

## 論 文

## 2 コンパートメント－肝薬物貯槽－融合型 tube モデルを用いたフルボキサミン併用による薬物間相互作用のシミュレーションと in-vivo 酵素阻害定数の見積もり

伊 賀 勝 美

同志社女子大学  
薬学部・医療薬学科  
特別任用教授Simulation of Metabolic Drug-Drug Interactions  
Perpetrated by Fluvoxamine through the Use of Hybridized  
Two-Compartment Hepatic Drug-Pool-Based Tube  
Modeling and Estimation of In-Vivo Inhibition Constants

Katsumi Iga

Department of Clinical Pharmacy,  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Doshisha Women's College of Liberal Arts,  
Special appointment Professor

## Abstract

Co-administration of fluvoxamine (perpetrator) and ramelteon (victim, high-clearance CYP1A2 substrate) has been reported to show a 130-fold increase in the area under the blood-ramelteon-levels curve (AUCR), which is unpredictable by any method assuming the traditional  $ws-E_h$  model. Thus, in order to predict this drug-drug interaction (DDI), a mathematical method that allows for the simulation of dynamic changes in blood victim levels in response to metabolic inhibition by a perpetrator, without the use of any specialized tool, was derived from hybridized two-compartment hepatic drug-pool-based tube modeling.

Using this method, the ramelteon-victimized DDI was able to be simulated in comparison with other victim DDIs, assuming a consistent fluvoxamine dosing regimen. Despite great difference in the AUCRs, CYP1A2 or CYP2C19 substrate-victimized DDIs resulted in equivalent inhibition constants ( $K_i$ , around 3 nM) and net enzymatic inhibitory activities calculated by eliminating hepatic availability increases for the victims. Thus, the unusually large ramelteon DDI could be attributed to the  $E_h$  of ramelteon itself. This DDI risk could also be accurately predicted from  $K_i$  values estimated in the other CYP1A2 or CYP2C19-substrate interactions. Meanwhile, dynamic changes in the blood perpetrator levels were demonstrated to have a small effect on DDI, suggesting the usefulness of a tube-based static method for DDI prediction.

## はじめに

フルボキサミン (FLV, perpetrator) は CYP1A2 あるいは CYP2C19 の強力な阻害剤として知られていて、様々な CYP1A2 あるいは CYP2C19 基質 (victim) との併用投与で大きな相互作用を引き起こすことが報告されている<sup>1-11)</sup>。CYP1A2 の基質であるラメルテオン、メラトニンさらにはチザニジンとの併用で、その AUCR (victim の血中濃度曲線下面積の増加倍率) は、それぞれ 128<sup>1)</sup>、22.7<sup>2)</sup>、32.6<sup>3)</sup> となり、異常に大きい相互作用を示すが、一方同じ CYP1A2 基質であるテオフィリンの AUCR (3.3)<sup>7)</sup> はそれほど大きくはないことが報告されている。

それぞれの in-vivo 酵素阻害定数 ( $K_i$ ) を正確に見積もることができれば、どのような FLV の投与様式であっても、あるいはどのような Victim であっても、FLV が引き起こす相互作用を正確に予測することができると想像される。しかし現時点では、in-vivo  $K_i$  値の正確な予測は困難と思われる。ラメルテオンと FLV 間の相互作用における AUCR を静的予測「 $AUCR = A_i(\text{酵素阻害活性}) = 1 + I_u(\text{阻害剤の非結合形濃度})/K_i$ 」に従い、in-vitro unbound  $K_i$  値 (30nM) を用いて予測した報告がある<sup>12)</sup>。しかしその際に見積もられた  $I_u$  値「 $(128-1) \times 30 = 3,800\text{nM}$ 」は阻害剤の門脈血中非結合形濃度の最大値の約 10 倍、さらに血中非結合形濃度の最大値の約 200 倍に相当し、現時点では in-vivo と in-vitro  $K_i$  値間には 2~3 桁ほどの差が存在している。

阻害剤の代謝阻害に直接関係する濃度は、肝細胞内の非結合形濃度 ( $C_{h,c,u}$ ) で、そのような濃度は阻害剤の肝血中非結合形濃度 ( $pC_{h,b,u}$ ; victim および perpetrator に関係するパラメータについては語頭にそれぞれ v および p を付け、識別する) に等しいと考えられる。したがって相互作用の予測においては阻害剤の肝血中濃度 ( $pC_{hb}$ ) の見積もりが先決となるものの、FLV の肝における分布容積は異常に大きく、 $pC_{hb}$

の見積もりは困難とされていた。しかし最近、著者の研究により、時間依存的  $pC_{hb}(t)$  を正確に見積もることができるようになり、 $pC_{hb}$  の最大値は最大血中濃度 ( $pC_b$ ) の約 2.3 倍ほどであることが分かるようになった<sup>13)</sup>。しかしこのようなデータを用いても、 $K_i$  値の in-vivo と in-vitro 間の相違はそれほど大幅に縮小することは期待できない。なぜなら相互作用には単に  $A_i$  値だけではなく victim の肝抽出率 ( $vE_h$ ) が大きく影響していると思われるからである。

相互作用に関しては静的方法 (static method)<sup>14, 15)</sup> や動的方法 (dynamic method)<sup>16, 17)</sup> を用いたシミュレーション (SM) あるいは予測法が報告されている。静的方法では阻害剤の濃度は常に一定と仮定される。その方法は簡便ではあるが、AUCR が  $vE_h$  に無関係に決まる well-stirred モデルを使用している。したがって静的方法を用いた相互作用の予測に関する報告のほとんどは、この  $vE_h$  効果を無視する結果、 $A_i$  値を過大見積もりしている可能性が指摘される<sup>18)</sup>。

一方動的方法では生理学的 PK モデルが仮定され、阻害剤の動的な代謝阻害に応答した victim の血中濃度の動的変化を予測できるようになっていて、相互作用研究に関する規制当局のガイドライン中では、最も有力なものとして推奨されている<sup>19)</sup>。しかしこれらの方法においても well-stirred モデルを用いている点や血中濃度を計算するための特殊なコンピューターソフトや薬物によっては設定困難な多くの入力パラメータが使われていて、文献を読むだけでは、それらの相互作用の予測を第三者が容易に再現できない問題点が指摘される。

しかし後者の動的方法において、従来の 2 コンパートメントモデル (2-Comp) と肝薬物貯槽モデル (hepatic drug-pool: hdp) を融合させた tube モデル<sup>13)</sup> を用いれば、より正確な相互作用の予測が可能になると思われる。したがって本研究においては (i) 通常の PK データと相互作用の大きさを決める単一のパラメータ  $K_i$  値を使って、相互作用を容易に SM するこ

とのできる 2-Comp hdp 融合型 tube モデルを基本にして動的方法を導き出すこと、(ii) FLV により引き起こされる複数の victim の相互作用を SM し比較すること、さらには (iii) tube モデルを基本にした相互作用の静的予測法の可能性を調べることを目的とした。

## 方法と材料

### 2-Comp モデルによる $C_{b,iv}(t)$ および $C_{b,oral}(t)$ の計算方法

2-Comp モデル (図 1a) においては、静脈

内投与後 (投与量、 $D_{iv}$ ) の時間  $t$  における血中濃度  $C_{b,iv}(t)$  は次に示すような 2 つの濃度の項 (それぞれの項は単一の指数関数で示される) の和として示される。

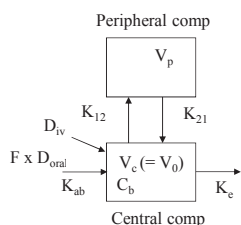
$$C_{b,iv}(t) = C_{bA,iv}(t) + C_{bB,iv}(t) \quad (1)$$

$$C_{bA,iv}(t) = \frac{D_{iv}}{V_A} \cdot \exp(-K_A \cdot t)$$

$$C_{bB,iv}(t) = \frac{D_{iv}}{V_B} \cdot \exp(-K_B \cdot t)$$

なお  $K_A$  および  $K_B$  は一次速度定数 (1/h)、ま

a  $C_{b,iv}$  and  $C_{b,oral}$  expressed by 2-Comp model



$$C_{b,iv}(t) = C_{bA,iv}(t) + C_{bB,iv}(t)$$

$$C_{bA,iv}(t) = \frac{D_{iv}}{V_A} \cdot \left( \frac{K_A}{K_A - K_{ab}} \right) \cdot \exp(-K_A \cdot t)$$

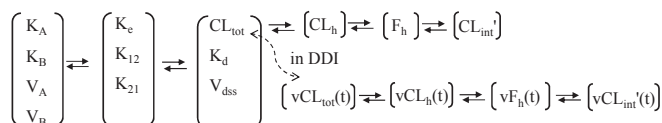
$$C_{bB,iv}(t) = \frac{D_{iv}}{V_B} \cdot \left( \frac{K_B}{K_B - K_{ab}} \right) \cdot \exp(-K_B \cdot t)$$

$$C_{b,oral}(t) = C_{bA,oral}(t) + C_{bB,oral}(t)$$

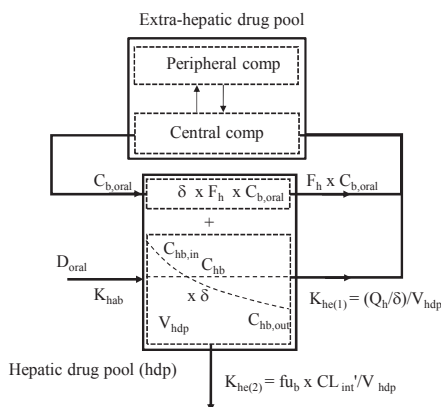
$$C_{bA,oral}(t) = \frac{F \cdot D_{oral}}{V_A} \cdot \left( \frac{K_A}{K_A - K_{ab}} \right) \cdot [\exp(-K_A \cdot t) - \exp(-K_{ab} \cdot t)]$$

$$C_{bB,oral}(t) = \frac{F \cdot D_{oral}}{V_B} \cdot \left( \frac{K_B}{K_B - K_{ab}} \right) \cdot [\exp(-K_B \cdot t) - \exp(-K_{ab} \cdot t)]$$

b One-to-one relationships between PK parameters



c  $C_{hb}$  expressed by 2-Comp-hdp tube model



$$C_{hb,oral}(t) = \delta \times F_h \times C_{b,oral}(t)$$

$$+ \left( \frac{D_{oral}}{V_{hdp}} \right) \times \left( \frac{K_{hab}}{K_{hab} - K_{he}} \right) \times [\exp(-K_{he} \cdot t) - \exp(-K_{hab} \cdot t)]$$

where

$$F_h = \frac{Q_h}{Q_h + \delta \cdot fu_b \cdot CL_{int}'}$$

$$= \frac{K_{he(1)}}{K_{he(1)} + K_{he(2)}} = \frac{K_{he(1)}}{K_{he}}$$

$$\delta = \left( 1 - \frac{1}{F_h} \right) \times \left( \frac{1}{\ln F_h} \right)$$

図 1 2 コンパートメント - 肝薬貯槽を基本とした tube モデル (2-Comp-hdp tube モデル) における血中薬物濃度 ( $C_b$ ) および肝血中薬物濃度 ( $C_{hb}$ )。

た  $V_A$  および  $V_B$  は容積に関する定数 (L) を示す。

また経口投与後 (投与量:  $D_{oral}$ ) の時間  $t$  における血中濃度  $C_{b,oral}(t)$  についても同様に 2 つの濃度の項の和として示される。

$$C_{b,oral}(t) = C_{bA,oral}(t) + C_{bB,oral}(t) \quad (2)$$

$$C_{bA,oral}(t) = \frac{F \cdot D_{oral}}{V_A} \cdot \left( \frac{K_A}{K_A - K_{ab}} \right) \cdot [\exp(-K_A \cdot t) - \exp(-K_{ab} \cdot t)]$$

$$C_{bB,oral}(t) = \frac{F \cdot D_{oral}}{V_B} \cdot \left( \frac{K_B}{K_B - K_{ab}} \right) \cdot [\exp(-K_B \cdot t) - \exp(-K_{ab} \cdot t)]$$

なお  $F$  および  $K_{ab}$  はそれぞれバイオアベイラビリティおよび一次吸収速度定数を示す。さらに図 1b に示すように、 $K_A$ 、 $K_B$ 、 $V_A$  および  $V_B$  は一次消失速度定数 ( $K_e$ )、分布と分泌に関する一次速度定数 ( $K_{12}$  および  $K_{21}$ ) および中央コンパートメントの体積 ( $V_c$  or  $V_0$ ) と関連し、またさらに全身クリアランス ( $CL_{tot}$ )、みかけの分布速度に関する一次速度定数  $K_d$  ( $= K_{12} + K_{21}$ ) および定常状態下の分布容積 ( $V_{dss}$ ) とも関連する。

$$K_A + K_B = K_{12} + K_{21} + K_e$$

$$K_A \cdot K_B = K_{21} \cdot K_e$$

$$\frac{1}{V_A} + \frac{1}{V_B} = \frac{1}{V_0}$$

$$\frac{1}{V_A \cdot K_A} + \frac{1}{V_B \cdot K_B} = \frac{1}{V_0 \cdot K_e}$$

以上の関係から、さらに  $K_A$ 、 $K_B$ 、 $V_A$  および  $V_B$  は  $CL_{tot}$ 、 $K_d$ 、 $V_{dss}$  および  $V_0$  の関数として算出することができる。

$$K_A, K_B = \frac{1}{2} \cdot \left[ K_d + \frac{CL_{tot}}{V_0} \right] \pm \frac{1}{2} \cdot \sqrt{\left[ K_d + \frac{CL_{tot}}{V_0} \right]^2 - \frac{4 \cdot K_d \cdot CL_{tot}}{V_{dss}}} \quad (3)$$

$$\frac{1}{V_A} = \frac{1}{(K_A - K_B)} \cdot \left( \frac{K_A}{V_0} - \frac{K_d}{V_{dss}} \right) \quad (4)$$

$$\frac{1}{V_B} = \frac{1}{(K_B - K_A)} \cdot \left( \frac{K_B}{V_0} - \frac{K_d}{V_{dss}} \right) \quad (5)$$

したがって、 $C_{b,iv}(t)$  および  $C_{b,oral}(t)$  は、通常の PK パラメータである  $F$ 、 $CL_{tot}$ 、 $V_{dss}$ 、 $V_0$  ( $= D_{iv}/C_0$ )、さらには  $K_d$  および  $K_{ab}$  (いずれも 0.1 ~ 2/h の間で調節) を使って計算することができる。

### tube モデルを仮定した肝抽出機構

tube モデルによると、ほとんどの肝消失型薬物 (FLV およびタクリンは例外) の  $F_h$ 、肝クリアランス ( $CL_h$ ) および  $CL_{tot}$  は、以下のように、みかけの肝固有クリアランスの関数として示される ( $CL_{int}' = \alpha \times CL_{int}$ ;  $\alpha$ 、肝血中非結合形薬物濃度に対する肝細胞質中非結合形薬物濃度の比) で決まる。

$$F_h = \exp\left(-\frac{f_{ub} \cdot CL_{int}'}{Q_h}\right) \quad (6)$$

あるいは

$$CL_{int}' = -\frac{Q_h \cdot \ln[F_h]}{f_{ub}} \quad (7)$$

$$CL_h = Q_h \cdot (1 - F_h) \quad (8)$$

$$CL_{tot} = \frac{CL_h}{1 - A_e} = \frac{Q_h \cdot (1 - F_h)}{1 - A_e} \quad (9)$$

なお  $A_e$  ( $\leq 1$ ) は未変化薬物の尿中排泄率を示す。薬物の経口投与後の吸収が完全であれば、 $F_h$  は  $F$  と等しい。それゆえに阻害剤が存在しない場合の比較標準となる  $vCL_{int}'$  は  $vA_e$ 、 $vCL_{tot}$ 、 $vF$  および  $vf_{ub}$  の実測値を使って算出することができる。

しかし以前の報告によれば<sup>13)</sup>、薬物が FLV やタクリン (本報告では victim の一つとして

取り上げられる) のように肝に特異的に分布する場合には、式 (10) に示す  $f_d$  が 1 よりも小さく、 $CL_{tot}$  および  $F_h$  は  $f_d$  ( $<1$ ) (静脈内投与後に肝以外の薬物分布組織に直接に送達される正味の薬物の割合) を使って、以下のように示される。

$$CL_{tot} = \frac{Div}{AUC(Cb)_{iv}} = \frac{Q_h \cdot (1-F)}{(1-A_e) \cdot f_d} \quad (10)$$

$$F_h = \frac{F \cdot f_d}{1-F+F \cdot f_d} \quad (11)$$

このような場合、 $vCL_{int}'$  は  $f_d$  ( $F_h < F$ ) から求めた  $vF_h$  を使って式 (6) から計算することが好ましい。

#### $A_i$ の関数としての AUCR

薬物間相互作用が起こる場合、 $vCL_{int}'$  したがって  $A_i$  は経時的に変化する阻害剤の濃度の影響を受けて、経時的に変化する。その場合、 $A_i(t)$  は式 (7) に基づいて、式 (12) のように示される。

$$\begin{aligned} A_i(t) &= \frac{vCL_{int}'}{vCL_{int}'(t)} = \frac{\ln[vF_h]}{\ln[vF_h(t)]} = 1 + \frac{pChc, u(t)}{K_i} \\ &= 1 + \frac{\alpha \times pChb, u(t)}{K_i} = 1 + \frac{pChb, u(t)}{\text{in-vivo } K_i} \end{aligned} \quad (12)$$

$$\text{in-vivo } K_i = \left(\frac{1}{\alpha}\right) \times \text{in-vitro } K_i$$

なお時間依存的パラメータは“(t)”を用いて示される。

さらに

$$vF_h(t) = vF_h \frac{1}{A_i(t)} = \exp\left(\frac{\ln[vF_h]}{A_i(t)}\right) \quad (13)$$

$$vCL_{tot}(t) = \frac{Q_h \cdot [1 - vF_h(t)]}{(1 - vA_e)} \quad (14)$$

したがって、式 (13) さらに式 (14) 「 $A_i(t)$  それゆえ  $pChb, u(t)$  の関数として示される」は本

報告の動的予測法の基本に組み込まれ、相互作用を SM する際に使われる。

一方、 $A_i(t)$  の平均値、 $A_i$  は静的予測法に組み込むことにより、AUCR および  $vF_h$  の関数として表すことができる。

まず AUCR は式 (15) のように示される。

$$AUCR = \frac{vAUC(+)}{vAUC} = \frac{vF_h(+)}{vF_h} \times \frac{vCL_{tot}}{vCL_{tot}(+)} \quad (15)$$

そのとき  $A_i$  は式 (13) から式 (16) のように示される。

$$A_i = \frac{\ln[vF_h]}{\ln[vF_h(+)]} \quad (16)$$

したがって

$$\left(\frac{vF_h(+)}{vF_h}\right) = \left(\frac{1}{vF_h}\right) \cdot \exp\left(\frac{\ln[vF_h]}{A_i}\right) \quad (17)$$

さらに式 (15) と (17) から

$$\begin{aligned} AUCR &= \frac{vAUC(+)}{vAUC} = \frac{vF_h(+)}{vF_h} \times \frac{vCL_{tot}}{vCL_{tot}(+)} \\ &= \frac{vF_h(+)}{vF_h} \times \left[ \frac{vCL_h}{(1 - vA_e) \cdot vCL_h(+) + vA_e \cdot vCL_h} \right] \\ &= \exp\left(\frac{\ln[vF_h]}{A_i}\right) \times \left[ (1 - vA_e) \cdot \left(\frac{vF_h}{1 - vF_h}\right) \right. \\ &\quad \left. \cdot \left\{ 1 - \exp\left(\frac{\ln[vF_h]}{A_i}\right) \right\} + vA_e \cdot vF_h \right]^{-1} \end{aligned} \quad (18)$$

あるいは  $vA_e$  がゼロの場合

$$AUCR = \left(\frac{1 - vF_h}{vF_h}\right) \cdot \left[ \exp\left(\frac{-\ln[vF_h]}{A_i}\right) - 1 \right]^{-1}$$

なお (+) は阻害剤を併用した場合を示す。  
したがって

$$A_i = \frac{\text{Ln}[vF_h]}{\text{Ln}[AUCR \times (1 - vA_e \cdot vF_h)] - \text{Ln}[AUCR \times (1 - vA_e) - 1 + vF_h^{-1}]} \quad (19)$$

あるいは  $vA_e$  がゼロの場合

$$A_i = \frac{\text{Ln}[vF_h]}{\text{Ln}[AUCR] - \text{Ln}[AUCR - 1 + vF_h^{-1}]}$$

したがって  $A_i$  は AUCR、 $vA_e$  および  $vF_h$  の実測値を使って算出することができる。またさらに、阻害剤の肝血中非結合形濃度 (mean  $pC_{hb,u}$ ) は (阻害剤の経口投与後の AUC と  $p\delta$  の積を反復投与における投与間隔 ( $\tau$ ) で除した値に等しい<sup>13)</sup>。

$$\text{mean } pC_{hb,u} = \frac{AUC(pC_b) \times p\delta}{\tau} \quad (20)$$

したがって、静的方法で見積もられる  $K_i$  値は、下記のようにして、算出することができる。

$$K_i(\text{static}) = \frac{AUC(pC_b) \times p\delta}{(A_i - 1) \times \tau} \quad (21)$$

ところで、well-stirred モデルを仮定した場合の  $A_i$  「 $A_i(\text{ws})$ 」は、以下のように導かれる。

$$A_i(\text{ws}) = \frac{[1 - vA_e \cdot vF_h] \times AUCR}{1 - vA_e \cdot vF_h \cdot AUCR}$$

なお  $A_e$  がゼロである場合、 $A_i(\text{ws})$  は AUCR に等しい。

したがって、 $A_i$  に対する  $A_i(\text{ws})$  の比から well-stirred モデルを用いて見積もられる  $A_i$  値の過大評価の程度を知ることができる。

$$\frac{A_i(\text{ws})}{A_i} = AUCR \times \frac{[1 - vA_e \cdot vF_h]}{1 - vA_e \cdot vF_h \cdot AUCR} \times \frac{\text{Ln}[vF_h(+)]}{\text{Ln}[vF_h]} \quad (22)$$

### $A_i(t)$ の決定因子としての $pC_{hb,u}(t)$

$pC_{hb,u}(t)$  「 $= pfu_b \times pC_{hb,oral}(t)$ 」は上述のように  $A_i(t)$  の決定因子である。著者の報告に従えば<sup>13)</sup>、 $pC_{hb,oral}(t)$  はよく攪拌 (well-stirred) された肝薬物貯槽 (hdp) 中の平均的な濃度を示す。しかしこの well-stirred モデルは、以下の点で一般に用いられる well-stirred モデルとは区別される (図 1c)。すなわち hdp においては薬物の濃度勾配が存在し、以下に示す関係が成り立つ。

$$C_{hb, out} = C_{hb, in} \times F_h \quad (23)$$

$$C_{hb} = C_{hb, out} \times \delta \quad (\delta > 1) \quad (24)$$

なお  $\delta$  ( $>1$ ) は  $C_{hb}$  を決定する係数で、tube モデルを基本にすると以下のように示される。

$$\delta = \left(1 - \frac{1}{F_h}\right) \cdot \left(\frac{1}{\text{Ln}F_h}\right) \quad (25)$$

さらに  $C_{hb,oral}(t)$  は経口投与後に全身循環から肝に流入した薬物由来の濃度「 $\delta \times F_h \times C_{b,oral}(t)$ 」と消化管から吸収によって肝に流入した薬物由来の濃度の和として近似的に示され、後者の濃度は通常の 1-コンパートメントモデルから算出することができる。したがって  $C_{hb,oral}(t)$  は以下のように示される。

$$C_{hb, oral}(t) = F_h \times \delta \times C_{b, oral}(t) + \left(\frac{D_{oral}}{V_{hdp}}\right) \cdot \left(\frac{K_{hab}}{K_{hab} - K_{he}}\right) \cdot [\exp(-K_{he} \cdot t) - \exp(-K_{hab} \cdot t)] \quad (26)$$

なお  $K_{hab}$  および  $K_{he}$  はそれぞれ肝への一次吸収速度定数および肝における一次消失速度定数に相当し、 $K_{he(1)}$  と  $K_{he(2)}$  の和として示される。また  $K_{he(1)}$  および  $K_{he(2)}$  は下記のように、hdp の容積である  $V_{hdp}$  「 $K_{ph}$  (血液に対する肝組織中濃度の比)」と実際の肝臓の容積 ( $V_h = 0.02$

L/kg) の積に等しい」の関数として示される。

$$F_h = \frac{K_{he}(1)}{K_{he}}$$

$$K_{he}(1) = \frac{Q_h}{\delta \cdot V_{hdp}}$$

$$K_{he}(2) = \frac{fub \times CL_{int}'}{V_{hdp}}$$

したがって  $C_{hb,oral}(t)$  は  $K_{hab}$  および  $K_{he}$  を知るにより算出することができる。一般には  $K_{hab}$  はどのような薬物においても 1.5/h 近辺の値と考えられるが、 $K_{he}$  は  $K_{ph}$  に依存するため薬物により異なる。著者の報告によれば<sup>13)</sup>、 $K_{ph}$  は 3-Comp PBPK モデルを使って、さらに FLV の  $K_{ph}$  を 664 として、静脈内および経口投与後の同時 SM を行うことによって見積もることができる。しかしこの値は、今回の報告における 2-Comp hdp tube モデルを基本にして、hdp からの薬物の累積放出速度「Rate (1)」

と 2-Comp モデルによる静脈内投与と経口投与後の血中濃度の同時 SM から得られる累積的吸収速度「Rate (2)」に一致するように  $K_{ph}$  を選ぶことにより、見積もることができる。

$$\text{Rate (1)} = \left( \frac{Q_h}{V_{hdp}} \right) \cdot \left( \frac{K_{hab}}{K_{hab} - K_{he}} \right) \cdot \left[ \frac{1 - \exp(-K_{he} \cdot t)}{K_{he}} - \frac{1 - \exp(-K_{hab} \cdot t)}{K_{hab}} \right] \quad (27)$$

$$\text{Rate (2)} = F_b \times [1 - \exp(-K_{ab} \cdot t)] \quad (28)$$

### $vC_{b,iv}(t)$ および $vC_{b,oral}(t)$ の段階的計算

$vCL_{int}'(t)$  は短い時間「 $t = t_j$  ( $j = 0, 1, 2, 3, \dots$ )」において段階的に変化する場合、 $vK_A(t)$  と  $vK_B(t)$  は  $t_j < t \leq t_{j+1}$  において、 $vK_A(t_j)$  および  $vK_B(t_j)$  (いずれも一定の値) に近似できる。その原理については図 2「 $vC_{bA,iv}(t)$  および  $vC_{bA,oral}(t)$  に焦点を当てて図示」に示す通りである。したがって、阻害剤が併用される場合の、

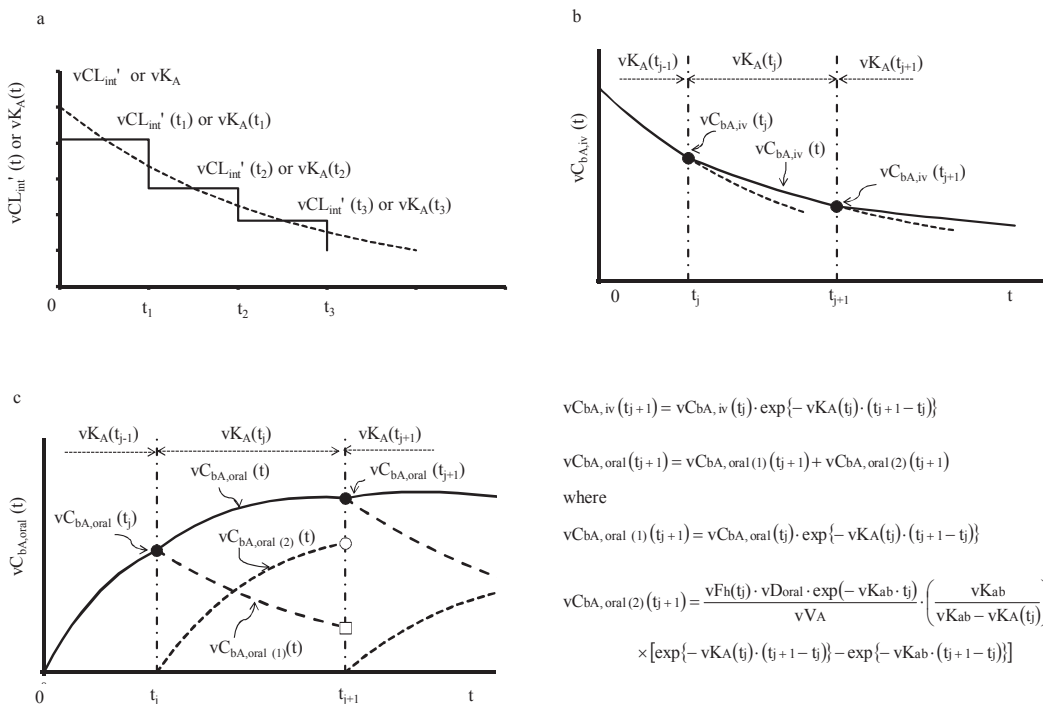


図 2  $vCL_{int}'(t)$  あるいは  $vK_A(t)$  が短時間に段階的に変化すると仮定した場合の 2-Comp-hdp tube モデルを使った  $vC_{b,iv}(t)$  および  $vC_{b,oral}(t)$  の計算。(a)  $vCL_{int}'(t)$  あるいは  $K_A(t)$ 。(b)  $vC_{bA,iv}(t)$ 。(c)  $vC_{bA,oral}(t)$ 。



静脈内投与後の血中 **victim** 濃度は以下のような帰納式を用いて、逐次的に求めることができる。

$t = t_1$  においては

$$vCb, iv(t_1) = vCbA, iv(t_1) + vCbB, iv(t_1)$$

なお

$$vCbA, iv(t_1) = \left( \frac{vD_{iv}}{vV_A} \right) \cdot \exp(-vK_A \cdot t_1)$$

$$vCbB, iv(t_1) = \left( \frac{vD_{iv}}{vV_B} \right) \cdot \exp(-vK_B \cdot t_1)$$

$t = t_2$  においては

$$vCb, iv(t_2) = vCbA, iv(t_2) + vCbB, iv(t_2)$$

なお

$$vCbA, iv(t_2) = vCbA, iv(t_1) \cdot \exp\{-vK_A(t_1) \cdot (t_2 - t_1)\}$$

$$vCbB, iv(t_2) = vCbB, iv(t_1) \cdot \exp\{-vK_B(t_1) \cdot (t_2 - t_1)\}$$

$t = t_3, t_4, \dots, t_{j+1}$  においては

$$vCb, iv(t_{j+1}) = vCbA, iv(t_{j+1}) + vCbB, iv(t_{j+1}) \quad (29)$$

なお

$$vCbA, iv(t_{j+1}) = vCbA, iv(t_j) \cdot \exp\{-vK_A(t_j) \cdot (t_{j+1} - t_j)\} \quad (30)$$

$$vCbB, iv(t_{j+1}) = vCbB, iv(t_j) \cdot \exp\{-vK_B(t_j) \cdot (t_{j+1} - t_j)\} \quad (31)$$

さらに阻害剤併用時の経口投与後の血中 **victim** 濃度についても同様に計算することができる。

$t = t_1$  においては

$$vCb, oral(t_1) = vCbA, oral(t_1) + vCbB, oral(t_1)$$

なお

$$vCbA, oral(t_1) = \frac{vF_h \cdot vD_{oral}}{vV_A} \cdot \left( \frac{vK_{ab}}{vK_{ab} - vK_A} \right) \times [\exp\{-vK_A \cdot t_1\} - \exp\{-vK_{ab} \cdot t_1\}]$$

$$vCbB, oral(t_1) = \frac{vF_h \cdot vD_{oral}}{vV_B} \cdot \left( \frac{vK_{ab}}{vK_{ab} - vK_B} \right) \times [\exp\{-vK_B \cdot t_1\} - \exp\{-vK_{ab} \cdot t_1\}]$$

$t = t_2$  においては

$$vCb, oral(t_2) = vCbA, oral(t_2) + vCbB, oral(t_2)$$

なお

$$vCbA, oral(t_2) = vCbA, oral(t_1) \cdot \exp\{-vK_A(t_1) \cdot (t_2 - t_1)\} + \frac{vF_h(t_1) \cdot vD_{oral} \cdot \exp(-vK_{ab} \cdot t_1)}{vV_A} \cdot \left( \frac{vK_{ab}}{vK_{ab} - vK_A(t_1)} \right) \times [\exp\{-vK_A(t_1) \cdot (t_2 - t_1)\} - \exp\{-vK_{ab} \cdot (t_2 - t_1)\}]$$

$$vCbB, oral(t_2) = vCbB, oral(t_1) \cdot \exp\{-vK_B(t_1) \cdot (t_2 - t_1)\} + \frac{vF_h(t_1) \cdot vD_{oral} \cdot \exp(-vK_{ab} \cdot t_1)}{vV_B} \cdot \left( \frac{vK_{ab}}{vK_{ab} - vK_B(t_1)} \right) \times [\exp\{-vK_B(t_1) \cdot (t_2 - t_1)\} - \exp\{-vK_{ab} \cdot (t_2 - t_1)\}]$$

$t = t_3, t_4, \dots, t_{j+1}$  においては

$$vCb, oral(t_{j+1}) = vCbA, oral(t_{j+1}) + vCbB, oral(t_{j+1}) \quad (32)$$

なお

$$vCbA, oral(t_{j+1}) = vCbA, oral(t_j) \cdot \exp\{-vK_A(t_j) \cdot (t_{j+1} - t_j)\} + \frac{vF_h(t_j) \cdot vD_{oral} \cdot \exp(-vK_{ab} \cdot t_j)}{vV_A} \cdot \left( \frac{vK_{ab}}{vK_{ab} - vK_A(t_j)} \right) \times [\exp\{-vK_A(t_j) \cdot (t_{j+1} - t_j)\} - \exp\{-vK_{ab} \cdot (t_{j+1} - t_j)\}] \quad (33)$$



$$\begin{aligned}
vCbB, oral(t_j + 1) = & vCbB, oral(t_j) \cdot \exp\{-vKB(t_j) \cdot (t_j + 1 - t_j)\} \\
& + \frac{vFh(t_j) \cdot vDoral \cdot \exp(-vKab \cdot t_j)}{vVB} \cdot \left( \frac{vKab}{vKab - vKB(t_j)} \right) \\
& \times [\exp\{-vKB(t_j) \cdot (t_j + 1 - t_j)\} - \exp\{-vKab \cdot (t_j + 1 - t_j)\}]
\end{aligned}
\quad (34)$$

### 相互作用の SM に用いた血中濃度および PK データ

11 種類の薬物 (victim) と FLV との併用投与で見られた相互作用 (victim の血中濃度の上昇) (表 1) について、本報告の方法を用いて、SM を行った。

FLV の血中濃度のデータはデプロメル錠のインタビューフォーム (Interview form for Depromel Tablets; accessed October 2014, at [www.info.pmda.go.jp/go/.../1/780009\\_1179039\\_F1028\\_1\\_1F](http://www.info.pmda.go.jp/go/.../1/780009_1179039_F1028_1_1F)) から、またラメルテオンの血中濃度のデータは、ロゼレムの FDA における承認申請資料「Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review(s) in Label and Approval History for Rozerem (NDA no. 021782; accessed April 2006, at [www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=search.label\\_approvalhistory](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=search.label_approvalhistory))」から入手した。メフェニトイン (PK データ以外に血中濃度のデータは報

告されていない) 以外のその他の Victim の血中濃度のデータは表 1 に記載した引用文献から入手した。血中濃度の数値はグラフより読み取った。

### 相互作用の SM における計算手順

すべての計算は Microsoft Excel (Microsoft Office 2007) を用いて行った。 $Q_h$  および  $R_b$  (全血 / 血漿濃度比) はそれぞれ 90L/h および 1 と設定した。表 2 に示した Input および Output パラメータは以下に示す手順で計算した。まず  $vD(\text{free})$  については表 1 に示される実際の投与量を遊離体当たりの投与量に換算することにより得た。

テオフィリン (0.18) およびオランザピン (0.07) 以外の薬物の  $vA_e$  は実際のデータに基づきゼロとした。経口クリアランス ( $vCL/F$ : 本 SM における最重要パラメータ) については、実際の経口投与後の血中濃度の  $AUC_{\text{oral}}$  を用いて式 (35) から算出した。

$$vCL/F = \frac{vDoral}{vAUC_{\text{oral}}} \quad (35)$$

一方、 $vF$  については経口投与後の吸収率は 100% であると仮定し、式 (10) と式 (34) と

表 1 11 種類の薬物 (victim) と FLV の間で生じた相互作用のリスト

Victims	Dose (vD)	Affected enzymes <sup>a</sup>	FLV dosing regimen (FDR)			DDI magnitude		
			Pre-dosings	Daily dose (n × pD)	Administration timing	AUCR	C <sub>max</sub> R	
Ramelteon	16mg	CYP1A2>CYP2C19	BID 3days	2 × 100mg	Concomitant	128	45.1	Ref 1
Melatonin	5mg	CYP1A2>CYP2C19	No dosing	1 × 50mg	3h before victim	22.7	11.6	Ref 2
Tizanidine	4mg	CYP1A2>CYP2C19	QD 3days	1 × 100mg	1h before victim	32.6	12.1	Ref 3
Tacrine	40mg	CYP1A2>CYP3A4	QD 5days	1 × 100mg	Concomitant	8.3	5.6	Ref 4
Mephenytoin	100mg	CYP2C19	QD 9days	1 × 87.5mg	8h after victim	9.9	2.42	Ref 5
Caffeine	250mg	CYP1A2	BID 1day	2 × 100mg	1.5h before and 8h after victim	13.7	1.4	Ref 6
Theophylline	300mg	CYP1A2	QD 5days	1 × 100mg	Concomitant	3.3	1.3	Ref 7
Lansoprazole	40mg	CYP2C19>CYP3A4	BID 5days	2 × 25mg	Concomitant	3.6	1.5	Ref 8
Omeprazole	40mg	CYP2C19>CYP3A4	BID 5days	2 × 25mg	Concomitant	5.3	3.5	Ref 9
Zolpidem	5mg	CYP3A4	QD 5days	1 × 100mg	Concomitant	2.56	1.19	Ref 10
Olanzapine	40mg	ND <sup>b</sup>	QD 5days	1 × 100mg	Concomitant	1.7	1.45	Ref 11

<sup>a</sup> K<sub>s</sub> of FLV toward CYP1A2, CYP2C19 and CYP3A4 were reportedly 17.5nM, 175nM, and 14000nM, respectively (Ref 12).

<sup>b</sup> Not determined.

表 2 11 種類の薬物 (victim) と FLV の間で生じた相互作用の SM 用に用いた PK パラメータと最適 SM から得られる AUCR の値あるいは同一 FDR (BID; pD = 100mg; 同時投与) を仮定して得られる AUCR の値

Parameters	Unit		Ramelteon	Melatonin	Tizanidine	Tacrine	Mephenytion	Caffeine	Theophylline	Lansoprazole	Omeprazole	Zolpidem	Olanzapine
vD(free)	mg	Input	16	5	3.5	33.8	100	250	257	40	40	3.5	40
vA <sub>e</sub>		Input	0	0	0	0	0	0	0.18	0	0	0	0.07
vCL/F <sup>a</sup>	L/h	Input	2100	872	538	750	165	6.3	5.24	5.3	25.9	15.2	16.4
vf <sub>d</sub> <sup>b</sup>		Input	1	1	1	0.48	1	1	1	1	1	1	1
vV <sub>0</sub>	L	Input	30	100	80	330	35	25	36	6	5	28	300
vV <sub>dss</sub>	L	Input	60	250	100	380	120	37	60	10	15	60	480
vK <sub>d</sub>	1/h	Input	0.7	0.4	0.5	0.8	2	1.5	0.1	0.4	0.4	0.5	0.4
vK <sub>ab</sub>	1/h	Input	2	1.2	1	2	1.2	1.5	1.5	0.8	0.8	1.2	1.2
vT <sub>0</sub>	h	Input	0	0	0	0	0	0	0	0.5	1.2	0	0
mean pC <sub>50,0.5</sub> <sup>c</sup>	nM	Input	38.2	19.1	19.1	19.1	16.7	38.2	19.2	9.6	9.6	19.1	19.1
vF <sup>d</sup>		Output	0.04	0.09	0.13	0.2	0.35	0.93	0.95	0.94	0.77	0.85	0.85
vF (observed)			0.017	0.13	0.2								
vCL <sub>tot</sub> <sup>e</sup>	L/h	Output	86	82	78	150	58	6.3	5.15	5.2	20.7	13.5	14
vMRT <sub>iv</sub>	h	Output	0.7	3	1.3	2.5	2.1	5.9	11.7	1.9	0.7	4.4	34.3
vF <sub>d</sub>		Output	0.04	0.09	0.13	0.107	0.35	0.93	0.95	0.94	0.77	0.85	0.85
vd		Output	7.43	4.18	3.27	3.73	1.76	1.04	1.02	1.03	1.14	1.09	1.09
vK <sub>d</sub>	1/h	Output	2.87	0.82	0.98	0.45	1.66	0.25	0.14	0.87	4.14	0.48	0.05
vK <sub>A</sub>	1/h	Output	3.26	1.1	1.13	0.91	3.37	1.58	0.2	1.07	4.41	0.85	0.275
vK <sub>B</sub>	1/h	Output	0.31	0.12	0.35	0.35	0.29	0.17	0.043	0.19	0.13	0.13	0.021
vV <sub>A</sub>	L	Output	30	104	86	871	39	56	40	6	5	33	544
vV <sub>B</sub>	L	Output	2100	2400	1140	531	364	45	331	114	2580	199	668
AUCR(SM) <sup>f</sup>		Output	128	22.7	32.6	8.3	9.9	9.94	3.3	3.6	5.3	2.57	1.7
AUCR(SM) <sup>g</sup>		Output	ditto	51.1	43.6	14.5	23.4	4.8	4	8.29	15.8	3.27	1.84
A <sub>i</sub> <sup>h</sup>		Output	19.1	13.6	15.1	4.92	13.8	4.67	10.4	8.08	14	3.1	1.87
In-vitro K <sub>i</sub>	nM		150	50	150	200	80	80	130				
or IC50/2			Ref 12	Ref 20	Ref 21	Ref 22	Ref 5	Ref 23	Ref 24				

<sup>a</sup> Calculated from Eq. (35).<sup>b</sup> Assumed to be unity except for tacrine. f<sub>d</sub> for tacrine was calculated from Eq. (10) using the actual data of vCL<sub>tot</sub> and F.<sup>c</sup> Calculated from Eq. (20).<sup>d</sup> Calculated from Eq. (36) assuming f<sub>d</sub> = 1 except for tacrine (the actual data).<sup>e</sup> Calculated from Eq. (10) assuming f<sub>d</sub> = 1 except for tacrine.<sup>f</sup> AUCR determined by the best-fitting SM of the reported interaction.<sup>g</sup> AUCR predicted by the SM of a virtual interaction in the consistent FDR.<sup>h</sup> Calculated from Eq. (19).

を組み合わせて下記の式から計算した。

$$vF = \frac{Q_h}{(1 - vA_e) \cdot vfd \cdot v(CL/F) + Q_h} \quad (36)$$

なお式 (36) においては、肝に特異的に分布するタクリン (フルボキサミンも同様) 以外は vf<sub>d</sub> は 1 とした。したがってタクリン以外のすべての victim の vF および vF<sub>h</sub> (= vF) は、式 (36) を用いて算出し、さらに vCL<sub>tot</sub> については、それらの値を用いて式 (10) から算出した。このようにして求めた vF および vCL<sub>tot</sub> 値は報告値とは極端に異ならないことを確認した。しかしタクリンについては、まず vf<sub>d</sub> (= 0.48) を、vCL<sub>tot</sub> および vF の実測値 (0.2) を式 (10)

に代入し求め、その値を用いて、F<sub>h</sub> 値を式 (11) から計算で求めた。vd はそうして求めた vF<sub>h</sub> を式 (25) に代入することにより求めた。一方、vK<sub>A</sub>、vK<sub>B</sub>、vV<sub>A</sub> および vV<sub>B</sub> は上述の方法で求めた CL<sub>tot</sub> とさらに任意に設定した vV<sub>0</sub>、vV<sub>dss</sub> (> vV<sub>0</sub>) および vK<sub>d</sub> (0.1/h ~ 1.5/h) を使って式 (3)、(4) および (5) から算出した。なお vV<sub>0</sub> および vV<sub>dss</sub> の設定に際しては文献値を参考にした。また vK<sub>ab</sub> (0.1 ~ 2/h) についても任意に設定した。また T<sub>0</sub> (吸収におけるラグタイム) については、ランソプラゾール (T<sub>0</sub> = 0.5) およびオメプラゾール (T<sub>0</sub> = 1.2h) 以外のすべての victim において、ゼロとした。

vC<sub>b,iv</sub>(t<sub>j</sub>) および vC<sub>b,oral</sub>(t<sub>j</sub>) の逐次計算について、0 ~ 0.1h における時間間隔 (Δt) は 0.01h、

0.1~0.7h における  $\Delta t$  は 0.02h、0.7~24h における  $\Delta t$  は 0.1h、24~120h における  $\Delta t$  は 1h とした。まず最初に、相互作用試験の条件に沿った反復投与時の  $pC_{hb,oral}(t_j)$  を計算した。次に  $t_j = t_1 \sim t_j$  における  $A_i(t_j)$  は式 (12) から、 $vF_h(t_j)$  は式 (13) から、 $vCL_{tot}(t_j)$  は式 (14) から、 $vK_A(t_j)$  および  $vK_B(t_j)$  は式 (3) から、 $vC_{b,iv}(t_j)$  は式 (29) から、さらに  $vC_{b,oral}(t_j)$  は式 (32) から逐次的に計算した。 $AUC[vC_b(+)]$  は台形法に従って計算した。その際の  $AUC(T-\infty)$  は  $C_{bA}(T)/K_A + C_{bB}(T)/K_B$  に等しいと仮定した。 $AUCR(SM)$  はそうして求めた  $AUC$  を使って計算した。

## 結果

### FLV の経口投与後の $pC_b$ および $pC_{hb}$ の SM

本報告の 2-Comp hdp tube モデル法により、FLV の静脈内投与および経口投与後 ( $pD = 40mg$ ,  $pD(free) = 36.6mg$ ) の  $pC_{b,iv}(t)$  および  $pC_{b,oral}(t)$  について、両投与経路での血中濃度時間推移が実測値と合致するような同時 SM を行い、以前に報告した 3-Comp PBPK モデル法の結果と比較した。その結果  $pK_{ab} = 0.18/h$  において、血中濃度は実際の血中濃度とよく一致し、その一致具合は、3-Comp PBPK モデルとほぼ同じとなった (図 3a および 3b)。一般的薬物に比べて  $pK_{ab}$  は極端に小さい値を示したが、それは FLV の肝への蓄積によるもの

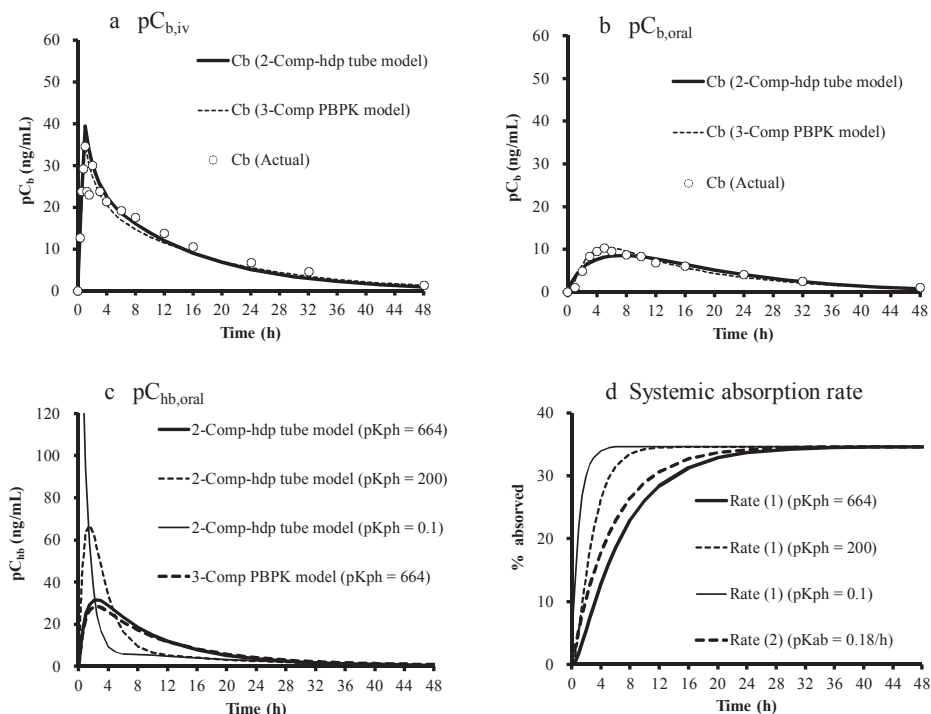


図 3 静脈内投与および経口投与後 ( $pD = 40 mg$ ) の  $pC_b(t)$  および  $pC_{hb}(t)$  の 2-Comp-hdp tube モデル ( $pK_{ph} = 0.1, 200$  あるいは  $664$  を仮定) による同時 SM [3-Comp PBPK model (Ref 13) との比較]。Input パラメータ:  $Q_h = 90 (L/h)$ ;  $pF = 0.53$ ;  $pCL_{tot} = 90 (L/h)$ ;  $pV_0 = 800 (L)$ ;  $pV_{dss} = 1200 (L)$ ;  $pK_d = 0.7 (1/h)$ ;  $pK_{ab} = 0.18 (1/h)$ ;  $pK_{hab} = 1 (1/h)$ ;  $pK_{ph} = 0.1, 200$  あるいは  $664$ 。Output パラメータ:  $pf_d = 0.47$ ;  $pF_h = 0.35$ ;  $p\delta = 1.78$ ;  $pK_{ph} = 664$  としたときの  $pV_{hdp} = 929 (L)$ ;  $pV_A = 1950 (L)$ ;  $pV_B = 1350 (L)$ ;  $pK_A = 0.742 (1/h)$ ;  $pK_B = 0.071 (1/h)$ ;  $pK_{ph} = 664$  としたときの  $pK_{he} = 0.1 (1/h)$ 。

と考えられた。

このSMを基本にし、さらに $pK_{ph}$ 値を0.1 (hdpでのデボ効果を無視)、200あるいは以前に報告した664 (3-Comp PBPKモデルと同じ値)と仮定して、経口投与後の $pC_{hb}(t)$ についてSMを行い、3-Comp PBPKモデルの結果と比較した。その結果、 $pK_{ph} = 664$ とした場合に

において、3-Comp PBPKモデルの結果とよく一致した「図3c:  $pC_{hb}(\max)$  (89 nM) =  $2.7 \times pC_b(\max)$ ;  $AUC(pC_{hb}) = 1.87 \times AUC(pC_b)$ 」。

さらに式(27)および式(28)から計算される体循環への累積吸収速度についても比較を行ったが、 $pK_{ph} = 664$ において両者がよく一致した(図3d)。これらのSMは、 $pK_{ph}$ を

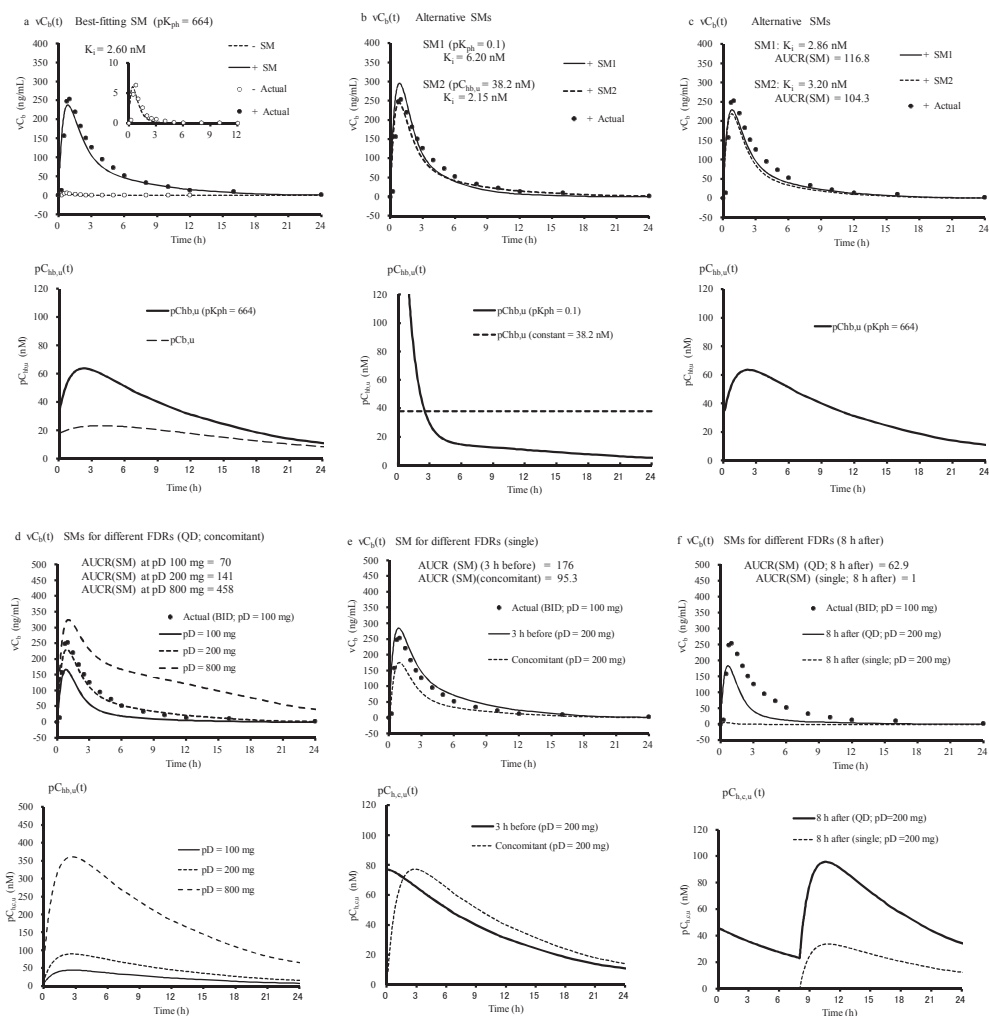


図4 ラメルテオンとFLV間で生じた相互作用における $vCb(t)$ および $pC_{hb,u}(t)$ のSM。図中の+および-はFLVの有無を示す。またAUCR(SM)は動的SMにおけるAUCRを示す。(a)  $pK_{ph} = 664$ および実際のFLV投与計画(FRD: BID;  $pD = 100$ mg, daily 200mg)を仮定して得られる最適SM。(b)は $pK_{ph} = 0.1$ あるいは $pC_{hb,u}(t) = \text{mean } pC_{hb,u}$  (38.2 nM)を仮定して得られるSM。(c)  $K_i = 2.86$  nM (メラトニン-FLVのDDIから得られる値)あるいは $K_i = 3.20$  nM (メラトニン-FLVのDDIから得られる値)を仮定した際のSM。(d)、(e)および(f) FLVの投与計画(FDR)を変化させた場合のSM ( $K_i$ は最適SMで得られた値を用いる)。

660 近辺に、すなわち  $pV_{hdp}$  としては 930L とすることで、FLV の異常に大きい肝への分布とそれによる他の薬物では見られない特殊な肝抽出機構<sup>13)</sup> をうまく説明できることを再確認することができた。

### ラメルテオンと FLV 間で生じた相互作用の SM

計算される AUCR が実際の値 (128) と合致する条件で、 $K_i$  値を調節して、ラメルテオンの経口投与後 [FLV の投与計画 (FDR) : BID;  $pD = 100mg$  (一日当たりの投与量は  $2 \times 100mg$ ); victim と同時投与] の  $vC_b(+)(t)$  (FLV 有) および  $vC_b(-)(t)$  (FLV 無) についての SM を行った。なお SM で用いたパラメータは表 2 に示す通りである。 $vF(0.04)$  は式 (35) から、計算により求めた。値は異常に小さいものであったが、文献値  $(0.017)^{1)}$  と同等であることが確認された。 $vF$  が極端に小さい点については、ラメルテオンの肝初回通過時の圧倒的に大きい肝抽出率によるものと考えられた。

図 4a は  $pK_{ph} = 664$  および  $K_i = 2.60nM$  [cf  $K_i(ws) = 0.43nM$ ] した場合に得られた最適 SM を示しており、この SM においては  $C_{max}R(dSM)$  においても実際の値とよく一致した。

図 4b は  $pK_{ph} = 0.1$  ( $hdp$  での薬物のデポジットが無視できる条件) あるいは  $pC_{hb,u}$  が常に  $mean-pC_{hb,u}$  [ $AUC(pC_{hb,u})/12(h) = 38.2nM$ ] となる条件での SM を示している。前者の SM においては、 $K_i$  は最適 SM に比べ 2.3 倍となり、 $vC_{b,max}$  はやや高く、その分やや速めの消失プロファイルを示した。しかし後者の場合には、 $K_i (= 2.26nM)$  および  $C_{max}R(SM)$  共に実際の値とよく一致し、最適 SM で得られた結果と類似した。このラメルテオン -FLV 間の相互作用については、さらに他の高クリアランス型 CYP1A2 基質と FLV との相互作用の SM から見積もられる  $K_i$  値を使って SM を行った (図 4c)。メラトニン -FLV 間の相互作用で得られる  $K_i$  値 ( $2.86nM$ 、後述) を仮定すると

AUCR(SM) は 117 (実際の 0.91 倍) となった。同様にチザニジン -FLV 間の相互作用で得られる  $K_i$  値 ( $3.20nM$ 、後述) を仮定すると AUCR(SM) は 104 (実際の 0.81 倍) となった。これらの SM から、ラメルテオン -FLV 間の異常に大きな相互作用型は高クリアランス CYP1A2 基質と FLV との相互作用から、正確に予測できることを示している。

次に最適の SM で得られた  $K_i$  を使って、異なる FLV 投与計画 (FDR) での  $vC_b(+)(t)$  および  $pC_{hb,u}(t)$  についての SM を行った (図 4d、4e および 4f)。

図 4d は FDR が QD で、 $pD$  が 100、200 および 800mg となる条件での SM を示している。AUCR(SM) は  $pD$  が少なくとも 200mg までは、それに比例して増加し、一方  $pD$  が 800mg となると、増加割合が低下することが示された。なお  $pD$  が 200mg のときの AUCR(SM) は実際の相互作用試験で得られている値とほぼ一致した。

図 4e は FDR が単回投与、 $pD = 200mg$  および victim に比べて 3h 早い投与あるいは同時投与となる条件での SM を示している。3h-前投与では AUCR(SM) は、実際の相互作用試験で得られている値の 1.37 倍を示し、一方同時投与では 0.74 倍となることが示された。

図 4f は FDR が  $pD = 200mg$  および victim の 8h 後投与で、QD あるいは単回投与となる条件での SM を示している。前者における AUCR(SM) は実際の相互作用試験で得られている値の 0.49 倍を示し、一方、同時投与では全く血中濃度の増加は見られないことが示された。

### その他の victim と FLV 間で生じた相互作用の SM

ラメルテオン -FLV 以外の 9 種類の victim-FLV 間の相互作用における  $vC_b(t)$  の上昇について、 $K_i$  のみを調節することにより血中濃度の AUC が実際の値と一致するような最適の SM を行った。

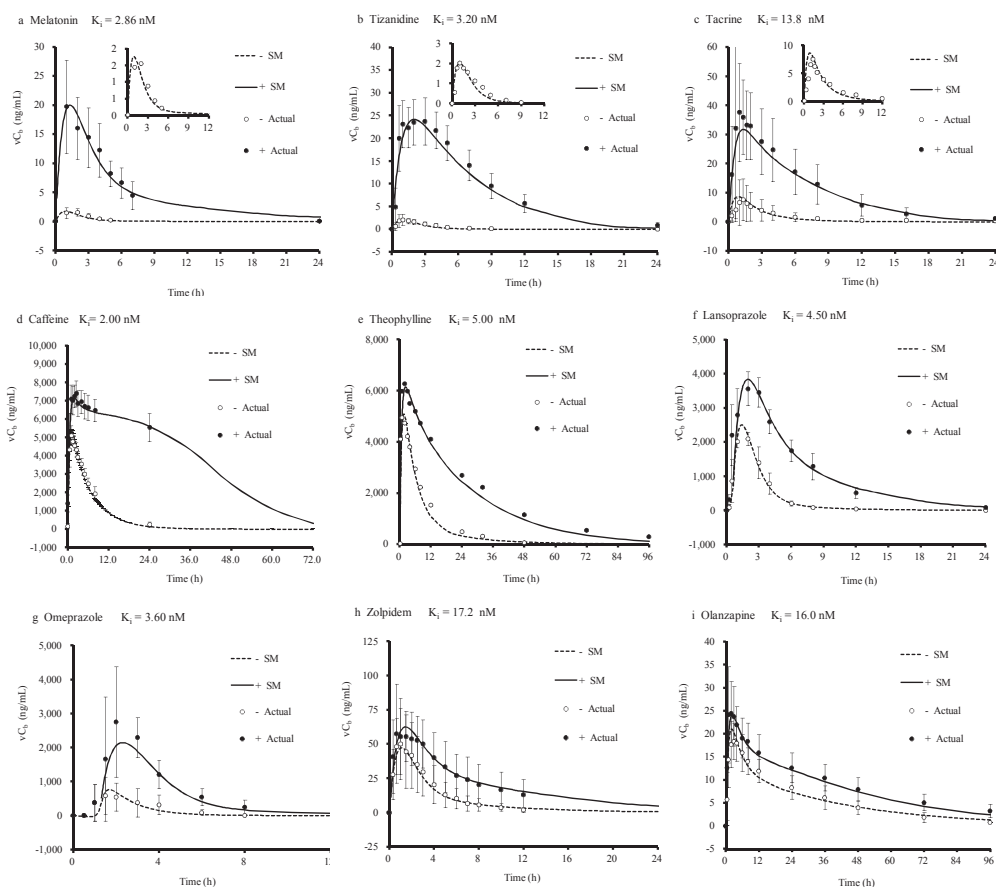


図5 11種類の薬物 (victim) とFLVとの間で生じた相互作用における $vC_b(t)$ および $pC_{bb,u}(t)$ の最適SM。図中の+および-はFLVの有無を示す。

図5aは $K_i$ を2.86nMに調節したときに得られるメラトニン-FLVの相互作用 (FDR: 単回; pD = 50mg; 3h 前投与) のSMを示している。

図5bは $K_i$ を3.20nMに調節したときに得られるチザニジン-FLVの相互作用 (FDR: QD; pD = 100mg; 同時前投与) のSMを示している。

図5cは $K_i$ を13.8nMに調節したときに得られるタクリン-FLVの相互作用 (FDR: QD; pD = 100mg; 同時前投与) のSMを示している。比較的大きな $K_i$ 値はタクリンの代謝消失におけるCYP3A4の寄与によるものと思われる(表1)。

図5dはカフェイン-FLVの相互作用 (FDR:

BID; pD = 200mg; 1.5h 前および8h 後投与) のSMを示している。この最適SMは $K_i$ を2.00nM「この値は $K_i(ws)$ にほぼ等しい」に調節したときに得られたものであるが $AUCR(SM)$  (= 9.94) は報告されている値の72%であった。しかし、報告値は24h～無限大時間における $AUC(+)$ を計算する際に、24hにおける $vK_e$ 値を用いて見積もられた値で、 $vK_e$ 値はその後には増加することを考えると、過大に見積もられている可能性が大きく、 $AUCR(SM)$ 値がより真実に近い値といえる。

図5eは $K_i$ を5.00nMに調節したときに得られるテオフィリン-FLVの相互作用 (FDR: QD; pD = 100mg; 同時前投与) のSMを示



している。同じキサンチン誘導体であるカフェインと比較すると AUCR(SM) は、やや小さいが、テオフィリンの全身クリアランスに占める腎クリアランスの大きさ ( $A_e = 0.18$ ) の影響によるものと思われる。

図 5f および 5g はランソプラゾール -FLV およびオメプラゾール -FLV 間の相互作用 (FDR : BID ; pD = 50mg ; 同時前投与) の SM を示している。これらの薬物の経口投与においては吸収にラグタイムが見られ、それらを設定しない限り、最適の SM を得ることは困難であったが、ランソプラゾールにおいては  $T_0 = 0.5h$  および  $K_i = 4.50nM$  とすることで、またオメプラゾールにおいては  $T_0 = 1.2h$  および  $K_i = 3.60nM$  とすることで最適の SM が得られた。

図 5h および 5i はゾルピデム -FLV およびオ

ランザピン -FLV 間の相互作用 (FDR : QD ; pD = 100mg ; 同時前投与) の SM を示している。ゾルピデムにおいては  $K_i = 17.2nM$  とすることで、またオランザピンにおいては  $K_i = 16.2nM$  とすることで最適の SM が得られた。

さらにメフェニトイン /FLV 間の相互作用 (FDR : QD ; pD = 87.5mg ; 8h 後投与) についても SM を行い (図は省略している)、 $K_i$  を 2.10nM に調節することにより、最適の SM が得られた。

### FLV の投与計画を同じとする条件での各 victim-FLV 間での相互作用の比較

FLV と 11 種類の victim 間での相互作用について、それぞれの最適の SM が得られた  $K_i$  を使って、ラメルテオン -FLV 間の相互作用における FDR (BID ; pD = 100mg ; 同時投与)

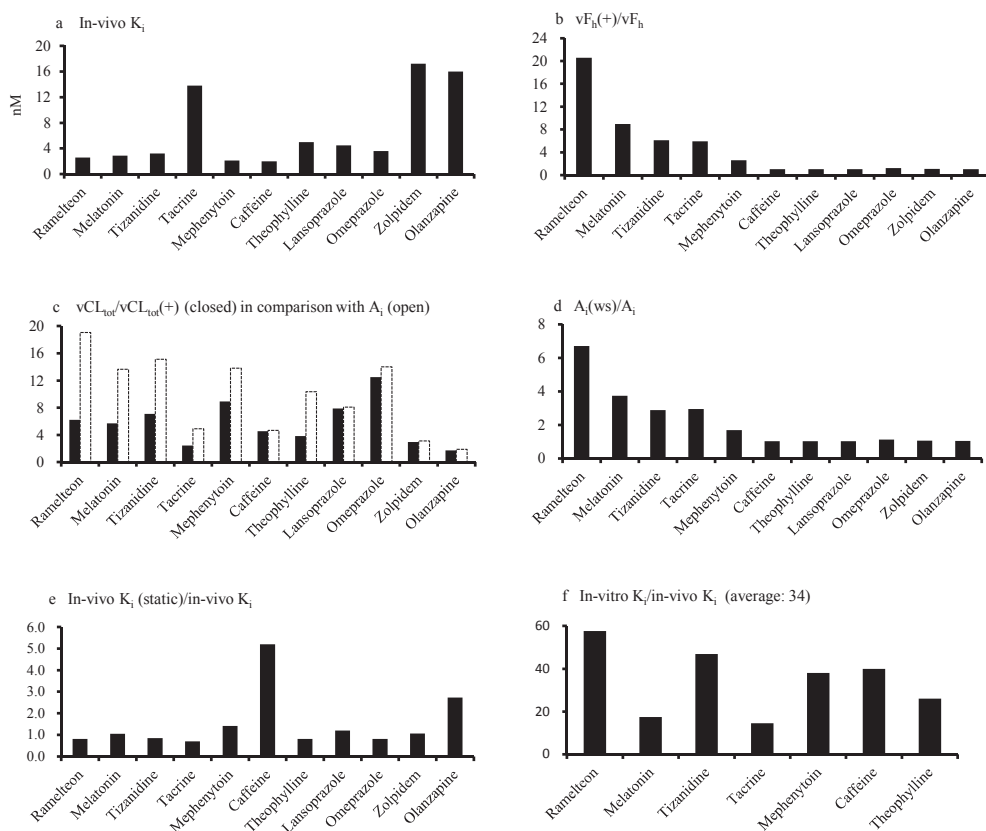


図 6 FLV が引き起こす相互作用における各種の相互作用特性の victim 間での比較。



と同じ条件で、SMを行い、同一FDR下でのそれぞれの相互作用の大きさ「AUCR(SM)あるいは $A_i$ 」の比較を行った(表2)。その結果AUCR(SM)の値から、それぞれの相互作用の大きさについて、以下に示すような順位が示された。すなわちラメルテオン>メラトニン>チザニジン>メフェニトイン>オメプラゾール>タクリン>ランソプラゾール>カフェイン>テオフィリン>ゾルピデム>オランザピン。また $A_i$ 値についてみると、上位4位までの相互作用においてはその値(約15)は、ほぼ一定であることがわかった。そこでさらに、これらの $A_i$ 値を基本にして、 $vF_h(+)/vF_h$ 、 $vCL_{tot}/vCL_{tot}(+)$ 、 $A_i(ws)/A_i$ およびin-vivo  $K_i(static)/$ in-vivo  $K_i$ を算出し、それぞれの相互作用の特性について比較を行った(図6)。

in-vivo  $K_i$ 値についてはタクリン、ゾルピデムおよびオランザピン以外のvictimは(いずれもCYP1A2あるいはCYP2C19に高い親和性を持つ基質である)、ほぼ同等の値(約3nM、高親和性)を示し、in-vitro  $K_i^{6, 12, 20-24)}$ と一致し、これらの薬物の代謝消失におけるCYP1A2あるいはCYP2C19の寄与が大きいたことが示された。

$vF_h(+)/vF_h$ についてはラメルテオン、メラトニン、タクリンおよびメフェニトインにおいて1よりも大きい値を示し、その大きさは、 $vE_h$ ( $=1 \cdot vF_h$ )とともに増加することが示され、本報告の理論と合致する結果が示された。 $vF_h(+)/vF_h$ の大きさの違いはAUCRの大きさの違いにほぼ一致し、このことからそれぞれのvictimの $vE_h$ が相互作用に大きな影響を与えることが確認された。

$vCL_{tot}/vCL_{tot}(+)$ についてはテオフィリン(腎クリアランスが無視できない薬物)を除く低クリアランス型のvictimにおいて、ほぼ $A_i$ に等しくなること示された。一方、高クリアランス型のvictimあるいはテオフィリンにおいては、 $vCL_{tot}/vCL_{tot}(+)$ は $A_i$ に比べて有意に小さい値をとることが示された。 $vCL_{tot}/vCL_{tot}(+)$ は経口投与後の全身循環によりもたらされる相互作用

の大きさに相当し、高クリアランス型のvictimにおいては、その値が $Q_h$ により律速されて、またテオフィリンにおいては腎クリアランスの寄与により、抑制的に働くために得られた結果と推察される。

$A_i(ws)/A_i$ については $vF_h(+)/vF_h$ あるいは $K_i/K_i(ws)$ (ラメルテオンとカフェインのデータについてはすでに示しているがそれ以外の薬物についてはデータは示していない)とほぼ類似し、従来のwell-stirredモデルを仮定した相互作用の予測法においては、 $vE_h$ の影響を無視し、高クリアランス型victimの相互作用における $A_i$ 値を過大に見積もる傾向にあることを示している[AUCR =  $A_i(ws)$ ]。

in-vivo  $K_i(static)/$ in-vivo  $K_i$ については、カフェインやオランザピンなどの比較的大きな $vMRT_{iv}$ を示すvictim(表2)は例外として、それ以外の薬物(特に高クリアランス型victim)においては、ほぼ1に近い値を示し、それらのvictimの相互作用の大きさは、tubeモデルを仮定した静的方法および式(12)に示される関係「 $I_u = \text{mean } pC_{hb,u} = \text{mean } pC_{b,u} \times p\delta$ 」を用いて、精度よく予測できることを示している。一方低クリアランス型victimにおいては $I_u$ 値に対して何らかの補正が必要となる。

in-vitro  $K_i/in-vivo K_i$ については20から60の範囲の値(平均約30)を示したが、この $K_i$ 値のin-vitro in-vivo間の比較においては、いかにin-vitro  $K_i$ が正確であるかにより、判断が変わってくると思われ、現時点では正確なことは言いえないが、肝における血液から肝細胞内への能動輸送の可能性を示唆するものである。

## 考察

**AUCRが $vF_h$ および $A_i$ の関数となる原理(well-stirredモデル対tubeモデル)**

FLVの併用によるラメルテオンの異常に大きな血中濃度の上昇は、旧来のwell-stirredモデルを基本にした静的予測方法では困難であったが(動的予測方法でも事情は同じ)、それら

の方法では、相互作用の大きさに影響する victim の肝初回通過効果を無視した予測を行っていることによると思われる。本報告では、薬物の肝抽出機構としてはより正確な  $vF_h$  を与える tube モデルを用いて、静的および動的相互作用の予測方法を考案した。静的予測法においては、AUCR は式 (18) に示されるように  $vF_h$  と  $A_i$  の関数となる関係が導かれた。

### pC<sub>hb,u</sub>(t) の見積もり

動的方法による相互作用の予測においては (基本的には静的方法においても同様) pC<sub>hb,u</sub>(t) を把握する必要がある。その正確な見積もりは、著者が報告している 3-Comp PBPK 法により可能となるが、一般的に用いられる 2-Comp モデルと今回の提案である肝薬物貯槽モデルを融合させたより簡便なモデル (2-Comp hdp tube) を使った方法によっても可能で、本報告では、その簡便法を用いている。

その際に pK<sub>ph</sub> の見積もりが重要で、FLV の場合は 3-Comp PBPK 法で見積もられたものを参照している。しかし FLV 以外の薬物については、本報で示したような、阻害剤の静脈内および経口投与後の血中濃度の同時 SM から得られる pK<sub>ab</sub> から算出される Rate 1 (全身循環への薬物の吸収速度) と pK<sub>ph</sub> の関数である Rate 2 (肝薬物貯槽から全身循環への薬物の放出速度) が一致する条件から、pK<sub>ph</sub> を見積もることができる。

しかしながら FLV の pK<sub>ph</sub> (664) は例外的に大きいものの、その値は相互作用の予測にはそれほど大きく影響しないことが、ラメルテオンの相互作用の SM で明らかになった (デポ効果を無視した pK<sub>ph</sub> の設定における SM、図 4b)。したがって肝への分布が不明な他の阻害剤においては pK<sub>ph</sub> を暫定的に 100 として、pC<sub>hb,u</sub>(t) を計算し、相互作用の予測を行ってもそれほど大きな誤差は生じることはないと推察される。

### 旧来の動的予測法と本法の違い

PBPK を基本にした旧来の動的予測法の問題点として、前述の肝抽出モデルの不具合に加えて、中身がブラックボックス化された特殊なコンピューターソフトを使用していること (予測における validation を得ることが困難)、さらに薬物によっては容易に設定することのできない各臓器に関する生理学的パラメータが入力情報となっているために、実際の血中濃度のデータとの合致を得ることが必ずしも容易ではない点が挙げられる。

しかし本報告の動的予測法 (2-Comp hdp tube 法) においては、必要とされる PK パラメータは、相互作用の比較対照となる victim 単独投与時の血中濃度推移の解析から得られたものを基本にしている ( $vCL/F$ 、 $vV_0$ 、 $vV_{dss}$ 、 $vK_{ab}$  など)。また計算方法は明確で (予測における validation を得ることが容易)、in-vivo K<sub>i</sub> 値のみを調節することにより、だれもが簡単に相互作用を SM することができる。その結果得られる in-vivo K<sub>i</sub> 値や A<sub>i</sub> 値を、他の薬物 (victim) と比較し、相互作用の大きさを多角的に解析することもできる。

### 静的および動的方法から見積もられる in-vivo K<sub>i</sub> の差

静的および動的方法から見積もられる 2 種類の in-vivo K<sub>i</sub> にどの程度の gap が見られるかについては、in-vivo K<sub>i</sub>(static)/in-vivo K<sub>i</sub> を計算することにより知ることができる。今回の解析対象となった 11 種類の薬物を比較してみると、カフェインなどの MRT<sub>iv</sub> の大きい薬物においてはその値は 5 以上となるのに対し、消失の比較的速い薬物 (初回通過効果の大きい薬物) においては、1 近辺の類似した値を示し (図 6e)、ラメルテオンやメラトニンなどの初回通過効果の大きい薬物の場合には静的予測法によっても十分に正確に in-vivo K<sub>i</sub> および相互作用の大きさを予測できると思われる。

### 各 victim-FLV 間の相互作用に対する in-vivo $K_i$ , $A_i$ および $F_h(+)/F_h$ の見積もり

CYP1A2 の基質（タクリンを除外した 5 種類）および CYP2C19 の基質（3 種類）において、相互作用の SM の結果見積もられた in-vivo  $K_i$  は、AUCR の相違に関わらず、類似の値 2~5nM（高親和性）を示し、いずれの CYP 分子種の基質ではない薬物（ゾルピデム、オランザピン）の  $K_i$  値は数倍大きい値を示し、in-vitro における CYP 分子種に対する親和特性と一致する結果であった（図 6a）。なおタクリンについては CYP1A2 基質ではあるもののその代謝消失における CYP3A4 の寄与（FLV はこの分子種に対しては阻害活性を示さない）により、比較的高い  $K_i$  値を示し、他の CYP1A2 基質とは同一には扱えないと思われる。

ラメルテオン、メラトニンあるいはチザニジンなどの初回通過効果の比較的大きい薬物においては、その大きさに呼応した  $vF_h$  の上昇効果（ $vF_h(+)/vF_h$ ）を示し、FLV 併用による初回通過効果の軽減が AUCR の大きさに直結していることが示される。

### 阻害剤の投与計画と相互作用の大きさの関係

ラメルテオンと FLV の間の相互作用について、FLV の投与計画（FDR）をいろいろ変えて、SM を行った結果によれば、反復投与において、一日当たりの投与量が同じであれば、QD と BID 間では、血中濃度の上昇の具合（AUCR および  $C_{maxR}$ ）には、ほとんど差は見られず、FLV の一日当たりの投与量が相互作用の大きさをほぼ決めていると考えられる（図 4a と 4d）。また FLV の投与量と AUCR の関係については、ラメルテオンの  $vF_h(+)$  が上限 0.8 に達するまでは比例関係が成り立ち、 $vF_h(+)$  がそれを超えると、AUCR の増加割合は低下する。また阻害剤の血中濃度の経時的变化は、ラメルテオンの血中濃度の上昇にはあまり影響していない（FLV の濃度を常に mean  $pC_{bb,u}$  に等しいとしても、ラメルテオンの血中濃度の上昇具合を正確に再現できる、図 4b）。

すなわちラメルテオンのような初回通過効果を大きく受ける薬物においては、吸収時の  $F_h$  の変化が相互作用の大きさの決定的因子となるために、投与初期において阻害剤の血中濃度の高まりが得られるような条件が、相互作用の大きさに対する決定因子なると思われる。したがって相互作用を引き起こさせる最も効率的な FDR は、メラトニンの相互作用試験で採用されたような FDR（単回、3 時間前投与）と思われる（図 4e）。

### In-vitro $K_i$ と in-vivo $K_i$ の比較検証

今回相互作用の SM を行った 11 種類の薬物の中で、大部分は、in-vivo  $K_i$  に対応する in-vitro  $K_i$  値がヒト肝ミクロソームを用いた試験により調べられていて、代表的な値は表 2 に示している。個々の薬物について、両者の  $K_i$  値を比較すると、ばらつきはあるものの、in-vitro  $K_i$  値の方が、in-vitro  $K_i$  値に比べ平均で約 30 倍（ラメルテオンの場合、80 倍）大きいことが分かる。このような gap については、Yao<sup>5)</sup> や Obach ら<sup>12)</sup> も指摘しているが、本報告では理論上、式（12）において  $\alpha$  として示されるものである。ところで一般に in-vitro  $K_i$  値は、酵素への結合による濃度低下を無視し、添加薬物濃度を基本にして求められることが多いが、厳密には酵素への結合補正を行う必要がある。Yao<sup>5)</sup> らによれば結合補正を行った後の in-vitro  $K_i$  値は 1/3 に低下することが報告されている。そのため gap はまださらに幾分小さくなる可能性がある。

$\alpha$  ( $>1$ ) については、FLV の肝臓内への能動的取り込みによる肝細胞内濃度の上昇の可能性が挙げられるが、まだ不明な点が多い。その点については、FLV の in-vitro と in-vivo  $CL_{int}$  の違いを調べて検証する方法が提案される<sup>13)</sup>。

### 相互作用試験における阻害剤の理想的投与条件と実施前の相互作用の予測の可能性

現在開発途上にある薬について、FLV との相互作用を臨床試験により調べる場合には、メ

ラトニンと FLV の相互作用試験で用いられた FLV の投与条件 (単回で victim に比べ 3h 早く、投与する) が、より簡単で、時間も費用もかからずに正確に相互作用を予測できるので、推奨される。

FLV との併用による相互作用の予測に関しては、今回の研究を通じて 11 種類の薬物の in-vivo  $K_i$  を見積もることができたが、それに対応した同一試験条件でのより正確な in-vitro  $K_i$  が取得できて、かりに無視で見ない大きな gap ( $\alpha = \sim 100$ ) があったとしても、一定の相関関係が成り立つのであれば、in-vitro  $K_i$  値から in-vivo  $K_i$  値を見積もることができるはずである。したがって、そのような in-vivo  $K_i$  値を用いて、本報告の方法に従って、相互作用を正確に予測することができると思われる (例えばラメルテオンで見られた異常に大きな相互作用は、メラトニンの in-vivo  $K_i$  を代用して正確に予測できる)。

## 結論

今回の方法 (2-Comp hdp tube 法) により、FLV と 11 種類の薬物 (victim) との併用で生じる相互作用を AUCR および CmaxR が実際のデータとほぼ一致する条件で SM することができた。CYP1A2 の基質と FLV 間での相互作用について見ると、AUCR については大きな差が見られるものの (ラメルテオンでは AUCR は 128 で最大)、本 SM により得られた  $K_i$  はいずれの相互作用においても類似の値 2~5nM (高親和性) を示し、 $vF_h(+)$  の上昇率を指し引いて見積もられる  $A_i$  値は類似することが示された。すなわちラメルテオンのような初回通過効果の大きい薬物においては、FLV の併用による  $vF_h(+)$  の上昇が大きく効くことが示された。

また本法については、FLV の投与条件を変化させた場合の相互作用への影響や 11 種類の薬物の相互作用に関わる各種パラメータ (in-vivo  $K_i$ 、 $A_i$ 、 $F_h(+)/F_h$ ) の比較を通じて、その未知の薬物の FLV との相互作用の予測の可能

性についても示すことができた。

## REFERENCES

- 1) Sateia MJ, Kirby-Long P, Taylor JL 2008. Efficacy and clinical safety of ramelteon: an evidence-based review. *Sleep Med Rev* 12: 319-332.
- 2) Härtter S, Grözinger M, Weigmann H, Röschke J, Hiemke C 2000. Increased bioavailability of oral melatonin after fluvoxamine coadministration. *Clin Pharmacol Ther* 67:1-6.
- 3) Granfors MT, Backman JT, Neuvonen M, Ahonen J, Neuvonen PJ 2004. Fluvoxamine drastically increases concentrations and effects of tizanidine: a potentially hazardous interaction. *Clin Pharmacol Ther* 75:331-341.
- 4) Becquemont L, Ragueneau I, Le Bot MA, Riche C, Funck-Brentano C, Jaillon P 1997. Influence of the CYP1A2 inhibitor fluvoxamine on tacrine pharmacokinetics in humans. *Clin Pharmacol Ther* 61:619-627.
- 5) Yao C, Kunze KL, Trager WF, Kharasch ED, Levy RH 2003. Comparison of in vitro and in vivo inhibition potencies of fluvoxamine toward CYP2C19. *Drug Metab Dispos* 31:565-571.
- 6) Culm-Merdek KE, von Moltke LL, Harmatz JS, Greenblatt DJ 2005. Fluvoxamine impairs single-dose caffeine clearance without altering caffeine pharmacodynamics. *Br J Clin Pharmacol* 60:486-493.
- 7) Rasmussen BB, Jeppesen U, Gaist D, Brøsen K 1997. Griseofulvin and fluvoxamine interactions with the metabolism of theophylline. *Ther Drug Monit* 19:56-62.
- 8) Yasui-Furukori N, Saito M, Uno T, Takahata T, Sugawara K, Tateishi T 2004. Effects of fluvoxamine on lansoprazole pharmacokinetics in relation to CYP2C19 genotypes. *J Clin Pharmacol* 44:1223-1229.
- 9) Yasui-Furukori N, Takahata T, Nakagami T, Yoshiya G, Inoue Y, Kaneko S, Tateishi T 2004. Different inhibitory effect of

- fluvoxamine on omeprazole metabolism between CYP2C19 genotypes. *Br J Clin Pharmacol* 57:487-494.
- 10) Vlase L, Popa A, Neag M, Muntean D, Achim M, Leucuța SE 2012. Effect of fluvoxamine on the pharmacokinetics of zolpidem: a two-treatment period study in healthy volunteers. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 39:9-12.
  - 11) Wang CY, Zhang ZJ, Li WB, Zhai YM, Cai ZJ, Weng YZ, Zhu RH, Zhao JP, Zhou HH 2004. The differential effects of steady-state fluvoxamine on the pharmacokinetics of olanzapine and clozapine in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 44:785-792.
  - 12) Obach RS, Ryder TF 2010. Metabolism of ramelteon in human liver microsomes and correlation with the effect of fluvoxamine on ramelteon pharmacokinetics. *Drug Metab Dispos* 38:1381-1391.
  - 13) Iga K 2015. Use of Three-Compartment Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Predict Hepatic Blood Levels of Fluvoxamine Relevant for Drug-Drug Interactions. *J Pharm Sci* 104: 1478-1491.
  - 14) Ito K, Brown HS, Houston JB 2004. Database analyses for the prediction of in vivo drug-drug interactions from in vitro data. *Br J Clin Pharmacol* 57:473-86.
  - 15) Yao C, Levy RH 2002. Inhibition-based metabolic drug-drug interactions: predictions from in vitro data. *J Pharm Sci* 91:1923-35.
  - 16) Greupink R, Schreurs M, Benne MS, Huisman MT, Russel FG 2013. Semi-mechanistic physiologically-based pharmacokinetic modeling of clinical glibenclamide pharmacokinetics and drug-drug-interactions. *Eur J Pharm Sci* 49:819-828.
  - 17) Kato M, Shitara Y, Sato H, Yoshisue K, Hirano M, Ikeda T, Sugiyama Y 2008. The quantitative prediction of CYP-mediated drug interaction by physiologically based pharmacokinetic modeling. *Pharm Res* 25:1891-1901.
  - 18) Peters SA, Schroeder PE, Giri N, Dolgos HE 2012. Evaluation of the use of static and dynamic models to predict drug-drug interaction and its associated variability: impact on drug discovery and early development. *Drug Metab Dispos* 40:1495-1507.
  - 19) Prueksaritanont T, Chu X, Gibson C, Cui D, Yee KL, Ballard J, Cabalu T, Hochman J 2013. Drug-drug interaction studies: regulatory guidance and an industry perspective. *AAPS J* 15:629-645.
  - 20) Härtter S, Wang X, Weigmann H, Friedberg T, Arand M, Oesch F, Hiemke C 2001. Differential effects of fluvoxamine and other antidepressants on the biotransformation of melatonin. *J Clin Psychopharmacol* 21:167-174.
  - 21) Granfors MT, Backman JT, Laitila J, Neuvonen PJ 2004. Tizanidine is mainly metabolized by cytochrome p450 1A2 in vitro. *Br J Clin Pharmacol* 57:349-353.
  - 22) Becquemont L, Le Bot MA, Riche C, Funck-Brentano C, Jaillon P, Beaune P 1998. Use of heterologously expressed human cytochrome P450 1A2 to predict tacrine-fluvoxamine drug interaction in man. *Pharmacogenetics* 8:101-108.
  - 23) Rasmussen BB, Nielsen TL, Brøsen K 1998. Fluvoxamine is a potent inhibitor of the metabolism of caffeine in vitro. *Pharmacol Toxicol* 83:240-145.
  - 24) Rasmussen BB, Maënpää J, Pelkonen O, Loft S, Poulsen HE, Lykkesfeldt J, Brøsen K 1995. Selective serotonin reuptake inhibitors and theophylline metabolism in human liver microsomes: potent inhibition by fluvoxamine. *Br J Clin Pharmacol* 39: 151-159.