

발효더덕 추출물이 흰쥐의 인지능 회복에 미치는 효과

- 연구노트 -

박성진¹ · 박동식² · 김승섭³ · 허신용³ · 안주희³ · 윤원병⁴ · 이현용^{3*}

¹한림성심대학 관광외식조리과, ²농촌진흥청 기능성식품과
³강원대학교 BT특성화학부대학 생물소재공학과, ⁴강원대학교 BT특성화학부대학 식품생명공학과

The Effect of Fermented *Codonopsis lanceolata* on the Memory Impairment of Mice

Sung Jin Park¹, Dong Sik Park², Seung Seop Kim³, Xinlong He³,
Ju Hee Ahn³, Won Byung Yoon⁴, and Hyeon Yong Lee^{3*}

¹Dept. of Tourism Food Service Cuisine, Hallym College, Gangwon 200-711, Korea

²Functional Food & Nutrition Division, Rural Development Administration, Gyeonggi 441-853, Korea

³Dept. of Biomaterials Engineering, College of Bioscience and Biotechnology, and

⁴Dept. of Food Science and Biotechnology, School of Biotechnology,
Kangwon National University, Gangwon 200-701, Korea

Abstract

In the present study, we assessed whether the extracts of *Codonopsis lanceolata* and fermented *C. lanceolata* possess the cognition-enhancing effect in rats with impaired learning and memory by scopolamine treatment (1 mg/kg, i.p.), an antagonist of muscarinic acetylcholine (ACh) receptor. The fermented *C. lanceolata* extract (333, 667 mg/kg) significantly reversed the scopolamine-induced cognitive impairments in the passive avoidance test ($p < 0.05$). Moreover, fermented *C. lanceolata* extract (333 mg/kg) also improved escape latencies in training trials of Morris water maze test ($p < 0.05$). The water extract of fermented *C. lanceolata* showed significant anti-amnesic and cognitive-enhancing activities related to the memory processes, and these activities were parallel to treatment duration and dependent of the learning models.

Key words: *Codonopsis lanceolata*, fermentation, scopolamine, passive avoidance test, Morris water maze test

서 론

현대인에게 기억력은 급변하는 생활에서 그 중요성이 증대되고 있으며, 사회적으로 학습량이 많은 청소년에서부터 노년에 이르기까지 주요 관심 대상이 되고 있다. 이러한 기억력의 저하는 사회적으로 문제가 되고 있으며 노인인구 비율 증가 추세의 사회에서 치매와 같은 퇴행성 질병에 이완된 환자의 사회생활 가능 여부는 기억력 저하가 매우 중요한 요소이기도 하다(1).

의학적으로 건망증(amnesia)은 단기 기억 장애 혹은 뇌의 일시적 검색능력 장애로 정의된다. 루이소체병(Lewy body disease), 픽병(Pick's disease), 혈관질환, 알츠하이머성 질환(Alzheimer's disease) 등에서 나타나며(2), 이런 질환 외에 여러 가지 화학물질이나 외부 손상 등에 의해 건망증이 유발될 수 있다. 동물실험에서 항 건망증 약물의 효과는 주로 무스카린 수용체 저해제인 scopolamine을 이용하여 연구되고 있다(3). 건망증과 치매는 기억력에 문제가 생기는 것

으로 증상은 비슷하지만 건망증은 공간적인 맥락에서 과거와 현재를 연결하는 기억현상에 차질이 발생하는 것으로 개선이 가능한 반면 치매는 단기 기억뿐 아니라 기억력 전체가 심각하게 손상됨은 물론 판단력과 언어능력, 작업능력도 현저히 떨어지게 된다. 따라서 치매모델에 효과가 있는 약물이란 건망증 모델에서는 그 효능이 나타나지 않을 수 있다. 기억은 경험을 유지하고 어떤 방법으로 이것을 재현하는 기능을 말하는데, 기억력을 포함한 인지능력의 저하는 학습저하, 사회활동 위축, 이로 인한 삶의 질 저하 등을 초래하므로 사회적으로 크게 문제시 되고 있다.

더덕(沙蔘, *Codonopsis lanceolata* Bench. et Hook.)은 한국, 중국 및 일본의 산간지방에서 야생하는 다년생 초본으로 도라지와 함께 일반식용으로 널리 이용되고 있는 산채식품이며, 더덕은 기호품으로도 상당한 호평을 받는 식품일 뿐 아니라 진해(鎮咳), 거담(祛痰) 등의 약효가 있다고 알려져 있으며, 혈적(血積), 경기(驚氣), 두통 및 소염제 또는 인삼의 대용약으로 쓰이고 있으며, 더덕의 성분 관해서는 일종의

*Corresponding author. E-mail: hyeonl@kangwon.ac.kr
Phone: 82-33-250-6455, Fax: 82-33-256-4819

saponin이 존재한다는 것이 확인되었다(4). 더덕은 전국적으로 500 ha에서 연간 7,000톤이 생산되며 이중 약 40% 정도가 강원도 지역에서, 30% 정도가 제주지역에서 생산되고 있으며 전체 소비량의 20% 정도가 중국산인 국내 주요 농산물이지만, 등급의 품이 40~50% 이상으로, 재배 농가의 수익성이 악화되고 차년도 재배면적의 확대가 어려운 실정에도 불구하고 중하위품 더덕의 가공 기술의 거의 초보적 수준으로 단순 양념구이 포장, 장아찌, 배추절임, 사탕, 단순 추출에 의한 일부 화장품 소재 등으로만 소진하고 있다(5). 더욱이 더덕 향에 대한 기호도가 연령별 편차가 극심하고 인삼과 대비되 상대적으로 하위 농산품으로 인식되어 국내 및 수출용으로 개발이 매우 저조한 상황이다. 식품의 발효는 오래전부터 행해져온 가공공정의 일환으로 미생물작용을 통해 식품에 좋은 맛과 향, 조직감 등을 부여하고 유용성분을 증진시키는 작용을 하며, 식품소재에 저장성을 부여하고 영양성을 증진하는 장점을 가진다(6). 스코폴라민 유도 기억상실 흰쥐의 인지능 회복 실험은 참외추출물(7), 치자추출물(8), 한약복합물(9), DHA(10) 등을 이용한 실험은 수행되었지만, 더덕 및 등급 외 더덕을 이용한 실험은 수행되지 않았다.

따라서 본 실험에서는 등급 외 더덕을 이용하여 발효더덕을 제조한 후 발효더덕의 건망증에 대한 효과를 scopolamine으로 유도된 건망증 동물모델을 이용하여 수동회피시험(passive avoidance test)과 Morris 수중미로시험(Morris water maze test)을 이용하여 행동학적 변화를 관찰하고 발효더덕의 기억력 개선 능력 여부를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

발효더덕의 제조

생 더덕은 강원도 횡성지역에서 2007년 9에 채취한 것을 시료로 사용하였다. 구입한 더덕은 선별 후 깨끗이 세정하여 물기를 제거한 후 중량 대비 5중량%의 *Leuconostoc mesenteroides*(KCCM 35471)를 접종하여 30°C, 습도 75%를 유지하며 7일간 발효한 후, 20°C에서 7일간 숙성하여 발효더덕을 얻었다. 이 발효더덕을 세절하여 동결건조기(PVTFA 10AT, ILSIN, Suwon, Korea)를 사용하여 동결건조 하였다. 건조된 시료는 마쇄하여 유리병에 넣고 밀봉한 후 냉장고(4°C)에 보존하면서 시료로 사용하였다.

실험동물

체중이 25~30 g의 4주령 생쥐(ICR계) 수컷과 6주령 흰쥐(Sprague-Dawley계) 수컷을 주식회사 오리엔트(Seongnam, Korea)에서 구입하여 온도 22±2°C, 습도 50±5°C, 12시간 dark/light cycle 조건의 사육실에서 일주일간 적응시켰다. 물과 사료섭취는 제한하지 않고 공급하였다. 대조군, scopolamine 투여군, 더덕과 발효더덕 추출물 투여군으로 나누어 각 군당 10마리씩 4군으로 구성하였다.

약물투여

수동회피시험의 경우 더덕과 발효더덕 추출물을 인지시험 90분전에 각각 167, 333, 667 mg/kg의 농도로 경구투여 하였으며, 기억손상을 유발을 위해 인지시험 30분전에 scopolamine hydrobromide를 1 mg/kg의 농도로 복강투여 하였다. Morris 수중미로시험의 경우는 더덕과 발효더덕 추출물을 인지시험 90분전에 333 mg/kg의 농도로 경구투여 하였으며, 기억손상을 유발을 위해 인지시험 30분전에 scopolamine hydrobromide를 1 mg/kg의 농도로 복강투여 하였다

수동회피시험(passive avoidance test)

수동회피시험은 설치류의 working memory ability를 측정하는 방법이며 수많은 연구자들이 학습 및 기억력 측정을 위하여 널리 이용되고 있는 실험으로 본 실험에서는 LeDoux의 방법을 응용하여 시행하였다(11). 실험시작 90분 전에 실험동물을 행동관실 옮기고 약물을 투여한 후 안정시켰다. 경구투여 30분 후에 증류수에 녹인 scopolamine을 1 mg/kg의 용량으로 복강투여 하였고, scopolamine 투여 30분 후에 mouse를 조명을 비춘 밝은 쪽 구획에 놓고 10초간 탐색시킨 후 길로틴문(gillotin door)을 열어 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다(Gemini Avoidance System, San Diego, CA, USA). 각 구획은 20×20×20 cm의 공간이다. 이때 길로틴문이 열린 후 40초 이내에 어두운 쪽으로 들어가지 않는 생쥐는 실험에서 제외시켰으며 일단 mouse가 어두운 쪽으로 들어가면 길로틴문이 닫히고 0.5 mA의 전기 충격이 3초 동안 grid 바닥을 통해 흐르게 되고 생쥐는 이를 기억하게 되는데 이때 길로틴문이 열린 후 생쥐가 어두운 쪽으로 들어갈 때까지의 시간을 측정하였다(학습시험: training trail). 학습시험이 끝난 후, 24시간 후에 장기기억에 미치는 더덕 및 발효더덕 추출물의 효과를 확인하고자 실시하였다(기억시험: test trail). 실험동물을 왕복상자에 넣고 10초 동안 탐색시간 후 길로틴문이 열리고 어두운 쪽으로 생쥐의 네 발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time: 머무름시간)을 180초까지 측정하였다. 어두운 쪽으로 가는데 걸리는 시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다(12). 각 실험이 끝난 후에는 전 실험동물의 흔적을 지우기 위해 70% alcohol로 깨끗이 닦아 다음 실험에 영향을 주지 않도록 하였다.

Morris 수중미로시험(Morris water maze test)

실험동물의 공간기억을 평가하기 위해 흰쥐를 이용하였다. 수중미로 시험은(13) 원형 수조(직경 150 cm, 높이 65 cm) 안에 물을 30 cm 높이로 채우고(23±2°C), 수조 4면의 한 구획에 직경 10 cm의 도피대(escape platform)를 수면아래 1 cm에 위치하도록 하고 탈지분유를 풀어 받침대가 보이지 않게 하였다. 실험 첫날은 도피대 없이 수조안에서 실험동물이 60초간 자유롭게 수영하도록 하였고, 4일 동안 매일 입수하는 사분면을 달리하여 하루 2번씩 반복하여 인지적응

훈련을 수행하였다. 실험동물이 도피대에 도달하면 10초 동안 도피대에 머물도록 하였으며, 120초 안에 도피대를 찾지 못할 경우에는 10초 동안 도피대에 머물도록 하여 도피대를 기억하도록 하였다. 수중미로 실험은 20분 간격으로 반복하였으며, 실험 5일째에는 working memory를 측정하기 위하여 도피대를 제거하고 도피대를 찾아가는 시간(escape latency)을 기록하는 probe test를 실시하였다.

통계처리

통계처리는 SPSS 통계 package program(statistical package social science, cersion 14.0)을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 처리군 간의 유의성은 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

수동회피시험의 기억력 회복 효과

Scopolamine(1 mg/kg, i.p.)을 투여한 기억력 감퇴 동물모델을 이용하여 더덕 및 발효더덕 추출물이 기억력 손상을 억제하여 주는 효과가 있는지 여부를 수동회피 측정 장치를 이용하여 확인하였다.

Scopolamine(1 mg/kg, i.p.)의 투여에 의한 기억력 손상 여부를 확인한 결과 scopolamine 그룹은 기억시험에서 latency time이 40.2±14.3초로 대조군의 180.0±0.0초에 대하여 통계적으로 유의성 있게 감소하였다(p<0.05). 이는 학습시험 시의 전기 충격을 기억하지 못한다는 것으로 판단되어 scopolamine에 의한 기억력 감퇴 모델의 구축을 증명한다. 한편 더덕 및 발효더덕 추출물 167, 333, 667 mg/kg을 경구투여한 결과 발효더덕추출물의 333 mg/kg 및 667 mg/kg 그룹에서 각각 120.9±15.3초 및 140.7±18.0초에 대하여 통계적으로 유의성 있게 latency time이 증가하였으며, 특히 333 mg/kg의 용량에서 대조군의 85% 수준으로 회복하는 것을 확인하였다(p<0.05, Fig. 1).

수중미로시험의 기억력 회복 효과

Scopolamine으로 유도한 기억력 감퇴 흰쥐의 공간학습에 대한 더덕 및 발효더덕 추출물의 효과는 Morris water maze test를 실시하여 Fig. 2에 나타내었다. Scopolamine 처리군은 시험훈련 기간 동안 escape latency 시간이 대조군에 비해 증가하였으며, 더덕 및 발효더덕 추출물 투여군은 시험훈련 3일째부터 도피대를 찾아가는 시간이 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 훈련 5일째 도피대를 제거한 후 probe test를 시행한 결과 scopolamine 투여군은 84.3±10.3초로 대조군의 27.3±6.8초보다 현저히 증가하였다(p<0.01). 더덕 및 발효더덕 추출물 투여군은 각각 35.3±9.3초 및 24.3±8.3초로 대조군과 비슷한 결과를 보여주었다. Morris maze test에서 escape latency 감소는 장기기억과 관련된 학습능력을 나타낸다. 치매유발 물질인 scopolamine 처리구는 4일간의 반복

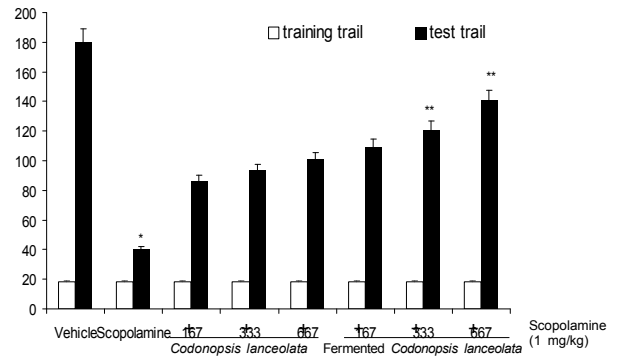


Fig. 1. Effect of the water extract of *Codonopsis lanceolata* and fermented *Codonopsis lanceolata* (167, 333, and 667 mg/kg) on scopolamine-induced memory deficits by the passive avoidance test in mice. Data represent means±SEM (N=10). *p<0.05 as compared with the control group, **p<0.05 as compared with the scopolamine-induced group.

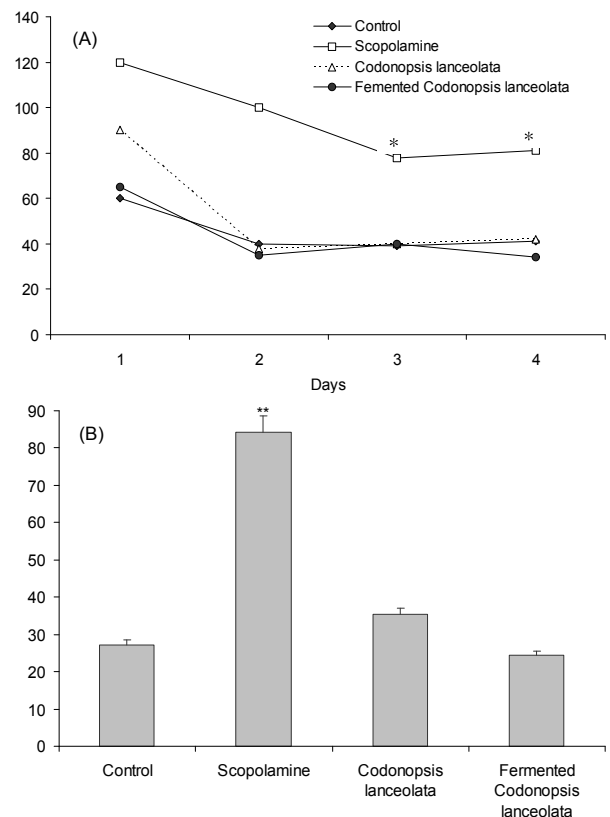


Fig. 2. Effect of *Codonopsis lanceolata* and fermented *Codonopsis lanceolata* water extract on the memory impairment of rats induced by scopolamine in Morris water maze test. (A) Training trial session for 4 days, (B) The probe trial session on 5 days. Data represent means±SEM (N=10). *p<0.05 as compared with the control group, **p<0.01 as compared with the scopolamine-induced group.

시험으로 escape latency가 감소하지 않아 장기기억(long-term memory)이 손상된 것을 알 수 있었다. 반면 더덕 및 발효더덕 추출물 처리군에서는 scopolamine에 의한 기억 손상이 개선되어 대조군의 escape latency 수준으로 회복되었다. 도피대를 제거한 probe test에서 대조군과 대비하여 더

덕 및 발효더덕 추출물 투여군은 각각 47%, 80% 수준으로 escape latency가 감소하였다. 더덕 및 발효더덕 추출물은 4일간의 인지훈련기간 동안 수중미로상의 platform의 위치를 인지하고 반복되는 연속적인 훈련을 통해 공간 지각력을 확실하게 기억하고 있음을 확인할 수 있었다. 이를 통해 볼 때 발효더덕추출물은 scopolamine으로 유도한 치매 흰쥐의 장기기억 개선효과가 뛰어난 것으로 나타났다.

본 실험을 통해 발효더덕은 scopolamine으로 유도된 건망증 모델에서 단회 경구투여 했을 때 용량 의존적으로 기억력 개선 효과를 나타냄을 확인하였다. 이와 같은 결과는 더덕에 대한 실험은 이루어져 있지 않기 때문에 비교할 수는 없으나 참외 추출물, 치자추출물, 한약복합물(7-9) 등과 비교할 때 기억력 향상 효과는 있는 것으로 판단된다. 기억력과 관련된 신경계는 cholinergic 신경계, glutamatergic 신경계, GABAergic 신경계, serotonergic 신경계, adrenergic 신경계 등이 알려져 있으나 특히 cholinergic 신경계가 주로 기억력과 관계가 있다고 알려져 있다(14,15). Scopolamine은 cholinergic 신경의 subtype 중 하나인 무스카린 수용체를 차단하는 약물로 아세틸콜린의 양은 변화시키지 않고 시냅스 간극에서 아세틸콜린이 수용체에 결합하는 것을 방해한다(16). 이는 중추신경계 cholinergic 신경의 손상에 의해 나타나는 현상과 유사한 기억력 감퇴를 나타내며 이 모델에서 효과가 있는 약물은 cholinergic 신경계를 경유하여 효능을 타나낼 것이라 생각할 수 있다. 따라서 발효더덕추출물 경구섭취는 scopolamine으로 유도된 기억력 감퇴 동물모델에서 기억력 개선 및 인지능력을 향상시킬 수 있다고 생각되며, 효과의 기전 및 효능성분을 확인 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 실험에서는 발효더덕을 제조한 후 발효더덕의 건망증에 대한 효과를 scopolamine으로 유도된 건망증 모델을 이용하여 수동회피시험(passive avoidance test)과 Morris 수중미로시험(Morris water maze test)을 이용하여 행동학적 변화를 통하여 발효더덕의 기억력 개선 능력 여부를 확인하고자 하였다. 더덕 및 발효더덕 추출물 167, 333, 667 mg/kg을 경구투여 한 결과 발효더덕 추출물의 333 mg/kg 및 667 mg/kg 그룹에서 각각 120.9±15.3초 및 140.7±18.0초에 대하여 통계적으로 유의성 있게 latency time이 증가하였으며, 특히 333 mg/kg의 용량에서 대조군의 85% 수준으로 회복하는 것을 확인하였다. 또한, Morris water maze test를 실시에서도 더덕 및 발효더덕 추출물 처리군에서는 scopolamine에 의한 기억 손상이 개선되어 대조군의 escape latency 수준으로 회복되었다. 이상의 결과 발효더덕 추출물의 경구섭취는 scopolamine으로 유도된 기억력 감퇴 동물모델에서 기억력 개선 및 인지능력을 향상시킬 수 있다고 생각되며, 효과의 기전 및 효능성분을 확인 연구가 진행되어야 할 것으

로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청에서 시행한 2010년 15대 어젠다 농업연구개발사업(과제번호, 20100301-061-169-001-06-00)의 지원에 의한 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Oh SK. 2005. *Neurotransmitters and Brain Disease*. Shinil Books company, Seoul, Korea. p 345-364.
- Squire LR. 2004. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82: 71-77.
- Ebert U, Kirch W. 1998. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *Eur J Clin Invest* 28: 944-949.
- Kim CH, Chung MH. 1975. Pharmacognostical studies on *Codonopsis lanceolata*. *Natural Product Sciences* 6: 43-47.
- Park SJ, Song SW, Seong DH, Park DS, Kim SS, Gou JY, Ahn JH, Yoon WB, Lee HY. 2009. Biological activities in the extract of fermented *Codonopsis lanceolata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 983-988.
- Hubert J, Berger M, Nepveu F, Paul F, Dayd J. 2008. Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. *Food Chem* 109: 709-721.
- Park SS, Park N, Kang JU, Shin SC, Lee LU. 2009. Cognition enhancing effect of muskmelon (*Cucumis melo*) extracts on scopolamine-induced memory impairment in mice. *J Life Sci* 19: 688-691.
- Kim DH, Lee SJ, Yoon BH, Ryu JH. 2005. The effect of *Gardenia jasminoides* on the memory impairment in mice. *Bull KH Pharma Sci* 33: 39-44.
- Seo JH, Woo SY, Kim YT, Kim MY, Park YM, Jin ZH, Bu YM, Kim HC. 2007. Enhancing effect of multiherb extracts HT008-1 on memory and cognitive function. *Kor J Herbology* 22: 51-58.
- Kang SY, Kim SH, Jung KK, Kim JT, Han HM, Huh IH. 1999. The effect of docosahexaenoic acid on the memory loss induced by ibotenic acid or scopolamine in rats. *J Toxicol Pub Health* 15: 133-140.
- LeDoux JE. 1993. Emotional memory system in the brain. *Behav Brain Res* 20: 69-79.
- LeDoux JE. 1993. Emotional memory: in search of systems and synapses. *Ann N Y Acad Sci* 702: 149-157.
- Morris RG. 1984. Development of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Meth* 11: 47-60.
- 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: 268-297.
- Blokland A. 1995. Acetylcholin: a neurotransmitter for learning and memory - Brain research. *Brain Res Rev* 21: 285-300.
- Ebert U, Kirch W. 1998. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *Eur J Clin Invest* 28: 944-949.

(2010년 7월 20일 접수; 2010년 8월 31일 채택)