

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
平成 18 年度分担研究報告書

医薬品の薬物輸送の評価系確立に関する研究

分担研究者 杉山 雄一 東京大学大学院薬学系研究科 教授
研究協力者 楠原 洋之 東京大学大学院薬学系研究科 助教授
研究協力者 前田 和哉 東京大学大学院薬学系研究科 助手

研究要旨 医薬品体内動態における薬物間相互作用を予測することを目的として研究を行った。腎排泄過程については、methotrexate (MTX) と NSAIDs、fexofenadine と cimetidine との相互作用について解析を行った。MTX の管腔側排出過程に働くことが期待される候補トランスポーター（MRP2、MRP4、BCRP）による ATP-dependent な MTX の取り込みに対して、種々 NSAIDs およびそのグルクロン酸抱合体による阻害効果を比較した。MRP4 は比較的強く NSAIDs により阻害され、特に indomethacin により強く阻害された。臨床で報告されている薬物濃度を考慮すると、salicylate と indomethacin については MRP4 を阻害する可能性がある。ヒト腎臓への fexofenadine の取り込みは飽和性を示し、probenecid で阻害され、cimetidine ではわずかしき阻害を受けないことから、排出側の相互作用を仮定した。fexofenadine が腎刷子縁膜側トランスポーター（MATE1）の基質となること、ならびに cimetidine で阻害されることから、この薬物間相互作用が刷子縁膜側の排出の阻害であることが示唆された。肝取り込みトランスポーターである OATP1B3 に対する阻害効果を種々阻害剤について検討した。15 種類の化合物で阻害実験を行った結果、fluconazole、itraconazole、cimetidine を除く化合物で阻害がみられた。しかし、臨床濃度を考慮すると、cyclosporin A、rifampicin、azithromycin と probenecid は OATP1B3 を阻害する可能性が示唆された。

A. 研究目的

複数の医薬品が併用される現在の薬物療法では、安全性確保のために薬物間相互作用が生じないことを確認することは必須である。本研究では、トランスポーターが関与する組織移行性・排出過程における薬物間相互作用を定量的に評価するための試験系を確立することを目的とした。

腎近位尿細管ではトランスポーターによる分泌が行われる。probenecid はこの過程を阻害する医薬品としてよく知られてい

る。また、methotrexate (MTX) は大部分が尿中へと排泄される薬物であるが、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) により消失が遅延し、重篤な副作用が生じたことが過去報告されている。ラット、ヒト腎組織を用いた取り込み過程の阻害では、全ての相互作用を説明できないことを明らかとした。そこで、上皮細胞から管腔側への排出に関わるトランスポーターの阻害である可能性について検討した。また、同じく fexofenadine と cimetidine との相互作用は管腔側での排

出過程であることが示唆されている。そこで、ヒト腎臓を用いた阻害実験ならびに管腔側トランスポーターの発現系を用いて輸送実験を行った。

cyclosporin A は OATP1B1 を阻害し、cerivastatin を始めとする一連のアニオン型の HMG-CoA 還元酵素阻害剤の血漿中濃度を増加させる。近年 OATP1B3 が肝取り込みに関わる医薬品も見出されている。そこで、OATP1B3 の阻害による薬物間相互作用の可能性についてもあわせて評価した。

B. 研究方法

本研究は東京大学大学院薬学系研究科ならびに東京女子医科大学における倫理委員会の承認を得て行った。文書による同意を得た患者から全摘出受けた腎臓の正常部を実験に用いた。

腎皮質部を 300 μ m 厚の切片を調製した。切片を標識化合物とインキュベーションすることで取り込みを測定した。種々阻害剤を添加し、阻害効果を測定した。

腎近位尿細管の管腔側に発現する ABC トランスポーター (MRP2、MRP4、BCRP) の過剰発現系から膜ベシクルを調製し、ATP 依存的な MTX の取り込みに対する阻害効果を検討した。

hMATE1, hMATE2, rMate1 の過剰発現系を構築し、fexofenadine の取り込みを測定した。cimetidine による阻害効果を検討した。

OATP1B3 の過剰発現系への fexofenadine の取り込みを測定し、各種阻害剤の阻害定数を決定した。臨床投与量での非結合型薬物濃度に基づいて、薬物間相互作用の可能性について予測を行った。

C. 研究結果

MRP2、MRP4、BCRP について ATP 依存的な MTX の輸送が観察された。BCRP については indomethacin と phenylbutazone による阻害効果が見られたが、その効果は非常に弱いものであった。MRP2 では NSAIDs による阻害効果は見られなかった。MRP4 については、indomethacin と ketoprofen、ibuprofen、naproxen による阻害が見られた。Salicylate、diclofenac、indomethacin、ibuprofen、ketoprofen、naproxen、phenylbutazone の阻害定数を測定した。また、MRP2 については、代謝物であるグルクロン酸抱合体で阻害されることも明らかになった。

fexofenadine の腎排泄過程を probenecid と cimetidine が阻害することが臨床で報告されている。ヒト腎臓で飽和性の fexofenadine の取り込みを確認した。この fexofenadine の取り込みに対して、probenecid と cimetidine の阻害効果を検討したところ、probenecid は fexofenadine の取り込みに関わる OAT3 を強く阻害するものの、cimetidine の OAT3 に対する阻害効果は弱かった。fexofenadine の排泄側トランスポーターと考えている管腔側トランスポーターである MATE で取り込み実験を行った。MATE1 で飽和性の fexofenadine の取り込みが観察され、この取り込みは cimetidine で阻害された。

OATP1B3 の取り込みに対して、cyclosporin A、rifampicin、fluconazole、itraconazole、ketoconazole、clarithromycin、erythromycin、

azithromycin、ritonavir、lopinavir、probenecid、diltiazem、verapamil、omeprazole、cimetidine による阻害効果を検討した。fluconazole、itraconazole、cimetidine を除いて、阻害効果を示した。これらの化合物を除く、12 化合物について、阻害定数 (K_i 値) を測定した。

D. 考察

MRP4 と NSAIDs との相互作用について、臨床投与量での非結合型薬物濃度に基づくと、salicylate と indomethacin については、MRP4 を阻害する可能性が示唆された。排泄側を考慮しても、MTX と NSAIDs との相互作用を全て説明することが難しいことが明らかになった。親化合物との相互作用ではなく、代謝物による相互作用である可能性も有している。

ヒト腎で取り込み過程を評価したところ、fexofenadine の取り込みは probenecid で阻害されるものの、cimetidine では臨床投与量で得られる非結合型薬物濃度を超える濃度でしか阻害が見られなかった。つまり、cimetidine との相互作用は取り込み過程では説明できない。MATE1 が fexofenadine を基質とすることが明らかになった。MATE1 は cimetidine で阻害されることから、fexofenadine と cimetidine との相互作用は管腔側での排出過程の阻害であることが示唆された。

OATP1B3 について、臨床投与量での非結合型薬物濃度と比較を行うと、cyclosporin A と rifampicin は OATP1B3 による肝取り込みを強く阻害することが示唆された。azithromycin と probenecid によっても、相互作用が生じる可能性が示唆

されたが、その程度は非常に小さい（最大で 1.5 倍程度）ことが予想される。

E. 結論

BCRP や MRP2 は NSAIDs によりほとんど阻害されず、MRP4 は阻害される。しかし、臨床投与量を考慮すると、一部の NSAIDs(indomethacin と ketoprofen)が相互作用する可能性を有しているのみであり、臨床で報告されている全ての相互作用を説明することが出来ない。MRP2 は代謝物であるグルクロン酸抱合体では阻害されることから、親化合物ではなく、代謝物による相互作用である可能性も考慮する必要がある。

fexofenadine と probenecid、cimetidine との相互作用は尿細管の異なる部位の阻害であることが示唆された。probenecid は取り込み過程を、cimetidine は管腔側を阻害する可能性がある。

cyclosporin A と rifampicin は、OATP1B1 だけでなく、OATP1B3 も阻害し、薬物間相互作用を生じる可能性が示唆された。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. Hirano M., Maeda K., Shitara Y. and Sugiyama Y. Drug-drug interaction between pitavastatin and various drugs via OATP1B1. *Drug Metab Dispos.* 34: 1229-36, 2006.
2. Tahara H, Kusuvara H, Maeda K, Koepsell H, Fuse E. and Sugiyama Y. Inhibition of oat3-mediated renal uptake as a mechanism for

drug-drug interaction between fexofenadine and probenecid. *Drug Metab Dispos.* 34:743-7, 2006.

3. Nozaki Y., Kusuhashi H., Kondo T., Hasegawa M., Shiroyanagi Y., Nakazawa H., T. O. and Sugiyama Y. Characterization of the uptake of OAT1 and OAT3 substrates by human kidney slices. *J Pharmacol Exp Ther*, 321:362-9, 2007.

H. 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

医薬品の薬物動態相互作用の評価系確立に関する研究

分担研究者 頭金 正博 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 第二室長
研究協力者 黒瀬 光一 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 主任研究官
研究協力者 佐伯 真弓 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 リサーチ・レジデント

研究要旨： 医薬品の相互作用に影響を及ぼす CYP3A4 および P-糖タンパク (MDR1) などの誘導現象を評価するための *in vitro* アッセイを構築することを目的とした。ヒト HepG2 あるいはヒト Caco-2 に、核内受容体の VDR と PXR を共発現させ、CYP3A4 遺伝子あるいは MDR1 遺伝子のプロモーター領域を用いたレポータープラスミドで転写活性を測定した。その結果、リガンド非依存下の PXR は、VDR による CYP3A4 の転写活性を抑制することが明らかとなり、よりヒトに近い誘導能を持った *in vitro* アッセイ系を構築するためには、核内受容体間の相互作用を考慮することが必要であると考えられた。

A. 研究目的

現在、臨床においては複数の医薬品が同時に処方される場合が多く、それぞれの医薬品について薬物代謝酵素や薬物トランスポーターなどの誘導に関する情報を提供することは、医薬品による相互作用を防止する上で重要である。そこで、本研究では、医薬品による相互作用の発生において重要な要因となるヒト薬物代謝酵素の CYP3A4 や薬物トランスポーターの P-糖タンパク (MDR1) の誘導を制御している核内受容体 PXR (pregnane X receptor) と VDR (ビタミン D3 受容体) を培養細胞に共発現させ、よりヒトに近い誘導応答を示す培養細胞系の確立を試みた。さらにこのアッセイ系の解析を通して CYP3A4 および MDR1 の誘導メカニズムを解明し、個人差の発現

にどのように寄与するか検討することを目的とした。

B. 研究方法

CYP3A4 遺伝子のプロモーター領域をクローニングし luciferase 遺伝子の上流につないだレポータープラスミドを作製した。ヒト肝癌由来培養細胞株 HepG2 に、上記のレポータープラスミドとヒト VDR 遺伝子およびヒト PXR 遺伝子の発現プラスミドを種々の組み合わせで co-transfection した。24 時間培養した後、PXR あるいは VDR のリガンドである 10 μ M Rifampicin あるいは 25 nM 活性型ビタミン D3 を添加した後さらに 24 時間培養し細胞を回収した。回収した細胞溶解液中の luciferase 活性を測定し、それぞれの遺伝子についての誘導の指

標とした。Transfection 効率は co-transfection した renilla luciferase 活性に基づき補正した。ヒト MDR1 についても同様にプロモーター領域をクローニングし luciferase 遺伝子を用いたレポータープラスミドを作成した。

C. 研究結果

(1) HepG2 細胞に PXR と VDR を発現させた場合の CYP3A4 遺伝子の転写活性化

ヒト肝細胞由来の培養細胞株である HepG2 細胞に PXR と VDR の発現プラスミドを単独でそれぞれ 1 ng/well あるいは 10 ng/well ずつトランスフェクションして、それぞれの受容体のリガンド (Rifampicin あるいは活性型ビタミン D3) を添加し CYP3A4 遺伝子のレポーター遺伝子の転写活性を測定した。その結果、図 1 に示すように PXR と VDR はそれぞれの添加したリガンドに依存して CYP3A4 遺伝子の転写を活性化した。また、PXR と VDR を共発現させ、Rifampicin あるいは活性型ビタミン D3 を個別に添加した場合は、VDR あるいは PXR を単独で発現させた場合とほぼ同程度の転写の活性化を示した。さらに、PXR と VDR を共発現させ Rifampicin および活性型ビタミン D3 の両方のリガンドを同時に添加した場合の転写活性は単独で PXR を Rifampicin で活性化させた場合、あるいは単独で VDR を活性型ビタミン D3 で活性化させた場合の活性を超えることはなかった。

また、共発現させる PXR および VDR の発現プラスミドの量を 5 ng/well および 50 ng/well とそれぞれ 5 倍に増量して、同様に CYP3A4 レポーター遺伝子の転写活性を測

定した。その結果、図 2 に示すように単独でそれぞれの核内受容体を発現させたとき、図 1 に示す実験 (PXR 1ng/well、VDR 10ng/well) に比べて約 2 倍程度 CYP3A4 レポーター遺伝子の転写を添加したリガンドに依存して活性化した。この結果は、HepG2 細胞には図 1 の実験で観察された CYP3A4 のレポーター遺伝子の転写活性を十分上回る遺伝子の転写活性能力が備わっていることを示していた。従って図 1 で示された PXR と VDR を共発現させ Rifampicin および活性型ビタミン D3 の両方のリガンドを同時に添加した場合でも、転写活性は PXR を Rifampicin で活性化させた場合、あるいは VDR を活性型ビタミン D3 で活性化させた場合の活性を超えることはなかったことは、CYP3A4 遺伝子の転写活性化に必要な RXR やコアクチベーター等の転写の補助因子が不足したためではないことを示唆していた。また、PXR (5 ng/well) および VDR (50 ng/well) を共発現させ、両方のリガンドを添加した場合では、図 1 の実験と同じように、VDR あるいは PXR を単独で発現させた場合と転写の活性化の程度は、ほぼ同じであった。しかし、PXR (5 ng/well) および VDR (50 ng/well) を共発現させ活性型ビタミン D3 を添加した場合は、VDR を単独で発現させて活性型ビタミン D3 を添加した時に比べて、CYP3A4 遺伝子の転写活性は著しく低下していた。

(2) VDR で活性化された CYP3A4 の誘導に対するリガンド非存在下の PXR の影響

PXR (5 ng/well) および VDR (50 ng/well) を共発現させ、活性型ビタミン D3 を添加した際の CYP3A4 遺伝子の転写活性が

VDR を単独で発現させ活性型ビタミン D3 を添加した場合に比べて著しく低下していたので、発現させる VDR を 50 ng/well に固定して、PXR の発現量を 5 ng/well から 150 ng/well まで変動させて、活性型ビタミン D3 を添加し *CYP3A4* 遺伝子の転写活性を測定した。その結果、図 3 に示すようにリガンド非存在下の PXR によって *CYP3A4* 遺伝子の転写活性は徐々に上昇したが、活性型ビタミン D3 による *CYP3A4* 遺伝子の転写活性はリガンド非存在下の PXR の発現量に依存して抑制され、PXR を 150 ng/well トランスフェクションした際には、活性型ビタミン D3 添加による転写活性と非添加の際の転写活性に差は認められなかった。

(3) PXR で活性化された *CYP3A4* の誘導に対するリガンド非存在下の VDR の影響

活性型ビタミン D3 による *CYP3A4* 遺伝子の転写活性はリガンド非存在下の PXR によって抑制されたので、PXR の発現量を 15 ng/well に固定して VDR の発現量を 5 ng/well から 150 ng/well まで変動させ、Rifampicin を添加した際の *CYP3A4* 遺伝子の転写活性を測定した。その結果、図 4 に示すように PXR による *CYP3A4* 遺伝子の転写活性は、リガンド非存在下の VDR を発現させることによる影響をほとんど受けなかった。

(4) Caco-2 細胞に PXR と VDR 発現させた場合の *MDR1* の誘導

MDR1 遺伝子は *CYP3A4* 遺伝子と同様に PXR によって転写活性が活性化されることが報告されている。また、*MDR1* 遺伝子の産物である P-糖タンパクは活性型ビタミン

D3 によって誘導されることが知られている。従って、*CYP3A4* 遺伝子の転写活性化でみられた PXR と VDR による相互作用が、*MDR1* 遺伝子の転写でもみられる可能性がある。そこで、*MDR1* 遺伝子の転写調節領域をクローニングして、*MDR1* のレポーター遺伝子を構築し、大腸由来の細胞株である Caco-2 細胞を用いて、*MDR1* 遺伝子の転写活性を測定した。まず、PXR のみを 5 ng/well (96 well plate) 発現させ、Rifampicin による *MDR1* 遺伝子の転写を測定したところ、リガンド無添加の場合でも転写は 7 倍程度上昇した。これに Rifampicin を添加すると、約 2 倍に上昇した。一方、VDR をのみを 5 ng/well (96 well plate) 発現させたところ、リガンド無添加の場合には *MDR1* 遺伝子の転写活性はほとんど変動しなかったが、活性型ビタミン D3 を添加すると 4 倍程度に活性は上昇した。このようなリガンド非存在下の PXR による遺伝子の転写活性化の特徴は、*CYP3A4* 遺伝子を指標にした HepG2 細胞でも同様の傾向が観察されたが、*MDR1* 遺伝子を用いた Caco-2 細胞でより顕著に観察された。また、PXR と VDR を共発現させ両方のリガンドを添加したところ、*MDR1* 遺伝子の転写活性は、PXR を単独で発現させた際に測定された転写活性を超えることはなく、*CYP3A4* 遺伝子の場合と類似していた。また、核内受容体を共発現させた場合、リガンドを添加していないコントロール群の転写活性の値が、核内受容体を発現させていない場合に比べて 5 倍以上の活性を示すものの、活性型ビタミン D3 の添加による *MDR1* 遺伝子の転写活性は、活性型ビタミン D3 を添加していないコントロール群と

ほぼ同じ値を示し、*CYP3A4* 遺伝子と同様にリガンド非存在下の PXR によって VDR による *MDR1* 遺伝子の転写活性化は抑制されている可能性が示唆された。

D. 考察

Rifampicin などによる *CYP3A4* の誘導機構に関しては、遺伝子の転写レベルでの研究が行われ、転写開始点から上流 362 塩基対までの領域と転写開始点から上流に 7208 塩基対から 7835 塩基対までの間に、*CYP3A4* 遺伝子の転写を制御している領域が存在していることが明らかにされている。また、この領域に Rifampicin の受容体である PXR や活性型ビタミン D3 の受容体である VDR が結合することによって、*CYP3A4* 遺伝子の転写を活性化することも明らかにされている。このように、*CYP3A4* は複数種類の核内受容体が遺伝子上の同じ領域に作用して誘導されるが、これらの核内受容体間の互いの影響についての研究に関しては、未解明の点が多い。そこで、本研究の目的である、*in vivo* に近似した *CYP3A4* の誘導に関するアッセイ系の構築を目指した場合、これらの核内受容体を個別に単独で発現させたアッセイ系よりも複数種類発現させて核内受容体間の相互作用も含めたアッセイ系の方が、好ましいと考えられる。今回の研究結果からも、PXR や VDR を共発現させた場合、リガンド非存在下の PXR は VDR による *CYP3A4* 遺伝子の転写を抑制したが、一方、リガンド非存在下の VDR は PXR による転写活性に影響を及ぼさず、PXR と VDR を共発現させた場合は、それぞれを単独で発現させた場合の *CYP3A4* 遺伝子の転写と異なる特徴を示し

た。

CYP3A4 遺伝子の転写における核内受容体の相互作用のメカニズムに関しては、これらの核内受容体の共通したヘテロダイマーパートナーである RXR への結合を複数の受容体が存在することによって競合して、受容体としての活性が低下する可能性が考えられる。また、これらの受容体はリガンドが結合することによってコアクチベーターと呼ばれる補助核内因子と結合し、転写活性化能を発揮すると考えられているが、複数の受容体が発現することによってコアクチベーターへの結合に関して競合が生じ、転写活性化能が低下する可能性も考えられる。さらに、PXR と VDR に応答する *CYP3A4* 遺伝子上の塩基配列は重複していることが報告されている。従って、PXR と VDR が *CYP3A4* 遺伝子の転写調節領域の応答配列に対する結合の段階で競合している可能性も考えられる。いずれにしても、本研究で用いたアッセイ系の特性を明確にする必要があることから、*CYP3A4* 遺伝子の転写における核内受容体の相互作用のメカニズムを今後検討する予定である。

P-糖タンパクをコードしている *MDR1* 遺伝子についても PXR と VDR によって転写が活性化されることがわかった。従って、P-糖タンパクの誘導についても PXR と VDR が相互作用している可能性が考えられる。

E. 結論

ヒト肝癌由来培養細胞株 HepG2 に、*CYP3A4* のプロモーター領域を用いたレポータープラスミドと VDR、PXR の発現プラスミドを共発現させ *CYP3A4* 遺伝子の転

写活性を調べたところ、リガンド非依存下の PXR は、VDR による *CYP3A4* の転写活性を抑制することが明らかとなった。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

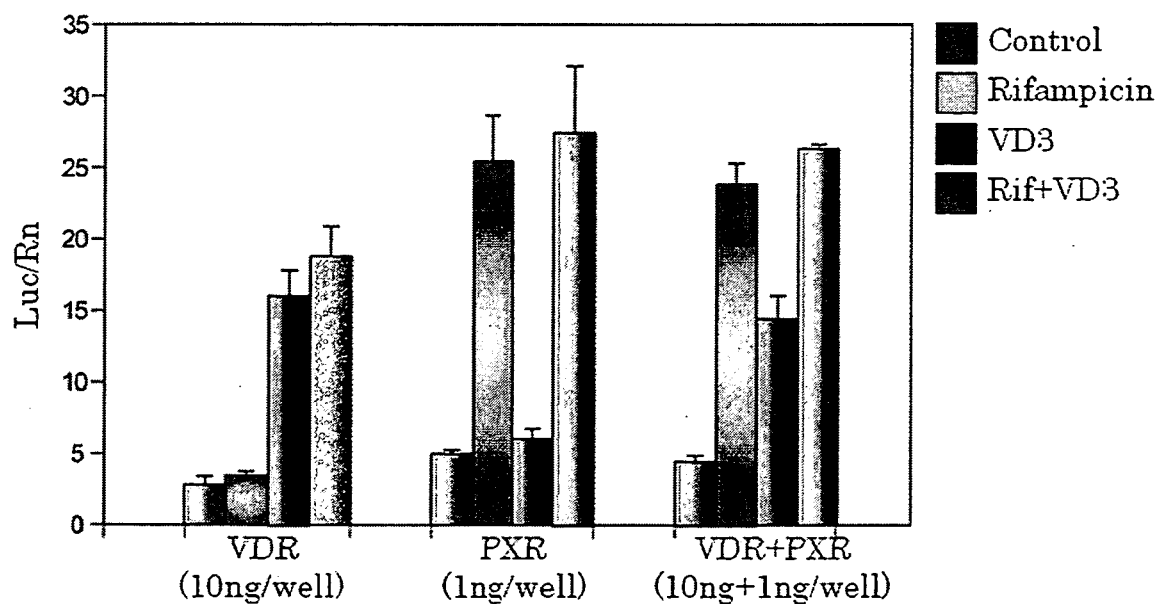


図1. PXR と VDR による CYP3A4 遺伝子の転写活性化 (1)

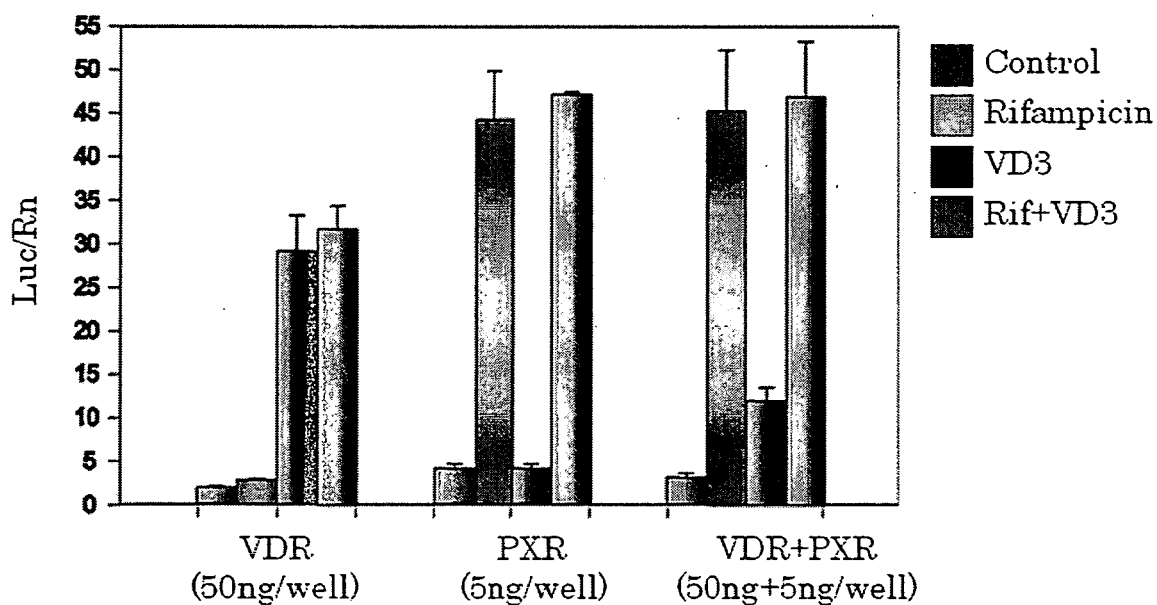


図2 PXR と VDR による CYP3A4 遺伝子の転写活性化 (2)

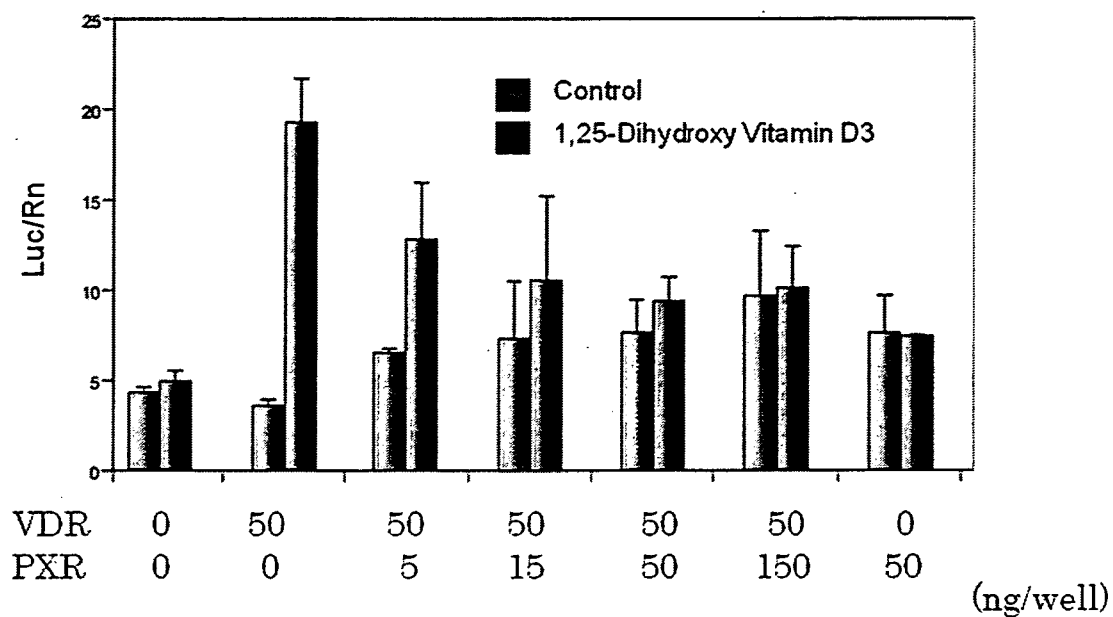


図3 VDRに依存した *CYP3A4* 遺伝子の転写活性化に対するリガンド非存在下の PXR の影響

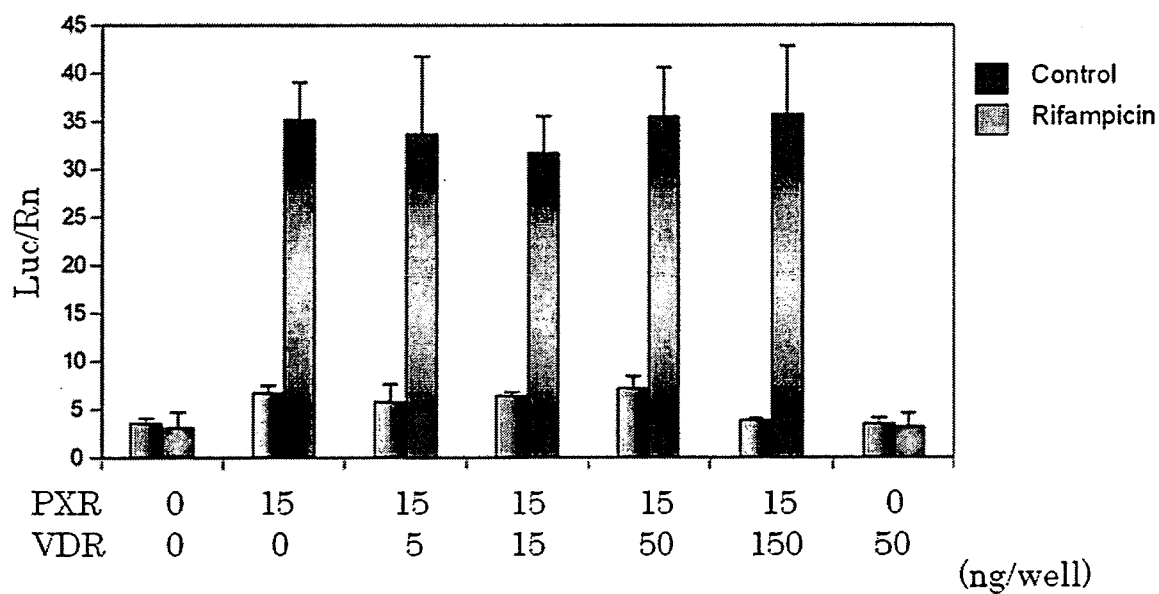


図4 PXRに依存した *CYP3A4* 遺伝子の転写活性化に対するリガンド非存在下の VDR の影響

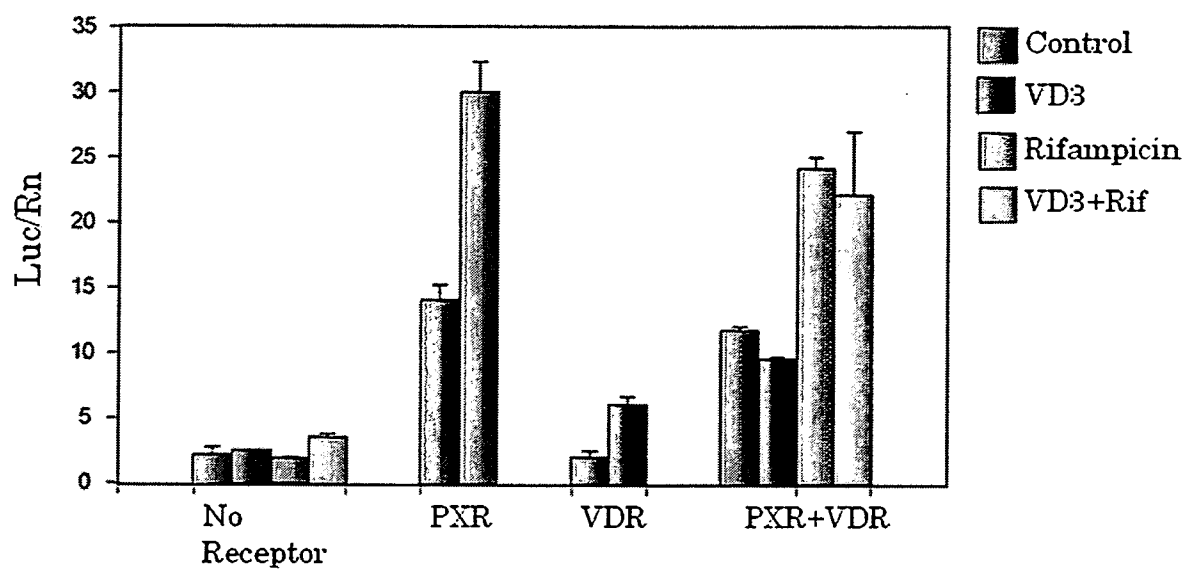


図5 Caco-2細胞でのPXRおよびVDRによるMDR1の転写活性化

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hirata-Koizumi M, Saito M, Miyake S, Hasegawa R	Adverse events caused by drug interactions involving glucuronoconjugates of zidovudine, valproic acid and lamotrigine, and analysis of how such potential events are discussed in package inserts of Japan, UK and USA.	J Clin Pharm Ther	32	177-185	2007
長谷川隆一	有害事象に関与する薬物動態相互作用	ファームステージ	6	43-48	2006
齋藤充生, 平田睦子, 浦野 勉, 三宅真二, 長谷川隆一	スタチン系薬剤の他剤との臨床および非臨床薬物動態学的相互作用の比較	医療薬学			印刷中
齋藤充生, 平田睦子, 浦野 勉, 三宅真二, 長谷川隆一	現行の添付文書に対する病院薬剤師の意識調査	医療薬学			印刷中
Hirano M, Maeda K, Shitara Y, Sugiyama Y	Drug-drug interaction between pitavastatin and various drugs via OATP1B1.	Drug Metab Dispos	34	1229-1236	2006
Tahara H, Kusuvara H, Maeda K, Koepsell H, Fuse E, Sugiyama Y.	Inhibition of oat3-mediated renal uptake as a mechanism for drug-drug interaction between fexofenadine and probenecid.	Drug Metab Dispos	34	743-747	2006
Nozaki Y, Kusuvara H, Kondo T, Hasegawa M, Shiroyanagi Y, Nakazawa H, Okano T, Sugiyama Y	Characterization of the uptake of organic anion transporter (OAT)1 and OAT3 substrates by human kidney slices.	J Pharmacol Exp Ther	321	362-369	2007

ORIGINAL ARTICLE

Adverse events caused by drug interactions involving glucuronoconjugates of zidovudine, valproic acid and lamotrigine, and analysis of how such potential events are discussed in package inserts of Japan, UK and USA

M. Hirata-Koizumi PhD, M. Saito MSc, S. Miyake PhD and R. Hasegawa PhD

Division of Medicinal Safety Science, National Institute of Health Sciences, Setagaya-ku, Tokyo, Japan

SUMMARY

Background and objective: As pharmacokinetic drug interactions frequently cause adverse events, it is important that the relevant information is given in package inserts (PIs). We previously analysed the provision of PIs for HMG-CoA reductase inhibitors and Ca antagonists, for which metabolism by cytochrome P450 could be a major interaction mechanism. In this article, we focus on interactions involving glucuronoconjugates because many drugs and their metabolites undergo this conjugation.

Methods: We reviewed clinical drug interactions related to glucuronoconjugates, focusing on reports of adverse events. Then, we picked out three important drugs (zidovudine, valproic acid and lamotrigine), and examined how the literature information is reflected in the relevant PIs in Japan, UK and USA.

Results and discussion: Pharmacokinetic interactions related to glucuronoconjugates were found with 33 drug combinations. Of these, five combinations induced clear adverse events: (i) severe anaemia due to zidovudine and caused by interaction with valproic acid, (ii) recurrence/increased frequency of seizure or increased manic states from a reduction in therapeutic effects of valproic acid caused by panipenem, (iii) meropenem or (iv) ritonavir and (v) of lamotrigine caused by oral contraceptives. Analysis of PIs showed a lack of description of the interaction of zidovudine with

valproic acid in the Japanese PI. The UK PI mentioned this interaction without quantitative data, whereas full information was given in the US PI. A lack of description was also present on the interaction between valproic acid with ritonavir, reported in 2006, in the PIs of all three countries. For the interactions involving valproic acid and panipenem or meropenem, even though marked reduction of blood valproic acid level has been reported, no quantitative data were provided in any of the PIs.

Conclusion: Five combinations were identified to cause severe adverse events because of interactions related to glucuronoconjugates. This information, including quantitative data, is not always properly provided in the relevant PIs in Japan, UK or USA. PIs should be improved to better inform healthcare providers and thereby help them and their patients.

Keywords: adverse event, drug interaction, glucuronidation, glucuronoconjugate, package insert

INTRODUCTION

Drugs are frequently co-administered with other drugs, which can change their pharmacokinetics (PK) as reflected by parameters such as area under the blood concentration time curve (AUC), maximum blood concentration (C_{max}) and half-life ($t_{1/2}$). Since such PK changes due to interactions may cause adverse effects, it is important to provide appropriate information in package inserts (PIs). We previously reported on the provision of PK interaction information in PIs of HMG-CoA reductase inhibitors and Ca antagonists (1, 2). For these two groups of drugs, the major interaction

Received 16 January 2006, Accepted 30 January 2007

Correspondence: M. Hirata-Koizumi, Division of Medicinal Safety Science, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan. Tel.: +81 3 37009528; fax: +81 3 37009788; e-mail: mkoizumi@nihs.go.jp

mostly involved metabolism by cytochrome P450. Drug transporters are implicated in some cases. In this article, we focus on glucuronidation because many drugs and their metabolites undergo this conjugation (3).

In the glucuronidation reaction, catalysed by UDP-glucuronosyltransferase (UGT), glucuronic acid is transferred from UDP-glucuronic acid to the drug molecule to make it more hydrophilic and thus more easily excreted (4). Various *in vitro* studies indicate potential drug interactions via glucuronidation (5). However, two recent reviews (5, 6), focusing on PK changes resulting from the interactions, showed that reported changes in the AUC of target drugs are typically less than 2-fold in co-medication with the effective drugs. Although these small changes may be clinically meaningless in most cases, it is necessary to provide appropriate information in PIs when adverse events are found or predictable. Therefore, we reviewed clinically important glucuronidation-related PK interactions, focusing on reports of adverse events, and then analysed how the relevant information is reflected in the Japanese, UK and US PIs for three important drugs.

METHODS

We conducted a MEDLINE search for keywords, 'glucuron*' and 'interact*', from 1966 to June 2006, and then extracted clinical glucuronidation-related drug interactions with changes in AUC, C_{max} , $t_{1/2}$ or blood concentration of the parent drugs. As the mechanism of interactions is not always mentioned clearly, we directed this study to drug interactions, which were considered to occur through the formation or elimination of glucuronconjugates. Then, we collected and reviewed adverse event data for all extracted combinations. Finally, we examined how this important literature information is reflected in the Japanese, EU and US PIs, focusing on three important drugs (zidovudine, valproic acid and lamotrigine). The current Japanese PIs were obtained from the website of the Pharmaceuticals and Medical Device Agency (<http://www.pmda.go.jp>). As there is no centralized authorization of these drugs in the EU, we obtained UK PIs from the electronic Medicines Compendium website (<http://emc.medicines.org.uk>), and analysed them. The US PIs were

obtained using the Physicians' Desk Reference Electronic Library, version 7.0.306a – 2006.1 (7). Each web site was accessed from February to August 2006.

RESULTS

Literature information on drug interactions related to glucuronconjugates

Table 1 shows 33 drug combinations for which a clinical PK glucuronidation interaction has been reported, with a summary of relevant literature information (change ratio of AUC, C_{max} , $t_{1/2}$ or blood concentration of parent drugs and adverse events or changes in pharmacological action). Although most increases in PK parameters or blood concentrations were less than 2-fold, marked decreases were also reported. Seven combinations, described below, led to adverse events or changes in pharmacological action.

In an HIV-infected patient undergoing treatment with antiretroviral regimens including zidovudine (600 mg/day), severe anaemia (haemoglobin level: 22 g/L) was recognized approximately 2 months after starting co-administration of valproic acid (1000 mg/day) (haemoglobin level measured 126 g/L at onset of the co-medication) (9). Although there was no data on the blood level of zidovudine in this case, a crossover study using 6 HIV-seropositive patients showed a 1.8-fold increase in zidovudine AUC after valproic acid co-administration for 4 days (zidovudine; 300 mg/day, valproic acid; 750 or 1500 mg/day) without changes in haematological parameters (8). It was reported that approximately 75% of oral zidovudine dose was excreted as the glucuronconjugate in urine in humans (55). In an *in vitro* study using human liver microsomes, valproic acid inhibited UGT activity toward zidovudine within the clinical concentration range (56), thereby providing a possible mechanism for the interaction.

There were nearly 20 case reports of epilepsy patients showing a marked decrease in blood concentration of valproic acid (to <10% at maximum) with concomitant administration of panipenem or meropenem (18–25). Seven of the cases resulted in recurrence or increased frequency of seizure 2–16 days after starting the co-medication. The major pathway for metabolism of valproic acid

Table 1. Literature information on clinically relevant drug-interactions involving glucuronoconjugates

Affected drugs	Effectors	PK change ^a			Adverse events or changes in pharmacological action	References
		AUC	C _{max}	t _{1/2}		
Zidovudine	Valproic acid	1.8	1.4	1.1	severe anaemia ^b	(8, 9)
	Fluconazole	1.1–1.8	1.0–1.8	1.1–2.3	–	(10, 11)
	Probenecid	1.6–2.1	1.4	1.4	–	(12, 13)
	Methadone	1.2–1.4	1.1–1.3	1.0–1.2	–	(14)
	Atovaquone	1.3	1.0	1.0	–	(15)
	Rifampicin	0.5	0.5	0.9	–	(16)
	Ritonavir	0.7	0.7	1.0	–	(17)
Valproic acid	Panipenem	<0.1–0.4 ^{b,c}			increased frequency of seizure ^b	(18, 19)
	Meropenem	<0.1–0.5 ^{b,c}			recurrence/increased frequency of seizure ^b	(20–25)
	Imipenem	0.5 ^{b,c}			– ^b	(20, 21)
	Ritonavir ^d	0.5 ^{b,c}			increased manic states ^b	(26)
Lamotrigine	Oral contraceptives	0.5	0.6	n.d.	recurrence/increased frequency of seizure ^b	(27, 28)
	Rifampicin	0.6	1.0	0.6	–	(29)
	Ritonavir ^e	0.5	0.6	0.5	–	(30)
Lorazepam	Probenecid	n.d.	n.d.	2.3	–	(31)
Temazepam	Oral contraceptives	0.6	0.8	0.6	less sedative	(32, 33)
Olanzapine	Probenecid	1.3	1.2	n.d.	–	(34)
Indomethacin	Probenecid	1.7	n.d.	1.1	increased antirheumatic effects	(35)
Acetaminophen	Probenecid	1.1	1.3	1.6–1.7	–	(31, 36)
	Propranolol	n.d.	1.5	1.3	–	(37)
	Ranitidine	1.6	1.9	n.d.	–	(38)
	Oral contraceptives	n.d.	1.1	0.7–0.9	–	(39–41)
Isofezolac	Probenecid	1.7–2.2	1.4–1.7	n.d.	–	(42)
Ketoprofen	Probenecid	2.3	1.6–1.7	1.9	–	(43, 44)
Naproxen	Probenecid	1.8–2.5	1.0–1.3	1.4–2.6	–	(45)
Zomepirac	Probenecid	4.3	2.2	n.d.	–	(46)
Diflunisal	Probenecid	1.5–1.7 ^c			–	(47, 48)
Mycophenolate mofetil	Tacrolimus	1.6 ^{f,g}	1.3 ^{f,g}	n.d.	–	(49)
	Rifampicin	0.3 ^{b,f}	0.5 ^{b,f}	n.d.	– ^b	(50)
Phenprocoumon	Oral contraceptives	0.8	1.0	0.9	–	(51)
Clofibrate	Probenecid	1.8 ^d			–	(52)
	Oral contraceptives	n.d.	n.d.	0.6	–	(53)
Ethinyl oestradiol	Ritonavir	0.6	0.7	0.8	–	(54)

^aChange ratio of AUC, C_{max}, t_{1/2} or blood concentration of parent drugs in co-administration to control value.^bCase report.^cBlood concentration.^dThe interaction was reported after starting antiretroviral treatment of lopinavir/ritonavir, zidovudine and lamivudine. The authors (26) suggested ritonavir was the most likely causative agent.^eThe interaction was reported in combination of lamotrigine and lopinavir/ritonavir in clinical study. The authors (30) suggested ritonavir was the most likely causative agent.^fPlasma level of mycophenolic acid (active form of mycophenolate mofetil).^gResults of non-crossover study with renal transplant patients, and those receiving mycophenolate mofetil with cyclosporine were selected as a control.

–, Not reported; n.d., no data available.

is glucuronidation in humans (57). The latest mechanistic experimental studies using rats and monkeys showed no effect of carbapenem-like antibiotics on UGT activity toward valproic acid, but marked inhibition of hydrolysis of the glucuronconjugates back to valproic acid (58).

Reduction of the therapeutic effect of valproic acid was also reported in a patient with bipolar disorder with initiation of HIV treatment with lopinavir/ritonavir, zidovudine and lamivudine (26). This patient showed an approximately 50% decrease in blood valproic acid level and became increasingly manic 21 days after starting antiretroviral therapy. The authors cited ritonavir as the most likely cause because of the decrease in blood concentrations of the other drugs, principally eliminated via glucuronidation (zidovudine, lamotrigine, ethinyl oestradiol, as shown in Table 1), by ritonavir (17, 30, 54). As increase in hepatic UGT activity towards ethinyl oestradiol has reported in rats given ritonavir orally for 14 days (59), the mechanism is likely to be ritonavir-mediated induction of glucuronidation of valproic acid.

Oral contraceptives were also reported to decrease blood concentrations of lamotrigine and temazepam, whose major route of elimination is glucuronidation. Five cases of increased frequency/recurrence of seizures, associated with a 40–60% decrease in plasma levels of lamotrigine 5 days to 2 months after starting co-medication with oral contraceptives, have been reported (28). On the other hand, two epileptic patients co-administered lamotrigine and oral contraceptives, developed adverse effects associated with lamotrigine monotherapy such as nausea, vomiting and dizziness. These effects were associated with a 2.5- to 3.6-fold increase in the plasma level of lamotrigine 1–4 weeks after the discontinuation of oral contraceptives. For temazepam, the AUC were 40% lower in healthy women taking oral contraceptives than that of a group of control women (32). In that comparative study, there were no differences in psychomotor or memory function between the two groups, but users of oral contraceptives were less sedated during the first 2 h of temazepam treatment (33). Most oral contraceptives contain a combination of an oestrogen, ethinyl oestradiol and a progestogen (60). A recent prospective study showed that ethinyl oestradiol reduced serum lamotrigine concentrations but progestogens did

not (60). Therefore, the interactions of lamotrigine and temazepam with oral contraceptives is likely to be induction of UGT by ethinyl oestradiol.

A crossover study using patients with classical or definite rheumatoid arthritis showed that a 3-week combination with probenecid enhanced the therapeutic efficacy of indomethacin with a 70% increase in the AUC, but did not affect the frequency of adverse effects on the central nervous and gastrointestinal systems (35). For indomethacin, it was reported that about 60% of an oral dose is excreted in the urine predominantly in glucuronidated form (61). In the crossover study (35), there was no significant change in the plasma concentration of glucuronconjugates of indomethacin, but the urinary elimination rate of the glucuronconjugates was 60% lower during the probenecid period. Therefore, the mechanism was considered to involve inhibition of glucuronidation as well as renal tubular secretion of the glucuronconjugates and consequential accumulation of the glucuronconjugates in plasma and increased hydrolysis to indomethacin. In addition, as noted by the authors (35), reduction of biliary clearance could also contribute to the interaction because indomethacin undergoes extensive enterohepatic circulation in man, with a significant proportion excreted in the bile as glucuronconjugates (62–64).

Provision of the information on drug interactions related to glucuronconjugates in Japanese, UK and US PIs

Zidovudine. The PIs of three drugs (zidovudine, valproic acid and lamotrigine) were analysed for the five drug combinations clearly associated with adverse effects. The sections concerned and the quantitative data provided in the PIs of the three countries are summarized in Table 2.

The Japanese PI of zidovudine does not mention its interaction with valproic acid, but mentions all the other reported interactions with quantitative data. Only the interaction with probenecid, carries a recommendation that a longer dosing interval is necessary with co-medication. In the UK PI for zidovudine, all reported interactions, except that with ritonavir, are mentioned. With rifampicin, under special warnings and precautions for use (abbreviated as 'special warnings') it is stated that concomitant use should be avoided. In the section

Table 2. Comparison of the description of drug interactions related to glucuronoconjugates of zidovudine, valproic acid and lamotrigine in the Japanese, UK and US PIs

Drugs of PI	Combined drugs	Japanese PIs		UK PIs		US PIs	
		Section of statement	Quantitative data ^a	Section of statement	Quantitative data ^a	Section of statement	Quantitative data ^a
Zidovudine	<u>Valproic acid</u>	–		Interactions	–	Precautions	AUC: 1.8
	Fluconazole	Precautions	C_{max} : 1.8	Interactions	–	Precautions	AUC: 1.7
	Probenecid	Precautions	$t_{1/2}$: 1.5, CL: 0.3	Interactions	AUC: 2.0	Precautions	AUC: 2.0
	Methadone	(not marketed)		Interactions	–	Precautions	AUC: 1.4
	Atovaquone	(not marketed)		Interactions	AUC: 1.4	Precautions	AUC: 1.3
	Rifampicin	Precautions	AUC: 0.8, CL: 2.5	Special warnings	AUC: 0.5	Precautions	AUC: 0.5
	Ritonavir	Precautions	AUC: 0.7, C_{max} : 0.7	–		Precautions	AUC: 0.7
Valproic acid	<u>Panipenem</u>	Contraindications –		(not marketed)		(not marketed)	
	<u>Meropenem</u>	Contraindications –		Interactions	–	Precautions	–
	<u>Imipenem</u>	Contraindications –		Interactions	–	–	
	<u>Ritonavir</u>	–		–		–	
Lamotrigine	<u>Oral contraceptives</u>	[Lamotrigine is not marketed]		Special warnings	AUC: 0.5, C_{max} : 0.6 CL: 2.0	Precautions	AUC: 0.5, C_{max} : 0.6, CL: 2.0
	Rifampicin			Interactions	–	Precautions	AUC: 0.6, CL: 2.0
	Ritonavir			–		–	

For interactions with reported adverse events, combined drugs are underlined.

Interactions: interaction with other medicinal products and other forms of interaction.

Special warnings: special warnings and precautions for use

–: not mentioned; CL, clearance.

^aQuantitative data provided in the PIs are shown as change ratio in AUC, C_{max} , $t_{1/2}$ and CL in co-medication to control value

on interactions with other medicinal products and other forms of interaction (abbreviated as 'interactions'), the UK PI notes that patients should be closely monitored for potential toxicity of zidovudine when co-medicated with valproic acid, fluconazole, probenecid and methadone. It further states that clinical significance is unknown for the interaction with atovaquone. Quantitative data is given only for interactions with probenecid, atovaquone and rifampicin. The US PI provides more information than the Japanese and UK PIs. All of the reported interactions are tabulated with quantitative data and conditions of the clinical study in the clinical pharmacology section. It is noted in the precautions section that dose reduction may be considered for patients experiencing pronounced anaemia or other severe zidovudine-associated

events while receiving chronic co-administration with some of the listed drugs.

Valproic acid. In the Japanese and UK PIs, interactions with carbapenem-like antibiotics are mentioned with a statement regarding decrease in blood level of valproic acid and probable recurrence of seizure. These combinations are contraindicated in the Japanese PI, whereas the interaction section in the UK PI states that close monitoring of valproic acid blood level is recommended if these antibiotics have to be administered concurrently. However, the US PI only notes in the precautions section that sub-therapeutic valproic acid levels have been reported when the drug was co-administered with meropenem, and no statement is given on interaction with imipenem. None of the PIs for Japan, UK

or USA provides quantitative data on the interactions with carbapenems. Interaction with ritonavir is not mentioned in any PI.

Lamotrigine. Lamotrigine is not marketed in Japan. The UK PI of lamotrigine states a possible reduction in seizure control by coadministration of oral contraceptives, and possible adverse effects following withdrawal of the co-medication, in the special warnings section. It also provides quantitative data and clinical study conditions in the interactions section, and methods of dose-adjustment in the posology and method of administration section. On the other hand, rifampicin is only listed as one of the inducers of lamotrigine glucuronidation in the interactions section, and the effects of the interaction including quantitative data are not mentioned in the UK PI. For both interactions with oral contraceptives and rifampicin, the US PI provides quantitative data and clinical study conditions in the precautions section. There are also statements on methods of dose adjustments in co-medication with oral contraceptives in the dosage and administration section. In the UK and US PIs of lamotrigine, there is no mention of the interaction with ritonavir.

DISCUSSION

Pharmacokinetic drug interactions may occasionally lead to marked adverse reactions. In Japan, a PK interaction between sorivudine and fluorouracil drugs caused severe haematopathy, resulting in 15 deaths within 40 days of launch of sorivudine in 1993 (65, 66). As insufficient description in the PIs was pointed out as one of the causes, PIs were drastically revised with emphasis on the section on drug interactions (change of narrative forms to tabular forms, classification and arrangement in order by level of importance, etc.). Currently, Japanese PIs are written according to the improved 1997 guidelines (67–69). However, our previous research focusing on the PK interactions of HMG-CoA reductase inhibitors and Ca antagonists showed that Japanese PIs still failed to provide quantitative data and information on the mechanisms involved (1, 2). Similarly, there also appeared to be insufficient information on the latest drug interactions and inadequate referencing in Japanese PIs (70).

In this study, we analysed information on interactions related to glucuronconjugates in Japanese, UK and US PIs. A general literature research, revealed five combinations with interactions clearly leading to adverse events (zidovudine with valproic acid, valproic acid with panipenem, meropenem or ritonavir and lamotrigine with oral contraceptives, as shown in Table 1). Information about these interactions is essential for the proper use of the drugs concerned. The incidence of these adverse events in co-medicated patients cannot be reliably estimated as they were all from case reports, but their occurrence is sufficiently predictable given the likely mechanisms involved. We found a lack of description of those interactions in the PIs in one or more of the three countries surveyed. In the case of valproic acid interaction with ritonavir, the information published in 2006 was too recent to be included in the PIs, but this should be rectified as soon as possible.

There are an additional four combinations for which adverse events are not reported but can be predicted with reasonable assurance, because the changes in PK parameters or blood concentrations are comparable with those seen with combinations, which have led to harm. They are zidovudine with fluconazole or probenecid, valproic acid with imipenem and lamotrigine with ritonavir (Table 1). Among the four combinations, there were no statements on the imipenem interaction in the US PI of valproic acid. Likewise there was no statement on ritonavir in either UK or US PI of lamotrigine, but the latter interaction has only been published in 2006. These should be described, with quantitative data, in the PIs as soon as possible.

Several cases for which adverse events are reported or highly predictable are not quantitatively described in the PIs (Table 2). This is essential information for healthcare providers to inform their prescribing.

In conclusion, the information on important drug–drug interactions, including quantitative data, is not always properly provided in the PIs of drugs in Japan, UK or USA. This shortcoming should be remedied as soon as possible to help healthcare providers and their patients.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by a grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

The authors have no conflicts of interest directly relevant to the content of this manuscript.

REFERENCES

- Saito M, Hirata Koizumi M, Urano T, Miyake S, Hasegawa R (2005) A literature search on pharmacokinetic drug interactions of statins and analysis of how such interactions are reflected in package inserts in Japan. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, **30**, 21–37.
- Saito M, Hirata Koizumi M, Miyake S, Hasegawa R (2005) Comparison of information on the pharmacokinetic interactions of Ca antagonists in the package inserts from three countries (Japan, USA and UK). *European Journal of Clinical Pharmacology*, **61**, 531–536.
- Willkinson GR (2001) Pharmacokinetics: the dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, eds. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, 10th edn. New York: McGraw-Hill, 3–29.
- Ouzzine M, Barre L, Netter P, Magdalou J, Fournel Gigueux S (2003) The human UDP-glucuronosyltransferases: structural aspects and drug glucuronidation. *Drug Metabolism Reviews*, **35**, 287–303.
- Kiang TK, Ensom MH, Chang TK (2005) UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interactions. *Pharmacology & Therapeutics*, **106**, 97–132.
- Lin JH, Wong BK (2002) Complexities of glucuronidation affecting in vitro in vivo extrapolation. *Current Drug Metabolism*, **3**, 623–646.
- PDR (2006). PDR Electronic Library Version 7.0.306a – 2006.1. New Jersey: Thomson PDR.
- Lertora JJ, Rege AB, Greenspan DL, Akula S, George WJ, Hyslop NE Jr, Agrawal KC. (1994) Pharmacokinetic interaction between zidovudine and valproic acid in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **56**, 272–278.
- Antoniou T, Gough K, Yoong D, Arbess G (2004) Severe anemia secondary to a probable drug interaction between zidovudine and valproic acid. *Clinical Infectious Diseases*, **38**, e38–40.
- Sahai J, Gallicano K, Pakuts A, Cameron DW (1994) Effect of fluconazole on zidovudine pharmacokinetics in patients infected with human immunodeficiency virus. *The Journal of Infectious Diseases*, **169**, 1103–1107.
- Brockmeyer NH, Tillmann I, Mertins L, Barthel B, Goos M (1997) Pharmacokinetic interaction of fluconazole and zidovudine in HIV-positive patients. *European Journal of Medical Research*, **2**, 377–383.
- Kornhauser DM, Petty BG, Hendrix CW, Woods AS, Nerhood LJ, Bartlett JG, Lietman PS (1989) Probenecid and zidovudine metabolism. *Lancet*, **2**, 473–475.
- de Miranda P, Good SS, Yarchoan R, Thomas RV, Blum MR, Myers CE, Broder S (1989) Alteration of zidovudine pharmacokinetics by probenecid in patients with AIDS or AIDS-related complex. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **46**, 494–500.
- McCance Katz EF, Rainey PM, Jatlow P, Friedland G (1998) Methadone effects on zidovudine disposition (AIDS Clinical Trials Group 262). *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, **18**, 435–443.
- Lee BL, Tauber MG, Sadler B, Goldstein D, Chambers HF (1996) Atovaquone inhibits the glucuronidation and increases the plasma concentrations of zidovudine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **59**, 14–21.
- Gallicano KD, Sahai J, Shukla VK *et al.* (1999) Induction of zidovudine glucuronidation and amination pathways by rifampicin in HIV-infected patients. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **48**, 168–179.
- Cato A Jr, Qian J, Hsu A, Levy B, Leonard J, Granneman R (1998) Multidose pharmacokinetics of ritonavir and zidovudine in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **42**, 1788–1793.
- Nagai K, Shimizu T, Togo A *et al.* (1997) Decrease in serum levels of valproic acid during treatment with a new carbapenem, panipenem/betamipron. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **39**, 295–296.
- Yamagata T, Momoi MY, Murai K, Ikematsu K, Suwa K, Sakamoto K, Fujimura A (1998) Panipenem-betamipron and decreases in serum valproic acid concentration. *Therapeutic Drug Monitoring*, **20**, 396–400.
- Coves Orts FJ, Borrás Blasco J, Navarro Ruiz A, Murcia Lopez A, Palacios Ortega F (2005) Acute seizures due to a probable interaction between valproic acid and meropenem. *The Annals of Pharmacotherapy*, **39**, 533–537.
- Llinares Tello F, Bosacoma Ros N, Hernandez Prats C, Climent Grana E, Selva Otaolaurruchi J, Ordovas Baines JP (2003) Pharmacokinetic interaction between valproic acid and carbapenem-like antibiotics: a discussion of three cases. *Farmacia hospitalaria*, **27**, 258–263.
- Clause D, Declaire PY, Vanbinst R, Soyer A, Hantson P (2005) Pharmacokinetic interaction between valproic acid and meropenem. *Intensive Care Medicine*, **31**, 1293–1294.
- De Turck BJ, Diltoer MW, Cornelis PJ, Maes V, Spapen HD, Camu F, Huyghens LP (1998) Lowering