

学位論文

小腸の CYP3A 及び P-gp を介した薬物間相互作用及び
消化管吸収性予測を目的とした新規静的・動的モデルの構築

2021 年

千葉大学大学院医学薬学府 先端創薬科学専攻

臨床薬理学研究室

浅野 聡志

目次

第一章 序論	10
第二章 新規静的消化管吸収モデルを用いた消化管の CYP3A 及び P-gp を介した薬物間相 互作用予測	
2.1 緒言	13
2.2 方法	
2.2.1 静的消化管吸収モデルにおける寄与率の推定方法と小腸での AUCR 予測法	17
2.2.2 AUCR 及び半減期比の予測	18
2.2.3 in vitro データからの小腸における CYP3A 及び P-gp に関する CR の推定	19
2.2.4 CR _H 及び IR に関する in vitro 及び in vivo データからの推定	21
2.2.5 CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた膜透過試験値を使用した 解析パラメータ取得	22
2.2.6 CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた膜透過性試験 ...	24
2.2.7 再吸収率の算出	26
2.2.8 データ収集及び選択基準	29
2.2.9 解析方法	30

2.2.10	使用ソフトウェア	30
2.3	結果	
2.3.1	CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた細胞膜透過性試験結果	31
2.3.2	再吸収率の算出	32
2.3.3	CR 及び IR の推定	33
2.3.4	AUCR 及び $t_{1/2R}$ の予測	34
2.3.5	スケーリングファクター及びパラメータの精度推定	34
2.3.6	各薬剤間の AUCR 予測	34
2.4	考察	36
2.5	小括	41

第三章 新規動的モデル(ATOM)を用いた消化管の CYP3A 及び P-gp を介した薬物間相互作用

用予測と静的モデルとの整合性検討

3.1	緒言	79
3.2	方法	
3.2.1	ATOM のモデル構築	82
3.2.2	CAT のモデル構造	84
3.2.3	ATOM 及び CAT における消化管モデル構造	85
3.2.4	ATOM における食道、胃、小腸上皮細胞、固有粘膜層、門脈、中	

	中枢及び抹消コンパートメント設定	86
3.2.5	in vitro 及び in vivo における膜透過モデル	89
3.2.6	CYP3A 及び P-gp 阻害による輸送及び代謝クリアランス変化	92
3.2.7	胃及び小腸における水分量分布に関するパラメータ推定...	93
3.2.8	線形条件下における小腸上皮細胞中薬物濃度及び門脈への薬物到達率に関するシミュレーション	94
3.2.9	線形条件における midazolam の消化管吸収率に及ぼす f_{ent} の感度分析	94
3.2.10	絶食下ならびに摂食下における midazolam の非線形吸収率及び小腸上皮細胞中非結合型濃度予測	95
3.2.11	ATOM における CYP3A 及び P-gp 基質に関する F_G 予測と TLM による予測値との比較	96
3.2.12	ATOM による CYP3A 及び P-gp を介した DI シミュレーション	96
3.2.13	絶食下及び摂食下における経口投与後の midazolam 及び digoxin の血中濃度予測	99
3.2.14	静的モデルとの整合性検討	99
3.2.15	拡散モデルの計算方法	100
3.3	結果	

3.3.1	ATOM における拡散定数及び移動速度の決定と食事の影響を考慮 した消化管管腔内 ^{99m}Tc -DTPA 分布シミュレーションへの応用	102
3.3.2	CAT を用いた消化管管腔内 ^{99m}Tc -DTPA 分布シミュレーション	102
3.3.3	ATOM と CAT の吸収部位の違いに関する検討	103
3.3.4	ATOM 及び CAT における midazolam の非線形吸収性の予測と小腸 における CYP3A 飽和性の違い	104
3.3.5	ATOM と TLM 間での F_G 値の整合性確認	105
3.3.6	ATOM を使用した CYP3A または P-gp を介した DI シミュレーシ ョン	105
3.3.7	絶食状態と摂食状態における midazolam と digoxin の血漿中濃度の 違いに関する検討	106
3.3.8	静的モデルとの整合性検討	106
3.4	考察	108
3.5	小括	114
第四章	総括	151
	謝辞	152

引用文献		154
------	-------	-----

略語一覽

ACAT	advanced compartmental absorption and transit
ADAM	advanced dissolution, absorption and metabolism
AIC	akaike's information criteria
ATOM	advanced translocation model
AUC	area under the blood concentration-time curve
AUCR	AUC ratio
BCRP	breast cancer resistance protein
BFGS	Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno
BSA	bovine serum albumin
CAT	compartmental absorption and transit
CI	confidence interval
CL_{int}	intrinsic clearance
C_{max}	maximum plasma concentration
CF	conversion factor
CPR	NADPH-cytochrome P450 reductase
CR	contribution ratio
CYP	cytochrome P450
DI	drug interaction
DMEM	dulbecco's modified Eagle's medium
DTPA	diethylenetriaminepentaacetic acid
D_z	dispersion constant at the position z
F_A	fraction absorbed
$F_A F_G$	Product of F_A and F_G
F_{AI}	initial absorption ratio
FBS	fetal bovine serum
FDM	finite difference method

F_G	intestinal availability
f_m	fraction metabolized (<i>in vitro</i>)
F_R	reabsorption ratio
GITA	GI transit-absorption
HAC	human artificial chromosome
HBSS	hank's balanced salt solution
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)
IC_{50}	the half maximal inhibitory concentration
iPS	induced pluripotent stem
IS	internal standard
IR	inhibition ratio
K_i	inhibition constant
K_m	Michaelis constant
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry
MCMC	marcov chain monte carlo
ME	microvilli expansion
M_t	time-dependent flow rate at time t
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
Napp	Numeric Analysis Program for Pharmacokinetics
OATP	organic anion transporting polypeptide
P_{app}	apparent permeability coefficient
PBPK	physiological-based pharmacokinetic
PE	plicate expansion
PISCS	pharmacokinetic interaction significance classification system
P-gp	P-glycoprotein
PS	permeability clearance
SD	standard deviation
SF	scaling factor

STADAM	static drug absorption model
$t_{\max}$	time of maximum plasma concentration
TLM	translocation model
$t_{1/2}$	half-life time
$t_{1/2}R$	half-life time ratio
UDP	uridine 5'-diphospho
UGT	UDP-glucuronosyltransferase
$V_{\max}$	maximum reaction velocity
VE	villi expansion
1-ABT	1-aminobenzotriazole
1'OH-midazolam	1'-hydroxymidazolam

第一章 序論

経口投与は有効成分を合理的に標的部位に送達でき、さらに患者に安全に処方できることから最も一般的に採用されている投与経路である[1]。しかしながら、薬物の消化管吸収は製剤の崩壊性、薬物の溶解性や安定性、消化管内の内容物との相互作用など多くの要因によって影響を受けるため、正確な薬物の消化管吸収性の予測を困難にしている。しかし、製剤の崩壊性及び溶解性等の問題がない場合でも、薬物の消化管における良好なバイオアベイラビリティを実現するには、消化管内腔から小腸上皮細胞への吸収性(fraction absorbed, F_A)及び小腸上皮細胞から門脈血までの移行率(intestinal availability, F_G)が良好である必要がある。 F_A は受動拡散による膜透過と P-glycoprotein (P-gp)や breast cancer resistance protein (BCRP)などのトランスポーターによる能動的輸送、 F_G は小腸基底膜における膜透過性と小腸上皮細胞に発現する代謝酵素による代謝活性のバランスで決定される。一方でこれらの F_A と F_G の予測精度が向上すれば、創薬プロセスにおいてより良い新薬候補の選択が可能になると考えられる。また臨床現場においても薬効と安全性のバランスを最適化すること及び重篤な副作用にも繋がりうる薬物間相互作用(drug interaction, DI)の発現を回避することが不可欠であるため、消化管での薬物吸収性を正確に予測することは非常に重要である。

これらの影響する因子の中でも、代謝酵素の一種である cytochrome P450 (CYP) 3A と P-gp はバイオアベイラビリティに強く関与するタンパク質である。CYP3A は多くの薬物の代謝に関与し[2, 3]、肝臓のみならず消化管にも強く発現していることから[4, 5]、小腸上皮細胞にお

ける薬物代謝性に大きく関与している。また P-gp も小腸上皮細胞に発現し[6, 7]、薬物を管腔中に排出することでその消化管吸収を妨げる機能を有する。したがって両タンパク質の寄与率を正確に把握することが薬物の消化管吸収を精度良く予測することに繋がると考えられる。加えて両分子は臨床での DI 発現にも強く関与しており[8, 9]、そのリスクを事前に予測しておくことも重要である。

薬物のバイオアベイラビリティ及び DI 予測の方法としては大きく静的モデルと動的モデルの 2 種に分けられる。静的モデルは少ない生理学的パラメータ及び実験値から AUC 変化率(AUC ratio, AUCR)等を簡便に算出できる一方で、動的モデルは生理的及び実験パラメータを多く使用するものの薬物の継時的、用量依存的な血液中及び組織中濃度予測、投与条件ごとの消化管吸収性や DI 予測など、より詳細な薬物動態予測が可能であるという特徴を有する。現状で多くの消化管吸収モデルが報告されている[10, 11, 12, 13, 14]が、特に消化管吸収時における P-gp 等による薬物排出は吸収方向と逆向きであり速度論的取り扱いが難しいこと、in vitro と in vivo のトランスポーター輸送性が異なることから、消化管の CYP3A 及び P-gp を介した消化管吸収性及び DI を精度よく予測するまでに至っていないのが現状である。

そこで本研究においては、CYP3A 及び P-gp を介した消化管吸収性及び DI 予測の精度を高めることを目的に、新規の静的モデル及び動的モデルの構築を試みた。本研究の前半では、当研究室で報告した薬剤の代謝寄与率(contribution ratio, CR)及び阻害率(inhibition ratio, IR)を用いて複数薬剤間の AUC 上昇率を予測できる CR-IR 法[15, 16, 17]の考えを小腸に拡張することで小腸の CYP3A 及び P-gp の寄与率を算出可能な静的モデルを構築し、その予測性を検

証した。また本研究の後半では、当研究室で報告済の動的な消化管吸収モデルで translocation model (TLM) [14] をベースに、消化管内の微小混合を考慮して複雑な小腸内薬物分布を再現した新規消化管吸収モデル(advanced translocation model, ATOM)を構築し消化管内の薬物挙動予測を行い、さらに小腸内の薬物分布が消化管吸収性に与える影響、並びに消化管中の CYP3A 及び P-gp の活性を考慮した DI 予測に関して確認した。

第二章 新規静的消化管吸収モデルを用いた消化管の CYP3A 及び P-gp を介した薬物間相互作用予測

2.1 緒言

DI は代謝酵素やトランスポーターを介した薬剤間の相互作用により生じる。特にこれらの分子を阻害すると薬物の血中濃度が上昇し、時に重篤な副作用を生じる[18, 19, 20, 21]。それゆえ、薬剤ごとにその DI リスクを把握することは非常に重要である。近年、多くの DI について生理学的薬物動態(Physiological-based pharmacokinetic, PBPK)モデルを用いた予測がなされており[22, 23, 24]、時間または用量依存的な血中濃度プロファイルが表現されている。また承認申請資料の中にも PBPK モデルを用いた DI 予測が用いられ[25, 26, 27]、臨床試験の代替としてモデル解析結果を活用する動きも見られている。一方で動的モデルは特定の基質と阻害剤の間の DI 予測法であるのに対し、多くの薬剤間の DI を網羅的に予測するには静的モデルの活用が適している。これまでに当研究室では肝臓の CYP3A を介した DI について、それぞれの CR と IR を用いて複数薬剤間の AUCR を算出する CR-IR 法を報告しており[15, 16, 17]、薬剤服用におけるリスクマネジメントに貢献している。

CYP3A 及び P-gp の阻害あるいは誘導は消化管での DI に大きく関与する。日米欧各局の DI の規制文書で、CYP3A 等の P450 を介する DI の AUCR 予測法は静的モデルとして言及されている[28, 29, 30]ものの、P-gp を介した DI の AUCR 予測法については記載がない。CYP3A と P-gp の基質認識性は類似しているため協調して薬物の消化管吸収性を妨げること[31, 32]、

経口投与後の小腸内薬物濃度は高く DI の発現リスクが高いと考えられることから、両者を介した消化管における DI は正確に予測されるべきである。これまでに静的モデルを用いた CYP3A 及び P-gp を介した DI 予測法に関しては、Tod らが in vivo 情報から各薬剤の CR 及び IR を算出して AUCR を予測する方法を報告している[33, 34]。一方で in vivo の情報は限定的で情報量として十分ではないことから、in vitro の情報を加えることでより確度の高い値が推定されると期待される。

また、これまでに小腸の CYP3A と P-gp を介した DI 予測法が構築されていなかった理由の一つに、それぞれの寄与率の推定方法が不明であったことがあげられる。これまでの薬物動態理論をベースにすると薬物の消化管吸収性(product of F_A and F_G , $F_A F_G$)のうちの、P-gp の輸送性は F_A に、CYP3A の代謝性は F_G の算出に含まれる。一方で P-gp の寄与率を示すためには排出された薬物のうち再度小腸上皮細胞内に取り込まれる薬物の割合である再吸収率(reabsorption ratio, F_R)を考慮する必要があるものの、速度論的取り扱いが複雑であるためにその算出法が構築されていなかった。そこで CYP3A 及び P-gp の寄与率の推定を可能にするため、消化管吸収に関する速度論的な理論を見直す必要があった。そこで本研究では、再吸収率の理論とそれを含めた新規静的消化管吸収モデル(Figure 2-1)を構築し、小腸における CYP3A 及び P-gp の寄与率の算出を試みた。

また当研究室では肝臓や腎臓における消失も含め全身的な DI を in vitro 及び in vivo 情報とともに使用し、その両方をつなぐ数理モデルを用いて解析する静的モデルのフレームワーク(static drug absorption model, STADAM)を構築中である(Figure 2-2)。STADAM は小腸における

薬物吸収、肝臓や腎臓での薬物消失過程を含め各代謝酵素ならびにトランスポーターごとの CR と IR を用いて DI 予測を可能にする静的な理論体系であり、今回の新規静的消化管吸収モデルは消化管における DI を算出する点で STADAM の重要な構成要素である。そこで今回は小腸における CYP3A 及び P-gp の CR 及び IR を算出する理論を構築し、実際に解析することでその妥当性を検証することとした。

他方、消化管吸収性に関する静的モデルに活用する *in vitro* 試験データとして、薬物の消化管吸収に影響を及ぼす膜透過性、トランスポーター輸送性、代謝活性の評価が必要である。

しかしながら活性に関する各試験間差や試験に要する時間を考慮すると一つの試験系で全て評価できる試験ツールが存在することが好ましい。代表的な *in vitro* 消化管吸収ツールである Caco-2 細胞はその培養の簡便さや膜透過性が *in vivo* と相関することから汎用されているが、CYP3A の発現が乏しいため[35]に代謝酵素の基質となる薬物については小腸での代謝活性評価として小腸のミクロソームなどを使用した代謝試験が別途実施される必要がある。近年、小腸のトランスポーターや代謝酵素に関して生理的な発現量を模倣した人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cells, iPS cells)由来の小腸上皮細胞[36]が報告されているが、細胞培養及び増殖性の観点から現時点での実用性は乏しいのが現状である。一方で人工染色体を用いて CYP3A を生理的な量で発現させた Caco-2 細胞(CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞)が構築され、CYP3A 基質に関して *in vitro* 膜透過性試験結果を用いた F_G 予測が *in vivo* での報告値と相関した[37]。加えて CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞は P-gp の輸送性も確認されていることから[37]、P-gp の活性も同時に評価可能であると考えられた。本検討においては CYP3A4-

CPR-HAC/Caco-2 細胞の有用性を示す目的も含め、実際に CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた透過性試験を実施し、その試験値を静的モデルにおける DI 解析用データセットとして使用した。

2.2 方法

2.2.1 静的消化管吸収モデルにおける寄与率の推定方法と小腸での AUCR 予測法

小腸の薬物吸収について、新規静的吸収モデル(Figure 2-1)に基づいて数理理論を構築した。

その中で小腸における P-gp 及び CYP3A の寄与率(CR_{AX} , CR_{GM})及び基底膜血流移行率(CR_B)は

以下のように表現される(Equation 2-1, 2-2, 2-3)。

小腸での P-gp 寄与率(CR_{AX})：

$$CR_{AX} = \frac{(1 - F_R)CL_{A,ac}}{CL_B + CL_M + (1 - F_R)(CL_{A,ac} + CL_{A,ps})} \quad (2-1)$$

小腸での CYP3A 寄与率(CR_{GM})：

$$CR_{GM} = \frac{CL_M}{CL_B + CL_M + (1 - F_R)(CL_{A,ac} + CL_{A,ps})} \quad (2-2)$$

基底膜血流移行率(CR_B)：

$$CR_B = \frac{CL_B}{CL_B + CL_M + (1 - F_R)(CL_{A,ac} + CL_{A,ps})} \quad (2-3)$$

$CL_{A,ac}$ 、 $CL_{A,ps}$ 、 CL_B 、 CL_M 、 F_R はそれぞれ頂端膜側の能動輸送クリアランス、頂端膜側の受動輸送クリアランス、基底膜側の統合輸送クリアランス、代謝クリアランス、再吸収率を示す。なお F_R については、ここでは一定の割合で無限に循環するとの仮定で式が導出されている。実際には再吸収率は循環ごとに減少すると考えられるので、その点については 2.2.7 で説明する。

小腸の P-gp 及び CYP3A を介した DI について、小腸における AUC 変化(AUCR_{int})は阻害剤の IR を用いて Equation 2-4 及び 2-5 のように表すことができる。なお以下の CR_B*は阻害剤投与時の CR_Bを示す。

$$AUCR_{int} = \frac{CR_B^*}{CR_B} = \frac{1}{1 - CR_{AX}IR_{AX} - CR_{GM}IR_{GM}} = \frac{1}{1 - \nabla_{Gut}} \quad (2-4)$$

$$\nabla_{Gut} = 1 - CR_{AX}IR_{AX} - CR_{GM}IR_{GM} \quad (2-5)$$

2.2.2 AUCR 及び半減期比の予測

本研究室で開発された STADAM の理論に基づくと、AUCR ならびに半減期比(half-life time ratio, t_{1/2}R)は以下のように表現できる (Equation 2-6, 2-7, 2-8, 2-9)。

$$AUCR = \frac{1}{\{(1 - X_{U,IV})\nabla_{Liver} + X_{U,iv}\nabla_{Kidney}\}\nabla_{Gut}} \quad (2-6)$$

$$t_{1/2}R = \frac{1 - CR_HIR_H(1 - F_H) - X_{U,IV}F_H}{\nabla_{Liver}(1 - X_{U,IV}F_H)} \quad (2-7)$$

$$\nabla_{Liver} = 1 - CR_HIR_H \quad (2-8)$$

$$\nabla_{Kidney} = 1 - CR_RIR_R \quad (2-9)$$

X_{U,IV}、F_H、CR_H、IR_H、CR_R、IR_R はそれぞれ静脈内投与時における尿中未変化体排泄率、肝バイオアベイラビリティ、肝臓における薬物代謝酵素の寄与率並びに阻害率、腎臓にお

る薬物排出寄与率並びに阻害率を示す。

P-gp を介した DI については阻害剤投与によって P-gp の基質である digoxin の腎クリアランスが低下するなど[38]、腎臓での DI を考慮する必要があるが一般的に経口投与後の小腸及び肝臓に比べ腎臓中の薬物濃度が十分に低くなることから、腎臓での薬物排泄時に生じる DI の程度は小腸に比べると小さいと考えられる。そのため今回の研究では腎臓での DI は生じない($CR_R = 0$, $\nabla_{\text{Kidney}} = 1$)と仮定して解析を行った。

また今回の静的モデルは基質の曝露が線形であることを前提に解析している。そこで今回対象とした薬剤については、臨床における薬物動態の線形性を示す用量範囲を確認した上で解析対象の相互作用試験が線形用量内で実施されていることを確認した(Table 2-1)。

2.2.3 in vitro データを用いた小腸における CYP3A 及び P-gp に関する CR の推定

CR_{AX} , CR_{GM} , CR_B については以下のように、スケーリングファクターを用いて in vitro パラメータと結びつけることが可能になる(Equation 2-10, 2-11, 2-12)。本式の算出に関しては各クリアランスを $CL_{A,ps}$ で除する点が重要となる。

$$CR_{AX} = \frac{(1 - F_R) \frac{CL_{A,ac}}{CL_{A,ps}}}{\frac{CL_B}{CL_{A,ps}} + \frac{CL_M}{CL_{A,ps}} + (1 - F_R) \left(\frac{CL_{A,ac}}{CL_{A,ps}} + 1 \right)} = \frac{(1 - F_R) SF_{AXA} Q_{AXA}}{SF_B R_B + SF_M R_M + (1 - F_R) (SF_{AXA} R_{AXA} + 1)} \quad (2-10)$$

$$CR_{GM} = \frac{\frac{CL_M}{CL_{A,ps}}}{\frac{CL_B}{CL_{A,ps}} + \frac{CL_M}{CL_{A,ps}} + (1 - F_R) \left(\frac{CL_{A,ac}}{CL_{A,ps}} + 1 \right)} = \frac{SF_{GM} Q_{GM}}{SF_B R_B + SF_M R_M + (1 - F_R) (SF_{AXA} R_{AXA} + 1)} \quad (2-11)$$

$$CR_B = \frac{\frac{CL_B}{CL_{A,ps}}}{\frac{CL_B}{CL_{A,ps}} + \frac{CL_M}{CL_{A,ps}} + (1 - F_R)\left(\frac{CL_{A,ac}}{CL_{A,ps}} + 1\right)} = \frac{SF_B Q_B}{SF_B R_B + SF_M R_M + (1 - F_R)(SF_{AxA} R_{AxA} + 1)} \quad (2-12)$$

SF_{AxA} 、 SF_{GM} 、 SF_B 、 Q_{AxA} 、 Q_{GM} 、 Q_B はそれぞれ小腸の P-gp 活性に関する in vitro/in vivo 間のスケーリングファクター、小腸の CYP3A 代謝活性に関する in vitro/in vivo 間のスケーリングファクター、基底膜と頂端膜における受動活性比に関する in vitro/in vivo 間のスケーリングファクター、in vitro における P-gp 輸送活性と膜透過性の比、in vitro における CYP3A 代謝活性と膜透過性の比、in vitro における基底膜側と頂端膜側の受動拡散の比を示す。また in vitro における細胞膜透過理論モデル(Figure 2-3)より、 Q_{AxA} 、 Q_{GM} 、 Q_B は以下のように示すことができる(Equation 2-13, 2-14, 2-15)。

$$Q_{AxA} = \frac{PS_{A,a}}{PS_{A,in}} = R_{flux} - 1 \quad (2-13)$$

$$Q_{GM} = \frac{CL_M}{PS_{A,in}} \quad (2-14)$$

$$Q_B = \frac{PS_B}{PS_{A,in}} \quad (2-15)$$

Q_{AxA} は Caco-2 細胞を用いた P-gp 阻害時及び非阻害時の Apical 側から Basal 側、及び Basal 側から Apical 側の膜透過性比(R_{flux})、 Q_{GM} は小腸ミクロソームにおける代謝クリアランスと Caco-2 細胞における膜透過係数の比を示す。また Q_B は Caco-2 細胞の頂端膜及び基底膜の面積比(1:4) [39]より 0.25 として解析した。

2.2.4 CR_H 及び IR に関する in vitro 及び in vivo データからの推定

肝臓の CYP3A による代謝寄与率(CR_H)及び各 IR 値に関しても以下のように in vitro 及び in vivo データから推定した(Equation 2-16, 2-17, 2-18, 2-19)。

肝臓での CYP3A による代謝寄与率(CR_H)：

$$CR_H = f_{m,3A} \quad (2-16)$$

小腸での P-gp 阻害率(IR_{AX})：

$$IR_{AX} = \frac{1}{1 + \frac{K_{i,Pgp} V_i}{Dose}} \quad (2-17)$$

小腸での CYP3A 阻害率(IR_{GM})：

$$IR_{GM} = \frac{1}{1 + \frac{K_{i,3A} V_i}{Dose}} \quad (2-18)$$

肝臓での CYP3A 阻害率(IR_H)：

$$IR_H = \frac{1}{1 + \frac{K_{i,3A} SF_v V_i}{Dose}} \quad (2-19)$$

ここで $f_{m,3A}$ 、 $K_{i,Pgp}$ 、 $K_{i,3A}$ 、 V_i 、 SF_v 、 $Dose$ はそれぞれ in vitro における CYP3A 代謝寄与率、P-gp に対する K_i 値、CYP3A に対する K_i 値、阻害剤の小腸における分布容積、肝臓と小腸の分布容積間のスケーリングファクター及び 1 回あたりの阻害剤の投与量を示す。なお今回調査した中で IC₅₀ 値のみ取得された場合はその試験内の K_m 値より基質濃度が十分低いと仮定

し、 K_i 値と IC_{50} 値は同じであるとして解析した。

2.2.5 CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた膜透過試験値を使用した解析パラメータ取得

CYP3A4-HAC-HPC/Caco-2 細胞は従来の Caco-2 細胞に備わっていた膜透過性及びトランスポーター活性に加えて生理的な CYP3A 活性を備えた *in vivo* における消化管吸収機構をより模倣した小腸上皮モデル細胞[37]であることから、膜透過、代謝活性及びトランスポーター活性を合わせた評価を一括で実施できるという利点がある。そこで本細胞にて CYP3A 及び P-gp の選択的阻害剤を使用した透過試験によって取得されたパラメータを Equation 2-20、2-21、2-22 を用いて STADAM の解析に必要なパラメータ(Q_{AXA} 及び Q_{GM})に変換した。

$$Q_{AXA} = RR^{IAx} - 1 \quad (2-20)$$

$$Q_{GM} = (1/R_{AB}^{IM} - 1) (Q_B + 1) \quad (\text{P-gp 非基質})$$

$$Q_{GM} = (1/R_{AB}^{IM} - 1) (Q_B + RR^{IAx}) \quad (\text{P-gp 基質}) \quad (2-21)$$

$$RR^{IAx} = R_{BA}^{IAx}/R_{AB}^{IAx} \quad (2-22)$$

ここで R_{AB}^{IAx} , R_{BA}^{IAx} , R_{AB}^{IM} はそれぞれ Apical 側から Basal 側 (A to B) への輸送に関する P-gp 阻害剤添加群と非添加群の膜透過係数(P_{app})比、Basal 側から Apical 側 (B to A) への輸送に関する P-gp 阻害剤添加群と非添加群の P_{app} 比、A to B の輸送に関する CYP3A 阻害剤添加群と

非添加群の P_{app} 比を示す。また Q_B は 2.2.3 に記載の通り 0.25 とし、 P_{app} は Equation 2-23 を用いて算出した。

$$P_{app} = \frac{dQ}{dt} \frac{1}{C_0 A} \quad (2-23)$$

Q 、 t 、 C_0 、 A はそれぞれ Receiver 側への総透過量、サンプリング時間、添加液の初期濃度、transwell plate の面積(24 well, 0.33 cm²)とした。また P_{app} に関しては各基質の透過性が線形である時間を確認した上で、パラメータを算出した。CYP3A 阻害剤としては 1-aminobenzotriazole (1-ABT)を、P-gp 阻害剤としては elacridar を用いて実際に CYP3A 基質(alprazolam, lovastatin, midazolam, triazolam)、P-gp 基質(digoxin, fexofenadine)、CYP3A/P-gp 基質(aliskiren, tacrolimus, atorvastatin)を使用して透過性試験を行い、上記の理論モデルから Q_{AXA} 及び Q_{GM} を算出した。透過性試験条件に関しては 2.2.6 に示した。

一方で Equation 2-13 及び 2-14 にある通り、 Q_{AXA} 及び Q_{GM} については既報の in vitro 試験値(小腸ミクロソームを用いた代謝試験、Caco-2 細胞の細胞膜透過性試験)からも算出可能であり、実際の DI 解析データセットとしては上記の試験値と CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた試験値が共存することとなる。そこで両試験系のデータを採用する際に、試験系間差を考慮する必要があると考えられた。そこで Q_{AXA} 、 Q_{GM} についてはそれぞれ、CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた透過性試験からの算出値と既報の試験値からの算出値との相関性を確認した上で試験系差を補正するための conversion factor($CF_{Q_{AXA}}$, $CF_{Q_{GM}}$)を算出した。そこで CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた透過性試験パラメータから算出された

Q_{AXA} 及び Q_{GM} を STADAM 解析時のデータセットとして使用する際は、 Q_{AXA} 及び Q_{GM} それぞれに conversion factor を乗じた上で使用した。

2.2.6 CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた膜透過性試験

CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞は鳥取大学染色体工学研究センターより供給された。細胞培養は 10 % FBS, 10 mmol/L HEPES, 100 U/mL Penicillin/Streptomycin, 2 mmol/L Glutamax, 1 mmol/L sodium pyruvate, 1×non-essential amino acid, 2 µg/mL Brastcidin 含有 DMEM (High Glucose)を用い、細胞継代はサブコンフルエントの状態で行った。透過試験に使用した化合物は一般試薬を用いた。

CYP3A4-HAC-HPC/Caco-2 細胞は 4×10^4 cells/insert の密度で 24 well transwell plate (Corning) に播種し、2-3 日ごとに 1 回の頻度で培地交換を行い、播種後 21 日から 23 日で試験を行った。試験時には donor 側に Transport buffer (12 mmol/L D-glucose, 2.52 mmol/L NaHCO_3 , 10 mmol/L HEPES 含有 HBSS(+))を、receiver 側に 0.5 % BSA 含有の Transport Buffer に添加した。また溶液総量は Apical 側を 100 µL、Basal 側を 600 µL とした。基質の添加 1 時間前に阻害剤溶液(阻害剤非添加群に関しては対象溶媒)を添加してプレインキュベーションした。インキュベーション時に関しては阻害剤(阻害剤非添加群に関しては対象溶媒)共存下で基質を添加して、タイムポイントごとに透過液を採取した。また基質濃度は digoxin 10 µmol/L, midazolam 3 µmol/L, fexofenadine 10 µmol/L, aliskiren 10 µmol/L, alprazolam 3 µmol/L, triazolam 3 µmol/L, lovastatin 10 µmol/L, tacrolimus 10 µmol/L, atorvastatin 10 µmol/L とし、CYP3A 阻害剤としては 1-aminobenzotriazole (1-ABT) 1 mmol/L, P-gp 阻害剤としては elacridar 0.5 µmol/L を使用した。

なお細胞のタイトジャンクション形成が維持されているかを評価するため、膜透過試験実施後に 50 $\mu\text{mol/L}$ lucifer yellow を 1 時間インキュベーションし、蛍光プレートリーダーにて蛍光値を評価(励起光：480 nm, 蛍光：530 nm)してタイトジャンクションが破綻していない(lucifer yellow の透過率が添加の 2 %未満を基準)ことを確認した。

サンプル中の基質濃度は LC-MS/MS (API4000, AB Sciex)を用いて測定した。tacrolimus 以外は Oasis HLB 30 μm $\mu\text{Elution plate}$ (Waters)にて固相抽出し、その回収液を LC-MS/MS で測定した。測定条件は移動相を A: 5 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液/ギ酸(1000:1, v/v)、B: メタノール、送液に関しては 0.00~0.50 分 B 液 5 %、~1.5 分 B 液 95 %、~2.70 分 B 液 95 %、~2.80 分 B 液 5 %、~4.00 分 B 液 5 %にてグラジエント条件で設定、カラム及びオートサンプラー中温度はそれぞれ 40 及び 10 $^{\circ}\text{C}$ 、流速を 0.5 mL/min とし、injection volume は 20 μL にて測定を行った。内部標準物質(internal standard, IS)には 1 $\mu\text{g/mL}$ sulphaphenazole を用いた。tacrolimus については有機溶媒による除タンパクを行い LC-MS/MS で測定した。測定条件は移動相を A: 5 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液/ギ酸(1000:1, v/v)、B: メタノール、送液に関しては 0.00~0.50 分 B 液 40 %、~1.40 分 B 液 95 %、~3.20 分 B 液 95 %、~3.50 分 B 液 40 %、~4.00 分 B 液 40 %にてグラジエント条件で設定、カラム及びオートサンプラー中温度はそれぞれ 50 及び 10 $^{\circ}\text{C}$ 、流速を 0.5 mL/min とし、injection volume は 20 μL にて測定を行った。IS には 5 ng/mL cyclosporine D を選択した。測定カラムには Kinetex 2.6u C8 (2.1 mm $\times$ 50 mm、粒径 3.5 μm , Phenomenex)または Synmetry Shield RP8 (2.1 mm $\times$ 50 mm、粒径 3.5 μm , Waters)を用いた。また全ての基質は positive ion mode で測定した。各基質の Q1/Q3 に関しては Table 2-2 に記し

た。また 1'OH-midazolam の生成量は 3 mmol/L midazolam を Apical 側に添加して A to B 評価を行い、Basal 側への総透過量及び試験終了後に Apical 側に存在する量の和で評価した。また試験ごとに 1'OH-midazolam の生成量及び digoxin の RR^{IAx} 値の評価を実施し、それぞれ 1 mmol/L 1-ABT 添加及び 0.5 μ mol/L elacridar 添加によって値が低下することを確認した。

2.2.7 再吸収率の算出

小腸上皮細胞から排出された量が再吸収する割合(F_R)は、一定の割合で無限に循環すると仮定すると最終的にはすべて吸収されてしまうため、排出と再吸収による循環を考慮した動態的解析が不可能になる。これが P-gp の阻害による小腸での相互作用の程度を in vitro 実験からこれまで予測できなかった原因である。そこで本モデルでは循環ごとに再吸収が減衰することを新たにモデル化することでこの問題を回避し、小腸における CYP3A 及び P-gp に関する寄与率を算出することを可能にした。具体的には消化管吸収回数ごとに消化管吸収長が減少する点を理論化し、tube model をベースにモデルを構築した(Figure 2-4)。まず再吸収率を算出するために再吸収率を仮定しない管腔側への排出率($CR_{EFX,net}$)及び基底膜血流移行率($F_{GE,net}$)を定義した(Equation 2-24, 2-25)。

$$F_{GE,net} = \frac{SF_{AxA}Q_{AxA}}{F_BR_B + SF_MR_M + SF_{AxA}R_{AxA} + 1} \quad (2-24)$$

$$CR_{EFX,net} = \frac{1 + SF_{AxA}Q_{AxA}}{F_BR_B + SF_MR_M + SF_{AxA}R_{AxA} + 1} \quad (2-25)$$

次に再吸収率を仮定した基底膜血流移行率(CR_B)を定義し、 i 回目の再吸収率($F_{R,i}$)を考えた場合、 CR_B は Equation 2-26 のように示される。

$$CR_B = F_{GE,net} + CR_{EFX,net} F_{R,1} F_{GE,net} + CR_{EFX,net}^2 F_{R,1} F_{R,2} F_{GE,net} + \dots = F_{GE,net} (1 + \sum_{i=1}^{\infty} \prod_{j=1}^i F_{R,j} CR_{EFX,net}) \quad (2-26)$$

Equation 2-26 と Equation 2-12 を用いて CR_B について整理すると、再吸収率 F_R は Equation 2-27 のように算出される。

$$F_R = \frac{1}{CR_{EFX,net} (1 + \frac{1}{\sum_{i=1}^{\infty} \prod_{j=1}^i (F_{R,j} CR_{EFX,net})})} \quad (2-27)$$

さらに Equation 2-27 を用いて F_R を算出するためには $F_{R,i}$ を計算する必要がある。消化管吸収ごとに薬物が消化管を通過して吸収長が減少すると考えることから、薬物が1回目の吸収で細胞に取り込まれる割合である初回通過率(F_{AI})及び $F_{R,i}$ は以下のように表現される。
(Equation 2-28, 2-29)

$$F_{AI} = 1 - \exp(-k_A L_0) \quad (2-28)$$

$$F_{R,i} = 1 - \exp(-k_A L_i) \quad (0 < L \leq L_0, L > L_i) \quad (2-29)$$

L_0 は全体の消化管吸収長を示すが、算出を簡便にするため 1 とする。 k_A は消化管長さを 1

として仮定した膜透過係数を示す。今回は 1 回の吸収で消化管内を進む距離は薬剤が吸収された位置の中央値に代表されると仮定(Figure 2-4)するが、この場合 L_i と L_{i+1} の間に以下の関係が成立する (Equation 2-30, 2-31)。両式を元に F_R 及び F_{AI} の関係性を検討した。

$$\frac{1-\exp(-k_A L_i)}{2} = 1 - \exp(-k_A (L_i - L_{i+1})) \quad (2-30)$$

$$L_{i+1} = L_i + \frac{1}{k_A} \log\left(\frac{1+\exp(-k_A L_i)}{2}\right) \quad (2-31)$$

また再吸収率に関しては静的モデルで構築した概念であり、生理的な機構を模した動的モデルで再現できるかを検討することでその概念の妥当性を検証した。静的モデルでは生理的構造を模倣しておらず小腸を均一な円柱型で代謝酵素やトランスポーターの発現量分布は部位によらず一定と想定している。そこで今回の再吸収率の検討では、ATOM の形状を静的モデルと同じく円柱形にて解析することとした。動的モデルを用いた F_R と F_{AI} の算出法は以下の通りである (Equation 2-32, 3-33)。 F_{AI} は初回通過率で静的モデルでは消化管全長を利用した最大吸収性を示すことから、管腔から上皮細胞への取り込みのみで決定される吸収率と定義した。 F_R については静的吸収モデルの関係性から式を展開し、Equation 2-33 のように導出した。

$$F_{AI} = \frac{\sum k_{ap} \frac{f_{lum} C_{lum,z} V_{lum,z}}{V_{water,z} + V_{lum,z}}}{Dose} \quad (2-32)$$

$$F_R = 1 + \frac{(k_{ent} + k_{bp})}{k_{ax}} - \frac{F_{AI}(k_{bp}/k_{ax})}{F_A F_G} \quad (2-33)$$

k_{ap} 、 k_{ax} 、 k_{bp} 、 k_{ent} はそれぞれ管腔から上皮細胞への取り込み速度定数、上皮細胞から管腔への排出速度定数、上皮細胞から固有粘膜層への取り込み速度定数、上皮細胞における代謝速度定数を示す。また f_{lum} 、 $C_{lum,z}$ 、 $V_{lum,z}$ 、 $V_{water,z}$ はそれぞれ消化管管腔内の薬物非結合分率、管腔内の位置 z における管腔内薬物濃度、位置 z における管腔の体積、位置 z における水分量を示すが、詳細は第三章に記載した。今回の動的モデルを用いた再吸収率の検討では、静的モデルと同様に CYP3A 及び P-gp の発現量は部位によらず一定としており、上記のパラメータは管腔内の位置によらず一定の値を採用した。

また F_{AI} の算出方法としては同様に動的モデルを使用し、 P_{app} 依存的な F_{AI} 及び F_A のプロファイルをシミュレーションしてその関係性を検討した。ここで動的モデルにおける F_{AI} は Equation 2-32 に示すように消化管管腔から上皮細胞への取り込みのみで決定される(上皮細胞からの排出を考慮しない)吸収率と定義して静的モデルにおける F_{AI} (消化管全長を利用した最大吸収率)と比較した。また動的モデルにて F_A は総投与量から大腸に移行した薬物量を差し引いて算出した。

2.2.8 データ収集及び選択基準

CYP3A 及び P-gp の基質 22 種ならびに阻害剤 14 種については、FDA 提供のウェブサイト[40]を参照に選択した。またそれぞれの臨床 DDI データ(162 種)は、ワシントン大学のデータベース(Drug Interaction Database, University of Washington)を使用して取得した。今回の

解析に用いた相互作用事例は、1. 消失相が3点以上で評価されている、2. 健康成人で評価されている、3. 阻害剤が基質と同時投与または基質投与の前に投与している、4. 基質の薬物動態が線形である用量範囲でDI試験を実施している、の4条件を満たしている試験データを採用した。また基質ならびに阻害剤に関する *in vitro* 及び *in vivo* データは一部

Pharmapendium® (Elsevier)を用いて情報を取得した(Table 2-3, 2-4, 2-5)。なお AUCR 及び $t_{1/2R}$ に関しては平均値比が論文内に記載されている場合はその値を採用し、未記載の場合は阻害剤添加及び非添加群における平均 AUC 値から比率を計算して使用した。また投与量が阻害剤非添加ならびに添加群で異なる場合は、投与量で補正した AUC(AUC/Dose)を使用して比を算出した。

2.2.9 解析方法

パラメータの推定は、error model を含めて Markov Chain Monte Carlo (MCMC)法によって行った。パラメータの事前分布には無情報事前分布または弱い事前分布を採用し、error model に関しては正規分布または対数正規分布を採用した。また誤差分布における精度の事前分布としては、ガンマ関数を採用した。

2.2.10 使用ソフトウェア

解析には WinBUGS 1.4.3 を使用した。図の作成には R(version 4.0.4)ならびに Prism 6 (Graphpad)を用いた。

2.3 結果

2.3.1 CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた細胞膜透過性試験結果

本細胞を使用するにあたって、midazolam の代謝物である 1'-OH midazolam の生成量を control 及び 1-ABT 添加時で比較し、機能的に CYP3A が発現しているかを確認した(Figure 2-7)。その結果、1'-OH midazolam は control 群で生成されている一方で 1 mmol/L 1-ABT 添加時には検出されておらず本細胞において CYP3A が機能していることを確認した。また 0.5 μ mol/L elacridar 添加群では 1'-OH midazolam の生成量は control 群と同等であることから、0.5 μ mol/L elacridar は CYP3A を阻害せずに P-gp を阻害すると考えられた(Figure 2-7)。また P-gp の典型的基質である digoxin, fexofendaine にて 1 mmol/L 1-ABT 添加による A to B 方向の P_{app} が control 群と同等であることから、1 mmol/L 1-ABT は P-gp を阻害しないものと考えられた(Table 2-6)。次に各基質の膜透過性試験結果について、P-gp 典型的基質である digoxin, fexofenadine で Q_{AXA} が高く、CYP3A 典型的基質の中でも強い基質である lovastatin, midazolam で Q_{GM} が高くなっていた(Table 2-6)ことから、今回使用した各基質においても P-gp による輸送及び CYP3A による代謝活性が確認された。次に 1-ABT ならびに elacridar を用いて各基質に関する透過試験を行い、 Q_{AXA} 及び Q_{GM} を算出し既存の試験との報告値から算出した Q_{AXA} 及び Q_{GM} と比較して試験系間差を表す conversion factor (CF)を算出した。その結果 Q_{AXA} に関する CF ($CF_{Q_{AXA}}$)は 0.11, Q_{GM} に関する CF ($CF_{Q_{GM}}$)は 0.48 と算出された(Figure 2-8)。2.3.2 以降の静的モデルにおける DI 解析のデータセットとして本細胞から算出された Q_{AXA} 及び Q_{GM} を使用する際には、上記の CF を乗じた上で使用した。

2.3.2 再吸収率の算出

次に基質の再吸収率を算出する方法として、Equation 2-30 及び 2-31 を用いて F_R と F_{AI} の関係性を検討した。その結果、 $CR_{\text{EFX,net}}$ の値によって若干プロファイルに違いがあるものの両者には一定の関係性があると推測された(Figure 2-5A)。また第三章で活用する動的モデル(advanced translocation model; ATOM)でも同様に F_R 及び F_{AI} の関係性を検討したところ同様のプロファイルを描いた(Figure 2-5B)ことから、静的及び動的モデル間で両者の関係性が一致するものと考えられた。本研究においては計算を簡便にするため両者の関係性を単純化し、 F_R が F_{AI} の 0.8 倍で近似できると仮定(Equation 2-34)した。

$$F_R = 0.8 \times F_{AI} \quad (2-34)$$

次に F_R の算出に必要な F_{AI} の算出法について、in vitro パラメータである P_{app} を指標に算出する方法の構築を試みた。これまで薬物動態学で in vivo における小腸上皮細胞膜透過性の指標とされてきたパラメータは F_A であるが、 P_{app} と F_A には相関関係があることが知られており、既報[41]のデータを用いると Equation 2-35 のように F_A は算出できる。

$$F_A = \frac{P_{\text{app}}^{\gamma}}{EC_{50}^{\gamma} + P_{\text{app}}^{\gamma}} \quad (\gamma: 1.520, EC_{50}: 0.6747) \quad (2-35)$$

ここで EC_{50} は 50 %の F_A に達する P_{app} 値を示す。なお EC_{50} 及び γ は既報[41]内の試験値を使用して最適化した。次に Equation 2-32 で構築した F_{AI} について ATOM を用いて P_{app} との関

係性を確認した。その結果、 F_{AI} は P_{app} 依存的に増加し、かつそのプロファイルは F_A と P_{app} プロファイルと立ち上がり異なるのみで類似していた(Figure 2-6)。そこで EC_{50} にスケーリングファクター(SF_{EC50})を結びつけることで P_{app} から F_{AI} を算出可能であると考えられた (Equation 2-36)。

$$F_{AI} = \frac{P_{app}^Y}{(SF_{EC50} * EC_{50})^Y + P_{app}^Y} \quad (2-36)$$

したがって Equation 2-34 及び 2-36 を用いることで、in vitro パラメータである P_{app} から F_{AI} 、そして F_R を算出することが可能になった。そこで 2.3.3 以降の静的モデルを用いた DI 解析では各基質について P_{app} を用いた F_R を組み込み、CR 及び IR、AUCR、 $t_{1/2}R$ の推定を行った。

2.3.3 CR 及び IR の推定

次に各基質及び各阻害剤の in vitro 及び in vivo 情報を収集した上でモデル解析を行い、小腸における P-gp の寄与率及び阻害率(CR_{AX} , IR_{AX})と CYP3A の寄与率及び阻害率(CR_{GM} , IR_{GM})、肝臓における CYP3A の寄与率及び阻害率(CR_H , IR_H)を推定した(Figure 2-9, Table 2-7, Table 2-8)。各基質に関して CR が推定されているが、P-gp または CYP3A の典型的基質にてそれぞれ CR_{AX} または CR_{GM} が高く算出されている一方で、P-gp 基質では CR_{GM} 、CYP3A 基質では CR_{AX} が低値を示していることから、推定された P-gp 及び CYP3A の寄与率がおおむね妥当であるものと考えられた。

2.3.4 AUCR 及び $t_{1/2}R$ の予測

2.3.3 で推定された CR 及び IR を使用して AUCR ならびに $t_{1/2}R$ を算出し、臨床での実測値と比較した(Figure 2-10)。その結果、AUCR に関しては 1.5 倍以内に 80.0 %、2 倍以内に 91.4 % が存在し、 $t_{1/2}R$ に関しては 1.5 倍以内に 95.7 %、2 倍以内に 100 % が存在していた(Table 2-9)。

したがって、今回解析に用いたモデルによって、in vivo で観察された AUCR と $t_{1/2}R$ が良好に説明できているものと考えられた。

2.3.5 スケーリングファクター及び各パラメータの精度推定

今回の理論は in vitro と in vivo 間の乖離などを埋め合わせるために種々の SF を設定しているが、本解析モデルを用いてスケーリングファクターを推定できた(Table 2-10)。また各パラメータの精度(τ)についても同様に算出したところパラメータ間で著しく異なっておらず、特定のパラメータに偏った解析ではないと考えられた。

2.3.6 各薬剤間の AUCR 予測

本解析では基質と阻害剤の組み合わせごとの相互作用をそれぞれで示すことが可能である。

CYP3A 基質における肝臓の CYP3A を介した相互作用予測法は本研究室にてすでに報告している[15, 16, 17]が、小腸における P-gp 及び CYP3A の寄与を分離することで、P-gp の寄与を含めた小腸で生じる相互作用を予測することができる。また多様な薬剤間の相互作用を予測できることは臨床現場、ならびに臨床試験設定について非常に重要であると考えられる。そ

ここで今回取得された CR 及び IR を用いて、それぞれの基質ならびに阻害剤ごとの AUCR を 3D プロットにて示した(Figure 2-11)。本静的モデルを活用して解析し Figure 2-11 のようなビジュアライズをすることにより、多くの薬剤間の相互作用を網羅的に、かつ簡便に把握できるものと考えられる。

2.4 考察

P-gp と CYP3A は小腸で発現し[42]、それらを介した相互作用は薬物の曝露変動を引き起こす[43]。Tod らは、in vivo データから P-gp 及び CYP3A の寄与率を推定し、それらを用いて DI を予測する静的モデルを報告した[33]。彼らは小腸における両分子の寄与率、肝臓における CYP3A の寄与率に加え、肝臓及び腎臓での P-gp の寄与率についても in vivo の情報から推定しているが、in vivo の情報量は限定的であり、全ての寄与率を高い信頼性で算出するためには情報量が不足していると考えられる。一方で吸収ならびに代謝評価の in vitro ツールは多く、その試験値も数多く報告されている。そこで in vivo に加え、in vitro 試験値を使用した理論モデルを加えることにより、より高い精度で寄与率を算出できるものと考えられた。また in vitro 及び in vivo の両方の情報を使用して P-gp 及び CYP3A の推定したうえで DI を予測する静的モデルの報告はないため、今回の in vitro 及び in vivo 情報の統合によって小腸における CYP3A 及び P-gp を介した DI を予測できる静的モデルは両者の寄与をより明確に分離できる方法として有益であると考えられた。

一方で小腸における P-gp 及び CYP3A の寄与率を算出するためには管腔側に排出されたうち上皮細胞に取り込まれる割合を示す F_R の算出法を確立する必要がある。しかしながら再吸収という概念は、排出と吸収と逆向きの働きのため非常に速度論的な取り扱いが難しいこともあり、これまでにその算出法を示した報告はない。そこで今回、消化管吸収長に従って指数関数的に吸収される tube model を仮定して、その中央値で排出されるという再吸収率の概念を構築(Figure 2-4)することにより、再吸収の速度論的取り扱いを可能にした。これま

で in vivo の小腸上皮細胞における膜透過性(F_A)と in vitro の透過性である P_{app} は一般的に相関することが報告されている[41]。今回 F_R と F_{AI} の関係性(Figure 2-5)、ならびに動的モデルを使用して F_{AI} と F_A の関係性を整理(Figure 2-6)することで、in vitro 試験値である P_{app} から F_R を予測することに成功した。今回の F_R 算出により、最終的に小腸での P-gp 及び CYP3A の両方の寄与率を in vitro の試験値から予測することを可能にしており、本研究の土台を構築することに成功した。

次にこの F_R を含めた理論モデルを使用して、各薬剤の in vitro 及び in vivo データをもとに小腸での P-gp 及び CYP3A の寄与率を算出した(Figure 2-9, Table 2-7, Table 2-8)。各基質についてそれぞれ CYP3A 及び P-gp の寄与率を分離することに成功したが、特に dual substrate に関してもそれぞれの寄与率を算出できており、これまで困難であった両分子の寄与率の大小の判断を可能にした。また分離した寄与率の妥当性に関しては、典型的 P-gp 基質では CR_{AX} が高く、典型的 CYP3A 基質では CR_{GM} が高い点、逆に典型的 P-gp 基質及び CYP3A 基質ではそれぞれ CR_{GM} 及び CR_{AX} が非常に低値である点を考慮すると、その分離は妥当であると考えられた。

前述の通り Tod らの報告[33]では P-gp 及び CYP3A の寄与率を分離しているが、臨床 DI 情報のみを用いて各基質の値を推定しているためその情報量の点から値の信頼性にはやや欠ける可能性があると考えられる。本方法は in vitro の情報を用いて情報を補完し、さらに in vitro と in vivo の乖離をスケーリングファクターで補正していることから、これまでより信頼性が高く、かつ明確に寄与を分離できる方法ではないかと考えられた。また寄与率の大小

は新規医薬品の臨床薬物相互作用試験にてより感度の高い薬剤の選択にも使えることから、医薬品開発の面でも活用が期待できる。

また今回推定された CR 値及び IR 値を使用して STADAM の解析方法に基づき AUCR 及び $t_{1/2}R$ を予測したところ、報告値と比較して AUCR に関しては 1.5 倍以内に 80.0 %、2 倍以内に 91.4 %が、 $t_{1/2}R$ に関しては 1.5 倍以内に 95.7 %、2 倍以内に 100 %が存在しており (Figure 2-10, Table 2-9)、臨床での結果と良好に予測したものと考えられた。またこれまで CR-IR 法を用いた相互作用分類(pharmacokinetic interaction significance classification system, PISCS)[34]では、肝臓の CYP3A の基質に関して阻害剤併用時の AUCR が 2 倍以上と予測されたにも関わらず併用注意のラベリングが実施されている組み合わせは約 70%であることが報告されており、併用制限が必要な薬剤が抜け漏れている可能性が示唆されている。一方で全ての相互作用について DI 試験を実施するのは現実的ではないことから、多くの薬剤間の DI を正確に予測できる方法の構築は臨床試験を実施せずに判断できる点で非常に重要であると考えられる。今回の新規静的モデルは P-gp 基質や dual substrate にも拡張しているためより多くの薬剤に関して DI 予測を可能にしており、より多くの相互作用を予測できることから臨床試験設計ならびに臨床現場における服薬管理に貢献できると考えられる。また本モデルの特長は小腸での P-gp 及び CYP3A 阻害による AUCR を複数薬剤間で予測できることに加え、循環血での相互作用もモデル化していることから $t_{1/2}R$ の解析も可能である点がある。半減期は反復投与時の蓄積性に影響するため、リスクマネジメント上重要な観点である。したがって、 $t_{1/2}R$ を簡易的に予測できることも臨床現場での活用に関しては有益

ではないかと考えられた。

一方で既存の *in vitro* 試験結果(P_{app} ならびに CL_{int})が取得されなかった基質薬剤 (budesonide, cerivastatin, dabigatran etexilate, pravastatin, repaglinide, rosuvastatin)に関しては寄与率の推定信頼区間が他よりも非常に大きくなっていた(Figure 2-9, Table 2-7)。これは *in vitro* 試験値の有無がそれぞれの寄与率の信頼性に大きく関与することを示唆する。今回は多くの *in vitro* 試験データを採用しているが、それでも取得されていない試験値も複数存在している。そこでこれらの薬剤についてはより正確な寄与率を推定するため、今後 *in vitro* 試験値を取得することが望まれる。また今回用いた CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞は生理的な CYP3A 発現量を有している Caco-2 細胞で、消化管吸収を構成する要因である膜透過性、トランスポーター輸送活性、CYP3A による代謝活性を全て有していることから一回の試験でそれらのパラメータの評価が可能である。これまで上記の要因を兼ね揃える *in vitro* ツールとして、CYP3A 強制発現小腸上皮細胞[44, 45]や初代培養上皮細胞[46, 47]が報告されてきたが、いずれも生理的な CYP3A 発現量でないこと、継続的な培養が難しいことから消化管吸収性予測への活用が普及していない。そのため現状ではパラメータごとに別々の試験ツールを用いて評価することが多く、パラメータを揃えるのに時間を要してしまう。今回の CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞は P-gp による輸送活性及び CYP3A による代謝活性が観察されていた(Table 2-6, Figure 2-7)。医薬品開発には非常に多くの費用と時間を要するため、常にその時間短縮と費用削減は望まれる。そこで短時間で必要なパラメータを取得できる試験ツールは有益であるが、今回使用した CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を用いた試験値の取

得が今後発展することが期待される。また今回は小腸の P-gp と CYP3A を介した DI に着目したが、P-gp や CYP3A 以外にも薬物の消化管吸収に関与するトランスポーターとして BCRP[48, 49]や有機アニオントランスポーター(organic anion transporting polypeptide, OATP)[50], 代謝酵素としてグルクロン酸抱合代謝酵素(UDP-glucuronosyltransferase, UGT)[51, 52]などが報告されている。今後は評価対象分子を増加させ、さらに広範な DI 予測を構築することが期待される。

結論として、今回構築した新規静的吸収モデルは in vitro 及び in vivo の両方の情報を用いて消化管の P-gp 及び CYP3A の CR と IR を分離して推定可能であり、消化管での相互作用を含めた AUCR 及び $t_{1/2}R$ を網羅的に予測することを可能にした。また今回の新規静的モデルは臨床現場、新薬開発の両面において応用可能であると考えられ、その活用が期待される。

2.5 小括

本研究では新規静的消化管吸収モデルに関して、以下の知見を得た。

- ✓ 再吸収率をモデル化することで新規の静的薬物吸収モデルを構築し、これを STADAM に組み込んで、小腸での CYP3A 及び P-gp の寄与を分離することに成功し、それぞれの寄与率及び阻害率を算出した。
- ✓ 小腸の CYP3A 及び P-gp の寄与率と阻害率を使用して AUC 変化比ならびに半減期変化比を算出したところ、90 %以上の組み合わせが実測値の 2 倍以内に収まり、良好な予測性を示した。

Table 2-1 Dose proportionality of substrates

Substrate	Dose range of a substrate applied in the DI study (mg)	Reported dose proportional range (mg)	Ref.
aliskiren	75 - 300	75 - 600	221
alfentanil	1 - 3.01 ^a	NA	-
alprazolam	0.5 - 1	- 10	223
atorvastatin	0.05 - 80	2.5 - 80	222
budesonide	3	3 - 15	224
buspirone	10	10 - 40	225
cerivastatin	0.3 - 0.8	0.3 - 0.8	226
cyclosporine	140- 681 ^a	NA	-
dabigatran etexilate	0.375 - 300	10 - 400	227
digoxin	0.25 - 0.75	NA	-
felodipine	5	2.5 - 10	228
fexofenadine	0.1 - 180	20 - 240	229
lovastatin	20 - 40	10 – 40	230
midazolam	0.0001 - 15	7.5 – 15	231
nifedipine	20	NA	-
pravastatin	40	- 40	232
repaglinide	0.25	0.25 - 3	233
rosuvastatin	0.025 - 80	10 - 80	235
simvastatin	40	NA	-
tacrolimus	2.8 – 7 ^a	3 - 10	234
triazolam	0.125 - 0.25	0.125 - 0.25	236
zolpidem	5 - 10	2.5 - 10	237

NA: Not applicable

a: Body weight was used as 70 kg for the calculation of dose.

Table 2-2 Q1/Q3 transitions of analytes and internal standards

Compound	Q1/Q3 transitions (m/z)
midazolam	326.05 / 291.20
atorvastatin	559.52 / 440.40
lovastatin	405.54 / 199.30
tacrolimus	821.63 / 768.60
alprazolam	309.45 / 281.30
triazolam	343.35 / 308.30
aliskiren	552.65 / 436.60
digoxin	798.55 / 651.60
fexofenadine	502.42 / 466.30
1'OH-midazolam	342.13 / 203.20
sulfaphenazole	315.11 / 158.70
cyclosporine D	1233.76 / 1216.80

Table 2-3 Information of DIs

Substrate	Dose of a substrate (mg)	Inhibitor	Dose of an inhibitor (mg)	Dose corrected AUCR	t _{1/2} R	Ref.
aliskiren	150	itraconazole	200	6.33	1.06	53
aliskiren	75	cyclosporin	200	4.28	1.77	54
aliskiren	75	cyclosporin	600	4.99	1.81	54
aliskiren	300	verapamil	240	1.78	0.84	55
aliskiren	300	ketoconazole	200	1.78	NA	56
alfentanil ^a	1	ketoconazole	400	9.2	3.92	57
alfentanil	2.8 ^b	fluconazole	100	1.8	1.40	58
alfentanil	2.8 ^b	fluconazole	200	2.9	1.60	58
alfentanil	2.8 ^b	fluconazole	400	4.9	2.60	58
alfentanil	4.3 µg/kg (with inhibitor) 43 µg/kg (control)	ritonavir	300	24.8	11.00	59
alfentanil	4.3 µg/kg (with inhibitor) 43 µg/kg (control)	ritonavir	400	10.0	5.55	59
alprazolam	0.8	itraconazole	200	2.66	2.57	60

alprazolam	1	ketoconazole	200	3.98	3.88	61
alprazolam	0.5	ketoconazole	400	2.70	2.45	62
alprazolam	0.5	ketoconazole	200	2.91	2.45	62
atorvastatin	20	itraconazole	200	2.75	1.30	63
atorvastatin	80	itraconazole	200	1.47	1.50	64
atorvastatin	0.05	itraconazole	200	5.23	2.71	65
atorvastatin	80	clarithromycin	500	4.45	NA	64
atorvastatin	0.05	clarithromycin	500	3.69	1.80	65
budesonide	3	ketoconazole	200	6.81	1.07	66
budesonide	3	ketoconazole	200	3.96	1.98	66
buspirone	10	itraconazole	200	14.48	NA	67
buspirone	10	itraconazole	200	19.15	1.80	68
buspirone	10	erythromycin	500	5.91	1.73	68
cerivastatin	0.8	itraconazole	200	1.27	1.19	63
cerivastatin	0.3	erythromycin	500	1.21	1.11	69
cyclosporine	2 mg/kg (with inhibitor) 8 mg/kg (control)	ketoconazole	200	5.31	NA	126
cyclosporine	681 ^b	erythromycin	250	2.22	1.07	127
dabigatran etexilate	300	clarithromycin	500	1.97	NA	70
dabigatran etexilate	300	clarithromycin	500	1.49	NA	71

dabigatran etexilate	0.375	clarithromycin	500	4.21	1.21	65
dabigatran etexilate	0.375	itraconazole	200	7.39	1.23	65
dabigatran etexilate	150	verapamil	120	2.43	0.94	72
dabigatran etexilate	150	verapamil	240	1.71	0.95	72
dabigatran etexilate	150	verapamil	120	2.08	0.95	72
dabigatran etexilate	150	verapamil	120	1.54	0.96	72
dabigatran etexilate	150	verapamil	120	1.18	1.06	72
dabigatran etexilate	150	verapamil	120	1.39	1.06	72
digoxin	0.25	verapamil	80	1.50	NA	73
digoxin	0.25	clarithromycin	500	1.47	1.73	74
digoxin	0.75	clarithromycin	250	1.64	NA	75
digoxin	0.4	clarithromycin	500	1.35	1.50	76
digoxin	0.5	clarithromycin	500	1.57	1.79	77
digoxin	0.5	ritonavir	400	1.37	NA	78
digoxin	0.5	ritonavir	400	1.16	NA	78
digoxin	0.4	ritonavir	200	1.22	1.43	79
digoxin	0.5	itraconazole	200	1.68	1.38	80
felodipine	5	itraconazole	200	6.34	1.71	81

fexofenadine	60	fluvoxamine	50	1.78	0.96	82
fexofenadine	60	itraconazole	200	2.78	0.84	83
fexofenadine	60	itraconazole	200	3.05	0.80	83
fexofenadine	60	itraconazole	200	2.69	0.91	83
fexofenadine	120	itraconazole	100	2.73	1.02	84
fexofenadine	180	itraconazole	200	2.29	0.88	85
fexofenadine	180	itraconazole	200	3.01	0.92	85
fexofenadine	60	itraconazole	50	2.09	1.05	86
fexofenadine	60	itraconazole	100	2.53	1.06	86
fexofenadine	60	itraconazole	200	2.41	1.11	86
fexofenadine	0.1	ritonavir	20	1.41	0.94	87
fexofenadine	0.1	ritonavir	100	2.19	0.94	87
fexofenadine	60	ritonavir	300	2.8	1.07	59
fexofenadine	60	ritonavir	400	1.4	0.98	59
fexofenadine	120	ritonavir	100	2.23	1.12	88
fexofenadine	60	azithromycin	250	1.71	NA	89
fexofenadine	120	ketoconazole	400	2.64	NA	90
fexofenadine	120	erythromycin	500	2.09	NA	90
fexofenadine	60	verapamil	240	1.3	0.94	91
fexofenadine	60	verapamil	240	1.6	0.94	91
fexofenadine	60	verapamil	240	1.8	0.97	91
fexofenadine	120	verapamil	80	2.48	0.76	92
fexofenadine	120	diltiazem	100	1.07	1.03	84
lovastatin	40	itraconazole	100	14.8 ^c	1.42	93

lovastatin	20	diltiazem	120	3.57	0.92	94
midazolam	2	itraconazole	50	2.0	1.76	95
midazolam	2	itraconazole	200	4.7	2.84	95
midazolam	2	itraconazole	400	5.4	3.24	95
midazolam	0.01	itraconazole	200	6.80	1.79	65
midazolam	7.5 (with inhibitor) 15 (control)	itraconazole	200	12.32	2.81	96
midazolam	7.5	itraconazole	100	5.75	1.92	97
midazolam	7.5	itraconazole	200	10.77	2.82	98
midazolam	0.01	clarithromycin	500	4.71	1.76	65
midazolam	5	ketoconazole	100	2.3	NA	99
midazolam	5	ketoconazole	400	3.9	NA	99
midazolam	5	ketoconazole	400	4.9	NA	99
midazolam	5	ketoconazole	400	5.4	NA	99
midazolam	5	ketoconazole	200	2.7	NA	99
midazolam	5	ketoconazole	400	4.2	NA	99
midazolam	1	ketoconazole	400	4.77	NA	100
midazolam	2	ketoconazole	400	17.08	3.76	62
midazolam	2	ketoconazole	200	15.32	3.71	62
midazolam	0.0001	ketoconazole	400	19.5	6.71	101
midazolam	0.0003	ketoconazole	400	18.8	4.77	101

midazolam	1	ketoconazole	400	10.9	2.60	101
midazolam	3	ketoconazole	400	13.6	2.48	101
midazolam	7.5	ketoconazole	400	15.90	3.11	98
midazolam	2	ketoconazole	400	7.64	2.47	102
midazolam	5.505 ^b	ketoconazole	400	9.53	NA	103
midazolam	0.075	ketoconazole	200	6.47	1.59	104
midazolam	5.505 ^b	ketoconazole	400	9.51	5.90	105
midazolam	10	ketoconazole	200	6.56	1.06	106
midazolam	6	ketoconazole	200	15.1	5.82	107
midazolam	2	ketoconazole	400	10.28	1.88	108
midazolam	2	ketoconazole	400	13.14	2.33	108
midazolam	2	ketoconazole	400	13.96	2.64	108
midazolam	2	posaconazole	200	4.98	2.13	102
midazolam	2	posaconazole	400	5.27	2.63	102
midazolam	2	posaconazole	50	3.04	NA	97
midazolam	2	posaconazole	100	3.95	NA	97
midazolam	2	posaconazole	200	6.00	NA	97
midazolam	10	fluvoxamine	100	1.39	2.16	106
midazolam	2	diltiazem	60	4.05	2.29	109
midazolam	2	diltiazem	240	3.34	2.61	109
midazolam	2	diltiazem	240	3.29	2.11	109
midazolam	3	fluconazole	100	2.4	1.25	58
midazolam	3	fluconazole	200	3.6	1.46	58
midazolam	3	fluconazole	400	5.3	1.50	58

midazolam	0.1	ritonavir	20	5.91	3.68	87
midazolam	0.1	ritonavir	100	14.7	12.1	87
midazolam	7.5	voriconazole	400	10.28	3.67	110
midazolam	0.003	voriconazole	50	1.84	1.07	111
midazolam	0.003	voriconazole	400	6.95	2.19	111
midazolam	2	itraconazole	200	7.97	NA	128
nifedipine	20	diltiazem	60	2.40	1.30	112
pravastatin	40	itraconazole	200	1.56	1.23	63
pravastatin	40	itraconazole	200	1.12	1.00	64
pravastatin	40	clarithromycin	500	2.11	NA	64
pravastatin	40	verapamil	480	1.32	NA	64
repaglinide	0.25	itraconazole	100	1.42	1.23	113
repaglinide	0.25	clarithromycin	250	1.40	1.21	114
repaglinide	0.25	cyclosporin	100	2.54	0.98	115
rosuvastatin	10	itraconazole	200	1.26	NA	116
rosuvastatin	80	itraconazole	200	1.40	1.08	116
rosuvastatin	0.025	itraconazole	200	1.64	2.82	65
rosuvastatin	0.025	clarithromycin	500	1.70	1.94	65
simvastatin	40	verapamil	480	4.22	NA	64
simvastatin	40	verapamil	240	4.6	1.67	117
simvastatin	40	clarithromycin	500	9.95	NA	64
simvastatin	40	ketoconazole	400	12.55	1.86	105
simvastatin	40	erythromycin	500	6.2	1.75	117
simvastatin	40	posaconazole	50	5.65	NA	118

simvastatin	40	posaconazole	100	10.31	NA	118
simvastatin	40	posaconazole	200	10.60	NA	118
tacrolimus	3	itraconazole	200	3.32	NA	128
tacrolimus	0.04 mg/kg (with inhibitor) 0.1 mg/kg (control)	ketoconazole	200	2.88	NA	129?
tacrolimus	3.49 ^b	posaconazole	400	4.23	1.24	130
tacrolimus	3	voriconazole	200	4.41	NA	131
tacrolimus	3	voriconazole	200	5.00	NA	131
tacrolimus	3	voriconazole	200	6.02	NA	131
triazolam	0.25	itraconazole	200	8.73	NA	119
triazolam	0.25	ketoconazole	400	8.15	NA	119
triazolam	0.25	ketoconazole	200	13.72	6.10	122
triazolam	0.125	ketoconazole	200	9.16	3.97	120
triazolam	0.25	ranitidine	75	1.11	0.98	121
triazolam	0.25	ranitidine	150	1.28	1.03	121
triazolam	0.25	ranitidine	75	1.31	1.03	121
triazolam	0.25	ranitidine	150	1.28	1.02	121
zolpidem	10	itraconazole	200	1.32	1.17	123
zolpidem	5	itraconazole	100	1.32	1.05	124
zolpidem	5	ketoconazole	200	1.67	1.30	124

zolpidem	5	fluconazole	100	1.31	1.06	124
zolpidem	10	voriconazole	200	1.48	1.35	125

NA: Not applicable, AUCR: AUC ratio, $t_{1/2}R$: half-life time ratio

a: One milligram of d₃-alfentanil was administered.

b: Mean body weight in DI study was multiplied for the calculation of dose.

c: The value of AUC in the control group was assumed to be 15 ng h/mL, although > 15 ng h/mL was mentioned as AUC in the control group.

Table 2-4 Pharmacokinetic parameters of substrates

Substrate	f_p	R_b	f_m^b	$CL_{h,blood}^c$ (mL/min/kg)	F	F_h	$X_{u,i}$	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)	$CL_{int,i}$ (μ L/min/pmo l CYP3A)	Q_{GM}	Q_{AxA}	Ref.
aliskiren	0.53	0.676 ^a	NA	3.21	0.026	0.87	0.00 ^e	0.048	NA	0.37 ^f	0.16 ^f	132, 133, 134, 135
alfentanil	0.079	0.63	0.87	7.94	0.46	0.69	0.00	29.2	0.950	0.033	0	14, 136, 137, 138, 139, 140
alprazolam	0.2	0.85	0.8	0.78	0.86	0.97	0.25	25.5	0.001	0.00 ^g	0 ^g	14, 134, 141, 142, 143, 144, 145
atorvastatin	0.02	0.55	0.99	18.27	0.14	0.28	0.00 ^e	4.9	0.272	0.056 ^f	0.08 ^f	139, 144, 146, 147, 148
budesonide	0.15	0.8	0.76	25.50	0.10	0.00	0.00 ^e	NA	NA	NA	NA	140, 149, 150, 151
buspirone	0.05	0.81	0.93	25.50	0.04	0.00	0.00	25.4	2.17	0.085	0	14, 139, 140, 152, 153, 154
cerivastatin	0.009	0.511 ^a	0.37	5.87	0.60	0.77	0.00	6.44	NA	NA	NA	134, 144, 155, 156, 157, 158, 159
cyclosporine	0.10	1.36	0.79	3.88	0.219	0.85	0.00	0.5	0.396	0.79	0.79	139, 140, 160, 161

dabigatran etexilate	0.65	0.838 ^a	0	1.68	0.07	0.93	0.42	1.13	0 ^e	0	NA	134, 162, 163, 164, 238
digoxin	0.75	1.076 ^a	0	1.53	0.751	0.94	0.76	1.1	0 ^e	0 ^g	7.41 ^f	134, 165, 166, 167, 168, 169
felodipine	0.003	0.7	0.99	20.04	0.142	0.21	0.00	4.2	23.4	5.57	0	139, 144, 170,171
fexofenadine	0.112	0.635 ^a	0	3.41	0.33	0.87	0.33	1.2	0 ^e	0 ^g	1.91 ^f	139, 168, 169, 172, 173
lovastatin	0.05	0.762	0.9	25.04	0.05	0.02	0.00	14.5	48.8	2.95 ^f	0 ^g	139, 144, 174, 175, 176
midazolam	0.02	0.55	0.99	15.09	0.25	0.41	0.00	32.5	6.80	0.15 ^f	0 ^g	14, 139, 144, 177, 178, 179
nifedipine	0.05	0.67 ^a	0.71	12.09	0.63	0.53	0.00	23.5	2.20	0.094	0	139, 180, 181, 182
pravastatin	0.5	0.555 ^a	0.52	20.45	0.17	0.20	0.44	0.11	NA	NA	NA	134, 140, 183, 184, 185, 239
repaglinide	0.02	0.6	0.3	5.04	0.56	0.80	0.00	24.1	0.472	0.020	NA	134, 140, 186, 187
rosuvastatin	0.12	0.566 ^a	NA	17.89	0.20	0.30	0.25	0.5	NA	NA	NA	134, 168, 188, 189
simvastatin	0.05	0.57	0.99	25.50	0.05	0.00	0.00	6.8	69.6	10.24	0	139, 144, 190, 191

tacrolimus	0.01	0.65 ^a	0.99	0.74	0.17	0.97	0.01	13.1	13.2	1.72 ^f	0.67 ^f	134, 139, 144, 192
triazolam	0.099	0.62	0.98	11.40	0.44	0.55	0.05	28	0.006 ^h	0.00 ^g	0 ^g	139, 144, 193, 194, 195, 196
zolpidem	0.075	0.76	0.26	0.10	0.675	1.00	0.00	31.9	0.022	0.0007	0	139, 140, 197

f_m : fraction metabolized by CYP3A4 in the liver, $CL_{h,blood}$: hepatic clearance in blood, F : bioavailability, F_h : hepatic bioavailability, $X_{u,iv}$: urinary excretion ratio of unchanged form after intravenous administration, P_{app} : apparent permeability in Caco-2 cells, $CL_{int,i}$: intrinsic clearance in intestinal microsome, R_{flux} : net flux ratio with or without a P-gp inhibitor in Caco-2 cells

NA: Not applicable

a: The values were referred from ADMET Predictor® (version 9.0, Simulations Plus, Inc.).

b: The values of f_m of dabigatran etexilate, digoxin and fexofenadine were assumed to be 0 because they are not metabolized by CYP3A.

c: $CL_{h,blood}$ of budesonide, buspirone and simvastatin were assumed to be equal with Q_h (25.5 mL/min/kg) [198] because calculated values were above Q_h .

d: R_{flux} of alfentanil, alprazolam, buspirone, felodipine, lovastatin, midazolam, simvastatin, triazolam and zolpidem were assumed to be 1 according to reference 169 or the results of permeability study using CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 cells. In the case of P-gp substrates whose R_{flux} were unavailable, the values were assumed to be NA.

e: Assumed to be 0

f: Calculated values used from permeability study in CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 cells with a conversion factor

g: The values of Q_{AXA} or Q_{GM} were assumed to be 0 because calculated values using the results of permeability study in CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 cells were 0 or minus.

h: LogP value of budesonide is 1.9 (PubChem Compound database), therefore, F_A value of busdenoside was assumed to be 1 considering the reported correlation between lipophilicity and F_A values [240].

Table 2-5 Inhibitory parameters of CYP3A4 and P-gp

Inhibitor	Molecular weight ^a	CYP3A4 K _i (μmol/L)	P-gp IC ₅₀ ^c (μmol/L)	Ref.
azithromycin	748.996	105	21.8	199, 200
clarithromycin	747.964	5.49	7.0	201, 202
cyclosporin	1202.635	0.98	0.29	202, 203
diltiazem	414.52	0.49	4.6	204, 205
erythromycin	733.937	8.82	54.8	204, 206
fluconazole	306.277	1.9	400 ^b	207, 208
fluvoxamine	318.34	2.6	146.7	209, 210
itraconazole	705.641	0.3	0.46	202, 211
ketoconazole	531.434	0.1	0.42	202, 211
posaconazole	700.792	3.44	3.0	212, 213
ranitidine	314.404	500	500 ^b	214, 215
ritonavir	720.948	0.38	1.5	202, 216
verapamil	454.611	9.6	4.05	217, 218
voriconazole	349.317	0.66	2.2	219, 220

a: Molecular weight was referred from PubChem Compound database.

b: The IC₅₀ value of P-gp was assumed to be same with the maximum concentrations used in the experiments because the IC₅₀ value were over the maximum concentration.

c: IC₅₀ value was assumed to be equal with K_i value because concentration of a test substrate in the experiment was quite below K_m value.

Table 2-6 Permeability study using CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 cells

Compound	P _{app} , A to B (×10 ⁻⁶ cm/sec)			P _{app} , B to A (×10 ⁻⁶ cm/sec)		Q _{AxA}	Q _{GM}
	Control	CYP3A inhibition	P-gp inhibition	Control	P-gp inhibition		
midazolam	28.8±0.41	35.9±1.58	33.7±3.77	34.2±1.19	39.1±0.92	0 ^a	0.31
atorvastatin	0.07±0.01	0.04±0.01	0.09±0.04	7.09±0.24	5.38±0.24	0.78	0 ^a
lovastatin	1.24±0.14	7.34±4.32	1.48±0.60	3.93±0.17	2.55±0.16	0 ^a	6.16
tacrolimus	0.67±0.20	0.99 ^b	1.89±0.76	24.0±1.89	9.19±1.28	6.35	3.59
alprazolam	8.19±1.50	7.20±1.89	9.42±1.23	17.7±1.11	16.8±3.19	0 ^a	0 ^a
triazolam	11.0±1.83	9.58±0.38	14.4±3.25	19.7±1.42	21.2±4.69	0 ^a	0 ^a
aliskiren	0.13±0.06	0.21±0.07	0.17±0.07	2.31±0.32	1.17±0.19	1.49	0.76
digoxin	0.25±0.02	0.19±0.04	5.26±0.73	11.2±0.41	3.33±0.03	69.87	0 ^a
fexofenadine	0.07±0.02	0.06±0.00	0.16±0.02	3.78±0.65	0.45±0.01	17.97	0 ^a

Values were shown as mean ± SD (n=2-3). 1 mmol/L 1-ABT (a CYP3A inhibitor) or 0.5 µmol/L elacridar (a P-gp inhibitor) was added in CYP3A or P-gp inhibition group.

a: Values were assumed to be 0 because calculated values were almost or below 0.

b: Result of two samples were represented because concentration of one sample was thought to be outlier.

Table 2-7 Estimated CR values

substrate	CR _{AX}	CR _{AX}	CR _{GM}	CR _{GM}	CR _H	CR _H
	median	25%-75% CI	median	25%-75% CI	median	25%-75% CI
ALF	0.04	(0 , 0.25)	0.35	(0.09 , 0.56)	0.95	(0.86 , 1)
ALI	0.05	(0 , 0.26)	0.60	(0.23 , 0.8)	0.34	(0.02 , 0.75)
ALP	0.04	(0 , 0.25)	0	(0 , 0)	0.77	(0.61 , 0.9)
ATR	0.04	(0 , 0.25)	0.33	(0.03 , 0.57)	0.77	(0.55 , 0.96)
BUD	0.24	(0 , 0.76)	0.24	(0 , 0.72)	0.57	(0.23 , 0.82)
BUS	0.04	(0 , 0.29)	0.65	(0.39 , 0.82)	0.93	(0.71 , 1)
CRV	0.07	(0 , 0.48)	0.06	(0 , 0.43)	0.29	(0.02 , 0.66)
CYC	0.06	(0 , 0.27)	0.40	(0.03 , 0.76)	0.70	(0.26 , 0.96)
DAB	0.57	(0.35 , 0.75)	0	(0 , 0)	0.10	(0.01 , 0.3)
DIG	0.62	(0.49 , 0.74)	0	(0 , 0)	0.04	(0 , 0.17)
FEL	0.01	(0 , 0.08)	0.64	(0.11 , 0.9)	0.75	(0.25 , 0.98)
FEX	0.49	(0.37 , 0.6)	0	(0 , 0)	0.07	(0 , 0.19)
LOV	0.01	(0 , 0.07)	0.85	(0.61 , 0.96)	0.65	(0.26 , 0.95)
MID	0.01	(0 , 0.06)	0.71	(0.64 , 0.76)	0.86	(0.79 , 0.93)
NIF	0.06	(0 , 0.39)	0.38	(0.03 , 0.72)	0.61	(0.1 , 0.97)
PRV	0.08	(0 , 0.41)	0.08	(0 , 0.42)	0.41	(0.12 , 0.69)
REP	0.11	(0 , 0.5)	0.18	(0.01 , 0.42)	0.28	(0.03 , 0.61)
RSV	0.06	(0 , 0.4)	0.06	(0 , 0.39)	0.35	(0.02 , 0.78)
SIM	0	(0 , 0.01)	0.82	(0.66 , 0.92)	0.86	(0.67 , 0.98)
TAC	0.03	(0 , 0.11)	0.38	(0.04 , 0.65)	0.82	(0.59 , 0.97)
TRI	0.05	(0 , 0.27)	0	(0 , 0.01)	0.99	(0.93 , 1)
ZOL	0.03	(0 , 0.22)	0.01	(0 , 0.03)	0.30	(0.06 , 0.54)

CI: confidence interval

ALF: alfentanil, ALI: aliskiren, ALP: alprazolam, ATR: atorvastatin, BUD: budesonide, BUS:

buspirone, CRV: cerivastatin, CYC: cyclosporine, DAB: dabigatran etexilate, DIG: digoxin, FEL: felodipine, FEX: fexofenadine, LOV: lovastatin, MID: midazolam, NIF: nifedipine, PRV: pravastatin, REP: repaglinide, RSV: rosuvastatin, SIM: simvastatin, TAC: tacrolimus, TRI: triazolam, ZOL: zolpidem

Table 2-8 Estimated IR and V_i values

inhibitor	IR _{AX}	IR _{AX}	IR _{GM}	IR _{GM}	IR _H	IR _H	V _i ^a	V _i ^a
	median	25%-75% CI	median	25%-75% CI	median	25%-75% CI	median	25%-75% CI
AZI	0.76	(0.36 , 0.96)	0.44	(0.12 , 0.84)	0.09	(0.01 , 0.43)	4.24	(2.36 , 7.35)
CLA	0.89	(0.76 , 0.96)	0.91	(0.82 , 0.97)	0.53	(0.3 , 0.73)	10.28	(7.44 , 13.98)
CYC	0.97	(0.91 , 0.99)	0.92	(0.79 , 0.98)	0.55	(0.26 , 0.83)	16.33	(10.86 , 23.63)
DIL	0.57	(0.37 , 0.76)	0.92	(0.83 , 0.97)	0.54	(0.35 , 0.73)	44.22	(34.54 , 56.06)
ERY	0.57	(0.33 , 0.79)	0.89	(0.76 , 0.96)	0.46	(0.23 , 0.67)	8.14	(5.97 , 11.05)
FLU	0.05	(0.03 , 0.12)	0.92	(0.83 , 0.96)	0.51	(0.34 , 0.66)	26.89	(20.82 , 34.37)
FLV	0.11	(0.03 , 0.35)	0.82	(0.56 , 0.95)	0.37	(0.14 , 0.67)	14.5	(9.62 , 21.18)
ITR	0.95	(0.91 , 0.97)	0.97	(0.94 , 0.98)	0.73	(0.62 , 0.83)	28.05	(22.7 , 34.33)
KET	0.95	(0.91 , 0.97)	0.99	(0.98 , 0.99)	0.87	(0.8 , 0.93)	72.27	(59.56 , 86.66)
POS	0.93	(0.85 , 0.97)	0.92	(0.85 , 0.96)	0.55	(0.36 , 0.72)	5.24	(4.03 , 6.75)
RNT	0.47	(0.12 , 0.81)	0.47	(0.12 , 0.81)	0.09	(0.01 , 0.3)	0.76	(0.44 , 1.39)
RTV	0.96	(0.88 , 0.99)	0.99	(0.97 , 1)	0.9	(0.82 , 0.96)	6.37	(4.5 , 8.87)
VER	0.86	(0.72 , 0.95)	0.74	(0.54 , 0.88)	0.22	(0.09 , 0.43)	14.74	(10.8 , 19.89)
VOR	0.89	(0.77 , 0.95)	0.96	(0.92 , 0.98)	0.71	(0.54 , 0.85)	32.47	(25.01 , 41.66)

a: The unit of V_i is L.

CI: confidence interval

AZI: azithromycin, CLA: clarithromycin, CYC: cyclosporine, DIL: diltiazem, ERY: erythromycin, FLU: fluconazole, FLV: fluvoxamine, ITR: itraconazole,

KET: ketoconazole, POS: posaconazole, RNT: ranitidine, RTV: ritonavir, VER: verapamil, VOR: voriconazole

Table 2-9 Percentage of predicted AUCR and $t_{1/2}R$ within 1.5- and 2-fold error from observed values

	AUCR	$t_{1/2}R$
Within 1.5-fold (Number)	129	155
Within 2-fold (Number)	148	162
Total	162	
Within 1.5-fold (%)	80.0	95.7
Within 2-fold (%)	91.4	100

Table 2-10 Estimated scaling factors and the precisions

Parameters	median	25%-75% CI
SF _{AX}	0.56	(0.47 , 0.67)
SF _{GM}	1.14	(0.94 , 1.5)
SF _v	10.47	(8.55 , 12.78)
SF _{EC50}	0.54	(0.29 , 0.77)
tau_f _{m_3A}	7.46	(6.89 , 8.06)
tau_K _{i_3A}	2.55	(2.36 , 2.74)
tau_K _{i_3A_g}	2.55	(2.37 , 2.74)
tau_K _{i_pg}	2.56	(2.37 , 2.75)
tau_Q _{MA}	3.17	(2.96 , 3.4)
tau_AUCR	4.5	(4.12 , 4.92)
tau_R _{flux}	2.94	(2.72 , 3.16)
tau_R _{t1/2}	3.94	(3.62 , 4.28)

CI : Confidence interval

SF_{AX}: a scaling factor about the ratio of P-gp transport activity and passive transport permeability between in vitro and in vivo, SF_{GM}: a scaling factor about the ratio of CYP3A metabolic activity and passive transport permeability between in vitro and in vivo, SF_v: a scaling factor about the ratio of hepatic and intestinal imaginary distribution volume, SF_{EC50}: a scaling factor about the ratio of EC₅₀ values in F_A and F_{AI} calculation, K_{i_3A_g}: K_i value for intestinal CYP3A inhibition (same value as K_{i_3A})

Parameter tau represents the precision expressed as 1/variance.

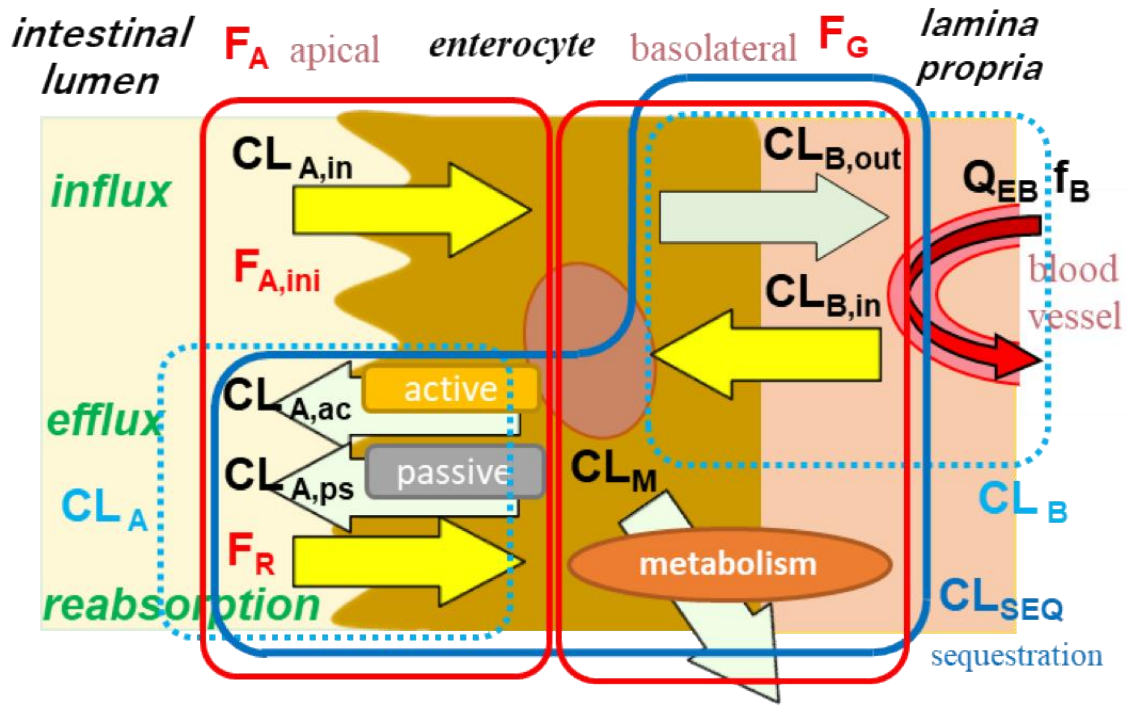


Figure 2-1 Concept of static intestinal absorption model

$CL_{A,in}$: influx clearance from the lumen, $CL_{A,ac}$: active efflux transport clearance to the lumen, $CL_{A,ps}$: passive efflux transport clearance to the lumen, CL_A : whole transport clearance between the lumen and the enterocytes, CL_M : metabolic clearance, $CL_{B,out}$: influx clearance from the enterocytes to the lamina propria, $CL_{B,in}$: efflux clearance from the lamina propria to the enterocytes, CL_B : whole clearance between the basolateral membrane and the blood vessel, CL_{SEQ} : overall clearance in the enterocytes, F_A : fraction absorbed, $F_{A,ini}$: initial absorption ratio, F_G : intestinal availability, F_R : reabsorption ratio, f_B : unbound fraction in blood, Q_{EB} : blood flow in the lamina propria

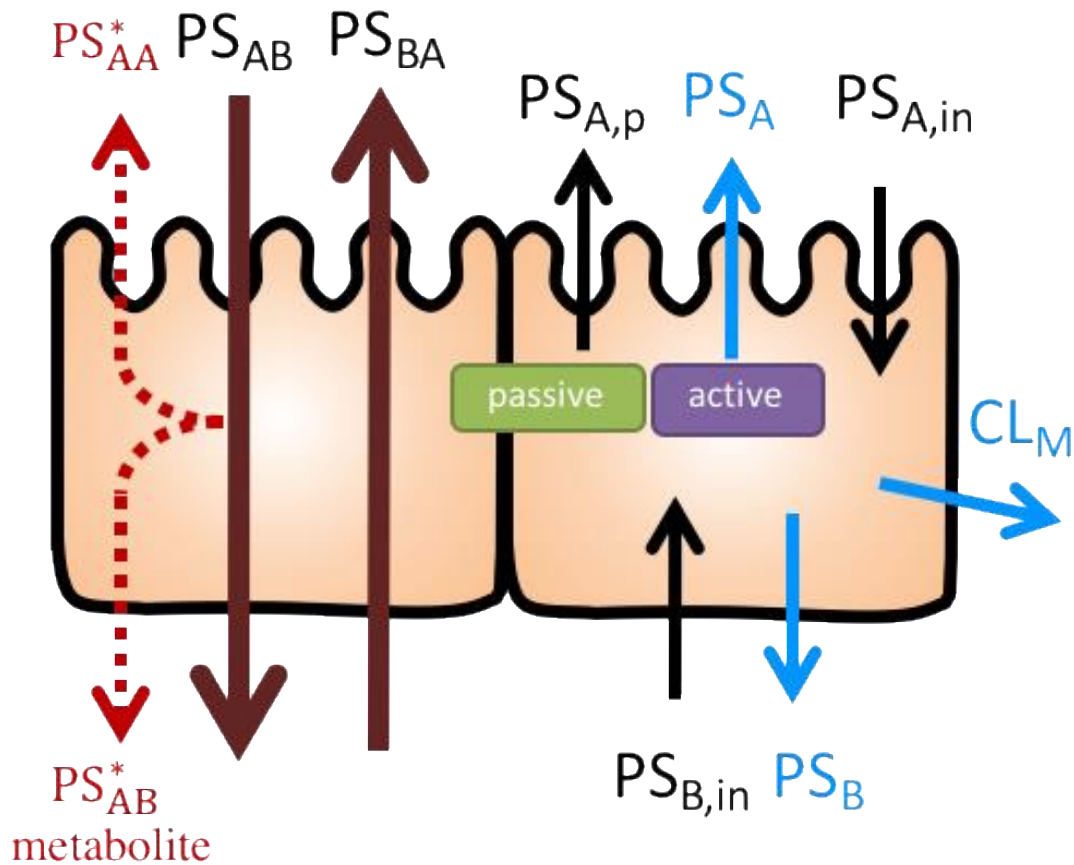


Figure 2-3 Concept of in vitro permeability model

$PS_{A,in}$: transport clearance from the apical side to the cells, PS_A : active transport clearance from the cells to the apical side, $PS_{A,p}$: passive transport clearance from the cells to apical side, PS_B : transport clearance from the cells to the basolateral side, $PS_{B,in}$: transport clearance from the basolateral side to the cells, PS_{AB} : apparent transport clearance from the apical to the basolateral side, PS_{BA} : apparent transport clearance from the basolateral to the apical side, PS_{AA}^* : transport clearance of a metabolite from the cells to the apical side, PS_{AB}^* : transport clearance of a metabolite from the cells to the basolateral side, CL_M : metabolic clearance

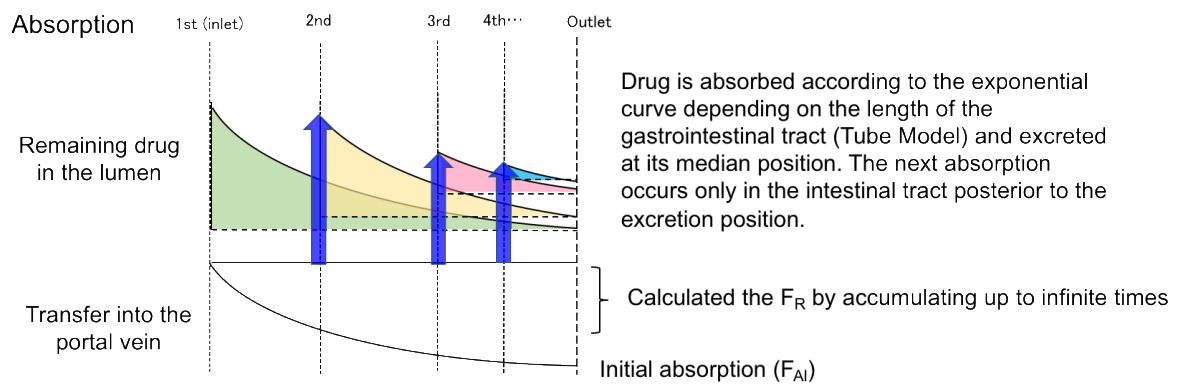


Figure 2-4 Concept of F_R estimation

The concept is based on the hypothesis that drug is absorbed according to tube model and excreted at its median position.

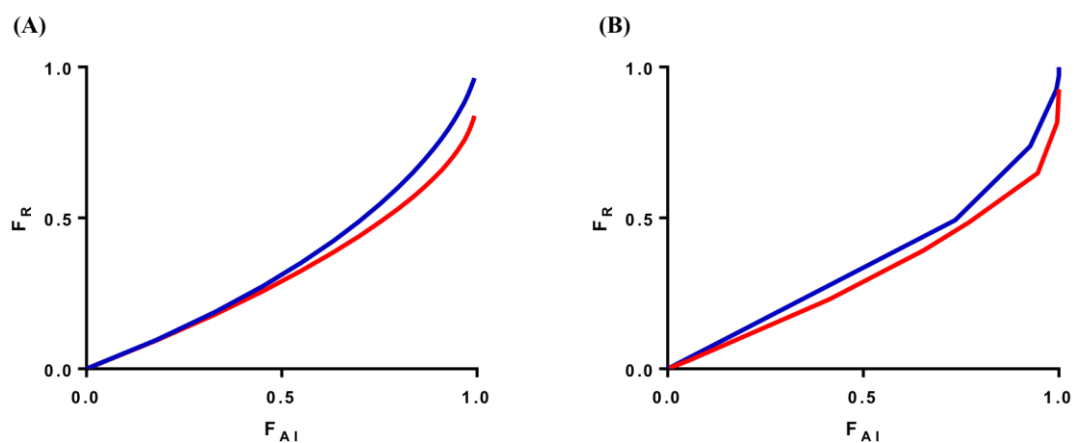


Figure 2-5 Correlation between F_R and F_{AI} values depending on $CR_{EFX,net}$ values using static model

(A) and ATOM (B)

In this analysis, ATOM with the uniform intestinal shape was used to correspond to the condition in a static model. Blue and red line represent the profile using a compound with low and high $CR_{EFX,net}$ value (0.5 or 0.999), respectively.

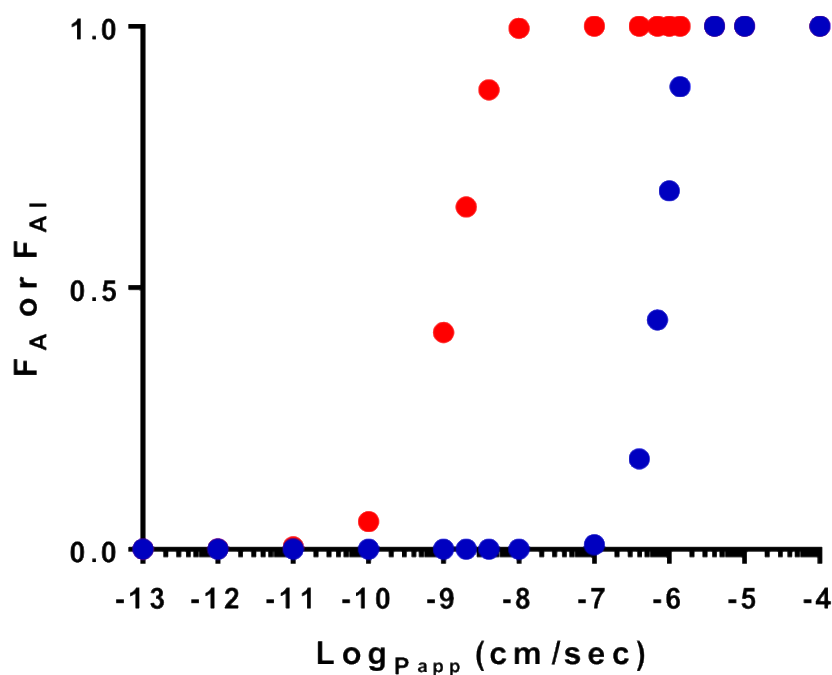


Figure 2-6 Correlation between P_{app} and F_A or F_{AI} values using ATOM

In this analysis, ATOM with the uniform intestinal shape was used to correspond to the condition in a static model. F_A and F_{AI} values depending on P_{app} were evaluated using ATOM with the uniform intestinal shape and location-independent expression profiles of CYP3A and P-gp. P_{app} values were shown in a logarithm scale. Red and blue symbols show the profile of F_{AI} and F_A , respectively. Equations were shown in 2.3.2.

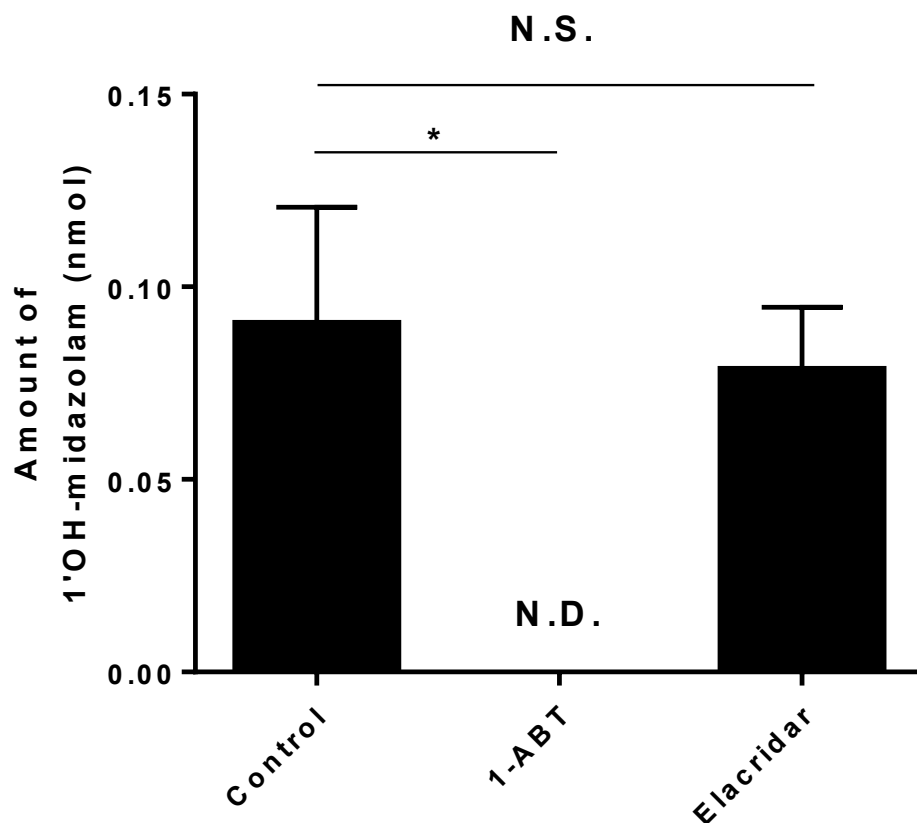


Figure 2-7 Functional expression of CYP3A in CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 cells

Three mmol/L midazolam was added to apical side, then samples were collected in 30, 60 and 120 minutes from basal side and 120 min from apical side. Values in this graph represent the total amount of accumulated samples in 120 min in both sides. Values were shown as mean $\pm$ SD (n=11).

Significance test was performed by using one-way ANOVA. The symbol of asterisk shows $p < 0.005$.

N.D.: Not detected, N.S.: Not significant

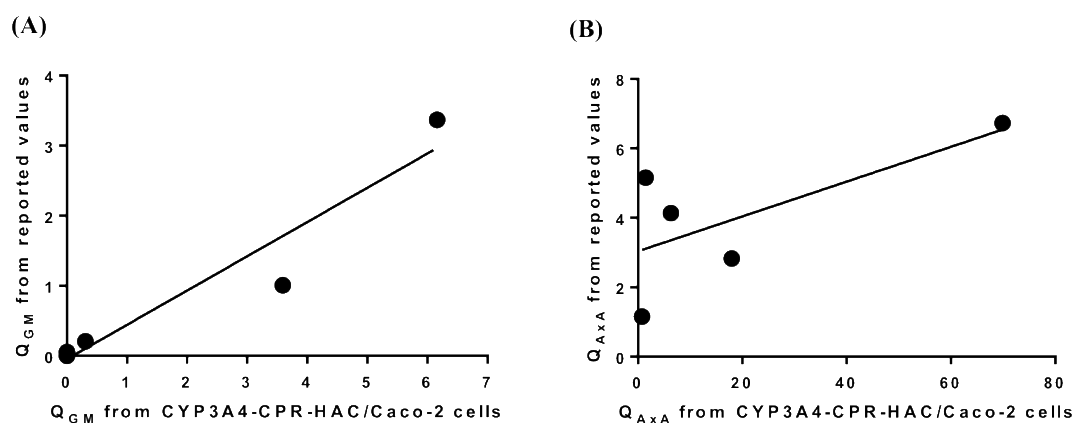


Figure 2-8 Correlation between Q_{GM} (A) and Q_{AXA} (B) using reported *in vitro* values and permeability studies with CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 cells

P-gp substrates (digoxin, fexofenadine, aliskiren, atorvastatin, tacrolimus) and CYP3A substrates (midazolam, alprazolam, triazolam, lovastatin, aliskiren, atorvastatin, tacrolimus) were selected for evaluating CFs about Q_{AXA} or Q_{GM} , respectively. Q_{AXA} or Q_{GM} from reported values were calculated as $R_{flux} - 1$ from Caco-2 cells or ratio of metabolic clearance using intestinal microsomes and P_{app} value, respectively. Aliskiren was removed for estimation of Q_{GM} because of lack of reported metabolic clearance with intestinal microsomes. CF values about Q_{AXA} and Q_{GM} ($CF_{Q_{AXA}}$ and $CF_{Q_{GM}}$) were estimated as 0.11 and 0.48, respectively.

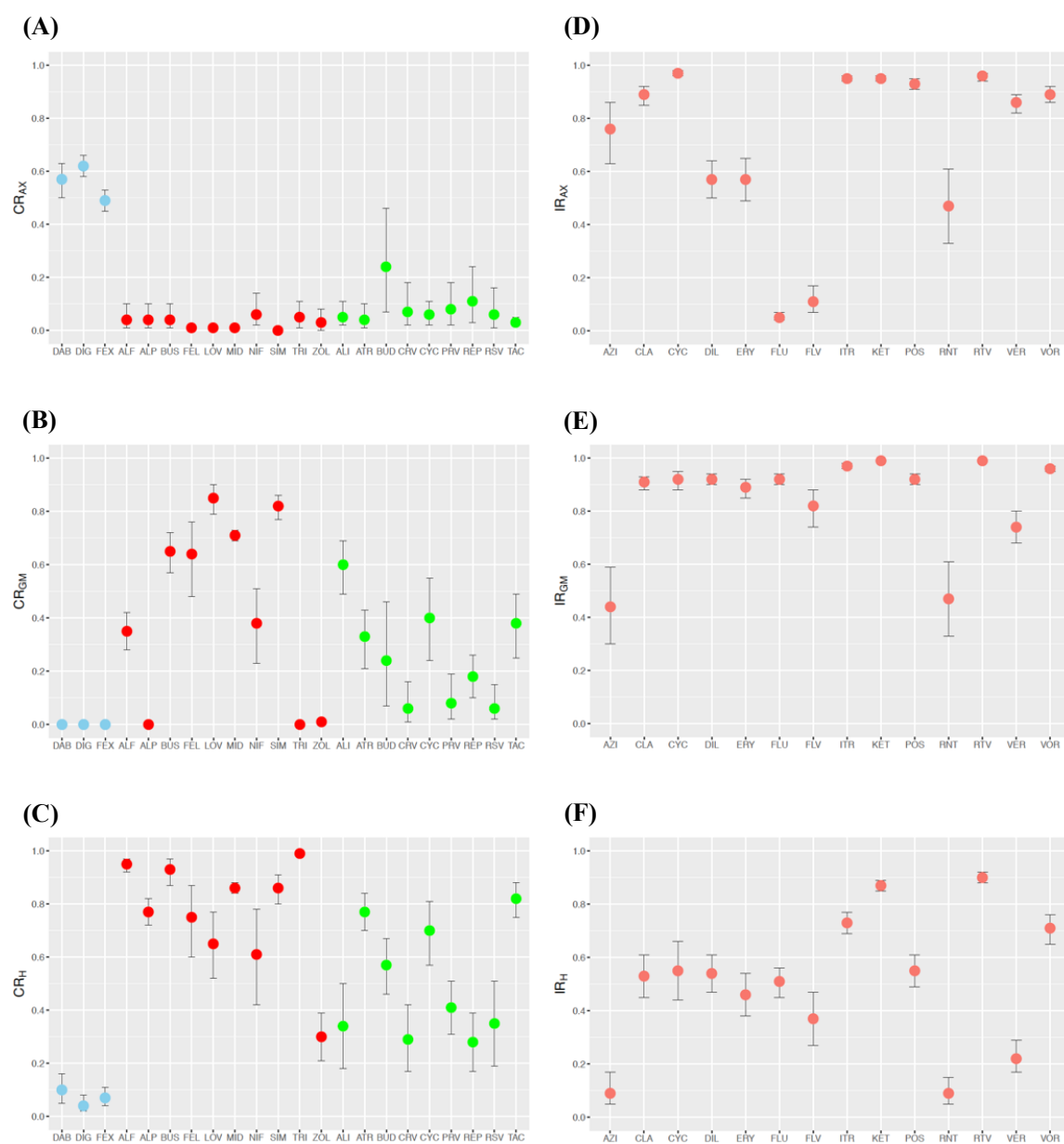


Figure 2-9 Estimation of CR and IR values

Panel A-F represent the estimated value of CR_{AX} (A), CR_{GM} (B), CR_H (C), IR_{AX} (D), IR_{GM} (E) and IR_H (F), respectively.

Each point shows median value. Upper and lower lines represent 25th and 75th percentiles, respectively. Blue, red and green symbols in CR values represent the results of P-gp, CYP3A and dual substrates, respectively.

DAB: dabigatran etexilate, DIG: digoxin, FEX: fexofenadine, ALF: alfentanil, ALP: alprazolam, BUS: buspirone, FEL: felodipine, LOV: lovastatin, MID: midazolam, NIF: nifedipine, SIM: simvastatin, TRI: triazolam, ZOL: zolpidem, ATR: atorvastatin, BUD: budesonide, CRV: cerivastatin, CYC: cyclosporine,

PRV: pravastatin, REP: repaglinide, RSV: rosuvastatin, TAC: tacrolimus

AZI: azithromycin, CLA: clarithromycin, CYC: cyclosporine, DIL: diltiazem, ERY: erythromycin,

FLU: fluconazole, FLV: fluvoxamine, ITR: itraconazole, KET: ketoconazole, POS: posaconazole, RNT:

ranitidine, RTV: ritonavir, VER: verapamil, VOR: voriconazole

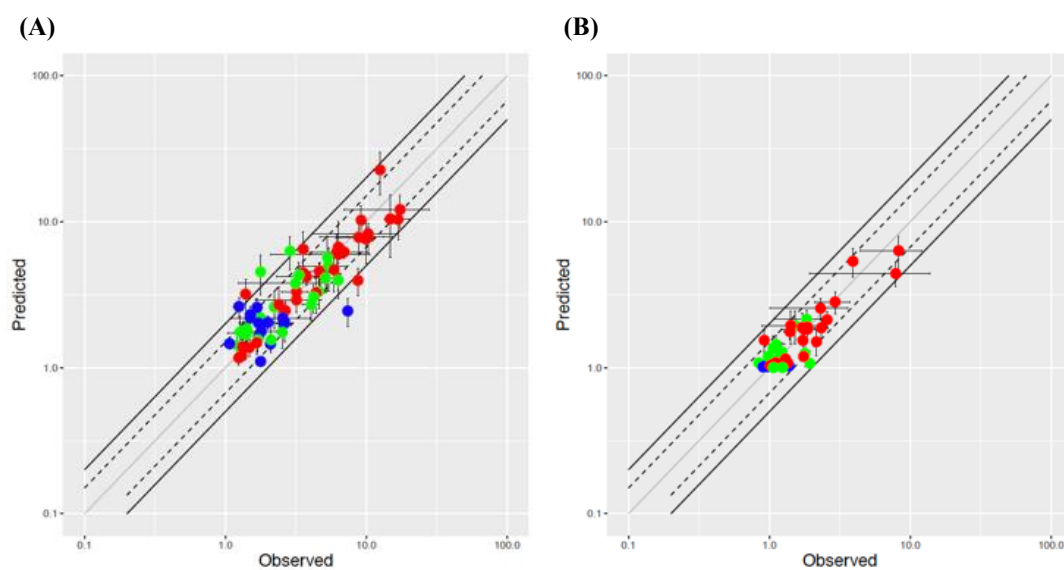


Figure 2-10 Calculation of AUCR (A) and $t_{1/2}R$ (B) using estimated CR and IR values

Blue, red and green symbols represent the results of P-gp, CYP3A and dual substrates, respectively.

Gray, black dotted and black solid lines show 1-, 1.5- and 2-fold error, respectively. Values were shown as mean $\pm$ SD.

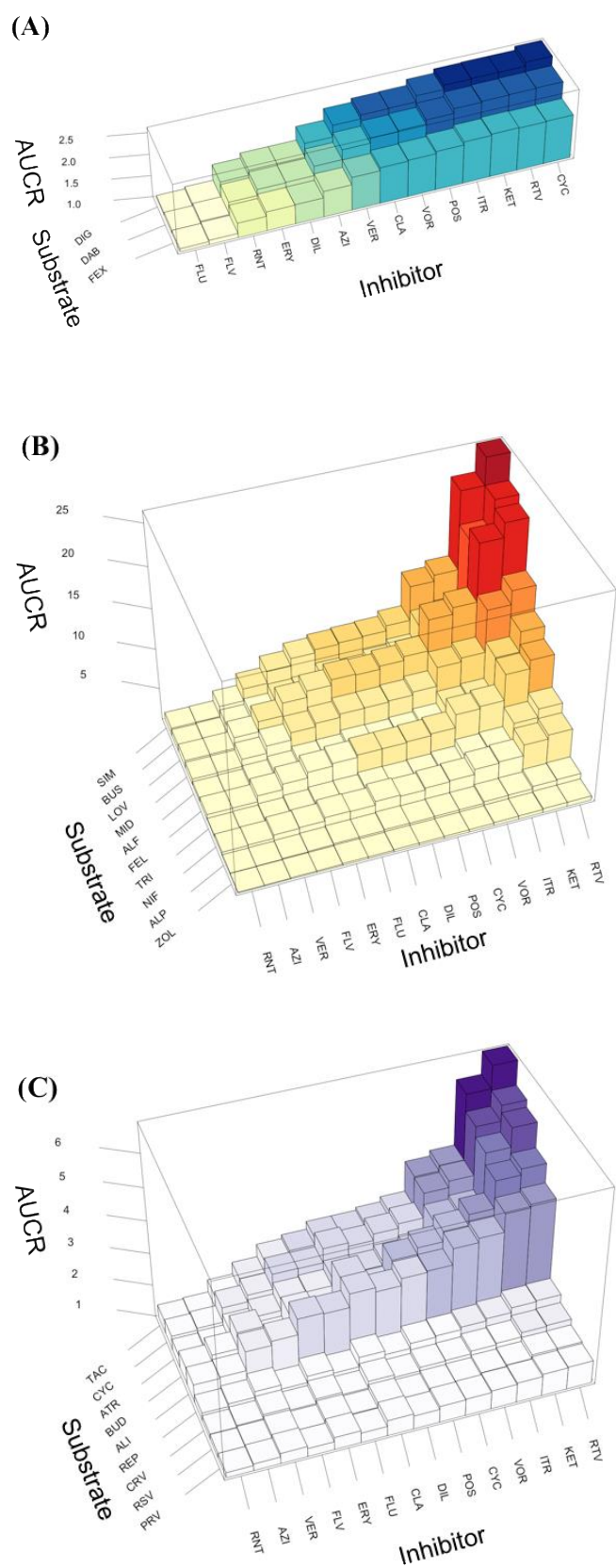


Figure 2-11 Estimated AUCR about combinations of P-gp (A), CYP3A (B) and P-gp/CYP3A dual substrates (C) and inhibitors.

Each bar shows AUCR using median CR and IR values. Substrates were arranged in ascending order for AUCR.

DAB: dabigatran etexilate, DIG: digoxin, FEX: fexofenadine, ALF: alfentanil, ALP: alprazolam, BUS: buspirone, FEL: felodipine, LOV: lovastatin, MID: midazolam, NIF: nifedipine, SIM: simvastatin, TRI: triazolam, ZOL: zolpidem, ATR: atorvastatin, BUD: budesonide, CRV: cerivastatin, CYC: cyclosporine, PRV: pravastatin, REP: repaglinide, RSV: rosuvastatin, TAC: tacrolimus

AZI: azithromycin, CLA: clarithromycin, CYC: cyclosporine, DIL: diltiazem, ERY: erythromycin, FLU: fluconazole, FLV: fluvoxamine, ITR: itraconazole, KET: ketoconazole, POS: posaconazole, RNT: ranitidine, RTV: ritonavir, VER: verapamil, VOR: voriconazole

第三章 新規動的モデル(ATOM)を用いた消化管の CYP3A 及び P-gp を介した薬物間相互作用予測及び静的モデルとの整合性検討

3.1 緒言

第二章で扱った静的モデルは線形条件下にて、より少ない実験値並びに生理学的パラメータから簡易的に複数薬剤間の DI を予測可能なのに対し、動的モデルは最高血中濃度($C_{\max}$)や最高血中濃度到達時間($t_{\max}$)を含めた血中濃度推移として予測が可能である点、非線形性予測や投与条件ごとのシミュレーションが行える点から、より詳細な予測が可能であるという特徴を有する。

現状の消化管吸収モデルとしては、CAT (compartmental absorption and transit) model [241]、ACAT (advanced compartmental absorption and transit) model [242, 243]、ADAM (advanced drug dissolution, absorption and metabolism) model [244]、segregated-flow model [245, 246]、 Q_{Gut} model [13]、GI transit-absorption (GITA) model [247, 248]及び TLM [14]などが報告されている。これらのうち Q_{Gut} model は、基底膜の膜透過と血流を統合するパラメータ Q_{Gut} を使用したもっとも単純なモデルであり、種々の化合物の消化管吸収性(F_G)を良好に予測できる[13]。しかしながら、 Q_{Gut} model では小腸上皮細胞の薬物濃度の変化を考慮することは困難であり、非線形性予測への活用に関しては改良が必要となる。

一方でより複雑なモデルである CAT、ACAT 及び ADAM は、複数のコンパートメントを使用して消化管内の不均一性を説明し、薬物の動きを 1 次速度式で説明するモデルである。

これらのモデルでは各コンパートメントにおいてそれぞれ代謝及び輸送クリアランスが設定されており、時間や部位依存的な薬物吸収性を合理的にシミュレートすることが可能であることから、非線形薬物動態を含む多くの薬物の消化管吸収の予測に成功している[249, 250]。しかしながらこれらの洗練されたモデルであっても、*in vitro* データと *in vivo* における臨床値の間の乖離を埋めるために種々のスケールリングファクターが設定されている。そのスケールリングファクターの例として、小腸の各部位で各代謝酵素またはトランスポーターの $V_{\max}$ 及び K_m に対するスケールリングファクターがあげられる[249, 251]。ただし、スケールリングファクターに関しては数理解析上に便宜的なツールであるものの、合理的な説明がない場合には生理的なモデルを使用した PBPK モデルを用いた薬物動態予測の概念と乖離してしまう危険性がある。

さらに現在の消化管吸収モデルの問題は、上流から下流に至る消化管内での薬物の動きを説明する構造にある。上流から下流への薬物の移動は 1 次速度論に基づく解析であるため上流での混合は過小評価され、下流での混合は過大評価される傾向がある。小腸上皮細胞に発現する代謝酵素またはトランスポーターの基質として作用する薬物の場合、消化管内の薬物挙動がモデルで正確に記述されていない限り非線形性の予測が難しくなる。さらにこれらの消化管吸収モデルには毛細血管中の血流を適切に説明する必要があるが、これまでには血流を漿膜と漿膜下組織に分けた *segregated-flow model* が提唱されている[245, 246]。

以前当研究室においてこれらの問題を解決するために TLM を構築した[14]。TLM では計算負荷を最小限に抑えるため吸収コンパートメントは 1 つのみ設定しており、任意関数によ

って薬物動態を予測している。しかしながら消化管を単一コンパートメントとしているため他の薬物や消化管内の様々な内容物との相互作用を考慮することは理論的に難しい。そこで本研究では、消化管内の構造を再現する TLM の特徴を維持しながらも管腔内の薬物の動きを拡散によって記述した新規動的吸収モデル ATOM (advanced translocation model)を構築した。拡散は物質の動きに関連する自然現象であり、薬物動態学の分野においても dispersion model として臓器内の薬物分布を示すために使用されている[252]。また dispersion model による非線形薬物動態の分析は、有限差分法(finite difference method, FDM)を使用して解析されている[253]。本研究では FDM を用いて ATOM での消化管内での薬物の動きについて解析して CAT を用いた解析結果と比較しその違いを検証するとともに、管腔内濃度の違いが薬物の消化管吸収性に与える影響、ならびに ATOM を用いた小腸における DI 予測の妥当性を確認した。加えて本章の最後に第二章で論じた静的モデルとの整合性を検討することとした。

3.2 方法

3.2.1 ATOM のモデル構築

ATOM の構造を Figure 3-1 に示した。食道、胃、盲腸/大腸、及び門脈は、それぞれ個別のコンパートメントとして表現した。小腸管腔については、部位依存的な拡散定数を持つ 1 次元分散モデルとして表現した。小腸内の運動性に基づいて引き起こされる微小混合と対流により物質に依存しないものと仮定したため、薬物、水、及び小腸内の内容物の動きは同様とした。また上記の消化管吸収に関与する組織に加えて薬物の循環血中濃度を示すため、門脈、肝臓、中枢及び抹消コンパートメントを設定した。全体として ATOM の定義は小腸内の内容物の挙動を除いて TLM と同様であり、相互作用がない場合の経口の吸収率は ATOM と TLM で同等の予測性を示す(Figure 3-12, Table 3-6, Table 3-7)。以下に小腸内の薬物挙動に関する偏微分方程式及び境界条件を Equation 3-1 及び 3-2 として示した。

$$\frac{\partial C_{lum,z}}{\partial t} = D_z \frac{\partial^2 C_{lum,z}}{\partial z^2} - M_t \frac{\partial C_{lum,z}}{\partial z} - PS_{a,in,z} \frac{f_{lum} C_{lum,z}}{X_{water,z} + V_{lum,z}} + PS_{a,out,z} \frac{f_{ent} C_{ent,z}}{V_{lum,z}} \quad (z = (0,1)) \quad (3-1)$$

境界条件：

$$C_{lum,z} - \frac{D_z \partial C_{lum,z}}{M_t \partial z} = \frac{k_{sto} C_{sto} V_{sto}}{V_{lum,z}} \quad (z = 0)$$

$$\frac{\partial C_{lum,z}}{\partial z} = 0 \quad (z = 1) \quad (3-2)$$

これらの方程式に関して、長さは小腸管腔の全体積(V_{lum})に対する位置までの体積の比率とし

て表される。 $C_{lum,z}$ 及び $C_{ent,z}$ はそれぞれ位置 z における管腔中及び小腸上皮細胞中の薬物濃度を示す。 D_z 及び M_t はそれぞれ位置 z における拡散定数、時間 t での管腔内の移動速度を示す。Equation 3-1 で長さは正規化($0 \leq z \leq 1$)されているため、 D_z と M_t の単位は T^{-1} となる。 $V_{lum,z}$ 及び $X_{water,z}$ は位置 z における小腸管腔の体積と水分量を示し、水分分泌、水分吸収によって変動する。本式において実際の小腸管腔中の有効体積は $V_{lum,z} + X_{water,z}$ で示されるが、 $X_{water,z}$ は微小混合と移動速度に影響を与えないとした。また消化管内の水分量は 240 mL の水分を服用した後の小腸内の水分量プロファイル[254]を用いて、分泌クリアランスと吸収速度定数を含めた偏微分方程式を用いてシミュレーションを行った。詳細は 3.2.7 で示す。 $PS_{a,in,z}$ 及び $PS_{a,out,z}$ はそれぞれ位置 z における小腸管腔から頂端膜を介した小腸上皮細胞への取り込みクリアランス、位置 z における小腸上皮細胞から小腸管腔への排出クリアランスを示す。 f_{lum} 及び f_{ent} はそれぞれ消化管管腔及び小腸上皮細胞中の薬物非結合分率を表す。本研究においては f_{lum} を 1 とし、 f_{ent} は血液中薬物非結合分率(f_b)と同じであると仮定した。なお f_{ent} については感度分析により消化管吸収率への影響を検討しているが、3.2.9 にて詳細を示す。 $V_{ent,z}$ は位置 z における小腸上皮細胞の体積を示す。

拡散定数及び移動速度は薬物動態解析における dispersion model では一定として解析している。しかし小腸内での薬物分布は管腔内の位置ごとに構造的な違いが生じており非常に複雑である[255]。したがって、本研究では管腔内の位置に依存する拡散定数(D_z)と時間に依存する移動速度(M_t)を設定し、非吸収性薬物である ^{99m}Tc -diethylenetriaminepentaacetic acid(^{99m}Tc -DTPA)の消化管管腔内分布[248]を使用して Equation 3-3 及び 3-4 を用いて非線形最小二乗法

により最適化した。また Equation 3-3 ならびに 3-4 は、絶食状態と摂食状態の両方においてそれぞれ D_z と M_t の算出のために使用された。

$$D_z = A \exp(-B z) + 0.005 \quad (3-3)$$

$$M_t = C(1 - D \exp(\frac{|t-t_{lag}|^F}{2E^F})) \quad (3-4)$$

ここで A、B、C、D、E、F は定数であり、 t は投与後の時間、 t_{lag} は最小流速における時間を示す。パラメータ A、B、C、D、E 及び t_{lag} は Haruta らによって報告された消化管管腔の ^{99m}Tc -DTPA 分布[248]を使用して被験者ごとに一括して最適化を行った。また本研究では F は 4 に固定した。また今回のモデルに関しては被験者ごとに D_z と M_t の両方を固定したモデル、 M_t のみを固定したモデル、及び D_z と M_t を変数したモデルについて検討し、赤池の情報量基準(akaike's information criteria, AIC)値に基づいて最適なモデルを選択した。

3.2.2 CAT のモデル構造

ATOM との比較のために小腸管腔を 6 つのコンパートメントに区分した CAT モデルを構築し(Figure 3-1)、入口から数えて 3 コンパートメントは小腸上部とし、残りの 3 コンパートメントは下部とした。CAT モデルの transit time は報告されている小腸管腔内の ^{99m}Tc -DTPA の分布[248]を用いて最適化した(Table 3-3)。小腸の長さ、小腸入口及び出口の半径、CYP3A 及び P-gp の発現プロファイル、及び pH 勾配は、ATOM での採用値と同一とした。なお上記の消化管パラメータについては Table 3-5 に記載した。

3.2.3 ATOM 及び CAT における消化管モデル構造

小腸の各部位における CYP3A 及び P-gp の発現量、管腔内の pH 変化、小腸上皮細胞の表面積、小腸上皮細胞と固有粘膜層の体積、及び固有粘膜層の血流速度は Equation 3-5 から 3-11 を使用して表現した。P-gp に関してはその絶対的な発現量は報告されていないため、全体値を 1 とした相対値として各部位の P-gp 発現量を表現した。また固有粘膜層の血流速度 (Q_{pro}) は 18,000 mL/h と設定したが、これは上腸間膜動脈に流入する血流が 37,200 mL/h であり、心拍出量の 10 %かつ上腸間膜動脈に流入する血流の 80 %が粘膜に流れ込み、さらに粘膜の血液の 60 %が上皮細胞に流れ込む[244]ことから設定した。

CYP3A 発現量：

$$\text{Exp}_{\text{CYP3A},z} = \frac{\text{Exp}_{\text{CYP3A,whole}}}{L_{si}} \left(1 - \frac{z}{L_{si}}\right) \quad (3-5)$$

P-gp 発現量(相対値)：

$$\text{Exp}_{\text{Pgp},z} = \frac{\text{Exp}_{\text{Pgp,whole}}}{L_{si}} \left(\frac{z}{L_{si}}\right) \quad (3-6)$$

管腔内の pH 変化：

$$\text{pH}_{\text{lumen},z} = 5.85 + \text{pH}_{\text{grad}} \frac{z}{L_{si}} \quad (3-7)$$

小腸上皮細胞の体積：

$$S_{\text{ent},z} = \pi(r_{\text{in}} + r_z) \sqrt{(r_{\text{in}} - r_z)^2 + L_z^2} \text{ PE VE} \quad (3-8)$$

小腸上皮細胞の体積：

$$V_{ent,z} = S_{ent,z} T_{ent} \quad (3-9)$$

固有粘膜層の体積：

$$V_{lam,z} = \frac{S_{ent} H_{villi}}{VE} - V_{ent,z} \quad (3-10)$$

固有粘膜層の血流速度：

$$Q_{pro,z} = Q_{pro} \frac{S_{ent,z}}{S_{ent,whole}} \quad (3-11)$$

L_{si} 、 $Exp_{CYP3A,whole}$ 、 $Exp_{Pgp,whole}$ 及び r_{in} は、正規化された小腸管腔長 ($L_{si} = 1$)、小腸内における CYP3A 発現量及び P-gp の相対的発現量、及び小腸管腔入口の半径を表す。また z は 0 から L_{si} の範囲内にある ($0 \leq z \leq L_{si} = 1$)。 PE 、 VE 、 H_{villi} 、 $S_{ent,whole}$ 、 T_{ent} 及び ME はそれぞれひだの拡張係数、絨毛の拡張係数、絨毛の高さ、小腸上皮細胞の総表面積、小腸上皮細胞の高さ及び微絨毛の拡張係数を示す。これらのパラメータは Ando らの報告[14]から取得した。

3.2.4 ATOM における食道、胃、小腸上皮細胞、固有粘膜層、門脈、中枢及び抹消コンパートメント設定

ATOM において小腸以外の組織における薬物濃度は以下の Equation 3-12 から 3-19 を用いて表現した。

食道：

$$\frac{dC_{es}}{dt} = -k_{es}C_{es} \quad (3-12)$$

胃：

$$\frac{dC_{sto}}{dt} = k_{es}C_{es}V_{es}/V_{sto} - k_{sto}C_{sto} \quad (3-13)$$

C_{es} 、 C_{sto} 、 k_{es} 、 k_{sto} 、 V_{es} 及び V_{sto} はそれぞれ食道と胃における薬物濃度、移動速度定数及び体積を表す。本解析では薬剤服用直後はすべての投与薬物と水分は食道に存在するとした。また水分量は食道と胃の体積を変化させず、Equation 3-33 及び 3-34 に従って薬剤とともに移動するものと仮定した。また薬物と水分量に関しては食道と胃で同じ動きをすると仮定したため、共に同じ k_{es} と k_{sto} を採用して解析した。

小腸上皮細胞：

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_{ent,z}}{\partial t} = & PS_{a,in,z} \frac{f_{lum}C_{lum,z}V_{lum}}{V_{water}+V_{lum}} - (PS_{a,out,z} + CL_{ent,z} + PS_{b,out,z})f_{ent}C_{ent,z} + \\ & f_{pro}PS_{b,in,z}C_{pro,z} \end{aligned} \quad (3-14)$$

固有粘膜層：

$$\frac{\partial C_{pro,z}}{\partial t} = PS_{b,in,z}f_{ent}C_{ent,z} - \left(\frac{Q_{pro,z}}{f_b} + f_{pro}PS_{b,in,z}\right)C_{pro,z} \quad (3-15)$$

ここで $C_{pro,z}$ は位置 z における毛細血管を含む固有粘膜層の薬物濃度を、 $PS_{b,in,z}$ 及び $PS_{b,out,z}$ はそれぞれ位置 z における基底膜を介した固有粘膜層から小腸上皮細胞への再取り込み及び

小腸上皮細胞から固有粘膜層への透過性クリアランスを示す。 $CL_{ent,z}$ は位置 z における小腸上皮細胞の intrinsic clearance を、 $Q_{pro,z}$ は位置 z における固有粘膜層の毛細血管中の血流速度を表す。 f_{ent} と f_{pro} はそれぞれ小腸上皮細胞及び固有粘膜層における薬物非結合分率を表し、 f_{pro} は 1 として解析した。また f_{ent} は暫定的に f_b に等しいと仮定した。ただし、線形条件での midazolam のバイオアベイラビリティに及ぼす f_{ent} の感度分析に示されているように、線形条件における薬物のバイオアベイラビリティに f_{ent} 値は影響しないと考えられた(Figure 3-11)。

門脈：

$$V_{pv} \frac{dC_{pv}}{dt} = \sum_z \frac{Q_{pro,z}}{f_b} C_{pro,z} - Q_{pv} C_{pv} \quad (3-16)$$

肝臓：

$$V_{liver} \frac{dC_{liver}}{dt} = R_B(Q_{pv}C_{pv} + Q_{ha}C_p) - \left(\frac{R_B(Q_{pv}+Q_{ha})}{K_{p,liver}} + f_h CL_{int} \right) C_{liver} \quad (3-17)$$

C_p 、 C_{pv} 、 V_{pv} 及び Q_{pv} はそれぞれ薬物の血漿中濃度、門脈における血漿中濃度、門脈の体積及び門脈における血流速度を表す。 C_{liver} 、 V_{liver} 及び Q_{ha} はそれぞれ肝臓における薬物濃度、肝臓の体積、肝動脈の血流を表す。 R_B 、 $K_{p,liver}$ 、 f_h 及び CL_{int} はそれぞれ、血液-血漿間分配係数、肝臓-血漿間分配係数、肝臓における薬物非結合分率及び肝臓における intrinsic clearance を表す。

中枢コンパートメント：

$$V_d \frac{dC_p}{dt} = \frac{R_B(Q_{pv} + Q_{ha})}{K_{p,liver}} C_{liver} + \sum_{i=1}^n k_{i1} X_{peri,i} - (R_B Q_{ha} + \sum_{i=1}^n k_{1i} + CL_R) C_p \quad (3-18)$$

抹消コンパートメント：

$$\frac{dX_{peri,i}}{dt} = k_{1i} V_d C_p - k_{i1} X_{peri,i}$$

$$(i = 0 \text{ for itraconazole, } i = 1 \text{ for midazolam and clarithromycin, } i = 2 \text{ for digoxin}) \quad (3-19)$$

V_d 及び CL_R はそれぞれ中枢コンパートメントにおける分布容積(コンパートメント内で瞬時平衡を仮定)及び血漿中濃度ベースの薬物の腎クリアランスを示す。抹消コンパートメントに関して $X_{peri,i}$ は i 番目の抹消コンパートメント内の薬物量を、 k_{1i} と k_{i1} はそれぞれ中枢から抹消コンパートメント、抹消から中枢コンパートメントへの移動速度定数を表す。また CL_R は $P\text{-gp}(CL_{R,Pgp})$ と他のメカニズム($CL_{R,nonPgp}$)によって排出される腎クリアランスの和として示した。

3.2.5 in vitro 及び in vivo における膜透過モデル

Figure 3-2 に示す概念から Equation 3-20 から 3-23 を用いて、in vitro 透過係数から in vivo 透過係数を算出した。なおこれは TLM と同じ概念を採用している。Caco-2 細胞による見かけの透過性($P_{app,Caco-2}$)はこれまで報告されている Equation 3-20 を使用して、単一膜($P_{s,Caco-2}$)の透過性に変換することができる[139]。

$$P_{s,Caco-2} = \frac{1 + ME_{Caco-2}}{ME_{Caco-2}} P_{app,Caco-2} \quad (3-20)$$

ここで ME_{Caco-2} は頂端膜と基底膜における表面積比であり Ohura らの報告[39]から 4 と設定した。次に in vivo における膜透過係数($P_{in\ vivo}$)は $P_{s,Caco-2}$ を用いて Equation 3-21 を用いて算出した。

$$P_{in\ vivo} = P_{s,Caco-2} \cdot psf_{passive} \quad (3-21)$$

$psf_{passive}$ は in vitro と in vivo 間の受動拡散の違いに関するスケーリングファクターを表し、 F_A の予測値と実測値の相関性を基に 2.23 と設定した[14]。

頂端膜及び基底膜の膜透過性クリアランスの定義(Figure 3-2)に基づくと、 $P_{in\ vivo}$ は上皮細胞から頂端側(P_2)、細胞から基底膜側(P_3)、及び基底膜側から上皮細胞への透過性(P_4)と等しい (Equation 3-22)。

$$P_{in\ vivo} = P_2 = P_3 = P_4 \quad (3-22)$$

一方、管腔中の pH は小腸上皮細胞の pH(7.4)よりも低く、薬物の pKa に応じて薬物のイオン化分率が変化する。本研究では受動拡散によって輸送される薬物は非イオン型であると仮定している。したがって P_1 については薬物の pKa 及び消化管管腔及び小腸上皮細胞における pH 勾配に依存する膜透過係数として、Equation 3-23 に基づいて算出した。

$$P_{1,z} = P_{in\ vivo} \frac{1 + 10^{pH_{Caco-2} - pK_{a,acid}} + 10^{pK_{a,base} - pH_{Caco-2}}}{1 + 10^{pH_{lumen,z} - pK_{a,acid}} + 10^{pK_{a,base} - pH_{lumen,z}}} \quad (3-23)$$

ここで $P_{1,z}$ 、 pH_{Caco-2} 、 $pK_{a,acid}$ 及び $pK_{a,base}$ はそれぞれ位置 z における P_1 値、Caco-2 細胞の pH、酸性基及び塩基性基の pK_a を示す。本研究では pH_{Caco-2} は 7.4 とした。

頂端膜側($P_{1,z}$ 及び P_2)及び基底膜側(P_3 及び P_4)の膜透過性は Equation 3-24 から 3-28 を用いて膜透過クリアランス(PS)に変換した。

$$PS_{a,in,z} = P_{1,z} S_{abs,api} \quad (3-24)$$

$$PS_{a,out,z} = P_2 S_{abs,api} + PS_{a,pgp,z} \quad (3-25)$$

$$PS_{b,in,z} = P_3 S_{abs,bas} \quad (3-26)$$

$$PS_{b,out,z} = P_4 S_{abs,bas} \quad (3-27)$$

$$S_{abs,api} = ME_{in\ vivo} S_{abs,bas} \quad (3-28)$$

$S_{abs,api}$ 、 $S_{abs,bas}$ 、 $PS_{a,pgp,z}$ 及び $ME_{in\ vivo}$ は、頂端側の表面積、基底側の表面積、位置 z における P-gp による輸送クリアランス、頂端膜と基底膜の表面積比を表す。本研究では $ME_{in\ vivo}$ を TLM と同様に 20 に設定した[14]。 $PS_{a,pgp,z}$ 及び小腸上皮細胞における CYP3A による代謝クリアランス($CL_{ent,z}$)は、Equation 3-29 及び 3-30 を使用して算出した。

$$PS_{a,pgp,z} = \frac{V_{max,pgp} Exp_{pgp,z} PS_{f,pgp}}{K_{m,pgp,u} + C_{ent,z}} \quad (3-29)$$

$$CL_{ent,z} = \frac{V_{max,CYP3A} Exp_{CYP3A,z} PS_{f,CYP3A}}{K_{m,CYP3A,u} + C_{ent,z}} \quad (3-30)$$

$V_{\max, Pgp}$ 、 $V_{\max, CYP3A}$ 、 $K_{m, Pgp, u}$ 、 $K_{m, CYP3A, u}$ 、 psf_{Pgp} 及び psf_{CYP3A} はそれぞれ P-gp による輸送及び CYP3A 代謝における $V_{\max}$ 、P-gp 及び CYP3A の非結合濃度に基づく K_m 、P-gp による輸送クリアランス及び CYP3A による intrinsic clearance に関する in vitro/in vivo 間のスケーリングファクターを示す。なお本研究では psf_{CYP3A} は 1 と設定しているため、ATOM で使用されるスケーリングファクターは $psf_{passive}$ と psf_{Pgp} の 2 種である。また上記のパラメータは Ando らの報告[14]にある値を採用した。

3.2.6 CYP3A 及び P-gp 阻害による輸送及び代謝クリアランス変化

DI 解析に関して、阻害剤薬物濃度は基質と同じく小腸管腔における偏微分方程式(Equation 3-1 から 3-4)及び他の組織における偏微分方程式(Equation 3-12 から 3-19)を用いてシミュレートした。阻害剤投与時の P-gp 輸送及び CYP3A 代謝のクリアランス変化は、阻害剤の非結合薬物濃度及び P-gp($K_{i, Pgp}$)と CYP3A($K_{i, CYP3A}$)の阻害定数を用いて Equation 3-31 及び 3-32 を使用して算出した。

$$PS_{a, Pgp, z}^* = \frac{PS_{a, Pgp, z}}{1 + \frac{f_{ent, I} I_{ent, z}}{K_{i, Pgp}}} \quad (3-31)$$

$$CL_{ent, z}^* = \frac{CL_{ent, z}}{1 + \frac{f_{ent, I} I_{ent, z}}{K_{i, CYP3A}}} \quad (3-32)$$

ここで $PS_{a, Pgp, z}^*$ 及び $CL_{ent, z}^*$ は阻害剤投与時の $PS_{a, Pgp, z}$ ならびに $CL_{ent, z}$ を示す。 $f_{ent, I}$ 及び $I_{ent, z}$ は

阻害剤の小腸上皮細胞中非結合型分率及び位置 z における小腸上皮細胞中濃度を表す。

3.2.7 胃及び小腸における水分量分布に関するパラメータ推定

飲水後の胃及び小腸における水分量分布[254]を使用して水分分泌クリアランスと吸収速度定数を最適化することにより、ATOM 及び CAT の両方で水分量分布をシミュレートした。

水分量分布のシミュレーションには以下の Equation 3-33 から 3-35 までを使用した。なお各部位における水分量の初期値は同報告[254]から取得した。

食道：

$$\frac{dX_{\text{water,es}}}{dt} = -k_{\text{es}}X_{\text{water,es}} \quad (3-33)$$

胃：

$$\frac{dX_{\text{water,sto}}}{dt} = k_{\text{es}}X_{\text{water,es}}V_{\text{es}}/V_{\text{sto}} - k_{\text{sto}}X_{\text{water,sto}} - k_{\text{water,sto}}X_{\text{water,z}} + Se_{\text{water,sto}} \quad (3-34)$$

消化管管腔：

$$\frac{\partial X_{\text{lum,z}}}{\partial t} = D_z \frac{\partial^2 X_{\text{lum,z}}}{\partial z^2} - M_t \frac{\partial X_{\text{lum,z}}}{\partial z} - k_{\text{water,abs}}X_{\text{water,z}} + Se_{\text{water,abs}} \quad (3-35)$$

$X_{\text{water,es}}$ 、 $X_{\text{water,sto}}$ 及び $X_{\text{water,z}}$ はそれぞれ食道、胃及び消化管管腔の位置 z における水分量を示す。 k_{es} 、 k_{sto} 、 V_{es} 及び V_{sto} はそれぞれ食道から胃、胃から小腸への薬物(または水)の移動速

度定数、食道及び胃の体積を表す。 $k_{\text{water,sto}}$ 及び $k_{\text{water,abs}}$ は胃及び消化管管腔における吸収速度定数を、 $Se_{\text{water,sto}}$ 及び $Se_{\text{water,abs}}$ は胃及び消化管管腔の水分分泌クリアランスを示す。ここで k_{es} 、 $k_{\text{water,sto}}$ 、 $k_{\text{water,abs}}$ 、 $Se_{\text{water,sto}}$ 及び $Se_{\text{water,abs}}$ は Mudie らの報告[254]にある 240 mL の水を経口摂取した後の管腔内水分量の報告値を使用して最適化された。また水分量のシミュレーション結果ならびに推定パラメータは Figure 3-7 及び Table 3-1 で示した。

3.2.8 線形条件下における小腸上皮細胞中薬物濃度及び門脈への薬物到達率に関するシミュレーション

ATOM 及び CAT を用いて経口投与後($t=0$ h)の小腸上皮細胞中薬物濃度及び門脈への到達率をシミュレートした。小腸上皮細胞中の薬物濃度を予測するに当たって 3 時点($t=0.5, 2, 6$ h)を選択し、両モデルを用いてモデル化合物の薬物濃度を予測した。なお膜透過性が良好な薬剤に関しては消化管上部で非常に強く吸収されることからモデル間の差が明確にならないため、本解析では低膜透過性のモデル化合物を使用して検討した。また本モデル化合物は CYP3A 及び P-gp 活性がなく受動拡散のみで輸送される化合物を設定し、 P_{app} 及び $V_{\text{max,CYP3A}}$ 以外のパラメータ(分子量, pK_a , $K_{\text{m,CYP3A}}$, 非結合型分率)は midazolam と同じにした。なお P_{app} は midazolam の約 1/50 である 0.002 cm/hr、 $V_{\text{max,CYP3A}}$ は 0 $\mu\text{g hr/pmol CYP3A}$ として設定し、投与量は線形条件を担保するため 1 ng とした。

3.2.9 線形条件における midazolam の消化管吸収率に及ぼす f_{ent} の感度分析

門脈への薬物蓄積に関して midazolam の f_{ent} を変更して($f_{\text{ent}}=1, 0.5, 0.1$ 及び 0.01)感度分析

を実施した。投与量は 1 ng とし、シミュレーション条件は 3.2.8 と同じとした。なお本シミュレーションは Figure 3-3A 及び Table 3-2 に示された被験者 A の ^{99m}Tc -DTPA 分布[248]を使用して決定された拡散定数と移動速度を用いて実施した。

3.2.10 絶食下ならびに摂食下における midazolam の非線形吸収率及び小腸上皮細胞中非結合型濃度予測

典型的 CYP3A 基質である midazolam の投与量依存的な消化管吸収率($F_A F_G$)について、ATOM 及び CAT を用いて経口投与 4 時間後までシミュレーションし評価した。本解析では $F_A F_G$ を予測するに当たって Figure 3-3A で示された被験者 A の ^{99m}Tc -DTPA 分布[248]から最適化された拡散定数と移動速度を用いてシミュレーションを行った。また経口投与後 4 時間で midazolam の消化管吸収が完了することを並行して確認した。本解析において $F_A F_G$ は以下の Equation 3-36 を用いて算出した。

$$F_A F_G = \frac{X_{PV,cumulative}}{Dose} \quad (3-36)$$

ここで $X_{PV,cumulative}$ 及び Dose は門脈に到達した薬物の総和及び基質の投与量を示す。また midazolam の $F_A F_G$ の報告値は既報より引用した[14, 231]。本解析で使用した midazolam の薬物動態及び生理学的パラメータは Table 3-4 及び Table 3-5 に示した。次に小腸上皮細胞における非結合型薬物濃度($C_{ent,u}$)の評価に関しては最大濃度が観察された時間($t=0.16$ h)を採用した。

3.2.11 ATOM における CYP3A 及び P-gp 基質に関する F_G 予測と TLM による予測値との比較

ATOM を用いた F_G 予測は TLM の報告[14]で使用されたデータセット (Table 3-6) を用いて行った。本検討で用いた対象基質において投与後 4 時間で薬剤の消化管吸収が終了することを確認したため、投与後 4 時間後の値を用いて評価した。なお F_G は Equation 3-36、3-37、3-38 を用いて F_A 及び $F_A F_G$ から算出した。

F_A :

$$F_A = 1 - \frac{X_{\text{colon}}}{\text{Dose}} \quad (3-37)$$

F_G :

$$F_G = \frac{F_A F_G}{1 - \frac{X_{\text{colon}}}{\text{Dose}}} \quad (3-38)$$

ここで X_{colon} は大腸に到達した薬物量を示す。なお今回のシミュレーションには被験者 A の絶食下における ^{99m}Tc -DTPA 分布[248]から最適化された拡散定数及び移動速度 (Figure 3-3A、Table 3-2) を用いた。

3.2.12 ATOM による CYP3A 及び P-gp を介した DI シミュレーション

CYP3A を介した DI シミュレーションに関しては典型的な CYP3A 阻害剤である itraconazole 服用時の midazolam の血漿中濃度を使用した[95]。シミュレーション内容として

は、midazolam 投与 4 時間前に itraconazole 0, 50, 200, 400 mg を投与し($t=0$ h)、その後 2 mg の midazolam を投与($t=4$ h)して midazolam 投与後 24 時間($t=28$ h)シミュレーションを実施した。P-gp を介した DI シミュレーションに関しては、典型的な P-gp 阻害剤である clarithromycin 服用時の digoxin の血漿中濃度を使用した[75]。内容としては、digoxin 投与開始 24 時間前に 1 回 250 mg の clarithromycin を 1 日 2 回($t=0$ h から開始)投与し、その後 0.75 mg の digoxin を投与($t=24$ h)して digoxin 投与後 24 時間($t=48$ h)シミュレーションを実施した。なお今回のシミュレーションには被験者 A の絶食下における ^{99m}Tc -DTPA 分布[248]から最適化された拡散定数及び移動速度(Figure 3-3A、Table 3-2)を用いた。

midazolam に関しては中枢コンパートメント及び末梢コンパートメント間の移動速度定数(k_{12} 及び k_{21})、中枢コンパートメントの分布容積(V_{central})及び CL_{int} は既報の静脈内投与後の midazolam 血漿中濃度プロファイルを使用して最適化した[256]。また阻害剤投与時の k_{12} 及び k_{21} (k_{12}^* 及び k_{21}^*)は阻害剤非服用時と同じと仮定した。

digoxin に関して、P-gp の V_{max} ($V_{\text{max,Pgp}}$)は既報の F_A [257]を基にして最適化した。中枢及び抹消コンパートメント間の移動速度定数(k_{12} 、 k_{13} 、 k_{21} 、 k_{31})は既報の静脈内投与後の digoxin の血漿中濃度プロファイルを用いて最適化した[264]。また阻害剤投与時の k_{12} 、 k_{21} 、 k_{13} 及び k_{31} (k_{12}^* 、 k_{21}^* 、 k_{13}^* 及び k_{31}^*)は阻害剤非服用時と同じと仮定した。

itraconazole に関しては Kudo らの報告[257]では末梢コンパートメントは適用されていなかったため本モデルにおいても同様に採用しなかった。すべてのパラメータが既報または in silico ソフトウェアから取得されたため、最適化による薬物動態パラメータを取得は行わな

った。また itraconazole の血漿中濃度プロファイルは本研究で採用した midazolam を用いた DI 試験[95]では記載されていなかったため、他試験で報告された経口投与後の血漿中 itraconazole 濃度プロファイル[259, 260]を使用して予測値と観測値を比較した(Figure 3-14A)。

clarithromycin に関して、 V_{central} は静脈内投与後の血漿中 clarithromycin 濃度プロファイルを使用して最適化した[261]。clarithromycin の k_{12} 、 k_{21} 、 CL_{int} についても静脈内投与後の血漿中 clarithromycin 濃度プロファイル[261]を使用して最適化した。本研究で採用した DI 試験における clarithromycin の分布相及び消失相を再現できなかったため、経口投与における k_{12} 、 k_{21} 、 CL_{int} は静脈内投与時とは独立して算出する必要があると考えられた。したがって本研究では上記のパラメータについては、経口投与後の clarithromycin の血漿中濃度を直接使用して最適化した。また肝臓の非結合分率(f_h)は Kudo らの報告[258]に従って Equation 3-39 及び 3-40 を用いて算出した。

$$K_{p,\text{liver}} = \frac{P \cdot 0.02289 + 0.72621}{P \cdot 0.001719 + 0.960581} \cdot f_p / f_h \quad (3-39)$$

$$P = 10^{\text{LogP}} \quad (3-40)$$

ここで $K_{p,\text{liver}}$ 及び LogP はそれぞれ肝臓/血漿間分配係数及び油水分配係数を表す。また clarithromycin の血漿中濃度予測のため、本研究で採用した DI 試験[75]中で報告されている血漿中 clarithromycin 濃度を採用して予測値と観測値を比較した(Figure 3-14B)。

また今回 DI 解析で使用した薬物の薬物動態パラメータ及び生理学的パラメータは既報及び ADMET Predictor[®]及び GastroPlus[®](共に Simulations Plus, Inc)を用いた予測結果を採用した (Table 3-4, Table 3-5)。なお本 DI シミュレーションについては完全溶解となっていること、小腸における寄与のみが考慮されており、肝臓及び腎臓における代謝酵素またはトランスポーターの阻害は含まれていないことに留意する必要がある。

3.2.13 絶食下及び摂食下における経口投与後の midazolam 及び digoxin の血中濃度予測

絶食及び摂食下における経口投与後の midazolam 及び digoxin の血漿中濃度を投与後 24 時間までシミュレートした。投与量は 3.2.12 で示した DI シミュレーション条件と同様にそれぞれ 2 mg(midazolam)と 0.75 mg(digoxin)に設定した。本シミュレーションでは、絶食及び摂食状態の被験者 A の ^{99m}Tc-DTPA 分布[248]を使用して得られた拡散定数と移動速度(Figure 3-3A, Figure 3-3B, Table 3-2)を使用した。また薬物動態パラメータ及び生理学的パラメータは既報または ADMET Predictor[®]及び GastroPlus[®](共に Simulations Plus, Inc)を用いた予測結果を採用し(Table 3-4, Table 3-5)、被験者の体重を 70 kg と仮定して薬物動態パラメータを算出した。

3.2.14 静的モデルとの整合性検討

ATOM を用いた小腸における DI 予測を行い、第二章で報告した静的モデルとの整合性を確認した。小腸における DI は clarithromycin 投与時の小腸で生じる AUC 変化比(AUCR_{int})を指標とし、clarithromycin 投与時の F_Gまたは F_AF_Gの変化比を用いて評価した(Equation 3-41)。

$$AUCR_{int} = \frac{F_G^*}{F_G} \quad (\text{CYP3A 基質})$$

$$AUCR_{int} = \frac{F_A^* F_G^*}{F_A F_G} \quad (\text{P-gp 及び CYP3A 基質}) \quad (3-41)$$

ここで F_A^* 及び $F_A^* F_G^*$ はそれぞれ阻害剤服用時の F_A 及び $F_A F_G$ を示す。静的モデルにおける $AUCR_{int}$ の算出は、第二章で推定した基質及び clarithromycin の CR 値または IR 値を使用して以下のように算出した(Equation 3-42)

$$AUCR_{int} = \frac{1}{1 - CR_{GM} IR_{GM}} \quad (\text{CYP3A 基質})$$

$$AUCR_{int} = \frac{1}{1 - CR_{AX} IR_{AX} - CR_{GM} IR_{GM}} \quad (\text{P-gp 及び CYP3A 基質}) \quad (3-42)$$

また評価した基質に関しては静的モデルでの評価対象であり、かつ ATOM を用いた予測 F_G が 0.9 未満の CYP3A 基質(alfentanil, buspirone, felodipine, lovastatin, midazolam, nifedipine, simvastatin)及び CYP3A ならびに P-gp の dual substrate である cyclosporine の計 8 薬剤を選択した。また阻害剤服用条件に関して clarithromycin の投与量は 250 mg と設定し第二章で用いた DI データとして使用されている用量範囲内であることを確認した。なお阻害剤は基質と同時投与(単回投与)とした。また本解析では被験者 A における絶食時の ^{99m}Tc -DTPA 管腔内分布をもとに最適化された拡散定数ならびに移動速度(Figure 3-3A)を用いて解析した。

3.2.15 拡散モデルの計算方法

関連する臓器(食道、胃、盲腸/大腸、門脈、肝臓、中枢及び抹消コンパートメント)とともに

に 3 つの非線形偏微分要素(基質、阻害剤及び水分量)を持った本モデルは FDM[253]を用いて計算された。また消化管管腔のセグメント数は計算精度を考慮して 40 と設定し、Danckwerts' closed boundary condition を採用して計算した。すべてのセグメント及びコンパートメントにおける計算は、薬物動態の数値解析プログラムである Napp(Numeric Analysis Program for Pharmacokinetics, version 2.31)を使用して Runge-Kutta-Fehlberg method を用いて計算した[253]。パラメータ最適化に関しては主に Napp に実装された Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno(BFGS)スキームを使用した準ニュートン法によって実施した。

3.3 結果

3.3.1 ATOM における拡散定数及び移動速度の決定と食事の影響を考慮した消化管管腔内

^{99m}Tc -DTPA 分布シミュレーションへの応用

ATOM は拡散定数と移動速度を設定した拡散モデルであり、薬物を含めた小腸管腔内の内容物の複雑な挙動を説明するためこの拡散定数と移動速度の決定は小腸管腔内の薬物分布を再現するために不可欠である。Haruta らの報告[248]によると非吸収性薬物である ^{99m}Tc -DTPA は絶食下では投与後 2 時間以内に空腸を満たし、その後急速に下部空腸に移動しそこで 2 時間保持されるプロファイルを示している(Figure 3-3A, C, E, G)。一方で摂食状態では胃からの排出遅延に加えて小腸内の内容物の挙動が遅延し、その一部は投与 3 時間後でも空腸に保持されていた(Figure 3-3B, D, F, H)。今回被験者 A に関しては拡散定数を位置依存的に設定した(移動速度は固定した)モデルでは小腸上部の急速な通過とその後の下部における内容物の保持をうまく再現したが(Figure 3-3A)、拡散定数と移動速度を固定したモデルでは再現することができなかった(Figure 3-5)。一方で被験者 A における絶食下、及び残りの 1 名(被験者 B)における絶食下ならびに摂食下の小腸管腔内 ^{99m}Tc -DTPA 挙動に関しては、位置依存的な拡散定数に加えて、時間に依存する移動速度を設定することで再現することに成功した(Figure 3-3B, C, D, Figure 3-4)。

3.3.2 CAT を用いた消化管管腔内 ^{99m}Tc -DTPA 分布シミュレーション

CAT はコンパートメント間に一連の transit time を設定した上で一次速度式を用いて、小腸

内の内容物の動きを説明するモデルである。この transit time についてはこれまでに値が報告されている[262]。しかしながらこれらの transit time を使用して予測した場合、小腸上部で過大に小腸下部では過小に評価していることから $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ の管腔内分布を再現することはできなかった(Figure 3-6)。そのため CAT の各 transit time について $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ 分布を用いて最適化を試みて検討を行ったが、 $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ の分布は絶食及び摂食下共に、特に小腸下部において再現できなかった(Figure 3-3E, F, G, H)。また CAT を使用したすべてのシミュレーションについて放射能は 2 時間以内に大腸に以降しており、非常に消化管からの流出が早いことが観察された。

3.3.3 ATOM と CAT の吸収部位の違いに関する検討

薬物は消化管管腔から小腸上皮細胞に速やかに移動するため、小腸上皮細胞内の薬物分布は管腔中の薬物濃度に強く影響されと考えられる。そこで ATOM(位置依存的な D_z と固定の M_i を使用)と CAT(最適化された transit time を使用)を用いて絶食下における小腸上皮細胞中の薬物濃度をシミュレーションし、両モデル間の違いを確認した。また透過性の高い薬物ではモデル間の薬物吸収に顕著な違いが観察されなかったため、本シミュレーションでは透過性の低い薬物(midazolam と比較して約 1/50)を使用して検討した(Figure 3-8)。その結果、CAT では投与後 0.5 時間と 2 時間では小腸上部の薬物濃度が高くなったが、6 時間後には空腸から回腸に大部分が移行した。それとは対照的に ATOM では薬物投与後 0.5 時間の時点ですでに空腸に移動し始め、6 時間においても薬物の保持が認められた。次に小腸の各部分か

ら門脈に到達する累積薬物量を計算したところ、CAT ではほとんどの薬物が上部空腸で吸収されたのに対し、ATOM では主に下部空腸で吸収が生じることが明確になった(Figure 3-9)。したがって ATOM では CAT に比べ小腸上部から小腸下部への移行性が非常に高く、それによって小腸上部での薬物吸収が抑えられているものと考えられた。

3.3.4 ATOM 及び CAT における midazolam の非線形吸収性の予測と小腸における CYP3A 飽和性の違い

薬物濃度が小腸上皮細胞に発現する代謝酵素及びトランスポーターの K_m よりも高い場合、代謝酵素及びトランスポーターは飽和する。そのため小腸管腔内の薬物挙動が消化管吸収率にどのように影響するかを調べるために、midazolam の $F_A F_G$ の用量依存性について ATOM 及び CAT を用いて検証した。絶食下において、0.1 mg の midazolam 投与後の $F_A F_G$ は ATOM、CAT の両方で同じであった。1 mg に関しては 0.1 mg と比較して CAT ではわずかに増加した一方で、ATOM では変動しなかった。そして 10 mg では $F_A F_G$ 予測値の違いが最も顕著に示された(Figure 3-10A)。加えて midazolam の $F_A F_G$ の報告値は CAT よりも ATOM の予測値に近いことが確認された。次に 10 mg 投与後の小腸上皮細胞における非結合型薬物濃度を両モデルで比較した(Figure 3-10B)ところ、ATOM における非結合型最高濃度(4.53 $\mu\text{g/mL}$)と比較して CAT ではより高い非結合型濃度(14.36 $\mu\text{g/mL}$)が示された。midazolam の $K_{m,CYP3A,u}$ は 1.08 $\mu\text{g/mL}$ である[14]ことから ATOM よりも CAT で強く CYP3A が飽和しており、これが両モデル間の $F_A F_G$ 値の違いを生じる要因であると考えられた。また midazolam の $F_A F_G$ は絶食下よ

りも摂食下の方が低かった(Figure 3-10A)。これは摂食状態の小腸上皮細胞中の非結合型濃度が低く(Figure 3-10B)、摂食下で CYP3A の飽和性が弱いことと一致していた。したがって ATOM では CAT と比較して非線形性が弱く、加えて ATOM がより実際に近い非線形薬物動態を示す可能性を示唆した。

3.3.5 ATOM と TLM 間の F_G 値の整合性確認

ATOM は小腸の構造や薬物吸収プロセスに基づく多くの仮定を引き継いでいることから、TLM を拡張したモデルである。また TLM を用いた薬物の F_G の予測値は既報の F_G と良好な相関性を示している[14]。そこで ATOM と TLM による F_G 予測値を比較することで、両モデルの薬物の消化管吸収性予測の整合性を確認した。その結果、ATOM を使用して予測された F_G は評価対象であるすべての薬剤について TLM を用いて予測された F_G の 10%以内であり、同等の予測性を示すことが確認された(Figure 3-12, Table 3-7)。したがって本結果は ATOM と TLM の消化管吸収結果が整合することを示した。

3.3.6 ATOM を使用した CYP3A または P-gp を介した DI シミュレーション

ATOM は TLM を拡張したモデルであるが、TLM は吸収部位を 1 つと設定しているため部位依存的な DI シミュレーションを行うことができなかった。一方で臨床的には CYP3A と P-gp は消化管吸収に関して多くの臨床 DI が報告されているため[43, 177, 263]、その相互作用の程度を正確に予測することは非常に重要である。したがって CYP3A の代表的な基質として midazolam、P-gp の代表的な基質として digoxin を選択し、それぞれ CYP3A と P-gp の代表

的な阻害剤である itraconazole と clarithromycin と併用した際の DI について ATOM を用いて予測した。まず今回使用した阻害剤である itraconazole 及び clarithromycin について血漿中濃度を予測し、臨床での血中濃度を再現できていることを確認した(Figure 3-14)。次に midazolam と digoxin の血漿中濃度について阻害剤併用時における濃度上昇が再現された(Figure 3-13)。midazolam の DI に関しては 50 mg の itraconazole 投与時は肝臓の寄与が考慮されていないものの midazolam の血漿中濃度上昇が過大評価される傾向が観察された。一方で itraconazole の高用量併用時は、肝臓の阻害が含まれていないため midazolam の血漿中濃度上昇が過小に評価されたものと考えられた。また阻害剤併用時の digoxin の F_A 及び midazolam の F_G 増加は、それぞれ 1.25 倍及び 2.15-2.58 倍と推定され小腸における DI が大きな寄与を占めることが示唆された(Table 3-8)。

3.3.7 絶食状態と摂食状態における midazolam と digoxin の血漿中濃度の違いに関する検討

小腸での薬物挙動は絶食下と摂食下で異なることから Figure 3-3A 及び Figure 3-3B で取得された拡散定数と移動速度を使用して、midazolam 及び digoxin の血漿中濃度に与える食事の影響を検討した。その結果、両薬剤ともに摂食下にて C_{max} の低下及び t_{max} の遅延を示した(Figure 3-15)。この結果は臨床で観察された midazolam と digoxin の薬物動態に及ぼす食事の影響と一致した[231, 264]。

3.3.8 静的モデルとの整合性検討

本研究では ATOM で DI 予測を実施したが、静的及び動的モデル間で DI 予測の結果が異

なることは望ましくない。そこで第二章の静的モデルとの整合性について、静的モデルを用いて算出された小腸の DI による AUC 変化率($AUCR_{int}$)を指標に検討した。その結果、検討した 8 薬剤のうち 4 薬剤で 1.5 倍以内、7 薬剤で 2 倍以内の予測性が示された(Figure 3-16)。また 2 倍以上の結果を示したのは felodipine であるが、ATOM における F_G が報告値よりも著しく低いことから(Table 3-6, ATOM を用いた予測 F_G 値 0.02, 報告 F_G 値 0.53)、動的モデルでの阻害性が過大に見積もられてしまった可能性があると考えられた。

3.4 考察

小腸上皮細胞中の薬物濃度の正確な予測は、小腸における CYP3A による代謝及び P-gp による輸送が関与する消化管吸収性ならびに DI を把握するためには不可欠である。また管腔内濃度は小腸上皮細胞中濃度に直接影響するため、小腸内の薬物挙動を正確に理解することは非常に重要である。さらに食物の摂取は、胆汁分泌、pH、血流、及び薬物移動に影響を及ぼす[265, 266, 267]が、特に溶解度を変化させることにより薬物吸収性に影響を与えるなど、薬物の消化管吸収に大きく関与する。Haruta らは絶食及び摂食下で ^{99m}Tc -DTPA の消化管内挙動を観察し小腸内の薬物流動性について考察した[248]が、一方で正確な小腸内の流動性を考慮した消化管モデルはこれまでに報告されていない。

ATOM は消化管内の位置に依存する拡散定数と時間に依存する移動速度を持つ拡散モデルであり、 ^{99m}Tc -DTPA の管腔内分布を再現することに成功した(Figure 3-3, 3-4)。小腸における薬物の挙動はその構造と運動性の点から非常に複雑である[255]。実際に管腔中の ^{99m}Tc -DTPA 挙動は、拡散定数と移動速度を固定したモデルでは再現することができなかった(Figure 3-5)。また予備的に摂食下について拡散定数及び移動速度を場所依存的に変化させたモデルを検討したが、本研究で採用したモデル(場所依存的な拡散定数及び時間依存的な移動速度)と比較するとその再現性は劣っていた。したがって、食後における薬物挙動を説明するためには、時間依存性な移動速度が必要であると考えられた。

これまでに一次速度定数及びラグタイムを用いて管腔内の薬物挙動を正確に説明可能にした GITA model が報告された[247, 248, 268]が、GITA model には生理学的構造が反映されてい

ない。一方で CAT、ACAT 並びに ADAM ではそれらが考慮されているものの、本研究では CAT は transit time を最適化したにも関わらず、管腔中の ^{99m}Tc -DTPA 分布を再現することができなかった(Figure 3-3, 3-6)。加えて CAT は midazolam の F_{AFG} を過大評価し、予測値が観測値よりも乖離する傾向を示した(Figure 3-10)。CYP3A の発現量は小腸上部で高いことが報告されており[269]、小腸上部での薬物挙動は消化管吸収予測にとって非常に重要である。CAT は ATOM と比較して小腸上部の濃度が高いことから、CYP3A の飽和が強く消化管吸収を見積もるものと考えられる。これらの結果は、消化管の薬物挙動を再現できない消化管吸収モデルは薬物の非線形吸収を見誤る可能性があることを示唆した。

また経口投与後の小腸内の薬物濃度は高いため、小腸における CYP3A 及び P-gp を介した DI は生じやすいと考えられる[71, 270]。また特に小腸内の DI は弱い CYP3A 阻害剤の併用時には肝臓の DI の寄与が小さく AUC の上昇は小腸での DI に左右されるため、その予測は重要である[271]。これまでに CYP3A 及び P-gp を介した DI は PBPK モデルを用いて予測されているが[272, 273]、いずれにおいても小腸内の薬物濃度の適切性については情報量が極めて少ないことから議論されていない。現状では米国、ヨーロッパ、及び日本の DI ガイダンス[28, 29, 30]において、小腸管腔内の薬物濃度を推定するのは投与量を水分量(250 mL)で除して算出する式のみが言及されている。これは非常に簡易であり DI リスクマネジメントに役立つアプローチであるものの、PBPK モデルのような生体を模した算出方法ではない。

また本研究では midazolam と digoxin の DI は小腸の寄与によって大部分が説明されたことから(Figure 3-13, Table 3-8)、CYP3A 及び P-gp に関して小腸で生じる DI の重要性が示唆され

た。加えて itraconazole 服用時の midazolam の血中濃度上昇については多くの報告がなされており itraconazole の代謝物による DI の関与が明らかになっている[273, 274, 275]が、小腸での DI の程度については議論が進んでいない。小腸上皮細胞中の代謝物濃度が不明であること、小腸の代謝物濃度は肝臓中の濃度よりも低いことから、ATOM を用いた midazolam の DI シミュレーションには itraconazole の代謝物による阻害性は組み込まれていない。それにもかかわらず、本研究では ATOM は itraconazole の小腸における DI をやや過大に見積もった。そのため将来は小腸における DI の寄与を詳細に明確にするための研究が必要であると考えられる。

また digoxin の薬物動態に関して、一般的に P-gp による阻害は小腸だけでなく肝臓と腎臓でも起こり得る[276, 277]。そのため P-gp を介した DI シミュレーションに関しては肝臓と腎臓の関与も厳密には含める必要があるが、本研究では組み込むに至らなかった。一方で Figure 3-13 B の結果は clarithromycin 投与による digoxin の血漿中濃度上昇の大部分を説明できており、小腸における P-gp 阻害の程度を予測する重要性を示した。一方で cyclosporine や saquinavir などの P-gp 基質の消化管吸収性評価は既報の報告値と乖離があった(Table 3-6)。これは上記の 2 薬剤の投与量が比較的高く P-gp の飽和を引き起こしている可能性があるためと考えられた。また TLM を用いた解析により verapamil、fexofenadine、talinalolol 及び digoxin 等の P-gp 基質について 100 mg といった高用量では、P-gp の飽和により DI のリスクが一般的に低下するという報告[278]と今回の結果は一致していた。

小腸上皮細胞中の薬物濃度を正確に推定するためには小腸管腔内の薬物挙動に加えて、基

基底膜における透過性を理解する必要がある。これまでに報告された消化管吸収モデルは、小腸から門脈に到るまでには上皮細胞というコンパートメントが1つ設定されているのみである。基底膜の薬物透過が双方向性の場合、小腸上部で薬物が吸収されると、血液から小腸下部に逆方向に排出される動きが生じる。これまでに薬物吸収に及ぼす血流の影響が議論されているにもかかわらず[245, 246, 279, 280]、血流依存的な消化管吸収を説明するに至っていないと考えられる。この問題を解決するには、TLM や ATOM で設定したように門脈コンパートメント及び小腸のコンパートメントを位置依存的にそれぞれ概念的に分離する必要があると考えられる。さらに頂端膜の透過性とは独立して基底膜側の透過性を評価する必要がある。これは現状では困難な問題であるが、iPS 細胞[36]や CYP3A4 発現小腸上皮細胞[37]などの多機能細胞システムを使用して選択的阻害剤またはノックダウン技術と合わせることで細胞内の現象を説明できるようになる可能性があると考えられる。

また in vivo における現象を正確に再現するため、PBPK モデルは in vitro と in vivo 間のギャップを埋めるための複数のスケーリングファクターを含む数多くのパラメータで構成されている。ただし消化管吸収モデルの場合、仮にスケーリングファクターが消化管吸収における両者の関係性の曖昧さを解消する目的のみで使用されるのであればその有効性を失いかねない。Takano らは CYP3A の $V_{\max}$ に関するスケーリングファクターを使用することで midazolam の非線形吸収性を予測した[249]が、スケーリングファクターの適切性については議論されていなかった。本研究では ATOM によって midazolam の非線形吸収性は受動透過と P-gp 発現量に関するスケーリングファクターのみを用いて予測された(Figure 3-10)。この点

を考慮しても ATOM は医薬品開発をはじめとした様々なステージでの薬物動態予測の目的にて有用なアプローチになると期待される。

さらに理論的には薬物動態モデルにおける薬物のクリアランスは、薬物の滞留時間と臓器内のクリアランスによって決定される[252]。ATOM と TLM はこれらの値が近くなるように設計されているためその消化管吸収性に関する予測性能に違いはない。Figure 3-12 や Table 3-7 の結果も踏まえ、ATOM と TLM の消化管吸収予測性は ACAT などの他の高度なモデルと同等であると考えられる[14, 139, 282]が、ATOM において消化管吸収に関する他モデルとの優位性は証明できていない。また現状では P-gp による輸送活性を含むバイオアベイラビリティを予測するために必要な *in vitro* パラメータは実験間で変動することが知られている[282]ことや、信頼性のある *in vivo* における F_A 及び F_G 値も不足している[283]点から、より精度の高い消化管吸収モデルを選択するにはさらなる研究が必要であると考えられる。

加えて薬物吸収の過程では製剤の溶出性、特に脂溶性が高いため不溶性の化合物に関しては溶解度も大きく予測性に影響する。また溶解性は胃では低く(pH: 1.5-5.0)、消化管管腔では下部に移行するにつれて徐々に上昇する(pH: 5.0-7.4)という消化管内の pH プロファイルが非常に大きく影響を与える[284]。現時点では ATOM には上記のプロセスは含まれておらず、全ての薬剤が水に可溶であるという前提で解析を行っている。したがってより多くの化合物の評価を行うため、これらのプロセスを組み込んで ATOM を拡張し、その適用範囲を広げる必要がある。

結論として、新しく構築された消化管吸収モデル ATOM は小腸管腔内の薬物挙動を模倣

し、かつ最小限のスケーリングファクターを使用することで薬物動態をシミュレートし、薬物の吸収性及び CYP3A 及び P-gp を介した DI を合理的に解釈することを可能にした。将来、医薬品開発や臨床における服用管理に ATOM が活用されることが期待される。

3.5 小括

本研究では新規消化管吸収動的モデル ATOM について、以下の知見を得た。

- ✓ 新規動的消化管吸収モデル ATOM を用いて、距離依存的な拡散定数及び時間依存的な移動速度を設定することで絶食及び摂食下の消化管内の薬物挙動を再現することに成功した。
- ✓ 消化管内の薬物分布は薬物の消化管吸収性プロファイルにも影響を与えており、ATOM を用いることで非線形性を精度良く予測できる可能性を示した。
- ✓ ATOM は CYP3A 及び P-gp を介した DI シミュレーションが可能であることが確認された。
- ✓ ATOM と新規静的吸収モデルに関して小腸における CYP3A 及び P-gp を介した DI 予測結果ならびに再吸収率のシミュレーション結果は概ね一致しており、両者の整合性は取得できる可能性が高いと考えられた。

Table 3-1 Optimized parameters for intestinal water movement in ATOM

Parameter	Value	Unit
k_{es}	114.41	/h
$k_{water,sto}$	0	/h
$Se_{water,sto}$	88.63	mL/h
$k_{water,abs}$	881.26	/h
$Se_{water,abs}$	1500.00	mL/h

k_{es} : transit rate of drug (or water) from esophagus to stomach, $k_{water,sto}$: water absorption rate in stomach,

$Se_{water,sto}$: water secretion clearance in stomach, $k_{water,abs}$: water absorption rate in lumen, $Se_{water,abs}$: water

secretion clearance in lumen

Table 3-2 Optimized parameters for transit rate from stomach to intestine, dispersion constants and intestinal flow rates using ^{99m}Tc -DTPA distribution in the lumen in ATOM

Subject and fasted/fed	k_{sto} (h^{-1})	D_z (h^{-1})		M_t (h^{-1})			
		A	B	C	D	t_{lag}	E
Subject A fasted	4.27	816.59	0.082	11.34	0 ^a	-	1 ^a
Subject B fasted	5.23	584.19	0.044	15.00	0.92	1.05	1.01
Subject A fed	1.29	524.22	0.028	16.90	0.98	2.35	3.43
Subject B fed	0.89	201.76	0.031	12.50	0.91	2.12	1.82

These parameters were obtained by fitting analysis using ^{99m}Tc -DTPA distribution in the lumen reported by reference 248.

a: Constant flow rate ($D=0$ and $E=1$) was adopted because AIC values were similar with the simulated results by ATOM using time-dependent flow rate.

k_{sto} : transit rate of drug or water from stomach to intestine, D_z : location-dependent dispersion number,

M_t : time-dependent intestinal flow rate

Table 3-3 Reported and optimized transit times in CAT using ^{99m}Tc -DTPA distribution in the lumen in both fasted and fed state.

Parameters	Value					Unit
	Reported	Optimized				
		Subject A fasted	Subject B fasted	Subject A fed	Subject B fed	
k_{sto}	4.00	4.17	3.45	1.11	0.77	/h
$k_{t,1}$	3.85	3.03	1.33	2.94	62.50	/h
$k_{t,2}$	1.08	3.03	208.33	357.14	2.33	/h
$k_{t,3}$	1.35	3.03	2.86	31.25	14.08	/h
$k_{t,4}$	1.72	0.81	1.64	9.09	0.65	/h
$k_{t,5}$	2.38	0.81	13.16	2.94	0.58	/h
$k_{t,6}$	3.45	0.81	0.68	0.20	58.82	/h

Each transit rate was calculated using the equation, Transit rate = 1/ Transit time. Reported transit times were referred from the previous report [262]. Optimized transit times were obtained by fitting analysis using observed distribution of ^{99m}Tc -DTPA in the lumen [248].

k_{sto} : transit rate of drug or water from stomach to intestine, $k_{t,n}$: transit rate of drug or water from nth compartment in the lumen

Table 3-4 Pharmacokinetic parameters of compounds

Parameter	Value	Unit	Reference and comment
midazolam			
$P_{app,Caco-2}$	0.117	cm/h	14
pKa	14 (acid), 4.57 (base)	-	ADMET Predictor® ver. 9.5
pKa (reported) ^b	6.15 (base)	-	285
f_b	0.056	-	14
f_{ent}	0.056	-	Assumed to be equal with f_b
$V_{max,CYP3A}$	0.44	$\mu\text{g /h pmol}$ CYP3A	14
$K_{m,CYP3A,u}$	1.08	$\mu\text{g/mL}$	14
$K_{p,liver}$	6.96	-	286
R_B	0.55	-	139
CL_{int}	587336	mL/h	256 Optimized using plasma concentration after intravenous dosing
CL_R	0	mL/h	Assumed to be 0
$V_{central}$	99888	mL	256 Optimized using plasma concentration after intravenous dosing
k_{12}	0.288	/h	256 Optimized using plasma concentration after intravenous dosing

k_{21}	0.0042	/h	256 Optimized using plasma concentration after intravenous dosing
k_{12}^*	0.288	/h	Assumed to be same with k_{12}
k_{21}^*	0.0042	/h	Assumed to be same with k_{21}
digoxin			
$P_{app,Caco-2}$	0.00396	cm/h	168
pKa	14(acid), 1(base)	-	ADMET Predictor [®] ver. 9.5
f_p	0.75	-	167
f_b	0.697	-	Calculated as $f_b = f_p / R_B$
f_{ent}	0.697	-	Assumed to be equal with f_b
$V_{max,P-gp}$	1.0×10^7	$\mu g / h$ pmol P-gp	257 Optimized to the range of reported F_A values
$K_{m,Pgp,u}$	57	$\mu g/mL$	287
$K_{p,liver}$	1.35	-	GastroPlus [®] ver. 9.7
R_B	1.08	-	ADMET Predictor [®] ver. 9.0
CL_{int}^a	4793	mL/h	288
$CL_{R,Pgp}$	4080	mL/h	38 Assumed from the CL_R change in P-gp inhibitor administration
$CL_{R,nonPgp}$	7560	mL/h	38 Assumed from the CL_R change in P-gp inhibitor administration
$V_{central}$	11800	mL	38
k_{12}	2	/h	38

			Optimized using plasma concentration of digoxin in intravenous administration
k_{21}	0.029	/h	38 Optimized using plasma concentration of digoxin in intravenous administration
k_{13}	2	/h	38 Optimized using plasma concentration of digoxin in intravenous administration
k_{31}	0.432	/h	38 Optimized using plasma concentration of digoxin in intravenous administration
k_{12}^*	2	/h	Assumed to be same with k_{12}
k_{21}^*	0.029	/h	Assumed to be same with k_{21}
k_{13}^*	2	/h	Assumed to be same with k_{13}
k_{31}^*	0.432	/h	Assumed to be same with k_{31}
itraconazole			
$P_{app,Caco-2}$	0.0245	cm/h	289
pKa	14 (acid), 4.57 (base)	-	ADMET Predictor [®] ver. 9.5
pKa (reported) ^b	3.7 (base)	-	290
f_b	0.0034	-	Calculated as $f_b=f_p/R_B$
f_p	0.002	-	273
f_{ent}	0.0034	-	Assumed to be equal with f_b

$V_{\max, \text{CYP3A}}$	0.0114	$\mu\text{g} / \text{h pmol}$ CYP3A	273
$K_{\text{m}, \text{CYP3A}, \text{u}}$	0.0313	$\mu\text{g}/\text{mL}$	273
$K_{\text{p}, \text{liver}}$	6.67	-	258
R_{B}	0.58	-	258
CL_{int}	14700000	mL/h	258
CL_{R}	0	mL/h	Assumed to be 0
V_{central}	59200	mL	258
$K_{\text{i}, \text{CYP3A}}$	0.212	$\mu\text{g}/\text{mL}$	211
clarithromycin			
$P_{\text{app}, \text{Caco-2}}$	0.0138	cm/h	291
pKa	13.1 (acid), 8.2 (base)	-	292
pKa (reported) ^b	8.99 (base)	-	293
f_{b}	0.32	-	292
f_{ent}	0.32	-	Assumed to be equal with f_{b}
$V_{\max, \text{CYP3A}}$	0.013	$\mu\text{g} / \text{h pmol}$ CYP3A	294
$K_{\text{m}, \text{CYP3A}, \text{u}}$	36.43	$\mu\text{g}/\text{mL}$	295
LogP	2.3	-	296
R_{B}	0.74	-	292
CL_{int}	68504	mL/h	75 Optimized using plasma concentration of clarithromycin after oral administration
CL_{R}	6000	mL/h	297
V_{central}	25193	mL	261

			Optimized using plasma concentration of clarithromycin after intravenous administration
$K_{i,CYP3A}$	4.52	$\mu\text{g/mL}$	295
$K_{i,Pgp}$	324.61	$\mu\text{g/mL}$	298
k_{12}	8.91	/h	75 Optimized using plasma concentration of clarithromycin after oral administration
k_{21}	2.51	/h	75 Optimized using plasma concentration of clarithromycin after oral administration

a: The value was calculated using the number of hepatocytes (1.2×10^8 cells/g liver) and the weight of the liver (25.7 g liver/kg) [259].

b: In this study, *in silico* pKa values using ADMET Predictor[®] were used.

Table 3-5 Physiological parameters used in ATOM and CAT

Parameter	Value	Unit	Reference
Q_{pro}	18000	mL/h	14
Q_{pv}	37170	mL/h	286
Q_{h}	107100	mL/h	286
Q_{ha}	69930	mL/h	Calculated as $Q_{\text{ha}} = Q_{\text{h}} - Q_{\text{pv}}$
V_{es}	78.5	mL	Assumed a column with 1 cm radius and 25 cm length
V_{sto}	48.92	mL	GastroPlus® ver. 9.7
V_{pv}	70	mL	286
V_{liver}	1687	mL	286
V_{cae}	50.49	mL	GastroPlus® ver. 9.7
V_{col}	53.55	mL	GastroPlus® ver. 9.7
V_{si}	105	mL	300

Q_{pro} : blood flow of the blood capillaries in lamina propria, Q_{pv} : blood flow in the portal vein, Q_{h} : blood flow in the liver, Q_{ha} : arterial blood flow in the liver, V_{sto} : volume in the stomach, V_{pv} : volume in the portal vein, V_{liver} : volume in the liver, V_{cae} : volume in the caecum, V_{col} : volume in the colon, V_{si} : volume in the small intestine

Table 3-6 Dataset for F_G prediction about CYP3A or P-gp/CYP3A substrates and predicted or reported F_G values

Compound	Dose	$K_{m,u}$		V_{max}		$P_{app,caco-2}$	f_b	pK_a^a		F_G		
		CYP3A	P-gp	CYP3A	P-gp			acid	base	ATOM	TLM	Reported
	nmol	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/h}$ pmol CYP3A	$\mu\text{g/h}$ pmol P- gp							
alfentanil	7220	9.51	-	0.542	0	0.105	0.137	-	6.72	0.76	0.72	0.60
alprazolam	1290	81.9	-	0.074	0	0.0918	0.341	-	3.01	0.99	0.99	0.99
buspirone	4150	3.08	-	0.401	0	0.0914	0.062	-	7.16	0.56	0.51	0.22
cisapride	16100	1.49	-	0.245	0	0.108	0.020	11.2	7.30	0.63	0.56	0.55
cyclosporin	474000	1.68	0.0682	0.040	1.66×10^6	0.0286	0.014	-	-	0.99	0.99	0.35
felodipine	26000	2.04	-	2.86	0	0.0151	0.068	10.95	0.51	0.02	0.02	0.53
lovastatin	49400	3.16	-	9.23	0	0.0522	0.030	-	-	0.04	0.04	0.09
midazolam	9200	1.08	-	0.440	0	0.117	0.056	-	4.57	0.39	0.36	0.48
nifedipine	28900	3.81	-	0.502	0	0.0846	0.066	11.06	1.28	0.63	0.60	0.74
nisoldipine	12900	0.815	-	3.75	0	0.072	0.003	11.2	0.68	0.03	0.03	0.11
rifabutin	177000	9.23	-	0.286	0	0.0342	0.483	6.92	8.12	0.94	0.85	0.21

saquinavir	1490000	0.201	0.579	0.731	1.66×10 ⁶	0.0497	0.038	10.83	6.40	0.94	0.92	0.18
sildenafil	52600	7.13	-	0.480	0	0.0922	0.063	9.38	7.60	0.78	0.77	0.54
simvastatin	95500	1.42	-	5.95	0	0.0245	0.025	-	-	0.02	0.02	0.19
trazodone	202000	116	-	1.64	0	0.0871	0.070	-	7.15	0.93	0.90	0.83
triazolam	729	29.2	-	0.090	0	0.101	0.161	-	2.85	0.98	0.98	0.45
zolpidem	16300	43.0	-	0.057	0	0.115	0.105	-	4.99	0.99	0.99	0.81

Dataset of each compound, predicted (TLM) and reported F_G values were referred from the previous report by reference 14.

a: Obtained from ADMET Predictor[®] version 9.5 (Simulations Plus Inc.)

Table 3-7 Predictive performance of F_G values using ATOM and TLM compared with reported F_G values

Parameters	ATOM	TLM
Within ±0.3 (%)	65	71
AFE	1.06	1.10
RMSE	0.373	0.357

AFE: average fold error, RMSE: root mean square error

AFE and RMSE were calculated using the following equations. Parameter N represents the number of drugs.

$$\text{AFE} = 10^{\sum \log(\text{reported}/\text{predicted})/N}, \text{ RMSE} = \sqrt{\frac{\sum[(\text{predicted}-\text{reported})^2]}{N}}$$

Table 3-8 Summary of AUCR ratio and F_G (midazolam) or F_A (digoxin) changes during DIs

midazolam ^a		
inhibitor	AUCR ratio (predicted AUCR / reported AUCR)	F_G changes ($F_{G,p}/F_{G,control}$)
50 mg itraconazole	1.19	2.15
200 mg itraconazole	0.63	2.50
400 mg itraconazole	0.58	2.58
digoxin ^b		
inhibitor	AUCR ratio (predicted AUCR / reported AUCR)	F_A changes ($F_{A,p}/F_{A,control}$)
500 mg clarithromycin (250 mg twice daily)	1.64	1.25

AUCR: AUC ratio, $F_{A,p}$: predicted F_A value of the substrate with the perpetrator, $F_{A,control}$: predicted F_A value of the substrate in the control, $F_{G,p}$: predicted F_G value of the substrate with the perpetrator, $F_{G,control}$: predicted F_G value of the substrate in the control

a: AUC_{inf} was used according to the report with the observed values [95].

b: AUC_{0-24} was used according to the report with the observed values [75].

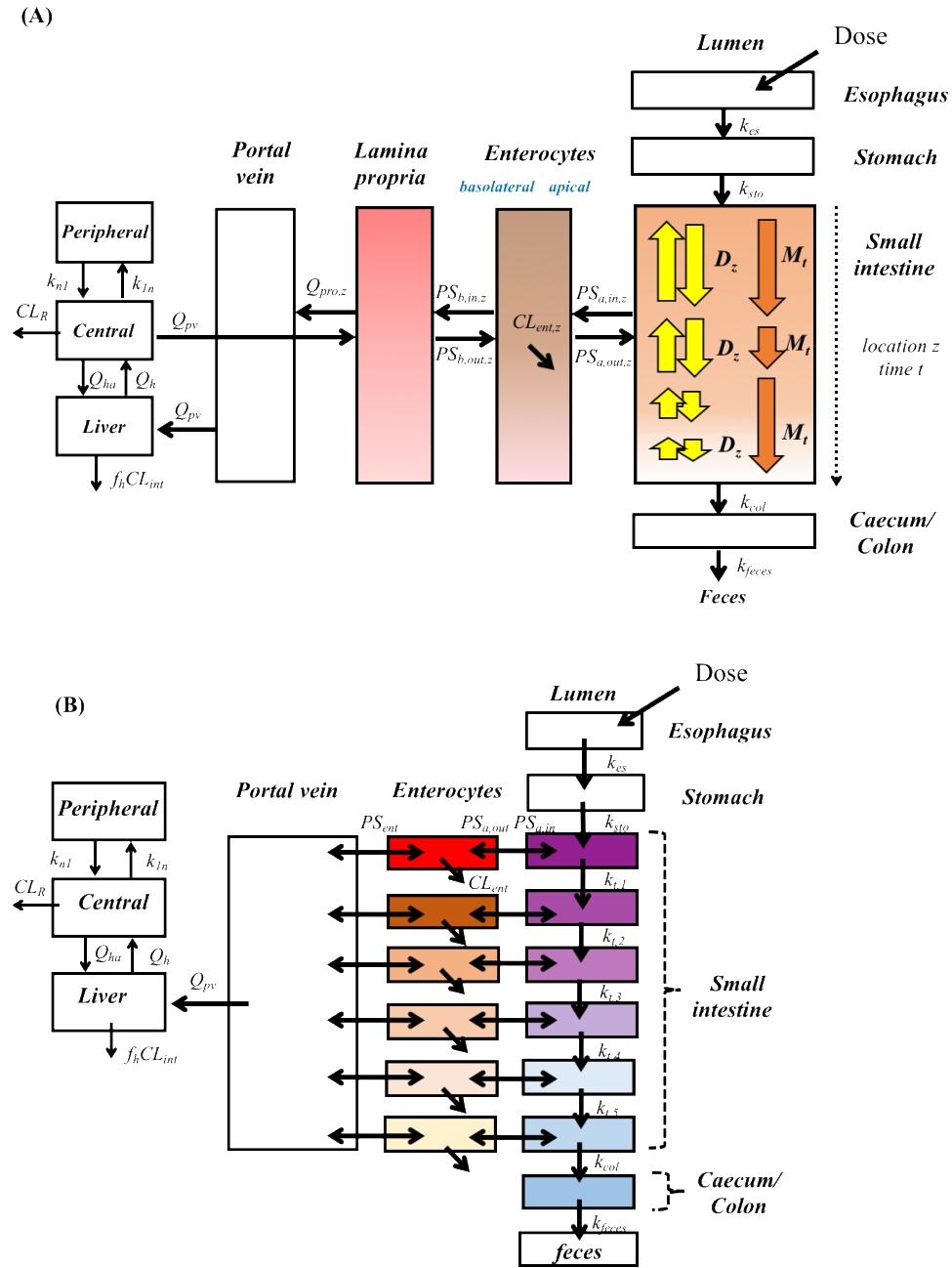


Figure 3-1 Structures of ATOM (A) and CAT model (B)

z shows the position at which its volume from inlet equals to z ($0 \leq z \leq V_{lum}=1$). CL_{ent} : intestinal

metabolic clearance by CYP3A, CL_{int} : hepatic intrinsic clearance, CL_R : renal clearance, D_z :

location-dependent dispersion number, f_h : hepatic unbound fraction, k_{col} : transit rate from the

ileum to the caecum/colon, k_{es} : transit rate of drug from the esophagus to the stomach, k_{feces} :
 transit rate from the caecum/colon to the feces, k_{n1} : transit rate from the nth peripheral
 compartment to the central compartment, k_{sto} : transit rate of drug from the stomach to the
 jejunum, $k_{t,n}$: transit rate from the nth compartment in the small intestine in CAT, k_{1n} : transit rate
 from the central compartment to the nth peripheral compartment, M_t : time-dependent intestinal
 flow rate, $PS_{a,in}$: permeability clearance from the lumen to the enterocytes in the apical
 membrane, $PS_{a,out}$: permeability clearance from the enterocytes to the lumen in the apical
 membrane, $PS_{b,in}$: permeability clearance from the enterocytes to the lamina propria in the
 basolateral membrane, $PS_{b,out}$: permeability clearance from the lamina propria to the enterocytes
 in the basolateral membrane, PS_{ent} : overall clearance in the basolateral membrane, Q_h : blood
 flow in the liver, Q_{ha} : arterial blood flow in the liver, Q_{pro} : blood flow rate in the lamina
 propria, Q_{pv} : blood flow rate in the portal vein

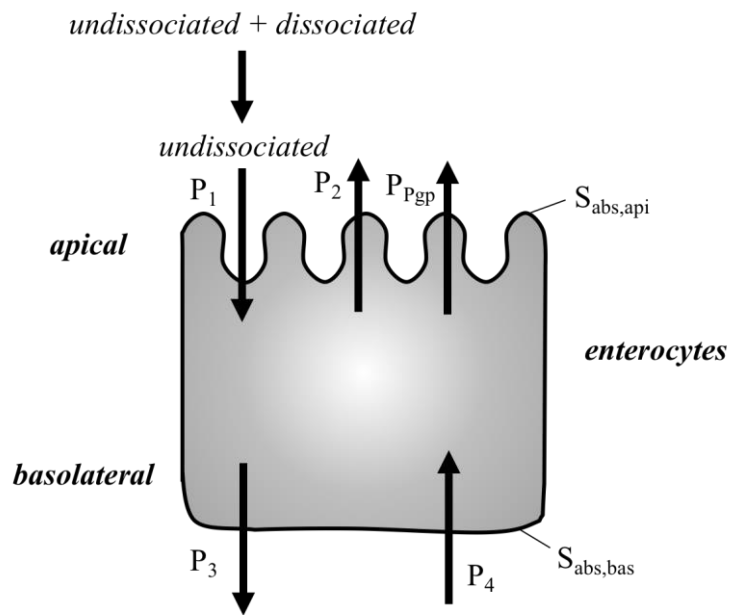


Figure 3-2 Definitions of apical and basolateral permeability

$S_{abs,api}$ and $S_{abs,bas}$ represent the surface area of apical and basolateral membrane, respectively. P_1 , P_2 , P_3 and P_4 represent the passive permeability from the lumen to enterocytes, enterocytes to lumen, enterocyte to lamina propria and blood capillaries and lamina propria and blood capillaries to enterocytes, respectively. P_{Pgp} represents the active transport permeability by P-gp.

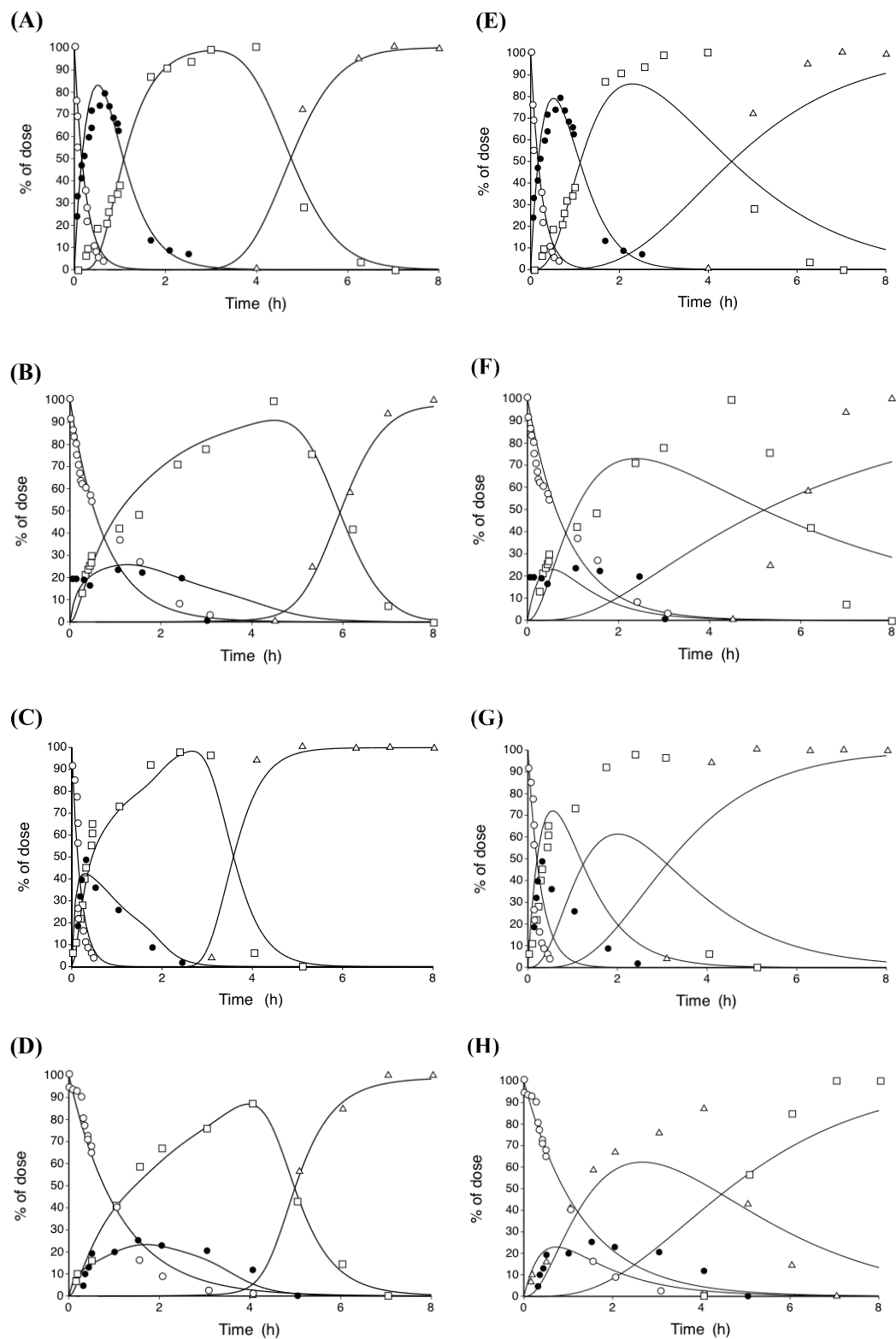


Figure 3-3 Simulated movements of ^{99m}Tc -DTPA in the gastrointestinal tract by ATOM (A, B, C and D) and CAT (E, F, G and H) in fasted and fed state.

The observed ^{99m}Tc -DTPA distribution in the lumen was taken from a previous study [248], which reported its distribution in two subjects. Simulated results of ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A in the fasted condition (A and E), subject A in the fed condition (B and F), subject B in the fasted condition (C and G), and subject B in the fed condition (D and H). The left (A, B, C and D) and right (E, F, G and H) panels show the simulated results by ATOM and CAT, respectively. Open circles, closed circles, open squares, and open triangles represent the observed distributions in the stomach, upper intestine, lower intestine, and caecum/colon, respectively. The lines represent the simulated ^{99m}Tc -DTPA distributions in each organ. In ATOM, distributions at 40 locations were simulated, and the upper 24 segments were assigned to the upper intestine and the other 16 segments to the lower intestine corresponding to CAT model using the index of the length from the inlet in the intestine. CAT model assumes that the small intestine is divided into six portions, as shown in Figure 3-1.

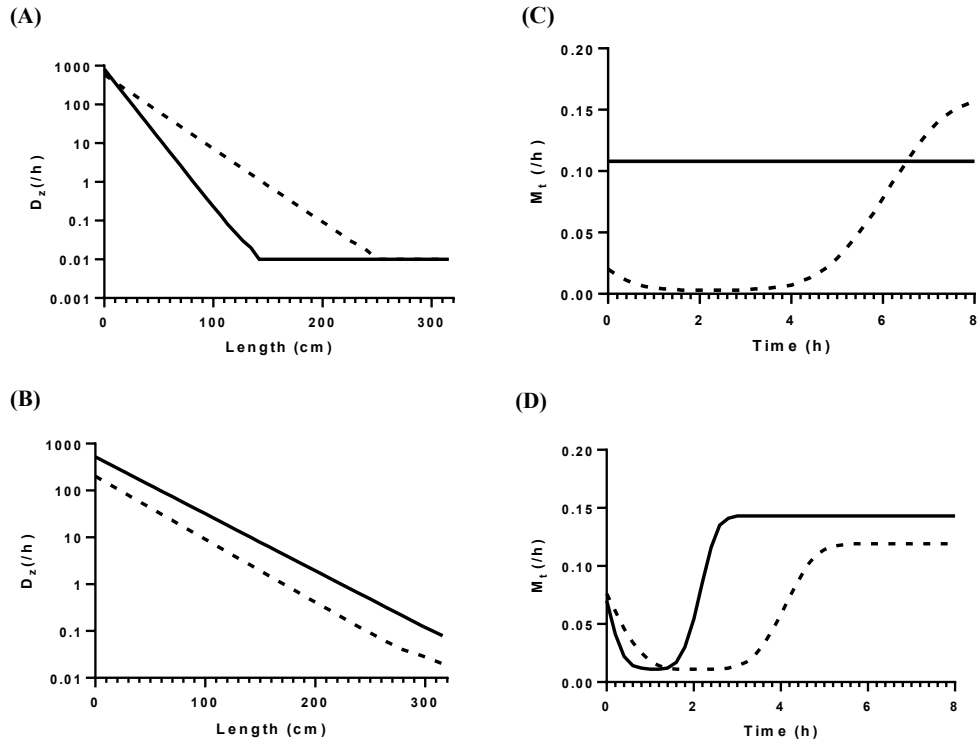
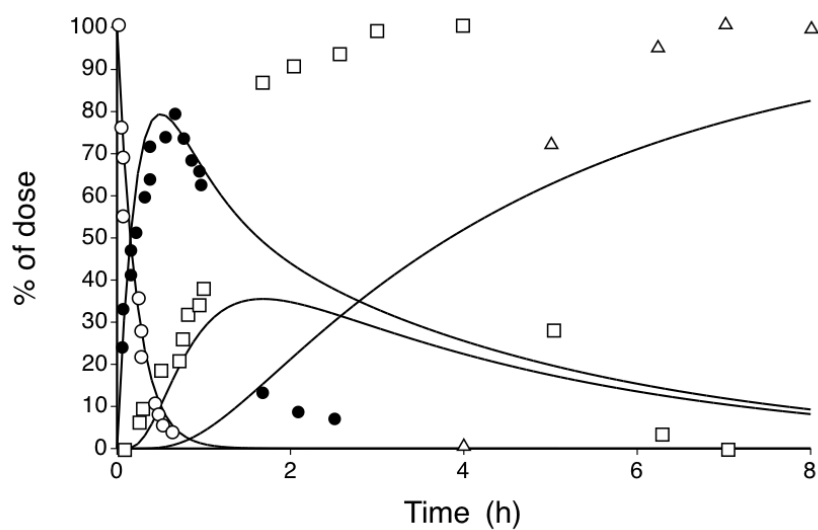


Figure 3-4 Optimized change of location-dispersion number (A and B) and time-dependent flow rates (C and D) in the small intestine in ATOM.

Each dispersion number and flow rate were obtained by optimization using the observed ^{99m}Tc -DTPA distribution reported by reference 248, as shown in Figure 3-3. Solid and dotted lines represent the obtained profiles of the dispersion number or flow rate using ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A and subject B, respectively. Panels A and C show the obtained dispersion numbers and flow rates in the fasted condition, while panels B and D represent those in the fed condition. The equations for calculating the location-dependent dispersion number and time-dependent flow rate are shown in the Method.

(A)



(B)

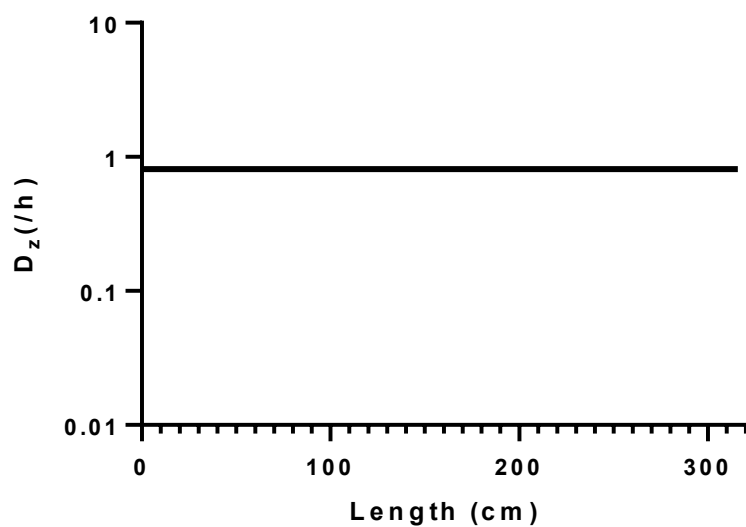


Figure 3-5 Simulated movements of ^{99m}Tc -DTPA in the gastrointestinal tract by ATOM with fixed dispersion number.

In panel A, open circles, closed circles, open squares, and open triangles represent the observed distributions in the stomach, upper intestine, lower intestine, and caecum/colon, respectively. The observed ^{99m}Tc -DTPA distribution in the lumen was obtained from a previous report by reference

248, which reported its distribution in two subjects. In this analysis, the observed ^{99m}Tc -DTPA distribution in the small intestine of subject A in the fasted state was used. The lines represent the simulated ^{99m}Tc -DTPA distributions in each organ. In ATOM, distributions at 40 locations were simulated, and 24 segments were assigned in the upper intestine and the other 16 segments in the lower intestine corresponding to the CAT model using the index of the length from the inlet in the intestine. In panel B, the fixed dispersion number was optimized by fitting analysis using the luminal ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A in the fasted condition. The fixed dispersion number was optimized as 0.812.

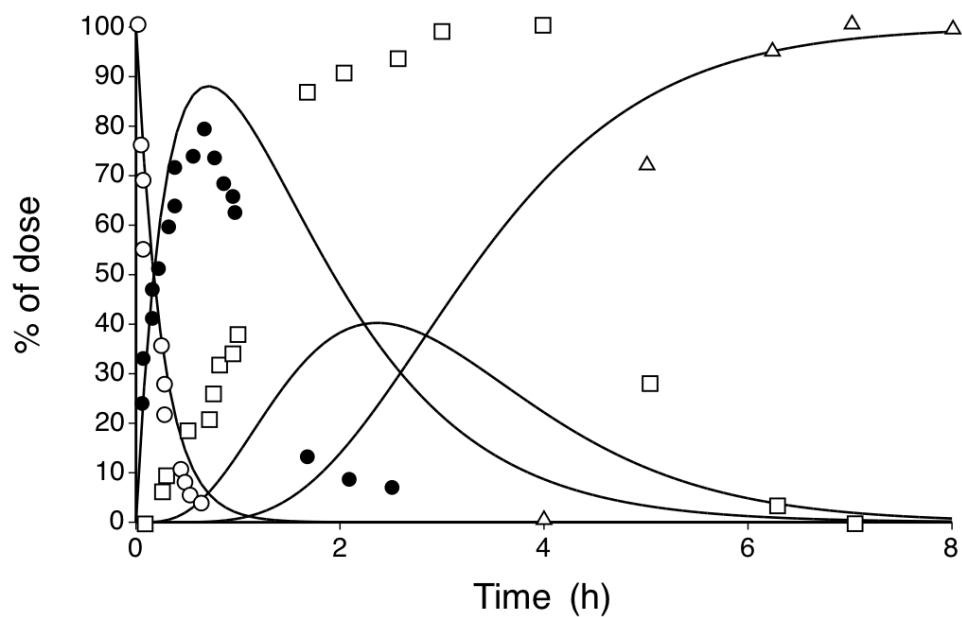


Figure 3-6 Simulated movements of ^{99m}Tc -DTPA in the gastrointestinal tract using CAT model

with the reported transit times to the observed distribution.

Reported transit times were referenced from a previous report by reference 262, as shown in Table

3-3. Open circles, closed circles, open squares and open triangles represent the observed ^{99m}Tc -

DTPA distributions in the stomach, upper intestine, lower intestine and caecum/colon,

respectively, as reported by reference 248. The lines represent the simulated ^{99m}Tc -DTPA

distributions in each organ. CAT model assumes that the small intestine is divided into six portions.

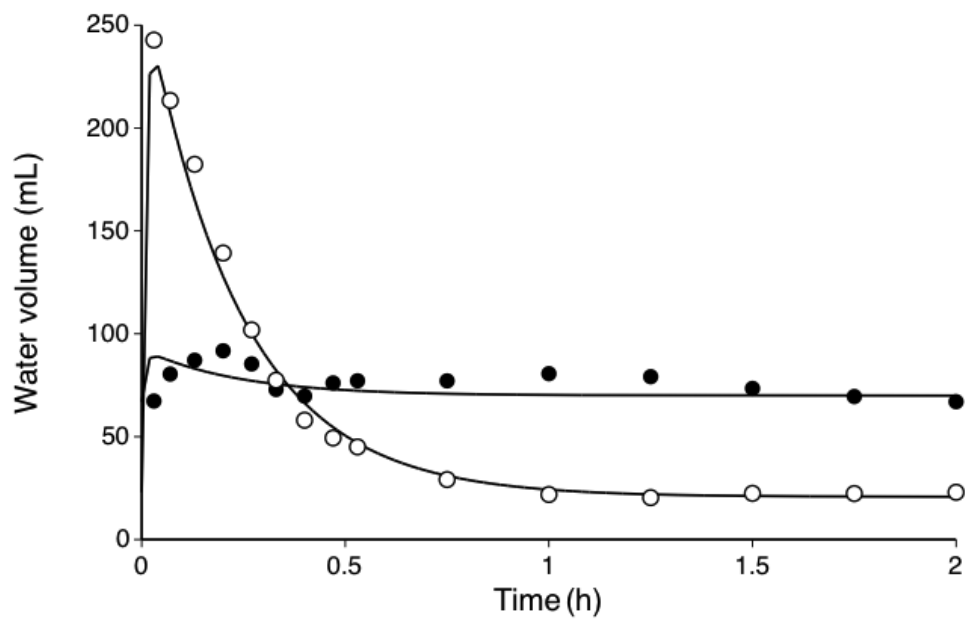


Figure 3-7 Prediction of intestinal water profile in the stomach and small intestine after a water intake of 240 mL.

Open and closed circles represent the observed water volume in the stomach and whole intestine, respectively, as reported by reference 254. Initial values in the stomach and small intestine were also obtained from the same report. Optimized parameters in this analysis are shown in Table 3-

1.

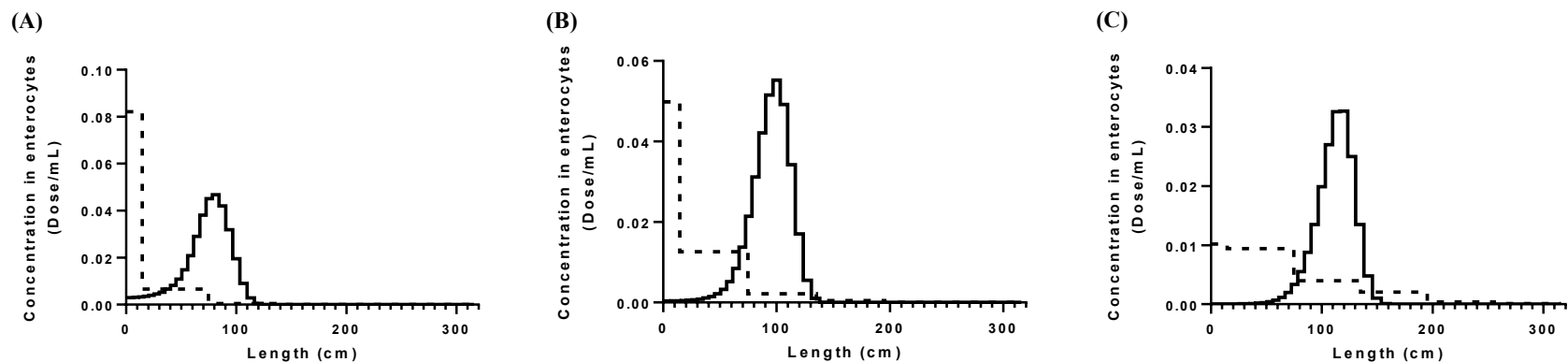


Figure 3-8 Demonstrative simulation using ATOM and CAT model of drug concentrations in enterocytes in the small intestine at 0.5 h (A), 2 h (B) and 6 h (C) after oral administration.

Solid and broken lines show simulated results by ATOM and CAT model with optimized transit times, respectively. The model compound has the same physiological and pharmacokinetic parameters (molecular weight, pKa values, $K_{m,CYP3A}$ and unbound fractions in plasma, blood and enterocytes) as midazolam, except for its apparent permeability in Caco-2 cells ($P_{app,Caco-2}$) and $V_{max,CYP3A}$, set as 0.002 cm/h (approximately 1/50 compared with midazolam) and 0 μ g /h pmol CYP3A, respectively. The dispersion number and flow rate in the intestine obtained in the analysis shown in Figure 3-3A using ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A in the fasted state as reported by reference 248 were adapted. Dose was set to 1 ng.

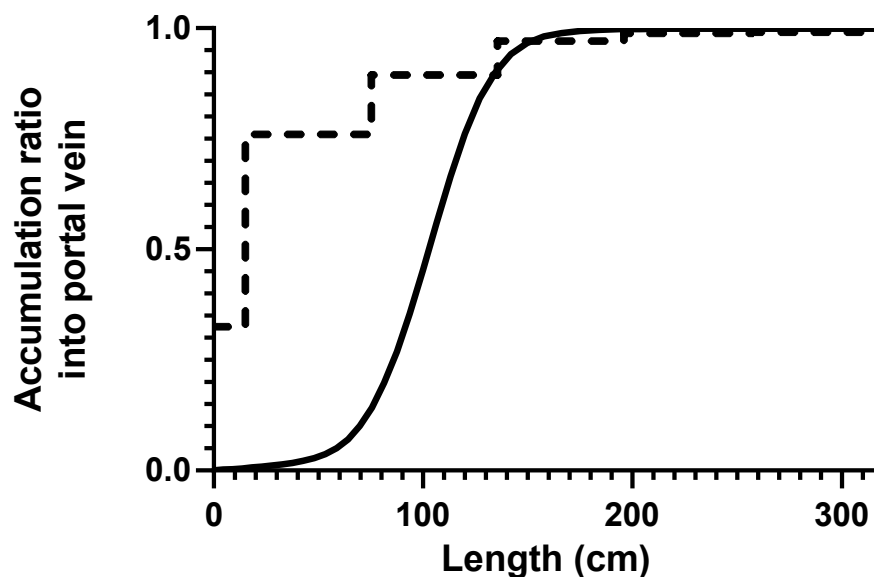


Figure 3-9 Demonstrative simulation of cumulative drug absorption by ATOM and CAT model.

Solid and broken lines represent cumulative drug transfer into the portal vein simulated by ATOM and CAT with optimized transit times, respectively. The simulation was performed using the same model drug, which was absorbed only by passive diffusion with low permeability, as shown in Figure 3-8. The dispersion number and flow rate in the intestine obtained in the analysis shown in Figure 3-3A using ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A in the fasted state as reported by reference 248 were adapted. Dose was set to 1 ng.

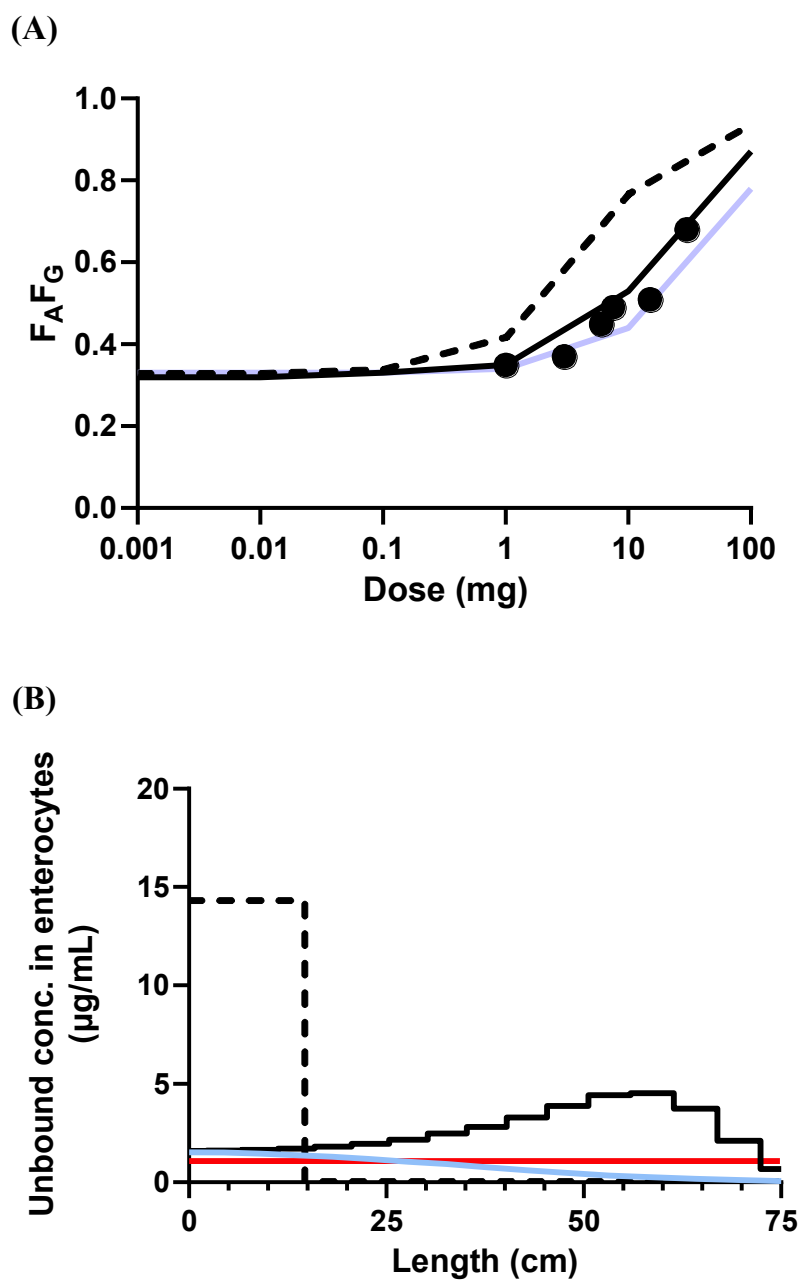


Figure 3-10 Simulation of dose-dependent $F_A F_G$ change of midazolam (A) and comparison of simulated unbound drug concentration in enterocytes between ATOM and CAT with optimized transit times (B) in fasted and fed state.

In panel A, closed circles represent reported $F_A F_G$ values according to reference 14 and 231. Black

bold, black dotted, and blue bold lines represent the predicted dose-dependent $F_A F_G$ profiles of midazolam by ATOM in fasted state, by CAT in fasted state, and by ATOM in fed state, respectively.

In panel B, the maximum unbound concentration in enterocytes was reached in two models at 0.16 h after oral administration. Black bold, black dotted, and blue bold lines represent the predicted unbound concentration of midazolam in enterocytes by ATOM in fasted state, by CAT in fasted state, and by ATOM in fed state, respectively. The red line represents $K_{m,CYP3A,u}$ of midazolam ($1.08 \mu\text{g/mL}$), as reported previously [14]. In this analysis, the dispersion number and flow rate in the intestine obtained in the analysis shown in Figure 3-3A using ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A in the fasted state as reported by reference 248 were adapted.

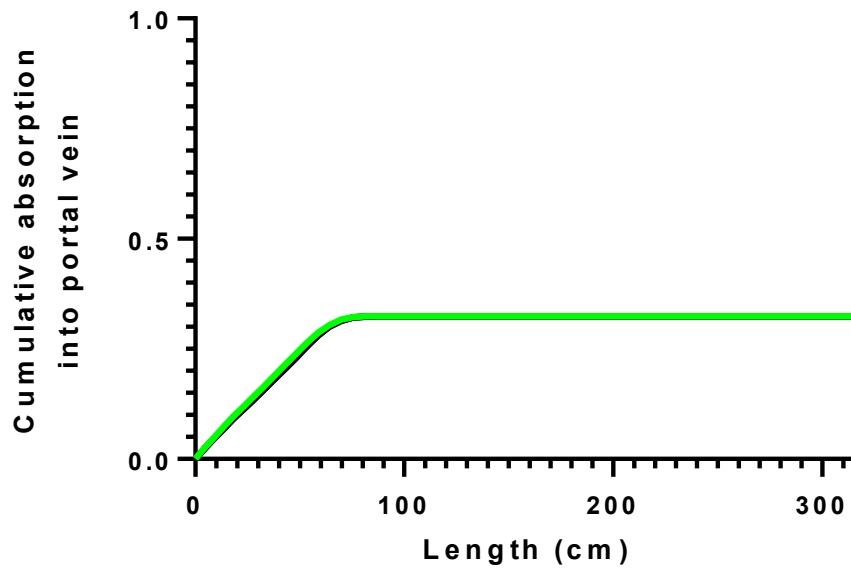


Figure 3-11 Effect of f_{ent} on the cumulative absorption of midazolam into the portal vein in linear conditions.

Red, blue, black and green lines represent the cumulative absorption of midazolam with $f_{\text{ent}} = 1$, 0.5, 0.1 and 0.01, respectively, into the portal vein versus time simulated by ATOM. As shown in the plot, these lines are almost overlapped. Dose was set to 1 ng. The simulation was performed in the same condition with the one used in the analysis of Figure 3-10.

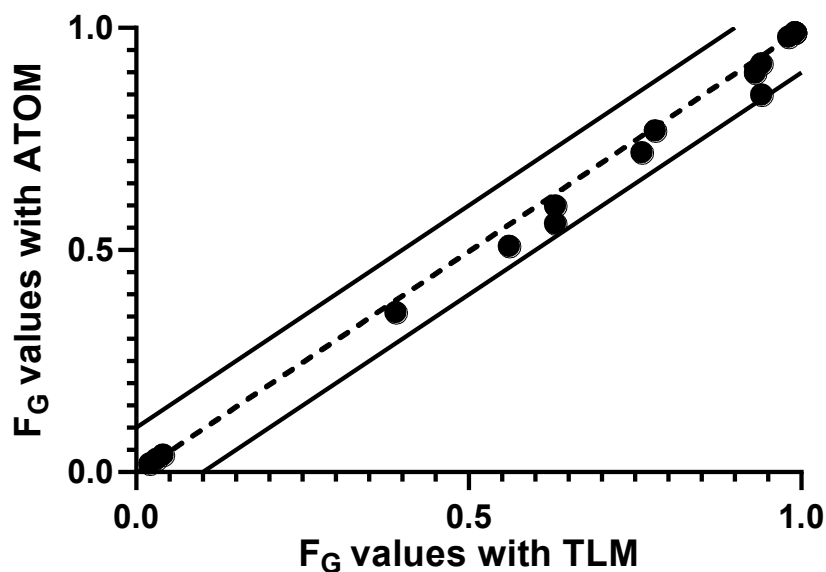


Figure 3-12 Comparison of F_G values using ATOM and TLM.

F_G values of 17 CYP3A or CYP3A/P-gp substrates (alfentanil, alprazolam, buspirone, cisapride, cyclosporin, felodipine, lovastatin, midazolam, nifedipine, nisoldipine, rifabutin, saquinavir, sildenafil, simvastatin, trazodone, triazolam, and zolpidem) were evaluated using ATOM. The dotted and solid lines represent 100 % and 90 - 110 % of the predicted F_G values obtained using TLM, respectively. F_G values predicted by TLM were obtained from a previous report by reference 14.

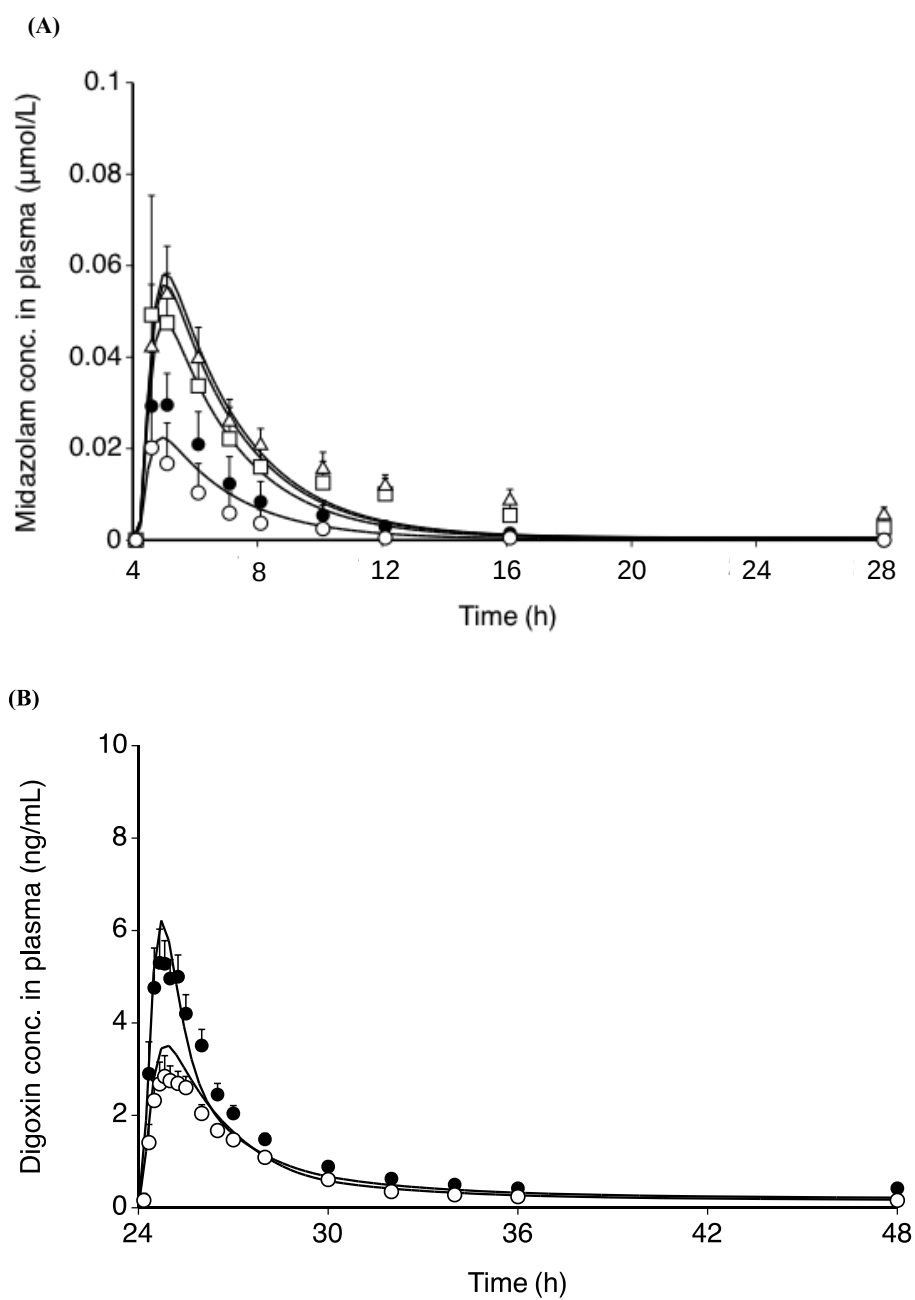


Figure 3-13 Demonstrative simulation of CYP3A (A) or P-gp (B) mediated-DI using ATOM.

In panel A, open circles, closed circles, open squares, and open triangles represent the concentration of midazolam in plasma with 0, 50, 200, and 400 mg itraconazole, respectively.

The observed plasma concentrations of midazolam by reference 95 were used in the simulation.

Itraconazole was administered once daily at 50, 200, or 400 mg during the study (from $t=0$ h).

Midazolam was administered 4 h after the administration of itraconazole.

In panel B, open and closed circles represent the plasma concentration of digoxin with 0 and 250 mg clarithromycin twice daily. Observed plasma concentrations of digoxin by reference 75 were used in the simulation. Clarithromycin was administered twice daily (250 mg each) during the study period (from $t=0$ h). Digoxin was administered 24 h after the first administration of clarithromycin. In both analyses, the dispersion number and flow rate in the intestine obtained in the analysis shown in Figure 3-3A using ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A in the fasted state reported by reference 248 were adapted. The symbols and error bars represent the mean concentration in plasma and SD, respectively.

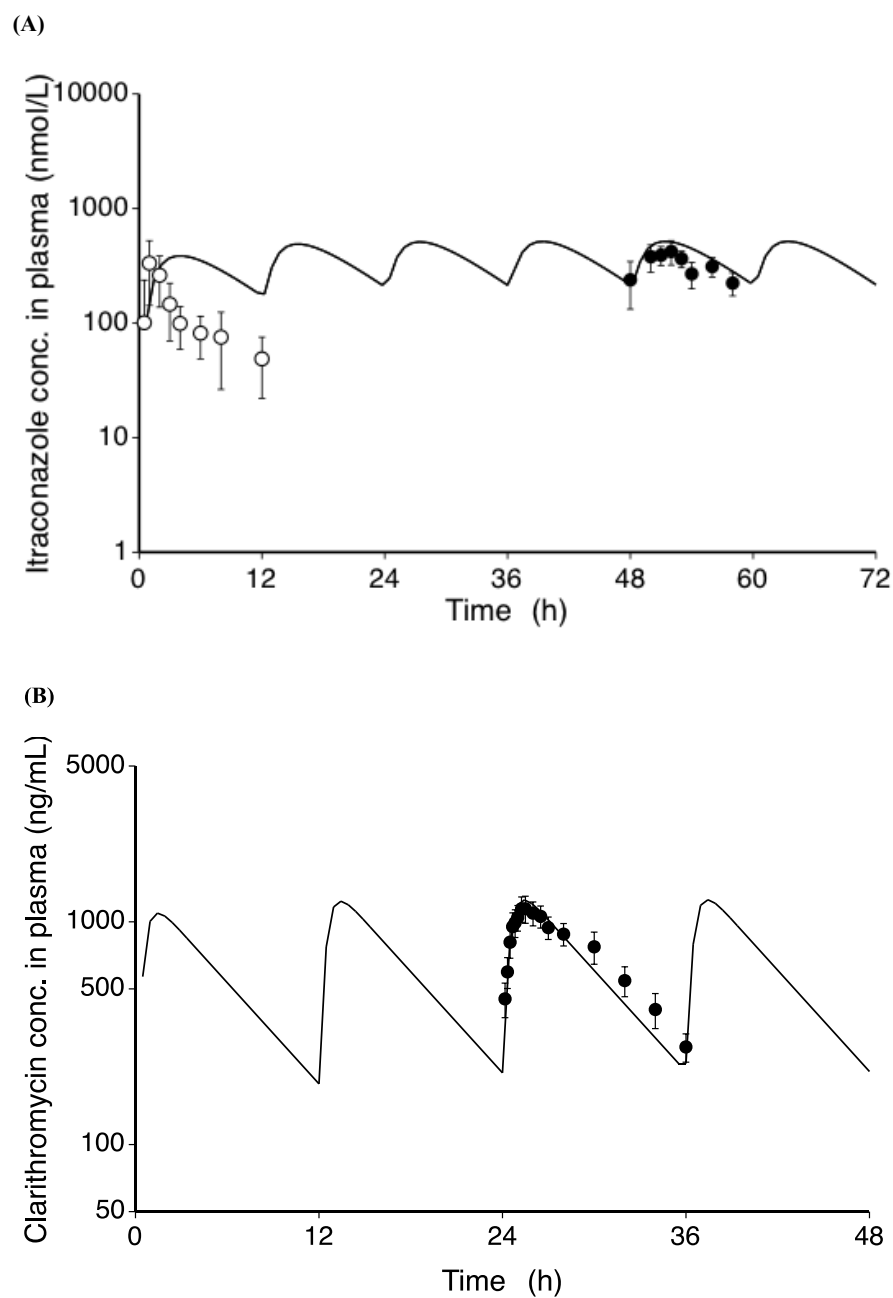


Figure 3-14 Plasma concentration of itraconazole (A) and clarithromycin (B) in DI simulations.

In panel A, solid line represents the predicted plasma concentration of itraconazole after oral administration of 100 mg twice daily. Solid and open circle symbols represent the mean plasma concentration of itraconazole reported by reference 259 and 260, respectively. Error bars represent

the standard deviation (SD). In panel B, solid line represents predicted plasma concentration of clarithromycin after oral administration of 250 mg twice daily. Solid circle symbols and error bars represent the mean plasma concentration of clarithromycin and the SD reported by reference 231.

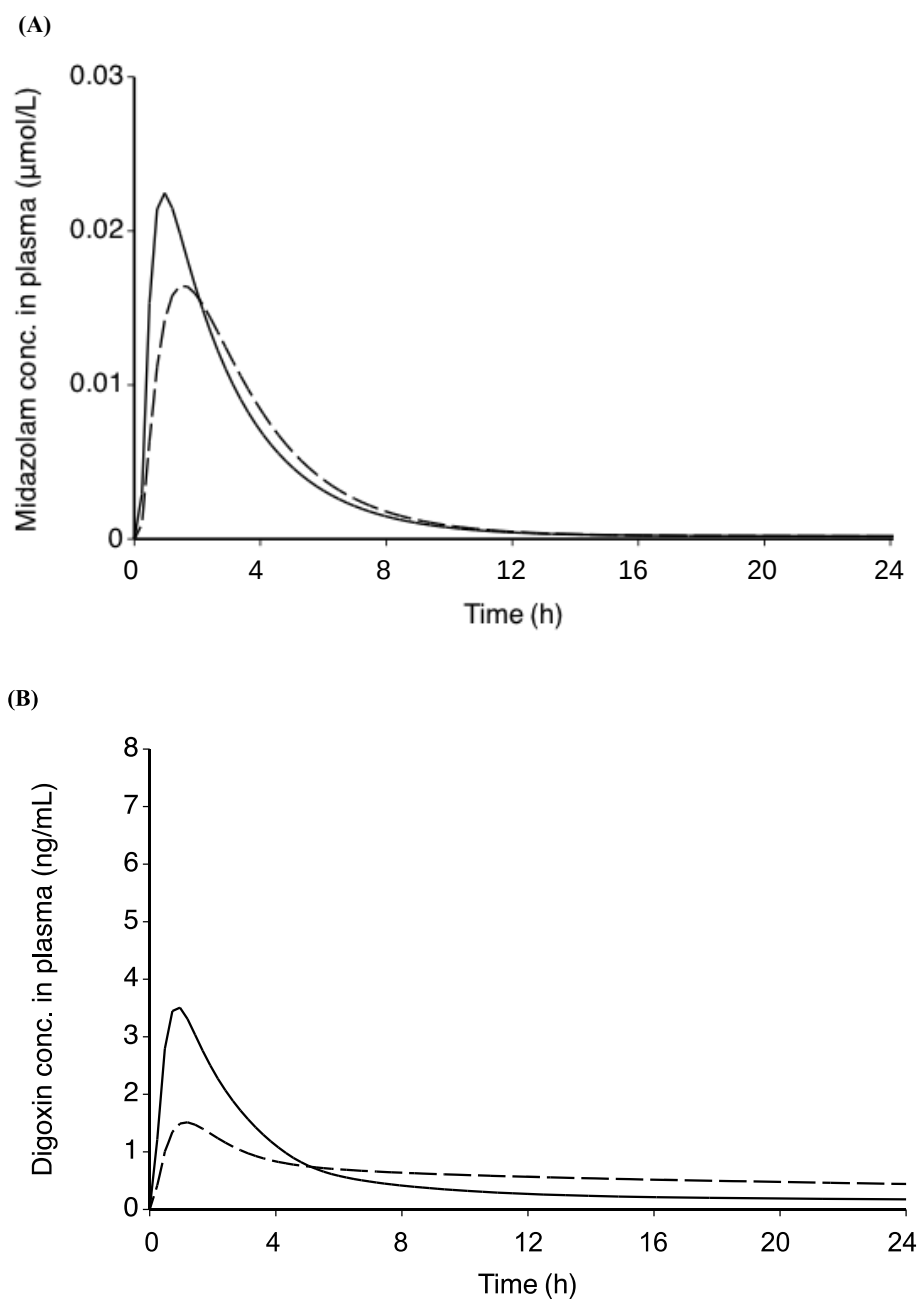


Figure 3-15 Plasma concentration of midazolam (A) and digoxin (B) after oral administration in fasted and fed state.

Solid and broken line represent the plasma concentration profile of midazolam (A) or digoxin (B) in fasted and fed state, respectively. Doses were set to 2 mg (midazolam) or 0.75 mg (digoxin).

The dispersion number and flow rate in the intestine obtained in the analysis shown in Figure 3-3A and 3-3B using ^{99m}Tc -DTPA distribution of subject A in the fasted and fed state as reported by reference 248 were adopted. Predicted C_{max} values of midazolam in fasted and fed state were 0.0225 and 0.0164 $\mu\text{mol/L}$, and those of digoxin in fasted and fed state were 3.51 and 1.51 ng/mL , respectively. Predicted t_{max} values of midazolam in fasted and fed state were 0.86 and 1.35 h, and those of digoxin in fasted and fed state were 0.96 and 1.20 h, respectively.

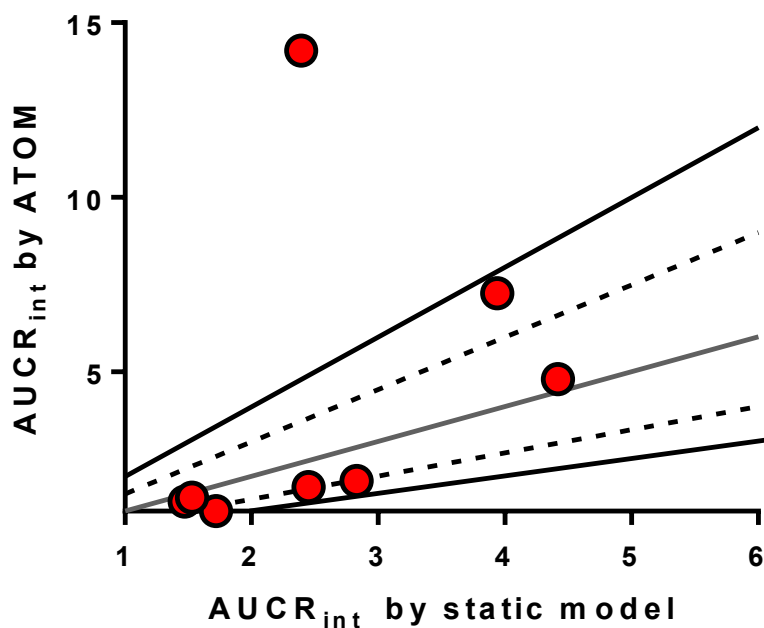


Figure 3-16 Correlation of predicted $AUCR_{int}$ between static model and ATOM

Seven CYP3A substrates (alfentanil, buspirone, felodipine, lovastatin, midazolam, nifedipine, simvastatin) and cyclosporine (a CYP3A/P-gp dual substrate) were selected for the evaluation.

$AUCR_{int}$ values by the static model were calculated as $1/(1-CR_{GM}IR_{GM})$ for CYP3A substrates and $1/(1-CR_{AX}IR_{AX}-CR_{GM}IR_{GM})$ for cyclosporine, respectively. $AUCR_{int}$ values by ATOM were

calculated as F_G change for CYP3A substrates and F_{AFG} change for cyclosporine, respectively.

Clarithromycin were selected as inhibitors for the evaluation. Dose of clarithromycin was set as

250 mg, respectively, because it was within the dose range evaluated in the static model. Gray

solid, black dotted and black solid line show the 1-, 1.5- and 2-fold line from observed values,

respectively.

第四章 総括

本研究では小腸における CYP3A 及び P-gp を介した消化管吸収ならびに DI 予測を目的とした新規静的モデル及び動的モデルの構築を検討し、以下の知見を得た。

- ✓ 新規静的吸収モデル及び ATOM は消化管の CYP3A 及び P-gp の寄与を分離することに成功し、両者を介した DI 予測に活用可能であることが示された。
- ✓ 新規静的吸収モデルはより少ないパラメータで複数薬剤間の AUCR や $t_{1/2R}$ をそれぞれ一括で推定できる。
- ✓ ATOM では時間依存的な血中濃度、用量依存的な非線形性の確認、投与条件ごとのシミュレーション及び DI 予測が可能である。
- ✓ 静的モデル、動的モデルともにそれぞれ特徴が異なるため、状況に応じて使い分けることでより効率的な予測が可能と考えられる。

本研究において構築した新規静的モデル及び動的モデルに関して、今後より効果的な消化管吸収及び DI 予測のために両モデルの積極的な活用が期待される。

謝辞

本研究は、千葉大学大学院臨床薬理学研究室教授・樋坂章博博士の高度に専門的かつ熱意あふれるご指導、ご鞭撻により実現したものです。ここに謹んで感謝の意を表します。

本研究を進めるにあたり、技術のご指導及び貴重なご助言をいただいた千葉大学大学院臨床薬理学研究室准教授・畠山浩人博士、千葉大学大学院臨床薬理学研究室講師・佐藤洋美博士ならびに同教室研究員の皆様方に深く感謝致します。

本研究は帝人ファーマ株式会社 薬物動態研究部の協力を得て実施されたものです。研究の機会を与えていただきました薬物動態研究部長・飯島剛修士、医薬開発業務部部长・西村真一修士、薬物動態研究部 開発動態研究グループリーダー・石井大輔修士をはじめ薬物動態研究部の皆様に深く感謝致します。また、実験にご協力いただいた薬物動態研究部 探索動態研究グループリーダー・景山倫治博士、薬物動態研究部 開発動態研究グループ研究員・小澤直可氏及び佐々木洋子氏に厚く御礼申し上げます。

また本研究の推進のため CYP3A4-CPR-HAC/Caco-2 細胞を快く供給して下さいました鳥取大学染色体工学研究センター准教授・香月康宏博士に深く御礼申し上げます。

また国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 (AMED)の創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS)によるご支援(課題番号: JP21am0101124)に感謝申し上げます。

最後に遠方より支えてくれた両親、陰ながら見守り研究生生活を支援してくれた妻と

2人の子供に感謝致します。

引用文献

1. Homayun B, Lin X, Choi HJ (2019) Challenges and Recent Progress in Oral Drug Delivery Systems for Biopharmaceuticals. *Pharmaceutics*. **11**(3):129.
2. Saravanakumar A, Sadighi A, Ryu R, Akhlaghi F (2019) Physicochemical Properties, Biotransformation, and Transport Pathways of Established and Newly Approved Medications: A Systematic Review of the Top 200 Most Prescribed Drugs vs. the FDA-Approved Drugs Between 2005 and 2016. *Clin Pharmacokinet*. **58**(10):1281-1294.
3. Zhou S, Chan E, Li X, Huang M (2005) Clinical outcomes and management of mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4. *Ther Clin Risk Manag*. **1**(1):3-13.
4. Schelstraete W, Clerck L, Govaert E, Millemann J, Devreese M, Deforce D, Bocklaer JV, Croubels S (2019) Characterization of Porcine Hepatic and Intestinal Drug Metabolizing CYP450: Comparison with Human Orthologues from A Quantitative, Activity and Selectivity Perspective. *Sci Rep*. **9**(1):9233.
5. Couto N, Al-Majdoub ZM, Gibson S, Davies PJ, Achour B, Harwood MD, Carlson G, Barber J, Rostami-Hodjegan A, Warhurst G (2020) Quantitative Proteomics of Clinically Relevant Drug-Metabolizing Enzymes and Drug Transporters and Their Intercorrelations in the Human Small Intestine. *Drug Metab Dispos*. **48**(4):245-254.
6. Mouly S, Paine MF (2003) P-glycoprotein increases from proximal to distal regions of

human small intestine. *Pharm Res.* **20**(10):1595-1599.

7. Stephens RH, O'Neill CA, Warhurst A, Carlson GL, Rowland M, Warhurst G (2001) Kinetic profiling of P-glycoprotein-mediated drug efflux in rat and human intestinal epithelia. *J Pharmacol Exp Ther.* **296**(2):584-591.

8. Stader F, Kinvig H, Battegay M, Khoo S, Owen A, Siccardi M, Marzolini C (2018) Analysis of Clinical Drug-Drug Interaction Data To Predict Magnitudes of Uncharacterized Interactions between Antiretroviral Drugs and Comedications. *Antimicrob Agents Chemother.* **62**(7):e00717-18.

9. Lund M, Petersen TS, Dalhoff KP (2017) Clinical Implications of P-Glycoprotein Modulation in Drug-Drug Interactions. *Drugs.* **77**(8):859-883.

10. Agoram B, Woltosz WS, Bolger MB (2001) Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability. *Adv Drug Deliv Rev.* **50** Suppl 1:S41-67.

11. Jamei M, Turner D, Yang J, Neuhoﬀ S, Polak S, Rostami-Hodjegan A, Tucker G (2009) Population-based mechanistic prediction of oral drug absorption. *AAPS J.* **11**(2):225-237.

12. Cong D, Doherty M, Pang KS (2000) A new physiologically based, segregated-flow model to explain route-dependent intestinal metabolism. *Drug Metab Dispos.* **28**(2):224-235.

13. Gertz M, Harrison A, Houston JB, Galetin A (2010) Prediction of human intestinal first-pass metabolism of 25 CYP3A substrates from in vitro clearance and permeability data. *Drug Metab*

Dispos. **38**(7):1147-1158.

14. Ando H, Hisaka A, Suzuki H (2015) A new physiologically based pharmacokinetic model for the prediction of gastrointestinal drug absorption: translocation model. *Drug Metab Dispos.* **43**(4):590-602.

15. Ohno Y, Hisaka A, Suzuki H (2007) General framework for the quantitative prediction of CYP3A4-mediated oral drug interactions based on the AUC increase by coadministration of standard drugs. *Clin Pharmacokinet.* **46**(8):681-696.

16. Ohno Y, Hisaka A, Ueno M, Suzuki H (2008) General framework for the prediction of oral drug interactions caused by CYP3A4 induction from in vivo information. *Clin Pharmacokinet.* **47**(10):669-680.

17. Hisaka A, Kusama M, Ohno Y, Sugiyama Y, Suzuki H (2009) A proposal for a pharmacokinetic interaction significance classification system (PISCS) based on predicted drug exposure changes and its potential application to alert classifications in product labelling. *Clin Pharmacokinet.* **48**(10):653-666.

18. Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scott AK, Walley TJ, Farrar K, Park BK, Breckenridge AM (2004) Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients. *BMJ.* **329**(7456):15-19.

19. Wienkers LC, Heath TG (2005) Predicting in vivo drug interactions from in vitro drug

discovery data. *Nat Rev Drug Discov.* **4**(10):825-833.

20. Furberg CD, Pitt B (2001) Withdrawal of cerivastatin from the world market. *Curr Control Trials Cardiovasc Med.* **2**(5):205-207.

21. Estelle F, Simons R (1999) H₁-receptor antagonists: safety issues. *Ann Allergy Asthma.* **83**(5):481-488.

22. Zhuang X, Lu C (2016) PBPK modeling and simulation in drug research and development. *Acta Pharm Sin B.* **6**(5):430-440.

23. Sager JE, Yu J, Ragueneau-Majlessi I, Isoherranen N (2015) Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling and Simulation Approaches: A Systematic Review of Published Models, Applications, and Model Verification. *Drug Metab Dispos.* **43**(11):1823-1837.

24. Ke AB, Nallani SC, Zhao P, Rostami-Hodjegan A, Unadkat JD (2012) A PBPK Model to Predict Disposition of CYP3A-Metabolized Drugs in Pregnant Women: Verification and Discerning the Site of CYP3A Induction. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* **1**(9):e3.

25. Huang SM, Abernethy DR, Wang Y, Zhao P, Zineh I (2013) The utility of modeling and simulation in drug development and regulatory review. *J Pharm Sci.* **102**(9):2912-2923.

26. Yoshida K, Budha N, Jin JY (2017) Impact of physiologically based pharmacokinetic models on regulatory reviews and product labels: Frequent utilization in the field of oncology. *Clin Pharmacol Ther.* **101**(5):597-602.

27. Wagner C, Zhao P, Pan Y, Hsu V, Grillo J, Huang SM, Sinha V (2015) Application of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling to Support Dose Selection: Report of an FDA Public Workshop on PBPK. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. **4**(4):226-230.
28. Guideline on drug interaction for drug development and appropriate provision of information. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency.
29. In Vitro Drug Interaction Studies — Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions Guidance for Industry. U.S. Food and Drug administration.
30. Guideline on the investigation of drug interactions. European Medicines Agency.
31. Christians U, Schmitz V, Haschke M (2005) Functional interactions between P-glycoprotein and CYP3A in drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. **1**(4):641-654.
32. Wachter VJ, Wu CY, Benet LZ (1995) Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol Carcinog*. **13**(3):129-134.
33. Tod M, Goutelle S, Bleyzac N, Bourguignon L (2019) A Generic Model for Quantitative Prediction of Interactions Mediated by Efflux Transporters and Cytochromes: Application to P-Glycoprotein and Cytochrome 3A4. *Clin Pharmacokinet*. **58**(4):503-523.
34. Tod M, Bourguignon L, Bleyzac N, Goutelle S (2020) Quantitative Prediction of Interactions Mediated by Transporters and Cytochromes: Application to Organic Anion Transporting

Polypeptides, Breast Cancer Resistance Protein and Cytochrome 2C8. *Clin Pharmacokinet.* **59**(6):757-770.

35. Ohta Y, Kazuki K, Abe S, Oshimura M, Kobayashi K, Kazuki Y (2020) Development of Caco-2 cells expressing four CYPs via a mammalian artificial chromosome. *BMC Biotechnol.* **20**(1):44.

36. Kabeya T, Mima S, Imakura Y, Miyashita T, Ogura I, Yamada T, Yasujima T, Yuasa H, Iwao T, Matsunaga T (2020) Pharmacokinetic functions of human induced pluripotent stem cell-derived small intestinal epithelial cells. *Drug Metab Pharmacokinet.* **35**(4):374-382.

37. Takenaka T, Kazuki K, Harada N, Kuze J, Chiba M, Iwao T, Matsunaga T, Abe S, Oshimura M, Kazuki Y (2017) Development of Caco-2 cells co-expressing CYP3A4 and NADPH-cytochrome P450 reductase using a human artificial chromosome for the prediction of intestinal extraction ratio of CYP3A4 substrates. *Drug Metab Pharmacokinet.* **32**(1):61-68.

38. Ding R, Tayrouz Y, Riedel KD, Burhenne J, Weiss J, Mikus G, Haefeli WE (2004) Substantial pharmacokinetic interaction between digoxin and ritonavir in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* **76**(1):73-84.

39. Ohura K, Nozawa T, Murakami K, Imai T (2011) Evaluation of transport mechanism of prodrugs and parent drugs formed by intracellular metabolism in Caco-2 cells with modified carboxylesterase activity: temocapril as a model case. *J Pharm Sci.* **100**(9):3985-3994.

40. Drug Development and Drug Interactions: Table of Substrates, Inhibitors and Inducers.

<https://www.fda.gov/drugs/drug-interactions-labeling/drug-development-and-drug-interactions-table-substrates-inhibitors-and-inducers>. U.S. Food and Drug Administration.

41. Katneni K, Pham T, Saunders J, Chen G, Patil R, White KL, Abula N, Chiu FCK, Shackleford DM, Charman SA (2018) Using Human Plasma as an Assay Medium in Caco-2 Studies Improves Mass Balance for Lipophilic Compounds. *Pharm Res.* **35**(11):210.

42. Lindell M, Karlsson MO, Lennernäs H, Pålman L, Lang MA (2003) Variable expression of CYP and Pgp genes in the human small intestine. *Eur J Clin Invest.* **33**(6):493-499.

43. Galetin A, Gertz M, Houston JB (2010) Contribution of intestinal cytochrome p450-mediated metabolism to drug-drug inhibition and induction interactions. *Drug Metab Pharmacokinet.* **25**(1):28-47.

44. Crespi CL, Penman BW, Hu M (1996) Development of Caco-2 cells expressing high levels of cDNA-derived cytochrome P4503A4. *Pharm Res.* **13**(11):1635-1641.

45. Brimer C, Dalton JT, Zhu Z, Schuetz J, Yasuda K, Vanin E, Relling MV, Lu Y, Schuetz EG (2000) Creation of polarized cells coexpressing CYP3A4, NADPH cytochrome P450 reductase and MDR1/P-glycoprotein. *Pharm Res.* **17**(7):803-810.

46. Yamaura Y, Chapron BD, Wang Z, Himmelfarb J, Thummel KE (2016) Functional Comparison of Human Colonic Carcinoma Cell Lines and Primary Small Intestinal Epithelial Cells for Investigations of Intestinal Drug Permeability and First-Pass Metabolism. *Drug Metab*

Dispos. **44**(3):329-335.

47. Takenaka T, Harada N, Kuze J, Chiba M, Iwao T, Matsunaga T (2014) Human small intestinal epithelial cells differentiated from adult intestinal stem cells as a novel system for predicting oral drug absorption in humans. *Drug Metab Dispos.* **42**(11):1947-1954.

48. Gutmann H, Hruz P, Zimmermann C, Beglinger C, Drewe J (2005) Distribution of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) mRNA expression along the human GI tract. *Biochem Pharmacol.* **70**(5):695-699.

49. Zhang L, Zhao J, Liang C, Liu M, Xu F, Wang X (2017) A novel biosensor based on intestinal 3D organoids for detecting the function of BCRP. *Drug Deliv.* **24**(1):1453-1459.

50. Oswald S (2019) Organic Anion Transporting Polypeptide (OATP) transporter expression, localization and function in the human intestine. *Pharmacol Ther.* **195**:39-53.

51. Strassburg CP, Kneip S, Topp J, Obermayer-Straub P, Barut A, Tukey RH, Manns MP (2000) Polymorphic gene regulation and interindividual variation of UDP-glucuronosyltransferase activity in human small intestine. *J Biol Chem.* **275**(46):36164-36171.

52. Fritz A, Busch D, Lapczuk J, Ostrowski M, Drozdik M, Oswald S (2019) Expression of clinically relevant drug-metabolizing enzymes along the human intestine and their correlation to drug transporters and nuclear receptors: An intra-subject analysis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* **124**(3):245-255.

53. Tapaninen T, Backman JT, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, Niemi M (2011) Itraconazole, a P-glycoprotein and CYP3A4 inhibitor, markedly raises the plasma concentrations and enhances the renin-inhibiting effect of aliskiren. *J Clin Pharmacol.* **51**(3):359-367.
54. Rebello S, Compain S, Feng A, Hariry S, Dieterich HA, Jarugula V (2011) Effect of cyclosporine on the pharmacokinetics of aliskiren in healthy subjects. *J Clin Pharmacol.* **51**(11):1549-1560.
55. Rebello S, Leon S, Hariry S, Dahlke M, Jarugula V (2011) Effect of verapamil on the pharmacokinetics of aliskiren in healthy participants. *J Clin Pharmacol.* **51**(2):218-228.
56. Vaidyanathan S, Camenisch G, Schuetz H, Reynolds C, Yeh CM, Bizot MN, Dieterich HA, Howard D, Dole WP (2008) Pharmacokinetics of the oral direct renin inhibitor aliskiren in combination with digoxin, atorvastatin, and ketoconazole in healthy subjects: the role of P-glycoprotein in the disposition of aliskiren. *J Clin Pharmacol.* **48**(11):1323-1338.
57. Kharasch ED, Vangveravong S, Buck N, London A, Kim T, Blood J, Mach RH (2011) Concurrent assessment of hepatic and intestinal cytochrome P450 3A activities using deuterated alfentanil. *Clin Pharmacol Ther.* **89**(4):562-570.
58. Kharasch ED, Walker A, Hoffer C, Sheffels P (2005) Sensitivity of intravenous and oral alfentanil and pupillary miosis as minimally invasive and noninvasive probes for hepatic and first-pass CYP3A activity. *J Clin Pharmacol.* **45**(10):1187-1197.

59. Kharasch ED, Bedynek PS, Walker A, Whittington D, Hoffer C (2008) Mechanism of ritonavir changes in methadone pharmacokinetics and pharmacodynamics: II. Ritonavir effects on CYP3A and P-glycoprotein activities. *Clin Pharmacol Ther.* **84**(4):506-512.
60. Yasui N, Kondo T, Otani K, Furukori H, Kaneko S, Ohkubo T, Nagasaki T, Sugawara K (1998) Effect of itraconazole on the single oral dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of alprazolam. *Psychopharmacology (Berl).* **139**(3):269-273.
61. Greenblatt DJ, Wright CE, von Moltke LL, Harmatz JS, Ehrenberg BL, Harrel LM, Corbett K, Counihan M, Tobias S, Shader RI (1998) Ketoconazole inhibition of triazolam and alprazolam clearance: differential kinetic and dynamic consequences. *Clin Pharmacol Ther.* **64**(3):237-247.
62. Boulenc X, Nicolas O, Hermabessière S, Zobouyan I, Martin V, Donazzolo Y, Ollier C (2016) CYP3A4-based drug-drug interaction: CYP3A4 substrates' pharmacokinetic properties and ketoconazole dose regimen effect. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* **41**(1):45-54.
63. Mazzu AL, Lasseter KC, Shamblen EC, Agarwal V, Lettieri J, Sundaresen P (2000) Itraconazole alters the pharmacokinetics of atorvastatin to a greater extent than either cerivastatin or pravastatin. *Clin Pharmacol Ther.* **68**(4):391-400.
64. Jacobson TA (2006) Comparative pharmacokinetic interaction profiles of pravastatin, simvastatin, and atorvastatin when coadministered with cytochrome P450 inhibitors. *Am J Cardiol.* **94**(9):1140-1146.

65. Prueksaritanont T, Tatosian DA, Chu X, Railkar R, Evers R, Chavez-Eng C, Lutz R, Zeng W, Yabut J, Chan GH, Cai X, Latham AH, Hehman J, Stypinski D, Brejda J, Zhou C, Thornton B, Bateman KP, Fraser I, Stoch SA (2017) Validation of a microdose probe drug cocktail for clinical drug interaction assessments for drug transporters and CYP3A. *Clin Pharmacol Ther.* **101**(4):519-530.
66. Seidegård J (2000) Reduction of the inhibitory effect of ketoconazole on budesonide pharmacokinetics by separation of their time of administration. *Clin Pharmacol Ther.* **68**(1):13-17.
67. Kivistö KT, Lamberg TS, Neuvonen PJ (1999) Interactions of buspirone with itraconazole and rifampicin: effects on the pharmacokinetics of the active 1-(2-pyrimidinyl)-piperazine metabolite of buspirone. *Pharmacol Toxicol.* **84**(2):94-97.
68. Kivistö KT, Lamberg TS, Kantola T, Neuvonen PJ (1997) Plasma buspirone concentrations are greatly increased by erythromycin and itraconazole. *Clin Pharmacol Ther.* **62**(3):348-354.
69. Mück W, Ochmann K, Rohde G, Unger S, Kuhlmann J (1998) Influence of erythromycin pre- and co-treatment on single-dose pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitor cerivastatin. *Eur J Clin Pharmacol.* **53**(6):469-473.
70. Gouin-Thibault I, Delavenne X, Blanchard A, Siguret V, Salem JE, Narjoz C, Gaussem P, Beaune P, Funck-Brentano C, Azizi M, Mismetti P, Lorient MA (2017) Interindividual variability

in dabigatran and rivaroxaban exposure: contribution of ABCB1 genetic polymorphisms and interaction with clarithromycin. *J Thromb Haemost.* **15**(2):273-283.

71. Delavenne X, Ollier E, Basset T, Bertolotti L, Accassat S, Garcin A, Laporte S, Zufferey P, Mismetti P (2013) A semi-mechanistic absorption model to evaluate drug-drug interaction with dabigatran: application with clarithromycin. *Br J Clin Pharmacol.* **76**(1):107-113.

72. Härtter S, Sennewald R, Nehmiz G, Reilly P (2013) Oral bioavailability of dabigatran etexilate (Pradaxa®) after co-medication with verapamil in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* **75**(4):1053-1062.

73. Rodin SM, Johnson BF, Wilson J, Ritchie P, Johnson J (1998) Comparative effects of verapamil and isradipine on steady-state digoxin kinetics. *Clin Pharmacol Ther.* **43**(6):668-672.

74. Gurley BJ, Swain A, Williams DK, Barone G, Battu SK (2008) Gauging the clinical significance of P-glycoprotein-mediated herb-drug interactions: comparative effects of St. John's wort, Echinacea, clarithromycin, and rifampin on digoxin pharmacokinetics. *Mol Nutr Food Res.* **52**(7):772-779.

75. Rengelshausen J, Göggelmann C, Burhenne J, Riedel KD, Ludwig J, Weiss J, Mikus G, Walter-Sack I, Haefeli WE (2003) Contribution of increased oral bioavailability and reduced nonglomerular renal clearance of digoxin to the digoxin-clarithromycin interaction. *Br J Clin Pharmacol.* **56**(1):32-38.

76. Gurley BJ, Barone GW, Williams DK, Carrier J, Breen P, Yates CR, Song PF, Hubbard MA, Tong Y, Cheboyina S (2006) Effect of milk thistle (*Silybum marianum*) and black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) supplementation on digoxin pharmacokinetics in humans. *Drug Metab Dispos.* **34**(1):69-74.
77. Gurley BJ, Swain A, Barone GW, Williams DK, Breen P, Yates CR, Stuart LB, Hubbard MA, Tong Y, Cheboyina S (2007) Effect of goldenseal (*Hydrastis canadensis*) and kava kava (*Piper methysticum*) supplementation on digoxin pharmacokinetics in humans. *Drug Metab Dispos.* **35**(2):240-245.
78. Kirby BJ, Collier AC, Kharasch ED, Whittington D, Thummel KE, Unadkat JD (2012) Complex drug interactions of the HIV protease inhibitors 3: effect of simultaneous or staggered dosing of digoxin and ritonavir, nelfinavir, rifampin, or bupropion. *Drug Metab Dispos.* **40**(3):610-616.
79. Penzak SR, Shen JM, Alfaro RM, Remaley AT, Natarajan V, Falloon J (2004) Ritonavir decreases the nonrenal clearance of digoxin in healthy volunteers with known MDR1 genotypes. *Ther Drug Monit.* **26**(3):322-330.
80. Jalava KM, Partanen J, Neuvonen PJ (1997) Itraconazole decreases renal clearance of digoxin. *Ther Drug Monit.* **19**(6):609-613.
81. Jalava KM, Olkkola KT, Neuvonen PJ (1997) Itraconazole greatly increases plasma

concentrations and effects of felodipine. *Clin Pharmacol Ther.* **61**(4):410-415.

82. Saruwatari J, Yasui-Furukori N, Niioka T, Akamine Y, Takashima A, Kaneko S, Uno T (2012)

Different effects of the selective serotonin reuptake inhibitors fluvoxamine, paroxetine, and sertraline on the pharmacokinetics of fexofenadine in healthy volunteers. *J Clin Psychopharmacol.* **32**(2):195-199.

83. Shimizu M, Uno T, Sugawara K, Tateishi T (2006) Effects of single and multiple doses of itraconazole on the pharmacokinetics of fexofenadine, a substrate of P-glycoprotein. *Br J Clin Pharmacol.* **62**(3):372-376.

84. Shimizu M, Uno T, Sugawara K, Tateishi T (2006) Effects of itraconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of fexofenadine, a substrate of P-glycoprotein. *Br J Clin Pharmacol.* **61**(5):538-544.

85. Shon JH, Yoon YR, Hong WS, Nguyen PM, Lee SS, Choi YG, Cha IJ, Shin JG (2005) Effect of itraconazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of fexofenadine in relation to the MDR1 genetic polymorphism. *Clin Pharmacol Ther.* **78**(2):191-201.

86. Uno T, Shimizu M, Sugawara K, Tateishi T (2006) Lack of dose-dependent effects of itraconazole on the pharmacokinetic interaction with fexofenadine. *Drug Metab Dispos.* **34**(11):1875-1879.

87. Ieiri I, Tsunemitsu S, Maeda K, Ando Y, Izumi N, Kimura M, Yamane N, Okuzono T,

- Morishita M, Kotani N, Kanda E, Deguchi M, Matsuguma K, Matsuki S, Hirota T, Irie S, Kusuhashi H, Sugiyama Y (2013) Mechanisms of pharmacokinetic enhancement between ritonavir and saquinavir; micro/small dosing tests using midazolam (CYP3A4), fexofenadine (p-glycoprotein), and pravastatin (OATP1B1) as probe drugs. *J Clin Pharmacol*. **53**(6):654-661.
88. van Heeswijk RP, Bourbeau M, Campbell P, Seguin I, Chauhan BM, Foster BC, Cameron DW (2006) Time-dependent interaction between lopinavir/ritonavir and fexofenadine. *J Clin Pharmacol*. **46**(7):758-767.
89. Gupta S, Banfield C, Kantesaria B, Marino M, Clement R, Affrime M, Batra V (2001) Pharmacokinetic and safety profile of desloratadine and fexofenadine when coadministered with azithromycin: a randomized, placebo-controlled, parallel-group study. *Clin Ther*. **23**(3):451-466.
90. Sanofi. Allegra (Fexofenadine Hydrochloride) Oral Suspension. Labeling. U.S. Food and Drug Administration.
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/021963s000_LBL.pdf Accessed 5 Sep 2019
91. Lemma GL, Wang Z, Hamman MA, Zaheer NA, Gorski JC, Hall SD (2006) The effect of short- and long-term administration of verapamil on the disposition of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein substrates. *Clin Pharmacol Ther*. **79**(3):218-230.
92. Yasui-Furukori N, Uno T, Sugawara K, Tateishi T (2005) Different effects of three

transporting inhibitors, verapamil, cimetidine, and probenecid, on fexofenadine pharmacokinetics.

Clin Pharmacol Ther. **77**(1):17-23.

93. Kivistö KT, Kantola T, Neuvonen PJ (1998) Different effects of itraconazole on the pharmacokinetics of fluvastatin and lovastatin. *Br J Clin Pharmacol.* **46**(1):49-53.

94. Azie NE, Brater DC, Becker PA, Jones DR, Hall SD (1998) The interaction of diltiazem with lovastatin and pravastatin. *Clin Pharmacol Ther.* **64**(4):369-377.

95. Templeton I, Peng CC, Thummel KE, Davis C, Kunze KL, Isoherranen N (2010) Accurate prediction of dose-dependent CYP3A4 inhibition by itraconazole and its metabolites from in vitro inhibition data. *Clin Pharmacol Ther.* **88**(4):499-505.

96. Backman JT, Kivistö KT, Olkkola KT, Neuvonen PJ (1998) The area under the plasma concentration-time curve for oral midazolam is 400-fold larger during treatment with itraconazole than with rifampicin. *Eur J Clin Pharmacol.* **54**(1):53-58.

97. Ahonen J, Olkkola KT, Neuvonen PJ (1995) Effect of itraconazole and terbinafine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of midazolam in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* **40**(3):270-272.

98. Olkkola KT, Backman JT, Neuvonen PJ (1994) Midazolam should be avoided in patients receiving the systemic antimycotics ketoconazole or itraconazole. *Clin Pharmacol Ther.* **55**(5):481-485.

99. Liu B, Crewe HK, Ozdemir M, Rowland Yeo K, Tucker G, Rostami-Hodjegan A (2017) The absorption kinetics of ketoconazole plays a major role in explaining the reported variability in the level of interaction with midazolam: Interplay between formulation and inhibition of gut wall and liver metabolism. *Biopharm Drug Dispos.* **38**(3):260-270.
100. Shin KH, Ahn LY, Choi MH, Moon JY, Lee J, Jang IJ, Yu KS, Cho JY (2016) Urinary 6 β -Hydroxycortisol/Cortisol Ratio Most Highly Correlates With Midazolam Clearance Under Hepatic CYP3A Inhibition and Induction in Females: A Pharmacometabolomics Approach. *AAPS J.* **18**(5):1254-1261.
101. Halama B, Hohmann N, Burhenne J, Weiss J, Mikus G, Haefeli WE (2013) A nanogram dose of the CYP3A probe substrate midazolam to evaluate drug interactions. *Clin Pharmacol Ther.* **93**(6):564-571.
102. Krishna G, Moton A, Ma L, Savant I, Martinho M, Seiberling M, McLeod J (2009) Effects of oral posaconazole on the pharmacokinetic properties of oral and intravenous midazolam: a phase I, randomized, open-label, crossover study in healthy volunteers. *Clin Ther.* **31**(2):286-298.
103. Chen M, Nafziger AN, Bertino JS Jr. (2006) Drug-metabolizing enzyme inhibition by ketoconazole does not reduce interindividual variability of CYP3A activity as measured by oral midazolam. *Drug Metab Dispos.* **34**(12):2079-2082.
104. Eap CB, Buclin T, Cucchia G, Zullino D, Hustert E, Bleiber G, Golay KP, Aubert AC,

- Baumann P, Telenti A, Kerb R (2004) Oral administration of a low dose of midazolam (75 microg) as an in vivo probe for CYP3A activity. *Eur J Clin Pharmacol*. **60**(4):237-246.
105. Chung E, Nafziger AN, Kazierad DJ, Bertino JS Jr. (2006) Comparison of midazolam and simvastatin as cytochrome P450 3A probes. *Clin Pharmacol Ther*. **79**(4):350-361.
106. Lam YW, Alfaro CL, Ereshefsky L, Miller M (2003) Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions of oral midazolam with ketoconazole, fluoxetine, fluvoxamine, and nefazodone. *J Clin Pharmacol*. **43**(11):1274-1282.
107. Tsunoda SM, Velez RL, von Moltke LL, Greenblatt DJ (1999) Differentiation of intestinal and hepatic cytochrome P450 3A activity with use of midazolam as an in vivo probe: effect of ketoconazole. *Clin Pharmacol Ther*. **66**(5):461-471.
108. Stoch SA, Friedman E, Maes A, Yee K, Xu Y, Larson P, Fitzgerald M, Chodakewitz J, Wagner JA (2009) Effect of different durations of ketoconazole dosing on the single-dose pharmacokinetics of midazolam: shortening the paradigm. *J Clin Pharmacol*. **49**(4):398-406.
109. Friedman EJ, Fraser IP, Wang YH, Bergman AJ, Li CC, Larson PJ, Chodakewitz J, Wagner JA, Stoch SA (2011) Effect of different durations and formulations of diltiazem on the single-dose pharmacokinetics of midazolam: how long do we go? *J Clin Pharmacol*. **51**(11):1561-1570.
110. Saari TI, Laine K, Leino K, Valtonen M, Neuvonen PJ, Olkkola KT (2006) Effect of voriconazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous and oral midazolam.

Clin Pharmacol Ther. **79**(4):362-370.

111. Hohmann N, Kocheise F, Carls A, Burhenne J, Weiss J, Haefeli WE, Mikus G (2016) Dose-Dependent Bioavailability and CYP3A Inhibition Contribute to Non-Linear Pharmacokinetics of Voriconazole. *Clin Pharmacokinet.* **55**(12):1535-1545.

112. Ohashi K, Tateishi T, Sudo T, Sakamoto K, Toyosaki N, Hosoda S, Toyo-oka T, Sugimoto K, Kumagai Y, Ebihara A (1990) Effects of diltiazem on the pharmacokinetics of nifedipine. *J Cardiovasc Pharmacol.* **15**(1):96-101.

113. Niemi M, Backman JT, Neuvonen M, Neuvonen PJ (2003) Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide: potentially hazardous interaction between gemfibrozil and repaglinide. *Diabetologia.* **46**(3):347-351.

114. Niemi M, Neuvonen PJ, Kivistö KT (2001) The cytochrome P4503A4 inhibitor clarithromycin increases the plasma concentrations and effects of repaglinide. *Clin Pharmacol Ther.* **70**(1):58-65.

115. Kajosaari LI, Niemi M, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen PJ, Backman JT (2005) Cyclosporine markedly raises the plasma concentrations of repaglinide. *Clin Pharmacol Ther.* **78**(4):388-399.

116. Cooper KJ, Martin PD, Dane AL, Warwick MJ, Schneck DW, Cantarini MV (2003) Effect

of itraconazole on the pharmacokinetics of rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther.* **73**(4):322-329.

117. Kantola T, Kivistö KT, Neuvonen PJ (1998) Erythromycin and verapamil considerably increase serum simvastatin and simvastatin acid concentrations. *Clin Pharmacol Ther.* **64**(2):177-182.

118. Krishna G, Ma L, Prasad P, Moton A, Martinho M, O'Mara E (2012) Effect of posaconazole on the pharmacokinetics of simvastatin and midazolam in healthy volunteers. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* **8**(1):1-10.

119. Varhe A, Olkkola KT, Neuvonen PJ (1994) Oral triazolam is potentially hazardous to patients receiving systemic antimycotics ketoconazole or itraconazole. *Clin Pharmacol Ther.* **56**(6 Pt 1):601-607.

120. von Moltke LL, Greenblatt DJ, Harmatz JS, Duan SX, Harrel LM, Cotreau-Bibbo MM, Pritchard GA, Wright CE, Shader RI (1997) Triazolam biotransformation by human liver microsomes in vitro: effects of metabolic inhibitors and clinical confirmation of a predicted interaction with ketoconazole. *J Pharmacol Exp Ther.* **276**(2):370-379.

121. O'Connor-Semmes RL, Kersey K, Williams DH, Lam R, Koch KM (2001) Effect of ranitidine on the pharmacokinetics of triazolam and alpha-hydroxytriazolam in both young (19-60 years) and older (61-78 years) people. *Clin Pharmacol Ther.* **70**(2):126-131.

122. Greenblatt DJ, Wright CE, von Moltke LL, Harmatz JS, Ehrenberg BL, Harrel LM, Corbett

- K, Counihan M, Tobias S, Shader RI (1998) Ketoconazole inhibition of triazolam and alprazolam clearance: differential kinetic and dynamic consequences. *Clin Pharmacol Ther.* **64**(3):237-247.
123. Luurila H, Kivistö KT, Neuvonen PJ (1998) Effect of itraconazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of zolpidem. *Eur J Clin Pharmacol.* **54**(2):163-166.
124. Greenblatt DJ, von Moltke LL, Harmatz JS, Mertzanis P, Graf JA, Durol AL, Counihan M, Roth-Schechter B, Shader RI (1998) Kinetic and dynamic interaction study of zolpidem with ketoconazole, itraconazole, and fluconazole. *Clin Pharmacol Ther.* **64**(6):661-671.
125. Saari TI, Laine K, Leino K, Valtonen M, Neuvonen PJ, Olkkola KT (2007) Effect of voriconazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of zolpidem in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* **63**(1):116-120.
126. Gomez DY, Wachter VJ, Tomlanovich SJ, Hebert MF, Benet LZ (1995) The effects of ketoconazole on the intestinal metabolism and bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther.* **58**(1):15-19.
127. Freeman DJ, Martell R, Carruthers SG, Heinrichs D, Keown PA, Stiller CR (1998) Cyclosporin-erythromycin interaction in normal subjects. *Br J Clin Pharmacol.* **23**(6):776-778.
128. Vanhove T, Annaert P, Knops N, de Loor H, de Hoon J, Kuypers DRJ (2019) In vivo CYP3A4 activity does not predict the magnitude of interaction between itraconazole and tacrolimus from an extended release formulation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* **124**(1):50-55.

129. Floren LC, Bekersky I, Benet LZ, Mekki Q, Dressler D, Lee JW, Roberts JP, Hebert MF (1997) Tacrolimus oral bioavailability doubles with coadministration of ketoconazole. *Clin Pharmacol Ther.* **62**(1):41-49.
130. Sansone-Parsons A, Krishna G, Martinho M, Kantesaria B, Gelone S, Mant TG (2007) Effect of oral posaconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine and tacrolimus. *Pharmacotherapy.* **27**(6):825-834.
131. Imamura CK, Furihata K, Okamoto S, Tanigawara Y (2016) Impact of cytochrome P450 2C19 polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus when coadministered with voriconazole. *J Clin Pharmacol.* **56**(4):408-413.
132. Novartis Pharmaceuticals Corporation. Tektuma® (Aliskiren) Tablets: Pharmacology Review(s). U.S. Food and Drug Administration.
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2007/021985s000_PharmR_P4.pdf
Accessed 5 Sep 2018
133. Novartis Pharmaceuticals Corporation. Tektuma® (Aliskiren) Tablets: Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review(s). U.S. Food and Drug Administration.
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2007/021985s000_ClinPharmR_P4.pdf
Accessed 13 Sep 2018
134. ADMET predictor® version 9.0 (Simulations Plus, Inc.)

135. Tsukimoto M, Ohashi R, Torimoto N, Togo Y, Suzuki T, Maeda T, Kagawa Y (2015) Effects of the inhibition of intestinal P-glycoprotein on aliskiren pharmacokinetics in cynomolgus monkeys. *Biopharm Drug Dispos.* **36**(1):15-33.
136. Meuldermans WE, Hurkmans RM, Heykants JJ (1982) Plasma protein binding and distribution of fentanyl, sufentanil, alfentanil and lofentanil in blood. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* **257**(1):4-19.
137. Meuldermans W, Van Peer A, Hendrickx J, Woestenborghs R, Lauwers W, Heykants J, Vanden Bussche G, Van Craeyvelt H, Van der Aa P (1988) Alfentanil pharmacokinetics and metabolism in humans. *Anesthesiology.* **69**(4):527-534.
138. Kharasch ED, Whittington D, Ensign D, Hoffer C, Bedynek PS, Campbell S, Stubbert K, Crafford A, London A, Kim T (2012) Mechanism of efavirenz influence on methadone pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther.* **91**(4):673-684.
139. Gertz M, Harrison A, Houston JB, Galetin A (2010) Prediction of human intestinal first-pass metabolism of 25 CYP3A substrates from in vitro clearance and permeability data. *Drug Metab Dispos.* **38**(7):1147-1158.
140. Shou M, Hayashi M, Pan Y, Xu Y, Morrissey K, Xu L, Skiles GL (2008) Modeling, prediction, and in vitro in vivo correlation of CYP3A4 induction. *Drug Metab Dispos.* **36**(11):2355-2370.
141. Fraser AD, Bryan W, Isner AF (1991) Urinary screening for alprazolam and its major

metabolites by the Abbott ADx and TDx analyzers with confirmation by GC/MS. *J Anal Toxicol*.

15(1):25-29.

142. Pharmacia & Upjohn. Xanax® X-R (Alprazolam) Extended-Release Tablets. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutical Review(s). U.S. Food and Drug Administration

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-434_Xanax_BioPharmr_P1.pdf

Accessed 2 Aug 2018

143. Pharmacia & Upjohn. Xanax® X-R (Alprazolam) Extended-Release Tablets. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutical Review(s). U.S. Food and Drug Administration

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-434_Xanax_BioPharmr_P2.pdf

Accessed 2 Aug 2018

144. Galetin A, Ito K, Hallifax D, Houston JB (2005) CYP3A4 substrate selection and substitution in the prediction of potential drug-drug interactions. *J Pharmacol Exp Ther*. **314**(1):180-190.

145. Galetin A, Houston JB (2006) Intestinal and hepatic metabolic activity of five cytochrome P450 enzymes: impact on prediction of first-pass metabolism. *J Pharmacol Exp Ther*.

318(3):1220-1229.

146. Pfizer, Inc. Lipitor® (atorvastatin calcium) Tablets. Labeling. U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2003/20702slr036_lipitor_lbl.pdf

Accessed 5 Sep 2019

147. Yamazaki T, Desai A, Goldwater R, Han D, Lasseter KC, Howieson C, Akhtar S, Kowalski D, Lademacher C, Rammelsberg D, Townsend R (2017) Pharmacokinetic Interactions Between Isavuconazole and the Drug Transporter Substrates Atorvastatin, Digoxin, Metformin, and Methotrexate in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Drug Dev.* **6**(1):66-75.

148. Wu X, Whitfield LR, Stewart BH (2000) Atorvastatin transport in the Caco-2 cell model: contributions of P-glycoprotein and the proton-monocarboxylic acid co-transporter. *Pharm Res.* **17**(2):209-215.

149. Dilger K, Fux R, Röck D, Mörike K, Gleiter CH (2007) Effect of high-dose metronidazole on pharmacokinetics of oral budesonide and vice versa: a double drug interaction study. *J Clin Pharmacol.* **47**(12):1532-1539.

150. AstraZeneca Pharmaceuticals. PULMICORT FLEXHALER® Budesonide inhalation powder. Prescribing information. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021949s006lbl.pdf Accessed 20 Sep 2018

151. AstraZeneca. RHINOCORT AQUA® (budesonide) NASAL SPRAY. Labeling. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/1999/20746lbl.pdf Accessed 9 Sep 2019

152. Mylan Inc. Buspirone Hydrochloride Tablets USP. Bioequivalence. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/anda/2001/75-467_Buspirone.pdf Accessed 28 Aug 2018
153. Bristol-Myers Squibb Co. BuSpar® (Buspirone Hydrochloride) Capsules. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2000/21-190_BuSpar_BioPharmr.pdf Accessed 13 Sep 2018
154. Laine K, Ahokoski O, Huupponen R, Hänninen J, Palovaara S, Ruuskanen J, Björklund H, Anttila M, Rouru J (2003) Effect of the novel anxiolytic drug deramciclane on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the CYP3A4 probe drug buspirone. *Eur J Clin Pharmacol*. **59**(10):761-766.
155. Mück W, Ritter W, Ochmann K, Unger S, Ahr G, Wingender W, Kuhlmann J (1997) Absolute and relative bioavailability of the HMG-CoA reductase inhibitor cerivastatin. *Int J Clin Pharmacol Ther*. **35**(6):255-260.
156. Bayel Pharms. BAYCOL® (cerivastatin sodium) Tablets. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/97/020740_baycol_toc.cfm/020740ap_baycol_clinphmrp1.pdf Accessed 20 March 2018

157. Mück W, Mai I, Fritsche L, Ochmann K, Rohde G, Unger S, John A, Bauer S, Budde K, Roots I, Neumayer HH, Kuhlmann J (1999) Increase in cerivastatin systemic exposure after single and multiple dosing in cyclosporine-treated kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther.* **65**(3):251-261.

158. Mück W (2000) Clinical pharmacokinetics of cerivastatin. *Clin Pharmacokinet.* **39**(2):99-116.

159. Kivistö KT, Zukunft J, Hofmann U, Niemi M, Rekersbrink S, Schneider S, Luippold G, Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF (2004) Characterisation of cerivastatin as a P-glycoprotein substrate: studies in P-glycoprotein-expressing cell monolayers and mdr1a/b knock-out mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* **370**(2):124-130.

160. Ducharme MP, Warbasse LH, Edwards DJ (1995) Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther.* **57**(5):485-491.

161. Novartis Pharmaceuticals Co. NEORAL® Soft Gelatin Capsules (cyclosporine capsules, USP). Prescribing information. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.pharma.us.novartis.com/sites/www.pharma.us.novartis.com/files/neoral.pdf>

Accessed 10 Sep 2019

162. Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc. PRADAXA® (dabigatran etexilate mesylate) Capsules. Labeling. U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2010/022512Orig1s000Lbl.pdf Accessed

10 Sep 2019

163. Härtter S, Koenen-Bergmann M, Sharma A, Nehmiz G, Lemke U, Timmer W, Reilly PA (2012) Decrease in the oral bioavailability of dabigatran etexilate after co-medication with rifampicin. *Br J Clin Pharmacol*. **74**(3):490-500.

164. Wiggins BS, Dixon DL, Neyens RR, Page RL 2nd, Gluckman TJ (2020) Select Drug-Drug Interactions With Direct Oral Anticoagulants: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*. **75**(11):1341-1350.

165. Ding R, Tayrouz Y, Riedel KD, Burhenne J, Weiss J, Mikus G, Haefeli WE (2004) Substantial pharmacokinetic interaction between digoxin and ritonavir in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. **76**(1):73-84.

166. Burroughs Wellcome Company. Lanoxicaps® (Digoxin Solution Capsules). Clinical Pharmacology and Biopharmaceutical Review. U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/pre96/18118_LANOXICAPS_BIOPHAR

MR.PDF Accessed 11 Sep 2019

167. Roxane Laboratories, Inc. Digoxin Elixir. Labeling. U.S. Food and Drug Administration. .

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2004/021648s000_PRNTLBL.pdf

Accessed 11 Sep 2019

168. Lin X, Skolnik S, Chen X, Wang J (2011) Attenuation of intestinal absorption by major efflux transporters: quantitative tools and strategies using a Caco-2 model. *Drug Metab Dispos.* **39**(2):265-274.
169. Tachibana T, Kato M, Sugiyama Y (2012) Prediction of nonlinear intestinal absorption of CYP3A4 and P-glycoprotein substrates from their in vitro Km values. *Pharm Res.* **29**(3):651-668.
170. Lundahl J, Regårdh CG, Edgar B, Johnsson G (1997) Effects of grapefruit juice ingestion--pharmacokinetics and haemodynamics of intravenously and orally administered felodipine in healthy men. *Eur J Clin Pharmacol.* **52**(2):139-145.
171. Astrazeneca. Plendil® (felodipene) Tablets. Approval Package. U.S. Food and Drug Administration. Accessed from Pharmapendium Accessed 4 Sep 2019
172. Bedada SK, Boga PK (2017) The influence of piperine on the pharmacokinetics of fexofenadine, a P-glycoprotein substrate, in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* **73**(3):343-349.
173. Sanofi. ALLEGRA® (FEXOFENADINE HYDROCHLORIDE). Pharmacology and toxicology data review. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/pre96/020625Orig1s000rev.pdf Accessed 5 Sep 2018
174. Goodman & Gilman 10th edition (2001)

175. Aura Laboratories. Altocor® (lovastatin) Extended-Release Tablets. Labeling. U.S. Food and Drug Administration.
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2002/21316_Altocor_Prntlbl.pdf Accessed 12 Sep 2019
176. Chen CH, Uang YS, Wang ST, Yang JC, Lin CJ (2012) Interaction between Red Yeast Rice and CYP450 Enzymes/P-Glycoprotein and Its Implication for the Clinical Pharmacokinetics of Lovastatin. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2012**:127043.
177. Kharasch ED, Walker A, Hoffer C, Sheffels P (2012) Intravenous and oral alfentanil as in vivo probes for hepatic and first-pass cytochrome P450 3A activity: noninvasive assessment by use of pupillary miosis. *Clin Pharmacol Ther.* **76**(5):452-466.
178. Auralis Ltd. Buccolam (Midazolam). EMA assessment report. European Medicines Agency. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/buccolam-epar-public-assessment-report_en.pdf Accessed 13 Sep 2019
179. Phimmasone S, Kharasch ED (2001) A pilot evaluation of alfentanil-induced miosis as a noninvasive probe for hepatic cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) activity in humans. *Clin Pharmacol Ther.* **70**(6):505-517.
180. Bayer HealthCare Pharmaceuticals Inc. ADALAT CC® (nifedipine) Extended Release Tablets. Labeling U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/020198s022lbl.pdf Accessed 10

Sep 2019

181. Rashid TJ, Martin U, Clarke H, Waller DG, Renwick AG, George CF (1995) Factors affecting the absolute bioavailability of nifedipine. *Br J Clin Pharmacol.* **40**(1):51-58.

182. Galetin A, Burt H, Gibbons L, Houston JB (2006) Prediction of time-dependent CYP3A4 drug-drug interactions: impact of enzyme degradation, parallel elimination pathways, and intestinal inhibition. *Drug Metab Dispos.* **34**(1):166-175.

183. Wu LX, Guo CX, Chen WQ, Yu J, Qu Q, Chen Y, Tan ZR, Wang G, Fan L, Li Q, Zhang W, Zhou HH (2012) Inhibition of the organic anion-transporting polypeptide 1B1 by quercetin: an in vitro and in vivo assessment. *Br J Clin Pharmacol.* **73**(5):750-757.

184. BRISTOL MYERS SQUIBB. PRAVACHOL® (Pravastatin sodium). Labeling. U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/019898s061lbl.pdf Accessed 13 Sep

2019

185. BRISTOL MYERS SQUIBB. PRAVACHOL® (Pravastatin sodium). Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review. U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2000/019898_s037_PRAVACHOL_TABL.ETS.pdf Accessed 7 Sep 2018

186. Yamazaki T, Desai A, Goldwater R, Han D, Howieson C, Akhtar S, Kowalski D, Lademacher C, Pearlman H, Rammelsberg D, Townsend R (2017) Pharmacokinetic Effects of Isavuconazole Coadministration With the Cytochrome P450 Enzyme Substrates Bupropion, Repaglinide, Caffeine, Dextromethorphan, and Methadone in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Drug Dev.* **6**(1):54-65.
187. Novo Nordisk Inc. PRANDIN® (Repaglinide). Labeling. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/020741s035lbl.pdf
Accessed 4 Sep 2018
188. Astra Zeneca Pharmaceuticals. Crestor® (Rosuvastatin Calcium) Tablets. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-366_Crestor_BioPharmr.pdf
Accessed 21 Aug 2018
189. Olsson AG, McTaggart F, Raza A (2002) Rosuvastatin: a highly effective new HMG-CoA reductase inhibitor. *Cardiovasc Drug Rev.* **20**(4):303-328.
190. McKenney JM, Swearingen D, Di Spirito M, Doyle R, Pantaleon C, Kling D, Shalwitz RA (2006) Study of the pharmacokinetic interaction between simvastatin and prescription omega-3-acid ethyl esters. *J Clin Pharmacol.* **46**(7):785-791.
191. Merck and Co. Inc. Zocor® (Simvastatin) Tablets. Labeling. U.S. Food and Drug

Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2001/19766s45s53lbl.pdf Accessed 17

Sep 2019

192. Sandoz Inc. Tacrolimus Capsules. Labeling. U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/anda/2009/065461Orig1s000.pdf Accessed 10

Sep 2019

193. Warot D, Bergougnan L, Lamiable D, Berlin I, Bensimon G, Danjou P, Puech AJ (1987)

Troleandomycin-triazolam interaction in healthy volunteers: pharmacokinetic and psychometric evaluation. *Eur J Clin Pharmacol.* **32**(4):389-393.

194. Kroboth PD, McAuley JW, Kroboth FJ, Bertz RJ, Smith RB (1995) Triazolam pharmacokinetics after intravenous, oral, and sublingual administration. *J Clin Psychopharmacol.*

15(4):259-262.

195. Eberts FS Jr, Philopoulos Y, Reineke LM, Vliet RW (1981) Triazolam disposition. *Clin Pharmacol Ther.* **29**(1):81-93.

196. Jochemsen R, Wesselman JG, van Boxtel CJ, Hermans J, Breimer DD (1983) Comparative pharmacokinetics of brotizolam and triazolam in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* **16** Suppl 2:291S-297S.

197. Lorex Pharmaceuticals. Ambien® (Zolpidem Tartrate) Tablets. Clinical Pharmacology and

Biopharmaceutics Review. U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/pre96/019908_S000_BIOR.pdf Accessed 15 July 2021.

198. Kato M, Chiba K, Hisaka A, Ishigami M, Kayama M, Mizuno N, Nagata Y, Takakuwa S, Tsukamoto Y, Ueda K, Kusuhara H, Ito K, Sugiyama Y (2003) The intestinal first-pass metabolism of substrates of CYP3A4 and P-glycoprotein-quantitative analysis based on information from the literature. *Drug Metab Pharmacokinet.* **18**(6):365-372.

199. Rowland Yeo K, Walsky RL, Jamei M, Rostami-Hodjegan A, Tucker GT (2011) Prediction of time-dependent CYP3A4 drug-drug interactions by physiologically based pharmacokinetic modelling: impact of inactivation parameters and enzyme turnover. *Eur J Pharm Sci.* **43**(3):160-173.

200. Eberl S, Renner B, Neubert A, Reisig M, Bachmakov I, König J, Dörje F, Mürdter TE, Ackermann A, Dormann H, Gassmann KG, Hahn EG, Zierhut S, Brune K, Fromm MF (2007) Role of p-glycoprotein inhibition for drug interactions: evidence from in vitro and pharmacoepidemiological studies. *Clin Pharmacokinet.* **46**(12):1039-1049.

201. Mayhew BS, Jones DR, Hall SD (2000) An in vitro model for predicting in vivo inhibition of cytochrome P450 3A4 by metabolic intermediate complex formation. *Drug Metab Dispos.* **28**(9):1031-1037.

202. Kishimoto W, Ishiguro N, Ludwig-Schwellinger E, Ebner T, Schaefer O (2014) In vitro predictability of drug-drug interaction likelihood of P-glycoprotein-mediated efflux of dabigatran etexilate based on $[I]/IC_{50}$ threshold. *Drug Metab Dispos.* **42**(2):257-263.
203. Amundsen R, Åsberg A, Ohm IK, Christensen H (2012) Cyclosporine A- and tacrolimus-mediated inhibition of CYP3A4 and CYP3A5 in vitro. *Drug Metab Dispos.* **40**(4):655-661.
204. Atkinson A, Kenny JR, Grime K (2005) Automated assessment of time-dependent inhibition of human cytochrome P450 enzymes using liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis. *Drug Metab Dispos.* **33**(11):1637-1647.
205. Poirier A, Cascais AC, Bader U, Portmann R, Brun ME, Walter I, Hillebrecht A, Ullah M, Funk C (2014) Calibration of in vitro multidrug resistance protein 1 substrate and inhibition assays as a basis to support the prediction of clinically relevant interactions in vivo. *Drug Metab Dispos.* **42**(9):1411-1422.
206. Mikkaichi T, Yoshigae Y, Masumoto H, Imaoka T, Rozehnal V, Fischer T, Okudaira N, Izumi T (2014) Edoxaban transport via P-glycoprotein is a key factor for the drug's disposition. *Drug Metab Dispos.* **42**(4):520-528.
207. Yamazaki H, Nakamoto M, Shimizu M, Murayama N, Niwa T (2010) Potential impact of cytochrome P450 3A5 in human liver on drug interactions with triazoles. *Br J Clin Pharmacol.* **69**(6):593-597.

208. Wang EJ, Lew K, Casciano CN, Clement RP, Johnson WW (2002) Interaction of common azole antifungals with P glycoprotein. *Antimicrob Agents Chemother.* **46**(1):160-165.
209. Foti RS, Rock DA, Wienkers LC, Wahlstrom JL (2010) Selection of alternative CYP3A4 probe substrates for clinical drug interaction studies using in vitro data and in vivo simulation. *Drug Metab Dispos.* **38**(6):981-987.
210. El Ela AA, Härtter S, Schmitt U, Hiemke C, Spahn-Langguth H, Langguth P (2004) Identification of P-glycoprotein substrates and inhibitors among psychoactive compounds--implications for pharmacokinetics of selected substrates. *J Pharm Pharmacol.* **56**(8):967-975.
211. Prueksaritanont T, Gorham LM, Ma B, Liu L, Yu X, Zhao JJ, Slaughter DE, Arison BH, Vyas KP (1997) In vitro metabolism of simvastatin in humans [SBT]identification of metabolizing enzymes and effect of the drug on hepatic P450s. *Drug Metab Dispos.* **25**(10):1191-1199.
212. Moody DE, Liu F, Fang WB (2015) Azole antifungal inhibition of buprenorphine, methadone and oxycodone in vitro metabolism. *J Anal Toxicol.* **39**(5):374-386.
213. Lempers VJ, van den Heuvel JJ, Russel FG, Aarnoutse RE, Burger DM, Brüggemann RJ, Koenderink JB (2016) Inhibitory Potential of Antifungal Drugs on ATP-Binding Cassette Transporters P-Glycoprotein, MRP1 to MRP5, BCRP, and BSEP. *Antimicrob Agents Chemother.* **60**(6):3372-3379.
214. Kosugi Y, Hirabayashi H, Igari T, Fujioka Y, Hara Y, Okuda T, Moriwaki T (2012) Evaluation

of cytochrome P450-mediated drug-drug interactions based on the strategies recommended by regulatory authorities. *Xenobiotica*. **42**(2):127-138.

215. Kis O, Walmsley SL, Bendayan R (2014) In Vitro and In Situ evaluation of pH-dependence of atazanavir intestinal permeability and interactions with acid-reducing agents. *Pharm Res*. **31**(9):2404-2419.

216. Obach RS, Walsky RL, Venkatakrishnan K (2007) Mechanism-based inactivation of human cytochrome p450 enzymes and the prediction of drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos*. **35**(2):246-255.

217. Wang JS, Wen X, Backman JT, Taavitsainen P, Neuvonen PJ, Kivistö KT (1999) Midazolam alpha-hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by calcium channel blockers, itraconazole and ketoconazole. *Pharmacol Toxicol*. **85**(4):157-161.

218. Kamiyama E, Nakai D, Mikkaichi T, Okudaira N, Okazaki O (2010) Interaction of angiotensin II type 1 receptor blockers with P-gp substrates in Caco-2 cells and hMDR1-expressing membranes. *Life Sci*. **86**(1-2):52-58

219. Jeong S, Nguyen PD, Desta Z (2009) Comprehensive in vitro analysis of voriconazole inhibition of eight cytochrome P450 (CYP) enzymes: major effect on CYPs 2B6, 2C9, 2C19, and 3A. *Antimicrob Agents Chemother*. **53**(2):541-551.

220. Park SJ, Song IS, Kang SW, Joo H, Kim TH, Yoon YC, Kim E, Choi YL, Shin JG, Son JH,

Kim YH (2012) Pharmacokinetic effect of voriconazole on cyclosporine in the treatment of aspergillosis after renal transplantation. *Clin Nephrol.* **78**(5):412-418.

221. Novartis Pharmaceuticals Corporation. Tektuma® (Aliskiren) Tablets. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutical Reviews. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2007/021985s000_ClinPharmR_P1.pdf accessed 14 July 2021.

222. Cilla DD Jr, Whitfield LR, Gibson DM, Sedman AJ, Posvar EL (1996) Multiple-dose pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of atorvastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther.* **60**(6):687-695.

223. Pharmacia & Upjohn. Xanax® X-R (Alprazolam) Extended-Release Tablets. Labeling. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-434_Xanax_Prntlbl.pdf Accessed 12 Sep 2019

224. Zeria Pharmaceutical Co. Ltd. Zentacort® Capsules. Common Technical Documents. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. <http://www.pmda.go.jp/drugs/2016/P20160902001/index.html> Accessed 26 Aug 2019

225. Gammans RE, Mayol RF, Mackenthun AV, Sokya LF (1985) The relationship between buspirone bioavailability and dose in healthy subjects. *Biopharm Drug Dispos.* **6**(2):139-145.

226. Stein E, Isaacsohn J, Stoltz R, Mazzu A, Liu MC, Lane C, Heller AH (1999)

Pharmacodynamics, safety, tolerability, and pharmacokinetics of the 0.8-mg dose of cerivastatin in patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* **83**(10):1433-1436.

227. Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc. PRADAXA® (dabigatran etexilate mesylate) Capsules. Labeling. U.S. Drug and Food Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/022512s007lbl.pdf Accessed 15 July 2021.

228. AstraZeneca. Plendil® (Felodipine). Annex III Summary of Product Characteristics. European Medicines Agency. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/plendil-article-30-referral-annex-iii_en.pdf Accessed 12 Sep 2019

229. Sanofi. Allegra (Fexofenadine Hydrochloride). Common Technical Documents. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. <http://www.pmda.go.jp/drugs/2000/g000913/index.html> Accessed 26 Aug 2018

230. Aura Laboratories. Altocor® (lovastatin) Extended-Release Tablets. Clinical Pharmacology and Biopharmaceuticals Review. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2002/21316_Altocor_BioPharmr.pdf Accessed 12 Sep 2019

231. Bornemann LD, Min BH, Crews T, Rees MM, Blumenthal HP, Colburn WA, Patel IH (1985) Dose dependent pharmacokinetics of midazolam. *Eur J Clin Pharmacol.* **29**(1):91-95.

232. BRISTOL MYERS SQUIBB Co. PRAVACHOLE® (pravastatin sodium) Tablets. Labeling.

U.S. Food and Drug Administration.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/019898s062lbl.pdf Accessed 15 July 2021.

233. Sumitomo Dainihon Pharma Co. SUREPOST®. Common Technical Document.

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency.

<http://www.pmda.go.jp/drugs/2011/P201100017/index.html> Accessed 27 Aug 2019

234. Bekersky I, Dressler D, Mekki QA (1999) Dose linearity after oral administration of tacrolimus 1-mg capsules at doses of 3, 7, and 10 mg. *Clin Ther.* **21**(12):2058-2064.

235. Martin PD, Warwick MJ, Dane AL, Cantarini MV (2003) A double-blind, randomized, incomplete crossover trial to assess the dose proportionality of rosuvastatin in healthy volunteers. *Clin Ther.* **25**(8):2215-2224.

236. Greenblatt DJ, Harmatz JS, Shapiro L, Engelhardt N, Gouthro TA, Shader RI (1991) Sensitivity to triazolam in the elderly. *N Engl J Med.* **324**(24):1691-1698.

237. Astellas Pharma Inc. MYSLEE®(zolpidem tartrate). Common Technical Document.

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency.

<http://www.pmda.go.jp/drugs/2000/g000903/index.html> Accessed 27 Aug 2019

238. Ishiguro N, Kishimoto W, Volz A, Ludwig-Schwellinger E, Ebner T, Schaefer O (2016)

Impact of endogenous esterase activity on in vitro p-glycoprotein profiling of dabigatran etexilate in Caco-2 monolayers. *Drug Metab Dispos.* **42**(2):250-256.

239. Takenaka T, Harada N, Kuze J, Chiba M, Iwao T, Matsunaga T (2016) Application of a Human Intestinal Epithelial Cell Monolayer to the Prediction of Oral Drug Absorption in Humans as a Superior Alternative to the Caco-2 Cell Monolayer. *J Pharm Sci.* **105**(2):915-924.

240. Varma MV, Obach RS, Rotter C, Miller HR, Chang G, Steyn SJ, El-Kattan A, Troutman MD (2010) Physicochemical space for optimum oral bioavailability: contribution of human intestinal absorption and first-pass elimination. *J Med Chem.* **53**(3):1098-1108.

241. Yin J, Wang J (2016) Renal drug transporters and their significance in drug-drug interactions. *Acta Pharm Sin B.* **6**(5):363-373.

242. Agoram B, Woltosz WS, Bolger MB (2001) Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability. *Adv Drug Deliv Rev.* **50** Suppl 1:S41-S67.

243. Huang W, Lee SL, Yu LX (2009) Mechanistic approaches to predicting oral drug absorption. *AAPS J.* **11**(2):217-224

244. Jamei M, Turner D, Yang J, Neuhoﬀ S, Polak S, Rostami-Hodjegan A, Tucker G (2009) Population-based mechanistic prediction of oral drug absorption. *AAPS J.* **11**(2):225-237.

245. Cong D, Doherty M, Pang KS (2000) A new physiologically based, segregated-flow model to explain route-dependent intestinal metabolism. *Drug Metab Dispos.* **28**(2):224-235.

246. Pang KS, Chow EC (2012) Commentary: theoretical predictions of flow effects on intestinal and systemic availability in physiologically based pharmacokinetic intestine models: the traditional model, segregated flow model, and QGut model. *Drug Metab Dispos.* **40**(10):1869-1877.
247. Kimura T, Higaki K (2002) Gastrointestinal transit and drug absorption. *Biol Pharm Bull.* **25**(2):149-164.
248. Haruta S, Kawai K, Nishii R, Jinnouchi S, Ogawara Ki, Higaki K, Tamura S, Arimori K, Kimura T (2002) Prediction of plasma concentration-time curve of orally administered theophylline based on a scintigraphic monitoring of gastrointestinal transit in human volunteers. *Int J Pharm.* **21**;233(1-2):179-190.
249. Takano J, Maeda K, Bolger MB, Sugiyama Y (2016) The Prediction of the Relative Importance of CYP3A/P-glycoprotein to the Nonlinear Intestinal Absorption of Drugs by Advanced Compartmental Absorption and Transit Model. *Drug Metab Dispos.* **44**(11):1808-1818.
250. Bolger MB, Lukacova V, Woltosz WS (2009) Simulations of the nonlinear dose dependence for substrates of influx and efflux transporters in the human intestine. *AAPS J.* **11**(2):353-363.
251. Hendriksen BA, Felix MV, Bolger MB (2003) The composite solubility versus pH profile and its role in intestinal absorption prediction. *AAPS PharmSci.* **5**(1):E4
252. Roberts MS, Donaldson JD, Rowland M (1988) Models of hepatic elimination: comparison

of stochastic models to describe residence time distributions and to predict the influence of drug distribution, enzyme heterogeneity, and systemic recycling on hepatic elimination. *J Pharmacokinet Biopharm.* **16**(1):41-83.

253. Hisaka A, Sugiyama Y (1998) Analysis of nonlinear and nonsteady state hepatic extraction with the dispersion model using the finite difference method. *J Pharmacokinet Biopharm.* **26**(5):495-519.

254. Mudie DM, Murray K, Hoad CL, Pritchard SE, Garnett MC, Amidon GL, Gowland PA, Spiller RC, Amidon GE, Marciani L (2014) Quantification of gastrointestinal liquid volumes and distribution following a 240 mL dose of water in the fasted state. *Mol Pharm.* **11**(9):3039-3047.

255. Sokolis DP (2017) Experimental study and biomechanical characterization for the passive small intestine: Identification of regional differences. *J Mech Behav Biomed Mater.* **74**:93-105.

256. Link B, Haschke M, Grignaschi N, Bodmer M, Aschmann YZ, Wenk M, Krähenbühl S (2008) Pharmacokinetics of intravenous and oral midazolam in plasma and saliva in humans: usefulness of saliva as matrix for CYP3A phenotyping. *Br J Clin Pharmacol.* **66**(4):473-484.

257. Elmeliegy M, Vourvahis M, Guo C, Wang DD (2020) Effect of P-glycoprotein (P-gp) Inducers on Exposure of P-gp Substrates: Review of Clinical Drug-Drug Interaction Studies. *Clin Pharmacokinet.* **59**(6):699-714.

258. Kudo T, Hisaka A, Sugiyama Y, Ito K (2013) Analysis of the repaglinide concentration increase produced by gemfibrozil and itraconazole based on the inhibition of the hepatic uptake transporter and metabolic enzymes. *Drug Metab Dispos.* **41**(2):362-371.
259. Jaakkola T, Backman JT, Neuvonen M, Neuvonen PJ (2005) Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics of pioglitazone. *Clin Pharmacol Ther.* **77**(5):404-414.
260. Templeton IE, Thummel KE, Kharasch ED, Kunze KL, Hoffer C, Nelson WL, Isoherranen N (2008) Contribution of itraconazole metabolites to inhibition of CYP3A4 in vivo. *Clin Pharmacol Ther.* **83**(1):77-85.
261. Lappin G, Shishikura Y, Jochemsen R, Weaver RJ, Gesson C, Brian Houston J, Oosterhuis B, Bjerrum OJ, Gryniewicz G, Alder J, Rowland M, Garner C (2011) Comparative pharmacokinetics between a microdose and therapeutic dose for clarithromycin, sumatriptan, propafenone, paracetamol (acetaminophen), and phenobarbital in human volunteers. *Eur J Pharm Sci.* **43**(3):141-150.
262. Heikkinen AT, Baneyx G, Caruso A, Parrott N (2012) Application of PBPK modeling to predict human intestinal metabolism of CYP3A substrates - an evaluation and case study using GastroPlus. *Eur J Pharm Sci.* **47**(2):375-386.
263. Chu X, Galetin A, Zamek-Gliszczynski MJ, Zhang L, Tweedie DJ, International Transporter

- Consortium (2018) Dabigatran Etxilate and Digoxin: Comparison as Clinical Probe Substrates for Evaluation of P-gp Inhibition. *Clin Pharmacol Ther.* **104**(5):788-792.
264. Sanchez N, Sheiner LB, Halkin H, Melmon KL (1973) Pharmacokinetics of digoxin: interpreting bioavailability. *Br Med J.* **4**(5885):132-134.
265. Jantratid E, Janssen N, Reppas C, Dressman JB (2008) Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: an update. *Pharm Res.* **25**(7):1663-1676.
266. Kawai Y, Fujii Y, Tabata F, Ito J, Metsugi Y, Kameda A, Akimoto K, Takahashi M (2011) Profiling and trend analysis of food effects on oral drug absorption considering micelle interaction and solubilization by bile micelles. *Drug Metab Pharmacokinet.* **26**(2):180-191.
267. Fleisher D, Li C, Zhou Y, Pao LH, Karim A (1999) Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. Clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* **36**(3):233-254.
268. Sawamoto T, Haruta S, Kurosaki Y, Higaki K, Kimura T (1997) Prediction of the plasma concentration profiles of orally administered drugs in rats on the basis of gastrointestinal transit kinetics and absorbability. *J Pharm Pharmacol.* **49**(4):450-457.
269. Paine MF, Khalighi M, Fisher JM, Shen DD, Kunze KL, Marsh CL, Perkins JD, Thummel KE (1997) Characterization of interintestinal and intrainestinal variations in human CYP3A-dependent metabolism. *J Pharmacol Exp Ther.* **283**(3):1552-1562.

270. Lilja JJ, Kivistö KT, Neuvonen PJ (2000) Duration of effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of the CYP3A4 substrate simvastatin. *Clin Pharmacol Ther.* **68**(4):384-390.
271. Yamada M, Inoue SI, Sugiyama D, Nishiya Y, Ishizuka T, Watanabe A, Watanabe K, Yamashita S, Watanabe N (2020) Critical Impact of Drug-Drug Interactions via Intestinal CYP3A in the Risk Assessment of Weak Perpetrators Using Physiologically Based Pharmacokinetic Models. *Drug Metab Dispos.* **48**(4):288-296.
272. Yamazaki S, Costales C, Lazzaro S, Eatemadpour S, Kimoto E, Varma MV (2019) Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling Approach to Predict Rifampin-Mediated Intestinal P-Glycoprotein Induction. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* **8**(9):634-642.
273. Isoherranen N, Kunze KL, Allen KE, Nelson WL, Thummel KE (2004) Role of itraconazole metabolites in CYP3A4 inhibition. *Drug Metab Dispos.* **32**(10):1121-1131.
274. Prieto Garcia L, Janzén D, Kanebratt KP, Ericsson H, Lennernäs H, Lundahl A (2018) Physiologically Based Pharmacokinetic Model of Itraconazole and Two of Its Metabolites to Improve the Predictions and the Mechanistic Understanding of CYP3A4 Drug-Drug Interactions. *Drug Metab Dispos.* **46**(10):1420-1433.
275. Chen Y, Cabalu TD, Callegari E, Einolf H, Liu L, Parrott N, Peters SA, Schuck E, Sharma P, Tracey H, Upreti VV, Zheng M, Zhu AZX, Hall SD (2019) Recommendations for the Design of Clinical Drug-Drug Interaction Studies With Itraconazole Using a Mechanistic

Physiologically-Based Pharmacokinetic Model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* **8**(9):685-695.

276. Liu H, Sahi J (2016) Role of Hepatic Drug Transporters in Drug Development. *J Clin Pharmacol.* **56** Suppl 7:S11-22.

277. Yin J, Wang J (2016) Renal drug transporters and their significance in drug-drug interactions. *Acta Pharm Sin B.* **6**(5):363-373.

278. Ando H, Hatakeyama H, Sato H, Hisaka A, Suzuki H (2017) Determinants of Intestinal Availability for P-glycoprotein Substrate Drugs Estimated by Extensive Simulation With Mathematical Absorption Models. *J Pharm Sci.* **106**(9):2771-2779.

279. Winne D (1978) Blood flow in intestinal absorption models. *J Pharmacokinet Biopharm.* **6**(1):55-78.

280. Schulz R, Winne D (1987) Relationship between antipyrine absorption and blood flow rate in rat jejunum, ileum, and colon. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* **335**(1):97-102.

281. Yau E, Petersson C, Dolgos H, Peters SA (2017) A comparative evaluation of models to predict human intestinal metabolism from nonclinical data. *Biopharm Drug Dispos.* **38**(3):163-186.

282. Bentz J, O'Connor MP, Bednarczyk D, Coleman J, Lee C, Palm J, Pak YA, Perloff ES, Reyner E, Balimane P, Brännström M, Chu X, Funk C, Guo A, Hanna I, Herédi-Szabó K, Hillgren K, Li

- L, Hollnack-Pusch E, Jamei M, Lin X, Mason AK, Neuhoﬀ S, Patel A, Podila L, Plise E, Rajaraman G, Salphati L, Sands E, Taub ME, Taur JS, Weitz D, Wortelboer HM, Xia CQ, Xiao G, Yabut J, Yamagata T, Zhang L, Ellens H (2013) Variability in P-glycoprotein inhibitory potency (IC₅₀) using various in vitro experimental systems: implications for universal digoxin drug-drug interaction risk assessment decision criteria. *Drug Metab Dispos.* **41**(7):1347-1366.
283. Hisaka A, Nakamura M, Tsukihashi A, Koh S, Suzuki H (2014) Assessment of intestinal availability (FG) of substrate drugs of cytochrome p450s by analyzing changes in pharmacokinetic properties caused by drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos.* **42**(10):1640-1645.
284. DeSesso JM, Williams AL (2008) Contrasting the Gastrointestinal Tracts of Mammals: Factors that Influence Absorption. *Annu Rep Med Chem.* **43**:353-371.
285. Walser A, Benjamin LE, Flynn T, Mason C, Schwartz R, Fryer RI (1978) Quinazolines and 1, 4-benzodiazepines. 84. Synthesis and reactions of imidazo [1, 5-a][1, 4] benzodiazepines. *J Org Chem.* **43**:936–944.
286. Asaumi R, Toshimoto K, Tobe Y, Hashizume K, Nunoya KI, Imawaka H, Lee W, Sugiyama Y (2018) Comprehensive PBPK Model of Rifampicin for Quantitative Prediction of Complex Drug-Drug Interactions: CYP3A/2C9 Induction and OATP Inhibition Effects. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* **7**(3):186-196.

287. Collett A, Tanianis-Hughes J, Hallifax D, Warhurst G (2004) Predicting P-glycoprotein effects on oral absorption: correlation of transport in Caco-2 with drug pharmacokinetics in wild-type and *mdr1a*(-/-) mice in vivo. *Pharm Res.* **21**(5):819-826.
288. Neuhoﬀ S, Yeo KR, Barter Z, Jamei M, Turner DB, Rostami-Hodjegan A (2013) Application of permeability-limited physiologically-based pharmacokinetic models: part I- digoxin pharmacokinetics incorporating P-glycoprotein-mediated eﬄux. *J Pharm Sci.* **102**(9):3145-3160.
289. Berben P, Brouwers J, Augustijns P (2018) Assessment of Passive Intestinal Permeability Using an Artificial Membrane Insert System. *J Pharm Sci.* **107**(1):250-256.
290. Heykants J, Van Peer A, Van de Velde V, Van Rooy P, Meuldermans W, Lavrijsen K, Woestenborghs R, Van Cutsem J, Cauwenbergh G (1989) The clinical pharmacokinetics of itraconazole: an overview. *Mycoses.* **32** Suppl 1:67-87.
291. Nožinić D, Milić A, Mikac L, Ralić J, Padovan J, Antolović R (2010) Assessment of Macrolide Transport Using PAMPA, Caco-2 and MDCKII-hMDR1 Assays. *Croat Chem Acta.* **83**(3):323-331.
292. Yoshikado T, Maeda K, Kusuhara H, Furihata KI, Sugiyama Y (2017) Quantitative Analyses of the Influence of Parameters Governing Rate-Determining Process of Hepatic Elimination of Drugs on the Magnitudes of Drug-Drug Interactions via Hepatic OATPs and

CYP3A Using Physiologically Based Pharmacokinetic Models. *J Pharm Sci.* **106**(9):2739-

2750.

293. McFarland JW, Berger CM, Froshauer SA, Hayashi SF, Hecker SJ, Jaynes BH, Jefson MR,

Kamicker BJ, Lipinski CA, Lundy KM, Reese CP, Vu CB (1997) Quantitative structure-activity

relationships among macrolide antibacterial agents: in vitro and in vivo potency against

Pasteurella multocida. *J Med Chem.* **40**(9):1340-1346.

294. Rodrigues AD, Roberts EM, Mulford DJ, Yao Y, Ouellet D (1997) Oxidative metabolism

of clarithromycin in the presence of human liver microsomes. Major role for the cytochrome

P4503A (CYP3A) subfamily. *Drug Metab Dispos.* **25**(5):623-630.

295. Hanke N, Frechen S, Moj D, Britz H, Eissing T, Wendl T, Lehr T (2018) PBPK Models

for CYP3A4 and P-gp DDI Prediction: A Modeling Network of Rifampicin, Itraconazole,

Clarithromycin, Midazolam, Alfentanil, and Digoxin. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.*

7(10):647-659.

296. Moj D, Hanke N, Britz H, Frechen S, Kanacher T, Wendl T, Haefeli WE, Lehr T (2017)

Clarithromycin, Midazolam, and Digoxin: Application of PBPK Modeling to Gain New

Insights into Drug-Drug Interactions and Co-medication Regimens. *AAPS J.* **19**(1):298-312.

297. Quinney SK, Zhang X, Lucksiri A, Gorski JC, Li L, Hall SD (2010) Physiologically based pharmacokinetic model of mechanism-based inhibition of CYP3A by clarithromycin. *Drug Metab Dispos.* **38**(2):241-248.
298. Poirier A, Cascais AC, Bader U, Portmann R, Brun ME, Walter I, Hillebrecht A, Ullah M, Funk C (2014) Calibration of in vitro multidrug resistance protein 1 substrate and inhibition assays as a basis to support the prediction of clinically relevant interactions in vivo. *Drug Metab Dispos.* **42**(9):1411-1422.
299. Watari R, Kakiki M, Yamasaki C, Ishida Y, Tateno C, Kuroda Y, Ishida S, Kusano K (2019) Prediction of Human Hepatic Clearance for Cytochrome P450 Substrates via a New Culture Method Using the Collagen Vitrigel Membrane Chamber and Fresh Hepatocytes Isolated from Liver Humanized Mice. *Biol Pharm Bull.* **42**(3):348-353.
300. Schiller C, Fröhlich CP, Giessmann T, Siegmund W, Mönnikes H, Hosten N, Weitschies W (2005) Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment Pharmacol Ther.* **22**(10):971-979.

本学位論文の審査は千葉大学大学院薬学研究院で指名された下記の審査委員により行われた。

主査 千葉大学大学院教授(薬学研究院) 薬学博士 伊藤晃成

副査 千葉大学大学院教授(薬学研究院) 薬学博士 上原知也

副査 千葉大学大学院教授(薬学研究院) 薬学博士 森部久仁一

本論文は、学術情報雑誌に掲載された次の報文を基礎とするものである。

Asano S, Yoshitomo A, Hozuki S, Sato H, Kazuki Y, Hisaka A (2021) A new intestinal model for analysis of drug absorption and interactions considering physiological translocation of contents. *Drug Metab Dispos.* **49**(7):581-591.