건강한 피험자에서 감초 수성추출물 복용이 midazolam의 약동 / 약력학에 미치는 효과

인제대학교 의과대학 약리학교실¹, 가천의대 약리학교실², 부산백병원 내과학교실³, 원광대학교 한의과대학⁴

손지홍¹, 박지영², 김경아², 윤영란¹, 표지수³, 김동수³, 전병훈⁴, 차인준¹, 신재국¹

=Abstract=

Effect of Licorice (*Radix Glycyrrhizae*) Water Extract on the Pharmacokinetics and the Pharmacodynamics of Midazolam in Healthy Subjects

Ji-Hong Shon¹, Ji-Young Park², Kyoung-Ah Kim², Young-Ran Yoon¹, Ji-Soo Pyo,³
Dong-Soo Kim³, Byung Hun Jeon⁴, In-Jun Cha¹, Jae-Gook Shin¹

Department of Pharmacology, Inje University College of Medicine¹ and Department of Internal Medicine,
Pusanpaik Hospital, Busan³, Department of Pharmacology, Gachon Medical School, Incheon²,
Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University⁴

Background : Licorice, a core traditional herbal medicine, is frequently coadministered with the conventional medications in Korea. Several reports suggested that the licorice treatment induced the cytochrome P450 (CYP) in rats, especially for CYP3A isoform. However, no report has been addressed to the effect of licorice on midazolam, CYP3A substrate, in human. This study was performed to evaluate the effect of licorice on the disposition and pharmacodynamic effects of midazolam in human.

Methods : One gram of freeze dried water extract of licorice (extraction ratio ; 25%) or placebo were orally administered divided in two times to 10 healthy male subjects for 7 days as one blind randomized crossover manner with 2 weeks washout. On the day after completion of 7 days pretreatment, multiple blood samples were drawn and urine was collected for 24 hours after oral dose of 7.5 mg midazolam. Psychomotor performance tests including digit span test and digit symbol substitution test were conducted for 4 hours after midazolam administration on each phase of midazolam treatment and before pretreatment of placebo or licorice extract. The plasma concentration of midazolam and 1-hydroxymidazolam were determined with using HPLC and pharmacokinetic parameters were estimated by noncompartmental method.

Results : After 1 week treatment of licorice extract, the plasma clearance of midazolam was significantly increased (1.15 ± 0.50 vs 1.59 ± 0.81 L/min, $p < 0.05$) and the half-life was shortened (2.07 ± 0.74 vs 1.34 ± 0.60 hr, $p < 0.05$) compared to those obtained after placebo treatment. Mean AUC of midazolam was decreased from 102.13 ± 28.84 ng/ml·hr to 85.06 ± 48.51 ng/ml·hr after licorice treatment, but not significantly different ($p = 0.11$). There was no significant changes in AUC and urinary amount of 1-hydroxymidazolam by licorice pretreatment. The changes in the score of psychomotor performance tests (DST and DSST) measured after midazolam dosing were not significantly different between placebo and licorice pretreatment.

Conclusions : Licorice water extract seems to affect the disposition of midazolam in human, but it is suggested that the CYP3A4 induction is not the major mechanism of the interaction. Further studies are remained to evaluate the mechanism of the pharmacokinetic interaction between midazolam and licorice water extract.

Key words : Licorice, Midazolam, CYP3A, Induction, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics.

* 본 연구는 보건복지부 약물유전체사업단(03-PJ10-PG13-GD01-0002)에 의한 지원에 의해 이루어졌음.

교신저자 : 신재국

소 속 : 인제대학교 의과대학 약리학교실 및 약물유전체센터

주 소 : 부산광역시 부산진구 개금동 633-165 (우편번호 514-735)

전 화 : (051) 890-6709 Fax : (051) 893-7761 E-mail : phshinjg@inje.ac.kr

서 론

감초는 동양 전통의학 한방조제시에 첨가되는 가장 흔한 생약제제 중 하나이다. 최근 서구에서도 여러 한약제제들이 상용화되면서 감초성분 또한 상품화되어 사용되고 있는 실정이다. 감초의 주성분으로는 높은 당도를 나타내는 사포닌양 glycosides인 glycyrrhizin을 비롯하여 flavonoid glycosides, coumarin 유도체성분, mannitol 등의 성분으로 구성되어 있다. 민간치료약제로써 뿐만아니라 오래전부터 감미료, 식품첨가제, 기호식품 등으로 흔하게 사용되어 왔다. 알려진 약리작용으로는 위궤양 치유효능 및 그 예방효과^{1,2)}, 항염증 작용^{3,4)}, HBV와 HIV 발현을 억제하는 항바이러스 효과^{5,6)}, mineralocorticoid 양 작용⁷⁾ 등이 보고된 바 있다. 그러나 대량 복용 시에는 부종, 두통, 전해질불균형, 체중변화 등의 부작용이 동반될 수도 있는 것으로도 보고되어 있다⁸⁻¹⁰⁾.

한편 감초성분은 앞서 소개된 약리작용 이외에도 발암 및 독성 물질의 해독작용과 연관된 다양한 효소군(phase II catalysts)들이 감초추출물 및 그 주요 성분인 glycyrrhizin에 의해서 활성이 증가된다는 사실들이 보고된 바 있다^{11,12)}. 이와 유사하게 감초성분이 약물을 비롯한 외인성 화합물 및 내인성물질의 대사에 관여하는 사이토크롬효소군 (microsomal cytochrome P450 system ; 이하 CYP효소군)의 발현 및 기능변화를 유도하여 발암성 독성물질의 대사 및 배설 작용을 변화시킬 가능성들이 제시된 바 있다. 구체적으로 한 연구에서는 감초추출물에 장기간 노출된 백서에서 CYP 효소계의 양적인 증가와 함께, CYP3A, CYP2B1, CYP1A, CYP2E1 등 특정 CYP 효소군의 발현증가에 기인하여 각 효소군의 기질물질들에 대한 대사능을 증가시킨다는 사실들을 보고하였다^{13,14)}.

CYP 효소군 중에서 CYP3A효소군은 CYP 동효소군 중 가장 많은 종류의 약물의 대사과정에 관여하는 대효소군으로¹⁵⁾, 임상적으로 중요한 심혈관

계 약물, 항정신병 약물, 항암제, 면역억제제, 진통제 등의 치료지수가 좁은 약물의 체내동태에 관여하는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾. CYP3A효소군의 발현 및 활성 정도는 개인에 따라 차이가 큰 것으로 알려져 있는데, 이는 상기 기질약물들에 대한 약동학적 개인차를 유발하는 원인을 제공하기도 한다^{15,17)}. 또한 이 효소군은 간조직 뿐만아니라 위장관, 신장수집관, 및 담도계에도 다수 분포하고 있으며, 특히 소장상피세포에서는 개체간 다형적인 발현을 보여 CYP3A효소군 기질약물들의 경구투여 후 초회통과효과와 체내동태의 다양한 개인차를 유발하는 것으로 알려져 있다¹⁸⁻²²⁾. 더욱이 CYP3A효소군은 다른 다양한 약물 및 식이성분들에 의해서 발현이 유도되거나 대사활능이 억제되는 등 많은 요인들에 의해 대사활성에 영향을 받을 수 있으며, 기질약물에 대한 대사능 변화의 정도가 이 효소군의 활성억제 혹은 발현을 유도하는 약물의 병용투여를 시작하거나 중단하는 시점에서 임상적으로 유의하게 나타날 수 있게 된다.

이런 사실들을 고려할 때 감초성분을 복용하는 환자에서 CYP 효소군의 발현유도는 동시에 복용하고 있는 약물의 대사능 변화로 이어져, 약물농도가 유효농도이하로 감소되는 경우가 발생하여 약물치료 실패로 이어지거나, 감초 섭취의 중단 이후 대사능의 감소로 인한 약물농도의 상승으로 부작용이 유발될 수도 있을 것이다.

따라서 본 연구에서는 건강한 피험자를 대상으로 감초추출물을 일주일간 복용시킨 후 CYP3A 효소활성도의 표지약물인 midazolam의 약동학 및 약력학적 변화에 미치는 영향에 대해서 평가하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 한국인 정상성인 남자 10명(연령: 22.4

±0.5 세, 체중: 72.5±9.0 kg)을 대상으로 하였으며, 이들은 모두 시험 참여 전 실시된 이학적 검사, 심전도, 그리고 기본 혈액화학검사 및 뇨검사 등에서 모두 정상범위에 속하였다.

본 임상시험은 부산백병원 임상시험윤리심사위원회의 심의를 거친 후 시행하였으며, 연구 개시 전 연구자는 본 연구내용에 대해 피험자에게 충분히 설명을 하고 피험자로부터 동의를 득한 후 시험을 시작하였으며, 이때 피험자는 서면으로 동의하였다. 혈액 및 생화학적 임상검사들은 시험자 선별을 위한 연구 시작 때와 약물에 의한 이상반응을 관찰하기 위한 연구 종료 후 3일 째에 걸쳐 두 번 시행하였다.

2. 연구설계 및 방법

본 임상시험은 무작위배정 교차시험설계방법으로 단일맹검상태로 진행하였다. 즉 무작위 배정된 순서에 따라 하루 1gm 씩 2회(아침 및 저녁 식사 후)에 걸쳐서 감초추출물 또는 위약을 각 7일간 투여하고 8일째에 1회 midazolam 약동학연구를 시행하고 이후 2주간 휴약기를 가진 뒤 1차시기에 투여되지 않았던 감초추출물 또는 위약을 7일간 투여한 후 8일째 midazolam 약동학연구를 반복하여 시행하였다. 모든 피험자는 시험일을 기준으로 최소 2주일 전부터 임상시험 종료시까지 타약물 복용 및 약물대사능에 영향을 줄 수 있는 식이는 금지시켰다.

1) 시험약제

천연감초를 냉동건조수성추출법(freeze dried water extraction method ; extraction rate - 25%)으로 처리하여 얻어진 감초분말을 공캡슐에 포장하여 12시간 간격으로 2회(1회 500mg) 투약하여 하루 1gm 씩 7일간 복용하였으며, 이때 사용한 위약은 감초분말과 유사한 색을 띠는 녹말전분을 동일한 캡슐로 포장하여 사용하였다. CYP3A 효소군의 기질약물인 midazolam 약동학 연구를 위해 midazolam 7.5 mg

(도미컴정® Roche, Korea, Co.)을 사용하였다.

2) 연구계획

(1) 약동학 연구

Midazolam 약동학 연구 당일 모든 피험자는 오전 8시까지 시험장소에 도착하여 먼저 방광을 완전히 비우고 활력증후를 확인하였다. 이후 정맥도관을 전완부 정맥에 거치하고 대조혈액으로서 10ml를 채혈하였다. 채혈 후 도관은 PRN adaptor(Desert Co.)로 연결하여 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 생리식염수(1-2 ml)로 채웠다. 이후 midazolam 7.5 mg을 물 200 ml와 함께 복용 후 각 피험자에 대해 투약 후 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24시간째 각각 10 ml 씩 혈액을 취하였다. 뇨로 배설되는 midazolam 및 이의 대사산물을 측정하기 위해 뇨 시료를 투약 후 12시간까지, 12시간부터 24시간까지 2회로 나누어 수집하였다.

채취한 혈액은 heparin 처리된 tube에 넣고 4℃ 상에서 3,000 rpm (1,000G)의 속도로 15 분간 원심분리한 다음 혈장만을 취하고, 약물농도 분석시까지 -80℃에 냉동보관하였다. 채집된 뇨시료는 용적을 측정하고, 50 ml 를 취하여 분석시까지 -80℃에 냉동보관하였다.

(2) 약력학 연구

Midazolam의 경시적인 약력학적 변화를 관찰하기 위해 midazolam 투약 전과 후 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4시간에 정신운동수행평가인 digit span test (DST)와 digit-symbol substitution test (DSST)의 두가지 시험을 실시하였다. 매 시험마다 동일 관찰자에 의해서 평가하였으며 각 시험별 실시 protocol은 무작위 순서에 따라 정하였고, 시행 당일 피험자들에게 모두 같은 내용으로 실시하였다. 감초 또는 위약 투여 전에 피험자 모두에게 상기 평가방법을 똑같이 시행하여 midazolam 투약에 따른 약력학적 변화를 평가하기 위한 기준으로 사용하였다. 피험자의 상기

평가에 대한 시험당일의 학습효과를 배제하기 위하여 피험자 스크링 및 시험전날 각 2-3회 반복 평가를 실시하였다.

3) 농도분석

혈장과 뇨중의 midazolam 및 1-hydroxymidazolam의 농도는 고압액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography : HPLC)를 이용하여 측정하였으며, 이 때의 HPLC 시스템은 Gilson사의 307 pump, 7161 Rheodyne autoinjector, UV 검출기(Gilson 118) 및 Bondapak C18 (150 X 3.9 mm, Waters) 컬럼으로 구성하였다. 이동상(mobile phase)은 0.4M acetate buffer : methanol : acetonitrile (560 : 48 : 392 v/v)을 사용하였으며, 이때의 유속은 0.9 ml/min로 하고 UV 검출기의 파장은 245 nm에서 측정하였다.

혈장약물농도는 혈액에서 분리된 혈장 1 ml에 내부표준물질(Internal standard ; ketoconazole) 50 μ l을 첨가하고 가볍게 섞은 후 1M NaOH 용액 500 μ l와 chlorform : ethyl ether (3:1) 용액 6.5 ml을 이어서 첨가하고 2 분 동안 vortex mixer로 진탕하였다. 이후 2000 rpm 에서 10 분 동안 원심분리하여 유기층을 새 시험관에 옮겨 질소 가스하에서 말린 후 methanol에 다시 녹여 HPLC 시스템에 주입하였다²³⁾. 뇨중의 midazolam 및 1-hydroxymidazolam 농도측정을 위해서는 우선적으로 100 μ l 뇨와 50 mM sodium acetate(pH5.0) 900 μ l을 혼합한 용액에 β -glucuronidase 500 U을 첨가하고 18시간 동안 37°C 수조에서 반응처리시켰다. 이후 상기 검체를 상기 혈장약물농도 분석시와 같은 방법으로 처리한 후 HPLC에 적용하였다²³⁾. 이 방법을 이용하였을 때 측정 가능한 midazolam 및 1-hydroxymidazolam의 최소검출농도는 각각 3 및 1 ng/ml이었으며, 혈장검체에서 midazolam 및 1-hydroxymidazolam과 내부표준물질의 peak height 비로 혈장검체에서 얻어진 표준곡선은 2.5 ng/ml ~ 50 ng/ml에서 직선관계를 보였다. 뇨검체에서의 midazolam의 경우 0.1 ng/ml ~ 1

μ g/ml에서, 1-hydroxymidazolam의 경우 1.0 μ g/ml ~ 10 μ g/ml에서 직선관계를 보였다. 일일 변이계수는 midazolam 10 ng/ml 에서 9.9%, 50 ng/ml에서는 7.2%이었다.

4) 자료분석

(1) 약동학적 분석

Midazolam 및 1-hydroxymidazolam의 약동학적 특성은 약동학분석프로그램인 WinNonlin[®](Pharsight Co. V 2.1 standard ed.)을 이용하여 non-compartment 분석법으로부터 산출하였다. Midazolam의 소실속도상수(k)는 최소자승법에 의한 선형회귀분석으로부터 구했으며, 반감기는 0.693/k의 수식을 이용하였다. 농도곡선하면적(AUC)는 linear/log-linear trapezoidal법으로부터 산출하였으며, 총혈장청소율은 dose/AUC , 체내분포용적(Vd/F)은 $\frac{\text{Dose}}{k \times \text{AUC}}$ 수식으로부터 산출하였다. 최고혈장농도(Cmax)와 최고혈장농도에 이르는 시간(Tmax)은 시간농도곡선에서 관찰된 값을 채택하였다.

(2) 약력학적 분석

Midazolam의 경시적인 약력학 변화를 DST와 DSST을 실시하여 얻어진 점수를 이용하였다. DST의 경우 시험자가 2자리에서 최고 8자리까지의 숫자를 불러주었을 때 바로 따라하기와 거꾸로 따라하기를 1회씩 하는 것이고, DSST는 숫자와 기호의 여러 조합을 나열하여 놓고 아래에 무작위순으로 나열된 숫자에 조합기호를 써넣는 방식의 검사로, DST와 DSST를 완전히 해결했을 때의 점수는 각각 30점과 192점이다. 위약 혹은 감초 전처치 후 midazolam 투약시의 DST와 DSST의 변화치를 비교하였다.

(3) 통계적 분석

모든 결과들은 평균 $\pm$ 표준편차로 표기하였으며,

대상 환자들에서 위약투여시와 감초투여 시의 midazolam 및 1-hydroxymidazolam의 약동학적 파라미터값들의 차이는 비모수검정법인 Wilcoxon signed rank test를 이용하여 검정하였다. 약력학 자료로써 시간에 따른 경시적인 정신운동수행평가 변화치를 반복측정분산분석(repeated measures ANOVA)으로 비교분석하였다. 상기의 분석은 통계분석프로그램(SAS[®] V 6.12)를 이용하였고, $p < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의한 것으로 인정하였다.

연구 결과

10명의 피험자들 중 1 명(Subject I.D : L-09)은 시험 도중 타 약제의 복용으로 본 연구 결과분석에서 제외하였다. Midazolam 투약 후 midazolam 및 이의 주요 대사물인 1-hydroxymidazolam의 평균농도변화에서는 위약 및 감초 투여시기 간에 현저한 차이는 관찰되지 않았다(Fig 1.). 위약 또는 감초 투여에 따른 midazolam 의 농도변화 양상은 개개인에 따라 차이가 매우 컸다. 2 명의 피험자(L03, L05 피험자)는 감초투약에 상관없이 유사한 농도양상을 나타냈으며 2 명의 피험자(L01, L02 피험자)에서는

오히려 감초투약 후 midazolam의 농도가 증가되는 양상을 보였다. 반면 3명의 피험자에서는 감초의 대사효소유도 효과가 기대 되는 양상으로 위약 투여시와 비교해서 현저하게 midazolam의 농도가 감소하는 양상을 나타냈으며(L06, L07, L10 피험자), 나머지 2명의 피험자(L04, L08 피험자)에서도 일부 혈장 midazolam농도가 감소하는 경향을 보였다.

상기 농도결과로부터 산출된 midazolam의 약동학적 경수를 Table 1.에 요약하였다. 경구혈중청소율(CI/F/초) 및 그 혈장반감기는 위약투여시와 비교해 감초투여시 유의하게 증가하거나 감소하였다($p < 0.05$) (Fig 2.). 반면 약물농도곡선하면적(AUC)은 감초투여에 따라 다수의 피험자에서 감소하는 양상을 보이는 하였으나 통계적으로 유의한 감소는 보이지 않았다(Fig 3.). 이외의 혈장최고농도(Cmax), 최고농도에 도달하는 시간(Tmax), 체내분포용적(Vd/F) 등은 감초 전처치 후 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig 3.). 혈장 1-hydroxy midazolam의 혈장 AUC 및 뇨중 배설량 또한 위약과 감초투여 시기 간에 유의한 차이는 관찰할 수 없었다(Table 1).

Midazolam 7.5 mg을 경구 투여한 후 정신운동수행평가인 DST 및 DSST 값은 모두 midazolam을

Fig. 1. Plasma midazolam (A) and 1-hydroxymidazolam (B) concentration-time curves after single oral dose of 7.5mg midazolam in 9 healthy subjects who pretreated with licorice or placebo (1g per a day) for 7 days. Each bar indicates the S.D.

Fig. 2. Individual and mean($\pm$ S.D) of oral clearance (A), volume of distribution (B), and half-life (C) after the oral dosing of 7.5mg midazolam when pretreated with placebo or licorice (1g per a day) for 7days in 9 healthy subjects.

*indicate the statistical significance ($p < 0.05$) by Wilcoxon rank test.

Table 1. Pharmacokinetic parameters of midazoalm and 1-hydroxymidazolam after 7days pretreatment of placebo or licorice (1g per a day) in 9 healthy subjects

Parameters	Placebo (mean $\pm$ S.D.)	Licorice (mean $\pm$ S.D.)	<i>P</i> value
Midazolam			
Vd/F (L/kg)	3.35 $\pm$ 1.99	2.82 $\pm$ 1.76	N.S.
Cl/F (L/kg/h)	1.15 $\pm$ 0.50	1.59 $\pm$ 0.81	$p < 0.05^*$
$t_{1/2}$ (h)	2.07 $\pm$ 0.74	1.34 $\pm$ 0.60	$p < 0.05^*$
Tmax (h)	0.72 $\pm$ 0.36	0.72 $\pm$ 0.36	N.S.
Cmax (ng/ml)	41.08 $\pm$ 18.10	42.01 $\pm$ 24.30	N.S.
AUC (ng/ml/h)	102.13 $\pm$ 28.84	85.06 $\pm$ 48.56	N.S.
1-hydroxymidazolam			
AUC (ng/ml/h)	56.27 $\pm$ 15.18	55.46 $\pm$ 17.59	N.S.
Amount in urine(mg)	4.95 $\pm$ 0.97	4.39 $\pm$ 1.48	N.S.
Cl _{renal} (L/kg/h)*	1.3 $\pm$ 0.37	1.16 $\pm$ 0.49	N.S.
% of midazolam dose	65.95 $\pm$ 12.88	58.47 $\pm$ 19.71	N.S.

Abbreviations are N.S., statistically non-significant; Vd/F, volume of distribution; Cl/F, oral clearance; Cmax, peak plasma concentration; $t_{1/2}$, terminal half-life; AUC, area under the time-concentration curve; Cl_{renal}, renal clearance

* by Wilcoxon rank test

투여 전 기저치에 비해 현저한 감소를 보였다 (Fig 4. 및 5.). 그러나 이러한 변화는 위약과 감초 투여 시기 간에는 유의한 차이를 보이지 않았으며($P > 0.05$, repeated measures ANOVA), 단 midazolam 농도가

최고치에 도달하는 midazolam 투약 후 1시간에 감초 전처치가 위약 전처치 시기에 비해 midazolam에 의한 정신운동수행에서 감퇴정도가 다소 작게 나타났다으나 그 차이는 유의하지 않았다.

Fig. 3. Individual and mean($\pm$ SD) AUC of midazolam (A) and 1-hydroxymidazolam (B) after the oral dosing of a 7.5mg midazolam when pretreated with placebo or licorice (1g twice per a day) for 7 days in 9 healthy subjects.

Fig. 4. Mean Digit Span Test(DST) score (A) and Δ DST score corrected for baseline value (B) for 4 hours after the oral dose of 7.5mg midazolam in 9 healthy subjects who pretreated with placebo or licorice (1g per a day) for 7 days. Each bar indicates the S.D.

고 찰

본 연구에서 위약 투여시에 산출된 midazolam 및 1-hydroxymidazolam의 약동학적인 경수들은 건강한 정상인에서 기준에 보고된 자료들과 비교할 때 유사한 수치를 보였다²⁴⁾.

감초를 일주일간 지속 복용한 후 midazolam 혈장 청소율 및 반감기에서는 유의한 변화가 나타났으나 ($P < 0.05$), AUC와 C_{max} 등의 이외의 파라미터에서는 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 또한, CYP3A 효소균활성도의 지표라고 할 수 있는 1-hydroxymidazolam의 혈중 AUC와 뇨중 배설량은 위약 투

Fig. 5. Mean Digit Symbol Substitution Test(DSST) score **(A)** and Δ DSST score corrected for baseline value **(B)** for 4 hours after the oral dose of 7.5mg midazolam in 9 healthy subjects who pretreated with placebo or licorice (1g per a day) for 7 days. Each bars indicate the S.D.

여와 감초투여 간에 유의한 차이를 관찰 할 수 없었다. 이는 일부 midazolam의 약동학적 경수들이 감초투여에 따라 유의한 변화가 관찰되었다 할 지라도, 근본적으로 본 연구에서 기대하였던 감초성분에 노출에 따른 midazolam의 체내분포의 변화가 CYP3A효소군의 발현 증가 현상에 기인할 것이라는 사실에 대해서는 뒷받침할 수 없는 것으로 사료된다. 한편, 한 보고에서는 감초성분, 특히 glycyrrhizin에 노출된 쥐에서 체내 포합과정이 증대된다고 보고된 바 있으며, 이 이외에도 타 한방생약의 주 성분 중 flavonoid 성분들이 phase II 대사효소를 유도한다는 사실들을 보여준 바 있다²⁵⁾. 이러한 결과들을 고려할 때 본 연구에서 감초투여에 따라 CYP3A효소군의 유도에 의해 1-hydroxy 대사체의 생성이 증가하였다 하더라도, 이를 다시 중합대사를 통해서 노로 배설시키는 phase II 대사효소가 감초성분에 의해서 동일하게 유도된다면 위약 및 감초투여 시에 관찰되는 혈중 1-hydroxymidazolam의 약동학적 경수들에서 유의한 변화가 나타나지 않았을 가능성 또한 배제할 수 없을 것이다.

본 연구에서 9명 피험자 중에서 위약투여에 비해 감초투여 시에 midazolam의 생체이용율을 감소 또는 대사능 증가의 정도는 개체간에 현저한 차이를 보였다 (Fig 2. 와 3.). 이러한 개인차는 CYP3A 효소군 또는 phase II 대사의 발현 다양성과 더불어 체내에 유입되는 외부 투여물질에 의한 발현유도 및 활성억제 작용이 개인별 다양하게 나타나는 것에 기인할 것으로 추정된다. CYP3A효소군을 비롯한 약물대사효소의 대사능을 증대시키는 많은 연구들에서 약물대사 유도의 원인으로 전사(transcription)과정의 증대에 이어진 발현의 증가로 그 기전을 설명하고 있다. 그러나 각 유도물질에 대한 CYP3A효소군의 유도가 개체간 또는 종에 따라 다양하게 나타난다는 사실은 이러한 전사유도 과정이 각 유도물질에 따라서 상이한 경로를 매개로 이루어지기 때문인 것으로 사료된다^{26,27)}. 이러한 종에 따른 다양성은 CYP3A효소군의 발현 유도작용에 직접적으로 관여하는 것으로 알려진 pregnane X receptor (PXR)을 비롯한 여러 다양한 세포핵내 “orphan receptor”의 종에 따른 차이로 설명되고 있다²⁸⁾. CYP3A효소

군 발현의 다양성은 CYP3A 발현유도에 직접적으로 관여하는 PXR 발현의 유전적 다양성의 가능성 또한 배제할 수 없으며, 이것은 효소군의 유도과정에서 개체 중에 따른 차이를 유발할 수 있을 것으로 기대된다. PXR 이외에도 CAR(constitutive androstane receptor) 및 PPAR(peroxisome proliferator activated receptor) 등도 이들 대사효소군의 발현조절에 관여하는 것으로 보고되고 있다²⁹⁾. 이와같이 유전자 발현단계에서 유도과정의 다양성이 본 시험에서의 결과와 같이 동일한 양의 감초 및 기간에 노출된 피험자에서 각기 다양한 대사활성의 변화를 초래한 것으로 판단된다.

CYP3A효소군의 발현을 유도하는 대표적인 물질들로는 항간질제, 결핵 1차 선택제인 rifampin, glucocorticoid, macrolide계 항생제등의 다양한 치료약제들 이외에도 한약성분 항우울제인 St. John Wort 나 다양한 천연 flavonoid 성분들도 유도작용이 있는 것으로 알려져 있다³⁰⁻³¹⁾. Paolini 등^{13,14)}은 감초추출물과 이의 주요 성분인 glycyrrhizin을 투여한 백서를 대상으로 한 in vivo 실험에서 CYP 효소계의 양적 증가와 함께 CYP3A 효소군의 활성 증가를 확인한 바 있다. 이러한 발현유도 결과는 감초성분 중의 glycyrrhizin에 주요하게 매개되는 것으로 보고되었지만, 이외에도 여러 가지 flavonoid 성분들이 대사효소에 대한 유도작용에 있다는 기존의 보고들을 고려할 때 감초성분내의 이외의 flavonoid glycoside 들도 관여할 것으로 기대된다³²⁾. 반면 최근 한 in vitro 연구에서는 감초성분 중 항산화작용이 뛰어난 것으로 보고된 glabridin 이 시간 및 농도 의존적으로 CYP3A4 효소계에 대한 공유결합을 통해서 그 대사활성을 억제한다고 보고한 바 있다. 이는 앞서 감초의 다른 성분들에서 보고된 성격과는 반대로 CYP3A4 효소계를 불활성화시켜 약물대사작용에 대한 억제능을 발휘할 수 있다는 것을 제시하는 것이다^{33,34)}. 이렇듯 감초의 다양한 flavonoid 성분들의 CYP3A효소군의 활성에 대한 영향의 다양성

은 감초가 투여되는 형태 및 원산지에 따른 포함성분의 차이에 따라 다르게 나타날 것으로 추측된다. 본 시험에서도 명확하게 감초성분이 CYP3A효소군의 발현 및 대사유도작용에 기인하여 midazolam의 약동학적 변이에 관여한다는 증거를 확인하지 못한 이유로 감초성분의 CYP3A효소군 활성화에 대한 다양한 영향력의 관여가 하나의 이유가 될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서 추가적으로 고려해야 할 사항은 섭취된 감초의 흡수가능성에 대한 것이다. 본 시험에서 사용된 감초추출물은 물에 잘 용해되는 친수성분으로 추출되었다는 사실을 감안할 때, 체내 흡수가 용이하지 않았을 것으로 추측되고, CYP3A효소군 유도 또는 억제효과가 투여량에 비해 영향력이 적게 나타났을 가능성을 배제할 수 없다. 보다 고용량의 감초투여량이 고려된 시험에서는 명확한 결과를 도출할 수 있을 것이며, 따라서 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

연구결과에서 midazolam의 정신운동수행평가에 미치는 효과의 평가에서 투약 후 졸림현상에 기인하여 DST 및 DST score의 감소추세가 관찰되었으나, 위약과 감초 투여시기 간에 차이는 보이지 않았다. 이것은 감초 전처치에 따른 midazolam의 약동학적 변화가 크게 나타나지 않았고, 일부 농도의 차이는 midazolam의 약력학적 효과 즉 수면효과의 차이를 만들 수 있는 정도는 아니었던 것으로 판단된다. 즉, 위약 투여시에 비해 감초 투여시의 midazolam의 약동학적 변화가 미미하여 약력학적 차이로 이어지지 않은 것이다. 더불어 정신운동수행평가 방법인 DST 및 DSST가 학습효과나 피험자의 학습의지가 수행결과에 영향을 많이 가지므로 midazolam의 약력학적 평가에 있어 충분히 민감하지 못한 방법일 수 있다는 사실도 유의한 결과를 얻지 못한 인자라고 판단된다³⁵⁾.

결론적으로 인체에서 감초수성추출물을 병용투여하였을 때 midazolam의 체내동태에 영향을 줄 수

있을 것으로 사료되나, 그 정도는 개체간 차이가 매우 큰 것으로 나타났다. 본 연구결과상 상호작용의 기전은 CYP3A 효소군의 유도에 기인한다는 명확한 근거는 확보하지 못했으며, 단 감초의 다양한 flavonoid 성분의 의한 midazolam의 체내동태에 관여하는 약물대사효소군 및 약물수송체에 따른 복합적인 작용에 기인한 것으로 생각되며, 향후 특정 기전을 규명하기 위한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Dehpour AR, Zolfaghari ME, Samadian T, Vahedi Y. *The protective effect of liquorice components and their derivatives against gastric ulcer induced by aspirin in rats. J Pharm Pharmacol* 1994;46:148-149
- Shiratori K, Watanabe S, Takeuchi T. *Effect of licorice extract (Fm100) on release of secretin and exocrine pancreatic secretion in humans. Pancreas* 1986;1:483-487
- Francischetti IM, Monteiro RQ, Guimaraes JA, Francischetti B. *Identification of glycyrrhizin as a thrombin inhibitor. Biochem Biophys Res Commun* 1997;235:259-263
- Yokota T, Nishio H, Kubota Y, Mizoguchi M. *The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. Pigment Cell Res* 1998;11:355-361
- Sato H, Goto W, Yamamura J, Kurokawa M, Kageyama S, Takahara T, et al. *Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B. Antiviral Res* 1996;30:171-177
- Zhang YH, Yoshida T, Isobe K, Rahman SM, Nagase F, Ding L, et al. *Modulation by glycyrrhizin of the cell-surface expression of H-2 class I antigens on murine tumour cell lines and normal cell populations. Immunology* 1990;70:405-410
- Mantero F, Palermo M, Petrelli MD, Tedde R, Stewart PM, Shackleton CH. *Apparent mineralocorticoid excess: type I and type II. Steroids* 1996 ;61:193-196
- Heikens J, Fliers E, Endert E, Ackermans M, van Montfrans G. *Liquorice-induced hypertension—a new understanding of an old disease: case report and brief review. Neth J Med* 1995;47:230-234
- Saito T, Tsuboi Y, Fujisawa G, Sakuma N, Honda K, Okada K, et al. *An autopsy case of licorice-induced hypokalemic rhabdomyolysis associated with acute renal failure: special reference to profound calcium deposition in skeletal and cardiac muscle. Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1994;36:1308-1314
- Seelen MA, de Meijer PH, Braun J, Swinkels LM, Waanders H, Meinders AE, et al. *Hypertension caused by licorice consumption. Ned Tijdschr Geneeskde* 1996;140:2632-2635
- Mirsalis JC, Hamilton CM, Schindler JE, Green CE, Dabbs JE. *Effects of soya bean flakes and liquorice root extract on enzyme induction and toxicity in B6C3F1 mice. Food Chem Toxicol* 1993;31:343-350
- Wattenberg LW. *Chemoprevention of cancer. Cancer Res* 1985;45:1-8
- Paolini M, Barillari J, Broccoli M, Pozzetti L, Perocco P, Cantelli-Forti G. *Effect of liquorice and glycyrrhizin on rat liver carcinogen metabolizing enzymes. Cancer Lett* 1999;145:35-42
- Paolini M, Pozzetti L, Sapone A, Cantelli-Forti G. *Effect of licorice and glycyrrhizin on murine liver CYP-dependent monooxygenases. Life Sci* 1998;62:571-582
- Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. *Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. J Pharmacol Exp Ther* 1994;270:414-423
- Von Moltke LL, Greenblatt DJ, Schmider J,

- Harmatz JS, Shader RI. *Metabolism of drugs by cytochrome P450 3A isoforms. Implications for drug interactions in psychopharmacology.* *Clin Pharmacokinet* 1995;291:33-43
17. Guengerich FP. *Human cytochrome P450 enzymes. In cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry, ed. PR Ortiz de Montellano, New York: Plenum pp 473-535*
18. Kolars JC, Lown KS, Schmiedlin-Ren P, Ghosh M, Fang C, Wrighton SA, et al. *CYP3A gene expression in human gut epithelium. Pharmacogenetics* 1994;4:247-259
19. McKinnon RA, Burgess WM, Hall PM, Roberts-Thomson SJ, Gonzalez FJ, McManus ME. *Characterisation of CYP3A gene subfamily expression in human gastrointestinal tissues. Gut* 1995;36:259-267
20. Schuetz EG, Schuetz JD, Grogan WM, Naray-Fejes-Toth A, Fejes-Toth G, Raucy J, et al. *Coexpression of cytochrome P450 3A in amphibian, rat, and human kidney. Arch Biochem Biophys* 1992;294:206-214
21. Haehner BD, Gorski JC, Vandenbranden M, Wrighton SA, Janardan SK, Watkins PB, Hall SD. *Bimodal distribution of renal cytochrome P450 3A activity in humans. Mol Pharmacol* 1996;50:52-59
22. Hebert MF, Roberts JP, Prueksaritanont T, Benet LZ. *Bioavailability of cyclosporine with concomitant rifampin administration is markedly less than predicted by hepatic enzyme induction. Clin Pharmacol Ther* 1992;52:453-457
23. Carrillo JA, Ramos SI, Agundez JA, Martinez C, Benitez J. *Analysis of midazolam and metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography: probe of CYP3A. Ther Drug Monit* 1998;20:319-324
24. Thummel KE, O'Shea D, Paine MF, Shen DD, Kunze KL, Perkins JD, et al. *Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism. Clin Pharmacol Ther* 1996;59:491-502
25. Moon A, Kim SH. *Effect of Glycyrrhiza glabra roots and glycyrrhizin on the glucuronidation in rats. Planta Med.* 1997 ;63:115-9
26. Barwick JL, Quattrochi LC, Mills AS, Potenza C, Tukey RH, Guzelian PS. *Trans-species gene transfer for analysis of glucocorticoid-inducible transcriptional activation of transiently expressed human CYP3A4 and rabbit CYP3A6 in primary cultures of adult rat and rabbit hepatocytes. Mol Pharmacol.* 1996;50:10-16
27. Huss JM, Wang SI, Astrom A, McQuiddy P, Kasper CB. *Dexamethasone responsiveness of a major glucocorticoid-inducible CYP3A gene is mediated by elements unrelated to a glucocorticoid receptor binding motif. Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:4666-4670
28. Waxman DJ. *P450 gene induction by structurally diverse xenochemicals: central role of nuclear receptors CAR, PXR, and PPAR. Arch Biochem Biophys* 1999;369:11-23
29. Roby CA, Anderson GD, Kantor E, Dryer DA, Burstein AH. *St John's Wort: effect on CYP-3A4 activity. Clin Pharmacol Ther* 2000;67:451-457
30. Maurel P. 1996. *The CYP3 Family. In Cytochromes P450: Metabolic and Toxicological Aspects, ed. C Ioannides, Boca Raton, FL, CRC. p. 241-270*
31. Shou M, Grogan J, Mancewicz JA, Krausz KW, Gonzalez FJ, Gelboin HV, et al. *Activation of CYP3A4: evidence for the simultaneous binding of two substrates in a cytochrome P450 active site. Biochemistry* 1994;33:6450-6455
32. Guengerich FP, Shimada T, Yun CH, Yamazaki H, Raney KD, Thier R, et al. *Interactions of ingested food, beverage, and tobacco components involving human cytochrome P4501A2, 2A6, 2E1, and 3A4 enzymes. Environ Health Perspect* 1994;102:49-53

33. Kent UM, Aviram M, Rosenblat M, Hollenberg PF. *The licorice root derived isoflavan glabridin inhibits the activities of human cytochrome P450S 3A4, 2B6, and 2C9. Drug Metab Dispos.* 2002;30:709-15
34. Zhou S, Koh HL, Gao Y, Gong ZY, Lee EJ. *Herbal bioactivation: the good, the bad and the ugly. Life Sci.* 2004;74:935-68
35. Koelega HS. *Alcohol and vigilance performance: a review. Psychopharmacology* 1995;118:233-49