

흰쥐의 혈중 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량에 미치는 Clotrimazole의 영향에 관한 연구

김 성 오 · 이 명 렬*

동신전문대학 환경위생과 · *조선대학교 자연과학대학 식품영양과

Influences of Clotrimazole on the Blood Cholesterol and HDL-Cholesterol level in Rats

Sung-Oh Kim · Myong-Ryeol Lee*

Department of Environment and Hygiene, Dongshin Junior College, Kwangju, Korea

* Department of Food and Nutrition, Chosun University, Kwangju, Korea

Abstract

Influences of clotrimazole on the blood cholesterol and HDL-cholesterol level were studied in rats. Rats were provided food and water *ad libitum* and clotrimazole and methylcellulose were gavaged for 6 days. Clotrimazole was suspended in 1% methylcellulose solution as and administered at concentration 20mg/Kg, 40mg/Kg, 60mg/Kg. Body weight gain and liver weight/body weight ratio, serum cholesterol level, serum HDL-cholesterol level, serum triglyceride level, the activity of cytochrome P450 and erythromycin demethylase were determined at 6th day. Clotrimazole decreased the body weight gain a little as compared with control group and did not show any influence on liver weight/body weight ratio. Clotrimazole increased the serum HDL-cholesterol and serum triglyceride level significantly. Clotrimazole increased the microsomal cytochrome P450 significantly and increased the erythromycin demethylase (cytochrome P450 IIIA) significantly too. It might be concluded that clotrimazole showed a little influence on body weight and increased the serum lipid, especially HDL-cholesterol level. It also increased microsomal cytochrome P450 IIIA significantly. It might be concluded that clotrimazole showed a corelative influence between HDL-cholesterol and cytochrome P450 IIIA.

In these reuslts clotrimazole can be used as an anti-atherosclerotic agent by increasing the HDL-cholesterol but it is necessary that cloreimazole will show any adverse or side action on body or not.

I. 서론

clotrimazole(1-(4-chlorophenyl)imidazole)은 분자내에 imidazole핵을 가지고 있는 항균제로 진균의 세포막에 작용하여 항균작용을 한다. clotrimazole은 주로 *Epidermophyton*속과 *Microsporium*속, *Trichophyton*속, *Aspergillus*속, *Candida*속 등의 미생물에 효과적인 방부효과가 있다.¹⁾ clotrimazole은 위장관에서 쉽게 흡수되고 간에서 대사된 후 대변이나 뇨로 배설된다.²⁻⁵⁾ 한편 clotrimazole은 간세포내의 mixed function oxidases(MFOs)의 하나인 cytochrome P450 IIIA의 기능을 항진시키는 대표적인 물질로 알려져 있다.⁶⁾

최근에 밝혀진 흥미있는 사실로 간질 질환 치료제인 phenytoin을 장기간 투여한 환자에게서는 관상동맥질환으로 사망하는 비율이 매우 낮은 것으로 알려졌는데⁷⁻¹⁰⁾ 그 이유는 phenytoin이 혈중의 high density lipoprotein(HDL)-콜레스테롤의 값을 향상시키고 상대적으로 low density lipoprotein(LDL)-콜레스테롤값을 감소시켜 관상동맥질환의 발생을 감소시키기 때문이다.¹¹⁾ 한편 Luoma¹²⁾는 간세포내의 마이크로솜내에서 약물대사에 관여하는 cytochrome P450 IIIA와 HDL-콜레스테롤함량이 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. 즉 cytochrome P450 IIIA를 항진시키는 물질은 HDL-콜레스테롤을 증가시키고 따라서 관상동맥질환의 발생을 줄일 수 있음을 보고하였다.

일반적으로 콜레스테롤은 고혈압이나 관상동맥질환의 원인이 되어 건강에 장애의 요인으로 알려져 있으나 실제로 혈중의 HDL-콜레스테롤은 인체에 매우 유익한 콜레스테롤로 작용하여 상기 질환의 발생을 오히려 억제하여 준다. 따라서 혈중 콜레스테롤의 분포는 혈관질환의 발생과 유관하다고 할 수 있다. 즉 HDL-콜레스테롤의 함량이 높아지면 관상동맥질환의 발생이 억제된다. 이 사실은 간질환자 치료목적으로 간질치료제인 phenytoin을 장기간 투여한 환자에게서 임상적으로 관상동맥질환의 발생이 현저히 감소된다는 임상결과를 의으로 추적 연구하여 밝혀지게 되었다.^{7,8)} 즉 phenytoin이 혈중의 HDL-콜레스테롤값을 향상시키고 상대적으로 LDL-콜레스테롤값을 감소시켜 관상동맥의 죽상화를 억제하여 관상동맥질환의 발생을 막아주었기 때문이었다.¹³⁾

대발작의 치료제로 쓰이는 phenytoin은 분자 구조내에 imidazolone 핵을 가지고 있는 물질로서 간세포내의 cytochrome P450 IIIA의 기능을 항진시키는 것으로 알려져

있다. 또한 이와 비슷한 구조를 가지고 있는 clotrimazole(imidazole핵을 가지고 있음)도 cytochrome P450 IIIA의 기능을 항진시킴을 고려할 때 clotrimazole도 phenytoin과 유사하게 혈중의 HDL-콜레스테롤의 함량에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다.

따라서 본 연구자는 clotrimazole이 혈중의 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량에 미치는 영향을 검토하고 나아가 이 작용과 cytochrome P450 IIIA효소의 기능과의 상관관계를 검토하고 나아가 간 세포내의 단백질 합성과의 관계를 검토하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

체중 160~180g 정도의 건강된 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 조선대학교 실험동물센터에서 구입한 후 본 대학 동물 사육실에서 12시간 주기의 light cycle하에서 사육하며 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 시약

clotrimazole(Sigma Chemical Co.), Na⁺K⁺ 인산완충액 (pH 7.4), cholesterol-Vkit (영동제약주식회사), HDL-cholesterol kit(영동제약주식회사), triglyceride-V kit(영동제약주식회사), T-protein kit(영동제약주식회사), erythromycin(Sigma Chemical co.), trichloroacetic acid(동양과학), acetylacetone(Sigma Chemical Co.), NADPH (Sigma Chemical Co.)

3. 약물투여

흰쥐를 1군에 6마리씩 4개 군으로 나누어 약물을 투여하였다. 모든 흰쥐는 물과 사료를 자유로이 섭취하게 하였다. clotrimazole투여는 김¹⁴⁾의 방법과 동일하게 투여하였다. clotrimazole을 가늘 분말로 분쇄하여 1% methylcellulose 현탁액에 현탁시켜 그 농도가 20mg/ml, 40mg/ml, 60mg/ml 되게 조제하여 흰쥐 체중 100g당 0.1ml용량으로 투여하였다. 이렇게 투여하여 clotrimazole 투여량이 clotrimazole 20mg/kg, 40mg/kg, 60mg/kg이 되도록 용량을 조절하였다. 흰쥐에 clotrimazole 20mg/kg, 40mg/kg, 60mg/kg을 6일간 연속적으로 gavage하여 경구투여 하였으며 마지막으로 clotrimazole을 투여한 후 15시간 동안 사료를 주지않고 절식시킨 후에 쥐를 희생시켜 실험하였다.

4. 마이크로솜액 조제

마지막으로 clotrimazole을 경구투여한 후 15시간 후 밀폐된 유리병에 흰쥐를 넣고 CO₂를 55psi의 압력으로 주입하여 쥐의 눈동자를 살피 투명해지면 마취가 완료됨을 나타냄으로 쥐를 꺼내고 이어서 철막대로 쥐의 목뼈를 누르고 꼬리를 잡아당겨 척추의 기능을 상실케 한 후 심장으로부터 혈액 3ml정도를 채취한 후 즉시 개봉하여 간을 절제하여 4°C의 1.15% KCl용액에 담가 세척한 후 간의 외의 조직을 제거하였다. 이어 약 4g 정도의 간을 절제하여 정확히 무게를 달아 4°C를 유지한 인산완충액을 가해 25% W/V homogenate액을 만들고 4°C를 유지하면서 Polytron homogenizer로 균질화하였다. 이 균질액을 4°C에서 10,000g (11,500rpm)로 20분간 원심분리한 후 상등액 3ml를 초원심분리용 시험관에 정확히 취하고 다시 4°C에서 100,000g (40,000rpm)로 60분간 Beckmann 초원심분리기로 원심분리 하였다. 원심분리 후 상등액을 버리고 남은 pellet에 4°C의 인산완충액 8ml를 가하고 pellet를 가늘게 쪼은 후 냉장고에서 4°C를 유지한 상태에서 약 1시간 이상 흔들여 마이크로솜액을 얻었다. 한편 demethylase 활성 측정을 위한 마이크로솜액은 상기 방법에서 인산완충액 대신에 1.0mM erythromycin 인산완충액을 가한 후 같은 방법으로 균질화 한 후 같은 방법으로 마이크로솜액 (ERM-마이크로솜액)을 조제하였다.

5. Cytochrome P450 측정

앞에서 조제한 마이크로솜액으로부터 Omura¹²⁾ 등의 방법에 따라 cytochrome P450을 측정하였다. 요약하면 마이크로솜액 약 2.5ml를 두개의 cuvette에 각각 취하고 하나의 cuvette에 CO 가스를 거품이 일 정도로 약 20초간 주입하였다. 두개의 cuvette 모두에 약간의 sodium hydrosulfite 분말을 가한 후 잘 흔들 다음 다시 처음의 cuvette에 CO 가스를 20초간 주입하였다. 이어 CO 가스를 주입하지 않은 cuvette를 대조액으로 하여 CO 가스를 주입한 cuvette의 흡광도를 파장 420nm, 450nm, 480nm에서 측정하고 다음의 계산식에 의해 cytochrome P450의 양을 얻었다.

$$\mu\text{mol cytochrome P450} = \frac{\text{mg protein} \times (450\text{nm 흡광도} - 480\text{nm 흡광도}) \times 1,000}{91 \times \text{protein 농도}}$$

6. Erythromycin Demethylase 활성 측정

앞에서 조제한 마이크로솜액으로부터 Nash¹³⁾방법으로 formaldehyde을 측정하여 erythromycin demethylase인 cytochrome P450 IIIA1를 측정하였다. 요약하면 마이크로솜액과 ERM-마이크로솜액을 각각 2,020μl을 갈색병에 취한다. 여기에 40mM NADPH액 60μl을 넣고 수욕상에서 37°C를 유지하며 진탕하면서 15분간 부란하고 즉시 25% trichloroacetic acid액 1,000ml를 가한 후 진탕한다. 이어 11,500rpm에서 원심분리한 후 상등액 2,400μl를 시험관에 취하고 여기에 Nash시액(22.5g ammonium acetate + 0.3ml acetylacetone + 0.45ml acetic acid qs to 50ml) 1,200μl을 넣고 37°C에서 60분간 부란하여 발색시킨다. 이어 마이크로솜액을 대조액으로 하여 ERM-마이크로솜액의 흡광도를 파장 412nm에서의 측정하여 같은 방법으로 formaldehyde로 작성한 검량선으로부터 erythromycin demethylase활성을 측정하였다.

7. 콜레스테롤 측정

흰쥐를 마취한 후 채취한 혈액을 약 30분 정도 정치한 후 가는 나무막대로 섬유소 등을 제거한 후 3,000rpm에서 10분간 원심분리하였다. 이로부터 혈청을 채취한 후 -44°C에 냉동 보관한 후 다음날 혈중 콜레스테롤 함량을 효소법¹⁴⁾에 의해 콜레스테라임-브이 측정용 키트를 이용하여 혈중 콜레스테롤 함량을 얻었다. 즉 검체와 표준액, 증류수를 각각 20μl을 취하고 여기에 효소시액 3.0ml를 가하고 잘 혼합한 후 37°C 온수조에서 5분간 가온한 후 증류수를 대조로 하여 500nm의 파장에서 흡광도를 측정하고 검량선으로부터 콜레스테롤의 함량을 얻었다.

8. HDL-콜레스테롤의 측정

상기 6항에서 얻은 혈청으로부터 HDL-콜레스테롤을 Warrick 등¹⁵⁾의 방법으로 TDx 분석기(Abbott Laboratories, USA)로 측정하였다. 요약하면 TDx용 원심분리용 시험관에 HDL preagent 40μl을 넣고 여기에 혈청 400μl을 각각 넣고 마개를 한 후 2-3초간 진탕한 후 2분간 원심분리한다. 상등액과 HDL-콜레스테롤 함유 표준시액을 각각 90μl씩 샘플 cartridge에 취하고 이것을 carousel에 장치하고 TDx 분석기로 HDL-콜레스테롤의 양을 측정하였다.

9. 중성지방(Triglyceride)측정

상기 6항에서 얻은 혈청으로부터 혈중 중성지방의 양을 GPO효소법¹⁶⁾에 의해 트리글리사임-브이 측정용 키트를 이용하여 혈중 중성지방 함량을 얻었다. 즉 검체와 표

준액, 증류수를 각각 20 μ l을 취하고 여기에 효소시액 3.0ml을 가하고 잘 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C 온수조에서 5분간 가온한 후 60분 이내에 증류수를 대조로하여 505nm의 파장에서 흡광도를 측정하고 검량선으로부터 증성지방의 함량을 얻었다.

본 실험 결과는 통계프로그램인 CATS(Computer aided teaching for statistics, ver. 1.2)로 t값을 얻어 유의성을 검증하였다.

III. 결 과

1. 체중증가와 간장대체중비에 대한 clotrimazole의 영향

clotrimazole을 20mg/kg, 40mg/kg, 60mg/kg을 6일 동안 투여한 후 체중증가와 간장에 대한 영향을 검토한 결과가 Table 1과 Fig. 1에 나타나 있다.

methylcellulose만을 투여한 대조군의 6일 동안의 체중증가가 42.1 \pm 3.03g이었고 clotrimazole을 투여한 A군과 B군, C군에서의 6일 동안의 체중 증가가 37.4 \pm 3.93g, 35.9 \pm 3.76g, 33.9 \pm 3.26g이었다. 대조군에 비해 통계학적인 유의성은 없었으나 감소한 것으로 나타났다. 그러나 체중 감소의 폭이 dose-response의 관계가 성립하는 정도로 감소되지는 않았다.

Table 1. Changes of Body weight gain and Liverweight/Body weight ratio of Rats administered clotrimazole for 6 days by gavage.

Group*	Treatment** (gavage for 6 days)	Body weight gain(gram)	Liverw./Body w. (%)
control (6)	1% Methylcellulose	42.1 \pm 3.03	3.78 \pm 0.19
A (6)	clotrimazole 20mg/kg	37.4 \pm 3.93	3.81 \pm 0.17
B (6)	clotrimazole 40mg/kg	35.9 \pm 3.76	3.61 \pm 0.16
C (6)	clotrimazole 60mg/kg	33.9 \pm 3.26	3.77 \pm 0.18

* : All groups were provided food and water *ad libitum* and the number in parenthesis is the No. of rats.

** : Clotrimazole were thoroughly suspended in 1% methylcellulose solution and were gavaged once a day for 6 days.

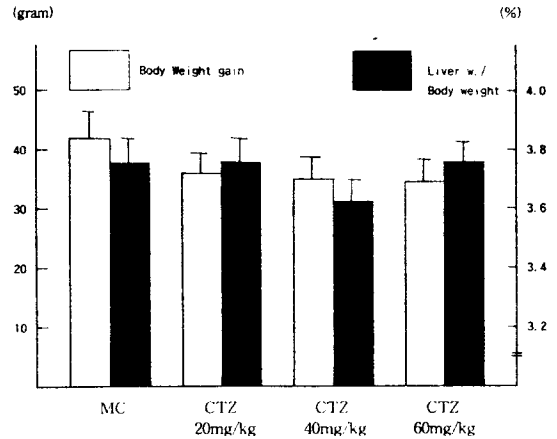


Fig 1. Bar graph Changes of Body weight gain and Liverweight/Body weight ratio administered Methylcellulose and Clotrimazole(TZ) for 6 day by Gavage.

따라서 흰쥐의 체중에 대한 clotrimazole의 작용은 미미하나 감소시키는 것으로 해석된다.

한편 간장대 체중비에 대한 영향은 대조군과 clotrimazole을 투여한 실험군간에 유의성의 차이가 없었다. 대조군의 간장대 체중비가 3.78 \pm 0.19이었는데 반해 clotrimazole을 투여한 실험군에서는 3.81 \pm 0.17, 3.61 \pm 0.16, 3.77 \pm 0.18을 나타내어 대조군과 별 차이를 나타내지 않았다. 이는 clotrimazole이 흰쥐의 간장에 직접적인 영향을 크게 나타내지 않음을 뜻한다고 볼 수 있다.

2. 혈청 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤과 혈청 증성지방함량에 대한 clotrimazole의 영향

clotrimazole을 20mg/kg, 40mg/kg, 60mg/kg을 6일동안 투여한 후 혈청 콜레스테롤 및 혈청HDL-콜레스테롤과 증성지방 함량에 대한 영향을 검토한 결과가 Table 2와 Fig. 2에 나타나 있다.

clotrimazole을 투여한 A군과 B군, C군에서의 흰쥐의 혈청 콜레스테롤의 양은 각각 152.3 \pm 13.8, 149.2 \pm 15.3, 147.8 \pm 14.0mg/dl로 대조군의 140.8 \pm 14.1mg/dl에 비해 약간 증가하였다. 그러나 통계학적인 유의성은 없었다. 반면 혈청 HDL-콜레스테롤의 양은 각각 53.2 \pm 5.32, 57.9 \pm 5.92, 61.4 \pm 5.00mg/dl로 대조군의 43.3 \pm 4.93mg/dl에 비해 통계학적으로 유의성이 있게 증가하였다. 본 실험의 결과는 clotrimazole이 혈청 콜레스테롤의 총량에는 별다른 영향은

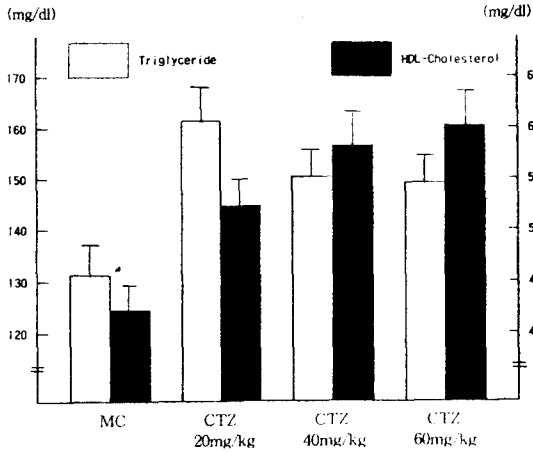


Fig 2. Bar graph Changes of Serum Triglyceride and serum HDL-Cholesterol concentration in rats administered Methylcellulose and Clotrimazole(CTZ) for 6 day by Gavage.

없으나 혈중 콜레스테롤의 구성에는 영향을 나타내는 것으로 볼 수 있다. 즉 혈중 콜레스테롤의 구성하는 성분에서 HDL-콜레스테롤의 비율이 상대적으로 높다는 것을 의미한다.

한편 혈청 중성지방인 triglyceride에 미치는 영향을 보면 clotrimazole을 투여한 A군과 B군, C군에서 각각 160.3±17.3, 150.3±14.3, 149.7±16.7mg/dl로 대조군의 131.4±15.6mg/dl에 비해 유의성의 증가를 보였다. 이는 clotrimazole이 혈중 중성지방의 유리를 촉진하는 것으로 해석할 수 있다. 그러나 본 실험에서 지방조직의 지방 및 간조직의 지방을 동시에 측정하지 않았고 또한 혈중 포도당과의 관계를 검토하지 않아서 이에 대한 해석은 보다 자세한 연구가 필요하다고 사료된다.

Table 3. Effect of Clotrimazole on the Activities of Cytochrome P450 and Erythromycin demethylase in Rats administered Clotrimazole for 6 days by gavage.

Group ^a	Treatment ^b (gavage for 6 days)	Cytochrome P450 (Cytochrome P450 IIIA (Erythromycin demethylase))
control(6)	Methylcellulose	0.843±0.101
A (6)	clotrimazole 20mg/kg	0.914±0.098
B (6)	clotrimazole 40mg/kg	0.956±0.115*
C (6)	clotrimazole 60mg/kg	0.968±0.101*

Cytochrome P450: $\mu\text{mol cytochrome P450/mg protein}$

Erythromycin demethylase: $\mu\text{mol formaldehyde/mg protein/min}$

* : p < 0.05

** : p < 0.01

^a : All groups were provided food and water *ad libitum* and the number in parenthesis is the No. of rats.

^b : clotrimazole was thoroughly suspended in 1% methylcellulose solution and were gavaged once a day for 6 days.

3. 마이크로솜 cytochrome P450과 cytochrome P450 IIIA(erythromycin demethylase)활성에 대한 clotrimazole의 영향

clotrimazole을 20mg/kg, 40mg/kg, 60mg/kg을 6일 동안 투여한 후 간세포내의 마이크로솜 cytochrome P450 및 cytochrome P450III A의 함량을 측정된 결과가 Table 3와 Fig. 3에 나타나 있다.

clotrimazole을 투여한 A군과 B군, C군에서의 간세포의 마이크로솜의 cytochrome P450의 양은 각각 0.914±0.098, 0.956±0.115, 0.968±0.101 $\mu\text{mol cytochrome P450/mg protein}$ 이었으며 반면 대조군은 0.843±0.101 $\mu\text{mol cytochrome}$

Table 2. Effects of Clotrimazole on the Serum Cholesterol, HDL-Cholesterol level and Triglyceride level in Rats administered Clotrimazole for 6 days by gavage.

Group ^a	Treatment ^b (gavage for 6 days)	Cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
control(6)	Methylcellulose	140.8±14.1	43.3±4.93	131.4±15.6
A (6)	clotrimazole 20mg/kg	152.3±13.8	53.2±5.32*	160.3±17.3*
B (6)	clotrimazole 40mg/kg	149.2±15.3	57.9±5.92**	150.3±14.3*
C (6)	clotrimazole 60mg/kg	147.8±14.0	61.4±5.09**	149.7±16.7

* : p < 0.05 ** : p < 0.01

^a : All groups were provided food and water *ad libitum* and the number in parenthesis is the No. of rats.

^b : clotrimazole was thoroughly suspended in 1% methylcellulose solution and were gavaged once a day for 6 days.

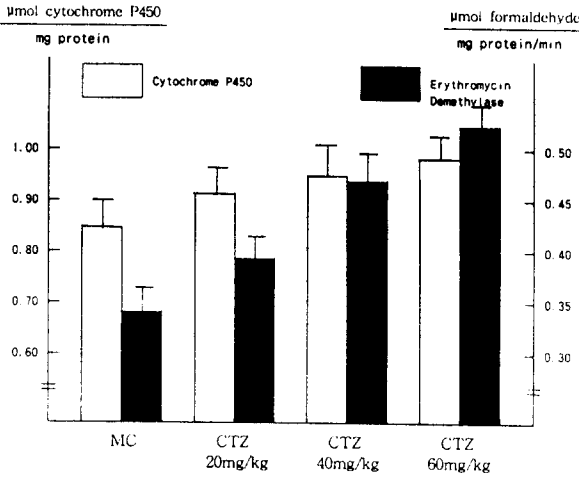


Fig. 3 Bar graph Changes of Microsomal Cytochrome P450 and Activity of Erythromycin Demethylase in rats administered Methylcellulose and Clotrimazole (CTZ) for 6 days by Gavage.

P450/mg protein 이었다. 이는 clotrimazole이 마이크로솜의 cytochrome P450의 활성을 증가시키는 것을 의미한다. 또한 clotrimazole의 투여량의 증가에 따라 cytochrome P450의 활성이 dose-response의 관계를 보이므로 clotrimazole이 간세포내의 효소의 활성을 증가하는 작용이 있음을 나타낸다.

한편 마이크로솜의 cytochrome P450 IIIA에 미치는 영향을 보면 clotrimazole을 투여한 A군과 B군, C군에서 각각 0.388 ± 0.055 , 0.0471 ± 0.066 , 0.524 ± 0.066 μmol formaldehyde/mg protein/min을 나타냈으며 반면 대조군은 0.340 ± 0.049 μmol formaldehyde/mg protein/min을 나타냈다. 이 결과는 clotrimazole이 간세포 마이크로솜의 cytochrome P450 IIIA의 활성을 증가시키는 작용이 있음을 뜻한다.

IV. 고 찰

clotrimazole imidazole핵을 가지고 있는 항균제로 주로 외과용을 많이 사용되는 약물로서 진균의 세포막에 작용하여 주로 *Epidermophyton*속과 *Microsporum*속, *Trichophyton*속, *Aspergillus*속, *Candida*속 등의 미생물에 대해 항균작용을 한다.¹⁾ clotrimazole은 위장관에서 쉽게 흡수되고 간에서 대사된 후 대변이나 뇨로 배설된다.^{4, 5)} 한편 clotrimazole은 간세포내의 mixed function oxydases(MFOs)의 하나인

cytochrome P450 IIIA의 기능을 향진시키는 대표적인 물질로 알려져 있다.⁶⁾

간세포내의 약물대사에 관여하는 효소 중 중요한 역할을 하는 것으로 cytochrome P450이 있는데 통상 cytochrome P450은 간세포에서 스테로이드, 담즙산, 지방산, prostaglandin, leukotrienes과 biogenic amine의 산화대사에 중요한 역할을 하고 또한 약물, 환경오염물질, 몇몇 천연 식물성분과 알콜 등의 대사에도 중요한 역할을 한다. 이에 대한 개념이 1986년 이후로 cytochrome P450의 subfamily가 있음이 알려져 변화하게 되었다. 현재로는 Daniel 등¹⁷⁾에 의해 수십종의 subfamily가 알려졌지만 가장 보편적인 것은 CYP IA, IIB, IIC, IID, IIE, IIIA 등이며 있다. 특히 이를 향진시키는 물질과 억제하는 물질들이 알려지면서 이들과 다른 약물과의 상관성 및 약물의 대사에 관한 연구를 많이 진행하고 있다.^{18, 19)} cytochrome P450 subfamily에 향진적으로 작용하는 약물을 보면 β -Naphthoflvon(CYP IA), Phenobarbital(CYP IIB/C), Isoniazid(CYP IIE1), Clofibrate(CYP IVA), Acetaminophen(CYP IIE), Clotrimazole(CYP IIIA)이 있으며 억제하는 약물로는 α -Naphthoflvon(CYP IA), Orphenadrine (CYP IIB/C), Diallyl sulfide(CYP IIE1), 10-Undecyonic acid(CYP IVA), Ajmaline(CYP IID6), Trioleandomycin(CYP IIIA) 등이 있다.

Luoma¹⁰⁾의 연구에 의하면 간세포내의 마이크로솜내에서 약물대사에 관여하는 cytochrome P450 IIIA을 향진시키는 약물은 혈중 HDL-콜레스테롤함량을 높여준다고 한다. 이 사실에 착안하여 cytochrome P450 IIIA를 향진시키는 clotrimazole을 선택하여 혈중 HDL-콜레스테롤과의 관계를 검토하고자 본 연구를 행한 결과 clotrimazole은 혈중 HDL-콜레스테롤을 통계학적으로 유의성있게 증가시켰으며 아울러 간세포내의 cytochrome P450 및 cytochrome P450 IIIA의 활성을 향진시켰다. 본 연구 결과는 Maturra²²⁾ 및 Bachmann²³⁾의 연구 결과와 유사하며 Kocarek²⁴⁾의 결과와는 다르게 나타났다. 또한 본 연구 결과 혈중 HDL-콜레스테롤과 cytochrome P450과의 상관관계를 보면 유의성이 있는 상관성을 보였다(Table 2와 Table 3 및 Fig. 2와 Fig. 3 참조) ($Y = 138 X - 73.5$, 상관계수 $r = 0.991$). 또한 혈중 HDL-콜레스테롤과 cytochrome P450 IIIA와의 상관관계를 보면 역시 유의성이 있었다(Table 2와 Table 3 및 Fig. 2와 Fig. 3 참조) ($Y = 90.9 X + 14.8$, 상관계수 $r=0.954$).

본 연구 결과 혈중 HDL-콜레스테롤의 함량과 cytochrome P450 IIIA와의 상관성이 있음은 본 연구와 유사한 연구를 하는 과정에서 중복된 실험을 피하고 간접적인 방법으로 혈중의 콜레스테롤의 함량을 유추할 수 있게 된다. 따라서 연구 결과가 뚜렷히 요구되는 경우가 아닌 경우 cytochrome P450 IIIA 결과로서 혈중의 HDL-콜레스테롤의 양을 간접적으로 해석해도 된다고 사료된다.

흰쥐의 체중 및 간장대체중비에 대한 clotrimazole의 영향을 통계학적으로 별다른 변화를 보이지 않았다(Table 1 및 Fig. 1 참조). 이 결과는 통상 약분투여 기간이 6일로서 짧아 충분한 결과가 어려웠으며 다른 연구의 결과 또한 clotrimazole이 주로 외용제로 사용됨에 따라 경구투여에 의한 영향을 검토한 연구가 많지 않아 이에 대한 고찰이 상대적으로 어려운 실정이다. 그러나 통상 마이크로솜의 cytochrome P450을 활성하는 약물이 간장의 비대를 야기하는 경향을 보이고 체중의 경우 활성하는 경우와 감소하는 경우가 있음을 capsaicin의 연구에서 볼 수 있을 감안할 때^{25, 26} 본 연구의 결과는 보다 세밀한 연구가 필요하다고 사료된다.

V. 결 론

혈중 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량에 미치는 clotrimazole의 영향에 관한 연구에 흰쥐를 가지고 실험하였다. 흰쥐에 사료와 물을 충분히 섭취하도록 한후 clotrimazole과 methylcellulose를 6일 동안 경구투여 하였다. clotrimazole은 1% methylcellulose용액에 현탁한 후 흰쥐에 0.3ml 경구투여 하였을 때 clotrimazole 투여량이 20mg/Kg, 40mg/Kg, 60mg/Kg의 양이 되도록 현탁 조제하여 사용하였다. clotrimazole을 6일간 경구투여 한 후 흰쥐의 체중증가와 간장대체중비, 혈청 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량, 혈청 중성지방 함량, 간세포 마이크로솜의 cytochrome P450과 cytochrome P450 IIIA 활성을 측정하였다. clotrimazole을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 약간의 체중감소를 보였으나 간장대체중비에는 영향이 없었다. clotrimazole은 혈청 HDL-콜레스테롤 함량과 혈청 중성지방 함량을 통계학적으로 유의성 있게 증가시켰다. 또한 간세포의 마이크로솜의 cytochrome P450 및 cytochrome P450 IIIA의 활성을 유의성 있게 증가시켰다. 이상의 결과에서 clotrimazole은 혈중HDL-콜레스테롤 함량과 마이크로솜 cytochrome P450 IIIA에 연관

성이 있는 영향을 보였다. 이상에서 clotrimazole은 혈중 HDL-콜레스테롤 함량을 증가시켜 죽으로시 동맥의 죽상화를 예방할 수 있는 제제로 사용할수 있다고 생각된다. 그러나 clotrimazole에 대한 보다 광범위한 연구가 필요하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단의 지원하에 미국 Ohio 주 Toledo 대학 약학과에서 과건 연구하는 과정에서 얻은 결과의 일부이다. 한국학술진흥재단의 연구지원에 감사드리며 아울러 Toledo주립대학 약학과의 Dr. Kenneth. A. Bachmann에게 감사드린다.

참 고 문 헌

1. Martindale : The ExtraPharmacopoeia, 28edition, 721-723. The Pharmaceutic Press, 1982.
2. Rosenkranz, H. and Putter, J. : Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet, 1, 73, 1976.
3. Murdoch, J. K. : Can. Pharm. J, 111, 255, 1978.
4. Clayton, Y. M. and Connor, B. L. : Bri. J. Derm, 89, 297, 1973.
5. Baker, A. et al : J. Hosp. Pharm, 30, 45, 1972.
6. Hostetler, K., Wrighton, S., Molowa, D., Thomas, P., Levin, W. and Guzelian, P. : Coinduction of multiple hepatic cytochrome P450 proteins and their MRNAs in rats treated with imdazole antimycotic agents. Molec. Pharmacol. 35, 279-285, 1990.
7. Livingston, S. : Phenitoin and serum Cholesterol. Brit. Med. J, 1, 586, 1976.
8. Muronen, A., Kaste, M., Nikkila, E. and Tolppanen, E. : Mortality from Ischaemic heart Disease among Patients using anticonvulsive drug a case-control study. Brit. Med. J, 291, 1481-1483, 1985.
9. Kaste, M., Muronen, A., Lillia, E. and Neuvonen, P. : Increase of low serum concentrations of high-density lipoprotein(HDL) cholesterol in TIA patients. Stroke 14, 525-530, 1983.
10. Luoma, P. : Microsomal enzyme induction, lipoproteins, and atherosclerosis. Pharmacol. and Toxicol. 62, 243-249, 1988.

11. 김성오 : 간세포내의 Cytochrome P450 활성에 미치는 Capsaicin의 영향, 대한위생학회지, 10, 16-28, 1995.
12. Omura, T and Sato, R: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, 239, 2370-2378, 1964.
13. Nash, T.: The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem. J.*, 55, 416-421, 1953.
14. Allain, C. C. : *Clin. Chem.*, 20, 470, 1974.
15. Warnick, G. R., Benderson J. M. and Albers, J. J. : Dextran sulfate Mg precipitation procedure for quantitation of high-density lipoprotein cholesterol. *Clin. Chem.*, 28, 1397, 1982.
16. 金井泉, 他 : 臨床検査法概要, 改正, 第29版, 463, 1983.
17. Daniel W. N., D. R. Nelson, M. J. Coon, et al : The P450 superfamily. Update in New Sequences, Gene Mapping, and Recommended Nomenclature. *DNA and Cell Biology*, 10, 1-14, 1991.
18. Makowska, J. M., Gibson, G. G., Bonner F. W. : Species Differences in Ciprofibrate induction of Hepatic Cytochrome P450A1 and Peroxisome Proliferation. *J. Biochem. Toxicol.*, 7, 183-191, 1992.
19. Badger, T. M., Martin J. J. et al : Effects of Chronic Ethanol on Growth Hormone Secretion and Hepatic Cytochrome P450 Isozymes of the Rat, *J. Pharmacol and Exp. Ther.*, 264, 438-447, 1992.
20. Boulenc, X. Martine Bourrie, et al : Regulation of Cytochrome P450A1 Gene Expression in a Human Intestinal Cell Line, CACO-2, *J. Pharmacol and Exp. Ther.*, 263, 1471-1478, 1992.
21. Schrier, G. G, Laethem, C. L. and Koop, D, R. : Identification and Induction of Cytochromes P450, 450III1 and P450IA1 in Rabbit Bone Marrow, *J. Pharmacol and Exp. Ther.*, 251, 790-796, 1989.
22. Matsuura Y, Kotani E et al : Structure-activity relationships in the induction of hepatic microsomal cytochrome P450 by clotrimazole and its structurally related compounds in rats, *J. Pharmacol and Exp. Ther.*, 251, 1949-1956, 1991.
23. Bachmann K, Chu C. A. and Greear V: In vivo evidence that ethosuximide is a substrate for cytochrome P450 IIIa. *Pharmacology*, 45, 121-128, 1992.
24. Kocarek T. A, Schuets E. G and Guzelian P. S. : Regulation of Phenobarbital-inducible cytochrome P450 2B1/2 mRNA by lovastatin and oxysterols in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Toxicol, Appl. Pharmacol.*, 120, 298-307, 1993.
25. Negulesco, J. A., S. A. Noel, H. A. I. Newman, et al : Effects of pure capsaicinoids on plasma lipid and lipoprotein concentrations of turkey poults. *Atherosclerosis*, 64, 85-90, 1987.
26. Srinivasan, M. R. K. Sambaiah, M. N. Satyanarayana and M. V. L. Rao : Influences of Red pepper and Capsaicin on Grow, Blood constituents and Nitrogen balance in Rats. *Nutr. Reports International*, 21, 455-467, 1980.
27. Kawada T., K. I. Hagihara and K. Iwai : Effects of Capsaicin on Lipid Metabolism in Rats Fed a High Fat diet. *J. Nutrition*, 116, 1272-1278, 1986.