



## Effects of a Silkworm Extract on Dopamine and Monoamine Oxidase-B Activity in an MPTP-induced Parkinsons Disease Model

Young-Kook Kang, Hong-Sig Oh, Young-Ho Cho, Young-Jin Kim, Yong-Gu Han and Sang-Ho Nam\*

Department of Biology, College of Applied Science and Industry, Daejeon University, Daejeon, Korea

The protective efficacy of a silkworm extract (SE) on N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinsonism and its possible mechanisms were studied in C57BL/6 mice. Mice were administrated intraperitoneally with SE (20 mg/kg/day) for 15 days and MPTP (10 mg/kg/day) was administrated subcutaneously into the mice for the first 6 consecutive days 1 hour before SE treatment. All animals were sacrificed 24 hours after the last SE treatment. Then the parameters related to general toxicity and neurobiochemical markers, such as the dopamine level and the activities of monoamine oxidase (MAO)-B, were measured in various regions of the brain. Treatment of mice with SE effectively attenuated the MPTP-induced decline of striatal dopamine level. MAO-B activity in SE-pretreated mice was inhibited in whole brain, cerebellum and substantia nigra. These results suggest that SE plays an effective role in attenuating MPTP-induced neurotoxicity in animal model. These neuroprotective effects of SE are likely the result from the inhibitory effect on MAO-B activity in mouse brain.

**Key words:** Silkworm, MAO-B, MPTP, dopamine, neurotoxicity

Received 14 July 2010; Revised version received 15 September 2010; Accepted 16 September 2010

N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)는 설치류, 유대류 및 포유류의 흑질(substantia nigra)에 위치한 도파민 생성세포를 선택적으로 파괴하는 신경독성물질이다(Langston et al., 1983). MPTP는 monoamine oxidase (MAO)-B에 의해 1-methyl-4-phenyl-2,3-dihydro-pyridinium (MPDP<sup>+</sup>)로 대사되며, MPDP<sup>+</sup>는 다시 2개의 전자가 산화되어 1-methyl-4-phenyl-pyridinium (MPP<sup>+</sup>)로 대사됨으로써 신경독성을 유발하게 된다(Chiba et al., 1984). 이러한 신경독성은 MPP<sup>+</sup>가 흑질의 미토콘드리아에 축적되어 도파민의 생성세포 수를 감소시키고(Nicklas et al., 1985; Alexi et al., 2000), 체내에서 활성산소를 생성하여 퇴행성 신경질환을 유발시키는 것으로 알려져 있다(Li et al., 2001).

그러므로 MAO-B의 활성 억제물질은 MPTP가 MPP<sup>+</sup>로 대사되는 것을 억제시킴으로써 도파민을 효과적으로 보호하는 것으로 많은 연구자들에 의해서 보고되었다(Wu

and Zhu, 1999; Foley et al., 2000; Mohanakumar et al., 2000). 이러한 도파민의 보호효과는 은행잎 추출물(Wu and Zhu, 1999; Kang et al., 2007; Rojas et al., 2008), 녹차 추출물(Levites et al., 2001) 및 인삼 추출물(Van Kampen et al., 2003) 등에서 이미 제시된 바 있다.

누에나방(*Bombyx mori*)은 목병, 경기, 뇌막염 진통, 두통, 신경통, 생리불순 등의 치료 및 정력 증강제로 활용했다는 기록이 동의보감에 남아 있는 대표적인 약용곤충이다. 이 누에나방은 혈당강하효과(Chung et al., 1996; Ryu et al., 1997; Kim et al., 1998, Kang et al., 2001), 점액분비 증진효과(Kang et al., 2000) 및 MAO의 활성 억제효과(Kang et al., 2005) 등의 약리학적 효능이 근래에 들어 과학적으로 밝혀지고 있다. 그러나 누에 추출물(silkworm extract; SE)이 MPTP의 신경독성으로부터 도파민을 보호하는 지는 아직까지 연구된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 MPTP를 마우스의 목덜미 피하로 투여하여 Parkinsons disease의 질환동물 모델을 만들고, 이 질환동물에 누에 추출물을 15일간 복강으로 투여한 후, 선조체(striatum)에서 도파민의 함량을 정량하고, 뇌의 각 부위에서 MAO-B의 활성도를 분석함으로써 누에 추출물이 MPTP의 신경독성으로부터 도파민을 효과적으로 보호하는 지를 규명하고자 연구를 수행하였다.

\*Corresponding author: Sang-Ho Nam, Department of Biology, College of Applied Science and Industry, Daejeon University, 96-3 Yongun-dong, Dong-gu, Daejeon 300-716, Korea  
Tel: +82-42-280-2431  
Fax: +82-42-280-2481  
E-mail: shnam@dju.kr

## 재료 및 방법

### 누에 추출물

분쇄한 누에(5령 3일) 200g과 70% 알코올 1 L를 혼합한 다음, 2분간 초음파를 가하고 30초를 쉬는 방법으로 10회 수행하였다. 그 다음에 shaking water bath를 이용하여 24시간 동안 4°C에서 잘 흔들여 준 후, 여과시킨 시료를 감압농축기로 농축하여 누에 추출물을 얻었다.

### 실험동물

실험동물은 생후 3개월 된 C57BL/6 계통의 수컷 마우스를 이용하였다. 동물실험실은 표준사육조건으로 온도는 22±2°C, 습도는 40-60%, 환기는 12-15회/시간으로 유지하였다. 조명은 200-300 Lux로 12시간하고, 나머지 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 사료는 조단백질 22.0%, 조지방 4.5%, 칼슘 0.7%, 인 0.5%, 조섬유 6.0%, 조회분 8.0% 및 비타민과 미네랄이 0.4% 함유된 제품의 고품사료를 공급하였다. 음료는 멸균수를 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

본 연구에서의 모든 동물실험은 대전대학교 동물실험윤리위원회의 사전에 승인을 얻었으며 본 위원회의 표준작업지침서(standard operation procedures; SOP)에 따라 동물실험을 수행하였다.

### 시험군의 처리

실험동물은 생리식염수를 단독으로 투여한 대조군(control), MPTP를 단독으로 투여한 실험군(MPTP), 누에 추출물을 단독으로 투여한 실험군(SE) 및 누에 추출물과 MPTP를 병용으로 투여한 실험군(SE+MPTP)으로 나누어 실험하였다. MPTP는 실험동물의 목덜미 부위에 10 mg/kg의 농도로 6일 동안 피하로 투여하였고, 누에 추출물은 20 mg/kg의 용량으로 15일 동안 복강내로 투여하였다. 누에 추출물과 MPTP를 병용으로 투여한 군은 MPTP를 투여하기 1시간 전에 누에 추출물을 6일 동안 먼저 투여한 후, 7일째부터는 누에 추출물만을 9일간 투여하였다. 그 다음에 24시간 동안 절식시킨 후 실험동물을 희생시켜 채혈하고 뇌 조직을 적출하였다.

### 뇌의 부위별 적출

뇌의 부위별 적출은 전뇌(whole brain)를 먼저 적출하여 혈액과 지방질을 제거한 후, 소뇌(cerebellum), 흑질(substantia nigra) 및 선조체(striatum)를 구분하였다. 소뇌는 중뇌 아래 부위를 cross section한 다음, 연수와 기타 조직을 제거하는 방법으로 적출하였고, 흑질은 중뇌의 주변조직을 제거하는 방법으로 적출하였다. 선조체는 대뇌의 양쪽을 면봉으로 꺾는 방법으로 적출하였다.

### 뇌조직의 미토콘드리아 분획 제조

뇌조직은 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4)로 균질화(W:V=1:10)한 다음, 원심분리(1,000 g, 10 min)하여 상등액을 새로운 원심분리관으로 옮겼다. 이를 다시 원심분리(12,000 g, 15 min)한 후, 얻어진 pellet를 50 mM tris buffer (pH 7.4)로 2회 씻은 후, 동일한 완충액으로 부유(suspension)시켜 미토콘드리아 분획을 얻었다. 상등액인 세포질용액(cytosol)과 미토콘드리아 분획은 1 mL Eppendorf vial에 분취하여 -70°C에 보관하면서 MAO-B의 활성도를 측정하는데 이용하였다. 미토콘드리아 분획의 단백질은 Lowry *et al.* (1951)의 방법으로 정량하였다.

### 누에 추출물이 체중, 장기중량 및 간기능에 미치는 영향

누에 추출물이 마우스의 체중 및 장기중량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 15일 동안 실험동물의 복강 내로 추출물을 투여한 후, 실험시작일(1일)과 실험종료일(16일)에 체중을 측정하였고, 실험종료일에는 적출한 뇌와 간의 무게를 측정하였다. 또한 누에 추출물이 간독성을 유발하는지 조사하기 위하여 실험종료일에 채혈하여 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)와 glutamic pyruvate transaminase (GPT)의 활성도를 측정하였다.

### 도파민의 함량

도파민의 함량은 Zou *et al.* (2000)의 방법으로 측정하였다. 적출한 선조체는 0.1 mM sodium metabisulfite가 함유된 0.1 M perchloric acid (W:V=1:20)를 넣어 균질화하였다. 균질화한 시료를 원심분리(12,000 rpm, 15 min)한 후, 그 상등액을 mobile phase로 10배 희석한 다음, high performance lipid chromatography (HPLC)를 이용하여 도파민의 함량을 정량하였다. 이때 electrochemical detector (ECD)는 Coulochem II (ETL Testing Laboratories, New York, USA)를 이용하였다. Mobile phase는 0.15 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 0.5 mM sodium octanesulfonic acid, 10% methanol 등이 포함된 용액(pH 3.4)을 2회 여과시켜 이용하였다. 선조체의 단백질은 Lowry *et al.* (1951)의 방법으로 정량하였다. 도파민은 3-hydroxytyramine을 5, 10, 20, 40, 60, 80 ng/mL의 농도로 녹여 HPLC로 정량한 표준곡선을 바탕으로 정량하였다.

### MAO-B의 활성도

MAO-B의 활성도는 Kalaria *et al.* (1987)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 100 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4) 435 µL, 30 mM sodium azide 70 µL, 미토콘드리아 분획 100 µL와 기질인 10 mM benzylamine 70 µL을 혼합하고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 그 다음에

**Table 1.** Effect of silkworm extract (SE) treatment on relative organs weights to body weight of mice

Treatment	Weights (g)			
	Body		Brain	Liver
	Day 1	Day 16		
Vehicle	22.3±0.8	23.2±0.9	0.48±0.02	0.93±0.10
SE (20 mg/kg)	24.6±2.4	24.1±0.8	0.47±0.02	0.87±0.07

Mice were administered intraperitoneally SE (20 mg/kg) for 15 days. Animals were sacrificed 24 hours after the last SE treatment. Data were expressed as mean±SD of 10 animals per group.

1.8 mM 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) 500 µL와 peroxidase 5 units를 넣고 15초간 반응시킨 다음, 5% sodium dodecyl sulfate가 포함된 0.75 M hydrochloric acid를 250 µL 넣어 반응을 종결시킨 후, 414 nm에서 흡광도를 측정하였다. 모든 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)사의 제품을 이용하였다.

### 통계처리

본 연구의 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었고, Student's *t*-test를 이용하여 통계처리를 한 후 통계학적 유의성( $P<0.05$  또는  $P<0.01$ )을 검정하였다.

## 결 과

### 체중, 장기중량 및 간기능에 대한 영향

실험동물의 체중, 모색, 행동 등은 생리적인 변화를 관찰하는 대표적인 지표이다. 누에 추출물을 투여하기 시작한 첫째 날의 체중은 24.6±2.4 g이었고, 누에 추출물을 15일 동안 투여한 후의 체중은 24.1±0.8 g로 두 군 간에 차이를 보이지 않았다. 누에 추출물을 투여한 후 뇌의 무게는 0.47±0.02 g이었고, 대조군은 0.48±0.02 g로 두 군 간에 차이를 보이지 않았다. 누에 추출물을 투여한 후 간의 무게는 0.87±0.07 g이었고, 대조군은 0.93±0.10 g로 두 군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았지만 약간 감소하는 경향을 보였다(Table 1).

누에 추출물을 15일간 투여한 후 GOT와 GPT의 활성도는 각각 121±23 IU/L와 39±5.8 IU/L이었고, 대조군은 각각 114±14 IU/L와 42±5.7 IU/L로 두 군 간에 차이를 보이지 않았다(Table 2).

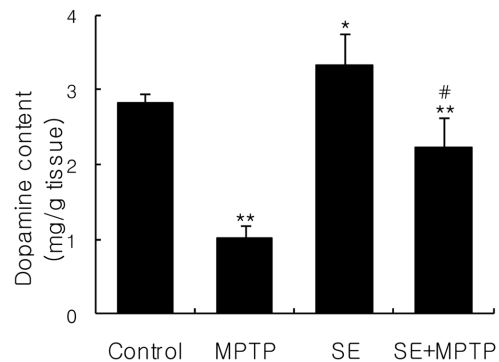
### 도파민 농도의 변화

대조군의 도파민 함량은 2.82±0.13 µg이었고, MPTP를 단독으로 투여한 군은 1.01±0.18 µg으로 MPTP의 신경독성에 의해 대조군의 36% 수준으로 감소함을 보였다. 누에 추출물을 단독투여한 군은 3.34±0.40 µg으로 대조군에 비하여 19% 증가함을 보였다. 누에 추출물과 MPTP를 병용으로 투여한 군은 2.24±0.40 µg으로 MPTP의 단독투여군보다 2배 이상 증가하였고, 대조군의 약 80% 수준까

**Table 2.** Effect of silkworm extract (SE) treatment on glutamic oxalacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvate transaminase (GPT) activities in the serum of mice

Treatment	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)
Vehicle	114±14	42±5.7
SE (20 mg/kg)	121±23	39±5.8

Mice were administered intraperitoneally SE for 15 days. Animals were sacrificed 24 hours after the last SE treatment. Data were expressed as mean±SD of 10 animals per group.



**Figure 1.** Effect of silkworm extract (SE) pretreatment against depletion of striatal dopamine levels by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Striatal dopamine level was determined by high performance lipid chromatography and expressed as µg/g wet striatal tissue. Data were expressed as mean±SD of 10 animals per group. \*,\*\*Significantly different from the control group at  $P<0.05$  and  $P<0.01$ , respectively. #Significantly different from the MPTP-treated group at  $P<0.01$ .

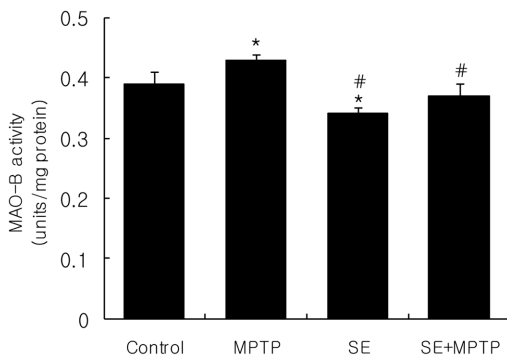
지 도파민의 함량이 회복됨을 보였다(Figure 1). 본 연구에서 도파민의 retention time은 Table 3과 같은 조건에서 도파민을 정량하였을 때 약 5.4분으로 나타났다(data not shown).

### 전뇌에서 MAO-B의 활성도 변화

대조군의 MAO-B 활성도는 0.39±0.02 units이었고, MPTP를 단독으로 투여한 군은 0.43±0.01 units로 대조군에 비하여 약 10% 증가함을 보였다. 그러나 누에 추출물을 단독으로 투여한 군은 0.34±0.01 units로 대조군에 비하여 약 11% 억제됨을 보였다. 누에 추출물과 MPTP를 병용으로 투여한 군은 0.37±0.02 units로 대조군과 차

**Table 3.** Condition of high performance lipid chromatography

Parameters	Condition
Column	Lichrospher C18 column (5 μm, 125 mm×4.0 mm)
Mobile Phase	0.15 M NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> buffer (pH 3.4) containing 0.1 mM EDTA, 0.5 mM sodium octanesulfonic acid, 10% methanol
Flow rate	1 mL/min
Pressure	1520±10 psi
Temperature	ambient
ECD	300 mV, 100 nA



**Figure 2.** Effect of silkworm extract (SE) or/and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment on monoamine oxidase-B activity in the whole brain of mice. Data were expressed as mean±SD of six repeated experiments using whole brain mitochondrial fractions pooled from 8 mice. \*Significantly different from the control group at  $P<0.05$ . #Significantly different from MPTP treated group at  $P<0.05$ .

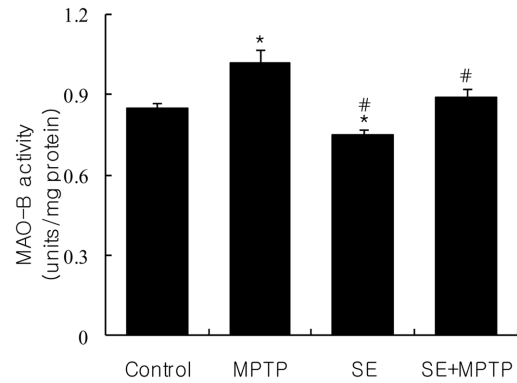
이는 없었지만 MPTP를 단독으로 투여한 군에 비해 약 14% 억제됨을 보였다(Figure 2).

**소뇌에서 MAO-B의 활성화 변화**

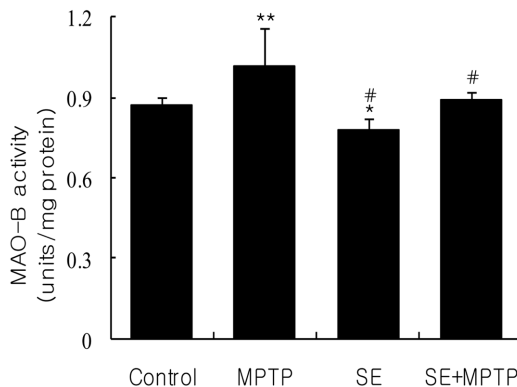
대조군의 MAO-B 활성화도는 0.85±0.01 units이었고, MPTP를 단독으로 투여한 군은 1.02±0.05 units로 대조군에 비하여 약 20% 증가함을 보였다. 누에 추출물을 단독으로 투여한 군은 0.75±0.02 units로 대조군에 비하여 약 12% 억제됨을 보였다. 누에 추출물과 MPTP를 병용하여 투여한 군은 0.89±0.03 units로 대조군과 차이가 없었지만 MPTP를 단독으로 투여한 군보다 약 13% 억제됨을 보였다(Figure 3).

**흑질에서 MAO-B의 활성화 변화**

대조군의 MAO-B 활성화도는 0.87±0.03 units이었고, MPTP를 단독으로 투여한 군은 1.03±0.14 units로 대조군에 비하여 16% 증가함을 보였다. 그러나 누에 추출물을 단독으로 투여한 군은 0.78±0.04 units로 대조군에 비하여 약 11% 억제됨을 보였다. 누에 추출물과 MPTP를 병용하여 투여한 군은 0.90±0.02 units로 대조군과 차이가 없었지만 MPTP를 단독으로 투여한 군보다 약 13% 억제됨



**Figure 3.** Effect of silkworm extract (SE) or/and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment on monoamine oxidase-B activity in the cerebellum of mice. Data were expressed as mean±SD of six repeated experiments using cerebellum mitochondrial fractions pooled from 8 mice. \*Significantly different from the control group at  $P<0.01$ . #Significantly different from MPTP-treated group at  $P<0.01$ .



**Figure 4.** Effect of silkworm extract (SE) or/and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment on monoamine oxidase-B activity in the substantia nigra of mice. Data were expressed as mean±SD of six repeated experiments using substantia nigra mitochondrial fractions pooled from 8 mice. \*,\*\*Significantly different from the control group at  $P<0.05$  and  $P<0.01$ , respectively. #Significantly different from MPTP-treated group at  $P<0.01$ .

을 보였다(Figure 4).

**고찰**

독성물질은 체내에서 강한 독성을 유발시켜 실험동물의 체중이나 장기의 무게를 감소시키고, GOT나 GPT의 활성을 증가시키는 요인이 된다(Widdowson *et al.*, 1996; Ferger *et al.*, 2000). 그러나 본 실험에서는 누에 추출물을 15일 동안 실험동물의 복강 내로 투여하였지만 체중, 뇌 및 간의 무게는 약간 줄어드는 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다. 또한 GOT와 GPT의 활성은 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Tables 1 and 2).

MPTP는 MPP<sup>+</sup>로 대사되어 Parkinson's disease와 같은

퇴행성 신경질환을 유발하는 신경독성물질로 MAO-B의 활성이 MPTP의 대사과정에 큰 영향을 미치는 것으로 잘 알려져 있다. 본 연구자는 누에 추출물이 마우스 뇌의 미토콘드리아 분획에서 MAO-B의 활성을 효과적으로 억제 시킴을 이미 보고한 바 있다(Kang et al., 2005). 그러므로 누에 추출물이 MPTP의 신경독성으로부터 도파민을 보호하는 효과가 있을 것으로 판단되어 본 연구를 수행하였다.

도파민의 함량은 Parkinson's disease를 유발시킨 질환동물에서 대조군의 30-60% 수준으로 감소됨이 이미 여러 연구자들에 의해서 보고되었다(Zou et al., 2000; Mohanasundari et al., 2006; Rojas et al., 2008; Kasture et al., 2009). 이렇게 도파민의 함량이 Parkinsons disease의 질환동물에서 급격히 감소하지만 EGb 761, 은행잎, 녹차, 인삼 등의 추출물을 이들의 질환동물에 투여하면 도파민 함량이 상당히 회복됨을 알 수 있었다(Wu and Zhu, 1999; Levites et al., 2001; Van Kampen et al., 2003; Kang et al., 2007; Rojas et al., 2008). 본 연구에서 도파민 함량은 MPTP를 투여할 때 대조군의 약 36% 감소하여 Parkinson's disease가 잘 유도되었음을 확인하였으며, 이 질환동물에 누에 추출물을 투여함에 따라 도파민 함량이 대조군의 약 80% 수준까지 회복됨을 보였다(Figure 1). 이것은 누에 추출물이 MPTP의 신경독성으로부터 도파민을 효과적으로 보호하는 효과가 있음을 입증하는 결과이다.

MAO-B의 활성억제물질은 우울증이나 파킨슨병 치료, 활성산소 생성 및 지질과산화물 억제시키는 것은 물론 도파민을 생성하는 세포를 보호해 주는 것으로 이미 보고되었다(Koutsilieri et al., 1996; Foley et al., 2000). 본 연구에서 MAO-B의 활성은 MPTP 투여로 뇌조직의 부위별로 대조군보다 10-20% 증가함 보여 부위에 따라 활성도의 차이가 다소 있음을 알 수 있었다. 그렇지만 MAO-B의 활성은 MPTP의 신경독성으로 인하여 증가하였지만 누에 추출물을 투여함으로써 대조군 수준으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다(Figures 2, 3 and 4). 이것은 누에 추출물이 monoamine계 신경전달물질 대사효소의 활성을 억제시킴으로서 MPTP가 MPP<sup>+</sup>로 대사되는 것을 효율적으로 막아 신경독성을 억제하고, 더 나아가 Parkinson's disease와 같은 퇴행성 신경질환을 억제시키는 데 기여할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- Alexi, T., Borlongan, C.V., Faull, R.L.M., Williams, C.E., Clark, R.G., Cluckman, P.D. and Hughes, P.E. (2000) Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. *Prog. Neurobiol.* 60(5), 409-470.
- Chiba, K., Trevor, A. and Castagnoli, N.J. (1984) Metabolism of the neurotoxic tertiary amine, MPTP, by brain monoamine oxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 120(2), 574-578.
- Chung, S.H., Ryu, J.H. and Kim, I.J. (1996) Blood glucose lowering of silkworm. *J. Hyunghee Pharm.* 24, 95-100.
- Ferger, B., Teismann, P., Earl, C.D., Kuschinsky, K. and Oertel, W.H. (2000) The protective effects of PBN against MPTP toxicity are independent of hydroxyl radical trapping. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 65(3), 425-431.
- Foley, P., Gerlach, M., Youdim, M.B. and Rieder, P. (2000) MAO-B inhibitors: multiple roles in the therapy of neurodegenerative disorders. *Parkinsonism Relat. Disord.* 6(1), 25-47.
- Kalaria, R.N., Mitchell, M.J. and Harik, S.I. (1987) Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84(10), 3521-3525.
- Kang, X., Chen, J., Xu, Z., Li, H. and Wang, B. (2007) Protective effects of *Ginkgo biloba* extract on paraquat-induced apoptosis of PC12 cells. *Toxicol. In Vitro* 21(6), 1003-1009.
- Kang, Y.K., Choo, S.K. and Nam, S.H. (2001) Effects of silkworm-extract on blood components levels in mice. *Korean J. Entomol.* 31(4), 243-247.
- Kang, Y.K., Lim, H.B., Sohn, H.O., Lee, Y.G., Lee, D.W. and Nam, S.H. (2000) Effect of silkworm-extract on mucus secretion in rat tracheobronchial lumen. *Korean J. Entomol.* 30(2), 71-75.
- Kang, Y.K., Nam, S.H., Sohn, H.O. and Lee, D.W. (2005) Inhibitory effects of silkworm-extract (SE) on monoamine oxidase activity *in vitro* and *in vivo*. *Entomol. Res.* 35(3), 189-193.
- Kasture, S., Pontis, S., Pinna, A., Schintu, N., Spina, L., Longoni, R., Simola, N., Ballero, M. and Morelli, M. (2009) Assessment of symptomatic and neuroprotective efficacy of *Mucuna pruriens* seed extract in rodent model of Parkinson's disease. *Neurotox. Res.* 15(2), 111-122.
- Kim, M.S., Choue, R.W., Chung, S.H. and Koo, S.J. (1998) Blood glucose lowering effects mulberry leaves and silkworm extracts an mice fed with high-carbohydrate diet. *Korean Nutr. Soc.* 31(2), 117-125.
- Koutsilieri, E., Chen, T.S., Rausch, W.D. and Riederer, P. (1996) Selegiline is neuroprotective in primary brain cultures treated with 1-methyl-4-phenylpyridinium. *Eur. J. Pharmacol.* 306(1-3) 181-186.
- Langstone, J.W., Ballard, P., Tetrad, J.W. and Irwin, I. (1983) Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219(4587), 979-980.
- Levites, Y., Weinreb, O., Maor, G., Youdim, M.B. and Mandel, S. (2001) Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate prevents N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurodegeneration. *J. Neurochem.* 78(5), 1073-1082.
- Li Q.Y., Pedersen, C., Day, B.J. and Petal, M. (2001) Dependence of excitotoxic neurodegeneration on mitochondrial aconitase inactivation. *J. Neurochem.* 78(4), 746-755
- Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193(1), 265-275.
- Mohanasundari, M., Srinivasan, M.S., Sethupathy, S. and Sabesan, M. (2006) Enhanced neuroprotective effect by combination of bromocriptine and *Hypericum perforatum* extract against MPTP-induced neurotoxicity in mice. *J. Neurol Sci.* 249(2), 140-144.
- Mohanakumar, K.P., Muralikrishnan, D. and Thomas, B. (2000) Neuroprotection by sodium salicylate against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity. *Brain Res.* 864(2), 281-290.
- Nicklas, W.J., Vyas, I. and Heikkila, R.E. (1985) Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenylpyridinium, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *Life Sci.* 36(26), 2503-2508.

- Rojas, P., Serrano-Garca, N., Mares-Smano, J.J., Medina-Campos, O.N., Pedraza-Chaverri, J. and Ogren, S.O. (2008) EGb761 protects against nigrostriatal dopaminergic neurotoxicity in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinsonism in mice: role of oxidative stress. *Eur. J. Neurosci.* 28(1), 41-50.
- Ryu, K.S., Lee, H.S., Chung, S.H. and Kang, P.D. (1997) An activity of lowering blood-glucose levels according to preparative conditions of silkworm power. *Korean. J. Seric. Sci.* 39(1), 79-85.
- Van Kampen, J., Robertson, H., Hagg, T. and Drobitch, R. (2003) Neuroprotective actions of the ginseng extract G115 in two rodent models of Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 184(1), 521-529.
- Widdowson, P.S., Farnworth, M.J., Upton, R. and Simpson, M.G. (1996) No changes in behavior, nigro-striatal system neurochemistry or neuronal cell death following toxic multiple oral paraquat administration to rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 15(7), 583-591.
- Wu, W.R. and Zhu, X.Z. (1999) Involvement of monoamine oxidase inhibition in neuroprotective and neurorestorative effects of *Ginkgo biloba* extract against MPTP-induced nigrostriatal dopaminergic toxicity in C57 mice. *Life Sci.* 65(2), 157-164.
- Zou, L., Xu, J., Jankovic, J., He, Y., Appel, S.H. and Le, W. (2000) Pramipexole inhibits lipid peroxidation and reduces injury in the substantia nigra induced by the dopaminergic neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in C57BL/6 mice. *Neurosci. Lett.* 281(2-3), 167-170.