

桔梗의 추출조건에 따른 사포닌 함량의 변화

최재석 · 유대석 · 최연희 · 연규환 · 홍경식 · 이병희 · 김혜진 · 김현기
김은주¹ · 노성환¹ · 정영철² · 김영섭 · 유시용
한국화학연구원, ¹㈜ 장생도라지 생명과학연구소, ²진주국제대학교 식품과학부

Variation of Saponin Content in the Decoctions of Platycodi Radix

Jae Seok Choi, Dae Seok Yoo, Yeon Hee Choi, Gyu Hwan Yon, Kyung Sik Hong,
Byung Hoe Lee, Hye Jin Kim, Hyun Ki Kim, Eun Ju Kim¹, Seong Hwan Roh¹,
Young Chul Jeong², Young Sup Kim, and Shi Yong Ryu

Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon, Korea 305-606

¹JangSaeng Doraji Research Institute of Biotechnology, JangSaeng Doraji Co. LTD., Jinju 660-833

²Division of Food science, Jinju International University, Jinju, 660-759

Abstract – We investigated the contents of crude saponin in the decoctions of Platycodi Radix prepared by the different extraction processes. Each lyophilized decoctions prepared by the different protocol were suspended in water and partitioned with ethylacetate (EtOAc) and *n*-butanol (BuOH), which gave the EtOAc fraction, BuOH fraction and the remaining water fraction, respectively. The content of crude saponin, which was estimated as the amount of BuOH fraction, and the HPLC profiles of the BuOH fraction were analyzed, and compared each others. The crude saponin content in the decoctions were increased proportionally to the increment of the extraction time, amount of water, extraction temperature and the number of repetition for extraction. Consequently, the optimized conditions were deduced to be suitable and recommendable for the preparation of Platycodi Radix ; the water amount needed for the extraction be 15-20 volumes to crude material, temperature for extraction be optimal at 85~100°C, extraction time be more than 5 hours and the repetition of extraction was 2 times.

Key words – Platycodi Radix, Campanulaceae, decoction, saponin content, HPLC

桔梗은 방약합편 수재처방에서 17번째로 빈용되는 생약으로써¹⁾ 초롱꽃과 (Campanulaceae)에 속하는 다년생식물 도라지(balloon flower, *Platycodon grandiflorum*)의 뿌리이다. 대한약전에서는 뿌리를 물로 씻어서 가는 뿌리를 제거하고 그대로 (껍질 붙은 것) 또는 주피를 제거하여 말린 것이라고 규정하고 있다.

자연산 도라지의 경우 대개 2~3년 근을 식용 또는 약용으로 사용하고 있으나 최근 국내 연구진에 의하여 20년 이상 성장이 가능한 도라지의 재배기술이 개발되었으며 이 재배기술을 통하여 생산되는 다년생 도라지를 활용하여 다양한 식품들이 시판되고 있다.²⁾

桔梗의 함유성분으로는 inulin 및 fructo-oligosaccharide 등 탄수화물이 전체 추출물의 95% 이상을 차지하고 있으며³⁾

이 외에 platycodigenin, polygalacic acid 등 oleanane계 triterpene을 aglycone으로 한 20여종의 사포닌 종류가 1~4 % 정도 함유되어 있다고 알려져 있으며 이들 사포닌 성분들은 길경 추출물이 보여주는 다양한 약리활성의 활성성분으로 주목 받고 있다.^{4,7)}

桔梗 및桔梗 사포닌의 약리효능으로는 진해, 거담, 중추신경억제작용(진정, 진통, 해열효과), 항염증작용, 항게양 및 위액분비억제작용, 항콜린작용, 혈당강하작용, 콜레스테롤 대사 개선작용 등 다양한 활성이 보고되어 있다.^{8,9)} 특히, 최근의 연구에 따르면 다년생桔梗의 열수 추출물은 carbon tetrachloride¹¹⁾ 및 acetaminophen¹²⁾에 의한 肝 損傷을 유의적으로 억제한다고 보고되어 있으며, 복강거식세포 활성화와 면역활성을 증가시킨다고 보고되어 있다.^{10,13)}

전술한 바와 같이 최근桔梗을 원료로 한 각종 식품들이 개발되고 있어 이들 제품들의 표준제조공법 및 품질 규격

*교신저자(E-mail): syryu@kricr.re.kr
(FAX): 042-860-7160

화 방안 등이 시급히 요구되는 실정이다.

본 보에서는 桔梗을 여러 가지 추출조건에 따라 추출한 후 각 추출물 중의 사포닌 함량을 각각 비교 분석하므로써 가장 적합한 열수추출방법을 도출하고자 시도하였다. 그 결과 총 조사포닌의 함량 및 국내산 桔梗에 다량 존재하는 platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃ 등 대표적인 saponin 중들을 지표물질로 설정한 HPLC 분석법에 준하여 각 사포닌의 변동량을 측정하므로써 가장 적합한 桔梗 열수 추출조건을 확립하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용한 桔梗은 (주)장생도라지에서 재배한 21년생 도라지의 뿌리를 사용하였으며, 표품은 (주)장생도라지 생명과학연구소에 보관되어 있다. Platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃ 등 사포닌 표준품은 Kim 등⁽⁴⁾의 방법에 따라 길경으로부터 분리 정제하여 사용하였으며, 각 사포닌의 구조는 Fig. 1과 같다.

기기 및 시약 - 실험에 사용된 acetonitrile과 증류수는 HPLC용으로 J.T.Baker(NJ, USA)로부터 구입하였고, HPLC 장치는 Futecs NS-3000i system(Futecs, 한국)을 사용하였고, 컬럼은 Optimapak(4.6×250 mm 5 μm, 100 Å, RSTech)를 사용하였다. 검출기로는 ELSD(Softa, USA)를 사용하였고, autosampler는 NS-6000(Futecs, 한국)을 사용하였다.

분석용 엑스의 조제 - 추출용매로는 증류수를 사용하였고 용매의 양, 추출온도, 추출시간, 추출횟수를 각각 다르게 하

여 추출하였다. 즉 건조한 시료 200 g을 각각 2, 3, 4 L의 증류수에 넣고 100°C에서 5시간 동안 환류추출하고 추출액을 여과한 후, 여액을 동결 건조하여 분석용 엑스 1, 2 및 3을 각각 조제하였다. 다음으로 건조한 시료 200 g을 3 L의 증류수에 넣고 추출온도를 각각 85, 100, 121°C(압력솥)로 하여 5시간 동안 환류추출하고 여과한 후, 여액을 동결 건조하여 분석용 엑스 4, 5 및 6을 각각 조제하였다. 다음으로 건조한 시료 200 g을 각각 3 L의 증류수에 넣고 100°C에서 각각 3, 5, 7, 10시간 동안 환류 추출하고 추출액을 여과한 후, 여액을 동결 건조하여 분석용 엑스 7, 8, 9 및 10을 각각 조제하였다. 다음으로 건조한 시료 200 g을 3 L의 증류수에 넣고 100°C에서 5시간 동안 환류 추출하고 추출액을 여과한 후, 여액은 동결 건조하여 분석용 엑스 11을 조제하였으며, 추출잔사에 다시 3 L의 증류수를 넣고 100°C에서 5시간 동안 환류 추출한 후 추출액을 여과하고 여액을 동결 건조하여 분석용 엑스 12를 조제하였다. 추출잔사를 다시 3 L의 증류수에 넣고 100°C에서 5시간 동안 환류 추출한 후 추출액을 여과하고 여액을 동결 건조하여 분석용 엑스 13을 조제하였다.

분석용 엑스로부터 조사포닌의 조제 - 각각의 분석용 엑스 20 g을 증류수 200 mL에 현탁한 후, 동량의 ethylacetate로 3회 추출하고 수층을 다시 동량의 수포화 부탄올 (*n*-butanol)로 3회 추출하였다. 부탄올 추출물을 감압 농축하여 무게를 달아 조사포닌 중량으로 하였다.

HPLC용 검액의 조제 - 각 분석용 엑스로부터 상법에 따라 조제한 조사포닌을 각각 10 mg씩 취하여 증류수 1 mL에 녹인 후, syringe filter(PVDF 0.45 μm, 13 mm)를 이용하

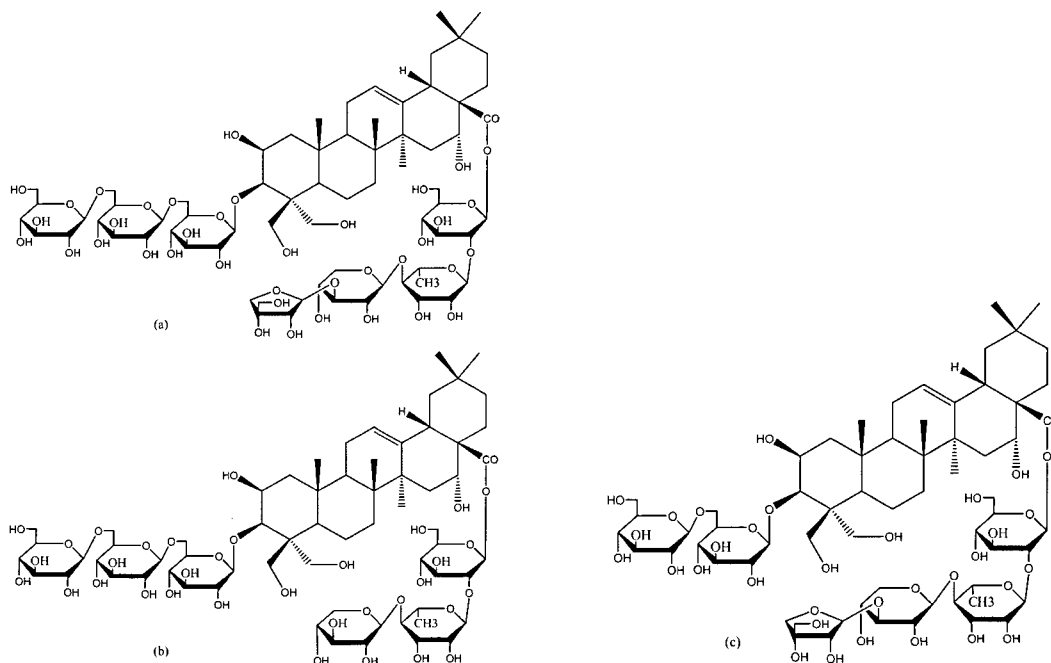


Fig. 1. Structures of saponins from *Platycodon grandiflorum*. (a) Platycoside E (b) Deapioplatycoside E (c) Platycodin D₃

여 여과한 후 여액을 검액으로 사용하였다.

HPLC 분석방법 - 이동상은 50 mM ammonium acetate solution(NH₄Ac), acetonitrile, methanol을 사용하였으며, solvent A는 NH₄Ac : acetonitrile : methanol = 85 : 10 : 5, solvent B는 NH₄Ac : acetonitrile : methanol = 55 : 40 : 5로 하고, solvent B의 비율을 0%에서 15(2분), 38(13분), 40(28분), 43(48분), 60(58분), 100%(66분)로 순차적으로 조절하였다. Column의 온도는 40°C로 유지하였고, 유속은 분당 0.8 mL로 하였다. 검출기로는 ELSD를 사용하였다. Spray chamber의 온도는 25°C, drift chamber와 detection chamber의 온도는 각각 70°C로 유지하였으며, 질소gas를 55.5 psi로 분사하여 검출하였다. 검액의 주입용량은 20 µL로 하였고 각각 3회 반복 실험하였다.

결과 및 고찰

총 조사포닌 함량을 지표로 하여 가장 적합한 열수 추출 조건을 찾아보고자 21년산 桔梗을 추출용매의 양, 추출온도, 추출시간, 추출반복횟수 등을 다르게 하여 총 13종의 길경 분석용 엑스(분석용 엑스 1 - 13)을 조제하고 각 분석용 엑스에 함유된 조사포닌의 양 (Table I) 및 3종의 사포닌

Table I. Crude saponin contents in the roots extracts of *Platycodon grandiflorum* prepared by different conditions

Preparation No.	Crude Saponin (%)*
1	1.48±0.06
2	2.07±0.07
3	2.11±0.05
4	2.04±0.05
5	2.07±0.07
6	2.21±0.09
7	1.43±0.06
8	2.07±0.07
9	2.12±0.05
10	2.14±0.08
11	2.07±0.07
12	0.69±0.03
13	0.13±0.01

*The crude saponin content was calculated as % of crude plant material and each values are given as the mean±S.D of three distinct experiment.

(platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃)의 함량을 HPLC를 이용하여 비교, 분석하였다(Fig. 2, Table II).

추출용매의 양을 각각 시료의 중량대비 10, 15 및 20배로

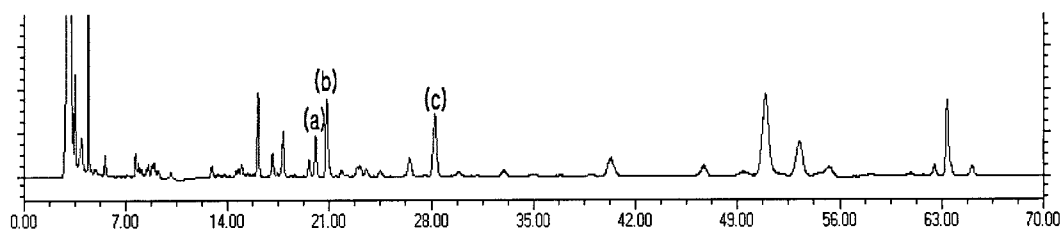


Fig. 2. HPLC profile of saponins from *Platycodon grandiflorum*. (a) Deapioplatycoside E (b) Platycoside E (c) Platycodin D₃

Table II. Contents of saponin in the roots extracts of *Platycodon grandiflorum* prepared by different conditions. (ppm, w/w)

Sample	Deapioplatycoside E	Platycoside E	Platycoside D ₃
1	75.78±0.19	171.47±0.34	190.94±0.50
2	83.05±0.88	182.15±1.41	217.01±2.21
3	84.83±0.58	185.23±0.82	251.91±2.25
4	89.53±0.50	208.83±0.48	211.36±0.75
5	90.25±0.84	210.11±0.29	212.35±0.97
6	65.79±0.50	126.81±0.32	110.92±0.56
7	72.81±0.68	164.87±0.67	166.25±0.72
8	83.69±0.07	183.37±0.09	202.69±0.47
9	87.06±0.56	189.45±0.78	203.33±0.52
10	88.68±0.39	192.41±0.35	203.38±0.35
11	83.34±0.11	186.20±0.27	202.90±0.17
12	36.21±0.48	88.01±0.43	73.49±0.19
13	5.50±0.22	13.14±0.18	10.66±0.16

*Each saponin content was calculated as ppm of crude plant material and each values are given as the mean±S.D of three distinct experiment.

다르게 하여 100°C에서 5시간동안 열수 추출하여 조제한 분석용 엑스 1, 2 및 3에 함유된 조사포닌의 함량을 비교하여 본 결과 시료 대비 15배의 추출용매를 사용한 분석용 엑스 2와 시료 대비 20배의 추출용매를 사용한 분석용 엑스 3의 경우 각각 조사포닌의 함량이 2.2 및 2.1%로 서로 큰 차이를 보이지 않은 반면 시료 대비 10배의 추출용매를 사용한 분석용 엑스 1의 경우에는 조사포닌의 함량이 1.48%로 나타나 유의한 차이를 보였다(Table I). 한편 길경에 함유된 대표적인 saponin 3종 (platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃)의 함량을 HPLC를 이용하여 각각 분석하여 본 결과 분석용 엑스 2와 분석용 엑스 3에 함유된 이들 3종의 사포닌 함량은 서로 큰 차이가 관찰되지 않았다. 따라서 길경의 열수 추출물 조제시 추출용매의 양은 시료대비 15배 이상이 적절함을 알 수 있었다.

다음으로 건조한 시료 200 g을 각각 3 L의 증류수에 넣고 85°C와 100°C 및 압력솥(121°C)에 넣어 5시간 추출하여 조제한 분석용 엑스 4, 5 및 6의 조사포닌 함량을 비교하여 본 결과 분석용 엑스 4와 5는 조사포닌의 함량은 물론 platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃ 등 각각의 사포닌의 함량에서도 큰 차이가 관찰되지 아니하였다. 압력솥(121°C)에서 5시간 추출하여 조제한 분석용 엑스 6에서는 조사포닌의 함량은 분석용 엑스 4와 분석용 엑스 5에 비하여 약간 더 증가하였으나 HPLC를 이용하여 platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃ 등 각 saponin의 함량 및 HPLC pattern을 분석한 결과 platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃의 함량은 85°C 및 100°C에서 추출한 분석용 엑스 4와 5에 비하여 현저히 적었다. 또, 분석용 엑스 6의 경우 HPLC profile이 크게 변화되는 것으로 보아 platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃ 등의 saponin은 압력을 가하여 고온으로 추출할 경우 쉽게 결합당의 일부분이 이탈되는 등 구조변화가 있는 것으로 예측된다. 따라서 길경의 열수 추출물 조제시 추출온도는 85~100°C가 적합하다고 사료되며 분석용 엑스 6의 경우와 같이 압력솥(121°C)에서 5시간 추출하는 방식은 부적합한 방법으로 사료된다.

다음으로 건조한 시료 200 g을 각각 3 L의 증류수에 넣고, 100°C에서 각각 3, 5, 7, 10시간씩 추출하여 조제한 분석용 엑스 7, 8, 9 및 10의 조사포닌 함량을 비교하여 본 결과 추출시간이 길어질수록 조사포닌의 함량도 함께 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다. 즉, 조사포닌의 함량은 10시간 동안 추출한 분석용 엑스 10에서 가장 높았고, 3시간 추출한 분석용 엑스 7에서 가장 낮았으며 7시간 추출한 분석용 엑스 9와 10시간 동안 추출한 분석용 엑스 10의 경우 조사포닌의 함량 차이가 미미하였다. 또, 개별 saponin의 함량 및 HPLC pattern을 분석한 결과, platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃는 분석용 엑스 8, 9 및 10에서

모두 비슷한 함량을 나타내었다. 반면 3시간 추출한 분석용 엑스 7은 platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃ 등이 5시간 추출한 분석용 엑스 8보다 20% 정도 적게 검출되었다. 따라서, 길경의 열수 추출물 조제시 추출시간은 5시간 이상이 적합하다고 사료된다.

마지막으로, 건조한 시료 200 g을 3 L의 증류수에 넣고 100°C에서 5시간 추출한 분석용 엑스 11, 추출잔사를 한번 더 동일한 조건으로 추출한 분석용 엑스 12 및 동일한 조건으로 추출잔사를 3회째 추출한 분석용 엑스 13에 함유된 조사포닌의 함량을 각각 비교하여 보았다. 그 결과 3회째 추출한 분석용 엑스 13의 경우에는 조사포닌의 함량 및 개별 사포닌의 함량이 극히 적었으며 다만 2회째 추출한 분석용 엑스 12는 처음 추출한 분석용 엑스 11에 비해 조사포닌의 함량 및 개별 saponin의 함량이 각각 약 40% 수준에 달하였다. 따라서 길경의 열수 추출물 조제시 적합한 추출 반복회수는 2회 정도가 적합하다고 사료된다.

결 론

생약재 桔梗을 여러가지 추출조건에 따라 추출한 후 각 추출물 중의 조사포닌의 함량 및 HPLC분석법에 platycoside E, deapioplatycoside E, platycodin D₃ 등 대표적인 saponin 중들의 함량을 각각 비교 분석함으로써 가장 적합한 열수 추출방법을 도출하였다. 그 결과 추출물 중 조사포닌의 함량은 시료 대비 15배의 증류수를 사용하여 85~100°C의 추출온도에서 5시간 동안 추출하고 동일한 조건으로 2회 반복 추출할 경우 가장 양호하였다.

사 사

본 연구는 21세기 프론티어 연구개발사업(자생식물이용 기술개발사업) 및 과학기술부 바이오연구사업으로부터 연구비 지원을 받아 수행하였습니다.

인용문헌

1. 홍문화(1972) 한방처방의 통계적 연구(I), 생약학회지 3(2): 57-64.
2. Lee, S. H. and Lee, Y. C. (1991) Method of cultivating the perennial balloon flower, Patent No. 100045791, Korea.
3. Oka, M., Ota, N., Mino, Y., Iwashita, T. and Komura, H.(1992) Studies on the conformational aspects of inulin oligomers. *Chem. Pharm. Bull.* 40(5): 1203-1207.
4. Ishii, H., Tori, K., Tozyo, T. and Yoshimura, Y. (1981) Saponins from roots of *Platycodon grandiflorum*. Part 1. Structure of prosaponins. *J.C.S. Perkin 1*: 1928-1933.
5. Ishii, H., Tori, K., Tozyo, T. and Yoshimura, Y. (1984)

- Saponins from roots of *Platycodon grandiflorum*. Part 2. Isolation and structure of new triterpene glycosides. *J.C.S. Perkin 1*: 661-668.
6. Saeki, T., Koike, K. and Nikaido, T.(1999) A Comparative study on commercial, botanical gardens and wild samples of the roots of *Platycodon grandiflorum*. *Planta Med.* **65**: 428-431.
 7. Nikaido, T., Koike, K., Mitsunagi, K. M. and Saeki, T.(1999) Two new triterpenoid saponins from *Platycodon grandiflorum*.. *Chem. Pharm. Bull.* **47**(6): 903-904.
 8. Kim, Y.P., Lee, E. B., Kim, S. Y., Li, D., Ban, H. S., Lim, S. S., Shin, K. H. and Ohuchi, K. (2001) Inhibition of prostaglandin E2 production by platycodin D isolated from the root of *Platycodon grandiflorum*.. *Planta Med.* **67**(4): 362-364.
 9. Shin, C. Y., Lee, W. J., Lee, E. B., Choi, E. Y. and Ko, K. H. (2002) Platycodin D and D₃ increase airway mucin release in vivo and in vitro in rats and hamsters. *Planta Med.* **68**(3): 221-225.
 10. Lee, K.J. and Jeong, H.G. (2002) Protective effect of Platycodi Radix on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Food Chem. Toxicol.*, **40**: 517-525.
 11. Lee, K.J., You, H.J., Park, S.J., Kim, Y.S., Chung, Y.C., Jeong, T.C. and Jeong, H.G.(2001) Hepatoprotective effects of *Platycodon grandiflorum* on acetaminophen-induced liver damage in mice. *Cancer Lett.*, **174**: 73-81.
 12. Choi, C.Y., Kim, J.Y., Kim, Y.S., Chung, Y.C., Seo, J.K. and Jeong, H.G. (2001) Aqueous extract isolated from *Platycodon grandiflorum* elicits release of nitric oxide and tumor necrosis factor- α from murine macrophages. *International Immunopharmacology*, **1**: 1141-1151.
 13. Choi, C.Y., Kim, J.Y., Kim, Y.S., Chung, Y.C., Hahm, K.S. and Jeong, H.G. (2001) Agumentation of macrophage functions by an aqueous extract isolated from *Platycodon grandiflorum*. *Cancer Lett.*, **166**: 17-25.
 14. Kim, Y.S., Kim, J.S., Choi, S.U., Kim, J.S., Lee, H.S., Roh, S.H., Jeong, Y.C., Kim, Y.K. and Ryu, S.Y.(2005) Isolation of a new saponin and cytotoxic effect of saponins from the root of *Platycodon grandiflorum* on human tumor cell lines. *Planta med.* **71**: 566-568.

(2007년 3월 5일 접수)