

## Hesperidin 대사에 의한 대금음자(對金飲子)와 평위산(平胃散)의 처방해석

김동현\*, 김남재<sup>1</sup>, 배은아<sup>2</sup>, 한명주<sup>2</sup>

경희대학교 약학대학 약학과, <sup>1</sup>동서의학연구소, <sup>2</sup>식품영양학과

### Scientific Analysis of Daekumeumja and Pyungwesan by the Metabolism of Hesperidin

Dong-Hyun Kim\*, Nam-Jae Kim<sup>1</sup>, Eun-Ah Bae<sup>2</sup> and Myung Joo Han<sup>2</sup>

College of Pharmacy, <sup>1</sup>East-West Medical Research Institute and <sup>2</sup>Department of  
Food and Nutrition, Kyunghee University, Dongdaemun-ku, Seoul 130-701 Korea

**Abstract** - To analyze scientifically the polyprescription principle of Daekumeumja(對金飲子), which has been used for alcoholic damage, and Pyungwesan(平胃散), which has been used for indigestion, the transforming rate of hesperidin of these polyprescriptions to hesperetin was investigated. The transforming rate of the former was higher 3 times than that of the latter. The transforming rate of hesperidin of *Aurantii nobilis* Pericarpium was inhibited by *Magnoliae* Cortex, but was activated by *Glycyrrhizae* Radix. The activity of trypsin was inhibited by *Glycyrrhizae* Radix and Daekumeumja. However, *Aurantii nobilis* Pericarpium, *Atractylodis* Rhizoma, *Magnoliae* Cortex and Pyungwesan did not inhibit it. When human intestinal microflora were cultured with the media containing Daekumeumja, Pyungwesan and herbal medicines consisting of them, *Aurantii Nobilis* Pericarpium and *Magnoliae* Cortex inhibited the activity of  $\beta$ -glucosidase. These results suggest that the therapeutic effect of Daekumeumja may be better than that of Pyungwesan on alcoholic damage and the therapeutic effect of Pyungwesan may be better than that of Daekumeumja on indigestion, although these prescriptions are consisted of the same herbal medicines.

**Key words** - Pyungwesan; Daekumeumja; hesperidin; *Aurantii nobilis* Pericarpium; metabolism; intestinal bacteria.

한방약은 일반적으로 방제의 형태로 이용되고 있고 그 방제를 증에 따라 선택하여 치료하고 있다. 방제는 목적에 대응하여 여러 가지의 한약이 배합되어져 있기 때문에 그 약효는 각각의 한약간의 상호복합작용에 좌우되는 경우가 많다. 방제를 구성하고

있는 약물은 대개 1종이상의 약물을 조합하여 사용하고 있으며 고방에서는 4~5종의 한약을 조합하여 사용하여왔으나 후세에 와서는 10종내외의 처방을 많이 이용하여 오고있으며, 근래에 이르러서는 수십종의 한약을 복합하여 사용하는 예도 많다. 그러나 약의 종류가 많다고 하여서 반드시 처방이 좋은 것은 아니다. 변증이 정확해서 치료방향이 명확히 서

\*교신저자 : Fax 02-957-5030

**Table I.** Composition of Daekumeumja and Pyungwesan<sup>2)</sup>

Herbal Medicine	Composition ratio	
	Pyungwe- san (平胃散)	Dae- kumeumja (對金飮子)
Atractylodis Rhizoma (蒼朮)	●8	●3
Aurantii nobilis Pericarpium (陳皮)	●5	●12
Magnoliae Cortex (厚朴)	●4	●3
Glycyrrhizae Radix (甘草)	●2	●3

면 그렇게 많은 종류의 약을 쓸 필요도 없을 것이다. 이러한 시점에서 저자는 한방의학의 가장 기본적인 이론인 변증치치와 한방약의 작용원리인 방증상대론 등을 바탕으로 증과 약을 교묘히 부합시켜 질병을 치료하고 있는 점에 주목하고 한방처방구성이론의 과학적 접근을 위한 연구의 시작으로 대금음자와 평위산을 선택하였다. 이 두 처방은 공히 같은 환약으로 구성되어져 있으면서 그 조성비에 따라 쓰여지는 용도가 각기 다르다(Table I).<sup>1-3)</sup> 대금음자는 진피를 군약으로 하여 주상을 치료할 목적으로 사용되고 평위산은 창출을 주약으로 하여 식체를 다스릴 목적으로 사용되고 있다. 그러나, 이 처방들은 구성약물의 구성비가 다르나 두 처방에 공히 높은 구성비를 갖고있는 것이 진피이며, 이 진피의 주성분은 hesperidin이다. 한편, 대부분의 한방약의 특징은 경구투여되어지고 있고, 많은 배당체를 함유하고 있고, 약효에 따라 다르기는 하지만 경우에 따라서는 약효를 발현하기위해서 장내세균이 필요하다. 이와 같이 진피의 주성분인 hesperidin도 약효를 발현하기 위해서는 장내세균에 의해서 비당체의 hesperetin으로 대사되어야한다. 저자는 두처방의 대사과정과 이 대사에 관여하는 장내세균의 효소활성에 미치는 영향과 식체를 다스리는 경우에 소화에 관여하는 protease인 trypsin활성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - Hesperidin, hesperetin, *p*-nitrophenyl β-D-glucopyranoside, *p*-nitrophenyl-β-D-glucuronide, *p*-nitrophenyl-α-L-rham-

nopyranoside, tryptophan, urea, sodium nitroprusside은 미국의 Sigma사로부터 구입하였으며, general anaerobic medium(GAM)는 일본의 니쓰이제약으로부터 구입하고, anaerobic Gas-Pak은 미국의 Difco사로부터 구입하였다. 한약재료인 진피(A), 후박(B), 창출(C), 감초(D)는 경동시장의 신성약업사에서 구입하여 사용하였다.

**검액의 조제** - 평위산 및 대금음자의 구성약물은 개별로 또는 방약합편<sup>2)</sup> 처방의 구성비에 따라 조제한 것을 약탕기에 넣고 10배의 물을 넣어 추출한 후 여과하여 얻은 여액을 동결건조한후 분말화하여 실험에 사용하였다(단, 추출시 구성약물이 같은 경우의 처방해석을 비교하기 쉽게 하기위해 생강은 첨가하지않았다). 이와 같이 추출한 진피, 대금음자, 평위산중의 hesperidin 함량은 각각 8%, 4%, 2.3%였다.

**Hesperidin의 대사체확인** - 이미 보고된 방법에 준하여 조사하였다.<sup>4,5)</sup> 먼저 hesperidin 50 mg을 첨가하여 만든 혐기성배지 500 ml에 사람의 장내세균총(신선한 분변)을 이식하여 20시간동안 37℃에서 혐기적조건하에서 배양한 후 ethylacetate로 추출하여 TLC로 2가지 대사체를 확인하고 분리하였다.

**대금음자와 평위산의 hesperidin의 사람의 장내세균총에 의한 대사량 측정** - 대사활성을 비교하기 쉽도록하기위해 hesperidin으로 같은 양(0.08 mg/ml)이 되도록 hesperidin 단독(0.08 mg/ml) 또는 진피(1 mg/ml), 대금음자(2 mg/ml), 평위산(3.5 mg/ml)을 각각 첨가하여 만든 혐기성배지(general anaerobic medium) 10 ml에 사람의 장내세균총(신선한 분변)을 이식하여 37℃에서 혐기적 조건하에서 20시간 배양하고 ethylacetate로 추출하고 농축하여 각각의 대사체의 농도를 TLC로 분석하였다. TLC의 분석은 thin-layer chromatography scanner를 이용하였다. 각 실험은 2회 반복하여 평균치로 나타내었다.

**사람의 장내세균총에 의한 hesperidin 대사에 처방구성약물이 미치는 영향 조사** - 진피, 진피와 후박(1:0.5, 1:1, 1:2), 진피와 창출(1:0.5, 1:1, 1:2), 진피와 감초(1:0.5, 1:1, 1:2)를 진피량으로 일정량(1 mg/ml; hesperidin 0.08mg/ml)이 되도록 첨가하여 만든 혐기성배지 50 ml에 사람의 장내세균총(신선한 분변)을 넣어 37℃에서 혐기적조건하에

서 배양하면서 경시적(6, 12, 18, 24, 36, 48, 72시간 후)으로 배양액을 무균적으로 2 ml를 꺼내어 ethylacetate로 추출하고 농축하여 각각의 대사체의 농도를 TLC로 분석하였다. TLC의 분석은 thin-layer chromatography scanner를 이용하였다. 각 실험은 2회 반복하여 평균치로 나타냈다.

**Trypsin 효소활성 및 저해활성 측정<sup>6)</sup>** - 1% casein을 0.36 ml, 0.1% 한약(또는 평위산, 대금음자)을 0.1 ml를 넣어 37°C에서 미리 배양한후 trypsin을 0.04 ml를 넣어 20분간 반응시켰다. 여기에 반응정지액으로 5% trichloroacetic acid을 1 ml 넣어 잘 혼합하고 2000×g에서 10분간 원심분리한 후 상등액에 대해 Lowry법으로 유리된 단백질을 측정하였다. 각 실험은 2회 반복하여 평균치로 나타냈다.

**효소의 활성 측정<sup>7-9)</sup>** - 혐기성균배양매지(GAM) 10 ml에 평위산, 대금음자 및 이들 처방구성약물의 조합물을 0%, 0.25% 또는 0.5%를 가하여 멸균한 후 사람(건강한 잡식성 20대 한국사람)장내세균총으로써 신선한 분변을 접종하고, 37°C에서 12, 22시간 혐기적 조건(80% N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> 및 10% H<sub>2</sub>를 함유한 anaerobic box; Coy Lab Product, Inc.)에서 배양한 후에 효소활성( $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -glucuronidase 및  $\alpha$ -rhamnosidase, tryptophanase, urease)을 측정하였다. 각 실험은 2회 반복하여 평균치로 나타냈다.

$\beta$ -Glucosidase 효소활성은 0.1 M 인산 완충액(pH 7.0) 0.2 ml에 2 mM *p*-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside 0.2 ml, 증류수 0.1 ml, 효소액 0.1 ml를 가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 0.5 N NaOH 0.4 ml를 가해 반응을 종료시키고 증류수 1 ml를 가하여 원심분리(2000×g, 20 min)한 후 상등액으로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$\beta$ -Glucuronidase 효소활성 측정은 0.1 M 인산 완충액(pH 7.0) 0.38 ml에 10 mM *p*-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucuronide 0.02 ml, 증류수 0.1 ml, 효소액 0.1 ml를 가하여 37°C에서 1시간 반응시키고 0.5 N NaOH 0.5 ml를 가해 반응을 종료시키고 증류수 1 ml를 가하여 원심분리(2000×g, 20 min)한 후 상등액으로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$\alpha$ -Rhamnosidase 효소활성 측정은 0.1 M 인산 완충액(pH 7.0) 0.38 ml에 4 mM *p*-nitrophenyl-

$\alpha$ -L-rhamnopyranoside 0.1 ml, 증류수 0.1 ml, 효소액 0.1 ml를 가하여 37°C에서 1시간 반응시키고 0.5 N NaOH 0.5 ml를 가해 반응을 종료시키고 증류수 1 ml를 가하여 원심분리(2000×g, 20 min)한 후 상등액으로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Tryptophanase 효소활성은 complete reaction mixture(0.1 M bicine(pH 8.0), 4% pyridoxal 5-phosphate, 20% bovine serum albumin) 0.2 ml, 0.02 M tryptophan 0.2 ml 및 효소액 0.1 ml를 가하여 37°C에서 30분 반응시키고 color reagent(*p*-dimethylaminobenzaldehyde 14.7 g, 95% ethanol 948 ml, c-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52 ml) 2 ml를 가하여 반응을 종료시킨후 원심분리(2000×g, 10 min)하고 상등액으로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Urease 효소활성은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0), 균의 배양액(또는 혈액, 분변현탁액) 20  $\mu$ l 및 5 M urea 50  $\mu$ l를 가하여 37°C에서 30분 반응시키고 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100  $\mu$ l 가하여 반응을 종료시킨후 혼합용액 1(1% phenol, 0.005% sodium nitroprusside), 혼합용액 2(0.1% sodium hypochlorite, 0.5% sodium hydroxide, 5.5% sodium phosphate dibasic)를 각각 1 ml씩 가한후 60°C에서 20분간 가열한 후 상온으로 식혀서 630 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 결 과

**대금음자와 평위산의 hesperidin이 hesperetin으로의 전환율** - Hesperidin의 장내세균에 의한 대사체를 이미 저자가 보고한 방법에 따라 확인한 결과, 이미 저자가 보고한 hesperidin의 주대사체는 hesperetin이었으며, 그외에 약간의 hesperetin monoglycoside(2%)가 확인되었다(Fig. 1). 장내세균에 의한 대금음자의 균약인 진피의 주성분인 hesperidin의 hesperetin으로의 전환율을 조사한 결과를 Fig. 2에 나타냈다. Hesperidin만을 장내세균으로 대사시켰을 때의 전환율을 100%라고 하였을 때 진피는 32%만이 전환이 되었다. 그러나, 대금음자는 94% 정도의 전환율을 보인데 반하여 평위산은 진피와 비슷한 30% 내외의 전환만을 나타내

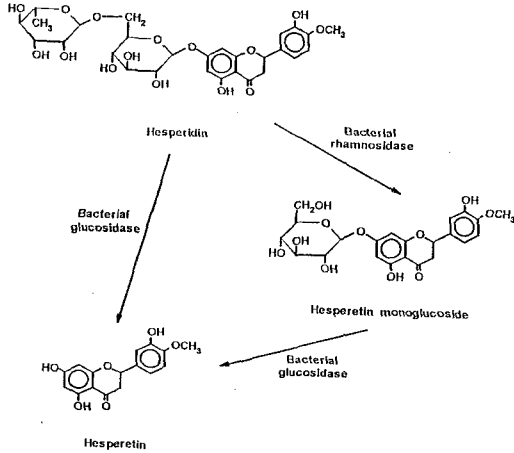


Fig. 1. Metabolic pathway of hesperidin by human intestinal microflora.

대금음자가 훨씬 높은 전환율을 보였다. 대금음자가 평위산보다 전환율이 좋은 원인을 조사하기 위해 진피와 함께 이들 처방의 구성약물을 여러 가지 농도 비로 배합하여 전환율을 조사한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 진피만을 대사시켰을 때를 100%로 하였을 때 진피와 후박을 1:0.5로 배합하였을 때 전환율은 11% 정도 억제되었으나 1:1과 1:2 비율로 배합하였을 때는 90% 이상의 억제효과를 보여 후박이 진피의 hesperidin의 대사를 억제하였다. 그러나 진피에 창출을 배합하였을 때는 거의 영향을 미치지 않았으나 창출의 농도가 가장 높았을 때 약 7%의 저해를 보였을 뿐이다. 한편 진피에 감초를 배합하였을 경우에는 진피의 hesperidin의 hesperetin으로의 전환을 저해하기보다는 오히려 활성화시키

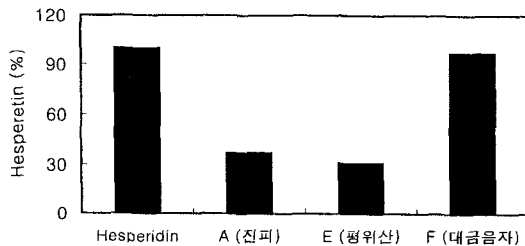


Fig. 2. The biotransforming rate of hesperidin contained in Daekumeunja and Pyungwesan poly-prescriptions to hesperetin by human intestinal bacteria. A, Aurantii nobilis Pericarpium; B, Magnoliae Cortex; C, Atractylodis Rhizoma; D, Glycyrrhizae Radix; E, Pyungwesan; F, Daekumeunja. The biotransforming rate of hesperidin to hesperetin was taken as 100%.

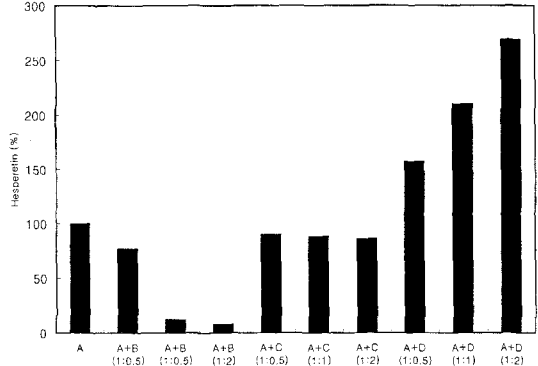
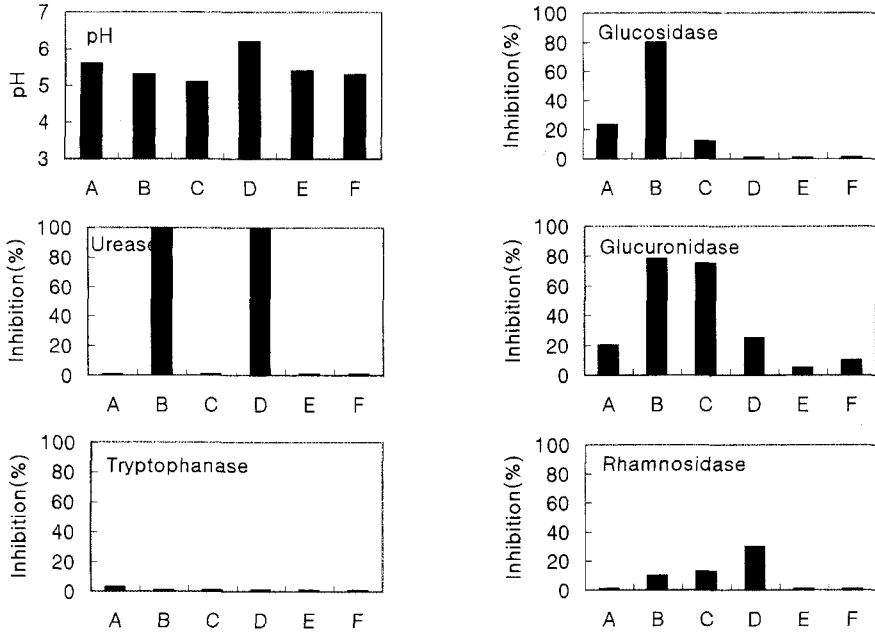


Fig. 3. The effect of poly-prescription-composing herbal medicines on the transforming rate of hesperidin of Aurantii nobilis Pericarpium to hesperetin by human intestinal bacteria. A, Aurantii nobilis Pericarpium; B, Magnoliae Cortex; C, Atractylodis Rhizoma; D, Glycyrrhizae Radix; E, Pyungwesan; F, Daekumeunja. The biotransforming rate of hesperidin of Aurantii nobilis Pericarpium to hesperetin was taken as 100%.

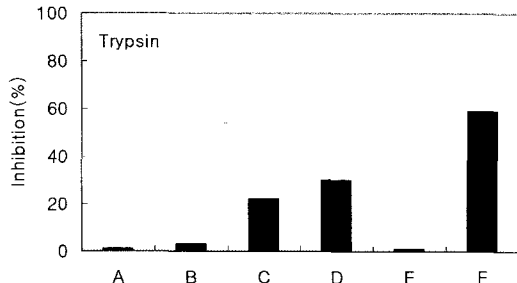
는 경향을 나타냈다. 진피에 감초를 1:0.5로 배합하였을 때는 약 55%의 활성화를 1:1로 배합하였을 때는 전환반응이 진피만을 반응시킬 때에 비해서 2배 이상 촉진되는 것으로 나타났다. 여기에 모든 결과를 나타내지는 않았지만 경시적 전환율에 있어서도 비슷한 결과를 나타냈다.

대금음자와 평위산이 장내세균효소활성에 미치는 영향 - 위에서 진피의 전환율과 장내세균의 효소의 활성이 이들 처방에 의한 영향을 조사하였다(Fig. 4).  $\beta$ -Glucosidase의 경우는 후박이 가장 강하게 효소의 생산성을 억제하였으며 그다음인 진피, 창출의 순이었으나 그외의 생약과 처방에서는 저해효과가 없었다.  $\beta$ -Glucuronidase의 경우는 창출과 후박이 가장 강하게 생산효소활성을 억제하였으며 그외의 약물과 처방은 별영향을 주지 못했다.  $\alpha$ -Rhamnosidase와 tryptophanase는 모든 구성약물과 처방에 거의 영향이 없었다. Urease 효소활성은 후박과 감초에 의해 강하게 억제한 반면에 그외의 약물과 처방은 영향이 없었다. 장내세균을 키운후의 배지의 pH저하효과는 평위산과 창출이 우수했으나, 후박과 감초와 대금음자는 거의 효과가 없었다.

대금음자와 평위산이 trypsin에 미치는 영향 - 소화효소인 trypsin에 미치는 효과를 조사하였다(Fig. 5). 진피나 후박은 거의 효과가 없었으나 대금



**Fig. 4.** The effect of polyprescription-composing herbal medicines on the activities of some enzymes of human intestinal bacteria. A, *Aurantii nobilis Pericarpium*; B, *Magnoliae Cortex*; C, *Atractylodis Rhizoma*; D, *Glycyrrhizae Radix*; E, *Pyungwesan*; F, *Daekumeuja*. Each enzyme activity of bacteria cultured without herbal medicines was taken as 100%.



**Fig. 5.** The inhibitory effect of polyprescription-composing herbal medicines on trypsin. A, *Aurantii nobilis Pericarpium*; B, *Magnoliae Cortex*; C, *Atractylodis Rhizoma*; D, *Glycyrrhizae Radix*; E, *Pyungwesan*; F, *Daekumeuja*.

음자, 감초, 창출이 우수한 효과를 나타냈다. 그중에서는 대금음자가 가장 우수한 효과를 나타냈다.

### 고 찰

대금음자와 평위산은 처방구성약물은 같으면서도 그 조성파 사용범위에는 차이가 있다. 이와 같이 처방의 구성약물은 같으면서도 조성이 달라져서 약효가 달라질려면 약물중에 함유된 구성성분이 약효를

발현하기 위해 전환되는 과정에 차이가 있을 수 있다. 그중에서도 진피의 hesperidin은 저자 등에 의해 장내세균에 의해 hesperetin 대사됨으로써 약효를 나타낸다고 보고하였다. 이렇게 대사된 hesperetin은 항산화효과, 항염증효과, 암세포에 대한 세포독성효과 등이 있음이 보고되고 있다. 여기에서 대금음자와 평위산중의 hesperidin이 hesperetin으로의 전환율을 측정한 결과 주상에 사용되는 대금음자가 식체에 사용되는 평위산에 비해 3배 정도 높은 전환율을 보였다. 이러한 결과는 대금음자가 췌양과 같은 염증에 효과가 있을 수 있음을 의미하고 있다. 그러나, 이 대금음자 처방은 trypsin에 대해서는 저해효과가 우수하였다. 이러한 효과는 대금음자의 처방을 주상에 사용하는 경우에 도움을 줄 수 있다. 주상으로인하여 위궤양이 생긴 경우에 단백질효소의 분비 또는 활성화는 위 또는 십이지장 등의 손상을 더욱 악화시킬 수 있다. 그러므로 주상의 경우에는 trypsin을 억제하는 것이 바람직하다. 그러한 면에서 대금음자는 평위산보다 바람직하다고 할 수 있다. 평위산의 경우는 식체에 사용되고 있다. 이 경우 trypsin을 저해하는 것은

바람직하지 못하다. 이러한 면에서 식체에는 대금음자보다는 평위산이 바람직하다고 생각된다. 그러나 이 처방의 구성약물이 trypsin 의 저해효과에 차이를 보이는 것은 이들 처방중 감초의 구성비에 의존하고 있는 것으로 생각된다. Trypsin 저해효과에 있어서는 감초가 가장 우수했다. 이러한 것은 감초의 구성비가 높은 대금음자가 높은 것으로 생각되며 그 외에도 혼합추출되는 과정에서 trypsin을 저해하는 성분의 추출이 많았던 것으로 생각되며 이에 대한 연구는 앞으로 더 이루어져야 할 것으로 생각된다.

아울러 평위산과 대금음자의 처방중 hesperidin이 hesperetin으로 전환되는 양의 차이는 창출보다는 후박과 감초에 의존하고있는 것으로 생각된다. Hesperidin의 전환을 후박은 저해를 하고 감초는 활성화 하였다. 그러므로 감초의 구성비가 높고 후박의 구성비가 낮은 처방의 전환율이 높을 것으로 생각된다. 즉 이러한 면에서 대금음자가 평위산보다는 훨씬 높은 전환율을 보인 것은 이러한 이유로 생각된다. 아울러 장내세균의 효소활성에 미치는 효과를 보면 hesperidin의 전환에 관여하는  $\beta$ -glucosidase와  $\alpha$ -rhamnosidase 효소활성중  $\beta$ -glucosidase효소활성은 후박과 진피에 의해 저해되었다. 그러나  $\alpha$ -rhamnosidase는 구성생약이나 처방에 의해 유의한 변화가 없었다. 이러한 것은 hesperidin의 전환은  $\beta$ -glucosidase의 효소활성에 의해 좌우될 수 있음을 시사하고 있다. 아울러 진피의 hesperidin은 hesperidin만을 대사시켰을 때보다는 진피로 반응시켰을 때가 낮을 수 있음을 시사하고 있으며 여기에서 실험한 결과는 hesperidin만을 대사시켰을 때의 약 35% 정도에 불과하였다. 이와 같이 구성약물이 같다고하더라도 효과가 차이가 있을 수 있음을 알 수 있었다. 아직 이 정도의 연구로 한방에서 사용하는 약물의 특성을 언급하

기에는 이르나 각각의 약물이 갖고 있는 특성을 잘 이용한다면 보다 우수한 처방이 개발 될 수 있을 것으로 생각된다.

## 인용문헌

1. 허 준 (동의학연구소편저) (1994) 동의보감. 여강출판사, 343, 1554. 서울.
2. 황도연 (이태호편저) (1997) 新訂對譯大方藥合編. 행림출판사, 115, 121. 서울.
3. 동의학연구소편저 (1994) 동의학개론. 여강출판사, 330. 서울.
4. Kim, D.-H., Jung, E.-A., Sohng, I.-S., Han, J.-A., Kim, T.-H. and Han, M.J. (1998) Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch. Pharm. Res.* 21: 17-23.
5. Kim, D.-H., Sohng, I.-S., Kobashi, K. and Han, M.J. (1996) Purification and characterization  $\beta$ -glucosidase from *Bacteroides JY-6*, a human intestinal bacteria. *Biol. Pharm. Bull.* 19: 1121-1125
6. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 165-175.
7. Park, H.-Y., Han, M.J., Choi, E.-C. and Kim, D.-H. (1998) Inhibitory effect of *Bifidobacterium* spp. isolated from a healthy Korean on harmful enzymes of human intestinal bacteria. *Arch. Pharm. Res.* 21: 54-61.
8. Jang, I.-S. and Kim, D.-H. (1996) Purification and characterization of  $\alpha$ -rhamnosidase from *Bacteroides JY-6*, a human intestinal bacterium. *Biol. Pharm. Bull.* 19: 1546-1649.
9. 김동현 (1995) 한방약물과 미생물. 신일상사, 서울.

(1998년 4월 26일 접수)