생명과학회지
Korean J. Life Science, 9(4), 466~472, 1999

동물실험을 통한 솔잎(松葉) 유효성분의 항노화효과 구명 및 구조 해명
Ⅰ. 간장의 활성산소 및 제거효소에 미치는 솔잎 추출물의 영향

최진호† · 김대익 · 박수현 · 김동우 · 이종수 · 김현숙*

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실
*숙명여자대학교 식품영양학과

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

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

These studies were designed to investigate the effects of pine (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.) needle extract (PNE) on oxygen radicals and their scavenger enzymes 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. There were no significant differences in hydroxyl radical (·OH) formations of liver mitochondria and microsomes in 0.5%-PNE group, while ·OH formations were significantly decreased (10% and 18%, respectively) in liver mitochondria and microsomes of 1.0%- PNE group compared with control group. Microsomal hydrogen peroxides and cytosolic superoxide radicals were remarkably decreased (20% and 20~25%, respectively) in 0.5% and 1.0%-PNE groups compared with control group. Mn-SOD activities in mitochondria were significantly increased about 10% in 1.0%-PNE group, while Mn-SOD activities in microsomes were remarkably increased (16~20%) in 0.5% and 1.0%-PNE groups compared with control group. There were no significant differences in Cu, Zn-SOD activities of liver cytosol in 0.5% and 1.0%-PNE groups, while glutathione peroxidase (GSHPx) and catalase (CAT) activities were significantly decreased (28~30% and 15~30%, respectively) in liver cytosols of 0.5% and 1.0%-PNE groups compared with control group. These results suggest that these PNE may play a effective role in a attenuating a oxygen radical formations and increasing a scavenger enzyme activities

Key words – Pine (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.), Oxygen radical, Scavenger enzyme, Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GSHPx), Catalase (CAT)

† Corresponding author

서 론

소나무(*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.)는 상록성 침엽수로서 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등 극동지방에 널리 자생하고 있다. 옛날부터 소나무는 잎(松葉)을 비롯하여 꽃가루(松花), 솔방울(松實), 송진(松脂), 껍질(松皮) 등은 구황식품(救荒食品)으로 널리 이용되어 왔다. 소나무 향기로서 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)[33]. 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 "風濕瘡을 主治하고 毛髮을 나게하며 오장을 편히 하여 수명을 연장한다"고 기록되어 있다(李, 1981)[32]. 최근의 생리·생화학적 연구로서는 솔잎 첨가식이의 혈청 지질대사 연구(김 등, 1991)[20], 솔잎 추출물의 혈청 및 간장의 지질과 효소연구(강 등, 1996a-b)[18,19] 등이 있을 뿐이다. 그런데 최근 솔잎 추출물의 항암효과가 연구되어 있다(Kong et al., 1995)[21].

저자 등은 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)[2-12,29]. 또한 솔잎 추출물의 생리활성 연구로서 혈청중의 지질 및 산소라디칼 대사(최 등, 1997)[13], 뇌세포막의 산소라디칼 및 제거효소에 관한 연구(최 등, 1998c)[14], 및 뇌세포막의 유동성 및 신경전달관련효소에 관한 연구(최 등, 1998d)[15]를 수행한 적이 있다.

본 실험에서는 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 활성산소 및 제거효소에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 사육조건

Sprague Dawley (SD)계 흰쥐(male rats: 160±10g)를 한국화학연구소에서 구입하여 2주간 예비사육한 다음, 그룹당 8마리씩 3개의 그룹으로 나누어 솔잎 추출물의 생리적 영향을 평가하였다. 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°C; 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 셀루로오스(3.0%), 비타민 및 무기질 혼합물 각각 1.0% 및 3.5%로 첨가·혼합하여 조제하였다.

그리고 실험그룹으로서 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 및 세포의 분획

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.

한편 간장세포의 분획은 저자 등(Choi et al., 1990)의 방법[3]에 따라 HEPES완충용액(10mM HEPES, 10mM KCl, 280mM sucrose, pH 7.4)을 사용하여 미토콘드리아, 마이크로솜 및 시토솔획분으로 분획하여 사용하였다. 이들 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등(1951)의 방법[23]에 따라 측정하였다.

활성산소의 생성량 측정

(1) 히드록시 라디칼(·OH)의 함량

Deoxyribose의 파괴 정도로 hydroxyl radical 생성 정도를 측정하는 방법으로서, 간장획분의 반응성 산소대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며, 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobabituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등(1981)의 방법[16]에 따라 측정하였다.

(2) 과산화수소(H_2O_2)의 함량

과산화수소(hydrogen peroxide)의 생성량은 Thurman 등(1972)의 방법[28]에 따라 간장의 microsome획분에서 생성된 hydrogen peroxide에 의하여 생성되는 붉은 색의 ferrithiocyanate 복합체를 기초로 400 mM 인산완충용액(pH 7.4) 400 $\mu\ell$, 200 mM nicotinamide 200 $\mu\ell$, 100 mM $MgCl_2$ 200 $\mu\ell$, 50 mM NaN_3 200 $\mu\ell$와 시료 64.1 $\mu\ell$, 물 735.9 $\mu\ell$ 첨가 · 혼합한 뒤 60 mM NADPH 200 $\mu\ell$를 첨가하여 총 2.0 ml가 되게 하여 37℃ 항온 수조에서 15분간 가온시킨 후에 1.2 M TCA (trichloroacetic acid)를 1.0 ml 첨가, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 1.0 ml 취하였다. 상층액에 ferrous ammonium 200 $\mu\ell$첨가 후 2.5 M KSCN(potassium thiocyanate)을 100 $\mu\ell$ 넣어 혼합하여 실온에 10분 방치하였다. 분광광도계를 이용하여 파장 480 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 과산화수소(nmol/mg protein/min)의 함량을 정량하였다.

(3) 수퍼옥시드 라디칼의 측정

간장획분중의 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical: $O_2^{\cdot -}$)의 생성량은 McCord 등(1969)과 Chan 등(1974)의 방법[1,24]에 따라 superoxide dismutase를 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 0.1 mM EDTA를 함유한 인산완충용액(pH 7.8) 420 $\mu\ell$에 cyanide의 농도가 50 μM이 되도록 20 mM cyanide 용액을 가한 후 37℃에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 시토졸 300 $\mu\ell$와 0.1 mM cytochrome C 50 $\mu\ell$를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500 $M^{-1}cm^{-1}$로 계산하였다.

활성산소종 제거효소의 활성 측정

(1) 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD)의 활성

Oyanagui 등(1984)의 방법[25]에 따라 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase: SOD)의 활성은 간장획분을 인산완충용액(pH 8.2)으로 30배로 희석한 용액 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약 (52.125 mg of hydoxylamine+102.1 mg of hypoxanthine/250 ml D.W) 0.2 ml, B시약 (20 $\mu\ell$ of xanthine oxidase+0.9939 mg ethylene diaminetetraacetic acid /26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가 · 혼합하여 37℃ 항온수조에서 40분간 가온한 후 C시약 (300 mg of sulfanilic acid+N-1-naphthylethyene diamine acid/500 ml of 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가·혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 SOD 활성 (unit/mg protein)을 측정하였다.

(2) 글루타치온 퍼옥시다아제의 활성

Lawrence 등(1978)의 방법[22]에 따라 340 nm에서 NADPH의 감소를 측정하기 위한 방법으로 간장획분의 시토졸에서 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase: GSHPx)의 활성의 측정은 인산완충용액(0.3 M/4.0 mM EDTA)으로 10배 희석하여 사용한다. 시험관에 인산완충용액(0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1 ml, 증류수 1.295 ml, 26.56 mM sodium azide용액 (86.33mg of NaN_3/50 ml of D.W) 0.5 ml, 294.37 mM GSH 용액(452.34 mg of glutathione/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 60 $\mu\ell$, 8.4 mM NADPH(35.0 mg NADPH/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 110 $\mu\ell$, glutathione reductase(5 mg of GSH-Re/1.0 ml of 0.3M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 5 ml, 1 mM hydroperoxide 320 $\mu\ell$와 희석된 시토졸 30 $\mu\ell$를 첨가하여 5초간 잘 혼합한 후, 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준검량선에 의해 GSHPx (μmol/g protein/min)의 활성을 계산하였다.

(3) 카탈라아제의 활성

Rigo 등(1977)의 방법[26]에 의해 간장분획에서 카탈라아제(catalase : CAT)활성의 측정은 시험관에 인산완충용액(130 mM, pH 7.0) 250 $\mu\ell$, 증류수 330 $\mu\ell$, 획분 20 $\mu\ell$ 15 mM의 과산화수소 용액 900 $\mu\ell$을 첨가, 5초간 잘 섞은 다음, 즉시 분광광도계를 사용하여 240 nm 에서 시간에 대한 흡광도의 변화를 2분간 측정하여 1 unit는 1분간 과산화수소 1 umol의 분해로 계산하였다.

분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test(Steel 등, 1960)[27]로 실시하였다.

결과 및 고찰

활성산소의 생성 억제효과

지금까지 노화에 관한 연구로서는 Harman (1956)의 'Free Radical Theory'에 기초를 두고[17], 지질의 산화에 의한 과산화지질의 세포독성에 의한 노화의 촉진에 초점을 맞추어 진행되어 왔다. 그렇지만, 최근 이와 유사한 노화의 메카니즘에 대한 가설로서 Yu (1996a)및 Yu & Yang(1996b) 등[30,31]이 제안한 'Oxidative Stress Theory'이 힘을 얻어 가고 있다. 그래서 산화적 스트레스를 유발하는 활성산소의 생성에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 측정하여 평가하여 보았다.

먼저 간장 획분중의 히드록시 라디칼(hydroxyl radical : ·OH)의 생성에 미치는 솔잎 추출물(PNE)의 영향을 비교하여 보았다(Table 1). Table 1에서 보는 바와 같이 간장의 mitochondria획분에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 ·OH의 생성은 각각 15.26±0.36, 14.84±0.25 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(16.38±0.35 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 93.2% 및 90.6%로서, 1.0%-PNE 투여그룹만이 약 10%의 유의적인 ·OH의 생성 억제효과가 인정되었다. 간장의 microsome획분에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 ·OH의 생성은 각각 6.80±0.31, 5.81±0.15 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(7.05±0.82 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 96.5% 및 82.4%로서, mitochondria와 마찬가지로 1.0%-PNE 투여그룹에서 18%나 유의적인 ·OH의 생성 억제효과가 인정되었다.

또한 간장의 microsome획분에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 과산화수소(H_2O_2)의 생성은 각각 0.92±0.05, 0.93±0.03 nmol/mg protein으로서 대조그룹(1.17±0.02 nmol/mg protein : 100%) 대비 78.6% 및 78.5%로서, 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹에서 다같이 20%이상의 유의적인 H_2O_2의 생성 억제효과가 인정되었다. 놀라운 H_2O_2의 생성 억제효과라 하지 않을 수 없다.

한편 간장의 cytosol획분중의 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical : $O_2^{\cdot -}$)의 생성에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 비교하여 보면 Fig. 1과 같다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 간장의 cytosol획분에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 $O_2^{\cdot -}$의 생성은 각각 13.92±2.12, 15.09±1.53 nmol/mg protein으로서 대조그룹(19.04±1.24 nmol/mg protein : 100%) 대비 73.1% 및 79.3%로서 약 20~25%정도의 현저한 $O_2^{\cdot -}$의 생성 억제효과가 인정되었다. 솔잎 추출물은 활성산소 생성의 초기단계에서 매우 효과적으로 free radical의 생성을 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

생체 방어효소의 활성 평가

생체의 방어효소로서는 수퍼옥시드 디스무타아제(su-

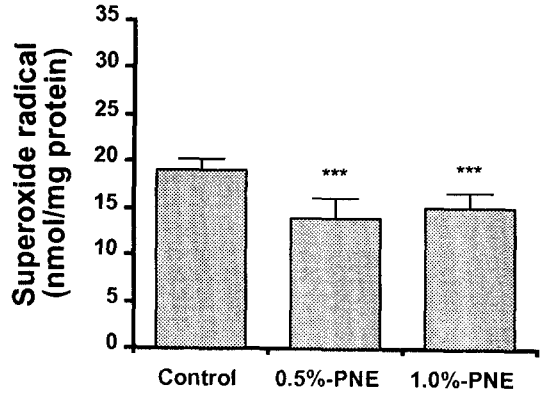

Fig. 1. Effects of pine needle extract (PNE) on superoxide radical formations in liver membranes of SD rats for 6 weeks.
***p<0.001 compared with control group.

Table 1. *Effects of pine needle extract (PNE) on hydroxyl radical and hydrogen peroxide in liver membranes of SD rats for 6 weeks*

Groups	·OH level (nmol/mg protein/min)				H_2O_2 level(nmol/mg protein)	
	Mitochondria		Microsome		Microsome	
Control	16.38±0.35*	-	7.05±0.82*	-	1.17±0.02	-
0.5%-PNE	15.26±0.36	(93.2%)**	6.80±0.31	(96.5%)	0.92±0.05[c]	(78.6%)
1.0%-PNE	14.84±0.25[a]	(90.6%)	5.81±0.15[b]	(82.4%)	0.93±0.03[c]	(79.5%)

*Mean±SD with 8 rats per group; **Percent of control values; [a]p<0.05; [b]p<0.01; [c]p<0.001 compared with control group.

Table 2. Effects of pine needle extract (PNE) on superoxide dismutase (SOD) activities in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Groups	Superoxide dismutase activity (unit/mg protein)					
	Mitochondria		Microsome		Cytosol	
Control	23.90±0.91*	-	13.23±1.08	-	20.76±1.03	-
0.5%-PNE	24.83±1.83	(103.9%)**	15.82±0.30[b]	(119.6%)	21.92±0.67	(105.6%)
1.0%-PNE	26.53±2.04[b]	(111.0%)[a]	15.34±1.06[a]	(116.0%)	22.07±0.56	(106.3%)

*Mean±SD with 8 rats per group; **Percent of control values; [a]$p<0.05$; [b]$p<0.01$ compared with control group.

peroxide dismutase: SOD), 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase : GSHPx) 및 카탈라아제(catalase : CAT) 등의 활성산소의 공격을 매우 효과적으로 차단할 수 있는 활성산소 제거효소(scavenger enzymes)를 들 수 있다(Choi, 1991a-b; Yu, 1996)[4,5,30].

먼저 간장획분중의 SOD의 활성에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 분석 · 비교하여 보면 Table 2와 같다. 간장의 mitochondria획분의 Mn-SOD 활성은 0.5%-PNE 투여그룹은 대조그룹 대비 유의적인 활성의 증가효과를 인정할 수 없었지만, 1.0%-PNE 투여그룹의 Mn-SOD 활성은 26.53±2.04 unit/mg protein으로서 대조그룹 대비 111.0%로서 약 10%의 Mn-SOD 활성의 유의적인 증가효과를 인정할 수 있었다. 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 간장 microsome획분중의 Mn-SOD 활성은 각각 15.82±0.30, 15.34±1.06 unit/mg protein으로서 대조그룹(13.23±1.08 unit/mg protein : 100%) 대비 16~20%의 유의적인 Mn-SOD 활성 증가효과가 인정되었다. 그렇지만, Table 2에서 보는 바와 같이 이들 솔잎 추출물의 투여에 의한 간장의 cytosol 획분의 Cu, Zn-SOD 활성의 유의적인 증가효과는 기대할 수 없었다.

한편 간장획분중의 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase : GSHPx) 및 카탈라아제(catalase : CAT)의 활성에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 분석·비교하여 보면 Fig. 2와 같다. Fig. 2(A)에서 보는 바와 같이 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 간장 cytosol획분중의 GSHPx 활성은 각각 7.17±0.37, 7.27±1.32 IU/g protein으로서 대조그룹(5.62±0.35 IU/g protein : 100%) 대비 각각 127.6% 및 129.4%로서, 약 30% 정도의 현저한 GSHPx의 활성 증가효과가 인정되었다. 또한 Fig. 2(B)에서 보는 바와 같이 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 간장 cytosol획분중의 CAT 활성도 각각 23.72±1.30, 20.33±1.06 umol/mg protein/min으로서 대조그룹(18.39±1.74 umol/mg protein/min : 100%)

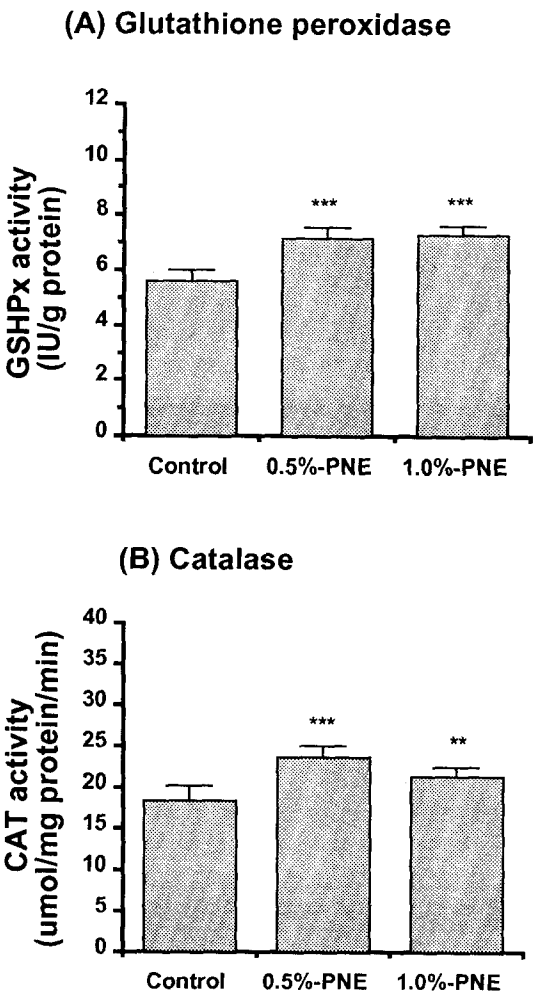

Fig. 2. Effects of pine needle extract (PNE) on glutathione peroxidase (GSHPx) and catalase (CAT) activities in liver membranes of SD rats for 6 weeks. **$p<0.01$; ***$p<0.001$ compared with control group.

대비 각각 129.0% 및 116.0%로서, 약 15~30% 정도의 유의적인 CAT의 활성 증가효과가 인정되었다.

이상과 같이 활성산소의 생성 및 제거효소 활성에 미치는 솔잎 추출물의 영향을 비교·평가하여 본 결과, 솔잎 추출물의 0.5%~1.0%의 투여에 의하여 간장중의 ·OH, H_2O_2 및 $O_2^{\cdot -}$ 등의 활성산소의 생성을 유의적으로 억제할 뿐만 아니라 Cu, Zn-SOD의 활성을 제외하고는 Mn-SOD, GSHPx 및 CAT 등의 제거효소의 활성이 유의적으로 증가했기 때문에 생체의 방어작용에 솔잎의 유효성분이 매우 효과적일 것으로 기대된다.

요 약

솔잎 추출물(pine needle extract : PNE)을 0.5% 및 1.0% 씩 첨가·조제한 실험용 사료로써 SD계 흰쥐를 사용하여 6주동안 사육하여 간장을 절취하여 간장획분의 활성산소의 생성 및 제거효소의 활성에 미치는 솔잎 유효성분의 영향을 평가하였다. 간장의 mitochondria 및 microsome획분의 hydroxyl radical(·OH)의 생성에 미치는 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 영향은 두 획분이 다같이 1.0%-PNE의 투여에서만 10% 및 18%의 유의적인 ·OH 생성 억제효과가 인정되었다. 간장의 microsome획분에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 과산화수소(H_2O_2)의 생성은 대조그룹 대비 78.6% 및 78.5%로서 20%이상의 유의적인 H_2O_2의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 간장의 cytosol획분에서 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 $O_2^{\cdot -}$의 생성은 대조그룹 대비 73.1% 및 79.3%로서 약 20~25%정도의 현저한 $O_2^{\cdot -}$의 생성 억제효과가 인정되었다.

간장의 mitochondria획분의 Mn-SOD 활성은 0.5%-PNE 투여그룹은 대조그룹 대비 유의적인 활성의 증가효과를 인정할 수 없었지만, 1.0%-PNE 투여그룹의 Mn-SOD 활성이 약 10%의 Mn-SOD 활성의 유의적인 증가효과를 인정할 수 있었다. 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 간장 microsome획분중의 Mn-SOD 활성은 대조그룹 대비 16~20%의 유의적인 Mn-SOD 활성 증가효과가 인정되었다. 그렇지만, 간장의 cytosol획분의 Cu,Zn-SOD 활성의 유의적인 증가효과는 기대할 수 없었다. 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 간장 cytosol획분중의 GSHPx 활성은 대조그룹 대비 각각 127.6% 및 129.4%로서, 약 30% 정도의 현저한 GSHPx의 활성 증가효과가 인정되었다. 또한 0.5% 및 1.0%-PNE 투여그룹의 간장 cytosol획분중의 CAT 활성도 대조그룹 대비 15~30% 정도의 유의적인 CAT의 활성 증가효과가 인정되었다. 따라서 솔잎 추출물의 0.5%~1.0%의 투여는 활성산소의 생성을 효과적으로 억제할 수 있을 뿐만 아니라 생체 방어효소로서 제거효소의 활성이 유의적으로 증가할 수 있다는 사실이 입증되었다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 '98보건의료기술연구개발사업비의 연구비 지원으로 이루어졌습니다. 연구비 지원에 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. Chan, P. C. and Bielski, B. H. T. 1974. Enzyme catalyzed free radical reactions with nicotinamide adenine nucleotide. *Chem. J. Biol.* **249**, 1317-1320.
2. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1989. The effect of food restriction on kidney membrane structures of aging rats. *Age* 12, 133-136.
3. 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.
4. Choi, J. H. 1991a. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.*, **23**(1), 61-70.
5. Choi, J. H. 1991b. Modulation of the aging process by food restriction. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **20**(2), 187-196.
6. Choi, J. H. and Byung P. Yu. 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. 1994. Studies on age-related physiological changes in brain of senescence accelerated mouse(SAM). *Kor. J. Gerontol.*, **4**(2), 61-70.
8. 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.
9. 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.
10. Choi, J. H. and Yu, B. P. 1998b. Dietary restriction

as a modulator of age-related changes in rat kidney prostagladin production. *J. Nutr. Health & Aging* **2**(3). 456-460.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Choi, J. H., J. H. Kim, D. W. Kim, K. S. Kim and J. S. Lee. 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 Sci.* **8**(1), 91-96.
15. Choi, J. H., J. H. Kim, D. W. Kim, C. H. Hwang 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 Sci.* **8**(2), 162-172.
16. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1981. Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the persence of iron salts. *FEBS Lett.*, **128**, 347-350.
17. Harman, D. 1956. Aging : a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**, 298-300.
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 rata 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. Lawrence, R. A. and Burk, R. F. 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non-Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Lipid*, **19**, 444-452.
23. 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.
24. McCord, J.M. and Fridovch, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythro cuprein (hemo cuprein). *Chem. J. Biol.* **244**, 6049-6054.
25. Oyanagui, Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **42**, 290-296(1984).
26. Rigo, A. and Rotilio, G. 1977. Simultaneous determination of superoxide dismutase and catalase in biological materials by polarogtaphy. *Anal. Biochem.*, **81**, 157-166.
27. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1960. Principles and procedures of stastistics. McGrawhill. New York.
28. Thurman, R. G., Ley, H. G. and Scholz, R. 1972. Hepatic microsomal ethanol oxidation. *Eur. J. Biochem.*, **25**, 420-430.
29. 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.
30. Yu, B. P. 1996a. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad. Biol. Med.* **21**, 651-668.
31. Yu, B. P. and Yang, R. 1996b. Critical evaluation of free radical theory of aging: A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **786**, 1-11.
32. 李盛雨. 1981. 韓國食經大典: 서울, 鄕文社 pp. 414-417.
33. 難波恒雄. 1980. 原色和漢藥圖鑑(下): 東京, 保育社 pp. 191-194.