

간장조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 누에(*Bombyx mori* L.) 분말의 영향

최진호* · 김대익 · 박수현 · 김정민 · 조원기¹ · 이희삼² · 류강선²

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실, ¹조아제약(주)
²농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부

Effects of Silkworm (*Bombyx mori* L.) Powder on Oxygen Radicals and Their Scavenger Enzymes in Liver of SD Rats

Jin-Ho Choi*, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Jung-Min Kim, Weon-Ki Cho¹,
Heui-Sam Lee² and kang Sun Ryu²

Lab. of Biochemistry, Faculty of Food Science and Biotechnology,
Pukyong National University, ¹Choa Pharmacy Co. Ltd.,

²Dept. of Sericulture & Entomology, National Institute of Agricultural Science & Technology,
RDA, Suwon 441-100, Korea

Abstract

This study was designed to investigate the effects of silkworm (*Bombyx mori* L.) powder (SWP) on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver membranes of rats. Sprague-Dawley (SD) male rats (160±10 g) were fed basic diet (control group), and experimental diets (SWP-200 and SWP-400 groups) added 200 and 400 mg/kg BW/day for 6 weeks. Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) levels resulted in a consistent decreases (4.0% and 7.2%, 5.0% and 14.1%, respectively) in liver mitochondria and microsomes of SWP-200 and SWP-400 groups compared with control group, and O_2^- radical level was significantly decreased about 12% in liver cytosol of SWP-400 group compared with control group. Lipid peroxide (LPO) levels were significantly decreased (14.4% and 9.1%, respectively) in liver mitochondria and microsomes of SWP-400 group only compared with control group. Oxidized protein (OP) levels were remarkably decreased about 12.7% and 16.3% in liver microsomes only of SWP-200 and SWP-400 groups, but significant difference between liver mitochondria could not be obtained. Mn-SOD activities were remarkably increased (15.8% and 25.2%, respectively) in mitochondria of SWP-200 and SWP-400 groups, but significant difference between Cu,Zn-SOD activities in these groups could not be obtained. GSHPx activity was significantly increased in liver cytosol of SWP-400 group compared with control group. These results suggest that silkworm powder may play an effective role in attenuating oxidative stress and increasing scavenger enzyme activity in liver membranes.

Key words – Silkworm (*Bombyx mori* L.), Superoxide dismutase (SOD), Lipid peroxide (LPO), Oxygen radical, Glutathione peroxidase (GSHPx), Oxidized protein (OP), Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), Superoxide radical (O_2^-)

*To whom all correspondence should be addressed

Tel · 051-620-6332, Fax · 051-628-6343

E-mail : jhchoi@pknu.ac.kr

서 론

누에(*Bombyx mori* L.)는 누에나방과(Bombycidae)에 속하는 유충(幼蟲)으로서 《신농본초경(神農本草經)》의 중품에 수재되어 있고, “白蠶繭은 小兒의 驚癇, 夜啼를 治療하고 三蟲을 제거하며... 또 顔色에 좋고 특히 男子의 陰疾病에 좋다”는 기록이 있다. 이시진의 《본초강목(本草綱目)》에도 “蠶繭은 蠶이 風病에 걸린 것으로서, 風을 다스리고 痰을 부드럽게 하고 結을 발산하며 經을 行할 수 있다”고 하여 현대인의 성인병에 매우 좋을 것이란 사실을 암시하고 있다[9]. 지금까지 누에가루에 대한 생리작용에 관한 연구서는 당뇨병 중심의 연구에 한정되어 있을 정도다. 이당류가수해효소저해제(AO-128)을 이용한 고혈당억제효과[24], 당뇨병자들의 민간요법 실태조사[2], 누에가루의 임상연구에서 만성 간염 환자의 29%, 간경화증 환자 62%의 치료효과[28], 인슐린 비의존형(Type II) 당뇨병자에게 하루 누에분말 500 mg을 투여했을 때 65%의 혈당강하효과[3]. α -glucosidase활성의 억제작용에 의한 누에분말의 혈당강하효과[14-15], 누에분말의 제조조건 및 투여조건에 따른 혈당 강하효과[25, 18], 누에분말의 항종양효과[26] 등이 보고되어 있을 정도다.

따라서 저자 등[8-10]은 누에분말을 비롯하여 팥잎 추출물, 실크 피브로인의 활성산소 및 제거효소의 영향에 이어 누에분말과 당뇨병 치료제로서 한독약품(주)의 다오닐(Daonile : glibenclamide)과 비교하여 대등한 효과를 갖는 기능성 항당뇨음료로서 Dia-D를 개발하여 특허출원[11-12] 중에 있다. 본 연구는 누에분말의 생리활성연구의 일환으로서 전보[13]에 이어 간장조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 누에분말의 영향을 분석, 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

동물실험 및 사료조성

한국화학연구소에서 구입한 Sprague Dawley계 랫트(male, 160±10 g)를 구입하여 본 대학 동물사육실에서 2주 동안 예비사육한 다음, 7마리씩 3군으로 나누어 실험용 기본사료(control group)로써 사육하면서 누에(*Bombyx mori* L.) 분말(SWP)을 각각 200 및 400 mg/kg BW가 되도록 사료에 첨가한 실험그룹(SWP-200 및 SWP-400 groups)으

로 하여 6주간 사육실험을 행하여 간장중의 활성산소의 생성 및 그 제거효소의 활성에 미치는 누에분말의 영향을 평가하였다. 동물사육실은 항온항습(22±2℃, 65±2% RH)하에서 12시간 사이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절된다.

조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 전보[9]와 같이 탄수화물 57.8%(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 누에분말(SWP)을 하루에 각각 200 및 400 mg/kg BW가 섭취되도록 0.2% 및 0.4%의 SWP를 첨가하는 대신 탄수화물을 각각 0.2% 및 0.4%씩 제외하고 조제하였다.

간장조직의 분획

간장의 분획은 Laganier 등[18]에 따라 HEPES완충용액(10 mM HEPES, 10 mM KCl, 280 mM sucrose, pH 7.4)을 사용하여 mitochondria, microsome 및 cytosol획분으로 분획하여 사용하였다. 이들 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등[22]의 방법에 따라 측정하였다.

활성산소의 생성량 측정

히드록시 라디칼(\cdot OH)의 함량은 deoxyribose의 파괴정도로써 hydroxyl radical 생성정도를 측정하는 방법으로서, 간장획분의 산소대사산물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며, 이 aldehyde는 산성용액에서 thio-barbituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 및 Gultterdge[17]의 방법에 따라 측정하였다. 간장획분중의 슈퍼옥시드 라디칼(superoxide radical: O_2^-)의 생성량은 McCord 및 Flindovch[23]의 방법과 Chan 및 Bielski [1]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℃에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 cytosol 300 μ l과 0.1

mM cytochrome C 50 μ l를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이 때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500 $M^{-1}cm^{-1}$ 로 계산하였다.

산화적 스트레스의 분석

간장획분중의 과산화지질의 함량은 Choi 등[4]이 사용한 방법에 따라 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde: MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(lipid peroxide: LPO)의 함량을 측정하였다. 간장획분으로서 mitochondria와 microsome의 산화된 단백질의 함량은 Levine 등[21]의 방법에 따라 carbonyl group의 생성량을 측정하였다. 0.1 ml의 시료에 30% TCA (trichloroacetic acid)를 0.5 ml 혼합, 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 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 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 M guanidine(20 mM potassium phosphate buffer, pH 2.3) 1.0 ml 첨가·혼합하여 37℃의 항온 수조에서 15분간 가운한 후, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm사이에 있는 흡광도의 파장에서 분자흡광계수($E=22,000$)를 이용하여 계산하였다.

제거효소(scavenger enzymes)의 활성 측정

Oyanagui[25]의 방법을 일부 수정하여 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase: SOD)의 활성은 간장의 mito-

chondria 및 cytosol획분을 사용하여 측정하였고, 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase: GSHPx)의 활성은 Laurence 및 Burk 등[19]의 방법에 따라 340 nm에서 NADPH의 감소를 측정하기 위한 방법으로 간장의 cytosol획분에서 GSHPx)의 활성을 측정하였다.

분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test[30]로 실시하였다.

결과 및 고찰

활성산소의 생성 억제효과

강력한 독성산소로 알려진 활성산소(oxygen radicals)는 오염(농약 등 환경호르몬), 합성의약품의 남용, 흡연, UV나 X-선 조사 등이나 체내에서 대사중의 효소반응이나 염증반응에 의해서도 생성된다.

이들 활성산소는 조직세포를 공격하여 심장혈관관련 질병(成人病)을 유발하고 노화를 촉진하며 치매 등의 신경정신질환을 유발할 뿐만 아니라 암(cancer)까지도 유발한다는 사실이 Singh[29]에 의하여 밝혀졌다. 간장중의 활성산소중에서 가장 강력한 히드록시 라디칼($\cdot OH$) 및 수퍼옥시드 라디칼($O_2 \cdot^-$)의 생성에 미치는 누에분말(SWP)의 영향을 비교하여 보면 Table 1과 같다.

간장조직중의 mitochondria획분에서 SWP-200 및 SWP-400투여그룹의 $\cdot OH$ 생성량은 8.26 ± 0.68 및 7.98 ± 0.65 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(8.60 ± 0.74 nmol/mg protein/min: 100%) 대비 각각 4.0% 및 7.2%의 $\cdot OH$ 라디

Table 1. Effects of SWP on hydroxyl and superoxide radicals in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SWP-200 (7)	SWP-400 (7)
Hydroxyl radical(nmol/mg protein/min)			
Mitochondria	8.60 ± 0.74^a	8.26 ± 0.68 (96.0%) ^b	$7.98 \pm 0.65^*$ (92.8%)
Microsome	3.77 ± 0.54	3.58 ± 0.23 (95.0%)	$3.24 \pm 0.25^{**}$ (85.9%)
Superoxide radical(nmol/mg protein)			
Cytosol	38.82 ± 2.33	36.42 ± 3.41 (93.8%)	$34.31 \pm 1.40^{\dagger}$ (88.4%)

SWP-200 and SWP-400: Silkworm powder of 200 and 400 mg/kg BW/day added to basic control diet, ^aMean \pm SD with 7 rats per group, ^bPercent of control values; ^{*}p<0.05; ^{**}p<0.01 compared with control group.

칼의 생성 억제효과가 나타났고, microsome획분에서는 SWP-200 및 SWP-400투여그룹의 ·OH생성은 3.58 ± 0.23 및 3.24 ± 0.25 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(3.77 ± 0.54 nmol/mg protein/min: 100%) 대비 각각 5.0% 및 14.1%의 ·OH 라디칼의 생성 억제효과가 나타났다. 그렇지만, 이들 간장의 microsome획분에서 SWP-400투여그룹만이 대조그룹 대비 14.1%의 상당히 효과적인 유의성이 인정되었다. 또한 간장의 cytosol 획분의 superoxide radical($O_2^{\cdot-}$)의 생성 억제효과는 SWP-200투여그룹에서는 유의적인 억제효과가 인정되지 않았지만, SWP-400투여그룹에서는 11.6%의 $O_2^{\cdot-}$ 의 억제효과가 인정되었다.

이러한 사실은 전보[8]에서 혈청중에서 뽕잎 추출물 투여에서의 mitochondria획분의 강력한 ·OH 라디칼 생성 억제효과와는 달리 microsome획분의 SWP-400투여그룹에서만 유의성이 인정되는 등 상당한 차이가 있었고, 또한 뽕잎 추출물 투여에서는 $O_2^{\cdot-}$ 라디칼의 생성 억제효과가 전혀 인정되지 않았지만, SWP-400투여그룹에서는 약 12%의 매우 효과적인 $O_2^{\cdot-}$ 의 생성 억제효과가 인정되었다.

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 의한 변이 등을 들 수 있다. 따라서 이들 산화적 스트레스의 평가는 LPO는 말론디알데히드

(malondialdehyde: MDA)의 함량이나 OP는 카르보닐그룹(>C=O group)의 함량 및 핵산의 산화에 의한 변이 등은 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가한다[5, 16].

과산화지질의 생성 억제효과

세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병과 노화의 지표물질로 알려져 있다[5, 31-33]. 뽕잎 추출물의 투여에 의한 간장 조직중의 LPO의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 2와 같다. 간장조직중의 LPO의 생성에 미치는 누에분말(SWP) 투여의 영향을 비교하여 보면 간장조직의 mitochondria획분에서는 SWP-200 및 SWP-400투여그룹은 각각 14.08 ± 1.05 및 12.99 ± 1.41 nmol/mg protein으로서 대조그룹(15.17 ± 1.24 nmol/mg protein: 100%) 대비 각각 92.8% 및 85.6%로서 용량의존적으로 7.2% 및 14.4%의 LPO의 생성이 억제되었지만, 유의성은 SWP-400 투여그룹에서만 인정되었다. 간장조직의 microsome획분에서도 SWP-400투여그룹에서는 9.1%로서, 유의적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다.

산화단백질의 생성 억제효과

한편 간장조직의 단백질 성분이 활성산소의 공격을 받아 생성되는 카르보닐 그룹의 생성에 미치는 누에분말의 투여효과를 평가하기 위하여 산화단백질(oxidized protein: OP)의 생성량을 평가하여 본 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 mitochondria획분에서 SWP-200 및 SWP-400그룹

Table 2. Effects of SWP on lipid peroxide(LPO) levels in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SWP-200 (7)	SWP-400 (7)
Mitochondria	15.17 ± 1.24^a	14.08 ± 1.05 (92.8%) ^b	$12.99 \pm 1.41^{**}$ (85.6%)
Microsome	13.28 ± 1.15	13.02 ± 1.17 (98.0%)	$12.07 \pm 0.76^*$ (90.9%)

SWP-200 and SWP-400: Silkworm powder of 200 and 400mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD (nmol/mg protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01 compared with control group.

Table 3. Effects of SWP on oxidized protein (OP) levels in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SWP-200 (7)	SWP-400 (7)
Mitochondria	9.48 ± 1.12^a	9.14 ± 0.73 (96.4%) ^b	9.07 ± 0.12 (95.7%)
Microsome	7.86 ± 0.55	$6.86 \pm 0.39^*$ (87.3%)	$6.58 \pm 0.05^{**}$ (83.7%)

SWP-200 and SWP-400: Silkworm powder of 200 and 400mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD (ng/mg protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01 compared with control group.

의 OP의 생성량은 9.14 ± 0.73 및 9.07 ± 0.12 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(9.48 ± 1.12 ng/mg protein: 100%) 대비 96.4% 및 95.7%로서, 각각 3.6% 및 4.3%의 OP의 생성 억제효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다.

그렇지만, microsome획분은 mitochondria획분과는 달리 SWP-200 및 SWP-400그룹의 OP의 생성량은 6.86 ± 0.39 및 6.58 ± 0.05 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(7.86 ± 0.55 ng/mg protein: 100%) 대비 87.3% 및 83.7%로서, 각각 12.7% 및 16.3%의 유의적 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. 따라서 누에분말도 전보[8]의 뽕잎 추출물의 투여와 마찬가지로 간장의 mitochondria획분보다는 microsome획분에서 가장 효과적으로 단백질산화를 억제할 것으로 기대된다.

제거효소의 활성 평가

간장획분중에서 활성산소의 제거효소로서 가장 중요한 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD) 및 글루타치온 퍼옥시다아제(GSHPx)의 활성에 미치는 누에분말(SWP) 투여의 영향을 분석하여 보면 Table 4와 같다. 간장조직의 mitochondria획분중에서 SWP-200 및 SWP-400투여그룹의 Mn-SOD의 활성은 23.24 ± 2.29 및 25.12 ± 1.70 unit/mg protein으로서 대조그룹(20.07 ± 3.66 unit/mg protein: 100%) 대비 각각 15.8% 및 25.2%의 유의적인 Mn-SOD활성의 증가효과가 인정되었다. 간장조직의 cytosol획분중에서 SWP-200 및 SWP-400투여그룹의 Cu/Zn-SOD의 활성은 49.25 ± 3.29 및 50.05 ± 2.37 unit/mg protein으로서 대조그룹(50.74 ± 4.51 unit/mg protein: 100%) 대비 각각 2.9% 및 1.4%로서 Cu/Zn-SOD의 활성증가에 대한 유의성을 전혀 인정할 수 없었다.

한편 간장의 cytosol획분에서 SWP-200 및 SWP-400투여

그룹의 GSHPx의 활성은 5.20 ± 0.34 및 5.70 ± 0.43 IU/g protein으로서 대조그룹의 GSHPx 활성(5.06 ± 0.61 IU/g protein: 100%) 대비 각각 2.8% 및 12.6%로서, SWP-400투여 그룹에서만 매우 효과적인 GSHPx활성의 증가효과를 인정되었다. 누에분말(SWP)의 투여에 의한 생체 방어효소로서 간장중의 Mn-SOD의 활성은 전보[8]의 뽕잎 추출물(MLE) 투여와 거의 같은 경향으로 매우 효과적으로 증가하였지만, SWP투여의 Cu/Zn-SOD활성은 MLE투여와는 달리 전혀 유의성을 인정할 수 없었다. 또한 SWP-400투여의 경우, MLE투여와는 달리 매우 효과적인 GSHPx의 증가효과가 인정되었다.

요 약

누에분말(SWP)을 SD계 랫트에 하루 200 및 400 mg/kg BW로써 6주간 투여하여 간장조직의 활성산소 및 그 제거효소의 활성에 미치는 영향을 분석·평가하였다. mitochondria획분에서는 SWP-200 및 SWP-400투여그룹은 대조그룹 대비 각각 4.0% 및 7.2%의 hydroxyl radical (\cdot OH)의 생성 억제효과가 나타났고, microsome획분에서는 대조그룹 대비 각각 5.0% 및 14.1%의 \cdot OH 라디칼의 생성 억제효과로서, microsome 획분의 SWP-400투여그룹에서만 유의성이 인정되었다. cytosol획분의 superoxide radical(O_2^-)의 생성 억제효과도 \cdot OH라디칼과 마찬가지로 SWP-400투여그룹에서만 약 12%의 O_2^- 생성 억제효과가 인정되었다.간장조직중의 LPO의 생성에 미치는 누에분말(SWP) 투여의 영향을 비교하여 보면 간장조직의 mitochondria획분에서 SWP-200 및 SWP-400투여그룹은 대조그룹 대비 7.2% 및 14.4%의 LPO의 생성 억제효과로서 SWP-400 투여그룹에서만 유의성이 인정되었다. 간장조직의 microsome획분도 SWP-400

Table 4. Effects of SWP on SOD and GSHPx activities in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SWP-200 (7)	SWP-400 (7)
Superoxide dismutase(unit/mg protein)			
Mn-SOD	20.07 ± 3.66^a	$23.24 \pm 2.29^{**}(115.8\%)^b$	$25.12 \pm 1.70^{***}$ (125.2%)
Cu/Zn-SOD	50.74 ± 4.51	49.25 ± 3.29 (97.1%)	50.05 ± 2.37 (98.6%)
Glutathione peroxidase(IU/g protein)			
GSHPx	5.06 ± 0.61	5.20 ± 0.34 (102.8%)	$5.70 \pm 0.43^*$ (112.6%)

SWP-200 and SWP-400: Silkworm powder of 200 and 400 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD with 7 rats per group; ^bPercent of control values; ^{*}p<0.05; ^{**}p<0.01; ^{***}p<0.001 compared with control group.

투여그룹에서만 9.1%로서 유의적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다. SWP-200 및 SWP-400투여그룹은 mitochondria 획분에서 대조그룹 대비 3.6% 및 4.3%의 매우 적은 산화단백질(OP) 생성 억제효과가 나타났지만, microsome획분에서는 SWP-200 및 SWP-400그룹은 대조그룹 대비 각각 12.7% 및 16.3%의 매우 유의적인 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. mitochondria획분에서 SWP-200 및 SWP-400투여그룹의 Mn-SOD의 활성은 대조그룹 대비 각각 15.8% 및 25.2%의 매우 효과적인 Mn-SOD활성의 증가효과가 인정되었다. cytosol획분중에서 SWP-200 및 SWP-400투여그룹의 Cu,Zn-SOD의 활성은 거의 유의성을 인정할 수 없었다. 한편 cytosol획분에서 SWP-200 및 SWP-400투여그룹의 GSHPx의 활성은 대조그룹 대비 각각 2.8% 및 12.6%로서 SWP-400투여그룹에서만 매우 효과적인 GSHPx활성의 증가효과를 인정되었다. 따라서 누에분말의 투여는 ·OH 라디칼 및 O₂^{·-} 등 산소라디칼의 생성을 효과적으로 억제하여 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 Mn-SOD 및 GSHPx 등 제거효소의 활성을 효과적으로 증가시켜 생체의 노화과정을 상당히 효과적으로 지연할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Chan, P. C. and B. H. J. Bielski. 1974. Enzyme catalyzed free radical reactions with nicotinamide adenine nucleotide. *J. Biol. Chem.* **249(4)**, 1317-1319.
2. Cho, M. R. and R. W. Choue, S. H. Chung and J. W. Ryu. 1998. Effects of silkworm powder on blood glucose and lipid levels in NIDDM(type-II) patients. *Korean J. Nutr.* **31(7)**, 1139-1150.
3. Cho, M. R. and R. W. Choue. 1998. A study of folk remedies in type-II diabetic patients. *Korean J. Nutr.* **31(7)**, 1151-1157.
4. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* **13**, 61-64.
5. Choi, J. H. 1991. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.* **23(1)**, 61-70.
6. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1995. Brain synaptosomal aging: Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med.* **18(2)**, 133-139.
7. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee

- and H. S. Kim. 1999. Effects of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korea. J. Life Sci.* **9(4)**, 466-472.
8. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1999. Effects of mulberry leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 135-140.
9. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, H. S. Lee and K. S. Ryu. 1999. Effects of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 141-146.
10. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W., Park, S. H., D. W. Kim, J. S. Lee and Y. W. Lee. 1999. Effects of silk fibroin powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 216-221.
11. Choi, J. H. and President of RDA. 1999. Functional anti-diabetic drink. *Korean Patent Application No.* 99-61216(Dec. 23, 1999).
12. Choi, J. H. and President of RDA. 2000. Functional anti-diabetic drink. *Japanese Patent Application No.* 2000-98434(Mar. 31, 2000).
13. Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. H., Kim, D. W., Lee, J. S., Ryu, K. S. and Lee, W. C. Effects of silkworm (*Bombyx mori* L.) powder on oxidative stress and membrane fluidity in liver membranes of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **42(1)** (submitted).
14. Chung, S. H., J. H. Yu, E. J. Kim and K. S. Ryu. 1996. Blood glucose lowering effect of silkworm. *Bull. K.H. Pharma. Sci.* **24**, 95-100.
15. Chung, S. H., M. S. Kim and K. S. Ryu. 1997. Effect of silkworm extract on intestinal α -glycosidase activity in mice administered with a high carbohydrate-containing diet. *Korean J. Seric. Sci.* **39(1)**, 86-92.
16. Floyd, R. A. and J. D. Carney. 1992. Free radical damage to protein and DNA: Mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann. Neuro.* **32**, S22-27.
17. Halliwell, B. and G. M. C. Gutteridge. 1981. Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the persence of iron salts. *FEBS. Lett.* **128**, 347-350.
18. Laganiere, S. and B. P. Yu. 1987. Anti-lipoperoxidation action of food restriction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*

- 145, 1185-1191.
19. Laurence, R. A. and R. F. Burk. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71(4)**, 952-958.
 20. Lee, H. S., K. S. Chung, S. Y. Kim, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan-induced hyperglycemic mice. *Korean J. Seric. Sci.* **40(1)**, 38-42.
 21. Levine, R. L., D. Garland, C. N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A. G. Lenz, B. Ahn, S. Shaltiel and E. R. Stadtman. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 1986, 464-478.
 22. Lowry, O. H., N. J. Roseborough, L. A. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
 23. McCord, J.M. and I. Fridovch. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. B. Chem.* **244(22)**, 6049-6055.
 24. Odaka, H., N. Miki, H. Ikeda and T. Matsuo. 1992. Effect of disaccharidase inhibitor, AO-128, on postprandial hyperglycemia in rats. *J. Japan Soc. Nutr. Food Sci.* **45(1)**, 27-31.
 25. Oyanagui, Y. 1984. Revaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **42**, 290-296.
 26. Park, I. K., J. O. Lee, H. S. Lee, K. Y. Seol and Y. J. Ahn. 1988. Cytotoxic activity of *Bombyx mori* and *Morus alba* derived materials against human tumor cell lines. *Agric. Chem. Biotech.* **41(2)**, 187~190.
 27. Ryu, K. S., H. S. Lee, S. H. Chung and P. D. Kang. 1997. An activity of lowering blood-glucose levels according to preparative conditions of silkworm powder. *Korean J. Seric. Sci.* **39(1)**, 79-85.
 28. Shorni, S., D. Habu, T. Takeda, S. Nishiguchi, T. Kuroki, T. Tanaka, K. Tsuchida and S. Yamagami. 1998. Significance of peptidoglycan in patients with chronic liver diseases. *J. New Remedies & Clinics* **47(1)**, 32-37.
 29. Singh, V. A. 1992. A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* **122(3S)**, 760-765
 30. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
 31. Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids* **45**, 337-351.
 32. Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.* **21**, 651-668.
 33. Yu, B. P. and R. Yang. 1996. Critical evaluation of free radical theory of aging : A proposal of oxidative stress hypothesis. *Anu. New York Acad. Sci.* **786**, 1-11.