한국인에서 CYP1A2 의존성 Caffeine 대사에 대한 자몽과즙의 억제효과*

인하대학교 의과대학 약리학교실 및 의약품독성연구소, 인하대병원 내과¹,
(주)한독약품², 한국과학기술원 생명공학연구소 유전자원센터³

강주희, 노형근¹, 이일섭², 정운계, 이경훈, 김환목³, 차영남

= Abstract =

Effect of Grapefruit Juice on CYP1A2 Dependent Metabolism of Caffeine in Korean

Ju-Hee Kang, M.D., Hyung-Keun Roh¹, M.D., Yil-Seob Lee², M.D., Woon-Gye Chung, Ph.D.,
Kyung-Hoon Lee, M.D., Hwan-Mook Kim³, Ph.D., Young-Nam Cha, Ph.D.

*Department of Pharmacology and Toxicology, ¹Department of Internal Medicine, College of Medicine,
Inha University, Incheon, ²Handok Pharmaceuticals Co., Ltd., Seoul,
and ³Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon, Korea*

Background : As caffeine is specifically N³-demethylated by CYP1A2, caffeine has been used as a metabolic probe to determine the relative CYP1A2 activity in human. Grapefruit juice has been demonstrated to inhibit mammalian cytochrome P450 enzymes like CYP3A4. Thus, the objective of this study was to determine whether the grapefruit juice will inhibit the CYP1A2 activity in unrelated healthy Korean subjects.

Method : Volunteers(47 subjects) refraining from methylxanthine-containing foods or beverages were given a cup of coffee (110mg caffeine) at 8 a.m.. They voided urine at 12 a.m. and provided 1 hr urine sample at 1 p.m.. On the second day, the volunteers were given 500ml of grapefruit juice at 7 a.m. and at 8 a.m., they were given 1 cup of coffee. At 9 a.m. and 11 a.m., they were given 500ml of grapefruit juice again. Again, the volunteers voided urine at 12 a.m. and provided the 1 hr urine sample at 1 p.m. The caffeine metabolites present in the urine samples from both days were analyzed with HPLC. The relative CYP1A2 activities in each individual were calculated by taking the molar concentration ratio of [paraxanthine + 1,7-dimethylurate]/[caffeine].

*본 연구는 1995년도 교육부 학술연구조성비(기초의학)에 의해 이루어졌음
교신저자 : 차영남

인하대학교 의과대학 약리학교실 및 의약품독성연구소
인천광역시 남구 용현동 253번지, (우)402-751
전화 : (032)860-8174 FAX : (032)864-5648

Results : The basal CYP1A2 activity for all volunteers was 15.3 ± 7.7 and after taking the grapefruit juice, the CYP1A2 activity was decreased significantly to 10.3 ± 6.2 (Wilcoxon signed-rank test, $p < 0.0001$). Upon intake of the grapefruit juice, the CYP1A2 activity was decreased in 39 volunteers but the CYP1A2 activity in 8 was increased slightly. The CYP1A2 activities of smokers either before or after the grapefruit juice intake were higher (Mann-Whitney U test, $p < 0.005$) and thus, the induction of enzyme activity by cigarette smoking was confirmed. There were no significant differences in the fraction of CYP1A2 inhibition between the nonsmokers and smokers, and the fraction of CYP1A2 activity inhibition had no significant relationship with the basal activity.

Conclusion : Intake of grapefruit juice will inhibit the CYP1A2 activity in man and will interfere with the metabolism of clinically useful drugs which are metabolized by CYP1A2. Therefore, in persons whose CYP1A2 activity is severely inhibited by grapefruit juice, taking drugs metabolized by CYP1A2 together with grapefruit juice could bring unexpected drug toxicity. Conversely, as the CYP1A2 is known to be involved in metabolic activation of procarcinogens belonging to aromatic amines (in cigarette) or heterocyclic amines (in broiled meats), taking grapefruit juice would lower the cancer susceptibility.

KEY WORDS : Caffeine·Grapefruit juice·Cytochrome P450·CYP1A2·Korean.

Abbreviations

137X=1,3,7-trimethylxanthine
137U=1,3,7-trimethylurate
13X=1,3-dimethylxanthine (theophylline)
17X=1,7-dimethylxanthine (paraxanthine)
37X=3,7-dimethylxanthine (theobromine)
13U=1,3-dimethylurate
17U=1,7-dimethylurate
37U=3,7-dimethylurate
1X=1-methylxanthine
3X=3-methylxanthine
7X=7-methylxanthine
1U=1-methylurate
AFMU=5-acetylamino-6-formylamino-3-methyluracil
AAMU=5-acetylamino-6-amino-3-methyluracil

서론

Caffeine(1,3,7-trimethylxanthine ; 137X)은 커피나 콜라 등을 통해 가장 흔하게 섭취되는 식이 화합물(plant alkaloid)중의 하나로 인체내에서 대사되어 여러 대사산물로 변형되는데 대부분은 cytochrome P450 1A2(CYP1A2)에 의한 N3-demethylation 과정을 거쳐 paraxanthine(1,7-dimethylxanthine)으로 대사되며, caffeine의 대사산물인 paraxanthine 역시 CYP1A2에 의해 1,7-dimethylurate(17U)로 대사된다(Fig. 1)¹⁾.

CYP1A2는 caffeine 대사이외에도 흡연, 태운 육류, 합성연료 및 농업용 화학물질 등에 함유된 aromatic amine이나 heterocyclic amine과 같은 발암원물질을 활성화시키는데 관여하므로 CYP1A2의 활성도가 높은 사람은 이러한 물질에 의해 암이 발병할 가능성이 높다고 할 수 있다^{2~4)}. 또한 CYP1A2

Fig. 1. Metabolic pathways of caffeine.

는 흡연, polycyclic aromatic hydrocarbon 및 heterocyclic amine 등의 물질들에 의해 유도되고³⁾ quinolone, furafylline 등에 의해서는 억제된다고 보고되어 있다⁵⁻⁶⁾.

자몽과즙(grapefruit juice, *Citrus paradisi*)은 CYP3A4에 의해 대사되는 dihydropyridine계 칼슘 길항제, cyclosporine, terfenadine 등 많은 약물들의 대사를 억제하는 것으로 알려져 있으나⁷⁻¹²⁾ 자몽과즙이 CYP1A2에 미치는 영향에 관한 연구는 매우 드물 뿐만 아니라 시행된 연구 또한 모두 서구인을 대상으로 한 것들이었다¹³⁻¹⁴⁾.

따라서 본 연구에서는 caffeine을 CYP1A2의 표지물질로 이용하여 한국인에서 자몽과즙의 섭취가 CYP1A2의 활성도에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상 및 약물투여 방법

동의서에 자발적으로 서면동의한 47명(남자 38명, 여자 9명)의 건강한 인하대학교 의과대학생을 연구대상으로 하였으며 자원자들의 나이는 21세에서 30세 사이로 평균 23 ± 2 세(평균 $\pm$ 표준편차)였고 체중은 44kg에서 95kg까지로 평균 65.7 ± 10.8 kg이었다.

자원자중 흡연자(10~40 cigarettes/day) 18명은 모두 남자로 하루에 평균 18.9 ± 8.4 개의 담배를 피우고 있었고 흡연량은 4.8 ± 4.0 pack·yr(범위: 1~15 pack·yr)이었다. 자원자들에게 연구당일 0시부터 caffeine이 함유된 모든 음식물 및 음료를 제한하였으나 caffeine을 함유하지 않은 일상 식사와 음료는 평소처럼 허용하였다. 연구당일 아침에 커피(한국네슬레 조제커피 Taster's Choice Coffee Mix 2포; caffeine 110mg 함유)를 마시게 한 후 4시간째에 소변을 보게 하여 방광을 비우고, 4시간에서 5시간까지 1시간 동안의 요를 채취하였다. 또한 24시간 후 같은 사람에게 전날과 같은 양의 커피를 마시기 1시간 전, 1시간 후 및 3시간 후에 각각 500mL의 'double strength 자몽과즙(Pink Grapefruit Cocktail, Ocean Spray, USA)'을 같이 마시게 하였으며 요채취는 위에 기술한 방법과 동일하게 시행하였다. 채취한 요중 caffeine 대사체들의 안정성을 높이기 위해 요를 채취하는 즉시 1M HCl을 첨가하여 pH를 3.5로 적정하고 caffeine 및 그 대사체의 농도 측정시까지 -70°C 에 보관하였다.

2. Caffeine 및 그 대사체의 분석

요중 caffeine 및 그 대사체는 Butler 등의¹⁾ 방법을 일부 수정한 고성능액체크로마토그래피(HPLC)

법을 이용하였다. 찬 수돗물로 녹인 시료요 500 μ L를 원심분리용 시험관에 넣고 ammonium sulfate 250mg을 가하여 2분간 섞은 후, 내부표준물질(internal standard; I.S.)인 4-acetamidophenol (120mg/L in chloroform) 200 μ L와 chloroform과 isopropanol을 4:1(v:v)로 섞은 용액 6mL를 첨가하여 1분동안 섞고 1,400g에서 5분간 원심분리하였다. 5.5mL의 유기용매층을 취하여 45°C에서 90분간 원심감압 상태로 농축건조한 잔유물에 0.05% acetic acid 800 μ L를 첨가하여 진탕하고 0.45 μ m filter에 여과한 후 100 μ L를 HPLC에 주입하여 분석하였다. Waters사의 510 pump, 717 plus autosampler 및 996 photodiode array detector를 이용하여 280nm의 흡광도에서 caffeine 및 그 대사체들을 검출하였다. 칼럼은 Novapak C₁₈ column(4.6mm $\times$ 250mm, 4 μ m particle size, Waters, USA)을 이용하였고, 이동상은 수용성 대사체를 용출하기 위해 물:methanol:acetic acid를 92:8:0.05(v:v:v)로 섞은 수용성 이동상(A)과 지용성 대사체를 용출하기 위해 water:methanol을 30:70(v:v)으로 섞은 지용성 이동상(B)을 구배용매 조성법(gradient mode)으로 분당 0.8mL씩 흘렸다. 이동상 용액의 구배 비율은 지용성 이동상(B)을 초기 3.5분간은 0%, 3.5분에서 3.8분까지 0~2%, 3.8분에서 15분까지 2%, 15분에서 17분까지 2~15%, 17분에서 21분까지 15%, 21분에서 35분까지 15~70%, 35분에서 40분까지 70%, 40분에서 50분까지 70%에서 0%로 하였으며 모든 구배 비율 변화는 linear하게 하였다. 이상의 조건에서 caffeine과 그 대사체들 및 내부표지물질의 머무름 시간은 다음과 같다: 1U, 9.8분; 1X, 12.4분; 4-acetamidophenol, 14.6분; 13U, 16.8분; 37X, 18.1분; 17U, 24.2분; 17X, 24.8분; 13X, 25.8분; 137U, 28.7분; 137X, 32.0분(Fig. 2). Caffeine 및 그 대사체의 요중 농도는 내부표준물질에 대한 peak area 비로부터 얻은 표준검량선을 이용하여 산출하였으며 검출한계는 0.05~0.10nM이었다.

Fig. 2. HPLC chromatogram of caffeine and its metabolites in urine from a subject.

3. CYP1A2 활성도의 산출 및 통계처리

요중 17X와 17U의 몰농도를 더한 다음 caffeine의 몰농도로 나눈 값인 $[17X+17U]/[137X]$ 비를 CYP1A2의 활성도의 지표로 사용하였다.

자몽과즙을 마시기 전의 CYP1A2 활성도와 성별, 나이, 체중 및 흡연과의 상관관계는 중회귀분석(multiple regression analysis)을 이용하여 분석하였고 중앙값은 'Mann-Whitney의 U 검정'에 의해 비교하였으며 자몽과즙을 마시기 전과 후의 CYP1A2 활성도는 'Wilcoxon의 부호화 순위검정'에 의해 비교하였다.

결 과

1. CYP1A2 기저 활성도

자몽과즙을 마시기 전의 요중 $[17X+17U]/[137X]$ 비인 CYP1A2 기저 활성도는 2.7에서 39.6 사이로 개인에 따라 14배 정도의 큰 차이를 나타냈으며 평균 15.3 ± 7.6 이었다. 중회귀분석 결과 성별과 나이 및 체중은 CYP1A2 기저 활성도에 영향을 주지

Fig. 3. Individual CYP1A2 activities before and after the grapefruit juice intake.

않았고($p > 0.05$) 흡연여부만이 CYP1A2 기저 활성도에 통계적으로 의미있는 영향을 주었($p < 0.001$), 요중 $[17X+17U]/[137X]$ 비의 중앙값은 흡연자(17.7)가 비흡연자(13.5)보다 높았다(Mann-Whitney의 U 검정, $p = 0.004$).

2. 자몽과즙 섭취 후 CYP1A2의 활성도 변화

CYP1A2 활성도는 자몽과즙을 마시기 전의 평균 15.3 ± 7.7 에서 자몽과즙을 마신 후에 평균 10.3 ± 6 .

Fig. 4. Comparison of the mean CYP1A2 activities before and after the grapefruit juice intake between smokers and nonsmokers.

2로 통계적으로 유의한 감소를 보여(Wilcoxon 부호화 순위 검정, $p < 0.001$) 자몽과즙에 의한 CYP1A2의 활성도 감소는 47명중 39명(83%)에서 나타났고 개인에 따라 2.5%에서 최고 82.8%까지 CYP1A2 활성도가 감소하였으나 나머지 8명(비흡연자 5명과 흡연자 3명, 17%)에서는 2.4%에서 59.4%까지 오히려 CYP1A2의 활성도가 증가하였다(Fig. 3). 자몽과즙 섭취 전후의 CYP1A2 활성도 차이를 CYP1A2 기저 활성도에 대한 백분율로 환산한 CYP1A2 활성도 감소 분획은 평균 $28.2 \pm 31.7\%$ 이었고, 자몽과즙에 의한 CYP1A2 활성도 감소 분획은 흡연자군($31.9 \pm 30.8\%$)과 비흡연자군($22.2 \pm 32.2\%$) 사이에 의미있는 차이를 보이지 않아(Mann-Whitney의 U 검정, $p = 0.314$; Fig. 4) 자몽과즙 섭취시에도 CYP1A2 활성도 중앙값은 흡연자군에서 13.4로 비흡연자군의 6.8에 비해 훨씬 높았다(Mann-Whitney의 U 검정, $p = 0.001$).

고 안

Caffeine은 CYP1A2에 의해 주로 대사되며, CYP1A2는 caffeine의 초기 demethylation과정중 N3-demethylation에 의한 17X 생성의 약 84%에

관여하고 N1-demethylation되어 theobromine을 생성하고 N7-demethylation되어 theophylline을 생성하는 과정의 각각 12% 및 4%에 관여하는 것으로 보고되어 있다¹⁵⁾. Caffeine을 기질로 사용하여 *in vivo* CYP1A2의 활성도를 측정하는 방법에는 여러 방법들이 있으나¹⁶⁾ 요중 caffeine 대사물중에서 17X와 17U의 몰농도를 더한 다음 caffeine의 몰농도로 나눈 $[17X+17U]/[137X]$ 가 기존에 제안된 $[17X]/[137X]$ 와¹⁷⁾ $[AFMU+1X+1U]/[17U]$ 및 $[AAMU+1X+1U]/[17U]$ 에¹⁸⁾ 비해 caffeine의 간장내 N3-demethylation 활성을 더 잘 반영하는 것으로 보고되어 있어 요중 $[17X+17U]/[137X]$ 몰농도비를 CYP1A2 활성도의 지표로 이용하였다¹⁾. Paraxanthine의 배설이 신기능에 영향을 많이 받기 때문에 요중 $[17X+17U]/[137X]$ 몰농도비가 CYP1A2 활성도를 반영하기 어렵다는 보고가 있으나¹⁹⁾, 17X에 대한 청소율($2.2\text{mL}/\text{min}/\text{kg}^{20)$, $1.71\text{mL}/\text{min}/\text{kg}^{21)$ 중 신청소율은 $5\sim 40\text{mL}/\text{min}$ 으로²²⁾ 17X에 대한 청소율의 8%²³⁾ 내지 9%²¹⁾로 보고되어 있으며, caffeine과 paraxanthine의 신청소율은 둘다 요량(urine flow)에 의존하여 평행하게 변화하므로^{22,24)}, caffeine과 paraxanthine의 신청소율 비(3.7)는 일정할 것이다²⁵⁾.

Caffeine의 대사는 개인간에 차이가 커서 건강한 자원자에서의 소실 반감기가 2시간에서 12시간으로 보고되어 있으며¹⁸⁾, 요중 $[17X+17U]/[137X]$ 비를 CYP1A2 활성도의 지표로 이용한 본 연구에서도 자몽과즙을 투여하지 않은 상태의 CYP1A2 기저치가 47명의 한국인에서 14배의 다양성을 나타내어 12명의 사람 간에서의 CYP1A2 mRNA level이 15배로 다양하게 나타났다는 Nakajima 등의 보고와도²⁶⁾ 일치하였다. 이러한 다양성은 부분적으로는 CYP1A2를 억제하거나 유도하는 외인성 물질에 기인하며, polycyclic aromatic hydrocarbon은 CYP1A2의 강력한 유도제(inducer)로 인간에서 이 화합물의 노출에 대한 가장 흔한 원인은 흡연이어서²⁷⁾, 본 연구에서도 요중 $[17X+17U]/[137X]$ 비로 측정한

CYP1A2의 중앙값은 흡연자(17.7)가 비흡연자(13.5)보다 1.3배 높았다(Mann-Whitney의 U 검정, $p=0.004$).

또한 본 연구에서 흡연자군과 비흡연자군에서 자몽과즙 섭취에 의한 CYP1A2 활성도 감소 분획이 두 군간에 차이가 없었지만(Fig. 4), 흡연자군에서의 CYP1A2 활성도 감소분획이 흡연량(pack-year)에 비례하는 상관관계를 나타낸 것은(Pearson 상관계수 = 0.534, $p=0.023$) 흡연량이 많을수록 CYP1A2가 caffeine의 대사에 관여하는 비율이 증가하여 자몽과즙에 의한 caffeine 대사 억제효과가 크게 나타났을 것으로 사료된다¹⁴⁾.

자몽과즙 섭취에 의해 CYP1A2 활성도가 최고 83%까지 억제된 본 연구 결과는 12명의 건강한 자원자를 대상으로 시행한 약동학적 연구에서 자몽과즙의 섭취($1.2\text{L}/\text{day}$)가 caffeine의 반감기와 경구 청소율을 각각 31% 및 23% 감소시켰다는 Fuhr 등의 보고와¹²⁾ 일치하여, caffeine처럼 CYP1A2에 의해 대사되는 약물이 자몽과즙과 같이 투여될 경우 개인에 따라 예상하지 못했던 약물 독성이 발생할 수 있을 것이다. 또한 많은 환경성 발암전구물질들이 CYP1A2에 의해 활성화되어 대장암, 방광암, 간암 등을 유발할 수 있을 것으로 보고되어 있으므로^{2~4)} 이러한 발암전구물질이 포함되어 있는 태운 육류의 섭취 및 흡연 등과 같은 환경적 인자에 노출될 경우 자몽과즙을 섭취함으로써 CYP1A2에 의해 활성화되어 생성되는 발암물질에 의한 암 발생을 억제할 수 있을 것으로 사료된다. 한편 자몽과즙 섭취에 의해 39명에서는 CYP1A2 활성도가 억제되었으나 8명(19%)에서는 오히려 CYP1A2의 활성도가 증가하여 자몽과즙의 섭취가 CYP1A2 활성도에 미치는 영향은 개인에 따라 큰 차이를 보였고, 이러한 차이는 음식물 섭취의 다양성 등의 환경적 인자와 장내 세균총의 다양한 분포 및 포함효소의 차이 등에 기인할 것으로 사료된다.

결론적으로, 자몽과즙의 섭취는 한국인에서 CYP1A2의 활성도를 억제하므로 CYP1A2에 의해 대사되는 약물을 자몽과즙과 함께 복용할 경우 그 약물의 대

사가 억제됨으로써 개인에 따라 예상하지 못했던 약물 독성이 유발될 수 있으며, 다른 한편으로 자몽과즙의 섭취는 CYP1A2에 의해 활성화되어 생성되는 발암 물질에 의한 암 발생을 억제하는 예방효과를 기대할 수 있을 것이므로 CYP1A2를 억제하는 자몽과즙의 활성 성분에 대한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 :

Caffeine은 대부분 CYP1A2에 의해 N3-demethylation되므로 개인의 CYP1A2 활성도를 측정하는 지표로 이용되고 있으며, 자몽과즙은 CYP3A4 등의 cytochrome P450을 억제하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 한국인에서 자몽과즙의 섭취가 CYP1A2의 활성도에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

방 법 :

건강한 한국인 자원자 47명을 대상으로 caffeine 110mg을 함유한 커피를 투여한 후 4시간에서 5시간 사이의 요중 caffeine 및 그 대사체를 HPLC로 분석하여 [paraxanthine+1,7-dimethylurate]/[caffeine]의 요중 물 농도비로 CYP1A2의 활성도를 측정하고, 24시간 후에 같은 대상자들에게 같은 양의 커피와 커피 투여 1시간 전, 1시간 후 및 3시간 후에 'double strength 자몽과즙'을 500mL씩 총 1.5L를 마시게 한 후 같은 방법으로 CYP1A2의 활성도를 측정하였다.

결 과 :

연구에 참여한 대상자 47명 전체의 CYP1A2의 활성도는 평균활성도가 15.3 ± 7.7 에서 자몽과즙의 섭취에 의해 10.3 ± 6.2 로 $28.2 \pm 31.7\%$ (평균 $\pm$ 표준편차) 감소하였으며($p < 0.0001$), 대상자중 39명(83%)에서는 CYP1A2 활성도의 감소가 나타났으나 8명(17%)에서는 오히려 CYP1A2의 활성도가 증가하였다. 흡연자군에서 CYP1A2의 기저활성도 중앙값은 17.7로서 비흡연자군의 13.5보다 높았으며($p =$

0.004) 자몽과즙의 섭취에 의한 CYP1A2 활성도 감소분획은 두 군간에 의미있는 차이를 보이지 않아($p = 0.314$) 자몽과즙 섭취후에도 CYP1A2 활성도 중앙값은 흡연자군(13.4)이 비흡연자군(6.8)보다 훨씬 높았다.

결 론 :

자몽과즙의 섭취는 한국인에서 CYP1A2의 활성도를 억제하므로 CYP1A2에 의해 대사되는 약물을 자몽과즙과 함께 복용할 경우 그 약물의 대사가 억제됨으로써 개인에 따라 예상하지 못했던 약물 독성이 유발될 수 있으며, 다른 한편으로 자몽과즙의 섭취는 CYP1A2에 의해 활성화되어 생성되는 발암물질에 의한 암 발생을 억제하는 예방효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Butler MA, Lang NP, Young FJ, Caporaso NE, Vineis P, Hayes RB, Teitel CH, Massengill JP, Lawsen MF, Kadlubar FF. *Determination of CYP1A2 and NAT2 phenotypes in human populations by analysis of caffeine urinary metabolites. Pharmacogenetics 1992;2:116-127*
- 2) Butler MA, Iwasaki M, Guengerich MP, Kadlubar FF. *Human cytochrome P450PA (P4501A2), the phenacetin O-deethylase, is primarily responsible for the hepatic 3-demethylation of caffeine and N-oxidation of carcinogenic arylamines. Proc Natl Acad Sci 1989;86:7697-7700*
- 3) Hashimoto Y, Degawa M. *Induction of cytochrome P450 isoforms by carcinogenic aromatic amines and carcinogenic susceptibility of rodent animals. Pharmacogenetics 1995;5:S80-S83*
- 4) Lee SW, Jang IJ, Shin SG, Lee KH, Yim DS,

- Kim SW, Oh SJ, Lee SH. *CYP1A2 activity as a risk factor for bladder cancer. J Kor Med Sci* 1994;9:482-489
- 5) Fuhr U, Strobl G, Manaut F, Anders EM, Sorgel F, Lopez-de-Brinas E, Chu DT, Pernet AG, Mahr G, Sanz F. *Quinolone antibacterial agents: relationship between structure and in vitro inhibition of the human cytochrome P450 isoform CYP1A2. Mol Pharmacol* 1993;42:191-199
- 6) Tarrus E, Cami J, Roberts DJ, Spickett RGW, Celdran E, Segura J. *Accumulation of caffeine in healthy volunteers treated with furafylline. Br J Clin Pharmacol* 1987;23:9-18
- 7) Bailey DG, Arnold JMO, Strong HA, Munoz C, Spence JD. *Effect of grapefruit juice and naringin on nisoldipine pharmacokinetics. Clin Pharmacol Ther* 1993;54:589-594
- 8) Ducharme MP, Provenzano R, Smith MD, Edwards DJ. *Trough concentrations of cyclosporine in blood following administration with grapefruit juice. Br J Clin Pharmacol* 1993;36:457-459
- 9) Edgar B, Bailey D, Bergstrand R, Johnsson D, Regardh CG. *Acute effects of drinking grapefruit juice on the pharmacokinetics and dynamics on felodipine and its potential clinical relevance. Eur J Clin Pharmacol* 1992;42:313-317
- 10) Bailey DG, Arnold JMO, Munoz C, Spence JD. *Grapefruit juice-felodipine interaction: mechanism, predictability, and effect of naringin. Clin Pharmacol Ther* 1993;53:637-642
- 11) Miniscalco A, Lundahl J, Regardh CG, Edgar B, Eriksson UG. *Inhibition of dihydropyridine metabolism in rat and human liver microsomes by flavonoids found in grapefruit juice. J Pharmacol Exp Ther* 1992;261:1196-1199
- 12) Hukkinen SK, Varhe A, Olkkola KT, Neuvonen PJ. *Plasma concentrations of triazolam are increased by concomitant ingestion of grapefruit juice. Clin Pharmacol Ther* 1995;58:127-131
- 13) Fuhr U, Klittich K, Staib AH. *Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man. Br J Clin Pharmacol* 1993;35:431-436
- 14) Fuhr U, Maier A, Keller A, Steiuans VW, Sauter R, Staib AH. *Lacking effects of grapefruit juice on theophylline pharmacokinetics. Int J Clin Pharmacol Ther* 1995;33:311-314
- 15) Lelo A, Miners JO, Robson RA, Birkett DJ. *Quantitative assessment of caffeine partial clearances in man. Br J Clin Pharmacol* 1986;22:183-186
- 16) Carrillo JA, Benitez J. *Caffeine metabolism in a healthy Spanish population: N-acetylator phenotype and oxidation pathways. Clin Pharmacol Ther* 1994;55:293-304
- 17) Kadlubar FF, Tlaska G, Butler MA, Teitel CH, Massengill JP, Lang NP. *Determination of carcinogenic arylamine N-oxidation phenotype in human by analysis of caffeine urinary metabolites. In: Medelsohn, ML, Albertini, RJ Mutation and the Environment, B. Wiley-Liss Inc., New York, 107-114, 1990*
- 18) Campbell ME, Spielberg SP, Kalow W. *A urinary metabolite ratio that reflects systemic*

- caffeine clearance. Clin Pharmacol Ther* 1987;42:157-165
- 19) Tang BK, Zhou Y, Kadar D, Kalow W. *Caffeine as a probe for CYP1A2 activity: potential influence of renal factors on urinary phenotypic trait measurements. Pharmacogenetics* 1994;4:117-124
- 20) Lelo A, Birkett DJ, Robinson RA, Miners JO. *Comparative pharmacokinetics of caffeine and its primary demethylated metabolites paraxanthine, theobromine and theophylline in man. Br J Clin Pharmacol* 1986;22:177-182
- 21) Lelo A, Kjellen G, Birkett DJ, Miners JO. *Paraxanthine metabolism in humans: determination of metabolic partial clearances and effect of allopurinol and cimetidine. J Pharmacol Exp Ther* 1989;248:315-319
- 22) Tang-Lieu DD-S, Williams RL, Riegelman S. *Disposition of caffeine and its metabolites in man. J Pharmacol Exp Ther* 1983;224:180-185
- 23) Kalow W, Tang B-K. *The use of caffeine for enzyme assays: a critical appraisal. Clin Pharmacol Ther* 1993;53:503-514
- 24) Tang-Lieu DD-S, Tozer TN, Riegelman S. *Dependence of renal clearance on urine flow: A mathematical model and its application. J Pharm Sci* 1983;72:154-158
- 25) Rostami-Hodjegan A, Nurminen S, Jackson PR, Tucker GT. *Caffeine urinary metabolite ratios as markers of enzyme activity: a theoretical assessment. Pharmacogenetics* 1996;6(2):121-149
- 26) Nakajima M, Yokoi T, Mitzutani M, Shin S, Kadlubar FF, Kamataki T. *Phenotyping of CYP1A2 in Japanese population by analysis of caffeine urinary metabolites: absence of mutation prescribing the phenotype in the CYP1A2 gene. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994;3:413-421
- 27) Parsons WD, Neims AH. *Effect of smoking on caffeine clearance. Clin Pharmacol Ther* 1978;24:40-45