

저장 조건에 따른 녹차 추출물의 acetylcholinesterase(AChE) 저해 효과

곽지현 · 정창호 · 김지혜 · 최귀남 · 신영희 · 이승철¹ · 조성환 · 최성길 · 허호진*

경상대학교 응용생명과학부 · 농업생명과학연구원, ¹경남대학교 식품생명학과

Acetylcholinesterase Inhibitory Effect of Green Tea Extracts According to Storage Condition

Ji Hyun Kwak, Chang-Ho Jeong, Ji Hye Kim, Gwi Nam Choi, Young-Hee Shin, Seung-Cheol Lee¹,
Sung Hwan Cho, Sung-Gil Choi, and Ho Jin Heo*

Division of Applied Life Sciences, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University
¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University

Abstract Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors, which enhance cholinergic transmission by reducing the enzymatic degradation of acetylcholine, are the only source of the compound that is currently approved for the treatment of Alzheimer's disease (AD). In these experiments, the concentration samples of green tea extracts were 100, 500, and 1,000 µg/mL. Among them, the highest concentration (1,000 µg/mL) of fresh green tea extracts showed the most potent inhibitory effect on AChE by reducing more than 40% of enzyme activity, and in a concentration-dependent pattern. In addition, we examined the effect of other storing conditions on AChE inhibition. In order to maintain storage for 3 months, the materials were held at the certain storing conditions of temperature (room temperature, 4 and -20°C) and for water activity (0.81, 0.69, and 0.23). In these storing conditions, the difference in temperature did not contribute to the AChE inhibitory effect. Our presented data showed that the AChE inhibitory effect was affected by the concentration of green tea extract and by water activity (0.81). These results suggest that green tea may serve as a potential dietary source of AChE inhibitor.

Key words: acetylcholinesterase, green tea, storing conditions

서 론

각종 질환으로 인하여 뇌의 지적능력을 상실하게 되는 경우를 치매(dementia)라고 하는데, 치매는 크게 알츠하이머형 치매(Alzheimer's disease; AD)와 혈관성 치매(vascular dementia)로 구분되며, 그 중 AD는 전체 치매의 60-70%를 차지할 만큼 치매의 유발 원인 중 가장 높은 비율을 차지하는 퇴행성 뇌신경질환이다. AD는 점진적으로 뇌의 여러 조직에 존재하는 신경세포가 죽거나 그 기능을 상실함으로써 기억과 인지에 손실을 주는 특징을 가지고 있다(1,2). AD의 발병 원인은 아직 정확히 밝혀지지 않았지만 많은 가설이 제기되고 있으며 그 중 가장 유력한 가설로서 amyloid β(Aβ) 단백질의 과도한 축적을 들 수 있다(3). Aβ의 과도한 축적은 apoptosis pathway를 활성화시키고(4,5) free radical의 손상을 유도하여 oxidative stress를 유발시켜 지속적으로 신경세포를 파괴시키게 된다(6,7). 이러한 원인으로 인해 AD를 앓는 환자의 뇌 신경세포는 파괴되고 신경전달물질인 acetylcholine(ACh)의 함량이 정상인의 뇌보다 매우 감소된 것으로 보고되

고 있다(8-10). ACh는 신경세포 안에 존재하던 choline과 acetyl CoA가 acetyltransferase(ChAT)라는 효소에 의해 생성된다. 이 ACh는 신경말단에서 분비되어 수용체에 결합함으로써 신경세포의 신호를 전달한 후 acetylcholinesterase(AChE)에 의해 acetate와 choline으로 분해가 되고, 분해되어진 choline은 carrier에 의해 다시 신경계로 부분 흡수되어진다. 이 과정을 cholinergic system이라 부르며 신경세포가 손상된 치매 환자의 경우 생성되는 ACh의 양은 적고 AChE의 작용은 계속되어 신경전달에 이상이 생기게 되면서 결국 치매 환자는 학습 능력 및 기억력 감퇴와 인지력 저하 등과 같은 대표적인 병리현상이 발생된다(11,12). 이러한 작용 기전에 따라 치매 환자의 인지기능을 개선하는 용도로 acetylcholinergic 신경세포의 기능을 강화시켜줄 수 있는 AChE 저해제로서 많은 의약품이 개발되어 시판되고 있다(13,14). 그러나 지금까지 사용되어 오고 있는 AChE 저해 관련 치료제들은 수많은 부작용이 동반된다고 알려져 있어 천연물 유래 AChE 저해제를 찾고자 하는 연구가 활발하게 이루어지고 있다(15,16).

녹차(*Camellia sinensis*)는 동백과에 속하는 다년생 상록식물로서 전 세계 사람들이 몰 다음으로 즐겨 마시는 음료 중의 하나이고, 매우 다양한 생리학적 성질 등이 알려져 있다(17,18). 녹차에 함유되어 있는 생리적 지표성분인 catechins는 건조시킨 녹차에 8-15% 정도 함유되어 있고, 또한 녹차에 함유되어 있는 주요한 catechins는 epicatechin, epigallocatechin, epicatechingallate 및 epigallocatechin gallate 등으로 나누어진다(19). 녹차에서 추출된 여러 가지 활성 물질들 중에서 특히 epigallocatechin gallate (EGCG)는 가장 강력한 생리활성 능력을 가진 것으로 알려져 있

*Corresponding author: Ho Jin Heo, Division of Applied Life Sciences, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea
Tel: 82-55-751-5476
Fax: 82-55-753-4630
E-mail: hjher@gnu.ac.kr
Received April 20, 2009; revised June 15, 2009;
accepted June 23, 2009

고, 그 작용은 항암, 심혈관 질환 및 각종 퇴행성 질환 등 여러 가지 연구에서 증명되어 왔다(20-23). 산업적 활용도가 높은 녹차는 저장성을 고려하여 일반적으로 건조하여 보관유통하므로 미생물에 의한 변질은 미비한 것으로 알려지고 있으나(24) 흡습성이 매우 강하기 때문에 저장 기간이 경과함에 따라 또는 추출한 후 추출물을 상온에 보관하면 흡습과 동시에 catechin류와 같은 활성성분이 급속하게 산화를 일으켜 다양한 생리활성 능력이 저하된다고 알려지고 있다(24-27). 그러나 이에 대한 체계적인 연구는 아직 미비한 실정이고, 녹차에 함유되어 있는 생리활성 물질을 바탕으로 향후 신경 퇴행성 질환 치료제로써 개발하기 위한 AChE 활성에 관한 연구도 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 수분활성도(0.81, 0.69, 0.23)와 저장온도(-20, 4, 25°C)를 달리하여 잎녹차와 분말녹차를 3개월 동안 저장한 후 저장 조건에 의한 녹차 추출물이 가지는 신경세포의 AChE 저해효과에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 잎녹차와 분말녹차는 녹차 전문 제조업체인 경남 하동군 악양면에 위치한 (주)햇차원에서 제조한 것을 사용하였다. 분말녹차의 경우 녹차 잎을 분쇄하여 100 mesh sieve를 통과시켜 제조하였다. PC12 세포 배양 시 필요한 RPMI 1640 medium과 fetal bovine serum은 Gibco BRL Co.(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며, streptomycin, sodium bicarbonate와 HEPES 및 나머지 시약은 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)제품을 구입하여 사용하였다.

저장조건 및 추출물의 제조

수분활성도 0.81, 0.69 및 0.23 조건을 맞추어 주기 위해 밀폐용기(1.4 L)에서 KCH₃CO₂, KI, (NH₄)₂SO₄의 비율을 조정한 포화염 용액(690 mL)을 만들었으며, 잎녹차와 분말녹차를 50 g 넣어 -20, 4 및 25°C에서 각각 fresh상태에서부터 3개월 동안 저장하였다. 3개월 동안 저장된 잎녹차와 분말녹차 각각 1.5 g에 70°C의 증류수 100 mL을 가하여 5분간 추출하여 Whatman No. 2 (Whatman plc., Kent, UK)여과지로 여과한 후 이를 진공농축(N-N series, Eyela, Tokyo, Japan)과 동결건조(Ilsin, Yangju, Korea)를 하여 녹차 열수 추출액을 제조하였다. 제조된 동결건조 추출물은 -20°C 냉동고에서 보관하면서 연구에 사용하였다.

세포배양

본 실험에서 사용한 PC12 세포(KCLB 21721, Korean cell Line Bank, Seoul, Korea)는 신경세포의 특성을 나타내는 세포로 쥐의 pheochromocytoma로부터 유도된 것을 사용하였다. PC12 세포를 25 mM HEPES, 25 mM sodium bicarbonate, 10% fetal bovine serum, 50 units/mL penicillin 및 100 mg/mL streptomycin 이 포함된 RPMI 1640배지에 접종하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

AChE 저해활성 측정

AChE 저해활성 측정은 acetylcholine iodide를 기질로 사용하여 Ellman법(28)으로 측정하였다. 효소는 PC12 세포배양액 1 mL에 균질화를 1 M NaCl, 50 mM MgCl₂, 1% Triton X-100 혼합액에 10 mM Tris-HCl로 pH 7.5조정한 lysis buffer 5 mL를 첨가하여 Glass-Col homogenizer로 균질화한 후 균질화 된 세포배양액을

10,000 rpm에서 30분 동안 원심분리 하였으며, 그 상정액을 효소 실험을 위하여 사용하였다. 모든 추출공정은 4°C에서 수행하였으며, 추출한 효소액의 단백질함량을 측정하기 위하여 BCA kit(bicinchoninic acid; Sigma Co., St. Louis, Mo, USA)를 이용하였고, bovine serum albumin으로 작성한 검량곡선에 준하여 함량을 환산하였다. 정제효소 10 µL에 조제 추출물 10 µL를 넣어 37°C에서 15분간 반응시켰으며, 반응 혼합물에 50 mM sodium phosphate buffer(pH 8.0)에 용해시킨 Ellman's reaction mixture [0.5 mM acetylthiocholine, 1 mM 5,5'-dithio-bis(2-nitro benzoic acid)] 70 µL를 첨가한 후 405 nm에서 10분 동안 2분 간격으로 흡광도를 측정하였다.

통계처리

데이터의 통계처리는 실험은 3회 반복으로 행해졌으며, 그 평균값을 mean±SD로 표시하였으며, 실험결과는 SAS package program을 이용하여 일원배치분산분석 후, 유의성 검정은 $p < 0.05$ 에서 Duncan's rage test로 분석하였다.

결과 및 고찰

잎녹차 단기저장(fresh-4주간) 추출물의 (AChE)에 대한 저해효과

수분활성도 0.81, 0.69 및 0.23 조건으로 fresh-4주간 저장한 잎녹차 열수 추출물의 AChE 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 각 sample의 열수 추출물의 농도는 100, 500 및 1,000 µg/mL로 구분하여 효소활성 저해효과를 조사하였다. Positive control로서 0.1 mM BW284c51(1,5-bis(4-allyldimethylammonium-phenyl)-penta-3-one dibromide)를 처리한 군의 AChE 저해활성은 약 84% 정도였으며, 이에 비해 잎녹차 추출물 100(Fig. 1A)과 500 µg/mL (Fig. 1B) 농도 처리군은 fresh sample의 추출물을 제외하고는 모두 AChE 저해활성이 나타나지 않았다. Fresh sample 농도 100과 500 µg/mL에서 각각 5%와 25%의 AChE 저해활성을 나타내었으나 각 sample에 대한 추출물의 처리 농도가 1,000 µg/mL(Fig. 1C)에서는 전체적으로 AChE 저해활성이 3-42% 정도로 상대적으로 높게 나타났으며, 특히 fresh sample에서 가장 높은 42%의 효소 저해활성을 보여주었다. 결국 4주까지의 저장조건에서 잎녹차 추출물의 AChE 저해효과는 fresh sample에서 농도 의존적인 패턴을 보였으며 농도 1,000 µg/mL를 처리한 시료를 제외한 다른 처리 구에서는 별다른 효소 저해효과를 발견할 수 없었다.

분말녹차 단기저장(fresh-4주) 추출물의 AChE에 대한 저해효과

분말녹차를 잎녹차 실험 시와 동일한 저장조건으로 fresh-4주간 저장한 추출물의 AChE에 대한 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 처리농도 100 µg/mL 군(Fig. 2A)에서 fresh sample 추출물의 저해활성은 관찰되지 않았고, 14주 저장한 추출물에서 20-25%의 저해활성을 보였다. 이때 수분활성도의 영향은 매우 미비한 것으로 판단되어 그 차이는 무시할 수 있는 수준으로 생각된다. 분말녹차 500 µg/mL(Fig. 2B) 농도 처리군에서는 fresh sample 추출물이 100 µg/mL 처리군 대비 18%정도의 뚜렷하게 증가된 저해활성이 관찰 되었고, 14주 저장한 분말녹차의 추출물은 약 27-39%의 AChE 저해활성을 나타냈다. 분말녹차 1,000 µg/mL 처리군(Fig. 2C)에서는 fresh sample 추출물의 AChE 저해활성이 36%로 더욱 증가되어 뚜렷한 농도 의존적인 저해활성을 보여주었다. 더불어 14주 저장된 분말녹차 추출물의 경우에서도 농도 의존적으로 효소 저해활성이 증가하는 경향을 나타내었고, 특히

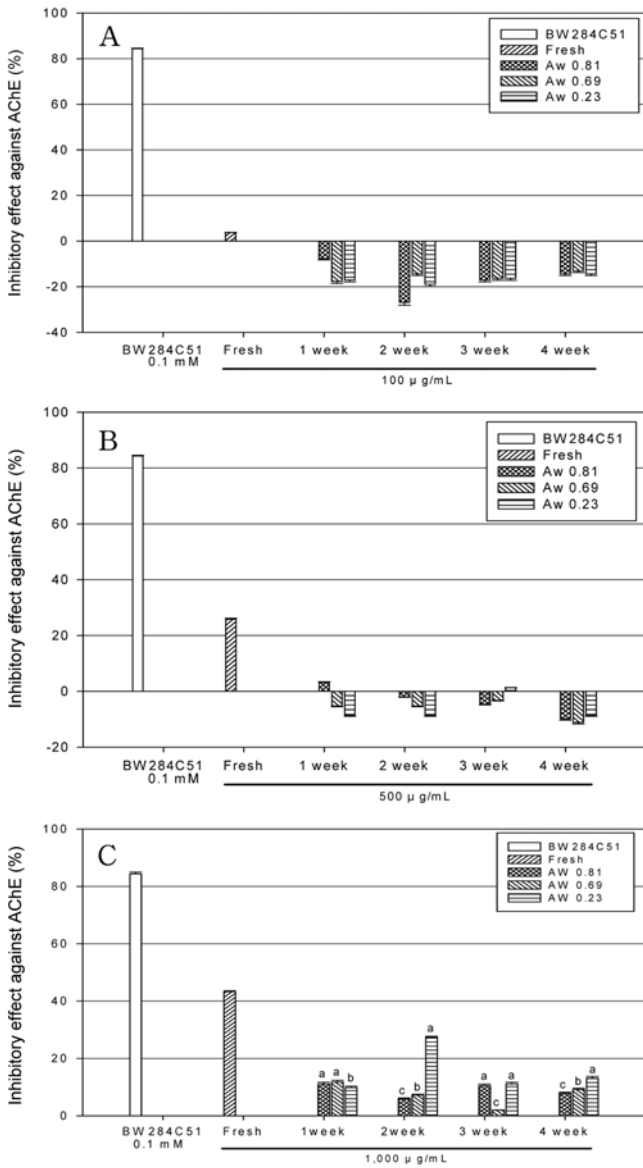


Fig. 1. AChE inhibitory effect of green tea leaves extracted with 70°C distilled water. The enzyme activity was calculated as compared to the control activity (100%). Sample concentration was 100 (A), 500 (B) and 1,000 (C) µg/mL. Values represent the means (n=3)±SD. Positive control: 0.1 mM BW284c51[1,5-bis-(4-allyldimethylammoniumphenyl)-pentane-3-one dibromide].

수분활성도 0.81에서 저장한 시료 열수 추출물의 저해활성이 두드러지게 증가하는 경향을 보였다. 따라서 fresh-4주 정도의 단기 저장한 잎녹차와 분말녹차 추출물의 AChE 저해활성 결과를 종합하여 볼 때, 녹차 fresh 추출물의 AChE 저해활성은 유사하게 나타났으며 저장기간 및 수분활성도의 저장 조건에 의한 차이에서는 잎녹차 추출물 보다 분말녹차 추출물의 효소 저해활성이 상대적으로 우수하게 나타났다. 이는 저장조건보다는 추출을 위한 녹차의 상태와 처리 농도에 영향을 받는 것으로 판단된다. 분말 녹차는 반응 표면적 차이에 의한 특성으로 수용성 성분뿐만 아니라 지용성인 베타카로틴, 토코페롤, 식이섬유등의 유용성분까지 섭취할 수 있다(29). 이러한 점에서 볼 때 잎녹차 추출물보다 분말녹차 추출물의 효소 저해활성이 상대적으로 우수하게 나타난 것으로 생각되며, 또한 잎녹차와 분말녹차가 갖는 추출용매와

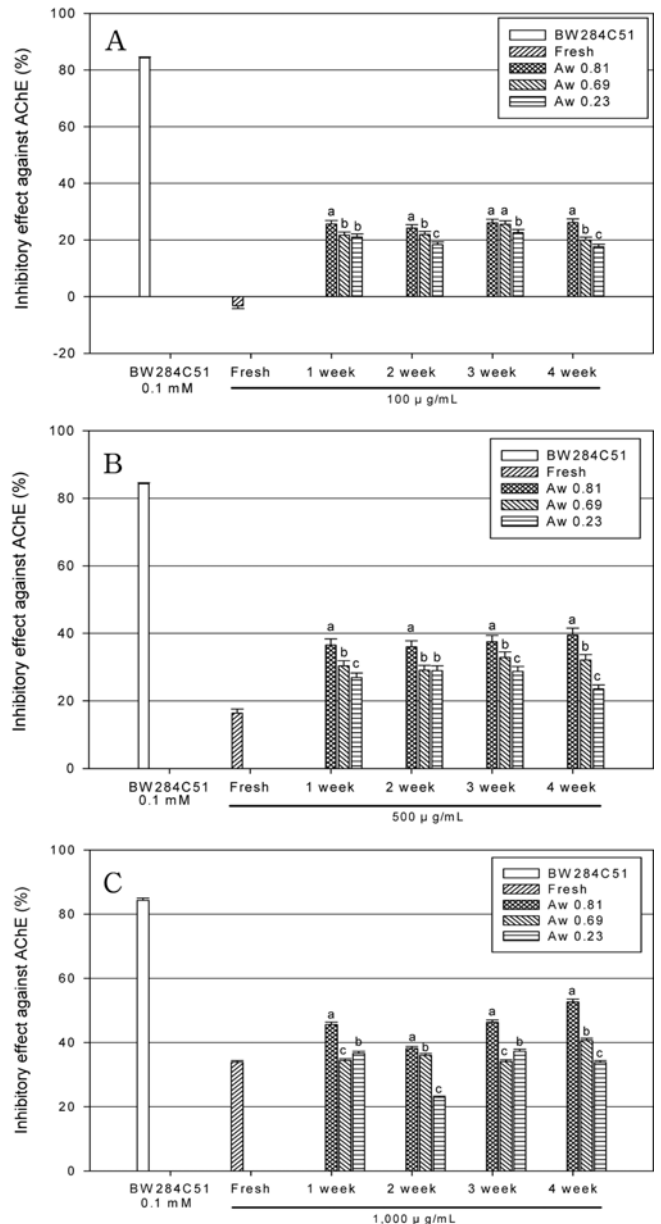


Fig. 2. AChE inhibitory effect of green tea powder extracted with 70°C distilled water. The enzyme activity was calculated as compared to the control activity (100%). Sample concentration was 100 (A), 500 (B) and 1,000 (C) µg/mL. Values represent the means (n=3)±SD. Positive control: 0.1 mM BW284c51[1,5-bis-(4-allyldimethylammoniumphenyl)-pentane-3-one dibromide].

의 반응 표면적 차이에 의한 생리활성 성분의 추출 효율에서 기인되는 것으로 판단된다.

잎녹차 3개월 저장 추출물의 AChE에 대한 저해효과

잎녹차를 3개월간 저장하면서 수분활성도(0.81, 0.69, 0.23)와 저장온도(-20, 4, 25°C)별로 AChE 저해활성을 측정 한 결과는 Fig. 3과 같다. 저장온도 조건별 모든 실험에서 positive control 처리군의 AChE 저해활성은 약 89% 정도였고, 100과 500 µg/mL 농도 처리군은 통계적인 유의차를 고려할 때 20% 내외의 AChE 저해활성을 보였다. 반면 1,000 µg/mL 처리군은 상대적으로 우수한 AChE 저해활성을 나타냈다. 그러나 3개월간 저장한 sample

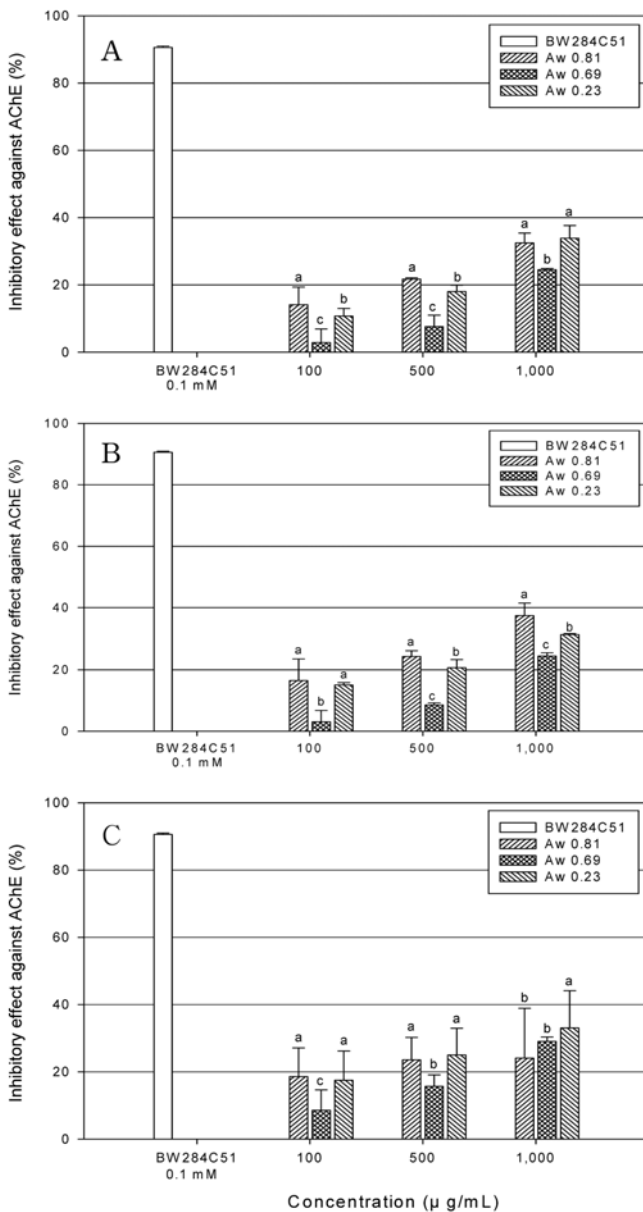


Fig. 3. AChE inhibitory effect of green tea leaves extracted with 70°C distilled water. The enzyme activity was calculated as compared to the control activity (100%). The AChE activities were measured after 3 months storing at 25°C (A), 4°C (B) and -20°C (C). Values represent the means (n=3) \pm SD. Positive control: 0.1 mM BW284c51 [1,5-bis(4-allyldimethylammoniumphenyl)-pentane-3-one dibromide].

추출물에 대한 결과는 4주간 저장한 sample의 추출물과는 다소 상이한 결과를 보여주었는데, 각 수분활성도 조건에서 농도 의존적인 효소 저해활성을 모든 저장온도 조건에서 보여주었다. 더불어 냉동조건(-20°C)을 제외하고는 수분활성도 0.81과 0.23의 추출물이 수분활성도 0.69보다 높은 효소 저해활성도를 나타내었고, 수분활성도 0.81과 0.23에 의한 효소 저해활성도 차이는 거의 없는 것으로 판단된다. Ko 등(30)은 저장조건에 따른 녹차 추출물의 카테킨류 함량은 저온에서 저장한 경우에는 큰 차이가 없었지만, 실내 및 실외에서 저장한 경우에는 148.87에서 14주 후에는 각각 133.98, 141.87 μ g/mL로 약 10, 4.7% 감소하였다고 보고하였다. 그리고 측정된 카테킨류의 함량 중 catechin, epicatechin,

epigallocatechin gallate 및 epicatechin gallate는 저장조건과 저장기간에 관계없이 거의 변화가 없었지만 epicatechin gallate는 실내 및 실외에서 저장한 경우 각각 22.9, 11.9% 감소하였으며, 이는 총 카테킨 함량이 감소하는데 관여된 것으로 보고하였다. 본 연구 결과에서는 저장온도 조건별에서 저장온도가 낮을수록 효소 저해활성도는 높게 나타났는데 이는 녹차의 주된 활성물질로 알려진 카테킨이 저장조건에 따른 함량 변화의 차이가 효소 저해활성에서 중요한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 하지만 이러한 차이가 카테킨류 함량 변화에서 기인한 것인지 카테킨류를 제외한 다른 활성물질들과의 복합적인 상호작용에서 기인한 것인지 정확한 반응기작을 살필 필요가 있다. 이를 위해서는 추출물에 포함된 생리활성성분의 동정과 저장 조건에서의 그 구조적 변화와의 관계를 살피는 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

분말녹차 3개월 저장 추출물의 AChE에 대한 저해효과

분말녹차를 3개월간 저장하면서 수분활성도(0.81, 0.69, 0.23)와 저장온도(-20, 4, 25°C)조건으로 구성하여 AChE 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 저장온도 25°C에서 저장된 분말녹차의 열수 추출물은 4주 동안 저장한 sample의 결과와 유사한 20%를 상회하는 저해활성을 나타냈다. 또한 농도별 효소 저해활성 증가와 함께 수분활성도 0.81과 0.23 추출물에서 우수한 AChE 저해활성이 있는 것으로 관찰되었지만, 이는 통계적인 유의성을 고려할 때 처리 농도 및 수분활성도 조건에 있어서의 차이는 큰 의미가 없는 것으로 판단된다. 상온에서 저장한 분말녹차 열수 추출물의 농도가 증가할수록 효소 저해활성도도 증가하는 농도 의존적인 경향을 보였고, 또한 냉장 저장조건에서 저장된 분말녹차 열수 추출물과 유사한 결과를 보였으며, 농도 100 μ g/mL의 농도에서 25% 내외의 효소 저해활성도를 나타내었다.

냉동 저장조건 분말녹차의 열수 추출물 AChE 저해효과를 측정된 결과 100 μ g/mL와 500 μ g/mL 처리군의 효소 저해활성도는 유의적인 차이를 보이지 않았고, 냉동 저장 분말녹차 농도 1,000 μ g/mL 처리군에서는 상온 및 냉장 저장 조건의 결과와 비교하여 상대적으로 AChE 저해효과가 높게 나타났다. 3개월 저장 후 측정된 분말녹차 열수추출물의 AChE 저해효과는 저장 온도에 따른 차이는 크지 않았으며, 상온이나 냉장조건 보다는 냉동상태(-20°C)의 저장조건이 다소 우수하였다. Lee 등(27)은 상대습도 및 저장온도 조건을 달리하여 분말녹차를 3달간 저장 후 총 페놀 함량 및 녹차에 존재하는 카테킨류가 해당하는 총 플라바놀 함량을 측정된 결과 모든 온도 조건에서 상대습도가 가장 낮은 조건(23%)에서 가장 높은 페놀 함량과 플라바놀 함량을 나타내었다고 보고하였다. 이와 같이 분말녹차의 수분활성도 차이에 따른 비교에서는 수분활성도 0.23에서 저장한 추출물의 효소 저해활성이 상대적으로 우수할 것으로 판단하였으나 수분활성도 0.81에서 저장한 추출물의 효소 저해활성도가 상대적으로 우수하게 나타났다. 따라서 정확한 결과를 확인하기 위해서는 역시 수분활성도 조건별 녹차의 생리활성 물질의 구조변화, 신경세포 보호효과 및 항산화 활성 등의 추가적인 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

위의 결과를 모두 종합하여 보면(Fig. 1-4), 4주까지의 저장조건에서 잎녹차 열수 추출물의 AChE 저해활성은 fresh 조건의 추출물이 가장 우수하였으며, 특히 1,000 μ g/mL의 고농도에서 최대 효소 저해활성(42%)이 나타났다(Fig. 1). 3개월까지의 수분활성도 차이에 따른 저장조건에서는 농도 의존적인 효소저해 활성을 볼 수 있었고, 역시 가장 농도가 높은 1,000 μ g/mL에서 높은 효소 저해활성을 나타내었다. 다만 3개월 저장조건의 농도 100 및

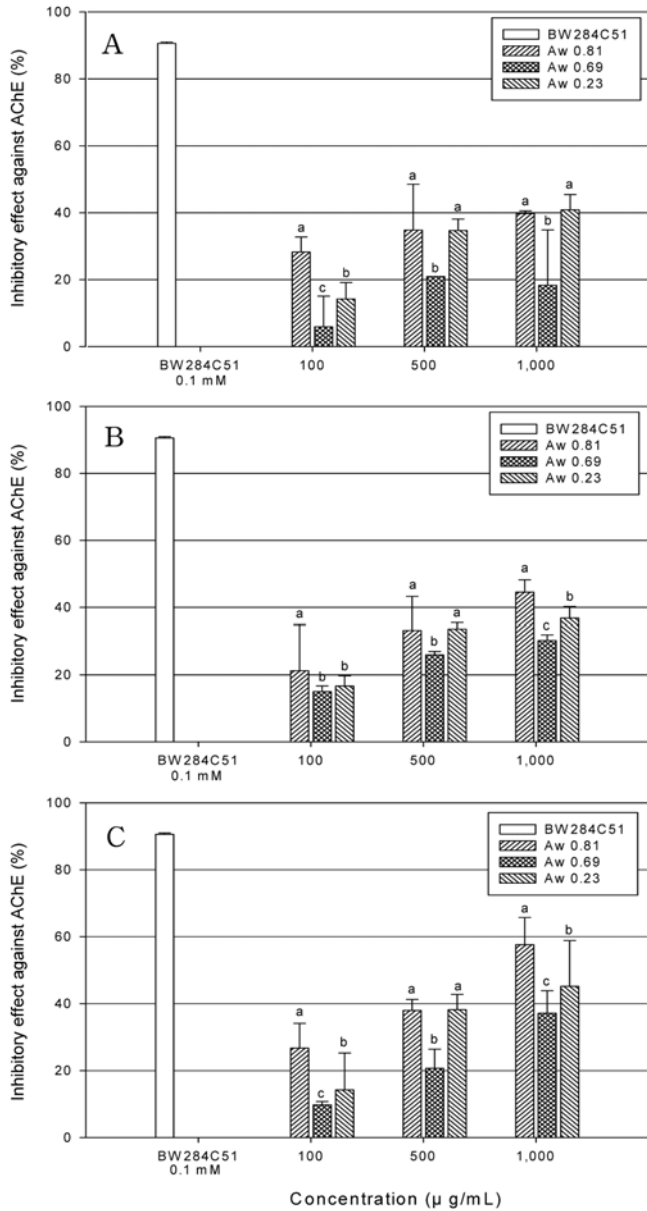


Fig. 4. AChE inhibitory effect of green tea powder extracted with 70°C distilled water. The enzyme activity was calculated as compared to the control activity (100%). The AChE activities was measured after 3 months storing at 25°C (A), 4°C (B) and -20°C (C). Values represent the means (n=3) ±SD. Positive control: 0.1 mM BW284c51 [1,5-bis(4-allyldimethylammoniumphenyl)-pentane-3-one dibromide].

500 µg/mL 처리군에서 20% 내외의 AChE 저해활성이 나타난 것과, 수분활성도 0.81과 0.23 잎녹차 열수 추출물이 상대적으로 높은 효소저해 활성도를 보인 원인은 생리활성 성분에 대한 구체적인 연구가 지속되어야 할 것으로 판단된다. 또한 3개월 저장 후 측정된 분말녹차의 AChE 저해활성은 저장 온도에 따른 차이는 크지 않았으며, 수분활성도의 차이는 수분활성도 0.81에서 저장한 시료에서 효소 저해활성도가 상대적으로 우수하였다. 또한 3개월 저장조건에서도 잎녹차 추출물에 비해 AChE 저해활성은 분말녹차 추출물에서 높은 저해 활성을 보였다.

요 약

잎녹차 추출물 보다는 분말녹차 추출물의 경우가 그리고 저장된 sample보다는 fresh sample의 AChE 저해활성이 상대적으로 높았고 이는 생리활성 물질의 추출효율성과 생리활성 물질의 특성 변화 측면에서 기인되는 것으로 판단된다. 또한 본 연구팀에서 구성한 저장 조건에서, 4주간의 짧은 저장기간이 3개월 저장조건 보다는 우수한 효소 저해활성도를 나타냈다. 수분활성도 측면에서는 수분활성도 0.81의 조건을 갖는 sample에서의 효과가 비교적 우수했고, 3개월 저장하는 동안의 저장온도 조건은 효소 저해활성도에 큰 차이를 보이는 요소로 작용하지 못했다. 다만 상온이나 냉장조건 보다는 냉동상태의 저장조건이 다소 우수한 것으로 판단된다. 결국 생리활성물질을 보다 효율적으로 추출할 수 있는 녹차의 상태와 처리 또는 섭취 농도가 더욱 중요한 것으로 사료되고, 추출 효율을 증가시키기 위해서는 잎 보다는 분말의 상태가 더 우수한 것으로 판단된다. 따라서 녹차 추출물은 acetylcholine성 신경세포의 기능을 강화시켜줄 수 있는 AChE 저해제로서 활용가치가 높을 것이다.

감사의 글

본 연구는 2007년 농림수산식품부 농림기술개발사업과 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2008-521-F00074) 결과로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Hock C, Konietzko U, Streffer JR, Tracy J, Signorell A, Muller-Tillmanns B, Lemke U, Henke K, Moritz E, Garcia E, Wollmer MA, Umbricht D, Quervain D JF, Hofmann M, Maddalena A, Papassotiropoulos A, Nitsch RM. Antibodies against β -amyloid slow cognitive decline Alzheimer's disease. *Neuron* 38: 547-554 (2003)
- Choi JH, Kim DW, Choi JS, Han YS, Baek YH. Effect of reed root extract (RRE) on learning and memory impairment animal model SAMP8 strain. III. Feeding effect of RRE on neurotransmitters and their metabolites in SAMP8 brain. *Korean J. Genet.* 7: 29-36 (1997)
- Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* 6: 487-498 (1991)
- Harada J, Sugimoto M. Activation of caspase-3 in β -amyloid-induced apoptosis of cultured rat cortical neurons. *Brain Res.* 842: 311-323 (2000)
- Yan XZ, Qiao JT, Dou Y, Qiao ZD. Beta-amyloid peptide fragment 31-35 induces apoptosis in cultured cortical neurons. *Neuroscience* 92: 177-184 (1999)
- Goodman Y, Mattson MP. Secreted forms of β -amyloid precursor protein protect hippocampal neurons against amyloid β -peptide-induced oxidative injury. *Exp. Neurol.* 128: 1-12 (1994)
- Behl C, Davis JB, Cole GM, Schubert D. Vitamin E protects nerve cells from amyloid β protein toxicity. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 186: 944-950 (1992)
- Hachinski VC, Illiff LD, Zihhka, E, Du boulay GH, McAllister VL, Russel RW, Symon L. Cerebral blood flow in dementia. *Arch. Neurol.* 32: 632-637 (1975)
- Webster RA, Jordan CC. *Neurotransmitters, Drugs and Disease.* Blackwell Scientific Publication. London, England. pp. 428-445 (1989)
- Aarsland D, Larsen JP, Reinvang I, Aarsland AM. Effect of cholinergic blockade on language in healthy young women. *Brain* 117: 1377-1384 (1994)

11. Perry EK, Perry RH, Blessed G, Tomlinson, BE. Necropsy evidence of central cholinergic deficits in senile dementia. *Lancet* 1: 8004-8189 (1997)
12. Bowen DM, Benton JS, Spillane JA, Smith CC, Allen SJ. Choline acetyltransferase activity and histopathology of frontal neocortex from biopsies of demented patients. *J. Neurol. Sci.* 57: 191-2024 (1982)
13. Schroder H, Giacobini E, Struble RG, Luiten PG, Zilles K, Strosberg AD. Muscarinic cholinergic neurons in the frontal cortex in Alzheimer's disease. *Brain Res. Bull.* 27: 631-636 (1991)
14. Polinsky RJ. Clinical pharmacology of rivastigmine: A new generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Clin. Ther.* 20: 634-47 (1998)
15. Jang CH, Eun JS, Park HW, Seo SM, Yang JH, Leem KH, Oh SH, Oh CH, Baek NI, Kim DK. An acetylcholinesterase inhibitor from the leaves of *securinaga suffruticosa*. *Korean J. Pharmacogn.* 34: 14-17 (2003)
16. Choi WH, Um MY, Ahn JY, Kim SR, Kang MH, Ha TY. Acetylcholinesterase inhibitory activity and protective effect against cytotoxicity of perilla seed methanol extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 1026-1031 (2004)
17. Kim YI, Park JY, Choi SJ, Kim JK, Jeong CH, Choi SG, Lee SC, Cho SH, Heo HJ. Protective effect of green tea extracts on amyloid β peptide-induced neurotoxicity. *Korean J. Food Preserv.* 15: 743-748 (2008)
18. Chen ZP, Schell JB, Ho CT, Chen KY. Green tea epigallocatechin gallate shows a pronounced growth inhibitory effect on cancerous cells but not on their normal counterparts. *Cancer Lett.* 129: 173-179 (1998)
19. Maeda S, Nakagawa M. General chemical and physical analysis on various kinds of green tea. *Chagyo Kenkyuhokoku* 45: 85-92 (1977)
20. Masuda M, Suzui M, Weinstein IB. Effects of epigallocatechin-3-gallate on growth, epidermal growth factor receptor signaling pathways, gene expression, and chemosensitivity in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Clin. Cancer Res.* 7: 4220-4229 (2001)
21. Shimizu M, Deguchi A, Lim JT, Moriwaki H, Kopelovich L, Weinstein IB. (-)-Epigallocatechin gallate and polyphenon E inhibit growth and activation of the epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor-2 signaling pathways in human colon cancer cells. *Clin. Cancer Res.* 11: 2735-2746 (2005)
22. Koh SH, Kim SH, Kwon H, Kim JG, Kim JH, Yang KH, Kim J, Kim SU, Yu HJ, Do BR, Kim KS, Jung HK. Phosphatidylinositol-3 kinase/Akt and GSK-3 mediated cytoprotective effect of epigallocatechin gallate on oxidative stress-injured neuronal-differentiated N18D3 cells. *Neurotoxicology* 25: 793-802 (2004)
23. Kim MK, Jung HS, Yoon CS, Kwon MJ, Koh KS, Rhee BD, Park JH. The protective effect of EGCG on INS-1 cell in the oxidative stress and mechanism. *Korean Diabetes J.* 32: 121-131 (2008)
24. Jeong DH, Kim JT. *The Science of Tea*. Daegwang Press, Seoul, Korea. pp. 87-92 (1997)
25. Park JH, Back CN, Kim JK. Recommendation of packing method to delay the quality decline of green tea powder stored at room temperature. *Korean J. Hort. Sci. Technol.* 23: 499-506 (2005)
26. Youn KS. Absorption characteristics of green tea powder as influenced by particle size. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 1720-1725 (2004)
27. Lee JM, Lim SW, Cho SH, Choi SG, Heo HJ, Lee SC. Effect of relative humidity and storage temperature on the quality of green tea powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 83-88 (2009)
28. Ellmans GL, Courtney KD, Andress VJ, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* 7: 88-95 (1961)
29. Park JH, Kim YO, Kug YI, Cho DB, Choi HK. Effects of green tea powder on noodle properties. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 1021-1025 (2003)
30. Ko WJ, Ko KS, Kim YD, Jeong KW, Lee SH, Koh JS. Changes in functional constituents and stability of green tea beverage during different storing conditions. *Korean J. Food Preserv.* 13: 421-426 (2006)