

# **Predikering av interaksjonen mellom atorvastatin og ciklosporin (CsA) ved bruk av en PBPK-modell (Simcyp)**

**Ana Todosijevic**



Mastergradsoppgave i farmasi  
45 studiepoeng

Farmasøytisk Institutt  
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap  
**UNIVERSITETET I OSLO**  
Mai 2018



# **Predikering av interaksjonen mellom atorvastatin og ciklosporin (CsA) ved bruk av en PBPK-modell (Simcyp)**

**Ana Todosijevic**



Mastergradsoppgave i farmasi  
45 studiepoeng  
Farmasøytisk Institutt  
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap  
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO  
Mai 2018

Veiledere:

Hege Christensen, Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk Institutt  
Rune Amundsen, Vitusapotek Maxis, Arendal

© Forfatter Ana Todosijevic

År 2018

Tittel: Predikering av interaksjonen mellom atorvastatin og ciklosporin (CsA) ved bruk av en PBPK-modell (Simcyp)

Forfatter: Ana Todosijevic

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

# Forord

*Denne oppgaven er utført ved Avdeling for farmasøytisk vitenskap i Oslo og Vitusapotek Maxis i Arendal, under veiledning av professor Hege Christensen og Rune Amundsen. Arbeidet ble påbegynt august 2017 og avsluttet mai 2018.*

*Før jeg begynner å takke alle herlige mennesker jeg hadde den ære å jobbe og dele hverdagen med, ønsker jeg å si hvor heldig jeg er for å ha mulighet til å bo i det nydelige landet og utvikle meg både faglig og personlig. Å jobbe i et så avansert program som Simcyp var en stor utfordring og glede for meg.*

*Mine veiledere var like glimrende og inspirerende. Det var et stort privilegium å samarbeide med fantastiske Hege Christensen, som jeg takker mye for faglige innspill og praktiske ideer og korrektur av oppgaven min. Jeg er imponert over din energi, kunnskap, snillhet og respekt for dine studenter. Du er et forbilde på mange måter.*

*Jeg ønsker å takke Rune Amundsen for analytisk og målrettet veiledning gjennom flere måneder. Det var en stor glede å samarbeide med og lære fra deg, både på apotek og i forbindelse med denne masteroppgaven. Din kunnskap, tålmodighet og ro er veien jeg ønsker å følge videre i livet.*

*Sist, men ikke minst, vil jeg takke min mann Avram og vår snille gutt Dimitrije, som var støttende og forståelsesfulle for en student i huset, min mor Brankica som kom to ganger fra Serbia for å være her for meg, vår venn David og verdens beste svigerinne Olivera for IT-support. Jeg takker også resten av min familie, mine venner her og der, som gleder seg i dag sammen med meg.*

*Blindern, Oslo - mai 2018*

*Ana Todosijevic*



# Innholdsfortegnelse

Forkortelser.....	09
Sammendrag.....	11
Abstract.....	13
1. Innledning.....	15
1.1 Farmakokinetikk.....	15
1.1.1 Legemiddelmetabolisme .....	16
1.2 Cytokrom P450 (CYP) systemet .....	16
1.2.1 CYP3A-subfamilien .....	17
1.2.2 Enzymkinetikk for CYP-enzym .....	18
1.3 Legemiddeltransportører .....	19
1.4 Atorvastatin .....	22
1.5 Ciklosporin A .....	24
1.6 Legemiddelinteraksjoner .....	25
1.6.1 Interaksjoner via CYP-enzym .....	26
1.6.2 Interaksjoner via legemiddeltransportører .....	28
1.7 Fysiologibaserte farmakokinetiske (PBPK) modeller .....	29
1.8 utfordringer ved legemiddelbehandling med atorvastatin hos nyretransplanterte pasienter som bruker CsA .....	31
1.9 Hensikt med oppgaven .....	33
2. Metoder .....	34
2.1 Modellerings- og simuleringsprogramvare .....	34
2.2 Parametere for atorvastatin og CsA .....	36
2.3 Simulering og predikering av legemiddelinteraksjonen mellom atorvastatin og CsA... ..	37
2.4 Predikering av intracellulære leverkonsentrasjoner av atorvastatin.....	38
3. Resultater.....	40
3.1 Simuleringer med en enkelt dose atorvastatin.....	40
3.2 Simuleringer med multiple doser atorvastatin .....	44
3.3 Simuleringer i populasjoner med forskjellige <i>SLCO1B1</i> -genotyper.....	46
3.4 Predikering av intracellulære leverkonsentrasjoner av atorvastatin.....	50
4. Diskusjon.....	54
5. Litteraturliste .....	59

6. Vedlegg .....	65
6.1. Parameterverdiene til atorvastatin i Syncyp.....	65
6.2. Tabeller med rådata fra Simcyp for hver simulering .....	67
6.2.1. Tabeller med rådata fra Simcyp etter en enkelt dose atorvastatin.....	67
6.2.2. Tabeller med rådata fra Simcyp etter multiple doser atorvastatin .....	68
6.2.3. Tabeller med rådata fra Simcyp i populasjoner med forskjellige <i>SLCO1B1</i> -genotyper.....	68
6.3. Figurer med rådata fra Simcyp for hver simulering.....	70
6.3.1. Figurer med rådata fra Simcyp etter en enkelt dose atorvastatin .....	70
6.3.2. Figurer med rådata fra Simcyp etter multiple doser atorvastatin .....	72
6.3.3. Figurer med rådata fra Simcyp i populasjoner med forskjellige <i>SLCO1B1</i> -genotyper.....	73
6.3.4 Figurer med rådata fra Simcyp for predikering av intracellulære og ekstracellulære leverkonsentrasjoner av ubundet fraksjon av atorvastatin .....	75
6.4 Poster fra Beito.....	78



# Forkortelser

ABC	ATP-bindende kassett
ADME	Absorpsjon, distribusjon, metabolisme, eliminasjon
ATP	Adenosintrifosfat
AUC	Arealet under plasma-konsentrasjons-tidskurven
AUCR	Areal under plasma-konsentrasjons-tidskurven-ratio
CL <sub>int</sub>	Intrinsisk (intrinsic) clearance
C <sub>max</sub>	Maksimalkonsentrasjon
CsA	Ciklosporin A
CuEW	Ekstracellulær konsentrasjon av ubundet legemiddel
CuIW	Intracellulær konsentrasjon av ubundet legemiddel
CYP	Cytokrom P450
ET	Ekstensiv transportør (extensive transporter)
F	Biotilgjengelighet
FDA	Food and drug administration
HDL	High-density lipoprotein
HMG-CoA	Hydroksymetyl-glutaryl-koenzym A
IT	Mellomliggende transportør (intermediate transporter)
K <sub>i</sub>	Hemmingskonstanten
K <sub>m</sub>	Michaelis-Menten-konstanten
LDL	Low-density lipoprotein
MIC	Metabolsk hemmendekompleks (metabolic inhibitory complex)
OAT	Organisk aniontransportør
OATP	Organisk aniontransporterende polypeptid
OCT	Organisk kationtransportør
PBPK	Fysiologibasert farmakokinetisk modell
P-gp	Permeabilitetsglykoprotein
PT	Dårlig transportør (poor transporter)
SLC	«Solute carrier

SNP	Enkeltnukleotidpolymorfismer (singel nucleotid polymorphism)
TDI	Tidsavhengig hemming (time-dependent inhibition)
UT	Ultra-rask transportør (ultra-rapid transporter)
$V_{\max}$	Den maksimale reaksjonshastigheten for enzymet

# Sammendrag

## Problemstilling

Insidensen av hyperkolesterolemi hos nyretransplanterte pasienter er høy og bruk av HMG-CoA reduktasehemmere (statiner) er vanlig som tilleggsbehandling. Samtidig inntak av atorvastatin og ciklosporin A (CsA), en kalsinevrinhemmer som i stor grad brukes av denne pasientgruppen, fører til kraftig økning av systemisk atorvastatinkonsentrasjon. Interaksjonen antas i hovedsak å være konsekvensen av hemming av transportøren til atorvastatin i hepatocytter (OATP1B1), men også hemming av CYP3A-enzymet og permeabilitetsglykoprotein (P-gp) i enterocytter og hepatocytter antas å være involvert. Hensikten med denne oppgaven var å studere den klinisk observerte interaksjonen ved bruk av en fysiologibasert farmakokinetisk (PBPK) modell bygget opp av kjente parametre fra *in vitro* og *in vivo* studier, i simuleringssverktøyet Simcyp.

## Metode

Interaksjon mellom CsA og atorvastatin ble studert etter både enkelt og multiple doser av atorvastatin, i virtuelle populasjoner av friske individer, samt i populasjoner med forskjellige *SLCO1B1*-genotyper (ET og PT). Parameterne for oppbygging av atorvastatin-modellen i Simcyp ble hentet fra litteraturen, mens CsA allerede var inkorporert som substrat i programmet. Disse parameterverdiene ble brukt i oppbygging av modellen for CsA som hemmer. Simuleringer ble utført med preinkuberings  $K_i$ -verdi for CsA for OATP1B1 på 0,014  $\mu\text{M}$  og CYP3A4 på 0,98  $\mu\text{M}$ , som ble hentet fra en *in vitro* studie. Det ble også simulert med en kraftigere hemmer, der  $K_i$  for hemming av OATP1B1 ble redusert 10 ganger til 0,001  $\mu\text{M}$ . Grad av interaksjon ble fremstilt som ratio av arealet under plasma-konsentrasjons-tidskurven med og uten hemmer (AUCR).

## Resultater

AUCR for atorvastatin etter en enkelt dose og multiple doser av CsA var henholdsvis 3,3 og 3,4 da parametre fra en *in vitro* studie ble brukt. Disse verdiene var henholdsvis 7,6 og 9,7 da  $K_i$  for CsA ble redusert til 0,001  $\mu\text{M}$ . I populasjoner av individer med forskjellige *SLCO1B1*-genotyper (ET- og PT) var AUCR for atorvastatin 3,4 og 2,9 henholdsvis etter en enkel dose atorvastatin, mens den var 7,9 og 5,2 henholdsvis da modellen med en kraftigere hemmer ble brukt.

## Diskusjon og konklusjon

Økning i plasmakonsentrasjon av atorvastatin i en populasjon av friske individer etter samtidig administrering med CsA på 3,3 (3,4) var lavere enn det som har blitt rapportert i kliniske studier. Slik underpredikering kan blant annet forklares med at Simcyp ikke foreløpig kan simulere tidsavhengig hemming av OATP1B1, som finner sted i *in vitro*-studier. En kraftig hemmer som har slått ut OATP1B1 gav 7,6 (9,7) ganger økning i AUC for atorvastatin, som var i samsvar med kliniske observasjoner. I populasjoner med ET- og PT-genotyper ble det sterkere interaksjon i de med ET-genotype, selv om AUC for atorvastatin var høyere i populasjonen med PT-genotype.

Resultatene indikerer at hemming av OATP1B1 trolig er den viktigste mekanismen i interaksjonen mellom atorvastatin og CsA, og resultater fra simuleringene støtter hypotesen om at en tidsavhengig hemming av OATP1B1 finner sted *in vivo*. Videre bør individualisering av behandling med atorvastatin med og uten CsA vurderes i populasjoner med forskjellige *SLCO1B1*-genotyper.

# Abstract

## Introduction

Because of high incidence of hypercholesterolemia in renal transplant patients, the use of HMG-CoA reductase inhibitors (statins) is common as an additional treatment. Atorvastatin, taken together with CsA, which is a calcineurin inhibitor widely used in treatment of renal transplant recipients, leads to a considerable increase in systemic atorvastatin concentration. It is assumed that interaction occurs essentially as a consequence of inhibition of a transporter for atorvastatin in hepatocytes (OATP1B1), and inhibition of CYP3A enzymes and P-glycoprotein (P-gp) in enterocytes and hepatocytes. The purpose of this thesis was to study the clinically observed interaction between atorvastatin and CsA, using Simcyp physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling, built up by known parameters from *in vitro* and *in vivo* studies.

## Method

The interaction between atorvastatin and CsA have been studied after single and multiple doses of atorvastatin in populations of healthy individuals, as well as in populations with different *SLCO1B1*-genotypes. The atorvastatin model was built up using parameters from the literature, while CsA was already incorporated in the program as a substrate and those parameters were used for developing a model of CsA as an inhibitor. Simulations were performed with preincubations  $K_i$ -values for CsA which were 0.014  $\mu\text{M}$  for OATP1B1, and 0.98  $\mu\text{M}$  for CYP3A4 as in an *in vitro* study. It has also been simulated with a stronger inhibitor with  $K_i$  for OATP1B1 reduced 10 times to 0.001  $\mu\text{M}$ . The extent of interactions were presented as the ratio of the area under the plasma concentration time curves with and without inhibitor present (AUCRs).

## Results

AUCR after one single dose and multiple doses of atorvastatin were 3.3 and 3.4 respectively, when *in vitro* parameters have been used. These values were 7.6 and 9.7 respectively with 10 times reduced  $K_i$  for CsA. Atorvastatin AUCRs in populations with different *SLCO1B1*-genotypes (ET and PT) were 3.4 and 2.9 respectively, after one single dose of atorvastatin, while the ratios were 7.9 and 5.2 respectively when a stronger inhibitor was used.

## Discussion and conclusion

Increased atorvastatin plasma concentration in SimCyp`s healthy population of 3.3 (3.4) times, with simultaneous administration of CsA, was lower than reported in clinical studies. Simcyp cannot currently simulate time dependent inhibition, which is probably the main reason for this underprediction. Simulation with a model of a stronger inhibitor showed 7.6 (9.7) times increase of atorvastatin AUC, which is in accordance with clinical observations. The interaction was manifested as stronger in populations with extensive transporters of OATP1B1 than in the populations with poor transporters, although AUC for atorvastatin was higher in the population with PT-genotype.

These results show that inhibition of OATP1B1 probably is the most important mechanism of the interaction between atorvastatin and CsA, and the results of the simulations support that an time-dependent inhibition takes place *in vivo*. Furthermore, individualised treatment with atorvastatin with or without CsA should be considered in populations with different *SLCO1B1*-genotypes.

# 1. Innledning

## 1.1 Farmakokinetikk

Farmakodynamikk er den delen av farmakologien som beskriver hva legemidlet gjør med kroppen, mens farmakokinetikk omhandler hvordan kroppen påvirker legemiddeleffekt. Farmakokinetikk omfatter absorpsjon av legemidler, distribusjon mellom ulike vev og kroppsvæsker, metabolisme og eliminasjon fra kroppen (ADME) [1].

Alle farmakokinetiske prosesser inkluderer transport av legemidler gjennom biologiske membraner, som for eksempel epitelceller i tarm, endotelceller i kapillærer, osv [1, 2]. Transport gjennom cellemembraner kan være passiv (diffusjon) eller aktiv. Passiv diffusjon er en prosess hvor stoffer beveger seg fra et område med høyere konsentrasjon til et område hvor konsentrasjonen av stoffet er lavere, det vil si med konsentrasjonsgradienten. Passiv diffusjon krever ikke bruk av energi. Aktiv transport skjer mot konsentrasjonsgradienten ved hjelp av transportproteiner i cellemembranen. Denne prosessen krever energi fra adenosintrifosfat (ATP) og er karakteristisk for store vannløselige molekyler og ioner [2].

Etter oral administrering, absorberes de fleste legemidlene gjennom tynntarmveggen på grunn av tynntarmens gode vaskularisering, motilitet og rundt 200 m<sup>2</sup> store overflate. De fleste legemidlene diffunderer gjennom lipidlag i membraner av tynntarmens epitelceller, og legemidlets lipidoppløselighet er avgjørende for absorpsjon. Minimal vannoppløselighet av legemidler er også viktig, slik at virkestoff kan løses opp i tynt lag av slim som dekker epitelceller i tynntarm [2].

Før de når systemisk sirkulasjon, overføres legemidler absorbert i tynntarm til portåren, en vene som samler blod fra mage-tarm-kanalen, og føres videre til lever. Både lever og tynntarm inneholder enzymer som metaboliserer legemidler, noe som resulterer i nedsatt biotilgjengelighet (F), som er den andelen av legemiddeldosen som når det systemiske kretsløpet. Denne effekten av presystemisk metabolisme er også kjent som «first-pass effect». Legemidler distribueres videre via blod og lymfe. I blodet kan legemidler være reversibelt bundet til proteiner (albumin, alfa<sub>1</sub>-surt glykoprotein), blodceller (erytrocytter) og cellemembraner (lipoproteiner), eller de kan være i ubundet form. Farmakologisk effekt av et legemiddel, samt bivirkninger og eventuelle toksiske effekter, øker ved økning av ubundet

fraksjon av legemidlet, siden fri fraksjon er den som er ansvarlig for legemidlets effekter i kroppen [1].

### 1.1.1 Legemiddelmetabolisme

Legemiddelmetabolisme er en sammensatt prosess hvor legemidler blir omdannet til derivater som enklere kan skilles ut fra kroppen [3], hovedsakelig via nyrene. Leveren er hovedorgan for metabolske reaksjoner på grunn av høyest innhold av enzymer som katalyserer metabolisme av både endogene kjemiske stoffer (for eksempel kolesterol, steroidhormoner, fettsyrer og proteiner) og xenobiotika (substanser som er fremmede for kroppen) [4]. For mange legemidler administrert oralt skjer likevel de første metabolske reaksjonene i tynntarmens epitelceller [4].

Legemiddelmetabolisme deles vanligvis inn i to grupper av biokjemiske reaksjoner, såkalt fase I- og fase II-reaksjoner. Fase I-reaksjoner omfatter oksidasjon, reduksjon eller hydrolyse, og enzymer som katalyserer disse reaksjonene introduserer funksjonelle grupper, for eksempel OH-, COOH-, SH-, O-, eller NH<sub>2</sub>- grupper, som videre resulterer i et modifisert legemiddel [4]. Den funksjonelle fasen av legemiddelmetabolisme fører hovedsakelig til inaktivering av det aktive legemidlet, men kan også lede enten til dannelse av mer aktive derivater som er ansvarlige for farmakologiske effekter eller toksiske effekter av legemidler [5]. Fase II-reaksjoner omfatter konjugasjon av legemidler eller metabolitter med polare grupper som for eksempel sulfat, glutation eller glukuronsyre [4]. Slike reaksjoner øker vannløseligheten av transformert legemiddel og dermed utskillelsen fra kroppen [4].

## 1.2 Cytokrom P450 (CYP) systemet

Cytokrom P450 (CYP)-systemet er det viktigste enzymsystemet som er involvert i metabolisme av legemidler hos mennesker. CYP-enzymet er ansvarlige for 75-80% av fase I-reaksjoner og omtrent 65-70% av eliminasjonen av vanlige legemidler [6]. Det humane genom inneholder 57 aktive CYP-gener, delt i 18 familier [6]. Enzymer som har over 40% likhet i aminosyresekvensen klassifiseres i ulike familier og merkes med et arabisk tall, for eksempel CYP1 [7]. Familier deles videre i subfamilier av enzymer, og de som har over 55% likhet i aminosyrefrekvens, merkes med en stor bokstav, eksempelvis CYP1A; individuelle enzymer (isoenzymer) innen subfamilier merkes igjen med et arabisk tall, slik som CYP1A1 og CYP1A2 [7]. Mens enzymer fra CYP1, CYP2 og CYP3 familiene katalyserer oksidative reaksjoner av eksogene stoffer, slik som legemidler, er enzymer fra andre familier involvert i metabolisme av



endogene substanser, som for eksempel fettsyrer, steroidhormoner eller prostaglandiner [8]. Isoenzymene CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 og CYP3A5 betraktes som de viktigste enzymene i metabolismen av legemidler [9].

### 1.2.1 CYP3A-subfamilien

Subfamilien CYP3A består av tre isoenzymer CYP3A4, CYP3A5 og CYP3A7 og er involvert i metabolismen av mange strukturelt forskjellige xeno- og endobiotika [10]. Noen studier har også vist at det finnes et fjerde isoenzym fra denne subfamilien, CYP3A43, som i likhet med CYP3A7 ikke har betydelig rolle i legemiddelmetabolisme [11]. Selv om disse isoenzymene viser stor likhet i aminosyresekvensen, minst 85%, er det ulikt uttrykk av dem hos mennesker [12].

CYP3A4 er mest utbredt av alle CYP-enzymene både i lever og tarm og er sannsynligvis involvert i metabolsk oksidasjon av omtrent halvparten av alle legemidler [13]. En studie som har undersøkt uttrykk av forskjellige CYP-enzymene i 60 humane leverer har vist at CYP3A4 omfattet mellom 29% og 60% av den totale mengden CYP-enzymene [10]. Nivået av CYP3A4 vil være induert eller økt ved eksponering for ulike legemidler, som for eksempel deksametason, karbamazepin eller rimfapicin [10]. På den andre siden kan mengden CYP3A4 være redusert som konsekvens av mekanisme-basert (MB) hemming. Et typisk eksempel er grapefruktjuice som forårsaker sterk nedregulering av CYP3A4 i tarmens enterocytter hvor komponenter fra grapefruktjuice fører til intracellulær nedbryting av enzymet [10].

Bidrag av CYP3A5 i den totale metabolismen av CYP3A-substrater i leveren *in vivo* er ikke så godt beskrevet [14]. CYP3A5, sammenlignet med CYP3A4, viser lignende substratspesifisitet men det finnes noen unntak [15]. Kuehl *et al.* har vist at CYP3A5 er et polymorft enzym, som er uttrykt i større grad i leveren hos afroamerikanere (60%) enn hos kaukasiere (33%) [16]. Dette kan forklares med at mennesker som har minst en CYP3A5\*1-allel uttrykker betydelige mengder av enzymet, men at enkelt nukleotidpolymorfisme (SNP) i gener (CYP3A5\*3 og CYP3A5\*6) fører til alternativ skjøting og proteintrunkering som resulterer i mangel av enzymet hos andre mennesker [16]. Dette forårsaker individuelle forskjeller i metabolisme og effekt av legemidler. Differensiering av enzym-funksjonen i forhold til genotype som beskrevet for CYP3A5 ble i de siste årene også vist for CYP3A4. CYP3A4\*1B er assosiert til endret CYP3A4-aktivitet uten at betydning av polymorfisme er helt avklart, mens CYP3A4\*22 er

knyttet til redusert uttrykk av CYP3A4 og redusert enzymaktivitet [17]. Interindividuell variasjon av CYP3A4-aktivitet kan også være forårsaket av andre, ikke genetiske faktorer [9]

### 1.2.2 Enzymkinetikk for CYP-enzym

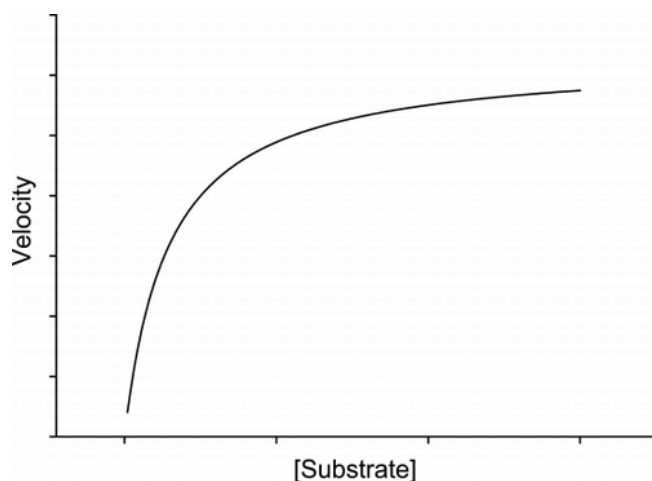
Enzymkinetikk er den delen av enzymologien som undersøker hvordan forskjellige faktorer som enzymkonsentrasjon, ligandkonsentrasjon (substrat, produkt, hemmer eller aktivator), pH, ionestyrke og temperatur påvirker hastigheten av enzymkatalyserte reaksjoner. En slik analyse kan lede til en modell av den enzymkatalyserte reaksjonen og videre til utforming av kinetiske ligninger som forteller hvordan ligander interagerer med hverandre og påvirker reaksjonshastigheten. Med en ligning på plass kan en modell bli testet eksperimentelt [18].

Michaelis-Menten modellen kan som oftest brukes for å beskrive kinetikken til CYP-enzym, i henhold til følgende ligning:

$$v = \frac{V_{\max} \cdot S}{K_m + S}$$

hvor  $v$  er hastigheten av den enzymkatalyserte reaksjonen,  $S$  er substratkonsentrasjon,  $V_{\max}$  er den maksimale hastigheten for metabolismen og  $K_m$  er substratkonsentrasjonen som gir halvparten av den maksimale reaksjonshastigheten [19].  $K_m$  (Michaelis-Menten-konstanten) er et mål for substratets affinitet til enzymet – lav verdi av  $K_m$  viser til stor affinitet til enzymet [1]. Michaelis-Menten kinetikk kalles også for hyperbolsk kinetikk (Figur 1-1) og viser hvordan substratkonsentrasjon påvirker hastigheten av en enzymkatalysert reaksjon: hastigheten på produktdannelse viser rask økning ved lave substratkonsentrasjoner til et punkt hvor, ved høyere substratkonsentrasjoner, enzymene blir mettet og reaksjonen når maksimal hastighet [20]. Videre økning av substratkonsentrasjon påvirker ikke reaksjonshastigheten betydelig.

Siden intrinsisk metabolsk clearance  $Cl_{\text{int}}$  (organenes evne til å metabolisere ubundet legemiddel uten begrensninger som blodstrøm og proteinbinding [21]) er definert som  $v/S$ , kan den ved bruk av Michaelis-Mentens modellen estimeres som  $Cl_{\text{int}} = V_{\max}/K_m$  ved lave substratkonsentrasjoner ( $S \ll K_m$ ), som ved terapeutiske konsentrasjoner. *In vitro* clearance av legemidler kan videre brukes for å estimere *in vivo* clearance [22].



**Figur 1-1.** Michaelis-Menten hastighetskurve [20].

Selv om Michaelis-Menten modellen, med enkeltenzymets aktive sete for substratbinding og kompetitiv interaksjon mellom substrater, kan anvendes for beskrivelse av kinetikken av mange enzymer, finnes det også fenomener av atypisk kinetikk, særlig karakteristisk for CYP3A4, som indikerer at substrater kan bindes til flere seter på enzymet. To eller flere molekyler av samme (homotropi) eller forskjellige substrater (heterotropi) kan bindes samtidig til CYP3A4-enzymets store aktive sete, og dette kan resultere i atypiske effekter [23]. Aktivering, autoaktivering, partiell hemming og substrathemming er forskjellige kategorier av denne typen kinetikk [24].

### 1.3 Legemiddeltransportører

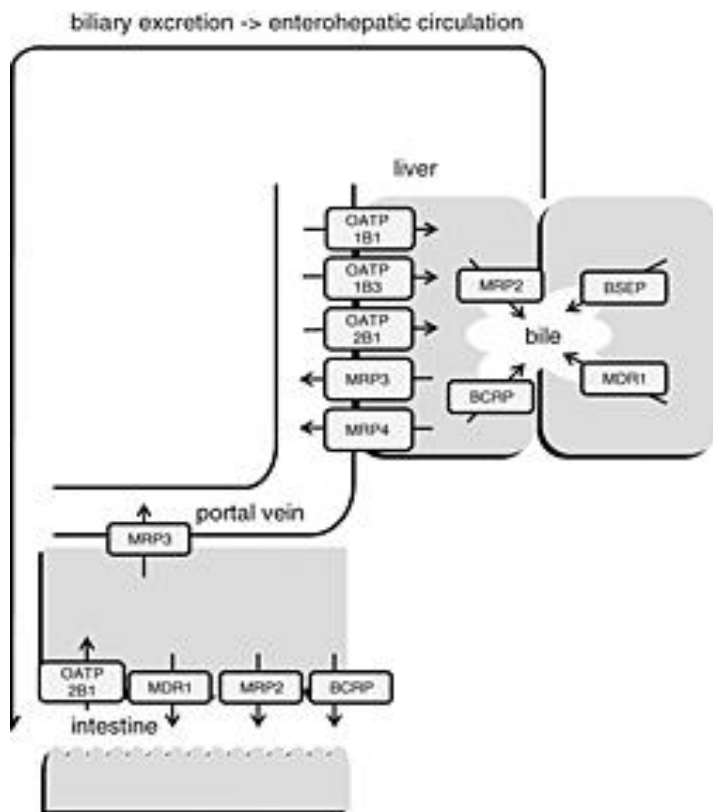
Legemiddeltransportører er også viktige faktorer som påvirker sikkerhet og effekt av mange legemidler. Dette er proteiner lokalisert i membraner av celler i forskjellige organer slik som tarm, lever og nyrer, som har viktig funksjon i absorpsjon og eliminasjon av legemidler, og også i placentabarrieren og blod-hjernebarrieren. Mens deres funksjon i disse barrierene er å begrense at potensielt toksiske stoffer skader vevet, er transportører uttrykt i tarmen, leveren og nyrene særlig viktige i forhold til biotilgjengelighet av legemidler og i forhold til muligheten for legemiddelinteraksjoner (DDI) [25].

To superfamilier av legemiddeltransportører med klinisk interesse i forbindelse med legemiddelinteraksjoner er ATP-bindende-kassett familien (ABC) og «solute carrier»-familien (SLC) [26]. I forhold til funksjon i biologiske membraner, kan disse også klassifiseres i to grupper: opptak-transportører, som regulerer opptak av legemidler inn i cellene og hører til SLC-familien, og effluks-transportører, som regulerer eksport av legemidler ut av cellene, og

stort sett, med noen unntak, hører til ABC-familien [25]. I det humane genom omfatter ABC-genfamilien 49 gener i 8 underfamilier, mens SLC genfamilien omfatter 362 gener i 55 underfamilier [27]. Transportører med størst interesse i forhold til legemidler er permeabilitetsglykoprotein (P-glykoprotein, P-gp,) og bryst-kreft motstandsprotein (BCRP) fra ABC-familien, og organisk aniontransportører (OAT1 og OAT3), organisk kationtransportøren OCT2 og organisk aniontransporterende polypeptider (OATP1B1 og OATP1B3) fra SLC-familien [26].

P-glykoprotein, et produkt av multidrug resistance protein 1-gen (MDR1) [28], deltar i ATP-basert transport av legemidler ut av celler [29]. Transportøren er lokalisert i den luminal membranen av epitelceller i tarm, nyrer og lever, noe som tyder på at den deltar i eliminasjon av xenobiotika og endogene metabolitter [30]. Tilstedeværelse i binyrebark kan være knyttet til mulig rolle i fysiologisk steroidsekresjon og i blod-hjernebarrieren begrenser den opptak av xenobiotika og beskytter hjernevevet [30]. Mange forskjellige legemidler er substrater for P-gp, slik som statiner, immunosuppressiva, beta-blokkere, og en rekke andre legemidler [25]. Mange legemidler er substrater for både P-gp og CYP3A4, noe som tyder på at de kan ha enten synergistisk eller additiv effekt i kinetikken av legemidler [31]. MDR1-polymorfisme har blitt undersøkt i mange studier uten at det er funnet sammenheng mellom slike genetiske endringer og funksjonen av P-gp [29].

OATP-familien, et produkt av SLC21/SLCO-genet, består av 11 forskjellige medlemmer som i forhold til likhet i aminosyresekvensen er delt i 6 underfamilier (OATP1-OATP6) [25]. Disse regulerer transport av flere endogene stoffer som gallesyre, tyreoidhormoner, prostaglandiner og bilirubin-glukuronsyre gjennom cellemembraner, og blant dem har OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1 og OATP1A2 en viktig rolle i kinetikken av mange legemidler [32]. Lokalisering av disse transportørene hos mennesker er illustrert i Figur 1-2. OATP1A2 er lokalisert i epitel av tarmceller, nyreepitel og i høy grad i luminal membran av endotelceller i hjerne hvor den deltar i transport av legemidler gjennom blod-hjernebarrieren. OATP1B1 og OATP1B3 (som har omtrent 80% likhet i aminosyresekvensen) er uttrykt i membraner av hepatocytter, hvor de bidrar i opptak av legemidler fra portåren, mens OATP2B1 finnes i nesten alle vev, men har muligens den viktigste rollen i opptak av xenobiotika fra tarmen [25, 32].



Figur 1-2. Plassering av OATP-transportører og andre relevante transportører i tarm og lever hos mennesker. OATP2B1 har muligens hovedrolle i opptak av legemidler fra tarmen; OATP1B1, OATP1B3 og OATP2B1 er lokalisert i membraner av hepatocytter og er involvert i opptak av legemidler fra portåren. MDR1 (P-gp), BCRP og MRP2 (Multidrug resistance-associated protein 2) formidler effluks av legemidler fra enterocytter til tarmlumen og fra hepatocytter til galle [32].

OATP1B1 er uttrykt i den basolaterale membranen i humane hepatocytter og transportøren bidrar til opptak av et bredt spekter av anioniske legemidler: statiner (atorvastatin, pravastatin, pitavastatin), antibiotika (benzylpenicillin, rifampin), ACE hemmere (enalapril), angiotensin II-reseptorantagonister (valsartan og olmesartan), antiinflammatoriske medikamenter (metotreksat), antihistaminet feksofenadin, HIV-proteasehemmere og flere andre [33]. Ekstensiv transportør (ET), mellomliggende transportør (IT), dårlig transportør (PT) og ultrarask transportør (UT) er forskjellige genotyper av *SLCO1B1*, genet som koder OATP1B1 [34]. Polymorfisme i *SLCO1B1* påvirker i betydelig grad funksjonen av transportøren og mange studier har undersøkt hvordan denne polymorfe transportøren kan påvirke biotilgjengeligheten av ulike legemidler, samt deres effekt [35]. Det er for eksempel vist at *SLCO1B1\*1b* er relatert til økt transportaktivitet hos omtrent 40% av kaukasiere, mens *SLCO1B1\*5* finnes hos 15% av kaukasiere og viser redusert OATP1B1-aktivitet [9]. Slik kunnskap er viktig både for bedre

forståelse av individuelle forskjeller i legemiddeleffekter og individualisering av legemiddelbehandling [35].

OATP1B3 viser 80% likhet i aminosyrefrekvensen med OATP1B1 og i stor grad har disse samme substratspesifisitet, som inkluderer blant annet statiner, blodtrykkssenkende legemidler som enalapril og valsartan, og metotreksat [35, 36]. OATP1B3 er hovedsakelig uttrykt i den basolaterale membranen av humane hepatocytter hvor den bidrar til opptak av legemidler fra portåren (Figur 1-2) [32]. Selv om OATP1B3 er en polymorf transportør, er kunnskapen om *SLCO1B3*-polymorfisme relativt sparsom sammenlignet med *SLCO1B1* [35].

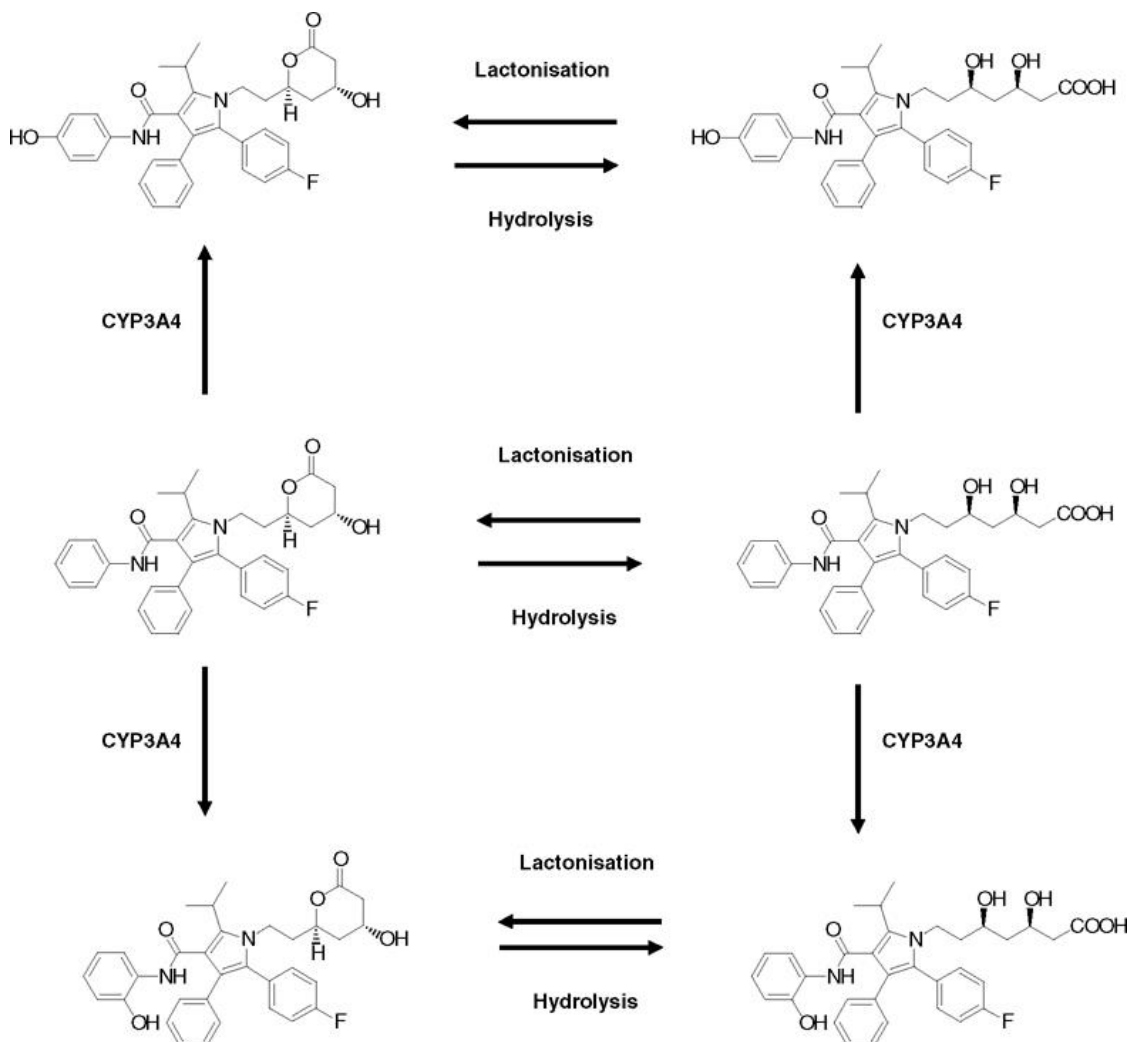
## 1.4 Atorvastatin

Statiner er de mest brukte legemidlene i behandling av hyperkolesterolemi og forebygging av kardiovaskulær sykdom. Det kan forklares med at de har dokumentert effekt i forhold til reduksjon av LDL og en viss økning i HDL-nivåer, men også i forhold til det faktum at de er generelt sikre i bruk og er godt tolerert [37]. Deres virkningsmekanisme manifesteres i hemming av enzymet hydroksymetyl-glutaryl-koenzym A (HMG-CoA)-reduktase, som katalyserer omdannelse av HMG-CoA til mevalonat i kolesterolsyntesen [37]. Atorvastatin, rosuvastatin, simvastatin og pravastatin er eksempler på noen statiner som brukes i klinisk praksis i dag.

Atorvastatin administreres oralt i form av kalsium-saltet av den aktive hydroksysyren [38]. Aktiv syreform konverteres *in vivo* til inaktiv laktonform som står i likevekt med atorvastatinsyre, og siden de to formene har forskjellige fysiske og kjemiske egenskaper er deres farmakokinetikk også ulik [39]. Etter nesten komplett absorpsjon, blir atorvastatin metabolisert av CYP-enzymene (CYP3A4 og CYP3A5 og i liten grad av CYP2C8 [40]) i lever og tarm til de aktive metabolittene, 2-hydroksyatorvastatinsyre og 4-hydroksyatorvastatinsyre som også står i likevekt med de inaktive laktonformene (Figur 1-3) [39]. Siden laktonformen har mye høyere fettoppløselighet enn syreformen, bindes atorvastatin lakton i høyere grad til CYP3A4, og derfor betraktes denne veien som relevant i eliminering av atorvastatin, hovedsakelig i leveren [39].

Den relativt lave biotilgjengeligheten av atorvastatin (omtrent 14%) forklares med omfattende førstepassasjemetabolisme [40]. En viktig rolle i denne prosessen tilskrives også OATP1B1 som formidler opptaket av atorvastatin inn i hepatocytter og fører til økt intracellulær konsentrasjon av atorvastatin i hepatocytter, samt ekskresjon via galle [41]. I tillegg til

OATP1B1 er atorvastatin også substrat for OATP1B3 i lever [42]. Aktivt opptak er den dominerende opptaksmekanismen for atorvastatin. Det er vist i rottehepatocytter, hvor passiv diffusjon utgjør bare liten del av prosessen (18:1) [43]. Ulike legemidler som er hemmere/iduktorer for CYP3A-enzymet og/eller OATP1B1, samt OATP1B3, kan hos pasienter som bruker atorvastatin forårsake interaksjoner og føre til økt risiko for bivirkninger av atorvastatin slik som myalgi, myopati og rabdomyolyse [34]. Rabdomyolyse er en sjelden, men potensielt livstruende tilstand, som manifesteres med muskelnekrose hvor innhold fra musklene lekker ut i blodet og kan føre til akutt nyreskade, og hjertekomplikasjoner som arytmi og hjertestans [44]. Blant legemidler som kan potensere uønskede effekter av atorvastatin er CsA, makrolidantibiotika (erytromycin) og noen antimykotika (ketokonazol, itrakonazol, flukonazol) [39].



**Figur 1-3.** Kjemisk struktur for atorvastatinsyre (i midten til høyre), 2-hydroksyatorvastatinsyre (nederst til høyre), 4-hydroksyatorvastatinsyre (øverst til høyre) og tilhørende laktonformer [39].

## 1.5 Ciklosporin A

Ciklosporin A (CsA) er et potent immunosuppressivum isolert fra soppkulturer *Tolypocladium inflatum* og *Cylindrocarpon lucidum Booth*. CsA har en unik kjemisk struktur bestående av 11 aminosyrer som danner et syklisk peptid. Virkningsmekanismen inkluderer hemming av dannelsen og frigjøringen av interleukin-2 og andre lymfokiner fra aktiverte T-celler og videre hemming av dannelsen av cytotoksiske celler som kan ødelegge transplantert vev. På denne måten forhindrer CsA avstøtning av organer ved transplantasjon [2].

Farmakokinetikken til CsA er kompleks og viser stor variabilitet i forhold til pasientens sykdomstilstand, type organtransplantasjon, pasientens alder og samtidig bruk av andre legemidler. Derfor er legemiddelmonitorering ved behandling med CsA viktig, både i forhold til opprettholdelse av blodkonsentrasjoner nødvendige for forhindring av avstøting, og i forhold til minimering av toksiske effekter som kan forekomme på grunn av legemidlets smale terapeutiske vindu, samt forebygging av dårlig compliance [45]. CsA er et lipofilt virkestoff med lav absorpsjon etter oral administrering, og absorpsjonen kan variere både fra pasient til pasient og hos samme pasient [46]. Denne variasjonen kan i stor grad påvirke biotilgjengeligheten som kan variere fra 5% til 89%, med gjennomsnittlig verdi rundt 30% [45, 46]. Det er vist at biotilgjengeligheten øker med tiden etter transplantasjon på grunn av forbedret gastrointestinal funksjon [46]. Absorpsjonen kan ofte være økt med samtidig matinntak, selv om noen studier har vist motsatt eller ingen effekt [46].

CsA er i stor grad bundet til erythrocytter (58%) og cirka 33% til plasmaproteiner og lipoproteiner [47]. Derfor kan distribusjon av legemiddelet endres med endring i pasientens hematokrit og verdier av lipoproteiner [45]. Høye konsentrasjoner av CsA i fettvevet, nyrene, leveren og bukspyttkjertelen tilsier at legemidlet har et høyt distribusjonsvolum [46].

Metabolismen av CsA skjer via CYP3A-enzymet og resulterer i dannelsen av over 30 forskjellige metabolitter (som beholder syklisk struktur) [47]. Det er primært hydroksylering og N-demetylering som er involvert i metabolismen [45], samt videre dannelsen av sulfonsyrekonjugater og glukuronider [47]. Ca 80% av ciklosporins metabolisme i leveren skjer via CYP3A4 og i mindre grad via CYP3A5 [47]. Siden CYP3A4 og CYP3A5 også finnes i enterocytter, er det antatt at disse deltar med bidrag på nær 50% av metabolismen til CsA etter oral administrasjon [48]. P-gp er en annen faktor som påvirker intestinal metabolisme. Mengden av intestinale CYP3A-enzymet, som kan være variabel, har ikke stor innflytelse på



farmakokinetikken til CsA hos nyretransplanterte pasienter [48]. I motsetning til intestinale CYP3A-enzymmer, vil endringer i mengden av P-gp forårsake om lag 17% av variabilitet i den perorale farmakokinetikken til CsA, som kan eventuelt forklares med cyklosporins hemmende effekt på P-gp og økning i eksponering til enzymmer [48]. Hovedvei for eliminasjon av CsA er via galle i form av metabolitter. Eliminasjon via urin er ubetydelig [49].

CsA er substrat for både CYP3A-enzymmer, P-gp og OATP1B1 og noen andre OATP-transportører, som OATP1B3 for eksempel. Legemidlet er derfor involvert i mange interaksjoner med legemidler som metaboliseres og transporteres av de samme enzymene og transportørene. En interaksjon av stor interesse er den med statiner, siden insidensen av dyslipidemi og kardiovaskulær sykdom er høy hos transplanterte pasienter [41]. Observert systemisk statineksponering kan være opptil 20 ganger høyere, sannsynligvis på grunn av den hemmende effekten CsA har vist å ha på CYP3A4, P-gp og OATP1B1 [41]. Legemidler som induserer CYP3A, blant annet rimfapicin, fenobarbital og fenytoin, kan redusere effekten av CsA, mens på den andre siden kan CYP3A-hemmere som erytromycin, ketokonazol og verapamil, øke risiko for bivirkninger av CsA og komplikasjoner som nyre- og leverskade, hypertensjon, infeksjoner, m.m. [46, 49].

## 1.6 Legemiddelinteraksjoner

Samtidig bruk av flere forskjellige legemidler er vanlig i behandling av pasienter i dag. Dette fører til at virkestoffer med ulike fysiske og kjemiske egenskaper, og farmakologiske effekter, kommer i kontakt og kan interagere med hverandre. Å kjenne til og undersøke mekanismer av slike interaksjoner gjør det lettere å forutsi effekter av legemiddelbehandling, både ønskende og uønskede [1].

Legemiddelinteraksjoner kan deles inn i farmakokinetiske og farmakodynamiske interaksjoner. Farmakokinetiske interaksjoner kan oppstå i en eller flere av de farmakokinetiske prosessene legemidlet er underlagt i kroppen: absorpsjon, distribusjon, metabolisme og eliminasjon. Farmakodynamiske interaksjoner oppstår når et legemiddel endrer effekten av et annet legemiddel på virkestedet, som for eksempel hos beta-reseptoragonister og beta-reseptorantagonister [50].

### 1.6.1 Interaksjoner via CYP-enzymmer

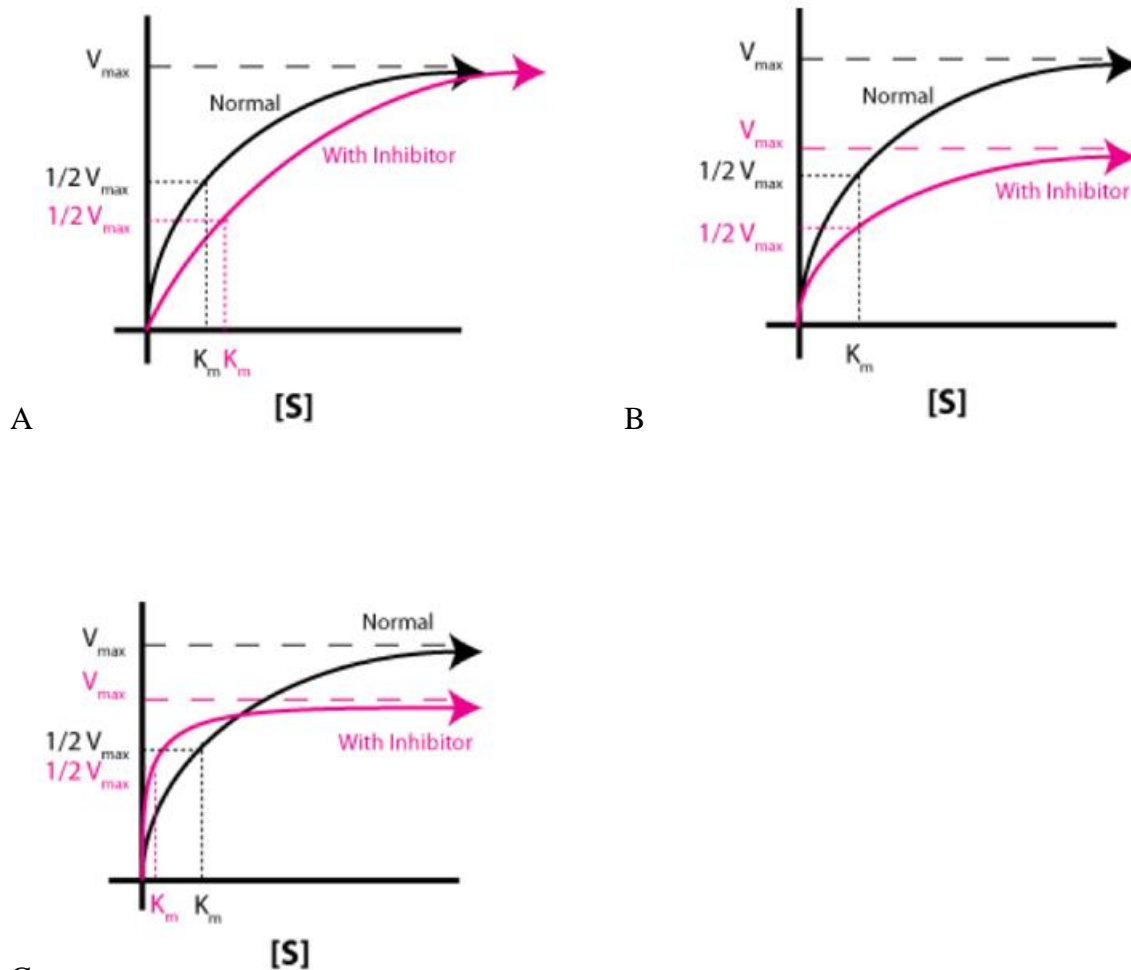
Legemiddelmetaboliserende enzymer i lever og andre (ekstrahepatiske) vev som for eksempel tynntarm, er involvert i mange legemiddelinteraksjoner. Mens noen legemidler kan virke induserende og øke mengden og aktiviteten av CYP-enzymmer, kan andre legemidler virke motsatt og hemme effekten av enzymer [51].

Legemidler som kan indusere effekten av CYP-enzymmer kan føre til nedsatt effekt av et annet legemiddel som er substrat for samme enzym, gjennom økt metabolisme [52]. Dette betyr at den ønskede terapeutiske effekten kan oppnås hvis høyere doser av det andre legemidlet administreres. Som oftest tar det tid før man får økning i enzymaktivitet, det vil si at denne økningen ikke oppstår umiddelbart, og den er avhengig av halveringstiden til det induserende legemidlet: jo kortere halveringstid av induserende legemiddel jo kortere tid tar det for konsentrasjonen av substrat reduseres [53]. Rifampicin, barbiturater, karbamazepin og fenytoin er noen av de mest kjente legemidler med induserende effekt på CYP-enzymmer [53]. Mekanismen av en slik effekt kan forklares med at induserende legemidler fører til økt genekspresjon og proteinsyntese gjennom å binde seg til forskjellige nukleære reseptorer [52].

Dersom legemidler kan hemme effekten av CYP-enzymmer, kan det forventes økt farmakologisk effekt av et annet legemiddel som blir metabolisert via det samme enzymet, noe som ikke nødvendigvis må være problematisk, avhengig av det terapeutiske vinduet til substratet, men det kan også føre til økt risiko for bivirkninger [54]. Hemming av enzymaktivitet kan være reversibel, kvasi-irreversibel og irreversibel [55]. Mens hemming via reversible hemmere er bare dose-avhengig er kvasi-irreversibel og irreversibel hemming både dose- og tidsavhengig [56].

Reversibel hemming oppstår i de fleste kliniske legemiddelinteraksjonene og karakteriseres med gjenoppretting av enzymets funksjon etter at hemmeren er fjernet fra kroppen [57]. Den kan være kompetitiv, non-kompetitiv og ukompetitiv [58]. Kompetitiv hemmer hindrer substratbinding til enzymets aktive sete og kan overvinnes med økning i substrat konsentrasjonen. Non-kompetitiv hemmer bindes til et annet sted på enzymet enn substratet uten påvirkning av substratbinding, og dette resulterer videre i dannelsen av et uproduktivt enzym-substrat-hemmer kompleks, mens ukompetitiv hemmer bindes til enzym-substrat komplekset (og ikke til fritt enzym) som også fører til dannelsen av et uproduktivt enzym-substrat-hemmer kompleks [58]. Figur 1-4 viser hvordan kinetiske parametere, den maksimale reaksjonshastigheten for enzymet ( $V_{max}$ ) og substratkonsentrasjonen som gir halvparten av

reaksjonshastigheten ( $K_m$ ) endrer seg i forhold til type av reversible hemmere i et Michaelis-Menten plot.



**Figur 1-4.** Michaelis-Menten hastighetskurver ved kompetitiv (A), non-kompetitiv (B) og ukompetitiv hemming (C). Ved kompetitiv hemming er  $V_{max}$  upåvirket, mens  $K_m$  er økt, ved non-kompetitiv hemming er  $V_{max}$  redusert, mens  $K_m$  er upåvirket, mens ved ukompetitiv hemming er både  $V_{max}$  og  $K_m$  redusert [9].

Legemidler involvert i kvasi-irreversibel hemming danner hemmende metabolitter i kontakt med CYP-enzymet som bindes non kovalent til enzymets hem og lager et metabolsk hemmende kompleks (MIC) [55]. Dannelsen av MIC er i fysiologiske forhold en irreversibel prosess, selv om det er mulig å gjenopprette enzymaktivitet *in vitro* som for eksempel ved bruk av kaliumferrocyanid [55]. Eneste måte å oppnå det *in vivo* er syntese av nye enzymer [58].

Ved irreversibel hemming, slik som ved kvasi-irreversibel hemming, er en syklus med CYP-katalytisk prosess nødvendig for dannelsen av reaktiv hemmende metabolitt [59]. Metabolitten bindes kovalent til hemgruppen eller apoproteinet, og dette fører til irreversibel inaktivering av

enzymet og syntese av nye enzymer er nødvendig for enzymeres videre funksjon og aktivitet [9]. Legemidler som fører til irreversibel hemming av enzymer kalles også for mekanisme-baserte hemmere eller suicide-substrater [58]. Hovedprinsipp som skiller reversible og irreversible hemmere er fenomenet tidsavhengighet: hvis en irreversibel hemmer preinkuberes med enzym før substrat tilsettes, skal dette føre til tidsavhengig tap av enzymets aktivitet mot substratet, noe som ikke skjer ved reversible hemmere [58].

### 1.6.2 Interaksjoner via legemiddeltransportører

På samme måte som for CYP-enzym, som har fått størst oppmerksomhet i studier i forhold til legemiddelinteraksjoner, kan også hemming eller induksjon av legemiddeltransportører påvirke kinetikken av legemidler som er substrater til samme transportør. Eksempler er P-gp interaksjonen mellom digoksin og kinidin, OATP1B1-interaksjoner mellom statiner (atorvastatin, rosuvastatin) og CsA eller OAT-interaksjoner mellom probenecid og cefalosporiner. Siden disposisjon av mange legemidler er avhengig av både CYP-enzym og transportører blir det ofte vanskelig å predikere deres individuelle bidrag i legemiddelinteraksjoner [60].

Interesse for legemiddeltransportørers rolle i farmakokinetiske legemiddelinteraksjoner kom i fokus kort tid etter oppdagelse av P-gp og per i dag har mange hundre legemidler testet som P-gps substater og/eller hemmere, noe som gjør at denne transportøren er mest undersøkt [31]. Evaluering av sikkerhet av nye kjemiske stoffer i forhold til induksjon og hemming av P-gp har blitt nødvendig praksis i legemiddelindustrien [61]. Noen kjente legemidler som kan indusere effekten av P-gp er rifampicin og prikkperikum, mens P-gp-hemmere er verapamil, kinidin, ketokonazol og CsA [62]. Effekten av P-gp-hemmere manifesteres i økning av legemiddelnivåer i blodet og økning av toksisitet i organer beskyttet med blod-vevsbarrierer [63]. Dyrestudier har vist at P-gp-hemmere påvirker i mye større grad distribusjon av legemidler i vevet (først og fremst hjernen) enn deres plasmakonsentrasjon [62]. Mekanismer involvert i P-gp-baserte interaksjoner er kompetitiv eller non-kompetitiv hemming, samt en potensiell virkning på ATP-binding og ATP-hydrolyse, prosesser som er nødvendige for transport av legemidler [64].

Organer som er mest undersøkt i forhold til betydningen av opptakstransportører i legemiddelinteraksjoner, er leveren og i mindre omfang nyrene og tarmen [65]. Betydelig økning i antall slike interaksjoner som involverer hemming av OATP1B1 er blitt registrert i de

siste 10-15 årene [66]. Legemidler med stort potensiale for å hemme denne transportøren er CsA, rifampicin, ritonavir og gemfibrozil [32, 67], som alle i betydelig grad kan øke blodkonsentrasjon og redusere den intracellulære konsentrasjon av OATP1B1-substrater i leveren [68]. Hemming av OATP1B1 kan være kompetitiv og nonkompetitiv [32, 66]. Det er rapportert at OATP1B1 viser substratavhengig hemming, noe som tyder på at transportøren har flere seter for substratbinding [51]. Amundsen *et al.* har vist at hemmingseffekten av CsA potenseres ved preinkubasjon av OATP1B1 med CsA [41]. En slik oppdagelse kan sammenlignes med irreversibel tidsavhengig hemming av CYP-enzymmer, men dannelse av et MIC-lignende kompleks er lite sannsynlig i dette tilfellet [9].

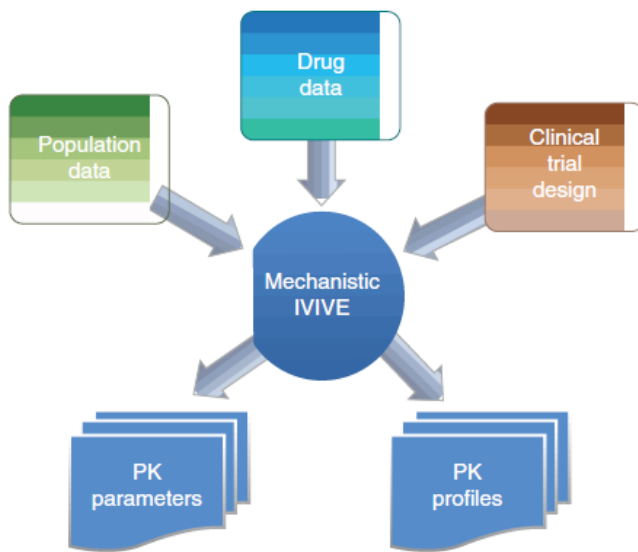
## 1.7 Fysiologibaserte farmakokinetiske (PBPK) modeller

Fysiologibasert farmakokinetisk modellering og simulering har i de ti siste årene vist rask utvikling både innenfor det akademiske feltet og i legemiddelindustrien, og metoden har blitt et viktig verktøy i utviklingen av nye legemidler. Siden legemiddelutvikling er en lang og kostbar prosess, kan bruk av PBPK-modeller øke effektivitet av denne prosessen ved å redusere behov for dyre og langvarige kliniske studier, samt dyreforsøk. I dag brukes disse modellene i legemiddelindustrien mest for predikering og simulering av legemiddelinteraksjoner, samt for simuleringer av farmakokinetiske parametere hos pasienter med svekket lever- og nyrefunksjon, eller for å studere om et potensielt legemiddel er substrat for polymorfe enzymer, som for eksempel CYP2D6 [69].

PBPK modeller er utviklet for å predikere og simulere kinetikken av legemidler hos mennesker, og slike modeller anvendes for å studere hvordan forskjellige endogene (for eksempel alder, kjønn, genetikk, graviditet, sykdommer) og eksogene (for eksempel legemiddelinteraksjoner, alkoholbruk) faktorer kan påvirke legemiddeleksponering. Komponenter i et slikt simuleringssystem er basert på langvarige studier og sammensetning av kunnskap om dynamikken av kroppens væsker (som for eksempel blod- og urinstrøm), komposisjon av organer og vevsstørrelse, samt tilstedeværelse og distribusjon av legemiddelmetaboliserende enzymer, legemiddeltransportører og reseptorer. Ved å studere absorpsjon, distribusjon, metabolisme og eliminasjon av legemidler og virkningsmekanismer på cellulært nivå kan man undersøke størrelsen og tidsforløpet for legemiddeleksponering i det aktuelle vevet [70]. Bred kunnskap om fysiologiske, biokjemiske og fysiske prosesser involvert i ADME-prosesser av legemidler i PBPK modeller er presist beskrevet i form av matematiske ligninger [71].

Simcyp populasjonsbasert ADME-simulator er en, blant flere verktøy som brukes for modellering og simulering av komplekse ADME-prosesser til legemidler i populasjoner av friske og syke (kategorisert med alder, sykdom, rase), og for predikering av omfang av metabolisme-baserte legemiddelinteraksjoner. Simulatoren kombinerer eksperimentelle data fra prekliniske legemiddelstudier, undersøkelser av *in vitro* enzym- og cellulærsystemer, fysiske og kjemiske egenskaper av legemidler og deres doseringsformer med demografiske, fysiologiske og genetiske informasjoner om forskjellige populasjoner, for å predikere *in vivo* farmakokinetiske parametere og profiler [72]. Som de fleste andre PBPK-modellene, er den basert på en såkalt «bottom up» tilnærming, hvor parameterne kommer *a priori* fra *in vitro* studier, *in silico* predikeringer og der det er nødvendig, fra *in vivo* studier [71].

Hovedelementene i Simcyp-verktøy er legemiddeldata, populasjonsdata og forsøksoppsett (Figur 1-5). Legemiddeldata i modellen omfatter ADME, fysiske og kjemiske egenskaper ved legemidlet og data relatert til binding i blodet. Populasjonsdata inkorporerer variasjoner i populasjoner slik som demografiske (kjønn, alder, kroppsstørrelse, osv), genetiske (enzym polymorfisme), sosiale og fysiologiske faktorer. Dette er særlig viktig for optimalisering av dosering hos individer med økt risiko for legemiddelbivirkninger. Forsøksoppsett omfatter spesifikasjoner av valgt populasjon (alder, andel av menn/kvinner) knyttet til doseringsregimet av valgte legemidler. «PK-parametere» og «PK-profiler» er to simuleringsmoduser som henholdsvis ekskluderer eller inkluderer tid- og konsentrasjonsavhengige fenomener. For eksempel  $Cl_{int}$  er en PK-parameter siden den er bestemt under forutsetning av at legemiddelkonsentrasjonen alltid er lavere enn  $K_m$ . Den andre modusen inkluderer parametere som krever full konsentrasjon-tid-profil [72].



**Figur 1-5.** Hovedelementer av Simcyp simulatoren: populasjonsdata, legemiddeldata og forsøksoppsett. Predikering av PK-parametere og PK-profiler via *in vitro-in vivo* (IVIVE) ekstrapolering er hovedmål med simulatoren [72].

Siden PBPK-modeller brukes mer og mer i alle faser av legemiddelutviklingen, anbefaler mange regulatoriske organer som for eksempel FDA, bruk av *in silico* modeller for mer effektiv utvelgelse og undersøkelse av legemidler [73]. Selv om modeller har mange fordeler, er det også viktig å nevne noen begrensninger. For å verifisere en slik modell er det nødvendig å samle store mengder data, noe som kan være vanskelig på grunn av problemer med å analysere legemiddelinnhold i ulike vev hos mennesker. Siden verdier av noen parametere kan komme fra dyreforsøk, kan de være villedende hvis legemidlet omsettes veldig forskjellig i dyr sammenlignet med mennesker [74]. Kvaliteten av *in vitro* data er viktig for at modellen skal være presis, men kvaliteten av *in vivo* data som modellen skal sammenlignes med er også av stor betydning [75]. Siden både *in vitro* og *in vivo* data kan være ufullstendige og fragmenterte, er det viktig å skille mellom en nyttig simulering og presis predikering [75, 76].

## 1.8 utfordringer ved legemiddelbehandling med atorvastatin hos nyretransplanterte pasienter som bruker CsA

Hyperkolesterolemi, med insidensen fra 16-60%, betraktes som en vanlig tilstand hos nyretransplanterte pasienter, og mer utbredt enn i vanlig populasjon [77, 78]. Tilstanden kan

hos disse pasientene øke risiko for mortalitet gjennom utvikling av kardiovaskulær sykdom og allograft vaskulopati, en uvanlig, akselerert form av åreforkalking som kan lede til kronisk reaksjon av nyregraft [79]. Forskjellige faktorer som kan forårsake hyperkolesterolemi etter transplantasjon er diett, andre sykdommer (diabetes), arv, samt anvendelse av immunosuppressiva [77, 79]. CsA kan øke nivå av LDL, mens kortikosteroider kan øke konsentrasjoner av VLDL, total kolesterol og triglyserider og samtidig redusere HDL-konsentrasjonen [77]. Siden dosereduksjon av CsA og kortikosteroider ofte er uaktuelt, er bruk av HMG-CoA reduktasehemmere (statiner) vanlig som tilleggsbehandling [77].

Statiner viser god effekt i reduksjon av kolesterolnivå i blodet, men samtidig skaper legemidlene problemer på grunn av potensiale for å interagere med CsA, som resulterer i økning av plasmakonsentrasjoner og bivirkninger. Risiko for interaksjon mellom pravastatin eller fluvastatin og CsA er lavere enn for de andre statinene, men bruken av disse ved behandling av transplanterte pasienter med alvorlig hyperlipidemi kan være utilstrekkelig [41]. Jones *et al.* har vist at atorvastatin er mer effektiv enn andre statiner i forhold til reduksjon av lipidkomponenter i blodet [80]. Blodkonsentrasjoner av atorvastatin kan øke flere ganger ved samtidig administrering med CsA [81, 82]. Mekanismen for denne interaksjonen er ikke helt avklart selv om det finnes flere indikasjoner på mulige interaksjonsmekanismer.

Både CsA og atorvastatin metaboliseres via CYP3A4 og en interaksjon som involverer CYP3A4 kan være en mulig interaksjonsmekanisme. Siden alle statiner viser økt systemisk eksponering hos pasienter behandlet med CsA, inkludert fluvastatin som primært metaboliseres via CYP2C9, er imidlertid hemming av CYP3A4 (som følge av CsA), ikke den eneste mekanismen som kan forklare denne interaksjonen [78]. CsA kan også hemme P-gp i enterocytter og hepatocytter, noe som fører til redusert intestinal effluks av atorvastatin samt ekskresjon via galle og økt biotilgjengelighet av atorvastatin [82]. Åsberg *et al.* har vist at selv om plasmakonsentrasjonen av atorvastatin var 6 ganger høyere ved samtidig behandling med CsA, var effekten av atorvastatin ikke betydelig forandret i forhold til en kontrollgruppe som ikke fikk CsA [81]. Dette kan være en indikasjon på at det finner sted en interaksjon via legemiddeltransportører (OATP1B1) i leveren, siden hemming av atorvastatinopptak i hepatocytter ikke bare vil hemme eliminering av atorvastatin via galle, men også begrense tilgang av legemiddelet på virkningsstedet i hepatocytter [41, 81].



## 1.9 Hensikt med oppgaven

Denne oppgaven skal prøve å gi et svar på hvorvidt tilgjengelig informasjon om mulige interaksjonsmekanismer mellom atorvastatin og CsA reflekterer interaksjonen som er observert i kliniske studier. En PBPK-modell (Simcyp) skal brukes for å simulere denne interaksjonen og predikere farmakokinetiske parametere som brukes for beskrivelse av interaksjonsgrad.

Hensikten med denne oppgaven var, med andre ord, å bygge opp en modell i Simcyp for å studere interaksjonen mellom atorvastatin som substrat og CsA som hemmer av P-gp, CYP3A4 og OATP1B1. Parameterverdiene for legemidlene skulle først og fremst tas fra tidligere *in vitro* studier, men også fra *in vivo* studier eller predikeres der nødvendig informasjon manglet. Resultater fra denne oppgaven skulle til slutt sammenlignes med observasjoner fra kliniske studier og forhåpentligvis gi et bidrag til bedre forståelse av den komplekse interaksjonsmekanismen.

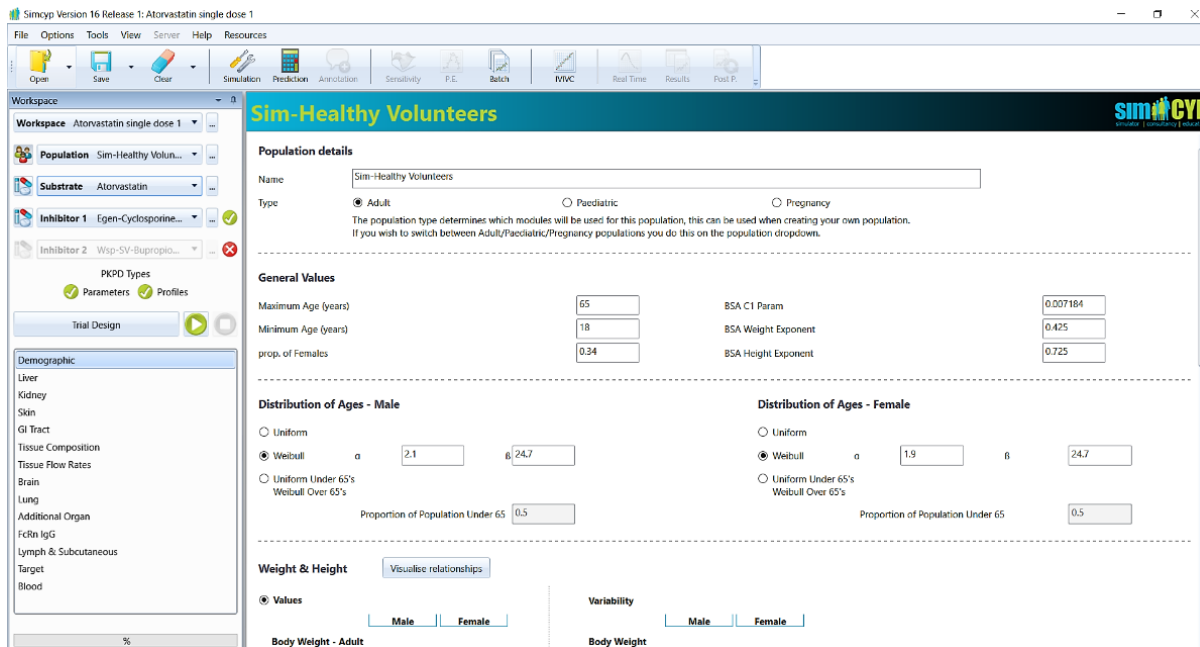
## 2. Metoder

### 2.1 Modellerings- og simuleringsprogramvare

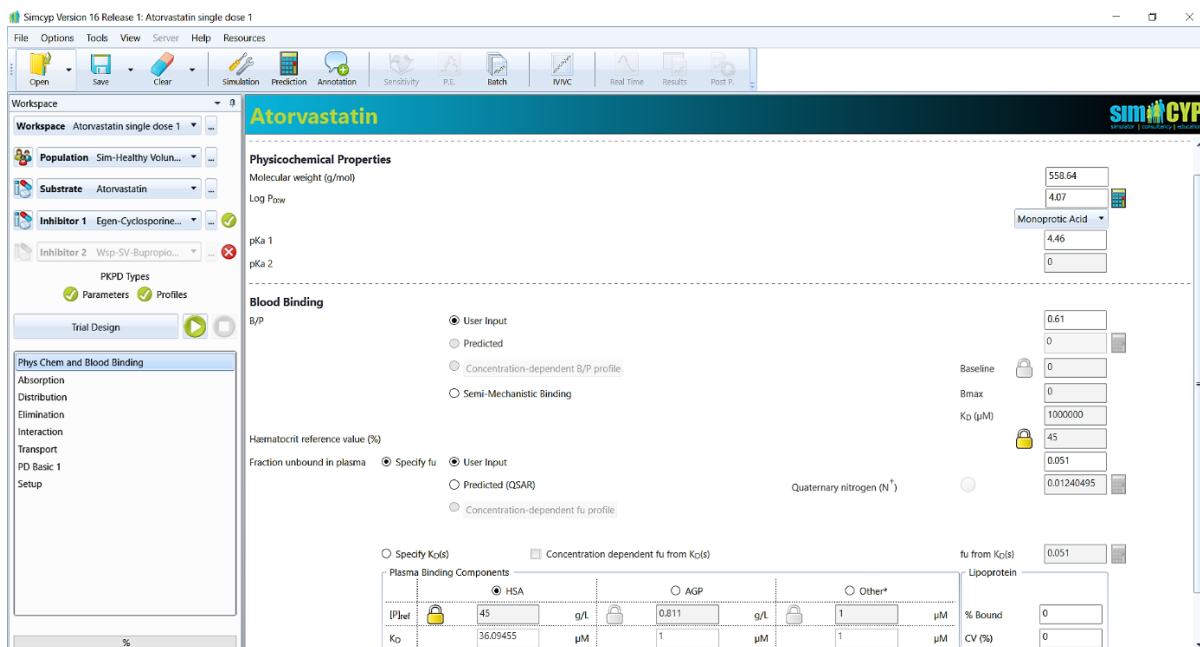
Programvaren som ble brukt for modellering og simulering av legemiddelinteraksjonen mellom atorvastatin og ciklosporin var Simcyp® Populasjosbasert ADME Simulator (Versjon 16; Certara, Sheffield, UK). Tre moduler i Simcyp (legemiddeldata, populasjonsdata og forsøksoppsett) inneholder informasjon som genererer resultater gjennom hovedberegningmotoren [72]. Ulike populasjoner integrert i populasjonsdata er for eksempel friske individer, gravide, barn, sykkelig overvektige, eldre, samt nord-europeiske kaukasiere og japanere. Parameterverdiene for de ulike populasjonene ligger under ulike skjermbilder som beskriver demografiske egenskaper av en bestemt populasjon, samt informasjon knyttet til ulike vev og organer som lever, nyrer, mage- og tarmkanal, hjerne, lunger, osv (Figur 2-1). Parameterne fra denne modulen blir automatisk genererte i programmet, men det er mulig å manipulere dem i forhold til simuleringsmål, slik det ble gjort i denne studien ved simulering av interaksjonen i individer med forskjellige *SLC1B1*-genotyper.

Legemiddeldata-modulen inneholder en liste over inkorporerte virkestoffer (substrater og hemmere) med parametere inndelt i forskjellige skjermbilder: fysiske og kjemiske egenskaper og blodbinding, informasjon om absorpsjon, distribusjon, eliminasjon, interaksjoner og transport, samt oppsett som spesifiserer type virkestoff – små molekyler, proteiner eller antistoff-legemiddel-konjugater (Figur 2-2). I vedlegg 5.1 ligger oversikt over parameterne (målte eller predikerte) fra denne modulen presentert for atorvastatin. Fysiske og kjemiske egenskaper inneholder informasjon om molekylvekt, type virkestoff og pKa-verdi, mens blodbinding gir informasjon om blod-plasma ratio (B/P) og ubundet fraksjon i plasma ( $f_{up}$ ). Absorpsjonsdata omfatter valg av absorpsjonsmodell (ADAM) og intestinal permeabilitet fått ved bruk av Caco-2 celler. «Distribusjon» inneholder data om valg av distribusjonsmodell. I dette arbeidet ble fullstendig PBPK-modell anvendt mens distribusjonsvolum ved steady-state ( $V_{ss}$ ) ble predikert med metoden til Rogers *et al.* [83]. «Eliminasjon» viser til blant annet  $V_{max}$ ,  $K_m$  og fraksjon av ubundet legemiddel fra *in vitro* mikrosomal inkubasjon ( $f_{u_{mic}}$ ) for enzymer (se under «Eliminasjon» i Vedlegg 5.1). «Interaksjon», som naturlig ble brukt bare for hemmeren (CsA), inneholder  $K_i$ -verdier fra *in vitro* studier for kompetitiv hemming av CYP3A4 og legemiddeltransportører (OATP1B1 i lever og P-gp i lever og tarm). «Transport» inneholder data om maksimal hastighet av P-gp-effluks ( $J_{max}$ ) og tilsvarende  $K_m$  i tarmen, samt

data relatert til OATP1B1 i lever som clearance for passiv diffusjon ( $CL_{pd}$ ),  $CL_{int}$ , og ubundet fraksjon intracellulært og i ekstracellulær væske ( $f_{uIW}$  og  $f_{uEW}$ ). Oppsett ble satt til små molekyler.



**Figur 2-1.** Populasjonsdata-modulen i Simcyp inneholder demografiske data knyttet til utvalgt populasjon (eks. friske individer), samt data knyttet til forskjellige organer og kroppsvæsker (nede til venstre).



**Figur 2-2.** Legemiddeldata-modulen i SimCyp inneholder data om fysiske og kjemiske egenskaper og blodbinding av substrater og hemmere (eks. atorvastatin), samt data knyttet til ADME-prosesser (nede til venstre) (Vedlegg 5.1).

Under forsøksoppsett finner man informasjon om blant annet ønsket dosering og administrasjon av legemidler, prøvetakingsplan, aldersfordeling i populasjonen og antall deltakere, antall studier og deres varighet. Forsøksoppsett er modulen som styrer hvordan informasjon fra populasjonsdata og legemiddeldata skal benyttes.

ADAM (avansert oppløselighet, absorpsjon og metabolisme)-modellen er en blant fire forskjellige absorpsjonsmodeller som er integrert i Simcyp simulatoren. Den ble brukt for å beskrive absorpsjon av legemidler fra mage-tarm-kanalen. I denne modellen er mage-tarm-kanalen delt i 9 anatomisk definerte segmenter, hvor hvert segment er beskrevet som funksjon av frisetting fra legemiddelformulering, oppløselighet, utfelling, luminal degradering, permeabilitet, metabolisme og transport fra det ene segmentet til det andre [84].

Distribusjon av legemidler ble beskrevet ved bruk av en fullstendig PBPK-modell. I denne modellen er blodsirkulasjon, som binder vev, vevsvæsker og organer sammen, presentert som en anatomisk helkroppssirkulasjonsmodell [85].

Interaksjon mellom atorvastatin og CsA ble simulert under forutsetning av kompetitiv hemming av CYP3A4 og OATP1B1. Til forskjell fra enzymer, er mulighet for simulering av mekanismebasert hemming av legemiddeltransportører fortsatt ikke integrert i programmet.

Resultater ble presentert som de farmakokinetiske parametrene  $C_{max}$ , arealet under plasmakonsentrasjons-tidskurven (AUC) og AUC-ratio (AUCR). AUCR viser til forskjell mellom AUC for substrat (atorvastatin) med og uten samtidig administrering av hemmeren (CsA), eller mellom individer med forskjellige genotyper (PT-individer i forhold til ET-individer). Endringer i AUC og  $C_{max}$  ble benyttet til å beskrive omfanget av en legemiddelinteraksjon som anbefalt av FDA, og også en eventuell effekt av *SLC01B1*-polymorfisme. Verdier av AUCR fra 1,5-2 viste til liten interaksjonsgrad, 2,0-4,9 til moderat og fra 5 og oppover til alvorlig interaksjonsgrad [86]. Microsoft Excel ble brukt for presentasjon av resultater etter simuleringen.

## 2.2 Parametere for atorvastatin og CsA

Parameterne som ble benyttet til oppbygging av atorvastatin-modellen i Symcyp er beskrevet i litteraturen (Vedlegg 6.1) [87]. CsA var allerede inkorporert som substrat i Simcyp og samme parameterverdier ble brukt i oppbygging av modellen til CsA som hemmer. Verdier for hemmingskonstanten ( $K_i$ ) til CsA for kompetitiv hemming av OATP1B1 og CYP3A4 ble hentet

fra Amundsen *et al.* [41, 88].  $K_i$ -verdi for CsA for preinkubering var  $0,014 \pm 0,03 \mu\text{M}$  for OATP1B1 og  $0,98 \mu\text{M}$  for CYP3A4.  $K_i$ -verdier på  $0,032 \mu\text{M}$  for OATP1B3 og  $0,02 \mu\text{M}$  for P-gp ble hentet fra Simcyp. For bedre predikering av interaksjonen, samt på grunn av begrensninger av denne modellen, ble også  $K_i$ -verdi for OATP1B1 på  $0,001 \mu\text{M}$  anvendt.

## 2.3 Simulering og predikering av legemiddelinteraksjonen mellom atorvastatin og CsA

Simuleringer ble utført i populasjoner av friske individer fra Simcyp-databasen hvor demografiske, anatomiske, fysiologiske og genetiske parametere er generert for hver enkel person ved bruk av Monte Carlo-metoden. Monte Carlo simulering er en datastyrt matematisk teknikk for utføring av risikoanalyse med å bygge opp en modell av mulige resultater ved erstatning av verdier av usikre parametere [89]. Den beregner resultater mange ganger ved bruk av forskjellige sammensetninger av tilfeldige verdier fra en sannsynlighetsfunksjon og til slutt vises distribusjonen av mulige utfall [89].

Hver simulering ble utført med 5 studier av 10 personer (totalt 50 personer), noe som i tilstrekkelig grad burde representere interindividuelle variasjoner. Interaksjonen ble studert i populasjoner av friske individer hvis ikke noe annet ble spesifisert. Andel av menn eller kvinner var satt til 0,5, og alderen fra 20-50 år hvis ikke noe annet ble spesifisert. Verdier av simulerte AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ ) og  $C_{\text{max}}$  ( $\mu\text{g/L}$ ) ble presentert som snittverdier. Analyse av AUC og  $C_{\text{max}}$  for atorvastatin ble tatt fra 0 til 24 timer etter siste dose av atorvastatin. Simuleringer ble deretter sammenlignet med resultater fra kliniske studier.

### *Simuleringer med en enkelt dose atorvastatin*

En enkelt oral dose på 10 mg atorvastatin ble gitt etter at steady-state var nådd for CsA, og 200 mg CsA ble administrert oralt 2 ganger daglig. CsA ble gitt i en uke, og atorvastatin ble gitt den syvende dagen. Halveringstiden for CsA er ca 11 timer hos nyretransplanterte, og den kan variere mellom 4-25 timer. Anbefalt vedlikeholdsdose i henhold til retningslinjer ved immunosuppressiv behandling er 2-6 mg/kg/døgn. Samme simuleringssoppsett ble også studert uten samtidig hemming av CYP3A4 og uten samtidig hemming av OATP1B1.

En enkelt dose på 10 mg atorvastatin ble gitt sammen med en modell av en kraftigere hemmer da  $K_i$  for OATP1B1 for CsA ble redusert 10 ganger til  $0,001 \mu\text{M}$ .  $K_i$  for CYP3A4 var  $0,98 \mu\text{M}$ .

Interaksjonen ble også studert uten samtidig hemming av CYP3A4 og uten samtidig hemming av OATP1B1.

### *Simuleringer med multiple doser atorvastatin*

Atorvastatin 10 mg daglig ble gitt sammen med 200 mg CsA 2 ganger daglig i 4 uker. Simulering med redusert  $K_i$  til 0,001  $\mu\text{M}$  ble også utført med multiple doser atorvastatin og CsA i 4 uker.

### *Simuleringer i populasjoner med forskjellige SLCO1B1-genotyper*

Interaksjonen mellom atorvastatin og CsA ble studert i populasjoner med forskjellige OATP1B1-transportørfenotyper. Frekvensen av transportørfenotype i en populasjon av friske individer i Simcyp er 0,64 for ET, 0,02 for PT, 0,27 for IT og 0,07 for UT. Verdier for relativ tilstedeværelse for hver av de overnevnte genotyper var 1, 0,68, 0,37 og 1,47 for ET, IT, PT og UT, henholdsvis. Relativ tilstedeværelse bestemmer  $CL_{\text{int}}$  for OATP1B1 hos individer med PT, IT og UT, som fraksjon av tilstedeværelsen i ET (som er satt til 1) [34].

Simuleringer ble utført ved å sette frekvensen til aktuell transportørfenotype (PT eller ET) til 1, mens frekvensen til de andre fenotypene ble satt til 0. Det ble simulert med en enkelt dose atorvastatin 10 mg som ble gitt den syvende dagen i 7-dagers simulering med CsA 200 mg 2 ganger daglig.

## 2.4 Predikering av intracellulære leverkonsentrasjoner av atorvastatin

For predikering av intracellulære leverkonsentrasjoner av atorvastatin ble simuleringer med en enkelt dose på 10 mg atorvastatin gitt etter at steady-state var nådd for CsA, og 200 mg CsA ble administrert oralt 2 ganger daglig. CsA ble gitt i en uke, og atorvastatin ble gitt den syvende dagen. Samme simuleringsoppsett, bare med redusert  $K_i$  for OATP1B1 for CsA til 0,001  $\mu\text{M}$ , ble også utført, og predikering av intracellulære leverkonsentrasjoner ved bruk av CsA-modellen ble studert.

Simcyp predikerer intracellulære leverkonsentrasjoner som konsentrasjoner av ubundet fraksjon av atorvastatin intracellulært (CuIW). Resultater er derfor presentert i samsvar med det

og sammenlignet med konsentrasjoner av ubundet fraksjon av atorvastatin i ekstracellulært væske (CuEW).

# 3. Resultater

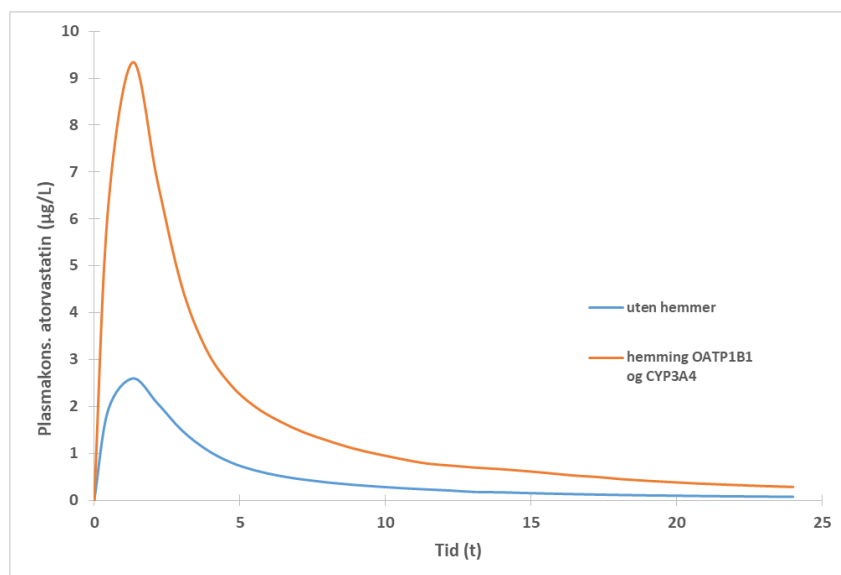
## 3.1 Simuleringer med en enkelt dose atorvastatin

AUC til atorvastatin med samtidig administrering av CsA var 42,1  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  når hemming av både CYP3A4 og OATP1B1 ble studert (Tabell 3-1), mens den var 17,8  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  uten samtidig hemming av OATP1B1 (Tabell 3-2) og 30,5 uten samtidig hemming av CYP3A4 (Tabell 3-3). AUC til atorvastatin uten hemmer var 12,6  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ .  $C_{\text{max}}$  var henholdsvis 9,34  $\mu\text{g/L}$  (Tabell 3-1, Figur 3-1), 3,96  $\mu\text{g/L}$  (Tabell 3-2, Figur 3-2) og 6,52  $\mu\text{g/L}$  (Tabell 3-3, Figur 3-3), mot 2,60  $\mu\text{g/L}$  uten hemmer. AUCR var 3,3 ved samtidig hemming av OATP1B1 og CYP3A4. AUCR var 1,4 da bare hemming av CYP3A4 ble inkludert, og 2,4 da bare hemming av OATP1B1 ble studert.

**Tabell 3-1.** AUC,  $C_{\text{max}}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA) i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA)	144	168	2,60	12,6
Atorvastatin med hemmer (CsA)	144	168	9,34	42,1

AUCR  
3,3



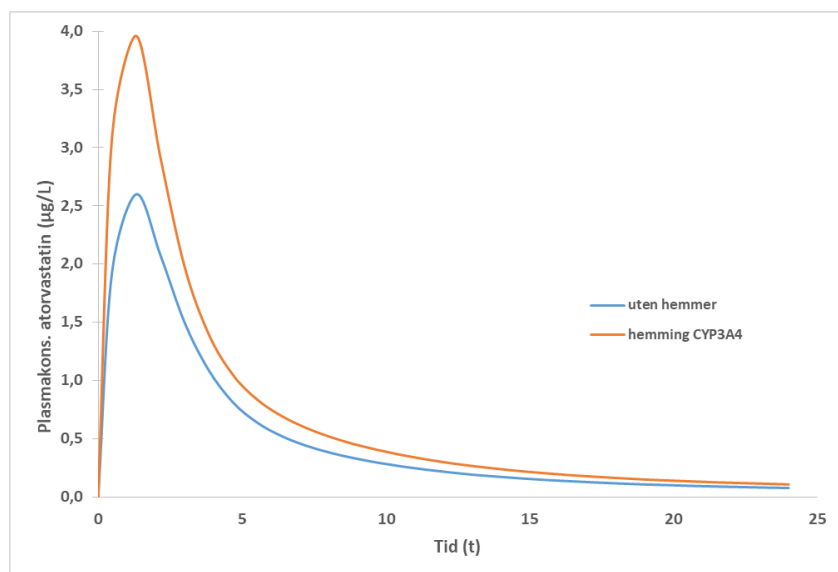
**Figur 3-1.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra in vitro studier [38, 85]. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).



**Tabell 3-2.** AUC,  $C_{max}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA) i en 7 dagers simulering når bare hemming av CYP3A4 ble studert

	Fra (t)	Til (t)	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA)	144	168	2,60	12,6
Atorvastatin med hemmer (CsA)	144	168	3,96	17,8

AUCR  
1,4

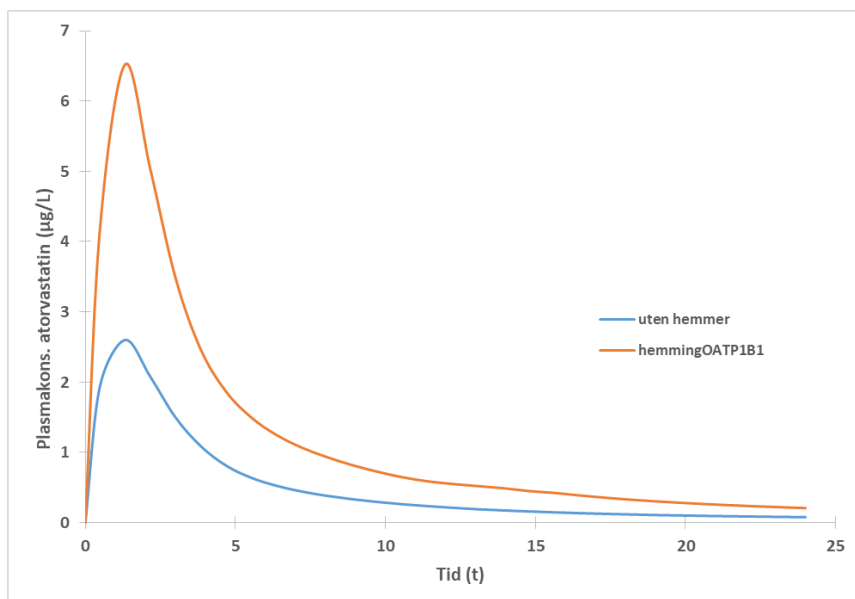


**Figur 3-2.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA når bare hemming av CYP3A4 ble studert med  $K_i$ -verdi for CYP3A4 for CsA tatt fra in vitro studier [38, 85]. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).

**Tabell 3-3.** AUC,  $C_{max}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA) i en 7 dagers simulering når bare hemming av OATP1B1 ble studert

	Fra (t)	Til (t)	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA)	144	168	2,60	12,6
Atorvastatin med hemmer (CsA)	144	168	6,52	30,5

AUCR  
2,4



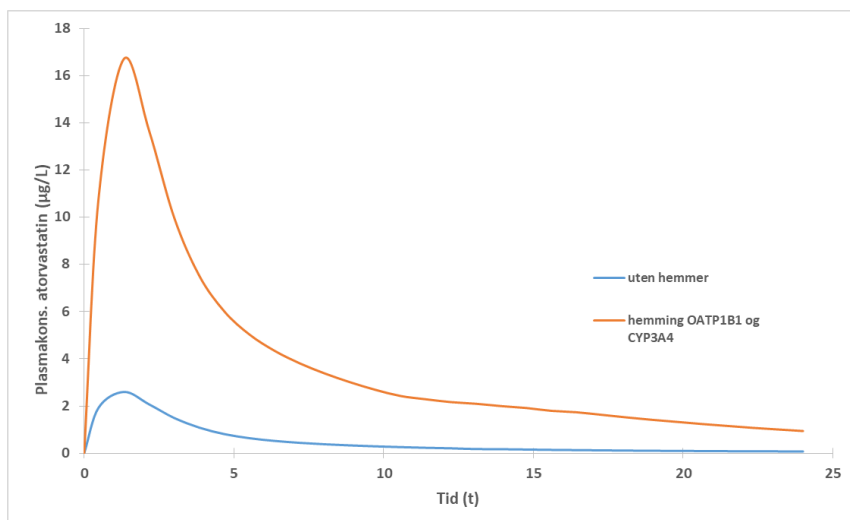
**Figur 3-3.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA når bare hemming av OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdi for OATP1B1 for CsA tatt fra in vitro studier [38, 85]. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).

AUC til atorvastatin med samtidig administrering av en CsA-modell med redusert  $K_i$  for OATP1B1, med hemming av både CYP3A4 og OATP1B1, var 96,1  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  (Tabell 3-4), mens den var 17,8  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  uten samtidig hemming av OATP1B1 (Tabell 3-2) og 70,0  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  når hemmingen av CYP3A4 ikke ble inkludert (Tabell 3-5). Tilsvarende verdier av  $C_{\max}$  var henholdsvis 16,7  $\mu\text{g/L}$  (Tabell 3-4, Figur 3-4), 3,96  $\mu\text{g/L}$  (Tabell 3-2, Figur 3-2) og 11,7  $\mu\text{g/L}$  (Tabell 3-5, Figur 3-5), mot 2,60  $\mu\text{g/L}$  uten hemmer. AUCR var 7,6 ved samtidig hemming av OATP1B1 og CYP3A4.

**Tabell 3-4.** AUC,  $C_{\max}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA-modell) i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA-modell)	144	168	2,60	12,6
Atorvastatin med hemmer (CsA-modell)	144	168	16,7	96,1

AUCR  
7,6

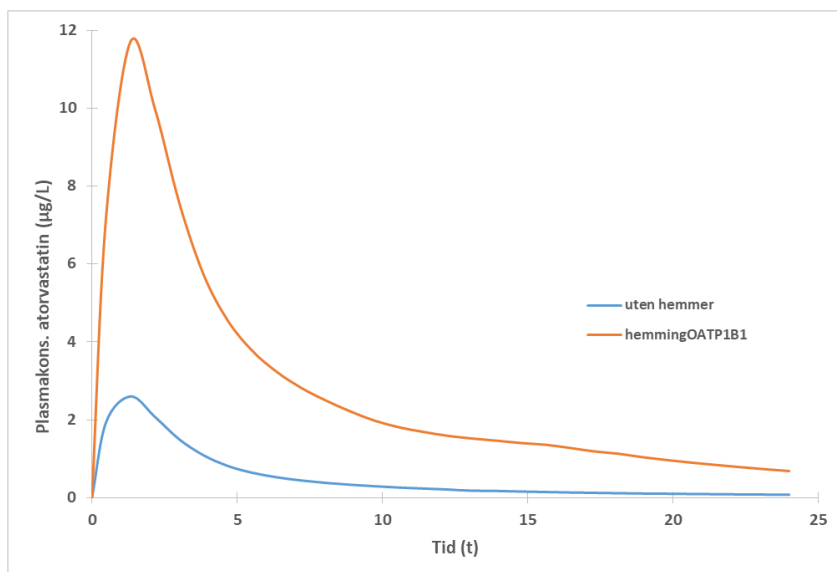


**Figur 3-4.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert.  $K_i$ -verdi for CsA for hemming av OATP1B1 ble redusert 10 ganger. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).

**Tabell 3-5.** AUC,  $C_{max}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA-modell) i 7 dagers simulering når bare hemming av OATP1B1 ble studert

	Fra (t)	Til (t)	$C_{max}$ (µg/L)	AUC (µg/L·t)
Atorvastatin uten hemmer (CsA-modell)	144	168	2,60	12,6
Atorvastatin med hemmer (CsA-modell)	144	168	11,7	70,0

AUCR  
5,6



**Figur 3-5.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell når bare hemming av OATP1B1 ble studert.  $K_i$ -verdi for CsA for hemming av OATP1B1 ble redusert 10 ganger. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady state for CsA hadde blitt nådd).

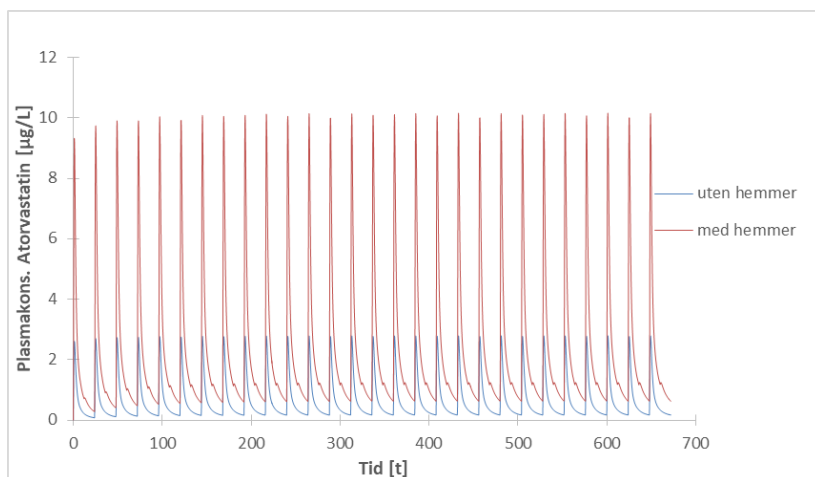
## 3.2 Simuleringer med multiple doser atorvastatin

Simulering med multiple doser atorvastatin gav følgende resultater: AUC for atorvastatin uten samtidig administrering av hemmer (CsA) var 15,4  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ , mens AUC med samtidig administrering av CsA var 53,0  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  (Tabell 3-6).  $C_{\text{max}}$  var 10,1  $\mu\text{g/L}$  med hemmer, og 2,79  $\mu\text{g/L}$  uten hemmeren (Tabell 3-6, Figur 3-6). AUCR var 3,4.

**Tabell 3-6.** AUC,  $C_{\text{max}}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA) i en 28 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA)	648	672	2,79	15,4
Atorvastatin med hemmer (CsA)	648	672	10,1	53,0

AUCR  
3,4



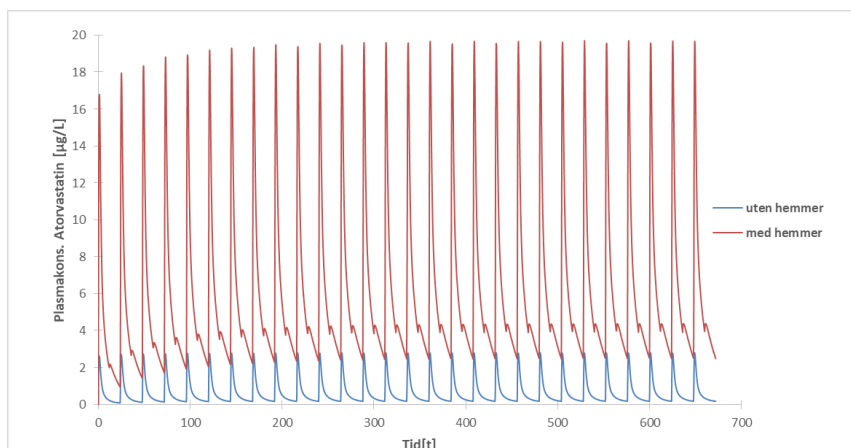
**Figur 3-6.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra in vitro studie. Atorvastatin 10 mg administrert 1 gang daglig og CsA administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig, ble gitt sammen i 28 dager.

AUC for atorvastatin inkludert interaksjon med modell av en kraftigere hemmer var 149,0  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ , sammenlignet med 15,4  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  uten hemmer (Tabell 3-7). Verdier til  $C_{\text{max}}$  var henholdsvis 19,6  $\mu\text{g/L}$  og 2,79  $\mu\text{g/L}$  (Tabell 3-7, Figur 3-7). AUCR var 9,7.

**Tabell 3-7.** AUC,  $C_{\text{max}}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA-modell) i en 28 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA-modell)	648	672	2,79	15,4
Atorvastatin med hemmer (CsA-modell)	648	672	19,6	149,0

AUCR  
9,7



**Figur 3-7.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med 10 ganger redusert  $K_i$ -verdi for OATP1B1 for CsA. Atorvastatin 10 mg administrert 1 gang daglig og CsA-modell administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig, ble gitt sammen i 28 dager.

### 3.3 Simuleringer i populasjoner med forskjellige *SLCO1B1*-genotyper

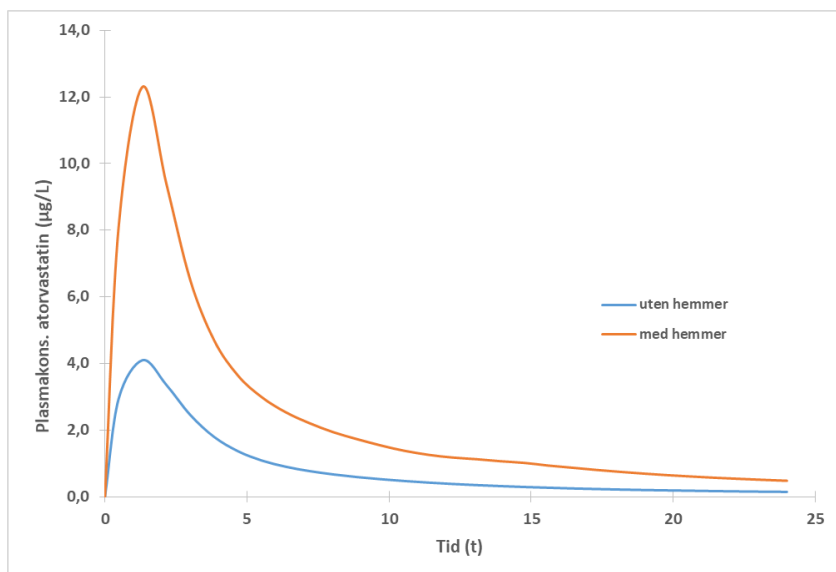
AUC i populasjon med PT-fenotype var 21,0  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ , mens den var 11,9  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  i populasjon med ET-fenotype (villtype). Forskjell i AUC for atorvastatin mellom forskjellige *SLCO1B1*-genotyper (PT og ET) uten interaksjon med hemmeren var 1,8 (Tabell 3-8 og 3-9). Samme AUCR-verdi ble funnet da dosen på 20 mg atorvastatin ble brukt, dvs at en dobling av dosen til atorvastatin som forventet ikke påvirket AUCR. Økningen i AUC for atorvastatin mellom PT og ET var 1,5 da atorvastatin ble administrert etter at steady state til CsA hadde blitt nådd.

AUC for atorvastatin etter interaksjon med CsA i populasjon med PT-fenotype var 60,4  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  (Tabell 3-8) mens  $C_{\text{max}}$  var 12,3  $\mu\text{g/L}$ , sammenlignet med 4,1  $\mu\text{g/L}$  uten interaksjon (Tabell 3-8, Figur 3-8). AUCR med og uten interaksjon med CsA var 2,9.

**Tabell 3-8.** AUC,  $C_{\text{max}}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA) i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med PT-fenotype

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA)	144	168	4,10	21,0
Atorvastatin med hemmer (CsA)	144	168	12,3	60,4

AUCR  
2,9



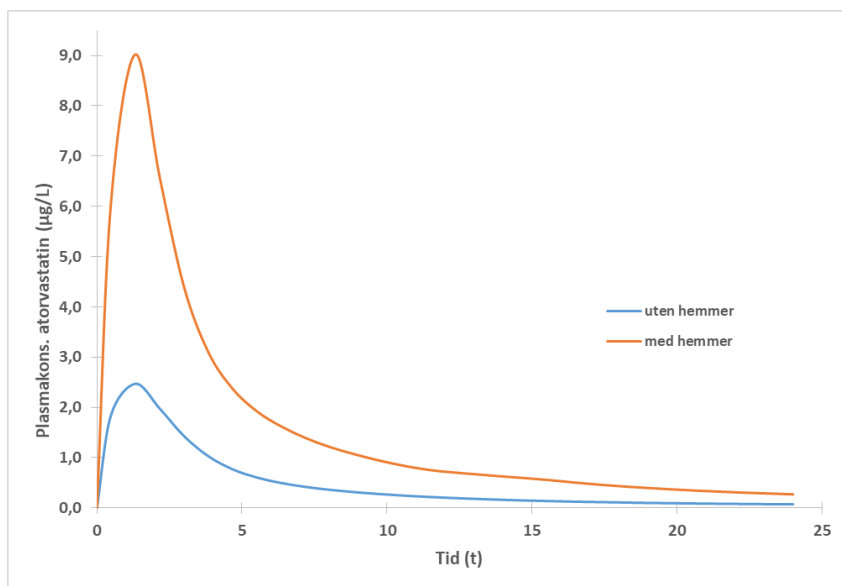
**Figur 3-8.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i populasjon med PT-genotype, når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra in vitro studie. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady state for CsA hadde blitt nådd).

Når det gjelder populasjon med villtype var AUC for atorvastatin etter interaksjon med CsA 40,4  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  (Tabell 3-9), mens  $C_{\text{max}}$  hadde verdi på 9,02  $\mu\text{g/L}$ , sammenlignet med 2,47  $\mu\text{g/L}$  uten interaksjon (Tabell 3-9, Figur 3-9). AUCR i denne populasjonen med og uten interaksjon med CsA var 3,4.

**Tabell 3-9.** AUC,  $C_{\text{max}}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA) i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med ET-fenotype

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA)	144	168	2,47	11,9
Atorvastatin med hemmer (CsA)	144	168	9,02	40,4

AUCR  
3,4



**Figur 3-9.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i populasjon med ET-genotype, når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra in vitro studie. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady state for CsA hadde blitt nådd).

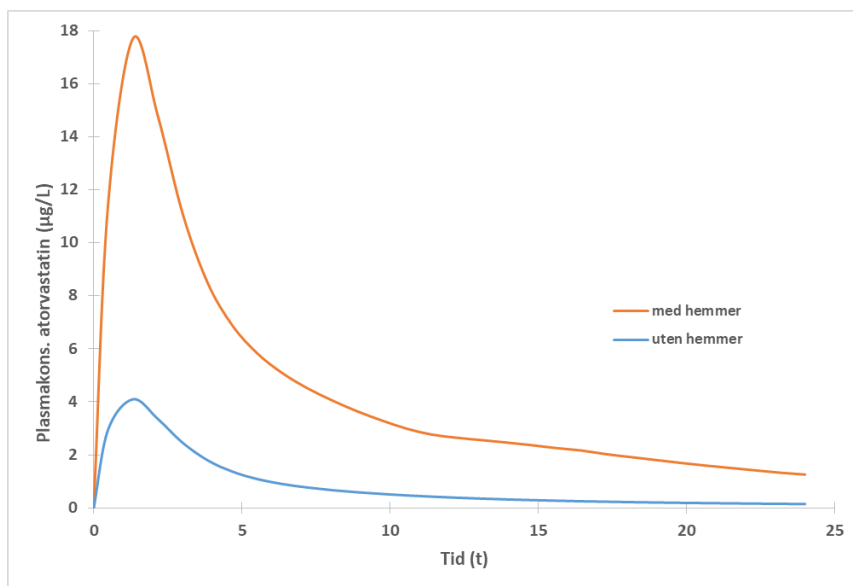
Interaksjon med en kraftig hemmer, med  $K_i$  redusert til 0,001  $\mu\text{M}$ , ble studert. I populasjon med PT var AUC for atorvastatin 110  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  (Tabell 3-10), mens  $C_{\text{max}}$  hadde verdi på 17,7  $\mu\text{g/L}$ , sammenlignet med 4,1  $\mu\text{g/L}$  uten interaksjon med CsA-modell (Tabell 3-10, Figur 3-10). AUCR med og uten interaksjon med CsA var 5,2.

**Tabell 3-10.** AUC,  $C_{\text{max}}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA-modell) i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med PT-fenotype

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA-modell)	144	168	4,10	21,0
Atorvastatin med hemmer (CsA-modell)	144	168	17,7	110

AUCR  
5,2





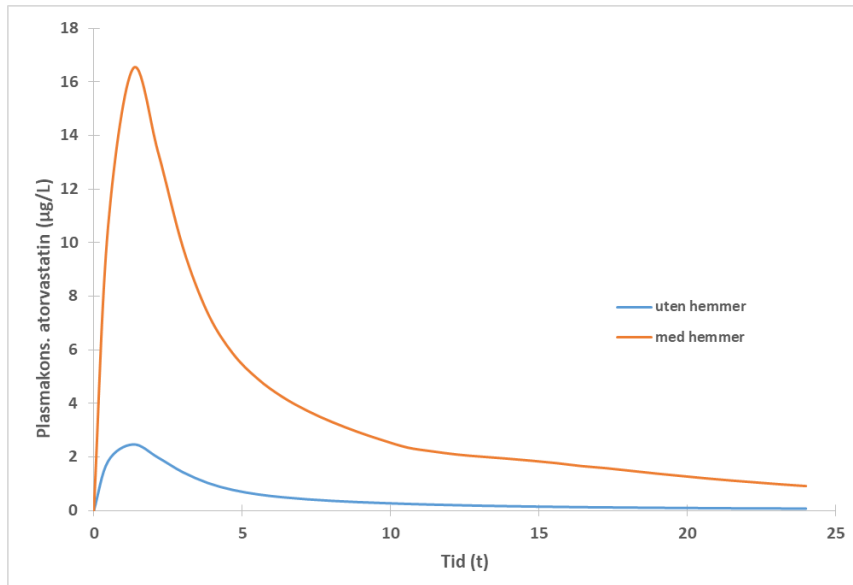
**Figur 3-10.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell i populasjon med PT-genotype, når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert, med 10 ganger redusert  $K_i$ -verdi for OATP1B1 for CsA. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkel dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady state for CsA-modell hadde blitt nådd).

I populasjonen med ET var AUC for atorvastatin 94,1  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  (Tabell 3-11),  $C_{\text{max}}$  var 16,5  $\mu\text{g/L}$ , sammenlignet med 2,47  $\mu\text{g/L}$  uten interaksjon med CsA-modell (Tabell 3-11, Figur 3-11). AUCR for ET, med og uten interaksjon med CsA var 7,9.

**Tabell 3-11.** AUC,  $C_{\text{max}}$  og AUCR for atorvastatin med og uten hemmer (CsA-modell) i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med ET-fenotype

	Fra (t)	Til (t)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ )
Atorvastatin uten hemmer (CsA-modell)	144	168	2,47	11,9
Atorvastatin med hemmer (CsA-modell)	144	168	16,5	94,1

AUCR  
7,9

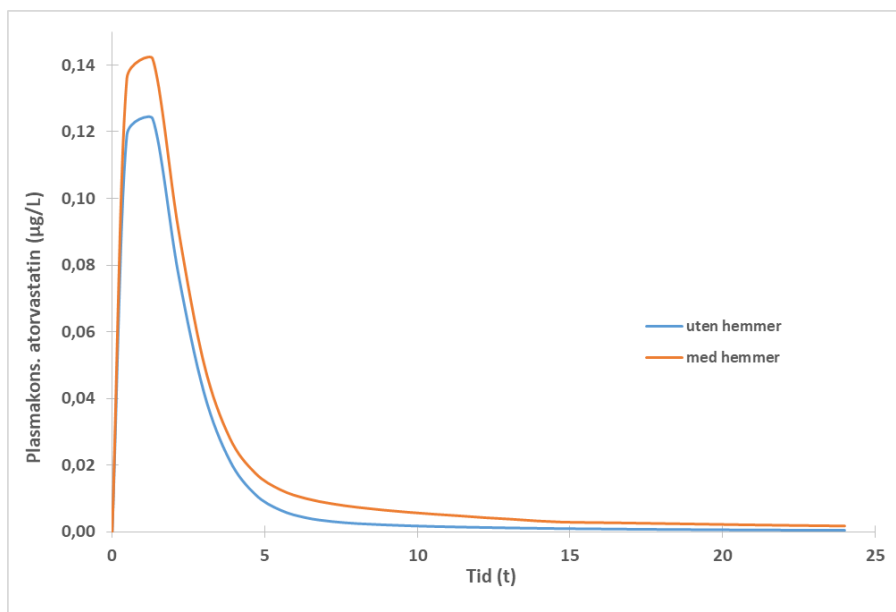


**Figur 3-11.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell i populasjon med ET-genotype, når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert, med 10 ganger redusert  $K_i$ -verdi for OATP1B1 for CsA. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkel dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady state for CsA-modell hadde blitt nådd).

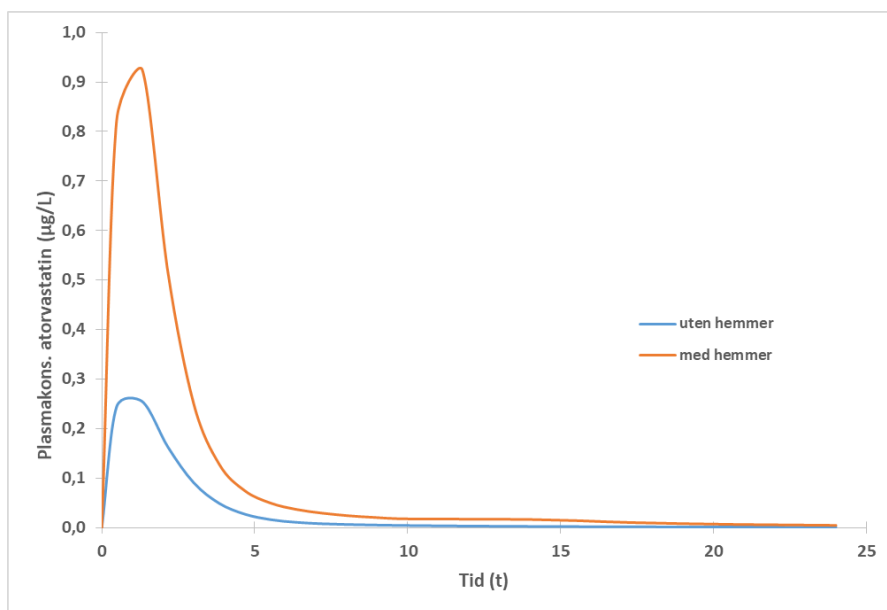
### 3.4 Predikering av intracellulære leverkonsentrasjoner av atorvastatin

$C_{\max}$  for ubundet fraksjon av atorvastatin i hepatocytter med og uten interaksjon med CsA var henholdsvis 0,14  $\mu\text{g/L}$  og 0,12  $\mu\text{g/L}$  (Figur 3-12).  $C_{\max}$  for ubundet fraksjon av atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i ekstracellulært væske var henholdsvis 0,93  $\mu\text{g/L}$  og 0,26  $\mu\text{g/L}$  (Figur 3-13).

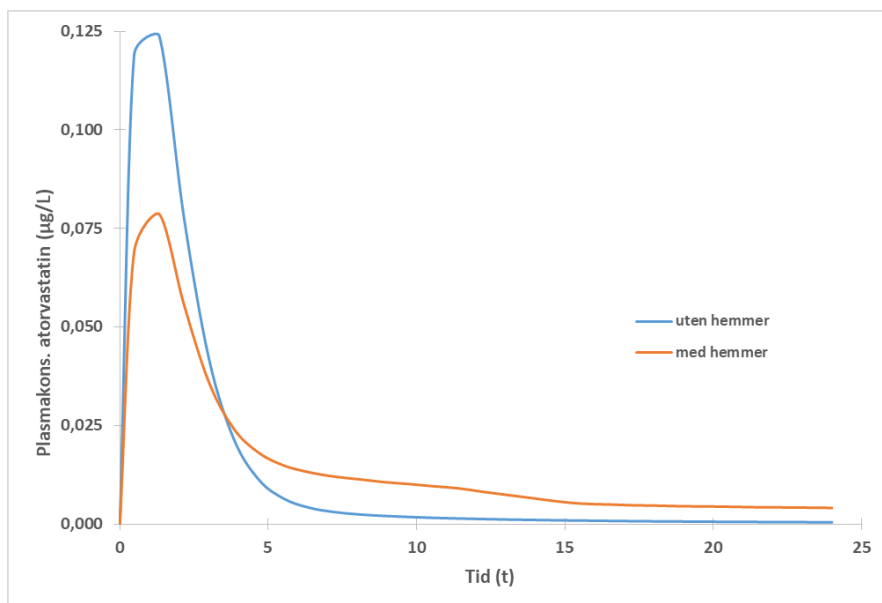
Da simuleringen ble utført med CsA-modell med redusert  $K_i$  var  $C_{\max}$  for ubundet fraksjon av atorvastatin intracellulært med og uten interaksjon med CsA-modell henholdsvis 0,07  $\mu\text{g/L}$  og 0,12  $\mu\text{g/L}$  (Figur 3-14). Tilsvarende verdier av  $C_{\max}$  for ubundet fraksjon av atorvastatin ekstracellulært med og uten interaksjon med CsA var henholdsvis 1,68  $\mu\text{g/L}$  og 0,26  $\mu\text{g/L}$  (Figur 3-15).



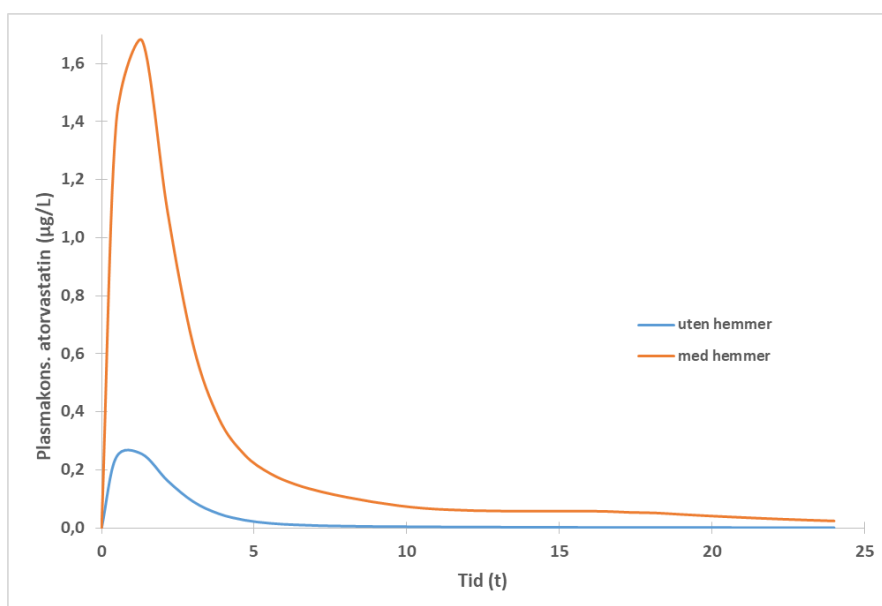
**Figur 3-12.** Endring i  $CuIW$  med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra *in vitro* studier [38, 85]. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).



**Figur 3-13.** Endring i  $CuEW$  med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra *in vitro* studier [38, 85]. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).



**Figur 3-14.** Endring i CuIW med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA-modell når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert.  $K_i$ -verdi for CsA for hemming av OATP1B1 ble redusert 10 ganger. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).



**Figur 3-15.** Endring i CuEW med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA-modell når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert.  $K_i$ -verdi for CsA for hemming av OATP1B1 ble redusert 10 ganger. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).

Rådata med tabeller og figurer fra Simcyp er presentert i Vedlegg 6.3 og 6.4 for hver simulering utført i denne oppgaven. Tabeller 3-1 til 3-11 fra resultater tilsvarer tabeller 6-1 til 6-11 fra vedlegg, mens figurer 3-1 til 3-15 fra resultater tilsvarer figurer 6-1 til 6-15 fra vedlegg.

## 4. Diskusjon

Det har i denne oppgaven blitt bygget opp en modell i Simcyp med atorvastatin som substrat og CsA som hemmer av P-gp, CYP3A4 og OATP1B1, for å studere den klinisk observerte interaksjonen mellom disse legemidlene. En kraftig økning av atorvastatin plasmakonsentrasjon som ble observert i kliniske studier, ble underpredikert ved simulering av interaksjonen med CsA i Simcyp [81, 82]. Interaksjonen ble simulert under forutsetning av kompetitiv hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ved hemmekonstanter for enzymet og transportøren tatt fra *in vitro* studier [41, 88]. Predikering av interaksjonen var i samsvar med kliniske observasjoner da simulering ble utført med en 10 ganger sterkere hemmer for OATP1B1 (CsA-modell), siden det var indikert at CsA viste tidsavhengig hemming av transportøren [41]. Simcyp predikerte også at transportørens bidrag i den aktuelle interaksjonen var større i forhold til enzymet (Vedlegg 6.4). Siden OATP1B1 er en polymorf transportør, har resultater i denne oppgaven vist at opptak av atorvastatin i hepatocytter hos individer med forskjellige *SLCO1B1*-genotyper kan ha betydning for individualisering av behandling med atorvastatin.

Utvikling av kardiovaskulær sykdom etter transplantasjon er den vanligste risikofaktoren for død blant nyretransplanterte pasienter, siden komplikasjoner tidlig etter transplantasjon er blitt betydelig redusert [90]. Siden bruk av statiner er vanlig i behandling av disse pasientene, har potensiell interaksjon med immunosuppressiva blitt et område av interesse for mange forskere. Arnadotirr *et al.* har i sin studie påvist økning i AUC for simvastatin som var 3 ganger høyere hos nyretransplanterte pasienter behandlet med CsA enn i en kontrollgruppe som ikke fikk CsA [91]. Økning av AUC ved administrering av cerivastatin hos nyretransplanterte som ble behandlet med CsA var ca. 3-5 ganger høyere i forhold til en kontrollgruppe [92]. CsA økte også AUC for lovastatin med fra ca 5-20 ganger hos nyretransplanterte i forhold til en kontrollgruppe [93, 94]. Selv om atorvastatin har vist best effekt i reduksjon av lipidkomponenter i blodet [80], kan bruk av atorvastatin være begrenset hos pasienter behandlet med CsA. Hermann *et al.* har i sin studie med 18 nyretransplanterte pasienter behandlet med CsA vist at administrering av 10 mg atorvastatin i 4 uker har økt AUC for atorvastatin ca 10 ganger i forhold til en kontrollgruppe med friske individer, som fikk administrert bare atorvastatin i 1 uke [82]. En annen klinisk studie utført av Åsberg *et al.* har vist 6-ganger økning i plasma HMG-CoA reduktasehemmende aktivitet av atorvastatin ved samtidig administrering med CsA [81]. Siden CsA øker risiko for potensielt alvorlige bivirkninger av atorvastatin, ble

det anbefalt å bruke maksimalt 10 mg atorvastatin som startdose ved behandling av nyretransplanterte pasienter som bruker de to legemidlene [81]. Derfor ble alle simuleringer i Simcyp utført med denne anbefalte dosen.

Det ble i dette arbeidet predikert en økning i AUC for atorvastatin på 3,3, etter at en enkelt dose atorvastatin ble gitt etter at steady-state for CsA var nådd, sammenlignet med AUC-verdi uten hemmer. En lignende AUCR på 3,4 ble påvist ved gjentatt dosering av atorvastatin og CsA. Det indikerer at Simcyp predikerte lavere AUCR enn den som ble observert i kliniske studier [81, 82]. Slik underpredikering ble også rapportert ved simulering av interaksjonen mellom pitavastatin og CsA i Simcyp [34], samt mellom rosuvastatin og CsA [95]. Det kan være mange årsaker til en slik underpredikering. Som nevnt tidligere, er både atorvastatin og CsA substrater av CYP3A4 og P-gp i tarm og lever og OATP1B1 i lever, som tyder på at interaksjon mellom legemidlene kan oppstå: i tarm, hvor CsA kan hemme P-gp og redusere effluks av atorvastatin i tarmlumen og samtidig hemme CYP3A4 og redusere metabolismen av atorvastatin; i lever, hvor CsA hemmer OATP1B1 i membraner av hepatocytter som hindrer transport av atorvastatin inn i hepatocytter, samt metabolisme via CYP3A4. De sammensatte og komplekse interaksjonsmekanismene i denne interaksjonen kan følgelig være medvirkende årsak til underpredikering av *in vivo* observasjonene.

Predikering av enkeltvis bidrag av CYP3A4 mot OATP1B1 ved simulering av interaksjonen i Simcyp, med parametrene tatt fra *in vitro* studier utført av Amundsen *et al* [41, 88], viste større betydning av transportøren i forhold til enzymet. AUCR for atorvastatin når bare hemming av CYP3A4 ble studert etter en enkelt dose atorvastatin var 1,4, mens den var 2,4 når bare hemming av OATP1B1 ble inkludert. Disse AUCR-verdiene var henholdsvis 1,4 og 5,6 ved bruk av CsA-modell med redusert  $K_i$ . Hemming av CYP3A var tidligere betraktet som den viktigste mekanismen for interaksjonen mellom CsA og statiner [88]. Reduksjon av CYP3A-aktivitet hos nyretransplanterte behandlet med CsA ble påvist i studien til De Jonge *et al*. Oral clearance til midazolam, et probe-substrat for CYP3A, ble redusert med 31%, noe som tyder på at CsA er en moderat hemmer av CYP3A i kliniske doser [96]. *In vitro* funn har også vist at hemming av CYP3A4 i tarm, men ikke i lever, kan være klinisk relevant når det gjelder behandling med CsA sammen med andre CYP3A4 substrater, som for eksempel, statiner [88]. Lemahieu *et al*. har konkludert med at hemmingen via CYP3A4 ikke var den dominerende mekanismen av interaksjonen og det inkluderte manglende hemmende effekt av CsA på både hepatisk og intestinal CYP3A4 aktivitet [90]. Dette var i samsvar med tidligere nevnte funn om

at CsA øker systemisk eksponering av alle statiner, til og med fluvastatin, som ikke metaboliseres via CYP3A4 [81]. Derfor kom andre mulige mekanismer i fokus, særlig interaksjon via OATP1B1, samt interaksjon via P-gp. Det viste seg videre at CsA er mer potent hemmer av OATP1B1 enn CYP3A4, som kan bli konkludert fra studier utført av Amundsen *et al.* [41, 88]. Derfor kan resultater av enkeltvis bidrag ved hemming av disse proteinene i interaksjonen mellom atorvastatin og CsA også forklares med lavere  $K_i$ -verdi for CsA for hemming av OATP1B1, enn for hemming av CYP3A4.

Resultatene i denne oppgaven støtter hypotesen om at hemming av OATP1B1 kan være den viktigste interaksjonsmekanismen mellom atorvastatin og CsA. *In vitro*-studier, som predikeringene i Simcyp er basert på i dette arbeidet, støtter også oppfatningen om at hemming av OATP1B1 er en vesentlig årsak til den observerte interaksjonen. Ved studering av intracellulære og ekstracellulære leverekonsentrasjoner av ubundet fraksjon av atorvastatin ved interaksjon med CsA ble det vist at maksimal konsentrasjon av ubundet fraksjonen av atorvastatin ekstracellulært var 6,6 ganger høyere enn intracellulært som indikerer at CsA hemmet transport av atorvastatin over cellemembraner i hepatocytter.  $CuIW_{max}$  for atorvastatin etter interaksjon med CsA var litt høyere i forhold til samme konsentrasjon uten interaksjon med CsA. Det kan forklares med at CsA hemmer opptak av atorvastatin inn i hepatocytter men at CsA samtidig hemmer metabolismen av atorvastatin i hepatocytter via CYP3A4. Da modell av en kraftigere hemmer for OATP1B1 ble benyttet (CsA-modell), var  $CuIW_{max}$  etter interaksjon 2 ganger lavere, og  $CuEW_{max}$  var 24 ganger høyere i forhold til  $CuEW_{max}$  uten interaksjon med CsA. Disse resultatene viser også at Simcyp har predikert at OATP1B1 har større betydning i den aktuelle interaksjonen enn CYP3A4, og at aktiv transport av atorvastatin via OATP1B1 over hepatocytternes membraner er en viktigere opptaksmekanisme for atorvastatin enn passiv diffusjon.. Maeda *et al.* har videre vist at opptak av atorvastatin via OATP-transportører i lever kan være den dominerende mekanismen for eliminering av atorvastatin [97]. Samtidig, er det også rapportert at selv om CsA øker plasmakonsentrasjonen til atorvastatin flere ganger, uteblir tilsvarende lipidnedsettende effekt [81]. Like viktig var funn som tyder på at CsA viser mekanismebasert tidsavhengig hemming av OATP1B1 [41, 98]. Hemmingspotensialet til CsA *in vitro* har som tidligere nevnt blitt vist å øke med økende inkubasjonstid og konsentrasjon av CsA, og hemming var tilstede selv om hemmeren var fjernet fra inkubasjonsbufferen [98].  $K_i$ -verdier for CsA for preinkubasjon og koinkubasjon i studien utført av Amundsen *et al.* var henholdsvis  $0,014 \pm 0,003 \mu\text{M}$  og  $0,31 \pm 0,22 \mu\text{M}$  [41]. Den rapporterte  $K_i$ -verdien, funnet ved preinkubasjon med CsA, ble følgelig benyttet i



simuleringene i Simcyp. Imidlertid er denne hemmekonstanten funnet under forutsetting av kompetitiv hemming av fri konsentrasjon av CsA og derfor kan ikke anvendelse av denne konstanten i simuleringen fullt ut forklare interaksjonen som er observert i kliniske studier.

Den siste versjonen av Simcyp kan foreløpig ikke simulere mekanismebasert tidsavhengig hemming av transportører, noe som kunne forklare simulert underpredikering av AUC for atorvastatin både etter enkel dosering og gjentatt dosering. Ved anvendelse av en modell med en kraftigere hemmer i denne oppgaven, med simulering utført med en 10 ganger redusert  $K_i$ -verdi for CsA ble det funnet at AUC og  $C_{max}$  for atorvastatin etter gjentatt dosering av begge legemidlene på 149,0  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  og 19,6  $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$  henholdsvis, som var i samsvar med observerte kliniske funn [82]. Økningen i AUCR for atorvastatin på 9,7 var i samsvar med studien utført av Hermann *et al.* [82]. I den studien var  $\text{AUC}_{0-24}$  for atorvastatinsyre med og uten interaksjon med CsA  $226\pm 111$   $\text{ng/mL}\cdot\text{t}$  og  $26\pm 15$   $\text{ng/mL}\cdot\text{t}$ , mens  $C_{max}$  var henholdsvis  $37,3\pm 18,2$   $\text{ng/mL}$  og  $3,5\pm 2,6$   $\text{ng/mL}$ . Verdier av AUC og  $C_{max}$  med og uten interaksjon med CsA i simuleringen var nærmere nedre intervaller fra den kliniske studien, noe som kan skyldes en forskjell i metabolismen av legemidler mellom nyretransplanterte pasienter og friske individer.

En mulig rolle i denne interaksjonen kan også tilskrives P-gp. Siden CsA fører til økning i systemisk eksponering av alle statiner, uten at terminal halveringstid blir påvirket, kan det tyde på at økt biotilgjengelighet av atorvastatin kan oppstå på grunn av hemming av effluks-transportører i tarm, slik som P-gp [82]. Lemahieu *et al.* har observert betydelig reduksjon i P-gp aktivitet i både tarm og lever *in vivo* [90]. Flere studier for å få kunnskap om rollen til P-gp er nødvendige for å få bedre forståelse av betydningen av en eventuell hemming av P-gp i den aktuelle interaksjonsmekanismen.

Siden både atorvastatin og CsA også er substrater for OATP1B3, bør ikke bidrag av denne transportøren utelukkes i den aktuelle interaksjonen. Karlgen *et al.* har i sin studie indikert at OATP1B3 har større betydning i opptak av atorvastatin inn i hepatocytter enn det som tidligere har vært antatt [42]. CsA har også blitt vist å være mekanismebasert tidsavhengig hemmer av OATP1B3 [99]. Derfor er, som allerede nevnt, mulighet for simulering av tidsavhengig hemming i Simcyp viktig for mer presis predikering av interaksjonsgrad i forhold til atorvastatin-cyclosporin interaksjonen. Selv om flere studier indikerer at statiner, inkludert atorvastatin, hovedsakelig tas opp i hepatocytter via OATP1B1 [100], bør opptak av atorvastatin via OATP1B3 undersøkes videre.

Simulering av interaksjonen mellom atorvastatin og CsA i populasjoner med forskjellige *SLCO1B1*-genotyper i denne oppgaven viste nesten dobbelt så stor økning i AUC for atorvastatin i en populasjon med PT-fenotype i forhold til en populasjon med ET-fenotype uten interaksjon med CsA. AUC-verdier på henholdsvis 21,0 µg/L·t og 11,9 µg/L·t i populasjoner med PT- og ET-fenotype gav en økning i AUC på 1,8, som var i godt samsvar med 2,4 ganger økning i AUC for atorvastatin observert klinisk [101]. AUCR for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA hos individer med PT-fenotype på 5,2 var lavere enn hos individer med ET-fenotype med AUCR på 7,9, da modellen med redusert  $K_i$ -verdi ble brukt i denne oppgaven. Selv om økning i AUCR for atorvastatin hos individer med PT-genotype var lavere, var plasmakonsentrasjonen til atorvastatin i denne pasientgruppen fortsatt større. Som allerede nevnt, kan individualisering av behandling med atorvastatin, særlig hos personer med PT-fenotype, være viktig for å unngå mulighet for uønskede effekter av legemidlet.

## ***KONKLUSJON***

Resultatene fra denne oppgaven viser at hemming av OATP1B1 trolig er den viktigste interaksjonsmekanismen mellom atorvastatin og ciklosporin. AUCR på 9,7, da en kraftig hemmer som har slått ut transportøren ble brukt, ved gjentatt dosering av begge legemidlene, er i samsvar med kliniske observasjoner. Det kan tyde på at ciklosporin fører til tidsavhengig hemming av OATP1B1 *in vivo*. Mulighet for simulering av tidsavhengig hemming av transportøren i Simcyp er viktig for mer presis predikering av interaksjonsgrad i forhold til den aktuelle interaksjonen. Resultatene fra denne oppgaven støtter også hypotesen om betydningen av individualisering av behandling med atorvastatin hos personer med forskjellige *SLCO1B1*-genotyper.

## 5. Litteraturliste

1. Pokrajac, M., *Pharmacokinetics*. 1996, Belgrade: TOPY, Belgrade. 308.
2. Varagic, V. and M. Milosevic, *Pharmacology*. XV, revised and completed edition ed. 1999, Belgrade: Elit Medica, Belgrade. 692.
3. Alavijeh, M.S., *et al.*, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics, the Blood-Brain Barrier, and Central Nervous System Drug Discovery*. *NeuroRx*, 2005. **2**(4): p. 554-571.
4. Benedetti, M.S., *et al.*, *Drug metabolism and pharmacokinetics*. *Drug Metabolism Reviews*, 2009. **41**(3): p. 344-390.
5. Spatzenegger, M. and W. Jaeger, *Clinical Importance of Hepatic Cytochrome P450 in Drug Metabolism*. *Drug Metabolism Reviews*, 1995. **27**(3): p. 397-417.
6. Sim, S.C. and M. Ingelman-Sundberg, *The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature website: a peer-reviewed database of CYP variants and their associated effects*. *Human Genomics*, 2010. **4**(4): p. 278-81.
7. Rendic, S. and F.J.D. Carlo, *Human Cytochrome P450 Enzymes: A Status Report Summarizing Their Reactions, Substrates, Inducers, and Inhibitors*. *Drug Metabolism Reviews*, 1997. **29**(1-2): p. 413-580.
8. Weide, J.v.d. and L.S.W. Steijns, *Cytochrome P450 Enzyme System: Genetic Polymorphisms and Impact on Clinical Pharmacology*. *Annals of Clinical Biochemistry*, 1999. **36**(6): p. 722-729.
9. Amundsen, R., *Pharmacokinetic drug-drug interactions involving calcineurin inhibitors - A comparison of cyclosporine A and tacrolimus as perpetrators and victims in drug-drug interactions*. Department of Pharmaceutical Biosciences, School of Pharmacy - Faculty of Mathematics and Natural Sciences University of Oslo, 2013.
10. Wrighton, S.A., *et al.*, *The human CYP3A subfamily: practical considerations\**. *Drug Metabolism Reviews*, 2000. **32**(3-4): p. 339-361.
11. Ingelman-Sundberg, M., *Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2004. **369**(1): p. 89-104.
12. De Wildt, S.N., *et al.*, *Cytochrome P450 3A*. *Clinical Pharmacokinetics*, 1999. **37**(6): p. 485-505.
13. Guengerich, F.P., *Comparisons of catalytic selectivity of cytochrome P450 subfamily enzymes from different species*. *Chemico-Biological Interactions*, 1997. **106**(3): p. 161-182.
14. Williams, J.A., *et al.*, *Comparative Metabolic Capabilities of CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A7*. *Drug Metabolism and Disposition*, 2002. **30**(8): p. 883-891.
15. Guengerich, F.P., *Cytochrome p-450 3A4: Regulation and Role in Drug Metabolism*. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1999. **39**(1): p. 1-17.
16. Kuehl, P., *et al.*, *Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression*. *Nature Genetics*, 2001. **27**(4): p. 383-91.
17. Okubo, M., *et al.*, *The CYP3A4 intron 6 C>T polymorphism (CYP3A4\*22) is associated with reduced CYP3A4 protein level and function in human liver microsomes*. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2013. **38**(3): p. 349-354.
18. Segel, I.H., *Enzyme kinetics*. Vol. 957. 1975: Wiley, New York.

19. Houston, J.B. and K.E. Kenworthy, *In Vitro-In Vivo Scaling of CYP Kinetic Data Not Consistent with the Classical Michaelis-Menten Model*. Drug Metabolism and Disposition, 2000. **28**(3): p. 246.
20. Tracy, T.S. and M.A. Hummel, *Modeling Kinetic Data from In Vitro Drug Metabolism Enzyme Experiments*. Drug Metabolism Reviews, 2004. **36**(2): p. 231-242.
21. Birkett, D.J., *Pharmacokinetics made easy*. Australian Prescriber, 1998.
22. Atkins, W.M., *Non-michaelis-menten kinetics in cytochrome p450-catalyzed reactions*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2004. **45**(1): p. 291-310.
23. Houston, J.B. and A. Galetin, *Modelling atypical CYP3A4 kinetics: principles and pragmatism*. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2005. **433**(2): p. 351-360.
24. Korzekwa, K.R., *et al.*, *Evaluation of Atypical Cytochrome P450 Kinetics with Two-Substrate Models: Evidence That Multiple Substrates Can Simultaneously Bind to Cytochrome P450 Active Sites*. Biochemistry, 1998. **37**(12): p. 4137-4147.
25. König, J., F. Müller, and M.F. Fromm, *Transporters and Drug-Drug Interactions: Important Determinants of Drug Disposition and Effects*. Pharmacological Reviews, 2013. **65**(3): p. 944.
26. Nigam, S.K., *What do drug transporters really do?* Nature reviews. Drug Discovery, 2015. **14**(1): p. 29-44.
27. Vasiliou, V., K. Vasiliou, and D.W. Nebert, *Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family*. Human Genomics, 2009. **3**(3): p. 281.
28. Thiebaut, F., *et al.*, *Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1987. **84**(21): p. 7735-7738.
29. The International Transporter, C., *Membrane transporters in drug development*. Nature Reviews. Drug Discovery, 2010. **9**(3): p. 215-236.
30. Fardel, O., V. Lecœur, and A. Guillouzo, *The P-glycoprotein multidrug transporter*. General Pharmacology: The Vascular System, 1996. **27**(8): p. 1283-1291.
31. Keogh, J.P., *Membrane transporters in drug development*. Advances in Pharmacology (San Diego, Calif.), 2012. **63**: p. 1-42.
32. Shitara, Y., *et al.*, *Clinical significance of organic anion transporting polypeptides (OATPs) in drug disposition: their roles in hepatic clearance and intestinal absorption*. Biopharmaceutics & Drug Disposition, 2013. **34**(1): p. 45-78.
33. Niemi, M., M.K. Pasanen, and P.J. Neuvonen, *Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1: a Genetically Polymorphic Transporter of Major Importance for Hepatic Drug Uptake*. Pharmacological Reviews, 2011. **63**(1): p. 157.
34. Duan, P., P. Zhao, and L. Zhang, *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling of Pitavastatin and Atorvastatin to Predict Drug-Drug Interactions (DDIs)*. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 2017. **42**(4): p. 689-705.
35. König, J., *et al.*, *Pharmacogenomics of human OATP transporters*. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2006. **372**(6): p. 432-443.
36. Kalliokoski, A. and M. Niemi, *Impact of OATP transporters on pharmacokinetics*. British Journal of Pharmacology, 2009. **158**(3): p. 693-705.
37. Schachter, M., *Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update*. Fundamental & Clinical Pharmacology, 2005. **19**(1): p. 117-125.
38. Jacobsen, W., *et al.*, *Lactonization Is the Critical First Step in the Disposition of the 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Reductase Inhibitor Atorvastatin*. Drug Metabolism and Disposition, 2000. **28**(11): p. 1369.
39. Lennernäs, H., *Clinical Pharmacokinetics of Atorvastatin*. Clinical Pharmacokinetics, 2003. **42**(13): p. 1141-1160.

40. Lau, Y.Y., *et al.*, *Effect of OATP1B Transporter Inhibition on the Pharmacokinetics of Atorvastatin in Healthy Volunteers*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2007. **81**(2): p. 194-204.
41. Amundsen, R., *et al.*, *Cyclosporine A, but Not Tacrolimus, Shows Relevant Inhibition of Organic Anion-Transporting Protein 1B1-Mediated Transport of Atorvastatin*. *Drug Metabolism and Disposition*, 2010. **38**(9): p. 1499.
42. Karlgren, M., *et al.*, *Classification of Inhibitors of Hepatic Organic Anion Transporting Polypeptides (OATPs): Influence of Protein Expression on Drug–Drug Interactions*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012. **55**(10): p. 4740-4763.
43. Paine, S.W., *et al.*, *Prediction of the pharmacokinetics of atorvastatin, cerivastatin and indomethacin using kinetic models applied to isolated rat hepatocytes*. *Drug Metabolism and Disposition*, 2008.
44. Omar, M.A., J.P. Wilson, and T.S. Cox, *Rhabdomyolysis and HMG-CoA Reductase Inhibitors*. *Annals of Pharmacotherapy*, 2001. **35**(9): p. 1096-1107.
45. Ptachcinski, R.J., R. Venkataramanan, and G.J. Burckart, *Clinical Pharmacokinetics of Cyclosporin*. *Clinical Pharmacokinetics*, 1986. **11**(2): p. 107-132.
46. Vine, W., L.D. Bowers, and L.M. Shaw, *Cyclosporine: Structure, Pharmacokinetics, and Therapeutic Drug Monitoring*. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1987. **25**(4): p. 275-312.
47. Christians, U. and K.F. Sewing, *Cyclosporin metabolism in transplant patients*. *Pharmacology & Therapeutics*, 1993. **57**(2): p. 291-345.
48. Hebert, M.F., *Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997. **27**(2): p. 201-214.
49. Watkins, P.B., *The role of cytochromes P-450 in cyclosporine metabolism*. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1990. **23**(6, Part 2): p. 1301-1311.
50. Baxter, K. and C. Preston, *Stockley's drug interactions*. Vol. 495. 2010: Pharmaceutical Press London.
51. Tanaka, E., *Clinically important pharmacokinetic drug–drug interactions: role of cytochrome P450 enzymes*. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 1998. **23**(6): p. 403-416.
52. Li, A.P., *Drug–Drug Interaction – Enzyme Induction*, in *Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays*, H.G. Vogel, *et al.*, Editors. 2006, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 543-550.
53. CYP2C9, C.C. and C.A. CYP2D6, *The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects*. *Am Fam Physician*, 2007. **76**: p. 391-6.
54. Guengerich, F.P., *Role of Cytochrome P450 Enzymes in Drug-Drug Interactions*, in *Advances in Pharmacology*, A.P. Li, Editor. 1997, Academic Press. p. 7-35.
55. Riley, R.J., K. Grime, and R. Weaver, *Time-dependent CYP inhibition*. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2007. **3**(1): p. 51-66.
56. Hollenberg, P.F., *Characteristics and common properties of inhibitors, inducers, and activators of CYP enzymes*. *Drug Metabolism Reviews*, 2002. **34**(1-2): p. 17-35.
57. Yan, Z., *et al.*, *Rapidly distinguishing reversible and irreversible CYP450 inhibitors by using fluorometric kinetic analyses*. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2002. **27**(4): p. 281-287.
58. Lin, J.H. and A.Y.H. Lu, *Inhibition and Induction of Cytochrome P450 and the Clinical Implications*. *Clinical Pharmacokinetics*, 1998. **35**(5): p. 361-390.
59. Zhou, Z.-W. and S.-F. Zhou, *Application of mechanism-based CYP inhibition for predicting drug–drug interactions*. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2009. **5**(6): p. 579-605.

60. Zhang, L., *et al.*, *Scientific Perspectives on Drug Transporters and Their Role in Drug Interactions*. Molecular Pharmaceutics, 2006. **3**(1): p. 62-69.
61. Keogh, J.P. and J.R. Kunta, *Development, validation and utility of an in vitro technique for assessment of potential clinical drug–drug interactions involving P-glycoprotein*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **27**(5): p. 543-554.
62. Lin, J.H., *Drug–drug interaction mediated by inhibition and induction of P-glycoprotein*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2003. **55**(1): p. 53-81.
63. Balayssac, D., *et al.*, *Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug–drug interactions?* Toxicology Letters, 2005. **156**(3): p. 319-329.
64. Ambudkar, S.V., *et al.*, *Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 1999. **39**(1): p. 361-398.
65. Kindla, J., M.F. Fromm, and J. König, *In vitro evidence for the role of OATP and OCT uptake transporters in drug–drug interactions*. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 2009. **5**(5): p. 489-500.
66. Soars, M.G., *et al.*, *The Development, Characterization, and Application of an OATP1B1 Inhibition Assay in Drug Discovery*. Drug Metabolism and Disposition, 2012. **40**(8): p. 1641.
67. Izumi, S., *et al.*, *Substrate-Dependent Inhibition of Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1: Comparative Analysis with Prototypical Probe Substrates Estradiol-17 $\beta$ -Glucuronide, Estrone-3-Sulfate, and Sulfobromophthalein*. Drug Metabolism and Disposition, 2013. **41**(10): p. 1859.
68. Karlgren, M., *et al.*, *In Vitro and In Silico Strategies to Identify OATP1B1 Inhibitors and Predict Clinical Drug–Drug Interactions*. Pharmaceutical Research, 2012. **29**(2): p. 411-426.
69. Zhuang, X. and C. Lu, *PBPK modeling and simulation in drug research and development*. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2016. **6**(5): p. 430-440.
70. Zhao, P., *et al.*, *Applications of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling and Simulation During Regulatory Review*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2011. **89**(2): p. 259-267.
71. Bouzom, F., *et al.*, *Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling tools: how to fit with our needs?* Biopharmaceutics and Drug Disposition, 2012. **33**(2): p. 55-71.
72. Jamei, M., *et al.*, *The Simcyp® Population-based ADME Simulator*. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 2009. **5**(2): p. 211-223.
73. Espié, P., *et al.*, *Physiologically based pharmacokinetics (PBPK)*. Drug Metabolism Reviews, 2009. **41**(3): p. 391-407.
74. Himmelstein, K. and R. Lutz, *A review of the applications of physiologically based pharmacokinetic modeling*. Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, 1979. **7**(2): p. 127-145.
75. Pelkonen, O. and M. Turpeinen, *In vitro–in vivo extrapolation of hepatic clearance: Biological tools, scaling factors, model assumptions and correct concentrations*. Xenobiotica, 2007. **37**(10-11): p. 1066-1089.
76. Rostami-Hodjegan, A. and G.T. Tucker, *Simulation and prediction of in vivo drug metabolism in human populations from in vitro data*. Nature Reviews Drug Discovery, 2007. **6**: p. 140.
77. Maltz, H.C., D.L. Balog, and J.S. Cheigh, *Rhabdomyolysis Associated with Concomitant Use of Atorvastatin and Cyclosporine*. Annals of Pharmacotherapy, 1999. **33**(11): p. 1176-1179.

78. Åsberg, A., *Interactions Between Cyclosporin and Lipid-Lowering Drugs*. *Drugs*, 2003. **63**(4): p. 367-378.
79. Kobashigawa, J.A. and B.L. Kasiske, *Hyperlipidemia in solid organ transplantation*. *Transplantation*, 1997. **63**(3): p. 331-338.
80. Jones, P., *et al.*, *Comparative Dose Efficacy Study of Atorvastatin Versus Simvastatin, Pravastatin, Lovastatin, and Fluvastatin in Patients With Hypercholesterolemia (The CURVES Study)* *This study was supported by Parke-Davis, Division of Warner Lambert Company, Morris Plains, New Jersey. Manuscript received August 20, 1997; revised manuscript received and accepted November 24, 1997.* *The American Journal of Cardiology*, 1998. **81**(5): p. 582-587.
81. Åsberg, A., *et al.*, *Bilateral Pharmacokinetic Interaction Between Cyclosporine A and Atorvastatin in Renal Transplant Recipients*. *American Journal of Transplantation*, 2001. **1**(4): p. 382-386.
82. Hermann, M., *et al.*, *Substantially elevated levels of atorvastatin and metabolites in cyclosporine-treated renal transplant recipients*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2004. **76**(4): p. 388-391.
83. Rodgers, T. and M. Rowland, *Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: Predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **95**(6): p. 1238-1257.
84. Jamei, M., *et al.*, *Population-Based Mechanistic Prediction of Oral Drug Absorption*. *The AAPS Journal*, 2009. **11**(2): p. 225-237.
85. Nestorov, I., *Whole Body Pharmacokinetic Models*. *Clinical Pharmacokinetics*, 2003. **42**(10): p. 883-908.
86. Wiggins, B.S., *et al.*, *Recommendations for management of clinically significant drug-drug interactions with statins and select agents used in patients with cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association*. *Circulation*, 2016. **134**(21): p. e468-e495.
87. Zhang, T., *Physiologically based pharmacokinetic modeling of disposition and drug-drug interactions for atorvastatin and its metabolites*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015. **77**(Supplement C): p. 216-229.
88. Amundsen, R., *et al.*, *Cyclosporine A- and Tacrolimus-Mediated Inhibition of CYP3A4 and CYP3A5 In Vitro*. *Drug Metabolism and Disposition*, 2012. **40**(4): p. 655-661.
89. [www.palisade.com/risk/monte\\_carlo\\_simulation.asp](http://www.palisade.com/risk/monte_carlo_simulation.asp), 14<sup>th</sup> of february, 2018.
90. Lemahieu, W.P.D., *et al.*, *Combined Therapy with Atorvastatin and Calcineurin Inhibitors: No Interactions with Tacrolimus*. *American Journal of Transplantation*, 2005. **5**(9): p. 2236-2243.
91. Arnadottir, M., *et al.*, *Plasma Concentration Profiles of Simvastatin 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase Inhibitory Activity in Kidney Transplant Recipients with and without Cyclosporin*. *Nephron*, 1993. **65**(3): p. 410-413.
92. Mück, W., *et al.*, *Increase in cerivastatin systemic exposure after single and multiple dosing in cyclosporine-treated kidney transplant recipients*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 1999. **65**(3): p. 251-261.
93. Gullestad, L., *et al.*, *Interaction between lovastatin and cyclosporine A after heart and kidney transplantation*. *Transplantation Proceedings*. **31**(5): p. 2163-2165.
94. Olbricht, C., *et al.*, *Accumulation of lovastatin, but not pravastatin, in the blood of cyclosporine-treated kidney graft patients after multiple doses*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 1997. **62**(3): p. 311-21.

95. Jamei, M., *et al.*, *A Mechanistic Framework for In Vitro–In Vivo Extrapolation of Liver Membrane Transporters: Prediction of Drug–Drug Interaction Between Rosuvastatin and Cyclosporine*. *Clinical Pharmacokinetics*, 2014. **53**(1): p. 73-87.
96. De Jonge, H., *et al.*, *In Vivo CYP3A Activity Is Significantly Lower in Cyclosporine-Treated as Compared With Tacrolimus-Treated Renal Allograft Recipients*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2011. **90**(3): p. 414-422.
97. Maeda, K., *et al.*, *Identification of the rate-determining process in the hepatic clearance of atorvastatin in a clinical cassette microdosing study*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2011. **90**(4): p. 575-81.
98. Shitara, Y., *et al.*, *Long-lasting inhibition of the transporter-mediated hepatic uptake of sulfobromophthalein by cyclosporin a in rats*. *Drug Metabolism and Disposition*, 2009. **37**(6): p. 1172-8.
99. Shitara, Y., *et al.*, *Long-lasting Inhibitory Effects of Cyclosporin A, but Not Tacrolimus, on OATP1B1- and OATP1B3-mediated Uptake*. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2012. **27**(4): p. 368-378.
100. Fenner, K.S., *et al.*, *The evolution of the OATP hepatic uptake transport protein family in DMPK sciences: from obscure liver transporters to key determinants of hepatobiliary clearance*. *Xenobiotica*, 2012. **42**(1): p. 28-45.
101. Pasanen, M.K., *et al.*, *Different Effects of SLCO1B1 Polymorphism on the Pharmacokinetics of Atorvastatin and Rosuvastatin*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2007. **82**(6): p. 726-733.



## 6. Vedlegg

### 6.1. Parameterverdiene til atorvastatin i Symcyp

Parameter	Input Value	Reference/comment
Molecular weight (g/mol) logPo:w pKa Compound type Blood-to-plasma ration (B/P) Fup	558.66 5.7 4.46 Monoprotic acid 0.61 0.051	PubChem <a href="http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a> Drug bank, <a href="http://www.drugbank.ca">http://www.drugbank.ca</a> PubChem, <a href="http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a>  Ref. (Watanabe et al., 2010) Ref. (Watanabe et al., 2010)
<i>Absorption</i> Absorption model P <sub>eff</sub> in man (10E-4 cm/s) Caco-2 permeability[Papp,caco-2(7.4:7.4)(10E-6 cm/s)] Reference compound Reference [Papp,caco-2(7.4:7.4)(10E-6 cm/s)]	ADAM 2.05 8.6  Propranolol 20	     Simcyp Predicted based on Caco-2 data  Li et al. (2011) Li et al. (2011)
<i>Distribution</i> Distrubution model 1 V <sub>ss</sub> (L/kg) Kp scalar Distrubution model 2 V <sub>ss</sub> (L/kg) Kp scalar	Full PBPK (Method 1) 8.7 2 Full PBPK (Method 2) 8.7 4.6	     Predicted with Poulin and Theil method Assigned, see text for details  Predicted with Rogers method Assigned, see text for details
<i>Elimination</i> Metabolism data CYP3A4 (Metabolite: 2-hydroxy atorvastatin acid) V <sub>max</sub> (pmol/min/pmol of isoform) km (µM) Fumic ISEF	  29.3 29.7 1 7	     Jacobsen et al. (2000) Jacobsen et al. (2000) Simcyp default value Assigned, see text for details
<i>CYP3A4</i> V <sub>max</sub> (pmol/min/pmol of isoform) km (µM) Fumic ISEF	 29.8 25.6 1 7	 Jacobsen et al. (2000) Jacobsen et al. (2000) Simcyp default value Assigned, see text for details
<i>CYP2C8</i> V <sub>max</sub> (pmol/min/pmol of isoform) km (µM) Fumic ISEF	 0.29 35.9 1 4	 Jacobsen et al. (2000) Jacobsen et al. (2000) Simcyp default value Assigned, see text for details
<i>UGT1A1 (Metabolite: Atorvastatin lactone)</i> V <sub>max</sub> (pmol/min/mg microsomal protein)  km (µM)  Fumic ISEF	 72  11  1 2	 Assigned based on Prueksaritanont et al. (2002) Assigned based on Prueksaritanont et al. (2002) Assigned based on Prueksaritanont et al. (2002) Simcyp default value Assigned, see text for details

<i>UGT1A3 (Metabolite: Atorvastatin lactone)</i>		
V <sub>max</sub> (pmol/min/mg microsomal protein)	72	Assigned based on Prueksaritanont et al. (2002)
km (μM)	11	Assigned based on Prueksaritanont et al. (2002)
F <sub>mic</sub>	1	Simcyp default value
ISEF	2	Assigned, see text for details
Cl <sub>r</sub> (L/h)	0.47	Lennernas (2003)
<i>Transporter</i>		
Intestinal efflux (P-gp)		
J <sub>max</sub> (pmol/cm <sup>2</sup> /min)	141	Wu et al. (2000)
km (μM)	115	Wu et al. (2000)
RAF/REF	1	Simcyp default value
<i>Liver (with Distribution Model 2)</i>		
CLPD (mL/min/10 <sup>6</sup> cells)	0.023	Assigned based on Camenisch and Umehara (2012)
F <sub>uIW</sub>	0.324	Simcyp predicted value
F <sub>uEW</sub>	0.038	Simcyp predicted value
<i>OATP1B1</i>		
CL <sub>int, T</sub> (μL/min)	55	Assigned based on Camenisch and Umehara (2012)
RAF/REF	10	Assigned, see text for details

## 6.2. Tabeller med rådata fra Simcyp for hver simulering

### 6.2.1. Tabeller med rådata fra Simcyp etter en enkelt dose atorvastatin

**Tabell 6-1.** *AUC, C<sub>max</sub> og T<sub>max</sub> for atorvastatin og CsA i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert*

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	2,60E-03	1,26E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	9,34E-03	4,21E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

**Tabell 6-2.** *AUC, C<sub>max</sub> og T<sub>max</sub> for atorvastatin og CsA i en 7 dagers simulering når bare hemming av CYP3A4 ble studert*

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	2,60E-03	1,26E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	3,96E-03	1,78E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

**Tabell 6-3.** *AUC, C<sub>max</sub> og T<sub>max</sub> for atorvastatin og CsA i en 7 dagers simulering når bare hemming av OATP1B1 ble studert*

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	2,60E-03	1,26E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	6,52E-03	3,05E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

**Tabell 6-4.** *AUC, C<sub>max</sub> og T<sub>max</sub> for atorvastatin og CsA-modell i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert*

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	2,60E-03	1,26E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	1,67E-02	9,61E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

**Tabell 6-5.**  $AUC$ ,  $C_{max}$  og  $T_{max}$  for atorvastatin og CsA-modell i en 7 dagers simulering når bare hemming av OATP1B1 ble studert

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	2,60E-03	1,26E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	1,17E-02	7,00E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

## 6.2.2. Tabeller med rådata fra Simcyp etter multiple doser atorvastatin

**Tabell 6-6.**  $AUC$ ,  $C_{max}$  og  $T_{max}$  for atorvastatin og CsA i en 28 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	648,00	672,00	1,15	2,79E-03	1,54E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	648,00	672,00	1,15	1,01E-02	5,30E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	660,00	672,00	1,25	7,63E-01	3,66E+00

**Tabell 6-7.**  $AUC$ ,  $C_{max}$  og  $T_{max}$  for atorvastatin og CsA-modell i en 28 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	648,00	672,00	1,15	2,79E-03	1,54E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	648,00	672,00	1,15	1,96E-02	1,49E-01
SV-Cyclosporine_Neoral	660,00	672,00	1,25	7,63E-01	3,66E+00

## 6.2.3. Tabeller med rådata fra Simcyp i populasjoner med forskjellige SLCO1B1-genotyper

**Tabell 6-8.**  $AUC$ ,  $C_{max}$  og  $T_{max}$  for atorvastatin og CsA i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med PT-fenotype

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	4,10E-03	2,10E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	1,23E-02	6,04E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

**Tabell 6-9.** AUC,  $C_{max}$  og  $T_{max}$  for atorvastatin og CsA i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med ET-fenotype

Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	2,47E-03	1,19E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	9,02E-03	4,04E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

**Tabell 6-10.** AUC,  $C_{max}$  og  $T_{max}$  for atorvastatin og CsA-modell i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med PT-fenotype

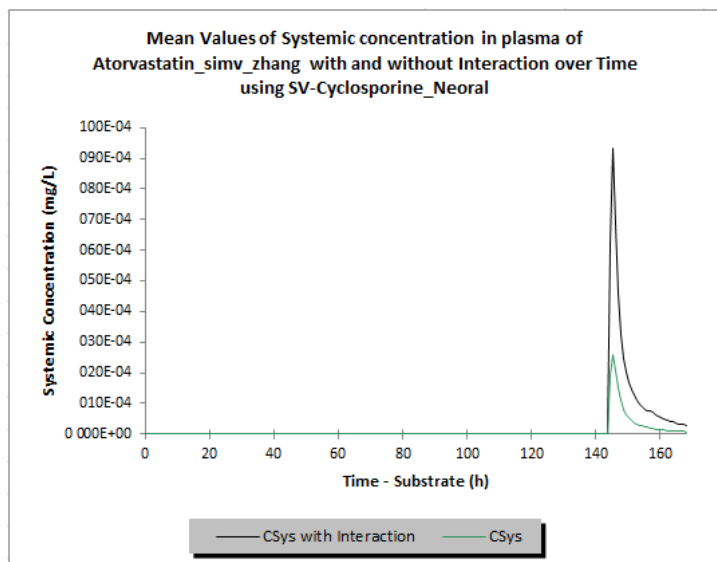
Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	4,10E-03	2,10E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	1,77E-02	1,10E-01
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

**Tabell 6-11.** AUC,  $C_{max}$  og  $T_{max}$  for atorvastatin og CsA-modell i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med ET-fenotype

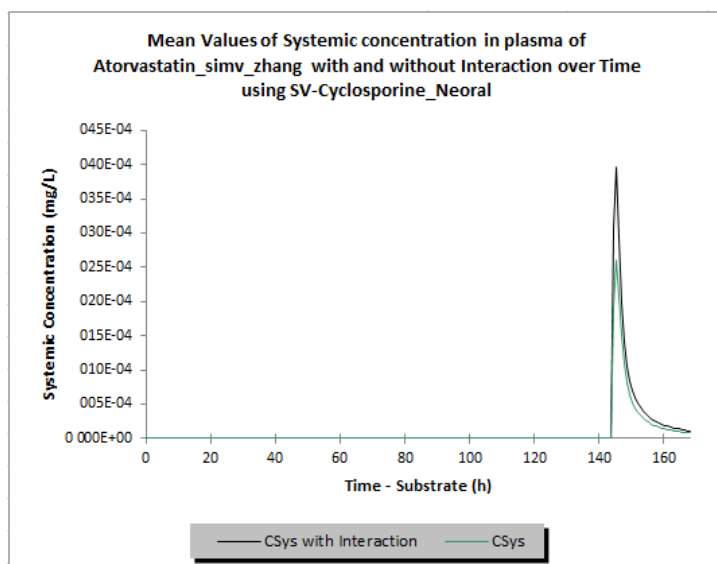
Summary Statistics	Mean				
	From (h)	To (h)	TMax (h)	CMax (mg/L)	AUC (mg/L.h)
Atorvastatin_simv_zhang	144,00	168,00	1,32	2,47E-03	1,19E-02
Atorvastatin_simv_zhang + Interaction	144,00	168,00	1,32	1,65E-02	9,41E-02
SV-Cyclosporine_Neoral	156,00	168,00	1,08	7,54E-01	3,67E+00

## 6.3. Figurer med rådata fra Simcyp for hver simulering

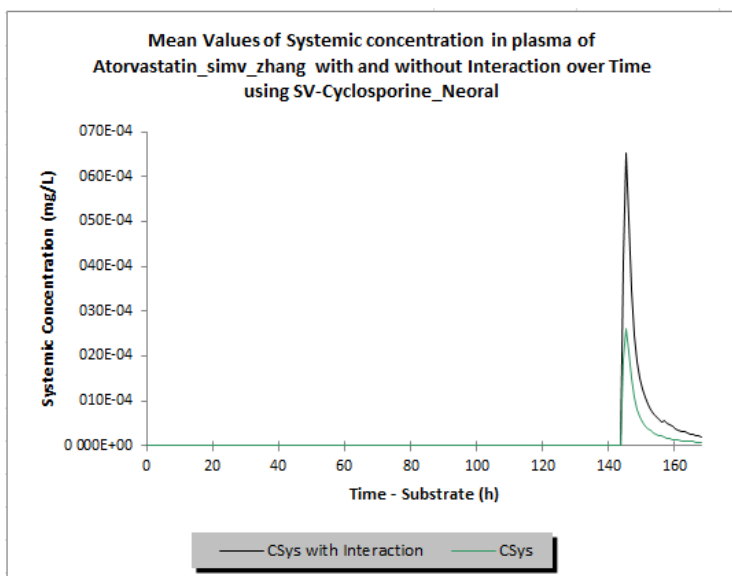
### 6.3.1. Figurer med rådata fra Simcyp etter en enkelt dose atorvastatin



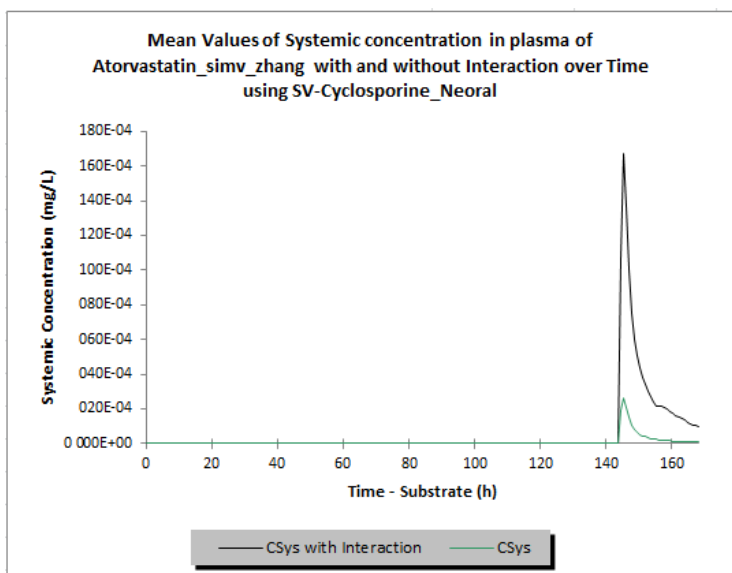
**Figur 6-1.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert



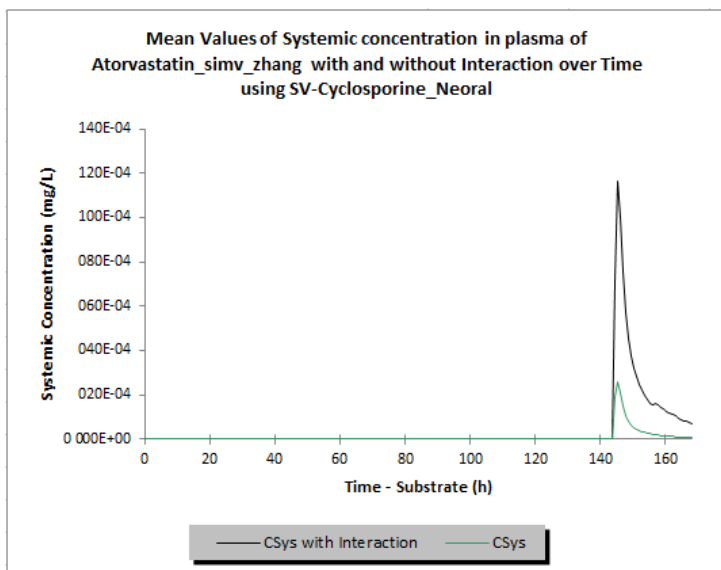
**Figur 6-2.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i en 7 dagers simulering når bar hemming av CYP3A4 ble studert



**Figur 6-3.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i en 7 dagers simulering når bare hemming av OATP1B1 ble studert

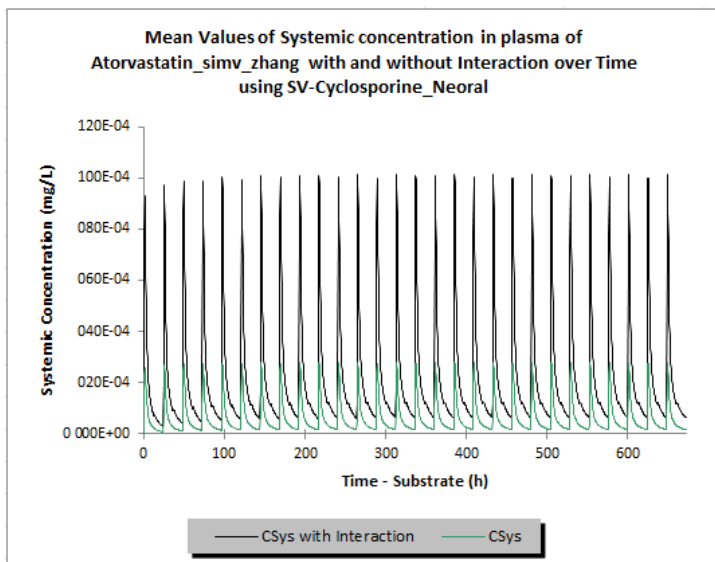


**Figur 6-4.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert



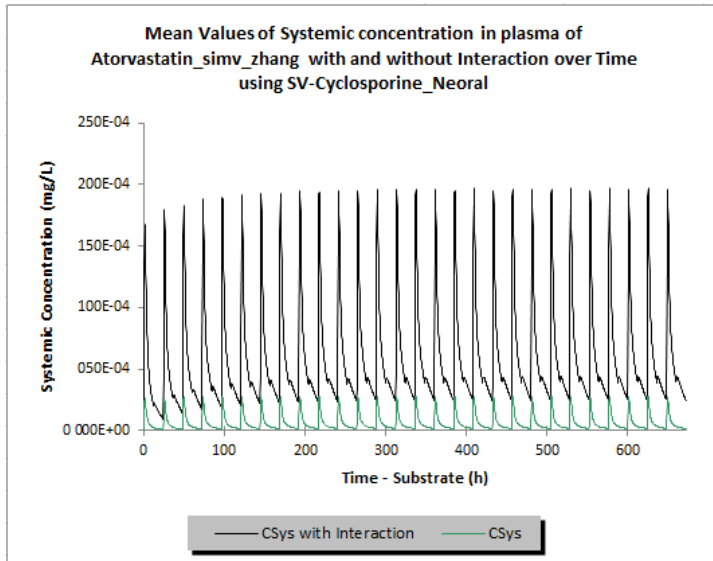
**Figur 6-5.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell i en 7 dagers simulering når bare hemming av OATP1B1 ble studert

### 6.3.2. Figurer med rådata fra Simcyp etter multiple doser atorvastatin



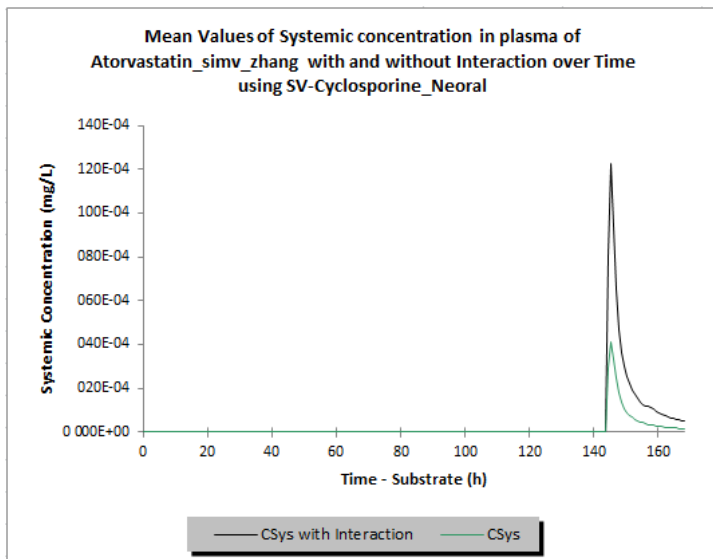
**Figur 6-6.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i en 28 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert



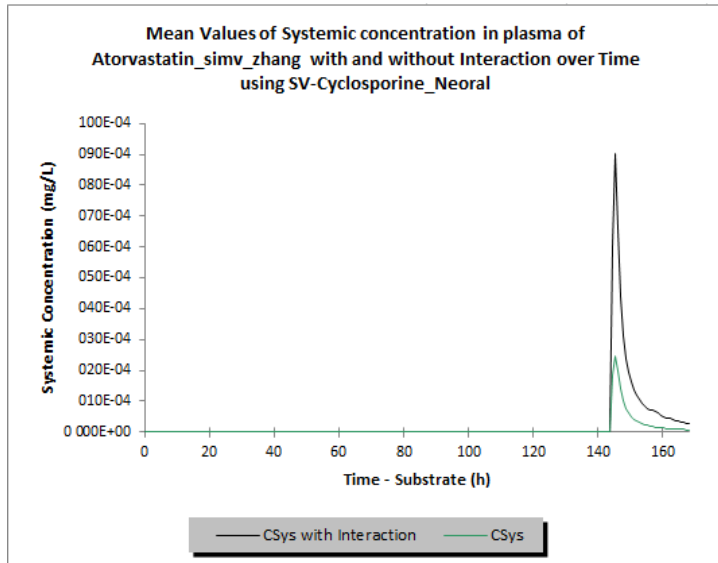


**Figur 6-7.** Endring i AUC for atorvastatin AUC med og uten interaksjon med CsA-modell i en 28 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert

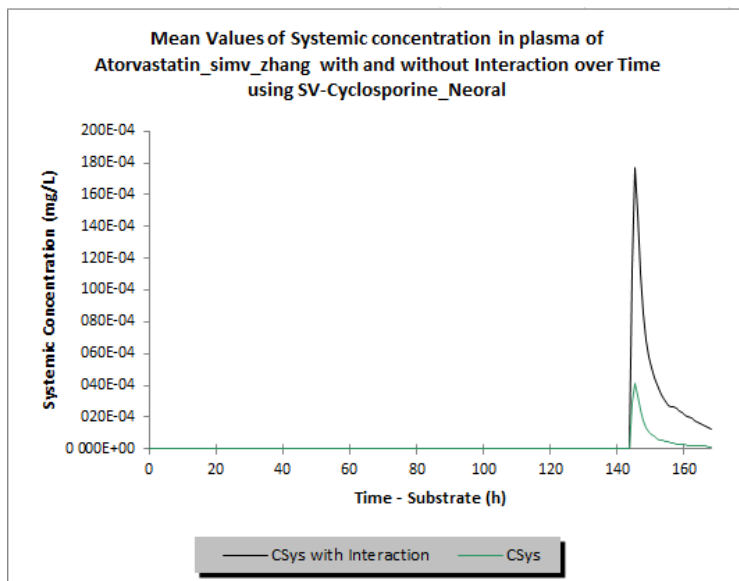
### 6.3.3. Figurer med rådata fra Simcyp i populasjoner med forskjellige SLCO1B1-genotyper



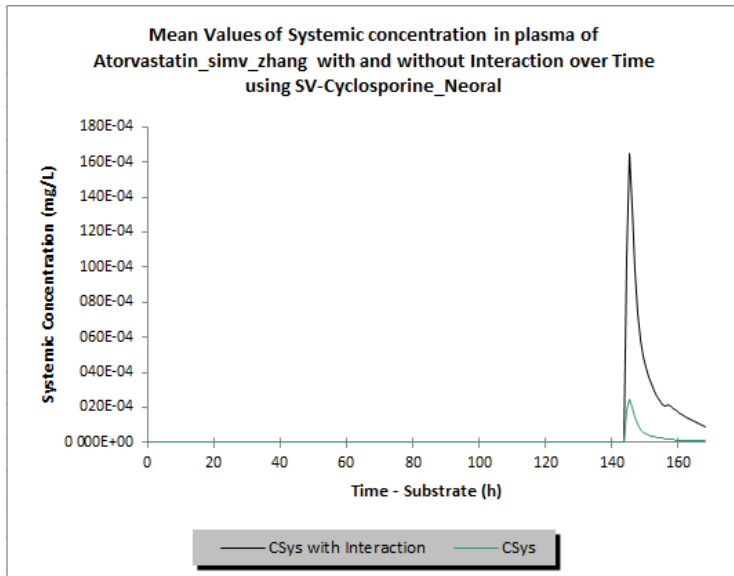
**Figur 6-8.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med PT-fenotype



**Figur 6-9.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med ET-fenotype

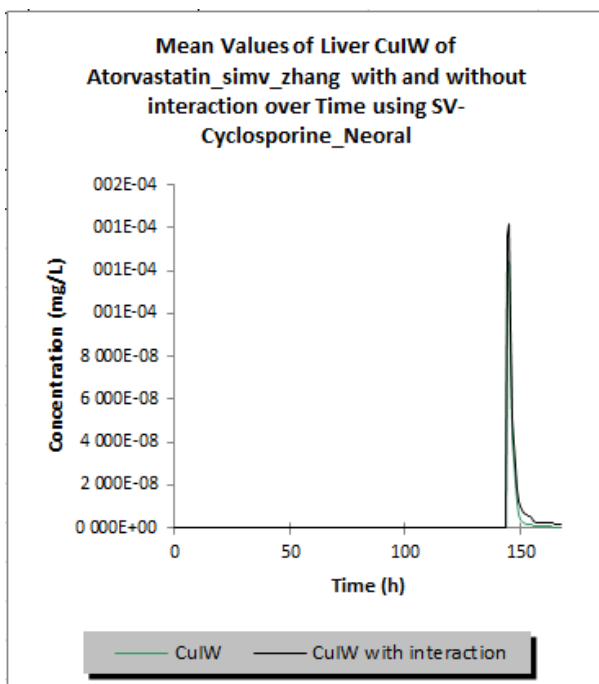


**Figur 6-10.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med PT-fenotype

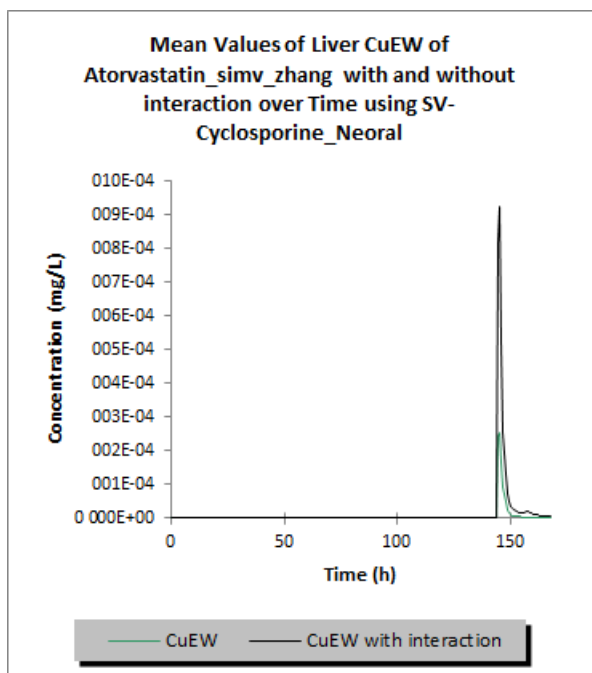


**Figur 6-11.** Endring i AUC for atorvastatin med og uten interaksjon med CsA-modell i en 7 dagers simulering når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert i populasjon med ET-fenotype

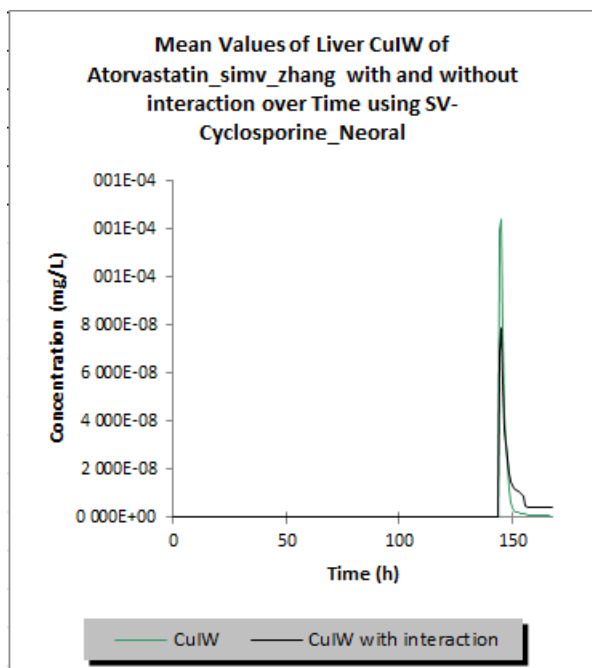
### 6.3.4 Figurer med rådata fra Simcyp for predikering av intracellulære og ekstracellulære leverkonsentrasjoner av ubundet fraksjon av atorvastatin



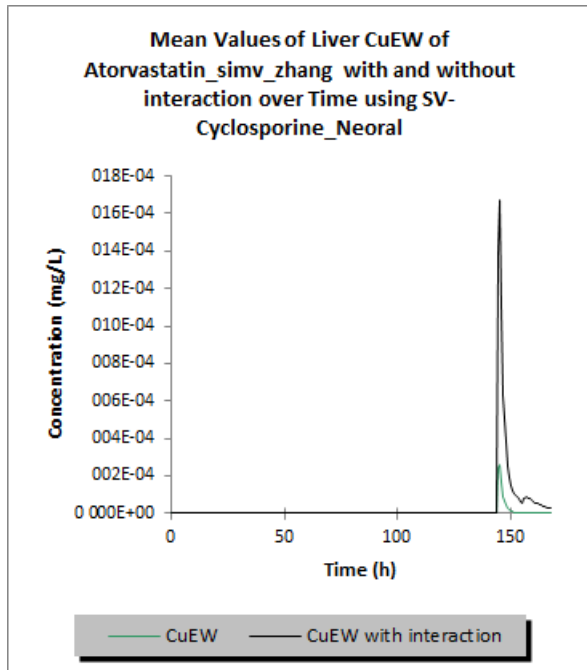
**Figur 6-12.** Endring i CuIW med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra in vitro studier [38, 85]. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).



**Figur 6-13.** Endring i CuEW med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert med  $K_i$ -verdiene for CYP3A4 og OATP1B1 for CsA tatt fra in vitro studier [38, 85]. CsA ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).



**Figur 6-14.** Endring i CuIW med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA-modell når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert.  $K_i$ -verdi for CsA for hemming av OATP1B1 ble redusert 10 ganger. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).



**Figur 6-15.** Endring i CuEW med tid for atorvastatin, med og uten interaksjon med CsA-modell når både hemming av CYP3A4 og OATP1B1 ble studert.  $K_i$ -verdi for CsA for hemming av OATP1B1 ble redusert 10 ganger. CsA-modell ble administrert i dose på 200 mg 2 ganger daglig i 7 dager, mens atorvastatin ble gitt som en enkelt dose på 10 mg den 7.dagen (etter at steady-state for CsA hadde blitt nådd).

## 6.4 Poster fra Beito

# Predikering av interaksjon mellom atorvastatin og ciklosporin (CsA) ved bruk av PBPK modell (SimCyp)



Ana Todosijevic<sup>1,2</sup>, Rune Amundsen<sup>1,2</sup> og Hege Christensen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo

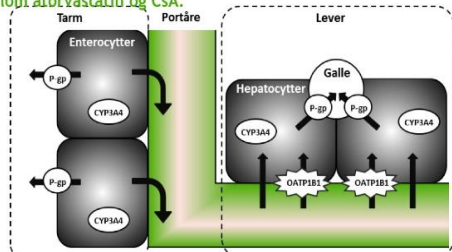
<sup>2</sup>Vitusapotek Maxis, Arendal

## Bakgrunn

Fysiologibaserte farmakokinetiske (PBPK) modeller brukes for å predikere og simulere kinetikken til legemidler, for å studere hvordan ulike endogene (f.eks. alder, kjønn, genetik, sykdommer) og eksogene (f.eks. legemiddelinteraksjoner (LMI), alkoholbruk) faktorer kan påvirke legemiddeleksponering. SimCyp populasjonsbasert ADME simulator er et eksempel på en slik simulator. Denne kombinerer eksperimentelle data fra prekliniske studier, studier fra *in vitro* enzym- og cellulærsystemer, fysiske og kjemiske egenskaper av legemidler og doseringsformer samt demografiske, fysiologiske og genetisk informasjon om ulike populasjoner, for å predikere *in vivo* farmakokinetikk.

Insidensen av hyperkolesterolemi hos nyretransplanterte pasienter er høy og bruk av HMG-CoA reductasehemmere (statiner) er vanlig som tilleggs-behandling. Kliniske studier har vist at CsA fører til 6-10 ganger økning av systemisk atorvastatinkonsentrasjon, sammenlignet med en kontrollgruppe som kun fikk atorvastatin<sup>1,2</sup>. Hemming av legemiddeltransportøren OATP1B1 i lever og CYP3A4-enzym i tarm og lever er mulige mekanismer for denne interaksjonen (Fig. 1). Amundsen *et al.* har tidligere vist at CsA-hemming av OATP1B1 var tidsavhengig, dvs. at preinkubering med CsA økte hemmingspotensialet til CsA<sup>3</sup>. Det er imidlertid en utfordring å simulere denne tidsavhengigheten i SimCyp.

Målet med denne oppgaven var å bygge opp en modell for atorvastatin for å simulere den klinisk observerte interaksjonen mellom atorvastatin og CsA.



Figur 1: Portaremodell

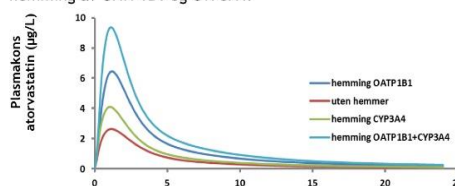
## Metoder

SimCyp populasjonsbasert ADME simulator (vs. 16; Certara, Sheffield, UK) ble brukt for modellering og simulering av interaksjonen mellom atorvastatin og CsA. Parametrene for oppbygging av atorvastatin-modellen i SimCyp er hentet fra litteraturen, mens CsA allerede var inkorporert som substrat i programmet og disse parameterverdiene ble brukt i oppbygging av modellen for CsA som hemmer.

Simuleringene ble utført i virtuelle populasjoner av friske individer fra SimCyps database. Hver simulering inkluderte 50 personer (5 studier med 10 personer). Andelen menn og kvinner var satt til 0,5, og alderen fra 20-50 år. En enkelt dose på 10 mg atorvastatin ble administrert med CsA med en dosering på 200 mg daglig. Verdier for hemmingskonstanten ( $K_i$ ) til CsA for OATP1B1 og CYP3A4 ble hentet fra Amundsen *et al.*<sup>3</sup>.  $K_i$ -verdi for CsA for preinkubering var  $0,014 \pm 0,003 \mu\text{M}$  for OATP1B1.  $K_i$  for CYP3A4 var  $0,98 \mu\text{M}$ . Det ble også simulert med en kraftigere hemmer da  $K_i$  for OATP1B1 ble redusert 10 ganger til  $0,001 \mu\text{M}$ .

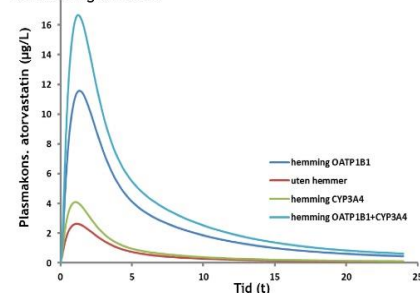
## Resultater

AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ ) til atorvastatin med samtidig administrering av CsA var 39,6 når hemming av både CYP3A4 og OATP1B1 ble studert, mens den var 28,7 uten samtidig hemming av CYP3A4 og 17,5 uten samtidig hemming av OATP1B1.  $C_{\text{max}}$  ( $\mu\text{g/L}$ ) var henholdsvis 9,36, 6,45 og 4,09, mot 2,63 uten hemmer (Fig. 2). AUC-ratio var 3,2 ved samtidig hemming av OATP1B1 og CYP3A4.



Figur 2: Predikert interaksjon mellom atorvastatin og CsA

AUC ( $\mu\text{g/L}\cdot\text{t}$ ) til atorvastatin med samtidig administrering av en CsA-modell med redusert  $K_i$ , med hemming av både CYP3A4 og OATP1B1, var 88,3, mens den var 64,2 uten samtidig hemming av CYP3A4 og 17,5 når hemmingen av OATP1B1 ikke ble inkludert. Tilsvarende verdier av  $C_{\text{max}}$  ( $\mu\text{g/L}$ ) var henholdsvis 16,7, 11,6 og 4,09 (2,63 uten hemmer (Fig. 3)). AUC-ratio økte til 7,1 ved samtidig hemming av OATP1B1 og CYP3A4.



Figur 3: Predikert interaksjon mellom atorvastatin og CsA-modell med redusert  $K_i$

## Diskusjon og konklusjon

En 3,2 ganger økning i plasmakonsentrasjon av atorvastatin etter samtidig administrering med CsA var lavere enn det som ble rapportert i de kliniske studiene. Slik underpredikering er også rapportert ved interaksjoner mellom pitavastatin eller rosuvastatin og CsA. Det finnes flere mulige forklaringer på det: som nevnt tidligere, SimCyp kan foreløpig ikke simulere tidsavhengig hemming observert i *in vitro* studier. Simuleringer ble utført i populasjoner av friske individer, og eksponering av CsA kan være forskjellig hos transplanterte pasienter. Andre interaksjonsmekanismer kan også være involvert, som for eksempel hemming av P-glykoprotein i tarm og lever.

Resultatene viser at hemming av OATP1B1 trolig er den viktigste mekanismen i interaksjonen mellom atorvastatin og CsA. En kraftig hemmer som har slått ut OATP1B1 ga en 7,1 ganger økning i AUC for atorvastatin, noe som er på linje med kliniske observasjoner. Det kan tyde på at en tidsavhengig hemming av OATP1B1 finner sted *in vivo*.

1. Åberg, A et al. Bilateral pharmacokinetic interaction between Cyclosporine A and atorvastatin in renal transplant recipients. Am J Transplant. 2001.

2. Hermann, M et al. Substantially elevated levels of atorvastatin and metabolites in cyclosporine-treated renal transplant recipients. Clin Pharm Ther. 2004

3. Amundsen, R et al. Cyclosporine A, but Not Tacrolimus, Shows Relevant Inhibition of Organic Anion-Transporting Protein 1B1-Mediated Transport of Atorvastatin. Drug Metab Disp. 2010