

## Abbauhemmung von Tolbutamid durch Sulfaphenazol beim Menschen

E. SCHULZ und F.H. SCHMIDT

Medizinische Universitäts-Poliklinik und Medizinische Klinik Köln-Merheim (Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn)  
Abt. Stoffwechsel, Firma Boehringer Mannheim GmbH., Mannheim (Leiter: Dr. F.H. Schmidt)

Eingegangen am 20. Dezember 1969

### *Inhibition of tolbutamide decomposition by sulfaphenazol in man*

**Summary.** Sulfaphenazol potentiates the hypoglycaemic effect of tolbutamide by prolonging its half-life in plasma. The attempt has been made in man to localize the step in tolbutamide metabolism which is inhibited by sulfaphenazol. It was found to prolong the half-life of undegraded tolbutamide without interfering with the elimination of its metabolites hydroxy-tolbutamide and carboxy-tolbutamide. It seems that sulfaphenazol blocks the first stage of tolbutamide metabolism, its hydroxylation, whilst the second step — carboxylation — remains uninhibited and is accomplished in a few minutes.

Die gleichzeitige Verordnung von mehreren Medikamenten bei einem Patienten läßt sich in der ärztlichen Praxis häufig nicht vermeiden. Daher ist das Studium von Arzneimittel-Wechselwirkungen zur Verhinderung von Inkompatibilitäten bei Medikamentenkombinationen eine dringende Aufgabe.

Christensen und Mitarbeiter [1] beschrieben 1963 das Auftreten von protrahierten hypoglykämischen Reaktionen bei drei Diabetikern, die Tolbutamid und Sulfaphenazol bekamen, und konnten nachweisen, daß bei gleichzeitiger Verabfolgung dieser Medikamente die Serumhalbwertszeit für Tolbutamid um das fünf-fache anstieg und die Blutzuckerspiegel prolongiert gesenkt wurden. Dieser Befund wurde von Dubach u. Mitarb. [4] bestätigt. Die Verlängerung der Serumhalbwertszeit für Tolbutamid ließ sowohl eine durch Sulfaphenazol induzierte Hemmung des Tolbutamidabbaues infolge Blockierung der für den Abbau des Medikaments verantwortlichen Enzyme, andererseits aber auch eine Hemmung der Elimination über die Nieren vermuten. Die Ursache der Störung soll in der nachfolgenden Arbeit näher studiert werden.

Wenn nämlich eine Hemmung der Elimination über die Nieren die Ursache für die längere Verweildauer ist, sollte man erwarten, daß die Metabolite ebenso einer Eliminationsstörung unterliegen. Im Fall des Tolbutamid wird nicht die intakte Substanz, sondern eine durch Methylgruppenoxydation gebildete Carbonsäure im Harn ausgeschieden [10, 2, 5].

Tolbutamid wird dabei vom Menschen und einigen Tierspezies zunächst im endoplasmatischen Reticulum von vorwiegend Leber und Nieren unter Mitwirkung von NADP, Cytochrom P 450 und Sauerstoff hydroxyliert (Abb. 4). Das hier entstehende Hydroxytolbutamid wandelt sich anschließend unter dem Einfluß

**Zusammenfassung.** Das Sulfonamid Sulfaphenazol verstärkt den hypoglykämisierenden Effekt von Tolbutamid über eine Verlängerung der Serumhalbwertszeit für Tolbutamid. Es wird untersucht, an welcher Stelle des Abbaues Sulfaphenazol die Metabolisierung von Tolbutamid im menschlichen Organismus hemmt. Da Sulfaphenazol nur die Serumhalbwertszeit des noch nicht metabolisierten Tolbutamid signifikant verlängert, nicht jedoch die Serumhalbwertszeit seiner Metaboliten Hydroxy-Tolbutamid und Carboxyl-Tolbutamid, muß angenommen werden, daß Sulfaphenazol den ersten Abbauschritt von Tolbutamid, d. h. die Hydroxylierung, verzögert, während der nächste Abbauschritt, die Carboxylierung, ungehindert in wenigen Minuten abläuft.

von Alkoholdehydrogenase, Aldehyddehydrogenase und NAD in Carboxyltolbutamid um. Die Halbwertszeit von Carboxyltolbutamid ist beim Menschen mit 20—30 Min. sehr kurz (E. Nelson et al. [6]).

### *Methodik*

1a) 4 stoffwechselgesunden (2 weibl., 2 männl.) freiwilligen Versuchspersonen im Alter von 30, 37, 38 und 44 Jahren wurde nach einer 12-stündigen Nüchternperiode morgens zunächst 1 g Tolbutamid intravenös injiziert. Nach der Methode von Spingler [9] erfolgte in Serumproben, die 5 Min. 1, 2, 4 und 8 Std p.i. entnommen wurden, die Bestimmung des Gesamttolbutamidgehaltes. Da eine gleichmäßige Verteilung eines Stoffes in der Blutbahn nach mehrfachem Ablauf der Kreislaufzeit, also bereits nach 3 bis 4 Min. anzunehmen ist, wurde der 5 Min. p.i. gewonnene Tolbutamid-Blutspiegel als Ausgangswert der Eliminationskurve angesetzt (Dost [3]).

Die Serumhalbwertszeit für Tolbutamid wurde graphisch ermittelt, indem die gefundenen Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit auf einen halblogarithmischen Raster aufgetragen wurden. Dadurch entstand in allen Fällen eine Gerade mit einem der Exponentialfunktion entsprechenden Gefälle (Dost [3]). Zusätzlich wurde im 8-stündigen Sammelurin eine qualitative Untersuchung der ausgeschiedenen Metabolite vorgenommen.

1b) Bei den gleichen Versuchspersonen ermittelten wir die Serumhalbwertszeit für Tolbutamid, nachdem 1 Std vor Tolbutamidgabe 1 g Sulfaphenazol intravenös verabfolgt worden war. Die Blutentnahmen und Bestimmungen erfolgten in gleicher Weise wie unter 1a) beschrieben.

2. In einer zweiten Versuchsreihe erhielten die gleichen Versuchspersonen anstelle des Tolbutamid 1 g Hydroxytolbutamid i.v. Auch hierbei wurde die Serumhalbwertszeit ohne (a) und mit vorausgegangener Sulfaphenazolgabe (b) bestimmt, die ebenfalls 1 Std vor Hydroxytolbutamidgabe verabreicht worden war. Wegen der zu erwartenden wesentlich kürzeren Serumhalbwertszeit des Metaboliten entnahmen wir die Blutproben bereits 5, 20,

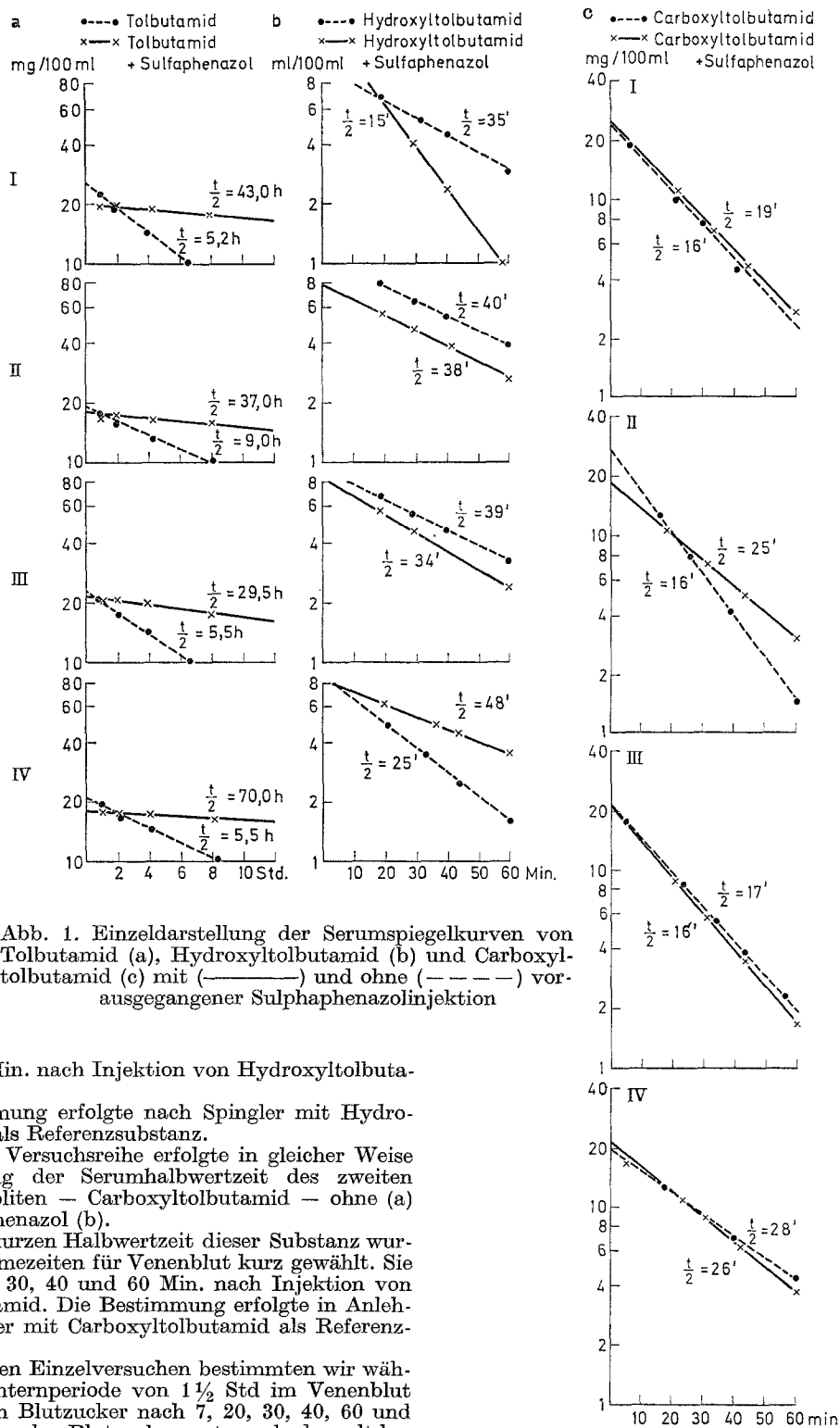


Abb. 1. Einzeldarstellung der Serumspiegelkurven von Tolbutamid (a), Hydroxytolbutamid (b) und Carboxyltolbutamid (c) mit (—) und ohne (---) vorausgegangener Sulphaphenazolinjektion

30, 40 und 60 Min. nach Injektion von Hydroxytolbutamid.

Die Bestimmung erfolgte nach Spingler mit Hydroxytolbutamid als Referenzsubstanz.

3. In der 3. Versuchsreihe erfolgte in gleicher Weise die Bestimmung der Serumhalbwertszeit des zweiten (Haupt-)Metaboliten — Carboxyltolbutamid — ohne (a) und mit Sulfaphenazol (b).

Wegen der kurzen Halbwertszeit dieser Substanz wurden die Entnahmezeiten für Venenblut kurz gewählt. Sie erfolgten 5, 20, 30, 40 und 60 Min. nach Injektion von Carboxyltolbutamid. Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an Spingler mit Carboxyltolbutamid als Referenzsubstanz.

Bei sämtlichen Einzelversuchen bestimmten wir während einer Nüchternperiode von  $1\frac{1}{2}$  Std im Venenblut enzymatisch den Blutzucker nach 7, 20, 30, 40, 60 und 90 Min. Jeder einzelne Blutzuckerwert wurde doppelt bestimmt.

#### Ergebnisse

Abb. 1a gibt die im halblogarithmischen Raster aufgetragenen Serumkonzentrationen für den Einzel-

fall wider. Bei Versuchsperson I ist eine graphisch ermittelte Halbwertszeit von 5.2 Std für Tolbutamid unter der vorherigen Gabe von Sulfaphenazol auf 43 Std angestiegen. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei

den Vpn II und III, wobei allerdings Vpn II mit 9 Std bereits eine längere Halbwertzeit für Tolbutamid allein aufweist, als I, III und IV.

Am ausgeprägtesten erscheint die Beeinflussung bei Vpn IV, da hierbei die Halbwertzeit unter Sulfaphenazol auf 70 Std ansteigt.

Die Serumhalbwertzeit betrug im Mittel für Tolbutamid 6.3 ( $s_x \pm 0.9$ ) Std und verlängerte sich nach vorausgegangener intravenöser Gabe von 1 g Sulfaphenazol auf 45.4 Std ( $s_x \pm 8.5$ ). (Abb. 2). Die Verlängerung der Serumhalbwertzeit um das 7-fache ist mit einem  $P$  von 0.003 hochsignifikant.

In Abb. 1b sind die entsprechenden Verhältnisse für Hydroxytolbutamid wiedergegeben. Die gleichen Vpn zeigten nach Gabe von Hydroxytolbutamid ein abweichendes Verhalten:

1. Die Serumkonzentrationen liegen auf  $c_0$  extrapoliert im Vergleich zu den Tolbutamid-Konzentrationen niedriger. Die graphisch ermittelte Eliminationshalbwertzeit ist bei allen Vpn deutlich kürzer als bei Tolbutamid; sie liegt im Mittel zwischen 30 und 40 Min.

2. Die vorherige Gabe von Sulfaphenazol bedingt keine Beeinflussung der Elimination bzw. der Metabolisierung. Vpn I scheidet bei kombinierter Gabe Hydroxytolbutamid etwas schneller aus, bei Vpn IV verlangsamt sich die Elimination geringgradig.

Im Mittel ergeben sich folgende Verhältnisse:

Der Metabolit Hydroxytolbutamid, der erstmalig beim Menschen verabfolgt wurde, wies eine Serumhalbwertzeit von nur 34.75 Min. ( $s_x \pm 3.4$ ) auf.

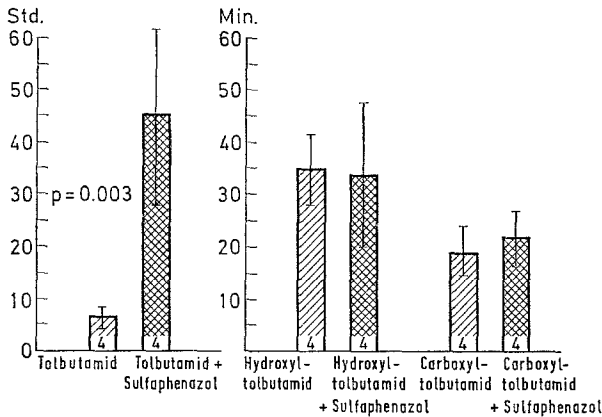


Abb. 2. Mittelwerte und Standardabweichung (s) der Serumhalbwertszeiten von Tolbutamid, Hydroxytolbutamid und Carboxyltolbutamid mit und ohne vorausgegangener Sulfaphenazolinjektion

Nach vorangegangener Sulfaphenazolgabe zeigte sich keine signifikante Änderung der Serumhalbwertzeit ( $\bar{x} = 33.8$ ;  $s_x \pm 6.9$ ;  $p = >0.10$ , Abb. 2).

Die Serumhalbwertzeit des Hauptmetaboliten (Carboxyltolbutamid) war mit Ausnahme von Vpn IV gegenüber Hydroxytolbutamid geringfügig kürzer, sie lag im Mittel zwischen 16 und 28 Min. Die vorherige

Gabe von Sulfaphenol brachte in keinem Fall eine Änderung (Abb. 1c).

Die Serumhalbwertzeit dieses Metaboliten betrug ohne Sulfaphenol im Mittel 19.3 ( $s \pm 4.1$  bzw.  $s_x \pm 2.05$ ) und mit Sulfaphenol 21.5 Min. ( $s \pm 5.1$  bzw.  $s_x \pm 2.5$ ), wobei auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten bestand ( $p = 0.5$ ) (Abb. 2). Bei zwei Versuchspersonen bestimmten wir außerdem die Serumhalbwertzeit für Sulfaphenazol, die 6 bzw. 4 Std betrug.

Abb. 3 gibt das Blutzuckerverhalten bei unseren 4 Versuchspersonen nach 1 g Tolbutamid mit und ohne vorausgegangener Sulfaphenazolverabfolgung wieder. Der durchschnittliche Nüchternblutzucker vor Versuchsbeginn war in beiden Versuchen gleich (87 mg%). Nach gleichzeitiger Gabe von Tolbutamid und Sulfaphenazol zeigte sich ein etwas stärkerer prozentualer Blutzuckerabfall nach 30 Min. als nach Tolbutamid allein (51.2% gegenüber 46.5%). Ebenso war der Blutzuckerwiederanstieg, besonders nach 60 und 90 Min., unter der Medikamentenkombination etwas verzögert. Die Unterschiede waren jedoch auch nach Hinzufügen von 4 weiteren Versuchspersonen nicht signifikant, zeigen jedoch den Trend einer Wirkungsverstärkung von Tolbutamid durch Sulfaphenazol an.

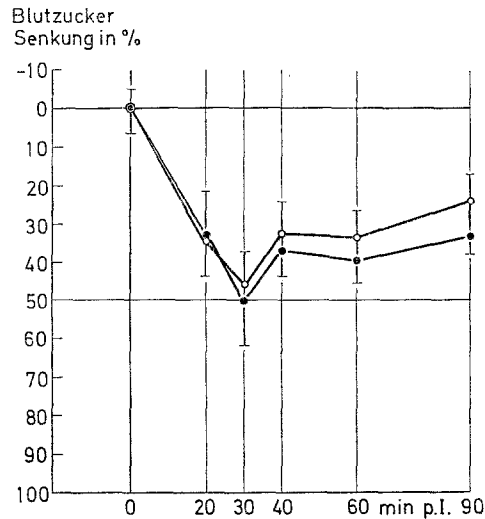


Abb. 3. Blutzucker Verlauf (Mittelwerte und Standardabweichung s) nach Gabe von:  
 ○ = 1 g Tolbutamid (n = 4)  
 ● = 1 g Tolbutamid + 1 g Sulfaphenazol

Die subjektiven Symptome unter dem Blutzuckerabfall und -wiederanstieg entsprachen den bekannten vegetativ-sympathischen Zeichen einer leichten Hypoglykämie (Schulz [9]) und wiesen keine wesentlichen Unterschiede bei beiden Versuchen auf.

Diskussion

Christensen u. Mitarb. konnten bereits nachweisen, daß die unter Sulfaphenazol- und Phenylbutazon-Zusatz *in vitro* beobachtete Verdrängung von Tolbutamid

aus der Proteinbindung keine ausschlaggebende Ursache für die Verstärkung seines hypoglykämisierenden Effekts darstellt, da ein anderes Sulfonamid (Sulfadimethoxin) in noch stärkerem Maße Tolbutamid aus der Proteinbindung drängt, ohne gleichzeitig die Wirkung von Tolbutamid zu verstärken. Sulfadimethoxin verlängert außerdem auch nicht die Serumhalbwertszeit von Tolbutamid (Dubach [2]). Auch verschiedene andere Sulfonamide zeigen weder einen deutlichen Einfluß auf die Serumhalbwertszeit von Tolbutamid noch auf seinen hypoglykämisierenden Effekt.

Die von uns gefundene Verlängerung der Serumhalbwertszeit für Tolbutamid durch Sulfaphenazol um das 7-fache bestätigt die Befunde von Christensen bzw. Dubach. Die Werte der Serumhalbwertszeit schwanken in weiten Grenzen: 31.5 bzw. 70 Std.

Aufgrund unserer Untersuchungen kann festgestellt werden, daß Sulfaphenazol lediglich die Serumhalbwertszeit des nicht metabolisierten Tolbutamid hochsignifikant verlängert, während es die Serumhalbwertszeit des Metaboliten Hydroxytolbutamid und Carboxyltolbutamid nicht beeinflußt. Daraus muß die Schlußfolgerung gezogen werden, daß Sulfaphenazol den ersten Abbauschritt von Tolbutamid, d. h. die Hydroxylierung, hemmt. Welche Enzymmechanismen im einzelnen durch Sulfaphenazol gehemmt werden und ob dies kompetitiv erfolgt, soll durch weitere Untersuchungen an Mikrosomenfraktionen aus Rattenlebern geklärt werden. Es ergibt sich daher als Resultat eine Hemmung der Methylhydroxylierung, des ersten Abbauschrittes von Tolbutamid (Abb. 4).

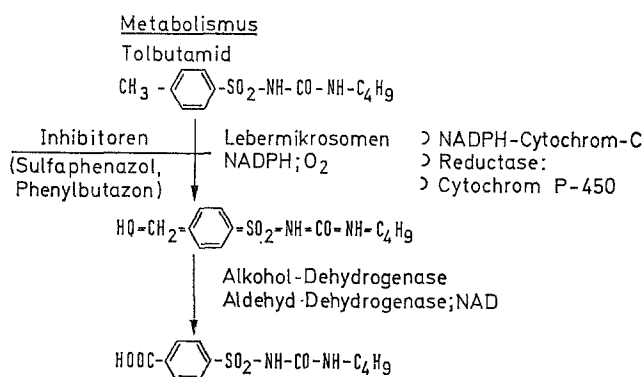


Abb. 4. Schematische Darstellung der Interferenz von Sulfaphenazol und Tolbutamid beim Tolbutamidabbau im menschlichen Organismus

Da die Differenz zwischen der durchschnittlichen Serumhalbwertszeit für Hydroxytolbutamid und der durchschnittlichen Serumhalbwertszeit für Carboxyltolbutamid nur 21.5 Min. beträgt, kann weiterhin festgestellt werden, daß die Carboxylierung von Hydroxytolbutamid sehr rasch, d. h. in wenigen Minuten, abläuft, während die Hydroxylierung wesentlich längere Zeit in Anspruch nimmt.

Der 1. Schritt — die durch Mikrosomenenzyme bewirkte Hydroxylierung — ist der für den Abbau von

Tolbutamid und für die Geschwindigkeit der Elimination bestimmende Prozeß.

Wird die Metabolisierung an dieser Stufe gestört, z. B. durch die Anwesenheit von Sulfaphenazol oder Phenylbutazon, ist eine protrahiert und prolongiert verlaufende Elimination zu erwarten und damit die Gefahr einer insbesondere durch Kumulierung verursachten Hypoglykämie gegeben. Auch wir konnten in Übereinstimmung mit Christensen u. Mitarb. feststellen, daß sich die Serumhalbwertszeit von Tolbutamid unter dem Einfluß von Phenylbutazon verdoppelt: Wurde 2.8 g Phenylbutazon, über drei Tage verteilt, vor dem Test oral verabfolgt, verlängerte sich die Serumhalbwertszeit bei der Vpn I von 5.2 auf 11.7 Std und bei der Vpn III von 5.5 auf 9.7 Std.

Die von Christensen u. Mitarb. und Dubach am Blutzuckerverhalten bei Diabetikern beobachtete Wirkungsverstärkung von Tolbutamid durch Sulfaphenazol zeigt sich in dem Kurztest bei unserer kleinen Anzahl von Stoffwechselgesunden nur in einem Trend zum stärkeren Blutzuckerabfall und zum verzögerten Wiederanstieg nach gleichzeitiger Sulfaphenazolgabe, besonders 60 und 90 Min. p.i. (Abb. 3). Statistisch signifikante Unterschiede wurden in den Blutzuckerdifferenzen mit und ohne Sulfaphenazol nicht festgestellt. Es kann jedoch angenommen werden, daß die Verlängerung der Serumhalbwertszeit von Tolbutamid von 6 auf 45 Std sich am Blutzuckerverhalten nicht so sehr innerhalb der ersten 90 Min., sondern vielmehr erst nach Stunden auswirkt, besonders wenn Sulfaphenazol wiederholt verabfolgt wird.

Als entscheidenden Faktor für die klinisch beobachtete Verstärkung und Verlängerung des hypoglykämisierenden Effektes von Tolbutamid durch Sulfaphenazol möchten wir in Übereinstimmung mit Christensen u. Mitarb. die Verlängerung der Serumhalbwertszeit von Tolbutamid ansehen. Ob allerdings die gleichzeitige Verabfolgung der genannten Medikamente bei Diabetikern zur Ausbildung einer hypoglykämischen Reaktion führt, hängt wahrscheinlich von weiteren exogenen und endogenen hypoglykämiefördernden Faktoren ab (Schulz [9]). In einem an anderer Stelle beschriebenen Fall (Schulz u. Brinkmann [10]) mit einer spontan auf 33 Std verlängerten Serumhalbwertszeit für Tolbutamid genügte bereits eine einmalige orale Dosis von 1½ g Tolbutamid, um eine schwere hypoglykämische Reaktion auszulösen.

Die analytischen Untersuchungen wurden von Frl. M. Wulf und Frau R. Roesch, die statistische Bearbeitung von Herrn H. Strittmatter durchgeführt.

#### Literatur

- Christensen, L.K., Hansen, J.M., Kristensen, M.: Sulphaphenazol-induced hypoglycemic attacks in tolbutamide-treated diabetics. *Lancet* **1963** *II*, 1298—1301.
- Dorfmueller, Th.: Untersuchung des Urins auf Eiweiß bei Verabreichung von D 860, einem neuen peroralen

- Antidiabetikum ohne antibakterielle Wirkung auf coli. *Ärztl. Laborat.* **2**, 264–265 (1956).
3. Dost, F.H.: Grundlagen der Pharmakokinetik. Stuttgart: Thieme 1968.
  4. Dubach, U.C., Bückert, A., Raaflaub, J.: Einfluß von Sulfonamiden auf die blutzuckersenkende Wirkung oraler Antidiabetika. *Schweiz. med. Wschr.* **96**, 1483–1486 (1966).
  5. Louis, L.H., Fajans, St.S., Conn, J.W., Struck, W.A., Wright, J.B., Johnson, J.L.: The structure of a urinary excretion product of 1-butyl-3-p-tolylsulfonyleurea (Orinase). *Amer. chem. Soc.* **78**, 5701 (1956).
  6. Nelson, E., O'Reilly, Inge: Kinetics of carboxytolbutamide excretion following tolbutamide and carboxytolbutamide administration. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **132**, 103–109 (1961).
  7. Schulz, E.: Schwere hypoglykämische Reaktionen nach den Sulfonylharnstoffen Tolbutamid, Carbutamid und Chlorpropamid. *Arch. klin. Med.* **214**, 135–162 (1968).
  8. Schulz, E., Brinkmann, W.: Rezidivierendes hypoglykämisches Koma infolge Abbaustörung von Tolbutamid. *Dtsch. med. Wschr.* **93**, 485–491 (1968).
  9. Spingler, H.: Über eine Möglichkeit zur colorimetrischen Bestimmung von N-C4-Methyl-Benzolsulfonyl-N-Butyl-Harnstoff im Serum. *Klin. Wschr.* **35**, 533–545 (1957).
  10. Wittenhagen, G., Mohnike, G.: Über das Ausscheidungsprodukt von D 860. *Dtsch. med. Wschr.* **81**, 887–888 (1956).

Dr. E. Schulz  
Med.-Univ.-Poliklinik u. Med. Klinik  
D-5 Köln-Merheim  
Ostmerheimerstr. 200