

## 인체 간 미세소체(microsome)를 이용한 loperamide의 시토크롬 (cytochrome) P450 3A4에 대한 억제작용

왈레스 기념 침례병원 소아과<sup>1</sup>, 가천대학교 의과대학 약리학과<sup>2</sup>

정명섭<sup>1</sup>, 이태호<sup>1</sup>, 문정웅<sup>1</sup>, 변순옥<sup>1</sup>, 박지영<sup>2</sup>, 김경아<sup>2</sup>

=Abstract=

### Inhibitory effect of Loperamide on Cytochrome P450 3A4 in Human Liver Microsomes

Myung-Sup Jeong, MD<sup>1</sup>, Tae-Ho Lee, MD<sup>1</sup>, Jeong-Woong Moon, MD<sup>1</sup>, Soon-Ok Byun, MD<sup>2</sup>,  
Ji-Young Park, MD<sup>2</sup>, Kyoung-Ah Kim, PhD<sup>2</sup>

*Department of Pediatrics, Wallace Memorial Baptist Hospital<sup>1</sup>, Busan, Korea*  
*Department of Pharmacology, Gachon Medical School<sup>2</sup>, Incheon, Korea*

**Background** : Loperamide, a peripherally acting opioid receptor agonist with a methadone-like structure and antidiarrheal action, is mainly metabolized to desmethylloperamide through N-demethylation pathway. It has been reported that CYP2C8 and CYP3A4 might play a crucial role in loperamide N-demethylation in therapeutic concentrations and loperamide might be an inhibitor of CYP3A4. However, there has been no available data to reveal it. The inhibitory effect of loperamide on CYP3A4 using midazolam 1'-hydroxylation was evaluated in vitro by human liver microsomes.

**Methods** : Various concentrations of loperamide or ketoconazole (a selective and potent inhibitor of CYP3A4) were co-incubated with midazolam in human liver microsomes. CYP3A4-catalyzed midazolam metabolite, 1'-hydroxymidazolam was analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) to determine the inhibitory potency of loperamide on midazolam 1'-hydroxylation using IC<sub>50</sub> (the concentration of inhibitor representing 50% inhibitory potency) and K<sub>i</sub> (apparent inhibitory constant) values.

**Results** : Loperamide inhibited concentration-dependently CYP3A4-catalyzed midazolam 1'-hydroxylation with apparent IC<sub>50</sub> values of 0.78 μM in human liver microsomes. Graphical analysis showed that loperamide had a potent inhibitory effect on midazolam 1'-hydroxylation with a K<sub>i</sub> value of 0.54 μM in a competitive manner.

**Conclusions** : Loperamide had a potent inhibitory effect on CYP3A4-catalyzed midazolam 1'-hydroxylation in human liver microsomes. However the predicted inhibition of loperamide within therapeutic ranges on the metabolism 1'-hydroxylation showed the low possibility of in vivo drug interaction of loperamide with the drug metabolized by CYP3A4.

**Key words** : Loperamide, Cytochrome P450 3A4 (CYP3A4), Drug interaction, In vitro-in vivo prediction

교신저자 : 김경아

소 속 : 가천의과대학교 약리학과

주 소 : 인천시 남동구 구월동 1198번지 (우편번호: 405-760)

전 화 : (032) 460-2153, 팩스 : (032) 422-5105 E-mail : kakim@gachon.ac.kr

## 서 론

Loperamide는 급성 및 만성 설사, 과민성 대장 증후군(irritable bowel syndrome), 및 대변실금(fecal incontinence)과 같은 질환의 치료에 널리 사용되고 있는 약물이다<sup>1-4)</sup>. Loperamide는 methadone과 유사한 구조를 가지고 있지만 혈액뇌장벽(blood-brain barrier; BBB)에 분포하는 P-당단백질(P-glycoprotein; P-gp)에 의해 약물이 혈액뇌장벽 밖으로 배출됨으로써, 아편유사체(opioid) 수용체에 작용하는 약물임에도 불구하고 중추신경계에 작용하지 않고 오로지 말초에만 작용하여<sup>5)</sup> P-gp의 기질약물로 시험관내(in vitro) 연구에서 뿐만 아니라 생체내(in vivo) 연구에서도 널리 사용되고 있다<sup>6,7)</sup>. 최근의 연구에 의하면 loperamide가 P-gp의 기질약물일 뿐만 아니라 cytochrome P450(CYP)에 대해 기질 약물로 작용하여 CYP2C8 및 CYP3A4에 의해 N-demethylation 경로를 통해 대사되는 것으로 보고되었다<sup>8)</sup>. 또한 최근 항암제인 irinotecan(CPT-11)의 대사과정이 loperamide 투여로 인하여 억제되어 독작용이 나타날 가능성이 제시되어<sup>9-11)</sup> irinotecan의 주 대사경로 중의 하나가 CYP3A4임을<sup>12-13)</sup> 고려할 때 loperamide에 의한 CYP3A4에 대한 억제작용을 loperamide에 의한 CYP3A4의 억제작용을 추측해 볼 수 있지만 loperamide의 CYP3A4 억제정도에 대해서는 알려진 바가 없다.

본 연구에서는 loperamide의 대사적 약물상호작용 가능성을 조사하기 위해 midazolam의 CYP3A4 대사경로인 midazolam 1'-hydroxylation에 대해 loperamide의 억제작용을 사람 간 미세소체(microsome)를 이용하여 검증하고자 한다.

## 방 법

### 1. 시약 및 인체 간 microsomes

Loperamide, ketoconazole, sodium phosphate, MgCl<sub>2</sub>, NADP, glucose-6-phosphate, 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase 등은 Sigma-Aldrich 사(St. Louis, USA)로부터 구입하여 사용하였다. Midazolam 및 이의 대사물질인 1'-hydroxymidazolam은 Ultrafine Chemicals 사(Manchester, UK)로부터 구입하였다. 증류수(deionized water)는 삼차증류수 장치를 통해 얻어 사용하였으며 methanol, 및 acetonitrile은 고성능액체크로마토그래피(High-performance liquid chromatography; HPLC) grade로 Fischer Scientific사(Pittsburgh, PA, USA) 제품을 사용하였다. 사람 간 미세소체(microsome)는(HG42, HG43, HG23)는 BD Gentest 사(Woburn, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

### 2. 인체간 microsomes을 이용한 CYP3A4 약물대사효소 활성도 평가

Loperamide에 의한 CYP3A4에 대한 억제 효과를 평가하기 위해 CYP3A4에 대해 지표약물(probe drug)로 사용되고 있는 midazolam의 1'-hydroxylation 대사 과정에 대한 억제 정도를 평가하였다<sup>14-16)</sup>. Loperamide는 methanol에 녹여 1 mM stock solution 형태로 만들어 -20 °C에 보관하여 사용하였으며 각각 최종 농도가 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10 μM이 되도록 반응액(mixture)에 첨가하여 사용하였다. CYP3A4에 대한 활성도(activity)는 midazolam의 주요 대사물질인 1'-hydroxymidazolam의 생성량을 단위 microsome에 대한 단백질 농도(mg)에서 단위 반응시간(분)당 생성되는 양을 기준으로 나타내었다.

모든 in vitro incubation 실험은 duplicate로 시행하였으며 평균값을 사용하였다. 대사반응을 위한 incubation 혼합액(mixture)은 100 mM sodium phosphate buffer(pH 7.4), 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 및 NADPH-regenerating system(0.5 mM NADP, 5

mM glucose-6-phosphate, 및 1 unit/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase)와 함께 각각의 human liver microsome은 최종 농도가 1 mg/ml이 되게 사용하였다. 억제제로 사용된 loperamide는 incubation 혼합액을 첨가하여 5 분간 전향온처리 (preincubation)시킨 후 CYP3A4의 기질약물인 midazolam을 첨가함으로써 반응을 시작하여 30분간 반응시켰다.

### 3. HPLC를 이용한 약물 농도 분석

Acetonitrile를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 phenacetin을 내부표준물질로 첨가한 후 4 °C에서 15000 xg로 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 일부 (100 µl)를 취하여 미세유리병 (microvial)에 옮긴 후 일부 (40 µl)를 취해 Shiseido사 (Tokyo, Japan)의 Nanospace SI-1 계열 HPLC장치 (모델 2001 펌프, 모델 2023 주입기, 모델 2002 UV검출기, 및 모델 2004 칼럼오븐)에 직접 주입하여 midazolam의 대사물질인 1'-hydroxymidazolam의 농도를 분석하였다. Shiseido사 (Tokyo, Japan)의 Capcell Pak C<sub>18</sub> UG120 HPLC 칼럼 (길이 250 mm, 내경 1.5 mm, 입자크기 5 µm)과 150 µl/min의 유속의 0.4 M acetate 완충액 (pH 4.0)-methanol-acetonitrile (550:48:402, v/v/v) 이동상으로 용리액 (eluant)을 분리하였다. 이 때 0.4 M acetate 완충액은 0.4 N acetic acid 164 ml과 0.4 N sodium acetate 36 ml을 첨가하여 제조하였다. 이때 UV 검출기를 통해 245 nm 파장으로 1'-hydroxymidazolam을 검출하였다. HPLC장치의 작동 및 자료는 DsChrom 99 (Donam Instrusment사, Suwon, Korea)로 취급 (handling) 하였다. 이 때 1'-hydroxymidazolam의 측정에 대한 표준곡선 (standard curve)은 0-20 µM 농도범위에서 직선범위 상에서 있었으며 검출한계는 2 nM이었다. 또한 분석방법의 일간 및 일내 변이계수는 10% 미만이었다.

### 4. 효소역학 경수 산출 및 평가

CYP3A4에 의해 촉매되는 midazolam 1'-hydroxylation을 loperamide가 억제하는 정도를 나타내는 IC<sub>50</sub> (효소활성도를 50% 억제하는데 요구되는 억제제의 농도)값은 loperamide의 농도에 따른 활성도 억제 곡선(curve)으로 부터의 값을 WinNonlin (version 2.0, Scientific Consulting Inc., Apex, NC, USA)를 이용한 비선형 회귀분석법 (nonlinear regression analysis)을 이용하여 산출하였다. K<sub>i</sub> (the equilibrium constant for inhibitor binding)값은 loperamide 농도에 대한 1'-hydroxymidazolam의 double-reciprocal plot을 도시한 후 여기서 계산된 기울기 (slope)에 대한 secondary plot으로부터 산출하였다<sup>17-19)</sup>.

## 결 과

CYP3A4에 의해 촉매되는 midazolam 1'-hydro-

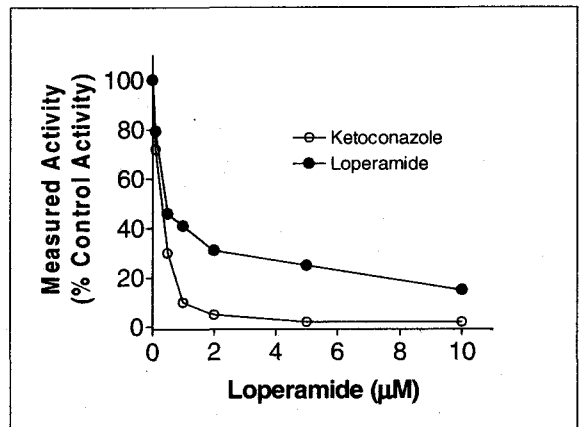
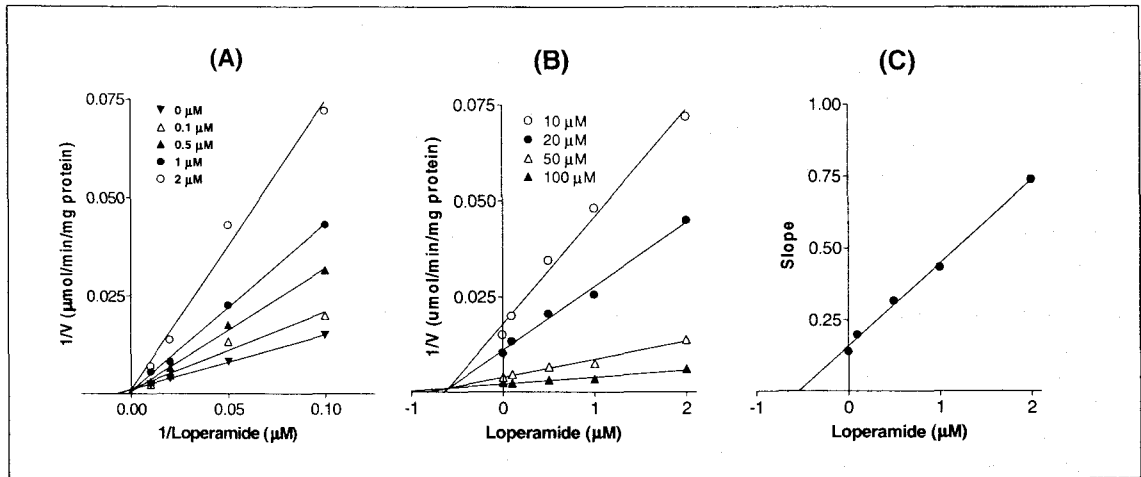


Fig. 1. Inhibitory effects of loperamide and ketoconazole on CYP3A4-catalyzed midazolam 1'-hydroxylation in human liver microsomes. Incubation conditions are described under materials and methods. Midazolam (25 µM) was used at concentrations around their corresponding K<sub>m</sub> values. Each data point represents an average of duplicate measurements from different human liver microsomes (HG42, HG43, HG23).



**Fig. 2.** Representative (A) Lineweaver-Burk plot of CYP3A4-catalyzed midazolam 1-hydroxylation in the absence (▼) or presence of 0.1 (△), 0.50 (▲), 1 (◆), or 2 (◇)  $\mu\text{M}$  loperamide, (B) Dixon plot for the inhibition by loperamide (0 to 2  $\mu\text{M}$ ) of CYP3A4-catalyzed midazolam 1-hydroxylation in human liver microsomes (HG43) with 10 (○), 20 (●), 50 (△), or 100 (▲)  $\mu\text{M}$  midazolam, and (C) secondary plot of slopes taken from Lineweaver-Burk plots versus loperamide concentration. Each data point represents the average of duplicate measurements

xylation의 효소 활성도는 (평균  $\pm$  표준편차,  $n=3$ )는  $58.2 \pm 7.5$  pmol/min/mg protein이었다. 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10  $\mu\text{M}$ 의 loperamide는 CYP3A4 기질 약물인 midazolam의 1'-hydroxylation을 용량의존적으로 억제하여 midazolam 1'-hydroxylation에 대한 loperamide의  $\text{IC}_{50}$ 값은  $0.78 \pm 0.22$   $\mu\text{M}$  (Fig. 1)로 또 다른 선택적 억제제인 ketoconazole이 midazolam 1'-hydroxylation에 대해 보이는  $\text{IC}_{50}$ 값인  $0.19 \pm 0.03$   $\mu\text{M}$ 에 비해 약 4배 정도 높게 관찰되었다. Loperamide의 midazolam 1'-hydroxylation에 대한 double reciprocal plot인 Lineweaver-Burk plot과 Dixon plot은 loperamide가 CYP3A4에 대해 상경적인(competitive) 억제작용을 나타내었으며 Lineweaver-Burk plot의 secondary plot을 이용하여 산출한  $K_i$ 값은  $0.54 \pm 0.17$   $\mu\text{M}$ 이었다 (Fig. 2).

### 고 찰

기존의 연구에서 loperamide는 P-gp에 대한 약

물로 시험관내 (in vitro) 및 생체내 (in vivo) 연구에 사용되어 왔으나<sup>5-7)</sup> 최근에 loperamide가 CYP3A4에 의해 대사되는 기질약물임이 보고되어<sup>8)</sup> loperamide가 CYP3A4에 결합하여 대사될 때 다른 CYP3A4 기질약물의 대사를 억제 (substrate inhibition)할 가능성이 있다<sup>20)</sup>. 본 연구에서는 CYP3A4 매개성 midazolam 1'-hydroxylation을 억제하는 loperamide의  $K_i$  값이 평균 0.54  $\mu\text{M}$ 로 erythromycin의  $K_i$ 값인 13-194  $\mu\text{M}$ <sup>21,22)</sup> 및 clarithromycin의  $K_i$ 값인 10-28  $\mu\text{M}$ <sup>23,24)</sup> 보다 낮았고 강력한 선택적 억제제로 알려진 ketoconazole의  $K_i$  값인 0.015-8  $\mu\text{M}$ 과<sup>21,25-27)</sup> 유사하여, 시험관내에서 loperamide는 상대적으로 강한 CYP3A4 효소에 대해 억제작용을 나타내었다.

항암제로 널리 사용되고 있는 irinotecan (CPT-11)의 경우 주요 약물부작용으로 설사를 많이 유발하며<sup>28)</sup> irinotecan의 투여용량에 의존적이며 irinotecan과 이의 주요 대사물질인 SN-38의 농도-시간 곡선하 면적(AUC)와 설사의 정도와 상관성

이 있음이 알려져 있다<sup>29-31)</sup>. 이러한 설사를 억제할 목적으로 loperamide가 많이 사용되고 있는데<sup>32)</sup> 최근의 연구에 의하면 loperamide가 irinotecan의 대사과정에 대해 상대적으로 강한 억제작용을 나타낼 수 있음이 보고된 바 있다<sup>9-11)</sup>. Irinotecan의 주요 대사경로가 CYP3A4와 관련이 있음<sup>12,13)</sup> 고려할 때 loperamide가 CYP3A4에 의한 irinotecan의 대사를 억제하는 것은 loperamide가 CYP3A4를 상격적으로 억제하는 것에 기인함을 알 수 있었다.

본 연구에서 loperamide가 CYP3A4 기질약물인 midazolam의 대사를 상격적으로 억제하였으므로, 이론적으로 간내 (hepatic) 대사 억제 의한 생체내에서 약물상호작용의 가능성은 다음과 같은 수식으로 예측할 수 있다: FDV (fractional decrement in reaction velocity) =  $\frac{[I]}{[I]+[Ki]}$  ([I] = 억제제 [loperamide의 농도])<sup>33,34)</sup>. 위의 수식 [I]인 약물대사효소가 존재하는 간내 세포에서의 loperamide의 약물농도에 대해서는 아직까지 보고된 바가 없어 세포내 loperamide 농도대신 loperamide의 혈중농도 2.3-13.4 nM임<sup>7)</sup> 대입하고, 위 수식의 [Ki]에 midazolam 1'-hydroxylation에 대한 loperamide의  $Ki$ 값의 평균값인 0.54  $\mu$ M를 대입하여 산출된 FDV값은 0.0004-0.0025%이었다. Midazolam 1'-hydroxylation에 대한 loperamide의  $Ki$ 값이 CYP3A4 대사효소에 대한 다른 억제제들의  $Ki$ 값과 비슷하거나 낮음에도 불구하고 FDV값이 낮게 산출된 것은 midazolam 1'-hydroxylation에 대한 loperamide의 평균  $Ki$ 값인 0.54  $\mu$ M보다 훨씬 낮은 혈중농도(2.3-13.4 nM)에 기인한 것으로 사료되며, 이렇게 낮은 FDV값은 loperamide와 CYP3A4기질약물간의 상호작용 가능성이 매우 적음을 의미한다. 그러나 loperamide가 옥탄올/물 분배계수 (octanol-water partition coefficient)가 커서 (log P [octanol/water]=5.2) 지방용해성이 높은 약물이고 약동학적으로 약물의 소실 반감기가 상대적으로 길고 분포용적이 큼<sup>7,35)</sup> 고려할 때 장기간 약물

을 사용하면 혈중약물농도가 증가함에 따라 간(liver) 등 조직으로 약물의 분포가 증가하여 loperamide의 농도가 혈중에서보다 조직에서 훨씬 높을 가능성을 배제할 수 없다<sup>34)</sup>. 하지만 본 연구결과로는 이에 대한 명확한 설명을 할 수 없어 이에 대한 명확한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서 사람 간 미소체체를 이용하여 CYP3A4의 활성도에 대한 loperamide의 억제정도를 관찰하였으나 CYP3A4의 발현이 간 뿐만 아니라<sup>36)</sup> 위장관에서도 많은 양이 발현되고 발현 정도가 간과 위장관이 서로 상관성이 있고 CYP3A4/5 대사효소의 활성정도 및 억제제에 의한 억제가 서로 유사함을 고려할 때<sup>37)</sup> 위장관 미세소체에서의 loperamide의 억제정도 및 형태는 간에서의 결과와 유사할 것으로 사료되나 이에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 본 연구에서 사용된 loperamide의 경우 지사제로써 널리 사용되고 있으며 대조약물로 사용한 ketoconazole은 진균 치료제로 사용되고 있고 특히 ketoconazole의 경우 시험관내 연구뿐만 아니라 생체내 CYP3A4억제제로 널리 사용되고 있다. Ketoconazole의 경우 많은 CYP3A4 기질약물과의 상호작용이 보고되었으나<sup>38)</sup> loperamide의 경우 본 연구결과를 근거로 할 때 비록 CYP3A4에 대한 시험관내 억제작용이 관찰되나 생체내에서는 상호작용의 가능성이 낮을 것으로 사료된다.

본 연구결과를 요약하면, 사람 간 미세소체를 이용한 시험관내 실험에서 loperamide는 midazolam 1'-hydroxylation을 상격적으로 강하게 억제하여 낮은  $Ki$ 값을 보였으나, 이  $Ki$ 값과 혈중 loperamide 농도를 이용하여 산출된 FDV값이 낮아 생체내에서 loperamide가 midazolam과 대사적 약물상호작용을 보일 가능성은 매우 낮을 것으로 사료된다. 그럼에도 불구하고 loperamide는 지질용해도(lipid solubility)가 매우 높은 약물이므로 loperamide와 CYP3A4 기질약물간의 상호작용을 배제할 수는 없다.

## 참 고 문 헌

1. Camilleri M. *Therapeutic approach to the patient with irritable bowel syndrome. Am J Med* 1998;107:27S-32S
2. Sach JA, Chang L. *Irritable bowel syndrome. Curr Treat Options Gastroenterol* 2002;5:267-278
3. Fogel R. *Fecal incontinence. Curr Treat Options Gastroenterol* 2001;4:261-266
4. Schiller LR. *Treatment of fecal incontinence. Curr Treat Options Gastroenterol* 2003;6:319-327
5. Schinkel AH, Wagenaar E, Mol CA, van Deemter L. *P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. J Clin Invest* 1996;97:2517-2524
6. Skarke C, Jarrar M, Schmidt H, Kauert G, Langer M, Geisslinger G, Lotsch J. *Effects of ABCB1 (multidrug resistance transporter) gene mutations on disposition and central nervous effects of loperamide in healthy volunteers. Pharmacogenetics* 2003;13:651-660
7. Pauli-Magnus C, Feiner J, Brett C, Lin E, Kroetz DL. *No effect of MDR1 C3435T variant on loperamide disposition and central nervous system effects. Clin Pharmacol Ther* 2003;74:487-498
8. Kim KA, Chung J, Jung DH, Park JY. *Identification of cytochrome P450 isoforms involved in the metabolism of loperamide in human liver microsomes. Eur J Clin Pharmacol* 2004;60:575-581
9. Haaz MC, Rivory L, Riche C, Vernillet L, Robert J. *Metabolism of irinotecan (CPT-11) by human hepatic microsomes: participation of cytochrome P-450 3A and drug interactions. Cancer Res* 1998;58:468-472
10. Slatter JG, Su P, Sams JP, Schaaf LJ, Wienkers LC. *Bioactivation of the anticancer agent CPT-11 to SN-38 by human hepatic microsomal carboxylesterases and the in vitro assessment of potential drug interactions. Drug Metab Dispos* 1997;25:1157-1164
11. Haaz MC, Rivory LP, Riche C, Robert J. *The transformation of irinotecan (CPT-11) to its active metabolite SN-38 by human liver microsomes. Differential hydrolysis for the lactone and carboxylate forms. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997;356:257-262
12. Hanioka N, Ozawa S, Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Nishimura T, Ando M, Sawada Ji J. *Interaction of irinotecan (CPT-11) and its active metabolite 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) with human cytochrome P450 enzymes. Drug Metab Dispos* 2002;30:391-396
13. Sai K, Kaniwa N, Ozawa S, Sawada Ji. *A new metabolite of irinotecan in which formation is mediated by human hepatic cytochrome P-450 3A4. Drug Metab Dispos* 2001;29:1505-1513
14. Park JY, Kim KA, Kim SL. *Chloramphenicol is a potent inhibitor of cytochrome P450 isoforms CYP2C19 and CYP3A4 in human liver microsomes. Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3464-3469
15. Kim KA, Park JY. *Inhibitory effect of glyburide on human cytochrome p450 isoforms in human liver microsomes. Drug Metab Dispos* 2003;31:1090-1092
16. Fayer JL, Petullo DM, Ring BJ, Wrighton SA, Ruterbories KJ. *A novel testosterone 6 beta-hydroxylase activity assay for the study of CYP3A-mediated metabolism, inhibition, and induction in vitro. J Pharmacol Toxicol Methods* 2001;46:117-123
17. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry. 4<sup>th</sup> ed. W.H. Freeman and Company, New York, p.206, 2005.*
18. Lineweaver H, Burk D. *The determination of enzyme dissociation constants. J Am Chem*

- Soc. 1934;56:658-666.
19. Schlamwitz M, Shaw A, Jackson WT. *Limitations of the Dixon plot for ascertaining nature of enzyme inhibition. Tex Rep Biol Med. 1969;27:483-488.*
  20. Katoh M, Nakajima M, Yamazaki H, Yokoi T. *Inhibitory potencies of 1,4-dihydropyridine calcium antagonists to P-glycoprotein-mediated transport: comparison with the effects on CYP3A4. Pharm Res 2000;17:1189-1197*
  21. Wrighton SA, Ring BJ. *Inhibition of human CYP3A catalyzed 1'-hydroxy midazolam formation by ketoconazole, nifedipine, erythromycin, cimetidine, and nizatidine. Pharm Res 1994;11:921-924*
  22. Gibbs MA, Kunze KL, Howald WN, Thummel KE. *Effect of inhibitor depletion on inhibitory potency: tight binding inhibition of CYP3A by clotrimazole. Drug Metab Dispos 1999;27:596-599*
  23. Jurina-Romet M, Crawford K, Cyr T, Inaba T. *Terfenadine metabolism in human liver. In vitro inhibition by macrolide antibiotics and azole antifungals. Drug Metab Dispos 1994;22:849-857*
  24. Iatsimirskaia E, Tulebaev S, Storozhuk E, Utkin I, Smith D, Gerber N, Koudriakova T. *Metabolism of rifabutin in human enterocyte and liver microsomes: kinetic parameters, identification of enzyme systems, and drug interactions with macrolides and antifungal agents. Clin Pharmacol Ther 1997;61:554-562*
  25. Gibbs MA, Thummel KE, Shen DD, Kunze KL. *Gibbs MA, Thummel KE, Shen DD, Kunze KL. Drug Metab Dispos 1999;27:180-187*
  26. Bourrie M, Meunier V, Berger Y, Fabre G. *Cytochrome P450 isoform inhibitors as a tool for the investigation of metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes. J Pharmacol Exp Ther 1996;277:321-332*
  27. Lampen A, Christians U, Guengerich FP, Watkins PB, Kolars JC, Bader A, Gonschior AK, Dralle H, Hackbarth I, Sewing KF. *Metabolism of the immunosuppressant tacrolimus in the small intestine: cytochrome P450, drug interactions, and interindividual variability. Drug Metab Dispos 1995;23:1315-1324*
  28. Bleiberg H, Cvitkovic E. *Characterisation and clinical management of CPT-11 (irinotecan)-induced adverse events: the European perspective. Eur J Cancer 1996;32A:S18-S23*
  29. Chabot GG, Abigeres D, Catimel G, Culine S, de Forni M, Extra JM. *Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of irinotecan (CPT-11) and active metabolite SN-38 during phase I trials. Ann Oncol 1995;6:141-151*
  30. Sasaki Y, Hakusui H, Mizuno S, Morita M, Miya T, Eguchi K, et al. *A pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of CPT-11 and its active metabolite SN-38. Jpn J Cancer Res 1995;86:101-110*
  31. Xie R, Mathijssen RH, Sparreboom A, Verweij J, Karlsson MO. *Clinical pharmacokinetics of irinotecan and its metabolites in relation with diarrhea. Clin Pharmacol Ther 2002;72:265-275*
  32. Barbounis V, Koumakis G, Vassilomanolakis M, Demiri M, Efremidis AP. *Control of irinotecan-induced diarrhea by octreotide after loperamide failure. Support Care Cancer 2001;9:258-260*
  33. Kim KA, Park JY. *Inhibitory effect of glyburide on human cytochrome p450 isoforms in human liver microsomes. Drug Metab Dispos 2003;31:1090-1092*
  34. von Moltke LL, Greenblatt DJ, Schmider J, Wright CE, Harmatz JS, Shader RI. *In vitro approaches to predicting drug interactions in vivo. Biochem Pharmacol 1998;55: 113-122*
  35. Mikus G, Schmidt L, Burhenne J, Ding R, Riedel KD, Tayrouz Y, Weiss J, Haefeli WE. *Reduction of saquinavir exposure by coad-*

- ministration of loperamide: a two-way pharmacokinetic interaction. Clin Pharmacokinet* 2004; 43:1015-1024
36. Gibbs MA, Thummel KE, Shen DD, Kunze KL. *Inhibition of cytochrome P-450 3A (CYP3A) in human intestinal and liver microsomes: comparison of Ki values and impact of CYP3A5 expression. Drug Metab Dispos* 1999;27:180-187
37. Lin YS, Dowling AL, Quigley SD, Farin FM, Zhang J, Lamba J, Schuetz EG, Thummel KE. *Co-regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and contribution to hepatic and intestinal midazolam metabolism. Mol Pharmacol* 2002;62: 162-172
38. Lomaestro BM, Piatek MA. *Update on drug interactions with azole antifungal agents. Ann Pharmacother* 1998;32:915-928