한국임상약학회지 제16권 제1호
Kor. J. Clin. Pharm., Vol. 16, No. 1. 2006

나린제닌과 딜티아젬과의 약물동태학적 상호작용

설효찬 · 최준식
한국식품의약품 안전청, 조선대학교 약학대학

Pharmacokinetic Interaction Between Diltiazem and Naringenin in Rabbits

Hyo Chan Seol, and Jun Shik Choi
Korea Food and Drug Association
College of Pharmacy, Chosun University,Gwangju,Korea

The purpose of this study was to investigate the effect of naringenin, one of flavonoids, on the pharmacokinetics and bioavailability of diltiazem (15 mg/kg) after oral administration of diltiazem with or without naringenin (2.0, 10 and 20 mg/kg) in rabbits. Coadministration of naringenin increased the absorption rate constant (K_a), the area under the plasma concentration-time curve (AUC) and peak concentration (C_{max}) of diltiazem compared to the control group, but only significantly ($p<0.05$) by 10 mg/kg of naringenin coadministration. The absolute bioavailability (AB%) of diltiazem by coadministration ranges from 7.8% to 10.3%, increased more than control (7.2%), and relative bioavailability (RB%) of diltiazem is increased from 1.08- to 1.43-fold. Coadministration caused on significant changes in the terminal half-lives ($t_{1/2}$) and the time to reach the peak concentration (T_{max}) of diltiazem. On the other hand, coadministration of naringenin increased the AUC desacetyldiltiazem, significantly at the dose of 10mg/kg. But the metabolite ratio (MR) was decreased, significantly at 10 mg/kg of naringenin. Based on these results, we can make a conclusion that the increased bioavailability and the significant changes of these pharmacokinetic parameters might be due to naringenin, which possess the potency to inhibit the metabolizing enzyme (CYP3A4) in the liver and intestinal mucosa, and also inhibit the P-glycoprotein efflux pump in the intestinal mucosa.

☐ **Key words** – Diltiazem, Desacetyldiltiazem, Naringenin, Bioavailability, Pharmacokinetics, CYP3A4, P-glycoprotein

딜티아젬(Diltiazem)은 칼슘채널차단제로서 혈관이완작용이 있어 고혈압, 협심증 및 부정맥 치료에 널리 사용되고 있다.[1] 딜티아젬은 혈청 중 칼슘농도의 변화없이 세포외액에 있는 칼슘이 심근세포와 혈관 평활근세포막을 통과하는 통로를 차단하고 심장근육과 혈관평활근의 수축과정을 차단하여 심장수축력을 감소시키고 전신의 동맥과 관상동맥을 이완시켜며 또한 신혈관을 이완하여 신장으로 혈액 유입을 증가시키켜 사구체여과율과 신나트륨 배설을 증가시켜 신장 혈압을 저하시키므로 동맥성 고혈압의 1차 선택 약으로 사용된다.[2-5] 딜티아젬은 경구투여시 약 80%는 신속히 소장을 통해 흡수되지만 간 초회통과효과 때문에 생체이용율이 30-55%로 낮고 분포용적은 큰 편이다.[6,7] 딜티아젬은 간에서 주 대사물질인 desacetyldiltiazem으로 대사된 후 *O*-demethylation 및 *N*-demethylation이 일어난다. 이어서 딜티아젬의 대사체들은 glucuronide 및 sulfate와 포합반응이 일어나며, 간에서의 대사는 주로 cytochrome P450(CYP3A4)에 의해 일어난다.[8]

CYP3A4는 대부분 생체의 간에서 존재하지만 장관강막에도 존재한다.[9-10] 가토에서 딜티아젬은 대부분 간에서 대사되지만, 소장에서도 대사되며, 특히 소장근위에서 많이 대사되는 것으로 보고되었다.[11,12] 시험관실험에서도 딜티아젬은 대부분 간에서 대사 되지만 소장과 신장에서도 대사를 받는 것으로 보고되었다.[13] 경구투여시 딜티아젬의 생체이용율은 대부분 CYP3A4대사효소로 인해 감소되나, P-당단백질(P-glycoprotein)의 역류작용도 받는다고 보고되었다. 예컨데 Yusa 등은 칼슘채널차단제인 베라파밀, 니칼디핀, 그리고 딜티아젬은 P-당단백질의 다제내성작용을 경쟁적으로 저해한다고 보고하였다.[14] Tohru 등도 딜티아젬은 P-당단백질의 기질이며 또한 억제작용이 있다고 보고하였다.[15] P-당단백질은 분비성 내피세포에 존재하며 담낭내막, 신장 세뇨관, 장관강막, 태반, 고환 등의 혈관 내 분비성세포에 존재한다.[16] P-당단백질은 ATP의존적 약물의 유입을 차단하는 다제내성

Correspondence to : 최준식
조선대학교 약학대학
광주시 동구 서석도 375
Tel: 062-230-6365, Fax: 062-222-5414
E-mail: jsachoi@chosun.ac.kr

(multi-drug resistant, MDR)작용이 있다.[17] 이 단백질은 악성 종양세포막에도 존재하며 독소루비신, 도노마이신, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 아크티노마이신 D, 파크리탁셀 등 많은 약물의 세포내 유입을 감소시킨다고 보고되었다.[18-20]

프라보노이드류(Flavonoids)는 많은 음식물에 존재하고 있는 화합물들이다.[21] 이는 생체에서 항산화작용, 항암작용, 항균작용, 항바이러스작용, 항동맥경화작용 등 유익한 작용들이 있다고 보고되었다.[22] 특히, 자몽에 함유되어 있는 프라보노이드류는 CYP1A2[23,24] 및 CYP3A4[25] 를 억제하며, 경구투여된 니페디핀,[26] 사이크로스포린,[26] 니모디핀[27] 및 베라파밀[28] 등의 생체이용율을 증가하였다고 보고되었다. 나린제닌은 자몽주스에 존재하는 생리적 활성이 있는 성분중의 하나로 알려져 있다. 나린진과 나린제닌은 CYP3A4의 억제작용이 있으며, 그 중에서 나린제닌의 억제작용이 더 강력하다고 보고되었다.[29] Ha등은 시험관실험에서 퀠세틴, 캠페롤 및 나린제닌등은 CYP3A4으로 인해 메다졸람과 퀴닌의 간세포에서의 대사를 억제한다고 보고하였다.[30] 또한 나린제닌은 P-당단백질을 억제하는 작용이 있다. Mitsunaga등에 의하면, 흰쥐의 뇌 모세혈관내피세포(MBEC4)에서 나린제닌, 헤스페리딘 및 퀠세틴 등의 농도를 증가함에 따라 P-당단백질의 기질인 빈크리스틴의 흡수량이 증가하였다고 보고하였다.[31] Takanaga등도 나린진과 나린제닌이 Caco-2세포에서 P-당단백질에 의해 역류를 받는 빈블라스틴의 세포내 흡수량을 증가시켰다고 보고하였다.[32] Romiti등의 보고에 의하면 캠페롤과 나린제닌은 세뇨관세포인 HK-2에서 P-당단백질를 억제하여 사이클로스포린 A와 빈블라스틴의 독성을 증가시켰다고 한다.[33] 이상의 결과를 총괄하면 나린제닌은 P-당단백질과 CYP3A4를 억제하는 작용이 있다. 경구투여시 딜티아젬의 생체이용효율은 장관강막 및 간에서 주로 CYP3A4의 대사에 의해 감소되며, 장관강막에 존재하고 있는 P-당단백질의 역류에 의해서도 감소된다. 저자는 프라보노이드류인 나린제닌과 딜티아젬을 병용경구투여시 딜티아젬의 약물동태와 생체이용효율에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

실험재료 및 방법

시료, 시약 및 기기

딜티아젬과 Desacetyldiltiazem은 한일약품(Seoul, Korea)에서 구입하였고, 나린제닌, imipramine, *tert*-butylmethylether 및 ammonium bromide는 Sigma-aldrech Chemical(St. Louis, MO, USA)사, 생리식염수(0.9% NaCl injectable solution)는 중외제약(seoul, korea)사의 것을 사용하였으며, triethylamine은 Junsei(Kyoto, Japan)사의 제품을, 그리고 메탄올과 아세토니트릴은 Merck(Darmstadt, Germany)사의 HPLC 등급을 사용하였다. HPLC 기기는 Shimadzu(Kyoto, Japan)사의 liquid chromatograph pump(LC-10AD), autoinjector(SIL-10A), UV-Vis detector(SPD-10A) 그리고 Communications Bus Module (CBM-10A), 3.9×300 mm, 10 μm, μ-bondapack (Waters Co, Ireland)사의 C_{18} 컬럼을 사용하였고, syringe pump는 Sage Instruments(Boston, MA, USA)사의 Model 341B를 사용하였다. Vortex mixer는 Scientific Industries(Bohemia, N.Y., USA)사 그리고 원심분리기는 미국 Abbot(X-system, TM, USA)사의 기기를 사용하였다.

실험동물

일정한 조건에서 사육한 체중 2.0 kg 전후의 New Zealand white계 웅성 토끼를 물은 자유로이 공급하면서 24시간 절식시킨 후, 25% 우레탄, 4 ml/kg을 피하 주사하여 마취시켜 고정대에 고정시킨 다음 약물을 투여하였다. 우측 대퇴동맥에 폴리에칠렌관(23Ga)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며, 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 주사용 생리식염수에 녹인 헤파린(75 U/ml)을 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량 만큼의 생리식염수를 등속주입펌프로 보충해 주었다.

경구투여 및 시료 채취

가토는 대조군, 병용투여군 및 정맥투여군 등으로 나누었다. 대조군은 딜티아젬 15 mg/kg을 증류수(10ml/토끼)에 용해시켜 카테터를 통해 경구투여하였고, 병용투여군은 딜티아젬 15 mg/kg과 나린제닌 2.0, 10 및 20 mg/kg을 동시에 증류수(10 ml/토끼)에 용해시켜 경구투여 하였으며, 정맥투여군은 딜티아젬을 5 mg/kg을 생리식염수(5 ml/토끼)에 용해시켜 귀정맥으로 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 원심분리 한 다음 혈장 0.5 ml를 취해 -40°C에 냉동 보관하였다.

딜티아젬 분석

혈장 딜티아젬 분석은 Goebel[34]등의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈장 0.5 ml에 2 μg/ml imipramine 50 μl와 *tert*-butylmethylether 5 ml를 가하고 vortex mixer에서 10분 추출하였다. 이것을 3,000 rpm에서 10분 원심분리한 다음 유기용매층 4.5 ml를 다른 시험관으로 옮기고 0.01 N-염산 0.3 ml를 넣고 vortex mixer에서 2분간 용해시킨 후 3,000 rpm에서 10분 원심분리하여 상층액은 버리고 수층 50 μl를 주입하였다.

HPLC조건 및 혈장크로마토그램

HPLC기기용 컬럼은 μ-bondapcak C18을, 이동상은 메탄올 : 아세토니트릴 : 0.04M ammonium bromide : triethylamine (24:31:45:0.1, v/v/v/v, 초산으로 pH 7.4로 조절) 비율로 섞고 기포를 제거한 후 사용하였으며, 유속은 1.5 ml/min으로 UV 검출기의 파장은 237 nm에서 측정하였다. 실온에서 imipramine은 10.4 min, 딜티아젬은 8.0 min, desacetyldiltiazem은 6.7 min에서 분리되었으며, 분리가 양호하였다.

혈중 검량곡선은 딜티아젬 5, 10, 20, 50, 100, 200 및 500 *ng*/ml 해당량 50 μl, desacetyldiltiazem 5, 10, 20, 50, 100, 200 및 500 *ng*/ml 해당량 50 μl과 2 μg/ml imipramine 50 μl를 각 시험관에 가한 후 정상 가토에서 채취한 혈장 0.5 ml를 가하여 vortex mixer로 2분 녹인 후 위의 분석법과 동일한 방법으로 측정하여 검량선을 작성하였다.

이렇게 작성한 검량선은 딜티아젬은 y=176.05x-1.0204(r=0.9999)로 나타내었고, desacetyldiltiazem은 y=151.31x+1.428 (r=0.9997)로 나타내었다.

딜티아젬의 약물동태학 분석

약물동태학 분석은 noncompartmental pharmacokinetic analysis으로 LAGRAN computer program[35]을 이용하였다. 무한대까지의 혈중농도곡선하면적(area under the plasma concentration-time curve, AUC)은 사다리꼴공식에 의한 오차를 줄이기 위해 LAGRAN에 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 병용투여군의 상대적 생체이용율(RB)은 병용투여군의 AUC에 대한 대조군 AUC의 백분율로 구했다.

통계 처리

각 약물동태학적 파라미터의 유의성 검정은 unpaired Student's t-test를 적용하여 대조군과 비교해 p<0.05일 때 유의성 있는 차이가 있는 것으로 처리하였다.

실험결과 및 고찰

가토에서 딜티아젬을 단독경구투여와 나린제닌과 병용경구투여 한 후 얻은 딜티아젬 및 그 대사체의 평균혈장농도는 Fig.1, 2과 같으며, 딜티아젬을 단독 혹은 딜티아젬과 나린제닌을 병용투여한 가토에서 얻은 딜티아젬 및 그 대사체의 약물동태학 파라메타는 Table 1, 2와 같다.

딜티아젬을 나린제닌과 병용투여 시 혈장중 딜티아젬의 약물동태학적 파라메타는 혈장중 딜티아젬의 흡수속도정수(K_a)는 대조군에서 3.1±0.8 hr^{-1}이었고 병용투여군(2.0, 10 및 20 mg/kg)에서는 3.6±1.0, 4.2±1.1, 3.4±0.9 hr-1이었다. 딜티아젬의 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에서 113.1±29.4 ng/ml, 병용투여군에서는 각각 132.4±34.2, 160.1±42.7 및 121.3±34.1 ng/ml이었다. 혈장농도곡선하면적(AUC)은 대조군에서 326±84.6 ng/ml?hr이며 나린제닌 병용투여군에서 각각 387±107.6 ng/ml · hr(2.0 mg/kg), 468±131.4 ng/ml · hr(10 mg/kg), 354±98.8 ng/ml · hr(20 mg/kg)이었다. 병용투여군에서 K_a, C_{max} 및 AUC는 대조군에 비해 증가하였으며, 10 mg/kg 병용투여군에서만 유의성(p<0.05) 있게 증가되었다. 절대적생체이용율(AB%)은 대조군에서 7.2±1.6%이었고 병용투여군에서는 각각 8.5±2.4%(2.0 mg/kg), 10.3±2.6%(10 mg/kg) 및 7.8±2.1% (20 mg/kg)으로서 증가하였다. 상대적생체이용률(RB%)은 병용투여군에서 108-143%로 증가하였다. 딜티아젬

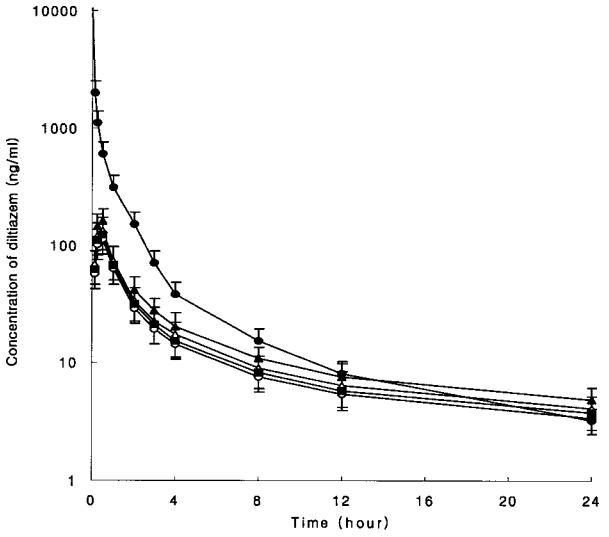

Fig. 1. Mean plasma concentration of diltiazem(ng/ml) after oral administration of diltiazem(15 mg/kg) with naringenin (2.0, 10 and 20 mg/kg) and IV administration of diltiazem(5 mg/kg) to rabbits. ○; Control(diltiazem 15 mg/kg oral), △; Coadministered with naringenin 2.0 mg/kg, ▲; Coadministered with naringenin 10 mg/kg, ■; Coadministered with naringenin 20 mg/kg, ●; IV(5 mg/kg diltiazem iv administration)

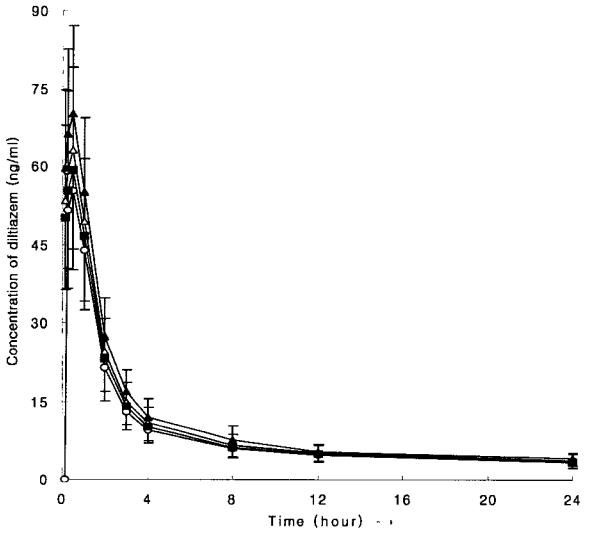

Fig. 2. Mean plasma concentration of desacetyldiltiazem(ng/ml) after oral administration of diltiazem(15 mg/kg) with naringenin(2.0, 10 and 20 mg/kg) to rabbits. ○; Control (diltiazem 15 mg/kg oral), △; Coadministered with naringenin 2.0 mg/kg, ▲; Coadministered with naringenin 10 mg/kg, ■; Coadministered with naringenin 20 mg/kg.

Table 1. Pharmacokinetic parameters of diltiazem after oral administration of diltiazem(15 mg/kg) with naringenin(2.0, 10 and 20 mg/kg) and IV administration of diltiazem(5 mg/kg) to rabbits

Parameters	Control	Naringenin			IV
		2.0 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg	
AUC (ng/ml · hr)	326±84.6	387±107.6	468±131.4*	354±98.8	1515
C_{max}(ng/ml)	113.1±29.4	132.4±34.2	160.1±42.7*	121.3±34.1	
T_{max}(hr)	0.5±0.13	0.5±0.13	0.5±0.13	0.5±0.14	
K_a(hr^{-1})	3.1±0.8	3.6±1.0	4.2±1.1*	3.4±0.9	
$t_{1/2}$ (hr)	10.4±2.7	10.6±2.7	11.0±3.0	10.9±2.9	7.0±1.9
A.B(%)	7.2±1.6	8.5±2.4	10.3±2.6*	7.8±2.1	
R.B(%)	100	118	143	108	

Mean±S.D(n=6), *p<0.05, compared with 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_a, absorption rate constant;
$t_{1/2}$, terminal half-life;
R.B., AUC rate compared to AUC control;
A.B., absolute bioavailability.

Table 2. Pharmacokinetic parameters of desacetyldiltiazem after oral administration of diltiazem(15 mg/kg) with naringenin to rabbits

Parameters	Control	Naringenin		
		2.0 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
AUC (ng/ml · hr)	264±71.9	296±80.8	330±82.8*	284±74.5
C_{max} (ng/ml)	55.2±14.4	63.1±16.1	70.1±18.6	59.1±20.1
T_{max} (hr)	0.5±0.15	0.5±0.16	0.5±0.15	0.5±0.14
$t_{1/2}$ (hr)	14.4±3.6	14.5±4.4	14.5±3.6	14.9±3.7
MR	0.81±0.17	0.77±0.16	0.71±0.11*	0.80±0.18
R.B(%)	100	112	125	107

Mean±S.D (n=6), *p<0.05 compared with control.
AUC, area under the plasma concentration-time curve from time zero to time infinity;
Cmax, peak concentration;
Tmax, time of peak concentration;
$t^{1/2}$, terminal half-life;
R.B., AUC rate compared to AUC control;
MR, AUCmetabolite/AUC diltiazem.

의 소실반감기($t_{1/2}$) 및 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 유의성 있는 차이가 없었다.

딜티아젬을 나린제닌과 병용투여시 혈장중 desacetyldiltiazem의 약물동태학적 파라메타는 다음과 같다. desacetyldiltiazem의 AUC는 병용투여군에서 각각 296±80.8, 330±82.5 및 284±74.5 ng/ml·hr이었으며 대조군(264±71.9 ng/ml·hr)에 비해 증가하였으며, 특히 10 mg/kg에서만 유의성(p<0.05) 있게 증가되었다. 그리고 desacetyldiltiazem과 딜티아젬의 AUC비율(MR)은 병용투여군에서 각각 0.77±0.16, 0.71±0.11 및 0.80±0.18 으로서 대조군의 0.81±0.17에 비해 낮아졌으며 10 mg/kg 나린제닌 병용투여군에서만 유의성(p<0.05) 있게 감소되었다.

딜티아젬은 지용성이며 광범위하게 체내조직에 분포되므로, 분포용적이 크고 초회통과대사를 받아 생체이용율이 개체간 변동이 크며 장간순환을 하는 약물이다.[36] Yeung등[37]의 연구에 의하면 사람, 개, 토끼와 쥐의 혈액 중 딜티아젬의 주 대사체는 M-monodemethyl diltiazem(MA), desacetyldiltiazem (M_1) 및 -monodemethyl diltiazem(M_2) 등이 검출되었다고 보고되었다. 그중에 사람과 개에서는 MA, 토끼와 쥐에서는 M_1이 가장 많다고 보고되었다. 그리하여 본 실험에서는 가토에서 딜티아젬을 desacetyldiltiazem과 함께 측정하였다.

나린제닌(10 mg/kg)과 병용투여 했을 때 경구용 딜티아젬의 생체이용율은 증가되었다. Yusa등의 보고에 의한면 칼슘채널 길항제인 딜티아젬과 베라파밀의 생체이용효율의 저하는 CYP3A4 대사효소에 의해 주로 감소되었지만, 장관강막에 존재한 P-당단백질의 efflux작용도 받는다고 보고되었다.[14,15] 소장에서 P-당단백질은 CYP3A4와 장관막을 향한 내피세포에 같이 있으며,[38] 많은 약물들이 흡수를 저해하며, 흡수 전 대사를 받는 대 협동작용을 한다고 보고되었다.[39-42] 나린제닌은 CYP3A4와 P-당단백질의 억제약물로서 병용투여시 증가된 생체이용율은 나린제닌이 흰쥐의 장관막 세포에 있는 P-당단백질의 약물역류작용을 억제하고 CYP3A4의 대사를 감소시켰기 때문이라고 사료된다. 본 실험 결과는 Zhang등의 연구결과와 일치하다. 즉, 나린제닌의 병용투여로 인해 흰쥐에서 퀴닌(P-당단백질의 기질이며 CYP3A4로 인해 대사됨)의 생체이용율이 유의성 있게 증가되었다.[29] 나린제닌 고농도(20 mg/kg)를 딜티아젬과 동시투여했을 때 생체이용율은 증가되지 않았다. 이것은 나린제닌이 딜티아젬과 복합체를 형성했기 때문이라고 사료된다.[43,44]

프라보노이드류는 많은 음식물에 존재하고 있는 화합물로서[21] 생체에서 항산화작용, 항암작용, 항균작용 항바이러스작

용, 항동백경화작용 등 유익한 작용들이 있다.[22] 나린제닌은 생리활성이 있는 프라보노이드류로서 생체에서 동시에 P-당단백질을 억제하는 작용이 있으며 CYP3A4효소의 대사를 조정하는 작용이 있기에 P-당단백질의 기질이면서 CYP3A4로 인해 대사되는 많은 약물들과 함께 투여할 때 생체이용율을 증가할 수 있다고 사료된다.

결 론

딜티아젬(15 mg/kg)과 나린제닌(2.0, 10 및 20 mg/kg)을 병용투여시 혈장중 딜티아젬의 약물동태학적 파라메타는 다음과 같다.

최고혈중농도(C_{max}), 혈장농도곡선하면적(AUC)과 흡수속도정수(K_a)는 대조군에 비해 유의성(10mg/kg, $p<0.05$) 있게 증가하였다.

절대적생체이용율(AB%)은 병용투여군에서 대조군에 비해 유의성(10 mg/kg, $p<0.05$) 있게 증가하였으며, 상대적생체이용률(RB%)은 10 mg/kg 병용투여군에서 1.43%배로 증가하였다.

딜티아젬의 대사체인 Desacetyldiltiazem의 AUC는 대조군에 비해 병용투여군에서만 유의성(10 mg/kg, $p<0.05$) 있게 증가하였다.

Desacetyldiltiazem의 MR은 10 mg/kg 병용투여군에서 대조군에 비해 유의성($p<0.05$) 있게 낮아졌다.

이상의 결과는 나린제닌이 cytochrome P450(CYP3A4)효소를 억제하고 P-당단백질의 efflux작용을 억제하여 나타난 것으로 사료된다.

딜티아젬을 나린제닌과 함께 병용경구투여시 혹은 나린제닌을 함유한 과일즙 또는 음식물을 함께 병용투여 시 딜티아젬의 약물동태에 미치는 영향을 고려하여 용량을 조절하는 것이 바람직하다고 사료된다.

참고문헌

1. AHFS Drug Information, AFS., 1988; 1317-24.
2. Scholz H. "Pharmacological aspects of calcium channel blockers." Cardiovasc. Drugs Ther 1997; 10: 869-72.
3. Epstein M, and Loutzenhister RD. "Effects of calcium antagonists on renal hemodynamics." Am J. Kidney Dis 1990: 16: 10-4.
4. Ruilope LM, and Alcaar JM. "Renal effects of calcium entry blockers." Cardiovasc. Drugs Ther 1990; 4: 979-82.
5. Sterzel PB. "Renal actions of calcium antagonists." J. Cardiovasc. Pharmacol 1987; 10: 17-22.
6. Eichelbaum M, and Echizen H. "Clinical pharmacology of calcium antagonists: a critical review." J. Cardiovasc. Pharmacol 1984; 6: 963-7.
7. Bianchetti G, Regazzi M, Rondanelli R, Ascalone V, and Morselli PL. "Bioavailability of diltiazem as a function of the administered dose." Biopharm. Drug Dispos 1991; 12: 391-401.
8. Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, *et al.* Toxicology. 5th ed. New York: McGraw-Hill, 1999; 113-86, .
9. Watkins PB, Wrighton SA, Schuetz EG, Molowa DT, and Guzelian PS. "Identification of glucocorticoid-inducible cytochromes P-450 in the intestinal mucosa of rats and man." J. Clin. Invest 1987; 80: 1029-36.
10. Kolars JC, Schmiedlin-Ren P, Dobbins 3rd WO, Schuetz J, Wrighton SA, and Watkins PB. "Heterogeneity of cytochrome P450IIIA expression in rat gut epithelia." Gastroenterology 1992; 102: 1186-98.
11. Lefebvre M, Homsy W, Caille G, and du Souich P. "First-pass metabolism of diltiazem in anesthetized rabbits: role of extrahepatic organs." Pharm. Res 1996; 13: 124-8.
12. Homsy W, Caille G, and du Souich P. "The site of absorption in the small intestine determines diltiazem bioavailability in the rabbit." Pharm. Res 1995; 12: 1722-6.
13. Homsy W, Lefebvre M, Caille G, and du Souich P. "Metabolism of diltiazem in hepatic and extrahepatic tissues of rabbits: in vitro studies." Pharm. Res 1995; 12: 609-14.
14. Yusa K, and Tsuruo T. "Reversal mechanism of multidrug resistance by verapamil: direct binding of verapamil to P-glycoprotein on specific sites and transport of verapamil outward across the plasma membrane of K562/ADM cells." Cancer Res 1989; 49: 5002-6.
15. Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, Hori R, and Komano T. "P-glycoprotein-mediated transcellular transport of MDR-reversing agents." FEBS Lett 1993; 324: 99-102.
16. Chaudhary PM, and Robinson IB. "Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells." Cell 1991; 66: 85-94.
17. Van Asperen J, Van Tellingen O, Sparreboom A, Schinkel AH, Borst P, Nooijen WJ, and Beijnen JH. "Enhanced oral bilavailability of diltiazem in mice treated with the p-glycoprotein blocker SDZ PSC 833." Br. J. Cancer 1997; 76: 1181-3.
18. Biedler JL, and Riehm H. "Cellular resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro: cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies." Cancer Res 1970; 30: 1174-84.
19. Ford JM. "Modulators of multidrug resistancepreclinical studies." Hematol. Oncol. Clin. N. Am 1995; 9: 337-61.
20. Fruehauf JP, and Manetta A. "Use of extreme drug resis-

tance assay to evaluate mechanisms of resistance in ovarian cancer: Taxol resistance and MDR1 expression." Contrib. Gynecol. Obstet 1994; 19: 39-52.

21. Dixon RA, and Steele C. "Flavonoids and isoflavonoids-gold mine for metabolic engineering." Trends Plant Sci 1999; 4: 394-400.
22. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K, and van Leeuwen PAM. "Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications." Am. J. Clin. Nutr 2001; 74: 418-25.
23. Fuhr U, Klittich, K, and Staib AH. Br. J. Clin. Pharmacol 1993; 35: p. 431.
24. Fuhr U, Doehmer J, and Battula, N. Biochem. Pharmacol 1992; 43: p. 225.
25. Guengerich FP, and Kim HD. Carcinogenesis 1990; 11: p. 2275.
26. Bailey DG, Arnold JMO, and Spence JD. Clin. Pharmacokinet 1994; 26: p. 91.
27. Fuhr U, Maier A, Blume H, Muck W, Unger S, and Staib AH. Eur. J. Clin. Pharmacol 1994; 47: p. 100.
28. Fuhr U, Harder S, Lopez-Rojas P, Muller-Peltzer H, Kern R and Staib, AH. Arch. Pharmacol 1994; 349: p. R134.
29. Miniscalco A, Lundahl J, Regardh CG, Edgar B, and Eriksson UG. Inhibition of dihydropyridine metabolism in rat and human liver microsomes by flavonoids found in grapefruit juice. J. Pharmacol. Exp. Ther 1992; 261: 1195-9.
30. Ha HR, Chen J, Leuenberger PM, Freiburghaus AU, and Follath F. In vitro inhibition of midazolam and quinidine metabolism by flavonoids. Eur J Clin Pharmacol 1995; 48: 367-71.
31. Mitsunaga Y, Takanaga H, Matsuo H, Naito M, Tsuruo T, Ohtani H, and Sawada Y. Effect of bioflavonoids on vincristine transport across blood-brain barrier. Eur J Pharmacol 2000; 395: 193-201.
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 1998; 21: 1062-6.
33. Romiti N, Tramonti G, Donati A, and Chieli E. Effects of grapefruit juice on the multidrug transporter P-glycoprotein in the human proximal tubular cell line HK-2. Life Sci 2004; 76: 293-302.
34. Goebel KJ, and Kolle EU, "High performance liquid chromatographic dertermination of diltiazem and four of its metabolites in plasma." J. Chromatogr 1985; 345: 355-63.
35. Yamaoka K, Tanigawara Y, Nakagawa T, and Uno T. "A pharmacokinetics analysis program for microcomputer." J. Pham. Dyn 1981; 4: 879-83.
36. Hermann PH, Rodger SD, Remones G, Thenot JP, London DR, and Morselli PL. "Pharmacokinetics of diltiazem after intravenous and oral administration." Eur. J. Clin. Pharmacol 1983; 24: 349-52.
37. Yeung PK, Mosher SJ, Quilliam MA, and Montague TJ. "Species comparison of pharmacokinetics and metabolism of diltiazem in humans, dogs, rabbits and rats." Drug Metab. Dispos 1990; 18: 1055-9.
38. Gottesman MM, and Pastan I. "Biochemistryof multidrug resistance mediated by the multidrug transporter." Annu. Rev. Biochem 1993; 62: 385-427.
39. Gan LS, Moseley MA, Khosla B, Augustijns PF, Bradshaw TP, Hendren RW, and Thakker DR. "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: 344-9.
40. Watkins PB. "The barrier function of CYP3A4 and P-glycoprotein in the small bowel." Adv.Drug Deliv. Rev 1996; 27: 161-70.
41. Wacher VH, Silverman JA, Zhang Y, and Benet LZ. "Role of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptides and peptidomimetics." J. Pharm. Sci 1998; 87: 1322-30.
42. Ito K, Kusuhara H, and Sugiyama Y. "Effects of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein on oral drug absorption theoretical approach." Pharm. Res 1999; 16: 225-31.
43. Choi JS, and Han HK. "Pharmacokinetic interaction between diltiazem and morin, a flavonoid, in rats." Pharmacol Res 2005; 52: 386-91.
44. Choi JS, and Li X. "Enhanced diltiazem bioavailability after oral administration of diltiazem with quercetin to rabbits." Int J Pharm 2005; 13: 1-8.