

베라파밀과 타목시펜의 약물동태학적 상호작용

설효찬 · 최준식*,#

한국식품의약품안전청, *조선대학교 약학대학

(Received May 31, 2005; Revised August 4, 2005)

Pharmacokinetic Interaction between Verapamil and Tamoxifen in Rats

Hyo-Chan Seol and Jun-Shik Choi*,#

Korean Food and Drug Administration, Seoul 122-020, Korea

*College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract — The aim of this study is to investigate the effects of verapamil on the pharmacokinetics of tamoxifen following oral administration of tamoxifen with verapamil to rats. Tamoxifen (10 mg/kg) was administered orally in the presence or absence of verapamil (1, 3 or 6 mg/kg). Compared to the control group (given tamoxifen alone), the presence of verapamil significantly ($p<0.05$ by 1 mg/kg, $p<0.01$ by 3 and 6 mg/kg) increased the areas under the plasma concentration-time curve (AUC) and the peak concentrations (C_{max}) of tamoxifen. Consequently, the relative bioavailability (RB%) of tamoxifen with verapamil was 1.6-2.1 fold higher than that of the control. But the time to reach peak concentration (T_{max}) and the terminal half-life ($t_{1/2}$) of tamoxifen were not altered significantly in the presence of verapamil. The increased AUC and C_{max} of tamoxifen in the presence of verapamil might be associated with the inhibition by verapamil of the P-glycoprotein and the first-pass metabolizing enzyme CYP3A4 in small intestinal mucosa. The drug interaction should be taken into consideration when tamoxifen is used to the patient with verapamil in the clinical setting.

Keywords □ tamoxifen, verapamil, pharmacokinetics, coadministration

타목시펜(tamoxifen)은 비스테로이드성 항 에스트로겐약물로서 유방암의 예방과 치료에 1차적으로 사용하는 약물이며 초기 유방암 환자들의 생존율과 원치율을 향상시킨다.¹⁻⁵⁾ 타목시펜을 경구투여 했을 때 주로 간에서 대사 되며 담즙으로 배설된다.⁶⁾ 생체에서 주로 CYP3A4 효소에 의해 N-demethyltamoxifen으로 대사 된다.⁶⁻¹³⁾ 4-hydroxytamoxifen도 타목시펜의 중요한 대사체로서 CYP2D6, CYP2C9, CYP2E1 그리고 CYP3A4에 의하여 생성된다.^{14,15)} 비록 4-hydroxytamoxifen의 혈중농도와 종양내의 농도가 모체의 약 2% 정도밖에 안되지만 이 대사물질은 타목시펜에 비해 항 에스트로겐작용이 100배 정도 더 크다고 보고되었다.^{16,17)} 설치류에서 타목시펜을 연구한 결과 mouse에서는 4-hydroxytamoxifen이 고 농도로 존재하며 rat에서는 사람에서와 유사한 낮은 농도로 존재하였다.^{18,19)} 타목시펜과 그 대사체인 4-hydroxytamoxifen, N-desmethyltamoxifen은 다제내성물질

(multi-drug resistant substance)인 P-당단백질(P-glycoprotein)의 기질이다.^{20,21)} P-당단백질은 신장 세뇨관내막, 담낭내막, 소장관막을 포함하는 분비성 상피조직에 존재하며 부신, 태반, 그리고 내피세포의 뇌-혈관 장벽, 고환에도 존재한다.²²⁻²⁴⁾ 소장에서 P-당단백질은 CYP3A4와 함께 세포의 접막에 함께 존재한다.²⁵⁾ P-당단백질은 그의 기질을 소장상피세포에서 장관강 내로 유출시키며 기질 약물들이 장관에서 CYP3A4와의 접촉기회를 증가시키며 CYP3A4에 의한 대사가 촉진되어 흡수가 감소된다고 보고하였다.²⁶⁻²⁹⁾ P-당단백질로 인해 항암약물을 포함한 많은 종류의 화합물들이 소장에서 유출되어 생체이용률이 감소된다고 보고하였다.³⁰⁾ 타목시펜도 P-당단백질의 기질로서 경구투여시 CYP3A4 및 P-당단백질로 인하여 생체이용률이 감소될 것이다. 그러므로 이들의 생체내 활성을 억제하면 경구투여 한 타목시펜의 소장내 대사가 감소될 수 있을 것이다.

베라파밀은 칼슘채널길항약으로서 고혈압, 부정맥 및 관상동맥질환 치료제로 많이 사용된다.³¹⁻³³⁾ 베라파밀은 P-당단백질의 작용을 억제하는 작용이 있으며³⁴⁻³⁶⁾ CYP3A4를 억제하는 작용이 있다고 보고되었다.^{37,38)} 딜티아진, 니페디핀, 켐세틴(quercetin)

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 062-230-6365 (팩스) 062-222-5414
(E-mail) jsachoi@chosun.ac.kr

및 나린진(naringin) 등은 CYP3A4와 P-당단백질의 저해제로서 그들의 기질약물들의 생체이용률을 증가시켰다고 보고하였다.³⁹⁻⁴³⁾ 베라파밀은 흰쥐에서 독소루비신(doxorubicin)과 함께 투여하였을 때 독소루비신의 AUC를 증가시켰으며,⁴⁴⁾ 아드리아마이신의 정맥투여하고 베라파밀을 경구투여 하였을 때 아드리아마이신의 약물농도는 증가되었고 소실 반감기는 연장되었다고 보고하였다.⁴⁵⁾

베라파밀은 CYP3A4와 P-당단백질의 저해제로서 타목시펜과 병용 경구투여 하였을 때 타목시펜의 약물동태 파라미터에 영향을 미칠것으로 사료된다. 그러나, 이에 대한 연구는 거의 없다. 본 연구에서는 흰쥐에 두 약물을 병용경구 투여하였을 때 약물동태학적 파라미터를 비교검토 하고자 하였다.

실험 방법

시료, 시약 및 기기

타목시펜(Tamoxifen citrate salt), 베라파밀과 butyl paraben(p-hydroxybenzoic acid n-butyl ester)은 Sigma Chemical사(St. Louis, MO, 미국)에서 구입하였다. 생리식염수(0.9% NaCl injectable solution)는 중외제약사(서울, 한국)의 것을 사용하였다. 아세토니트릴과 메탄올은 Merck사(Darmstadt, 독일)의 HPLC 등급을 사용하였다. 기타시약은 일급시약을 사용하였다.

HPLC 시스템은 Waters사(Milford, MA, 미국)의 펌프(1515 isocratic HPLC Pump), 자동주입기(717 plus autosampler), 형광검출기(474 scanning fluorescence detector)를 사용하였고, 그리고 Symmetry[®] C₁₈ 칼럼(4.6 × 150 mm, 5 μm, Waters Co., Ireland), 칼럼온도조절기(Phenomenex Co., CA, 미국), 원심분리기(National Labnet Co., NY, 미국), 초음파세척기(Bransonic Ultrasonic Co., Danbury, CT, 미국) 교반기(scientific Industries Co., Bohemia, NY, 미국)를 사용하였다.

실험 동물과 약물 투여

일정한 조건에서 사육한 체중 270~300 g의 Sprague-Dawley 계 용성 흰쥐를 물과 사료를 자유로이 공급하면서 24시간 절식시킨 후, 에텔로 마취한 다음 고정대에 고정시키고 혈액을 채취하기 위하여 우측 대퇴동맥에 polyethylene관(PE-50, Intramedic, Clay Adams, NJ, USA)을 삽입하였다.

흰쥐를 대조군(타목시펜 10 mg/kg을 2 ml 종류수에 용해시킨 다음 경구투여), 동시투여군(베라파밀 1, 3 및 6 mg/kg을 타목시펜 10 mg/kg과 각각 2 ml 종류수에 용해시킨 다음 경구투여)으로 나누었으며 매 군을 8마리로 정하였다.

혈액 샘플은 경구투여 후, 대퇴동맥으로부터 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24 및 36시간에서 0.5 ml를 채취하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 혈장 0.2 ml를 취해 HPLC로 분석

하기 전까지 -40°C에서 냉동 보관하였다.

HPLC 분석

타목시펜의 혈중농도는 Fried 등⁴⁶⁾의 방법을 참고하여 측정하였다. 0.2 ml 혈장에 8 μg/ml butyl paraben(내부 표준물질)을 50 μl 및 아세토니트릴 0.2 ml를 넣은 다음 2분간 혼합한 후 13,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 50 μl 상층액을 HPLC 기기에 주입하여 측정하였다.

형광검출기는 Ex: 450 nm, Em: 360 nm이었고 HPLC 칼럼 온도조절기로 칼럼온도를 30°C로 유지하였다. 이동상은 20 mM 인산수소칼륨완충액(pH 3.0) : 아세토니트릴(65 : 35, v/v)을 사용하였으며, 유속은 1.0 ml/min로 유지하였다. 타목시펜과 내부표준액의 피크는 깨끗하게 분리되었으며, 타목시펜의 검량에 영향을 주는 내인성 피크는 없었다. 내부표준물질과 타목시펜은 각각 14.7 및 26.6분에서 검출되었다.

검량 곡선은 타목시펜 10, 20, 50, 100, 200 및 500 ng/ml에 해당한 농도를 0.2 ml 혈장에 용해시켜 위 방법과 같이 처리한 후 측정하였다. 이렇게 작성한 검량선은 $y=52.96x-5.30(r=0.9997)$ 으로 좋은 직선성을 나타냈으며 최저혈장측정농도는 5 ng/ml이었다. 일내(n=5) 및 일간(n=5)약물농도의 cv%를 측정한 결과 5%보다 적었으며 butyl paraben은 2%보다 적었다. 재현성(recovery)은 20 ng/ml 및 200 ng/ml 해당하는 타목시펜 혈장농도를 측정한 결과 106±5.7%와 101±4.9%로 나타내었다.

약물동태학적 분석

경구투여 후 타목시펜의 약물동태 파라미터들은 모델 비의존적인 Lagrange 방법을 이용하는 LAGRAN computer program을 이용하여 산출하였다.⁴⁷⁾ 혈중농도-시간곡선면적(area under the plasma concentration-time curve; AUC)은 trapezoidal rule에 의해 계산하였다. 최고혈장농도(C_{max})와 최고혈장농도 도달시간(T_{max})은 각 개체의 실제 측정치에서 구하였다. 소실속도 정수(K_e)는 배설상의 혈중농도의 회귀분석에 의해, 소실반감기(t_{1/2})는 0.693/K_e로 구했다. 경구투여한 타목시펜의 상대적 생체 이용률(RB%)은 대조군의 AUC에 대한 베라파밀 병용투여군의 AUC의 백분율로 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{Relative bioavailability (RB\%)} = \frac{\text{AUC}_{\text{combined}}}{\text{AUC}_{\text{control}}} \times 100$$

통계처리

각 약물동태학적 파라미터의 유의성 검정은 Unpaired Student's t-test를 적용하여 대조군과 동시투여군을 비교해 p값이 0.05보다 작을 때 유의성이 있다고 판단하였다. 모든 데이터는 평균값±표준편차(S.D.)로 나타내었다.

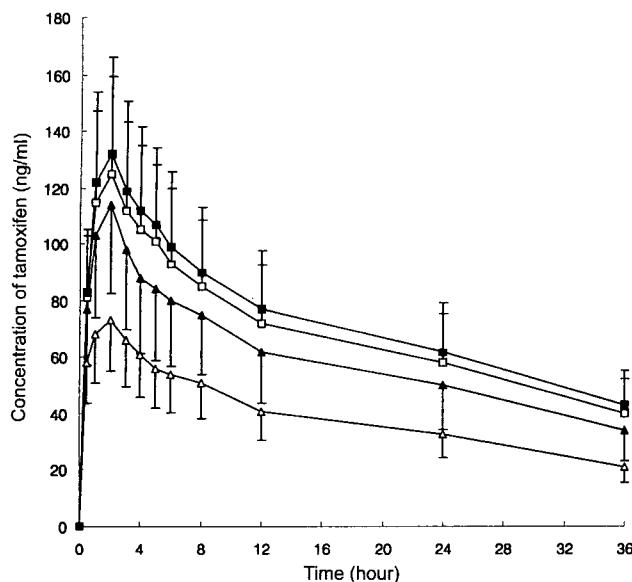


Fig. 1 – Mean plasma concentration-time profiles of tamoxifen after oral administration of tamoxifen (10 mg/kg, △) in the presence or absence of verapamil 1 (▲), 3 (□) or 6 mg/kg (■) to rats.

실험 결과

흰쥐에 타목시펜을 단독(10 mg/kg) 혹은 베라파밀(1, 3 및 6 mg/kg)을 동시투여한 후 얻은 타목시펜의 평균혈중농도는 Fig. 1과 같으며, 각 약물동태학적 파라미터는 Table I과 같았다.

대조군에서 타목시펜의 혈중농도곡선면적(AUC)은 2143±499 ng/m²·h이었으며 베라파밀 동시투여군(1, 3 및 6 mg/kg)에서는 각각 3435±882 ng/m²·h, 4093±1021 ng/m²·h 및 4441±1212 ng/m²·h으로서 유의성 있게(베라파밀 1 mg/kg에서 p<0.05, 3~6 mg/kg에서 p<0.01) 증가하였으며 1~6 mg/kg 범위에서 베라파밀 투여량을 증가함에 따라 AUC는 증가되었다. 대조군에서 타목시펜의 최고혈중농도(C_{max})는 73±18 ng/m²이었으

며 베라파밀 동시투여군(1, 3 및 6 mg/kg)에서는 각각 114±30 ng/m², 125±32 ng/m² 및 132±35 ng/m²으로서 유의성 있게(베라파밀 1 mg/kg에서 p<0.05, 3~6 mg/kg에서 p<0.01) 증가되었다. 그리고 동시투여군에서 타목시펜의 상대적생체이용률(RB%)도 대조군에 비해 1.6~2.1배로 현저히 증가되었다. 그러나 동시투여군에서 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 변화되지 않았으며, 소실반감기(t_{1/2})는 대조군에 비해 연장은 되었지만 유의성을 나타내지 않았다. 이상의 결과로부터 경구투여한 타목시펜의 초회통과효과는 베라파밀을 동시투여로 인해 감소된 것으로 사료된다.

고 찰

소장 상피세포 포소포체에 존재하고 있는 P-당단백질 및 CYP3A4는 많은 항암약물을 경구투여 했을 때 낮은 생체이용률을 초래하게 되는 중요한 요소이다.³⁰⁾ P-당단백질은 그의 기질을 소장상피세포에서 장관강 내로 유출시키며, 기질 약물들은 소장 상피세포 포소포체에 존재하는 CYP3A4에 의해 대사되어 흡수가 감소된다고 보고하였다.²⁶⁻²⁹⁾ 타목시펜을 경구투여 했을 때 초회통과효과로 인해 생체이용률이 감소된다. 생체에서 타목시펜은 주로 CYP3A4에 의해 대사되며⁶⁻¹³⁾ 타목시펜과 그 대사체인 4-hydroxytamoxifen과 N-desmethyltamoxifen은 P-당단백질의 기질이기도 하다.^{20,21)} 그리하여 타목시펜의 생체이용률은 이들의 영향을 받는다. 본 실험에서 베라파밀을 타목시펜과 함께 투여하였을 때 타목시펜의 AUC 및 C_{max}는 유의성 있게 증가되었다. 이런 결과는 베라파밀이 P-당단백질의 유출작용 및 CYP3A4의 억제작용으로 초래된 것으로 사료된다. 본 실험은 Choi 등⁴⁸⁾의 베라파밀을 흰쥐에 P-당단백질 및 CYP3A4의 기질인 파크리탁셀과 함께 투여하였을 때 파크리탁셀의 AUC 및 C_{max}를 유의성 있게 증가하였다는 결론과 일치하였다. Candusso 등⁴⁴⁾은 흰쥐에 P-당단백질의 기질인 독소루비신을 베라파밀과 함께 경구투여 하였을 때 독소루비신의 AUC 및 혈중농도는 현저히 증가

Table I – Mean (±S.D.) pharmacokinetic parameters of tamoxifen following oral administration of tamoxifen (10 mg/kg) in the presence or absence of verapamil (1, 3, 6 mg/kg) to rats

Parameters	Tamoxifen control	Verapamil dose		
		1 mg/kg	3 mg/kg	6 mg/kg
AUC (ng/m ² · h)	2143±499	3435±882*	4093±1021**	4441±1212**
C _{max} (ng/m ²)	73±18	114±30*	125±32**	132±35**
T _{max} (h)	2	2	2	2
t _{1/2} (h)	22±5.3	26±6.4	28±8.0	28±8.0
RB (%)	100	159	191	206

Mean±S.D. (n=8), **: p<0.05, * : p<0.01 compared to the control.

AUC : area under the plasma concentration-time curve from 0 h to infinitive.

C_{max} : peak concentration.

T_{max} : time to reach peak concentration.

t_{1/2} : terminal half-life.

RB (%) : AUC ratio compared to AUC_{control}.

되었으며 독소루비신의 독성을 초래하였다는 보고와도 일치하였다. Verschraagen 등⁴⁹⁾도 디곡신을 베라파밀과 함께 투여하였을 때 디곡신의 생체내약물농도를 현저히 증가시켰다고 하였으며 이러한 결과는 베라파밀이 세뇨관에 존재하고 있는 P-당단백질을 억제함으로써 그 기질인 디곡신의 신장배설을 지연시켜 초래되었다고 보고하였다. 본 실험에서 타목시펜의 RB%은 베라파밀의 투여량을 증가함에 따라 1.6~2.1배로 증가하였다. 이러한 결과는 베라파밀이 P-당단백질 혹은 CYP3A4를 억제하였기 때문인 것으로 사료된다.

본 실험에서 얻은 결과에 의하면 베라파밀을 타목세펜과 함께 병용경구투여 하였을 때 타목시펜의 약물동태학적 파라미터에 현저한 변화를 초래하였다. 그러므로 임상에서 두 약물을 병용 투여할 때 그들의 상호작용을 고려하는 것이 바람직하다고 사료된다.

결 론

흰쥐에서 타목시펜(10 mg/kg)을 베라파밀(1, 3 및 6 mg/kg)과 병용경구투여 하였을 때 얻은 타목시펜의 약물동태학적 파라미터는 다음과 같다.

1. 타목시펜의 혈중농도곡선면적(AUC)은 대조군에 비해서 베라파밀과 동시투여군에서 유의성(베라파밀 1 mg/kg에서 $p<0.05$, 3 및 6 mg/kg에서 $p<0.01$) 있게 증가하였다.

2. 타목시펜의 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에 비해 베라파밀과 동시투여군에서 유의성(베라파밀 1 mg/kg에서 $p<0.05$, 3 및 6 mg/kg에서 $p<0.01$) 있게 증가하였다.

3. 타목시펜의 상대적생체이용률(RB%)은 동시투여군에서 1.6~2.1배로 증가되었다.

4. 타목시펜의 T_{max} 및 $t_{1/2}$ 은 유의성 있는 변화가 없었다.

베라파밀을 타목세펜과 병용 투여하였을 때 타목시펜의 약물동태학적 파라미터에 현저한 영향을 주었다. 임상에서 두 약물을 병용 투여할 때 이들의 상호작용을 고려하는 것이 바람직하다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 조선대학교의 2005년도 학술연구비의 지원을 받아 연구되었으며 이에 깊이 감사 드립니다.

문 헌

- 1) Stone, R. : NIH fends off critics of tamoxifen study. *Science* **258**, 734 (1992).
- 2) Powles, T. J. : The case for clinical trials of tamoxifen for

- prevention of breast cancer. *Lancet*. **340**, 1145 (1992).
- 3) Jaiyesimi, I. A. Buzdar, A. U. Decker, D. A. and Hortobagyi, G. N. : Use of tamoxifen for breast cancer: twenty-eight years later. *J. Clin. Oncol.* **13**, 513 (1995).
- 4) Robinson, E. Kimmick, G. G. and Muss, H. B. : Tamoxifen in postmenopausal women a safety perspective. *Drugs Aging*. **8**, 329 (1996).
- 5) Swenberg, J. A. : Clinical relevance of laboratory and animal data on tamoxifen. *Oncology (Huntingt)* **11**, 39 (1997).
- 6) Buckley, M. T. and Goa, K. L. : Tamoxifen: a reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use. *Clin. Pharmacokinet.* **37**, 451 (1989).
- 7) Lim, C. K. Yuan, Z. X. Lamb, J. H. White, I. N. H. De Matteis, F. and Smith, L. L. : A comparative study of tamoxifen metabolism in female rat, mouse and human liver microsomes. *Carcinogenesis*. **15**, 589 (1994).
- 8) Jacolot, F., Simon, I., Dreano, I., Beaune, P., Riche, C. and Berthou, F. : Identification of the cytochrome P450 II A family as the enzymes involved in the N-demethylation of tamoxifen in human liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* **41**, 1911 (1991).
- 9) Mani, C., Gelboin, H. V., Park, S. S., Pearce, R., Parkinson, A. and Kupfer, D. : Metabolism of the antimammary cancer antiestrogenic agent tamoxifen. I. Cytochrome P450-catalysed N-demethylation and 4-hydroxylation. *Drug Metab. Dispos.* **21**, 645 (1993).
- 10) Mani, C., Pearce, R., Parkinson, A. and Kupfer, D. : Involvement of cytochrome P4503A in catalysis of tamoxifen activation and covalent binding to rat and human liver microsomes. *Carcinogenesis*. **15**, 2715 (1994).
- 11) Berthou, F., Dreano, Y., Belloc, C., Kangas, L., Gautier, J. C. and Beaune, P. : Involvement of cytochrome P450 3A enzyme family in the major metabolic pathways of toremifene in human liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* **47**, 1883 (1994).
- 12) Dehal, S. S. and Kupfer, D. : Cytochrome P-450 3A and 2D6 catalyze ortho hydroxylation of 4-hydroxytamoxifen and 3-hydroxytamoxifen (droloxifene) yielding tamoxifen catechol: involvement of catechols in covalent binding to hepatic proteins. *Drug. Metab. Dispos.* **27**, 681 (1999).
- 13) Simon, I., Berthou, F., Riche, C., Beaune, P. and Ratanasavanh, D. : Both cytochromes P4501A1 and 3A4 are involved in the N-demethylation of tamoxifen, In: *Proceedings of the Fifth European ISSX Meeting Tours, France, Abstract No. 44* (1993).
- 14) Mani, C., Gelboin, H. V., Park, S. S., Pearce, R., Parkinson, A. and Kupfer, D. : Metabolism of the antimammary cancer antiestrogenic agent tamoxifen. I. Cytochrome P-450-catalyzed N-demethylation and 4-hydroxylation. *Drug Metab. Dispos.* **21**, 645 (1993).
- 15) Crewe, H. K., Ellis, S. W., Lennard, M. S. and Tucker, G. T. :

- Variable contribution of cytochromes P450 2D6, 2C9 and 3A4 to the 4-hydroxylation of tamoxifen by human liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* **53**, 171 (1997).
- 16) Daniel, P. C., Gaskell, J., Bishop, H., Campbell, C. and Nicholson, R. : Determination of tamoxifen and biologically active metabolites in human breast tumour and plasma. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **17**, 1183 (1981).
- 17) Jordan, V. C., Collins, M. M., Rowsby, L. and Prestwich, G. : A monohydroxylated metabolite of tamoxifen with potent antiestrogenic activity. *J. Endocrinol.* **75**, 305 (1977).
- 18) DeGregorio, M. W., Coronado, E. and Osborne, C. K. : Tumor and serum tamoxifen concentrations in the athymic nude mice. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **23**, 68 (1989).
- 19) Robinson, S. P., Langan-Fahey, S. M. and Jordan, V. C. : Implications of tamoxifen metabolism in the athymic mouse for the study of antitumor effects upon human breast cancer xenografts. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **25**, 1769 (1989).
- 20) Gant, T. W., O'Connor, C. K., Corbitt, R., Thorgeirsson, U. and Thorgeirsson, S. S. : *In vivo* induction of liver P-glycoprotein expression by xenobiotics in monkeys. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **133**, 269 (1995).
- 21) Rao, U. S., Fine R. L. and Scarborough, G. A. : Antiestrogens and steroid hormones: substrates of the human P-glycoprotein. *Biochem. Pharmacol.* **48**, 287 (1994).
- 22) Thiebaut, F., Tsuruo, T., Hamada, H., Cottessman, M. M., Pastan, I. and Willingham, M. C. : Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 7735 (1987).
- 23) Cordon-Cardo, C., O'Brien, J. P., Casals, D., Rittman-Grauer, L., Biedler, J. L., Melamed, M. R. and Bertino, J. R. : Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **86**, 695 (1989).
- 24) Sugawara, I., Kataoka, I., Morishita, Y., Hamada, H., Tsuruo, T., Itoyama, S. and Mori, S. : Tissue distribution of P-glycoprotein encoded by a multidrug-resistant gene as revealed by a monoclonal antibody, MRK 16. *Cancer Res.* **48**, 1926 (1988).
- 25) Gottesman, M. M. and Pastan, I. : Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu. Rev. Biochem.* **62**, 385 (1993).
- 26) Gan, L.-S. L., Moseley, M. A., Khosla, B., Augustijns, P. F., Bradshaw, T. P., Hendren, R. W. and Thakker, D. R. : CYP3A-Like cytochrome P450-mediated metabolism and polarized efflux of cyclosporin A in Caco-2 cells: interaction between the two biochemical barriers to intestinal transport. *Drug Metab. Dispos.* **24**, 344 (1996).
- 27) Watkins, P. B. : The barrier function of CYP3A4 and P-glycoprotein in the small bowel. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **27**, 161 (1996).
- 28) Wacher, V. H., Silverman, J. A., Zhang, Y. and Benet, L. Z. : Role of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptides and peptidomimetics. *J. Pharm. Sci.* **87**, 1322 (1998).
- 29) Ito, K., Kusuvara, H. and Sugiyama, Y. : Effects of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein on oral drug absorption theoretical approach. *Pharm. Res.* **16**, 225 (1999).
- 30) Reynolds, J. E. F. : Martindale -- The Extra Pharmacopoeia, Pharmaceutical Press, London (1993).
- 31) Krikler, D. M. and Spurrell, R. A. : Verapamil in the treatment of paroxysmal supraventricular tachycardia. *Postgrad. Med. J.* **50**, 447 (1974).
- 32) Gould, B. A., Mann, S., Kieso, H., Subramanian, V. B. and Raftery, E. B. : The 24-hour ambulatory blood pressure profile with verapamil. *Circulation* **65**, 22 (1982).
- 33) Lewis, G. R., Morley, K. D., Lewis, B. M. and Bones, P. J. : The treatment of hypertension with verapamil. *N. Z. Med. J.* **87**, 351 (1978).
- 34) Leveque, D. and Jehl, F. : P-glycoprotein and pharmacokinetics. *Anticancer Res.* **15**, 331 (1995).
- 35) Burton, P. S., Conradi, R. A., Hilgers, A. R. and Ho, N. F. : Evidence for a polarized efflux for peptides in the apical membrane of Caco-2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **190**, 760 (1993).
- 36) Hunter, J., Jepson, M. A., Tsuruo, T., Simmons, N. L. and Hirst, B. H. : Functional expression of P-glycoprotein in apical membranes of human intestinal Caco-2 cells. Kinetics of vinblastine secretion and interaction with modulators. *J. Biol. Chem.* **268**, 14991 (1993).
- 37) Zhou, S., Yung Chan, S., Cher Goh, B., Chan, E., Duan, W., Huang, M. and McLeod, H. L. : Mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 by therapeutic drugs. *Clin. Pharmacokinet.* **44**, 279 (2005).
- 38) Magnarin, M., Morelli, M., Rosati, A., Bartoli, F., Candussio, L., Giraldi, T. and Decorti, G. : Induction of proteins involved in multidrug resistance (P-glycoprotein, MRP1, MRP2, LRP) and of CYP 3A4 by rifampicin in LLC-PK1 cells. *Eur. J. Pharmacol.* **483**, 19 (2004).
- 39) Choi, J. S. and Kim, H. J. : Pharmacokinetic interaction between diltiazem and paclitaxel in rats. *J. Kor. Pharm. Soc.* **33**, 299 (2003).
- 40) Choi, J. S. and Lee, C. K. : Pharmacokinetic interaction between nifedipine and paclitaxel in rats. *J. Pharm. Soc. Korea* **48**, 61 (2004).
- 41) Scambia, G., Ranelletti, F. O., Panici, P. B., De Vincenzo, R., Bonanno, G., Frrandina, G., Piantelli, M., Bussa, S., Rumi, C. and Cianfriglia, M. et al. : Quercetin potentiates the effect of adriamycin in a multidrug-resistant MCF-7 human breast-cancer cell line: P-glycoprotein as a possible target. *Cancer*

- Chemother. Pharmacol.* **36**, 459 (1994).
- 42) Choi, J. S., Jo, B. W. and Kim, Y. C. : Enhanced bioavailability after oral administration of paclitaxel or prodrug to rats pretreated with quercetin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **57**, 313 (2004).
- 43) Zhang, H., Wong, C. W., Coville P. F. and Wanwimolruk, S. : Effect of the grapefruit flavonoid naringin on pharmacokinetics of quinine in rats. *Drug Metabol. Drug Interact.* **17**, 351 (2000).
- 44) Candussio, L., Decorti, G., Crivellato, E., Granzotto, M., Rosati, A., Giraldi, T. and Bartoli, F. : Toxicologic and pharmacokinetic study of low doses of verapamil combined with doxorubicin. *Life Sci.* **71**, 3109 (2002).
- 45) Kerr, D. J., Graham, J., Cummings, J., Morrison, J. G., Thompson, G. G., Brodie, M. J. and Kaye, S. B. : The effect of verapamil on the pharmacokinetics of adriamycin. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **18**, 239 (1986).
- 46) Fried, K. M. and Wainer, I. W. : Direct determination of tamoxifen and its four major metabolites in plasma using coupled column high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.* **655**, 261 (1994).
- 47) Rocci, M. L. and Jusko, W. J. : LAGRAN program for area and moments in pharmacokinetic analysis. *Computer Programs in Biomedicine* **16**, 203 (1983).
- 48) Choi, J. S. and Li, X. : The effect of verapamil on the pharmacokinetics of paclitaxel in rats. *Eur. J. Pharm. Sci.* **24**, 95 (2005).
- 49) Verschraagen, M., Koks, C. H., Schellens, J. H. and Beijnen, J. H. : P-glycoprotein system as a determinant of drug interactions: the case of digoxin-verapamil. *Pharmacol. Res.* **40**, 301 (1999).
- 50) Hotta, T., Tanimura, H., Yamaue, H., Iwahashi, M., Tani, M., Tsunoda, T., Tamai, M., Noguchi, K., Mizobata, S., Arii, K. and Terasawa, H. : Tamoxifen circumvents the multidrug resistance in fresh human gastrointestinal cancer cells. *J. Surg. Res.* **66**, 31 (1996).
- 51) Shao, Y. M., Ayesh, S. and Stein, W. D. : Mutually co-operative interactions between modulators of P-glycoprotein. *Biochim. Biophys. Acta.* **1360**, 30 (1997).