

## 벤젠 에틸렌 수지 흡착에 의한 인삼의 Panaxadiol과 Panaxatriol의 신속한 분리

김친석\*, 정승일<sup>1</sup>, 이용구<sup>2</sup>

\*한국인삼연구연구원, <sup>1</sup>원광대학교 자연과학대학 화학과, <sup>2</sup>한국화학연구소  
(1998년 8월 12일 접수)

### A Rapid Separation of an Edible Panaxadiol and Panaxatriol in Ginseng Saponins by Benzene Ethylene Resin Adsorption

Cheon Suk Kim\*, Seung Il Jeong<sup>1</sup> and Yong Gu Lee<sup>2</sup>

\*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejeon 305-345, Korea

<sup>1</sup>Department of Chemistry Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

<sup>2</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-600, Korea

(Received August 12, 1998)

**Abstract :** A rapid separation of an edible panaxadiol (PD) and panaxatriol (PT) in ginseng saponins has been investigated by benzene ethylene resin adsorption method. Briefly, powdered red ginseng was extracted with water. The obtained ginseng extract were dissolved in suitable volume of distilled water, and adsorbed on the benzene ethylene resin with 200 folds water of the resin weight. Sugars and hydrophilic character compounds not absorbed were washed with water, and eliminated by 10 folds water of the resin weight. An edible panaxadiol and panaxatriol can be perfectly separated from ginseng saponins with the fractions below 40% aqueous ethanol and over 45% as an eluent.

**Key words :** Benzene ethylene resin, panaxadiol, panaxatriol, separation.

## 서 론

인삼은 고유의 생약으로 민간 또는 한방에서 효능을 인정 받아 왔다. 인삼에 대한 약리적 효능이 과학적으로 입증되고 있으며, 인삼은 약용뿐만 아니라 최근에는 기능성 식품으로도 널리 이용되고 있어 그 기호에 따라 인삼차, 인삼정, 인삼엑기스, 인삼 음료, 인삼주, 인삼 과자 등의 다양한 형태로 제조되어 국내 외에 알려지면서 우리 나라의 특산물로 확고한 자리를 잡고 있다. 한편 인삼에 대한 다양하고 광범위한 보고가 있었으며, 항암<sup>1,2)</sup> 항통증<sup>3,4)</sup> 항당뇨<sup>7-10)</sup> 간 기능 항진 효능<sup>11,12)</sup> 항혈전<sup>13,14)</sup> 항염증<sup>15,16)</sup> 등에 대한 효과가 관심을 보였다. 이러한 약리 작용은 사포닌의 각진 스테노사이드마다 특성을 가지고 있으며, 특히 세포

내 유해 산소제거효소(superoxide dismutase :SOD)의 함량을 증가시키는데는 panaxadiol(PD)계열(Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd 등)이 좋은 효과<sup>17,18)</sup>를 나타내며, 학습 활동 및 기억력을 증진에는 panaxatriol(PT)계열(Re, Rf, Rg<sub>1</sub> 등)이 효능이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>19,20)</sup> 이와같이 인삼사포닌의 종류별 효능의 차이에 따라 사포닌의 분리에 대해서도 기존의 방법과 다른, 경제적으로 다량을 종류별로 분리할 수 있는 방법을 개발하여 필요한 효능에 따라 종류별로 구분하여 사용함이 필요한 실정이다. 사포닌화합물의 추출은 지금까지 알려진 Ando<sup>21)</sup> 등의 방법인 80% 메탄올로 추출하여 메탄올 엑스를 얻은 다음 탈지의 목적으로 에테르, 페트롤니움에테르, n-헥산 등을 사용하였고, 또한 사포닌 분획시 수포화 1-부탄올, 클로로포름, 메탄올

등의 유해한 용매를 사용하므로 이와같은 방법으로 제조된 사포닌의 경우 식용 또는 약용으로 이용하는 것이 부적합하다. 따라서 본 연구에서는 식용으로 가능한 PT와 PD의 사포닌을 신속하게 대량으로 분리 제조하기 위하여 부탄올, 클로로포름, 메탄올 등의 유해한 용매로 컬럼에 전개시키는 제조방법과 달리 벤젠 에틸렌 수지흡착과, 농도별 에탄올 수용액을 사용하여 흡탈착법으로 인삼중 PT의 주종인 Rg<sub>1</sub>과 Re의 진센노사이드와 PD의 주종인 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub> 그리고 Rd의 진센노사이드 등을 선택적으로 용출시켜 분리 함으로서 식용 또는 약용으로 이용할 수 있는 PT와 PD의 사포닌을 분리시켜 인삼 제품 개발 및 임상 실험 등의 수준에까지 이용될 분리제조방법을 개발하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### (1) 시료

본 실험에 사용된 인삼 시료는 전북 인삼 협동조합(전북 진안 소재) 조합원이 재배한 6년근 인삼을 한 국인삼연초연구원에서 홍삼으로 제조하여 보관하면서 분말로 하여 추출시료로 사용하였다. 홍삼 추출물은 시료무게의 10배에 해당하는 양의 물을 가하여 추출하였으며, 추출농축과정 중 사포닌의 분해를 억제하기 위하여 중탄산소다를 첨가<sup>22)</sup>한 후 8시간 환류시켜 5회 반복 추출한 후 분석하였다.

### 2. 시약 및 기기

추출 및 분리에 사용한 ethanol 용매는 특급 시약, 사포닌 분리를 위한 흡착 수지는 benzene ethylene resin(Mitsubishi Kasei, Japan, 2.8×20 cm)를 사용하였으며, HPLC 용매인 acetonitrile는 Merck제 chromatography용 gradient급을 사용하였다. 한편 식용 사포닌을 제조하는데 사용된 주정(에탄올)은 국세청으로부터 할당받아 사용하였다. 분리된 PD와 PT를 분석 확인하기 위하여 사용한 고속 액체 크로마토그래프(HPLC)의 구성은 Waters 510 HPLC 펌프 2대를 Automated Gradient controller\*(Millipore Waters)에 연결하여 8% acetonitrile과 100% acetonitrile을 용매의 비율을 변화시키면서 전개하였으며, 검출기는 Waters 484 UV 검출기, HPLC의 컬럼은 Nova-Pak<sup>®</sup>C<sub>18</sub>(Waters 3.9×150 mm, 5 μm)을 사용하였다.

### 3. 실험 방법

#### (1) 총사포닌의 흡착

본 실험에 사용한 홍삼 추출물은 50배의 물로 희석하여 수지에 흡착 시료로 사용하였다. 시료별 사포닌이 다르므로 함량은 목적 원료 조사포닌량에 기준하여 조사포닌 양의 200배(v/w)에 해당하는 벤젠에틸렌 수지를 물 및 에탄올로 세척한 후, 인삼 추출물을 주입하여 서서히 통과시킴으로써 사포닌을 흡착시켰다.

#### (2) 총사포닌이 흡착된 벤젠 에틸렌 수지로부터 PD와 PT의 분리

벤젠에틸렌수지에 흡착된 조사포닌 등 극성이 낮은 유기물 이외 유리당 등 극성이 큰 화합물은 수지

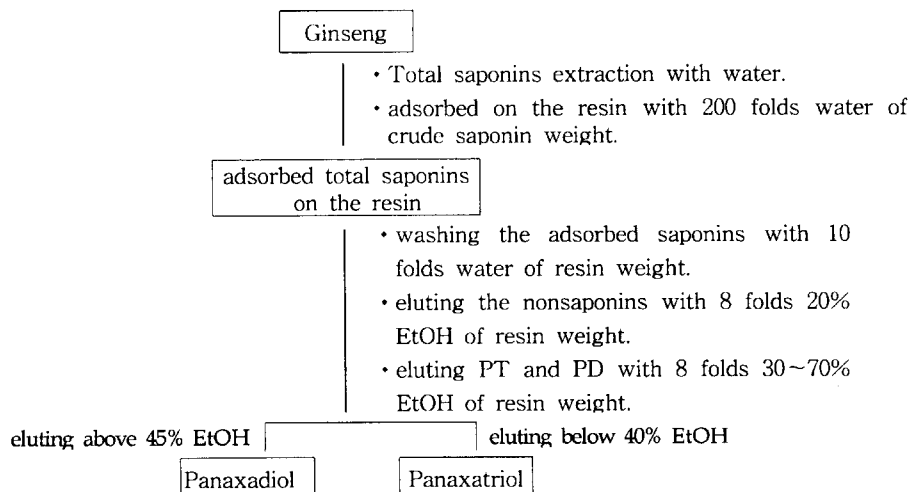


Fig. 1. Schematic representation of separation procedure for edible saponine from Ginseng.

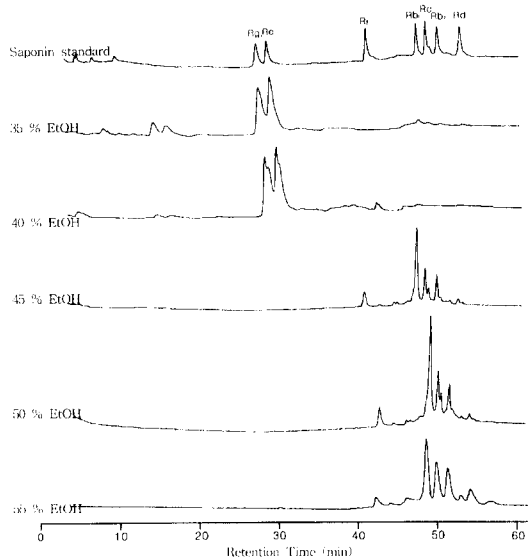
무게 10배(v/w)에 해당하는 증류수로 60 ml/min로 용출시켜 제거하였으며, 사포닌보다 극성이 약간 큰 비사포닌 성분을 제거하기 위해 수지 무게 8배 양의 20% 에탄올로 같은 속도로 세척하였다. 흡착된 총사포닌 중에 PD와 PT를 분리하기 위해 수지 무게 8배(v/w)로 30~70% 에탄올수용액을 5%간격으로 에탄올 농도를 변화시키면서 30 ml/min로 용출시켜 PD와 PT를 분리하였다(Fig. 1).

### (3) 총사포닌이 흡착된 수지의 에탄올 수용액에서 분리된 PD와 PT의 회수율 분석

한국인삼연구원에서 제조된 표준품 사포닌 성분의 무게를 측정하여 함께 혼합하여 일정량의 증류수에 녹인 후 표준용액으로 사용하였다. 표준용액을 벤젠에틸렌수지에 주입하여 흡착시킨 후 에탄올수용액으로 용출시켜 분리하였다. 이 분리된 사포닌을 고속 액체크로마토그래피를 이용하여 회수율의 비교봉우리로 사용하였다. 사포닌 분석을 위하여, 초기유량 1.2 ml/min에서 8% acetonitrile(이후부터 A라 칭함)과 100% acetonitrile(이후부터 B라 칭함)의 용매의 비율을 A:B는 1:9, 36분에서 A:B는 25:75로, 62분에서 A:B는 34:66으로 변화시키면서 용출하여 7종 사포닌을 정량하여 회수율을 얻었다.

## 결과 및 고찰

인삼 사포닌은 인삼의 유효 생리활성 성분으로 인체에 무해한 방법으로 제조되어야만 식용 또는 약용으로 이용될 수 있다. 그러므로 기존의 1-부탄올, 클로로포름, 메탄올 등의 유해한 용매를 이용하여 제조된 사포닌의 경우 식용 또는 약용으로 사용이 부적합하다는 문제점이 있다. PD 사포닌이 중추신경에 진정 작용을 나타내고, PT 사포닌은 흥분 작용을 나타낸다.<sup>23, 27)</sup> 이와 같이 서로 다른 효능이 있는 PT 및 PD의 사포닌을 분리하기 위하여 사용된 벤젠에틸렌 수지(HP-20)는, polystyrene과 divinylbenzene이 중합된 역상의 흡착체로 구성되어 있다. 이 수지는 다공성 polymer로 구상이며 표면적이 크므로 흡착성이 강하고 polymer의 표면은 소수성이다. 이 수지에 인삼 추출물을 건량 대비 50배의 물로 희석하여 수지에 흡착 시료로 사용하였다. 사포닌 함량은 대미, 중미, 세미 등에 따라 다르므로, 목적 원료 조사포닌량에 기준하여 조사포닌 양의 200배(v/



**Fig. 2.** HPLC chromatogram pattern of separated panaxadiol and panaxatriol with 35~55% ethanol aqueous solution. (HPLC gradient condition; at initial time the flow 1.2 ml/min, the ratio of 8% acetonitrile (A) and 100% acetonitrile (B) were 1:9, at 36 min. the flow 1.2 ml/min, A:B were 25:75, at 62 min. the flow 1.2 ml/min, A:B were 34:66).

w)에 해당하는 벤젠에틸렌수지를 물 및 에탄올로 세척한 후, 인삼 추출물을 주입하여 30 ml/min의 속도로 통과시킨 후 에탄올 수용액의 농도(v/w)를 30~70%에서 5% 간격으로 변화시키면서 Fig. 1과 같은 방법으로 분리하였다. 그 결과는 Fig. 2의 HPLC 패턴과 Table 1에 나타내었다. Fig. 2과 Table 1에서 40%이하의 에탄올 수용액으로 용출하였을 경우 PT 사포닌만이 약 90%이상의 순도로 용출됨을 알 수 있었고 45% 이상의 에탄올 수용액에서는 PD가 90%이상의 순도로 용출됨을 알 수 있었다. 그러나 소량으로 존재하는 PT의 Rf는 명확히 분리되지 못하였다. 이것은 ginsenoside Rf의 극성이 PD와 PT의 중간에 있기 때문인 것으로 좀 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각되며 다항 Rf 분획은 인삼 중 6종 주종 사포닌에 비하여 미량으로 존재하고 있어 PD와 PT의 전체 비율로 보면 작은 비율을 차지한다. 수지 통과후의 회수율을 측정하기 위하여, 수포화부탄올 추출물을 수지를 통과하기 전과 후의 7종 사포닌 함량을 측정하여 회수율을 계산한 결과 수지통과 전후 함량의 차이가 없음

**Table 1.** Ginsenosides contents of total saponin fractions prepared by benzene ethylene resin adsorption method (Unit : dry basis %)

Ethanol % \ Saponins	Rg <sub>1</sub>	Re	Rf	Rb <sub>1</sub>	Rb <sub>2</sub>	Rc	Rd	PD	PT
30	0.18	0.12	-	-	-	-	-	-	0.30
35	0.24	0.17	-	-	-	-	-	-	0.41
40	0.25	0.18	0.06	-	-	-	-	-	0.49
45	-	-	0.10	0.34	0.22	0.19	0.14	0.99	-
50	-	-	0.12	0.37	0.24	0.21	0.15	1.09	-
55	-	-	0.15	0.38	0.24	0.21	0.15	1.13	-
60	-	-	0.10	0.39	0.25	0.22	0.16	1.12	-

**Table 2.** Recovery of ginsenosides treated trough benzene ethylene resin adsorption method (Unit : dry basis %)

Variety	Rg <sub>1</sub>	Re	Rf	Rb <sub>1</sub>	Rb <sub>2</sub>	Rc	Rd	Total
n-BuOH extraction	0.22	0.16	0.16	0.35	0.26	0.20	0.15	1.50
Benzene ethylene resin	0.22	0.17	0.14	0.37	0.24	0.21	0.15	1.50
Recovery ratio (%)	101.3	104.1	97.5	105.7	98.3	105.0	99.8	100.5

을 알 수 있었다(Table 2). 이 결과로부터 고순도의 식용가능한 사포닌을 PD와 PT로 감모없이 선택적으로 분리할 수 있음을 확인하였다. 또한 대량 무독성으로 분리 제조하는 방법을 확립함으로써 인삼 사포닌 성분의 사용에 있어 각각의 효능에 대한 특성 및 기능을 살려 사용하므로써 약리효능을 좀더 증진시킬 수 있고, 이에 따라 기존의 건강식품이라는 개념을 벗어나 의약품수준으로까지 발전시키는데 유용하게 사용될 수 있으리라 생각된다.

## 요 약

벤젠에칠렌 수지의 흡탈착을 이용하여 인삼 추출물로부터 고순도의 식, 약용 가능한 사포닌을 PD와 PT로 신속하게 대량 분리하는 방법을 설정하였다. 홍삼 추출물을 조사포닌 함량의 200배(v/w)의 물로 희석하여 벤젠에칠렌 수지에 주입시킨 후 흡착되지 않는 유리당 등의 수용성 화합물을 수지 무게의 10배량(v/w) 물로 세척하여 제거하고 수지에 흡착된 조사포닌은 수지 무게 8배의 30~70% 에탄올 수용액으로 용출시킨 결과 40%이하의 에탄올 수용액에서는 PT만이 90%이상의 순도로 분리되었다. 그리고 PD는 45%이상의 에탄올 수용액에서, 90% 이상의 순도로 선택적으로 신속하게 분리할 수 있었다. 그러므로 이 결과를 이용하면 PD와 PT를 약리효능 특성에 따라 사용할 수 있어 제품 및 의약품으로 개발하는데 유용하게 사용할 수 있다.

## 인 용 문 헌

1. Lee, S. H. and Wang, W. I. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **10**(2), 141 (1986).
2. Jeon, B. S., Kim, N. M., Park, C. K., Yang, J. W. and Chang, K. S. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **20**(3), 262 (1996).
3. Nabata, H., Saito, H. and Takagi, K. : *Jap. J. Pharmacol.*, **23**, 29 (1973).
4. H. Saito, H. Morita, M. and Takagi, K. : *Jap. J. Pharmacol.*, **23**, 43 (1973).
5. Ramarao, P. and Bhargava, H. N. : *Gen. Pharmacol.*, **21**, 877 (1990).
6. Shin, Y. H. Jeong, O. M. Nah, J. J. Yoon, S. R. Nam, K. Y. Kim, S. K. Kim, S. C. and Nah, S. Y. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **22**(1), 43 (1998).
7. Yokozawa, T. Kobayashi, T. Oura, H. and Kawashima, Y. : *Wakan Yaku Gakkaishi*, **1**, 22 (1984).
8. Waki, I. Kyo, H. Yasuda, M. and Kimura, M. : *J. Pharm. Dyn.*, **5**, 547 (1982).
9. Huo, Y. and Chen, Y. : *J. Traditional Chinese Medicine*, **8**(4), 293 (1988).
10. Elma, Z. T. Ilian, E. Z. and Christian, I. H. : *Phytotherapy Res.*, **5**(1), 46 (1991).
11. Yokozawa, T. and Oura, H. : *J Natural Products* **53**(6), 1514 (1990).
12. Oura, H. and Hiai, S. : "Physiological Chemistry of Ginseng." *Metabolism & Disease*, **10**, 564 (1973).
13. Fang, Y. X. Shen, N. and Chen, X. : *Acta Pharmacologica Sinica*, **7**(3), 226 (1986).
14. Zhag, Y. Xu XH and Jiang Y. P. : *Chung Hua I*

- Hseub Tsa Chi*, **74**(10), 626 (1994).
15. Matsuda, H. Samukawa, K. and Kubo, M. : *Plan-ta Med.*, **56**, 19 (1990).
  16. Grandhi, A. Mujjumdar, A. M. and Patwardhan, B. I. : *J. Ethnopharmacology*, **44**, 131 (1994).
  17. Kim, D. Y. and Chang, J. C. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **22**(1), 1 (1998).
  18. 오미현, 정해영, 양관석, 김규원, 정한영, 오우라히꼬끼치, 요코자와다카꼬. : *Korean Biochem. J.*, **25**(5), 492 (1991).
  19. Jin, S. H., Nam, K. Y., Hyun, H. C., Kyung, J. S. and Park, J. K. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **18**(1), 39 (1994).
  20. Jaenicke, B. Kim, E. J. Ahn, J. W. and Lee, H. S. : *Arch. Pharm. Res.*, **14**(1), 24 (1991).
  21. Ando, T., tanaka, O. and Shibata, S. : *Syoyakuga-ku Zasshi*, **25**(1), 28 (1971).
  22. 김천석, 최강주, 고성률, 심석창, 성현순. : 대한민국 특허출원, No. 53549, 1995년 12 월 21일.
  23. Takagi, K., Saito, H. and Nabata, H. : *Jap. J. Pharmacol.* **22**, 245 (1994).
  24. Zhang, J. T. and Liu, Z. W. Qu : *Acta Pharmaceutica Sinica* **23**(1), 12 (1988).
  25. Takagi, K. : *Proc. 1st International Ginseng Symposium, Korean Office of Monopoly*, p. 119 (1974).
  26. Nabata, H., Saito, H. and Takagi, K. : *Jap. J Pharmacol.* **23**, 29 (1973).
  27. Saito, H. and Lee, Y. M. : *Proc. 2nd International Ginseng Symposium, Seoul, Korea*, p. 77 (1972).