

## 人蔘製品の品質改良에 관한 研究(第一報)

### 人蔘根 및 葉 Saponin 의 比較研究

趙漢玉 · 趙成桓 · 金秀子

世宗大學

(1978년 11월 28일 수리)

## Quality Control of Ginseng Products(Part I)

### The saponins isolated from ginseng roots and leaves

Han-Ok Cho, Sung-Hwan Cho, Soo-Ja Kim

King Sejong University

(Received Nov. 28, 1978)

### SUMMARY

The saponins isolated from the herb of *Panax ginseng* C.A. Meyer were investigated as compared with ginseng root saponins. By adopting DEAE cellulose ion exchange chromatography the pure saponins were isolated from Korean ginseng roots and leaves. The ginseng root and leaf saponins showed some differences in the pattern of the two-dimensional thin layer chromatogram. The ratio of panaxadiol to panaxatriol in the saponins was 1.7 in the roots and 3.5 in the leaves. Infra-red spectrum of ginseng leaf saponins isolated by liquid chromatography was identical with that of root saponins.

### 緒 論

韓國人蔘의 有效成分에 관한 研究報告로는 藥理的인 것을 비롯하여 化學的, 生物學的, 加工學的인 것에 이르기까지 무수하게 많은 論文들이 발표되어 있다. 특히 최근 人蔘有效成分인 saponin을 分離·定量하는 方法<sup>(1~5)</sup>이 점차 발전되어 감에 따라, 人蔘科學은 더욱 現代化되어가고 있고 人蔘의 優秀性을 재삼 確認할 수 있게 되었다. 그러나, 이 모든 연구들이 대부분 人蔘根을 中心으로 한 研究이며 人蔘地上部에 관한 研究報告는 비교적 적은 편이다.

小松<sup>(6)</sup> 등은 人蔘葉에서 8~13%의 粗 saponin을 分離하고, 그 ethereal extract에서 nonacosane, 1-octacosanol과  $\beta$ -sitosterol을 분리하는 동시에,

粗 saponin을 加水分解하여 panaxadiol과 panaxatriol을 얻어냈다. 또한 富森<sup>(7)</sup> 등도 人蔘葉으로부터 panasenoside, kampferol, trifolin 등을 분리하였으며 panasenoside는 그 가수분해물이 kampferol, glucose, galactose라는 것으로 이루어, 그 분자구조가 kampferol-3-O-glucogalactoside이라고 밝혔다. 한편, 金<sup>(8)</sup> 등은 美國人蔘藥部에 함유되어 있는 saponin을 분리·확인하고 그들의 理化學的 特性을 根部 saponin과 비교·검토하는 동시에 그 非糖體들의 分布狀態를 발표하였다. 그 밖에도 Suprunov<sup>(9)</sup>는 人蔘地上部の microbial inhibition 대사과정을 他植物體와 비교하여 연구하는 등, 人蔘葉의 藥理學的<sup>(10)</sup>, 化學構造的<sup>(11)</sup>, 生理學的 研究活動을 벌였으나 그 모두가 다 부분적인 기초연구에 지나지 않았으며, 報告事項 또

한 확인되지 않은 점이 많다. 本實驗에서는 前報 . 의 定性的 기초자료를 토대로 liquid chromatography 를 행하여, 人蔘葉으로부터 saponin 을 분리·정제하고 그 理化學的 및 分子構造學的 特性을 根部 saponin 의 그것과 비교 조사하였다.

## 實驗材料 및 方法

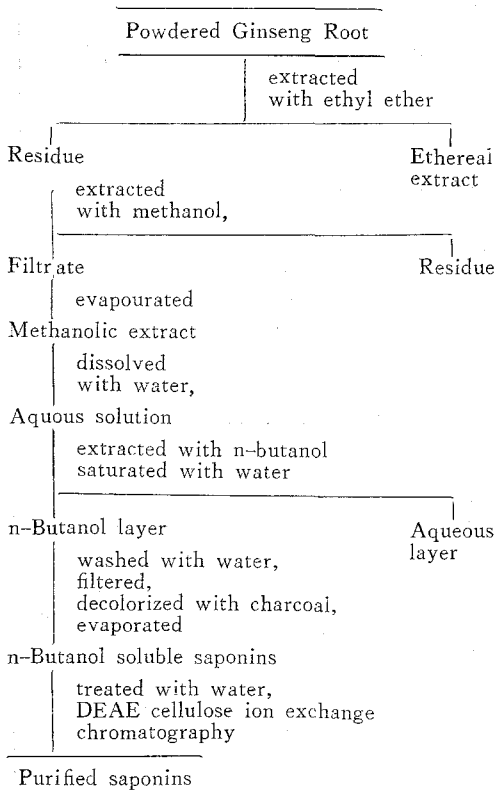
### 1. 分析試料의 調製

人蔘 saponin 을 定量하기 위하여 사용된 人蔘根 및 人蔘葉은 1977 년 9 월에 金浦參圃에서 채취한 것을 前報<sup>5,12)</sup>와 같은 方法으로 조제하여 人蔘 saponin 抽出試料로 하였다.

### 2. 實驗方法

#### (1) Saponin 의 抽出

人蔘根의 saponin 抽出은 前報<sup>5,13,14)</sup>의 方法을 變形시켜 다음 Chart 1. 과 같은 方法으로 抽出하였다.

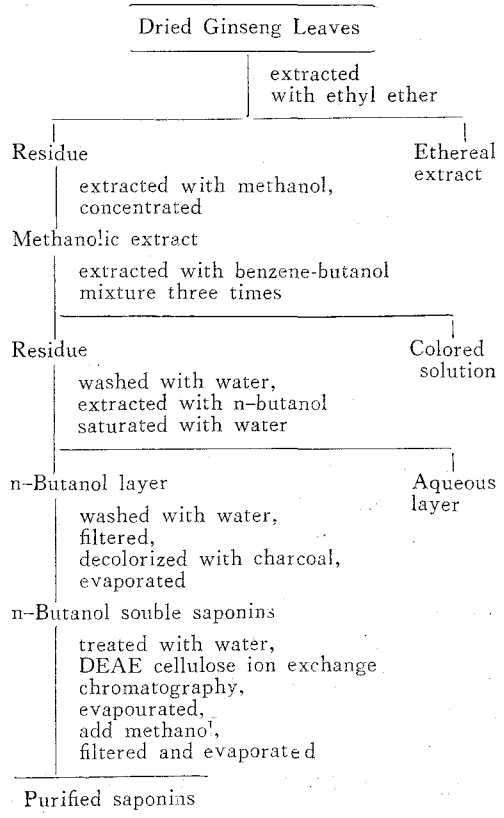


**Chart 1.** Extraction and separation of saponins from *Panax ginseng*

즉, 人蔘乾燥粉末 50g 을 ethyl ether 로 modified Soxhlet apparatus 를 이용해서 脂溶性成分을 계

거하고, 그 殘渣를 methanol 로 연속추출 농축하여 얻어진 methanol exract 에 溫水를 가하여 녹이고, 同量의 물로 포화시킬 n-butanol 로 진탕추출한 후, butanol 層部를 활성탄으로 脫色시켜 감압농축한 殘渣를 CaSO<sub>4</sub> 가 담긴 desiccator 內에 보관하여 실험용 n-butanol soluble saponin 으로 하였다.

한편, 人蔘葉의 saponin 抽出은 Chart 2. 와 같이 操作·抽出하였다.<sup>6,12)</sup>



**Chart 2.** Isolation of saponins from the herb of *Panax ginseng*

즉, 人蔘乾燥葉 100g 을 ethyl ether 로 Soxhlet 장치를 이용하여 3 일간 ether soluble extract 를 抽出·除去하고 남은 殘渣를 hot water bath 에서 methanol 로 8 시간 간격으로 3 번 가열 추출한 다음, 여과하여 얻어지는 methanol 抽出物을 농축하고 benzene 과 n-butanol (benzene 의 1~5% 정도)의 혼합용매를 가하여 30 분간 진탕하는 조작을 3 회 반복하여 色素類等이 제거되고 분리된 殘渣를 물로 포화시킨 n-butanol 로 진탕추출한 후 그 이하의 과정은 人蔘根 saponin 의 抽出方法에

準하여 人蔘葉의 n-butanol soluble saponin 을 조 제하였다.

(2) n-Butanol soluble saponin 의 liquid chromatography<sup>15)</sup>

0.5N HCl 과 0.5N NaOH 로 活性化시킬 DEA E-Cellulose(Bio-RAD Laboratories, U.S.A: exchange capacity 0.795meq./g) 30g 을 column(2.2×30cm)에 충전시키고 여기에 활성탄으로 脫色시킨 n-butanol soluble saponin 10g 을 증류수에 녹여 가하고 pH8.0 의 0.05M Tris buffer 와 pH11.0 0.05M carbonate buffer 를 사용하여 stepwise 로 전개시키면서 그 溶出液을 absorbance monitor (ISCO Model UA-5)가 부착되어 있는 automatic fraction collector(Buchler Fracto Mette 200, U. S.A.)를 사용하여 5ml 씩 받았다. UV monitoring system 을 사용하여 280nm 에서 연속적으로 용출액의 吸光度를 기록하였으며 各 分劃別로 모아 Libermann Buchard test 를 실시한 후, 冷凍乾燥 하여 methanol 에 녹이고 여과하여 시료중에 함유되어 있는 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, 당류등을 제거하고 다시 강압농축하는 조작을 반복하여 비교적 순도가 높은 saponin 을 얻어냈다.

(3) Ginsenosides 의 分離 및 確認

前報<sup>5)</sup>의 方法에 따라, n-butanol-acetic acid-H<sub>2</sub>O (4 : 1 : 5, upper layer: solvent-A)와 chloroform-methanol-H<sub>2</sub>O (65 : 35 : 10, lower layer: solvent-B)를 전개용매로 하여 thin layer chromatography(TLC)를 행하고 1次元 TLC 에 의하여 분리되는 각각의 ginsenosides 는 前報의 同定結果와 비교하여 確認하였다.

(4) Ginsenosides 의 定量

前報<sup>5,12,16)</sup>의 方法에 따라 分離된 ginsenosides 를 densitometer(Digital Densitrol DMU-33c, Japan)에 걸어 各 ginsenoside 別 相對含量을 測定하였다.

(5) Saponin 의 加水分解 및 aglycones 의 定量

前報<sup>5)</sup>의 가수분해조건, 즉 2% saponin 을 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 으로 6 시간 가수분해하고, 1次元 TLC 를 행하여 나타나는 暗褐色의 aglycone spot 를 ginsenosides 定量때와 마찬가지로 densitometer 에 걸어 saponin 의 aglycone 에 대한 fraction 別 相對含量을 算出하였다.

(6) Infra-red spectra

人蔘根 및 葉의 saponin 은 KBr disk (saponin 1mg 과 KBr 100mg)를 만들어 Beckman IR Spec

trophotometer 를 사용하여 그 IR spectra 를 比較하였다.

## 結果 및 考察

### 1. Saponin 의 Thin layer chromatography

methanol 에 10% 로 人蔘根 및 葉 saponin 을 용해시켜 그 10λ 를 TLC plate 에 spotting 하여 solvent-B 와 solvent-A 로 2次展開시켜 얻은 TLC chromatogram 은 Fig. 1. 및 Fig. 2. 와 같다.

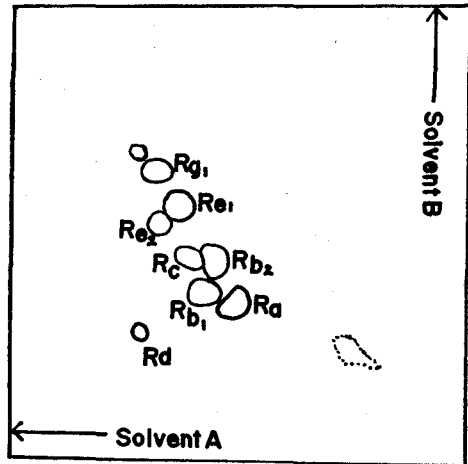


Fig. 1. Two dimensional thin-layer chromatogram of ginseng root saponins

Solvent A : n-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O 4 : 1 : 5, upper layer

Solvent B : CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O 65 : 35 : 10, lower layer

10%--10λ : 10% saponin--10 lambda application Spray reagent : 3% CeSO<sub>4</sub> in 3N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

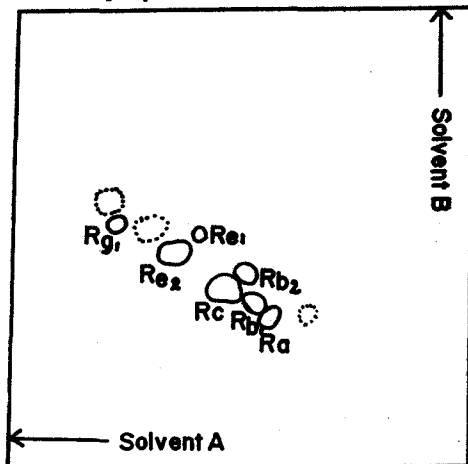
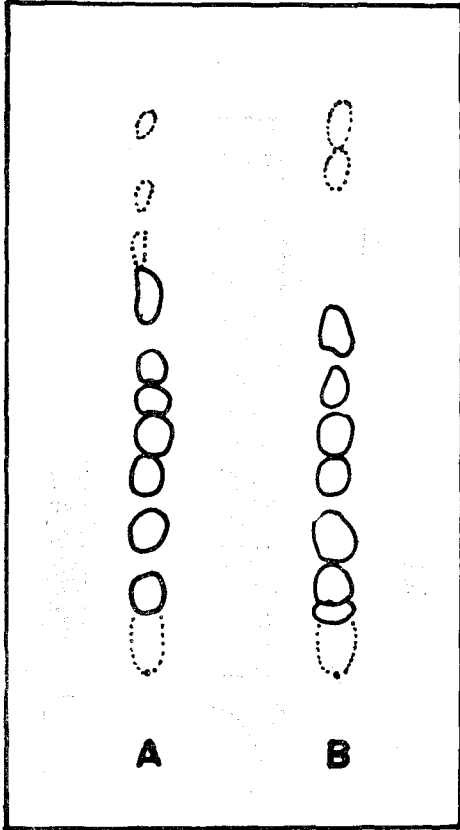


Fig. 2. Two dimensional thin-layer chromatogram of ginseng leaf saponins

人蔘葉의 TLC pattern은 oleanoic acid를 aglycone으로 하는 ginsenoside Rd가 존재하지 않을 뿐, 다른 saponin fraction은 根部 saponin과 거의 같게 나타났다. 그리고 ginsenoside Rc는 人蔘根에서 보다 葉에, ginsenoside Re<sub>1</sub> 및 Rg<sub>1</sub>는 根部에 더 많이 포함되어 있다.

## 2. Ginsenosides의 定量

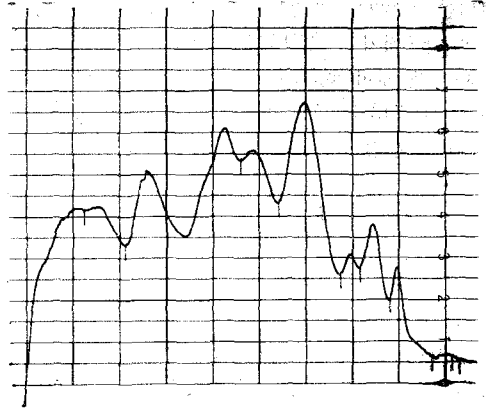
人蔘根 및 葉 saponin을 Solvent-B 溶媒系로 1次展開하여 3% CeSO<sub>4</sub>로 發色시킨 TLChromatogram과 이것을 digital densitometer에 걸어 만든 densitogram은 Fig. 3. 및 Fig. 4., 5.와 같다.



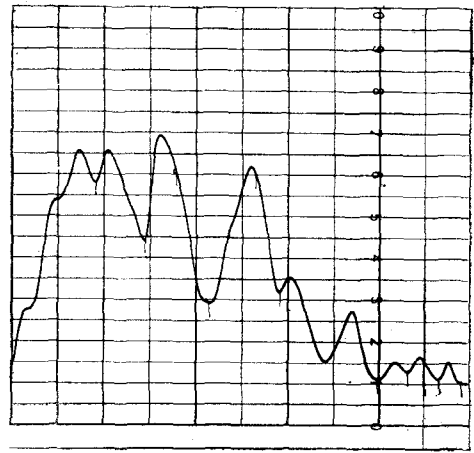
**Fig. 3.** One dimensional thin-layer chromatogram of ginseng leaf saponins(A) and ginseng root saponins(B)

Fig. 3.에서 보는 바와 같이 人蔘葉 saponin의 TLC pattern은 根部 saponin의 그것과 거의一致하며, 葉 saponin에서는 Rf值가 높은 지점에서 數個의 未確認 spot가 나타나는 것을 볼 수 있다.

Fig. 4. 및 Fig. 5.의 densitogram에서 얻은 각 saponin fraction의 比率는 Table 1과 같다. 이



**Fig. 4.** Densitogram of ginseng root saponins



**Fig. 5.** Densitogram of ginseng leaf saponins

結果에 의하면 葉 saponin은 根 saponin에 비하여 panaxadiol을 genin으로 하는 saponin fraction이 panaxatriol을 genin으로 하는 saponin部보다 많은 것으로 나타났다.

**Table 1.** Fractional distribution of ginseng saponins (Unit: %)

Saponin fraction	Roots	Leaves
K-1, Ra,d	11.4	12.3
K-2, Rb <sub>1</sub>	11.7	17.1
K-3, Rb <sub>2,c</sub>	13.4	21.4
K-4 Re	37.1	21.6
K-5		
K-6, Rg <sub>1</sub>	23.4	8.0
K-7	3.4	5.7
K-8	5.1	2.6

### 3. Saponin의加水分解

saponin 가수분해액을 TLC plate 上에 spotting 하여, benzene-acetone(4:1)의 溶媒로 1次展開 하고 發色시켜 얻은 TLChromatogram을 densitometer에 걸어 aglycone fraction別 densitogram과 그 組成比를 구한 결과는 Fig. 6, Fig. 7, 및 Table 2,와 같다.

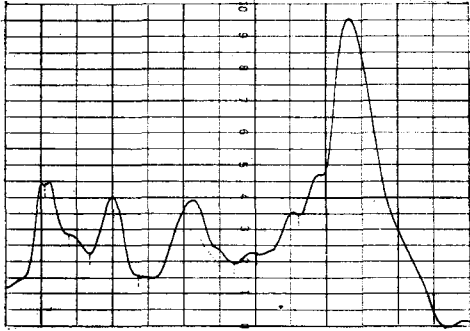


Fig. 6. Densitogram of aglycone fractions of ginseng root saponins

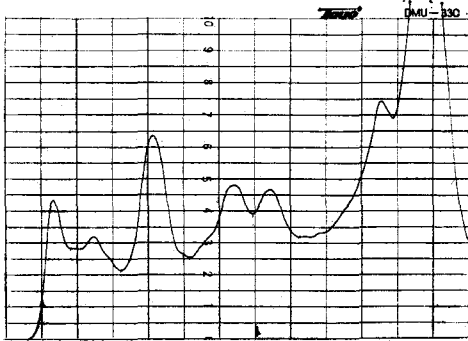


Fig. 7. Densitogram of aglycone fractions of ginseng leaf saponins

Table 2. The ratio of panaxadiol and panaxatriol contents in the saponins isolated from ginseng roots and leaves

	panaxadiol (%)	panaxatriol (%)	ratio (diol/triol)
roots	54.0	32.4	1.7
leaves	63.0	18.0	3.5

위 결과는 葉 saponin에는 根 saponin에 비하여 panaxadiol系의 saponin이 많이 含有되어 있다는 Table 1의 결과와 一致하는 것이다.

### 4. Liquid chromatography

앞에서 설명한 바와 같이 활성탄으로 탈색시킨 n-butanol soluble saponin을 前處理가 끝난 column에 가하고, pH8.0 Tris buffer와 pH11.0 carbonate buffer를 사용하여 DEAE-cellulose ion exchange chromatography를 행하고 5ml씩 용출액을 받았다. n-butanol soluble saponin의 UV spectrum을 그려 보면 거의 모든 자외선 범위에 걸쳐 광범한 吸光度를 나타냄으로 용출액에 포함된 人蔘 saponin의 含量과 吸光度와의 알아 보기 위하여 fraction collector에 UV monitoring system을 부착하여 280nm에서 그 吸光度를 연속적으로 기록하였다. 이때 그려진 각 fraction에 대한 吸光度는 Fig. 8, 및 Fig. 9,와 같다.

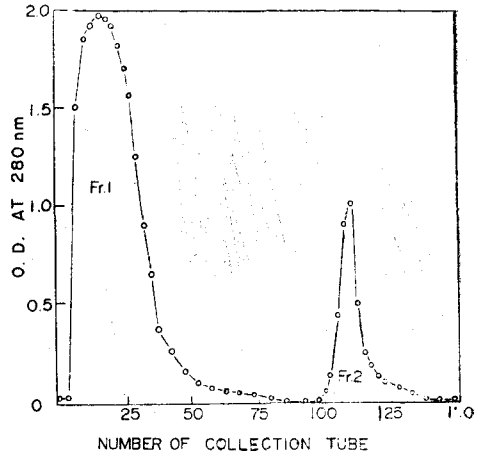


Fig. 8. DEAE cellulose ion exchange chromatography of ginseng root saponins

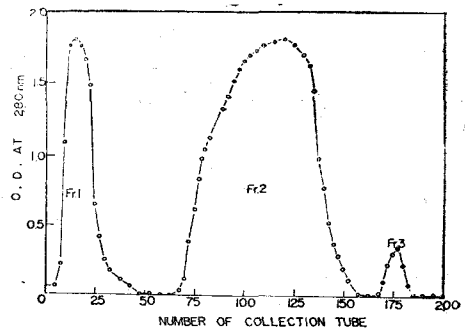


Fig. 9. DEAE cellulose ion exchange chromatography of ginseng leaf saponins

人蔘根 및 葉의 n-butanol soluble saponin 10g씩으로 liquid chromatography를 행하여 根 saponin에서는 2개의 큰 分割(Fr. 1, 및 Fr. 2.)

**Table 3.** Isolation of saponins by liquid chromatography

Samples	Saponin Fractions	Yield (mg)
Crude Root Saponins (GRS)	Fr. 1.	2,470
	Fr. 2.	450
Crude Leaf Saponins (GLS)	Fr. 1.	1,150
	Fr. 2.	2,190
	Fr. 3.	370

(Note) Extraction from n-butanol soluble saponins (10g) of ginseng roots and leaves respectively

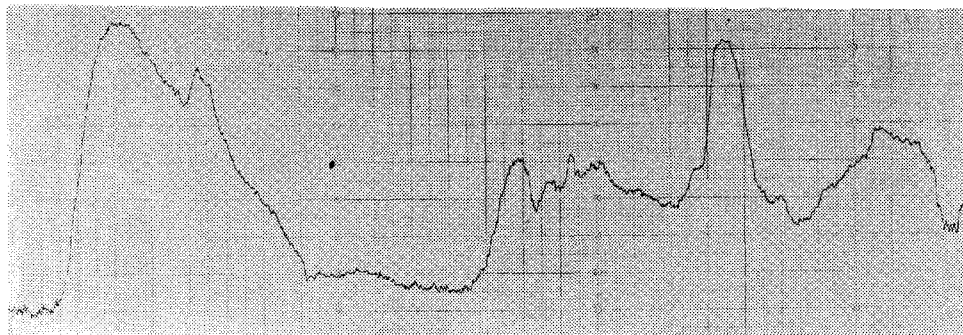
을 얻었고, 葉 saponin에서는 3개의 큰 分劃(Fr. 1., Fr.2. 및 Fr.3.)을 얻을 수 있어, 各 fraction tubes를 모아 冷凍乾燥한 後, methanol에 녹여

불순물을 제거하고, 減壓濃縮하여 Table 3.과 같은 收量을 얻을 수 있었다. column chromatography에 의하여 분리한 各 分劃에 대해 saponin fraction 여부를 확인하기 위하여 Libermann Buchard test<sup>(21)</sup>를 행하였다. Fig. 8. 및 Fig. 9.에서 나타난 GRS의 Fr. 1.과 GLS의 Fr. 1. 및 Fr. 2.는 test 결과, 陽性反應을 보였으나, GRS의 Fr. 2.와 GLS의 Fr. 3.는 모두 陰性反應을 보였다.

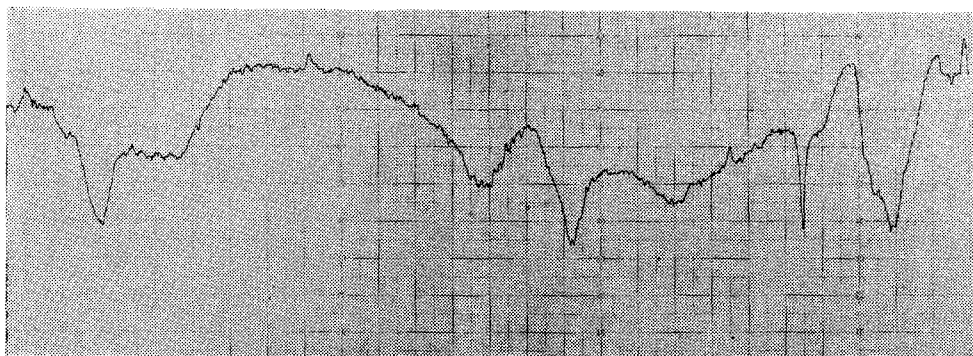
### 5. Infra-red spectra

Liquid chromatography에 의해 분리된 根 saponin部(GRS의 Fr. 1.과 Fr. 2.)와 葉 saponin部(GLS의 Fr. 1. Fr. 2. 및 Fr. 3.)의 分子構造學的 差異를 비교 검토하기 위한 기초실험으로 各 分劃의 IR spectra를 측정한 결과는 Fig. 10, 11 (GRS) 및 Fig. 12, 13, 14 (GLS)와 같다.

Fig. 10. 및 Fig. 12, 13에서 보는 바와 같이



**Fig. 10.** Infra red spectra of ginseng root saponins (Fr. 1.)



**Fig. 11.** Infra red spectra of ginseng root saponins (Fr. 2.)

Libermann Buchard test에서 陽性反應을 보인 根 saponin의 Fr. 1과 葉 saponin의 Fr. 1 및 Fr. 2의 IR spectra는 類似한 것으로 나타났으며, 各기 610~700cm<sup>-1</sup>에서 C-H, 1,000~1,100cm<sup>-1</sup>에서 C-O, 1,600~1,700cm<sup>-1</sup>에서 C=C, 2,800

~3,000cm<sup>-1</sup>에서 -OH group의 吸收帶를 보여 주었다 이는 柴田等<sup>(17~29)</sup>이 發表한 ginsenosides의 分子구조결과와 대체로 一致하는 것으로 이들 分劃들은 모두 saponin 含有分劃임을 알 수 있다.

한편, GRS의 Fr. 2.와 GLS의 Fr. 3.는 Fig. 11.

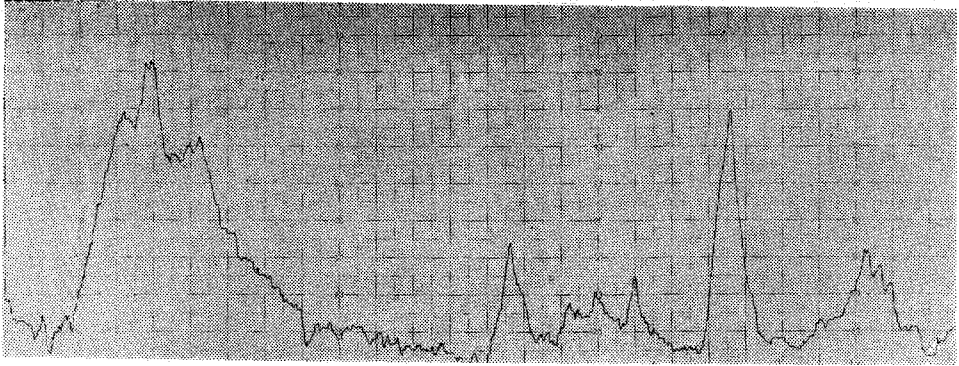


Fig. 12. Infra red spectra of ginseng leaf saponins (Fr. 1.)

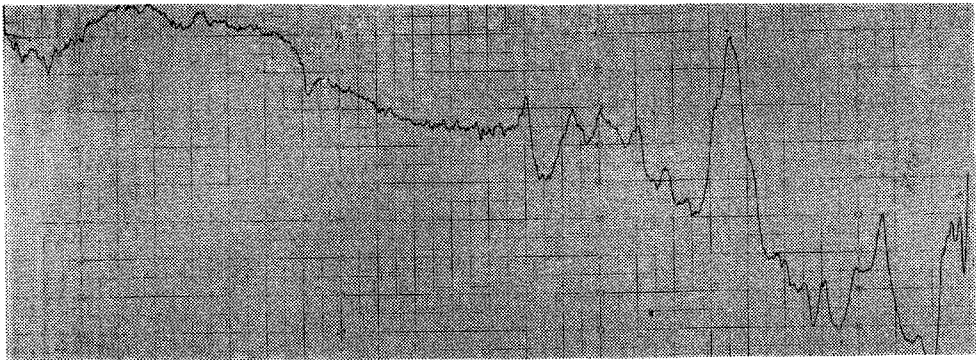


Fig. 13. Infra red spectra of ginseng leaf saponins (Fr. 2.)

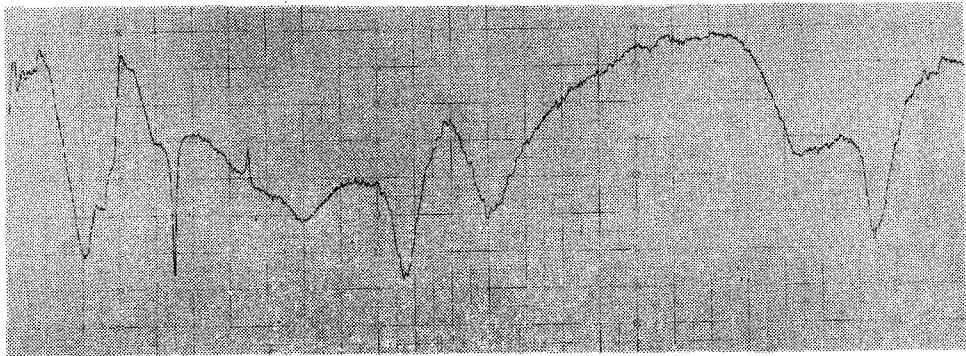


Fig. 14. Infra red spectra of ginseng leaf saponins (Fr. 3.)

및 Fig. 14.에서 보는 바와 같이 그 IR spectra가 전혀 다른 것으로 나타났으며, 이에 대한 결론을 얻기 위하여는 좀 더 자세한 화학적, 분석학적 검토가 있어야 할 것 같다.

#### 要 約

人蔘葉을 ether, benzene-butanol 혼합용매 등으로 色素類기타 脂溶性物質들을 제거하고, metha-

anol 과 n-butanol로 연속추출하여 n-butanol soluble saponin을 얻고 계속해서 liquid chromatography를 행하여 分割別로 人蔘葉 saponin을 분리 정제하였고, 그 化學的 및 分子構造學的 特性을 人蔘根 saponin과 비교 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 人蔘根과 葉 saponin의 2次元 TLC pattern은 多少 差異가 있으나, 多數의 spot들이 一致하

었다. 人蔘葉에는 ginsenoside Rd 가 존재하지 않고, ginsenoside Rc 는 葉에, ginsenoside Re<sub>1</sub> 및 Rg<sub>1</sub> 는 根部에 더 많이 分布되어 있었다.

2. 人蔘葉에는 人蔘根에 비하여, panaxadiol 系 saponin 이 panaxatriol 系 saponin 보다 더 높은 함량을 보였다.

3. n-butanol soluble saponin 으로 liquid chromatography 를 행하여 人蔘根에서는 Fr. 1. 과 Fr. 2. 를 얻었고, 人蔘葉에서는 Fr. 1, Fr. 2. 및 Fr. 3. 의 分割을 얻을 수 있었다. 人蔘根의 Fr. 1 및 葉의 Fr. 1. 과 Fr. 2. 등 3개의 分割은 saponin test 反應에 陽性을 보이고, 그 IR spectra 는 同一한 것으로 나타났다.

### 引用文獻

- 1) Namba, T., Yoshizaki, M., Tomimori, T., Kobashi, K., and Hasse, J.: Yakugaku Zasshi **94**, 252(1974)
- 2) Otsuka, H., Morita, Y., Ogihara, Y., and S. Shibata: Planta medica **32**, 9(1977)
- 3) Han, B.H., Woo, L.K.: Presented at 21 st Annual Conf. of Pharm. Soc. Korea, D-3 (1972)
- 4) Kim, H.J., Nam, S.H. and Fukura, Y.: Korean J. Ginseng Soc. **1**(1), 79(1976)
- 5) 趙成桓, 趙漢玉, 金載勗: 韓國農化學會誌, **19** (4), 223(1976)
- 6) Manki Komatus, Tsuyoshi Tomimori: Shoyakugaku Zasshi **26**(1), 21(1966)
- 7) Tomimori, T., Komatsu, M., and Y. Maki-guchi: Yakugaku Zasshi **89**(1), 122(1969)
- 8) Kim, J.Y. and E.J. Staba: Kor. J. Pharmacog. **4**(4), 193(1973)
- 9) Suprunov, N.I.: Aptechn. Celo **10**(6), 28 (1961)
- 10) Saito, H, Morita, M and K. Takagi: Jap. J. Pharmacol., **23**(1), 43(1973)
- 11) Vlasova, G.F., Lobizov, N.I. and V.V. Sheberstov: Lek. Rast., **15**, 566(1969)
- 12) 趙成桓: 韓國農化學會誌, **20**(1), 142(1977)
- 13) Fujita, M., Itakawa, H. and S. Shibata: Yakugaku Zasshi **82**(2), 1634(1962)
- 14) Shibata, S: Tampaku-Shitsu, Kakusan, Kosa, **2**(1), 32(1967)
- 15) 韓胎龍: 韓國科學院 碩士學位論文(1967)
- 16) 趙成桓: 韓國農化學會誌, **20**(2), 188(1977)
- 17) Kim, J.Y. and E.J. Staba: Kor. J. pharmacog. **5**(2), 85(1974)
- 18) Nagai, M, Ando, T., Tanaka, N., Tanaka, O. and S. Shibata: Chem. Rharm. Bull. **20** (6), 1212(1972)
- 19) Nagai, M., Tanaka, O. and S. Shibata: Tetrahedron **27**(5), 881(1971)
- 20) Nagai, M., Tanaka, O. and S. Shibata: Chem. Pharm. Bull. **19**(11), 2349(1971)
- 21) George Rendina: Experimental Methods in Modern Biochemistry(Saunders Co.) p.172 (1972)