

노화촉진마우스를 이용한 복분자의 기억력 감퇴 개선 효과

최미란¹ · 이민영¹ · 김정은¹ · 홍지은¹ · 장근혜¹ · 이재용^{1,2} · 전장우³ · 김태환³ · 신현경¹ · 김은지^{1*}

¹한림대학교 식의약품의 효능평가 및 기능성소재개발센터

²한림대학교 의과대학 생화학교실

³하이트진로주식회사 중앙연구소

Rubus coreanus Miquel Improves on Impairment of Memory in Senescence-Accelerated Mouse (SAM)

Mi-Ran Choi¹, Min Young Lee¹, Jeong Eun Kim¹, Ji Eun Hong¹, Kuenhye Jang¹, Jae-Yong Lee^{1,2},
Jang Woo Chun³, Tae Hwan Kim³, Hyun-Kyung Shin¹, and Eun Ji Kim^{1*}

¹Center for Efficacy Assessment and Development of Functional Foods and Drugs,

²Dept. of Biochemistry, College of Medicine, Hallym University, Gangwon-do 200-702, Korea

³Research and Development Center, Hitejinro Co., Ltd., Gangwon-do 250-711, Korea

Abstract

In the present study, we investigated the effects of *Rubus coreanus* Miquel (RCM) on memory ability of senescence-accelerated mice (SAM). Prone 8 strains of SAM mice (SAMP8), which is a useful animal for investigating the mechanism of brain aging and senile dementia, were fed a diet containing 100 mg/kg body weight/day of RCM for 8 weeks. Memory ability of mice was examined by using passive avoidance test and Morris water maze test. SAMP8 mice showed remarkable memory impairment compared with senescence-resistant 1 strains of SAM (SAMR1). RCM significantly improved memory ability of SAMP8 mice. In addition, acetylcholinesterase activities decreased in the brain of SAMP8 mice treated with RCM. Taken together, these results suggest that RCM may act as an acetylcholinesterase inhibitor, thereby improving senescence-related memory impairment.

Key words: *Rubus coreanus* Miquel, senescence-accelerated mouse, memory, passive avoidance test, Morris water maze test

서 론

최근 들어 우리나라는 의학기술의 발달과 삶의 질의 향상에 의해서 평균수명이 증가되어 고령화 사회로 빠르게 진행되고 있다. 이에 따라 노인성 질환으로 간주되는 여러 종류의 퇴행성 질환의 발병률이 급증하고 있다. 특히 노화에 따른 기억력 감퇴 및 치매 등에 의한 급격한 기억력 및 인지능력 저하는 심각한 건강 문제 중의 하나로 여겨지며, 이러한 기억력 및 인지능력 저하는 노인의 사회생활 가능 여부를 결정하는 매우 중요한 요소이다(1). 그러므로 노인의 원활한 생활을 위해 기억력 저하 예방 및 기억력 개선은 매우 중요하고, 이에 대한 연구는 시급한 실정이다.

현재까지 노화에 따른 기억력 감퇴 기전에 대해 정확히 밝혀지지 않았으나 다양한 과정을 통해 노화에 의해 기억력이 감퇴되는 것으로 보고되고 있다. 뇌는 산소의 소비가 많으므로 노화됨에 따라 활성산소가 증가하고 축적되어 뇌세포에 산화적 손상을 야기하여 기억력 감퇴를 초래한다(2,3).

노화에 따라 신경세포 수상돌기(dendrite)의 수와 밀도가 감소하여 신경망이 소실되어 기억력이 감퇴하거나 신경세포의 지속적인 사멸로 기억력 감퇴를 초래하게 된다(4,5). 또한 신경말단부에서 신경전달물질인 아세틸콜린(acetylcholine)을 유리하는 콜린성 기능(cholinergic function)이 노화에 따라 감소하여 기억력 감퇴를 초래한다(6,7). 아세틸콜린은 뇌세포의 시냅스와 시냅스 사이의 신경전달을 하는 신경전달물질로, choline acetyltransferase에 의해서 acetyl CoA와 choline으로부터 합성되고, acetylcholinesterase에 의하여 분해됨으로써 그 농도가 적정 수준으로 조절된다. Choline acetyltransferase의 활성이 증가하거나 acetylcholinesterase의 활성이 증가하면 아세틸콜린의 농도가 감소하여 기억력이 감퇴된다. 노화가 진행됨에 따라 특히 acetylcholinesterase 활성이 증가하여 아세틸콜린의 분해가 촉진되어 농도가 감소하여 노화에 따른 기억력 감퇴를 초래한다(8,9).

노화에 따른 기억력 감퇴는 다양한 기전을 통해 일어나므로 각각의 기전을 타깃으로 한 기억력 감퇴 예방 및 개선제

*Corresponding author. E-mail: n-myej4@hallym.ac.kr
Phone: 82-33-248-3106, Fax: 82-33-248-3103

개발은 매우 중요하다. 현재 기억력 개선제로 다양한 물질이 개발되어 사용되고 있으나 이 물질들은 합성물로 장기 복용 시 간독성 등의 부작용을 야기하여 사용에 대해 논란의 여지가 많은 상태이다(10,11). 이러한 문제점을 극복하기 위해 최근에는 예로부터 안전하게 사용된 한약재나 식품을 이용한 기억력 감퇴 예방 및 개선제 개발에 대한 연구가 진행되고 있다(12).

복분자(覆盆子; *Rubus coreanus* Miquel)는 장미과의 낙엽관목으로 한국 등 아시아에 널리 분포하고 있다. 복분자는 예로부터 식용으로 이용되고 있으며 또한 한방에서는 덜 익은 상태인 미숙과를 건조하여 다양한 질병의 치료를 위해 사용되고 있다(13). 복분자는 탄닌, 페놀성분, 안토시아닌, 트리터펜 배당체 등의 생리활성 물질을 함유하고 있고(14-16), 항산화 활성(17), 면역 활성(18), 항염증 활성(19) 및 항암효과(20,21)가 있음이 보고되었다. 최근 Choi 등(22)은 스크폴라민으로 기억력을 감퇴한 동물에서 미숙 복분자 물추출물이 동물의 기억력을 개선함을 보고하였고, 현재까지 노화촉진마우스를 이용하여 복분자가 인지능력 및 기억력에 미치는 영향에 대해 연구된 바가 없다.

본 연구에서는 노화촉진마우스모델을 이용하여 복분자가 노화에 의한 기억력 감퇴에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

복분자 분말 제조

실험에 사용된 복분자는 완숙된 상태로 흙사랑영농조합(Sunchang, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 복분자는 동결건조기(Ilshin Biobase, Dongduchun, Korea)를 사용하여 동결 건조한 후 분말화 하여 복분자 시료로 사용하였다. 복분자 시료의 수율은 19.5%로 나타났다.

실험동물 및 복분자 공급

노화 연구에 많이 사용되는 노화촉진마우스(senescence-accelerated mouse, SAM)를 선택하였다. SAM은 대조계통인 resistant strain(SAMR)과 노화과정이 촉진된 prone strain(SAMP)으로 구분되고, SAMR은 평균수명이 13.3 ± 0.22 개월이고 SAMP는 9.7 ± 0.12 개월이다(23,24). SAMP계에는 여러 종류가 있으며 그중 SAMP8은 연령이 증가됨에 따라 기억력과 학습능력이 저하되고 7개월 이후부터는 현격한 학습 및 기억 장애를 나타낸다(25,26). 본 연구에서는 SAMP8(16주령, 수컷, 31~35 g)과 SAMP8의 대조계통 마우스인 SAMR1(16주령, 수컷, 31~35 g)을 중앙실험동물(주)(Seoul, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 사육 및 실험기간 동안 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 환기횟수 10~15회/시간, 조명시간 12시간(08:00~20:00), 조도 150~300 Lux로 설정된 사육환경에서 사육하였다. 12주간의 사육기간 동안 실험동물은 AIN-76 식이(Research Diets, Inc., New Brunswick, NJ, USA)와 음수를 자유 섭취하였다. 12

주간의 사육기간을 거친 후 체중 감소가 없는 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였고 SAMP8 실험동물은 난피법에 의거하여 2개의 실험군(노화대조군, 복분자투여군)으로 분류하였고, 각 실험군당 10마리의 실험동물을 사용하였다. 정상대조군, 노화대조군 및 복분자투여군 등 총 3군으로 실험을 진행하였다. 8주의 실험기간 동안 정상대조군과 노화대조군의 실험동물은 AIN-76 식이(Research Diets, Inc.)와 음수를 자유로이 섭취하였다. 복분자투여군의 실험동물에는 체중과 식이섭취량에 근거하여 1일에 동물의 체중 1 kg당 복분자 시료 100 mg을 섭취할 수 있도록 AIN-76 식이에 복분자 시료를 혼합하여 8주간 공급하였다. 본 연구에서의 모든 동물 실험은 한림대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다(Hallym 2010-105).

수동회피시험(passive avoidance test)

복분자 섭취가 학습 및 기억력에 미치는 영향을 평가하기 위해 수동회피상자(GEMINI™ Avoidance System, San Diego Instrument, San Diego, CA, USA)를 사용하여 수동회피시험을 실시하였다. 어두운 방과 밝은 방으로 나누어진 수동회피상자의 밝은 방에 실험동물을 넣으면 어두운 방으로 넘어가고 그때 2초간 전기충격을 가한다. 전기충격 24시간 후에 실험동물을 밝은 방에 다시 놓았을 때 어두운 방의 전기충격을 기억하여 어두운 방으로 가고 싶은 본성을 억제하게 되는데, 이때 밝은 방에서 체류하는 시간(step through latency)을 측정하여 기억력을 평가하였다(22).

수중미로시험(water maze test)

수중미로시험은 Morris(27)가 제시한 방법에 근거하여 동물인지능력측정기(EthoVision Maze test system, Noldus Information Technology, Wageningen, Netherlands)를 사용하여 Choi 등(22)과 동일한 방법으로 실시하였다. 실험동물이 수조 주변의 표지물을 기억하여 수조 내 일정한 장소에 위치한 도피대를 찾아가 10초 이상 머무는 경우 도피대를 찾아가갈 때까지 소요되는 시간을 탈출잠복기(escape latency)로 하였으며, 이를 하루 2번 실시하여 나온 평균값을 평균 탈출잠복기(mean escape latency)로 하였다. 실험은 1일 2회씩 4일간 연속적으로 실시하였고, 실험동물이 도피대를 120초 이내에 찾지 못하면 동물을 도피대에 10초간 두었다가 실험을 끝내고 탈출잠복기를 120초로 하였다.

뇌조직에서 acetylcholinesterase 활성 측정

Acetylcholinesterase의 활성은 Ellman's coupled enzyme assay 방법(28)에 따라 측정하였다. 수중미로시험 종료 후 실험동물을 희생하여 뇌 조직을 적출한 후 대뇌피질(cortex)과 해마(hippocampus)를 각각 분리하여 0.1 M phosphate buffer에 넣어 균질화 하여 원심분리한 후 상층액을 효소원으로 사용하였다. 0.1 M phosphate buffer에 0.02 M dithionitrobenzoic acid 20 μL , 효소원 100 μL 를 넣어 37°C 에서 10분 동안 반응시킨 후 0.01 M acetylthiocholine 20

μL를 첨가하여 412 nm에서 4분간 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소원의 단백질량은 Lowry 법(29)으로 정량하였고, 효소의 활성은 unit/mg protein으로 나타내었다.

통계처리

모든 분석 수치는 mean±SEM으로 나타내었다. 수집된 결과는 SAS(Statistical Analysis System) Windows v.9.1 프로그램(SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 통계 분석하였으며, 각 실험군들의 평균치간의 유의성은 α=0.05 수준에서 one-way analysis variance(ANOVA)에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

복분자가 노화에 의한 기억력 감퇴에 미치는 영향

본 연구에서는 복분자가 노화에 의한 기억력 감퇴에 미치는 영향을 조사하기 위해 노화촉진마우스(SAM) 중 학습 및 기억력 연구에 사용되는 SAMP8 마우스(25)를 사용하였다. SAMP8 마우스의 학습 및 기억력 장애가 7개월 이후 현격히 일어난다는 Yagi 등(26)의 보고에 근거하여 28주령된 SAMP8 마우스에 복분자를 8주 투여한 후 기억력에 미치는 영향을 조사하였다.

기억력 평가에 흔히 사용하는 시험법으로 명시적 기억력을 반영하는 수동회피시험(30,31)을 실시하였으며 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 노화가 촉진되지 않은 대조 동물인 SAMR1이 밝은 방에서의 체류한 시간은 156±27초이었다. 노화 촉진 동물인 SAMP8의 밝은 방에서의 체류 시간은 35±2초이었으며 이는 노화에 의해 명시적 기억력이 현저히 감소하였음을 나타낸다. 노화촉진마우스에 복분자를 8주간 섭취한 경우 밝은 방에서의 체류 시간이 104±22초로 복분

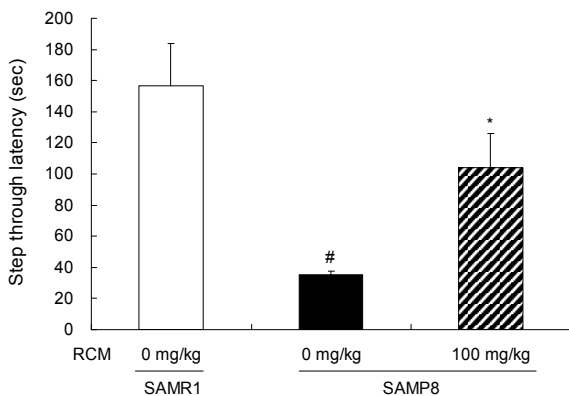


Fig. 1. Effect of *Rubus coreanus* Miquel (RCM) on memory measured by passive avoidance test in SAM mice. Mice were fed diet with RCM for 8 weeks. Passive avoidance tests were performed according to procedures, as described in "Materials and methods". Twenty-four hours after the training trial, the mice were again placed in the light compartment. The latency to enter the dark compartment was measured. The values are shown step through latency±SEM (n=10). #p<0.05 significantly different from SAMR1 mice. *p<0.05 significantly different from SAMP8 mice treated without RCM.

자를 섭취하지 않은 군에 비해 현저히 증가하였다(Fig. 1).

공간 기억력을 반영하며 각종 질환과 노화에 따른 뇌기능 손상 및 천연물과 약물의 뇌기능 증진 효과를 평가하기 위해 널리 사용되는 수중미로시험(32)을 실시하여 복분자가 노화에 의한 기억력 감퇴에 미치는 영향을 조사하였다. Fig. 2에 나타난 바와 같이, 4일 동안의 실험에서 대조 동물인 SAMR1은 실험이 반복됨에 따라 플랫폼을 찾아가는 시간인 평균 탈출잠복기가 효과적으로 감소하였다. 노화 촉진 동물인 SAMP8 동물은 실험이 반복됨에 따라 평균 탈출잠복기가 감소하는 경향을 나타냈으나 SAMR1에 비해 평균 탈출잠복기가 현저히 증가하였다. 노화 촉진 동물에 복분자를 투여한 경우 복분자를 투여하지 않은 군에 비해 평균 탈출잠복기가 감소하는 경향을 나타냈으며, 특히 4일에는 평균 탈출잠복기가 복분자 투여에 의해 유의적으로 감소하였다(Fig. 2).

현재 노화촉진마우스모델을 사용하여 노화에 의한 기억력 개선 효능을 나타내는 기능성 성분에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. Um 등(33)은 SAMP8 마우스에 참깨박과 들깨박 메탄올추출물을 공급한 후 수동회피시험을 실시하여 참깨박과 들깨박 메탄올추출물이 노화에 의한 기억력 감퇴 개선 효과가 있음을 보고하였다. SAMP8 마우스에서 알로에(34), 영지 메탄올추출물(35), 토마토의 라이코펜(36) 및 이소플라본 아글리콘(37)이 기억력이 증진됨을 관찰하여 노화에 의한 기억력 감퇴에 대한 개선 효과가 있음을 제시하였다. 본 연구에서 복분자를 섭취한 SAMP8 마우스의 기억력이 유의적으로 증진되었음을 관찰하였고 이는 복분자가 노화에 의한 기억력 감퇴에 대한 개선 효과가 있음을 제시한다. 또한 Choi 등(22)은 스코폴라민으로 유도한 단기기억력 감퇴 동물모델에서 복분자 물추출물이 기억력 개선 효과가 있음을 보고하였으며 이 결과들은 복분자가 기억력 개선제 개발의 좋은 소재가 될 수 있음을 제시한다.

복분자는 탄닌, 페놀성분, 안토시아닌, 트리테펜 배당체

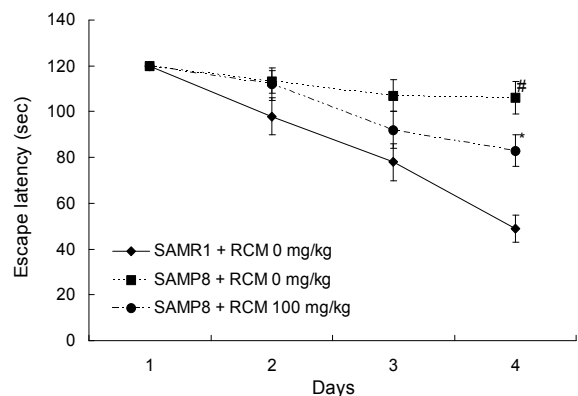


Fig. 2. Effect of *Rubus coreanus* Miquel (RCM) on memory measured by water maze test in SAM mice. Mice were fed diet with RCM for 8 weeks. Water maze tests were performed according to procedures, as described in "Materials and methods". The escape latency was measured for 4 days. Results are expressed as the mean±SEM (n=10). #p<0.05 significantly different from SAMR1 mice. *p<0.05 significantly different from SAMP8 mice treated without RCM.

등의 다양한 기능성 물질을 함유하고 있고(14-16), 이들 성분은 복분자의 과숙정도에 따라 그 성분의 함량이 변화하는 것(19)으로 보고되고 있다. 본 연구에서 사용한 복분자 동결 건조 분말 시료는 다양한 물질을 함유하고 있으므로 향후 보다 효능이 탁월한 기억력 개선제 개발을 위해서는 복분자에 함유되어 있는 성분 중 기억력 개선 효과를 나타내는 성분의 선별 및 분리 연구가 필요할 것으로 사료된다.

복분자가 뇌조직의 acetylcholinesterase 활성에 미치는 영향

기억에 관련된 신경계 중 콜린성 신경계의 손상 및 기능 저하가 노화에 의한 기억력 감퇴의 주요한 원인 중의 하나이다(6,7). 특히 acetylcholinesterase 활성 증가에 의한 아세틸콜린 농도 감소는 알츠하이머 및 노화에 따른 기억력 감퇴 유발 요인 중의 하나로, acetylcholinesterase 활성을 저해하여 뇌 조직에서 아세틸콜린의 분해를 막아 아세틸콜린의 적정 농도를 유지하면 기억력 개선 효과를 가질 수 있다. 현재 기억력 개선을 위해 천연물이나 그 성분에서 acetylcholinesterase 활성 저해 작용이 있는 기능성 소재를 탐색하는 연구가 많이 진행되고 있다(8,9,38,39). 복분자의 노화에 의한 기억력 감퇴 개선 효과가 acetylcholinesterase 활성 저해에 의한 것인지를 알아보기 위해 뇌에서 기억력을 담당하는 주요 부위인 대뇌 피질과 해마 조직 내의 acetylcholinesterase 활성을 조사하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 노화 촉진 동물인 SAMP8 마우스의 대뇌 피질과 해마 조직 내의 acetylcholinesterase 활성은 SAMR1에 비해 유의적으로 증가하였다. Um 등(33)은 총 뇌조직 내의 acetylcholinesterase 활성이 SAMR1 마우스에 비해 SAMP8 마우스에서 증가함을 보고하여 본 연구와도 유사한 경향을 나타내었다. SAMP8 마우스에 복분자를 투여한 경우 해마 조직 내의 acetylcholinesterase 활성은 유의적으로 감소하였고, 대뇌 피질 내의 acetylcholinesterase 활성은 감소하는 경향을 나타냈으나 유의적인 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 3). SAMP8 마우스에서 기억력 증진 효과를 나타낸 이소플라본 아글리콘은 대뇌 피질 내의 acetylcholinesterase 활성을 감소하였다(37). 본 연구결과와는 달리 SAMP8 마우스에서 참깨박과 들깨박 메탄올추출물은 기억력을 증진하였으나 뇌 조직의 acetylcholinesterase 활성에는 영향을 미치지 않았고(33), 기억 증진 효과를 나타낸 알로에는 acetylcholinesterase 활성을 증가하였다(34). 이는 기능성 성분에 따라 기억력 증진 기전이 다양할 수 있음을 보여준다. 스코폴라민을 주사하여 단기 기억력 감퇴를 유도한 동물 모델에서 미숙 복분자 물추출물을 투여한 경우 기억력이 증진되었고 대뇌 피질 내의 acetylcholinesterase 활성이 감소하였다는 Choi 등(22)의 보고와 본 연구 결과를 통해 복분자는 acetylcholinesterase 활성을 억제하여 기억력 증진 효과를 나타낼 수 있다. Acetylcholinesterase 활성 저해제들은 효소의 활성을 억제하여 신경전달물질인 아세틸콜린 농도를 적정하게

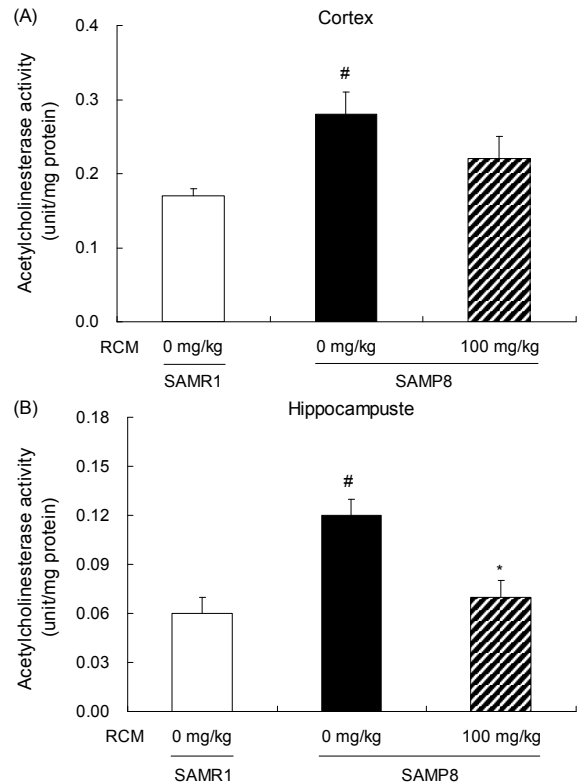


Fig. 3. Effect of *Rubus coreanus* Miquel (RCM) on acetylcholinesterase activity in the cortex and hippocampus of SAM mice. The values are shown the mean \pm SEM (n=10). [#]p<0.05 significantly different from SAMR1 mice. ^{*}p<0.05 significantly different from SAMP8 mice treated without RCM.

유지하여 기억력을 개선하므로 향후 복분자 투여에 의한 아세틸콜린 농도 변화 확인이 요구된다.

요약

본 연구에서는 복분자 섭취가 노화에 의한 기억력 감퇴에 개선 효과를 나타내는지 조사하기 위해 노화촉진마우스 (SAM)를 사용하여 평가하였다. 28주령 SAMP8 마우스에 복분자 시료를 100 mg/kg body weight/day로 8주간 투여한 후 수동회피시험과 수중미로시험을 실시하여 기억력 개선 효과를 평가하였다. 수동회피시험에서 노화 촉진 동물 (SAMP8)은 대조동물(SAMR1)에 비해 밝은 방에서 체류시간이 현저히 감소하였다. 복분자를 섭취한 노화 촉진 동물의 밝은 방에서의 체류 시간은 복분자를 섭취하지 않은 동물에 비해 현저히 증가하였다. 수중미로실험에서 대조 동물에 비해 노화 촉진 동물의 평균 탈출잠복기는 길었고, 복분자를 섭취한 경우 평균 탈출잠복기가 유의적으로 감소하였다. 뇌의 대뇌피질과 해마 조직에서 대조군에 비해 노화 촉진 동물의 acetylcholinesterase 활성이 증가하였다. 복분자를 섭취한 노화 촉진 동물의 해마 조직 내 acetylcholinesterase는 복분자를 섭취하지 않은 동물에 비해 유의적으로 감소하였다. 이 결과들은 복분자가 노화촉진마우스에서 노화에 의한

기억력 감퇴에 대한 개선 효과를 나타내며, 이는 콜린성 신경전달에 중요한 역할을 하는 acetylcholinesterase 활성 감소를 통해 이루어짐을 나타낸다. 향후 더 많은 연구가 수행되어야 하나, 본 연구는 복분자가 노인의 기억력 개선제 개발에 좋은 기능성 소재로 활용할 수 있음을 제시한다.

감사의 글

본 연구논문은 2011년도 지식경제부 지역혁신센터사업(한림대학교 식의약품의 효능평가 및 기능성소재개발센터)의 지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

문헌

- Oh SK. 2005. *Neurotransmitters and Brain Disease*. Shinil Books company, Seoul, Korea. p 345-364.
- Coyle JT, Puttfarcken P. 1993. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 262: 689-695.
- Mecocci P, MacGarvey U, Kaufman AE, Koontz D, Shoffner JM, Wallace DC, Beal MF. 1993. Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increases in human brain. *Ann Neurol* 34: 609-616.
- Hof PR, Morrison JH. 2004. The aging brain: morphomolecular senescence of cortical circuits. *Trends Neurosci* 27: 607-613.
- Tang Y, Janssen WG, Hao J, Rpberts JA, McKay H, Lasley B, Allen PB, Greenard P, Rapp PR, Kordower JH, Hof PR, Morrison JH. 2004. Estrogen replacement increases spinophilin-immunoreactive spine numbers in the prefrontal cortex of female rhesus monkeys. *Cereb Cortex* 14: 215-223.
- Gorini A, Ghingini B, Villa RF. 1996. Acetylcholinesterase activity of synaptic plasma membranes during aging: effect of L-acetylcarnitine. *Dementia* 7: 147-154.
- Terry AV Jr, Buccafusco JJ. 2003. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *J Pharmacol Exp Ther* 306: 821-827.
- Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, Snyder SE, Ficaró EP, Foster NL, Frey KA, Kibourn MR. 1999. In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 52: 691-699.
- Kasa P, Papp H, Kasa P Jr, Torok I. 2000. Donepezil dose-dependently inhibits acetylcholinesterase activity in various areas and in the presynaptic cholinergic and the post-synaptic cholinergic enzyme-positive structures in the human and rat brain. *Neuroscience* 101: 89-100.
- Dawson GR, Iversen SD. 1993. The effects of novel cholinesterase inhibitors and selective muscarinic receptor agonists in tests of reference and working memory. *Behav Brain Res* 57: 143-153.
- Dennes RP, Barnes JC. 1993. Attenuation of scopolamine-induced spatial memory deficits in the rat by cholinomimetic and non-cholinomimetic drugs using a novel task in the 12-arm radial maze. *Psychopharmacology (Berl)* 111: 435-441.
- Perry E, Howes MJ. 2011. Medicinal plants and dementia therapy: herbal hopes for brain aging? *CNS Neurosci Ther* 17: 683-698.
- Cha HS, Lee MK, Hwang JB, Park MS, Park KM. 2001. Physicochemical characteristics of *Rubus coreanus* Miquel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1021-1025.
- Kim KH, Lee YA, Kim JS, Lee DI, Choi YW, Kim HH, Lee MW. 2000. Antioxidative activity of tannins from *Rubus coreanus*. *Yakhak Hoeji* 44: 354-357.
- Lee JW, Do YH. 2000. Determination of total phenolic compounds from the fruit of *Rubus coreanus* and antioxidative activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 943-947.
- Kim E, Kim YC. 1987. A triterpene glycoside in berries of *Rubus coreanus*. *Kor J Pharmacogn* 18: 188-190.
- Choe M, Shin GJ, Choi GP, Do JH, Kim JD. 2003. Synergistic effects of extracts from Korean red ginseng, *Saururus chinensis* (Lour.) Baill. and *Rubus coreanus* Miq. on antioxidative activities in rats. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 148-154.
- Won KS, Lee TW, Eun JS, Song JM. 2003. Effect of *Rubus coreanus* Miquel on the specific immune response in mice. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 17: 656-661.
- Yang HM, Lim YS, Lee YS, Shin HK, Oh YS, Kim JK. 2007. Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. *Korean J Food Sci Technol* 39: 342-347.
- Kim EJ, Lee YJ, Shin HK, Park JH. 2005. Induction of apoptosis by the aqueous extract of *Rubus coreanus* in HT-29 human colon cancer cells. *Nutrition* 21: 1141-1148.
- Jeon YH, Choi SW, Kim MR. 2009. Antimutagenic and cytotoxic activity of ethanol and water extracts from *Rubus coreanus*. *Korean J Food Cookery Sci* 25: 379-386.
- Choi MR, Lee MY, Hong JE, Lee JY, Chun JW, Kim TH, Shin HK, Kim EJ. 2012. The aqueous extract of *Rubus coreanus* Miquel improves scopolamine-induced memory impairment in ICR mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 192-196.
- Takeda T, Hosokawa M, Takeshita S, Irino M, Higuchi K, Matsushita T, Tomite Y, Yasuhira K, Hamamoto H, Shimizu K, Ishii M, Yamamuro T. 1981. A new murine model of accelerated senescence. *Mech Ageing Dev* 17: 183-194.
- Takeshita S, Hosokawa M, Irino M, Higuchi K, Shimizu K, Yasuhira K, Takeda T. 1982. Spontaneous age-associated amyloidosis in senescence-accelerated mouse (SAM). *Mech Ageing Dev* 20: 13-23.
- Ohta A, Hirano T, Yagi H, Tanaka S, Hosokawa M, Takeda T. 1989. Behavioral characteristics of the SAM-P/8 strain in Sidman active avoidance task. *Brain Res* 498: 195-198.
- Yagi H, Katoh S, Akiguchi I, Takeda T. 1988. Age-related deterioration of ability of acquisition in memory and learning in senescence accelerated mouse; SAM-P/8 as an animal model of disturbances in recent memory. *Brain Res* 474: 86-93.
- Morris R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11: 47-60.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Kim JM, Kim DH, Park SJ, Jung JW, Ryu JH. 2010. Memory enhancing properties of the ethanolic extract of black sesame and its ameliorating properties on memory impairments in mice. *Kor J Pharmacogn* 41: 196-203.
- Park SJ, Park DS, Kim SS, He X, Ahn JH, Yoon WB, Lee HY. 2010. The effect of fermented *Codonopsis lanceolata* on the memory impairment of mice. *J Korean Soc Food*

- Sci Nutr* 39: 1691-1694.
32. Lee HM, Park EJ, Jeon IS, Kang YS, Jin DI, Chung HJ. 2010. Effect of maca supplementation on scopolamine-induced memory impairment of mice. *Korean J Food & Nutr* 23: 485-491.
 33. Um MY, Choi WH, An JY, Kim SR, Ha TY. 2004. Effect of defatted sesame and perilla methanol extracts on cognitive function and antioxidant activity in SAMP8 mice. *Korean J Food Sci Technol* 35: 637-642.
 34. Choi JH, Kim DW, Kim JI, Han SS, Shim CS. 1996. Effect of aloe on leaning and memory impairments in dementia animal model SAMP8 strain III. Feeding effect of aloe on neurotransmitters and their metabolites in SAMP8. *Korean J Life Sci* 6: 142-148.
 35. Yoo JK, Choi SJ, Kang JK, Han SS. 1999. Effects of *Gano-derma lucidum* extract on memory and oxidative stress of senescence-accelerated mouse. *Korean J Life Sci* 9: 548-555.
 36. Suganuma H, Hirano T, Kaburagi S, Hayakawa K, Inakuma T. 2004. Ameliorative effects of dietary carotenoids on memory deficits in senescence-accelerated mice (SAMP8). *Int Congr Series* 1260: 129-135.
 37. Yang H, Jin G, Ren D, Luo S, Zhou T. 2011. Mechanism of isoflavone aglycone's effect on cognitive performance of senescence-accelerated mice. *Brain Cogn* 76: 206-210.
 38. Kang SY, Lee KY, Koo KA, Yoon JS, Lim SW, Kim YC, Sung SH. 2005. EPS-102, a standardized combined extract of *Angelica gigas*, *Saururus chinensis* and *Schizandra chinensis*, significantly improved scopolamine-induced memory impairment in mice. *Life Sci* 76: 1691-1705.
 39. Wang R, Yan H, Tang XC. 2006. Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine. *Acta Pharmacol Sin* 27: 1-26.

(2012년 5월 11일 접수; 2012년 7월 16일 채택)