

## 柴胡함유 生藥製劑중 人蔘 Sapogenin의 확인 및 Ginsenoside-Rb<sub>1</sub>의 분리 정량

崔康注 · 高成龍 · 田炳鮮 · 成絢淳  
韓國人蔘煙草研究所

Identification of Ginseng Sapogenin and Quantitative Determination of Ginsenoside-Rb<sub>1</sub> from Crude Drug Preparation Containing Bupleuri Radix

Kang Ju Choi, Sung Ryong Ko, Byeong Seon Jeon and Hyun Soon Sung  
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon, 302-345, Korea

**Abstract**—From crude drug preparation(*Soshiho-Tang*) ginseng sapogenins were identified by TLC and ginsenoside-Rb<sub>1</sub> was determined quantitatively by HPLC. Panaxadiol, pandaxatriol, acid-hydrolysates of ginseng saponin, were identified by TLC with benzene/acetone(4 : 1, v/v). Rf values of which were measured as 0.26 and 0.14, respectively. The content of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> was determined by HPLC on Lichrosorb-NH<sub>2</sub> column with CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/n-BuOH(80 : 20 : 10, v/v). Its recovery rate in the extract granules, was as relatively low as 19.8±1.4% compared to the content in raw red ginseng,

**Keywords**—*Panax ginseng* · sapogenin · ginsenoside-Rb<sub>1</sub> · crude drug preparation (*Soshiho-Tang*) · TLC · HPLC

人蔘 사포닌은 triterpencid의 dammarane骨格을 가진 配糖體<sup>1,2)</sup>로서 特異한 藥理效能<sup>3,4)</sup>이 있을 뿐만 아니라 人蔘屬 植物에만 함유된 것으로 밝혀져 人蔘의 有效 指標成分으로 관심의 대상이 되어져 왔다.

人蔘 사포닌의 定量法은 사포닌이나 또는 사포게닌을 重量法<sup>1,19)</sup>, 比色法<sup>5-7)</sup>, preparative-TLC<sup>8,9)</sup>, TLC-scanner<sup>10,11)</sup>, GLC<sup>12,13)</sup> 및 HPLC<sup>14,15,21)</sup>에 의한 定量法외에 放射化學分析法<sup>16)</sup>이나 免疫學的인 分析方法<sup>17)</sup> 등이 보고되고 있으나 최근 사포닌함량 분석은 주로 HPLC 정량방법이 통용되고 있다. 그러나 生藥複方劑중 人蔘 指標成分에 대한 확인 방법이나 정량방법에 대해서는 거의 보고된 바 없는 실정이다. 따라서 本研究에서는 生藥複方劑에 대한 品質管理 研

究의 일환으로 小柴胡湯 試料중 人蔘 사포닌의 sapogenin에 대한 TLC확인 시험 방법을 설정하고 HPLC에 의한 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>의 함량을 분석하여 原料人蔘으로부터 試料중의 移行량을 조사하였다.

### 實驗 方法

#### 人蔘 및 生藥材料

人蔘은 한국담배인삼공사에서 6年根 水蔘으로 제조한 原料紅蔘을 사용하였고 생약제는 전문가의 확인을 받아 市中 한약 건재 도매상에서 구입하였으며 柴胡는 植柴胡를 구입하여 本試驗의 材料로 사용하였다.

#### 試 藥

HPLC分析에 사용한 acetonitrile, n-butanol 및 증류수는 E. Merck회사의 HPLC用 溶媒類를 사용하였고, 사포닌 抽出溶媒와 展開溶媒는 一級試藥을, TLC plate는 silicagel 60 precoated aluminum sheet (E. Merck Co. layer thickness 0.2 mm)을 사용하였다. 人蔘 saponin 및 sapogenin 標準品은 韓國人蔘煙草研究所에서 分離한 純品을 사용하였다.

#### 小柴胡湯 試料 製造

漢方醫書인 處方分量集의 小柴胡湯處方<sup>18)</sup>의 g 重量비율(柴胡:7, 半夏:5, 生薑:4, 黃芩:3, 大棗:3, 人蔘(紅蔘):3, 甘草) 대로 人蔘(紅蔘) 및 原料生藥을 配合하여 10倍量(v/w)의 물을 가하여 75±2°에서 8時間동안 1次 抽出하였고, 2次와 3次는 각각 5倍量(v/w)의 물을 가하여 동일한 方法으로 抽出하여 濾過후 70°以下에서 濃縮시켜 물추출액기스를 製造하였다. 이와 같은 方法으로 含水 40%以下의 액기스를 얻은다음 액기스(對乾物量 基準)와 同量의 澱粉을 무형제로 배합하여 篩別시킨 후 60°以下에서 乾燥시켜 小柴胡湯 顆粒을 製造하였다. 한편, 標準湯液은 본 시험의 小柴胡湯 生藥材의 배합비율<sup>18)</sup>과 동일하게 배합하여 일본 후생성의 “의료용 제조지침 제 2 장 의약품의 승인신청<sup>20)</sup>”의 標準湯劑 조제방법에 따라 生藥材量의 20배(v/w)의 물을 가하여 30분 이상 가열 추출농축하여 여과 했을때 가해진 물량의 반량의 여과액을 얻는 方法으로 제조하였다.

#### 人蔘 사포닌成分의 確認

人蔘 사포닌成分의 확인은 試料로부터 Ando 등<sup>19)</sup>의 方法에 準하여 수포화 n-butanol 抽出方法으로 粗사포닌 分劃物을 分離한 다음 사포닌成分의 확인은 silicagel plate를 利用하여 chloroform/methanol/water (65:35:10, lower phase)으로 展開하였다. 사포닌成分<sup>6,19)</sup>의 확인은 試料로부터 抽出된 粗사포닌 分劃物을 50% ethanol性 7%-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>으로 加水分解후 sapogenin을 抽出하여 benzene/acetone(4:1)으로 展開하였으며 發色試藥은 사포닌이나 사포닌 모두 30% sulfuric acid을 사용하였다.

#### Ginsenoside-Rb<sub>1</sub>의 定量

사포닌成分의 定量試驗은 上記와 같은 方法으

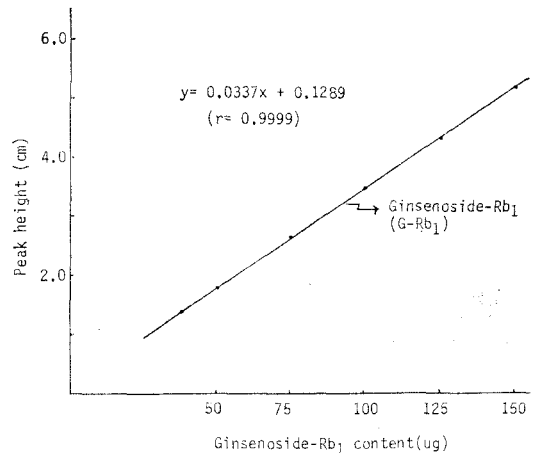


Fig. 1. Calibration curve of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> by HPLC

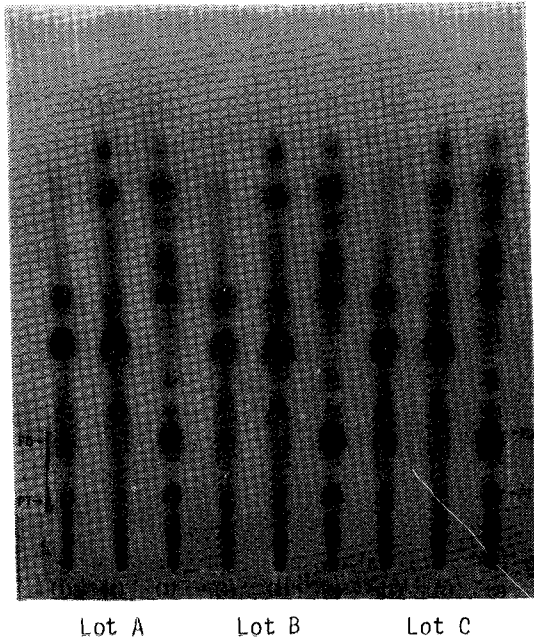
로 粗사포닌 分劃物을 分離한 다음 HPLC 分離定量方法<sup>14,21)</sup>으로 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>(G-Rb<sub>1</sub>)을 定量하였다. 이때 사용한 HPLC는 Waters Associates Model 244를, column은 Lichrosorb NH<sub>2</sub> (Merck, 10 μm, 25×0.46 cm I.D.)를, 檢出器는 differential refractometer RI 401을 사용하였고 mobile phase는 acetonitrile/water/n-butanol (80:20:10, v/v)을 사용하였다. 한편 HPLC 分析方法으로 얻은 G-Rb<sub>1</sub> chromatogram의 peak 높이로서 작성된 檢量線은 Fig. 1과 같다. 이 檢量線의 회귀방정식은  $y=0.0337x+0.1289$ 이며, 直線性을 檢定한 結果 그 相關係數가  $R=0.9999$ 로서 1.0에 接近하여 G-Rb<sub>1</sub>이 重量과 peak height ratio間에 直線性이 認定되었다.

### 實驗 結果 및 考察

#### 小柴胡湯製劑중 人蔘사포닌의 確認

本試驗에서 製造한 小柴胡湯 試料 중 人蔘成分의 TLC에 의한 確認試驗은 Fig. 2와 같이 小柴胡湯, 小柴胡湯에서 人蔘을 벤 시료 및 人蔘을 각각 同一한 方法으로 처리후 TLC로 展開시켜 小柴胡湯製劑중 人蔘 指標 成分을 확인 동정하였다.

小柴胡湯製劑중의 人蔘成分의 確認試驗은 먼저 人蔘의 有效指標成分<sup>1-4)</sup>으로 보고된 사포닌成分을 TLC로 확인시험을 시도하였으나 小柴胡



**Fig. 2.** Thin layer chromatogram of sapogenin fraction of *Soshiho-Tang* and red ginseng. Silica gel 60 plate was developed in solvent system benzene: acetone=4:1 and detected with 30%-sulfuric acid. The samples were (A) *Soshiho-Tang* granules, (B) *Soshiho-Tang* extract without ginseng, (C) Raw red ginseng.

湯製劑의 사포닌抽出 分劃에서 柴胡와 타 生藥成分들이 다량 검출되어 人蔘사포닌 成分에 대한 선택적인 확인 시험이 불가능하였다. 本 小柴胡湯 試料의 경우 1日 服用量을 기준으로 生藥劑 7種(총 27g) 중 柴胡는 7g을 配合하여 柴胡사포닌인 saikosaponin<sup>22)</sup>이 TLC에서 다량 檢出되었고 그외에 5種 生藥材들의 사포닌<sup>22)</sup>이나 配糖體<sup>22)</sup>들도 검출되어 小柴胡湯 중 人蔘사포닌은 TLC로 確認 同定이 不可하였다. 그러나 人蔘사포닌을 酸加水分解<sup>1,2,18)</sup> 할 경우 20여종<sup>1,2,4)</sup>의 人蔘사포닌에서 panaxadiol과 panaxatriol의 sapogenin이 生成된다는 점에 착안하여 小柴胡湯 試料製品을 50% ethanol性 7%-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>으로 加水分解 후 ethyl ether로 抽出하여 sapogenin 抽出分劃物을 分離하였다. sapogenin 추출분획물을 TLC로 조사해 볼때 Fig. 2에서와 같이 人蔘과 小柴胡湯製劑에서는 人蔘 saponin의 sapogenin으로 panaxadiol과 panaxatriol을 확실하게 同定할 수 있었으나 小柴胡湯에서 人蔘을 제외한 경우는 확인되지 않았다.

小柴胡湯製劑 중 人蔘成分을 確認하기 위하여 panaxadiol 및 panaxatriol을 TLC로 分離 確認한 것은 本試驗에서 처음 시도한 것으로 사료되며 人蔘의 sapogenin 確認試驗 方法은 小柴胡湯製劑뿐 아니라 人蔘의 配合量이 적어서 人蔘의 確認이 어려운 여러 生藥複方劑에서도 活用이

**Table I.** Recovery contents of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> to *Soshiho-Tang* preparations (unit: mg)

Lot No.	Sample	Red ginseng(3g)	Standrad* preparation	Extract*	Granules*
Lot A	1	29.1	6.3	6.8	5.3
	2	29.3	7.3	7.0	5.6
	3	29.0	7.2	7.6	5.9
	average	29.1	6.9	7.1	5.6
Lot B	1	32.4	9.1	9.8	6.8
	2	34.2	9.0	9.4	6.1
	3	33.4	8.6	8.8	6.2
	average	33.3	8.9	9.3	6.4
Lot C	1	29.1	7.6	8.0	6.3
	2	29.6	7.7	7.2	6.2
	3	29.2	8.4	7.1	6.0
	average	29.3	7.9	7.4	6.2

\* From 27 g of *Soshiho-Tang* crude drugs

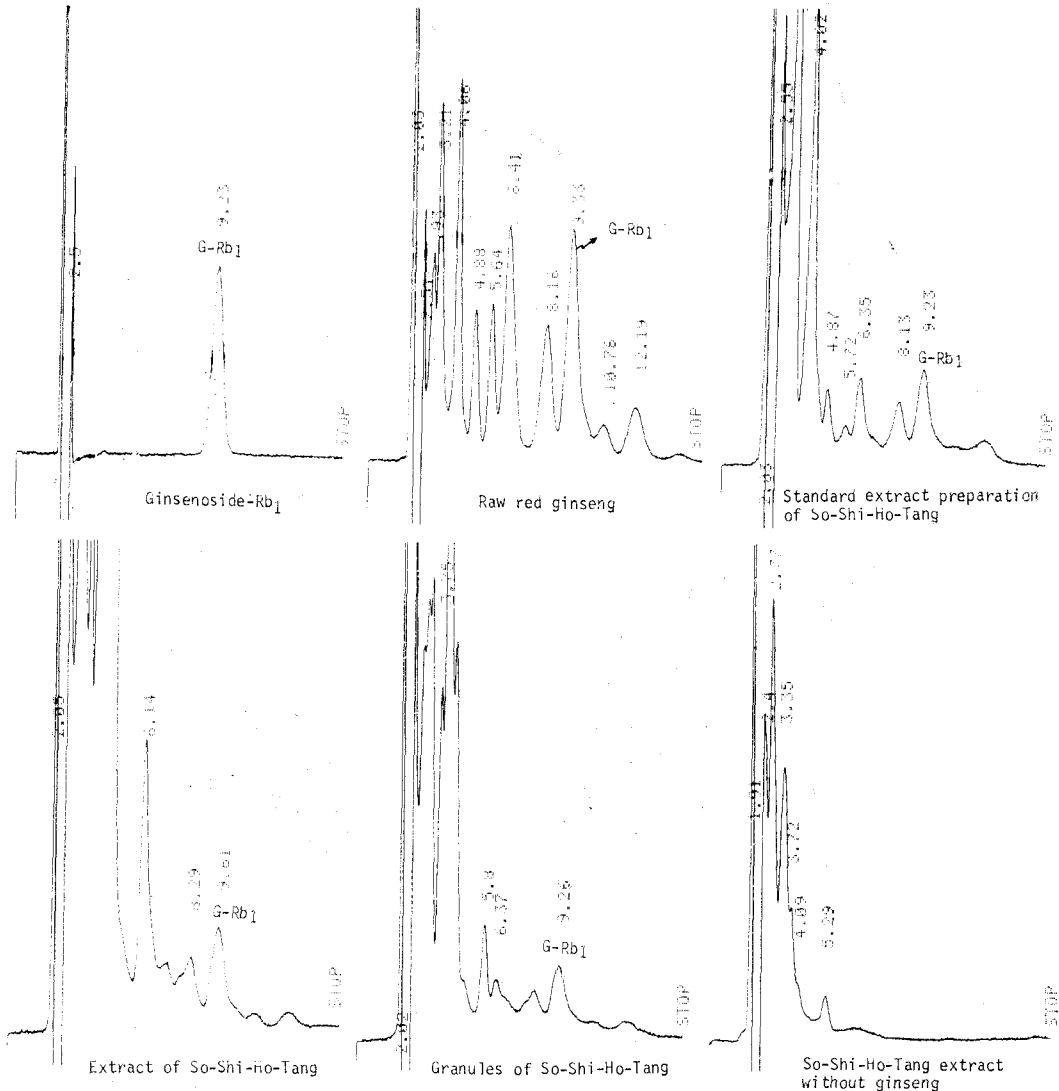
加能하리라 믿는다.

**小柴胡湯製劑중 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>의 定量**

小柴胡湯製劑 중의 人蔘 指標成分 定量은 1日 服用量을 기준하여 人蔘量當 定量值, 標準湯液<sup>20)</sup> 중의 精량치, 역기스중의 精량치 및 最終 顆粒 製品중의 定量值를 分析하여 그 含量을 조사하고 製造過程에 따른 이행량을 조사하였다. 小柴胡湯 試製品중 人蔘成分의 有效指標成分으로는 人蔘사포닌 成分중 G-Rb<sub>1</sub>을 선정하여 HPLC로 精量하였으며 1日量을 기준하여 原料紅蔘, 標準湯液, 中間역기스 濃縮物 및 最終製品중의 分析

結果는 Table I과 같다.

小柴胡湯製劑중 人蔘의 여러 사포닌成分中에서 G-Rb<sub>1</sub>을 有效指標成分으로 선정하여 定量한 것은 G-Rb<sub>1</sub>은 뚜렷한 藥理效能<sup>3,4)</sup>이 있다고 보고되었으며 또한 含量면에서도 人蔘 ginsenoside 중 含量<sup>14,21)</sup>이 높아서 人蔘成分의 定量用 指標成分으로 적합하다고 생각되었다. 特히 본시험에서 검토결과 小柴胡湯製劑의 경우 Fig. 3에서와 같이 G-Rb<sub>1</sub>은 잘 검출되었으며 小柴胡湯 生藥劑중 人蔘을 제외한 6種의 生藥材抽出物의 HPLC 패턴은 Fig. 3에서와 같이 G-Rb<sub>1</sub>과 겹치



**Fig. 3.** HPLC patterns of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> and saponin fraction of red ginseng and *Soshiho-Tang* preparations

는 peak가 검출되지 않아서 G-Rb<sub>1</sub>을 人蔘의 指標成分으로 定量하였다.

小柴胡湯 製劑중 G-Rb<sub>1</sub>을 指標成分으로 精량할 경우 Table 1의 分析結果와 같이 原料人蔘으로부터 最終製品까지의 品質管理가 可能하였다. 그러나 原料人蔘으로부터 G-Rb<sub>1</sub>의 平均 移行率을 볼 때 標準湯液은 25.7%, 역기스는 25.9%, 最終 顆粒製品은 19.9%로 그 移行率이 낮았다. 여기서 人蔘(紅蔘) 3g의 G-Rb<sub>1</sub> 定量值에 비하여 小柴胡湯 製劑중 G-Rb<sub>1</sub>의 精량치가 매우 낮은 것은 여러가지 原因이 있겠으며 G-Rb<sub>1</sub>뿐 아니라 人蔘의 다른 ginsenosides도 Fig. 3에서 볼 수 있듯이 生藥復方劑중의 定量值가 매우 낮다는 것을 알 수 있었다. 그러므로 小柴胡湯의 경우 G-Rb<sub>1</sub>의 定量方法으로 人蔘의 有效指標成分에 대한 品質管理는 可能하였으나 보다 移行率이 높은 分析方法이 設定된다면 人蔘이 함유된 生藥復方劑의 指標成分 品質管理에 매우 有用하게 活用될 것이다.

## 結 論

小柴胡湯 製劑중 人蔘 sapogenin의 TLC에 의한 確認 및 HPLC에 의한 定量條件을 設定하였다. TLC의 확인은 酸加水分解하여 얻은 sapogenin을 benzene/acetone(4:1, v/v)의 展開溶媒로 人蔘 特異의 sapogenin인 panaxadiol(Rf=0.26) 및 panaxatriol(Rf=0.14)을 確認 同定하였다. 또한 HPLC에 의한 定量은 사포닌 抽出物을 Lichrosorb-NH<sub>2</sub> column에 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/n-BuOH(80:20:10)을 移動相으로 하여 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>을 定量하였으며 原料紅蔘으로부터 小柴胡湯 顆粒劑중의 平均 移行率은 19.8±1.4%이었다.

〈1989년 7월 14일 접수: 8월 31일 수리〉

## 文 獻

- Shibata, S., Tanaka, O., Ando, T., Sado, M., Tsushima, S. and Ohsawa, T.: *Chem. Pharm. Bull.* 14(6), 595 (1966).
- Shibata, S.: *Proceedings of International Ginseng Symposium*, The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul, Korea p.69 (1974).
- Takagi, K.: *Proceedings of International Ginseng Symposium*, The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul Korea, p.119 (1974).
- 松浦廣道: 廣島大學 大學院 醫學部 綜合藥學科, 博士學位論文(1985).
- Woo, L.K., Han, B.H., Baik, D.W. and Park, D.S.: *J. Pharm. Soc. Korea* 17, 123 (1973).
- Hiai, S., Cura, H., Hamanaka, H. and Odaka, Y.: *Planta Medica* 28, 131 (1975).
- Hiai, S., Oura, H. and Nakajima, T.: *Planta Medica* 29, 166 (1976).
- Kim J.Y. and Staba, E.J.: *Proceedings of International Ginseng Symposium*, The Central Res. Inst., Office of Monopoly, Seoul p.77 (1974).
- Han, B.H.: *Kor. J. Pharmacogn.* 3, 151 (1972).
- Sanada, S., Shoji, J. and Shibata, S.: *Yakugaku Zasshi* 98, 1048 (1978).
- Okamoto, M., Matsui, K., Yamada, F. and Noguchi, M.: *Yokugaku Zasshi* 102, 1099 (1982).
- Bombardelli, E., Bondati, A., Gabetta, B. and Martinelli, E.M.: *Journal of Chromatogr.* 196, 121 (1980).
- Sakamoto, I., Morimoto, K. and Tanaka, O.: *Yakugaku Zasshi* 95, 1456 (1975).
- 홍순근, 박은규, 이춘영, 김명운: *약학회지* 23, 245 (1979).
- Soldati, F.: *Proceedings of the 3rd International Ginseng Symposium*, Korea Ginseng Res. Inst. Seoul, Korea (1980).
- Han, B.H. and Woo, L.K.: *J. Pharm. Soc. Korea* 19, 144 (1975).
- 한병훈, 한용남: *약학회지* 25, 43 (1981).
- 日藥連漢方專問委員會(趙弼衡 譯編): 一般用漢方處方の 길잡이, 大韓科學方藥硏究會, 서울 (1980).
- Ando, T., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Syoyakugaku Zasshi* 25, 28 (1971).
- 日本公定書協會: 醫藥品 製造指針(第2章, 醫藥品의 製造承認), 藥業時報社, 東京 (1987).
- 김만옥, 고성룡, 최강주, 김석창: *고려인삼학회지* 11, 10 (1987).
- 柴田承二, 糸川秀治, 三川 潮, 庄司順三, 瀧戶道夫 藥用天然物質, 南山堂, 東京 (1982).