

흰쥐에서 나린진이 로살탄의 생체이용율에 미치는 영향

이중기 · 최준식[#]

초당대학교 의료관리학부, 조선대학교 약학대학

(Received April 23, 2009; Revised July 10, 2009; Accepted July 21, 2009)

Effect of Naringin on the Bioavailability of Losartan in Rats

Chong Ki Lee and Jun Shik Choi[#]

Department of Medical Management, Chodang University, Mooan, Korea
College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea.

Abstract — The present study was to investigate the effect of naringin, a flavonoid, on the pharmacokinetics of losartan in rats. Pharmacokinetic parameters of losartan in rats were determined after an oral administration of losartan (9 mg/kg) in the presence or absence of naringin (0.5, 2.5 and 10 mg/kg). The pharmacokinetic parameters of losartan were significantly altered by the presence of naringin compared with the control group (given losartan alone). Presence of naringin significantly ($p < 0.05$, 2.5 mg/kg; $p < 0.01$, 10 mg/kg) increased the area under the plasma concentration–time curve (AUC) of losartan by 43.7~63.0% and peak plasma concentration (C_{max}) of losartan by 31.7~45.5%. Consequently, the absolute bioavailability (AB) of losartan in the presence of naringin was 43.8~62.9%, which was enhanced significantly ($p < 0.05$, $p < 0.01$) compared to that in the oral control group (22.4%). The relative bioavailability (R.B.) of losartan increased by 1.44- to 1.63-fold in the presence of naringin. However, there was no significant change in the peak plasma concentration (T_{max}) and terminal half-life ($t_{1/2}$) of losartan in the presence of naringin. In conclusion, the presence of naringin significantly enhanced the oral bioavailability of losartan, implying that presence of naringin might be mainly effective to inhibit the cytochrome P450 (CYP)3A-mediated metabolism, resulting in reducing gastrointestinal and hepatic first-pass metabolism and P-glycoprotein (P-gp)-mediated efflux of losartan in small intestine. Concurrent use of naringin or naringin-containing dietary supplement with losartan should require close monitoring for potential drug interactions.

Keywords □ losartan, bioavailability, naringin, pharmacokinetics, CYP3A4, p-gp, rat

로살탄은 고혈압치료제로서 안지오텐신 II 수용체(angiotensin II receptor)를 억제하는 항고혈압 약물이다.¹⁻³⁾ 경구투여 된 로살탄은 AT 수용체에서 지속적이고 선택적으로 작용한다고 보고되었다. 로살탄은 거의 완전히 흡수되며 활성대사체인 EXP-3174 (1%)로 대사된다. 로살탄을 경구투여 후 투여량의 5% 정도가 미변화체로 소변으로 배설되며 약 10% 정도는 활성대사체인 EXP-3174로 배설된다.^{4,5)} Andrea 등에 의하면 로살탄은 cytochrom P450(CYP) 3A와 P-당단백질의 기질이라고 보고되었다.⁶⁾ *In vitro*⁷⁻⁹⁾와 *in vivo*¹⁰⁻¹²⁾ 실험에서 로살탄은 CYP3A4에 의해 초회 통과효과를 받아 대사 된다고 보고되었다.

P-당단백질은 소장 내에 CYP3A4와 공존하고 있어 약물의 흡수

와 대사에 상호협력적으로 작용하여 P-당단백질과 CYP3A4의 기질 약물의 생체이용률이 크게 영향을 미친다고 보고 되었다.¹³⁻¹⁷⁾ P-당단백질은 소장에서 CYP3A4와 함께 세포의 점막에 함께 존재한다.¹⁸⁾ P-당단백질은 그의 기질을 소장상피세포에서 장관 내로 유출시키는 단백질로서 기질 약물들이 장관에서 세포 내 재순환 하게 되며 CYP3A4와의 접촉기회를 증가하여 CYP3A4에 의한 대사를 촉진하여 흡수를 감소한다고 보고되었다.¹⁹⁻²²⁾ P-당단백질로 인해 항암약물을 포함한 많은 종류의 화합물(기질)들이 소장에서 유출되어 생체이용률이 감소 된다고 보고하였다.²³⁾ 플라보노이드류(Flavonoids)는 식물성분물질로서 수많은 식물에 존재하며,²⁴⁾ 항산화작용, 라디칼 이온의 소기, 항동맥경화, 항염증, 항종양, 항바이러스작용을 포함한 광범위의 유익한 생체작용이 있다.²⁵⁾ 일반적으로 CYPs 효소의 대사를 조절하며²⁶⁻²⁸⁾ P-당단백질을 저해한다고 보고되었다.^{28,29)}

나린진(4',5,7-trihydroxy-flavanone-7-rhamnoglucoside)은 포도

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

등으로 만든 과일주스에 많이 포함된 플라보노이드류로 생체에서 흡수된 후 α -ramnosidase와 β -glucosidase의 효소작용에 의하여 빠르게 naringenin으로 변화한다.^{30,31} 나린진과 naringenin은 Caco-2 세포에서 P-당단백질의 기질인 빈브라스틴(vinblastine)의 유출을 감소시켰고,³² 나린진은 또한 CYP3A4가 관여하는 saquinavir의 대사를 저해하고, Caco-2 세포에서 P-당단백질의 수송을 조절한다고 보고되었다.³³ 또 시험관실험에서 나린진에 의해 CYP3A4의 퀴닌의 대사가 저해되었다고 보고되었고,³⁴ 나린진으로 전처리된 흰쥐에게 퀴닌을 경구투여 할 때 퀴닌의 생체이용률은 17%에서 42%로 현저하게 높아졌다고 보고되었다.³⁵ 그리고 나린진과 paclitaxel, diltiazem과 verapamil과 각각 병용투여시 이 약물들의 절대적 생체이용률(F)이 유의성 있게 증가 되었다고 보고되었다.³⁶⁻³⁸ 따라서 나린진은 소장에서 CYP3A4으로 인한 대사과 P-당단백질로 인한 유출에 대하여 억제작용이 있는 것으로 보고되었다.

경구 투여할 때 로살탄의 생체이용률은 주로 소화통과효과에 관여하는 CYP3A4와 소장관막에서 흡수를 억제(유출)하는 P-당단백질에 의해서 영향을 받는다. 그러므로 CYP3A와 P-당단백질의 저해제인 나린진과 로살탄을 병용경구투여 하였을 때 로살탄의 생체이용률에 영향을 줄 것으로 사료되어 흰쥐에 나린진을 로살탄과 병용투여시 로살탄의 생체이용률과 약물동태 파라미터에 미치는 영향을 연구검토 하였다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

로살탄 및 L-158,809는 Merck 사(New Jersey, USA)에서 구입하였다. 나린진은 Sigma-Aldrich 사(St. Louis, MO, USA), 그리고 메탄올, 아세트니트릴은 Merck(Darmstadt, Germany)사의 HPLC 등급을 사용하였다. 생리식염수(0.9% NaCl 주사용)는 중외제약사(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

HPLC 기기는 Shimadzu(Kyoto, Japan)사의 액체크로마토그래피 펌프(LC-10AD), autoinjector(SIL-10A), UV-Vis detector(SPD-10A), Communications Bus Module(CBM-10A)를 사용하였고, HPLC 컬럼 온도조절기는 Phenomenex사(CA, USA), Kromasil KR 100-5C₈ column(5 μ m, 4.6 \times 150 mm)은 Waters 사(Milford, MA, USA)의 제품을 사용하였다. Vortex mixer는 Scientific Industries(Bohemia, NY, USA)사, 그리고 원심분리기는 Hitachi(Tokyo, Japan)사, 그리고 초음파세척기는 Branson Ultrasonic(Danbury, CT, USA)사의 기기를 사용하였다.

실험동물 및 전처리

일정한 조건하에서 사육한 체중 280~300 g인 Sprague-Dawley 계 웅성 흰쥐를 한 군당 각각 6마리씩 사용하였으며, 대조군은

로살탄(9 mg/kg)을 경구투여 하였으며 동시투여 군은 나린진(0.5, 3.0 및 10 mg/kg)을 각각 경구투여 한 30분 뒤 로살탄(9 mg/kg)을 경구 투여하였다. 물을 자유로이 공급하였으며 24시간 동안 절식시킨 후, 에테르로 마취시키고 우측 대퇴동맥에 폴리에틸렌관(Clay adams, Parsippany, NJ, USA)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며, 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 헤파린(75 IU/ml)을 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량만큼의 생리식염수를 피하주사로 보충해 주었다.

약물투여 및 혈액 채취

대조군은 로살탄 9 mg/kg을 증류수에 용해시켜 1.5 ml씩 경구투여 하였으며, 나린진 전투여군은 나린진(0.5, 3 및 10 mg/kg)을 증류수(1.5 ml)에 용해시켜 각각 경구투여 한 30분 후에 로살탄 9 mg/kg을 증류수(1.5 ml/흰쥐)에 용해시켜 투여하였다. 로살탄 3 mg/kg를 생리식염수에 용해하여 포리에틸렌관으로 삽입된 대퇴정맥으로 정맥투여 하였다.

로살탄을 경구투여하기 전 및 투여한 후 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 및 24시간에 포리에틸렌관으로 삽입된 대퇴동맥으로부터 혈액(0.4 ml)을 채취하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 혈장 0.2 ml를 취해 분석 전까지 -40°C 냉동고에 보관하였다.

로살탄의 HPLC 분석

혈장 중 로살탄의 분석은 Zarghi³⁹ 등의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉, 혈장 0.2 ml에 5 μ g/ml의 L-158,809 50 μ l와 acetonitril 0.5 ml를 가하고 vortex mixer로 제단백하였다. 이것을 13,000 rpm에서 10분 원심 분리한 다음 유기용매층 0.5 ml를 취하여 질소가스로 증발시킨다. 잔상에 이동상 150 μ l를 가하고 vortex한 후 13,000 rpm에서 5분간 원심분리 한 다음 상층액 70 μ l를 취하여 HPLC에 주입하였다.

이동상은 acetonitrile: 15 mMol/l phosphate buffer(41:59, v/v, phosphoric acid로 pH 2.5 맞춤)을 사용하였으며 유속은 0.8 ml/분, 파장은 215 nm로 고정하여 측정하였다. 35°C에서 L-158,809는 6.1분, 로살탄은 8.5 분에서 분리되었으며, 분리가 양호하였다(Fig. 1). 혈장중 로살탄에 대하여 검량곡선을 그린 결과 혈장중 농도가 10~200 ng/ml에서 양호한 직선성을 나타내었으며($r=0.9999$) 최저측정농도는 10 ng/ml이었다. 일내($n=5$) 및 일간($n=5$) 약물농도의 CV%를 측정한 결과 로살탄은 13.8%보다 작았다.

로살탄의 약물동태학적 분석

로살탄의 약물동태학적 파라미터들은 비상경적 모델인 WinNolin software version 4.1을 사용하여 얻었다. 혈중농도시간 곡선하 면적(area under the plasma concentration-time curve; AUC)

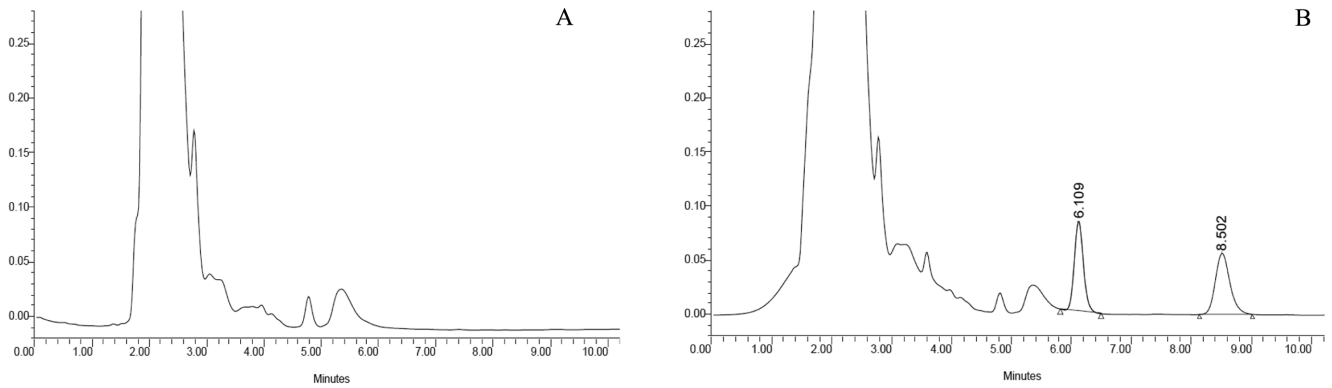


Fig. 1 – HPLC chromatograms of the rat's blank plasma (A), and the plasma spiked with losartan (8.5 min) and L-158.809 (internal standard; 6.1 min) (B).

은 trapezoidal rule에 의해 계산하였다. 최고혈중농도와 최고혈중농도에 도달하는 시간은 실제 실험 치에서 직접 구했으며, 반감기는 $0.693/K_{el}$ 로 구했다. 절대적생체 이용률(AB%)와 상대생체 이용률(RB%)의 계산법은 아래와 같다.

$$\text{Absolute bioavailability (A, B\%)} = \frac{\text{AUC}_{\text{oral}}}{\text{AUC}_{\text{IV}}} \times \frac{\text{IV dose}}{\text{Oral dose}} \times 100$$

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

통계 처리

각 실험군의 약물동태학적 파라미터의 유의성 검정은 one-way ANOVA를 사용하였으며 $p < 0.05$ 일 때 유의성 있는 차이가 있는 것으로 판정하였다.

실험결과 및 고찰

흰쥐에서 로살탄(1 mg/kg)을 단독으로 혹은 나린진(0.5, 2.5 및 10 mg/kg) 동시 투여한 후 로살탄(1 mg/kg)을 경구투여 한 흰쥐에서 얻은 로살탄의 시간에 따르는 평균혈장농도의 추이는 Fig

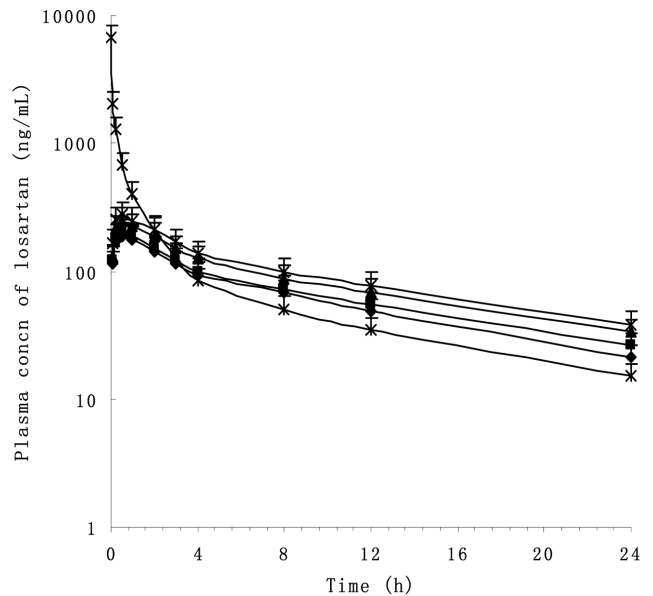


Fig. 2 – Mean plasma concentration-time profiles of losartan after oral administration of losartan (9 mg/kg) without (●) or with 0.5 mg/kg (○) or 2.5 mg/kg (▼) or 10 mg/kg (▽) of naringin to rats ($n=6$, each) and (x) iv administration (3 mg/kg). Bars represent the standard deviation.

Table I – Mean pharmacokinetic parameters of losartan after an oral (9 mg/kg) and intravenous (3 mg/kg) administration of losartan to rats with or without of naringin (Mean±SD, $n=6$)

Parameter	Control	Naringin + Losartan			i.v. (3 mg/kg)
		0.5 mg/kg	2.5 mg/kg	10 mg/kg	
AUC (ng mL ⁻¹ h)	1818±327	2074±373	2612±470*	2964±533**	2702±486
C _{max} (ng mL ⁻¹)	189±35	203.0±38	249±47*	275±52**	
T _{max} (h)	0.46±0.10	0.46±0.10	0.42±0.13	0.42±0.13	
t _{1/2} (h)	9.4±2.0	10.4±2.2	10.9±2.5	11.1±2.8	8.3±1.7
RB (%)	100	114	144	163	
AB (%)	22.4±4.3	25.6±4.6	32.2±6.5*	36.5±6.9**	

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ significant difference compared to the control.

AUC: area under the plasma concentration-time curve from 0 hour to infinity. C_{max}: peak plasma concentration. T_{max}: time to reach peak concentration. t_{1/2}: terminal half-life. RB (%): relative bioavailability. AB (%): absolute bioavailability.

2와 같고 약물동태학적 파라미터는 Table I과 같다.

Table I에서 보는 바와 같이 나린진을 동시 투여했을 때 로살탄의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있게 변했다. 혈중농도-시간곡선하면적(AUC)은 대조군에서 $1818 \pm 327 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$, 나린진(2.5 및 10 mg/kg) 동시투여 군에서는 각각 $2612 \pm 470 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 및 $2964 \pm 533 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가되었다. 최고혈중농도(C_{\max})는 대조군에서 $189 \pm 35 \text{ ng/ml}$, 나린진(2.5 및 10 mg/kg) 동시투여군에서는 각각 $249 \pm 47 \text{ ng/ml}$ 및 $275 \pm 52 \text{ ng/ml}$ 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가되었다. 최고혈중농도 도달시간(t_{\max})과 소실 반감기($t_{1/2}$)는 대조군에 비해 증가 하였으나 나린진 동시투여 군에서 유의성 있는 변화가 없었다. 그리고 상대생체이용률(RB%)은 대조군에 비해 동시투여 군에서 44~63% 증가되었다.

로살탄은 경구투여시 소장을 통해 흡수되지만 소장 및 간에서 강하게 초회통과작용을 받아 생체이용률이 30~35%로 낮다. 로살탄은 간과 소장에서 주로 CYP 3A4에 의해 대사되며, P-당단백질의 기질로서 소장에서 흡수가 저해된다. 본 실험에서 나린진을 동시 투여하였을 때 로살탄의 AUC, C_{\max} 는 유의성($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가되었으며, t_{\max} 및 $t_{1/2}$ 는 유의성 있는 변화가 없었다. 이 결과는 Zhang 등의 나린진을 전처리 하였을 때 P-당단백질과 CYP 3A4의 기질인 퀴닌의 C_{\max} 와 AUC가 증가되었다는 보고와 일치하였다.³⁵⁾

또한 P-당단백질에 의한 R123수송을 억제한다고 보고되었다.²⁶⁾ 체순환으로 흡수되어진 로살탄은 나린진에 의해서 간으로부터 CYP3A4과 CYP1A2에 의해서 대사를 억제 받을 수도 있으나 반감기가 유의성이 없는 것을 볼 때 위장 및 간장에서 초회통과효과보다는 영향이 훨씬 적을 것으로 사료된다.

결론적으로, P-당단백질 및 CYP3A4의 억제제인 나린진이 로살탄의 생체이용률을 증가시킨 것은 위장과 간장에서 CYP3A4에 의한 대사 억제에 의한 초회통과효과 감소 및 P-당단백질의 펌프작용을 억제에 의한 소장에서 흡수를 증가시킨 것으로 사료된다.

본 실험결과에 의하면 흰쥐에서 나린진을 병용투여 했을 때 로살탄의 약물동태에 영향을 미칠 수 있으므로 인체에서 나린진과 로살탄의 상호작용을 더 한층 연구검토하는 것이 바람직하다고 사료된다.

결 론

나린진을 동시투여한 흰쥐에서 로살탄(9 mg/kg)을 병용경구투여한 후 얻은 로살탄의 약물동태학적 파라미터는 다음과 같다.

1. 혈중농도-시간곡선하면적(AUC)은 대조군에서 $1818 \pm 327 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$, 나린진(2.5 및 10 mg/kg) 병용투여군에서는 각각 $2612 \pm 470 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 및 $2964 \pm 533 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 로 대조군에 비해 유의성

($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가되었다.

2. 최고혈중농도(C_{\max})는 대조군에서 $189 \pm 35 \text{ ng/ml}$, 나린진(2.5 및 10 mg/kg) 병용투여군에서는 각각 $249 \pm 47 \text{ ng/ml}$ 및 $275 \pm 52 \text{ ng/ml}$ 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가되었다.

3. 결과적으로 나린진과 로살탄을 병용경구투여시 로살탄의 생체이용률을 대조군에 비해 44~63% 증가되었다.

4. 최고혈중농도 도달시간(t_{\max})과 소실반감기($t_{1/2}$)는 대조군에 비해 나린진 병용투여 군에서 유의성 있는 변화가 없었다.

흰쥐에게 나린진을 로살탄과 병용경구투여 시 로살탄의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있는 변화를 보였으며 인체에서 나린진과 로살탄의 상호작용을 더 한층 연구 검토하는 것이 바람직하다고 사료된다.

참고문헌

- 1) Javier, D. : Review of the molecular pharmacology of losartan and its possible relevance to stroke prevention in patients with hypertension. *Clinical Therapeutics*. **28**, 832 (2006).
- 2) McIntyre, M., Caffè, S. E., Michalak, R. A. and Reid, J. L. : Losartan, an orally active angiotensin (AT1) receptor antagonist: a review of its efficacy and safety in essential hypertension. *Pharmacol. Ther.* **74**, 181 (1997).
- 3) Inagami, T., Iwai, N., Sasaki, K., Yamamo, Y., Bardhan, S., Chaki, S., Guo, D. F. and Furuta, H. : Cloning, expression and regulation of angiotensin II receptors. *J. Hypertens.* **8**, 713 (1992).
- 4) Lo, M. W., Goldberg, M. R., McCrea, J. B., Lu, H., Furtek, C. I. and Bjornsson, T. D. : Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP-3174 in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* **58**, 641 (1995).
- 5) Soldner, A., Hildegard, S. L. and Mutschler, E. : HPLC assays to simultaneously determine the angiotensin-AT1 antagonist losartan as well as its main and active metabolite EXP-3174 in biological material of humans and rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **16**, 863 (1998).
- 6) Soldner, A., Christians, U., Susanto, M., Wachter, V. J., Silverman, J. A. and Benet, L. Z. : Grapefruit juice activates P-glycoprotein-mediated drug transport. *Pharm. Res.* **16**, 478 (1999).
- 7) Stearns, R. A., Chakravarty, P. K., Chen, R. and Chiu, S. H. : Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P450C and 3A subfamily members. *Drug Metab. Dispos.* **23**, 207 (1995).
- 8) Stearns, R. A., Miller, R. R., Doss, G. A., Chakravarty, P. K., Rosegay, A., Gatto, G. J. and Chiu, S. H. : The metabolism of DuP 753, a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, by rat, monkey, and human liver slices. *Drug Metab. Dispos.* **20**,

- 281 (1992).
- 9) Yun, C. H., Lee, H. S., Lee, H., Rho, J. K., Jeong, H. G. and Guengerich, F. P. : Oxidation of the angiotensin II receptor antagonist losartan (DuP 753) in human liver microsomes. Role of cytochrome P4503A(4) in formation of the active metabolite EXP3174. *Drug. Metab. Dispos.* **23**, 285 (1995).
 - 10) Meadowcroft, A. M., Williamson, K. M., Patterson, J. H., Hinderliter, A. L. and Pieper, J. A. : The effects of fluvastatin, a CYP2C9 inhibitor, on losartan pharmacokinetics in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* **39**, 418 (1999).
 - 11) Kaukonen, K. M., Olkkola, K. T. and Neuvonen, P. J. : Fluconazole but not itraconazole decreases the metabolism of losartan to E-3174. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **53**, 445 (1998).
 - 12) McCrea, J. B., Cribb, A., Rushmore, T., Osborne, B., Gillen, L., Lo, M. W., Waldman, S., Bjornsson, T., Spielberg, S. and Goldberg, M. R. : Phenotypic and genotypic investigations of a healthy volunteer deficient in the conversion of losartan to its active metabolite E-3174. *Clin. Pharmacol. Ther.* **65**, 348 (1999).
 - 13) Wachter, V. J., Salphati, L. and Benet, L. Z. : Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **46**, 89 (2001).
 - 14) Gottesman, M. M. and Pastan, I. : Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu. Rev. Biochem.* **62**, 385 (1993).
 - 15) 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).
 - 16) Wachter, 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).
 - 17) Ito, K., Kusuhara, H. and Sugiyama, Y. : Effects of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein on oral drug absorption theoretical approach. *Pharm. Res.* **16**, 225 (1999).
 - 18) Gottesman, M. M. and Pastan, I. : Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu. Rev. Biochem.* **62**, 385 (1993).
 - 19) 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).
 - 20) Watkins, P. B. : The barrier function of CYP3A4 and P-glycoprotein in the small bowel. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **27**, 161 (1996).
 - 21) Wachter, 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).
 - 22) Ito, K., Kusuhara, H. and Sugiyama, Y. : Effects of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein on oral drug absorption theoretical approach. *Pharm. Res.* **16**, 225 (1999).
 - 23) Reynolds, J. E. F. : Martindale - The extra pharmacopeia. Pharmaceutical Press. London (1993).
 - 24) Dixon, R. A. and Steele, C. : Flavonoids and isoflavonoids-gold mine for metabolic engineering. *Trends Plant Sci.* **4**, 394 (1999).
 - 25) Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., Van Norren, K. and Van Leeuwen, P. A. M. : Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* **74**, 418 (2001).
 - 26) Doostdar, H., Burke, M. D. and Mayer, R. T. : Bioflavonoids: selective substrates and inhibitors for cytochrome P450 CYP1A and CYP1B1. *Toxicology* **144**, 31 (2000).
 - 27) Hodek, P., Trefil, P. and Stiborova, M. : Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.* **139**, 1 (2002).
 - 28) Dupuy, J., Larrieu, G., Sutra, J. F., Lespine, A. and Alvinerie, M. : Enhancement of moxidectin bioavailability in lamb by a natural flavonoid: quercetin. *Vet. Parasitol.* **112**, 337 (2003).
 - 29) Bardelmeijer, H. A., Beijnen, J. H., Brouwer, K. R., Rosing, H., Nooijen, W. J., Schellens, J. H. and Van Tellingen, O. : Increased oral bioavailability of paclitaxel by GF120918 in mice through selective modulation of P-glycoprotein. *Clin. Cancer Res.* **6**, 4416 (2000).
 - 30) The Merck Index, 12th Edition, Merck and Co. Inc., Rahway, USA. pp. 6512 (1996).
 - 31) Kim, D. H., Jung, E. A., Sohng, I. S., Han, J. A., Kim, T. H. and Han, M. J. : Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch. Pharm. Res.* **21**, 17 (1998).
 - 32) Takanaga, H., Ohnishi, A., Matsuo, H. and Sawada, Y. : Inhibition of vinblastine efflux mediated by P-glycoprotein by grapefruit juice components in caco-2 cells. *Biol. Pharm. Bull.* **21**, 1062 (1998).
 - 33) Eaging, V. A., Profit, L. and Back, D. J. : 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.* **48**, 543 (1999).
 - 34) Ho, P. C., Saville, D. J. and Wanwimolruk, S. : Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **4**,

- 217 (2001).
- 35) Zhang, H., Wong, C. W., Coville, P. G. and Wanwimolruk, S. : Effect of the grapefruit flavonoid naringin on pharmacokinetics of quinine in rats. *Drug Metabol. Drug Interact.* **17**, 351 (2000).
- 36) Choi, J. S. and Shin, S. C. : Enhanced paclitaxel bioavailability after oral coadministration of paclitaxel prodrug with naringin to rats. *Int. J. Pharm.* **23**, 149 (2005).
- 37) Choi, J. S. and Han, H. K. : Enhanced oral exposure of diltiazem by the concomitant use of naringin in rats. *Int. J. Pharm.* **30**, 122 (2005).
- 38) Kim, H. J. and Choi, J. S. : Effect of naringin on the pharmacokinetics of verapamil and one of its metabolites, norverapamil, in rabbits. *Bio. Drug. Dispos.* **26**, 295 (2005).
- 39) Zarghi, A., Foroutan, S. M., Shafaati, A. and Khoddam, A. : A rapid HPLC method for the determination of losartan in human plasma using a monolithic column. *Arzneimittelforschung.* **55**, 569 (2005).