Korean J. Ginseng Sci.
Vol. 15, No. 3, 192~196(1991)

생약복방제의 에탄올 농도별 엑스중 인삼 사포닌의 이행량 조사

최강주 · 고성룡 · 전병선 · 김만욱
한국인삼연초연구소
(1991년 12월 2일 접수)

Extraction Yields of Ginseng Saponins in the Extracts of Crude Drug Preparations with Various Concentrations of Ethanol

Kang-Ju Choi, Sung-Ryong Ko, Byeong-Seon Jeon and Man-Wook Kim
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejeon 305-345, Korea
(Received December 2, 1991)

Abstract□As a part of studies on the quality control of index components in crude drug preparations, extraction yields of ginseng saponins from crude drug extracts were identified by TLC and quantified by HPLC. So-Shi-Ho-Tang(小柴胡湯), Sa-Kun-Ja-Tang(四君子湯), Yook-Kun-Ja-Tang(六君子湯) and In-Sam-Tang(人蔘湯) were extracted with water, 30%-ethanol, 50%-ethanol, 80%-ethanol and absolute ethanol to analyze ginseng saponins in the crude drug extracts prepared with various concentrations of ethanol. Ginseng saponins were extracted considerably more from the extracts with higher concentrations of ethanol than those with water or lower concentrations of ethanol. Extraction yields of ginsenoside-Rb_1, -Rb_2 and -Rc from four crude drug preparations were the lowest as 4.9~45.9%, 5.0~40.1, and 6.3~43.7% in water extract and the highest as 29.5~62.6%, 26.7~61.4% and 31.4~62.0% in absolute ethanol extract, compared with those of 80%-methanol extracts.

Keywords□crude drug extracts, *panax ginseng*, ginsenoside, extraction yield, TLC, HPLC.

서 론

옛부터 한방에서는 인삼과 생약재를 물로 추출하여 탕액으로 복용하여 왔으나 최근에는 생약복방제가 다양하게 개발되어 건강식품으로 또는 의약품으로 등록되어 유통되고 있으며, 해당 품질검사기관에서는 생약재별로 유효지표성분을 중심으로 품질관리를 수행하고 있는 실정이다.[1-3]

인삼의 경우는 인삼의 가장 주된 유효성분[4,5]인 동시에 인삼속(Panax genus)에만 함유된 것으로 밝혀진 사포닌 성분[6,7]이 품질관리 지표성분[1-3]으로 통용되고 있다. 인삼엑스는 원료인삼[8,9]에 따라서 엑스 수율과 사포닌 함량이 다른 것으로 보고되었으며, 또한 엑스 제조시 사용된 추출 용매의 물과 에탄올의 농도[10]에 따라서도 엑스 수율뿐 아니라 엑스중의 사포닌 함량이 현저하게 차이가 있는 것으로 보고되었다. 그러나 생약복방제 엑스 제조시 추출 알콜 농도별에 따른 인삼 사포닌의 추출 이행량에 대하여는 거의 보고된 바 없어 본 연구를 수행하였으며, 우선 인삼의 배합량은 유사하면서 생약재의 배합량과 종류[11]가 상이하고 많이 사용되어지고 있는 소시호탕, 사군자탕, 육군자탕, 인삼탕에 대하여 물 및 알콜 농도별 엑스중 인삼 사포닌을 확인하고 정량하였다.

재료 및 방법

1. 인삼 및 생약재

인삼은 한국담배인삼공사에서 6년근 수삼으로 제

Table 1. Preparations of crude drug extracts with ginseng and crude drugs (unit: gram dosage/day)

Crude drugs (生藥材)	So-Shi-Ho-Tang (小柴胡湯)	Sa-Kun-Ja-Tang (四君子湯)	Yook-Kun-Ja-Tang (六君子湯)	In-Sam-Tang (人蔘湯)
Ginseng Radix(人蔘)	3.0	4.0	4.0	3.0
Bupleuri Radix(柴胡)	7.0	–	–	–
Pinellia Tuber(半夏)	5.0	–	4.0	–
Scutellariae Radix(黃芩)	3.0	–	–	–
Glycyrrhizae Radix(甘草)	2.0	1.5	1.5	3.0
Raw Ginger(生薑)	4.0	1.5	4.0	–
Zizyphi Fructus(大棗)	3.0	2.0	2.0	–
Atractylodes Rhizome(白朮)	–	4.0	4.0	3.0
Hoelen(茯苓)	–	4.0	4.0	–
Citrus Unshiu Peel(陳皮)	–		2.0	–
Ginger(乾薑)			–	3.0
Total	27.0	17.0	22.5	12.0

조한 원료홍삼을 사용하였고 생약재는 시중 한약 건재 도매상에서 전문가의 감정을 받은 후 구입하여 재료로 사용하였다. 인삼 및 생약재 시료는 각 처리구별 시료의 균일성을 위하여 30 mesh(0.59 mm)로 분쇄하여 사용하였으며 생강과 대추는 가능한 작게 절단하여 사용하였다.

2. 시약

HPLC 분석에 사용한 acetonitrile, n-butanol 및 증류수는 E. Merck회사의 HPLC용 용매류를 사용하였고 사포닌 추출용매와 전개용매는 1급시약을, TLC plate는 silica gel 60 precoated aluminum sheet(E. Merck Co. layer thickness 0.2 mm)을 사용하였다. 인삼사포닌 표준품은 한국인삼연초연구소에서 분리한 표준품을 사용하였다.

3. 생약 복방제의 엑스 제조

본 실험에서 시료로 사용된 생약 복방제는 Table 1과 같이 인삼 외에 여러 생약재를 배합하여 조제하였으며 배합비율은 각 생약재의 배합비를 g단위로 환산한 량[11]을 기준으로 배합하였다. 추출 용매는 물, 30% 에탄올, 50% 에탄올, 80% 에탄올 및 무수 에탄올을 사용하였고, 사포닌 추출이행 대조구로는 80% 메탄올을 사용하였다. 추출은 물 및 알콜 농도별 추출용매를 가하여 3회 반복 추출하였으며 1회는 10배량(v/w), 2회와 3회는 5배량(v/w)의 추출용매를 가하여 80℃ 수욕조에서 가열 환류추출후 여과포로 여과한 다음 여액을 9,220×g(10,000 rpm)으로 원심분리시켜 침전물을 제거시킨 다음 상징액을 60±1℃에서 감압 농축하여 각각 엑스를 조제하여 시료로 사용하였다.

4. 인삼 사포닌성분의 확인

인삼 사포닌성분의 확인은 각 생약 복방제 1일 복용량에 상당하는 각각의 엑스를 취하여 Ando 등의 방법[12]에 준하여 수포화 n-butanol 추출방법으로 조사포닌 분획물을 분리한 다음 silica gel plate를 이용하여 chloroform/methanol/water(65 : 35 : 10, lower phase)로 전개시킨 다음 30% sulfuric acid를 분무 후 가온시켜 함량 및 효과면에서 주종사포닌[13-15]으로 통용되는 ginsenoside-Rb_1, -Rb_2, -Rc, -Rd, -Re 및 Rg_1을 확인하였다.

5. 인삼 사포닌 성분의 정량

인삼 사포닌 성분의 정량은 각 생약복방제 엑스 1일 복용량을 취하여 Ando 등의 방법[12]에 준하여 조사포닌을 분리한 다음 HPLC로 분리 정량하였다.[13,14] 이때 사용한 HPLC는 Waters Associates Model 244를, column은 Lichrosorb NH_2(Merck, 10 μm, 25×0.46 cm I.D.)를, 검출기는 differential refractometer RI 401을 사용하였고 mobile phase는 acetonitrile/water/n-butanol(80 : 20 : 10, v/v)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 인삼 사포닌의 확인

본 실험에서 제조한 생약복방제 엑스중 인삼 사포닌의 TLC 패턴은 Fig. 1과 같다. 생약복방제 엑스중의

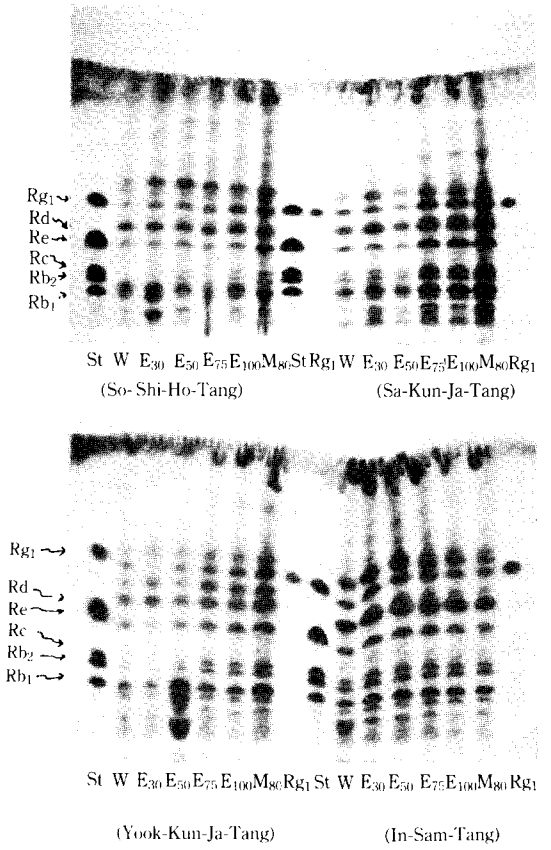

Fig. 1. Thin layer chromatograms of saponin fractions of the crude drug extracts.
*The samples were as follows; St: ginsenoside-Rb_1, -Rb_2, -Rc, -Rd, -Re and -Rg_1, W: Water extract, E_{30}: 30% ethanol extract, E_{50}: 50% ethanol extract, E_{75}: 75% ethanol extract, E_{100}: absolute ethanol extract, M_{80}: 80% methanol extract, Rg_1: ginsenoside-Rg_1

인삼 사포닌은 TLC 패턴에서 볼 수 있듯이 생약복방제엑스 제조시 사용된 추출 용매의 알콜 농도가 증가됨에 따라 인삼 사포닌이 잘 검출되었으며, 특히 대한약전[2] 및 일본약국방[3]에 인삼의 지표성분으로 통용되고 있는 ginsenoside-Rg_1 성분도 추출 알콜 농도가 높은 엑스의 TLC 패턴에서 잘 검출됨을 알 수 있었다. 이것은 본 실험에서 시료로 사용된 홍삼 분말의 경우 물추출보다 60~80%에탄올 추출물의 사포닌 추출 수율이 가장 높았다는 보고[10]를 고찰해 볼때 생약복방제 엑스의 경우도 물 추출에 비하여 추출 용매의 알콜농도가 높을수록 사포닌이 더욱 잘 추출되어 TLC 패턴에서 인삼 사포닌 성분을 보다 더 선명하게 확인할 수 있었다.

한편 생약복합제제별로 비교해 보았을 때 생약제 조성이 간단하고 인삼의 배합비율이 높은 인삼탕 및 사군자탕의 경우가 대체로 잘 검출되어 인삼 사포닌 성분의 확인이 용이하였으며, 생약재 배합량에 비하여 인삼의 배합비율이 낮은 소시호탕과 육군자탕의 경우 물추출 엑스 및 알콜 농도가 낮은 엑스중에서는 인삼 사포닌성분이 매우 미약하게 검출되었으며 소시호탕의 물추출 엑스는 TLC 패턴상에서 거의 검출되지 않았다. 이와 같은 요인에 대해서 인삼은 추출 알콜 농도[10]에 따라 사포닌의 추출율이 상이할뿐 아니라 생약복방제의 경우 배합된 생약재들의 종류나 양에 따라서 인삼 사포닌의 분해, 여과와 원심분리 과정중 침전물에 흡착 등 여러 요인에 의하여 이행량이 현저하게 감소되었다고 보고된 바 있다.[16-18]

2. 인삼 사포닌의 정량 및 이행량 조사

생약복방제 4종의 물 및 알콜농도별 추출엑스중 인삼 사포닌의 추출 이행량은 Table 2와 같다. 인삼 사포닌의 추출 이행량은 인삼탕>사군자탕>육군자탕>소시호탕 순으로 인삼량에 비하여 타 생약재의 배합량이 적을수록 추출 이행율은 높았고 생약재 배합량이 많을수록 이행율은 낮았다. 즉 인삼배합량에 비하여 생약재 배합량이 많은 소시호탕과 육군자탕에서는 인삼 사포닌의 추출 이행량이 낮았는데 이것은 최 등[16,17] 및 김 등[18]이 지적한 바와 같이 인삼만을 추출한 경우에 비하여 생약재와 혼합하여 추출함으로써 인삼 사포닌의 추출 이행량을 현저하게 감소시킨데 그 원인이 있음을 알 수 있었다. 즉 인삼만을 추출한 알콜 농도별 엑스중의 이행량[10]에 비하여 생약복방제 추출 엑스중의 사포닌 이행량은 현저하게 감소되었으며 인삼 추출 엑스에서와 같이 생약복방제의 경우도 물이나 저농도 알콜 추출 엑스에 비하여 고농도 알콜 추출 엑스중 인삼 사포닌의 추출 이행량이 높다는 것을 알 수 있었다.

인삼 사포닌의 추출 알콜 용매로 널리 사용되고 있는 80% 메탄올 엑스중의 추출 이행량을 100으로 기준하여 대비해볼 때 ginsenoside-Rb_1, -Rb_2 및 -Rc의 이행율은 물추출 엑스에서 4.9~45.9%, 5.0~40.1%, 6.3~43.7%로 가장 낮았고, 무수 에탄올 엑스에서 29.5~62.6%, 26.7~61.4%, 31.3~62.0%로 가장 높았다. 생약복방제 별로 본다면 인삼 배합량에 비하여 생약재의 배합량이 많은 소시호탕, 육군자탕, 사군자탕은

Table 2. Transfer contents of ginsenosides to the crude drug preparation extracts extracted with water and various alcohol concentration

Extraction Solvents / Ginsenoside(%)[1]	So-Shi-Ho-Tang						Sa-Kun-Ja-Tang					
	Water[2]	30E[2]	50E	80E	100E	80M[2]	Water	30E	50E	80E	100E	80M
Ginsenoside-Rb_1	0.03	0.09	0.11	0.14	0.18	0.53	0.08	0.10	0.13	0.41	0.45	0.60
〃 -Rb_2	0.01	0.03	0.05	0.07	0.08	0.22	0.03	0.05	0.07	0.17	0.21	0.28
〃 -Rc	0.02	0.04	0.06	0.09	0.10	0.25	0.04	0.05	0.07	0.19	0.22	0.29
〃 -Rd	0.02	0.03	0.07	0.07	N*	N*	0.03	0.06	0.08	0.10	N*	N*
〃 -Re	N*	N*	N*	N*	N*	N*	0.12	0.17	0.21	N*	N*	N*
〃 -Rg_1	N*	N*	N*	N*	N*	N*	0.05	0.07	0.09	0.17	0.21	0.30

Extraction Solvents / Ginsenoside(%)[1]	Yook-Kun-Ja-Tang						In-Sam-Tang					
	Water[2]	30E[2]	50E	80E	100E	80M[2]	Water	30E	50E	80E	100E	80M
Ginsenoside-Rb_1	0.08	0.11	0.14	0.27	0.33	0.54	0.28	0.38	0.40	0.42	0.37	0.58
〃 -Rb_2	0.04	0.06	0.10	0.13	0.15	0.25	0.12	0.16	0.17	0.19	0.19	0.26
〃 -Rc	0.05	0.08	0.12	0.14	0.18	0.28	0.14	0.17	0.18	0.20	0.20	0.28
〃 -Rd	0.03	0.04	0.06	0.09	0.12	0.13	0.04	0.05	0.06	0.10	0.09	0.12
〃 -Re	0.06	0.07	0.10	0.17	0.21	0.33	0.16	0.15	0.16	0.18	0.18	0.27
〃 -Rg_1	0.07	0.08	0.10	0.13	0.17	0.25	0.19	0.20	0.21	0.23	0.21	0.28

N*: Not separated from the other components of crude drugs

1) : Ginsenoside contents based on 1g of red ginseng powder in each crude drug preparation

2) : Water: water extract, 30E: 30% ethanol extract, 50E: 50% ethanol extract, 80E: 80% ethanol extract, 100E: absolute ethanol extract, 80M: 80% methanol extract

무수 에탄올 엑스중의 인삼 사포닌 이행량이 가장 높았으며 상대적으로 인삼 배합량이 많고 생약재 조성이 간단한 인삼탕의 경우는 인삼의 알콜 농도별 엑스[10]에서 보고된 바와 같이 80% 에탄올 엑스중의 인삼 사포닌 이행량이 가장 높았다.

이와 같은 실험결과를 종합해 볼 때 옛부터 한방에서는 여러 생약재가 배합된 처방을 물로 끓여서 탕액으로 복용해 왔고 현재도 생약복방제 제조시에 주로 물추출 엑스를 제조하여 여러 생약복방제 제품을 제조하고 있으나 인삼이 함유된 생약복방제의 경우 인삼 사포닌성분의 추출이행량의 측면에서 본다면 물보다는 무수 에탄올이나 고농도 에탄올 추출용매가 바람직함을 알 수 있었다. 그러나 한국의 보사부나 일본의 후생성 등 관련검사 공인기관에서는 소비자의 안정성 측면에서 장구한 세월동안 복용해 온 물 추출방법으로 생약복방제 엑스를 제조할 것을 권장하고 있으며 에탄올을 추출용매로 사용할 경우에는 30% 에탄올용액 이하로 규제하고 있다는 점에 대해서 유의를 해야 할 것이다.[3]

요 약

생약복방제의 유효 지표성분에 대한 품질관리 연구 일환으로 인삼 사포닌의 추출이행량을 TLC로 확인하고 HPLC로 정량하였다. 소시호탕, 사군자탕, 육군자탕 및 인삼탕을 물, 30% 에탄올, 50% 에탄올, 80% 에탄올 및 무수 에탄올로 추출하여 알콜 농도별 생약복방제 엑스중에 이행된 인삼 사포닌을 분석하였다. 이들 생약복방제중 인삼 사포닌의 이행량은 물이나 저농도 에탄올 추출 엑스에 비하여 고농도 에탄올 추출 엑스중의 이행량이 현저하게 높았다. 80% 메탄올 엑스중 ginsenoside-Rb_1, -Rb_2, -Rc의 이행율을 기준으로 대비해 볼 때 물엑스는 4.9~45.9%, 5.0~40.1%, 6.3~43.7%로 가장 낮았고, 무수 에탄올 엑스는 29.5~62.6%, 26.7~61.4%, 31.3~62.0%로 가장 높았다.

인용문헌

1. 한국식품공업협회 : 식품공전, 보건사회부, 서울, pp.

300-324 (1988).
2. 보건사회부 : 대한약전(제5개정), 대한보건공정서협회, 서울 (1987).
3. 日本公定書協會 : 日本藥局方解說書(第12改定), 廣川書店, 東京 (1991).
4. Brekhman, I.I.: *Panax ginseng, Gosudarst Isdatet Med. Lit.* Leningard, p. 1 (1957).
5. Takagi, K.: *Proceedings of International Ginseng Symposium,* The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul, Korea, p. 119 (1974).
6. Shibata, S., Tanaka, O., Ando, T., Sado, M., Tsushima, S. and Ohsawa, T.: *Chem. Pharm. Bull.,* **14** (6), 595 (1966).
7. Shibata, S.: *Proceedings of International Ginseng Symposium,* The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul, Korea, p. 69 (1974).
8. 김만욱, 고성룡, 최강주, 김석창 : 고려인삼학회지, **11** (1), 10 (1987).
9. 김만욱, 최강주, 박종대, 위재준, 고성룡, 김석창 : 인삼연구보고서(효능분야), pp. 194-195 (1988).
10. 김찬호, 최강주, 김석창, 고성룡 : 인삼연구보고서(효능분야), pp. 240-242 (1990).
11. 日藥連漢方專門委員會(趙炳衡 譯編) : 一般用漢方處方의 길잡이, 大韓科學方藥硏究會, 서울 (1980).
12. Ando, T., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Syoyakugaku Zasshi,* **25**, 28 (1971).
13. 홍순근, 박은규, 이춘영, 김명윤 : 약학회지, **23**(3 & 4), 245 (1979).
14. 김만욱, 고성룡, 최강주, 김석창 : 고려인삼학회지, **11** (1), 10 (1987).
15. 松浦敬道 : 鳥取大學 大學院 醫學部 綜合藥學科, 博士學位論文 (1985).
16. 최강주, 고성룡, 전병선, 성하숙 : 생약학회지, **20**(3), 175 (1989).
17. 최강주, 고성룡, 김나미, 전병선 : 고려인삼학회지, **14** (2), 112 (1990).
18. 김찬호, 최강주, 김석창, 고성룡 : 인삼연구보고서(효능분야), pp. 234-239 (1990).