

인삼 탕액 제조시 구연산과 오미자에 의한 진세노사이드 조성 변화

이상명*

한국인삼공사 중앙연구원

The Change of Ginsenosides Composition from Decocted Ginseng with Citric Acid and Schisandrae Fructus

Sang Myung Lee*

Korea Ginseng Corp. Central Research Institute, Daejeon 305-805, Korea

Abstract – In order to observe the change of ginsenosides, two simplified decoctive conditions are set up aqueous citric acids (0, 12.5, 25, 50, 75, and 100 mM) with ginseng powder (3 g) and Schisandrae Fructus (0, 1, 2, 3 g) with ginseng powder (3 g). Decoctive temperature and duration are 95°C and 1.5 h. The contents of major ginsenosides are decreased by increasing concentration of citric acid. But the contents of converted ginsenosides have not been a noticeable increase. In the decoctive condition with Schisandrae Fructus, the contents of major protopanaxdiol ginsenosides seriously decreases that compared with major protopanaxtriol ginsenosides. Therefore, Schisandrae Fructus provides the condition that predominantly converts protopanaxdiol ginsenosides in ginseng decoction.

Key words – Decoction, Ginseng, Citric acid, Schisandrae Fructus

우리나라에서 가장 보편적으로 사용되어 온 한방처방집인 방약합편(方藥合編) 수제생약 293종 중 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 한약처방 빈도가 감초, 당귀, 복령, 진피에 이어 다섯 번째로 높은 생약재이다.¹⁾ 또한 명대의 대표적인 의서인 경약전서(景岳全書)에 수록 되어있는 처방 2218개 중, 인삼배합처방은 약 1/4인 509개에 달한다.²⁾ 특히, 중국의 약리학서인 신농본초경(神農本草經)에는 수명을 연장 시키며(主養性) 독이 없으며(有毒無) 오래 복용하여도 인체에 해가 없는(多服不傷人) 상품약(上品藥)의 첫 번째로 되어있다.²⁾ 따라서 인삼은 자체로서 보허제(補虛濟)로 사용되며 다양한 약제와 함께 처방되어 수많은 병증의 치료제로서 고대로부터 현재까지 사용되고 있는 가장 중요한 생약재중의 하나이다.

인삼은 대부분 처방되어진 생약재와 함께 탕액(湯液, decoction)의 형태로 복용되어 진다. 탕액은 다양한 생약재를 물에 넣고 적당한 시간 가온한 후 걸러서 추출액을 복용하는 한약의 조제형태이다. 각 한의서에는 처방별로 탕액을 조제하는 방법이 자세하게 기술되어져 있다. 이러한 전통적인 탕액 조제법은 생약재를 각각 또는 부분별로 추출하고

그 추출액을 정해진 비율로 섞어서 제조하는 현대적 한약 조제법과는 화학적 구성물질이나 그에 따른 효능적 측면에서 상당한 차이가 있을 것으로 추측한다. 최 등³⁾에 의하면 전통한의서에 의한 탕액 조제시 다양한 화학반응이 수반되어 각 생약재가 함유하고 있는 유효성분의 함량이 감소하거나 부분적인 화학관능기의 변화 또는 전혀 새로운 유효성분이 생성된다는 사실이 임상학적 측면에서 고려되어진다고 하였다. 인삼과 함께 복합 처방된 생약재는 다양한 천연화합물 성분을 함유하고 있으며 이러한 사실은 탕액 조제시 다양한 화학반응의 조건을 제공할 것이다. 화학반응 조건은 크게 염기성과 산성조건으로 나눌 수 있으며 유기화합물질의 반응은 대부분 산-염기 반응으로서 이루어진다고 해도 과언이 아니다. 그러므로 유기화학반응에서 가장 중요한 인자 중 하나는 반응액의 산성도(pH)이며 탕액 조제시 첨가되는 생약의 종류에 따라 변화된 탕액내의 산성도는 주약(主藥)의 유효성분변화의 한 요인이 될 것으로 판단된다. 특히 열매류 생약은 구연산 등의 유기산이 다량 함유되어 있기 때문에 탕액의 산성도에 지대한 영향을 줄 것이다. 본 연구에서 다루어지는 인삼의 주요성분인 인삼사포닌은 담마란계 테르페노이드 골격에 여러 종의 당이 치환되어있는 진세노사이드이다. 이 인삼 사포닌들은 일반적으로 산성조건

*교신저자(E-mail): pumoripu@gmail.com
(Tel): +82-42-870-3086

에서 다양한 전환사포닌으로 바뀌게 되며 새롭게 생성된 전환사포닌들은 원래 사포닌과는 다른 효능과 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서 인삼 사포닌의 변화는 인삼의 약리학적 판단의 지표가 된다.

본 연구에서는 구연산과 오미자를 사용하여 탱액의 산성도와 그의 조제 온도와 시간을 고려한 단순화된 반응계를 설정하고 그 속에서 인삼의 유효성분인 진세노사이드들이 어떻게 변화하는지를 관찰하고 그 결과의 한약학적 의미를 고찰하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용된 인삼은 2013년 10월 강원도 홍천에서 수확된 6년근 인삼을 구입하여 음건하여 사용하였으며 오미자는 국내산으로 2013년 12월 서울시 경동시장에서 구입하여 사용하였다. 표본시료는 한국인삼공사 중앙연구원에 보관 중이다.

시약 및 기기 - 실험에 사용한 정량분석용 크로마토그래피 기기는 Alliance HPLC system, 2695 Separation Module(Waters, Millford, MA, USA), 996 PDA Detector(Waters) 그리고 Waters ACQUITY UPLC system(Waters)을 사용하였으며 크로마토그래피용 칼럼은 Discovery C₁₈(25 cm×4.6 mm, 5 μm, Supelco), ACQUITY BEH C18 column(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm; Waters)을 사용하였다. 이동상으로 사용된 유기용매는 아세토니트릴은 J.T. Baker(Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하여 사용하였으며 물은 Mili-Q system(Millipore, Bedford, MA, USA)으로 증류한 18 MΩ 이상의 탈이온수를 사용하였다. 정량분석에 사용된 진세노사이드 표준물질은 본 실험실에서 순수하게 분리하여 사용하였다. 순도(%)는 HPLC/ELSD로부터 나온 크로마토그램을 normalization %로 각 지표물질의 함량을 구하고 칼펫사법에 의한 수분량을 합산하여 정하였다.

인삼의 탱액조건 설정 - 탱액 제조시 산성도(pH)에 따른 인삼의 진세노사이드변화를 검사하기 위하여 100, 75, 50, 25, 12.5, 0 mM의 구연산수를 제조(pH 3~4)하였다. 구연산수에 사용한 물은 3차 증류수로서 pH 6.5이다. 이렇게 제조된 구연산수 20 mL는 밀봉할 수 있는 유리용기(Glass Bottles W216879, Wheaton, Milville, NJ, USA)에 조말한 인삼 3 g과 함께 넣고 밀봉한 후 30분간 냉침한 후 1.5 시간 동안 95°C로 가열하였다. 인삼과 함께 사용 되어졌을 때 진세노사이드에 변화를 줄 것으로 예상되는 열매 생약제는 생맥산(生脈散)에 인삼과 함께 동량 처방되는 오미자를 사용하였다. 인삼/오미자의 양의 비율은 각 3 g/3 g, 3 g/2 g, 3 g/1 g로 하였으며 대조군으로서 0 g/3 g을 조제하였다. 그 후 위와 동일한 방법으로 추출 하였다. 추출이 끝난 실험액을 원심분리용 용기에 적당량을 붓고 4000 rpm으로 원심분리한

후 상징액을 막여과기(0.2 μm GHO Acrodisk, Waters)로 여과하여 분석용 시료로 사용하였다.

진세노사이드 정량분석 - 주종 사포닌(ginsenoside Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rb₂, Rc) 및 전환 사포닌(ginsenoside Rh₁, Rg₂, Rg₃)의 정량은 Liu 등⁴과 강 등⁵의 방법을 응용하여 Waters HPLC system(Alliance HPLC system with 2695 Separation Module, 996 PDA Detector)으로 수행하였다. 사용 되어진 분석용 column은 ODS(Discovery C18, 25 cm × 4.6 mm, 5 μm, SUPELCO)를 사용하였으며 칼럼온도는 40°C로 유지하였다. 이동상은 다음의 두 가지 용매계로서 농도기울기법을 사용하였다. 이동상 A: 물, 이동상 B: acetonitrile, 이동상의 농도기울기: 20-32% B(0-40 min), 32-50% B(40-55 min), 50-65% B(55-70 min). 이동상의 유속은 전 시간에 걸쳐서 1.6 mL/min의 속도로 하였으며 시료 주입량은 20 μL로 하였다. 각 진세노사이드는 203 nm에서 검출하였다.

탈수 진세노사이드 정량분석 - 진세노사이드들 중 dammaran 골격의 20번 위치에 탈수반응이 진행된 전환 사포닌(ginsenoside F₄, Rh₄, Rg₆, Rk₃, Rg₅, Rk₁)의 함량은 박⁶ 등의 방법을 사용하여 Waters ACQUITY UPLC system(Waters)으로 수행하였다. 정량분석에 사용한 칼럼은 ACQUITY BEH C18 column(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm; Waters)이며 온도는 40°C로 유지하였으며 이동상은 다음의 두 가지 용매계로서 농도기울기법을 사용하였다. 이동상 A: 물(0.001% phosphoric acid), 이동상 B: acetonitrile(0.001% phosphoric acid), 이동상의 농도기울기: 0-0.5 min(15% B), 14.5 min(30% B), 15.5 min(32% B), 18.5 min(38% B), 24.0 min(43% B), 27.0 min(55% B), 27.0-31.0 min(55% B), 35.0 min(70% B), 38.0 min(90% B), 38.1 min(15% B), and 38.1-43.0 min(15% B). 이동상의 유속은 전 시간에 걸쳐서 0.6 mL/min의 속도로 하였으며 시료 주입량은 2.0 μL로 하였다. 각 진세노사이드는 203 nm에서 검출되어졌다.

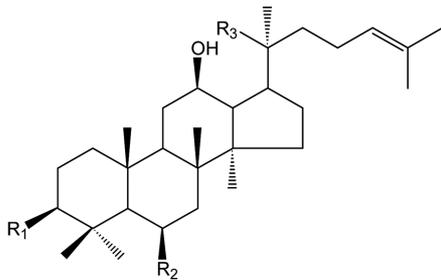
결과 및 고찰

구연산수의 농도에 따른 진세노사이드의 변화 - 구연산수의 농도는 진세노사이드의 함량변화를 적절하게 관찰할 수 있는 농도로 제조하였다. 구연산수의 농도가 150 mM 이상일 경우 대부분의 진세노사이드는 주어진 조건에서 정량 또는 검출한계 이하의 농도 값을 나타내었기 때문에 반복된 실험에 의하여 구연산수의 농도 값을 0, 12.5, 25, 50, 75, 100 mM로 정하였다. 이때 구연산수의 산성도는 pH 3~4이었다. Table 1, 및 Fig. 2(A)에 의하면 protopanaxtriol(PPT)과 protopanaxdiol(PPD)계의 주종(major)진세노사이드는 구연산의 농도가 증가 하는 것과 비례하여 그의 농도가 감소 하는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 각 주종 진세노사이드에

Table I. Ginsenoside contents in decocted ginseng with aqueous citric acid and Schisandrae Fructus

Comp.	Major ginsenosides (µg/mL)							Converted ginsenosides (µg/mL)			
	PPT			PPD				PPT		PPD	
Conc.	Rg ₁	Re	Rf	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	Rg ₂	Rh ₁	Rg ₃ (S)	Rg ₃ (R)
0 ¹⁾	230.5	177.4	45.9	213.1	57.5	52.8	21.1	4.4	8.3	ND	ND
12	218.8	157.5	48.0	148.9	41.9	38.4	17.5	11.1	9.8	ND	ND
25	179.7	114.6	44.3	109.7	31.5	27.9	7.9	11.0	11.7	ND	ND
50	127.3	86.0	40.9	83.0	21.6	21.3	7.0	17.9	12.5	1.0	1.7
75	88.2	61.2	40.9	67.1	21.0	18.9	7.2	26.1	18.2	4.6	2.2
100	65.1	43.5	43.5	44.9	14.4	11.7	3.7	15.1	25.3	5.7	5.7
1 ²⁾	176.9	119.4	33.2	90.1	21	17.7	3.4	8.9	10.0	ND	ND
2	133.2	94.7	25.9	51.3	11	9.8	ND	10.0	11.2	ND	ND
3	104.4	75.5	13.5	11.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

¹⁾Concentration of citric acid (mM), ²⁾Mass of Schisandrae Fructus (g), PPT: Protopanaxtriol, PPD: Protopanaxdiol, ND: below the limit of quantitation. All results are derived by the single experiment.



PPT	R ₁	R ₂	R ₃	PPD	R ₁	R ₂	R ₃
Rg ₁	: OH	O-glc	O-glc	Rb ₁	: O-glc-glc	H	O-glc-glc
Re	: OH	O-glc-rha	O-glc	Rc	: O-glc-glc	H	O-glc-araf
Rf	: OH	O-glc-glc	OH	Rb ₂	: O-glc-glc	H	O-glc-arap
Rg ₂	: OH	O-glc-rha	OH	Rd	: O-glc-glc	H	O-glc
Rh ₁	: OH	O-glc	OH	Rg ₃	: O-glc-glc	H	OH

Fig. 1. Chemical structure of standard ginsenosides. PPT: protopanaxtriol, and PPD: protopanaxdiol.

대응하는 전환(converted) 진세노사이드의 생성정도는 주종 진세노사이드의 감소에 비례하여 증가하는 현상이 관찰되었지만 반응계 내에서의 각 진세노사이드의 물질평형(material balance)은 전혀 이루어지지 않았다. 즉 진세노사이드 Rg₁의 당제거반응에 의하여 생성되는 Rh₁은⁷⁾ 크게 줄어드는 Rg₁의 수준과는 달리 상당히 낮은 수준의 생성량만이 관찰되었으며 또한 Re의 대응 전환 진세노사이드인 Rg₂⁶⁾ 및 Rb₁, Rc, Rb₂, Rd의 대응 전환진세노사이드인 Rg₃⁸⁾의 함량도 주종 진세노사이드의 감소량에 크게 미치지 못하였다. 또한 전환 진세노사이드의 탈수화물인^{9,10)} F₄, Rg₆, Rh₄, Rk₃, Rg₅, Rk₁의 함량을 박⁶⁾등에 의한 UPLC/PDA법으로 검사하였으나 불행하게도 그들 탈수화물들은 본 실험에서는 대부분 정량한계 이하의 양으로 검출되었으며 주종진세노사이드의 일부는 주어진 분리조건에서 말로닐 진세노사이드와 겹쳐지

는 현상이 발생하여 의미 있는 자료로 사용되지 못하였기에 본 지에는 그에 대한 실험 결과는 제시하지 않았다. 전환 진세노사이드들은 홍삼특이성분으로서 주종 진세노사이드의 산/가열 조건에서 생성되는 것으로 알려져 있다. 그러나 본 실험의 결과에 의하면 주종 진세노사이드는 반응계의 구연산 농도가 증가함에 따라 그의 함량이 감소하여 다른 화합물로 변환되지만 홍삼특이 진세노사이드의 일부만이 관찰 될 뿐 대부분의 전환 진세노사이드는 관찰되지 않았다(Fig. 3). 이러한 결과는 수삼(水蓼)을 증숙/건조한 홍삼(紅蓼)에서만 발견되어지는 전환 진세노사이드는 단지 인삼을 추출하여 생성시키기는 어렵다는 사실을 증명하며 이는 인삼이 처방된 한약재에 인삼대신 홍삼을 처방할 경우 그의 화학적 동등성이 입증되지 않음을 알 수 있다.

오미자에 의한 진세노사이드의 변화 - 생맥산에 인삼과 함께 동량 처방되는 오미자에 의한 인삼의 진세노사이드 변화 추이를 관찰하기 위하여 인삼 3 g 각각에 오미자를 0, 1, 2, 3 g 씩 첨가하고 주어진 조건으로서 추출하였다. 이때 오미자 3 g이 들어간 반응계의 산성도는 pH 3.4였다. Table 1, 및 Fig. 2(B)에 의하면 특이하게도 PPD계 진세노사이드는 오미자의 양이 증가함에 따라 진세노사이드의 함량이 급격하게 감소하는데 비하여 PPT계 진세노사이드 감소 기울기는 비교적 완만한 수준이었다. 특히 인삼 3 g에 동량의 오미자가 첨가된 경우 PPD계 주종진세노사이드는 극히 미량만이 잔류하고 있지만 PPT계 주종진세노사이드는 상당히 많은 양이 존재하고 있음을 알 수 있다. 이러한 현상은 Fig. 4에서 명확하게 확인할 수 있다. 또한 전환사포닌에 있어서 PPD계는 검출되지 않고 PPT계의 존재는 확인 되어졌다. 이상의 결과로 유추해 볼 때 오미자는 인삼의 PPD계 진세노사이드를 우선적으로 분해하는 반응 조건을 제공하는 것을 알 수 있었다. 보고¹¹⁾에 의하면 오미자는 citric acid, succinic

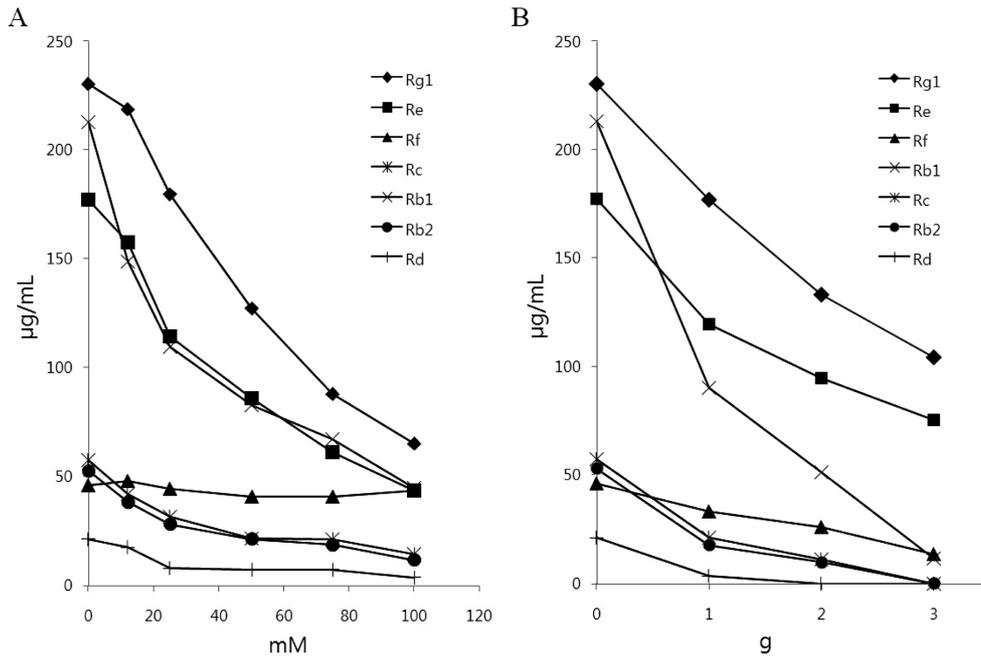


Fig. 2. Changes of ginsenoside contents in various decoctive conditions, **A:** changes in the concentration of citric acid (mM) and **B:** changes in the mass of Schisandrae Fructus (g). The decoctive temperature and heating duration are 95°C and 1.5 h. All results are derived by the single experiment.

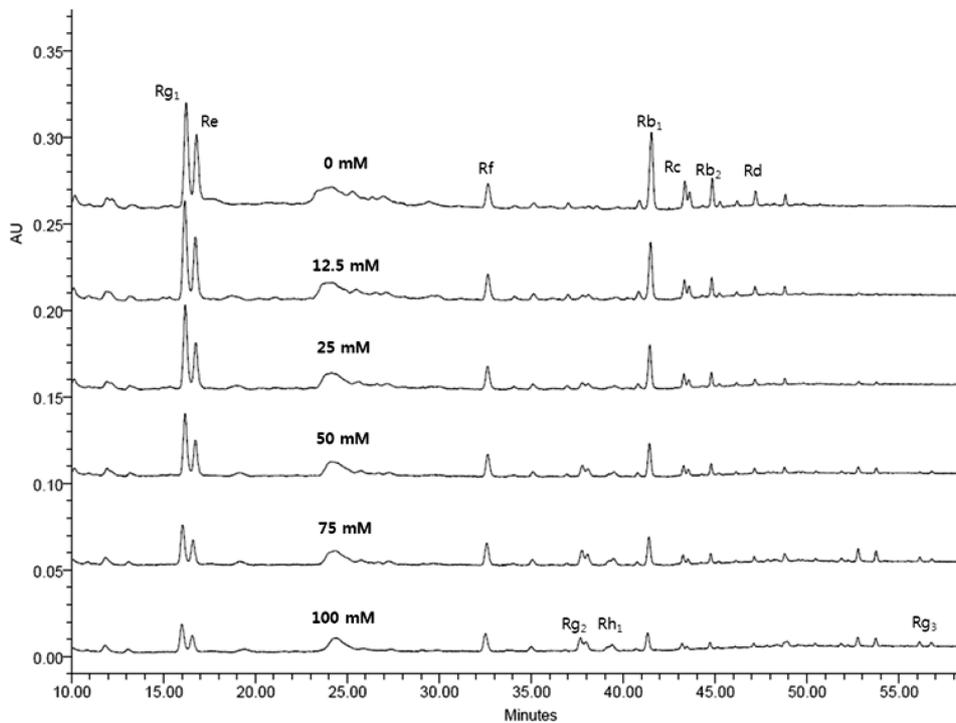


Fig. 3. Chromatographies of decocted ginseng with various concentration of citric acid (mM). The decoctive temperature and heating duration are 95°C and 1.5 h.

acid, malic acid, tartaric acid, shikimic acid 등을 함유하며 이들 유기산들이 오미자의 산성도를 좌우하는 중요한 인자로 알려져 있다. 따라서 이러한 다양한 유기산들이 인삼

PPD계 진세노사이드를 분해 또는 전환하기에 용이한 조건을 선택적으로 제공하는 것으로 판단된다. 특이한 점은 오미자와 인삼을 함께한 탕액 반응계에서 인삼성분과 마찬가지로

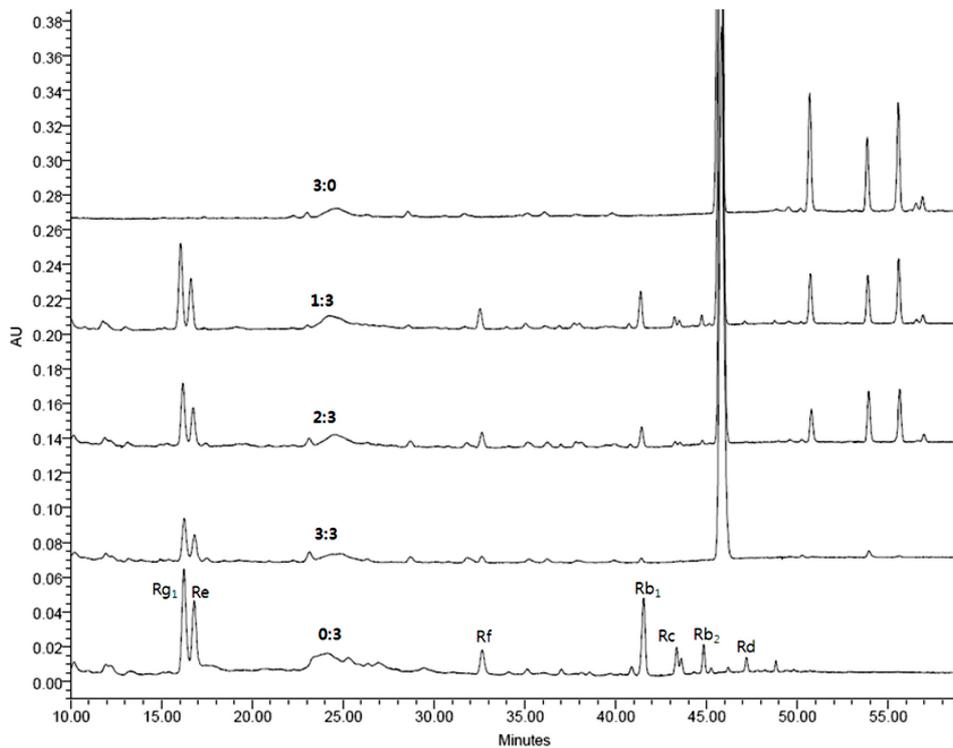


Fig. 4. Chromatographies of decocted ginseng (G) with Schisandrae Fructus (SF). The ratios indicated in the figure are gram of SF: G. The decoctive temperature and heating duration are 95°C and 1.5 h.

지로 오미자의 성분에도 눈에 띄는 변화가 수반되는 것이다. 결과적으로 단일 생약재와는 달리 복방으로 제조된 탕액내의 유효성분은 훨씬 다양한 변화가 이루어지며 이러한 유효성분 변화는 특정 한약처방과 조제방법에 따른 탕액의 효능이 현대적 방법으로 추출하여 혼합한 한약재의 효능과 다른 효능을 나타낼 수 있다는 사실의 근거 자료로서 주목할 필요가 있다. 따라서 앞으로 이런 측면에서 더욱 깊은 연구가 필요하다고 판단된다.

결론

예로부터 인삼은 보허(補虛)의 대표적인 한약재로 다양한 처방에 포함되어 왔다. 한약처방에 사용되어진 인삼은 수삼을 물로 깨끗하게 세척한 후 음건한 건삼 또는 백삼의 형태로 사용되었으나 수삼을 세척한 후 증숙하고 양지에서 건조하는 과정을 거친 홍삼을 처방한 예는 드물다. 도 등¹²⁾에 의하면 지구력 증진을 위한 계지인삼탕(桂枝人蔘湯)에 인삼 대신 홍삼을 넣은 탕액을 실험한 결과 홍삼을 넣은 탕액의 효능이 유의성 있게 변화된다는 것을 발표하였다. 다양한 보고에 의하여 인삼과 홍삼의 효능, 효과가 다르다는 사실은 이미 알려져 있으며 한약 처방시 이러한 사실에 유의하여야 할 것이다. 본 실험의 결과에 의하여 인삼이 처방된 한약재가 탕액 내에서 인삼의 특이 성분에 대한 함량의 변화

가 수반되는 것을 알 수 있었다. 예를 들어 인삼을 다양한 산성조건에서 가온 추출 할 경우 인삼 특이 성분인 인삼사포닌의 함량 변화가 생기며, 인삼과 함께 처방된 생약재인 오미자에 의해서도 인삼의 유효성분의 조성에 예상하지 못한 변화가 있음을 알 수 있었다. 결국 인삼은 탕액 조제시 다양한 생약성분과 반응하여 인삼특이 성분의 변화가 수반되며 이로써 원래 인삼의 특이성분이 나타내는 효능과는 다른 생리활성을 나타내는 화합물이 생성될 수 있다는 것을 유추할 수 있다. 또한 본 실험 결과로부터 인삼으로 명기된 한약처방에 근거 없이 인삼대신 홍삼으로 대체하는 것은 탕액내 유효성분 조성상 명백하게 다른 결과를 보인다는 사실을 알 수 있다. 이는 임의적인 판단에 의하여 한약 처방에서 인삼을 홍삼으로 대체 할 수 없음을 알려주고 있다. 특히, 특정 처방에 있어서 전통적인 한약제조 방법과 현대적인 한약제조방법 상의 차이로 인해 그의 유효성분 조성에 차이가 생길 수 있으며 그러한 사실은 특정 한약으로 부터 기대하는 효능과는 상이한 결과를 야기 할 수 있을 것으로 판단된다.

인용문헌

1. Hong, M. W. (1972) Statistical studies on the formularis of oriental medicine (I). Prescription frequency and their origin

- distribution of herb drugs. *Kor. J. pharmacog.* **3**: 57-64.
2. 배효원, 홍문화, 김일혁, 김제훈, 한병훈, 김낙두, 육창수, 한덕룡, 송영달, 홍순근, 조용봉, 김윤길, 유병수 (1983) 고려인삼, 18-22. 삼화인쇄주식회사, 서울.
 3. 최성모, 김병우 (2002) 한약조제시 예상되는 화학반응. *대한약침학회지* **5**: 116-119.
 4. Liu, Z., Li, Y., Ruan, C. C., Wang, L. J. and Sun, G. Z. (2012) The effects of dynamic changes of malonyl ginsenosides on evaluation and quality control of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **64**: 56-63.
 5. 강신웅, 고성룡, 도재호, 손현주, 이상명, 조병구(2008) 인삼성분 분석법, 한림원(주), 서울.
 6. Park, H. W., In, G., Han, S. T., Lee, M. W., Kim, S. Y., Kim, K. T., Cho, B. G., Han, G. H. and Chang, I. M. (2013) Simultaneous determination of 30 ginsenosides in *Panax ginseng* preparations using ultra performance liquid chromatography. *J. Ginseng Res.* **37**: 457-467.
 7. Yahara, S., Kaji, K. and Tanaka, O. (1979) Further study on dammarane-type saponins of root, leaves, flower-buds, and fruits of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Chem. Pharm. Bull.* **27**: 88-92.
 8. Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Yoshihara, M., Hayashi, T. and Tanayama, T. (1983) Chemical studies on crude drug procession. I. On the constituents of ginseng radix rubra (1). *Yakugaku Zasshi* **103**: 612-622.
 9. Ryu, J. H., Park, J. H., Eun, J. H., Jung, J. H. and Sohn, D. H. (1997) A dammarane glycoside from korean red ginseng. *Phytochemistry* **44**: 931-933.
 10. Baek, N. I., Kim, D. S., Lee, Y. H., Park, J. D., Lee, C. B. and Kim, S. I. (1996) Ginsenoside Rh₄, a genuine dammarane glycoside from korean red ginseng. *Planta Med.* **62**: 86-87.
 11. Cho, K. S., Jeong, E. Y., Choi, H. S. and Kim, M. K. (2012) Brewing and Quality Characteristics of *Schisandra chinensis* Yakju. *J. Appl. Biol. Chem.* **55**: 163-167.
 12. Do, J. H., Lee, S. K., Lee, J. W., Lee, E. O. and Kim, S. H. (2000) Study on antioxidant and staminal activitys of Keji-honsamtang. *J. Ginseng Res.* **24**: 202-205.
- (2014. 4. 9 접수; 2014. 5. 2 심사; 2014. 6. 5 게재확정)