

동물실험을 통한 솔잎(松葉) 유효성분의 항노화효과 구명 및 구조 해명 II. 간장의 세포막 유동성과 산화적 스트레스에 미치는 솔잎 추출물의 영향

최진호[†] · 김대익 · 박수현 · 김동우 · 이종수 · 김현숙*

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실

*숙명여자대학교 식품영양학과

Investigation of Anti-aging Effect and Determination of Chemical Structure of Pine Needle Extract (PNE) through Animal Experiments

II. Effects of PNE on Membrane Fluidity and Oxidative Stress in Liver of SD Rats

Jin-Ho Choi[†], Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Dong-Woo Kim, Jong-Soo Lee and Hyun-Sook Kim*

Lab. of Biochemistry, Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Department of Nutrition and Food Science, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Abstract

This study was designed to investigate the effects of pine (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc) needle extract (PNE) on membrane fluidity and oxidative stress in liver membranes of Sprague-Dawley (SD) rats as a study on investigation of anti-aging effect and determination of chemical structures of PNE through the animal experiments. Male SD rats were fed basic diets (control group) and experimental diets (0.5% and 1.0%-PNE group) for 6 weeks. Administrations of 0.5% and 1.0%-PNE resulted in a marked decreases (15~25% and 23~26%, respectively) in cholesterol accumulations of liver mitochondria and microsomes compared with control group. Membrane fluidities were significantly increased (15~25%) in liver microsomes of 0.5% and 1.0%-PNE groups compared with control group. Formations of basal and induced oxygen radicals (BOR and IOR) in liver mitochondria were significantly inhibited (11~12% and 10~15%, respectively) by administrations of 0.5% and 1.0%-PNE compared with control group. Lipid peroxide (LPO) levels were remarkably decreased about 20% in liver mitochondria and microsomes of 0.5% and 1.0%-PNE groups compared with control group. Oxidized protein levels calculated with carbonyl group were significantly decreased about 15% in liver mitochondria of 1.0%-PNE group compared with control group. These results suggest that PNE may play a effective role in a attenuating a oxidative stress and increasing a membrane fluidity.

Key words – Pine (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc), Lipid peroxide (LPO), Oxidized protein, Carbonyl group, Membrane fluidity, Basal oxygen radical (BOR).

[†] Corresponding author

서 론

전보(최 등, 1999)[15]에서 언급한 바와 같이 소나무(*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.)는 상록성 침엽수로서 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등 동북지방에 널리 자생하고 있다. 옛날부터 송향(松香)은 《신농본초경(神農本草經)》의上品에 송지(松脂)로서 수재되어 있고, “...풍(風)을 치료하고, 오장을 안정시키며 열을 내리게 한다. 오래 복용하면 몸이 가볍고, 늙지 않으며, 수명(天年)을 연장한다”는 기록이 있다(難波, 1980)[30]. 특히 솔잎은 《학포헌집(學圃軒集)》의 葉救荒說에 의하면 “솔잎은 위장에 위해가 없고 배고픔을 잊게 하며 음식을 절제하고 수명을 연장한다”고 하였고, 《동의보감(東醫寶鑑)》에는 “風濕癢을 主治하고 毛髮을 나게하며 오장을 편히 하여 수명을 연장한다”고 기록되어 있다(李, 1981)[29].

최근의 생리·생화학적 연구로서는 솔잎 첨가식이의 혈청 지질대사 연구(김 등, 1991)[19], 솔잎 추출물의 혈청 및 간장의 지질과 효소연구(강 등, 1996a-b)[18,19] 등이 있을 뿐이다. 최근 솔잎 추출물의 항암효과까지 연구되고 있다(Kong et al., 1995)[20]. 저자 등은 지금까지 생체의 노화의 메카니즘 구명연구의 일환으로 칼로리 제한 등 노화에 관한 연구를 수행하여 왔다(Choi et al., 1989; 1990; 1991a-b; 1994; 1995; 1996; 1998a-c; 1999; Yu and Choi, 1990)[1-11; 27]. 또한, 솔잎 추출물의 생리활성연구로서 혈청중의 지질 및 산소라디칼 대사(최 등, 1997)[12], 뇌세포막의 산소라디칼 및 제거효소에 관한 연구(최 등, 1998d)[13], 및 뇌세포막의 유동성 및 신경전달관련효소에 관한 연구(최 등, 1998e)[14]를 수행한 적이 있다.

본 연구에서는 전보(최 등, 1999)[15]의 관련연구로서, 송엽을 80% 에탄올로써 80℃에서 추출하여 감압·농축한 송엽 추출물(pine needle extract : PNE)을 0.5% 및 1.0%가 되도록 첨가하여 조제한 실험용 사료로써 6주동안 사육한 다음, 에테르 마취로 채혈후 간장을 절취하여 간장획분을 사용하여 간장의 세포막 유동성 및 산화적 스트레스에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

실험 동물모델

Sprague Dawley (SD)계 흰쥐(male rats: 160±10 g)를

한국화학연구소에서 구입하여 본 실험에 사용하였다. 사육 및 실험조건은 매일 오후 18:00에 체중의 측정과 함께 평량된 사료를 제공하고 다음 날 사료 잔량을 평량하여 사료 섭취량을 계산하였다. 동물사육실은 자동 조절(22±2℃; 65±2% RH)되고, 명암은 12시간 사이클(18:00~06:00)로 자동 조절된다.

실험용 사료조성

본 실험에 사용한 기본사료(control group)의 조성은 탄수화물 59.5%(corn starch 44.5%+sucrose 15.0%), 단백질 18.0%(sodium-free casein), 지질 15.0%(lard)로 하였고, 여기에 셀룰로오스(3.0%), 비타민 및 무기질 혼합물 각각 1.0% 및 3.5%로 첨가·혼합하여 조제하였다. 그리고 실험 그룹으로서 0.5%-PNE 및 1.0%-PNE 그룹의 사료조성은 기본사료의 조성에서 송엽 추출물을 각각 0.5% 및 1.0%를 첨가하는 대신, 탄수화물중의 corn starch를 각각 0.5% 및 1.0%만큼 줄여서 조제하였다.

솔잎의 추출

본 실험에 사용할 솔잎 추출물은 봄에 소나무(*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.)의 솔잎을 엄근하여 파쇄후, 80% 에탄올로써 추출·농축한 솔잎 추출물(pine needle extract : PNE)을 동결건조하여 분말로 만들어 본 실험에 사용하였다.

간장조직의 분획

또한 간장조직의 분획은 저자 등(Choi et al., 1990)의 방법[2]에 따라 HEPES완충용액(10 mM HEPES, 10 mM KCl, 280 mM sucrose, pH 7.4)을 사용하여 미토콘드리아, 마이크로솜 및 cytosol획분으로 분획하여 사용하였다. 이들 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등(1951)의 방법[24]에 따라 측정하였다.

콜레스테롤의 함량 측정

간장조직에서 분획한 mitochondria 및 microsome획분중의 콜레스테롤의 함량은 Rudel 등(1973)의 방법[25]에 따라 o-phthalaldehyde법으로 측정하여 표준 검량선에 의하여 이들 획분중의 콜레스테롤의 함량을 측정하였다.

세포막 유동성의 측정

간장의 mitochondria 및 microsome획분중의 세포막 유

동성(membrane fluidity)은 형광 probe로서의 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene(DPH)을 사용한 Heron 등의 방법 (1980)에 의한 형광분광법[16]에 따라 측정하였다. 50 mM 인산완충 용액(pH 7.2, 2750 μ l), 증류수(250 μ l), 시료(100 μ l)를 첨가·혼합하여 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 5분간 방치한 다음, probe인 0.167 mM TMA-DPH[1-(4-trimethylammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexatriene, *p*-toluenesulfonate] 용액을 6.67 μ l를 첨가·혼합하여 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 shaking하면서 30분간 반응시킨 후 37 $^{\circ}$ C을 유지하면서 형광광도계를 이용하여 360 nm (excitation)와 430 nm (emission)에서 측정하였다.

기초 및 유도산소라디칼의 정량

간장획분중에 있어서 산화적 스트레스(oxidative stress)의 유무를 확인하기 위해서 DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate)을 probe로 이용한 뇌세포의 mitochondria와 microsome획분의 기초활성산소(basal oxygen radical : BOR)의 생성량의 측정은 Lebel 등(1989)의 방법[22]에 따라 측정하였다. BOR의 측정은 기저상태와 라디칼 생성을 유도하기 위해 ascorbic acid와 FeSO₄·7H₂O로 자극한 유도상태의 두 가지 조건에서 비교 측정하였다. 기저상태와 라디칼 유도의 경우 모두 시료 500 μ l를 완충용액(40 mM Tris-HCl buffer pH 7.4)으로 10배 희석하고, probe인 5 μ M DCF-DA (Molecular probe, USA) 12 μ l를 첨가, 10,000 rpm 8분간 원심분리한다. 잔사를 40 mM Tris-HCl 3.0 ml에 녹인 후 라디칼 유도상태의 경우에는 1 mM ascorbic acid (300 μ l)와 100 μ M FeSO₄·7H₂O(150 μ l)를 혼합하였고 기저상태의 경우는 아무것도 첨가하지 않았다.

이후 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 후 37 $^{\circ}$ C 유지하면서 형광 강도의 변화를 형광광도계를 이용하여 488 nm (excitation)와 525 nm (emission)에서 측정하였다. 이 때 분광형광도의 변화를 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)을 표준품으로 해서 표준검량선에 의하여 생성된 DCF의 양(nmol/mg protein/min)으로 환산하고, 이 양으로써 기초산소라디칼(basal oxygen radical : BOR) 및 유도산소라디칼(induced oxygen radical : IOR)의 산소라디칼 생성량으로 정량하였다.

산화적 스트레스의 분석

(1) 과산화지질의 정량

간장획분중의 과산화지질의 함량은 Choi 등(1990)이 사

용한 방법[2]에 따라 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 함량을 측정하였다.

(2) 산화단백질의 정량

간장획분으로서 mitochondria와 microsome의 산화된 단백질의 함량은 Levine 등(1990)의 방법[23]에 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 3,000 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 $^{\circ}$ 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.

분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test(Steel 등, 1960)[26]로 실시하였다.

결과 및 고찰

간장 콜레스테롤의 함량

간장 콜레스테롤은 여러 가지 생리적 기능에 깊이 관계하고 있겠지만, 조직세포에서의 콜레스테롤의 침착은 생체의 항상성(homeostasis)과 밀접한 관계가 있는 세포막 유동성에도 상당한 지장을 초래할 것으로 추정된다. 따라서 이들 솔잎 추출물의 투여가 간장의 mitochondria 및 microsome획분의 콜레스테롤 침착에 미치는 영향을 분석하여 보면 Table 1과 같다.

간장 mitochondria에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 콜레스테롤의 함량은 각각 46.74 \pm 3.94, 41.21 \pm 3.12 mg/g protein으로서 대조그룹(55.59 \pm 3.49 mg/g protein : 100%)

Table 1. Effects of pine needle extract (PNE) on cholesterol levels in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Groups	Cholesterol levels (mg/g protein)			
	Mitochondria		Microsomes	
Control	55.59 ± 3.46 [*]	-	36.67 ± 1.80 [*]	-
0.5%-PNE	46.74 ± 3.94 ^a	(84.1%) ^{**}	28.19 ± 2.53 ^b	(76.9%)
1.0%-PNE	41.21 ± 3.12 ^b	(74.1%)	27.16 ± 2.98 ^b	(74.1%)

*Mean ± SD with 8 rats per group; **Percent of control values; ^ap < 0.01; ^bp < 0.001 compared with control group.

대비 84.1%, 74.1%로서, 약 15~25%의 콜레스테롤의 침착을 매우 유의적으로 억제하고 있었다. 또한 간장 microsomes에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 콜레스테롤의 함량은 각각 28.19 ± 2.53, 27.16 ± 2.98 mg/g protein으로서 대조그룹(36.67 ± 1.80 mg/g protein : 100%) 대비 76.9%, 74.1%로서, 약 23~26%의 콜레스테롤의 침착을 매우 효과적으로 억제하고 있었다. 어펄튼 솔잎 추출물의 투여는 조직세포의 콜레스테롤의 침착을 유의적으로 억제하고 있다는 사실은 매우 중요한 의미를 갖고 있다고 판단된다.

세포막 유동성의 평가

우리가 살아가는데 생체의 항상성(homeostasis)만큼 매우 중요한 것은 없다. 그 이유는 세포막 유동성(membrane fluidity : MF)이 좋아야 항상성을 유지할 수 있고 체내 대사가 원활하게 진행될 수 있기 때문이다. 그런 의미에서 세포막 유동성에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 평가하여 보면 Fig. 1과 같다.

간장 microsomes에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 MF는 각각 0.85 ± 0.03, 0.92 ± 0.02% polarization으로서 대조그룹(0.74 ± 0.04% polarization : 100%) 대비 114.9%, 124.3%로서, 약 15~25%의 세포막 유동성을 매우 효과적으로 향상시키고 있다는 사실을 알 수 있었다. 어펄튼 솔잎 추출물의 투여는 조직세포중의 콜레스테롤의 침착을 유의적으로 억제하여 세포막의 유동성을 촉진할 것으로 기대된다. 저자 등(Choi et al., 1995)은 이미 뇌의 synaptosome획분의 세포막 유동성을 측정하여 본 결과, 칼로리 제한에 의하여 세포막 유동성이 유의적으로 증가된다는 사실을 구명하여 학회에 보고한 적이 있다[6].

기초 및 유도산소 라디칼의 평가

지금까지의 노화의 메카니즘에 관련학설은 Harman (1956)의 'Free Radical Theory'이 일반화되면서 지질과산화

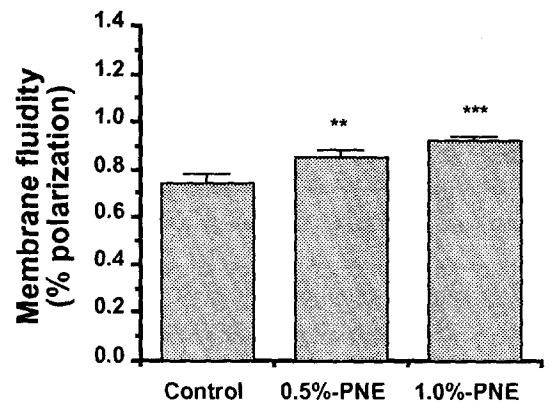
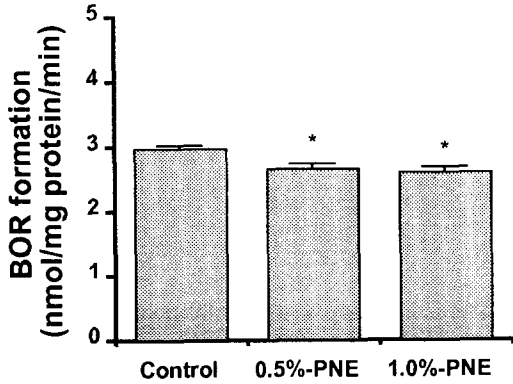


Fig. 1. Effects of pine needle extract (PNE) on membrane fluidity in liver microsomes of SD rats for 6 weeks. **p < 0.01; ***p < 0.001 compared with control group.

중심의 연구가 진행되어 왔지만[16], 최근들어 산화적 스트레스설(oxidative stress theory)이 성인병을 유발하고 노화를 촉진한다는 사실이 널리 통용되기 시작하고 있다(Yu, 1996)[30]. 혈청 및 뇌조직 세포의 산화적 스트레스(oxidative stress)로서 기초 및 유도산소 라디칼의 생성 억제효과를 평가하기 위하여 DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate)를 probe로 이용하여 간장세포의 mitochondria획분의 기초산소라디칼(basal oxygen radical : BOR) 및 유도산소라디칼(induced oxygen radical : IOR)로 구분하여 활성산소 생성에 미치는 솔잎 추출물의 투여효과를 분석하여 보면 Fig. 2와 같다.

0.5% 및 1.0%-PNE의 투여에 의한 mitochondria획분에서 BOR의 생성은 각각 2.65 ± 0.10, 2.61 ± 0.01 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(2.98 ± 0.06 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 88.9% 및 87.6%로서 11~12%의 유의적인 BOR의 억제효과가 인정되었다. 또한 0.5% 및 1.0%-

(A) Basal oxygen radical formation



(B) Induced oxygen radical formation

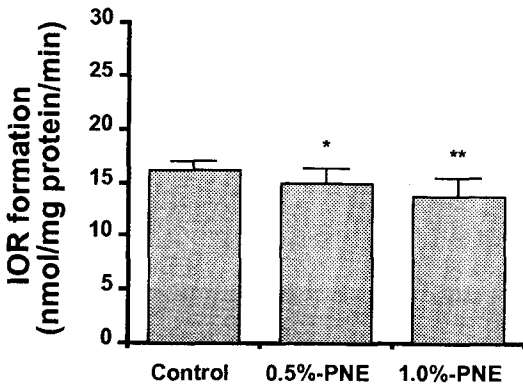


Fig. 2. Effects of pine needle extract (PNE) on basal and induced oxygen radicals (BOR; IOR) formations in liver mitochondria of SD rats for 6 weeks. *p<0.05; **p<0.01 compared with control group.

PNE의 투여에 의한 mitochondria획분에서 IOR의 생성은 각각 14.54 ± 1.30 , 13.73 ± 1.64 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(16.11 ± 0.95 nmol/mg protein/min : 100%) 대비

각각 90.3% 및 85.2%로서 10~15%의 유의적인 IOR의 억제 효과가 인정되었다.

산화적 스트레스의 평가

(1) 과산화지질의 억제효과

활성산소의 공격에 따라 세포막의 지질성분이 과산화반응에 의하여 생성되는 말ondi알데히드(malondialdehyde : MDA)를 측정하여 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 함량을 계산하여 비교하여 보면 Table 2와 같다. LPO는 강력한 세포독성으로 작용하기 때문에 성인병의 발병지표 및 노화의 지표로서 널리 사용되고 있다.

0.5% 및 1.0%-PNE의 투여에 의한 mitochondria획분에서 LPO의 생성은 각각 1.69 ± 0.06 , 1.71 ± 0.12 nmol/mg protein으로서 대조그룹(2.11 ± 0.28 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 80.9% 및 81.0%로서 거의 20%의 유의적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 0.5% 및 1.0%-PNE의 투여에 의한 microsomes획분에서 LPO의 생성은 각각 1.83 ± 0.05 , 1.89 ± 0.10 nmol/mg protein으로서 대조그룹(2.31 ± 0.16 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 79.2% 및 81.8%로서 역시 20%의 유의적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다.

(2) 산화단백질의 억제효과

활성산소(oxygen radicals)의 공격에 따라 간장 세포막의 단백질 성분의 산화를 촉진하여 산화단백질(oxidized protein)을 생성하는 것으로 알려져 있다. 간장 세포막을 기질로 하여 2,4-dinitrophenyl hydrazine을 사용하여 산화단백질의 생성에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 비교하여 보면 Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 0.5% 및 1.0%-PNE의 투여에 의한 mitochondria획분에서 carbonyl group의 생성은 각각

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

Groups	Lipid peroxide level (nmol/mg protein)		
	Mitochondria		Microsomes
Control	$2.11 \pm 0.28^*$	-	$2.31 \pm 0.16^*$
0.5%-PNE	1.69 ± 0.06^a	(80.9%)**	1.83 ± 0.05^a (79.2%)
1.0%-PNE	1.71 ± 0.12^a	(81.0%)	1.89 ± 0.10^a (81.8%)

*Mean±SD with 8 rats per group; **Percent of control values; ^ap<0.001 compared with control group.

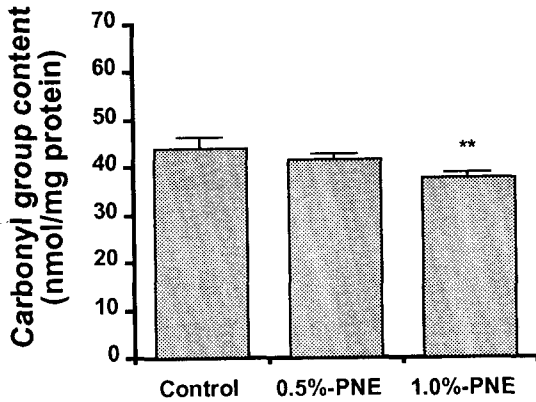


Fig. 3. Effects of pine needle extract (PNE) on carbonyl group contents in liver mitochondria of SD rats for 6 weeks.

**p<0.01 compared with control group.

41.54 ± 1.25, 37.81 ± 1.09 nmol/mg protein으로서 대조그룹 (44.23 ± 2.29 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 93.9% 및 85.5%로서, 0.5%-PNE는 carbonyl group의 생성을 억제해도 유의성은 인정할 수 없었지만, 1.0%-PNE는 약 15% 정도 매우 효과적으로 carbonyl group의 생성을 효과적으로 억제하여 산화단백질의 생성을 유의적으로 억제한다는 사실을 알 수 있었다.

이상과 같이 간장의 유동성 및 산화적 스트레스에 미치는 술잎 추출물의 영향을 비교·평가하여 본 결과, 술잎 추출물의 0.5%~1.0%의 투여에 의하여 간장중의 콜레스테롤의 침착 억제, 세포막 유동성의 증가, BOR 및 IOR의 생성 억제, 및 LPO 및 carbonyl group의 생성을 효과적으로 억제하는 등 생체의 방어기전에 술잎의 유효성분이 매우 효과적일 것으로 기대된다.

요 약

술잎 추출물(pine needle extract : PNE)을 0.5% 및 1.0% 씩 첨가·조제한 실험용 사료로서 SD계 흰쥐를 사용하여 6주동안 사육하여 간장을 절취하여 간장의 세포막 유동성 및 산화적 스트레스에 미치는 술잎 유효성분의 영향을 평가하였다. 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 간장 mitochondria 및 microsome획분의 콜레스테롤의 침착 억제효과는

대조그룹 대비 각각 15~25% 및 23~26%정도 매우 유의적으로 콜레스테롤의 침착을 억제하여 간장의 세포막 유동성을 매우 좋게할 것으로 기대된다. 간장 microsomes에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 세포막 유동성이 대조그룹 대비 114.9%, 124.3%로서, 약 15~25%의 유동성이 매우 효과적으로 증가됨을 알 수 있었다. 간장의 mitochondria에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 기초산소라디칼(BOR) 및 유도산소라디칼(IOR)의 생성은 대조그룹 대비 각각 11~12%의 BOR 및 10~15%의 IOR의 생성을 매우 효과적으로 억제하여 간장의 지질 및 단백질의 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 것으로 기대된다.

술잎 추출물의 산화적 스트레스에 미치는 영향을 평가하여 보면 0.5% 및 1.0%-PNE의 투여그룹의 간장 mitochondria 및 microsome에서 LPO의 생성은 대조그룹 대비 80.9% 및 81.0%, 79.2% 및 81.8%로서, 둘다 20%정도의 매우 효과적인 LPO 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 0.5% 및 1.0%-PNE의 투여그룹의 간장 mitochondria획분에서 carbonyl group의 생성은 각각 93.9% 및 85.5%로서, 0.5%-PNE는 carbonyl group의 생성을 억제해도 유의성은 인정할 수 없었지만, 1.0%-PNE는 약 15% 정도 매우 효과적으로 carbonyl group의 생성을 효과적으로 억제하여 산화단백질의 생성을 유의적으로 억제하였다. 따라서 0.5% 및 1.0%-술잎 추출물의 투여는 콜레스테롤의 침착을 효과적으로 억제하여 세포막 유동성을 향상시킬 뿐만 아니라 BOR 및 IOR의 생성 억제로 과산화지질(LPO) 및 산화단백질(oxidized protein)의 생성을 효과적으로 억제할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 '98보건의료기술연구개발사업비의 연구비 지원으로 이루어졌습니다. 연구비 지원에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1989. The effect of food restriction on kidney membrane structures of aging rats. *Age* 12, 133-136.
2. 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.
3. Choi, J. H. 1991a. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.*, **23**(1), 61-70.
 4. Choi, J. H. 1991b. Modulation of the aging process by food restriction. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **20**(2), 187-196.
 5. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1994. Studies on age-related physiological changes in brain of senescence accelerated mouse(SAM). *Kor. J. Gerontol.*, **4**(2), 61-70.
 6. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1995. Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med.* **18**(2), 133-139.
 7. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1998a. The effects of dietary restriction on age-related changes in rat serum prostaglandins. *J. Nutr. Health & Aging* **2**(3), 451-455.
 8. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1998b. Dietary restriction as a modulator of age-related changes in rat kidney prostaglandin production. *J. Nutr. Health & Aging* **2**(3), 456-460.
 9. Choi, J. H., Kim, D. W. and Yu, B. P. 1998c. Modulation of age-related alterations of iron, ferritin, and lipid peroxidation in rat brain synaptosomes. *J. Nutr. Health & Aging* **2**(3), 461-465.
 10. Choi, J. H., Kim, J. I., Kim, D. W., Moon, Y. S., Chung, H. Y. and Yu, B. P. 1996. Analysis of lipid composition and hydroxyl radicals in brain membranes of senescence-accelerated mice. *Age* **19**, 1-5.
 11. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1999. The effects of dietary restriction on age-related changes in rat serum prostaglandins. *Age & Nutrition* **10**(1), 47-51.
 12. Choi, J. H., D. W. Kim, J. H. Kim, K. S. Kim and J. S. Lee. 1997. Effect of pine needle extract (PNE) on physiological activity of SD rats I. Feeding effect of PNE on lipid and oxygen radical metabolisms in serum of SD rats. *Korean J. Life Sci.* **7**(4), 371-376.
 13. Choi, J. H., J. H. Kim, D. W. Kim, K. S. Kim and J. S. Lee. 1998d. Effect of pine needle extract (PNE) on physiological activity of SD rats. II. Feeding effect of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in brain membranes of SD rats. *Korean J. Life Sci.* **8**(1), 91-96.
 14. Choi, J. H., J. H. Kim, D. W. Kim, C. H. Hwang and J. S. Lee. 1998e. Effect of pine needle extract (PNE) on physiological activity of SD rats. III. Feeding effect of PNE on fluidity and neurotransmitter-related enzymes in brain membranes of SD rats. *Korean J. Life Sci.* **8**(2), 162-172.
 15. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim and H. S. Kim. 1999. Investigation of anti-aging effect and determination of chemical structures of pine needle extract (PNE) through the animal experiments I. Effects of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korean J. Life Sci.*, **8**(4) submitted.
 16. Harman, D. 1956. Aging : a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**, 298-300.
 17. Heron, D. S., Shinitzky, M., Hershkowitz, M. and Samuel, D. 1980. Lipid fluidity markedly modulates the binding of serotonin to mouse brain membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **12**, 7463-7467.
 18. Kang, Y. H., Y. K. Park, T. Y. Ha and K. D. Moon. 1996. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**(3), 367-373.
 19. Kang, Y. H., Y. K. Park, T. Y. Ha and K. D. Moon. 1996. Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**(3), 374-378.
 20. Kim, J. D., T. H. Yoon, N. Choi, K. J. Im, J. S. Ju and S. Y. Lee. 1991. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Korean J. Gerontol.*, **1**(1), 47-50.
 21. Kong, Z., Liu, Z. and Ding, B. 1995. Study on the antimutagenic effect of pine needle extract. *Mutat. Res. Aug.* **347**(3-4), 101-104.
 22. Lebel, C. P., Odunze, I. N., Jr. A. and Bondy, S. C. 1989. Perturbations in cerebral oxygen radical formation and membrane order following vitamin E deficiency. *Biochem. & Biophysic. Res. Com.* **163**(2), 860-866.
 23. Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., 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.
 24. 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.
 25. Rudel, L. L. and Morris, M. D. 1973. Determination of cholesterol using *o*-phthalaldehyde. *J. Lipid Res.* **14**, 364-366.
 26. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill. New York.
 27. Yu, B. P., Lee, D. W., Marler, C. G. and Choi, J. H.

1990. Mechanism of food restriction: Protection of cellular homeostasis. *Soc. Exp. Biol. Med.* **193**, 13-15.
28. Yu, B. P. 1996a. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad. Biol. Med.* **21**, 651-668.
29. 李盛雨. 1981. 韓國食經大典 : 서울, 鄉文社 pp. 414-417.
30. 難波恒雄. 1980. 原色和漢藥圖鑑(下) : 東京, 保育社 pp. 191-194.