

토끼에서 나린진이 니모디핀의 생체이용률에 미치는 영향

최동현¹ · 김현용² · 최준식²

¹조선대학교 의과대학, ²조선대학교 약학대학

Effects of Naringin on the Bioavailability of Nimodipine in Rabbits

Dong-Hyun Choi¹, Hyun-Yong Kim² and Jun-Shik Choi²

¹College of Medicine, Chosun University, Gwangju Korea,

²College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 375, Korea

The purpose of this study was to investigate the effect of naringin, one of flavonoids, on the pharmacokinetics and bioavailability of nimodipine in rabbits. Pharmacokinetic parameters of nimodipine were determined in rabbits after oral administration of nimodipine (16 mg/kg) with or without naringin (1, 5 or 15 mg/kg). Nimodipine was analyzed by high performance liquid chromatography using Hypersil ODS column. Naringin significantly ($p < 0.05$) increased the area under the plasma concentration-time curve (AUC) and the peak concentration (C_{max}) of nimodipine at 5 and 15 mg/kg. The absolute bioavailability (AB%) of nimodipine by presence of naringin (5 or 15 mg/kg) increased from 32.2-36.9% ($p < 0.05$) compared to the control (22.0%). However, presence of naringin had no significant effect on the elimination rate constant (K_{el}) of nimodipine. There were no apparent changes of the time of peak concentration (T_{max}) of nimodipine by coadministration. These results suggest that the increased bioavailability and the significant changes of these pharmacokinetic parameters of nimodipine by naringin may be attributed to the potential of naringin to inhibit cytochrome P450 (CYP) 3A4 and P-glycoprotein efflux pump in the liver and intestinal mucosa.

□ Key words - Nimodipine, Naringin, Bioavailability, Pharmacokinetics, CYP3A4, Rabbits

칼슘채널차단제는 혈관이완작용이 있어 고혈압, 협심증 및 부정맥 치료에 널리 사용하고 있다.¹⁾ 이 약물들은 혈청 중 세포외액에 있는 칼슘이 심근세포와 혈관 평활근 세포막을 통과하는 통로를 차단하고 심장근육과 혈관평활근의 수축과정을 차단하여 심장 수축력을 감소시키고, 전신의 동맥과 관상동맥을 이완시키며, 또한 신혈관을 이완하여 신장으로 혈액 유입을 증가시키고 사구체 여과율과 나트륨 배설을 증가시켜 신장 혈압을 저하시킨다.²⁾ 니모디핀(nimodipine)은 1,4-dihydropyridine계 칼슘채널차단제로³⁾ 지용성 약물이며 경구 투여시 신속하게 흡수되나 초회통과효과로 인해 생체이용률이 낮고 97-99% 단백결합을 하며, 빠르게 조직과 기관에 분포된다.⁴⁻⁵⁾ 니모디핀은 dihydropyridine유도체로서 간과 장관강막에 존재하는 cytochrome P450(CYP) 3A4에 인하여 산

화되어 pyridine 대사체로 대사된다.⁶⁻⁸⁾

Fuhr등⁹⁾은 자몽주스와 니모디핀을 동시투여 시 니모디핀의 생체이용률이 51%로 향상되었다고 보고하였다. 또한 니모디핀은 P-당단백질(P-glycoprotein)의 기질이기도 하다.¹⁰⁾

플라보노이드는 많은 음식물에 존재하는 화합물들로서 이들은 생체에서 항산화작용, 항암작용, 항균작용, 항바이러스 작용 및 항동맥경화작용 등 유의한 작용을 한다고 보고된 바 있다.¹¹⁾ 또한 생체대사효소인 CYP를 조정하는 작용이 있으며¹²⁻¹⁴⁾ 다제내성을 유발하는 P-당단백질을 억제하는 작용도 있다고 보고되었다.¹⁴⁾ 나린진(naringin)은 자몽 등 과일주스에 존재하는 주요한 플라보노이드이다. 나린진은 생체에서 흡수된 후 대사되어 나린제닌으로 유도된다.¹⁵⁾ Zhang 등¹⁶⁾의 보고에 의하면 흰쥐에서 나린진과 퀴닌을 병용투여할 때 퀴닌(quinine)의 경구생체이용률은 17-42%로 유의성 있게 증가되었다. 나린진은 시험관 실험에서 CYP3A4의 활성을 억제하여 퀴닌의 대사를 억제하였으며,¹⁷⁾ Caco-2 세포를 이용한 실험에서 P-당단백질의 기질인 빈블라스틴의 유출(efflux)을 억제시켰다.¹⁸⁾ 또한 나린진은 P-당단백질의 기질이며 CYP3A4에 의해 대사되는 사쿠나빌의 Caco-2 세포내로의

Correspondence to : 최준식
조선대학교 약학대학
광주광역시 동구 서석동 375번지
Tel: +82-62-230-6365, Fax: +82-62-222-5414
E-mail: jschoi@chosun.ac.kr

흡수를 증가시켰다고 보고되었다.¹⁹⁾ 이상의 결과를 종합하면 나린진은 P-당단백질과 CYP3A4을 억제하여 병용되는 약물의 약물동태에 영향을 미칠 수 있다고 여겨진다.

따라서 본 논문에서는 나린진을 니모디핀과 병용 경구투여 시 나린진이 니모디핀의 장관막에서의 흡수를 촉진(유출 억제)하고, 대사를 억제(CYP3A4 억제)하여 니모디핀의 생체이용률을 증가시킬 것이라고 사료된다. 그러나 나린진이 니모디핀의 약물동태 파라미터에 미치는 영향에 대해 연구된 바가 없다. 본 논문에서는 토끼에서 나린진과 니모디핀을 병용 경구투여함으로써 나린진이 니모디핀의 생체이용률 및 약물동태 파라미터에 미치는 영향을 검토하고자 하였다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

니모디핀, 니트렌디핀(nitrendipine, internal standard) 및 나린진은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. 에틸아세테이트는 준세이 화학제품(Kyoto, Japan)을, 박하유는 대홍약품(Seoul, Republic of Korea), 그리고 메탄올은 Merck사(Darmstadt, Germany)의 HPLC 등급을 사용하였다.

기기는 Shimadzu사(Kyoto, Japan)의 liquid chromatograph pump는 LC-10AD, autoinjector는 SIL-10A, UV-Vis detector는 SPD-10A를 사용하였으며, 칼럼은 Hypersil ODS, 5 µm, 150 mm×4.6 mm를 사용하였다.

Syringe pump는 Sage Instruments사(Boston, MA, USA)의 Model 341B를 사용하였으며, vortex mixer는 Scientific Industries사(Bohemia, N.Y., USA) 그리고 원심분리기는 미국 Abbot사(X-system, TM, USA)를 사용하였고, shaker는 Seolin 사(Seoul, Republic of Korea), Dry thermo bath는 Eyela사(Tokyo, Japan)를 사용하였다.

실험동물

일정한 조건에서 사육한 체중 2.0 kg 전후의 New Zealand white계 웅성 토끼를 물은 자유로이 공급하면서 24시간 절식 시킨 후, 25% 우레탄(4 ml/kg)을 피하 주사하여 마취시켜, 우측 대퇴동맥에 폴리에틸렌관(PE50, Intramedic, Clay Adams, NJ, USA)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며, 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 주사용 생리식염수로 녹인 헤파린(75 IU/ml)를 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량 만큼의 생리식염수를 등속주입펌프로 보충해 주었다.

약물투여 및 혈액 채취

대조군(n=6)은 니모디핀 16 mg/kg을 박하유에 용해시켜 카테터를 통해 경구투여 하였고, 나린진 병용경구투여군(n=6)은 나린진(1, 5 or 15 mg/kg)을 각각 니모디핀 16 mg/kg과 병용 경구투여하였다. 그리고 정맥투여(n=6)는 니모디핀 4

mg/kg을 생리식염수에 용해하여 1 min에 걸쳐 귀정맥을 통해 투여하였다.

혈액은 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 및 24 시간에서 1.2 ml를 채취하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈장 0.5 ml를 취해 실험전까지 -40°C에 냉동 보관하였다.

니모디핀의 HPLC 분석

혈장중 니모디핀 분석은 Mingxin²⁰⁾ 등의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈장 0.5 ml에 1 µg/ml 니트렌디핀 50 µl와 에틸아세테이트 5 ml를 가하고 shaker로 1시간 추출하였다. 이것을 3,000 rpm에서 10분 원심분리 한 다음 유기용매층 4.5 ml를 다른 시험관으로 옮기고, 40°C에서 질소가스로 날린 후 잔사에 65% 메탄올을 0.3 ml를 넣고 vortex mixer로 3분간 용해시킨 후, 3,000 rpm에서 10분 원심분리하여 상층액을 50 µl 취하여 HPLC에 주입하였다.

HPLC조건 및 혈장크로마토그램

HPLC 조건은 칼럼은 Hypersil ODS(5 µm, 150 mm×4.6 mm)을, 이동상은 methanol:water(65:35, v/v) 비율로 섞고 기포를 제거한 후 사용하였으며, 유속은 1.0 ml/min으로 유지하고 파장은 238 nm로 설정하였다. 실온에서 니트렌디핀은 7.6 min, 니모디핀은 9.1 min에서 분리되었으며 분리가 양호하였다.

혈중 검량곡선은 토끼 혈장 0.5 ml에 니모디핀 10, 20, 50, 100, 200, 500 및 1,000 ng/ml 해당량 50 µl와 니트렌디핀 1 µg/ml 50 µl를 각 시험관에 가하여 vortex mixer로 2분간 혼합 후 위의 분석법과 동일한 방법으로 측정하여 검량선을 작성하였다. 이렇게 작성한 검량선은 니모디핀은 $y = 206.02565x + 18.1376$ ($r = 0.9996$)로 나타내었다.

니모디핀의 약물동태학 분석

약물동태학 분석은 non-compartmental pharmacokinetic analysis로 WinNonlin software version 4.1(Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA) computer program을 이용하였다. 무한대까지의 혈중농도곡선하면적(area under the plasma concentration-time curve, AUC)은 trapezoidal rule에 의한 오차를 줄이기 위해 WinNonlin에 의해 계산하였다. 최고혈중농도(C_{max})와 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 실험동물 각 개체의 실제 측정치에서 구했으며, 소실속도정수(K_{el})는 배설상의 혈중농도의 회귀분석에 의해, 반감기($t_{1/2}$)는 $0.693/K_{el}$ 로 구했다. 그리고 병용 투여군의 절대생체이용률(AB)은 $AUC_{oral}/AUC_{i.v} \times Dose_{i.v}/Dose_{oral} \times 100$ 으로 구했으며, 상대생체이용률(RB)은 병용투여군의 AUC에 대한 대조군 AUC의 백분율로 구했다.

통계 처리

각 약물동태학적 파라미터의 유의성 검정은 one-way ANOVA를 적용하여 대조군과 비교해 $p < 0.05$ 일 때 유의성 있는 차이가 있는 것으로 처리하였다.

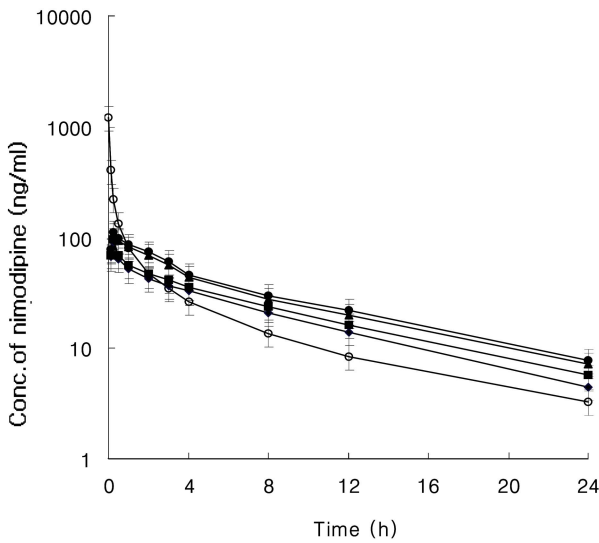


Fig. 1. Mean plasma concentration of nimodipine after oral administration of nimodipine(16 mg/kg) with naringin (1, 5 or 15 mg/kg) and intravenous administration of nimodipine(4 mg/kg) to rabbits (Mea±SD, n=6).

Control (◆); Coadministered with 1 mg/kg (■), 5 mg/kg (▲) or 15 mg/kg (●) of naringin; I.V. (○)

결 과

니모디핀의 평균혈중농도 추이는 Fig. 1과 같았으며 약물 동태학적 파라미터는 Table 1과 같다. 혈중농도곡선하면적(AUC)는 대조군에서 521±135.5 ng/ml·h 이었으며, 나린진 병용투여군(1, 5 및 15 mg/kg)에서 각각 600±162, 761±190.3 및 817±228.8 ng/ml·h 로 대조군에 비해 나린진 5 및 15 mg/kg 병용 투여군에서만 유의성(p<0.05) 있게 증가되었다.

니모디핀의 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에서 91.0±24.6 ng/ml이었으며, 나린진(1, 5 및 15 mg/kg) 병용 투여군에서는

각각 97±25.2, 106±26.5 및 112±30.2 ng/ml로 대조군에 비해 나린진 5 및 15 mg/kg 병용 투여군에서만 유의성(p<0.05) 있게 증가되었다. 절대생체이용률(AB%)은 나린진(1 mg/kg) 병용 투여군에서 25.6%이였으며, 나린진(5 및 15 mg/kg) 병용 투여군에서 32.2-36.9%로 대조군 22.0%에 비해 유의성(p<0.05)있게 증가되었다. 상대생체이용률(RB%)은 나린진(1, 5 및 15 mg/kg) 병용 투여군에서 115-157%로 증가하였다.

고 찰

많은 천연추출물이 임상에 널리 사용됨과 동시에 전임상 또는 임상적으로 천연추출물과 약물의 상호작용에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 본 연구에서 나린진과 니모디핀을 토끼에 동시에 투여시 나린진이 니모디핀의 약물동태학적 파라미터에 미치는 영향을 연구 검토하였다.

본 연구에서 니모디핀은 나린진(5 및 15 mg/kg)과 병용 투여군에서 혈중농도곡선하면적(AUC), 최고혈중농도(C_{max}) 및 절대생체이용률(AB%)이 유의성(p<0.05) 있게 증가되었으며 상대생체이용률은 146-157%로 증가되었다. 이러한 결과는 Choi 등²¹⁾이 가토에서 플라보노이드류인 모린이 CYP3A4의 대사작용과 P-당단백질의 efflux작용을 억제하여 니모디핀의 생체이용률을 증가시켰다는 보고와 일치하였다. 또한 Choi 등²²⁾이 나린진이 주로 소장에서 CYP3A4와 P-당단백질의 작용을 억제하여 파크리탁셀의 AUC와 C_{max}를 유의성 있게 증가시켰다는 보고와 유사하였다.

이상의 결과에서 나린진과 병용 투여(5 및 15 mg/kg)시 대조군에 비해 니모디핀의 생체이용률이 유의성 있게 증가된 것은 나린진이 P-당단백질을 억제하여 소장에서 흡수를 증가시키고 특히 나린진이 니모디핀의 대사효소인 CYP3A4를 억제하여 초회통과효과를 감소시켰기 때문인 것으로 사료된다.

Table 1. Pharmacokinetic parameters of nimodipine after oral administration of nimodipine (16 mg/kg) with naringin (1, 5 or 15 mg/kg) and I.V injection of nimodipine (4 mg/kg) to rabbits (Mean±SD, n=6)

Parameters	Control	Nimodipine+Naringin			IV
		1 mg/kg	5 mg/kg	15 mg/kg	
AUC (ng · h/ml)	521±135.5	600±162	761±190*	817±229*	591±146
C _{max} (ng/ml)	91±24.6	97±25.2	106±26.5*	112±30.2*	
T _{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.25	
K _{el} (h ⁻¹)	0.099±0.026	0.092±0.023	0.090±0.024	0.090±0.023	0.099±0.022
t _{1/2} (h)	7.0±1.82	7.6±2.05	7.8±2.03*	7.9±1.98*	6.94±1.89
AB (%)	22.0±5.5	25.8±6.7	32.2±8.8*	36.9±9.1*	
RB (%)	100	115	146	157	

*p<0.05 siglificant difference compared to the control.

AUC, area under the plasma concentration-time curve from time zero to time infinity; C_{max}, peak concentration; T_{max}, time of peak concentration; K_{el} (h⁻¹), elimination rate constant; t_{1/2}, terminal half-life; RB(%), relative bioavailability; AB(%), absolute bioavailability

결 론

1. 니모디핀의 AUC, C_{max} 및 AB%는 나린진 5 및 15 mg/kg 병용 투여군에서만 유의성(p<0.05) 있게 증가되었다.
2. 상대생체이용률(RB%)은 나린진 병용투여군에서 115-157%로 증가하였다.
3. 임상에서 고혈압환자가 니모디핀을 복용하는 동시에 플라보노이드인 나린진을 포함한 주스나 음식을 동시에 섭취하는 경우가 많다. 본 실험에서 토끼에 니모디핀과 나린진을 동시에 투여 시 니모디핀의 생체이용률이 증가되었다. 그러므로 본 실험결과를 토대로 인체에서 나린진과 니모디핀을 동시에 경구투여시 니모디핀의 생체이용률에 미치는 영향을 연구 검토하는 것이 바람직하다고 사료된다.

참고문헌

1. Scholz H. Pharmacological aspects of calcium channel blockers. *Cardiovasc. Drugs Ther* 1997; 10: 869-872.
2. Epstein M, Loutzenhister RD. Effects of calcium antagonists on renal hemodynamics. *Am J. Kidney Dis* 1990; 16: 10-14.
3. Kazda S, Garthoff B, Krause HP, *et al.* Cerebrovascular effects of the calcium antagonistic dihydropyridine derivative nimodipine in animal experiments. *Arzneimittelforschung* 1982; 32: 331-338.
4. Maruhn D, Siefert HM, Weber H, Ramsch K, Suwelack D. Pharmacokinetics of nimodipine. I. communication: absorption, concentration in plasma and excretion after single administration of [¹⁴C]nimodipine in rat, dog and monkey. *Arzneimittelforschung* 1985; 35: 1781-1786.
5. Suwelack D, Weber H, Maruhn D. Pharmacokinetics of nimodipine, II. communication: absorption, concentration in plasma and excretion after single administration of [¹⁴C]nimodipine in rat, dog and monkey. *Arzneimittelforschung* 1985; 35: 1787-1794.
6. Ramsch KD, Ahr G, Tettenborn D, *et al.* Overview on pharmacokinetics of nimodipine in healthy volunteer and in patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurochirurgia* 1985; 28: 74-78.
7. Scherling D, Buhner K, Krause HP, *et al.* Biotransformation of nimodipine in rat, dog and monkey. *Arzneimittelforschung* 1991; 41: 392-398.
8. Guengerich F P, Brian WR, Iwasaki M, Sari MA, Baarnhielm C, Berntsson P. Oxidation of dihydropyridine calcium channel blockers and analogues by human liver cytochrom P-450III A4. *J Med Chem* 1991; 34: 1834-1844.
9. Fuhr U, Maier-Bruggemann A, Blume H, Muck W,

- Kuhlmann J, Huschka C, Zaigler M, Rietbrock S, Staib AH. Grapefruit juice increases oral nimodipine bioavailability. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998; 36: 126-132.
10. Zhang L, Liu XD, Xie L, Wang GJ. P-glycoprotein restricted transport of nimodipine across blood-brain barrier. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 903-906.
11. Hodek P, Trefil P, Stiborova M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem Biol Interact* 2002; 139: 1-21.
12. Dupuy J, Larrieu G, Sutra JF, Lespine A, Alvinerie M. Enhancement of moxidectin bioavailability in lamb by a natural flavonoid: Quercetin. *Vet Parasitol* 2003; 112: 337-347.
13. Bardelmeijer HA, Beijnen JH, Brouwer KR, Rosing H, Nooijen WJ, Schellens JH, Van Tellingen O. Increased oral bioavailability of paclitaxel by GF120918 in mice through selective modulation of P-glycoprotein. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4416-4421.
14. The Merck Index, 12th Edition, Merck and Company. Rahway USA 1996; 6512.
15. Kim DH, Jung EA, Sohng IS, Han JA, Kim TH, Han MJ. Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch Pharm Res* 1998; 21: 17-23.
16. Zhang H, Wong CW, Coville PG, Wanwimolruk S. Effect of the grapefruit flavonoid naringin on pharmacokinetics of quinine in rats. *Drug Meta Drug Interact* 2000; 17: 351-363.
17. Ho PC, Saville DJ, Wanwimolruk S. Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds. *J Pharm Pharm Sci* 2001; 4: 217-227.
18. Takanaga H, Ohnishi A, Matsuo H, Sawada Y. Inhibition of vinblastine efflux mediated by P-glycoprotein by grapefruit juice components in caco-2 cells. *Biol Pharm Bull* 1998; 21: 1062-1066.
19. Eagling VA, Profit L, Back DJ. Inhibition of the CYP3A4-mediated metabolism and P-glycoprotein-mediated transport of the HIV-1 protease inhibitor saquinavir by grapefruit juice components. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 48: 543-552.
20. Qian M, Gallo JM. High-performance liquid chromatographic determination of the calcium channel blocker nimodipine in monkey plasma. *J Chromatogr* 1992; 578: 316-320.
21. Choi JS, Burm JP. Enhanced nimodipine bioavailability after oral administration of nimodipine with morin, a flavonoid, in rabbits. *Arch Pharm Res* 2006; 29: 333-338.
22. Choi JS, Shin SC. Enhanced paclitaxel bioavailability after oral coadministration of paclitaxel prodrug with naringin to rats. *Int J Pharm* 2005; 23: 149-156.