

## 홍삼사포닌의 수용액에서의 안정성

이승진<sup>†</sup> · 김신일\* · 김길수

이화여자대학교 약학대학, 한국인삼연초연구원\*

(1994년 9월 15일 접수)

### Stability of Red Ginseng Saponin in Aqueous Solution

Seung Jin Lee,<sup>†</sup> Shin Il Kim and Kil Soo Kim

College of Pharmacy, Ewha Womans University

\*Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

(Received September 15, 1994)

The stability of red ginseng saponin in aqueous solution was studied with the acceleration test method. The degradation rate constant of ginsenoside Rb1, an index component of red ginseng saponin, was  $2.371 \times 10^{-4} \text{ day}^{-1}$  at 20°C, and the shelf-life was about 570 days. The pH-rate profile demonstrated that the most stable range was pH 6-8. Mannitol and benzyl alcohol, common excipients for injection, exerted no influence on the degradation reaction of ginsenoside Rb1.

**Keywords**—Stability, Red ginseng saponin, Ginsenoside Rb1, Benzyl alcohol, Mannitol

홍삼에 대한 연구는 그 효능 및 활성성분 연구에 치중되어왔으며 그 결과 일부 다당체, 산성펩타이드 분획, 단백질 분획등에서 그 효능이 입증되었고 또한 수종의 활성성분도 밝혀지고 있다.<sup>1-5)</sup> 그러나 의약품은 그 효능 및 활성성분이 밝혀지더라도 인체에 투여할 때 적절한 제형이 개발되지 않고서는 인체에의 적용이 불가능 할 뿐더러 이용효율의 극대화를 기대할 수 없다. 지금까지 시중에서 판매되고 있는 인삼제형은 드링크류의 내용액제와 캡셀제, 정제등 내용고형제제가 개발되어 시판되고 있다. 그러나 이러한 제형에 대한 체계적인 제제학적 연구는 수행되지 않는 실정이며 외국의 제형을 그대로 복제하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 주사제개발을 목적으로 홍삼사포닌의 수용액에서의 안정성 및 안정성에 미치는 온도 및 pH의 영향을 검토하였으며 또한 주사제를 제조할때 방부제 또는 부형제로 첨가될 수 있는 벤질알코올 및 만니톨이 홍삼사포닌의 안정성에 미

치는 영향에 대하여 연구하였다.

### 실험방법

#### 시약 및 재료

홍삼사포닌은 한국인삼연초연구소에서 제공된 것이며 만니톨등은 대한약전 규격품을 구입하여 사용하였으며 벤질알코올은 일급시약을 사용하였다. 분석에 사용한 메탄올, 아세트니트릴은 HPLC용을 사용했으며 기타 제제 및 분석에 필요한 시약은 일급시약을 사용하였다.

#### 사용기기

항온조 (Fisher Scientific Co., Model STG-40), 자석식 교반기 (Fisher Scientific Co., Model 210T) 등을 사용했으며, ginsenoside의 정량에는 HPLC (Waters Associates)을 사용하였다.

#### 홍삼사포닌중의 ginsenoside Rb1의 정량법

홍삼사포닌표준품 (인삼연초연구소 제공) 0.1 g 을

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

취하여 메탄올에 용해하여 10 ml로 하여 표준액으로 하였다. 안정성시험용 검체중 홍삼사포닌 0.1 g에 해당하는 양을 정밀히 취하여 감압에서 증발건조시킨 다음 잔사를 메탄올에 용해하여 10 ml로 하여 검액으로 하였다. 검액과 표준액에 대하여 다음의 조건으로 HPLC를 행하여 검체중에 잔존하는 ginsenoside Rb1의 양을 구하였다.<sup>6)</sup>

#### HPLC 조건

Column :  $\mu$ -Bondapak NH<sub>2</sub>

Mobile phase : acetonitrile : water : n-butanol  
(80 : 20 : 10, v/v/v)

Flow rate : 1.5 ml/min.

Sensitivity : 0.1 aufs

Injection volume : 10  $\mu$ l

Detector : RI detector

Chart speed : 0.5 cm/min

#### 홍삼사포닌중의 각 사포닌의 조성

한국인삼연초연구소에서 제공된 정제된 홍삼사포닌중의 사포닌의 조성을 위의 정량법에 따라 구하였다.

#### 수용액에서의 안정성

홍삼사포닌 1 g을 달아 pH 7.0 인산염완충액에 용해하여 20 ml로 한 다음 이액 2 ml씩을 용량 2 ml의 갈색 앰플에 충전한 다음 30°C, 40°C, 60°C의 항온조에 저장하여 일정한 간격으로 수용액중의 ginsenoside Rb1의 잔존량을 정량법에 따라 정량하였다.

#### pH에 따른 홍삼사포닌의 안정성

홍삼사포닌 1 g을 달아 각 pH 용액 (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 9.0 및 10.0) 20 ml에 용해하여 이액 각 2 ml씩을 용량 2 ml의 갈색 앰플에 충전한 다음 30°C 항온조중에 저장하여 일정한 간격으로 꺼내어 수용액중의 ginsenoside Rb1의 잔존량을 위의 정량법에 따라 정량하였다.

#### 홍삼사포닌에 미치는 벤질알코올 및 만니톨의 영향

홍삼사포닌 1 g을 달아 물에 녹여 20 ml로 할 때 벤질알코올을 넣지 않은 것, 1%에 해당하는 양 (200 mg)을 넣은 것과 2%에 해당하는 양 (400 mg)을 넣은 것을 만들어 수용액에서의 안정성시험에서와 같이 이액 2 ml씩 갈색 앰플에 충전하여 30°C, 40°C 및 60°C의 항온조 중에 저장하여 일정한 간격

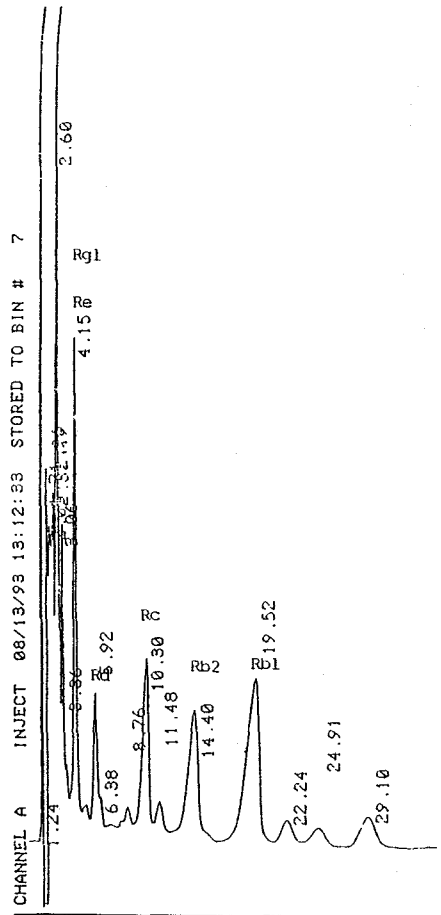


Figure 1—HPLC chromatogram of Red Ginseng saponin.

으로 꺼내어 이 액중의 ginsenoside Rb1의 잔존량을 위의 정량법에 따라 정량하였다.

만니톨에 의한 영향도 위의 벤질알코올의 영향에서와 같은 방법으로 실험하였다. 단 만니톨의 양을 5% 및 10%로 하여 실험하였다.

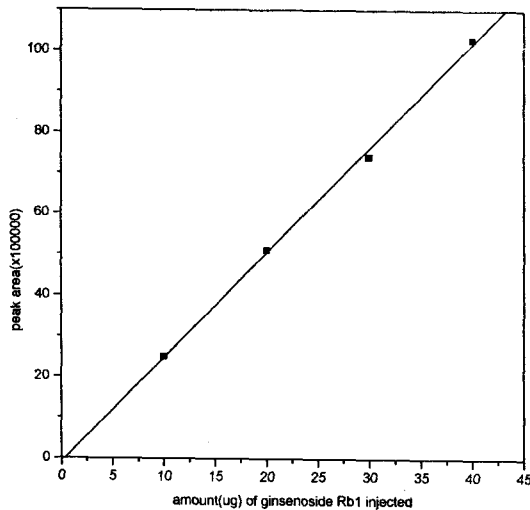
## 결과 및 고찰

### Ginsenoside Rb1의 정량법 검토

실험 방법에서의 조건에서 홍삼사포닌 표준품에 대한 HPLC크로마토그램은 Fig. 1과 같으며, 이 결과를 가지고 ginsenoside Rb1을 정량하여 검량선을 작성하면 Fig. 2에서와 같으며 최소자승법에 의한 검량식은  $y=2.5x-1$ 로 이때 상관계수는 0.999로서 안정성시험법으로 충분한 분석법임을 알 수 있었다.

**Table I**—Composition of Ginseng Saponin in Purified Red Ginseng Saponin

Saponin	Composition (%)
ginsenoside Rb1	11.5
ginsenoside Rb2	6.4
ginsenoside Rc	19.0
ginsenoside Rd	5.4
ginsenoside Re	25.0
ginsenoside Rg1	16.5
total	83.4



**Figure 2**—Calibration Curve of Ginsenoside Rb1.

**홍삼사포닌중의 사포닌의 조성**

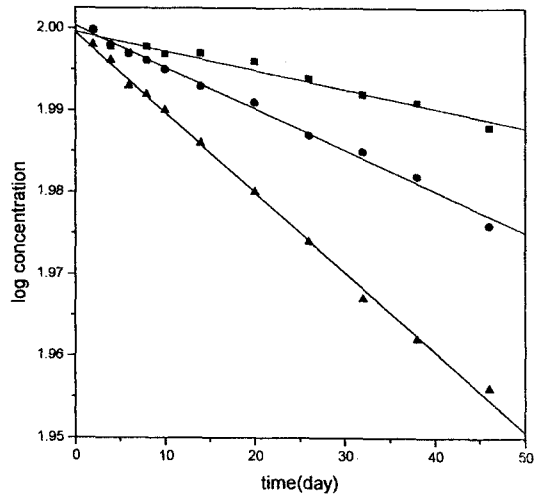
정제된 사포닌중의 각 사포닌의 조성은 Table I에서와 같다.

**수용액에서의 안정성**

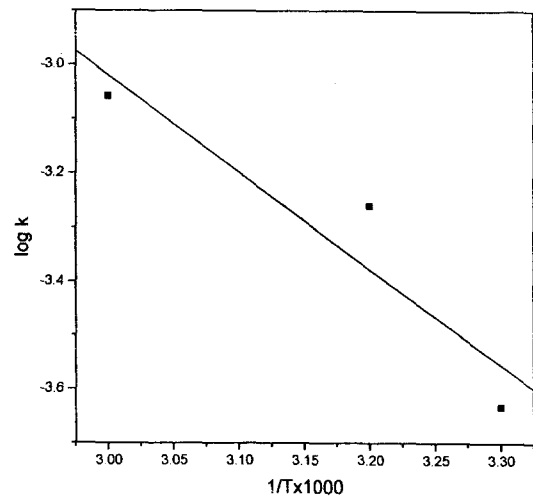
홍삼사포닌 중의 ginsenoside Rb1 의 pH.7.0 수용액에서의 안정성을 30°C, 40°C 및 60°C에서 행하고 시간에 따른 잔존량의 결과를 가지고 농도의 대수 값과 시간과의 관계를 plot한 결과 Fig. 3에서와 같이 직선관계를 나타내는 것을 알 수 있었으며 이 분해 반응은 가수분해에 의한 pseudo-first order 인 것을 알 수 있었다. 수용액에서 pseudo-first order로 분해된다는 연구결과는 홍<sup>7)</sup>등이 이미 연구한 결과이다. 직선의 방정식을 최소자승법으로 구하고 그 직선의 기울기로부터 각 온도에서의 분해속도 정수를 구한 것은 Table II와 같았다. 또한 각 온도에

**Table II**—Degradation Rate Constants of Ginsenoside Rb1 at pH 7.0 and at Various Temperatures

Temperature (°C)	Rate constant (day <sup>-1</sup> )
30	$2.33 \times 10^{-4}$
40	$5.50 \times 10^{-4}$
60	$9.75 \times 10^{-4}$



**Figure 3**—First order plot for degradation of ginsenoside Rb1. Key : ■; 30°C, ●; 40°C, ▲; 60°C.

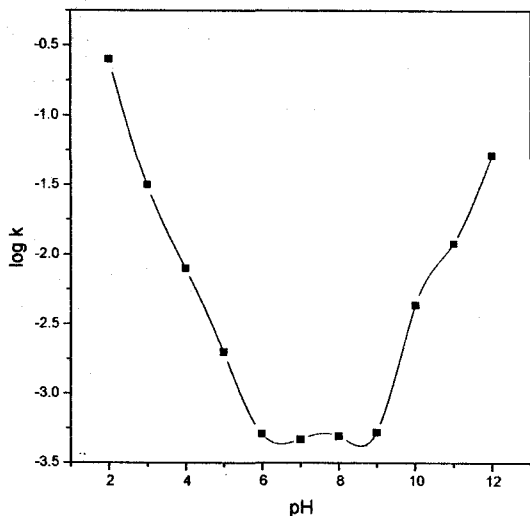


**Figure 4**—Arrhenius plot for degradation of ginsenoside Rb1.

서의 속도정수와 절대온도의 역수와의 관계를 Arrhenius plot 한 결과는 Fig. 4와 같았으며 Arrhenius plot의 직선 관계 (상관계수 : 0.9357)로부터 직선을

**Table III**—Degradation Rate Constants ( $\text{day}^{-1}$ ) of Ginsenoside Rb1 due to Concentration of Benzyl alcohol at Various Temperatures

Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Benzyl alcohol concentration	
	1%	2%
30	$2.806 \times 10^{-4}$	$2.582 \times 10^{-4}$
40	$5.500 \times 10^{-4}$	$5.050 \times 10^{-4}$
60	$9.550 \times 10^{-4}$	$8.900 \times 10^{-4}$



**Figure 5**—pH-rate profile of ginsenoside Rb1.

외삽하여 구한 표준온도 ( $20^{\circ}\text{C}$ )에서의 속도정수는  $2.371 \times 10^{-4} \text{ day}^{-1}$ 이었으며 속도정수로부터 구한 shelf-life ( $t_{90}$ )는 약 570일이었다.<sup>6,7)</sup>

#### 홍삼사포닌중 ginsenoside Rb1의 pH-rate profile

수용액에서의 안정성시험과 같이  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 각 pH에서의 시간에 따른 잔류량을 측정된 결과로부터 각 pH에서의 속도정수를 계산하고 이 속도정수의 대수값과 pH와의 관계 즉, pH profile은 Fig. 5와 같으며 이것으로부터 홍삼사포닌은 pH 5.5~9범위에서 안정하다는 것을 알 수 있다.<sup>7)</sup>

#### 홍삼사포닌의 안정성에 미치는 벤질알코올 및 만니톨의 영향

벤질알코올이 홍삼사포닌의 안정성에 미치는 영향—위의 수용액에서의 안정성 시험에서와 같이 각 온도에서의 벤질알코올의 농도에 따른 ginsenoside Rb1의 잔존량을 구하고 이 분해반응을 pseudo-first order로 해석하여 잔존량의 대수값과 시간과의 관계를 구하고, 이 관계로부터 각 온도에서의 분해

**Table IV**—Degradation Rate Constants at  $20^{\circ}\text{C}$  and Activation Energy for Degradation of Ginsenoside Rb1 with Various Concentration of Benzyl alcohol

Benzyl alcohol concentration (%)	Rate constant ( $\text{day}^{-1}$ )	Activation energy (Kcal/mol)
0	$2.371 \times 10^{-4}$	7.600
1	$2.213 \times 10^{-4}$	7.746
2	$1.848 \times 10^{-4}$	8.024

**Table V**—Degradation Rate Constants ( $\text{day}^{-1}$ ) of Ginsenoside Rb1 due to Concentration of Mannitol at Various Temperatures

Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Mannitol concentration	
	5%	10%
30	$2.668 \times 10^{-4}$	$2.524 \times 10^{-4}$
40	$5.412 \times 10^{-4}$	$5.702 \times 10^{-4}$
60	$9.783 \times 10^{-4}$	$9.383 \times 10^{-4}$

반응 속도정수를 구하면 Table III과 같다. 각 온도에서의 속도정수의 대수값과 절대온도의 역수와의 관계 즉, Arrhenius plot를 구하고 이 Arrhenius plot의 기울기를 외삽하여  $20^{\circ}\text{C}$ 에서의 속도정수를 구하고 또한 벤질알코올의 농도에 따른 activation energy를 구하면 Table IV에서와 같으며 계산한 속도정수와 activation energy를 비교하면 벤질알코올의 농도에 따른 유의적인 차이를 발견할 수 없었으며 이 결과로 볼 때 벤질알코올은 홍삼사포닌의 분해에 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있다.<sup>7)</sup>

만니톨이 홍삼사포닌의 안정성에 미치는 영향—벤질알코올에서와 같이 각 온도에서 만니톨의 농도에 따른 ginsenoside Rb1의 잔존량을 구하여 이 분해반응을 pseudo-first order로 해석하여 잔존량의 대수값과 시간과의 관계로부터 각 온도에서의 분해반응 속도정수를 구하면 Table V에서와 같다. 각 온도에서의 속도정수의 대수값과 절대온도의 역수와의 관계 즉, Arrhenius plot를 하고 이 plot로부터 만니톨의 농도에 따른  $20^{\circ}\text{C}$ 에서의 속도정수를 구하고 만니톨의 농도에 따른 분해반응의 activation energy를 구하면 Table VI에서와 같다. 여기서 구한 속도정수와 activation energy를 비교할 때 만니톨의 농도에 따른 유의성 있는 차이를 인정할 수 없었으며 따라서 만니톨이 홍삼사포닌의 분해반응에 영향을

**Table VI**—Degradation Rate Constants at 20°C and Activation Energy for Degradation of Ginsenoside Rb1 with Various Concentration of Mannitol

Mannitol concentration(%)	Rate constant (day <sup>-1</sup> )	Activation energy (Kcal/mol)
0	2.371×10 <sup>-4</sup>	7.600
5	1.984×10 <sup>-4</sup>	7.072
10	1.846×10 <sup>-4</sup>	8.194

미치지 않는다는 것을 알 수 있다.

**결 론**

- 1) 홍삼사포닌의 지표성분인 ginsenoside Rb1의 표준온도 (20°C)에서의 분해속도정수는 2.371×10<sup>-4</sup> day<sup>-1</sup>이며 activation energy는 7.6 kcal/mol이고 shelf-life는 약 570일 정도이었다.
- 2) 홍삼사포닌의 pH-rate profile로 부터 주사제의 가장 안정한 pH 영역은 6~8 이었다.
- 3) 주사제에서 방부제 및 등장화제로서 사용되는 벤질알코올 및 만니톨은 ginsenoside Rb1의 분해 반응에 유의성있는 영향을 미치지 않았다.

**감사의 말씀**

본 연구는 1993년도 한국인삼연구원의 연구

비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

**문 헌**

- 1) The Research Institute, Office of Monopoly, ROK, Abstracts of korea ginseng studies, (1975).
- 2) Korea ginseng, Korea Ginseng Research Institute, (1977).
- 3) Korea ginseng studies, Il Hwa Co., Ltd., (1977).
- 4) Proceedings of the 3rd Life Science Symposium on Biomedical Research in Red Ginseng, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, (1992).
- 5) Proceedings of the 4th Life Science Symposium on Biomedical Research in Red Ginseng, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, (1993).
- 6) S.K. Hong, E.K. Park, C.Y. Lee and M.U. Kim, High performance liquid chromatographic determination of ginseng saponins, *Yakhak Hoeji*, **23**, 181-186 (1979).
- 7) 홍순근, 한영희, 박은희, 임창진, 김두하, 이동근, 유숙박, 인삼 saponin 주사제의 약리작용 연구, 인삼연구보고서, 155-169 (1980).