

## 뇌 조직의 아세틸콜린 및 그 관련효소에 미치는 솔잎(Pine Needle) 에틸아세테이트획분의 영향

최진호<sup>\*§</sup> · 김대익<sup>\*</sup> · 박시향<sup>\*</sup> · 백승진<sup>\*</sup> · 김남주<sup>\*</sup> · 조원기<sup>\*\*</sup> · 김군자<sup>\*\*\*</sup> · 김현숙<sup>\*\*\*</sup>

부경대학교 생화학교실, \* 조아제약(주) · 밀양대학교 식품과학과<sup>\*\*</sup>

숙명여자대학교 식품영양학과<sup>\*\*\*</sup>

### Effects of Pine Needle Ethyl Acetate Fraction on Acetylcholine(ACh) and Its Related Enzymes in Brain of Rats

Choi, Jin-Ho<sup>\*§</sup> · Kim, Dae-Ik<sup>\*</sup> · Park, Si-Hyang<sup>\*</sup> · Baek, Seung-Jin<sup>\*</sup>  
Kim, Nam-Ju<sup>\*</sup> · Cho, Weon-Ki<sup>\*\*</sup> · Kim, Koon-Ja<sup>\*\*\*</sup> · Kim, Hyun-Sook<sup>\*\*\*</sup>

Lab. of Biochemistry, <sup>\*</sup>Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Choa Pharmacy Co. Ltd., Department of Food Science, <sup>\*\*</sup>Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

Department of Nutrition and Food Science, <sup>\*\*\*</sup>Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

#### ABSTRACT

This study was designed to investigate the effects of ethyl acetate (EtOAc) fraction of pine (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc) needle on cholesterol and lipofuscin (LF) accumulations, acetylcholine (ACh) and its related enzyme activities such as choline acetyltransferase (ChAT) and acetylcholinesterase (AChE), and monoamine oxidase-B (MAO-B) activity, which destroyed the catecholamine related neurotransmitters in brain membranes of Sprague-Dawley (SD) rats. Male SD rats were fed basic diets (control group) and experimental diets (EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100) for 45 days. Cholesterol accumulations in mitochondria and microsomes were significantly inhibited (11.8 – 12.1% and 9.6 – 13.0%, respectively) in EtOAc-50 and EtOAc-100 groups. ACh levels and ChAT activities were significantly increased about 10% in membranes of EtOAc-100 group compared with control group. AChE activities were significantly increased about 8 – 12% in membranes of EtOAc-50 and EtOAc-100 groups compared with control group. MAO-B activities were significantly inhibited about 10% in membrane of EtOAc-100 group compared with control group. These results suggest that ethyl acetate fraction of pine needle may play an effective role in inhibiting cholesterol and improving a membrane fluidity, and learning and memory impairments. (Korean J Nutrition 37(2): 95~99, 2004)

KEY WORDS : pine (*Pinus densiflora*), acetylcholine, choline acetyltransferase, monoamine oxidase- $\beta$ , acetylcholinesterase.

#### 서 론

솔잎은 《학포헌집(學圃軒集)》의 엽구황설(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 “풍습창(風濕瘡)을 주치(主治)하고 모발(毛髮)을 나게 하며 오장을 편히 하여 수명을 연장한다”는 기록이 나온다… 소나무 (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.)는

우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등 극동지방에 널리 자생하고 있는 상록성 침엽수이다. 옛날부터 소나무는 잎(松葉)을 비롯하여 꽃가루(松花), 솔방울(松實), 송진(松脂), 껌질(松皮) 등은 구황식품(救荒食品)으로 널리 이용되어 왔다. 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(人年)을 연장한다”는 기록이 나온다.<sup>11</sup>

최근의 생리·생화학적 연구로서는 솔잎 추출물의 혈청 및 간장의 지질함량과 효소활성 연구,<sup>2,3</sup> 솔잎 첨가식이의 세포독성 및 지질대사 연구<sup>4,5</sup> 등이 있고, 최근에는 솔잎 추출물의 항암효과까지 연구되고 있다.<sup>6</sup> 최근, 솔잎 추출물의 생리

접수일 : 2003년 10월 13일

채택일 : 2004년 2월 9일

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

활성연구로서 혈청중의 지질 및 산소라디칼 대사에 관한 연구,<sup>7)</sup> 뇌세포막의 산소라디칼 및 제거효소에 관한 연구,<sup>8)</sup> 뇌세포막의 유동성 및 신경전달관련효소에 관한 연구<sup>9)</sup>를 수행한 적이 있다. 본 연구는 생체의 노화과정에 관련된 연구<sup>10-13)</sup>로서 전보<sup>14)</sup>의 솔잎 EtOAc성분의 생리활성 관련연구의 일환으로 솔잎을 80% 메탄올로써 추출하여 감압·농축한 솔잎 추출물을 용매분획법에 따라 분획한 ethyl acetate획분을 농도별로 사료에 첨가·조제한 사료로써 SD계 랙트에 45일간 투여하여 적출한 뇌조직획분을 사용하여 콜레스테롤의 변화, 리포푸신의 침착, 세포막의 유동성 및 신경전달관련효소로서 acetylcholinesterase (AChE) 및 monoamine oxidase-B의 활성에 미치는 솔잎 ethyl acetate (EtOAc)획분의 영향을 평가하여 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 조제사료 조성

Sprague Dawley계 랙트 (male: 160 ± 10 g)를 한국화학연구소에서 구입하여 본 실험에 사용하였다. 사육 및 실험조건은 매일 18 : 00에 사료와 물을 공급하였고, 동물사육실은 자동조절 (22 ± 2°C; 65 ± 2% RH) 되었고, 명암도 12시간 사이클 (18 : 00~06 : 00)로 조절되었다. 실험에 사용한 기본사료 (control)의 조성은 탄수화물 58.0% (corn starch 45.0% + sucrose 13.0%), 단백질 18.0% (sodium-free casein), 지질 15.0% (lard)로 하였고, 비타민 및 무기질 혼합물 각각 1.0% 및 3.5% 첨가하였고, 셀루로오스 (3.0%), DL-methionine (0.3%), choline chloride (0.2%)를 첨가하였고, 여기에 고콜레스테롤 혈증을 유도하기 위하여 cholesterol 0.8% 및 sodium cholate 0.2%를 첨가·혼합하여 조제하였다. 그리고 실험그룹은 솔잎의 EtOAc획분을 25, 50, 100 mg/kg BW가 섭취될 수 있도록 기본사료에 첨가·조제하는 대신 그 첨가량 만큼 탄수화물에서 제외하고 실험용 사료를 조제하여 SD계 랙트에 45일동안 투여하여 동물실험을 실시하였다.

### 2. 솔잎의 EtOAc획분의 분획

전보<sup>14)</sup>에 따라 실험에 사용할 솔잎 추출물은 봄에 소나무 (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.)의 솔잎을 지난 4월 부경대 생화학연구실에서 음건 (陰乾)하여 과쇄후 후 (8.5 kg), 80% methanol로써 추출·농축한 솔잎 추출물 (2.1 kg)을 용매분획법에 따라 EtOAc획분 200 g을 얻어 동결건조하여 본 실험에 사용하였다.

### 3. 뇌조직획분의 분획

뇌조직의 분획은 저자 등<sup>15)</sup>의 방법에 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 사용하였으며, 그 상층액은 cytosol획분으로 사용하였다.

### 4. 콜레스테롤 함량의 측정

뇌조직획분중의 콜레스테롤 함량은 Rudel 등의 방법<sup>16)</sup>에 따라 o-phthalaldehyde법으로 측정하여 표준 검량선에 의거 뇌조직획분중의 콜레스테롤의 함량을 측정하였다. 이를 획분의 단백질은 Lowry 등의 방법<sup>17)</sup>에 따라 정량하였다.

### 5. 리포푸신 함량의 측정

생체내의 장기의 생리적 기능저하, 성인병의 발병 및 생체노화의 중요한 지표로 사용되고 있는 과산화지질 (lipid peroxide: LPO)과 단백질의 결합에 의해 리포푸신 (lipofuscin)이 생성되는 것으로 알려져 있다. 생체내의 노화색소로 알려진 리포푸신의 측정은 Fletcher 등의 방법<sup>18)</sup>에 따라 측정·정량하였다.

### 6. AChE 및 MAO-B 활성의 측정

뇌조직 중의 acetylcholinesterase (AChE)의 활성은 Hallak와 Giacobini의 방법<sup>19)</sup>에 따라 측정하였고, monoamine oxidase-B (MAO-B)의 활성은 Kalaria 등<sup>27)</sup>의 방법에 따라 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 생성능을 기초로 정량하였다.

### 7. 분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험 결과는 통계 처리하여 평균치와 표준 편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test<sup>20)</sup>로 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 뇌조직중의 콜레스테롤의 변화

EtOAc-25, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹의 뇌조직중의 mitochondria 중의 콜레스테롤의 함량은 각각 56.34 ± 3.54, 53.18 ± 2.25 및 52.99 ± 3.04 mg/g protein으로서 대조그룹의 콜레스테롤의 함량(60.31 ± 2.92 mg/g protein: 100%) 대비 93.4%, 88.2%, 87.9%로서, 각각 6.6%, 11.8% 및 12.1%의 용량의존적인 콜레스테롤

의 축적 억제효과가 나타났지만, 유의성은 EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서만 인정되었다. 또한 이들 EtOAc 희분 투여그룹의 뇌조직 중의 microsome 중의 콜레스테롤의 함량은 각각  $23.82 \pm 1.62$ ,  $23.64 \pm 1.36$  및  $22.75 \pm 1.59$  mg/g protein으로서 대조그룹의 콜레스테롤의 함량 ( $26.15 \pm 2.55$  mg/g protein: 100%) 대비 91.1%, 90.4%, 87.0%로서, 각각 8.9%, 9.6% 및 13.0%의 콜레스테롤의 축적 억제효과가 나타났지만, mitochondria 희분에서와 마찬가지로 유의성은 EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서만 콜레스테롤의 억제효과가 인정되었다.

사실 혈액이나 조직세포중의 콜레스테롤의 함량은 연령의 증가와 함께 증가하는 것으로 알려져 있지만,<sup>21)</sup> 칼로리 제한에 의해서 뇌조직 중의 콜레스테롤의 함량이 효과적으로 감소되는 것으로 알려져 있다.<sup>22)</sup> 그렇지만, 솔잎 EtOAc 희분의 투여가 뇌조직중의 콜레스테롤의 침착을 상당히 유의적으로 억제한다는 사실은 매우 흥미로운 사실이 아닐 수 없다.

## 2. 뇌조직중의 리포푸신의 변화

뇌를 비롯한 대부분의 장기에서 생성되는 리포푸신(lipofuscin: LF)의 함량은 연령에 따라 유의적으로 증가되기 때문에 LF의 축적이 노화의 지표가 되고 있다.<sup>23)</sup> 뇌세포의 기능에 영향을 주는 것으로 알려진 뇌조직 중의 LF의 침착에

미치는 솔잎 EtOAc 희분의 영향을 비교하여 보면 Table 2 와 같다. 뇌조직 중에서 EtOAc-25, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹의 LF의 침착은 각각  $1.44 \pm 0.04$ ,  $1.42 \pm 0.05$  및  $1.35 \pm 0.06$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein으로서 대조그룹의 LF의 침착 ( $1.45 \pm 0.07$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein: 100%) 대비 각각 99.3%, 97.9% 및 93.1%로서 EtOAc 희분의 용량의존적으로 LF의 침착 억제효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 이러한 사실은 솔잎 추출물 (PNE) 투여와는 전혀 다른 경향을 나타내고 있어서 PNE에 들어있던 LF의 침착 억제성분이 어느 희분에 들어 있는지에 대해서는 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## 3. 신경전달물질 ACh 및 그 관련효소의 활성 평가

뇌조직의 모든 신경세포에서 발견되는 신경전달물질로서 acetylcholine (ACh)은 시냅스 (synapse)와 시냅스사이의 신경전달에 관계하는 중요한 신경전달물질로 알려져 있다. 뇌신경계의 특정부위에서 ACh이 시냅스전 말단에서 분비되면 그것이 시냅스후 수용체와 결합하여 신경세포사이의 자극을 전달한다. 그러나 제2의 자극이 시냅스를 통해 전달하기 전에 제1의 자극시에 분비된 ACh은 acetylcholinesterase (AChE)에 의하여 가수분해되어야 한다. 그런데 ACh의 함량과 합성효소로서 choline acetyltransferase

**Table 1.** Cholesterol levels in brain membranes of SD rats fed pine needle ethyl acetate fractions for 45 days

	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
Mitochondria	$60.31 \pm 2.92^*$	$56.34 \pm 3.54$	$53.18 \pm 2.25^{\circ}$	$52.99 \pm 3.04^{\circ}$
(mg/g protein)	100.0%	93.4%**	88.2%	87.9%
Microsomes	$26.15 \pm 2.55$	$23.82 \pm 1.62$	$23.64 \pm 1.36^{\circ}$	$22.75 \pm 1.59^{\circ}$
(mg/g protein)	100.0%	91.1%	90.4%	87.0%

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

**Table 2.** lipofuscin levels in brain membranes of SD rats fed pine needle ethyl acetate fractions for 45 days

	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
Homogenates	$1.45 \pm 0.07^*$	$1.44 \pm 0.04$	$1.42 \pm 0.05$	$1.35 \pm 0.06$
( $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)	100.0%	99.3%**	97.9%	93.1%

EtOAc-25, EtOAc-50 and EtOAc-100: Ethyl acetate fraction of 25, 50 and 100 mg/kg BW/day added to control diet, \*Mean  $\pm$  SD with 7 rats per group, \*\*Percent of control values

**Table 3.** Acetylcholine and its related enzymes in brain membranes of SD rats fed pine needle ethyl acetate fractions for 45 days

	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
ACh content	$11.04 \pm 0.89^*$	$11.44 \pm 0.62$	$11.50 \pm 0.92$	$12.20 \pm 0.84^{\circ}$
(ng/mg protein)	100.0%	103.6%**	104.2%	110.5%
ChAT activity	$1.53 \pm 0.14$	$1.57 \pm 0.06$	$1.58 \pm 0.11$	$1.69 \pm 0.08^*$
(unit/mg protein/min)	100.0%	102.6%	103.3%	110.5%
AChE activity	$182.70 \pm 12.45$	$189.72 \pm 13.41$	$197.64 \pm 11.54^{\circ}$	$204.51 \pm 13.10^{\circ}$
(unit/mg protein/min)	100.0%	103.8%	108.2%	111.9%

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

**Table 4.** Effects of pine needle ethyl acetate fractions on monoamine oxidase-B activities in brain membranes of SD rats for 45 days

	Control	EtOAc-25	EtOAc-50	EtOAc-100
MAO-B activity (nmol/mg protein/min)	2.62 ± 0.22* 0%	2.54 ± 0.09 96.9%**	2.45 ± 0.14 93.5%	2.37 ± 0.11 <sup>a</sup> 90.5%

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

(ChAT)의 활성이 대부분의 사람 및 설치동물에서 연령과 함께 감소하는 것으로 알려져 있다.<sup>24,25)</sup> 또한 AChE의 활성도 ACh와 마찬가지로 감소한다는 사실도 밝혀지고 있다.<sup>26)</sup>

따라서 뇌조직중의 ACh의 함량, ChAT 및 AChE의 활성에 미치는 솔잎 EtOAc획분의 영향을 비교하여 보면 Table 3과 같다. EtOAc-25, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여 그룹의 뇌조직중의 ACh의 함량은 11.44 ± 0.62, 11.50 ± 0.92 및 12.20 ± 0.84 ng/mg protein으로서 대조그룹 (11.04 ± 0.89 ng/mg protein: 100%) 대비 103.6%, 104.2%, 110.5%로서 각각 3.6%, 4.2% 및 10.5%의 용량의존적으로 증가하였지만, EtOAc-100 투여그룹에서만 11%의 유의성이 인정되었다. 이들 EtOAc획분의 세 가지 투여그룹의 ACh의 합성에 관여하는 ChAT의 활성도 용량의존적으로 증가하고 있지만, EtOAc-100 투여그룹에서만 약 11%의 유의성이 인정되었다. EtOAc-25, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹의 신경전달에 직접 관여하는 AChE의 활성은 189.72 ± 13.41, 197.64 ± 11.54 및 204.51 ± 13.10 unit/mg protein/min으로서 대조그룹의 AChE의 활성 (182.70 ± 12.45 unit/mg protein/min: 100%) 대비 103.8%, 108.2%, 111.9%로서 각각 3.8%, 8.2% 및 11.9%로서 EtOAc획분의 용량의존적으로 AChE의 활성이 증가되고 있음을 알 수 있었다.

#### 4. 신경파괴효소 MAO-B의 활성 억제효과

Monoamine oxidase (MAO)는 동물에 널리 분포되어 있으면서 사람이나 흰쥐의 뇌나 혈청에서 연령에 따라 증가한다는 사실이 밝혀져 있다.<sup>27)</sup> 이 효소는 도파민 (DA)이나 세로토닌 (5-HT) 및 그 대사산물로서 노르에피네프린 등의 카테콜아민을 산화하여 파괴하는 효소로 알려져 있다. 특히 MAO-B는 뇌세포내에서 신경전달물질로서 작용하는 카테콜아민을 파괴하기 때문에 MAO-B의 활성증가는 문제가 되는 것으로 알려져 있다.<sup>28,29)</sup> 뇌조직중의 MAO-B 활성에 미치는 솔잎 EtOAc획분의 영향을 비교하여 보면 Table 4와 같다. EtOAc-25, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹의 뇌조직중의 MAO-B 활성은 2.54 ± 0.09, 2.45 ± 0.14 및 2.37 ± 0.11 ng/mg protein으로서 대조그룹의 MAO-B 활성 (2.62 ± 0.22 ng/mg protein: 100%) 대비 용량의존적으로 억제하였지만, EtOAc-100 투여그룹

에서만 약 10%의 MAO-B 활성을 억제하는 유의성이 인정되었다. 따라서 솔잎 EtOAc 획분의 투여는 뇌조직중의 카테콜아민계 신경물질을 파괴하는 MAO-B의 활성을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

## 요약

솔잎 EtOAc획분을 하루 25, 50, 100 mg/kg BW로써 SD계 랫에 45일동안 투여하여 뇌조직획분의 콜레스테롤 및 lipofuscin (LF)의 침착, acetylcholine (ACh) 및 ACh의 합성효소 choline acetyltransferase (ChAT), 신경전달에 관여하는 효소 acetylcholinesterase (AChE)의 활성, 카테콜아민계 신경전달물질의 파괴효소 monoamine oxidase-B (MAO-B)의 활성에 미치는 영향을 평가하였다. 뇌조직의 mitochondria 및 microsome획분중의 콜레스테롤이 EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서만 유의적인 11.8~12.1% 및 9.6~13.0%의 침착 억제효과가 인정되었지만, LF는 모든 EtOAc획분의 투여그룹에서 유의적인 침착 억제효과를 인정할 수 없었다. 뇌조직중의 신경전달물질 ACh의 함량 및 ACh의 합성효소 ChAT의 활성은 EtOAc획분의 용량의존적으로 증가현상이 나타났지만, EtOAc-100 투여그룹에서만 다같이 약 10%의 유의적인 증가효과가 인정되었다. 또한 뇌조직중의 신경전달에 관계하는 AChE의 활성도 EtOAc획분의 용량의존적으로 증가현상이 나타났지만, EtOAc-50 및 EtOAc-100 투여그룹에서만 8.2~11.9%의 유의적인 증가효과가 인정되었다. Catecholamine계 신경전달물질의 파괴효소인 MAO-B의 활성은 EtOAc획분의 용량의존적으로 억제하였지만, EtOAc-100 투여그룹에서만 약 10%의 유의성이 인정되었다. 따라서 솔잎의 EtOAc획분의 투여는 콜레스테롤의 침착을 억제하며 기억·학습관련 신경전달물질 및 관련효소의 활성에 매우 유효하게 작용할 수 있을 것으로 기대된다.

#### Literature cited

- 1) Namba T. Colored Illustrations of WAKAN-YAKU, Hoikusa Publishing Co., Ltd. Vol. II. pp.82-83, 1980
- 2) Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. 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, 1996
- 3) Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. 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, 1996
- 4) Kim EJ, Jung SW, Choi KP, Ham SS, Kang HY. Cytotoxic effect of the pine needle extract. *Korean J Food Sci Technol* 30(1): 213-217, 1998
- 5) Kim JD, Yoon TH, Choi M, Im KJ, Ju JS, Lee SY. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Korean J Gerontol* 1(1): 47-50, 1990
- 6) Kong Z, Liu Z, Ding B. Study on the antimutagenic effect of pine needle extract. *Mutat Res Aug* 347(3): 101-104, 1995
- 7) Choi JH, Kim DW, Kim JH, Kim KS, Lee JS. 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, 1997
- 8) Choi JH, Kim JH, Kim DW, Kim KS, Lee JS, Baek YH. 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, 1998.
- 9) Choi JH, Kim JH, Kim DW, Hwang CH, Kim DI, Lee JS. 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, 1998
- 10) Choi JH, Yu BP. The effect of food restriction on kidney membrane structures of aging rats. *Age* 12: 133-136, 1989
- 11) Choi JH, Yu BP. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* 13: 61-64, 1990
- 12) Choi JH. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Korean J Biochem* 23(1): 61-70, 1991
- 13) Choi JH, Yu BP. Studies on age-related physiological changes in brain of senescence accelerated mouse (SAM). *Kor J Gerontol* 4(2): 61-70, 1994
- 14) Choi JH, Kim DW, Kim DI, Park SH, Cho WK, Kim HS. Effects of pine needle ethyl acetate fraction on e fluidity and oxidative stress in liver membranes of SD rats. *Korean J Life Science* 13: 2003 (submitted).
- 15) Choi JH, Kim DW, Yu BP. Modulation of age-related alterations of iron, ferritin, and lipid peroxidation in rat brain synaptosomes. *J Nutr Health & Aging* 2(3): 461-465, 1998
- 16) Rudel LL, Morris MD. Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *J Lipid Res* 14: 364-366, 1973
- 17) Lowry OH, Roseborough NJ, Farr LA, Randall RJ. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- 18) Fletcher BL, Dillard CJ, Tappel SAL. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Anal Biochem* 52: 1-9, 1973
- 19) Hallak M, Giacobini EA. Comparison of the effects of two inhibitors on brain cholinesterase. *Neuropharmacol* 26(6): 521-530, 1987
- 20) Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics. McGrawhill. New York, 1969
- 21) Schilling RJ, Christakis G, Orbach A, Becker WH. Serum cholesterol and triglyceride. An epidemiological and pathogenetic interpretation. *Am J Clin Nutr* 22: 133-138, 1969
- 22) Choi JH, Yu BP. Brain synaptosomal aging: Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad Biol & Med* 18(2): 133-139, 1995
- 23) Tsuchida M, Miura T, Alsara K. Lipofuscin and lipofuscin-like substances. *Chemistry and Physics of Lipids* 44: 297-325, 1987
- 24) McGeer EG, McGeer PL. Age changes in the human for some enzymes associated with metabolism of catecholamines, GABA, and acetylcholine. In, Ordy, J. M. and Brizzee (eds), *Neurobiology of Aging*, pp.287-305, 1975. New York: Plenum Press
- 25) Strong R, Hsu L, Bartus RT, Enna SJ. Age-related alterations in the rodent brain cholinergic system and behavior. *Neurobiol Aging* 1: 59-64, 1980
- 26) Sastry BV, Janson VE, Jaiswal N, Tayeb OS. Deficiencies in the cholinergic nervous system of the rat cerebrum as a function of age. *Age* 4: 142-147, 1981
- 27) Kalaria RN, Mitchell MJ, Harik SI. Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc Natl Acad Sci* 84: 3521-3525, 1987
- 28) Grote SS, Moses SG, Robins E, Hudgens RW, Croniger AB. A study of selected catecholamine metabolizing enzymes: A comparison of depressive suicides and alcholic suicides with controls. *J Neurochem* 23: 791-802, 1974.
- 29) Noda Y, McGeer PL, McGeer EG. Lipid peroxides in brain during aging and vitamin E deficiency: Possible relations to changes in neurotransmitter indices. *Neurol Aging* 3: 173-178, 1982