

〈総 説〉

低体温療法時における薬物投与最適化に向けた 薬物体内動態の変動要因解明

宮元敬天

長崎大学生命医科学域薬剤学分野

(2017年11月21日受付)

低体温療法は虚血に伴う脳への障害を抑制可能な数少ない治療法の一つである。低体温療法中には原疾患の治療の他にも合併症の予防・治療目的で数多くの薬物が投与される。

低体温療法中に薬物の血漿中濃度の上昇など薬物の体内動態が変化すると報告があるが、その詳細なメカニズムは解明されておらず、薬物の投与最適化のためには薬物動態変動要因の解明が必要となる。筆者らは低体温モデルラットを用いた実験系より低体温時における薬物の体内動態を評価してきた。また、各種*in vitro*および*in situ*実験系より低体温が薬物の体内動態に及ぼす影響を分離評価している。本稿では、低体温時における薬物の体内動態変動要因についてこれまでに解明された部分を概説する。

はじめに

低体温療法は心停止蘇生後症候群や新生児低酸素性虚血性脳症の患者に対し、体温を低下させることで脳温を32–34°C程度に維持し、神経保護効果を期待して行われる治療法であり、American Heart Association 2010 guidelineにおいて推奨されている¹⁾。脳虚血時において、興奮性アミノ酸の一種であるグルタミン酸の過剰放出や神経細胞内へのCa²⁺イオンの流入²⁾、フリーラジカルの発生³⁾などにより、脳の神経細胞死に至る。低体温療法は、グルタミン酸の過剰放出や、酸化ストレス・過酸化脂質の発生を抑制し、脳保護効果を示すと考えられている^{4,5)}。臨床研究の結果から低体温療

法の有効性が数多く報告されている一方で、低体温療法中に生じる合併症の問題も明らかになっている^{6~12)}。低体温療法中の合併症として、循環不全や血液凝固異常、免疫力の低下、シバリングなどが知られている^{11~13)}。これらの合併症の予防や治療を目的として、抗不整脈薬や抗生物質、筋弛緩薬などが投与されているが、これらの薬物の低体温時における体内動態については未解明のまま投与されている。実際に低体温療法時に使用されるphenytoin¹⁴⁾、vecuronium^{15,16)}、midazolam^{17,18)}、propofol^{18,19)}、propranolol²⁰⁾などの体内動態は低体温時に変化することが報告されている。さらに、低体温時にはvecuronium¹⁵⁾やpancuronium²¹⁾の薬力学的変化が起こると報告されている。これらのことから、低体温療法時における薬物療法を

効果的かつ安全に行うためには、低体温時における薬物動態の変動要因を解明し、さらに患者個別の動態を予測する必要があると考えられる。

我々の研究室では低体温療法時における薬物動態に関し低体温モデルラットを用いた *in vivo* 実験などにより、低体温時における薬物の体内動態変動要因の解析を行ってきた。本稿では、これまでに筆者が解明してきた低体温時における薬物の体内動態およびその変動要因に関して概説する。

1. 低体温時におけるモデル化合物の体内動態評価

1-1. 低体温モデルラットにおけるモデル化合物の体内動態評価

生体に投与された薬物は肝臓における代謝や胆汁排泄、腎排泄により消失する (Fig. 1)。

薬物により生体からの消失機構が異なることから、低体温が薬物動態に及ぼす影響も変わると考えられる。低体温療法時における薬物の体内動態変化に関する報告は、鎮静薬である midazolam^{17,18)} や麻酔薬の propofol^{19,20)}、筋弛緩薬の vecuronium¹⁵⁾ などを始めとし、数多くの薬物で報告されている。しかし、これらの報告の多くは頭部外傷や心停止蘇生後症候群などの基礎疾患を有しているほ

か、複数の薬物が同時に投与されているなど、体温の低下を含めた複数の要因によって薬物動態が変化しているため、体内動態の変動要因を解明することは困難であった。

そこで我々の研究室では体表面冷却法により低体温モデルラットを作出し、消失過程の異なるモデル化合物の体内動態への体温低下の影響を解析してきた²²⁾。モデル化合物として肝臓においてグルクロン酸抱合を受け、胆汁中および尿中へと排泄される Phenolsulfonphthalein (PSP)、肝臓へと選択的に取り込まれ代謝を受けることなく胆汁中へと排泄される Indocyanin green (ICG) および糸球体ろ過により尿中へと排泄される FITC-dextran (FD-4) を用いた。これらのモデル化合物を低体温モデルラットに急速静脈内投与したところ、PSP では体温の低下に伴い血漿中濃度が上昇した一方で、ICG や FD-4 では 32°C では血漿中濃度に変化は見られず、28°C においてのみ血漿中濃度が上昇した。

このことから、低体温が薬物の体内動態に及ぼす影響はそれぞれの薬物の体内動態特性に応じて異なることが明らかになった。

1-2. 肝灌流実験によるモデル化合物の肝局所動態への温度低下の影響評価

1-1 においてモデル化合物の体内動態が低体温時に変化することが明らかとなった。低体温時には臓器血流量や血液粘性、血圧などの生理学的変化および薬物代謝酵素や薬物トランスポーターの活性などの生化学的変化が複合的に生じるため^{23~26)}、これらの要因を分離評価できず、体内動態の変動要因を解明できていない。これまでに用いたモデル化合物の多くは肝臓から消失するため、これらのモデル化合物の肝臓内動態への温度低下の影響を評価することで、体内動態の変動要因を解明できると考えた。そこで、流量や温度を任意の条件に設定可能な肝灌流実験 (Fig. 2) を行い、モデル

Fig. 1. Illustration of drug disposition after intravenous injection

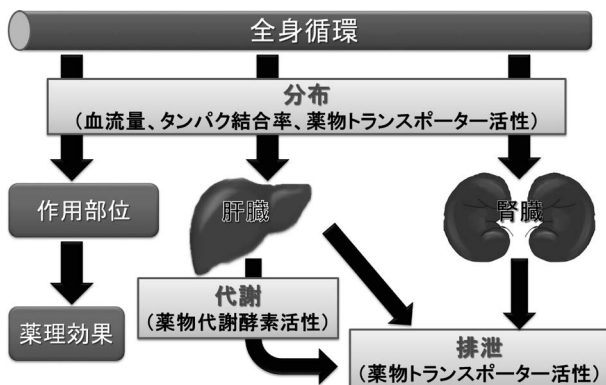
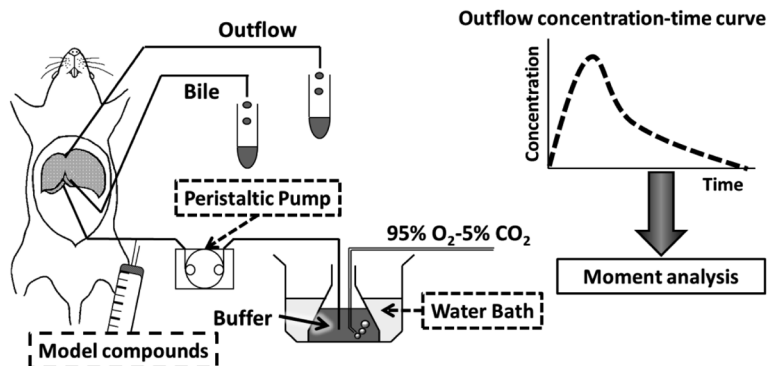


Fig. 2. Diagram of single-pass rat liver perfusion experimental system



化合物の肝臓内動態に及ぼす温度低下の影響について評価した。

肝臓を始めとする局所臓器の灌流実験系は全身から特定の臓器を単離し、その血管系を灌流するものであり、*in vivo*とは異なった任意の条件下で、*in vivo*での組織環境を維持したまま、組織内で起こっている現象をそれぞれ分離評価可能な実験系として有用である。これまでも、肝臓^{27~31)} 以外に、腎臓^{32~34)}、脳^{28,35,36)} など様々な局所灌流実験系が開発されており、薬物の取り込み機構の解析や組織移行性の評価、薬物相互作用の解析などに応用されている。

肝代謝型モデル化合物であるPSPをラット灌流肝に急速投与したところ、流出液中濃度時間曲線下面積であるAUCは温度低下に伴い有意に増大した。AUCは流出曲線をモーメント解析して得られるパラメータであり、流出曲線は灌流液から肝臓への薬物の移行と肝臓から灌流液側への薬物の移行により変化する。本研究では、低体温時においてPSPの肝臓内への取り込み過程もしくは肝臓内から血管側への排出過程のどちらが変化しているかを分離評価できなかったが、PSPの流出曲線のピークが温度低下時に上昇していることから、主に取り込み過程が変化していると考えられた。PSPは主に腎臓に発現しているOrganic anion transporter (OAT) 1, 3の基質であり³⁷⁾、OAT 3はラットの肝

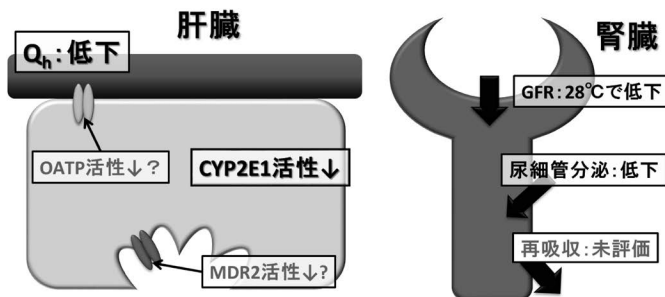
臓にも発現しているため³⁸⁾、温度低下時にはOATによる肝臓への薬物取り込み能が低下することが示唆された。

さらに、未変化体PSPおよびPSP代謝物の胆汁排泄速度-時間曲線を解析することで、肝臓におけるPSPの代謝や胆汁への排泄におよぼす温度低下の影響を評価した。未変化体PSPおよびPSP代謝物の平均排泄時間は低温時において有意に延長した。さらに、37°Cと比較して未変化体および代謝物の累積胆汁排泄量も32, 28°Cで有意に減少したことから、血流量などの生理学的変化を伴わずとも、温度低下によりPSPの胆汁排泄が減少することが示された。PSPの胆汁排泄にはMrp2が関わっており^{39~41)}、低温時にはMrp2活性が低下すると考えられる。

一方、各温度における未変化体排泄量/代謝物排泄量比を比較すると、37°Cおよび32°Cと比較し28°Cでは未変化体排泄量の割合が高くなった。PSPはUridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT)によりグルクロン酸抱合を受けるため、UGT活性の低下によりPSP代謝物の生成量が減少し、未変化体排泄量/代謝物排泄量比が増大したと考えられる。

モデル化合物を用いた各種評価よりFig. 3に示すような薬物動態の変動要因が明らかとなった^{22,42,43)}。

Fig. 3. Factors affecting pharmacokinetics under hypothermic condition



2. 低体温時における midazolam 体内動態の変動要因解析

これまでは薬理作用を持たないモデル化合物を用いて低体温時における薬物の体内動態について解析を行った。しかし、臨床にて使用される薬物においてもモデル化合物と同様の変化が生じるかについては不明であった。そこで、実際に臨床で低体温療法時に鎮静薬として用いられ、さらにヒトの肝臓に発現する代表的な薬物代謝酵素である CYP3A4 により代謝される midazolam (MDZ) を薬物として選択し、MDZ の体内動態を評価した。MDZ の血漿中濃度が低体温時に上昇することが報告されているが¹⁷⁾、体内動態の変動要因は解明されていない。低体温時における MDZ の体内動態変化に合わせて投与量や投与速度を調整するために、MDZ の体内動態変動要因を解明し、患者個別の投与設計を行う必要があると考えた。そこで低体温時の MDZ の体内動態変動要因を分布および代謝過程に着目し各種 *in vitro* 実験系や *in vivo* 実験より解析するとともに、得られたパラメータを用い低体温時における MDZ 体内動態の予測を試みた⁴⁴⁾。

2-1. ラットヘパトサイトを用いた midazolam 代謝能への低体温の影響

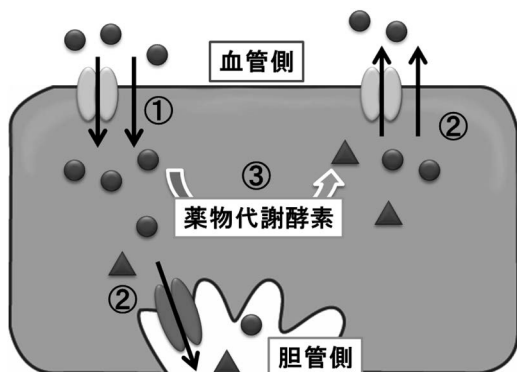
ラットヘパトサイトを用いた *in vitro* 実験では

ヘパトサイトの形態が維持されていることから、薬物の細胞内への移行や細胞からの排出、ヘパトサイト内における第一相反応や第二相反応による代謝など *in vivo* に近い条件下で肝固有クリアランスを評価可能である^{45~48)}。また、実験に使用する肝細胞数を均一にすることで、得られたパラメータより生体レベルへのスケールアップが可能であり、*in vivo* における薬物動態の予測に有用な実験系のため、医薬品開発時において肝クリアランスの予測に用いられる。そこで、コラゲナーゼ灌流を行い、ラットヘパトサイト懸濁液を調製し *in vitro* 実験を行い、肝臓における MDZ の代謝能への温度低下の影響を評価した。

ヘパトサイトを用いた *in vitro* 実験では Fig. 4 に示すように薬物代謝酵素による代謝に加え、細胞への取り込みや排出過程も内包した肝固有クリアランスが算出される。さらに細胞内における遊離型 MDZ のみが CYP3A2 による代謝を受ける。

ラットヘパトサイトを用いた *in vitro* 実験より低体温時の CYP3A2 活性を評価する上で、MDZ の細胞への取り込みや細胞内タンパク結合率への温度低下の影響を明らかにする必要がある。ラットヘパトサイトへの薬物取り込み速度を求めめるためには、取り込まれた薬物の代謝による消失を抑制する必要がある。そこで CYP の非特異的阻害剤である 1-aminobenzotriazole (ABT) を用い⁴⁹⁾、代謝を阻害した条件でラットヘパトサイトへの MDZ

Fig. 4. Schematics illustration of characteristic for experiment using hepatocyte



の取り込み実験を行った。ABT共存下においてMDZのラットヘパトサイトへの取り込みは37, 32, 28°Cにおいてそれぞれ15秒以内に平衡に達し、それぞれの取り込み速度に変化は見られなかった。また、細胞中におけるタンパク遊離型分率についても温度低下による影響は認められず、細胞内取り込みや細胞内タンパク遊離型分率には変化が生じないことを確認した。

そこで、CYP3A2活性への温度低下の影響について、ラットヘパトサイトをを用いた*in vitro*実験により評価した。MDZの濃度と懸濁液中からの消失速度の関係よりLineweaver-Burk plotを作成し、各温度におけるミカエリス定数 (K_m) および最大反応速度 (V_{max}) を算出した。 K_m は温度低下の影響を受けなかったが、 V_{max} は28°Cで37°Cの60%程度に大きく減少した。さらに、 V_{max}/K_m より算出される肝固有クリアランス ($CL_{h,int}$) は温度低下に従い減少し、低温時にはCYP3A2活性が低下することが示された。

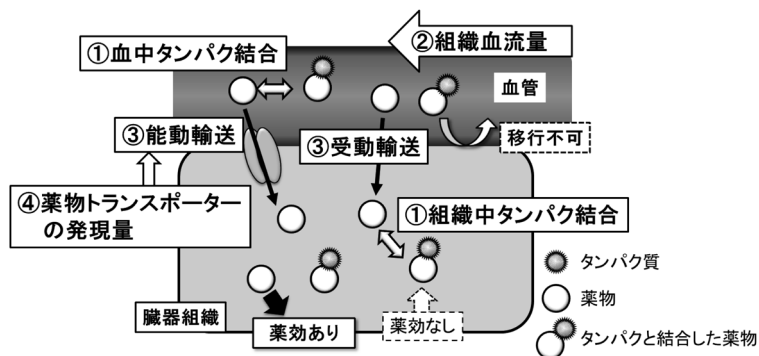
2-2. 低体温時におけるmidazolam体内動態の速度論的解析

低温時にCYP3A2の活性が低下することが明らかとなった。MDZの血漿中濃度は低体温時に上昇することが報告されており、MDZは肝代謝型

の薬物であるため、肝固有クリアランスの低下が血漿中濃度の上昇の要因であると考えられた。さらに、低体温時にMDZの血漿中濃度が上昇することで、薬効へと直接影響を与える組織中のMDZ濃度も増大すると予想され、MDZの組織中濃度も解析する必要があると考えた。そこで低体温モデルラットを用いた*in vivo*実験を行い、低体温時におけるMDZの体内動態について解析した。体温を37, 32, 28°Cに維持したラットの頸静脈にMDZを5mg/kgで静脈内投与したところ、MDZの血漿中濃度は37°Cと比較して28°Cで有意に上昇した。MDZの体内動態を詳細に評価するため、2-コンパートメントモデル解析を行い速度定数や分布容積を算出したところ、中心コンパートメントと末梢コンパートメント間の移行速度定数である k_{12} , k_{21} および消失速度定数 kel は低体温時においても大きく変化しなかった。中心コンパートメントおよび末梢コンパートメントの分布容積は28°Cにおいて37°Cの半分に低下した。

低体温時にはMDZの分布容積が変化することが明らかとなった。そこで、MDZの体内分布について検討するため、MDZを静脈内投与した後から一定時間後の脳および肝臓中のMDZ濃度を測定した。MDZの血漿中濃度は低体温時に上昇したが、MDZの脳および肝臓中濃度は変化しておらず、体温低下がMDZの血漿中濃度と組織中濃度へ及ぼす影響は異なることが明らかとなった。血漿中から組織への薬物移行を評価するため、組織-血漿中MDZ濃度比 (T/P比) を算出したところ、低体温時において脳におけるMDZのT/P比が有意に減少し、肝臓のT/P比も低下する傾向が見られた。MDZの体内動態へ及ぼす分布の影響を抽出し評価するため、CYPの非特異的阻害剤であるABT⁵⁰⁾をMDZ投与の1時間前にラットに静脈内投与し、CYPによるMDZ代謝を阻害した上でMDZの体内動態を解析した。MDZを0.5mg/kg静脈内投与したところ、CYPによる代謝を阻害し

Fig. 5. Factors affecting drug distribution to tissue



た条件下においても MDZ の血漿中濃度は体温低下に伴い上昇する傾向が認められた。従って、肝臓における薬物代謝酵素の活性変化に関わらず体温が低下することで MDZ の体内動態が変化することが明らかとなり、これまでに示された分布の変化が低体温時の MDZ 体内動態に影響すると考えられる。

2-3. *In vitro* 実験系による midazolam 組織移行性変化の要因解析

低体温時には MDZ の組織移行性が低下することが明らかとなり、これが低体温時における MDZ 体内動態の変動要因の一つであることが考えられた。Fig. 5 に示す通り薬物の組織移行性は血流量やタンパク結合率、薬物トランスポーター活性、薬物の脂溶性などにより変化する^{51~55)}。

モデル化合物を用いた検討より低体温時には肝血流量や薬物トランスポーターの活性が低下することが示唆されているが^{22,42,43)}、その他の要因への温度低下の影響は明らかになっていない。MDZ の細胞への取り込みや細胞からの排出には薬物トランスポーターは関与しておらず、主に単純拡散により取り込まれることが報告されている^{56~58)}。そこで、単純拡散に影響する脂溶性および血清中のタンパク遊離型分率への温度低下の影響について解析した。

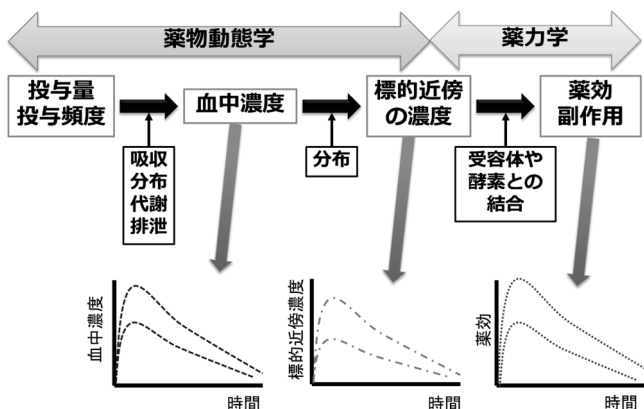
まず、脂溶性への温度低下の影響を評価するため、日本工業規格に従い 1-octanol/water 分配係数を求めた。MDZ の 1-octanol/water 分配係数 (Log Pow) はいずれの温度においても変わらず、MDZ の脂溶性への温度低下の影響は見られなかった。

MDZ の血清タンパク遊離型分率を平衡透析法により算出すると 32, 28°C における MDZ の血清タンパク遊離型分率は 37°C の半分に低下した。組織へと移行可能な薬物はタンパク遊離型のもののみであるため、MDZ の血清タンパク遊離型分率の低下が組織移行性へと影響を与えると考えられる。

おわりに

低体温療法時における薬物の体内動態に関してモデル化合物および midazolam を用いた評価を行い、それぞれの薬物の体内動態特性に応じて低体温の影響が異なることを明らかにした。また、肝局所動態や肝臓における代謝に関する評価を行い、生理的な要因を除去した中で温度低下が与える影響について分離評価することに成功した。さらに、低体温時には midazolam の組織移行性が減少し、血漿中濃度が上昇する一方で臓器組織内濃度は変化しないことを見出した。この要因としては血中におけるタンパク遊離型分率の低下により組織へと移行可能な薬物の割合が減少するため

Fig. 6. Conceptual diagram of pharmacokinetics-pharmacodynamics concept



あることを見出した。タンパクと薬物の結合性へ与える温度低下の影響については更なる解析を進めている。

これまでに得られた結果より低体温療法中に用いられる抗菌薬に関しても体内動態が変化することが考えられた。しかし、低体温が抗菌薬の薬物動態に与える影響については十分に解明されておらず、投与最適化を行うためにも低体温時における抗菌薬の体内動態変動要因を解明する必要がある。今後はMethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 治療薬を解析対象とし、体温低下がMRSA治療薬の体内動態に与える影響を評価する。また、Fig. 6に示すように抗菌薬については薬物動態学と薬力学を統合して解析することで効果的な投与を行うことが可能となる薬物である。そのため、薬力学的な変化も同時に解析し、PK-PD理論より最適なMRSA治療薬投与に繋がる知見を出すことで抗菌薬の適正使用に貢献していきたい。

謝辞

2017年度の日本感染症医薬品協会奨励賞受賞にあたり本稿で紹介した研究は、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科薬剤学研究室において行われたものであり、ご懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜り

ました長崎大学中村純三名誉教授並びに長崎大学西田孝洋教授に衷心より深甚なる謝意を表します。また、種々の有益なご助言とご指導を頂いた長崎大学病院薬剤部佐々木均教授、長崎大学麓伸太郎准教授に謹んで深く感謝の意を表します。

また、本賞の選考委員長である針原康先生をはじめとして選考委員の先生方、ならびに日本感染症医薬品協会の方々を中心に感謝申し上げます。

さらに、今回受賞対象となった研究にご協力頂きました大学院生である徳永彩子さんをはじめとして、これまでの研究にご協力いただいた大学院生および学部学生の皆様に感謝申し上げます。

また本研究はJSPS科研費JP26860108, JP16K18947の助成を受けたものです。

利益相反自己申告

著者 宮元敬天は公益財団法人 日本感染症医薬品協会、公益社団法人 日本透析医会、日本学術振興会より研究助成金を受けている。

[この総説は2017年度日本感染症医薬品協会奨励賞受賞者 宮元敬天氏より投稿したものです。2017年度奨励賞の対象研究について、2017年11月9日(木)に主婦会館プラザエフにて受賞記念講演会が開催され(座長:針原康先生)、その内容をまとめたものです。]

引用文献

- 1) Field JM, Hazinski MF, Sayre MR, Chameides L, Schexnayder SM, Hemphill R, *et al.*: Part 1: executive summary: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science. *Circulation*. 2010; 122 (18 Suppl 3): S640-56. Epub 2010/10/22.
- 2) Siesjo BK, Bengtsson F, Grampp W, Theander S: Calcium, excitotoxins, and neuronal death in the brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1989; 568: 234-51. Epub 1989/01/01.
- 3) Globus MY, Busto R, Lin B, Schnippering H, Ginsberg MD: Detection of free radical activity during transient global ischemia and recirculation: effects of intransischemic brain temperature modulation. *J Neurochem*. 1995; 65: 1250-6. Epub 1995/09/01.
- 4) Busto R, Globus MY, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD: Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *J Cerebr Circ*. 1989; 20: 904-10. Epub 1989/07/01.
- 5) Globus MY, Alonso O, Dietrich WD, Busto R, Ginsberg MD: Glutamate release and free radical production following brain injury: effects of posttraumatic hypothermia. *J Neurochem*. 1995; 65: 1704-11. Epub 1995/10/01.
- 6) Adelson PD, Ragheb J, Kanev P, Brockmeyer D, Beers SR, Brown SD, *et al.*: Phase II clinical trial of moderate hypothermia after severe traumatic brain injury in children. *Neurosurgery*. 2005; 56: 740-54; discussion-54. Epub 2005/03/29.
- 7) Arrich J, Holzer M, Herkner H, Mullner M: Hypothermia for neuroprotection in adults after cardiopulmonary resuscitation. *Cochrane database of systematic reviews*. 2009(4): CD004128. Epub 2009/10/13.
- 8) Campos F, Blanco M, Barral D, Agulla J, Ramos-Cabrer P, Castillo J: Influence of temperature on ischemic brain: basic and clinical principles. *Neurochem Internat*. 2012; 60: 495-505. Epub 2012/03/01.
- 9) Edwards AD, Brocklehurst P, Gunn AJ, Halliday H, Juszczak E, Levene M, *et al.*: Neurological outcomes at 18 months of age after moderate hypothermia for perinatal hypoxic ischaemic encephalopathy: synthesis and meta-analysis of trial data. *Bmj*. 2010; 340: c363. Epub 2010/02/11.
- 10) Ferreira I, Schutte M, Oosterloo E, Dekker W, Mooi BW, Dambrink JH, *et al.*: Therapeutic mild hypothermia improves outcome after out-of-hospital cardiac arrest. *Neth Heart J*. 2009; 17: 378-84. Epub 2009/12/02.
- 11) Sagalyn E, Band RA, Gaieski DF, Abella BS: Therapeutic hypothermia after cardiac arrest in clinical practice: review and compilation of recent experiences. *Crit Care Med*. 2009; 37(7 Suppl): S223-6. Epub 2009/06/26.
- 12) Schubert A: Side effects of mild hypothermia. *J Neurosurg Anesthesiol*. 1995; 7: 139-47. Epub 1995/04/01.
- 13) Polderman KH, Herold I: Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods. *Crit Care Med*. 2009; 37: 1101-20. Epub 2009/02/25.
- 14) Iida Y, Nishi S, Asada A: Effect of mild therapeutic hypothermia on phenytoin pharmacokinetics. *Ther Drug Monit*. 2001; 23: 192-7. Epub 2001/05/22.
- 15) Caldwell JE, Heier T, Wright PM, Lin S, McCarthy G, Szenohradszky J, *et al.*: Temperature-dependent pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium. *Anesthesiol*. 2000; 92: 84-93. Epub 2000/01/19.
- 16) Withington D, Menard G, Harris J, Kulkarni P, Donati F, Varin F: Vecuronium pharmacokinetics and pharmacodynamics during hypothermic cardiopulmonary bypass in infants and children. *Can J Anaesth*. 2000; 47: 1188-95. Epub 2001/01/02.
- 17) Fukuoka N, Aibiki M, Tsukamoto T, Seki K, Morita S: Biphasic concentration change during continuous midazolam administration in brain-injured patients undergoing therapeutic moderate hypothermia. *Resuscitation*. 2004; 60: 225-30. Epub 2004/03/24.
- 18) Hostler D, Zhou J, Tortorici MA, Bies RR,

- Rittenberger JC, Empey PE, *et al.*: Mild hypothermia alters midazolam pharmacokinetics in normal healthy volunteers. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 781–8. Epub 2010/02/19.
- 19) Leslie K, Sessler DI, Bjorksten AR, Moayeri A: Mild hypothermia alters propofol pharmacokinetics and increases the duration of action of atracurium. *Anesth Analg.* 1995; 80: 1007–14. Epub 1995/05/01.
- 20) Leslie K, Bjorksten AR, Ugoni A, Mitchell P: Mild core hypothermia and anesthetic requirement for loss of responsiveness during propofol anesthesia for craniotomy. *Anesth Analg.* 2002; 94: 1298–303, table of contents. Epub 2002/04/26.
- 21) Miller RD, Agoston S, van der Pol F, Booij LH, Crul JF, Ham J: Hypothermia and the pharmacokinetics and pharmacodynamics of pancuronium in the cat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1978; 207: 532–8. Epub 1978/11/01.
- 22) Nishida K, Okazaki M, Sakamoto R, Inaoka N, Miyake H, Fumoto S, *et al.*: Change in pharmacokinetics of model compounds with different elimination processes in rats during hypothermia. *Biol Pharm Bull.* 2007; 30: 1763–7. Epub 2007/09/11.
- 23) Chen RY, Chien S: Plasma volume, red cell volume, and thoracic duct lymph flow in hypothermia. *Am J Physiol.* 1977; 233: H605-12. Epub 1977/11/01.
- 24) D'Amato HE, Hegnauer AH: Blood volume in the hypothermic dog. *Am J Physiol.* 1953; 173: 100–2. Epub 1953/04/01.
- 25) Lazenby WD, Ko W, Zelano JA, Lebowitz N, Shin YT, Isom OW, *et al.*: Effects of temperature and flow rate on regional blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1992; 53: 957–64. Epub 1992/06/01.
- 26) Lofstrom B: Changes in blood volume in induced hypothermia. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1957; 1 (1–2): 1–13. Epub 1957/01/01.
- 27) Elliott SL, Morgan DJ, Angus PW, Ghabrial H, Watson RG, Smallwood RA: The effect of hypoxia on propranolol clearance during antegrade and retrograde flow in the isolated perfused rat liver preparation. *Biochem Pharmacol.* 1993; 45: 573–8. Epub 1993/02/09.
- 28) Foster KA, Weiss M, Roberts MS: Distribution kinetics of solutes in the isolated *in-situ* perfused rat head using the multiple indicator dilution technique and a physiological two-barrier model. *J Pharm Pharmacol.* 2002; 54: 373–82. Epub 2002/03/21.
- 29) Parasrampur R, Mehvar R: Dose-dependent inhibition of transporter-mediated hepatic uptake and biliary excretion of methotrexate by cyclosporine A in an isolated perfused rat liver model. *J Pharm Sci.* 2010; 99: 5060–9. Epub 2010/09/08.
- 30) Parasrampur R, Mehvar R: Effects of P-glycoprotein and Mrp2 inhibitors on the hepatobiliary disposition of rhodamine 123 and its glucuronidated metabolite in isolated perfused rat livers. *J Pharm Sci.* 2010; 99: 455–66. Epub 2009/06/06.
- 31) Yang J, Zhou L, Wang J, Wang G, Davey AK: The disposition of diammonium glycyrrhizinate and glycyrrhetic acid in the isolated perfused rat intestine and liver. *Planta Medica.* 2008; 74: 1351–6. Epub 2008/08/02.
- 32) Ma Z, Wang J, Nation RL, Li J, Turnidge JD, Coulthard K, *et al.*: Renal disposition of colistin in the isolated perfused rat kidney. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 2857–64. Epub 2009/04/22.
- 33) Priestap HA, Torres MC, Rieger RA, Dickman KG, Freshwater T, Taft DR, *et al.*: Aristolochic acid I metabolism in the isolated perfused rat kidney. *Chem Res Toxicol.* 2012; 25: 130–9. Epub 2011/11/29.
- 34) Taft DR, Dontabhaktuni A, Babayeva M, Nakatani-Freshwater T, Savant IA: Application of the isolated perfused rat kidney model to assess gender effects on drug excretion. *Drug Develop Ind Pharm.* 2006; 32: 919–28. Epub 2006/09/07.
- 35) Holler M, Dengler K, Breuer H: Disposition of [4-¹⁴C]oestradiol-17 beta in the isolated perfused brain of the rat. *J Steroid Biochem.* 1984; 20: 785–7. Epub 1984/03/01.
- 36) Holler M, Dengler K, Dietrich K, Penin H: Studies on the intracerebral metabolism of anticonvulsant

- drugs—II. Disposition of carbamazepine in the isolated perfused rat brain. *Biochem Pharmacol.* 1985; 34: 171–4. Epub 1985/01/15.
- 37) Itagaki S, Sugawara M, Kobayashi M, Nishimura S, Fujimoto M, Miyazaki K, *et al.*: Major role of organic anion transporters in the uptake of phenolsulfonphthalein in the kidney. *Eur J Pharmacol.* 2003; 475 (1–3): 85–92. Epub 2003/09/05.
- 38) Kusuhara H, Sugiyama Y: Role of transporters in the tissue-selective distribution and elimination of drugs: transporters in the liver, small intestine, brain and kidney. *J Controll Release.* 2002; 78 (1–3): 43–54. Epub 2002/01/05.
- 39) Itagaki S, Sugawara M, Kobayashi M, Miyazaki K, Iseki K: Mechanism of active secretion of phenolsulfonphthalein in the liver via Mrp2 (abcc2), an organic anion transporter. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2003; 18: 238–44. Epub 2004/12/25.
- 40) Ogasawara T, Takikawa H: Biliary excretion of phenolphthalein glucuronide in the rat. *Hepatol Res.* 2001; 20: 221–31. Epub 2001/05/12.
- 41) Sperber I: Competitive inhibition and specificity of renal tubular transport mechanisms. *Arch Int Pharmacol Ther.* 1954; 97: 221–31. Epub 1954/03/01.
- 42) Miyamoto H, Matsueda S, Komori K, Fumoto S, Nakashima M, Yoshikawa N, *et al.*: Evaluation for effect of hypothermia on the disposition of 4-nitrophenol in rats by *in-vitro* metabolism study and rat liver perfusion system. *J Pharm Pharmacol.* 2013; 65: 1536–40. Epub 2013/09/14.
- 43) Miyamoto H, Miyake H, Yoshikawa N, Hirata H, Ohwaki Y, Fumoto S, *et al.*: Evaluation of changes in hepatic disposition of phenolsulfonphthalein, indocyanine green and fluorescein isothiocyanate-dextran at low temperatures using a rat liver perfusion system. *J Pharm Pharmacol.* 2012; 64: 848–54. Epub 2012/05/11.
- 44) Miyamoto H, Matsueda S, Moritsuka A, Shimokawa K, Hirata H, Nakashima M, *et al.*: Evaluation of hypothermia on the *in vitro* metabolism and binding and *in vivo* disposition of midazolam in rats. *Biopharm Drug Disposition.* 2015; 36: 481–9. Epub 2015/06/04.
- 45) Baranczewski P, Stanczak A, Sundberg K, Svensson R, Wallin A, Jansson J, *et al.*: Introduction to *in vitro* estimation of metabolic stability and drug interactions of new chemical entities in drug discovery and development. *Pharmacol Reports: 2006;* 58: 453–72. Epub 2006/09/12.
- 46) Ghibellini G, Vasist LS, Leslie EM, Heizer WD, Kowalsky RJ, Calvo BF, *et al.*: *In vitro-in vivo* correlation of hepatobiliary drug clearance in humans. *Clin Pharmacol Therap.* 2007; 81: 406–13. Epub 2007/01/20.
- 47) Hallifax D, Houston JB: Uptake and intracellular binding of lipophilic amine drugs by isolated rat hepatocytes and implications for prediction of *in vivo* metabolic clearance. *Drug Metab Dispos.* 2006; 34: 1829–36. Epub 2006/08/03.
- 48) Nagilla R, Frank KA, Jolivet LJ, Ward KW: Investigation of the utility of published *in vitro* intrinsic clearance data for prediction of *in vivo* clearance. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2006; 53: 106–16. Epub 2005/09/29.
- 49) Emoto C, Murase S, Sawada Y, Jones BC, Iwasaki K: *In vitro* inhibitory effect of 1-aminobenzotriazole on drug oxidations catalyzed by human cytochrome P450 enzymes: a comparison with SKF-525A and ketoconazole. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2003; 18: 287–95. Epub 2004/12/25.
- 50) Mugford CA, Mortillo M, Mico BA, Tarloff JB: 1-Aminobenzotriazole-induced destruction of hepatic and renal cytochromes P450 in male Sprague-Dawley rats. *Fund Appl Toxicol.* 1992; 19: 43–9. Epub 1992/07/01.
- 51) Arendt RM, Greenblatt DJ, Liebisch DC, Luu MD, Paul SM: Determinants of benzodiazepine brain uptake: lipophilicity versus binding affinity. *Psychopharmacol.* 1987; 93: 72–6. Epub 1987/01/01.
- 52) Nies AS, Shand DG, Wilkinson GR: Altered hepatic blood flow and drug disposition. *Clin Pharmacokinet.* 1976; 1: 135–55. Epub 1976/01/01.
- 53) Rowland M, Benet LZ, Graham GG: Clearance concepts in pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1973; 1: 123–36. Epub 1973/04/01.

- 54) Scherrmann JM: Transporters in absorption, distribution, and elimination. *Chem Biodivers.* 2009; 6: 1933–42. Epub 2009/11/26.
- 55) Shitara Y, Horie T, Sugiyama Y: Transporters as a determinant of drug clearance and tissue distribution. *Eur J Pharmaceut Sci.* 2006; 27: 425–46. Epub 2006/02/21.
- 56) Franke RM, Baker SD, Mathijssen RH, Schuetz EG, Sparreboom A: Influence of solute carriers on the pharmacokinetics of CYP3A4 probes. *Clin Pharmacol Therap.* 2008; 84: 704–9. Epub 2008/05/30.
- 57) Imanaga J, Kotegawa T, Imai H, Tsutsumi K, Yoshizato T, Ohyama T, *et al.*: The effects of the SLCO2B1 c.1457C>T polymorphism and apple juice on the pharmacokinetics of fexofenadine and midazolam in humans. *Pharmacogen Genom.* 2011; 21: 84–93. Epub 2011/02/01.
- 58) Kim RB, Wandel C, Leake B, Cvetkovic M, Fromm MF, Dempsey PJ, *et al.*: Interrelationship between substrates and inhibitors of human CYP3A and P-glycoprotein. *Pharmac Res.* 1999; 16: 408–14. Epub 1999/04/23.

Evaluation for factors affecting on the drug disposition under hypothermia

Hirotaka Miyamoto

Division of Pharmaceutics, Institute of Biomedical Sciences,
Nagasaki University

Therapeutic hypothermia is the recommended regimen for adult subjects after cardiac arrest and in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. Remedies are needed to negate side effects or to provide sedation during hypothermia. However, changes in the pharmacokinetics of drugs have been reported under hypothermic conditions. The mechanisms responsible for changes in the pharmacokinetics of drugs under hypothermic conditions have not been clarified fully. To optimize the medication during therapeutic hypothermia, we need to clarify the factor affecting drug disposition. The factor affecting drug disposition under hypothermia is described in this review.