

## 발효 황련해독탕의 생물 전환 성분분석

이광진 · 이보형 · 정필문 · 량춘 · 마진열<sup>#</sup>

한국한의학연구원 한의신약개발그룹

(Received June 12, 2013; Revised August 23, 2013; Accepted August 26, 2013)

## Analysis of Bioconversion Components of Fermentation Hwangryunhaedok-tang

Kwang Jin Lee, BoHyoung Lee, Pil Mun Jung, Chun Liang and Jin Yeul Ma<sup>#</sup>

Korean Institute of Oriental Medicine (KIOM), KM-Based Herbal Drug Development Group, Daejeon 305-811, Korea

**Abstract** — Hwangryunhaedok-tang (HRT) is a traditional herbal medicine, which has been known as a useful prescription for anti-biotic, anti-inflammatory, anti-oxidative and immunosuppressive activity. In this study, the variation in the amount of eight bioactive components of Hwangryunhaedok-tang (HRT) and its fermentation HRT with *Lactobacillus casei* KFRI 127, *Lactobacillus curvatus* KFRI 166 and *Lactobacillus confuses* KFRI 227 was investigated via high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection (HPLC-DAD). Simultaneous qualitative and quantitative analysis of eight bioactive components; geniposide, genipin, baicalin, wogonoside, palmatine, berberine, baicalein and wogonin was achieved by comparing their retention times ( $t_R$ ) and UV spectra with those of the standard components. All calibration curve of standard components showed good linearity ( $r^2 > 0.979$ ). As a result, the geniposide amount was  $15.52 \pm 0.19 \mu\text{g}/\text{mg}$  that as a main components in HRT. The wogonoside was decreased by 29.28~58.35% with *Lactobacillus casei* KFRI 127 and *L. confuses* KFRI 227 ( $3.17 \pm 0.31 \mu\text{g}/\text{mg}$  and  $3.55 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) compared with the original HRT ( $5.02 \pm 0.14 \mu\text{g}/\text{mg}$ ). Otherwise wogonin was increased by 16.28~41.86% with *Lactobacillus casei* KFRI 127 and *L. confuses* KFRI 227 ( $0.61 \pm 0.01 \mu\text{g}/\text{mg}$  and  $0.50 \pm 0.02 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) compared with the original HRT ( $0.43 \pm 0.00 \mu\text{g}/\text{mg}$ ). HRT fermented with *L. casei* KFRI 127 and *L. confuses* KFRI 227 were evaluated as creating the changes in wogonoside to that aglycon wogonine. In the fermented HRT using *Lactobacillus acidophilus* KFRI 166, the genipin was only detected, among 3 species of fermentation strains. Thus, these results considered that the strains 166 were exhibited the remarkable changes in genipin.

**Keywords** □ Bioconversion, Fermentation, Hwangryunhaedok-tang, Identification, HPLC-DAD

한방 처방의 구성은 오랜 세월 동안 수 많은 임상학적 경험을 바탕으로 효능 및 효과가 검증되었고 다양한 질병 치료나 예방의 목적으로 사용되어 왔다. 이러한 각각의 성분들은 복합적인 작용을 이루며 광범위한 효능을 나타낸다.<sup>1,3)</sup> 하지만 과학적 접근법이 미흡하고 전 세계적으로 한약재의 표준화를 알리기가 쉽지 않은 실정이다. 따라서 많은 연구자들은 유효성분을 스크리닝하고 표준화 개발을 통해 근본적인 과학화의 접근에 노력을 기울이고 있다. 이렇듯 단미재 및 한방 처방으로부터 신 고부가 가치산물을 얻기 위한 노력은 웰빙 바이오산업에 있어서 관심과 수요가 점점 증가하고 있다. 뿐만 아니라 신약개발에 있어서 합성의약품의 단점을 보완하며 생약 제제의 장점을 상승시키는 맞춤형 연구가 활발하게 진행되고 있는 추세이다. 이 중에서 황련

해독탕(HRT)은 *Coptis japonica*(황련), *Scutellaria baicalensis*(황금), *Phellodendron amurense*(황백), *Gardenia jasminoides*(자)자로 구성된 복합 처방전으로서 해열, 해독, 염증의 치료제로 사용되어 왔다. 또한 중추 신경계와 교감 신경의 흥분 작용을 억제하고 항바이러스, 항고혈압, 항알레르기 작용이 보고되었다.<sup>4,7)</sup> 최근 한의학계에서는 탕제의 체내 흡수율을 증대시키고 약리효능을 증가시킬 수 있는 방법으로서 탕제를 발효시키는 발효 한약에 대한 관심이 증가하고 있다. 유산균을 비롯한 장내 미생물을 이용하여 발효과정을 거침으로서 배당체가 생물 전환 및 효소에 의한 방법 등으로 인하여 가수 분해 될 수 있으며, 이 과정을 통해 생성된 비당체는 체내 흡수율이 높을 뿐만 아니라 약리효능 또한 배당체 보다 우수하다고 알려져 있다. 특히 발효에 의한 생물전환은 용존 산소량, pH 및 반응온도에 따른 모니터링 조절이 요구되며 매우 중요한 변수로 제시 될 수 있다. 이때 발효 산물은 양약과 비교했을 때 상대적으로 복용량이 많고 보관이 불편한 단점을 지닌 한약의 제형 개량과 포제 방법을 향상시

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 042-868-9466 (팩스) 042-868-9573  
(E-mail) jyma@kiom.re.kr

킬 수 있고 이를 통한 다변화된 고 기능성 제품을 개발할 수 있다는데 의의가 있다.<sup>8-13)</sup> 본 연구에서는 황련해독탕(HRT)의 지표 성분으로 황련과 황백의 berberine과 palmatine, 황금의 baicalin, baicalein, wogonin, wogonoside, 치자의 geniposide, genipin을 선정하였고 3종의 유산균(*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus confuses*)으로부터 발효 전, 후의 주요 지표 성분들의 패턴 변화를 확인함으로써 발효 한약의 과학적 접근법에 대한 평가와 기술적 효율성을 제시 하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

HPLC 분석에 사용된 지표 성분인 geniposide, baicalin, palmatine, berberine, wogonosid은 Faces Biochemical Co., Ltd.(Wuhan, China), genipin은 Sigma. Co.(MO, USA), baicalein, wogonin은 식품의약안전처(Cheongwon, Korea)에서 구입하였다. 연구에 사용된 지표 성분의 순도는 98% 이상을 나타냈다. 황련해독탕의 구성 약재인 황련, 황금, 황백, 치자는 한국 전통 생약 조합(2012년 3월 Yeongcheon market, Korea)에서 구입하였다. 황련해독탕은 한국한의학연구원 한의신약개발그룹에서 만든 시료를 사용하였다. 분석에 사용된 용매는 HPLC급 methanol과 acetonitrile(J.T. Barker, Phillipsburg, NJ, USA)에서, trifluoroacetic acid(TFA)(Sigma-Aldrich)에서 구입하였다. 물은 3차 중류수를 0.2 μm membrane filter(ADVANTEC, Japan)로 여과 처리하여

사용하였다. Fig. 1에서는 황련해독탕 주요 지표 성분의 화학적 구조를 나타내었다.

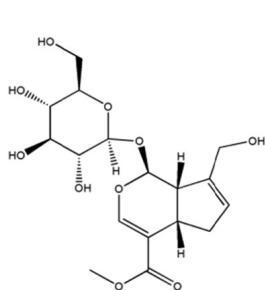
### 표준 용액 제조

주요 지표 성분인 geniposide(1), genipin(2), baicalin(3), wogonoside(4), palmatine(5), berberine(6), baicalein(7), wogonin(8)의 무게를 정확하게 측정 한 후 methanol에 녹여 표준 용액을 조제하였다.

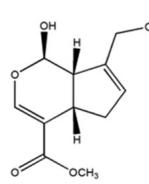
### 황련해독탕과 발효 황련해독탕 샘플 제조

황련, 황금, 황백, 치자 각각 5 g으로 구성된 황련해독탕은 샘플의 10배 부피로 water에 1시간 동안 침적한 다음 3시간 동안 100°C에서 열탕 추출(Gyeongseo, Cosmos-660, Incheon, South Korea)하였다. 추출된 추출물은 standard testing sieve(150 μm, Retsch, Haan, Germany)로 여과 후 동결 건조하였다. 제조된 황련해독탕 시료는 4°C에 냉장 보관하여 실험에 사용하였다. 황련해독탕 시료를 50 mg/ml로 메탄올에 용해하고 0.2 μm PVDF membrane filter로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다.

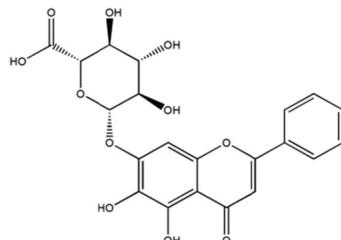
발효 황련해독탕에 사용된 유산균은 한국식품연구원(Korea Food Research Institute, Seongnam, South Korea)에서 분양 받았다. 분양 받은 유산균은 37°C로 유지되는 MRS broth(Difco TM Lactobacilli MRS Broth, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에서 배양하였다. 황련해독탕에서 높은 증식 활성을 보이는 유산균으로 선택된 3종의 유산균(*L. casei* 127, *L. curvatus* 166, *L. confuse* 227)을 MRS broth(*lactobacillus* broth



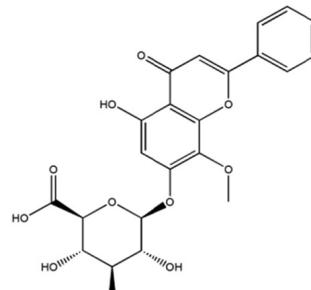
(1) Geniposide



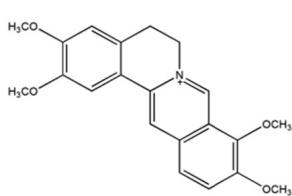
(2) Genipin



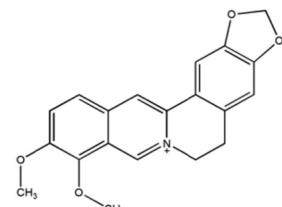
(3) Baicalin



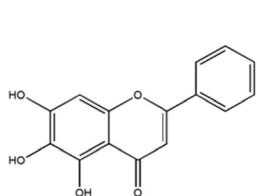
(4) Wogonoside



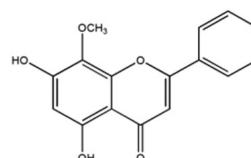
(5) Palmatine



(6) Berberine



(7) Baicalein



(8) Wogonin

Fig. 1 – Chemical structure of eight useful components in hwangryunhaedok-tang.

acc. to De Man, Rogosa, and Sharpe)에서 계대배양 후 inoculum으로 사용하였다. 초기 균수는  $1 \times 10^6$  CFU/mL로 조절하였다. 1 M NaOH를 이용하여 황련해독탕 추출물을 pH 7.0으로 조절한 후 121°C, 1.5 기압(atm)에서 15분 동안 가압 멸균하였다. 상온으로 냉각시킨 황련해독탕 750 mL에 발효 균주 7.5 mL을 접종한 후 37°C 항온배양기에서 48시간 동안 배양하여 발효한 후, 60 μm nylon net filter(Millipore, MA, USA)로 여과하고 동결 건조시킨 시료를 분석에 사용하였다.

#### HPLC 기기 및 분석 조건

HPLC 분석을 위하여 pump, auto sampler, RS column compartment, diode array detector로 구성된 Dionex Ultimate 3000 HPLC 시스템을 사용하였으며 데이터 수집 및 처리를 위해 Chromelon 7.0 사용되었다. 분석에 사용한 컬럼은 RS-tech C<sub>18</sub> column(4.6×250 mm, 5 μm, Korea)이며 컬럼 온도는 40°C를 유지하였다. 이동상은 0.1% TFA(trifluoroacetic acid)가 포함된 water(A)와 acetonitrile(B)를 사용하였으며 유속 1.0 mL/min의 조건하에 0.1% TFA water(A)를 90~70%(0~10 min), 90~65%(10~35 min), 65~60%(35~45 min), 60~70%(45~60 min)로 변화시키는 gradient elution을 적용하여 분리능을 향상시켰다. UV 검출기의 파장은 254 nm에서 확인하였으며 주입량은 10 μL로 설정하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 제조된 발효 황련해독탕의 품질 특성

황련해독탕에서 높은 중식 활성을 보인 3종의 유산 균주 *Lactobacillus casei* KFRI 127, *Lactobacillus curvatus* KFRI 166, *Lactobacillus confuses* KFRI 227을 이용하여 발효 황련해독탕을 제조하였다. 제조된 발효 황련해독탕의 발효 정도를 확인하기 위하여 발효 황련해독탕의 pH변화를 관찰하였다(Table I). 그 결과 3종의 균주들은 발효황련해독탕의 pH를 4~5로 저하시키는 것을 확인할 수 있었으며 이는 3종의 균주들이 활발한 산 생성 능력을 갖고 있음을 보여준다. 따라서 황련해독탕은 3종의 유산 균주들에 의해 충분한 발효가 진행되었음을 확인할 수 있었다. 또한 autoclave로 처리된 황련해독탕은 원탕에 비해 pH

**Table I** – pH in HRT fermented with lactic acid bacteria at 37°C for 48 h

Sample	pH
HRT	7.00±0.00
AHRT (Autoclave HRT)	6.25±0.01
FHRT 127	4.52±0.01
FHRT 166	4.13±0.01
FHRT 227	4.13±0.00

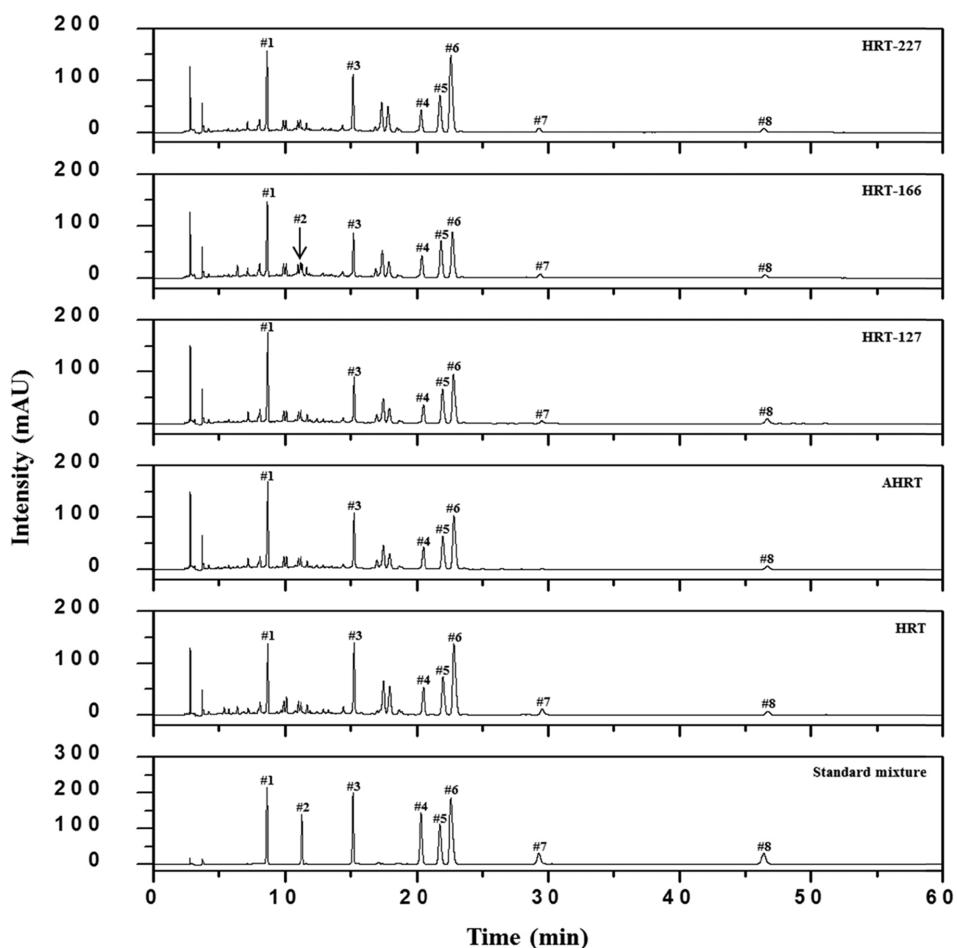
가 0.75 낮아졌는데 이것은 121°C에서 15분간 멸균되는 고온, 고압 조건에서 한방처방에 존재하는 식이섬유 등의 성분들이 일부 유기산으로 분해되어 pH가 저하된 것으로 추정된다.

##### 황련해독탕 발효 전, 후 생물전환 성분 확인

황련해독탕(HRT), 가압 멸균 처리한 황련해독탕(AHRT), 가압 멸균 처리 후 각각의 유산균 *Lactobacillus casei* KFRI 127, *Lactobacillus curvatus* KFRI 166, *Lactobacillus confuses* KFRI 227으로 발효시킨 FHRT 127, FHRT 166, FHRT 227을 제조하여 이들의 생물 전환 성분들을 HPLC-DAD를 이용하여 정량 및 정성 분석하였다. 분석은 C<sub>18</sub> 컬럼을 사용했으며 이동상의 유속은 1.0 mL/min으로 UV 흡광도 254 nm에서 수행하였다. 분리능을 향상시키기 위하여 0.1% TFA(trifluoroacetic acid)를 첨가한 water(A)와 acetonitrile(B)로 구성된 이동상을 시간대 별로 비율을 달리하는 step gradient elution을 실시하였다. HPLC에서는 압력 강하가 클수록 분리 효율이 증가하게 되나 추출 수지가 분해되는 현상이 발생하기 때문에 물리적으로 분해되지 않는 압력 강하 내에서 실행되었다. 이때 지표 성분들의 peak 분리능이 우수하였고 효율적인 분리 및 분석 조건을 확립하였다. 각 지표성분인 황련과 황백의 berberine과 palmatine, 황금의 baicalin, baicalein, wogonoside와 wogonin, 치자와 geniposide와 genipin으로 선정하여 동시 분석법을 수행하였고, 이를 standard의 체류시간(*t<sub>R</sub>*)과 UV 흡광도(nm)를 비교하여 일치함을 확인하였다. 이때 각 성분의 체류시간은 geniposide는 8.62분, genipin은 11.29분, baicalin은 15.17분, wogonoside는 20.33분, palmatine은 21.77분, berberine은 22.61분, baicalein은 29.28분, wogonin은 46.39분에서 확인되었다(Fig. 2).

##### 발효 황련해독탕의 패턴 및 함량 비교

발효 전, 후 황련해독탕의 패턴 및 함량 비교를 위하여 y축을 피크 면적 x축을 표준 용액의 농도로 하여 검량선(calibration curve)를 작성하였다. 그 결과 검량선의 상관 관계가 모두 0.979 이상으로 정량분석에 적합한 좋은 직선성을 나타내었다(Table II). 각 지표 성분의 피크면적을 검량선에 대입하여 발효 전, 후 황련해독탕의 생물전환 성분의 함량을 계산하였다. 분석 결과, 발효 전 황련해독탕(HRT)에서 geniposide가  $15.52 \pm 0.19 \mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 높은 함량을 나타내었으며 berberine이  $11.90 \pm 1.23 \mu\text{g}/\text{mg}$ 로 비교적 높은 함량을 나타내어 황련해독탕 내 주요 성분임을 확인할 수 있었다. 그 외에 baicalin이  $10.14 \pm 0.29 \mu\text{g}/\text{mg}$ , wogonoside가  $5.02 \pm 0.14 \mu\text{g}/\text{mg}$ , palmatine은  $3.52 \pm 0.52 \mu\text{g}/\text{mg}$ , baicalein은  $0.74 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$ , wogonin은  $0.43 \pm 0.00 \mu\text{g}/\text{mg}$ 로 검출되었다. Genipin은 발효 전 황련해독탕에서는 검출되지 않았지만, *L. curvatus* KFRI 166로 발효 시킨 황련해독탕에서  $1.48 \pm 0.23 \mu\text{g}/\text{mg}$ 로 새로 생성되었음을 확인하였다. 반면



**Fig. 2** – Chromatograms of useful components in non-fermentation and fermentation Hwangryunhaedok-tang using HPLC-DAD.  
(geniposide -1, genipin -2, baicalin -3, wogonoside -4, palmatine -5, berberine -6, baicalein -7, wogonin -8).

**Table II** – Regression equation of eight maker components in HRT and FHRT

Compounds	Linear range ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Regression equation ( $y=ax+b$ ) <sup>a</sup>	$R^2$ (n=3)
Geniposide	27.775~111.110	$y=0.141x+0.630$	0.9990
Genipin	19.888~55.550	$y=0.306x-1.064$	0.9790
Baicalin	22.223~88.890	$y=0.283x+0.722$	0.9990
Wogonoside	6.483~25.930	$y=0.361x+0.275$	0.9990
Palmatine	8.333~33.330	$y=0.759x+0.950$	0.9990
Berberine	22.223~177.780	$y=0.539x+2.899$	0.9990
Baicalein	2.778~11.110	$y=1.000x-0.134$	0.9990
Wogonin	2.778~11.110	$y=1.005x+0.081$	0.9980

<sup>a</sup>Y: peak area, x: concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

genipin의 배당체인 geniposide는 3종 균주로 발효시킨 황련해독탕 FHRT 127, FHRT 166, FHRT 227에서 10.76~35.05% 비율로 함량이 모두 증가됨을 확인하였다(Table III). 장내 미생물로 인하여 geniposide가 genipin으로 전환된다는 연구 결과는 많으나<sup>14,15)</sup> 발효 과정을 거치면서 geniposide가 증가되고 genipin이 생성되는 결과에 대한 자세한 메커니즘은 밝혀지지 않았다.

아울러 이에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 균주 *L. casei* KFRI 127과 *L. confuses* KFRI 227로 발효한 황련해독탕에서 배당체(glycoside) wogonoside의 함량이 감소하고 그의 비당체(aglycone)인 wogonin함량은 반비례하게 증가함을 보였다. *L. casei* KFRI 127과 *L. confuses* KFRI 227로 발효한 황련해독탕에서 배당체(glycoside) wogonoside의 함량은 각각  $3.17 \pm 0.31 \mu\text{g}/\text{mg}$ ,  $3.55 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$ 로 발효 전  $5.02 \pm 0.14 \mu\text{g}/\text{mg}$ 과 비교하여 각각 29.28, 58.35% 감소한 반면, 비당체(aglycone)인 wogonin의 함량은  $0.61 \pm 0.01 \mu\text{g}/\text{mg}$ ,  $0.50 \pm 0.02 \mu\text{g}/\text{mg}$ 로 발효 전  $0.43 \pm 0.00 \mu\text{g}/\text{mg}$ 과 비교하여 각각 16.28, 41.86% 증가하였다. 따라서 *L. casei* KFRI 127과 *L. confuses* KFRI 227은 배당체(glycoside) wogonoside를 그의 비당체(aglycon)인 wogonin으로 전환시키는데 강력한 작용 균주로 평가할 수 있을 것이다. 장내 미생물은 단미자에 포함되어있는 유용성분의 배당체를 비당체로 전환시키고 이러한 비당체가 체내에 흡수되어 약리 활성을 조절한다는 보고가 있다. 대표적인 예로 인삼(*Panax ginseng*)의 saponin과 감초(*Glycyrrhiza uralensis Fisch*)의

Table III – Amount of eight useful components in HRT and FHRT

Compound	HR ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	AHRT ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	FHRT 127 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	FHRT 166 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	FHRT 227 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )
Geniposide	15.52 $\pm$ 0.19	19.53 $\pm$ 0.52	20.96 $\pm$ 3.48	17.19 $\pm$ 1.39	18.93 $\pm$ 0.68
Genipin	N.d. <sup>a</sup>	N.d.	N.d.	1.48 $\pm$ 0.23	N.d.
Baicalin	10.14 $\pm$ 0.29	7.59 $\pm$ 0.17	5.77 $\pm$ 0.33	5.51 $\pm$ 0.24	7.80 $\pm$ 0.64
Wogonoside	5.02 $\pm$ 0.14	3.81 $\pm$ 0.39	3.17 $\pm$ 0.31	3.51 $\pm$ 1.02	3.55 $\pm$ 0.13
Palmatine	3.52 $\pm$ 0.52	3.29 $\pm$ 0.34	3.25 $\pm$ 0.17	3.49 $\pm$ 0.43	3.84 $\pm$ 0.49
Berberine	11.90 $\pm$ 1.23	8.12 $\pm$ 0.37	7.76 $\pm$ 0.39	6.87 $\pm$ 0.56	12.75 $\pm$ 0.38
Baicalein	0.74 $\pm$ 0.13	N.d.	0.41 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.11	0.50 $\pm$ 0.11
Wogonin	0.43 $\pm$ 0.00	0.36 $\pm$ 0.04	0.61 $\pm$ 0.01	0.38 $\pm$ 0.09	0.50 $\pm$ 0.02

<sup>a</sup>N.d.: Not detected.

glycyrrhizin은 aglycon의 구조는 서로 다르나 모두 배당체(glycoside)로 존재하고 있으며, 장내 미생물의 영향을 받아서 saponin은 sapogenin으로, glycyrrhizin은 glycyrrhetic acid로 대사되어 흡수되는 것으로 알려져 있다.<sup>16-18)</sup> 이러한 내용을 기반으로 발효된 황련해독탕에서 일부 균주들에 의한 배당체(glycoside)인 wogonoside의 함량 감소와 그의 비당체(aglycon)인 wogonin의 함량 증가는 이러한 성분들의 체내흡수율을 최대화 함으로서 황련해독탕의 약리 활성을 증가할 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구에서는 다변도 한방처방의 황련해독탕으로부터 생물전환을 위한 3종의 유산 균주(*Lactobacillus casei* KFRI 127, *Lactobacillus curvatus* KFRI 166, *Lactobacillus confuses* KFRI 227)을 적용한 pH 변화에 따른 발효 정도를 확인하였다. 이 결과 발효황련해독탕의 pH가 4~5 이하로 저하된 경향을 보였고 발효가 충분히 진행되었음을 확인하였다. 이때 성분 함량을 비교하기 위하여 geniposide, genipin, baicalin, wogonoside, palmatine, berberine, baicalein, wogonin을 지표성분을 설정하여 HPLC의 동시분석법을 수행하였다. 이 결과 발효 전, 후 황련해독탕에서 8종의 지표성분을 모두 확인할 수 있었고 발효 전 황련해독탕에서는 geniposide가 12.96 $\pm$ 0.17  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로서 탕제 내 지표성분 중 주요 성분임을 확인할 수 있었다. 또한 발효 후 특정 균주 및 성분에 따라 *L. casei* KFRI 127과 *L. confuses* KFRI 227로 발효한 탕제에서 배당체(glycoside)인 wogonoside 함량은 발효전과 비교하여 각각 29.28, 58.35% 감소하였고 비당체(aglycon)인 wogonin 함량은 각각 16.28, 41.86% 증가하였다. 또한 *L. curvatus* KFRI 166으로 발효시킨 황련해독탕에서 genipin<sup>o</sup> 생성됨을 확인하였다. 따라서 *L. casei* KFRI 127과 *L. confuses* KFRI 227은 배당체(glycoside)인 wogonoside를 그의 비당체(aglycon)인 wogonin으로 전환시키고 *L. curvatus* KFRI 166은 genipin을 생성시키는 강력한 작용 균주로 평가할 수 있을 것이다. 본 연구는 발효공정의 신 기능성 소재 개발을 위한 기초데이터로서 사용이 가능할 것이다.

## 감사의 말씀

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

## 참고문헌

- Zhang, H., Shen, P. and Cheng, Y. : Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicine Si-Wu-Tang by HPLC coupled with DAD and ESI-MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **34**, 705 (2004).
- Jiang, W. Y. : Therapeutic wisdom in traditional Chinese medicine: a perspective from modern science. *Trends. Pharmacol. Sci.* **5**, 455 (2005).
- Liu, S., Yi, L. Z. and Liang, Y. Z. : Traditional Chinese medicine and separation science. *J. Sep. Sci.* **31**, 2113 (2008).
- Kong, M. J., Ha, N. N., Lee, H. Y., Kim, Y. T., Rho, S. J. and Kim, H. C. : Effect of Hwangryunhaedok-tang and its modified prescription on the recovery of spatial cognitive function in the brain ischemia induced by four-vessel occlusion in rats. *Kor. J. Herbal.* **19**, 161 (2004).
- Hwang, Y. S., Shin, C. Y., Huh, Y. and Ryu, J. H. : Hwangryun-Hae-Dok-tang (Huanglian-Jie-Du-Tang) extract and its constituents reduce ischemia-reperfusion brain injury and neutrophil infiltration in rats. *Life Sci.* **71**, 2105 (2002).
- Kim, S. G., Poudel, A. and Kim, Y. K. : Development of simultaneous analysis for marker constituents in Hwangryunhaedok-tang (黃連解毒湯) and its application in commercial herbal formulas. *J. Nat. Med.* **67**, 390 (2013).
- Yang, H. J., Won, J. B., Lee, B. H. and Ma, C. J. : The alteration of components in the fermented Hwangryunhaedok-tang and its neuroprotective activity. *Pharmacogn. Mag.* **7**, 207 (2011).
- Doh, E. S., Chang, J. P., Lee, K. H. and Seong, N. S. : Ginsenoside change and antioxidation activity of fermented ginseng. *Korean J. Med. Crop. Sci.* **18**, 255 (2010).
- Hyun, J. S., Kang, S. M., Han, S. W., Kang, M. C., Oh, M. C. and Oh, C. K. : Flavonoid component changes and antioxidant

- activities of fermented Citrus grandis Osbeck Peel. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* **38**, 1310 (2009).
- 10) Nakano, D., Kwak, C. J., Fuji, K., Ikemura, K., Satake, A. and Ohkita, M. : Sesamin metabolites induce an endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation through their antioxidative property-independent mechanisms: possible involvement of the metabolites in the antihypertensive effect of sesamin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **318**, 328 (2006).
- 11) Lin, Y. W. and Chiang, B. H. : Anti-tumor activity of the fermentation broth of *Cordyceps militaris* cultured in the medium of *Radix astragali*. *Process Biochem.* **43**, 244 (2008).
- 12) Park, H. Y., Um, Y. R. and Ma, J. Y. : Quantitative analysis of marker substance in fermented Rehmanniae Radix Preparata. *Korean J. Pharmacogn.* **41**, 58 (2010).
- 13) Maraza, J. A., Garro, M. S. and Giori, G. S. : Aglycone production by *Lactobacillus rhamnosus* CRL981 during soymilk fermentation. *Food Microbiol.* **26**, 333 (2009).
- 14) Xu, M., Sun, Q., Su, J., Wang, J., Xu, C., Zhang, T. and Sun, Q. : Microbial transformation of geniposide in *Gardenia jasminoides* Ellis into genipin by *Penicillium nigricans*. *Enzyme Microb. Technol.* **42**, 440 (2008).
- 15) Chen, C., Han, F., Zhang, Y., Lu, J. and Shi, Y. : Simultaneous determination of geniposide and its metabolites genipin and genipinine in culture of *Aspergillus unger* by HPLC. *Biomed. Chromatogr.* **22**, 753 (2008).
- 16) Ham, S. P., Lim, B. L., Ka, J. H., Ka, S. O. and Park, B. H. : Fermentation increase antidiabetic effects of *Aconthopanax Senticosus*. *Kor. J. Ori. Med. Physiol. Pathol.* **22**, 340 (2008).
- 17) Bae, E. A., Han, M. J., Kim, E. J. and Kim, D. H. : Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformants. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 61 (2004).
- 18) Akao, T. and Kobashi, K. : Glycyrrhizin beta-D-glycyronidase of *Eubacterium* sp. From human intestinal flora. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **35**, 205 (1987).