

메뚜기류 추출물의 염증 조절작용 및 세포사멸보호 효과

박자영 · 허진철 · 우상욱 · 윤치영¹ · 강석우² · 황재삼² · 이상한[†]
경북대학교 식품공학과, ¹대전대학교 생물학과, ²농업과학기술원 농업생물부

Anti-inflammatory and Cellular Protective Effects on Hydrogen Peroxide-induced Cytotoxicity of Grasshopper Extracts

Ja-Young Park, Jin-Chul Heo, Sang-Uk Woo, Chi Young Yun¹, Seok-Woo Kang²,
Jae-Sam Hwang² and Sang-Han Lee[†]

Department of Food Science & Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

¹Department of Biology, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

²National Institute of Agricultural Science & Technology (NIAST), Suwon 441-707, Korea

Abstract

In order to investigate the anti-inflammatory and cellular protective effects of *Atractomorpha lata* Motschulsky, *Oxya japonica japonica* Thunberg and *Stethophyma magister* Rehn, we first examined hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells as well as antioxidant assays including DPPH and FRAP assays. We found that water, ethanol and methanol extracts of *Oxya japonica japonica* Thunberg and *Stethophyma magister* Rehn had potentials to anti-oxidant activity and especially water extract of *Oxya japonica japonica* Thunberg exhibited the most potent protective effects against H₂O₂-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells by MTT assay. Taken Together, these findings indicate that water extract of *Oxya japonica japonica* Thunberg could be useful insect resources for agrobiotechnological or oriental medicinal purposes.

Key words : *Atractomorpha lata* Motschulsky, *Oxya japonica japonica* Thunberg, *Stethophyma magister* Rehn, anti-oxidant, DPPH, FRAP, MTT assay

서론

최근 노화 및 암 발병의 주된 요인 중 하나로 알려진 활성 산소종(free radical)은 superoxide anion radical, hydroxy radical, 과산화수소와 같은 활성 산소종의 산화적 대사산물로, 현대인에게는 이들 활성 산소종이 체내 축적될 기회가 많다(1). 이들이 효소적, 비효소적 방어 시스템에 의해 정상적으로 소거되지 않으면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키거나 세포의 기능 장애를 유발하여 암을 비롯한 뇌졸중(stroke), 파킨슨 병(Parkinson's disease) 등의 뇌질환과 심장질환, 동맥경화, 염증, 노화 등의 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다(2-4). 이에 활성 산소종을 방어하는

항산화 물질이 이러한 질병을 제어할 수 있다는 가능성 때문에 주목받고 있으며, 여러 생약재, 각종 식용식물, 해초류, 향신료, 수산물, 버섯류는 물론, 최근에는 곤충류 등에서도 항산화 효과가 확인되었다(4-9).

한편, 곤충은 지구상의 생물 가운데서 약 100만종 정도(10)를 차지하고 있으며 뛰어난 환경 적응력으로 전 세계에 넓게 분포하고 있다. 이러한 다양성이 풍부한 곤충자원을 유용한 생물자원으로 인식하고 다각도로 활용하고자 많은 시도가 있어 왔다(11). 그 결과 유용물질 생산, 인간의 질병 연구 수단, 생물소재 개발, 약용곤충으로 이용, 친환경 농업 등 많은 분야에 활용되어지고 있으며, 최근에는 생명공학 기술의 발달로 이러한 곤충자원의 이용 가치를 더욱 다양화 시켜주고 있다(12-15).

세계의 많은 나라에서 예로부터 여러 종류의 곤충을 약용 및 식용으로 이용하였는데 이는 풍부한 영양소의 섭취라

[†]Corresponding author. E-mail : sang@knu.ac.kr,
Phone : 82-53-950-7754, Fax : 82-53-950-6772

는 이유와 함께 특정 약리활성성분을 오래된 경험으로 활용하는 것으로서 식용곤충으로 딱정벌레, 벼메뚜기, 누에, 매미, 꿀벌의 유충, 흰개미, 여치, 풍뎅이 등을, 약용곤충으로 동충하초, 반묘, 백강잠, 굽뎅이, 지렁이, 거머리, 지네, 전갈, 거미 등을 대표적인 예로 들 수 있다(16-18).

특히 우리나라에서는 오래 전부터 메뚜기를 구황(救荒) 식품으로 식용해 왔으며, 최근 메뚜기를 무공해 영양식품으로 인정하고 각처에서 사육하기 시작함으로써 그 공급량이 해마다 증가하고 있는 추세이다. 메뚜기는 영양성분을 다량 함유하고 있으며 특히 아미노산 분석 결과 그 조성이 어육이나 동물성 식품에 비하여 결코 뒤떨어지지 않는 고단백 식품으로서의 가치가 인정되어진다. 또한 다른 동물성 식품과는 달리 함유지질의 불포화지방산 함량이 높고 chlorophyll, carotenoid 등의 색소도 다량 함유되어 있다(19).

이에 본 연구는 생물학적으로 유용한 자원의 확보 및 이용의 측면에서, 섬서구 메뚜기(*Atractomorpha lata* Motschulsky), 벼메뚜기 (*Oxya japonica* Thunberg) 그리고 끝검은 메뚜기 (*Stethophyma magister* Rehn)의 용매별 추출물의 생물학적 활성 중 특히 항산화 활성, 산화적 스트레스에 의해 유도된 세포독성에 대한 세포보호능, 그리고 분자염증에 대표적인 분자표적인 Cox-2 억제능을 살펴보기 위한 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

시료 조제

본 실험에 사용된 재료인 섬서구 메뚜기(*Atractomorpha lata* Motschulsky)는 2004년 9월 15일 충청북도 영동군 학산면 일대에서, 벼메뚜기(*Oxya japonica* Thunberg)는 8월경 전라북도 무주군 일대에서, 끝검은 메뚜기(*Stethophyma magister* Rehn)는 6월 10일 전라북도 무주군 잠두 일대에서 채집하였다. 채집된 재료는 1주일간 음건하여 -20℃에서 보관을 하였으며, 실험 직전에 열풍건조(Circulation Convection Oven, 60℃, 24 hr)에 의하여 powder로 만들고, 이를 추출용매에 녹여 사용하였으며, 50 mL용 tube에 각 1 g씩 보존하여 voucher specimen으로 보존하였다. 추출용매로는 증류수(distilled water; DW), dimethylsulfoxide (DMSO; Sigma Chemical, St. Louis, MO), 에탄올(ethanol), 메탄올(methanol)을 사용하였다. 추출 용매의 양은 건조된 시료 1 g 당 2 mL의 양을 첨가하여 추출하였으며, 용매에 따라 DW의 경우 60℃에서 24 hr 동안 열수 추출 과정을 거쳤으며, DMSO, 에탄올, 메탄올의 경우에는 24 hr 동안 실온에서 rotator(Model No. AG; FinePCR, Seoul, Korea)로 shaking 과정을 거쳐 추출하였다. 추출 후 4,000 g에서 5분간 원심분리(Effendorf, Centrifuge 5415R, Germany)하여 침전물을 버

리고 상층액을 실험에 이용하였다(Fig. 1). 실험에 사용한 용매 등 기타 시약은 시판품 특급 시약을 사용하였다.

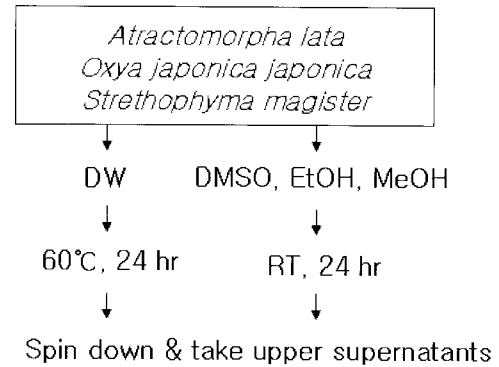


Fig. 1. A diagram of insect extract condition.

세포주 배양

SH-SY5Y (a human neuroblastoma cell line) 세포는 한국 세포주 은행으로부터 분양받았으며 RPMI-1640 배지에 10% FBS (fetal bovine serum; GIBCO)와 1% antibiotics (penicillin/ streptomycin; Sigma Chemical)을 첨가하여 37℃의 5% CO₂ incubator(Model No. MCO175; Sanyo, Tokyo, Japan)에서 배양하면서, 48~72 hr에 한 번씩 계대 배양하며 사용하였다.

DPPH assay

DPPH radical에 대한 각 용매별 시료의 라디칼 소거능을 측정하기 위해 50% 에탄올에 용해시킨 400 μM DPPH 용액을 190 μL씩 96 well plate에 분주하고, 여기에 시료를 10 μL를 첨가하여 최종 반응용액이 200 μL가 되도록 하였다. 30 min 동안 반응시킨 후 VICTOR3를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, DPPH radical의 소거활성 비율(% inhibition)은 다음과 같이 계산하였다. 이때 대조구는 시료 대신 에탄올을 첨가하여 수행하였고, 양성 대조구는 기존의 항산화제로 알려진 butylated hydroxy toluene (BHT, Sigma)와 활성을 비교하였다(20).

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay

시간에 따른 환원력을 알아보기 위해 다음의 실험을 수행하였다. 먼저 C₂H₃NaO₂ × 3H₂O와 acetic acid (C₂H₄O₂)를 이용하여 acetate buffer (pH 3.6, 300 mM)를 만들고 이후 HCl과 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)를 이용하여 solution을 만들었다. 실험을 위한 반응액으로는 acetate buffer (pH 3.6, 300 mM) : 100 mM의 TPTZ : 20 mM의 FeCl₃ · 6H₂O를 10 : 1 : 1의 비율로 실험 직전에 섞어 사용하였으며 반응액 (190 μL)와 추출물 (10 μL)을 혼합한 후 20

min 후 590 nm에서 multilabel reader인 VICTOR3(Wallac, Turku, Finland)로 흡광도를 측정하였다. 환원력은 상대비교를 하였으며 재료별 활성정도는 시간대별, 그리고 5 min 후의 값을 비교하였다(21).

MTT assay

세포생존율은 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 분석법으로 측정하였다. 약술하면, SH-SY5Y (neuroblastoma cell line) 세포를 5×10^4 cells/mL로 희석한 다음, 96 well plate에 200 μ L/well 씩 접종하고 200 μ M의 H_2O_2 와 추출물을 첨가하여 24 hr 배양한 후 세포생존율을 측정하였다. 먼저 배양액을 제거하고 fresh medium으로 한 번 더 씻은 다음, MTT (5 μ g/mL, Sigma)가 포함된 배양액을 100 μ L씩 넣고, 4시간 동안 배양하여 formazan이 형성되면 isopropanol 혼합액 100 μ L를 넣고 formazan을 녹인 후 VICTOR3로 590 nm에서 흡광도를 측정하였다(22).

$$\text{viability (\%)} = A_{\text{sample}} / A_{\text{control}} \times 100$$

Cox-2 promoter luciferase assay

Cox-2 promoter의 활성의 조절을 알아보기 위해 이들 유전자의 promoter 부분을 활용하였다. Promoter 부분을 luciferase activity를 확인할 수 있는 pGL3 (Promega) vector에 cloning한 후 glioma cell에 transfection하여 stable cell line으로 안정화시켰다. 이후 메뚜기의 추출물을 넣은 다음 24 hr 동안 37°C, 5% CO_2 incubator(Model No. MCO175; Sanyo, Tokyo, Japan)에서 배양하였다. Luciferase의 intensity는 Luciferase assay system (E1500, Promega)를 사용하여 VICTOR3 (Perkin Elmer, Turku)에서 활성을 확인하였다(23).

결과 및 고찰

DPPH assay에 의한 항산화 활성

Superoxide나 hydroxyperoxide 등의 활성 산소종 생성에 의한 인체 위해 물질들이 체내에 점진적으로 축적되는 경우, 발암, 동맥경화 등과 같은 질환은 물론, 전반적인 세포의 노화가 야기되는 것으로 알려지고 있다. 따라서 생체 내 활성라디칼 반응을 억제시키는 항산화 물질은 이러한 질환을 예방할 수 있을 것으로 기대된다. 이에 매우 간단하면서도 널리 사용되어지는 항산화 실험인 DPPH와 FRAP assay를 실시하여 인체 내 세포막에서의 지질 과산화 및 활성 산소종의 생성을 억제하는 반응, 생성된 활성 산소종의 소거반응을 살펴보았다. 먼저, DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 활성 산소종으로서 cysteine, glutathione과 같

은 함 유향아미노산과 ascorbic acid, BHT 등에 의해 환원되어 탈색되므로 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다. 섬서구 메뚜기, 벼메뚜기, 끝검은 메뚜기의 용매별 추출물을 Fig. 1과 같이 처리하여 DPPH radical 소거 효과를 검토한 결과는 Fig. 2와 같다. 전반적으로 polarity index가 5.0부근인 용매로서 에탄올과 메탄올로 추출물을 얻어서 실험을 수행한 결과 공통적으로 60~70%의 높은 활성을 보였다. 그 중에서도 특히 섬서구 메뚜기의 메탄올 추출물에서 70% 이상의 가장 높은 활성을 보였다. 벼메뚜기와 끝검은 메뚜기의 추출용매의 따른 활성 경향은 비슷하여서 DW, 에탄올 그리고 메탄올에서 높은 반면 DMSO에서 낮았다. 한편, 섬서구 메뚜기는 에탄올, 메탄올의 추출물 경우에는 높았으나 DW 추출물에서는 낮게 나왔다.

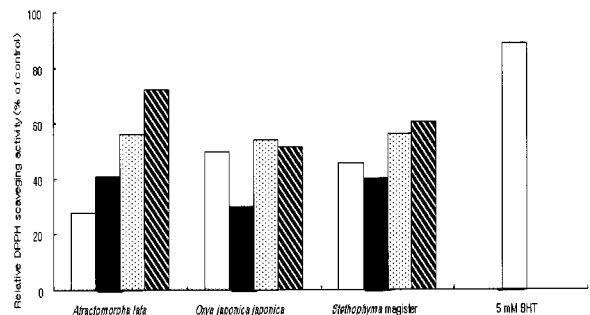


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity for the extracts.

(DW, □; DMSO, ■; Ethanol, ▨; Methanol, ▩; 5 mM BHT, □). The data show a representative of duplicate determinations.

FRAP assay

시간에 따른 활성의 정도는 FRAP assay로 확인해 보았다. FRAP assay는 pH 3.6에서 ferric tripyridyltriazine (Fe^{III} -TPTZ) 복합체가 환원제 (antioxidant)에 의해서 파란색의 ferrous tripyridyltriazine (Fe^{II} -TPTZ) 복합체로 될 때 흡광도를 측정하여 검색하고자 하는 화합물에 대한 환원력 (ferric reducing ability)을 보는 것이다. 메뚜기 종류에 상관없이 DW추출물에서 공통적으로 매우 높은 환원력을 나타냈고, DPPH와 마찬가지로 에탄올과 메탄올 추출물에서도 높은 활성을 나타냈지만 DMSO에서는 비교적 낮은 활성을 나타내었다. 메뚜기류 추출물은 DPPH 및 FRAP에 대하여 에탄올과 메탄올 추출물에서 높은 활성을 보였다 (Fig. 3). 그러나 합성항산화제인 BHT와 비교하면 낮은 활성을 보였는데, 이는 메뚜기류 추출물이 단일 성분이 아니라 여러 가지 활성물질 또는 일부 억제물질이 공존하여 이들에 의한 상호 작용에 의한 결과로 생각된다. 따라서 항산화물질이 분리 및 정제된다면 상당한 수준의 항산화능을 나타낼 수 있을 것으로 판단되며 이는 천연 항산화제 및 기능성 식품으로 이용할 수 있는 가능성을 시사한다.

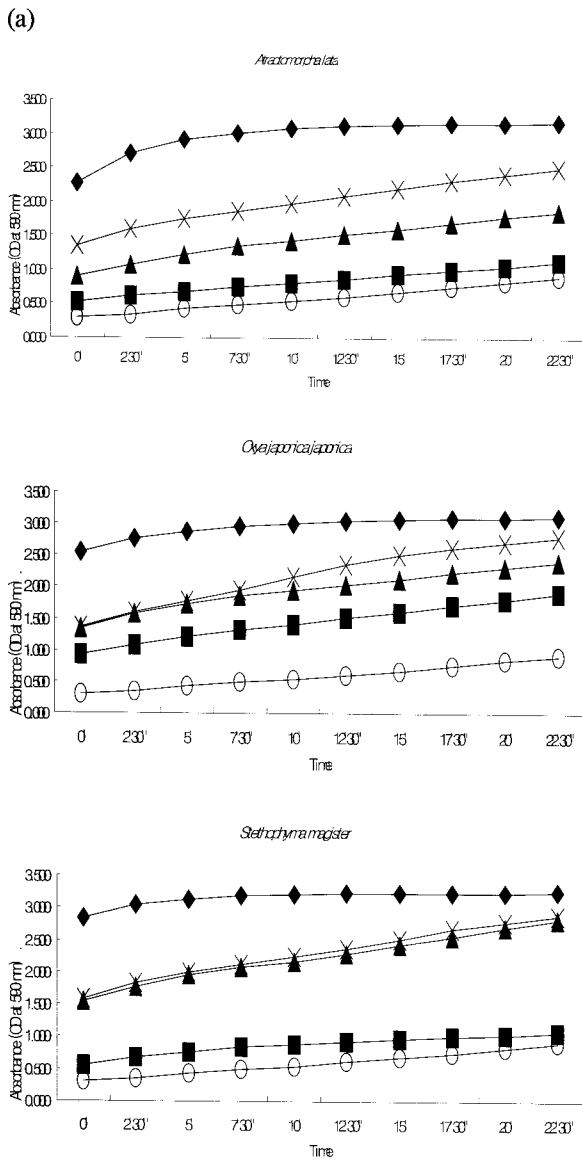


Fig. 3. Ferric ion reducing anti-oxidant power (FRAP) assay for the extracts

(a) activity in time-dependent manner (DW, ◆; DMSO, ■; Ethanol, ▲; Methanol, ×; 5 mM BHT, ○).
 (b) the value of optical density (O.D.) after first 5 minutes (DW, □; DMSO, ■; Ethanol, ▨; Methanol, ▩; 5 mM BHT, □). The data show a representative of duplicate determinations.

Hydroxyl radical scavenging assay

Fe²⁺와 H₂O₂가 반응하는 Fenton's reaction에 의해 생성되어진 hydroxyl radical이 2-deoxyribose를 산화시켜 지질 과산화물인 malondialdehyde (MDA)로 분해된다. 이 때 MDA를 530 nm에서 측정하여 메뚜기류의 hydroxyl radical에 대한 소거능을 확인하고자 하였다. 실험 결과는 Fig. 4와 같았으며, 3 종의 메뚜기류 추출물 중 끝검은메뚜기에서 hydroxyl radical 소거능이 높게 나타났다. 그리고 에탄올과 메탄올 추출물에서 50% 이상의 소거능을 나타내어 높은 활성을 보였다. 지질 과산화물은 넓은 의미에서 인체 세포막 등을 형성하고 있는 지질이 활성산소에 의해서 지나치게 산화되어 생긴 2차적 활성산소이다. 이에 메뚜기 추출물이 지질 과산화물 제거 기전에 작용하여 촉매나 효소의 속도 (kinetics)를 증가시킴으로써 적정수준 이상으로의 체내 축적을 방지하거나 제거율을 높여서 체내에 축적되는 양을 감소시키는 기전을 통하여 불가피하게 생성되는 지질 과산화물에 의한 손상을 줄일 수 있을 것으로 기대되어진다.

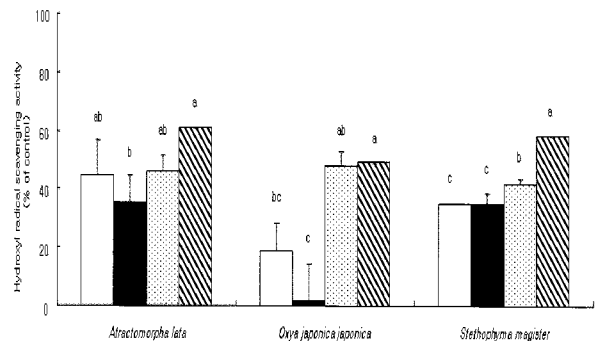


Fig. 4. Hydroxyl radical scavenging assay for the extracts.

(DW, □; DMSO, ■; Ethanol, ▨; Methanol, ▩; 5 mM BHT, □). The data show mean value + SD of triplicate determinations. Values with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

세포사멸로부터 보호효과

산화물의 일종인 과산화 수소 (H₂O₂)는 매우 큰 확산성을 가지고 있으며, 거의 모든 신체 부분에 존재하는 물질이다. 또한 매우 빨리 합성이 되고, 빠르게 생체 내에서 여러 세포에 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다. 이들은 세포의 신호전달과정 중 mitogen-activated protein kinases (MAPKs), c-JUN N-terminal kinase (JNK), p38 and extra cellular signal-regulated kinase (ERK) 등의 많은 부분에 관여하여 세포를 사멸을 유도하는 것으로 알려져 있다(24-26). 이에 SH-SY5Y 세포를 이용하여 과산화 수소로 유도된 세포독성에 대한 메뚜기류의 세포보호 효과를 살펴보기 위해 200 μM의 과산화 수소를 처리하고, 메뚜기류 추출물을 처리한 다음, 24 hr 후에 세포 생존율을 측정하였다. 그 결과는 Fig. 5에서와 같이, 과산화 수소만 처리한 세포의 생존율이 14% 정도인데 비해 메뚜기 추출물을 함께 처리하였을 때는

생존율이 증가하였다. 섬서구메뚜기의 경우 DW 추출물에서 23%, 벼메뚜기의 경우 DW, 에탄올, 메탄올 추출물에서 각각 51%, 28%, 31%, 그리고 끝검은메뚜기의 경우 DW 추출물에서 20%의 증가율을 보였으며 이는 메뚜기류 추출물이 과산화 수소로 유도된 세포독성에 대해 세포보호 효과를 가지는 것으로 나타낸다(27,28).

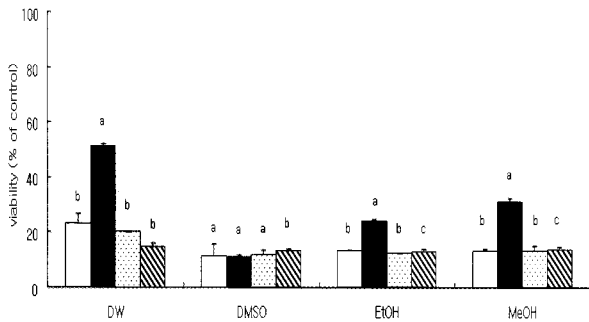


Fig. 5. Effects of H₂O₂-induced cytotoxicity against extracts in SH-SY5Y cells.

SH-SY5Y cells were treated with each sample with H₂O₂ (200 μM) in RPMI (+10% FBS) at 37 °C for 24 hr. Cell viability (%) = sample + H₂O₂ group cell count/control group cell counts × 100. (*Atractomorpha lata* Motschulsky, □; *Oxya japonica japonica* Thunberg, ■; *Stethophyma magister* Rehn, ▨; 200 μM H₂O₂, ▩). The data show mean value + SD of triplicate determinations. Values with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Cyclooxygenase-2 promoter의 활성 비교

산화스트레스에 의한 대표적인 질병의 하나인 천식 (asthma)에 있어서 염증은 매우 중요한 문제이며 이와 관련하여 분자염증관련 분자 표적 유전자인 Cox-2 promoter 영역의 활성억제를 비교하는 실험을 하였다. 유전자의 promoter 부분을 이용하여 Cox-2의 transcription을 억제할 수 있는지를 살펴보았는데 섬서구메뚜기와 벼메뚜기의 DMSO 추출물에서 높은 억제효과를 보였을 뿐 다른 추출물은 억제하지 못하는 것으로 나타났다. 또한 DPPH, FRAP, MTT assay에서 항산화 활성이 높아 Cox-2 발현도 억제할 것이라고 예상되었던 DW 추출물은 Cox-2 발현을 촉진하는 것으로 나타났다(Fig. 6). 인체 내에서의 항산화 스트레스 불균형이 Th-1형 면역반응을 억제시키고 Th-2형 면역반응과 면역 글로블린 생성을 촉진시킴으로써 알레르기 반응과 천식에 대한 면역력이 약하게 될 수도 있다는 연구 결과로 비추어볼 때, 항산화능과 항염증 활성은 반드시 일치하는 것은 아니라고 주장하는 연구자도 있다(29). 따라서 본 연구에서도 명확히 하지 못한 Cox-2 promoter 활성이 반드시 항염증 활성과 밀접한 관계가 있는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다.

현재 가장 많이 사용하고 있는 합성 항산화제인 butylated hydroxy anisole (BHA), BHT는 그 효과는 우수하지만 변이 원성과 발암성이 문제시되고 있으므로(30), 항산화능이 높고 안전한 천연 항산화제 개발이란 측면에서 메뚜기류 추출

물은 매우 매력적인 생물재료가 되리라 판단된다.

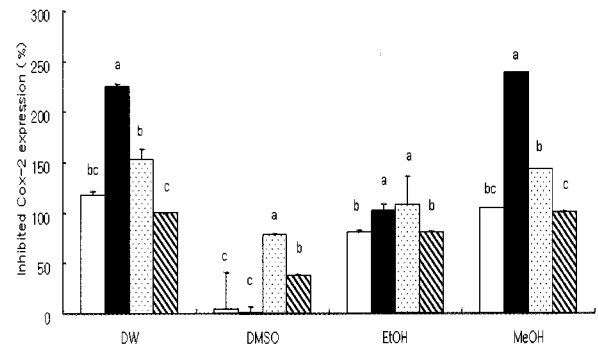


Fig. 6. Cox-2 Promoter activity by the insect extracts.

(*Atractomorpha lata* Motschulsky, □; *Oxya japonica japonica* Thunberg, ■; *Stethophyma magister* Rehn, ▨; solvent treated, ▩). The data show mean value + SD of triplicate determinations. Values with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

요 약

항산화능이 있는 곤충 추출물을 검색하기 위하여 초고속 스크리닝 시스템을 이용하여 몇 가지의 hit를 검색하였다. 메뚜기를 각 용매별 (DW, DMSO, Ethanol, Methanol)로 추출하여 추출물을 제조하였으며, 이들 추출물의 항산화능 검색과 함께 과산화 수소의 세포 독성에 대한 보호 효과에 대하여 조사하였다. 그 결과, 항산화관련 실험인 DPPH, FRAP assay의 경우 실험에 사용된 모든 메뚜기류의 모든 에탄올과 메탄올 추출물에서 50-60% 정도의 항산화 활성을 보였고, SH-SY5Y cells를 이용한 과산화 수소로 유도된 세포독성에 대해서는 과산화 수소만 처리한 세포의 생존율이 14% 정도인데 추출물을 처리한 세포의 생존율은 증가하는 것으로 나타났으며 특히 벼메뚜기의 DW 추출물을 처리하였을 때 생존율이 50% 정도로 증가하여 높은 세포보호 효과를 보였다. 또한 항산화 실험과 염관지어 염증관련 분자 표적 유전자인 Cox-2의 억제능을 살펴보기 위해 Cox-2 promoter assay를 실시하였는데 DMSO 추출물에서 좋은 활성을 보였을 뿐 다른 추출물에서는 억제능을 나타내지 않았다. 본 실험의 결과는 메뚜기류 추출물이 천연 항산화제를 이용하는 기능성 소재에 적합한 천연물질이라는 것을 보여준 것으로 앞으로 생물활성과 유용성분의 분리정제를 통해 순수 물질을 확보하여 보다 많은 연구 결과의 축적이 필요하다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호:

20050301-034-474-116)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

참고문헌

- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.-Lond.*, 91, 179-194
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. (1990) Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview. In: *Methods in Enzymology*, Fleischer, S. and Packer, L. (Editors), Academic Press, New York, USA, 186, p.1-12
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 160, 1-40
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J. and Telser, J. (2004) Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem.*, 266, 37-56
- Joubert, E., Winterton, P., Britz, T.J. and Gelderblom, W.C. (2005) Antioxidant and pro-oxidant activities of aqueous extracts and crude polyphenolic fractions of rooibos (*Aspalathus linearis*). *J. Agric. Food Chem.*, 53, 10260-10267
- Lee, S.E., Ju, E.M. and Kim, J.H. (2001) Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from *Smilax china* root. *Exp. Mol. Med.*, 33, 263-268
- Hsu, C.Y. (2006) Antioxidant activity of extract from *Polygonum aviculare* L. *Biol. Res.*, 39, 281-288
- Park, J.Y., Heo, J.C., Kwon, T.K., Chung, S.K., Kim, S.U. and Lee, S.H. (2005) Throughput-compatible screening of anti-oxidative substances by insect extract library. *Korean J. Food Preserv.*, 12, 482-488
- Han, S.M., Lee, S.H., Yun, C.Y., Kang, S.W., Lee, K.G., Kim, I.S., Yun, E.Y., Lee, P.J., Kim, S.Y. and Hwang, J.S. (2006) Inhibition of nitric oxide production by ladybug extracts (*Harmonia axyridis*) in LPS-activated BV-2 cells. *Korean J. Appl. Entomol.*, 45, 31-36
- Paik, J.C. and Jung, S.H. (2004) Some Orthopteran Insects (Orthoptera: Insecta) of Jeju Island(1). *Korean J. Soil Zool.*, 9, 44-52
- Park, H.Y. (2000) Utilization of Microorganisms from Insects. *Food Industry and Nutr.*, 6, 34-45
- Choo, H.Y., Kim, H.H., Lee, D.W., Lee, S.M., Park, S.H., Choo, Y.M. and Kim, J.K. (2001) Practical Utilization of Entomopathogenic Nematodes, *Steinernema carpocapsae* Pocheon Strain and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Korean J. Appl. Entomol.*, 40, 69-76
- Ham, G.S. (2003) Utilization of chitosan as a regulatory molecule to increase health-beneficial substance and shelf-life of agricultural products. *Food Industry Nutr.*, 8, 23-27
- Hu, D., Liu, Q., Cui, H., Wang, H., Han, D. and Xu, H. (2005) Effects of amino acids from selenium-rich silkworm pupas on human hepatoma cells. *Life Sci.*, 77, 2098-2110
- Lee, D.W., Choo, H.Y., Shin, O.K., Yun, J.S. and Kim, Y.S. (2002) Damage of *Perennial ryegrass*, *Lolium perenne* by chestnut brown chafer, *Adoretus tenuimaculatus* (Coleoptera: Scarabaeidae) and biological control with Korean isolate of entomopathogenic nematodes. *Korean J. Appl. Entomol.*, 41, 217-223
- Li, S.P., Zhang, G.H., Zeng, Q., Huang, Z.G., Wang, Y.T., Dong, T.T. and Tsim, K.W. (2006) Hypoglycemic activity of polysaccharide, with antioxidation, isolated from cultured *Cordyceps* mycelia. *Phytomed.*, 13, 428-433
- Zhao, Y., Wang, X., Kawai, M., Liu, J., Liu, M. and Mori, A. (1995) Antioxidant activity of Chinese ant extract preparations. *Acta. Med. Okayama*, 49, 275-279
- Xu, J.Z., Yeung, S.Y., Chang, Q., Huang, Y. and Chen, Z.Y. (2004) Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. *Br. J. Nutr.*, 91, 873-881
- Kim, T.S., Lee, J.H., Choi, B.D. and Ryu, H.S. (1987) Nutritional value of dried paddy grasshopper, *Oxya chineansis formosana*, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 16, 98-104
- Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V. and Bitsch, R. (2002) Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. *Free. Radic. Res.*, 36, 177-187
- Pulido, R., Bravo, L. and Saura-Calixto, F. (2000) Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food. Chem.*, 48, 3396-3402
- Sroka, Z. and Cisowski, W. (2003) Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food Chem. Toxicol.*, 41, 753 - 758
- Spinella, F., Rosan, L., Di, Castro V., Nicotra, M.R., Natali, P.G. and Bagnato, A. (2004) Inhibition of cyclooxygenase-1 and -2 expression by targeting the

- endothelin a receptor in human ovarian carcinoma cells. Clin. Cancer. Res., 10, 4670-4679
24. Chuang, S.M., Wang, I.C. and Yang, J.L. (2000) Roles of JNK, p38 and ERK mitogen-activated protein kinases in the growth inhibition and apoptosis induced by cadmium. Carcinogenesis, 21, 1423-1432
25. Xu, Q., Konta, T., Nakayama, K., Furusu, A., Moreno-Manzano, V., Lucio-Cazana, J., Ishikawa, Y., Fine, L.G., Yao, J. and Kitamura, M. (2004) Cellular defense against H₂O₂-induced apoptosis via MAP kinase-MKP-1 pathway. Free Radic. Biol. Med., 36, 985-993
26. Ishikawa, Y. and Kitamura, M. (2000) Anti-apoptotic effect of quercetin: intervention in the JNK- and ERK-mediated apoptotic pathways. Kidney Int., 58, 1078-1087
27. Hong, H. and Liu, G.Q. (2004) Protection against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in PC12 cells by scutellarin, Life Sci., 74, 2959 - 2973
28. Wu, S.J., Tsai, J.Y., Chang, S.P., Lin, D.L., Wang, S.S., Huang, S.N. and Ng, L.T. (2006) Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana*. J. Ethnopharmacol., doi:10.1016/j.jep.2006.05.027
29. Murr, C., Schroecksnadel, K., Winkler, C., Ledochowski, M. and Fuchs, D. (2005) Antioxidants may increase the probability of developing allergic diseases and asthma. Med. Hypotheses, 64, 973-977
30. Branen, A.S. (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil Chem. Soc., 52, 59-63

(접수 2006년 8월 5일, 채택 2006년 11월 24일)