

## 뇌 세포막의 유동성과 산화적 스트레스에 미치는 솔잎(Pine Needle) 에틸아세테이트획분의 영향

최진호\* · 김대익 · 백승진 · 박시향 · 김남주 · 조원기<sup>1</sup> · 김군자<sup>2</sup> · 김창목<sup>3</sup>

부경대학교 생화학교실, <sup>1</sup>조아제약(주)  
<sup>2</sup>밀양대학교 식품과학과, <sup>3</sup>한국산업정보기술연구원 생화학실

## Effects of Pine Needle Ethyl Acetate Fraction on Membrane Fluidity and Oxidative Stress in Brain Membranes of Rats

Jin-Ho Choi\*, Dae-Ik Kim, Seung-Jin Baek, Si-Hyang Park, Nam-Ju Kim,  
Weon-Ki Cho<sup>1</sup>, Koon-Ja Kim<sup>2</sup> and Chang-Mok Kim<sup>3</sup>

Lab. of Biochemistry, Pukyong National University,  
<sup>1</sup>Choa Pharmacy Co. Ltd., <sup>2</sup>Dept of Food Science, Miryang National University  
<sup>3</sup>Dept of Biochemistry, Korea Institute of Industry and Technology Information

### Abstract

This study was designed to investigate the effects of ethyl acetate (EtOAc) fraction of pine (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc) needle on membrane fluidity (MF), basal and induced oxygen radical (BOR and IOR), lipid peroxide (LPO) and oxidized protein (OP) as a oxidative stress, and lipofuscin (LF) in brain membranes of Sprague-Dawley (SD) rats. Male SD rats were fed basic diets (control) and experimental diets (EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100) for 45 days. MF was significantly increased (about 10%) in mitochondria of EtOAc-100 group. BOR and IOR formations in mitochondria were significantly inhibited (about 9~10% and 17~24%, respectively) in EtOAc-50 and EtOAc-100 groups, while BOR and IOR formations in microsomes were significantly inhibited (about 12~17% and 12~16%, respectively) in EtOAc-50 and EtOAc-100 groups compared with control group. LPO levels in mitochondria and microsomes were significantly inhibited (about 9~12% and 12~19%, respectively) in EtOAc-50 and EtOAc-100 groups, whereas significant difference between OP or LF levels and control group in these membranes could not be obtained. These results suggest that administrations of ethyl acetate fraction of pine needle may play an effective role in an attenuating an oxidative stress and in increasing membrane fluidity.

**Key words** – Pine (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc), Lipid peroxide (LPO), Oxidized protein, Carbonyl group, Membrane fluidity(MF), Lipofuscin (LF).

### 서 론

소나무(*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.)는 상록성 침엽수

로서 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등 극동지방에 널리 자생하고 있다. 옛날부터 송향(松香)은 《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. 특히 솔잎은 《學圃軒集》의 葉救荒說에 의하면 “솔잎은

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 051-620-6332, Fax : 051-628-6343  
E-mail : jhchoi@pknu.ac.kr

위장에 위해가 없고 배고픔을 잊게 하며 음식을 절제하고 수명을 연장한다”고 하였고, 《東醫寶鑑》에는 “風濕瘡을 主治하고 毛髮을 나게 하며 오장을 편히 하여 수명을 연장한다”고 기록되어 있다[22]. 최근의 생리·생화학적 연구로서는 솔잎 첨가식이의 세포독성 및 지질대사 연구[14-15], 솔잎 추출물의 혈청 및 간장의 지질함량과 효소활성 연구 [12-13] 등이 있다. 최근 솔잎 추출물의 항암효과까지 연구 되고 있다[16]. 최근 솔잎 추출물의 생리활성연구로서 혈청 중의 지질 및 산소라디칼 대사에 관한 연구[5], 뇌세포막의 산소라디칼 및 제거효소에 관한 연구[6], 및 뇌세포막의 유동성 및 신경전달관련효소에 관한 연구[7]를 수행한 적이 있다.

본 연구는 전보[8]와의 관련연구로서, 솔잎을 80% 메탄올로써 80℃에서 추출하여 감압·농축한 솔잎 추출물을 용매분획법에 따라 분획한 ethyl acetate (EtOAc) 획분을 농도별로 사료에 첨가·조제한 사료로써 SD계 랫트에 45일동안 투여하여 뇌조직의 세포막 유동성 및 산화적 스트레스에 미치는 영향을 평가하여 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

## 재료 및 방법

### 시료 분리 및 동물모델

실험에 사용할 솔잎 추출물은 소나무(*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.)의 솔잎을 지난 해 4월 부경대 식품생명공학부에서 수집하여 파쇄 후 후(8.5 kg), 80% methanol로써 추출·농축한 솔잎 추출물(2.1 kg)을 용매분획법에 따라 EtOAc획분을 동결·건조하여 210 g을 분리하여 실험에 사용하였다. 동물실험은 Sprague Dawley계 랫트 (male : 160±10 g)를 한국화학연구소에서 구입하여 실험에 사용하였다. 사육 및 실험조건은 매일 18 : 00에 사료와 물을 공급하였다. 동물 사육실은 자동조절 (22±2℃; 65±2% RH)되고, 명암도 12 시간 사이클 (18:00~06:00)로 조절된다. 실험사료의 조성은 전보[8]와 같이 조제하여 SD계 랫트에 45일동안 투여하여 동물실험을 실시하였다.

### 뇌조직의 분획

뇌조직의 분획은 Choi와 Yu의 방법[1]에 따라 균질 완충용액(1.15% KCl/10 mM phosphate buffer/5 mM EDTA,

pH 7.4)을 사용, 균질화한 다음 700×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 다시 9,000×g에서 15분간 원심분리한다. 이 때 생긴 잔사는 균질 완충용액으로써 정용하여 mitochondria획분으로 하였고, 상층액은 다시 105,000×g에서 60분간 원심분리하여 얻은 잔사를 같은 완충용액으로 정용하여 microsome획분으로 사용하였다. 이들 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법 [20]에 따라 측정하였다.

### 세포막 유동성의 측정

뇌조직의 mitochondria 및 microsome획분중의 세포막 유동성(MF)은 형광 probe로서의 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH)을 사용한 Heron 등의 방법 [11]에 의한 형광 분광법으로 측정하였다. 50 mM 인산완충용액(pH 7.2, 2,750 μl), 증류수(250 μl), 시료(100 μl)를 첨가·혼합하여 37℃ 항온 수조에서 5분간 방치한 다음, probe인 0.167 mM TMA-DPH[1-(4-trimethyl-ammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexatriene, p-toluene-sulfonate] 용액을 6.67 μl를 첨가·혼합하여 37℃ 항온 수조에서 shaking하면서 30분간 반응시킨 후 37℃을 유지하면서 형광광도계를 이용하여 360 nm (excitation)와 430 nm (emission)에서 측정하였다.

### 기초 및 유도산소라디칼의 정량

뇌조직 중의 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 등의 방법 [17]에 따라 전보 [8]와 같은 방법으로 정량하였다.

### 산화적 스트레스의 분석

한편 뇌조직 중의 과산화지질(LPO)의 함량은 Choi 등의 방법 [2]에 따라 분광광도계(Luminescence Spectrophotometer, Aminco-Bowman, U.S.A.)를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA)의 함량을 측정하여 LPO의 함량으로 정량하였다. 또한 뇌조직의 mitochondria와 microsomes획분의 산화단백질의 함량은 Levine 등의 방법 [19]에 따라 carbonyl group의 생성량을 측정하였다.

리포푸신 함량의 측정

노화색소로서 리포푸신(lipofuscin)의 측정은 Fletcher 등의 방법 [10]에 따라 조직의 표면에 수분과 오물을 제거한 후 뇌조직 0.2 g에 chloroform-methanol(2:1, v/v) 혼합용액 4.0 ml에 첨가 후 1분간 균질화시킨후 원심분리하여 chloroform층 2.0 ml를 분취하여 형광광도계를 사용, 345 nm (excitation)와 435 nm (emission)에서 표준용액 (quinine sulfate µg/ml of 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)을 대조군으로 형광도를 측정하여 리포푸신의 함량(µg/mg protein)을 정량하였다.

분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test [24]로 실시하였다.

결과 및 고찰

뇌조직의 세포막 유동성 평가

뇌조직중의 시냅토솜에서의 도파민 흡수 [21], GABA (γ-aminobutyric acid)의 전달 [25] 및 시냅토솜에 대한 활성산소의 영향[1,3] 등 신경의 자극전달에 뇌세포막의 유동성은 매우 중요한 역할을 할 것으로 기대된다. 각종 장기의 기능에 상당한 영향을 미치는 것으로 알려진 뇌조직 세포막의 유동성(membrane fluidity: MF)에 미치는 술잎 EtOAc 획분의 영향을 비교하여 보면 Table 1과 같다. EtOAc-25, EtOAc-50 및 EtOAc-100투여그룹의 뇌조직 mitochondria에서 MF는 4.51±0.17, 4.72±0.29 및 4.89±0.28% polarization으로서 대조그룹의 MF (4.49±0.32% polarization : 100%) 대비 각각 100.4%, 105.1% 및 108.9%의 증가효과로 나타났지만, 유의성은 EtOAc-100투여그룹에서만 약 10%

가 인정되었다. 또한 뇌조직의 microsome획분에서는 이들 EtOAc획분의 세 가지 투여그룹에서 모두 유의적인 MF의 증가효과를 기대할 수 없었다. 이러한 사실은 송엽 추출물 (PNE) 투여와는 전혀 다른 경향을 나타내고 있지만[7], 간장 획분 중의 MF의 증가경향과 거의 같은 경향을 나타내고 있었다[8]. 또한 뇌조직의 BuOH획분과의 비교에서는 mitochondria 및 microsome의 두 획분에서 다같이 EtOAc 획분보다 효과적임을 알 수 있었다[9]. 따라서 뇌나 간장 조직 중에서 MF의 증가효과에 술잎의 EtOAc획분이 아니라는 사실이 입증되었다.

기초 및 유도산소라디칼의 평가

활성산소(oxygen radicals)는 생체에 대한 유해한 독성 산소로서, 이것이 세포막의 지질성분이나 단백질 및 핵산을 공격하여 여러 가지 질병을 유발하고 노화를 촉진하는 것으로 알려져 있다[21,3-4]. 따라서 SD계 랫트에 대한 술잎 EtOAc획분의 투여에 의한 기초활성산소(BOR) 및 유도활성산소(IOR)의 생성에 미치는 영향을 분석하여 본 결과는 Table 2와 같다. EtOAc-25, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹의 mitochondria획분에서 BOR의 생성은 8.11±0.75, 7.80±0.62 및 7.71±0.38 nmol/mg protein/min로서 대조그룹(8.59±0.44 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 5.6%, 9.2% 및 10.2%의 용양의존적으로 BOR의 생성을 억제하였지만, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서만 9.2~10.2%의 유의적인 BOR의 생성 억제효과가 인정되었다.

Microsome획분에서도 BOR의 생성은 1.80±0.07, 1.60±0.08 및 1.51±0.12 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹 (1.81±0.05 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 0.6%, 11.6% 및 16.6%의 BOR의 생성 억제효과가 나타났지만, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서만 11.6~16.6%의 유

Table 1. Effects of pine needle ethyl acetate fractions on membrane fluidities in brain membranes of SD rats for 45 days

Fractions	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
Mitochondria	4.49±0.32 <sup>*</sup>	4.51±0.17	4.72±0.29	4.89±0.28 <sup>a</sup>
	-	100.4% <sup>**</sup>	105.1%	108.9%
Microsomes	4.61±0.22	4.63±0.15	4.68±0.14	4.82±0.16
	-	100.4%	101.5%	104.6%

EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100: Ethyl acetate fraction of 25, 50 and 100 mg/kg BW/day added to control diet; <sup>\*</sup>Mean±SD with 7 rats per group; <sup>\*\*</sup>Percent of control values; <sup>a</sup>p<0.05 compared with control group.

Table 2. Effects of pine needle ethyl acetate fractions on basal and induced oxygen radicals in brain membranes of SD rats for 45 days

Groups	Oxygen radical formation (nmol/mg protein/min)			
	Mitochondria		Microsomes	
Basal oxygen radical (BOR)				
Control	8.59±0.44 <sup>*</sup>	—	1.81±0.05	—
EtOAc-25	8.11±0.75	94.4% <sup>**</sup>	1.80±0.07	99.4%
EtOAc-50	7.80±0.62 <sup>a</sup>	90.8%	1.60±0.08 <sup>a</sup>	88.4%
EtOAc-100	7.71±0.38 <sup>a</sup>	89.8%	1.51±0.12 <sup>b</sup>	83.4%
Induced oxygen radical (IOR)				
Control	20.83±1.62 <sup>*</sup>	—	7.21±0.11	—
EtOAc-25	19.12±1.11	91.8% <sup>**</sup>	7.02±0.31	97.4%
EtOAc-50	17.27±1.66 <sup>b</sup>	82.9%	6.34±0.26 <sup>a</sup>	87.9%
EtOAc-100	15.84±0.96 <sup>c</sup>	76.0%	6.05±0.80 <sup>b</sup>	83.9%

EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100: Ethyl acetate fraction of 25, 50 and 100 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>\*</sup>Mean±SD with 7 rats per group; <sup>\*\*</sup>Percent of control values; <sup>a</sup>p<0.05; <sup>b</sup>p<0.01; <sup>c</sup>p<0.001 compared with control group.

의적인 BOR의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서만 의존적 mitochondria 및 microsome획분에서 각각 17.1% 및 24.0%, 12.1% 및 16.1%의 유의적인 IOR의 생성 억제효과가 인정되었다.

이상의 결과에서 볼 때 기초 및 유도상태에서 EtOAc획분의 투여중에서 EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서 효과적인 활성산소의 생성을 억제할 수 있다. 이들 활성산소의 공격에 의해 유도될 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

한 가지 흥미로운 사실은 뇌조직의 BuOH획분과의 비교에서 BOR는 BuOH 획분이 효과적인 반면 IOR는 EtOAc획분이 효과적이라는 상반된 결과를 나타내고 있어서 추가적인 실험이 요구된다[9].

산화적 스트레스의 평가

활성산소 중에서 전체적으로 볼 때 전향에서 지적했듯

이 BOR 및 IOR를 비롯하여 superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)나 hydroxyl radical (·OH)의 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 돌연변이(mutation)의 생성 등을 들 수 있다. 따라서 이들 산화적 스트레스의 평가는 LPO는 말론디알데히드 (MDA), 산화단백질은 카르보닐그룹(>C=O group)의 측정 및 핵산의 산화는 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가할 수 있다[23]. 세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병 (chronic degenerative diseases)과 노화의 지표물질로 알려져 있다[27-28]. EtOAc획분의 투여에 의한 뇌조직중의 LPO의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 3과 같다.

뇌조직의 mitochondria획분에서 EtOAc-25, EtOAc-50, EtOAc-100투여그룹의 LPO의 생성량은 4.17±0.17, 3.98±

Table 3. Effects of pine needle ethyl acetate fractions on lipid peroxide (LPO) of brain membranes of SD rats for 45 days

Fractions	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
Mitochondria	4.35±0.24 <sup>*</sup>	4.17±0.17	3.98±0.19 <sup>a</sup>	3.83±0.09 <sup>b</sup>
	—	95.9% <sup>**</sup>	91.5%	88.0%
Microsomes	1.46±0.12	1.40±0.07	1.29±0.06 <sup>a</sup>	1.19±0.12 <sup>c</sup>
	—	95.9%	88.4%	81.5%

EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100: Ethyl acetate fraction of 25, 50 and 100 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>\*</sup>Mean±SD (nmol/mg protein) with 7 rats per group; <sup>\*\*</sup>Percent of control values; <sup>a</sup>p<0.05, <sup>b</sup>p<0.01; <sup>c</sup>p<0.001 compared with control group.

0.19 및  $3.83 \pm 0.09$  nmol/mg protein으로서 대조그룹의 LPO의 생성량( $4.35 \pm 0.24$  nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 4.1%, 8.5%, 12.0%의 용량의존적인 LPO의 생성 억제 효과가 나타났지만, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서 8.5~12.0%의 유의적인 LPO의 생성 억제 효과가 인정되었다. 또한 뇌조직의 microsome획분에서 EtOAc-25, EtOAc-50, EtOAc-100투여그룹의 LPO의 생성량은  $1.40 \pm 0.07$ ,  $1.29 \pm 0.06$  및  $1.19 \pm 0.12$  nmol/mg protein으로서 대조그룹의 LPO의 생성량 ( $1.46 \pm 0.12$  nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 4.1%, 11.6%, 18.5%의 용량의존적인 LPO의 생성 억제 효과가 나타났지만, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서 11.6~18.5%의 유의적인 LPO의 생성 억제 효과가 인정되었다.

뇌조직의 BuOH획분과의 비교에서 mitochondria획분의 LPO의 생성 억제 효과가 BuOH획분이 약간 효과적인 반면 microsome획분의 LPO의 생성 억제 효과는 EtOAc획분이 약간 효과적이란 사실도 흥미로운 결과로서 추가적인 추사가 요구된다[9].

뇌조직 세포의 단백질 성분이 활성산소의 공격을 받아 생성되는 카르보닐 그룹의 생성에 미치는 솔잎 EtOAc획분의 투여효과를 평가하기 위하여 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량을 분석하여 본 결과는 Table 4와 같다. 뇌조직의 mitochondria획분에서 EtOAc-25, EtOAc-50, EtOAc-

100투여그룹의 OP의 생성량은  $14.24 \pm 1.26$ ,  $13.91 \pm 0.61$  및  $13.74 \pm 0.94$  ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량( $14.59 \pm 0.88$  ng/mg protein : 100%) 대비 각각 2.4%, 4.7%, 5.8%의 OP의 생성 억제 효과로 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다. Microsome획분의 OP의 생성량도 용량의존적으로 OP의 생성량이 감소하였지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 이러한 사실도 전보[8]의 간장 미토콘드리아 획분에서는 EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹의 OP의 생성 억제 효과와는 상당한 차이가 있었다.

뇌조직의 BuOH획분과의 비교에서 mitochondria획분의 OP의 생성 억제 효과가 BuOH획분이 훨씬 효과적인 반면 microsome획분의 OP의 생성 억제 효과는 EtOAc획분과 큰 차이를 발견할 수 없었다[9].

#### 리포푸신의 생성 억제효과

리포푸신(lipofuscin : LF)은 연령의 증가에 따라 얼굴 등 피부를 비롯하여 여러 가지 장기에 침착하는 노화색소로 알려져 있기 때문에 LF의 생성량은 바로 노화의 지표로 사용되고 있다. 뇌조직중의 LF의 침착에 미치는 솔잎 EtOAc획분의 투여영향을 비교하여 보면 Table 5와 같다. 뇌조직 파쇄액의 chloroform획분을 사용하여 LF의 생성에 미치는 EtOAc획분의 영향을 비교하여 보면 EtOAc-25, EtOAc-50, EtOAc-100 투여그룹의 LF의 생성량은  $1.44 \pm 0.04$ ,  $1.42 \pm$

Table 4. Effects of ethyl acetate fractions on oxidized protein (OP) levels in brain membranes of SD rats for 45 days

Fractions	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
Mitochondria	$14.59 \pm 0.88^a$ -	$14.24 \pm 1.26$ 97.6%**	$13.91 \pm 0.61$ 95.3%	$13.74 \pm 0.94$ 94.2%
Microsomes	$4.43 \pm 0.32$ -	$4.29 \pm 0.17$ 96.8%	$4.21 \pm 0.13$ 95.0%	$4.03 \pm 0.37^a$ 91.0%

EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100: Ethyl acetate fraction of 25, 50 and 100 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean  $\pm$  SD (ng/mg protein) with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values. <sup>c</sup> $p < 0.05$  compared with control group.

Table 5. Effects of pine needle ethyl acetate fractions on lipofuscin (LF) levels in brain of SD rats for 45 days

Fractions	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
CHCl <sub>3</sub> layer	$1.45 \pm 0.07^a$ -	$1.44 \pm 0.04$ 99.3%**	$1.42 \pm 0.05$ 97.9%	$1.35 \pm 0.06$ 93.1%

EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100: ethyl acetate fraction of 25, 50 and 100 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean  $\pm$  SD ( $\mu$ g/mg protein) with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values.

0.05,  $1.35 \pm 0.06 \mu\text{g}/\text{mg protein}$ 으로서 대조그룹( $1.45 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{mg protein}$  : 100%) 대비 각각 0.7%, 2.1%, 6.9%의 LF의 축적 억제가 나타났지만, 유의성은 전혀 기대할 수 없었다. 이러한 사실은 전보[8]의 간장의 세포막의 리포푸신의 생성 억제효과와는 상당한 차이가 있음을 알 수 있었다. 또한 뇌조직의 BuOH획분과의 비교에서 LF의 생성 억제효과는 BuOH획분이 EtOAc획분보다 훨씬 효과적임을 알 수 있었다[9].

## 요 약

뇌 세포막 유동성의 촉진 및 LPO 생성의 억제효과는 중풍 등 뇌혈관질환을 억제할 수 있을 뿐만 아니라 혈관성 치매의 예방에도 크게 기여할 것으로 기대된다[26,18]. 따라서 솔잎 EtOAc획분을 하루 25, 50, 100 mg/kg BW로써 SD계 랫트에 45일동안 투여하여 뇌조직중의 세포막 유동성 (membrane fluidity : MF), 기초 및 유도활성산소(BOR 및 IOR), 산화적 스트레스로서 과산화지질(lipid peroxide : LPO) 및 산화단백질(oxidized protein : OP), 그리고 리포푸신(lipofuscin : LF)의 축적에 미치는 영향을 평가하여 보았다. 솔잎 EtOAc획분의 투여에 의하여 뇌조직의 mitochondria 및 microsome획분에서 용량의존적으로 MF가 증가효과가 나타났지만, EtOAc-100 투여그룹의 mitochondria 획분에서만 약 10%의 유의적인 MF의 증가효과가 인정되었다. 뇌조직의 mitochondria에서 기초 및 유도활성산소로서 BOR 및 IOR의 생성은 EtOAc-50 및 EtOAc-100투여그룹에서 각각 9.2~10.2% 및 17.1~24.0%의 유의적인 억제효과가 인정되었고, microsomes에서 BOR 및 IOR의 생성은 EtOAc-50 및 EtOAc-100투여그룹에서 각각 11.6~16.6% 및 12.1~16.1%의 유의적인 억제효과가 인정되었다. 산화적 스트레스에 미치는 영향은 mitochondria 및 microsomes획분에서 EtOAc-50 및 EtOAc-100투여그룹에서 각각 8.5~12.0% 및 11.6~18.5%의 유의적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었지만, 뇌조직의 두 획분에서 OP의 생성은 EtOAc획분의 용량의존적으로 억제되었지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 또한 뇌조직에서 LF의 축적도 EtOAc획분의 용량의존적으로 억제효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 이상의 결과에서 평가하여 볼 때 솔잎 EtOAc획분의 투여는 뇌조직의 유동성을 촉진하고 LPO의 생성을 효

과적으로 억제할 수 있지만, 현재의 투여농도에서는 OP 및 LF의 생성을 방지할 수 없을 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1995. Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med.* **18(2)**, 133-139.
2. Choi, J. H., J. I. Kim, D. W. Kim, Y. S. Moon, H. Y. Chung and B. P. Yu. 1996. Analysis of lipid composition and hydroxyl radicals in brain membranes of senescence-accelerated mice. *Age (American Aging Association)* **19**, 1-5.
3. Choi, J. H., D. W. Kim and B. P. Yu. 1998. Modulation of age-related alterations of iron, ferritin, and lipid peroxidation in rat brain synaptosomes. *J. Nutr. Health & Aging* **2(3)**, 461-465.
4. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1999. The effects of dietary restriction on age-related changes in rat serum prostaglandins. *Age & Nutrition* **10(1)**, 47-51.
5. 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 Science* **7(4)**, 371-376.
6. Choi, J. H., J. H. Kim, D. W. Kim, K. S. Kim, J. S. Lee and Y. H. Baek. 1998. 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 Science* **8(1)**, 91-96.
7. Choi, J. H., J. H. Kim, D. W. Kim, C. H. Hwang, D. I. Kim and J. S. Lee. 1998. 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 Science* **8(2)**, 167-172.
8. Choi, J. H., D. I. Kim, M. G. Choi, W. K. Cho and C. M. Kim. 2003. Effects of EtOAc fraction of pine needle (*Pinus densiflora*) on membrane fluidity and oxidative stress in liver membranes of rats. *Korean J. Life Science* **13**, (submitted)
9. Choi, J. H., D. I. Kim, S. J. Baek, W. K. Cho, G. J. Kim and C. M. Kim. 2003. Effects of pine needle butanol fraction on membrane fluidity and oxidative stress in brain membranes of rats. *J. Korean Soc. Food. Nutr.* **32**,

- (submitted)
10. Fletcher, B. L., C. J. Dillard and S. A. L. Tappel. 1973. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Anal. Biochem.*, **52**, 1-9.
  11. Heron, D. S., M. Shinitzky, M. Hershkowitz and D. Samuel. 1980. Lipid fluidity markedly modulates the binding of serotonin to mouse brain membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **12**, 7463-7467.
  12. Kang, Y. H., Y. K. Park, T. Y. Ha and K. D. Moon. 1996a. 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.
  13. Kang, Y. H., Y. K. Park, T. Y. Ha and K. D. Moon. 1996b. 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.
  14. Kim, E. J., S. W. Jung, K. P. Choi, S. S. Ham and H. Y. Kang. 1998. Cytotoxic effect of the pine needle extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30(1)**, 213-217.
  15. Kim, J. D., T. H. Yoon, M. Choi, K. J. Im, J. S. Ju and S. Y. Lee. 1990. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Kor. J. Gerontol.* **1(1)**, 47-50.
  16. Kong, Z., Z. Liu and B. Ding. 1995. Study on the antimutagenic effect of pine needle extract. *Mutat. Res.* **347(3)**, 101-104.
  17. Lebel, C. P., I. N. Odunze, A. Jr. and S. C. Bondy. 1989. Perturbations in cerebral oxygen radical formation and membrane order following vitamin E deficiency. *Biochem. & Biophysic, Res. Com.* **163(2)**, 860-866.
  18. Lee, B. C. 1994. Overview of vascular dementia. *Health Promotion and Wellbeing for the Elderly.* **94**, 59-68.
  19. 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.* **186**, 464-478.
  20. 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.
  21. Maguire, P. A. and M. J. Druse. 1989. The influence of cholesterol on synaptic fluidity and dopamine uptake. *Brain Res. Bull.* **22**, 431-437.
  22. Namba, T. 1980. Colored Illustrations of WAKAN-YAKU, Vol. II, 82-83.
  23. Singh, V. A. 1992. A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* **122(3S)**, 760-765
  24. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. *Principles and procedures of statistics.* McGrawhill. New York.
  25. Strong, R. and W. G. Wood. 1984. Membrane properties and aging: *In vivo* and *in vitro* effects of ethanol on synaptosomal  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) release. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **229**, 726-730.
  26. Yagi K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chemical and Physics of Lipids.* **45**, 337-351.
  27. Yu, B. P., D. W. Lee, C. G. Marler and J. H. Choi. 1990. Mechanism of food restriction: Protection of cellular homeostasis. *Soc. Exp. Biol. Med.* **193**, 13-15.
  28. Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad. Biol. Med.* **21**, 651-668.

(Received June 5, 2003; Accepted October 17, 2003)