



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

Master's Thesis

**Characterization of Functional  
material in Steamed-  
*Codonopsis lanceolata* extract**

**Kwan Woo Jeon**

Department of Biotechnology

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

December, 2017

# 증속과정에 따른 더덕의 기능성 물질 특성 분석

지도교수 김 재 훈

전 관 우

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2017 년 12 월

전관우의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 이 동 선 ㉠

위 원 김 용 우 ㉠

위 원 김 재 훈 ㉠

제주대학교 대학원

2017 년 12 월

# **Characterization of Functional material in Steamed- *Codonopsis lanceolata* extract**

**Kwan Woo Jeon**

(Supervised by Professor Jae Hoon Kim)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement

For the degree of Master of Science

December, 2017

This thesis has been examined and approved.

---

**Chairperson of the supervising committee**

**Dong- Sun Lee, Ph.D., College of Applied Life Sciences, Jeju National University**

---

**Yong Woo Kim, Ph.D., Subtropical/Tropical Organism Gene Bank, Jeju National University**

---

**Jae Hoon Kim, Ph.D., College of Applied Life Sciences, Jeju National University**

Department of Biotechnology

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

# CONTENTS

<b>CONTENTS.....</b>	<b>i</b>
<b>LIST OF FIGURES.....</b>	<b>iii</b>
<b>LIST OF TABLES.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>2</b>
<b>2. MATERIALS AND METHODS.....</b>	<b>4</b>
2.1. 증숙더덕 제조.....	4
2.2. 추출물 제조.....	4
2.3. DPPH 자유라디칼 소거활성.....	5
2.4. 총 폴리페놀 함량 분석.....	5
2.5. 총 플라보노이드 함량 분석.....	6
2.6. HPLC 및 LC-MS/MS 분석.....	6
2.7. 더덕 사포닌 UPLC 분석.....	7
2.8. 지브라피쉬 비알콜성 지방간 저해 실험.....	7
<b>3. RESULTS .....</b>	<b>9</b>
3.1. DPPH 자유라디칼 소거활성 측정.....	9
3.2. 총 폴리페놀 함량분석.....	10
3.3. 총 플라보노이드 함량분석.....	11
3.4. 더덕 사포닌 lancemaside 함량분석.....	12

3.5. 증속더덕 추출물의 비알콜성 지방간 억제효능.....	14
3.6. 증속더덕의 HPLC 및 LC-MS/MS 분석.....	20
<b>4. CONCLUSION.....</b>	<b>24</b>
<b>5. REFERENCES.....</b>	<b>26</b>
<b>SUPPLEMENTARY DATA.....</b>	<b>32</b>
<b>ABSTRACT IN ENGLISH.....</b>	<b>40</b>

## LIST OF FIGURES

**Figure 1.** The lancemaside compounds analysis result of steamed *Codonopsis lanceolata*

**Figure 2.** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development for 24H

**Figure 3.** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development for 48H

**Figure 4.** Comparison of triglyceride contents in blood by SCE

**Figure 5.** Inhibition effect of SCE on the fatty liver.

**Figure 6.** HPLC analysis of SCE according to GEO steaming process.

**Figure 7.** LC-MS/MS chromatograms of pyrogallol.

**Figure 8.** LC-MS/MS chromatograms of Delta-tridecalactone.

## LIST OF TABLES

**Table 1.** DPPH scavenging activity of the SCE (EC50)

**Table 2.** Total phenolic content of the SCE

**Table 3.** Total flavonoid content of the SCE

**Table 4.** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development rate for 24H

**Table 5.** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development rate for 48H



## ABSTRACT

본 연구에서는 증숙과정을 통해 더덕의 기능성 물질 변화에 대한 특성을 조사하였다. 열풍 건조 더덕을 두 가지 방법(초고압 멸균기(LAB), 증숙기(GEO))으로 각각 반복 증숙을 하고 에탄올 추출물을 확보하여 항산화 효능, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 비교하였다. 증숙 단계별 추출물을 열풍건조 더덕과 비교분석 하였을 때, 항산화 효능은 최대 5배, 폴리페놀 함량은 최대 4배, 플라보노이드 함량은 최대 2배 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. LC-MS/MS 분석을 통한 사포닌 계열의 lancemaside 분석 결과, lancemaside A의 함량이 가장 높게 나타났고, 증숙조건에 따라 함량이 증가 하거나 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 증숙더덕 추출물들은(LAB6, GEO5\_5ug/ml) 지브라피쉬에서 지방간 억제 효능을 보여주었다. 또한, 증숙더덕 추출물은 지방간 유도물질인 Tamoxifen으로 증가된 지브라피쉬의 혈액 중 triglyceride의 양을 감소시켰고, 간에 축적되는 지방의 양도 정상 수치로 낮추는 것을 확인하였다. 증숙더덕 추출물의 HPLC 및 LC-MS/MS 분석을 통하여 Delta-tridecalactone과 pyrogallol이 증숙과정을 통해 증가되고 있음을 본 연구를 통하여 처음으로 밝혀내었다. Delta-tridecalactone은 암세포의 invasion 저해에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, pyrogallol은 항산화 활성이 우수한 것으로 보고되어있다. 결과적으로 증숙공정이 진행됨에 따라서 이러한 기능성 물질들이 변화되고, 증숙더덕의 생리활성에도 영향을 미치고 있음을 밝혀내었다.

# 1. INTRODUCTION

오늘날 현대인들의 질병의 가장 큰 원인으로서는 스트레스, 운동부족, 과량의 활성산소 발생, 비만 등을 들 수 있다. 증가된 활성산소는 DNA를 파괴하고 체내의 효소를 불활성화시키며 세포막을 공격하기 때문에, 생체기능의 저하와 노화를 유발한다. 또한 비만은 고혈압, 피부 질환, 당뇨병, 고지혈증, 지방간, 담석증, 관절염 등을 야기한다(Fang et al., 2002; Lee et al., 2010). 건강에 대한 관심이 많아지는 요즘, 건강 기능성 식품들에 대한 개발이 활발히 이루어지고 있다. 특히 천연물로부터 유래된 유용성분들은 인체에 대한 거부감 및 부작용이 적은 것으로 인식이 되어 선호도가 높다. 천연 추출물들을 활용하여 항산화 방어 시스템을 활성화 시키거나, 기능성 소재 개발을 통하여 직접적으로 활성산소를 제거하고자 하는 연구들이 전 세계적으로 활발하게 추진되고 있으며 국내에서도 중요한 국가 정책으로 추진되고 있다. 더덕(*codonopsis lanceolata*)은 한국, 중국, 일본의 해발 300m 이상 산간지역에서 주로 자라는 초롱꽃과(Campanulaceae)에 속하는 다년생 덩굴성 식물로서(Kim et al., 2010), 예로부터 변비예방, 항암, 혈압강하, 해소 및 거담 등 호흡기 질환의 치료는 물론 병후회복, 유즙분비 촉진 등 약용으로 사용되어왔다(Cho et al., 2011). 더덕의 뿌리는 항산화, 항균, 항염증, 면역활성 등의 다양한 효능을 갖고 있으며, 인삼의 대용으로 진해, 거담, 혈적, 경기 및 두통 완화를 위한 전통요법으로 자주 쓰여 왔다(Lee et al., 2003). 특히 한국산 더덕의 뿌리 추출물을 투여한 쥐에서, 심리적 스트레스에 의하여 감소되는 것으로 알려진 남성 호르몬(testosterone) 감소를 억제하는 연구가 보고되었으며, 남성 갱년기 증후군

(PADAM-like symptoms)의 주요 원인이 되는 호르몬인 androgen의 부분적 결핍을 개선한다는 연구가 보고되었다(Ushijima M et al., 2007). 더덕 뿌리의 주요 성분으로 polyphenol, saponin, tannin, triterpene, alkaloid, steroid계 화합물을 함유하고 있다. 한국산 더덕 뿌리에서 7종류의 3,28-bidesmosidic triterpenoid 사포닌이 분리되었으며, 더덕의 대표적인 triterpenoid 사포닌으로 알려진 lancemaside A는 대장염을 유도한 쥐에서 염증인자 단백질 (NF- $\kappa$ B)을 억제하여 대장염을 완화시킨다는 보고가 있다(Joh et al., 2009; Kim et al., 2014). 더덕 추출물은 현대사회에서 각종 성인병의 원인으로 지적되는 고지방식으로 인한 고지혈증에 대한 억제 효능 뿐만 아니라 면역세포 활성화 성분을 함유하고 있으며 암세포에 대한 사멸효과를 보인다는 보고 등이 있다(Ryu., 2008). 더덕에 관한 기존의 연구가 주로 재배 및 육종에 관한 내용인 반면, 최근에는 더덕의 가공 및 기능성 향상을 위한 연구가 더 많은 관심을 갖고 진행되어 왔다. 따라서 더덕의 유효성분 함량을 증진하고 생리활성 작용을 향상시킬 수 있는 더덕 가공법의 개발이 계속적으로 요구된다. 제주의 대표적인 약용작물인 더덕을 활용한 선호도 높은 천연물 유래 기능성제품 개발에 기여하고자 증숙과정에 따른 기능성 물질 특성 분석을 실시하였다.

## 2. MATERIALS & METHODS

### 2.1. 증숙더덕 조제

시료는 제주도 제주시 지역에서 구매한 생더덕을 흐르는 물로 깨끗하게 세척한 후 열풍건조기(경동나비엔)로 건조를 실시하여 시료로써 사용하였다. 증숙공정은 2가지 방법으로 진행하였으며, 첫 번째 조건은 증숙기(Geolife)를 이용하여 128℃에서 20분간 0.06Mpa 압력으로 증숙 후 130℃에서 60분간 0.01Mpa 이내의 압력으로 진공을 걸어주는 방법으로 증숙가공을 실시한 후 24시간 건조시킨 다음 위와 같은 증숙 가공 공정을 9번 반복하여 열풍건조더덕(0차)와 5종류의 1차, 3차, 5차, 7차, 9차 증숙더덕을 확보하였고, 두 번째 조건은 초고압 멸균기(DAIHAN scientific co.Ltd, WAC-60)를 이용하여 108℃에서 90분동안 0.06Mpa 압력으로 증숙가공을 실시한 후 건조기(Wiseven, wisd. Laboratory instruments)에서 24시간 건조 시킨 다음 위와 같은 공정을 9번 반복하여 열풍건조더덕(0차)와 9종류의 (1차~9차) 증숙더덕을 확보하였다.

### 2.2. 추출물제조

증숙더덕을 분쇄기(MF10 basic, IKA, Germany)로 곱게 갈아 분쇄된 시료 10g에 10배수 (W/V)의 80% EtOH(100mL)을 가하여 60℃ 수욕상에서 24시간 동안 추출하였다. 용매 추출 후 확보한 상등액은 0.22um 필터를 사용하여 불순물이 제거된 더덕 추출물을 확보하였고 회전식 진공 농축기(EYELA N-1000, Japan)를 사용하여 농축한 후 동결건조기

(SCANVAC Coolsafe 55-4, Labogene, Denmark)를 사용하여 -54℃에서 24시간 동안 동결건조를 실시하여 분말상태의 시료로 준비하여 실험에 사용하였다.

### 2.3. DPPH 자유라디칼 소거 활성

증숙더덕에 대한 DPPH 자유라디칼 소거활성을 알아보기 위하여 Kim(Ji Seon Kim et al., 2013)방법을 참고하여 실험하였다. 더덕증숙 샘플을 0.2, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8 mg/mL의 농도로 조절을 하여 96well plate에 80 $\mu$ l 와 EtOH에 용해된 0.1mM DPPH을 200 $\mu$ l을 첨가하여 25℃에서 20분 동안 암반응을 실시하였다. 반응이 끝나면 525nm에서 분광광도계 (Sunrise,Tecan, Salzburg, Austria)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

DPPH radical scavenging activity(%)= (1-(시료 흡광도/대조구흡광도))  $\times$  100

### 2.4. 총 폴리페놀 함량분석

총 폴리페놀 함량은 Cheung(Cheung et al., 2003) 방법을 변형하여 측정하였다. 각각의 증숙더덕 추출물을 1mg/mL의 농도로 용해한 시료 125 $\mu$ l에 3차 증류수 1.375mL을 첨가한 후, Folin-Ciocalteu's phenol reagent (2N) 500 $\mu$ l를 추가한 다음 실온에서 5분간 암반응시킨 후 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 1mL 추가한 다음 실온에서 30분동안 암반응 시킨후 분광광도계 (Sunrise,Tecan, Salzburg, Austria)를 이용하여 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량은 표준물질 Gallic acid를 사용하여 얻은 검량선을 총 폴리페놀의 함량(mg GAE/g)을 산출하였으며 실험은 3회 반복 수행하여 평균값으로 표시하였다.

## 2.5. 총 플라보노이드 함량분석

총 플라보노이드 함량은 Zhishen(Zhishen et al., 1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 증숙더덕 10mg/mL의 농도로 용해한 시료 40 $\mu$ l를 5% NaNO<sub>2</sub> 6 $\mu$ l와 3차 증류수 80 $\mu$ l를 혼합하여 5분간 반응시키고 10% AlCl<sub>3</sub> 12 $\mu$ l를 첨가하여 다시 6분간 반응시킨 후 1M NaOH 40 $\mu$ l와 3차 증류수 42 $\mu$ l를 섞어 510nm에서 분광광도계(Sunrise, Tecan, Salzburg, Austria)를 이용하여 측정하였다.

함량은 표준물질 Gallic acid를 사용하여 얻은 검량선을 총 폴리페놀의 함량(mg GAE/g)을 산출하였으며 실험은 3회 반복 수행하여 평균값으로 표시하였다.

## 2.6. HPLC 및 LC-MS/MS 분석

더덕 증숙 추출물별 물질의 변화를 알아보기 위해서 HPLC를 이용하여 각 샘플을 분석하였다. 샘플을 분석용 Methanol에 녹여 0.22 $\mu$ m 실린지 필터로 여과하여 추출물을 5mg/mL 및 injection volume 20 $\mu$ l로 측정하였다. HPLC 기기는 SHIMADZU(JAPAN), column은 Hydrosphere C18 (250 $\times$ 4.60 mm, 5 $\mu$ m)을 이용하였고 LC-MS/MS 기기는 Agilent 1260 HPLC+Agilent 6520 Q-TOF, column은 Agilent SB-Aq RRHD(100 $\times$ 2.1mm, 1.8 $\mu$ m)을 이용하였다. 이동상으로는 HPLC grade Water에 0.1% formic acid를 넣은 이동상 A와 HPLC grade acetonitrile에 0.1% formic acid를 넣은 이동상 B를 사용하였다. 용출조건은 B Gradient 0-10분(B:20%), 10-20분(B:40%), 20-25분(B:70%), 25-27분(B:70%), 27-30분(B:20%)으로 실시하였다. HPLC 분석시 사용한 유속은 1mL/min이며 LC-MS/MS

분석시 사용한 유속은 500ul/min, Column 온도는 40℃, 흡광도는 280nm에서 측정을 실시하였다.

## 2.7. 더덕 사포닌 UPLC 분석

더덕증숙 추출물별 lancemaside의 함량 변화를 알아보기 위해서 UPLC를 이용해 각 샘플을 분석하였다. 샘플을 분석용 Methanol에 녹여 0.22μm 실린지필터로 여과하여 추출물을 1mg/mL 및 injection volume 2μl로 측정하였다. UPLC 기기는 Waters ACQUITY H-Class UPLC (Waters Corp, Milford, MA, USA)를 사용하였으며, MS instrument로는 Waters Xevo G2-S QTOF MS (Waters Corp.), column은 ACQUITY BEH C18 column(2.1mm×100mm, 1.7μm)를 이용하였다. 이동상으로는 HPLC grade Water에 0.1% formic acid를 넣은 이동상 A와 HPLC grade acetonitrile에 0.1% formic acid를 넣은 이동상 B를 사용하였다. 용출조건은 B Gradient 0-3분(B:10%), 3-11분(B:20%), 11-20분(B:23%), 20-21분(B:95%), 21-25분(B:10%), 유속은 500μl/min, 흡광도는 280nm으로 분석을 실시하였다.

## 2.8. 지브라피쉬 비알콜성 지방간 저해 실험

성숙한 지브라피쉬는 14:10 시간의 낮과 밤의 주기로 28.5℃의 수온을 유지 및 폐쇄 순환 여과 시스템을 갖춘 수조에서 사육하였고(Kimmel et al.,1995; Westerfield, 1993), 20 L 수조에 3~5 마리 넣고 살아있는 brine shrimp (San Francisco BayBrand, Inc., Newark, CA, USA)를 하루에 3 번 먹이를 주었다. 생육온도는 적정온도인 28.5℃의 수온을 유지한

어항에서 사육하였다(Seung et al., 2013). 이후 성숙한 지브라피쉬 암수를 알 채취용 수조에 넣고 다음날 광주기 시기 1~2 시간 이후에 알을 채취하여 지브라피쉬 배아 배지에 넣고 24 시간 발생 시킨 후, 각 샘플을 농도별로 처리를 하였다. 샘플 처리 시 장막의 샘플 투과 정도를 알 수 없기에 장막에 구멍을 내어 처리하였고, 샘플 처리 후 24 시간 이후 샘플의 독성이 나타난 알은 제거하고, 나머지 알의 장막을 완전 제거 후 2 번째 샘플을 처리하였다. 샘플 처리 48 시간 이후에 대조구, 샘플 처리구의 발생정도를 실체 현미경으로 관찰 하였다. 이후 혈중 triglyceride 및 지방간 형성 억제 정도를 관찰 하였다(Seung et al., 2013).



### 3. Results

#### 3.1. DPPH 자유라디칼 소거활성 측정

라디칼은 인체 구성물질의 산화를 유도하여 노화 및 다양한 질병을 유도하는 것으로 DPPH 라디칼 소거능은 항산화 활성을 측정하는데 가장 널리 사용되는 방법이다. DPPH는 화학적으로 유도되는 비교적 안정한 라디칼로서 항산화제, 방향족 아민류에 의한 전자 공여에 의해 지질 과산화 연쇄 반응에 관여하는 산화성 자유라디칼의 억제 정도를 측정하는 방법으로 어떠한 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 자색이 탈색되어 색이 연해진다 (Ancerewicz et al., 1998; Choi et al., 2006). 증숙 단계별 더덕의 자유라디칼 소거능은 초고압멸균기(LAB)와 증숙기(GEO)를 이용하여 제작한 증숙더덕 모두에서 증숙이 진행될수록 항산화 활성이 크게 증가하였다. 초고압 멸균기로 제작한 증숙더덕의 경우 6차와 8차의 EC50값은 1.38과 1.37mg/mL로 낮은 농도를 보였다. 이러한 수치는 증숙 전의 더덕(열풍 건조 더덕,0차)에 비해 약 2.4배 항산화 활성이 증가되었다는 것을 보여주고 있다. 증숙기(GEO)로 제작한 증숙더덕의 경우 7차와 9차의 EC50값이 0.7mg/mL으로 증숙전의 더덕에 비해 5배 이상 높은 항산화 활성을 보였다(Table 1).

**Table 1.** DPPH scavenging activity of the SCE<sup>1)</sup> (EC<sub>50</sub>) (mg/mL)

	0차	1차	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차	9차
초고압멸균기 (LAB)	3.10±0.73	2.80±0.10	1.74±0.06	1.77±0.06	1.43±0.02	1.48±0.04	1.38±0.00	1.47±0.04	1.37±0.03	1.42±0.03
증숙기 (GEO)	3.80±0.10	1.40±0.10		0.99±0.10		0.90±0.10		0.70±0.10		0.70±0.10

1) SCE; Steamed Codonopsis lanceolata Extract

### 3.2. 총 폴리페놀 함량분석

증숙더덕의 총 폴리페놀성 화합물의 함량은 증숙더덕 제작 방법에 관계없이 증가되는 것을 보여주고 있다 (Table 2). 특히 초고압멸균기(LAB)를 활용한 증숙더덕의 경우, 6차에서 29.65mg/g로 증숙 전 더덕에 비해 약 3배정도 높은 폴리페놀 함량을 보여주고 있으며, 증숙기(GEO)를 활용한 증숙더덕의 경우 9차에서 44.02mg/g으로 증숙전이나 초고압 멸균기(LAB)에서 증숙한 더덕에 비해 최고 4배까지 높은 폴리페놀 함량을 보여주고 있다. 이와 같은 결과로 볼 때 증숙기(GEO)를 활용하여 9차례 증숙을 진행한 증숙더덕의 폴리페놀 함량이 가장 높다는 것을 알 수 있었으며, 이는 증숙더덕 추출물에 페놀성 화합물이 함유되어 있어, 증숙가공 처리에 의하여 더덕의 유용활성물질이 더 효과적으로 용출되는 것으로 판단된다. 이러한 페놀성 화합물은 가용성 식물에 널리 분포하여 항산화능을 포함해 다양한 생물학적 효능을 나타내는데, 이들의 효능은 주로 산화환원력에 의한 것이라고 밝혀져 있다(Rice-Evans et al., 1997; Perron et al., 2009). 이와 같은 결과로 보았을 때, 페놀성 화합물을 함유하고 있는 증숙더덕 추출물은 증숙 전 더덕에 비해 높은 항산화 효능을 가진다고 판단된다.

**Table 2.** Total phenolic content of the SCE ( mg GAE<sup>1)</sup>/g)

	0차	1차	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차	9차
초고압멸균기 (LAB)	11.65±3.41	12.91±5.37	19.91±3.29	18.84±4.43	24.36±4.59	23.65±5.51	29.54±3.80	28.65±0.96	28.17±3.71	26.47±3.16
증숙기 (GEO)	11.65±3.41	22.39±1.86		33.02±3.13		33.47±1.07		41.91±4.87		44.02±3.79

1) Total phenolic content was expressed as mg/g gallic acid equivalent(GAE)

### 3.3. 총 플라보노이드 함량분석

플라보노이드는 식물에 의해 합성된 페놀성 화합물로 노란색, 담황색 및 적자색을 띠는 색소 화합물로서 식물 중에는 대부분 당과 결합된 배당체 형태로 존재한다. 이들은 활성 산소를 효과적으로 제거하여 심장질환, 항암 또는 항염과 같은 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있다(Williams et al.,2004; Jeong, 1991). 증숙더덕의 총 플라보노이드 함량은 총 폴리페놀 함량과 유사하게 증가하는 것을 알 수가 있다 (Table 3). 초고압멸균기(LAB)를 활용한 증숙더덕의 경우 총 폴리페놀과 동일하게 6차와 8차에서 0.74와 0.79mg/g으로 가장 높게 나타났으며, 증숙기(GEO)의 경우 증숙 횟수가 증가할수록 총 플라보노이드 함량이 증가하여 9차 증숙더덕에서 1.16mg/g으로 열풍건조(0차) 더덕에 비해 2배이상 총 플라보노이드 함량이 증가되는 것을 알 수 있다. 이러한 결과로 볼 때 증숙더덕 추출물의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 증숙기(GEO)를 활용한 샘플에서 초고압멸균기(LAB)보다 높게 나타나는 것을 알 수가 있다.

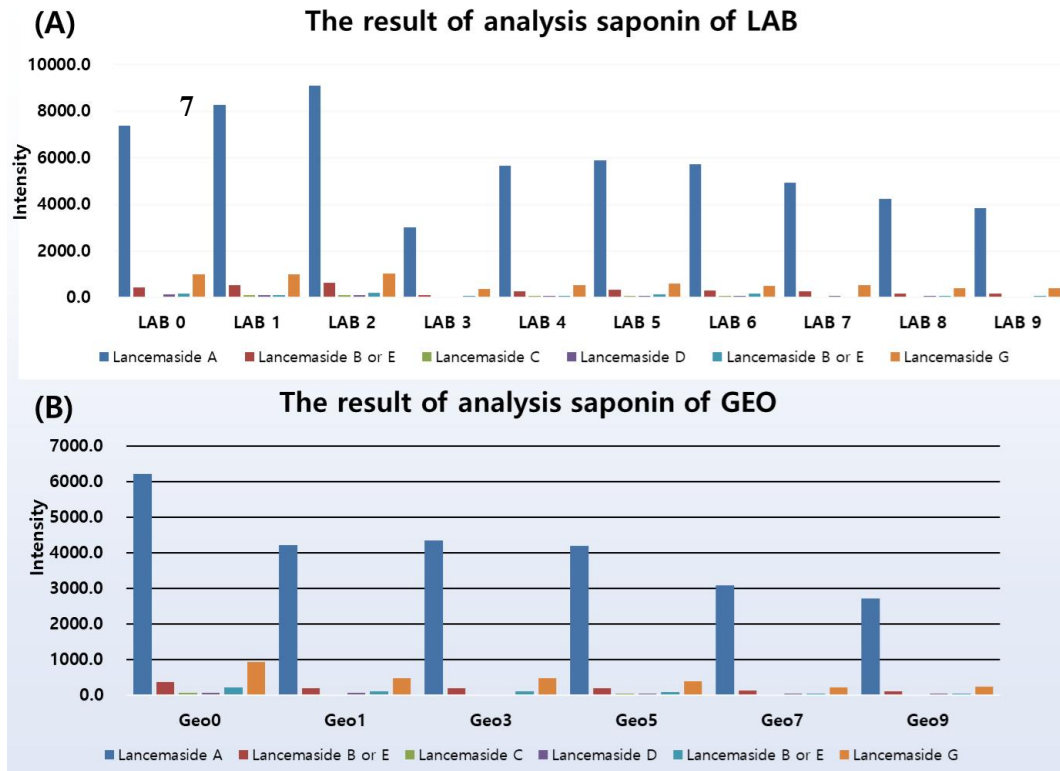
**Table 3.** Total Flavonoid content of the SCE (mg GAE<sup>1)</sup>/g)

	0차	1차	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차	9차
초고압멸균기 (LAB)	0.45±0.006	0.42±0.007	0.54±0.008	0.53±0.009	0.64±0.011	0.65±0.012	0.74±0.012	0.68±0.015	0.79±0.012	0.73±0.01
증숙기 (GEO)	0.51±0.016	0.61±0.032		0.75±0.019		0.76±0.02		1.02±0.026		1.16±0.016

1) Total flavonoid content was expressed as mg/g gallic acid equivalent(GAE)

### **3.4. 더덕 사포닌 lancemaside 함량분석**

증숙더덕 추출물을 갖고 lancemaside 및 성분변화를 LC-MS/MS와 HPLC를 통하여 분석을 실시하였다. Lancemaside 분석을 실시한 결과 증숙 전·후 더덕의 lancemaside A의 함량이 전체 lancemaside 화합물 중에 제일 높은 함량을 보이고 있는데 이러한 결과는 최근에 발표된 더덕 연구들과 동일한 것을 알 수가 있다(Kim et al., 2014). 분석한 결과, LAB 0차에 비해 LAB 2차까지는 lancemaside 화합물의 함량이 증가하는 양상을 보이지만 LAB 3차부터 LAB 9차, 그리고 GEO의 모든 샘플들은 전체적으로 lancemaside 화합물의 함량이 증숙 전 더덕에 비해 감소되는 것을 알 수 있다. 이러한 결과로 볼 때, lancemaside A의 증가를 위한 최적의 증숙 조건은 초고압멸균기(LAB)에서 2차 증숙까지 진행하는 것임을 알 수 있다. 과도한 증숙과정 또는 고압에서의 증숙은 lancemaside 화합물의 감소를 유발시켰다. lancemaside 화합물은 당을 많이 포함하고 있어 다른 물질로 변화될 가능성이 있다. 실제로 인삼에서 증숙을 통하여, fructose, glucose, maltose의 함량과 ginsenoside-Rh2, -RG3 함량이 증가(Kwak et al., 2008)하는 것을 확인하였으며, 이를 통해 다른 물질로 특성이 변화될 것이라고 추측할 수 있다 (Fig 1.).



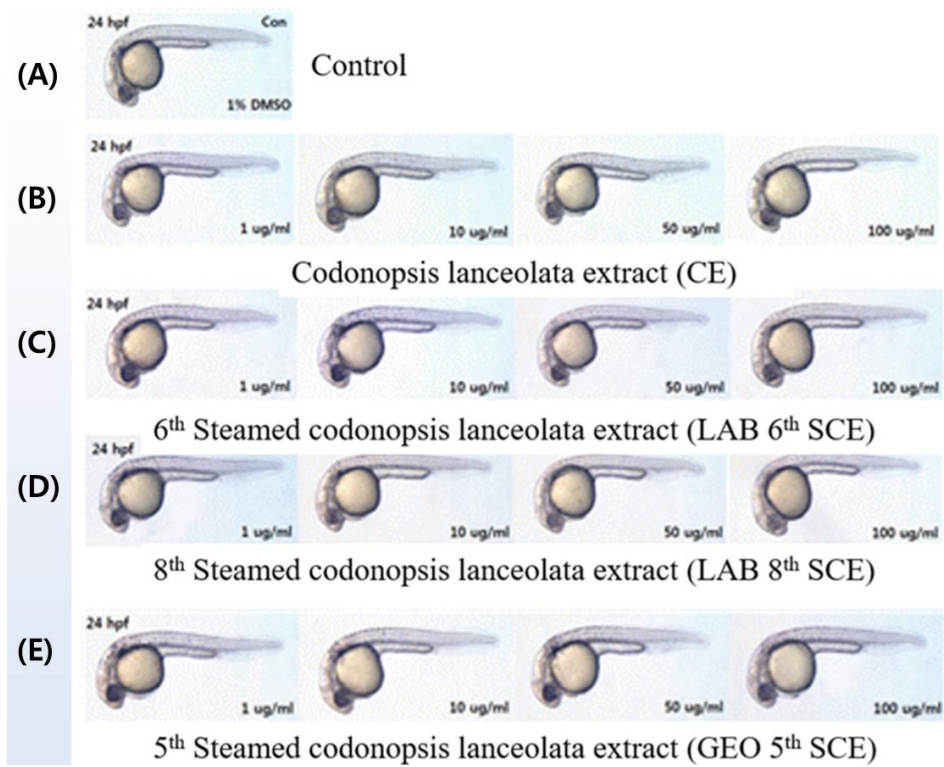
**Figure 1.** The lancemaside compounds analysis result of steamed codonopsis lanceolata. (A) Analysis result of Lab process products (B) Analysis result of Geo process products

### 3.5. 증숙더덕 추출물의 비알콜성 지방간 억제 효능

지브라피쉬는 인간의 유전자 정보와 장기 체계가 유사한 척추동물로써 쉽게 구할 수 있고 빠르게 발생하여 3일 이내에는 투명한 알로 인해 발생의 초기과정을 현미경으로 관찰이 가능하며, 유전학적 조작을 통해 발생에 관여하는 유전자의 식별이 가능하기에 척추동물의 발생을 연구하는 연구자들에게 주요한 동물모델로 뽑히고 있다(Seung et al., 2013). 증숙더덕 추출물(100µg/mL)을 지브라 피쉬 배아에 처리 후 24시간 까지 발생에 이상이 없는 것으로 나타났다 (Fig 2, Table 4). 이러한 결과는 증숙더덕 추출물의 세포내 안정성을 보여준다고 할 수 있다. 지브라피쉬의 성체를 이용한 지방간 억제 효능 분석은 독성 테스트 결과를 바탕으로 하여 5µg/mL과 10µg/mL의 농도로 진행하였다 (Fig 3, Table 5).

**Table 4.** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development rate for 24H.

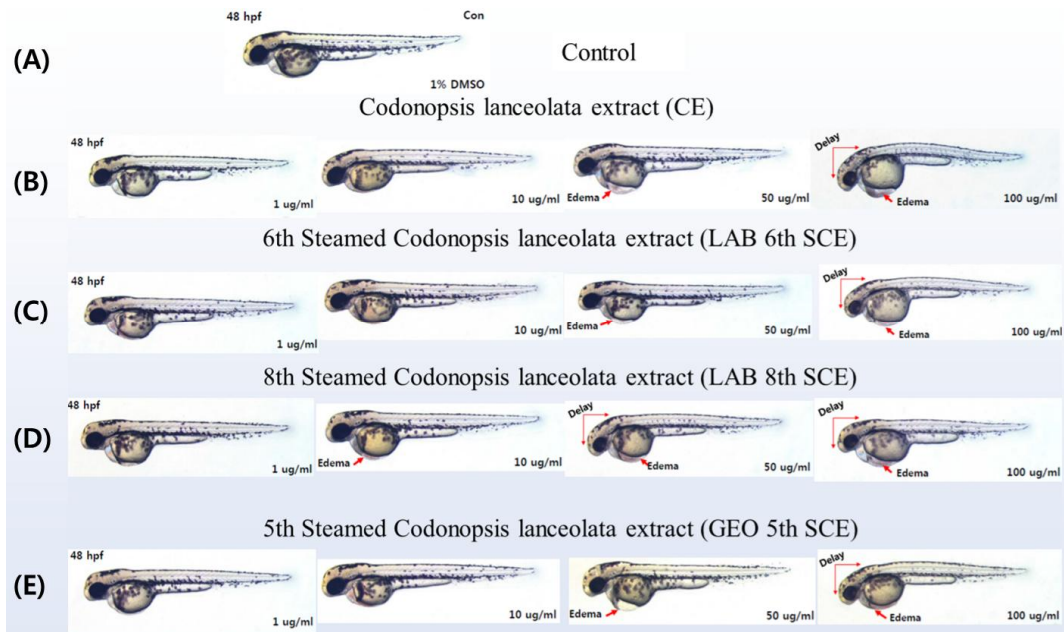
24hpf	control	CE				LAB 6th				LAB 8th				GEO 5th				
Concentration (µg/ml)	1% DMSO	1	10	50	100	1	10	50	100	1	10	50	100	1	10	50	100	
Death																		
Normal development	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
General retardation (delay)																		
Coagulated egg																		
Necrotic tissue																		
Eye development alteration																		
No somite formation																		



**Figure 2.** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development for 24H  
 (A) Control , (B) CE (Codonopsis lanceolata extract) (C) LAB6 (D) LAB8 (E) GEO5

**Table 5** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development rate for 48H.

48hpf	control	CE				LAB 6th				LAB 8th				GEO 5th				
Concentration (ug/ml)	1% DMSO	1	10	50	100	1	10	50	100	1	10	50	100	1	10	50	100	
Death																		
Normal development	10/10	10/10	10/10	3/10		10/10	10/10	4/10		10/10	5/10	3/10		10/10	10/10	2/10		
General retardation (delay)					10/10				10/10			7/10	10/10				10/10	
Coagulated egg																		
Necrotic tissue																		
Eye development alteration																		
Edema				7/10	10/10			6/10	10/10			5/10	7/10	10/10			8/10	10/10
Pigmentation																		
Tail formation																		
Scoliosis																		
Head formation																		



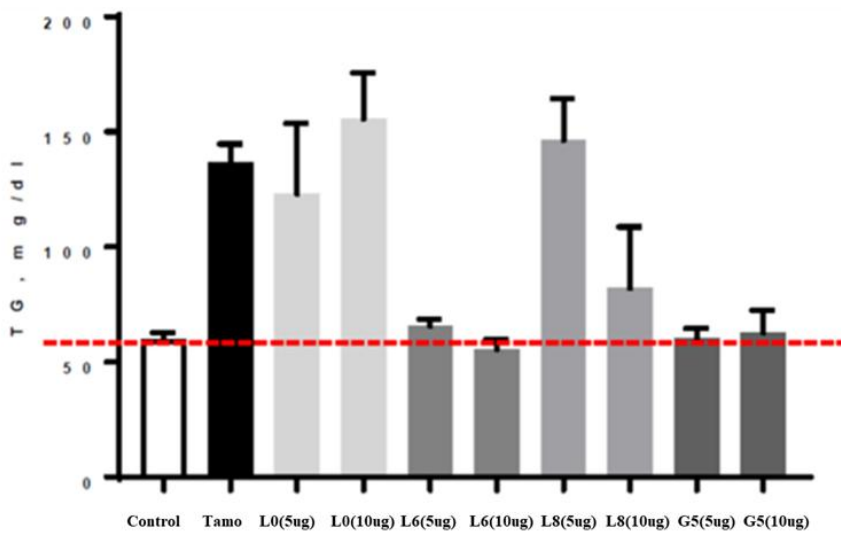
**Figure 3.** Effect of SCE treatment on zebrafish embryo development for 48H

(A) Control, (B) CE, (C)LAB6, (D)LAB8, (E)GEO5

지방간 억제효능에 대한 분석은 Control, 지방간 유도물질 투여구, 증숙더덕 투여구 등으로 나누어서 진행을 하였다. 지방간 유도물질인 Tamoxifen 을 처리한 결과 Control 에

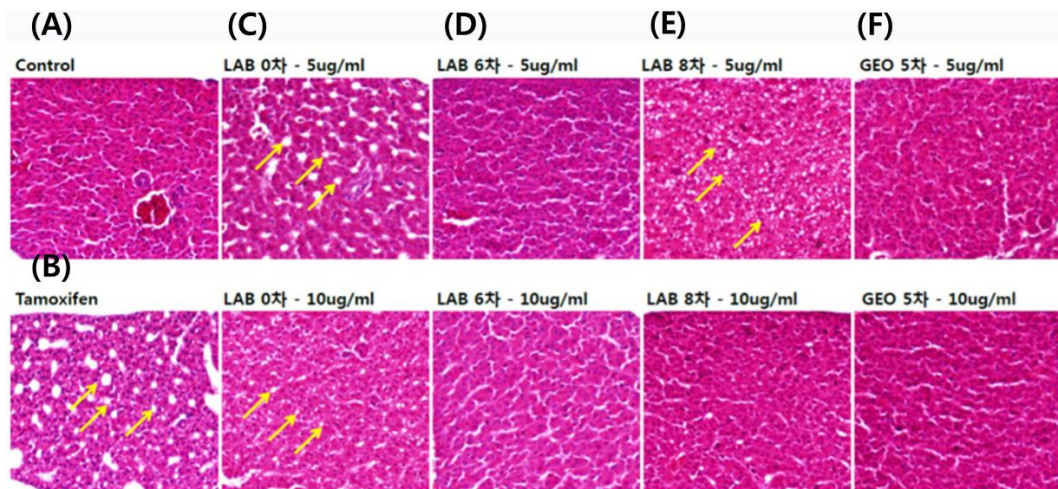


비하여 혈액 내에 지방(Triglyceride, TG)의 양이 2 배 증가하는 것을 확인하였다. 그리고 증숙 전 더덕 추출물(LAB0)의 경우 10 $\mu$ g 까지 처리하여도 의미있는 효과를 볼 수 없었다. 반면, 초고압 멸균기(LAB)로 증숙한 LAB6 에서 얻은 추출물은 tamoxifen 처리한 지브라피쉬에 5 $\mu$ g 투여하였을 경우 Control 과 일치하는 정도로 혈액 내에 지방(TG)의 양이 감소하였다. LAB8 에서 얻은 추출물은 10 $\mu$ g 에서 지방으로 감소를 확인할 수 있어서, LAB6 의 추출물이 지방감소에 효과가 높다고 할 수 있다(Fig 4). LAB6 의 경우 LAB8 에 비하여 항산화 효능, 폴리페놀함량 및 플라보노이드함량 등에 있어서 다소 작거나 비슷하므로, 혈액내의 지방 감소효과는 항산화 효능, 폴리페놀 함량 및 플라보노이드에 의한 효과라기보다는 증숙과정에서 생성된 새로운 물질에 의한 것으로 판단된다(Table 1,2,3). 다른 증숙기(GEO)를 이용한 GEO5 의 추출물의 경우 초고압 멸균기 (LAB)를 이용하여 얻은 LAB6 과 비슷한 정도의 지방억제효능을 보이는 것으로 확인되었다(Fig 4). GEO5 의 경우, 항산화 효능, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량등이 초고압 멸균기(LAB)를 이용하여 얻은 LAB6, LAB8 과 비슷한 점을 보아 항산화 물질, 폴리페놀 및 플라보노이드 이외에 다른 물질이 작용하는 것으로 판단된다.



**Figure 4.** Comparison of Triglyceride Contents in Blood by SCE  
 Tamo; Tamoxifen, L0; LAB0, L6; LAB6, L8; LAB8, G5; GEO5

지브라피쉬의 간을 분리한 후 현미경을 통하여 지방간의 진행 정도를 파악한 결과, Fig 4와 같은 혈액내 지방량 분석에서와 비슷한 결과를 얻을 수 있었다. Tamoxifen의 경우 간에 지방축적을 유도하였고 이러한 지방축적은 LAB6을 처리함으로써 Control과 가깝게 회복을 하였다. GEO5 역시 비슷한 효과를 볼 수 있었다(Fig 5).

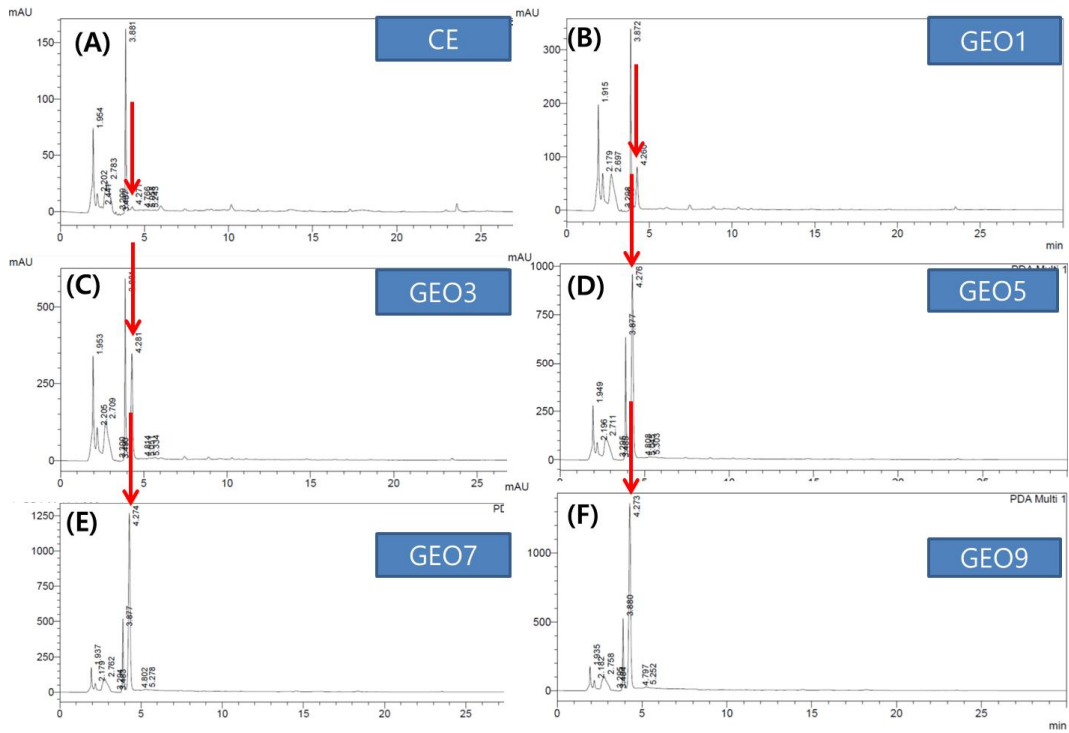


**Figure 5.** Inhibition effect of SCE on the fatty liver

(A) Control, (B) Tamoxifen, (C) LAB0 5 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml, (D) LAB6 5 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml, (E) LAB8 5 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml, (F) GEO5 5 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml.

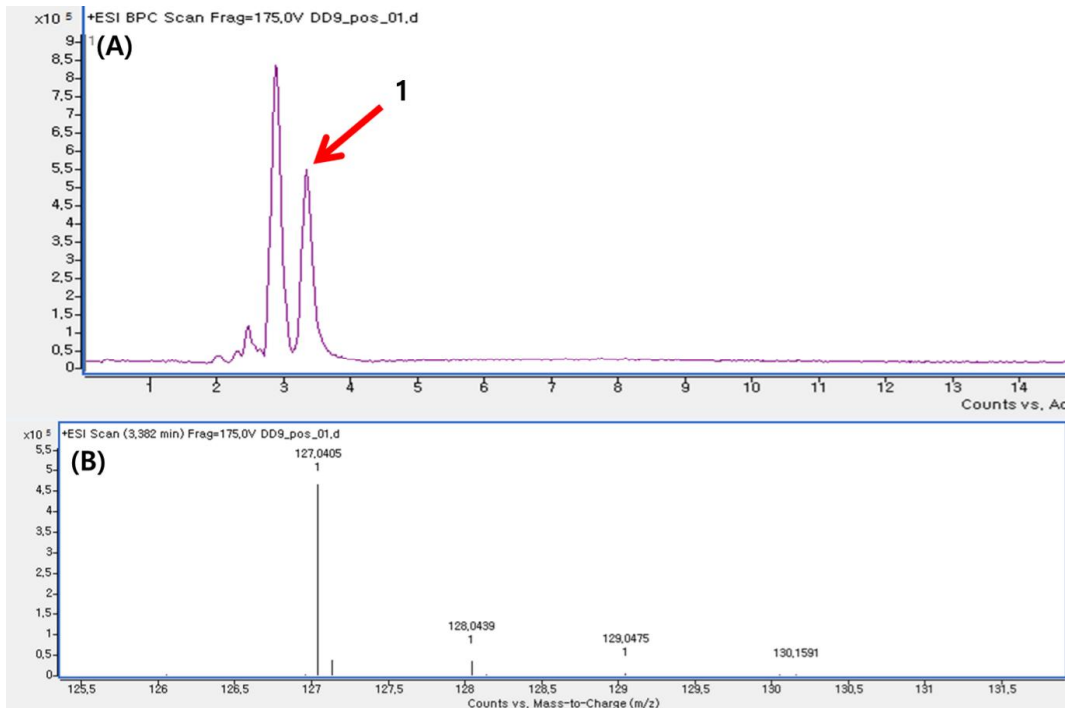
### 3.6. 증숙더덕의 HPLC 및 LC-MS/MS 분석

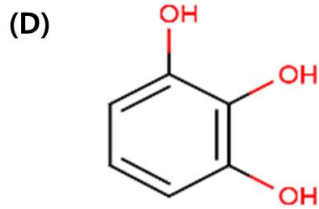
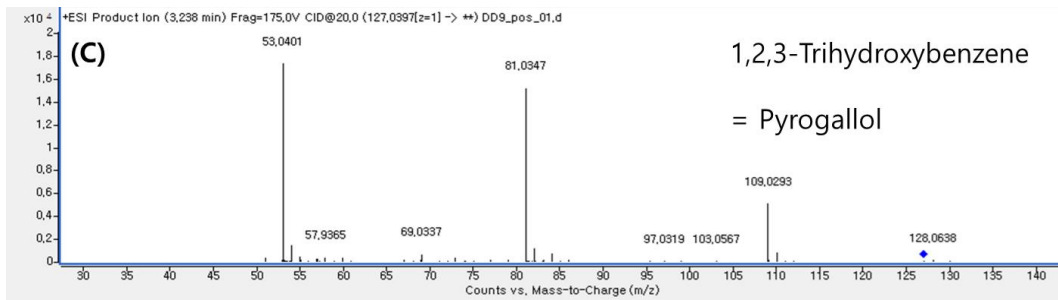
증숙공정을 통한 성분변화를 확인하기 위하여 HPLC 및 LC-MS/MS 분석을 실시하였다. 분석 샘플로는 GEO를 사용하였으며, GEO가 LAB보다 항산화 효과, 총 폴리페놀함량, 총 플라보노이드 함량이 우수하기에 선택하였다. Figure 6에서 보듯이, 증숙이 진행됨에 따라 peak들이 증가하거나 감소하였고, 이는 증숙과정에서 성분변화가 일어나고 있음을 나타낸다. 특히 빨간 화살표로 표시한 피크는 증숙횟수가 증가할수록 함량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig 6). 이 peak를 LC-MS/MS 분석을 통해서 분석한 결과, 두 개의 피크로 분리되었고, LC-MS/MS를 통해 분석을 실시하여 이들 peak가 Delta-tridecalactone 및 pyrogallol을 나타내고 있음을 밝혀내었다(Fig 7, 8). Delta-tridecalactone은 암세포의 invasion 저해효과(Tanaka et al., 2007) 및 향신료의 기능이 있다고 알려져 있으며, pyrogallol은 인간 폐암세포(HAN et al., 2008) 및 박테리아 성장을 저해(Tinh et al., 2016) 하는 것으로 보고되어져 있다.



**Figure 6.** HPLC analysis of SCE according to GEO steaming process.

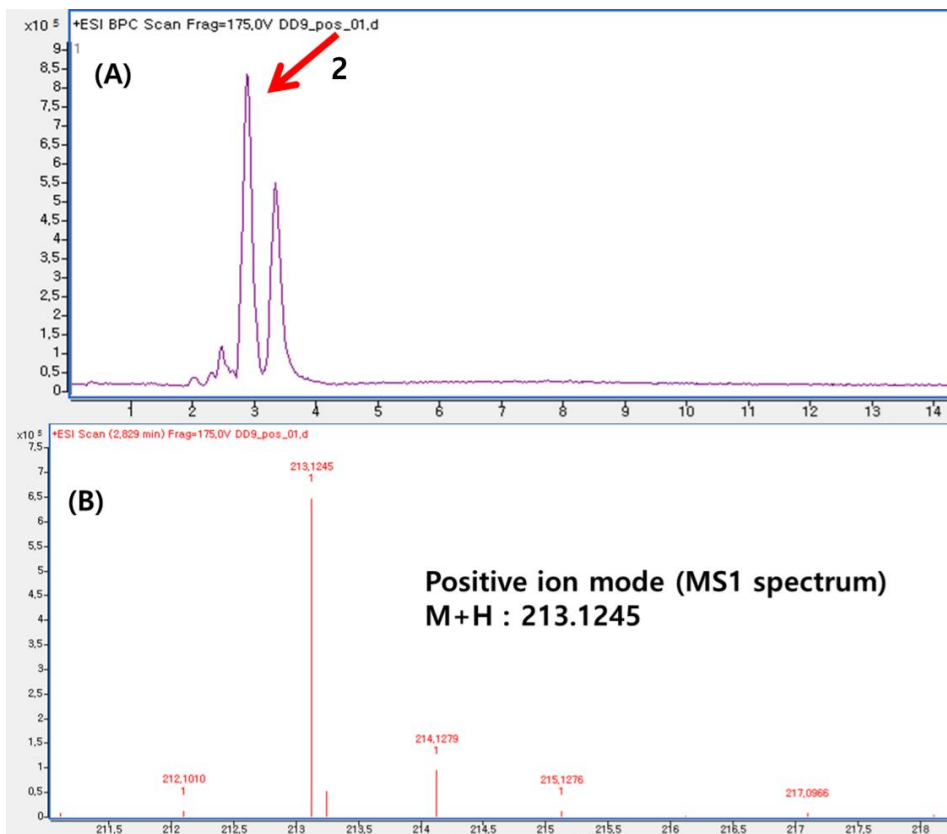
(A) CE; *condonopsis lanceolata*, (B) GEO1, (C) GEO3, (D) GEO5, (E) GEO7, (F) GEO9

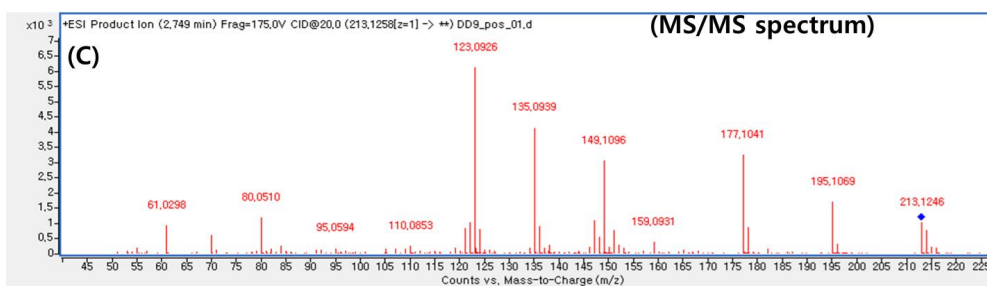




**Figure 7.** LC-MS/MS chromatograms of pyrogallol.

(A) Total ion chromatography, (B) Fragmentation pattern of peak 1 in figure 7 (A) for single mass analysis, (C) Fragmentation pattern peak 1 in figure 7 (A) for double mass analysis, (D) Predicted structure based on MS/MS analysis.





**Figure 8.** LC-MS/MS chromatograms of Delta-tridecalactone.

(A) Total ion chromatography, (B) Fragmentation pattern of peak 2 in figure 8 (A) for single mass analysis, (C) Fragmentation pattern of peak 2 in figure 8 (A) for double mass analysis, (D) Predicted structure based on MS/MS analysis.

## 4. CONCLUSION

본 연구에서는 증숙과정을 통해 더덕의 기능성 물질 변화에 대한 특성을 조사하였다. 열풍 건조 더덕을 두 가지 방법(초고압 멸균기(LAB), 증숙기(GEO))으로 각각 반복 증숙을 하고 에탄올 추출물을 확보하여 항산화 효능, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 증숙 전과 비교하였다. 열풍건조더덕과 증숙더덕 추출물을 비교하였을때, 항산화 효능에서는 LAB8(1.37mg/ml)은 약 2.4배, GEO9(0.7mg/ml)는 약 5배의 높은 활성을 보였다. 폴리페놀 함량에서는 LAB6(29.65mg/g)은 약 3배, GEO9(44.02mg/g) 약 4배 높은 활성을 보였다. 플라보노이드 함량은 LAB8(0.79mg/g)은 약 1.8배, GEO9(1.16mg/g)는 약 2배 이상 높은 활성을 보였다. LC-MS/MS 분석을 통한 사포닌 계열의 lancemaside 분석 결과, lancemaside A의 함량이 가장 높게 나타났고, LAB 증숙방법(108°C, 90분, 0.06Mpa)을 통해서 2차 증숙까지 실시하였을 때는 lancemaside A의 함량이 증가한 양상을 보이지만, 3차부터 9차까지 증숙공정을 거치면 함량이 감소하는 것을 확인 할 수가 있었다. 결과적으로 lancemaside 함량의 증가를 위한 최적의 증숙 조건은 LAB 증숙방법을 통해서 2차까지 진행하는 것임을 알 수가 있다. GEO 증숙조건(128°C 20분, 0.06Mpa에서 증숙 후 130°C, 60분, 0.01Mpa 진공)에서는 증숙공정이 진행이 될수록 lancemaside 함량이 감소하였다. 고압조건 또는 증숙이 반복됨에 따라 lancemaside 함량이 감소되는데, 이러한 현상은 lancemaside가 다른 유사체로 전환되었을 가능성이 있다. 실제로 인삼에서 증숙과정을 통하여 당 성분(fructose, glucose, maltose)과 ginsenoside-Rh2, -Rg3의 함량이 증가되는 것을 확인하였다. 증숙더덕 추출물들은(LAB6, GEO5\_5µg/ml) 지방간 유도물질인



Tamoxifen으로 처리된 지브라피쉬에서 억제효능을 보이는 것으로 확인하였다. 증숙더덕 추출물들은(LAB6, GEO5\_5 $\mu$ g/ml) 지브라피쉬의 혈액 중 triglyceride의 양을 정상으로 낮출 수 있었고, 간에 축적되는 지방의 양도 정상 수치로 낮출 수 있음을 확인하였다. LAB8은 10 $\mu$ g/ml에서 지방 감소를 확인 할 수 있어서, LAB6의 추출물이 지방감소에 효과가 높다고 할 수 있다. LAB6은 LAB8과 비교하였을 때, 항산화 효능, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 등에 있어서 다소 작거나 비슷하므로 혈액내의 지방 감소효과는 증숙과정을 통해 생성된 새로운 물질에 의한 것이라고 판단된다. GEO5의 경우, 항산화 효능, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 등이 LAB6, LAB8과 비슷한 점을 보아 항산화 물질, 폴리페놀 및 플라보노이드 이외에 다른 물질이 작용하는 것으로 판단된다. 증숙더덕 추출물을 HPLC 및 LC-MS/MS을 이용한 성분 분석을 통해 Delta-tridecalactone과 pyrogallol이 증숙과정을 통해 증가되고 있음을 본 연구를 통하여 처음으로 밝혀내었다. Delta-tridecalactone은 암세포의 invasion 저해효과(Tanaka et al., 2007) 및 항신로로써의 기능이 있다고 알려져 있으며, pyrogallol은 인간 폐암세포(HAN et al., 2008) 및 박테리아 성장을 저해(Tinh et al., 2016)하는 것으로 보고되어 있지만, 타 기능성 물질에 비교하면 연구내용이 많지가 않은 편이다. 결과적으로 증숙공정이 진행됨에 따라서 이러한 기능성 물질들이 변화되고, 증숙더덕의 생리활성에 영향을 미치고 있음을 알 수 있다. 앞으로 두 물질의 생리활성에 대한 추가적인 연구는 증숙더덕의 고부가가치화 및 산업화에 크게 기여할 것으로 기대된다.

## 5. REFERENCES

- Fang YZ, Yang S and Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition. 18:872-879.
- Lee GW, Lee JY and Cho YH. 2010. Whitening effect of the extracts from Juglans mandshurica. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 25:18-24.
- Seung seop Kim, Myoung Hoon Jeong, Yong Chang Seo, Ji Seon Kim, Nam Seong Kim, Won Byung Woon, Juhee Ahn, Baik Hwang, Dong Sik Park, Sung Jin Park and Hyeon Yong Lee. 2010. Comparison of antioxidant activity by high pressure extraction of Codonopsis lanceolata from different production areas. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:248-245
- Cho YR, Kim SH, Yoon HJ, Hong SY, Ko HY, Park EH, Kim MD and Seo DW. 2011. Anti-tumor effects of Codonopsis lanceolata extracts on human lung and ovarian cancer. Food Engineering Progress. 15:1-5
- Ushijima M, Mizuno I, Suzuki E, Amayasu R, Ishii S, Nishihama, T, Morihara N, Kashimoto N, Mouri Y and Sumioka I. 2007. Improvement of PADAM-like

symptoms in middle-aged men by a designer food containing *Codonopsis*

*lanceolata*. *Pharmacometrics*. 72:23-30

Joh EH, Lee IA, Han SJ, Chae SJ and Kim DH. 2009. *Lancemaside A* ameliorates colitis by inhibiting NF- $\kappa$ B activation in TNBS-induced colitis mice. *International Journal of Colorectal Disease*. 25:545-551.

Hye-Sook Ryu. 2008. Effects of *Codonopsis lanceolata* Extracts on Mouse Immune Cell Activation, *Korean J. Food & Nutr.* Vol. 21. No. 3, 263 ~ 268

Lee YE, Hong SH .2003. *Natural food material*. Kyomunsa Publishers Inc., Seoul, Korea. p 150-151.

Ji Seon Kim, Woo Seok Choi, Jae Youn Chung, Hee Chul Chung and Hyeon Yong-Lee. 2013. Enhancement of Cosmeceutical Activity from *Codonopsis lanceolata*-Extracts by Stepwise Steaming Process. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 21(3): 204-212

Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem*, 81, 249-255

- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 64, 555-559
- Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF. 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev. Dyn.*, 203: 253-310,
- Westerfield The Zebrafish Book. 1993. A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (*Danio rerio*). University of Oregon, Eugene, OR, USA.,
- Seung Hwa Baek, Jong Ho Park, Jin Hee Kim. 2013. Screening of Medicinal Herbs Against Melanin Biosynthesis Inhibition In Vivo Zebrafish Model. *Kor.J.Aesthet.Cosmetol.*, Vol.11 No. 3, 505-511.
- Ancerewicz J, Migliavacca E, Carrupt PA, Testa B, Bree F, Zini R, Tillenment JP, Labidalle S, Guyot D, Chauvet-Monges AM, Crevat A, Le Ridant A. 1998. Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radic Biol Med* 25:113-120
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*)

mushroom. Food Chem 99: 381-387

Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci 2: 152-159

Perron NR, Brumaghim JL. 2009. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. Cell Biochem Biophys 53: 75-100.

Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. 2004. Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? Free Radic Biol Med 36: 838-849

Jeong HY. 1991. Aging·free radical·arteriosclerosis. Life Science 1: 2-14.

Ji Ah Kim, Heung Kyu Moon, Yong Eui Choi. Triterpenoid Saponin Contents of the Leaf, Stem and Root of *Codonopsis lanceolata*. Korean Journal of Medicinal Crop Science Vol.22 No. 1 pp.1-7.

Eunji Kim, Woo Seok Yang, Ji Hye Kim, Jae Gwang Park, Han Gyung Kim, Jaeyoung Ko, Yong Deog Hong, Ho Sik Rho, Song Seok Shin, Gi-Ho Sung, and Jae Youl Cho. 2014. Lancemaside A from *Codonopsis lanceolata* modulates the inflammatory responses mediated by monocytes and macrophages

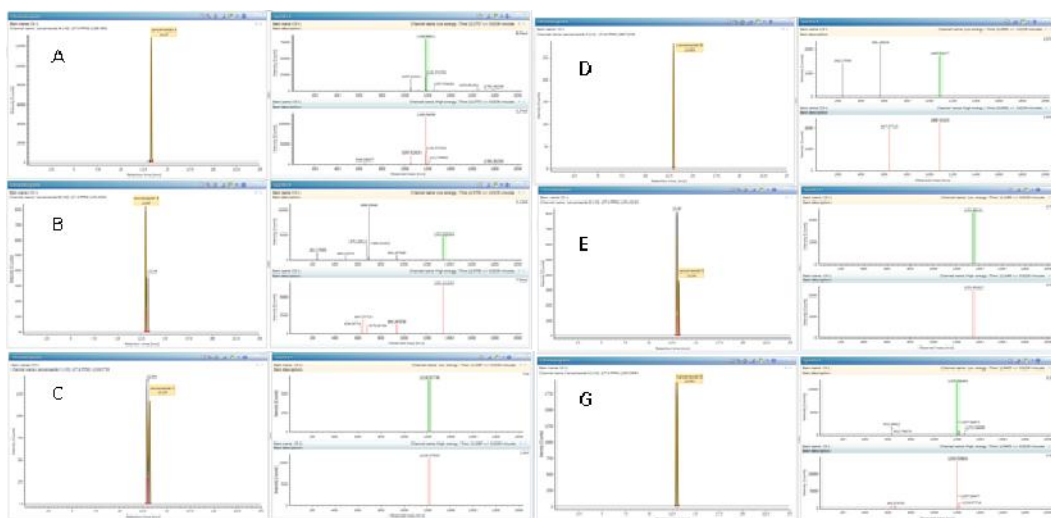
Hiroshi Tanaka, Katsuhiko Kageyama, Naoko Yoshimura, Ryoko Asada, Kumiko Kusumoto, Nobuhiko Miwa. 2007. Anti-tumor and anti-invasive effects of diverse delta-alkyllactones: Dependence on molecular side-chain length, action period and intracellular uptake. *Life Sciences* 80 (2007) 1851-1855

Tran Huu Tinh, Taiyeebah Nuidate, Varaporn Vuddhakul, Channarong Rodkhum. 2016. Antibacterial Activity of Pyrogallol, a Polyphenol Compound Against *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from The Central Region of Thailand. *Procedia Chemistry* 18 (2016) 162-168.

YONG HWAN HAN, SUHN HEE KIM, SUNG ZOO KIM, WOO HYUN PARK. 2008. Caspase inhibitor decreases apoptosis in pyrogallol-treated lung cancer Calu-6 cells via the prevention of GSH depletion. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY* 33: 1099-1105. Effects of High Temperature Heating on the Some Physicochemical Properties of Korean Red Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) Water Extract. *J. Ginseng Res.* Vol. 30, No. 2, 120-126.

Yi-seong Kwak, Keum-Hee Choi, Jong-Soo Kyung, Jun-Yeon Won, Man-Hee Rhee,  
Jae-Gon Lee, Mi-Sun Hwang, Seok-Chang Kim, Chae-Kyu Park, Kyung-Bin Song,  
Gyeong-Ho Han. 2008.

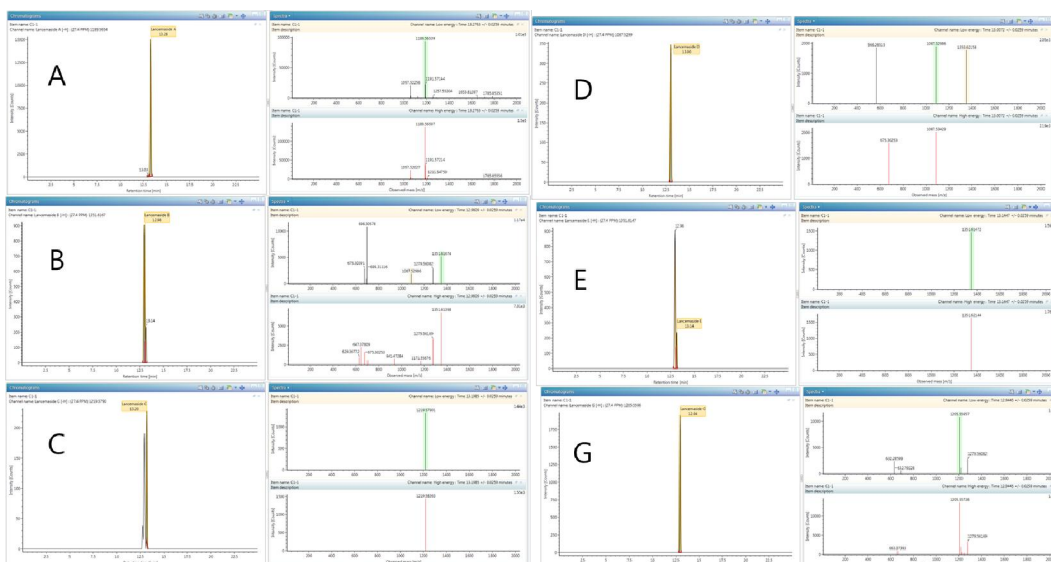
## SUPPLEMENTARY DATA



**Supplementary Fig 1.** LC-MS/MS analysis of saponin in *Codonopsis lanceolate* extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, C; Lancemaside C, D; Lancemaside D,

E; Lancemaside E, G; Lancemaside G

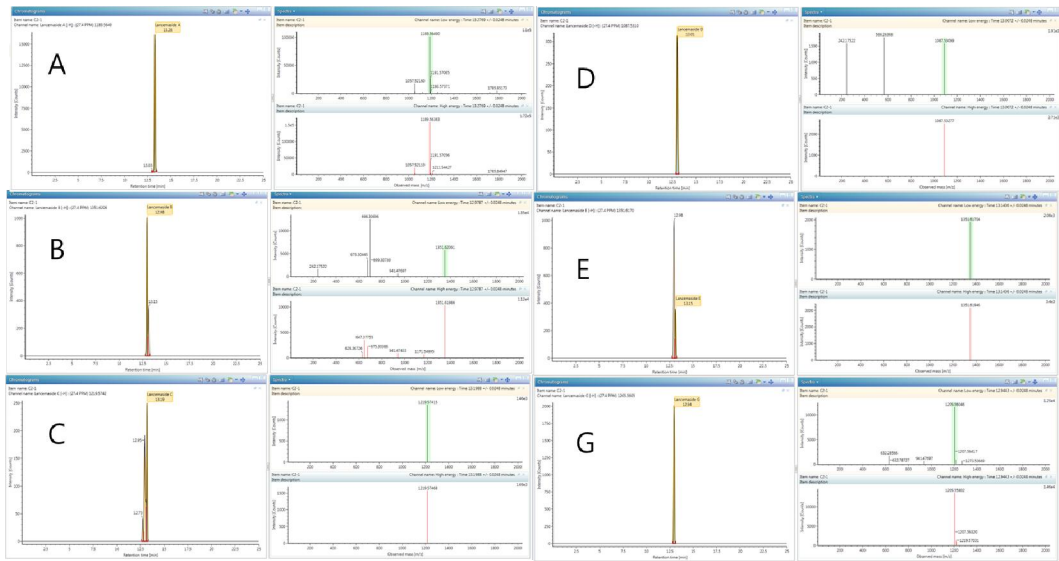


**Supplementary Fig 2.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB1 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, C; Lancemaside C, D; Lancemaside D,

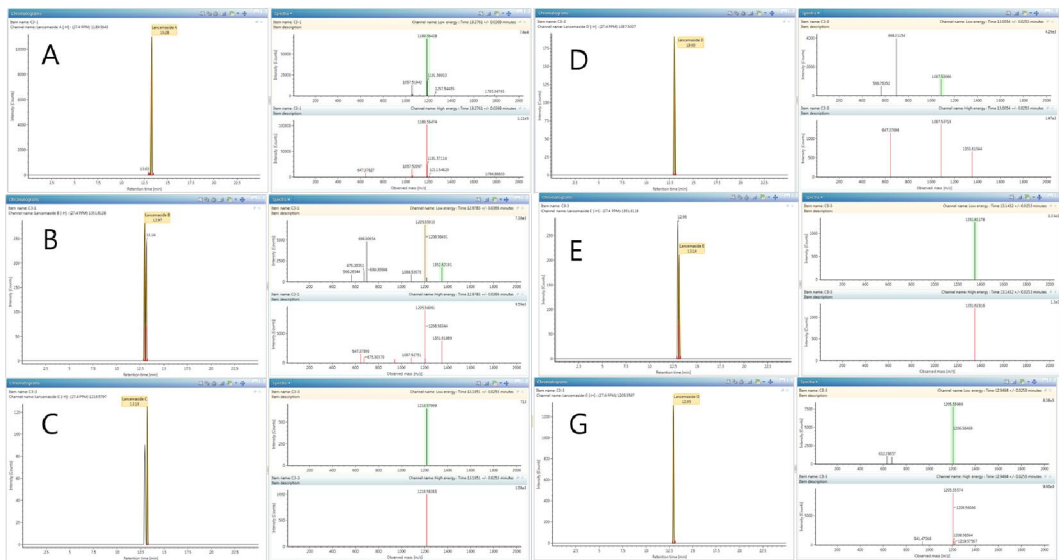
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G





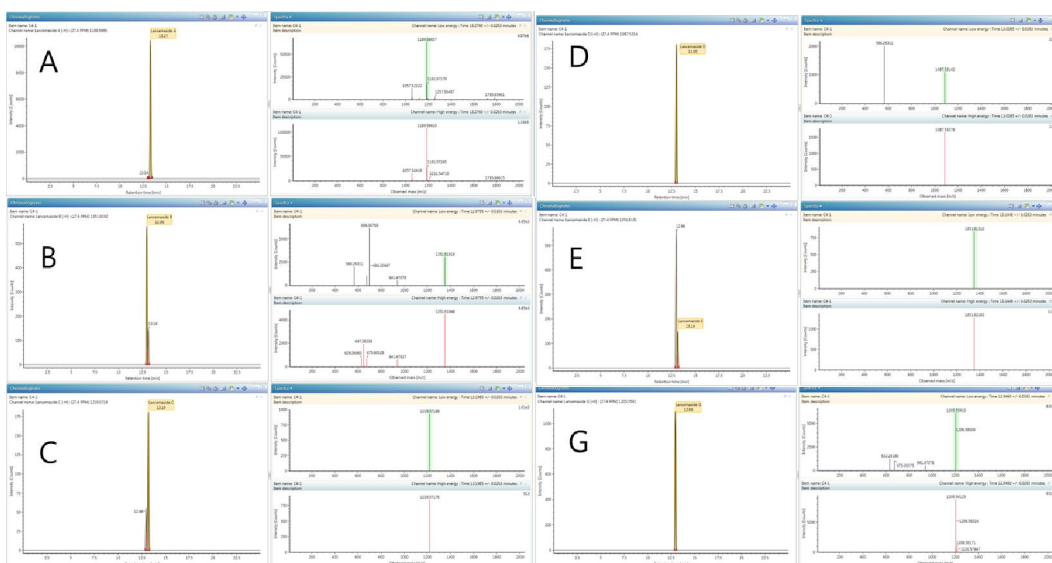
**Supplementary Fig 3.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB2 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, C; Lancemaside C, D; Lancemaside D,  
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



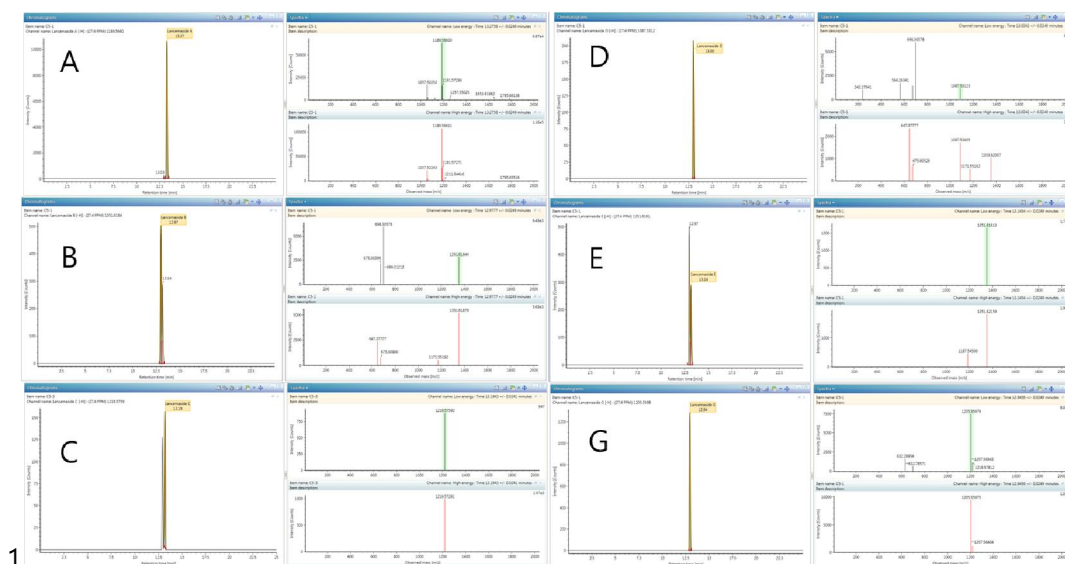
**Supplementary Fig 4.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB3 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, C; Lancemaside C, D; Lancemaside D,  
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



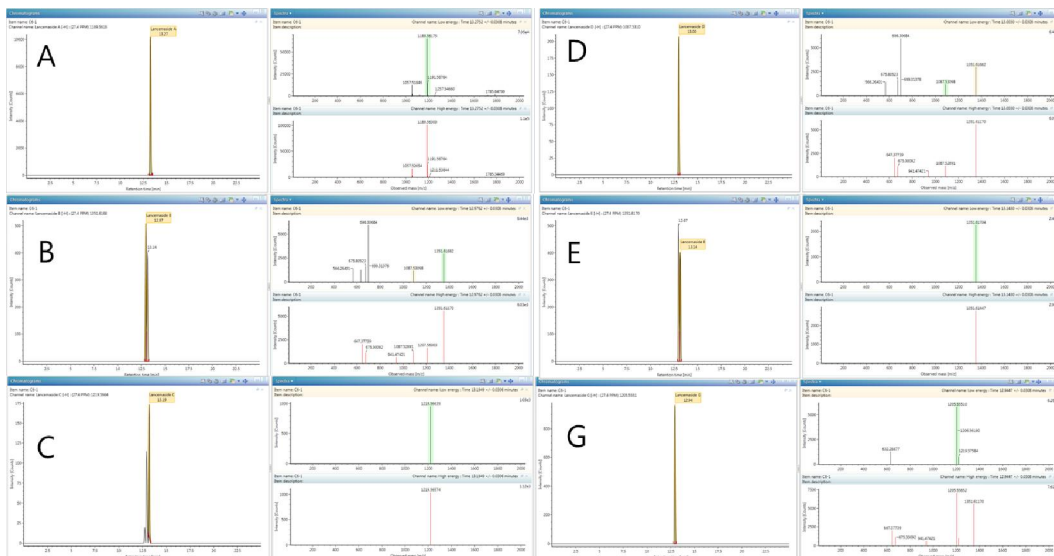
**Supplementary Fig 5.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB4 extract.

A; Lincemaside A, B; Lincemaside B, C; Lincemaside C, D; Lincemaside D,  
E; Lincemaside E, G; Lincemaside G



**Supplementary Fig 6** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB5 extract.

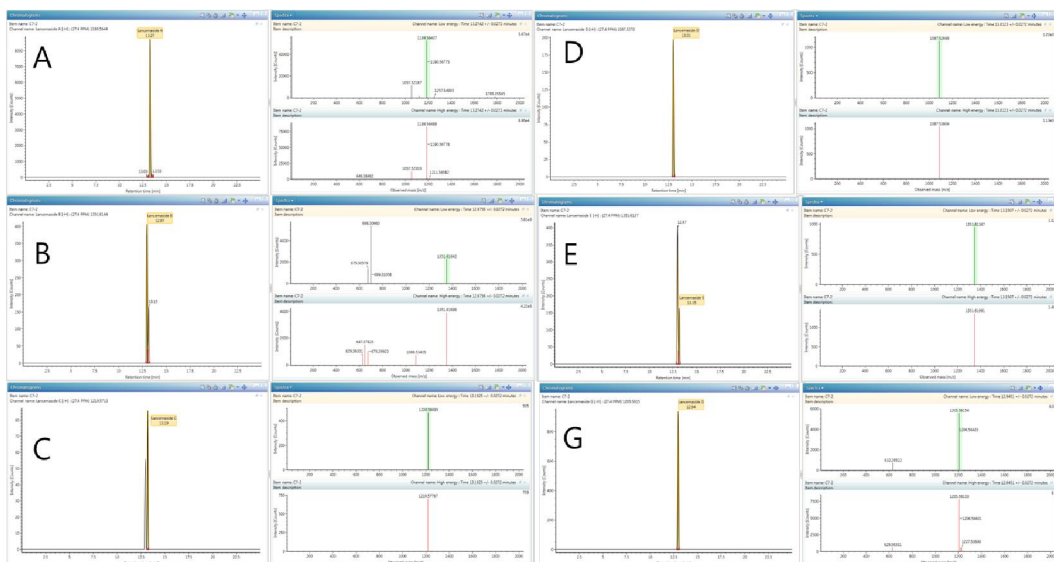
A; Lincemaside A, B; Lincemaside B, C; Lincemaside C, D; Lincemaside D,  
E; Lincemaside E, G; Lincemaside G



**Supplementary Fig 7.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB6 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, C; Lancemaside C, D; Lancemaside D,

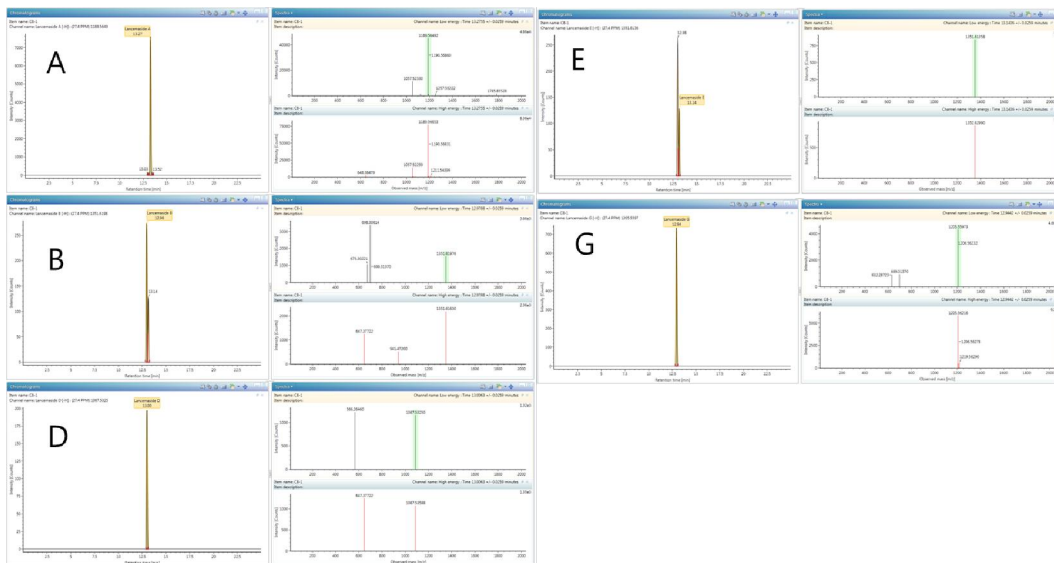
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 8.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB7 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, C; Lancemaside C, D; Lancemaside D,

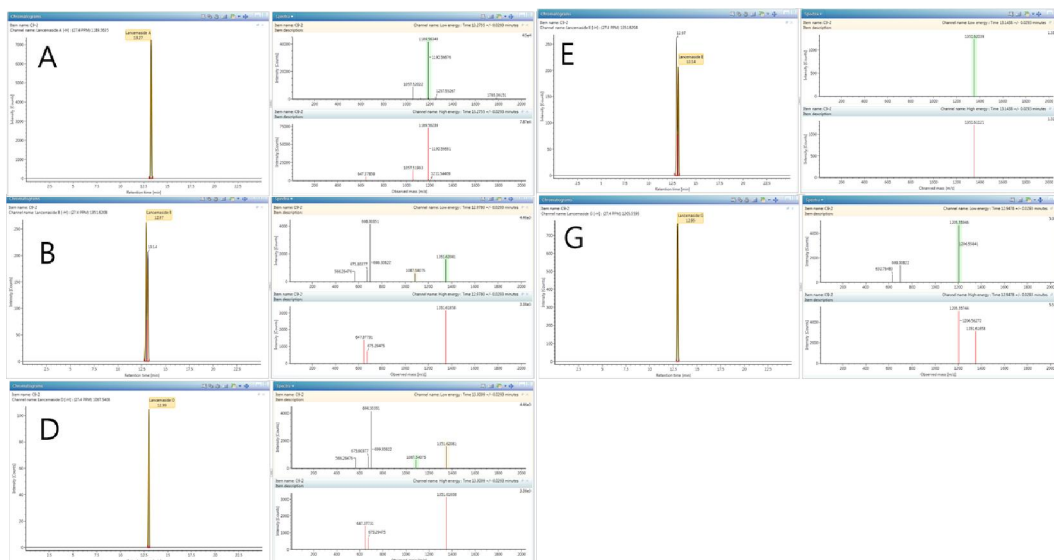
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 9.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB8 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, D; Lancemaside D,

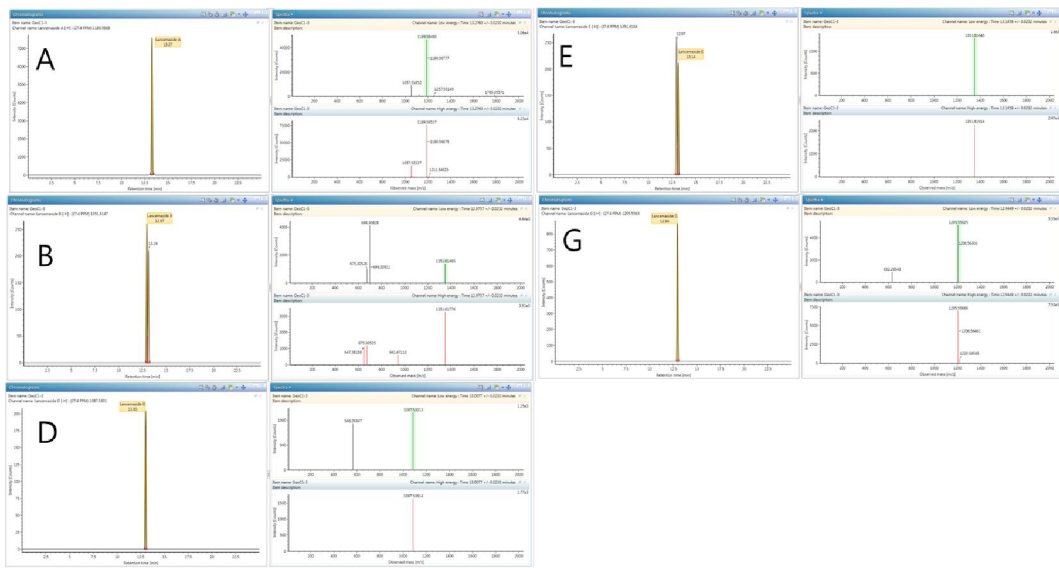
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 10.** LC-MS/MS analysis of saponin in LAB9 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, D; Lancemaside D,

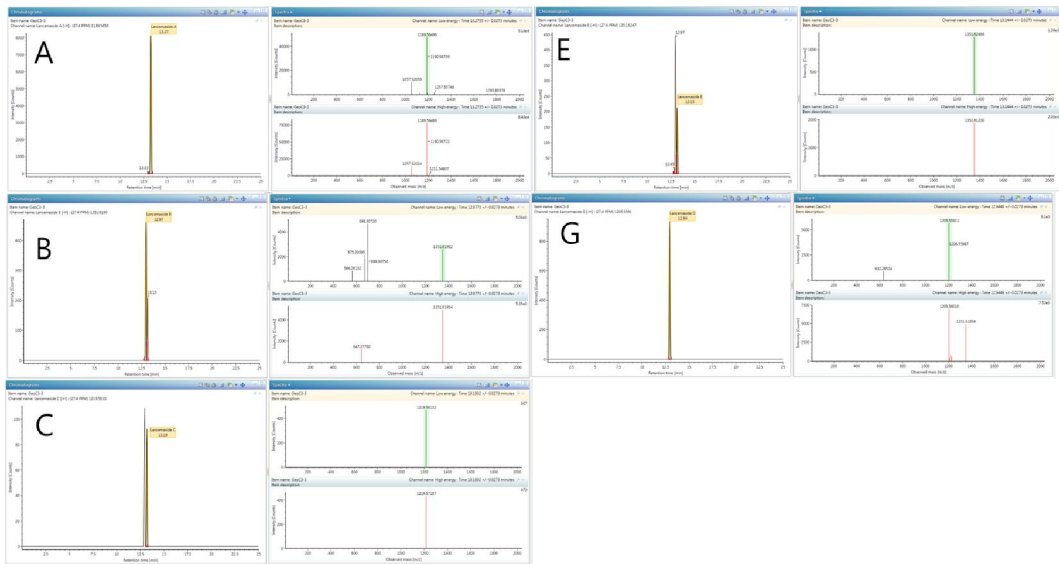
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 11.** LC-MS/MS analysis of saponin in Geol extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, D; Lancemaside D,

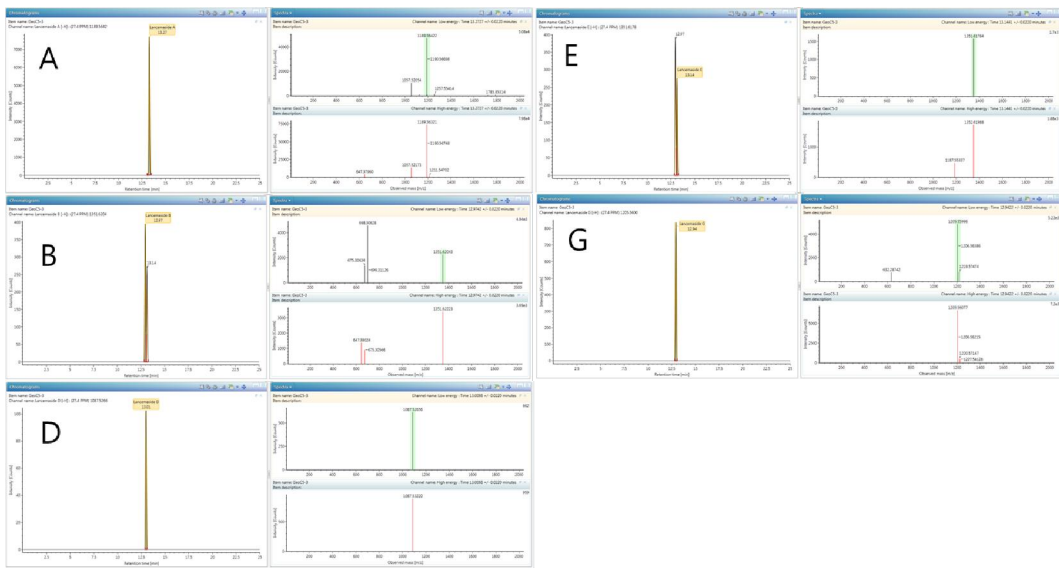
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 12.** LC-MS/MS analysis of saponin in Geo3 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, C; Lancemaside C,

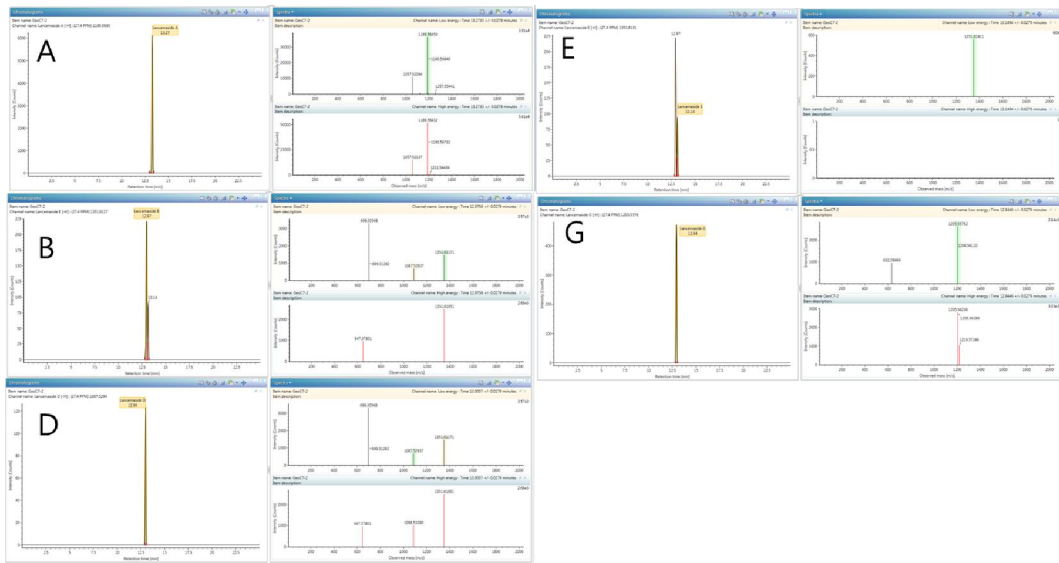
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 13.** LC-MS/MS analysis of saponin in Geo5 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, D; Lancemaside D,

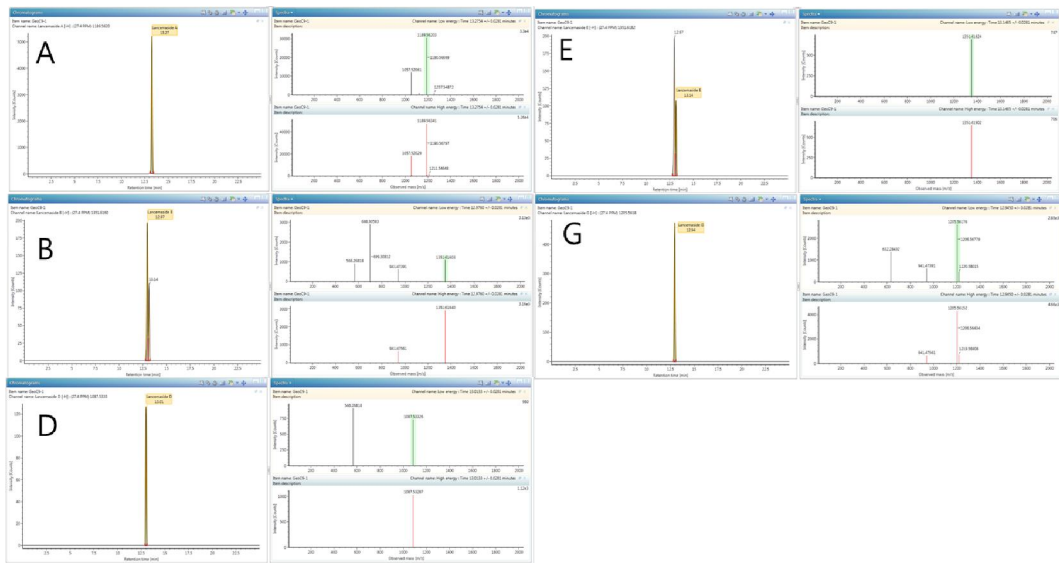
E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 14.** LC-MS/MS analysis of saponin in Geo7 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, D; Lancemaside D,

E; Lancemaside E, G; Lancemaside G



**Supplementary Fig 15.** LC-MS/MS analysis of saponin in Geo9 extract.

A; Lancemaside A, B; Lancemaside B, D; Lancemaside D,

E; Lancemaside E, G; Lancemaside G

## Abstract

In this study, we investigated the characteristics of functional materials from *Codonopsis lanceolata* through steamed process. We performed two types steaming process and secured ethanol extract of *C. lanceolata*, and analyzed antioxidation activity, polyphenol and flavonoid contents. Steamed *Codonopsis lanceolata* extracts (SCE) were shown to have 5 times increased antioxidation activity, 4 times of phenolic content and 2 times of flavonoid content, compared to raw *Codonopsis lanceolata* extract. LC-MS/MS analysis determined that lancemaside A was the most abundant saponin in the SCE. The lancemaside A content was increased or decreased according to the condition of steaming, suggesting steaming condition is important to get lancemaside A with high efficiency.

Furthermore, SCE (LAB6, GEO5 5µg/ml) treatments decrease tamoxifen-induced triglyceride in blood and fat in liver. We performed HPLC and LC-MS/MS using GEO sample. We identified two compounds, pyrogallol and delta-tridecalactone, in SCE for the first time, which were increased according to the number of steaming processes. Delta-tridecalactone is known to be effective in inhibiting the invasion of cancer cells, and pyrogallol has been reported to have excellent antioxidation activity. In conclusion, we could increase the contents of functional compounds through the steaming process of *C. lanceolata* and identified those compounds, resulting enhanced physiological activity of the *Codonopsis lanceolata* extract.