

초고압 발효 더덕 추출물의 인지능력 개선 효과

원진배¹ · 이보형¹ · 윤보라¹ · 이지우¹ · 이현용³ · 박동식⁴ · 정희철⁵ · 정재윤⁵ · 마충제^{1,2*}

¹강원대학교 의생명소재공학전공, ²강원대학교 생명공학연구소, ³서원대학교 차학과(식품공학과),
⁴농촌진흥청 국립농업과학원 기능성식품과, (주)뉴트리⁵

Memory Enhancing Effect of *Codonopsis lanceolata* by High Hydrostatic Pressure Process and Fermentation

Jin Bae Weon¹, Bohyoung Lee¹, Bo-Ra Yun¹, Jiwoo Lee¹, Hyeon Yong Lee³, Dong-Sik Park⁴,
Hee-Chul Chung⁵, Jae Youn Chung⁵ and Choong Je Ma^{1,2*}

¹Department of Biomaterials Engineering, Division of Bioscience and Biotechnology,
Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

²Research Institute of Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

³Department of Teacis, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea

⁴Functional food & Nutrition Division, Department of Agrofood Resources, Suwon, 441-853, Korea

⁵Newtree CO., LTD. 11F Tech Center, SKnTechno Park, 190-1, Sunnam 462-120, Korea

Abstract – Alzheimer’s disease (AD), most common form of dementia is characterized that memory deficit and loss of cognitive function. The *Codonopsis lanceolata* (*C.lanceolata*) was treated by high hydrostatic pressure process and fermentation. This study was evaluated cognitive enhancing effect *C.lanceolata* extract by high hydrostatic pressure process and fermentation and compared with common *C.lanceolata* extract using Morris water maze and passive avoidance test. And their neuroprotective effect on glutamate induced oxidative stress in HT22 cell was investigated by MTT assay. High hydrostatic pressure process and fermented *C.lanceolata* extract (HFCE) and common *C.lanceolata* extract (CCE) (100 and 300 mg/kg) were administered to mice. Results showed HFCE enhanced cognitive function than CCE as shown by decrease in escape latency time. HFCE increased the latency time of the passive avoidance test compared to CCE. Furthermore, HFCE showed significant neuroprotective effect against glutamate cytotoxicity in HT22 cells. These results indicate that high hydrostatic pressure process and fermented more improve spatial cognitive ability of *C. lanceolata*.

Key words – *Codonopsis lanceolata*, High hydrostatic pressure process, Fermentation, Cognitive enhancing effect, Neuroprotective effect.

알츠하이머 병은 퇴행성 뇌질환으로, 치매의 가장 일반적인 유형으로 65-70세 이상의 노인에서 주로 발생한다. 의학 기술과 생명과학의 발달로 인간의 평균 수명이 연장되었고, 노령인구가 증가함에 따라 알츠하이머 병과 같은 퇴행성 질환에 대한 관심이 집중되고 있어 사회적인 문제로 대두되고 있다.¹⁾ 알츠하이머 병의 경우, 환자 개인의 생산성 상실과, 뇌기능의 손실로 인한 질환의 특수성으로 인해, 간호가 필수적인 질병으로 주변의 피해를 통해 사회, 경제적 손실이 큰 질환이다. 따라서 치매 치료제의 개발은 사회적·경

제적 이익의 극대화에 기여할 수 있다. 알츠하이머 병은 산화적 스트레스, free radical 생성, 단백질 합성 저해, 유전자 발현 이상, 베타-아밀로이드 plaque 축적 등의 다양한 발생 기전이 보고 되고 있으나, 그 기전이 복잡하여 현재까지 정확한 기전이 밝혀 지지 않았다.²⁻⁴⁾ 현재 치매 치료제는 대부분 acetylcholinesterase inhibitor, acetylcholine의 분비 촉진제, 베타-아밀로이드의 작용 억제제 등이며, 최근엔 memantine 등 NMDA수용체 길항작용을 갖는 새로운 치매치료제가 개발되었다. 국내에서 주로 처방되고 있는 치매 치료제는 주로 acetylcholinesterase inhibitor 계열의 약물로 donepezil HCl, rivastigmine, galantamine 등이 있다. 하지만 현재 사용

*교신저자 (E-mail): cjma@kangwon.ac.kr
(Tel): +82-33-250-6565

되고 있는 약물의 경우, 일시적인 간독성과 다른 수용체와의 작용등으로 인해 장기간 사용이 어렵고, 오심과 구토, 설사 등 위장관 장애와 심장 서맥 유발 등의 부작용을 발생하기도 한다.⁵⁾ 천연물의 경우, 다양한 생리활성 성분을 가지고 있어 여러 기전으로 작용할 수 있으며, 부작용의 위험성이 적다. 알츠하이머 병과 같은 발생 기전이 복잡한 질병의 치료제로 적합하다. 따라서 천연물을 이용해 다양한 질병에 적용하기 위한 연구가 최근 많이 연구되고 있으며, 알츠하이머 병과 같이 치매 치료제 개발을 위해 천연물이 새로운 소재로 부각되고 있다.⁶⁾ 당귀, 오수유, 은행잎 추출물을 소재로 연구되고 있으며, 전임상 실험까지 진행되고 있다. 더덕 (*Codonopsis lanceolata*)은 초롱꽃과(Campanulaceae)로 한국, 일본 그리고 중국 각처의 숲 속에서 자라는 여러해살이 덩굴식물이며, 사삼이나 백삼이라고도 부른다. 더덕은 위, 허파, 비장, 신장을 튼튼하게 해주는 효과가 있으며, 예로부터 민간에서 고혈압, 강장, 거담, 풍열에 쓰인다고 전해지고 있다. 더덕의 주요 생리활성 성분은 saponin으로 대부분 triterpene saponin의 형태로 존재한다.^{7,8)} 최근 더덕의 항산화 효과, 비장세포 증식능과 cytokine 분비 효과를 이용한 면역 활성화, 항암 활성화 등이 연구 보고 되었다.⁹⁻¹¹⁾ 초고압 공정은 비열(非熱)처리 공법으로 기존의 열처리를 통한 단백질 변성 및 유효 성분의 손상 같은 현상이 나타나지 않아 샘플 품질에는 영향을 미치지 않으며, 살균 처리가 가능하다.^{12,13)} 미생물을 이용한 생물 전환 처리인 발효 공정은 생약이나 한방제제의 성분을 다른 형태로 변화시키거나 새로운 형태의 물질을 생성한다. 이러한 발효공정은 생약의 성분의 전환을 바탕으로 생리활성을 증진 시킨다.^{14,15)} 초고압 공정은 생약의 조직을 연하게 하여 발효 과정에서 미생물의 생약 조직 투입 및 성분 접근이 용이하여 기존보다 발효의 효과를 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 더덕을 초고압 공정처리 후 발효 공정을 이용한 수중 미로 시험과 수동 회피 시험을 통한 더덕 추출물의 인지능 개선 효과 및 마우스 해마 유래 세포주(HT22 cell line)를 이용한 뇌신경세포 보호 활성을 측정하고 초고압 발효에 의한 활성의 증가 효과를 확인하였다.

재료 및 방법

시약 및 시료 - Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)과 fetal bovine serum(FBS)은 Gibco BRL. Co. (Eggenstein, Germany)로부터 구입하였다. Glutamate와 positive control으로 사용되는 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), Scopolamine, carboxymethyl cellulose는 Sigma (St. Louis, U.S.A.)로부터 구입하여 사용하였다. 발효 공정에 사용된 유산균인

Bifidobacterium longum (KACC 20587), *Lactobacillus acidophilus* (KACC 12419), *Leuconostoc mesenteroides* (KACC 12312)은 농업미생물은행(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양 받았다.

더덕 시료의 제조 - 본 실험에 사용된 더덕은 강원도 횡성 지역에서 2012년 8월에 채취한 것을 사용하였다. 대전대학교 서영배 교수님을 통해 식물분류학적 동정을 실시하였다. 더덕을 세정한 후 마하스텀기(Daechang stainless, Korea)를 사용하여 증숙된 더덕 100 g을 70% 에탄올 200 ml와 함께 넣어 공기가 들어가지 않도록 비닐 팩에 잘 밀봉한 후, 초고압 추출장치(Ilshin, Korea)를 이용하여 3,000 bar 압력으로 25°C에서 30분간 초고압 추출을 실행하였다. 초고압 공정을 거친 더덕에 8배수의 물을 가한 후, 유산균인 *Bifidobacterium longum* (KACC 20587), *Lactobacillus acidophilus* (KACC 12419), *Leuconostoc mesenteroides* (KACC 12312)을 각각 10⁶ CFU/g의 농도로 혼합하여 접종하였으며 밀봉 후, 37°C에서 48시간 동안 혐기 조건하에서 dry oven을 이용하여 발효하였다. 발효 후 발효액과 발효물(더덕)을 분리하였다.

더덕 추출물의 제조 - 일반 생더덕과 발효액을 제거한 초고압 더덕 시료를 100 g씩 10배수(v/w)의 70% 에탄올을 사용하여 수직 환류 냉각기가 부착된 추출 flask에서 24시간 추출하였다. 추출액은 회전식 감압농축기(EYELA N-1000, Japan)를 사용하여 여과한 추출액을 농축시킨 후 동결건조기(ILSIN, Korea)를 통해 분말상태로 준비하여 실험에 사용하였다.

실험 동물 - 4주령의 수컷 ICR mouse을 대한 바이오링크(충북 음성군, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 실험동물은 사육실에서 일주일 동안 적응시킨 후, 임의로 각 군당 7마리씩 구성하였다. 실험군은 대조군, scopolamine 투여군, donepezil 투여군, 농도 별 일반더덕 추출물 투여군, 농도 별 초고압 발효 더덕 추출물 투여군으로 나누었다. 적응기간 동안 사료와 물을 제한 없이 자유 공급하였으며, 온도는 22±2°C, 습도는 50±10%를 유지시키고, 명암은 12시간을 주기(09:00~21:00)로 조절하였다.

약물 투여 - 동물 실험인 수중 미로 시험 과 수동 회피 시험 120분 전에 양성 대조군인 1 mg/kg의 donepezil과 100과 300 mg/kg의 농도로 일반 더덕 추출물과 초고압 발효 더덕 추출물을 경구 투여 하였으며, 투여 방법은 금속제 경구 투여용 존대를 이용하였다. 동물 실험 30분 전에 기억 손상을 유도하기 위한 scopolamine (1 mg/kg)을 피하투여 하였다. 대조군은 같은 량의 생리식염수만을 투여하였다.

수중미로 시험(Morris Water Maze Test) - 수중미로 시험은 공간 기억력 측정을 위해 널리 이용되고 있는 실험으로 Morris가 제시한 방법을 응용 하였다.¹⁶⁾ Water maze pool (직경 90 cm, 높이 40 cm) 안에 물(20±1°C)을 채우고 platform

이 보이지 않게 하기 위해 우유를 섞어 불투명하게 하였고 Pool을 4구간으로 나누고 그 중 한 구간의 중간에 platform (직경 10 cm, 높이 26 cm)를 수면아래 1 cm에 위치하도록 하였다. 4일 동안 2번 반복실험(trial 1 과 trial 2)을 하였으며, trial 사이에 20분씩 간격을 두었다. 입수 지점은 매일 동서남북 방향으로 구간별 위치를 달리하였으며 platform의 위치는 실험기간 동안 고정하였다. 실험 첫날은 적응 실험으로 platform 없이 60초 동안 수영을 하도록 하였다. 2일째부터 측정 실험을 진행하였으며, 마우스가 platform에 도달하면 10초 동안 platform에 머물게 하였으며, 120초 동안 platform을 찾지 못하면 실험을 멈추고 마우스를 platform에 올려놓은 후 10초 동안 기억 시킨 후 다음 실험을 진행한다. 입수 지점에서 platform을 찾아가는 시간(escape latency)를 기록하여 공간 기억 개선 능력 평가하였다. 6일째 platform을 제거한 후, 1분 동안 마우스를 수영하게 한 후, platform이 위치한 구간에서의 머무름 시간을 측정(s)하여 기록하는 probe test를 진행하였다.

수동회피 시험(Passive Avoidance Test) – 기억력 평가를 위해 수동회피 시험을 진행하였으며, 수동 회피 상자(GEMINITM Avoidance System, San Diego Instruments, San Diego, CA, USA)를 통해 step-through test를 실시하였다. 두 개의 아크릴 상자가 있고 상자 사이에는 마우스가 이동할 수 있는 문이 설치되어 있다. 바닥에는 스테인레스 막대가 깔려있어 전기충격을 가할 수 있다. 처음 한쪽 어두운 상자에 1분간 적응을 하게 한 후 조명을 통해 불빛을 비추고 소음을 일으켜 마우스가 반대쪽 회피 상자로 이동하게 한다. 그 후 다시 쥐를 어두운 상자에 넣은 후 20초 후에 다시 불빛을 비추고 소음을 일으킨다. 마우스가 회피상자로 들어가고 2초 뒤 전기충격(0.1 mA/10 g body)을 준다. 24시간 후, 같은 실험을 진행하고 마우스가 회피 박스로 이동하는 시간을 step through latency으로 측정한다. 180초 동안 움직임이 없으면 실험을 멈추었다.

HT22 세포배양 및 뇌신경세포 보호 활성 측정 – 일반 더덕과 초고압 발효 더덕의 뇌신경세포 보호 활성을 측정하기 위해 MTT assay를 시행하였다. 생쥐 해마 유래 세포주인 HT22 세포는 서울대학교로부터 분양 받아 사용하였다. HT22 세포를 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지에 분주하고 5% CO₂ 배양기 내에서 37°C에서 배양하였다. 배양된 HT22 세포를 48-well plate에 6.7×10⁴ cells/300 μl를 분주하여 24시간 배양한 후 일반 더덕, 초고압 발효 더덕, 50 μM Trolox (positive control)와 2 mM glutamate를 첨가한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 MTT assay를 시행하였다. 뇌세포 보호 활성은 relative protection (%)로 나타났다. 통계처리는 ANOVA test를 적용하였으며, 각각 3회 반복 실험치를 이용하여 계산하였다.

통계처리 – 모든 분석 수치는 mean±SD로 나타내었다. 통

계처리는 SPSS 통계 (IBM SPSS statistics 20)을 이용하여 분석분석 (ANOVA)을 실시하였고, 각 처리군들의 유의성은 P<0.001의 수준까지 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

수중 미로 시험(Morris Water Maze Test) – 초고압 발효 더덕의 공간 기억력 개선 효과를 평가하기 위해 널리 사용되는 수중 미로 시험을 실시하였다. 4일 동안의 실험에서 대조군은 수중 미로 상의 platform을 찾아가는 평균 escape latency가 실험이 진행됨에 따라 감소하였으나, 치매 유발을 위한 scopolamine 처리군은 실험 기간과 관계없이 platform을 찾아가지 못하였다. 초고압 발효 더덕 추출물 처리군은 escape latency가 감소하는 경향을 나타내었으며 초고압 발효 더덕 추출물 처리군(300 mg/kg)은 4일째에는 유의적으로 감소하였다(p<0.05) (Fig. 1A). Platform을 제거한 Probe test에서 scopolamine 처리군과 초고압 발효 더덕 추출물(300

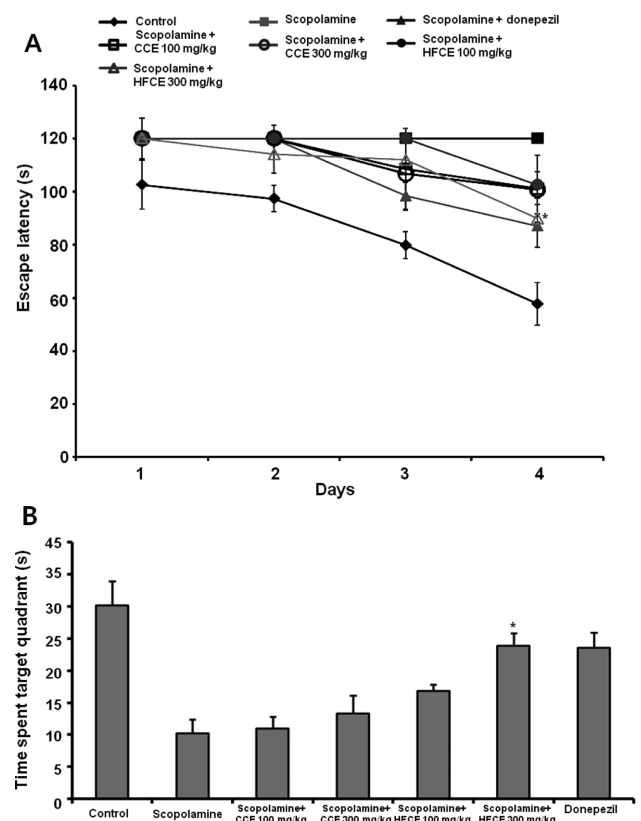


Fig. 1. The effect of high hydrostatic pressure process and fermented *C.lanceolata* extract (HFCE) and common *C.lanceolata* extract (CCE) (100 and 300 mg/kg) on escape latency in trial sessions (A) and probe trial (B) on Morris water maze test. The values shown are the mean escape latency ± SD (n=7). One-way ANOVA followed by Tukey's test; *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 significant in comparison to control.

mg/kg)의 platform이 위치한 구간의 머무름 시간은 각각 10.23 ± 2.21 초와 16.85 ± 1.00 초로 5.62초 정도의 차이를 보여 통계적으로 유의성 있는 기억력 개선 효과를 확인하였다 (Fig. 1B).

초고압 발효 더덕 추출물 처리군은 실험 기간 동안 일반 더덕 추출물 처리군 보다 기억력 개선 효과가 높은 것으로 나타났다.

수동 회피 시험(Passive Avoidance Test) – 초고압 발효 더덕의 단순 기억력 증진 효과를 측정하기 위해 수동 회피 실험을 실시하였다. 대조군의 step-through latency는 115.6 ± 13.3 초였고 Scopolamine을 투여하여 치매를 유발시킨 군은 31.0 ± 7.9 초이었다. Scopolamine 처리군이 대조군에 비해 step-through latency가 감소되어 치매가 유발된 것을 확인 할 수 있었다. 초고압 발효 더덕 추출물 처리군의 경

우, $100 \mu\text{g/ml}$ 과 $300 \mu\text{g/ml}$ 에서 각각 64.2 ± 4.3 초와 77.6 ± 5.3 초를 나타내었으며, 일반 더덕 추출물 처리군의 경우, step-through latency가 scopolamine 처리군보다 유의적으로 증가하였음을 확인하여 기억력 개선 효과가 있음을 나타내었다 (Fig. 2).

뇌신경세포 보호 활성 – 뇌신경 세포 보호 활성은 glutamate로 독성을 유발시킨 마우스 유래 해마 세포주(HT22 cell line)을 사용하여 측정하였다. 측정 결과, Fig. 3에 나타내었듯이 초고압 발효 더덕 추출물은 $500 \mu\text{g/ml}$ 에서 38.36%의 세포보호 활성을 나타내었고 일반 더덕 추출물은 $500 \mu\text{g/ml}$ 에서 31.79%의 세포보호 활성을 나타내어 초고압 발효 공정 처리 후 뇌신경세포 보호 활성의 증가를 확인하였다.

결론

본 연구는 기억 손상이 유발된 마우스에 대한 초고압 발효 더덕 추출물의 기억력 개선 효과와 glutamate에 의한 세포 사멸에 대한 뇌신경 세포 보호 활성을 측정 하였으며, 초고압 발효에 의한 더덕의 활성 증가를 평가하였다. 초고압 발효 더덕 추출물의 인지기능 개선 효과를 측정하기 위해 scopolamine을 이용하여 마우스의 기억력을 손상시켰다. 치매 질환의 증상 중 기억력 및 인지기능 감퇴는 acetylcholine과 같은 콜린성 신경 전달물질과 관련이 있으며, muscarinic receptor antagonist인 scopolamine의 경우, acetylcholine의 작용을 억제하여 치매를 유발시킨다.^{17,18)} 공간 기억력을 평가하기 위해 Morris water maze test를 진행하였다. 초고압 발효 더덕 추출물의 경우 실험 2일째부터 escape latency가 감소되었으며, scopolamine 처리군과 일반 더덕 추출물 처리군 보다 감소하였다. 4일째는 양성 대조군으로 사용된 donepezil (1 mg/kg) 처리군과 유사한 escape latency를 나타내었다. Probe test에서도 scopolamine 처리군 보다 platform이 위치한 곳에서의 머무름 시간이 증가됨을 확인되어 초고압 발효 더덕 추출물이 공간 기억력 개선 효과가 있음을 보여 주었다. 수동 회피 실험은 단순 기억력 개선 효과를 평가 하였으며, 초고압 발효 더덕 추출물을 처리군은 scopolamine 처리군에 비해 step-through latency가 유의적으로 증가하였다. 이 동물 실험을 통해 초고압 발효 더덕 추출물이 공간 인지 기억력 및 단순 기억력 손상에 대한 개선 효과를 나타내며, 초고압 발효 공정이 일반 더덕 추출물의 인지기능 개선 효과를 증가 시킨 것으로 확인 되었다. scopolamine으로 유도한 기억력 감퇴 마우스 모델을 이용한 행동 실험에서의 초고압 발효 더덕의 인지 능력 향상 효과는 콜린신경계에서의 acetylcholine의 합성, 분해, 분비 및 acetylcholine 수용체와 관련이 있는 것으로 사료된다. 또한 신경 세포 손상은 알츠하이머 병의 원인이 된다.¹⁹⁾ 일반 더덕 추출물과 초고압 발효 더덕 추출물의 뇌신경 세포 보호 활성을 측정한 결

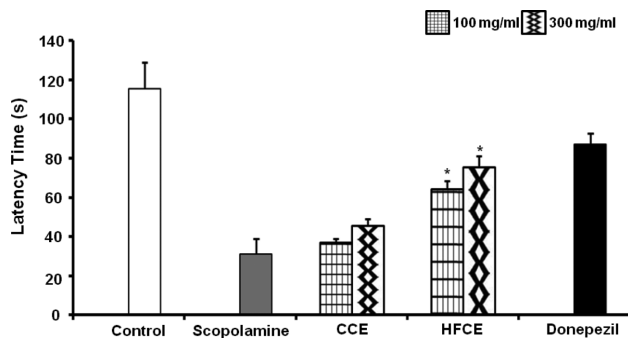


Fig. 2. Effect of high hydrostatic pressure process and fermented *C.lanceolata* extract (HFCE) and common *C.lanceolata* extract (CCE) (100 and 300 mg/kg) on scopolamine-induced memory impairment mice in passive avoidance test. The latency to enter the dark compartment was measured. The values shown the mean latency time (s) \pm SD (n=7) *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 significant different from control group.

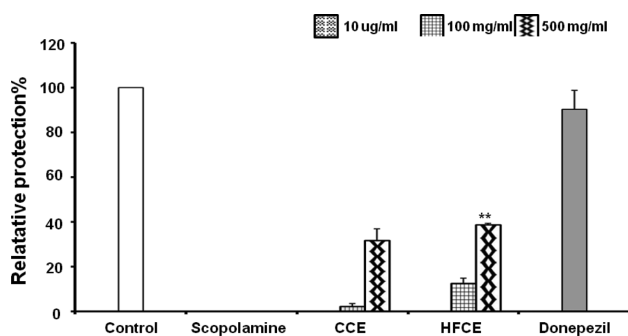


Fig. 3. The neuroprotective effects of high hydrostatic pressure process and fermented *C.lanceolata* extract (HFCE) and common *C.lanceolata* extract (CCE) on glutamate-induced cell death in neuronal HT22 cells. Each bar represents the Mean \pm SD of three independent experiments. *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 vs. glutamate-injured cells (ANOVA).

과, glutamate로 유도된 마우스 해마 유래 세포주인 HT22 cells의 산화적 손상에 대해 초고압 발효 더덕 추출물은 농도 의존적으로 뇌신경 세포 보호 활성을 보였으며, 일반 더덕 추출물 보다 높은 활성을 나타냈다. Glutamate는 중추 신경계의 흥분성 신경 전달 물질로 뉴런의 성장과 이동을 조절하며, 기억력과 관련하여 중요한 역할을 한다. 고농도의 glutamate는 cystine/glutamate transport system Xc-을 통하여 cystine 섭취를 억제하며, 몸 속의 항산화제 glutathione의 농도를 저하시키고 산화적 스트레스를 일으켜 신경세포 사멸을 유도한다.^{20,21)} 초고압 발효 더덕의 인지능력 개선 효과는 항산화 효과를 통해 산화적 스트레스로부터의 뇌신경 세포 보호와 관련 있는 것으로 보여진다. 일반 더덕과 초고압 발효 더덕의 활성 증가와 관련하여 초고압 발효 공정은 더덕의 총 페놀화합물과 플라보노이드 량을 증가시켰으며, 항산화 효과를 증가 시킨 것을 예전 연구에서 확인하였다.²²⁾ 결론적으로 초고압 발효 더덕 추출물은 일반 더덕 추출물 보다 scopolamine으로 유도된 기억력 손상 마우스를 이용한 수중 미로 실험과 수동 회피 실험에서 향상된 인지능력 개선 효과를 나타내었으며, 마우스 해마 유래 세포주에서 뇌신경 세포 보호 활성을 나타내었다. 초고압 발효 더덕 추출물이 치매 예방이나 치료제 개발에 좋은 소재로 활용될 수 있을 것이며, 후후 제조된 초고압 발효 소재의 표준화 실험과 초고압 발효 더덕의 생리활성 기전에 대한 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ009001)의 지원에 의해 이루어진 것이다.

인용문헌

- Crapper, D. R. and DeBoni, U. (1978) Brain aging and Alzheimer's disease. *Can. Psychiatr. Assoc. J.* **23**: 229-233.
- Portelius, E., Zetterberg, H., Andreasson, U., Brinkmalm, G., Andreasson, N., Wallin, A., Westman-Brinkmalm, A. and Blennow, K. (2006) An Alzheimer's disease-specific beta-amyloid fragment signature in cerebrospinal fluid. *Neurosci. Lett.* **409**: 229-237.
- Citron, M. (2002) Alzheimer's disease: treatments in discovery and development. *Nat. Neurosci.* **5**: 1055-1057.
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, D. and Lipa, A. S. (1982) The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* **217**: 408-417.
- Dawson, G. R. and Iversen, S. D. (1993) The effects of novel cholinesterase inhibitors and selective muscarinic receptor agonists in tests of reference and working memory. *Behav. Brain Res.* **57**: 143-153.
- Dastmalchi, K., Damien, D. H. J., Vuorela, H. and Hiltunen, R. (2007) Plants as potential sources of drug development against Alzheimer's disease. *Int. J. Biomed. Pharmaceut. Sci.* **1**: 83-104.
- Ushijima, M., Komoto, N., Sugizono, Y., Mizuno, I., Sumihiro, M., Ichikawa, M., Hayama, M., Kawahara, N., Nakane, T., Shiota, O., Sekita, S. and Kuroyanagi, M. (2008) Triterpene glycosides from the roots of *Codonopsis lanceolata*. *Chem. Pharm. Bull.* **56**: 308-314.
- Li, J. P., Liang, Z. M. and Yuan, Z. (2007) Triterpenoid saponins and anti-inflammatory activity of *Codonopsis lanceolata*. *Pharmazie.* **62**: 463-466.
- Wang, L., Xu, M. L., Hu, J. H., Rasmussen, S. K. and Wang, M. H. (2011) *Codonopsis lanceolata* extract induces G0/G1 arrest and apoptosis in human colon tumor HT-29 cells--involvement of ROS generation and polyamine depletion. *Food Chem. Toxicol.* **49**: 149-154.
- Ryu, H.- S. (2009) Effect of *Codonopsis lanceolatae* Extracts on mouse IL-2, IFN-, IL-10 cytokine production by peritoneal macrophage and the ratio of IFN-, IL-10 cytokine. *Korean J. Food Nutr.* **22**: 69-74.
- Han, C., Li, L., Piao, K., Shen, Y. and Piao, Y. (1999) Experimental study on anti-oxygen and promoting intelligence development of *Codonopsis lanceolata* in old mice. *Zhong Yao. Cai.* **22**:136-138.
- Choi, W.- Y., Lee, C.- G., Seo, Y.- C., Song, C.- H., Lim, H.- W. and Lee, H.- Y. (2012) Effect of high pressure and steaming extraction processes on Ginsenosides Rg3 and Rh2 contents of cultured-root in wild Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Korean J. Med. Crop Sci.* **20**: 270-276.
- Jeong, M. H., Choi, W. Y., Seo, Y. C., Kang, H. Y. Choi, G. P. and Lee, H. Y. (2010) Anticancer activity of Acer mono Wood extracted by ultra high pressure extraction process. *Korean J. Med. Crop Sci.* **18**: 157-167.
- Park, M. R., Yoo, C., Chang, Y. N. and Ahn, B. Y. (2012) Change of total polyphenol content of fermented *Gastrodia elata* Blume and radical scavenging. *Korean J. plant Res.* **25**: 379-386.
- Yang, H. J., Weon, J. B., Lee, B. and Ma, C. J. (2011) The alteration of components in the fermented Hwangryunhaedok-tang and its neuroprotective activity. *Pharmacogn. Mag.* **7**:207-212.
- Morris, R. (1984) Developments of water-maze procedure for studying spatial learning in rats. *J. Neurosci. Methods* **11**: 47-60.
- Ebert, U. and Kirch, W. (1998) Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *Eur. J. Clin. Invest.* **28**: 944-949.
- Blokland, A. (1995) Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Res. Rev.* **21**: 285-300.
- Collerton, D. (1986) Cholinergic function and intellectual decline in Alzheimer's disease. *Neurosci.* **19**: 1-28.

20. Coyle, J. T. (1993) Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* **262**: 689-695.
21. Muphy, T. H., Miyamoto, M., Sastre, A., Schnaar, R. and Coyle, J. T. (1989) Glutamate toxicity in neuronal cell line involves inhibition of cystine transport leading to oxidative stress. *Neuron*. **2**: 1547-1558.
22. Park, S. J., Park, D. S., Lee, S. B., He, X., Ahn, J. H., Yoon, W. B. and Lee, H. Y. (2010) Enhancement of antioxidant activities of *Codonopsis lanceolata* and fermented *Codonopsis lanceolata* by ultra high pressure extraction. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**: 1898-1902.

(2013. 1. 4 접수; 2013. 2. 19 심사; 2013. 3. 4 게재확정)