

# Remming van P-glycoproteïne en cytochroom P450 3A verhoogt de absorptie, maar niet de hersenpenetratie van oraal toegediende taxanen

Jeroen J.M.A. Hendrikk<sup>ab\*</sup>, Jurjen S. Lagas<sup>a</sup>,  
Els Wagenaar<sup>b</sup>, Hilde Rosing<sup>a</sup>, Jan H.M. Schellens<sup>cd</sup>,  
Jos H. Beijnen<sup>acd</sup> en Alfred H. Schinkel<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Apotheek Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam.

<sup>b</sup> Moleculaire Oncologie, Nederlands Kanker Instituut, Amsterdam.

<sup>c</sup> Klinische Farmacologie, Nederlands Kanker Instituut, Amsterdam.

<sup>d</sup> Departement Farmaceutische Wetenschappen, Universiteit Utrecht.

\* Correspondentie: J.Hendrikk@nki.nl.

## Kernpunten

- Gelijktijdige orale toediening van taxanen met een P-gp-remmer en een CYP3A-remmer zorgt voor een sterke verhoging van de plasmaconcentraties van de taxanen.
- De effecten van remming van P-gp in de bloed-hersenenbarrière op de hersenpenetratie van paclitaxel zijn verschillend na orale en intraveneuze toediening van paclitaxel.
- Gelijktijdige orale toediening van taxanen met een P-gp-remmer heeft geen invloed op de hersenpenetratie van de taxanen.

## Inleiding

Paclitaxel (Taxol) en docetaxel (Taxotere) zijn oncolytica die behoren tot de groep van de taxanen en zijn afgeleid van extracten uit de taxusboom. Deze taxanen worden via intraveneuze infusie veelvuldig toegepast in de eerste- en tweedelijnsbehandeling van diverse vormen van kanker (onder andere niet-kleincellig longcarcinoom, ovarium-, borst-, maag- en prostaatkanker) [1, 2]. De ontwikkeling van een orale formulering van taxanen is al langere tijd een van de onderzoekslijnen van onze onderzoeksgroep vanwege de vele voordelen van orale toediening [1, 3]. Orale toediening van taxanen is namelijk niet alleen patiëntvriendelijker dan intraveneuze toediening, maar ook is een (dag)opname voor de toediening niet meer nodig. Tevens worden in de orale formulering de hulpstoffen Cremophor EL en polysorbaat 80 vermeden. Deze hulpstoffen vergroten in de intraveneuze formuleringen de oplosbaarheid van de taxanen, maar kunnen ook een allergische reactie veroorzaken. Een orale toedieningsvorm maakt het bovendien mogelijk andere toedieningsschema's te gebruiken, zoals metronome therapie (frequente toediening van lage doseringen oncolytica). Metronome therapie met klassieke cytostatica richt zich niet alleen op het direct doden van de

## ABSTRACT

*Oral co-administration of elacridar and ritonavir enhances plasma levels of oral paclitaxel and docetaxel without affecting relative brain accumulation*

### OBJECTIVE

To study the influence of inhibitors of P-glycoprotein (P-gp) and cytochrome P450 (CYP) 3A on bioavailability of taxanes. The intestinal uptake of paclitaxel and docetaxel is seriously hampered by drug efflux through P-gp and drug metabolism via CYP3A. The resulting low oral bioavailability can be boosted by co-administration of P-gp or CYP3A4 inhibitors.

### DESIGN AND METHODS

Paclitaxel or docetaxel (10 mg/kg) was administered to CYP3A4-humanized mice after administration of the P-gp inhibitor elacridar (25 mg/kg) and the CYP3A inhibitor ritonavir (12.5 mg/kg). Plasma and brain concentrations of the taxanes were measured.

### RESULTS

Oral co-administration of the taxanes with elacridar increased plasma concentrations of paclitaxel (10.7-fold,  $P < 0.001$ ) and docetaxel (4.0-fold,  $P < 0.001$ ). Co-administration with ritonavir resulted in 2.5-fold (paclitaxel,  $P < 0.001$ ) and 7.3-fold (docetaxel,  $P < 0.001$ ) increases in plasma concentrations. Co-administration with both inhibitors simultaneously resulted in further increased plasma concentrations of paclitaxel (31.9-fold,  $P < 0.001$ ) and docetaxel (37.4-fold,  $P < 0.001$ ). Although boosting of orally applied taxanes with elacridar and ritonavir potentially increases brain accumulation of taxanes, we found that only brain concentrations, but not brain-to-plasma ratios – which reflect brain penetration – were increased after co-administration with both inhibitors.

### CONCLUSION

The oral availability of taxanes can be enhanced by co-administration with oral elacridar and ritonavir, without increasing the relative brain penetration of the taxanes.

Hendrikk JJMA, Lagas JS, Wagenaar E, Rosing H, Schellens JHM, Beijnen JH, Schinkel AH. Remming van P-glycoproteïne en cytochroom P450 3A verhoogt de absorptie, maar niet de hersenpenetratie van oraal toegediende taxanen. *PW Wetenschappelijk Platform*. 2015;9:a1531.

Dit artikel is een ingekorte vertaling van: Hendrikk JJ, Lagas JS, Wagenaar E, Rosing H, Schellens JH, Beijnen JH, Schinkel AH. Oral co-administration of elacridar and ritonavir enhances plasma levels of oral paclitaxel and docetaxel without affecting relative brain accumulation. *Br J Cancer*. 2014 May 27;110(11):2669-76.

tumorcellen, maar vooral op het remmen van de angiogenese en daarmee op een vermindering van de bloedtoevoer van de tumor. Deze toedieningsschema's kunnen de effectiviteit van taxanen vergroten en bijwerkingen als gevolg van hoge plasmaconcentraties verminderen [4, 5].

Een belangrijke beperking voor de orale toediening van taxanen is de lage biologische beschikbaarheid [1, 3]. Paclitaxel en docetaxel zijn slecht in water oplosbaar, wat opname in de darm bemoeilijkt. Bovendien wordt de opname uit de darm geremd door actief transport door P-glycoproteïne (P-gp, MDR1, ABCB1) terug de darm in en wordt de systemische blootstelling beperkt door *first pass*-metabolisme via cytochroom-P450-enzymen (CYP-enzymen) [6-13].

P-gp is een lid van de familie van *ATP-binding cassette* (ABC) effluxtransporters en komt voor in verschillende weefsels, zoals darm-, lever- en nierweefsel, maar ook in de bloed-hersenbarrière [14]. P-gp functioneert als een geneesmiddelpomp die ATP kan hydrolyseren en met de vrijgekomen energie een breed scala aan geneesmiddelen tegen een steile concentratiegradiënt uit de cel kan pompen. Afhankelijk van het weefsel waar P-gp voorkomt, vervult de geneesmiddelpomp verschillende functies. In het darm-epitheel transporteert P-gp de opgenomen taxanen terug naar het darmlumen en remt zo de absorptie, terwijl in de bloed-hersenbarrière de taxanen in de systemische circulatie teruggesompt worden, waardoor de hersenpenetratie beperkt wordt. In de lever en de nier zorgt P-gp voor een verhoogde excretie van taxanen door actief effluxtransport naar gal en urine [15].

CYP3A4 is een lid van de CYP-superfamilie. De CYP-enzymen zijn verantwoordelijk voor het grootste deel van het fase-I-metabolisme van geneesmiddelen [16]. CYP-enzymen komen voornamelijk voor in de lever, maar sommige subtypes komen ook voor in het darmepitheel. CYP3A4 heeft een aandeel van ongeveer 40% van de totaal aanwezige CYP-enzymen in de lever en een aandeel van 80% in de darm [17]. Docetaxel wordt nagenoeg volledig gemetaboliseerd via CYP3A4-enzymen, terwijl paclitaxel zowel via CYP3A4 als via CYP2C8 wordt gemetaboliseerd. In tegenstelling tot CYP3A4 komt CYP2C8 echter alleen voor in de lever en niet in de darm [17].

Docetaxel is een goed substraat voor P-gp, maar paclitaxel wordt nóg efficiënter getransporteerd door P-gp. Daarbij is het metabolisme van paclitaxel maar voor een klein deel afhankelijk van CYP3A4. Op basis hiervan werd aangenomen dat de biologische beschikbaarheid na orale toediening van paclitaxel voornamelijk beperkt werd door P-gp en de orale biologische beschikbaarheid van docetaxel voornamelijk door CYP3A4. Bij muizen waarbij P-gp- en/of Cyp3a-genen niet tot expressie komen, waren echter plasmaconcentraties van beide taxanen verhoogd na orale toediening [12, 13]. Dit suggereert dat beide systemen belangrijk zijn voor de orale beschikbaarheid van zowel paclitaxel als docetaxel. Het belang van CYP3A4 in het metabolisme van paclitaxel werd verder ondersteund door

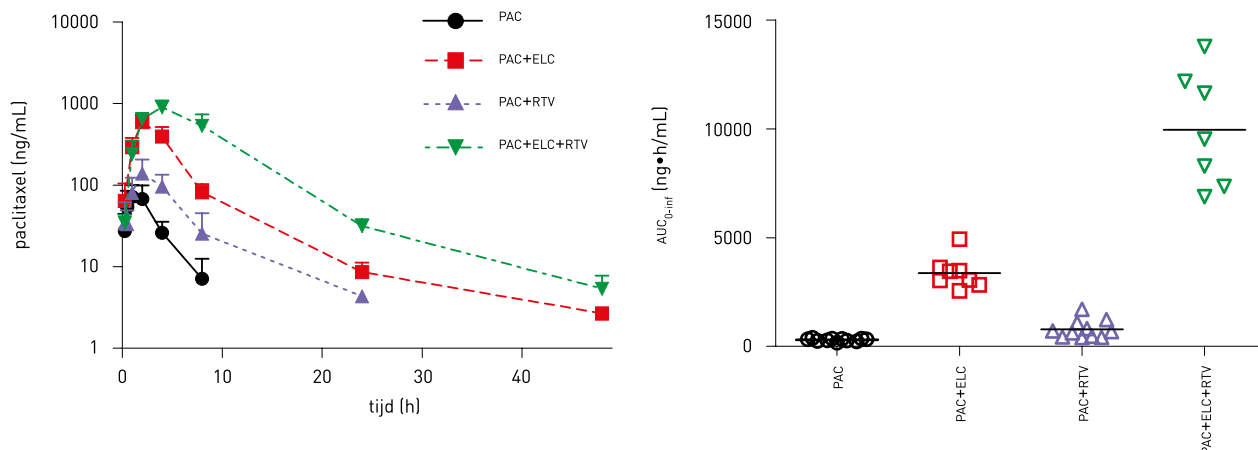
onze bevinding dat humaan CYP3A4 veel efficiënter is in het metaboliseren van paclitaxel dan Cyp3a bij de muis [12]. Een veelbelovende strategie om de orale biologische beschikbaarheid van deze taxanen te vergroten, is dan ook het combineren van orale formuleringen van paclitaxel of docetaxel met remmers van zowel P-gp als CYP3A4. In (pre)klinische studies is al aangetoond dat de oppervlakte onder de plasmaconcentratie-tijdcurve (AUC) – een maat voor de blootstelling – na orale toediening van paclitaxel of docetaxel sterk verhoogd kan worden bij muizen en patiënten door toediening van de CYP3A4-remmer ritonavir [12, 18-20]. De toevoeging van de P-gp-remmer elacridar aan oraal paclitaxel zorgt ook voor een verhoogde AUC bij muizen en patiënten [21, 22]. Elacridar is ontwikkeld als een remmer van P-gp om resistentie tegen chemotherapie te verminderen, maar is nooit op de markt gebracht. In experimenten wordt elacridar echter veelvuldig gebruikt als sterke remmer van P-gp.

Er zijn echter ook potentiële risico's verbonden aan het verhogen van de orale biologische beschikbaarheid van de taxanen door remming van metaboliserende en geneesmiddeltransporterende eiwitten. Zo kan oraal toegediend elacridar de hersenpenetratie van intraveneus toegediend paclitaxel verhogen doordat het P-gp in de bloed-hersenbarrière kan remmen [23]. Het combineren van oraal toegediende taxanen met een remmer van P-gp brengt dus een potentieel risico op hersentoxiciteit met zich mee. Dit risico wordt nog eens onderstreept door de bevindingen uit studies met zogenoemde knock-out-muizen die door genetische manipulatie de eiwitten P-gp en/of Cyp3a missen. Wanneer deze proefdieren met orale taxanen behandeld werden, waren de plasmaconcentraties substantieel hoger dan bij normale muizen [12, 13]. Gelijktijdige toediening van remmers van P-gp en CYP3A4 met de orale taxanen kan dus bij patiënten leiden tot een hogere systemische blootstelling aan taxanen. Dit kan het risico op bijwerkingen en toxiciteit in de dagelijkse klinische praktijk verhogen.

In deze preklinische studie hebben we onderzocht of de biologische beschikbaarheid van oraal toegediende taxanen verder verhoogd kan worden door remming van P-gp en CYP3A, die werd gerealiseerd door gelijktijdige toediening van elacridar en ritonavir. Om een idee te krijgen of deze strategie tot meer bijwerkingen kan leiden, hebben we ook gekeken in welke mate het P-gp-transport in de bloed-hersenbarrière beïnvloed wordt door het toedienen van deze remmers.

## Methoden

Voor dit onderzoek is gebruikgemaakt van Cyp3a-knock-out-muizen in een FVB-achtergrond met specifieke expressie van humaan CYP3A4 in de lever en de darm (Cyp3a<sup>-/-</sup>Tg-3A4<sub>Hep/Int</sub>) [24]. Vanwege het verschil in efficiëntie van het paclitaxelmetabolisme tussen humaan CYP3A4 en Cyp3a-enzymen bij de muis kunnen experimenten met

**Figuur 1 Plasmaconcentratie-tijdcurves van paclitaxel**

Links: plasmaconcentratie-tijdcurves bij Cyp3a<sup>-/-</sup>-muizen met expressie van humaan CYP3A4 in lever en darm (Cyp3a<sup>-/-</sup>-Tg-3A4<sub>hep/int</sub>) na orale toediening van 10 mg/kg paclitaxel. Paclitaxel is alleen toegediend (●), of gecombineerd met 25 mg/kg elacridar (■), 12,5 mg/kg ritonavir (▲) of met zowel elacridar als ritonavir (▼). Waarden vertegenwoordigen het gemiddelde ± standaarddeviatie.

Rechts: oppervlakte onder de plasmaconcentratie-tijdcurve bij extrapolatie tot oneindig (AUC<sub>0-inf</sub>). De gegevens zijn gepresenteerd als individuele gegevenspunten en de lijn vertegenwoordigt het gemiddelde. Verschillen in de AUC<sub>0-inf</sub> tussen alle groepen zijn statistisch significant (P < 0,001). Per groep zijn 7-11 dieren gebruikt.

ELC: elacridar; PAC: paclitaxel; RTV: ritonavir.

De figuur is oorspronkelijk gepubliceerd in [27].

wild-type muizen het effect van humaan CYP3A4 op de farmacokinetiek van paclitaxel bij de mens onderschatten [12]. Dit verschil wordt geminimaliseerd door het gebruik van dit gehumaniseerde muismodel. Een verschil in efficiëntie van docetaxelmetabolisme tussen de mens, de wild-type muis en de gehumaniseerde muis werd niet waargenomen [12].

De muizen kregen in het experiment 10 mg/kg paclitaxel of docetaxel oraal toegediend. Voorafgaand aan de toediening van de taxanen vond orale toediening van 12,5 mg/kg ritonavir en/of 25 mg/kg elacridar plaats. De remmers werden 15 minuten vóór de toediening van het taxaan gegeven. Een controlegroep kreeg alleen het taxaan toegediend. Twee uur voorafgaand aan het experiment werd de muizen voedsel onthouden om de variabiliteit in de opname te verminderen. Alle geneesmiddelen werden direct in de maag toegediend in een oplossing van water + ethanol + polysorbaat 80 (10 + 1 + 1 v/v). Via de staartvene werden van elke muis gedurende 24 uur meerdere bloedmonsters afgenomen. Een aparte groep muizen is gebruikt om de hersenpenetratie te bepalen. Bij deze groep werd twee uur na toediening van het taxaan een hartpunctie verricht en de hersenen werden geïsoleerd. Alle monsters zijn gemeten met vloeistofchromatografie gekoppeld aan massaspectrometrie (LC-MS/MS) volgens eerder gevalideerde methoden [25, 26].

De verkregen gegevens zijn vergeleken met eerder gepubliceerde resultaten uit experimenten met knock-out-muizen om de mate van P-gp-remming door elacridar en de mate van CYP3A4-remming door ritonavir te bepalen. In deze experimenten is eenzelfde dosering van de taxanen

oraal toegediend aan muizen zonder expressie van P-gp en/of Cyp3a [12, 13]. Uit de verkregen gegevens zijn farmacokinetische parameters berekend met het softwarepakket PK Solutions 2.0.2 (Summit Research Services, Ashland, Verenigde Staten). Groepen zijn statistisch vergeleken met behulp van *one-way* ANOVA met post-hoc-correctie middels een Bonferronitoets om te corrigeren voor meerdere vergelijkingen. Wanneer slechts twee groepen vergeleken zijn, is een tweezijdige, ongepaarde t-toets gebruikt. Om de distributie te normaliseren zijn de gegevens logaritmisch getransformeerd als de gegevens niet normaal verdeeld waren. Alle gegevens zijn weergegeven als geometrisch gemiddelde met standaarddeviatie.

Voor een uitgebreidere beschrijving van de gebruikte chemicaliën en muismodellen, huisvesting van de dieren, bioanalyse en statistische methoden wordt verwezen naar de oorspronkelijke publicatie [27].

## Resultaten

### Blootstelling paclitaxel

Orale toediening van paclitaxel met elacridar of ritonavir resulteerde in toegenomen plasmaconcentraties van paclitaxel (figuur 1). De AUC met extrapolatie tot oneindig (AUC<sub>0-inf</sub>) van paclitaxel was 2,5 keer zo hoog na toediening van oraal paclitaxel met ritonavir als zonder ritonavir (P < 0,001). Toediening van paclitaxel en elacridar zorgde zelfs voor een 10,7-voudige toename in AUC<sub>0-inf</sub> (P < 0,001). Toediening van zowel ritonavir als elacridar met oraal paclitaxel resulteerde in een verdere verhoging van de AUC<sub>0-inf</sub>

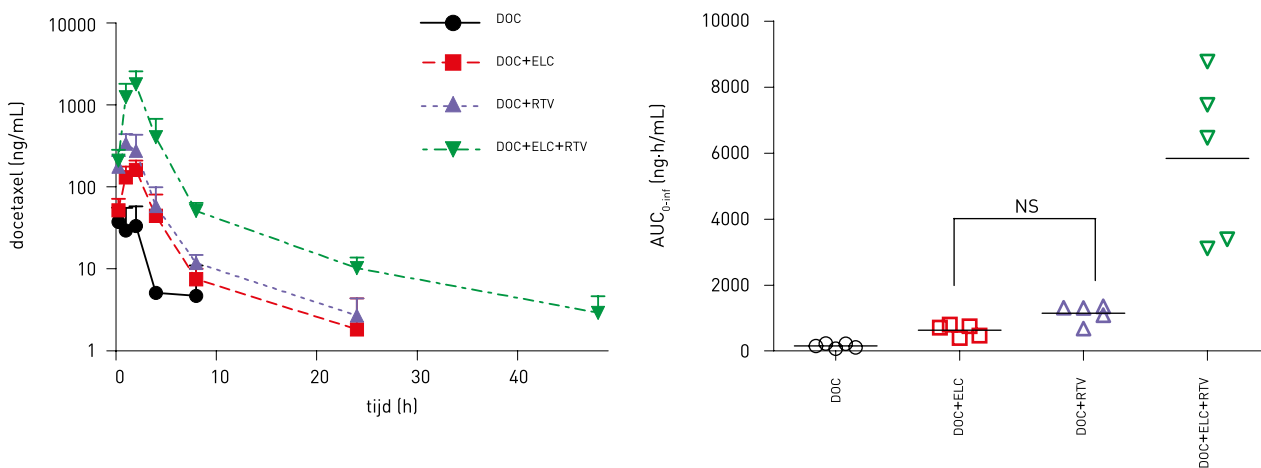
**Tabel 1** Oppervlakte onder de plasmaconcentratie–tijdcurve van de taxanen paclitaxel en docetaxel na orale toediening van 10 mg/kg paclitaxel of 10 mg/kg docetaxel aan Cyp3a<sup>-/-</sup>Tg-3A4<sub>Hep/int</sub>-muizen

	Controlegroep*	P-gp-remming/KO	CYP3A-remming/KO	CYP3A- en P-gp-remming/KO
<b>Oraal paclitaxel</b>				
AUC <sub>0-inf</sub> (ng•h/mL) na remming	314 ± 74	3373 ± 725	780 ± 412	10002 ± 2652
Toename t.o.v. van controlegroep	1×	10,7×	2,5×	31,9×
Aantal dieren	11	8	11	7
AUC <sub>0-inf</sub> (ng•h/mL) na knock-out	320 ± 224	3954 ± 825	471 ± 174	8830 ± 1999
Toename t.o.v. van controlegroep	1×	12,4×	1,5×	27,6×
Aantal dieren	10	5	9	5
<b>Oraal docetaxel</b>				
AUC <sub>0-inf</sub> (ng•h/mL) na remming	157 ± 67	626 ± 182	1146 ± 281	5869 ± 2520
Toename t.o.v. van controlegroep	1×	4,0×	7,3×	37,4×
Aantal dieren	5	5	5	5
AUC <sub>0-inf</sub> (ng•h/mL) na knock-out	228 ± 130	645 ± 272	2627 ± 1011	16466 ± 2020
Toename t.o.v. van controlegroep	1×	2,8×	11,5×	72,2×
Aantal dieren	6	6	6	7

AUC<sub>0-inf</sub>: oppervlakte onder de plasmaconcentratie–tijdcurve met extrapolatie tot oneindig; CYP3A: cytochroom P450 3A; Cyp3a<sup>-/-</sup>Tg-3A4<sub>Hep/int</sub>: Cyp3a-knock-out-muizen met specifieke expressie van humaan CYP3A4 in lever en darm; KO: knock-out; P-gp: P-glycoproteïne (MDR1, ABCB1).

Gerapporteerd zijn gemiddelde ± standaarddeviatie. Per groep zijn 5-11 dieren gebruikt. Beide taxanen werden toegediend met een orale dosering van de CYP3A4-remmer ritonavir (12,5 mg/kg), de P-gp-remmer elacridar (25 mg/kg) of beide. De controlegroep kreeg alleen het taxaan toegediend. De gegevens zijn vergeleken met eerder gepubliceerde resultaten uit experimenten waarin oraal paclitaxel [12] of oraal docetaxel [13] in een dosering van 10 mg/kg werd toegediend aan muizen van het wild-type, Mdr1a/b-knock-out (Mdr1a/b<sup>-/-</sup>), het type Cyp3a-knock-out (Cyp3a<sup>-/-</sup>), en gecombineerde Mdr1a/b- en Cyp3a-knock-out-muizen (Cyp3a/Mdr1a/b<sup>-/-</sup>). De tabel is oorspronkelijk gepubliceerd in [27].

\* In geval van remming van P-gp en CYP3A4 zijn voor de controlegroep Cyp3a<sup>-/-</sup>Tg-3A4<sub>Hep/int</sub>-muizen gebruikt. In geval van genetische knock-out van P-gp en Cyp3a zijn voor de controlegroep wild-type muizen gebruikt.

**Figuur 2** Plasmaconcentratie–tijdcurves van docetaxel

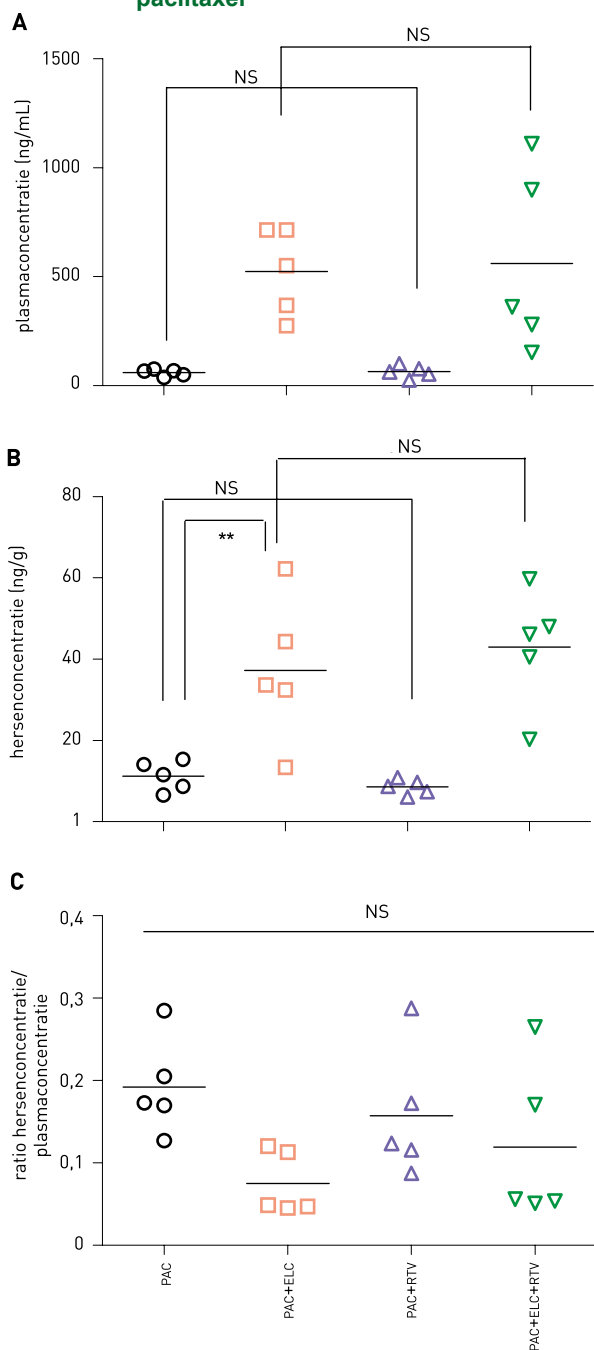
Links: plasmaconcentratie–tijdcurves bij Cyp3a<sup>-/-</sup>-muizen met expressie van humaan CYP3A4 in lever en darm (Cyp3a<sup>-/-</sup>Tg-3A4<sub>Hep/int</sub>) na orale toediening van 10 mg/kg docetaxel. Docetaxel is alleen toegediend (●), of gecombineerd met 25 mg/kg elacridar (■), 12,5 mg/kg ritonavir (▲) of met zowel elacridar als ritonavir (▼). Waarden vertegenwoordigen het gemiddelde ± standaarddeviatie.

Rechts: oppervlakte onder de plasmaconcentratie–tijdcurve bij extrapolatie tot oneindig (AUC<sub>0-inf</sub>). De gegevens zijn gepresenteerd als individuele gegevenspunten en de lijn vertegenwoordigt het gemiddelde. Verschillen in de AUC<sub>0-inf</sub> tussen alle groepen zijn statistisch significant (P < 0,001), tenzij anders aangegeven (NS). Per groep zijn 5 dieren gebruikt.

DOC: docetaxel; ELC: elacridar; RTV: ritonavir.

De figuur is oorspronkelijk gepubliceerd in [27].

**Figuur 3 Plasma- en hersenconcentraties van paclitaxel**



Plasma- en hersenconcentraties van paclitaxel bij *Cyp3a<sup>-/-</sup>*-muisen met expressie van humaan CYP3A4 in de lever en darm (*Cyp3a<sup>-/-</sup>Tg-3A4<sub>hep/int</sub>*) twee uur na toediening van 10 mg/kg paclitaxel. Paclitaxel is alleen toegediend, of gecombineerd met 25 mg/kg elacridar, 12,5 mg/kg ritonavir of met zowel elacridar als ritonavir. De panelen tonen de plasmaconcentraties (A), hersenconcentraties (B) en de ratio's van de hersenconcentratie en de plasmaconcentratie (C). De gegevens zijn gepresenteerd als individuele gegevenspunten en de lijn vertegenwoordigt het gemiddelde. Verschillen in plasma- of hersenconcentraties tussen alle groepen zijn statistisch significant ( $P < 0,001$ ), tenzij anders aangegeven (NS:  $P > 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ). Verschillen in de ratio's van de hersenconcentratie en de plasmaconcentratie tussen de groepen zijn niet statistisch significant. Per groep zijn 5 dieren gebruikt.

ELC: elacridar; NS: niet significant; PAC: paclitaxel; RTV: ritonavir. De figuur is oorspronkelijk gepubliceerd in [27].

(31,9-voudig,  $P < 0,001$ ) ten opzichte van toediening van oraal paclitaxel zonder remmers. De toename in  $AUC_{0-inf}$  na orale toediening van paclitaxel na chemische remming met elacridar en/of ritonavir was vergelijkbaar met de toename in  $AUC_{0-inf}$  door genetische knock-out van P-gp en/of Cyp3a (tabel 1). Dit suggereert dat er een nagenoeg volledige remming van P-gp en CYP3A4 in de darm en lever plaatsvindt na toediening van elacridar en ritonavir.

#### Blootstelling docetaxel

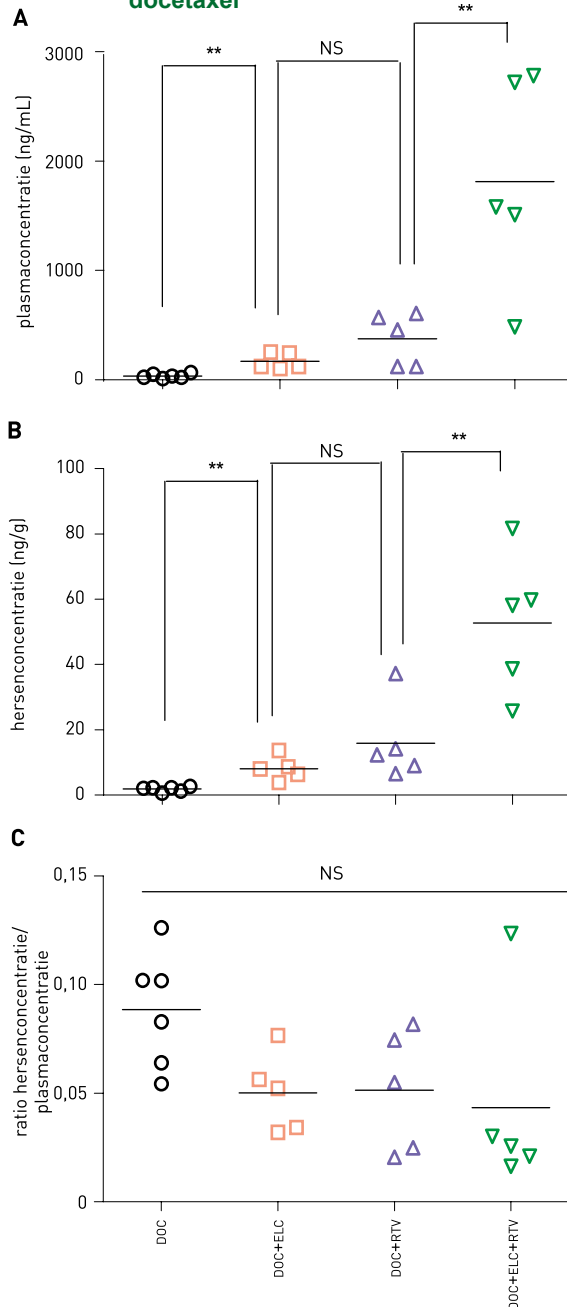
De  $AUC_{0-inf}$  na orale toediening van docetaxel was significant verhoogd ( $P < 0,001$ ) na toediening van zowel elacridar (4,0-voudig) als ritonavir (7,3-voudig) (figuur 2), hoewel het verschil tussen toediening van docetaxel met elacridar en met ritonavir onderling niet verschillend was ( $P > 0,05$ ). Net zoals gezien werd na orale toediening van paclitaxel, was ook na orale toediening van docetaxel met zowel elacridar als ritonavir de  $AUC_{0-inf}$  verhoogd ten opzichte van orale toediening van docetaxel zonder remmer (37,4-voudig,  $P < 0,001$ ). De toename in  $AUC_{0-inf}$  van docetaxel was vergelijkbaar na chemische remming en na genetische knock-out van P-gp. De toename in  $AUC_{0-inf}$  van oraal docetaxel na chemische remming van CYP3A4 door ritonavir was echter beperkt, maar significant lager ( $P < 0,01$ ) dan de toename in  $AUC_{0-inf}$  na genetische knock-out van Cyp3a. Eenzelfde resultaat werd gezien na vergelijking van chemische remming en genetische knock-out van Cyp3a en P-gp ( $P < 0,001$ , tabel 1). Deze resultaten suggereren dat de remming van metabolisme van docetaxel via CYP3A4 in de darm en de lever van de gehumaniseerde muis niet volledig is.

#### Hersenconcentraties

Twee uur na toediening van oraal paclitaxel met elacridar waren de hersenconcentraties van paclitaxel sterk verhoogd ten opzichte van toediening zonder elacridar ( $P < 0,01$ ) (figuur 3B). Na toediening van oraal paclitaxel met ritonavir waren de hersenconcentraties echter niet verhoogd ( $P > 0,05$ ). De hersenconcentraties na orale toediening van paclitaxel met gelijktijdige toediening van zowel elacridar als ritonavir waren even hoog als na toediening van oraal paclitaxel met elacridar ( $P > 0,05$ ). Als er echter gecorrigeerd werd voor de plasmaconcentraties (figuur 3A) door de ratio te nemen van de hersenconcentratie en de plasmaconcentratie, was er geen statistisch significant verschil tussen de groepen ( $P > 0,05$  voor alle vergelijkingen) (figuur 3C).

Toediening van oraal docetaxel met elacridar resulteerde ook in hogere hersenconcentraties van docetaxel ( $P < 0,01$ ) ten opzichte van toediening van alleen oraal docetaxel (figuur 4B). Maar in tegenstelling tot hersenconcentraties van paclitaxel waren de hersenconcentraties van docetaxel wel verhoogd na toediening met ritonavir ( $P < 0,001$ ). Na toediening van oraal docetaxel met zowel elacridar als ritonavir waren de hersenconcentraties zelfs verder

**Figuur 4 Plasma- en hersenconcentraties van docetaxel**



Plasma- en hersenconcentraties van docetaxel bij Cyp3a<sup>-/-</sup>-muizen met expressie van humaan CYP3A4 in de lever en darm [Cyp3a<sup>-/-</sup>Tg-3A4<sub>Hep/ml</sub>] twee uur na toediening van 10 mg/kg docetaxel. Docetaxel is alleen toegediend, of gecombineerd met 25 mg/kg elacridar, 12,5 mg/kg ritonavir of met zowel elacridar als ritonavir. De panelen tonen de plasmaconcentraties (A), hersenconcentraties (B) en de ratio's van de hersenconcentratie en de plasmaconcentratie (C). De gegevens zijn gepresenteerd als individuele gegevenspunten en de lijn vertegenwoordigt het gemiddelde. Verschillen in de plasma- of hersenconcentraties tussen alle groepen zijn statistisch significant ( $P < 0,001$ ), tenzij anders aangegeven (NS:  $P > 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ). Verschillen in de ratio's van de hersenconcentratie en de plasmaconcentratie tussen de groepen zijn niet statistisch significant. Per groep zijn 5 dieren gebruikt. DOC: docetaxel; ELC: elacridar; NS: niet significant; RTV: ritonavir. De figuur is oorspronkelijk gepubliceerd in [27].

verhoogd ( $P < 0,01$ ) ten opzichte van toediening van oraal docetaxel. Wederom resulteerde correctie voor de plasmaconcentraties van docetaxel (figuur 4A) in een statistisch niet significant verschil tussen de groepen ( $P > 0,05$  voor alle vergelijkingen) (figuur 4C).

## Beschouwing

Onze gegevens met gehumaniseerde muizen laten zien dat het mogelijk is de plasma-AUC (blootstelling) van oraal paclitaxel en docetaxel drastisch (30- tot 40-voudig) te verhogen door gecombineerde toediening met oraal elacridar en ritonavir. Beide remmers leverden een substantiële bijdrage aan de verhoging van de AUC<sub>0-inf</sub>, waarbij de bijdrage van elacridar groter was bij paclitaxel en de bijdrage van ritonavir groter bij docetaxel. Opvallend was dat de relatieve hersenconcentratie (na correctie voor de plasmaconcentratie) niet toenam. Dit suggereert dat P-gp in de bloed-hersenbarrière onvoldoende geremd wordt na orale toediening van de P-gp-remmer elacridar om de hersenpenetratie van de oraal toegediende taxanen te laten toenemen. Deze gegevens laten zien dat het mogelijk is de biologische beschikbaarheid van orale taxanen sterk te verhogen door gelijktijdige toediening met oraal elacridar en ritonavir, zonder dat de hersenpenetratie van de orale taxanen toeneemt ten opzichte van hersenpenetratie na intraveneuze toediening van de taxanen.

Vergelijking van de gegevens na chemische remming van P-gp met de gegevens uit de experimenten met knock-out-muizen laat zien dat de AUC<sub>0-inf</sub> van beide taxanen vergelijkbaar is in beide experimenten. Dit duidt erop dat de gebruikte dosering van elacridar resulteerde in volledige remming van P-gp in darm en lever. Chemische remming van CYP3A4 resulteerde bij paclitaxel in een vergelijkbare AUC<sub>0-inf</sub> als na genetische knock-out van Cyp3a, maar bij docetaxel was de AUC<sub>0-inf</sub> iets lager na chemische remming. Dit verschil is waarschijnlijk te wijten aan incomplete remming van CYP3A4 op latere tijdstippen, als de plasmaconcentraties van ritonavir afnemen. Dit effect is waarschijnlijk duidelijker bij docetaxel dan bij paclitaxel omdat het metabolisme van docetaxel sterker afhankelijk is van CYP3A4 [13].

Gelijktijdige toediening van de orale taxanen met remmers van P-gp en CYP3A4 kan potentieel de hersenpenetratie van de taxanen verhogen en daarmee ook het risico op hersentoxiciteit. Een hogere concentratie in de hersenen kan enerzijds verklaard worden doordat P-gp in de bloed-hersenbarrière geremd wordt. Het is echter ook mogelijk dat de P-gp-activiteit deels – of zelfs niet – geremd wordt, maar dat P-gp bij hogere plasmaconcentraties verzadigd raakt, waardoor het terugtransport vanuit het hersenweefsel naar het bloed minder wordt. Wij zagen in onze experimenten dat de hersenconcentraties van de taxanen toenemen na orale toediening van elacridar en ritonavir. De ratio tussen hersenconcentraties en plasmaconcentraties nam echter niet toe. Dit impliceert dat de verhoogde hersenconcentra-



ties een weerspiegeling zijn van verhoogde plasmaconcentraties en dat er geen sprake is van een werkelijk verhoogde hersenpenetratie. Uit experimenten van Kemper e.a. [23] blijkt dat de toevoeging van 25 mg/kg oraal elacridar aan de behandeling van wild-type muizen met 10 mg/kg intraveneus paclitaxel zorgt voor een drievoudige toename in de ratio tussen hersenconcentraties en plasmaconcentraties. Deze drievoudige toename in ratio was vergelijkbaar met de toename in ratio bij P-gp-knock-out-muizen ten opzichte van wild-type muizen. De hersenconcentraties van paclitaxel namen bovendien niet verder toe als de elacridardosis werd verhoogd van 25 naar 100 mg/kg. Beide bevindingen suggereren dat 25 mg/kg oraal toegediend elacridar de P-gp-activiteit in de bloed-hersenbarrière grotendeels – zo niet compleet – kan remmen.

Wij zagen in onze experimenten echter geen effect van 25 mg/kg elacridar op de hersenpenetratie van paclitaxel na orale toediening van 10 mg/kg paclitaxel. Dit kan hoogstwaarschijnlijk worden verklaard door de initieel veel hogere plasmaconcentraties die zich voordoen na intraveneuze toediening. Dit wordt versterkt door het feit dat Kemper e.a. vier uur na toediening van intraveneus paclitaxel en oraal elacridar geen verhoging van de hersenpenetratie van paclitaxel meer zagen, terwijl bij de P-gp-knock-out-muis nog wel een verhoogde hersenpenetratie te zien was [23]. Dit verschil tussen orale en intraveneuze toediening kan mogelijk verklaard worden doordat P-gp in de bloed-hersenbarrière gevoeliger is voor partiële remming wanneer het P-gp-gemedieerde transport in de buurt van het verzadigingspunt komt. Bovendien is het denkbaar dat andere geneesmiddeltransporterende eiwitten een rol spelen bij de efflux van de taxanen uit de hersenen. Indien het transport via deze geneesmiddeltransporterende eiwitten bij een relatief lage concentratie reeds verzadigd raakt, zal de impact van P-gp-remming bij de hoge concentraties na intraveneuze toediening van paclitaxel groter zijn.

## Conclusies

Vergelijking van onze resultaten met eerder beschreven resultaten uit experimenten met knock-out-muizen laat zien dat orale toediening van lage doseringen elacridar en ritonavir zorgt voor een complete (voor paclitaxel) of bijna complete (voor docetaxel) remming van intestinale en hepatische activiteit van P-gp en CYP3A4.

We hebben ook aangetoond dat gelijktijdige toediening van elacridar en ritonavir zorgt voor een verhoging van de plasmaconcentraties van oraal toegediende taxanen. In tegenstelling tot de opname in de systemische circulatie, is de relatieve opname van de oraal toegediende taxanen in de hersenen niet verhoogd door toediening samen met oraal elacridar. Zelfs bij de hoge plasmaconcentraties die bereikt werden na toediening van orale taxanen in combinatie met elacridar en ritonavir, was de hersenpenetratie van de taxanen gelijk aan de penetratie na toediening van orale taxanen zonder remmers.

De onderzoeksgroep van Alfred Schinkel ontvangt opbrengsten uit de commerciële distributie van sommige muizenstammen die gebruikt zijn in dit onderzoek. Jan Schellens en Jos Beijnen hebben een patent op orale taxaanformuleringen.

## Literatuur

- 1 Koolen SL, Beijnen JH, Schellens JH. Intravenous-to-oral switch in anticancer chemotherapy: a focus on docetaxel and paclitaxel. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Jan;87(1):126-9.
- 2 Gligorov J, Lotz JP. Preclinical pharmacology of the taxanes: implications of the differences. *Oncologist.* 2004;9 Suppl 2:3-8.
- 3 Schellens JH, Malingré MM, Kruijtzter CM, et al. Modulation of oral bioavailability of anticancer drugs: from mouse to man. *Eur J Pharm Sci.* 2000 Dec;12(2):103-10.
- 4 Wu H, Xin Y, Zhao J, et al. Metronomic docetaxel chemotherapy inhibits angiogenesis and tumor growth in a gastric cancer model. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011 Oct;68(4):879-87.
- 5 Jiang H, Tao W, Zhang M, Pan S, Kanwar JR, Sun X. Low-dose metronomic paclitaxel chemotherapy suppresses breast tumors and metastases in mice. *Cancer Invest.* 2010 Jan;28(1):74-84.
- 6 Bardelmeijer HA, Ouwehand M, Beijnen JH, Schellens JH, van Tellingen O. Efficacy of novel P-glycoprotein inhibitors to increase the oral uptake of paclitaxel in mice. *Invest New Drugs.* 2004 Aug;22(3):219-29.
- 7 Lagas JS, Vlaming ML, van Tellingen O, et al. Multidrug resistance protein 2 is an important determinant of paclitaxel pharmacokinetics. *Clin Cancer Res.* 2006 Oct 15;12(20 Pt 1):6125-32.
- 8 Meerum Terwogt JM, Beijnen JH, ten Bokkel Huinink WW, Rosing H, Schellens JH. Co-administration of cyclosporin enables oral therapy with paclitaxel. *Lancet.* 1998 Jul 25;352(9124):285.
- 9 Sparreboom A, van Asperen J, Mayer U, et al. Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Mar 4;94(5):2031-5.
- 10 van Asperen J, van Tellingen O, Sparreboom A, et al. Enhanced oral bioavailability of paclitaxel in mice treated with the P-glycoprotein blocker SDZ PSC 833. *Br J Cancer.* 1997;76(9):1181-3.
- 11 van Asperen J, van Tellingen O, van der Valk MA, Rozenhart M, Beijnen JH. Enhanced oral absorption and decreased elimination of paclitaxel in mice cotreated with cyclosporin A. *Clin Cancer Res.* 1998 Oct;4(10):2293-7.
- 12 Hendriks JJ, Lagas JS, Rosing H, Schellens JH, Beijnen JH, Schinkel AH. P-glycoprotein and cytochrome P450 3A act together in restricting the oral bioavailability of paclitaxel. *Int J Cancer.* 2013 May 15;132(10):2439-47.
- 13 van Waterschoot RA, Lagas JS, Wagenaar E, et al. Absence of both cytochrome P450 3A and P-glycoprotein dramatically increases docetaxel oral bioavailability and risk of intestinal toxicity. *Cancer Res.* 2009 Dec 1;69(23):8996-9002.
- 14 Gottesman MM, Ambudkar SV. Overview: ABC transporters and human disease. *J Bioenerg Biomembr.* 2001 Dec;33(6):453-8.
- 15 Glaeser H, Fromm MF. Animal models and intestinal drug transport. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008 Apr;4(4):347-61.
- 16 Thelen K, Dressman JB. Cytochrome P450-mediated metabolism in the human gut wall. *J Pharm Pharmacol.* 2009 May;61(5):541-58.

- 17 Paine MF, Hart HL, Ludington SS, Haining RL, Rettie AE, Zeldin DC. The human intestinal cytochrome P450 "pie". *Drug Metab Dispos.* 2006 May;34(5):880-6.
- 18 Bardelmeijer HA, Ouwehand M, Buckle T, et al. Low systemic exposure of oral docetaxel in mice resulting from extensive first-pass metabolism is boosted by ritonavir. *Cancer Res.* 2002 Nov 1;62(21):6158-64.
- 19 Koolen SLW. Intravenous-to-oral switch in anticancer chemotherapy: focus on taxanes and gemcitabine [dissertatie]. Utrecht: Universiteit Utrecht; 2011 feb 16. p. 105-15.
- 20 Oostendorp RL, Huitema A, Rosing H, et al. Coadministration of ritonavir strongly enhances the apparent oral bioavailability of docetaxel in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2009 Jun 15;15(12):4228-33.
- 21 Bardelmeijer HA, Beijnen JH, Brouwer KR, et al. Increased oral bioavailability of paclitaxel by GF120918 in mice through selective modulation of P-glycoprotein. *Clin Cancer Res.* 2000 Nov;6(11):4416-21.
- 22 Malingré MM, Beijnen JH, Rosing H, et al. Co-administration of GF120918 significantly increases the systemic exposure to oral paclitaxel in cancer patients. *Br J Cancer.* 2001 Jan 5;84(1):42-7.
- 23 Kemper EM, van Zandbergen AE, Cleypool C, et al. Increased penetration of paclitaxel into the brain by inhibition of P-glycoprotein. *Clin Cancer Res.* 2003 Jul;9(7):2849-55.
- 24 van Herwaarden AE, Wagenaar E, van der Kruijssen CM, et al. Knockout of cytochrome P450 3A yields new mouse models for understanding xenobiotic metabolism. *J Clin Invest.* 2007 Nov;117(11):3583-92.
- 25 Kuppens IE, van Maanen MJ, Rosing H, Schellens JH, Beijnen JH. Quantitative analysis of docetaxel in human plasma using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr.* 2005 Jun;19(5):355-61.
- 26 Stokvis E, Ouwehand M, Nan LG, et al. A simple and sensitive assay for the quantitative analysis of paclitaxel in human and mouse plasma and brain tumor tissue using coupled liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom.* 2004 Dec;39(12):1506-12.
- 27 Hendriks JJ, Lagas JS, Wagenaar E, et al. Oral co-administration of elacridar and ritonavir enhances plasma levels of oral paclitaxel and docetaxel without affecting relative brain accumulation. *Br J Cancer.* 2014 May 27;110(11):2669-76.

## NEDERLANDS FARMACEUTISCH ONDERZOEK IN DE INTERNATIONALE LITERATUUR

2015;9:E1528

## Betere baliegesprekken: vraag naar bijwerkingen en nodig uit tot vragen

Sander Borgsteede

Een onderzoek van Van Dijk e.a. geeft waardevolle inzichten in de baliegesprekken in de apotheek. Tijdens baliegesprekken hebben apothekermedewerkers een belangrijke rol in het begeleiden van patiënten bij geneesmiddelengebruik. De KNMP-richtlijn *Farmaceutische zorg- en dienstverlening* omschrijft waaraan een farmaceutisch consult moet voldoen: uitleg over gebruik, werking en relevante bijwerkingen. Omdat onvoldoende bekend is wat er aan de balie besproken wordt, is onderzocht welke informatie wordt uitgewisseld tussen patiënt en apothekermedewerker. Hiervoor werden 153 video-opnames van baliegesprekken in vier apotheken geanalyseerd. Ze betroffen 24% eerste-, 4% tweede- en 72% vervolgitgiftes.

Apothekermedewerkers waren vriendelijk en toonden respect voor de patiënten. Een gemiddeld baliegesprek duurde 132 s (178 s voor eerste uitgifte, 109 s voor vervolgitgifte). De onderzoekers bepaalden het percentage dat over specifieke onderwerpen ging: 'instructies over innemen' (83%), 'toedieningsweg' (71%) en 'duur van de behandeling' (43%) waren de meest besproken onderwerpen. Bij vervolgitgiftes werden 'effect van het geneesmiddel' en

'bijwerkingen' zelden besproken, en apothekermedewerkers nodigden de patiënt zelden uit tot het stellen van vragen, wat volgens de richtlijn wel zou moeten gebeuren. Hoewel apothekermedewerkers informatie gaven, boden ze minder informatie aan dan in de richtlijn wordt aanbevolen.

Waarschijnlijk was de kwaliteit van de communicatie in de onderzoeksapotheken beter dan in de gemiddelde apotheek. Toch blijft in de onderzoeksapotheken de geobserveerde zorg achter bij de richtlijn. Vooralsnog is niet onderzocht waarom dit het geval is. Met het oog op de nieuwe richtlijn farmaceutisch consult (huidige status: in ontwikkeling) zou onderzoek naar de onderliggende oorzaken gerichte aanknopingspunten kunnen geven voor een succesvolle implementatie.

- van Dijk M, Blom L, Koopman L, Philbert D, Koster E, Bouvy M, van Dijk L. Patient-provider communication about medication use at the community pharmacy counter. *Int J Pharm Pract.* 2015 May 19. [online prepublicatie]

Borgsteede S. Betere baliegesprekken: vraag naar bijwerkingen en nodig uit tot vragen. *PW Wetenschappelijk Platform.* 2015;9:e1528.