ISSN(Print) : 1738-7248, ISSN(Online) : 2287-7428
Korean J Food Preserv
20(6), 840-845 (2013)
http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2013.20.6.840

사단법인 한국식품저장유통학회
The Korean Society of Food Preservation

In vitro screening of the acetylcholinesterase inhibition, antioxidant activity, and neuronal cell protective effect of medicinal plant extracts

Min Young Um[1], Tae Youl Ha[1], Ki Seung Seong[1], Yong Sik Kim[2]*
[1]*Division of Metabolism and Functionality Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea*
[2]*Department of Hotel Culinary Arts, Yeonsung University, Anyang 430-749, Korea*

생약추출물의 acetylcholinesterase 저해, 항산화 및 신경세포보호 효과 *in vitro* 탐색

엄민영[1] · 하태열[1] · 성기승[1] · 김용식[2]*
[1]한국식품연구원 대사영양연구단, [2]연성대학교 호텔조리과

Abstract

This study investigated the effects (i.e., the acetylcholinesterase activity, lipid peroxidation, and neuronal survival) of 20 kinds of medicinal water extracts. The water extracts of three medicinal plants -- *Cornus officinalis, Glycyrrhiza glabra, and Angelica gigas* -- were found to be the most effective on acetylcholinesterase inhibitory activity. In the lipid peroxidation-generating system induced by $H_2O_2/FeSO_4$ in rat brain homogenates, *Perilla frutescens, Polygonum multiflorum, Cinnamomun cassia,* and *G. glabra* exhibited protective activity against lipid peroxidation. The neuronal cell death induced by L-glutamate in PC12 was suppressed by the water extracts of *G. glabra, Cinnamomun cassia, Platycodon grandiflorum,* and *Mentha arvensis* at the concentration of 100 μg/mL. Taken together, these results showed that the water extract of *G. glabra* has the potential anti-dementia activity, which suggests that it might provide an effective strategy for improving dementia.

Key words : medicinal plants, acetylcholinesterase, lipid peroxidation, neuronal cell

서 론

현대의학의 발달에 따른 인간 수명의 연장은 노령인구의 증가를 초래하게 되었고, 이와 더불어 노인성 치매환자는 65세 이상 노인인구의 약 10%로 높은 발병률을 보이고 있어 심각한 사회, 경제적 문제로 대두되고 있다. 노인성 치매는 주로 뇌혈관성 치매(cerebrovascular dementia)와 알츠하이머병(Alzheimer disease)으로 구분되며, 이중 알츠하이머병은 50% 이상을 차지하고 있다(1).

알츠하이머병은 많은 원인에 의해 유발되지만 콜린성 신경계의 변화, 산화 스트레스, glutamate, amyloid plaque 생성, tau protein 침착, Ca homeostasis의 불균형, 염증 등이 발병 인자로 제시되고 있다(2). 신경전달물질의 하나인 L-glutamate는 정상적인 신경반응을 유도하는 역할을 하지만, 과도한 수준의 L-glutamate는 뇌세포 조직내 단위세포로 유입되는 칼슘의 양을 증가시켜 독성 작용이 나타나 결국 세포를 손상시킨다(3). 산화 스트레스는 정상적인 노화과정이나 신경퇴행성 질환에서 핵심적인 역할을 할 수 있으며, 특히 뇌는 산화 스트레스에 손상되기 쉬운 것으로 알려져 있다(4). 또한 알츠하이머의 증상의 하나인 기억력 감퇴현상은 신경전달물질인 아세틸콜린 함량과 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있다(5). Talesa 등(6)은 뇌 중 acetylcholinesterase(AChE)의 농도가 증가할수록 신경세포의 콜린성 신경전달물질이 결핍되어 기억 및 인지기능 장애를 유발할 수 있다고 보고하였다. 이에 많은 연구들은 치매 발생 기전에 근거하여 치료법을 개발하고 있으나, 최근까지 사용되고 있는 약물들의 경우, 생체 내 낮은 이용률 및 간독성 등 부작용이 유발되어 안전성이 인정되고 있는 천연물이나 약용식물에서 기존 약물들을 대체할 수 있는 새로운 치매치료, 개선제의 개발을 진행하고 있다.

*Corresponding author. E-mail : ysikim@yeonsung.ac.kr
Phone : 82-31-441-1396; Fax : 82-31-780-9225

생약자원들은 전통적으로 질병의 예방과 치료를 목적으로 활용되어 왔으며, 최근에는 식용 및 신물질의 추출 소재로써의 가치가 중요하게 인지되고 있다. 이러한 생약자원들은 건강한 삶을 영위하려는 현대인들에게 중요한 자원으로 이용될 수 있다. 하지만, 우리나라에서 오래전부터 사용되어 온 생약자원들은 관련 질환의 치료 또는 예방용도로 널리 이용되어 왔으나 효능에 있어서 과학적 근거는 명확하게 제시되고 있지 않다. 이에, 본 실험에서는 치매예방 및 개선제로 사용되거나 가능성이 알려진 생약을 선별하고 AChE 활성 억제, 산화 스트레스로 인한 지질 과산화물의 형성 및 뇌신경세포의 사멸 억제능을 평가하여 치매예방 및 개선 소재로써의 가치를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용된 약용식물들은 한국한의학연구원의 자문을 받아 문헌상 치매예방 및 개선 효과의 가능성이 있다고 알려진 것 혹은 처방에 이용되고 있는 것으로 선별하였다(7,8). 선발된 소재로는 갈근, 감초, 강황, 계피, 구기자, 길경, 당귀, 대추, 두충, 박하, 복분자, 산수유, 석창포, 소엽, 어성초, 원지, 진피, 천궁, 천마, 하수오 20종으로 2010년 경동시장에서 구입하였다. 생약재의 불순물을 제거하기 위하여 수세한 후 20~25℃에서 24시간 건조하였다. 건조된 생약재는 40 mesh 크기로 분쇄한 후 -70℃에서 저장하면서 실험에 이용하였다.

시료의 추출

시료의 추출은 중량의 10배(w/v)에 해당하는 증류수를 가해 약 4시간 동안 환류냉각 추출 후 상층액을 여과(Whatman No.2, Whatman International Ltd., Maidstone, England)한 다음, rotary evaporator(Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 40℃이하, 감압하에서 농축시킨 후, 동결 건조하였다. 각각의 동결건조한 생약재들은 실험 직전에 증류수로 1 mg/mL 농도로 녹여 시료검액으로 사용하였다. 본 실험에 사용한 약용식물 사용부위 및 추출물에 대한 수율은 Table 1에 제시하였다.

Acetylcholinesterase 억제 활성 측정

Acetylcholinesterase의 활성은 Ellman의 방법(9)에 따라 측정하였다. Cuvett에 phosphate buffer(0.1 M, pH 8.0) 3.0 mL, acetylcholin iodide(0.075 M) 20.0 μL 및 dithiobisnitrobenzonic acid(0.01 M) 100 μL를 각각 가하여 잘 혼합, 5 unit/mL의 acetylcholinesterase와 생약추출물의 일정량을 첨가하여 412 nm에서 5분간의 흡광도 변화를 측정하였다. 효소저해활성도는 다음 식에 따라 저해활성을 계산하였으며, 대조구로는 시료 대신 증류수를 가하여 활성을 비교하였다.

$$\text{Inhibition } (\%)=[1-\{(S-S_0)/(C-C_0)\}]\times 100$$

S: Test sample, S_0: Test sample at zero time
C: Control, C_0: Control at zero time

Table 1. List of medicinal plant used in this study

Korean name	Scientific name	Used part	Origin	Yield (%)
갈근	*Pueraria thunbergii*	Root	Korea	6.9
감초	*Glycyrrhiza glabra*	Root	Korea	11.1
강황	*Curcuma longa*	Root	Korea	3.5
계피	*Cinnamomum cassia*	Bark	China	3.1
구기자	*Lycium chinense*	Fruit	Korea	10.1
길경	*Platycodon grandiflorum*	Root	Korea	20.4
당귀	*Angelica gigas*	Root	Korea	21.5
대추	*Zizyphus jujuba*	Fruit	Korea	16.3
두충	*Eucommia ulmoides*	Bark	Korea	5.8
박하	*Mentha arvensis*	Leaf	Korea	15.1
복분자	*Rubus coreanus*	Fruit	Korea	8.1
산수유	*Cornus officinalis*	Fruit	Korea	22.8
석창포	*Acrus gramineus*	Root	Korea	7.4
소엽	*Perilla frutescens*	Leaf	Korea	17.6
어성초	*Houttuynia cordata*	Leaf	Korea	8.4
원지	*Polygala tenuifolia*	Root	China	6.4
진피	*Citus unshiu*	Whole	Korea	15.6
천궁	*Cnidium officinale*	Root	Korea	18.2
천마	*Gastrodia elata*	Root	Korea	8.8
하수오	*Polygonum multiflorum*	Root	Korea	11.1

지질과산화물 억제 활성 측정

Rat(Sprague-Dawley, 200~250 g)의 whole brain을 적출하여 균질화 시킨 후 $H_2O_2/FeSO_4$로 산화스트레스를 유발시켰다. 산화스트레스를 유발시킨 뇌조직 균질액에 각각의 생약추출물을 농도별로 첨가한 후, 37℃에서 20분 동안 incubation하였고, 20% acetic acid 1.5 mL, 8.1% SDS 0.2 mL과 0.8% TBA 1.5 mL를 첨가하여 100℃에서 30분간 가열하였다. 이후에 냉각하고, 원심분리를 통하여 얻은 상층액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다(10,11). 산화 스트레스 저해활성은 시료 첨가군 흡광도와 증류수를 대조군으로 한 흡광도로부터 다음과 같이 계산하여 활성을 비교하였다.

$$\text{Inhibition } (\%)=\{(C_{abs}-S_{abs})/C_{abs}\}\times 100$$

C_{abs} : 대조구의 흡광도
S_{abs} : 시료구의 흡광도

신경세포보호 효과 측정

본 실험에 사용된 세포주는 Rat pheochromocytoma PC12로써 ATCC(Manassas, VA, USA)에서 분양받아 실험에 사용하였다. PC12 세포는 5% fetal bovine serum(Gibco-BRL, Carlsbad, CA, USA)과 10% horse serum(Gibco-BRL) 및 antibiotics(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 첨가한 RPMI 1640 배지로 배양하였다. Incubator는 37℃ 온도를 유지했고, 5% CO_2가 계속 공급되어 세포배양의 적절한 조건을 갖추었다.

배양된 PC12 세포는 96 well plate에 2.5×10^4 cells/well 농도로 분주하여 1일 동안 배양 후, 20 mM L-glutamate (Acros, NJ, USA)를 첨가하여 세포독성을 유발시켰고, 생약 추출물을 농도별로 처리한 뒤 48시간 더 배양하였다. MTT(3-[4,5- dimethyl - thiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma-aldrich) 용액을 첨가하여 4시간 동안 37℃에서 반응시키고, dimethylsulfoxide로 형성된 formazan이 완전히 용해되게 한 후 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다. Cell viability는 control의 생존율에 대한 백분율로 나타내었다.

통계처리

실험결과는 SPSS 통계 프로그램(version 18.0 SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 나타내었고, 각 처리군 간의 유의성에 대한 검증은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA test)을 이용하여 확인하였으며, $p<0.05$ 수준에서 Tukey's test를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

생약추출물의 AChE 활성저해 효과

알츠하이머 질환의 병리학적 특징 중의 하나인 기억력 손상은 콜린기능의 결손으로 제시되고 있으며(5), 신경전달물질인 acetylcholine(ACh)을 가수분해 시키는 효소를 저해하는 AChE inhibitor를 치료제로 사용하고 있다(12,13). 이에 본 연구에서는 갈근 등 총 20종의 열수추출물에 대한 치매 예방 효과를 탐색하기 위하여 신경전달물질인 ACh의 함량에 영향을 줄 수 있는 AChE 저해 활성을 조사하였다.

Fig. 1에 제시한 바와 같이, 생약 열수추출물 중 산수유 31.6±1.7%, 감초 25.8±1.2%, 당귀 22.5±0.6% 순으로 비교적 높은 AChE 저해활성을 나타내었다. 복분자, 원지, 소엽 열수추출물에서는 약 10~20%의 저해활성을 보인 반면, 그 외 14종들은 10% 미만의 낮은 저해활성을 나타내었다. Kim 등(14)의 연구에 따르면 산수유, 당귀, 감초 메탄올 추출물 1 mg/mL 농도에서 각각의 AChE 저해활성은 45%, 29%, 20%로 보고되었고, 대부분의 생약 열수추출물에서는 약한 AChE 저해 활성을 나타내었다. 한편, 여러 연구(15,16)에서 강력한 AChE 저해활성을 보고한 원지의 경우, 본 연구에서는 14.5%의 비교적 낮은 활성을 나타내었다. 이는 용매, 시간 등 추출조건 및 추출물에 함유된 다양한 생리활성물질의 상호작용에 따른 결과로 판단된다.

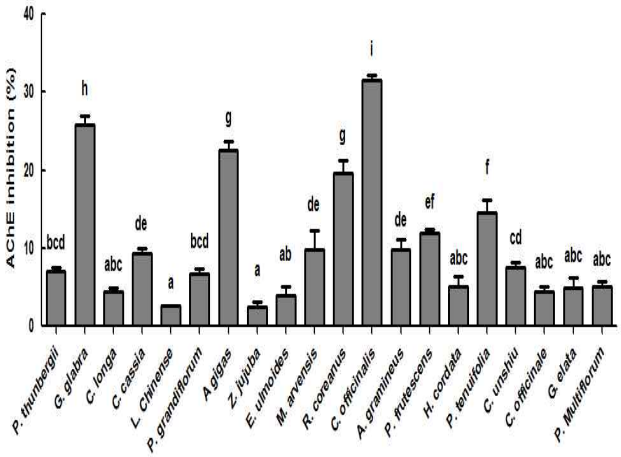

Fig. 1. Inhibitory effects against AChE of various medicinal plant water extracts.

Data represent mean±SD of three independent experiments. Acetylcholinesterase inhibitory activity of each plant extracts was measured at 1 mg/mL

뇌조직을 이용한 지질과산화물 생성 억제활성

H_2O_2, super oxide 및 hydroxyl radical 등과 같은 자유유리기는 분자 상태인 산소를 이용하여 대사산화물을 생성하게 되는데 이는 알츠하이머 환자의 뇌 중 다가불포화지방산, 단백질, DNA의 산화를 유도하는 것으로 알려져 있다(11). 이는 결과적으로 신경세포의 사멸을 초래하게 되는데, 일정기간 동안 비타민 C와 E 등의 항산화비타민을 섭취한 노인집단에서 노화에 따른 기억력 손상 정도가 낮은 것으로 보고(17,18)되고 있어 항산화제의 섭취는 알츠하이머 치료법 중의 하나로 활용되고 있다. 이에 본 연구에서는 뇌조직을 이용하여 생약 열수추출물이 산화스트레스원(H_2O_2/$FeSO_4$)에 의해 생성된 지질과산화물의 형성을 억제시키는지 조사하여, 그 결과를 Fig. 2에 제시하였다.

생약 열수추출물 중 가장 높은 지질과산화물 생성 억제활성 나타낸 것은 소엽으로 78.9%이었고, 그 다음으로 하수오 63.9%, 계피 61.8%, 감초 60.2% 순으로 높게 나타났다. 소엽, 하수오, 계피 및 감초를 제외한 16종의 생약 열수추출물에 대한 지질과산화물 억제 활성은 모두 50% 미만인 것으로 조사되었다. Chua 등(19)은 계피 추출물과 분획물들의 지질 과산화억제 활성에 관한 연구 결과 총 폴리페놀 화합물의 함량이 높은 부탄올 및 에틸아세테이트 층에서 뛰어난 저해활성을 보여주었다. Jeong 등(11)의 연구에서 어성초 메탄올 추출물은 catechin 100 mg/mL에 가까운 저해활성을 나타내어 뛰어난 산화방지효과가 있는 것으로 보고하였으나 본 연구에서는 지질과산화물 억제 활성이 1.4%로

매우 낮아 효과가 관찰되지 않았다. 이는 추출물의 용매에 따라 지질과산화를 억제하는 효과가 크게 다르다는 것으로 생각되며, 향후 연구에서도 다양한 용매 및 추출조건에서 나타나는 지질과산화 억제 활성에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

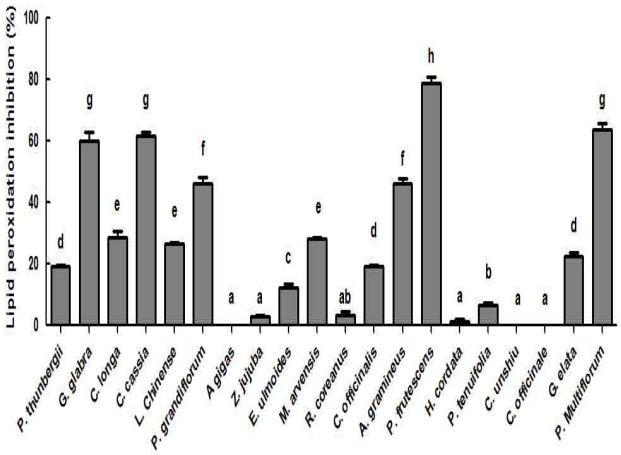

Fig. 2. Inhibitory effects of various medicinal plant extracts (1 mg/mL) against lipid peroxides formation.

Data represent mean±SD of three independent experiments.

신경세포 사멸억제 효과

본 연구에서는 L-glutamate에 의해 유도된 세포독성 상태에서 생약추출물의 신경세포보호 효과를 평가하였으며, 그 결과를 Fig. 3에 제시하였다. 배양된 세포에 L-glutamate를 0~25 mM의 농도로 처리하여 세포생존율을 측정한 결과, L-glutamate의 농도가 증가할수록 세포생존율은 유의적으로 감소하였고, 20 mM 농도에서 약 50%의 생존율을 나타내었다 ($p<0.001$). L-Glutamate는 신경계에서 신경흥분성 관련물질로서 신경전달계에서 필요하지만 과량 존재 시는 신경세포의 독성을 나타내는 것으로 알려져 있다(3). Naito 등(20)은 L-glutamate가 신경퇴행성질환의 신경세포 손실을 일으키는 것으로 제시하면서 그 기전을 Ca^{2+} 항상성 불균형, 세포벽 지방산화 및 자유유리기의 형성으로 설명하였다.

한편, PC12 신경세포에 L-glutamate와 각각의 생약 열수추출물(50, 100 μg/mL)을 동시에 처리한 경우, L-glutamate 단독처리구에 비하여 감초, 계피, 길경, 박하 열수추출물 100 μg/mL 농도에서 세포생존율이 67.8%($p<0.05$), 73.6% ($p<0.01$), 75.9%($p<0.01$), 70.7%($p<0.05$)로 통계적 유의차를 나타내었다. 대부분의 생약추출물에서 농도별 효과는 관찰되지 않았으나, 계피 열수추출물의 경우 50 μg/mL에서 66.8%의 생존율을 나타내었다($p<0.05$). Ahn 등(21)은 치매 원인 물질로 알려진 β-amyloid를 이용하여 독성을 유발시킨 신경세포에 감초 물추출물을 처리한 결과, 신경세포사멸이 억제되었다. 또한, cerebellar granule cell을 이용한 Shimada 등(22)의 연구에서 계피 물추출물은 L-glutamate에 의한 세포사멸을 회복시키는 것으로 보고함에 따라 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 그러나, 신경세포 보호 효과에 대한 원인을 규명하기 위해서는 분자생물학적인 접근 방법과 동시에 그에 대한 반응 메카니즘을 밝히기 위한 후속 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

이상의 결과들을 종합해 볼 때, 갈근 등의 총 20여종 생약추출물 중 감초가 AChE 효소 저해,지질과산화물 생성 억제 및 신경세포보호 효과가 높아 퇴행성 질환의 하나인 치매 예방 가능성을 보여주었으며, 향후 생리활성물질 구명 및 인지기능개선 효과에 대한 분자수준의 심도있는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

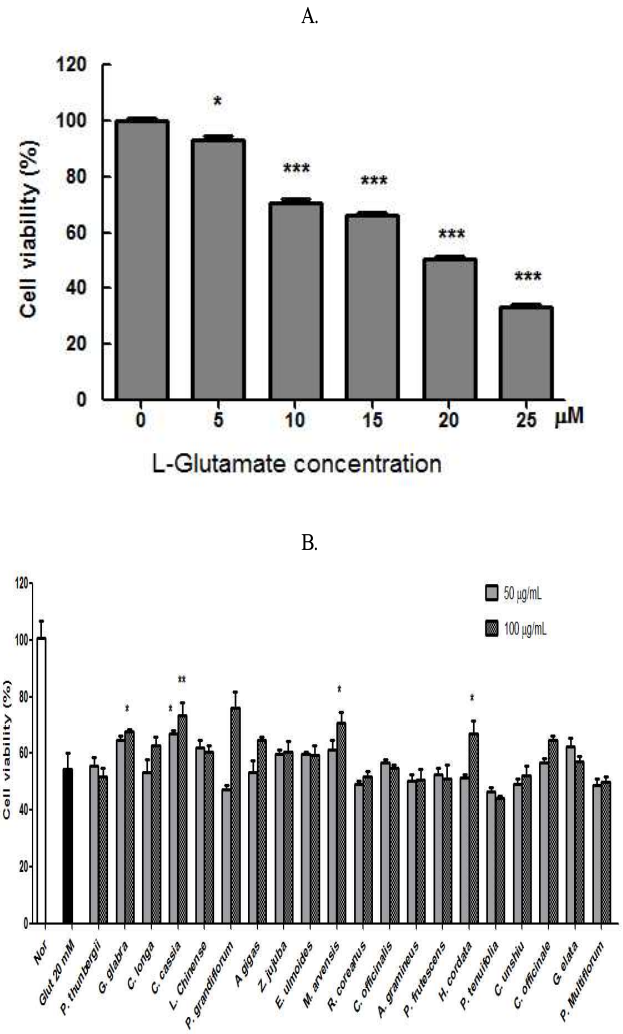

Fig. 3. Protective effect of medicinal plant extracts against L-glutamate-induced cell death in PC12 cell.

(A) Effects of L-glutamate on the viability of PC12 cells was estimated. (B) Cells were treated with 20 mM L-glutamate and various medicinal plant extracts for 48 hr. Cell viability was determined by MTT assay and expressed as the percentage of value obtained in the vehicle-treated normal group. Statistical significant was estimated by Tukey's test (*$p<0.05$, **$p<0.01$; compared with L-glutamate only treated group)

요 약

본 연구에서는 20종 생약 열수추출물의 AChE 활성, 산화 스트레스로 인한 지질 과산화물 생성 억제능 및 뇌신경 세포 사멸에 대한 보호효과를 비교하였다. AChE의 억제활성은 산수유, 감초, 당귀 열수추출물에서 우수하였으며, 그 중 산수유가 가장 높은 억제율을 나타내었다. 또한 H_2O_2/$FeSO_4$로 산화 스트레스를 유발시켜 생약 열수추출물의 지질과산화물 생성 억제 활성을 조사한 결과 소엽, 하수오, 계피 및 감초 열수추출물에서 높은 항산화 활성을 보였다. L-Glutamate에 의해 유도된 신경세포 독성에 대한 보호효과는 감초, 계피, 길경, 박하 열수추출물의 100 μg/mL 농도에서 관찰되었다. 본 연구를 종합적으로 살펴보았을 때, 감초 열수추출물이 치매 예방 및 개선제로써의 활용가능성이 가장 뛰어난 것으로 판단된다. 향후 치매예방 효능을 가지는 새로운 화합물 발굴을 위한 기초자료로 활용될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 연구비 지원(10033818)으로 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

References

1. 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
2. Howes MJ R, Hounghton P (2003) Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. Pharmacol Biochem Behav, 75, 513-527
3. Block F, Pergande G, Schwarz M (1997) Flupirtine reduces functional deficits and neuronal damage after global ischemia in rats. Brain Res, 754, 279-284
4. Beal F (1995) Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative diseases. Ann Neurol, 38, 357-366
5. Coyle JT, Price DL, DeLong MR (1983) Alzheimer's disease: a disorder of cholinergeric innervation. Science, 219, 1184-1190
6. Talesa VN (2001) Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. Mech Aging Dev, 122, 1961-1969
7. Kwon YE (2007) Inhibitory protency of acetylcholinesterase and amyloid beta (1-42) peptide aggregation to the extracts of enthusiasm reducing herbals. Kor J Pharmacogn, 38, 308-311
8. Kim HJ, Lee SR (2008) The effects of Kakamboyanghwanoh-tang and Palmihapchongmung-tang (PMCMT) on protecting microglia and inhibiting acetylcholinesterase and oxidants. J Orient Nueropsychiatry, 19, 65-75
9. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-Stone RM (1961) A new and rapid colormetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol, 7, 88-95
10. Ohkawa H. Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem, 95, 35-41
11. Jeong HR, Kwak JH, Kim JH, Choi GN, Jeong CH, Heo HJ (2010) Antioxidant and neuronal cell protective effects of an extract of *Houttuynia cordata* Thunb (a Culinary Herb). Korean J Food Preserv, 17, 720-726
12. Giacobini E (2004) Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. Pharmacol Res, 50, 433-440
13. Shao D, Zou C, Luo C, Tang X, Li Y (2004) Synthesis and evaluation of tacrine-E2020 hybrids as acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimers disease. Bioorg Med Chem Lett, 14, 4639-4642
14. Kim JS, Kim YS, Kim SK, Heor JH, Lee BH, Choi BW, Ryu GS, Park EK, Zee OP, Ryu SY (2002) Inhibitory effects of some herbal extracts on the acetylchloinesterase (AChE) *in vitro*. Kor J Pharmacon, 33, 211-218
15. Park CH, Choi SH, Koo JW, Seo JH, Kim HS, Jeong SJ, Suh YH (2002) Novel cognitive improving and neuroprotective activities of *Polygala tenuifolia* Willdenow extract, BT-11. J Neurosci Res, 70, 484-492
16. Ikeya Y, Takeda S, Tunakawa M, Karakida H, Toda K, Yamaguchi T, Aburada M (2004) Cognitive improving and cerebral protective effects of acylated oligosaccharides in *Polygala tenuifolia*. Biol Pharm Bull, 27, 1081-1085
17. Joshi YB, Praticò D (2012) Vitamin E in aging, dementia, and Alzheimer's disease. Biofactors, 38, 90-97
18. Galasko DR, Peskind E, Clark CM, Quinn JF, Ringman JM, Jicha GA, Cotman C, Cottrell B, Montine TJ, Thomas RG, Aisen P (2012) Alzheimer's disease cooperative study. Antioxidants for Alzheimer disease: a randomized clinical trial with cerebrospinal fluid biomarker measures. Arch Neurol, 69, 836-841
19. Chua MT, Tung YT, Chang ST (2008) Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. Bioresour Technol, 99,

1918-1925

20. Naito M, Umegaki H, Iguchi A (1995) Protective effects of probucol against glutamate induced cytotoxicity in neuronalcell line PC 12. Neurosci Lett, 186, 211-213
21. Ahn JY, Kim S, Jung SE, Ha TY (2010) Effect of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) on amyloid-β-induced neurotoxicity in PC12 cells. Food Sci Biotechnol, 19, 1391-1395
22. Shimada Y, Goto H, Kogure T, Kohta K, Shintani T, Itoh T, Terasawa K (2000) Extract prepared from the bark of *Cinnamomum cassia* Blume prevents glutamate-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells. Phytother Res, 14, 466-468

(접수 2013년 8월 28일 수정 2013년 10월 22일 채택 2013년 10월 29일)