

果実果皮加工食品のフラノクマリン含有量と Cytochrome P450 3A (CYP3A) 阻害活性：
果皮の加工過程における 6',7'-dihydroxybergamottin の流出

石原 優,* 戸田 光, 砂金信義, 太田隆文

**Furanocoumarins Contents and Cytochrome P450 3A (CYP3A) Inhibitory Activities
of Various Processed Fruit Peel Products: Outflow of 6',7'-Dihydroxybergamottin
during Processing Treatment of Peel**

Masaru ISHIHARA,* Hikaru TODA, Nobuyoshi SUNAGANE, and Takafumi OHTA
*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science (RIKADAI),
2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan*

(Received October 2, 2010; Accepted February 4, 2011; Published online February 18, 2011)

Furanocoumarins (FCs) such as bergamottin (BG) and 6',7'-dihydroxybergamottin (DHBG) contained in grapefruits are known to be cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) inhibitors. These are contained in larger quantity in peel than in pulp, and therefore, processed peel products possibly have strong CYP3A4 inhibitory activity. The CYP3A4 inhibitory potency of these processed peel products, however, remains to be elucidated. The FC content and CYP3A inhibitory activities of various processed fruit peel products were investigated. CYP3A inhibitory activities of crystallized grapefruit peel, grapefruit marmalade, lemon peel and bitter orange slice were close to that of 100% grapefruit juice, while the activities of yuzu slice, pomelo (buntan) marmalade and crystallized iyokan peel were very weak, 1/8–1/20 of 100% grapefruit juice. The maximum BG content was 5.6 $\mu\text{g/g}$ in lemon peel. The maximum DHBG content was 7.2 $\mu\text{g/g}$ in crystallized grapefruit peel, about 1/30 that of raw peel. Grapefruit marmalade and crystallized grapefruit peel contained similar amounts of FCs to 100% grapefruit juice, but FCs were not detected in pomelo (buntan) marmalade or crystallized iyokan peel. Good correlation ($r=0.78$) was observed between the FC contents of these peel products and those CYP3A inhibitory activities. Preparation of homemade grapefruit marmalade and crystallized peel revealed that considerably lower DHBG content in these products and lower CYP3A inhibitory activity than anticipated were attributable to outflow of DHBG to broth during boiling of the raw peel.

Key words—peel; furanocoumarin; grapefruit; processed

緒 言

グレープフルーツジュースはニフェジピンを始めとしたカルシウム拮抗薬やシンバスタチンなどのような CYP3A4 により代謝される医薬品の血中濃度を上昇させることが知られている。¹⁻⁴⁾ したがって、このような医薬品を服用する際にはグレープフルーツジュースの摂取を控えるように患者へ伝えることが医療従事者のコンセンサスとなっている。また、グレープフルーツジュースだけでなく、その果肉の摂取によっても医薬品相互作用が起こることが報告されている。⁵⁾

以上のような医薬品とグレープフルーツとの相互

作用は、その含有成分が腸管の CYP3A4 を不可逆的に阻害することによって起こること、^{6,7)} その原因物質は、主に bergamottin (BG) や 6',7'-dihydroxybergamottin (DHBG) などのフラノクマリン類 (FCs) であることが明らかにされている。⁸⁾

FCs はグレープフルーツだけでなく、バンペイユやダイダイなどの他のかんきつ類にも含まれている。⁹⁻¹¹⁾ ブンタンやバンペイユ、ダイダイが *in vitro* において CYP3A 阻害活性を示したと報告されているため、^{9,12)} これらかんきつ類の摂取にも注意が必要である。

一方、グレープフルーツ中の FCs は果皮>果肉>種子の順に多く、¹³⁾ *in vitro* においてグレープフルーツの果皮が CYP3A4 阻害活性を示すことが報告されている。^{14,15)} したがって、マーマレードや果

東京理科大学薬学部

*e-mail: m.ishhr13@ma.pref.chiba.lg.jp

皮砂糖漬のような果皮を含む果実果皮加工食品は強い CYP3A4 阻害作用を示すことが予想され、その摂取は医薬品との相互作用を引き起こす可能性がある。そのため、グレープフルーツジュースのみならず、果実果皮加工食品の摂取についても注意が必要であると考えられる。しかし、一方でグレープフルーツジュースを加熱すると DHBG や BG が分解し、そのグレープフルーツジュースをラットに投与した場合には相互作用が起こらないと報告されている。¹⁶⁾ 果実果皮加工食品の製造には熱を加える工程が含まれるため、その過程で FCs が分解する可能性も考えられるが果実果皮加工食品中の FCs 量や、その CYP3A4 阻害活性については報告例がない。

本研究では果皮を含む各種果実果皮加工食品の FCs 含有量や CYP3A4 阻害活性を測定するとともに、グレープフルーツマーマレードを自製し、その調製過程における FCs の消長についても調べた。

方 法

1. 試薬 ヒト肝ミクロソームは BD Gentest 社製 (pooled human liver microsomes, 24 Caucasian, Lot No. 18888), testosterone はナカライテスク社製, 6β -hydroxytestosterone (6β HT) はシグマ社製, BG, DHBG は和光純薬工業社製を用いた。また、ラット肝ミクロソームは SD 雄性ラット (7 週齢) を三共ラボサービスから購入し、一晩絶食したのち定法¹⁷⁾ により調製した。

2. 果実果皮加工食品と試料の調製 グレープフルーツマーマレードは Wilkin & Sons Limited (England Essex) 製, ピンクグレープフルーツマーマレードは ZENTIS GmbH & Co. KG (Germany Aachen) 製, ブンタンマーマレードは明治屋 (東京都中央区) 製, はるみマーマレードは三皿園 (愛媛県今治市) 製を用いた。果皮砂糖漬としては、クオカ (徳島県徳島市) 製のレモンピール, グレープフルーツスティック, ビターオレンジスライス, いやかんスティック, 日向夏スティック, ゆずスライスを用いた。100%グレープフルーツジュースは日本ミルクコミュニティ (東京都新宿区) 製を用いた。

果実果皮加工食品 10 g を 50 ml の 50% EtOH でホモジナイズした後、37°C で 2 時間穏やかに振と

うした。混合物は綿栓ろ過し、500 g で遠心して上清を採取した。上清 1 ml をロータリーエバポレーターにより溶媒留去し、その残渣を適量の精製水に再溶解して、CYP3A 阻害活性測定用試料とした。

一方、FCs の含有量測定のための試料は Fujita らの方法¹⁰⁾ に基づいて行った。すなわち、50% EtOH で抽出した上清 1 ml をロータリーエバポレーターにより溶媒留去後、減圧した真空デシケーター中に 1 晩放置して乾燥させ、600 μ l の精製水に再溶解した。この水溶液に酢酸エチル 8 ml を加えて、2 分間混合後、500 g で 15 分間遠心し、上清をロータリーエバポレーターにより溶媒を留去し、残渣をアセトニトリル 300 μ l に溶かして HPLC 測定用の試料とした。

3. CYP3A 阻害活性の測定 Uesawa らの方法¹⁶⁾ を一部改変した方法により行った。すなわち、85 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4), ラット肝ミクロソーム (0.2 mg protein/ml), 0.2 mM testosterone, 3.3 mM MgCl₂, 1.3 mM NADP⁺, 3.3 mM Glucose-6-phosphate, 試料を含む溶液 480 μ l を 37°C で 5 分間プレインキュベートした後、Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (0.2 U) 20 μ l を加えて 20 分間インキュベートした。反応液に氷冷したアセトニトリル 500 μ l を加えて混合し、3 分間、4°C, 10000 g で遠心後、上清を HPLC に注入して、 6β HT の生成量を測定した。ヒト肝ミクロソームを用いた場合も、ラット肝ミクロソームを用いた場合とほぼ同等の活性が得られるようミクロソーム濃度を 0.3 mg protein/ml とした以外は同様に操作した。

4. HPLC 分析 HPLC 装置にはポンプ: PU-980 (JASCO), UV-VIS 検出器: SPD-10A VP (SHIMADZU), インテグレータ: 807-IT (JASCO) を用い、試料注入量は 20 μ l とした。 6β HT の定量には、カラム: Cadenza CD-C18 (250 \times 4.6 mm i.d., 5 μ m, Imtakt) を用い、移動相には MeOH: 精製水 = 60: 40 (v/v) を流速 0.6 ml/min で送液した。検出器の測定波長は 254 nm とした。FCs の定量には、カラム: CAPCELL PAK C18 (150 \times 4.6 mm i.d., 5 μ m, Shiseido) を用い、移動相には MeOH: 精製水 = 75: 25 (v/v) を流速 1.0 ml/min で送液した。検出器の測定波長は 310 nm とした。なお、必要に応じて、カラム: Cadenza CD-C18 (250 \times 4.6

mm i.d., 5 μ m, Imtakt) も用いた (流速 0.6 ml/min).

5. グレープフルーツマーマレード, スティックの調製 グレープフルーツを果皮と, じょう囊膜から取り出した果肉 (砂じょう部分) に分け, 果皮は 2-3 mm の厚さに切断した. 果皮を沸騰水に入れ, 再び沸騰したら約 30 秒かき混ぜた後, 茹でこぼした. この操作を 4 回行った後, 茹でた果皮を生果肉と 3 : 2 (w/w) の割合で混ぜ, その総重量の半分量の砂糖を加えて約 20 分間煮込んだ. 一方, スティックは, 4 回茹でた果皮に砂糖をまぶし, 約 1 日間, 日光下で乾燥して作製した. 調製したマーマレードとスティックは -30°C で保存した.

6. 利益相反 本研究を行うにあたり, 外部からの資金及び資料, 人員の派遣等の援助はない.

結 果

1. 各種果実果皮加工食品の CYP3A 阻害活性

各種果実加工食品の CYP3A 阻害活性の評価に先立ち, グレープフルーツマーマレード及びラット肝ミクロソームを用いて, 試料から阻害成分を抽出す

る溶媒について検討した. Table 1 に示すように, 50%EtOH を抽出溶媒としたときに最も強い活性が認められたため, 他の試料についてもこれを抽出溶媒として用いた. 同様に測定したグレープフルーツジュースの IC₅₀ は 34 mg/ml incubation mixture であった. 市販の各種果実果皮加工食品の CYP3A 阻害活性を Table 2 に示す. 果実果皮加工食品のうち, 比較的強い阻害活性を示したグレープフルーツマーマレード, ピンクグレープフルーツマーマレード, グレープフルーツスティック, レモンピール, ビターオレンジスライスの CYP3A 阻害活性は 100% グレープフルーツジュースのそれとほぼ同等かやや弱かった. これに対して, ブンタン, いよかん, ゆずを用いた果皮加工食品では CYP3A 阻害活性はグレープフルーツジュースの 1/8-1/20 以下と極めて弱かった. はるみマーマレード, 日向夏スティックの阻害活性はこれらの間に位置した.

比較的強い阻害活性を示したグレープフルーツ

Table 1. Effect of Solvents on Extraction of CYP3A Inhibitory Activity from Grapefruit Marmalade

Solvents	IC ₅₀ (mg/ml incubation mixture)
0.1 mol/l HCl	280
water	71
50%EtOH	51

CYP3A activities were evaluated using rat liver microsomes.

Table 3. CYP3A4 Inhibitory Activities (IC₅₀) of Several Processed Grapefruit Peel Product

Sample	IC ₅₀ (mg/ml incubation mixture)	Ratio to GJ
100% grapefruit juice	16	1.00
Grapefruit marmalade	17	0.94
Homemade grapefruit marmalade	15	1.07
Grapefruit stick (crystallized peel)	21	0.76

CYP3A4 activities were evaluated using human liver microsomes.

Table 2. CYP3A Inhibitory Activities (IC₅₀) of Various Processed Fruit Peel Products

Sample	IC ₅₀ (mg/ml incubation mixture)	Ratio to GJ
100% grapefruit juice (GJ)	34	1.00
Iyokan stick (crystallized peel)	627	0.05
Yuzu slice	262	0.13
Hyuganatsu stick (crystallized peel)	99	0.34
Bitter orange slice	53	0.64
Lemon peel	45	0.76
Grapefruit stick (crystallized peel)	31	1.09
Pomelo (buntan) marmalade	>1000	—
Harumi marmalade	165	0.21
Pink grapefruit marmalade	59	0.57
Grapefruit marmalade	51	0.66

CYP3A activities were evaluated using rat liver microsomes.

Table 4. Furanocoumarins Contents in Various Processed Fruit Peel Products

Sample	BG ($\mu\text{g/g}$ products)	DHBG ($\mu\text{g/g}$ products)
100% grapefruit juice	2.4	4.3
Iyokan stick (crystallized peel)	N.D.	N.D.
Yuzu slice	N.D.	3.3
Hyuganatsu stick (crystallized peel)	N.D.	3.4
Bitter orange slice	N.D.	3.5
Lemon peel	5.6	N.D.
Grapefruit stick (crystallized peel)	1.2	7.2
Pomelo (buntan) marmalade	N.D.	0.4
Harumi marmalade	N.D.	0.2
Pink grapefruit marmalade	4.4	3.0
Grapefruit marmalade	3.8	3.4

N.D.: not detected.

マーマレード, グレープフルーツスティックについてヒト肝ミクロソームを用いて同様に CYP3A4 阻害活性を調べた. その結果を Table 3 に示す. これらは, ラット肝ミクロソームを用いた場合と同様にグレープフルーツジュースとほぼ同等かやや弱い阻害活性が認められた. 自製したグレープフルーツマーマレードも市販品とほぼ同等の阻害活性を示した.

2. 各種果実果皮加工食品の FCs の含有量 阻害活性の評価に用いた各種果実果皮加工食品の BG, DHBG 含有量を測定した結果を Table 4 に示す. BG は, レモンピールにグレープフルーツジュースの約 2 倍量と最も多く含まれ, ピンクグレープフルーツマーマレード, グレープフルーツマーマレードには 1.6-1.8 倍量が含まれていた. グレープフルーツスティックの BG 含有量はグレープフルーツジュースの 50% であり, 他の食品からは検出されなかった. DHBG は, グレープフルーツスティックにグレープフルーツジュースの約 1.7 倍と最も多く含まれていたが, ゆずスライス, 日向夏スティック, ビターオレンジスライス, グレープフルーツマーマレード, ピンクグレープフルーツマーマレードの含有量は 0.7-0.8 倍量であった. はるみ, ブンタンマーマレードの DHBG 含有量は極めて少なく, 他の食品からは検出されなかった.

3. 果実果皮加工食品の IC₅₀ と FCs 含有量との関係 BG, DHBG が CYP3A 阻害活性を示す主要な成分と考えられていることから, 各種果実果皮加工食品の IC₅₀ と FCs 含有量との関係を示した (Fig. 1). DHBG は BG の約 2 倍の CYP3A 阻害活性を有するため,¹⁸⁾ FCs 含量は DHBG 量を BG 量に換算し, BG 含有量に合して表した. IC₅₀ と FCs 含有量との間には相関関係 (R=0.78) が認められた.

4. グレープフルーツマーマレード, スティックの調製過程における FCs の消長 自製グレープフルーツマーマレード, スティックや, それらの調製に用いた生果皮, 生果肉, 茹でた果皮中の FCs 含有量を Table 5 に示す. DHBG は生果皮に多量に含まれているが, 自製グレープフルーツマーマレードや茹でた果皮ではその含有量は大きく減少した. 生果皮から茹でた果皮を調製する過程で DHBG が大きく減少する原因を明らかにするため, 茹で汁

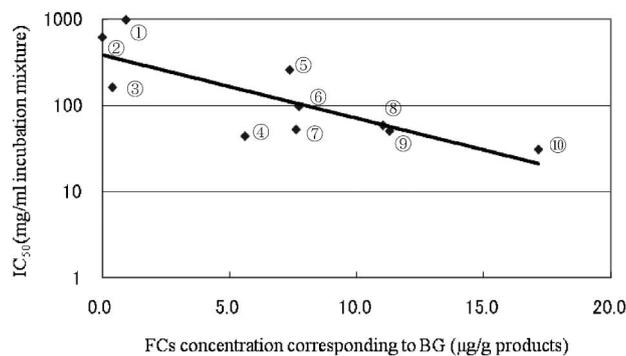


Fig. 1. Relationship between FCs Concentration of Various Processed Fruit Peel Products and Those CYP3A Inhibitory Activities (IC₅₀)

FCs concentration corresponding to BG = DHBG × 1 ÷ 0.45 + BG.

① pomelo (buntan) marmalade, ② crystallized iyokan peel, ③ harumi marmalade, ④ lemon peel, ⑤ yuzu slice, ⑥ crystallized hyuganatsu peel, ⑦ bitter orange slice, ⑧ pink grapefruit marmalade, ⑨ grapefruit marmalade, ⑩ crystallized grapefruit peel. Correlation coefficient is 0.7817

Table 5. Furanocoumarins Contents in Homemade Grapefruit Peel Products and Those Ingredients

Sample	BG (µg/g products)	DHBG (µg/g products)
Raw pulp	8.5	2.4
Raw peel	10.4	237.1
Single-boiled peel	10.2	58.0
Four-times-boiled peel	7.1	16.8
Homemade grapefruit marmalade ^{a)}	8.8	24.7
Homemade grapefruit stick ^{b)}	8.0	15.5

^{a)} Made by simmering a mixture of raw pulp, four-times-boiled peel and sugar (2 : 3 : 2.5, w/w) for about 20 min. ^{b)} Four-times-boiled peel coated with sugar, and dried in the sun over a day.

中の DHBG を測定した. その結果, 消失した DHBG の約 95% は, Fig. 2 に示すように茹で汁中に回収されることが明らかとなった.

考 察

Castro ら¹³⁾ は, 29 種の市販グレープフルーツジュースの FCs 含有量を調べ, DHBG 0.08-19.6 µg/ml, BG 0.33-12.3 µg/ml であると報告している. わが国では Sakamaki ら¹⁹⁾ が 13 種のグレープフルーツジュースについて調査し, DHBG 0-10 µg/ml, BG 0-16 µg/ml と報告している. これに対して, Castro ら¹³⁾ が同時に調べたグレープフルーツ果実の各部分の FCs 量は, 果皮 (Flavedo) が DHBG 106 µg/g, BG 19.8 µg/g と DHBG を多量に含んでいる. 本研究においても, 自製マーマレード

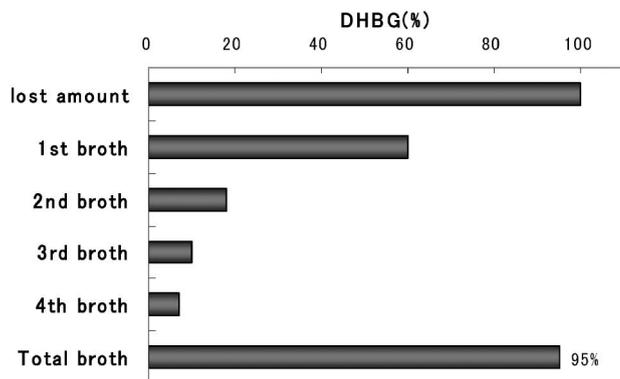


Fig. 2. Amount of DHBG Lost during Preparation of Boiled Peel and That Found in Broth

作製にあたり調べた果皮 (Flavedo + Albedo), 果肉の FCs 含有量を比較すると, 前者が DHBG を $237 \mu\text{g/g}$ と極めて多量に含むことが確認された (Table 5). DHBG は BG より強い CYP3A4 阻害活性を示すことが知られている.¹⁸⁾ したがって, グレープフルーツ果皮の加工食品は強い阻害活性を示すと予想された. しかし, 各種果実果皮加工食品の CYP3A 阻害活性を調べた結果, 最も強いグレープフルーツスティックやマーマレードでも, その阻害活性は 100% グレープフルーツジュースと同程度であった (Table 2).

果皮加工食品の CYP3A4 阻害活性が予想より低かった原因は, これら食品の FCs 含有量がグレープフルーツジュースのそれとほぼ同程度であったことから説明できると思われる (Table 4).

このように原料の生果皮には多量の DHBG が含まれるにもかかわらず, それらの市販加工食品の DHBG 含有量が比較的少なく, CYP3A 阻害活性も予想を下回った原因を明らかにするため, グレープフルーツマーマレード, 同スティックを原料から自製し, 製造過程における DHBG 含有量, 阻害活性を調べた. その結果, 自製グレープフルーツマーマレードの調製においては生果皮と生果肉を 3:2 で混合したため, 原料の DHBG 含有量は $237.1 \mu\text{g/g} \times 3/5 + 2.4 \mu\text{g/g} \times 2/5 = 143 \mu\text{g/g}$ と推定されるのに対して調製したグレープフルーツマーマレードのそれは $24.7 \mu\text{g/g}$ と推定値の約 17% であり, 同スティックについては原料の果皮の DHBG 含有量 $237.1 \mu\text{g/g}$ に対して $15.5 \mu\text{g/g}$ と約 7% であった (Table 5). 自製グレープフルーツマーマレードの阻害活性

も同様に低かった (Table 3). これらの結果は, 製造過程で FCs が分解あるいは消失したことを示している.

製造過程において, 果皮の茹で汁に含まれる DHBG を測定した結果, 消失した DHBG はほぼ定量的に茹で汁に流出していることが確認された. FCs は加熱による分解が報告されているが,¹⁶⁾ 本研究において自製果皮加工食品を調製する際の果皮の前処理の条件下では, 加熱による分解はほとんどなかったことを示している. これは, 果皮を茹でる時間が沸騰後, 約 30 秒と Uesawa ら¹⁶⁾ が用いた加熱条件 (95°C , 10 分間の加熱で DHBG は半減し, 1 時間でほぼ消失) と比較して極めて短かったためと考えられる.

以上のように, グレープフルーツ果皮加工食品の CYP3A 阻害活性がそれらの FCs 含有量と密接に関係していると考えられたため, 本研究で調べた各種果実加工食品の阻害活性と FCs 含有量の関係を検討した. その結果, CYP3A 阻害活性と FCs 含有量の間には比較的良好な相関関係が認められた. このことから, かんきつ類の果実中に含まれる DHBG や BG を測定することにより, おおよその CYP3A 阻害活性を予測することが可能であると考えられる. ただし, この相関性の検証にはラット肝ミクロソームを本研究では用いたにもかかわらず, FCs 含有量の算出に際して Ohnishi ら¹⁸⁾ がヒト肝ミクロソームを用いた場合の BG, DHBG の阻害活性の比を換算係数として用いた. したがって, ラット肝ミクロソームを用いた場合の換算係数 (試験していない) でも同様の相関性が得られる保証はないが, 同一試料についてのラット肝ミクロソーム及びヒト肝ミクロソームを用いた IC_{50} 値を比較すると (Tables 2 and 3), グレープフルーツマーマレードで $51/17=3$, グレープフルーツジュースで $34/16=2.1$, グレープフルーツスティックで $31/21=1.5$ と類似した数値となるため, DHBG と BG 量から CYP3A 阻害活性のおおよその強さを推定することは可能と思われる.

相関関係からの逸脱が大きい食品については, 本研究で測定しなかった阻害活性を有する epoxy bergamottin や bergamottin 6',7'-epoxide^{12,14)} などがそれらの食品に存在したと考えられる. レモンピールでは FCs 含量に比較して阻害活性が高かった. ま

た、レモンピールは bergamottin が多く含まれていることに加え、弱いながらも CYP3A 阻害活性を示す hesperidin を多く含む¹⁰⁾ことが今回測定した FCs 含量に比較して、強い CYP3A 阻害活性を示す原因の1つであると考えられるが、一方で hesperidin には阻害活性がないとの報告²⁰⁾もあり、未知の CYP3A 阻害物質が含まれている可能性も考えられる。

果実果皮加工食品の中にはグレープフルーツジュースとほぼ同等の FCs を含み、CYP3A4 阻害活性を持つものがあるが、グレープフルーツジュースと同様の量を摂取することが少ないと考えられるため、グレープフルーツジュースよりも薬物動態に与える影響が少ない可能性がある。ただし、今回の研究では Caucasian のヒト肝ミクロソームを用いたが、Asian と Caucasian では CYP3A5 の発現量に差がみられることがあり、²¹⁾ CYP3A 阻害に違いが出る可能性がある。したがって、本研究結果の解釈は慎重であるべきであり、今後、果実果皮加工食品の薬物動態に与える影響をさらに検討していく必要があると考えられる。

REFERENCES

- 1) Takanaga H., Ohnishi A., Murakami H., Matsuo H., Higuchi S., Urae A., Irie S., Furuie H., Matsukuma K., Kimura M., Kawano K., Orii Y., Tanaka T., Sawada Y., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **67**, 201–214 (2000).
- 2) Dresser G. K., Bailey D. G., Carruthers S. G., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **68**, 28–34 (2000).
- 3) 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).
- 4) Lilja J. J., Neuvonen M., Neuvonen P. J., *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **58**, 56–60 (2004).
- 5) Ohtani M., Kawabata S., Kariya S., Uchino K., Itou K., Kotaki H., Kasuyama K., Morikawa A., Seo I., Nishida N., *Yakugaku Zasshi*, **122**, 323–329 (2002).
- 6) Ducharme M. P., Warbasse L. H., Edwards D. J., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **57**, 485–491 (1995).
- 7) Kupferschmidt H. H., Ha H. R., Ziegler W. H., Meier P. J., Krähenbühl S., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **58**, 20–28 (1995).
- 8) Paine M. F., Widmer W. W., Hart H. L., Pusek S. N., Beavers K. L., Criss A. B., Brown S. S., Thomas B. F., Watkins P. B., *Am. J. Clin. Nutr.*, **83**, 1097–1105 (2006).
- 9) Egashira K., Ohtani H., Itoh S., Koyabu N., Tsujimoto M., Murakami H., Sawada Y., *Drug Metab. Dispos.*, **32**, 828–833 (2004).
- 10) Fujita T., Kawase A., Niwa T., Tomohiro N., Masuda M., Matsuda H., Iwaki M., *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 925–930 (2008).
- 11) Saita T., Fujito H., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **32**, 693–699 (2006).
- 12) Guo L. Q., Fukuda K., Ohta T., Yamazoe Y., *Drug Metab. Dispos.*, **28**, 766–771 (2000).
- 13) De Castro W. V., Mertens-Talcott S., Rubner A., Butterweck V., Derendorf H., *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 249–255 (2006).
- 14) Wangensteen H., Molden E., Christensen H., Malterud K. E., *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **58**, 663–668 (2003).
- 15) Bailey D. G., Dresser G. K., Kreeft J. H., Munoz C., Freeman D. J., Bend J. R., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **68**, 468–477 (2000).
- 16) Uesawa Y., Mohri K., *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 2274–2278 (2006).
- 17) Okada M., “Tanpakushitsu Jikken Note,” Vol. 1, 3rd ed., eds. by Okada M., Miyazaki K., Yodosya Co., LTD., Tokyo, 2004, pp. 39–40.
- 18) Ohnishi A., Matsuo H., Yamada S., Takana-ga H., Morimoto S., Shoyama Y., Ohtani H., Sawada Y., *Br. J. Pharmacol.*, **130**, 1369–1377 (2000).
- 19) Sakamaki N., Nakazato M., Matsumoto H., Hagino K., Hirata K., Ushiyama H., *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **49**, 326–331 (2008).
- 20) Li P., Callery P. S., Gan L. S., Balani S. K., *Drug Metab. Dispos.*, **35**, 1203–1208 (2007).
- 21) Yamaori S., Yamazaki H., Iwano S., Kiyotani K., Matsumura K., Honda G., Nakagawa K., Ishizaki T., Kamataki T., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **19**, 120–129 (2004).