

Sabrina Wiebe
Dr. sc. hum.

Midazolam Microdosing and Population Pharmacokinetic Modelling to Assess CYP3A Drug-Drug Interactions in Early Clinical Development

Fach/Einrichtung: Klinische Pharmakologie
Doktorvater: apl. Prof. Dr. med. Gerd Mikus

Due to its abundance in the human liver and gut, as well as the important role it plays in drug metabolism, CYP3A is a significant liability for drug-drug interactions. As such, efficient and accurate methods for detecting CYP3A drug-drug interactions are needed to facilitate assessment both in drug development and in the clinic. Several methods are considered in this work, including midazolam microdosing, a limited sampling approach, and population pharmacokinetic modelling. Microdosing consists of administration of a pharmacologically inactive dose that is no more than 1/100th of the therapeutic dose, which allows such doses to be administered with other substances without worry that they may influence the pharmacokinetics or pharmacodynamics of the co-administered substance. Limited sampling approaches use 1 to 4 samples to determine exposure of a drug, rather than obtaining a full pharmacokinetic profile. These approaches are ideal candidates for combining with population pharmacokinetic modelling, which can estimate full profiles from sparse sampling. Thus, the current dissertation had the following aims: 1) establish a method of incorporating midazolam microdosing in multiple rising dose studies for early detection of CYP3A drug-drug interactions; 2) develop a population pharmacokinetic model to describe midazolam exposure during constitutive, inhibited, and induced CYP3A activity; and 3) assess the capability of limited sampling to complement the two preceding aims. As an exploratory objective, model estimated parameters were assessed for potential cut-points that may allow for determination of drug-drug interactions when a baseline profile is not available.

For the establishment of midazolam microdosing in early clinical development, three early clinical studies were conducted with substances (Compounds A, B, and C) which gave positive CYP3A perpetrator signals *in vitro*. A 75 µg dose of midazolam was administered alone (baseline CYP3A activity) followed by administration with the highest dose groups tested for each compound on Day 1/3 and Day 14 or Day 17. Midazolam exposure ($AUC_{0-\infty}$, C_{max}) during administration with the test substances was compared to baseline data via an analysis of variance on log-transformed data. Partial AUC_{2-4} ratios were also compared to $AUC_{0-\infty}$ ratios using linear regression on log-transformed data. The data obtained from these

studies were further used for external validation, following development of a composite midazolam-1'-OH midazolam population pharmacokinetic model for CYP3A drug-drug interactions. The composite model was also evaluated using limited sampling profiles, both from the model development set, as well as from an external validation set.

The implementation of midazolam microdosing in early clinical studies proved to be feasible: Midazolam concentrations were quantifiable over the full profiles for all subjects in all studies and AUC and C_{\max} values could, thus, be accurately determined. Results from the test compounds indicated that, based on the C_{\max} values exceeding relevant thresholds, drug-drug interactions were expected. Point estimates of the midazolam $AUC_{0-\infty}$ gMean ratios ranged from 108.3 to 127.1% for Compound A, from 93.3 to 114.5% for Compound B, and from 92.0 to 96.7% for the two highest dose groups of Compound C. C_{\max} gMean ratios were in the same range. Thus, despite the expectation of drug-drug interactions from *in vitro* results, midazolam microdosing results indicated no relevant interactions were present. AUC_{2-4} ratios, based on the limited sampling scheme suggested for subsequent studies (2, 2.5, 3, and 4 h), were comparable to the $AUC_{0-\infty}$ ratios in the conducted studies.

A composite model was developed, which adequately described midazolam and 1'-OH midazolam concentrations for constitutive, inhibited, and induced CYP3A activity. The model showed good internal and external validity, both with full profiles and limited sampling (2, 2.5, 3, and 4 h), and the model estimated parameters were congruent with values found in clinical studies. Assessment of potential cut-points for model estimated parameters to identify drug-drug interaction liability with a single profile suggested that midazolam clearance may reasonably be used to detect inhibition (6.81-16.8 L/h), induction (43.3-86.6 L/h), and no modulation (16.8-43.3 L/h). Sensitivities for potent inhibition and induction were 98.7% and 100%, respectively, and specificity was 99.2% for no modulation.

Thus, the current dissertation indicated that 1) midazolam microdosing incorporated into early clinical studies is a feasible tool for reducing dedicated drug-drug interaction studies; 2) a population pharmacokinetic approach can provide efficient and accurate CYP3A drug-drug liability detection; and 3) limited sampling can be a useful complementary tool for both midazolam microdosing and population pharmacokinetic modelling. Therefore, the current dissertation provides three separate, complementary tools for the assessment of CYP3A drug-drug interactions, either in drug development or in clinical practice.

Aufgrund seiner Menge in der Leber und im Darm sowie der wichtigen Rolle, die es im Arzneistoffmetabolismus spielt, ist CYP3A eine bedeutende Ursache für Arzneimittelinteraktionen. Daher sind effiziente und verlässliche Methoden zum Nachweis von CYP3A-Interaktionen erforderlich, um die Beurteilung sowohl in der Entwicklung als auch in der Klinik zu erleichtern. In dieser Arbeit werden Midazolam-Mikrodosierung, ein limitierter Probenentnahmeansatz und die Populations-Pharmakokinetik als Optionen berücksichtigt. Die Mikrodosierung besteht aus der Verabreichung einer pharmakologisch inaktiven Dosis, die nicht mehr als 1/100 der therapeutischen Dosis beträgt, wodurch solche Dosen mit anderen Substanzen verabreicht werden können, ohne befürchten zu müssen, dass sie die Pharmakokinetik/Pharmakodynamik der gleichzeitig verabreichten Substanz beeinflussen. Bei Ansätzen mit limitierter Probenentnahme werden 1 bis 4 Proben verwendet, um die Exposition eines Arzneimittels zu bestimmen. Diese Ansätze sind ideale Kandidaten für die Kombination mit der Populationsanalyse mit den vollständigen Profilen aus spärliche Messwerte geschätzt werden können. Daher hatte die aktuelle Dissertation folgende Ziele: 1) Etablierung einer Methode zur Einbeziehung der Midazolam-Mikrodosierung in frühen Studien mit steigender Dosis zur Früherkennung von CYP3A-Interaktionen; 2) Entwicklung eines populationspharmakokinetischen Modells zur Beschreibung der Midazolam-Exposition während der konstitutiven, inhibierten und induzierten CYP3A-Aktivität; und 3) Bewertung einer limitierten Probenentnahme zur Ergänzung der vorhergehenden Ziele. Als exploratives Ziel wurden vom Modell geschätzte Parameter potenzielle Grenzwerte bewertet, die die Bestimmung von Interaktionen ermöglichen können, wenn kein Basisprofil verfügbar ist.

Zur Etablierung einer Midazolam-Mikrodosierung in der frühen klinischen Entwicklung wurden drei frühe klinische Studien mit Substanzen (Substanzen A, B und C) durchgeführt, die *in vitro* positive CYP3A-Modulatorsignale ergaben. Eine 75 µg Dosis von Midazolam wurde allein verabreicht (Basis-CYP3A-Aktivität), gefolgt von der Verabreichung mit den höchsten Dosisgruppen, die für jede Substanz am Tag 1/3 und am Tag 14 oder Tag 17 getestet wurden. Midazolam-Exposition ($AUC_{0-\infty}$, C_{max}) während der Verabreichung mit den Testsubstanzen wurden über eine Varianzanalyse der logarithmisch transformierten Daten mit den Basisdaten verglichen. Partielle AUC_{2-4} Verhältnisse wurden auch mit $AUC_{0-\infty}$ Verhältnissen verglichen. Die aus diesen Studien erhaltenen Daten wurden nach der Entwicklung eines pharmakokinetischen Populationsmodells für CYP3A-Interaktionen weiter als externe Validierung verwendet. Das finale Modell wurde auch unter Verwendung limitierter Stichprobenprofile bewertet.

Die Implementierung einer Midazolam-Mikrodosierung erwies sich als machbar: die Midazolam-Konzentrationen waren über die vollständigen Profile quantifizierbar, und die AUC- und C_{\max} -Werte konnten somit genau bestimmt werden. Die Ergebnisse der Testsubstanzen zeigten, dass basierend auf den C_{\max} -Werten, die die relevanten Grenzen überschreiten, Arzneimittelinteraktionen erwartet wurden. Die Punktschätzungen der Midazolam $AUC_{0-\infty}$ gMean-Verhältnisse lagen zwischen 108,3 und 127,1% für Substanz A, zwischen 93,3 und 114,5% für Substanz B und zwischen 92,0 und 96,7% für die beiden höchsten Dosisgruppen von Substanz C. C_{\max} gMean-Verhältnisse lagen im gleichen Bereich. Trotz der Erwartung von Interaktionen, zeigten die Ergebnisse der Midazolam-Mikrodosierung, dass keine relevanten Interaktionen vorhanden waren. Die AUC_{2-4} -Verhältnisse waren mit den $AUC_{0-\infty}$ Verhältnissen in den durchgeführten Studien vergleichbar.

Es wurde ein Midazolam-1'-OH-Midazolam-Modell für konstitutive, inhibierte und induzierte CYP3A-Aktivität entwickelt. Das Modell zeigte eine gute interne und externe Validität, sowohl mit vollständigen Profilen als auch mit limitierter Stichprobe (2, 2,5, 3 und 4 Stunden); die geschätzte Parameter des Modells stimmten mit den in klinischen Studien gefundenen Werten überein. Die Bewertung möglicher Grenzwerte für vom Modell geschätzte Parameter zur Bewertung den Interaktionen mit einem einzigen Profil zeigte, dass die Clearance von Midazolam vernünftigerweise zum Nachweis von Hemmung (6,81-16,8 L/h), Induktion (43,3-86,6 L/h) und keine Modulation (16,8-43,3 L/h) verwendet werden kann. Die Empfindlichkeit für eine starke Hemmung war 98,7% und für die Induktion war 100%. Die Spezifität für keine Modulation war 99,2%.

Daher zeigte diese Dissertation, dass 1) Midazolam-Mikrodosierung ein praktikables Instrument zur Reduzierung dedizierter Interaktionsstudien darstellt wenn es in frühen Studien enthalten ist; 2) ein populationspharmakokinetischer Analyse kann einen effizienten und genauen Nachweis der CYP3A-Interaktion liefern; und 3) eine limitierter Probenentnahme kann ein nützliches ergänzendes Instrument sowohl für die Midazolam-Mikrodosierung als auch für die populationspharmakokinetische Modellierung sein.