

유산균 발효로 약효가 활성화된 신개념 인삼 -秘蔘-

성종환(주식회사 일화 중앙연구소)

고려인삼은 대한민국을 대표하는 생약으로 동양학에서 가장 잘 알려진 약초이기도 하다. 인삼중에서 비교적 다량으로 함유되어 있는 성분중의 하나인 saponin은 많은 연구자들이 다수의 보고를 내고 있으며 인삼 중에서 가장 유효한 성분으로 여겨지고 있다. 또한 이러한 saponin성분을 물리적인 힘으로 가공하여 변형한 성분을 새로운 활성 성분으로 관심을 갖고 있는 것이 현재의 인삼 연구 추세이기도 하다.

이처럼 인삼 saponin이 인삼의 주된 약리활성을 갖는 물질이라 여겨져 왔지만 이러한 사포닌 성분들이 체내에서 어떻게 변화할 것인가에 대한 부분에 대해서는 상대적으로 등한시 되어왔다. saponin의 생체내 변화는 기존에 보고된 여러 작용발현과의 관계에서 매우 중요하다고 할 수 있지만 이런 연구는 이제 시작되는 단계에 불과한 것이 현실이다.

고려인삼을 비롯한 대부분의 생약들은 경구적으로 섭취하므로 소화관 내에서 그 활성 성분이 대사되어 약리작용을 나타내는 것으로 예측할 수 있다.

예를 들면 감초(glycyrrhizin), 대황(sennoside), 작약(paeoniflorin)은 사람의 장내세균 효소에 의해 대사를 받아 glycyrrhetic acid, sennidin, paeonimetabolin등의 대사산물로 변화되어 흡수됨으로서 약리활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다.<sup>1)</sup>

인삼 사포닌의 장내세균에 대사에 관한 연구로는 rat의 소화관 내용물을 이용한 것<sup>2)</sup> 사람의 분변 현탁액을 이용한 것<sup>3)</sup> 등 몇몇 보고가 있다.

오랜 세월동안 인삼의 수출에 주력해온 (주)일화 중앙연구소에서는 인삼의 효능효과와 신제품 개발에 역점을두고 연구를 행해오면서 사람의 장내세균에 의한 고려인삼 saponin의 대사와 대사물, 그리고 체내 동태 및 약효검색에 관한 연구를 진행하여 인삼 saponin이 사람의 장내에서 어떻게 대사되어 흡수되는가를 관찰하였으며, 항암성물질인 IH-901(Compound-K, C-K), IH-902(Compound-Y, C-Y), IH-903(Ginsenoside-Mc, Mc, 신규saponin) 및, IH-904 [20(S)-Protopanaxatriol]를 생합성하여 국내외에 특허출원 등록하였다<sup>4)</sup>. 이 연구를 진행함에 있어 (주)일화에서 출자하여 설립한 일본의 (주) Happy World 一都(ITTO)生命科學研究所와 역할을 분담하였다. (주)일화 중앙연구소에서는 저자를 중심으로 산학 협동에 의한 C-K(IH-901)의 활성연구 및 신제품 개발 연구를 담당하고 일본의 一都연구소에서는 Hasegawa 박사를 중심으로 C-K(IH-901) 및 대사에 대한 연구를 담당하였다.

본 학회에서는 사람의 장내세균에 의한 인삼 사포닌의 대사와 그 대사산물에 대한 활성 그리고 사포닌의 대사과정을 유산균 발효로 접목하여 개발한 신개념 가공인삼 비삼과 그 효능에 관한 연구의 일부를 소개하고자 한다.

1) 사람의 장내세균에 의한 인삼 사포닌의 대사

인삼 사포닌은 약산 조건하에서 Rg<sub>3</sub>와 Rg<sub>2</sub>등으로 가수분해 되므로<sup>5)</sup> 경구 투여 된 인삼 사포닌은 위산에 의해 가수분해 되는 것으로 오랫동안 여겨져 왔다. 이런 이유로 근래에 이르기 까지 인삼의 대사과정에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다.

그러나 이와는 반대로 인삼 사포닌은 생체내에서 위산에 의해 약간의 과산화물만 생성될 뿐 거의 분해되지 않는다.<sup>6)</sup> 따라서 소화관에서의 대사는 거의 없이 장내에 도달하여 장내세균에 의해 대사될 것이라는 점에 착목하여 우리는 인삼 사포닌의 대사과정을 연구하였다.

사람의 장내세균에 의한 인삼 사포닌의 대사과정은 Fig. 1에 나타난 바와 같이 화학적인 분해와는 달리 말단의 당기로부터 분해되기 시작하여 각각의 경로를 거쳐 C-K(IH-901)등의 대사산물이 생성되고 또 이들 성분이 체내에 흡수하여 분포한다.<sup>7)</sup> 대사 경로 및 속도는 장내의 환경 즉 장내세균이 생육 환경에 따라 차이가 있으며 식생활, 연령, 성별등의 제반 환경 여건의 영향을 받지만 대체적으로 인삼 사포닌은 *Prevotella oris*<sup>8)</sup>, *Fusobacterium K-60*<sup>9)</sup>등의 균주에 의해 대사되어 C-K(IH-901)등과 같은 대사산물로 흡수되며 이 대사산물이 인삼의 약효를 나타내는 활성 본체(Active principle)임을 추정할 수 있다.

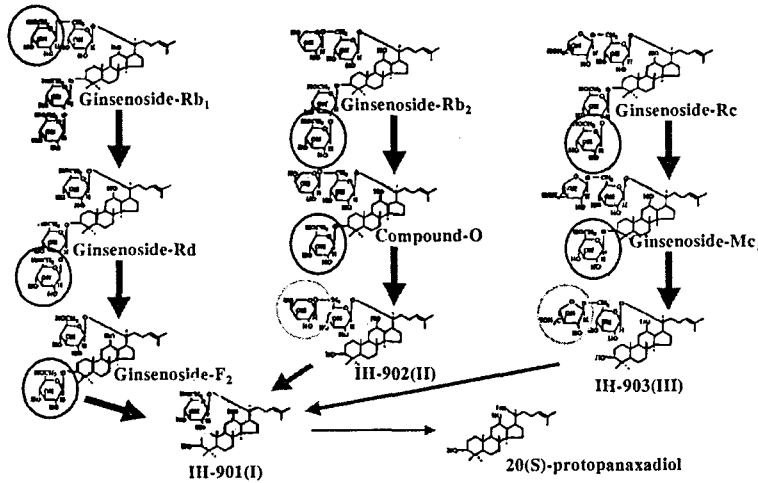


Fig. 1. Main metabolic path way of PPD-type saponins in Human intestinal bacteria

이에 우리는 이들 장내세균을 이용하여 C-K(IH-901)등의 대사 생성물을 대량으로 제조 할 수 있는 기술을 개발하였다. 즉 분리한 균주를 이용하여 대형 탱크에서 인삼 사포닌을 배양 함으로서 대량 생산 설비를 갖추고 이를 이용하고 있다.(Fig. 2)



Fig. 2. Photograph of C-K(IH-901) powder

## 2) 인삼 사포닌 대사물 C-K(IH-901)

우리는 이와 같이 제조한 C-K(IH-901)의 활성을 연구하였다.

C-K(IH-901)는 저농도에서 피부암 발생과 증복도를 획기적으로 억제하였으며 mouse의 피부에서 NF-kB의 불활성화를 통하여 나타나는 TPA에 의해 유도된 cyclooxygenase-2의 발현을 억제하였으며<sup>10)</sup>, 혈당강하와 당뇨로 인한 체중감소 억제 및 음식물과 물섭취량의 증가

를 억제하는등 당뇨에도 좋은 효과를 보였다<sup>11)</sup>. 또 C-K(IH-901)는 type-IV collagenase 분비를 억제하고 혈소판 응집과 혈관생성을 억제함으로써 암세포가 조직으로 침윤하는 것을 차단하였다. 실험적으로 암이 진행중인 mouse에 C-K(IH-901)를 경구투여 하면 전이하는 암세포수가 현저히 줄어들는데 기존의 항암제인 5-FU보다도 암세포 전이 억제에 효과적인 결과를 보였다.<sup>12)</sup>(Fig.3)

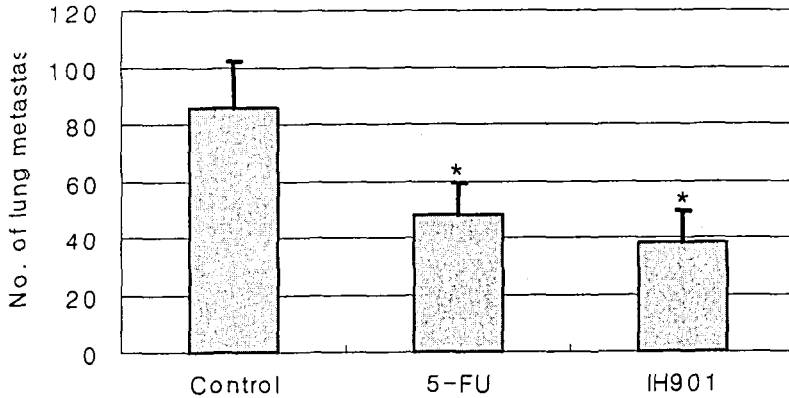


Fig. 3. Effect of IH901 and 5-FU on lung metastasis produced by LLC cells in C57BL/6 mice. \* $<0.01$

C-K(IH-901)를 경구투여하면 폐암세포(LLC cell)의 동소성 전이에 의한 폐 전이 국소에서 종양의 증식 및 임파절로의 전이를 농도의존적으로 억제하는데 이런 메카니즘은 C-K(IH-901)에 의한 apoptosis의 유도과정에 caspase-3 activity가 작용한다.<sup>13)</sup>

또 C-K(IH-901)는 같은 농도에서 normal hepatocyte에는 거의 cytotoxicity을 나타내지 않는 반면 HepG2 cell을 선택적으로 사멸시키는 효과를 보인다. 이는 C-K(IH-901)가 hepatoma만을 죽임으로써 hepatoma의 예방 및 치료에 사용될 수 있는 가능성을 제시하는 것이다. C-K(IH-901)의 hepatoma apoptosis 유도 mechanism은 암세포 표면의 Fas receptor를 통한 caspase 8의 활성화를 거쳐 mitochondria를 경유하지 않고 직접 caspase 3를 활성화시켜 세포를 죽게 하는 것으로 밝혀졌다.

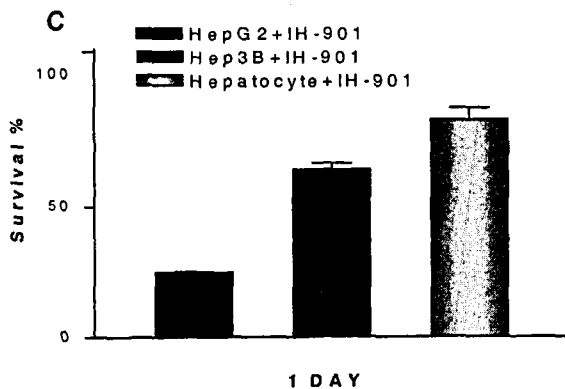


Fig. 4. Antiproliferative effect of IH-901 in primary Hepatocyte and Hepatoma cell lines. 또 C-K(IH-901)는 doxorubicin 처치에 의해 유발되는 testis toxicity 즉, seminiferous

tubules에서의 germ cell의 손실 및 sperm density 감소 등에 효과적인 독성억제 효과가 있음을 확인하였으며 combined modality therapy 시에 상승 Anti-cancer 작용 및 doxorubicin의 심장 및 testis 독성을 효과적으로 억제할 수 있다는 연구결과도 나왔다.<sup>14)</sup>

이처럼 C-K(IH-901)는 매우 강한 항암 및 억제작용을 나타내는 유용한 물질로서 intestinal flora의 차이에 따른 영향을 받지 않으면서 인삼 saponin의 흡수본체라고 하는 새로운 type의 Anti-cancer drug로서 치료효과를 발휘할 수 있는 유망한 물질이다.

이와 같은 C-K(IH-901)를 의약품으로 개발하기 위해 우리는 현재 전임상 실험을 종료하고 임상에 돌입할 준비를 하고 있다. 한편 의약품에 앞서 먼저 식품의 형태로 누구나 복용하기 쉽고 인삼과 C-K(IH-901)의 효과를 기대할수 있는 제품으로 인삼을 유산균 발효한 차세대 인삼을 개발하게 되었다.

### 3) 유산균 발효로 약효가 강화된 신개념 인삼가공품 -秘蔘-

인삼 사포닌은 체내에서 대사되어 C-K(IH-901)등을 생산하여 효능을 나타내지만 사람의 장내환경은 모두 다르고 식생활, 연령, 성별등의 제반 환경 여건의 영향을 받아 그 대사능을 발휘하지 못하는 경우가 매우 많다<sup>15)</sup>. 이런 경우에는 인삼을 복용한다고 해도 그 효능을 기대하기는 매우 어렵다. 또한 장내 미생물을 이용하여 제조한 C-K(IH-901)를 식품으로 사용하기는 매우 어렵다.

이에 우리는 유용한 장내미생물인 유산균을 검색하여 인삼 사포닌을 C-K(IH-901)등으로 발효시킬 수 있는 유산균을 찾아내고 그 유산균을 이용하여 인삼을 발효함으로써 복용전의 인삼에 다량의 C-K(IH-901)를 함유하게 함으로서 누구에게나 효과를 발휘할 수 있고 또 체내에서 인삼의 발효를 도울 수 있도록 유산균을 첨가한 발효인삼(비삼)을 개발하여 특허출원하였다<sup>16)</sup>.

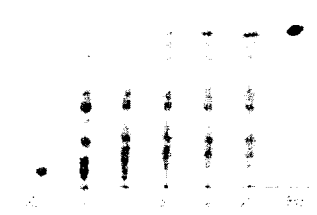


Fig. 5. TLC profile of Bee-ginseng(비삼), 1-4(1-4days after incubation)

인삼 사포닌을 C-K(IH-901)로 대사시킬 수 있는 유산균으로는 Lactobacillus, Bifidobacterium중의 극히 일부인데 그중에서도 Lactobacillus는 대사능이 매우 약하여 거의 대사(발효)가 진행되지 않는다. 장내에서 Lactobacillus보다 100 배 이상 많이 존재하는 Bifidobacterium은 대사능이 월등한데 특히 우리가 검색하여 사용하는 Bifidobacterium KK1, KK2는 Lactobacillus에 비하여 대사능이 약 1000배정도 강하다.

비삼은 유산균에 의해 사포닌 및 다른 유효성분을 발효시켜 C-K(IH-901)등을 다량 함유할 뿐 아니라 복용시 흡수가 빠르며 체질을 개선하고 장내의 유익균의 성장을 촉진하여 장기능

의 활성을 돕고 유해세균의 증식을 억제시킨다. 비삼은 고려인삼 농축액보다 항암활성이 뛰어나며 알레르기를 개선시키고 항산화 작용에 의해 노화를 억제시킨다. 또 대장암을 유발하고 간에 손상을 주는  $\beta$ -glucuronidase의 활성을 억제한다.

따라서 비삼은 인삼과 유산균 그리고 C-K(IH-901)를 동시에 함유하고 있어 비삼을 복용함으로써 이들이 가진 효과를 모두 얻을 수 있으며 인체내에서 실제로 작용하기 때문에 비삼은 인삼 효능의 본질을 보여주는 차세대 신개념 인삼 가공품이다.

#### 참고문헌

1. Akao, T. *etal*, Metabolic activation of crude drug components by intestinal bacterial enzymes., *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKAKU*, 9, 1(1992)
2. Karikura, M. *etal*, Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. VII. Comparision of the decomposition modes of ginsenoside Rb1 and Rb2 in the digestive tract of rats., *Cham. Pharm. Bull.*, 39(9), 2357(1991)
3. Kanaoka, M. *etal*, Metabolism of ginseng saponins, ginsenosides, by human intestinal flora., *J. Traditional Medicine* 11, 241(1994)
4. 특허등록번호 27372(99년2월, 한국), 5919770(99년7월,미국)등 5개국 10개 특허 등록
5. Han, B.H. *etal*, Metabolism of dammarane triterpen glycosidase of korean ginseng(I). *Korean J. Ginseng Sci.*, 2, 17(1977)
6. Karikura, M. *etal*, Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. VI. The decomposition products of ginsenoside Rb2 in the stomach of rats., *Cham. Pharm. Bull.*, 39(2), 400(1991)
7. Sung, J.H. *etal*, Metabolism of ginseng saponins by human intestinal bacteria, *Kor. J. Pharmacogn.* 26(4), 360(1995)
8. Sung, J.H. *etal*, Metabolism of ginseng saponins by human intestinal bacteria, *Kor. J. Pharmacogn.* 28(1) 35(1997)
9. Park, S. Y. *etal*, Purification and Characterization of ginsenoside Rb1-metabolizing  $\beta$ -glucosidase from *Fusobacterium K-60*, a human intestinal anaerobic bacterium. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65(5), 1163(2001)
10. Lee, J.Y., *etal* Anti-tumor promoting effects of IH-901, an intestinal bacterial metabolite derived from the protopanaxadiol ginseng saponin. *procd. 8th ICEM*,(1991)
11. Ko, S.K., *etal.*, Comparisons of antidiabetic activities between white ginseng ethanol extract and IH-901 in streptozotocin-induced diabetic rats. *Yakhak Hoeji* 47(1), 52(2003)
12. Hasegawa, H. *etal*, Ginseng intestinal bacterial metabolite IH901 as a new anti-metastatic agent. *Arch Pharm. Res.*, 20(6) 539(1977)
13. Suda, K. *etal*, Introduction of apoptosis in Lewis lung carcinoma cells by an intestinal bacterial metabolite produced from orally administered ginseng protopanaxadiol saponins. *J. of Traditional Medicines* 17, 236(2000)
14. Kang, J. K. *etal*, Ginseng intestinal metabolite-1(GIM-1) reduces doxorubicin toxicity in the mouse testis. *Reproductive Toxicology* 16, 291(2002)
- 15) Lee, D. S. *etal*, Fecal metabolic activities herbal components to bioactive compounds. *Arch Pharm. Res.*, 25(2), 165(2002)
- 16) 특허출원번호 02-5396(2002년 1월, 한국)의 일본 중국등에 출원