

뇌조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 누에분말의 영향

최진호 · 김대익 · 박수현 · 김동우 · 김정민 · 이희삼* · 류강선*

부경대학교 식품생명공학부, *농업과학기술원 잠사곤충부

Effect of Silkworm Powder on Oxygen radicals and Their Scavenger Enzymes in Brain membranes of SD Rats

Jin-Ho Choi, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Dong-Woo Kim, Jung-Min Kim,
Heui Sam Lee* and Kang Sun Ryu*

Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Pusan, 608-023, Korea,
*Department of Sericulture & Entomology, NIAST, RDA, Suwon 441-853, Korea

ABSTRACT

This study was designed to investigate the effect of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in brain membranes of SD rats. Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) levels resulted in a considerable decreases in brain mitochondria fraction. Superoxide radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$) levels were a slightly decreased in brain cytosol fraction. Lipid peroxide (LPO) and Oxidized protein (OP) levels were significantly decreased in brain mitochondria and microsomes fraction. Mn-superoxide dismutase (SOD) activity was remarkably increased in the mitochondria fraction. Cu and Zn-SOD activities were effectively increased in brain cytosol fraction. GSHPx activity was considerably increased in brain cytosol fraction. These results suggest that anti-aging effect of silkworm plays an effective role in attenuating an oxidative stress and increasing a scavenger enzyme activity in brain membranes.

Key words : Silkworm powder, Oxygen radical, Scavenger enzyme

서 론

경제성장의 발달로 풍부한 식생활을 누리며 평균수명도 날로 증가하고 있으나, 식생활 패턴의 변화로 인해 뇌 혈관계 질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등의 순환기계 질환과 암으로 인한 사망률이 크게 높아져 건강에 대한 관심이 고조되고 있다.

일반적으로 화학물질 및 이질성물질로 인한 질병은 세포 내에서 물질의 중간대사물과 이들 물질의 trigger 현상으로 생성된 free radical에 의해 야기됨은 주지의 사실이며, 특히 노화의 원인 역시 free radical 중 oxygen free radical에 기인되어 세포 상해가 나타난다고 한다(Pryor, 1977).

안정한 분자상태의 기저 삼중항산소가 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등 각종 물리적, 화학적 요인에 의해 superoxide radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide, singlelet oxygen과 같은 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되어 생체에 치명적인 독성을 일

으키는 것으로 알려져 있다(Harman, 1956; Oyangui, 1989; Fridovich, 1986). 따라서 생체내에서 free radical 형성에 의해 체내의 여러 조직을 손상시켜 대사 장애를 초래하여 질병을 유발한다(Plaa, 1976).

누에분말에 대한 연구는 '95년 잠사곤충부와 경희대 공동으로 항당뇨 효과가 있다고 발표하면서 수많은 연구가 진행되고 있다. 예로부터 민간요법으로 누에똥, 누에번데와 누에고치 등이 많이 이용되어 왔지만, 최근에는 5령 3일 냉동건조 누에분말이 식후 혈당상승을 잘 억제한다고 하였다(류, 1995). 누에분말의 약리적 기작은 소장의 당분해효소 α -glucosidase 억제작용에 기인한다고 보고하였다(정 등, 1997). 또한 최 등(1999)은 누에분말을 투여한 흰쥐에서 혈청 중 활성산소가 감소되는데, 이는 제거효소가 활성화되기 때문이라고 하였다.

그러나 아직까지 누에분말에 대한 연구는 항당뇨에 대한 연구가 주를 이루고 있고, 활성산소 제거 및 그 제거효소에 미치는 연구에 대해서는 미흡한 실정이다. 그래서 누에분말의 뇌조직 중 활성산소 및 그 제거효소에 미치

는 영향에 대하여 알아보았다.

재료 및 방법

1. 동물실험 및 사료조성

한국화학연구소에서 구입한 Sprague Dawley계 흰쥐(male, 160±10 g)를 구입하여 본 대학 동물사육실에서 2주동안 예비사육한 다음, 7마리씩 3군으로 나누어 실험용 기본사료(control group)로서 사육하면서 농과원 잠사곤충부로부터 제공받은 5령 3일 냉동건조 누에분말을 각각 200 mg과 400 mg/kg body weight가 되도록 사료에 첨가한 시료를 실험그룹(SWP-200 및 SWP-400)의 흰쥐가 6주간 섭취하도록 하였다. 동물사육실은 항온항습(22±2°C, 65±2% RH)하에서 12시간 사이클(06:00~18:00)로 평암이 자동 조절되도록 하였다.

2. 조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 탄수화물 57.3%(α -corn starch: 44.5%+ sucrose 13.3%), 단백질 16.0%(sodium-free casein), 지질 18.0% (lard 18.0%), 비타민과 무기질(AIN-76 mixture) 각각 1.0%, 3.5%, 그리고 섬유질 3.0%, DL-methionine 0.3%, choline chloride 0.2%를 첨가하였으며, 여기에 cholesterol 0.5% 및 sodium chloride 0.2%를 첨가하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 실험그룹의 사료조성은 누에분말을 하루에 각각 200 mg 및 400 mg/kg body weight(B.W.)가 섭취되도록 0.2% 및 0.4%의 누에분말을 첨가하는 대신 동량의 탄수화물을 제외하고 조제하였다.

3. 뇌세포 핵분의 분획

뇌세포의 분획은 균질 완충용액(1.15% KCl/10 mM phosphate buffer/5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 mitochondria, microsomes 및 cytosol 핵분을 분획하여 사용하였다(Choi 등, 1995). 이들 핵분의 단백질의 함량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 정량하였다.

4. 활성산소의 생성량 측정

뇌조직 핵분의 히드록시 라디칼(\cdot OH)의 함량은 deoxyribose의 파괴정도에 따라 hydroxyl radical 생성 정도를 측정하는 방법으로서, 뇌조직핵분의 산소대사산물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며, 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobarbituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등(1981)의 방법에 따라 측정하였다. 뇌조직 핵분중의 슈퍼옥시드 라디칼(superoxide radical: $O_2^{\cdot-}$)의 생성량은 McCord 등(1969)과 Chan 등(1974)의 방법에 따라 superoxide dismutase를 억제할 수 있는

ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 0.1 mM EDTA를 함유한 인산완충용액(pH 7.8) 420 μ l에 cyanide의 농도가 50 μ M이 되도록 20 mM cyanide 용액을 가한 후 37°C에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 cytosol 300 μ l와 0.1 mM cytochrome C 50 μ l를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500 $M^{-1}cm^{-1}$ 로 계산하였다.

5. 산화적 스트레스의 분석

뇌조직중의 과산화지질의 함량은 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde: MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(lipid peroxide: LPO)의 함량을 정량하였다(Choi 등, 1990) 뇌핵분으로서 mitochondria와 microsome의 산화단백질(oxidized protein: OP)의 생성량은 Levine 등(1990)의 방법에 따라 carbonyl group(>C=O)의 생성량을 측정하였다. 0.1 ml의 시료에 30% TCA(trichloroacetic acid)를 0.5 ml 혼합하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 뒤, 잔사에 10 mM DNPH(dinitrophenyl hydrazine) 0.5 ml 첨가, 15분마다 혼합하며 1시간 동안 실온에 방치 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후에 잔사에 ethanol/ethyl acetate (v/v 1:1) 3.0 ml를 첨가하여 실온에서 10분 방치한다. 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 잔사를 얻은 뒤, 6.0 M guanidine(20 mM potassium phosphate buffer, pH 2.3) 1.0 ml를 첨가하여 37°C의 항온 수조에서 15분간 가온한 후, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm 사이에 있는 흡광도의 파장에서 분자흡광계수($E=22,000$)를 이용하여 계산하였다.

6. 제거효소의 활성 측정

Oyanagui 등(1984)의 방법에 따라 superoxide dismutase(SOD)의 활성은 뇌조직 핵분을 인산완충용액(pH 8.2)으로 30배로 희석한 용액 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약(52.125 mg of hydroxylamine + 102.1 mg of hypoxanthine/250 ml) 0.2 ml, B시약(20 μ l of xanthine oxidase + 0.9939 mg ethylene diaminetetraacetic acid/26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가하여 37°C 항온수조에서 40분간 가온한 후에 C시약(300 mg of sulfanilic acid + N-1-naphthylethylenediamine acid/500 ml of 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 분광광도계를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 SOD 활성(unit/mg protein)을 측정하였다. Lawrence 등(1978)의 방법에 따라 340 nm에서 NADPH의 감소를 측정하기 위한 방법으로서 뇌조직 핵분의 cytosol에서 gluta-

thione peroxidase(GSHPx)의 활성 측정에는 인산완충용액(0.3 M/4.0 mM EDTA)으로 10배 희석하여 사용한다. 시험관에 인산완충용액(0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1 ml, 증류수 1.295 ml, 26.56 mM sodium azide용액(86.33 mg of NaN₃/50 ml D.W) 0.5 ml, 294.37 mMGSHP 용액(452.34 mg of glutathione/5.0 ml/ 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 60 µl, 8.4 mM NADPH (35.0 mg NADPH/5.0 ml/ 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 110 ml, glutathione reductase(5 mg of GSH-Red/1.0 ml/ 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 5 ml, 1 mM hydroperoxide 320 µl와 희석된 cytosol 30 µl를 첨가하여 혼합한 후, 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준검량선에 의해 GSHPx(IU/g protein)활성을 계산하였다.

7. 분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test(Steel 등, 1960)로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 활성산소의 생성 억제효과

뇌조직의 활성산소 중에서 가장 강력한 히드록시 라디칼(OH) 및 슈퍼옥사이드 라디칼(O₂⁻)의 생성에 미치는 누에분말의 영향에 대한 결과는 Table 1과 같다.

각 뇌조직중의 mitochondria 획분에서는 SWP-200 및 SWP-400군의 OH 생성이 11.38±1.00 및 10.34±1.05 nmol/mg protein/min(이하 단위 생략)으로서 대조그룹 대비 94.8% 및 86.1%로서, 각각 유의성 있는 OH 라디칼의 생성 억제효과를 보였다(p<0.05; p<0.01).

Table 1. Effects on hydroxyl and superoxide radicals in the brain membranes of SD rats fed powdery silkworm for 6 weeks

Membranes	Control	SWP-200	SWP-400
Hydroxyl radical(nmol/mg protein/min)			
Mitochondria	12.01±0.84	11.38±1.00* (94.8%) ^b	10.34±1.05** (86.1%)
Microsome	9.08±0.94	8.66±0.65 (95.4%)	8.57±0.75* (94.4%)
Superoxide radical(nmol/mg protein)			
Cytosol	38.69±2.62	36.63±2.63 (94.7%)	35.82±3.01* (92.6%)

SWP-200 and SWP-400 : Silkworm powder of 200 and 400 mg/kg B.W./day added to basic control diet; Mean±SD of 7 rats per group; Percent of control values; *p<0.05; **p<0.01 compared with control group.

또한 microsome획분에서 SWP-200 및 SWP-400군에서는 OH 라디칼의 생성 억제효과에 대하여 유의성 있는 결과를 보이지 않았다.

한편 뇌조직 cytosol 획분에 대한 superoxide radical(O₂⁻)의 생성 억제효과에서 SWP-200 및 SWP-400군은 36.63±2.63 및 35.82±3.01 nmol/mg protein(이하 단위 생략)로서 대조그룹 대비 94.7% 및 92.6%로서, 각각 5.3% 및 7.4%의 O₂⁻라디칼의 생성 억제효과를 나타내었고 SWP-400군에서 유의성 있는 감소를 보였다(p<0.05).

2. 산화적 스트레스의 평가

활성산소의 공격목표는 조직세포중의 지질 성분의 공격에 의한 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 생성, 단백질 성분의 공격에 의한 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성 및 핵산의 공격에 돌연변이의 생성 등을 들 수 있다. 따라서 이들 산화적 스트레스의 평가는 LPO는 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA), 산화단백질은 카르보닐그룹(>C=O group)의 측정 및 핵산의 산화는 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가할 수 있다.

1) 과산화지질의 생성 억제효과

세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병과 노화의 지표물질로 알려져 있다(Yagi, 1987; Choi 등, 1991; Yu 등, 1996). 누에분말의 투여에 대한 뇌조직중의 과산화지질(LPO)의 생성에 미치는 영향을 비교한 결과는 Table 2와 같다.

뇌조직의 mitochondria획분에서는 SWP-200 및 SWP-400군은 10.15±0.87 및 9.24±0.59 nmol/mg protein(이하 생략)로서 대조그룹 대비 각각 85.2% 및 77.6%로 유의성 있는 LPO의 생성 억제효과를 보였다(p<0.01; p<0.001). 또한 microsome획분에서 SWP-200군은 유의적인 감소를 보이지 않았지만, SWP-400군은 10.75±0.61로서 대조그룹 대비 87.8%로 유의성 있는 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다(p<0.05). 사실 뇌조직은 산화적 스트레스에 대하여 매우 민감한 조직이란 사실을 감안한다면 누에분말

Table 2. Effects on lipid peroxide(LPO) levels in the brain membranes of SD rats fed powdery silkworm for 6 weeks

Membranes	Control	SWP-200	SWP-400
Mitochondria	11.91±1.38a	10.15±0.87** (87.1%) ^b	9.24±0.59*** (77.6%)
Microsome	12.24±1.01	11.41±0.95 (86.8%)	10.75±0.61* (77.5%)

SWP-200 and SWP-400 : Silkworm powder of 200 and 400 mg/kg B.W./day added to basic control diet; Mean±SD of 7 rats per group; Percent of control values; *p<0.05; **p<0.05; ***p<0.01 compared with control group.

Table 3. Effects on oxidized protein (OP) levels in the brain membranes of SD rats fed powdery silkworm for 6 weeks

Membranes	Control	SWP-200	SWP-400
Mitochondria	13.42 ± 1.28a	11.64 ± 0.99* (86.7%) ^b	11.12 ± 0.80** (83.5%)
Microsome	14.26 ± 1.13	13.21 ± 0.88 (92.6%)	12.47 ± 0.99* (84.3%)

SWP-200 and SWP-400 : Silkworm powder of 200 and 400 mg/kg B.W./day added to basic control diet; Mean±SD of 7 rats per group; Percent of control values; *p<0.05; **p<0.01 compared with control group.

의 투여는 뇌조직의 독성물질로서 LPO의 생성을 억제한다는 사실은 뇌조직의 항상성 유지를 위해서도 매우 중요한 의미를 갖고 있다고 평가할 수 있다.

2) 산화단백질의 생성 억제효과

한편 뇌조직 세포의 단백질 성분이 활성산소의 공격을 받아 생성되는 카르보닐 그룹의 생성에 미치는 누에분말의 투여효과를 평가하기 위하여 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량을 평가한 결과는 Table 3과 같다.

Mitochondria 획분에서 SWP-200 및 SWP-400군의 OP의 생성은 11.64±0.99 및 11.21±0.80 ng/mg protein(이하 생략)으로서 대조그룹 대비 각각 86.7% 및 83.5%로서 유의성 있는 OP의 생성 억제효과가 인정되었다(p<0.05; p<0.01). 그렇지만, microsome 획분에서는 SWP-400군에서만 OP의 생성량이 12.47±0.99로서 대조그룹 대비 87.4%로서 유의성 있는 OP의 생성 억제효과가 인정되었다(p<0.05). 따라서 누에분말은 뇌조직의 mitochondria와 microsome획분 모두에서 매우 효과적인 OP의 생성 억제효과가 입증되었다.

3) 제거효소의 활성 평가

뇌획분중에서 활성산소의 제거효소로서 가장 중요한 superoxide dismutase(SOD) 및 glutathine peroxidase(GSHPx)의 활성에 미치는 누에분말의 영향은 Table 4와 같다.

뇌조직의 mitochondria 획분에서 SWP-200 및 SWP-400군에서 Mn-SOD의 활성은 각각 22.19±2.13 및 23.80±2.01 unit/mg protein(이하 생략)으로서 대조그룹 대비 각각 111.2% 및 124.2%로서 유의성 있는 Mn-SOD 활성의 증가효과가 인정되었다(p<0.01; p<0.001). 또한 뇌조직의 cytosol 획분중에서 SWP-400군의 Cu,Zn-SOD의 활성이 25.96±2.44로서 대조그룹 대비 111.7%의 유의성 있는 Cu,Zn-SOD 활성 증가효과가 인정되었다(p<0.05).

한편 SWP-200 및 SWP-400군의 GSHPx의 활성은 21.25±2.29 및 21.93±1.98 IU/g protein(이하 생략)으로서 대조그룹 대비 각각 105.3% 및 111.7%로서 누에분말 투여에 의하여 유의성 있는 GSHPx 활성의 증가효과가 인정되었다(p<0.05; p<0.01).

Table 4. Effects on SOD and GSHPx activities in the brain membranes of SD rats fed powdery silkworm for 6 weeks

Membranes	Control	SWP-200	SWP-400
Superoxide dismutase(nmol/mg protein/min)			
Mn-SOD	18.75 ± 1.47a	22.19 ± 2.13** (118.3%) ^b	23.80 ± 2.01*** (126.9%)
Cu, Zn-SOD	23.25 ± 2.45	24.87 ± 2.09 (107.0%)	25.96 ± 2.44* (111.7%)
Glutathione peroxidase(IU/g protein)			
GSHPx	19.31 ± 2.05	21.25 ± 2.29 (110.0%)	21.93 ± 1.98* (113.6%)

SWP-200 and SWP-400 : Silkworm powder of 200 and 400 mg/kg B.W./day added to basic control diet; Mean±SD of 7 rats per group; Percent of control values; *p<0.05; **p<0.01 compared with control group.

강력한 독성산소로 알려진 활성산소는 농약 등 환경호르몬, 합성의약품의 남용, 흡연, UV나 X-선 조사 등이나 체내에서 대사중의 효소반응이나 염증반응에 의해서도 생성되는 것으로 밝혀지고 있다(Choi 등, 1991). 이들 활성산소는 조직세포를 공격하여 성인병을 유발하고 노화를 촉진하며 치매 등의 신경정신질환을 유발할 뿐만 아니라 암까지도 유발한다는 사실이 밝혀져 있다((Singh, 1992). 한편 생체내에서는 활성산소를 소거하는 물질들이 존재하여 산화적 손상을 방어하여 노화나 질병으로부터 보호하고 있다. Free radical과 활성산소를 소거하는 물질로는 SOD(superoxide dismutase), catalase, peroxidase와 같은 항산화효소와 tocopherol, glutathione, ubiquinone, uric acid, polyphenol, carotinoid 등과 같은저분자 항산화물질이 알려져 있다(차 등, 2000).

한편 뽕잎으로부터 분리된 플라보노이드 화합물에 의해서 흰쥐의 간장으로부터 조제한 microsome 항산화 실험계에서 지질과산화물을 억제시키는 것으로 보고된 바 있다(김, 1999). 뽕잎에는 polyphenol계 화합물인 epicatechin과 epigallocatechingallate가 녹차로보다는 소량으로 존재한다고 보고하였고(이 등), 다양한 골격의 플라보노이드가 10여종 함유되어 있고 quercetin과 quercetin-3-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside가 강한 항산화 효과를 보인다고 하였다(김 등, 1999).

이들 성분들은 free radical을 생성할 수 있는 precursor들을 불활성화시켜 radical의 생성을 감소시키거나 free radical을 직접 소거함으로써 분자상 산소에 의한 free radical chain reaction을 억제하는 역할을 한다고 알려져 있다. 한편 녹차에는 polyphenol계 화합물인 catechin을 비롯한 여러가지 성분들이 혼합되어 있어서 이들 성분들이 hydrogen peroxide(H₂O₂)에 의한 세포독성을 억제하는 효과를 가지며 지질과산화 초기 단계에서 singlete oxygen과 유리기

제거 역할을 나타낸다고 보고되고 있다(Nakayama, 1994).

따라서 뇌조직의 ·OH 및 O₂⁻ 등 활성산소의 생성을 효과적으로 억제하여 LPO 및 OP의 생성 등 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 Mn-SOD, Cu,Zn-SOD 및 GSHPx 등 제거효소의 활성을 효과적으로 증가시켜 뇌조직의 기능저하를 매우 효과적으로 방지할 수 있을 것으로 기대된다.

앞으로 누에분말로부터 보다 강력한 활성산소를 제거할 수 있는 활성물질을 분리하고 생리적 효과에 대해서도 계속 실험이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

누에분말을 SD계 랫트에 하루 200 및 400 mg/kg body weight로써 6주간 투여하여 뇌조직의 활성산소 및 그 제거효소의 활성에 미치는 영향을 알아보았다. 뇌조직의 mitochondria 획분에서유의적인 hydroxyl radical(·OH)의 생성 억제효과가 나타났고, cytosol 획분에서 superoxide radical(O₂⁻)의 생성이 유의성있게 억제되었다. 뇌조직의 mitochondria 및 microsomes획분에서 매우 효과적으로 과산화지질(LPO)과 산화단백질(OP)의 생성 억제효과가 인정되었다. 뇌조직의 mitochondria 획분중에서 Mn-SOD의 활성이 유의적으로 증가되었다. 뇌조직의 cytosol획분중에서 Cu, Zn-SOD의 활성이 증가되었다. 따라서 뇌조직의 ·OH 및 O₂⁻ 등 활성산소의 생성을 효과적으로 억제하여 LPO 및 OP의 생성 등 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 Mn-SOD, Cu,Zn-SOD 및 GSHPx 등 제거효소의 활성을 효과적으로 증가시켜 뇌조직의 기능저하를 매우 효과적으로 방지할 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 '99년 농촌진흥청 농업특정연구과제 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

인용문헌

Chan, P.C. and Bielski, B.H.J. (1974). Enzyme catalyzed free radical reactions with nicotinamide adenine nucleotide. *J. Biol. Chem.*, **249**(4) : 1317-1319.
 Choi, J.H. (1991). Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.*, **23**(1) : 61-70.
 Choi, J.H. and Yu, B.P. (1990). Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* **13** : 61-64.
 Choi, J.H. and Yu, B.P. (1995). Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med.* **18**(2)

: 133-139.
 Fridovich, I. (1986) Biological effects of the superoxide radical *Arch. Biochem. Biophys.*, **247** : 1-11.
 Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1981). Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the persence of iron salts. *FEBS. Lett.*, **128** : 347-350.
 Harman, D. (1956) A theory based on free radical and radical chemistry. *J. Gerontology*, **11** : 298-302.
 Kim, S.Y., Gao, J.J., Lee, W.C., Ryu, K.S., Lee, K.R. and Kim, Y.C. (1999) Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morys alba*. *Arch. of Pharmacol Research.*, **22**(1) : 81-85.
 Lawrence, R. A. and Burk, R. F. (1978). Species, tissue and sub-cellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Lipid*, **19** : 444-452.
 Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, L., Lenz, A. G., Ahn, B., Shaltiel, S. and Stadtman, E. R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.*, **1986** : 464-478.
 Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, L. A. and Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193** : 265-275.
 McCord, J.M. and Fridovch, I.(1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythro-cuprein (hemocuprein). *J. B. Chem.*, **244**(22) : 6049-6055.
 Nakayama, Y. (1994) Suppression of hydroperoxide-induced cytotoxicity by phenols. School of food and nutritional sciences, University of Shizuoka, Japan, 1991-1993.
 Oyanagui, Y.(1984) Reevaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem* **42** : 290-296.
 Oyanagui, Y. (1989) SOD and active oxygen modulators. Nihon Igakukan, Tokyo, p. 17-18.
 Plaa, G.L. and Witschi, H. (1976) Chemical drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **16** : 125-131.
 Pryor, W.A. (1977) Free radical in biology. In involvement of radical reactions in aging and carcinogenesis in medicine chemistry. *Elsevier, Amsterdam*, p. 331-361.
 Singh, V. A.(1992). A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* **122**(3S) : 760-765.
 Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1960). Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
 Yagi, K. (1987). Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids* **45** : 337-351.
 Yu, B. P. and Yang, R.(1996). Critical evaluation of free radical theory of aging: A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **786** : 1-11.
 김선여 (1999) 1999 심포지엄 : 뽕잎함유 생체활성성분의 식품이용전망 p21-42
 류강선, 정성현, 홍기원, 이상풍 (1995) 누에분말을 유효성분으로 포함하는 혈당강하제 및 그의 제조방법. 대한민국 특허출원 95-1068.
 정성현 김미선 류강선(1997) 고탄수화물식이투여가 마우스에서 누에추출물이 소장내의 α-glucosidase활성에 미치는 영향. 한국잡사학회지. **39**(1) : 86~92.
 차재영, 김현정, 조영수 (2000) 뽕나무 및 꾸지뽕나무 잎의 수용성 추출물이 흰쥐 각 조직중의 지질과산화물 함량에 미치는 영향.

한국식품영양과학회지, **29**(3) : 531-536.
최진호, 김대익, 박수현, 김동우, 이종수, 이희삼, 류강선 (1999) 누에분말이 혈청중의 활성산소 및 제거효소에 미치는 영향, 한국잡사학회지, **41**(3) : 141-146.
최진호, 김대익, 박수현, 김정민, 백영호, 이희삼, 류강선 (2000) 뇌

조직의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 팽잎추출물의 영향, 생명과학회지, **10**(4) : 354-361.
최진호, 김대익, 박수현, 김정민, 조원기, 이희삼, 류강선 (2000) 간장조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 누에분말의 영향, 생명과학회지, **10**(4) : 347-353.