*Korean J. Ginseng Sci.*
Vol. 14, No. 3, 437–441 (1990)

# 水蔘에서의 아데노신 분리 및 동정

이미경 · 임선욱* · 박 훈
한국인삼연초연구소
*서울대학교 농과대학 농화학과
(1990년 11월 9일 접수)

# Isolation and Identification of Adenosine in Fresh Ginseng

Mee-Kyoung Lee, Sun-Uk Lim* and Hoon Park
*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Science Town, Taejeon, 305-345, and*
**Agricultural College, Seoul National University, Suweon 440-744, Korea*
(Received November 9, 1990)

**Abstract**□ The investigation of UV absorbing compounds in saponin fraction of *Panax ginseng* root was carried out by thin layer chromatography, semipreparative HPLC, $^{13}C$-, $^{1}H$-NMR, mass spectrometry and chemical characteristics in searching plant for growth regulatory substances such as phenolic glycoside. Drying of fresh ginseng at 55°C decreased not only number but also size of UV absorbing sports on TLC. One of the relatively large spots in fresh ginseng was isolated and identified as adenosine, which is subjected for growth stimulatory activity. Detection of phenolic glycosides failed in dried root but was highly probable in fresh ginseng even with the insufficient amount of sample.

**Keywords**□ Fresh ginseng, adenosine, saponin fraction, UV absorbing compound, drying, phenolic glycoside.

## 서 론

인삼사포닌 자체는 자외선을 흡수하지 않음에도 불구하고, 인삼사포닌의 정량법으로 UV를 흡수하여 형광를 방출하는 성질을 이용할 수 있다는 발표가 7년전에 있었으며,[1] 과산화지질 생성억제 효과를 조사하는데 사용한 사포닌이 UV 흡광성이 있었다고 보고되었고,[2] 비교적 순수분리되었다고 하는 개별진세노사이드에서 폴리아세틸렌이 검출된점[3] 등은 사포닌 분획에 UV 흡광성 물질들이 상당히 강하게 혼입되어 있음을 나타낸다. 그외에도 인삼에서 maltol[4,5] 등과 그외 수종의 phenol계 화합물,[6,7] 그리고 alkaloid계 화합물 등[8-10] UV 흡수를 갖는 화합물들이 분리 동정되었으나 그들의 사포닌과의 관계는 불확실하다. 조사포닌 분획에서도 항상화성과 관련된 phenol계 화합물이 시도되어[11] isomaltol-α-D-glucopyranoside가 홍삼에서 확인되었고, 그 후 수삼에서 ferulic acid 결합체가 보고되었다.[12]

한편 인삼사포닌 분획이 식물생장 촉진효과가 있음이 보고되었는데[13] 이런 경우 UV 흡광성 물질일 가능성도 배제할 수 없다. 최근 다른 식물에서 페놀배당체가 식물생장조절 물질로 밝혀져서[14,15] 수삼의 사포닌 분획 중 UV 흡수물질에서 그 유사한 화합물을 탐색하는 과정에서 비교적 많은 양의 것으로 adenosine이 분리동정되었기에 보고하고자 한다. Adenosine의 분리동정은 홍삼[11,16]과 백삼[22]에서 이루어졌으나 수삼에서는 보고된 바가 없으며 최근 光學異性體가 水稻에서 生長促進性이 큰 것으로 보고되었다.[17]

## 재료 및 방법

시료로 사용한 인삼은 채취한 직후의 수삼과 수삼을 55℃에서 건조시킨 것(건삼)이었다. 수삼은 뇌두와

세근을 제거한 후 잘게 썬것 5 kg을 methanol에 담궈 상온에서 1회 추출하고, 다음 aq. methanol을 가해 Waring blender에 갈아 2회 더 추출하였다. 40℃ 수욕상에서 감압건조시킨 후 증류수에 녹여 diethyl ether로 2회, ethyl acetate로 2회 탈지하고, 수포화 n-butanol로 3회 추출하였다. 수포화 n-butanol 층을 모아 1/3 용적의 증류수로 2회 세척하여 45℃에서 감압건조시켰다. 얻어진 n-butanol 추출 건고물을 silicagel columm(70-240 mesh, ϕ5 cm×48 cm)에 적용하고 용매로 chloroform : methanol=6 : 1(3.5*l*), 5 : 1(1.2*l*), 4 : 1(2.0*l*), 3 : 1과 chloroform : methanol : water=7 : 3 : 1의 下층을 step gradient로 사용하면서 thin layer chromatography(TLC)로 각 물질의 용출을 검사하였다. UV 흡수물질은 254 nm(short) 근방과 360 nm(long) 근방의 UV lamp, 페놀계 화합물은 1% $FeCl_3$-1% $K_3Fe(CN)_6$(1 : 1, v/v)으로 검색했으며, 10% 황산수용액으로 진세노사이드들의 위치를 확인했다. 시험관당 15 m*l*씩 받았을 때 처음 3260 m*l*가 용출된 후 370 m*l*(206-240번)에서 UV 흡수가 강하고 진세노사이드와 겹치지 않으며 건삼에서도 뚜렷했던 spot를 얻을 수 있었다. 이것을 2차로 silicagel column(70-230 mesh, ϕ4 cm×12 cm)에 적용하였다. 용매로는 n-butanol : water=8.2 : 0.2(840 m*l*)와 8.0 : 0.2(615 m*l*)를 사용했으며 시험관당 10.5 m*l*/15분으로 받았을 때 UV 흡수물질이 26-110번에 비교적 순수하게 들어있었다. 이 분획은 더욱 순수화하기 위해 semipreparative HPLC로 분리, 분취하였으며 그 조건은 columm : Econosil $C_{18}$(10 μm, 250 mm×10 mm I.D.), mobile phase ; 23% aq. methanol, flow rate ; 2.0 m*l*/min, detector ; UV 254 nm였다. TLC 및 analytical HPLC로 단일성분 임을 확인하고 $^1H$, $^{13}C$ NMR 및 mass spectrometer와 산가수분해에 의한 물리화학적 특성에 의하여 화학구조를 동정하였다. 사용한 기기는 Waters Model 244 HPLC, Bruker FT(300 MHz, 75 MHz) NMR spectrometer와 JEOL JMS-DX 303 mass spectrometer였다.

건삼은 1 kg을 사용하였고 1차 silicagel column에서 용출시키면서 6개 분획으로 나누고 이 중 세번째 분획을 2차 silicagel column chromatography할 때 용매로 chloroform : methanol : water=12 : 3 : 1의 하층을 사용한 점 이외에는 수삼에서 언급한 방법과 같았다.

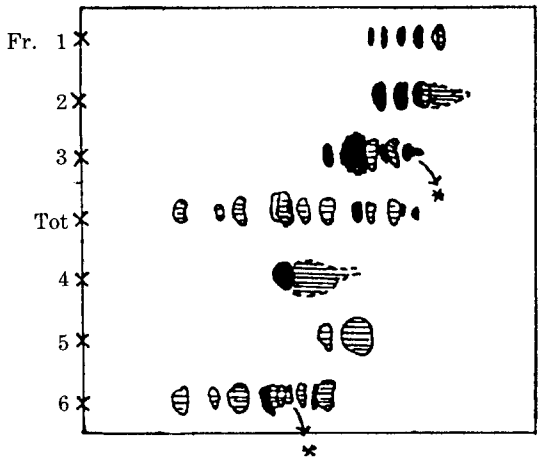


**Fig. 1.** Thin-layer chromatogram (TLC) of the fractions separated on 1 $SiO_2$-column.
Plate: Silicagel $60F_{254}$, mobile phase: chloroform/methanol/water (6: 4: 1), Violet (v): $H_2SO_4$ aq. 40% or ; uv (short range), dragendorff pale scarlet.

## 결과 및 고찰

UV 흡수물질의 검색 : phenolic glycoside를 분리 동정함에 있어 butanol fraction을 使用한 것이 일반적이어서,[18-20] 인삼에서도 사포닌의 추출분획인 butanol fraction을 대상으로 하였다. 추출의 편리상 55℃에서 건조한 삼의 butanol 추출건고물을 1차 silica gel column을 통과시켜 6개 분획을 얻고 TLC한 결과는 그림 1과 같다. UV 흡수 spot는 모두 8개로 나타났으나 phenolic glycoside의 존재여부는 1% Ferric chloride-1% potassium ferricyanate(1 : 1 v/v)의 검색에서 뚜렷한 양성을 보이는 것이 없었으나 비교적 양이 많고 분리가 깨끗하며 다른 분획에 없는 3번 분획의 아래에서 2번 spot를 우선 분리 동정하기로 하였다.

수삼의 건조 과정에서 UV 흡수물질에 변화가 예상되어 수삼과 건조삼의 조사포닌분획을 TLC에 띠로 전개한 것은 그림 2와 같다. 수삼에서는 8개의 띠가 나타났으나 55℃의 건조삼에서는 4개의 띠만 나왔고 띠의 크기도 최상의 것외에는 수삼에서 모두 컸다. 이것은 55℃에서 건조함으로써 UV 흡수물질이 파괴되거나 butanol에 대한 용해도가 적은 화합물 또는 그런 조건으로 변화하는 것으로 볼 수 있다. 최선단 띠가 건조삼에서는 더 큰 것으로 보아(그림 2) 이동

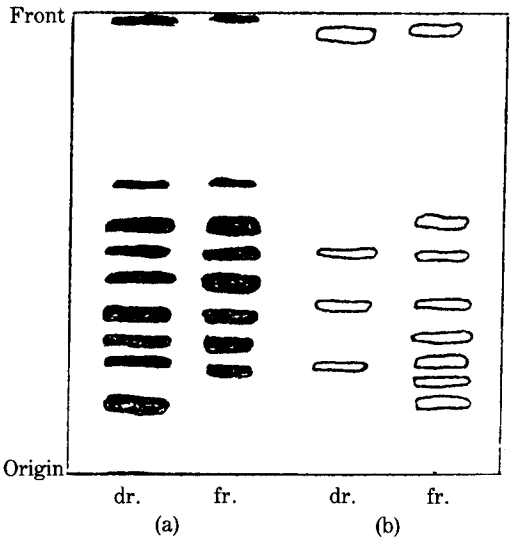


**Fig. 2.** TLC of crude saponin fractions of dried and fresh ginseng root. Silicagel $60F_{254}$ precoated plate, mobile phase; chloroform/methanol/water (6: 4: 1), detection; (a) 10% $H_2SO_4$ (b) UV 254 nm.

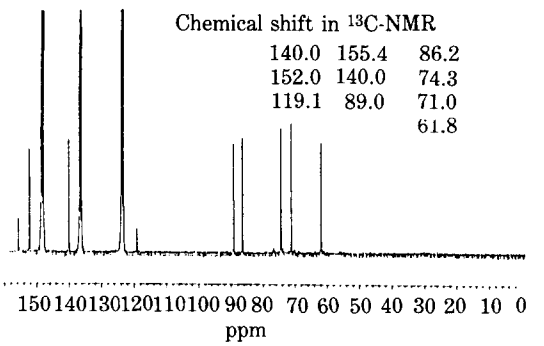


**Fig. 3.** $^{13}$C-NMR spectrum of compound 3-2. (75 MHz, $d_5$-Py, $\delta$ c).

도가 적은 UV 흡수물질이 분해될 가능성이 있다. 수삼의 사포닌 다량분획에서 TLC상 UV 흡수대는 10개로 나타나[12] 그림 2의 경우보다 많았다.

수삼의 butanol 획분을 방법에 서술한 대로 6개 분획으로 나누어 TLC에 전개하여 phenolic glycoside의 검색결과 크지는 않으나 양성반응의 spot가 수개 나타났다. 수삼의 사포닌 다량분획에서 ferulic acid 결합체의 존재가 확인되었으므로[12] 多量의 시료를 사용하면 phenolic glycoside의 탐색이 가능할 것으로 보이며 이에 관한 결과는 차후 보고하고자 한다.

Adenosine의 分離 同定 : 수삼을 사용하여 그림 1과 같은 방법으로 3-2 spot을 확인하고 그 분획을 다량분취하여 prep HPLC로 분리, 분취하여 얻은 물질을 TLC 및 analytical HPLC로 순수함을 확인하였다. 이 3-2 화합물을 산가수분해 후 용매 분획하여 수용액 분획을 TLC로 검정하여 표준 ribose와 같은

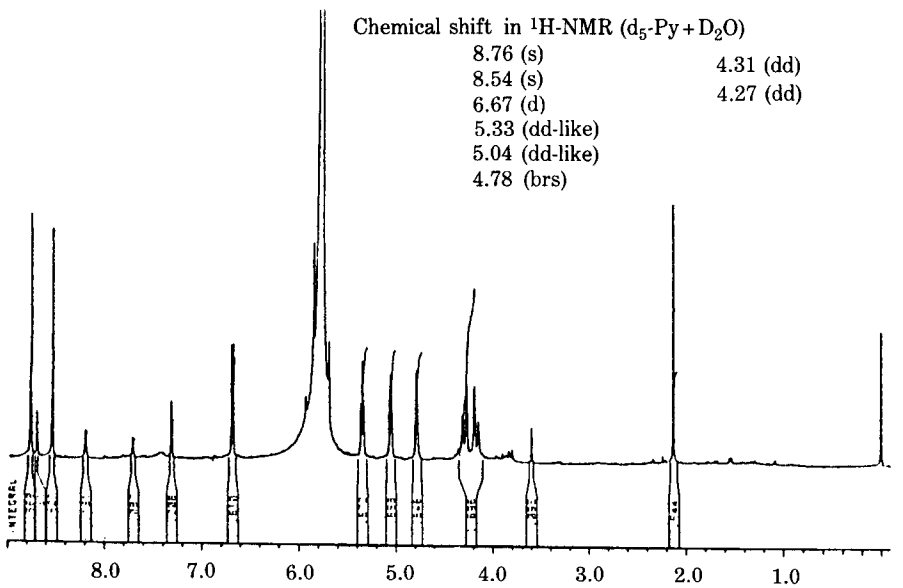


**Fig. 4.** $^1$H-NMR spectrum of compound 3-2. (300 MHz, $d_5$-Py + $D_2O$).

위치에 있음을 확인하였다. 3-2 화합물의 $^{13}C$ NMR (그림 3)에서 9개의 chemical shift 값이 다른 탄소 signal을 확인하였다. 61.8, 71.0, 74.3, 86.2 및 89.0 ppm의 5개 signal은 ribose의 5에서 1의 위치에 귀속시킬 때 잘 일치하였으며 119.1, 140.0, 152.0 및 155.4 ppm의 4개 carbon signal은 adenine moiety의 5번, 2 및 8번, 그리고 4번과 6번 위치에(4번과 6번은 서로 바뀔 수 있음) 귀속시킬 때 잘 일치하였다.

$^1H$ NMR spectrum(그림 4)에 있어서도 8.54와 8.76 ppm에서 관측된 singlet signal이 adenine moiety의 2 및 8 위의 수소에 잘 귀속되었고 ribose 유래 수소도 6.67 ppm에서의 anomeric proton을 비롯하여 표 1에서와 같이 모두 다 관찰되었다.

Mass spectrum(그림 5)에서는 분자량 signal로서 267 및 135, 164, 178, 108 등의 ion fragment signal이 그림 5에서와 같이 관측되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 분리한 물질은 adenosine으로 동정할 수 있다.

**Table 1.** Chemical shift of the compound in $^1H$-NMR (300 MHz, $d_5$-Py., $\delta$ )

| Probable position | Chemical shift and character |
|---|---|
| 2-H or 8-H | 8.54 (1H, S), 8.76 (1H, S) |
| 1'-H | 6.67 (1H, d, J=6 Hz) |
| 2'-H | 5.33 (1H, dd-like) |
| 3'-H | 4.78 (1H, brs) |
| 4'-H | 5.04 (1H, dd-like) |
| 5'-H | 4.27 (1H, dd, J=2.4, 12.5 Hz), 4.31 (1H, dd, J=2.4, 12.5 Hz), |

건조삼에서의 adenosine의 收率은 silica gel column의 제 3 분획 전체가 0.071%였고 prep HPLC에 의한 3-2 compound가 0.009%로 홍삼에서의 수율 0.04%보다 훨씬 적었다. 수삼에서는 그림 2의 6번 띠가 adenonine에 해당하는 것으로 보아 건조삼에서 보다는 훨씬 높을 것으로 사료된다.

Adenosine의 인삼에 대한 생육조절 효과는 검토중에 있다.

## 요 약

박층크로마토그라피, 반다량 HPLC, NMR 및 화학적 특성에 의하여 고려삼의 사포닌 분획에서 훼놀 배당체와 같은 UV 흡수물질을 조사하였다. 55℃에서의 건조는 박층크로마토그람상의 UV 흡수 띠의 수와 그 폭을 감소시켰다. 수삼에서 비교적 큰 띠를 분리하여 아데노신임을 확인하고 생육조절 효과를 검토하고 있다. 훼놀 배당체의 검색이 건조삼에서 안되었으나 수삼은 다량의 시료를 사용하면 가능할 것으로 보였다.

## 인용문헌

1. 朴基賢, 金啓源 : 제 8회 고려인삼학회 학술연구발표요지, p15(1983).

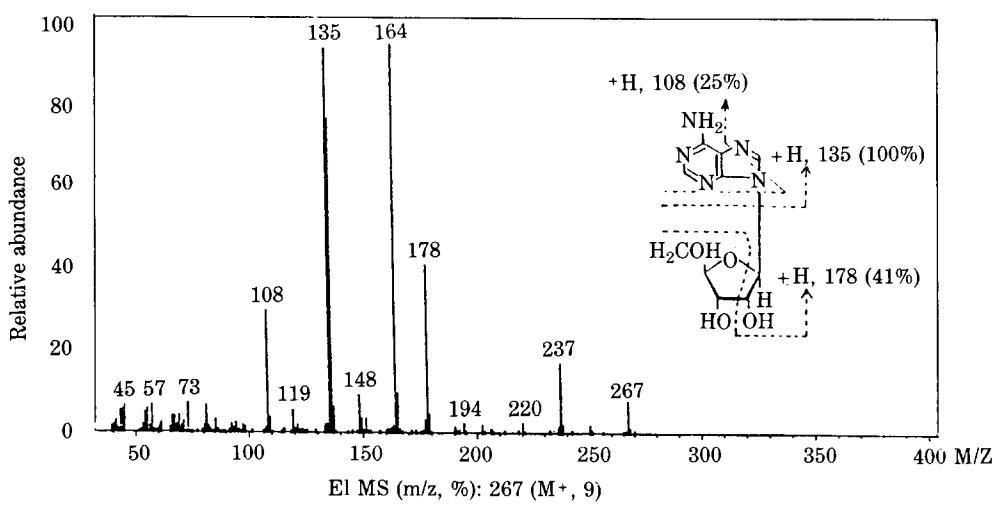


**Fig. 5.** El-mass spectrum of compound 3-2.

2. Choi, J.H. and Oh, S.K.: *Korean Biochem. J.*, **17**, 445 (1984).
3. Lee, T.N.: Personal communication.
4. Han, B.H., Park, M.H., Woo, L.K., Woo, W.S. and Han, Y.N.: *Korean Biochem. J.*, **12**, 33 (1979).
5. Han, B.H., Park, M.H. and Han, Y.N.: *Arch. Pharm. Res.*, **4**, 53 (1981).
6. Wee, J.J., Park, J.D., Kim, M.W. and Lee, H.J.: *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **32**, 50 (1989).
7. Wee, J.J., Park, J.D. and Kim, M.W.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**, 27 (1990).
8. Han, B.H., Park, M.H., Han, Y.N. and Woo, L.K.: *Arch. Pharm. Res.*, **9**, 21 (1986).
9. Park, J.D., Kim, M.W., Yoo, S.J. and Wee, J.J.: *Arch. Pharm. Res.*, **10**, 197 (1987).
10. Han, Y.N., Ryu, S.Y. Han, B.H. and Woo, L.K.: *Arch. Pharm. Res.*, **10**, 258 (1987).
11. Han, B.H., Park, M.H. and Han, Y.N.: *Arch. Pharm. Res.*, **8**, 257 (1985).
12. Han, Y.N. and Han, B.H.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **13**, 1 (1989).
13. Lee, Y.W. and Joo, C.N.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **11**, 77 (1987).
14. Shoyama, Y., Hatano, K., Nishioka, I. and Yamagishi, T.: *Phytochem.*, **26**, 2965 (1987).
15. Shizuri, Y., Shigemori, H., Sakai, N., Miyoshi, E. and Yamamura, S.: Abstract: 17th IUPAC International Symposium on the Chemistry of Natural Products. OC62. p. 120 New Delhi, India (1990).
16. Okuda, H. and Yoshida, R.: Proc. 3rd Int. Gingseng Sym. pp. 53-57. Korea Ginseng Res. Inst. Seoul (1980).
17. Ries, S., Wert, V. and Nair, M.: *Proc. Plant Growth Reg. Soc. America.* 16th Ann. Meeting p. 201 (1989).
18. Jimenez, C., Villaverde, M.C., Riguera, R., Castedo, L. and Stermitz, F.R.: *Phytochem.*, **26**, 1805 (1987).
19. Matsumoto, M., Koga, S., Shoyama, Y. and Nishioka, I.: *Phytochem.*, **26**, 3225 (1987).
20. Shimomura, H., Sashida, Y. and Adachi, T.: *Phytochem.*, **27**, 641 (1988).