

마우스에서 복분자 물추출물의 기억력 감퇴에 대한 개선 효과

최미란¹ · 이민영¹ · 홍지은¹ · 이재용² · 전장우³ · 김태환³ · 신현경¹ · 김은지^{1*}

¹한림대학교 식의약품의 효능평가 및 기능성소재개발센터

²한림대학교 의과대학 생화학교실

³하이트진로주식회사 중앙연구소

The Aqueous Extract of *Rubus coreanus* Miquel Improves Scopolamine-Induced Memory Impairment in ICR Mice

Mi-Ran Choi¹, Min Young Lee¹, Ji Eun Hong¹, Jae-Yong Lee², 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, and

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

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

Abstract

In the present study, we examined the effect of the aqueous extract of *Rubus coreanus* Miquel (RCM-Ex) on scopolamine-induced memory impairment in male ICR mice. Mice were fed the diet containing 100 mg/kg body weight/day of RCM-Ex for 4 weeks. To induce amnesia, scopolamine (an antagonist of muscarinic acetylcholine receptor, 1 mg/kg of body weight) was intraperitoneally injected into mice 30 min before starting the behavior tests. RCM-Ex reversed scopolamine-induced memory impairments in mice as evidence by the passive avoidance test and Morris water maze test. In addition, acetylcholinesterase activities were decreased in the brains of mice treated with RCM-Ex. These results suggest that RCM-Ex may be an effective agent for the prevention of the memory impairment induced by cholinergic dysfunction.

Key words: *Rubus coreanus* Miquel, memory, scopolamine, passive avoidance test, Morris water maze test

서 론

급격한 발달에 따라 획득해야 할 정보의 양이 많은 현대사회에서는 학습량이 많은 청소년층 및 청장년층에서 기억력 향상에 대한 관심이 증가하고 있다. 또한 노인 비율이 증가하고 있는 현대사회에서 고령화에 따른 기억력 감퇴 및 치매와 같은 퇴행성 질병에 의한 급격한 기억력 및 인지 능력 저하는 심각한 사회적 문제로 대두되고 있다. 특히, 치매와 같은 퇴행성 질병에 이환된 환자에 있어 사회생활 가능 여부에 있어서 기억력 저하가 매우 중요한 요소로 알려지고 있다(1). 이러한 이유로 기억력 저하 개선 및 예방에 대한 연구의 중요성이 증가하였고, 현재 활발히 진행되고 있다.

기억력이란 주어진 정보를 받아들여 뇌 속에 저장했다가 필요한 때에 끄집어내는 능력을 말한다. 정보가 감각기관을 통하여 저장되는 감각기억, 현재의 정보들을 처리하는 짧은 기간 동안의 단기기억, 나중에 재생되도록 비교적 영구히 저장되는 장기기억으로 나눌 수 있다(2). 뇌조직의 콜린계의 활성 감소가 기억력 저하의 중요한 원인 중의 하나이다(3,4).

뇌조직의 신경세포에서 choline과 acetyl CoA는 acetyltransferase에 의해 acetylcholine으로 되고 acetylcholine은 acetylcholinesterase에 의해 acetate와 choline으로 분해되는 과정에서 계속적인 acetylcholinesterase의 작용으로 acetylcholine의 양이 감소 시 기억력 저하가 일어난다(5,6).

항무스카린성 효과가 있는 스코폴라민은 muscarinic acetylcholine receptor, 특히 M1 receptor의 길항제로서 작용한다. 스코폴라민은 acetylcholinesterase의 활성을 증가시켜 신경접합부에 있는 acetylcholine을 분해하여 단기간 동안 기억력을 감소시킨다. 이런 특성 때문에 스코폴라민은 동물 시험에서 단기 기억력 저하를 유발한 후 기억력 개선 연구에 많이 사용되고 있다(7,8).

복분자(覆盆子: *Rubus coreanus* Miquel)는 장미과의 낙엽관목으로 한국, 중국과 일본 등 아시아에 널리 분포한다. 복분자의 열매인 복분자 딸기가 식용 및 한방에서 널리 사용되고 있다. 예로부터 한방에서는 털 익은 상태인 미숙과를 복분자로 부르며 혈액과 눈을 맑게 해주고 이뇨 및 강장 효과가 있는 것으로 알려지고 있으며, 당뇨병, 성욕감퇴, 정액

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

루, 유노증, 천식 및 알레르기 관련 질병의 치료에 사용되고 있다(9,10). 복분자의 잎과 줄기는 tannin 및 flavonoids 화합물을 함유하고 있고(11-13) 미숙 복분자 딸기에는 gallic acid, 2,3-(S)-HHDP-D-glucopyranose, sanguin 등이 함유되어 있음(14)이 보고되었다. 또한 Yoon 등(15)은 완숙 복분자 딸기에서 항산화 활성을 지닌 quercetin을 분리·동정하였다. 여러 활성 물질을 함유하고 있는 복분자는 항산화 활성(16), 면역활성(17), 항염증활성(18) 및 항암효과(18-21)가 있음이 보고되었다. 복분자가 여러 생리활성을 나타내고 있음이 보고되고 있으나 현재까지 복분자가 인지능력 및 기억력에 미치는 영향에 대해 연구된 바가 없다.

본 연구에서는 복분자의 기억력 감퇴 예방 및 개선제의 기능성 소재로서 개발 가능성을 조사하기 위해 스킨폴라민으로 기억력을 감퇴시킨 동물 모델을 사용하여 복분자 물추출물의 기억력 개선 효과를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

복분자 추출물 제조

실험에 사용된 복분자는 미숙과 상태에서 수확하여 완전 건조한 상태로써 한약재료상(Daekwang herbal medicine store, Chuncheon, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 복분자 물추출물을 제조하기 위해 건조된 시료를 pin mill (MYPM-0.1, Myeongwoo Micro System, Incheon, Korea)로 분쇄한 다음 300 g의 복분자를 3 L 등근 플라스크에 넣고 2 L의 증류수를 가한 후 95°C에서 3시간 동안 환류냉각기로 추출하였다. 추출물을 여과지로 여과한 다음 잔사에 증류수를 넣고 상기방법으로 2회 반복 추출하였고 총 3회에 걸쳐 얻어진 여액을 모아 동결건조 하여 분말화 하여 복분자 물추출물로 사용하였다. 복분자 물추출물의 수율은 20.5%로 나타났다.

실험동물, 복분자 물추출물 공급 및 기억 손상 유발

특정 병원체가 없는 체중이 20~25 g의 4주령 숫컷 생쥐(ICR계)를 오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험동물은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10~15회/시간, 조명시간 12시간(08:00~20:00), 조도 150~300 Lux로 설정된 사육환경에서 사육하였다. 1주간의 적응 기간 동안 실험동물은 실험동물용 고형사료(Cargil Agri Purina, Inc., Seongnam, Korea)와 음수를 자유 섭취하도록 하였다. 1주간의 적응 기간을 거친 후 체중 감소가 없는 건강한 동물을 선별하여 난괴법에 의거하여 3개의 실험군(대조군, 스킨폴라민 투여군, 스킨폴라민+복분자 물추출물 투여군)으로 분류하였고, 각 실험군 당 10마리의 실험동물을 사용하였다. 4주간의 실험기간 동안 실험동물에게는 AIN-76 사료(Research Diets Inc., New Brunswick, NJ, USA)를 공급하였고, 사료와 물을 자유로이 섭취할 수 있게 하였다. 복분자 물추출물 투여군에는 체중과 식이섭취량에 근거하

여 1일에 동물의 체중 1 kg당 복분자 물추출물 100 mg을 섭취할 수 있도록 사료에 복분자 물추출물을 사료에 혼합하여 4주간 공급하였다. 기억 손상을 유발하기 위해 인지시험 30분전에 스킨폴라민(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 몸무게 1 kg당 1 mg이 되도록 복강투여 하였다. 본 연구에서의 모든 동물 실험은 한림대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다(Hallym 2010-58).

수동회피시험(passive avoidance test)

4주간 복분자 물추출물을 섭취시키고 훈련 30분 전에 스킨폴라민(1 mg/kg body weight)을 투여한 후에 수동회피시험을 실시하여 복분자 물추출물이 학습 및 기억력에 미치는 영향을 측정하였다. 밝은 방과 어두운 방으로 나누어지고 바닥에는 전기충격을 줄 수 있는 수동회피상자(GEMINI™ Avoidance System, San Diego Instruments, San Diego, CA, USA)를 사용하였다. 칸막이로 나누어진 구획의 한쪽에 조명을 켜고 실험동물을 넣어주면 주변을 살피다가 어두운 구획으로 들어가게 되는데, 동물이 어두운 구획으로 넘어가는 즉시 0.30 mA의 전류를 바닥의 stainless grid를 통해 2초 동안 흐르게 하여 전기충격을 주었다. 전기충격 24시간 후에 실험동물을 밝은 방에 다시 놓았을 때 어두운 방의 전기충격 기억을 기억하여 어두운 방으로 가고 싶은 본성을 억제하여 밝은 방에서 체류하는 시간(step through latency)을 측정하였다(22,23).

수중미로시험(water maze test)

복분자 물추출물이 공간기억에 미치는 영향을 조사하기 위해 4주간 복분자 물추출물을 섭취시킨 후 4일 동안 시험하였고 시험 30분전에 스킨폴라민(1 mg/kg body weight)을 투여한 후에 수중미로시험을 하였다. 수중미로시험은 Morris (24)가 제시한 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다. 실험장비는 원형의 수조(stainless steel, 지름 150 cm, 높이 45 cm), 도피대(지름 10 cm, 높이 30 cm) 및 도피대의 위치를 기억할 수 있는 4개의 표지물로 구성하였다. 수조는 물(온도 22±2°C)로 채웠고, 도피대는 전체 수조를 4등분한 것 중 하나의 부채꼴 중앙에 놓았으며 도피대 상단이 수면 0.5 cm 밑에 위치하도록 하였다. 수중미로시험은 실험동물이 수조 주변의 표지물을 기억하여 도피대를 찾아가기 때문에 주변 환경의 변화가 없도록 표지물을 실험기간 동안 일정하게 유지하였다. 실험동물이 도피대를 찾아가 10초 이상 머무는 경우 도피대를 찾아가는 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 en-

zyme assay 방법(25)에 따라 측정하였다. 수중미로시험 종료 후 실험동물을 희생하여 뇌 조직을 적출한 후 대뇌피질(cortex)와 해마(hippocampus)를 각각 분리하여 0.1 M phosphate buffer에 넣어 균질화하여 1,000×g에서 10분 동안 원심분리한 후 상등액을 효소원으로 사용하였다. 0.1 M phosphate buffer에 0.02 M dithionitrobenzoic acid 20 µL, 효소원 100 µL를 넣어 37°C에서 10분 동안 반응시킨 후 0.01 M acetylthiocholine 20 µL을 첨가하여 412 nm에서 4분간 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소원의 단백질량은 Lowry 법(26)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 $\alpha=0.05$ 수준에서 analysis of variance와 Duncan's multiple range test에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

복분자 물추출물이 명시적 기억력에 미치는 영향

복분자 물추출물이 기억력에 미치는 영향을 조사하기 위해 스코폴라민을 투여하여 단기 기억력 감퇴를 유발한 동물 모델을 이용하여 수동회피시험을 실시하였다. 수동회피시험은 기억력 평가에 많이 사용되는 시험(27,28)으로 명시적 기억력을 반영한다. 대조군에서는 밝은 방에서의 체류 시간이 116±17초 나타났다. 반면 스코폴라민(1 mg/kg body weight)을 투여한 경우 밝은 방에서의 체류 시간이 30±5초로 대조군에 비해 현저히 감소하였다(Fig. 1). 이는 학습시험(acquisition trial) 시의 전기 자극을 기억하지 못함을 나타내며 스코폴라민에 의한 기억력 감퇴 모델이 잘 만들어졌음을 시사한다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 4주간 복분자 물추출물(100 mg/kg body weight/day)을 섭취하고 스코폴라민을 투여한 군은 밝은 방에서의 체류 시간이 69±4초로 스코폴라민만을 투여한 군에 비해 체류 시간이 현저히 증가하였다. 이는 복분자 물추출물이 스코폴라민에 의한 기억력 손상을 효과적으로 예방함을 보여준다.

복분자 물추출물이 공간 기억력에 미치는 영향

복분자 물추출물이 공간 기억력에 미치는 영향을 조사하기 위해 수중미로시험을 실시하였다. 스코폴라민을 투여하지 않은 대조군에서는 1일째의 도피대를 찾아가는 시간인 평균탈출잠복기가 111±6초로 나타났고, 훈련이 반복됨에 따라 평균탈출잠복기는 유의적으로 감소하여 2, 3, 4일째의 탈출잠복기는 각각 71±10초, 57±12초 및 35±8초로 나타났다. 대조군의 수중미로시험 결과는 Kim 등(27)과 Park 등(28)의

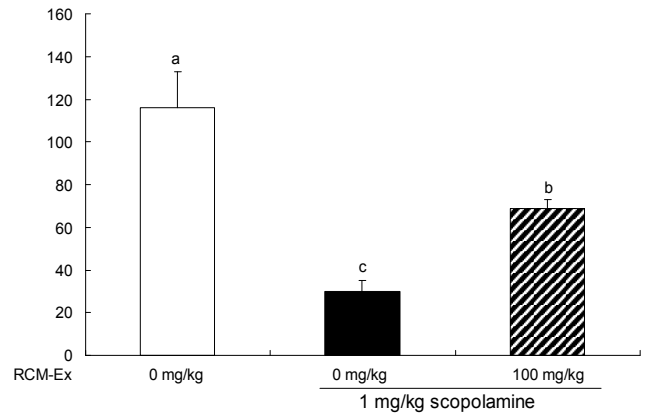


Fig. 1. Effect of RCM-Ex on scopolamine-induced memory impairment in passive avoidance. For 4 week before the training trial, mice received the aqueous extract of *Rubus coreanus* Miquel (RCM-Ex) orally. After 30 min, memory-impairment was induced in mice with scopolamine (1 mg/kg body weight, i.p.). 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). Means without a common letter differ, $p<0.05$.

결과와 같은 경향을 나타내었고 이는 수중미로시험이 적절히 수행되었음을 나타낸다. 스코폴라민을 투여하여 기억력 감퇴를 유발한 경우 1일과 2일째는 도피대를 찾지 못했고 3일과 4일째는 도피대를 찾아가는 했으나 대조군에 비해 평균탈출잠복기가 현저히 길었다. 이는 스코폴라민에 의해 공간 기억력이 현저히 감퇴하였음을 나타낸다. 복분자 물추출물을 섭취한 군의 평균탈출잠복기는 3일째까지는 스코폴라민 투여군과 유의적인 차이를 나타내지는 않았으나 4일째는 유의적으로 평균탈출잠복기가 감소하였다(Fig. 2). 이는 기억력이 감퇴된 경우 복분자 물추출물 섭취가 공간 학습 기억력 개선 효과가 있음을 제시한다.

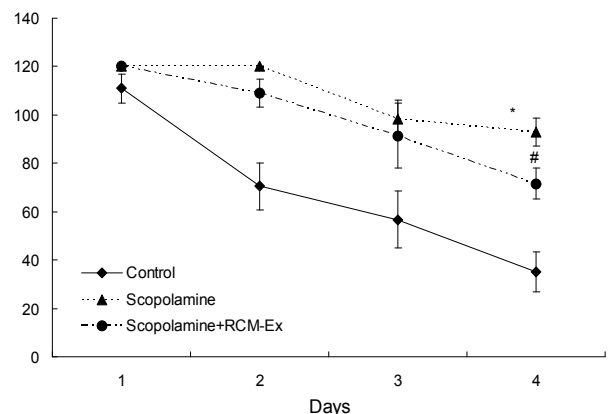


Fig. 2. Effect of RCM-Ex on scopolamine-induced memory impairment in Morris water maze task performance. The training trial session for 4 days. The aqueous extract of *Rubus coreanus* Miquel (RCM-Ex) were administered to mice for 4 weeks before maze test. Memory impairment was induced scopolamine (1 mg/kg body weight, i.p.) treatment. Results are expressed as the mean±SEM (n=10). * $p<0.05$ significantly different from control group. # $p<0.05$ significantly different from scopolamine-treated group.

복분자 물추출물이 뇌조직의 acetylcholinesterase 활성에 미치는 영향

기억력과 관련된 신경계는 cholinergic 신경계, glutamatergic 신경계, GABAergic 신경계, serotonergic 신경계, adrenergic 신경계 등이 알려져 있다. 이 중 cholinergic 신경계가 기억력과 가장 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있다. Cholinergic 신경계의 손상 및 기능 저하는 기억력 감퇴를 야기하고, 치매에서 cholinergic 신경계 손상 정도와 기억력 감퇴 정도는 높은 상관관계가 있음이 알려졌다(29). 스코폴라민은 cholinergic 신경의 subtype 중 하나인 muscarinic acetylcholine receptor의 길항제로 작용하며, 또한 스코폴라민은 신경 접합부에서 acetylcholinesterase의 활성을 증가시켜 acetylcholine을 분해하여 acetylcholine receptor를 통한 신경신호 전달을 감소하여 기억력 감퇴를 유도한다(8). Acetylcholinesterase 활성 억제제가 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴 개선을 위한 방법으로 제안되고 있으며 heptyl physostigmine 등의 acetylcholinesterase 억제제가 스코폴라민에 유도된 기억력 감퇴 개선 효과가 있음이 보고되었다(30,31). 본 연구에서 복분자 물추출물이 스코폴라민에 유도된 기억력 감퇴 개선 효과가 있는 것이 관찰되어 뇌에서 기억력을 담당하는 주요 부위인 대뇌 피질과 해마 조직

에서 복분자 물추출물이 acetylcholinesterase 활성에 미치는 영향을 조사하였고 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 대뇌 피질에서 스코폴라민을 투여한 경우 대조군에 비해 acetylcholinesterase 활성이 유의적으로 증가하였다. 복분자 물추출물을 투여한 경우 스코폴라민 투여군에 비해 acetylcholinesterase 활성이 유의적으로 감소하였다. 해마 조직에서는 스코폴라민과 복분자 물추출물 모두 acetylcholinesterase 활성에 영향을 미치지 않았다(Fig. 3).

요 약

현재까지 복분자가 인지능력 및 기억력에 미치는 영향에 대해 연구된 바가 없다. 본 연구에서는 복분자 물추출물이 기억력에 미치는 영향을 조사하기 위해 복분자 물추출물을 100 mg/kg body weight/day로 4주간 투여한 후 스코폴라민 (1 mg/kg body weight)을 복강 주사하여 기억력 감퇴를 유발한 후 수동회피시험과 수중미로시험을 실시하여 복분자 물추출물의 기억력 개선 효과를 평가하였다. 수동회피시험에서 스코폴라민으로 기억력 감퇴를 유도한 경우 밝은 방에서의 체류시간이 현저히 짧아졌고 복분자 물추출물을 섭취한 군에서는 밝은 방에서의 체류 시간이 스코폴라민 투여군에 비해 현저히 증가하였다. 또한 수중미로시험에서도 스코폴라민 투여군의 도피대를 찾아가는 탈출잠복기가 정상대조군에 비해 현저히 증가하였고 복분자 물추출물 투여군에서는 스코폴라민 군에 비해 탈출잠복기가 유의적으로 감소하였다. 대뇌피질에서 기억력에서 중요한 역할을 하는 acetylcholinesterase 활성은 스코폴라민에 의해 증가하고, 복분자 물추출물에 의해 감소하였다. 이상의 결과는 복분자 물추출물이 항콜린제인 스코폴라민에 의해 유도된 기억력 감퇴를 효과적으로 개선함을 보여주며, 이는 acetylcholinesterase의 활성을 저해함으로써 이루어짐을 나타낸다. 향후 더 많은 연구가 필요하나 본 연구는 복분자 물추출물을 기억력 개선 또는 증강제로 개발할 수 있는 가능성을 제시한다.

감사의 글

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

문 헌

1. Oh SK. 2005. *Neurotransmitters and Brain Disease*. Shinil Books company, Seoul, Korea. p 345-364.
2. Park CW. 1998. *Brain: Structure of Learning and Memory*. Seoul National University Press, Seoul, Korea. p 115-128.
3. 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-

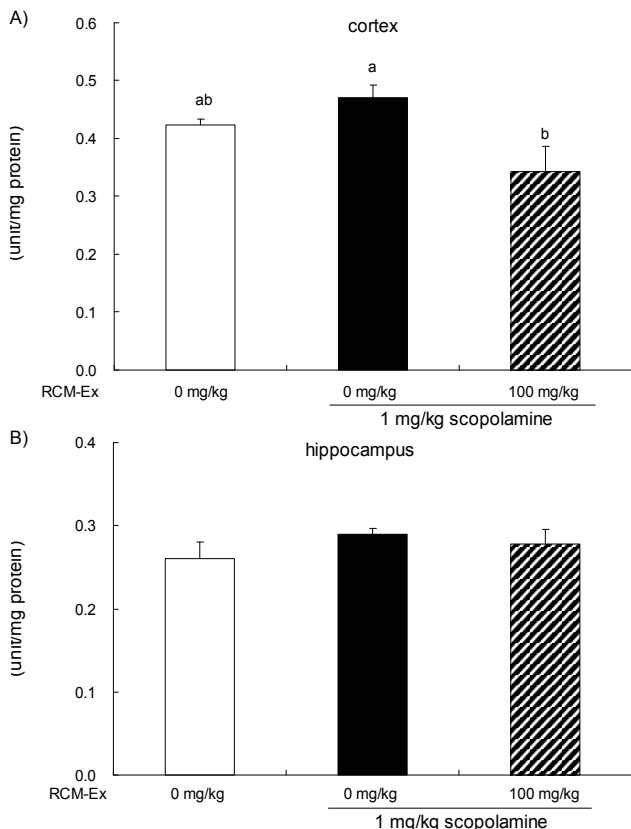


Fig. 3. Effect of RCM-Ex on acetylcholinesterase activity in the cortex and hippocampus of ICR mice with memory impairment induced by scopolamine. The values are shown the mean Unit/mg protein±SEM (n=10). Means without a common letter differ, p<0.05.

- synaptic cholinergic enzyme-positive structures in the human and rat brain. *Neuroscience* 101: 89-100.
4. Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, Snyder SE, Ficarò 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.
 5. Davies P, Maloney AJ. 1976. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 2: 1457-1459.
 6. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. 1999. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 66: 137-147.
 7. Bartus RT. 2000. On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Exp Neurol* 163: 495-529.
 8. Ebert U, Kirch W. 1998. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *Eur J Clin Invest* 28: 944-949.
 9. Cha HS, Lee MK, Hwang JB, Park KM. 2001. Physico-chemical characteristics of *Rubus coreanus* Miquel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1021-1025.
 10. Dan B, Andrew G. 1993. *Chinese herbal medicine: materia medica*. Eastland Press, Seattle, WA, USA. Vol 8, p 375-392.
 11. Lee YA, Lee MW. 1995 Tannins from *Rubus coreanus*. *Korean J Pharmacogn* 26: 27-30.
 12. Lee MW. 1995. Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanus*. *Yakhak Hoeji* 39: 200-204.
 13. Kim MS, Pang GC, Lee MW. 1997. Flavonoids from the leaves of *Rubus coreanus*. *Yakhak Hoeji* 41: 1-6.
 14. Pang GC, Kim MS, Lee MW. Hydrolyzable tannins from the fruits of *Rubus coreanus*. *Korean J Pharmacogn* 27: 366-370.
 15. Yoon I, Wee JH, Moon JH, Ahn TH, Park KH. 2003. Isolation and identification of quercetin with antioxidative activity from the fruits of *Rubus coreanus* miquel. *Korean J Food Sci Technol* 35: 499-502.
 16. 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.
 17. 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.
 18. Yang HM, Lim YS, Lee TS, 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.
 19. 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.
 20. Lee KK, Han JH, Oh CH. 2009. Effect of *Rubus coreanus* Miquel on the apoptosis of U937 cells. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 23: 1404-1408.
 21. 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.
 22. Choi WH, Ahn JH, Kim S, Ha TY. 2009. Cherry tomatoes ameliorate scopolamine-induced amnesia in mice. *J Food Sci Nutr* 13: 281-285.
 23. LeDoux JE. 1993. Emotional memory systems in the brain. *Behav Brain Res* 58: 69-79.
 24. Morris R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11: 47-60.
 25. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95.
 26. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
 27. 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.
 28. 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.
 29. Giacobini E. 1990. The cholinergic system in Alzheimer's disease. *Prog Brain Res* 84: 321-332.
 30. Braida D, Paladini E, Griffini p, Lamperti M, Maggi A, Sala M. 1996. An inverted U-shaped curve for heptylphysostigmine on radial maze performance in rats: comparison with other cholinesterase inhibitors. *Eur J Pharmacol* 302: 13-20.
 31. Dawson GR, Bentley G, Draper F, Rycroft W, Ivesen SD, Pagella PG. 1991. The behavioral effects of heptyl physostigmine: a new cholinesterase inhibitor, in tests of long-term and working memory in rodents. *Pharmacol Biochem Behav* 39: 865-871.

(2011년 11월 15일 접수; 2011년 12월 7일 채택)