

## 생강의 약물대사효소 CYP3A4 저해 성분

차배천<sup>#</sup> · 이은희 · 권준택<sup>\*</sup>

상지대학교 생명산업학과, \*순천향대학교 의과대학  
(Received August 30, 2004; Revised September 23, 2004)

### The Inhibitory Constituents from the Ginger on a Drug Metabolizing Enzyme CYP3A4

Bae Cheon Cha<sup>#</sup>, Eun Hee Lee and Jun Tack Kwon<sup>\*</sup>

Department of Bio-Industry and Technology, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

<sup>\*</sup>Department of Clinical Pharmacology, Soonchunhyang University College of Medicine, Chunan 330-090, Korea

**Abstract** — Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is widely used as a common condiment for a variety of foods and beverages. In addition to its extensive utilization as a spice, the fresh or the processed rhizome is a useful crude drug in traditional Chinese medicine. It is considered to possess stomachic, carminative, stimulant, diuretic and antiemetic properties. Chemical studies on the pungent principles of ginger have been carried out by a number of investigators, and 6-gingerol and 6-shogaol as a major pungent substance have been isolated. In this study, the constituents inhibiting a drug metabolizing enzyme CYP3A4 from ginger were investigated. CYP3A4 is responsible for drug metabolism as heme-containing monooxygenases. As a result of experiment, 10-gingerol (IC<sub>50</sub> 5.75 μM) isolated from EtOAc extract of ginger showed remarkable inhibitory activity compared to 6-gingerol (IC<sub>50</sub> 14.56 μM) and zingerone (IC<sub>50</sub> 379.63 μM). This paper describes the isolation, structure elucidation, and CYP3A4 inhibitory activity of these compounds. The structure of the compounds were identified by instrumental analysis such as LC-mass spectrometer and NMR.

**Keywords** □ cytochrome P450(CYP)3A4, inhibitory activity, ginger, 10-gingerol, LC/MS, *Zingiber officinale* Roscoe

의약품, 발암물질, 살충제, 천연물 및 식품 첨가물과 같은 여러 가지 외인성 이물질들은 주로 간 microsome에 존재하는 약물대사효소에 의하여 대사되어지나, 동시에 이들은 약물대사효소를 억제 또는 유도함으로써 다른 약물이나 이물질들의 대사에 도 영향을 미쳐 약효나 독성 변화를 초래할 수도 있다.<sup>1-3)</sup> Cytochrome P450은 약물대사의 산화에 관여하는 중요 효소로서 heme을 가진 hemoprotein인 monooxygenase로서 약물대사 반응의 약 80%에 관여하는 것으로 알려져 있으며,<sup>4,5)</sup> 환원상태에서 일산화탄소와 결합하여 450 nm에서 최고의 흡광도를 나타내므로 색소의 의미로 P450으로 명명되어졌다. 한편 cytochrome P450에는 많은 종류가 있으나 약물대사의 대부분은 CYP1, CYP2 및 CYP3의 3종의 족이 주로 담당하며,<sup>6,7)</sup> 그 중 CYP3의 30%를 차지하는 CYP3A4가 대부분의 약물대사에 관여하는 효소로 알려져 있다.<sup>8)</sup> CYP3A4와 같은 약물대사 효소는 외부로부터 투여

되는 약물에 따라 약물대사 속도가 달라지는 경우가 있다. 예를 들면 proadifen, ketoconazole과 같은 물질은 간장 microsome에 의한 산화대사를 억제하여 약물대사 효소를 저해하는 효소 저해 약물이고,<sup>9,10)</sup> benzopyrene, phenobarbital 및 스테로이드 호르몬은 약물대사 효소의 기능을 증가시키는 효소 촉진 물질이다.<sup>11,12)</sup> 이들 효소 저해와 촉진 물질들은 약물의 대사 속도에 영향을 미쳐 생체내 다양한 약리적 변화를 발생시킬 수 있으므로 약물 투여시 이들의 특성을 이용하면 약물 치료 효과를 향상시키는데 적절히 응용할 수 있기 때문에 천연물질로부터 CYP3A4 저해 활성을 나타내는 물질의 탐색 연구가 활발히 이루어지고 있다.<sup>13-16)</sup>

본 연구에서는 향신료로부터 CYP3A4 저해활성 물질 탐색 연구의 일환으로 예로부터 많은 나라들에서 빈번하게 이용되어지고 있는 향신료의 하나인 생강에 대하여 CYP3A4 저해 활성을 검색하였다. 생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 열대 아시아가 원산지이며 생강과에 속하는 다년생 초본 식물로, 그 근경은 특유의 맛과 향기를 지니고 있어 세계적으로 널리 애용되고 있는 기호성이 좋은 향신료 중의 하나이다.<sup>17)</sup> 생강은 향신료로서 뿐만 아니라 약리적 효능도 인정되어 소화 보조제, 오심, 현훈, 복

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 033-730-0554 (팩스) 033-730-0503  
(E-mail) bccha@sangji.ac.kr

통, 요통, 설사 등의 치료제 및 살균제로도 이용되고 있다.<sup>18)</sup> 생강의 매운맛은 gingerol, shogaol 및 zingerone과 같은 생강의 주성분으로 알려진 물질과 방향 성분인 monoterpene류 및 sesquiterpene류 등에 기인하는 것으로 알려져 있다.<sup>17,19)</sup> 따라서 본 연구에서는 이들 생강 주성분들이 CYP3A4 효소저해 활성에 미치는 영향을 확인하였으며, 또한 극성별 분획 및 정제에 의해 순차적으로 얻어지는 분획물들의 CYP3A4 저해 활성 실험을 통하여 생강의 CYP3A4 효소 저해활성 주성분을 단리하였고, 그 구조를 LC-MS 및 NMR 등의 기기분석을 통하여 결정하였으므로 이를 보고하고자 한다.

### 실험 방법

#### 실험 재료

본 실험에 사용한 생강은 강원도 원주시에서 시판되고 있는 국산품을 구입하여 음건하고 세절하여 실험 재료로 사용하였으며, 표본은 상지대학교 생명산업학과 응용천연물표본실에 보관 중이다.

#### 실험기기 및 시약

성분 분리를 위한 순상 column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(particle size 70-230 mesh, ASTM, Merck)을 사용하였고, 성분 확인용 TLC plate는 Kiesel gel 60F<sub>254</sub> (ART.5715, Merck)를 사용하였다. 추출 및 분획용 용매는 모두 특급 시약을 사용하였다. 효소 반응을 위한 CYP3A4는 Gentest Corporation사 제품을, 그 외 glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase 및 NADP<sup>+</sup>는 Wako사 제품을 사용하였다. 기질로 사용된 nifedipine과 내부표준물질 phenol은 Aldrich사 제품을 사용하였고, MeOH 등의 분석시약은 모두 HPLC용 시약을 사용하여 측정하였다. 기타 용매는 1급 시약을 사용하여 실험하였다. 또한 HPLC로는 Varian POLARIS 200을 사용하였으며, FT-NMR은 Varian Mercury 300 MHz를 LC/MS는 Micromass사 제품을 사용하였다.

#### 추출 및 분리

음건한 생강 1.2 kg에 MeOH 1l를 가하여 수욕상에서 5시간씩 3회 환류 추출하여 여과 후 농축하여 생강 MeOH 추출물(36 g)을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 증류수에 현탁시켜 n-hexane, EtOAc 및 n-BuOH 순으로 분획 후 농축하여 각 분획물 n-hexane(0.7 g), EtOAc(3.3 g), n-BuOH(3.1 g) 및 H<sub>2</sub>O(26.2 g)를 각각 얻었다. 분획물 중 가장 강한 CYP3A4 저해활성 나타낸 EtOAc 분획물을 n-hexane : EtOAc=3 : 1의 전개용매를 이용하여 silica column chromatography를 실시하여 4개의 소분획인 fraction 1(470 mg), fraction 2(30 mg), fraction 3(50 mg) 및

fraction 4(370 mg)로 나누었다. CYP3A4 저해 활성을 나타낸 fraction 2, fraction 3 및 fraction 4로부터는 각각의 활성 주성분을 규명하기 위해 계속하여 n-hexane : EtOAc=3 : 1에서 5 : 1의 전개용매를 사용하여 silica gel column chromatography로 정제하여 fraction 2로부터는 화합물 1, fraction 4로부터는 화합물 2를 분리하였고, 가장 활성이 높은 fraction 3으로부터는 화합물 3을 얻었다.

**화합물 1** - Yellow power(EtOH) : mp 40~41°C; UV λ<sub>max</sub> 210, 280; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ : 2.04(3H, s, -CH<sub>3</sub>), 2.69(2H, t, J=6.5 Hz, H-1), 2.71(2H, t, J=6.5 Hz, H-2), 3.81(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 5.90(1H, -OH), 6.40~6.80(3H, H-2',5',6'); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 29.5(C-4), 45.5(C-1), 49.5(C-2), 111.0(C-2'), 114.3(C-5'), 120.6(C-6'), 132.8(C-1'), 143.9(C-4'), 146.4(C-3'), 208.3(C-3)

**화합물 2** - Light yellow power(EtOH) : mp 235~250°C; UV λ<sub>max</sub> 210, 280; <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 0.87(3H, t, J=5 Hz, -CH<sub>3</sub>), 1.34(8H, s, -CH<sub>2</sub>×4, H-6~9), 2.50(2H, d, J=6 Hz, H-4), 2.77(4H, H-1,2), 3.84 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.03(1H, br. s, H-5), 5.88(1H, -OH), 6.52-6.88(3H, H-2',5',6'); <sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 14.0(C-10), 22.6(C-9), 25.2(C-8), 29.3(C-7), 31.8(C-1), 36.6(C-6), 45.5(C-4), 49.5(C-2), 55.9(OCH<sub>3</sub>), 67.8(C-5), 111.3(C-2'), 114.7(C-5'), 120.9(C-6'), 132.8(C-1'), 144.2(C-4'), 146.8(C-3'), 211.0(C-3)

**화합물 3** - Light yellow power(EtOH) : mp 220~230°C; UV λ<sub>max</sub> 210, 280; <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 0.88(3H, t, J=5.5 Hz, -CH<sub>3</sub>), 1.25(16H, s, -CH<sub>2</sub>×8, H-6~13), 2.50(2H, d, J=3.9 Hz, H-4), 2.72(2H, t, J=6.8 Hz, H-1), 2.81(2H, t, J=6.8 Hz, H-2), 3.86(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.03(1H, br.s, H-5), 6.67(1H, s, H-2), 6.81(2H, d, J=7.8 Hz, H-5',6'); <sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 14.3(C-14), 22.9(C-13), 25.7(C-12), 29.5(C-11), 29.5(C-10), 29.8(C-9), 29.8(C-8), 29.9(C-7), 32.1(C-1), 36.7(C-6), 45.7(C-4), 49.6(C-2), 56.1(OCH<sub>3</sub>), 67.9(C-5), 111.2(C-2'), 114.6(C-5'), 121.0(C-6'), 132.9(C-1'), 144.2(C-4'), 146.6(C-3'), 211.7(C-3)

#### LC/MS 조건

LC/MS 분석 조건은 HPLC Waters Alliance LC/MS System, 996 Waters PDA detector, Waters 2690 pump 및 autosampler와 MS는 Micromass LCT를 사용하였으며, MS 조건은 mass range는 100~900 m/e이고, capillary 3200 V, source temp.는 80°C, desolvation temp.는 100°C, scan threshold는 100이었다. LC 조건은 column은 Varians-C<sub>18</sub>(150×4.6 mm, 5 μm)이며 유속은 0.2 ml/min, ionization solution은 MeOH로 UV 254 nm에서 실험하였다.

**CYP3A4 저해반응**

CYP3A4 저해 활성은 nifedipine을 기질로 하는 산화 반응을 기초로 하여 다음과 같이 실시하였다. 5 ml의 반응용 용기에 시료, 50 µM nifedipine, 0.5 mM NADP<sup>+</sup>, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM glucose-6-phosphate 및 4.3 µg/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase를 100 mM 인산완충용액(pH 7.4)에 녹인 후 37°C에서 5분간 preincubation을 하였다. 동시에 CYP3A4 효소도 37°C에서 5분간 preincubation을 하였다. CYP3A4 40 pmol을 반응용기에 가한 후 37°C에서 1시간 incubation을 하여 반응 후 MeOH 100 ml를 가하여 반응을 정지시킨 후, ether 1 ml로 추출하고, ether를 휘산시켜 잔유물을 얻었다. 이 잔유물을 125 µl MeOH에 녹인 후 20 µl를 HPLC에 주입하여 분석하였다. 한편, 이 효소저해 반응의 측정 최종 조건 확립을 위한 효소 반응 시간 및 효소 농도 등의 조건 검토 및 확인은 앞선 항신료의 약물 대사효소 CYP3A4 저해효과에 대한 논문<sup>20)</sup>에서 상세히 제시하였다. HPLC는 역상 HPLC용 column(TSK-gel ODS)을 사용하였고, 이동상은 MeOH : H<sub>2</sub>O=6 : 4를 사용하였다. 용매 이동 속도는 1 ml/min으로 하였고, 검출은 UV 254 nm에서 실시하였다. 또한 내부 표준물질은 nifedipine과 nifedipine 대사물이 겹치지 않는 phenol을 사용하였다.

**생강 분획물과 화합물의 저해활성 측정**

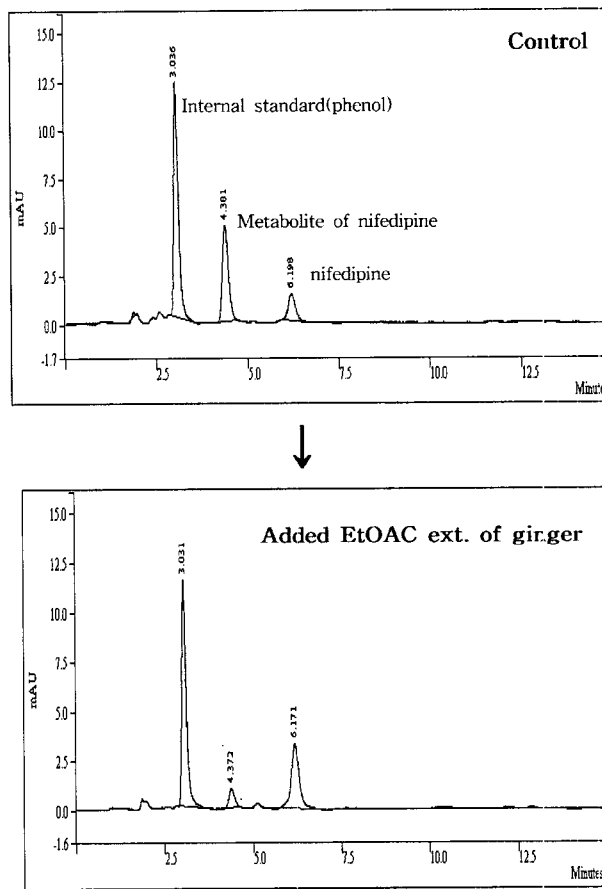
생강 추출물 및 분획물 5mg을 DMSO 1ml에 녹인 후 최종 농도가 0~25 µg/ml가 되도록 그리고 화합물은 0~25 µM 농도가 되도록 7개의 농도로 만들어 CYP3A4 저해반응 및 HPLC 분석법에 따라 저해효과를 실시한 후 각 분획물 및 화합물의 IC<sub>50</sub>치를 산출하였다. IC<sub>50</sub>치는 excell에서 분산형 차트를 구하고, 다항식 함수를 이용하여 수치를 계산하였다.

**실험결과 및 고찰**

생강의 MeOH 추출물과 이를 n-hexane, EtOAc, BuOH 및 H<sub>2</sub>O의 순으로 용매별 분획하여 얻어진 각각의 분획물에 대하여 CYP3A4 저해 반응을 검토한 결과, Table I에 나타낸 것과 같이 EtOAc 분획물이 IC<sub>50</sub> 2.1 µg/ml로서 가장 강력한 CYP3A4 효소 저해효과를 나타내었다. 효소저해반응 결과 기질과 대사물의 변

**Table I** - CYP3A4 inhibitory effect of solvent fractions from the ginger

Sample	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
MeOH ext.	2.5
n-Hexane ext.	3.2
EtOAc ext.	2.1
n-BuOH ext.	2.8
H <sub>2</sub> O ext.	>25



**Fig. 1** - HPLC chart of CYP3A4 inhibiting reaction by EtOAc extract of ginger.

**Table II** - CYP3A4 inhibitory effect of prepared fractions from the ginger EtOAc ext.

Sample	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Fraction 1	3.7
Fraction 2	2.5
Fraction 3	1.3
Fraction 4	2.0

화를 나타내는 효소반응 HPLC 분석 차트는 Fig. 1에 제시하였다. 계속하여 EtOAc 분획물을 column을 이용하여 소분획하여 얻어진 4종의 분획물에 대해서도 CYP3A4 저해활성 실험 결과 Table II에 나타난 바와 같이 fraction 2, fraction 3 및 fraction 4에서 우수한 효과를 나타내었다.

우수한 효과를 나타낸 fraction 2와 fraction 4 분획물을 재차 silicagel column chromatography에 의해 정제하여 fraction 2로부터 얻어진 화합물 1은 TLC 및 HPLC 분석에서 표준품과 비교 분석한 결과 zingerone임을 추정할 수 있었고, LC/MS로 측정된 결과 Fig. 3에서와 같이 [M+Na]<sup>+</sup>의 총 분자량이 217이므로 기존 문헌상의 표준품 분자량과 비교하여 볼 때 zingerone임을 확인할 수 있다(Fig. 2).<sup>21)</sup> Fraction 4로부터 얻어진 화합물 2

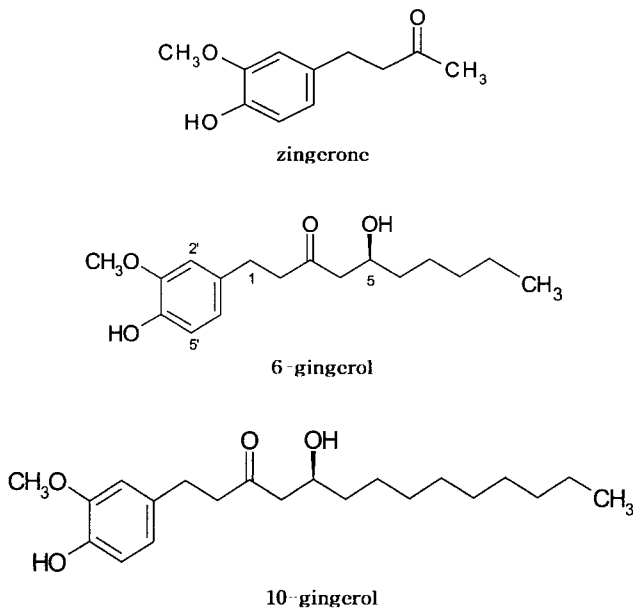


Fig. 2 – Structure of compounds isolated from the ginger.

도 TLC 및 HPLC 분석에서 표준품과 비교 분석한 결과 6-gingerol임을 추정할 수 있었고, LC/MS 측정 결과 Fig. 3에서와 같이 [M+Na]<sup>+</sup>의 총 분자량이 317이므로 기존 문헌상의 표준품 분자량과 비교해 볼 때 6-gingerol임을 확인할 수 있었다(Fig.

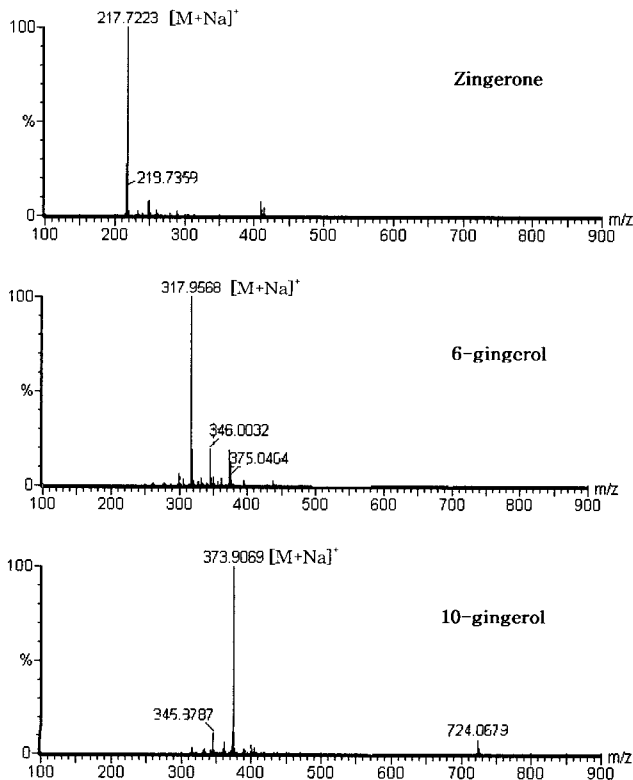


Fig. 3 – Mass spectrums of zingerone, 6-gingerol and 10-gingerol.

2).<sup>22-24</sup> 동시에 이들 화합물의 NMR 등을 포함한 기기 분석치를 문헌<sup>(21-26)</sup>과 비교한 결과 화합물 1은 zingerone으로, 화합물 2는 6-gingerol로 동정하였다.

가장 우수한 효과를 나타낸 fraction 3을 silicagel column chromatography에 의해 분리·정제하여 얻어진 화합물 3은 미황색의 분말로서 Connell과 McLachlan<sup>27)</sup>가 gingerol 발색 시험에서 보고한 결과와 같이 vanillin-sulfonic acid 시약에서 짙은 청색을 나타내어 gingerol 계열 화합물로 추정되었고, mp는 220~230°C을 나타내었고, UV spectrum은 210과 280 nm에서 벤젠 유래의 흡광도를 보였다. IR spectrum에서는 3520 cm<sup>-1</sup>에서 OH 기를 1700 cm<sup>-1</sup>에서 C=O, 1605 cm<sup>-1</sup>에서 방향족 유래의 관능기를 나타내었고, <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 δ 0.88 ppm에서 -CH<sub>3</sub>기, δ 1.25에서 6에서 13번의 -CH<sub>2</sub>-에 해당되는 8개의 -CH<sub>2</sub>-기의 피크가, δ 2.50 ppm에서 4번의 -CH<sub>2</sub>-기가 δ 2.72와 δ 2.81 ppm에서 1번과 2번의 -CH<sub>2</sub>-기가 관측되었고, δ 3.86에서 -OCH<sub>3</sub> 유래의 피크, δ 6.67과 δ 6.81에서 페놀기를 가지는 벤젠환 유래의 피크가 확인됨에 따라 생강의 주성분인 gingerol계 화합물임을 추정할 수 있었다. 이들 gingerol 중에는 6-gingerol이 주성분으로 gingerol의 구분은 δ 1.26~1.33 ppm에서의 methylene기의 수소 원자수를 측정하는 것이 중요한데, δ 0.88 ppm의 -CH<sub>3</sub>기를 기준으로 수소 수를 측정하면 δ 1.25 ppm에서의 methylene 유래의 수소 수는 16개가 되므로 화합물 3은 10-gingerol로 추정할 수 있었다. 또한 <sup>13</sup>C-NMR에서 methylene 유래의 carbon 피크수가 11개로서 -CH<sub>2</sub>-는 6-gingerol 보다 4개가 증가되었고, Fig. 3에서와 같이 LC/MS 측정 결과 [M+Na]<sup>+</sup>의 분자량이 373을 나타냄으로서 10-gingerol로 확인할 수 있었다.<sup>22,24</sup> 이상의 기기 분석 데이터와 <sup>13</sup>C-NMR 데이터를 관련 연구 문헌<sup>(22,25,27)</sup>과 비교한 결과 화합물 3은 10-gingerol로 동정되었다(Fig. 2).

계속하여 생강의 주성분으로서 알려진 fraction 2와 fraction 4로부터 분리한 zingerone과 6-gingerol 및 fraction 3으로부터 분리한 CYP3A4 저해활성 주성분인 10-gingerol의 CYP3A4 저해활성 시험을 ketoconazole과 후추의 주성분인 piperine을 저해활성 대조군으로 사용하여 실험한 결과, Table III에 나타난 것과 같이 10-gingerol은 IC<sub>50</sub>가 5.75 μM로서 이는 강력한 CYP3A4 효소저해 활성을 가진 ketoconazole 0.11 μM보다는 약하나 CYP3A4 효소저해 활성을 가진 후추의 주성분인 piperine의 17.2

Table III – IC<sub>50</sub> of 10-gingerol and main constituents of ginger on CYP3A4 inhibitory activity

Sample	IC <sub>50</sub> (μM)
10-gingerol	5.75
6-gingerol	14.56
Zingerone	379.63
Ketoconazole	0.11
Piperine	17.2

$\mu\text{M}$ 보다는 우수한 저해 효과를 나타내었다. 이는 생강의 약물대사효소 CYP3A4의 저해 활성 주성분은 생강의 매운 맛의 주성분으로 알려진 6-gingerol이나 zingerone이 아닌 10-gingerol임을 시사하고 있다. 또한 생강의 주성분 및 10-gingerol이 약물대사효소 CYP3A4 저해효과를 나타내는 것을 밝힌 것은 본 논문이 최초의 보고이다.

## 결 론

약물의 남용과 오용으로 인한 문제점을 해소하고 효율적인 약물 사용을 위한 연구의 일환으로 향신료인 생강으로부터 약물대사효소 CYP3A4의 저해활성 물질 탐색연구를 수행하였다. 생강의 MeOH 추출물과 극성별 분획물에 대하여 CYP3A4 저해활성을 실시한 결과 EtOAc 분획물이 가장 강력한 활성을 나타냈으며, 이를 silicagel column chromatography를 실시함과 동시에 CYP3A4 저해 반응을 통하여 활성 성분을 분리한 결과, fraction 2, fraction 3, fraction 4로부터 zingerone, 10-gingerol 및 6-gingerol을 각각 분리하였다. 이들 중 10-gingerol이  $\text{IC}_{50}$ 가 5.75  $\mu\text{M}$ 로서 가장 강력한 CYP3A4 효소 저해활성을 나타내었다. 이는 CYP3A4 저해활성이 알려진 ketoconazole 보다는 다소 약하나 CYP3A4 저해활성을 가진 후추의 주성분인 piperine보다는 강한 저해효과를 나타내었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 2003년도 한국과학재단(한국기초과학지원연구원)의 고가특수연구기기운영지원사업[R23-2003-000-00020-0(2003)]의 연구지원으로 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- 1) Conney, A. H. : Pharmacological implication of microsomal enzyme induction. *Pharmacol. Rev.* **19**, 317 (1967).
- 2) Kato, R., Chiesara, E. and Vassanelli, P. : Further studies on the inhibition and stimulation of microsomal drug metabolizing enzymes of rat liver by various compounds. *Biochem. Pharmacol.* **13**, 69 (1964).
- 3) Neter, K. J. : Inhibition of oxidative drug metabolism in microsomes. *Pharm. Ther.* **10**, 515 (1980).
- 4) Wrighton, S. A. and Ring, B. J. : Inhibition of human CYP3A4 catalyzed 1'-hydroxy midazolam formation by ketoconazole, bifenidine, erythromycin, cimetidine, and nizatidine. *Pharm. Res.* **11**, 921 (1992).
- 5) Cantoni, L., Valaperta, R., Ponsoda, X., Castell, J. V., Barelli, D., Rizzardini, M., Mangolini, A., Hauri, L. and Villa, P. : Induction of hepatic heme oxygenase-1 by diclofenac in rodents: role of oxidative stress and cytochrome P-450 activity. *J. Hepatol.* **38**, 776 (2003).
- 6) Guengerich, F. P. : Comparisons of catalytic selectivity of cytochrome P450 subfamily enzymes from different species. *Chemico-Biological Interactions.* **106**, 161 (1997).
- 7) Nelson, D. R., Koymans, L., Kamataki, T., Stegeman, J. J., Feyereisen, R., Waterman, M. R., Gotoh, O., Coon, M. J., Estabrook, R. W., Gunsalus, I. C. and Nebert, D. W. : P450 superfamily : update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* **6**, 1 (1996).
- 8) Shimada, T., Tamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y. and Guengerich, F. P. : Interindividual variations in human liver cytochrome P450 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.* **270**, 414 (1994).
- 9) Williams, M. L., Lennard, M. S., Martin, I. J. and Tucker, G. T. : Interindividual variation in the isomerization of 4-hydroxytamoxifen by human liver microsomes : involvement of cytochrome P450. *Carcinogenesis.* **15**, 2733 (1994).
- 10) Moltke, L. L., Greenblatt, D. J., Cotreau-Bibbo, M. M., Harmatz, J. S. and Shader, R. I. : Inhibitors of alprazolam metabolism in effect of serotonin-reuptake-inhibitor antidepressants, ketoconazole and quinidine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **38**, 23 (1994).
- 11) Granberg, A. L., Brunstrom, B. and Brandt, I. : Cytochrome P450-dependent binding of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and benzo[a]pyrene (B[a]P) in murine heart, lung, and liver endothelial cells. *Arch. Toxicol.* **74**, 593 (2000).
- 12) Rushmore, T. H. and Kong, A. N. : Pharmacogenomics, regulation and signaling pathways of phase I and II drug metabolizing enzyme. *Curr. Drug Metab.* **3**, 481 (2002).
- 13) Yee, G. C., Stanley, D. L., Pessa, L. J., Dalla, C. T., Bez, S. E., Ruiz, J. and Lowenthal, D. T. : Effect of grapefruit juice on blood cyclosporin concentration. *Lancet* **345**, 955 (1995).
- 14) Dresser, G. K., Wachter, V., Wong, S., Wong, H. T. and Bailey, D. G. : Evaluation of peppermint oil and ascorbyl palmitate as inhibitors of cytochrome P450 3A4 activity *in vitro* and *in vivo*. *Clin. Pharmacol. Ther.* **72**, 247 (2002).
- 15) Tsunoda, S. M., Harris, R. Z., Christians, U., Velez, R. L., Freeman, R. B., Benet, L. Z. and Warshaw, A. : Red wine decreases cyclosporine bioavailability. *Clin. Pharmacol. Ther.* **70**, 462 (2001).
- 16) Henderson, M. C., Miranda, C. L., Stevens, J. F., Deinzer, M. L. and Buhler, D. R. : *In vitro* inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops. *Humulus lupulus*. *Xenobiotica* **30**, 235 (2000).

- 17) Kim, J. S., Koh, M. S., Kim, Y. H., Kim, M. K. and Hong, J. S. : Volatile Flavor components of korean ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Korean J. Food Sci. Technol.* **2**, 141 (1991).
- 18) Kim, S. L, Bang, M. H., Song, J. C., Hur, H. S. and Baek, N. I. : Isolation of natural antioxidants from the root of *Zingiber officinale* R. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **44**, 202 (2001).
- 19) Connell, D. W. : The chemistry of essential oil and oleoresin of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Flavour Industry.* **1**, 677 (1970).
- 20) Cha, B. C. : Inhibitory effect of a drug metabolizing enzyme CYP3A4 on spices. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**, 86 (2003).
- 21) Saha, S., Smith, R. M., Lenz, E. and Wilson, I. D. : Analysis of ginger extract by high-performance liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance spectroscopy using superheated deuterium oxide as the mobile phase. *J. Chromatogr. A.* **991**, 143 (2003).
- 22) Jo, K. S. : Analysis of gingerol compounds of raw ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and its paste by high performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 747 (2000).
- 23) Cho, K. J., Kim, J. W., Choi, I. L., Kim, J. B. and Hwan, Y. S. : Isolation, identification and determination of antioxidant in ginger (*Zingiber officinale*) Rhizome. *Agric. Chem. Biotechnol.* **44**, 12 (2001).
- 24) He, X., Bernart, M. W., Lian, L. and Lin, L. : High-performance liquid chromatography electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger. *J. Chromatogr. A.* **796**, 327 (1998).
- 25) Lee, I. K. and Shn, S. Y. : The antioxidant activity of gingerol. *Korean J. Food Sci. Technol.* **17**, 55 (1985).
- 26) Shoji, N., Iwasa, A., Takemoto, T., Ishida, Y. and Ohizumi, Y. : Cardiotonic principles of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J. Pharm. Sci.* **71**, 1174 (1982).
- 27) Connell, D. W. and McLachlan, R. : Natural pungent compounds : IV. Examination of the gingerols, shogaols, paradols and related compounds by thin-layer and as gas chromatography. *J. Chromatog.* **67**, 29 (1972).