

AGI-1120과 차가버섯의 NF- κ B 활성화 억제 및 항산화 효과

송희순 · 이영종 · 김승균 · 문원국¹ · 김동우¹ · 김영식² · 문기영*

광주보건대학 임상병리과, 식품영양과, 생명산업기술연구소

¹엔바이오테크놀로지 연구소, ²서울대학교 약학대학 천연물과학연구소

Downregulatory Effect of AGI-1120 (α -Glucosidase Inhibitor) and Chaga Mushroom (*Inonotus obliquus*) on Cellular NF- κ B Activation and Their Antioxidant Activity

Hee Sun Song, Young Jong Lee, Seung-Kyoon Kim, Won-Kuk Moon¹, Dong-Woo Kim¹,
Yeong Shik Kim², and Ki-Young Moon*

Department of Clinical Pathology and Food & Nutrition, and Bioindustry & Technology Research Institute,
Kwangju Health College, Kwangju 506-701, Korea

¹En-Biotechnology Co., Ltd, Seoul 138-160, Korea

²Natural Products Research Institute, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract – Effect of AGI (α -glucosidase inhibitor)-1120, pine (*Pinus densiflora*) bark extract and Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) - and Chaga mushroom mycelium extracts on cellular NF- κ B activation in malignant human keratinocytes (SCC-13) were evaluated to elucidate the possible correlation of NF- κ B with antioxidant activity. The antioxidant activities of these natural products were examined in three different evaluation methods, i.e., lipid peroxidation value (POV) evaluation test, and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) and nitric oxide (NO) scavenging test. In a cell-based NF- κ B monitoring assay system, all samples revealed the downregulatory profiles on the cellular NF- κ B activity. AGI-1120 (1, 2 mg) and Chaga mushroom extract (0.05, 0.1 mg) downregulated the NF- κ B activity in a dose-dependent manner. Chaga mushroom mycelium extract (5 mg) significantly inhibited the NF- κ B activity ($p < 0.05$). Although AGI-1120 and Chaga mushroom mycelium extract exhibited no antioxidant activities evaluated in POV, Chaga mushroom extract showed antioxidant in a dose-dependent manner at concentrations of 0.05~0.1 mg. While AGI-1120 and Chaga mushroom extract possessed a relatively potential DPPH radical scavenging activity, the NO scavenging activity of Chaga mushroom extract (SC_{50} :47 μ g) was higher than the known antioxidant, vitamin C (SC_{50} :77 μ g). These results suggest that AGI-1120 and Chaga mushroom- and Chaga mushroom mycelium extracts may serve as an useful radical scavenging antioxidant agents with NF- κ B inhibitory effect in human skin.

Key words – AGI-1120 (α -glucosidase inhibitor), Chaga Mushroom (*Inonotus obliquus*), NF- κ B activity, Antioxidant, Radical scavenging activity

인체는 생명유지에 필요한 에너지를 만들기 위해 끊임없이 산소를 필요로 한다. 그러나 산화적 스트레스(oxidative stress), 즉 신체의 산화-환원반응이 깨져 반응력이 큰 산소 화합물이 많이 생성되게 하는 산화촉진 반응은 많은 질병에서 간과할 수 없는 원인으로 보고되어 왔다.

인체에서 일어나는 산화촉진에 대한 항산화 기작은 세포막에서 지질 과산화 및 자유 라디칼(free radical)의 생성을

억제하는 반응, 생성된 자유 라디칼의 소거반응, 손상된 세포의 복구반응으로 이루어져 있다. 암, 동맥경화, 류머티즘, 당뇨 등의 질병과 관련된 활성산소(ROS, reactive oxygen species) 및 자유라디칼의 역할에 대한 연구와 함께 천연 항산화제 개발에 대한 연구도 지속적인 관심의 대상이 되어 왔다.¹⁻⁵⁾

또한, 종양, 염증, 면역계에서 원인 유전자 조절에 주요한 역할을 하는 것으로 알려진 전사인자 NF- κ B는 산화적 스트레스의 영향을 받는 것으로 보고되어 있으며,⁶⁾ NF- κ B 활성 조절과 관련하여 자유 라디칼 및 *N*-acetyl-*L*-cysteine

*교신저자(E-mail) : kmoon@www.kjhc.ac.kr
(FAX) : 062-955-2100

(NAC)과 pyroliidinedithiocarbamate (PDTC) 같은 항산화제의 역할에 관한 연구도 보고되어 있다.⁷⁻⁹⁾

NF- κ B는 다양한 환경적 자극에 대한 반응으로 활성화되는 유도 전사 인자이다.¹⁰⁻¹²⁾ 잠정적 형태의 NF- κ B는 cytoplasm에 있는 억제단백질, I- κ B에 결합되어 있다. 다양한 NF- κ B활성인자, 즉 tumor necrosis factor, IL-1, lipopolysaccharides, UV (ultraviolet) 등의 자극은 억제단백질 I- κ B의 phosphorylation과 ubiquitination을 통하여 degradation을 유도하게 된다. 이러한 과정은 NF- κ B를 핵으로 이동시켜 target genes의 promoter부위에 있는 NF- κ B-binding site와의 결합을 가능하게 하여, target gene의 expression을 촉진시킨다.¹³⁻¹⁶⁾ NF- κ B 활성의 조절을 이끄는 연속된 단계들을 억제 또는 촉진시키는 생리활성을 가진 분자들에 대한 연구는 현재까지 관심 있는 분야가 되어왔다.¹⁷⁻¹⁹⁾

본 실험의 시료로 이용하고자 하는 AGI-1120 (α -glucosidase inhibitor)은 소나무 수피에서 분리, 추출한 천연물로서 당뇨병의 내적 요인으로 작용하는, 식후 혈당증가의 원인이 되는 α -glucosidase의 활성을 효과적으로 억제하는 물질로 이에 대한 연구는 지속적으로 보고되어 왔다.²⁰⁻²³⁾ 최근 연구 보고에서는 소나무 추출물이 α -glucosidase 뿐만 아니라 maltase 및 sucrase의 활성을 강력하게 억제하는 것으로 보고되었다.²⁴⁾ 차가버섯(*Inonotus obliquus*)에 관한 연구는 차가버섯 추출물의 항종양 및 항돌연변이 활성과 이러한 활성 성분의 동정에 대한 연구가 보고되어 왔다.²⁵⁻²⁷⁾ 그러나 이러한 다양한 생리활성을 지닌 이 천연물들에 대한 항산화 효과, 즉 지질 과산화물생성 억제 및 자유라디칼 소거 기능에 대한 연구는 아직 보고되지 않았으며, 나아가 항산화 효과에 연관된 NF- κ B 활성에 대한 이들 천연물의 영향에 관한 연구는 아직 미진한 상태이다.

그러므로, 본 연구에서는 소나무 수피 추출물 AGI-1120, 차가버섯 및 차가버섯 균사체 추출물이 인체피부조직세포에서 NF- κ B 활성에 미치는 영향과 항산화적 활성을 평가하여 이들 천연물의 새로운 생리활성 역할을 규명 하고자한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 연구에 사용된 시료는 소나무 수피 추출물인 AGI-1120와 열수추출물인 차가버섯(*Chaga mushroom Ex.*) 및 차가버섯 균사체 추출물(*Chaga mushroom mycelium Ex.*)로서, 엔바이오테크놀러지 연구소에서 추출하여 제공한 것을 사용하였다.

시약 및 기기 - NF- κ B 활성 측정을 위한 시약 및 기기는 이미 보고된 논문에서 있는 것들을 사용하였다.^{28,29)} 항산화 활성도의 측정을 위해 분광광도계(Dr 4000U UV-VIS

spectrophotometer, HACH, U.S.A)를 사용하였다. 모든 시약 및 용매는 특급으로서 Aldrich Chemical 또는 Sigma사의 것을 사용하였다.

Cell Transfection and Culture - 형질 전환된 SCC-13 세포(Transfectant human SCC-13 cell)의 준비와 배양은 원칙적으로 이미 보고된 방법에 따라 시행하였다.^{28,29)} 이후 형질 전환된 SCC-13 세포를 안정된 세포의 선별을 위해 500 μ g/ml의 geneticin (antibiotic G-418, Gibco BRL., Grand Island, NY)을 함유한 배지에서 배양하였다.

Reporter (SEAP) Gene Assay - 형질 전환된 SCC-13 세포 (1.5×10^6 cells)를 T-25 flask (5 ml)에 seeding하였고 배지는 24시간 후에 버렸다. 동시에 세포를 PBS(phosphate-buffered saline)로 두 번 씻고 새로운 배지를 첨가한 후에 AGI-1120 (1, 2 mg), 차가버섯 추출물(*Chaga mushroom Ex.* 0.05, 0.1 mg) 및 차가버섯 균사체 추출물(*Chaga mushroom mycelium Ex.* 5 mg)을 culture medium에 첨가하였다. 천연물이 투여된 Cultures와 Control media에서 aliquots (25 μ l)를 0, 24, 48, 72시간에 각각 취하였다. Endogeneous alkaline phosphatase의 활성을 제거하기 위해 65°C에서 5분간 열처리 한 후 바로 이용하거나 -20°C에서 보관한 후 이용하였다. SEAP활성도 측정을 위해 96 well plates의 각 well에 dilution buffer 25 μ l, assay buffer 97 μ l, culture media (enzyme source) 25 μ l, 4-methylumbellifery phosphate (MUP, 1 mM, 3 μ l)을 첨가한 후, 빛이 없는 실온에서 60분간 방치하였다. SEAP 측정은 fluorescent detection assay method (Great EscAPe SEAP System Kit, Clontech laboratories, Inc., Palo Alto, CA)를 이용하였다. SEAP/MUP의 생성물로 인해 발생하는 fluorescence를 96 well plate fluorometer (Molecular Devices, F max)를 이용하여 흡광도 360 nm (excitation)와 449 nm (emission)에서 측정하여 relative light unit (RLU)로서 NF- κ B의 활성도를 나타냈다.^{28,29)}

POV (Peroxide value) Test - 시료는 D.W.에 녹여 사용하였다. Linoleic acid 0.13 ml에 100% 에탄올 10 ml과 50 mM 인산완충액 (pH 7.4) 10 ml과 시료를 50 ml Cornical tube에 넣고, 최종 용액량이 25 ml이 되도록 D.W.를 첨가하였다. Vortex를 이용하여 용액을 섞은 후 40°C water bath에서 20일간 반응시키며 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20일에 과산화물가를 측정하였다. Control은 시료대신에 D.W.를 넣은 것을 사용하였다. 과산화물가의 측정은 thiocyanate method를 이용하였다.³⁰⁻³²⁾ 반응액 0.1 ml을 시험관에 담고 70% 에탄올 4.7 ml, 30% NH_4SCN 0.1 ml, 3.5% 염산용액에 녹인 0.02 M FeCl_2 용액 0.1 ml을 차례로 가하여 섞은 후 3분을 방치하였다. 흡광도 500 nm 에서 과산화물가를 측정하였고 항산화 활성을 나타내는 데이터 값으로 활용하였다. 항산화

활성은 일반적인 직선식($Y = aX + b$)을 이용하여 다음의 계산방법으로 구하였다.³²⁾

$$\text{Relative lipid peroxidation rate (\%)} = \text{As}/\text{Ac} \times 100$$

As : 시료의 과산화물가에 대한 직선의 식에서의 기울기 값.
Ac : Control의 과산화물가에 대한 직선의 식에서의 기울기 값.
과산화물가와 직선의 식과의 상관계수는 0.9 ($r < 0.9$) 이상이었다.

DPPH Test - 시료는 다양한 농도로 D.W.에 녹여 사용하였고 Control은 시료대신에 D.W. 만을 넣은 것을 사용하였다. 시료 1 ml에 에탄올 2 ml를 넣고 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical)용액 0.5 ml를 넣었다. 사용한 DPPH 용액은 3.5 ml에서 100 μM 이 되도록 준비하였다. DPPH-시료 혼합액을 10분 방치 후 UV-spectrophotometer를 이용하여 흡광도 517 nm에서 radical scavenging 효과(SC_{50})를 측정하였다.^{33,34)} SC_{50} 은 Control 값을 반으로 낮추는 데 요구되는 천연추출물의 양(mg)이며, 직선의 식($Y = aX + b$)을 이용하여 계산되었다. 직선의 식과 측정치와의 상관계수는 0.9 ($r < 0.9$) 이상이었다.

NO (Nitric oxide) Test - 시료는 다양한 농도로 20 mM 인산 완충용액(pH 7.4)에 녹여 사용하였고 Control은 시료 대신에 20 mM 인산 완충용액(pH 7.4)만을 넣은 것을 사용하였다. 시험관에 시료용액 0.5 ml과 10 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 ml을 넣어 섞은 후 150분간 실온에서 반응하도록 방치하였다. 10 mM sodium nitroprusside 용액은 매 실험 직전에 20 mM 인산 완충용액(pH 7.4)에 녹여 만들어 사용하였다. 반응액에 1 ml의 Greiss reagent 용액을 넣어 섞은 후 흡광도 542 nm에서 scavenging 효과(SC_{50})를 측정하였다.^{33,35)} Greiss reagent 용액은 A용액과 B용액을 각각 50 ml씩 실험 직전에 섞어 만든 것으로 사용하였다. A용액은 2% (w/v) sulfanilamide와 4% (w/v) phosphoric acid 이 함유되도록 만들었다. B용액으로는 0.2% (w/v) naphthylethylenediamide 용액을 사용하였다.

통계처리 - 모든 실험의 측정치는 Student's *t*-test로 통계 처리하여 대조군과의 유의성 차를 유의수준 5%에서 ($P < 0.05$) 검정하였다.

실험 결과

NF- κ B 활성화에 미치는 영향 - 피부는 많은 환경, 화학 물질 및 UV 등에 의한 NF- κ B 활성화와 관련되어 종종 염증을 유발시키는 다양한 병원유발 합성 화학물의 primary target 이며,^{36,37)} 또한 우리 일상 환경에 분포되어 있는 발암화학 물질에의 노출도 피할 수 없는 일이다. 이런 이유로 피부세

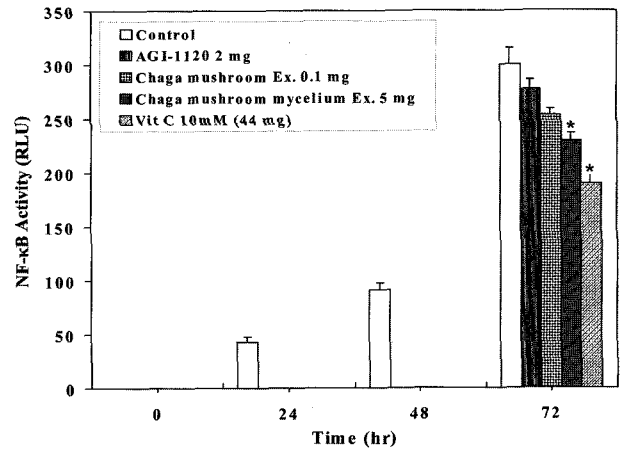


Fig. 1. Downregulatory effects of natural products on NF- κ B activation in human malignant keratinocytes.

The extracts were added to the culture medium at 0 h of incubation. SEAP activities were measured 0, 24, 48, and 72 h after exposure of compounds. RLU stands for relative light units. Each value represents the mean + SE of three independent determinations.

포에서 NF- κ B의 활성 조절은 치료약물개발을 위한 가치 있는 목표로 고려되고 있다. 그래서 본 연구에서는 인체피부 세포에서 천연물들에 의한 NF- κ B 활성화도에 대한 영향을 조사하기 위해, 최근 개발되어 보고된 cell-based NF- κ B monitoring assay system을 이용하였다.^{28,29)} 이 assay system은 본 연구에서 천연물들에 의한 NF- κ B 활성화의 정량적 측정을 용이하게 하였다. 본 실험에 이용한 모든 시료들은 세포독성을 보이지 않는 수준에서 NF- κ B 활성을 억제했다(Fig. 1). 즉, 차가버섯 균사체 추출물(5 mg)은 Vitamin C(44 mg, 10 mM)의 억제효과 (53%) 보다는 낮으나 35%의 유의적인 억제효과를 보였다($p < 0.05$). 농도를 달리하여 실험한 AGI-1120(1, 2 mg)과 차가버섯 추출물(0.05, 0.1 mg)의 경우, 각각 농도 의존적으로 NF- κ B 활성을 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 2).

지질과산화물 생성 억제 효과 - 인체에서 지질 과산화물은 세포막에 넓게 분포되어 있는 불포화지방산의 산화로부터 생성되며, 이 과산화물은 자동산화기구를 촉진하여 반응성이 큰 많은 자유 라디칼을 생성하는 데 영향을 미친다.¹⁾ 그러므로 지질 과산화물 생성억제에 대한 연구는 자유 라디칼 소거효과와 구별되는 중요한 의미를 지닌다. Linoleic acid의 과산화물 생성 억제에 대한 결과는 Fig. 3에 나타났다. POV test는 세포독성을 보이지 않는 천연추출물의 농도 수준으로 진행되었으며, 항산화 활성을 비교하기 위해 잘 알려진 항산화제인 Vitamin C(44 mg, 10 mM)도 실험에 포함하였다. 실험에 적용된 각 추출물의 농도에서, AGI-1120와 차가버섯균사체 추출물은 지질 과산화물에 대한 항산화

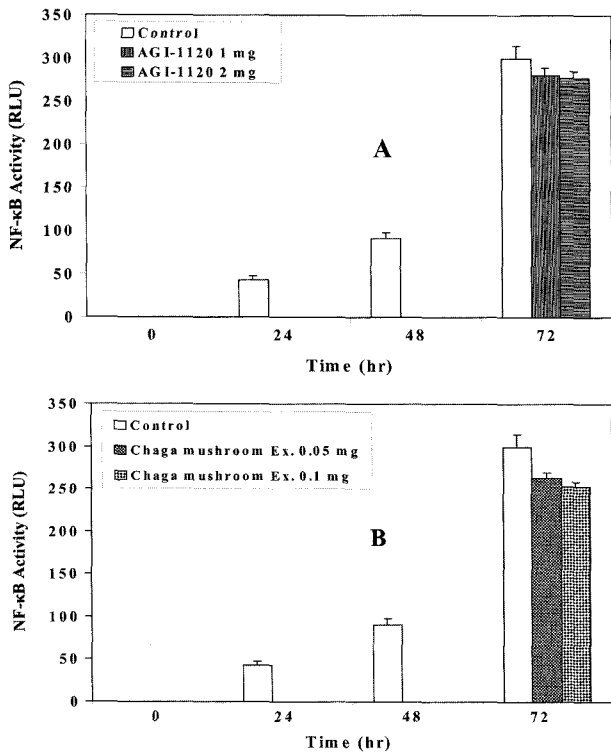


Fig. 2. Dose-dependent downregulatory effects of AGI-1120 (A) and Chaga mushroom Ex. and (B) on NF-κB activation in human malignant keratinocytes.

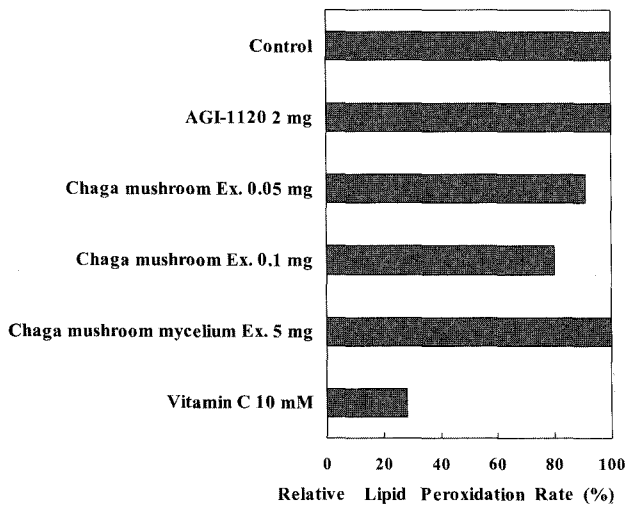


Fig. 3. Relative antioxidant activities of natural products against linoleic acid peroxidation.

적 활성이 없는 것으로 판단되었다. 비록 Vitamin C에 비해 낮은 항산화 활성을 보였지만, 차가버섯 추출물(0.05, 0.1 mg)은 농도 의존적인 활성을 보였다(Fig. 3).

Radical Scavenging Activities in DPPH and NO Tests - 천연 추출물의 라디칼 소거 활성을 조사하기 위해

Table I. Radical scavenging activities of natural products

Compounds	DPPH Test (SC ₅₀ , mg) ¹⁾	NO Test (SC ₅₀ , mg)
AGI-1120	0.48 ± 0.07	1.433 ± 0.203
Chaga mushroom Ex.	0.55 ± 0.03	0.047 ± 0.019
Chaga mushroom mycelium Ex.	3.60 ± 0.21	1.159 ± 0.232
Vitamin C	0.02 ± 0.00	0.077 ± 0.007

¹⁾Mean ± SD of three to five experiments.

본 연구에서는 DPPH와 NO test를 이용하였다. AGI-1120와 차가버섯 추출물은 DPPH test에서 SC₅₀ 값이 각각 0.48 mg과 0.55 mg으로 라디칼 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. NO test에서는 차가버섯 추출물의 SC₅₀ 값이 47 μg으로 Vitamin C의 활성도(SC₅₀: 77 μg) 보다 높은 라디칼 소거 활성을 보였다(Table I).

고찰

NF-κB 활성화는 산화적 스트레스(oxidative stress)의 영향을 받으며, 그 단계 및 기전은 확실치 않으나 잠정적으로 인산화 과정에서 활성 산소 및 라디칼 등의 영향을 받는 것으로 제안되어 왔다.⁵⁾ 활성산소들은 NF-κB 활성화에 대해 매신저의 역할을 하는 것으로 보고되어 왔고, 그러므로 항산화제에 의해 NF-κB 활성이 저지 될 수 있다고 제안되어 왔다.^{19,38)}

본 실험의 결과들을 통해 NF-κB 활성억제 효과와 항산화 활성이 비례적인 상관관계가 있다고 제안하기는 어렵다. DPPH 및 NO 라디칼 소거활성이 높았던 차가버섯 추출물은 NF-κB 활성 억제에도 효과적이었다. 그러나 DPPH 라디칼 소거능 실험에서만 상대적으로 높은 활성을 보인 AGI-1120은 지질 과산화물 생성 억제에 대한 항산화적 활성을 전혀 보이지 않았으며, NF-κB 활성 억제 효과 또한 상대적으로 낮았다. 이러한 결과는 지질 과산화물 생성 억제에 대한 효과보다는 라디칼 소거 활성이 높은 경우가 NF-κB 활성 억제에 상대적으로 효과적일 가능성을 제시한다.

본 실험에서 비교대상이 되었던, 잘 알려진 항산화제, Vitamin C(10 mM)의 NF-κB 활성억제 효과는 상대적으로 높았다. 이러한 결과는 Vitamin E, NAC 같은 항산화제 및 항산화 효소들이 NF-κB 활성화에서 억제적 효과가 있었다는 보고와 일치한다.^{8,9,19,39)} 즉, 본 실험의 결과를 통해서 라디칼 소거 활성과 같은 항산화 활성을 지닌 물질이 세포내에서 NF-κB 활성을 유도하는 산화적 스트레스를 완화시켜 NF-κB 활성을 억제하는 것으로 제안되고 있다.

그러나, NF-κB 활성억제에 유의적 효과를 보였던 차가버

첫 균사체 추출물은 지질과산화물 생성억제에 전혀 효과가 없었으며, DPPH 및 NO test에서도 상대적으로 낮은 라디칼 소거 활성을 보였다. 이는 차가버섯 균사체 추출물의 경우, NF- κ B 활성을 유도하는 여러 단계에서 산화적 스트레스와 관련되지 않는 단계에 대해 생리활성을 가진 것으로 사료되었다.

특히, 높은 라디칼 소거 활성을 보인 차가버섯 추출물의 POV test 결과에서 보인 농도의존적인 항산화 활성과 적용된 농도가 Vitamin C의 1/440 또는 1/880임을 고려하면 지질 과산화물의 생성억제에 대해 잠재적인 활성이 있는 것으로 사료된다. 그러므로 차가버섯 추출물은 좋은 천연 항산화제로서 제안 될 수 있는 것으로 판단되었다.

결 론

다양한 생리활성을 지닌 천연물 AGI-1120, 차가버섯 추출물, 차가버섯 균사체 추출물의 인체피부조직세포에서 NF- κ B 활성에 대한 조절효과와 이들 추출물의 지질과산화물 생성 억제 및 라디칼 소거 활성과 관련된 항산화적 활성을 조사하였다. 본 실험에 이용한 모든 시료들은 세포독성을 보이지 않는 수준에서 NF- κ B 활성을 억제했다. 차가버섯 균사체 추출물은 Vitamin C(10 mM)의 NF- κ B 억제효과(53%)보다는 낮으나 약 35%의 유의적인 억제효과를 보였다($p < 0.05$). AGI-1120과 차가버섯 추출물은 DPPH test에서 약 0.5 mg (SC_{50})으로 라디칼 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. NO test에서는 차가버섯 추출물의 SC_{50} 값이 47 μ g으로 높은 라디칼 소거 활성을 보였으며, 이는 Vitamin C의 활성(SC_{50} : 77 μ g)보다 높았다. 그러나, NF- κ B 활성억제에서 유의적인 효과를 보였던 차가버섯 균사체 추출물은 지질과산화물 생성억제에 전혀 효과가 없었으며, DPPH 및 NO test에서도 상대적으로 낮은 라디칼 소거 활성을 보였다.

인용문헌

- Fang, Y. Z., Yang, S., and Wu, G. (2002) Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* **18**: 872-879.
- Gopalakrishna, R. and Gundimeda, U. (2002) Antioxidant regulation of protein kinase C in cancer prevention. *J. Nutr.* **132**: 3819S-3823S.
- Mayne, S. T. (2003) Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J. Nutr.* **133**: 933S-940S.
- Dragland, S., Senoo, H., Wake, K., Holte, K., and Blomhoff, R. (2003) Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *J. Nutr.* **133**: 1286-1290.
- Suzuki, Y. J., Mizuno, M., and Packer, L. (1994) Signal transduction for nuclear factor-kappa B activation. Proposed location of antioxidant-inhibitable step. *J. Immunol.* **153**: 5008-5015.
- Li, N. and Karin, M. (1999) Is NF- κ B the sensor of oxidative stress? *FASEB J.* **13**: 1137-1143.
- Meister, A. and Anderson, M. E. (1983) Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* **5**: 711-760.
- Aruoma, O. L., Halliwell, B., Hoey, B. M., and Butler, J. (1989) The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Rad. Biol. Med.* **6**: 593-597.
- Traenckner, E. B., Wilk, S., and Baeuerle, P. A. (1994) A proteasome inhibitor prevents activation of NF- κ B and stabilize a newly phosphorylated form of I κ B that is still bound to NF- κ B. *EMBO. J.* **13**: 5433-5444.
- Baeuerle, P. A. and Henkel, T. (1994) Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 141-149.
- Baeuerle, P. A. and Baichwal, V. R. (1997) NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules. *Adv. Immunol.* **65**: 111-137.
- Auphan, N., DiDonato, J. A., Rosette, C., Helmberg, A., and Karin, M. (1995) Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF- κ B activity through induction of I- κ B synthesis. *Science* **270**: 286-290.
- Baldwin, A. S. (1996) The NF- κ B and I- κ B proteins-New discoveries and insights. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 649-683.
- Baeuerle, P. A. (1991) The inducible transcription factor NF- κ B-regulation by distinct protein subunits. *Biochem. Biophys. Acta.* **1072**: 63-80.
- Huxford, T., Huang, D. B., Malek, S., and Ghosh, G. (1998) The crystal structure of the I κ B α /NF- κ B complex reveals mechanism of NF- κ B inactivation. *Cell* **95**: 759-770.
- Grimm, S. and Baeuerle, P. A. (1993) The inducible transcription factor NF- κ B: structure-function relationship of its protein subunits. *Biochem. J.* **290** (Pt 2): 297-308.
- Castrillo, A., de las Heras, B., Hortelano, S., Rodriguez, B., Villar, A., and Bosca, L. (2001) Inhibition of the nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway by tetracyclic Kaurene diterpenes in macrophages. *J. Biol. Chem.* **276**: 15845-15860.
- Baeuerle, P. A. and Baltimore, D. (1998) I- κ B: a specific inhibitor of the NF- κ B transcription factor. *Science* **242**: 540-546.
- Barnes, P. J. and Karin, M. (1997) Nuclear Factor- κ B-a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N. Engl. J. Med.* **336**: 1066-1071.
- Ryu, J. W., Seo, S. H., and Chung, S. H. (1998) Antidiabetic activity of Mori Folium ethanol soluble fraction in db/db mice. *J. Pharm. Soc. Kor.* **42**: 613-620.

21. Kim, Y. Y., Choue, R. W., Chung, S. H., and Koo, S. J. (1999) Anti-hyperglycemic effect of cortex Mori Radix in db/db mice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**: 1057-1064.
22. Choi, H. J., Kim, N. J., and Kim, D. H. (2000) Inhibitory effect of GE974 isolated from *Gyrophora esculenta* on-glucosidase. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**: 196-202.
23. Ji, S. T., Lee, S. J., Lee, K. E., Son, Y. T., and Chung, Y. K. (2002) Inhibitory effect of extracts from Paeoniae Radix on postprandial hyperglycemia. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **31**: 131-135.
24. Kim, G. H., Kim, B. S., Shin, D. B., and Jung, D. S. (2002) Screening of glucosidase inhibitors from plants. *Research Report of Cheju University* **16**: 9-12.
25. Kahlos, K., Kangas, L., and Hitunen, R. (1987) Antitumor activity of some compounds and fractions from an n-hexane extract of *Inonotus obliquus*. *Acta. Pharm. Fenn.* **96**: 33-40.
26. Ichimura, T., Watanabe, O., and Maruyama, S. (1998) Inhibition of HIV-1 protease by water-soluble lignin-like substance from an edible mushroom, *Fuscoporia oblique*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**: 575-577.
27. Mizuno, T., Zhuang, C., Abe, K., Okamoto, H., Kiho, T., Ukai, S., Leclerc, S., and Meijer, L. (1999) Antitumor and hypoglycemic activities of polysaccharides from the sclerotia and mycelia of *Inonotus obliquus* (Pre.: Fr.) Pil. (Aphyllophoromycetidae). *Int. J. Med. Mushrooms* **1**: 301-316.
28. Moon, K. Y., Hahn, B. S., Lee, J., and Kim, Y. S. (2001) A cell-based assay system for monitoring NF- κ B activity in human HaCaT transfectant cells. *Anal. Biochem.* **292**: 17-21.
29. Moon, K. Y., Ahn, K. S., Lee, J., and Kim, Y. S. (2001) Kojic acid, a potential inhibitor of NF- κ B activation in transfectant human HaCaT and SCC-13 cells. *Arch. Pharm. Res.* **24**: 307-311.
30. Osawa, T. and Namiki, M. A. (1981) Novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *Eucalyptus* leaves. *Agric. Biol. Chem.* **45**: 735-739.
31. Miyake, Y., Yamamoto, K., and Osawa, T. (1997) Isolation of eriocitrin (eriodictyol-7-rutinoside) from lemon fruit (*Citrus limon* Burm. f.) and its antioxidative activity. *Food Sci. Technol. Int. Tokyo.* **3**: 84-89.
32. Song, H. S., Ukeda, H., and Sawamura, M. (2001) Antioxidative activity of citrus peel essential oils and their components against linoleic acid oxidation. *Food Sci. Technol. Res.* **7**: 50-56.
33. Rapisarda, P., Tomaino, A., Cascio, R. L., Bonina, F., Pasquale, A. D., and Saija, A. (1999) Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 4718-4723.
34. Lee, S. M., Na, M. K., An, R. B., Min, B. S., and Lee, H. K. (2003) Antioxidant activity of two phloroglucinol derivatives from *Dryopteris crassirhizoma*. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 1354-1356.
35. Marcocci, L., Packer, L., Dory-Lefaix, M. T., Sekaki, A., and Gards-Albert, M. (1994) Antioxidant action of *Ginkgo biloba* extract Egb 76. *Methods Enzymol.* **234**: 462-475.
36. Perez, P., Page, A., and Jorcano, J. L. (2000) Role of phosphorylated p50-NF- κ B in the ultraviolet response of mouse skin. *Mol. Carcinog.* **27**: 272-279.
37. Schreck, R., Albermann, K., and Baeurel, P. A. (1992) Nuclear factor kappaB: an oxidative stress responsive transcription factor of eukaryotic cells. *Free Radic. Res. Commun.* **17**: 221-237.
38. Suzuki, Y. J., Mizuno, M., and Packer, L. (1994) Signal transduction for nuclear factor- κ B activation: proposed location of antioxidant-inhibitable step. *J. Immunol.* **153**: 5008-5015.
39. Calfee-Mason, K. G., Spear, B. T., and Glauert, H. P. (2002) Vitamin E inhibits hepatic NF- κ B activation in rats administered the hepatic tumor promoter, phenobarbital. *J. Nutr.* **132**: 3178-3185.

(2004년 2월 20일 접수)