

Université de Montréal

Implication du CYP2D6 dans la pharmacodynamie et la pharmacogénomique de l'oxycodone

par

Andréa Sirhan Daneau

Faculté de pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de maîtrise  
en Sciences Pharmaceutiques option pharmacologie

Septembre 2011

© Andréa Sirhan Daneau, 2011

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Implication du CYP2D6 dans la pharmacodynamie et la pharmacogénomique de l'oxycodone

présenté par

Andréa Sirhan Daneau

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Patrice Hildgen

Président-rapporteur

Jacques Turgeon

Directeur de recherche

Line Labbé

Membre du jury



## **Résumé** **en français**

La variabilité interindividuelle dans la réponse aux médicaments constitue une problématique importante pouvant causer des effets indésirables ou l'échec d'un traitement. Ces variabilités peuvent être causées par une diminution de l'activité de l'enzyme responsable du métabolisme de certains médicaments, fréquemment les cytochromes P450, un système enzymatique majeur dans le métabolisme de ces derniers. Ces enzymes sont sujets à des mutations génétiques appelées polymorphismes, qui altèrent l'activité métabolique. Il est donc important d'évaluer le rôle de ces enzymes dans le métabolisme des médicaments afin d'identifier leur responsabilité dans la variabilité interindividuelle de la réponse au traitement.

Parmi l'important système enzymatique que représentent les cytochromes P450, l'isoenzyme CYP2D6 est particulièrement étudiée, ses variations métaboliques revêtant une haute importance clinique. L'un des substrats du CYP2D6 est l'oxycodone, un analgésique narcotique largement prescrit en clinique. Une grande variabilité est observée dans la réponse analgésique à l'oxycodone, variabilité pouvant être causée par un polymorphisme génétique. Il est connu que des variations génétiques dans le CYP2D6 compromettent la réponse analgésique à la codéine en rendant moins importante la formation de son métabolite actif, la morphine. Par analogie, plusieurs études supportent l'hypothèse selon laquelle le métabolite oxymorphone, formée par l'isoenzyme CYP2D6, serait responsable de l'analgésie de l'oxycodone. Une déficience génétique de l'enzyme compromettrait la réponse analgésique au médicament. Les travaux effectués dans le cadre de ce mémoire ont démontré que l'inhibition du CYP2D6 chez des sujets volontaires réduit de moitié la production d'oxymorphone, confirmant l'importante implication

de l'enzyme dans le métabolisme de l'oxycodone. Ces résultats démontrent une forte ressemblance avec le métabolisme de la codéine, suggérant que l'oxymorphone pourrait être responsable de l'analgésie. Cependant, les travaux effectués n'ont pu établir de relation entre la concentration plasmatique d'oxymorphone et le niveau d'analgésie ressenti par les sujets. La continuation des études sur le mécanisme d'action de l'oxycodone dans la réponse analgésique est essentielle afin d'établir la source des variabilités interindividuelles expérimentées par les patients et ainsi d'éviter des effets secondaires ou lacunes dans le traitement.

Mots clés : cytochromes P450, CYP2D6, oxycodone, oxymorphone, variabilité interindividuelle, polymorphisme

**Résumé**  
**en anglais**

Intersubject variability in drug response is an important issue provoking side effects or treatment failure. Such variability may be caused by the decreased activity of the enzyme metabolising the drug, frequently cytochromes P450, a major enzyme system in drug metabolism. These enzymes are prone to genetic mutations called polymorphisms, which alter their metabolic activity. It is therefore important to assess the role of these enzymes to identify their responsibility in the intersubject variability of the drug.

Among the important enzyme system that represents the cytochrome P450, CYP2D6 is particularly studied for its genetic polymorphisms, which are of clinical importance. One of CYP2D6 substrates is oxycodone, a narcotic analgesic widely prescribed in clinical practice. A large variability is observed in the analgesic response to oxycodone, which could be caused by genetic polymorphism. It is known that these variations affect the analgesic response to codeine, which form the active metabolite morphine by CYP2D6 to be effective. Several studies support the hypothesis that oxymorphone, a metabolite formed by CYP2D6, has the analgesia properties, in a similar mechanism to codeine. A genetic deficiency in the enzyme would compromise the analgesic response to the drug. Results obtained from our laboratory indicate that inhibition of CYP2D6 halved oxymorphone production, confirming the significant involvement of the enzyme in the metabolism of oxycodone. These results demonstrate a strong resemblance to codeine metabolism, suggesting that oxymorphone may be responsible for analgesia. We could not find a relationship between plasma concentration of oxymorphone and analgesia level experienced by subjects.

Studies on oxycodone mechanism of action in the analgesic response should continue to establish the source of intersubject variability experienced by patients and thus avoid side effects or gaps in treatment.

Key words: cytochromes P450, CYP2D6, oxycodone, oxymorphone, interindividual variability, polymorphism

## Table des matières

<b>Résumé en français .....</b>	<b>i</b>
<b>Résumé en anglais .....</b>	<b>iii</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>viii</b>
<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>ix</b>
<b>Remerciements .....</b>	<b>xi</b>
<b>Chapitre I. Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Cytochromes P450 .....</b>	<b>2</b>
1.1 Définition .....	2
1.2 Historique.....	2
1.3 Propriétés biochimiques .....	6
1.4 Fonctions .....	7
1.4.1 Composés endogènes .....	7
1.4.2 Composés exogènes .....	7
1.5 Cycle catalytique .....	8
1.5.1 Étapes du cycle .....	8
1.6 Superfamille P450 .....	9
1.6.1 CYP1A2.....	9
1.6.2 CYP2A6.....	10
1.6.3 CYP2B6 .....	10
1.6.4 CYP2C8 .....	11
1.6.5 CYP2C9 .....	12
1.6.6 CYP2C19 .....	14
1.6.7 CYP3A4/5.....	15
<b>2. Le cytochrome CYP2D6.....</b>	<b>16</b>
2.1 Historique.....	17
2.2 Polymorphismes .....	18
2.3 Substrat marqueur .....	18
2.4 Types de métaboliseurs .....	19
2.4.1 Métaboliseur lent .....	19
2.4.2 Métaboliseur intermédiaire .....	19
2.4.3 Métaboliseur ultra-rapide.....	20
<b>3. Les opioïdes .....</b>	<b>21</b>
3.1 La codéine .....	21
3.2 L'oxycodone .....	23
<b>Chapitre II. Hypothèse et objectifs.....</b>	<b>56</b>
<b>1. Hypothèse .....</b>	<b>56</b>
<b>2. Objectifs de l'étude.....</b>	<b>56</b>
Abstract.....	59
Introduction.....	60
Methods .....	62
Reagent.....	62
Subjects .....	62
Determination of phenotype.....	63
Determination of genotype.....	64



Study design.....	64
Plasma concentrations of oxycodone and its metabolites.....	65
Urine concentrations of oxycodone and its metabolites.....	66
Pharmacokinetic analysis.....	66
Pharmacodynamic analysis.....	67
Statistical analysis.....	67
Results.....	68
Genotype/Phenotype.....	68
Pharmacokinetic analysis.....	68
Pharmacodynamics measurements.....	69
Discussion.....	71
Conclusion.....	74
<u>Reference list</u> .....	75
Table 1: CYP2D6 genotype and phenotype profile of healthy volunteers recruited.....	81
Table 2. Pharmacokinetic of subjects.....	82
Table 3 Pharmacodynamics measurements of pain threshold (heat) in 10 out of 12 subjects recruited in this study following the administration of oxycodone (15 mg) with placebo or quinidine. 83	
Figure 1B. Mean plasma concentrations of oxymorphone.....	85
Figure 1C. Mean plasma concentrations of noroxycodone.....	86
Figure 2.....	87
Figure 3A. PK-PD relation of oxycodone.....	88
Figure 3B. PK-PD relation of oxymorphone.....	89
Figure 3C. PK-PD relation of noroxycodone.....	90
<b>Chapitre III. Conclusion générale.....</b>	<b>92</b>

## **Liste des tableaux**

Tableau 1: CYP2D6 genotype and phenotype profile of healthy volunteers recruited .....	81
Tableau 2: Pharmacokinetic of subjects following the administration of oxycodone (15 mg) with placebo or quinidine.....	82
Tableau 3: Pharmacodynamic measurements of pain threshold (heat) in 10 out of 12 subjects recruited in this study following the administration of oxycodone (15 mg) with placebo or quinidine.....	83
Tableau 4: Pharmacodynamic measurements of cold detection in 8 out of 12 subjects recruited in this study following the administration of oxycodone (15 mg) with placebo or quinidine .....	91

## **Liste des figures**

Figure 1A: Mean plasma concentrations of oxycodone following co-administration of oxycodone and placebo/quinidine .....	84
Figure 1B: Mean plasma concentrations of oxycodone following co-administration of oxycodone and placebo/quinidine .....	85
Figure 1C: Mean plasma concentrations of noroxycodone following co-administration of oxycodone and placebo/quinidine.....	86
Figure 2: AUCs of pain treshold following co-administration of oxycodone and placebo/quinidine .....	87
Figure 3A: Pharmacokinetic and pharmacodynamic oxycodone AUCs of volunteers with and without co-treatment with quinidine .....	88
Figure 3B. Pharmacokinetic and pharmacodynamic oxymorphone AUCs of volunteers with and without co-treatment with quinidine .....	89
Figure 3C. Pharmacokinetic and pharmacodynamic noroxycodone AUCs of volunteers with and without co-treatment with quinidine .....	90

## **Liste des abréviations**

D<sub>max</sub> : écart maximal

A<sub>e</sub> : quantité

AUC : aire sous la courbe

CL : clairance

CL/F :

CL<sub>met</sub> : clairance métabolique

CL<sub>R</sub> : clairance rénale

C<sub>max</sub> : concentration maximale

CYP : cytochromes

DM : dextrométhorphan

DX : dextrophan

EDTA : acide éthylène diamine tétracétique

FAD : flavine-adénine

FMN : riboflavine-5-phosphate

HPA : hydrocarbures polycycliques aromatiques

HPLC-HESI-MS-MS: chromatographie liquide à haute performance couplée à un spectromètre de masse en mode d'ionisation d'électrons par vapeur chauffée.

IPP : inhibiteurs de la pompe à protons

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide déshydrogénase

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate déshydrogénase

WT : wild type



## **Remerciements**

Je désire tout d'abord remercier mon directeur de recherche, le Dr Jacques Turgeon. Merci pour le temps que vous m'avez consacré, pour vos encouragements et pour m'avoir aidé à forger un esprit scientifique.

Je tiens également à remercier mes collègues de laboratoire qui m'ont beaucoup aidé dans mon cheminement: Martin Zakrzewski, Philippe Colucci, François Bélanger et Fleur Gaudette.

Je remercie spécialement Véronique Michaud qui m'a généreusement aidé durant ces années d'apprentissage.

Un grand merci à Jade Huguet pour son soutien moral.

Merci également à Raphaëlle et Alexandra, pour le coup de main informatique, et à mes parents, pour leur soutien.

Finalement, je remercie Etienne, pour ses nombreux encouragements.

## **Chapitre I. Introduction**

### **Introduction**

Le corps humain est constamment exposé à des composés chimiques, que ce soit par la nourriture qu'il ingère, l'air qu'il respire ou les médicaments et produits naturels qu'il absorbe. Certains de ces composés peuvent s'avérer dangereux pour l'organisme, voire potentiellement mortels. En réponse à ces agressions extérieures, le corps humain a développé plusieurs systèmes de protection lui permettant de neutraliser les molécules toxiques qui pourraient l'endommager. Le foie est l'organe le plus important pour la cessation de l'activité biologique des xénobiotiques, même si d'autres organes comme l'intestin, le rein, le cerveau, les poumons et la peau y contribuent souvent de façon moindre.

Lorsqu'un médicament est pris par voie orale, il est absorbé au travers le tractus gastro-intestinal et transporté via le système porte au foie où il subit un métabolisme exhaustif, appelé premier passage hépatique, avant d'atteindre la circulation systémique.<sup>1</sup> D'autres voies d'administration permettent d'éviter ce premier passage, permettant ainsi aux médicaments d'atteindre directement la circulation sanguine à partir de laquelle ils seront distribués aux différents organes. Ils atteindront éventuellement le rein et le foie où ils seront éliminés. Le processus d'élimination des xénobiotiques dépend de leurs différentes propriétés, par exemple la taille et la nature de leur composition. Certaines molécules de petites tailles ainsi que les molécules polaires sont excrétées dans l'urine par le rein. Par contre, certaines molécules trop lipophiles seront réabsorbées à partir du filtrat glomérulaire dans le néphron. Sans un procédé de détoxification efficace, ces molécules verraient leur durée d'action prolongée et pourraient être nocives à l'organisme. C'est ainsi que le métabolisme par les cytochromes P450 entre en jeu.

# **1. Cytochromes P450**

## **1.1 Définition**

Ce système enzymatique intervient dans plusieurs processus clés: la biotransformation des xénobiotiques, le métabolisme des carcinogènes et la biosynthèse de plusieurs produits endogènes tels que les stéroïdes, les acides gras, les eicosanoïdes, les vitamines liposolubles (dont la vitamine D) et les acides biliaries. Le CYP450 est composé de plusieurs enzymes regroupées en familles et sous-familles selon leur homologie en acides aminés: les membres d'une même familles partagent 40% de similarité en acides aminés et les membres d'une sous-famille en partagent 55%.<sup>2</sup> Selon la nomenclature basée sur leur évolution, CYP désigne les enzymes et les gènes codant pour ces mêmes enzymes, le chiffre arabe suivant indique la famille, la lettre majuscule qui suit mentionne la sous-famille et un dernier chiffre fait allusion au gène spécifique.<sup>3</sup> À ce jour, le génome humain compte 57 gènes et 58 pseudogènes connus, lesquels se divisent en 18 familles et 42 sous-familles.<sup>4</sup> Ceux-ci sont exprimés dans la plupart des tissus mais se retrouvent majoritairement dans le foie, l'intestin, le cerveau et les glandes surrénales. Les CYP450 ne sont pas exclusifs à l'homme car on en retrouve dans la pluparts des organismes vivants, dont les archaebactéries, les eubactéries, les plantes, les animaux et les autres mammifères.<sup>5</sup> La comparaison des séquences entre l'homme et les bactéries démontre de grandes similitudes entre leurs CYP450s, suggérant que la superfamille provient d'un gène ancestral commun datant de quelques 3 milliards d'années.<sup>6</sup>

## **1.2 Historique**

Les observations ayant conduit à la découverte des CYP450s débutent dans les années 40. À ce moment, Jim et Elizabeth Miller démontrent que les enzymes essentiels au métabolisme des xénobiotiques sont situés dans la "fraction particulière" des cellules du foie.<sup>7</sup> Avec l'aide de



Mueller et al., ils découvrent que la N-déméthylation de l'agent cancérigène, le N-diméthylaminoazobenzène, a besoin de microsomes de foie, de NADP, de fraction soluble et d'un substrat pour générer du NADPH.<sup>8,9</sup> Au même moment, dans le laboratoire dirigé par Bernard B. Brodie au National Institutes of Health (NIH), Julius Axelrod s'affairait à développer une méthode *in vitro* afin de mesurer le métabolisme de drogues psychoactives telles que les amphétamines et l'éphédrine. Il démontra ainsi que le métabolisme par des microsomes de foie de lapin nécessitait du nucléotide triphosphopyridine sous forme réduit (TPNH), ainsi que de l'oxygène, ce qui lui permis de se mériter le prix Nobel en 1970.<sup>10</sup> Brodie et ses collègues découvrirent par la suite plusieurs réactions catalysées par les enzymes microsomales du foie en présence d'un système de génération de NADPH, ce qui conduisit à la publication d'un document sur les enzymes microsomales oxydatives qui plus tard seraient reconnus comme les CYP450s.<sup>11</sup>

Dans les années 50, plusieurs laboratoires de recherche travaillaient à comprendre la fonction des hormones stéroïdiennes pour le corps humain, ce qui s'avéra d'une importance capitale quant à la découverte des CYP450s.<sup>12</sup> En 1958, Ryan et Engel publièrent leurs expériences sur l'hydroxylation C-21 de la progestérone, où ils démontrèrent que cette réaction impliquait le TPNH, l'oxygène atmosphérique et la fraction microsomale de cortex adrénal bovin<sup>13</sup>. Sous ces conditions, la progestérone, la 11b-hydroxyprogestérone, la 17a-hydroxyprogestérone et les 11,17-dihydroxyprogestérone étaient convertis en leurs dérivés C-21 hydroxylés. Malheureusement pour eux, ils ne furent pas en mesure d'établir les CYP450s comme élément-clé de la réaction puisque ceux-ci n'avaient pas encore été observés.<sup>13</sup>

Un autre champ d'étude, la respiration cellulaire et le métabolisme de l'oxygène, a joué un rôle important dans l'évolution des connaissances du CYP450. Particulièrement, Hayashi et ses

collaborateurs utilisèrent le spectromètre de masse avec l'isotope lourd de l'oxygène,  $^{18}\text{O}_2$ , découvrant ainsi que l'oxygène atmosphérique était incorporé dans un substrat organique durant le processus de métabolisme, catalysé par des métalloprotéines<sup>14</sup>. Ce nouveau groupe d'enzymes catalysant la fixation de l'oxygène fut ensuite nommé « oxygénases ». Plusieurs autres années de recherche révélèrent que les CYP450s catalysent la plupart de ces réactions.<sup>14</sup> L'invention d'une nouvelle classe de spectrophotomètre à double longueur d'onde par Chance rendit possible l'étude des pigments respiratoires de particules cellulaires comme les mitochondries et les microsomes, ainsi que les molécules telles que l'hémoglobine, la myoglobine et les enzymes hèmes.<sup>15</sup> Ce spectrophotomètre, sensible et précis dans la lecture des réactions d'oxydoréduction et d'autres composants membranaires, a permis d'abolir l'ajout de détergents jusqu'alors utilisés pour clarifier les échantillons avant la lecture.<sup>16</sup> Cette avancée fut cruciale à l'identification de CYP450s dans les microsomes de foie et du cortex surrénalien.

Chance et son collègue Williams concentrèrent alors leurs recherches sur les réactions complexes de phosphorylation oxydative comme celles catalysées par le foie et les mitochondries du cœur. Ils préparèrent des mitochondries de foie de rat sur une base régulière, isolant ainsi une grande quantité de surnageant contenant des petites particules de réticulum endoplasmique (la fraction microsomale). Grâce au nouveau type de spectrophotomètre, ils identifièrent l'hémoprotéine maintenant connue sous le nom de cytochrome b5. Ils observèrent également un déséquilibre des électrons lorsque la réduction des microsomes cytochrome b5 étaient mesurés au spectrophotomètre par titration au NADH. C'est à ce moment, lorsque du monoxyde de carbone fut gazé dans la cuvette du spectrophotomètre contenant des microsomes de foie en présence d'un agent réducteur (NADH ou sodium dithionite), que les CYP450s furent observés pour la toute première fois.<sup>17,18</sup>

L'arrivée de Martin Klingenberg au Johnson Research Foundation de l'University of Pennsylvania School of Medicine marqua l'histoire de la découverte des CYP450s. Il reprit les travaux de Chance et Williams afin de déterminer la stœchiométrie des électrons réduits des microsomes hépatiques b5, par lesquels il prit connaissance d'un pigment lié au monoxyde de carbone possédant une bande d'absorbance grande et large avec un maximum à environ 450 nm. Le nom « P450 » fut donné à ce pigment bien différent des autres hémoprotéines connues à ce jour.<sup>19</sup> Au moment de la découverte, toutes les hémoprotéines réduites qui liaient le CO démontraient un déplacement hypsochrome (décalage vers le bleu) lors de la fixation du CO. Cependant, le pigment P450 démontrait un effet inverse, soit bathochrome (décalage vers le rouge) lors de la liaison. Le pigment possédait également des bandes d'absorbance très faibles dans la région visible du spectre, ce qui ne ressemblait pas aux hémoprotéines connues à l'époque.<sup>20</sup>

Omura et Sato furent les premiers à isoler le CYP450 des microsomes de foie, prouvant définitivement l'existence de l'hémoprotéine. Suite à leurs études sur l'interaction des composants de transport d'électrons de la flavoprotéine, NADPH-CYP450 réductase, et du CYP450, ils établirent que le CYP450 était un nouveau cytochrome aux propriétés inhabituelles.<sup>21,22</sup>

La fonction du CYP450 fut précisée par Estabrook, Cooper et Rosenthal en 1963.<sup>23</sup> Ensemble, ils étudièrent l'hydroxylation C-21 de la 17-hydroxyprogestérone catalysée par les microsomes du cortex surrénalien, qui avait démontré être inhibée par le monoxyde de carbone.<sup>13</sup> Ils démontrèrent ainsi l'implication du CYP450 dans la réaction d'hydroxylation.<sup>24</sup>

### 1.3 Propriétés biochimiques

La super famille des CYP450 est, par définition, un large groupe d'enzymes différentes. Ce sont des hémoprotéines dont la structure consiste en deux parties : une apoprotéine, ne possédant pas d'activité catalytique, et un groupement hème, lié de façon non-covalente à la chaîne polypeptidique, servant de partie prosthétique. Ce groupement prosthétique hème est commun à tous les isoenzymes du CYP450 et à certaines autres hémoprotéines telle que l'hémoglobine, la myoglobine, les catalases et la plupart des peroxydases, qui utilisent toutes l'oxygène comme substrat<sup>25</sup>. C'est d'ailleurs pourquoi le groupement hème est au centre de plusieurs fonctions biologiques, comme la liaison de l'oxygène par l'hémoglobine et la myoglobine. Quant à elle, la partie protéique de l'enzyme varie d'une isoenzyme à l'autre et explique ainsi la différence dans leurs propriétés, leur affinité pour différents substrats.

Le CYP450 contient un acide aminé cystéine situé en carboxyl-terminal qui fournit un atome de soufre au fer : cette forte liaison altère la densité d'électrons, ce qui favorise un champ électrique optimal à l'activation de l'oxygène. L'activité catalytique du CYP450 repose également sur le ligand folate, un résidu essentiel de la cystéine. Des études ont démontré que la formation du CYP420, un cytochrome inactif induit par la dénaturation de la protéine, impliquait un déplacement du ligand thiolate.<sup>25</sup> La queue N-terminale de la protéine est composée d'acides aminés hydrophobes et agit à titre de domaine spécifique pour la liaison à la membrane.<sup>26</sup>

Les CYP450s sont des protéines membranaires ancrées dans la bicouche membranaire par un ou deux segments N-terminal. Le reste de la protéine à l'extrémité C-terminale est exposé au cytosol, d'où son domaine catalytique est accessible. Les enzymes se retrouvent en grande concentration dans le réticulum endoplasmique et ils sont exprimés majoritairement dans le foie mais se retrouvent également dans la paroi du petit intestin.<sup>27</sup> On observe une activité plus faible

dans les poumons, et encore plus faible dans le cerveau et la peau.<sup>28</sup> Certains CYP450s servant au métabolisme des stéroïdes se retrouvent dans la mitochondrie.<sup>27,29</sup>

## **1.4 Fonctions**

Les CYP450s sont essentiels à la survie de l'homme. Ils sont responsables du métabolisme des composés exogènes mais également de la synthèse des composés endogènes. Bien qu'en règle générale le métabolisme résulte en un processus de détoxification d'un composé potentiellement toxiques, il arrive que les CYP450s génèrent ainsi des métabolites toxiques pouvant augmenter les risques d'incidence de cancer, de tératogénicité et de mutations.<sup>30</sup>

### **1.4.1 Composés endogènes**

Les CYP450s sont responsables de la biosynthèse de molécules contrôlant le développement et l'homéostasie. Ils agissent sur plusieurs substrats endogènes, participant à des réactions oxydatives, peroxydatives et réductives. Ces substrats incluent les acides gras saturés et insaturés, les eicosanoïdes, les stérols et les hormones stéroïdiennes, les acides biliaires, les dérivés vitamine D3 et les rétinoïdes. Ces enzymes sont d'ailleurs essentielles à la production du cholestérol, des prostacyclines et de la thromboxane A<sub>2</sub>.<sup>4</sup>

### **1.4.2 Composés exogènes**

Le métabolisme des xénobiotiques est un mécanisme de protection du corps humain qui peut ainsi dégrader les composés chimiques potentiellement toxiques ou les solubiliser pour plus tard les excréter.<sup>31</sup> Règle générale, les composés lipophiles sont biotransformés en métabolites plus hydrosolubles, permettant alors leur excrétion. La plupart des enzymes responsables de la détoxification des médicaments sont exprimées dans le foie, organe le plus important dans le processus du métabolisme. Il existe deux phases distinctes au métabolisme. Les transformations

de phase I agissent en créant ou modifiant un groupement fonctionnel/réactif, comme les réactions d'oxydation (les CYP450s), de réduction et d'hydrolyse/hydratation (au niveau des organes mais aussi du plasma). Les transformations de phase II, dites de conjugaison, impliquent une grande variété de fragments qui sont transférés sur le substrat afin de le rendre plus hydrosoluble et ainsi faciliter son élimination par les voies rénales et biliaires. Elles comprennent les réactions de conjugaison, d'acétylation, de sulfonation, de méthylation et le glutathion.<sup>32</sup>

## 1.5 Cycle catalytique

Le mécanisme d'action par lequel les CYP450s procèdent au métabolisme de phase I est une cascade complexe d'étapes d'oxydo-réduction. Depuis les premières publications du cycle il y a 30 ans, des versions de plus en plus détaillées voient le jour.<sup>33</sup> La version actuelle contient sept étapes.<sup>34</sup>

### 1.5.1 Étapes du cycle

Au début du cycle, le CYP450 se trouve à l'état ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ). La première étape consiste en *i*) la liaison du substrat à la molécule de fer, qui induit un glissement de l'hémoprotéine. Ce changement de conformation permet *ii*) la réduction du complexe CYP450-substrat par la flavoprotéine NADPH-CYP450 réductase et pour former l'état ferrique du complexe ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Le NADPH, une hémoprotéine réductase (réductase NADPH-cytochrome c), est une flavoprotéine qui agit directement dans le réticulum endoplasmique en donnant un électron à différents systèmes d'oxygénases. La flavoprotéine contient du FAD (flavine-adénine) qui lorsque réduit en FMN (riboflavine-5-phosphate) libère l'électron du NADPH.<sup>34</sup> L'étape suivante voit *iii*) l'oxygène se lier au CYP450 ferreux pour former un complexe stable ( $\text{FeO}_2^{2+}$ ). Ce complexe ferrique-superoxyde subit un réarrangement par résonance en raison de la forte électronégativité

qu'il dégage<sup>35</sup>. À cette étape, le second électron doit être fourni rapidement autrement le complexe se dissocie et libère un radical superoxide. Le complexe reçoit donc *iv*) un second électron, provenant de la NADPH ou de la NADH. Si l'électron transféré provient de la NADPH, la réaction est de nouveau médiée par la NADPH-CYP450 réductase. Si l'électron provient de la NADH, c'est qu'il sert d'abord à réduire l'autre flavoprotéine, NADH-cytochrome b5 réductase (NADH-ferricyto-chrome b5 oxydoréductase) avant d'être transféré au cytochrome b5, qui à son tour réduit le CYP450.<sup>32</sup> Les étapes suivantes impliquent *v*) l'ajout d'un proton par acylation du lien Fe-péroxyde et *vi*) le clivage irréversible de la liaison peroxide O-O (FeO-OH). Cette scission libère une molécule d'eau et génère un composé réactif (FeO<sup>3+</sup>) qui attaque la liaison carbone-hydrogène du substrat. La dernière étape du cycle consiste en *vii*) l'oxydation du substrat et la dissociation du produit à l'enzyme.<sup>31</sup>

## **1.6 Superfamille P450**

Il existe plus de 50 différents enzymes CYP450, mais les CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 et CYP3A5 métabolisent plus de 90% des médicaments.<sup>35</sup>

### **1.6.1 CYP1A2**

Cette isoenzyme compte pour 13 à 15% des cytochromes du foie humain.<sup>36</sup> Les substrats les plus sélectifs pour CYP1A2 et fréquemment utilisés comme marqueurs sont la phénacétine, la caféine et la théophylline.<sup>37</sup> Elle est impliqué dans le métabolisme de nombreux substrats endogènes, par exemple la mélatonine, la bilirubine, l'estrone, l'estradiol et l'acide arachidonique.<sup>38</sup> Il joue également un rôle dans la bioactivation d'une variété de composés toxiques comme les HPA (Hydrocarbures Polycycliques Aromatiques) et les amines/amides aromatiques hétérocycliques

qui sont convertis en carcinogènes via le CYP1A2 et de façon plus mineure par le CYP1A1 et CYP1B1.<sup>39</sup>

Tant des facteurs génétiques qu'environnementaux ont été suggérés afin d'expliquer la variabilité observée dans la clairance des médicaments métabolisés par le CYP1A2.<sup>40</sup> Par exemple, il fut démontré que les contraceptifs oraux inhibent le métabolisme de cette isoenzyme. Le tabagisme quand à lui est un inducteur connu de l'activité du CYP1A2, résultant en l'augmentation de la clairance métabolique des substrats de l'enzyme.<sup>41</sup> Fumer la cigarette pourrait être extrêmement dommageable pour la santé considérant qu'une augmentation dans la formation de carcinogènes est causée par le CYP1A2. Des études se concentrent présentement sur les produits naturels comme les flavonoïdes qui ont démontré un effet de prévention sur la formation de carcinogènes. Cet effet serait produit par l'inhibition des CYP1A2 et CYP1A1.<sup>42,43</sup>

Cependant, 35 à 75% des variabilités interindividuelles de l'isoenzyme seraient dus à des facteurs génétiques encore peu connus.<sup>44</sup>

### **1.6.2 CYP2A6**

L'isoenzyme CYP2A6 est exprimé surtout dans le foie. Il est important dans le métabolisme de quelques toxines et procarcinogènes, en plus de métaboliser 80% de la nicotine par C-oxydation.<sup>45</sup> Des études suggèrent qu'une activité métabolique accrue du CYP2A6 augmenterait l'incidence de cancer du poumon induit par le tabac ainsi qu'une dépendance à la nicotine.<sup>46</sup>

### **1.6.3 CYP2B6**

Le CYP2B6 est impliqué dans le métabolisme des anti-cancéreux<sup>47</sup> et des antiviraux, notamment les anti-HIV.<sup>48</sup> Cette isoenzyme est hautement polymorphique mais les conséquences



métaboliques des différents phénotypes sont peu connues. Des études suggèrent une faible expression ainsi qu'une activité réduite pour *CYP2B6\*6*<sup>49,50</sup>, *CYP2B6\*16* et *CYP2B6\*18*. *CYP2B6\*16* et *CYP2B6\*18* se retrouvent à une fréquence de 7 à 9% chez les gens de race noire<sup>51</sup> tandis que le *CYP2B6\*6* se retrouve plus largement dans toutes les populations (20-30%).<sup>52</sup> Le CYP2B6 est également impliqué dans le métabolisme de la méthadone, un opioïde efficace dans le traitement de la douleur aiguë à chronique également utilisé comme substitut dans le traitement de la dépendance aux opioïdes.<sup>53</sup> Des études post-mortem ont été conduites suite à plusieurs cas d'empoisonnement fatal à la méthadone, rapportant une association entre le *CYP2B6\*6* et des concentrations plasmatiques plus élevées du médicament. Cette étude suggère que le risque de décès reliés à la méthadone peut être évalué en partie par le dépistage de *CYP2B6\*6*.<sup>54</sup>

#### **1.6.4 CYP2C8**

Cette isoenzyme est la plus abondante de la famille 2C exprimé dans le foie et représente 7% des CYP450 hépatiques.<sup>55,56</sup> Il se retrouve également dans le coeur,<sup>57</sup> les reins, le cerveau, l'utérus, les glandes mammaires, les ovaires et le duodénum.<sup>58</sup> Il est impliqué dans le métabolisme de médicaments dans le traitement du diabète, de la malaria, de cancer et de l'arythmie.<sup>56</sup> Il est également impliqué dans l'oxydation de l'acide arachidonique en dérivés vasoactifs.<sup>59</sup> Sa structure ressemble beaucoup à celle du CYP2C9 dont il partage 74% d'homologie de séquence.<sup>60</sup> L'implication du CYP2C8 dans les interactions médicamenteuses s'est fait connaître lorsqu'un de ses substrats, le cerivastatin, a été retiré du marché en 2001 suite à une incidence de rhabdomyolyses fatales plus élevée que pour les autres statines.<sup>61</sup> Une interaction avec le gemfibrozil, un médicament utilisé dans le traitement de l'hypertriglycémie et un substrat de CYP2C8, aurait augmenté dramatiquement les concentrations plasmatiques de cerivastatin et causé la rhabdomyolise.<sup>62</sup>

Les principaux SNP (Single Nucleotide Polymorphism) identifiés sont *CYP2C8\*2*, *\*3* et *\*4*. Le *CYP2C8\*2* se retrouve surtout chez les gens de race noire tandis que le *CYP2C8\*3* se retrouve particulièrement chez les caucasiens.<sup>63,64</sup> Tous les deux ont été associés à une diminution de l'activité métabolique pour le paclitaxel (un anti-cancéreux) et l'acide arachidonique in vitro.<sup>65,66</sup> Également, le *CYP2C8\*3* est associé à une diminution de l'activité métabolique pour la rosiglitazone<sup>67</sup>, la pioglitazone<sup>68</sup> et le repaglinide.<sup>69,70</sup> Une association avec les autres substrats de l'isoenzyme n'a pas pu être établie.<sup>65</sup>

### 1.6.5 CYP2C9

Le CYP2C9 est l'un des isoenzymes les plus importants dans le métabolisme des médicaments et représente environ 20% des CYP450 hépatiques.<sup>55,71</sup> Ses substrats incluent des anticoagulants, des antidiabétiques, des antagonistes des récepteurs d'angiotensine II et des AINS (Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens).<sup>72</sup> Il est fortement exprimé dans le foie.<sup>55</sup> Shimada et al. suggèrent que des membres de la famille 2C se retrouvent en petites quantités dans les poumons mais aucune isoenzyme en particulier n'a été identifiée.<sup>73</sup> La variabilité de cette isoenzyme est attribuée principalement à deux polymorphismes, soit *CYP2C9\*2* et *CYP2C9\*3*.<sup>74</sup> Chez les caucasiens, le tiers possède l'un des deux allèles altérés (génotype *\*1 / \*2* ou *\*1 / \*3*) et moins de 2.5% possèdent les deux (*\*2 / \*2*, *\*2 / \*3* et *\*3 / \*3*). Ces variants alléliques consistent en un changement d'une seule paire de base du génome entraînant la substitution d'un acide aminé.<sup>75</sup> Environ les deux tiers des caucasiens expriment le génotype sauvage pour cette isoenzyme (*\*1/\*1*). Chez les afro-américains et les asiatiques ces polymorphismes sont moins fréquents, avec 95% de la population exprimant le génotype sauvage.<sup>76</sup> Les études *in vitro* et *in vivo* s'entendent pour dire que ces variants alléliques ont pour conséquence une réduction significative du métabolisme des substrats du CYP2C9 comparativement aux homozygotes sauvages.<sup>77,78</sup> Les

hétérozygotes pour \*2 ou \*3 ont également démontré une activité métabolique réduite.<sup>79,80</sup>

L'implication clinique de ces polymorphismes est devenue d'intérêt lorsque des cas d'individus démontrant un phénotype de métaboliseurs lents pour les substrats du CYP2C9 ont été rapportés.<sup>81</sup> Certains des médicaments substrats du CYP2C9 ont un index thérapeutique étroit, entraînant ainsi une variation dans la réponse du patient. En conséquence, certains patients expérimentent des doses sous-thérapeutiques tandis que d'autres subissent des effets toxiques.<sup>71</sup>

L'un de ces médicaments, la warfarine, est un anticoagulant administré par voie orale qui est largement utilisé en clinique.<sup>75</sup> Le CYP2C9 est l'enzyme principal dans la conversion de la S-warfarine en métabolites inactifs, le 6-hydroxywarfarine et le 7-hydroxywarfarine.<sup>82</sup> Il a été démontré que les variants alléliques sont déficients dans l'hydroxylation de la S-warfarine *in vitro*<sup>83</sup>: le *CYP2C9\*2* est efficace à 12% comparé au génotype sauvage et le *CYP2C9\*3* possède moins de 5% d'efficacité, résultant en un métabolisme extrêmement lent.<sup>84</sup> Des études *in vivo* ont également montré que les patients nécessitant une faible dose de warfarine sont six fois plus susceptibles d'exprimer les mutations associées à une déficience métabolique.<sup>75</sup> Il est beaucoup plus difficile d'établir la dose optimale d'anticoagulant chez ces individus, ce qui augmente le risque de complications comme des saignements, comparativement aux individus avec des allèles sauvages.<sup>85</sup>

Un autre substrat important du CYP2C9 est le losartan, un bloqueur des récepteurs à l'angiotensine II. Ce médicament nécessite une conversion en son dérivé acide carboxylique, E3174, pour être pharmacologiquement actif.<sup>86</sup> E3174 possède des propriétés hypertensives plus puissantes que le losartan, en plus d'avoir une plus longue demi-vie.<sup>87</sup> Bien que l'implication des polymorphismes génétiques du CYP2C9 ne soit pas bien connus dans le cas de l'administration de losartan, le cas d'un patient identifié *CYP2C9\*3\*3* rapporte une conversion de moins de 1%

en E3174, compromettant ainsi le traitement anti-hypertensif.<sup>88</sup> Les hétérozygotes \*2 et \*3 ne semblent pas affectés la pharmacocinétique du losartan comparativement au génotype sauvage.

### 1.6.6 CYP2C19

Le CYP2C19 est impliqué dans le métabolisme des anti-dépresseurs<sup>89</sup> et des inhibiteurs de pompes à protons (IPP).<sup>90</sup> Une grande variation inter-ethnique est observée dans la fréquence des profils génotypiques et phénotypiques du CYP2C19. Par exemple, Küpfer et Preisig rapportent que parmi un échantillon de 221 sujets caucasiens, 2-5% expriment le phénoype ML (Métaboliseur Lent),<sup>91</sup> tandis que la fréquence augmente à 18-23% dans les populations asiatiques.<sup>92</sup>

La capacité à métaboliser le S-méphénytoïne, le substrat marqueur le plus spécifique pour l'isoenzyme, différencie de façon efficace les sujets ML et MR/MI (Métaboliseur Rapide/Métaboliseur Intermédiaire).<sup>93</sup> Goldstein et de Morais ont identifiés les deux allèles nulles majoritairement responsables de la variabilité de CYP2C19, soit *CYP2C19*\*2 et \*3.<sup>94</sup> Avec la contribution mineure d'autres variants (\*4, \*5, \*6, \*7 et \*8), ils expliquent 99.74% des ML.<sup>94</sup>

Les IPP sont utilisés dans le traitement de l'infection au *Helicobactère Pylori* et du reflux gastro-oesophagien. Les principaux utilisés sont l'omeprazole, le lansoprazole et le pantoprazole, tous métabolisés à 80% par le CYP2C19. Chez les sujets ML, les concentrations plasmatiques de ces médicaments sont cinq fois plus élevées que chez les sujets MUR (Métaboliseur Ultra-Rapide) et la clairance est diminuée.<sup>95,96</sup> Des études ont également démontré qu'une déficience métabolique du CYP2C19 augmentait l'efficacité du traitement pour *H. pylori*: le taux de guérison est de 93.8% chez les ML, 91.7% chez les MI et 60.6% chez les MUR.<sup>97</sup> Par contre, une augmentation de l'incidence d'ulcères gastriques a également été observée avec le génotype ML.<sup>98</sup>

Les effets secondaires souvent associés aux antidépresseurs tricycliques, les crises myocloniques par exemple, n'ont pu être associés avec les polymorphismes du CYP2C19, le CYP2D6 jouant un rôle beaucoup plus important dans le métabolisme de ces médicaments.<sup>99</sup>

Des variations dans la réponse au clopidogrel, un inhibiteur de l'agrégation plaquettaire, ont également été observées. Le clopidogrel est un pro-drogue nécessitant une conversion en son métabolite actif via le CYP2C19 afin de se lier et bloquer de façon irréversible les récepteurs plaquettaires ADP P2Y.<sup>100</sup> Une méta-analyse effectuée par Mega et al. regroupant neuf études rapporte que l'allèle muté \*2 est associé à une diminution de l'efficacité du médicament, conséquence d'une faible formation du métabolite actif.<sup>101</sup>

Des études ont démontré que la rifampicine est un inducteur du CYP2C19 mais le mécanisme d'action sous-jacent n'a toujours pas été élucidé.<sup>95,96</sup>

### **1.6.7 CYP3A4/5**

La famille CYP3A compte pour environ 40% des isoenzymes hépatiques et est responsable du métabolisme d'environ 50% des médicaments utilisés en clinique, en plus d'intervenir dans l'élimination de substrats endogènes comme les hormones stéroïdiennes, l'acide rétinoïque et les acides biliaires.<sup>102</sup> Les isoenzymes les plus importants sont le CYP3A4 et le CYP3A5 qui sont fortement exprimés dans le foie et le petit intestin, le CYP3A4 étant généralement la forme la plus abondante.<sup>103</sup> La spécificité de leurs substrats étant similaire, il est difficile d'évaluer la contribution individuelle des CYP3A4/5 dans la clairance métabolique totale des substrats des CYP3As *in vivo*.<sup>104</sup>

Vu leur localisation, les CYP3A4/5 contribuent fortement au premier-passage hépatique que subissent les médicaments avant d'atteindre la circulation systémique.<sup>105</sup> La biodisponibilité orale

de leurs substrats peut ainsi être altérée avec la modulation de l'activité catalytique des isoenzymes par des facteurs environnementaux.<sup>105</sup> Des études ont démontré que des inducteurs connus du métabolisme hépatique des CYP3As comme la rifampicine et la phénytoïne, ainsi que des inhibiteurs comme le kétoconazole, affectaient tout autant le métabolisme hépatique que l'extraction intestinale métabolique.<sup>106,107,108,109</sup> L'ingestion de jus de pamplemousse, un inhibiteur des CYP3As, a également démontré un effet sur le premier passage intestinal lorsque pris en concomitance avec des médicaments par voie orale. L'absence d'effet sur la clairance systémique lorsque le jus de pamplemousse est pris avec un médicament administré par voie intraveineuse confirme que l'augmentation de la biodisponibilité du substrat se fait via le métabolisme de la paroi intestinale.<sup>110,111</sup>

Certains variants alléliques de l'isoenzyme CYP3A4 montrant une diminution dans leur activité catalytique ont été identifiés, soit les allèles \*6, \*17 et \*20. Cependant, la faible fréquence de ces variants ne peut expliquer à elle seule la variation interindividuelle observée dans la réponse aux substrats des CYP3A4/5.<sup>114</sup>

L'isoenzyme CYP3A5 quand à lui est hautement polymorphique. Le variant allélique *CYP3A5\*3* est le plus commun, avec des fréquences respectives de 90%, 75% et 20% chez les caucasiens, les asiatiques et les africains. Les variants *CYP3A5\*6* et *CYP3A5\*7* se retrouvent chez 17% des asiatiques et 8% chez les africains et sont absents dans la population caucasienne.<sup>112,113,114,115</sup>

## **2. Le cytochrome CYP2D6**

L'isoenzyme CYP2D6 se retrouve dans différents systèmes comme les bactéries, les insectes et les cellules d'autres mammifères.<sup>116</sup> Il est le seul membre de la famille CYP2D à être exprimé

chez l'humain, même s'il n'y représente qu'un faible pourcentage de l'ensemble des cytochromes hépatiques (1-2%).<sup>117</sup> Chez les rongeurs, il existe neuf différents gènes *CYP2D* actifs.<sup>118</sup>

Malgré sa présence mineure, ses substrats représentent 25% de tous les médicaments utilisés en clinique.<sup>118</sup> Des études *in vitro* ont d'ailleurs démontré que l'isoenzyme CYP2D6 métabolise à lui seul plus de 75 médicaments.<sup>119</sup>

## 2.1 Historique

La découverte de l'isoenzyme CYP2D6 remonte à la fin des années 1970. Les scientifiques responsables d'une étude pharmacocinétique sur la débrisoquine, un anti-hypertenseur, et la spartéine, un antiarythmique, observèrent que certains volontaires souffraient d'effets secondaires comme une vision trouble, des maux de tête et des étourdissements.<sup>120</sup> L'analyse de leur plasma révéla qu'ils avaient des concentrations de médicaments de 4 à 5 fois plus élevées que la normale.<sup>121</sup> Ils observèrent alors que ces volontaires étaient incapables d'oxyder les médicaments administrés et procédèrent à l'analyse de leurs profils phénotypiques en effectuant le ratio urinaire des métabolites de chacune des deux drogues par rapport à leur molécule mère.<sup>122,123</sup> Les phénotypes obtenus étaient semblables pour les deux drogues: les ML pour la débrisoquine l'étaient également pour la spartéine, et vice-versa. Il fut donc établi que ces incapacités métaboliques étaient contrôlées par des facteurs génétiques très similaires, sinon identiques.<sup>124,125</sup> Après que plusieurs autres médicaments furent démontrés inefficacement métabolisés par les individus ML, des études attribuèrent la cause de ce métabolisme génétiquement "défectueux" par l'absence ou l'insuffisance fonctionnelle d'un isoenzyme du CYP450.<sup>126</sup> Après que Zanger *et al* aient démontré l'absence d'une protéine spécifique à l'activité catalytique du bufuralol dans des enzymes de foie d'individus ML<sup>127</sup>, le nouveau membre de la sous-famille CYP2D fut rebaptisé CYP2D6.<sup>128</sup>

Le locus génétique *CYP2D* fut ensuite isolé et les allèles défectueux furent séquencés afin de caractériser le défaut moléculaire au niveau de l'ADN génomique.<sup>129,130</sup> Quelque temps plus tard, l'invention du PCR permis d'identifier les allèles défectueux les plus communs du *CYP2D6*.<sup>131</sup>

## 2.2 Polymorphismes

Le *CYP2D6* est un polypeptide constitué de 497 acides aminés.<sup>118</sup> Sa variabilité est principalement attribuable aux polymorphismes génétiques qui influencent son expression et sa fonction.<sup>132</sup> Le *CYP2D6* est probablement l'isoenzyme polymorphique le plus étudiée puisque ses variations métaboliques ont une haute importance clinique. Il fut d'ailleurs le premier isoenzyme polymorphique du *CYP450* à être identifié au niveau moléculaire.<sup>118</sup> Jusqu'à présent, 63 différents variants ont été identifiés. Les variants alléliques compromettant l'activité métabolique les plus communs sont *CYP2D6\*3*, *CYP2D6\*4*, *CYP2D6\*5* et *CYP2D6\*10*. L'activité enzymatique du *CYP2D6* varie énormément selon l'ethnicité, les ML représentant moins de 1% de la population asiatique et plus de 10% de la population caucasienne. Les MI sont fréquents en Asie avec une haute prévalence du variant *CYP2D6\*10*.<sup>133</sup>

## 2.3 Substrat marqueur

Le profil phénotypique d'un individu peut être obtenu par la mesure d'un ratio urinaire métabolique. Cette méthode utilise le ratio des quantités de médicaments inchangés et des métabolites dans l'urine suite à l'administration d'un substrat marqueur. La débrisoquine, le dextrométhorphan, le métoprolol et la spartéine sont tous les médicaments marqueurs du phénotype *CYP2D6*. Par contre, la débrisoquine et la spartéine ont l'inconvénient d'avoir été retirés du marché dans la plupart des pays et ne sont donc pas facilement disponibles. Le dextrométhorphan a été proposé comme le choix le plus sûr pour la détermination des profils phénotypiques.<sup>134</sup>



## 2.4 Types de métaboliseurs

### 2.4.1 Métaboliseur lent

Le phénotype de type lent, dit ML, est caractérisé par une déficience dans l'élimination des substrats par les voies métaboliques dépendantes du CYP2D6. Ce phénotype est causé par deux allèles nuls qui ne codent pas une protéine fonctionnelle, résultant en une perte totale des fonctions métaboliques.

Les conséquences de ce phénotype sont soit des risques accrus de subir des effets secondaires ou une absence de l'effet thérapeutique.<sup>132</sup>

Il a été démontré que le profil métabolique CYP2D6 d'un individu demeure stable pendant des années et semble être contrôlé par un système monogénique et non significativement influencé par des facteurs environnementaux ou l'âge.<sup>135</sup> Par contre, les substrats et les inhibiteurs de forte affinité pour l'enzyme peuvent causer un changement dans le profil métabolique d'un individu et transformer un métaboliseur rapide en métaboliseur lent ou intermédiaire. Présentement, les tests génétiques déterminant le phénotype ML sont efficaces à 99%.<sup>132</sup>

Aussi, des travaux de Gaedigk *et al* ont démontré que l'identification d'un SNP dans la région promotrice -1584G du CYP2D6 permet d'exclure un phénotype ML.<sup>136</sup> Ce SNP étant associé au variant fonctionnel *CYP2D6\*2* et à l'haplotype *CYP2D6\*35* (phénotype ultra-rapide), il ne peut se retrouver chez les sujets ML.

### 2.4.2 Métaboliseur intermédiaire

Le terme métaboliseur intermédiaire (MI) a été désigné lorsque les études sur la débrisoquine et la spartéine ont identifié un groupe dont le profil métabolique se situait entre les métaboliseurs

lents et les métaboliseurs rapides (dit normaux), bien que les MI soient souvent classés dans cette dernière catégorie.<sup>121,137</sup> Le terme MR hétérogène est aussi utilisé pour désigner les sujets MI puisqu'ils possèdent soit deux allèles partiellement déficients, soit une allèle sauvage et une allèle mutant.<sup>132</sup> Les personnes MI sont donc déficients dans leur capacité métabolique lorsque comparés aux métaboliseurs extensifs ou ultra-rapides homogènes, possédant deux allèles fonctionnels, mais sont avantagés par rapport aux ML puisqu'ils expriment une activité métabolique significative.<sup>52</sup> Des études pharmacocinétiques montrent cependant que le phénotype MI peut être comparable à celui des ML lors de traitements à long terme. En effet, une étude sur la nortriptyline n'ont montré aucune différence dans les AUC et  $C_{max}$  entre cinq volontaires ML et cinq MI.<sup>138</sup> La même observation s'est produite lors d'une étude sur un traitement chronique au métoprolol, alors que les concentrations plasmatiques des patients MI n'étaient pas significativement différentes des patients ML.<sup>139</sup>

### **2.4.3 Métaboliseur ultra-rapide**

Le phénotype ultra-rapide (MUR) est souvent causé par une duplication de gènes du CYP2D6.<sup>140</sup>

En 1985, Bertilsson *et al.* décrivent pour la première fois le cas d'une femme dépressive ayant besoin d'une dose anormalement élevée de nortriptyline pour atteindre des concentrations plasmatiques thérapeutiques. C'est en établissant son profil phénotypique à l'aide de la débrisoquine qu'ils s'aperçurent que cette femme avait une capacité d'oxydation supérieure à la normale.<sup>141</sup>

Des études de population ont démontré que le phénotype MUR est présent chez 30% des Éthiopiens, 10% chez les Espagnols, Italiens et Hongrois, alors qu'il est peu commun chez les caucasiens (1-2%) et complètement absent chez les asiatiques.<sup>142</sup>

### **3. Les opioïdes**

Le terme “opioïde” désigne des composés qui interagissent avec les récepteurs opioïdes. Ils sont utilisés pour leurs propriétés analgésiques depuis des millénaires: des documents de l’Égypte Ancienne mentionnent l’utilisation de l’opium pour le soulagement de la douleur.<sup>143</sup> La plupart des opioïdes utilisés en clinique, notamment la morphine, le tramadol, la codéine, la dihydrocodéine, l’hydrocodone et l’oxycodone, sont des agonistes du récepteur  $\mu$  (mu).<sup>144</sup> Il existe toutefois d’autres récepteurs aux opioïdes localisés dans le SNC mais aussi dans les tissus périphériques. Les différentes propriétés des opioïdes sont en relation avec les récepteurs auxquels ils se lient. Les récepteurs  $\mu$  sont surtout présents dans le tronc cérébral et le thalamus. Ils sont responsables de l’analgésie supra-spinale, de la dépression respiratoire, du sentiment d’euphorie, de la sédation, de la diminution de la motilité gastro-intestinale et de la dépendance physique.<sup>144</sup> Les récepteurs  $\kappa$  se trouvent dans le tronc cérébral et la moelle épinière et provoquent surtout l’analgésie spinale mais aussi la sédation, la dyspnée, la dysphorie, la dépendance et la dépression respiratoire.<sup>145</sup> Les récepteurs  $\delta$  sont peu connus. On sait qu’ils se situent dans le cerveau et qu’ils pourraient être impliqués dans les effets de dysphorie.<sup>144,146</sup> Le CYP2D6 est impliqué dans le métabolisme oxydatif de plusieurs opioïdes.<sup>147</sup>

#### **3.1 La codéine**

La codéine est un produit synthétisé à partir de la morphine, elle-même provenant de l’opium se trouvant dans les graines de pavot. La morphine fut isolée de l’opium en 1803 par Sertuner qui la nomma d’après Morpheus, le dieu grec des rêves.<sup>148</sup>

La codéine fut synthétisée pour la première fois par Pierre-Jean Robiquet, pharmacien français. Il observa qu’après avoir fait l’extraction de la morphine, un résidu sous forme de poudre pouvait

être recristallisé et formait alors des sels avec les acides, propriété que possédait aussi la morphine. Il prédit alors que la codéine posséderait des propriétés analgésiques semblables à celle de la morphine.<sup>149</sup>

La codéine est un analgésique opiacé qui agit surtout au niveau du SNC en exerçant un effet agoniste sur les récepteurs opioïdes.<sup>148</sup> Elle est utilisée pour ses vertus analgésiques et antitussives.<sup>150</sup>

Environ 10% de la codéine est métabolisée en morphine par O-déméthylation via le CYP2D6, tandis que le reste est glucuroné en codéine-6-glucuronide et métabolisé en norcodéine par N-déméthylation via le CYP3A4.<sup>151,152</sup> Il est de plus en plus reconnu que la codéine exerce ses propriétés analgésiques via la formation métabolique de morphine.<sup>152,153</sup> Cette hypothèse est soutenue par la forte affinité de son métabolite.<sup>154</sup> En effet, l'affinité de la codéine pour le récepteur  $\mu$  est beaucoup moins forte que celle de la morphine, résultant en un potentiel analgésique 50% plus faible que celui de la morphine.<sup>148,155</sup> La codéine comporte cependant l'avantage de passer plus facilement la barrière hémato-encéphalique que la morphine, elle atteint donc plus facilement les CYP2D6s localisés dans le cerveau et son effet analgésique s'en trouve favorisé.<sup>156</sup> Des études suggèrent que la réponse analgésique à la codéine est sensible aux polymorphismes génétiques du CYP2D6.<sup>157</sup> Eckhardt *et al.* rapportent que les ML du CYP2D6 ne montrent aucun effet analgésique après une administration à la codéine mais qu'ils peuvent ressentir les effets secondaires de la codéine elle-même.<sup>158</sup> Contrairement à l'effet analgésique, la fréquence et l'intensité des événements indésirables ne présentent pas de différence significative entre les patients MR et ML.<sup>159</sup> Les patients MR sont également sujets à des interactions médicamenteuses avec des inhibiteurs ou des substrats du CYP2D6, entraînant une forte variabilité dans la formation de la morphine et par conséquent, dans l'effet analgésique de la

codéine.<sup>157,159</sup> La co-administration de 100 mg de codéine et de 200 mg de quinidine, un inhibiteur connu du CYP2D6, a démontré rendre le niveau de morphine dans la plasma indétectable.<sup>152,160</sup> D'autre part, les patients présentant un profil phénotypique MUR pour le CYP2D6 peuvent expérimenter des concentrations plasmatiques de morphine et ses métabolites 50% supérieures à la normale suivant l'administration de la codéine.<sup>162</sup> Un cas de dépression respiratoire a d'ailleurs été rapporté après l'administration d'une petite dose de codéine chez un patient avec ce phénotype.<sup>163</sup>

### **3.2 L'oxycodone**

L'oxycodone est un opioïde semi-synthétique reconnu pour son début d'action rapide. Il est généralement prescrit dans le cadre de douleurs pré/post-opératoires et dans les douleurs cancéreuses d'intensité modérées à sévères.<sup>164,165,166</sup> L'oxycodone agit comme agoniste aux récepteurs opioïdes  $\kappa$  (kappa) et  $\mu$  (mu) dans le SNC.<sup>148</sup> On le compare souvent à la morphine car l'effet analgésique qu'il produit est comparable à celle-ci.<sup>167,168</sup> Malgré tout, son affinité pour le récepteur  $\mu$  est 10 à 40 fois plus faible que celle de la morphine.<sup>169</sup> De plus, la concentration d'oxycodone nécessaire pour activer la protéine G couplée au récepteur opioïde est de 3 à 8 fois plus élevée que celle de la morphine.<sup>169,170</sup>

Les principales voies métaboliques de l'oxycodone sont la N-déméthylation via le CYP3A4, formant la noroxycodone, et la O-déméthylation via le CYP2D6, formant l'oxymorphone. La noroxycodone est excrétée dans l'urine sous forme inchangée tandis que l'oxymorphone subit une conjugaison avec l'acide glucuronique afin d'être excrété sous forme plus hydrophile. Environ 10% de la dose est excrété sous forme inchangée dans l'urine.<sup>171,172</sup>

Le rôle des métabolites dans l'effet analgésique de l'oxycodone n'est pas bien défini. Certaines études suggèrent que l'oxycodone est un pro-médicament, comme la codéine, nécessitant la formation d'un métabolite actif pour produire son effet analgésique. Des études animales sur la noroxycodone ont démontré que son potentiel antinociceptif était plus faible que celui de l'oxycodone.<sup>173</sup> De plus, Lasagna *et al.* ont démontré que la normorphine, l'équivalent N-déméthylé de la morphine, possédait seulement le quart d'activité pharmacologique de la morphine.<sup>174</sup> Ces résultats suggèrent qu'il est peu probable que le métabolite noroxycodone contribue à l'effet analgésique de l'oxycodone chez l'humain.<sup>175</sup>

L'oxymorphone possède une affinité de 3 à 5 fois plus forte que la morphine pour le récepteur  $\mu$ .<sup>176</sup> Plusieurs études clament que l'oxymorphone possède un effet analgésique propre et même supérieur à celui de l'oxycodone. Par exemple, Beaver *et al.* ont démontré que l'activité opioïde de l'oxymorphone est 14 fois plus puissante que celle de l'oxycodone lorsque les deux médicaments sont administrés de façon parentérales.<sup>177</sup> L'hypothèse selon laquelle l'oxymorphone serait majoritairement responsable de la réponse analgésique à l'oxycodone pourrait expliquer la variation inter-individuelle qui est observée suivant son administration. L'isoenzyme hépatique CYP2D6 étant hautement polymorphique, la formation d'oxymorphone par O-déméthylation de l'oxycodone serait compromise chez les sujets ML.

Il est maintenant connu que les métaboliseurs ultra-rapides, qui représentent de 1 à 7 % de la population caucasienne<sup>178</sup>, expérimentent une analgésie de 1.5 à 6 fois plus grande comparés aux métaboliseurs normaux suivant l'administration d'oxycodone.<sup>179</sup> Ces résultats suggèrent la formation d'une plus grande quantité d'oxymorphone due à l'activité augmentée de l'isoenzyme CYP2D6.<sup>180</sup> Ces patients rapportent également une forte incidence d'effets secondaires, soit de l'euphorie, des étourdissements, de la nervosité, de la confusion et parfois même des

hallucinations.<sup>175</sup> Ces patients réagissent généralement de la même façon avec la codéine et l'hydrocodone, et devraient être traités avec des doses au-dessous de la normale.

Une étude rapporte que la formation d'oxymorphone est beaucoup plus faible chez les sujets ML que chez les MR. Elles rapportent aussi que l'utilisation de la fluoxétine, un inhibiteur du CYP2D6, chez les sujets MR résulte en une diminution de la formation d'oxymorphone ressemblant au phénotype ML.<sup>181</sup> Ce résultat a également été montré dans les microsomes de foie humains, où la formation d'oxymorphone est plus faible chez les sujets ML que MR après un traitement inhibiteur à la quinidine.<sup>182</sup>

Également, de plus en plus de cas de réponse atypique à un traitement analgésique chez des ML du CYP2D6 sont rapportés dans la littérature, comme une réponse inadéquate ou l'intolérance aux opiacés. Ces patients répondent très bien à un traitement alternatif, la morphine par exemple, dont l'analgésie ne dépend pas du CYP2D6.<sup>158,183,184</sup> L'oxymorphone est d'ailleurs un analgésique connu qui est commercialisé sous forme parentérale aux États-Unis.<sup>183</sup>

Néanmoins, il existe des contradictions dans la littérature quant aux propriétés analgésiques de l'oxymorphone.

## Références

1. Katzung BG. Basic & clinical pharmacology. 2007, chapitre 4
2. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, Waterman MR, Gotoh O, Coon MJ, Estabrook RW, Gunsalus IC, Nebert DW. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*. 1996; 6: 1-42.
3. Bernhardt R. Cytochromes P450 as versatile biocatalysts. *Journal of Biotechnology* 2006; 124: 128–145
4. Nebert D, Russell D. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet*. 2002; 360: 1155-62.
5. Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ, et al. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names, and nomenclature. *DNA Cell Biol* 1993; 12: 1–51.
6. Nebert DW, Gonzalez FJ. P450 genes: structure, evolution and regulation. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 945–93.



7, Miller JA. The metabolism of xenobiotics to reactive electrophiles in chemical carcinogenesis and mutagenesis: a collaboration with Elizabeth Cavert Miller and our associates. *Drug Metab Rev.* 1998; 30: 645-74.

8. Mueller GC, Miller JA. The metabolism of methylated aminoazo dyes. II. Oxidative demethylation by rat liver homogenates. *J Bio Chem.* 1953; 202: 579-87.

9. Mueller GC, Miller JA. The reductive cleavage of 4-dimethylaminoazobenzene by rat liver: reactivation of carbon dioxide-treated homogenates by riboflavin-adenine dinucleotide. *J Biol Chem.* 1950; 185: 145-54.

10. Axelrod J. The enzymatic demethylation of ephedrine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1955; 114: 430-8.

11. Brodie BB, Axelrod J, Cooper JR, Gaudette L, La Du BN, Mitoma C, Udenfriend S. Detoxication of drugs and other foreign compounds by liver microsomes. *Science* 1955; 121: 603-4

12. Estabrook RW. A passion for P450s (rememberances of the early history of research on cytochrome P450). *Drug Metab Dispos.* 2003; 31: 1461-73.

13. Ryan KJ, Engel LL. Hydroxylation of steroids at carbon 21. *J Biol Chem.* 1957; 225: 103-14.

14. Hayaishi O. An odyssey with oxygen. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 338: 2-6.

15. Chance B. The Stopped-flow Method and Chemical Intermediates in Enzyme Reactions - A Personal Essay. *Photosynth Res.* 2004; 80: 387-400.

16. Chance B, Graham N. A rapid scanning dual wavelength spectrophotometer. *Rev Sci Instrum.* 1971; 42: 941-5.

17. Chance B, Williams GR. Kinetics of cytochrome b5 in rat liver microsomes. *J Biol Chem.* 1954; 209: 945-51.

18. Chance B, Williams GR. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. IV. The respiratory chain. *J Biol Chem.* 1955; 217: 429-38.

19. Klingenberg M. Pigments of rat liver microsomes. Arch Biochem Biophys. 2003; 409: 2-6.
  
20. Omura T, Sato R. The Carbon Monoxide-binding Pigment of Liver Microsomes. II. Solubilization, purification and properties. J Biol Chem. 1964; 239: 2379-85.
  
21. Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. J Biol Chem. 1964; 239: 2370-8.
  
22. Omura T, Sato R. A new cytochrome in liver microsomes. J Biol Chem. 1962; 237: 1375-6.
  
23. Estabrook RW, Cooper DY, Rosenthal O. The light reversible carbon monoxide inhibition of the steroid C21-hydroxylase system of the adrenal cortex. Biochem Z. 1963; 338: 741-55.
  
24. Cooper DY, Levin S, Narasimhulu S, Rosenthal O. Photochemical action spectrum of the terminal oxidase of missed function oxidase systems. Science. 1965; 147: 400-2.
  
25. Testa B, Krämer SD. The biochemistry of drug metabolism--an introduction: Part 2. Redox reactions and their enzymes. Chem Biodivers. 2007; 4 :257-405.

26. Nelson DR, Strobel HW. On the membrane topology of vertebrate cytochrome P-450 proteins. *J Biol Chem.* 1988; 263: 6038-50.
27. Cribb AE, Peyrou M, Muruganandan S, Schneider L. The endoplasmic reticulum in xenobiotic toxicity. *Drug Metab Rev.* 2005; 37: 405-42.
28. Ding X, Kaminsky LS. Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003; 43: 149-73.
29. Hanukoglu I. Antioxidant protective mechanisms against reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondrial P450 systems in steroidogenic cells. *Drug Metab Rev.* 2006; 38: 171-96.
30. Nebert DW, Dieter MZ. The evolution of drug metabolism. *Pharmacology.* 2000; 61: 124-35.
31. Denisov IG, Makris TM, Sligar SG, Schlichting I. Structure and chemistry of cytochrome P450. *Chem Rev.* 2005; 105: 2253-77.

32. Testa B, Krämer SD. The biochemistry of drug metabolism--an introduction: part 1. Principles and overview. *Chem Biodivers*. 2006; 3: 1053-101
33. Gunsalus IC, Meeks JR, Lipscomb JD. Cytochrome P-450cam substrate and effector interactions. *Ann N Y Acad Sci*. 1973; 212: 107-21.
34. Ortiz de Montellano PR, De Voss JJ. Oxidizing species in the mechanism of cytochrome P450. *Nat Prod Rep*. 2002; 19: 477-93.
35. Lynch T, Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am Fam Physician*. 2007; 76: 391-6.
36. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994; 270: 414-23.
37. Faber MS, Jetter A, Fuhr U. Assessment of CYP1A2 activity in clinical practice: why, how, and when? *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2005; 97: 125-34.
38. Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data.

Drug Metab Rev. 2002; 34: 83–448.

39. Bozina N, Bradamante V, Lovric M. Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2009; 60: 217-42.

40. Gunes A, Dahl ML. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics.* 2008; 9: 625-37.

41. Woolridge H, Williams J, Cronin A, Evans N, Steventon GB. CYP1A2 in a smoking and a non-smoking population; correlation of urinary and salivary phenotypic ratios. *Drug Metabol Drug Interact.* 2004; 20: 247-61.

42. Yamazaki H, Shaw PM, Guengerich FP, Shimada T. Roles of cytochromes P450 1A2 and 3A4 in the oxidation of estradiol and estrone in human liver microsomes. *Chem Res Toxicol.* 1998; 11: 659–65

43. Zhou SF, Yang LP, Zhou ZW, Liu YH, Chan E. Insights into the substrate specificity, inhibitors, regulation, and polymorphisms and the clinical impact of human cytochrome P450 1A2. *AAPS J.* 2009; 11: 481-9

44. Rasmussen BB, Brix TH, Kyvik KO, Broesen K. The interindividual differences in the 3-

demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. *Pharmacogenetics*. 2002; 12: 473–8.

45. Xu C, Goodz S, Sellers EM, Tyndale RF. CYP2A6 genetic variation and potential consequences. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002; 54: 1245-56.

46. Ariyoshi N, Miyamoto M, Umetsu Y, Kunitoh H, Dosaka-Akita H, Sawamura Y, Yokota J, Nemoto N, Sato K, Kamataki T. Genetic polymorphism of CYP2A6 gene and tobacco-induced lung cancer risk in male smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002; 11: 890-4.

47. Ekhart C, Doodeman VD, Rodenhuis S, Smits PH, Beijnen JH, Huitema AD. Influence of polymorphisms of drug metabolizing enzymes (CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5, GSTA1, GSTP1, ALDH1A1 and ALDH3A1) on the pharmacokinetics of cyclophosphamide and 4-hydroxycyclophosphamide. *Pharmacogenet Genomics*. 2008; 18: 515-23.

48. Owen A, Pirmohamed M, Khoo SH, Back DJ. Pharmacogenetics of HIV therapy. *Pharmacogenet Genomics*. 2006; 16: 693-703.

49. Gatanaga H, Hayashida T, Tsuchiya K, Yoshino M, Kuwahara T, Tsukada H, Fujimoto K, Sato I, Ueda M, Horiba M, Hamaguchi M, Yamamoto M, Takata N, Kimura A, Koike T, Gejyo F, Matsushita S, Shirasaka T, Kimura S, Oka S. Successful efavirenz dose reduction in HIV type 1-infected individuals with cytochrome P450 2B6 \*6 and \*26. *Clin Infect Dis*. 2007; 45: 1230-7.

50. Tsuchiya K, Gatanaga H, Tachikawa N, Teruya K, Kikuchi Y, Yoshino M, Kuwahara T, Shirasaka T, Kimura S, Oka S. Homozygous CYP2B6 \*6 (Q172H and K262R) correlates with high plasma efavirenz concentrations in HIV-1 patients treated with standard efavirenz-containing regimens. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 319: 1322-6.
51. Wang J, Sönnnerborg A, Rane A, Josephson F, Lundgren S, Stahle L, Ingelman-Sundberg M. Identification of a novel specific CYP2B6 allele in Africans causing impaired metabolism of the HIV drug efavirenz. *Pharmacogenet Genomics.* 2006; 16: 191-8.
52. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther.* 2007; 116: 496-526
53. Kharasch ED, Hoffer C, Whittington D, Walker A, Beynek PS. Methadone pharmacokinetics are independent of cytochrome P4503A (CYP3A) activity and gastrointestinal drug transport: insights from methadone interactions with ritonavir/indinavir. *Anesthesiology.* 2009; 110: 660-72.
54. Bunten H, Liang WJ, Pounder DJ, Seneviratne C, Osselton D. OPRM1 and CYP2B6 gene variants as risk factors in methadone-related deaths. *Clin Pharmacol Ther.* 2010; 88: 383-9.



55. Miners JO, Birkett DJ. Cytochrome P450C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *BR J Clin Pharmacol*. 1998; 45: 525-38.
56. Totah RA, Rettie AE. Cytochrome P450 2C8: substrates, inhibitors, pharmacogenetics, and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther*. 2005; 7: 341–352.
57. Delozier TC, Kissling GE, Coulter SJ, Dai D, Foley JF, Bradbury JA, Murphy E, Steenbergen C, Zeldin DC, Goldstein JA. Detection of human CYP2C8, CYP2C9, and CYP2J2 in cardiovascular tissues. *Drug Metab Dispos* 2007; 35: 682–688.
58. Klose TS, Blaisdell JA, Goldstein JA. Gene structure of CYP2C8 and extrahepatic distribution of the human CYP2Cs. *J Biochem Mol Toxicol* 1999; 13: 289–295.
59. Biochemical characterization of the human liver cytochrome P450 arachidonic acid epoxygenase pathway. *Arch Biochem Biophys*. 1996; 330: 87-96.
60. Johnson EF, Stout CD. Structural diversity of human xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 monooxygenases. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 331–336.
61. Lucas RA, Weathersby BB, Rocco VK, Pepper JM, Butler KL. Rhabdomyolysis associated with cerivastatin: six cases within 3 months at one hospital. *Pharmacotherapy* 2002; 22: 771–774.
62. Backman JT, Kyrklund C, Neuvonen M, Neuvonen PJ. Gemfibrozil greatly increases plasma

concentrations of cerivastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 685–691.

63. Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, Chanas B, Coulter SJ, Ghanayem BI, Goldstein JA. Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics*. 2001; 11: 597–607.

64. Soyama A, Saito Y, Hanioka N, Murayama N, Nakajima O, Katori N, Ishida S, Sai K, Ozawa S, Sawada JI. Non-synonymous single nucleotide alterations found in the CYP2C8 gene result in reduced in vitro paclitaxel metabolism. *Biol Pharm Bull*. 2001; 24: 1427–1430.

65. Saito Y, Katori N, Soyama A, Nakajima Y, Yoshitani T, Kim SR, et al. CYP2C8 haplotype structures and their influence on pharmacokinetics of paclitaxel in a Japanese population. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17;461-71.

66. Gréen H, Söderkvist P, Rosenberg P, Mirghani RA, Rymark P, Lundqvist EA, Peterson C. Pharmacogenetic studies of paclitaxel in the treatment of ovarian cancer. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2009; 104: 130–137.

67. Kirchheiner J, Thomas S, Bauer S, Thomalik-Scharte D, Hering U, Doroshenko O, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rosiglitazone in relation to CYP2C8 genotype. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;80;657-67.

68. Muschler E, Lal J, Jetter A, Rattay A, Zanger U, Zadoyan G, et al. The role of human CYP2C8 and CYP2C9 variants in pioglitazone metabolism in vitro. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2009;105:374-9.
69. Tornio A, Niemi M, Neuvonen M, Laitila J, Kalliokoski A, Neuvonen PF, Backman JT. The effect of gemfibrozil on repaglinide pharmacokinetics persists for at least 12 h after the dose: evidence for mechanism-based inhibition of *CYP2C8 in vivo*. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 84: 403–411.
70. Bidstrup TB, Damkier P, Olsen AK, Ekblom M, Karlsson A, Brosen K. The impact of *CYP2C8* polymorphism and grapefruit juice on the pharmacokinetics of repaglinide. *Br J Clin Pharmacol* 2006; 61: 49–57.
71. Caraco Y, Muszkat M, Wood AJ. Phenytoin metabolic ratio: a putative marker of CYP2C9 activity in vivo. *Pharmacogenetics*, 2001; 11: 587-96.
72. Sandberg M, Johansson I, Christensen M, Rane A, Eliasson E. The impact of CYP2C9 genetics and oral contraceptives on cytochrome P450 2C9 phenotype. *Drug Metab Dispos.* 2004; 32: 484-9.
73. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Wakamiya N, Ueng YF, Guengerich FP, Inui Y. Characterization of microsomal cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of xenobiotic chemicals in human fetal liver and adult lungs. *Drug Metab Dispos.* 1996; 24: 515-22.

74. Yasar U, Eliasson E, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Sjöqvist F. Validation of methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 254: 628-31.
75. Aithal GP, Day CP, Kesteven PF, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet.* 1999; 353: 717-9.
76. Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfield GM, et al. The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics.* 1996; 4: 341-9.
77. Yasar U, Tybring G, Hidestrand M, Oscarson M, Ingelman-Sundberg M, Dahl ML, Eliasson E. Role of CYP2C9 polymorphism in losartan oxidation. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29: 1051-6.
78. Yasar U, Forslund-Bergengren C, Tybring G, Dorado P, Llerena A, Sjöqvist F, Eliasson E, Dahl ML. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype. *Clin Pharmacol Ther.* 2002; 71: 89-98.
79. Goldstein JA. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol.* 2001; 52: 349-55.

80. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*. 1999; 353: 717-9.
81. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics*. 2002; 12: 251-63.
82. Kaminsky LS, Zhang Z-Y. Human P450 metabolism of warfarin. *Pharmacol Ther* 1997; 73: 67-74.
83. Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired S-warfarin metabolism catalyzed by R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 39-42.
84. Crespi CL, Miller VP. The R144C change in the CYP2C9\*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with NADPH:cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenetics* 1997; 7: 203-10.
85. Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E, Di Minno G. Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost* 2000; 84: 775-778.
86. Stearns RA, Chakravarty PK, Chen R, Chiu SH. Biotransformation of losartan to its active

carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P450C and 3A subfamily members. *Drug Metab Dispos.* 1995; 23: 207-15.

87. Lo MW, Goldberg MR, McCrea JB, Lu H, Furtek CI, Bjornsson TD. Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP3174 in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1995; 58: 641-9.

88. McCrea JB, Cribb A, Rushmore T, Osborne B, Gillen L, Lo MW, Waldman S, Bjornsson T, Spielberg S, Goldberg MR. Phenotypic and genotypic investigations of a healthy volunteer deficient in the conversion of losartan to its active metabolite E-3174. *Clin Pharmacol Ther.* 1999; 65: 348-52.

89. Sim SC, Nordin L, Andersson TM, Viriding S, Olsson M, Pedersen NL, Ingelman-Sundberg M. Association between CYP2C19 polymorphism and depressive symptoms. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2010; 153B: 1160-6.

90. Klotz U, Schwab M, Treiber G. CYP2C19 polymorphism and proton pump inhibitors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2004; 95: 2-8.

91. Küpfer A, Preisig R. Pharmacogenetics of mephenytoin: a new drug hydroxylation polymorphism in man. *Eur J Clin Pharmacol.* 1984; 26: 753-9.

92. De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakaruma K, Goldstein JA. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol*. 1994; 46: 594-8.
93. Wedlund PJ, Aslanian WS, McAllister CB, Wilkinson GR, Branch RA. Mephenytoin hydroxylation deficiency in Caucasians: frequency of a new oxidative drug metabolism polymorphism. *Clin Pharmacol Ther*. 1984; 36: 773-80.
94. Feng HJ, Huang SL, Wang W, Zhou HH. The induction effect of rifampicin on activity of mephenytoin 4'-hydroxylase related to M1 mutation of CYP2C19 and gene dose. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 27-9
95. Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet*. 2002; 41: 913-58.
96. Zhou HH, Anthony LB, Wood AJ, et al. Induction of polymorphic 4'-hydroxylation of S-mephenytoin by rifampicin. *Br J Clin Pharmacol* 1990; 30: 471-5 129.
97. Furuta T, Shirai N, Takashima M, et al. Effects of genotypic differences in CYP2C19 status on cure rates for *Helicobacter pylori* infection by dual therapy with rabeprazole plus amoxicillin. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 341-8

98. Chang M, Tybring G, Dahl ML, Götharson E, Sagar M, Seensalu R, Bertilsson L. Interphenotype differences in disposition and effect on gastrin levels of omeprazole--suitability of omeprazole as a probe for CYP2C19. *Br J Clin Pharmacol*. 1995; 39: 511-8.
99. Spigset O, Hedenmalm K, Dahl ML, et al. Seizures and myoclonus associated with antidepressant treatment: assessment of potential risk factors, including CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms, and treatment with CYP2D6 inhibitors. *Acta Psychiatr Scand* 1997; 96: 379-84
100. Savi P, Herbert JM, Pflieger AM, Dol F, Delebasse D, Combalbert J, Defreyn G, Maffrand JP. Importance of hepatic metabolism in the antiaggregating activity of the thienopyridine clopidogrel. *Biochem Pharmacol*. 1992 Aug 4;44(3):527-32.
101. Hulot JS, Bura A, Villard E, Azizi M, Remones V, Goyenvallé C, Aiach M, Lechat P, Gaussem P. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood*. 2006 Oct 1;108(7):2244-7.
102. Bertz RJ, Granneman GR. Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clin Pharmacokinet*. 1997; 32: 210-58.
103. Coto E, Tavira B, Marin R, Ortega F, Lopes-Larrea C, Ruiz-Ortega M, Ortiz A, Diaz M, Corao AI, Alonso B, Alvarez V. Functional polymorphisms in the *CYP3A4*, *CYP3A5*, and *CYP21A2* genes in the risk for hypertension in pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun*.



2010; 397: 576-9.

104. Williams JA, Ring BJ, Cantrell VE, Jones DR, Eckstein J, Ruterbories K, Hamman MA, Hall SD, Wrighton SA. Comparative metabolic capabilities of CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A7. *Drug Metab Dispos.* 2002; 30: 883-91.

105. Paine MF, Shen DD, Kunze KL, Perkins JD, Marsh CL, McVicar JP, Barr DM, Gillies BS, Thummel KE. First-pass metabolism of midazolam by the human intestine. *Clin Pharmacol Ther.* 1996; 60: 14-24.

106. Holtbecker N, Fromm MF, Kroemer HK, Ohnhaus EE, Heidemann H. The nifedipine-rifampin interaction. Evidence for induction of gut wall metabolism. *Drug Metab Dispos.* 1996; 24: 1121-3.

107. Kozawa M, Honma M, Suzuki H. Quantitative prediction of in vivo profiles of CYP3A4 induction in humans from in vitro results with a reporter gene assay. *Drug Metab Dispos.* 2009; 37: 1234-41.

108. Gomez DY, Wachter VJ, Tomlanovich SJ, Hebert MF, Benet LZ. The effects of ketoconazole on the intestinal metabolism and bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther.* 1995; 58: 15-9.

109. Fleishaker JC, Pearson PG, Wienkers LC, Pearson LK, Peters GR. Biotransformation of tirilazad in human: 2. Effect of ketoconazole on tirilazad clearance and oral bioavailability. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996; 277: 991-8
110. Ducharme MP, Warbasse LH, Edwards DJ. Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther.* 1995; 57: 485-91.
111. Kupferschmidt HH, Ha HR, Ziegler WH, Meier PJ, Krähenbühl S. Interaction between grapefruit juice and midazolam in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1995; 58: 20-8.
112. Zhou SF, Liu JP, Chowbay B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact. *Drug Metab Rev.* 2009; 41: 89-295.
113. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, Maurel P, Relling M, Brimer C, Yasuda K, Venkataramanan R, Strom S, Thummel K, Goguski MS, Schuetz E. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet.* 2001; 27: 383-91.
114. Fukuen S, Fukuda T, Maune H, Ikenaga Y, Yamamoto I, Inaba T, Azuma J. Novel detection assay by PCR-RFLP and frequency of the CYP3A5 SNPs, CYP3A5\*3 and \*6, in a Japanese population. *Pharmacogenetics.* 2002; 12: 331-4.

115. Chou FC, Tzeng SJ, Huang JD. Genetic polymorphism of cytochrome P450 3A5 in Chinese. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29: 1205-9.

116. Yamakazi H, Guo Z, Persmark M, Mimura M, Inoue K, Guengerich FP, Shimada T. Bufuralol hydroxylation by cytochrome P450 2D6 and 1A2 enzymes in human liver microsomes. *Mol Pharmacol.* 1994; 46: 568-77.

117. Rendic S, Di Carlo FJ. Human cytochrome P450 enzymes: a status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors. *Drug Metab Rev.* 1997; 29: 413-580.

118. Neafsey P, Ginsberg G, Hattis D, Sonawane B. Genetic polymorphism in cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Population distribution of CYP2D6 activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2009; 12: 334-61.

119. Nebert DW. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the clinical geneticist? *Clin Genet.* 1999; 56: 247-58.

120. Eichelbaum M, Spannbrucker N, Dengler HJ. A probably genetic defect in the metabolism of sparteine in biological oxidation of nitrogen. In: Gorrow JW (ed). Elsevier North-Holland Biomedical Press: Amsterdam, 1978; pp 113–118.

121. Eichelbaum M, Spannbrucker N, Dengler HJ. Influence of the defective metabolism of sparteine on its pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* 1979; 16: 189–194.

122. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet*. 1977; 2: 584-6.
123. Eichelbaum M, Spannbrucker N, Dengler HJ. Proceedings: N-oxidation of sparteine in man and its interindividual differences. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1975;287 Suppl:R94.
124. Bertilsson L, Dengler HJ, Eichelbaum M, Schulz HU. Pharmacogenetic covariation of defective N-oxidation of sparteine and 4-hydroxylation of debrisoquine. *Eur J Clin Pharmacol*. 1980; 17: 153-5.
125. Eichelbaum M, Bertilsson L, Säwe J, Zekorn C. Polymorphic oxidation of sparteine and debrisoquine: related pharmacogenetic entities. *Clin Pharmacol Ther*. 1982; 31: 184-6.
126. Gut J, Gasser R, Dayer P, Kronbach T, Catin T, Meyer UA. Debrisoquine-type polymorphism of drug oxidation: purification from human liver of a cytochrome P450 isozyme with high activity for bufuralol hydroxylation. *FEBS Lett*. 1984; 173: 287-90.
127. Zanger UM, Vilbois F, Hardwick JP, Meyer UA. Absence of hepatic cytochrome P450bufI causes genetically deficient debrisoquine oxidation in man. *Biochemistry*. 1988; 27: 5447-54.
128. Gonzalez FJ, Skoda RC, Kimura S, Umeno M, Zanger UM, Nebert DW, Gelboin HV,

Hardwick JP, Meyer UA. Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature*. 1988; 331: 442-6.

129. Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet*. 1989; 45: 889-904.

130. Kagimoto M, Heim M, Kagimoto K, Zeugin T, Meyer UA. Multiple mutations of the human cytochrome P450IID6 gene (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine. Study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J Biol Chem*. 1990; 265: 17209-14.

131. Heim M, Meyer UA. Genotyping of poor metabolisers of debrisoquine by allele-specific PCR amplification. *Lancet*. 1990; 336: 529-32.

132. Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2004; 369: 23-37

133. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J*. 2005; 5: 6-13.

134. Schmid B, Bircher J, Preisig R, Küpfer A. Polymorphic dextromethorphan metabolism: cosegregation of oxidative O-demethylation with debrisoquin hydroxylation. *Clin Pharmacol Ther.* 1985; 38: 618-24.

135. Steiner E, Iselius L, Alvan G, Lindsten J, Sjöqvist F. A family study of genetic and environmental factors determining polymorphic hydroxylation of debrisoquin. *Clin Pharmacol Ther.* 1985; 38: 394-401.

136. Gaedigk A, Ryder DL, Bradford LD, Leeder JS. CYP2D6 poor metabolizer status can be ruled out by a single genotyping assay for the -1584G promoter polymorphism. *Clin Chem.* 2003;49;1008-11.

137. Steiner E, Bertilsson L, Säwe J, Bertling I, Sjöqvist F. Polymorphic debrisoquin hydroxylation in 757 Swedish subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 1988; 44: 431-5.

138. Dalén P, Dahl ML, Bernal Ruiz ML, Nordin J, Bertilsson L. 10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther.* 1998; 63: 444-52.

139. Rau T, Heide R, Bergmann K, Wuttke H, Werner U, Feifel N, Eschenhagen T. Effect of the CYP2D6 genotype on metoprolol metabolism persists during long-term treatment.

Pharmacogenetics. 2002; 12: 465-72.

140. Lundqvist E, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the human CYP2D6 gene and methods for detection of duplicated CYP2D6 genes. *Gene*. 1999; 226: 327-38.

141. Bertilsson L, Aberg-Wistedt A, Gustafsson LL, Nordin C. Extremely rapid hydroxylation of debrisoquine: a case report with implication for treatment with nortriptyline and other tricyclic antidepressants. *Ther Drug Monit*. 1985; 7: 478-80.

142. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369: 89–104.

143. Breasted JG. *Ancient Records of Egypt*. University of Chicago Oriental Institute Publications, Vol III, P. 217. University of Chicago Press, 1930

144. Trescot AM, Datta S, Lee M, Hansen H. Opioid pharmacology. *Pain Physician*. 2008; 11(2 Suppl):S133-53

145. Simonds WF. The molecular basis of opioid receptor function. *Endocr Rev*. 1988; 9: 200-12.

146. McCleane G, Smith HS. Opioids for persistent noncancer pain. *Med Clin North Am*. 2007;

91: 177-97.

147. Lötsch J. Opioid metabolites. *J Pain Symptom Manage*. 2005; 29(5 Suppl): S10-24.

148. Mark A. Schumacher, PhD, MD, Allan I. Basbaum, PhD, & Walter L. Way, MD. *BASIC & CLINICAL PHARMACOLOGY* - 11th Ed. (2009). Chapter 31. Opioid Analgesics & Antagonists.

149. Warolin C. [Pierre-Jean Robiquet]. *Rev Hist Pharm (Paris)*. 1999; 47: 97-110.

150. Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clin Pharmacokinet*. 2009; 48: 761-804.

151. Yue QY, Säwe J. Different effects of inhibitors on the O- and N-demethylation of codeine in human liver microsomes. *Eur J Clin Pharmacol*. 1997; 52: 41-7.

152. Dayer P, Desmeules J, Leemann T, Striberni R. Bioactivation of the narcotic drug codeine in human liver is mediated by the polymorphic monooxygenase catalyzing debrisoquine 4-hydroxylation (cytochrome P-450 db1/buf1). *Biochem Biophys Res Commun*. 1988; 152: 411-6.

153. Sindrup SH, Brosen K. The pharmacogenetics of codeine hypoalgesia. *Pharmacogenetics*. 1995; 5: 335-46.



154. Hennies HH, Friderichs E, Schneider J. Receptor binding, analgesic and antitussive potency of tramadol and other selected opioids. *Arzneimittelforschung*. 1988; 38: 877-80.
155. Pert CB, Snyder SH. Properties of opiate-receptor binding in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973; 70: 2243-7.
156. Oldendorf WH, Hyman S, Braun L, Oldendorf SZ. Blood-brain barrier: penetration of morphine, codeine, heroin, and methadone after carotid injection. *Science*. 1972; 178: 984-6.
157. Caraco Y, Sheller J, Wood AJ. Pharmacogenetic determination of the effects of codeine and prediction of drug interactions. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996; 278: 1165-74.
158. Eckhardt K, Li S, Ammon S, Schänzle G, Mikus G, Eichelbaum M. Same incidence of adverse drug events after codeine administration irrespective of the genetically determined differences in morphine formation. *Pain*. 1998; 76: 27-33.
159. Poulsen L, Brosen K, Arendt-Nielsen L, Gram LF, Elbaek K, Sindrup SH. Codeine and morphine in extensive and poor metabolizers of sparteine: pharmacokinetics, analgesic effect and side effects. *Eur J Clin Pharmacol*. 1996; 51: 289-95
160. Sindrup SH, Brosen K, Bjerring P, Arendt-Nielsen L, Larsen U, Angelo HR, Gram LF. Codeine increases pain thresholds to copper vapor laser stimuli in extensive but not poor metabolizers of sparteine. *Clin Pharmacol Ther*. 1990; 48: 686-93.

161. Kirchheiner J, Schmidt H, Tzvetkov M, Keulen JT, Lötsch J, Roots I, Brockmöller J. Pharmacokinetics of codeine and its metabolite morphine in ultra-rapid metabolizers due to CYP2D6 duplication. *Pharmacogenomics J*. 2007; 7: 257-65.
162. Gasche Y, Daali Y, Fathi M, Chiappe A, Cottini S, Dayer P, Desmeules J. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *N Engl J Med*. 2004; 351: 2827-31.
163. Kalso E, Vainio A. Morphine and oxycodone hydrochloride in the management of cancer pain. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 47: 639-46.
164. Kalso E, Poyhia R, Onnela P, Tigerstedt I, Linko K, Tammisto T. Intravenous morphine and oxycodone for pain after abdominal surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1991; 35: 642-6.
165. Poyhia R, Vainio A, Kalso E. A review of oxycodone's clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pain Symptom Manage* 1993; 8: 63-7.
166. Narita M, Nakamura A, Ozaki M, Imai S, Miyoshi K, Suzuki M, Suzuki T. Comparative pharmacological profiles of morphine and oxycodone under a neuropathic pain-like state in mice: evidence for less sensitivity to morphine. *Neuropsychopharmacology*. 2008; 33: 1097-112.
167. Kalso E, Pöyhiä R, Onnela P, Linko K, Tigerstedt I, Tammisto T. Intravenous morphine and oxycodone for pain after abdominal surgery. *Acta Anaesth Scand* 1991; 35: 642–6.

168. Peckham EM, Traynor JR. Comparison of the antinociceptive response to morphine and morphine-like compounds in male and female Sprague–Dawley rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 1195–201.
169. Heiskanen T, Olkkola KT, Kalso E. Effects of blocking CYP2D6 on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oxycodone. *Clin Pharmacol Ther.* 1998; 64: 603-11.
170. Cheremina O, Bachmakov I, Neubert A, Brune K, Fromm MF, Hinz B. Simultaneous determination of oxycodone and its major metabolite, noroxycodone, in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr* 2005; 19: 777-82.
171. Lalovic B, Phillips B, Risler LL, Howald W, Shen DD. Quantitative contribution of CYP2D6 and CYP3A to oxycodone metabolism in human liver and intestinal microsomes. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 447-54.
172. Leow KP, Smith MT. The antinociceptive potencies of oxycodone, noroxycodone and morphine after intracerebroventricular administration to rats. *Life Sci.* 1994; 54: 1229-36.
173. Lasagna L, Kornfeld TJ. Analgesic potency of normorphine in patients with postoperative pain. *J Pharmacol Exp Ther* 1958; 124: 260-3.
174. de Leon J, Dinsmore L, Wedlund P. Adverse Drug Reactions to Oxycodone and Hydrocodone in CYP2D6 Ultrarapid Metabolizers. *J Clin Psychopharmacol.* 2003; 23: 420-1.

175. Chen ZR, Irvine RJ, Somogyi AA, Bochner F. Mu receptor binding of some commonly used opioids and their metabolites. *Life Sci* 1991; 48: 2165-71.
176. Beaver WT, Wallenstein SL, Rogers A, Houde RW. Analgesic studies of codeine and oxycodone in patients with cancer; II: comparisons of intramuscular oxycodone with intramuscular morphine and codeine. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 207: 101-8.
177. Agúndez JA, Ledesma MC, Ladero JM, Benítez J. Prevalence of CYP2D6 gene duplication and its repercussion on the oxidative phenotype in a white population. *Clin Pharmacol Ther.* 1994; 57: 265–269.
178. Samer CF, Daali, Y, Hopfgartner G, Eap CB, Rebsamen MC, Rossier MF, Hochstrasser D, Dayer P, Desmeules JA. Genetic polymorphisms and drug interactions modulating CYP2D6 and CYP3A activities have a major effect on oxycodone analgesic efficacy and safety. *Br J Pharmacol.* 2010; 160: 919-30.
179. Dalén P, Frengell C, Dahl ML, Sjöqvist F. Quick onset of severe abdominal pain after codeine in an ultrarapid metabolizer of debrisoquine. *Ther Drug Monit.* 1997; 19: 543–544.
180. Otton SV, Wu D, Joffe RT, Cheung SW, Sellers EM. Inhibition by fluoxetine of cytochrome P450 2D6 activity. *Clin Pharmacol Ther.* 1993; 53: 401-9.
181. Heiskanen T, Olkkola KT, Kalso E. Effects of blocking CYP2D6 on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oxycodone. *Clin Pharmacol Ther.* 1998; 64: 603-11.

182. Foster A, Mobley E, Wang Z. Complicated pain management in a CYP450 2D6 poor metabolizer. *Pain Pract.* 2007; 7: 352-6.

183. Susce MT, Murray-Carmichael E, de Leon J. Response to hydrocodone, codeine and oxycodone in a CYP2D6 poor metabolizer. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006; 30: 1356-1358.

## **Chapitre II. Hypothèse et objectifs**

### **1. Hypothèse**

L'oxycodone est un analgésique narcotique largement prescrit en clinique. Des études pharmacogénomique ont démontré que 10% des patients démontraient une résistance aux effets analgésiques de la codéine en raison d'une déficience de l'isoenzyme CYP2D6. Les patients présentant des polymorphismes génétiques et une absence fonctionnelle d'activité du CYP2D6 présentent une absence d'efficacité analgésique par la codéine. Le mécanisme d'action de l'oxycodone étant similaire à celui de la codéine, il est possible que ces individus n'aient aucun soulagement de la douleur suite à l'administration de l'oxycodone.

### **2. Objectifs de l'étude**

L'objectif du projet de recherche est d'évaluer le rôle du CYP2D6 dans l'analgésie produite par l'oxycodone.

L'impact des travaux proposés est d'améliorer la réponse aux traitements par l'oxycodone en assurant son efficacité tout en réduisant les risques d'échec au traitement. Non seulement les patients présentant des déficiences génétiques en CYP2D6 peuvent voir leur efficacité modulée, des interactions médicamenteuses peuvent survenir chez des patients recevant un traitement combiné avec des médicaments présentant une haute affinité pour le CYP2D6 comme des anti-dépresseurs (fluoxétine, paroxétine), des beta-bloquants (propranolol et métoprolol) ou des antihistamines. Par ailleurs, l'oxycodone est souvent utilisée en combinaison avec de l'acétaminophène au Canada. Par conséquent, les individus dont l'activité de CYP2D6 est déficiente obtiendraient la contribution analgésique de l'acétaminophène seulement. Cette association a probablement contribué à sous-estimer l'effet du CYP2D6 dans l'effet analgésique

de l'oxycodone comparativement à l'oxymorphone. Il est donc intéressant d'évaluer la relation entre l'efficacité analgésique et l'impact de facteurs environnementaux et génétiques sur le métabolisme de l'oxycodone en oxymorphone.

# **Role of CYP2D6 in the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Oxycodone in Healthy Volunteers**

Sirhan-Daneau A<sup>1,2</sup>, Michaud V<sup>1,2</sup>, Lafrenchi P<sup>3</sup>, Chauny JM<sup>3,4</sup>, St-Onge M<sup>1</sup>, Gaudette F<sup>2</sup>,  
Lavigne G<sup>3,5</sup> and Turgeon J<sup>1,2</sup>

Key Words: Oxycodone, oxymorphone, CYP2D6, polymorphism

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

<sup>2</sup>CRCHUM, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, QC, Canada

<sup>3</sup>Research Center, Hôpital Sacré-Cœur, Montréal, QC, Canada

<sup>4</sup>Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

<sup>5</sup>Faculty of Dentistry, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

Corresponding author  
Jacques Turgeon, B.Pharm, PhD

CRCHUM, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal

Hôtel-Dieu, Masson Pavilion

3850, Saint-Urbain Street, room 8-107

Montréal, Quebec, Canada, H2W 1T7

Tel : 514-890-8044 Fax : 514-412-7186



Acknowledgment :

September 29, 2010



## **Abstract**

Drug metabolism studies have demonstrated that oxycodone is partially transformed by CYP2D6 into oxymorphone, a more active metabolite. Indeed, oxycodone affinity for opioid receptors is 10 to 40 times lower than that of morphine while oxymorphone has a 10-fold greater analgesic potency and a 3 to 5 times stronger affinity than morphine for the  $\mu$  receptor. Hence, we hypothesized that variability observed in analgesic effects of oxycodone could be explained by inter-subject variability in the CYP2D6-mediated metabolic clearance of the drug. Twelve healthy volunteers received a single oral dose of oxycodone (15 mg) on two occasions: once alone and once during co-treatment with quinidine 60 mg. Serial measurements of pain threshold were taken and plasma and urine samples were collected between 0-24 hours. In 11 out of 12 volunteers there was a decrease in the partial metabolic clearance of oxycodone to oxymorphone with the co-administration of quinidine. Plasma levels of oxycodone and noroxycodone increased with quinidine pretreatment while plasma levels of oxymorphone decreased by 50%. However, no difference in the analgesic effects could be demonstrated during the coadministration of oxycodone and quinidine. Even though these data demonstrated a pharmacokinetic interaction between oxycodone and quinidine, a relationship between CYP2D6 phenotype and oxycodone-mediated analgesic effects could not be confirmed.

## Introduction

Oxycodone is an opioid drug largely prescribed for the treatment of moderate to severe pain that has been used for clinical purpose since 1915.<sup>1</sup> Oxycodone is extensively metabolized with only 10% of the dose being excreted unchanged in urine.<sup>2</sup> Major metabolic pathways of oxycodone include O- and N-demethylation catalyzed by CYP2D6 and CYP3A4, respectively, and conjugation with glucuronic acid.<sup>3</sup> Noroxycodone is the major metabolite formed by CYP3A4, which represents the largest metabolic pathway of oxycodone. However, noroxycodone shows only a minimal decrease in antinociceptive activity compared to oxycodone when administered to rats,<sup>4</sup> denying a contribution to oxycodone analgesic effects.<sup>5</sup> The metabolite oxymorphone is formed by O-demethylation of oxycodone via CYP2D6, which represents only about 10% of the total metabolism of oxycodone.<sup>6</sup> Although its role in the analgesic effect of oxycodone is unclear, it is known that oxymorphone has a strong opioid  $\mu$ -receptors affinity: it is 10 to 40 times higher than oxycodone and 3 to 5 times higher than morphine.<sup>7,8</sup> This bioconversion process is very similar to the one of codeine, which O-demethylation leads to morphine formation via CYP2D6. That led Otton *et al.* to suggest that the CYP2D6-dependent conversion of oxycodone to oxymorphone may be responsible for the analgesic effects of oxycodone, as it is the case for codeine and hydrocodone.<sup>9</sup>

Several studies support the hypothesis that CYP2D6 genetic polymorphisms explain inter-subject variability in the analgesic response to oxycodone.<sup>10,11,12</sup> For instance, Otton *et al.* showed that *in vitro* formation of oxymorphone is inhibited by quinidine and fluoxetine in EMs (extensive metabolizers), while the small amount excreted by PMs (poor metabolizers) could only be inhibited by fluoxetine, not quinidine. This indicates that while quinidine inhibits the CYP2D6 pathway, fluoxetine inhibits the non-CYP2D6 pathways of oxymorphone formation.<sup>9</sup> Also,

studies have shown that blood levels of oxymorphone decreased following administration of a CYP2D6 inhibitor such as quinidine or fluoxetine, making extensive metabolizers experience poor metabolizer phenotypes.<sup>12,13,14</sup> Many different conclusions occur with the measurements of pharmacodynamics effects of oxycodone. Samer *et al.* showed that pain tolerance following administration of oxycodone is lower in PMs than EMs taking quinidine. They also showed that oxymorphone is the only predictor of the subjective pain threshold after pharmacodynamic measurements like electrical stimulation, sedation and oxygen saturation.<sup>12</sup> Zwisler *et al.* used 5 different tests to measure pain thresholds, finding that in 3 of them, PMs experienced lower analgesic effects than EMs.<sup>10</sup>

As previously mentioned, metabolism of oxycodone via CYP2D6 pathway is very similar to the one of codeine.<sup>15</sup> Sindrup *et al.* study with PMs and EMs proved that analgesic effects of codeine could only be achieved via morphine formation.<sup>16</sup> They also showed that pretreatment with quinidine blocks formation of morphine after administration with codeine, but they failed to demonstrate that the analgesic effect associated with morphine formation was thereby repealed.<sup>17,18</sup>

The aim of our studies was to assess the relationship between CYP2D6 activity and the level of analgesia produced by oxycodone. The study was a randomized, double-blind crossover comparison of the effects of quinidine and placebo on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of a single dose of oxycodone. Analgesic perception was monitored in the two arms of the study to evaluate the implication of a change in CYP2D6 phenotype in the overall analgesia provided by oxycodone.

## **Methods**

### *Reagent*

Oxycodone, noroxycodone, oxymorphone,  $^2\text{H}_3$ -oxycodone,  $^2\text{H}_3$ -noroxycodone,  $^2\text{H}_3$ -oxymorphone,  $^2\text{H}_3$ -dextrorphan and  $^2\text{H}_3$ -dextromethorphan were purchased from Cerilliant (Round Rock, TX, USA) and received in vials containing 1.0 or 0.1 mg/mL dissolved in methanol. Drug free human plasma containing EDTA as anticoagulant was purchased from Bioreclamation (Westbury, NY, USA). Ammonium acetate and sodium hydroxide were purchased from J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA). Ethanol was purchased from Commercial Alcohols (Brampton, ON, Canada). Other chemicals, including methanol, sodium hydroxide, ethyl acetate and  $\beta$ -glucuronidase (G8295-500KU, lot 066K8709) were purchased from Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, USA).

### *Subjects*

Twelve healthy male subjects participated in the study. All subjects were non-smokers and had normal physical examination, including baseline electrocardiographic tracings, blood chemical hematologic and urine analysis. Exclusion criteria were history of cardiovascular disease (blood pressure, arrhythmia, myocardial infarct, chest pain), respiratory disease (asthma, COPD), gastrointestinal disease (ulcers, gastro-oesophageal reflux), smoking habit, medication use (prescribed drug and natural products) and abnormal weight (body mass index under 18 or over 30). The study was approved by the Hôpital Sacré-Coeur de Montréal Ethical Review Board committee and written informed consent was obtained from each subject.

### *Determination of phenotype*

To determine the CYP2D6 phenotype, an 8-hour urine collect following a single administration of dextromethorphan 60 mg (Balminil DM®, Rougier Inc., Montreal, Canada) was analyzed and a metabolic ratio (MR) was calculated as follows:

$$\text{Metabolic ratio} = \frac{\text{8-hour excretion of dextromethorphan}}{\text{8-hour excretion of dextrorphan}}$$

Subjects with a metabolic ratio less than 0.3 were considered to be EMs, and those with a ratio greater than 0.3 were considered to be PMs. Urine samples were diluted with ammonium acetate and incubated for 8 hours with  $\beta$ -glucuronidase (type H-2 from *Helix pomatia*, Sigma, G0876). The analysis was performed by high performance liquid chromatography with heated assisted electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-HESI-MS/MS). The separation was achieved using gradient elution with a mobile phase consisting of methanol and formic acid on a 150 x 2 mm Luna phenyl hexyl column at a flow rate of 250  $\mu$ L/min. The mass spectrometer was interfaced with the HPLC system using a pneumatic assisted heated electrospray ion source. MS detection was performed in positive ion mode, using selected reaction monitoring (SRM). The SRM transition selected for the analytes were set at 258.0  $\rightarrow$  157.1 and 272.2  $\rightarrow$  215.2 for dextrorphan and dextromethorphan, respectively. The SRM transition selected for the internal standards were set at 261.2  $\rightarrow$  157.1 for  $^2\text{H}_3$ -dextrorphan and 275.2  $\rightarrow$  215.2 for  $^2\text{H}_3$ -dextromethorphan. All subjects showed an extensive metabolizer phenotype profile. All phenotypes were determined after completing the study at a time when no other drug was administered.

### *Determination of genotype*

The CYP2D6 genotype was determined in all subjects by using the polymerase chain reaction technique. The DNA was analyzed to determine the presence of *CYP2D6\*3*, *CYP2D6\*4*, *CYP2D6\*6*, *CYP2D6\*7* and *CYP2D6\*8* mutant alleles. Subjects were classified as PMs if they had two non-functional alleles and as EMs if they had at least one functional allele. *CYP2D6\*1* stands for the wild type. All subjects showed an EM genotype profile.

### *Study design*

Twelve healthy volunteers received a single oral dose of oxycodone on two occasions: once alone (15 mg) and once during a co-treatment with quinidine (100 mg), a potent inhibitor of CYP2D6. The two study phases were performed 15 days apart in a randomized sequence. The subjects were asked to refrain from smoking and consuming drugs, alcohol, apple juice, chocolate or caffeine-containing products 48 hours before and during the study sessions. Consuming grapefruit juice was forbidden 7 days before and during the study.

Subjects arrived fasted at the research center the morning of the dosing day. An intravenous catheter and ECG electrodes were put in place. A dose of quinidine 100 mg or matching placebo was administered orally 2 hours before the administration of oxycodone 15 mg with 100 ml of water. A second and third dose of 100 mg quinidine or matching placebo was administered 6 and 12 hours after administration of oxycodone to maintain inhibition. No liquid or food intake was permitted until standard meals were served 4 and 7 hours after administration of oxycodone.

Blood samples of 7.5 ml each were taken before dosing and at 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, and 24 hours after oxycodone administration. Blood samples were drawn into EDTA (Vacutainer Becton

Dickinson) tubes and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes at 4°C. The plasma was then transferred into polypropylene tubes and frozen at -20°C until analysis.

Serial measurements of the perception of cold and pain threshold sensitivity were performed in the two arms of the study by use of a thermode placed on the triceps which is a highly innervated area sensitive to temperature fluctuations. Pharmacodynamic measurements of pain threshold were performed before oxycodone administration and at 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8 and 24 hours after dosing. The analgesic effect was evaluated by determining the pain threshold following thermal stimulation on the inner arm. All baselines were determined two times and the mean value was used in the data analysis.

ECG measurements were taken at 0, 2 and 4 hours following administration of oxycodone. Serial urine samples were collected between 0-24 hours to characterize the excretion of oxycodone, oxymorphone and noroxycodone. Urine volume and pH were determined before freezing a urine sample at -20°C until analysis.

The subjects remained at the research center for 24 hours after oxycodone administration.

#### *Plasma concentrations of oxycodone and its metabolites*

Deuterated internal standards were used as internal standards in the procedures used for plasma extraction of oxycodone, oxymorphone and noroxycodone. Plasma samples were combined with NaOH 0.1M and ethyl acetate and then shaken for 20 minutes and centrifuged 1500g for 10 minutes. The organic phase was collected and evaporated to dryness with a nitrogen jet. Samples were reconstituted with 100µl. Analysis was performed by high performance liquid chromatography with HPLC-HESI-MS/MS. The separation was achieved using gradient elution with a mobile phase consisting of ethanol and 10 mM ammonium acetate on a 150 x 2 mm

Synergi MAX-RP analytical column equipped with a C12 4 x 2 mm security guard cartridge at a flow rate of 0.30 mL/min. The mass spectrometer was interfaced with the HPLC system using a pneumatic assisted heated electrospray ion source. MS detection was performed in positive ion mode, using SRM. The SRM transition selected for the analytes were set at 316 → 241, 302 → 227 and 302 → 187 for oxycodone, noroxycodone and oxymorphone, respectively. The SRM transition selected for the internal standards were set at 319 → 244 for <sup>2</sup>H<sub>3</sub>-oxycodone and 305 → 230 for both <sup>2</sup>H<sub>3</sub>-noroxycodone and <sup>2</sup>H<sub>3</sub>-oxymorphone.

#### *Urine concentrations of oxycodone and its metabolites*

Urinary samples were incubated with β-glucuronidase (type H-2 from *Helix pomatia*, Sigma, G0876) diluted in ammonium acetate pH 5 buffer at 37°C for 8 hours. After cooling, urines samples were then combined with deuterated internal standard. Samples were shaken and put at 5°C for 5 min. A centrifugation 13000 rpm for 5 minutes was performed before injection. Analysis was performed by high performance liquid chromatography with HPLC-HESI-MS/MS. The separation was achieved using gradient elution with a mobile phase consisting of ethanol and 10 mM ammonium acetate on a 150 x 2 mm Luna phenyl hexyl column at a flow rate of 0.30 mL/min. The mass spectrometer was interfaced with the HPLC system using a pneumatic assisted heated electrospray ion source. MS detection was performed in positive ion mode, using SRM. The SRM transition selected for the analytes were the same as described for plasma analyses.

#### *Pharmacokinetic analysis*

The AUC for oxycodone and its metabolites were determined by the linear log-linear trapezoid method. Renal clearance (CL<sub>R</sub>) was calculated as the ratio of the amount of unchanged oxycodone (Ae<sub>0-24</sub>) excreted over 24 hours to the AUC of oxycodone over the same time interval



(AUC<sub>0-24</sub>). Renal clearance (CL<sub>R</sub>) of metabolites was calculated as the ratio of the amount of oxymorphone or noroxycodone (Ae<sub>0-24</sub>) excreted over 24 hours to the AUC of oxycodone over the same time interval (AUC<sub>0-24</sub>). CL/F of oxycodone was calculated as the ratio of the dose administered to the AUC of oxycodone (AUC<sub>0-∞</sub>). The partial metabolic clearance to a specific metabolic pathway (CL<sub>met</sub>) was calculated as:

$$CL_{met} = Ae_{met} / AUC_{oxy}$$

where Ae<sub>met</sub> is the amount of conjugated + unconjugated metabolite(s) formed by that pathway and excreted in urine over 24 hours and AUC<sub>oxy</sub> is the area under the concentration vs time curve for oxycodone during the same time interval. For these calculations, amounts of metabolites and parent compound were expressed in molar units.

#### *Pharmacodynamic analysis*

Cold and pain threshold were quantified by estimating AUCs of effect vs time using the linear trapezoidal method for intervals 0-4 hours, 0-6 hours, 0-8 hours and 0-12 hours.<sup>19</sup> Calculations were performed for the means of all of the 5 repeated measures.

#### *Statistical analysis*

The Wilcoxon signed-rank test was used for all statistical comparisons.

## Results

### *Genotype/Phenotype*

Genotype and phenotype results of subjects included in this study are reported in Table I. Genotype performed on extracted DNA showed that all volunteers were EMs for CYP2D6, with all subjects having at least one functional allele. The genotype \*1/\*4 was the most frequent allele combination in the twelve healthy volunteers. All volunteers showed also an EM phenotype profile with a metabolic ratios of DM/DX ranging from 0.005 to 0.161.

### *Pharmacokinetic analysis*

Oxycodone, oxymorphone and noroxycodone plasma concentrations obtained after the oral administration of oxycodone with and without the concomitant administration of quinidine in healthy subjects are reported in Figure I. It can readily be seen that oxymorphone plasma concentrations were decreased by 50% with quinidine pre-treatment ( $p < 0.05$ ). Mean plasma concentrations of oxycodone and noroxycodone were slightly increased after concomitant administration of quinidine ( $p < 0.05$ ). The clearance (CL/F) of oxycodone decreased from  $1405.3 \pm 394.5$  mL/min to  $1167 \pm 285.2$  mL/min during quinidine co-treatment (Table 2;  $p < 0.05$ ).

Urinary excretion of oxycodone represented  $5.7 \pm 2.0\%$  of the dose after placebo which slightly increased to  $6.5 \pm 2.3\%$  after quinidine (Table 2;  $p < 0.05$ ). On the other hand, the renal clearance of oxycodone remained unchanged at  $74.5 \pm 26.0$  mL/min and  $71.0 \pm 25.0$  mL/min with placebo or quinidine, respectively ( $p > 0.05$ ). Urinary excretion of noroxycodone increased from  $21.2 \pm 4.1\%$  after placebo to  $27.1 \pm 4.3\%$  after quinidine ( $p < 0.05$ ). On the other hand, renal clearance of noroxycodone remained unchanged at  $221.1 \pm 42.98$  (placebo) and  $197.1 \pm 42.28$  (quinidine) under each co-treatment ( $p > 0.05$ ). The partial metabolic clearance of oxycodone to noroxycodone was also unchanged by quinidine co-treatment ( $191.1 \pm 37.2$  mL/min vs  $205.3 \pm 44.0$  mL/min,  $p > 0.05$ ).

Urinary excretion of oxymorphone was  $5.4\pm 2.2\%$  after placebo but decreased to  $2.5\pm 1.4\%$  after quinidine ( $p<0.05$ ). This decrease in the urinary excretion of oxymorphone was not due to a change in renal clearance of the metabolite ( $75.7\pm 33.7$  mL/min vs  $83.8\pm 41.6$  mL/min, placebo vs quinidine, respectively,  $p>0.05$ ) but rather to a 50% decrease in the partial metabolic clearance of oxycodone to oxymorphone during co-treatment with quinidine ( $1.29\pm 0.579$  mL/min vs  $0.627\pm 0.311$  mL/min,  $p<0.05$ )

#### *Pharmacodynamics measurements*

The AUCs (0-4, 0-6, 0-8, 0-12) of pain thresholds are displayed in Table 3 and Figure 2. Data are not reported for subjects 1 and 2 due to a change in the pain threshold measurement protocol. The subject showing the largest difference of analgesia is represented by DMAX.

It can readily be seen that AUCs(0-12) were decreased by 50% with quinidine pre-treatment compared to placebo. Mean pain threshold AUC(0-4) was  $133.6\pm 306.3$  after placebo but decreased to  $118.2\pm 176.4$  after quinidine (DMAX=-629.7); mean pain threshold AUC(0-6) was  $199.8\pm 422.0$  after placebo but decreased to  $152.0\pm 252.9$  after quinidine (DMAX=713.1); mean pain threshold AUC(0-8) was  $267.6\pm 560.9$  after placebo but decreased to  $175.4\pm 373.4$  after quinidine (DMAX=-967.8) and mean pain threshold AUC(0-12) was  $456.2\pm 946.2$  after placebo but decreased to  $207.1\pm 609.2$  after quinidine (DMAX=1563).

The AUCs (0-4, 0-6, 0-8, 0-12) of cold detection are displayed in Table 4. Data are not reported for subjects 1, 2, 3 and 4 due to a change in the pain threshold measurement protocol.

No significant difference was observed between the two treatments. Mean cold detection AUC(0-4) was  $6673.1\pm 201.0$  after placebo and  $6580.1\pm 671.5$  after quinidine (DMAX=-93.0); mean cold

detection AUC(0-6) was  $10048.5 \pm 274.1$  and  $9890.2 \pm 735.7$  after quinidine (D<sub>MAX</sub>=-158.3); mean cold detection AUC(0-8) was  $13313.0 \pm 562.7$  after placebo and  $13209.7 \pm 854.4$  after quinidine (D<sub>MAX</sub>=-103.3) and mean cold detection AUC(0-12) was  $19797.8 \pm 1200.7$  after placebo and  $19898.5 \pm 1084.7$  after quinidine (D<sub>MAX</sub>=100.7).

## Discussion

This study demonstrated a decrease in the formation of oxymorphone following the administration to healthy volunteers of the potent CYP2D6 inhibitor quinidine. This confirms the role of CYP2D6 in the formation of this metabolite. However, no difference in the analgesic effects as determined by a pain threshold using a thermal cathode was observed during the coadministration of oxycodone and quinidine.

Mean oxycodone plasma concentrations and urinary excretion increased only slightly during co-treatment with quinidine. This suggests that CYP2D6-dependent metabolic pathways represent minor metabolic routes in the overall clearance of oxycodone. Nevertheless, mean plasma concentrations of oxymorphone, the oxycodone to oxymorphone partial metabolic clearance and the amount of oxymorphone excreted in urine were all decreased when subjects were pre-treated with quinidine. This, on the other hand, confirms the role of CYP2D6 in the clearance of oxycodone. Although previous studies showed that quinidine inhibits almost completely the CYP2D6-mediated metabolism of other substrates in Ems,<sup>3,20,21</sup> our results indicates that it blocks only half of the transformation of oxycodone to oxymorphone. As expected, mean noroxycodone plasma concentrations and noroxycodone excretion slightly increased during treatment with quinidine. These results suggest a compensation of CYP2D6 malfunction by N-demethylation via CYP3A4.

Results from studies conducted by Samer *et al.* agree with our pharmacokinetics results. Quinidine was also used as a CYP2D6 inhibitor, showing a decrease of 40% in oxymorphone  $C_{max}$ .<sup>12,22</sup> An *in vitro* study conducted by Otton *et al.* suggests that conversion of oxycodone to oxymorphone is partly due to a CYP450 isoenzyme other than CYP2D6. Furthermore, they suggest that CYP2D6 inhibition is partly based on the non-selective properties of the drug

fluoxetine, meaning it could block this hypothetical other metabolic pathway.<sup>9</sup> They also report that another strong CYP2D6 inhibitor, fluoxetine, can block oxymorphone formation when co-administered with oxycodone.<sup>9</sup> Again, in this study, significant amounts of oxymorphone were detected after fluoxetine administration.

We could not demonstrate a difference in pain threshold response to oxycodone while the CYP2D6 phenotype of our subjects was modulated by the co-administration of quinidine. As shown in Figure 3, analgesic effects were similar between quinidine/placebo treatments. A study comparing analgesic effects of oxycodone in PM and EM using five different pain tests, found that genetically determined PMs showed a decreased analgesic response in three of these tests.<sup>12</sup> Another study from Samer *et al.* used different pain tests such as cold pressor test, electrical stimulation, thermode, pupil size and psychomotor effects to measure the effect of quinidine on the pharmacodynamics of oxycodone. While there were no differences between quinidine and placebo after electrical stimulation and sedation measurements, the cold pressor test assessed that pain thresholds were 1.5-fold higher after quinidine than placebo and the pupil size AUC was 1.2-fold lower after quinidine than placebo.<sup>12</sup> The same study showed that administration of a quinidine pretreatment did not completely abolish all pharmacodynamics effects of oxycodone in EMs comparatively in PMs, accordingly to the cold pressor test and pupil size. First, these results may suggest that not all pain models are as sensitive to detect opioid analgesia. More importantly, these results also indicate that CYP2D6 inhibition in EMs may not be comparable to the PMs genotype.

The hypothesis that quinidine/fluoxetine poorly penetrates the blood-brain barrier in humans and thus may not inhibit a local metabolism via CYP2D6 in the brain could explain the inconsistency between oxymorphone plasma concentrations and analgesic effects.<sup>19</sup> Therefore, the use of

quinidine could not totally abolish oxymorphone formation and oxymorphone plasma concentrations might not mirror brain concentrations.<sup>10</sup> Another hypothesis as why quinidine may not block properly oxymorphone formation is it might increase oxycodone accumulation into the CNS, by inhibiting the multidrug transporter ABCB1.<sup>12</sup> Finally, an animal experiment suggested that quinidine could have a hypoalgesic effect of its own, resulting of its inhibition of the release of E-type prostaglandins.<sup>23</sup> It appears that a difference exists between a PM phenotype and a PM genotype.

Since the major metabolite of a drug has frequently an intrinsic pharmacological activity, the possibility that noroxycodone possess some analgesic effects has been proposed to explain the lack of association between oxymorphone and pharmacodynamics effects of oxycodone.<sup>24</sup> As known, potency at the  $\mu$  receptor is critical for a metabolite to contribute to the *in vivo* opioid activity.<sup>2</sup> Although noroxycodone is the predominant metabolites of oxycodone, its affinity for  $\mu$ -opiate receptors is very weak.<sup>25</sup> Plus, an animal experiment shows that the antinociceptive activity of noroxycodone is very poor and unlikely contributes to the analgesic activity of oxycodone when administered to humans.<sup>25</sup>

Noroxymorphone is a metabolite formed by the CYP2D6 O-demethylation of noroxycodone, itself a metabolite of oxycodone via CYP3A4 N-demethylation.<sup>5</sup> Speculation about his opioid activity led Lalovic *et al.* to measure its affinity for a cloned human  $\mu$ -opioid peptide receptor, which was 3-fold higher than oxycodone and 10-fold higher than noroxycodone.<sup>5</sup> A similar study in rat brain homogenates also showed that noroxymorphone has a 2-fold higher binding affinity for  $\mu$ -opioid than oxycodone.<sup>24</sup> Kalso *et al.*<sup>25</sup> then made a PK-PD modeling showing no relation between noroxymorphone and oxycodone pharmacodynamics. Indeed, they showed that side

effects such as duration of pupil constriction were linked with plasma concentration of oxycodone rather than plasma of metabolites, refuted the hypothesis that noroxymorphone may be relevant to the analgesic effects of oxycodone.<sup>2</sup>

## **Conclusion**

In conclusion, quinidine did not block completely oxymorphone formation. A decrease in CYP2D6 activity is likely to cause minimal changes in the pharmacokinetics of oxycodone in plasma but appears relevant for the formation of the active metabolite oxymorphone. Inhibition of CYP2D6 via quinidine in EMs may not reflect the pharmacodynamic situation of PMs, even if the pharmacokinetic parameters are similar. Since we were unable to demonstrate a change in analgesic effect, even though plasma levels of oxymorphone were decreased, we could not attribute oxycodone analgesia to oxymorphone formation. However, CYP2D6 may not be the only way to oxymorphone formation, since CYP2D6 did not successfully block it entirely.



## **Reference list**

1. Kaiko R, Benziger D, Fitzmartin D, Burke B, Reder R, Goldenheim P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of controlled-release oxycodone. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 1996; 59: 52–61.
2. Lalovic B, Kharasch E, Hoffer C, Risler L, Liu-Chen LY, Shen D. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral oxycodone in healthy human subjects: Role of circulating active metabolites. *Clinical pharmacology & therapeutics* 2006; 79: 461-79.
3. Heiskanen T, Olkkola K, Kalso E. Effect of blocking CYP2D6 on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oxycodone. *Clinical pharmacology & therapeutics* 1998; 64: 603-611.
4. Leow KP, Smith MT. The antinociceptive potencies of oxycodone, noroxycodone and morphine after intracerebroventricular administration to rats. *Life Sci.* 1994; 54: 1229-36.
5. Lalovic B, Phillips B, Risler L, Howald W, Shen D. Quantitative contribution of CYP2D6 and CYP3A to oxycodone metabolism in human liver and intestinal microsomes. *Drug metabolism & disposition* 2004; 32: 447-54
6. Rasmussen, I. Identification of Cytochrome P450 Isoforms Involved in the Metabolism of Oxycodone Master of Science Thesis, University of Adelaide, Adelaide. pp 141 (2000).

7. Beaver WT, Wallenstein SL, Rogers A, Houde RW. Analgesic studies of codeine and oxycodone in patients with cancer. I. Comparisons of oral with intramuscular codeine and of oral with intramuscular oxycodone. *J Pharmacol Exp Ther.* 1978; 207: 92-100.
  
8. Metzger TG, Paterlini MG, Ferguson DM, Portoghese PS. Investigation of the selectivity of oxymorphone- and naltrexone-derived ligands via site-directed mutagenesis of opioid receptors: exploring the "address" recognition locus. *J Med Chem.* 2001; 44: 857-62.
  
9. Otton SV, Wu D, Joffe RT, Cheung SW, Sellers EM. Inhibition by fluoxetine of cytochrome P450 2D6 activity. *Clin Pharmacol Ther.* 1993; 53: 401-9.
  
10. Zwisler ST, Enggaard TP, Noehr-Jensen L, Pedersen RS, Mikkelsen S, Nielsen F, Brosen K, Sindrup SH. The hypoalgesic effect of oxycodone in human experimental pain models in relation to the CYP2D6 oxidation polymorphism. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2009; 104: 335-44.
  
11. Jannetto PJ, Bratanow NC. Utilization of pharmacogenomics and therapeutic drug monitoring for opioid pain management. *Pharmacogenomics.* 2009; 10: 1157-67.
  
12. Samer CF, Daali Y, Wagner M, Hopfgartner G, Eap CB, Rebsamen MC, Rossier MF, Hochstrasser D, Dayer P, Desmeules JA. Genetic polymorphisms and drug interactions modulating CYP2D6 and CYP3A activities have a major effect on oxycodone analgesic efficacy and safety. *Br J Pharmacol.* 2010; 160: 919-30.

13. [Brøsen K](#), [Gram LF](#), [Haghfelt T](#), [Bertilsson L](#). Extensive metabolizers of debrisoquine become poor metabolizers during quinidine treatment. [Pharmacol Toxicol](#). 1987; 60: 312-4.
14. Heiskanen T, Olkkola KT, Kalso E. Effects of blocking CYP2D6 on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oxycodone. *Clin Pharmacol Ther*. 1998; 64: 603-11.
15. Chen ZR, Somogyi AA, Bochner F. Polymorphic O-demethylation of codeine. *Lancet*. 1988; 2: 914-5.
16. Sindrup SH, Brosen K, Bjerring P, Arendt-Nielsen L, Larsen U, Angelo HR, Gram LF. Codeine increases pain thresholds to copper vapor laser stimuli in extensive but not poor metabolizers of sparteine. *Clin Pharmacol Ther*. 1990; 48: 686-93.
17. [Sindrup SH](#), [Arendt-Nielsen L](#), [Brøsen K](#), [Bjerring P](#), [Angelo HR](#), [Eriksen B](#), [Gram LF](#). The effect of quinidine on the analgesic effect of codeine. [Eur J Clin Pharmacol](#). 1992; 42: 587-91.
18. Sindrup SH, Hofmann U, Asmussen J, Mikus G, Brosen K, Nielsen F, Ingwersen SH, Brosen Christensen C. Impact of quinidine on plasma and cerebrospinal fluid concentrations of codeine and morphine after codeine intake. *Eur J Clin Pharmacol*. 1996; 49: 503-9.

19. Chiou WL. Critical evaluation of the potential error in pharmacokinetic studies of using the linear trapezoidal rule method for the calculation of the area under the plasma level--time curve. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1978; 6: 539-46.
20. Otton SV, Schadel M, Cheung SW, Kaplan HL, Busto UE, Sellers EM. CYP2D6 phenotype determines the metabolic conversion of hydrocodone to hydromorphone. *Clin Pharmacol Ther.* 1993; 54: 463-72.
21. Capon DA, Bochner F, Kerry N, Mikus G, Danz C, Somogyi AA. The influence of CYP2D6 polymorphism and quinidine on the disposition and antitussive effect of dextromethorphan in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1996; 60: 295-307.
22. Samer CF, Daali Y, Wagner M, Hopfgartner G, Eap CB, Rebsamen MC, Rossier MF, Hochstrasser D, Dayer P, Desmeules JA. The effects of CYP2D6 and CYP3A activities on the pharmacokinetics of immediate release oxycodone. *Br J Pharmacol.* 2010; 160: 907-18.
23. Juan H. Inhibition of the analgesic effect of bradykinin and acetylcholine by mepacrine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1977; 301: 23-7.
24. Chen ZR, Irvine RJ, Somogyi AA, Bochner F. Mu receptor binding of some commonly used opioids and their metabolites. *Life Sci* 1991; 48: 2165-71.
25. Leow KP, Smith MT. The antinociceptive potencies of oxycodone, noroxycodone and

morphine after intracerebroventricular administration to rats. *Life Sci.* 1994; 54: 1229-36.

25. Lemberg KK, Siiskonen AO, Kontinen VK, Yli-Kauhaluoma JT, Kalso EA. Pharmacological characterization of noroxymorphone as a new opioid for spinal analgesia. *Anesth Analg.* 2008;106:463-70.

## **Figure legend**

**Figure 1. Mean plasma concentrations of oxycodone, noroxycodone and oxymorphone during placebo (open squares) or quinidine (closed squares) treatment phases.**

**Figure 2. Pain treshold (heat) measured in 10 out of 12 subjects following the administration of oxycodone combined with placebo or quinidine.**

**Figure 3. Pharmacokinetic and pharmacodynamic relation of oxycodone, oxymorphone and noroxycodone vs treatment.**

**Table 1: CYP2D6 genotype and phenotype profile of healthy volunteers recruited.**

<b>Subjects</b>	<b>Age</b>	<b>Phenotype (DM/DX)</b>	<b>Genotype (Wt/Variant)</b>
1	21	0,013	*1/*4
2	29	0,011	*1/*3
3	22	0,005	*1/*4
4	24	0,003	*1/*4
5	27	0,151	*1/*4
6	23	0,002	*1/*1
7	21	0,005	*1/*1
8	22	0,026	*1/*4
9	26	0,007	*1/*1
10	23	0,002	*1/*1
11	20	0,161	*1/*3
12	26	0,088	*1/*4

**Table 2. Pharmacokinetic of subjects.**

Subjects		Placebo		Quinidine	
		x	SD	x	SD
Oxycodone	AUC <sub>0-∞</sub>	192	57	227	60
	Ae (mg)	0.9	0.30	0.97	0.34
	CL/F (ml/min)	1405	395	1167	285
	CLren (ml/min)	75	26	71	25
Oxymorphone	AUC <sub>0-24</sub>	3.3	1.09	1.7	0.783
	Ae (mg)	0.015	0.007	0.009	0.004
	CLpart <sub>MET</sub> (ml/min)	1.29	0.58	0.63	0.31
	CLren (ml/min)	76	34	83.8	41.6
Noroxycodone	AUC <sub>0-24</sub>	167	31.5	237.0	26.8
	Ae (mg)	2.209	0.429	2.798	0.6
	CLpart <sub>MET</sub> (ml/min)	191.5	37.2	205.3	44.0
	CLren (ml/min)	221.1	42.98	197.1	42.28



**Table 3      Pharmacodynamics measurements of pain threshold (heat) in 10 out of 12 subjects recruited in this study following the administration of oxycodone (15 mg) with placebo or quinidine.**

<b>Subjects</b>		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
	<b>AUC<sub>0-4h</sub></b>	/	/	81.54	738.105	-352.5	60.3	-31.8	480.8	-38.9	-29.7	378.0	50.5
<b>Oxycodone</b>	<b>AUC<sub>0-6h</sub></b>	/	/	124.9	1104.6	-240.0	15.1	-49.3	657.6	-166.7	17.5	552.8	-18.0
<b>+ placebo</b>	<b>AUC<sub>0-8h</sub></b>	/	/	99.1	1479.7	-199.2	-56.8	26.6	877.1	-284.0	102.3	733.8	-102.2
	<b>AUC<sub>0-12h</sub></b>	/	/	-10.9	2528.7	-18.7	-225.0	144.9	1381.8	-469.2	370.4	1020.0	-160.1
	<b>AUC<sub>0-4h</sub></b>	/	/	28.6	464.4	277.3	73.5	62.5	-31.5	-37.9	-35.2	376.5	3.42
<b>Oxycodone</b>	<b>AUC<sub>0-6h</sub></b>	/	/	-21.8	564.6	501.2	89.4	68.8	-55.5	-75.0	-64.7	496.5	16.86
<b>+ quinidine</b>	<b>AUC<sub>0-8h</sub></b>	/	/	-63.2	732.8	768.6	73.1	39.4	-73.5	-137.9	-125.8	568.5	-27.78
	<b>AUC<sub>0-12h</sub></b>	/	/	-94.7	1279.5	1045.5	88.7	-2.8	-181.5	-243.0	-230.9	652.5	-241.5
	<b>Δmax</b>	/	/	146.7	1249.2	-1064.3	-313.7	147.7	1563.3	-226.2	601.3	367.6	81.8

Figure 1A. Mean plasma concentrations of oxycodone.

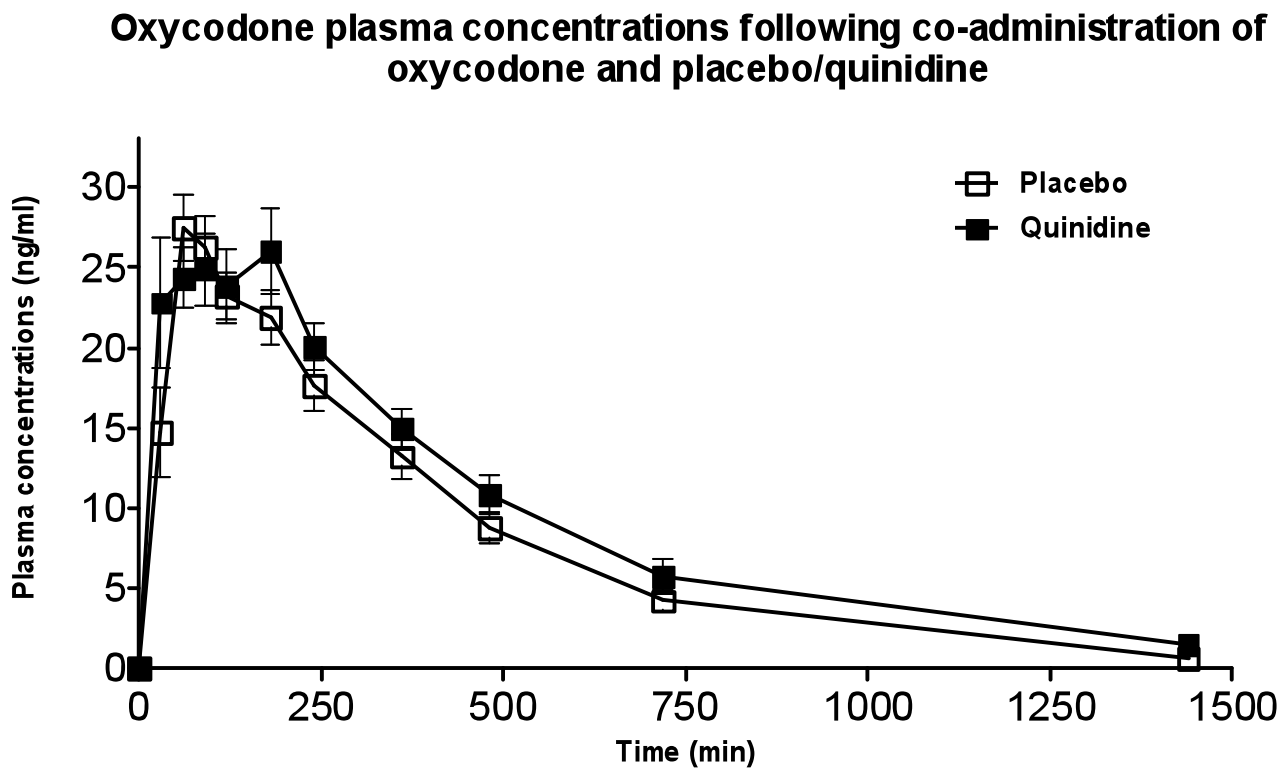


Figure 1B. Mean plasma concentrations of oxymorphone.

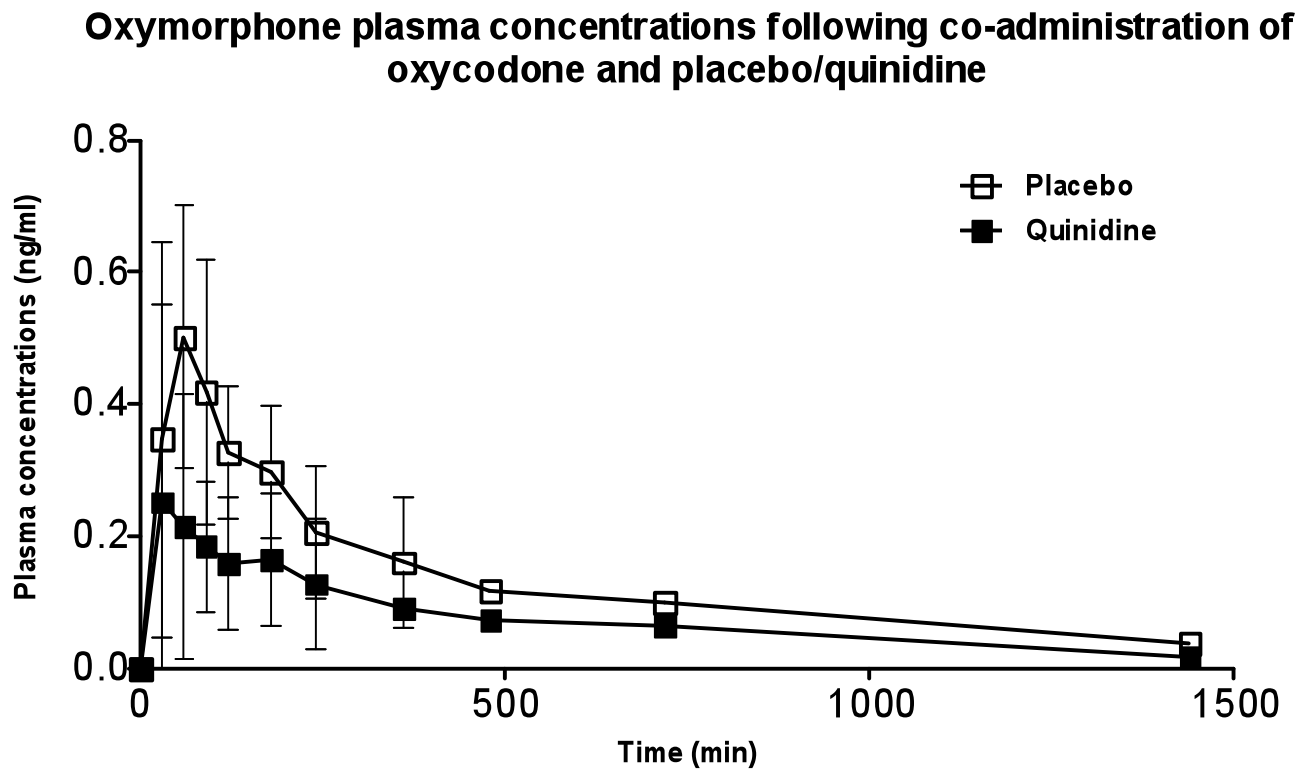


Figure 1C. Mean plasma concentrations of noroxycodone.

### Noroxycodone plasma concentrations following co-administration of oxycodone and placebo/quinidine

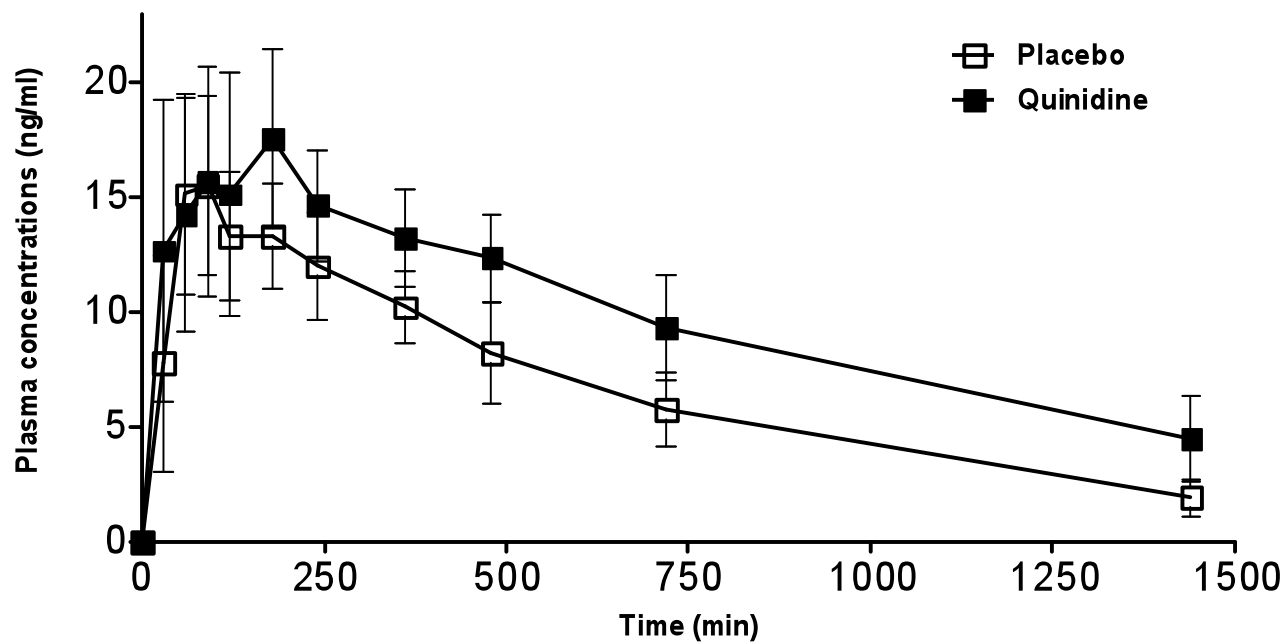


Figure 2

AUCs of pain treshhold following co-administration of oxycodone and placebo/quinidine

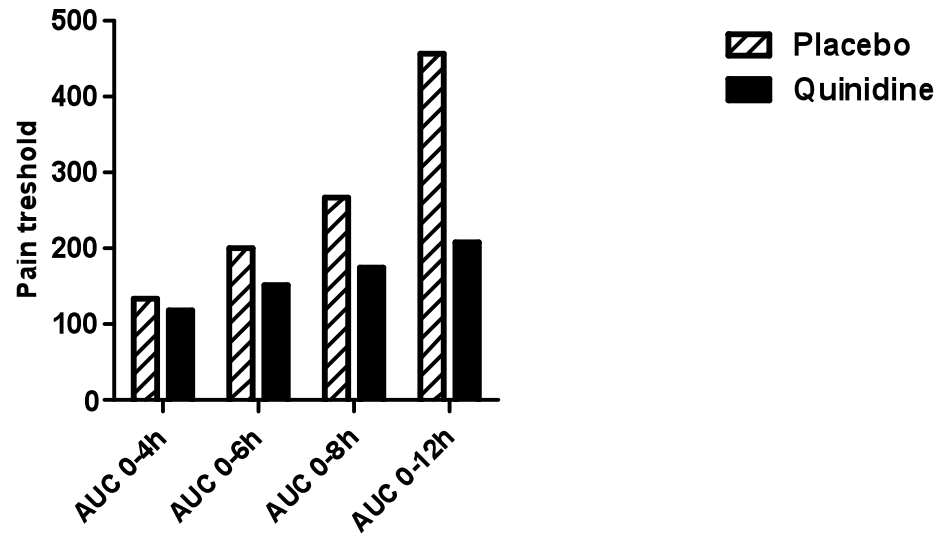


Figure 3A. PK-PD relation of oxycodone.

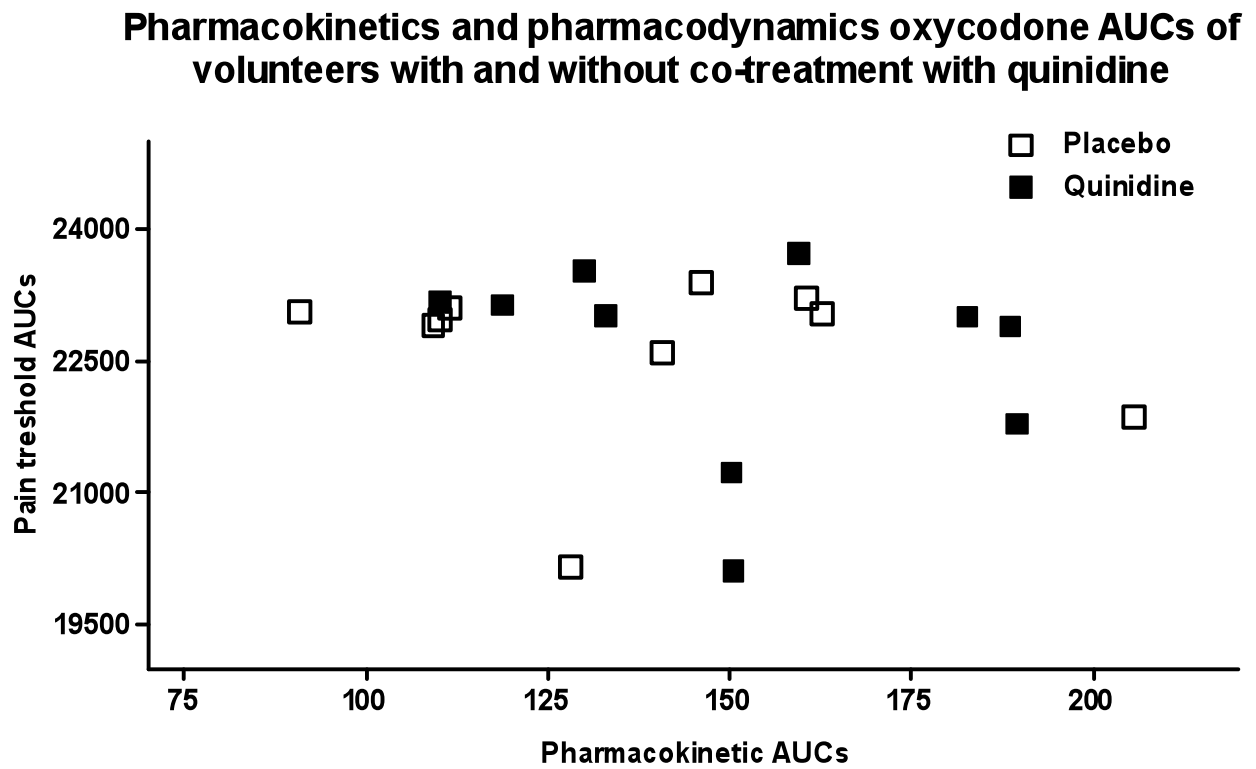


Figure 3B. PK-PD relation of oxymorphone.

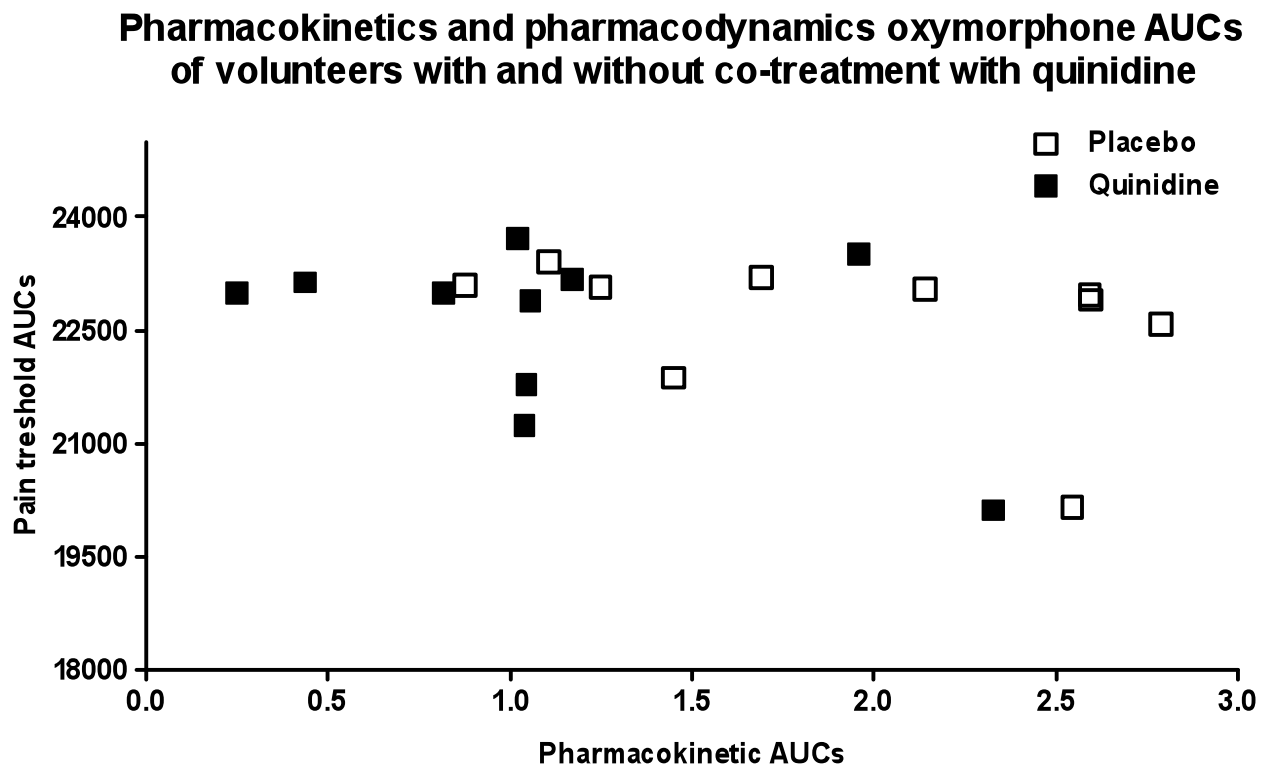
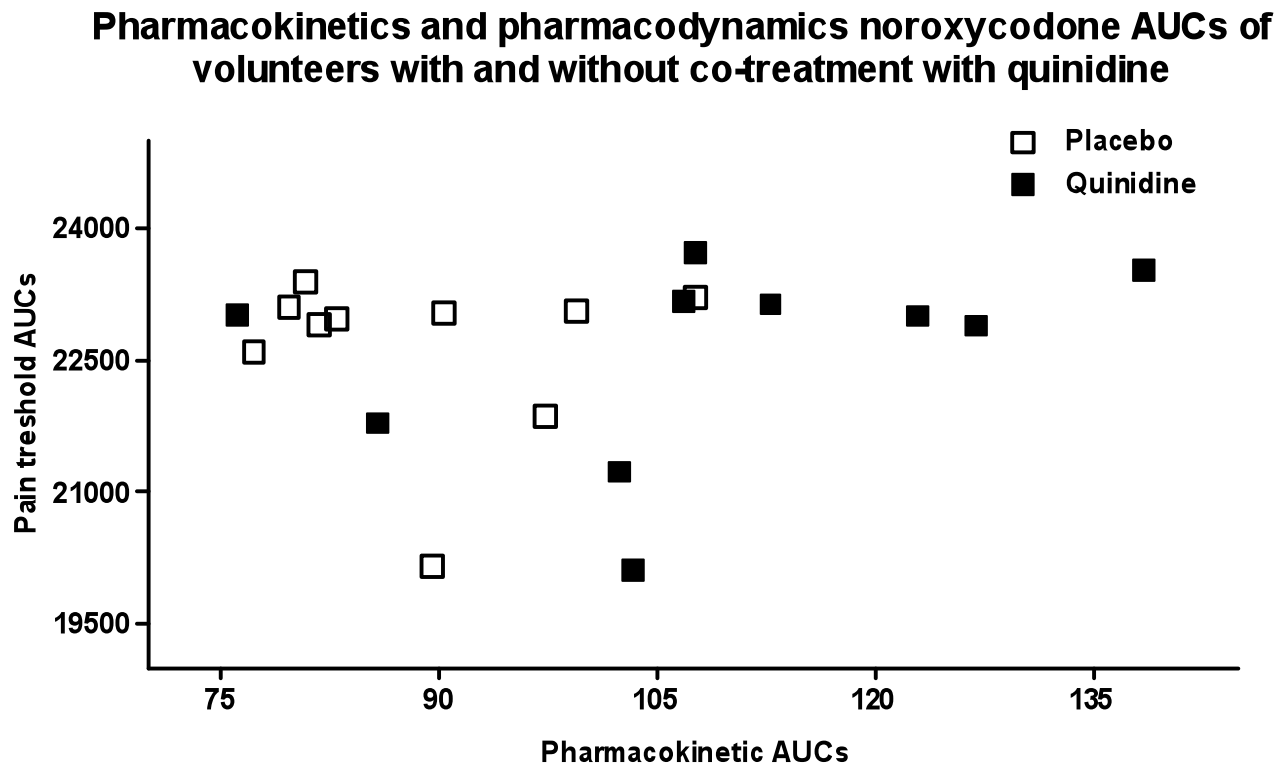


Figure 3C. PK-PD relation of noroxycodone.





**Table 4. Pharmacodynamics measurements of cold detection in 8 out of 12 subjects recruited in this study following the administration of oxycodone (15 mg) with placebo or quinidine.**

subjects	AUC(0-4)			AUC(0-6)			AUC(0-8)			AUC(0-12)		
	PLACEBO	QUINIDINE	ΔMAX	PLACEBO	QUINIDINE	ΔMAX	PLACEBO	QUINIDINE	ΔMAX	PLACEBO	QUINIDINE	ΔMAX
5	6701,7	6804,6	102,9	9945,3	10126,2	180,9	13108,5	13475,4	366,9	19302,9	20211,0	908,1
6	6535,0	6896,0	361,0	9776,8	10277,6	500,8	12176,8	13660,4	1483,6	17128,0	20315,6	3187,6
7	6808,7	6992,0	183,4	10261,7	10511,6	250,0	13734,5	14018,6	284,2	20726,9	20989,4	262,6
8	7036,9	7038,5	1,6	10501,3	10470,5	-30,8	14005,3	13990,7	-14,6	20944,9	21101,9	157,0
9	6769,2	6576,3	-192,9	10240,8	9668,7	-572,1	13683,0	12832,5	-850,5	20442,6	19278,9	-1163,7
10	6476,6	6745,2	268,6	9789,2	10011,6	222,4	13149,2	13175,4	26,2	19811,6	19625,4	-186,2
11	6422,3	6619,6	197,3	9760,7	9836,8	76,1	13146,5	13166,2	19,7	19888,1	19972,6	84,5
12	6634,2	4968,5	-1665,7	10112,4	8218,7	-1893,7	13500,0	11358,5	-2141,5	20137,2	17693,3	-2443,9

### **Chapitre III. Conclusion générale**

La réponse d'un patient à son traitement pharmacologique peut être affectée par plusieurs facteurs, tels l'administration concomitante de plusieurs médicaments, la présence d'une condition pathologique ou une variation génétique. Celles-ci se manifestent par la variabilité interindividuelle, rapportant une large variation de réponse pour un même médicament à travers une population. Non seulement les patients présentant des déficiences génétiques peuvent expérimenter des doses sous-thérapeutiques ou toxiques, des interactions médicamenteuses peuvent survenir lors de l'administration concomitante de médicaments présentant une haute affinité pour le même cytochrome. Parmi ces patients, ceux qui présentent des polymorphismes génétiques et une absence fonctionnelle d'activité du CYP2D6 expérimentent une absence d'efficacité analgésique par la codéine. L'objectif du projet était d'évaluer le rôle du CYP2D6 dans l'analgésie produite par l'oxycodone. L'hypothèse de départ était que puisque le mécanisme d'action de l'oxycodone est similaire à celui de la morphine, les individus présentant le profil métabolique lent auraient une efficacité réduite ou nulle de l'analgésie suite à l'administration d'oxycodone. Les études pharmacocinétiques ont démontré que l'administration concomitante d'oxycodone et de quinidine réduit la production d'oxymorphone, le métabolite actif, confirmant le CYP2D6 comme sa principale voie de formation. Également, les concentrations plasmatiques de noroxycodone ont augmenté durant le traitement à la quinidine, démontrant la compensation du CYP2D6 bloqué par le CYP3A4 via N-déméthylation. Ces résultats suggèrent que le CYP2D6 est bien responsable de la formation de l'oxymorphone. Comme le CYP2D6 est responsable de la formation du métabolite actif de la codéine, la morphine, il est raisonnable d'établir que l'oxymorphone est le métabolite actif de l'oxycodone. La présence d'oxymorphone dans le plasma et l'urine sous traitement à la quinidine suggère quant à lui une voie alternative dans la

formation du métabolite. Les futures hypothèses à investiguer dans la recherche sur l'oxycodone sont l'identification de la voie métabolique alternative dans la formation d'oxymorphone, de façon à connaître son implication dans la réponse analgésique du patient. Cette voie alternative pourrait être affectée par les polymorphismes génétiques ou interactions médicamenteuses. Également, de plus amples études pourraient être faites sur l'efficacité de la quinidine à reproduire le profil métabolique lent du CYP2D6, puisque son utilisation comme inhibiteur du CYP2D6 semble différer *in vivo* et *in vitro*. Samer *et al.* supportent nos résultats avec une diminution de 40% de la production d'oxymorphone sous quinidine *in vivo*, comparativement au blocage presque complet d'oxymorphone *in vitro* dans une étude d'Otton *et al.* Cette dernière étude suggère d'ailleurs que la fluoxétine serait plus efficace dans l'inhibition du CYP2D6, puisqu'il s'agit d'une drogue non-sélective et qu'elle pourrait également inhiber la voie alternative de formation d'oxymorphone. De plus, son métabolite norfluoxétine partagerait ses propriétés inhibitrices pour le CYP2D6.

Les études pharmacodynamiques effectuées n'ont pu établir de lien direct entre la concentration d'oxymorphone et le niveau d'analgésie ressenti. Bien que la diminution de la production d'oxymorphone ait été démontrée après pré-traitement à la quinidine, les niveaux d'analgésie mesurés n'ont pas fluctué de façon similaire. Selon nos résultats, nous ne pouvons établir que l'oxymorphone est responsable de la réponse analgésique de l'oxycodone. Il est possible que la technique de mesure utilisée soit en partie responsable de notre incapacité à démontrer une différence dans l'analgésie des patients traités au placebo et à la quinidine. Des études sur l'analgésie de l'oxycodone démontrent que dépendamment de la technique de mesure de l'analgésie utilisée, les résultats fluctuent. Les futures études sur l'importance de l'oxymorphone dans l'analgésie de l'oxycodone doivent développer une mesure de la détection de la douleur plus précise que celles existant afin de démontrer hors de tout doute l'implication du métabolite actif.

Une hypothèse différente veut que malgré la sensibilité des mesures de douleur dans les études sur l'oxycodone, la production locale d'oxymorphone au cerveau soit responsable de l'échec de ces tests. Comme la quinidine et la fluoxétine pénètrent faiblement la barrière hémato-encéphalique, un métabolisme local via CYP2D6 au cerveau expliquerait l'incongruité entre la concentration d'oxymorphone et la réponse analgésique. Lalovic *et al.* ont démontré chez les rats que l'oxycodone pénètre dix fois plus le cerveau que l'oxymorphone, ce qui soutient la théorie d'une production locale du métabolite.

Également, il serait intéressant d'investiguer l'activité opioïde du métabolite noroxymorphone, formé par le CYP2D6 à partir du métabolite noroxycodone. Certaines études ont démontré une forte affinité de noroxymorphone pour le récepteur  $\mu$ , tandis que d'autres ont réfuté son implication dans la réponse analgésique de l'oxycodone suite à des études PK-PD.

En bref, cette étude a établi un profil pharmacocinétique solide de l'oxycodone, tant lors de son administration seule que lors d'une co-administration avec un inhibiteur du CYP2D6. En démontrant une réduction de 50% de l'efficacité du CYP2D6 sous quinidine, l'étude démontre que des patients peuvent expérimenter une efficacité réduite ou nulle de l'analgésie suite à l'administration d'oxycodone. Elle a aussi permis de démontrer la compensation du CYP3A4 lorsque le CYP2D6 est compromis dans le métabolisme de l'oxycodone. Bien que l'implication de l'oxymorphone dans la réponse analgésique à l'oxycodone n'ait pu être identifiée, de nombreuses pistes ont été évoquées, qui serviront à de futures recherches.