

酵素免疫測定法による食物・生薬中の フラノクマリン類含量のスクリーニング

齋田哲也*, 藤戸 博

佐賀大学医学部附属病院薬剤部

Screening of Furanocoumarin Derivatives in Foods and Crude Drugs by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Tetsuya Saita*, Hiroshi Fujito

Department of Pharmacy, Saga University Hospital

{ Received February 21, 2006 }
{ Accepted May 1, 2006 }

Furanocoumarin derivatives such as bergamottin and 6',7'-dihydroxybergamottin are inhibitors of CYP3A4 and have been isolated from grapefruit juice. We developed a sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay for these furanocoumarin derivatives and used it for screening a large number of citrus fruits, vegetables and crude drugs for them. On testing the juice and peel of 25 citrus fruits, significant reactivity was observed with the juice of 4 of them: sweetie, melogold, banpeiyu pummelo and red pummelo and in the case of peel, significant reactivity was observed for 4 fruits: sweetie, melogold, sour pummelo and natsudaidai. For most of the citrus fruits, the peel showed a stronger reaction than the juice. Seven vegetables were tested and only slight reactivity was observed for 4 of them: parsley, celery, Italian parsley and mit-suba. Among the twenty crude drugs tested, significant reactivity was observed for 2: angelica dahurica root (byakushi) and bitter orange peel (touhi). These findings suggest that 4 of the citrus fruits and 2 of the crude drugs tested would exhibit strong drug interactions.

Key words — furanocoumarin derivatives, CYP3A4 inhibitors, screening, enzyme-linked immunosorbent assay

緒 言

1993年のソリブジン事件以来、医薬品と医薬品の相互作用が注目され、同時に医薬品と食物との相互作用についても注目されるようになってきた。中でも、グレープフルーツジュース(GFJ)と薬物に関する相互作用については広く知られており、Ca拮抗薬、免疫抑制薬、抗高脂血症用薬などの多くの薬物において相互作用が認められている¹⁻⁵⁾。この相互作用は主として小腸にある薬物代謝酵素チトクローム P450(CYP) 3A4がダウンレギュレーションを受けるために起こる薬物代謝阻害と⁶⁾、薬物によっては、薬物排出トランスポーターによる排出過程も合わせて、GFJによる阻害を受けるためであると考えられている⁷⁾。

現在、GFJ中からCYP3A4阻害活性を示す6種のフラノクマリン類(ベルガモチン、6',7'-ジヒドロキシベルガモチン(DHB)、6',7'-エポキシベルガモチンおよびその2量体)が単離され、それらが相互作用の原因物質であろうと考えられている⁸⁻¹⁰⁾。これらのフラノクマリン類は、GFJの近縁種であるザボンにも含有することが知られており、GFJと同様な薬物相互作用が確認されている¹¹⁾。さらに、フラノクマリン類の種々の誘導体が、GFJやザボンが属するミカン科以外のセリ科、クワ科、マメ科の植物からも単離されている¹²⁾。したがって、GFJとの相互作用が報告されている薬物は、GFJのみならずフラノクマリン類を含有する他の食物あるいは生薬においても相互作用の注意が必要であると考えられる。

これらフラノクマリン類の研究は始められたばかりであり、種々の植物中での分布などもまだ完全に明らかに

* 佐賀市鍋島5-1-1; 5-1-1, Nabeshima, Saga-shi, 849-8501 Japan

されていない。さらに、食物の範疇が極めて広いことや、品種改良の技術の発達により、多くの食物が生まれているため、このようなフラノクマリン類が含まれているかが明らかでない食物が多くある。したがって、CYP 3A4 阻害活性を有するフラノクマリン類を簡単にスクリーニングすることができれば、フラノクマリン類の CYP 3A4 阻害による相互作用の評価が簡単にできるようになる。それゆえ、われわれは、GFJ 中に含まれる CYP 3A4 阻害活性を有するフラノクマリン類を容易にスクリーニングできる簡易で高感度な酵素免疫測定法 (ELISA 法) を開発した¹³⁾。

本研究では、この ELISA 法を用いて、植物中(柑橘類、野菜、生薬)に含まれるフラノクマリン類のスクリーニングを行ったので報告する。

方 法

1. 試薬および試料

DHB は Ultrafine(株)より購入した。各柑橘類および野菜は佐賀市内のスーパーマーケットより購入した。各生薬は高砂薬業(株)および松浦薬業(株)より購入した。その他の試薬類は通常市販の特級品を購入して使用した。

2. 試料の調製

①柑橘類の果汁と野菜

各柑橘類の果肉および各野菜の可食部分をホモジナイズし、その溶液をろ過して試料溶液を得た。

②柑橘類の果皮

各柑橘類の果皮(表皮とわたの部分)をホモジナイズし、その溶液をろ過して試料溶液を得た。

③生薬

粉末化した各生薬100mg にメタノール 1 mL を加え、室温で24時間抽出した。その抽出液をろ過し、減圧濃縮して得た残渣に10mM EDTA, 0.1%ウシ血清アルブミン(BSA)および10mM NaN_3 を含む0.25M リン酸バッファー(pH7.4) (バッファー A) を 1 mL 加えた。その溶液をろ過し、原液の試料溶液とした。

3. ELISA スクリーニング法

各試料中に含まれる CYP 3A4 阻害活性を有するフラノクマリン類を同定する目的で、すでに確立した DHB の ELISA 法¹³⁾ を若干改変して使用した。各試料溶液はバッファー A で希釈系列を調整し、ELISA 法で測定した。

マイクロタイタープレートのウェルに10mM NaCl および10mM NaN_3 を含む10mM トリス HCl バッファー(pH 8.5) に溶解した抗 DHB IgG (0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を150 μL 加えて37 $^{\circ}\text{C}$ 、1時間放置することによりコートした。次にプレートをバッファー A で洗浄した後、200 μL の10mM

NaCl, 10mM NaN_3 および2% BSA を含む10mM トリス HCl バッファー(pH 8.5) を加え、37 $^{\circ}\text{C}$ 、20分間ブロッキングした。ウェルに、50 μL の試料溶液、コントロールとしてバッファー A のいずれかを加え、その直後にバッファー A で1:2000に希釈した DHB- β -ガラクトシダーゼ標識体を50 μL 添加した。4 $^{\circ}\text{C}$ 、一晚反応させた後、0.1M NaCl, 1mM MgCl_2 , 0.1% BSA および10mM NaN_3 を含む20mM リン酸バッファー(pH 7.0) (バッファー B) で十分に洗浄した。結合した酵素標識体を定量するため、基質としてバッファー B で溶解した0.1mM 7- β -D-ガラクトピラノシルオキシ-4-メチルクマリンを各ウェルに125 μL 添加し、37 $^{\circ}\text{C}$ 、30分間反応させた。酵素反応は75 μL の0.5M グリシン-NaOH バッファー(pH 10.3) を加えて反応を停止させた。次に ELISA アナライザーを用いた蛍光分析により、励起波長355nm、蛍光波長460nm で測定した。

4. DHB 換算値の算出

各試料溶液の反応性は、DHB 換算値として表した。DHB 換算値は ELISA 法によって得られた DHB の検量線から、各試料溶液の希釈曲線の50%B/ B_0 値より算出した。

結 果

1. DHB の標準曲線

すでに確立した DHB の ELISA 法の競合反応条件を、室温で3時間から4 $^{\circ}\text{C}$ で一晩に、変更することにより、測定値の安定性と高感度化が得られた。

DHB の ELISA 法による DHB の標準曲線を Fig. 1 に示す。その結果、測定範囲は、DHB 濃度6.4pg~20ng/mL を示し、32pg~4 ng/mL の範囲で直線性が得られ、非常に高感度であった。また、50%B/ B_0 値は、400pg/mL であった。

2. グレープフルーツの果汁と果皮の希釈曲線

グレープフルーツの果汁と果皮の試料溶液をバッファー A で希釈系列を作り、ELISA 法で測定した。その結果、両試料溶液とも濃度依存的な曲線を示した (Fig. 2)。また、果皮の方が果汁に比べて、約300倍強い反応を示した。

3. フラノクマリン類の ELISA スクリーニング

本 ELISA 法を使用してフラノクマリン類を同定する目的で柑橘類(25種類)、野菜(7種類)および生薬(20種類)について ELISA スクリーニングを行った。

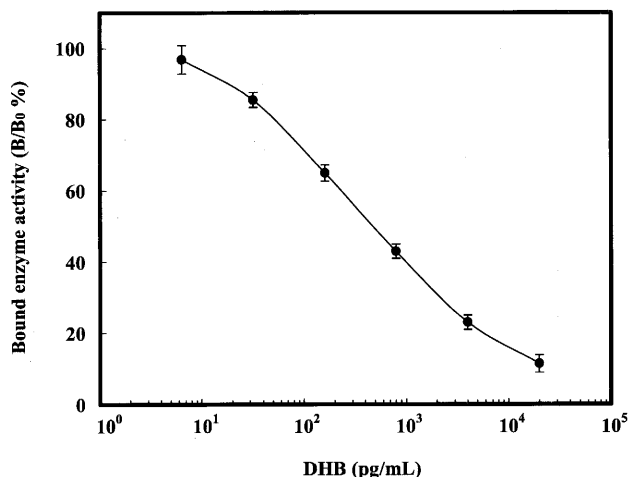


Fig. 1. ELISA法によるDHBの検量線
各点は平均値±標準偏差値(n=3)

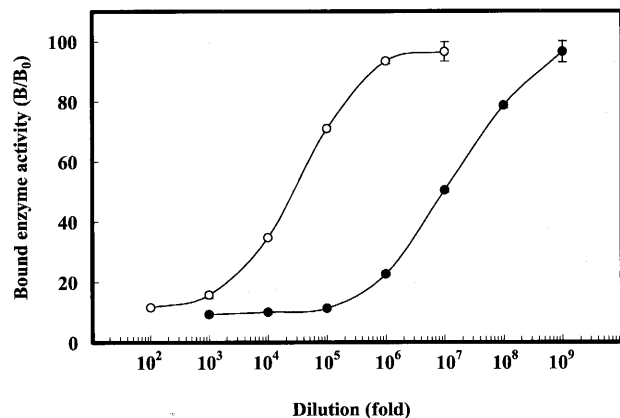


Fig. 2. グレープフルーツの果汁と果皮の希釈曲線
○：果汁 ●：果皮
各点は平均値±標準偏差値(n=3)

1) 柑橘類の果汁および果皮

柑橘類においては、柑橘類25種類の果汁および果皮についてスクリーニングを行った(Table 1)。果汁におけるDHB換算値は、グレープフルーツで13.0 μ g/mL、スウィーティーで17.5 μ g/mL、メロゴールドで12.5 μ g/mL、バンペイユで12.5 μ g/mLおよびレッドポメロで6.4 μ g/mLを示し、これら4種類の柑橘類がグレープフルーツに近い反応を示した。また、果皮におけるDHB換算値は、グレープフルーツで3600 μ g/mL、メロゴールドで3400 μ g/mL、スウィーティーで2400 μ g/mL、甘夏ミカンで1040 μ g/mLおよびサワーポメロで1000 μ g/mLを示し、これら4種類の柑橘類がグレープフルーツに近い反応を示した。さらに、ほとんどの柑橘類において、果汁よりも果皮の方が、数十倍から数千倍強い反応を示した。特にレモンにおいては、果汁で0.05 μ g/mLに対し、果皮で180 μ g/mLと3600倍の反応を示した。

2) 野菜

野菜においては、セリ科の主な野菜7種類についてスクリーニングを行った結果(Table 2)、そのDHB換算値は、パセリで0.38 μ g/mL、サラダパセリで0.1 μ g/mL、セロリで0.02 μ g/mLおよびミツバで0.003 μ g/mLであった。その他の野菜は反応を示さなかった。

3) 生薬

生薬においては、ミカン科、セリ科、マメ科およびクワ科の生薬20種類についてスクリーニングを行った(Table 3)。そのDHB換算値は、ビャクシで784.0 μ g/g、トウヒで336.0 μ g/g、キジツで20.0 μ g/g、ゼンコで2.1 μ g/g、ハマボウフウで0.65 μ g/gおよびトウキで0.54 μ g/gであった。反応を示した生薬は、セリ科とミカン科であった。マメ科とクワ科の生薬からは、反応を示すものはなかった。特にセリ科のビャクシとミカン科のトウヒが強い反応を示した。

考 察

本ELISA法は、DHB濃度32pg/mLという低濃度まで測定可能であり、非常に高感度であった(Fig. 1)。また、抗DHB抗体は、フラノクマリン骨格のみではほとんど反応を示さず、フラノクマリン骨格の5位にイソプレン側鎖を持つ化合物に特異的に反応を示した¹³⁾。GFJに含まれるCYP3A4阻害活性を有する6種類のフラノクマリン類の構造は、Fig. 3に示すようにフラノクマリン骨格にイソプレン側鎖を持つ化合物である。そのCYP3A4阻害活性は、フラノクマリン骨格のみではほとんど活性を示さず、そのフラノクマリン骨格にイソプレン基などの側鎖がつくことによって活性を示すといわれている¹⁴⁾。したがって、このELISA法で強く反応を示したものは、少なくともフラノクマリン骨格の5位にイソプレン側鎖を持つ化合物を含有し、その化合物がCYP3A4阻害活性を有している可能性が高いことを意味する。

このELISA法の評価は、DHB換算値として表した。抗DHB抗体は、特にDHBに対して特異的であるが、DHBの6', 7'部位の水酸基がないベルガモチンには、約20%の交差反応を示した¹³⁾。また、6', 7'-エポキシベルガモチンおよびその2量体に対する交差反応は確認していないが、これらの構造から判断してベルガモチンと同等かそれ以上の交差反応を示すことが予測された。したがって、DHB換算値が高いということは、DHBあるいはDHB以外のフラノクマリン類(ベルガモチンなど)を多く含んでいること、または、その両方を多く含んでいることを意味する。GFJにおける薬物相互作用は、ベルガモチンが重要な原因物質と考えられている¹⁵⁾。また、グレープフルーツ果汁におけるフラノクマリン類の含量は、DHBが1番多く含まれており、濃

Table 1. 柑橘類の果汁および果皮に含まれるフラノクマリン類のスクリーニング

カンキツ名	産地	DHB換算量 ($\mu\text{g/mL}$)	
		果汁	皮
グレープフルーツ	カリフォルニア	13.0	3600.0
スウィーティー	カリフォルニア	17.5	2400.0
メロゴールド	カリフォルニア	12.5	3400.0
バンペイユ	熊本	12.5	75.0
レッドポメロ	カリフォルニア	6.4	240.0
ダイダイ	佐賀	3.2	72.0
ブンタン	高知	2.25	660.0
ハッサク	熊本	0.92	20.0
サワーポメロ	鹿児島	1.0	1000.0
メキシカンライム	メキシコ	0.96	35.0
甘夏ミカン	熊本	0.6	1040.0
パール柑	熊本	0.9	20.0
サンボウカン	和歌山	0.4	40.0
レモン	カリフォルニア	0.05	180.0
日向夏	宮崎	0.12	28.5
ネーブルオレンジ	オーストラリア	0.05	0.24
スウィートオレンジ	オーストラリア	0.01	16.0
ウンシュウミカン	福岡	N.D.	N.D.
ボンカン	大分	N.D.	0.08
イヨカン	愛媛	N.D.	0.2
デコボン	大分	N.D.	N.D.
ユズ	宮崎	0.01	0.4
カボス	大分	0.01	1.44
スダチ	佐賀	N.D.	0.14
キンカン	佐賀	N.D.	0.02

DHB換算量は、2検体の平均値

N.D.: Not Detectable

Table 2. セリ科の野菜類に含まれるフラノクマリン類のスクリーニング

野菜名	産地	DHB換算量 ($\mu\text{g/mL}$)
パセリ	佐賀	0.38
イタリアンパセリ	大分	0.1
セロリ	佐賀	0.02
セリ	大分	N.D.
ミツバ	大分	0.003
ニンジン	佐賀	N.D.
コリアンダー	大分	N.D.

DHB換算量は、2検体の平均値

N.D.: Not Detectable

Table 3. 生薬に含まれるフラノクマリン類のスクリーニング

生薬名	科名	DHB換算量 ($\mu\text{g/g}$)
トウヒ	ミカン	336.0
キジツ	ミカン	20.0
オウバク	ミカン	N.D.
チンピ	ミカン	N.D.
ゴシュユ	ミカン	N.D.
サンショウ	ミカン	N.D.
ビヤクシ	セリ	784.0
ゼンコ	セリ	2.1
ハマボウフウ	セリ	0.65
トウキ	セリ	0.54
ボウフウ	セリ	N.D.
ウイキョウ	セリ	N.D.
サイコ	セリ	N.D.
オウギ	マメ	N.D.
センナ	マメ	N.D.
カンゾウ	マメ	N.D.
カッコン	マメ	N.D.
クジン	マメ	N.D.
ソウハクヒ	クワ	N.D.
ホップ	クワ	N.D.
DHB換算量は、2検体の平均値 Not Detectable		N.D.:

度から判断して、その薬物相互作用は、DHBが重要な原因物質の1つであると考えられている¹⁵⁾。それゆえ、DHB換算値がグレープフルーツと同等の値を示すということは、グレープフルーツと同等な薬物相互作用を示す可能性が高いと考えられる。

このELISA法を用いて、グレープフルーツの果汁と果皮について、希釈曲線を描いた結果、果皮の方が果汁に比べて、約300倍強い反応を示した(Fig. 2)。この結果は、果汁よりも果皮の方にフラノクマリン類が多く含まれていることを示唆する。

25種類の柑橘類の果汁と果皮において、ELISAスクリーニングを行った結果(Table 1)、果汁ではスウィーティー、メロゴールド、バンペイユおよびレッドポメロが、グレープフルーツとほぼ同等な反応を示した。すでに、GFJ、バンペイユおよびハッサク中のDHBとベルガモチン含量は、HPLC法にて定量されている¹¹⁾。DHBはGFJで $6.11\mu\text{g/mL}$ ($16.41\mu\text{M}$)、バンペイユで $4.52\mu\text{g/mL}$ ($12.14\mu\text{M}$)およびハッサクで $1.03\mu\text{g/mL}$ ($2.76\mu\text{M}$)である。また、ベルガモチンはGFJで $5.54\mu\text{g/mL}$ ($16.36\mu\text{M}$)、バンペイユで $4.11\mu\text{g/mL}$ ($12.14\mu\text{M}$)である。一方、ハッサクからは検出されていない。同じ柑橘類間で

も濃度にバラツキがあると思われるが、これらHPLC法より検出されたDHB、ベルガモチン含量とDHB換算値は、ほぼ比例関係を示した。さらに、これらHPLC法より検出されたDHB、ベルガモチン含量とCYP3A4活性阻害強度はほぼ比例したと報告されている¹¹⁾。したがって、グレープフルーツとはほぼ同等な反応を示した4種の柑橘類は、グレープフルーツと同様にフラノクマリン類による相互作用の注意が必要であると考えられた。すでに、スウィーティーおよびレッドポメロについては、*in vitro*でグレープフルーツと同様なCYP3A4阻害活性を示すことが報告されている¹⁰⁾。しかし、メロゴールドについては、まだ報告されていない。また、果皮では、メロゴールド、スウィーティー、甘夏ミカンおよびサワーポメロが、グレープフルーツと近い反応を示した。さらに、フラノクマリン類は、ほとんどの柑橘類において、果汁よりも果皮の方に数十倍から数千倍多く含まれていることが明らかになった。柑橘類の果皮は、砂糖漬けなどして直接食べる場合やマーマレードなどのように加工して食べる場合もある。したがって、強い反応を示した柑橘類の果皮を含有する食品は、十分にフラノクマリン類による相互作用の注意が必要であると考え

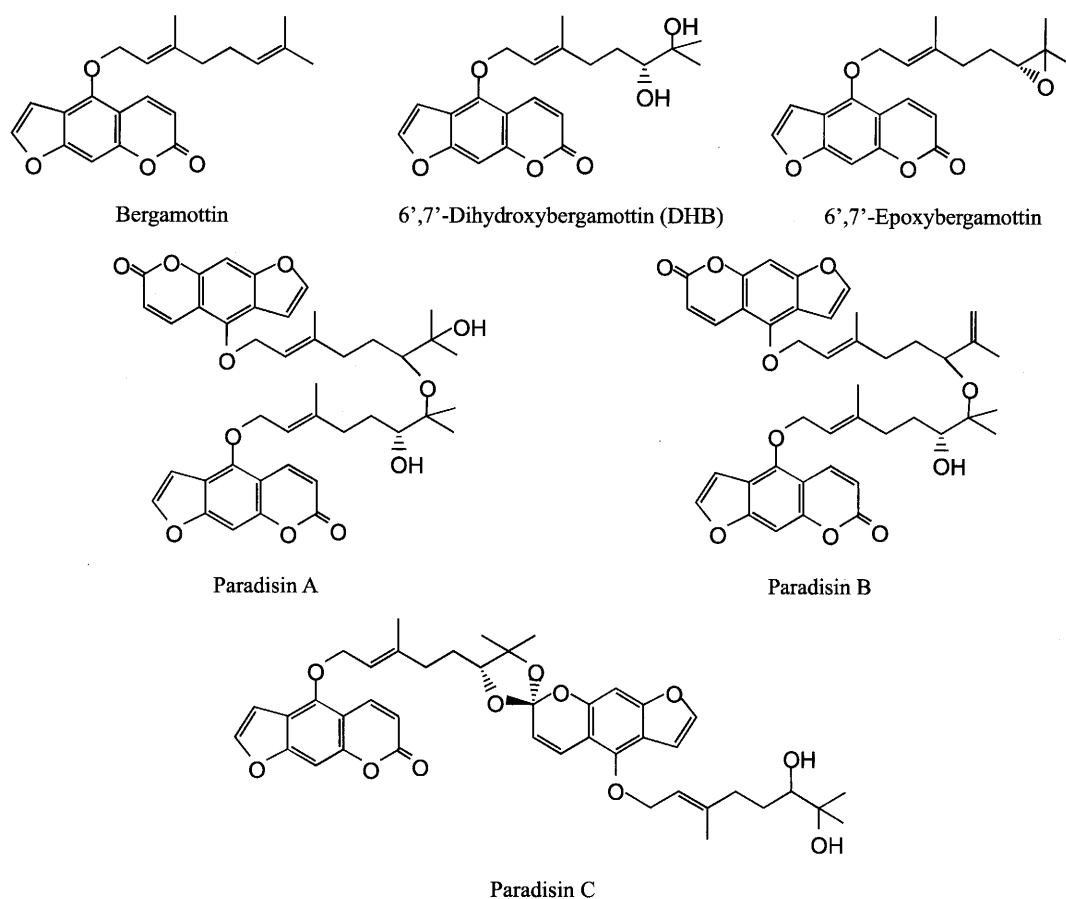


Fig. 3. GFJ 中に含まれるフラノクマリン類

られた。

セリ科の主な野菜7種類についてスクリーニングを行った結果(Table 2), パセリ, イタリアンパセリ, セロリおよびミツバが弱い反応を示した。一番強く反応を示したパセリでさえ, グレープフルーツの約40分の1しか反応を示さなかった。これらの野菜の一般的な摂取量から判断して, これらのフラノクマリン類による相互作用の心配は必要ないと思われた。

ミカン科, セリ科, マメ科およびクワ科の生薬20種類についてスクリーニングを行った結果(Table 3), ミカン科では, トウヒおよびキジツ, セリ科では, ビャクシ, ゼンコ, ハマボウフウおよびトウキが反応を示した。特に, ビャクシ(DHB換算値: 784 μ g/g)とトウヒ(DHB換算値: 336 μ g/g)は, 強い反応を示した。例えば, グレープフルーツ果汁のDHB換算値は, 13 μ g/mLであることから, これらの生薬各1gをグレープフルーツの果汁量に換算した場合, ビャクシで, 約60mL, トウヒで約25mLになる。ビャクシはセリ科シシウド属の多年草ヨロイグサ(学名: *Angelica dahurica*)の根である。消炎・鎮痛・排膿・肉芽形成作用があり, 五積散, 清上防風湯, 疎経活血湯などの漢方処方に1日量として, 約0.4~0.8

g配合されている。また, トウヒはミカン科ダイダイ(学名: *Citrus aurantium*)の果皮である。鎮咳, 鎮嘔, 鎮痙, 健胃作用があり, 芳香, 苦味健胃薬, 苦味チンキ(日局), トウヒチンキ(日局)として用いられている。例えば, 胃腸薬に苦味健胃薬として1日最大分量3g(トウヒ粉末)が配合されている。一般的にGFJの相互作用は, 単回200mL飲用で起こることが示されている¹⁶⁾。したがって, これらの生薬を長期に服用した場合は, フラノクマリン類による相互作用の注意が必要であると考えられた。

今回のわれわれの研究で, グレープフルーツ以外にもこれらのフラノクマリン類を多く含んでいる柑橘類や生薬があることが明らかになった。したがって, GFJとの相互作用が報告されている薬物は, GFJのみならずこれらの柑橘類および生薬においても相互作用の注意が必要であると考えられた。

薬剤師のほとんどは, GFJと薬物との相互作用については患者に対して十分な情報提供を行っていると思われる。しかしながら, グレープフルーツ以外の柑橘類などに関しては, 情報量が少ないため, 十分な情報提供を行っていないのが現状であろう。確かにスウィーティー, メロゴールド, バンペイユなどは, グレープフルーツと比

較するとマイナーな柑橘類のようであるが、12月から3月にかけての冬期になれば、ほとんどのスーパーマーケットで売られている。実際に、今回の研究に使用した柑橘類はすべて近くのスーパーマーケットで入手したものである。さらに最近、品種改良の技術の発達により、新しい柑橘類が生み出され、それらがインターネットの普及により、世界中から簡単に入手できるようになってきている。したがって、グレープフルーツ以外にもフラノクマリン類による薬物相互作用の可能性のある柑橘類や生薬があることを患者に対して情報提供を行っていく必要がある。

引用文献

- 1) D.G. Bailey, J.D. Spence, C. Munoz, J.M.O. Arnold, Interaction of citrus juices with felodipine and nifedipine, *Lancet*, **337**, 268-269 (1991).
- 2) M.P. Ducharme, L.H. Warbasse, D.J. Edwards, Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **57**, 485-491 (1995).
- 3) D.G. Bailey, J.M.O. Arnold, J.D. Spence, Grapefruit juice-drug interactions, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **46**, 101-110 (1998).
- 4) G.K. Dresser, D.G. Bailey, S.G. Carruthers, Grapefruit juice-felodipine interaction in the elderly, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **68**, 28-34 (2000).
- 5) H. Christensen, A. Asberg, A.B. Holmboe, K.J. Berg, Coadministration of grapefruit juice increases systemic exposure of diltiazem in healthy volunteers, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **58**, 515-520 (2002).
- 6) P. Schmiedlin-Ren, D.J. Edwards, M.E. Fitzsimmons, K. He, K.K. Lown, P.M. Woster, A. Rahman, K.E. Thummel, J.M. Fisher, P.F. Hollemberg, P.B. Watkins, Mechanisms of enhanced oral availability of CYP3A4 substrates by grapefruit constituents. Decreased enterocyte CYP3A4 concentration and mechanism-based inactivation by furanocoumarins, *Drug Metab. Dispos.*, **25**, 1228-1233 (1997).
- 7) H. Takanaga, A. Ohnishi, H. Matsuo, Y. Sawada, Inhibition of vinblastine efflux mediated by P-glycoprotein by grapefruit juice components in caco-2 cells, *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 1062-1066 (1998).
- 8) D.J. Edwards, F.H. Bellevue, P.M. Woster, Identification of 6',7'-dihydroxybergamottin, a cytochrome P 450 inhibitor, in grapefruit juice, *Drug Metab. Dispos.*, **24**, 1287-1290 (1996).
- 9) K. Fukuda, T. Ohta, Y. Oshima, N. Ohashi, M. Yoshikawa, Y. Yamazoe, Specific CYP3A4 inhibitors in grapefruit juice: furocoumarin dimers as components of drug interaction, *Pharmacogenetics*, **7**, 391-396 (1997).
- 10) L.Q. Guo, K. Fukuda, T. Ohta, Y. Yamazoe, Role of furanocoumarin derivatives on grapefruit juice-mediated inhibition of human CYP3A activity, *Drug Metab. Dispos.*, **28**, 766-771 (2000).
- 11) K. Egashira, H. Ohtani, S. Itoh, N. Koyabu, M. Tsujimoto, H. Murakami, Y. Sawada, Inhibitory effects of pomelo on the metabolism of tacrolimus and the activities of CYP3A4 and P-glycoprotein, *Drug Metab. Dispos.*, **32**, 828-833 (2004).
- 12) M.A. Pathak, F. Daniels, T.B. Fitzpatrick, The presence of known furocoumarins (psoralens) in plants, *J. Invest. Dermatol.*, **39**, 225-239 (1962).
- 13) T. Saita, H. Fujito, M. Mori, Screening of furanocoumarin derivatives in citrus fruits by enzyme-linked immunosorbent assay, *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 974-977 (2004).
- 14) T. Ohta, M. Nagahashi, S. Hosoi, S. Tsukamoto, Dihydroxybergamottin caproate as a potent and stable CYP3A4 inhibitor, *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 969-973 (2002).
- 15) D.G. Bailey, G.K. Dresser, J.H. Kreeft, C. Munoz, D.J. Freeman, J.R. Bend, Grapefruit-felodipine interaction: Effect of unprocessed fruit and probable active ingredients, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **68**, 468-477 (2000).
- 16) B. Edgar, D. Bailey, R. Bergstrand, G. Johnsson, C.G. Regardh, Acute effects of drinking grapefruit juice on the pharmacokinetics and dynamics of felodipine--and its potential clinical relevance, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **42**, 313-317 (1992).