

인삼 · 산양삼 · 자연산 산삼의 ginsenoside 함량 분석 및 홍삼화 후의 변화 관찰

정희선¹⁾, 임청산¹⁾, 차배천²⁾, 최석호³⁾, 권기록^{1)*}

1. 상지대학교 한의과대학 침구학교실
2. 상지대학교 보건과학대학 제약공학과
3. 상지대학교 생명자원과학대학 동물생명자원학부

Received : 10. 01. 25

Accepted : 10. 02. 25

Key Words:

ginsenoside, cultivated wild ginseng, wild ginseng, cultivated ginseng, HPLC

Component analysis of cultivated ginseng, cultivated wild ginseng, and wild ginseng and the change of ginsenoside components in the process of red ginseng.

Jeong HS, Lim CS¹⁾, Cha BC²⁾, Choi SH³⁾, Kwon KR^{1)*}

- 1) College of Oriental medicine, Sangji Univ.
- 2) Pharmaceutical Engineering, Health of Science, Sangji Univ.
- 3) Division of Animal resources and life science, Sangji Univ.

ABSTRACT

Objectives: The aim of this experiment is to provide an objective differentiation of cultivated ginseng, cultivated wild ginseng, and wild ginseng through component analysis, and to know the change of ginsenoside components in the process for making red ginseng.

Methods: Comparative analysis of ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ and Rh₂ from the cultivated ginseng 4 and 6 years, cultivated wild ginseng, and wild ginseng were conducted using High Performance Liquid Chromatography(hereafter HPLC). And the same analyses were conducted in the process of red ginseng.

Results:

1. For content comparison of ginsenoside Rb₁, Rc, Rd, Rf, Rg₁ and Rh₁, wild ginseng showed high content, followed cultivated ginseng 4 and 6 years, cultivated wild ginseng showed low content than any other samples.
2. For content comparison of ginsenoside Rb₂ and Re, cultivated ginseng 4 years showed high content, followed wild ginseng and cultivated ginseng 6 years, cultivated wild ginseng showed low content than any other samples.
3. For content comparison of ginsenoside Rg₃, wild ginseng and cultivated wild ginseng were only showed low content.
4. For content comparison of ginsenoside Rh₂, cultivated wild ginseng was only showed low content.
5. In the process of red ginseng, ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Rg₃ and Rh₁ were increased, and ginsenoside Re and Rg₁ were decreased in cultivated wild ginseng.
6. In the process of red ginseng, ginsenoside Rg₃ and Rh₁ were increased, and ginsenoside Rb₂, Rc, and Re were decreased in cultivated ginseng 4 years.
7. In the process of red ginseng, ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rf and Rh₁ were increased, and ginsenoside Rc and Rd were decreased in cultivated ginseng 6 years.

Conclusions: Distribution of ginsenoside contents to the cultivated ginseng, cultivated wild ginseng, and wild ginseng was similar and was not showed special characteristics between samples. And the change of ginsenoside to the process of red ginseng, cultivated ginseng and cultivated wild ginseng were showed different aspect.

*Corresponding author : Ki Rok Kwon. Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Korean Medicine, Sangji University 283, Woosan-dong, Wonju-si, Kangwon-do, 220-955, South Korea.
Tel: +82-33-741-9257. E-mail: beevenom@paran.com

I. 서론

山蔘은 五加科(두릅나무과 ; Araliaceae)에 속한 다년생 초목인 人蔘(*Panax ginseng* C. A. Mey.)이 야생상태에서 자연 발아하여 성장한 蔘을 일컬으며¹⁾ 산양삼(樟腦蔘)은 산삼의 씨앗이나 幼蔘을 인위적으로 산에서 재배한 蔘을 말한다.

예로부터 山蔘은 대표적인 補氣劑로, 신비한 약으로 여겨졌으며 그 모양새가 사람을 닮았다고 하여 人蔘으로 표현되어 왔다.²⁾ 현재까지 보고된 인삼의 효능은 신경의 기능을 조절하고³⁾, 체액과 신진대사기능을 조절하며⁴⁾, 강심, 항이노 및 성기능 증강효과가 있고⁵⁾, stress에 대한 저항력을 높이며⁶⁾, 염증의 억제⁷⁾, 항산화⁸⁾, 면역항체생산을 촉진⁹⁾ 및 항암 효과¹⁰⁾ 등 많은 연구가 보고되고 있다.

이러한 인삼의 효능을 나타내는 약리활성 물질로 가장 주목을 받고 있는 성분이 바로 사포닌이다¹¹⁾. 사포닌은 배당체의 하나로 그 수용액을 저으면 비누처럼 지속성 거품이 생긴다는 데에서 유래하였다. 인삼의 사포닌인 ginsenoside는 다른 식물계에는 거의 존재하지 않는 dammarane 계열의 triterpenoid인 protopanaxadiol(PPD)과 protopanaxatriol(PPT)이 aglycone이며, ginsenoside Ro만이 일반 식물에 널리 존재하는 사포닌인 oleanolic acid 계열이다.

사포닌 이외에도 인삼에는 항암효과가 있다고 알려진 polysaccharide와 phenol계 화합물, 정유성분인 sesquiterpene계 화합물, 그리고 alkaloid 성분 등이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다¹²⁾.

홍삼이란 삼을 장기간 보존할 목적으로 증숙하여 인삼의 전분을 건조한 것을 말하는데 증숙 과정에서 caramel화에 의해 적갈색을 나타내어 홍삼이란 이름으로 불리며, 한국의 홍삼은 고려 인삼의 대표적인 상품으로 제조 과정을 통해 ginsenoside Rh₁, ginsenoside Rg₃ 등 다양한 사포닌이 생성되는 것으로 알려져 있다.

본 연구진은 인삼과 산양삼 등이 함유하고 있는 수종의 ginsenosides들이 홍삼화 과정이라는 열 자극에 의해 어떠한 형태로 성분 이동이 일어나고 그 양은 얼마나 되는지, 그리고 각각의 시료에서 어떠한 차이를 나타내는지 규명하고자 하였다.

이에 인삼과 산양삼 그리고 자연산 산삼의 성분의 차이를 확보하기 위해 HPLC(High Performance Liquid Chromatography, 이하 HPLC)로 각각의 뿌리에 함유된 10여 종의 ginsenosides를 측정 후 그 차이를 비교 분

석하였고, 각각의 삼류들이 홍삼화 과정에서 어떠한 성분의 변화가 일어나는지를 추적하기 위하여 4년근 및 6년근 인삼과 수령 8-9년의 산양삼에 열을 가하여 홍삼화 처리한 후 ginsenosides의 변화를 분석한 결과 유의한 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 방법

1. 재료

1) 자연산 산삼 및 산양삼, 인삼

① 자연산 산삼

본 실험에 사용한 자연산 산삼은 2009년 6-8월 장백산에서 채집한 것으로 뿌리의 길이는 7-30cm 전후이었고, 무게는 5-20g 추정 연령은 20-50년인 7개의 삼을 전문가의 감정을 통해 자연산으로 인증 받은 후 실험에 사용하였다(Fig. 1-A).

② 산양삼

본 실험에 사용한 산양삼은 충남 서천시에 있는 천방농산에서 1999-2000년 사이에 파종한 수령 8-9년 생 중 무작위로 추출된 7개의 샘플을 사용하였다(Fig. 1-B).

③ 인삼

본 실험에 사용한 인삼은 4년근과 6년근으로 강화농협에서 구입하여 각각 7뿌리씩 무작위로 추출하여 실험에 사용하였다(Fig. 1-C&D).

2. HPLC를 이용한 산삼, 산양삼 그리고 인삼의 성분분석

1) 실험기기 및 시약

Rotary vacuum evaporator는 Eyela (Tokyo Co.)의 농축기를 사용하였고, 분석용 HPLC로는 Varian 9012 Solvent Delivery System, 검출기는 Varian Variable Wavelength 9050 UV-VIS detector, 그리고 Autosampler는 Varian 9300을 사용하였다. AcCN, MeOH 등의 분석시약은 모두 HPLC용 시약을 사용하여 측정하였으며, 추출 및 분획용 용매는 모두 특급시약을 사용하여 실험하였다.

2) 추출 및 분석 시료

음건한 삼류(1-20g)에 80% MeOH 100-500ml를 가하여 수욕 상에서 3시간씩 3회 환류 추출하고 여과 후 농축하여 80% MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 80% MeOH 추출물을 증류수에 현탁시켜 *n*-hexane, EtOAc 및 *n*-BuOH 순으로 분획한 후 농축하여 사포닌 주성분 분획물인 *n*-BuOH 분획물을 얻었다. 조사포닌 *n*-BuOH 분획물을 사포닌의 패턴 분석을 위한 시료로 사용하였다(Fig. 2).

3) HPLC의 분석조건

HPLC 조건은 column은 Capcell Pak C₁₈(150×4.6 mm, 5 μ m, Shiseido Co.)이며 유속은 1ml/min, column 온도는 40 $^{\circ}$ C, 시료 주입량은 20 μ l로 UV 203nm에서 실험하였다. 분석시의 이동상 조건은 Table 1.에 나타내었다.

4) 표준액 및 검액의 제조

비극성 사포닌류의 패턴 분석을 위한 표준액은 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ 그리고 Rh₂의 10종 표준품을 각각 100 μ g/ml씩 취한 후 MeOH 1ml에 녹인 후 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 사용하였고, 검액은 얻어진 시료 외에 *n*-BuOH 분획물 10mg을 취한 후 MeOH 1ml에 녹인 후 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 분석하였다.

5) 검량선의 작성

표준품 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ 그리고 Rh₂의 10종 표준품을 각각 500, 400, 300, 200, 100, 50 μ g/ml 농도로 희석하여 분석하여 얻은 각각의 ginsenoside에 대한 피크 면적비 (X축)와 표준품 농도 (Y축)에 대한 검량선을 각각 작성하였다. 그 결과 각 ginsenoside류의 검량선의 함수와 상관계수 R²값은 Table 2.에 제시하였다.

6) 10종 표준품의 HPLC chromatogram과 분석시료의 chromatogram 양상

상기에서 제시한 방법에 따라 HPLC로 분석하여 표준품 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ 그리고 Rh₂와 수종의 삼류에 대한 각각의 chromatogram을 얻은 후 정량 평가하였다(Fig. 3). 정량 평가에서 얻어진 값 중 최고와 최저치를 제외한 5개의 샘플의 평균을 구한 후 비교 분석하였다.

7) 홍삼화 처리과정

인삼 및 산양삼이 홍삼으로 되는 과정에서 나타난 ginsenoside의 함량 변화를 관찰하기 위하여 모든 시료를 흐르는 물에 깨끗이 세척한 후 고압증숙기 안에 가지런히 세운 후 95-100 $^{\circ}$ C에서 15시간 동안 증숙하였다. 증숙이 끝난 시료들은 다시 건조를 위해 95-100 $^{\circ}$ C에서 72시간 동안 각각의 시료들이 타지 않도록 주의를 기울이면서 건조시켜 실험에 사용하였다.

III. 결과

1. 각 시료의 용매별 수율

각 종 삼류의 패턴과 함량을 분석하기 위하여 사포닌 주성분을 함유한 80% MeOH 추출물과 *n*-BuOH 분획물을 제조한 결과 얻어진 수율은 Table 3.과 같았다.

각각의 수율은 다양하게 나타났고, 홍삼화 과정에서 산양삼의 홍삼 수율이 인삼 4년근과 6년근에 비하여 많은 것이 특이한 점이였다(Table 3.).

2. Ginsenoside Rb₁의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rb₁의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 3.52 \pm 1.21mg/g, 산양삼은 1.18 \pm 0.18 mg/g, 4년근 인삼은 2.55 \pm 0.51mg/g, 6년근 인삼은 1.39 \pm 0.54mg/g을 나타내어 ginsenoside Rb₁의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 > 산양삼의 순으로 나타났다.

3. Ginsenoside Rb₂의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rb₂의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 1.50 \pm 0.91mg/g, 산양삼은 1.04 \pm 0.08 mg/g, 4년근 인삼은 2.16 \pm 0.43mg/g, 6년근 인삼은 0.95 \pm 0.35mg/g을 나타내어 ginsenoside Rb₂의 함량은 4년근 인삼 > 산삼 > 산양삼 > 6년근 인삼의 순으로 나타났다.

4. Ginsenoside Rc의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rc의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 $1.76 \pm 0.81 \text{mg/g}$, 산양삼은 $0.71 \pm 0.10 \text{mg/g}$, 4년근 인삼은 $1.56 \pm 0.32 \text{mg/g}$, 6년근 인삼은 $0.90 \pm 0.35 \text{mg/g}$ 을 나타내어 ginsenoside Rc의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 > 산양삼의 순으로 나타났다.

5. Ginsenoside Rb의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rd의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 $0.61 \pm 1.21 \text{mg/g}$, 산양삼은 $0.22 \pm 0.04 \text{mg/g}$, 4년근 인삼은 $0.41 \pm 0.06 \text{mg/g}$, 6년근 인삼은 $0.23 \pm 0.10 \text{mg/g}$ 을 나타내어 ginsenoside Rd의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 > 산양삼의 순으로 나타났다.

6. Ginsenoside Re의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Re의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 $0.80 \pm 0.23 \text{mg/g}$, 산양삼은 $0.76 \pm 0.06 \text{mg/g}$, 4년근 인삼은 $1.27 \pm 0.22 \text{mg/g}$, 6년근 인삼은 $0.64 \pm 0.24 \text{mg/g}$ 을 나타내어 ginsenoside Re의 함량은 4년근 인삼 > 산삼 > 산양삼 > 6년근 인삼의 순으로 나타났다.

7. Ginsenoside Rf의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rf의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 $0.37 \pm 0.14 \text{mg/g}$, 산양삼은 $0.18 \pm 0.06 \text{mg/g}$, 4년근 인삼은 $0.31 \pm 0.04 \text{mg/g}$, 6년근 인삼은 $0.18 \pm 0.05 \text{mg/g}$ 을 나타내어 ginsenoside Rf의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 = 산양삼의 순으로 나타났다.

8. Ginsenoside Rg₁의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rg₁의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 $1.48 \pm 0.65 \text{mg/g}$, 산양삼은 $0.54 \pm 0.20 \text{mg/g}$, 4년근 인삼은 $1.00 \pm 0.18 \text{mg/g}$, 6년근 인삼은 $0.69 \pm 0.11 \text{mg/g}$ 을 나타내어 ginsenoside Rg₁의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 > 산양삼의 순으로 나타났다.

9. Ginsenoside Rf₃의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rh₃의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 $0.01 \pm 0.01 \text{mg/g}$, 산양삼은 $0.01 \pm 0.01 \text{mg/g}$ 을 나타내었고, 4년근 인삼과 6년근 인삼은 모든 시료에서 검출되지 않았다.

10. Ginsenoside Rh₁의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rh₁의 함량 분석을 실시한 결과 산삼은 $0.15 \pm 0.04 \text{mg/g}$, 산양삼은 $0.03 \pm 0.00 \text{mg/g}$, 4년근 인삼은 $0.08 \pm 0.03 \text{mg/g}$, 6년근 인삼은 $0.04 \pm 0.01 \text{mg/g}$ 을 나타내어 ginsenoside Rh₁의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 > 산양삼의 순으로 나타났다.

11. Ginsenoside Rh₂의 함량 분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rh₂의 함량 분석을 실시한 결과 자연산 산삼과 4년근 인삼, 그리고 6년근 인삼에서는 모든 시료에서 검출되지 않았고, 산양삼에서 $0.01 \pm 0.02 \text{mg/g}$ 이 검출되었다.

12. 4년근, 6년근, 그리고 산양삼의 ginsenoside 함량 패턴 비교분석

수종의 삼류에 대하여 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ 그리고 Rh₂의 10종에 대한 함량 분석을 실시하였다.

그 결과 Fig. 6에서 제시한 것처럼 인삼 4년근이 6년근이나 산양삼에 비하여 Rb₁, Rb₂, Rc, Re, 그리고 Rg₁의 함량이 많은 것을 알 수 있었다.

13. 인삼 4년근과 6년근 그리고 산양삼의 홍삼화 과정 후 ginsenoside 함량 변화 패턴분석

인삼 4년근과 6년근 그리고 산양삼을 홍삼화 시킨 후 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ 그리고 Rh₂의 10종에 대한 함량 분석 결과를 비교하였다.

그 결과 Fig. 7에서 제시한 것처럼 인삼 4년근보다 6년

근이나 산양삼에서 Rb_1 , Rb_2 , Rc 의 함량이 많이 증가한 것을 알 수 있었다. 인삼 4년근은 홍삼화 과정에서 Re 와 Rg_1 이 상대적으로 많이 감소하였음을 알 수 있었다.

각각의 변화를 관찰하기 위하여 분석을 진행한 결과 산양삼은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb_1 , Rb_2 , Rc , Rd , Rg_3 , Rh_1 이 증가하였고, Re 와 Rg_1 이 감소하였음을 알 수 있었다.

인삼 4년근은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb_1 , Rd 와 Rf 는 큰 변화를 나타내지 않았고, Rg_3 , Rh_1 은 증가하였으며 ginsenoside Rb_2 , Rc , 그리고 Re 는 감소하였음을 알 수 있었다.

인삼 6년근은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb_1 , Rb_2 , Rf , Rg_3 그리고 Rh_1 은 증가하였고, Rc 와 Rd 는 소폭 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 패턴은 산양삼과 유사한 결과를 나타내고 있음을 알 수 있었다.

IV. 고찰

인삼은 파낙스(*Panax*)속에 속하는 다년생 식물로, 한국 한의학이나 중의학에서 가장 많이 사용하는 대표적인 補氣劑이다. *Panax* 속 식물은 분류학상 오가과(*Araliaceae*)에 속하는 다년생 식물로서 지구상에 십여 종이 알려져 있다. 대표적인 종으로 고려삼(*Panax ginseng*), 서양삼(*Panax quinquefolia*), 전칠삼(삼칠, *Panax notoginseng*), 죽절삼(*Panax japonica*), 삼엽삼(*Panax trifolia*), 히말라야삼(*Panax pseudoginseng*), 베트남삼(*Panax vietnamensis*) 등이 있다⁴⁾.

인삼의 유효 성분이 무엇인가 하는 부분은 아직 논란의 여지가 있지만 1957년 소련의 Brekhman이 인삼의 화학적 활성 성분은 사포닌이라고 강조하면서³⁾ 이에 대한 연구가 집중적으로 이루어지기 시작하였다.

인삼의 유효성분으로 알려져 있는 사포닌을 Shibata¹¹⁾가 인삼에 함유된 배당체라는 뜻으로 ginsenoside라 명명한 이후 현재 약 30여종 이상이 밝혀져 있고, 최근에는 미량의 ginsenoside나 phenol계 화합물, polysaccharide 등의 효능이나 기전 연구가 활발하게 진행되고 있다.

사포닌은 크게 triterpenoid 사포닌과 steroid 사포닌으로 나눌 수 있는데 식물계의 사포닌은 대부분 oleanane 계이다. 일본의 Shibata와 Tanaka 등은 오랜 연구 끝에 인삼의 주요 사포닌은 천연에서 주종을 이루는 oleanane 계가 아닌 dammarane 계열의 triterpenoid

사포닌임을 밝힌 바 있다¹¹⁾. 대부분의 사포닌 즉, ginsenoside는 구조적으로 triterpenoid dammarane 골격에 glucose, arabinose, xylose, rhamnose 등의 당이 결합되어 생성된 배당체로서 인삼의 가장 중요한 약리활성 성분임은 분명하다(Fig. 29).

지금까지 고려인삼에서 추출 분리되어 밝혀진 ginsenoside의 종류를 보면 oleanane계 사포닌인 ginsenoside Ro 1종과 protopanaxadiol계 사포닌인 ginsenoside Ra_1 , Ra_2 , Ra_3 , Rb_1 , Rb_2 , Rb_3 , Rc , Rd , Rg_3 , 그리고 Rh_2 등 총 10종이며, protopanaxatriol계 사포닌인 ginsenoside Re , Rf , 20-gluco- Rf , Rg_1 , Rg_2 와 Rh_1 등이 있고¹²⁾, 앞으로도 많은 ginsenoside가 분리 동정될 것으로 기대하고 있다(Fig. 30).

그동안 인삼 함유 ginsenoside에 대해서는 많은 연구 보고가 이루어지고 있다. 그 중 ginsenoside Rb_1 은 위염 및 위궤양에 유효하고 항산화 작용이 있으며¹³⁾, ginsenoside Rb_2 는 암독소 호르몬에 대한 길항 작용 및 중앙혈관 신생 억제작용이 있고¹⁴⁾, ginsenoside Rc 는 장내 세균에 의한 대사산물을 이용한 항암제 개발 가능성이 보고¹⁵⁾된 바 있다. ginsenoside Rd 는 신 기능부전의 치료효과¹⁶⁾와 신경계의 보호 작용¹⁷⁾이 보고된 바 있다. 이 외에도 산삼에서 소량으로 존재하는 것으로 알려진 비극성 사포닌인 ginsenoside- Rg_3 와 ginsenoside- Rh_2 의 항암작용 및 항전이작용¹⁸⁻²⁰⁾ 등이 보고되어 있다. 그러나 단일 사포닌의 효능보다는 여러 가지 사포닌이 복합되었을 때 더욱 생리활성이 우수하다는 주장²¹⁻²²⁾도 신중히 고려해보아야 할 것으로 생각된다.

한의학의 생약 중에는 단순히 신선한 재료를 그대로 혹은 건조한 후 사용하는 것 외에도 어떤 가공 처리를 한 다음 사용하는 경우가 많다. 이러한 가공 조제를 修治라고 한다. 예를 들면 맹독성의 알칼로이드를 함유하고 있는 부자(*Aconiti Tuber*)의 경우 수치를 해서 川附子, 鹽附子, 炮附子 등으로 사용하는 것²³⁾이 그 예이다.

인삼 역시 이러한 가공조제 과정을 거쳐 만들어지는 것이 바로 홍삼이다. 홍삼은 수삼을 장기간 저장할 목적으로 증숙하여 인삼의 전분을 호화시켜 건조한 것을 말하는데 이때 인삼의 전분이 열에 의해 caramel화 되어 적갈색을 나타내므로 홍삼이라고 부른다. 1980년대 이후에 홍삼의 사포닌에 대한 관심이 고조되면서 홍삼의 특징적인 사포닌인 ginsenoside Rh_1 , Rg_3 , Rg_2 와 Rh_2 등이 분리 동정되어 보고되었다.

홍삼이 수삼이나 백삼에서 가공 제조 과정을 거치는

동안 홍삼 특유의 미량 사포닌이 만들어지는데 이러한 ginsenoside 류는 홍삼의 제조과정에서 2차적으로 분해, 생성되어 생기는 것으로 알려져 있다²²⁾. 이미 중국에서는 항암효과가 있다고 알려진 ginsenoside Rg₃를 대량 생산하는 방법을 개발하여 항암치료제로 사용하고 있다²²⁻²³⁾.

본 연구는 인삼과 산양삼, 그리고 자연산 산삼의 특이적인 ginsenoside 함량 패턴을 확보하고, 인삼과 산양삼을 홍삼화시켰을 때 어떠한 성분의 변화가 일어나는지 관찰하고자 시도되었다.

연구방법으로는 삼류의 성분 분석에 유효하다고 알려진 HPLC를 이용하여²²⁻²⁴⁾ ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ 그리고 Rh₂의 10종 표준품을 이용하여 검량선을 작성한 후 비교 분석하였다. 수종의 산삼, 산양삼 및 4년근과 6년근 인삼을 사포닌 제조방법²⁵⁾에 따라 사포닌 주성분을 함유한 80% MeOH extract와 *n*-BuOH 분획물을 제조한 후 분석에 사용하였다.

각각의 시료들에 대한 회수율은 다양하게 나타났고, 홍삼화 과정에서 산양삼의 홍삼 수율이 인삼 4년근과 6년근에 비하여 월등하게 높은 것이 특이한 점이었다.

수종의 삼류에 대한 ginsenoside의 함량 분석을 실시한 결과 ginsenoside Rb₁, Rc, Rd, Rf, Rg₁, 그리고 Rh₁의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 > 산양삼의 순으로 나타나 자연산 산삼과 비교했을 때 4년근 인삼에 ginsenoside의 함량이 높은 것이 특징적이었다.

ginsenoside Rb₂와 Re의 함량은 4년근 인삼 > 산삼 > 산양삼 > 6년근 인삼의 순으로 나타나 4년근 인삼의 함량이 높은 것이 특징적이었다.

ginsenoside Rg₃의 함량 분석에서는 산삼과 산양삼에서 미량 검출되었고 4년근 인삼과 6년근 인삼은 모든 시료에서 검출되지 않았다.

ginsenoside Rh₂의 함량 분석에서는 산양삼에서 미량 검출되었고 산삼에서는 검출되지 않았는데, 이러한 결과는 ginsenoside Rh₂가 산삼의 특유 성분으로 보기에 는 무리가 있음을 알 수 있었다.

수종의 삼류를 홍삼화 시킨 후 ginsenoside에 대한 함량 분석을 실시한 결과 인삼 4년근보다 6년근이나 산양삼에서 Rb₁, Rb₂, Rc의 함량이 많이 증가한 것을 알 수 있었다. 인삼 4년근은 홍삼화 과정에서 Re와 Rg₁이 상대적으로 많이 감소하였음을 알 수 있었다.

각각의 변화를 관찰한 결과 산양삼은 홍삼화 과정을

통해 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Rg₃, 그리고 Rh₁이 증가하였고, Re와 Rg₁이 감소하였음을 알 수 있었다.

인삼 4년근은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb₁, Rd와 Rf는 큰 변화를 나타내지 않았고, Rg₃, Rh₁은 증가하였으며 ginsenoside Rb₂, Rc, 그리고 Re는 감소하였음을 알 수 있었다.

인삼 6년근은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rf, Rg₃ 그리고 Rh₁은 증가하였고, Rc와 Rd는 소폭 감소하는 경향을 나타내어 산양삼과 유사한 결과를 보이고 있음을 알 수 있었다.

이상의 연구 결과 산삼과 산양삼, 그리고 수령에 따른 인삼의 ginsenoside 함량 패턴은 종자나 재배환경, 그리고 산지 등에 따라 개체 차이가 비교적 많이 나타나 함량에 따른 효능의 평가 등의 기준으로 설정하기에 어려움이 많고, 소량의 시료를 대상으로 분석하여 삼의 성격이나 효능을 평가하기에도 무리가 있다고 추정된다.

수종의 삼류에 대한 홍삼화 과정에서도 ginsenoside 함량에 약간의 차이를 나타내었지만 각 시료 간에 특이한 차이는 파악하기 어려웠다.

따라서 ginsenoside 함량분석을 통하여 삼류의 성질이나 효능을 규명하기 위해서는 보다 광범위하고 반복적인 연구가 필요하다고 판단된다.

V. 결론

인삼과 산양삼, 그리고 산삼의 특이적인 ginsenoside 함량 패턴을 확보하고, 인삼과 산양삼을 홍삼화 시켰을 때 어떠한 성분의 변화가 일어나는지 관찰하고자 HPLC를 이용하여 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₁ 그리고 Rh₂의 함량을 비교 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Ginsenoside Rb₁, Rc, Rd, Rf, Rg₁, 그리고 Rh₁의 함량은 산삼 > 4년근 인삼 > 6년근 인삼 > 산양삼의 순으로 나타났다.
2. Ginsenoside Rb₂와 Re의 함량은 4년근 인삼 > 산삼 > 산양삼 > 6년근 인삼의 순으로 나타났다.
3. Ginsenoside Rg₃의 함량 분석에서는 산삼과 산양삼에서만 미량 검출되었고 4년근 인삼과 6년근 인삼은

모든 시료에서 검출되지 않았다.

4. Ginsenoside Rh₂의 함량 분석에서는 산양삼에서만 미량 검출되었고 산삼에서는 검출되지 않았다.

5. 산양삼은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Rg₃, 그리고 Rh₁이 증가하였고, Re와 Rg₁이 감소하였음을 알 수 있었다.

6. 인삼 4년근은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb₁, Rd와 Rf는 큰 변화를 나타내지 않았고, Rg₃, Rh₁은 증가하였으며 ginsenoside Rb₂, Rc, 그리고 Re는 감소하였음을 알 수 있었다.

7. 인삼 6년근은 홍삼화 과정을 통해 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rf, Rg₃ 그리고 Rh₁은 증가하였고, Rc와 Rd는 소폭 감소하는 경향을 나타내었다.

이러한 연구 결과를 바탕으로 향후 보다 더 질환별로 구체적인 성분을 증가시킬 수 있는 용도에 따른 맞춤형 홍삼과 홍산삼의 개발이 이루어지길 기원하는 바이다.

VI. Acknowledgement

"This Study was supported by Technology Development Program for Agriculture and Forestry(108069-03-1-CG000), Ministry for Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea"

VII. References

1. Shin SS, Kim KC, Choi YH, Lee YT, Eom HS and Kim CS. Critic standardization and objectivity of mountain grown ginseng. *KIOM vol.5*. 2001; 107-114.
2. School of Korean Medicine. Dept. of Herbology. Herbology. Youngrim. 1994; 531.
3. Brekhman. II. *Panax ginseng*, Gosudarst Isdat et Med, Lit. Leningard, 1957; 1-5.
4. 고려인삼학회, 고려삼의 이해, *Advances in Ginseng Research*, 1998; 127-137.
5. 최진호. 인삼의 신비, 서울, 교문사, 1984; 13-14.
6. Nam KY. 최신 고려인삼. 천일인쇄소. 1996; 56.
7. Oliveira, ACC., Perez, AC., Merino G., Prietp, JG. and Alvarez, AI. Protective effects of *Panax ginseng* on muscle injury and inflammation after eccentric exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 2001; 130: 369-377.
8. Kim, JS., Kim, KW., Choi, KJ., Kwak, YK., Im, KS., Lee, KM. and Chung, HY. Screening of anti-oxidative components from red ginseng saponin. *Korean J. Ginseng Sci*. 1996; 20: 173-178.
9. Kim, MJ. and Jung, NP. The effects of ginseng saponin on the mouse immune system. *Korean J. Ginseng Sci*. 1987; 11: 130-135.
10. Ha TY, Lee JH, and Han JH. Inhibitory effects of *Panax ginseng* on tumorigenesis in mice. *J Cheonbuk medical Sci*. 1987; 11(1): 1-11.
11. Shibata, S., Tanaka, O., Soma, K., Iita, Y., Ando, T. and Nakamura, H. Studies on saponins and saponinins of ginseng. The structure of panaxatriol. *Tetrahedron Lett*. 1965; 3: 207-213.
12. Park JD. Recent studies on the chemical constituents of Korean Ginseng. *Korean J. Ginseng Sci*. 1996; 20(4): 389-415.
13. Jeong CS, Hyun JE and Kim YS. Anti-oxidative effect of ginsenoside Rb₁ on the H₂O₂ ethanol-induced gastric tissue in rats. *Kor. J Pharmacogn*. 2002; 33(3): 252-256.
14. Choi KJ. The constituent of material ginseng and management of quality. *Korean J Ginseng Sci*. 1991; 15(3): 247-256.
15. Hideo H, Seong JH, Yasatosi M, Masamori W and Hur JD. Metabolites of ginseng saponin by enterobacteria and anti cancer substance include it's useful constituent. *Korea Plant*. 1998; No 10-164266-0000.

16. Choi SS, Lee JK, Han KJ, Lee HK, Lee J and Suh HW. Effects of ginsenoside Rd on nitric oxide system induced by lipopolysaccharide plus TNF- α in C6 rat glioma cells. *Arch Pharm. Res.* 2003; 26: 375-382.
17. Yokozawa T and Liu ZW. The role of ginsenoside Rd in cisplatin-induced acute renal failure. *Ren. Fail.* 2000; 22: 115-127.
18. Wang W, Zhao Y, Rayburn ER, Hill DL, Wang H and Zhang R. *In vitro* anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng*. *Cancer Chemoth Pharmacol.* 2007; 59: 589-601.
19. LY Wu J. Inhibitory effect of 20(S)-ginsenoside Rg₃ on growth and metasis of Lewis pulmonary carcinoma. *Zhonggliu Fangzhi Yanjiu.* 2006; 33: 311-313.
20. David GP and David DK. Ginsenosides 20(S)-protopanaxadiol and Rh₂ reduce cell proliferation and increase sub-G1 cells in two cultured intestinal cell lines, Int-407 and Caco-2. *Can. J Physiol. Pharmacol.* 2004; 82: 183-190.
21. Morita, T. Chemical studies on *Panax* genus plants grown in Asia. *Hiroshima univ. Doctoral Thesis*, 6-7(1986).
22. Attele AS, Wu JA and Yuan CS. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem. Pharmacol.* 1999; 58: 1685-1693.
23. 이상인. 본초학. 수서원. 1985; 60.
24. Fuzzati, N., Gabetta, B., Jayakar, K., Pace, R. and Peterlongo, F. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric identification of ginsenosides in *Panax ginseng* roots. *J. Chromatogr.* 1999; 854: 69-79.
25. Wang, H., Zou, H., Kong, L., Zhang, Y., Pang, H., Su, C., Liu, G., Hui, M. and Fu, Li. Determination of ginsenoside Rg₃ in plasma by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for pharmacokinetic study. *J. Chromatogr.* 1999; 731: 403-409.
26. Kwon, S. W., Han, S. B., Park, I. H., Kim, J. M., Park, M. K. and Park, J. I. Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng. *J. Chromatogr.* 2001; 921: 335-339.
27. Ko, S. R., Choi, K. J., Kim, S. C. and Han, K. H. Content and composition of saponin compounds of *Panax* species. *Korean J. Ginseng Sci.* 1995; 19: 254-295.

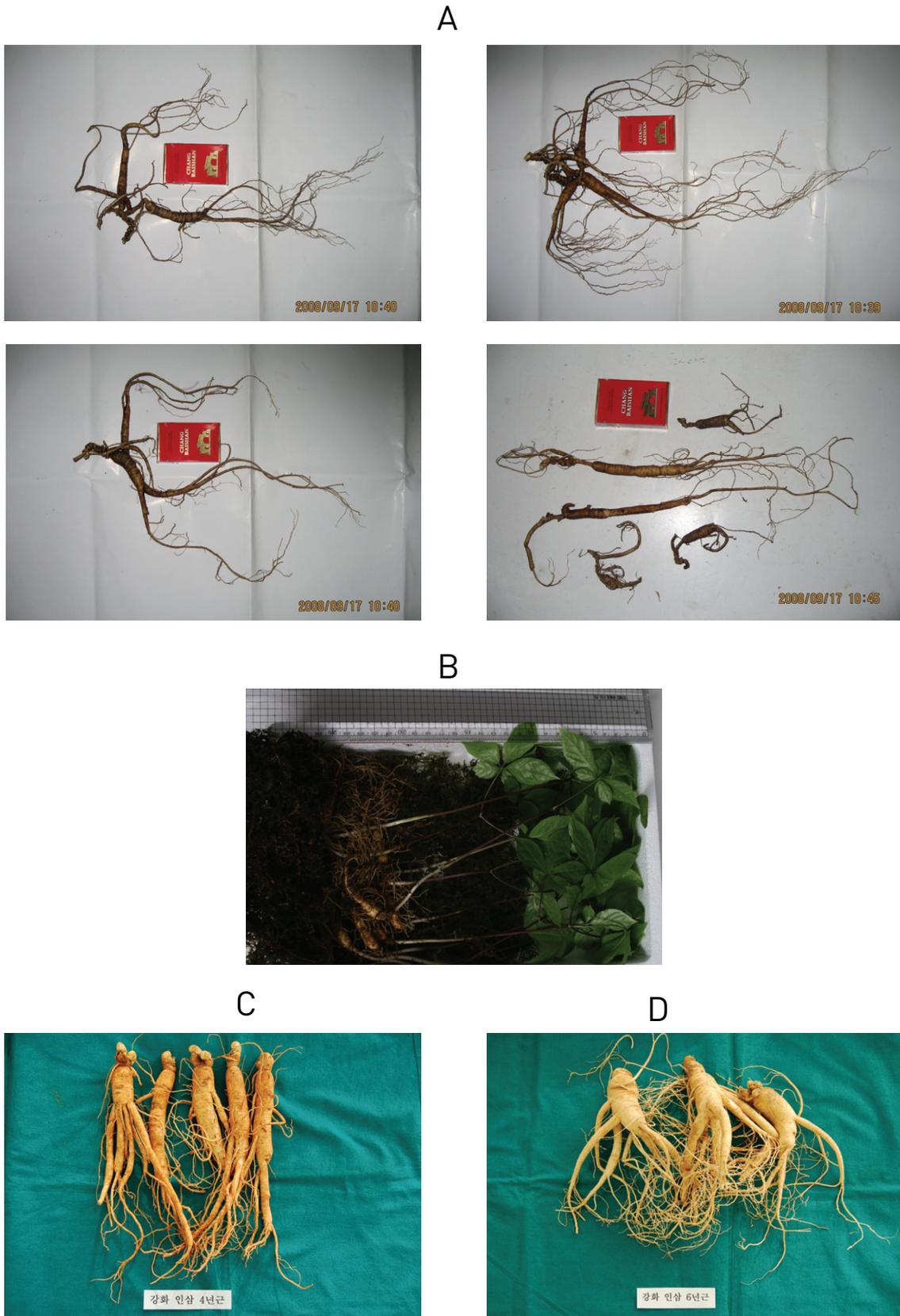


Fig. 1 Wild ginseng with approximate age of 20-50 years. It measured about 7-50cm length wild ginseng from Changbai Mt. on 2008(A). Cultivated wild ginseng seeded in 1999-2000 at ChonBangNongSan(Seo Cheon Gun, Chung Nam) and harvested on Oct, 2008(B). The shape of 4 and 6 years cultivated ginseng from Kang Hwa(Kyung Ki Do-C).

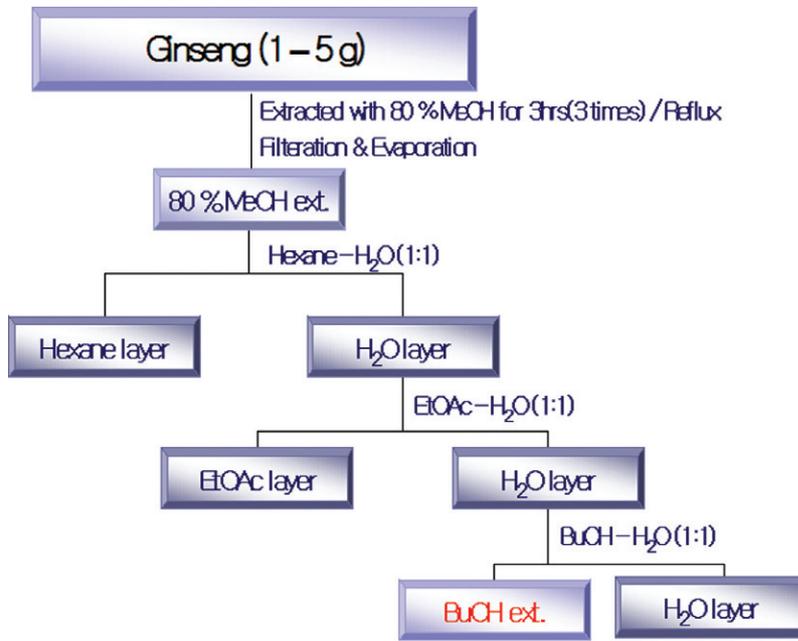
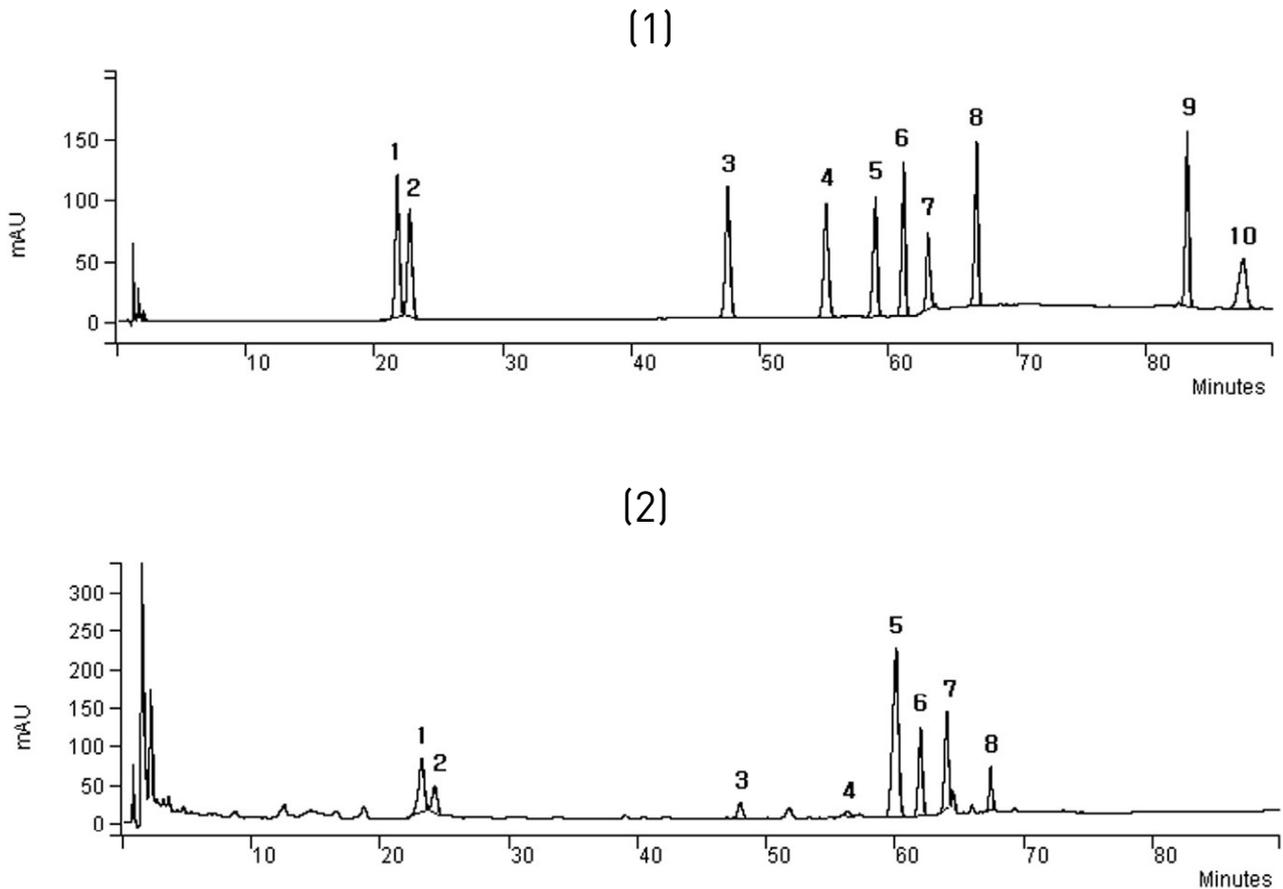


Fig. 2 Manufacturing process of crude saponin by extraction and fraction



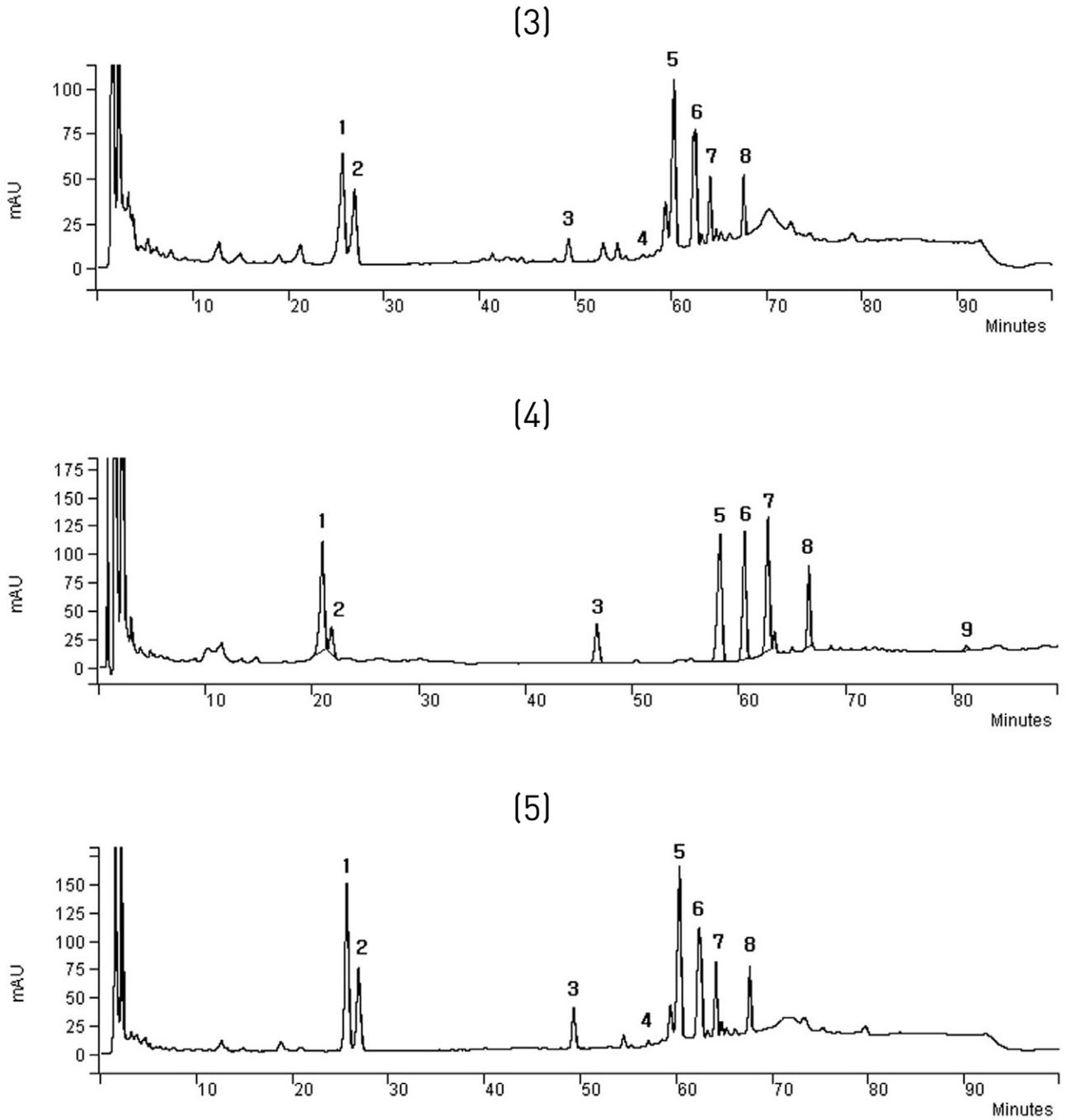


Fig. 3 HPLC chromatogram of standard ginsenosides(1).

1: ginsenoside Rg₁, 2: ginsenoside Re, 3: ginsenoside Rf, 4: ginsenoside Rh₁, 5: ginsenoside Rb₁, 6: ginsenoside Rc, 7: ginsenoside Rb₂, 8: ginsenoside Rd, 9: ginsenoside Rg₃, 10: ginsenoside Rh₂
 And HPLC chromatogram of wild ginseng(2), cultivated wild ginseng(3), cultivated ginseng 4years(4) and cultivated ginseng 6years(5).

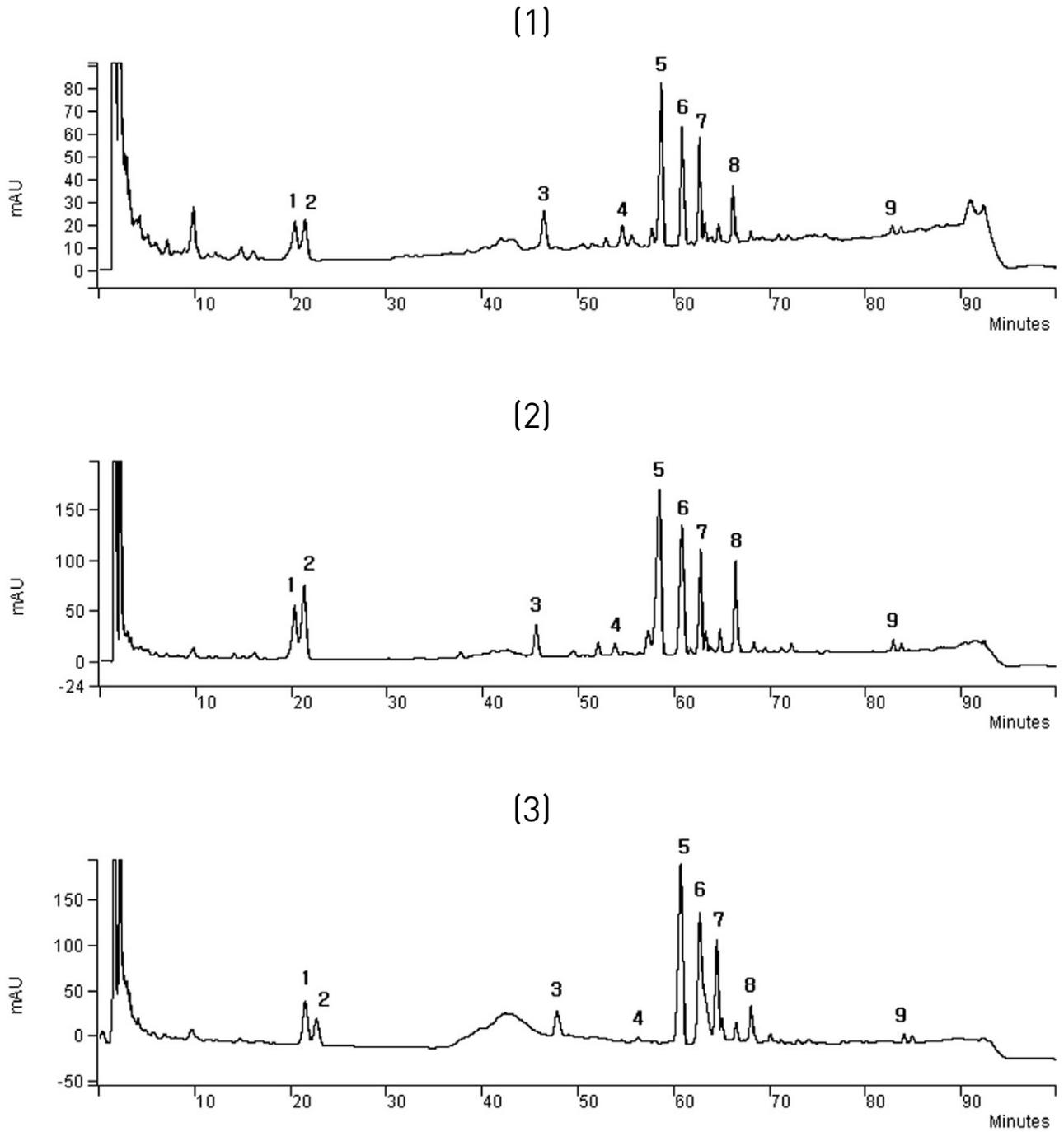


Fig. 4 HPLC chromatogram of cultivated wild red ginseng(1), cultivated ginseng-red 4years(2) and cultivated ginseng-red 6years.

Content of Ginsenosides

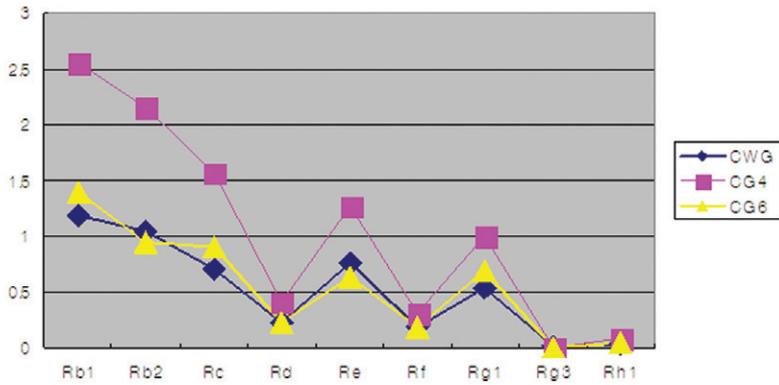


Fig. 5 Contents of ginsenosides on various ginsengs by calibration curve. CWG: cultivated ginseng, CG4: cultivated ginseng 4 years, CG6: cultivated ginseng 6 years.

Content of Ginsenosides

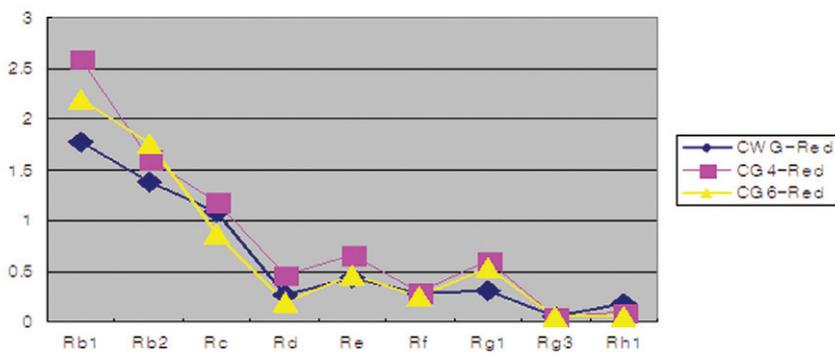


Fig. 6 Contents of ginsenosides on various red ginsengs by calibration curve. CWG-red: red ginseng from cultivated wild ginseng, CG4-red: red ginseng from cultivated ginseng 4 years, CG6-red: red ginseng from cultivated ginseng 6 years.

Content of ginsenosides

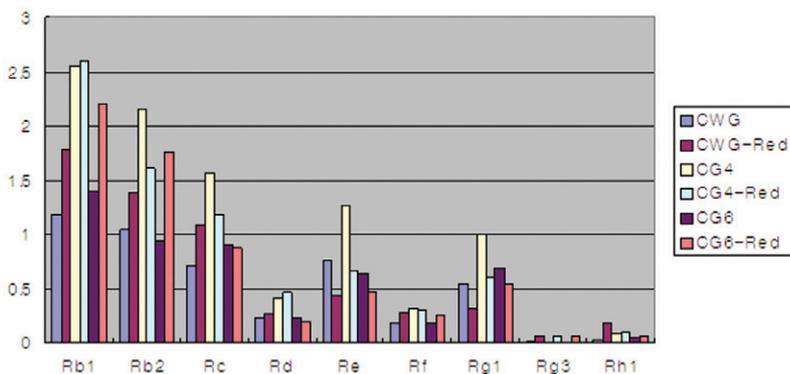


Fig. 7 Contents of ginsenosides on various ginsengs and red ginsengs by calibration curve. CWG: cultivated ginseng, CWG-red: red ginseng from cultivated wild ginseng, CG4: cultivated ginseng 4 years, CG4-red: red ginseng from cultivated ginseng 4 years, CG6: cultivated ginseng 6 years, CG6-red: red ginseng from cultivated ginseng 6 years.

Table 1. HPLC condition for analysis of ginsenosides

Instrument				
Pump	9012 Solvent Delivery System, Varian Co.			
Detector	9050 Variable Wavelength UV-VIS Detector, Varian Co.			
Autosampler	9300 Autosampler, Varian Co.			
Column	Capcell Pak C18 (150×4.6mm: 5 μ l), Shiseido Co.			
Operating condition				
UV Absorbance	203 nm			
Column temp.	40°C			
Injection vol.	20 μ l			
Mobile phase A	Water			
Mobile phase B	Acetonitrile			
Gradient profile	Time(min)	%A	%B	Flow(ml/min)
	0:00	82	18	1.0
	25:00	78	22	1.0
	55:00	70	30	1.0
	75:00	60	40	1.0
	90:00	50	50	1.0

Table 2. Equation and R² value of ginsenosides

Sample	Equation	R ²
Ginsenoside Rb ₁	y = 2211.5x - 848.88	0.9998
Ginsenoside Rb ₂	y = 1230.2x + 3108.7	0.9996
Ginsenoside Rc	y = 2318.7x - 4200.7	0.9996
Ginsenoside Rd	y = 2480.0x - 1937.1	0.9996
Ginsenoside Re	y = 2233.5x - 3970.4	0.9992
Ginsenoside Rf	y = 2800.5x - 3853.2	0.9998
Ginsenoside Rg ₁	y = 2666.8x - 1945.9	0.9995
Ginsenoside Rg ₂	y = 2618.3x + 845.58	0.9997
Ginsenoside Rh ₁	y = 2450.7x - 5594.0	0.9997
Ginsenoside Rh ₂	y = 1826.9x - 31205	0.9929

Table 3. Yield of 80 % MeOH extraction and n-BuOH fraction on various ginsengs

Sample	80% MeOH extract(%)	n-BuOH fraction(%)
1. Wild Ginseng	9.03	2.65
2. Cultivated wild ginseng	6.66	1.20
3. Cultivated Ginseng 4 years	15.62	2.07
4. Cultivated Ginseng 6 years	20.71	0.73
5. Cultivated wild red ginseng	53.70	4.16
6. Cultivated Ginseng 4 years	19.06	2.34
7. Cultivated Ginseng 6 years	20.92	1.56