

## RP-HPLC-DAD를 이용한 발효 삼출건비탕의 생물전환 성분 분석

이광진<sup>#</sup> · 양혜진<sup>#</sup> · 량 춘 · 마진열<sup>\*</sup>

한국한의약연구원 한의신약연구그룹

## Analysis Screening of Bioconversion Products from Fermentation Samchulgeonbi-tang with Microorganisms via RP-HPLC-DAD

Kwang Jin Lee<sup>#</sup>, Hye Jin Yang<sup>#</sup>, Chun Liang, and Jin Yeul Ma<sup>\*</sup>

KM-Based Herbal Drug Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine,  
1672 Yuseongdae-ro, Yuseong-gu, Daejeon, 305-811, Korea

**Abstract** – Samchulgeonbi-tang (SC) is well-known traditional herbal medicine which is composed of fourteen medicine herbs. SC has been used for the treatment of the chronic gastritis, indigestion, gastric ulcers, gastroptosis and diarrhea disease. The variation in the amount of bioactive components of SC and its fermentation SC with ten *Lactobacillus* strains were investigated via high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection (HPLC-DAD). Simultaneous qualitative and quantitative analysis of seven bioactive compounds; paeoniflorin, liquiritin, hesperidin, liquiritigenin, kaempferol, atracylenolide III, magnolol were achieved by comparing their retention times ( $t_R$ ) and UV spectra with those of the standard compounds. In the results, the amount of paeoniflorin and hesperidin were 7.967 mg/g, 7.251 mg/g that were the main compounds in SC. The amounts of liquiritigenin was increased by all ten *Lactobacillus* strains, except strain 128. Especially, the liquiritigenin amount was highest in SC fermented with strain 145 (0.201 mg/g), which was increased by 158.39% compared to SC (0.081 mg/g). In the fermented SC using strains 344, almost components were increased than non-fermented SC, except paeoniflorin and kaempferol. Thus, these results considered that the strains 145 and 344 are most excellent fermentation strains among the 10 species of fermentation strains.

**Key words** – Analysis, Bioconversion, Fermentation, HPLC-DAD, Samchulgeonbi-tang

삼출건비탕(參出健脾湯)은 비위(脾胃)를 좋게 하여 음식을 잘 소화시키는 것으로 알려진 전통적인 한방 처방으로, 예로부터 식욕부진의 개선, 소화불량, 구토 및 설사 치료를 위한 처방으로 사용되어 왔다.<sup>1)</sup> 또한 면역 증강, 위장관 기능 향상에 관한 연구가 보고 되어 있다.<sup>2-4)</sup> 삼출건비탕은 14종의 생약재, 인삼(人蔘, *Panax ginseng*), 백출(白朮, *Atractylodes japonica*), 백복령(白茯苓, *Poria cocos*), 후박(厚朴, *Magnolia officinalis*), 진피(陳皮, *Citrus unshiu*), 산사육(山查肉, *Crataegus pinnatifida*), 지실(枳實, *Citrus aurantium*), 백작약(白芍藥, *Paeonia lactiflora*), 사인(砂仁, *Amomum villosum*), 신곡(神麩, *Triticum aestivum*), 맥아(麥芽, *Hordeum vulgare*), 감초(甘草, *Glycyrrhiza uralensis*), 생강(生薑, *Zingiber officinale*), 대조(大棗, *Zizyphus jujube*)

로 구성되어 있다. 이처럼 여러 종류의 생약(단미제)로 구성된 삼출건비탕(參出健脾湯)은 다양한 약리 효능이 고문헌을 통해 알려져 있으며, 현대 연구에 있어서 과학적 접근법인 약리 성분들이 소개 되고 있다.

발효는 장내 미생물에 의한 천연물질의 대사과정을 통하여, 유효 성분의 생물전환을 일으키는 것을 말한다. 한방 처방 및 생약재의 발효는 약재 내 존재하는 배당체(glycoside) 성분을 활성화된 상태인 비배당체(aglycon) 성분으로 전환시켜 유효 성분의 체내 흡수율을 높이고 약리활성을 조절하는 것으로 알려져 있다.<sup>5)</sup> 대표적으로 황금의 baicalin, 치자의 geniposide, 감초의 glycyrrhizin 배당체가 탈당화 되어 각각 비배당체인 baicalein, geniposide의 monoglycoside, glycyrrhetic acid로 대사되어 체내에 흡수되어 약리 효과를 내는 것으로 보고 되어있다.<sup>6-8)</sup> 뿐만 아니라 미생물에 의한 발효는 아미노산, 비타민 유기산 등의 유효 성분을 만드는 것으로 알려져 있다.<sup>9)</sup> 또한 한방 처방의 구성은 유효 성

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work

<sup>\*</sup>교신저자(E-mail): jyama@kiom.re.kr  
(Tel): +82-42-868-9466

분이 복합적인 상호작용에 의하여 다양한 약리효과를 보이며, 상대적으로 인체 부작용이 적다는 장점이 있다. 이러한 효과적인 약리효과는 유효 성분을 선택적으로 얻기 위한 제제 변화로부터 전통의약에 적용 가능한 기능성 식품 및 의약품, 기능성 소재산업에 기여할 것으로 기대된다. 최근 장내 미생물을 이용한 한방 처방을 발효하여 유효 성분들을 생물전환 시킴으로서 한방 처방의 효능을 증대시키거나 새로운 효능을 도출하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다.

이에 본 연구에서는 발효를 통하여 삼출건비탕 내 유효 성분의 체내 흡수율을 높이고 유용 성분의 생성 및 증가에 의해 한방 처방으로서의 효능을 강화하기 위하여 10종의 다른 유산균을 이용하여 발효 삼출건비탕을 제조하였다. 지표 성분은 과학적으로 잘 알려져 있고 상업적으로 구매가 용이한 성분으로, 백작약의 paeoniflorin, 진피의 hesperidin, 후박의 magnolol, 백출의 atractylenolide III, 산사육의 kaempferol, 감초의 liquiritin, liquiritigenin을 선정하여 High-performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD)을 이용한 발효 전, 후 삼출건비탕의 성분변화 분석을 수행 함으로서 향후 발효 한방 처방으로서 삼출건비탕의 유용성을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**재료 및 시약** - 삼출건비탕 조제에 사용된 백출, 백복령, 진피, 산사육, 지실, 백작약, 대조, 사인, 감초, 인삼, 후박, 신곡, 맥아, 생강은 대한약전에 기술된 각 약재 항목에 적합한 것으로 엄선하여 영천현대약업사, 태경제약(주), 명동인삼사, 허브팜, 영화제약, 일하제약, 북대전농협에서 2012년

도에 구매하였다. 선정된 지표 성분의 표준품, paeoniflorin은 Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.(Tokyo, Japan), hesperidin은 ICN Biomedicals(California, USA), magnolol은 Korea Food and Drug Administration(KFDA), atractylenolide III은 Faces Biochemical Co., Ltd(Wuhan, China), kaempferol은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA), liquiritin은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan), liquiritigenin은 Chengdu Biopurify Phytochemicals, Ltd.(Sichuan, China)에서 구입하였으며, 각 성분의 순도는 97%이상이다. 총 7종의 지표 성분의 구조식은 Fig. 1에 나타내었다.

본 연구에서 HPLC분석에 사용된 acetonitrile(J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA)은 HPLC급 용매(99.9%)로 구입하여 사용하였으며, trifluoroacetic acid(TFA, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)은 분석급 시약을 사용하였다. 물은 초순수제조장치(Milipore, USA)를 이용하여 제조된 3차 증류수를 사용하였다.

**삼출건비탕 조제** - 삼출건비탕은 구성 생약재인 백출, 백복령, 진피, 산사육, 지실, 백작약, 대조, 사인, 감초, 인삼, 후박, 신곡, 맥아, 생강을 일정 비율로 혼합한 후 총 약재 무게의 10배 부피의 생수를 넣어 1시간 침적한 후 약탕기에서 3시간 동안 열탕 추출하여 test sieve(106  $\mu$ m, Retsch, Germany)로 여과하였다. 여과된 탱액 중 10 L는 발효 삼출건비탕 조제에 사용하였고, 남은 탱액은 동결건조기를 사용하여 분말형태로 건조하여 삼출건비탕의 생물전환 성분 확인시험을 위한 대조군으로 사용하였다.

**발효 삼출건비탕 조제** - 삼출건비탕은 한국식품연구원(Korea Food Research Institute, KFRI, Seongnam, Korea)

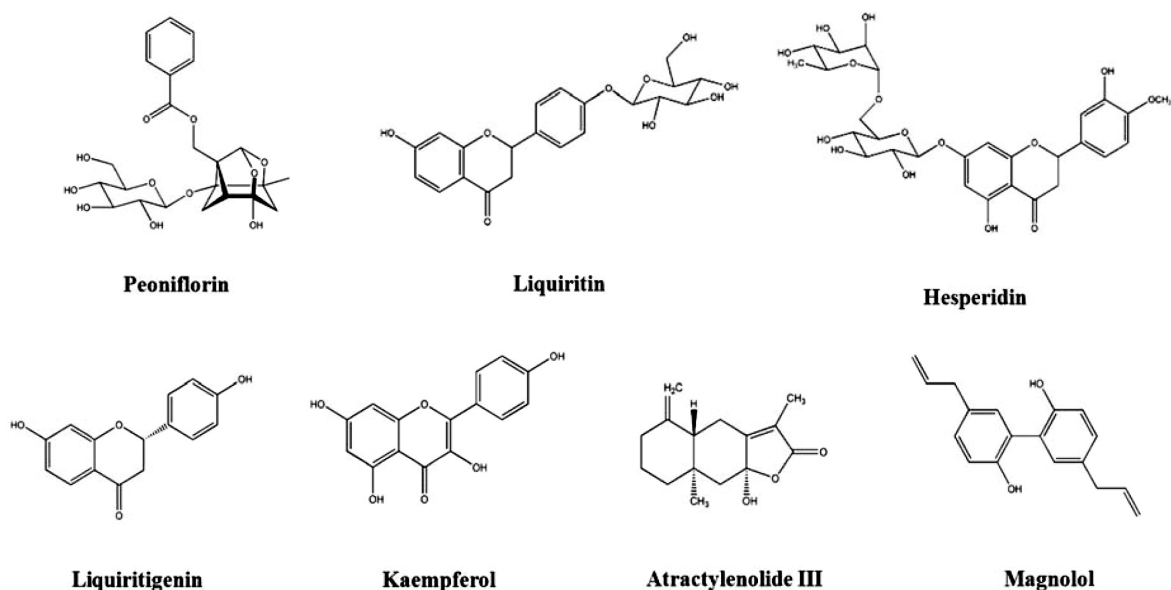


Fig. 1. Chemical structures of seven marker components in SC.

식품미생물 유전자은행에서 분양 받은 발효 균주(*Lactobacillus* KFRI strain nos. 128, 144, 145, 161, 166, 229, 237, 341, 344, 693)를 사용하여 발효하였다. 각 발효 균주는 한방 처방에서 높은 증식활성을 보이는 유산균 균주로써, pH 조절 후 멸균된 한방 처방에 후보 유산균 균주들을 접종하여 24시간, 48시간 후 pH 변화를 관찰하였다. 그 중 pH 변화가 높은 균주 10종을 선정하여 발효하였다. 발효 균주를 MRS broth(*Lactobacillus* broth acc. to De Man, Rogosa, and Sharpe)에서 계대배양 한 후 inoculum으로 사용하였으며, 이때 초기 균수는  $1 \times 10^6$  CFU/ml로 조절하였다. 삼출건비탕 추출물을 1 M NaOH을 이용하여 pH 7.0으로 조절한 후 121°C, 1.5기압에서 15분간 가압 멸균하였다. 상온까지 냉각시킨 삼출건비탕 750 ml에 7.5 ml의 발효 균주를 접종하여 37°C 항온배양기에서 48시간 동안 배양하여 발효한 후, 60 µm nylon net filter(Millipore, MA, USA)로 여과하고 동결 건조하여 분석에 사용하였다.

**표준용액 및 삼출건비탕 시료 조제** - 분석에 사용된 7종의 지표성분인 paeoniflorin, liquiritin, hesperidin, liquiritigenin, kaempferol, atractylenolide III, magnolol은 각 2 mg을 정확히 칭량하여 MeOH에 녹여 200 ppm의 표준 용액으로 사용하였다. 삼출건비탕 및 발효 삼출건비탕 시료는 각 100 mg을 MeOH 1 ml에 녹여 0.2 µm membrane filter로 여과한 후 HPLC검액으로 사용하였다.

**HPLC-DAD 분석 조건** - 분석에 사용된 HPLC-DAD (Hitachi High Technologies Co., Tokyo, Japan) 시스템은 L-2130 pump, L-2200 autosampler, L-2350 column oven, L-2455 photodiode array UV/VIS detector로 구성되어 있으며, 데이터 수집 및 처리를 위해 EZchrom Elite software (Version 3.3.1a) program이 사용되었다. 분석에 사용된 컬럼은 RS Tech Optimapak C<sub>18</sub> column(250×4.6 mm I.D., 5 µm, Daejeon, South Korea)이며 컬럼 온도는 40°C를 유지하였다. 이동상 용매로 0.1% trifluoroacetic acid(TFA) water (A)와 acetonitrile(B)를 사용하였으며, 유속 1.0 ml/min 조건 하에서 0.1% TFA water(A)를 90%(0-5 min), 90-60%(5-40 min), 60%(40-60 min)로 변화시키는 linear gradient elution을 적용하여 분리능을 향상시켰다. UV 검출기의 파장은 254, 260, 280, 320 nm에서 확인하였으며, 검액의 주입량은 10 µl로 설정하였다.

**삼출건비탕 발효 전, 후 생물전환 성분 분석** - 발효 전, 후 삼출건비탕 생물전환 성분의 정량적 분석을 위해 7종의 지표 성분에 대한 검량선을 작성하였다. 검량선을 얻기 위해 200 ppm 농도로 준비된 각 지표 성분의 표준용액을 주입량(2, 5, 10, 20, 40 µl)을 달리하여 HPLC분석을 3회 반복 실시하였다. 분석한 결과를 바탕으로 하여 선형회귀식 (Linear regression equation,  $y = ax + b$ )을 적용하여 계산하였다. 직선성은 작성된 검량선의 상관계수(correlation

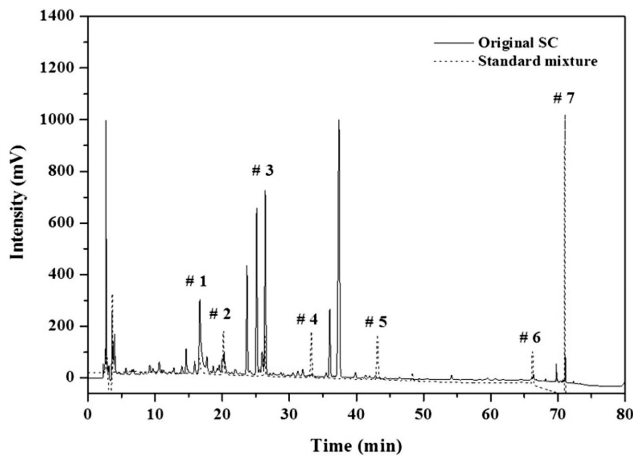
coefficient,  $r^2$ )값을 통해 확인하였으며,  $r^2$ 값이 0.99이상인 검량선을 기준으로 지표성분의 정량 분석에 사용하였다.<sup>10)</sup>

## 결과 및 고찰

**HPLC 분석조건 확립** - 삼출건비탕에서 발효 균주에 따른 발효 전, 후의 추출물 비교와 역상 액체 크로마토그래피를 이용한 7종의 지표 성분에 대하여 정성 및 정량 분석을 수행하였다. 지표 성분인 paeoniflorin, liquiritin, hesperidin, liquiritigenin, kaempferol, atractylenolide III, magnolol의 정성 및 정량분석을 위한 최적의 동시분석법이 확립되었다. 이동상 용매로 A: 0.1% TFA가 첨가된 water, B: acetonitrile를 선정하여 gradient elution을 적용함으로써 분석 검체의 피크를 이상적으로 분리할 수 있었다. 또한 TFA(0.1%, v/v)를 water에 첨가하여 성분 간 이온화 반응을 향상시키고 피크 끌림 현상을 줄여 검체 피크 감도와 분리능을 높일 수 있었다.<sup>11)</sup> 각 표준품의 UV 흡광도(nm)와 비교하여 paeoniflorin, atractylenolide III, magnolol은 230 nm, kaempferol은 264 nm, liquiritin, hesperidin, liquiritigenin은 280 nm로 UV 최대 흡수파장을 선정하여 지표 성분 피크의 면적을 측정하였다.

**삼출건비탕 발효 전, 후 생물전환 성분 확인 및 분석** - HPLC-DAD분석법을 이용하여 7종의 지표 성분을 정성적으로 확인하고, 발효 공정을 통해 생물전환 된 성분의 정량적 변화를 살펴보았다. 삼출건비탕 내 지표 성분의 체류시간( $t_R$ )과 UV 흡광도(nm)를 비교하여 일치함을 확인하였다. 그 결과 삼출건비탕의 paeoniflorin(1,  $t_R$ : 15.89 min), liquiritin(2,  $t_R$ : 20.30 min), hesperidin(3,  $t_R$ : 26.51 min), liquiritigenin(4,  $t_R$ : 33.16 min), kaempferol(5,  $t_R$ : 42.12 min), atractylenolide III(6,  $t_R$ : 66.40 min), magnolol(7,  $t_R$ : 70.95 min) 성분을 모두 확인할 수 있었다. 이때 Paeoniflorin과 hesperidin은 다른 성분에 비하여 약 4~90배 가량 높은 함량을 보여주었고 삼출건비탕 내 지표성분 중 주요 성분임을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 확인된 7종의 지표성분에 대하여 동시분석법을 적용한 함량 변화를 비교 분석하였다(Fig. 3). 지표 성분의 정량적 분석을 위해 분석된 결과에 따라서 각 표준 물질에 대한 검량선은 피크 면적(y) 대비 표준 용액 주입량(x, µg/ml)으로 하여 작성하였다. 각 지표성분의 검량선은 정량 분석에 적합한 좋은 직선성( $r^2 > 0.9997$ )을 보였으며 그 결과를 Table I에 정리하여 나타내었다.

각 지표 성분의 피크면적을 검량선에 대입하여 발효 전, 후 삼출건비탕의 생물전환 성분의 함량을 계산하였다(Table II). 발효 전 삼출건비탕의 지표 성분 paeoniflorin(7.967 mg/g), liquiritin(1.674 mg/g), hesperidin(7.251 mg/g), liquiritigenin(0.081 mg/g), kaempferol(0.094 mg/g), atractylenolide III(0.274 mg/g), magnolol(0.126 mg/g)을 기준으로 하여 발효



**Fig. 2.** Simultaneous analysis of paeoniflorin (1), liquiritin (2), hesperidin (3), liquiritigenin (4), kaempferol (5), atractylenolide III (6) and magnolol (7) in original SC via RP-HPLC-DAD.

삼출건비탕의 성분 함량 변화를 비교하였다. 발효 균주별 함량 변화의 결과를 살펴보면 배당체(glycoside)인 liquiritin 함량이 감소함에 따라 비배당체(aglycone)인 liquiritigenin 함량은 반비례하여 증가함이 관찰되었다. Liquiritin 함량에 있어서 가장 뚜렷한 증가를 가져온 균주는 145였다. 가장 많은 함량 변화를 가져온 균주 145로 발효한 삼출건비탕의 liquiritin 함량은 1.281 mg/g으로 발효 전 1.674 mg/g과 비교하여 23.54%가 감소한 반면, liquiritigenin 함량은 0.201 mg/g로서 발효 전 0.081 mg/g과 비교하여 158.39% 증가하였다. 이것은 배당체는 체내 흡수가 쉽게 되지 않지만 장내 유산균에 의한 생물전환으로 상대적으로 생리활성이 우수한 비

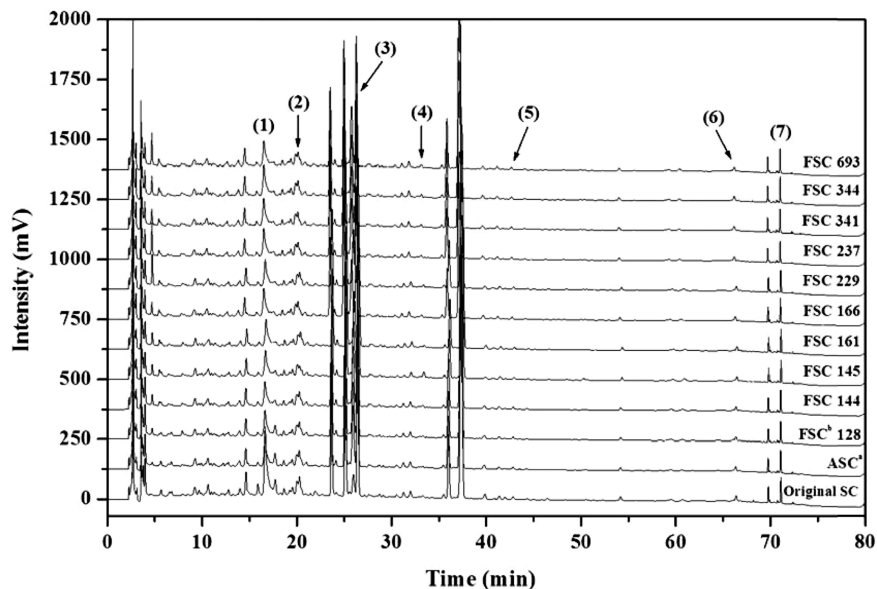
**Table I.** Analysis of the linearity of calibration curves for seven marker components via RP-HPLC-DAD.

Compound	Regression equation <sup>a</sup>	$r^{2b}$
Paeoniflorin	$y = 979219x - 44256$	1.0000
Liquiritin	$y = 1E+06x - 17979$	1.0000
Hesperidin	$y = 4E+06x + 264212$	0.9997
Liquiritigenin	$y = 2E+06x - 54862$	0.9999
Kaempferol	$y = 713428x - 147725$	1.0000
Atractylenolide III	$y = 767053x - 29596$	1.0000
Magnolol	$y = 1E+06x + 107064$	0.9997

<sup>a</sup>Y: peak area, x: concentration( $\mu\text{g/ml}$ ); <sup>b</sup>Regression coefficient (n=5)

배당체 구조로 전환되어 약리효과를 증대시킨다고 잘 알려져 있고,<sup>12,13</sup> 발효 과정 동안 배당체는 장내 미생물에 의하여 탈당화 과정으로 체내 흡수율이 높은 monoglycoside 또는 비배당체 형태로 생물전환 되어 약리효과를 나타낸다고 연구 보고 되었다.<sup>14,15</sup> 또한 liquiritigenin은 항암,<sup>16</sup> 항염증,<sup>17</sup> 에스트로젠 활성<sup>18</sup> 효과가 잘 알려졌다. 따라서 발효에 의한 liquiritigenin의 함량 변화는 발효 삼출건비탕의 효능 및 효과에 미치는 영향이 클 것으로 사료된다.

또한 균주 344에서는 liquiritin, hesperidin, atractylenolide III의 함량이 원탕과 비교 시 발효탕제 344에서만 특징적으로 각각 1.753 mg/g(4.71%), 7.264 mg/g(0.17%), 0.281 mg/g(2.92%)으로 증가하였다. 이 외에 발효 균주 344에서는 paeoniflorin과 kaempferol을 제외한 모든 성분의 함량이 발



**Fig. 3.** Analysis screening of bioconversion products with various strains of paeoniflorin (1), liquiritin (2), hesperidin (3), liquiritigenin (4), kaempferol (5), atractylenolide III (6) and magnolol (7) in the original SC, ASC, and FSC samples via RP-HPLC-DAD. <sup>a</sup>ASC: Autoclave treatment SC, <sup>b</sup>FSC: fermentation SC.

**Table II.** Identification of the original SC, ASC and FSC

Sample	Amount (mg/g, n=3)						
	Paeoniflorin	Liquiritin	Hesperidin	Liquiritigenin	Kaempferol	Atractylenolide III	Magnolol
Original SC	7.967 ± 0.02 <sup>C</sup>	1.674 ± 0.01	7.251 ± 0.06	0.081 ± 0.01	0.094 ± 0.01	0.274 ± 0.01	0.176 ± 0.01
ASC <sup>a</sup>	3.557 ± 0.03	1.542 ± 0.02	6.197 ± 0.01	0.066 ± 0.01	0.076 ± 0.01	0.227 ± 0.01	0.159 ± 0.01
FSC <sup>b</sup> 128	3.470 ± 0.03	1.506 ± 0.01	6.223 ± 0.05	0.067 ± 0.01	0.079 ± 0.01	0.229 ± 0.01	0.159 ± 0.01
FSC 144	3.284 ± 0.04	1.557 ± 0.03	6.412 ± 0.06	0.087 ± 0.01	0.082 ± 0.01	0.239 ± 0.01	0.174 ± 0.01
FSC 145	3.366 ± 0.01	1.281 ± 0.01	6.234 ± 0.01	0.201 ± 0.01	0.080 ± 0.01	0.226 ± 0.01	0.168 ± 0.01
FSC 161	3.689 ± 0.01	1.584 ± 0.01	6.522 ± 0.04	0.081 ± 0.01	0.084 ± 0.01	0.247 ± 0.01	0.181 ± 0.01
FSC 166	3.712 ± 0.01	1.565 ± 0.01	6.522 ± 0.02	0.095 ± 0.01	0.085 ± 0.01	0.248 ± 0.01	0.183 ± 0.01
FSC 229	3.640 ± 0.01	1.549 ± 0.01	6.609 ± 0.01	0.093 ± 0.01	0.086 ± 0.01	0.248 ± 0.01	0.179 ± 0.01
FSC 237	3.585 ± 0.01	1.497 ± 0.04	6.395 ± 0.02	0.090 ± 0.01	0.083 ± 0.01	0.241 ± 0.01	0.166 ± 0.01
FSC 341	3.788 ± 0.03	1.601 ± 0.01	6.788 ± 0.05	0.102 ± 0.01	0.086 ± 0.01	0.264 ± 0.01	0.185 ± 0.01
FSC 344	4.225 ± 0.01	1.753 ± 0.02	7.264 ± 0.02	0.106 ± 0.01	0.091 ± 0.01	0.281 ± 0.01	0.205 ± 0.01
FSC 692	3.302 ± 0.01	1.497 ± 0.03	6.403 ± 0.01	0.099 ± 0.01	0.083 ± 0.01	0.250 ± 0.01	0.182 ± 0.01

<sup>a</sup>ASC: Autoclave treatment SC, <sup>b</sup>FSC: Fermentation SC, <sup>c</sup>±0.02: Data expressed mean ± SD (n=3)

효 후 오차범위 내에서 증가함을 확인 하였다. 따라서 발효 후 성분변화의 경향이 뚜렷한 발효 균주 145와 344가 전체 10종의 발효 균주 중 발효 효율이 가장 우수한 균주임을 확인할 수 있었다. 결론적으로 본 연구 결과를 통하여 스크리닝된 우수한 유산균을 사용하고 발효공정을 최적화 하여 효능을 증가 시키거나, 새로운 효능을 도출할 수 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

삼출건비당의 발효 전, 후 생물전환 된 성분들의 함량 변화를 HPLC-DAD를 사용하여 7종의 지표성분을 선정하여 동시분석 및 정량분석을 실시하였다. 그 결과, 발효 전 원탕에서 paeoniflorin이 7.967 mg/g과 hesperidin이 7.251 mg/g으로서 주 성분임을 확인할 수 있었고, 발효 후 비배당체 liquiritigenin은 발효탕제 145에서 158.39%의 가장 큰 성분 함량 증가와 배당체 liquiritin이 발효탕제 145에서 23.54%로 가장 큰 감소율을 확인 하였다. 또한 발효 균주 344에서 liquiritin, hesperidin, liquiritigenin, atractylenolide III, magnolol은 발효 후 함량이 모두 오차범위 내에서 증가하였다. 따라서 발효 후 성분변화의 경향이 뚜렷한 발효 균주 145와 344가 전체 10종의 발효 균주 중 발효 효율이 가장 우수한 균주임을 확인할 수 있었다. 본 연구 결과는 삼출건비탕 내 생리활성 성분의 흡수율 증대 및 약리 효과 강화 연구에 기여할 수 있을 것이며, 나아가 한방 처방 및 생약재 성분 연구와 발효를 통한 약리학적 평가 연구의 기초 자료로서 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 한국한의학연구원의 연구지원(K13050)에 의하여 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

## 인용문헌

- Kim, S. W. and Lee, T. H. (1988) Effect of Samchulkunbitang on the gastric secretion and intestinal transport in the rat. *J. Korean Orient. Med. Pathol.* **3**: 84-90.
- Lee, M. Y., Shin, I. S., Lim, H. S. and Shin, H. K. (2012) A water extract of Samchulkunbi-tang attenuates airway inflammation by inhibiting inos and MMP-9 activities in an ovalbumin-induced murine asthma model. *BMC Complement. Altern. Med.* **12**: 257-267.
- Lee, S.-Y. and Kim, J.-H. (1998) Effects of Samchulkunbitang on the Immunosuppression Induced by Methotrexate in Rats. *J. Korean Orient. Pediatr.* **12**: 257-276.
- Kim, T.-G., Ko, S.-G. and Baik, T.-H. (1997) An experimental study on the effect of Samchulgunbitang affecting gastrointestinal and central nervous system. *J. Korean Orient. Int. Med.* **18**: 1-14.
- Kim, Y.-S., Kim, J.-J., Cho, K.-H., Jung, W.-S., Moon, S.-K., Park, E. -K. and Kim, D. -H. (2008) Biotransformation of ginsenoside Rb1, crocin, amygdalin, geniposide, puerarin, ginsenoside Re, hesperidin, poncirin, glycyrrhizin, and baicalin by human fecal microflora and its relation to cytotoxicity against tumor cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 1109-1114.
- Akao, T., Kawabata, K., Yanagisawa, E., Ishihara, K., Mizuhara, Y., Wakui, Y., Sakashita, Y. and Kobashi, K. (2000)

- Baicalin, the predominant flavone glucuronide of *scutellariae radix*, is absorbed from the rat gastrointestinal tract as the aglycone and restored to its original form. *J. Pharm. Pharmacol.* **52**: 1563-1568.
7. Akao, T., Kobashi, K. and Aburada, M. (1994) Enzymic studies on the animal and intestinal bacterial metabolism of geniposide. *Biol. Pharm. Bull.* **17**: 1573-1576.
  8. Akao, T. and Kobashi, K. (1987) Glycyrrhizin  $\beta$ -D-glucuronidase of *Eubacterium* sp. from human intestinal flora. *Chem. Pharm. Bull.* **35**: 705-710.
  9. Montañó, A., Casado, F.J., de Castro, A., Sánchez, A.H. and Rejano, L. (2004) Vitamin Content and Amino Acid Composition of Pickled Garlic Processed with and without Fermentation. *J. Agric. Food. Chem.* **52**: 7324-7330.
  10. Niu, T.-Z., Zhang, Y.-W., Bao, Y.-L., Wu, Y., Yu, C.-L., Sun, L.-G., Yi, J.-W., Huang, Y.-X. and Li, Y.-X. (2013) A validated high-performance liquid chromatography method with diode array detection for simultaneous determination of nine flavonoids in *Senecio cannabifolius* Less. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **76**: 44-48.
  11. Yan, Z., Yang, X., Wu, J., Su, H., Chen, C. and Chen, Y. (2011) Qualitative and quantitative analysis of chemical constituents in traditional Chinese medicinal formula Tong-Xie-Yao-Fang by high-performance liquid chromatography/diode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* **691**: 110-118.
  12. Yim, J.-S., Kim, Y.-S., Moon, S.-K., Cho, K.-H., Bae, H.-S., Kim, J.-J., Park, E.-K. and Kim, D.-H. (2004) Metabolic activities of ginsenoside Rb1, baicalin, glycyrrhizin and geniposide to their bioactive compounds by human intestinal microflora. *Biol. Pharm. Bull.* **27**: 1580-1583.
  13. Ham, S. H., Lim, B. L., Yu, J. H., Ka, S.-O. and Park, B.-H. (2008) Fermentation Increases Antidiabetic Effects of *Acanthopanax Senticosus*. *Kor. J. Ori. Med. Physiol. Pathol.* **22**: 340-345.
  14. Bae, E. A., Han, M. J., Kim, E. J., Kim and D. H. (2004) Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformants. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 61-67.
  15. Hasegawa, H. (2004) Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: metabolic activation of ginsenoside: deglycosylation by intestinal bacteria and esterification with fatty acid. *J. Pharmacol. Sci.* **95**: 153-157.
  16. Falcão, M. J., Pouliquem, Y. B., Lima, M. A., Gramosa, N. V., Costa-Lotufo, L. V., Militão, G. C., Pessoa, C., de Moraes, M. O. and Silveira, E. R. (2005) Cytotoxic flavonoids from *Platymiscium floribundum*. *J. Nat. Prod.* **68**: 423-426.
  17. Kim, Y. W., Zhao, R. J., Park, S. J., Lee, J. R., Cho, I. J., Yang, C. H., Kim, S. G. and Kim, S.C. (2008) Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF- $\kappa$ B-dependent iNOS and proinflammatory cytokines production. *Br. J. Pharmacol.* **154**: 165-173.
  18. Mersereau, J. E., Levy, N., Staub, R. E., Baggett, S., Zogovic, T., Chow, S., Ricke, W. A., Tagliaferri, M., Cohen, I., Bjeldanes, L. F. and Leitman, D. C. (2008) Liquiritigenin is a plant-derived highly selective estrogen receptor  $\beta$  agonist. *Mol. Cell. Endocrinol.* **283**: 49-57.

(2013. 3. 27 접수; 2013. 4. 23 심사; 2013. 6. 11 게재확정)