

## 겨우살이 (*Viscum album*)와 칩뿌리 (*Pueraria radix*) 추출물의 NF- $\kappa$ B활성 억제 및 항산화 효과

송희순<sup>1\*</sup> · 박연희<sup>1</sup> · 김승균<sup>1</sup> · 문원국<sup>2</sup> · 김동우<sup>2</sup> · 문기영<sup>1</sup>

<sup>1</sup>광주보건대학 식품영양과, 임상병리과, 생명산업기술연구소

<sup>2</sup>엔바이오테크놀로지 연구소

### Downregulatory Effect of Extracts from Mistletoe (*Viscum album*) and Pueraria Root (*Pueraria radix*) on Cellular NF- $\kappa$ B Activation and Their Antioxidant Activity

Hee Sun Song<sup>1\*</sup>, Yeon-Hee Park<sup>1</sup>, Seung-Kyoon Kim<sup>1</sup>, Won-Kuk Moon<sup>2</sup>,  
Dong-Woo Kim<sup>2</sup> and Ki-Young Moon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departments of Food & Nutrition and Clinical Pathology, and Bioindustry &  
Technology Research Institute, Kwangju Health College, Gwangju 506-701, Korea

<sup>2</sup>En-Biotechnology Co., Ltd., Seoul 138-160, Korea

#### Abstract

Effects of mistletoe (*Viscum album*) extract and pueraria (*Pueraria radix*) extract on cellular NF- $\kappa$ B activity were evaluated in human malignant keratinocytes (SCC-13) to elucidate the possible correlation of NF- $\kappa$ B with antioxidant activity. The antioxidant activities of these natural extracts were examined in four different evaluation methods, i.e., lipid peroxidation value (POV) evaluation test, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH), nitric oxide (NO) scavenging test, and reducing power assay. Pueraria extract (0.5 mg) and mistletoe extract (5 mg) downregulated the cellular NF- $\kappa$ B activation up to 35% and 10% compared to the control, respectively, although their effects were lower than the known NF- $\kappa$ B downregulator, vitamin C (8.8 mg, 53%) in a cell-based NF- $\kappa$ B activity assay system. In the POV test, relative antioxidant activities of mistletoe extract (86%) and pueraria extract (75%) were significantly higher than the known antioxidant, vitamin C (48%) at the same concentration (10 mg) and the degree of activity increased in a dose-dependent manner. Pueraria extract showed more potential radical scavenging activities than those of mistletoe extract evaluated in both DPPH and NO test. Especially, the NO radical scavenging activity of pueraria extract (SC<sub>50</sub>, 88  $\mu$ g) was comparable to that of vitamin C (SC<sub>50</sub>, 77  $\mu$ g). Even pueraria extract possessed a much less reducing power compared to vitamin C, it also revealed higher reducing power than that of mistletoe extract. These results indicate that mistletoe extract and pueraria extract may serve as an useful natural antioxidant agents, and led to suggest the hypothesis that compounds having an antioxidant activity, i.e., radical scavenging activity or reducing power may be correlated with the downregulation of NF- $\kappa$ B activation in human keratinocytes.

**Key words:** mistletoe (*Viscum album*), pueraria root (*Pueraria radix*), NF- $\kappa$ B activity, antioxidant, human SCC-13 keratinocytes

#### 서 론

자유 라디칼은 생명유지와 관련된 많은 생체 내 반응에서 중요한 역할을 한다(1). 그러나 지방산 자동산화물 유도하는 것으로 알려진 자유 라디칼, 특히 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydroxyl radical(<sup>•</sup>OH), hydrogen peroxide를 포함하는 활성 산소(ROS; reactive oxygen species)와 nitric oxide(NO) 및 nitrogen dioxide(NO<sub>2</sub>)를 포함하는 활성질소(RNS; reactive nitrogen species)가 암, 동맥경화, 후천성 면역결핍증, 심장

질환, 당뇨병, 신경계 질환 등에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(2-4). 반면, 항산화제는 인체에서 자유 라디칼에 의한 산화적 손상을 방어하는 기작에 의해 이러한 질병을 억제하는 것으로 보고되어 있다(5-7).

최근 보고에 의하면 ROS는 NF- $\kappa$ B활성에도 영향을 미치는 것으로 알려졌으며, 또한 N-acetylcysteine(NAC)와 vitamin C, vitamin E와 같은 항산화제가 NF- $\kappa$ B활성을 억제한다는 의미 있는 연구결과도 보고되었다(8-14). 생체 유전자의 발현을 조절하고, 면역과 스트레스 반응에서 중요한 역

\*Corresponding author. E-mail: songuta@www.kjhc.ac.kr  
Phone: 82-62-958-7595, Fax: 82-62-958-7591

할을 하는 것으로 알려진 NF- $\kappa$ B는 다양한 환경적 자극 즉, tumor necrosis factor, IL-1, lipopolysaccharides, ultra-violet(UV)에 대한 반응으로 활성화되는 유도 전사 인자이다(9,15-17). NF- $\kappa$ B활성의 조절은 감염성 질환(16,18) 및 암의 치료에 대한 중요한 목표를 세우는 것으로 제안되어 왔으며(10,19), NF- $\kappa$ B활성을 이끄는 연속된 단계들을 억제할 수 있는 즉, *N*-acetylcysteine, vitamin E, vitamin C와 같은 항산화제를 포함한 생리활성을 지닌 안전하고 강력한 천연 물질들에 대한 연구는 현재까지 관심 있는 분야가 되어왔다(8-20).

본 연구실에서는 천연 추출물의 NF- $\kappa$ B활성의 조절효과 및 항산화 활성 등의 생리활성 탐색과 더불어 천연 추출물의 NF- $\kappa$ B활성의 조절과 항산화 활성과의 관련성에 대해 지속적으로 연구해 오고 있다(11,21,22). 이에 본 연구에서는 천연 추출물에 대한 연구의 일환으로 국내에서 오랫동안 민간 약재로 사용되어 온 겨우살이(*Viscum album*)와 칩뿌리(*Pueraria radix*)를 실험의 대상으로 하고자 한다.

면역증진 및 항종양 효과로 널리 알려져 있는 겨우살이는 유럽에서 오래 전부터 민간 약재로 사용되어 왔다(23-28). 다양한 연구를 통해 종양치료에 대한 효과가 알려지면서 치료 및 보조제로 개발되어 시판되고 있으며, 겨우살이로부터 분리되어 잘 알려진 생리활성 성분으로는 lectin이 있다(24-28).

칩뿌리는 알코올 원인성 질병을 치료하는 데 효과적인 것으로 보고되어 있다(29,30). 칩뿌리는 알코올로 인한 세포형성 억제와 nitric oxide synthase의 발현을 보호하는 효과가 있으며(30), 또한 칩뿌리 즙은 linoleic acid-water system에서 높은 항산화적 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다(29,31).

그러므로, 본 연구에서는 겨우살이 및 칩뿌리 추출물이 인체피부조직세포(SCC-13)에서 NF- $\kappa$ B활성에 미치는 영향과 항산화적 활성을 평가하여 이들 천연물의 새로운 생리활성 역할을 규명하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

열수 추출방법에 의해서 겨우살이와 칩뿌리에서 얻어진 추출물을 농축하였고, 이를 건조분말의 형태로 하여 본 연구의 시료로 사용하였다.

### Cell transfection and culture

형질 전환된 SCC-13 세포(transfectant human SCC-13 cell)의 준비와 배양은 원칙적으로 Song 등(11)과 Moon 등(21)의 방법에 따라 시행하였다. 이후 형질 전환된 SCC-13 세포를 안정된 세포의 선별을 위해 500  $\mu$ g/mL의 geneticin (antibiotic G-418, Gibco BRL., Grand Island, NY)을 함유한 배지에서 배양하였다.

### Reporter (SEAP) gene assay

형질 전환된 SCC-13 세포( $1.5 \times 10^6$  cells)를 T-25 flask (5 mL)에 분주하였고 배지는 24시간 후에 버렸다. 동시에 세포를 PBS(phosphate-buffered saline)로 두 번 씻고 새로운 배지를 첨가한 후에 겨우살이 추출물 5 mg 및 칩뿌리 추출물 0.5, 0.1 mg을 배지에 첨가하였다. 천연물 투여군과 대조군 배지에서 25  $\mu$ L를 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  $\mu$ L, assay buffer 97  $\mu$ L, 배양액(enzyme source) 25  $\mu$ L, 4-methylumbellifery phosphate (MUP, 1 mM) 3  $\mu$ L을 첨가한 후, 빛이 없는 실온에서 60분간 방치하였다. SEAP 측정은 형광검출 측정법(Great EscAPE SEAP System kit, Clontech laboratories, Inc., Palo Alto, CA)을 이용하였다. SEAP/MUP의 생성물로 인해 발생하는 형광을 96 well plate 형광계(Molecular Devices, F max)를 이용하여 흡광도 360 nm(excitation)와 449 nm(emission)에서 측정하여 relative light unit(RLU)로서 NF- $\kappa$ B의 활성도를 나타냈다(11,21,22).

### Lipid peroxide value (POV) test

천연 추출물에 대한 과산화물가 억제 효과는 Osawa, Miyake, Song 등의 방법을 약간 변형하여 측정하였다(32-34). 시료는 증류수에 녹여 사용하였다. 리놀산 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 증류수를 첨가하였다. Vortexer를 이용하여 용액을 섞은 후 40°C 항온 교반기에서 20일간 반응시키며 과산화물가를 측정하였다. 대조군은 시료 대신에 증류수를 넣은 것을 사용하였다. 과산화물가의 측정은 thiocyanate 법을 이용하였다. 즉, 반응액 0.1 mL을 시험관에 담고 70% 에탄올 4.7 mL, 30%  $\text{NH}_4\text{SCN}$  0.1 mL, 3.5% 염산용액에 녹인 0.02 M  $\text{FeCl}_2$  용액 0.1 mL을 차례로 가하여 섞은 후 3분을 방치하였다. 흡광도 500 nm에서 과산화물가를 측정하였고 항산화 활성을 나타내는 데이터 값으로 활용하였다.

### DPPH test

시료는 다양한 농도로 증류수에 녹여 사용하였고 대조군은 시료 대신에 증류수만을 넣은 것을 사용하였다. 시료 1 mL에 에탄올 2 mL을 넣고 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) 용액 0.5 mL을 넣었다. 사용한 DPPH 용액은 3.5 mL에서 100  $\mu$ M이 되도록 준비하였다. DPPH-시료 혼합액을 10분간 방치 후 UV-분광광도계를 이용하여 흡광도 517 nm에서 radical scavenging 효과( $\text{SC}_{50}$ )를 측정하였다(35).  $\text{SC}_{50}$ 은 대조군 값을 반으로 낮추는 데 요구되는 천연 추출물의 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 대조군은 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 효과를 측정하였다(11,35,36). Greiss reagent 용액은 A용액과 B용액을 각각 50 mL씩 실험 직전에 섞어 만든 것으로 사용하였다. A용액은 2%(w/v) sulfanilamide와 4%(w/v) phosphoric acid가 함유되도록 만들었다. B용액으로는 0.2%(w/v) naphthylethylenediamide 용액을 사용하였다.

**Reducing power**

시료들의 reducing power, 즉 환원력을 Yildirim 등(4)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 증류수에 녹인 시료 용액 1 mL에 2.5 mL의 인산완충용액(0.2 M, pH 6.6)와 2.5 mL의 potassium ferricyanide(1%, w/v)를 첨가하여 섞은 후, 50°C로 유지하면서 30분간 반응시켰다. 반응액에 2.5 mL의 trichloroacetic acid(10%, w/v)을 첨가하여 섞은 후 3000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상층액의 1 mL을 취해 시험관에 담고 1 mL의 증류수와 0.2 mL의 FeCl<sub>3</sub>(0.1%, w/v)을 첨가하여 흡광도 700 nM에서 reducing power를 측정하였다.

**통계처리**

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

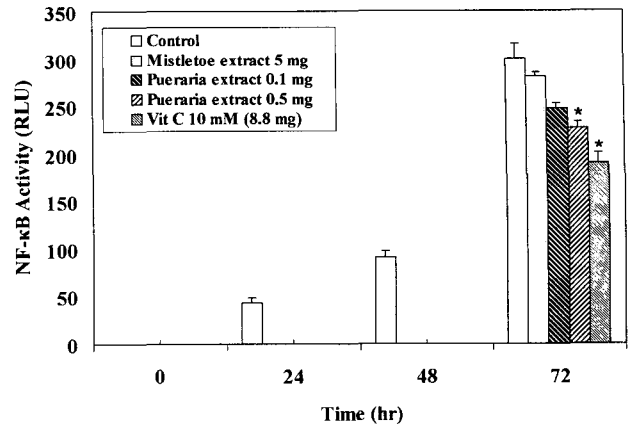
**결과 및 고찰**

**NF-κB활성 억제효과**

겨우살이와 칩뿌리 추출물의 인체피부조직세포에서 NF-κB활성에 대한 억제효과 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 모든 시료들은 세포 독성을 나타내지 않는 농도 수준에서 적용되었고, 또한 이들 시료들(mistletoe extract 5 mg, pueraria extract 0.5 mg and 0.1 mg)은 모두 NF-κB활성을 억제했다. 칩뿌리 추출물은 0.5 mg농도에서 35%로 vitamin C 10 mM (8.8 mg, 53%)과 함께 유의적인 NF-κB활성 억제효과를 보였다(p<0.05). 또한 칩뿌리 추출물은 겨우살이 추출물보다 상대적으로 더 높은 NF-κB활성 억제 효과를 보였다. 칩뿌리 추출물은 0.1 mg과 0.5 mg 농도에서 각각 25%와 35%의 농도의 의존적인 억제효과를 보였다.

**Lipid peroxide value**

지질의 산패 및 식품의 변질 원인으로 알려진 지방산 자동



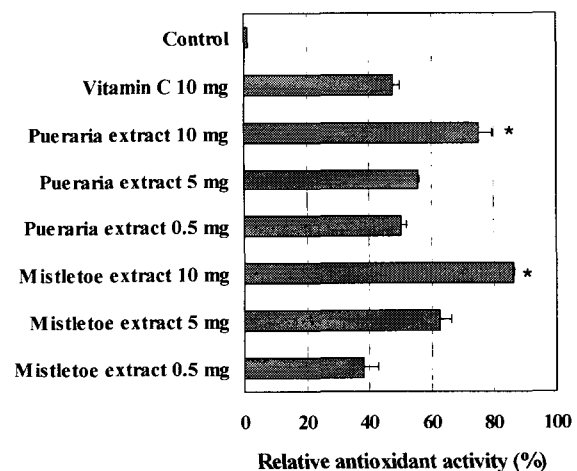
**Fig. 1. Downregulation of cellular NF-κB activity by mistletoe extract, pueraria extract and vitamin C in human malignant keratinocytes.**

\*Significant difference in NF-κB activities between treatments and control (p<0.05).

산화는 자유 라디칼과 과산화물질에 의해 촉매된다(25,29). 과산화물질은 식품의 변패 뿐 아니라 생체막의 산화도 촉진하는 것으로 알려져 있으며(2,29,37), 이러한 과산화물의 생성 억제에 효과적인 것으로 알려진 것은 vitamin E와 vitamin C 같은 항산화제이다(2,38,39). 본 실험에서는 과산화물가의 억제 정도를 측정하여 겨우살이와 칩뿌리 추출물의 상대적인 항산화 효과를 조사하였다(Fig. 2). Song 등의 방법(11)에 의해 상대적인 항산화 활성(relative antioxidant activity)을 계산하였다. 즉, 시료와 Control을 20일간 반응시키면서 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20일에 과산화물가를 측정하였고, 측정된 과산화물가를 다음과 같은 상대적인 항산화 활성의 계산을 위해 활용하였다(11).

$$\text{Relative antioxidant activity rate (\%)} = (1 - A_s/A_c) \times 100$$

As: 시료의 과산화물가에 대한 직선의 식에서의 기울기 값. Ac: 대조군의 과산화물가에 대한 직선의 식에서의 기울기



**Fig. 2. Relative antioxidant activity of extracts from mistletoe and pueraria against linoleic acid peroxidation.**

\*Significant difference between each extract 10 mg and vitamin C 10 mg (p<0.05).

기 값. 과산화물가와 직선의 식과의 상관계수는 0.9( $r>0.9$ ) 이상이었다.

겨우살이 및 칩뿌리 추출물의 지질과산화에 대한 항산화 효과는 0.5~10 mg 수준에서 농도 의존적으로 나타났다. 겨우살이 추출물의 NF- $\kappa$ B활성 억제효과는 10%로 낮았지만, 지질 과산화물에 대한 항산화 효과는 5 mg 이상의 농도에서 63% 이상으로 칩뿌리 추출물보다 높았다. 겨우살이와 칩뿌리 추출물은 동일 농도 10 mg에서 vitamin C의 항산화 효과, 48%보다 각각 유의적으로 높은 86%와 75%의 항산화 활성을 보였다. 이에 더하여 이 두 천연추출물의 5 mg 농도에서의 항산화 활성은 56% 이상으로, vitamin C 10 mg의 항산화 활성보다도 높은 결과를 보였다. 이러한 결과를 통하여 겨우살이 및 칩뿌리 추출물이 지질의 과산화를 억제하는 데 효과적이라고 제안할 수 있다. 겨우살이 및 칩뿌리 추출물의 NF- $\kappa$ B활성 억제효과와 지질과산화에 대한 항산화 활성 결과는 양의 상관관계를 보이지는 않았다.

Radical scavenging activity

겨우살이와 칩뿌리 추출물의 DPPH 및 NO 라디칼에 대한 소거활성을 조사하였고, 이 두 천연물의 상대적인 자유라디칼 소거활성을 다음의 식을 활용하여 계산하였다(Fig. 3, Fig. 4).

$$\text{Relative radical scavenging activity (\%)} = [1 - (\text{extract absorbance} / \text{control absorbance})] \times 100$$

겨우살이 및 칩뿌리 추출물의 라디칼 소거활성은 DPPH 및 NO test에서 농도의존적인 증가 경향을 보였다. 또한 칩뿌리 추출물이 겨우살이 추출물보다 동일농도에서 더 강한 라디칼 소거활성을 보이는 것으로 나타났다. 즉, DPPH test에서 칩뿌리 추출물 및 겨우살이 추출물의 동일농도 1 mg에서 라디칼 소거활성은 각각 82%와 19%이었으며, 또한 NO test에서도 동일농도 0.5 mg에서 칩뿌리 추출물은 67%로 겨우살이의 라디칼 소거활성(35%)보다 더 강한 라디칼 소

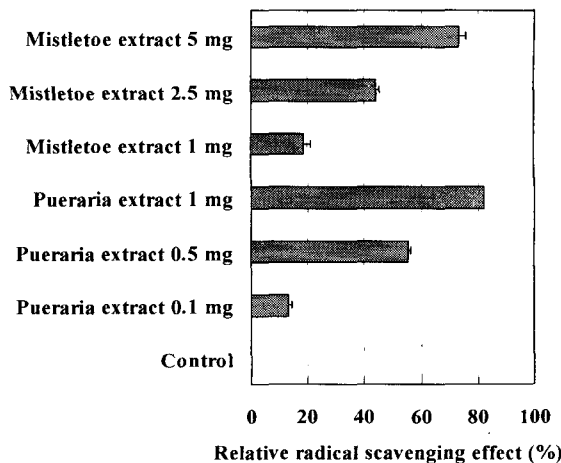


Fig. 3. Relative DPPH radical scavenging activity of mistletoe extract and pueraria extract.

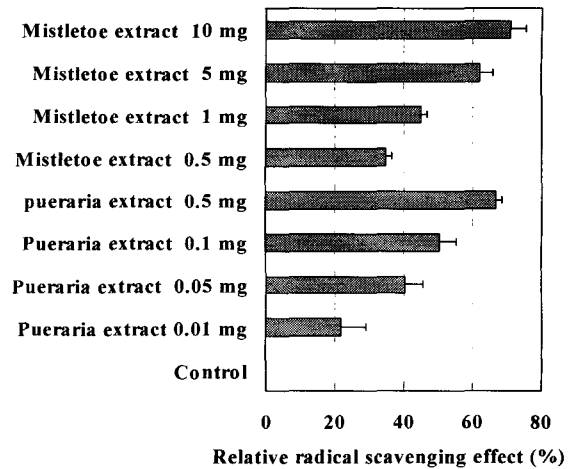


Fig. 4. Relative NO radical scavenging activity of mistletoe extract and pueraria extract.

거활성을 보였다. 이 두 추출물의 라디칼 소거활성에 대한 SC<sub>50</sub>은 Table 1에 정리되어 있다. 이 두 추출물의 SC<sub>50</sub>은 Fig. 3과 Fig. 4의 상대적인 라디칼 소거활성의 결과처럼 칩뿌리 추출물의 라디칼 소거활성이 더 강한 것으로 나타났다. 잘 알려진 항산화제 vitamin C와 비교해 볼 때, DPPH test에서 이 두 추출물은 vitamin C만큼 강한 라디칼 소거활성을 보이지는 않았다. 그러나 NO test에서 칩뿌리 추출물의 SC<sub>50</sub>은 88  $\mu$ g으로 vitamin C(SC<sub>50</sub>, 77  $\mu$ g)만큼 강한 항산화 활성을 보였다( $p<0.05$ ). 리놀산 과산화에 대한 높은 항산화 효과를 보인 겨우살이 추출물은 상대적으로 낮은 라디칼 소거활성을 보였다. 라디칼 소거활성 결과들을 통해서 흥미로운 사실을 제안할 수 있다. 즉, 겨우살이 추출물은 NO 라디칼보다는 DPPH 라디칼에, 칩뿌리 추출물은 NO 라디칼에 상대적으로 더 강한 소거활성을 가지는 것으로 판단되었다. 즉, 이 두 추출물의 라디칼 소거활성과 NF- $\kappa$ B활성 억제 효과를 비교하면(Fig. 1, 3, 4, Table 1), 칩뿌리 추출물 0.5 mg과 겨우살이 추출물 5 mg의 NF- $\kappa$ B활성 억제 효과는 각각 35%와 10%이었고, NO 라디칼 소거활성은 각각 67%(SC<sub>50</sub>, 88  $\mu$ g)와 62%(SC<sub>50</sub>, 1889  $\mu$ g)로 나타났으며, DPPH 라디칼에 대해서는 각각 56%(SC<sub>50</sub>, 505  $\mu$ g)와 73%(SC<sub>50</sub>, 3264  $\mu$ g)의 소거활성을 보였다. 그러므로 nitric oxide의 농도 수준이 NF- $\kappa$ B활성에 영향을 미친다는 보고(9,16)를 고려할 때, 칩뿌리 추출물의 이러한 라디칼 소거활성은 NF- $\kappa$ B활성 억제에 대해 겨우살이 추출물보다 상대적으로 더 높은 효과를 나타내게 한 인자의 하나로 추측될 수 있다.

Reducing power

겨우살이 및 칩뿌리 추출물의 reducing power는 Fig. 5에 나타난 결과처럼 농도 의존적으로 증가했다( $r>0.99$ ). 칩뿌리 추출물의 항산화 활성은 reducing power 측정에서도 겨우살이 추출물보다 높게 나타났다. 이 두 천연 추출물의 reducing power를 강력한 환원제, Fe<sup>+++</sup>를 Fe<sup>++</sup>로 쉽게 환원하는 vitamin C와 비교하였다(Table 1). 본 연구에서 측정한

Table 1. Radical scavenging effect and reducing power of mistletoe extract and pueraria extract<sup>1)</sup>

Compound	DPPH test (SC <sub>50</sub> , mg) <sup>2)</sup>	NO test (SC <sub>50</sub> , mg)	Reducing power <sup>3)</sup> (absorbance at 700 nm)
Mistletoe extract	3.264±0.182	1.889±0.627	0.326±0.022
Pueraria extract	0.505±0.054	0.088±0.009	0.553±0.039
Vitamin C	0.016±0.000	0.077±0.007	3.422±0.115

<sup>1)</sup>Mean±SD of three to five experiments.

<sup>2)</sup>The results were expressed as scavenging concentrations (SC<sub>50</sub>), which were sample concentrations to be required to half decrease of control value.

<sup>3)</sup>Five hundred microgram of extracts or vitamin C was used and there was no extract in the control. Reducing power of control was 0.253±0.036 at 700 nm. High absorbance indicates high reducing power.

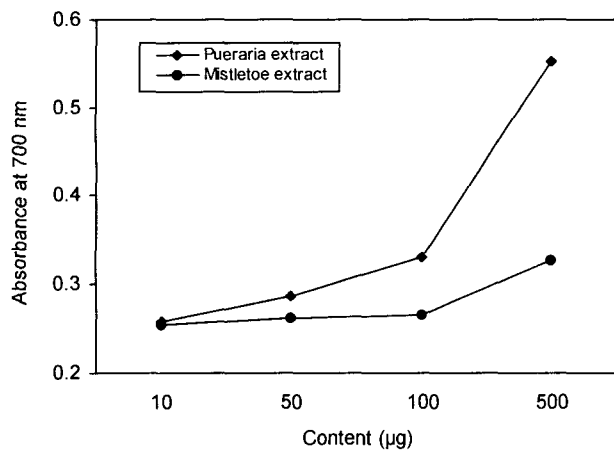


Fig. 5. Reducing power of mistletoe extract and pueraria extract.

High absorbance indicates high reducing power. Reducing power of control was 0.253±0.036 at absorbance of 700 nm.

vitamin C의 reducing power는 이전 보고와 비슷한 결과 값을 보였다(39). 겨우살이 및 칩뿌리 추출물은 vitamin C의 환원력에 훨씬 못 미치는 환원력을 지니는 것으로 판단되었다. 즉, vitamin C 500 µg의 환원력을 100%로 가정했을 때, 같은 농도 500 µg에서 겨우살이 추출물과 칩뿌리 추출물의 reducing power는 각각 약 2%와 10%로 계산되었다. 또한, 이 추출물들의 환원력을 vitamin C equivalent로 환산하면, 각각 vitamin C 27 µg과 67 µg으로 낮은 활성을 지니는 것으로 나타났다.

본 연구의 전체 결과를 통해서, vitamin C와 칩뿌리 추출물처럼 더 강한 라디칼 소거활성 또는 reducing power를 보이는 물질은 인체피부조직세포에서 NF-κB 활성을 유도하는 산화적 스트레스를 완화시켜 NF-κB 활성을 억제하는 것으로 제안되고 있으며, 이는 보고된 연구결과와도 일치하는 부분이다(8-11,40). 즉, 지질 산화 억제에 효과적인 항산화 물질보다는 라디칼 소거활성이 상대적으로 강한 항산화 물질이 NF-κB활성 조절에 효과적인 것으로 제안되어진다.

높은 항종양 또는 항암 활성을 지닌 것으로 알려진 겨우살이의 또 다른 생리활성에 대한 본 연구의 결과, 지질 과산화 억제에 대해 상대적으로 높은 항산화 활성을 보인 겨우살이 추출물은 식품의 산패 및 변질을 야기하는 지질과산화(2,29,

39)를 억제할 첨가물질로 활용될 수 있는 생리활성을 지닌 것으로 제안되었다. 또한 강한 라디칼 소거활성을 보인 칩뿌리 추출물은 좋은 천연 항산화제로 제시될 수 있는 것으로 판단되었다.

#### 요 약

다양한 생리활성을 지닌 천연물 겨우살이와 칩뿌리 추출물의 인체피부조직세포에서 NF-κB 활성화에 대한 조절효과와 이들 추출물의 지질 과산화물 생성 억제 및 라디칼 소거활성, reducing power와 관련된 항산화적 활성을 조사하였다. 본 실험에 사용한 모든 시료들은 세포독성을 보이지 않는 수준에서 NF-κB 활성을 억제했다. 칩뿌리 추출물은 0.5 mg 농도에서 35%로 vitamin C 10 mM(8.8 mg, 53%)과 함께 유의적인 NF-κB활성 억제효과를 보였다(p<0.05). 또한 칩뿌리 추출물은 겨우살이 추출물보다 상대적으로 더 높은 NF-κB활성 억제 효과를 보였다. 겨우살이 추출물의 NF-κB활성 억제 효과는 10%로 낮았지만, 지질 과산화물에 대한 항산화 효과는 5 mg 이상의 농도에서 63% 이상으로 칩뿌리 추출물보다 높았다. 겨우살이와 칩뿌리 추출물은 동일 농도 10 mg에서 vitamin C의 항산화 효과, 48%보다 각각 유의적으로 높은 86%와 75%의 항산화 활성을 보였다. 라디칼 소거활성에 대하여 칩뿌리 추출물이 겨우살이 추출물보다 동일농도에서 더 강한 소거활성을 나타냈다. 잘 알려진 항산화제 vitamin C와 비교해 볼 때, DPPH test에서 이 두 추출물은 vitamin C만큼 강한 라디칼 소거활성을 보이지는 않았다. 그러나 NO test에서 칩뿌리 추출물의 SC<sub>50</sub>은 88 µg으로 vitamin C(SC<sub>50</sub>, 77 µg)만큼 강한 항산화 활성을 보였다(p<0.05). 칩뿌리 추출물의 항산화 활성은 reducing power 측정에서도 겨우살이 추출물보다 높게 나타났으나, vitamin C의 환원력보다는 매우 낮은 활성을 보였다. 본 연구의 전체 결과를 통해서, 강한 라디칼 소거활성을 지닌 칩뿌리 추출물과 상대적으로 높은 지질 과산화 억제 효과를 보인 겨우살이 추출물은 천연 항산화제로 제안될 수 있는 것으로 판단되었다. 또한 vitamin C와 칩뿌리 추출물의 결과처럼 천연 추출물의 인체피부조직세포에서 NF-κB활성 조절 효과의 일부는 이들 천연 추출물이 지닌 라디칼 소거활성 또는 reducing power의 항산화 활성의 역할에 의한 것으로 제안되었다.

문헌

1. McCord JM. 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 108: 652-659.
2. Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutr* 18: 872-879.
3. Squadriato GL, Peyor WA. 1998. Oxidative chemistry of nitric oxide. *Free Radi Biol Med* 25: 392-403.
4. Yildirim A, Mavi A, Kara AA. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem* 49: 4083-4089.
5. Davies KJA. 1994. Oxidative stress the paradox of aerobic life. *Biochem Symp* 61: 1-34.
6. Fridovich I. 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 64: 97-112.
7. Sun J, Chen Y, Li M, Ge Z. 1998. Role of antioxidant enzymes on ionizing radiation resistance. *Free Radi Biol Med* 24: 586-593.
8. Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA. 1991. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used second messengers in the activation of the NF-κB transcription factor and HIV-1. *EMBO J* 10: 2247-2258.
9. Li N, Karin M. 1999. Is NF-κB the sensor of oxidative stress? *The FASEB J* 13: 1137-1143.
10. Calfee-Mason KG, Spear BT, Glauert HP. 2002. Vitamin E inhibits hepatic NF-κB activation in rats administered the hepatic tumor promoter, phenobarbital. *J Nutr* 132: 3178-3185.
11. Song HS, Lee YJ, Kim SK, Moon WK, Kim DW, Kim YS, Moon KY. 2004. Downregulatory effect of AGI-1120 ( $\alpha$ -glucosidase inhibitor) and chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) on cellular NF-κB activation and their antioxidant activity. *Korean J Pharmacogn* 35: 92-97.
12. Verhasselt V, Vanden Berghe W, Vanderheyde N, Willems F, Haegeman G, Goldman M. 1999. N-acetyl-L-cysteine inhibits primary human T cell responses at the dendritic cell level: association with NF-kappa B inhibition. *J Immunol* 162: 2569-2574.
13. Bowie A, O'Neill LA. 1997. Vitamin C inhibits NF-kappa B activation in endothelial cells. *Biochem Soc Trans* 25: 131S.
14. Munoz E, Blazquez MV, Ortiz C, Gomez-Diaz C, Navas P. 1997. Role of ascorbate in the activation of NF-kappa B by tumour necrosis factor alpha in T-cells. *Biochem J* 325 (pt 1): 23-28.
15. Baeuerle PA, Henkel T. 1994. Function and activation of NF-κB in the immune system. *Annu Rev Immunol* 12: 141-149.
16. Baeuerle PA, Baichwal VR. 1997. NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules. *Adv Immunol* 65: 111-137.
17. Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, Helmsberg A, Karin M. 1995. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of I kappa B synthesis. *Science* 270: 286-290.
18. Peter J, Barnes DM, Karin M. 1997. Nuclear factor-κB - A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *The New England J Med* 336: 1066-1071.
19. Bours V, Bentires-Alj M, Hellin AC, Viatour P, Robe P, Delhalle S, Benoit V, Merville MP. 2000. Nuclear factor-κB, cancer, and apoptosis. *Biochem Pharmacol* 60: 1085-1090.
20. Ito N, Fukushima S, Hassegawa A, Shibata M, Ogiso T. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 70: 343-347.
21. Moon KY, Hahn BS, Lee J, Kim YS. 2001. A cell-based assay system for monitoring NF-κB activity human in HaCaT transfectant cells. *Anal Biochem* 292: 17-21.
22. Moon KY, Ahn KS, Lee J, Kim YS. 2001. Kojic acid, a potential inhibitor of NF-κB activation in transfectant human HaCaT and SCC-13 cells. *Arch Pharm Res* 24: 307-311.
23. Hajto T, Hostanska K, Frei K, Rordorf C, Gabius HJ. 1990. Increased secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 1, and interleukin 6 by human mono nuclear cells exposed to  $\alpha$ -galactoside specific lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res* 50: 3322-3326.
24. Ham SS, Kang ST, Choi KP, Park WB, Lee DS. 1998. Antimutagenic effect of Korean mistletoe extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 359-365.
25. Bocci V. 1993. Mistletoe (*Viscum album*) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy, a review. *J Biol Regul Homeo Agents* 7: 1-6.
26. Park CH, Lee DW, Kang TB, Lee KH, Yoon TJ, Kim JB, Do MS, Song SK. 2001. cDNA cloning and sequence analysis of the lectin genes of the Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*). *Mol Cells* 12: 215-220.
27. Kim MJ, Lee MS, Kim JH. 2002. Effect of Korean mistletoe extract and lectin on the preneoplastic hepatic lesion and apoptosis in experimental hepatocarcinogenesis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 782-787.
28. Park JH, Ji ST, Hyun CK, Chin KB, Shin HK. 2000. Investigation of *in vitro* antigenotoxic effect of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) using Comet assay. *Korean J Food Sci Technol* 32: 461-468.
29. Oh MJ, Lee KS, Son HY, Kim SY. 1990. Antioxidative components of Pueraria root. *Korean J Food Sci Technol* 22: 793-798.
30. Jang MH, Lee TH, Shin MC, Lim BV, Kim HB, Lim S, Kim JW, Lee CY, Kim EW, Kim CJ. 2002. *Pueraria radix* increases alcohol-induced suppressed cell proliferation and expression of nitric oxide synthase in dentate gyrus of rat. *Korean J Oriental Med & Pathol* 16: 192-196.
31. Kim HY, Hong JH, Kim DS, Kang KJ, Han SB, Lee EJ, Chang HW, Song KH, Sho KA, Kwack SJ, Kim SS, Park KL, Lee SK, Kim MC, Kim CM, Song IS. 2003. Isoflavone content and estrogen activity in arrowroot *Pueraria radix*. *Food Sci Biotechnol* 12: 29-35.
32. Osawa T, Namiki MA. 1981. Novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *Eucalyptus* leaves. *Agric Biol Chem* 45: 735-739.
33. Miyake Y, Yamamoto K, 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.
34. Song HS, Ukeda H, Sawamura M. 2001. Antioxidative activity of citrus peel essential oils and their components against linoleic acid oxidation. *Food Sci Technol Res* 7: 50-56.
35. Rapisarda P, Tomaino A, Cascio RL, Bonina F, Pasquale AD, Saija A. 1999. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *J Agric Food Chem* 47: 4718-4723.
36. Marcocci L, Packer L, Dory-Lefaux MT, Sekaki A, Gardés-Albert M. 1994. Antioxidant action of Ginkgo biloba extract Egb 76. *Methods Enzymol* 234: 462-475.
37. Miller NJ, Diplock AT, Rice-Evans CA. 1995. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *J Agric Food Chem* 43: 1794-1801.
38. Laureaux C, Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Troupe

- SE, Legrand A, Delattre J. 1997.  $\alpha$ -Tocopherol enrichment of high-density lipoproteins: stabilization of hydroperoxides produced during copper oxidation. *Free Radi Biol Med* 22: 185-194.
39. Alma MH, Mavi A, Yildirim A, Digrak M, Hirata T. 2003. Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biol Pharm Bull* 26: 1725-1729.
40. Toledano MB, Leonhard WJ. 1991. Modulation of transcription factor NF- $\kappa$ B binding by oxidation-reduction *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 4328-4332.

(2004년 9월 22일 접수; 2004년 11월 12일 채택)