

흰쥐에서 나린진이 타목시펜의 약물동태에 미치는 영향

김형석¹ · 최준식² · 최인²

¹조선대학교 약학대학, ²조선대학교병원 약제부

Effect of Naringin on Tamoxifen Pharmacokinetics in Rats

Hyung-Seok Kim¹, Jun-Shik Choi² and In Choi¹

¹College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

²Department of Pharmacy, Chosun University Hospital, Gwangju, Korea

The aim of this study is to investigate the effect of naringin on the pharmacokinetics of tamoxifen in rats. Tamoxifen (10 mg/kg) was administered orally 0.5 h and 3 days after oral administration of naringin (5 mg/kg). The plasma concentrations of tamoxifen were increased significantly by naringin compared to control. Absorption rate constant (K_a) of tamoxifen with naringin was increased significantly compared to that of the control. The areas under the plasma concentration-time curve (AUC) and the peak concentrations (C_{max}) of tamoxifen with naringin were significantly higher than those of the control. Consequently, the relative bioavailability (R.B%) of tamoxifen with naringin was 2-3-fold higher than the control, and absolute bioavailability (A.B%) of tamoxifen were significantly higher ($p < 0.05$ with coadministration, $p < 0.01$ with pretreatment) than those of the control. The increased bioavailability of tamoxifen in rats with naringin might be associated with the inhibition by naringin of an efflux pump P-glycoprotein and the first-pass metabolizing enzyme CYP3A4.

□ **Key words** – tamoxifen, naringin, pharmacokinetics, bioavailability, pretreatment

타목시펜 (tamoxifen)은 비스테로이드성 항에스트로겐 약물로서 유방암의 예방과 치료에 1차적으로 사용하는 약물이며 초기 유방암 환자들의 생존율과 완치율을 향상시킨다.¹⁻² 타목시펜을 경구투여 할 때 주로 간에서 대사되며 담즙으로 배설된다.³ 생체에서 주로 CYP3A 효소에 의해 N-demethyl-tamoxifen으로 대사 된다.³⁻⁸ 또 다른 대사체인 4-hydroxy-tamoxifen은 인체에서 CYP2D6, 2C9 그리고 3A4에 의하여 생성된다.⁹⁻¹⁰ 비록 4-hydroxytamoxifen의 혈중농도와 종양내의 농도가 모체의 약 2-3% 정도밖에 안되지만 이 대사물질은 타목시펜에 비해 항 에스트로겐작용이 100배정도 더 크다고 보고되었다.¹¹⁻¹² Rats에서 타목시펜을 연구한 결과 mouse에서는 4-hydroxytamoxifen가 고농도로 존재하며 rat에서는 사람에서와 유사한 낮은 농도로 존재하였다.¹³⁻¹⁴ 그러므로 rat가 타목시펜의 약물동태에 관한 연구에는 적합한 동물인 것으로 추측된다.

타목시펜과 그 대사체인 4-hydroxytamoxifen 및 N-desmethyl-tamoxifen은 다제내성물질(multi-drug resistant substance)인

P-당단백질 (P-glycoprotein)의 기질이다.¹⁵⁻¹⁶ 또한 타목시펜은 P-당단백질의 억제작용을 하는 물질로 알려져 있다.¹⁷⁻¹⁸ P-당단백질은 신장 세뇨관내막, 담낭내막, 소장관막을 포함하는 분비성 상피조직에 존재하며 부신, 태반의 영양배엽, 그리고 내피세포의 뇌-혈관 장벽, 고환에도 존재한다.¹⁹⁻²¹ 소장에서 P-당단백질은 CYP3A4와 함께 세포의 접막에 함께 존재한다.²² 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.²³⁻²⁶ P-당단백질로 인해 항암약물을 포함한 많은 종류의 화합물(기질)들이 소장에서 유출되어 생체이용률이 감소된다고 보고하였다.²⁷ 베라파밀,²⁸ 퀴린,²⁹ 사이크로스포린 A³⁰과 같은 약물들은 P-당단백질의 기질이며 또한 억제하는 대표적인 약물로 보고되어 있다. 플라보노이드류 (Flavonoids)는 식물성분물질로서 수많은 식물에 존재하며,³¹ 항산화작용, 라디칼 이온의 소기, 항동맥경화, 항염, 항종양, 항바이러스 작용을 포함한 광범위의 유의한 생체작용이 있다.³² 또한, CYPs 효소의 대사를 조절하며³³⁻³⁵ P-당단백질을 저해한다고 보고되었다.³⁵⁻³⁶ 나린진 (4',5,7-trihydroxy-flavanone-7-rhamnoglycoside)은 포도 등 과일주스에 많이 포함된 플라보노이드류이며 생체에서 흡수 후 alpha-rhamnosidase와 beta-glucosidase

Correspondence to : 최준식

조선대학교 약학대학
광주시 동구 서석동 375
Tel: +62-230-6365, Fax: +62-222-5414
E-mail: jsachoi@chosun.ac.kr

의 효소작용에 의하여 빠르게 naringenin으로 변화한다.³⁷⁻³⁸⁾ 나린진으로 전처리된 흰쥐에게 퀴닌을 경구투여 할 때 퀴닌의 생체이용률은 17%에서 42%로 현저하게 높아졌다고 보고되었다.³⁹⁾ 시험관실험에서 나린진에 의해 CYP3A4의 퀴닌의 대사가 저해되었다고 보고되었다.⁴⁰⁾ 나린진과 naringenin은 Caco-2 세포에서 P-당단백질의 기질인 빈브라스틴(vinblastine)의 유출을 감소시켰다.⁴¹⁾ 나린진은 또한 CYP3A4가 관여하는 saquinavir의 대사를 저해하고, Caco-2 세포에서 P-당단백질의 수송을 조절한다고 보고되었다.⁴²⁾ 그러므로 나린진은 소장에서 CYP3A4으로 인한 대사와 P-당단백질로 인한 유출에 대하여 억제작용이 있는 것으로 보고되었다.

경구 투여할 때 타목시펜의 생체이용률은 주로 초회통과효과에 관여하는 CYP3A4에 의해서 또한 소장관막에서 흡수를 억제(유출)하는 P-당단백질에 의해서 영향을 받는다. 그러므로 CYP3A4와 P-당단백질의 저해제인 나린진과 타목시펜과 함께 경구투여 하였을 때 타목시펜의 생체이용률에 영향을 줄 것으로 사료되어 rat에 나린진을 타목시펜과 병용 및 전처리시 타목시펜의 약물동태파라미터에 미치는 영향을 연구 검토 하였다.

실험 방법

시료, 시약 및 기기

타목시펜(tamoxifen citrate salt), 나린진(4',5,7-trihydroxyflavanone-7-rhamnoglucoside)과 butyl paraben(p-hydroxybenzoic acid n-butyl ester)은 Sigma Chemical사(St. Louis, MO, 미국)에서 구입하였다. 생리식염수(0.9% NaCl injectable solution)은 중외제약사(서울, 한국)의 것을 사용하였다. 아세트니트릴과 메탄올은 Merck사(Darmstadt, 독일)의 HPLC 등급을 사용하였다. 기타시약은 일급시약을 사용하였다.

HPLC 시스템은 Waters사(Milford, MA, 미국)의 자동펌프(1515 isocratic HPLC Pump), 자동주입기(717 plus autosampler), 형광검출기(474 scanning fluorescence detector)를 사용하였고, 그리고 Symmetry® C₁₈칼럼(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 270-300g의 Sprague-Dawley 계 웅성 흰쥐를 물과 사료를 자유로이 공급하면서 24시간 절식 시킨 후, 에틸로 마취한 다음 혈액채취를 위해 우측 대퇴동맥에 polyethylene관(PE-50, Intramedic, Clay Adams, NJ, USA)을 삽입하였다.

흰쥐를 대조군(타목시펜 10 mg/kg을 2 ml 증류수에 용

해시킨 다음 경구투여), 동시투여군(나린진 5 mg/kg과 타목시펜 10 mg/kg을 동시에 2 ml 증류수에 용해시킨 다음 경구투여)과 전처리군(1 ml 증류수에 용해시킨 나린진 5 mg/kg을 30분전 경구투여 후 타목시펜 10 mg/kg을 경구투여)과 3일 전처리군(1 ml 증류수에 용해시킨 나린진 5 mg/kg으로 3일 동안 경구투여(1일 2회) 후 타목시펜 10 mg/kg을 2 ml 증류수에 용해시킨 다음 경구투여)과 정맥투여군(타목시펜 2 mg/kg을 0.5 ml 생리식염수에 용해하여 대퇴정맥에 1분동안 주입)으로 나누었으며 매 군을 6마리로 하였다.

혈액 샘플은 경구투여 후, 대퇴동맥으로부터 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24 및 36 시간에서 0.5 mL를 채취하여 13,000 rpm에서 5 분간 원심분리한 다음 혈장 0.2 ml를 취해 HPLC로 분석하기 전까지 -40°C에서 냉동 보관하였다.

HPLC 분석

타목시펜의 혈중농도는 HPLC과 Fried 등⁴³⁾의 방법을 참고로 측정하였다. 0.2 ml혈장에 8 μg/ml butyl paraben(내부표준물질)의 50 μl 및 0.2 ml의 아세트니트릴 을 넣은 다음 2분 동안 교반한 후 13,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 50 μl상층액을 HPLC기기에 주입하였다.

형광검출기는 Ex: 450 nm, Em: 360 nm 이었고 HPLC 칼럼온도조절기로 칼럼온도를 30°C에 보존하였다. 이동상은 20 mM 인산수소칼륨완충액(pH 3.0):아세트니트릴(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 26.6 분에서 검출되었다.

검량 곡선은 0.2 ml 타목시펜 10, 20, 50, 100, 200 및 500 ng/ml 해당농도 혈장으로 위 방법으로 처리한 후 측정하였다. 이렇게 작성한 검량선은 $x=52.96y-5.30$ ($r=0.9997$)으로 직선상을 나타내었다.

약물동태학적 분석

경구투여후 타목시펜의 혈장농도는 Non-compartment 모델을 따르는 양상을 보였으며, 약물동태학적 파라메타 분석은 시간당 혈장농도의 AUC와 K_{el}를 계산하는 방법인 Lagrange 법을 이용하는 LAGRAN computer program을 사용하였다.⁴⁴⁾ 최고혈중농도(C_{max})와 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 실제 측정치로 부터 조사하여 산출하였다. 소실속도정수(K_{el})는 배설상의 혈중농도의 회귀분석에 의해, 소실반감기(t_{1/2})는 $0.693/K_{el}$ 로 구했다. 정맥투여한 타목시펜과 경구투여한 타목시펜을 비교한 절대적 생체이용률 계산법은 다음과 같다.

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

경구투여한 타목시펜의 상대적 생체이용률의 계산법은 다

음과 같다.

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

통계처리

모든 평균치는 표준편차로 나타내었다(Mean ± S.D.). 대조군과 전처리군을 비교하여 큰 차이를 보이는 것에는 Unpaired Student's t-test를 적용하였다. p값은 0.05보다 작을 때 유의성 있는 차이가 있는 것으로 처리하였다.

실험 결과 및 고찰

타목시펜의 혈장농도

흰쥐에서 타목시펜 정맥투여군 (2 mg/kg), 단독 (10 mg/kg) 투여군과 나린진 (5 mg/kg)과 동시투여군 및 전처리 투여군에서 얻은 타목시펜의 혈장중농도는 Fig. 1과 같았다. 동시투여 및 전처리군에서 타목시펜의 혈장중농도는 대조군에 비해 유의성 (p<0.05, p<0.01) 있게 증가하였다.

타목시펜의 약물동태학적 파라메타

흰쥐에서 타목시펜 정맥투여군 (2 mg/kg), 단독투여군 (10 mg/kg)과 나린진 (5 mg/kg)과 동시투여군 및 전처리 투여군에서 타목시펜의 약물동태학적 파라미터는 Table 1과 같았다. 혈장농도곡선하면적 (AUC)은 타목시펜 정맥투여군에서 1534±358 ng/ml·h이며, 단독투여군에서 2143±499 ng/ml·h이며, 나린진 동시투여군에서는 3435±882 ng/ml·h로 유의성 (p<0.05) 있게 증가하였으며 나린진 30분전처리 및 3일전처리군에서는 각각 4441±1212 ng/ml·h과 5336±1312 ng/ml·h로 유의성(p<0.01) 있게 증가하였다. 최고혈장농도 (C_{max})는

타목시펜(10 mg/kg) 단독투여군에서 73±18 ng/ml며 나린진 동시투여군에서는 114±32 ng/ml로 유의성 (p<0.05) 있게 증가하였으며 나린진 30분전처리 및 3일전처리군에서는 각각 132±35 ng/ml과 136±36 ng/ml로 유의성 (p<0.01) 있게 증가하였다. 최고농도 도달시간 (T_{max})은 대조군에 비해 각 투여군에서 변화가 없었다. 흡수속도정수 (K_a)는 타목시펜 (10 mg/kg) 단독투여군에서 21±5.9 h⁻¹며 나린진 동시투여군에서는 34±9.5 h⁻¹로 유의성 (p<0.05) 있게 증가하였으며 나린진

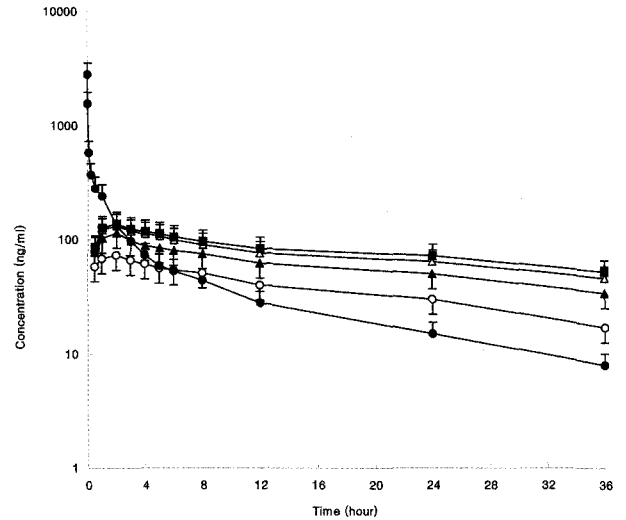


Fig. 1. Mean plasma concentration-time profiles of tamoxifen after oral administration of tamoxifen (10 mg/kg) with naringin to the rats. Bars represent the standard deviation (n=6), (○) Tamoxifen control, (▲) Coadministered with naringin 5 mg/kg, (△) Pretreated with naringin 5 mg/kg, (■) Pretreated with naringin 5 mg/kg for 3 days, (●) Tamoxifen i.v. 2 mg/kg.

Table 1. Mean (±S.D.) pharmacokinetic parameters of tamoxifen after oral administration of tamoxifen (10 mg/kg) with naringin (5 mg/kg) to the rats

| Parameters | Tamoxifen Control | Naringin | | | i.v. (2 mg/kg) |
|-----------------------------------|-------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| | | Coadmin | Pretreat | 3 days | |
| AUC (ng/ml·h) | 2143 ± 499 | 3435 ± 882 * | 4441 ± 1212 ** | 5336 ± 1312 ** | 1534 ± 358 |
| C _{max} (ng/ml) | 73 ± 18 | 114 ± 32 * | 132 ± 35 ** | 136 ± 36 ** | - |
| T _{max} (h) | 2 | 2 | 2 | 2 | - |
| K _a (h ⁻¹) | 21 ± 5.9 | 34 ± 9.5 * | 43 ± 12.4 ** | 48 ± 13.4 ** | - |
| T _{1/2} (h) | 22 ± 5.3 | 26 ± 6.4 | 28 ± 8.0 | 29 ± 8.3 | 11 ± 3.0 |
| A.B(%) | 27.9 ± 7.8 | 44.8 ± 12.5 * | 57.9 ± 16.2 ** | 69.5 ± 19.5 ** | 100 |
| R.B(%) | 100 | 160 | 207 | 248 | - |

Mean ± S.D. (n = 6), *: p<0.05, **: p<0.01

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

C_{max}: peak concentration

T_{max}: time to reach peak concentration

t_{1/2}: terminal half-life

R.B(%): AUC rate compared to AUC_{control}

A.B(%): absolute bioavailability.

30분전처리 및 3일전처리군에서는 각각 $43 \pm 12.4 \text{ h}^{-1}$ 과 $48 \pm 13.4 \text{ h}^{-1}$ 로 유의성 ($p < 0.01$) 있게 증가하였다. 반감기 ($t_{1/2}$)는 대조군에 비해 각 투여군에서 유의성 있는 차이가 없었다. 절대적 생체이용률(A.B%)은 타목시펜 (10 mg/kg) 단독투여군에서 $27.9 \pm 7.8\%$ 며 나린진 동시투여군에서는 $44.8 \pm 12.5\%$ 로 유의성 ($p < 0.05$) 있게 증가하였으며 나린진 30분전처리 및 3일전처리군에서는 각각 $57.9 \pm 16.2\%$ 와 $69.5 \pm 19.5\%$ 로 유의성 ($p < 0.01$) 있게 증가하였다. 상대적 생체이용률 (R.B%)은 대조군에 비해 1.6-2.4배로 증가하였다.

P-당단백질과 CYP3A4는 소장점막상피세포에 함께 존재하고 있다.²²⁾ P-당단백질은 그의 기질을 소장상피세포 내에서 장관 내로 유출시키는 단백질로서 기질 약물들이 장관에서 세포 내 재순환 하게 되며 CYP3A4와의 접촉확률을 증가하여 CYP3A4에 의한 대사를 촉진하여 흡수를 감소한다고 보고되었다.²³⁻²⁶⁾ P-당단백질로 인해 항암약물을 포함한 많은 종류의 화합물들이 소장에서 유출되어 생체이용률이 감소된다고 보고되었다.³²⁾ 타목시펜은 주로 CYP3A에 의해 대사된다.^{5-8,9,10)} 그리고 타목시펜은 P-당단백질의 기질인 것으로 보고되었다.¹⁵⁻¹⁶⁾ 그리하여 타목시펜의 장관에서의 흡수도 CYP3A와 P-당단백질의 영향을 받는 것으로 사료된다.

과일 주스에 많이 함유되어 있고 항산화작용 등의 생체에 유용한 작용이 있는 플라보노이드류인 나린진은 CYP3A4를 억제하며 퀴닌의 대사를 저해한다고 보고하였다.^{32,40)} 시험관 실험에서도 P-당단백질의 기질인 빈브라스틴의 유출을 감소시킨다고 보고되었다.⁴¹⁾ 또한 나린진은 CYP3A4가 관여하는 saquinavir의 대사를 저해하고, Caco-2 세포에서 P-당단백질의 수송을 억제하였다.⁴²⁾ 그리하여 나린진은 장관막에서 P-당단백질로 인한 다제내성작용 (Multi-drug resistant efflux)으로 인한 약물유출과 CYP3A4로 인한 약물대사를 억제하는 작용이 있는 것으로 추측된다. 본 실험에서 나린진을 전처리하였을 때 타목시펜의 K_a 는 2-3배 증가하였으며 약물흡수가 현저히 증가하였다. AUC와 C_{max} 도 유의성 있게 증가하였으며 그결과 타목시펜의 생체이용률도 현저히 증가하였다. 이는 나린진이 장관막에 존재하는 대사효소 CYP3A4와 P-당단백질을 억제하였기 때문인 것으로 사료된다. 이 결과는 Zhang 등의 나린진을 전처리 하였을 때 P-당단백질과 CYP 3A4의 기질인 퀴닌의 C_{max} 와 AUC가 증가되었다는 보고와 일치하였다.³⁹⁾

이상의 결과를 총괄하면 타목시펜은 인체에서와 유사한 대사를 초래하는 흰쥐에서 나린진으로 전처리 하였을 때 타목시펜의 생체이용률은 현저히 증가하였다. 임상실험에서도 더욱 확인연구가 필요하다고 사료되며, 나린진은 과일주스에 흔히 존재하는 물질로서 임상에서 빈용되는 타목시펜과 병용시 타목시펜의 약물동태학적변화를 고려하는 것이 바람직하다고 사료된다.

결 론

흰쥐에서 타목시펜과 나린진을 병용 및 전처리 투여시 타목시펜의 약물동태 파라미터에 미치는 결과는 다음과 같았다.

혈장농도곡선하면적 (AUC)은 타목시펜 (10 mg/kg) 단독투여군에 비해서 나린진 병용투여군과 전처리투여군에서 각각 유의성 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가하였다.

흡수속도정수 (K_a)와 최고혈장농도 (C_{max})는 타목시펜 단독투여군에 비해서 나린진 동시투여군과 전처리군에서는 각각 유의성 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가하였다.

절대적 생체이용률 (A.B%)은 타목시펜 단독투여군에비해서 나린진 동시투여군 (44.8%)과 30분전처리 (57.9%) 및 3일전처리군 (69.5%)에서 각각 유의성 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있게 증가하였다.

상대적 생체이용률 (R.B%)은 대조군에 비해 1.6-2.4배로 증가되었다. 흰쥐에서 타목시펜과 나린진을 병용투여시 타목시펜의 생체이용률은 현저히 증가하였다. 앞으로 임상에서 더욱 연구가 필요하며 타목시펜을 나린진 혹은 나린진 성분을 함유하는 식품과 함께 병용할 경우 타목시펜의 투여량을 조정하는 것이 바람직하다고 사료된다.

참고문헌

1. T.J. Powles, The case for clinical trials of tamoxifen for prevention of breast cancer, *Lancet.*, 1992; 340, 1145-1147.
2. I.A. Jaiyesimi, A.U. Buzdar, D.A. Decker and G.N. Hortobagyi, Use of tamoxifen for breast cancer: twenty-eight years later, *J. Clin. Oncol.*, 1995; 13, 513-529.
3. M.T. Buckley and K.L. Goa, Tamoxifen: a reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use, *Clin. Pharmacokin.*, 1989; 37, 451-490.
4. C.K. Lim, Z.X. Yuan, J.H. Lamb, I.N.H. White, F. De Matteis and L.L. Smith, A comparative study of tamoxifen metabolism in female rat, mouse and human liver microsomes, *Carcinogenesis.*, 1994; 15, 589-593.
5. C. Mani, H.V. Gelboin, S.S. Park, R. Pearce, A. Parkinson and D. Kupfer, Metabolism of the antimammary cancer antiestrogenic agent tamoxifen. I. Cytochrome P450-catalysed N-demethylation and 4-hydroxylation, *Drug Metab. Dispos.*, 1993; 21, 645-656.
6. C. Mani, R. Pearce, A. Parkinson and D. Kupfer, Involvement of cytochrome P4503A in catalysis of tamoxifen activation and covalent binding to rat and human liver microsomes, *Carcinogenesis.*, 1994; 15, 2715-2720.

7. F. Berthou, Y. Dreano, C. Belloc, L. Kangas, J.C. Gautier and P. Beaune, Involvement of cytochrome P450 3A enzyme family in the major metabolic pathways of toremifene in human liver microsomes, *Biochem. Pharmacol.*, 1994; 47, 1883-1895.
8. S.S. Dehal and D. Kupfer, 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.*, 1999; 27, 681-688.
9. C. Mani, H.V. Gelboin, S.S. Park, R. Pearce, A. Parkinson and D. Kupfer, Metabolism of the antimammary cancer antiestrogenic agent tamoxifen. I. Cytochrome P-450-catalyzed N-demethylation and 4-hydroxylation, *Drug Metab. Dispos.*, 1993; 21, 645-656.
10. H.K. Crewe, S.W. Ellis, M.S. Lennard and G.T. Tucker, Variable contribution of cytochromes P450 2D6, 2C9 and 3A4 to the 4-hydroxylation of tamoxifen by human liver microsomes, *Biochem. Pharmacol.*, 1997; 53, 171-178.
11. P.C. Daniel, J. Gaskell, H. Bishop, C. Campbell and R. Nicholson, Determination of tamoxifen and biologically active metabolites in human breast tumour and plasma, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1981; 17, 1183-1189.
12. V.C. Jordan, M.M. Collins, L. Rowsby and G. Prestwich, A monohydroxylated metabolite of tamoxifen with potent antioestrogenic activity, *J. Endocrinol.*, 1977; 75, 305-316.
13. M.W. DeGregorio, E. Coronado and C.K. Osborne, Tumor and serum tamoxifen concentrations in the athymic nude mice, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1989; 23, 68-70.
14. S.P. Robinson, S.M. Langan-Fahey and V.C. Jordan, Implications of tamoxifen metabolism in the athymic mouse for the study of antitumor effects upon human breast cancer xenografts, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1989; 25, 1769-1776.
15. T.W. Gant, C.K. O'Connor, R. Corbitt, U. Thorgeirsson and S.S. Thorgeirsson, In vivo induction of liver P-glycoprotein expression by xenobiotics in monkeys, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1995; 133, 269-276.
16. U.S. Rao, R.L. Fine and G.A. Scarborough, Antiestrogens and steroid hormones: substrates of the human P-glycoprotein, *Biochem. Pharmacol.*, 1994; 48, 287-292.
17. E. Berman, M. Adams, R. Duigou-Osterndorf, L. Godfrey, B. Clarkson and M. Andreeff, Effect of tamoxifen on cell lines displaying the multidrug-resistant phenotype. *Blood.*, 1991; 77, 818-825.
18. F. Leonessa, M. Jacobson, B. Boyle, J. Lippman, M. McGarvey and R. Clarke, Effect of tamoxifen on the multidrug-resistant phenotype in human breast cancer cells: isobologram, drug accumulation, and M(r) 170,000 glycoprotein (gp170) binding studies, *Cancer Res.*, 1994; 54, 441-447.
19. F. Thiebaut, T. Tsuruo, H. Hamada, M.M. Gottesman, I. Pastan and M.C. Willingham, Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1987; 84, 7735-7738.
20. C. Cordon-Cardo, J.P. O'Brien, D. Casals, L. Rittman-Grauer, J.L. Biedler, M.R. Melamed and J.R. Bertino, Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989; 86, 695-698.
21. I. Sugawara, I. Kataoka, Y. Morishita, H. Hamada, T. Tsuruo, S. Itoyama and S. Mori, Tissue distribution of P-glycoprotein encoded by a multidrug-resistant gene as revealed by a monoclonal antibody, MRK 16, *Cancer Res.*, 1988; 48, 1926-1929.
22. M.M. Gottesman and I. Pastan, Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter, *Annu. Rev. Biochem.*, 1993; 62, 385-427.
23. L.-S.L. Gan, M.A. Moseley, B. Khosla, P.F. Augustijns, T.P. Bradshaw, R.W. Hendren, D.R. Thakker, 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.*, 1996; 24, 344-349.
24. P.B. Watkins, The barrier function of CYP3A4 and P-glycoprotein in the small bowel, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1996; 27, 161-170.
25. V.H. Wachter, J.A. Silverman, Y. Zhang and L.Z. Benet, Role of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptides and peptidomimetics, *J. Pharm. Sci.*, 1998; 87, 1322-1330.
26. K. Ito, H. Kusuhara and Y. Sugiyama, Effects of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein on oral drug absorption theoretical approach, *Pharm. Res.*, 1999; 16, 225-231.
27. J.E.F. Reynolds, Martindale - The Extra Pharmacopeia, *Pharmaceutical Press. London.*, (1993).
28. T.P. Miller, T.M. Grogan, W.S. Dalton, C.M. Spier, R.J. Schepers and S.E. Salmon, P-glycoprotein expression in malignant lymphoma and reversal of clinical drug resistance with chemotherapy plus high-dose verapamil, *J. Clin. Oncol.*, 1991; 9, 17-24.
29. G.C. Wishart, J.A. Plumb, J.G. Morrison, T.G. Hamilton

- and S.B. Kaye, Adequate tumour quinidine levels for multidrug resistance modulation can be achieved in vivo, *Eur. J. Cancer.*, 1992; 28, 28-31.
30. A.F. List, C. Spier, J. Greer, S. Wolff, J. Hutter, R. Dorr, S. Salmon, B. Futscher, M. Baier and W. Dalton, Phase I/II trial of cyclosporine as a chemotherapy-resistance modifier in acute leukemia, *J.Clin. Oncol.*, 1993; 11, 1652-1660.
31. R.A. Dixon and C. Steele, Flavonoids and isoflavonoids-gold mine for metabolic engineering, *Trends Plant Sci.*, 1999; 4, 394-400.
32. R.J. Nijveldt, E. van Nood, D.E.C. van Hoorn, P.G. Boelens, K. van Norren and P.A.M. van Leeuwen, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001; 74, 418-425.
33. H. Doostdar, M.D. Burke and R.T. Mayer, Bioflavonoids: selective substrates and inhibitors for cytochrome P450 CYP1A and CYP1B1, *Toxicology.*, 2000; 144, 31-38.
34. P. Hodek, P. Trefil and M. Stiborova, Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450, *Chem. Biol. Interact.*, 2002; 139, 1-21.
35. J. Dupuy, G. Larrieu, J.F. Sutra, A. Lespine and M. Alvinerie, Enhancement of moxidectin bioavailability in lamb by a natural flavonoid: quercetin, *Vet. Parasitol.*, 2003; 112, 337-347.
36. H.A. Bardelmeijer, J.H. Beijnen, K.R. Brouwer, H. Rosing, W.J. Nooijen, J.H. Schellens and O. van Tellingen, Increased oral bioavailability of paclitaxel by GF120918 in mice through selective modulation of P-glycoprotein, *Clin. Cancer Res.*, 2000; 6, 4416-4421.
37. The Merck Index, 12th Edition, Merck and Co. Inc., Rahway, USA. pp., 1996; 6512.
38. D.H. Kim, E.A. Jung, I.S. Sohng, J.A. Han, T.H. Kim and M.J. Han, Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities, *Arch. Pharm. Res.*, 1998; 21, 17-23.
39. H. Zhang, C.W. Wong, P.G. Coville and S. Wanwimolruk, Effect of the grapefruit flavonoid naringin on pharmacokinetics of quinine in rats, *Drug Metabol. Drug Interact.*, 2000; 17, 351-363.
40. P.C. Ho, D.J. Saville and S. Wanwimolruk, Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds, *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2001; 4, 217-27.
41. H. Takanaga, A. Ohnishi, H. Matsuo and Y. Sawada, Inhibition of vinblastine efflux mediated by P-glycoprotein by grapefruit juice components in caco-2 cells, *Biol Pharm Bull.*, 1998; 21, 1062-1066.
42. V.A. Eagling, L. Profit, D.J. Back, 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.
43. K.M. Fried and I.W. Wainer, Direct determination of tamoxifen and its four major metabolites in plasma using coupled column high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, 1994; 655, 261-268.
44. K. Yamaoka, Y. Tanigawara, T. Nakagawa and T. Uno, A pharmacokinetic analysis program (multi) for microcomputer, *J. Pharmacobiodyn.*, 1981; 4, 879-885.