小腸代謝研究の現状と問題点

小村 弘

Current Status and Critical Issues on the Investigation of Small Intestinal Metabolism

Hiroshi KOMURA

Department of Pharmacokinetics, Research Center Kyoto, Bayer Yakuhin Ltd., Kyoto

Summary: Recently, pharmacokinetic analysis in clinical study has indicated that small intestinal metabolisms of certain drugs give a great impact on their exposures due to extensive first-pass effects particularly by CYP3A4. However, the *in vitro* metabolic activities in the small intestinal microsomes are, in general, lower than the relevant hepatic activities, and the intestinal extraction ratio predicted from the activities appeared to be inconsistent with the *in vivo* data. The reason for this may lie in the fact that both methodologies for the estimations from *in vitro* and *in vivo* have some issues (involvement of protein binding and effect of inducers/inhibitors on Q, respectively) to be clarified, or P-glycoprotein with the similar substrate specificity to CYP3A might be involved in the first pass metabolism. The detailed studies in an animal with a comparable CYP3A activity to human will be required to elucidate the contribution of small intestinal first-pass to overall metabolism.

Key words: Small intestinal metabolism, First-pass metabolism, P450s, CYP3A, P-glycoprotein, Species difference

はじめに

小腸初回通過代謝に関する *in vitro* から *in vivo* の予測については、1982 年に P. Klippert らによって phenacetin のラット小腸代謝活性から得られた小腸抽出率が実測値と一致することが報告されている¹⁾。しかしながら小腸代謝が初回通過効果に関わっているとの認識は一般に乏しく、薬物動態研究の表舞台へ登場するまでにはその後約 10 年近くの歳月を待たなければならなかった。1992 年に J. C. Kolar らによって、小腸 CYP3A による cyclosporine の初回通過代謝の可能性²⁾が報告されて以来、ヒトにおける初回通過代謝に小腸代謝が寄与しているとの知見が数多く報告されている³⁻⁸⁾。これらに対して、*in vivo* の小腸初回通過代謝を説明するのに十分な *in vitro* 代謝活性が得られているか？ と

いった疑問、および小腸初回通過代謝が過大評価されている可能性⁹⁾が指摘されている。そこで本稿では *in vitro* および *in vivo* での小腸代謝の評価の現状を紹介するとともに、その問題点を述べる。

1. 小腸での P450 活性は肝臓より低い？

P450 は mucosal crypts に存在する未成熟な epithelial cell ではほとんど認められず、epithelial cell が villous の tip 側へ成熟しながら移動する過程で合成される^{10,11)}。最も高い P450 含量は villous の tip 側において認められ、その濃度は十二指腸および空腸から小腸下部にかけて減少している¹²⁾。したがって *in vitro* 代謝実験に使用される生体試料は小腸上部の villous tip の mucosa から調製される。さらにミクロソーム調製時に protease による分解を受けて活性が低下することから、

——こむら ひろし——

小村 弘：1983 年大阪府立大学大学院農学研究科修士課程修了。現在、バイエル薬品 中央研究所薬物動態分野・主任研究員として、探索代謝試験を行っています。探索試験の新しいアイデアをフランクに話合える場所があれば、と思うのですが！！

protease inhibitor として EDTA, *p*-methylphenylsulfonyl floride または trypsin inhibitor など^{11,12)}を用いてミクロソームを調製するか、または単離した enterocyte が使用されている¹³⁾。ヒト小腸の P450 濃度は肝臓と比較して低く 0.055~0.14 nmol/mg protein であり^{13,14)}、これは肝臓中濃度の 16~17% に相当する。肝と同様に小腸にも CYP1A1, 1B1, 2C, 2D6, 2E1, 3A4 および 3A5 の mRNA は検出されているが、タンパクレベルでは CYP1A1, 2C および 3A4/5 などが検出されるに過ぎない¹⁵⁾。M. F. Pain らは、十二指腸において CYP3A4 含量は 30.6 pmol/mg protein であり、総 P450 含量 60 pmol/mg protein の約半分を占めていることを示した¹²⁾。一方、ラット小腸上部における P450 含量は 0.046~0.115 nmol/mg protein であり¹⁶⁻¹⁹⁾、肝臓の 5.7~11.5% にしか過ぎない。主な P450 分子種は CYP1A および 2B であり、ヒトでの主たる P450 である CYP3A の割合は比較的少ない²⁰⁾。

CYP3A によって代謝される薬物について、その小腸ミクロソームまたは enterocytes における速度論的パラメータまたは代謝活性^{8,13,14,21-26)}を **Table I** に示した。Oxodipine を除いて k_m 値は 2~12 μM であり、親和性が比較的高かったのに対し、 $V_{\max}$ 値には 100 倍以上の差が認められた。小腸と肝臓のパラメータ値を比較した場合、すべての薬物の k_m 値は両ミクロソーム間ではほぼ等しく、homology の高い CYP3A が両代謝反応に関与しているものと考えられた。K. L. Lown らは小腸および肝臓の CYP3A4 の cDNA の塩基配列が等しく、同一の CYP3A4 タンパクが発現している可能性を²⁷⁾示唆している。小腸での $V_{\max}$ は terfenadine, midazolam, lovastatin および oxodipine で肝臓よりも小さく 10~30% である。一方、indinavir, cyclosporine および

rifabutin の $V_{\max}$ は小腸および肝臓間ではほぼ等しく、さらに erythromycin の代謝活性も両組織でほとんど差がない。P450 の小腸および肝臓での発現量から考えて小腸代謝活性は肝臓よりも低いと思われるが、CYP3A4 の基質においては一概にそうとはいえない。

2. 小腸代謝活性の特徴

肝臓における薬物代謝の種差に関しては、P450 分子種の組成比、さらに各分子種に特異的な基質を用いた代謝活性など、詳細な検討がなされている。これに対して小腸薬物代謝に関する種差の報告はきわめて少ない。著者らはヒトにおいて CYP3A4 で代謝される nisoldipine の小腸代謝活性の種差について、ラット、イヌおよびサルミクロソームを用いて検討した。その際、protease inhibitor として 0.5 mg/ml の trypsin inhibitor を用いた。**Fig. 1** に示すように、ヒトにおける小腸代謝活性は最も高く、次いでサルであり、ラットにおいて低かった。CYP3A4 のマーカーである testosterone 6 β -hydroxylation 活性も同様にヒト(1.58 nmol/min/mg protein)で最も高く、次いでサル(1.13)およびイヌ(0.15)であった²⁸⁾。これらのことからサルはヒトに近い代謝活性を有し、ヒト小腸代謝の評価に適した動物種である可能性が示唆された。

一方、A. Lampen らは cyclosporine の代謝活性の種差についてヒトおよびブタの小腸ミクロソームを用いて検討し、両種においてほぼ等しい k_m 値(3.9 vs 5.6 μM)および $V_{\max}$ (6.9 vs 8.1 pmol/min/mg protein)が得られることを明らかにした²⁶⁾。さらに初期濃度として 6.7 μM の cyclosporine に対する代謝活性は、ブタ(3.23 pmol/min/mg protein)において最も高く、以下イヌ(2.18)>ヒト(1.88)>ラット(0.75)の順であった。

Table I Kinetic parameters of CYP3A4 substrates in human small intestine and liver

	Metabolic pathway	Small intestine			Liver		
		K_m (μM)	$V_{\max}$ (pmol/min/mg)	CL_{int} ($\mu\text{l/min/mg}$)	K_m (μM)	$V_{\max}$ (pmol/min/mg)	CL_{int} ($\mu\text{l/min/mg}$)
Terfenadine ^{a)}	Hydroxylation	2.5	61	24.4	1.8	370	205
Midazolam ^{b)}	1'-hydroxylation	3.58	463	129	2.75	1004	365
Oxodipine ^{c)}	Oxidation	30-50	13-33	0.26-1.1	59	310	5.25
Lovastatin ^{d)}	6 β -hydroxylation	11.2	155.4	13.9	7.9	1576	199
Cyclosporine ^{e)}	AM-9 formation	3.9	6.9	1.77	4.2	10.9	2.60
Rifabutin ^{f)}	Total CYP mediated metab.	12.5	103	8.24	10.9	105	9.63
Indinavir ^{g)}	Total metab.	2.51	17.4	6.93	1.30	22.9	17.6
Tacrolimus ^{h)}	13-o-demethylation		54 ^{j)}		6.9	66	9.6
Erythromycin ⁱ⁾	Demethylation		1120			950	

a) Raeissi D.S. *et al.*: *pharm. Res.* (1997), b) Thummel E.K. *et al.*: *Clin Pharmacol. Ther.* (1996), c) Flinois J.P. *et al.*: *J. Pharmacol. Ther. Expt.* (1991), d) Jacobsen W. *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1999), e) Lampen A. *et al.*: *Pharmacology* (1996), f) Iatsimirskaia E. *et al.*: *Clin. Pharmacol. Ther.*, (1997), g) Chiba M. *et al.*: *Biochem. Pharmacol.* (1997), h) Lampen A. *et al.*: *Drug Metab. Dispos.* (1995), i) Watkins B.P. *et al.*: *J. Clin. Invest.* (1987), j) Initial concentration = 10 μM .

Fig. 1 CLint of nisoldipine metabolism in small intestinal microsomes of several animal species and humans. Closed and open columns indicated CLints for BAY 03199 and BAY r 9425 being the primary metabolites, respectively.

Sirolimus(期濃度; 10 μ M)についても同様にヒト(97.7 pmol/min/mg protein)およびブタ(77.2)で代謝活性は高かった²⁹⁾。ブタの小腸代謝活性は代表的な CYP3A の阻害剤により抑制され、その k_i 値はヒト小腸ミクロソームでの値と同じレベルであった。このことはブタ小腸代謝酵素がヒトと近い特徴を有していることを示唆している。また、tacrolimus の小腸代謝活性もブタ(60.3 pmol/min/mg protein)およびヒト(54.2)で高く、ラット(14.3)で低い³⁰⁾。以上の結果から、ラット小腸の CYP3A 濃度および代謝活性はヒトよりも低く、現時点ではサルおよびブタがヒトの小腸代謝を評価するのに適した動物種であるといえる。

3. 現状におけるヒトでの小腸代謝の評価

cyclosporine の生体内利用率は<5~89% と個体差が大きく、有効血漿中濃度を維持するための臨床用量が患者間で 10 倍以上の開きがある。患者に CYP3A4 の阻害剤である erythromycin を併用投与することにより生体内利用率が上昇すること³⁾から、この個体差は各患者の初回通過代謝能に起因するものと考えられた。L. Z. Benet らのグループは健康人における cyclosporine の体内動態に及ぼす CYP3A の誘導剤(rifampin)、または阻害剤(ketoconazole)の併用投与の影響について検討し^{4,5)}、初回通過代謝に小腸代謝が寄与していることを示した。経口投与後の生体内利用率は誘導剤により 27% から 10% へ減少し、阻害剤により 22% から 56% へ増加した。静脈内投与後の血漿中濃度から求めた Fh が誘導剤および阻害剤によりほとんど影響を受けなかったことから、この生体内利用率の変化は小腸代謝活性が

影響を受けたためであり、cyclosporine が顕著に小腸で初回通過代謝を受けるものと結論付けた。同様の阻害剤および誘導剤を用いた検討はそれぞれ tacrolimus⁶⁾および verapamil⁷⁾でも行われ、初回通過代謝に対する CYP3A による小腸代謝の寄与が示されている。

CYP3A と P-glycoprotein(P-gp)が類似した基質特異性を示すことが³¹⁾報告されている。P-gp が空腸の apical 側に高いレベルで発現していることから、P-gp および CYP3A が共に小腸における初回通過代謝に関与している可能性が考えられる。すなわち、enterocyte へ一度吸収された薬物が P-gp により管腔側へ汲出され再吸収されることにより、enterocyte での CYP3A4 に対する薬物の暴露時間が増加し、結果的に小腸代謝が促進されるという概念が提唱されている^{9,32)}。Cyclosporine, tacrolimus および verapamil は CYP3A に加え P-gp の基質である³¹⁾ことから、この P-gp も初回通過代謝に関与しているかもしれない。

K. E. Thummel らは midazolam を健康人に静脈内投与後、血漿中濃度から求めた肝抽出率および経口投与後の生体内利用率を用いて小腸抽出率を算出した⁸⁾。消化管吸収率が良好であることからその小腸抽出率は 43% となり、経口投与時において小腸が主な代謝部位であると考えられた。さらに、移植患者に十二指腸内投与後、門脈および動脈中未変化体および代謝物の濃度から midazolam の小腸抽出率が 43% であることを³³⁾示した。Caco-2 cell を用いた透過実験において、midazolam はその透過に方向性が認められず P-gp によって輸送されないこと³⁴⁾が報告されている。したがって、midazolam の小腸初回通過代謝には CYP3A4 のみが関与していることになる。

これらのヒトにおける小腸代謝の評価は採血部位が静脈に限られているため、静脈内投与後の血漿中濃度から求めた Fh および経口投与後の生体内利用率を用いて Fg・Fa が算出されている。Lin らは⁹⁾、この方法で求めた Fg は肝血流速および経口吸収率に依存するにもかかわらず、肝血流速が誘導剤および阻害剤において変動しない、経口吸収率が 100% である、さらには静脈内投与後の小腸代謝は無視できるなど、多くの仮定があり、小腸代謝が過大評価される危険性を指摘している⁹⁾。初回通過代謝に対する小腸代謝の寄与を明らかにするためには、まず動物を用いた詳細な検討が必要になる。

4. 動物における小腸代謝の評価

2. 項で示したように、現時点ではサルおよびブタがヒト小腸代謝のモデル動物として適しているものと考えられる。しかしながら、*in vivo* 実験のやりやすさ等を考慮したとき、やはりラットでの実験が中心となるのは致し方ないであろう。

Y. Zhang らは P-gp および CYP3A の基質である K02 がラット小腸において初回通過代謝を受けること³⁵⁾を示した。Ketoconazole の併用投与は、K02 を静脈内投与した後の血漿中濃度推移に影響を与えなかったが、経口投与後の生体内利用率を 2.9 から 31% へ増加させた。Ketoconazole が MDR1-MDCK cell line における K02 の basal から apical 側への透過よりも小腸代謝活性を強く阻害したことから、この生体内利用率の上昇が ketoconazole による P-gp の阻害ではなく、小腸代謝の阻害に起因することを明らかにした。この結果は未処理または誘導されたラットでの初回通過時における小腸代謝の寄与を示しているが、ヒトでの試験と同様に間接的な方法が用いられている。

Midazolam をラットに十二指腸内投与した後の生体内利用率は、ketoconazole の併用投与により 11.5% から 52.6% へ増加することから³⁶⁾、F. Higashikawa らは mesenteric vein からの採血を行い、midazolam のラット小腸および肝臓における初回通過代謝を分離して定量的に評価した³⁶⁾。50 nmol の低用量では吸収量の 24.6% が小腸で代謝されるが、ketoconazole の併用投与によりその代謝量が 10.3% へ減少することを明らかにした。また、CYP3A の誘導剤である dexamethasone (DEX) を反復投与したラットでは、midazolam の小腸代謝の程度が 49.0% へ増加していた^{8,32)}。ヒトでの小腸抽出率が 43% であることから、DEX 処理したラットではヒトと同程度の小腸初回通過代謝を持つ可能性を示唆している。また、これより 10 倍高い投与量では小腸代謝の程度が減少するが、これは肝臓と比較して経口吸収時の小腸における P450 近傍の薬物濃度が上昇し、代謝能が飽和したためであると推察された。

Hashimoto らは未処理のラットを用いて tacrolimus の生体内利用率に及ぼす小腸および肝代謝の影響について報告した³⁷⁾。門脈内投与後の血漿中濃度から求めた肝抽出率および生体内利用率を用いて消化管内の抽出率を 34.2% と算出した。さらに、everted sac における tacrolimus の消失が CYP3A の阻害剤により減少することから、この初回通過代謝に CYP3A が関与している可能性を示している。Tacrolimus を含めてこれら薬物の定量的な *in vitro* 代謝活性は示されておらず、*in vivo* 小腸抽出率を説明するのに十分な *in vitro* の活性が得られるのか疑問が残る。

5. *In vitro* から *In vivo* の予測について

いくつかの薬物を除いてヒト小腸代謝活性が肝臓と比較して低く、さらにラット小腸代謝活性はヒトに比べさらに低いことを示してきた。では、これらの活性で *in vivo* の初回通過代謝に対する小腸代謝の寄与を説明できるのであろうか？ J. H. Lin らは indinavir の小腸

代謝について、*in vitro* から *in vivo* への scaling を試みた³⁸⁾。未処理および DEX 処理したラット小腸から得られた $V_{\max}/K_m$ 値を well stirred model に代入後、得られた E_g はそれぞれ 0.98 および 3.6% であった。これらの値は、*in vivo* の E_g 6.0% および 34% から大きく乖離していた。一方、ラット小腸ミクロソームを用いた phenacetin の実験では、*in vitro* の小腸代謝活性からの予測値と実測値の一致すること¹⁾が報告されている。

K. E. Thummel らは phenacetin の予測値と実測値が一致したのは、protein binding が低いためである³⁹⁾とした。すなわち、経口吸収時において消化管から上皮細胞への薬物の移行は血液側からの移行と異なり protein binding の影響を受けにくく、protein binding を考慮しないモデルのほうが予測に適しているものと考えられる。彼らはその model を用いて、midazolam のヒトでの小腸代謝に関する *in vitro* から *in vivo* E_g の予測に成功している。このような議論に対し、J. H. Lin らは indinavir の場合、protein binding が比較的低いにもかかわらず予測値と実測値が一致していないのは、むしろ P-gp が関与しているためである³⁸⁾とした。このような *in vitro-in vivo* scaling を試みた報告は少なく、well stirred model の妥当性を含め議論される必要があろう。

以上、小腸代謝の現状と問題点について簡単に述べた。ヒトでの小腸代謝研究に比して動物での研究は少なく、この原因の一つとしてラットでの小腸代謝活性、特に CYP3A 活性が低いことと無関係ではないであろう。今後、ラットでの小腸代謝に対する誘導剤の影響または代謝活性の種差について検討が進み、ヒトと同様に CYP3A を発現した適切な動物種が見い出され、これらの問題に答えの出されることが待たれる。

文 献

- 1) Klippert P., Borm P. and Noordhoek J.: Prediction of intestinal first-pass effect of phenacetin in the rat from enzyme kinetic data-correlation with *in vivo* data using mucosal blood flow. *Biochem. Pharmacol.*, **31**: 2545-2548 (1982).
- 2) Kolars C. J., Stetson L. P., Rush D. B., Ruwart J. M., Schmiedlin-Ren P., Duell A. E., Voorhees J. J., and Watkins B. P.: Cyclosporine metabolism P450III_A in rat enterocytes-another determinant of oral bioavailability? *Transplantation*, **53**: 596-602 (1992).
- 3) Gupta K. S., Bakran A., Johnson G. W. R. and Rowland M.: Erythromycin enhances the absorption of cyclosporine. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **25**: 401-402, (1988).
- 4) Hebert F. M., Robert P. J., Prueksaritanont T., and Benet Z. L.: Bioavailability of cyclosporine with concomitant rifampin administration is markedly less than predicted by hepatic enzyme induction. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **52**: 453-457 (1992).
- 5) Gomez Y. D., Wachter J. V., Tomlanovich J. S., Hebert F. M., and Benet Z. L.: The effects of ketoconazole on the in-

- testinal metabolism and bioavailability of cyclosporine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **58**: 15-19 (1995).
- 6) Floren C. L., Bekersky I., Benet Z. L., Mekki Q., Dressler D., Lee W. J., Roberts P. J., and Hebert F. M.: Tacrolimus oral bioavailability doubles with coadministration of ketoconazole. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **62**: 41-49 (1997).
 - 7) Fromm F. M., Buss D., Kroemer K. H., and Eichelbaum M.: Differential induction of prehepatic and hepatic metabolism of verapamil by rifampin. *Hepatology*, **24**: 796-801 (1996).
 - 8) Thummel E. K., O'Shea D., Paine F. M., Shen D. D., Kunze L. K., Perkins D. J., and Wilkinson R. G.: Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **59**: 491-502 (1996).
 - 9) Lin H. J., Chiba M. and Baillie A. T.: Is the role of the small intestine in first-pass metabolism overemphasized? *Pharmacol. Rev.* **51**: 135-157 (1999).
 - 10) Hoensch H., Woo H. C., Raffin B. S., and Schmid R.: Oxidative metabolism of foreign compounds in rat small intestine: Cellular localization and dependence on dietary iron. *Gastroenterology*, **70**: 1063-1070 (1976).
 - 11) Kaminshky S. L. and Fasco J. M.: Small intestine cytochromes P450. *Toxicology*, **21**: 407-422 (1992).
 - 12) Paine F. M., Khalighi M., Fisher M. J., Shen D. D., Kunze L. K., Marsh L. C., M. Perkins D. J., and Thummel E. K.: Characterization of interintestinal and intrainestinal variations in human CYP3A-dependent metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **283**: 1552-1562 (1997).
 - 13) Itatsimirskaia E., Tulebaev S., Storozhuk E., Utkin I., Smith D., Gerber N., and Koudriakova T.: Metabolism of rifabutin in human enterocyte and liver microsomes: kinetic parameters, identification of enzyme systems, and drug interactions with macrolides and antifungal agents. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **61**: 554-562 (1997).
 - 14) Watkins B. P., Wrighton A. S., Schuetz G. E. Molowa T. D., and Guzelian S. P.: Identification of glucocorticoid-inducible cytochromes P-450 in the intestinal mucosa of rats and man. *J. Clin. Invest.*, **80**: 1029-1036 (1987).
 - 15) Zhang Q.-Y., Dunbar D., Ostrowska A., Zeisloft S., Yang J., and Kaminsky S. L.: Characterization of human small intestinal cytochromes P-450. *Drug Metab. Dispos.*, **27**: 804-809 (1999).
 - 16) Bonkovsky L. H., Hauri H.-P., Marti U., Gasser R., and Meyer A. U.: Cytochrome P450 of small intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*, **88**: 458-467 (1985).
 - 17) Harmsworth L. W., and Franklin R. M.: Induction of hepatic and extrahepatic cytochrome P-450 and monooxygenase activities by N-substituted imidazoles. *Xenobiotica*, **20**: 1053-1063 (1990).
 - 18) Sesardic D., Cole J. K., Edwards J. R., Davies S. D., Thomas E. P., Levin W., and Boobis R. A.: The inducibility and catalytic activity of cytochromes P450c (P450IA1) and P450d (P450IA2) in rat tissues. *Biochem. Pharmacol.*, **39**: 499-506 (1990).
 - 19) Rich J. K., Sesardic D., Foster R. J., Davies S. D., and Boobis R. A.: Immunohistochemical localization of cytochrome P450b/e in hepatic and extrahepatic tissues of the rat. *Biochem. Pharmacol.*, **38**: 3305-3322 (1989).
 - 20) Zhang Q.-Y., Wikoff J., Dunbar D., and Kaminsky L.: Characterization of rat small intestinal cytochrome P450 composition and inducibility. *Drug Metab. Dispos.*, **24**: 322-328 (1996).
 - 21) Raeissi D. S., Guo Z., Dobson L. G., Artursson P., and Hidalgo J. I.: Comparison of CYP3A activities in a suclo-2 cells (TC7) and human intestines. *Pharm. Res.*, **14**: 1019-1025 (1997).
 - 22) Flinois J.-P., Chabin M., Egros F., Dufour A., DE Waziers I., Mas-Chamberlin C., and Beaune H. P.: Metabolism rate of oxodipine in rats and humans: Comparison of *in vivo* and *in vitro* data. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **261**: 381-386 (1991).
 - 23) Jacobsen W., Kirchner G., Hallensleben K., Mancinelli L., Deters M., Hackbarth I., Baner K., Benet Z. L., Sewing K.-F., and Christians U.: Small intestinal metabolites of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor lovastatin and comparison with pravastatin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **291**: 131-139 (1999).
 - 24) Chiba M., Hensleigh M., and Lin H. J.: Hepatic and intestinal metabolism of indinavir, and HIV protease inhibitor, in rat and human microsomes. *Biochem. Pharmacol.*, **53**: 1187-1195 (1997).
 - 25) Lampen A., Christians U., Guengerich P. F., Watkins B. P., Kolars C. J., Bader A., Gonschior A.-K., Hackbarth I., and Sewing K.-F.: Metabolism of the immunosuppressant tacrolimus in the small intestine: Cytochrome P450, drug interactions, and interindividual variability. *Drug Metab. Dispos.*, **23**: 1315-1324 (1995).
 - 26) Lampen A., Christians U., Bader A., Hackbarth I., and Sewing K.-F.: Drug interactions and interindividual variability of cyclosporin metabolism in the small intestine. *Pharmacology*, **52**: 159-168 (1996).
 - 27) Lown S. K., Ghosh M., and Watkins B. P.: Sequences of intestinal and hepatic cytochrome P450 3A4 cDNAs are identical. *Drug Metab. Dispos.*, **26**: 185-187 (1998).
 - 28) Prueksaritanont T., Gorham M. L., Hochman H. J., Tran O. L., and Vyas P. K.: Comparative studies of drug-metabolizing enzymes in dog, monkey, and human small intestines, and in Caco-2 cells. *Drug Metab. Dispos.*, **24**: 634-642 (1996).
 - 29) Lampen A., Zhang Y., Hackbarth I., Benet Z. L., Sewing K.-F., and Christians U.: Metabolism and transport of the macrolide immunosuppressant sirolimus in the small intestine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **285**: 1104-1112 (1998).
 - 30) Lampen A., Christians U., Gonschior A.-K., Bader A., Hackbarth I., von Engelhardt W., and Sewing K.-F.: Metabolism of the macrolide immunosuppressant, tacrolimus, by the pig gut mucosa in the Ussing chamber. *Br. J. Pharmacol.*, **117**: 1734-1734 (1996).
 - 31) Wachter J. V., Wu C.-Y., and Benet Z. L.: Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: Implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol. Cancerogen.*, **13**: 129-134 (1995).
 - 32) Benet Z. L., Wu C.-Y., Hebert F. M., and Wachter J. V.: Intestinal drug metabolism and antitransport processes: A potential paradigm shift in oral drug delivery. *J. Control. Release.*, **39**: 139-143 (1996).
 - 33) Paine F. M., Shen D. D., Kunze L. K., Perkins D. J., Marsh L. C., McVicar P. J., Barr M. D., Gillies S. B., and Thummel E. K.: First-pass metabolism of midazolam by the human intestine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **60**: 14-24 (1996).
 - 34) Kim B. R., Wandel C., Leake B., Cvetkovic M., Fromm F.

- M., Dempsey J. P., Roden M. M., Belas F., Chaulhary K. A., Roden M. D., Wood J. J. A., and Wilkinson R. G.: Inter-relationship between substrates and inhibitors of human CYP 3A and P-glycoprotein. *Pharm. Res.*, **16**: 408-413 (1999).
- 35) Zhang Y., Hsieh Y., Izumi T., Lin T. E., and Benet Z. L.: Effects of ketoconazole on the intestinal metabolism, transport and oral bioavailability of K02, a novel vinylsulfone peptidomimetic cysteine protease inhibitor and a P450 3A, P-glycoprotein dual substrate, in male Sprague-Dawley rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **287**: 246-252 (1998).
- 36) Higashikawa F., Murakami T., Kaneda T., Kato A., and Takano M.: Dose-dependent intestinal and hepatic first-pass metabolism of midazolam, a cytochrome P450 3A substrate with differently modulated enzyme activity in rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, **51**: 67-72 (1999).
- 37) Hashimoto Y., Sasa H., Shimomura M., and Inui K.: Effects of intestinal and hepatic metabolism on the bioavailability of tacrolimus in rats. *Pharm. Res.*, **15**: 1609-1613 (1998).
- 38) Lin H. J., Chiba M., Chen I-W., Nishime A. J., Deluna A. F., Yamazaki M., and Lin J. Y.: Effect of dexamethasone on the intestinal first-pass metabolism of indinavir in rats: Evidence of cytochrome P-450 and P-glycoprotein induction. *Drug Metab. Dispos.*, **27**: 1187-1193 (1999).
- 39) Thummel E. K., Kunze L. K., and Shen D. D.: Enzyme-catalyzed processes of first-pass hepatic and intestinal drug extraction. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **27**: 99-127 (1997).