

## 韓國產 白蔘과 水蔘의 Polyamine 成分에 관한 研究

金榮中·韓大錫·趙顯守·安尙美·許 燾·具香子

서울大學校 藥學大學

### Polyamine Constituents of Korean White Ginseng and Fresh Ginseng Root

Young-Choong KIM, Dae-Suk HAN, Hyun-Soo CHO, Sang-Mee AHN,

Hoon HUH and Hyang-Ja Koo

College of Pharmacy, Seoul National University

Polyamine constituents of fresh *Panax ginseng* root and dried white ginseng were extracted with 5% trichloroacetic acid, respectively. The isolation of polyamine constituents was conducted by the cation exchange chromatography using Dowex-50W×8 resin and the detection was performed with TLC. Identification of the polyamine was carried out by the methods of IR, NMR, MS spectroscopy and GLC. Polyamine constituents of white and fresh ginseng root were identical and composed of five different polyamines. The major polyamine in white and fresh ginseng root was determined as putrescine.

細胞의 成長과 분열에 있어서 polyamine系 物質의 生化學的 및 生理學的 重要性이 最近에 들어와 認定되고 있다.<sup>1-7)</sup> Polyamine系 物質은 生物體에 있어서 成長과 蛋白質合成을 促進하고 核酸과 높은 親和力을 가지며 核酸의 2次構造를 安定化시키는 등의 重要な 機能이 알려져 있다.<sup>2-6)</sup> 여러가지 生物體에 있어서 細胞成長은 RNA, DNA, 蛋白質의 增加를 반드시 수반하며 polyamine系 物質 및 이들의 生合成 酵素의 濃도가 동시에 增加한다는 報告가 있다.<sup>2,8)</sup>

이러한 polyamine系 物質의 生體內에서의 機能을 고려할 때 우리나라의 重要生藥인 人蔘의 polyamine系 物質에 對한 研究는 人蔘의 多樣한 藥效作用으로 基礎代謝의 亢進, 貧血, 癌, 糖尿에 對한 抵抗力, 中樞神經系 強化, 生體內 蛋白質의 合成促進등을 밝히는 데 있어서 지금까지와는 다른 接近方式의 研究로서 그 價値가 있다고 여겨진다.

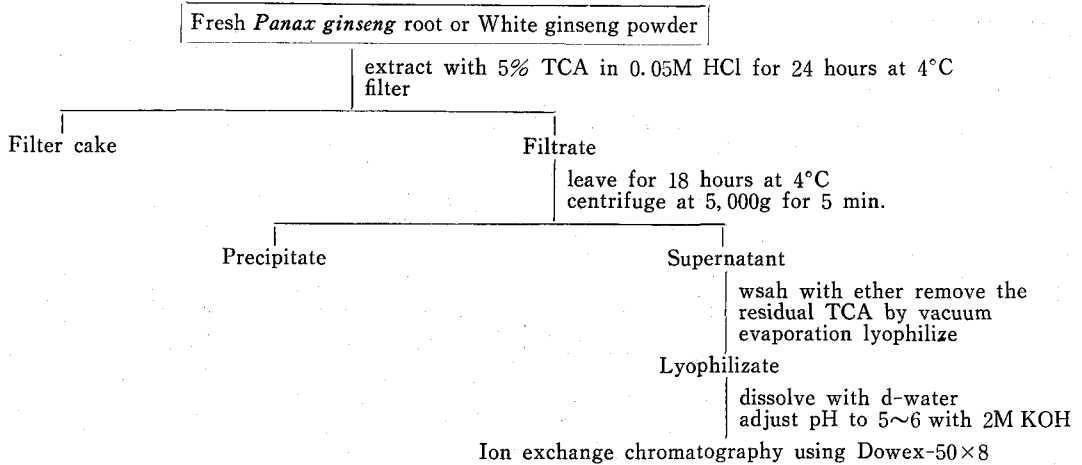
本報에서는 人蔘의 多樣한 藥理作用을 糾明하기 위한 研究의 一環으로써 지금까지 알려진 dammarane系 glycosides以外的 成分中에서 polyamine系 成分의 藥理作用을 밝히기 위한 研究의 一次的인 試圖로써 人蔘의 polyamine系 物質의 存在有無와 그 種類를 밝히고자 한 것이다.

### 實驗 方法

材料 및 試藥：實驗에 使用한 白蔘은 6年根 直蔘이며 水蔘은 江華產 6年根이다. 試藥은 日本의 Wako, Kanto, Hanawa社의 特級試藥이거나 美國의 Sigma Chemical Company 또는 독일의 Merck社의 製品을 썼다.

機器：IR：Beckman IR-20A (KBr disc); NMR：EM-360 (Varian Instrument); MS：AEI MS 1073; GLC：Pye Unicam.

白蔘과 水蔘의 粗 polyamine의 抽出：白蔘



**Scheme I.** Extraction of polyamines from fresh *Panax ginseng* root or white ginseng powder.

300g과 水蓼 1.5kg을 각각 Scheme I과 같이 5% trichloroacetic acid (TCA, in 0.05M HCl)로 4°C에서 24시간攪拌하면서 polyamine系物質을抽出하였다. 抽出液中の蛋白質을除去하기 위하여 4°C에서 18시간放置한 다음 5,000g에서 5分間遠心分離하였다. TCA를除去하기 위하여 上澄液을 에테르로洗滌한 다음 잔존하는 에테르를 30°C에서減壓蒸溜한 후凍結乾燥하였다.

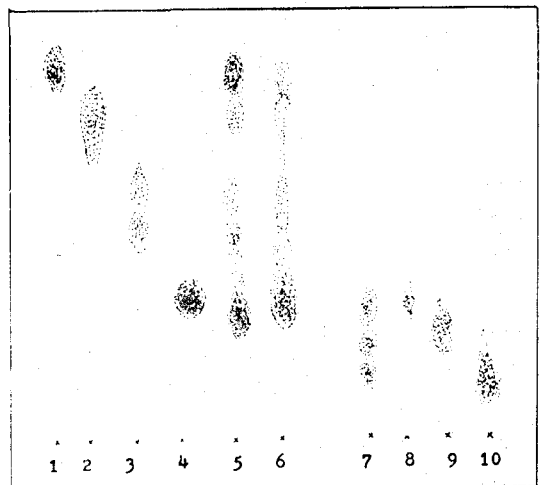
**Ion-exchange column chromatography에 의한 polyamine의分離:**凍結乾燥시킨 polyamine系物質을蒸溜水에 녹인 다음 2M KOH로 pH 5~6이 되도록 한 다음 Dowex-50W×8 (H<sup>+</sup>form, 200~400 mesh)을 사용하여 chromatography하였다. 즉 먼저蒸溜水로溶出시켜 Dowex-50W

에吸着되지 않는物質들을 먼저流出시킨 후 resin에 부착된 polyamine系物質을 2.5N HCl~6N HCl까지의 勾配를形成시켜 단계적으로流出시켜 6ml씩取하였다. 流出된 각각의分割物은 TLC로同一한 Rf値를 갖는 fraction들을 합하여 농축하였다.

**TLC:**各分割中の polyamine의 存在는 TLC

**Table I.** Analytical conditions for polyamines by GLC.

Model	Pye Unicam Chromatograph
Column	OV-17 (1.5mm×4mm I.D.) Borosilicate glass column
Detector	Flame ionization detector
Temperature	Injector; 270°C Column; 240°C Detector; 280°C
Flow rate	N <sub>2</sub> ; 40ml/min. H <sub>2</sub> ; 0.1ml/min. Air ; 0.5kg/cm <sup>2</sup>
Chart speed	0.5cm/min.



**Fig. 1.** Thin layer chromatogram of the polyamines from white ginseng and fresh ginseng root separated by Dowex-50W×8 column chromatography. 1, 2, 3, 4 and 5 show Fraction I, II, III, IV and total polyamine fraction of the fresh ginseng root. Developing solvent; *n*-butanol : acetic acid : water (4 : 3 : 2, v/v/v) Coloring reagent; 2% ninhydrine in absolute ethanol.

에 의하였으며 固定相으로는 Avicel SF (Cellulose microcrystalline form TLC)를 사용하였다.

展開劑 : *n*-BuOH : HAc : H<sub>2</sub>O(4 : 3 : 2)

發色劑 : 2% Ninhydrin(in EtOH)

**GLC에 의한 polyamine의 同定** : 정제한 polyamine 10mg을 취하여 EtOAc에 넣고 NH<sub>3</sub> gas를 加하여 free form으로 만든다음 CHCl<sub>3</sub> 1ml를 가하고 N<sub>2</sub> gas를 통해 水分을 완전히 除去한 후 trifluoroacetic anhydride (TFAA) 0.5ml와 CHCl<sub>3</sub> 1ml를 가하여 휘발성의 polyamine 誘導體를 만들었다. 標準品(Sigma) putrescine과 spermidine도 上記와 同一한 方法으로 GLC를 위해 휘발성의 誘導體를 만들었다. GLC의 分析條件은 Table I과 같다.

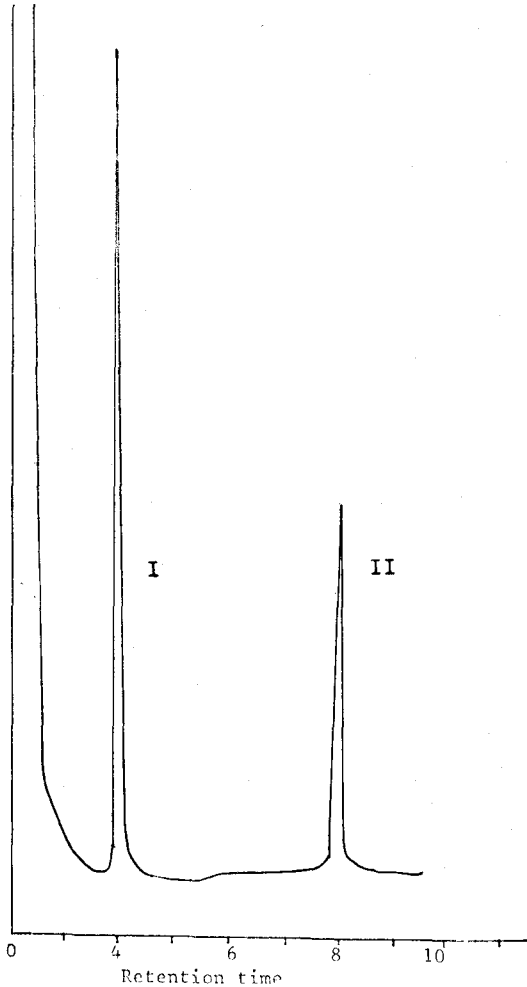


Fig. 2. Gas chromatogram of polyamine standards.

### 結果 및 考察

白蔘과 水蔘을 각각 5% TCA (in 0.05N HCl)로 4°C에서 抽出하여 얻은 polyamine系 物質을 Dowex-50W×8을 사용하여 chromatography하였다.

白蔘에서는 fraction I, II, III, IV를 얻었으며 水蔘에 있어서도 4個의 分割物을 얻을 수 있었고 TLC도 一致하였다(Fig. 1). 즉 白蔘과 水蔘에는 Rf 0.77, 0.65, 0.53, 0.43, 0.28인 5가지의 polyamine系 物質이 含有되어 있다. 이중 Rf 0.28인 物質은 標準品 putrescine dihydrochloride와 Rf值가 一致하였으며 다른 4가지 物質보다 含量이 많음을 알 수 있었다. 上記의 5種類의 polyamine系 物質중에서 Rf值가 0.28인 物

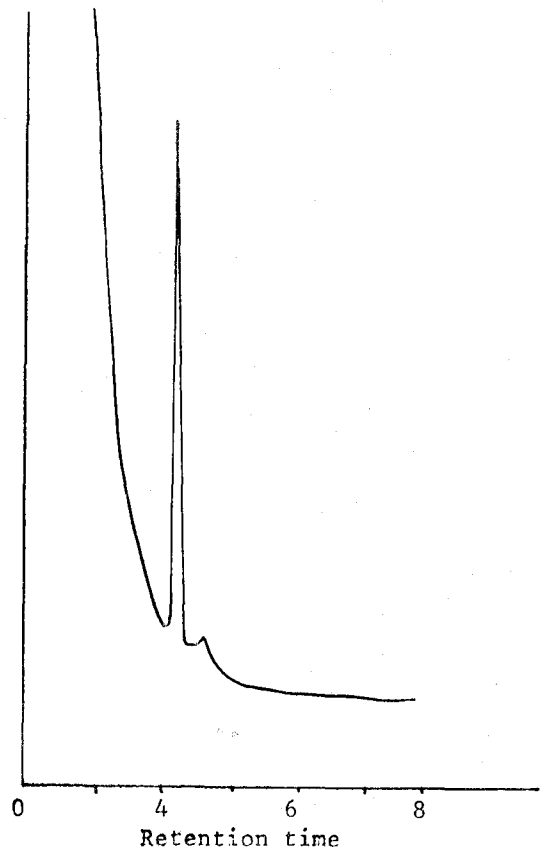


Fig. 3. Gas chromatogram of putrescine isolated from white ginseng root.

質이 putrescine이라고 推定되었으며 이의 同定을 위하여 GLC하였다(Fig. 2, 3).

이 物質은 標準品 putrescine의 retention time과 一致하였으며 IR, NMR, MS spectra도 標準品과 同一하였다(Fig. 4~6).

따라서 Rf 0.28인 物質은 putrescine으로 同定할 수 있었다.

白蔘의 fraction I, II, III에 含有되어 있는 polyamine系 物質은 TLC의 Rf值로 미루어 볼 때 putrescine에 比하여 極性が 낮으므로 polyamine系 物質의 amino基에 非極性的의 置換基가 있거나 monoamine系 物質일 可能性이 있다.

Polyamine系 物質은 動植物界에 널리 分布되어있으며 putrescine 보다는 spermidine, spermine이 相對적으로 많은 것으로 알려져 있으나<sup>2,4,13)</sup> 人蔘類는 putrescine을 多量含有하고 있

고 spermidine과 spermine은 含有하지 않거나 微量이어서 TLC로 認知할 수 없음을 特異하다 하겠다. 또한 水蔘과 表皮를 제거하고 말려 2年間 保存한 白蔘에서도 같은 種類의 polyamine系 物質이 含有된 것으로 보아 人蔘中の polyamine系 物質은 比較的의 安定性이 있다고 생각된다.

### 結 論

韓國產 白蔘과 水蔘에는 각각 Rf 0.77, 0.65, 0.53, 0.43, 0.28의 5種의 polyamine系 物質이 存在하며 이 중에서 Rf 0.28인 物質이主 polyamine系 物質이며 TLC, GLC, IR, NMR, MS 등의 分光學的 分析으로 이 物質은 putrescine임을 確認할 수 있었다.

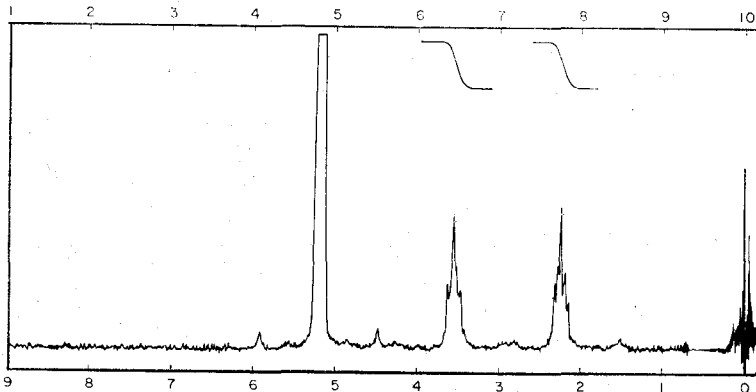


Fig. 4. NMR spectrum of putrescine.

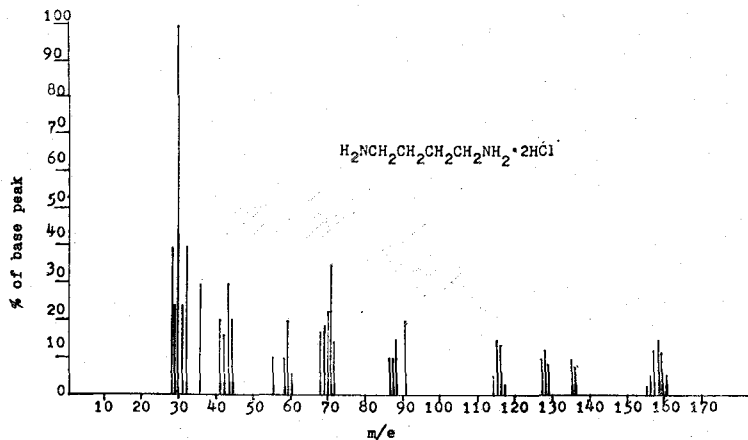


Fig. 5. Mass spectrum of putrescine.

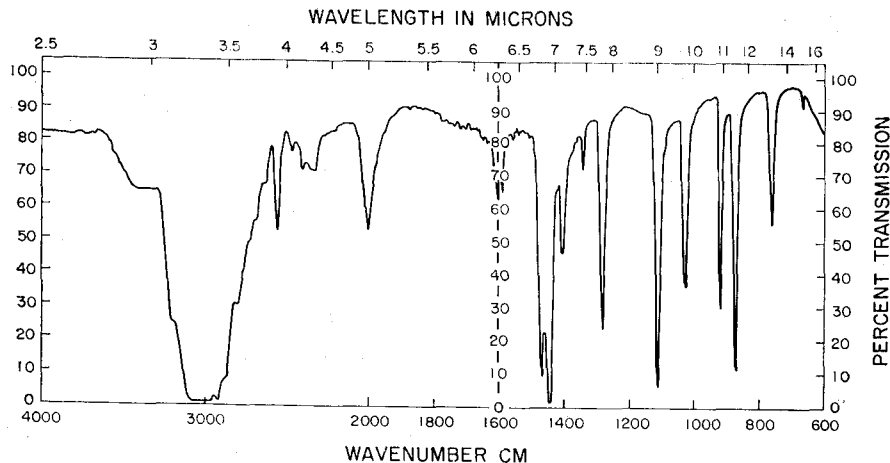


Fig. 6. IR spectrum of putrescine.

本 研究는 1982年度 文敎部 學術研究 助成費  
에 의하여 이루어졌으며 이에 感謝하는 바이다.  
<1983년 6월 10일 접수>

### References

1. S.S. Cohen: *Federation Proceedings* **41**, 3601 (1982)
2. C.W. Tabor, H. Tabor: *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 534 (1976)
3. C.W. Tabor, H. Tabor, S.M. Rosenthal: *Ann. Rev. Biochem.*, **30**, 579 (1961)
4. T.A. Smith, *Biol. Rev.*, **46**, 201 (1971)
5. S. Cocci, N. Bagni: *Life Sciences*, **7**, 113 (1968)
6. A.S. Dion, S.S. Cohen: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **69**, 213 (1972)
7. T. Oka, J.W. Perry, N. Terada: *Federation Proceedings*, **41**, 3073 (1982)
8. Cunningham-Rundles S., Mass, W.K.: *J. Bacteriol.*, **124**, 791 (1975)
9. J.E. Hammond, E.J. Herbst: *Anal. Biochem.*, **22**, 474 (1968)
10. C.W. Tabor, H. Tabor, U. Bachrach: *J. of Biol. Chem.* **239**, 2194 (1964)
11. T.A. Smith: *Anal. Biochem.*, **33**, 10 (1970)
12. Y. Endo: *J. Chromat.*, **205**, 155 (1981)
13. V.R. Villanueva, R.C. Adlakha: *Anal. Biochem.*, **91**, 264 (1978)
14. E.L. Jackson, S.M. Rosenthal: *J. Org. Chem.*, **25**, 1055 (1960)
15. C.W. Gehrke, K.C. Kuo, R.L. Ellis: *J. Chromat.*, **143**, 345 (1977)
16. J.G. Kirchner: *Techniques of Organic Chemistry*, Vol. XII, pp.293~307; John Wiley & Sons, N.Y. 1967.
17. H. Hatano, K. Sunizu, S. Rokushika, F. Murakami: *Anal. Biochem.*, **35**, 377 (1970)
18. L. Lepri, P.G. Desideri, D. Heimler: *J. Chromat.*, **173**, 119 (1979)
19. H. Veening, W.W. Pitt, Jr., G. Jones, Jr.: *J. Chromat.*, **90**, 129 (1974)
20. W.J.A. VandenHeuval et al.: *Anal. Chem.*, **36**, 1550 (1964)