

## 아밀로이드 베타에 의해 유도된 인지 및 기억능력 손상에 대한 김치의 보호 효과

최지명<sup>1</sup> · 이상현<sup>2</sup> · 박건영<sup>1</sup> · 강순아<sup>3</sup> · 조은주<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

<sup>2</sup>중앙대학교 식물시스템학과

<sup>3</sup>호서대학교 벤처전문대학원 융합공학과

### Protective Effect of Kimchi against A $\beta$ <sub>25-35</sub>-induced Impairment of Cognition and Memory

Ji Myung Choi<sup>1</sup>, Sanghyun Lee<sup>2</sup>, Kun Young Park<sup>1</sup>, Soon Ah Kang<sup>3</sup>, and Eun Ju Cho<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Nutrition and Kimchi Research Institute, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Integrative Plant Science, Chung-Ang University, Gyeonggi 456-756, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Converting Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 137-071, Korea

**ABSTRACT** Kimchi is a Korean traditional fermented food with various health functionalities. However, the protective effects of kimchi against Alzheimer's disease (AD) have not been studied yet. In this study, the protective activities of kimchi extract against oxidative stress and AD were investigated in an amyloid beta (A $\beta$ )-induced AD model using ICR mice. Kimchi extract exerted strong scavenging activities against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and hydroxyl radical. In addition, T-maze, object cognition, and water maze tests were carried out using the AD model. The A $\beta$ <sub>25-35</sub>-injected groups showed impairment of cognition and memory. However, the abilities of novel object recognition and new route awareness were improved by administration of kimchi extract (100 and 200 mg/kg/day) for 2 weeks. Furthermore, the results on water maze test indicated that kimchi extract exerted protective activity against cognitive impairment induced by A $\beta$ <sub>25-35</sub>. The present study suggested that kimchi protected against A $\beta$ -induced impairment of memory and cognition as well as attenuated oxidative stress.

**Key words:** kimchi, Alzheimer's disease, oxidative stress, amyloid beta, cognition

## 서 론

Alzheimer's disease(AD)는 노화 상태에서 나타나는 만성 질환의 대표적인 예로 신경퇴행성 치매의 대부분을 차지하며 기억력 손실로 인한 인지기능의 현저한 감소와 행동장애를 일으키는 특징을 가지고 있다. AD의 주요한 원인으로서는 뇌신경전달 물질인 acetylcholine의 감소 및 amyloid beta(A $\beta$ ) 단백질의 응집으로 인한 뇌세포의 퇴행으로 알려져 있다(1). 특히 신경병리학적 연구를 통해 amyloid precursor protein(APP)으로부터 발생된 A $\beta$ 가 AD를 유발하는 신경섬유종을 만드는 가장 주요한 물질임이 밝혀졌다(2,3). 또한 산화적 스트레스 역시 APP에 의해 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 매개로 신경세포 사멸을 야기하며, AD 환자의 뇌에서 free radical 손상으로 인한 산화적 스트레스가 증가된 상태에 있는 것이 확인되어 산화적 스트레스 및 A $\beta$ 로부터의 보호 효과에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다

(4). AD와 같은 질환의 경우 신경세포 손상이 상당히 진행되어져 발현되는 것이므로 회복보다 예방의 측면이 강조된다. 그러므로 부작용이 염려되는 의약품보다 안전한 식품으로의 질병 예방에 입각한 연구적 접근이 필요하다.

김치는 우리나라 식생활에 있어 빼놓을 수 없는 것으로 배추, 무 등의 여러 가지 채소류를 소금에 절인 다음 마늘, 고추 등의 향신료와 젓갈 등의 부재료를 첨가하여 숙성시킨 전통 발효식품이다(5). 또한 김치에는 식이섬유소, 아미노산, 비타민, 무기질 및 젖산 미생물에 의해 생성되는 다양한 유기산과 미생물의 대사산물 등이 함유되어 있다. 최근에는 김치의 비만억제, 지질 저하 효과(6,7), 동맥경화 예방(8), 항산화(9), 항돌연변이, 항암 효과(10,11), 항균 및 probiotics 생산 효과(12) 등의 다양한 생리활성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 김치의 활성성분으로는 발효과정과 관련 있는 유산균,  $\beta$ -sitosterol, phenol compounds, 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid 등이 보고되고 있으나(6,8,11), 노화에 따른 퇴행성 질환 증발병률이 증가하고 있는 AD의 예방 효과에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 김치를 표준화된 레시피를 이용하여 제조하고 이를 이용하여 *in vitro* 상에서 rad-

Received 6 November 2013; Accepted 3 February 2014

\*Corresponding author.

E-mail: ejcho@pusan.ac.kr, Phone: +82-51-510-2837

ical 소거능을 측정하였으며, ICR mouse에 A $\beta$ 를 주입한 AD mouse model의 행동실험을 실시하여 기억 및 학습능력 회복을 통한 AD 예방 효과를 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 배추김치 시료 제조에 사용된 배추는 강원도 태백에서 생산된 여름 고랭지 배추로 포기당 2.5~3.0 kg인 것을 사용하였고, 고춧가루는 태양초 고춧가루로 남영양농협(영양, 한국)에서 구입하였다. 소금은 S사 천일염(신안, 한국)을 사용하였고, 설탕은 C1사(천안, 한국), 젓갈은 C2사 멸치액젓(천안, 한국)을 구입하여 사용하였다. 그 밖에 부재료인 무(평창, 한국), 쪽파(밀양, 한국), 마늘(창녕, 한국), 생강(서산, 한국)은 부산 엄궁 농산물도매시장에서 구매하여 사용하였다.

### 김치 담금 및 추출물 제조

김치는 부산대학교 김치 표준화 조리법(13)(Table 1)에 따라 만들었고, 제조된 김치는 숙성용기에 담아 5°C에서 pH 4.3(산도: 0.68%)까지 30일 동안 발효시킨 후 동결건조를 거쳐 마쇄하였다. 이후 중량의 10배의 ethanol(EtOH)을 첨가하여 상온에서 24시간씩 3회 반복 추출하였으며, 추출물은 진공농축기로 농축하여 수율 21.6%의 최종 시료를 얻었다.

### 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 소거능 측정

농도별로 EtOH에 녹인 시료 100  $\mu$ M과 60  $\mu$ M DPPH 용액 100  $\mu$ M을 96-well plate에 혼합하여 30분간 실온에 방치시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 radical 소거효과를 백분율(%)로 나타내었다(14). Positive control로 ascorbic acid를 사용하였다.

### Hydroxyl radical( $\cdot$ OH) 소거능 측정

Fenton 반응에 따라 10 mM FeSO $_4$ ·7H $_2$ O-EDTA에 10 mM의 2-deoxyribose solution과 농도별 시료용액을 혼합한 다음, 10 mM의 H $_2$ O $_2$ 를 첨가하여 37°C에서 4시간 동안

배양한다. 이 혼합액에 2.8% trichloroacetic acid solution과 1.0% thiobarbituric acid solution을 각각 첨가하여 10분간 끓이고 식힌 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다(15). Positive control로 ascorbic acid를 사용하였다.

### 동물의 사육 및 실험군의 배치

본 실험에 사용된 동물인 5주령의 ICR mouse(25~30 g, 수컷, 계통: CrljOri:CDI)는 한국 오리엔트(주)(부산, 한국)에서 구입하였고, 물과 식이는 자유롭게 공급하였다. 사육실은 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였으며, 온도 20 $\pm$ 2°C, 습도 50 $\pm$ 10%의 환경에서 사육하였다. 사료는 퓨리나(성남, 한국, 조단백질 21.1%, 조지방 3.5%, 조섬유 5.0%, 조회분 8.0%, 칼슘 0.6%, 인 0.6%)의 고형사료를 공급하였으며 음용수로 정수한 물을 공급하였다. A $\beta$ <sub>25-35</sub>의 경우 aggregation 과정을 거친 후 mouse의 뇌에 직접 주입하게 되면 신경독성을 유발하여 기억 및 학습능력에 손상을 주는 것으로 알려져 있어 A $\beta$ <sub>25-35</sub>를 이용하여 AD를 유발하였다. 실험동물은 정상군(normal), A $\beta$ <sub>25-35</sub> 처리군(control), A $\beta$ <sub>25-35</sub> 처리 후 김치 추출물을 100 mg/kg, 200 mg/kg 농도로 투여한 군(100, 200)의 4군으로 나누어 실험하였다. Normal군과 control군에는 음용수를(100  $\mu$ L/day), 100과 200군은 옥수수수에 100 mg/kg 또는 200 mg/kg의 김치 추출물을 각각 녹인 후 100  $\mu$ L/day의 양을 존대와 주사기를 이용하여 14일간 일정한 시간에 위내 투여하였다. 모든 실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: PNU-2013-0491) 하에 수행되었다.

### A $\beta$ <sub>25-35</sub> 주입을 통한 실험동물의 기억 손상 유발 및 시료 투여

Normal군을 제외한 모든 실험동물은 Laursen과 Belknap 방법(16)에 따라 A $\beta$ <sub>25-35</sub>를 주입하였다. 이때 기억 손상을 유발하기 위해 사용하는 A $\beta$ <sub>25-35</sub>(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)는 생리식염수에 5 nM의 농도로 용해시킨 후 37°C에서 72시간 배양시켜 사용하였다. 배양 후 26-gauge needle이 달려있는 10  $\mu$ L Hamilton microliter syringe를 이용하여 각 실험동물의 정수리(bregma에서 caudal 방향으로 0.5 mm, midline에서 오른쪽으로 1.0 mm)에 2.2 mm 깊이로 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 5  $\mu$ L의 양을 약 30초 동안 천천히 주입하였다. Normal군의 경우는 같은 시술과정으로 A $\beta$ <sub>25-35</sub>를 주입하는 대신 같은 양의 생리식염수를 주입하였다. 실험군은 기억력 감퇴를 유발시키지 않은 정상군(normal), A $\beta$ <sub>25-35</sub>로 기억력 감퇴를 유발시킨 후 용매로 사용된 옥수수수를 위내 투여한 대조군(control), A $\beta$ <sub>25-35</sub>를 대조군과 동일한 방법으로 투여한 다음 옥수수수에 녹인 100 mg/kg과 200 mg/kg의 김치 추출물을 각각 14일간 투여한 실험군(100, 200)으로 구분하였다. 실험동물은 각 군마다 7마리씩 사용하였다.

**Table 1.** The ingredients ratios of kimchi

Ingredients	Weight (g)
Salted Chinese cabbage	100.0
Radish	13.0
Green onion	2.0
Crushed garlic	1.4
Crushed ginger	0.6
Red pepper powder	3.5
Fermented anchovy sauce	2.2
Sugar	1.0
Final salt concentration (%)	2.5

### 물체 인지 실험

물체 인지 실험은 Bevins와 Besheer의 방법(17)을 이용하여 내부에서 외부가 보이지 않도록 제작된 박스(40×40×40 cm)에서 실시되었다. 두 개의 모양과 크기가 같은 물체 (A, A')를 상자 안에 고정시킨 후 mouse를 상자의 중심에서 출발시킨다. 그리고 10분간 mouse가 두 물체를 만지는 횟수를 기록한다. 24시간이 지난 다음 두 개의 물체 중 하나를 새로운 물체로 바꾼 후(A, B) 원래 있던 물체와 새로운 물체를 만지는 횟수를 기록하여 수치화하였다.

### T-maze test

외부가 보이지 않도록 검정색 아크릴로 제작된 T-maze는 폭 12 cm, 높이 20 cm, 출발부 76 cm, 오른쪽 통로와 왼쪽 통로의 길이가 각각 31.5 cm의 크기로 구성하였고, 오른쪽 통로 부분은 분리가 가능한 차단문을 설치하였다. 훈련 시에는 오른쪽 길을 차단문으로 막고 mouse를 출발점에서 출발시켜 10분 동안 왼쪽 통로로 들어가는 횟수를 기록하였고, 24시간 후 오른쪽 길의 차단문을 제거한 후 mouse를 같은 지점에서 출발시켜 왼쪽 통로와 오른쪽 통로로 들어가는 횟수를 기록하였다(18).

### Water maze test

지름이 150 cm, 높이 60 cm의 수조를 4분면으로 나누고 한 분면에 지름 10 cm의 도피대를 수면 1 cm 아래에 위치시킨다. 물의 온도는 22±1°C로 유지시키고 물에 흰색물감을 타서 물 아래 위치한 도피대가 보이지 않게 하였다. 각각의 사분면에는 mouse가 공간 단서(visual clue)를 이용하여 도피대를 찾아가도록 서로 다른 표식을 붙인다. 실험은 2단계로 실행하였다. 첫 번째로는 도피대를 찾아가는 학습단계를 3일간 관찰하였고, 두 번째는 실험 마지막인 4일째 되는 날 기억검사를 실시하였다. Mouse를 수조에 넣을 때 출발된 사분면은 정해진 순서 없이 무작위로 선택하고 실험기간 동안 도피대의 위치는 변경하지 않았다. Mouse는 하루 3번(4시간 간격으로 12시간 이내에 실시), 3일 동안 훈련하였고, 한 사분면에서 출발한 뒤 60초 안에 도피대를 찾아가는 시간을 기록하였다. 60초가 경과하도록 도피대를 찾지 못하면 mouse를 도피대로 유도한 후 15초 동안 도피대 위에서 공간 단서를 인지시켜 도피대가 있는 위치를 인식시키고 60초 이내에 도피대를 찾을 경우 반응에 대한 보상으로 15초 동안 도피대 위에서 쉬게 하였다. 4일째 되는 날 기억능력을 확인하기 위해 3가지 실험을 실시하였다. 첫 번째는 도피대를 보이지 않게 한 후 공간단서를 이용하여 60초 이내에 도피대에 도달하는 시간을 기록하는 것이고, 두 번째는 도피대를 치운 후 60초 동안 도피대가 있던 사분면에 머무는 시간을 측정하였다. 세 번째는 도피대가 보이는 상태에서 60초 이내에 도피대를 찾아가는 시간을 측정하였다(19).

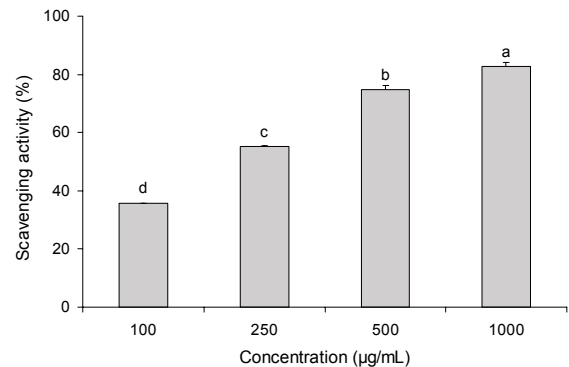
### 통계분석

대조군과 각 시료들로부터 얻은 실험 결과들은 평균±표준편차로 나타내었고, 각 실험 결과로부터 analysis of variance를 구한 후 Duncan's multiple test를 이용하여 각 군의 평균 간 유의성을 검정하였다.

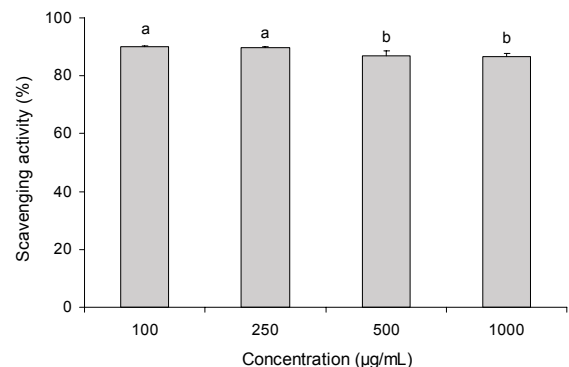
## 결과 및 고찰

### 라디칼 소거능

김치의 항산화 능력을 확인하기 위해 *in vitro* 상에서 DPPH와 ·OH radical 소거능을 측정하였다. 김치의 EtOH 추출물 100, 250, 500, 1,000 µg/mL의 네 가지 농도를 이용하여 실험한 결과, 농도 의존적으로 DPPH 소거능이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 250 µg/mL의 농도에서 54.6%로 50% 이상의 DPPH 소거 효과를 확인할 수 있었고 1,000 µg/mL 농도에서 81.4%가 소거되었다(Fig. 1). 또한 reactive oxygen species 중에서 가장 강력한 물질로 알려진 ·OH radical의 소거 효과에 대해서 살펴본 결과 전체 실험 농도에서 모두 85% 이상의 높은 radical 소거 효과를 나타냈다(Fig. 2). 본 결과를 통하여 적숙기 김치의 항산화 효과가



**Fig. 1.** DPPH radical scavenging activity of ethanol extract from kimchi. Values are presented as the mean±SD. The letters (a-d) are significantly different ( $P<0.05$ ) from each other. IC<sub>50</sub> of ascorbic acid is 2.7±0.1 µg/mL.

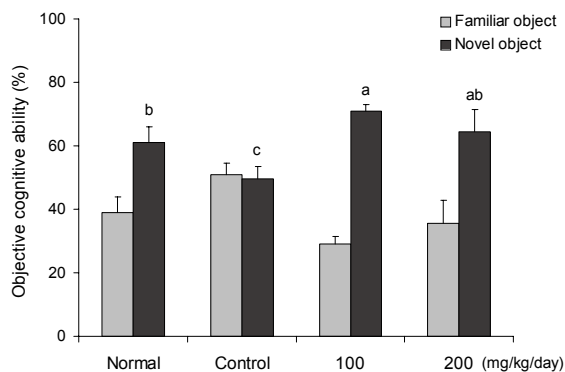


**Fig. 2.** Hydroxyl radical scavenging activity of ethanol extract from kimchi. Values are presented as the mean±SD. The letters (a,b) are significantly different ( $P<0.05$ ) from each other. IC<sub>50</sub> of ascorbic acid is 12.8±0.1 µg/mL.

뛰어남을 확인할 수 있었고 Lee와 Cheigh(20)의 논문에서도 김치의 항산화능이 발효에 의해 증대되며, 특히 적당히 익은 상태의 김치가 덜 익거나 과하게 익은 상태의 김치보다 더욱 항산화 효과가 뛰어남을 확인하였다. 이러한 연구를 바탕으로 김치의 활성은 김치의 재료에서 비롯될 뿐만 아니라 발효과정을 통해 생성되는 발효산물이 항산화 활성을 증가시키는 것으로 사료된다.

### 물체 인지능력에 미치는 효과

Mouse에게 동일한 두 물체를 제시하면 자연스럽게 호기심이 유발되어 두 물체를 탐지하게 되는데 이때 통상적으로 두 물체를 탐지하는 횟수가 비슷하다. 24시간 후 두 물체 중 하나를 새로운 물체로 대체시키면 일반적으로 mouse는 새로운 물체에 대해 더 많은 호기심을 가지는 습성 때문에 새로운 물체를 탐지하는 횟수가 더 증가하게 된다. 그러나 기억력이 손상된 mouse는 새로운 물체와 기존의 물체를 구분해내지 못해 두 물체 간 탐지 횟수에 큰 차이를 나타내지 않게 된다(21). 따라서 본 실험에서는  $A\beta_{25-35}$ 에 의하여 유도된 뇌 손상 모델에 2주간 김치 추출물을 투여한 후 물체 인지 실험을 통해서 인지능력 향상 효과가 있는지 확인해 보았다. Control군의 경우에는 기존의 물체와 새로운 물체를 인지하는 비율이 각각 50.8%와 49.5%로 기존 물체와 새로운 물체에 대한 인지도의 차이를 보이지 않았다. 이는  $A\beta_{25-35}$ 에 의한 기억 손상으로 인해 새로운 물체임을 인지하지 못한 것으로 보인다. 반면 새로운 물체를 인지하는 비율이 김치 추출물 100 mg/kg/day와 200 mg/kg/day를 투여한 군에서 70.8%, 64.3%로 새로운 물체에 대한 호기심으로 접촉 빈도가 높은 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

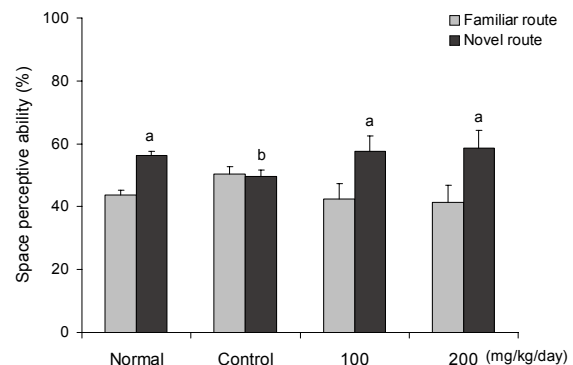


**Fig. 3.** Percentage change in object cognitive ability test scores. After training with two identical objects, the mice were allowed to explore on a familiar object from training and one novel object. The time that the mice spent with the novel object was recorded. The groups are defined as follows: Normal, 0.9% NaCl injection+oral administration of corn oil; Control,  $A\beta_{25-35}$  injection+oral administration of corn oil; 100,  $A\beta_{25-35}$  injection+oral administration of 100 mg/kg/day kimchi EtOH extract dissolved in corn oil; 200,  $A\beta_{25-35}$  injection+oral administration of 200 mg/kg/day kimchi EtOH extract dissolved in corn oil. Values are presented as the mean $\pm$ SD. The letters (a-c) are significantly different ( $P < 0.05$ ) from each other.

$A\beta_{25-35}$ 는  $A\beta_{1-42}$ 의 전체 길이 중에서 신경 독성을 일으키는 주요 부분이며 이는 AD 환자의 뇌에서 발견되어진다. 이는 신경독성을 포함한 지질과산화, 신경세포 사멸 등을 통해 기억 손상을 유발하게 된다(22). 본 실험에서 김치 추출물을 투여하였을 때 새로운 물체에 대한 호기심 빈도가 향상된 것으로 미루어 보아 김치 추출물이  $A\beta_{25-35}$ 의 작용을 감소시켜 인지능력 향상 효과를 나타내는 것으로 판단된다. 김치 추출물의 투여군이 normal군보다 오히려 새로운 물체의 인지도가 더 우수한 효과를 보였는데, 이러한 결과는 김치 추출물이 손상된 뇌손상에 대해 더 민감한 보호 효과를 보임으로써 나타난 결과로 사료된다.

### T-maze test를 통한 인지능력에 미치는 효과

Mouse는 새로운 물체뿐 아니라 새로운 공간에 대한 호기심이 많은 동물이므로 물체 인지 실험과 마찬가지로 단기 기억력을 측정하는 T-maze 실험을 실시하였다(23). Mouse를 T-maze의 출발지점에 두고 실험 첫 날은 오른쪽과 왼쪽 통로 중에 오른쪽 통로를 막아 왼쪽으로만 들어갈 수 있도록 하였다. 24시간 후에 막았던 오른쪽 통로를 열어 새로운 통로로 들어가는 횟수를 기록한다. 새로운 길에 대한 호기심을 비율(%)로 나타내었을 때 normal군은 56.2%였고 control군은 49.6%로 나타났다. 반면 김치 추출물을 투여한 100과 200군은 각각 57.5%, 58.7%로 높은 공간인지능력을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). T-maze 실험 결과로  $A\beta$ 에 의해 유발된 산화적 스트레스에 의해 손상된 기억능력에 대해 김치가 보호 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다. 물체 인지 실험 및 T-maze 실험은 인지능력 및 단기 기억력을 평가하는 행동실험으로 시료 투여 시 향상 효과를 보이는 것은  $A\beta$ 에 의해 손상된 뇌신경세포의 보호 및 지질과산화 억제, 뇌독성에 대한 보호 효과로 알려져 있다(21,22). 따라서 김치 추출물이 뇌 독성으로부터 신경세포를 보호하고 지질과산화를 억제함으로써 AD의 원인이 되는  $A\beta$ 에 의해 손



**Fig. 4.** Spatial perceptive ability scores by group in the T-maze. After training to explore the right arm of the T-maze for 10 min, the number of touches and exploration times of the right and left sides of the maze were calculated. The groups are the same as those outlined in Fig. 3. Values are presented as the mean $\pm$ SD. The letters (a,b) are significantly different ( $P < 0.05$ ) from each other.

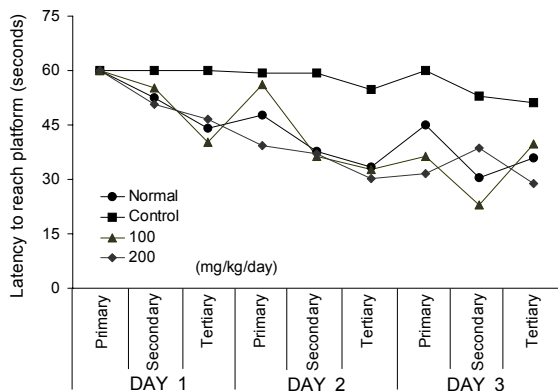
상된 인지능력과 단기 기억력을 향상시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

**Water maze test를 통한 mouse의 기억능력에 미치는 효과**

Water maze test는 동물의 공간학습능력과 그에 대한 기억능력을 검사하기 위해서 실시하는 행동실험으로, 주로 유기체가 주변에 있는 여러 단서들을 사용하여 위치를 인지하고 여러 번에 걸친 반복을 통한 기억능력을 측정하는 것이라고 알려져 있다. 이는 T-maze 실험과 물체 인지 실험을 통하여 확인된 단순 기억력 증진 효과보다 좀 더 수준이 높은 기억력을 요구한다(24). 그러므로 본 연구에서는 수중미로 실험을 통해 김치 추출물이 학습과 기억력에 미치는 영향을 검사하였다.

Fig. 5는 water maze 실험 동안에 mouse가 도피대에 도달하는 시간의 변화추이를 나타낸 것이다. 훈련 기간이 지남에 따라 도피대에 도달하는 시간이 줄어든 것을 확인할 수 있었지만, Aβ<sub>25-35</sub>를 투여한 control군은 도피대에 도달하는 시간이 다른 실험군에 비해 가장 길게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 반면 김치 추출물을 투여한 100과 200군에서는 마지막 도피대 도달 시간이 normal군과 유사하게 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 200군은 normal군보다 전체적으로 도피대 도달 시간이 낮아 인지능력 향상에 큰 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 김치 추출물은 Aβ<sub>25-35</sub>에 의한 인지능력 손상을 보호하여 mouse가 도피대의 위치를 인지하고 찾아가는 시간을 감소시키는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

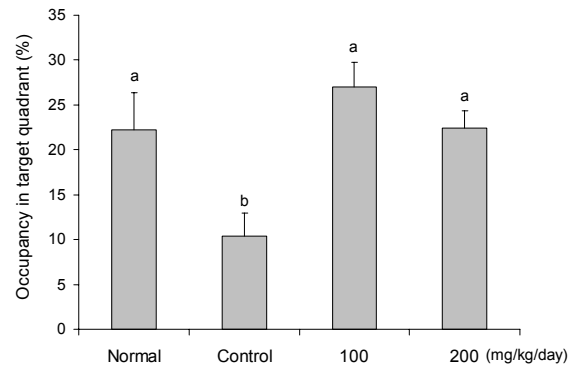
4일째 진행된 실험에서 도피대를 치우고 도피대가 있었던 사분면에 mouse가 머문 시간을 측정하였다(Fig. 6). Control군이 머문 시간은 10.4%인 반면, 김치 추출물 100 mg과 200 mg을 투여한 군에서는 도피대가 있었던 사분면에 머문 시간이 유의적으로 증가하여 27.0%, 22.4%를 나타냈다. 도피대가 존재하던 사분면에 머무른다는 것은 mouse가 네 개의 사분면에 붙여진 표식을 인지하고 도피대가 있었던 사분면을 기억하고 있으며 도피대를 찾기 위해 그 사분면에 머문 것으로 학습과 기억력을 나타내는 것이라 볼 수 있



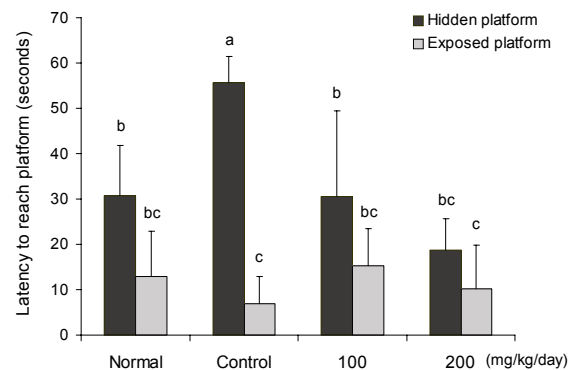
**Fig. 5.** Spatial learning in the water maze test. The groups are the same as those outlined in Fig. 3.

다. 이러한 실험 결과로 김치 추출물의 공간학습 및 기억능력 향상 효과를 확인할 수 있었다. 또한 mouse가 도피대를 찾아가는 것이 인지능력이 아닌 운동능력이나 시각능력으로 인한 것인지를 알아보기 위해 물 속에 도피대를 숨겨놓은 상태에서 도피대를 찾아가게 하는 실험과 도피대가 보이도록 설치한 후 도피대를 찾아가도록 실험을 실시하였다(Fig. 7). 숨겨진 도피대를 찾아가도록 하였을 때 normal군 및 김치 추출물 투여군은 control군보다 도피대를 찾아가는 시간이 빨랐고, 노출된 도피대를 찾아가는 시간은 실험군 간의 유의적인 차이가 없었다. 이로 인해 water maze 실험에서 두 데이터 값이 운동능력의 차이나 시각적 차이로 인한 문제가 아닌 뇌에서 Aβ의 주입으로 인한 기억력 손상으로 인한 것임을 확인할 수 있었다.

이상의 행동실험들을 통하여 Aβ의 주입으로 인하여 mouse의 인지 및 기억능력이 감소하는 것을 확인할 수 있었고, 김치 추출물이 인지능력 손상에 대한 보호 효과가 있으



**Fig. 6.** Effects of kimchi EtOH extract on memory impairment induced by Aβ<sub>25-35</sub> as measured by the % occupancy time in the target quadrant of the water maze test. The percentage of time spent in the target quadrant was calculated in the water maze test on the final test day. The groups are the same as those outlined in Fig. 3. Values are presented as the mean±SD. The letters (a,b) are significantly different (*P*<0.05) from each other.



**Fig. 7.** The latency to reach hidden and exposed platforms in the water maze test. The times to find hidden and exposed platforms were recorded on the final test day in the water maze test. The groups are the same as those outlined in Fig. 3. Values are presented as the mean±SD. The letters (a-c) are significantly different (*P*<0.05) from each other.

며 학습 및 기억능력을 향상시키는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.  $A\beta$ 는 ROS의 생성을 증가시켜 산화적 스트레스를 유발하고, 결국 신경세포의 독성 효과를 나타내어 AD와 같은 질환이 발생된다고 알려져 있다(25,26). 또한 많은 연구들이  $A\beta$ 에 의한 산화적 스트레스를 개선함으로써 AD에 대한 보호 효과를 나타낼 수 있다고 보고하고 있다(21,25-27). 김치에는 항산화 물질로 알려진 carotenoid, chlorophyll, flavonoid 등의 다양한 polyphenol을 함유하고 있는데, 대표적 polyphenol 함유식품인 녹차의 경우 뇌신경세포에서  $A\beta$ 에 의한 산화적 스트레스를 줄여주며 AD 모델 형질 전환 mouse의 뇌에서  $A\beta$ 의 양을 줄여주는 것으로 보고되었다(27). 이로써 김치 역시 polyphenol뿐 아니라 발효로 인해 생성되는 다양한 산물에서 생성된 물질들로 인해  $A\beta$ 의 축적을 줄여줌으로써 산화적 스트레스를 개선시켜 인지능력을 향상시킬 수 있을 것으로 사료되어진다. 또한 이를 뒷받침하기 위해 향후 김치의 AD 예방 효과와 관련한 작용기작에 관한 구체적인 연구가 이루어진다면 우리나라 대표 식품인 김치의 섭취로 인한 AD 예방 효과에 대해 명확하게 규명할 수 있을 것으로 여겨진다.

## 요 약

김치의 EtOH 추출물을 이용하여 *in vitro* 상에서 DPPH와  $\cdot OH$  radical 소거능을 측정하였고, ICR mouse의 해마 부위에  $A\beta$ 를 주입시킨 AD model을 이용하여 김치 추출물을 2주간 투여한 후 물체 인지, T-maze, water maze의 실험 방법을 이용하여 인지능력 개선 효과를 살펴보았다. 김치 추출물은 우수한 DPPH와  $\cdot OH$  radical 소거능을 나타내었다. 또한 AD 동물 model에서 해마 부위에  $A\beta$ 를 주입한 control군의 경우 물체 인지, 기억 및 학습능력의 손상을 확인할 수 있었으나, 김치 추출물을 100과 200 mg/kg/day를 투여한 군에서는 물체 인지 실험에서 새로운 물체에 대한 호기심 정도가 높았으며, T-maze 실험에서는 새로운 길에 대한 탐색 정도도 뛰어난 것을 확인할 수 있었다. Water maze 실험에서도 도피대를 찾아가는 반복 훈련을 할수록 도피대를 찾아가는 시간이 점차 단축되는 것을 확인할 수 있었으며, 도피대를 기억하는 능력도 향상됨을 확인할 수 있었다. 본 연구 결과에서는 김치 추출물이 radical을 소거함으로써 산화적 스트레스로부터 보호하여 인지능력 및 기억능력을 향상시키는 효과가 있음을 확인하였다. 이러한 연구를 바탕으로 김치의 산화적 스트레스 개선 효과 및 AD 예방에 대한 상관관계에 대한 작용기작 연구가 이루어진다면 우리나라 대표 식품인 김치의 섭취로 인한 AD 예방 효과에 대해 명확하게 규명할 수 있을 것으로 사료되어진다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 한식세계화용역연구사업의 한식

우수성·기능성 연구(과제번호: 912001-2)의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Anand P, Singh B. 2013. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Arch Pharm Res* 36: 375-399.
- Lee SW, Kim DH, Yun JH, Kim JW, Jung EY, Lee SG, Lee KS, Kim TH, Lyu YS, Kang HW. 2008. The effects of antioxidant and anti-Alzheimer on hydrogen peroxide and  $\beta$ -amyloid peptide-induced PC 12 cells by Semen Ziziphi Spinosae water extract. *J Orient Neuropsychiatry* 19: 179-193.
- Kim YI, Park JY, Choi SJ, Kim JK, Jeong CH, Choi SG, Lee SC, Cho SH, Heo HJ. 2008. Protective effect of green tea extract on amyloid  $\beta$  peptide-induced neurotoxicity. *Korean J Food Preserv* 15: 743-748.
- Kwon YE. 2007. Inhibitory potency of acetylcholinesterase and amyloid beta(1-42) peptide aggregation to the extracts of enthusiasm reducing herbals. *Kor J Pharmacogn* 38: 308-311.
- Bang BH, Seo JS, Jeong EJ. 2008. A method for maintaining good kimchi quality during fermentation. *Korean J Food & Nutr* 21: 51-55.
- Kwon JY, Cheigh HS, Song YO. 2004. Weight reduction and lipid lowering effects of kimchi lactic acid powder in rats fed high fat diets. *Korean J Food Sci Technol* 36: 1014-1019.
- Kwon MJ, Song YO, Song YS. 1997. Effects of kimchi on tissue and fecal lipid composition and apolipoprotein and thyroxine levels in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 507-513.
- Kim HJ, Lee JS, Chung HY, Song SH, Suh H, Noh JS, Song YO. 2007. 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid, an active principle in Kimchi, inhibit development of atherosclerosis in rabbits. *J Agric Food Chem* 55: 10486-10492.
- Cheigh HS, Yu R, Choi HJ, Jun HK. 1996. Biosynthesis of L-ascorbic acid by microorganism in kimchi fermentation process. *J Food Sci Nutr* 1: 37-40.
- Park KY, Kim HC, Jung KO. 2000. Anticarcinogenic effect of kimchi extract on 2-AAF-induced rat hepatocarcinogenesis system. *J Korean Assoc Cancer Prev* 5: 81-86.
- Cho EJ, Choi JS, Kim SH, Park KY, Rhee SH. 2004. In vitro anticancer effect of active compounds from chinese cabbage kimchi. *J Korean Assoc Cancer Prev* 9: 98-103.
- Kim M, Lee SJ, Seul KJ, Park YM, Ghim SY. 2009. Characterization of antimicrobial substance produced by *Lactobacillus paraplantarum* KNUC25 isolated from kimchi. *Korean J Microbiol Biotechnol* 37: 24-32.
- Cho EJ, Lee SM, Park KY. 1998. Standardization of kinds of ingredient in Chinese cabbage kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1456-1463.
- Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fjuita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances, Effects of tannins and related polyphenols on superoxide VI anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull* 37: 2016-2021.
- Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *J Biosci Biotech Biochem* 61:

- 118-123.
16. Laursen SE, Belknap JK. 1986. Intracerebroventricular injections in mice. Some methodological refinements. *J Pharmacol Meth* 16: 355-357.
  17. Bevins RA, Besheer J. 2006. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nat Protoc* 21: 1306-1311.
  18. Montgomery KC. 1952. A test of two explanations of spontaneous alternation. *J Comp Physiol Psychol* 45: 287-293.
  19. Morris R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying a spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11: 47-60.
  20. Lee YO, Cheigh HS. 1996. Antioxidant activity of various solvent extracts from freeze dried kimchi. *J Life Sci* 6: 66-71.
  21. Choi JY, Cho EJ, Lee HS, Lee JM, Yoon YH, Lee S. 2013. Tartary buckwheat improves cognition and memory function in an in vivo amyloid- $\beta$ -induced Alzheimer model. *Food Chem Toxicol* 53: 105-111.
  22. Bergin DH, Liu P. 2010. Agmatine protects against  $\beta$ -amyloid<sub>25-35</sub>-induced memory impairments in the rat. *Neuroscience* 169: 794-811.
  23. Mamiya T, Kise M, Morikawa K. 2008. Ferulic acid attenuated cognitive deficits and increase in carbonyl proteins induced by buthionine-sulfoximine in mice. *Neurosci Lett* 430: 115-118.
  24. Gerlai R. 2001. Behavioral tests of hippocampal function: simple paradigms complex problems. *Behav Brain Res* 125: 269-277.
  25. Yoon I, Lee KH, Cho J. 2004. Gossypin protects primary cultured rat cortical cells from oxidative stress- and  $\beta$ -amyloid-induced toxicity. *Arch Pharm Res* 27: 454-459.
  26. Kwak JH, Jo YN, Kim HJ, Jin SI, Choi SG, Heo HJ. 2013. Protective effects of black soybean seed coat extracts against oxidative stress-induced neurotoxicity. *Korean J Food Sci Technol* 45: 257-261.
  27. Ramassamy C. 2006. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: A review of their intracellular targets. *Eur J Pharmacol* 545: 51-64.