

울금(*Curcuma longa*)으로부터 분리한 squalene synthase 저해물질의 특성

최성원* · 양재성 · 이한승¹ · 김동섭² · 배동훈³ · 유주현⁴

(주)그린바이오텍, ¹(주)제노포커스, ²필양대학교 식품과학과, ³단국대학교 식품공학과, ⁴한국미생물보존센터

Characterization of Squalene Synthase Inhibitor Isolated from *Curcuma longa*

Sung-Won Choi*, Jae-Sung Yang, Han-Seung Lee¹, Dong-Seob Kim², Dong-Hoon Bai³ and Ju-Hyun Yu⁴

Research Institute of Biotechnology, Green Biotech Co. Ltd.

¹Directed Evolution Team, GenoFocus Inc.

²Department of Food Science, Miryang National University

³Department of Food Engineering, Dankook University

⁴Korean Culture Center of Microorganisms

An inhibitor of squalene synthase, a key enzyme in the cholesterol biosynthetic pathways and a target for improved agents to lower plasma levels of low-density lipoprotein, was sequentially purified from *Curcuma longa* by acetone extraction, silica gel column chromatography, and sephadex LH-20 column chromatography. Active compound, YUF-01, was successfully purified and analyzed as C₂₀H₂₁O₆ by electron ionization mass spectrum. Through ¹H-NMR and ¹³C-NMR analyses, YUF-01 was identified as curcumin, which showed strong inhibition of squalene synthase.

Key words: curcumin, *Curcuma longa*, cholesterol biosynthesis, squalene synthase, inhibitor

서 론

심혈관계 질환은 미국을 비롯한 외국의 경우는 물론 한국에서도 가장 높은 비중을 차지하는 사망원인중 하나이며, 이러한 질환의 원인은 혈장의 콜레스테롤 농도수준과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다^(1,2). 콜레스테롤은 탄소수 27개로 이루어진 불용성 스테로이드(steroid)계 화합물로서, 동물세포의 필수적인 막성분 일뿐만 아니라 프로게스틴(progesterin), 코르티코스테로이드(corticosteroid), 안드로젠(androgen)과 에스트로젠(estrogen)의 전구체로 작용하며, 장으로부터 지방이나 지용성 비타민의 흡수에 필요한 담즙산(bile acid)의 형성뿐만 아니라 간으로부터 지방을 말초조직으로 운반하기 위해 간에서 형성되는 초저밀도 지단백(VLDL; very-low-density lipoprotein)의 생성에도 이용된다⁽³⁻⁵⁾.

생체에 필요한 콜레스테롤은 주로 간에서 진행되는 생체내 합성에 의한 내인성 콜레스테롤과 음식물의 섭취에 의한 외

인성 콜레스테롤에 의하여 공급되는 것으로 알려져 있으며, 콜레스테롤의 축적이나 이용을 위해서 합성 또는 흡수된 조직으로부터 필요로 하는 조직까지 운반된다. 그리고 콜레스테롤은 혈장에서 트리글리세라이드(triglyceride)와 함께 지단백(lipoprotein)형태로 이동되어 대사된다. 간은 콜레스테롤과 트리글리세라이드를 분비할 때 주로 초저밀도 지단백의 형태로 분비하는데, 이는 혈관벽의 지단백 분해효소의 작용으로 트리글리세라이드가 제거되면서 중간밀도 지단백(IDL; intermediate-density lipoprotein)으로 변하고 중간밀도 지단백은 잔여 트리글리세라이드가 제거되어 저밀도지단백(LDL; low-density lipoprotein)으로 전환된다. 이렇게 형성된 저밀도 지단백은 장기간 혈액 내에 체류하게 되므로, 혈장 콜레스테롤의 대부분(60-70%)은 저밀도 지단백 형태로 존재하게 된다^(6,7).

혈중의 LDL은 세포막의 LDL-수용체를 통해 세포내로 이동하는데 세포내 콜레스테롤의 농도가 높을 경우, LDL-수용체의 합성속도는 감소되어 혈액으로부터 콜레스테롤의 흡수가 느려진다^(8,9). 즉, 생합성에 의한 콜레스테롤과 식품으로 섭취된 콜레스테롤의 양이 세포막, 담즙산, 스테로이드 호르몬의 합성에 필요한 양을 초과하여 혈중 콜레스테롤의 수준이 높을 경우, 혈관 내에 콜레스테롤의 축적으로 혈관이 좁아져서 혈류를 방해할 수도 있으며, 심한 경우에는 혈관의 폐색이 일어나 혈류를 정지시켜 조직이 사멸되기도 한다⁽¹⁰⁻¹²⁾.

*Corresponding author : Sung-Won Choi, Green Biotech Co. Ltd., Yadang-ri 45-70, Kyoha-myun, Paju-city, Gyeonggi-do 413-830, Korea
Tel: 82-31-946-5614
Fax: 82-31-946-5615
E-mail: csw@greenbiotech.com

결국 혈중 LDL농도의 증가는 아테롬(atheroma)의 증식을 가속화하여 동맥경화증을 유발하게 된다^(13,14). 현재 이러한 심혈관 질환을 일으키는 주요 위험 요인으로 혈장 콜레스테롤 수준의 증가, 특히 LDL-콜레스테롤의 증가가 거론되고 있으며, 결국 LDL-콜레스테롤을 정상수준으로 유지하는 것이 심혈관 질환을 방지하는 중요 해결책으로 제시되고 있다^(15,16). 따라서, 콜레스테롤 생합성을 저해함으로써 LDL-수용체의 합성 속도를 증가시켜 혈장 콜레스테롤 수준을 낮추는 방법이 효과적인 것으로 여겨지고 있다.

최근들어 콜레스테롤의 생합성 과정에 관여하는 중요한 효소인 squalene synthase(SQS)의 저해제를 탐색하는 연구가 많이 진행되고 있으며, zaragozic acid 및 squalenolone 등의 신물질들을 미생물로부터 분리한 것이 보고 되고 있다⁽¹⁷⁻²⁰⁾.

Squalene synthase는 acetyl-CoA에서 시작하여 콜레스테롤이 합성되는 콜레스테롤 생합성 과정 중에서 farnesyl pyrophosphate(FPP)가 스쿠알렌으로 전환되는 단계를 촉매하는 효소이다^(21,22). SQS 저해제는 3-hydroxymethyl-glutaryl Coenzyme A(HMG-CoA) 저해제와는 달리 콜레스테롤 생합성 경로상 하류(downstream)에 해당하는 효소를 저해하는 것이기 때문에 HMG-CoA에 의해 파생되는 많은 생체내 isoprenoid 물질들의 전구체 비생성 현상이 나타나지 않아, HMG-CoA 저해제에 의한 여러 가지 부작용을 막을 수 있을 것으로 기대된다.

본 실험에서는 생약 제재 및 식물 추출물을 이용하여 squalene synthase 저해물질을 탐색하고자 하였다. 그 결과 생약 제재인 울금(*Curcuma longa*)추출물이 squalene synthase의 활성을 저해하는 것을 확인하였으며, 울금(*Curcuma longa*)추출물에 존재하는 저해물질을 확인하기 위하여 저해물질을 분리·정제함으로써 구조를 규명하였고, squalene synthase 활성에 대한 저해기작에 관하여 연구하였다.

재료 및 방법

Pig liver microsome의 분리

돼지 간 100 g을 잘게 썰어서 충분히 다지고 200 mL의 완충액(0.1 M potassium phosphate, pH 7.4 / 0.3 M sucrose / 5 mM DTT / 10 mM MgCl₂ / 50 mM KCl)을 첨가한 다음 균질화하였다. 4,000×g에서 15분간 원심분리를 한 다음 상등액을 취하고 다시 15,000×g에서 30분간 원심분리를 하였다. 원심분리로 얻어진 상등액을 취해 105,000×g에서 1시간 초원심분리를 하여 microsome을 침전시켰다. 세척을 위해 50 mL의 완충액을 첨가하여 균질화시키고 105,000×g에서 30분간 초원심분리로 침전된 microsome을 완충액에 현탁시켜 squalene synthase 활성측정을 위한 효소원으로 사용하였다^(23,24).

Squalene synthase의 활성 측정

반응 완충액(100 mM potassium phosphate, pH 7.4 / 5 mM MgCl₂ / 100 mM KCl / 10 mM DTT / 2 mM NADPH) 100 μL와 microsome(1.92 mg protein/mL) 50 μL를 혼합하여 37°C에서 10분간 방치시킨 후 기질인 [³H]-farnesyl pyrophosphate는 주어진 농도별로 10 μL를 첨가시켜 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이때, [³H]-farnesyl pyrophosphate의 specific activity는

100 mCi/M으로 조정하여 사용하였다. 반응용액은 200 μL의 냉각한 ethanol을 첨가해 반응을 정지시킨 뒤 n-hexane으로 3회 추출하여, hexane층과 cocktail solution을 혼합하여 scintillation counting하는 방법으로 효소활성을 측정하였다⁽²⁵⁻²⁷⁾.

Squalene synthase에 대한 저해 활성의 측정

Squalene synthase 저해물질 시료를 반응액에 첨가한 것과 저해물질 시료를 넣지 않은 반응액의 cpm값 차이를 측정하여 효소활성의 저해정도를 판단하였다. 저해물질 시료 10 μL와 반응완충액(100 mM potassium phosphate, pH 7.4 / 5 mM MgCl₂ / 100 mM KCl / 10 mM DTT / 2 mM NADPH) 100 μL와 microsome(1.92 mg protein/mL) 50 μL를 혼합하여 37°C에서 10분간 방치시킨 후 125 μM [³H]-farnesyl pyrophosphate 10 μL의 기질을 첨가하여 37°C에서 다시 30분간 반응시켰다. 200 μL의 냉각한 ethanol을 첨가해 반응을 정지시킨 뒤 n-hexane으로 3회 추출하여, hexane층과 5 mL의 cocktail solution을 혼합하여 scintillation counting하는 방법으로 저해 정도를 측정하였다⁽²³⁻²⁷⁾.

사용기기

동위원소 측정을 위한 liquid scintillation counter는 Beckman사의 LS 6500을 사용하였다. High performance liquid chromatography(HPLC)는 pump(Waters 510)와 auto sampler(Waters 717 plus), UV detector(WatersTM486)및 fraction collector(Waters fraction collector)를 사용하였다. UV-Vis spectrophotometer(Beckman DU series 600 spectrophotometer)를 이용하여 190에서 800 nm까지 scanning하여 나타나는 UV-Vis 흡수 양상을 관찰하였다. Mass spectrum은 Jeol사의 JMS-AX505WA mass spectrometer를 사용하였고 NMR spectrum은 Varian UNIT 400 MHz를 이용하여 ¹H-NMR spectrum은 399.65 MHz에서, ¹³C-NMR은 100.40 MHz에서 측정하였다.

결과 및 고찰

울금(*Curcuma longa*)으로부터 squalene synthase 저해물질의 분리·정제

울금(*Curcuma longa*) 200 g을 2 L의 acetone으로 12시간 동안 3회 반복 추출한 후 원심분리하여 상등액을 여과한 다음 감압농축하였다. 농축액을 증류수로 현탁하여 ethyl acetate(EtOAc)로 추출한 다음 감압농축하여 silica gel column chromatography를 하기 위한 시료로 사용하였다. Silica gel 400 mL를 4×30 cm column에 채우고 위의 시료를 loading하여 n-hexane과 ethyl acetate의 조성비를 8:2, 6:4, 4:6 으로 조합된 용매를 이용하여 분당 10 mL의 유속으로 순차적으로 용리하였다. Column을 통과한 용출액은 U.V. detector(254 nm)로 U.V.흡광도를 측정하여 recorder에 기록하고 fraction collector를 이용하여 분획하였다. 이 경우 n-hexane:ethyl acetate의 조성이 4:6의 용매에서 squalene synthase 저해활성을 갖는 물질이 분리되어 용리되는 것을 관찰할 수 있었고 이를 다음 정제과정의 시료로 사용하였다. Silica gel column chromatography에서 용출된 활성분획을 모아서 감압농축하고 소량의 methanol에 용해하였다. Sephadex LH-20 gel column

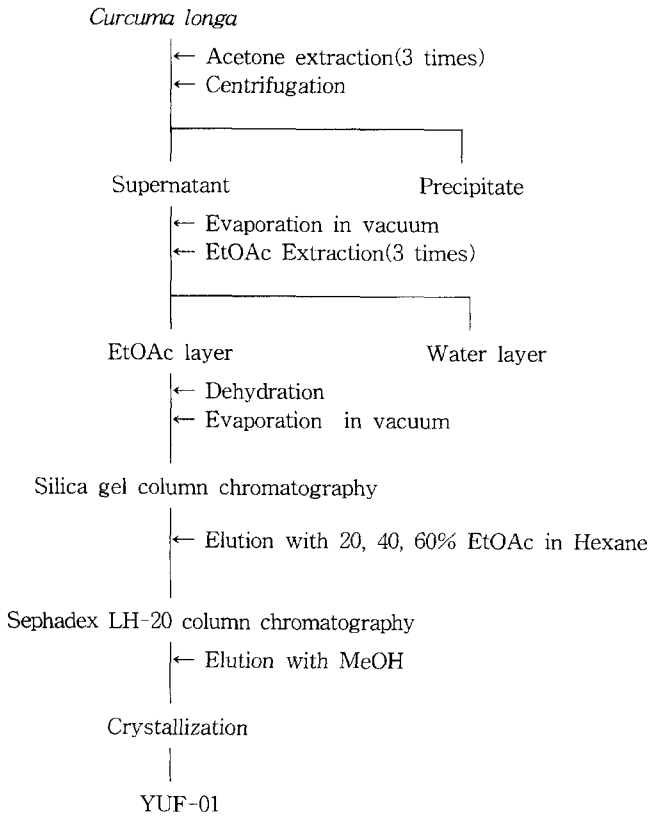


Fig. 1. Purification procedure of the squalene synthase inhibitor from *Curcuma longa*.

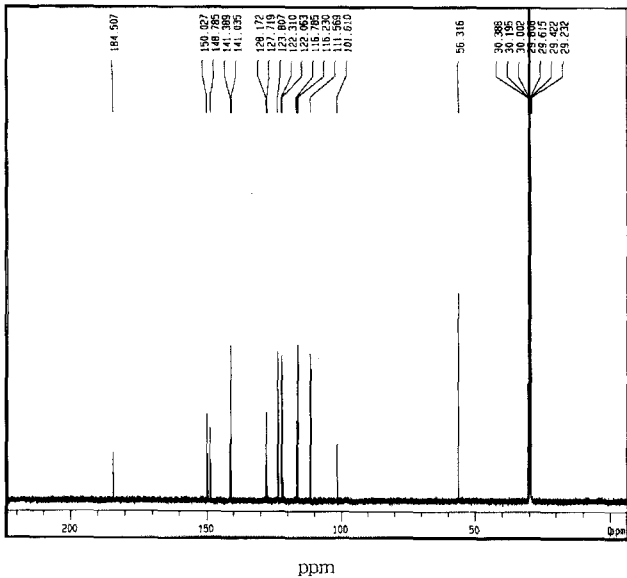


Fig. 2. ¹³C-NMR spectrum of YUF-01 isolated from *Curcuma longa*.

(1.8×82 cm)에 농축액을 loading한 후 methanol을 이용하여 시간당 20 mL의 유속으로 용리시켰으며 254 nm에서 흡광도를 측정하였다. Sephadex LH-20 gel column chromatography로부터 용리된 활성분획을 농축한 후 미량의 ethyl ether에 녹인 후 실온에 방치하였을 때 생성되는 결정을 모아 다시 미량의 ethyl ether에 녹여 실온에 방치하는 과정을 반복하여

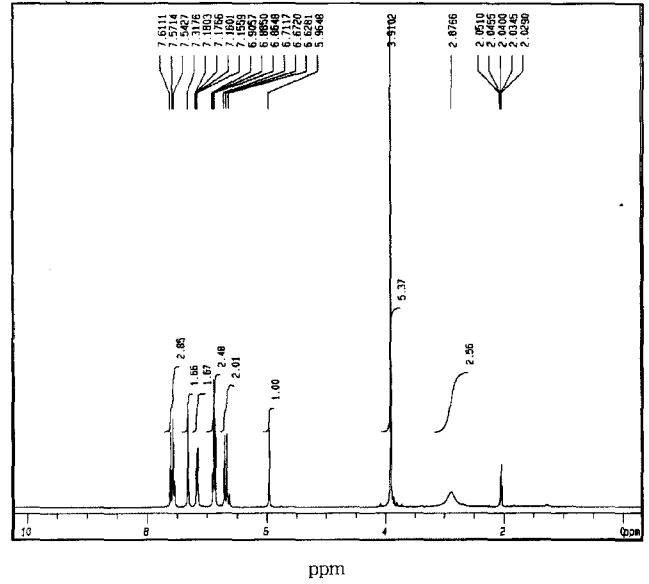


Fig. 3. ¹H-NMR spectrum of YUF-01 isolated from *Curcuma longa*.

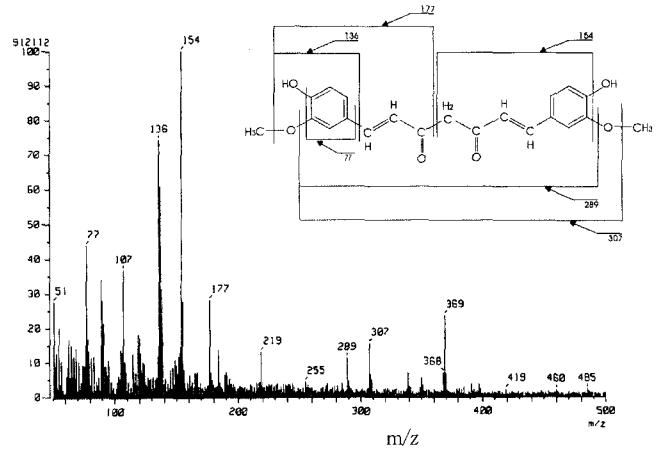


Fig. 4. EI-Mass spectrum of YUF-01 isolated from *Curcuma longa*.

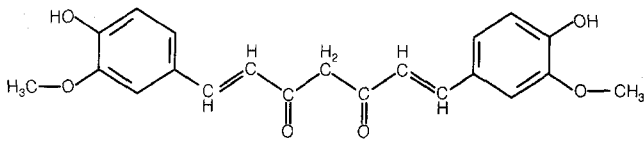
얻어진 결정물을 YUF-01이라 명명하였다(Fig. 1). 결정 YUF-01의 순도를 분석하기 위하여 Waters사의 C18 column(4.6×220 mm)에 5% acetonitrile, flow rate 1 mL/min의 조건으로 HPLC를 실시한 결과 단일 peak를 나타내었으며 이 결과로부터 정제하여 얻은 물질이 불순물이 없는 단일 물질임을 확인하였다.

울금(*Curcuma longa*)으로부터 squalene synthase 저해물질의 구조분석

YUF-01에 대한 구조 분석을 위하여 ¹³C NMR spectrum을 수행한 결과는 Fig. 2와 같다. 184.50 ppm에서 ketone기의 carbon을, 56.31 ppm 사이에서 methyl기의 carbon을 확인할 수 있었으며 111.56에서 150.02 ppm 사이에서 이중결합 또는 aromatic ring의 carbon으로 추측되는 peak들을 확인할 수 있었다. YUF-01의 ¹H NMR spectrum에서는 6.62에서 7.61 ppm 사이에서 aromatic ring과 이중결합 carbon에 붙어있는

Table 1. Physico-chemical properties of YUF-01 isolated from *Curcuma longa*

Properties	YUF-01
Appearance	Yellow powder
UV(MeOH) λ_{Max} ϵ	421, 243
EI-MS	369
MP	187°C
Molecular fomula	C ₂₁ H ₂₀ O ₆
Solubility	
Soluble	MeOH, EtOH, EtOAc, Me ₂ CO CHCl ₃
Insoluble	Hexane
TLC (Rf)	
Hexane-Ethyl Acetate (5 : 5)	0.38

**Fig. 5. Structure of curcumin isolated from *Curcuma longa*.**

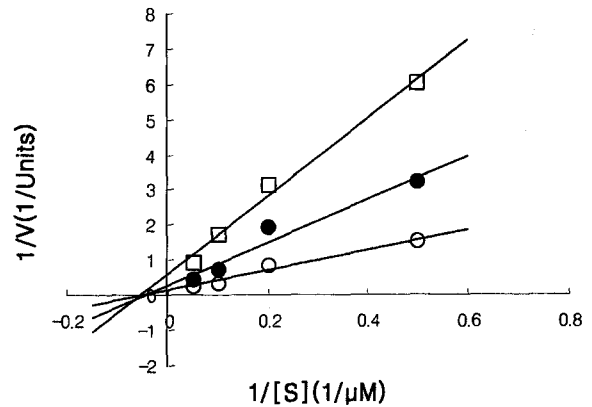
proton이 관찰되었으며 3.91 ppm에서는 methyl기의, 2.87 ppm에서는 hydroxyl기의 proton peak가 각각 확인되었다(Fig. 3). Electron ionization mass spectrum(EI-MS)으로 분석한 결과 분자량이 368이라는 것을 알 수 있었으며 177, 154, 136 등에서 main peak를 확인 할 수 있었다(Fig. 4). 이상의 기기 분석의 결과와 물리화학적 성질(Table 1)이 기존의 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione(curcumin)과 일치하였고 그 구조는 Fig. 5와 같았다. Curcumin은 이미 항산화제, 항암제, 항염증제 등으로 알려져 있으나 squalene synthase에 대한 저해효과에 대해서는 아직까지 보고 되어진 바 없다^(28,29).

Curcumin에 의한 squalene synthase 저해효과

Squalene synthase에 대한 curcumin의 직접적인 저해효과를 확인하기 위해 curcumin을 농도별로 처리하였다. Squalene synthase은 curcumin에 의해 농도의존형으로 저해를 받았으며 curcumin의 IC₅₀값은 100 μ M이었다. Squalene synthase의 기질에 대한 curcumin의 경쟁성 여부를 확인하기 위해 저해제 농도를 0, 0.1, 0.5 μ M로 가하고 기질의 농도를 달리하여 (0.5, 1.0, 2.0, 5.0 μ M) 효소의 활성을 측정 한 후 double-reciprocal plot을 작성하여 저해양식을 조사한 결과 squalene synthase에 대해 non-competitive inhibitor로 작용하는 것을 알 수 있었다(Fig. 6).

요 약

동맥경화증과 같은 심혈관 질환을 야기시키는 주요 위험 요인인 혈중 콜레스테롤의 수준을 낮추기 위하여 콜레스테롤 생합성 과정의 속도조절단계 효소의 하나인 squalene synthase의 활성을 저해하는 물질을 분리·정제하여, 물질의

**Fig. 6. Lineweaver-Burk plot of squalene synthase in the presence of curcumin.**

○: No inhibitor, ●: Curcumin 0.1 μ M, □: Curcumin 0.5 μ M.

이화학적 특성과 생물학적 특성을 검토하였다. Squalene synthase 저해물질은 acetone extraction, ethyl acetate extraction, silica gel column chromatography, sephadex LH-20 column chromatography, 결정화 등을 이용하여 분리·정제하여 YUF-01을 얻었다. 기기분석을 통하여 구조분석을 행한 결과 YUF-01은 분자량 368, 분자식 C₂₀H₂₁O₆으로 분석되었으며 243과 421 nm 에서 UV-VIS 흡광을 나타내었고 ¹³C NMR spectrum과 ¹H NMR spectrum을 검토하였을 때 aromatic ketone 구조인 curcuminoid 계통의 curcumin과 일치하였다. Squalene synthase에 대한 curcumin의 IC₅₀값은 100 μ M이었으며, non-competitive inhibitor로 작용하였다.

감사의 글

본 연구는 (주)풀무원의 연구비 지원으로 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Young, S.G. and Parthasarathy, S. Why are low-density lipoproteins atherogenic? *West J. Med.* 160: 153-164 (1994)
2. Bruce, C., Sharp, D.S. and Tall, A.R. Relationship of HDL and coronary heart disease to a common amino acid polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein in men with and without hypertriglyceridemia. *J. Lipid Res.* 39: 1071-1078 (1998)
3. Gunstone, F.D., Harwood, J.L. and Padley, F.B. The role of fats in human nutrition, pp. 7-15. In: *The Lipid Handbook*. Padley, F.B. and Podmore, J. (eds.). Ellis Horwood, Chichester, UK (1985)
4. Brown, M.S. and Goldstein, J.L. Multivalent feedback regulation of HMG-CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *J. Lipid Res.* 21: 505-512 (1980)
5. Spector, A.A. and Yorek, M.A. Membrane lipid composition and cellular function. *J. Lipid Res.* 26: 1015-1021 (1985)
6. Heider, J.G., Pickens, C.E. and Kelly, L.A. Role of acyl CoA:Cholesterol acyltransferase in cholesterol absorption and its inhibition by 57-118 in the rabbit. *J. Lipid Res.* 24: 1127-1134 (1983)
7. Crey, M.C., Sirtori, D.M. and Bliss, C.M. Lipid, digestion and adsorption. *Ann. Rev. Physiol.* 45: 651-658 (1983)

8. Brown, M.S. and Goldstein, J.L. Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors. *Science* 212: 628-634 (1981)
9. Osborn, J.C. and Brewer, H.B. The plasma lipoproteins. *Adv. Protein Chem.* 31: 253-258 (1977)
10. Goldstein, D.S., Levinson, P.D., Zimlichman, R., Pitterman, A., Stull, R. and Keiser, H.R. Clonidine suppression testing in essential hypertension. *Ann. Int. Med.* 102: 42-48 (1985)
11. Insel, P.A. and Motulsky, H.J. A hypothesis linking intracellular sodium membrane receptors and hypertension. *Life Sci.* 34: 1009-1023 (1984)
12. Croog, S.H., Levine, S., Testa, M.A., Brown, B., Bulpitt, C.J., Jenkins, D., Klerman, G.L. and Williams, G.H. The effects of antihypertensive therapy on the quality of life. *New Engl. J. Med.* 314: 1657-1664 (1986)
13. Brown, M.S. and Goldstein, J.L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232: 34-47 (1986)
14. Endo, A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J. Lipid Res.* 33: 1569-1577 (1992)
15. Brown, G., Albert, J.J., Fisher, L.D., Schaefer, S.M., Lin, J.T., Kaplan, C., Zhao, X.O., Bisson, B.D., Fitzpatrick, V.F. and Dodge, H.T. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein. *New Engl. J. Med.* 323: 1289-1295 (1990)
16. Kane, J.P., Malloy, M.J., Ports, T.A., Philips, N.R., Dichl, J.C. and Havel, R.J. Regression of coronary atherosclerosis during treatment of familia hypercholesterolemia with combined drug regimens. *JAMA* 264, 3007-3015 (1990)
17. Bergstrom, J.D., Krutz, M.M., Rew, D.J., Amend, A.M., Karkas, J.D., Bostedor, R.D., Bansal, V.S., Dufresns, C., Middleworth, F.L.V., Hensens, O.D., Liesch, J.M., Zinc, D.L., Wilson, K.E., Onishi, J., Milligan, J.A., Bills, G., Kaplan, L., Nallin, M., Jenksins, R.G., Huang, L., Meinz, M.S., Quinn, L., Burg, R.U., Kong, Y.L., Mochales, S., Mojena, M., Martin, I., Pelaez, F., Diez M.T. and Albert, A.W. Zaragozic acids: A family of metabolites that are picomolar competitive inhibitors of squalene synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 80-89 (1993)
18. Dawson, M.J., Farthing, J.E., Marshall, P.S., Middleton, R.F., O'Neill, M.J., Shuttleworth, A., Stylli, C., Tait, R.M., Taylor, P.M., Wildman, H.G., Buss, A.D., Langley, D. and Hayes, M.V. The squalenestatsins, novel inhibitors of squalene synthase produced by a species of *Phoma*. I. Taxonomy, fermentation, isolation, physicochemical properties and biological activity. *J. Antibiotics* 45: 639-647 (1992)
19. Sidebottom, P.J.R. Highcock, M., Lane, S.J., Procopiou, P.A. and Watson, N.S. The squalenestatsins, novel inhibitors of squalene synthase produced by a species of *Phoma*. II. Structure elucidation. *J. Antibiotics* 45: 648-658 (1992)
20. Baxter, A., Fitzgerald, B.J., Hutson, J.L., McCarthy, A.D., Motteram, J.M., Ross, B.C., Sapra, M., Snowden, M.A., Watson, N.S., William, R.J. and Wright, C. Squalenestatin I, a potent inhibitor of squalene synthase, which lower serum cholesterol in vivo. *J. Biol. Chem.* 267: 11705-11708 (1992)
21. Popjak, G., Goodman, D.S., Cornforth, J.W., Cornforth, R.H. and Ryhage, R. Studies on the biosynthesis of cholesterol: XV. Mechanism of squalene biosynthesis from farnesyl pyrophosphate and from mevalonate. *J. Biol. Chem.* 236: 1934-1939 (1961)
22. Porter, J.W. Biosynthesis of isoprenoid compounds, Vol. 1, pp. 413-441. In: Prenyl Transferases and Isomerase, Poulter, C.D. and Rilling, H.C. (eds.). Wiley Publisher, New York, USA (1981)
23. Agnew, W.S. Squalene synthetase. *Methods Enzymol.* 110: 359-375 (1985)
24. Kuswik, R.G. and Rilling, H.C. Squalene synthetase. Solubilization and partial purification of squalene synthetase, copurification of presqualene pyrophosphate and squalene synthetase activities. *J. Biol. Chem.* 262: 1505-1510 (1987)
25. Cohen, L.H., Griffioen, A.M. and Wanders, R.J.A. Regulation of squalene synthase in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 138: 335-341 (1986)
26. Dugan, R.E. and Porter, J.W. Hog liver squalene synthase : The partial purification of the particulate enzyme and kinetic analysis of the reaction. *Arch. Biochem. Biophys.* 152: 28-35 (1972)
27. Shechter, I., Klinger, I. and Rucher, M.L. Solubilization and characterization of a truncated form of rat hepatic squalene synthase. *J. Biol. Chem.* 267: 8628-8635 (1992)
28. Toda, S., Miyase, T., Arichi, H., Tanizawa, H. and Takino, Y. Natural antioxidants. III. Antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 1725-1728 (1985)
29. Kuttan, R., Bhanumathy, P., Nirmala, K. and George, M.C. Potential anticancer activity of tumeric (*Curcuma longa*). *Cancer Lett.* 29: 197-202 (1996)

(2003년 1월 20일 접수; 2003년 4월 7일 채택)