생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
38(2): 139 ~ 147 (2007)

Curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin의 간보호 작용

천호준 · 박진구 · 김영식[1] · 강삼식[1] · 채흥복[2] · 이정준[2] · 이선미*
성균관대학교 약학대학, [1]서울대학교 약학대학, [2]한국생명공학연구원 항암물질연구실

Hepatoprotective Activities of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin

Ho Jun Cheon, Jin Goo Park, Yeong Shik Kim[1], Sam Sik Kang[1], Xing Fu Cai[2], Jung Joon Lee[2], and Sun-Mee Lee*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea
[1]College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea
[2]Anticancer Research Laboratory, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-600, Korea

Abstract – The aim of this study was to investigate the protective activity of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin, isolated from *Curcuma longa* Linné, on hepatocyte injury induced by carbon tetrachloride (CCl_4, 10 mM), *t*-butyl hydroperoxide (TBH, 0.5 mM) and D-galactosamine (GalN, 30 mM). Primary cultures of rat hepatocyte (18 h culture) were treated with CCl_4, TBH or GalN and various concentrations (0.1, 1, 10 and 100 μM) of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. CCl_4 significantly increased the levels of lactate dehydrogenase (LDH), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). The increases in LDH, ALT and AST levels were inhibited by curcumin. Demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin decreased the levels of AST. Curcumin inhibited the increases in ALT and AST levels induced by TBH. The increased levels of LDH, ALT and AST induced by TBH were inhibited by bisdemethoxycurcumin. GalN markedly increased the levels of LDH, ALT and AST. These increases were significantly inhibited by bisdemethoxycurcumin. The increase in AST level was inhibited by curcumin. These results suggest that curcumin and bisdemethoxycurcumin have potent hepatoprotective activities.

Key words – Curcumin, Demethoxycurcumin, Bisdemethoxycurcumin, *Curcuma long* L., Hepatoprotective activity

간은 체중의 3%를 차지하는 장기로서 인체에서 물질의 대사, 합성, 저장 및 생체 내 전환에 중요한 역할을 하고 있다. 즉, 간은 탄수화물, 단백질, 지방, 핵산 및 비타민류 등의 생합성 및 분해에 중추적인 역할을 하며 담즙을 생성하여 지방성분의 소화와 흡수를 도울 뿐 아니라 물질에 대한 포합작용을 통해 신장이나 담즙으로 배설되기 쉬운 형태로 전환시킨다. 또한 에너지원으로 사용되고 남은 당을 글리코겐으로 저장하기도 하는 등 매우 다양한 기능을 수행한다.

최근 생활수준 향상에 따른 식생활의 변화와 복잡한 현대생활에서 오는 많은 스트레스 및 음주 등 다양한 발병인자로 인한 간장 관련 질환이 날로 증가하고 있으나, 이를 치료하거나 예방할 수 있는 화학적 및 천연물 유래 간질환 치료제나 간기능 개선제의 개발이 충분하게 이루어지지 않고 있다. 이와 관련하여 볼 때 대다수의 천연물의 경우 그의 임상적 효과가 고대로부터 이미 널리 알려져 왔으며 부작용도 적으리라 예상되나, 유효 용량뿐 아니라 정확한 약리효과에 대한 과학적 연구 결과가 매우 미약하며, 특히 그의 활성성분과 효능에 대한 상관연구는 더욱 미진한 실정이다.

울금은 생강과(Zingiberaceae)인 강황(*Curcuma long* L.)의 덩이뿌리를 그대로 또는 주피를 제거하고 쪄서 말린 것으로서 담즙분비 촉진 작용과 항균 작용, 담도결석 개선의 효과가 있어 이담약, 방향성 건위, 통경약 및 지혈약으로 쓰이고, 가루는 curry powder 원료로도 쓰인다.[1] 최근 연구보고에 따르면 울금 추출물이 항산화 작용[2]과 항염증 작용[3]

*교신저자(E-mail): sunmee@skku.edu
(FAX): 031-292-8800

을 나타낸다고 하며, 그의 활성성분인 curcumin이 흰쥐에서 ethanol과 항생제로 유도된 간독성을 개선시키며,[4,5] 히드록시기를 가진 demethoxycurcumin과 bisdemethoxycurcumin은 흰쥐에서 curcumin보다 더욱 강력한 항산화 작용 뿐만 아니라 항알러지작용도 나타낸다[6,7]고 한다. 또한, 울금의 활성성분이 세포고사[8]와 항혈관신생 작용[9]을 통해 간암발생을 억제한다[10]고 보고된 바 있다.

현재 carbon tetrachloride(CCl_4), *t*-butyl hydroperoxide (TBH) 및 D-galactosamine(GalN)으로 간독성이 유발된 일차배양 간세포는 간보호 약물의 활성 검색 및 간질환 기전 연구에 대표적인 생체 외 모델로 널리 사용되고 있다. CCl_4는 일산소 첨가 효소계(mixed function oxidase system)의 활성에 의해 CCl_3 radical로 활성화 되어 간독성을 유발하며,[11] TBH는 간세포에서 cytochrome P450(CYP450) 효소에 의해 세포구성물을 산화시킬 수 있는 alkoxy-나 peroxynents로 분해되며, 이러한 산물들이 DNA의 손상을 가져와 결국 간세포를 사멸시킨다.[12] 또한 GalN은 간세포 내 RNA 및 단백질의 합성 억제를 통해 간독성을 유발한다.[13]

따라서 본 연구에서는 CCl_4, TBH 및 GalN으로 급성 간독성을 유발시킨 일차 배양 흰쥐 간세포를 이용하여 울금의 활성성분인 curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin의 간보호 활성을 알아보고자 하였다.

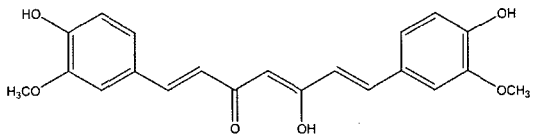
재료 및 방법

시약 및 기기 – 중국이 원산지인 울금(*Curcumae longae Radix*)을 2005년 9월 대전 칠성약품에서 구입하여 정확히 감정하고 사용하였으며, 표준품은 한국생명공학연구원 항암물질연구실에 보관되어 있다. Type I collagen, collagenase type IV, insulin, epidermal growth factor, hydrocortisone, glucagon, antibiotic antimycotics, trypan blue, bovine serum albumin(BSA), methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide(MTT), CCl_4, TBH 및 GalN 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서, lactate dehydrogenase(LDH), alanine aminotransferase(ALT) 및 aspartate aminotransferase(AST) assay kit는 (주)아이비디-랩(Suwon, Korea), Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM) 및 fetal bovine serum(FBS)은 GIBCO-BRL사(GRAND Island, NY, USA)에서 각각 구입하여 사용하였으며 기타 일반 시약들은 특급 시약을 구입하여 사용하였다. Melting points는 보정없이 Electrothermal 9100 instrument를, optical rotations는 JASCO P-1020 polarimeter를 사용하여 측정하였으며 흡광도는 Shimadzu UV-1601 UV-visible spectrophotometer를 사용하였다. NMR spectra는 Varian UNITY 400 NMR spectrometer를, ESI-MS는 Platform quadrupole mass spectrometer를 사용하였다. Preparative HPLC는 Waters semi-prep system을 사용하였다.

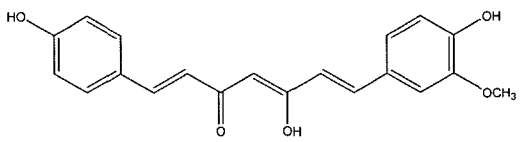
실험동물 – 체중 180-220 g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 (주)현대 바이오로부터 공급 받아 온도 23±1°C, 상대습도 55±15% 및 300-500 Lux의 조도로 12시간 간격으로 명암이 조절되는 성균관대학교 약학대학 동물 사육실에서 일주일 이상 순화시킨 후 육안적 증상을 관찰하여 정상적인 동물만을 실험에 사용하였으며, 고형 사료 및 물은 자유롭게 섭취시켰다.

시료의 추출 및 분리 – 건조된 울금 20 kg을 MeOH에 3일간 3회에 걸쳐 냉침시킨 후 추출액을 감압 농축하여 MeOH extract 2.3 kg을 얻었다. 이 MeOH extract 750 g을 $CHCl_3$와 증류수로 partition한 후, $CHCl_3$층을 감압 농축하여 $CHCl_3$ soluble fraction 500 g을 얻었다. $CHCl_3$ soluble fraction 200 g을 hexane/EtOAc 혼합용매를 용출용매로 사용하여 stepwise gradient elution 방식으로 silica gel column chromatography를 실시하여 Fr-1(69 g), Fr-2(10 g), Fr-3(6 g), Fr-4(58 g), Fr-5(31 g) 및 Fr-6(23 g) 등 총 6개의 분획으로 나누었다. 이 중 Fr-4에서 curcumin(17 g), demethoxycurcumin(9 g) 및 bisdemethoxycurcumin(4 g)을 얻었다. Curcumin, demethoxycurcumin 과 bisdemethoxycurcumin은 mp, IR, UV, ^{1}H-NMR과 ^{13}C-NMR data가 Javaprakasha[14]등이 보고한 것과 동일하였다(Fig. 1).

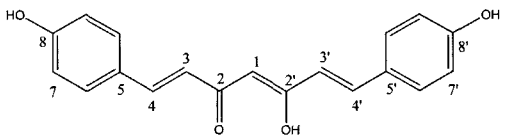
일차 간세포 분리 및 배양 – 흰쥐의 간세포는 Berry와 Friend의 방법[15,16]을 변형한 2단계 collagenase 관류법을 이용하여 분리하였다. 흰쥐를 pentobarbital sodium(40 mg/kg, 복강내 주사)으로 마취하여 복부를 개복한 후, 간 문맥에 21



Curcumin



Demethoxycurcumin



Bisdemethoxycurcumin

Fig. 1. The chemical structures of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin.

guage catheter를 삽관하여 CO_2와 O_2의 혼합기체를 공급해 주면서 Krebs-Ringer-HEPES 완충용액과 collagenase로 구성된 소화용액을 15 ml/min의 속도로 10분간 재순환시켰다. 간세포가 소화된 후 간막을 벗겨 간세포가 유리되게 한 다음, nylon mesh를 사용하여 여과하였다. 여과액은 200 rpm에서 3분간 원심 분리한 후 상등액을 버리고 침전된 간세포를 BSA가 함유된 완충용액에 현탁시켜 다시 원심 분리하였다. 침전된 간세포를 배양액에 다시 현탁시켜 세포 현탁액을 얻은 뒤, trypan blue 용액으로 생존율을 측정하여, 생존율이 90% 이상인 경우에만 실험에 사용하였다. 생존율이 90% 이상되면 간세포의 농도가 5×10^5 cells/ml이 되도록 조절하여, collagen type I으로 미리 도포된 배양 용기에 이식하였다. 배양액으로는 10% FBS, 500 U/l insulin, 7 μg/l glucagon, 20 μg/l epidermal growth factor, 7500 μg/l hydrocortisone, 10^5 U/l penicillin, 100 μg/l streptomycin, 250 μg/l amphotericin B를 포함하는 DMEM을 사용하여 일정한 온도와 습도가 유지되는 37 배양기에서 O_2 95%와 CO_2 5%의 혼합기체를 공급하여 배양하였다. 배양 4시간 후 새로운 배양액으로 교환하였다.

MTT assay를 이용한 세포독성 측정 – 간세포를 24 well plate에 세포농도 2.5×10^5 cells/ml로 희석하여 각 well당 0.5 ml를 첨가하여 18시간 동안 배양한 후 curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin을 각 농도별(0.1, 1, 10, 100 및 200 μM)로 처리한 후 72시간 동안 추가 배양하였다. 72시간 후 MTT(0.25 mg/ml)가 함유된 배양액으로 교환하여 4시간 동안 처리 후 생성된 formazan crystal을 dimethyl sulfoxide(300 μl/well)에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

CCl4에 의한 간세포 독성 유도 – Kiso의 방법[17]을 일부 수정하여 간세포를 18시간 동안 배양한 후 10 mM CCl_4를 함유한 배양액에 curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin을 각 농도별(0.1, 1, 10 및 100 μM)로 처리하여 24시간 동안 세포를 배양하고, 그 배양액을 취하여 간세포 보호작용을 알아보았다.

TBH에 의한 간세포 독성 유도 – Tseng의 방법[18]을 일부 수정하여 간세포를 18시간 동안 배양한 후 0.5 mM TBH를 함유한 배양액에 curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin을 각 농도별(0.1, 1, 10 및 100 μM)로 처리하여 1시간 동안 세포를 배양하고, 그 배양액을 취하여 간세포 보호작용을 알아보았다.

GalN에 의한 간세포 독성 유도 – Kiso의 방법[19]을 일부 수정하여 간세포를 18시간 동안 배양한 후 30 mM GalN을 함유한 배양액에 curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin을 각 농도별(0.1, 1, 10 및 100 μM)로 처리하여 48시간 동안 세포를 배양하고, 그 배양액을 취하여 간세포 보호작용을 알아보았다.

LDH, ALT 및 AST 활성 – 세포 독성이 유도된 간세포의 배양액을 취하여 LDH, ALT 및 AST의 활성을 아이비디-랩 측정 kit인 C121, C123 및 C124(IVDLab., Suwon, Korea)를 사용하여 표준흡광분석법으로 각각 측정하였다.

통계처리 – 모든 측정 결과는 평균 ± 표준오차로 나타내었으며, 실험군 간의 차이는 Dunnett's *t*-test를 사용하여 통계적 유의성을 나타내었고, $p<0.05$인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

현대인에게 간질환은 환경의 오염, 음주, 병원체의 감염 및 당뇨병과 같은 대사성 질환 등 여러 가지 요인에 의하여 발생된다. 간질환 치료를 위한 연구는 널리 이루어지고 있으며, 특히 간질환 및 간염의 이환율이 높은 동양권에서 많은 관심이 모아지고 있다. 한국인에 있어서 만성 간질환의 경우 암, 당뇨병과 함께 발생 빈도가 매우 높고, 간암에 의한 사망률은 세계에서 가장 높은 것으로 조사되고 있다. 현재 간질환 치료제는 그 질환의 심각성에 비해 치료제의 종류가 많지 않을 뿐 아니라 화학물질의 경우 치료 작용에 비해 부작용이 빈번히 발생되며, 천연물 유래 물질의 경우는 과학적인 검증없이 주로 민간요법 내지는 한약재로서 사용되고 있는 실정으로 천연물 성분에 대한 보다 과학적인 접근이 필요하다. 이에 본 연구에서는 일차 배양 간세포를 이용하여 울금으로부터 분리된 curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin의 간세포 보호작용에 대하여 조사하였다.

Curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin의 IC_{50} – Curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin 세포독성 측정과 더불어 농도 범위 결정을 위해 MTT assay를 시행하여 일차 배양 간세포에서 대조군에 비해 생존율이 50%가 되는 약물의 농도를 측정하였다. Table I에 나타낸 바와 같이 curcumin과 demethoxycurcumin은 IC_{50}가 각각 51.9 및 50.4 μM로서 저농도에서도 일차배양 간세포에 독성을 나타내었다. 반면 bisdemethoxycur-

Table I. IC_{50} Values of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in primary cultured rat hepatocytes

Compound	IC_{50} (μM)
Curcumin	51.9
Demethoxycurcumin	50.4
Bisdemethoxycurcumin	88.7

After isolation and incubation for 18 h, hepatocytes were treated with curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in DMEM for 72 h and the cell viability was evaluated by MTT reduction. IC_{50} values were determined by viability of hepatocyte cell cultures by 50%.

cumin은 88.7 μM로서 비교적 고농도에서 독성을 나타내었다.

Curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin이 CCl_4로 유도된 간독성에 미치는 영향 – CCl_4는 간세포 내에서 CYP2E1에 의해 CCl_3 radical로 전환되어 인근 지질막을 공격하여 지질의 과산화를 일으키거나,[20] 세포의 단백질이나 지질의 거대분자와 결합하여 간의 괴사, 지질침착, 약물대사 효소 활성의 저하 등과 같은 간손상을 일으키는 것으로 알려져 있다.[21] 본 연구에서는 CCl_4에 의한 일차 배양 흰쥐 간세포에 간독성 유발시 curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin의 간세포 보

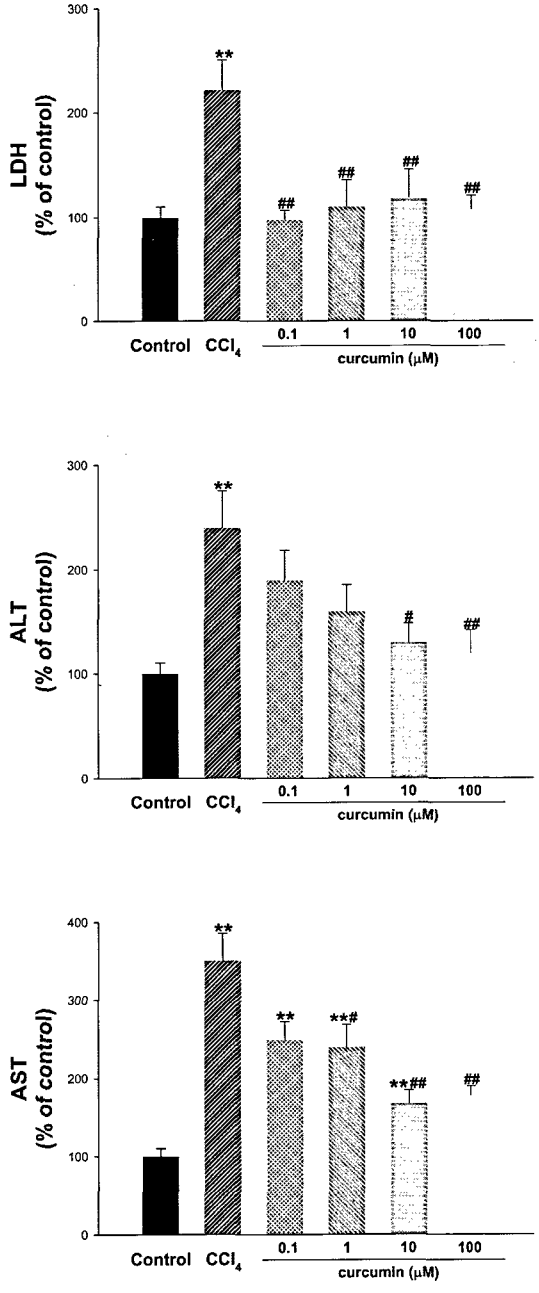


Fig. 2. Hepatoprotective effect of the curcumin on CCl_4-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. **Significantly different ($p<0.01$) from control group. #,##Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from CCl_4-treated group.

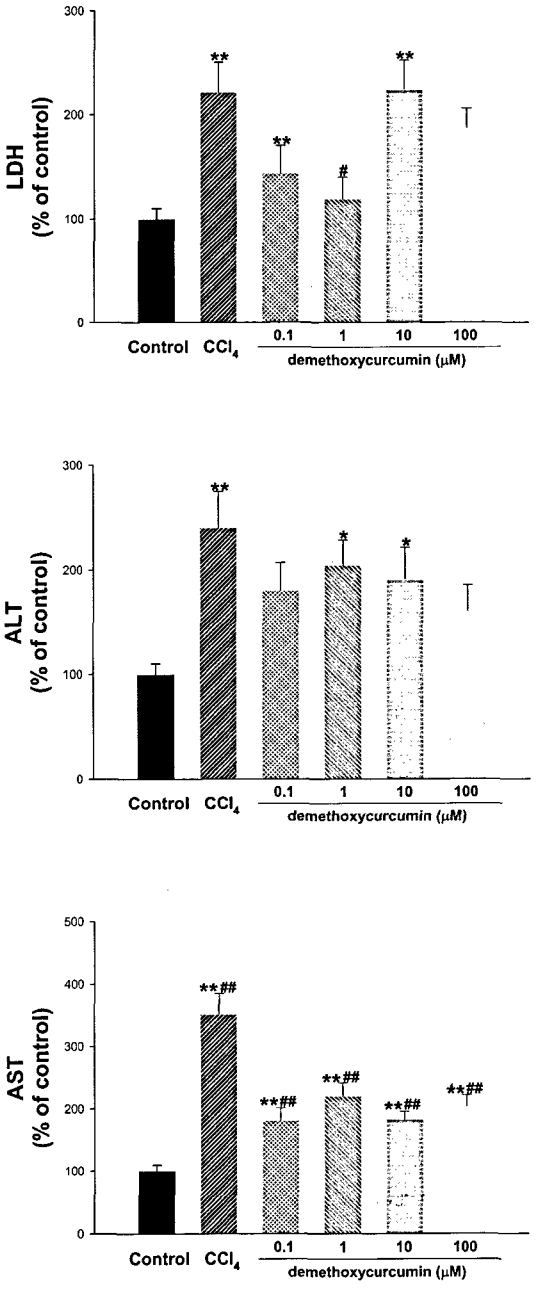


Fig. 3. Hepatoprotective effect of the demethoxycurcumin on CCl_4-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. *,**Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group. #,##Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from CCl_4-treated group.

호 작용을 알아보았다. Fig. 2 및 3에서 보는 바와 같이 간 손상 지표인 LDH, ALT 및 AST 수치는 CCl_4 단독군의 경우 대조군에 비해 각각 221.9±29.0%, 240.0±34.6% 및 351.0±34.3%로 현저한 활성 증가를 나타내었다. Curcumin의 경우 CCl_4로 유도된 LDH 활성을 0.1, 1, 10 및 100 μM의 모든 농도에서 대조군에 비해 97.9±9.0%, 110.5±25.2%, 119.0±26.6% 및 106.7±14.5%로 CCl_4의 처치에 의한 뚜렷한 LDH 활성 억제작용을 나타내었고 ALT 활성은 10 및 100 μM의 농도에서 각각 대조군에 비해 130.0±18.4% 및 120.0±21.9%로, AST 활성 또한 대조군에 비해서 각각

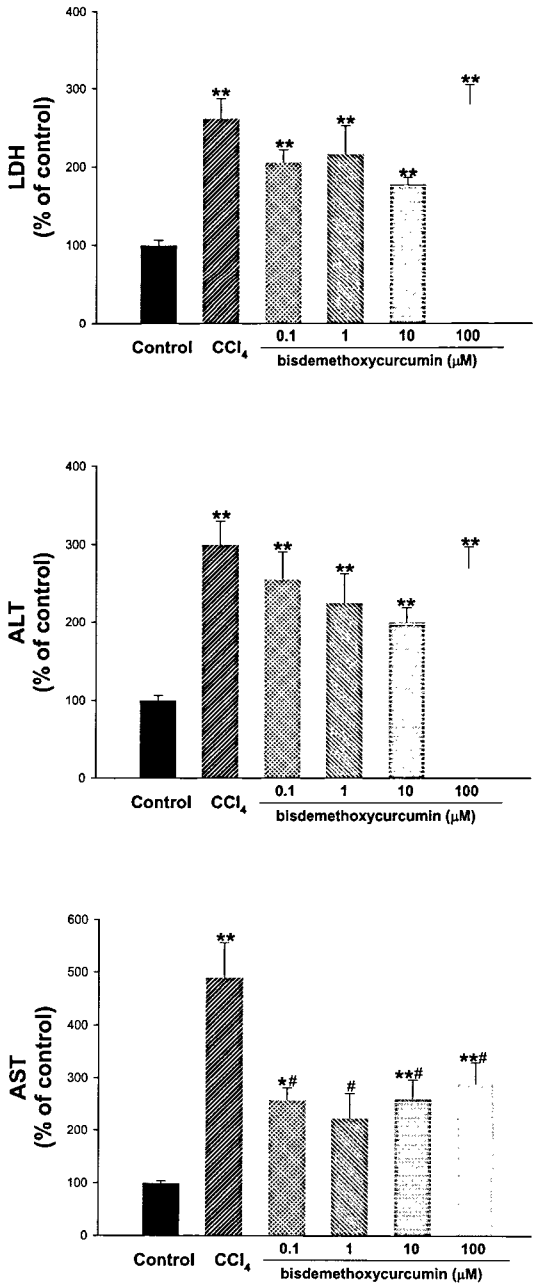


Fig. 4. Hepatoprotective effect of the bisdemethoxycurcumin on CCl_4-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. *,**Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group. $^{\#}$Significantly different ($p<0.05$) from CCl_4-treated group.

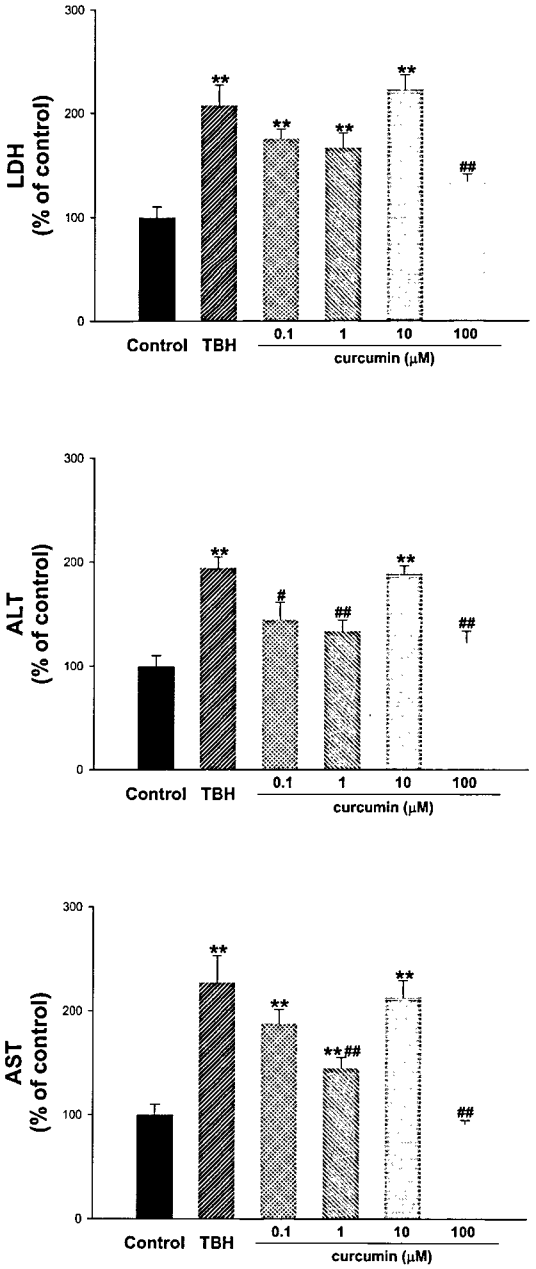


Fig. 5. Hepatoprotective effect of the curcumin on TBH-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. **Significantly different ($p<0.01$) from control group. $^{\#,\#\#}$Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from TBH-treated group.

167.9±16.6% 및 178.8±11.0%로 현저히 억제되었다. Demethoxycurcumin의 경우에는 CCl_4 단독군에 비해 LDH 및 ALT의 활성에는 별다른 영향을 나타내지 않았으나, AST 활성은 0.1, 1, 10 및 100 μM의 모든 농도에서 각각 181.1±20.0%, 220.8±20.8%, 183.0±12.5% 및 203.8±18.3%로 현저히 억제하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 bisdemethoxycurcumin은 CCl_4로 유도된 LDH 및 ALT 활성에는 영향을 미치지 않았으나 demethoxycurcumin과 유사하게 AST의 활성 증가를 현저히 억제하였다. 이상의 결과로 보아 curcumin은 CCl_4로 유도된 간독성에 뚜렷한 간보호 활성을 나타내

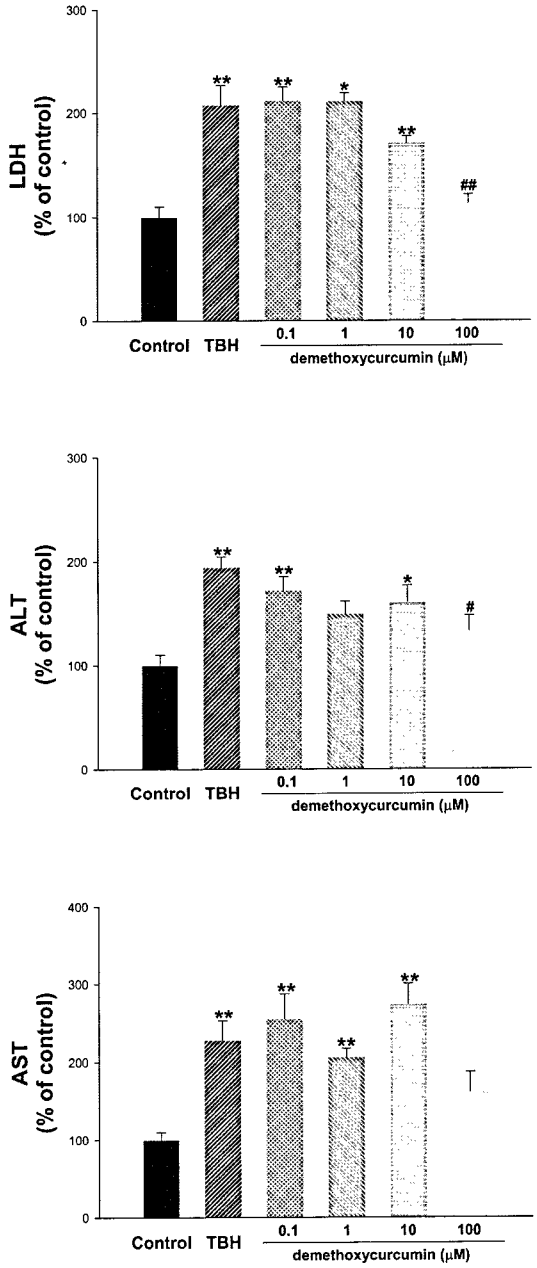


Fig. 6. Hepatoprotective effect of the demethoxycurcumin on TBH-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. *,** Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group. #,## Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from TBH-treated group.

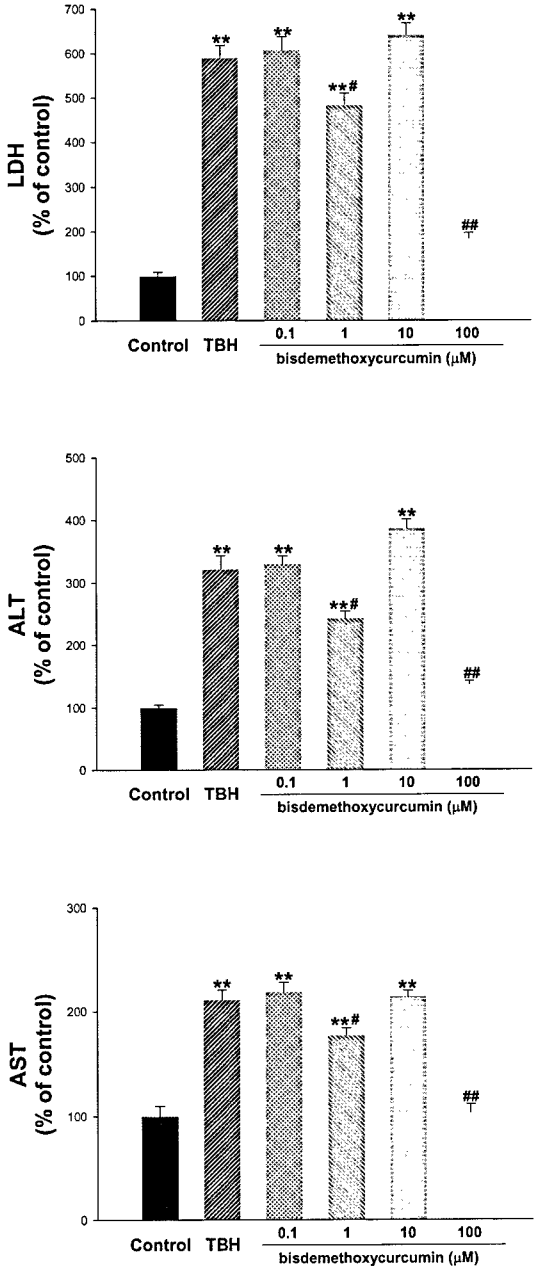


Fig. 7. Hepatoprotective effect of the bisdemethoxycurcumin on TBH-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. ** Significantly different ($p<0.01$) from control group. #,## Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from TBH-treated group.

지만, demethoxycurcumin와 bismethoxycurcumin은 일부 간 보호 활성을 나타내는 것으로 여겨진다.

Curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin이 TBH로 유도된 간독성에 미치는 영향 – 간세포 내에서 TBH는 두가지 경로에 의해 대사된다. 첫번째 단계는 CYP450에 의해 peroxyl 및 alkoxyl radical 등과 같은 독성물질로 전환되며, 이러한 radical이 초기 세포막의 지질 과산화를 일으킨다. 이러한 대사과정을 통하여 간세포 내에서 TBH는 radical를 생성하게 되고, 다음으로 생성된 radical이 세포막을 구성하는 불포화 지방산과 직접 및 간접적으

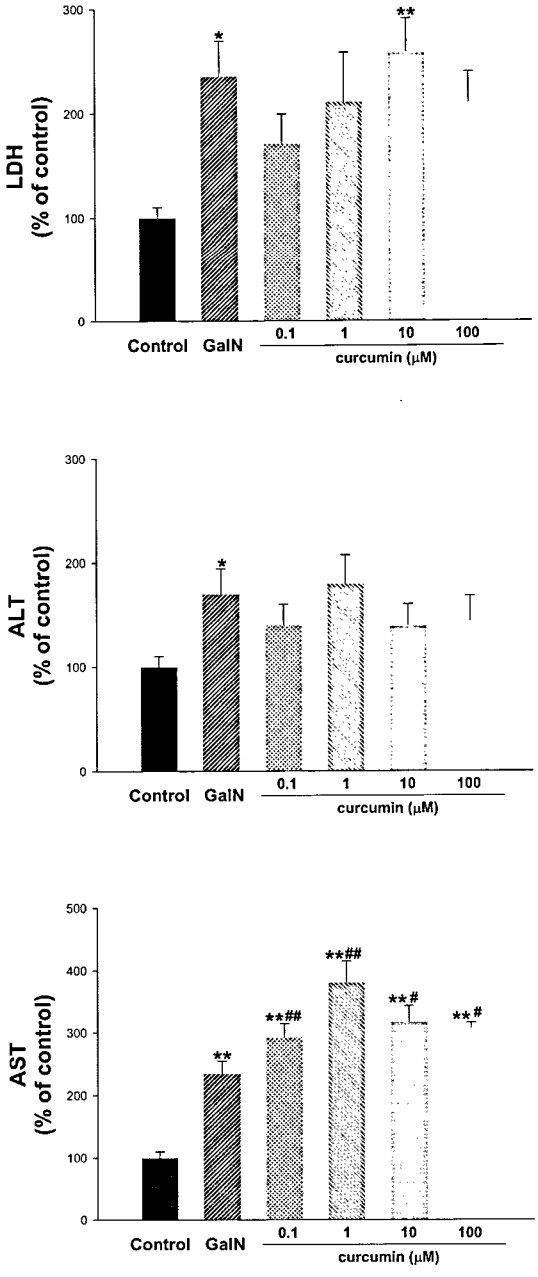


Fig. 8. Hepatoprotective effect of the curcumin on GalN-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. *,**Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group. $^{\#,\#\#}$Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from GalN-treated group.

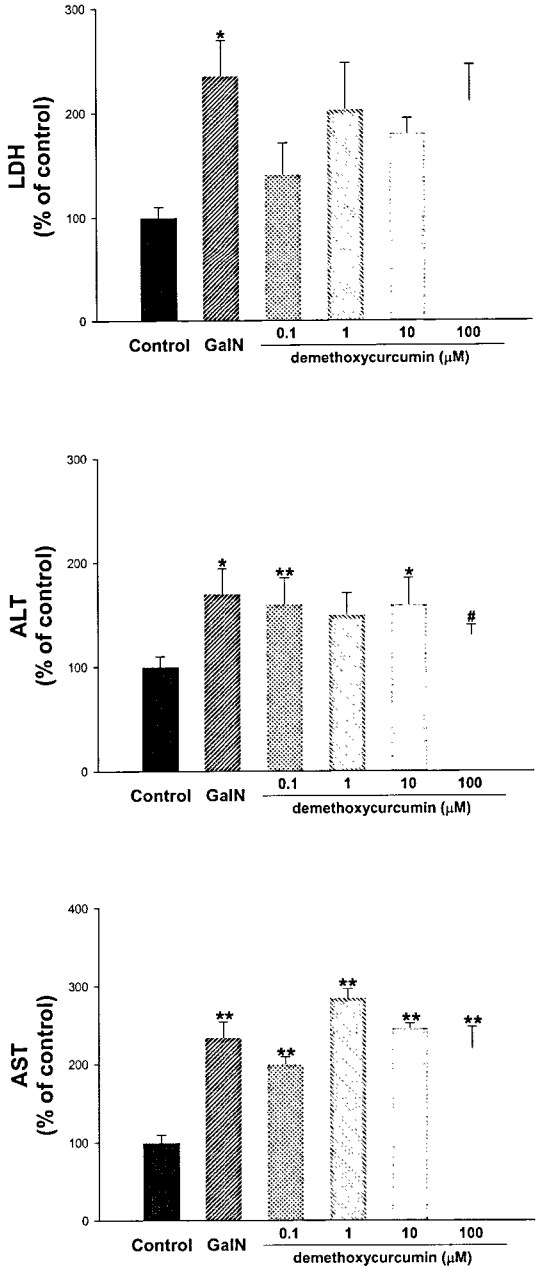


Fig. 9. Hepatoprotective effect of the demethoxycurcumin on GalN-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. *,**Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group. $^{\#}$Significantly different ($p<0.05$) from GalN-treated group.

로 반응하여 과산화 과정을 통해 간세포의 세포고사나 세포괴사를 일으킨다. Fig. 5 및 6에서 보는 바와 같이 LDH, ALT 및 AST 활성은 TBH의 단독군의 경우 각각 207.7±18.8%, 194.4±10.2% 및 227.4±25.4%로 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으나, 이러한 LDH, ALT 및 AST

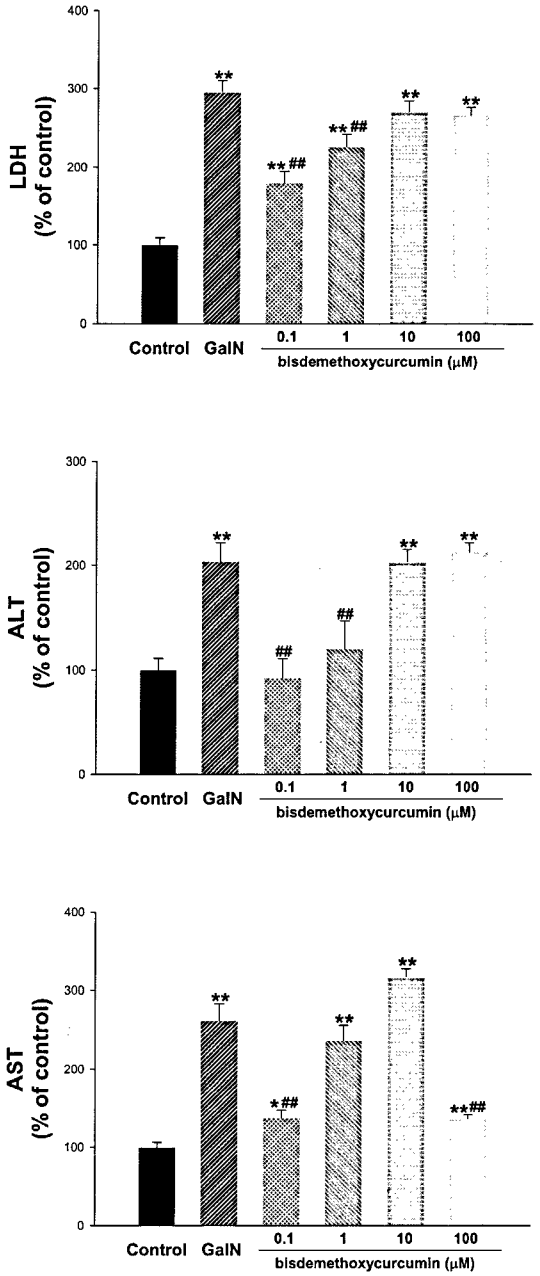


Fig. 10. Hepatoprotective effect of the bisdemethoxycurcumin on GalN-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means ± S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment. *,**Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group. $^{\#\#}$Significantly different ($p<0.01$) from GalN-treated group.

의 활성 증가는 모두 curcumin에 의해 현저히 억제되었다. Demethoxycurcumin은 TBH의 처치로 인해 유도된 AST 활성에는 별다른 효과를 나타내지 못하였으나, LDH 및 ALT 활성이 고농도인 100 μM에서 TBH 단독 처리군에 비해 각각 112.2±9.9% 및 133.3±14.9%로 현저히 감소시켰다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 bisdemethoxycurcumin은 저농도인 1 μM 처치시에 LDH, ALT 및 AST 활성이 각각 484.2±25.5%, 243.5±10.9% 및 176.9±6.9%로, 고농도인 100 μM에서 각각 182.4±14.7%, 134.8±8.0% 및 103.5±7.7%로 감소하였다. 이상의 결과로 보아 curcumin과 bisdemethoxycurcumin이 TBH로 인한 간독성에 탁월한 보호 작용을 나타냄을 알 수 있다.

Curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin이 GalN으로 유도된 간독성에 미치는 영향 – 간세포 내에 GalN은 간에 특이성이 매우 높으며, 특히 이를 처치하면 인간에게 나타나는 간염과 유사한 간독성을 나타낸다.[22] 이는 GalN이 간세포 내에 RNA와 단백질 합성 저해로 세포막의 손상과 세포 내 Ca^{2+} 농도가 증가되어 독성을 유발한다[23]고 한다. Fig. 8 및 9에서 보는 바와 같이 LDH, ALT 및 AST 활성은 GalN의 단독군에서 각각 235.7±33.5%, 170.0±24.1% 및 234.2±20.0%로 대조군에 비해 현저히 증가하였다. Curcumin은 대조군에 비해 GalN으로 유도된 LDH 및 ALT의 활성 증가에 별다른 영향이 없었으나, AST의 활성 증가가 0.1, 1, 10 및 100 μM의 모든 농도에서 대조군에 비해 현저히 억제되었다. 또한 demethoxycurcumin의 경우에는 GalN의 처치로 인해 유도된 LDH, ALT 및 AST의 활성 증가에 별다른 효과가 없었다. Fig. 10에서 보는 바와 같이 bisdemethoxycurcumin의 경우에는 저농도인 0.1 및 1 μM에서 LDH 및 ALT의 활성 증가를 억제하였고, 또한 0.1 및 100 μM 농도에서 GalN으로 유도된 AST의 활성 증가를 현저히 억제하였다. 따라서 demethoxycurcumin은 GalN으로 유도된 간독성에 별다른 영향이 없었으나, curcumin은 일부 간보호 활성을 나타내며, bisdemethoxycurcumin은 GalN으로 유도된 간독성에 뚜렷한 보호 활성을 나타내는 것으로 여겨진다.

이상의 결과는 울금의 활성성분 중 curucumin과 bisdemethoxycurcumin이 급성 간독성에 대하여 우수한 간보호 활성을 가지고 있으며 이는 또한 울금의 간보호 효능 지표 물질로서의 가능성이 있음을 제시한다. 따라서 이를 바탕으로 다양한 생체 내 간질환 실험모델을 통해 이에 대한 용량 반응과 더불어 작용기전 연구가 더욱 뒷받침 되어야 할 것이다.

사 사

본 연구는 2005년 식품의약품안전청의 한약재 생리활성

성분의 효능확인연구(06082한약효630)의 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

1. 생약학 교재 편찬위원회(2003) 생약학, **419**. 동명사, 서울.
2. Khopde, S. M., Priyadarsini, K. I., Venkatesan, P. and Rao, M. N. (1999) Free radical scavenging ability and antioxidant efficiency of curcumin and its substituted analogue. *Biophys. Chem.* **80**: 85-91.
3. Balasubramanyam, M., Koteswari, A. A., kumar, R. S., Monickaraj, S. F., Maheswari, J. U. and Mohan, V. (2003) China-English Manual of common-used in traditional Chinenese Medicine. *J. Biosci.* **28**: 715-721.
4. Naik, R. S., mujumdar, A. M. and Ghaskadbi, S. (2004) Protection of liver cells from ethanol cytotoxicity by curcumin in liver slice culture in vitro. *J. Ethnopharmacol.* **95**: 31-37.
5. Pari, L. and Murugan, P. (2004) Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity. Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity. *Pharmacol. Res.* **49**: 481-486.
6. Somparn, P., Phisalaphonq, C., Nakornchai, S., Unchern, S. and morales, N. P. (2007) Comparative antioxidant activities of curcumin and its demethoxy and hydrogenated derivatives. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 74-78.
7. Suzuki, M., Nakamura, T., Iyoki, S., Fujiwara, A., Watanabe, Y., Mohri, K., Isobe, K. and Yano, S. (2005) Elucidation of anti-allergic activities of curcumin-related compounds with a special reference to their anti-oxidative activities. *Biol. Pharm. Bull.* **28**: 1438-1443.
8. Chan, W. H., Wu, H. J. and Hsuuw, Y. D. (2005) Curcumin inhibits ROS formation and apoptosis in methylglyoxal-treated human hepatoma G2 cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1042**: 372-378.
9. Yoysungnoen, P., Wirachwong, P., Bhattarakosol, P., Niimi, H. and Patumraj, S. (2005) Antiangiogenic activity of curcumin in hepatocellular carcinoma cells implanted nude mice. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **33**: 127-135.
10. Notarbartolo, M., Poma, P., Perri, D., Dusonchet, L., Cervello, M. and D'Alessandro, N. (2005) Antitumor effects of curcumin, alone or in combination with cisplatin or doxorubicin, on human hepatic cancer cells. Analysis of their possible relationship to changes in NF-kB activation levels and in IAP gene expression. *Cancer Lett.* **224**: 53-65.
11. Clawson, G. A. (1989) Mechanism of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pathol. Immunopathol. Res.* **8**: 104-112.
12. Rush, G. F., Gorski, J. R., Ripple, M. G., Sowinski, J., Bugelski, P. and Hewitt, W. R. (1985) Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **78**: 473-483.
13. Taniguchi, H., Yomota, E., Nogi, K. and Onoda, Y. (2002) Effects of anti-ulcer agents on ethanol-induced gastric mucosal lesions in D-galactosamine-induced hepatitis rats. *Arzneimittelforschung.* **52**: 600-604.
14. Javaprakasha, G. K., Jaqan Mohan Rao, L. and Sakariah, K. K. (2002) Improved HPLC method for the determination of Curcumin, Demethoxycurcumin, and Bisdemethoxycurcumin. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 3668-3672.
15. Berry, M. N. and Friend, D. S. (1969) High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells: a biochemical and fine structural study. *J. Cell Biol.* **43**: 506-520.
16. Kleinman, H. K., McGoodwin, E. B., Rennard, S. I. and Martin, G. R. (1979) Preparation of collagen substrates for cell attachment: effect of collagen concentration and phosphate buffer. *Anal. Biochem.* **94**: 308-312.
17. Kiso, Y., Tohkin, M. and Hikino, H. (1983) Assay method for antihepatotoxic activity using carbon tetrachloride induced cytotoxicity in primary cultured hepatocytes. *Planta Med.* **49**: 222-225.
18. Tseng, T. H., Wang, C. J., Kao, E. S. and Chu, H. Y. (1996) Hibiscus protocatechuic acid protects against oxidative damage induced by *tert*-butylhydroperoxide in rat primary hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.* **101**: 137-148.
19. Kiso, Y., Tohkin, M. and Hikino, H. (1983) Assay method for antihepatotoxic activity using galactosamine-induced cytotoxicity in primary-cultured hepatocytes. *J. Nat. Prod.* **46**: 841-847.
20. de Toranzo, E. G., Gomez, M. I. and Castro, J. A. (1978) Carbon tetrachloride activation, lipid peroxidation and liver necrosis in different strains of mice. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **19**: 347-352.
21. Villarruel, M. C., Diaz Gomez, M. I. and Castro, J. A. (1975) The nature of the in vitro irreversible binding of carbon tetrachloride to microsomal lipids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **33**: 106-114.
22. Maley, F., Tarentino, A. L., McGarrahan, J. F. and Giacco, R. (1968) The metabolism of D-galactosamine and N-acetyl-D-galactosamine in rat liver. *Biochem. J.* **107**: 637-644.
23. El-Mofty, S. K., Scrutton, M. C., Serroni, A., Nicolini, C. and Farber, J. L. (1975) Early, reversible plasma membrane injury in galactosamine-induced liver cell death. *Am. J. Pathol.* **79**: 579-595.

(2007년 2월 27일 접수)