

## ニフェジピンのラット体内動態に及ぼすスウィーティ果汁の影響

植 沢 芳 広,\* 毛 利 公 則

## Effects of Sweetie Juice on Nifedipine Pharmacokinetics in Rats

Yoshihiro UESAWA\* and Kiminori MOHRI

Clinical Pharmaceutics Laboratory, Department of Pharmaceutics, Meiji Pharmaceutical University,  
2-522-1 Noshio, Kiyose, Tokyo 204-8588, Japan

(Received July 4, 2005; Accepted August 2, 2005; Published online August 3, 2005)

It has been reported that grapefruit juice (GJ) causes pharmacokinetic interactions with many drugs after co-ingestion, but the effects of the juice of sweetie fruit, a cross between a pomelo and a grapefruit, on the pharmacokinetics of medicines have not been clear. The present study investigated the drug interaction capability of sweetie juice (SJ). The effect of SJ on nifedipine (NFP) pharmacokinetics in rats was studied. Two milliliters of SJ, GJ, or saline was administered to the rat duodenum. After 30 min, NFP was administered intraduodenally at a dose of 3 mg/kg body weight. The NFP concentrations in the plasma samples were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Although GJ increased the area under the plasma concentration-time curve (AUC) of NFP (1.6-fold), SJ had no significant effect on the NFP pharmacokinetics in rats. Furthermore, concentrations of furanocoumarin derivatives in SJ were measured by HPLC equipped with a photodiode array detector, and compared with those in GJ. SJ contained lower concentrations of bergamottin (0.53  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), 6', 7'-dihydroxybergamottin (0.19  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), and bergaptol (0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) than the GJ used in this study (6.3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 3.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , and 9.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively). In conclusion, the results suggest that SJ had no effect on the NFP pharmacokinetics in rats due to low furanocoumarin concentrations in SJ.

**Key words**—sweetie juice; pharmacokinetics; grapefruit juice; furanocoumarin; nifedipine; drug interaction

## 緒 言

1989年, Baileyらがグレープフルーツジュース(GJ)とフェロジピンの薬物動態学的相互作用を報告して以来,<sup>1)</sup> GJと相互作用し得る医薬品に関する数多くの知見が蓄積されてきた。<sup>2)</sup> GJは消化管における主要P450分子種であるCYP3Aを阻害することにより, その基質となる医薬品の生物学的利用率を上昇させ, 血中濃度及びAUCの増加に寄与する。<sup>3)</sup> その結果, 薬物の血中濃度が有効治療域を逸脱して上昇し, 副作用の原因となる場合もある。このため, 現在GJとこれらの医薬品の同時摂取は臨床上的重要な注意事項として認知されている。このような医薬品相互作用を誘発するGJ中の原因物質としては, CYP3Aの自殺基質であるベルガモチン(BG),<sup>4-6)</sup> 6',7'-ジヒドロキシベルガモチン(DHB),<sup>7,8)</sup> フラノクマリン2量体<sup>9)</sup>といったフラノクマリン誘

導体が有力視されている。GJ以外に同様の相互作用が確認されている柑橘類にはポメロがある。<sup>10,11)</sup> 一方, オレンジにはこの相互作用が認められず,<sup>6,12)</sup> 他の多くの柑橘類にもこのような相互作用に関する報告はない。しかし, スウィーティはオロブロンコ及びポメゴールドと同様にグレープフルーツとポメロの交配種であることから,<sup>13)</sup> それらの果汁は上記医薬品相互作用を惹起する可能性が推測される。*In vivo* 実験系においてこれらの交配種が薬物の体内動態に与える影響を示した例はない。そこで今回の報告では, ニフェジピン(NFP)の体内動態に及ぼすイスラエル産スウィーティの果汁(SJ)の影響を, ラット体内動態実験系を用いて検討した。

## 方 法

1. 試薬・試料 NFP, ニトレンジピン(内部標準物質: IS1)及びアントラセン(IS2)は和光純薬工業株式会社(大阪)より, ベルガプトール

(BT) はフナコシ株式会社 (東京) より, BG 及び DHB は第一化学薬品株式会社 (東京) より購入した. アセトニトリル及びリン酸は HPLC 用試薬を用いた (和光純薬工業株式会社). 他の試薬はすべて特級品を用いた (和光純薬工業株式会社). GJ は市販品を, SJ は市販のスウィーティの果肉を圧搾して得た果汁を使用した.

**2. 動物実験** 体重 280—300 g の雄性 Wistar-ST ラット (日本 SLC 株式会社, 静岡) を一晩絶食し, ウレタン麻酔下で大腿静脈に生理的食塩水を満たした PE-10 チューブ (Clay Adams, Parsippany, NJ) を挿入して生理的食塩水の注入に供した. また, 大腿動脈に 100 units/ml ヘパリンを満たした PE-50 チューブ (Clay Adams) を挿入して経時的採血に供した. 実験中, 体温は  $38 \pm 0.5^\circ\text{C}$  に調節した. 投与用 NFP 溶液は, NFP 50 mg をポリエチレングリコール 400 (5 ml), エタノール (5 ml) で溶解し, 生理的食塩水を用いて全量 20 ml に調製した. 2 ml の生理的食塩水, GJ, 又は SJ を注射針を用いて十二指腸内へ直接注入し, 30 分後, 投与用 NFP 溶液を NFP 3 mg/kg 体重の割合で十二指腸内へ直接注入した. 血液サンプルを NFP 投与後, 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45 分, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 時間において大腿動脈より約 100  $\mu\text{l}$  ずつ採取し,  $4^\circ\text{C}$  における 16000 g, 15 分の遠心分離により血漿画分を得た. 採血による体液の減少を補正するために, 大腿静脈から生理的食塩水を経時的に注入した.

**3. ラット血漿中 NFP の測定** ラット血漿中の NFP を, 先に報告した HPLC 条件下で測定した.<sup>6)</sup> 略記すると, 血漿サンプル 20  $\mu\text{l}$  に 180  $\mu\text{l}$  の IS1・アセトニトリル溶液 (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を加え, 攪拌後 16000 g で 10 分間の遠心分離を行い, 上清 25  $\mu\text{l}$  を次の NFP 分析系に供した. 検出器は UV-970 検出器 (日本分光株式会社) を用い, 固定相には, 逆相 Capcell Pak UG-ODS カラム (4.6 mm [inside diameter]  $\times$  25 cm; particle size 5 mm; 資生堂) を使用した. 移動相として, アセトニトリル:0.085% リン酸水溶液 (45:55) を毎分 1 ml の流速で用い, 検出波長 260 nm で NFP 及び IS1 を測定した.

**4. NFP 体内動態の解析** NFP の体内動態パラメータは, MULTI computer program<sup>14)</sup> を用いて解析し, 平均値  $\pm$  S.D. として表記した. 有意差検定は one-way ANOVA により,  $p < 0.05$  を有意と

した.

**5. 柑橘類果汁中フラノクマリン誘導体の測定** 柑橘類果汁中の BG, DHB 及び BT 濃度を, 先に報告した HPLC 系を用いて測定した.<sup>6)</sup> 略記すると, 100  $\mu\text{l}$  の GJ 又は SJ に 400  $\mu\text{l}$  の IS2・アセトニトリル溶液 (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を加え, 攪拌後 16000 g で 10 分間の遠心分離を行い, 上清 50  $\mu\text{l}$  を次のフラノクマリン誘導体分析系に供した. 固定相には, 逆相 Capcell Pak SG-Phenyl カラム (4.6 mm [inside diameter]  $\times$  25 cm; particle size 5 mm; 資生堂) を使用し, 移動相として, 毎分 1 ml の流速でアセトニトリル:水 (4:6) を 15 分間流した後, 30 分間の直線グラジエントによりアセトニトリル濃度を 100% とし, その後 60 分まで流出した. 検出器には MD-910 検出器 (日本分光) を用い, 吸収波長 311 nm で各フラノクマリン誘導体及び IS2 を測定した. BG, DHB 及び BT の検出限界は各々 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  及び 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった.

## 結 果

**1. NFP 動態** GJ を十二指腸内に前投与したラットに 3 mg/kg 体重の NFP を十二指腸内投与したところ, NFP の血漿中濃度曲線下面積 (AUC) は 8.65  $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$  であった. これは, GJ の代わりに生理的食塩水を前投与した対照群の AUC (5.29  $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$ ) と比較して, 約 1.6 倍の上昇に相当した. このとき, GJ 群及び対照群の間には NFP の平均残留時間 (MRT), 分布容積 (Vdss), 消失速度定数 (kel) 等に有意な変化を認めなかった. また, クリアランス値 (CL) を生物学的利用率 (F) で除したみかけのクリアランス (CL/F) は有意に低下した (対照群の 61%). 同様に, SJ の十二指腸内前投与ラットにおける血漿中 NFP 動態を観察したところ, NFP の AUC は 5.35  $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$  となった. また, 生理的食塩水前投与群と比較して有意な薬物動態学的影響を与えなかった. さらに, SJ 前投与群は GJ 前投与群と比較して有意に低い AUC 及び高い CL/F を示した (Fig. 1, Table 1).

**2. フラノクマリン誘導体の定量** SJ 及び GJ 中の各フラノクマリン誘導体の濃度を定量したところ, SJ 中における BG, DHB 及び BT 濃度は, 各々 0.53, 0.19 及び 0.20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった. フラノクマリン誘導体の特徴的な極大吸収 311 nm の吸収ス

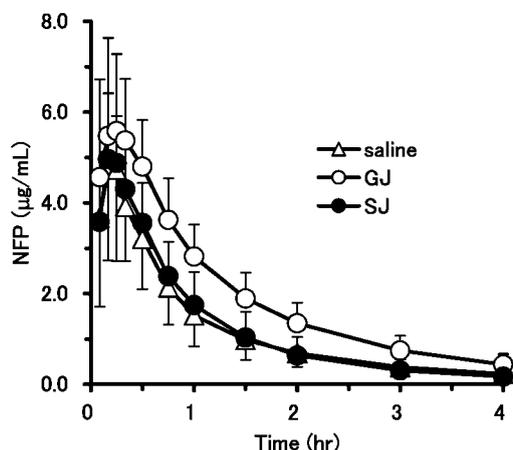


Fig. 1. Effects of Citrus Juice Administration on the Pharmacokinetics of NFP in Rats

Table 1. Pharmacokinetic Parameters of NFP after i.d. Administration to Rats Preadministered Saline, SJ, or GJ

Parameters	Saline	SJ	GJ
AUC ( $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$ )	$5.29 \pm 1.78$	$5.33 \pm 2.08$	$8.65 \pm 2.73^{a,b}$
MRT (h)	$1.47 \pm 0.40$	$1.16 \pm 0.48$	$1.56 \pm 0.33$
CL/F (l/h)	$0.18 \pm 0.05$	$0.18 \pm 0.06$	$0.11 \pm 0.03^{a,b}$
Vdss (l)	$0.27 \pm 0.11$	$0.20 \pm 0.09$	$0.17 \pm 0.04$
Kel ( $\text{h}^{-1}$ )	$0.55 \pm 0.14$	$0.85 \pm 0.42$	$0.60 \pm 0.11$
Tmax (h)	$0.20 \pm 0.05$	$0.21 \pm 0.05$	$0.27 \pm 0.14$
Cmax ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$5.02 \pm 1.90$	$5.12 \pm 1.50$	$5.98 \pm 1.73$

Saline: the rats were administered saline, SJ: the rats were administered SJ 30 min before NFP, GJ: the rats were administered GJ 30 min before NFP. a)  $p < 0.05$ ; compared with the values in the group administered saline. b)  $p < 0.06$ ; compared with the values in the group administered SJ.

ペクトルパターンを示す他の成分は観察されなかった。一方、本実験で用いた市販 GJ 中の BG, DHB 及び BT 濃度は、各々 6.31, 3.41 及び 9.53  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。

## 考 察

GJ とジヒドロピリジン系高血圧薬の相互作用は、低血圧、めまい、ふらつき、頭痛等の副作用の原因として临床上重要な注意事項である。<sup>15,16)</sup> 最も単純な骨格を有するジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬である NFP は、GJ との共投与による AUC の有意な上昇がヒト<sup>12)</sup> 及びラット<sup>17)</sup> において報告されていることから、GJ 等と薬物の相互作用の検討に好適な薬物であると考えた。われわれは先に報告したラットにおける詳細な検討により、GJ の十二

指腸内への単回投与は NFP の肝固有クリアランスに影響を与えず、小腸における NFP の生物学的利用率の上昇のみが相互作用に寄与していることを明らかにした。<sup>17)</sup> これらの観察はヒトにおける GJ による薬物血中濃度上昇の特徴と極めて類似している。<sup>18)</sup> 一方、ヒトにおける GJ—薬物相互作用は、GJ 中フラノクマリン誘導体による小腸粘膜上皮細胞 CYP3A4 の mechanism based inhibition であると考えられている。<sup>19,20)</sup> ラット小腸粘膜細胞由来ミクロソームにも CYP3A サブファミリーがヒトと同様に豊富に存在し、NFP の代謝を担っている。<sup>21,22)</sup> 以上の知見より、NFP 投与ラットを用いた薬物体内動態実験系は GJ 等の相互作用を検討するための良好なモデルになるものと考えた。

オレンジジュースには GJ のような薬物血中濃度上昇の相互作用が認められないことがヒト、ラットを用いた動態試験によって確認されている。<sup>6,23–25)</sup> 一方、スウィーティ、オロブロンコ及びポメゴールドの薬物相互作用に関する情報はほとんどない。しかし、これらの柑橘類はグレープフルーツとポメロの交配種であること、<sup>13)</sup> 及びポメロ果汁も GJ と同様に P450 3A 活性を阻害することが *in vitro* 実験系で確認されていること<sup>11)</sup> から、上記交雑種柑橘類果実中に含有される 2 次代謝産物は GJ におけるそれと類似している可能性が推測され、結果として相互作用を惹起する危険性も予測される。これは薬物治療時における患者に対する服薬指導の観点からも重要な問題であると考えられるが、临床上の対応は曖昧なまま残されているのが現状である。そこで、グレープフルーツ交配種中本邦において最も一般的な食材であると考えられるスウィーティを採択し、その果汁 (SJ) の十二指腸内前投与ラットにおける血漿中 NFP 動態を観察することにより、相互作用の評価を試みた。

**1. NFP 動態** GJ を十二指腸内に前投与したラットに NFP を十二指腸内投与したところ、生理食塩水を GJ の代わりに十二指腸内前投与した対照群と比較して NFP の AUC は有意に上昇した (Table 1)。このとき、みかけのクリアランスは対照群の約 2/3 に低下した。先に報告した NFP 静脈内投与後の体内動態における GJ の影響に関する検討<sup>17)</sup> により、GJ 単回投与の NFP クリアランスに対する有意な影響は認められなかった。以上の知見は、

GJ 前投与による AUC の増加が、肝固有クリアランスの低下ではなく、消化管吸収率の上昇に起因していることを示唆している。この結果は、ヒトに関する GJ—薬物相互作用に関する知見と一致するものである。<sup>18)</sup> 同様に SJ の十二指腸内前投与が NFP 動態に及ぼす影響を観察したところ、対照群と極めて類似した NFP 動態を与えた (Fig. 1, Table 1)。動態パラメータも対照群と比較して有意差を示すものはなかった。一方、GJ 群との比較においても、対照群と同様の有意に低い AUC を示した。以上の観察は、SJ の十二指腸内前投与が GJ のそれと異なり NFP の消化管吸収に影響を与えないことを示している。

**2. フラノクマリン誘導体濃度** GJ に含有されるフラノクマリンは、小腸粘膜上皮細胞に発現する CYP3A を阻害することにより、NFP 等の薬物の生物学的利用率を上昇させると考えられている。<sup>20)</sup> なお、BT はラット小腸ミクロソームの NFP 酸化活性を阻害しないが、<sup>6)</sup> ヒトに関する知見は不十分であり臨床的な相互作用に寄与している可能性は残る。今回使用した SJ 中にはフラノクマリン誘導体として BG, DHB 及び BT のみが検出された。これらの濃度は、GJ 中に含有される各フラノクマリン誘導体の 12 分の 1、18 分の 1 及び 48 分の 1 に相当する低いものであった。この結果は、SJ が NFP の体内動態に対する影響を及ぼさないという上記観察とよく一致している。すなわち、SJ 中に観察されたフラノクマリン濃度では、GJ 投与時に生じるような NFP との相互作用は惹起されないものと考えられる。しかし、製法による SJ 中の果実、アルベド、果皮、じょうのう膜の割合の変化は、フラノクマリン濃度に影響を及ぼす可能性がある。さらに、植物成分は産地、収穫時期や果実間で顕著に変動する可能性がある。実際、GJ に含有されるフラノクマリン誘導体も、期限やメーカーにより顕著に差があることが報告されている。<sup>13)</sup> SJ 中フラノクマリン濃度は果実間で変動を示す報告もある<sup>13,26)</sup> ことから、薬物治療中の患者の摂取に対する服薬指導等には十分な注意が必要であり、今回の結果は SJ の臨床的な安全性を提示するものではない。

今回の SJ—薬物相互作用は、血漿中 NFP 動態を、ラットを用いた *in vivo* 実験系により検討した。前述の通り、ラットはヒトに近い GJ—NFP 相

互作用動態を示すことから、柑橘類果汁のヒトに対する相互作用を判定するモデル実験動物として有用であると考えられる。しかし、消化管に発現し、NFP 等の生物学的利用率の減少に寄与する主要 CYP3A 分子種の相違等、代謝・薬物動態における種差の問題があることも事実である。各種柑橘類果汁に対する安全性を確立するために、ヒトに対するさらなる検討が期待される。

## REFERENCES

- 1) Bailey D. G., Spence J. D., Edgar B., Bayliff C. D., Arnold J. M., *Clin. Invest. Med.*, **12**, 357–362 (1989).
- 2) Bailey D. G., Dresser G. K., *Am. J. Cardiovasc. Drugs*, **4**, 281–297 (2004).
- 3) Ameer B., Weintraub R. A., *Clin. Pharmacokinet.*, **33**, 103–121 (1997).
- 4) Goosen T. C., Cillie D., Bailey D. G., Yu C., He K., Hollenberg P. F., Woster P. M., Cohen L., Williams J. A., Rheeders M., Dijkstra H. P., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **76**, 607–617 (2004).
- 5) Malhotra S., Bailey D. G., Paine M. F., Watkins P. B., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **69**, 14–23 (2001).
- 6) Mohri K., Uesawa Y., *Pharm. Res.*, **18**, 177–182 (2001).
- 7) Kakar S. M., Paine M. F., Stewart P. W., Watkins P. B., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **75**, 569–579 (2004).
- 8) Paine M. F., Criss A. B., Watkins P. B., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **312**, 1151–1160 (2005).
- 9) Guo L. Q., Taniguchi M., Xiao Y. Q., Baba K., Ohta T., Yamazoe Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **82**, 122–129 (2000).
- 10) Egashira K., Ohtani H., Itoh S., Koyabu N., Tsujimoto M., Murakami H., Sawada Y., *Drug Metab. Dispos.*, **32**, 828–833 (2004).
- 11) Egashira K., Fukuda E., Onga T., Yogi Y., Matsuya F., Koyabu N., Ohtani H., Sawada Y., *Transplantation*, **75**, 1057 (2003).
- 12) Bailey D. G., Spence J. D., Munoz C., Arnold J. M., *Lancet*, **337**, 268–269 (1991).
- 13) Guo L. Q., Fukuda K., Ohta T., Yamazoe Y., *Drug Metab. Dispos.*, **28**, 766–771 (2000).
- 14) Yamaoka K., Nakagawa T., *J. Pharmacobio-*

- dyn.*, **6**, 595–606 (1983).
- 15) Kane G. C., Lipsky J. J., *Mayo Clin. Proc.*, **75**, 933–942 (2000).
  - 16) Sagir A., Schmitt M., Dilger K., Haussinger D., *Digestion*, **68**, 41–48 (2003).
  - 17) Mohri K., Uesawa Y., Sagawa K., *Drug Metab. Dispos.*, **28**, 482–486 (2000).
  - 18) Lown K. S., Bailey D. G., Fontana R. J., Janardan S. K., Adair C. H., Fortlage L. A., Brown M. B., Guo W., Watkins P. B., *J. Clin. Invest.*, **99**, 2545–2553 (1997).
  - 19) He K., Iyer K. R., Hayes R. N., Sinz M. W., Woolf T. F., Hollenberg P. F., *Chem. Res. Toxicol.*, **11**, 252–259 (1998).
  - 20) Schmiedlin-Ren P., Edwards D. J., Fitzsimmons M. E., He K., Lown K. S., Woster P. M., Rahman A., Thummel K. E., Fisher J. M., Hollenberg P. F., Watkins P. B., *Drug Metab. Dispos.*, **25**, 1228–1233 (1997).
  - 21) Matsubara T., Kim H. J., Miyata M., Shimada M., Nagata K., Yamazoe Y., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **309**, 1282–1290 (2004).
  - 22) Mohri K., Uesawa Y., *Pharm. Res.*, **18**, 1232–1236 (2001).
  - 23) Beier R. C., *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **113**, 47–137 (1990).
  - 24) Grundy J. S., Eliot L. A., Kulmatycki K. M., Foster R. T., *Biopharm. Drug Dispos.*, **19**, 175–183 (1998).
  - 25) Yee G. C., Stanley D. L., Pessa L. J., Dalla Costa T., Beltz S. E., Ruiz J., Lowenthal D. T., *Lancet*, **345**, 955–956 (1995).
  - 26) Saita T., Fujito H., Mori M., *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 974–977 (2004).