

사포닌(saponin)의 正体

崔 鎮 浩

〈韓國人蔘煙草研究所 先任研究員〉

③ 胡柴(Bupleuri Radix)

「神農本草經」의 上品에 「菀胡」라는 原名으로 미나리科(Umbelliferae)에 속하는 多年生草本으로서 柴胡의 成分으로서 脂肪油가 2%, stearic acid, oleic acid, linoleic acid 및 linolic acid 등이 있고 糖으로서는 adonitol등이 있다. 또 사포닌으로서 saikosaponin a, b₁, b₂, b₃, b₄, c, d 및 이에 대응하는 sapogenin으로서 saikogenin E.F.G 등이 알려져 있다. sterol成分으로서도 α -spinasterol(약 70%), stigmasterol, Δ^7 -stigmasterol, Δ^{22} -stigmasterol 등이 確認되었다(Fig. 4 參照)

또 藥理作用으로는 體溫降下作用이 있고 解熱, 解毒, 鎮痛, 消炎作用이 있으며 특히 發汗解熱劑로 알려져 있다.

④ 甘草(Glycyrrhizae Radix)

甘草는 「名醫別錄」에 「國老」라 하였는데 이는 「帝王의 스승」이란 말로서 「藥方의 甘草」의 意味를 갖고 있어 漢方處方に 꼭 必要하다는 뜻으로 解釋된다. 甘草는 콩科(Leguminosae)로서 主成分은 triterpenoid의 oleanane系 사포닌인 glycyrrhizin (glycyrrhizic acid)으로

4~12%를 含有하고 蔗糖의 150倍의 甘味를 갖고 있으며 酸加水分解에 의하여 glycyrrhetic acid(I)과 2分子의 glucuronic acid를 生成한다. glycyrrhiza屬에서 얻은 sapogenin이며 化學構造가 決定된 것은 전부 15종이나 된다(Fig. 5 參照)

⑤ 桔梗(platycodi Radix)

「神農本草經」에 收錄된 초롱꽃科(companulaceae)로 보통 도라지라고 하며 多年生の 뿌리를 使用한다. 桔梗의 뿌리에는 약 2%의 triterpenoid의 oleanane系사포닌인 platycodin과 0.03%의 sterol類도 含有하고 있다. sapogenin으로서 polygalacic acid(I), platycodigenin(II), platycogenic acid A(III), B(IV), C(V), platycodogenin(VI)과 prosapogenin으로서 3-O- β -glucosylplatycodigenin(VII) 또 sterol類로서 α -spinasterol(VIII)외에 Δ^7 -stigmasterol(IX), α -spinasteryl- β -D-glucoside(X), betulin(XI) 등의 化學構造가 밝혀졌다. 특히 構成糖中에 D-apiose가 發見된 것이 처음이고 또 興味를 끌고 있다(Fig. 6 參照), 藥理作用으로는 祛痰, 鎮咳, 消化器潰瘍의 豫防과 治療促進 등의 藥用으로 利用되는 이외에 食用

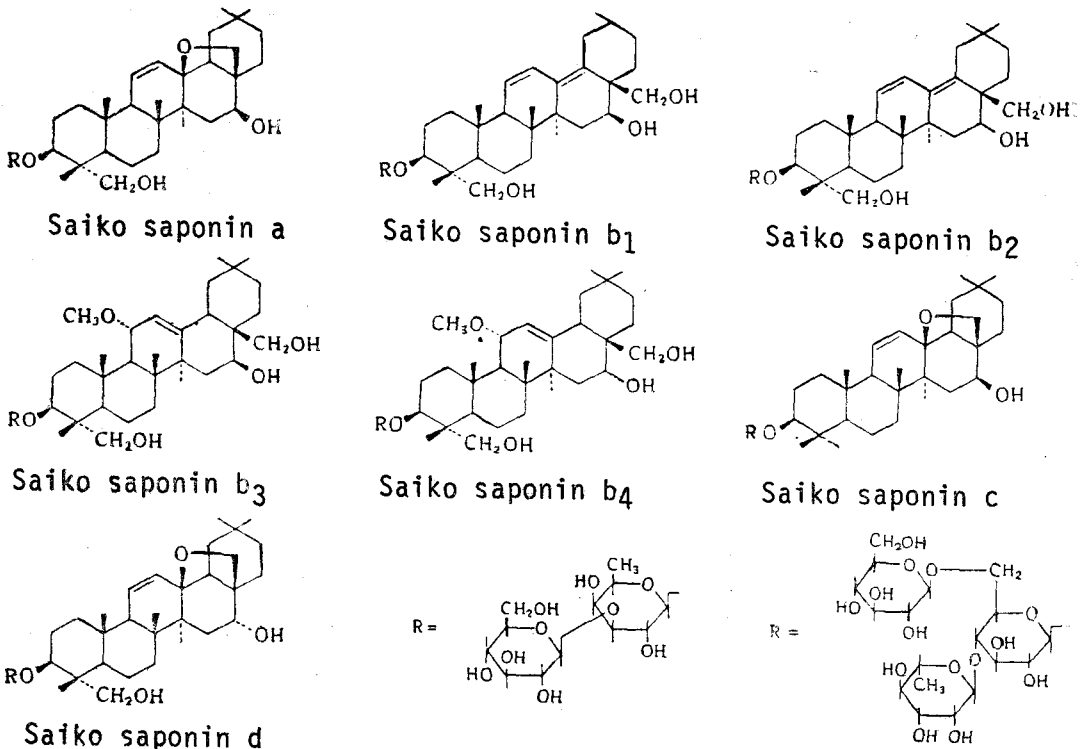


Fig. 4. Structures of saikosaponin and its sapogenin

으로도 널리 사용되고 있다.

⑥ 大豆(Glycine Max)

콩과(Leguminosae) 植物의 種子인 大豆에도 triterpenoid의 oleanane계사포닌이 있다. 따라서 大豆도 漢方에서 使用되고 있다.

「神農本草經」 및 「唐本注」에는 大豆를 發芽(1—2cm)시켜 乾燥한 것을 「黃卷」이라 하여 皮毛를 운기있게 하고 腎氣를 補하여 水腫, 利尿, 便秘에 効果가 있다고 하여 「大豆黃卷」으로 漢方에서 利用되고 있으며 옛부터 黑大豆를 많이 사용하였는데 현재는 黃大豆도 利用되고 있다.

大豆사포닌을 soyasaponin이라 하는데 우선 大豆를 粉砕하여 hexane으로 脫脂한 후 methanol로 抽出, 濃縮한 후 butanol-water(1:1)

을 가하면 isoflavone 淡黃色の 沈澱을 얻는다. 이것을 methanol로 分別再結晶하면 genistin과 daidzin이 얻어지고 butanol層을 減圧濃縮하여 少量의 methanol에 녹여 多量의 ether中에 넣으면 粗사포닌이 沈澱한다. 이것을 chloroform-methanol-water(7:3:1, 下層)을 사용, silicagel column chromatography에 의해 soyasaponin I, II, III을 單離할 수 있다(Fig. 7 參照)

(2) steroid saponin

전형적인 steroid saponin 즉 steroid 配糖體로는 dioscin(1), gracillin(2), digitonin(3), parillin, gitonin 등의 化學構造가 밝혀졌고 전부가 spirostane-3β-이 誘導體를 aglycone으로

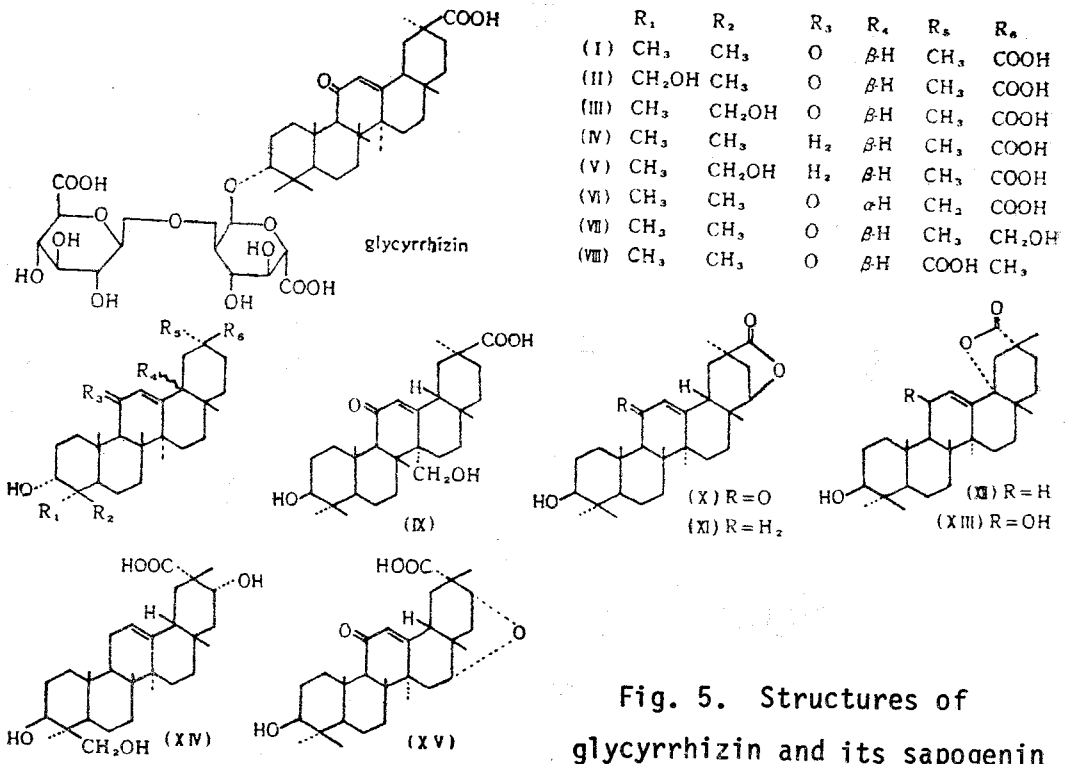


Fig. 5. Structures of glycyrrhizin and its sapogenin

하여 ① 3β-水酸基에 枝鎖 oligo糖이 結合되어 있는 것, ② 3β 이외의 水酸基과 糖이 結合된 것, ③ 2個의 糖部를 갖는 것, ④ spirostane이지만 3β 대신에 3α-水酸基를 갖는 것 ⑤ 變形 spirostane誘導體의 配糖體로 된 것 및 ⑥ 糖部가 單糖 또는 枝鎖 oligo糖인 것 등이 있다.

이중 變形 spirostane 誘導體의 配糖體로 된 것으로는 Yononin(4), avenacoside-B(5), trilenoside-A, 또 spirostane配糖體의 proto形이라고 말할 수 있는 prostanol 配糖體 protodioscin(6) 등이 發見되었다.

그 외에 pol ypodosaponin methylacetal(7), solamargine(8), solanine(9) 등 많은 steroid saponin이 있는데 몇가지만 소개하겠다. (Fig. 8 參照)

① 五加皮(Wujiapi, Acanthopanax Sessiliforum)

「神農本草經」에 強壯藥으로 收錄, 李時珍의 「本草綱目」에 「攄(葉)이 五葉交加한 것이 良好하다. 故로 五加 또는 五花라고 한다」고 하였다. 五加科(Araliaceae)로 현재까지 14種이 알려져 있고 各種 pregnane계의 steroid saponin으로 mono 및 bisdesmoside로 되어 있고 強心配糖體인 periplocin, 2,6-deoxy糖, 4-methoxy salicylaldehyde 등의 化學構造가 밝혀져 있다. Δ⁵-pregnane-3β-20α-diol로 된 pregnane steroid는 pregnenolone (steroid hormone의 生成時的 代謝中間體)의 合成原料로 기대되지만 含量이 적어 實用化되지 못하고 있다. 또 動物性 steroid가 植物에서 얻어지는 것과 pre

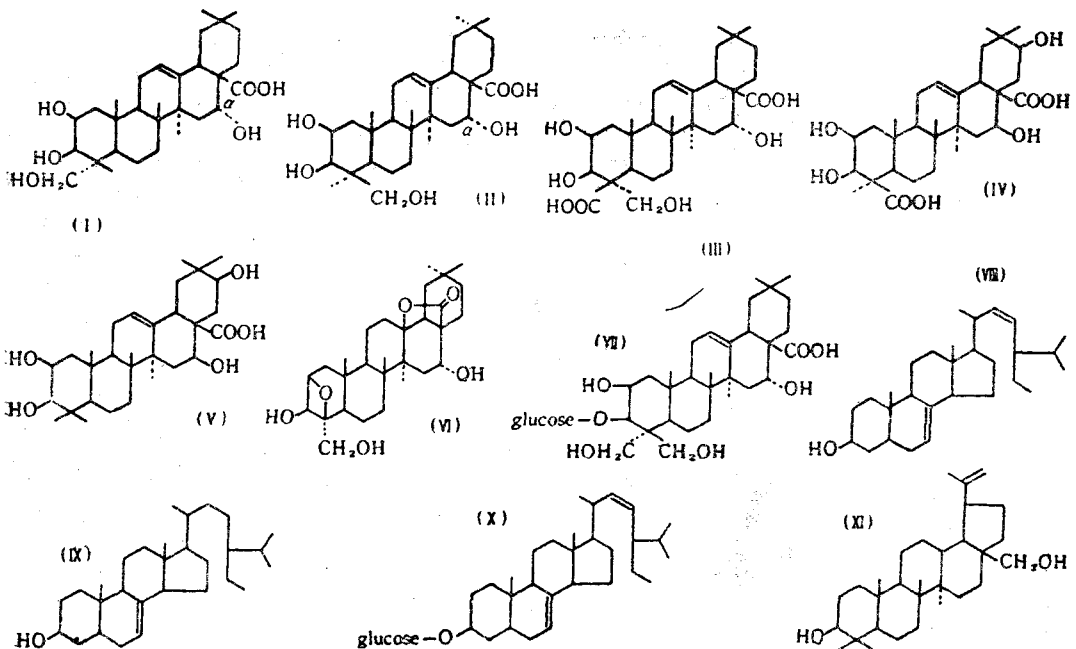


Fig. 6. Structures of sapogenin, prosapogenin and sterol of platycodi Radix

gnane glycoside와 cardiac glycoside가共存하고 있다는 사실은興味깊은 일이다.

藥理作用으로는 强壯作用이외에 抗炎症作用 鎮痛作用, adaptogen作用이 있고 강한 强心作用 殺虫作用 등이 認定되지만 毒性이 강한 것으로 알려져 있고 또 五加皮酒의 原料로 사용되기도 한다.

② 麥門冬(Ophiopogonis Tuber)

옛날부터 滋養祛痰藥으로 사용되었고 나리科(Liliaceae)에 속하는 多年草로 粘骨性消炎, 强壯鎮咳作用이 있는 것으로 알려져 있다.

最近 steroid saponin 成分으로 ophiopogonin A, B, C, D, B', C', D'를 單離, 構造決定을 했고 ophiopogonin A~D는 ruscogenin, B'~D'는 diosgenin에서 만들어지는 사포닌으로 A, B', C는 monoacetate로 되어 있다. 또 ophiopogonin A~D는 steroid核의 C-1位水酸基에 糖鎖를 가지고 있는 것이 化學構造上 特異한 것이다. (Fig. 9 參照)

gonin A~D는 steroid核의 C-1位水酸基에 糖鎖를 가지고 있는 것이 化學構造上 特異한 것이다. (Fig. 9 參照)

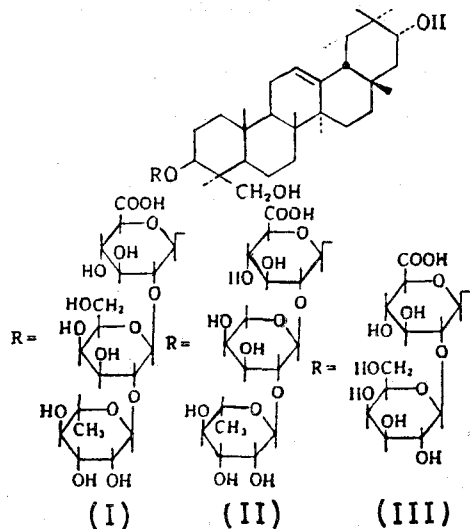


Fig.7. Structures of soyasaponin

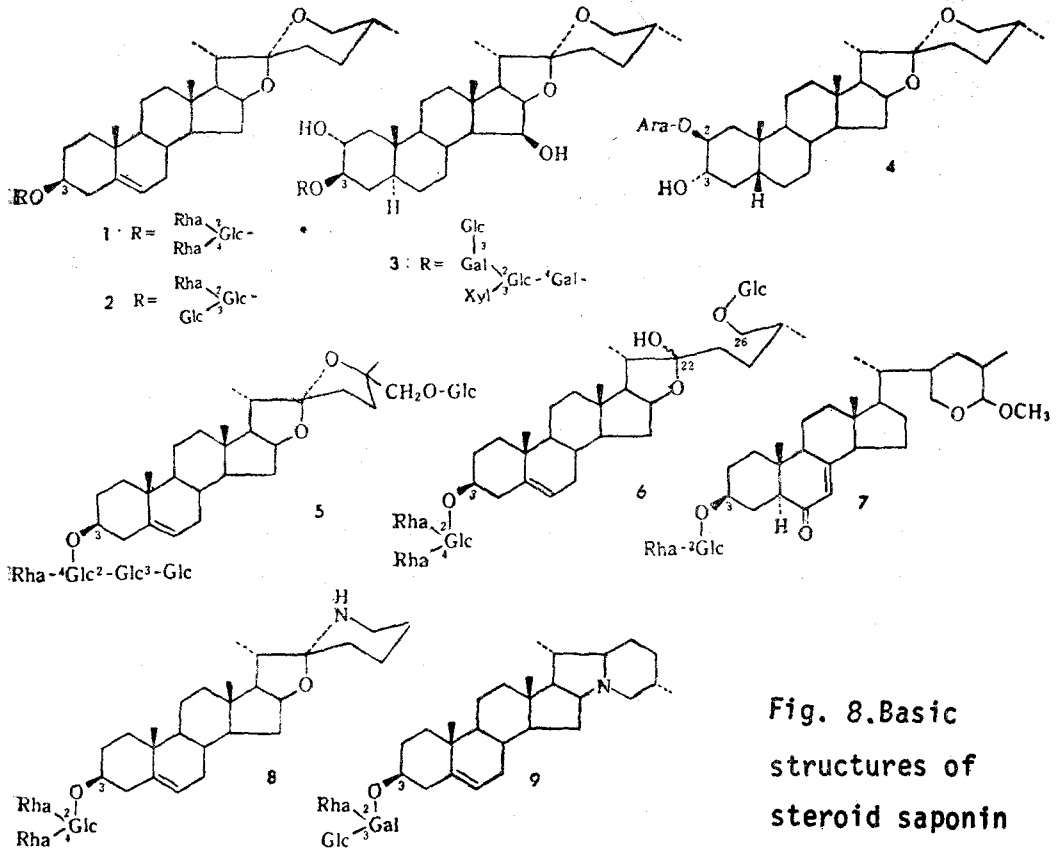


Fig. 8. Basic structures of steroid saponin

③ 天門冬(Asparagi Radix)

「神農本草經」上品에 「肝을 淸하고 腎을 壯하게 하고 陰을 滋하고 渴을 解하기 때문에 肺腎의 虛熱을 除去하는 藥物이라고 하였다. 天門冬은 나리科(Liliaceae)에 속하는 多年草로서 asparagine 및 粘液質을 갖고 있으며 그의 β -sitosterol, 5-methoxy-methyl furfural 등의 存在가 알려져 있다.

天門冬의 사포닌成分은 methanol extract에서 分離, Asp-IV, V, VI, VII은 어느 것인가 22-methoxy furostan 3β -26-diol의 C-3, C-26位에 糖이 結合한 steroid saponin으로 bisdesmoside인 것이 밝혀졌다.

④ 사포닌의 分離 및 精製

사포닌은 天然에 存在하는 極성이 큰 複雜한 有機化合物로 分離 및 精製가 대단히 어렵기 때문에 純粹한 사포닌의 單離에 의한 化學構造研究는 상당한 問題點을 갖고 있다. 우선 天然사포닌의 分離精製상의 문제점을 지적하면

첫째, 天然有機化合物로서 比較의 分子量 및 極성이 크며 分離 및 精製에는 TLC⁽⁷⁾, column chromatography(8-11) 및 DCC(droplet counter-current chromatography)⁽¹²⁾ 등을 利用하고 擔體와 展開溶媒의 선택 등 複雜한 過程을 거

Ginsenoside	Properties	mp (°C)	$[\alpha]_D^{25}$ (c in MeOH)	Formula	IR(KBr)cm ⁻¹
Ro	colorless needles (MeOH)	239-241	+15.33° (0.91)	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	3400(OH), 1740(COOR), 1728(COOH)
Rb ₁	white powder (EtOH-BuOH=1:1)	(197-198)	+12.42° (0.91)	C ₅₄ H ₈₂ O ₂₃	3400(OH), 1620(C=C)
Rb ₂	white powder (EtOH-BuOH=1:5)	(200-203)	+3.05° (0.98)	C ₅₃ H ₈₀ O ₂₂	3400(OH), 1620(C=C)
Rc	white powder (EtOH-BuOH=1:5)	(199-201)	+1.93° (1.03)	C ₅₃ H ₈₀ O ₂₂	3400(OH), 1620(C=C)
Rd	white powder (EtOH-AcOEt=1:1)	(206-209)	+19.38° (1.03)	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	3400(OH), 1620(C=C)
Re	colorless needles (50% EtOH)	201-203	0-1.00° (1.00)	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	3380(OH), 1620(C=C)
Rf	white powder (acetone)	(197-198)	+6.99° (1.00)	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	3380(OH), 1620(C=C)
Rg ₂	colorless needles (EtOH)	187-189	+5.00-6.00° (1.00)	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	3400(OH), 1620(C=C)

Fig. 11. The general properties of each ginsenosides

酸性사포닌을 分劃하는 경우에는 水層을 酸性으로 하여 抽出하던지 또는 이온交換樹脂를 사용하여 分劃을 할 수 있지만 이때 사포닌의 化學構造에 變化를 일으킬 可能性이 있다는 사실에 유의해야 한다.

또 crude saponin 劃分에서 非사포닌成分을 除去하는 方法으로서는 ① 알코올 溶液中에서 cholesterol 複合體를 形成하는 分劃法, ② 少量의 methanol에 溶解하여 多量의 ether 또는 acetone 中에 注入하여 沈澱시키는 方法(無極性物質의 除去), ③ 少量의 알루미늄으로 濾過하는 方法(phenol性物質, 色素類의 除去) 등이 있다. 이러한 操作은 다음의 단계에서 無色의 사포닌混合物을 分劃하기 위한 column chromatography에 의한 分離의 效率을 높일 수 있다.

(3) 사포닌混合物에서 사포닌의 單離

사포닌混合物에서 個別사포닌을 單離하는 方法으로는 調製用 TLC⁽⁷⁾, column chromatography⁽⁸⁻¹¹⁾, 液滴向流 chromatography(DCC)

法⁽¹²⁾ 등이 있고 最近 筆者 등⁽¹⁶⁻¹⁹⁾이 開發한 HPLC方法 등이 있다.

TLC 및 column chromatography의 擔體로서는 silicagel, silicic acid, alumina, cellulose 등을 사용하고 그의 sephadex도 이용된다. 이들 擔體에 대한 展開, 溶出에 사용되는 溶媒系로서는 chloroform-methanol-water, ethyl acetate-methanol-water, butanol-ethanol-water, butanol-ethyl acetate-water, butanol-ethanol-ammonia, toluene-butanol 등의 混合溶媒가 사

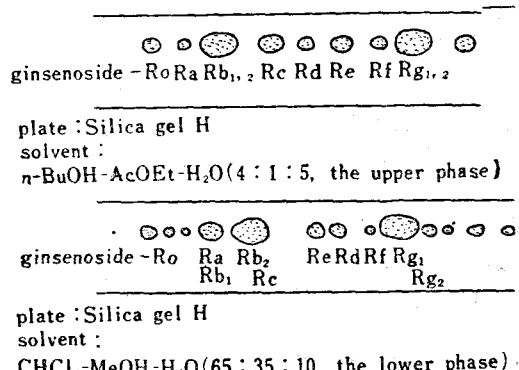


Fig.12. Thin-layer chromatograms of ginseng saponins

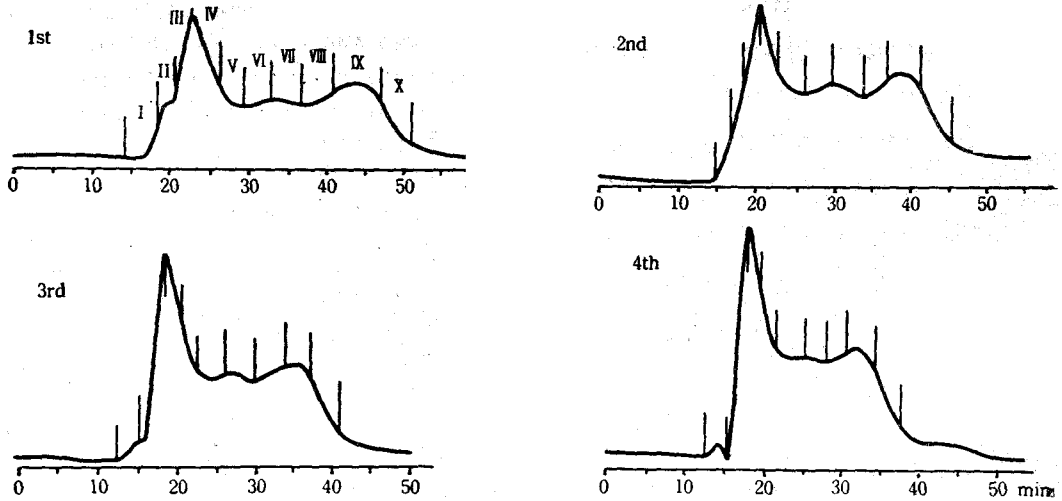


Fig. 13. Elution profile of crude ginseng saponins on Preparative HPLC

Conditions: instrument, PrepLC/System-500; column, Prep PAK-500/Silica cartridge \times 2; mobile phase, BuOH:EtOAc: H₂O = 4:1:5 (v/v, upper phase); flow rate, 50 ml/min; detector, RI detector (setting 5); sample load, 4.5 g/32 ml/injection (18 g in total).

용되고 있지만 基本的인 溶媒는 限定되어 있기 때문에 操作時에 充分히 TLC로 檢討한 후 最適條件의 溶媒選定 및 混合比를 決定해야 한다.

또한 TLC로 충분히 檢討된 溶媒系가 실제 column chromatography에 의한 分離時에 期待한 成果가 나지 않는 경우가 많다. 따라서 不斷한 努力이 필요하다. 또 column chromatography에 의한 分離時에 사포닌의 損失이 있기 때문에 한번의 column chromatography로 사포닌을 分離精製한다는 것은 不可能하고 擔體와 溶媒系를 바꾸어가면서 再 chromatography 등에 의해 能率的으로 分離하도록 해야 한다.

그러면 人蔘사포닌의 分離精製法에 대해서 간단히 說明하겠다. 우선 TLC 및 column chromatography에 의한 分離精製로 乾燥된 白蔘粉末을 hot methanol로 抽出하여 減壓下에서 濃縮한 액기스를 물에 녹여 ether로써 脫脂한

후 水層을 水飽和부탄올로 分割하여 부탄올層에 crude saponin劃分을 移시시킨후 다시 silicagel column chromatography에 의하여 chloroform-methanol-water system(65:35:10, lower phase)을 移動相으로 하여 Fig.10에서 보는 바와 같이 5個의 劃分에서 다시 column chromatography에 의해 각 ginsenoside를 分離하는데 성공했으며 이것을 다시 純度を 높이기 위해서 Fig. 11에서와 같은 再結晶溶媒에 의하여 純品 saponin의 單離에 성공했다. 이때의 각 ginsenoside의 TLC에 의한 分離는 Fig. 12와 같다.

또 筆者 등⁽¹⁶⁻²¹⁾이 日本富山醫科藥科大學 和漢藥研究所에서 HPLC를 利用하여 開發한 人蔘主成分사포닌의 大量分取法을 說明하면 우선 人蔘粉末을 常法에 따라 crude saponin을 調製한 후 移動相(mobile phase)인 n-butanol-ethyl acetate-water(4:1:5, upper phase)에 녹여 membrane filter TM-2p로 濾過하였

다. 이것을 preparative HPLC인 prep. PAK-500/silica cartridge에 適當量(4.5g/32ml/injection)을 injection하여 分割하였다(Fig. 13 參照), 分割된 各劃分을 analytical HPLC인 AL C-201을 사용, 標準品과 比較, 同定하여 ginsenoside別로 整理한 各劃分の 逆相 column인 μ -Bondapak C₁₈(7.8mmID×30cm)을 사용한 semi-preparative HPLC인 ALC-201을 利用하여 主成分사포닌인 ginsenoside -Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Re, -Rg₁을 大量으로 單離 分取하는데 成功하였다. 즉, Fr. 789에서 acetonitrile-water(81 : 19)를 移動相으로 하여 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂를 Fr.6에서 acetonitrile-water(82 : 18)을 移動相으로 하여 ginsenoside-Rb₂ 및 -Rc를 Fr. 5에서 acetonitrile-water(82 : 18)을 移動相으로 하여 ginsenoside-Rc를 Fr. 4에서 acetonitrile-water(83 : 17)을 移動相으로 하여 ginsenoside-Rc 및 -Rd를, Fr. 23에서 acetonitrile-water(84 : 16)을 移動相으로 하여 ginsenoside-Rd 및 -Re를 각각 分離하였다. 또 Fr. 1에서 acetonitrile-water(89 : 11)을 移動相으로 하여 다시 部分分割을 하여 分割된 Fr. 1-5에서 acetonitrile-water(86 : 14)를 移動相으로 recycle方法에 의하여 ginsenoside-Rg₁을 分離하였다.

이 實驗結果에 의하면 ginsenoside-Rb₁ 및 Rb₂는 17mg/2.0ml/injection으로 320mg/day, ginsenoside-Rc는 16mg/1.0ml/injection으로 400mg/day, ginsenoside-Rd는 10mg/0.5ml/injection으로 240mg/day, ginsenoside-Re 및 -Rg₁은 15mg/1.5ml/injection으로 320mg/day 까지 大量分取가 可能하였다.

參 考 文 獻

1. Brekhman, I.I. : *Panax ginseng*, Mediz. Lenigrad(1957)

2. Tschesche, R., Rehkämper, H. and Wulff, G. : *Liebigs Ann. Chem.*, 726, 125(1969)

3. Tschesche, R. : *化學의 領域*, 25, 571(1971)

4. Sanada, S. and Shoji, J. : *Shoyakugaku Zasshi*, 32(2), 96(1978)

5. Sanada, S. and Shoji, J. and Shibata, S. : *Yakugaku Zasshi*, 98(8), 1048(1978)

6. 難波恒雄 : *原色和漢藥圖鑑(上)*, 保育社, 4(1980)

7. Shibata, S., Tanaka, O., Ando, T., Sado, M., Tsushima, S. and Ohsawa, T. : *Chem. Pharm. Bull.*, 14, 595(1966)

8. Kondo, N., Shoji, J. and Tanaka, O. : *Chem. Pharm. Bull.*, 21, 2702(1973)

9. Sanada, S., Kondo, N., Shoji, Tanaka, O. and Shibata, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 421(1974)

10. Sanada, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 2407(1974)

11. Sanada, S. and Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, 26(6), 1694(1978)

12. Otsuka, H., Morita, Y., Ogihara, Y. and Shibata, S. : *Planta medica*, 32, 8(1977)

13. Nagai, M., Tanaka, O. and Shibata, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, 19, 2349(1971)

14. 神田博史, 田中治 : *藥學會誌*, 95, 246(1975)

15. Yosioka, I., Sugawara, T., Imai, K. and Kitagawa, I. : *Chem. Pharm. Bull.*, 20, 2418(1972)

16. Choi, J.H., Nagasawa, T., Oura, H. and Bae, H.W. : *The 3rd International Ginseng Symposium*, (Seoul) Sept. 8-10 (1980)

17. 崔鎮浩, 金友政, 裴孝元, 吳成基, 大浦彥吉 : *韓國農化學會誌*, 23(4) 199 (1980)

18. 崔鎮浩, 金友政, 洪淳根, 吳成基, 大浦彥吉 : *韓國農化學會誌*, 23(4), 206(1980)

19. 崔鎮浩, 金友政, 洪淳根, 吳成基, 大浦彥吉 : *韓國食品科學會誌*, 13(1), 57(1981)

20. Nagasawa, T., Choi, J.H., Nishino, Y. and Oura, H. : *Chem. Pharm. Bull.*, 28(12), 3701(1980)

21. Choi, J.H., Nagasawa, T., Nishino, Y. and Oura, H. : *The 100th Annual Meeting of pharmaceutical Society of Japan*, Tokyo, Apr. 2-5(1980)