

## MODELOVÁNÍ ZMĚN FARMAKOKINETICKÝCH VLASTNOSTÍ SUBSTRÁTŮ CYP3A4 PŘI JEJICH KOMBINACI SE SILNÝMI INHIBITORY

Jan Prell, Jiří Potůček, Olga Matoušková, Jiří Douša, Nieko Punt

### Anotace

Cílem bylo provést interakční studie substrátů a silných inhibitorů enzymu CYP3A4 z hlediska dynamiky jejich vzájemného ovlivnění, tj. ve vztahu ke známým farmakokinetickým datům. Výsledky těchto interakčních studií pak vyhodnotit zejména z hlediska délky interakce, wash-out periody a predikce optimálního dávkování.

Všechny interakční studie byly provedeny v programu pro kompartmentové modelování farmakokinetiky a farmakodynamiky Edsim++. Potřebná data pro tvorbu kompartmentových modelů byla získána z již provedených *in vitro* interakčních experimentů. Pro vyhodnocení dat pak byly využity časové průběhy plasmatických koncentrací léčiv, plochy pod koncentrační křivkou léčiv AUC před a po interakci s inhibitorem a maximální dosažené plasmatické koncentrace  $C_{max}$ .

V programu Edsim++ byly vytvořeny interakční modely substrátů CYP3A4 se silnými inhibitory tohoto enzymu: midazolam-ketokonazol (MK), midazolam-itraconazol (MI), midazolam-ritonavir (MR). Délka trvání interakce činila 150 h (MK), 216 h (MI), 246 h (MR). Plocha pod koncentrační křivkou substrátů AUC byla zvýšena o 545 % (MK), 291 % (MI), 537 % (MR). Maximální dosažené koncentrace substrátů  $C_{max}$  byly zvýšeny o 400 % (MK), 153 % (MI), 516 % (MR).

Současné podání silných inhibitorů a substrátů CYP3A4 je kontraindikováno. Délka wash-out periody vychází z délky trvání interakce. Po podání ketokonazolu, itraconazolu a ritonaviru by wash-out perioda měla být minimálně 7, 10 a 4 dny, než bude podáno jiné léčivo, které je substrátem enzymu CYP3A4.

### Klíčová slova

*lékové interakce, objektivě orientované modelování, Edsim++, inhibitory CYP3A4, substráty CYP3A4, midazolam, ketokonazol, itraconazol, ritonavir*

### 1 Úvod do modelování lékových interakcí na úrovni CYP3A4

Potenciál léčiva modifikovat aktivitu CYP450 lze určit pomocí jeho efektu na modelové reakce *in vitro*, které reprezentují aktivitu specifického enzymu z rodiny CYP450. Tyto *in vitro* poznatky získané pomocí jednoho modelového substrátu jsou pak obvykle extrapolovány na potenciál určité sloučeniny ovlivnit všechny substráty stejného enzymu. V mnoha případech tyto modelové reakce reprezentují jednotlivé enzymové aktivity jen při specifických experimentálních podmínkách, a proto je třeba vhodně zvolit modelový substrát a experimentální podmínky při provádění těchto *in vitro* studií a extrapolaci výsledků na *in vivo* situace (Yuan et al., 2002).

Mnoho modelových reakcí reprezentuje aktivitu CYP3A4, nejdůležitějšího z enzymů CYP3A v oblasti lékových interakcí. Stejný inhibitor tohoto enzymu

(ale i jiných) je možno hodnotit používáním různých funkčních testů a výsledky pak mohou být odlišné. Tento problém je nejvýznamnější právě u enzymu CYP3A4. Nejdůležitějšími modelovými reakcemi používanými pro charakteristiku enzymové aktivity CYP3A4 jsou oxidace nifedipinu a cyklosporinu, 6 $\beta$ -hydroxylace testosteronu, N-demethylace erythromycinu a hydroxylace terfenadinu a benzodiazepinů (midazolam, triazolam, alprazolam) (Yuan et al., 2002). Kenworthy et al. (1999) pak v souvislosti s používáním různých funkčních testů uvádí, že modulační efekt 34 sloučenin na 10 běžných reakcí katalyzovaných CYP3A4 je závislý na substrátu. V Tab. 1 jsou uvedeny doporučené a akceptovatelné modelové substráty a inhibitory CYP3A4 *in vitro*.

Modelové substráty CYP3A4		Inhibitory CYP3A4	
doporučené	akceptovatelné	doporučené	akceptovatelné
midazolam	nifedipin	ketokonazol	cyklosporin
testosteron	felodipin	troleandomycin	
	cyklosporin		
	terfenadin		
	erythromycin		
	simvastatin		

Tab. 1: Preferované a akceptovatelné modelové substráty a inhibitory CYP3A4. Upraveno podle (Tucker et al., 2001).

Testosteron je vhodné podle Yuana et al. (2002) použít při koncentracích substrátu menších nebo rovných 250  $\mu$ M. Stupeň 6 $\beta$ -hydroxylace testosteronu primárně odráží aktivitu CYP3A4 a může tak být využit ke zhodnocení léčiva a jeho potenciálu pro vznik lékové interakce na úrovni CYP3A4.

Midazolam je podle FDA charakterizován jako ideální modelový substrát pro predikci CYP3A4 zprostředkovaných lékových interakcí. Midazolam je dostupný jak v i.v. formě, tak ve formě perorální, což podle Yuana et al. (2002) umožňuje studovat lékové interakce na úrovni GIT a jater *in vivo*. Midazolam je krátkodobě působící benzodiazepin, má rozsáhlý first-pass efekt, což vede k 50% perorální biologické dostupnosti. Midazolam je metabolizován v játrech výhradně enzymem CYP3A4/CYP3A5 od primárního metabolitu na dva aktivní metabolity, 1'-hydroxymidazolam<sup>1</sup> a 4-hydroxymidazolam. Přibližně 60-70 % midazolamu je hydroxylováno na 1'-hydroxymidazolam a tato 1'-hydroxylace je katalyzována téměř výhradně CYP3A4. Další nespornou výhodou midazolamu jako testovacího substrátu pro predikci CYP3A4 zprostředkovaných

[1.] Podle Pieriho (1983) je sice 1'-hydroxymidazolam farmakologicky aktivní, ale na celkovém farmakologickém účinku se podílí asi 5 % a jeho poločas eliminace  $t_{1/2}$  je 11 minut.

lékových interakcí je skutečnost, že 1'-hydroxymidazolam není substrátem P – glykoproteinu. V neposlední řadě je výhodou krátký poločas rozpadu midazolamu, který umožňuje odhadnout AUC a další snadno měřitelné farmakokinetické parametry. 1'-hydroxylace midazolamu je dobrou modelovou reakcí *in vitro* pro aktivitu CYP3A při koncentraci substrátu menší než 10  $\mu\text{M}$ .

Kenworthy et al. (1999) a Stresser et al. (2000) ve svých pracích zařazují testosteron a midazolam do 2 odlišných skupin substrátů CYP3A4. Například flukonazol vykazuje 65% inhibici při funkčním testu s midazolamem, ale 37% inhibici při funkčním testu s testosteronem. Mimo tyto dvě skupiny může podle Stressera et al. (2000) existovat ještě další, reprezentovaná nifedipinem. Příkladem této skupiny pak může být karbamazepin, který vykazuje pouze zanedbatelný efekt na testosteron a midazolam, ale vykazuje 100 % inhibici nifedipinu. Yuan et al. (2002) pak z tohoto vyvozují, že pro přesnou predikci *in vivo* lékových interakcí na úrovni CYP3A4 je třeba užít dvou nebo více testovacích substrátů.

Modelové reakce *in vitro* jsou užitečným nástrojem pro predikci *in vivo* lékových interakcí, ale nejsou vždy přesné kvůli genetickým, environmentálním nebo hormonálním faktorům působícím *in vivo* nebo kvůli vnitřním limitacím *in vitro* systémů.

## 2 Simulační studie vybraných lékových interakcí

Pro simulační studie lékových interakcí byla vybrána léčiva z kategorie silných inhibitorů enzymu CYP3A4. Dvě léčiva ze skupiny azolových antimykotik – ketokonazol a itraconazol, a jedno léčivo ze skupiny inhibitorů HIV proteázy – ritonavir. Modelovým substrátem enzymu CYP3A4 byl zvolen midazolam, především z důvodů uvedených v předchozí kapitole.

Interakci lze očekávat u všech tří léčiv, protože koncentrace nevázaného inhibitoru je větší, než inhibiční konstanta  $K_i$ .

Pro všechna výše uvedená léčiva byly využity jednodokompartmentové modely, protože Dostálek et al. (2006) ve své knize uvádí, že léčiva s distribučním objemem do 5 L/kg<sup>2</sup> zůstávají pouze v plasmě a také proto, že pro vícekompartmentové modely není dostatek dat (dvoukompartmentový model interakce midazolamu s itraconazolem byl využit při PBPK modelování v práci (Quinney et al., 2010).

Parametry pro jednotlivé modely byly získány z literatury. Parametry  $K_i$ ,  $K_m$ ,  $V_{\max}$  se mezi autory jednotlivých simulačních studií značně liší. Například inhibiční konstanta itraconazolu se pohybuje v rozmezí od 27 nM do 11  $\mu\text{M}$  (Back, Tjia, 1991; von Moltke et al., 1996; Wang et al., 1999; Ishigam et al., 2001). Hisaka et al. (2010) a Isoherranen et al. (2004) tuto variabilitu připisují rozdílnému obsahu mikrosomálních proteinů (0,4 – 0,25 mg/mL) v *in vitro* studiích a vazbě na mikrosomální proteiny.

Do programu Edsim++ byly zadány *in vitro* parametry a kinetika interakce

[2.] Kromě itraconazolu mají všechna modelovaná léčiva distribuční objem do 5 L/kg.

byla predikována na základě níže uvedených rovnic (tzv. Well-Stirred model):

$$CL_{b,H} = Q_H \cdot E_H, \quad (1)$$

kde  $Q_H$  je průtok krve játry ( $\sim 21$  mL/min/kg) a  $E_H$  je hepatální extrakční poměr, který lze spočítat z rovnice:

$$E_H = \frac{f u_b \cdot CL_{intrinsic}}{Q_H + f u_b \cdot CL_{intrinsic}}, \quad (2)$$

kde  $f u_b$  je poměr nevázané koncentrace léčiva v plasmě a v plné krvi a  $CL_{intrinsic}$  je vnitřní clearance, která vyjadřuje schopnost jater odstranit léčivo z krve bez přítomnosti omezení průtoku krve jater nebo omezení vazby léčiva na krevní bílkoviny; lze je spočítat z rovnic:

$$f u_b = \frac{f_u}{B/P}, \quad (3)$$

$$CL_{intrinsic} = \frac{CL_H}{f_u}, \quad (4)$$

kde  $f_u$  je frakce nevázaného léčiva v plasmě, B/P je blood to plasma concentration ratio – tedy poměr koncentrace léčiva v plné krvi a v plasmě (Rowland, Tozer, 2010). B/P lze spočítat z rovnice:

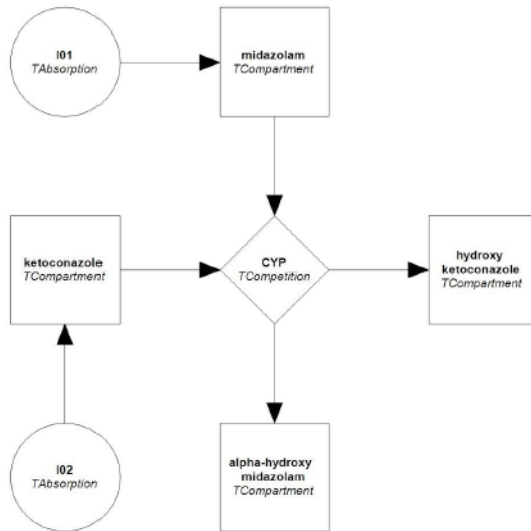
$$B/P = (f_u + 1) \cdot (1 - H), \quad (5)$$

kde  $H$  je hematokrit ( $\sim 0,45$ ) (Boxenbaum, 1999).

Pro účely tohoto sborníku byla jako příklad vybrána interakční studie midazolamu a ketokonazolu. Na Obr. 1 je zobrazeno schéma modelu lékové interakce midazolam-ketokonazol. Kompartment *I01 TAbsorption* představuje absorpci midazolamu po p.o. podání. Plasmatický kompartment midazolamu je v Obr. 1 označen jako midazolam *TCompartment*. Obdobně je i značení pro absorpci ketokonazolu (*I02 TAbsorption*) a jeho plasmatický kompartment (*ketoconazole TCompartment*). Kompartment *CYP TCompetition* představuje metabolismus obou léčiv pomocí CYP3A4 a také jejich vzájemnou interakci na této úrovni. Z tohoto kompartmentu pak léčiva vstupují již jako metabolity do kompartmentů *alpha-hydroxymidazolam TCompartment* a *hydroxyketokonazole TCompartment*.

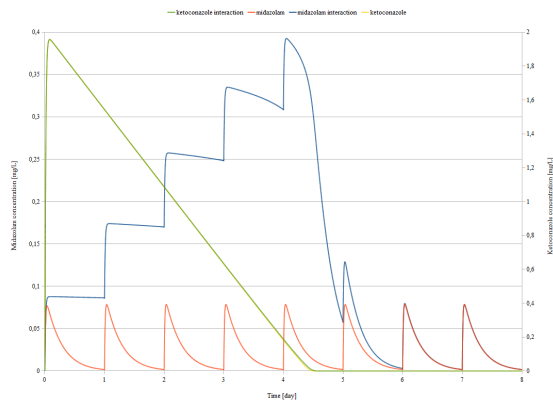
### 3. Výsledky

Na Obr. 2 je zobrazen časový průběh koncentrací midazolamu a ketokonazolu. Ve stejném grafu jsou současně zobrazeny časové průběhy koncentrací obou léčiv po jejich vzájemném ovlivnění (interakci na úrovni CYP3A4). Midazolam a ketokonazol byly podány současně, ketokonazol jako jednorázová dávka.



Obrázek 1 – Schéma modelu lékové interakce midazolam-ketokonazol

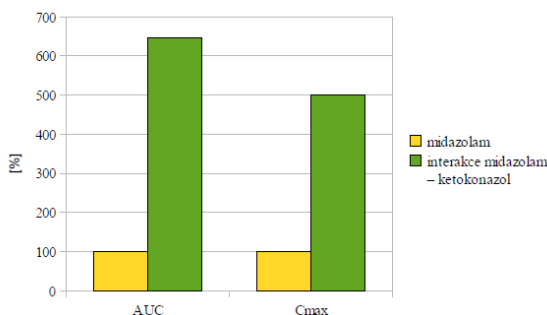
Již po prvním podání je zřetelný nárůst maximální plasmatické koncentrace midazolamu  $C_{max}$  oproti původním hodnotám. Po dalších podáních midazolamu v intervalu 24 hodin se jeho hladina v plasmě zvyšuje téměř k hodnotě 0,4 mg/L, přičemž terapeutické rozmezí midazolamu je 0,04 – 0,1 mg/L (Schulz et al., 2012). Při postupném snižování plasmatických hladin ketokonazolu je midazolam stále ve větší míře metabolizován pomocí CYP3A4, což urychluje snižování jeho koncentrací. Koncentrace ketokonazolu klesají k nule po zhruba 110 hodinách. Zvýšené koncentrace midazolamu však přetrvávají.



Obrázek 2 – Časový průběh koncentrací midazolamu a ketokonazolu bez lékové interakce (červená a žlutá křivka) a s jejich vzájemnou interakcí (modrá a zelená křivka).

144 hodin (tj. ještě po 7. dávce midazolamu) po současném podání obou léčiv a přibližně 32 hodin po poklesu koncentrací ketokonazolu k nule je plasmatická hladina midazolamu stále ještě nepatrně zvýšena. Vzájemnou interakci je nepatrně ovlivněna také koncentrace ketokonazolu, neboť je také, stejně jako midazolam, substrátem enzymu CYP3A4.

Na Obr. 3 je zobrazeno porovnání změn AUC a maximálních plasmatických hladin  $C_{max}$  midazolamu a midazolamu v interakci s ketokonazolem. Plocha pod koncentrační křivkou midazolamu byla při interakci s ketokonazolem zvýšena o téměř 550 % oproti původním hodnotám AUC. Maximální plasmatická koncentrace midazolamu  $C_{max}$  byla při interakci zvýšena o 400 %. Porovnání změn poločasu eliminace  $t_{1/2}$  a clearance CL není možné z důvodů nelineární kinetiky, oba parametry jsou závislé na aktuální koncentraci léčiva v plasmě.



Obrázek 3 – Srovnání změn farmakokinetických parametrů midazolamu a midazolamu v interakci s ketokonazolem.

#### 4. Závěr

V programu Edsim++ byly provedeny interakční studie substrátů CYP3A4 při kombinaci se silnými inhibitory tohoto enzymu. Sledovány byly změny farmakokinetických parametrů substrátu: AUC a  $C_{max}$ . Ve farmakokinetických studiích jsou obvykle sledovány ještě změny  $t_{1/2}$  a CL. Porovnání změn poločasu eliminace  $t_{1/2}$  a clearance CL není možné z důvodů nelineární kinetiky, oba parametry jsou závislé na aktuální koncentraci léčiva v plasmě.

Byly vytvořeny modely následujících interakcí substrátů se silnými inhibitory: midazolam-ketokonazol, midazolam-itrakonazol a midazolam-ritonavir.

Při jednorázovém podání ketokonazolu činila délka trvání interakce s midazolamem 150 hodin. Plocha pod koncentrační křivkou midazolamu byla při interakci zvýšena o 545 %, což je v plném souladu s literaturou (Flockhart, 2007). Maximální plasmatická koncentrace midazolamu  $C_{max}$  byla při interakci zvýšena o 400 %. Při této interakci byla nepatrně zvýšena i AUC ketokonazolu.

Jednorázově byl podán i další inhibitor itrakonazol. Interakce s midazolamem trvala 216 hodin. AUC midazolamu byla při interakci zvýšena „pouze“

[3.] Flockhart (2007) uvádí, že silné inhibitory způsobují nárůst AUC alespoň o 500 %.

o 291 % navzdory tomu, že je silným inhibítořem<sup>3</sup>. Nedosažení očekávaného nárůstu AUC lze přisoudit přílišnému zjednodušení modelu itraconazolu, neboť při distribučním objemu 10-11 L/kg, je podle Dostálka et al. (2006) léčivo distribuováno mimo plasmu i do extracelulárního prostoru. Pro použití více-kompartimentového modelu není dostatek klinických dat. Maximální plasmatická koncentrace midazolamu  $C_{max}$  byla při interakci zvýšena o 153 %. AUC itraconazolu bylo nepatřně zvýšeno i při této interakci.

Ritonavir byl podán dle doporučeného dávkování výrobce (SÚKL, 2006) a délka interakce s midazolamem činila při tomto schématu 246 hodin. V souladu s literaturou (Flockhart, 2007) byla AUC midazolamu při interakci s ritonavirem zvýšena o 537 %. Maximální dosažené koncentrace substrátu  $C_{max}$  byla zvýšena o 516 %. Hladina ritonaviru při interakci ovlivněna nebyla.

Koncentrace midazolamu ve všech případech převyšovaly maximální terapeutickou hladinu 0,1 mg/L. V případě překročení maximálních terapeutických hladin stoupá u tohoto substrátu riziko nežádoucích účinků na centrální nervovou soustavu: posílení a/nebo prodloužení sedativního efektu spojeného s vyšším rizikem respirační a kardiovaskulární deprese, anterográdní amnézie a jiné. Společné podání některých jiných substrátů se silnými inhibitory CYP3A4 může mít i život ohrožující následky. V klinické praxi je ale někdy nutno podávat více léčiv současně a některá z nich mohou být substrátem a jiná inhibítořem téhož enzymu. V tomto případě je pak nutno redukovat dávku substrátu, aby nebyly překročeny terapeutické hladiny. Při současném podání midazolamu s ketokonazolem (200 mg), itraconazolem (200 mg) a ritonavirem (300 – 600 mg dle doporučeného dávkovacího schématu) by bylo třeba redukovat dávku midazolamu z 15 mg denně na 3,75 mg, 7,5 mg a 3 mg denně. Při této redukci dávek není terapeutická hladina 0,1 mg/L překročena a pacient tak není ohrožen nežádoucími účinky léčiva. Perorální midazolam je vyráběn ve formě tablet v dávkách 7,5 mg a 15 mg a ve formě roztoku v dávkách 2,5 mg/0,5 mL, 5 mg/1 mL, 7,5 mg/1,5 mL a 10 mg/2 mL (SÚKL, 2012).

Při závažných lékových interakcích, ale i při předávkování, je důležité vědět, za jak dlouho poklesne plasmatická koncentrace substrátu zpět na terapeutickou koncentraci. Léková interakce po poklesu sice ještě přetrvává, nicméně koncentrace substrátu již není toxická. Po současném podání midazolamu (15 mg) s ketokonazolem (200 mg), itraconazolem (200 mg) a ritonavirem (300 – 600 mg dle doporučeného dávkovacího schématu) poklesne plasmatická koncentrace midazolamu zpět na hodnotu 0,1 mg/L za přibližně 116 hodin, 149 hodin a 50 hodin.

Wash-out perioda (vymývací období) je období, kdy pacientovi nejsou podávána žádná léčiva a je tak umožněno „vymytí“ účinků předchozího přípravku a jeho kompletní eliminaci z organismu. Toto období má zásadní význam nejen v případě převádění pacienta na jinou léčbu, kde existuje riziko aditivního působení, ale také v případě rizika inhibice nebo indukce vyvolané prvním podáním léčiva. Neméně důležité je dodržení wash-out periody v rámci prevence vyskytu nežádoucích účinků vzniklých lékovými interakcemi.

Současné podání silných inhibitorů a substrátů CYP3A4 je kontraindikováno. Délka wash-out period vychází z délek trvání interakcí. Po podání ketoconazolu, itraconazolu a ritonaviru by wash-out perioda měla být minimálně 7, 10 a 4 dny, než bude podán jiný substrát enzymu CYP3A4.

Z výše uvedeného vyplývá, že v programu Edsim++ lze efektivně provádět interakční studie substrátů a silných inhibitorů enzymu CYP3A4 z hlediska dynamiky jejich vzájemného ovlivnění. Program umožňuje predikci délky wash-out periody, farmakokinetických parametrů  $C_{max}$  a AUC a také predikci optimálního dávkování substrátů CYP3A4 při současném podání inhibitorů téhož enzymu. Program může významně přispět k prevenci výskytu nežádoucích účinků vzniklých lékovými interakcemi.

### Literatura:

- [1.] BACK D.J., TJIA J.F.: *Comparative effects of the antimycotic drugs ketoconazole, fluconazole, itraconazole and terbinafine on the metabolism of cyclosporine by human liver microsomes. British Journal of Clinical Pharmacology.* 1991, roč. 32, č. 6, s. 624-626.
- [2.] BOXENBAUM H.: *Cytochrome P450 3A4 In Vivo Ketoconazole Competitive Inhibition: Deterioration of Ki and Dangers Associated with High Clearance Drugs in General. Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 1999, roč. 2, č. 2, s. 47-52.
- [3.] DOSTÁLEK M. et al.: *Farmakokinetika.* Praha: Grada, 2006, 220 s. ISBN 80-247-1464-7.
- [4.] FLOCKHART D.: *Drug Interactions: Cytochrome P450 Drug Interaction Table [online]. [cit. 2013-08-24]. Indiana University School of Medicine (2007). Dostupné z: <<http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/table.aspx>>*
- [5.] HISAKA A., OHNO Y., YAMAMOTO T., SUZUKI H.: *Prediction of pharmacokinetic drug–drug interaction caused by changes in cytochrome P450 activity using in vivo information. Pharmacology & Therapeutics.* 2010, roč. 125, č. 2, s. 230-248.
- [6.] ISHIGAM M., UCHIYAMA M., KONDO T., et al.: *Inhibition of in vitro metabolism of simvastatin by itraconazole in humans and prediction of in vivo drug-drug interactions. Pharmaceutical Research.* 2001, roč. 18, č. 5, s. 622-631.
- [7.] ISOHERRANEN N., KUNZE K.L., ALLEN K.E., et al.: *Role of itraconazole metabolites in CYP3A4 inhibition. Drug Metabolism and Disposition.* 2004, roč. 32, č. 10, s. 1121-1131.
- [8.] KENWORTHY K. E., BLOOMER J. C., CLARKE S. E., HOUSTON J. B.: *CYP3A4 drug interactions: correlation of 10 in vitro probe substrates. British Journal of Clinical Pharmacology.* 1999, roč. 48, s. 716-727.
- [9.] PIERI L.: *Preclinical pharmacology of midazolam. British Journal of Clinical Pharmacology.* 1983, roč. 16, č. S1, s. 175-275.
- [10.] QUINNEY S. K., ZHANG X., LUCKSIRI A., GORSKI C., LI L., HALL S. D.: *Physiologically Based Pharmacokinetic Model of Mechanism-Based Inhibition of CYP3A by Clarithromycin. Drug Metabolism and Disposition.* 2010, roč. 38, č. 2, s. 241-248.
- [11.] ROWLAND M., TOZER T. N.: *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Concepts and Applications.* 4. vyd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. 864 s. ISBN 978-0781750097.
- [12.] SCHULZ M., IWERSEN-BERGMANN S., ANDRESEN H., SCHMOLDT A.: *Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics. Critical Care.* 2012, roč. 16, č. 4, R136.



- [13.] STÁTNI ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV (SÚKL). Souhrn údajů o přípravku [online]. 14.3.2012 [cit. 2014-04-18]. Dostupné z: <<http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC29356.pdf&type=spc&as=dormicum-15-mg-spc>>
- [14.] STRESSER D. M., BLANCHARD A. P., TURNER S. D., ERVE J. C., DANDENEAU A., MILLER V. P., CRESPI C. L.: Substrate-dependent modulation of CYP3A4 catalytic activity: analysis of 27 test compounds with four fluorometric substrates. *Drug Metabolism and Disposition*. 2000, roč. 28, s. 1440-1448.
- [15.] VON MOLTKE L.L., GREENBLATT D.J., SCHMIDER J., et al.: Midazolam hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by fluoxetine, norfluoxetine and by azole antifungal agents. *Journal of Clinical Pharmacology*. 1996, roč. 36, č. 9, s. 783-791.
- [16.] WANG J.S., WEN X., BACKMAN J.T., et al.: Midazolam alpha-hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by calcium channel blockers, itraconazole and ketoconazole. *Pharmacology & Toxicology*. 1999, roč. 85, č. 6, s. 157-161.
- [17.] YUAN R., MADANI S., WEI X. X., REYNOLDS K., HUANG S. M.: Evaluation of cytochrome P450 probe substrates commonly used by the pharmaceutical industry to study in vitro drug interactions. *Drug Metabolism and Disposition*. 2002, roč. 30, č. 12, s. 1311-1319.

### **Kontakt:**

#### **Jan Prell**

Fakulta biomedicínského inženýrství  
České Vysoké Učení Technické v Praze  
Kladno, Česká republika  
Mediware a.s.  
e-mail: [jan.prell@mediware.cz](mailto:jan.prell@mediware.cz)

#### **Jiří Potůček**

Mediware a.s., Praha, Česká republika  
e-mail: [jiri.potucek@mediware.cz](mailto:jiri.potucek@mediware.cz)

#### **Olga Matoušková**

Ústav farmakologie 1. lékařské fakulty  
a Všeobecné fakultní nemocnice  
Univerzita Karlova v Praze  
Praha, Česká republika

#### **Jiří Douša**

Mediware a.s.  
1. lékařská fakulta  
Univerzita Karlova v Praze  
Praha, Česká republika

#### **Nieko Punt**

Department of Pharmacology and Toxicology  
University of Maastricht  
Maastricht, Nizozemí