



산업계를 위한 가이드스

시험관 내 (In vitro)에서의 약물상호작용 평가

Cytochrome P450 효소와 수송체 매개 약물상호작용

In vitro Drug Interaction Studies
Cytochrome P450 Enzyme and Transporter Mediated
Drug Interactions Guidance for Industry

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
January 2020
Clinical Pharmacology



한국한의학진흥원
한의학혁신기술개발사업단

본 번역본은 2020년 1월 발표된 미식품의약국(U.S. Food and Drug Administration) 가이드라인 ‘In vitro Drug Interaction Studies — Cytochrome P450 Enzyme and Transporter Mediated Drug Interactions Guidance for Industry’를 번역한 것으로서, 한국한의학진흥원 한의약혁신기술개발사업단의 ‘합성의약품-한약제제 병용투여지침 가이드라인 개발’ 용역연구 결과물입니다. 미국 FDA가 한국어로 직접 번역한 것은 아니며, 국내 약물 상호작용 연구를 수행하는 전문가들의 이해를 돕기 위한 자료입니다. 번역본에 대한 법적 효력이 없고 국내의 상황과 일치하지 않는 부분이 있을 수도 있음을 감안하시기 바라며, 영어 원문과 함께 참고하시기 바랍니다.

<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/in-vitro-drug-interaction-studies-cytochrome-p450-enzyme-and-transporter-mediated-drug-interactions>

아울러 이 번역본은 상업적 목적으로 사용할 수 없고, 비영리 목적에 한해서는 자유롭게 이용할 수 있으나 어떤 방식으로든 변형해서는 안 되며 반드시 출처를 밝혀주시기 바랍니다.

* 다운로드 및 문의 : 한국한의학진흥원 국가한의학정보포털 (<http://nikom.or.kr/nckm>)

감수

박민수 연세대학교 의과대학 임상약리학 교수, 대한임상약리학회장

한승훈 카톨릭대학교 의과대학 약리학 교수

채정우 충남대학교 약학대학 임상약학 교수

번역

조선영 (주)인테그로메디랩 대표

김영수 (주)인테그로메디랩 연구소장

장보윤 (주)인테그로메디랩 책임연구원

목 차

I 장. 개 요	1
II 장. 배 경	3
III 장. 약물 대사 매개 약물상호작용 평가	4
1. 개발 대상 의약품이 대사 효소의 기질(Substrate)인지 평가하는 연구	4
2. 개발 대상 의약품이 대사 효소대사효소의 억제제(Inhibitor)인지 평가하는 연구 ...	5
3. 개발 대상 의약품이 대사 효소대사효소의 유도제인지 평가하는 연구	7
IV 장. 수송체 매개 약물상호작용의 평가	12
1. 개발 대상 의약품이 수송체 P-gp 및 BCRP의 기질인지 평가하는 연구	13
2. 개발 대상 의약품이 간 수송체 OATP1B1 및 OATP1B3의 기질인지 평가하는 연구	14
3. 개발 대상 의약품이 신장 수송체 OAT, OCT 및 MATE의 기질인지 평가하는 연구	15
4. 개발 대상 의약품이 수송체의 억제제인지 평가하는 연구	16
5. 개발 대상 의약품이 수송체의 유도제인지 평가하는 연구	19
V 장. 대사체의 약물상호작용 가능성에 대한 평가	20
1. 기질로서의 대사체	20
2. 억제제로서의 대사체	21

VI장. 의약품 사용설명서 권고사항	22
VII장. 부 록	23
1. 대사 기반 약물 상호작용의 in vitro 평가	23
2. 수송체 매개 약물 상호작용의 in vitro 평가	29
3. DDI를 일으킬 가능성이 있는 약물 연구를 위한 모델 기반의 예측 이용	33
VIII장. 약 어	40
IX장. 참고문헌	42
X장. 주요 용어 번역 목록	52

이 가이드는 해당 주제에 대한 미국식품의약국 (FDA 또는 기관)의 현 시점에서의 견해를 보여준다. 이를 통해 누구에게도 특정 권한을 부여하지도 않으며, FDA 또는 대중에 법적 구속력을 행사하지 않는다. 해당 법령 및 규정의 요구 사항을 충족하는 경우 이 가이드에서 제시한 방식이 아닌 대체 접근 방식을 사용해도 무방하다. 대체 접근 방식을 논의하려면 제목 페이지에 나열된 이 가이드 작성을 담당하는 FDA 부서에 문의한다.

I 장. 개 요

- 이 가이드(Guidance)¹⁾는 약물 개발자가 개발 대상 의약품(Investigational drug)의 약물상호작용(Drug-drug interaction, DDI) 가능성을 평가하기 위한 연구를 계획하고 평가하는 데 도움을 주기 위한 것이다.²⁾
- 이 가이드는 개발 대상 의약품과 Cytochrome P450 효소(CYP) 및 수송체(Transporter)와의 상호작용 가능성을 평가하는 in vitro 실험 방법과 그 결과를 토대로 향후 임상 DDI 평가시험(Clinical DDI studies)을 어떻게 디자인할 수 있을지에 중점을 둔다.
- 이 가이드의 부록에는 in vitro 평가 시스템을 선택할 때 고려할 사항, in vitro 실험 조건과 관련된 주요 문제 및 모델 기반 DDI 예측 전략에 대해 자세히 설명하고 있다.
- 이 가이드와 그 정의에 사용된 용어 목록은 섹션 VIII을 참조할 수 있다. 현재 P-glycoprotein(P-gp) 및 기타 수송체의 유도를 평가하는 in vitro 실험 방법은 잘 확립되어 있지 않다. 따라서, 수송체의 유도제(Inducer)로서의 개발 대상 의약품의 in vitro 평가에 대한 권장 사항은 포함되어 있지 않다.
- In vitro 평가 결과 DDI 임상 평가의 필요성이 생긴다면, 2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드 '임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용(Clinical Drug Interaction Studies .Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions)'³⁾을 참조한다. 이 두 가지 최종 가이드는 개발 대상 의약품의 DDI 가능성을 평가하고 DDI 완화를 위한 권장 사항을 만드는 체계적이고 위험 기반 접근 방식을 설명한다.

1) This guidance has been prepared by the Office of Clinical Pharmacology, Office of Translational Sciences in the Center for Drug Evaluation and Research at the Food and Drug Administration.

2) Only small molecule drugs are covered in this guidance. Interactions involving biologics (therapeutic proteins) are beyond the scope of this guidance.

3) We update guidances periodically. For the most recent version of a guidance, check the FDA guidance web page at <https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

- 일반적으로, FDA의 가이드선 문서는 반드시 따라야 하는 법적 책임을 부과하지 않는다. 대신, 이 가이드선은 해당 주제에 대한 기관의 현재 견해를 설명하며, 특정 규제 또는 법적 요구 사항이 언급되어 있지 않는 한 권장 사항으로만 볼 것을 권한다. 기관 가이드선에서 'should' 라는 단어의 사용은 어떤 것을 제안하거나 권장한다는 의미이지, 반드시 지켜야 한다는 강제적 의미는 아니다. 따라서 본 가이드선에서는 한글로 '... 한다'로 표현하였으며, 그 의미는 '...를 제안하거나 권장한다'는 의미이다.

II장. 배 경

- 개발 중인 약물의 DDI 가능성을 평가하는 데는 다음과 같은 내용이 포함된다.
 - 약물 소실의 주요 경로 식별
 - 효소와 수송체의 약물 동태 기여도 추정
 - 효소 및 수송체에 대한 약물의 효과 규명
- 이러한 평가는 약물 동태에 영향을 미칠 가능성이 있는 잠재적 DDI 기전 (Mechanisms)을 밝히고, 추후 연구에 쓰일 동적(Kinetic) 변수를 파악하기 위한 in vitro 평가로 시작된다. In vitro 실험 결과는 임상 약동학(PK, Pharmacokinetic) 데이터와 함께 임상 평가의 필요성과 연구 설계에 필요한 기전 정보를 제공한다.
- 다양한 모델링 기법은 in vitro 실험 결과를 토대로 임상 DDI의 잠재적 가능성을 in vivo 시스템에서 예측하는데 활용할 수 있다. 예를 들어, 대사(효소) 매개 DDI의 유발 약물(Perpetrator)로서 약물을 평가할 때, 기본 모델(Basic models) (Einolf 2007, Einolf, Chen 등 2014, Vieira, Kirby 등 2014), static mechanistic models (Einolf 2007, Fahmi, Hurst, et al. 2009; Einolf, Chen, et al. 2014) 또는 생리학 기반 약동학(Physiologically-Based Pharmacokinetic, PBPK) 모델 (Zhao, Zhang, et al. 2011; Zhao, Rowland, et al. 2012; Jones, Chen, et al. 2015; Wagner, Zhao, et al. 2015; FDA draft guidance for industry Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses — Format and Content)은 DDI 임상 평가를 수행하는 시기와 방법을 결정하는 데 도움이 될 수 있다.
- 이 가이드는 임상 DDI의 가능성을 결정하기 위해 in vitro 평가를 수행하고 이 연구 결과를 해석하기 위한 일반적인 프레임 워크의 개요를 서술한다. 이 지침의 권장 사항은 현재 수준의 과학적 이해를 기반으로 한다. 여기에 설명된 권장 사항은 DDI의 과학 분야가 진화하고 발전함에 따라 주기적으로 업데이트 될 수 있다. 약물 개발 및 규제 목적을 위해 DDI를 평가하기 위한 in vitro 시스템과 관련된 일반적인 고려 사항은 부록을 참조한다.

Ⅲ장. 약물 대사 매개 약물상호작용 평가

- 많은 약물은 대사라는 기전을 통해 생체활성화(예: 전구 약물의 활성화) 되거나 체내에서 제거된다. 약물 대사는 간, 신장, 장벽 및 폐와 같은 장기, 그 외 여러 기관에서 가능하지만 주된 대사는 간과 장에서 일어난다. 이 기관은 다양한 약물 대사효소(Metabolizing enzymes)를 발현하며 많은 약물의 생체 내 변환을 담당한다.
- 간 대사는 주로 간 소포체(Endoplasmic reticulum)에 위치한 CYP 효소군(CYP family of enzymes)을 통해 이루어지며, 2차(Phase II) 간 대사효소인 UGTs(Uridine diphosphate- glucuronosyl-transferases) 및 SULTs(Sulfo-transferases)와 같은 비 CYP 효소를 통해서도 일어날 수 있다.
- 임상 PK 연구의 필요성과 연구 설계를 위해, first-in-human 연구 전에 in vitro 대사 실험을 시작하여 이러한 대사효소와 개발 대상 의약품의 상호작용 가능성을 평가한다. 약물 대사 매개 약물 상호작용의 가능성을 평가하기 위해서 다음과 같은 in vitro 평가를 수행할 것을 권장한다.

1. 개발 대상 의약품이 대사효소의 기질(Substrate)인지 평가하는 연구

(1) In vitro 평가의 수행

- 어떤 CYP 효소들이 개발 대상 의약품을 대사 시키는지 밝히기 위해 in vitro 표현형(Phenotype) 실험을 통해 CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 및 CYP3A를 기본적으로 평가한다. 개발 대상 의약품이 생체내(in vivo)에서 상기 주요 CYP 효소에 의해 유의하게 대사되지 않는 것으로 밝혀지면, 이 약물의 대사에 기여할 수 있는 추가적인 효소에 대한 연구가 필요하다. 이러한 추가적인 효소에는 다음에 명시된 효소 외에 다양한 효소가 포함된다.
- CYP 효소: CYP2A6, CYP2J2, CYP4F2, CYP2E1
- 기타 1차(Phase I) 대사효소 : aldehyde oxidase(AO), carboxylesterase(CES), monoamine oxidase(MAO), flavin monooxygenase(FMO), xanthine oxidase(XO), alcohol/aldehyde dehydrogenase(ADH/ALDH)
- 2차(Phase II) 대사효소 : UDP glucuronosyl transferases(UGTs), sulfotransferases(SULTs)

(2) 데이터의 분석과 해석

- In vitro 표현형 연구와 임상 PK 연구 결과, 연구 대상이 된 효소가 약물 소실의 25% 이상을 담당하는 경우 해당 효소가 개발 대상 의약품의 청소율(Clearance)에 유의하게 기여하는 것으로 평가된다. 이러한 상황에서는 해당 효소와 관련된 강력한 지표 억제제(Index inhibitors) 및 / 또는 유도제를 사용하여 임상 DDI 평가시험을 수행한다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드라인 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용(Clinical Drug Interaction Studies .Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions)’ 참조).

2. 개발 대상 의약품이 대사효소의 억제제(Inhibitor)인지 평가하는 연구

(1) In vitro 평가의 수행

- 개발 대상 의약품의 CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 및 CYP3A 효소들에 대한 억제 가능성을 가역적(i.e., 가역적 억제: Reversible inhibition)인지, 그리고 시간 의존적(i.e., 시간 의존적 억제: Time-dependent inhibition(TDI))인지 모두 평가하는 것을 권한다.

(2) 데이터의 분석과 해석

- 기본 모델에서는, DDI 유발 약물(Interacting drug) 병용투여 여부에 따른 대사 경로를 찾기 위하여 특정 대사효소의 탐색 기질(Probe substrate)의 내인성 청소율(Intrinsic clearance) 간의 비율을 계산한다. 이 비율은 가역적 억제일 때 R_1 이라고 한다. CYP3A의 경우, $R_{1, gut}$ 도 그림 1과 같이 계산하도록 권한다.

$$R_1 = 1 + (I_{max,u} / K_{i,u})$$

$$R_{1, gut} = 1 + (I_{gut} / K_{i,u})$$

$I_{max,u}$ 는 항정 상태(Steady state)에서 DDI 유발 약물의 최대 유리약물 혈장농도(Unbound plasma concentration)이다.*

I_{gut} 는 약물 용량(Dose) / 250mL로 계산하며, DDI 유발 약물의 장내 농도(Intestinal luminal cocentration)이다.

$K_{i,u}$ 는 in vitro 실험에서 측정된 유리약물 억제 상수(The unbound inhibition constant)이다.

* 주의 : I와 K_i는 동일한 단위(예 : 몰 농도 단위)로 표현한다.

* 단백결합 측정의 불확실성을 고려할 때, 실험 측정 결과 1% 미만으로 나오는 경우는 혈장 내 유리약물 분획을 1%(fraction unbound in the plasma ($f_{u,p}$) = 0.01)로 설정한다.

(그림 1) Equations to Calculate the R value for Basic Models of Reversible Inhibition (Vieira, Kirby, et al. 2014)

기본 TDI 모델의 경우 그림 2에 설명 된대로 R₂를 계산한다.

$$R_2 = (k_{obs} + k_{deg}) / k_{deg}$$

$$\text{여기서 } k_{obs} = (k_{inact} \times 50 \times I_{max,u}) / (K_{I,u} + 50 \times I_{max,u})$$

k_{obs} 는 영향을 받은 효소의 측정된(겉보기 1차) 불활성화율이다.

k_{deg} 는 영향을 받은 효소의 겉보기 1차 분해 속도 상수이다.

$K_{I,u}$ 는 최대 불활성화의 절반 정도를 유발하는 억제제의 유리약물 농도이다.

k_{inact} 는 최대 불활성화 속도 상수이다.

$I_{max,u}$ 는 항정 상태에서 DDI 유발 약물의 최대 유리약물 혈장농도이다.*

* 주의: I와 K_i는 동일한 단위(예 : 몰 농도 단위)로 표현한다.

* 단백질 결합 측정의 불확실성을 고려할 때, 실험 측정 결과 1% 미만으로 나오는 경우는 혈장 내 유리약물 분획을 1%(fraction unbound in the plasma ($f_{u,p}$) = 0.01)로 설정한다.

(그림 2) Equations to Calculate the R value for Basic Models of TDI (Yang, Liao, et al. 2008; Grimm, Einolf, et al. 2009; Vieira, Kirby, et al. 2014)

- $R_1 \geq 1.02$, $R_2 \geq 1.25$ (Vieira, Kirby et al. 2014) 또는 $R_{1,gut} \geq 11$ (Tachibana, Kato, et al. 2009; Vieira, Kirby, et al. 2014) 인 경우, 기전 모델 (부록, 섹션 VII.C 참조)을 사용하거나, 고감도 DDI 영향 지표 약물(Sensitive index substrate)로 임상 DDI 평가를 수행하여 DDI 가능성에 대하여 추가로 연구한다.
- 개발 대상 의약품의 존재 여부에 따른 고감도 DDI 영향 지표 약물의 혈중 농도-시간 곡선(AUCR, Area Under the plasma concentration-time Curve Ratio) 면적의 예측 비율이 mechanistic static model 또는 mechanistic dynamic model(예: PBPK 모델)을 기반으로 ≥ 1.25 인 경우 (부록, 섹션 VII.C.1 참조), 고감도 DDI 영향 지표 약물을 사용하여 임상 DDI 평가를 수행한다.
- 효소 억제로 인한 DDI를 예측하기 위해 mechanistic static model 또는

mechanistic dynamic model을 사용하는 경우 (부록, 섹션 VII.C.1 참조), 모델에는 개발 대상 의약품의 대사효소 억제 가능성을 평가하기 위해 억제 기전만 포함하는 것을 권한다 (즉, 유도제인 동시에 억제제로 추정되는 개발 대상 의약품인 경우 모델에는 유도 예측은 포함시키지 않는 것이 좋다).

3. 개발 대상 의약품이 대사효소의 유도제인지 평가하는 연구

(1) In vitro 평가의 수행

- 개발 대상 의약품의 CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 및 CYP3A4의 유도 가능성을 평가한다. 시작 단계에서는 CYP1A2, CYP2B6 및 CYP3A4에 대한 유도만 평가하는 실험을 수행할 수 있다.
- CYP3A4 및 CYP2C 효소가 모두 pregnane X 수용체(PXR)의 활성화를 통해 유도 되기 때문에, CYP3A4 효소의 유도가 관찰되지 않으면 CYP2C 효소의 유도 가능성을 평가할 필요가 없다.
- 개발 대상 의약품이 CYP3A4를 유도하고 그 결과 임상 연구가 필요하다는 것을 시사하는 경우, 개발 대상 의약품의 CYP2C 유도 가능성도 평가한다.
- 그러나 개발 대상 의약품이나 그 대사체(Metabolite)에 의한 CYP3A 억제 가능성을 배제할 수 있다는 전제 하에, CYP3A 고감도 DDI 영향 약물(Sensitive substrate)을 이용한 in vivo 평가 결과가 음성으로 나왔다면 개발 대상 의약품의 CYP2C 효소 유도 가능성을 배제할 수 있다.

(2) 데이터의 분석과 해석

- 대사효소 유도에 대한 결과는 각각의 공여약물(Donor)에 대해 개별적으로 평가한다. 적어도 하나의 공여약물의 결과가 미리 정의된 한계 값을 초과하는 경우, 약물이 유도 가능성이 있는 것으로 간주하고 후속 평가를 수행한다.
- 몇 가지 기본적인 방법을 통해 개발 대상 의약품의 대사효소 유도 가능성을 평가할 수 있다 (Fahmi, Kish, et al. 2010; Fahmi and Ripp 2010; Einolf, Chen, et al. 2014; Kenny, Ramsden, et al. 2018). 세 가지 방법이 아래에 자세히 설명되어 있다.

① 배수-변화 방법(Fold-change method)

- 개발 대상 의약품과 함께 간세포를 배양했을 때 CYP 효소의 mRNA 레벨이 컷오프

기준(시스템 보정용 양성 및 음성 표준 대조군(Positive and negative controls)으로부터 얻어진)의 몇 배로 변화하는지를 측정 할 수 있다. 예를 들어, 약물은 다음과 같은 경우 유도제로 해석된다.

- 농도 의존적으로 CYP 효소의 mRNA 발현을 증가시킨 경우.
- 간세포 배양에 약물 투여함에 따라 예상되는 간세포 내 약물 농도(Hepatic concentration)에서의 CYP mRNA 발현 정도가 약물을 투여하지 않은 배양액 대조군과 비교하여 2 배 이상 증가한 경우. 예상되는 간 내 약물 농도는 $I_{\max,u}$ 의 몇 배수(예: 치료 용량(Therapeutic dose) 투여 시 항정 상태에서의 평균 최대 유리약물 혈장 농도의 30 배)로 설정하여 계산할 수 있다. 단백질 결합 측정의 불확실성을 고려할 때, 실험 측정 결과 1% 미만으로 나오는 경우는 혈장 내 유리약물 분획을 1%(Fraction unbound in the plasma ($f_{u,p}$) =0.01)로 설정한다.
- 그러나 배양액 대조군(Vehicle control)에 비하여 개발 대상 의약품 투여 시 CYP 효소의 mRNA 증가가 2 배 미만이라 하더라도, 양성 표준 대조군의 반응의 20 % 이상이라면 유도제로서의 가능성을 배제해서는 안된다. 연구 결과가 확정적이지 않은 경우 추가 연구가 필요할 수 있다.
- 양성 표준 대조군에 대한 반응의 백분율을 계산하려면 다음 방정식을 사용한다.
 - 양성 표준 대조군의 % = (시험 약물 처리 된 세포의 mRNA 증가 배수 - 1) × 100 / (양성 표준 대조군의 mRNA 증가 배수 - 1)

② 상관 방법(Correlation method)

- 그림 3에 설명된 상관 방법을 사용하여, 이미 알려진 효소별 유도제에 대한 상대 유도 점수(Relative induction scores, RIS) 또는 $I_{\max,u} / EC_{50}$ 의 곡선 보정에 따라 약물의 유도 효과(예: 유도제의 존재 여부에 따른 DDI 영향 지표약물(Index substrate)의 AUC 비율)의 크기를 예측할 수 있다. 예측된 크기가 미리 정의된 컷오프(예: AUC 비율 ≤ 0.8)보다 큰 경우 약물은 in vivo 유도 가능성이 있는 것으로 간주된다.
- 한 배치(Batch)의 간세포(Hepatocyte)에 대해 한 번만 보정(Calibration)을 수행하면 되고, 매 실험마다 할 필요는 없다. 때로는 불완전한 in vitro 유도 프로파일로 인해 $E_{\max}$ 또는 EC_{50} 을 추정할 수 없다(예: 시험 약물의 용해도(Solubility) 또는 세포 독성(Cytotoxicity)에 의해 제한됨). 방법만 검증된다면 대체 상관 방식을 사용할 수 있다.

Correlation Method 1:

계산 : Relative induction score(RIS) using $(E_{\max} \times I_{\max,u}) / (EC_{50} + I_{\max,u})$

Correlation Method 2:

계산: $I_{\max,u} / EC_{50}$ values

$E_{\max}$ 는 in vitro 실험에서 약물이 낼 수 있는 최대 유도 효과이다.

EC_{50} 는 in vitro 실험에서 결정된 최대 효과의 절반이 나타나는 농도이다.

$I_{\max,u}$ 는 항정 상태에서 DDI 유발 약물의 최대 유리약물 혈장 농도이다.*

* 단백질 결합 측정의 불확실성을 고려할 때, 실험 측정 결과 1% 미만으로 나오는 경우는 혈장 내 유리 약물 분획을 1%(fraction unbound in the plasma ($f_{u,p}$) =0.01)로 설정한다.

(그림 3) Two Correlation Methods to Assess the Potential of an Investigational Drug to Induce Metabolizing Enzymes(Fahmi and Ripp, 2010)

③ 기본 kinetic 모델(Basic kinetic model)

- 이 방법을 사용하려면 그림 4에 설명된 바와 같이, R 값(R_3)을 계산하고, 일련의 유도 약물 및 비유도 약물로부터 결정된 미리 정의된 컷오프와 비교한다. 예를 들어, R_3 값이 0.8 이하인 경우 개발 대상 의약품이 생체 내에서 유도 가능성이 있다고 말할 수 있다.

$$R_3 = 1 / [1 + d \times ((E_{\max} \times 10 \times I_{\max,u}) / (EC_{50} + 10 \times I_{\max,u}))]$$

R_3 는 유도제를 투여하지 않은 상황과 투여한 상황에서 대사효소에 대한 탐색 기질의 내 인청소율(intrinsic clearance) 간의 예상 비율이다.

d 는 스케일링 계수이며 1로 가정한다. 사용된 시스템에 대한 사전 경험이 존재하는 경우 다른 값을 사용할 수 있다(Vermet, Raoust, et al. 2016).

$E_{\max}$ 는 in vitro 실험에서 약물이 낼 수 있는 최대 유도 효과이다.

$I_{\max,u}$ 는 항정 상태에서 DDI 유발약물의 최대 유리약물 혈장 농도이다.*

EC_{50} 은 in vitro 실험에서 결정된 최대 효과의 절반이 나타나는 농도이다.

* 단백질 결합 측정의 불확실성을 고려할 때, 실험 측정 결과 1% 미만으로 나오는 경우는 혈장 내 유리 약물 분획을 1%(fraction unbound in the plasma ($f_{u,p}$) =0.01)로 설정한다.

(그림 4) An Equation to Calculate the R value for Basic Models of Induction (Kenny, Ramsden, et al. 2018)

- 이러한 방법들을 통해 개발 대상 의약품이 대사효소를 유도할 가능성이 있음을 나타내는 경우(위에서 언급된 특정 컷오프 값을 사용했거나 개별 실험실에서 개발한 컷오프 값 사용), 기전 모델을 사용하거나 (부록, 섹션 VII.C.1 참조), 고감도 DDI 영향 지표 약물을 사용하여 DDI 임상 연구를 수행하여 개발 대상 의약품의 효소 유도 가능성을 추가로 연구한다.
- 개발 대상 의약품 투여 여부 간에 고감도 DDI 영향 지표 약물의 예상 AUCR이 mechanistic static model 또는 mechanistic dynamic model(예: PBPK 모델, 부록, 섹션 VII.C.1 참조)을 기준으로 0.8 이하인 경우, 고감도 DDI 영향 지표 약물을 사용하여 임상 DDI 평가를 수행하여 DDI 가능성을 추가로 연구한다.
- 효소 유도로 인한 DDI를 예측하기 위해 mechanistic static model 또는 mechanistic dynamic model을 사용하는 경우 (부록, 섹션 VII.C.1 참조), 모델에는 개발 대상 의약품의 대사효소 유도 가능성을 평가하기 위해 유도 기전만 포함하는 것을 권한다 (즉, 유도제인 동시에 억제제로 추정되는 개발 대상 의약품인 경우 모델에는 억제 예측은 포함시키지 않는 것이 좋다).

(3) 추가적인 고려사항

- 기전 모델(mechanistic models)을 사용하여 계산된 AUCR 컷오프 값이 유도의 경우 > 0.8 및 억제의 경우 < 1.25 일 때, 개발 대상 의약품이 대사효소의 레벨에 영향을 미치지 않음을 보여주는 기본값이라 할 수 있다.
- 개발 대상 의약품이 여러 CYP 효소를 억제하는 지 여부를 평가할 때, 각 경로의 고감도 DDI 영향 지표 약물을 사용하여 다양한 CYP 효소에 대하여 in vivo에서의 DDI 평가 우선 순위를 정할 수 있다 (2020년 1월 산업계를 위해 발표한 가이던스 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체에 의한 약물상호작용’ 참조). 평가시 우선 순위의 순서는 R1, R2 또는 예측된 AUCR 값을 기반으로 하며, 되도록 동일한 연구에서 구한 in vitro 억제 파라미터(Parameters)를 사용한다.⁴⁾
- 즉, R 또는 AUCR 값이 가장 큰 CYP의 고감도 DDI 영향 지표 약물로 in vivo 평가를 먼저 수행할 수 있다. In vivo 평가에서 상호작용이 없는 경우, 더 낮은 값(예: 더 작은 R 또는 AUCR 값)을 가진 다른 CYP의 in vivo 평가는 필요하지 않다. 그러나 이 in vivo 평가에서 개발 대상 의약품과 CYP 효소의 고감도 DDI 영향 지표 약물 사이에 상호작용을 보이는 경우, 그 다음으로 큰 R 또는 AUCR 값을 가진 CYP부터 시작하여 다른 CYP 효소들에 대한 연구를 추가적으로 수행한다. 그 대신에, 추가 연구의 필요성을 알아내기 위해서 mechanistic dynamic model을 사용할 수도 있다.

4) 경구 투여 된 약물은 간 효소 외에도 장 대사효소(예 : CYP3A)를 억제 할 수 있다. 따라서 CYP3A에 대한 R1이 CYP 중 가장 큰 값이 아니더라도 R_{1,gut}가 11 이상이면 CYP3A 억제를 위한 in vivo DDI를 고려한다.

처음부터 in vivo 평가에서 고감도 DDI 영향 지표 약물을 사용하여 관찰된 결과를 충분히 입증할 수 있도록 dynamic model의 확인 및 업데이트 한다. 개발 대상 의약품의 대사체 중 억제 효과를 나타내는 대사체가 있는 경우, 어떤 in vivo 연구들을 수행해야 하는지를 결정할 때 그 대사체가 억제 효과 면에서 어느 정도 기여하는지와 대사체의 R값 순위를 고려하도록 권한다.

- 동시에 대사효소 억제제이자 유도제인 것으로 추측되는 개발 대상 의약품의 순수 효과 (Net effect)를 예측하려는 경우에는 mechanistic static model 또는 mechanistic dynamic model (부록, 섹션 VII.C.1 참조)을 이용하여 억제 및 유도 효과를 동시에 예측하는 방안을 고려할 수 있다. 그러나 동시 예측에 대한 우려도 있는데, 억제 효과가 과도하게 예측될 경우 유도 효과를 마스킹할 수 있기 때문에 전체 효과에 대한 위음성 예측으로 이어질 수 있다 (Einolf, Chen, et al. 2014). 반대로 유도 효과가 과도하게 예측되면, 억제 효과를 마스킹할 수 있다.
- In vitro 유도 연구는 효소 발현의 하향조절(Down-regulation) 현상을 감지할 수도 있다. 그러나 이 분야에 대한 연구는 현재 매우 제한적이며, 이 효과에 대한 기전은 불분명하다. 농도 의존적 하향조절 현상이 in vitro 실험에서 관찰되고 세포 독성에 기인하지 않는 경우, 향후 어떠한 잠재적인 임상 결과를 초래하게 될지 이해하기 위해 추가 in vitro 또는 in vivo 평가가 필요할 수 있다 (Hariparsad, Ramsden, et al. 2017).

IV장. 수송체 매개 약물상호작용의 평가

- 세포막 수송체는 약물의 흡수, 분포 및 소실을 제어함으로써 다양한 장기 및 조직에서 약물의 약동학(Pharmacokinetics) 및 약력학(Pharmacodynamics) 측면에서 임상적으로 유의미한 영향을 줄 수 있다 (Giacomini, Huang, et al. 2010; Giacomini 및 Huang 2013). 간과 소장에서 주로 발현되는 약물 대사효소와 달리, 수송체는 전신의 광범위한 조직에서 발현되며, 내인성 및 외인성 물질이 신체의 다양한 부위에 접근하는 것을 통제한다.
- 대사효소와 함께 수송체는 약물의 약동학과 약리 작용을 통제할 수 있다. 반대로, 약물은 수송체 발현 또는 활성을 조절하여 내인성(예: 크레아티닌, 포도당) 또는 외인성 물질의 약동학적 변화를 초래할 수 있다.
- 임상에서 사용되는 약물과 상호작용하는 수송체는 다음과 같다 (Giacomini, Huang, et al. 2010; Giacomini and Huang 2013).
 - P-glycoprotein (P-gp) or Multi-drug Resistance 1 (MDR1) protein)
 - Breast cancer resistance protein (BCRP)
 - Organic anion transporting polypeptide 1B1/1B3 (OATP1B1/OATP1B3)
 - Organic anion transporter 1/3 (OAT1/OAT3)
 - Multidrug and toxin extrusion(MATE) proteins (MATE1/MATE2-K)
 - Organic cation transporter 2 (OCT2)
- 약물이 이러한 주요 수송체의 기질인지 억제제인지 알게 된다면 일부 임상적인 결과를 설명할 수도 있다. 예를 들어 약물이 어떤 수송체의 기질이라면 이를 통한 약물의 조직 분포 변화에서 기인한 약물의 독성 증가 또는 효능 변화를 이해할 수 있다. 이 섹션에서는 약물상호작용에 관여한다는 임상적 증거가 있는 수송체들에 초점을 맞춘다 (Giacomini, Huang 등 2010; Brouwer, Keppler 등 2013; Giacomini 및 Huang 2013; Tweedie, Polli, et al. 2013; Zamek-Gliszczynski, Lee, et al. 2013). 아래에 설명하고 있는 대로 기질 또는 수송체의 억제제로 작용하는 개발 대상 의약품의 상호작용을 평가한다.
- 각 수송체의 in vitro 평가 시기는 개발 대상 의약품의 치료 적응증에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 타겟 집단이 스타틴을 사용할 가능성이 높은 경우엔, 환자를 대상으로 한 임상 연구를 시작하기 전에 개발 대상 의약품과 OATP1B1 / 1B3와의 상호작용 가능성에 대해 연구한다. In vitro 실험에서 해당 수송체와 개발 대상 의약품 사이의 상호작용 가능성이 낮은 것으로 나타나면, 임상시험 대상자에 스타틴을 복용

하는 환자들을 포함시키는 것이 실제 타겟 집단(Intended patient population)을 더 잘 대표하는 것이다.

1. 개발 대상 의약품이 수송체 P-gp 및 BCRP의 기질인지 평가하는 연구

- P-gp와 BCRP는 위장관, 간, 신장, 뇌 등 다양한 조직에서 발현된다. 따라서, 두 수송체 모두 경구 생체 이용률, 약물의 조직 분포, 수송체 기질 약물의 간과 신장에서의 소실에 영향을 줄 가능성이 있다.

(1) In vitro 평가의 수행

- 개발 대상 의약품이 P-gp 및 BCRP의 기질인지 여부를 평가하기 위해 부록, 섹션 VII.B에 설명된 실험 시스템을 사용하여 in vitro에서 평가한다. P-gp 및 BCRP는 일반적으로 투과성(Permeability), 용해도(Solubility)가 높은 약물의 경구 생체 이용률에 영향을 미치지 않을 것으로 예상된다. P-gp 또는 BCRP의 기질이면서 투과율, 용해도가 높은 약물의 in vitro 평가는 조직(예: 신장 및 뇌)으로 분포되는 약물에 대한 안전성 문제가 없는 한 권장되지 않는다. 개발 대상 의약품이 투과율과 용해도가 높은 약으로 분류되는지 확인하려면 2017년 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드라인 'Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System'을 참조한다(예: 의약품 분류 시스템 class 1 약물).

(2) 데이터의 분석과 해석

- 다음과 같은 in vitro 평가 결과가 제시되면, 개발 대상 의약품이 P-gp 기질임을 시사한다.
 - P-gp를 발현하는 세포에서 개발 대상 의약품에 대해 net flux ratio (또는 efflux ratio (ER)) ≥ 2 인 경우(예: Caco-2 세포 또는 P-gp를 과발현하는 형질주입 세포 (Transfected cells)).⁵⁾
 - K_i 또는 IC_{50} 의 10 배 이상의 농도에서, 적어도 하나 이상의 알려진 P-gp 억제제에 의해 Flux가 억제되는 경우(예: 억제제가 투여 시의 ER이 억제제가 없을 때의 ER의 $< 50\%$ 로 감소하거나 flux가 1로 감소됨).
- 여러개의 유출 수송체(Efflux transporters)를 발현하는 Caco-2 세포를 사용하는 경우, 유출의 특이성을 평가하기 위해 하나 이상의 P-gp 억제제를 사용해야 한다.

5) ER은 the basal to apical (B-A) transport rate 대 the apical to basal (A-B) transport rate의 비율로 계산할 수 있다. net flux ratio는 관심있는 수송체를 발현하는 세포와 수송체를 발현하지 않는 세포 사이의 ER의 비율로 계산할 수 있다.

세포배양 시스템을 이용한 사전 연구에서 이러한 대체 방법 사용의 정당성이 인정된다면, net flux ratio 컷오프 값을 2가 아닌 다른 수치로 설정하거나 양성 표준 대조군에 대한 특정 상대 비율을 사용할 수 있다.

- In vitro 평가에서 약물이 P-gp 기질인 것으로 나타나면, 약물의 안전성 용량 한계 (Safety margin), 치료지수(Therapeutic index) 및 대상 환자군에서 병용투여 (Concomitant medications)될 가능성이 큰 P-gp 억제제 등을 근거로 in vivo 평가를 수행할지 고려한다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드선 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용’ 참조).
- 또한 기존에 알려진 BCRP 억제제를 사용하여 약물이 BCRP 기질인지 여부를 결정하기 위해 위의 절차를 사용할 수 있다. In vitro 평가에서 약물이 BCRP의 기질인 것으로 나타나면, 약물의 안전성 용량 한계, 치료지수 및 대상 환자군에서 병용투여될 가능성이 크며 동시에 BCRP 억제제인 약물 등에 근거하여 in vivo 평가를 수행할지 고려한다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드선 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용’ 참조).

2. 개발 대상 의약품이 간 수송체 OATP1B1 및 OATP1B3의 기질인지 평가하는 연구

- OATP1B1 및 OATP1B3은 간세포의 유동세포막(Sinusoidal membrane)에서 발현되는 주요 흡수 수송체로서, 다양한 약물이 간으로 흡수되는 데에 중요한 역할을 한다.

(1) In vitro 평가의 수행

- In vitro 실험 혹은 사람/동물에서의 흡수, 분포, 대사, 배설(ADME : Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) 데이터에 따르면 개발 대상 의약품의 간 흡수 또는 소실이 유의한 것으로 나타난 경우 (즉, 전체 약물 소실에서 간 대사 또는 담즙 분비를 통한 약물의 청소율이 전체 청소율의 25% 이상) 또는 약물의 간으로의 흡수가 임상적으로 중요한 경우(예: 생체 변환 또는 약리학적 효과를 발휘하기 위해), 개발 대상 의약품이 간 수송체 OATP1B1 및 OATP1B3의 기질인지 in vitro에서 평가하기를 권한다 (부록, 섹션 VII.B 참조).
- 고려해야 할 다른 요인으로서는 약물의 생리학적 특성이 있다. 예를 들어 약물이 수동적 세포막 투과성이 낮은 점, 다른 조직에 비해 간에서 높은 농도로 관찰되는 점, 생리적 pH에서 유기 음이온인 경우가 해당되는데, 이는 약물이 간으로 능동적으로 흡수되는데 중요한 특성들이다.

(2) 데이터의 분석과 해석

- In vitro 평가 결과가 다음과 같으면 개발 대상 의약품을 OATP1B1 혹은 OATP1B3 의 기질로 간주할 수 있다.
 - OATP1B1- 또는 OATP1B3- 형질 주입된 세포(Transfected cell)에서 약물의 섭취가 empty vector 형질 주입된 세포에 비해 2배 이상인 경우.
 - 알려진 억제제가(예: 리팜핀) K_i 또는 IC_{50} 의 최소 10배 농도에서 약물 간 흡수를 50% 이하로 감소시킬 수 있는 경우.
 - 사전에 이와 같은 세포 배양 시스템에서의 연구 경험이 있는 경우, 대체 컷오프 비율 사용을 정당화 할 수 있다.
- In vitro 평가에서 약물이 OATP1B1 또는 OATP1B3 기질인 것으로 나타나면, 약물의 안전성 용량 한계, 치료지수 및 대상 환자군에서 병용투여될 가능성이 큰 OATP1B1나 OATP1B3 억제제 등을 근거로 in vivo 평가를 수행할지 고려한다 (2019년 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드라인 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용’ 참조).

3. 개발 대상 의약품이 신장 수송체 OAT, OCT 및 MATE의 기질인지 평가하는 연구

- OAT1, OAT3 및 OCT2는 신장 근위 세뇨관의 기저측세포막(Basolateral membrane)에 발현되는 신장 수송체다. MATE1과 MATE2-K는 세뇨관 술가장자리막(Brush border membrane)에서 발현된다. 이 수송체들은 개발 대상 의약품의 신장 능동 분비에 관여한다.

(1) In vitro 평가의 수행

- 개발 대상 의약품의 ADME 데이터에서 신장의 능동 분비(Active renal secretion)가 중요하다고 보이는 경우(즉, 신장에 의한 모 약물(Parent drug)의 능동 분비가 전신 청소율의 25% 이상인 경우), 개발 대상 의약품이 OAT1/3, OCT2, MATE1 및 MATE2-K의 기질인지 in vitro에서 평가하는 것을 권한다 (부록, 섹션 VII.B 참조). 능동 분비를 계산하는 공식은 그림 5를 참조한다.

$$\text{Active renal secretion} = \text{CL}_r - (f_{u,p} \times \text{GFR})$$

CL_r 는 신장에 의한 청소율이다.

$f_{u,p}$ 는 혈장 내 유리약물 비율이다.

GFR 는 사구체 여과율이다.

* 이 방정식은 재흡수가 없다고 가정할 때 유효하다 (예 : 능동 재흡수 및 수동 재흡수가 없는 것은 수동 분비를 의미). GFR이 측정되지 않으면 정상 신장 기능을 가진 시험대상자의 경우 GFR은 125 mL/min 으로 설정한다.

(그림 5) An Equation to Calculate Active Secretion*

(2) 데이터의 분석과 해석

- 개발 대상 의약품이 in vitro 평가에서 다음과 같은 결과가 나오면 신장 수송체의 기질로 볼 수 있다.
 - 수송체를 발현하는 세포에서 개발 대상 의약품의 섭취 비율이 대조군 세포(또는 empty vector를 포함하는 세포)에 비하여 2배 이상인 경우.
 - 알려진 수송체 억제제가 K_i 또는 IC_{50} 의 10배 이상의 농도에서 개발 대상 의약품의 섭취를 50% 이하로 감소시키는 경우.

사전에 이와 같은 세포배양 시스템에서의 연구 경험이 있는 경우, 대체 컷오프 비율 사용을 정당화 할 수 있다.

- In vitro 평가에서 개발 대상 의약품이 위의 신장 수송체 중 하나 이상의 기질임을 나타내는 경우, 약물의 안전성 용량 한계, 치료지수 및 대상 환자군에서 병용투여될 가능성이 큰 신장 수송체의 억제제 등을 근거로 in vivo 평가를 수행할지 고려한다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드스 ‘임상 약물상호작용 평가 -Cytochrome P450 효소 및 수송체에 의한 약물상호작용’ 참조).

4. 개발 대상 의약품이 수송체의 억제제인지 평가하는 연구

(1) In vitro 평가의 수행

- 개발 대상 의약품이 P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OCT2, MATEs(MATE1, MATE2-K), OAT1 및 OAT3 의 억제제인지 평가하기 위해 in vitro 평가를 수행한다 (in vitro 시스템에 따라 고려해야 할 사항들은 부록, 섹션 VII.B 참고).

(2) 데이터의 분석과 해석

① P-gp 및 BCRP :

- Caco-2 세포나 P-gp 또는 BCRP 과발현 세포에서 개발 대상 의약품이 P-gp 또는 BCRP 기질에 대해 기존에 알려진 efflux ratio와 net flux ratio를 억제하는지, 세포막 소포가 사용될 때 기질의 섭취를 억제하는지, 그리고 약물의 P-gp 또는 BCRP를 억제하는 효력 (즉, IC_{50} 또는 K_i)을 밝히는 연구를 수행하는 것을 권한다.
- 개발 대상 의약품을 경구 투여 했을 때, I_{gut} / IC_{50} 또는 $K_i \geq 10$ (여기서 I_{gut} = 억제제 용량 / 250 mL)이면 in vivo에서 P-gp 또는 BCRP를 억제할 가능성이 있다.
- 약물의 대사체가 억제제이거나 개발 대상 의약품이 비경구 경로로 투여되는 경우, I_1 / IC_{50} 또는 $K_i \geq 0.1$ 인 경우 P-gp 또는 BCRP의 in vivo 억제가 발생할 수 있다. 여기서 I_1 은 대사체나 억제제 약물의 C_{max} 에 해당한다. 이러한 컷오프 값은 제한된 데이터 세트를 기반으로 한다 (Zhang, Zhang, et al. 2008; Tachibana, Kato, et al. 2009; Agarwal, Arya, et al. 2013; Ellens, Deng, et al. 2013). 알려진 억제제 및 비억제제를 사용하여 내부 in vitro 시스템을 보정하고, 적절한 근거가 있는 다른 컷오프 값을 제안할 수 있다.
- In vitro 평가에서 약물이 P-gp 또는 BCRP 억제제임을 나타내는 경우, P-gp 또는 BCRP 기질로 알려져 있으며 병용 가능성이 높은 약물을 기반으로 타겟 환자 집단에서 in vivo 임상 평가를 수행할지 고려한다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드라인 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용’ 참조).

② OATP1B1 및 OATP1B3

- OATP1B1 또는 OATP1B3를 과발현하는 세포에서, 개발 대상 의약품이 기존에 알려진 OATP1B1 또는 OATP1B3 의 기질 섭취를 억제하는 효력 (즉, IC_{50} 또는 K_i)을 밝히기 위한 연구를 수행한다. 몇 가지 OATP1B1/3 억제제에 대해서 시간 의존적 억제가 입증된 바 있다 (Amundsen, Christensen, et al. 2010; Gertz, Cartwright, et al. 2013; Izumi, Nozaki, et al. 2015; Pahwa, Alam, et al. 2017). 개발 대상 의약품에 대한 IC_{50} 값을 결정할 때 분석방법 검증의 일부로 배양 전 (Pre-incubation) 단계를 추가하는 것을 고려할 수 있다. 개발 대상 의약품은 R 값이 ≥ 1.1 인 경우 (아래 그림 6 참고) in vivo에서 OATP1B1/3 을 억제할 가능성이 있다.

$$R=1+ ((f_{u,p} \times I_{in,max})/IC_{50}) \geq 1.1$$

$f_{u,p}$ 는 혈장 내 유리약물 비율이다.

IC_{50} 는 최대 억제 효과의 절반이 나타나는 약물농도이다.

$I_{in,max}$ 는 간으로의 유입부에서 추정된 혈장 내 억제제 농도이다. 이는 다음과 같이 계산될 수 있다.

$$I_{in,max} = I_{max} + (F_a \times F_g \times k_a \times Dose)/Q_h/R_B$$

F_a 는 흡수분획이다.

F_g 는 장 내 이용율이다.

k_a 는 흡수 속도 상수이다.

Q_h 는 간 혈류량(속도) 이다.

R_B 는 혈액 대 혈장 약물농도 비율이다.

* 위의 값들을 알 수 없는 경우, $F_a = 1$, $F_g = 1$ 그리고 $k_a = 0.1/\text{min}$ 을 최악의 경우도 고려한 추정 값으로 이용할 수 있다.

단백질 결합 측정의 불확실성을 고려할 때, 실험적으로 1% 미만으로 측정된 경우 혈장의 유리약물 분획은 1% (혈장 내 unbound fraction ($f_{u,p}$) = 0.01)로 설정한다

(그림 6) Equation to Calculate the R Value of the Investigational Drug to Determine the Potential to Inhibit OATP1B1/3*

- 그림 6에 설명된 컷오프 값은 제한적으로 공개된 데이터를 기반으로 한다 (Yoshida, Maeda, et al. 2012; Tweedie, Polli, et al. 2013; Vaidyanathan, Yoshida, et al. 2016). 이러한 수송체 시스템에서 기존에 알려진 억제제 및 비 억제제를 사용하여 내부 in vitro 시스템을 보정하고 적절한 근거가 있는 특정 컷오프 값을 제안할 수 있다.
- In vitro 평가에서 개발 대상 의약품이 OATP1B1 또는 OATP1B3 의 억제제임을 나타내는 경우, 타겟 환자 집단에서 사용될 가능성이 있는 병용 약물이 OATP1B1 또는 OATP1B3의 알려진 기질인지 여부에 따라 in vivo 평가를 수행할지 고려한다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드스 ‘임상 약물상호작용 평가 -Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용’ 참조).

③ OAT, OCT 및 MATE

- 신장 수송체(예: OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 및 MATE2)를 과발현하는 세포에서, 개발 대상 의약품이 이미 알려진 이 신장 수송체 기질의 섭취를 억제하는 효력 (즉,

IC₅₀ 또는 K_i)을 밝히기 위한 연구를 수행한다. 개발 대상 의약품이 in vivo에서 I_{max,u} / IC₅₀ 값이 ≥ 0.1 인 경우⁶⁾ 신장 수송체를 억제할 가능성이 있다. 이러한 컷오프 값은 제한적으로 제시된 데이터를 기반으로 한다 (Dong, Yang, et al. 2016a; Dong, Yang, et al. 2016b). 이러한 수송체 시스템에서 기존에 알려진 억제제 및 비억제제를 사용하여 고유한 in vitro 시스템을 보정하고 적절한 근거가 있는 다른 컷오프 값을 제안할 수 있다.

- 크레아티닌(Creatinine)은 또한 OCT2, MATE 및 OAT2의 기질이다 (Lepist, Zhang, et al. 2014). 임상 연구에서 관찰되는 혈청 크레아티닌의 상승은 개발 대상 의약품에 의한 OCT2, MATE 및 OAT2의 억제 때문일 수 있다 (Chu, Bleasby, et al. 2016; Mathialagan, Rodrigues, et al. 2017; Arya, Yang, et al. 2014). 개발 대상 의약품으로 인한 혈청 크레아티닌 증가 기전을 확인하려면 임상에서의 기전 연구 등의 추가적 근거가 필요하다.
- In vitro 평가에서 개발 대상 의약품이 신장 수송체의 억제제임을 나타내는 경우, 타겟 환자 집단에서 사용될 가능성이 있는 병용 약물이 신장 수송체의 알려진 기질인지 여부에 따라 in vivo 평가를 수행할지 고려한다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드스 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용’ 참조).

5. 개발 대상 의약품이 수송체의 유도제인지 평가하는 연구

- P-gp와 같은 특정 수송체는 CYP 효소와 유사한 메커니즘을 통해 유도된다(예: 특정 핵 수용체의 활성화). 이러한 유사성 때문에, CYP3A 유도 연구는 P-gp 유도 연구에 정보를 제공할 수 있다 (2020년 1월 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드스 ‘임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용’ 참조).
- 현재 P-gp 및 기타 수송체의 유도를 평가하기 위한 in vitro 방법이 잘 확립되어 있지 않으므로, 수송체 유도제로서의 개발 대상 의약품에 대한 in vitro 평가에 대한 권장 사항이 제공되지 않았다.

6) Considering uncertainties in the protein binding measurements, the unbound fraction should be set to 1% if experimentally determined to be less than 1%.

V장. 대사체의 약물상호작용 가능성에 대한 평가

- 개발 대상 의약품 대사체의 안전성 한계와 병용가능성이 높은 약물, 치료 적응증을 고려하는 위험 기반 평가법을 사용하여, 개발 대상 의약품의 대사체가 DDI로 안전성과 유효성에 영향을 주는지 평가한다.
- 유의한 혈장 노출 또는 약리학적 활성을 가진 대사체는 기질로서 혹은 효소의 DDI 유발 약물로서 DDI 가능성에 대한 평가가 필요할 수 있다 (아래 섹션 참조). In vitro 평가에는 일반적으로 합성 또는 정제된 표준 대사체를 사용한다.
- 대사체의 DDI 가능성을 적절하게 평가할 수 있다고 정당화할 수 있는 경우 대체 방법을 사용할 수 있다 (Callegari, Kalgutkar, et al. 2013; Yu and Tweedie 2013; Yu, Balani, et al. 2015). 기본적인 연구 모델에서 대사체가 in vivo DDI의 주요 원인임을 제시하고 있으며, mechanistic static model 또는 mechanistic dynamic model(예: PBPK)을 약물의 DDI 평가에 사용한다면, 이러한 연구 모델들에 대사체를 포함한다.
- 공개된 데이터에 따르면, 일부 Phase II 대사체는 모약물보다 더 강한 기질(모약물보다 극성이 더 높음)이거나 다양한 수송체의 억제제가 되어 모약물보다 DDI 발생 가능성이 더 높을 수 있다 (Zamek-Gliszczynski et al, 2014). 따라서, 주요 약물 수송체의 기질 또는 DDI 유발 약물로서 대사체가 DDI 가능성이 있는지를 사례별로 평가한다. 대사체가 DDI 가능성이 있을 것으로 보이는 경우, 앞에서 언급한대로 모약물 DDI 연구의 동일한 원칙과 전략을 적용한다.

1. 기질로서의 대사체

(1) In vitro 평가의 수행

- 대사체 노출 수준의 변화가 in vivo 유효성 또는 안전성에 임상적으로 의미있는 변화로 나타나는 경우, 대사체의 형성 혹은 소실 과정의 변화를 통한 임상적으로 유의미한 DDI의 위험도에 대해 연구한다. 대사체가 전체 약리 활성의 $\geq 50\%$ 에 해당하는 경우 대사체가 기질로 작용하여 DDI의 위험이 있는지 평가한다. 유효성에 대한 대사체의 기여도를 평가할 때, 모약물 대비 대사체의 in vitro에서의 수용체 작용 효력 및 in vivo에서의 비결합 약물의 전신 노출(몰 단위로 표현됨) 모두를 고려한다.
- 모약물과 대사체의 혈장단백결합이 높은 경우, 연구 간 변이(Inter-study variability)를 줄이기 위해 동일한 연구에서 단백결합을 측정하는 것이 바람직하다. 가능한 경우, in vivo 효력에 대한 대사체의 기여도를 평가할 때 모약물 및 대사체의 타겟 조직 분포와 관련된 데이터를 고려해야 할 수 있다.

(2) 데이터의 분석과 해석

- 모약물과 동일한 전략의 in vitro 평가를 기반으로 대사 산물의 in vivo DDI 평가를 고려한다 (섹션 III.A 참조).

2. 억제제로서의 대사체

(1) In vitro 평가의 수행

- In vitro 평가에서 모약물이 주요 CYP 효소 및 수송체를 억제하는 것으로 나타나 in vivo DDI 평가를 해야 한다면, in vivo 평가시 모약물과 함께 대사체에 대한 억제력을 평가하면 되기 때문에 효소 또는 수송체 억제제로서 대사체에 대한 in vitro 평가를 별도로 시행할 필요는 없다. 단, 연구 기간 내에 대사체가 충분히 축적 되는데 한계가 있는 경우처럼 in vivo DDI 평가에서 임상적으로 의미 있는 대사체 노출에 이를 수 없다면 예외이다.
- 그러나 in vitro 평가에서 모약물만으로 주요 CYP 효소 또는 수송체를 억제하지 않는 것으로 나타나면, 대사체에 의한 in vivo DDI가 여전히 가능할 수도 있다. 이런 상황에서는, 모약물에 대한 대사체의 전신 노출(몰 단위) 및 극성(예: 측정 또는 예측된 LogP, 역상 고성능 액체 크로마토그래피(Reverse phase-high performance liquid chromatography) 크로마토그램의 용출 순서)을 고려하여 CYP 효소에 대한 대사체의 in vitro 억제력을 평가한다. 다음과 같은 경우에 in vitro CYP 효소 억제 연구를 수행한다.
 - 대사체가 모약물보다 극성이 더 낮으며, $AUC_{\text{metabolite}} \geq 25\% \text{ of } AUC_{\text{parent}}$ 인 경우 또는
 - 대사체가 모약물보다 극성이 더 높고, $AUC_{\text{metabolite}} \geq AUC_{\text{parent}}$ 인 경우잠재적인 기전적 억제 가능성이 구조적으로 있는 대사체의 경우엔 대사체-모약물의 AUC 비율에 대한 더 낮은 컷오프 값도 고려할 수 있다 (Orr, Ripp, et al. 2012; Yu and Tweedie 2013; Yu, Balani, et al. 2015).

(2) 데이터의 분석과 해석

- 대사체의 in vitro DDI 평가 결과를 바탕으로, 모약물과 동일한 전략을 사용하여 대사체의 in vivo DDI 평가를 고려한다. 단, $R_{1,\text{gut}}$ 는 적용되지 않을 수 있다 (섹션 III.B 참조).

VI장. 의약품 사용설명서 권고사항

- 의약품 설명서는 의료인이 의약품을 안전하고 효과적으로 사용하는 데 필수적인, 그리고 가능하다면 임상 데이터를 근거로 한, 약물 상호작용 정보 요약에 포함해야 한다⁷⁾. 임상적으로 중요한데도 불구하고 임상 정보가 없는 경우, 약물과 기타 전문의약품 (Prescription drugs), 일반의약품(Over-the-counter drugs), 타분류약물,식이 보충제(Dietary supplements), 식품 또는 주스 간의 PK 상호작용 뿐 만 아니라 대사 및 수송 경로의 특징에 관한 in vitro 평가 정보(대사효소 및 수송체의 억제, 유도, 유전적 특징)를 의약품 설명서에 포함한다. 또한 in vitro 평가 결과 약물상호작용 효과가 없다면 그 결과도 포함시켜야 한다⁸⁾. 이미 임상 정보로 대체된 in vitro 평가 정보는 임상 결과를 이해하는데 필수적인 경우가 아니면 의약품 설명서에 포함시키지 않도록 한다.
- In vitro 정보는 일반적으로 임상 약리학 섹션의 12.3 약동학 하위 섹션에 배치한다. 드문 경우지만 in vitro 평가 정보가 임상적 중요한 경우 의약품 설명서의 다른 섹션에 배치해야 할 수도 있다(예: 박스형 경고, 금기, 경고 및 주의사항 및/또는 약물 상호작용 섹션).
- 의약품의 임상 DDI 뿐 아니라 대사와 수송 경로에 대한 의약품 사용설명서 권고사항은 아래의 산업계를 위한 FDA 가이드를 참고하십시오.
 - 처방제제 및 생물학적 제제의 임상 의약품 사용설명서 권고사항-고려사항, 내용 및 형식(2016년 12월)
 - 임상 약물상호작용 평가-Cytochrome P450 효소 및 수송체 매개 약물상호작용 (2020년 1월)

7) 21 CFR 201.56(a)(3).

8) 21 CFR 201.57(c)(13)(c)(i)(C).

Ⅶ장. 부 록

1. 대사 기반 약물 상호작용의 in vitro 평가

- 다음을 포함하여 다양한 in vitro 간세포 시스템을 사용하여 개발 대상 의약품의 약물상호작용 가능성을 평가할 수 있다.
 - 재구성된 마이크로솜 시스템과 간 균질 현탁액(Liver homogenate, S9)을 9,000 g에서 원심 분리한 상층액(Supernatants) 및 세포질(Cytosol) (필요에 따라 적절한 보조인자 추가)과 같은 인체 간조직 세포 내 분획(Human liver tissue fraction).
 - 개별 약물 대사체의 생산과 특정 종류의 효소 관여를 확인할 수 있는 다양한 발현 시스템의 재조합 인체 CYP 효소(Recombinant human CYP enzymes).
 - 신선하게 분리된 간세포나 효소 구조가 보존되어 있고 Phase I 및 Phase II 약물 대사효소의 완전한 집합체를 다 함유하고 있는 냉동 보존된 간세포(Cryopreserved hepatocyte)와 같은 인체 간 조직.
- 이 가이드선의 주요 초점은 CYP 효소 및 간 대사에 있지만, 개발 대상 의약품과 관련이 있으면 비 CYP 효소 대사(예: Phase II 효소) 및 간의 조직에서 발생하는 대사도 고려한다.

(1) 개발 대상 의약품이 효소 기질인지 평가하는 연구

- 반응 표현형 연구(Reaction phenotyping studies)라고 하는 약물 대사효소 식별 연구는 약물의 대사를 담당하는 특정 효소를 식별하는 일련의 in vitro 실험이다. 다른 정보(예: in vivo 약동학, 효소의 유전적 다형성 또는 DDI 데이터)와 함께, in vitro 표현형 데이터는 종종 개발 대상 의약품의 소실 경로를 정량화하는데 사용된다.

① 대사경로 확인 실험의 수행

- 대사경로 확인 실험은 약물에 의해 생성되는 대사체의 수와 구조 및 대사경로가 병렬적인지 순차적인지 확인한다. 이 실험은 온전한 인체 간 시스템(예: 인체 간세포, Human hepatocytes), 인체 간 마이크로솜(Human liver microsomes) 또는 재조합 효소 시스템(Rrecombinant enzyme system)을 사용한다. 대사 경로 확인 실험에서 얻은 데이터는 반응 표현형 연구를 수행할지 여부와 방법을 결정하는데 도움이 된다.

② 개발 대상 의약품의 대사하는 효소를 식별하는 연구

- 가급적 first-in-human 임상에 들어가기 전에 개발 대상 의약품의 대사에 관여하는 특정 대사효소를 식별하기 위한 in vitro 평가를 수행한다. 약물의 대사를 담당하는 개별 CYP 효소를 확인하기 위해 널리 사용되는 두 가지 방법이 있다.
 - 첫 번째 방법은 화학 물질, 약물 또는 항체를 특정 효소 억제제로 이용한 인체 간 마이크로솜 또는 간세포(예: 공여자 10명 이상이 풀링된)를 사용한다.
 - 두 번째 방법은 개별 인간 재조합 CYP 효소를 사용한다.
- 반응 표현형 실험을 수행할 때 다음 권장 사항을 고려한다.
 - 약물의 대사를 담당하는 특정 효소를 식별하기 위해 두 가지 방법을 모두 사용한다.
 - 개별 인간 재조합 CYP 효소를 사용할 때, 재조합 CYP 효소 시스템과 인체 간 사이의 CYP 효소의 양과 효소 활성 차이를 고려할 것을 권한다 (Venkatakrisnan, von Moltke, et al. 2000; Chen, Liu, et al. 2011).
 - 이러한 연구를 위한 in vitro 시스템은 다음과 같이 한다. (1) 견고하고 재현 가능해야 하고, (2) 각 효소의 활성을 증명하기 위해 in vitro 프로브 기질을 사용한다. 프로브 기질 목록은 약물 개발 및 약물상호작용에 관한 FDA 웹 사이트에서 찾을 수 있다.⁹⁾
 - 가능하다면 임상적인 상황과 관련하여 kinetic 시험에 의해 적절하다고 판단되는 약물 농도를 초기 조건(시간 및 효소 농도에 대한 대사체 생산 속도의 선형성)으로 하여 모든 실험을 수행한다. 단일 연구에서 적절한 횟수로 반복(예: 약물 농도 당 3개 이상의 반복)한다.
 - 개발 대상 의약품의 전체 대사에 대한 개별 CYP 효소의 기여도를 연구하기 위해 in vitro 평가를 수행할 때 널리 사용되는 두 가지 방법이 있다 1) 모약물 소실 측정 2) 대사체 형성의 측정이다. 후자의 경우, 대사체 형성 실험에서 모든 주요 대사체를 확인하고 정량화하는 것이 바람직하다.
 - 특정 대사체의 형성에 대한 개별 CYP 효소의 기여도를 연구하기 위해 in vitro 평가를 수행할 때, 대사체 형성 속도를 측정한다.
 - 모약물 및 각 대사체의 농도를 측정하기 위해 검증 가능하며 재현 가능한 분석 방법을 개발한다.
 - 방사성 표지 약물을 기질로 사용하는 것은 약물 종류를 식별하고 정량화하기 위해 방사능 검출기 및 질량 분석기와 결합 된 액체 크로마토그래피를 사용하여 샘플을

9) A list of probe substrates:

<https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm#table1>

분석할 수 있기 때문에 유리하다.

- 각 이성질체의 서로 다른 분포 특성을 이해하는 것이 중요한 경우(예: 두 이성질체가 서로 다른 약리학적 활성이 있는 경우) 라세믹(Racemic) 약물의 개별 이성질체를 개별적으로 평가한다.
- 대부분의 화학적 억제제는 개별 CYP 효소에 특이적인 것은 아니다. 각 CYP 효소에 대한 프로브 기질을 사용하여 동일한 실험 조건에서 억제제의 선택성과 효력을 확인한다. 일반적으로 사용되는 in vitro CYP 효소 억제제는 약물 개발 및 약물 상호작용에 관한 FDA 웹 사이트에서 찾을 수 있다.¹⁰⁾
- 억제제의 적정 곡선을 설정하고 특정 경로의 최대 억제를 보장하기 위해 충분히 낮고, 충분히 높은 농도에서 CYP 효소에 대한 항체의 억제 효과를 테스트한다 (이상적으로는 억제율이 80% 이상). 각 CYP isoform의 프로브 기질을 사용하고 동일한 실험 조건에서 항체의 효과를 확인한다.

(2) 개발 대상 의약품이 효소 억제제 또는 유도제인지 평가하는 연구

① 효소 억제 확인 연구의 수행

- 개발 대상 의약품의 CYP 효소 억제 가능성은 억제 기전(예: 가역적 또는 시간 의존적 억제 (TDI)) 및 억제 효력(예: 가역적 억제에서의 K_i 와 TDI에서의 K_i , k_{inact})을 결정하기 위하여 프로브 기질을 사용하여 주로 인체 간 조직 시스템에서 연구한다. 이러한 연구에 사용되는 in vitro 시스템에는 인체 간 마이크로솜, 재조합 CYP 발현 시스템에서 얻은 마이크로솜 또는 간세포가 포함된다 (Bjornsson, Callaghan, et al. 2003).
- 개발 대상 의약품의 in vitro 억제 연구를 통한 kinetic 데이터를 정량 모델에 사용하여 인체에서 개발 대상 의약품이 다른 약물의 약동학에 주는 영향을 예측할 수 있다. 이러한 분석은 고감도 효소 DDI 영향 지표 약물(Sensitive enzyme index substrate)을 사용하여 in vivo DDI 평가를 수행할지 결정할 수 있는 정보를 준다 (섹션 III.B.2 참조).
- In vitro CYP 억제 연구를 설계할 때 다음 권장 사항을 고려한다.
 - 프로브 기질은 선택적이며(예: 풀링된 인체 간 마이크로솜 또는 재조합 CYP에서 단일 효소에 의해 주로 대사 됨), 단순 대사 체계를 가지는 것이 좋다 (이상적으로, 약물은 순차적 대사를 거치지 않음). 일반적으로 사용되는 in vitro 프로브 기질과 그 마커 반응은 약물 개발 및 약물상호작용에 관한 FDA 웹 사이트에서 찾을 수

10) Examples of in in vitro selective inhibitors for P450-mediated metabolism:
<https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm#table1-2>

있다.¹¹⁾

- 검증되고 재현 가능한 분석법을 사용하여 프로브 기질의 대사체 형성을 측정한다.
- 효소 억제 연구를 위한 최선의 in vitro 시스템은 견고하고 재현 가능해야 하며, 양성 표준 대조군으로 적절한 강력한 프로브 억제제를 포함한다 (약물 개발 및 약물상호작용에 관한 FDA 웹 사이트 참조).¹²⁾ 프로브 억제제의 kinetic 상수(K_i , IC_{50} , K_i 및 / 또는 k_{inact})는 문헌에 보고된 값의 범위와 비슷해야 좋다. In vitro 시스템은 풀링된 인체 간 마이크로솜(예: 공여자 10명 이상이 풀링된), 냉동 보존된 간세포(예: 공여자 10명 이상이 풀링된) 또는 재조합 CYP 효소를 발현하는 개별 마이크로솜일 수 있다. 억제 매개 변수를 얻기 위해 인체 혈장이 풍부한 1차 배양된 간세포(Primary hepatocyte)를 생리학적인 상태를 나타내는 in vitro 시스템으로 고려할 수 있다 (Lu, Miwa, et al. 2007; Mao, Mohutsky, et al. 2012).
- 먼저 특정 효소에 대한 억제 가능성을 연구하기 위해 개발 대상 의약품을 고농도로 실험을 수행한다(예: 유리약물 C_{max} 의 50배 또는 용량 / 250 mL의 0.1 배). 그러나 약물 농도는 약물의 용해도 한계를 초과하거나 세포 모델에 유해한 영향(예: 세포 독성)을 유발해서는 안된다. 개발 대상 의약품의 초기 고농도가 특정 효소를 억제하는 경우, 약물의 IC_{50} 또는 K_i 값을 계산하기 위해 더 낮은 약물 농도로 테스트한다. 프로브 기질을 사용하여 개발 대상 의약품의 최소 4가지 다른 농도를 테스트한다.
- 약물의 IC_{50} 값을 결정할 때는 일반적으로 억제제의 IC_{50} 값과 K_i 값이 더 밀접한 연관성을 나타내도록 K_m 과 같거나 낮은 농도에서 기질을 배양한다. K_i 를 결정하는 경우, 기질의 K_m 및 억제제의 K_i 보다 높은 농도부터 낮은 농도를 모두 커버하는 범위를 포함하도록 기질 및 억제제 농도를 다양하게 설정하는 것이 좋다.
- Microsomal 단백질 농도는 일반적으로 1 mg/mL 미만이다. 단백질결합이 kinetic 데이터 분석에 영향을 미칠 것으로 예상되는 경우, 배양 중에 비특이적 결합을 보정한다. 비특이적 결합은 실험적으로 측정하거나(예: equilibrium dialysis 또는 ultrafiltration 사용) (Hallifax and Houston 2006), 인실리코(In silico) 방법을 사용하여 예측할 수 있다. 고친유성 약물의 경우 실험을 통해 비특이적인 결합을 측정하도록 권장한다 (Gertz, Kilford, et al. 2008).
- 버퍼 강도, 유형 및 pH는 모두 V_{max} 및 K_m 측정에 상당한 영향을 미칠 수 있으므로 표준화된 분석 조건을 사용한다.

11) Examples of in vitro marker reactions for P450-mediated metabolism and in vitro selective inhibitors for P450-mediated metabolism:
<https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm#table1>

12) Examples of in vitro selective inhibitors for P450-mediated metabolism:
<https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm#table1-2>

- 일반적으로 기질이나 억제제가 현저하게 소진(Depletion)되는 일은 없어야 한다. 그러나 기질의 K_m 이 낮으면, 기질의 농도가 낮은 경우 기질이 소진되는 것을 피하기가 어려울 수 있다. 이러한 상황에서는 억제제의 kinetic 연구를 수행할 때 기질 소진 가능성을 고려하는 것이 좋다.
- 대사체의 선행적 형성을 야기하는 배양 시간과 효소 양을 선택한다 (대사체 형성의 초기 속도에서).
- 일부 용매는 효소를 억제하거나 활성화할 수 있으므로 낮은 농도 ($< 1\%$ (부피/부피); 바람직하게는 $< 0.5\%$)의 유기 용매를 사용한다. 실험에는 용매(Vehicle) 대조군을 사용해야 하며, 필요 시 무용매 대조군을 포함할 수 있다.
- 적절한 메커니즘(예: 가역적 억제 또는 TDI)에 따라 억제제의 kinetic 연구를 수행할 수 있다. 가역적 억제제의 경우, 사용된 기질 농도가 효소에 대한 K_m 과 같으면 측정된 IC_{50} 의 절반을 K_i 추정치로 사용할 수 있다 (Haput, Kazmi, et al. 2015).
- 기질을 추가하기 전에 개발 대상 의약품을 사전 배양하여(예: 최소 30분 동안) 표준 in vitro 스크리닝 프로토콜대로 TDI를 기본적으로 연구한다. 초기 물질 형성이 시간 의존적 및 보조 인자 의존적(예: CYP의 경우 NADPH)으로 유의미한 손실이 있다면 TDI를 의미하는 것일 수 있다. 이러한 상황에서 TDI 매개 변수 (즉, k_{inact} 및 K_I)를 구하기 위해 확정적 in vitro 평가를 수행한다 (Grimm, Einolf, et al. 2009).

② In vitro 효소 유도 평가의 수행

- 배양 가능한, 냉동 보존 간세포 또는 새로 분리된 인체 간세포 시스템을 활용하여 개발 대상 의약품이 CYP 효소의 유도제로서 작용할 가능성이 있는지 평가할 수 있다. 불멸화된(Immortalized) 간 세포주와 같은 다른 대안적인 in vitro 시스템도 개발 대상 의약품의 CYP 효소 유도 가능성을 평가하는데 사용 가능하다. 세포 수용체 분석(Cell receptor assay)도 사용할 수 있지만, 이러한 연구 결과는 결정적이기 보다는 보완적인 정보로 간주한다. In vitro 대체 시스템을 연구에 사용한다면 이 연구에 적합한 이유와 데이터 해석 방법을 정당화한다.
- 허용 가능한 연구의 평가변수(Endpoints)로는 효소의 mRNA 레벨 및/또는 프로브 기질을 사용하여 측정된 효소 활성 레벨이 포함된다 (Fahmi and Ripp 2010; Einolf, Chen, et al. 2014). 효소의 활성도만 측정할 때 극복해야 할 과제는 실제로는 효소가 유도되었어도 동시에 수반되는 억제 효과가 존재 한다면 유도가 마스킹될 수 있다는 것이다. 따라서 mRNA 레벨 측정을 통한 전사 분석(Transcriptional analysis)을 함께 하면 이 문제를 해결할 수 있다. 어떤 in vitro 시스템과 평가변수를 선택할 지와 무관하게, 모든 주요 CYP 효소가 제대로 기능을 하고 있으며 양성 대조약을 사용하여 유도될 수 있음을 보여주기 위해서는 시스템을 검증한다.

- 효소 유도를 연구하기 위해 *in vitro* 시스템을 사용할 때, 다음 권장 사항을 고려한다.
 - 개발 대상 의약품을 평가할 때는 CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 및 CYP3A4를 포함한 주요 CYP에 대한 유도 효능을 평가할 것을 권한다.
 - CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4는 서로 다른 핵 수용체를 통해 유도되기 때문에 이 효소들을 먼저 개별적으로 평가한다.
 - 핵 수용체인 PXR의 활성화는 CYP3A4 및 CYP2C 효소의 공동 유도로 이어질 수 있다. 따라서, CYP3A4 유도에 대한 *in vitro* 실험 결과가 음성이면, CYP3A4 및 CYP2C 효소에 대한 추가적인 *in vitro* 또는 *in vivo* 유도 연구를 할 필요가 없다. *in vitro* CYP3A4 유도 결과가 양성이고 DDI 임상 평가를 하는 것이 정당화된다면, 개발 대상 의약품이 CYP2C8, CYP2C9 및 CYP2C19를 유도하는지 *in vitro* 또는 *in vivo* 시스템에서 평가하는 것이 좋다.
 - 효소 유도를 평가하기 위한 최선의 *in vitro* 시스템은 견고하고 재현 가능해야 하며, 양성 및 음성 대조 약물로 적합한 유도제 및 비유도제가 존재해야 한다 (약물 개발 및 약물 상호 작용에 관한 FDA 웹 사이트 참조).¹³⁾ 시스템이 검증되면, 비유도제 (음성 대조약물)는 개발 대상 의약품을 평가하기 위한 시험 연구에 선택 사항으로 포함될 수 있다. 해당되는 경우, CYP 효소 유도에 대한 일상적인 연구를 위한 테스트 시스템(예: 냉동 보존된 특정 인체 간세포)을 구축하기 위해 파일럿 실험을 수행한다 (Fahmi, Kish et al. 2010; Fahmi and Ripp 2010; Einolf, Chen et al. 2014).
 - 실제 치료시 나타나는 약물의 노출 범위를 전부 커버하는 다양한 약물 농도에 대해 평가가 이루어져야 한다. 약물 용해도 상 가능하다면, 평가할 약물 농도 범위 내에 최소 한가지 농도는 *in vivo* 항정 상태의 최대 혈장 유리약물 농도보다 10배 이상 높은 고농도를 포함시킬 것을 권한다. 한가지 농도 당 세 번의 반복 실험을 수행한다. 약물이 인간 혈장 단백질에 고도로 결합되는 경향이 있거나, 배양 배지에 혈청이나 단백질(소의 혈청 알부민)이 포함되어 있는 경우, 또는 약물의 비특이적 결합이 유의하게 높은 경우, 배양 배지에서 유리약물의 농도를 측정하도록 권장한다. 임상 DDI의 정도를 예측하기 위해 데이터를 해석할 때 단백질결합에 대한 보정이 필요할 수 있다 (Sun, Chothe, et al. 2017; Chang, Yang, et al. 2017).
 - 1차 배양된 간세포를 사용하는 경우, 최소한 세 명의 공여자의 간세포를 사용한다. 최소 1명의 공여자의 간세포로부터의 결과가 사전 정의된 임계값을 초과하는 경우, 해당 약물을 *in vitro* 유도제로 간주하고 후속 평가를 수행한다.

13) For more information, see:
<https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm>

- 실험적 접근법을 통해 개발 대상 의약품의 유도 효과 가능성 여부를 확인하고 선택한 연구 시스템 및 평가변수로 위음성을 피할 수 있다는 것에 대해 입증하도록 권한다.
- 개발 대상 의약품의 배양은 일반적으로 완전한 유도가 일어나도록 48-72 시간 동안 지속한다. 배양기간 동안 개발 대상 의약품을 매일 투여하고, 약물이 함유된 배지를 정기적으로 교체해 준다. 배양을 위한 최적의 기간은 세포 독성을 유발하지 않고 효소 유도를 감지할 수 있는 기간으로 한다. 만약 더 짧은 배양 기간을 둔다면 정당화할 근거를 마련하도록 권한다.
- 시스템 내 약물의 실제 농도는 in vitro 실험 결과를 in vivo 시나리오에 외삽 적용하는 데 중요하게 쓰인다. 보통 배양 마지막 날에는 여러 시점에서 배지 내 모 약물의 농도를 측정하는 것을 권장한다 (Sun, Chothe, et al. 2017; Chang, Yang, et al. 2017).

2. 수송체 매개 약물 상호작용의 in vitro 평가

- In vitro 수송체 분석법으로 개발 대상 의약품이 특정 수송체의 기질인지 억제제인지를 결정할 수 있다. 이러한 분석법과 적절한 in vitro - in vivo 외삽법 (In vitro-to-in vivo extrapolation, 섹션 IV 참조)이 조합을 이루면 in vivo 약물 상호작용 연구 평가를 수행해야 하는지 여부를 결정할 수 있다. 현재까지는 수송체 유도를 평가하는 in vitro 실험 방법은 잘 알려져 있지 않다.

(1) In vitro 실험 시스템을 이용하여 수송체 매개 약물 상호작용을 평가할 때 고려할 사항

① In vitro 테스트 시스템의 선택

- 세포막 소포 시스템(Membrane vesicle system), 유출 수송체에 대한 편광 세포 기반 양방향 분석(Polarized cell-based bidirectional assay) 또는 섭취 수송체에 대한 세포 기반 분석(Cell-based assay)과 같이 특정 수송체에 적합한 in vitro 테스트 시스템을 선택한다. In vitro 모델 선택은 연구의 목적과 해결해야 할 질문에 따라 달라질 수 있다. 표 1은 특정 수송체의 기질 또는 억제제로서 작용할 수 있는 개발 대상 의약품의 잠재적인 수송체 매개 약물 상호작용의 가능성을 연구하기 위한 in vitro 시스템의 예를 요약한 것이다.

(표 1) Examples of In Vitro Systems to Investigate Transporter-Mediated Drug Interactions

Transporter	In Vitro Systems
<i>ABC transporters</i>	
BCRP, P-gp	Caco-2 cells, commercial or in-house membrane vesicles, knock-out/down cells, transfected cells (MDCK, LLC-PK ₁ , etc.)
<i>Solute Carrier (SLC) Transporters</i>	
OATP1B1/3	Hepatocytes, transfected cells (CHO, HEK293, MDCK, etc.)
OAT1/3, OCT2	Transfected cells (CHO, HEK293, MDCK, etc.)
MATEs*	Commercial or in-house membrane vesicles, transfected cells (CHO, HEK293, MDCK)

CHO: Chinese hamster ovary cell

HEK293: human embryonic kidney 293 cell

LLC-PK₁: Lilly Laboratory cancer porcine kidney 1 cell

MDCK: Madin-Darby canine kidney cell

* MATE의 기능은 반대 방향으로 향하는 양성자 구배(Proton gradient)의 추진력에 따라 달라진다. 따라서 MATE assay 시스템의 적절한 pH를 사용해야 한다.

- 수송체 매개 약물 상호작용을 조사하기 위한 각 in vitro 시스템에 대한 세부 정보는 다음과 같다.
- 세포막 소포
 - 인사이드-아웃(Inside-out) 세포막 소포를 사용하는 in vitro 시스템에서는 개발 대상 의약품이 P-gp 또는 BCRP의 기질 또는 억제제인지 여부를 평가하지만, 투과성이 높은 약물이거나 비특이적 결합도가 높은 약물의 경우 이들 수송체의 기질인지 식별하지 못할 수 있다.
 - 세포막 소포를 사용하는 P-gp 및 BCRP 분석에서는, 비교를 위해 대조군 소포에서 adenosine triphosphate(ATP) 의존성 수송체 매개 섭취를 직접 측정한다.
- 세포 기반 시스템으로 양방향 수송체 분석(Bi-directional transport assays)
 - 양방향 분석은 개발 대상 의약품이 P-gp 또는 BCRP와 같은 유출 수송체의 기질 또는 억제제인지 여부를 평가한다.
 - 세포 단층(Cell monolayers)은 정점/첨단부(AP) 및 기저측부(BL) 챔버가 있는 장치의 반다공성 필터(Semi-porous filters)에서 배양한다.
 - 세포 단층의 AP 또는 BL 측에 개발 대상 의약품을 첨가하고 시간 경과에 따라 세포 단층을 통해 투과되어 리시버(Receiver) 챔버 내로 유입된 약물의 양을 측정한다.
 - AP → BL(Absorption) 및 BL → AP(Efflux) 양방향의 약물의 겉보기 투과도 (apparent permeability(P_{app}))를 계산하고, BL → AP 대 AP → BL P_{app}의 비율

에서 기질의 유출율(Efflux ratio)을 계산한다.

- 형질전환 세포주(Transfected cell lines)를 사용할 때는, 내인성 수송체 활성(Endogenous transporter activity) 및 비특이적 결합을 설명하기 위하여 형질전환 세포주의 유출율을 적절한 대조 조건과 비교한다. 한 가지 방법은 형질 전환 세포주 대비 모세포주(Parental cell line)나 empty vector가 이입된 세포주의 유출율(Efflux ratio)을 비교하는 것이다.

○ 세포 기반 시스템을 활용한 흡수 분석(Uptake assays)

- 흡수 분석은 개발 대상 의약품이 OCT, OAT, OATP 및 MATE와 같은 SLC 수송체의 기질 또는 억제제인지 여부를 평가한다.
- 형질전환 세포주를 사용하는 경우, 형질전환 세포주 대비 모세포주나 empty vector가 이입된 세포주의 약물 섭취량을 비교한다.
- 인체 간세포 또는 간세포주를 현탁액(Suspension), 판배양(Plated) 또는 샌드위치(Sandwich) 배양으로 사용할 수 있다.

② In vitro 테스트 조건의 결정

○ 동일한 실험실 내에서 배양 및 수송체 분석 조건을 포함한 연구 모델 시스템과 실험 조건을 검증한다. 연구 결과의 타당성을 보장하기 위해 검증시험(Test-study)에 적절한 양성 표준 대조군을 포함시킨다. 분석법 개발 및 검증 과정에서는 다음 권장 사항을 고려한다.

- 대조군 실험(예: 기질 / 억제제에 대한 양성 표준 대조군, 형질 주입되지 않은 대조군 세포)을 통해 일관된 수송체 기능(예 : 섭취, 유출)을 유지하기 위한 수송체 분석법을 개발하고 최적화한다.
- 기존에 알려진 양성 및 음성 표준 대조군으로 연구를 수행하여 분석법의 기능성을 확인한다 (FDA 웹 사이트의 약물 개발 및 약물상호작용 참조).¹⁴⁾
- 해당되는 경우, 다음과 같은 실험 조건들을 특징짓는다: 세포막 소포 또는 세포의 근원, 세포 배양 조건(예: 세포의 계대수(Passage number), 접종한 세포 밀도(Seeding density), 세포 단층 나이(Monolayer age)), 프로브 기질 / 억제제 농도, 배양 시간, 완충액(버퍼) / pH 조건, 샘플링 간격 및 IC₅₀, K_i 및 K_m과 같은 매개 변수 계산법.
- 일부 용매는 세포의 온전함(Cell integrity)이나 수송체 기능에 영향을 미칠 수 있으므로, 낮은 농도 (< 1% volume/volume 및 바람직하게는 < 0.5%)의 유기 용매를

14) For more information, see:

<https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm>

사용한다. 실험에는 용매 대조군이 포함되어야 하며 필요한 경우 무용매 대조군도 포함시킨다.

- 기질 및 억제제 연구 모두에서 약물의 총 회수율이 충분한지를 보여준다. 총 회수율이 실험실에서 사전에 설정한 한계치보다 낮다면, 시험 약물의 잠재적인 DDI 위험성 평가 시에 회수율 감소의 성격과 정도를 연구하고 고려한다. 다음 요소의 영향을 평가할 것을 권한다.
 - 연구 기간 동안 시험 약물의 안정성
 - 세포 / 기기(Apparatus)에 대한 시험 약물의 비특이적 결합 효과
 - 시험 약물의 용해도 한계
 - 배양 배지에 혈청 또는 단백질 첨가 효과
- 연구 수행 시 선형적 수송속도(Transport rate) 조건/상태에서 수송체 연구를 수행한다.
- 연구 결과에 대한 실험실 허용 기준을 설정한다(예: 단층 무결성(Monolayer integrity), 수동 투과성(Passive permeability), 프로브 기질의 유출 또는 섭취, 프로브 기질의 K_m , 프로브 억제제의 IC_{50}). 프로브 기질의 K_m 값이나 프로브 기질 또는 억제제의 IC_{50} 값은 기존 문헌에 보고된 값과 비슷한 것을 택하도록 권한다.
- 기질(시험 약물일 수 있음)은 분석 매트릭스의 간섭없이 쉽게 측정되어야 한다.

(2) 개발 대상 의약품이 수송체의 기질인지에 대한 평가

- In vitro 시스템을 사용하여 개발 대상 의약품이 수송체의 기질인지 연구할 때 다음 요소를 고려한다.
 - 임상적으로 사용되는 농도 범위에서 시험 약물의 농도를 평가한다.
 - 수용성(Aqueous solubility), 배양 용기와 약물의 비특이적 결합, 세포 독성 등 여러 요인이 in vitro 분석에서 시험 약물의 농도를 제한할 수 있다.
 - In vitro 시스템이 여러 수송체를 발현하는 경우, 결과를 확인하기 위해 두 개 이상의 알려진 강력한 억제제로 추가 실험을 수행한다.

(3) 개발 대상 의약품이 수송체의 억제제인지에 대한 평가

- In vitro 시스템으로 개발 대상 의약품이 수송체의 억제제인지 연구할 때 다음과 같은 것들을 고려한다.
 - 개발 대상 의약품의 임상적 사용 시 농도보다 적어도 10배 이상 높은 고농도로 시작한다. 그러나 약물 농도는 약물의 용해도 한계를 초과하거나 세포에 유해한 영향(예: 세포 독성)을 유발해서는 안된다. 수송체는 조직에 따라 다양한 부위에서

발현되기 때문에, 연구하려는 수송체의 종류나 위치에 따라 임상적으로 유의한 농도가 다를 수 있다는 점을 고려한다(예: 신장 섭취 수송체의 경우 유리약물의 C_{max} 또는 간 섭취 수송체의 경우 간 입구에서의 유리약물 최대 농도(Maximum hepatic inlet concentration) (그림 6 참조)). 장의 내강쪽에 위치한 침단부위 수송체(Apical intestinal transporters)의 경우, 시험 약물 농도는 $0.1 \times \text{용량} / 250 \text{ mL}$ 를 포함한다. 시험 약물이 억제 효과를 나타내는 경우, 추가적인 농도를 검사하여 IC_{50} 또는 K_i 값을 계산한다. 프로브 기질을 가지고 최소 4가지 농도의 시험 약물을 평가한다. 그 다음에 IC_{50} 또는 K_i 값을 임상에서의 혈장내 농도 또는 장에서의 추정 농도와 비교하여 DDI의 가능성을 예측할 수 있다.

- 실험에는 기질의 선행적 수송을 보이는 프로브 기질 농도 범위를 포함시키도록 한다. 프로브 기질 농도는 수송체의 K_m 이하로 한다.
- 시험 약물을 사전 배양 하였을 때 더 낮은 IC_{50} 을 나타내는지 알아보기 위해 OATP1B1 및 OATP1B3 억제 시 시험 약물과 사전 배양 할지 고려할 수 있다. 예를 들어, 최근 보고에 의하면 cyclosporine과 그 대사체인 AM1이 시간 의존적인 OATP1B 억제제임을 보여준다 (Amundsen, Christensen et al. 2010; Gertz, Cartwright et al. 2013; Izumi, Nozaki et al. 2015).
- 억제 효과는 기질에 따라 달라질 수 있다. 따라서 추후 임상 연구에서도 사용될 수 있는 프로브 기질을 사용하여 시험 약물의 억제 상수를 결정한다. 경우에 따라서는 개발 대상 의약품의 상호작용 가능성을 과소평가하지 않기 위해, 일반적으로 알려진 억제제에 대해 더 낮은 IC_{50} 을 생성하는 프로브 기질을 사용할 수도 있다.
- 향후 임상 DDI 평가시험의 필요성을 제시하는 컷오프 값을 생성하기 위해 내부 in vitro 시스템을 보정하는 양성 및 음성 대조군을 사용할 수 있다.

3. DDI를 일으킬 가능성이 있는 약물 연구를 위한 모델 기반의 예측 이용

- 약물 개발 과정에서 수학적 모델들은 in vitro와 in vivo 약물상호작용 연구 결과를 평가하여 추후에 임상 DDI 평가시험을 수행할지 여부와 그 시기 및 방법을 결정할 수 있다. 많은 경우, 초기에 수행했던 in vitro 평가나 임상 연구에서의 결과가 음성이면서, 모델 기반 예측기법을 활용한다면 개발 대상 의약품의 DDI 가능성에 대한 추가적인 임상 연구가 필요하지 않을 수도 있다.
- 임상 PK 데이터로 검증된, In vitro 평가 결과를 통합하는 수학적 모델은 다양한 상황에서 개발 대상 의약품의 DDI 가능성을 예측하는 데 중요한 역할을 할 수 있다. 대사 기반 DDI에서 DDI 유발 약물로서 약물을 평가할 때 고려해야 할 몇 가지 모델이 있다. 기본 모델은 일반적으로 개발 대상 의약품에 의해 대사효소가 낮은 수준으로 억제 또는 유도되는지 확인하는 것과 같은 간단한 목적의 연구에 사용된다.

- Mechanistic static models로는 DDI 유발 약물과 프로브 기질로서 약물의 약동학적 특성을 설명할 수 있다 (Fahmi, Hurst, et al. 2009). 시스템 의존적 매개 변수 (System-dependent parameters) (예: 인체 생리학 기반), 약물 의존적 매개 변수 (Drug-dependent parameters) (Zhao, Zhang, et al. 2011), 시간에 따른 변화를 모두 통합하는 PBPK 모델을 포함하는 Mechanistic dynamic models은 언제 어떻게 DDI 임상 연구를 할 것인지 결정하는데 도움을 준다. 또한 이러한 모델은 신장 장애가 있는 환자 또는 특정 대사효소에 유전적 결함이 있는 환자와 같은 다양한 임상 상황에서 DDI의 크기를 정량적으로 예측할 수 있다.

(1) 예측 모델(Predictive models)을 이용하여 효소 기반의 DDI를 평가할 때 고려해야 할 사항.

① 기본 모델을 사용한 효소 조절인자(Enzyme modulator)로서의 약물 효과 예측

- 약물이 대사효소의 잠재적 억제제 또는 유도제인지의 평가는 기본 모델 사용으로 시작된다. 기본 모델에서는 억제 효력은 R_1 , $R_{1,gut}$ (CYP3A에서만), R_2 (TDI에서만); 유도 효력은 R_3 , 변화 배수, 상관관계 방법을 사용한다.
- 연구 수행을 통해 계산된 R 값 또는 변화 배수를 컷오프 권장 기준과 비교하여 DDI의 가능성 배제 여부를 정하도록 권한다. 기존에 알려진 효소의 DDI 유발 약물과 DDI 비유발 약물로 내부 in vitro 시스템을 보정하고, 적절한 근거가 있는 특정 컷오프 값을 제안할 수 있다. 기본 모델 연구 결과 개발 대상 의약품의 DDI에 대한 가능성을 배제하지 않을 경우 추가 모델링 분석을 수행하거나, mechanistic static model 또는 PBPK 모델 (아래 참조)을 사용하거나, in vivo DDI 평가를 수행하여 개발 대상 의약품의 DDI 가능성을 추가로 평가한다.

② Mechanistic static models를 사용한 효소 조절인자로서의 약물 효과 예측

- Mechanistic static model은 상호작용 유발 약물과 기질 약물 모두에 대해 더욱 자세한 약물 동태 및 약물 상호작용 메커니즘을 통합하여 설명한다 (Fahmi, Hurst, et al. 2009). 다음 방정식을 사용하여 기질 약물에 대한 개발 대상 의약품의 전체 효과를 계산할 수 있다(AUCR로 표시됨) (그림 7 참조).

$$AUCR = \left(\frac{1}{[A_g \times B_g \times C_g] \times (1 - F_g) + F_g} \right) \times \left(\frac{1}{[A_h \times B_h \times C_h] \times f_m + (1 - f_m)} \right)$$

The equation assumes that the drug has negligible extrahepatic clearance.

A is the effect of reversible inhibitions.

B is the effect of TDI.

C is the effect of induction.

F_g is the fraction available after intestinal metabolism.

f_m is the fraction of hepatic clearance of the substrate mediated by the CYP enzyme that is subject to inhibition/induction.

Subscripts 'h' denote liver.

Subscripts 'g' denote gut.

Each value can be estimated with the following equations:

	Gut	Liver
Reversible inhibition	$A_g = \frac{1}{1 + \frac{[I]_g}{K_i}}$	$A_h = \frac{1}{1 + \frac{[I]_h}{K_i}}$
Time-dependent inhibition	$B_g = \frac{k_{deg,g}}{k_{deg,g} + \frac{[I]_g \times k_{inact}}{[I]_g + K_I}}$	$B_h = \frac{k_{deg,h}}{k_{deg,h} + \frac{[I]_h \times k_{inact}}{[I]_h + K_I}}$
Induction	$C_g = 1 + \frac{d \cdot E_{max} \cdot [I]_g}{[I]_g + EC_{50}}$	$C_h = 1 + \frac{d \cdot E_{max} \cdot [I]_h}{[I]_h + EC_{50}}$

$[I]_h = f_{u,p} \times (C_{max} + (F_a \times F_g \times k_a \times Dose)/Q_h/R_B)$ (Ito, Iwatsubo, et al. 1998)

$[I]_g = F_a \times k_a \times Dose/Q_{en}$ (Rostami-Hodjegan and Tucker 2004)

$f_{u,p}$ is the unbound fraction in plasma. When it is difficult to measure accurately due to high protein binding (i.e., $f_{u,p} < 0.01$) in plasma, a value of 0.01 should be used for $f_{u,p}$.

C_{max} is the maximal total (free and bound) inhibitor concentration in the plasma at steady state.

F_a is the fraction absorbed after oral administration; a value of 1 should be used when the data are not available.

F_g is the fraction available after intestinal metabolism; a value of 1 should be used when the data are not available.

k_a is the first order absorption rate constant in vivo; a value of 0.1 min^{-1} (Ito, Iwatsubo, et al. 1998) can be used when the data are not available.

Q_{en} is the blood flow through enterocytes (e.g., 18 L/hr/70 kg (Yang, Jamei, et al. 2007a)).

Q_h is the hepatic blood flow (e.g., 97 L/hr/70 kg (Yang, Jamei, et al. 2007b)).

R_B is the blood-to-plasma concentration ratio.

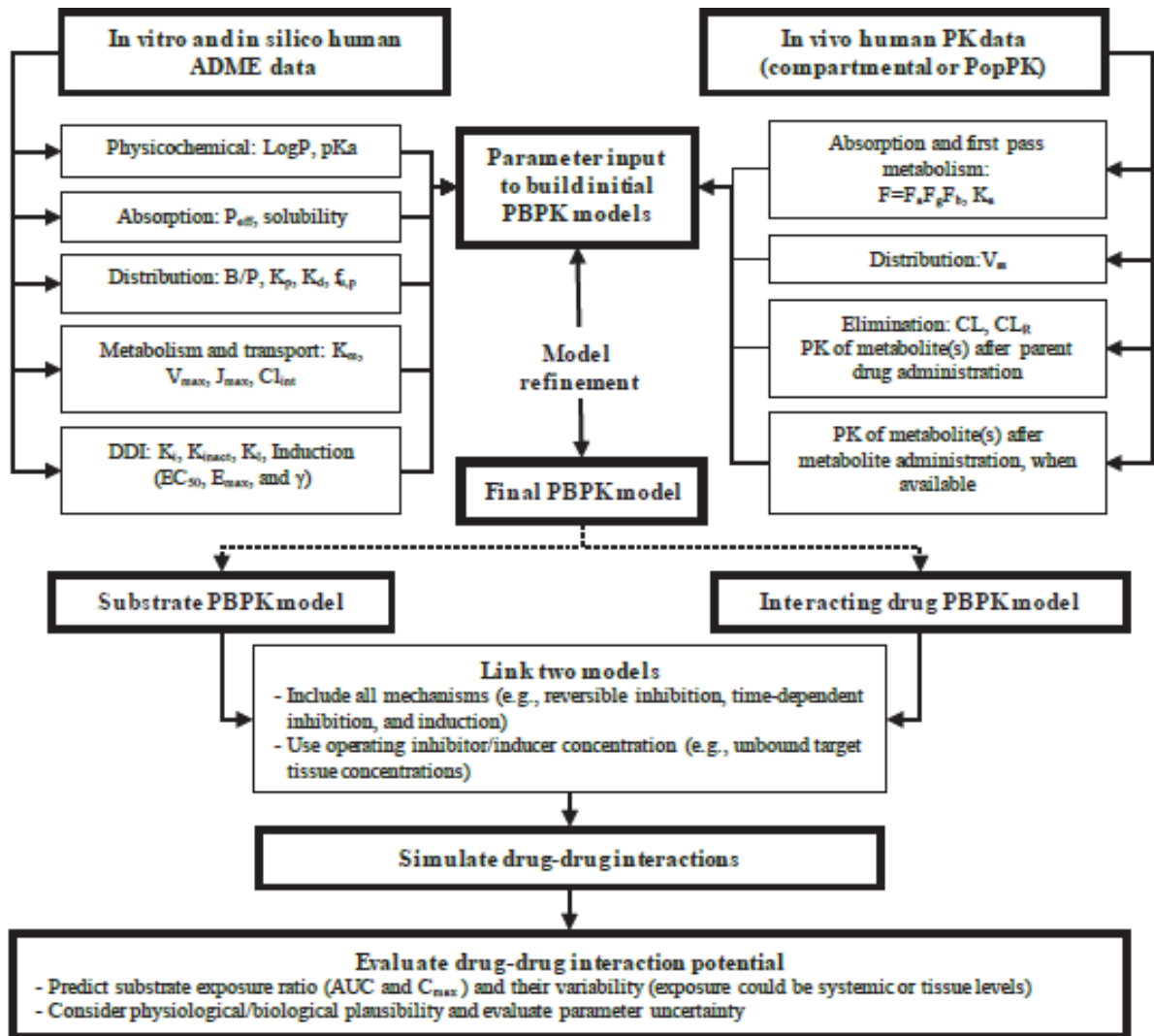
d is the scaling factor and is assumed to be 1. A different value can be used if supported by prior experience with the system used (Einolf, Chen, et al. 2014; Vernet, Raoult, et al. 2016).

(그림 7) Equation to Calculate AUCR of the Substrate Drugs(AUC_{plus investigational drug}/AUC_{minus investigational drug})

- 억제와 유도의 조합 외에도 개발 대상 의약품의 효소 억제 가능성을 예측하기 위해 억제 메커니즘(A와 B만 사용)을 별도로 사용하도록 권한다(즉, $C = 1$ 이라고 가정). 약물 유도 메커니즘(C만 사용)은 개발 대상 의약품의 효소 유도 가능성을 예측하기 위해 사용하도록 권한다(즉, A와 B가 1이라고 가정). 동시 예측은 억제 가능성이 과도하게 예측되면 위음성 예측으로 이어질 수 있고, 따라서 유도 효과를 마스킹할 수 있다. 반대로 유도 가능성이 과도하게 예측되면 억제 효과를 가릴 것이다.

③ PBPK를 사용한 효소 기반의 DDI 예측

- PBPK 모델은 개발 대상 의약품 및/또는 대사체의 효소 기질 또는 DDI 유발 약물로서의 DDI 가능성을 예측할 수 있다. 그림 8은 임상 개발에서 DDI 연구 계획을 목적으로 하는 DDI 가능성을 예측하기 위한 일반적인 PBPK 모델 기반¹⁵⁾ 체계를 보여준다.



(그림 8) A PBPK Model-Based Framework to Explore the DDI Potential Between a Substrate Drug and an Interacting Drug (Modified from Zhao, Zhang, et al. 2011)*

15) PBPK models for both substrate and interacting drug (inhibitor or inducer) should be constructed separately using in vitro and in vivo disposition parameters and be verified before they are linked through appropriate mechanisms to predict the degree of DDI.

ADME is the absorption, distribution, metabolism and excretion.
AUC is the area under the plasma concentration versus time curve.
B/P is the blood to plasma ratio.
C_{max} is the maximum concentration.
CL is the clearance.
CL_{int} is the intrinsic clearance.
CLR is the renal clearance.
DDI is a drug-drug interaction.
EC₅₀ is the concentration causing half maximal effect.
E_{max} is the maximum effect.
F is the bioavailability.
F_a is the fraction absorbed.
F_g is the bioavailability in the gut.
F_h is the bioavailability in the liver
f_{u,p} is the unbound fraction in plasma.
γ_h is the Hill coefficient.
IC₅₀ the concentration causing half maximal inhibition.
I_{max} is the maximum effect or inhibition.
J_{max} is the maximum rate of transporter-mediated efflux/uptake.
K_a is the first-order absorption rate constant.
K_d is the dissociation constant of a drug-protein complex.
K_i is the reversible inhibition constant, concentration causing half maximal inhibition
K_I is the apparent inactivation constant, concentration causing half maximum inactivation
k_{inact} is the apparent maximum inactivation rate constant.
K_m is the Michaelis-Menten constant, substrate concentration causing half maximal reaction or transport
K_p is the tissue to plasma partition coefficient.
LogP is the logarithm of the octanol-water partition coefficient.
MOA is the mechanism of action.
PD is the pharmacodynamics of a drug
P_{eff} is the jejunum permeability.
PK is pharmacokinetics of a drug.
PopPK is population pharmacokinetics.
V is the volume of distribution.
V_{max} is the maximum rate of metabolite formation

- PBPK 모델링을 사용할 때 모델의 가정, 모델의 생리학적 및 생화학적 타당성, 가변성 및 불확실성 측정에 대하여 포괄적으로 정당화하는 자료를 준비하도록 한다. PBPK 모델과 같은 고급 모델을 사용할 때 제출해야 할 사항에는 구조 모델에 대한 설명, 시스템 및 약물 종속 매개 변수에 대한 소스 및 정당화 근거, 오류 모델 유형, 모든 모델 출력 결과, 데이터 분석 및 적절한 민감도 분석이 포함될 것을 권한다 (2018년 FDA에서 산업계를 위해 발표한 가이드라인 ‘생리학적 기반의 약물 동태 분석- 형식과 내용’ 참조). 상용 소프트웨어와 같이 사전 정의된 모델(구조 및 오류)을 사용할 때 소프트웨어 버전을 지정하고 사전 정의된 모델에서의 편차를 나열한다 (Zhao, Rowland, et al. 2012).
- PBPK 모델링을 사용하여 개발 대상 의약품이 효소 기질로서 DDI 가능성이 있는지 예측할 때는 다음 질문들에 답할 수 있어야 한다 (Vieira, Kim, et al. 2014; Wagner, Pan, et al. 2015; Wagner, Pan, et al. 2016).
 - 연구 대상 기질의 기본 PBPK 모델로 다양한 용법-용량(예: 용량 비례 연구) 및 투여 경로(예: 정맥 또는 경구)를 적용하여 임상 PK 데이터를 설명할 수 있는가?
 - 사용 가능한 in vitro, in vivo 데이터를 근거로 기질 모델에서 소실경로가 정량적으로 결정되는가?
 - 인체에서 효소의 활성을 조절하는 효과에 대하여 DDI 유발 지표 약물 모델(Index perpetrator models)이 검증되었는가?
 - 높은 수준의 불확실성을 나타내는 매개 변수에 대한 민감도 분석이 있는가?
 - 약물의 대사 및 수송 기전이 복잡할 것으로 예상되는 경우, 기질과 조절인자 모델은 약물의 주된 동태 및 상호작용 기전을 포함하고 있으며, 입증되어 있는가?
- 강한 효소 억제 또는 유도에 대해 모델이 DDI에 사용 가능한 데이터를 나타낸다면, 연구 대상 기질의 PK에 대한 효소 조절인자의 영향을 예측하는데 PBPK 모델을 사용할 수도 있다 (Wagner, Zhao, et al. 2015; Wagner, Pan, et al. 2015; Wagner, Pan, et al. 2016).
- PBPK 모델링을 이용하여 개발 대상 의약품이 효소 DDI 유발 약물로서 약물 상호작용의 가능성이 있는지 예측할 때, 다음 질문들에 답할 수 있어야 한다 (Vieira, Zhao, et al. 2012; Wagner, Pan, et al. 2015; Wagner, Pan, et al. 2016).
 - 연구 대상 DDI 유발 약물의 기본 PBPK 모델로 다양한 용법-용량(예 : 용량 비례 연구) 및 투여 경로(예: 정맥 또는 경구)를 적용하여 임상 PK 데이터를 설명할 수 있는가?
 - 변화된 효소의 활성이 임상적 PK에 미치는 영향에 대하여 DDI 영향 지표 약물 모델(Index substrate models)이 검증되었는가?

- in vivo 효소 억제 또는 유도에 대해 보수적으로 예측하는 차원에서 억제와 유도의 조합 외에도, 억제 및 유도 메커니즘을 별도로 고려했는가?
- 시뮬레이션에서 연구 대상인 DDI 유발 약물의 최고 임상 용량을 사용했는가?
- 높은 수준의 불확실성을 나타내는 매개 변수에 대한 민감도 분석이 있는가?

(2) 예측 모델을 이용하여 수송체 기반의 DDI를 평가할 때 고려해야할 사항

① 기본 모델을 사용한 수송체 억제제로서의 약물 효과 예측

- 약물을 잠재적인 수송체 억제제로 평가하는 것은 대사효소와 동일한 컨셉을 적용한 기본 모델의 사용으로 시작된다 (섹션 IV.B 참조). 이 기본 모델 접근법의 예측 결과와 사전에 정의된 컷오프 기준을 근거로 in vivo에서 수송체 억제를 추가로 평가할 필요가 있는지를 정한다. 일반적으로, 연구자는 수송체의 억제가 가역적이라고 가정하고, K_i 의 실질적인 대체 값으로 IC_{50} 을 사용할 수 있다. 이 문서에 설명된 기본 모델은 장내 농도, 최대 유리약물 혈장농도 그리고/또는 $[I]$ 에 대한 상호 작용을 일으키는 약물 (Interacting drug)의 간 입구에서 비결합 최대 혈장 추정 농도를 사용한다. 계산된 R 또는 $[I]/IC_{50}$ 값을 사전 정의된 컷오프 기준과 비교하여 DDI의 가능성 배제 여부를 정한다. 기본 모델 연구결과 DDI 가능성을 배제하지 않는 경우, 개발 대상 의약품의 DDI 가능성을 추가로 평가한다.

② PBPK를 사용한 수송체 기반의 DDI 예측

- PBPK 모델에는 수동 확산과 대사 뿐만 아니라 수송체에 의해 매개되는 ADME 프로세스가 포함될 수 있다. CYP 효소와 비교할 때, 수송체 기반 DDI에 대한 PBPK 모델링의 예측 성능은 확립되지 않았다 (Wagner, Zhao, et al. 2015). 이는 주로 수송체와 관련된 생물학의 지식과 수송체의 kinetic 성질을 결정하고 모델링하는 경험의 제한적이기 때문이다 (Pan, Hsu, et al. 2016). 수송체와 효소 간의 상호작용을 평가하기 위해 최근에 PBPK 모델을 적용해 보니, 다수의 수송체와 효소에 기질인 개발대상의약품의 모델은 그 모델이 해당 효소나 수송체에 대한 다양한 범주의 DDI 또는 약물유전체 연구를 통해 얻어진 임상 데이터로 검증된 후에야 비로소 시험해보지 않은 DDI 시나리오에 대해 자신 있게 예측할 수 있다는 것을 시사하고 있다 (Varma, Lai, et al. 2012; Gertz, Cartwright, et al. 2013; Varma, Lai, et al. 2013; Varma, Lin, et al. 2013; Jamei, Bajot, et al. 2014; Varma, Scialis, et al. 2014; Snoeys, Beumont, et al. 2015). 잠재적인 수송체 억제제인 경우, 연구자는 수송체 기질에 대한 모델을 확립하고 검증할 것을 권한다 (Gertz, Tsamandouras, et al. 2014; Tsamandouras, Dickinson, et al. 2015; Snoeys, Beumont, et al. 2015).

Ⅷ장. 약어(ABBREVIATIONS AND ACRONYMS)

ADME: absorption, distribution, metabolism, and/or excretion
AP: apical
ATP: adenosine triphosphate
AUC: area under the plasma concentration-time curve
AUC_{metabolite}: area under the plasma concentration-time curve of metabolite
AUC_{parent}: area under the plasma concentration-time curve of parent drug
AUCR: area under the plasma concentration-time curve ratio
BL: basolateral
B/P: blood to plasma ratio
BCRP: breast cancer resistance protein
CHO: Chinese hamster ovary cell
Cl_{int}: intrinsic clearance
CL_r: renal clearance
C_{max}: total maximal concentration in plasma
CYP: cytochrome P450
d: scaling factor
DDI: drug-drug interaction
EC₅₀: concentration causing half maximal effect determined in vitro
E_{max}: maximum induction effect determined in vitro
ER: efflux ratio
F_a: fraction absorbed
F_g: intestinal availability
f_m: fraction of systemic clearance of the substrate mediated by the CYP enzyme that is subject to inhibition/induction
FMO: flavin monooxygenase
f_{u,p}: unbound fraction in plasma
GFR: glomerular filtration rate
HEK293: human embryonic kidney 293 cell
[I]: concentration of the interacting drug
IC₅₀: half-maximal inhibitory concentration
I_{gut}: intestinal luminal concentration estimated as dose/250 mL
I_{in,max}: estimated maximum plasma inhibitor concentration at the inlet to the liver
I_{max,u}: maximal unbound plasma concentration of the interacting drug at steady state
J_{max}: maximal flux rate
k_a: absorption rate constant
k_d: dissociation constant
k_p: partition coefficient
k_{deg}: apparent first-order degradation rate constant of the affected enzyme
K_i: inhibition constant
K_I: inhibitor concentration causing half-maximal inactivation
k_{inact}: maximal inactivation rate constant
K_m: Michaelis-Menton constant
k_{obs}: observed (apparent first order) inactivation rate of the affected enzyme

LLC-PK1: Lewis-lung cancer porcine kidney 1 cell
 LogP: octanol-water partition coefficient
 MAO: monoamine oxidase
 MATE: multidrug and toxin extrusion
 MDCK: Madin-Darby canine kidney cell
 MDR1: multi-drug resistance 1 protein
 NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)
 OAT: organic anion transporter
 OATP: organic anion transporting polypeptide
 OCT: organic cation transporter
 P_{app} : apparent permeability
 PBPK: physiologically-based pharmacokinetic
 PD: pharmacodynamics
 P-gp: P-glycoprotein
 PK: pharmacokinetic
 pKa: negative logarithm of the ionization constant (K_a) of an acid, a measure of the strength of an acid
 PXR: pregnane X receptor
 Q_{en} : blood flow through enterocytes
 Q_h : hepatic blood flow rate
 R: ratio of victim AUC in the presence and absence of perpetrators (inhibitors or inducers), predicted with basic models
 R_B : blood to plasma ratio
 S9: supernatants after 9000 g centrifugation
 SCH: sandwich cultured hepatocytes
 SLC: solute carrier
 TDI: time-dependent inhibition
 UGT: uridine diphosphate (UDP)-glucuronosyl transferase
 V_{max} : maximal rate
 V_{ss} : steady-state volume of distribution
 XO: xanthine oxidase

IX장. 참고문헌(REFERENCES)

- Agarwal, S, V Arya, and L Zhang, 2013, Review of P-gp Inhibition Data in Recently Approved New Drug Applications: Utility of the Proposed $[[1]]/IC(50)$ and $[[2]]/IC(50)$ Criteria in the P-gp Decision Tree, *J Clin Pharmacol*, 53(2):228-233.
- Amundsen, R, H Christensen, B Zabihyan, and A Asberg, 2010, Cyclosporine A, But Not Tacrolimus, Shows Relevant Inhibition of Organic Anion-Transporting Protein 1B1-Mediated Transport of Atorvastatin, *Drug Metab Dispos*, 38(9):1499-1504.
- Arya, V, Y Xinning, P Balimane, L Chinn, P Hinderling, J Vaidyanathan, AA Zur, L Zhang, 2014, Creatinine as an Endogenous Marker for Renal Function-Emerging Role of Transporters in the Overall Assessment of Renal Toxicity, *Clin Pharmacol Ther*, 95(1):S65.
- Bjornsson, TD, JT Callaghan, HJ Einolf, V Fischer, L Gan, S Grimm, J Kao, SP King, G Miwa, L Ni, G Kumar, J McLeod, RS Obach, S Roberts, A Roe, A Shah, F Snikeris, JT Sullivan, D Tweedie, JM Vega, J Walsh, SA Wrighton, and R Pharmaceutical, G Manufacturers of America, Drug Metabolism/Clinical Pharmacology Technical Working, FDACfD Evaluation and
- Research, 2003, The Conduct of In Vitro and In Vivo Drug-Drug Interaction Studies: A Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA) Perspective, *Drug Metab Dispos*, 31(7):815-832.
- Brouwer, KL, D Keppler, KA Hoffmaster, DA Bow, Y Cheng, Y Lai, JE Palm, B Stieger, R Evers, and C International Transporter, 2013, In Vitro Methods to Support Transporter Evaluation in Drug Discovery and Development, *Clin Pharmacol Ther*, 94(1):95-112.
- Callegari, E, AS Kalgutkar, L Leung, RS Obach, DR Plowchalk, and S Tse, 2013, Drug Metabolites as Cytochrome p450 Inhibitors: A Retrospective Analysis and Proposed Algorithm for Evaluation of the Pharmacokinetic Interaction Potential of Metabolites in Drug Discovery and Development, *Drug Metab Dispos*, 41(12):2047-2055.
- Chang, C, X Yang, OA Fahmi, KA Riccardi, L Di, RS Obach, 2017, An Exposure-

Response Analysis Based on Rifampin Suggests CYP3A4 Induction is Driven by AUC: An In Vitro Investigation, *Xenobiotica*, 47(8):673-681.

Chen, Y, L Liu, K Nguyen, AJ Fretland, 2011, Utility of Intersystem Extrapolation Factors in Early Reaction Phenotyping and the Quantitative Extrapolation of Human Liver Microsomal Intrinsic Clearance Using Recombinant Cytochromes P450, *Drug Metab Dispos*, 39(3):373-382.

Chu, X, K Bleasby, GH Chan, I Nunes, R Evers, 2016, The Complexities of Interpreting Reversible Elevated Serum Creatinine Levels in Drug Development: Does a Correlation With Inhibition of Renal Transporters Exist?, *Drug Metab Dispos*, 44(9):1498-1509.

Dong, Z, X Yang, V Arya, and L Zhang, 2016a, Comparing Various In Vitro Prediction Criteria to Assess the Potential of a New Molecular Entity (NME) to Inhibit Organic Anion Transporter 1 and 3 (OAT1 and 3), *Clin Pharmacol Ther*, 99(S1):S94.

Dong Z, X Yang, V Arya, and L Zhang, 2016b, Comparing Various In Vitro Prediction Criteria to Assess the Potential of a New Molecular Entity (NME) to Inhibit OCT2 and MATE Transporters In Vivo, *Clin Pharmacol Ther*, 99(S1):S94.

Einolf, HJ, 2007, Comparison of Different Approaches to Predict Metabolic Drug-Drug Interactions, *Xenobiotica*, 37(10-11):1257-1294.

Einolf, HJ, L Chen, OA Fahmi, CR Gibson, RS Obach, M Shebley, J Silva, MW Sinz, JD Unadkat, L Zhang and P Zhao, 2014, Evaluation of Various Static and Dynamic Modeling Methods to Predict Clinical CYP3A Induction Using In Vitro CYP3A4 mRNA Induction Data, *Clin Pharmacol Ther*, 95(2):179-188.

Ellens, H, S Deng, J Coleman, J Bentz, ME Taub, I Ragueneau-Majlessi, SP Chung, K Heredi- Szabo, S Neuhoff, J Palm, P Balimane, L Zhang, M Jamei, I Hanna, M O'Connor, D Bednarczyk, M Forsgard, X Chu, C Funk, A Guo, KM Hillgren, L Li, AY Pak, ES Perloff, G Rajaraman, L Salphati, JS Taur, D Weitz, HM Wortelboer, CQ Xia, G Xiao, T Yamagata, and CA Lee, 2013, Application of Receiver Operating Characteristic Analysis to Refine the Prediction of

Potential Digoxin Drug Interactions, *Drug Metab Dispos*, 41(7):1367-1374.

Fahmi, OA, S Hurst, D Plowchalk, J Cook, F Guo, K Youdim, M Dickins, A Phipps, A Darekar, R Hyland, and RS Obach, 2009, Comparison of Different Algorithms for Predicting Clinical Drug-Drug Interactions, Based on the Use of CYP3A4 In Vitro Data: Predictions of Compounds as Precipitants of Interaction, *Drug Metab Dispos*, 37(8):1658-1666.

Fahmi, OA, M Kish, S Boldt, and RS Obach, 2010, Cytochrome P450 3A4 mRNA is a More Reliable Marker than CYP3A4 Activity for Detecting Pregnane X Receptor-Activated Induction of Drug-Metabolizing Enzymes, *Drug Metab Dispos*, 38(9):1605-1611.

Fahmi, OA and SL Ripp, 2010, Evaluation of Models for Predicting Drug-Drug Interactions Due to Induction, *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 6(11):1399-1416.

Gertz, M, CM Cartwright, MJ Hobbs, KE Kenworthy, M Rowland, JB Houston, and A Galetin, 2013, Cyclosporine Inhibition of Hepatic and Intestinal CYP3A4, Uptake and Efflux Transporters: Application of PBPK Modeling in the Assessment of Drug-Drug Interaction Potential, *Pharm Res*, 30(3):761-780.

Gertz, M, N Tsamandouras, C Säll, JB Houston, and A Galetin, 2014, Reduced Physiologically Based Pharmacokinetic Model of Repaglinide : Impact of OATPB1 and CYP2C8 Genotype and Source of In Vitro Data on the Prediction of Drug-Drug Interaction Risk, *Pharm Res*, 31(9):2367-2382.

Gertz, M, PJ Kilford, JB Houston, and A Galetin, 2008, Drug Lipophilicity and Microsomal Protein Concentration as Determinants in the Prediction of the Fraction Unbound in Microsomal Incubations, *Drug Metab Dispos*, 36(3):535-542.

Giacomini, KM and SM Huang, 2013, Transporters in Drug Development and Clinical Pharmacology, *Clin Pharmacol Ther*, 94(1):3-9.

Giacomini, KM, SM Huang, DJ Tweedie, LZ Benet, KL Brouwer, X Chu, A Dahlin, R Evers, V Fischer, KM Hillgren, KA Hoffmaster, T Ishikawa, D Keppler, RB Kim, CA Lee, M Niemi, JW Polli, Y Sugiyama, PW Swaan, JA Ware, SH Wright, SW Yee, MJ Zamek-Gliszczynski, and L Zhang, 2010, Membrane

Transporters in Drug Development, *Nat Rev Drug Discov*, 9(3):215- 236.

Grimm, SW, HJ Einolf, SD Hall, K He, HK Lim, KH Ling, C Lu, AA Nomeir, E Seibert, KW Skordos, GR Tonn, R Van Horn, RW Wang, YN Wong, TJ Yang, and RS Obach, 2009, The Conduct of In Vitro Studies to Address Time-Dependent Inhibition of Drug-Metabolizing Enzymes: A Perspective of the Pharmaceutical Research and Manufacturers of America, *Drug Metab Dispos*, 37(7):1355-1370.

Hallifax, D and JB Houston, 2006, Binding of Drugs to Hepatic Microsomes: Comment and Assessment of Current Prediction Methodology With Recommendation for Improvement, *Drug Metab Dispos*, 34(4):724-726; author reply 727.

Haput, LJ, F Kazmi, BW Ogilvie, DB Buckley, BD Smith, S Leatherman, B Paris, O Parkinson, A Parkinson, 2015, The Reliability of Estimating Ki Values for Direct, Reversible Inhibition of Cytochrome P450 Enzymes From Corresponding IC50 Values: A Retrospective Analysis of 343 Experiments, *Drug Metab Dispos*, 43(11):1744-1750.

Hariparsad, N, D Ramsden, J Palamanda, JG Dekeyser, OA Fahmi, JR Kenny, H Einolf, M Mohutsky, M Pardon, YA Siu, L Chen, M Sinz, B Jones, R Walsky, S Dallas, SK Balani, G Zhang, D Buckley, D Tweedie, 2017, Considerations from the IQ Induction Working Group in Response to Drug-Drug Interaction Guidance From Regulatory Agencies: Focus on Downregulation, CYP2C Induction, and CYP2B6 Positive Control, *Drug Metab Dispos*, 45(10):1049-1059.

Ito, K, T Iwatsubo, S Kanamitsu, K Ueda, H Suzuki, and Y Sugiyama, 1998, Prediction of Pharmacokinetic Alterations Caused by Drug-Drug Interactions: Metabolic Interaction in the Liver, *Pharmacol Rev*, 50(3):387-412.

Izumi, S, Y Nozaki, K Maeda, T Komori, O Takenaka, H Kusuvara, and Y Sugiyama, 2015, Investigation of the Impact of Substrate Selection on In Vitro Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1 Inhibition Profiles for the Prediction of Drug-Drug Interactions, *Drug Metab Dispos*, 43(2):235-247.

Jamei, M, F Bajot, S Neuhoﬀ, Z Barter, J Yang, A Rostami-Hodjegan, and K Rowland-Yeo, 2014, A Mechanistic Framework for In Vitro-In Vivo Extrapolation

- of Liver Membrane Transporters: Prediction of Drug-Drug Interaction Between Rosuvastatin and Cyclosporine, *Clin Pharmacokinet*, 53(1):73-87.
- Jones, H, Y Chen, C Gibson, T Heimbach, N Parrott, S Peters, J Snoeys, V Upreti, M Zheng, and S Hall, 2015, Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Drug Discovery and Development: A Pharmaceutical Industry Perspective, *Clin Pharmacol Ther*, 97(3):247-262.
- Kenny, JR, D Ramsden, DB Buckley, S Dallas, C Fung, M Mohutsky, HJ Einolf, L Chen, JG Dekeyser, M Fitzgerald, TC Goosen, YA Siu, RL Walsky, G Zhang, D Tweedie, N Hariparsad, 2018, Considerations From the Innovation and Quality Induction Working Group in Response to Drug-Drug Interaction Guidances From Regulatory Agencies: Focus on CYP3A4 mRNA In Vitro Response Thresholds, Variability, and Clinical Relevance, *Drug Metab Dispos*, 46(9):1285- 1303.
- Lepist, EI, X Zhang, J Hao, J Huang, A Kosaka, G Birkus, BP Murray, R Bannister, T Cihlar, Y Huang, and AS Ray, 2014, Contribution of the Organic Anion Transporter OAT2 to the Renal Active Tubular Secretion of Creatinine and Mechanism for Serum Creatinine Elevations Caused by Cobicistat, *Kidney Int*, 86(2):350-357.
- Lu, C, GT Miwa, SR Prakash, LS Gan, and SK Balani, 2007, A Novel Model for the Prediction of Drug-Drug Interactions in Humans Based on In Vitro Cytochrome P450 Phenotypic Data, *Drug Metab Dispos*, 35(1):79-85.
- Mathialagan, S, AD Rodrigues, and B Hall, 2017, Evaluation of Renal Transporter Inhibition Using Creatinine as a Substrate In Vitro to Assess the Clinical Risk of Elevated Serum Creatinine, *J Pharm Sci*, 106(9):2535-2541.
- Mao, J, MA Mohutsky, JP Harrelson, SA Wrighton, and SD Hall, 2012, Predictions of Cytochrome P450-Mediated Drug-Drug Interactions Using Cryopreserved Human Hepatocytes: Comparison of Plasma and Protein-Free Media Incubation Conditions, *Drug Metab Dispos*, 40(4):706-716.
- Orr, ST, SL Ripp, TE Ballard, JL Henderson, DO Scott, RS Obach, H Sun, AS Kalgutkar, 2012, Mechanism-Based Inactivation (MBI) of Cytochrome P450

- Enzymes: Structure-Activity Relationships and Discovery Strategies to Mitigate Drug-Drug Interaction Risks, *J Med Chem*, 55(11):4896-4933.
- Pahwa, S, K Alam, A Crowe, T Farasyn, S Neuhoﬀ, O Hatley, K Ding, W Yue, 2017, Pretreatment with Rifampicin and Tyrosine Kinase Inhibitor Dasatinib Potentiates the Inhibitory Eﬀects Toward OATP1B1- and OATP1B3-Mediated Transport, *J Pharm Sci*, 106(8):2123-2135.
- Pan, Y, V Hsu, M Grimstein, L Zhang, V Arya, V Sinha, JA Grillo, and P Zhao, 2016, The Application of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Predict the Role of Drug Transporters: Scientific and Regulatory Perspectives, *J Clin Pharmacol*, 56:S122-31.
- Rostami-Hodjegan, A and G Tucker, 2004, In Silico Simulations to Assess the In Vivo Consequences of In Vitro Metabolic Drug-Drug Interactions, *Drug Discov Today Technol*, 1(4):441-448.
- Snoeys, J, M Beumont, M Monshouwer, and S Ouwerkerk-Mahadevan, 2015, Mechanistic Understanding of the Nonlinear Pharmacokinetics and Intersubject Variability of Simeprevir: A PBPK-Guided Drug Development Approach, *Clin Pharmacol Ther*, 99(2):224-234.
- Sun, Y, PP Chothe, JE Sager, H Tsao, A Moore, L Laitinen, N Hariparsad, 2017, Quantitative Prediction of CYP3A4 Induction: Impact of Measured, Free, and Intracellular Perpetrator Concentration From Human Hepatocyte Induction Studies on Drug-Drug Interaction Predictions, *Drug Metab Dispos*, 45(6):692-705.
- Tachibana, T, M Kato, T Watanabe, T Mitsui, and Y Sugiyama, 2009, Method for Predicting the Risk of Drug-Drug Interactions Involving Inhibition of Intestinal CYP3A4 and P-Glycoprotein, *Xenobiotica*, 39(6):430-443.
- Tweedie, D, JW Polli, EG Berglund, SM Huang, L Zhang, A Poirier, X Chu, B Feng, and C International Transporter, 2013, Transporter Studies in Drug Development: Experience to Date and Follow-Up on Decision Trees from the International Transporter Consortium, *Clin Pharmacol Ther*, 94(1):113-125.
- Tsamandouras, N, G Dickinson, Y Guo, S Hall, A Rostami-Hodjegan, A Galetin, and

- L Aarons, 2015, Development and Application of a Mechanistic Pharmacokinetic Model for Simvastatin and Its Active Metabolite Simvastatin Acid Using an Integrated Population PBPK Approach, *Pharm Res*, 32(6):1864-1883.
- Vaidyanathan, J, K Yoshida, V Arya, and L Zhang, 2016. Comparing Various In Vitro Prediction Criteria to Assess the Potential of a New Molecular Entity (NME) to Inhibit Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1 (OATP1B1) In Vivo, *J Clin Pharm*, 56 Suppl 7:S59-72.
- Varma, MV, Y Lai, B Feng, J Litchfield, TC Goosen, and A Bergman, 2012, Physiologically Based Modeling of Pravastatin Transporter-Mediated Hepatobiliary Disposition and Drug-Drug Interactions, *Pharm Res*, 29(10):2860-2873.
- Varma, MV, Y Lai, E Kimoto, TC Goosen, AF El-Kattan, and V Kumar, 2013, Mechanistic Modeling to Predict the Transporter- and Enzyme-Mediated Drug-Drug Interactions of Repaglinide, *Pharm Res*, 30(4):1188-1199.
- Varma, MV, J Lin, YA Bi, CJ Rotter, OA Fahmi, JL Lam, AF El-Kattan, TC Goosen, and Y Lai, 2013, Quantitative Prediction of Repaglinide-Rifampic in Complex Drug Interactions Using Dynamic and Static Mechanistic Models: Delineating Differential CYP3A4 Induction and OATP1B1 Inhibition Potential of Rifampicin, *Drug Metab Dispos*, 41(5):966-974.
- Varma, MV, RJ Scialis, J Lin, YA Bi, CJ Rotter, TC Goosen, and X Yang, 2014, Mechanism- Based Pharmacokinetic Modeling to Evaluate Transporter-Enzyme Interplay in Drug Interactions and Pharmacogenetics of Glyburide, *AAPS J*, 16(4):736-748.
- Venkatakrishnan, K, LL von Moltke, MH Court, JS Harmatz, CL Crespi, DJ Greenblatt, 2000, Comparison Between Cytochrome P450 (CYP) Content and Relative Activity Approaches to Scaling From cDNA-Expressed CYPs to Human Liver Microsomes: Ratios of Accessory Proteins as Sources of Discrepancies Between the Approaches, *Drug Metab Dispos*, 28(12):1493-1504.
- Vermet, H, N Raoust, R Ngo, L Esserméant, S Klieber, G Fabre, X Boulenc, 2016, Evaluation of Normalization Methods to Predict CYP3A4 Induction in Six Fully Characterized Cryopreserved Human Hepatocyte Preparations and HepaRG

Cells, Drug Metab Dispos, 44(1):50-60.

Vieira, ML, B Kirby, I Ragueneau-Majlessi, A Galetin, JY Chien, HJ Einolf, OA Fahmi, V Fischer, A Fretland, K Grime, SD Hall, R Higgs, D Plowchalk, R Riley, E Seibert, K Skordos, J Snoeys, K Venkatakrishnan, T Waterhouse, RS Obach, EG Berglund, L Zhang, P Zhao, KS Reynolds, and SM Huang, 2014, Evaluation of Various Static In Vitro-In Vivo Extrapolation Models for Risk Assessment of the CYP3A Inhibition Potential of an Investigational Drug, Clin Pharmacol Ther, 95(2):189-198.

Vieira MD, MJ Kim, S Apparaju, V Sinha, I Zineh, SM Huang, and P Zhao, 2014, PBPK model describes the effects of comedication and genetic polymorphism on systemic exposure of drugs that undergo multiple clearance pathways, Clin Pharmacol Ther, 95(5):550-557.

Vieira, ML, P Zhao, EG Berglund, KS Reynolds, L Zhang, LJ Lesko, and SM Huang, 2012, Predicting Drug Interaction Potential With a Physiologically Based Pharmacokinetic Model: A Case Study of Telithromycin, a Time-Dependent CYP3A Inhibitor, Clin Pharmacol Ther, 91(4):700-708.

Wagner, C, P Zhao, Y Pan, V Hsu, J Grillo, S Huang, and V Sinha, 2015, Application of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling to Support Dose Selection: Report of an FDA Public Workshop on PBPK, Clin Pharm Ther: Pharmacometrics & Systems Pharmacology, 4:226-230.

Wagner, C, Y Pan, V Hsu, JA Grillo, L Zhang, KS Reynolds, V Sinha, and P Zhao, 2015, Predicting the Effect of Cytochrome P450 Inhibitors on Substrate Drugs: Analysis of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling Submissions to the US Food and Drug Administration, Clin Pharmacokinet, 54(1):117-127.

Wagner C, Y Pan, V Hsu, V Sinha, and P Zhao, 2016, Predicting the Effect of CYP3A Inducers on the Pharmacokinetics of Substrate Drugs Using Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling: An Analysis of PBPK Submissions to the US FDA, Clin Pharmacokinet, 55(4):475-83.

Yang, J, M Jamei, KR Yeo, A Rostami-Hodjegan, and GT Tucker, 2007a, Misuse of the Well- Stirred Model of Hepatic Drug Clearance, Drug Metab Dispos,

35(3):501-502.

- Yang, J, M Jamei, KR Yeo, GT Tucker, and A Rostami-Hodjegan, 2007b, Prediction of Intestinal First-Pass Drug Metabolism, *Curr Drug Metab*, 8(7):676-684.
- Yang, J, M Liao, M Shao, M Jamei, KR Yeo, GT Tucker, and A Rostami-Hodjegan, 2008, Cytochrome P450 Turnover: Regulation of Sythesis and Degradation, Methods for Determining Rates, and Implications for the Prediction of Drug Interactions, *Curr Drug Metab*, 9(5):384-394.
- Yoshida, K, K Maeda, and Y Sugiyama, 2012, Transporter-Mediated Drug-Drug Interactions Involving OATP Substrates: Predictions Based on In Vitro Inhibition Studies, *Clin Pharmacol Ther*, 91(6):1053-1064.
- Yu, H, SK Balani, W Chen, D Cui, L He, WG Humphreys, J Mao, WG Lai, AJ Lee, HK Lim, C MacLauchlin, C Prakash, S Surapaneni, S Tse, A Upthagrove, RL Walsky, B Wen, and Z Zeng, 2015, Contribution of Metabolites to P450 Inhibition-Based Drug-Drug Interactions: Scholarship from the Drug Metabolism Leadership Group of the Innovation and Quality Consortium Metabolite Group, *Drug Metab Dispos*, 43(4):620-630.
- Yu, H and D Tweedie, 2013, A Perspective on the Contribution of Metabolites to Drug-Drug Interaction Potential: The Need to Consider Both Circulating Levels and Inhibition Potency, *Drug Metab Dispos*, 41(3):536-540.
- Zamek-Gliszczyński, MJ, CA Lee, A Poirier, J Bentz, X Chu, H Ellens, T Ishikawa, M Jamei, JC Kalvass, S Nagar, KS Pang, K Korzekwa, PW Swaan, ME Taub, P Zhao, A Galetin, and C International Transporter, 2013, ITC Recommendations for Transporter Kinetic Parameter Estimation and Translational Modeling of Transport-Mediated PK and DDIs in Humans, *Clin Pharmacol Ther* 94(1):64-79.
- Zamek-Gliszczyński, MG, X Chu, JW Polli, MF Paine, and A Galetin, 2014, Understanding the Transport Properties of Metabolites: Case Studies and Considerations for Drug Development, *Drug Metab Dispos*, 42(4):650-654.
- Zhang, L, YD Zhang, JM Strong, KS Reynolds, and SM Huang, 2008, A Regulatory Viewpoint on Transporter-Based Drug Interactions, *Xenobiotica*, 38(7-8):709-724.

Zhao, P, M Rowland, and SM Huang, 2012, Best Practice in the Use of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling and Simulation to Address Clinical Pharmacology Regulatory Questions, Clin Pharmacol Ther, 92(1):17-20.

Zhao, P, L Zhang, JA Grillo, Q Liu, JM Bullock, YJ Moon, P Song, SS Brar, R Madabushi, TC Wu, BP Booth, NA Rahman, KS Reynolds, E Gil Berglund, LJ Lesko, and SM Huang, 2011, Applications of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling and Simulation During Regulatory Review, Clin Pharmacol Ther, 89(2):259-267.

X장. 주요 용어 번역 목록

영문용어	한글용어
apical intestinal transporters	장의 내강쪽에 위치한 첨단부위 수송체
area under the plasma concentration-time curve(AUC)	혈중 농도-시간 곡선
bi-directional transport assays	양방향 수송체 분석
cell receptor assay	세포 수용체 분석
clearance	청소율
clinical DDI studies	임상 DDI 평가시험
concomitant medications	병용투여
cryopreserved hepatocyte	냉동 보존된 간세포
CYP enzymes	CYP 효소
cytotoxicity	세포 독성
dietary supplements	식이 보충제
donor	공여약물
dose	약물 용량
drug-dependent parameters	약물 의존적 매개변수
drug-drug interaction(DDI)	DDI(약물상호작용)
endoplasmic reticulum	소포체
endpoints	평가변수
enzyme modulator	효소 조절인자
fold-change method	배수-변화(Fold-change) 방법
guidance	가이드스
human liver tissue fraction	인체 간조직 세포 내 분획
in silico methods	in silico 방법
in vitro	in vitro 실험/평가
in vivo	in vivo
index inhibitor	지표 억제제
index perpetrator	DDI 유발 지표 약물
index substrate	DDI 영향 지표 약물
inducer	유도제
inhibitor	억제제

영문용어	한글용어
intestinal luminal cocentration	장내 농도
intrinsic clearance	내인성 청소율
investigational drug	개발 대상 의약품
liver homogenate(S9)	간 균질 현탁액(S9)
maximum hepatic inlet concentration	간 입구에서의 유리약물 최대 농도
mechanisms	기전
membrane vesicle system	세포막 소포 시스템
metabolites	대사체
metabolizing enzymes	대사효소
microsomes	마이크로솜
negative control	음성 표준 대조군
over-the-counter drugs	일반의약품
parameters	파라미터
parent drug	모약물
PBPK(physiologically based pharmacokinetic) modeling	PBPK 모델링
permeability	투과성
perpetrator	DDI 유발 약물
pharmacodynamics	약력학
pharmacokinetics	약동학
phenotype	표현형
positive control	양성 표준 대조군
predictive models	예측 모델
prescription drugs	전문의약품
probe substrate	탐색 기질
reaction phenotyping studies	반응 표현형 연구
recombinant human CYP enzymes	재조합 인체 CYP 효소
reversible inhibition	가역적 억제
sensitive index substrate	고감도 DDI 영향 지표 약물
sensitive substrate	고감도 DDI 영향 약물
solubility	용해도
steady state	항정 상태

영문용어	한글용어
subjects	시험대상자
substrate	기질
system-dependent parameters	시스템 의존적 매개변수
the unbound inhibition constant	유리약물 억제 상수
therapeutic dose	치료 용량
time-dependent inhibition(TDI)	시간 의존적 억제
transfected cells	형질전환 세포주
transporters	수송체
unbound plasma concentration	유리약물 혈장농도
uptake assays	흡수 분석/섭취 분석
vehicle control	대조군
victim	DDI 영향 약물

산업계를 위한 가이드스
시험관 내(In vitro)에서의 약물상호작용 평가
- Cytochrome P450 효소와 수송체 매개 약물상호작용

발행일 2021년 8월

발행인 한의약혁신기술개발사업단장

발행처 한국한의학진흥원 한의약혁신기술개발사업단



In vitro Drug Interaction Studies

Cytochrome P450 Enzyme and Transporter Mediated
Drug Interactions Guidance for Industry

