

실리마린의 간보호 작용에 미치는 쿠쿠마 추출물의 영향

이기명¹ · 함기백¹ · 조성원¹ · 오태영 · 최설민 · 김정훈 · 안병옥* · 권종원 · 김원배
¹아주대학교 의과대학 소화기내과, 동아제약주 연구소

Curcuma Extract Enhances Hepatoprotective Action of Silymarin in Experimental Liver Damage Models

Ki Myung LEE¹, Ki Baik HAHM¹, Sung Won CHO¹, Tae Young OH, Seul Min CHOI,
Jung Hoon KIM, Byoung Ok AHN*, Jong Won KWON and Won Bae KIM

¹Department of Gastroenterology, College of Medicine, Ajou University, Suwon, 442-749, Korea
Research Laboratories, Dong-A Pharmaceutical Company Ltd., Yongin, 449-905, Korea

(Received Nov. 7, 2001 ; accepted February 20, 2002)

Abstract – Silymarin and curcumin have been used for supportive treatment of liver disease of different etiology due to their hepatoprotective activities. The present study was carried out to investigate the hepatoprotective effects of silymarin and/or curcuma extract against hepatotoxins induced liver injury. To investigate hepatoprotective effects, the silymarin and/or curcuma extract were pre-treated orally to experimental animals. And thereafter a single dose of hepatotoxin, carbon tetrachloride (CCl₄) and acetaminophen were administered through oral or intraperitoneal route, respectively. Chronic liver damage was induced by subcutaneous injection of CCl₄ for 3 weeks (2 times/week). Hepatoprotective and therapeutic effects were monitored by estimating serum ALT and AST levels and by measuring hepatic glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels. Collagen type 1 was detected with immunostaining to assess fibrosis. The results showed that the mixture of silymarin and curcuma extract significantly reduced serum biochemistry levels and MDA levels compared with those of control group in both acute and chronic animal models. In antifibrotic effect, the relative hepatic collagen content was significantly decreased by silymarin and/or curcuma extract treatment. It was concluded that the complex of silymarin and curcuma extract have a both hepatoprotective and therapeutic effect synergically in rat liver injury induced by hepatotoxins.

Key words □ Acetaminophen, acute/chronic liver damage, curcuma extract, carbon tetrachloride, silymarin

실리마린 (silymarin)은 국화과의 *Carduus marianus* 유래의 플라보노리그난 (flavonolignan) 혼합물로서 항산화작용과 막안정화를 유지시킴으로써 간세포보호 및 재생작용을 가지며 (Skottova와 Krecman, 1998), 간장의 해독능 증가와 글루타치온 (glutathione) 보존작용을 나타내 (Miguez 등, 1994) 다양한 원인의 간질환에 대해 치료제 및 치료보조제로 이용되고 있다 (Ferenci 등, 1989; Salmi와 Sarna, 1982). 실리마린에는 silybin, isosilybin, silychris-tin 및 silydianin의 4가지 이성체가 존재하는데 이중 실리빈 (silybin)이 약리작용을 나타내는 주성분으로 알려져 있다 (Mascher 등, 1993).

쿠쿠민 (curcumin)은 동남아시아 등지에서 약용식물로 사용되는 *Curcuma* 속의 식물에서 추출된 성분으로 황달과 담

석 등의 간질환 치료제로서 이용되고 있으며, 항산화작용, 항염증효과, 이담작용 등을 통해 간세포보호 및 치료작용을 나타내는 것으로 알려져 있다 (Lin 등, 2000; Ramsewak 등, 2000). 또한, 최근에는 쿠쿠민의 화학적 발암억제 (chemoprevention) 작용이 밝혀지면서 만성 간장해에 대한 치료제로서의 역할이 주목받고 있다 (Chuang 등, 2000; Kawamori 등, 1999; Piper 등, 1998).

이들 생약성분을 주성분으로 한 다수의 간장질환 치료제가 개발되어 국내외에서 널리 사용되고 있으나 실리빈, 쿠쿠민을 포함한 유효성분이 난용성인 까닭에 용해도를 개선하여 유효성분의 생체이용률 (bioavailability)을 향상시키기 위한 노력이 이뤄지고 있다 (Savio 등, 1998; Schandalik 등, 1992). 최근 동아제약에서는 실리마린과 쿠쿠민을 주성분으로 한 새로운 간장질환 치료제 리버만 (Liverman™)을 개발하였으며, automicellization 제제기술을 이용하여 실리

*To whom correspondence should be addressed.

빈의 생체이용율이 기존제제에 비해 약 10배 증가됨을 확인하였다 (data not shown).

본 연구에서는 사염화탄소 (CCl_4 , carbon tetrachloride)와 아세트아미노펜 (APAP, acetaminophen)에 의한 급성 간장해모델을 이용하여 실리마린과 쿠쿠마추출물의 병용효과를 조사하고 CCl_4 에 의한 만성 간장해에 대해 실리마린과 쿠쿠마추출물 합제의 예방 및 치료효과를 시판중인 실리마린 단독제제와 비교하고자 하였다.

실험재료 및 방법

실험동물 및 사육조건

본 실험에 사용된 실험동물은 웅성 Sprague-Dawley계 랫드 (체중 200~220 g, 대한바이오링크)로서, 1주일간 순화 사육한 후 건강한 동물만을 선별하여 시험에 이용하였다. 시험기간 중 온도는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명시간은 12시간 (7:00~19:00)을 유지하였으며, 사료 (방사선조사 고품 사료, PMI 5L79, Chrls River)와 음수 (자외선멸균 수도수)는 자유섭취 시켰다.

시험물질 및 검액의 조제

실리마린 (*Carduus marianus*)과 쿠쿠마추출물 (*Curcuma xanthorrhiza*)은 독일 Andenex-Chemie사로부터 구입하였다. 실리마린은 silybin을 45% (w/w) 이상 함유하며, 쿠쿠마추출물은 curcumin을 1% (w/w) 이상 함유한 것으로 각각의 시험물질은 1% carboxymethyl cellulose (CMC)에 현탁하여 5 ml/kg의 액량으로 용시조제하여 경구투여하였다. 시판중인 실리마린제제는 Legaron (Bu Kwang Pharm. Co., Korea)과 Eskadus (Cho-A Pharm. Co., Korea)를 사용하였다.

급성 간장해 모델을 이용한 간장해 예방효과 시험

시험물질의 급성 간장해에 미치는 영향은 Janbaz와 Gilani (1995)의 방법을 변형하여 CCl_4 와 APAP에 의한 간장해 동물모델을 이용하여 측정하였다. 각 유발물질 시험군 별로 순화 사육시킨 60마리의 랫드 중 외견상 건강한 56마리를 군 당 8마리씩 7개 군으로 분리하여 사용하였다. 실리마린 (CM)과 쿠쿠마추출물 (CX)의 병용효과를 측정하기 위하여 이들 약제를 1일 1회 3일간 경구투여하고 최종투여 1시간 이후에 CCl_4 를 2 ml/kg 용량을 olive oil에 1:1로 희석하여 경구투여 하거나, APAP 640 mg/kg을 생리식염수에 용해시켜 5 ml/kg 용량으로 복강내 투여하여 간장해를 유도하였다. CCl_4 와 APAP 투여 6시간 이후에 치사하여 간독성 유발정도를 비교하였다. 투약기간중 제 2군 (Control 군)은 1% CMC용액 5 ml/kg를, 제 3군 (CM)은 CM 66 mg/kg을, 제 4군 (CXL)은 쿠쿠마추출물 저용량인 CX 6.25

mg/kg을, 제 5군 (CXH)은 고용량인 CX 12.5 mg/kg을, 제 6군 (CM+CXL)은 CM 66 mg/kg과 CX 6.25 mg/kg을, 제 7군 (CM+CXH)은 CM 66 mg/kg과 CX 12.5 mg/kg을 각각 1일 1회 3일간 투여하였다. 제 1군 (Normal)은 정상군으로 어떠한 처치도 하지 않았다. 간장해 유발 6시간 후에 모든 동물을 에테르 마취하에 치사하였고, 간장을 분리하여 중량 및 GSH를 측정하였다. 복대동맥에서 채혈하여 혈청을 분리한 이후 ALT (alanine aminotransferase) 및 AST (aspartate aminotransferase)를 측정하였다.

만성 간장해 모델을 이용한 간장해 치료효과 시험

만성 간장해는 Ishii 등 (1984)의 방법에 따라 유발하였다. 외견상 건강한 50마리의 웅성 랫드를 16시간 절식시킨 후 (18:00~익일 10:00) CCl_4 0.5 ml/kg 용량을 olive oil에 1:1 (v/v) 혼합하여 1 ml/kg 액량으로 주 2회씩 3주간 피하투여하고 마지막 투여 10일 이후 치사하였다. 시험약물은 CCl_4 투여개시 2주째 (day 14)부터 1일 1회 시험종료 시까지 연속하여 경구투여 하였다. 투약기간중 제 1군 (Normal)은 정상군으로서 어떠한 처치도 하지 않았으며, 제 2군 (Control)은 1% CMC용액 5 ml/kg를, 제 3군 (CM+CXH)은 CM 66 mg/kg과 CX 12.5 mg/kg을, 제 4군 (LEG)은 실리마린 단독제제인 Legaron 50 mg/kg을, 제 5군 (ESK)은 실리마린 단독제제인 Eskadus 50 mg/kg을 각각 1% CMC 용액에 현탁하여 투여하였다. 각 시험물질의 용량은 임상사용량에 근거하여 설정하였으며, 각각의 용량은 체중으로 환산시 1일 최대용량의 5배 량에 해당된다. 시험기간중 체중은 주 2회 측정하였으며 치사 후 간장을 분리하여 GSH 및 collagen type 1을 측정하였고, 혈청에서 ALT 및 AST를 측정하였다.

혈청생화학적 수치의 측정

복대동맥으로부터 채혈하여 30분간 상온방치한 이후 $3,000 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하고 즉시 Konelab 20i형 혈액자동분석기 (Labsystems Co., Finland)를 이용하여 혈청 중 ALT와 AST치를 측정하였다.

지질과산화 측정

지질과산화의 지표로서 조직 중 malondialdehyde (MDA)는 Ohkawa 등 (1979)의 방법을 변형하여 측정하였다. 치사시 간조직을 적절한 이후에 4배 용량의 0.1 M potassium phosphate 완충액 (pH 7.4)을 첨가하여 homogenizer로 균질화하였다. 이 후 균질액 0.2 ml을 취하여 8.1% sodium dodecyl sulfate, 20% acetate 완충액 (pH 3.5), 0.8% thiobarbituric acid 용액과 혼합하고 95°C 에서 60분간 가열한 다음 butanol-pyrimidine 혼합액으로 추출하

Table I. Preventive effects of silymarin and/or curcuma extract treatment on serum ALT and AST values in acute liver damage models

Groups	Dose (mg/kg)	ALT (U/L)		AST (U/L)	
		APAP-induced	CCl ₄ -induced	APAP-induced	CCl ₄ -induced
Normal	-	40.7 ± 5.74		59.6 ± 4.74	
Control	Vehicle only	620.9 ± 55.28	393.2 ± 28.26	505.7 ± 30.99	487.9 ± 21.32
CM	66	521.7 ± 37.86*	334.3 ± 20.50*	394.5 ± 28.06*	403.8 ± 25.61*
CXL	6.25	608.8 ± 51.97	360.6 ± 20.03*	488.2 ± 39.24	466.1 ± 30.48
CXH	12.5	537.8 ± 28.88*	340.5 ± 19.56*	450.7 ± 29.67*	458.8 ± 21.54
CM+CXL	66 / 6.25	412.5 ± 49.80*	282.2 ± 31.65*	369.1 ± 31.76*	382.5 ± 23.62*
CM+CXH	66 / 12.5	361.9 ± 30.06*	242.4 ± 16.47*	308.9 ± 33.34*	344.6 ± 37.18*

Data are expressed as mean±SD.

*: Significantly different from control, p<0.05.

여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 중 단백질량은 Lowry 등 (1951)에 의한 방법으로 측정하였으며, 조직 중 MDA양은 nmol/mg protein으로 표시하였다.

환원 글루타치온(GSH)의 측정

간조직 중 환원 글루타치온 (reduced glutathione)양은 상용 kit (BIOXYTECH GSH-400 assay, OXIS International Inc.)를 이용하여 측정하였다.

항섬유화 효과의 측정

섬유화 정도를 평가하기 위해 상용 kit (ABC kit, Vector Laboratories, Inc.)를 사용하여 collagen type 1 (collagen-1)에 대한 면역염색을 실시하였다. 냉동 간 조직절편을 Cryocut으로 제작한 다음 10 mM phosphate buffered saline (PBS)으로 2-3회 씻어내고 37°C에서 10분간 0.3% 과산화수소에 노출시켜 내인성 효소의 활성을 억제시켰다. 다시, PBS로 씻어낸 이후, 0.1% trypsin을 37°C, 30분간 처리하였다. PBS로 2-3회 세척한 후 10% bovine serum albumin (BSA)에 조직절편을 37°C, 20분간 반응시켰다. 조직절편을 collagen-1에 대한 일차항체 (1 : 100 희석, Chemicon International Inc.)에 37°C, 60분간 노출시켰으며, Anti-mouse IgG (Fc specific) FITC conjugate (F4143, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)를 1 : 200으로 희석한 후 30분간 반응시켜 형광현미경으로 관찰했다. 조직표본중 collagen-1 양성조직의 면적은 디지털카메라와 Image-analyser (Bioquant TCW software)가 장착된 Olympus 현미경으로 산출하였다. 즉, 개체당 100배 시야 5개소에서 총면적에 대한 collagen-1 양성면적의 백분율을 산출하였다.

통계학적 검정

본 시험에서 얻어진 결과는 Mean±SD로 표시하였으며, 일원배치분산분석과 다중비교법인 Duncan's multiple test를

실시하여 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 각 군간 차이를 검정하였다. 통계처리는 Sigma stat (Jandel Corp., USA)을 이용하여 실시하였다.

결 과

급성 간장해 예방효과

실험 종료 후 치사하여 APAP와 CCl₄에 의한 간장해 실험동물의 간장중량을 측정된 결과 APAP 유도 실험동물에서의 간장중량은 정상군과 대조군 사이에 유의한 차이가 없었으며, 그 외의 시험군에서도 유의할 만한 차이를 나타내지 않았다. CCl₄에 의한 간장해 유발모델의 간장중량 역시 정상군과 대조군사이 및 대조군과 시험군 사이의 유의성 있는 차이는 없었다 (data not shown).

각 실험군의 복대동맥으로부터 채혈된 혈액에서의 혈청 ALT 및 AST 수치의 변화를 측정된 결과, APAP와 CCl₄ 투여 이후에 혈청생화학 수치가 어떠한 처치도 하지 않은 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하여 간장해가 유발되었음을 확인하였다 (Table I). CCl₄에 의한 급성 간장해 모델에서 대조군의 ALT 및 AST 수치는 각각 393.2±28.26,

Table II. Preventive effects of silymarin and/or curcuma extract treatment on GSH in acute liver damage models

Groups	Dose (mg/kg)	GSH (nM/mg protein)	
		APAP-induced	CCl ₄ -induced
Normal	-	5.61 ± 0.32	
Control	Vehicle only	3.47 ± 0.44	2.24 ± 0.63
CM	66	3.45 ± 0.41	2.31 ± 0.47
CXL	6.25	3.71 ± 0.32	2.67 ± 0.42
CXH	12.5	3.89 ± 0.30	2.81 ± 0.36
CM+CXL	66 / 6.25	4.13 ± 0.41	3.07 ± 0.43
CM+CXH	66 / 12.5	4.45 ± 0.43*	3.24 ± 0.39*

Data are expressed as mean±SD.

*: Significantly different from control, p<0.05.

Table III. Therapeutic effects of silymarin and/or curcumin extract treatment in CCl₄-induced chronic liver damage models

Groups	Dose (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	GSH (nM/mg protein)	MDA (nM/mg protein)
Normal	-	56.3 ± 4.1	84.0 ± 13.6	5.48 ± 0.48	0.10 ± 0.01
Control	-	287.7 ± 87.6	471.3 ± 106.3	2.43 ± 0.43	0.80 ± 0.12
CM+CXH	66 / 12.5	172.0 ± 47.1*	253.9 ± 60.7*	3.51 ± 0.58*	0.41 ± 0.14* [†]
Legaron	50	215.6 ± 28.5*	337.8 ± 81.2*	3.08 ± 0.29*	0.64 ± 0.16*
Eskadus	50	239.2 ± 70.1	356.4 ± 89.0*	3.05 ± 0.19*	0.63 ± 0.17*

Data are expressed as mean±SD.

* : Significantly different from control, p<0.05.

† : Significantly different from Legaron and Eskadus treated group, p<0.05.

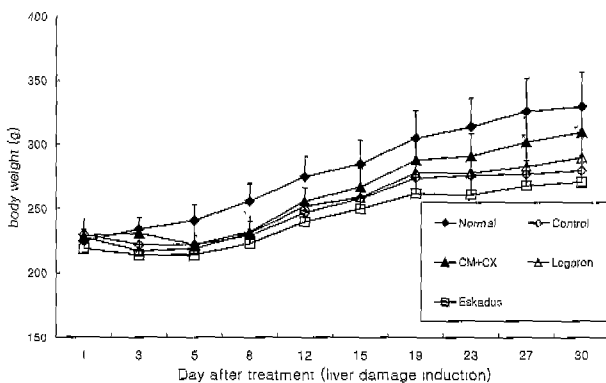


Fig. 1. Effects of silymarin and/or curcuma extract treatment on body weight in CCl₄-induced chronic liver fibrosis animal model. Results are mean±SD, expressed in gram (g). There were statistically significant differences in body weight of CM+CX treated group compared with that of control (*: p<0.05).

487.9±21.32이였으며, APAP에 의한 모델에서는 각각 620.9±55.28 및 505.7±30.99 이었다. CCl₄에 의한 간장해 예방효과에서는 CM, CXL, CXH, CM+CXL 및 CM+CXH군은 모두 대조군에 비하여 유의성 있는 ALT 수치의 감소를 나타내었으며 (p<0.05), 특히 쿠쿠마추출물 단독투여군과 실리마린추출물 병용투여군은 용량반응성을 나타내었다. AST 수치에 있어서는 CM, CM+CXL 및 CM+CXH 군에서 유의성 있는 감소가 나타났으며 (p<0.05), 병용투여군에서는 ALT 수치와 마찬가지로 용량반응성을 나타내었다. 반면 CXL 및 CXH군에서는 대조군과 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

APAP에 의한 간장해 예방효과에서는 CM, CXH, CM+CXL 및 CM+CXH군에서 ALT 및 AST 수치의 유의한 감소를 나타내었으며 (p<0.05), 병용투여군에서는 CCl₄ 유발 모델에서와 같은 용량반응성을 나타내었다.

Reduced GSH는 정상군에 비하여 APAP와 CCl₄의 투여에 의하여 유의성 있는 감소를 나타내었으며 (p<0.05), CM+CXH군에서 정상수준은 아니지만 유의성 있는 증가효과를 나타내었다 (Table II).

Table IV. Anti-fibrotic effects of silymarin and/or curcumin extract treatment in CCl₄- induced chronic liver damage models

Groups	Dose (mg/kg)	Collagen type 1 (% area/total)
Normal	-	0.06 ± 0.08
Control	-	2.51 ± 0.68
CM+CXH	66 / 12.5	1.11 ± 0.22** [†]
Legaron	50	1.43 ± 0.39**
Eskadus	50	1.54 ± 0.36**

Data are expressed as mean±SD.

** : Significantly different from control, p<0.01.

† : Significantly different from Legaron and Eskadus treated group, p<0.05.

사염화탄소에 의한 만성 간장해 치료효과

CCl₄로 간장해를 유발한 이후 시험물질을 1일 1회 14일간 경구투여한 결과, CCl₄에 의한 체중감소 효과가 실리마린과 쿠쿠마추출물 병용투여군에서 유의성 있게 회복되었다 (p<0.05). 그 외의 시험약물 투여군에서는 대조군에 비하여 유의성 있는 체중차이가 나타나지 않았다 (Fig. 1).

혈청내 간장 손상지표인 ALT와 AST를 측정된 결과 (Table III), CM+CXH군과 Legaron 투여군이 ALT 수치에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었으며, 시험약물군 모두에서 유의성 있는 AST 수치의 감소가 나타났다 (p<0.05).

간조직중의 내인성 항산화물질인 GSH의 양에 있어서는 3개의 시험약물 모두 대조군에 대해 유의성 있는 증가가 관찰되었으며, 시험약물 사이의 유의한 차이는 없었다 (Table III). Free radical에 의한 조직손상 지표인 MDA 수치는 시험약물 모두 유의성 있는 감소효과를 나타내었으나, CM+CXH군이 기존의 실리마린 단독제제 (Legaron, Eskadus)에 비하여 강력한 항산화 효과를 가지는 것으로 관찰되었다 (Table III).

간장의 섬유화정도에 영향을 평가하고자 Collagen-1 양성 조직의 면적을 측정된 결과 (Table IV), 시험약물 모두 대조군에 비하여 유의한 면적감소 효과를 나타내었다

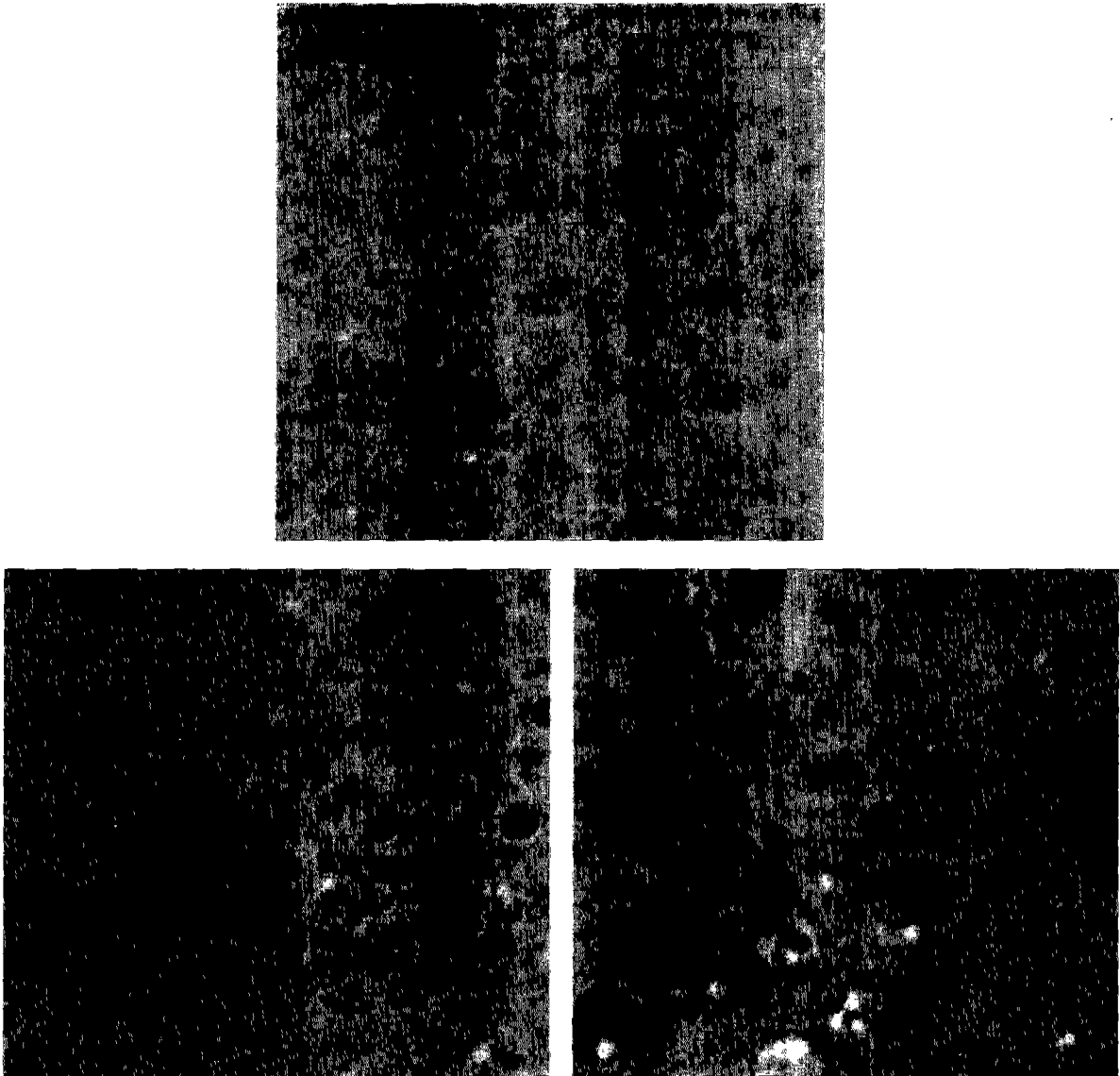


Fig. 2. Light microphotographs of the untreated normal (A), CCl_4 -treated (B), or Liverman-treated (C) rat liver. Both Cytoplasm and muscle fibers are observed in red, and collagen in green ($\times 40$).

($p < 0.01$). 시험약물간의 비교에서는 CM+CXH군이 가장 뛰어난 감소효과를 나타내었으며 (Fig. 2), 특히 Eskadus 투여군에 비하여 CM+CXH군에서 유의한 Collagen-1 양성조직 면적의 감소효과가 관찰되었다 ($p < 0.05$). ALT, AST, GSH, 및 MDA 수치에서 실리마린 제제가 간장해 치료효과를 가지고 있음을 확인하였으며, 그 중에서 CM +CXH군이 기존의 약물인 Legaron 및 Eskadus 투여군에 비하여 유의한 간장 치료효과를 나타내었다 ($p < 0.05$).

고 찰

본 연구에서는 각각 간세포 보호 및 재생작용을 가지고 있으며, 간질환 치료제로서 사용되고 있는 실리마린과 쿠쿠

마추출물의 병용효과를 살펴보고자 하였으며 시험결과, 단독제제 사용시보다 병용사용시에 유의한 효과가 있는 것으로 나타났다. 간장의 장기증량에 있어서 정상군과 대조군 및 각 시험약물 투여군 사이에는 유의성 있는 변화가 없었는데 이는 사염화탄소 (CCl_4)나 아세트아미노펜 (APAP)과 같은 간독성 물질의 투여 6시간 후에 치사하여 실질장기의 증량에 영향을 주기에는 짧은 시간이었기 때문으로 판단된다. 대표적인 간손상 지표인 혈청내 ALT, AST 및 외인성 물질 혹은 대사과정에서 발생하는 독성물질의 해독작용에서 중요한 역할을 하는 GSH 수치가 병용투여군에서 비록 정상수준까지는 아니지만 대조군에 비하여 유의한 증가효과를 나타내었다. CCl_4 에 의한 급성 간장해 모델에서의 ALT 수치는 CM, CXL, CXH, CM+CXL 및 CM+CXH군이 각각

대조군의 85, 91, 86, 71 및 61%이었으며, AST 수치는 82, 95, 94, 78 및 70%이었다. 또한, APAP에 의한 급성 간장해 모델에서의 ALT 수치와 AST 수치는 각각 대조군의 84, 98, 86, 66 및 58%와 78, 96, 89, 72 및 61%이었다. 따라서 실리마린과 쿠쿠마추출물은 간장해 예방효과에 있어서 상승작용이 있는 것으로 판단된다. 이러한 시험 결과는 기존의 실리마린 혹은 쿠쿠마추출물 단독제제에 의한 간장해 예방효과와 시험결과와 일치하며, 그 주요 작용기전은 항산화효과에 의한 것으로 알려져 있다 (Halim 등, 1997; Park 등, 2000).

간장해의 기전은 간독성 물질인 사염화탄소나 아세트아미노펜이 간세포에 손상을 주게 되면, 손상을 입은 간세포에 의한 신호전달이 Kupffer cell을 활성화 시키게 된다. 이때 활성화된 Kupffer cell에 의한 활성산소종의 형성은 간세포에 지질과산화와 같은 산화적 손상을 주게 되어 결국 간세포 사멸을 초래하게 된다. 실리마린은 이와 같이 활성화된 Kupffer cell에 의한 활성산소종의 형성과 leukotriene B₄ (LTB₄) 형성을 선택적으로 억제하여 간장보호효과를 나타낸다는 보고가 있다 (Dehmlow 등, 1996).

만성 간장해에 대한 시험약물의 치료효과 시험결과, 이미 시판중인 실리마린 단독제제 (Legaron, Eskadus)도 본 시험 모델에서 간장해에 대한 치료효과가 있는 것이 입증되었다. 그러나, 병용투여, Legaron 및 Eskadus의 ALT 수치는 각각 대조군의 59, 74 및 83%이었고, AST 수치는 53, 71 및 75%로서 병용투여가 간손상으로부터의 치료효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 만성 간장해 모델에서도 급성간장해 모델에서와 같이 병용투여시 위와 같은 혈청 ALT와 AST 수치의 감소 효과를 나타내었으며, GSH 수치의 감소 억제 및 MDA 수치의 상승을 저해시키는 효과가 있었다.

섬유화 (fibrosis)는 세포외에 존재하는 기질 (matrix) 성분의 합성과 침착의 증가와 동시에 분해와 제거가 감소되어 일어나며, 만성 간장해에서는 TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1)이 섬유화 인자로서 중요한 역할을 한다. 실리마린의 항섬유화 효과는 항산화제로서의 작용에 기인한다고 알려져 있으나, 최근 TGF- β 1에 의하여 발현이 증가되는 procollagen I과 섬유화에서 중요한 역할을 하는 TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases-1)의 발현을 억제함으로써 항섬유화 효과를 나타낸다는 보고가 있다 (Jia 등, 2001).

쿠쿠민 역시 랫드에서의 블레오마이신 (bleomycin)에 의한 폐장 섬유화를 억제한다는 보고가 있으며 (Punithavathi 등, 2000), 본 시험결과 이들 두 가지 약물을 병용하여 투여하였을 경우 상승효과가 있는 것으로 나타났다.

결론적으로, 실리마린과 쿠쿠민은 항산화효과 및 TGF- β 1의 발현 등을 조절하여 간장해 예방 및 치료효과를 나타내며, 단독으로 투여했을 경우보다 병용투여 하였을 때 간장

의 예방 및 치료효과가 상승하고, 간장의 손상 예방효과와 치료효과를 동시에 가지고 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Chuang, S. E., Kuo, M. L., Hsu, C. H., Chen, C. R., Lin, J. K., Lai, G. M., Hsieh, C. Y. and Cheng, A. L. (2000). Curcumin-containing diet inhibits diethylnitrosamine-induced murine hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* **21**, 331-335.
- Dehmlow, C., Erhard, J. and de Groot, H. (1996). Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology* **23**, 749-754.
- Ferenci, P., Dragosics, B., Dittrich, H., Frank, H., Benda, L., Lochs, H., Meryn, S., Base, W. and Schneider, B. (1989). Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. *J. Hepatol.* **9**, 105-113.
- Halim, A. B., el-Ahmady, O., Hassab-Allah, S., Abdel-Galil, F., Hafez, Y. and Darwish, A. (1997). A Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimentally-induced liver damage. *Ann. Clin. Biochem.* **34**, 656-663.
- Ishii, K., Matama, S., Shibata, H., Okabe, H., Okudaira, M., Nagata, H. and Tsuchiya, M. (1984). Microcirculatory responses to estradiol benzoate in chronic liver damage induced by carbon tetrachloride in the rat. *Gastroenterol. Jpn.* **19**, 419-423.
- Janbaz, K. H. and Gilani, A. H. (1995). Evaluation of the protective potential of *Artemisia maritima* extract on acetaminophen- and CCl₄-induced liver damage. *J. Ethnopharmacol.* **47**, 43-47.
- Jia, J. D., Bauer, M., Cho, J. J., Ruehl, M., Milani, S., Boigk, G., Riecken, E. O. and Schuppan, D. (2001). Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha1(I) and TIMP-1. *J. Hepatol.* **35**, 392-398.
- Kawamori, T., Lubet, R., Steele, V. E., Kelloff, G. J., Kaskey, R. B., Rao, C. V. and Reddy, B. S. (1999). Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Res.* **59**, 597-601.
- Lin, J. K., Pan, M. H. and Lin-Shiau, S. Y. (2000). Recent studies on the biofunctions and biotransformations of curcumin. *Biofactors* **13**, 153-158.
- Ramsewak, R. S., DeWitt, D. L. and Nair, M. G. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine* **7**, 303-308.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Mascher H., Kikuta, C. and Weyhenmeyer, R. (1993). Diastomeric separation of free and conjugated silibinin in plasma by reversed phase HPLC after specific extraction. *J. Liquid Chromatogr.* **16**, 2777-2789.

- Miguez, M. P., Anundi, I., Sainz-Pardo, L. A. and Lindros, K. O. (1994). Hepatoprotective mechanism of silymarin: no evidence for involvement of cytochrome P450 2E1. *Chem. Biol. Interact.* **91**, 51-63.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
- Park, E. J., Jeon, C. H., Ko, G., Kim, J. and Sohn, D. H. (2000). Protective effect of curcumin in rat liver injury induced by carbon tetrachloride. *J. Pharm. Pharmacol.* **52**, 437-440.
- Piper, J. T., Singhal, S. S., Salameh, M. S., Torman, R. T., Awasthi, Y. C. and Awasthi, S. (1998). Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **30**, 445-456.
- Punithavathi, D., Venkatesan, N. and Babu, M. (2000). Curcumin inhibition of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Br. J. Pharmacol.* **131**, 169-172.
- Salmi, H. A. and Sarna, S. (1982). Effect of silymarin on chemical, functional, and morphological alterations of the liver. A double-blind controlled study. *Scand. J. Gastroenterol.* **17**, 517-521.
- Savio, D., Harrasser, P. C. and Basso, G. (1998). Softgel capsule technology as an enhancer device for the absorption of natural principles in humans. A bioavailability cross-over randomised study on silybin. *Arzneimittelforschung* **48**, 1104-1106.
- Schandalik, R., Gatti, G. and Perucca, E. (1992). Pharmacokinetics of silybin in bile following administration of silipide and silymarin in cholecystectomy patients. *Arzneimittelforschung* **42**, 964-968.
- Skottova, N. and Krecman, V. (1998). Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. *Physiol. Res.* **47**, 1-7.