한국임상약학회지 제20권 제3호
Kor. J. Clin. Pharm., Vol. 20, No. 3. 2010

티크로피딘과 니모디핀과의 약동학적 상호작용

김양우 · 최준식*
국민건강보험공단, 조선대학교 약학대학
(2010년 9월 30일 접수 · 2010년 10월 22일 수정 · 2010년 11월 28일 승인)

Pharmacokinetic Interaction between Ticlopidine and Nimodipine in Rats

Yang-Woo Kim and Jun-Shik Choi*
National Health Insurance Corporation, College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea
(Received September 30, 2010 · Revised October 22, 2010 · Accepted November 28, 2010)

The purpose of this study was to investigate the effect of ticlopidine on the pharmacokinetics of nimodipine in rats. Pharmacokinetic parameters of nimodipine were determined in rats after oral administration of nimodipine (16 mg/kg) with or without ticlopidine (3 or 10 mg/kg). Ticlopidine inhibited cytochrome P450 (CYP)3A4 activity. Ticlopidine significantly ($p<0.05$, 10 mg/kg) increased the area under the plasma concentration-time curve (AUC) of nimodipine and ticlopidine significantly ($p<0.05$, 10 mg/kg) prolonged the terminal half-life ($t_{1/2}$) of nimodipine. Ticlopidine significantly ($p<0.05$, 10 mg/kg) decreased the total body clearance (CL_t). The absolute bioavailability (AB%) and relative bioavailability (RB%) of nimodipine by presence of ticlopidine were increased by 14% and by 42%, respectively, compared to the control. Based on these results, the increased bioavailability of nimodipine might be due to inhibition of the metabolizing enzyme cytochrome P450 (CYP)3A4 in the liver or intestinal mucosa and/or reducing total body clearance by ticlopidine.

□ Key words - Nimodipine, Ticlopidine, Pharmacokinetics, CYP3A4, Rats

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 칼슘채널차단제로[3] 지용성 약물이며 경구투여 시 신속하게 흡수되나 초회통과효과로 인해 생체이용률이 낮고 97-99% 단백결합을 하며, 빠르게 조직과 기관에 분포된다.[4-5] 니모디핀은 간과 장관강막에 존재하는 cytochrome P450 (CYP)3A4에 인하여 산화되어 pyridine 대사체로 대사된다.[6-8] Fuhr등[9]은 자몽 쥬스와 니모디핀을 동시투여 했을 때 니모디핀의 생체이용률을 51% 향상시켰다고 보고되었다. 또한 니모디핀은 P-당단백질 (P-glycoprotein)의 기질이기도 하다.[10]

티크로피딘 (ticlopidine)은 광범위하게 간에서 산잔 대사되고, 아데노신 이인산 (ADP)에 의해 유발된 혈소판 응집을 강력하게 억제한다.[11] 티크로피딘은 여러 혈소판 관련 질환들에서 사용되어 왔다.[12-14] 실제로 최근 권고 사항은 아스피린을 복용 할 수 없는 환자에서, 티크로피딘을 유용한 대안으로 추천하고 있다.[15-20]

티클로피딘은 데오필린과 안티피린 등과 같이 간의 cytochrome P-450 효소계에 의해 대사되는 여러 약제를 억제하는 중요한 원인으로 알려진 항혈소판제이다. 예를 들어 티크로피딘과 와파린을 함께 복용하였을 때 와파린 농도가 유의하게 증가하게 되었다.[21] 또한 금식 상태였을 때와 비교할 때 음식과 함께 복용하면 티크로피딘의 경구적 생체 이용률이 20%까지 증가되고 제산제와 함께 복용하였을 때는 티크로피딘의 흡수가 약 20% 낮아진다는 보고가 있다.[22]

순환기계 질환 치료 시 항혈소판 제제와 항고혈압 제제가 병용 투여되는 경우가 많다. 특히 티크로피딘을 칼슘채널 차단제인 니모디핀과 병용투여 시 니모디핀의 약물동태에 영향을 미칠 것으로 사료되나 현재까지 티크로피딘이 칼슘채널

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

차단제에 미치는 영향에 대해 보고된 바가 없다.

그러므로 본 연구에서는 흰쥐에서 티크로피딘을 니모디핀과 병용투여 시 니모디핀의 약물동태학적 파라미터에 미치는 영향을 검토하고자 하였고, 티크로피딘에 의해 CYP3A4 효소 활성억제를 평가하고자 하였다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

니모디핀, 니트렌디핀 (nitrendipine, internal standard) 및 티크로피딘은 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. Ethyl acetate는 준세이화학제품 (Kyoto, Japan)을, 박하유는 대흥약품 (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 Symmetry® C_{18} (Waters, Ireland, 5 μm, 150 mm×4.6 mm)를 사용하였다. Syringe pump는 Sage Instruments사 (Boston, MA, USA)의 Model 341B를 사용하였으며, vortex mixer는 Scientific Industries사 (Bohemia, NY, USA) 그리고 원심분리기는 HITACHI (Tokyo, Japan), 사용하였고, shaker는 Seolin사 (Seoul, Republic of Korea), Dry thermo bath는 Eyela사 (Tokyo, Japan)를 사용하였다.

실험동물

일정한 조건에서 사육한 체중 280 g 전후의 Sprague-Dawley계 웅성 흰 쥐 (Dae Han Laboratory Animal Research Company, Eumsung, South Korea)를 1군을 6마리씩으로 하여, 물은 자유로이 공급하면서 24시간 절식시킨 후 우측 대퇴동맥에 폴리에틸렌관 (PE50, Intramedic, Clay Adams, NJ, USA)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며, 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 주사용 생리식염수로 녹인 헤파린 (75 U/ml)를 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량만큼의 생리식염수를 등속주입펌프로 보충해 주었다.

약물투여 및 혈액 채취

대조군 (control)은 니모디핀 16 mg/kg을 물에 용해시켜 경구투여 하였다. 정맥투여는 니모디핀 4 mg/kg를 주사용 생리식염수에 용해시켜 정맥투여 하였다. 병용 투여군(coadministration)은 티크로피딘 3 및 10 mg/kg을 각각 병용경구투여 하였다. 혈액은 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 및 24시간에서 0.4 ml를 채취하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈장 0.2 ml를 취해 실험전까지 -40°C에 냉동 보관하였다.

니모디핀의 HPLC 분석

혈장중 니모디핀 분석은 Mingxin[23] 등의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈장 0.2 ml에 1 μg/ml 니트렌디핀 50 μl와 ethyl acetate 5 ml를 가하고 1시간동안 추출하였다. 이것을 3,000 rpm에서 10분 원심분리 한 다음 유기용매층 4.5 ml를 다른 깨끗한 시험관으로 옮기고, 40°C에서 질소가스로 날린 후 잔사에 65% 메탄올을 0.3 ml를 넣고 vortex mixer로 3분간 용해시킨 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 50 μl를 HPLC에 주입하였다.

HPLC조건 및 혈장크로마토그램

HPLC 조건은 칼럼은 Hypersil ODS (5 μm, 150 mm×4.6 mm)을, 이동상은 메탄올:물 (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. 이 분석법으로 최소 10 ng/ml까지 측정할 수 있었으며 일내 및 일간 변동계수 (Coefficient of Variation)는 11.3%보다 작았다.

CYP 효소 활성 억제실험

인간의 CYP3A4 효소 활성 억제 실험은 CYP inhibition assay kit를 사용한 multiwell plate에서 시행하였다. 간단히 설명하자면 인간의 CYP 효소는 baculovirus에 감염된 곤충세포를 통해 얻었다. CYP 기질을 potassium phosphate buffer에서 1 pmol의 CYP3A4와 NADPH 생산 체계 (1.3 uM NADP, 3.54 mM glucose 6-phosphate, 04 U/mL glucose 6-phosphate dehydrogenase와 3.3 mM $MgCl_2$)의 반응 혼합물을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것으로 배양하였다. 반응은 stop solution을 첨가한 후 45분 후 종결되었다. 대사체의 농도는 여기파장 (excitation wavelength) 409 nm로, 형광파장을(emission wavelength) 530 nm로 설정하여 형광광도계 (spectrofluorometer)로 측정하였다. Positive control (1 uM ketoconazole)은 같은 plate에서 시행되었고 99%저해를 나타냈다. 모든 실험은 동일하게 수행하였고 결과는 저해 퍼센트로 표현하였다.

니모디핀의 약물동태학 분석

약물동태학 분석은 non-compartmental pharmacokinetic analysis로 WinNonlin software version 4.1 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA) computer program을 이용하였다. 무한대까지의 혈중 농도 곡선 하 면적 (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 regression분석에 의해, 반감기 ($t_{½}$)는 0.693/K_{el}로 구했다. 그리고 병용투여군의 절대적생체이용률 (AB%)은 $[(AUC_{oral}\times Dose_{i.v.})/(AUC_{i.v.}\times Dose_{oral})]\times 100$으로 구했으며, 상대적생체이용률(RB%)은 병용투여군의 AUC에 대한 대조군

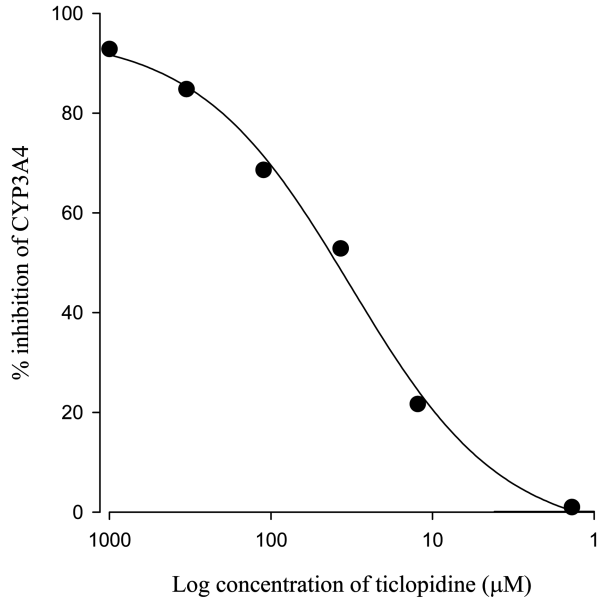

Fig. 1. Inhibitory effects of ticlopidine on CYP3A4 activity. All experiments were performed in duplicate, and results are expressed as the percent inhibition.

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.

결과 및 고찰

티크로피딘의 CYP3A4 억제효과

CYP3A4 활성에 대한 티크로피딘의 저해 효과는 Figure 1에서 보여주고 있다. 티크로피딘은 CYP3A4 효소의 활성을 농도 의존적 방법으로 저해하였고 CYP3A4에 대한 티크로피딘 50% 저해 농도값 (IC_{50})은 46.1 uM 이었다.

티크로피딘이 니모디핀의 약물동태에 미치는 영향

니모디핀의 평균혈중농도 추이는 Figure 2와 같았으며 약물동태학적 파라미터는 Table 1과 같다. 혈중 농도 곡선 하 면적 (AUC)는 대조군에서 504±111 ng·h /ml 이었으며, 티크로피딘 병용 투여군 (3및 10 mg/kg)에서 각각 576±127과 718±156 ng/ml·h으로 티크로피딘 10 mg/kg에서만 대조군에 비해 유의성 ($p<0.05$)있게 증가되었다.

니모디핀의 최고혈중농도 (C_{max})는 대조군에서 91±21 ng/ml이었으며, 티크로피딘(3 및 10 mg/kg) 병용 투여군에서는 각각 95±22과 103±24 ng/ml이었다.

상대적생체이용율 (RB%)은 티크로피딘 (3및 10 mg/kg) 병용 투여군에서는 114-142%로 증가되었다. 티크로피딘은 니모디핀의 전신클리어런스 (CL_t)를 10 mg/kg에서만 대조군에 비해 유의성 ($p<0.05$)있게 감소시켰다. 그러므로 니모디핀의

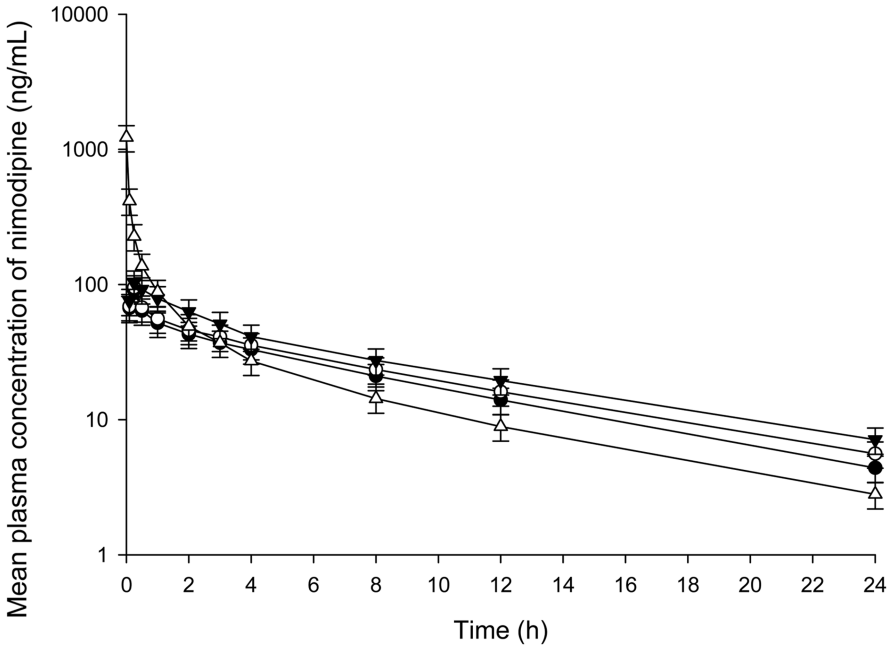

Fig. 2. Mean plasma concentration-time profiles of nimodipine following an oral (16 mg/kg) administration of nimodipin to rats with or without ticlopidine (Mean±SD, n = 6). (●) Control (nimodipine 16 mg/kg, oral), (○) with 3 mg/kg ticlopidine, (▼) with 10 mg/kg ticlopidine, (△) IV administration.

Table 1. Pharmacokinetic parameters of nimodipine after intravenous (4 mg/kg) and oral (16 mg/kg) administration of nimodipine with ticlopidine (3 and 10 mg/kg) to rats (Mean±SD, n=6)

Parameters	Control	Nimodipine+Ticlopidine		Nimodipine IV
		3 mg/kg	10 mg/kg	
AUC (ngh/ml)	504±111	576±127	718±156*	580±125
C_{max} (ng/ml)	91±21	95±22	103±24	
CL_t/F(ml/h/kg)	8.8±1.9	7.7±1.7	6.1±1.4*	2.2±0.5
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25	
$t_{1/2}$ (h)	7.0±1.5	7.8±1.6	8.5±1.8*	6.9±1.5
AB (%)	21.8±4.7	24.8±5.6	31.0±7.1*	100
RB (%)	100	114	142	

*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}: the time to reach peak plasma concentration; CL_t: total body clearance; $t_{1/2}$: terminal half-life; RB(%): relative bioavailability; AB(%): absolute bioavailability.

생물학적 반감기 ($t_{1/2}$)가 유의성 ($p<0.05$)있게 연장되었다. 그러나 최고혈장농도 도달시간 (T_{max})과 최고혈장농도 (C_{max})은 유의성이 없었다.

니모디핀은 지용성 약물이며 경구투여 시 신속하게 흡수되며 전신순환에 도달하기 전에 초회통과효과로 인해 생체이용률이 낮고 개체간 및 연령에 따라 차이도 크다.[3] 이 약물은 소장과 간에서 주로 CYP3A4에 인해 대사되어 pyridine 대사체로 대사되며[6-8], 니모디핀은 P-당단백질의 기질이기도 하다.[10] 티크로피딘은 *in vitro* 상에서CYP3A4의 활성을 억제시켰으며, 니모디핀을 티크로피딘 (10 mg/kg)과 병용 투여하였을 때 니모디핀의 혈중 농도 곡선 하 면적 (AUC)이 유의성 ($p<0.05$)있게 증가되었으며, 상대적생체이용률은 142%로 증가되었다. 그러므로 티크로피딘에 의한 니모디핀의 생체이용률 증가는 CYP3A4활성 억제에 기인한 것으로 사료된다.

본 연구에서 얻은 결과는 Fuhr 등이 자몽쥬스 또는 모린을 니모디핀과 병용 경구투여 시 CYP3A4의 대사를 억제하여 니모디핀의 생체이용률을 증가시켰다는 보고와 일치하였으며[9,25] Piao[26]와Choi[27] 등의 CYP3A4억제 효과가 있는 프루바스타틴이 소장 및 간장에서 CYP3A4 활성을 억제하여 딜티아젬 및 니칼디핀의 AUC와 C_{max}를 유의성 ($p<0.05$)있게 증가시켰다는 보고와도 일치 하였다.

이상의 결과를 통해 티크로피딘이 니모디핀과 병용 투여될 때 니모디핀의 약물동태학적 파라미터에 영향을 미친 것은 티크로피딘이 대사효소인 CYP3A4활성을 억제와함으로써 전신클리어런스 (CL_t)를 감소시켜 니모디핀의 생체이용률을 증가시켰기 때문인 것으로 사료된다.

항혈소판제인 티크로피딘과 항고혈압제인 니모디핀은 순환기 질환 치료 시 병용처방이 가능하므로 상호작용의 가능성을 고려하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

결 론

항혈소판제인 티크로피딘이 항고혈압제인 니모디핀과 병용 투여될 때 니모디핀의 약물동태학적 파라미터에 미치는 결과는 다음과 같다.

1. 티크로피딘은 *in vitro* 상에서 CYP3A4 효소의 활성을 저해하였다.

2. 니모디핀의 혈중 농도 곡선 하 면적 (AUC)은 대조군에 비해 티크로피딘 10 mg/kg 병용 투여군에서 유의성 ($p<0.05$) 있게 증가되었다.

3. 상대생체이용률 (RB%)은 티크로피딘 병용 투여군에서 114-142%로 증가하였다.

4. 티크로피딘은 니모디핀의 전신클리어런스 (CL_t)를 감소시켰다.

본 논문에서 흰 쥐에 티크로피딘과 니모디핀을 병용 경구투여 시 니모디핀의 생체이용률 (bioavailability)이 유의성 ($p<0.05$)있게 증가된 것은 티크로피딘이 대사효소인 CYP3A4를 억제하여 소장과 간장에서 초회통과효과 (first-pass metabolism)를 감소시킴으로써 전신클리어런스 (CL_t)를 감소시켰기 때문인 것으로 사료된다. 따라서 본 실험결과를 토대로 인체에서 티크로피딘과 니모디핀의 상호작용을 검토한 후 투여용량을 조절하는 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, *et al*., Pharmacokinetics of nimodipine. I. communication: absorption, concentration in plasma and excretion after single administration of [^{14}C] 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 [^{14}C] 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. *Arzneimittel-forschung* 1991; 41: 392-398.
8. Guengerich FP, Brian WR, Iwasaki M, *et al*., Oxidation of dihydropyridine calcium channel blockers and analogues by human liver cytochrom P-450IIIA4. *J Med Chem* 1991; 34: 1834-1844.
9. Fuhr U, Maier-Bruggemann A, Blume H, *et al*., Grapefruit juice increases oral nimodipine bioavailability. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998; 36: 126-132.
10. Zhang L, Liu XD, Xie L, *et al*., P-glycoprotein restricted transport of nimodipine across blood-brain barrier. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 903-906.
11. Saltiel E, Ward A. Ticlopidine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutics efficacy in platelet-dependent disease states. *Drugs* 1987; 34: 222-262.
12. Gent M, Blakely JA, Easton JD, *et al*., The Canadian American ticlopidine study(CATS) in thromboembolic stroke. *Lancet* 1989; 1: 1215-1220.
13. Hass Wk, Easton JD, Adams HP, *et al*., A randomized trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high-risk patients. *N Eng J Med* 1989; 321: 501-507.
14. Janzon L, Bergqvist D, Boberg J, *et al*., Prevention of myocardial infarction and stroke in patients with intermittent claudication; effects of ticlopidine. Results from STIMS, the Swedish Ticlopidine Multicentre Study. *J Intern Med* 1990; 227: 301-308.
15. Haynes RB, Sandler RS, Larson EB, *et al*., A critical appraisal of ticlopidine, a new antiplatelet agent. Effectiveness and clinical indications for prophylaxis of atherosclerotic events. *Arch Intern Med* 1998; 152: 1376-1380.
16. Ito MK, Smith AR, Lee ML. Ticlopidine: a new platelet aggregation inhibitors. *Clin Pharm 1992;* 11: 603-617.
17. Verhaeghe R. Prophylactic antiplatelet therapy in peripheral arterial disease. *Drugs* 1991; 42: 51-57.
18. Solomon DH, Hart RG. Antithrombotic therapies for stroke prevention. *Cur Opin Neurol* 1994; 7: 48-53.
19. Buur T, Larsson R, Berglund U, *et al*., Pharmocokinetics and effect of ticlopidine on platelet aggregation in subjects with normal and impaired renal function. *J Clin Pharmacol* 1997; 37: 108-115.
20. Ko JW, Desta Z, Soukhova NV, *et al*., In vitro inhibition of the cytochrome P450 (CYP450) system by the antiplatelet drug ticlopidine: potent effect on CYP2C9 and CYP2D6. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 49: 343-351.
21. Gidal BE, Sorkness CA, McGill KA, *et al*., Evaluation of a potential enantioselective interaction between ticlopidine and warfarin in chronically anticoagulated patients. *Ther Drug Monit* 1995; 17: 33-38.
22. Shah J, Fratis A, Ellis D, *et al*., Effect of food and antacid on absorption of orally administered ticlopidine hydrochloride. *J Clin Pharmacol* 1990; 30: 733-736.
23. Qian M, Gallo JM. High-perfomance liquid chromatographic determinination of the calcium channel blocker nimodipine in monkey plasma. *J Chromatogr* 1992; 578: 316-320.
24. Mc Donnell CG, Shorten G, Van Pelt FN. Effect of atorvastatin and fluvastatin on the metabolism of midazolam by cytochrome P450 in vitro. *Anaesthesia* 2005; 60: 747-753.
25. Choi JS, Burm JP. Enhanced nimodipine bioavailability after oral administration of nimodipine with morin, flavonoid, in rabbits. *Arch Pharm Res* 2006; 29: 333-338.
26. Piao YJ, Choi JS. Effects of fluvastatin on the pharmacokinetics of diltiazem and its metabolite in rats. *Yakhak Hoeji* 2006; 50: 118-123.
27. Choi DH, Lee IG, Choi JS. Pharmacokinetic interaction between fluvastatin and nicardipine. *Kor J Clin Pharm* 2007; 17: 65-69.