

# 鬱金 추출물이 배양 심장내피세포에 미치는 영향

권강범 · 김인섭 · 김현규 · 최기방 · 김용복 · 류도곤\*

원광대학교 한의과대학 생리학교실

## Effects of Radix Curcumae Aromaticae Extract in Rat Cardiac Endothelial Cells

Kang Beom Kwon, In Seob Kim, Hyun Gyu Kim, Ki Bang Choi, Yong Bok, Kim, Do Gon Ryu\*

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

To test the protective effect of Radix Curcumae Aromaticae (RCA) on the damage of cardiac endothelial cells by xanthine oxidase (XO)/hypoxanthine (HX)-induced oxygen free radical, Neutral Red (NR), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and DNA synthesis assay were used in the presence of RCA extract. The results of these experiments were obtained as follows ; Cardiac endothelial cells treated with XO/HX showed the cytotoxicity such as decreases in viability and DNA synthesis, a increase in lipid peroxidation. Cardiac endothelial cells pretreated with RCA extract protected the increase of lipid peroxidation by XO/HX. Cardiac endothelial cells pretreated with RCA extract inhibited the decrease of DNA synthesis by XO/HX. These results show that XO/HX elicits toxic effects in cultured cardiac endothelial cells derived from neonatal rat, and suggest that RCA extract is very effective in the prevention of XO/HX-induced toxicity.

Key words : Radix Curcumae Aromaticae (RCA), xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX), cardiac endothelial cells, Neutral Red (NR), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), DNA synthesis

### 서 론

鬱金(Curcuma Rhizoma)은 生薑科(Zingiberaceae)에 속한 多年草인 深黃(Curcuma longa L.)의 根莖으로서<sup>1,2)</sup> 辛苦寒 無毒 入肺脾胃 三經하며 血積下氣 生肌止血 破惡血 血淋 尿血 金瘡 등이 主治症이다<sup>3)</sup>. 李<sup>1)</sup>는 利膈 健胃 通經 鎮痛作用을 검하여 肝臟消毒 및 利膈作用을 하고 주로 月經不調 行經困難 胸腔疼痛 脇痛 腹痛 血氣諸痛 血凝 肝鬱 血積 胃痙攣과 消化不良 食慾不振 黃疸 膽石 癲狂 痰血 등을 치료하고 또한 血中の 滯를 破하고 衄血과 尿血 婦人逆經 淋敗血攻心 痰涎入心 痘毒入心을 치료한다고 하였다.

산소자유기는 저산소증이나 허혈과 같은 병적인 상태에서 비정상적으로 생성되며 또한 세포막의 지방을 과산화시킬 뿐만 아니라 각종 효소나 단백질을 불활성화시킴으로써 세포 및 조직의 손상을 초래하게 된다<sup>4)</sup>. 최근의 연구에서 苦蔘독성은 산소자유기에 의하여 유발된다고 보고된 바 있다<sup>5)</sup>. 산소자유기란 최외각 전자궤도에 쌍을 이루고 있지 않은 홀수개의 전자가 존재하는

원자나 분자를 지칭하는 말로써 이러한 특수 구조 때문에 대단히 큰 반응성을 보여 생체내의 여러 가지 병태생리화적인 반응에 참여하고 있다<sup>5,9)</sup>. 鬱金の 효능에 관한 연구로서 Jentsch와 Höller<sup>10)</sup>는 鬱金の 주성분인 curcumin이 흰쥐에서 이담작용을, Ramprasada와 Sirsi<sup>11)</sup>는 sodium curcumat과 정유가 항균작용을 나타낸다고 하였으며, Robbers<sup>12)</sup>는 curcumin 유도체의 담즙배설 촉진효과와 담관수축작용과 지질대사에 미치는 영향 등에 관하여 구명되어 있으나 산소자유기의 독성에 대한 연구는 접할 수 없었다.

이에 저자는 鬱金이 배양 심장내피세포 손상에 대한 방어효과를 구명하기 위하여 먼저 鬱金 추출물을 전처리한 후 산소자유기인 xanthine oxidase/ hypoxanthine(XO/HX)로 흰쥐의 배양 심장내피세포에 독성을 유발시킨 후 TBARS 정량과 DNA 합성능을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 실험동물

동물은 ICR 계통의 건강상태가 양호한 생후 3일된 백서를 사용하였다.

\* 교신저자 : 류도곤, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학  
E-mail : tkryu@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-6846  
· 접수 : 2002/10/16 · 수정 : 2002/11/28 · 채택 : 2003/01/17

2. 세포배양

심장조직에서 분리된 심장내피세포를  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -free인 Hank's balanced salt solution(HBSS, Gibco)으로 3회 세척한 후 1,000rpm에서 20분간 원침시켰다. 심장조직을 0.05% trypsin으로 20분동안 항온기에 넣은 다음 pasteur pipette으로 3, 4회 분쇄한 후 800×g에서 10분간 원침시킨다. 원침된 세포를 Eagle's minimum essential medium(MEM, Gibco)에 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco)과 penicillin G(25 unit/ml)가 첨가된 혼합액에 부유시킨 다음 96-multiwell plate(Gibco)에  $1 \times 10^6$  cells/well의 세포 밀도로 분주하였다. 분주된 세포는 3일 간격으로 새로운 배양액으로 교환하여 주었으며 XO/HX이 포함되지 않은 배양액을 대조군으로 하여 비교 조사하였다. 실험전 배양액을 버리고 세포를 PBS로 3-4회 세척하였으며 세포는 배양 7일 후 본 실험에 사용하였다.

3. 전탕액의 제조

실험에 사용한 약재인 麩金 200g을 환저플라스크에 넣고 냉각기를 부착하여 3시간 동안 전열기로 전탕한 후 3,000rpm에서 20분간 원침분리하고 회전 진공 농축기로 감압농축한 후 동결건조기에서 건조하여 9.45g의 분말 시료를 얻었다.

4. Xanthine Oxydase(XO)/Hypoxanthine(HX)의 제조 및 처리

본 실험에 사용한 시약으로는 xanthine oxidase(XO, Sigma)와 hypoxanthine (HX, Sigma)으로 XO의 경우 100 mU/ml, 10 mU/ml, 1 mU/ml의 저장액을, HX의 경우 1 M, 100 mM, 10 mM의 저장액을 만들어 냉암소에 보관한 후 실험 당일 적당한 양으로 희석 사용하거나 필요한 양을 직접 배양액에 첨가하여 사용하였다.

5. 전탕액의 처리

실험에 사용한 麩金 추출물을 여러 농도로 하여 백서의 배양 심장내피세포를 XO/HX에 노출시키기 3시간 전에 각각 전처리한 다음 XO/HX에 노출시킨 후 麩金 추출물이 XO/HX의 심장내피세포 독성에 대한 방어효과를 조사하였다.

6. 세포독성 및 방어효과 검증

1) NR 정량

Neutral red(NR, Sigma)의 정량은 여러 농도의 XO/HX를 처리한 배양 심장내피세포를 phosphate buffered saline(PBS)으로 3회 세척하였다. 세척완료 후 전날 제조한 5 mg/ml의 NR을 well당 최종농도로 희석하여 넣은 다음 3시간 동안 37℃, 5% CO<sub>2</sub>로 조절된 정온기에서 배양하였다. 일정시간 동안 배양이 끝난 후 세포를 PBS로 세척후 1% formalin과 1% glacial acetic acid로 처리한 다음 ELISA Reader(Molecular Device, USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

2) Lipid peroxidation 정량

XO/HX과 麩金 추출물을 일정시간 동안 처리한 후 배양 심장내피세포의 상층액과 세포용해액내의 TBARS (thiobarbituric acid reactive substances)를 측정한 것으로, 위의 액에 12N

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 10% phosphotungstic acid를 각각 2.0 ml와 0.3 ml를 넣고 10분 동안 반응시켰다. 반응 완료후 TBA(thiobarbituric acid)를 1.0 ml를 가한 후 90도에서 1시간 동안 가열한 다음 냉각후 n-butanol로 처리하였다. n-butanol 처리완료 후 원침하여 이를 제거한 다음 553nm에서 형광측정법에 의해 측정하였다.

3) DNA synthesis 측정

일정 시간동안 약재를 처리한 실험군과 약재처리를 하지 않은 대조군을 [<sup>3</sup>H]thymidine이 10 uCi/ml 포함된 배양액으로 교환하여 1시간동안 표식하였다. 100 ug/ml의 sodium azide로 DNA합성을 억제시켜  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ 가 없는 PBS로 3회 세척한 후 0.05% trypsin-EDTA로 세포를 부유시켰다.세포를 Whatman GF/C glass filter paper로 수확한 후 여과지를 건조시켜 scintillation cocktail(PPO 4 g, POPOP 0.1 g/Toluene 1 L)을 넣고 반응시킨 다음 액체섬광계수기로 방사능을 측정하여 이를 대조군과 비교하여 백분율로 표시하였다.

7. 통계처리

실험결과에 대한 유의성의 검정은 ANOVA후에 Tukey-Kramer multiple comparison test에 의하였으며 p값이 0.05 이하인 것만 유의한 것으로 하였다.

실험성적

1. XO/HX가 심장내피세포의 생존율에 미치는 영향

XO가 배양 심장내피세포에 미치는 독성을 관찰하기 위하여 30~60 mU/ml 농도로 처리한 배양 심장내피세포에 세포생존율을 NR 정량법에 의하여 측정한 결과 처리한 XO의 농도에 비례하여 세포의 생존율이 감소하였다. 특히 50 mU/ml, 60 mU/ml XO의 처리에서는 세포의 생존율이 대조군에 비하여 51.0% (p<0.05), 42.9%(p<0.01)로 유의한 감소를 나타냈다 (Fig. 1).

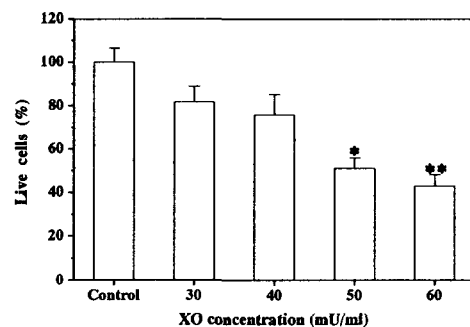


Fig. 1. Dose-response relationship of XO treatment in cultured rat cardiac endothelial cells. Cultured cells were exposed to various concentrations of XO for 42 hours, respectively. Cell viability was measured by NR assay and determined as % of control. The results indicate mean±SE(n=5). Significant differences from the control group are marked with asterisk. \*p<0.05, \*\*p<0.01

또한 50 mU/ml의 XO가 포함된 배양액에서 심장내피세포를 18-64시간동안 배양한 후 시간의 경과에 따른 세포의 생존율을 조사한 결과 처리한 시간에 의존적으로 세포 생존율이 감소하였으며 특히 42시간, 64시간에서 유의한 감소를 나타냈다 (Fig. 2).

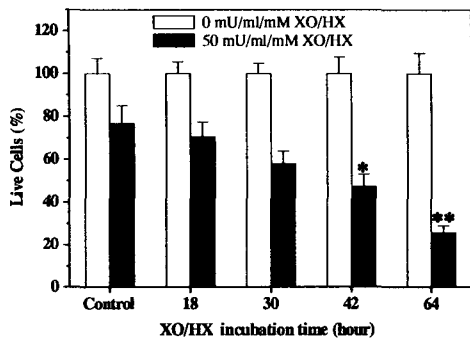


Fig. 2. Time-response relationship of XO/HX treatment in cultured rat cardiac endothelial cells. Cultured cells were treated with 50 mU/ml XO in 0.1 mM HX for various time intervals. Cell viability was measured by NR assay and determined as % of control. The values are the mean±SE for 6 experiments. Asterisk indicate the significant differences between groups. \*p<0.05, \*\*p<0.01

2. XO/HX의 심장내피세포 손상에 대한 鬱金 추출물의 영향

1) Lipid peroxidation 정량

(1) XO/HX가 lipid peroxidation에 미치는 영향

XO/HX의 농도에 따른 lipid peroxidation을 측정하기 위하여 0.1 mM HX에 5~50 mU/ml의 농도로 XO가 각각 포함된 배양액에서 심장내피세포를 42시간 동안 처리한 후 TBARS를 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 처리한 농도에 비례하여 TBARS의 증가를 보였다. 특히 35 mU/ml, 50 mU/ml XO 처리에서는 대조군에 비하여 각각 158.8%(p<0.05), 171.4%(p<0.01)로 TBARS의 유의한 증가를 나타냈다. MCV값은 35 mU/ml XO 처리에서 나타났다(Fig. 3).

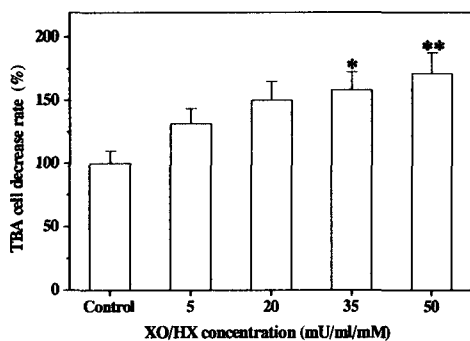


Fig. 3. Dose-response relationship of XO/HX on lipid peroxidation in cultured rat cardiac endothelial cells. Cultured cells were exposed to various concentrations of XO in 0.1 mM HX for 42 hours. Thiobarbituric acid (TBA) fluorometric assay was adopted to analyse lipid peroxidation and TBA reactive substance(TBARS) were represent as % of control. The values are the mean±SE for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisk. \*p<0.05, \*\*p<0.01

(2) XO/HX 처리에 의해 증가한 lipid peroxidation에 미치는 鬱金 추출물의 효과

배양 심장내피세포에 대한 XO/HX의 세포독성에 대한 鬱金 추출물의 효과를 TBA fluorometric assay를 통하여 lipid peroxidation양의 측면에서 조사하기 위하여 MCV값인 35 mU/ml XO/0.1 mM HX의 농도에서 42시간 동안 노출시키기 3시간 전에 각각 30~120 µg/ml의 鬱金 추출물이 포함된 배양액에서 처리한 후 이의 방어효과를 조사하였다. 그 결과 XO/HX를 처리하지 않고 鬱金 추출물을 농도별로 처리한 경우 lipid

peroxidation에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 35 mU/ml XO/HX를 처리한 경우 XO/HX를 처리하지 않은 경우에 비하여 47.2%가 증가하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 鬱金 추출물을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 lipid peroxidation이 감소하여 XO/HX에 의한 독성을 방어하였으며 특히 90 µg/ml, 120 µg/ml 鬱金 추출물을 전처리한 경우에 鬱金 추출물을 전 처리하지 않고 XO/HX만을 처리한 군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다 (Fig. 4).

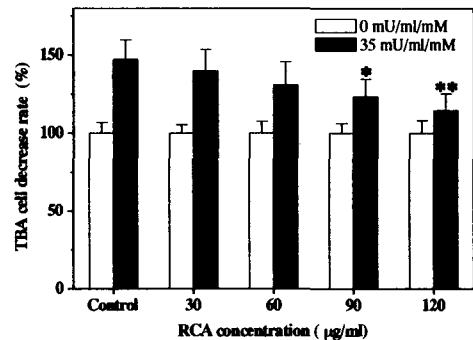


Fig. 4. Dose-response relationship of Radix Curcumae Aromatica (RCA) for lipid peroxidation in cultured rat cardiac endothelial cell. Cultured cells were pretreated with various concentrations of RCA extracts for 3 hours, and then exposed to 35 mU/ml XO in 0.1 mM HX for 42 hours. Amount of lipid peroxidation was measured by TBA fluorometric assay (TBARS). The values represent the mean±SE for 6 experiments. Significant differences from the XO/HX-treated group are marked with asterisk. \*p<0.05, \*\*p<0.01

3) DNA 합성량의 측정

(1) XO/HX가 DNA 합성량에 미치는 영향

XO/HX의 농도에 따른 심장내피세포 DNA의 합성량을 측정하기 위하여 0.1 mM HX에 5~60 mU/ml XO의 농도가 각각 포함된 배양액에서 심장내피세포를 42시간 동안 처리한 후 세포의 DNA 합성량 변동을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 처리한 XO의 농도에 비례하여 DNA 합성량이 감소하였으며 30 mU/ml, 60 mU/ml XO의 처리에서는 심장내피세포의 DNA 합성량이 대조군100%에 비하여 각각 49.6%(p<0.05), 25.4%(p<0.01) 감소하여 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다 (Fig. 5).

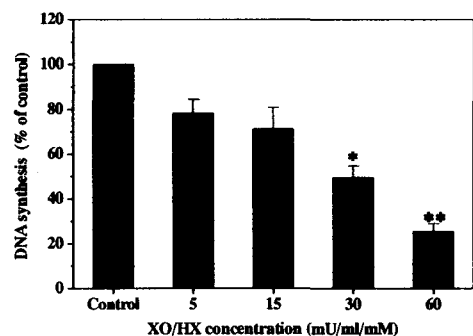


Fig. 5. Dose-response relationship of XO/HX on DNA synthesis in cultured rat cardiac endothelial cells. Cultured cells were treated with various concentrations of XO in 0.1 mM HX for 42 hours. DNA synthesis was measured by "material and method". The values are the mean±SE for 5 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisk. \*p<0.05, \*\*p<0.01

(2) XO/HX에 의해 감소한 심장내피세포 DNA 합성량에 미치는 鬱金 추출물의 효과

배양 심장내피세포에 대한 XO/HX의 세포독성에 대한 鬱金 추출물의 효과를 심장내피세포 DNA 합성량의 측면에서 조사하기 위하여 XO/HX의 MCV값인 30 mU/ml 농도에서 42시간 동안 노출시키기 3시간 전에 각각 40~130 µg/ml의 鬱金 추출물이 포함된 배양액에서 전처리한 후 심장내피세포의 DNA 합성량을 조사하였다. XO/HX을 처리하지 않고 鬱金 추출물을 농도별로 처리한 경우 심장내피세포 DNA 합성량에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 30 mU/ml XO/0.1 mM HX를 처리한 경우 XO/HX을 처리하지 않은 경우에 비하여 심장내피세포 DNA 합성량이 50.6%로 감소하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 鬱金 추출물을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 심장내피세포 DNA 합성량이 증가하여 XO/HX에 의한 독성을 방어하였으며 특히 100 µg/ml, 130 µg/ml의 농도로 전처리한 군에서는 대조군에 비하여 83.7% (p<0.05), 91.2% (p<0.01)로 유의한 방어를 나타냈다 (Fig. 6).

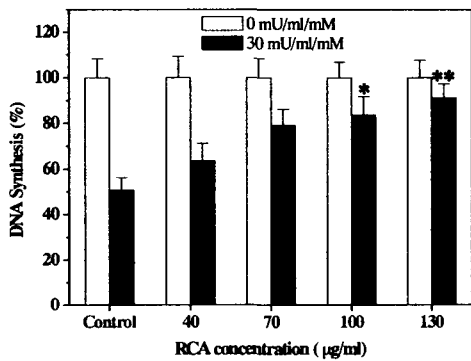


Fig. 6. Effects of Radix Curcumae Aromaticae (RCA) for DNA synthesis in cultured rat cardiac endothelial cells. Cultured cells were preincubated with various concentrations of RCA extract for 3 hours, and then exposed to 30 mU/ml XO in 0.1 mM HX for 42 hours. DNA synthesis was measured by "material and method". The values are the mean±SE for 5 experiments. Significant differences from the XO/HX-treated group are marked with asterisk. \*p<0.05. \*\*p<0.01

고찰

鬱金은 辛苦寒 無毒 入肺脾胃 三經하며 血積下氣 生肌止血 破惡血 血淋 尿血 金瘡 등이 主治症이며, 여러 韓醫書<sup>1,3,13-25</sup>에 心熱을 내려주고 肝鬱을 散하게 하여 吐衄尿血 婦人經脈逆行 血氣諸痛 등을 治한다고 하였으며, 李<sup>1</sup>는 利膈 健胃 通經 鎮痛 作用을 나타내 肝臟消毒 및 利膈作用을 하고 主로 月經不調 行經困難 胸腔疼痛 脇痛 腹痛 血氣諸痛 血凝 肝鬱 血積 胃痙攣과 消化不良 食慾不振 黃疸 膽石 癲狂 痰血 등을 治하고 또한 血中の 滯를 破하고 衄血과 尿血 婦人逆經 淋敗血攻心 痰涎入心 痘毒入心을 治한다고 하였다. 이상과 같이 鬱金은 광범위하게 사용되고있음은 잘 알려져 있으며, 鬱金の 성분으로는 강황색소로서 curcumin이 0.3~4.8%, 정유 1~5%, 전분 30~40%와 소량의 지방유 등이며 정유의 주성분으로 turmerone 등이 구명되어 있다<sup>2</sup>. 鬱金の 성분에 관한 연구로서 Kelkar와 Sanjiva<sup>26</sup>는 정유

를 처음으로 분리하였고, Khalique<sup>27</sup>는 황색색소인 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione을 확인한 바 있으며, Janaki 와 Bose<sup>28</sup>은 鬱金에서 curcumin의 분리방법을 밝힌 바 있다.

산소자유기는 xanthine 혹은 hypoxanthine이 oxygen에 의해서 산화되는데 이 반응은 xanthine oxidase에 의해서 촉매되어 superoxide radical(O<sup>2-</sup>)과 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)가 생산된다<sup>29,30</sup>. 이렇게 생성된 산소자유기는 철(iron)과 반응하여 hydroxyl radical (OH)이 생성된다<sup>31,32</sup>. 생체는 외부와 관계없이 스스로 유리기를 발생시키는 기전이 있는데 그 중 현저한 것은 산소를 중심으로 하는 일련의 유리기들로서 호기성 호흡을 하는 생물이 최종 전자수용체로 이용하는 산소를 4가 환원시켜 물로 배설하는데 그 중간물질로 생성되는 것들이 그것이다<sup>5,33</sup>. 이들 유리기들도 자체의 반응성이 높아 생체막의 불포화 지방산을 과산화시키거나 단백질, DNA를 변성시킬 수 있으므로<sup>34</sup> 생체내에서도 이들을 제거해야 한다. 호기성 생물에 존재하는 이들 방어체계는 산소가 1가 환원되어 발생하는 superoxide anion (O<sup>2-</sup>)을 과산화수소 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 변화시키는 효소인 superoxide dismutase (SOD) 및 과산화수소 처리효소인 catalase, peroxidase 등이다<sup>5,33</sup>. 외부에서 유리기를 내는 물질을 투여했을 경우도 이들 유리기들이 반응성이 높아 쉽게 전자를 전달해 주므로 그 독작용을 방지하는데 다른 방어체계와 함께 이들 효소가 중요한 역할을 하리라 생각된다<sup>8,35,36</sup>.

실험에서는 먼저 XO/HX의 심장내피세포 독성효과를 NR 정량을 이용하여 조사하였다. NR assay는 세포의 생존율을 측정하는 방법으로서 이 실험에서 XO/HX를 처리한 후 위의 방법에 의하여 세포의 생존율을 조사한 결과 농도와 시간에 의존적으로 생존율을 감소시켜 (Fig. 1~2) 세포에 독성을 유발하여 Zhang 등<sup>37</sup>이 보고한 결과와 일치하였다. 이러한 XO/HX의 심장내피세포 독성에 대하여 鬱金の 방어효과를 지질 과산화(lipid peroxidation) 반응, DNA 합성량을 이용하여 조사하였다. 먼저 35 mU/ml XO의 농도에서 대조군에 비하여 TBARS가 약 50% 증가하여 鬱金 추출물을 30~120 µg/ml의 농도로 3시간 전처리한 후 35 mU/ml의 XO를 42시간 처리하여 XO/HX에 의해 증가하는 TBARS에 대한 억제효과를 조사하였다. 그 결과 鬱金 추출물은 90, 120 µg/ml의 농도에서 유의한 억제효과를 나타냈다 (Fig. 4). DNA는 세포증식능이나 분화능을 조사하는데 대표적인 분석방법의 하나이다<sup>38</sup>. 따라서 약제의 손상 및 회복기전을 정량적으로 분석할 수 있는데 산소자유기의 세포에 대한 많은 독성 효과 중의 하나는 DNA 합성량의 감소이다. XO/HX는 처리한 농도에 비례하여 DNA 합성량을 감소시켰으며(Fig. 5) 鬱金 추출물의 방어효과를 DNA 합성량을 통하여 조사하였다. 鬱金 추출물은 40 µg/ml~130 µg/ml의 농도로 전 처리한 군은 XO/HX에 의한 DNA 합성의 감소를 억제시켰으며 특히 100, 130 µg/ml의 농도에서 유의한 감소효과를 나타냈다(Fig. 6).

위의 결과에서 鬱金 추출물은 XO/HX의 지질과산화 반응과 DNA 합성 억제에 대한 방어효과를 나타낸 것으로 생각되며 앞으로 이에 대한 기전적인 연구가 필요하리라 사료된다.

## 결 론

鬱금이 심장내피세포에 미치는 영향을 구명하기 위하여 백서에서 분리하여 배양한 심장내피세포에 鬱金 추출물을 전 처리한 후 XO/HX의 세포독성효과와 이에 대한 방어효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

XO/HX는 농도와 시간의존적으로 심장내피세포 생존율의 감소를 나타냈으며 鬱金 추출물을 전처리한 군은 XO/HX에 의하여 유발된 지질과산화 반응의 증가와 DNA 합성량의 감소에 대하여 유의한 억제효과를 나타냈다. 이상의 결과에서 XO/HX는 심장내피세포에 독성을 나타냈으며 鬱金 추출물을 전처리하여 독성을 유의하게 차단하였으며 앞으로 지속적인 기전구명이 필요하리라 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 보건복지부 한방치료기술개발사업의 지원(HMP-CO-03-0003)에 의하여 이루어진 것임.

## 참고문헌

1. 李尙仁 : 本草學, 서울, 修書院, pp.431-432, 1981.
2. 刈米達夫·木村雄四郎: 和漢藥用植物, 廣川書店, 日本, pp.366-367, 1968.
3. 李時珍 : 本草綱目, 臺北, 文光圖書公司, 卷14:30, 民國 57.
4. Myers M. L., Bolli R., Lekich R. F., Hartley C. J., Roberts R. : Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free radical scavengers after reversible regional ischemia. *Circulation* 72:915-921, 1985.
5. Fridovich, I. : The biology of oxygen radicals. *Sci.*, 201:875-880, 1978.
6. Hertz F., Cloarec A.: Pharmacology of free radicals: Recent views on their action to inflammatory mechanism. *Life Sci.* 34:713-720, 1984.
7. Klebanoff S.J. : Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann. Int. Med.* 93:480-489, 1980.
8. Mason R.P., Chignell C.F. : Free radicals in pharmacology and toxicology-Selected topics. *Pharmacol. Rev.* 33(4):189-211, 1982.
9. McCord J.M., Fridovich I. : The biology and pathology of oxygen free radicals. *Ann. Int. Med.* 89:122-127, 1978.
10. Jentzsch K., Höjler H. : Paper chromatography and pharmacologic action of the Pigments of Curcuma *Pharm. Acta. Helv.* 34:181 53;17324, 1959.
11. Ramprasad C., Sirsi M. : Curcuma longa ; in vitro antibacterial activity of curcumin and the essential oil. *J. Sci. Ind. Research (India).* 15C; 239 (1956). C.A. (1957) 51; 7507.
12. Robbers H. : The effect of some Curcuma derivatives on

- biliary secretion. *Arch Exptl. Path Pharmacol.* 181; 328 (1936). C.A. (1936). 30; 6822.
13. 康命吉 : 濟衆新編. 서울, 杏林出版社, p.319, 1982.
14. 吳得泳 : 惠庵醫方, 서울, 醫藥社, p.4, 1978.
15. 唐慎微撰(宋) : 重修政和經史證類備用本草, 서울, 大星文化社, p.230, 1983.
16. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館, pp.480-411, 1983.
17. 上海中醫學院 : 常用方藥類編, 上海, 科學出版社, pp.234-235, 1978.
18. 徐春甫 (明) : 古今醫統秘方大全 (11卷), 서울, 金剛出版社, pp.6366-6367, 1982.
19. 汪 昂 : 增批本草備要, 臺北, 大中國圖書公司, p.53, 1985.
20. 劉壽山 : 中藥研究文獻摘要, 北京, 科學出版社, pp.359-361, 1979.
21. 吳克潛 : 古今醫方集成, 서울, 翰成社, p.2323, 1980.
22. 龔廷賢 : 國譯 萬病回春 (朱甲憲 譯, 上卷), 서울, 癸丑文化社, p.44, 1977.
23. 周命新 : 新增醫門寶鑑, 서울, 三協出版社, p.495, 1964.
24. 陳存仁 : 中國名醫驗方叢書, 中藥的科學用法與驗方, 香港, 震旦圖書公司, p.132.
25. Li Shin-chen: Chinese Medicinal Herbs, George Town Press, Sanfrancisco, pp.138-140, 1973.
26. Kelkar N.C., Sanjiva Rao B.: Essential oil from the rhizomes of *Curcuma longa* L. *J. Indian Inst. Sci. (India)* 17A; 7(1933). C.A. (1934) 28;3523.
27. Khalique A., Amin M. N. : Constituents of the rhizome of *Curcuma longa* L. *Sci. Res. Pakistan* 4(4):193, 1967.
28. Janaki N., Bose J.L. : An improved method for the isolation of curcumin from turmeric(*Curcuma long a*) *J. Indian Chem. Soc.* 44(11):985 . C.A. (1968) 68:46988, 1967
29. Fridovich I. : Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 245:4053-4057, 1970.
30. Killogg E. W. and Fridovich I. : Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymatically generated superoxide and hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 252:6721-6728, 1977.
31. Harber F. and Weiss J. : The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by anion salts. *Proc. Roy. Soc. London A.* 147:333-351, 1934.
32. Graf E., Mahoney J. R., Bryant R. G. and Eaton J. W. : Iron-catalyzed hydroxyl radical formation : Stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol. Chem.* 259:3620-3624, 1984.
33. Frank L., Massaro D. : Oxygen toxicity. *Am. J. Med.* 69:117-126, 1980.
34. Maestro R. F., Thaw H. H., Bjork J., Planker M., Arfors K. E.: Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 492:43-57. 1980.
35. Dodd N. J. F., Mukherjee T. : Free radical formation from

- anthracycline antitumor. agents and model system-I: Model naphthoquinones and anthraquinones. *Biochem. Pharmacol.* 33(3):379-385, 1984.
36. Sinha B. K., Trush M. A. Kalyanaraman B. : Free radical metabolism of VP-16 and inhibition anthracycline-induced lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 32(22):3495-3498. 1983.
37. Zhang R., Pinson A., Samuni A. : Both hydroxylamine and nitroxide protect cardiomyocytes form oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine* 24(1):66-75, 1998.
38. Waalkes M. P. and Pvirier L. A. : In vitro cadmium-DNA interactions: Cooperativity of binding and competitive antagonism by calcium, magnesium and zinc. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 75:539-549, 1984.