

인삼 사포닌 변환 기술을 이용한 ginsenoside Rg₃의 생산
 경희대학교 고려인삼명품화사업단 및 인삼유전자원소재은행
 박민주*, 김호빈, 김세화, 양희찬, 전림호, 양덕춘

Production of Ginsenoside Rg₃ Using Transformation Technique of
 Ginseng Saponin

Korean Ginseng Center for Most Valuable Products & Ginseng Genetic Resource
 Bank, Kyung Hee University

Min-Ju Park*, Ho-Bin Kim, Se-Hwa Kim, Hee-Chan Yang, Lin-Hu Quan and
 Deok-Chun Yang

실험목적 (Objectives)

인삼의 중요한 약리 성분인 ginsenoside는 현재까지 약 40여종이 분리되었으며, 이들 중 인삼에는 적은 양으로 들어있지만 약리효능 면에서 탁월한 효과를 나타내는 ginsenoside Rg₃, Rh₂, compound K 등의 minor ginsenosides에 관심이 집중되어 있다. 특히 ginsenoside Rg₃는 전이성이 높은 tumor cell에 의한 lung metastasis 억제, 암세포의 전이 및 invasion 억제, 혈관 이완 및 혈소판 응집 억제, 간 및 신장 장애 예방, 항산화 및 항염증 작용 등 뛰어난 약리 효과를 지니고 있다. 그러나 구조적인 입체 장애로 인해 효소의 접근이 어려워 효소를 이용한 ginsenoside Rg₃의 생산에 관한 연구들이 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 김치로부터 분리된 유산균 및 그 효소를 이용하여 ginsenoside Rg₃를 생산할 수 있는 기술을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법 (Materials and Methods)

○ 실험재료

- 유산균 : 유산균의 분리를 위하여 전국 각지의 가정집 및 음식점에서 식용되는 60종의 김치를 수집하였으며, MRS-BPB (MRS-Bromphenol blue) 배지를 사용하여 유산균을 분리하였다.
- 인삼 사포닌 : 반응 실험에 사용한 ginsenoside Rb₁은 경기도 연천에서 구입한 수삼으로부터 분리하여 사용하였다. 분리된 ginsenoside Rb₁은 0.2 M sodium phosphate buffer를 이용하여 1 mM로 만든 후 0.2 μm membrane filter (Whatman, USA)로 여과 멸균하여 실험에 사용하였다.

○ 실험방법

- 인삼 사포닌의 변환 : MRS 배지에서 24 시간 동안 배양된 유산균 배양액을 원심 분리하여 얻은 cell을 이용하여 ginsenoside Rb₁의 변환을 유도하였다. 산도 (pH)에 따른 변환 양상을 알아보기 위해 얻어진 cell을 pH 3.5 ~ pH 8.0의 0.2 M sodium phosphate buffer에 녹여 ginsenoside Rb₁과 반응시켰다.

주저자 연락처(Corresponding author) : 박민주 E-mail : minju@khu.ac.kr Tel : 031-201-3244

- TLC 분석 : TLC 분석에는 silica gel 60 F₂₅₄ TLC plate (Merck, Germany)를 사용하였으며, 부탄올 추출액을 TLC plate에 spotting한 후 CHCl₃-MeOH-H₂O (65:35:10 v/v/v, lower phase)의 혼합용매를 이용하여 전개하였다. 전개한 TLC plate는 10% H₂SO₄을 분사시킨 후 열을 가해 발색시켜 사포닌 변환 양상을 관찰하였다.
- HPLC 분석 : HPLC 분석에는 역상의 SUPELCO사 Discovery C18 (4.6 x 250 mm; 5 μm) column이 장착된 Integrated NS 3000i HPLC System (Futechs, Korea) 모델의 HPLC 기기를 사용하였으며, 203 nm의 UV detector로 검출하였다.

실험결과 (Results)

- Ginsenoside Rg₃로의 변환 : Ginsenoside Rb₁으로부터 ginsenoside Rg₃로의 변환에 미치는 pH의 영향을 조사하여보았다. 유산균주를 대수증식기까지 배양하여 cell을 얻은 후, pH 3.5부터 pH 8.0까지의 0.2 M sodium phosphate buffer 200 μl로 현탁하여 동량의 ginsenoside Rb₁ 용액과 반응시킨 후 TLC 및 HPLC 분석을 해 본 결과, pH 6.0 ~ pH 7.0에서 변환 활성이 가장 좋게 나타났다. 특히 pH 6.0 ~ pH 6.5의 buffer에서는 ginsenoside Rb₁이 모두 분해됨에 따라 ginsenoside Rg₃의 생산이 가장 뛰어난 것으로 확인되었다 (Fig. 1, 2). Ginsenoside Rb₁이 유산균 MJ-7에 의해 변환되는 과정은 Fig. 3에 나타내었다.

* 시험성적

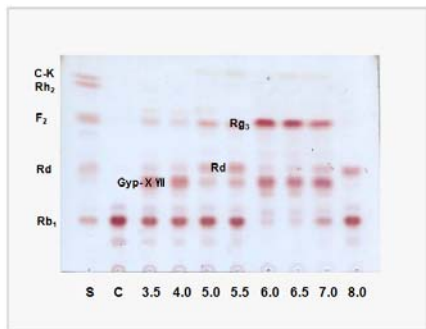


Fig. 1. Effect of pH on the transformation of ginsenoside Rb₁ by strain MJ-7.

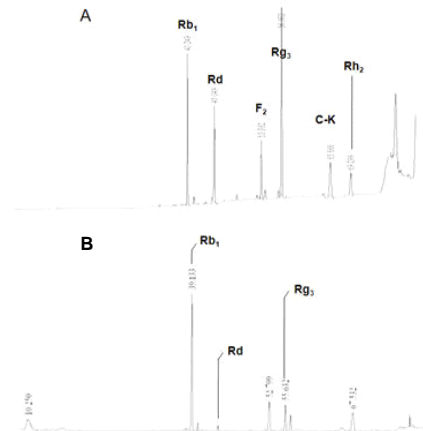


Fig. 2. HPLC chromatogram of ginsenoside-Rb₁ metabolites. A; standard of 6 minor ginsenoside, B; extract from ginsenoside Rb₁ reaction solution with strain MJ-7.

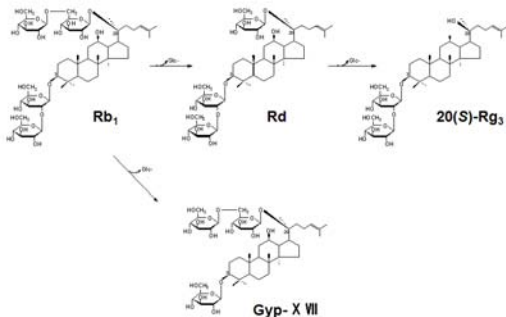


Fig. 3. Transformation pathway of ginsenoside Rb₁ into gypenoside X VII, ginsenoside Rd and 20(S)-Rg₃ by strain MJ-7.