

대두와 약콩의 Acetylcholinesterase 활성 억제효과와 항산화 효과*

강 순 아[†] · 한 진 아¹

건국대학교 응용생물화학과 생명분자정보학센터, ¹서울대학병원 임상영양과

Acetylcholinesterase Inhibiting Effect and Free Radical Scavenging Effect of Soybean(*Glycine max*) and Yak-Kong(*Rhynchosia nolubilis*)*

Soon Ah Kang[†] and Jin-A Han¹

[†]Dept. of Applied Biology & Chemistry, BMIC, Konkuk University,

¹Dept. of Nutrition, Seoul National University Hospital

Abstract

The deficiency of the neurotransmitter acetylcholine(ACh) is responsible for the initiation of Alzheimer's disease. In addition, there is a simple evidence that oxidative stress significantly increases in persons with Parkinson's disease compared to age-matched healthy persons. Therefore, the objective of the study was to investigate the neurodegeneration inhibitory effect of soybean(*Glycine Max*) and Yak-Kong(*Rhynchosia Nolubilis*) by measuring the degree of inhibiting Acetylcholinesterase (AChE) catabolizing the ACh and the free radical scavenger effect in vitro. AChE was measured by the minor modified Ellman assay. Free radical scavenging activity was measured using 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). First, the MeOH extracts of Soybean and Yak-Kong showed the AChE inhibiting activity of 62.0±2.43% and 65.0±3.29% at the 5 mg/mL concentration. The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of AChE was 1.96 and 1.31 mg/mL in the MeOH extracts of soybean and Yak-Kong. Second, the MeOH extracts of soybean and Yak-Kong showed the free radical scavenger activity of 23.1±4.26% and 80.7±4.61% at the 5 mg/ml. IC₅₀ of free radical scavenger activity in Soybean and Yak-Kong was 13.00 and 1.41 mg/mL in MeOH extracts and was 5.95 and 2.74 mg/mL in hot-water extracts, respectively. In this study, the extracts of Soybean and Yak-Kong showed powerful effects in the AChE inhibition and free radical scavenging. The extracts of Soybean and Yak-Kong were expected to prevent the many neurodegenerative diseases.

Key words : Soybean, yak-kong, acetylcholinesterase inhibition, antioxidant activity.

서 론

우리나라 2000년도 노인 인구는 3337만 명으로 전체 인구의 7% 수준이다. 이 비율은 OECD 주요 선진국가의 15~18%에 비하면 낮은 수준에 해당하나, 앞으로 20년 후에는 65세 이상의 노인인구가 유년인구와 거의 비슷할 것으로 전망되고 있어 우리나라도 고령화 사회로 진입하고 있음을 알 수 있다(Korea Health and Welfare 2000). 이와 함께 노인의 건강, 복지 문제 등 각종 노인 문제에 대한 대책을 강구하여야 하는 시점에 와 있다. 그중에서 중요한 노인문제는 건강과 관련된 문제로 볼 수 있는데, 생활수준의 향상과 식생활의 서구화 등으로 암, 당뇨병, 동맥경화증으로 인한 심혈관 질환의

유병률이 계속 증가하고 있으며 특히, 노인성 질환 중에서 최근 사회문제로까지 대두되고 있는 퇴행성 신경질환은 치매, Alzheimer's disease(알츠하이머병)와 Parkinson's disease(파킨슨병) 등으로 관심이 모아지고 있다. 보건복지부 통계에 의하면 1998년 노인 인구의 8.3%에 해당하는 25만명의 치매환자가 있다고 보고되었고(Korea Health and Welfare 2000) 이에 따라 치매에 대한 연구가 활발해지고 있다(OTA 1987). 미국의 경우 65세 이상의 노인 인구의 10%, 80세 이상의 경우 15~20%이며, 2050년에는 치매 환자 수가 740만 명에 이르게 될 것이라고 하였다(Daily Economics 2001).

치매의 발병원인은 여러 가지가 있으나 교육수준이 낮을 수록 발병율이 높았으며(Fratiglioni et al 1991, Sulkava et al 1985, Stern et al 1994) 인지능력의 감소현상이 영양소의 불균형에 의하여 악화될 수 있다는 보고도 있었고(Rosenberg & Miller 1992, Jama et al 1996, Rue et al 1997, Emery et al 1995), 최근 연구에 의하면 영양소의 질적인 균형이 인지능력을 향상시키는 요인이라고 하였다(Park et al 1999, Lee et

* This research was supported by grant 02-PJ1-PG3-22004-0014 from Korean Ministry of Health and Welfare.

[†]Corresponding author : Soon Ah Kang, Tel : 82-2-453-9379, Fax : 82-2-453-9379, E-mail : sakang@khu.ac.kr

al 2001). 산화는 노화에 영향을 미치면서 파킨슨 병에 걸린 사람에게 유의적으로 증가했다는 증거들이 많았으며, 알츠하이머병은 신경전달 물질인 Acetylcholine(ACh)이 정상인에 비해 부족해 인지기능이 저하된 것과 관계가 깊은 것으로 알려져 있다. 이에 아세틸콜린 분해 효소(Acetylcholinesterase, AChE)를 억제시켜 아세틸콜린의 양을 증가시키는 것으로 인지기능을 호전시켜 치매치료에 사용하고 있다(Koutsilieri et al 2002).

Isoflavone은 에스트로젠과 구조적 유사성을 가지며, 작용도 유사하여 체내에서 에스트로젠 효과를 나타내는 phytoestrogen의 일종이다(Kim & Kim 1996). 따라서 골다공증(Anderson et al 1999), 암(Messina 1995), 심혈관계질환(Anthony et al 1996) 등의 예방 효과가 있는 것으로 보고되고 있으나, 에스트로젠을 장기간 사용할 경우, 암 발병 위험 및 두통 등의 부작용을 나타내기 때문에 안전성에 논란이 제기되고 있는 반면, isoflavone은 에스트로젠 수용체의 결합 능력에 따라 agonist/antagonist의 두 작용을 가지고 있지만 부작용이 거의 없다(Kim et al 1996). 대부분의 유방암세포는 에스트로젠을 필요로 하는데 genistein은 에스트로젠 수용체와 결합하여 에스트로젠 활성을 필요로 하는 유방암세포의 발생을 억제한다. 또한 폐경기 이후 혈중 에스트로젠의 농도가 감소하면서 발생하는 골흡수 과정에 genistein이 에스트로젠의 효과를 나타냄으로써 주목을 받고 있다(Messina et al 1994, Kim et al 1996). 대두에는 genistein과 daidzein이 모두 함유되어 있어 골다공증의 위험을 낮출 수 있는 식품으로 인정받고 있다.

한편 isoflavone을 다량 함유하고 있는 약콩(*Rhynchosia molubilis*: yak-kong)은 (Kang et al 2001) 쥐눈이콩, 또는 서목태 등의 이름으로 명명되기도 하는데, 신약본초에서는 약콩을 해독성이 강하여 청혈작용이 있고 신체 기능을 강화하는 약제로 보고하면서 한방 및 민간요법에서 약제로 사용되어 왔으며, 골질환 예방 및 치료에도 널리 사용되어 왔다(Kim et al 2000). 콩은 단백질과 지방이 각각 40%와 20% 정도씩 함유되어 있어 영양학적으로 우수한 식량자원으로 여겨진 식품이다(Kwon & Song 1996). 그러나 최근 보고되고 있는 콩의 성분 중에서 isoflavones은 항암효과 이외에도 골다공증, 신부전, 심장질환과 같은 만성질환을 예방하는데 효과가 있는 것으로 보고되었다(Messina 1995). 또한, Wei 등에 의하면 대두의 genistein은 superoxide anion의 형성을 억제하고 tumor promoter인 hydrogen peroxide를 scavenger하여 항산화 효과를 나타낸다고 보고되고 있으며(Wei et al 1993), 검정콩은 예로부터 노인성 치매예방에 효과가 있는 물질로 알려져 있어 한방에서 귀하게 여기고 있는 물질로 anthocyan계 색소 등의 항산화 효과가 보고된 바 있다(堀田 萬ら 編輯 1989). 이 처럼 서양에서는 골다공증 예방이나 항산화 효과를 위해 대두를

사용하고 있는 반면, 한의학이나 민간요법에서는 약콩(鼠目太; 쥐눈이콩)이 사용되어 왔다(Lee HK 1998).

본 연구에서는 대표적인 항산화 식품인 콩류 중 대두와 약성이 탁월하여 약콩이라고 불리는 서목태에서의 AChE 억제 기능과 free radical scavenging 효과를 알아봄으로써 식품에서 노화로 인한 퇴행성 신경질환 예방효과에 기초 자료를 제공하고자 한다.

연구내용 및 방법

1. 재료 및 시약

대두는 경기도 양주산을 구입하였고, 약콩은 강원도 정선산을 동트는 농가(주)에서 구입하였다. Tacrine(9-amino-1,2,3,4-Tetra-hydroacridine), DPPH(1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)을 Sigma 사(Sigma, Missouri, USA)에서 구입하였으며 그 외 시약들은 시약용 제품을 사용하였다.

2. 대두와 약콩 추출물 조제

대두(*Glycine max*)와 약콩(*Rhynchosia nolubilis*)의 메탄올추출은 실온에서 70% Methanol에 24시간 3회 환류 추출하였다. 추출액은 filter paper(0.22 μ m poresize, Milipore)여과지로 여과하여 rotary vacuum evaporator(Sunil EYELA, Japan)로 감압농축한 후 동결건조하여 분말상태의 시료를 사용하였고, 열탕추출은 각 시료의 20배의 물을 넣고 진탕기에서 2시간동안 끓여 감압여과한 후 농축 및 동결건조하여 사용하였다(Kang et al 2001).

3. Acetylcholinesterase inhibition assay

AChE 활성 측정법은 Ellman 방법(Ellman et al 1961)을 응용한 ELISA법을 이용하여 측정하였다. Enzyme은 ICR 마우스의 whole brain을 5배의 homogenation buffer(1M NaCl, 50 mM MgCl₂와 1% Triton X-100이 포함되어 있는 10 mM Tris-HCl (pH 7.2))로 균질화하여 10,000g에서 30분 동안 원심분리하여 상층액을 분리하여 사용하였다. Enzyme의 농도는 BCA kit(bicinchoninic acid: Sigma Co., USA)와 BSA(bovine serum albumin)를 사용하여 450 nm에서 희석배수에 따라 흡광도를 측정하여 다음 직선이 되는 부분을 농도로 정해 사용하였다. Ellman의 효소반응 기질은 0.5 mM acetylthiocholine과 1 mM 5,5'-dithio-bis-(2-nitro benzoic acid)를 50 mM sodium phosphate buffer(pH 8.0)에 녹여 사용하였다. AChE 활성 측정에는 96-well microtiter plate reader(Mortensen et al 1996)를 이용하였으며 시료반응은 시료 10%, enzyme 10%를 완충액(50 mM PBS)에 넣은 후 효소반응 기질을 동량으로 넣어 30분동안 37°C CO₂ incubator에 두었다가 450 nm에서 흡광도를 측

정하였다.

4. 항산화 활성측정(Free radical scavenging method)

DPPH(1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 에탄올에 희석하여 희석배수에 따라 540 nm에서 흡광도를 측정하여 0.96~0.97이 되는 농도를 선택하였다. Free radical 활성측정은 96-well microtiter plate reader(Mortensen et al 1996)를 사용하여 시료 10%를 에탄올에 처리한 후 동량의 1 mM DPPH를 가한 후 상온에서 30분을 두었다가 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(Lim et al 2002, Fukumoto et al 2000). DPPH radical scavenger activity(%)는 시료첨가구와 비첨가구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

$$\% = (1 - \text{시료첨가구의 흡광도} / \text{비첨가구의 흡광도}) \times 100$$

5. 통계처리

모든 자료의 통계분석은 SAS 통계 프로그램(SAS institute, 1987)을 이용하여 분석하였으며, 분석결과는 실험군당 평균과 표준오차로 나타내었고, AChE 활성의 저해수치 (IC₅₀, Inhibitory concentration of 50% acetylcholinesterase activity)는 SPSS를 이용하여 계산하였다. 대조군에 대한 효과비교는 Student's *t*-test를 이용하였고 $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ 에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. AChE 활성 억제 효과

ICR 마우스의 brain에서 얻은 enzyme을 이용해 대두, 약콩의 70% 메탄올추출물을 농도별로 AChE의 활성 억제효과를 평가하여 Fig. 1에 나타내었다.

우선, 대두와 약콩의 메탄올 추출물과 열탕 추출물의 AChE 억제효과를 측정했으나 열탕 추출물은 각 시료가 5 mg/mL에서 탁한 상태를 나타내어 비색측정이 불가능하였으나 1, 0.1 mg/mL의 농도에서는 열탕 추출물에서는 대두에서 $57.8 \pm 0.13\%$, $27.7 \pm 0.10\%$ ($p < 0.001$)였으며 약콩에서는 $16.2 \pm 0.07\%$, $13.9 \pm 0.01\%$ ($p < 0.01$)로 나타나 열탕 추출물의 저농도에서는 대두가 약콩에 비해 높은 효과를 나타내었다. 메탄올 추출물에서는 고농도인 5 mg/mL에서는 대두, 약콩 각 시료의 AChE의 활성 억제효과가 $62.0 \pm 2.43\%$, $65.0 \pm 3.29\%$ 로 비슷했으나 저농도인 0.1 mg/mL에서는 약콩의 경우 $25.5 \pm 0.94\%$ 로 대두에 비해 AChE 억제효과의 유의적인 차이를 나타냈다 (Fig. 1).

대두와 약콩 메탄올 추출물의 AChE 억제 효과의 IC₅₀은 각각 1.96 mg/mL, 1.31 mg/mL를 나타냄으로 약콩이 대두보다

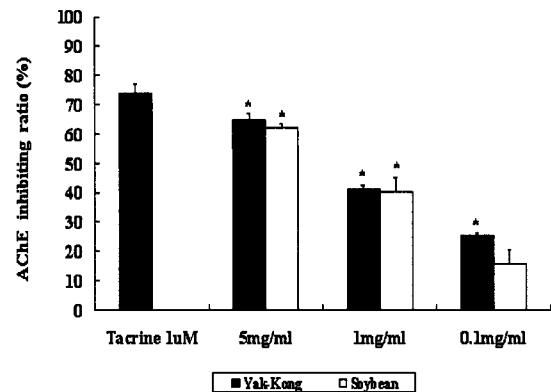


Fig. 1. AChE inhibiting effect of Soybean and Yak-kong. Tacrine is reference drug and the concentration of tacrine was 1uM.

* : Significantly different from control at $p < 0.01$ by *t*-test.

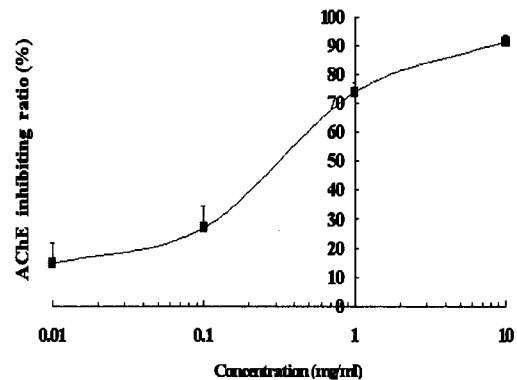


Fig. 2. The activity of actylcholinesterase(AChE) of Tacrine at various concentrations. X axis was log scale value. IC₅₀ of Tacrine was 280 nM.

적은 양으로도 억제효과를 보였다. AChE 활성 억제 비교물질인 Tacrine에서도 같은 효소억제 반응을 실험해 본 결과, AChE 억제 효과의 IC₅₀ 수치는 280 nM 정도로 나타났다(Fig. 2). 이것은 대두와 약콩에 비해 적은 양으로써 AChE 활성억제에 탁월한 약성을 가지고 있다는 것을 알 수 있었다.

현재 Tacrine은 임상에서 사용하고 있는 약으로써 AChE 활성을 일시적으로 억제해 인지능력을 유지시키는 작용을 하고 있다. 물론 대두와 약콩을 같이 비교해 보았을 때 효과는 Tacrine에서 더 높았지만 장기간 복용시 나타나는 독성으로 인한 간 장애, 복통이나 설사 등의 위장 장애 심각한 부작용을 고려해 볼 때(Shadlen & Larson 1999, Han & Han 1994, Pacheco et al 1995), 천연식품인 대두, 약콩 추출물은 생체 안전성이 뛰어나고 독성이 거의 없는 생리활성 물질이기 때문에 의미있는 수치라고 볼 수 있다.

Kritz-Silverstein et al(2003)의 최근 임상연구에 의하면 폐경 후 여성들에게 이소플라본의 공급에 의하여 인지능력의 향

상 즉 단어 구사력의 기억력 증가를 볼 수 있었다고 하며 File et al (2001)의 연구에서는 학생들을 대상으로 고농도의 대두를 공급하였을 때 언어 구사력의 증가, 기억력의 향상을 보았다고 한다. Jorissen et al (2001)의 연구에서도 대두의 추출물 중 phosphatidylserine의 공급에 의하여 기억력의 향상을 볼 수 있었다고 한다. 또한 두부의 섭취량과의 인지능력의 상관성을 시사한 연구(White et al 2000)도 있었는데 중년기에 두부의 섭취량이 많을수록 노년기에 인지능력의 감퇴 감소, 노화의 지연을 가져올 수 있다고 시사하였다. 이에 대하여 자연 식품인 대두와 약콩의 공급은 기억력 향상을 비롯하여 인지능력의 향상을 위하여 섭취해야 하는 중요한 식품이다. 대두와 인지능력의 향상에 관한 임상연구는 국내에서는 연구가 거의 진행되지 않은 실정이고 새롭게 진행되는 연구이지만 이를 설명할 수 있는 기전의 연구가 병행되어야 하는 시점에서 본 연구는 대두와 약콩의 함유물에 의한 항산화성, AChE 활성 억제에 대한 설명으로 부연하였고 지속적인 연구가 진행되어야 한다.

2. 항산화 효과

Free radical로서 비교적 안정한 DPPH(1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 이용하여 메탄을 추출물과 열탕 추출물을 농도별로 Free radical scavenger 효과를 평가하여 Fig. 3에 나타내었다. 메탄을 추출물과 열탕 추출물의 Free radical scavenger 효과를 비교해 보면, 5 mg/mL에서 대두 열탕추출물이 메탄을 추출물보다 약간의 좋은 효과를 나타냈지만, 전반적인 Free radical 억제 효과는 메탄을 추출물에서 더 좋은 효과를 나타내었다. 또한, 대두와 약콩의 Free radical scavenger 효과를 보면 고농도인 5 mg/mL에서 각각 23.1±4.26%, 80.7±4.61%로 약콩에서 대두보다 약 4배나 더 높은 효과를 나타냈으며(p<0.001), 각 시료의 IC₅₀을 구해 보면, 대두 13 mg/mL는 약콩(1.41 mg/mL)에 비해 약 10배 정도로 높아 Free radical scavenger 효과에 있어서 약콩이 유의적으로 높은 효과를 나타내었다(Fig. 3).

한편, 대두, 약콩 메탄을 추출물의 농도별로 비교해 나타내었을 때 약콩이 대두에 비해 좋은 항산화 효과를 나타냈다. 또한 대표적인 항산화 성분인 비타민 C의 효과보다 약콩 5 mg/mL에서 유의하게 높은 항산화 활성을 보였고 1 mg/mL에서는 비타민 C와 비슷한 수준의 항산화 활성을 보였다. 그러나, 대두는 항산화제인 vitamin C에 비하여 낮은 항산화 활성을 나타내었다. 시간에 따른 Free radical scavenger 효과를 보았을 때는 비타민 C의 경우 시간에 따라 비슷한 효과를 보였으나 대두와 약콩은 incubating 시간에 따라 free radical 억제 효과가 증가해 높은 항산화 효과를 볼 수 있었다(Fig. 4).

이런 Free radical scavenger 효과는 노화와 질병의 원인이

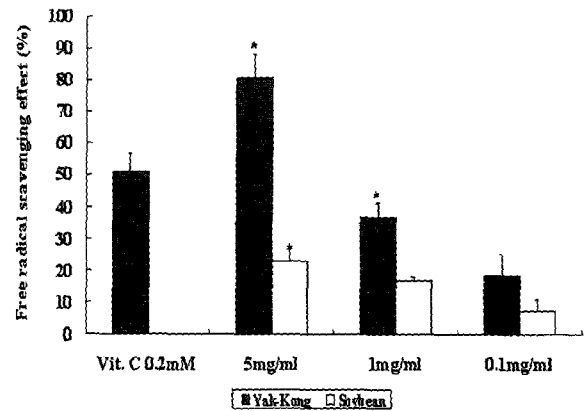


Fig. 3. Free radical scavenging effect of Soybean and Yak-Kong at concentration of 5, 1, 0.1 mg/mL. Vitamin C is a reference drug and the concentration of Vitamin C was 0.2 mM. *: Significantly different from control at p<0.01 by t-test.

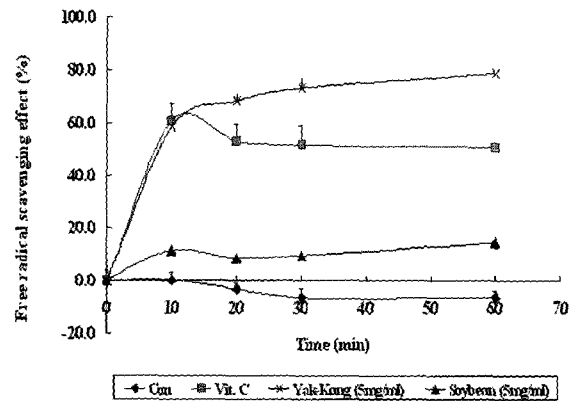


Fig. 4. Free radical scavenging effect of Soybean and Yak-Kong at room temperature incubating time.

free radical로부터 시작된다는데 의의를 두고 있으며, 최근 많은 연구에서 free radical은 지질과산화 결과 생성되는 지질 과산화물을 비롯하여 여러가지 체내 과산화물도 세포에 대한 산화적 파괴로 인한 각종 기능장애를 야기함으로써 노인성 치매를 비롯하여 파킨슨씨병, 뇌허혈 및 뇌졸중과 같은 각종 신경성 질환의 병인으로 알려져 있다(Pellegrini-Giampietro et al 1990, Halliwell 1992). Cypermethrin으로 유도된 산화적 손상은 이소플라본에 의하여 억제될 수 있다는 보고도 되어 있고(el-Demerdash et al 2003), 식물성 기름 즉, 대두유의 항산화 작용에 대하여 자유기를 포획하는 능력과 철 이온을 환원하는 능력으로 평가한 보고도 있고(Pellegrini et al 2003), 대두 seedling의 항산화력 연구도 진행되고 있다(Liu et al 2003). Choi & Koo (2003)의 연구에 의하면 대두의 메탄을 추출물이 osteoblastic MC3TC-E1 cell에서 TNF-alpha 생성을 억제하면서 자유기 제거 능력을 가지고 있음을 보고하였다. 노란콩의 항산화 실험은 세포, 동물, 임상실험이 진행되고 있으나 검정

콩의 효과에 대해서는 연구가 미약한 실정에 본 연구의 결과를 활용하여 앞으로 연구가 진행된다면 약콩의 높은 Free radical scavenger 효과는 이를 이용한 천연 항산화 개발 가능성도 높다고 여겨지며 이는 노인성 질환에 도움이 될 것으로 보인다.

요 약

본 연구에서는 이미 항산화 효과로 알려져 있는 대두와 약성이 탁월한 약콩에서 AChE 활성 억제효과와 Free radical scavenger 효과를 노화로 인한 질병 예방효과에 대한 기초자료를 제공하고자 수행하였다.

1. 대두 열탕 추출물의 경우 저농도인 1, 0.1 mg/mL에서는 AChE의 활성 억제 효과가 메탄올 추출물보다 높았다. ($p < 0.001$)
2. 대두, 약콩 메탄올 추출물에서는 고농도인 5 mg/mL에서 각 시료의 효과가 $62.0 \pm 2.43\%$, $65.0 \pm 3.29\%$ 로 비슷했으나 저농도인 0.1 mg/mL에서는 약콩의 경우 $25.5 \pm 0.94\%$ 로 약콩이 대두에 비해 유의적인 AChE 억제효과를 나타냈다. ($p < 0.001$)
3. 시간에 따른 Free radical scavenger 효과는 비타민 C의 경우 시간에 따라 비슷한 효과를 보였으나 대두와 약콩은 incubating 시간에 따라 free radical 억제효과가 증가해 높은 항산화효과를 볼 수 있었다.
4. 대두, 약콩 메탄올 추출물에서는 약콩이 고농도인 5 mg/mL에서 약 4배 정도의 효과를 보였으며 Free radical scavenger의 50% 효과를 나타내는 IC₅₀에서는 약 10배 정도로 높은 Free radical scavenger 효과를 나타내 약콩이 대두에 비해 유의적으로 높은 효과를 나타내었다.

결론적으로, 대두와 약콩의 추출물은 AChE 활성억제효과에 있어서 좋은 효과를 나타내며 또한 노화의 원인과 질병의 원인이 되는 free radical을 억제하는 효과를 가지고 있어 노인성 치매를 비롯하여 파킨슨씨병, 뇌허혈 및 뇌졸중과 같은 각종 노인성 질환예방에 도움이 될 것으로 보인다.

문 헌

堀田 萬ら 編輯(1989) 世界有用植物事典. 平丹社. 東京, 日本.
Anderson JJ, Anthony MS, Cline JM, Washburn SA, Garmer SC (1999) Health potential of soy isoflavones for menopausal women. *Public Health Nutr* 2: 489-504.
Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL Jr, Morgan TM, Burke GL (1996) Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr* 126: 43-50.

Choi EM, Koo SJ (2003) Effects of soybean ethanol extract on the cell survival and oxidative stress in osteoblastic cells. *Phytother Res* 17: 627-632.
Daily Economics (2001) 9: p 25.
el-Demerdash FM, Yousef MI, Al-Salhen KS (2003) Protective effects of isoflavone on some biochemical parameters affected by cypermethrin in mal rabbits. *J Environ Sci Health B* 38: 365-378.
Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 75-88.
Emery CF, Huppert FA, Schein RL (1995) Relationships among age, exercise, health, and cognitive function in a British sample. *The Gerontologist* 35: 378-385.
File SE, Jarrett N, Fluck E, Duffy R, Casey K, Wiseman H (2001) Eating soya improves human memory. *Psychopharmacology* 157: 430-436.
Fratiglioni L, Grut M, Forsell Y (1991) Prevalence of Alzheimer's disease and other dementias in sex and education. *Neurology* 41: 1886-1892.
Halliwell B (1992) Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 59: 1609-1623.
Han JS, Han YB (1994) The effects of high fat diet and dietary fiber on lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 541-547.
Jama JW, Launer LJ, Witteman JCM, Breejien JH, Breteler MMB, Grobbee DE (1996) Dietary antioxidants and cognitive function in a population-based sample of older persons-the Rotterdam Study. *Am J Epidemiol* 144: 275-280.
Jorissen BL, Brouns F, Van Boxtel MP, Riedel WJ (2002) Safety of soy-derived phosphatidylserine in elderly people. *Nutr Neurosci* 5: 337-343.
Kang SA, Jang KH, Cho YH, Hong KH, Kong SH, Choue RW (2001) High performance liquid chromatographic analysis of isoflavones in soybean and blackbean. *J of ARAHE* 8: 44-48.
Kim C, Lee YS, Kim JS, Hahn Y (2000) High performance liquid chromatographic analysis of isoflavones in soybean foods. *Korean J Food Sci Technol* 32: 25-30.
Kim SD, Park KY, Lee YH, Yun HT, Lee SH, Kim YH, Seung YK, Park EH, Kim HS, Ryu YH, Son YG, Kim YS (1996) A black seed coat soybean variety with small seed and lodging resistant Tawonkong. *RDA J Crop Sci* 40: 102-106.
Kim YH, Kim SK (1996) Physiological function of isoflavones and their genetic and environmental variation in soybean.

- Korea J Crop Sci* 41: 25-45.
- Korea Health and Welfare Office (2000) *Annual Report*.
- Koutsiliery E, Scheller C, Grunblatt E, Nara K, Li J, Riederer P (2002) Free radicals in Parkinson's disease. *J Neurol* 249: 1101-1105.
- Kritz-Silverstein D, Von Muhlen D, Barrett-Connor E, Bressel MA (2003) Isoflavones and cognitive function in older women; the SOy and Postmenopausal Health In Aging (SOPHIA) study. *Menopause* 10: 196-202.
- Kwon TW, Song YS (1996) Health function of soybean foods in proceeding of IUFOST '96 regional symposium on non-nutrition. *Health for Future Foods*, Seoul.
- Lee HK (1998) Effect of black bean and sam-ryung-bak-chul-san on ovariectomy-induced postmenopausal osteoporotic rats. *Ph. D. Dissertation*. Kyung Hee University. Seoul.
- Lee L, Kang SA, Lee HO, Lee BH, Jung IK (2001) Effect of supplementation of vitamin E and vitamin C on brain acetylcholinesterase activity and neurotransmitter levels in rats treated with scopolamine, an inducer of dementia. *J Nutr Sci Vitaminol* 247: 323-328.
- Lee L, Kang SA, Lee HO, Lee BH, et al (2001) Relationships between dietary intake and cognitive function level in Korean elderly people. *Public Health* 115: 133-138.
- Liu W, Li P, Zhou Q, Sun T, Tai P, Xu H, Zhang H (2003) Effect of short-term phenanthrene stress on SOD activities and MDA contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 14: 581-584.
- Park JS, Kang SA, Lee L, Kim JH, Jung IK, Park YJ, Lee JE (1999) Associations between Environmental Factors and Depression in Korean Elderly People. *J of ARAHE* 6: 51-56.
- Messina M (1995) Modern application for ancient bean soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J Nutr* 125: 567-570.
- Mortensen SR, Chanda SM, Hooper MJ, Padilla S (1996) Maturation differences in chlorophyllase activity may contribute to age-related sensitivity to chlorophyllase. *J Biochem Toxicol* 11: 279-287.
- Office of Technology Assessment (OTA) (1987) *Losing a million minds (OTABA-323)*. Government Printing Office, Washington DC.
- Pacheco G, Palacios-Esquivel R, Moss DE (1995) Cholinesterase inhibitors proposed for treating dementia in Alzheimer's disease: selectivity toward human brain acetylcholinesterase compared with butyrylcholinesterase. *J Pharmacol Exp Ther* 274: 767-770.
- Pellegrini-Giampietro DE, Cherici G, Alesiani M, Carla V, Moroni F (1990) Excitatory amino acid release and free radical formation may cooperate in the genesis of ischemia-induced neuronal damage. *J Neurosci* 10: 1035-1041.
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F (2003) Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J Nutr* 133: 2812-2819.
- Rosenberg IH, Miller JW (1992) Nutritional factors in physical and cognitive functions of elderly people. *Am J Clin Nutr* 55: 1237S-1243S.
- La Rue A, Koehler KM, Wayne SJ, Chiulli SJ, Haaland KY, Garry PJ (1997) Nutritional status and cognitive functioning in a normally aging sample: a 6-y reassessment. *Am J Clin Nutr* 65: 20-29.
- Shadlen MF, Larson EB (1999) What's new in Alzheimer's disease treatment? Reasons for optimism about future pharmacologic options. *Postgrad Med* 105: 109-118.
- Stern Y, Gurland B, Tatemichi TK, Tang MX, Wilder D, Mayeux R (1994) Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease. *JAMA* 271: 1004-1010.
- Sulkava R, Wikstrom J, Aromaa, et al (1985) Prevalence of severe dementia in Finland. *Neurology* 35: 1025-1029.
- Wei H, Wei L, Frenkel K, Bowen R, Barnes S (1993) Inhibition of tumor promoter-induced hydrogen peroxide formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. *Nutrition and Cancer* 20: 1-8.
- White LR, Petrovitch H, Ross GW, Masaki K, Hardman J, Nelson J, Davis D, Markesbery W (2000) Brain aging and midlife tofu consumption. *J Am Coll Nutr* 19: 242-255.

(2004년 1월 13일 접수; 2004년 1월 30일 채택)