

## 포도주스 침지 제조 흑삼의 Ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량 변화와 Acetylcholinesterase 억제효과

이미라<sup>1</sup> · 윤범식<sup>1</sup> · 손백신<sup>1</sup> · 류뢰<sup>1</sup> · 장동량<sup>1</sup> · 왕춘년<sup>1</sup> · 왕젠<sup>1</sup> · 이선영<sup>2</sup> · 모은경<sup>3</sup> · 성창근<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 식품공학과, <sup>2</sup>충남대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>대덕바이오 부설연구소  
(2009년 10월 27일 접수; 2009년 11월 26일 수정; 2009년 11월 27일 수리)

### Change of Ginsenoside Rg<sub>3</sub> and Acetylcholinesterase Inhibition of Black Ginseng Manufactured by Grape Juice Soaking

Mi-Ra Lee<sup>1</sup>, Beom-Sik Yun<sup>1</sup>, Bai-Shen Sun<sup>1</sup>, Lei Liu<sup>1</sup>, Dong-Liang Zhang<sup>1</sup>, Chun-Yan Wang<sup>1</sup>,  
Zhen Wang<sup>1</sup>, Sun-young Ly<sup>2</sup>, Eun-Kyung Mo<sup>3</sup> and Chang-keun Sung<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>3</sup>Daeduck Bio Research Institute, Daejeon 305-764, Korea

(Received October 27, 2009; Revised November 26, 2009; Accepted November 27, 2009)

**Abstract :** This study was conducted to develop a new method for enhancing ginsenoside Rg<sub>3</sub>, which is abundant in black ginseng. The cognition-enhancing effect of black ginseng extract was investigated via the assay of acetylcholinesterase (AChE) activity. Black ginseng I was prepared through the traditional method (by steaming and drying nine times repetitions). Black ginseng II, on the other hand, was prepared by steaming the ginseng three times at 120°C for 30 min after soaking it in grape juice for 24 h. The ginsenosides of white, red, and black ginseng I, and II were investigated using the HPLC method, respectively. In black ginseng II, the ginsenoside Rg<sub>3</sub> contents, which cannot be found in white ginseng, amounted to 10.91 mg/g, approximately 18 times more than that in red ginseng. In the *in-vivo* study, black ginseng extract (200 mg/kg, p.o.) inhibited the AChE activity after 24 h by a single administration in the brain. Thus, the new manufacturing method for black ginseng was found to more effective in the conversion of ginsenoside Rg<sub>3</sub> compared to the traditional method. Black ginseng may also have the effect of preventing the cognitive impairment induced by cholinergic dysfunction.

**Key words :** black ginseng, ginsenoside Rg<sub>3</sub>, HPLC, grape juice, acetylcholinesterase

## 서 론

고려인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오갈피나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생 초본류로 아시아, 러시아를 비롯하여 유럽에서도 진귀한 약재로 광범위하게 사용되어 왔다.<sup>1)</sup>

인삼에는 ginsenoside, phenol compounds, polyacetylene, polysaccharide 등과 같은 성분들이 함유되어 있어 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되었다.<sup>2-6)</sup> 특히, ginsenoside는 생화학 및 약리작용을 나타내는 인삼의 주요 성분으

로 알려져 있으며, 최근에는 기능성 물질을 다량 함유하는 인삼가공제품 개발의 일환으로 한약의 전통적인 가공방법이 적용되고 있다. 그 대표적인 예로 숙지황과 같이 구증구포 방법을 인삼에 적용하여 특정 사포닌 Rg<sub>3</sub>를 다량 함유하는 흑삼 제조 방법을 개발하고 있다. 흑삼 제조시 변환된 주요 사포닌인 Rg<sub>3</sub>는 뇌신경보호,<sup>7)</sup> 항빈혈,<sup>8)</sup> 항암,<sup>9)</sup> 면역증강작용,<sup>10)</sup> 항통증,<sup>11)</sup> 비만 억제<sup>12)</sup> 등 많은 효능이 보고되고 있다. 최근 중국에서는 백삼에는 없고, 홍삼에 미량 존재하는 사포닌 Rg<sub>3</sub> 성분을 다량 생산하여 제품화하는데 성공하여 'Shey-yi capsule', 'Li-Li capsule'로 상품화하여 항암 치료제로 사용하고 있다.<sup>13)</sup>

\*Corresponding author. E-mail: kchsung@cnu.ac.kr  
Phone: 042-821-6722, Fax: 042-822-2287

구중구포 방법으로 흑삼을 제조할 경우에는 다단계 과정을 거치기 때문에 제조시간과 경비가 많이 소요되어 대량생산과 가격경쟁의 어려움을 극복하기 위한 효율적인 제조방법을 찾는 시도가 계속되고 있다. 일반적으로 인삼 사포닌을 변환시키는 방법으로는 산·염기에 의한 화학적 전환, 기질 특이성을 이용한 효소적 전환, Smit 방법 등이 있으나 아직까지 실용화되지 않은 실정이다. Kim 등<sup>14)</sup>은 증숙 온도와 시간을 달리하여 흑삼 제조시간을 단축하고, 대량생산을 위한 표준화된 제조방법 개발하여 보고한 바 있다.

본 연구는 흑삼 제조시 인삼 사포닌의 변환 방법 중 가장 많이 사용되는 산에 의한 화학적 변환 방법을 이용하여 흑삼을 제조하였다. 즉, 포도주스에 함유된 저 농도 유기산에 의한 당의 가수분해와 고온 증숙에 의한 사포닌 변환 원리를 이용하여 흑삼을 속성 제조하고, 특정 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량을 극대화시키는 제조방법을 개발하고자 하였다. 또한 뇌조직의 주요 신경전달 물질인 acetylcholine을 분해하는 효소로 기억 및 인지력을 저하시키는 주요 원인인 acetylcholinesterase (AChE)의 억제효과를 통해 흑삼의 기억력 개선효과를 살펴보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 백삼 및 홍삼시료

본 연구에 사용한 홍삼은 금산 수삼센터에서 구매한 4년근 수삼을 세척하여 98°C에서 2시간 30분간 증숙한 후 65°C에서 건조하여 사용하였다. 백삼은 수삼을 65°C에서 건조하여 사용하였다.

### 흑삼제조 및 시료 추출

4년근 수삼을 Sun 등<sup>15)</sup>의 방법에 따라 98°C에서 3시간 증숙한 후 65°C에서 18시간 건조하는 과정을 9번 반복하여 구중구포 흑삼을 제조하였다 (흑삼I). Sun의<sup>16)</sup> 연구에서 유기산을 많이 함유하고 있는 사과주스, 파인애플 주스, 포도주스 중 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량이 높았던 포도주스를 선택하여 흑삼II를 제조하였다. 백삼을 포도주스에 4°C에서 24시간 침지시켜 120°C에서 30분간 증숙한 후 65°C에서 24시간 건조하였다. 증숙과 건조과정을 3번 반복하였다. 흑삼II 추출물은 흑삼 분말에 80% 에탄올을 10배량 가하여 60°C에서 1시간 동안 ultrasonication한 후 여과하였고, 추출과정은 3회 반복 실시하였다. 추출 여액은 감압 농축한 후 동결 건조하여 시료로 사용하였다. 추출 수율은 44.50%이었다.

### 조사포닌 추출

사포닌 추출은 Shi 등<sup>17)</sup>의 논문을 변형하여 사용하였다. 백

삼, 홍삼, 흑삼 분말 1 g에 80% 에탄올 20 mL을 첨가하여 50°C에서 1시간 동안 ultrasonication (60kHz, heat power 330W)을 실시하였다. 추출은 3회 반복하였다. 추출 여액은 회수하여 감압 농축한 후 20 mL의 증류수에 녹여 분액 여두에 옮기고 동량의 ethyl ether를 넣고 3회 반복하여 지질 성분을 제거하였다. 추출액에 수포화 부탄올 20 mL을 넣고 3회 반복하여 수포화 부탄올 층을 추출한 후, 감압 농축하여 조사포닌을 얻었다. 80% 메탄올 10 mL을 가하여 조사포닌을 녹인 후 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC 분석을 위한 시료로 사용하였다.

### 사포닌 분석

사포닌 함량 측정은 HPLC (SPD 20A, SIMADZU, Japan)를 이용하였다. 컬럼은 ACE 5 C<sub>18</sub> (250×0.4 mm, 5 µm)을 이용하였으며, 검출기는 UV detector (203 nm)를 사용하였다. 이동상은 물 (A)과 acetonitrile (B)의 gradient system을 사용하였다. 용출조건은 B를 기준으로 0-30분; 20%, 30-60분; 20-45%, 60-78분; 45-75%, 78-80분; 75-80%, 80-100분; 80-100% 이었다. 이동상의 유속은 1 mL/min 이었으며, 시료는 10 µL를 주입하였다. 11종의 ginsenoside standards (Rg<sub>1</sub>, Re, Rf, Rg<sub>2</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rc, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rd, 20(S)-Rg<sub>3</sub>, 20(R)-Rg<sub>3</sub>)는 98% 이상의 순도는 갖는 것으로 Hongjiu Biotech Co. Ltd (Jilin, China)에서 구입하였다.

### 실험 동물

체중이 25-30 g의 수컷 ICR mice을 (주) 대한 바이오링크에서 구입하여 온도 23±2°C, 습도 55±5°C, 12시간 dark/light cycle 조건의 사육실에서 일주일간 적응시켰다. 물과 사료섭취는 제한하지 않고 공급하였다. 흑삼II 추출물의 단위투여 농도는 Ahn 등<sup>18)</sup>의 연구를 참고하여 200 mg/kg을 경구투여하였다. 투여 1시간, 6시간, 24시간 경과 후에 각 그룹의 (n=5) 뇌를 적출하여 AChE 활성을 측정하였다. 대조군은 생리식염수를 투여하였다. 실험과 관련된 동물 사육은 미국 국립보건원 (NIH, National Institutes of Health)에서 제시한 기준 (No. 85-23, revised 1985)을 준수하였고, 충남대학교 동물실험 윤리위원회의 승인 하에 수행되었다.

### AChE activity

AChE 활성은 acetylcholine iodide를 기질로 사용하는 Ellman의 방법<sup>19)</sup>을 변형하여 활성을 측정하였다. 적출한 뇌에 10배의 homogenization buffer (12.5 mM sodium phosphate buffer pH 7.0, 400 mM NaCl)로 균질화하여 1,000 g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 효소원으로 사용하였

다. 실험방법은 0.1 M phosphate buffer (pH 8.0) 2 mL, 10 mM Ellman's 용액 (10 mM DTNB, 15 mM sodium bicarbonate) 50  $\mu$ L, 뇌조직액 0.1 mL을 cuvette에 넣고 실온에서 10분간 반응시킨 후 75 mM acetylthiocholine iodide 10  $\mu$ L를 첨가하여 410 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하여 계산하였다.

### 통계처리

모든 실험에서 얻어진 자료는 SPSS 통계 package program (statistical package social science, version 15.0)을 이용하여 분산분석 (ANOVA)을 실시하였고, 처리군 간의 유의성은 Duncan's multiple range test로  $p < 0.05$  수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 흑삼의 사포닌 변화

구증구포 방법으로 제조한 흑삼과 본 연구에서 적용한 포도주스 침지방법을 이용한 흑삼II의 사포닌 함량은 HPLC로 정량 분석한 결과와 chromatogram을 Table 1과 Fig. 1에 나타내었다. Ginsenoside Rg<sub>3</sub>는 백삼에서는 검출되지 않았으며, 포도주스에 침지하여 제조한 흑삼II에서 10.91 mg/g으로 전체 사포닌의 73%를 차지하는 높은 함량을 나타내었다. 흑삼II의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 홍삼의 17.6배 (0.62 mg/g),

흑삼I의 1.8배 (6.12 mg/g)로 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.001$ ). 11종의 총 사포닌 함량은 백삼 10.47 $\pm$ 0.86 mg/g, 홍삼 12.80 $\pm$ 0.35 mg/g, 흑삼I 12.79 $\pm$ 1.15 mg/g, 흑삼II 14.97 $\pm$ 0.68 mg/g로 포도주스에 침지하여 제조한 흑삼II의 총 사포닌 함량이 유의적으로 가장 높았다 ( $p < 0.05$ ).

흑삼의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량이 증가한 이유는 가열 증숙 과정시 열에 불안정한 수용성 malonyl ginsenosides의 (m-Rb<sub>1</sub>, m-Rb<sub>2</sub>, m-Rb<sub>3</sub>, m-Rc, m-Rd) malonyl 기가 떨어져서 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc, Rd와 같은 PPD계 사포닌이 생성되고, 열에 의해서 C-20에 결합되어 있는 당이 가수분해되거나, C-20 위치의 OH 기가 이성화되어 ginsenoside Rg<sub>3</sub>로 새롭게 전환되는 것으로 알려졌다.<sup>20)</sup> 반면, 포도주스에 침지한 흑삼의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량이 흑삼보다 높은 이유는 포도 주스에 함유되어 있는 malate, citrate, lactate, phosphate 등의 유기산 성분이 인삼 증숙시 산 촉매 가수분해를 촉진하여 ginsenoside Rg<sub>3</sub>의 함량이 증가된 것으로 사료된다.<sup>21)</sup>

Ginsenoside Rb<sub>1</sub>을 열처리하였을 때 생성된 ginsenoside Rg<sub>3</sub>의 두 이성체 20(S)-Rg<sub>3</sub>와 20(R)-Rg<sub>3</sub>의 hydroxyl radical 소거활성을 비교한 Lee 등의<sup>22)</sup> 결과에 의하면 20(S)-Rg<sub>3</sub>의 hydroxyl radical 소거활성이 훨씬 크고, 안전성이 높아 더 많은 양이 생성된다고 보고하였다. 또한 항염증 및 항산화 효과가 있는 ginsenoside Rb<sub>1</sub>보다도 20(S)-Rg<sub>3</sub>의 hydroxyl radical 소거활성이 큰 것으로 보고하였다. 본 연구에서 제조한 흑삼의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 10.91 mg/kg 중 20(S)-Rg<sub>3</sub>는 6.73

**Table 1.** Comparison of ginsenoside contents in Korean white, red, black ginseng

Ginsenoside mg/g dry wt <sup>1)</sup>	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng	
			I <sup>2)</sup>	I <sup>3)</sup>
Rg <sub>1</sub>	2.54 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	2.31 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.71 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	0.41 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>
Re	2.02 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.36 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.14 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>
Rf	0.32 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.30 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.30 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.35 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
Rg <sub>2</sub>	0.12 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.68 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.53 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.16 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
Rb <sub>1</sub>	2.03 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	2.60 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	1.37 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
Rc	1.81 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	2.34 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	1.24 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>	1.00 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>
Rb <sub>2</sub>	1.14 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.45 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.20 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	0.32 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>
Rb <sub>3</sub>	0.39 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.47 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.37 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.01 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>
Rd	0.40 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.68 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.53 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.30 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>
Rg <sub>3</sub> (S)	ND	0.47 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	4.43 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>	6.73 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
Rg <sub>3</sub> (R)	ND	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	1.69 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	4.18 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
PPD <sup>4)</sup>	5.77 $\pm$ 0.39 <sup>d</sup>	8.16 $\pm$ 0.25 <sup>c</sup>	10.89 $\pm$ 0.94 <sup>b</sup>	13.91 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>
PPT <sup>5)</sup>	5.00 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	4.64 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	1.90 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	1.06 $\pm$ 0.12 <sup>d</sup>
Total	10.47 $\pm$ 0.86 <sup>c</sup>	12.80 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	12.79 $\pm$ 1.15 <sup>b</sup>	14.97 $\pm$ 0.68 <sup>a</sup>

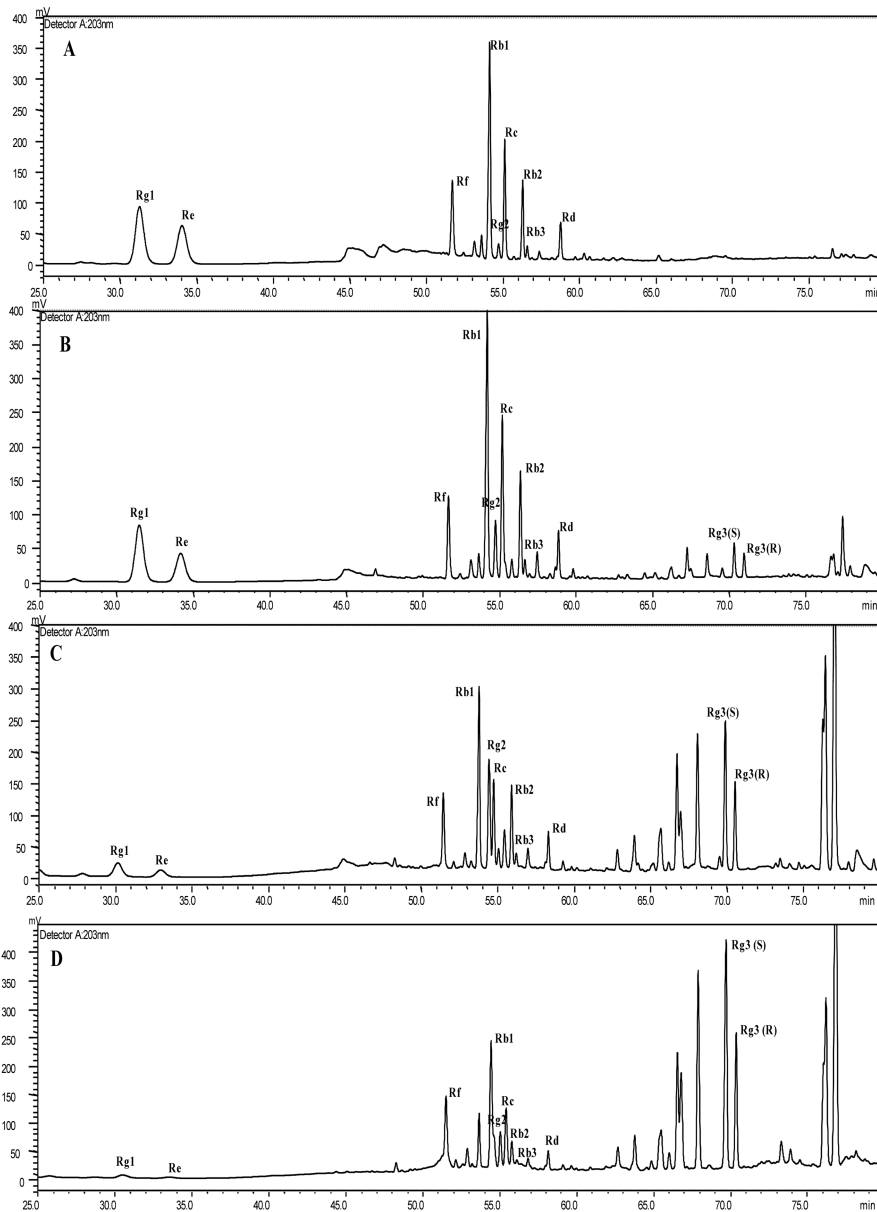
1) Values were expressed as the means  $\pm$  SD (n=3). ND : not detected. Values with different superscripts within the same line are significantly different at  $p < 0.05$ .

2) 9 times steaming at 98°C for 3 h

3) 3 times steaming at 120°C for 30 min after soaking into grape juice for 24 h

4) PPD (Protopanaxdiol type ginsenosides) : Rb<sub>1</sub>+Rc+Rb<sub>2</sub>+Rb<sub>3</sub>+Rd+Rg<sub>3</sub>

5) PPT (Protopanaxtriol type ginsenosides) : Rg<sub>1</sub>+Rg<sub>2</sub>+Re+Rf



**Fig. 1.** HPLC-UV chromatograms of ginsenosides in Korean white ginseng (A), red ginseng (B), black ginseng I (C), and black ginseng II (D).

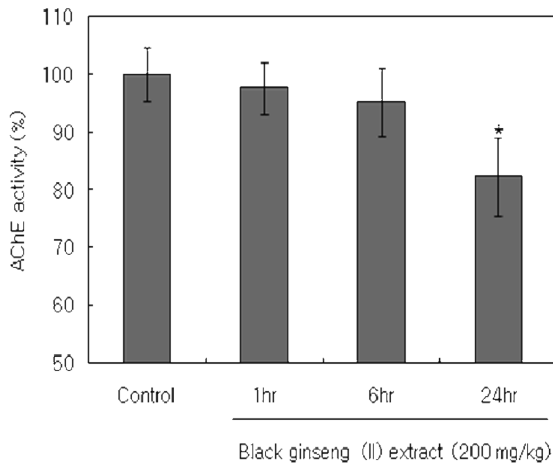
mg/g으로 총 사포닌의 45%를 차지하였다.

#### AChE 활성 억제

흑삼II 추출물의 단회투여 (200 mg/kg, p.o.) 후 시간 경과에 따른 뇌조직의 AChE 활성 억제를 Fig. 2에 나타내었다. 대조군의 AChE 활성은  $1.57 \pm 0.16$  Unit/mg protein (100%)이었으며, 투여 1시간, 6시간 후에는 각각 대조군의 97% ( $1.53 \pm 0.16$  Unit/mg protein), 96% ( $1.51 \pm 0.20$  Unit/mg protein)로 대조군의 활성과 차이를 보이지 않았다. 그러나, 24시간 경과 후에는 뇌조직 AChE 활성이  $1.29 \pm 0.18$  Unit/mg

protein로 감소하여 대조군 대비 82%의 유의적인 억제효과를 보여 주었다 ( $p < 0.05$ ).

Acetylcholine은 인지기능 조절에 매우 중요한 역할을 하는 신경전달물질이며, 콜린성 신경 전달은 시냅스 말단에서 AChE에 의해 acetylcholine이 acetate와 choline으로 가수분해되므로 종결된다.<sup>23)</sup> 콜린성 가설에 따르면, 노인성 치매와 같은 기억손상 환자는 뇌 조직의 콜린성 기능이 선택적 혹은 비가역적 손상 때문인 것으로 알려졌다.<sup>24)</sup> 위의 결과를 통하여 볼 때, 흑삼은 콜린성 장애로 인한 기억손상 질환에 잠재적인 보호효과 있는 것으로 사료된다.



**Fig. 2.** Inhibitory effect of a single administration of black ginsengII extract on AChE activity in mouse whole brain. Animals were administrated with black ginsengII extract (200 mg/kg, p.o.) and sacrificed 1 h, 6 h, 24 h after treatment of black ginsengII extract. Results are expressed as the mean  $\pm$ SD (n=5). \* $p$ <0.05 versus control group.

## 요 약

흑삼의 속성제조와 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량을 극대화하고자 흑삼 제조시 포도주스에 24시간 침지한 후 120°C에서 30분간 3회 반복 증숙하여 흑삼을 제조한 후 HPLC 방법을 이용하여 ginsenosides를 분석하였다. 포도주스에 침지하여 제조한 흑삼의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 10.91 mg/g으로 구증구포 방법으로 제조한 흑삼보다 약 2배 가량 함량이 증가되었다. 총 사포닌 함량은 14.97 mg/g으로 전통적인 구증구포 방식으로 제조한 흑삼 (12.79 mg)보다 그 함량이 높았다. 흑삼의 단회투여 (200 mg/kg, p.o.)에 의한 뇌조직 AChE 활성은 투여 24시간 후에 유의적으로 억제되는 효과를 보여주었다. 따라서 본 연구에 적용한 새로운 제조방법은 ginsenoside Rg<sub>3</sub>를 강화하는 흑삼의 속성제조에 효과적인 방법으로 판단된다. 또한, AChE 활성억제를 통해 흑삼이 뇌기능 개선에 대한 잠재적인 효능을 가지고 있는 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구논문은 농림수산식품부의 농림기술개발사업 (109159-2)의 지원으로 수행된 연구결과로 연구비 지원에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Park CK, Jeon BS, Yang JW. The chemical components of

- Korea Ginseng. Food Ind Nutr. 8: 10-24 (2003)
- Banerjee U, Izquierdo JA. Antistress and antifatigue properties of *Panax ginseng*: comparison with piracetam. Acta Physiol Lat Am. 32: 277-285 (1982)
  - Benishin CG. Action of ginsenoside Rb1 on choline uptake in central cholinergic nerve ending. Neurochem. 32: 277-285 (1992)
  - Huo Y, Chen Y. The effect of *Panax ginseng* (GS) on insulin and corticosteroid receptors. J Tradit Chin Med. 8: 293-295 (1988)
  - Zhang D, Yasuda T, Yu Y, Zheng P, Kawabata T, Ma Y, Okada S. Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acids from decomposition caused by iron-mediated lipid peroxidation. Free Radic Biol Med. 20: 145-150 (1996)
  - Attele AS, Wu JA, Yuan CS. Ginseng Pharmacology: Multiple constituents and multiple actions. Biochem Pharmacol. 58: 1685-1693 (1999)
  - Tian JW, Fu FH, Geng MY, Jiang YT, Yang JX, Jiang WL, Wang CY, Liu K. Neuroprotective effect of 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub> on cerebral ischemia in rats. Neurosci Lett. 374: 92-97 (2005)
  - Joo SS, Won TJ, Kim MS, Lee DI. Hematopoietic effect of ginsenoside Rg<sub>3</sub> in ICR mouse primary cultures and its application to a biological response modifier. Fitoterapia. 75: 337-341 (2004)
  - Zhang Q, Kang X, Zhao W. Antiangiogenic effect of low-dose cyclophosphamide combined with ginsenoside Rg<sub>3</sub> on Lewis lung carcinoma. Biochem Biophys Res Commun. 342: 824-828 (2006)
  - Keum YS, Han SS, Chun KS, Park KK, Park JH, Lee SK, Surh YJ. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg<sub>3</sub> on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF- $\kappa$ B activation and tumor promotion. Mutat Res. 523-524: 75-85 (2003)
  - Rhim H, Kim H, Lee DY, Oh TH, Nah SY. Ginseng and ginsenoside Rg<sub>3</sub>, a newly identified active ingredient of ginseng, modulate Ca<sup>2+</sup> channel currents currents in rat sensory neurons. Eur J Pharmacol. 436: 151-158 (2002)
  - Song GY, Oh JH, Myung CS, Roh SS, Seo UB, Park YJ. Effect of black ginseng on body weight and lipid profiles in male rats fed normal diets. Yakhak Hoeji. 50: 381-385 (2006)
  - Yue PY, Wong DY, Wn PY, Leung PY, Liu L, Cai Z, Jian ZH, Fan TP, Wong RN. The angiosuppressive effects of 20(R)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>. Biochem Pharmacol. 72: 437-445 (2003)
  - Kim EK, Lee JH, Cho SH, Shen GN, Jin LG, Myung CS, Oh HJ, Kim, DH, Yun JD, Roh SS, Park YJ, Seo YB, Song GY. Preparation of black panax ginseng by new methods and its antitumor activity. Kor J Herbology. 23: 85-92 (2008)

15. Sun BS, Gu LJ, Fang ZM, Wang CY, Wang Z, Lee MR, Li Z, Li JJ, Sung CK. Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by HPLC-ELSD. *J Pharm Biomed Anal.* 50: 15-22 (2009)
16. Sun BS. Bioconversion to Rare Ginsenosides and Memory and Learning Functions of White, Red, and Black ginsengs. PhD thesis, Chungnam National University, Korea (2009)
17. Shi W, Wang YT, Li J, Zhang HQ, Ding L. Investigation of ginsenosides in different parts and ages of *Panax ginseng*. *Food Chem.* 102: 664-668 (2007)
18. Ahn JH, Kim TS, Chung HN, Lee NY, Chung JW. The protective effect of orally ingested korean red ginseng on the noise induced hearing loss in mice. *J Ginseng Res.* 33: 104-110 (2009)
19. Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr.V, Feather-Stone RM. A new and rapid colormetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* 7: 88-95 (1961)
20. Han BH, Park MH, Han YN, Woo LK, Sankawa U, Tanaka O. Degradation of ginseng saponins under mild acidic conditions. *Planta Med.* 44: 146-149 (1982)
21. Kang KS, Kim HY, Yamabe N, Yokosawa T. Stereospecificity in hydroxyl radical scavenging activities of four ginsenosides produced by heat processing. *Bioorg Med Chem Lett.* 16: 5028-5031 (2006)
22. Lee YJ, Kim HY, Kang KS, Lee JG, Yokozawa T, Park JH. The chemical and hydroxyl radical scavenging activity changes of ginsenosides-Rb1 by heat processing. *Bioorg Med Chem Lett.* 18: 4515-4520 (2008)
23. Ballard CG, Greig NH, Guillozet-Bongaarts AL. Cholinesterases: roles in the brain during health and disease. *Curr Alzheimer Res.* 2: 307-318 (2005)
24. Paler AM. The activity of the pentose phosphate pathway is increased in response to oxidative stress in Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 106: 317-328 (1999)