

## 추출 및 분획조건에 따른 인삼 조사포닌 중 ginsenoside 조성 차이

신지영 · 최연호 · 위재준\*

서울여자대학교 식품미생물 공학과, \*한국인삼연초연구원

## The Difference of Ginsenoside Compositions According to the Conditions of Extraction and Fractionation of Crude Ginseng Saponins

Ji-Young Shin, Eon-Ho Choi and Jae Joon Wee\*

Department of Food and Microbial Technology Graduate School, Seoul Women's University

\*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

This study was carried out to investigate the difference of ginsenoside compositions in crude ginseng saponins prepared by five different methods including three new methods. Two known methods are hot methanol(MeOH) extraction/*n*-butanol(*n*-BuOH) fractionation and hot MeOH extraction/Diaion HP-20 adsorption/MeOH elution. Three new methods are hot MeOH extraction/cation AG 50W adsorption/H<sub>2</sub>O elution/*n*-BuOH extraction, cool MeOH extraction/Diaion HP-20 adsorption/MeOH elution and direct extraction with ethyl acetate(EtOAc)/*n*-BuOH. Analysis of ginsenoside composition in the crude saponins by conventional HPLC/RI(Refractive Index) did not show great difference between methods except EtOAc/*n*-BuOH method. However, HPLC/ELSD (evaporative light scattering detector) employing gradient mobile phase afforded fine resolution of ginsenoside R<sub>f</sub>, R<sub>g</sub>, and R<sub>h</sub>, and great difference of ginsenoside compositions between methods. LC/MS revealed that large amount of prosapogenins were produced during the pass through the cation exchange (AG 50W) column being strongly acidic. Six major ginsenosides such as R<sub>b</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub>, R<sub>e</sub> and R<sub>g</sub>, 5 prosapogenins and one chikusetsusaponin were identified by LC/MS. A newly established HPLC method employing ODS column and gradient mobile phase of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>CN revealed that malonyl ginsenosides were detected only in the crude saponin obtained from cool MeOH extraction.

**Key words** : crude ginseng saponin, ginsenoside, prosapogenin, malonyl ginsenosides, LC/MS

### 서 론

인삼 사포닌은 일반적으로 인삼 분말의 70~80% 알콜 환류 추출물로부터 불포화 부탄올 가용성 성분을 분획함으로써 얻어지며, 이를 silica gel TLC plate에 점적하고 *n*-BuOH/EtOAc/H<sub>2</sub>O로 전개하면 10여종의 spot가 분리된다. 이들은 이동거리가 작은 순서대로 ginsenoside-Rx(x = o, a, b, c, d, e, f, g, h)로 명명되었는데<sup>(1,2)</sup>, 지금까지 총 36종의 ginsenoside가 분리되어 그 화학구조가 밝혀졌다<sup>(3-7)</sup>. 인삼 사포닌은 비당부의 구조에 따라 protopanaxadiol(PPD)계, protopanaxatriol(PPT)계 및 oleanane계 사포닌으로 분류되는데, 이 중 PPD와 PPT계는 인삼 특유의 사포닌이다<sup>(1,2,8)</sup>. PPD와 PPT는 dammarane계 triterpene으로서 PPD는 C-3, 12 위치에, PPT는 C-3,

6, 12 위치에 -OH기가 붙어 있다. 이러한 비당부에 glucose, xylose, arabinose, rhamnose 등 당이 결합하여 인삼 배당체, 즉 ginsenoside를 형성한다. 그런데 인삼 사포닌은 그 화학구조에 따라 열, 산 또는 알칼리에 불안정하여 추출조건에 따라 그 부분구조에 있어 변환이 일어난다. 수삼을 증숙, 건조하여 제조하는 홍삼에는 C-20 위치에서 epimerization된 20R form의 ginsenoside가 많이 생성되며 수삼이나 백삼 중에 함유되어 있는 malonyl ginsenoside는 추출과정에서 가열에 의해 malonyl기가 소실된다. 또한 C-20 위치의 당결합은 산에 약하여 인삼의 가열추출시 인삼 중에 존재하는 유기산류와 반응하여 가수분해되기 쉬우며 이렇게 생성된 ginsenoside를 prosapogenin이라 부른다.

신 등<sup>(9)</sup>은 인삼 사포닌의 화학적 변화를 막거나 사포닌의 순도를 높이기 위한 새로운 조사포닌 분리방법으로서 인삼 시료를 가열 또는 상온추출한 후 사포닌 성분을 분획하는 과정에서 용매분배 또는 컬럼(Diaion HP-20, cation exchange resin)을 사용하여 조사포닌을 분리하고 TLC 및 HPLC로 ginsenoside를 분석한 바 있다. 그러나, 상온추출함으로써 얻어지는 malonyl ginsenoside와 cation exchange resin을 사용

Corresponding author : Jae Joon Wee, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, 302 Shinsung-dong, Yousung-ku, Taejeon 305-345, Korea

Tel: 82-42-866-5332

Fax: 82-42-861-1949

E-mail: jjwee@gr.kgtri.re.kr

함으로써 생성되는 prosapogenin은 TLC상에서는 관찰되나 RI 검출기를 사용하는 기존의 HPLC 분석조건에서는 7종의 주종 사포닌(ginsenoside Rb<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, c, d, e, f, g<sub>1</sub>)을 제외하고는 전혀 분리가 되지 않음으로서 추출 및 분획방법에 따른 조사포닌 중 ginsenoside의 특성을 비교하기가 곤란하였다. 따라서 본 연구에서는 HPLC 컬럼은 NH<sub>2</sub>와 C<sub>18</sub>을, 이동상은 gradient로서 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/isopropyl alcohol(isoPrOH)과 CH<sub>3</sub>CN/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O를 병용하고, 검출기는 ELSD(evaporative light scattering detector)를 사용하여 분석한 결과, 추출 및 분획조건에 따라 각 인삼 조사포닌 중 ginsenoside의 조성이 현저한 차이가 있음을 보고하는 바이다.

**재료 및 방법**

**인삼 조사포닌**

본 실험에서 사용한 인삼 조사포닌은 신 등<sup>9)</sup>이 사용한 다섯가지 방법, 즉 고온 MeOH 추출/n-BuOH 분획법(BuOH법), 고온 MeOH 추출/Diaion HP-20 흡착/MeOH 용출법(HP-20법), 고온 MeOH 추출/cation AG 50W 흡착/H<sub>2</sub>O 용출/n-BuOH 추출법(AG 50W법), 상온 MeOH 추출/Diaion HP-20 흡착/MeOH 용출법(상온추출법) 및 EtOAc/n-BuOH 직접추출법으로 백삼으로부터 분리해 놓은 것을 사용하였다.

**시약**

HPLC 용매로서 CH<sub>3</sub>CN, isoPrOH, n-BuOH는 미국 Fisher Scientific사 제품을, H<sub>2</sub>O는 독일 Merck사 제품을 사용하였고 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>는 Fluka사 특급시약을 사용하였다. 인삼사포닌 성분의 표준 물질은 한국인삼연조연구원에서 분리한 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Re, Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>, Rh<sub>1</sub>, Rh<sub>2</sub> 등 11종을 분양받아 사용하였다.

**조사포닌 중 ginsenoside 분석**

**NH<sub>2</sub> column을 이용한 HPLC 분석:** 분리한 조사포닌 1 mg을 1 mL의 50% MeOH에 용해하고 0.45 μm nylon syringe filter(미국 Waters사)로 여과하여 NH<sub>2</sub> column(일본 YMC사, φ4.6×250 mm, 5 μm)에 주입하였다. HPLC 분석조건은 isocratic의 경우, 전개용매는 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/n-BuOH (8:2:1), 검출기는 RI(미국 Waters사, Model 410), flow rate는 1.6 mL이었다. Gradient의 경우, 전개용매로서 A: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/isoPrOH(16:1:3), B: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/isoPrOH(14:6:3)를 사용하였는데, B 용매의 농도는 초기 40%로부터 최종 70%까지 40분간 직선적으로 상승시켰다. 검출기는 ELSD(프랑스 SEDERE사, Model SEDEX 55), flow rate는 1.2 mL/min이었다.

**LC/MS에 의한 분석:** 각 조사포닌 50 mg을 MeOH 1 mL에 용해하여 10 μL씩 LC/MS(일본 JMS-LC Mate LC/MS system)에 주입하였다. 컬럼과 전개용매는 NH<sub>2</sub> column을 이용한 HPLC 분석조건에서 사용한 gradient 조건과 동일하며 ionization mode는 negative FAB(fast atom bombardment), FAB energy는 4 kV, emission current는 10-20 mA, neutral gas는 Xe, matrix는 glycerol을 사용하였다.

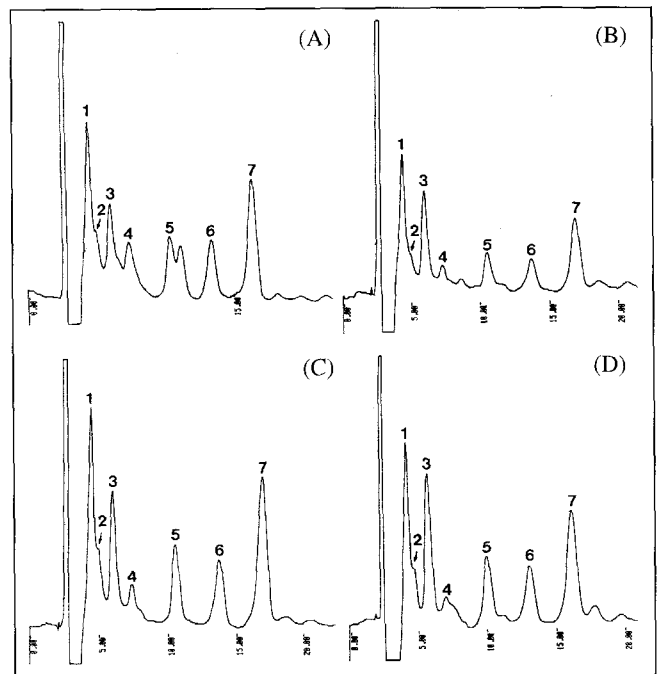
**C<sub>18</sub> column을 이용한 HPLC 분석:** 각 조사포닌 1 mg을 1

mL의 50% MeOH에 용해하고 0.45 μm nylon syringe filter로 여과한 후 C<sub>18</sub> column(일본 YMC사, φ4.6×250 mm, 5 μm)에 주입하고 gradient 용출조건으로 분석하였다. 즉 전개용매 A: 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, B: 60% CH<sub>3</sub>CN/30 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 사용하였는데, B 용매의 농도는 초기 40%에서부터 최종 80%까지 80분간 직선적으로 상승시켰다. 검출기는 UV 203 nm에서 사용하였다.

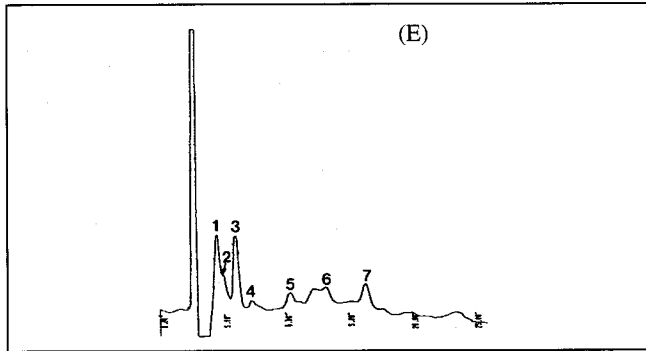
**결과 및 고찰**

**HPLC/RI에 의한 각 조사포닌 중 ginsenoside의 분리패턴**

인삼 사포닌의 일반적인 HPLC 분석방법<sup>10)</sup>을 사용하여 신 등<sup>9)</sup>이 사용한 다섯가지 방법으로 분리한 조사포닌의 ginsenoside 분리패턴을 비교한 결과는 Fig. 1a와 1b와 같이 나타났다. 각 방법 모두 주종인 7종의 사포닌을 보였으며 BuOH법 조사포닌에서는 당으로 추정되는 peak도 분리되었는데, 이는 김<sup>11)</sup>의 결과와 일치한다. AG 50W법 조사포닌의 경우 t<sub>R</sub> 5분 이전 피크들은 ginsenoside Rf 및 Rg<sub>1</sub>을 비롯한 prosapogenin들에 의한 것들로서 신 등<sup>9)</sup>의 TLC결과와 달리 다른 조사포닌과 뚜렷한 특징은 보이지 않았다. 상온 추출법 조사포닌의 경우도 BuOH법 조사포닌과 별다른 특징을 나타내지 않고 있었으며 별도로 분리되는 malonyl ginsenoside 피크는 볼 수 없었다. EtOAc/n-BuOH 직접추출에 의한 조사포닌의 경우는 ginsenoside Rg<sub>1</sub>과 Re가 상대적으로 높게 나타났다(Fig. 1b).



**Fig. 1a. HPLC/RI profiles of crude saponins separated from ginseng through hot MeOH extraction/n-butanol fractionation (A), hot MeOH extraction/Diaion HP-20 adsorption/MeOH elution (B), hot MeOH extraction/ cation AG 50W adsorption/H<sub>2</sub>O elution/n-BuOH extraction (C) and cool MeOH extraction/Diaion HP-20 adsorption/MeOH elution (D)**  
1: G-Rg<sub>1</sub>, 2: G-Rf, 3: G-Re, 4: G-Rd, 5: G-Rc, 6: G-Rb<sub>2</sub>, 7: G-Rb<sub>1</sub>



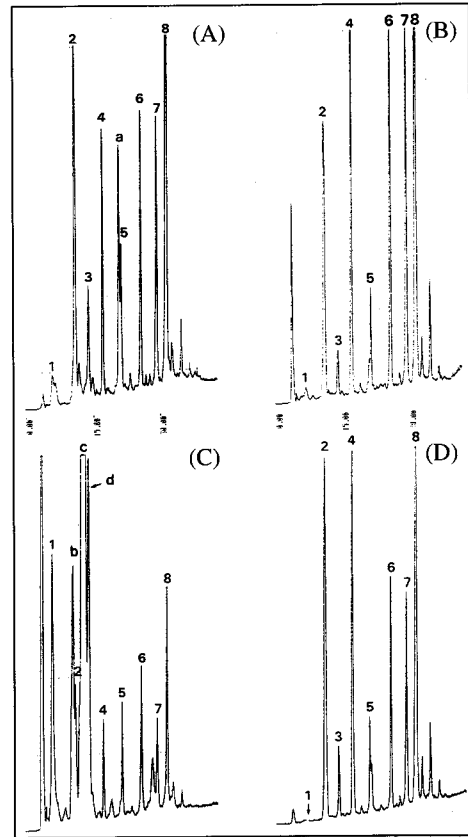
**Fig. 1b. HPLC/RI profile of crude saponin from ginseng by direct extraction with EtOAc/n-BuOH (E)**  
1~7: Refer to footnote of Fig. 1a.

**HPLC/ELSD에 의한 각 조사포닌 중 ginsenoside의 분리패턴**

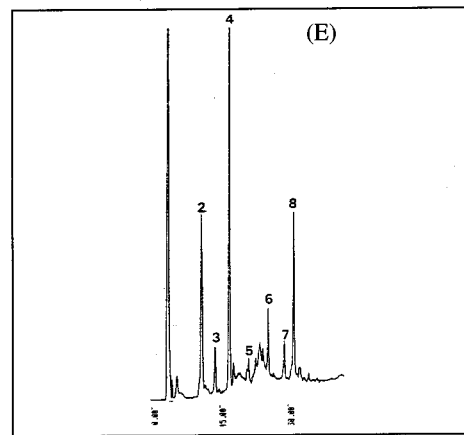
위에서와 같이 일반적인 HPLC 분석방법은 ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>1</sub> 및 Rf 등 저극성 ginsenoside의 분리능이 현저히 낮아 5 가지 방법간 큰 차이를 보기 어려웠다. 그 이유는 물리화학적 성질이 다양한 각종 ginsenoside를 isocratic 조건으로 동시에 분리하기 어렵기 때문이다. 따라서 박 등<sup>(12)</sup>이 사용한 방법에 준하여 이동상을 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/isoPrOH의 혼합비율을 변화시킨 gradient로 하고 검출기를 ELSD를 사용하여 HPLC 분석한 결과, Fig. 2a와 2b와 같은 결과를 얻었다. 그림에서 BuOH법 조사포닌 등을 비롯한 대부분의 조사포닌으로부터 ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>1</sub> 및 Rf 등 저극성 ginsenoside가 완전하게 분리되는 것을 알 수 있다. 상온 추출법 조사포닌의 경우 malonyl ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc 및 Rd 등이 상당량 함유되어 있으나 HPLC 분리패턴이 BuOH법 조사포닌과 유사한 것으로 보아 gradient를 사용한 본 분석조건에서도 대응하는 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc 및 Rd 등과 분리되지 않았음을 알 수 있었다. 따라서 NH<sub>2</sub> column으로는 이동상을 isocratic에서 gradient로 바꾸더라도 화학구조가 단지 malonyl group의 유무로서만 구별되는 사포닌의 상호분리가 어렵다고 판단되어 이들의 분리를 위해서는 NH<sub>2</sub> 대신에 C<sub>18</sub> column을, 이동상도 gradient를 하되 염을 사용하였다. AG 50W법 조사포닌의 경우 ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> 및 Rg<sub>3</sub> 위치에서 현저히 증가된 피크를 볼 수 있는데 이들은 표준품과 비교시 prosapogenin임을 알 수 있었다. 반면에 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd 및 Re 등의 피크의 크기가 상대적으로 현저히 감소하는 것을 볼 수 있었다. EtOAc/n-BuOH 직접 추출 사포닌의 경우 앞의 결과와 같이 ginsenoside Rg<sub>1</sub>과 Re가 상대적으로 높게 함유되어 있음을 뚜렷하게 알 수 있었다 (Fig. 2b).

**LC/MS에 의한 ginsenoside 및 prosapogenin의 확인**

AG 50W법 조사포닌 중에 함유되어 있는 prosapogenin을 확인하기 위하여 LC/MS(FAB negative)로 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3A는 total ion chromatogram(TIC)이고 Fig. 3B는 질량분석기 도입 직전에 연결된 UV 검출기로 동시에 기록된 chromatogram이다. HPLC column을 통과한 시료의 1/20이 질량분석기로 주입되므로 TIC에 나타난 바와 같이 피크의 크기가 작은 반면 이에 상응하는 UV chromatogram은



**Fig. 2a. HPLC/ELSD profiles of crude saponins separated from ginseng through hot MeOH extraction/n-butanol fractionation (A), hot MeOH extraction/Diaion HP-20 adsorption /MeOH elution (B), hot MeOH extraction/cation AG 50W adsorption/H<sub>2</sub>O elution/n-BuOH extraction (C) and cool MeOH extraction/Diaion HP-20 adsorption/MeOH elution (D)**  
1: G-Rh<sub>1</sub>, 2: G-Rg<sub>1</sub>, 3: G-Rf, 4: G-Re, 5: G-Rd, 6: G-Rc, 7: G-Rb<sub>2</sub>, 8: G-Rb<sub>1</sub>, a: sucrose, b: prosapogenin Rg<sub>2</sub>, c: Δ<sup>20</sup>-prosapogenin, d: prosapogenin Rg<sub>3</sub>



**Fig. 2b. HPLC/ELSD profile of crude saponin from ginseng by direct extraction with EtOAc/n-BuOH (E)**  
2~8: Refer to footnote of Fig. 2a.

앞에서 HPLC/ELSD에서 얻어진 chromatogram과 유사함을 알 수 있다. t<sub>r</sub> 5.46, 11.11, 14.37, 16.47 및 18.07 min에서 크게 나타난 피크들은 각각 m/z 637, 783, 781, 783 및 799

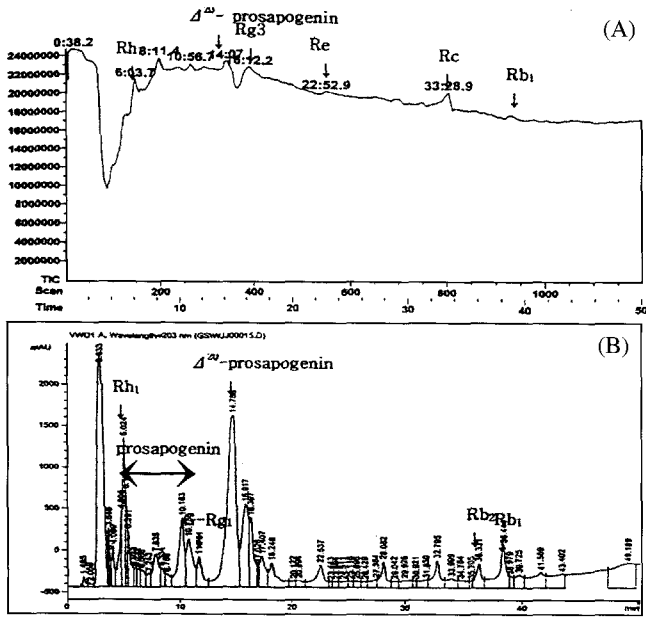


Fig. 3. LC/MS profile of crude ginseng saponin separated by hot MeOH extraction/cation AG 50W/H<sub>2</sub>O elution/n-BuOH extraction A: A total ion chromatogram (FAB negative) B: A HPLC/UV<sub>203</sub> chromatogram obtained simultaneously with the above total ion chromatogram

를 분자량-1(M-1)로 나타냄으로서 각각 prosapogenin Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Δ<sup>20</sup>, Rg<sub>3</sub> 및 Rf임을 알 수 있었다. AG 50W법에 의해 조사포닌을 분리하는 과정에서 이와 같이 prosapogenin이 생성됨에 따라 상대적으로 감소된 피크들은 각각 ginsenoside Rg<sub>1</sub>(m/z 799), Re(m/z 945), Rd(m/z 945), Rc(m/z 1077), Rb<sub>2</sub>(m/z 1077) 및 Rb<sub>1</sub>(m/z 1107)으로 각각 동정할 수 있었다. 그 밖에 chikusetsusaponin LT<sub>8</sub>과 ginsenoside F<sub>3</sub>를 동정하였다. Hattori 등<sup>(13)</sup>은 Rb<sub>1</sub>, Rc, Rd, Re 및 Rg<sub>1</sub>을 LC/MS로 동정하였으나 본 실험에서는 Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub> 및 Rh<sub>1</sub> 등을 추가로 동정하였다. 이상의 결과를 요약하면 Table 1과 같이 7종

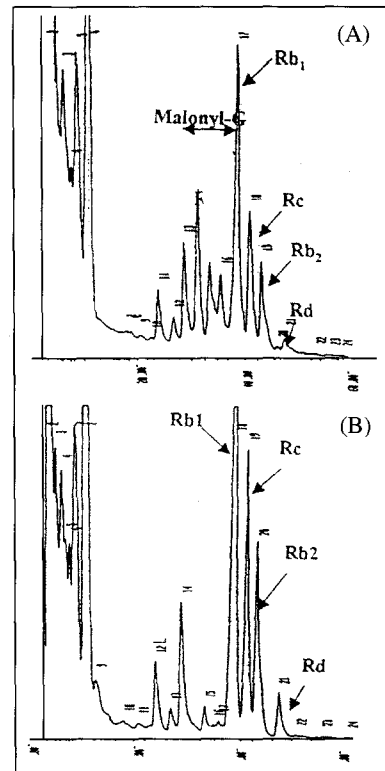


Fig. 4. HPLC/UV profiles of malonyl ginsenosides in crude saponin separated from ginseng through cool MeOH extraction/Diaion HP-20 adsorption/MeOH elution before (A) and after (B) treatment of potassium hydroxide solution

의 ginsenoside와 5종의 prosapogenin, 그리고 1종의 chikusetsusaponin을 동정할 수 있었다. 이 중 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rh<sub>1</sub> 등 10종은 표준품과 비교하여 동정하였고 그외의 사포닌의 동정은 문헌<sup>(14)</sup>에 보고된 분자량을 참조하였다. Chikusetsusaponin LT<sub>8</sub>은 일본의 죽절인삼 잎에서 분리된 사포닌으로서 이번에 한국인삼 뿌리의 조사포닌으로부터 LC/MS로 처음으로 동정하였으나 순수분리를 통한 확인이 요망된다.

Table 1. LC/MS data of ginsenosides in crude saponin fraction separated from ginseng through hot MeOH extraction/cation AG 50W adsorption /H<sub>2</sub>O elution/n-BuOH extraction

t <sub>R</sub> (min)	Characteristic ion	Identity
5.46	637(M-1), 528, 475, 389	G <sup>1)</sup> -Rh <sub>1</sub> (prosapogenin)
11.06	781(M-1), 705, 641, 531, 423	C <sup>2)</sup> -LT <sub>8</sub>
11.11	783(M-1), 615, 531, 475, 329, 243	G-Rg <sub>2</sub> (prosapogenin)
11.41	769(M-1), 690, 582, 531	G-F <sub>3</sub>
12.44	799(M-1), 707, 637, 527, 363	G-Rg <sub>1</sub>
14.37	781(M-1), 598, 555, 472	Δ <sup>20</sup> -prosapogenin
16.47	783(M-1), 670, 551, 471, 405	G-Rg <sub>3</sub> (prosapogenin)
18.07	799(M-1), 679, 546, 419, 359	G-Rf(prosapogenin)
23.04	945(M-1), 784, 667, 573, 481, 432	G-Re
28.18	945(M-1), 843, 785, 694, 601, 473, 405	G-Rd
33.51	1077(M-1), 929, 841, 717, 563, 502, 367	G-Rc
36.49	1077(M-1), 917, 808, 754, 575, 487, 345	G-Rb <sub>2</sub>
38.54	1107(M-1), 945, 823, 766, 633, 542, 425	G-Rb <sub>1</sub>

<sup>1)</sup>G: ginsenoside

<sup>2)</sup>C: chikusetsusaponin

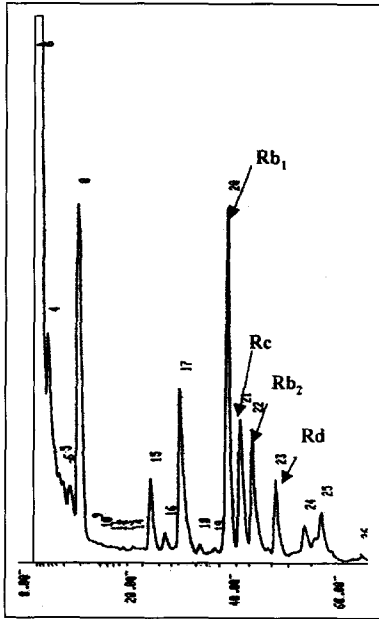


Fig. 5. HPLC/UV profile of crude ginseng saponin separated by hot MeOH/*n*-BuOH extraction lacking malonyl ginsenosides

#### HPLC/UV에 의한 상온추출 조사포닌 중 malonyl ginsenoside의 확인

Malonyl ginsenoside류는 protopanaxadiol계 인삼 사포닌인 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc 및 Rd의 C-3 위치에 있는 말단 glucose의 6번 -OH기에 malonic acid의 carboxyl group이 ester 결합을 한 화학구조를 가진 산성 사포닌의 일종으로서 백삼에는 0.12~0.82%로 비교적 높은 함량을 보이고 있다<sup>6)</sup>. 이들은 다른 ginsenoside류 보다 수용성이 높고 malonyl기는 불안정하여 열이나 알칼리에 의해 쉽게 떨어져서 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc 및 Rd로 전환된다. 따라서 malonyl ginsenoside 분석을 위해서는 인삼분말을 상온에서 70% MeOH로 추출하였다. Malonyl ginsenoside류는 일반적인 HPLC 분석조건<sup>10)</sup>에서는 분리가 어렵다. Yamaguchi 등<sup>15)</sup>은 ODS HPLC column의 온도를 40°C로 하고, 이동상은 isocratic으로서 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/30% CH<sub>3</sub>CN을 사용하여 malonyl ginsenoside를 분리하였으나 분리능이 떨어지는 것을 볼 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 성질이 유사한 C<sub>18</sub> column을 사용하되 isocratic 대신 gradient로 분석한 결과, 실온에서도 Fig. 4A와 같이 분리능이 매우 좋은 것을 알 수 있었다. 또한 상온 추출법 조사포닌을 알칼리 처리한 다음 HPLC하여 처리 전과 비교한 결과 상온추출 사포닌에서는 malonyl ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc로 추정되는 피크를 볼 수 있으나 알칼리 처리시 이들이 없어지고, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> 및 Rc가 상대적으로 증가하는 것으로 보아 malonyl ginsenoside의 존재를 알 수 있었다 (Fig. 4B).

Malonyl ginsenoside는 가열처리시 소실되는 것으로 알려져 있는데, 이를 확인하기 위하여 BuOH법 조사포닌과 상온 추출법 조사포닌을 위의 HPLC조건으로 비교한 결과 후자의 조사포닌 중에 존재하는 malonyl ginsenoside가 BuOH법 조사포닌 중에는 없음을 볼 수 있는데, 이는 70% MeOH 환류 추출 과정에서 열에 약한 malonyl기가 떨어졌음을 나타낸다

(Fig. 5). Malonyl ginsenoside는 인삼 중에 0.1~0.8%로 상당량 함유되어 있는 것으로 알려져 있음에도 불구하고 Yamaguchi 등<sup>15)</sup>의 방법 외에는 그 동안 적절한 분석방법이 없었으나 본 연구를 통하여 새로이 정립하였다.

## 요 약

인삼 조사포닌을 기존의 고온 MeOH 추출/*n*-BuOH 분획법 및 고온 MeOH 추출/Diaion HP-20 흡착/MeOH 용출법과 새로이 시도된 고온 MeOH 추출/cation AG 50W흡착/H<sub>2</sub>O 용출/*n*-BuOH 추출법(AG 50W법), 상온 MeOH 추출/Diaion HP-20 흡착/MeOH 용출법(상온추출법)과 EtOAc/*n*-BuOH 직접 추출법으로 분리한 다음 기존의 HPLC/RI 방법으로 ginsenoside조성을 비교한 결과 EtOAc/*n*-BuOH 직접 추출법을 제외하고는 큰 차이가 없었으나 분리능과 감도가 우수한 HPLC/ELSD방법을 사용한 결과, ginsenoside Rb<sub>2</sub>, Rf, Rg<sub>1</sub> 및 Rh<sub>1</sub> 등을 뚜렷이 식별할 수 있었고 추출 및 분획방법에 따라 조사포닌간 ginsenoside의 현저한 조성차이를 볼 수 있었다. 특히 AG 50W법에 의해 분리된 조사포닌에서 뚜렷한 prosapogenin 피크를 볼 수 있었으며 LC/MS의 결과, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> 등의 7종의 주종 사포닌 이외에도 5종의 prosapogenin과 1종의 chikusetsusaponin을 포함한 총 13종의 ginsenoside를 동정하였다. 새로이 정립한 HPLC 분석조건, 즉 NH<sub>2</sub> 대신에 C<sub>18</sub> column을 사용하고 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>CN gradient로 상온추출법으로 분리한 조사포닌을 분석한 결과, malonyl ginsenoside 피크를 용이하게 확인할 수 있었다.

## 문 헌

- Shibata, S., Tanaka, O., Soma, K., Iita, Y., Ando, T. and Nakamura, H. Studies on saponins and sapogenins of ginseng. The structure of panaxatriol. *Tetrahedron Lett.* 3: 207-213 (1965)
- Tanaka, O., Nagai, M., Ohsawa, T., Tanaka, N. and Shibata, S. Stereochemistry of protopanaxadiol. *Tetrahedron Lett.* 5: 391-396 (1967)
- Baek, N.I., Kim, D.S., Lee, Y.H., Park, J.D. and Kim, S.I. Ginsenoside Rh<sub>4</sub>, a genuine dammarane glycoside from Korean red ginseng. *Planta Medica* 62: 86-87 (1996)
- Ryu, J.H., Park, J.H., Kim, T.H., Sohn, D.H., Kim, J.M. and Park, J.H. A genuine dammarane glycoside, (20E)-Ginsenoside F<sub>4</sub> from Korean red ginseng. *Arch. Pharm. Res.* 19: 335-336 (1996)
- Shoji, J. Recent advances in the chemical studies on ginseng. pp. 455-469. In: *Advances in Chinese Medicinal Materials Research*. Chang, H.W., Yeung, H.W., Tso, W.W. and Koo, A. (eds.). World Scientific Publishing Co., Singapore (1985)
- Kitagawa, I., Taniyama, T., Hayashi, T. and Yoshikawa, M. Malonyl ginsenoside-Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, four new malonylated dammarane-type triterpene ginsenosides from Ginseng radix. *Chem. Pharm. Bull.* 31: 3353-3356 (1983)
- Kim, S.I., Park, J.H., Ryu, J.H., Park, J.D., Lee, Y.H., Park, J.H., Kim, T.H., Kim, J.M. and Baek, N.I. Ginsenoside Rg<sub>5</sub>, A genuine dammarane glycoside from Korean red ginseng. *Arch. Pharm. Res.* 19: 551-553 (1996)
- Shibata, S., Tanaka, O., Ando, T., Sado, M., Tsushima, S. and Ohsawa, T. Protopanaxadiol, a genuine sapogenin of ginseng saponins. *Chem. Pharm. Bull.* 14(60): 595-600 (1966)
- Shin, J.Y., Choi, E.H. and Wee, J.J. New methods for separation of crude ginseng saponins. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33(2), in press (2001)

10. Kim, M.W., Lee, J.S. and Choi, K.J. Comparative studies on the chemical components in ginseng I. The ginsenosides and the free sugars content of various ginseng plants. *Kor. J. Ginseng Sci.* 6(2): 138-142 (1982)
11. Kim, S.W. Improvement of crude ginseng saponin preparation method and biological activities of each ginsenoside. Ph. D Thesis, Hanyang Univ., Seoul, Korea (1997)
12. Park, M.K., Park, J.H., Han, S.B., Shin, Y.G. and Park, I.H. High-performance liquid chromatographic analysis of ginseng saponins using evaporative light scattering detection. *J. Chromatog. A.* 736: 77-81 (1996)
13. Hattori, M., Kawata, Y., Kakiuchi, N., Matsuura, K. and Namba, T. Application of liquid chromatography-mass spectrometry to the qualitative analysis of saponins(I). *Shoyakugaku Zasshi.* 42(3): 228-235 (1988)
14. 森田俊信 : アジア産 *Panax* (ニンジン) 屬 植物の 化學的 研究, 廣島大學校 博士學位論文 (1986)
15. Yamaguchi, H., Matsuura, H., Kasai, R., Tanaka, O., Satake, M., Kohda, H., Izumi, H., Nuno, M., Katsuki, S., Isoda, S., Shoji, J. and Goto, K. Analysis of saponins of wild *Panax ginseng*. *Chem. Pharm. Bull.* 36(10): 4177-4181 (1988)

---

(2000년 12월 30일 접수)