

울금(*Curcuma longa* L.)이 고지방·고콜레스테롤 식이 흰쥐의 항산화계 및 산화적 손상에 미치는 영향

김민선¹ · 전성식¹ · 최정화^{2*}

¹한국국제대학교 식품과학과

²한국국제대학교 식품영양학과

Effects of Turmeric (*Curcuma longa* L.) on Antioxidative Systems and Oxidative Damage in Rats Fed a High Fat and Cholesterol Diet

Min-Sun Kim¹, Sung-Sik Chun¹, and Jeong-Hwa Choi^{2*}

¹Dept. of Food Science and ²Dept. of Food and Nutrition,
International University of Korea, Gyeongnam 660-759, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of turmeric on antioxidative systems and oxidative damage in rats fed a high fat and cholesterol diet. A total 40 rats were divided into four experimental groups: a normal diet group (N), a high fat and cholesterol diet group (HF), a high fat and cholesterol diet group supplemented with 2.5% turmeric powder (TPA group) and a high fat and cholesterol diet group supplemented with 5% turmeric powder (TPB group). The serum glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) activity of the turmeric supplemented groups were decreased compared to the HF group. The GPT activity of the TPB group was especially and significantly decreased compared to the HF group. Hepatic superoxide dismutase (SOD) of the TPB group was significantly increased compared to the HF group. However, there were no significant differences in the activities of hepatic glutathione peroxidase (GSHpx) and catalase (CAT) among all experimental groups. Hepatic glutathione S-transferase (GST) activity in the TPA and TPB groups were increased compared to the HF group. Hepatic superoxide radical content in mitochondria of the 5% turmeric supplemented group was significantly decreased compared to the HF group. Hepatic hydrogen peroxide content in the cytosol and mitochondria of the turmeric-supplemented groups were decreased compared to the HF group. Hepatic carbonyl values in the mitochondria of the turmeric supplemented groups were significantly decreased compared to the HF group. Thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) values in the liver were significantly reduced in turmeric supplemented groups compared to the HF group. These result suggest that turmeric powder may reduce oxidative damage through the activation of antioxidative defense systems in rats fed high fat and cholesterol diets.

Key words: turmeric, oxidative damage, antioxidative system, high cholesterol, free radical

서 론

현대인은 급속한 산업화, 자동화에 따라 생활의 편리함을 누리게 되었으나 이에 따른 환경 파괴와 스트레스 등에 의해 성인병 및 합병증 등이 나타나고 있다. 또한 고지방 섭취가 증가함으로써 이와 관련된 여러 가지 질병의 발생 빈도가 급속도로 증가하는 추세이다. 생체 내 생성되는 활성산소와 그를 제거하는 항산화 방어계의 불균형에 의해 초래되는 산화적 스트레스는 암, 염증, 심장병, 뇌질환, 면역체계 감소 및 노화 등의 여러 가지 산화적 질환의 발병이 주된 원인이 된다(1). 고지방 식이와 콜레스테롤 식이의 공급으로 인한 조직과 혈청 중 지질과산화물 함량의 증가를 보고하여 과량

의 식이지방이나 콜레스테롤 섭취가 체내 조직의 산화적 손상을 규명하였다(2,3). 고콜레스테롤 상태에서는 산화적 스트레스가 촉진되는데(4), 이때의 항산화 효소의 양과 활성은 충분하지 않아 생체 내 자유라디칼의 제거계인 항산화 방어계에 불균형을 초래하고, 심혈관계 질환을 유발하는데 중요한 병인으로 작용한다고 보고되고 있다(5). 사람과 동물에는 산화적 손상을 예방하거나 복구하는 체계를 가지고 있으며 그 종류로는 superoxide dismutase(SOD), 환원형 glutathion(GSH), glutathion peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase(GST), catalase(CAT) 등이 있다(6). 더불어 유해산소로 알려져 있는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 산소라디칼 및 이것으로부터 파생된 여러 가

*Corresponding author. E-mail: jhappychoi@hanmail.net
Phone: 82-55-751-8326, Fax: 82-55-751-8205

지 산소 화합물을 통칭하는 것으로 화학적 성질로 인해 환원된 자유라디칼(free radical)인 superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical(OH) 및 hydrogen peroxide(H_2O_2) 등이 있다(7). ROS에서 유래된 산소라디칼은 자유라디칼 중에서 가장 많은 부분을 차지하며, 비공유 전자(unpaired electron)를 갖고 있기 때문에 불안정하고 반응력이 높아 여러 생체 물질과 쉽게 반응하게 되고, 끊임없이 체내 고분자들을 공격하여 결국에는 세포와 조직에 비가역적인 손상을 초래하거나 돌연변이, 세포독성 및 발암 등을 유발하여 생체나 식품에서 문제시되고 있다(8-10).

울금(*Curcuma longa* L., turmeric)은 생강과에 속하는 다년생 속근 초본 식물로 울금의 덩이뿌리를 그대로 또는 주피를 제거하고 찌서 말린 것을 말하며, 한약재, 향신료 및 식용으로 사용되어져 왔다(11). 울금이 약제로서 효능을 지닌 것은 주요 성분인 curcumin 이외에 demethoxycurcumin, bismethoxycurcumin, cyclocurcumin, calebin 등이 존재하며, 식물성 sterols 및 정유성분인 β -sitosterol, zingiberene, campesterol, stigmasterol, mono- 및 di-enoic acid, tumerone, zingiberone, borneol, eugenol, camphor, curdion, α -phellandrene, cineol 등이 전체 4.2~4.5% 내외로 포함되어 있다(12-15). 최근 울금의 생리활성물질인 curcuminoids의 약리효과가 알려지면서 많은 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이며, 국내연구로는 curcuminoids의 항산화작용(16), 울금 에탄올 추출물의 항산화 활성 비교(17), curcumin의 항산화·항암성·항돌연변이성·항염증(18,19) 및 항균성 효과(20) 등이 보고되어 있으나, 고지방·고콜레스테롤 식이 흰쥐에서의 항산화 및 산화적 손상에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내산 울금의 항산화작용을 규명하기 위하여 흰쥐에 고지방·고콜레스테롤 식이와 함께 울금 분말을 농도별로 공급했을 경우 간조직의 자유라디칼 생성계와 제거계 및 산화적 손상에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

울금 추출물 분말 제조

본 연구에 사용한 울금은 진도에서 제공받아 농가형 열풍 건조기를 이용하여 85~80°C로 건조하였다. 울금은 분쇄기(대성파워 믹서/분쇄기 DA-280G, Seoul, Korea)로 분쇄한 울금당 6배에 해당하는 증류수(w/v)를 가하여 4°C에서 24시간 추출한 후, 위와 같은 조건으로 3회 반복하고 상등액을 모아 Whatman No. 1(Whatman, Lawrence, KS, USA) 여과지로 여과하였다. 여과한 여액은 rotary vacuum evaporator(HS-2001N, Hanshin Science Co., Bucheon, Korea)를 사용하여 감압농축 하고, 동결건조기(Bondiro, Ilshin, Dongducheon, Korea)로 건조하여 사용하였다. 각각의 추출물에 대한 수율은 추출 전의 시료 무게에 대한 동결건조 후 추출물의

무게를 측정하여 나타내었다. 본 연구에서 사용한 울금 추출물 분말은 추출한 후 동결건조 시켜 조제하여 사용하였다.

실험동물 사육 및 식이

본 실험에 사용된 동물은 체중 130±10 g 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷을 (주)바이오 제노믹스사(Bio genomics, Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 각 군당 10마리씩 사용하였다. 실험식이 시작 전 일주일간 일반배합사료(Purina Co., Seoul, Korea)로 예비사육한 후 평균체중이 유사하도록 난괴법(randomized complete block design)에 의해 대조군과 실험군으로 나눈 후 Table 1과 같이 나누어 4주간 사육하였다. 실험 기간 중 식이는 4°C에서 보관하였으며, 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취하게 하였다. 사육실의 온도는 22±2°C, 상대습도 50±10%를 유지하였다. 식이 그룹은 정상군(N group)과 1% 고지방·고콜레스테롤 식이 실험군으로 나눈 후 고지방·고콜레스테롤 실험군은 고지방·고콜레스테롤 대조군(HF group), 고지방·고콜레스테롤식이+2.5% 울금 분말 공급군(TPA group), 고지방·고콜레스테롤+5% 울금 분말 공급군(TPB group) 총 4군으로 나누어 사육하였다. 본 동물 실험은 한국국제대학교 동물실험 윤리위원회의 승인(NVRQS AEC5)을 거쳐 진행하였다.

혈액 및 장기의 채취

사육기간 완료 후 실험동물을 12시간 절식시키고 가벼운 ether 마취 하에서 복부대동맥으로부터 혈액을 채취한 후 즉시 간을 채취하여 생리식염수로 행군 다음 거즈로 수분을 제거하고 무게를 측정 후 액체질소로 급속동결 시켜 -80°C에 보관하였다.

분석 시료의 전처리

간장을 각 간엽에서 고르게 일정량을 취하여 Potter Elvehjem homogenizer(Dalhan, Seoul, Korea)를 사용하여

Table 1. Compositions of experiment groups (g/kg diet)

Ingredients	Groups ¹⁾			
	N	HF	TPA	TPB
Cornstarch	539	429	379	329
Casein	200	200	200	200
Sucrose	100	100	100	100
Cellulose	50	50	50	50
Mineral mixture ²⁾	35	35	35	35
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10
DL-methionine	3	3	3	3
Choline chloride	3	3	3	3
Corn oil	60	60	60	60
Cholesterol	0	10	10	10
Lard	0	100	100	100
Turmeric	0	0	25	50
Total	1,000	1,000	1,000	1,000

¹⁾N: Normal diet, HF: High fat high cholesterol diet, TPA: High fat high cholesterol diet+ turmeric powder 2.5%, TPB: High fat high cholesterol diet+ turmeric powder 5%.

²⁾AIN-76 mineral mixture (g/kg mixture).

³⁾AIN-76 vitamin mixture (g/kg mixture).

0.25 M sucrose/0.5 mM ethylene diamine teraacetic acid (EDTA)/5 mM N-2-hydroxyethyl-piperazine-N-2-ethane sulfonic acid(HEPES) 용액으로 10%(w/v) 마쇄액을 만들었다. 마쇄액의 일부를 8,000×g에서 20분간 원심분리 하여 그 상층액을 과산화지질 정량에 사용하였고, 나머지는 10,000×g에서 30분간 원심분리 하여 그 상층액 중 일정량을 취하여 0.4배량의 ethanol:chloroform 냉혼합액(5:3)을 가하고 2분간 진탕한 다음 10,000×g에서 30분간 원심분리 하여 얻은 상층액을 세포질 SOD 원액으로 사용하였다. 또 10,000×g 상층액의 일부는 다시 105,000×g에서 30분간 원심분리 하여 얻은 cytosol은 GSH-px의 활성도를 측정하였다. 모든 실험 조건은 4°C를 유지하면서 행하였다.

혈청 중 GOT 및 GPT 활성

혈청 GOT와 GPT 활성도는 Reitman과 Frankel의 방법(21)을 응용한 아산제약(Seoul, Korea)의 kit를 사용하여 측정하였다. 즉 GOT 기질로 L-aspartate와 α -ketoglutaric acid, GPT 기질로 D,L-alanine과 α -ketoglutaric acid 용액에 각각 혈청을 가하여 37°C에서 GOT는 60분, GPT는 30분간 효소반응을 시킨 후 생성된 oxaloacetate 및 pyruvic acid에 2,4-dinitrophenyl hydrazine 정색시약과 0.4 N NaOH를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에 10분간 방치한 후 505 nm에서 비색정량을 하였다.

SOD, GSH-px, catalase 활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund(22)의 방법에 따라 측정하였다. GSH-px 활성은 산화형 glutathione(GSSG)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340 nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence와 Burk(23)의 방법에 따라 측정하였다. 간조직의 CAT 활성은 Abei 등(24)의 방법으로 측정하였다. 즉 50 mM potassium phosphate buffer(PH 7.0) 2.89 mL에 기질인 30 mM H₂O₂를 100 μ L 넣어 25°C에서 5분간 반응시켰다. 여기에 시료 10 μ L를 가하여 3.0 mL가 되도록 하고 25°C, 240 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H₂O₂의 흡광도 변화와 H₂O₂의 몰흡광계수로 H₂O₂의 농도를 구하여 효소활성도를 계산하였다.

간조직의 GST 활성 측정

간조직의 GST 활성은 Habig 등(25)의 방법에 따라 측정하였다. 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(DCNB)과 환원형 glutathione(GSH)을 기질로 하여 25°C에서 20분간 반응하는 동안에 생성된 GSH-DCNB conjugate의 분자 흡광계수를 이용하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) 2.0 mL에 효소액 0.1 mL와 0.04 M 환원형 glutathione 0.075 mL를 넣고 25°C에서 2분간 반응시킨 후 20% trichloroacetic acid 0.5 mL를 가하여 반응액을 정지시켰다. 반응액을 1,500×g에서 10분간 원심분리 하여 얻은 상층액을 340 nm에서

흡광도를 측정하였다.

Hydrogen peroxide(H₂O₂), superoxide radical(O₂^{·-}) 함량 측정

간조직 중의 H₂O₂와 O₂^{·-} 함량을 측정하기 위하여 1 g의 간 조직을 0.25 M sucrose 용액으로 균질화 시킨 후 8,000×g에서 원심분리 하여 mitochondria 분획을 얻은 후 다시 105,000×g에서 원심분리 하여 cytosol과 microsome 분획을 얻었다. H₂O₂ 생성량 측정은 Gay와 Gebicki(26)의 방법에 따라 xylenol orange를 이용하여 560 nm에서 흡광도 증가로 측정하였다. O₂^{·-} 함량 측정은 Azzi 등(27)의 방법에 준해 실시하였다.

간조직 중의 carbonyl 함량 측정

간조직의 microsome 및 mitochondria 중의 산화된 단백질의 함량은 Levine 등(28)의 방법에 따라 측정하였다. 0.1 mL의 시료에 trichloroacetic acid(TCA) 0.5 mL를 혼합한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 얻어진 상층액을 제거한 뒤 잔사에 다시 10 mM dinitrophenylhydrazine (DNPH) 0.5 mL 가하여 15분마다 교반하면서 1시간 동안 실온에 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 이때 얻어진 상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate(1:1, v/v) 3 mL를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 다음 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 얻어진 잔사를 6 M guanidine[20 mM potassium phosphate buffer(pH 7.3)에 용해] 1.0 mL를 첨가하여 혼합한 후 37°C의 항온수조에서 15분간 가온한 후 3,500 rpm에서 10분간 원심분리 하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl value의 양은 360 nm 흡광도의 과정에서 분자흡광계수($\epsilon=22,000$)를 이용하여 계산하였다.

Thiobarbituric acid reaction substance(TBARS) 정량

간조직 중의 TBARS는 Uchiyama와 Mihara의 방법(29)에 따라 조직 0.5 g에 9배 부피의 0.01 M sodium phosphate buffer(pH7.0)를 넣어 균질화한 후 0.5 mL를 취하여 1% phosphoric acid 3 mL와 0.06 M TBA용액 1 mL를 첨가하여 2,500×g에서 10분간 원심분리 한 다음, TBA 반응물이 존재하는 *n*-butanol 층을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단백질 정량

각 시료의 단백질량은 Lowry 등(30)의 방법으로 하였으며, bovin serum albumin을 표준품으로 사용하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 SPSS(Statistical Package for Social Science, version 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 처리하였다. 각 실험 군별로 표준차이가 있는가를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며 분산분석(ANOVA 검증) 결과 유의성이 발견된 경우 Tuckey's HSD test(31)에 의해 군 간의 유의도를 분석하였다.

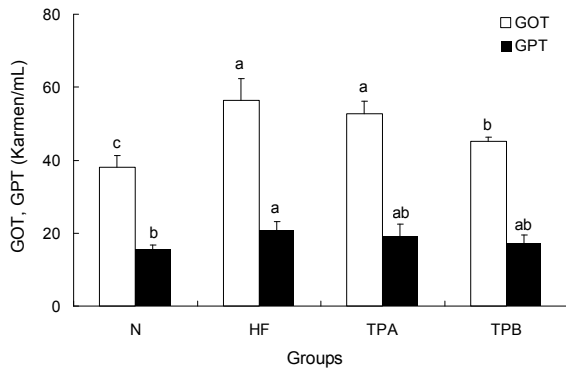


Fig. 1. Effects of turmeric powder on serum glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) activities in rats fed high fat high cholesterol diets. Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

결과 및 고찰

혈청 중의 GOT 및 GPT 활성

임상에서 GOT 및 GPT는 간세포에 다량 존재하는 효소로 간 손상 시 세포 외로 다량 유출되어 혈액에 증가됨으로써 간 손상의 지표로 이용되는 효소이다. 이러한 간의 피사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화 및 간의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. GOT 활성은 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으며, 5% 울금 공급군인 TPA군은 HF군에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. GPT 활성 또한 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으며, 울금 공급군 모두에서 유의적이지는 않았지만 감소하는 경향을 나타내었다. 최근 Fu 등(32)의 연구에 의하면 울금의 성분인 커큐민 투여가 ALT와 AST가 증가하는 것을 막고 CCI-4에 의해 손상된 간의 작용을 향상시킨다는 보고와 비슷한 경향을 보였다. 따라서 울금 내 함유된 성분이 고지방·고콜레스테롤 식이로 유도된 비만 쥐의 간 손상 완화에 효과적으로 작용 가능할 것으로 사료되어진다.

간조직 중 항산화 효소계 관찰

생체 내 항산화방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 NADPH oxidase에 의해 생성된 산소 음이온을 H_2O_2 로 전환시키며, superoxide radical을 과산화수소로 전환시키는 과정을 촉매화 하는 SOD 활성을 간조직에서 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 울금분말을 공급한 군에서 HF군에 비해 SOD 활성이 증가하였으며, 특히 TPB군에서는 유의적으로 증가하였다. 일종의 peroxidase로 $NADP^+$ 를 전자수용체로 하여 H_2O_2 를 제거하면서 환원형 glutathione(GSH)을 산화형 glutathione(GSSG)으로 전환시키는 효소로 알려져 있는 (33) GPx를 관찰한 결과(Table 2), 정상군에 비해 HF군에서 감소되었으나 울금 분말을 공급한 군에서 HF군에 비해 GPx 활성이 유의적으로 증가되었다. 조직 세포 속에 존재하

Table 2. Effects of turmeric powder on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) and catalase activities in rats fed high fat high cholesterol diets

Groups	SOD (unit/mg protein/min)	GSH-px (nmol NADPH/min/mg protein)	Catalase (nmol/mg protein/min)
N	10.2±0.6 ^a	482.8±51.9 ^{NS}	6.6±0.9 ^{NS}
HF	5.9±0.3 ^c	388.6±20.1	4.3±1.2
TPA	7.2±0.9 ^{bc}	525.8±30.7	5.7±1.1
TPB	7.7±0.4 ^b	564.2±30.3	6.0±0.4

All values are mean±SE (n=10). Values with a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. ^{NS}Not significant.

The experimental conditions are the same as Table 1.

여 대사산물인 H_2O_2 를 순간적으로 산화시켜 H_2O_2 와 O_2 로 분해하고 생체를 산소독으로부터 보호함으로써 과산화적 손상을 방지하는 간조직의 catalase를 관찰한 결과(Table 2), 정상군에 비해 HF군에서 감소되었으며 울금 분말을 공급한 군에서는 증가되었으나 유의적인 차이는 없었다.

이러한 결과는 Liju 등(34)의 연구에서 마우스에 울금을 100 mg/kg b.wt, 500 mg/kg b.wt로 공급하였을 때 간조직에서의 SOD, GPx 및 CAT의 활성을 조사한 결과, control 군에 비해 울금 투여군이 증가하는 보고와 일치하였다. 또한 Oh 등(35)의 연구에 따르면 울금 10 mg/mL에서 142.34 μ g/mL의 높은 폴리페놀 함량을 보였다. 따라서 이러한 항산화 효소 활성 변화들은 고콜레스테롤 공급으로 인해 불포화지방산의 함량이 높은 생체막의 지질과산화가 촉진되어 세포 소기관들의 산화적 손상이 가속화되어 효소 활성이 저하되었으나 본 연구에서 관찰한 바와 같이 폴리페놀 함량이 높은 울금의 공급으로 항산화 효소 활성이 증가된 것으로 볼 수 있다.

간조직의 GST 활성 측정

GST는 변이성 물질, 발암성 물질, 독성물질 등의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 glutathione을 포함시켜 glutathione thioester(R-S-G)를 형성하는 반응을 촉매하는 효소이다(36). 울금의 공급에 의한 체내 안전성을 알아보기 위해 비효소적 방어계인 GST 활성을 간조직에서 관찰한 결과 Fig. 2와 같다. 정상군에 비해 HF군에 유의적으로 감소되었고, 울금 분말을 공급한 모든 군에서 HF에 비해 정상군 수준으로 증가하는 경향을 나타내었다. Adaramoye 등(37)의 연구에서 울금의 커큐민을 먹인 마우스에서 GST의 활성이 대조군에서보다 증가된다는 것과 일치하며 본 실험에 사용된 울금 분말에 항산화적 해독 기능이 있음을 알 수 있었다.

간조직의 superoxide radical($O_2 \cdot^-$) 함량

지질과산화물을 생성하고 이로 인해 세포의 기능을 손상시키는 것으로 알려져 있는 superoxide radical 함량을 간조직에서 분획별로 관찰한 결과 Table 3과 같다. 간조직의 microsome에서는 정상군에 비해 HF군에서 증가되었으나 울

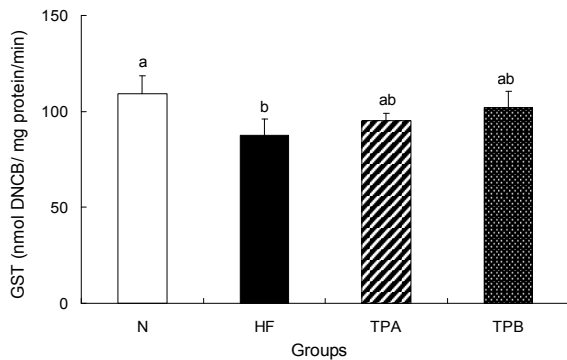


Fig. 2. Effects of turmeric powder on hepatic glutathione *S*-transferase (GST) activities in rats fed high fat high cholesterol diets. Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

Table 3. Effects of turmeric powder on hepatic superoxide radical ($O_2^{\cdot -}$) contents in rats fed high fat high cholesterol diets

Groups	Microsome (nmol/mg protein/min)	Mitochondria (nmol/mg protein/min)
N	5.0 ± 1.3^{NS}	4.0 ± 1.5^b
HF	7.9 ± 1.8	8.8 ± 1.5^a
TPA	6.1 ± 1.1	6.7 ± 0.4^{ab}
TPB	5.3 ± 1.1	5.7 ± 0.7^b

All values are mean \pm SE (n=10). Values with a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. ^{NS}Not significant. The experimental conditions are the same as Table 1.

금 분말을 공급한 모든 군에서 감소되었다. 간조직의 mitochondria에서는 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가하였고, 울금 분말을 공급한 모든 군에서는 정상군 수준으로 감소하였다. 특히 TPB군에서는 유의적으로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 An 등(38)의 연구에서 울금의 농도를 달리하여 에탄올 추출물의 전자공여능을 측정할 결과 DPPH를 이용한 전자공여능이 농도가 증가할수록 전자공여능이 증가하여 울금의 전자공여능의 효과가 있음을 보고한 결과와 유사했다.

간조직의 hydrogen peroxide(H_2O_2) 함량

H_2O_2 는 지질과산화물을 생성하고 이로 인해 세포 상해를 주며 특히 세포막의 다불포화지방산에 작용하여 기능을 손상시키는 것으로 알려져 있다(39). 간조직의 mitochondria 및 cytosol에서 H_2O_2 의 함량을 관찰한 결과(Table 4), 두 분획 모두에서 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으며, 울금 분말을 공급한 모든 군에서는 HF군에 비해 정상군 수준으로 감소되었다. 이러한 결과는 울금 분말의 항산화 성분이 효과적으로 활성산소종의 소거에 관여한 것으로 보인다.

간조직 중의 carbonyl value 함량

간조직의 산화적 손상의 지표로 삼고 있는 산화단백질의 생성지표인 carbonyl 가 함량을 측정된 결과는 Fig. 3과 같

Table 4. Effects of turmeric powder on hepatic hydrogen peroxide (H_2O_2) contents in rats fed high fat high cholesterol diets

Groups	Cytosol (nmol/mg protein/min)	Mitochondria (nmol/mg protein/min)
N	1.38 ± 0.01^b	1.38 ± 0.02^b
HF	1.43 ± 0.03^a	1.50 ± 0.03^a
TPA	1.37 ± 0.03^{ab}	1.47 ± 0.05^{ab}
TPB	1.35 ± 0.04^{ab}	1.41 ± 0.10^{ab}

All values are mean \pm SE (n=10). Values with a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

The experimental conditions are the same as Table 1.

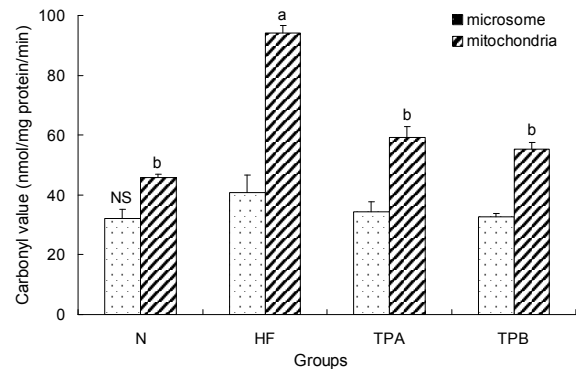


Fig. 3. Effects of turmeric powder on hepatic carbonyl values in rats fed high fat and high cholesterol diets. Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS: Not significant.

다. 간조직의 microsome에서의 산화단백질 함량은 정상군에 비해 고지방·고콜레스테롤군에서 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. 또한 mitochondria에서 carbonyl 가의 함량을 측정된 결과 정상군에 비해 고지방·고콜레스테롤군에서 증가되었으며, HF군에 비해 울금 분말을 공급한 모든 군에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 울금에 항산화력의 지표가 되는 페놀함량이 다량 함유되어 있다는 Kim 등(40)의 보고에서와 같이 울금의 풍부한 항산화 성분들로 인하여 단백질 산화를 억제하고 조직의 산화를 억제시킨 것으로 여겨진다.

간조직 중의 과산화지질(TBARS) 함량

지질과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 또는 질병에 의한 병태 생리학적 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 가장 중요한 기전으로 인정되고 있는데, 이는 조직 내 세포의 산화적 스트레스의 증가와 생체 내 항산화 방어력의 감소로 야기된다(41). 조직의 산화적 손상, 노화 및 기타 퇴행성 질환 유발의 요인이 되는 과산화지질 함량을 간조직에서 관찰한 결과는 Table 5와 같다. 정상군에 비해 고지방·고콜레스테롤군에서 유의적으로 증가되었으며, HF군에 비해 울금 분말을 공급한 모든 군에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 고지방식이와 콜레스테롤 식이의 공급으로 간조직의 TBARS가 증가하였다는 이전

Table 5. Effects of turmeric powder on hepatic thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) contents in rats fed high fat high cholesterol diets

Groups	TBARS (nmol/mg protein/min)
N	12.8±1.8 ^c
HF	107.3±29.5 ^a
TPA	42.5±5.6 ^b
TPB	34.7±7.8 ^b

All values are mean±SE (n=10). Values with a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

The experimental conditions are the same as Table 1.

의 보고(42,43)와 유사한 경향을 보였다. 또한 Akira(44) 연구에서는 울금을 1.0 g/100 g 먹인 mice에서 TBARS 함량이 간조직의 세포막에 항산화력이 증가하고 있다고 보고하였다. 따라서 울금은 조직 중의 과산화지질의 함량을 감소시키는 효과가 있는 것으로 사료된다. 이로 미루어 볼 때 울금에 함유된 유기산 등 여러 항산화계 물질이 조직의 산화를 억제하는 항산화계의 기능을 하는 것을 알 수 있었다.

요 약

본 연구는 흰쥐에 고지방·고콜레스테롤 식이와 함께 울금 분말을 농도별로 2.5%(TPA group), 5%(TPB gorup)의 수준으로 공급하였을 시 항산화계 및 산화적 손상에 미치는 영향을 관찰하였다. SOD 활성을 간조직에서 관찰한 결과, 울금 분말을 공급한 군에서 HF군에 비해 SOD 활성이 증가하였으며, 특히 TPB군에서는 유의적으로 증가하였다. GPx 활성은 정상군에 비해 HF군에서 감소되었으나, 울금 분말을 공급한 군에서 HF군에 비해 GPx 활성이 유의적으로 증가되었다. Catalase를 관찰한 결과는 정상군에 비해 고지방·고콜레스테롤군에서 감소되었으며 울금 분말을 공급한 군에서는 증가되었다. Superoxide radical 함량을 간조직의 microsome에서는 정상군에 비해 HF군에서 증가되었으나 울금 분말을 공급한 모든 군에서 감소되었다. 간조직의 mitochondria에서는 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가하였고, 울금 분말을 공급한 모든 군에서는 감소하였다. 특히 TPB군에서는 유의적으로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 간조직의 mitochondria에서 H₂O₂의 함량은 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었다. 울금 분말을 공급한 모든 군에서는 HF군에 비해 감소되었으며 정상군 수준으로 감소되었다. 간조직의 cytosol에서는 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으나 울금 분말을 공급한 군에서는 감소되었으며 정상군 수준으로 감소되었다. 간조직의 산화 단백질의 생성지표인 carbonyl 가 함량을 mitochondria에서 측정된 결과 정상군에 비해 고지방·고콜레스테롤군에서 증가되었으며, HF군에 비해 울금 분말을 공급한 모든 군에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 간조직에서의 TBARS를 측정된 결과 HF군에 비해 울금 분말을 공급한

모든 군에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과로부터 국내산 울금은 고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 항산화계를 강화시켜 조직의 산화적 손상을 감소시키는 항산화 효과가 있음이 규명되었다.

문 헌

- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1996. Free radicals, ageing, and disease. In *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, London, UK. p 416.
- Mantha SV, Kalra J, Prasad K. 1996. Effects of probucol on hyper cholesterolemia-induced changes in antioxidant enzymes. *Life Sci* 58: 503-509.
- Del Boccio G, Lapenna K, Porreca E, Pennelli A, Savini F, Feliciani P, Ricci G, Cuccurullo F. 1990. Aortic antioxidant defence mechanisms: time-related changes in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 81: 127-135.
- Lee JM, Choi SW, Cho SH, Rhee SJ. 2003. Effect of seeds extract of *Paeonia lactiflora* on antioxidative system and lipid peroxidation of liver in rats fed high-cholesterol diet. *Korean J Nutr* 36: 793-800.
- Wokozawa T, Nakagawa T, Kitani K. 2002. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem* 50: 3549-3552.
- Trackshel G, Maines MD. 1988. Characterization of glutathione S-transferase in rat kidney. *Biochem J* 252: 127-136.
- Jang JR, Hwang SY, Lim SY. 2010. Effects of extracts from dried yam on antioxidant and growth of human cancer cell lines. *J Life Sci* 20: 1365-1372.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Antioxidant defenses. In *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Oxford University Press, Oxford, UK. p 105-245.
- Halliwell B, Aruoma OJ. 1991. DNA damage by oxygen-derived species. *FEBS Letters* 281: 9-19.
- Lee JM. 1997. Protective effect of *Ganoderma lucidum* and *Panax ginseng* C.A. Meyer on oxidative damage. *MS Thesis*. Seoul National University, Seoul, Korea.
- Oh H, Park H, Ju MS, Jung SY, Oh MS. 2010. Comparative study of anti-oxidant and anti-inflammatory activities between *Curcuma longae Radix* and *Curcuma longae Rhizoma*. *Kor J Herbology* 25: 83-91.
- Geoffrey NR, Amitabh C, Muraleedharan GN. 1998. Nobel bioactivities of *Curcuma longa* constituents. *J Nat Prod* 61: 542-545.
- Andrew MA, Matthew SM. 2000. Isolation of curcuma from tumeric. *J Chem Educ* 77: 359-362.
- An BJ, Lee JT, Park TS, Pyeon JR, Bae JH, Song MA, Beak EJ, Park JM, Son JH, Lee CE, Cho IK. 2006. Antioxidant activity and whitening effect of extraction condition in *Curcuma longa* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 14: 168-172.
- Ryn GY, No KH, Ryu SR, Yang HS. 2005. Study of separation and analysis method an effective component from UIGeum (*Curcuma longa*) and a contained curcumin as product of national and partial region cultures. *Appl Chem* 9: 57-60.
- Ammon HRT, Wahl MA. 1991. Pharmacology of *Curcumin longa*. *Planta Med* 57: 1-7.
- Kang WS, Kim SH, Park EJ, Yoon KR. 1998. Antioxidative property of turmeric (*Curcuma Rhizoma*) ethanol extract. *Korean J Food Sci Technol* 30: 266-271.
- Song EK, Cho H, Kim JS, Kim NY, An NH, Kim JA, Lee SH, Kim YC. 2001. Diarylheptanoids with free radical scav-

- enging and hepatoprotective activity *in vitro* from *Curcuma longa*. *Planta Med* 67: 876-877.
19. Masuda T, Isobe T, Jito A, Nakatani N. 1992. Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza*. *J Phytochem* 31: 3645-3649.
 20. Russell LR. 1988. High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in turmeric and anatto. *J Food Sci* 53: 1823-1826.
 21. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63.
 22. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
 23. Lawrence RA, Burk RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958.
 24. Abei H, Wyss SR, Scherz B, Skvaril F. 1974. Heterogeneity of erythrocyte catalase II. Isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *Eur J Biochem* 48: 137-145.
 25. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione S-transferase; the first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
 26. Gay C, Gebicki JM. 2000. A critical evaluation of the effect of sorbitol on the ferric-xylenol orange hydroperoxide assay. *Anal Biochem* 284: 217-220.
 27. Azzi A, Montecucco C, Richter C. 1975. The use of acetylated ferricytochrome c for the detection of superoxide radicals produced in biological membrane. *Biochem Biophys Res Commun* 65: 597-603.
 28. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn B, Shaluel S, Stadtman ER. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186: 464-478.
 29. Uchiyama M, Mihara M. 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by TBA test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
 30. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
 31. Sreel RGD, Torrie JH. 1990. *Principles and procedures of statistics*. McGraw Hill, New York, NY, USA.
 32. Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. 2008. Curcumin protects the rat liver from CCl₄-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Mol Pharmacol* 73: 339-409.
 33. Jones DP, Eklow L, Orrenius S. 1981. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contribution of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H₂O₂. *Arch Biochem Biophys* 210: 505-516.
 34. Liju VB, Jeena K, Kuttan R. 2011. An evaluation of anti-oxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa* L. *Indian J Pharmacol* 43: 526-531.
 35. Oh HI, Park HB, Ju MS, Jung SY, Oh MS. 2010. Comparative study of anti-oxidant and anti-inflammatory activities between *Curcuma longae* Radix and *Curcuma longae* Rhizoma. *Korean J Herbology* 25: 83-91.
 36. Jacoby WB. 1978. The glutathione S-transferases: a group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 46: 383-414.
 37. Adaramoye OA, Nwosu IO, Farombi EO. 2012. Sub-acute effect of N^G-nitro-L arginine methyl-ester (L-NAME) on biochemical indices in rats: Protective effects of Kolaviron and extract of *Curcuma longa* L. *Pharmacognosy Res* 4: 127-133.
 38. An BJ, Lee JY, Park TS, Pyeon JR, Bae HJ, Song MA, Baek EJ, Park JM, Con JH, Lee CE, Choi KI. 2006. Antioxidant activity and whitening effect of extraction conditions in *Curcuma longa* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 14: 168-172.
 39. Bus JS, Aust SD, Gibson JE. 1975. Lipid peroxidation: a possible mechanism for paraquat toxicity. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 11: 31-38.
 40. Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeong JM. 2006. Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 328-333.
 41. Plaa GL, Witscri H. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 16: 125-141.
 42. Del Boccio GLD, Porreca EPA, Savini R, Feliciani P, Ricci G, Cuccurullo F. 1990. Aortic antioxidant defence mechanism time-related change in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 84: 127-135.
 43. Mantha SV, Kalra J, Prasad K. 1996. Effects of probucol on hypercholesterolemia-induced changes in antioxidant enzymes. *Life Sci* 58: 503-509.
 44. Akira A, Kiyotake N, Teruo N. 1999. Antioxidative effects of turmeric, rosemary and capsicum extracts on membrane phospholipid peroxidation and liver lipid metabolism in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 2118-2122.

(2012년 12월 6일 접수; 2013년 2월 4일 채택)