

## 生藥複方劑 드링크중 人蔘 saponin의 確認 및 Ginsenoside-Rb<sub>1</sub>의 分離 定量

崔康注 · 高成龍 · 金那美 · 成絢淳  
韓國人蔘煙草研究所  
(1990년 3월 12일 접수)

### Identification of Ginseng Saponin and Quantitative Determination of Ginsenoside-Rb<sub>1</sub> from Crude Drug Preparation Drink

Kang Ju Choi, Sung Ryong Ko, Na Mi Kim and Hyun Soon Sung  
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejeon, 305-345, Korea  
(Received March 12, 1990)

**Abstract** □ As a part of studies on the quality control of crude drug preparation drinks, ginseng saponins were identified by TLC and ginsenoside-Rb<sub>1</sub> was determined quantitatively by HPLC. Ginsenoside-Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rc, -Rd, -Re and -Rg<sub>1</sub> of ginseng saponin were identified by TLC with lower phase of CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (65:35:10, v/v) on Si-gel plate. Ginsenoside-Rb<sub>1</sub> content 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 transfer rate in the 3 types of crude drug extract drinks was 57.5-70.4% compared to the content in the red ginseng extract.

**Keywords** □ *Panax ginseng*, saponin, ginsenoside-Rb<sub>1</sub>, crude drug preparation drink, TLC, HPLC.

#### 서 론

人蔘 사포닌은 人蔘屬 植物에만 함유된 triterpenoid의 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의 有效 指標成分으로 관심의 대상이 되어져 왔다.

人蔘 사포닌의 定量法은 사포닌이나 또는 사포계닌을 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>14,15,20)</sup>에 의한 定量法외에 放射化學分析<sup>16)</sup>이나 免疫學的인 分析방법<sup>17)</sup> 등이 보고되고 있으나 최근 品質管理는 주로 TLC 확인방법과 HPLC 定量方法이 통용되고 있다. 그러나 生藥複方劑 中 人蔘 指標成分에 대한 확인방법이나 精製방법에 대해서는 研究 보고된 바가 매우 적은 실정이다. 따라서 本 研究에서는 生藥複方劑에 대한 品質管理 研究의 일환으로 紅蔘엑기스가 함유된 生藥複方劑 드링크중 人蔘 사포닌의 TLC확인 시험

방법을 설정하고 HPLC에 의한 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>의 함량을 分析하여 原料用 紅蔘엑기스로부터 生藥複方劑 드링크 中의 移行量을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 1. 人蔘 및 生藥材料

人蔘은 한국 담배인삼공사에서 6年根 水蔘으로 제조한 原料紅蔘을 사용하였고 生藥材는 市中 한약 전재 도매상에서 전문가의 감정을 받은 후 구입하여 材料로 사용하였다.

##### 2. 試藥

HPLC分析에 사용한 acetonitrile, n-butanol 및 증류수는 E. Merck회사의 HPLC용 溶媒類를 사용하였고, 사포닌 抽出溶媒와 展開溶媒는 一級試藥을, TLC plate는 silica gel 60 pre-coated aluminum sheet(E. Merck Co. layer thickness 0.2 mm)을 사용하였다.

人蔘 사포닌 標準品은 韓國人蔘煙草研究所에서 分離한 標準品을 사용하였다.

3. 生藥複方劑 드링크의 製造

本 試驗에서 試料로 사용된 드링크는 紅蔘, 大棗, 乾姜, 桂皮, 枸杞子 및 淫羊藿의 물추출엑기스를 각각 제조한 후 原料生藥材 配合量 기준으로 상당량의 물추출엑기스를 Table 1과 같이 配合하여 3가지 type의 生藥複方劑 드링크를 제조하였다.<sup>18)</sup> 각 生藥材의 물추출엑기스 配合比率은 각 엑기스의 수분함량을 측정 후 對乾物量의 엑기스량으로 환산하여 배합하였고 과당과 물엿 등 감미제와 첨가물을 배합하여 물에 용해 후 9,220×g로 원심분리하였다. 침전물을 제거하고 정용시켜 生藥複方劑 드링크를 製造하였다.<sup>18)</sup> 본 시험에서 試料로 사용한 生藥複方劑의 드링크 시제품은 소비자의 기호도나 경제성 등을 고려하여 3가지 type으로 제조하였으며 Table 1에서와 같이 A-type은 紅蔘엑기스와 건강엑기스 및 계피엑기스를 다량 넣고 진하게 제조하여 高價品을 목표로 제조하였다. 반면에 C-type과 E-type은 홍삼엑기스와 건강엑기스 및 계피엑기스를 감량하여 묽게 제조함으로써 쓴 맛을 싫어하는 젊은 층을 대상으로 하되 經濟的인 면도 고려하여 제조하였다.

4. 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 준하여 수포화 n-butanol 抽出方法으로 粗사포닌 분획물을 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시킨 다음 30 % sulfuric acid을 분무후 가온시켜 ginsenoside -Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rc, -Rd, -Re 및 -Rg<sub>1</sub>을 확인하였다.

5. Ginsenoside -Rb<sub>1</sub>의 定量

本 드링크 試製品 중 人蔘 指標成分의 定量은 사포닌成分<sup>14,20)</sup> 중 그 함량이 가장 높고 뚜렷한 藥理 効能<sup>4)</sup>이 밝혀진 ginsenoside -Rb<sub>1</sub>을 定量하였다. 定量方法은 本 試製品 1병을 Ando 등<sup>19)</sup>의 方法에 준하여 粗사포닌 분획물을 分離한 다음 HPLC 分離定量方法<sup>14,20)</sup>으로 ginsenoside -Rb<sub>1</sub>(G-Rb<sub>1</sub>)을 定量하였다. 이 때 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 사용하였

Table 1. Preparation of crude drug drinks with the extracts of red ginseng and crude drugs (Extract content\*mg)

Crude drug	Type		
	A-type	C-type	E-type
Panax ginseng (紅蔘)	1593.6	1195.2	796.8
Zizyphi fructus (大棗)	350.6	350.6	350.6
Zingiberis rhizoma (乾姜)	64.00	34.56	34.56
Cinnamomi cortex (桂皮)	17.50	9.10	9.10
Lycii fructus (枸杞子)	35.98	35.98	35.98
Epimedii herba (淫羊藿)	8.94	8.94	8.94
Sugars (fructose and glucose syrup)	8100	8100	8100
Others (Additives)	S.A.**	S.A.**	S.A.**
Water	30 ml	30 ml	30 ml

\*Extract content in one bottle (30 ml)

\*\*Small amount

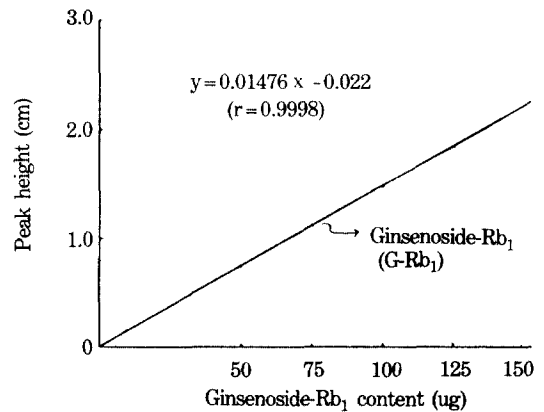


Fig. 1. Calibration curve of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> by HPLC.

다. 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 = 0.01476X - 0.022이며, 直線性을 檢定한 結果 그 相關係數가 r = 0.9998로서 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.

결과 및 고찰

1. 人蔘 사포닌의 確認

本 試驗에서 製造한 生藥複方劑 드링크 중 人蔘成分의 TLC에 의한 확인시험은 Fig. 2와 같이 紅蔘,

紅蔘엑기스 및 드링크를 각각 同一한 方法으로 처리 후 TLC로 展開시켜 生藥複方製 드링크 중 人蔘 指標成分으로 사포닌을 확인 同定하였다.

사포닌 成分의 확인은 人蔘 사포닌 중 그 含量<sup>14,19)</sup>이 높고 뚜렷한 藥理效能<sup>4)</sup>이 있다고 밝혀진 ginsenoside -Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rc, -Rd, -Re 및 -Rg<sub>1</sub>을 指標成分으로 하여 Fig. 2에서와 같이 原料紅蔘, 紅蔘엑기스 및 드링크 製品(A-type) 중에서 각각 同定하였으며 사포닌의 패턴도 거의 변화가 없음을 알 수 있었다.

또한 별도로 수행한 C-type 및 E-type의 TLC 패턴에서도 이와 同一한 結果를 고찰할 수 있었다. 따라서 이들 3가지 type의 엑기스 농도별 生藥複方製 드링크 試製品의 製造過程 중 사포닌의 분해 등 변화는 없었다는 것을 TLC 패턴 조사결과로 확인할 수 있었다.

2. Ginsenoside -Rb<sub>1</sub>의 定量 및 移行量 조사

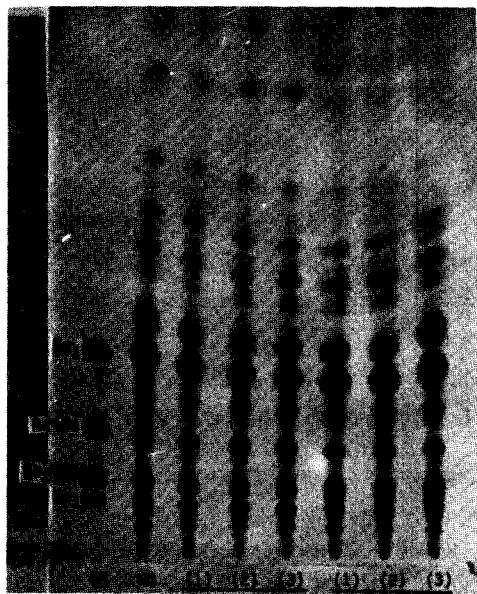


Fig. 2. Thin layer chromatogram of saponin fractions of the red ginseng extract and the crude drug preparation drinks

Developed with CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (65:35:10, lower phase) on silica gel 60 plate and detected with 30% sulfuric acid

The samples were as follows; GS: ginsenoside standard, RG: red ginseng, Extract: red ginseng extract, Drink: crude drug preparation drink

人蔘 指標成分의 定量은 드링크제 1병(30 ml)을 기준으로 하여 여기에 상당한 原料用 紅蔘엑기스와 드링크 1병 중의 定量值를 3 lot×3반복으로 分析하여 제조과정에 따른 移行量을 조사하였다. 人蔘 指標成分으로는 人蔘 사포닌成分 중 그 含量이 가장 높고<sup>14,19)</sup> 뚜렷한 藥理效能<sup>4)</sup>이 있다고 밝혀진 ginsenoside -Rb<sub>1</sub>을 HPLC로 定量하였다. 특히 本 試驗에서 검토 결과 Fig. 3에서와 같이 G-Rb<sub>1</sub>은 本 시제품 드링크 중에서 잘 검출되었으며 紅蔘엑기스만을 제외한 6種의 生藥材엑기스 혼합물의 HPLC패턴은 Fig. 3에서 볼 수 있듯이 G-Rb<sub>1</sub>과 겹치는 peak가 검출되지 않아서 G-Rb<sub>1</sub>을 人蔘의 指標成分으로 선정하여 定量하였다. 本 시험에서 사용한 試製品 드링크의 경우 原料用 紅蔘엑기스로부터 최종 드링크 제품 중의 G-Rb<sub>1</sub>의 平均移行率은 A-type은 57.5~60.1%, C-type은 68.6~70.4%, E-type은 62.7~64.8%였다. 여기서 알 수 있는 바와 같이 홍삼엑기스와 건강엑기스 및 계피엑기스의 첨가량이 가장 많은 A-type의 경우가 G-Rb<sub>1</sub>의 移行率이 가장 낮았으며, 홍삼엑기스 이외의 生藥材

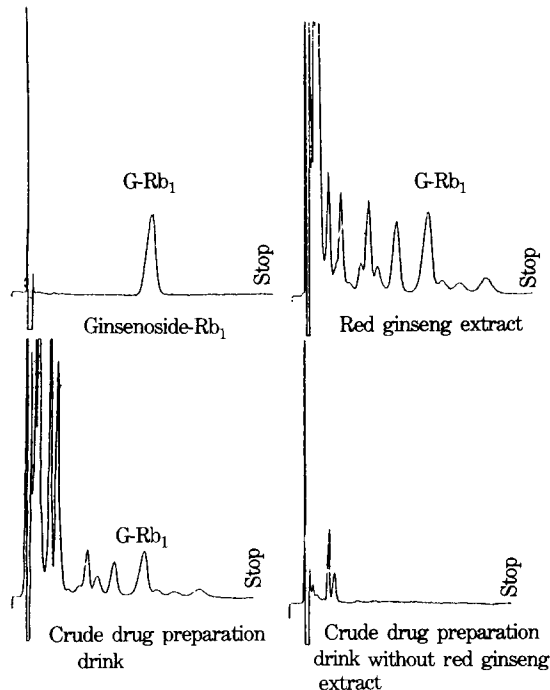


Fig. 3. HPLC patterns of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> and saponin fraction of the red ginseng extract and the crude drug preparation drink.

**Table 2.** Transfer contents of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> to the crude drug preparation drink from the red ginseng extract (Unit:mg)

Lot No.	Sample	A-type		C-type		E-type	
		Extract*	Drink	Extract*	Drink	Extract*	Drink
Lot A	1	19.44	10.96	15.52	10.96	11.44	6.96
	2	19.92	11.12	15.44	10.88	11.28	7.04
	3	18.96	11.44	15.60	11.12	11.36	7.36
	Average	19.44	11.17	15.52	10.99	11.36	7.12
Lot B	1	19.36	11.52	15.20	10.48	11.76	7.44
	2	19.92	11.68	15.84	10.88	11.68	7.52
	3	19.60	11.44	15.76	10.56	12.00	7.36
	Average	19.63	11.55	15.60	10.64	11.81	7.44
Lot C	1	19.68	11.52	16.08	11.04	11.20	7.36
	2	20.00	12.08	15.84	10.96	11.52	7.52
	3	19.60	12.00	16.00	11.28	11.76	7.68
	Average	19.76	11.87	15.97	11.09	11.49	7.52

\*Ginsenoside-Rb<sub>1</sub> contents in the red ginseng extract corresponding to one bottle (30 ml) of the crude drug preparation drinks

엑기스나 첨가물이 동일한 C-type 및 E-type의 경우는 홍삼엑기스의 첨가량이 많은 C-type이 E-type보다 더移行率이 높다는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 이행율의 감소용인에 대해서는 거의 研究報告된 바 없으나 본 시험에 사용한 드링크 試製品의 경우 인삼 엑기스와 生藥材엑기스들의 배합 후 용해성이나 물성 등 여러요인에 의해서 제조과정 중 원심분리에 의한 침전물의 제거 과정에서 원심분리 침전물에 흡착 혼합되어 제거되는 것이 주된 요인임을 알 수 있었다. 따라서 生藥複方製 드링크 製造時 엑기스 配合量에 따라 最終 製品 中の 移行量이 다르다는 것을 알 수 있었으며, 이와 같은 移行量의 減少는 드링크製品 製造過程 中 沈澱物 제거를 위하여 수행한 遠心分離 過程에서 G-Rb<sub>1</sub>이 人蔘엑기스와 여러 生藥材엑기스의 원심분리 沈澱物에 吸着되어 원심분리 침전물로 일부 제거되어 最終 드링크製品 中の 移行量이 減少됨을 확인할 수 있었다.

## 요 약

生藥複方製 드링크 中 人蔘 saponin의 TLC에 의한 확인 및 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>의 HPLC에 의한 定量條件을 설정하였다. TLC 확인은 사포닌 抽出 分획물을 Si-gel plate에 CHCl<sub>3</sub> MeOH/H<sub>2</sub>O(65 : 35 : 10, lower

phase)로 展開시켜 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rc, -Rd, -Re 및 -Rg<sub>1</sub>을 확인 同定하였다. 또한 HPLC에 의한 定量은 Lichrosorb-NH<sub>2</sub> column에 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/n-BuOH(80 : 20 : 10, v/v)을 移動相으로 하여 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>을 定量하였으며 原料用 紅蔘엑기스로부터 3가지 type 드링크중의 平均 移行率은 57.5~70.4% 였다.

## 인용문헌

1. Shibata, S., Tanaka, O., Ando, T., Sado, M., Tsushima, S. and Ohsawa, T.: *Chem. Pharm. Bull.* **14**(6), 595 (1966).
2. Shibata, S.: *Proceedings of International Ginseng Symposium*, The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul, Korea p. 69 (1974).
3. Takagi, K.: *Proceedings of International Ginseng Symposium*, The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul Korea, p. 119 (1974).
4. 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).
5. Woo, L.K., Han, B.H., Baik, D.W. and Park, D.S.: *J. Pharm. Soc. Korea* **17**, 123 (1973).
6. Hiai, S., Oura, H., Hamanaka, H. and Odaka, Y.: *Planta Medica* **28**, 131 (1975).

7. Hiai, S., Oura, H. and Nakajima, T.: *Planta Medica* **29**, 166 (1975).
8. Kim, J.Y. and Staba, E.J.: *Proceedings of International Ginseng Symposium*, The Central Res. Inst., Office of Monopoly, Seoul p. 77 (1974).
9. Han, B.H.: *Kor. J. Pharmacogn.* **3**, 151 (1972).
10. Sanada, S., Shoji, J. and Shibata, S.: *Yakugaku Zasshi* **98**, 1048 (1978).
11. Okamoto, M., Matsui, K., Yamada, F. and Noguchi, M.: *Yakugaku Zasshi* **102**, 1099 (1982).
12. Bombardelli, E., Bondati, A., Gabetta, B. and Martinelli, E.M.: *Journal of Chromatogr.* **196**, 121 (1980).
13. Sakamoto, I., Morimoto, K. and Tanaka, O.: *Yakugaku Zasshi* **95**, 1456 (1975).
14. 홍순근, 박은규, 이춘영, 김명운 : 약학회지 **23**, 245 (1979).
15. Soldati, F.: *Proceedings of the 3rd International Ginseng Symposium*, Korea Ginseng Res. Inst., Seoul, Korea (1980).
16. Han, B.H. and Woo, L.K.: *J. Pharm. Soc. Korea* **19**, 144 (1975).
17. 한병훈, 한용남 : 약학회지 **25**, 43(1981)
18. 성현순, 서기봉, 양재원 : 인삼연구보고서(제품분야별책), p.84-86(1988)
19. Ando, T., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Syoyakugaku Zasshi* **25**, 28 (1971).
20. 김만욱, 고성룡, 최강주, 김석창 : 고려인삼학회지 **11**, 10(1987).