

한국 인삼의 화학 성분 연구(제1보)
인삼의 Crude sterol fraction 에서의 β -sitosterol 분리 및 정량
건국대학교 화학과 중앙전매기술연구소
안영필 · 정종천
(1970. 6. 2. 접수)

Studies on Chemical Components in the Korean Panax Ginseng (1)
Identification and Quantitative Determination of β -Sitosterol in Crude
Sterol Fraction of the Panax Ginseng

Young-Pil, Ahn · Chong-Cheun, Chung*

Department of Chemistry, Kon-Kuk University
(Received June. 2, 1970)

ABSTRACT

A experiment was performed to investigate the stigmasterol and campesterol in the Panax ginseng.

Crude sterol fraction obtained from the ginseng was analysed by TLC and quantitative determination of β -sitosterol was performed with colorimetric method.

The results were summarized as follow,

1. It was observed with ethyl ether-petroleum ether extract of the ginseng that there was no evidence of showing the presence of both free capesterol and stigmasterol but that only β -sitosterol was presence in an significant amount.
2. Average amount of the β -sitosterol was 0.20-0.35mg per gram of the sample.

1. 서 론

인삼의 화학성분 연구는 1840년 Rafinesque^①가 panax quinqueflum L.에서 Camphor류물 연구한 때서 비롯된다.

그후 1854년 미국의 Gariques^②가 인삼의 배당체를 연구한 바 있고 최근에는 William A Meer,^③ S Shibata,^④ G. B. Elyakor^⑤ 등이 인삼의 배당체의 구조식을 결정하는 논문을 발표하는 등 활발한 연구가 진행되고 있다.

저자들은 인삼의 유효 성분의 구조를 규명하기 위한 기초자료를 얻고자 본 실험을 시도하였다.

E Fedeli^⑥ 등은 모든 식물성 oil 중의 Sterol fraction에는 β -sitosterol stigmasterol, Campesterol 등이 존재한다고 지적하였지만 저자들은 인삼의 sterol fraction도 같은 성분을 포함하고 있는지의 여부를 확인하고 나아가서는 그 Crude sterol fraction으로부터 단일 성분을 분리 정제하기 위하여 이 실험을 하게 된 것이다. 본 실험결과 인삼에는 stigmasterol 및 Campesterol이 존재하지 않는 것으로 나타났고 인삼의 Crude sterol fraction에는 β -sitosterol의 함량이 제일 많고 각 년근별 산지별에 따른 함량을 정량한 결과 0.20~0.35mg/g 였기에 이 결과를 우선 보고하고자 한다.

* Central Research Institute office of Monopoly

2. 실험

2-1 시료

김포산 6년근 백삼 10kg 는 Unsaponifiable materials 정성용으로 시중에서 구입하였고 각 산지별에 따른 인삼 중의 β -sitosterol 정량 시료는 경작자나 조합을 통하여 각 500g 정도의 백삼을 직접 구입하여 사용하였다.

2-2 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약은 모두 E. Merck 제 G.R. spectra grade 및 chromatography 용을 사용하였고 증류수는 이온교환수지로 정제한 것을 사용하였다.

기기는 IR9(Backman) N.M.R. (日本電子 JN M-4H-100型), mass spectra (日本電子 JMS-OIS G型), Backman model Du spectrophotometer Constant temperature cabinet, Column (0.8×30cm) Glass plate 20×20cm를, 기타 기구는 pyrex 재를 사용하였다.

2-3 분석방법

E. Fedeli^① 小松^② 廣瀬^③의 방법을 참고로 분석법을 약간 변경하였다.

일정량의 인삼 시료를 Toyo No 81원통 여과지에 넣고 Soxhlet 장치를 써서 먼저 ethyl ether로 12시간 추출후 petroleum ether(b. p. 30-70)로 12시간 추출한 것을 저온에서 유기 용매를 제거하고 alcoholic 0.5N. KOH로 Water-bath에서 질소물 통해 주면서 1시간동안 진탕한 뒤 알코올을 제거하고 petroleum ether 20cc로 비검화물을 수회 추출한 뒤 증류수로 씻어 수용성 불순물을 제거하였다. 위의 조작을 2-3회 반복하여 지방산등을 제거한 비검화물을 얻었고 이를 Petroleum ether로 용진시킨 산화알루미늄 Column에 넣고 소량의 Petroleum ether로 씻어 탄화수소 및 기타 불순물을 제거하고 Acetone: ethyl ether(8:2)로 천천히 용출시키어 Crude sterol fraction을 분리했다.

상기와 같이 조제한 시료를 통상 방법에 의해 silica gel G로 Coating한 T.C.C. plate 을 만들

어 Benzene: Acetone(8:2), chloroform: Cyclohexane: Acetone(3:4:3)등의 용매로 전개시킨 결과 Benzene: Acetone 용매가 좋았으므로 이를 택하였다.

본 실험에서는 Campesterol의 표준품이 없었으나 다른 실험자^④등이 위와 같은 용매로 식물의 sterol fraction을 T.L.C.로 연구한 바 모두가 동일한 Rf 값을 나타냈으므로, 편위상 표준품

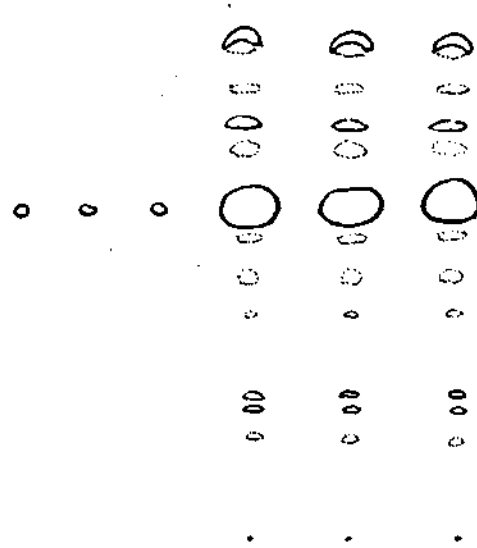


Fig. 1 TLC Chromatogram of crude Sterol

and each standard materials

1. β -sitosterol

2. Stigmasterol

3. mixed

A.B.C.D crude Sterol of ginseng Solvent system: benzene: Acetone(8:2)

β -sitosterol, stigmasterol과 인삼에서 분리한 시료를 비교 실험하여 간접적으로 증명하였다.

Crude sterol fraction 및 표준품의 chromatogram은 Fig. 1과 같다.

정성에 사용한 시료의 정제법은 동시에 많은 시료를 전개시킨 후 일부분만 발색시킨 후 표준품과 동일한 Rf치의 부분을 분리하고 이를 ethyl ether 및 chloroform으로 용출한 뒤 용매를 petroleum ether: Acetone(8:2)으로 변경하여 재차 정제 분리하여 얻어진 백색 결정성 시료에 대하여 단일 물질 여부를 규명코자 IR, NMR,

mass spectra 등에 의해 비교 실험했다.

2-4 기기에 의한 실험

가, IR에 의한 비교

IR을 사용하였으며 시료 및 표준품들의 소량을 CS_2 에 용해하여 KBr Cell에 의해 double beam으로 spectrum을 얻은 결과 Fig. 2와 같았으며 인삼의 sterol fraction에서 분리한 시료와 β -sitosterol과는 동일한 spectrum이었기에 순수 물질 여부를 규명코자 NMR, mass spectra 등에 의해 실험을 하였다.

나. NMR 및 Mass Spectra에 의한 비교

NMR 실험을 위하여 시료의 용매를 $CDCl_3$ 로 하고 TMS를 reference로 하여 spectrum을 비교한 바 Fig. 3와 같았다. 한편 mass spectra에 의해 검토한 결과는 fig. 4와 같다. 본 실험에서는 표준 reference로 perfluorokerosene ($C_{27}F_{54}$)을 사용하였고 검출법은 전기 검출법에 의했으며 spectrum 간의 거리 및 시료표준 spectrum간의 거리까지 계산하여 정확한 질량을 산출하였다.

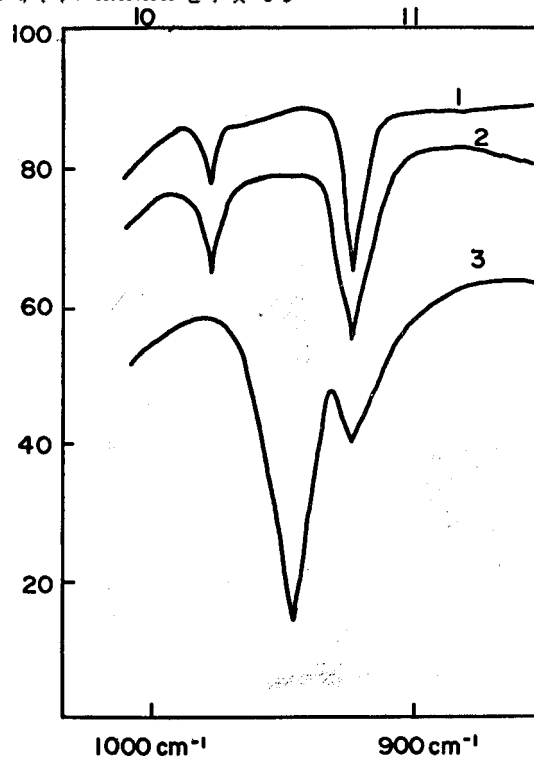
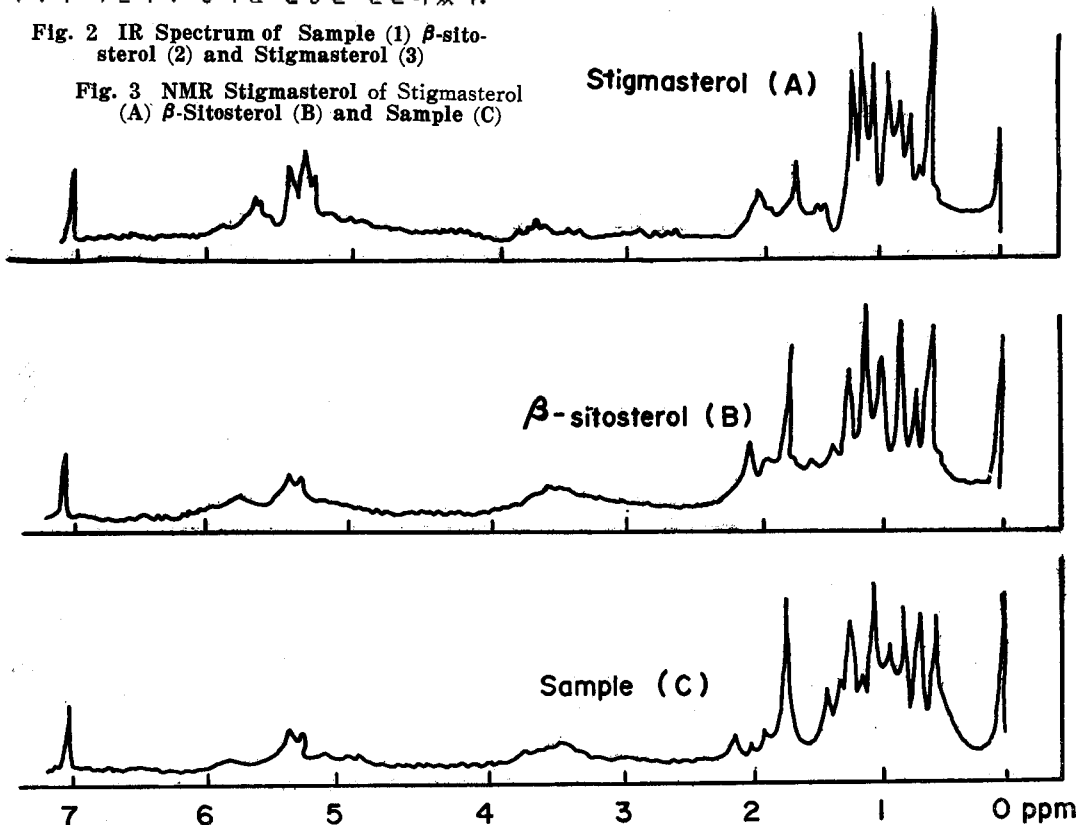


Fig. 2 IR Spectrum of Sample (1) β -sitosterol (2) and Stigmasterol (3)

Fig. 3 NMR Stigmasterol of Stigmasterol (A) β -Sitosterol (B) and Sample (C)



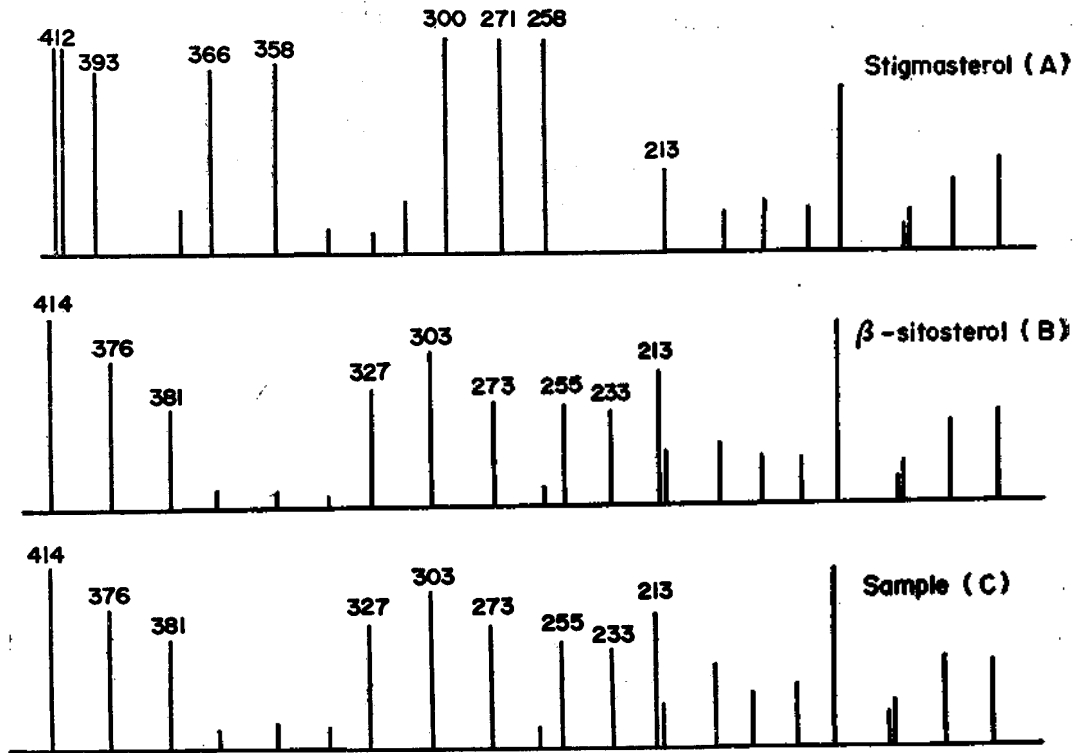


Fig. 4 Mass Spectrum of Stigmasterol (A), β -sitosterol (B) and Sample(C)

3. 실험 결과

Fig. 1에서와 같이 TLC chromatogram상에서 β -sitosterol, stigmasterol은 Rf값이 동일하므로 혼합물에서 분리가 곤란하다.

따라서 인삼의 Crude sterol fraction에서 분리된 시료가 이들의 혼합물인지 또는 단일물질인지를 확인하기 위해 IR, NMR, mass spectra 등에 의해 비교 검토한 결과 Fig. 2, 3, 4와 같이 거의 β -sitosterol과 동일한 결과를 나타냈다. 즉 Fig. 2의 IR spectrum에서는 β -sitosterol 및 stigmasterol의 차이는 $950\text{cm}^{-1}\sim 980\text{cm}^{-1}$ 에서만 나타난다. 이러한 결과는 stigmasterol의 구조식에서 Δ^{22} 위치에 $\text{C}=\text{C}$ 의 이중 결합에 기인한다. 정제한 인삼의 sterol과 비교한바 β -sitosterol과는 똑같은 spectrum을 보였고 stigmasterol에서 나타났던 975cm^{-1} 에서의 흡수 peak는 전혀 없으므로 인삼에는 stigmasterol 및 Campesterol이 존재하지 않는 것으로 생각된다.

NMR에 의한 비교 시험 결과 fig. 3에서 나타난 바와 같이 각 peak에 있어 τ -value는 역시 β -sitosterol과 시료가 동일했으며 stigmasterol과 전혀 달랐다. mass spectrum (Fig. 4)에 의한 분자이온 peak 및 각 fragment ion peak을 비교한 바 시료와 β -sitosterol의 분자이온 peak가 m/e 414로서 계산치와 일치했으며 stigmasterol과는 전혀 달랐다.

이상과 같은 세 가지 비교실험 결과를 종합 검토하면 인삼의 Crude sterol fraction에는 Campesterol 및 stigmasterol이 존재하지 않는 것으로 생각된다.

4. 한국 인삼 중의 β -sitosterol 함량정량

인삼 중의 Crude sterol fraction을 TLC로 분리 검토한 바 거의 β -sitosterol만이 확인되었으므로 저자들은 우선 한국산 인삼의 각 산지별 년근별에 따른 β -sitosterol을 정량하고자 시료 중의 β -sitosterol을 TLC에 의해 분리한 후 용출하여 비색법에 의해 분석하였다.

sterol의 정량 분석법에 관해서는 여러문헌^{①-⑩}들이 있으나 본 실험에서는 T.C Huang^⑩의 방법에 따라 분석했다.

표준 β -sitosterol의 일정량에 무수 초산-황산(30% 빙초산, 60% 무수초산 10% 황산) 시약을 가한 후 잘 흔들어 20분간 반응시킨 후 620m μ 에서 측정하여 표준곡선(Fig. 5)을 얻고 이에 의해 한국산 인삼중 산지별 년근별 β -sitosterol 함량을 정량한 결과 Table 1 와 같은 결과물을 얻었다.

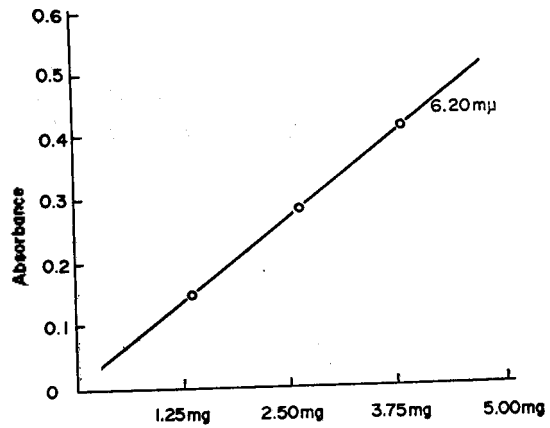


Fig. 5 Standard curve of β -sitosterol

5. 고 찰

식물의 free sterol에는 대부분이 β -sitosterol

Table 1 β -sitosterol content of Korean Panax Ginseng

District	wt. of mg/g	Growth	wt. of mg/g
Kunsan*	0.35	3 year	0.23
Pungki	0.21	4 year	0.27
Buyo	0.25	5 year	0.33
Kangwha	0.31	6 year	0.30
Kimpo	0.30		
Koyang	0.31		

* 4 year

stigmasterol Campesterol 등이 포함되어 있는 것으로 알려졌으나 TLC로 분리한 인삼의 sterol 성분을 검토한 결과 거의 순수한 β -sitosterol 임이 확인되었다. 이 사실은 몇몇^{①②③} 연구자들이 다른 식물의 sterol성분을 연구보고한 결과와 비교할 때 흥미있는 점이라고 생각된다.

한편 우리나라의 산지별 및 년근별에 따른 β -sitosterol 함량은 0.20~0.35mg/g였으며 년근별로는 3년근을 제외하고 대차가 없었다.

본 실험에서 TLC상에 분리되는 기타 성분은 차후 보고하고자 한다.

끝으로 본 실험을 위해 직접 도와주신 日本電子 분석원들께 감사드립니다.

6. 문 헌

1. 中央專賣技術研究所 人蔘文獻特輯
2. Garriques: *Annalen der Chemie U. Phar-*

macil So. 231, 1854

朝比奈泰彦 ~ 協力者 報文集 化學文部 1248; 1930

3. William A. Meer *et al* : *Am Perfumer* 76, 29 1961
4. Shoji Shibata *et al* : *Tetrahedron Letters* No 37, 3579. 1967
5. 柴田承二; 蛋白質 核酸 酵素 12, 32. 1966.
6. The Eleventh Pacific Science Congress Abstracts of Papers Related with Nutrition public Health and Medical Science Proceedings Vol. 8 Tokyo 1968
7. E. Fedeli *et al* : *J.A.O.C.Soc.* 43, 254 1965
8. 小松 岡野; *分析化學* 15, 1115 1966.
9. 廣瀬 佐藤 *日本化學雜誌* 89, 887 1968
10. T.C Huang *et al*: *Anal Chem* 33, 1405 1961
11. Henry Tauber:*ibid* 24, 1494 1952
12. Dick Way Horne *et al*: *ibid* 24, 560 1952

13. H.A Walens *et al*: *ibid* 26, 325 1954
4. R.B Peterson *et al*: *ibid* 16, 495 1944