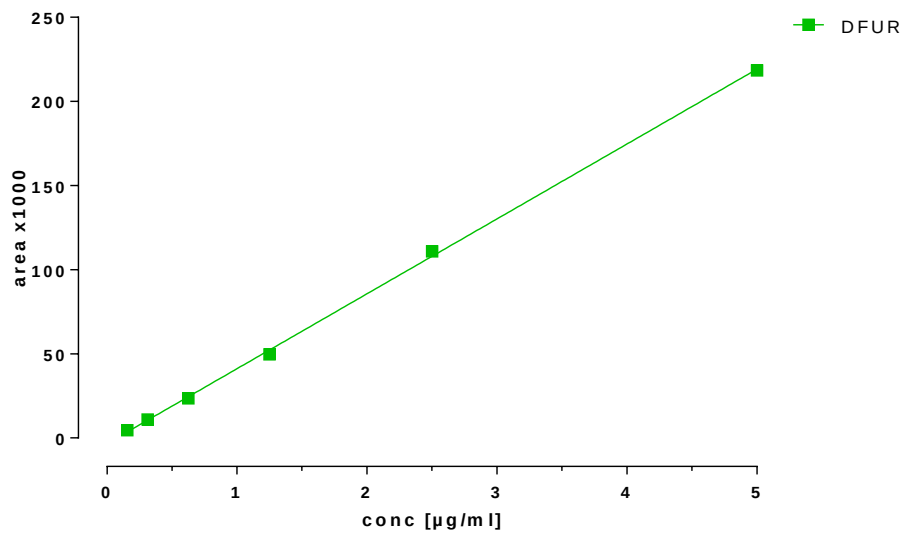


Abbildung 11: DFUR Eichgerade

	CCB	DFCR	DFUR
Best-fit values			
Slope	28.54 ± 0.2282	33.15 ± 0.2980	44.50 ± 0.5220
Y-intercept when X=0.0	-0.1585 ± 0.5378	-0.2751 ± 0.7022	-3.338 ± 1.230
X-intercept when Y=0.0	0,005554	0,0083	0,07501
1/slope	0,03504	0,03017	0,02247
95% Confidence Intervals			
Slope	27.91 to 29.17	32.32 to 33.97	43.05 to 45.95
Y-intercept when X=0.0	-1.651 to 1.334	-2.224 to 1.674	-6.753 to 0.07691
X-intercept when Y=0.0	-0.04749 to 0.05699	-0.05141 to 0.06598	-0.001768 to 0.1485
Goodness of Fit			
R square	0,9997	0,9997	0,9995
Sy.x	0,9458	1,235	2,163
Is slope significantly non-zero?			
F	15642	12375	7269
DFn, DFd	1.000, 4.000	1.000, 4.000	1.000, 4.000
P value	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Deviation from zero?	Significant	Significant	Significant
Data			
Number of X values	6	6	6
Maximum number of Y replicates	1	1	1
Total number of values	6	6	6
Number of missing values	1	0	0
Equation			
	Y = 28.54*X - 0.1585	Y = 33.15*X - 0.2751	Y = 44.50*X - 3.338

Tabelle 10: Statistische Parameter der Eichgeraden von Capecitabin, DFCR und DFUR

4.2 Chromatogramme

In den folgenden Abbildungen 12-21 sind ausgewählte Chromatogramme von Capecitabin für einen Patienten am Tag 1 von Minute 0 bis Minute 360 ersichtlich. Die farblich gekennzeichneten Peakflächen, welche ungefähr bei Minute 6 auftreten, stehen für Capecitabin. Durch diese Darstellung kann man das Konzentrationsmaximum im Blut ungefähr bei Minute 60 erkennen. Man stellt ebenso fest, dass ab der Minute 240 nach Gabe des Medikamentes keine Plasmakonzentration detektierbar ist, weil sie unter LOD liegt.

Die Chromatogramme der Abbildungen 22 bis 26 stellen den Konzentrationsverlauf von Capecitabin am Tag 5 der Therapie dar.

4.2.1 Chromatogramme von Capecitabin am Tag 1

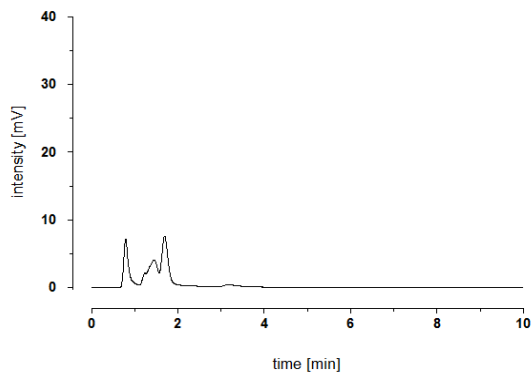


Abbildung 12: Capecitabin 0 min

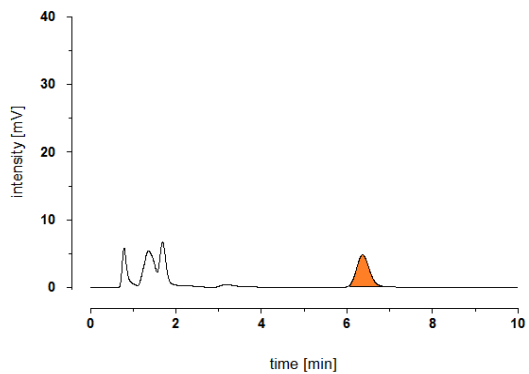


Abbildung 13: Capecitabin 30 min

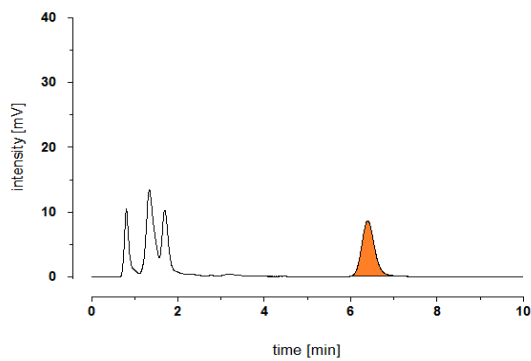


Abbildung 14: Capecitabin 60 min

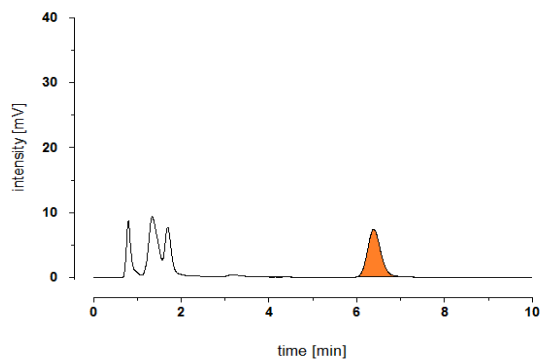


Abbildung 15: Capecitabin 90 min

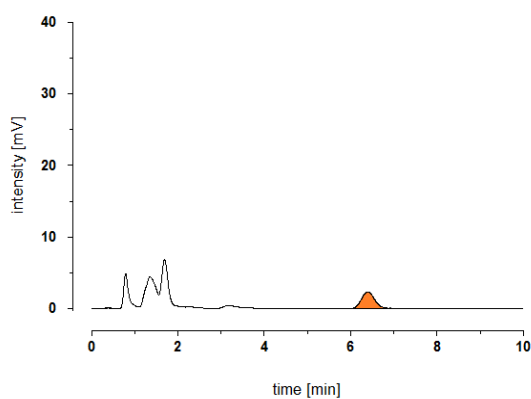


Abbildung 16: Capecitabin 120 min

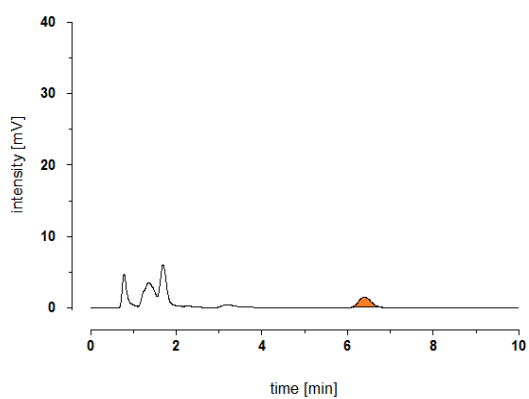


Abbildung 17: Capecitabin 150 min

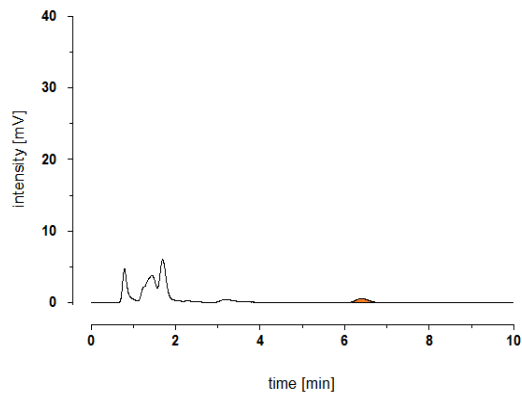


Abbildung 18: Capecitabin 180 min

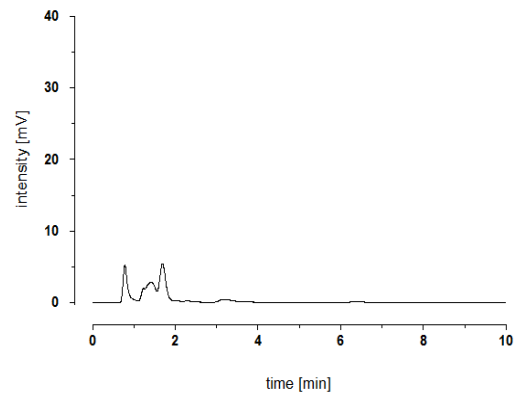


Abbildung 19: Capecitabin 240 min

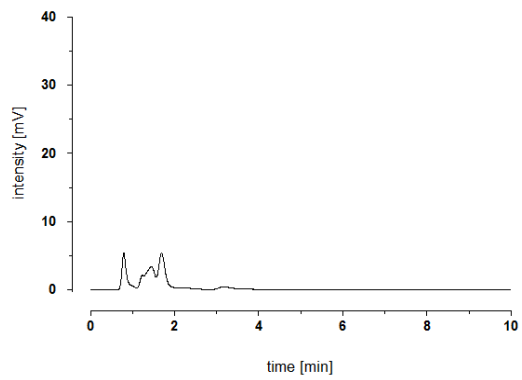


Abbildung 20: Capecitabin 300 min

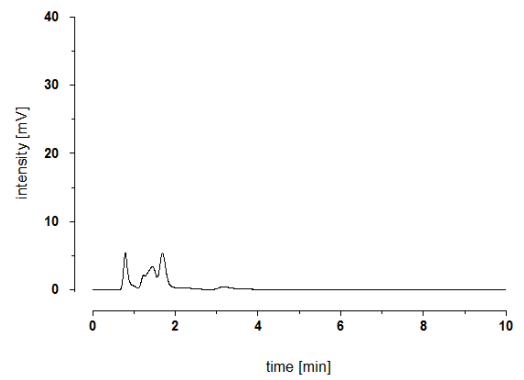


Abbildung 21: Capecitabin 360 min

4.2.2 Chromatogramme von Capecitabin am Tag 5

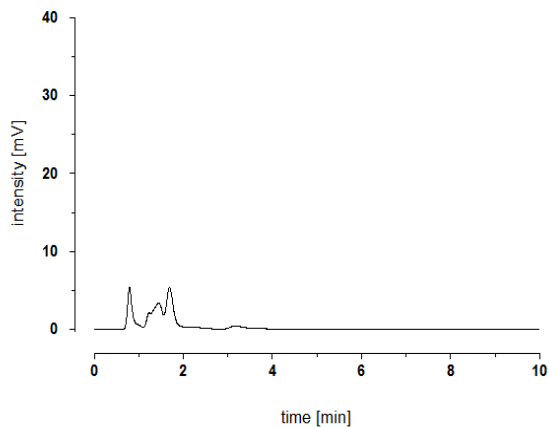


Abbildung 22: Capecitabin 0 min

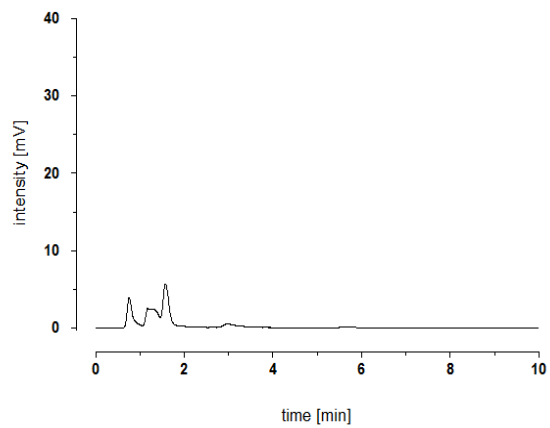


Abbildung 23: Capecitabin 30 min

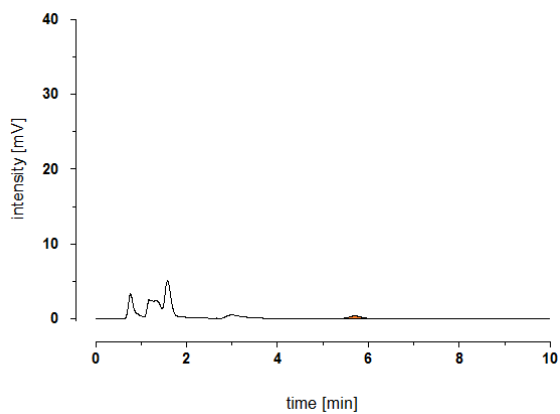


Abbildung 24: Capecitabin 60 min

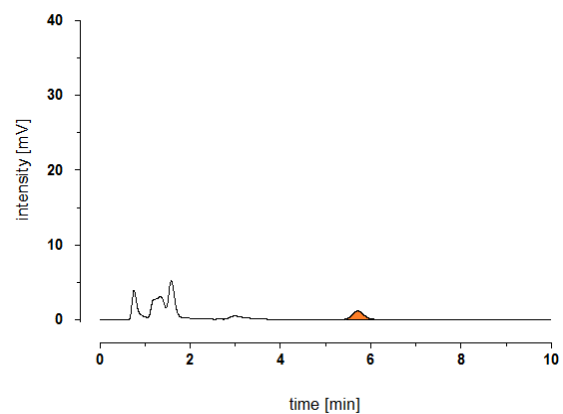


Abbildung 25: Capecitabin 90 min

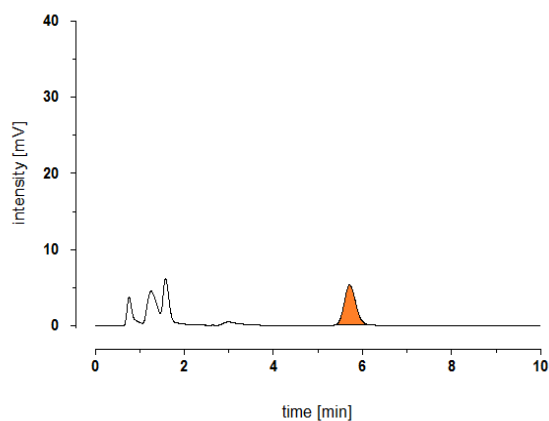


Abbildung 26: Capecitabin 120 min

4.2.4 Chromatogramme von DFCR und DFUR am Tag 1

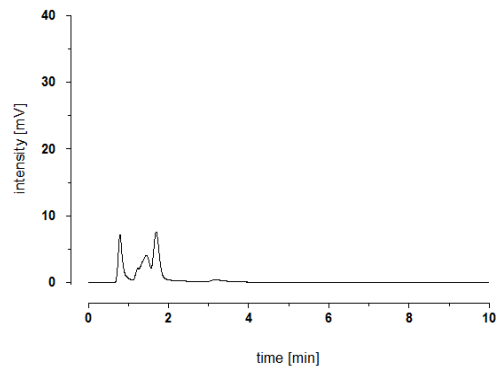


Abbildung 27: Metaboliten 0 min

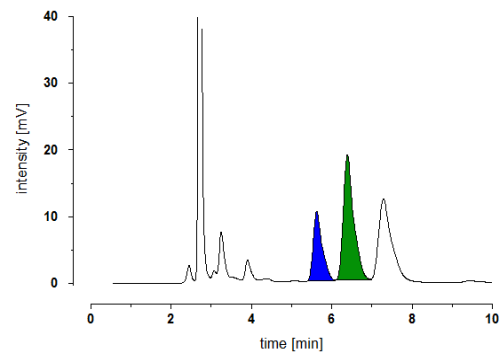


Abbildung 28: Metaboliten 30 min

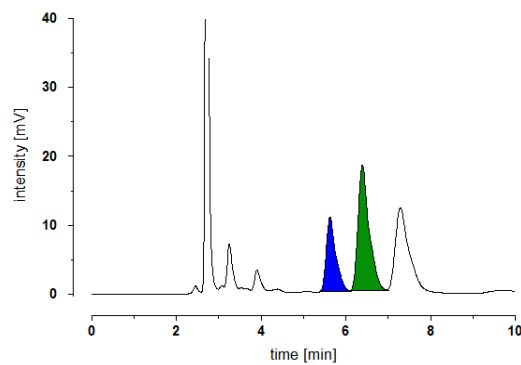


Abbildung 29: Metaboliten 60 min

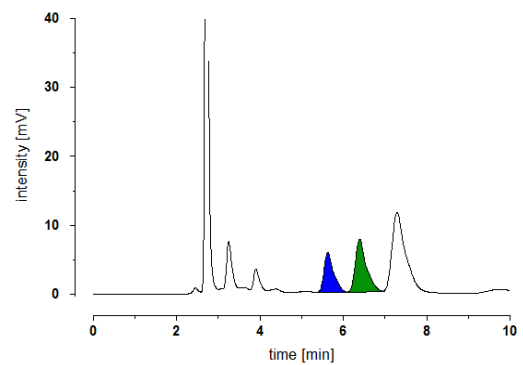


Abbildung 30: Metaboliten 90 min

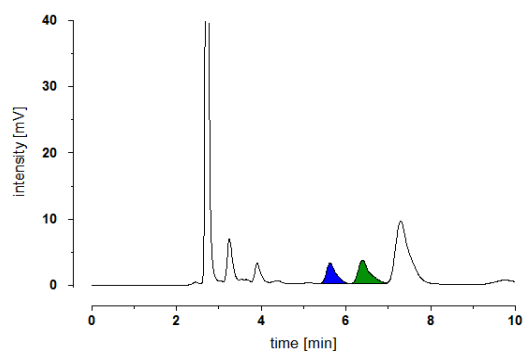


Abbildung 31: Metaboliten 120 min

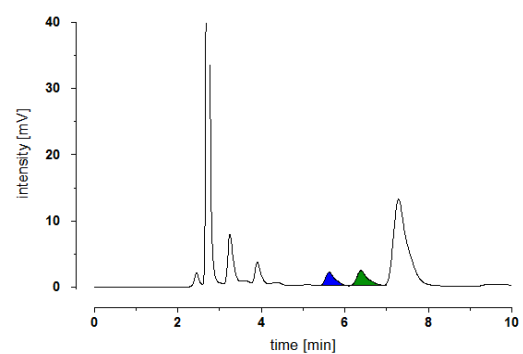


Abbildung 32: Metaboliten 150 min

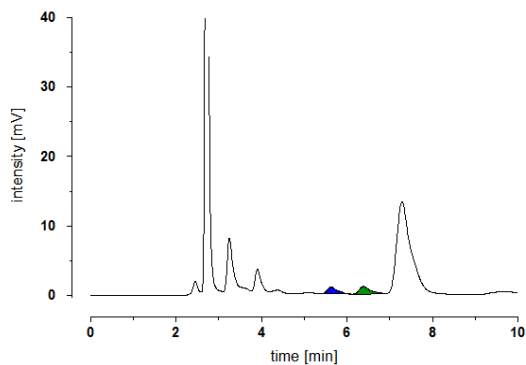


Abbildung 33: Metaboliten 180 min

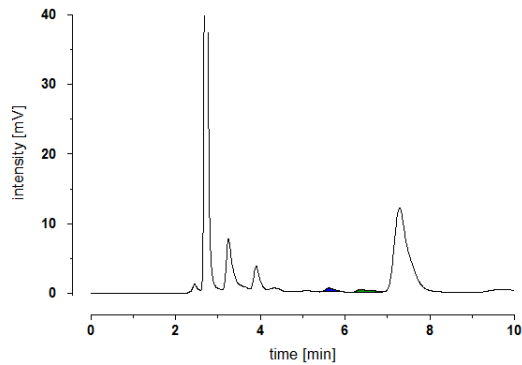


Abbildung 34: Metaboliten 240 min

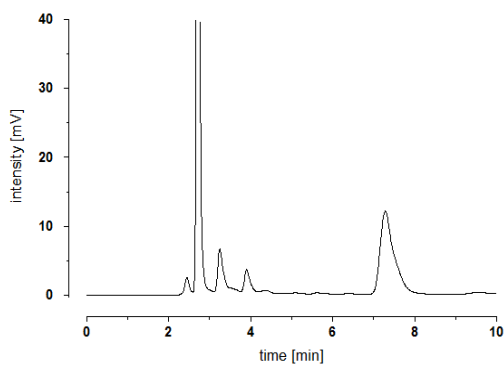


Abbildung 35: Metaboliten 300 min

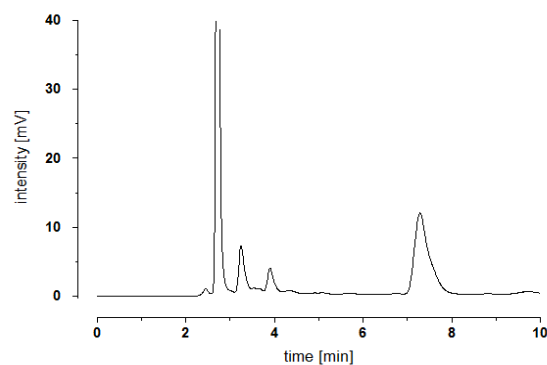


Abbildung 36: Metaboliten 360 min

Die voranstehenden Chromatogramme (Abb. 27-36) zeigen die Peakflächen von den Metaboliten DFUR (blau) und DFUR (grün) von Minute 0 bis 360. Wie bereits hier abzuschätzen ist, erreichen beide Metaboliten bei etwa Minute 60 ihr Plasmakonzentrationsmaximum. Ab Minute 300 ist sowohl die DFUR - als auch die DFUR - Konzentration gleich null.

Im Anschluss sieht man in den Abbildungen 37-41 Chromatogramme, die den Verlauf der Konzentrationen von DFUR (blau) und DFUR (grün) am Tag 5 der Therapie von Minute 0 bis 120 zeigen. Auch hier kann man die Maximalkonzentration im Blut bei Minute 90 erkennen.

4.2.5 Chromatogramme von DFCR und DFUR am Tag 5

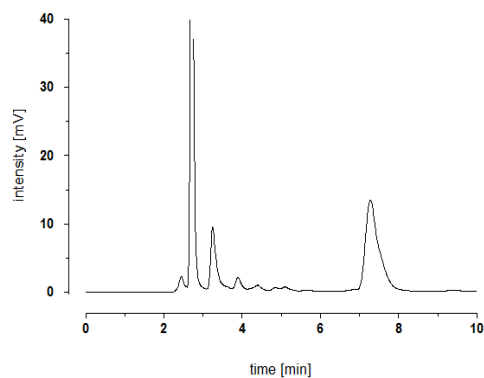


Abbildung 37: Metaboliten 0 min

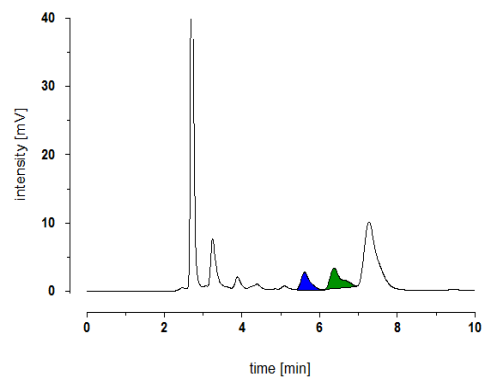


Abbildung 38: Metaboliten 30 min

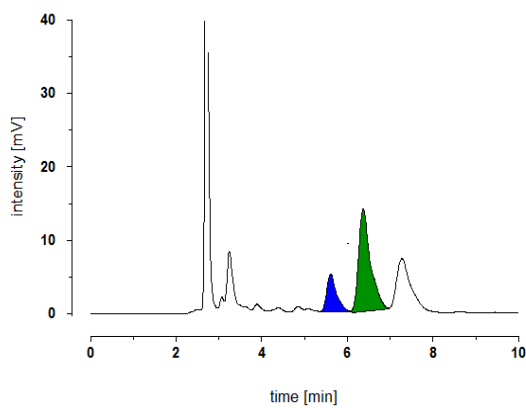


Abbildung 39: Metaboliten 60 min

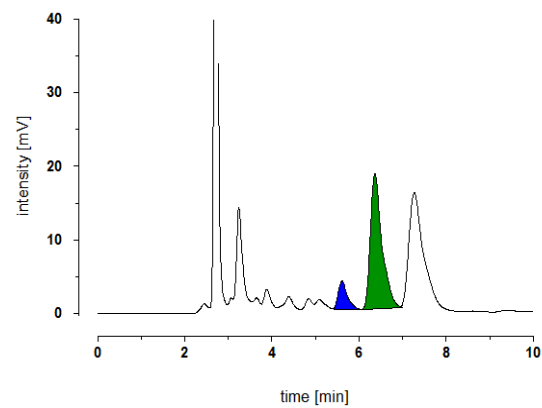


Abbildung 40: Metaboliten 90 min

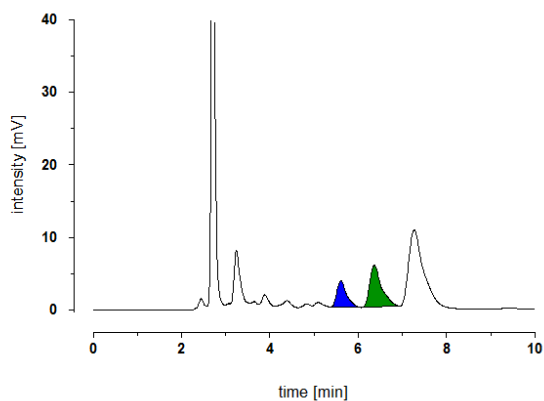


Abbildung 41: Metaboliten 120 min

4.3 Plasmakonzentrationen der Patienten & graphische Darstellung

4.3.1 Patient 16 (Arm A)

Woche 1

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	14.018	12.361	10.976	8.471	9.502	8.599
60.	3.289	5.143	7.037	7.646	7.022	9.757
90.	1.283	2.075	4.374	4.579	4.200	5.287
120.	0.380	0.510	2.407	2.552	2.295	2.448
150.	0.124		1.788		1.540	
180.	0.035		1.492		1.351	
240.						
300.						
360.						

Tabelle 11: Plasmakonzentrationen Patient 16, Woche 1

Pat16w 1

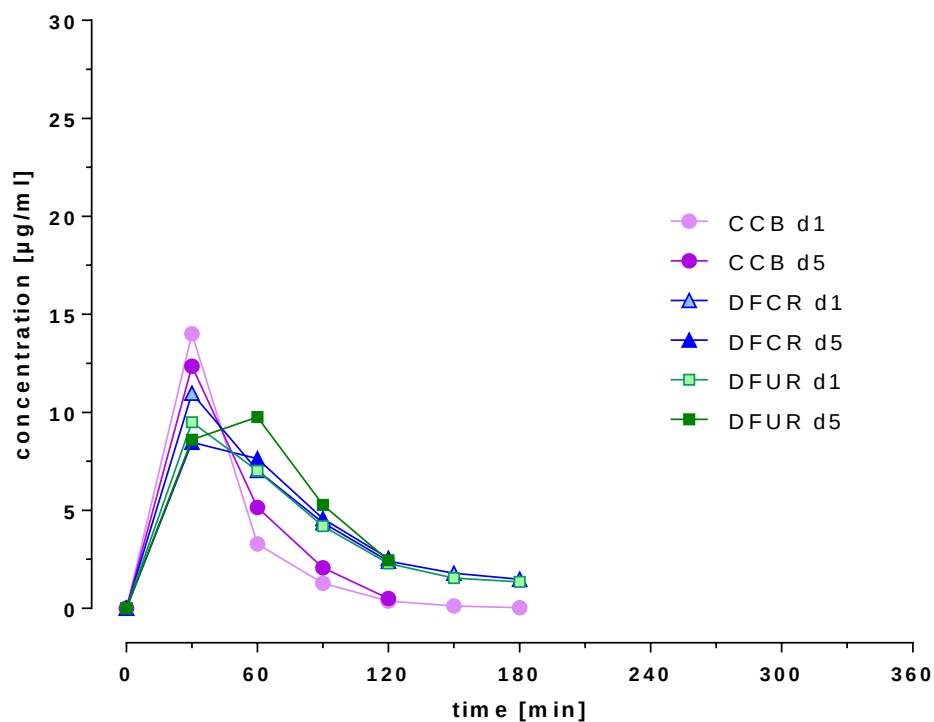


Abbildung 42: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 16, Woche 1

Woche 4

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	5.559	8.587	3.731	4.061	2.421	8.594
60.	10.760	4.151	10.532	5.290	9.834	9.351
90.	2.170	2.598	5.017	5.458	4.374	7.941
120.	0.580	0.574	2.906	3.192	2.334	4.235
150.	0.187		1.808		1.322	
180.	0.038		0.960		0.931	
240.			0.801		0.592	
300.			0.660		0.468	
360.						

Tabelle 12: Plasmakonzentrationen Patient 16, Woche 4

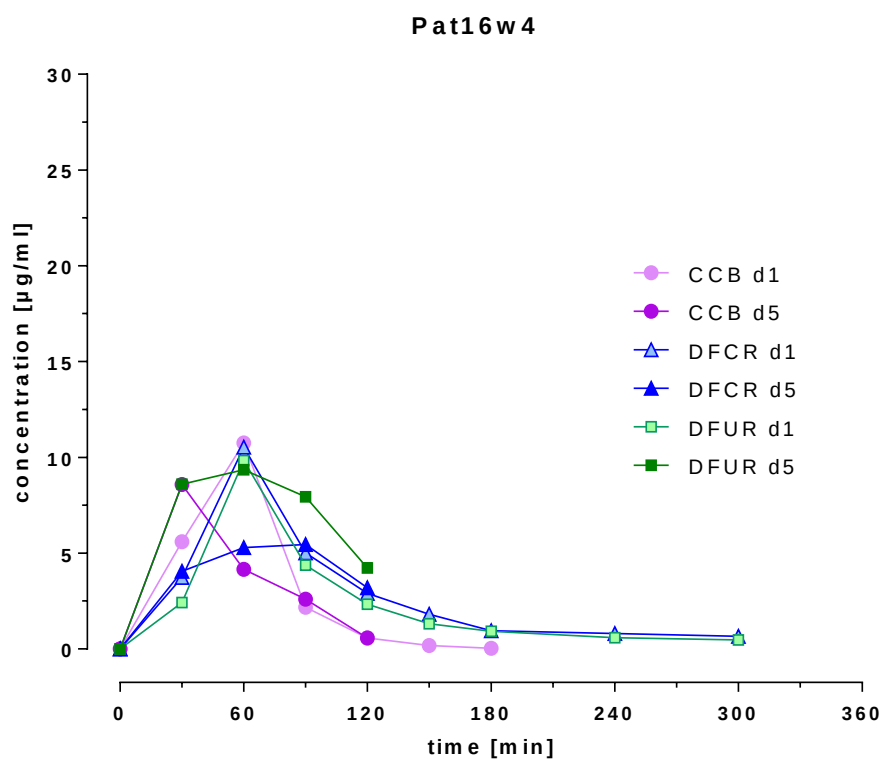


Abbildung 43: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 16, Woche 4

Woche 7

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	0.219	2.009	0.000	0.943	0.000	0.688
60.	6.847	4.705	3.778	2.737	4.309	1.933
90.	2.709	5.491	4.118	3.987	4.988	2.988
120.	2.288	2.307	2.293	3.098	2.817	2.500
150.	1.568		1.098		1.260	
180.	1.131		0.448		0.455	
240.	0.856		0.118		0.116	
300.	0.732		0.064		0.030	
360.	0.554					

Tabelle 13: Plasmakonzentrationen Patient 16, Woche 7

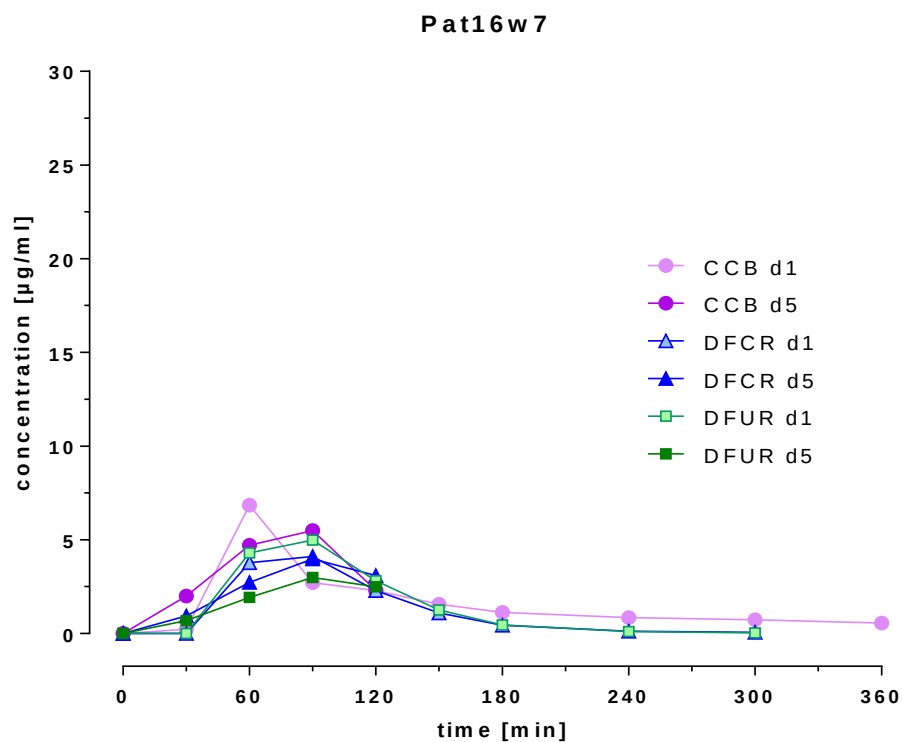


Abbildung 44: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 16, Woche 7

4.3.3 Patient 17 (Arm A)

Woche 1

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	0.272	0.095	0.000	0.000	0.000	0.000
60.	15.482	10.741	2.333	2.168	2.745	3.250
90.	10.516	3.926	2.414	2.461	3.270	4.272
120.	4.312	3.324	2.545	1.825	3.218	3.223
150.	1.803		1.902		1.993	
180.	0.830		1.158		1.052	
240.	0.209		0.515		0.267	
300.	0.048					
360.						

Tabelle 14: Plasmakonzentrationen Patient 17, Woche 1

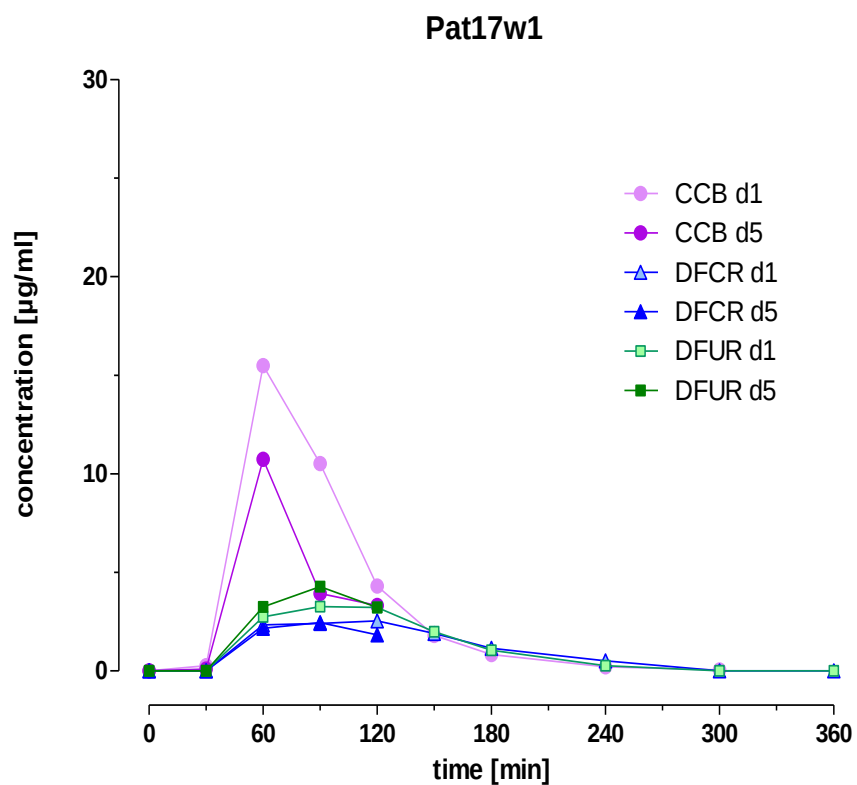


Abbildung 45: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 17, Woche 1

Woche 4

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	0.548	26.952	0.000	3.559	0.000	7.829
60.	1.039	4.829	0.623	3.798	1.433	8.450
90.	2.031	1.334	0.842	1.158	1.678	2.304
120.	12.281	0.890	2.741	0.330	7.240	1.262
150.	3.546		1.949		4.770	
180.	1.340		0.842		1.973	
240.	0.295		0.384		0.267	
300.	0.086					
360.						

Tabelle 15: Plasmakonzentrationen Patient 17, Woche 4

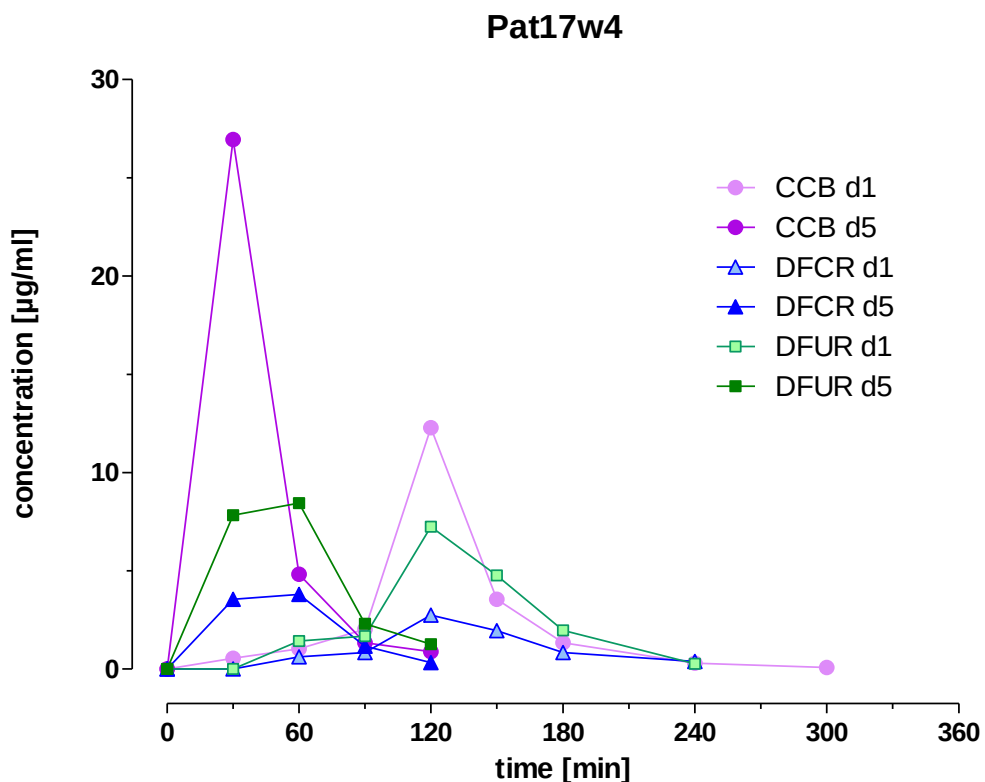


Abbildung 46: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 17, Woche 4

Laut Information des Krankenhauses nahm der Patient am Tag 5 kein Frühstück zu sich, wodurch sich der erhöhte Plasmakonzentrationswert erklären lässt:

Woche 7

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	3.178	0.000	1.027	0.000	1.851	0.000
60.	4.797	0.155	1.848	0.172	3.314	0.309
90.	5.501	0.637	1.088	1.572	3.990	2.653
120.	1.565	2.982	0.721	0.306	1.463	0.532
150.	0.970		0.354		0.780	
180.	0.364		0.276		0.277	
240.	0.098		0.155		0.161	
300.					0.064	
360.						

Tabelle 16: Plasmakonzentrationen Patient 17, Woche 7

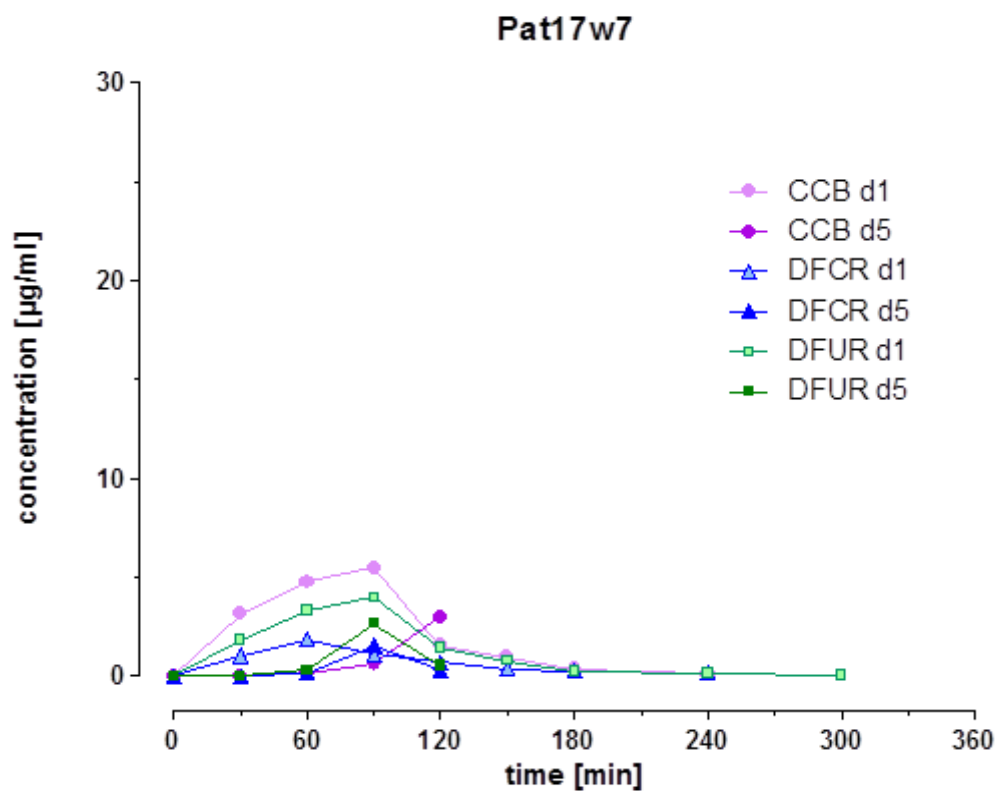


Abbildung 47: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 17, Woche 7

4.3.4 Patient 18 (Arm B)

Woche 1

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	5.786	0.722	3.094	0.529	2.277	0.676
60.	1.594	3.096	4.576	1.949	2.990	3.347
90.	1.239	3.888		3.902		5.168
120.	1.046	1.131	3.017	2.768	4.614	3.767
150.	0.852		2.842		3.441	
180.	0.469		1.764		2.899	
240.	0.146		0.717		0.950	
300.	0.114		0.296		0.416	
360.	0.060		0.236		0.287	

Tabelle 17: Plasmakonzentrationen Patient 18, Woche 1

Pat18w1

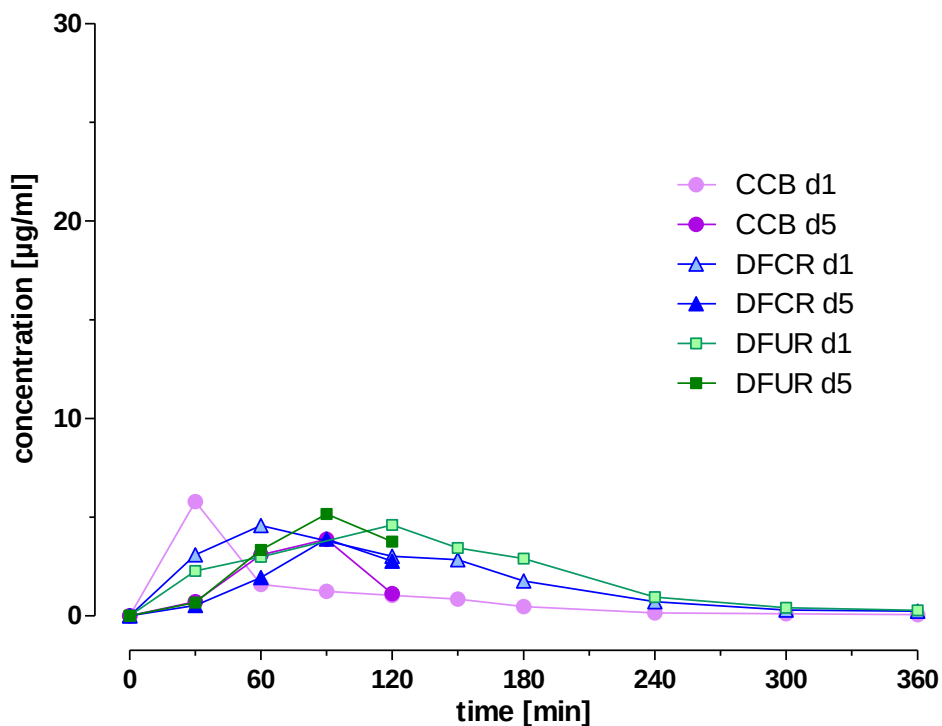


Abbildung 48: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 18, Woche 1

Die Bestimmung der Metaboliten bei Minute 90 konnte aufgrund fehlender Blutprobe nicht durchgeführt werden.

Woche 4

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	1.530	4.873	1.811	4.178	2.814	4.342
60.	4.800	1.968	3.229	4.232	4.856	5.359
90.	2.072	0.688	2.007	2.545	3.191	3.262
120.	1.261	0.212	1.798	1.667	2.790	2.248
150.	1.112		1.414		1.970	
180.	0.941		1.185		1.507	
240.	0.640		0.818		1.151	
300.	0.272		0.498		0.634	
360.	0.200		0.246		0.500	

Tabelle 18: Plasmakonzentrationen Patient 18, Woche 4

Pat18w4

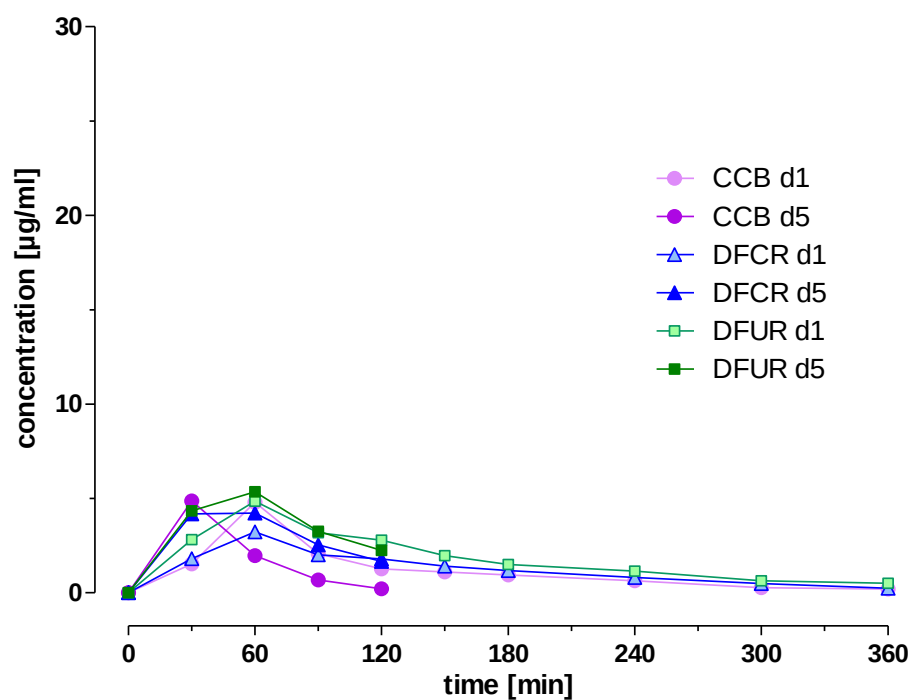


Abbildung 49: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 18, Woche 4

Woche 7

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	1.115	9.522	2.296	11.556	2.126	6.990
60.	7.687	2.681	10.310	11.269	8.829	9.943
90.	2.877	0.707	5.596	7.074	6.158	6.374
120.	1.648	0.146	3.407	4.438	3.738	4.376
150.	1.191		2.256		2.547	
180.	0.890		1.330		1.438	
240.	0.729		0.562		0.379	
300.			0.242		0.141	
360.			0.125		0.101	

Tabelle 19: Plasmakonzentrationen Patient 18, Woche 7

Pat18w7

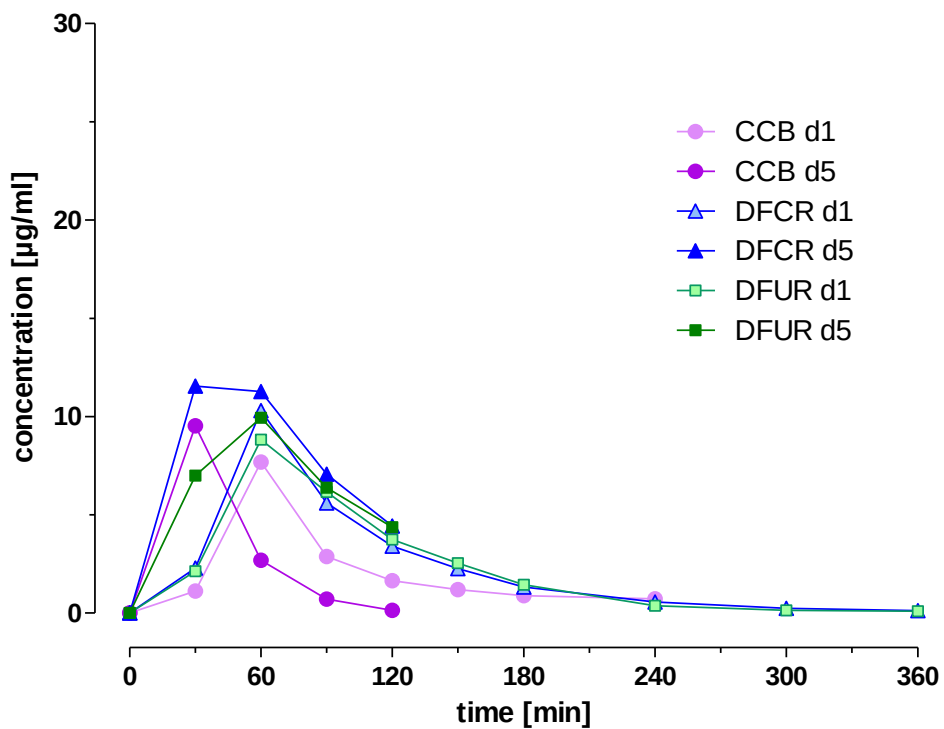


Abbildung 50: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 18, Woche 7

4.3.5 Patient 19 (Arm A)

Woche 1

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	1.157	21.179	1.293	4.131	1.099	4.252
60.	16.926	5.770	5.064	3.249	5.755	4.191
90.	3.238	1.999	4.141	2.155	3.537	2.354
120.	0.947	0.843	2.327	1.441	2.037	1.475
150.	0.380		1.660		1.235	
180.	0.247		1.296		0.851	
240.	0.044		0.512		0.522	
300.						
360.						

Tabelle 20: Plasmakonzentrationen Patient 19, Woche 1

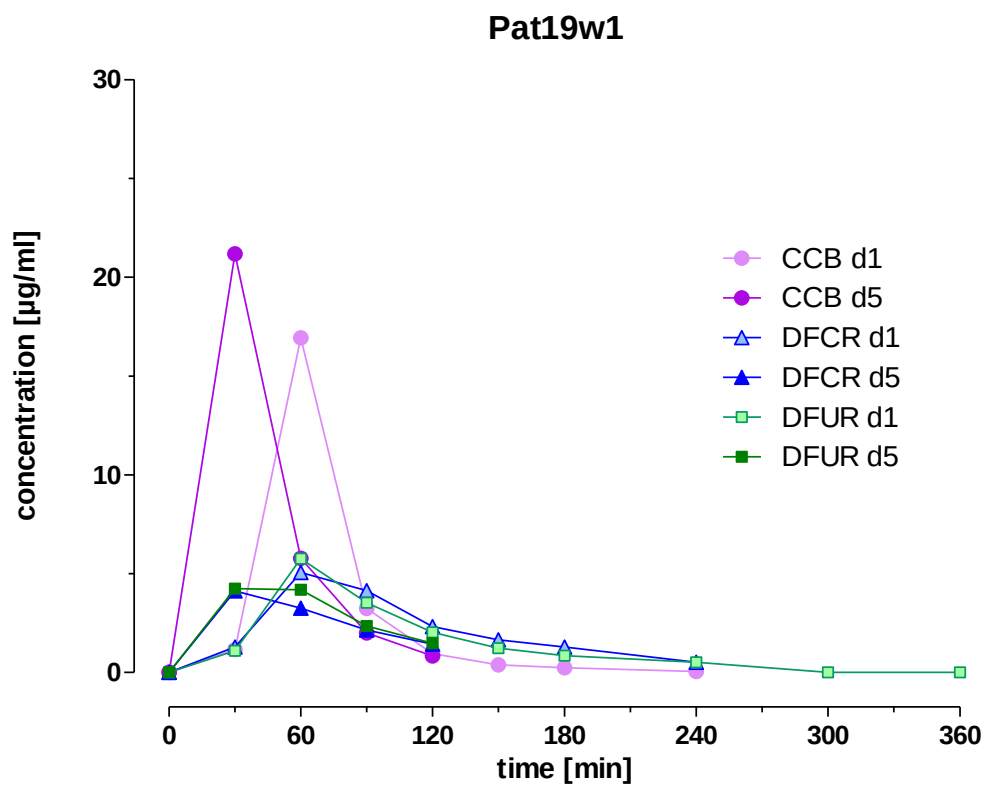


Abbildung 51: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 19, Woche 1

Woche 4

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	0.054	1.806	0.057	2.219	0.000	2.394
60.	7.063	2.373	2.152	3.589	4.072	3.587
90.	2.978	2.449	3.209	3.764	5.871	4.730
120.	0.995	4.575	2.256	2.949	3.403	2.700
150.	0.272		1.680		1.594	
180.	0.124		0.640		0.713	
240.			0.354		0.304	
300.			0.141		0.131	
360.						

Tabelle 21: Plasmakonzentrationen Patient 19, Woche 4

Pat19w4

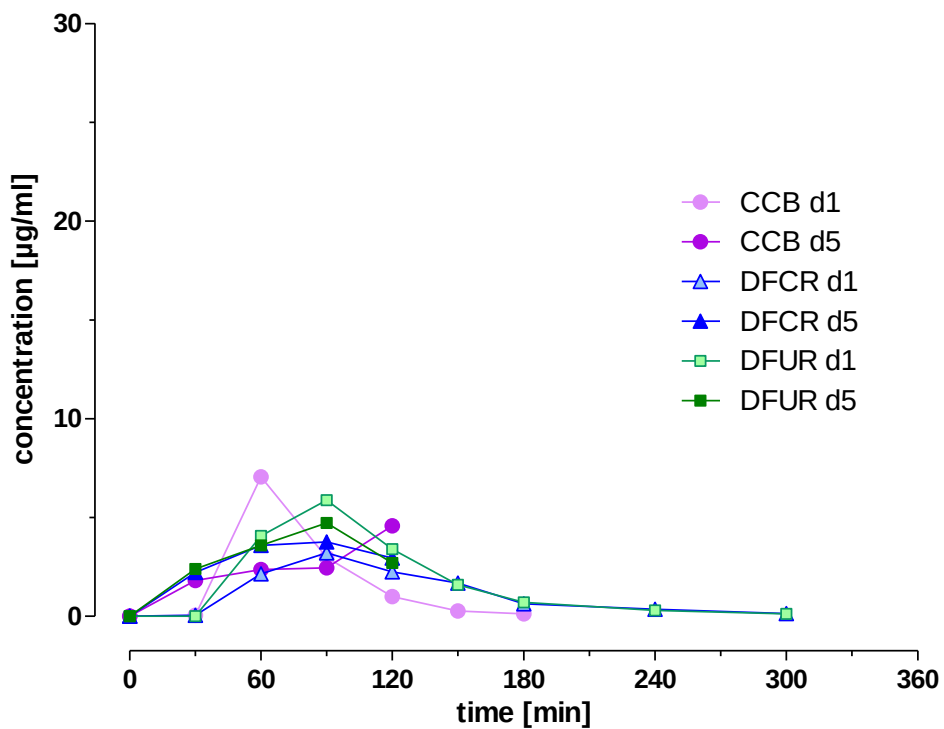


Abbildung 52: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 19, Woche 4

Woche 7

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	6.201	2.462	5.694	1.377	8.733	1.272
60.	2.852	5.875	5.960	2.838	8.582	6.948
90.	0.824	1.217	3.138	2.091	3.631	8.787
120.	0.247	0.485	1.609	2.010	1.545	2.894
150.	0.111		1.020		0.948	
180.	0.044		0.498		0.413	
240.			0.279		0.161	
300.			0.101		0.054	
360.			0.081			

Tabelle 22: Plasmakonzentrationen Patient 19, Woche 7

Pat19w7

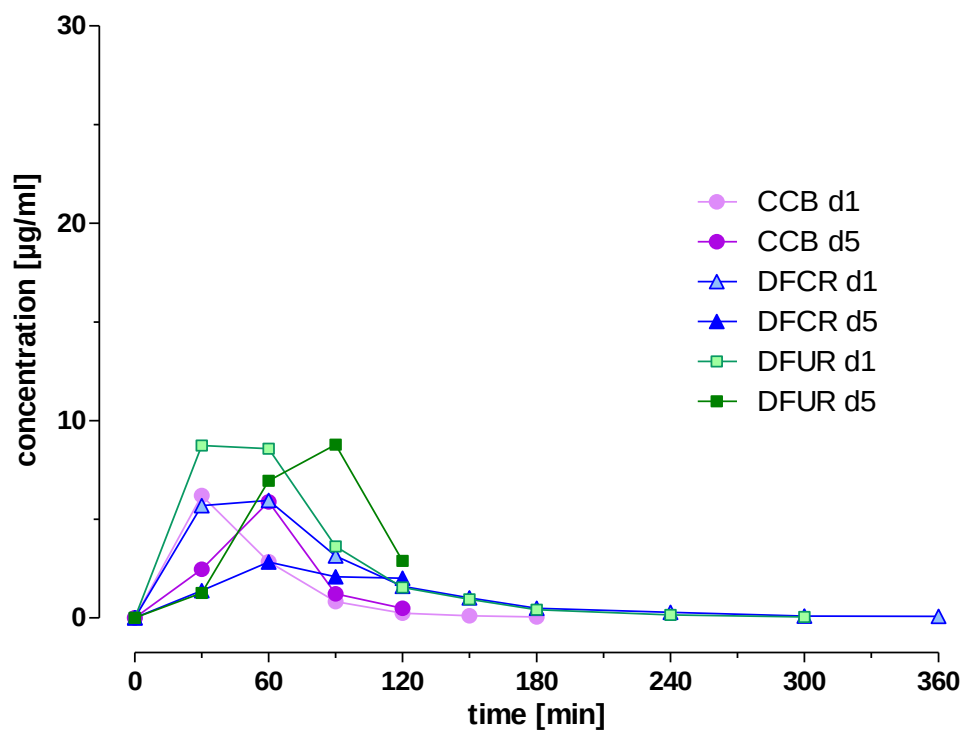


Abbildung 53: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 19, Woche 7

4.3.6 Patient 20 (Arm A)

Woche 1

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
60.	0.000	0.339	0.000	0.158	0.000	0.101
90.	0.098	0.925	0.000	0.609	0.069	0.515
120.	5.640	18.039	1.710	4.522	2.082	4.408
150.	10.200		4.350		5.698	
180.	4.350		5.098		6.871	
240.	1.451		1.990		2.059	
300.	0.558		0.943		0.777	
360.	0.174		0.411		0.297	

Tabelle 23: Plasmakonzentrationen Patient 20, Woche 1

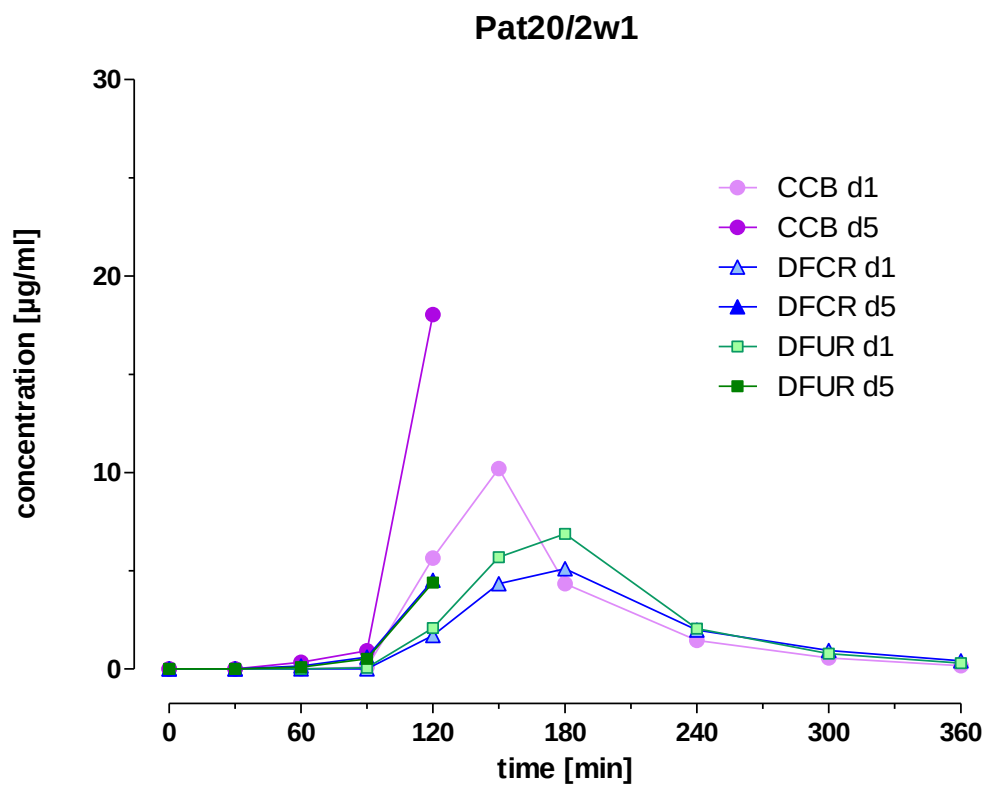


Abbildung 54: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 20, Woche 1

Woche 4

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.		0.000		0.000		0.000
30.		0.735		0.394		0.381
60.		0.751		0.835		0.970
90.		16.191		3.003		3.344
120.		4.965		5.145		8.413
150.	1.955		1.899		2.502	
180.	0.833		1.512		1.490	
240.	0.276		0.572		0.522	
300.			0.286		0.178	
360.			0.081		0.032	

Tabelle 24: Plasmakonzentrationen Patient 20, Woche 4

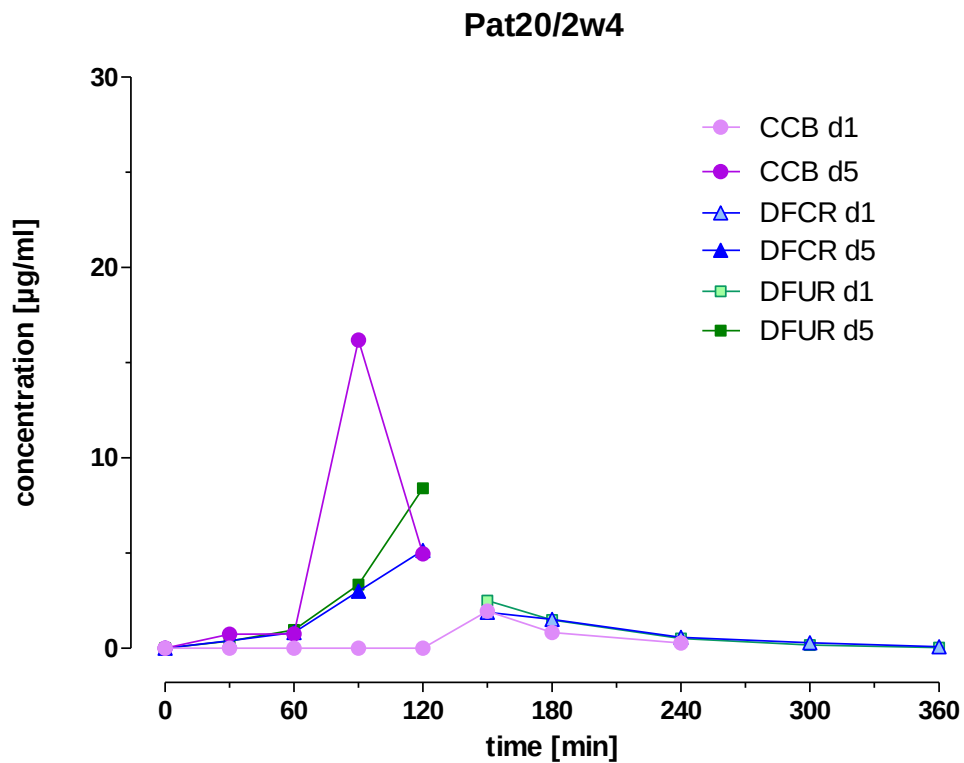


Abbildung 55: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 20, Woche 4

Am Tag 1 nahm der Patient das Medikament zuhause ein und traf erst später im AKH ein. Daher konnte die Blutabnahme erst ab Minute 150 erfolgen.

Woche 7

time [min]	CCB d1	CCB d5	DFCR d1	DFCR d5	DFUR d1	DFUR d5
0.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30.	0.196	0.000	0.064	0.071	0.097	0.000
60.	5.108	8.967	2.795	2.960	2.980	2.681
90.	5.111	4.598	3.896	4.828	4.097	6.290
120.	3.660	1.619	3.057	3.545	3.911	4.389
150.	1.229		2.239		2.238	
180.	0.665		0.848		0.827	
240.	0.234		0.175		0.166	
300.			0.061		0.064	
360.						

Tabelle 25: Plasmakonzentrationen Patient 20, Woche 7

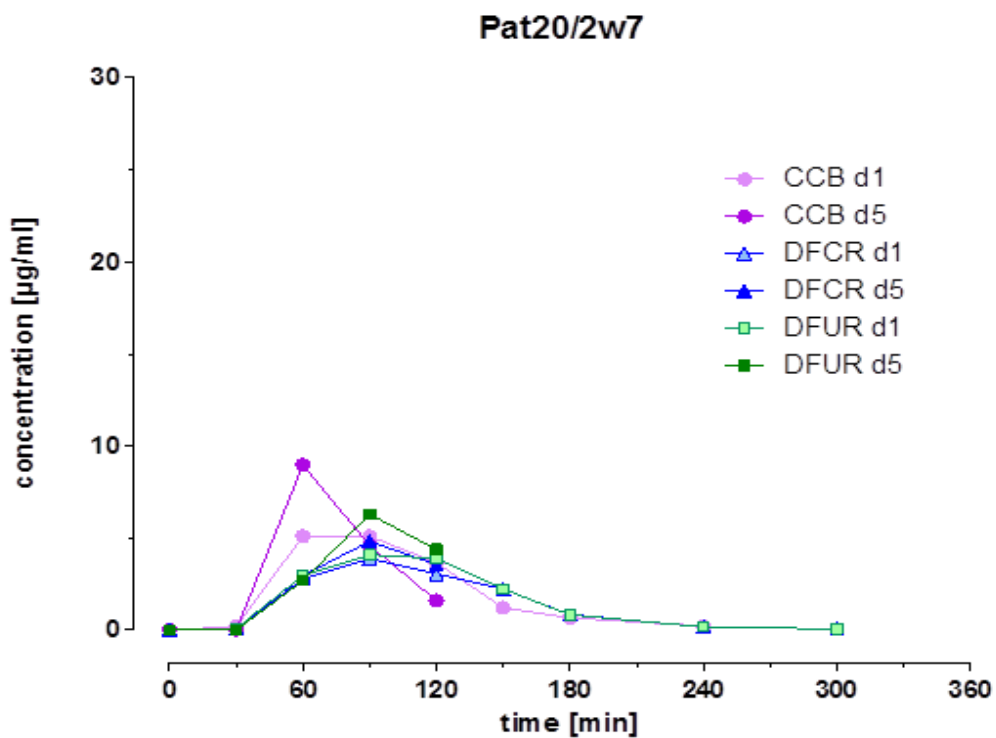


Abbildung 56: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 20, Woche 7

5 Datenauswertung und Diskussion

In den folgenden Tabellen werden diverse pharmakokinetische Parameter von Capecitabin und seinen Metaboliten DFCR und DFUR der Patienten, welche dem Therapieschema des Arm A (Patient 16,17,19 und 20) unterliegen, dargestellt und statistisch miteinander vergleichbar.

5.1 Pharmakokinetische Parameter

5.1.1 Zyklus 1: Monotherapie mit Capecitabin

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	30	14,0180	527,4457	44,9100	518,4771
17	60	15,4816	991,8964	89,7063	834,3692
19	60	16,9265	627,7983	71,7444	592,8092
20	150	10,1996	765,3613	170,8619	87,5475
MW	75,00	14,16	728,13	94,31	508,30
STABW	51,96	2,89	201,08	54,26	311,23

Tabelle 26: Capecitabin Woche 1, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	30	12,3610	567,2089	47,4559	567,2089
17	60	10,7414	475,6103	75,3402	475,6103
19	30	21,1787	820,0742	44,2184	820,0742
20	120	18,0387	308,5076	115,3228	308,5076
MW	60,00	15,58	542,85	70,58	542,85
STABW	42,43	4,87	213,61	32,94	213,61

Tabelle 27: Capecitabin Woche 1, Tag 5

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	30	10,9760	808,8099	68,8618	697,2782
17	120	2,5455	339,4704	121,8771	180,6061
19	60	5,0640	500,7867	102,5495	346,7831
20	180	5,0976	579,0288	198,8201	25,6566
MW	97,50	5,92	557,02	123,03	312,58
STABW	66,52	3,58	195,25	55,07	288,04

Tabelle 28: DFCR Woche 1, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	30	8,4710	652,0889	59,2265	652,0889
17	90	2,4613	165,7874	83,7154	165,7874
19	30	4,1313	305,3112	59,6104	305,3112
20	120	4,5219	90,8586	110,8282	90,8586
MW	67,50	4,90	303,51	78,35	303,51
STABW	45,00	2,55	248,80	24,50	248,80

Tabelle 29: DF CR Woche 1, Tag 5

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	30	9,5020	747,8788	69,3013	647,8016
17	90	3,2698	383,9461	114,7003	228,7108
19	60	5,7550	456,9829	97,6028	337,5427
20	180	6,8713	687,0502	191,3439	33,3045
MW	90,00	6,35	568,96	118,24	311,84
STABW	64,81	2,59	175,81	52,21	256,92

Tabelle 30: DFUR Woche 1, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	60	9,7570	733,7935	59,9691	733,7935
17	90	4,2723	273,2712	85,1393	273,2712
19	30	4,2525	342,3810	59,8573	342,3810
20	120	4,4084	84,6163	112,3651	84,6163
MW	75,00	5,67	358,52	79,33	358,52
STABW	38,73	2,72	272,87	25,03	272,87

Tabelle 31: DFUR Woche 1, Tag 5

5.1.2 Zyklus 2: Kombinationstherapie Capecitabin und Cetuximab

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	60	10,7600	539,6934	58,7102	526,4723
17	120	12,2814	623,2923	128,2304	292,7757
19	60	7,0627	326,1207	77,9640	303,7357
20	150	1,9550	216,3344	159,9828	93,8403
MW	97,50	8,01	426,36	106,22	304,21
STABW	45,00	4,60	187,78	46,30	176,81

Tabelle 32: Capecitabin Woche 4, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	30	8,5870	451,5215	51,3592	451,5215
17	30	26,9518	904,6889	41,1144	904,6889
19	120	4,5754	267,4905	77,5586	267,4905
20	90	16,1914	572,3735	92,5364	572,3735
MW	67,50	14,08	549,02	65,64	549,02
STABW	45,00	9,84	268,21	23,60	268,21

Tabelle 33: Capecitabin Woche 4, Tag 5

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	60	10,5320	814,9690	97,9268	608,9903
17	120	2,7407	229,2892	136,6543	85,0505
19	90	3,2088	329,3118	119,9868	195,5260
20	150	1,8990	285,9172	179,8034	91,1515
MW	105,00	4,60	414,87	133,59	245,18
STABW	38,73	3,99	269,86	34,65	247,78

Tabelle 34: DFCR Woche 4, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	90	5,4580	489,1256	68,8622	489,1256
17	60	3,7980	250,2109	53,7401	250,2109
19	90	3,7643	330,9177	72,5270	330,9177
20	120	5,1448	204,1414	94,1860	204,1414
MW	90,00	4,54	318,60	72,33	318,60
STABW	24,49	0,89	125,18	16,69	125,18

Tabelle 35: DF CR Woche 4, Tag 5

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	60	9,8340	683,2000	97,0940	519,7579
17	120	7,2401	525,7616	132,5263	201,9431
19	90	5,8713	491,5621	108,6727	345,9965
20	150	2,5025	325,9754	171,2397	120,1188
MW	105,00	6,36	506,62	127,38	296,95
STABW	38,73	3,05	146,52	32,75	175,45

Tabelle 36: DF UR Woche 4, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	60	9,3510	833,7426	64,4666	833,7426
17	60	8,4505	555,4769	54,4075	555,4769
19	90	4,7302	358,9898	73,1239	358,9898
20	120	8,4134	267,0668	98,3373	267,0668
MW	82,50	7,74	503,82	72,58	503,82
STABW	28,72	2,05	250,70	18,80	250,70

Tabelle 37: DF UR Woche 4, Tag 5

5.1.3 Zyklus 3: Kombinationstherapie Capecitabin, Cetuximab und Oxaliplatin

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	60	6,8470	560,3278	135,4872	317,9348
17	90	5,5006	483,7514	80,5918	415,7055
19	30	6,2009	293,0055	49,1056	285,7263
20	90	5,1109	485,3254	99,4734	366,1384
MW	67,50	5,91	455,60	91,16	346,38
STABW	28,72	0,77	114,14	36,12	56,82

Tabelle 38: Capecitabin Woche 7, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	90	5,4910	393,9374	73,6668	393,9374
17	120	2,9816	68,4886	107,5503	68,4886
19	60	5,8745	274,5899	59,2696	274,5899
20	60	8,9670	416,3491	75,0149	416,3491
MW	82,50	5,83	288,34	78,88	288,34
STABW	28,72	2,45	159,23	20,40	159,23

Tabelle 39: Capecitabin Woche 7, Tag 5

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	90	4,1180	359,1931	101,6193	268,6188
17	60	1,8485	165,7567	88,9871	128,3159
19	60	5,9596	560,1356	80,8865	460,8522
20	90	3,8956	401,8535	113,5913	247,9774
MW	75,00	3,96	371,73	96,27	276,44
STABW	17,32	1,68	162,26	14,36	137,62

Tabelle 40: DFCR Woche 7, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	90	3,9870	275,9199	80,4263	275,9199
17	90	1,5724	51,9599	91,9789	51,9599
19	60	2,8384	218,7652	71,7337	218,7652
20	90	4,8283	287,9505	86,4657	287,9505
MW	82,50	3,31	208,65	82,65	208,65
STABW	15,00	1,41	108,73	8,67	108,73

Tabelle 41: DFCR Woche 7, Tag 5

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	90	4,9880	418,5449	100,1176	318,0807
17	90	3,9901	356,6839	89,2049	290,3855
19	30	8,7327	714,5428	68,0640	636,6067
20	90	4,0965	437,3705	112,4893	273,8399
MW	75,00	5,45	481,79	92,47	379,73
STABW	30,00	2,23	158,95	18,85	172,22

Tabelle 42: DFUR Woche 7, Tag 1

Patient	Tmax	Cmax	AUClast	MRTlast	AUC 0-120
16	90	2,9880	205,5526	81,3251	205,5526
17	90	2,6535	88,6938	91,8382	88,6938
19	90	8,7871	537,5868	77,7435	537,5868
20	90	6,2896	333,2315	89,4662	333,2315
MW	90,00	5,18	291,27	85,09	291,27
STABW	0,00	2,91	192,20	6,65	192,20

Tabelle 43: DFUR Woche 7, Tag 5

5.1.4 Gegenüberstellung und Diskussion der einzelnen Parameter

Tmax		CCB	CCB+CTX	CCB+CTX+OxPt
CCB	d1	75,0	97,5	67,5
	d5	60,0	67,5	82,5
DFCR	d1	97,5	105,0	75,0
	d5	67,5	90,0	82,5
DFUR	d1	90,0	105,0	75,0
	d5	75,0	82,5	90,0

Tabelle 44: Mittelwerte Tmax von Patient 16, 17, 19 und 20

In dieser Tabelle wird ersichtlich, dass die Plasmaximalkonzentrationen in der Monotherapie mit Capecitabin geringfügig früher auftreten als bei der Kombinationstherapie mit Cetuximab. Bei der Dreierkombinationstherapie wird ersichtlich, dass Tmax bei Tag 1 früher erscheint als bei Tag 5. Auch wenn das Anfluten des Wirkstoffes im Blut individuell bei den Patienten leichte Unterschiede zeigt, kommt man mit dem Mittelwert der Plasmaximalkonzentration der Fachinformation von 90 Minuten sehr nahe. Starke individuelle Unterschiede können auftreten, wenn der Patient z.B. nicht gefrühstückt hat, wie es beim Patienten 17 in der Woche 4 am Tag 1 ersichtlich ist.

Für die beiden Metaboliten DFCR und DFUR wird das Tmax später erwartet, da Capecitabin in der Leber schrittweise abgebaut wird. Auch diesen Aspekt kann man in der oben angeführten Tabelle verfolgen.

Cmax		CCB	CCB+CTX	CCB+CTX+OxPt
CCB	d1	14,16	8,01	5,91
	d5	15,58	14,08	5,83
DFCR	d1	5,92	4,60	3,96
	d5	4,90	4,54	3,31
DFUR	d1	6,35	6,36	5,45
	d5	5,67	7,74	5,18

Tabelle 45: Mittelwerte von Cmax der Patienten aus Arm A

Laut dieser Tabelle sind die Plasmaximalkonzentrationen von Capecitabin in der Monotherapie viel höher als bei den Kombinationstherapien, weshalb man Wechselwirkungen der Medikamente vermuten kann. Die Differenz bei den Metaboliten ist jedoch nicht so prägnant.

Man bemerkt keine signifikanten Unterschiede von Cmax am Tag 1 und Tag 5 der Therapie. Dadurch kann man eine Kumulation von Capecitabin ausschließen und die Ergebnisse einer Woche können zusammengefasst werden.

Generell ist zu erkennen, dass Cmax aller Mittelwerte höher liegt, als in der Fachinformation beschrieben. Bei Patienten mit Maximalkonzentrationswerten über 20 µg/ml könnte die Einnahme im nüchternen Zustand erfolgt sein.

MRTlast		CCB	CCB+CTX	CCB+CTX+OxPt
CCB	d1	94,31	106,22	91,16
	d5	70,58	65,64	78,88
DFCR	d1	123,03	133,59	96,27
	d5	78,35	72,33	82,65
DFUR	d1	118,24	127,38	92,47
	d5	79,33	72,58	85,09

Tabelle 46: mittlere Verweildauer [min] von Patient 16,17, 19 und 20

Die mittlere Verweildauer der Metaboliten DFCR und DFUR ist länger als die des Capecitabin selbst. Die Werte am Tag 5 miteinander verglichen zeigen keinen signifikanten Unterschied in den verschiedenen Therapieansätzen. Aus der Tabelle wird des Weiteren ersichtlich, dass die gesamte Verweildauer sowohl von Capecitabin als auch von den Metaboliten in der Kombinationstherapie mit Cetuximab länger ist, im Vergleich zur Woche 1 und Woche 7.

AUC 0-120		CCB	CCB+CTX	CCB+CTX+OxPt
CCB	d1	508,30	304,21	346,38
	d5	542,85	549,02	288,34
DFCR	d1	312,58	245,18	276,44
	d5	303,51	318,60	208,65
DFUR	d1	311,84	296,95	379,73
	d5	358,52	503,82	291,27

Tabelle 47: Mittelwerte der AUC von Minute 0 bis 120 der Patienten aus Arm A

Diese Tabelle vergleicht den pharmakokinetischen Parameter AUC von Minute 0 bis 120 in den diversen Therapieschemata. Auch hier erkennt man, dass die gesamte Konzentrationsmenge in der genannten Zeit bei der Monotherapie etwas höher ist, als bei den Kombinationstherapien, es sind jedoch keine signifikanten Unterschiede ersichtlich.

5.2 Metabolische Aktivierung

5.2.1 Zyklus 1

	Monotherapie CCB					
RhCES	Patient 16	Patient 17	Patient 19	Patient 20	MW	STABW
Tag 1	1,34	0,22	0,58	0,29	0,61	0,45
Tag 5	1,15	0,35	0,37	0,29	0,54	0,35

Tabelle 48: RhCES Werte bei Monotherapie mit Capecitabin

	Monotherapie CCB					
RCytDA	Patient 16	Patient 17	Patient 19	Patient 20	MW	STABW
Tag 1	0,93	1,27	0,97	1,30	1,12	0,17
Tag 5	1,13	1,65	1,12	0,93	1,21	0,27

Tabelle 49: RCytDA Werte bei Monotherapie mit Capecitabin

5.2.2 Zyklus 2

	Kombinationstherapie CCB + CTX					
RhCES	Patient 16	Patient 17	Patient 19	Patient 20	MW	STABW
Tag 1	1,16	0,29	0,64	0,97	0,77	0,33
Tag 5	1,08	0,28	1,24	0,36	0,74	0,43

Tabelle 50: RhCES Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin mit Cetuximab

	Kombinationstherapie CCB + CTX					
RCytDA	Patient 16	Patient 17	Patient 19	Patient 20	MW	STABW
Tag 1	0,85	2,37	1,77	1,32	1,58	0,56
Tag 5	1,70	2,22	1,08	1,31	1,58	0,43

Tabelle 51: RCytDA Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin mit Cetuximab

5.2.3 Zyklus 3

	Kombinationstherapie CCB + CTX+ OxPT					
RhCES	Patient 16	Patient 17	Patient 19	Patient 20	MW	STABW
Tag 1	0,84	0,31	1,61	0,68	0,86	0,48
Tag 5	0,70	0,76	0,80	0,69	0,74	0,04

Tabelle 52: RhCES Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin, Cetuximab und Oxaliplatin

	Kombinationstherapie CCB + CTX+ OxPT					
RCytDA	Patient 16	Patient 17	Patient 19	Patient 20	MW	STABW
Tag 1	1,18	2,26	1,38	1,10	1,48	0,46
Tag 5	0,74	1,71	2,46	1,16	1,52	0,64

Tabelle 53: RCytDA Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin, Cetuximab und Oxaliplatin

In den voranstehenden Tabellen werden die Mittelwerte zum Vergleich der metabolischen Bildungskoeffizienten RhCES und RCytDA dargestellt. Dabei ist kein signifikanter Unterschied zwischen Tag 1 und Tag 5 zu erkennen.

Vergleicht man die Mittelwerte von RhCES der Monotherapie mit den Ergebnissen der beiden Kombinationstherapien resultieren auch hier keine aussagekräftigen Abweichungen. Genau dasselbe kann man auch bei RCytDA beobachten.

Man kommt nun zu dem Schluss, dass die Monotherapie mit Capecitabin, in Bezug auf die Plasmakonzentration des Wirkstoffes und dessen Metaboliten, gleichzusetzen ist, sowohl mit der Kombinationstherapie Capecitabin und Cetuximab, als auch mit der Dreierkombination Capecitabin, Cetuximab und Oxaliplatin.

6 Zusammenfassung

Bei dieser Diplomarbeit wurden Blutproben von Patienten mit metastasierendem Kolonrektalkarzinom analysiert. Die Patienten wurden in einer Monotherapie mit Capecitabin, Kombinationstherapie Capecitabin und dem monoklonalen Antikörper Cetuximab und einer Dreifachkombination Capecitabin, Cetuximab und dem Chemotherapeutikum Oxaliplatin behandelt.

Das Hauptziel bestand darin, die Pharmakokinetik und somit die Plasmakonzentrationen von Capecitabin und seinen Metaboliten zu untersuchen und herauszufinden, ob und in welche Richtung die Mitverabreichung von Cetuximab und Oxaliplatin die Biotransformation des Wirkstoffes und seiner Metaboliten beeinflussen.

Zur Auswertung der Daten wurden die Patienten 16, 17, 19 und 20 herangezogen, weil diese dem gleichen Behandlungsschema „Arm A“ folgten. Patient 18 wurde zwar analysiert, aber aufgrund einer anderen Therapie „Arm B“ bei der Interpretation ausgeschlossen.

Das Ergebnis der Untersuchung zeigt, dass sich die Plasmakonzentrationen von Capecitabin und seinen Metaboliten in Hinsicht der Mittelwerte am Tag 1 und Tag 5 in den jeweiligen Zyklen nicht wesentlich unterscheiden, was bedeutet, dass das Prodrug nicht kumuliert und die Daten miteinander gepoolt statistisch ausgewertet werden können.

Weiters kann kein Einfluss auf die Plasmakonzentrationen und die metabolische Aktivierung weder durch Cetuximab noch durch Oxaliplatin beobachtet werden.

Diese Beobachtung ist jedoch statistisch nicht signifikant, da individuelle Variabilität vorherrscht und außerdem die Fallzahl für eine exakte statistische Analyse zu gering ist, um eine endgültige Aussage zu treffen.

Untersuchungen dieser Art sind klinisch sehr relevant und unentbehrlich für eine sichere und effiziente kombinierte Chemotherapie. Die Bestimmung der Plasmakonzentrationen des Zytostatikums ist essentiell, um im Rahmen der Therapie in der therapeutischen Breite zu bleiben und dadurch toxische Konzentrationen zu meiden.

7 Summary

In this diploma thesis blood samples from patients with metastatic colonrectal carcinoma were analyzed. The patients were treated in monotherapy with capecitabine, combination therapy capecitabine and the monoclonal antibody cetuximab and a triple combination capecitabine, cetuximab and the chemotherapeutic drug oxaliplatin.

The main objective was to investigate the pharmacokinetics and thus the plasma concentrations of capecitabine and its metabolites, and to find out whether and in which direction the co-medication of cetuximab and oxaliplatin influences the biotransformation of the drug and its metabolites.

For the evaluation of data, the patients 16, 17, 19 and 20 have been selected because they all followed the same treatment of "arm A". Patient 18 was indeed analyzed, but due to a different therapy "arm B" excluded from the interpretation.

The result of the investigation shows that the plasma concentrations of capecitabine and its metabolites do not differ significantly in terms of the mean values on day 1 and day 5 in the cycles, which means that the prodrug is not cumulative and pooled the data together can be analyzed statistically.

Furthermore, no influence on the plasma concentrations and the metabolic activation can be determined, either by cetuximab nor oxaliplatin.

However, this observation is not statistically significant, since individual variability prevails and also the number of cases for a precise statistical analysis is too low to make a final statement.

Investigations of this kind are clinically very relevant and indispensable for a safe and effective combination chemotherapy. In therapy, the determination of the plasma concentrations of the cytostatic drug is important in order to remain in the therapeutic range and thereby avoid toxic concentrations.

Abkürzungsverzeichnis

% v/v	Volumenprozent
5-FU	5- Fluorouracil
Abb	Abbildung
AKH	Allgemeines Krankenhaus
Aqua bidest.	Aqua bidestillata
AUC	area under the curve
CCB	Capecitabin
CTX	Cetuximab
d1/d5	Tag 1/Tag 5
DACH	1,2- Diaminocyclohexan
DFCR	5- Desoxy-5-fluorocytidin
DFUR	5- Desoxy-5-fluorouracil
DNS/DNA	Desoxyribonukleinsäure
EG	Eichgeraden
EGFR	epidermal growth factor Rezeptor
HER 1 Rezeptor	EGFR
HPLC	high performance liquid chromatographie
K ras	Kristen rat sarkoma viral oncogene homolog
MeOH	Methanol
min	Minute
ml	Milliliter

mmHg	Millimeter Quecksilbersäule, Maßstab des Blutdrucks
MW	Mittelwert
OxPt	Oxaliplatin
Pat	Patient
RCytDA	Bildungskoeffizient der Cytidindesaminase
RhCES	Bildungskoeffizient der hepatischen Carboxylase
RNS	Ribonukleinsäure
RP	reversed phase
rpm	revolutions per minute, Umdrehungen pro Minute
SPE	solid phase extraction
STABW	Standardabweichung
w	Woche

Abbildungen

Abbildung 1: Struktur von Capecitabin [2]	- 9 -
Abbildung 2: Metabolismus von Capecitabin [3]	- 10 -
Abbildung 3: Aktivierung/Hemmung der Rezeptorkinase [5]	- 13 -
Abbildung 4: Strukturformel von Oxaliplatin [5]	- 14 -
Abbildung 5: Therapieschema Arm A und Arm B	- 17 -
Abbildung 6: Prinzip der Festphasenextraktion [7]	- 19 -
Abbildung 7: Schematischer Aufbau einer HPLC-Säulenchromatographie [7]	- 21 -
Abbildung 8: HPLC Anlage am Department für klinische Pharmazie	- 24 -
Abbildung 9: Capecitabin Eichgerade	- 30 -
Abbildung 10: DFCR Eichgerade	- 31 -
Abbildung 11: DFUR Eichgerade	- 31 -
Abbildung 12: Capecitabin 0 min	- 34 -
Abbildung 13: Capecitabin 30 min	- 34 -
Abbildung 14: Capecitabin 60 min	- 34 -
Abbildung 15: Capecitabin 90 min	- 34 -
Abbildung 16: Capecitabin 120 min	- 34 -
Abbildung 17: Capecitabin 150 min	- 34 -
Abbildung 18: Capecitabin 180 min	- 35 -
Abbildung 19: Capecitabin 240 min	- 35 -

Abbildung 20: Capecitabin 300 min	- 35 -
Abbildung 21: Capecitabin 360 min	- 35 -
Abbildung 22: Capecitabin 0 min	- 36 -
Abbildung 23: Capecitabin 30 min	- 36 -
Abbildung 24: Capecitabin 60 min	- 36 -
Abbildung 25: Capecitabin 90 min	- 36 -
Abbildung 26: Capecitabin 120 min	- 36 -
Abbildung 27: Metaboliten 0 min	- 37 -
Abbildung 28: Metaboliten 30 min	- 37 -
Abbildung 29: Metaboliten 60 min	- 37 -
Abbildung 30: Metaboliten 90 min	- 37 -
Abbildung 31: Metaboliten 120 min	- 37 -
Abbildung 32: Metaboliten 150 min	- 37 -
Abbildung 33: Metaboliten 180 min	- 38 -
Abbildung 34: Metaboliten 240 min	- 38 -
Abbildung 35: Metaboliten 300 min	- 38 -
Abbildung 36: Metaboliten 360 min	- 38 -
Abbildung 37: Metaboliten 0 min	- 39 -
Abbildung 38: Metaboliten 30 min	- 39 -
Abbildung 39: Metaboliten 60 min	- 39 -
Abbildung 40: Metaboliten 90 min	- 39 -

Abbildung 41: Metaboliten 120 min	- 39 -
Abbildung 42: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 16, Woche 1.....	- 40 -
Abbildung 43: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 16, Woche 4.....	- 41 -
Abbildung 44: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 16, Woche 7.....	- 42 -
Abbildung 45: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 17, Woche 1.....	- 43 -
Abbildung 46: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 17, Woche 4.....	- 44 -
Abbildung 47: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 17, Woche 7.....	- 45 -
Abbildung 48:Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 18, Woche 1.....	- 46 -
Abbildung 49: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 18, Woche 4.....	- 47 -
Abbildung 50: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 18, Woche 7.....	- 48 -
Abbildung 51: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 19, Woche 1.....	- 49 -
Abbildung 52: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 19, Woche 4.....	- 50 -
Abbildung 53: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 19, Woche 7.....	- 51 -
Abbildung 54: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 20, Woche 1.....	- 52 -
Abbildung 55: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 20, Woche 4.....	- 53 -
Abbildung 56: Plasmakonzentrationszeitkurve Patient 20, Woche 7.....	- 54 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zeitschema der Blutabnahme	- 17 -
Tabelle 2: Patientenprofile	- 18 -
Tabelle 3: Materialien & Geräte	- 23 -
Tabelle 4: verwendete Reagentien	- 24 -
Tabelle 5: HPLC System	- 24 -
Tabelle 6: Verdünnungsreihe Capecitabin	- 26 -
Tabelle 7: Verdünnungsreihen Metaboliten	- 27 -
Tabelle 8: Pharmakokinetische Parameter	- 28 -
Tabelle 9: Formeln zur Berechnung der metabolischen Aktivierung	- 28 -
Tabelle 10: Statistische Parameter der EG von Capecitabin, DFCR und DFUR ...	- 32 -
Tabelle 11: Plasmakonzentrationen Patient 16, Woche1	- 40 -
Tabelle 12: Plasmakonzentrationen Patient 16, Woche 4	- 41 -
Tabelle 13: Plasmakonzentrationen Patient 16, Woche 7	- 42 -
Tabelle 14: Plasmakonzentrationen Patient 17, Woche 1	- 43 -
Tabelle 15: Plasamkonzentrationen Patient 17, Woche 4	- 44 -
Tabelle 16: Plasmakonzentrationen Patient 17, Woche 7	- 45 -
Tabelle 17: Plamakonzentrationen Patient 18, Woche 1	- 46 -
Tabelle 18: Plasmakonzentrationen Patient 18, Woche 4	- 47 -
Tabelle 19: Plasmakonzentrationen Patient 18, Woche 7	- 48 -
Tabelle 20: Plasmakonzentrationen Patient 19, Woche 1	- 49 -

Tabelle 21: Plasmakonzentrationen Patient 19, Woche 4	- 50 -
Tabelle 22: Plasmakonzentrationen Patient 19, Woche 7	- 51 -
Tabelle 23: Plasmakonzentrationen Patient 20, Woche 1	- 52 -
Tabelle 24: Plasmakonzentrationen Patient 20, Woche 4	- 53 -
Tabelle 25: Plasmakonzentrationen Patient 20, Woche 7	- 54 -
Tabelle 26: Capecitabin Woche 1, Tag 1	- 56 -
Tabelle 27: Capecitabin Woche 1, Tag 5	- 56 -
Tabelle 28: DFCR Woche 1, Tag 1	- 56 -
Tabelle 29: DFCR Woche 1, Tag 5	- 57 -
Tabelle 30: DFUR Woche 1, Tag 1	- 57 -
Tabelle 31: DFUR Woche 1, Tag 5	- 57 -
Tabelle 32: Capecitabin Woche 4, Tag 1	- 58 -
Tabelle 33: Capecitabin Woche 4, Tag 1	- 58 -
Tabelle 34: DFCR Woche 4, Tag 1	- 58 -
Tabelle 35: DFCR Woche 4, Tag 5	- 59 -
Tabelle 36: DFUR Woche 4, Tag 1	- 59 -
Tabelle 37: DFUR Woche 4, Tag 5	- 59 -
Tabelle 38: Capecitabin Woche 7, Tag 1	- 60 -
Tabelle 39: Capecitabin Woche 7, Tag 5	- 60 -
Tabelle 40: DFCR Woche 7, Tag 1	- 60 -
Tabelle 41: DFCR Woche 7, Tag 5	- 61 -

Tabelle 42: DFUR Woche 7, Tag 1	- 61 -
Tabelle 43: DFUR Woche 7, Tag 5	- 61 -
Tabelle 44: Mittelwerte Tmax von Patient 16, 17, 19 und 20.....	- 62 -
Tabelle 45: Mittelwerte von Cmax der Patienten aus Arm A.....	- 63 -
Tabelle 46: mittlere Verweildauer [min] von Patient 16,17, 19 und 20.....	- 64 -
Tabelle 47: Mittelwerte der AUC von Minute 0 bis 120 der Patienten aus Arm A ..	- 64 -
Tabelle 48: RhCES Werte bei Monotherapie mit Capecitabin	- 65 -
Tabelle 49: RCytDA Werte bei Monotherapie mit Capecitabin	- 65 -
Tabelle 50: RhCES Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin mit Cetuximab	- 65 -
Tabelle 51: RcytDA Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin mit Cetuximab	- 65 -
Tabelle 52: RhCES Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin, Cetuximab und Oxaliplatin	- 66 -
Tabelle 53: RCytDA Werte bei Kombinationstherapie Capecitabin, Cetuximab und Oxaliplatin	- 66 -

Literaturverzeichnis

- [1] STATISTIK AUSTRIA, Österreichisches Krebsregister (Stand 17.10.2013). Erstellt am 25.10.2013.
- [2] Mutschler, Geisslinger, Kroemer et al Mutschler Arzneimittelwirkungen, 10. Auflage, 2013, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S. 884
- [3] Aktories, Förstermann, Hofmann und Starke Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Urban & Fischer, 11.Auflage, S. 900-960
- [4] Austria-Codex Fachinformation 2013/14, Band 8, 2013, Österreichische Apotheker-Verlagsgesellschaft mbH Wien, S. 4870 ff, S. 16312 ff
- [5] Estler und Schmidt Pharmakologie und Toxikologie, 6.Auflage, 2007, Schattauer GmbH Stuttgart, S.911 und S.934-936
- [6] M. Poxhofer, Diplomarbeit Universität Wien, 2013
- [7] Dominik, Steinhilber, Wurglics Instrumentelle Analytik kompakt, 3.Auflage, 2013, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S. 230f, S.243f
- [8] C. Roth GmbH & CoKG „Festphasenextraktion“, Juni 2010 [online] http://www.carlroth.at/website/de-de/pdf/DE_Info_Festphasenextraktion_SPE_Pr.pdf. [Zugriff am 19.9.14]
- [9] Rücker, Neugebauer, Willems Instrumentelle pharmazeutische Analytik, 5. Auflage, 2013, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S.472-475
- [10] Kunze, Schwedt, Grundlagen der quantitativen Analyse, 6. Auflage, 2009, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA, S. 222-226