



Protective effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts against amyloid beta-induced cognitive impairment

Ji Myung Choi¹ · Xiaoning Wang² · Eun Ju Cho² · Sanghyun Lee³ · Seung Ho Shin⁴ · Hyun Young Kim⁴

Amyloid beta로 유도된 인지 장애에 대한 모싯잎(*Boehmeria nivea*)의 보호 효과

최지명¹ · 왕샤오닝² · 조은주² · 이상현³ · 신승호⁴ · 김현영⁴

Received: 16 January 2026 / Accepted: 27 January 2026 / Published Online: 3 February 2026
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2026

Abstract Amyloid beta (A β) accumulation is a key pathological factor associated with cognitive impairment in neurodegenerative disorders. *Boehmeria nivea* (ramie) leaves have long been used as food and traditional materials and are known to contain various bioactive compounds. In this study, the protective effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts on A β 25-35-induced cognitive impairment were evaluated using an ICR mouse model. Two methanolic extracts prepared from ramie leaves with different cultivation origins were orally administered at a dose of 200 mg/kg/day. Cognitive performance was assessed using the T-maze, novel object recognition, and water maze tests. In

addition, lipid peroxidation, nitric oxide (NO) production, and the protein expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) were analyzed in brain tissues. Administration of *Boehmeria nivea* leaf extracts significantly improved A β -induced deficits in spatial working memory, object recognition memory, and spatial learning. The extracts also reduced lipid peroxidation and NO levels in mouse brains. Furthermore, A β -induced increases in iNOS and COX-2 protein expression were markedly suppressed following extract treatment. These results indicate that *Boehmeria nivea* leaf extracts exert protective effects against A β -induced cognitive impairment and suggest their potential applicability as functional materials for cognitive health.

Seung Ho Shin (✉)
E-mail: shshin@gnu.ac.kr

Hyun Young Kim (✉)
E-mail: hyunyoung.kim@gnu.ac.kr

¹Department of Food and Nutrition, Kyungsung University, Busan 48434, Republic of Korea

²Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 46241, Republic of Korea

³Department of Plant Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong 17546, Republic of Korea

⁴Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Keywords Amyloid beta · *Boehmeria nivea* leaf · Cognitive impairment · Neuro-inflammation · Oxidative stress

Introduction

Alzheimer's disease (AD)는 노화 현상에 의해 발생하는 대표적인 퇴행성 뇌 질환으로 65세 이상의 노인 인구에게서 주로 발생한다[1]. AD는 인지력과 기억력의 저하를 특징으로 하며, 초기에는 가벼운 기억 상실로서 서서히 증상이 발생하고, 점진적으로 악화되는 양상을 보이는 질환이다[2]. AD의 주요 원인으로는 amyloid beta (A β)의 응집 현상으로 발생하는 amyloid plaque와 tau 단백질의 과도한 인산화가 대표적으로 알려져 있다[3]. 그 중에서 A β 는 뇌 조직에서 산화 스트레스를 유발하여 과도한 활성

산소 및 활성질소종을 생성하게 되며, 이것이 뇌 신경세포막의 지질 과산화를 유도하여 신경세포 구조적 손상을 유발하여 사멸을 초래한다. 또한 다양한 염증 반응을 유발하여 대뇌 피질과 해마 등의 지속적인 손상으로 인지 저하 및 기억력 감퇴 현상을 유발한다[4]. A β 중 amyloid 전구 단백질로부터 유래된 39-43개의 peptide 형태가 AD 유발의 대표적인 원인으로 알려져 있다[5]. 현재까지 다양한 치료제들이 사용되고 있지만 AD의 직접적인 치료 기전 및 약물은 아직 밝혀지지 않아 AD의 치료와 함께 예방에 대한 집중적인 연구가 중요하다.

모시(*Boehmeria nivea*)는 쐐기풀과의 여러해살이 풀로 중국, 한국, 필리핀, 인도 등지의 아시아 국가에서 주로 재배된다[6]. BC 5000년-BC 3300년 사이에 이집트에서 미라를 덮는데 사용되었으며, 흡수성이 뛰어나고 건조가 빠르며, 박테리아나 해충에 대한 내성이 매우 강해 직물 소재로 주로 사용된다[7,8]. 또한 예로부터 모시잎은 한방에서 해열과 이뇨 작용이 있는 약재로 쓰이고, 떡, 나물 등의 식재료로도 널리 활용되었다[9]. 모시잎에는 다양한 비타민과 무기질이 풍부하다고 알려져 있으며, 그 외에도 triterpene, polyphenol, flavonoid류의 다양한 생리활성 성분이 존재하는 것으로 보고된다[11].

본 연구에서는 ICR mouse에 A β 투여를 통해 기억 및 인지 기능 저하가 유발된 실험모델에서 모시잎 추출물을 투여하여 T형 미로, 물체 인지, 수조 미로 등의 행동분석 및 뇌 조직 분석을 통해 NO와 지질 과산화 생성 억제, 염증 관련 인자인 nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2) 단백질 발현 억제 효과에 대해 검토하였다.

Materials and Methods

모시잎 추출물의 제조

모시잎은 서천에서 재배한 서방종과 영광에서 재배한 재래종 모시잎 2종을 영광군 농업기술센터에서 제공받았으며, 각각 Bn-S (서천 재배 서방종)과 Bn-L (영광 재배 재래종)로 명명하였다. 모시잎 건조 중량의 20배 methanol (MeOH)을 가하여 3회 반복 추출하였으며, 진공 농축을 통해 개별 MeOH 추출물을 제조하였다.

인지손상 동물 모델 제작 및 실험군 설정

본 연구는 5주령의 수컷 ICR mouse (₩오리엔트, 성남, 한국)로 인지 손상 동물 모델을 제작하여 수행하였고, 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인(ED-PNU2013-0104)을 받아 진행하였다. 실험동물은 온도 20 $\pm$ 2 °C, 습도 50 $\pm$ 10%의 환경에서 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지한 환경에서 물과 일반 고형사료를 자유롭게 공급하며 사육하였다. 실험동물은 normal, control, Bn-S, Bn-L의 총 4 group (각 group 당 8마리)으로 나누어 실험을 진행하였다. Control, Bn-S, Bn-L의 세 group은 인지 손상을 유발하기 위해 5 nM 농도의 A β ₂₅₋₃₅ (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 뇌내 기실에 주입하였다[12]. A β ₂₅₋₃₅는 0.9%의 생리식염수에 녹여 37 °C에서 3일 동안 incubation을 통해 aggregation하여 사용하였다[13]. Normal group은 0.9%의 생리식염수를 주

입하였다. 이 후 5일째 되는 날부터 2주간 시료를 일정 시간에 위내 투여하였다. Sn-S group은 200 mg/kg 농도의 서방종 모시잎 추출물, Bn-L group은 같은 농도의 재래종 모시잎 추출물을 각각 0.5% carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC)에 녹여 위내 투여하였으며, normal 및 control group에는 0.5% CMC를 동일하게 위내 투여하였다. 시료 위내 투여 1주 후부터 실험동물의 인지 및 기억 관련 행동 변화 분석 실험을 실시하고, 이 후 zoletil 50[®] (Virbac Korea, 서울, 대한민국)으로 마취한 후, 관류를 통해 장기 내의 잔류 혈액 제거 후 해부를 실시하여 뇌 조직을 적출하고 -80 °C에 보관하여 분석을 진행하였다.

T형 미로 실험

외부가 보이지 않는 T형태의 미로(폭 12 cm, 출발부 76 cm, 오른쪽 및 왼쪽 통로 각 31.5 cm)를 활용하여 실험을 진행하였다[14]. 먼저 T형 미로의 오른쪽 통로에 접근할 수 없도록 차단문을 설치하여 왼쪽만 접근할 수 있도록 10분간 훈련하여 왼쪽에 접근한 총 횟수를 측정하였다. 24시간 후, 오른쪽 통로를 개방하여 실험동물이 새로 생긴 오른쪽 통로로 접근하는 횟수를 기록하여 비교하였다.

물체인지 실험

내부에서 외부가 보이지 않는 불투명한 40 $\times$ 40 $\times$ 40 cm 크기의 box에서 실험을 진행하였다. 먼저 모양과 크기가 같은 두 개의 물체를 상자 내부에 고정된 뒤 실험 동물이 10분간 두 물체를 탐색하는 빈도를 측정하였다. 24시간 후, 두 가지 물체 중에서 한 가지를 형태가 완전히 다른 새로운 물체로 교체한 뒤에 실험동물이 새로 바뀐 물체를 탐색하는 빈도를 기록하여 비교하였다[15].

수조 미로 실험

지름 150 cm, 높이 30 cm의 둥근 형태의 수조 내부를 네 부분으로 나눈 후 실험동물이 각 위치를 인식할 수 있도록 표식을 붙인 후 수조 내부가 보이지 않도록 불투명한 물을 준비하고, 사분면 중 한 위치의 물 속에 보이지 않으면서 실험동물이 접근할 수 있는 지름 8 cm의 platform을 설치하여 실험을 진행하였다. 먼저 3일 동안 하루에 3회 수조 미로에서 보이지 않는 platform을 찾아가는 학습을 하였다. 무작위로 한 사분면에서 실험동물을 출발시킨 뒤 60초 내에 platform을 찾아가는 시간을 기록하였고, 시간이 경과하여도 platform을 찾지 못하는 경우 실험자가 실험동물을 부드럽게 유도하여 platform의 위치를 찾아 15초간 인지할 수 있도록 하였다. 실험 4일째 되는 날은 총 세 가지 방법으로 분석을 진행하였다. 첫 번째는 학습한대로 60초 내에 보이지 않는 platform을 찾아가는 시간을 측정하는 실험을 진행하고, 두 번째는 platform을 없앤 상태에서 실험동물이 60초간 platform이 위치했던 수조의 사분면을 유영하는 시간을 측정하였다. 세 번째는 수조 내부가 보이도록 물을 교체하여 같은 방법으로 platform을 설치하여 platform이 보이는 상태에서 실험동물이 60초 내에 platform에 도달하는 시간을 측정하였다[16].

지질 과산화 생성 억제 측정

뇌 조직 균질 상층액과 1% phosphoric acid, 0.67% thiobarbituric

acid와 혼합하여 95 °C에서 20분간 반응 후, 5배의 *n*-butanol과 pyridine 혼합액(15:1)을 가하여 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. Standard curve는 malondialdehyde를 농도별로 조제하여 분석에 사용하였다[17].

NO 생성 억제 측정

0.9%의 생리식염수에 뇌 조직을 균질화하고, 3000 rpm에서 10 분간 원심분리한 후 상층액을 실험에 사용하였다. 뇌 조직 균질 상층액에 1% sulfanilic acid를 함유한 5% phosphoric acid와 ethylenediamide dihydrochloride 용액을 1:1로 혼합하여 제조한 griess reagent를 상온에서 30분간 반응한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였고, 농도 별 sodium nitrite로 standard curve를 만들어 분석하였다[18].

Western blot을 통한 단백질 발현 분석

뇌 조직을 lysis buffer (iNtRON Bio, 성남, 대한민국)와 함께 균질화 후 4 °C, 12000 rpm에서 20분간 원심분리한 후, 단백질을 protein assay kit (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)로 정량 하였다. SDS-PAGE로 단백질을 분리하고, PVDF membrane (Millipore, Billerica, MA, USA)에 transfer 과정을 거친 다음 5% skim milk로 상온에서 1시간 blocking한 후 iNOS (1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) 및 COX-2 (1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA)의 primary antibody와 4 °C에서 overnight 반응하였다. PBS-T로 세척하여 다시 HRP-conjugated secondary antibody (1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA)와 상온에서 50분간 반응한 후, enhanced chemiluminescence solution와 반응하여 chemiluminescence imaging system (Davinch-Chemi, 서울, 대한민국)을 이용하여 단백질 발현 정도를 확인하였다.

통계분석

모든 결과는 평균±표준편차로 나타내고, 실험 group 간의 비교는 one way ANOVA로 검증한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 에서 유의성을 검정하였다. 행동 분석 실험의 T형 미로 실험과 물체인지 실험에서의 두 조건 비교(기존 경로 vs. 새로운 경로, 기존물체 vs. 새로운 물체)는 동일 개체 내에서 측정된 값을 기반으로 Student's t-test ($p < 0.05$)를 적용하였다.

Results and Discussion

T형 미로 실험을 통한 모싯잎 추출물의 공간 인지능력 개선 효과

T형 미로 실험은 실험동물의 공간 인지 및 단기 기억을 평가하는 방법 중 하나로 mouse가 호기심이 많은 개체임에 착안하여 고안되었다[14,19]. Mouse는 미로의 한 쪽 route에 진입하면 기존에 있던 route로 돌아가기보다 새로운 route로 이동하는 자발적인 교대 공간 탐지 양상을 보인다[20]. 이를 통해 본 실험에서 T

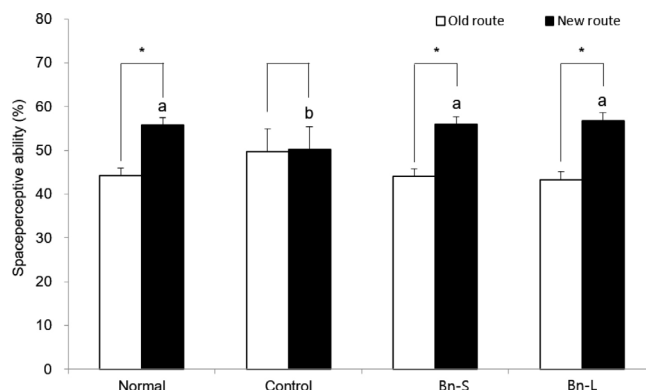


Fig. 1 Effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts on spatial working memory in the T-maze test. The results are represented as mean $\pm$ SD. Different letters (a, b) above the bars indicate significant differences among groups, as determined by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). *Statistical differences between the old route and the new route within the same animals were analyzed using Student's t-test ($p < 0.05$). Experimental groups were defined as follows: Normal, 0.9% NaCl injection plus oral gavage of drinking water; Control, 5 nM $A\beta_{25-35}$ injection plus oral gavage of drinking water; Bn-S, 5 nM $A\beta_{25-35}$ injection plus oral gavage of *Boehmeria nivea* leaf extract (200 mg/kg/day); Bn-L, 5 nM $A\beta_{25-35}$ injection plus oral gavage of *Boehmeria nivea* leaf extract (200 mg/kg/day)

형 미로에서 mouse가 기존에 알던 route 이외의 가로막혔던 새로운 route가 생겼을 때 이를 탐색하는 빈도를 측정하였다(Fig. 1). Normal group은 새로운 route를 발견했을 때, 정해진 시간 동안 기존에 알던 익숙한 route (44.22%)보다 새로운 route로 접근하는 빈도(55.78%)가 증가하였다. 그러나 control group은 새로운 route가 나타난 것을 인지하지 못하고, 기존 route (49.77%)와 새로운 route (50.23%) 양쪽의 접근 빈도가 유사하게 나타나 이는 $A\beta_{25-35}$ 투여로 인해 인지 기능이 손상되었음을 확인할 수 있다. 두 가지 시료 Bn-S group과 Bn-L group은 새로운 route에 접근하는 빈도가 각각 55.95%와 56.72%로 나타나 기존의 route 보다 새로운 route에 접근 빈도가 증가한 것으로 나타나 Bn-S 및 Bn-L의 모싯잎 추출물의 투여가 손상된 인지능을 개선시킴을 확인하였다.

물체인지 실험을 통한 모싯잎 추출물의 인지능력 개선 효과

Mouse는 익숙한 물체보다 움직이거나 새로운 물체에 우선적으로 반응하여 환경 변화에 반응한다[21]. 이러한 특성을 통해 물체 인지 실험은 서로 같은 물체 두 개가 놓인 폐쇄된 공간 내에서 물체를 탐색하다가 이 중 한 물체를 형태가 다른 새로운 물체로 변경했을 때, 다름을 인지하고 새로운 물체에 대한 탐색 빈도가 증가하는 원리를 활용한 실험법이다[15]. T형 미로 실험은 뇌의 해마 영역 활동에 의존하여 공간 학습 능력에 대해 평가하는 반면, 물체인지 실험은 측두엽을 포함한 뇌의 여러 영역 활동의 영향으로 비 공간적인 물체를 인식하고 학습하는 능력을 평가하는 방법이다[22].

Figure 2에서 mouse가 기존의 물체와 새로 바뀐 물체를 인지

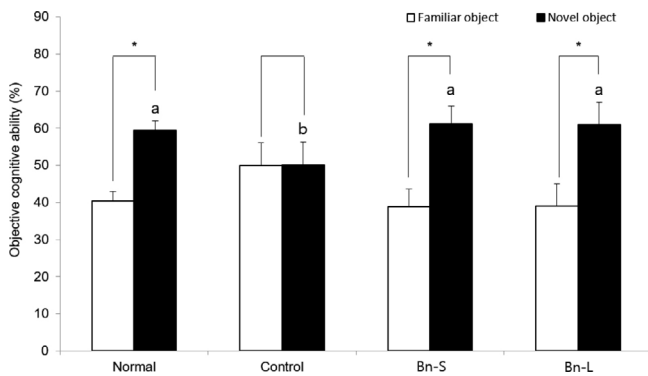


Fig. 2 Effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts on object recognition memory in the novel object recognition test. The results are represented as mean $\pm$ SD. Different letters (a, b) above the bars indicate significant differences among groups, as determined by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). *Statistical differences between familiar and novel objects within the same animals were analyzed using Student's t-test ($p < 0.05$). Animals were grouped and treated as described in Fig. 1

하는 비율을 살펴보면, normal group은 새로운 물체를 탐색하는 빈도가 59.51%로 기존 물체 탐색 빈도(40.49%)보다 훨씬 높았다. 그러나 $A\beta_{25-35}$ 로 인지 저하를 유도한 control group은 물체가 바뀐 것을 인지하지 못하고, 새로운 물체와 기존의 물체의 탐색 빈도가 각각 50.03%, 49.97로 유사하게 나타났다. 모싯잎 추출물을 투여한 경우에는 새로 바뀐 물체에 대한 탐색 빈도 각각 61.14% (Bn-S)와 61.00% (Bn-L)으로 normal group 수준과 유사하게 새로운 물체를 인지하여 $A\beta_{25-35}$ 투여로 저하된 인지 기억 능력이 개선되었다. 이로써 모싯잎 추출물이 T형 미로와 물체인지와 같은 단기적 인지 및 기억 개선에 효능이 있음을 확인하였다.

수조 미로 실험을 통한 모싯잎 추출물의 공간 학습 능력 개선 효과
Mouse의 자발적인 탐색 행동을 평가하고, 단기 기억 및 초기 인지 학습 능력을 평가하도록 설계된 T형 미로와 물체 인지 실험과 다르게 수조 미로 실험은 mouse가 가진 물에 대한 거부감을 기반으로 공간 단서를 통해 보이지 않는 platform을 찾도록 반복 학습을 통한 공간 기억 능력을 평가한다[23,24]. 이 실험법은 반복적인 인지 자극을 통해 단기 기억이 해마 영역을 비롯하여 전뇌, 소뇌, 대뇌 등 뇌의 여러 영역과 neurotransmitter system을 포함하는 신경망의 기능적 완전성을 통해 장기 기억으로 전환되는 기억의 통합 과정을 반영할 수 있다[25-27].

Figure 3A는 mouse가 반복 학습에 따라 수조의 공간 단서를 통해 보이지 않는 platform을 찾아가는 시간의 변화를 나타냈다. Normal group은 실험 횟수를 거듭할수록 보이지 않는 platform을 찾아가는 시간이 빨라지는 양상을 보였다. 그러나 control group은 반복 학습을 진행해도 보이지 않는 platform을 찾아가는 시간의 감소 변화 폭이 처음과 큰 차이를 보이지 않았다. 이로써 normal group은 반복 학습에 의해 platform이 있는 위치의 공간 단서의 기억으로 platform을 찾아가는 시간이 줄어들었고, control group은 $A\beta_{25-35}$ 투여로 반복 학습을 수행해도 기억 능력이 손상으로 인해 장기 기억화 되지 못한 것으로 판단된다. 모싯잎 추출물을 투여한 Bn-S 및 Bn-L group은 학습이 반복될수록 보이지 않는 platform을 찾는 속도가 normal group과 유사한 양상으로 점진적으로 단축되었다. 이를 통해 3일간 3번의 반복 학습이 종료된 후 마지막 최종 실험에서 총 60초의 시간 제한에서 control group은 대부분 50초대에 보이지 않는 platform에 도달하거나 도달하지 못하는 mouse 개체도 나타났으며, normal을 비롯한 Bn-S, Bn-L group은 보이지 않는 platform에 도달하는 시간이 20초대로 단축되어 모싯잎 추출물의 투여가 T형 미로 및 물체인지의 단기 기억과 $A\beta_{25-35}$ 로 손상된 학습 및 장기기억에도 개선이 있음을 확인하였다(Fig. 3B).

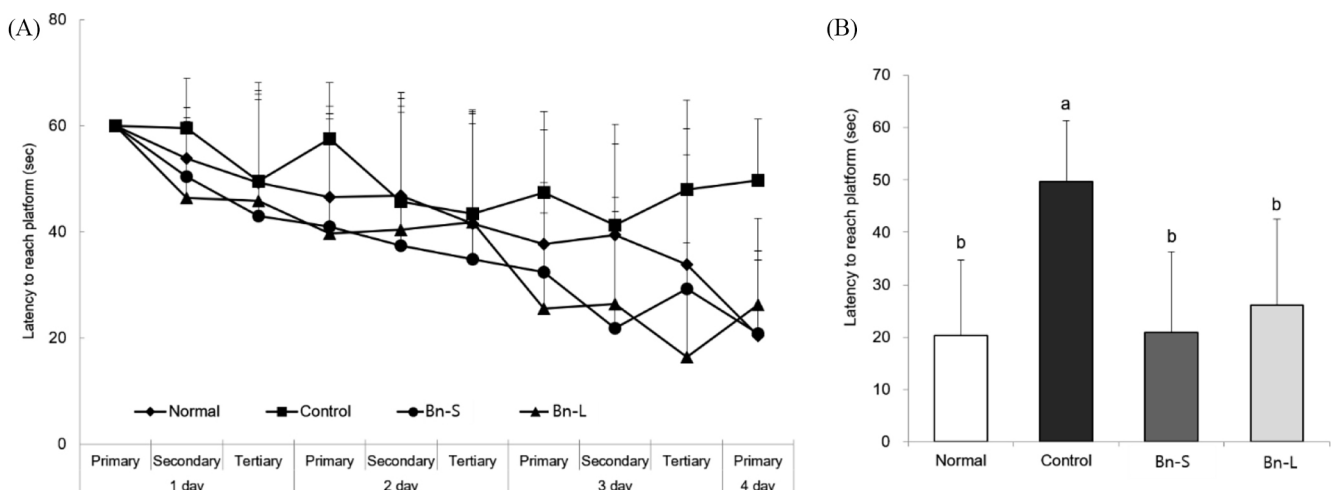


Fig. 3 Effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts on representative swimming path (A) and escape latency (B) in the water maze test. The results are represented as mean $\pm$ SD. Statistical significance was determined using Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Different letters (a, b) above the bars indicate significant differences among groups. Animals were grouped and treated as described in Fig. 1

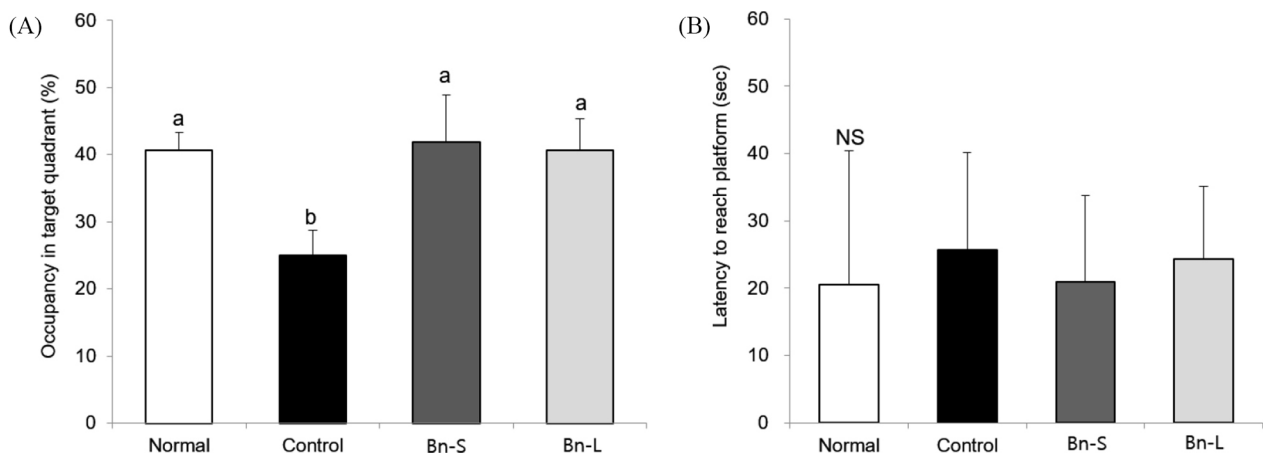


Fig. 4 Effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts on time spent in the target quadrant (A) and latency to reach the visible platform (B) in the water maze test. The results are represented as mean $\pm$ SD. Statistical significance was determined using Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Different letters (a, b) above the bars indicate significant differences among groups. Animals were grouped and treated as described in Fig. 1

Mouse가 보이지 않는 platform에 도달하는 과정이 다른 요소가 아닌 공간 단서의 학습으로 인한 것임을 확인하기 위해 platform을 없앤 상태에서 mouse가 platform이 있던 위치를 찾아 해당 수조의 사분면을 유영하는 시간을 측정하였다(Fig. 4A). Control group이 platform이 위치했던 사분면에 머무는 시간이 25.00%일 때, normal group은 platform을 찾기 위해 해당 사분면을 유영하는 시간이 40.59%로 증가했다. Bn-S 및 Bn-L group도 각각 41.83%, 40.49%로 해당 사분면의 유영 시간이 길어져 이는 확실하게 mouse가 공간 단서를 통해 platform이 있던 위치를 학습하여, 기억하고 있다는 것을 알 수 있었다. 또한 수조 내부가 보이는 상태에서 platform을 설치하여 mouse가 platform에 도달하는 시간을 살펴보았다(Fig. 4B). platform이 보이는 상태에서는 normal, control, Bn-S, Bn-L의 모든 실험 group에서 20초대의 시간에 platform에 도달하여 control group은 platform의 위치가 보이지 않는 상태에서는 느리게 platform에 도달했지만, platform이 시각적으로 보일 때에는 platform에 도달하는 시간이 빨라졌고, normal, Bn-S, Bn-L group은 platform이 보이는 상태이거나 보이지 않는 상태일 때 모두 도달하는 시간대가 유사한 것으로 mouse가 보이지 않는 platform을 찾아가는 것이 시각, 운동능력 등의 다른 영향이 아닌 오로지 학습된 기억에 의한 것임을 알 수 있다.

모싯잎 추출물이 뇌 조직의 지질 과산화 생성 억제에 미치는 효과

뇌 세포막의 지질 이중층 구조에 널리 존재하는 산소와 다가 불포화지방산은 free radical과 상호작용을 통해 지질 과산화를 유발한다[28]. 뇌에서의 지질 과산화와 A β 축적은 AD 환자에게서 주로 관찰된다. 또한 지질 과산화는 A β 축적을 더욱 유발하게 되고 이에 따른 산화 스트레스로 인한 인지 장애에 관여한다[29]. Figure 5A는 A β_{25-35} 에 의해 유발된 뇌 조직의 지질 과산화에 대한 모싯잎 추출물의 효과를 나타냈다. Control group은 57.10 nmole/mg protein으로 normal group (35.37 nmole/mg protein) 보다 높은 지질 과산화 정도가 나타나 A β_{25-35} 투여에 의해 뇌 조

직에서 지질 과산화가 유도됨을 알 수 있었다. Bn-S 및 Bn-L group은 각각 45.14, 40.58 nmol/mg protein으로 control group에 비해 지질 과산화 정도가 낮아진 경향을 나타냈다. 이를 통해 모싯잎 추출물이 뇌에서의 지질 과산화에 대한 보호 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

모싯잎 추출물이 뇌 조직의 NO 생성 억제에 미치는 효과

뇌 조직에서 NO 수치가 증가하게 되면 산화 스트레스에 의한 신경세포 사멸에 영향을 미치므로 NO 생성의 증가는 신경 독성을 유발하여 학습 및 기억 장애와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다[30-32]. 특히 A β_{25-35} 로 AD를 유도한 동물의 뇌 조직에서 NO 생성이 증가하여 인지 및 기억력 손상을 초래하는 것으로 보고되었다[33]. 뇌 조직에서 NO 생성량 측정 결과를 살펴보면(Fig. 5B), control group에서 18.44 μ mol/L/mg protein으로 A β_{25-35} 주입으로 인해 normal group (13.06 μ mol/L/mg protein) NO가 증가한 것을 알 수 있었다. 반면에 Bn-S 및 Bn-L group은 각각 16.13, 13.86 μ mol/L/mg protein으로 NO 생성량이 낮아졌다.

모싯잎 추출물이 뇌 조직의 염증관련 단백질 발현에 미치는 효과

iNOS와 COX-2는 대표적인 염증 활성화 지표로 다량의 염증성 cytokine이 iNOS와 COX-2로부터 생성된다. iNOS는 AD 및 A β 관련 신경 퇴행에서 과도한 NO 생성의 주요 원천으로 과잉 생성된 NO는 산화 및 질소화 손상을 통해 신경세포 기능 저하 및 시냅스 손상에 기여할 수 있으므로, iNOS 발현 억제에는 A β 관련 신경염증 조절의 중요한 표적이 된다[34,35]. COX-2는 뇌에서 prostaglandin 합성을 매개하는 효소로, AD 증상에서 COX-2/PGE2 축적의 이상이 염증 반응과 함께 아니라 시냅스 기능 및 기억 형성 과정에도 영향을 미칠 수 있다는 보고가 존재한다. 실제로 COX-2 억제는 A β 에 의해 유발되는 기억 기능 저하를 완화할 수 있다는 연구가 보고되어, COX-2 조절이 인지장애 개선에 기여할 가능성이 제기되어 왔다[36,37]. 따라서 A β_{25-35} 가 주입된

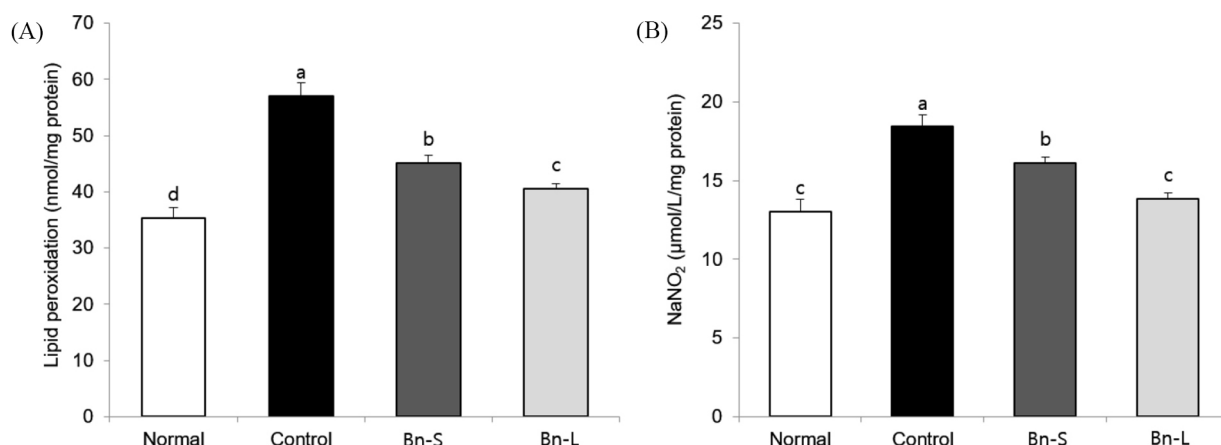


Fig. 5 Effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts on lipid peroxidation (A) and nitric oxide levels (B) in mouse brains. The results are represented as mean $\pm$ SD. Statistical significance was determined using Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Different letters (a-d) above the bars indicate significant differences among groups. Animals were grouped and treated as described in Fig. 1

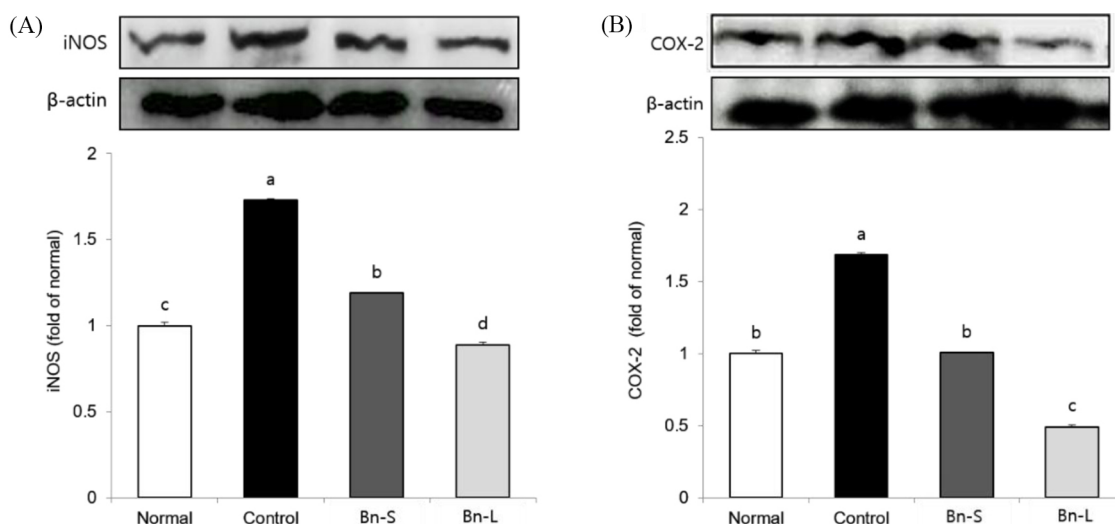


Fig. 6 Effects of *Boehmeria nivea* leaf extracts on iNOS (A) and COX-2 (B) protein expression in mouse brains. Representative Western blot images were selected from repeated independent experiments and are shown together with quantitative analysis. Protein expression levels were quantified by densitometric analysis and normalized to β -actin, and the results are expressed as relative values compared to the normal group. All data are presented as mean $\pm$ SD. Statistical significance was determined by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Different letters (a-d) above the bars indicate significant differences among groups. Experimental groups were defined as described in Fig. 1

mouse의 뇌 조직에서 neuro-inflammation을 유발하는 염증 매개성 단백질인 iNOS, COX-2 유전자 단백질 발현 정도에 모싯잎 추출물이 미치는 영향을 검토하였다(Fig. 6). A β ₂₅₋₃₅를 주입한 control group은 iNOS 발현이 normal group보다 약 1.73배 증가하였으나 Sn-S 및 Sn-L group에서는 유의적으로 iNOS의 발현이 감소하였다(Fig. 6A). 또한 COX-2 발현 정도를 살펴보면, 역시 control group이 normal group에 비해 1.68배 발현이 증가했고, Sn-S 및 Sn-L group에서 normal group 수준으로 유의하게 그 발현을 억제하였다(Fig. 6B). 특히 Sn-S 및 Sn-L 모두 효과적으로 iNOS, COX-2 발현을 억제하였으며, 두 추출물 간 효과는 전반적으로 유사한 수준을 나타냈다.

모싯잎은 polyphenol, flavonoid, loliolide, rutin 등 다양한 항산화 및 항염증 생리활성 성분을 함유하는 것으로 보고되어왔다 [11,38,39]. 이러한 성분들은 활성산소종 제거 능력과 염증 매개 신호 전달 경로 조절을 통해 신경세포 보호 효과를 나타낼 가능성이 제시되고 있다. 본 연구에서 관찰된 모싯잎 추출물의 지질과산화 억제 효과는 뇌 조직 내 산화 스트레스 수준을 감소시킴으로써 A β 에 의해 유발되는 신경세포 손상을 완화하는 데 기여했을 것으로 판단된다.

특히 iNOS 및 COX-2는 A β 축적에 의해 활성화되는 대표적인 염증 매개 효소로, 과도한 NO 생성 및 prostaglandin 합성을 통해 신경염증 반응과 시냅스 기능 저하를 유도하는 것으로 알려

저 있다[34-37]. 본 연구에서 모싯잎 추출물 투여에 의해 iNOS 및 COX-2 단백질 발현이 유의적으로 억제되고, 이에 따라 NO 생성이 감소한 결과는 모싯잎의 항염증 작용이 A β 와 관련한 neuro-inflammation 조절에 관여할 가능성을 시사한다.

기존 연구에 따르면 loliolide와 rutin은 염증성 신호 전달 경로를 조절하고, 산화 스트레스에 의해 활성화되는 redox-sensitive pathway를 억제하는 것으로 보고되어 있다[40-42]. 따라서 본 연구에서 확인된 인지 기능 개선 효과는 모싯잎에 함유된 이러한 생리활성 성분들이 항산화 및 항염증 작용을 통해 A β 로 유도된 neuro-inflammation 반응을 완화한 결과로 해석될 수 있다. 이러한 결과는 모싯잎이 인지 건강 개선을 위한 기능성 소재로 활용될 수 있는 과학적 근거를 제공한다.

Abstract

Amyloid beta (A β)는 인지장애와 관련된 주요 병리 인자로 알려져 있다. 모싯잎(*Boehmeria nivea*)은 전통적으로 식품 및 천연 소재로 활용되어 왔으며, 다양한 생리활성 성분을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 A β ₂₅₋₃₅로 유도된 인지장애 ICR 마우스 모델에서 모싯잎 추출물의 인지 보호 효과를 평가하였다. 재배 지역과 종이 다른 두 종류(Bn-S, Bn-L)의 모싯잎 추출물을 200 mg/kg/day 농도로 위내 투여한 후, T형 미로, 물체 인지, 수조 미로를 이용한 행동 실험을 통해 인지 및 기억력을 분석하였다. 또한 뇌 조직에서 지질 과산화, nitric oxide (NO) 생성 및 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2) 단백질 발현을 측정하였다. 그 결과, 모싯잎 추출물 투여는 A β 에 의해 저하된 공간 작업 기억, 물체 인지 기억 및 공간 학습 능력을 유의적으로 개선하였다. 또한 뇌 조직에서 증가된 지질 과산화 및 NO 생성이 감소하였으며, iNOS와 COX-2 단백질 발현도 유의적으로 억제되었다. 이상의 결과는 모싯잎 추출물이 A β 로 유도된 인지장애에 대해 보호 효과를 나타냄을 시사하며, 인지 건강을 위한 기능성 소재로서의 활용 가능성을 제시한다.

Keywords 모싯잎 · 산화 스트레스 · 신경염증 · 아밀로이드 베타 · 인지 장애

References

- Ryu JC, Zimmer ER, Rosa-Neto P, Yoon SO (2019) Consequences of metabolic disruption in Alzheimer's disease pathology. *Neurotherapeutics* 16: 600–610. doi: 10.1007/s13311-019-00755-y
- Ferris SH, Farlow M (2013) Language impairment in Alzheimer's disease and benefits of acetylcholinesterase inhibitors. *Clin Interv Aging* 8: 1007–1014. doi: 10.2147/CIA.S39959
- Paula VDJRD, Guimaraes FM, Diniz BS, Forlenza OV (2009) Neurobiological pathways to Alzheimer's disease: Amyloid-beta, TAU protein or both? *Dement Neuropsychol* 3: 188–194. doi: 10.1590/S1980-57642009DN30300003
- Campbell A, Bondy SC (2000) Aluminum induced oxidative events and its relation to inflammation: A role for the metal in Alzheimer's disease. *Cell*

- Mol Biol 46: 721–730
- Chen GF, Xu TH, Yan Y, Zhou YR, Jiang Y, Melcher K, Xu HE (2017) Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol Sin* 38: 1205–1235. doi: 10.1038/aps.2017.28
- Liu F, Liang X, Zhang N, Huang Y, Zhang S (2001) Effect of growth regulators on yield and fiber quality in ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.), China grass. *Field Crops Res* 69: 41–46
- Wang B, Peng D, Liu L, Sun Z, Zhang N, Gao S (2007) An efficient adventitious shoot regeneration system for ramie (*Boehmeria nivea* Gaud.) using thidiazuron. *Bot Stud* 48: 173–180. doi: 10.1016/S0378-4290(00)00132-5
- Wang B, Peng DX, Sun ZX, Zhang N, Gao SM (2008) In vitro plant regeneration from seedling-derived explants of ramie [*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.]. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 44: 105–111. doi: 10.1007/s11627-008-9121-6
- Lee HJ, Choi EJ, Park S, Lee JJ (2020) Laxative and antioxidant effects of ramie (*Boehmeria nivea* L.) leaf extract in experimental constipated rats. *Food Sci Nutr* 8: 3389–3401. doi: 10.1002/fsn3.1619
- Lin CC, Yen MH, Lo TS, Lin CF (1997) The anti-inflammatory and liver protective effects of *Boehmeria nivea* and *B. nivea* sub sp. nippononivea in rats. *Phytomedicine* 4: 301–308. doi: 10.1016/S0944-7113(97)80037-2
- Cho S, Lee DG, Jung YS, Kim HB, Cho EJ, Lee S (2016) Phytochemical identification from *Boehmeria nivea* leaves and analysis of (–)-loliolide by HPLC. *Nat Prod Sci* 23: 134–139. doi: 10.20307/nps.2016.22.2.134
- Laursen SE, Belknap JK (1986) Intracerebroventricular injections in mice: Some methodological refinements. *J Pharmacol Methods* 16: 355–357. doi: 10.1016/0160-5402(86)90038-0
- Maurice T, Lockhart BP, Privat A (1996) Amnesia induced in mice by centrally administered β -amyloid peptides involves cholinergic dysfunction. *Brain Res* 706: 181–193. doi: 10.1016/0006-8993(95)01032-7
- Montgomery KC (1952) A test of two explanations of spontaneous alternation. *J Comp Physiol Psychol* 45: 287–293. doi: 10.1037/h0058118
- 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* 1: 1306–1311. doi: 10.1038/nprot.2006.205
- Morris RGM (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv* 12: 239–260. doi: 10.1016/0023-9690(81)90020-5
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351–358. doi: 10.1016/0003-2697(79)90738-3
- Bryanand NS, Grisham MB (2007) Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radic Biol Medic* 43: 645–657. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026
- Hieu BTN, Anh NTN, Audira G, Juniardi S, Liman RAD, Villaflores OB, Lai YH, Chen JR, Liang ST, Huang JC, Hsiao CD (2020) Development of a modified three-day T-maze protocol for evaluating learning and memory capacity of adult zebrafish. *Int J Mol Sci* 21: 1464. doi: 10.3390/ijms21041464
- Tolman EC (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychol Rev* 55: 189–208. doi: 10.1037/h0061626
- Sutcliffe JS, Marshall KM, Neill JC (2007) Influence of gender on working and spatial memory in the novel object recognition task in the rat. *Behav Brain Res* 177: 117–125. doi: 10.1016/j.bbr.2006.10.029
- Reger ML, Hovda DA, Giza CC (2009) Ontogeny of rat recognition memory measured by the novel object recognition task. *Dev Psychobiol* 51: 672–678. doi: 10.1002/dev.20402
- Shah D, Verhoye M, Linden AV, D'Hooge R (2019) Acquisition of spatial search strategies and reversal learning in the Morris water maze depend on disparate brain functional connectivity in mice. *Cereb Cortex* 29: 4519–4529. doi: 10.1093/cercor/bhy329
- Vorhees CV, Williams MT (2006) Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc* 1: 848–858. doi: 10.1038/nprot.2006.116
- Garthe A, Kempermann G (2013) An old test for new neurons: refining the Morris water maze to study the functional relevance of adult hippocampal neurogenesis. *Front Neurosci* 7: 63. doi: 10.3389/fnins.2013.00063 64

26. Myhrer T (2003) Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res Rev* 41: 268–287. doi: 10.1016/S0165-0173(02)00268-0
27. Dubue JD, McKinney TL, Treit D, Dickson CT (2015) Intrahippocampal anisomycin impairs spatial performance on the Morris water maze. *J Neurosci* 35: 11118–11124. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1857-15.2015
28. Reed TT (2011) Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radic Biol Medic* 51: 1302–1319. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.027
29. Butterfield DA, Lauderback CM (2002) Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid β -peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Radic Biol Medic* 32: 1050–1060
30. Chan JY, Cheng HL, Chou JL, Li FCH, Dai KY, Chan SHH, Chang AYW (2007) Heat Shock protein 60 or 70 activates nitric-oxide synthase (NOS) I- and Inhibits NOS II-associated signaling and depresses the mitochondrial apoptotic cascade during brain stem death. *J Biol Chem* 282: 4585–4600. doi: 10.1074/jbc.M603394200
31. Shariatpanahi M, Khodagholi F, Ashabi G, Khasraghi AA, Azimi L, Abdollahi M, Ghahremani MH, Ostad SN, Noorbakhsh F, Sharifzadeh M (2015) Ameliorating of memory impairment and apoptosis in amyloid β injected rats via inhibition of nitric oxide synthase: possible participation of autophagy. *Iran J Pharm Res* 14: 811–824
32. Diaz A, Mendieta L, Zenteno E, Guevara J, Limon ID (2011) The role of NOS in the impairment of spatial memory and damaged neurons in rats injected with amyloid beta 25-35 into the temporal cortex. *Pharmacol Biochem Behav* 98: 67–75. doi: 10.1016/j.pbb.2010.12.005
33. Islam MT (2017) Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurol Res* 39: 73–82. doi: 10.1080/01616412.2016.1251711
34. Nathan C, Calingasan N, Nezezon J, Ding A, Lucia MS, Perle KL, Fuortes M, Lin M, Ehrt S, Kwon NS, Chen J, Vodovotz Y, Kipiani K, Beal MF (2005) Protection from Alzheimer's-like disease in the mouse by genetic ablation of inducible nitric oxide synthase. *J Exp Med* 202: 1163–1169. doi: 10.1084/jem.20051529
35. Asiiimwe N, Yeo SG, Kim MS, Jung J, Jeong NY (2016) Nitric Oxide: Exploring the contextual link with Alzheimer's disease. *Oxid Med Cell Longev* 2016: 7205747. doi: 10.1155/2016/7205747
36. Johansson JY, Woodling NS, Shi J, Andreasson KI (2015) Inflammatory cyclooxygenase activity and PGE2 signaling in models of Alzheimer's disease. *Curr Immunol Rev* 11: 125–131. doi: 10.2174/1573395511666150707181414
37. Woodling NS, Andreasson KI (2016) Untangling the web: toxic and protective effects of neuroinflammation and PGE2 signaling in Alzheimer's disease. *ACS Chem Neurosci* 7: 454–463. doi: 10.1021/acschemneuro.6b00016
38. Sung MJ, dawaatseren M, Kim SH, Kim MJ, Hwang JT (2013) *Boehmeria nivea* attenuates LPS-induced inflammatory markers by inhibiting p38 and JNK phosphorylations in RAW264.7 macrophages. *Pharm Biol* 51: 1131–1136. doi: 10.3109/13880209.2013.781196
39. Cho S, Quilantang NG, Lee JS, Kim YM, Kim HB, Cho EJ, Jung YS, Lee S (2018) Content analysis of rutin in the leaves of *Boehmeria nivea* harvested in different regions of South Korea by HPLC-UV. *Nat Prod Sci* 24: 36–39. doi: 10.20307/nps.2018.24.1.36
40. Han EJ, Fernando IPS, Kim HS, Lee DS, Kim A, Je JG, Seo MJ, Jee YH, Jeon YJ, Kim SY, Ahn G (2021) (–)-Lolilolide isolated from *Sargassum horneri* suppressed oxidative stress and inflammation by activating Nrf2/Ho-1 signaling in IFN- γ /TNF- α -stimulated HaCaT keratinocytes. *Antioxidants (Basel)* 10: 856. doi: 10.3390/antiox10060856
41. Farzeen I, Zafar S, Zafar N, Fatima S, Nazir MM, Ashraf A (2025) Lolilolide: green monoterpenoid lactone with therapeutic and ecological significance—a comprehensive review with computational validation. *Mol Divers* doi: 10.1007/s11030-025-11391-4
42. Nafees S, Rashid S, Ali N, Hasan SK, Sultana S (2015) Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: role of NF κ B/MAPK pathway. 231: 98–107. doi: 10.1016/j.cbi.2015.02.021