

흰쥐에 경구 및 정맥투여시 에피가로카테친이 니모디핀의 생체이용률에 미치는 영향

이종기 · 최준식* · 최동현**.#

초당대학교 의료관리학부, *조선대학교 약학대학, **조선대학교 의과대학
(Received June 6, 2011; Revised June 21, 2011; Accepted June 29, 2011)

Effects of Epigallocatechin Gallate on the Bioavailability of Nimodipine after Oral and Intravenous Administration in Rats

Chong-Ki Lee, Jun-Shik Choi* and Dong-Hyun Choi**.#

Department of Medical Management, Chodang University, Mooan 534-701, Korea

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

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

Abstract — The purpose of this study was to investigate the effect of epigallocatechin gallate (EGCG) on the pharmacokinetics of nimodipine in rats. Pharmacokinetic parameters of nimodipine were determined in rats after oral and iv administration of nimodipine with or without EGCG and also the effect of EGCG on the cytochrome P450 (CYP) 3A4 and P-glycoprotein (P-gp) activity were evaluated. EGCG inhibited CYP3A4 and P-gp activity. EGCG significantly increased the area under the plasma concentration-time curve (AUC) and peak plasma concentration (C_{max}) of nimodipine. The absolute bioavailability (AB%) and relative bioavailability (RB%) of nimodipine by EGCG were increased by 16% and by 48%, respectively, compared to the control. In contrast, EGCG did not affect the intravenous pharmacokinetics of nimodipine. Based on these results, the increased bioavailability of nimodipine might be due to inhibition of CYP3A4 in the small intestine and/or in the liver and inhibition of P-gp in the small intestine by EGCG.

Keywords □ nimodipine, epigallocatechin gallate, bioavailability, pharmacokinetics, CYP3A4, P-gp, 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 칼슘채널차단제로³⁾ 지용성 약물이며 경구투여 시 신속하게 흡수되나 초회통과효과로 인해 생체이용률이 낮고 97~99% 단백결합을 하며, 빠르게 조직과 기관에 분포된다.^{4,5)} 니모디핀은 간과 장관강막에 존

재하는 cytochrome P450(CYP) 3A4에 인하여 산화되어 pyridine 대사체로 대사된다.⁶⁻⁸⁾ Fuhr 등⁹⁾은 자몽 주스와 니모디핀을 동시 투여 했을 때 니모디핀의 생체이용률을 51% 향상시켰다고 보고되었다. 또한 니모디핀은 P-당단백질(P-gp)의 기질이기도 하다.¹⁰⁾

에피가로카테친[(-)epigallocatechin gallate(EGCG)]은 플라보노이드류의 한가지로 주로 녹차에서 추출된다.¹¹⁾ 에피가로카테친은 활발한 생체활성을 가지고 있다. 즉 항산화작용,¹²⁾ 항돌연변이 및 항암작용¹³⁾ 등이 있다. 에피가로카테친은 인체의 CYP 3A4를 억제하며,¹⁴⁾ Caco-2 세포에서 P-gp을 억제한다.¹⁵⁾ Hong 등¹⁶⁾은 에피가로카테친 및 대사체들은 MRP1와 MRP2의 기질이지만 P-gp의 기질은 아니라고 보고하였다. Kitagawa 등¹⁷⁾은 KB-C2세포에서 에피가로카테친은 P-gp의 기질인 베라파밀과 퀼세틴에 의해 억제된다고 보고하였다. 에피가로카테친은 CYP3A4 및 P-gp 활성 억제효과가 명확하지 않아 재검토를 하였다. CYP3A4 및 P-gp 활성 억제효과는 CYP 억제효과 평가방법과 Rhodamine-123 추적 평가방법으로 측정하였다.

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 062-230-3773 (팩스) 062-222-3858
(E-mail) dhchoi@chosun.ac.kr

순환기계 질환 치료 시 항산화작용이 있는 에피가로카테친과 항고혈압 제제가 병용 투여되는 경우가 있다. 한국을 포함하여 동양에서는 녹차를 많이 음료수로 사용하고 있기 때문에 병용되는 경우가 많다. 특히 에피가로카테친을 갈습채널 차단제인 니모디핀과 병용투여 시 니모디핀의 약물동태에 영향을 미칠 것으로 사료되나 현재까지 에피가로카테친이 니모디핀의 약물동태에 미치는 영향에 대해 보고된 바가 없다.

그러므로 본 연구에서는 흰쥐에서 에피가로카테친을 니모디핀과 병용 경구 및 정맥투여 시 니모디핀의 생체이용률 및 약물동태학적 파라미터와 CYP3A4와 P-gp 활성억제에 미치는 영향을 검토하고자 하였다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

니모디핀, 니트렌디핀(nitrendipine, internal standard) 및 에피가로카테친은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. Ethyl acetate는 준세이화학제품(Kyoto, Japan)을, 박하유는 대흥약품(Seoul, Republic of Korea), 그리고 methanol은 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, column은 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 Seolin사(Seoul, Republic of Korea), Dry thermo bath는 Eyela사(Tokyo, Japan)를 사용하였다.

실험동물

일정한 조건에서 사육한 체중 280 g 전후의 Sprague-Dawley 계 웅성 흰 쥐를 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(50 U/ml)를 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량만큼의 생리식염수를 등속주입펌프로 보충해 주었다. 동물 연구 계획은 조선대학교 동물관리위원회의 승인을 받았다.

약물투여 및 혈액 채취

대조군(control, n=6)은 니모디핀 16 mg/kg을 물에 용해시켜 0.3 ml/rat 경구투여 하였다. 정맥투여는 니모디핀 4 mg/kg을 주사용 생리식염수에 용해시켜 정맥투여 하였다. 병용투여군(n=6)

은 에피가로카테친 1 및 8 mg/kg을 각각 경구투여 30분 후 니모디핀을 경구 및 정맥투여 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 냉동보관하였다.

니모디핀의 HPLC 분석

혈장중 니모디핀 분석은 Qian 등¹⁸⁾의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈장 0.2 ml에 1 µg/ml 니트렌디핀 50 µl와 ethyl acetate 5 ml를 가하고 1시간 동안 추출하였다. 이것을 1,000 rpm에서 10분 원심분리 한 다음 유기 용매층 4.5 ml를 다른 깨끗한 시험관으로 옮기고, 40°C에서 질소가스로 날린 후 잔사에 65% methanol을 0.3 ml를 넣고 vortex mixer로 3분간 용해시킨 후 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 50 µl를 HPLC에 주입하였다.

HPLC조건 및 혈장크로마토그램

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

CYP 억제 효과 평가

인체의 CYP3A4 효소 활성의 억제효과평가는 Crespi 등의¹⁹⁾ CYP inhibition assay kit를 사용한 multiwell plate에서 시행하였다. 간단히 설명하자면 인간의 CYP 효소는 baculovirus에 감염된 곤충세포를 통해 얻었다. CYP 기질은 potassium phosphate buffer에서 1 pmol의 CYP3A4 효소와 NADPH 생산 체계(1.3 µM NADP, 3.54 mM glucose 6-phosphate, 04 U/ml glucose 6-phosphate dehydrogenase와 3.3 mM MgCl₂)의 반응 혼합물을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것을 배양하였다. 반응은 stop solution을 첨가한 후 45분 후 종결되었다. 대사체의 농도는 여기파장(excitation wavelength) 409 nm, 형광파장(emission wavelength) 530 nm로 설정하여 형광광도계(spectrofluorometer)로 측정하였다. Positive control(1 µM ketoconazole)은 같은 plate에서 시행되었고 99% 저해를 나타냈다. 모든 실험은 동일하게 수행하였고 결과는 저해 퍼센트로 표현하였다.

Rhodamine-123 축적정도 평가

MCF-7/ADR cell에 p-gp가 과발현되면 P-gp가 부족한 MCF-7 cell에 비하여 P-gp 형광기질인 Rhodamine-123의 축적이 증가한다. 본 실험에서는 에피가로카테친을 전처치한 후 Rhodamine-

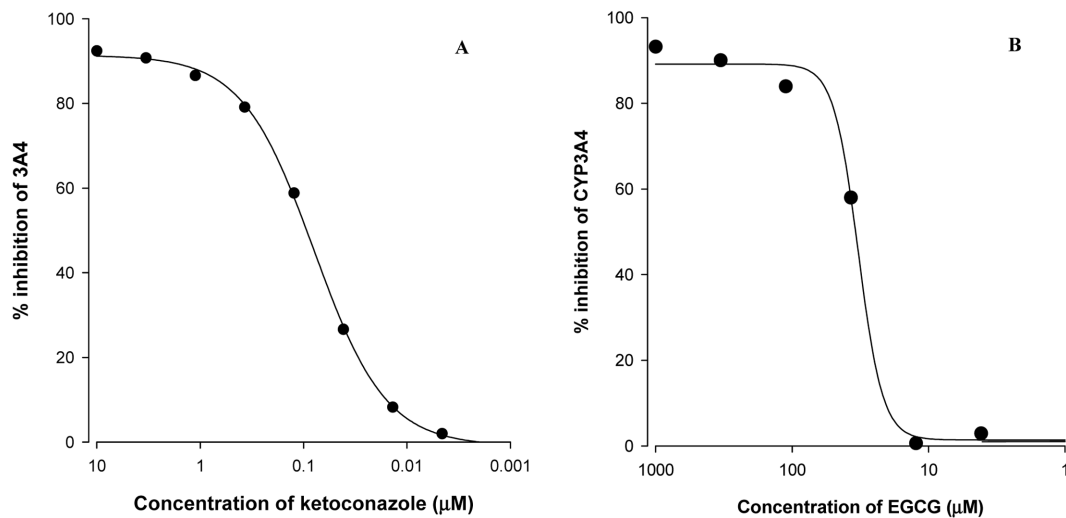


Fig. 1 – Inhibitory effects of ketoconazole and EGCG on CYP3A4 activity. The experiment was done in duplicate, and the result is expressed as the percent of inhibition.

123의 형광정도를 평가하였다.

MCF-7/ADR cell을 24-well plates에 배양 후 배지를 Hanks' balanced salt solution으로 바꾸고 37°C에서 30분간 안정화시켰다. 이후 세포에 20 μM의 rhodamine-123을 첨가하여 90분 동안 배양한 후 배지를 완전히 제거하였다. 세포는 차가운 인산완충액(pH 7.0)으로 3번 세척 후 lysis buffer로 용해하였다. 세포 내 rhodamine-123형광은 여기파장(excitation wavelength) 480 nm, 형광파장(emission wavelength) 540 nm으로 측정하였다. 형광 값은 각 시료의 총 단백질 함량으로 정규화(normalized)하고 대조군 수치에 대한 비율로 표시하였다.

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 regression분석에 의해, 반감기($t_{1/2}$)는 $0.693/K_{el}$ 로 구했다. 그리고 병용투여군의 절대적생체이용률(AB%)은 $AUC_{oral}/AUC_{IV} \times Dose_{IV}/Dose_{oral} \times 100$ 으로 구했으며, 상대적생체이용률(RB%)은 대조군 AUC에 대한 병용투여군의 AUC의 백분율로 구했다.

통계 처리

각 약물동태학적 파라미터의 유의성 검정은 one-way ANOVA

를 적용하여 대조군과 비교해 $p < 0.05$ 일 때 유의성 있는 차이가 있는 것으로 처리하였다.

실험결과

에피가로카테친의 CYP3A4 억제효과

CYP3A4 활성에 대한 에피가로카테친의 저해 효과는 Fig. 1에

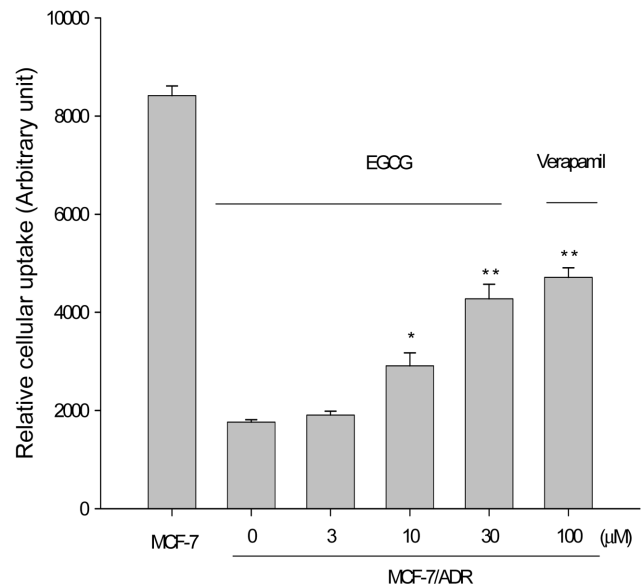


Fig. 2 – Rhodamine-123 retention. MCF-7/ADR cells were pre-incubated with EGCG for 30 min after incubation of MCF-7/ADR cells with 20 μM R-123 for 90 min. Data represents mean \pm SD of 6 separate samples. Verapamil (100 μM) was used as a positive control (significant versus the control MCF-7 cells, ** $p < 0.01$).

서 보여주고 있다. 에피가로카테친은 CYP3A4 효소의 활성을 농도 의존적으로 저해하고 CYP3A4에 대한 에피가로카테친 50% 저해 농도값(IC₅₀)은 32 μM 이었다.

Rhodamine-123 축적정도 평가

Fig. 2에서 보여지듯 MCF-7/ADR cell에 p-gp가 과발현되면 P-gp가 부족한 MCF-7 cell에 비해 Rhodamine-123의 축적이 증가함을 알 수 있다. 에피가로카테친을 병용사용할때 농도 의존적으로 Rhodamine-123의 세포내 축적이 증가하였고 10~30 μM에서 통계학적으로 유의성(p<0.05, p<0.01)을 보였다. 이 결과는 에피가로카테친이 P-gp의 활성을 유의성있게 저해함을 시사한다.

에피가로카테친이 경구투여시 니모디핀의 약물동태에 미치는 영향

니모디핀의 평균혈중농도 추이는 Fig. 3와 같았으며 약물동태학적 파라미터는 Table I과 같다. 혈중농도곡선하면적(AUC)는 대조군에서 507±96 ng·h/ml이었으며, 에피가로카테친 병용투여군(1 및 8 mg/kg)에서 각각 587±112과 751±143 ng·h/ml이었으며, 에피가로카테친 8 mg/kg에서만 대조군에 비해 유의성(p<0.05)있게 증가되었다.

니모디핀의 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에서 91±15 ng/ml이었으며, 에피가로카테친(1 및 8 mg/kg) 병용투여군에서는 각각 97±16과 106±17 ng/ml이었으며 에피가로카테친 8 mg/kg에서만 대조군에 비해 유의성(p<0.05)있게 증가되었다. 절대적생체

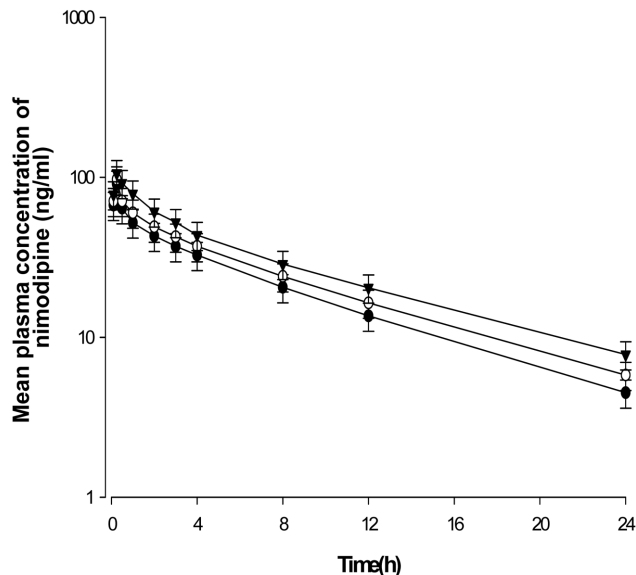


Fig. 3 – Mean plasma concentration-time profiles of nimodipine after oral (16 mg/kg) administration to rats without or with EGCG (1 or 8 mg/kg) (n=6, each). Bars represent the standard deviation; (●) Oral administration of nimodipine (control, 16 mg/kg, oral); (○) with 1 mg/kg EGCG, (▼) 8 mg/kg of EGCG.

Table I – Mean pharmacokinetic parameters of nimodipine after oral (16 mg/kg) administration of nimodipine with EGCG to rats (Mean±S.D., n=6)

Parameters	Control	Nimodipine+EGCG	
		1 mg/kg	8 mg/kg
AUC (ng·h/ml)	507±96	587±112	751±143*
C _{max} (ng/ml)	91±15	97±16	106±17*
T _{max} (h)	0.25	0.25	0.25
t _{1/2} (h)	7.1±1.1	7.7±1.2	8.4±1.3
AB (%)	22.1±4.2	25.6±4.9	32.8±6.2*
RB (%)	100	116	148

*; p<0.05, significant 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, t_{1/2}: terminal half-life, AB (%): absolute bioavailability, RB (%): relative bioavailability.

이용율(AB%)은 에피가로카테친(8 mg/kg) 병용투여군에서 유의성있게 48% 증가되었다.

상대적생체이용률(RB%)은 에피가로카테친(1 및 8 mg/kg) 병용투여군에서는 116~148%로 증가되었다. 니모디핀의 생물학적 반감기(t_{1/2})와 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 유의성이 없었다.

에피가로카테친이 정맥투여시 니모디핀의 약물동태에 미치는 영향

니모디핀의 평균혈중농도 추이는 Fig. 4와 같았으며 약물동태학적 파라미터는 Table II와 같다. 혈중농도곡선하면적(AUC)는 대조군에서 572±118 ng·h/ml이었으며, 에피가로카테친 병용투

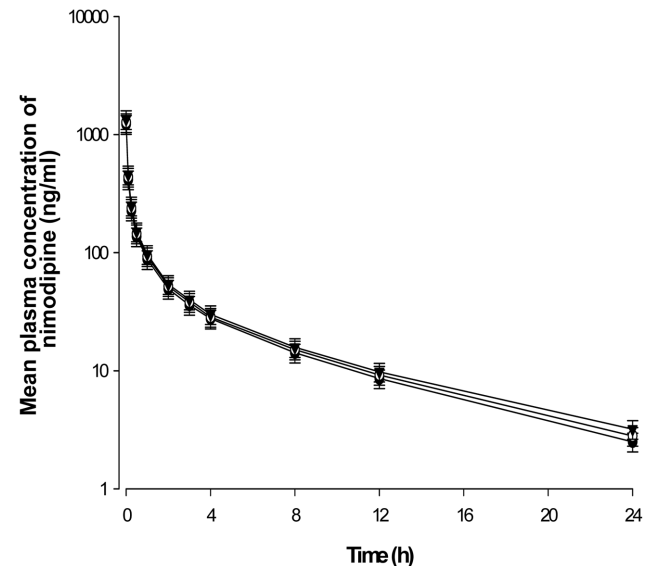


Fig. 4 – Mean plasma concentration-time profiles of nimodipine after intravenous (4 mg/kg) administration to rats without or with EGCG (1 or 8 mg/kg) (n=6, each). Bars represent the standard deviation; (●) Intravenous administration of nimodipine (control, 4 mg/kg, oral); (○) with 1 mg/kg EGCG, (▼) 8 mg/kg of EGCG.

Table II – Pharmacokinetic parameters of nimodipine after intravenous (4 mg/kg) administration of nimodipine with EGCG to rats (Mean±S.D., n=6)

Parameter	Control	Nimodipine+EGCG	
		1 mg/kg	8 mg/kg
AUC (ng·h/ml)	572±118	604±126	637±129
CL _t (ml/h/kg)	87±18	82±17	78±17
t _{1/2} (h)	6.8±1.3	6.8±1.4	7.1±1.5
RB (%)	100	106	111

AUC: area under the plasma concentration-time curve from time zero to time infinity, CL_t: total body clearance, t_{1/2}: terminal half-life, RB (%): relative bioavailability.

여군(1 및 8 mg/kg)에서 각각 604±126과 637±129 ng·h/ml/으로 약간의 증가를 보였으나 유의성은 없었다.

니모디핀의 토탈보디클리어런스(CL)는 약간 감소되었으나 유의성은 없었다.

또한 니모디핀의 생물학적반감기(t_{1/2})가 증가하였으나 유의성은 없었다.

고 찰

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 의해 대사되어 pyridine 대사체로 대사된다.⁶⁻⁸⁾ 또한 니모디핀은 P-gp의 기질이기도 하다.¹⁰⁾

CYP3A4 활성에 대한 에피가로카테친의 저해 효과는 Fig. 1에서와 같이 에피가로카테친은 CYP3A4 효소의 활성을 농도의존적 방법으로 저해하고 CYP3A4에 대한 에피가로카테친 50% 저해 농도값(IC₅₀)은 32 μM이었다.

Fig. 2에서 보여지듯 에피가로카테친을 병용사용할 때 농도의존적 방법으로 Rhodamine-123의 세포내 축적이 증가하였고 30 μM에서 통계학적으로 유의성(p<0.01)을 보였다. 이 결과는 에피가로카테친이 P-gp의 활성을 유의성있게 저해함을 시사한다. 그러나 *in vitro* 에서 CYP3A4 및 P-gp의 활성 억제 결과를 앞으로 *in vivo*에서도 실험이 필요하다고 사료되어 진다.

Kitagawa 등¹⁷⁾은 KB-C2세포에서 에피가로카테친은 P-gp의 기질인 베라파밀과 퀘세틴에 의해 억제된다고 보고하였다는 보고와 일치하였다.

에피가로카테친 병용 투여군에서 니모디핀의 혈장중농도곡선 하면적과 최고혈장중농도가 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였는데 이는 Soambia 등²⁰⁾과 Choi 등²¹⁾이 퀘세틴이 P-gp의 배출작용을 억제한다는 보고와 Endicott 등²²⁾이 P-gp는 세포막과 장관막에서 배출작용을 한다고 보고한 것 같이, 경구투여된 에피가로카테친이 P-gp를 억제하여 니모디핀의 흡수를 증대시켜

니모디핀의 혈장농도가 높아진 것으로 사료되었다. 이런 결과는 Fuhr 등이 자몽주스 또는 모린을 니모디핀과 병용경구투여 시 CYP3A4의 대사를 억제하여 니모디핀의 생체이용률을 증가시켰다는 보고와 일치하였다.⁹⁾

에피가로카테친은 인체의 CYP 3A4를 억제하며¹⁴⁾ 퀴닌과 병용경구투여시 나린진이 퀴닌의 생체이용률을 증가시켰다는 보고와²³⁾ 퀘세틴이 탁솔이 대사되어 6α-hydroxytaxel 등을 생성하는 CYP 3A와 CYP 2C8를 억제하여 혈중농도가 증가하였다는 보고와도 일치하였다.^{24,25)} Zhang 등이 보고한 니모디핀 AUC값은 574.4 ng·h/ml이고, 본논문이 구한 AUC값은 572 ng·h/ml로 문헌 수치와 거의 일치하였다.²⁶⁾

정맥투여시 니모디핀의 평균혈중농도 추이는 Fig. 4와 같았으며 약물동태학적 파라미터는 Table II와 같이 에피가로카테친은 니모디핀의 약물동태파라미터에 영향을 미치지 못하였다.

이상의 결과에서 에피가로카테친과 병용투여시 대조군에 비해 니모디핀의 최고혈중농도 및 AUC가 증가하여 생체이용률이 유의성 있게 증가된 것은 니모디핀이 P-gp 및 CYP3A4의 기질이므로,^{27,28)} 에피가로카테친에 의한 소장에서 P-gp의 억제와 소장 및 간장에서 니모디핀의 대사효소인 CYP3A4의 억제로 인하여 니모디핀의 흡수증가와 초회통과효과(대사)를 감소시켰기 때문인 것으로 사료되었다. 니모디핀과 에피가로카테친 또는 에피가로카테친이 함유한 녹차음료와 병용시 니모디핀의 용량을 조절하는 것이 바람직하다고 사료된다.

결 론

니모디핀과 에피가로카테친을 병용투여 시 니모디핀의 생체이용률과 약물동태학적 파라미터의 변화를 검토한 결과는 다음과 같다.

에피가로카테친은 P-gp와 CYP3A4 활성을 억제시켰으며, 혈장중농도곡선하면적(AUC)과 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에 비해 에피가로카테친 8 mg/kg 병용 경구투여군에서 유의성(p<0.05) 있게 증가시키므로 생체이용률은 대조군에 비해 병용경구투여군에서 116~148%로 증가되었다.

결론적으로 에피가로카테친에 의한 니모디핀의 생체이용률이 유의성 있게 증가된 것은 에피가로카테친에 의한 소장에서 P-gp의 억제와 소장 및 간장에서 니모디핀의 대사효소인 CYP3A4의 억제로 인하여 니모디핀의 흡수증가와 초회통과효과(대사)를 감소시켰기 때문인 것으로 예측된다.

참고문헌

- Scholz, H. : Pharmacological aspects of calcium channel blockers. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **10**, 869 (1997).

- 2) Epstein, M. and Loutzenhister, R. D. : Effects of calcium antagonists on renal hemodynamics. *Am. J. Kidney. Dis.* **16**, 10 (1990).
- 3) Kazda, S., Garthoff, B., Krause, H. P. and Schlossmann, K. : Cerebrovascular effects of the calcium antagonistic dihydropyridine derivative nimodipine in animal experiments. *Arzneimittelforschung.* **32**, 331 (1982).
- 4) Maruhn, D., Siefert, H. M., Weber, H., Rämisch, K. and 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.* **35**, 1781 (1985).
- 5) Suwelack, D., Weber, H. and 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.* **35**, 1787 (1985).
- 6) Ramsch, K. D., Ahr, G., Tettenborn, D. and Auer, L. M. : Overview on pharmacokinetics of nimodipine in healthy volunteers and in patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurochirurgia.* **28**, 74 (1985).
- 7) Scherling, D., Buhner, K., Krause, H. P., Karl, W. and Wünsche, C. : Biotransformation of nimodipine in rat, dog, and monkey. *Arzneimittelforschung.* **41**, 392 (1991).
- 8) Guengerich, F. P., Brian, W. R., Iwasaki, M., Sari, M. A., Bäärnhielm, C. and Berntsson, P. : Oxidation of dihydropyridine calcium channel blockers and analogues by human liver cytochrom P-450 IIIA4. *J. Med. Chem.* **34**, 1834 (1991).
- 9) Fuhr, U., Maier-Bruggemann, A., Blume, H., Mück, W., Unger, S., Kuhlmann, J., Huschka, C., Zaigler, M., Rietbrock, S. and Staib, A. H. : Grapefruit juice increases oral nimodipine bioavailability. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **36**, 126 (1998).
- 10) Zhang, L., Liu, X. D., Xie, L. and Wang, G. J. : P-glycoprotein restricted transport of nimodipine across blood-brain barrier. *Acta. Pharmacol. Sin.* **24**, 903 (2003).
- 11) Chu, D. C. and Juneja, L. R. : Chemistry and Applications of Green Tea, in: T. Yamamoto, L. R. Juneja, D. C. Chu and M. Kim, (Eds.), CRC Press, New York, pp. 1322 (1997).
- 12) Higdon, J. V. and Frei, B. : Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **43**, 89 (2003).
- 13) Kuroda, Y. and Hara, Y. : Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutat. Res.* **436**, 69 (1999).
- 14) Muto, S., Fujita, K., Yamazaki, Y. and Kamataki, T. : Inhibition by green tea catechins of metabolic activation of pro-carcinogens by human cytochrome P450. *Mutat. Res.* **479**, 197 (2001).
- 15) Jodoin, J., Demeule, M. and Beliveau, R. : Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein activity by green tea polyphenols. *Biochim. Biophys. Acta.* **1542**, 149 (2002).
- 16) Hong, J., Lambert, J. D., Lee, S. H., Sinko, P. J. and Yang, C. S. : Involvement of multidrug resistance-associated proteins in regulating cellular levels of (-)-epigallocatechin-3-gallate and its methyl metabolites. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **310**, 222 (2003).
- 17) Kitagawa, S., Nabekura, T. and Kamiyama, S. : Inhibition of P-glycoprotein function by tea catechins in KB-C2 cells. *J. Pharm. Pharmacol.* **56**, 1001 (2004).
- 18) Qian, M. and Gallo, J. M. : High-performance liquid chromatographic determination of the calcium channel blocker nimodipine in monkey plasma. *J. Chromatogr.* **578**, 316 (1992).
- 19) Crespi, C. L., Miller, V. P. and Penman, B. W. : Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. *Anal. Biochem.* **248**, 188 (1997).
- 20) Soambia, G., Ranellett, F. O., Panici, P. B., De Vincenzo, R., Bonanno, G., Frrandina, G., Piantelli, M., Bussa, S., Rumi, C., Ciantriglia, M. and Mancuso, S. : 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**, 448 (1995).
- 21) Choi, C. H., Romiti, N., Cervelli, F. and Tongiani, R. : Effect of flavonols on P-glycoprotein activity in cultured rat hepatocytes. *Life Sci.* **57**, 1741 (1995).
- 22) Endicott, J. A. and Ling, V. : The biochemistry of P-glycoprotein mediated multidrug resistance. *Ann. Rev. Biochem.* **58**, 137 (1989).
- 23) Zhang, H., Wong, C. W., Coville, P. G. and Wanwimolruk, S. : Effect of the grapefruit flavonoid naringen on pharmacokinetics of quinine in rats. *Drug Metabol. Drug Interact.* **17**, 351 (2000).
- 24) Kumar, G. N., Walle, U. K. and Walle, T. : Cytochrome P450 3A-mediated human liver microsomal taxol to 6 alpha-hydroxylation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **268**, 1160 (1994).
- 25) Rahman, A., Korzekwa, K. R., Grogan, J., Gonzalez, F. J. and Harris, J. W. : Selective biotransformation of taxol to 6 alpha-hydroxytaxol by human cytochrome P450 2C8. *Cancer Res.* **54**, 5543 (1994).
- 26) Zhang, D. M., He, Z. W., Liu, X. D., Li, Y., Xie, L., Wang, G. J. and Liu, L. : In-vivo and in-vitro studies on the effect of Huang-Lian-Jie-Du-Tang on nimodipine transport across rat blood-brain barrier. *J. Pharm. Pharmacol.* **59**, 1733 (2007).
- 27) Sandstrom, R., Karlsson, A., Knutson, L. and Lennernas H. : Jejunal absorption and metabolism of R/S-verapamil in humans. *Pharm. Res.* **15**, 856 (1998).
- 28) Wachter, V. J., Wu, C. Y. and Benet, L. Z. : Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol. Carcinog.* **13**, 129 (1995).