

人蔘植物에 관한 研究(I)*

美國人蔘 사포닌 및 그 非糖體

金 貞 淵** · 이 · 존 스타바

미네소타대학교 약학대학 생약학교실

Studies on the Ginseng Plants(I)*

Saponins and Sapogenins from American Ginseng Plants

Jung Yun KIM** and E. John STABA

Department of Pharmacognosy, College of Pharmacy, University of Minnesota,
Minneapolis, Minnesota 55455, U.S.A.

The saponins of two- and four-year-old American ginseng plants (*Panax quinquefolium* L.) (*Araliaceae*) collected in July and September were studied. American ginseng saponins (panaquilins) differ from Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. MEYER) saponins (ginsenosides). The American ginseng saponins separated and named were panaquilins A, B, C, D, E-1, E-2, E-3, G-1, G-2, (c) and (d). One-dimensional thin-layer chromatography did not completely separate panaquilin mixture and was subject to misinterpretation. The panaquilins were more accurately separated and identified by the two-dimensional thin-layer method established. Some differences in American ginseng saponins were dependent upon the plant age, time of collection, and part extracted. The American ginseng sapogenin components are panaxadiol (panaquilins B and C), oleanolic acid (panaquilin D) and panaxatriol (panaquilin G-1). The panaquilins E-1, E-2 and E-3 mixture contained both panaxadiol and panaxatriol. The genins of panaquilins A, (c), (d) and G-2 were not identified. In addition, β -sitosterol and stigmasterol were identified from the root ether extracts.

서 론

美國人蔘(五加科, *Panax quinquefolium* L.)은 神父 LAFITAU에 依하여 1716年 Montreal 近處에서 發見된 以來 最近까지 東洋 各國으로 수출되고 있다¹⁾. 美國人蔘이라는 말 以外에 洋蔘, 廣東人蔘, 花旗人蔘이라고도 稱하며 American Indian들은 Garant-oquen(사람의 다리라는 뜻)이라고 부르기도 한다.

高麗人蔘(*Panax ginseng* C.A. MEYER)에 對하여서는 化學的²⁻⁵⁾, 藥理學的⁶⁻⁹⁾으로 많은 研究가 되어 있으나 美國人蔘의 경우에는 現在까지 그 成分 및 藥理研究가 報告되어진 것이 극히 드물다¹⁰⁻¹²⁾.

美國人蔘은 高麗人蔘과 植物學的으로 비슷함에 비추어 그 成分들도 類似하리라 豫測할 수 있고, 또한 成分들의 類似性만 밝혀 진다면 그 藥理作用들도 기왕에 發表되어진 高麗人蔘의 것과 比較 檢討할 수 있으리라 思料되어 진다.

本 研究에 있어서는 美國人蔘 根部 사포닌들을 分離 및 確認하였으며 또 高麗人蔘 根部 사포닌들과 박충 크로마토그래피에서 比較 검토하였다. 美國人蔘 2年生과 4年生들의 葉部, 莖部, 果實部 및 根部를 生長初期(7月)와 生長末期(9月)에 各已 採集하여 박충 크로마토그래피에서 定性的으로 그리고 大略의 定量的인 方法으로 사포닌 및 그 非糖體들의 分布를 研究하였다.

* 本 論文은 1972年 7月 21日 第13回 美國生藥學會에 發表된 것 中의 一部이며 (at the Ohio State University, Abstract No. 44), 金貞淵의 Ph.D. 論文中의 一部임.

** Present address: Dept. of Pharmacognosy, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea.

실험재료 및 방법

1. 植物材料

植物材料은 후람農場(Fromm Bros., Inc., Hamburg, Wisconsin 54438, U.S.A.)에서 구입했다. 2年生 및 4年生 美國人蔘(*Panax quinquefolium* L.)과 4年生 高麗人蔘(*P. ginseng* C.A. MEYER)根을 1971年 7月 20~21日, 9月 13~15日 사이에 各已 採集하였고 50°C에서 또는 室溫에서 陰乾하였다.

2. 標準品

panaxatriol은 柴田承二 教授(日本 東京大 藥學部), panaxadiol은 柴田承二 教授와 Th. WAGNER-JAUREGG 教授(Forschungsabteilung der Siegfried A.G., Zofingen A.G., Switzerland)에서 그리고 oleanolic acid는 Z. KASPRYSK教授(Dept. of Biochemistry, University of Warsaw, Poland)에서 各已 얻었다. stigmasterol은 Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri에서 그리고 β -sitosterol은 Nutritional Biochemicals Corp., Cleveland, Ohio 에서 購入하였다.

3. 抽出法

人蔘의 各 部位(葉, 莖, 根, 果實)를 柴田等^{13,14)}의 方法을 變造하여 抽出하였다. 人蔘根 粗末 50g를 속시켈 抽出器로 24時間 에틸로 抽出하고 얻어진 에틸 액기스는 회전식 증류기를 사용하여 농축하고 건조한 뒤 그 重量을 달았다. 원통 抽出여과지 속에 들어있는 人蔘根末은 常溫에서 乾燥하고 클로로호름으로 위와 같은 方法으로 抽出하였다. 最終的으로 메타놀 300ml를 써서 속시켈 中에서 24時間 抽出하고 여기서 얻어진 메타놀 溶液은 회전식 증류기를 사용하여 完全히 농축시키고 50°C에서 황산칼시움 데시케이터에서 24時間 乾燥하였다. (methanol-1이라 稱한다). 乾燥된 메타놀액기스 1g는 冷(5°C) 메타놀 10ml로 處理하여 殘渣는 버리고 溶液을 取하여 증발 건조하여 그 무게를 달았다 (methanol-2라 稱한다). 이렇게 製造된 메타놀액기스(methanol-2) 1g를 메타놀 10ml에 용해하여 實驗檢體로 하였다.

4. 제조적 박층 크로매토그래피(Preparative Thin-layer Chromatography)

Silica gel G와 silica gel PF-254를 DeSaga장치(Brinkman Instruments Inc., Great Neck, Long Island, U.

S.A.)를 使用하여 박층 크로매토그래피板(TLC plate)을 製造하였다. slurry는 흡착제 40g를 2:1 비율의 증류수와 메타놀 混合液 75ml 혹은 95ml를 섞어 Erlenmeyer flask (500ml 들이) 中에서 50~60秒 동안 強하게 진탕하여 제조했다. 이렇게 製造되어진 TLC plate는 使用目的에 따라 그 두께가 0.25mm, 0.50mm, 또는 1.00mm 되며 약 20分間 室溫에서 乾燥한 뒤 120°C에서 50~60分間 活性化시켜 乾燥했다. 使用치 않은 TLC plate는 使用되어 질 때까지 황산칼시움 데시케이터內에 保管하였다.

檢體 100mg를 메타놀 1ml에 녹이고 끝을 “7”字로 꾸부린 pippette를 使用하여 TLC plate에 streaking하였다. 1.00mm TLC plate에는 80mg의 檢體를, 0.50mm TLC plate에는 40mg의 檢體를 그리고 0.25mm TLC plate에는 20mg의 檢體를 各已 使用하였다.

전계용제로는 부타놀(n) : 빙초산 : 증류수(4 : 1 : 5, 上層液, solvent system-A 또는 SS-A) 또는 크로로호름 : 메타놀 : 증류수(65 : 35 : 10, 下層液, solvent system-B 또는 SS-B)를 使用하였다.

사포닌 帶(sapo in band)는 TLC plate의 한 쪽 옆 約 1 cm를 ceric sulfate 용액(3% ceric sulfate를 3N 黃酸에 녹인 용액)으로 분무하고 hair dryer로 發色이 가장 뚜렷이 나타날 때까지 加熱하였다. ceric sulfate를 분무하지 않은 곳은 柴外線 光線下(UV light)에서 관찰하여 發色시킨 部分과 비교하여 各 saponin band를 分離시키고 메타놀로 2회 溶出하였다(約 1g의 silica gel末에 對하여 메타놀 10ml를 使用하였다.). 용출된 메타놀용액은 tungsten lamp로 건조시키고 殘留物을 달았다.

粗 사포닌(methanol-2) 加水分解 生成物은 다만 전계용제로 벤젠 : 아세톤(3 : 1) 또는 에틸을 使用한 것이 틀리고 기타 方法은 위에 기술한 바와 大略 同一하다.

5. 粗 사포닌 加水分解 生成物의 分離 精製

1) 加水分解

粗 사포닌(methanol-2) 34g를 메타놀과 30% 염산(4 : 1) 混合液 500ml로 約 5時間 水蒸氣 浴上에서 還流 冷却하여 加水分解시켰다. 加水分解 溶液은 50°C에서 회전식 증류기를 使用하여 溶媒를 溜去시키고 無水에 타놀 100ml를 殘渣에 加하여 증발시키는 것을 3회 되풀이 함으로써 加水分解物에 殘留하는 미량의 鹽酸을 除去하였다. 殘渣를 無水 에타놀 340ml로 抽出하여 여과하고 그 여액을 약 100ml까지 농축하였다. 여기에 約 倍量의 증류수를 加할 때 生成되는 黑色 沈澱物을 取하고 그 여액은 다시 에틸 400ml로 4회 抽出하였다. 黑色 沈澱物 및 에틸을 합쳐 無水 芒硝를 加하여 一夜 방

치하고 여과하여 증발 농축하였다(약 8g).

2) panaxadiol, panaxatriol 및 oleanolic acid의分離
위에서 製造된 加水分解物 1.48g를 에틸 3ml에 녹여
silica gel column (silica gel 60g, 1.5×60cm)에 加했
다. column은 헥산 (n): 아세톤 (4 : 1) 混合液 300ml로
展開시키고 5ml씩 溶出液을 받았다. TLC로 各 分劃을
檢査하였을 때 Fr. 18~20은 주로 panaxadiol을 含有한
다. panaxadiol은 에칠아세테이트로 2回 再結晶하여
無色 針狀 結晶 189mg (m.p. 247-250°C)을 얻었다.

Fr. 29~61 (61mg)를 습하고 溶媒를 溜去한 뒤 아세
톤 1.5ml에 녹였다. panaxatriol은 preparative TLC를
써서 分離했고 벤젠으로 再結晶했을 때 無色 針狀 結晶
29mg (m.p. 235~238°C)을 얻었다.

粗 사포닌 加水分解 生成物 2.5g을 preparative TLC를
使用하여 panaxadiol 432mg, panaxatriol 11mg, 그리고
粗 oleanolic acid 7mg를 各 己 얻었다. 粗 oleanolic acid
는 再結晶하기 힘들었으며 다만 panaquin D (결과 및
고찰 참조) 50mg를 上記 方法에 依하여 加水分解하여
生成되는 沈澱物을 모아 메타놀로 再結晶시켰을 때 約
10mg의 oleanolic acid (m.p. 305~310°C)를 얻었다.

3) β -Sitosterol의 分離

에틸 에기스 10g를 에틸 100ml에 용해하고 5% 소디움
하이드록사이드용액 50ml로 진탕하여 fatty acid나 lipid
등을 除去하였다. 에틸層은 無水 芒硝로 一夜 乾燥하
고 여과, 농축하여 그 殘渣를 石油에틸 (b.p. 30~60°C)
10ml에 溶解하였다. 이 石油에틸 溶液은 알루미늄(200g,
中性, 一度, M. Woelm, Eschwege, Germany)를 含有
한 column에 加하여 에틸 1l로 展開시켰다. column으
로부터 10ml씩 溶出分劃을 얻었다. Fr. 20~29를 濃縮
하여 主로 β -sitosterol을 얻었다. 殘渣는 95% 에타놀
150ml에 溶解하고 蒸溜水 1滴씩 混濁되어 질 때까지 加
했다. 混濁된 溶液은 水浴上에서 淸明하여 질 때까지 加
溫하고 溫時에 硝子 sintered funnel을 通하여 여과하
였다. 여액을 냉장고에서 1夜 放置했을 때 인편상 無色
結晶을 얻었고 이것을 다시 90% 아세톤으로 再結晶시켜
無色 針狀 結晶 82mg을 얻었다. 이렇게 製造된 β -sito-
sterol은 TLC에서 Rf價가 0.35(벤젠 : 에칠아세테이드
(3 : 1)), 0.80(벤젠 : 아세톤 (3 : 1)), 그리고 m.p.
138~139°C이었다.

6. 分析 및 確認試驗

1) 1次元 薄層 크로마토그래피

薄層 크로마토그래피(TLC) 實驗은 上記 本 實驗部에

기재한 바(4項)와 같고 다만 slurry와 檢體 製造 過程
이 약간 相異하였다. slurry는 silica gel G나 silica gel
PF-254 (30g)를 증류수와 메타놀(2 : 1) 混液 60ml 또
는 75ml과 混合 진탕하여 製造하였다. 檢體 10mg를 메
타놀 0.1ml에 溶解하여 10~20 lambda를 TLC plate에
適用시켰다.

2) 2次元 薄層 크로마토그래피

檢體溶液을 TLC plate 한 모서리 各 兩邊으로 부터
2.5cm떨어진 點에 spot하였다. TLC plate는 SS-B에서
2回 展開시키고 約 20分 乾燥시키고 plate를 오른쪽으로
90度 回轉시켜 SS-A에서 1回 展開시켰다. TLC plate는
展開溶媒가 檢體 spot로부터 10cm 높이까지 展開시켜
ceric sulfate용액으로 분무하여 發色시켰다.

3) 가스리퀴드 크로마토그래피

가스리퀴드 크로마토그래피(GLC)(Varian Aerograph
Model 1740, Varian/Analytical Instruments Division,
Palo Alto, California)는 人蔘사포닌의 非糖體部分을 確認
하는데 使用하였다. GLC column은 1/4''×6'硝子 column
으로 3% OV-17으로 입힌 80~100 mesh Aeropak을
含有하고 있다.

GLC 溫度條件은 injector 300°C, detector 300°C 그리
고 column 275°C이었다. Gas 流速은 질소 40ml/min.,
水素 27ml/min., 그리고 空氣 300ml/min.이었다.

檢體溶液은 檢體 1mg를 Tri-Sil (Pierce Chemical Co.
Rockford, Illinois) 0.5ml로 60°C에서 15分間 silylate
한 다음 퍼리딘으로 1ml될 때까지 희석하였다.

4) 融點測定

融點 (m.p.)測定은 Fisher-Johns 融點測定器 (Fisher
Scientific Co., Chicago, Illinois)로 測定하고 融點 補正
은 하지 않았다.

5) 赤外線 스펙트럼

赤外線 스펙트럼(IR spectrum)은 브롬카리 디스크(KBr
100mg과 檢體 1mg)를 만들어 Beckman IR-33 Spectro-
meter로 測定하였다.

결과 및 고찰

美國人蔘 사포닌과 그 非糖體들의 化學的인 組成은 거
의 알려져 있지 않았고 現在까지 알려진 것들이 있다
면 다만 短編의인 事實들이었다^{2,10,11,15}. 反面 高麗人
蔘에 關한 化學的 成分은 많이 알려져 있으며 또한 그
化學成分中 사포닌이 人蔘의 有效成分이라고 報告해

오고 있다⁷⁾. 美國人蔘은 高麗人蔘과 外形의으로 多少 差異는 있다고 할 수는 있지만 그래도 가장 비슷한 人蔘植物中の 하나라고 볼 수 있다. 高麗人蔘 및 美國人蔘의 地上部位 即 葉, 莖, 果實等に 存在하는 사포닌의 研究^{16,17)}는 極히 드물며 이런 研究들은 또한 人蔘사포닌들이 어디서 生合成 되는지 그리고 값이 싼 人蔘 地上部位의 사포닌 原料 開發에 何等의 도움을 주어 오지 못했다고 볼 수 있다.

本 研究에 있어서는 美國人蔘 및 高麗人蔘根의 사포닌들을 1次元 및 2次元 薄層 크로마토그래피에 依하여 比較 檢討하고 또한 美國人蔘에 있어서는 實際로 各

사포닌들을 分離하여 그 非糖體들을 確認하고 高麗人蔘의 類似性을 調査하였다. 그리고 美國人蔘의 各 部位에 對한 사포닌의 含量이라든가 그 分布等 기초적인 研究를 行하였다.

1) 抽出

美國人蔘의 平均 에틸엑기스의 量(乾燥 檢體量에 對한)은 4%, 크로르호름엑기스 量은 1.4%, methanol-1은 33.1%, methanol-2는 26.1%, 그리고 殘渣는 7.0%이었다 (Table I). 生長初期(7月)에 採集된 植物의 엑기스 量은 一般的으로 生長末期 (9月)에 採集된 것보다

Table I. American Ginseng Plant Extracts.

Plant Material*		Extracts(%)				
Name	Dry Wt.(g)	Ether	Chloroform	Methanol-1	Residue**	Methanol-2***
<u>Two-year-old</u>						
JIL	13.1	4.4	1.2	48.0	7.2	40.8
JIS	3.8	9.2	0.9	24.8	11.4	13.4
JIR	33.7	1.7	0.6	21.5	1.6	19.9
Plant(average)	—	5.1	0.8	31.4	6.9	24.7
SpL	4.3	5.4	2.0	45.3	13.6	31.7
SpS	1.2	5.6	2.9	36.6	4.6	32.0
SpR	43.0	1.2	0.8	28.6	10.8	17.8
Plant(average)	—	4.1	1.9	36.8	9.7	27.2
<u>Four-year-old</u>						
JIL	7.7	3.8	2.2	29.8	6.2	23.4
JIS	7.7	1.9	1.4	25.0	14.1	10.9
JIF	1.7	1.6	2.2	34.3	3.4	30.9
JIR	19.9	1.3	0.5	25.8	3.7	22.1
Plant(average)	—	2.2	1.6	28.7	6.9	21.8
SpL	20.0	6.5	2.0	50.0	0.2	49.8
SpS	30.7	7.0	0.3	25.8	2.1	23.7
SpR	50.0	1.0	—	30.4	12.0	18.2
Plant(average)	—	4.8	1.2	35.4	4.8	30.6

* JI-July collection; Sp-September collection; L-leaf; S-stem; F-fruit; R-root.

** Residue: Insoluble material of methanol-1 extracted with cold methanol (5°C).

*** Methanol-2: Soluble extract of methanol-1 extracted with cold methanol (5°C).

낮았다. 에틸可溶性 엑기스는 美國人蔘根에서 0.60%, 地上部에서 1.42%, callus tissue에서 0.92%, 高麗人蔘根에서 0.82%라고 報告한 바 있다⁴⁾.

2) 1次元 薄層 크로마토그래피

美國人蔘사포닌은 高麗人蔘사포닌과 1次元 薄層 크로마토그래피(TLC)上에서 多少 差異點들을 發見할 수 있다(Fig. 1).

ELYAKOV等¹⁸⁾은 처음에 高麗人蔘根의 사포닌(panaxo-

side라 命名)을 column chromatography로 分離하고 다음에 1次元 TLC上에서 사포닌들을 命名했다. 그러나 柴田等¹⁹⁾은 人蔘사포닌(ginsenoside라 命名) 엑기스를 두 部分으로 나눈 뒤에 直接 TLC上에서 檢査했다. 即 에틸이나 아세톤에 沈澱하는 사포닌은 panaxadiol系 사포닌들로 ginsenosides Ra~R(f)라 했고 그리고 沈澱되지 않는 사포닌들은 panaxatriol系 사포닌들로 ginsenosides Rg₁~Rg₃이었다. 이런 命名上의 差異點

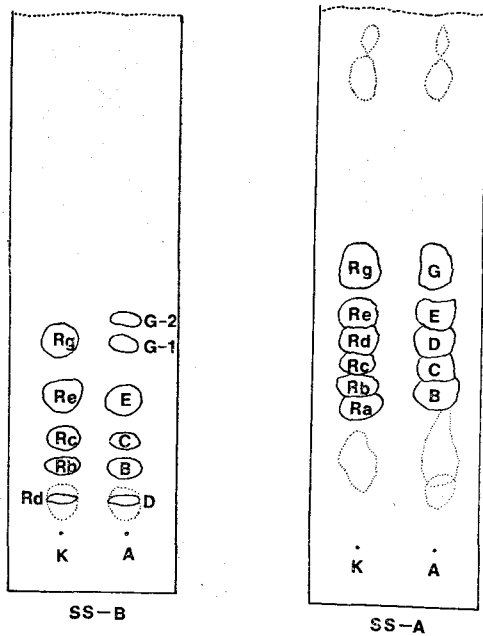


Fig. 1. One-dimensional Thin-layer Chromatograms of American and Korean Ginseng Root Saponins.
 SS-A: Solvent system-A (n-butanol: acetic acid: water; 4: 1: 5, upper layer).
 SS-B: Solvent system-B (methanol: chloroform: water; 65: 35: 10, lower layer).
 K: Korean ginseng root methanol extract.
 SS-A: Ginsenosides Ra, Rb, Rd, Re and Rg.
 SS-B: Ginsenosides Rd, Rb, Rc, Re and Rg.
 A: American ginseng root methanol extract.
 SS-A: Panaquilins B, C, D, E and G.
 SS-B: Panaquilins D, B, C, E, G-1 and G-2.

으로 ELYAKOV와 柴田等の 1次元 TLC에 의한 命名法은 서로 比較하기 어려운 ㅁ뉼더러 혼돈을 招來해 왔다. 더우기 最近 TLC 전개용제를 變化시키므로써 柴田等³⁾의 研究는 점점 本來 命名法의 意味를 희박하게 만들고 있음을 알 수가 있다.

panaquilin이란 用語는 美國人蔘사포닌 個에 對하여 주어진 이름이고 GARRIQUES¹⁰⁾가 1854年 美國人蔘사포닌 混合物를 panaquilon이라고 最初로 命名한 데서 由來하였으며 다만 그 語尾만 變化시켰고(-on→-in) 새로이 命名된 것이라 볼 수 없다. 著者等은 ELYAKOV의 panaxoside 그리고 柴田의 ginsenoside와 혼돈을 피하기 爲하여 美國人蔘 사포닌들을 panaquilin이라 하여 確認하는데 使用하였다.

solvent system-A (SS-A)에서 高麗人蔘 사포닌은

ginsenoside Ra를 含有하고 있는데 반하여 美國人蔘에 는 缺如되어 있다(Fig. 1).

solvent system-B (SS-B)에서 美國人蔘은¹¹⁾ panaquilin G-2가 存在하나 高麗人蔘에 는 缺如되어 있다. 柴田等¹⁷⁾에 依하면 高麗人蔘과 美國人蔘의 差異는 다만 ginsenoside Rg群이라 했다. 卽 高麗人蔘의 경우에는 多量의 ginsenoside Rg₁이 含有되어 있고 ginsenoside Rg₃는 少量이며 한편 美國人蔘의 경우에는 ginsenoside Rg₁이 少量이고 ginsenoside Rg₃는 多量 存在한다고 報告하였다. Fig. 1에서 볼 수 있듯이 ginsenoside Rg₃는 存在하지 않는다. 그리고 ginsenoside Rg₂ (panaquilin G-2)만이 美國人蔘에 存在함을 알 수 있다.

7월에 採集된 2年生 美國人蔘 莖部는 9월에 採集된 것보다 panaquilin B 含量이 더 많다 (Table II). panaquilin B는 一般적으로 根部에서 많이 發見된다. panaquilin C는 地下部인 根에서 보다 地上部인 葉이나 莖에 보다 많이 存在한다.

panaquilin (d)는 根部에는 存在하지 않으며 4年生에 있어서는 莖보다 葉에 많이 存在한다. panaquilin D는 根部에서 發見되는 人蔘사포닌으로 地上部에서도 가끔 發見되나 확실히 않다. panaquilin E와 panaquilin G-2는 採集 時期에 關係없이 植物 어느 部位에서나 관찰할 수 있으며 panaquilin G-2는 根에서 보다 地上部에 많이 存在한다. panaquilin G-1은 2年生 地上部(7月 採集)에 는 存在하지 않고 大部分은 根에 存在하는 것으로 되어 있다.

柴田等¹⁷⁾의 發表에 依하면 ginsenoside Ro는 oleanolic acid, ginsenosides Ra~R(f)는 panaxadiol系, ginsenoside Rg群은 panaxatriol系를 非糖體로 하는 사포닌이라 고 했다. SS-A (Fig. 1)에서 보듯이 ginsenoside Ro는 存在하지 않는다. 또한 ginsenosides R(f), Rg₂, Rg₃는 artifacts로 思料된다. ELYAKOV等^{20,21)}에 依하면 panaxosides A~C는 panaxatriol系, panaxosides D~F는 panaxadiol系를 非糖體로 하는 사포닌들이라 했다. panaxadiol 및 panaxatriol은 各己 20(S)-protopanaxadiol 및 20(S)-protopanaxatriol의 artifact라 報告된 바 있다^{22,23)}.

panaquilins B와 C는 panaxadiol系, panaquilin D는 oleanolic acid, panaquilin E는 panaxadiol과 panaxatriol系, panaquilin G-1은 panaxatriol系를 非糖體로 하는 사포닌으로 알려져 있다.

3) 2次元 薄層 크로마토그래피

2次元 TLC는 plate를 SS-B에서 2회 그리고 SS-A에서 1회 展開시킴으로써 製造되어 졌다. silica gel PF-

Table II. One-dimensional Thin-layer Chromatography of American Ginseng Plant Saponins*.

Plant Material**	Panaquilins***						
	B	C	(d)	D	E	G-1	G-2
<u>Two-year-old</u>							
JIL	+	+++ +	+	-	+++	+	+ +
JIS	+ + +	+++	+++	-	+	-	+++
JIR	+ + +	+	-	+	+ + +	+	+
SpL	+	+ + +	+	+	+++	+	+ +
SpS	+	+ +	+	-	+ + + +	-	+ +
SpR	+++	+	-	+	+ + +	+	+
<u>Four-year-old</u>							
JIL	+ + + +	+++	+ + +	-	+	-	+
JIS	+	+ +	+	+	+ + +	-	+++
JIF	+	+ + + +	-	-	+++	-	+++
JIR	+ + +	+	-	+	+ + +	+	+
SpL	+ +	+ + +	+ +	-	+ + +	+	+ +
SpS	+	+ +	+	+	+ + +	+	+ +
SpR	+ + +	+	-	+	+ + +	+	+

* Silica gel plates developed in solvent system-B (chloroform: methanol: distilled water; 65 : 35 : 10, lower layer), and detected with ceric sulfate solution spray. The symbols (+ + +, + +, +, + + +, + +, +) approximate the surface area observed after spraying.

** JI-July collection; Sp-September collection; L-leaf; S-stem; F-fruit; R-root.

*** The panaquilin genins are: B and C-panaxadiol; D-oleanolic acid; E-both panaxadiol and panaxatriol; G-1-panaxatriol; (d) and G-2-unknown.

254는 silica gel G나 H보다 spot들이 明確히 나타나고 또한 ceric sulfate용액 분무는 10~50% 黃酸溶液에 比較하여 利點이 있다.

2次元 展開法에 依하여 panaquilin은 楡사리 ginsenoside와 比較할 수 있다 (Fig. 2).

panaquilins A, B, C, (c), (d), D, E-1, E-2, E-3,

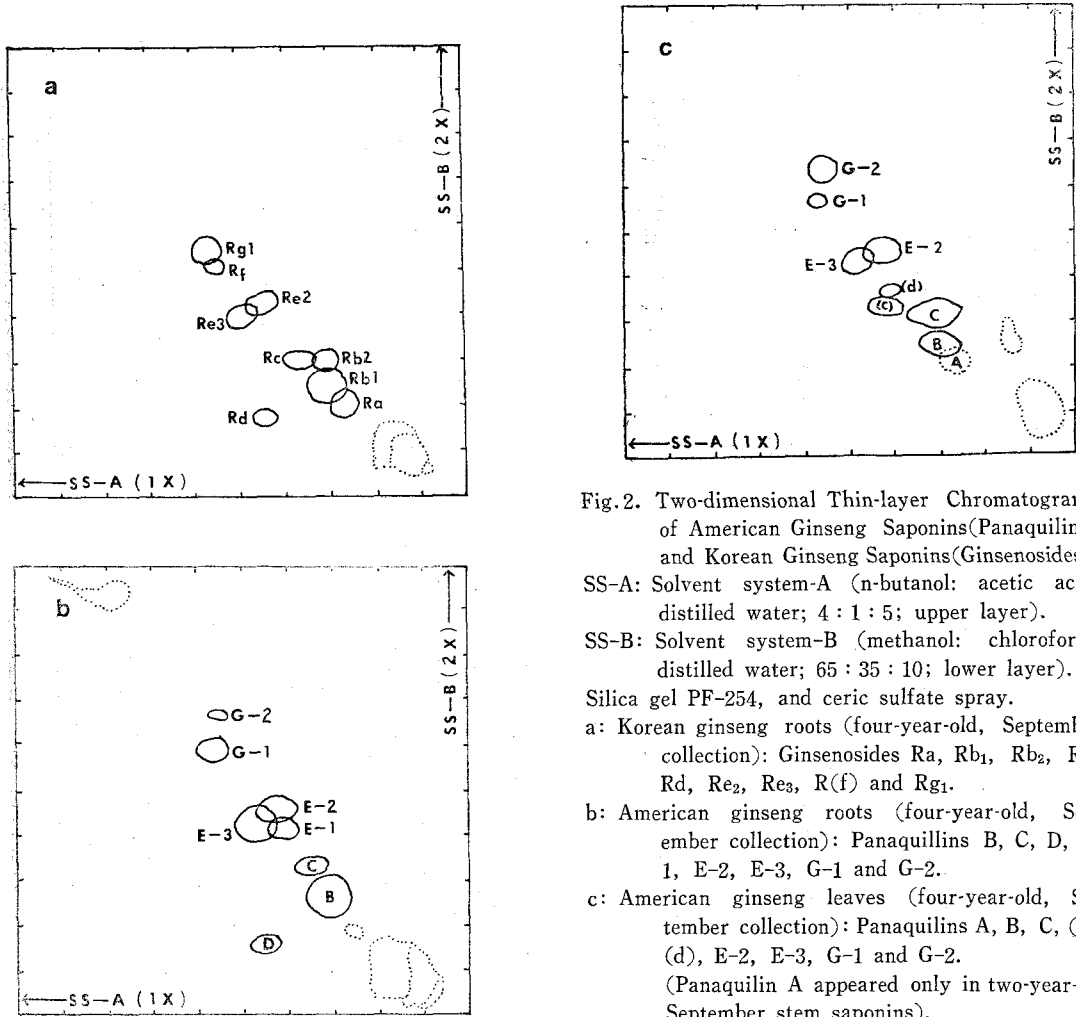


Fig. 2. Two-dimensional Thin-layer Chromatograms of American Ginseng Saponins(Panaquilins) and Korean Ginseng Saponins(Ginsenosides). SS-A: Solvent system-A (n-butanol: acetic acid: distilled water; 4 : 1 : 5; upper layer). SS-B: Solvent system-B (methanol: chloroform: distilled water; 65 : 35 : 10; lower layer). Silica gel PF-254, and ceric sulfate spray. a: Korean ginseng roots (four-year-old, September collection): Ginsenosides Ra, Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re₂, Re₃, R(f) and Rg₁. b: American ginseng roots (four-year-old, September collection): Panaquilins B, C, D, E-1, E-2, E-3, G-1 and G-2. c: American ginseng leaves (four-year-old, September collection): Panaquilins A, B, C, (c), (d), E-2, E-3, G-1 and G-2. (Panaquiline A appeared only in two-year-old September stem saponins).

G-1, G-2 등의 이름은 처음에 SS-A 그리고 다음에 SS-B 에서 Rf치가 낮은데 부터 높은 데로 붙여졌으며 그 결과 들은 柴田等¹⁷⁾이 發表한 것 들과 比較할 수가 있다.

panaquilins G-1과 G-2는 SS-B에서 分離되어 지며 panaquilins E-1, E-2와 E-3는 SS-A와 SS-B 두 용체를 使用할 때(2次元 전개)만이 分離가 可能하다. SS-B에서 panaquilins E-1과 E-3는 同一 Rf치를 가지며 panaquiline E-2는 약간 높은 Rf치를 갖는다. panaquilins E-1과 G-2는 高麗人蔘根에 그리고 ginsenosides Ra와 R(f)는 美國人蔘根에 各己 存在하지 않는다. panaquiline B와 ginsenoside Rb는 化學的으로 相異한데 panaquiline B는 單一物質이며 ginsenoside Rb는 ginsenosides Rb₁과 Rb₂로 分離되어 진다.

地上部 사포닌이라 할 수 있는 panaquilins A, (c), (d) 는 根에는 存在하지 않는다. panaquiline (c)는 SS-B에서

panaquiline C와 그리고 SS-A에서 panaquiline E-2와 同一 Rf치를 갖고 있다. panaquilins (d), E-1, E-2는 SS-A에서 panaquiline D와 同一 Rf치를 갖는다. panaquiline A는 9월에 採集된 2年生 莖部사포닌으로 ginsenoside Ra와 비슷할 것이라 思料된다.

美國人蔘사포닌 分布는 植物의 年齡, 採集 時期와 部位에 따라 多少 相異하다고 볼 수 있다(Table III). panaquilins B, C, E-2, E-2, E-3와 G-2는 人蔘植物에 一般的으로 存在하고 있다. panaquiline A는 9월에 採集된 2年生 莖部에만 그리고 panaquiline (c)는 7월에 採集된 4年生 葉 및 2年生 莖部에서만 관찰할 수 있다. panaquiline G-1은 根部에만 存在하고 例外로 9월에 採集된 4年生 葉에도 存在한다. panaquilins D, E-1, G-1 은 主로 人蔘根部에서 panaquilins (c)와 (d)는 地上部

Table III. Two-dimensional Thin-layer Chromatography of American Ginseng Plant Saponins*.

Plant Material**	Panaquilins***									
	B	C	(c)	(d)	D	E-1	E-2	E-3	G-1	G-2
<u>Two-year-old</u>										
JIL	+	+++ +	+	+	-	+	+++	+++	+	+
JIS	++ +	+	++ +	+	-	-	+	+	-	++ +
JIR	++ +	++	-	-	+	+	++	++ +	+	++
SpL	++	+++ +	-	+	-	+	+++	++	-	++ +
SpS	+++	++ +	-	+	-	-	+++	++	-	+++
SpR	++ +	+++	-	-	+	+	+++	+++	+	+
<u>Four-year-old</u>										
JIL	++ +	++	++	++	-	-	+	+	-	++
JIS	+++	++ +	-	++	-	-	++ +	+++	-	++ +
JIF	+++	+++ +	-	+	-	-	++	+++	-	+++
JIR	++ +	++	-	-	+	+	+++	+++ +	+	+
SpL	++ +	+++ +	+	+	-	-	++	+++	+	++ +
SpS	+++	++ +	-	-	-	-	++ +	+++	-	++ +
SpR	++ +	++	-	-	+	+	++	+++	+	+

* Silica gel plates developed in solvent system-B (2x) and then solvent system-A (1x), and detected with ceric sulfate spray. The symbols(++++, ++, +, +, +) approximate the surface area observed by spraying.

** JI-July collection; Sp-September collection; L-leaf; S-stem; F-fruit; R-root.

*** The panaquilin genins are: B and C-panaxadiol; D-oleanolic acid; E-1, E-2 and E-3-either panaxadiol or panaxatriol; G-1-panaxatriol; (c), (d) and G-2-unknown.

에 存在하며 그리고 panaquilins C와 G-2는 根部에 比하여 地上部에 많이 含有되어 있다. panaquilins E-1, E-2와 E-3, panaquilins (c)와 (d), ginsenosides Re₂와 Re₃, ginsenosides Rb₁과 Rb₂는 1次元 전개법으로는 確

認할 수 없으며 또한 panaquilins D와 G-1, ginsenoside Rd는 가끔 1次元 전개법으로는 그릇 해석하기 쉽다.

4) 美國人蔘根部 사포닌의 單離
methanol-2로 부터 panaquilin 混合物(fractions 1~6)

Table IV. Isolation of Panaquilins by Preparative Thin-layer Chromatography*.

Fraction	Rf-value	Crude Saponin (mg)	Panaquilin	Purified Saponin (mg)	M.P.**
1	0.14	1,320	D	56	162~165
2	0.23	800	B	315	193~195
3	0.30	270	C	83	152~154
4	0.41	460	E	276	184~188
5	0.55	70	G-1	26	152~155
6	0.63	60	G-2	15	150~152
Total	—	2,980	—	771	—

* Extraction from methanol extract-2 (5g) of American ginseng roots (four-year-old, September collection).

Solvent system-A was used to isolate panaquilin D, and solvent system-B for all other panaquilins.

** M.P.-Melting point, degrees centigrade, uncorrected.

을 SS-B에서 1次元 preparative TLC로 分離했다(Table IV). 精製된 사포닌(panaquilins) %는 17.4% (771mg 순수한 사포닌과 98mg 사포닌 混合物) (엑기스에 對한) 또는 3.13%(乾燥根에 對한)이다. 總粗사포닌 농도는 高麗人蔘根 2~4%, 尾蔘 8~13%, 地上部 8~10%, 花蕾部 6~7%, 美國人蔘根 6~7%라 報告된 바 있다^{15,16}. 分離되어진 사포닌은 LIEBERMANN-BURCHARD test에 양성이다.

2次元 전개법으로 panaquilin B를 검사했을 때 單一點을 나타내나 反面 ginsenoside Rb는 ginsenosides Rb₁과 Rb₂로 分離되어 지는 것이 豫則되어 진다 (Fig. 2).

panaquilins C, D, G-1, G-2는 各己 單一點을 나타낸다. panaquilin E는 panaquilins E-1, E-2, E-3로 分離되고 ginsenoside Re는 ginsenosides Re₂와 Re₃로 分離된다. 이런 panaquilin E는 SS-A로나 또는 SS-B로 panaquilins E-1, E-2, E-3를 單離하기는 現在론 不可能하다. 單離되어진 panaquilin D 分割은 saccharide 불순물이 들어 있고 다시 TLC용제 SS-A를 使用했을 때 정제가 可能하다. 尙今까지 쓰련인들은 oleanolic acid를 含有한 사포닌 panaquilin D 같은 것을 單離했다고 報告한 바 없으며 最近에야 柴田等³⁾은 ginsenoside Ro를 分離 證明하였다. 이런 諸般 data를 정리하여 panaquilins, ginsenosides 그리고 panaxosides의 類似性을 Table V에 제시 하였다.

5) 美國人蔘사포닌의 非糖體成分 分離

methanol-2를 酸加水分解하여 preparative TLC로 分離했을때 panaxadiol 17.3%, panaxatriol 0.44%, oleanolic acid 0.28%이다. panaxadiol과 panaxatriol의 比는 6.5 : 1 (column chromatography) 또는 40 : 1 (preparative chromatography)이다. oleanolic acid (panaquilin D 非糖體)는 美國人蔘에서는 根部에만 存在하고 地上

Table V. Suggested Similarity of Panaquilins, Ginsenosides and Panaxosides Isolated from American and Korean Ginseng Roots.

American Roots	Korean Roots		
Panaquilin*	Ginsenoside*	Ginsenoside**	Panaxoside***
—	—	Ro	—
—	Ra	Ra	F
B	Rb ₁ , Rb ₂	Rb ₁ , Rb ₂	E
C	Rc	Rc	D
D	Rd	Rd	—
E-1	—	—	—
E-2	Re ₂	Rd	C
E-3	Re ₃	Re	B
—	Rf	R(f)	—
G-1	Rg ₁	Rg ₁	A
G-2	—	Rg ₂	—
—	—	Rg ₃	—
—	—	Rh ₁	—
—	—	Rh ₂	—

* From this study. American and Korean ginseng root saponins examined by two-dimensional thin-layer chromatography (Fig. 2 a, b).

** By SHIBATA *et al.* ¹⁹⁾. Korean ginseng root saponins identified by one-dimensional thin-layer chromatography.

*** By ELYAKOV *et al.* ¹⁸⁾. Korean ginseng root saponins identified by one-dimensional thin-layer chromatography.

部에는 存在하지 않는다. 日本人들에 依하면 oleanolic acid는 高麗人蔘에 있어서 根部 및 地上部에 存在한다고 報告한 바 있다¹⁶⁾. 其他 人蔘들 即 *Panax japonicus* 및 Himalayan種 *Panax pseudo-ginseng* 에는 oleanolic acid

가 大量, panaxadiol이 少量 存在한다고 報告한 바 있다²⁴⁻²⁷.

6) 사포닌의 赤外線 스펙트라

panaquilin C는 1,720 cm^{-1} 에서, panaquilin D는 1,680 cm^{-1} 에서 各己 carbonyl group의 吸收帶가 나타났다. panaquilin C는 panaxadiol을 非糖體로 하는 사포닌이므로 糖에 carbonyl group 存在가 可能하고 panaquilin D는 oleanolic acid를 非糖體로 하기 때문에 糖과 非糖體의 carbonyl group이라 豫見된다.

7) 개스리퀴드 크로메토그래피

panaquilins B와 C는 panaxadiol, panaquilin D는 oleanolic acid, panaquilin G-1은 panaxatriol系를 非糖體로 하는 사포닌들임을 GLC로 立證했다. panaquilin E는 panaquilins E-1, E-2, E-3의 混合物이며 panaxadiol과 panaxatriol系를 非糖體로 하고 있다 panaquilin G-2는 未知非糖體를 갖고 있으며 地上部사포닌들인 panaquilins A, (c), (d)는 分離를 試圖하지 않았으며 아울러 그 非糖體들도 究明하지 않았다. panaquilin E의 panaxadiol/panaxatriol의 比는 大略 1:2이다. 이런 panaquilin들의 加水分解物들은 또한 TLC로 立證했다.

에틸 엑기스 10g으로부터 β -sitosterol 82mg를 column chromatography로 分離했다. 分離한 β -sitosterol은 m.p., 및 IR, TLC, Rf-치 등 표준품과 일치했다. 그러나 β -sitosterol은 GLC로 檢査했을 때 1:3 비율의 stigmasterol과 β -sitosterol 및 2種의 미량 未知成分들로 構成되어 있음을 알았다.

결 론

1. 美國人蔘사포닌들은 panaquilin이라 改名했으며 panaquilins A, B, C, D, E-1, E-2, E-3, G-1, G-2, (c) 및 (d)로 構成되었다.

2. 1次元 박층 크로메토그래피로는 人蔘사포닌들을 完全히 分離하기가 不可能하며 또한 그릇 解釋하기가 쉽다.

3. 人蔘사포닌들은 2次元 전개법에 依하여 命名되고 分離, 確認하였다.

4. 美國人蔘사포닌 (panaquilins)과 高麗人蔘사포닌 (ginsenosides)은 多少 相異하다. panaquilins E-1과 G-2는 高麗人蔘에 缺如되었고 ginsenosides Ra와 R(f)는 美國人蔘에 缺如되었다. panaquilin B와 ginsenoside Rb는 化學的 性狀이 틀리다. 即 panaquilin B는 TLC上에서 單一物質이며 ginsenoside Rb는 ginsenosides Rb₁과

Rb₂로 分離되어 지는 混合物이다. panaquilin G-1은 ginsenoside Rg₁ (panaxoside A)과 同一物이라 간주되어 진다.

5. 美國人蔘사포닌들은 植物의 年令, 採集時期 또는 植物 部位에 따라 多少 그 含量의 變化가 있다. panaquilins B, C, E-2, E-3와 G-2는 別 差異를 인정할 수 없다. panaquilins D, E-1과 G-1은 主로 根部에 存在하고 panaquilins (c)와 (d)는 地上部에, panaquilins C와 G-2는 根部에 比하여 地上部에 含量이 많다.

panaquilin A는 9월에 採集된 2年生 莖部에만 發見할 수 있고 panaquilin (c)는 4年生 葉 및 7월에 採集된 2年生 葉 및 莖部에 存在된다. panaquilin G-1은 根部와 9월에 採集된 4年生 葉에 存在한다.

6. 사포닌의 非糖體成分들로는 panaxadiol系 (panaquilins B와 C), oleanolic acid (panaquilin D)와 panaxadiol (panaquilin G-1)系들이다. panaquilins E-1, E-2, E-3 混合物들은 panaxadiol과 panaxatriol系 非糖體를 含有한다. panaquilins A, (c), (d)와 G-2는 이들의 非糖體를 確認하지 않았다. 其外 β -sitosterol과 stigmasterol을 美國人蔘根으로 부터 確認하였다.

7. 美國人蔘사포닌들의 非糖體分佈는 植物部位에 따라 틀리다. panaxadiol은 地上部와 根部에 含量이 많고 oleanolic acid는 根部에만, panaxatriol은 根部 및 9월에 採集된 4年生 葉에만 存在한다.

本 研究를 協助해 주시고 격려해 주신 E. Fromm 氏에게 감사드립니다.

<1973년 11월 1일 접수>

문 헌

- 1) STABA, E.J. and J.Y. KIM: *Kor. J. Pharmacog.* 2, 65 (1971).
- 2) NAMBA, T., YOSHIZAKI, M., TOMIMORI, T., KOBASHI, K., MITSUI, K. and J. HASE: *Yakugaku Zasshi* 94, 252 (1974).
- 3) SANADA, S., KONDO, N., SHOJI, J., TANAKA, O. and S. SHIBATA: *Chem. Pharm. Bull.* 22, 421 (1974).
- 4) JHANG, J.J., STABA, E.J. and J.Y. KIM: *In Vitro* 9, 253 (1974).
- 5) WROBEL, J.T. et. al: *Thuszczce Srodki Piorace Kosmet.* 17, 63(1973).
- 6) BREKHMAN, I.I. and I.V. DARDYMOV: *Ann. Rev. Pharmacol.* 9, 419 (1969).

- 7) TAKAGI, K., SAITO, H. and H. NABATA: *Jap. J. Pharmacol.* **22**, 245 (1972).
- 8) KIM, E.C., CHO, H.Y. and J.M. KIM: *Kor. J. Pharmacog.* **2**, 23 (1971).
- 9) PETKOV, W.: *Pharm. Ztg.* **113**, 1281 (1968).
- 10) GARRIQUES, S.S.: *Ann. Chem. Pharm.* **90**, 231, (1854).
- 11) WONG, Y.C.: *Amer. J. Pharm. Ass., June 1921*, 431 (1921).
- 12) MIN, P.K.: *Keijo J. Medicine* **1**, 703 (1930).
- 13) SHIBATA, S.: *Tampakushitsu, Kakusan, Kosa* **12**, 32 (1967).
- 14) FUJITA, M., ITOKAWA, H. and S. SHIBATA: *Yakugaku Zasshi* **82**, 1634 (1962).
- 15) ANDO, T., TANAKA, O. and S. SHIBATA: *Shoyakugaku Zasshi* **25**, 28 (1971).
- 16) MANKI, T. and T. TOMIMORI: *Shoyakugaku Zasshi* **21**, 21 (1966).
- 17) SHIBATA, S., ANDO, T., TANAKA, O., MEGURO, Y., SOMA, K. and Y. IIDA: *Yakugaku Zasshi* **85**, 753 (1965).
- 18) UVAROVA, N.I., FERENS, N.A., SHAPOSHNIKOVA, G.I. and G.B. ELYAKOV: *Khim. Prir. Soedin.* **6**, 312 (1970).
- 19) SHIBATA, S., TANAKA, O., ANDO, T., SADO, M., TSUSHIMA, S. and T. OSHAWA: *Chem. Pharm. Bull.* **14**, 595 (1966).
- 20) ELYAKOV, G.B.: *The 11th Pacific Science Congress (Abstracts)*, Tokyo, **8**, 10(1966).
- 21) ELYAKOV, G.B., et al.: *Tetrahedron Lett.* No.48, 3591 (1964).
- 22) NAGAI, M., TANAKA, O. and S. SHIBATA: *Tetrahedron* **27**, 881 (1971).
- 23) NAGAI, M., et al.: *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 1212 (1972).
- 24) KONDO, N. and J. SHOJI: *Yakugaku Zasshi* **88**, 325 (1968).
- 25) KONDO, N., SHOJI, J., NAGUMO, N. and N. KOMATSU: *Yakugaku Zasshi* **89**, 846 (1969).
- 26) KONDO, N., AOKI, K., OGAWA, H., KASAI, R. and J. SHOJI: *Chem. Pharm. Bull.* **18**, 1558 (1970).
- 27) KONDO, N., SHOJI, J. and O. TANAKA: *Chem. Pharm. Bull.* **21**, 2702 (1973).