

## 팽화 홍삼으로부터 20(S)-Ginsenoside Rg<sub>3</sub>와 Rg<sub>5</sub>의 분리 및 구조동정

안영은 · 조진경<sup>1</sup> · 백남인<sup>1</sup> · 최성원<sup>2</sup> · 허남윤<sup>2</sup> · 박석준<sup>3</sup> · 김병용 · 백무열\*

경희대학교 생명자원과학연구원 식품공학과, <sup>1</sup>경희대학교 한방재료가공학과,  
<sup>2</sup>오산대학교 호텔조리계열, <sup>3</sup>CJ(주) 식품연구소

### Isolation of 20(S)-Ginsenoside Rg<sub>3</sub> and Rg<sub>5</sub> from the Puffed Red Ginseng

Young-Eun An, Jin-Gyeong Cho<sup>1</sup>, Nam-In Baik<sup>1</sup>, Sung-Won Choi<sup>2</sup>, Nam-Yoon Hur<sup>2</sup>,  
Seok-Jun Park<sup>3</sup>, Byung-Yong Kim, and Moo-Yeol Baik\*

Department of Food Science and Biotechnology, Institute of Life Science and Resources, Kyung Hee University

<sup>1</sup>Graduate School of Biotechnology, Institute of Life Sciences and Resources, Kyung Hee University

<sup>2</sup>Hotel and Culinary Arts Division, Osan University

<sup>3</sup>CJ Foods R&D

#### Abstract

Red ginseng tail roots (9.8 g water/100 g sample) were puffed at 7, 8, 9, and 10 kg/cm<sup>2</sup> using a rotational puffing gun. Puffed red ginseng was extracted with 70% ethanol, and the concentrated extract was successively partitioned with diethyl ether, *n*-butanol and H<sub>2</sub>O. Two unknown ginsenosides from puffed red ginseng were found at 63 and 65 min of retention time in HPLC chromatogram suggesting that chemical structure of some ginsenosides might be altered during the puffing process. Identification of two unknown compounds was carried out using TLC, HPLC and NMR. Two major compounds were isolated from TLC. According to TLC result, compound I was expected to be the mixture of ginsenosides Rk<sub>1</sub> and Rg<sub>5</sub>, and compound II was expected to be a 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>. Three compounds were isolated from *n*-butanol fraction through repeated silica gel and octadecyl silica gel column chromatographies. From the result of <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR data, the chemical structures of unknown compounds were determined as ginsenoside Rg<sub>5</sub> and 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>. Unfortunately, ginsenoside Rk<sub>1</sub> could not be separated from ginsenoside-Rg<sub>5</sub> in the compound I. It was carefully reexamined using HPLC and confirmed that the last unknown compound was ginsenoside-Rk<sub>1</sub>.

**Key words:** red ginseng, puffing, ginsenoside, high performance liquid chromatography, thin layer chromatography, nuclear magnetic resonance

## 서 론

우리나라의 홍삼은 약 1,000년 전부터 제조된 역사적 기록을 가지고 있으며, 이는 한의학적 전통제약기술인 포제법으로 포제된 포제생약이라 할 수 있다(Lee, 1998). 홍삼이란 수삼에 적정한 열처리 공정을 가하여 만든 것으로, 2차적인 성분변환이 일어나 수삼에 존재하지 않는 특유의 새로운 약효성분들이 생성되고, 일정한 활성성분은 함량 증가가 일어난다. 이렇듯 인삼의 가공방법에 따라 인삼에 존재하지 않는 새로운 성분이 생성되며 인삼에 비해서 항

암작용을 비롯한 여러 가지 생리활성에 대해서 보다 우수한 효과를 나타내는 새로운 가공 인삼을 개발할 수 있다(Han et al., 2007). 홍삼의 가공 제조과정을 거치는 동안 C-20에서 glycosyl 잔기의 elimination 및 hydroxyl group의 epimerization에 의해 홍삼특유의 미량사포닌 성분으로 ginsenoside-Rh<sub>2</sub>, 20(S)-ginsenoside-Rg<sub>3</sub>, 20(R)-ginsenoside-Rh<sub>1</sub> 및 20(R)-ginsenoside-Rg<sub>2</sub> 등도 생긴다. 또한 홍삼과 백삼의 공통성분으로서 미량 사포닌 성분인 ginsenoside-Rh<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, -Rg<sub>3</sub>도 홍삼 제조과정 중 C-20위치에서 glycosyl 잔기 이탈에 의해 함량 변화가 일어나 홍삼이 백삼보다 함량이 높다(Oh et al., 1981). 이처럼 홍삼특유 성분으로서 얻어지는 사포닌 성분이나 홍삼과 백삼에서의 함량변화는 모두 인삼에 함유되어 있는 ginsenoside류가 홍삼 제조과정에서 2차적으로 분해 생성되어 생기는 것으로 알려져 있다.

중국의 경우 백삼에는 거의 존재하지 않고, 홍삼에 소량

Corresponding author: Moo-Yeol Baik, Department of Food Science and Biotechnology, Institute of Life Science and Resources, Kyung Hee University, Yongin, Gyeonggi-do 449-701, Korea

Tel: +82-31-201-2625; Fax: +82-31-204-8116

E-mail: mooyeol@khu.ac.kr

Received March 30, 2010; revised May 20, 2010; accepted May 24, 2010

존재하는 ginsenoside-Rg<sub>3</sub>를 대량 생산하는 방법을 개발하여 'Shenyi'라는 상품으로 항암치료를 위해 유통되고 있다. 국내에서도 가공인삼을 개발하여 기능성식품으로 표준화하는 국가차원의 연구와 벤처업계의 상품화가 진행되고 있다. 이와 같이 프리미엄 인삼 시대를 맞이하여 본 연구에서는 홍삼을 팽화 가공하여 새로운 가공홍삼을 개발하게 되었다.

식품가공방법 중 하나인 팽화(Puffing)는 짧은 시간에 높은 온도를 처리함으로써 식품 중에 존재하는 전분의 호화, 단백질의 변성 및 조직화, 저장 중 지질의 산패 등을 유발시키는 효소의 불활성화, 자연 발생적인 유해물질의 파괴, 원료성분의 탈취 및 변형과 같은 다양한 품질변화를 일으킨다(Nam, 2005). 특히 인삼이나 홍삼을 팽화 처리하였을 때에는 인삼의 주요 유효성분인 사포닌 성분이 열처리에 의한 가수분해 반응을 겪게 된다. 즉, 탈 malonyl화와 함께 비당부의 C20의 glycosyl residue의 이탈 또는 C20 수산기 입체배위의 이성화가 일어난다(Nam, 2005). 따라서 팽화처리에 의한 ginsenoside의 transformation을 기대할 수 있으며, 본 연구에서는 선행 연구에서 제조된 팽화 홍삼의 조사포닌에서 가장 많이 함유되어 있는 두 개의 물질에 대한 구조 동정을 수행하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 홍삼 시료는 2008년 전북 진안에서 재배한 4년근 홍삼을 한국인삼을 통해 구입하여 사용하였다.

### 팽화 홍삼의 제조

홍미삼의 수분함량을 일정하게 9.8%로 유지하였다. 그리고 고온에 의한 홍삼의 탄화를 최소화 하여 최적의 팽화 상태를 유지하기 위한 목적으로 홍미삼과 쌀을 1:4(w/w)의 비율로 혼합하였으며, 이것을 회전식 팽화기에 넣고 가열하였다. 게이지 압력이 5 kg/cm<sup>2</sup>에 도달했을 때 3 kg/cm<sup>2</sup>으로 중간압을 한 번 빼준 뒤, 다시 가열하여 압력이 7, 8, 9, 10 kg/cm<sup>2</sup>에 이르렀을 때, 팽화기의 문을 개방하여 팽화

를 유도하였다.

### 팽화 홍삼의 용매 추출 및 분획

팽화 홍삼 약 150 g에 70% ethanol 20배를 가한 뒤, 80°C에서 8시간 동안 추출하였다. Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액을 미리 항량된 수기에 넣어 45~50°C의 수온에서 rotary vacuum evaporator를 사용하여 시료의 최종 고형분이 4 g이 되도록 감압농축(BCHI rotavapor R-124, BCHI water bath B-481, Flawil, Switzerland)하였다. 농축된 시료 4 g을 증류수 120 mL에 녹여 분액 깔대기에 붓고 diethyl ether 120 mL을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물층과 ether층으로 분리 될 때까지 방치시켰다. 분리된 ether층은 버리고 남아 있는 물층에 다시 수포화 butanol 120 mL을 더하여 다시 잘 흔들어 준 후 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 수포화 butanol층은 따로 모아놓고 물층에 다시 수포화 butanol을 붓는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 증류수 120 mL를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 분리될 때까지 방치시킨 후 물층만 제거하여 주었다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator(BCHI rotavapor R-124, BCHI water bath B-481, Flawil, Switzerland)를 사용하여 미리 항량된 수기에 넣고 감압농축하여 *n*-BuOH 분획(1.14 g)을 얻었다.

### Ginsenoside 분석

Ginsenoside 분석은 조사포닌을 메탄올에 용해한 후 Millipore filter (pore size 0.45 µm)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC 장비와 조건은 Table 1과 같다.

### Thin layer chromatography

Thin layer chromatography(TLC)는 silica gel 60 F<sub>254</sub>(Merck, Darmstadt, Germany), octadecyl silica gel TLC는 DC-Fertigplatten RP-18 F<sub>254S</sub>(Merck, Darmstadt,

Table 1. HPLC conditions for using ginsenosides analysis

Instrument	Futecs NS3000i system, Dejeon, Korea
Column	SUPELCO C18 (4.6×250 mm, 5 µm, Bellefonte, USA)
Detector	UV detector (203 nm)
Flow rate	1.6 mL/min
Injection volume	20 µL
Gradient elution	Acetonitrile (solvent A), Water (solvent B) 0-10 min : A-B (20:80, v/v), 10-40 min : A-B (32:68, v/v) 40-55 min : A-B (50:50, v/v), 55-70 min : A-B (65:35, v/v) 70-72 min : A-B (90:10, v/v), 72-82 min : A-B (90:10, v/v) 82-84 min : A-B (20:80, v/v), 84-90 min : A-B (20:80, v/v)

Germany)를 사용하였는데, 전자의 경우는 전개용매로 CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(7:3:1)을 사용하였고, 후자의 경우는 MeOH-H<sub>2</sub>O(4:1)을 사용하였다. TLC 상의 물질 검출에는 UV lamp(Spectroline, Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, Westbury, NY, USA)로 보거나, 10% aq. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 분무한 후 가열하여 발색양상을 조사하였다.

**n-Saturated BuOH 분획으로부터 saponin 화합물의 분리**

*n*-BuOH 분획(PHB, 1.14 g)을 silica gel column chromatography(CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O=17:3:1)를 실시하여 21개의 분획물(PHB-1~PHB-21)을 얻었다. 21개의 분획물 중 화합물 I[PHB-10, 18 mg, Ve/Vt 0.29-0.31; Ve 해당분획 용출용매의 부피 Vt 용출에 사용한 전체 용출용매의 부피, TLC(60 F<sub>254</sub>) CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O=7:3:1, R<sub>f</sub> 0.57]을 분리하였다. PHB-16과 -17분획을 합쳐 ODS c.c.(MeOH-H<sub>2</sub>O=3:1)를 실시하여 11개의 분획(PHB-16+17-1~PHB-16+17-11)을 얻었다. 이 중 화합물 II[PHB-16+17-8, 21 mg, Ve/Vt 0.4-0.65, TLC(RP-18 F<sub>254S</sub>) MeOH-H<sub>2</sub>O=4:1, R<sub>f</sub> 0.2]를 분리하였다.

**구조 분석 및 동정**

Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (63-

200 μm)(Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였고, octadecyl silica gel(ODS)은 Lichroprep RP-18(40-63 μm, Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. Nuclear magnetic resonance(NMR)는 400 MHz FT-NMR spectrometer(Varian Inova AS-400, Palo Alto, CA, USA)로 측정하였고, Infrared (IR) spectrum은 Perkin model 599B(Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA)로 측정하였고, 비선광도는 Polarimeter P-1020(JASCO, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였다. 녹는점은 Stanford Research System 용점측정기(SRS, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 측정하였으며 미보정하였다.

**결과 및 고찰**

**Ginsenoside 정성 분석**

팽화 전후의 ginsenoside 함량의 변화를 확인하기 위해 팽화 압력 10 kg/cm<sup>2</sup>으로 제조한 팽화 홍삼과 대조군의 HPLC 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. 팽화 홍삼의 경우 대조군과 비교하였을 때 major ginsenoside (ginsenoside-Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Re, Rg<sub>3</sub>)의 함량은 전반적으로 대조군보다 감소하였으며 팽화 압력이 증가할수록 감소하는 경향을 나타냈다. 그리고 홍삼특유의 사포닌으로

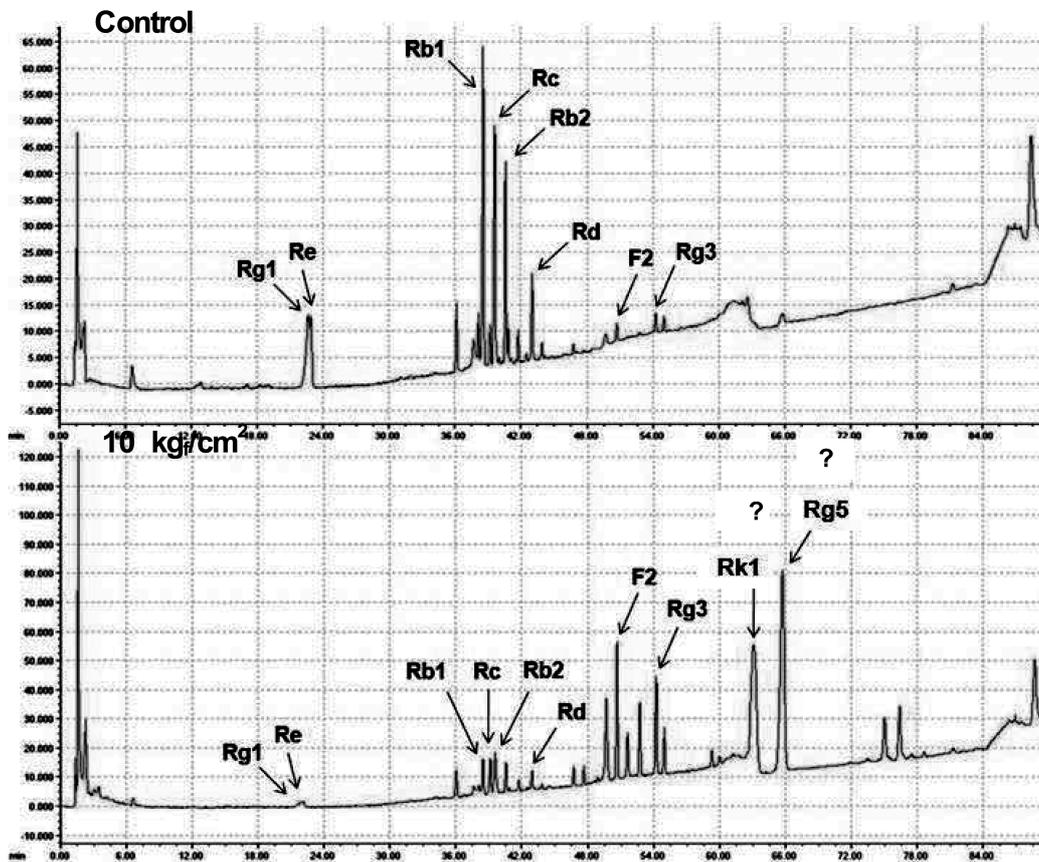


Fig. 1. HPLC chromatograms of control and puffed red ginseng at 10 kg/cm<sup>2</sup>.

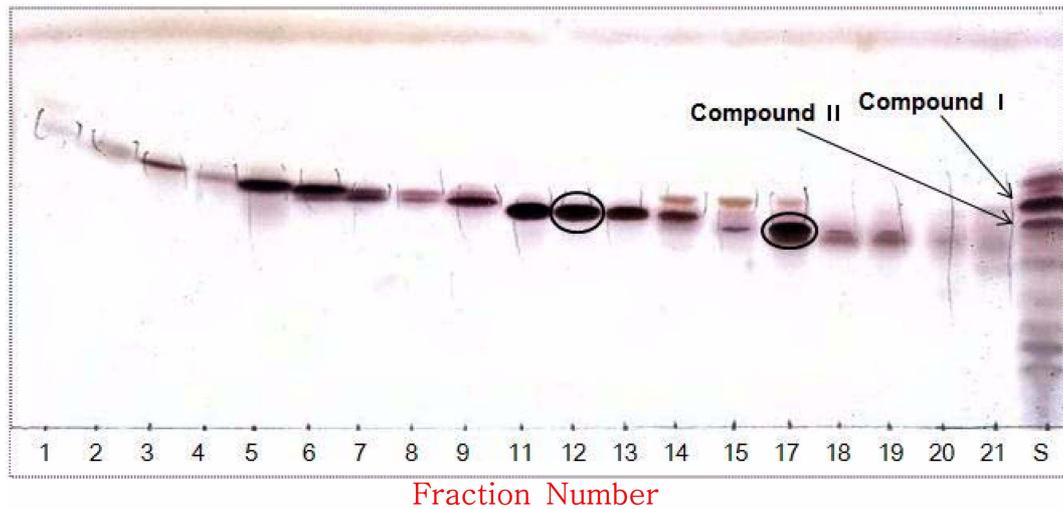


Fig. 2. TLC of isolated ginsenosides of puffed red ginseng.

알려진 Rg<sub>3</sub> 및 F<sub>2</sub>의 경우 팽화 홍삼에서 월등히 높게 검출되었으며, 그 함량은 팽화 압력의 상승에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 retention time 63-65분에 정확히 동정되지 않은 두 개의 peak가 생성되었으며 retention time 값을 기존의 문헌과 비교해 보았을 때, ginsenoside Rg<sub>5</sub>와 Rk<sub>1</sub>이라고 예측할 수 있었다. 각 ginsenoside를 정량 분석한 결과, 팽화 홍삼의 경우 ginsenoside Rg<sub>5</sub>, Rk<sub>1</sub>, 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>의 순으로 많이 존재하고 있는 것으로 확인되었다.

#### Thin layer chromatography

*n*-BuOH 분획(1.14 g)을 TLC(silica gel 60 F<sub>254</sub>)에 적용하였을 때 가장 진한 spot 두 가지를 확인할 수 있었고, 이는 ginsenoside standard와 함께 비교하였을 때 ginsenoside Rg<sub>5</sub>와 Rk<sub>1</sub>이 한 spot에 겹쳐져 있고 또 다른 spot은 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>라는 것을 예측할 수 있었다. 따라서 TLC로부터 화합물 I과 화합물 II를 분리하였다(Fig. 2).

#### 구조 분석 및 동정

##### <화합물 I>

White powder (MeOH); m.p. 188-192°C [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +4.7(c=1.2, MeOH); IR(KBr,  $\nu$ ) 3460, 3124, 2985, 1646 cm<sup>-1</sup> <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta_{\text{H}}$ ); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta_{\text{C}}$ ) (Table 2)

##### <화합물 II>

White powder (MeOH); m.p. 175-177°C [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -5.3(c=0.47, pyridine); IR(KBr,  $\nu$ ) 3410, 1645, 1076 cm<sup>-1</sup> <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta_{\text{H}}$ ); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta_{\text{C}}$ ) (Table 3)

본 실험에서는 화합물 I과 화합물 II 각각 18 mg, 21 mg

을 0.75 mL의 pyridine-*d*<sub>5</sub>에 녹여서 40°C에서 측정하여 NMR 스펙트럼을 얻었다. <sup>1</sup>H-NMR의 scan 수는 8 회로 하였고 <sup>13</sup>C-NMR은 1024회로 하였다. 화합물 I과 II는 TLC에 전개하고, 10% 황산을 분무, 가열 후 보라색으로 발색되었다.

20(S)-Ginsenoside Rg<sub>5</sub>(Fig. 3)는 C3에 glucosyl 잔기 2개가 결합되어 있고 C20에는 glucosyl 잔기가 없는 형태의 PPD 계열의 사포닌이며, 기존 인삼에 함유되어 있던 PPD 계열의 사포닌인 ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd의 C20에 연결된 당들이 열에 의해 분해되어 떨어져 나감으로써 생성되는 것으로 판단된다. Ginsenoside-Rg<sub>5</sub>(Fig. 3)는 C3에 glucosyl 잔기 2개가 결합되어 있는 형태이지만 PPD나 PPT계열의 사포닌들과는 달리 C20에 이중결합이 형성되는 등 골격구조에 변화가 있으며, 이와 같은 골격구조를 가지고 있는 ginsenoside는 ginsenoside F<sub>4</sub>, Rh<sub>4</sub>, Rs<sub>4</sub>가 있다. Ginsenoside Rk<sub>1</sub>은 Ginsenoside Rg<sub>5</sub>와 마찬가지로 C3에 glucosyl 잔기 2개가 결합되어 있는 형태이지만 ginsenoside Rg<sub>5</sub>와는 또 다른 골격구조를 가지고 있다. 이 역시 기존 홍삼에 존재하는 ginsenoside의 골격구조와 다르며 C20에 이중결합을 하나 더 가지고 있다. 이와 같은 골격구조를 가지고 있는 ginsenoside는 ginsenoside Rg<sub>6</sub>, Rk<sub>3</sub>, Rs<sub>5</sub>(Sun et al., 2009)이다.

화합물 I의 <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta_{\text{H}}$ ) 스펙트럼에서 고자장에서는 8개의 singlet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  1.82(H-21), 1.63(H-26), 1.59(H-25), 1.30(H-28), 1.11(H-29), 1.03(H-18), 0.96(H-30), 0.83(H-19))과 다수의 methylene proton signal이 관측되었다(Table 2). 산소가 치환된 영역에서는 1개의 oxygenated methine signal( $\delta_{\text{H}}$  3.29 (1H, dd,  $J=11.6, 4.0$  Hz))과, 2개의 anomeric proton signal( $\delta_{\text{H}}$  5.34 (1H, d,  $J=7.6$  Hz), 4.91(1H, d,  $J=7.2$  Hz))이 관측되었고, 이중결합 영역에서 2개의 olefine methine proton signal( $\delta_{\text{H}}$  5.23

**Table 2.** <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) and <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) data of 20(S)-ginsenoside Rg3 from the puffed red ginseng (in pyridine-*d*<sub>5</sub>)

No.	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (coupling pattern, <i>J</i> in Hz)
1	39.21	
2	28.80	
3	88.79	3.29 (1H, dd, <i>J</i> =11.6, 4.0 Hz)
4	39.66	
5	56.31	
6	18.41	
7	35.29	
8	40.19	
9	50.69	
10	36.97	
11	32.18	
12	72.48	
13	50.96	
14	50.84	
15	32.59	
16	26.73	
17	50.38	
18	15.80	1.03 (3H, S)
19	16.44	0.83 (3H, S)
20	139.97	
21	13.17	1.82 (3H, S)
22	123.34	
23	27.42	2.78 (2H, dd, <i>J</i> =6.4, 6.0 Hz)
24	123.59	5.23 (1H, br t, <i>J</i> =7.2 Hz)
25	131.07	1.59 (3H, S)
26	25.67	1.63 (3H, S)
27	17.71	
28	28.80	1.30 (3H, S)
29	16.59	1.11 (3H, S)
30	17.00	0.96 (3H, S)
1'	104.99	4.91 (1H, d, <i>J</i> =7.2 Hz)
2'	83.36	
3'	78.23	
4'	71.53	
5'	77.85	
6'	62.77	
1''	105.93	5.34 (1H, d, <i>J</i> =7.6 Hz)
2''	77.07	
3''	78.17	
4''	71.53	
5''	78.03	
6''	62.60	

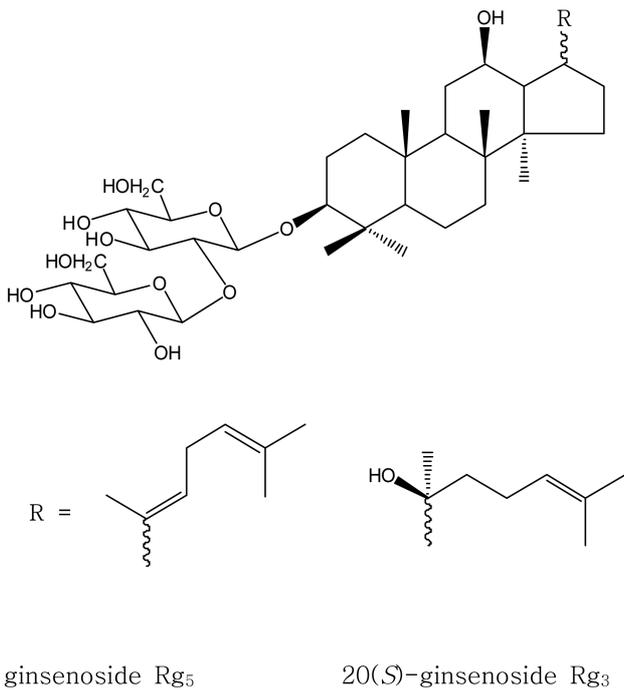
**Table 3.** <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) and <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) data of ginsenoside Rg5 from the puffed red ginseng (in pyridine-*d*<sub>5</sub>)

No.	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (coupling pattern, <i>J</i> in Hz)
1	39.11	
2	26.73	
3	88.82	3.26 (1H, dd, <i>J</i> =11.2, 2.4 Hz)
4	39.68	
5	56.31	
6	18.45	
7	35.15	
8	39.97	
9	50.35	
10	36.90	
11	32.03	
12	70.81	
13	48.53	
14	51.67	
15	31.33	
16	26.84	
17	54.74	
18	15.84	0.93 (3H, s)
19	16.38	0.79 (3H, s)
20	72.79	
21	27.08	1.40 (3H, s)
22	35.86	
23	23.00	
24	126.16	5.29
25	130.59	
26	25.82	1.63 (3H, s)
27	17.70	1.60 (3H, s)
28	28.11	1.26 (3H, s)
29	16.62	1.07 (3H, s)
30	17.02	0.95 (3H, s)
1'	104.99	4.87 (d, <i>J</i> =7.2 Hz)
2'	83.33	
3'	77.86	
4'	71.56	
5'	78.18	
6'	62.77	
1''	105.92	5.30 (d, <i>J</i> =7.0 Hz)
2''	77.05	
3''	78.24	
4''	70.93	
5''	78.02	
6''	62.64	

(1H, br t, *J*=7.2 Hz), 5.51 (1H, br t, *J*=6.8 Hz)]이 관측되었다. 이를 미루어 triterpenoid에 이중결합이 있고, 당이 2분자 결합한 구조로 예상할 수 있었다.

화합물 I의 <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>, δ<sub>C</sub>) 스펙트럼에서는 총 42개가 관측되었고, 저자장 영역에서 관측된 olefine quaternary carbon [δ<sub>C</sub> 139.97(C-20), 131.07(C-25)]과 olefine methine carbon [δ<sub>C</sub> 123.59(C-24), 123.34(C-22)]

의 두 signal로부터 이중결합이 두 쌍 존재함을 알 수 있었다(Table 2). 산소가 치환된 영역에서는 2개의 anomeric carbon signal[δ<sub>C</sub> 105.93(C-1''), 104.99(C-1')]과 다수의 oxygenated methine, methylene signal이 관측되어 당이 2분자 결합되어 있음을 확인하였고, chemical shift값으로부터 당의 종류가 glucose임을 확인하였다. 그리고 당이 결합하여 저자장으로 shift한 3번 carbon이 δ<sub>C</sub> 88.79 에서 관측



**Fig. 3. Chemical structure of ginsenoside Rg<sub>5</sub> and 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>.**

되었고, oxygenated methine carbon signal [ $\delta_c$  72.48(C-12)]이 관측되었다. 고자장 영역에서는 다수의 methylene carbon signal과 8개의 methyl carbon signal [ $\delta_c$  28.80(C-28), 25.67(C-26), 17.71(C-27), 17.00(C-30), 16.59(C-29), 16.44(C-19), 15.80(C-18), 13.17(C-21)]이 관측되었다. 이상의 data로부터 이 화합물은 dammarane-type의 triterpenoid임을 확인하였으며, 당이 2분자 결합한 ginsenoside로 anomeric proton의 coupling constant 값(7.6, 7.2 Hz)으로부터  $\beta$  결합하였음을 예상할 수 있었다. 당과 이중결합의 결합 위치는 2D NMR인 gHMBC로 확인하였다. gHMBC 스펙트럼에서 당의 anomeric proton signal [ $\delta_H$  4.91(1H, d,  $J=7.2$  Hz)]이 aglycon의 3번 carbon [ $\delta_c$  88.79(C-3)]과 cross peak를 보여 3번에 당이 결합하였음을 확인하였다. Methyl proton signal [ $\delta_H$  1.82(C-21)]이 한 쌍의 이중결합 [ $\delta_c$  139.97(C-20), 123.34(C-22)]과 cross peak를 보였고, 2개의 methyl proton signal [ $\delta_H$  1.63(H-26), 1.59(H-27)]이 다른 한 쌍의 이중결합 [ $\delta_c$  123.59(C-24), 131.07(C-25)]과 cross peak를 보여 이중결합의 위치를 결정하였다. 이를 종합한 결과 이 화합물은 protopanaxadiol-type인 ginsenoside Rg<sub>5</sub>로 구조 동정하였다(Kim et al., 1996).

화합물 II의  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta_H$ ) 스펙트럼의 고자장에서는 8개의 singlet methyl proton signal [ $\delta_H$  1.63(H-26), 1.60(H-27), 1.40(H-21), 1.26(H-28), 1.07(H-29),

0.95(H-30), 0.93(H-18), 0.79(H-19)]과 다수의 methylene proton signal이 관측되었다(Table 3). 산소가 치환된 영역에서는 1개의 oxygenated methine signal [ $\delta_H$  3.26(1H, dd,  $J=11.2, 2.4$  Hz, H-3)]과, 2개의 anomeric proton signal [ $\delta_H$  5.30(d,  $J=7.0$  Hz, H-1'), 4.87(d,  $J=7.2$  Hz, H-1'')]이 관측되었고, 이중결합 영역에서 olefine methine proton signal [ $\delta_H$  5.29(H-24)]이 관측되었다. 이를 미루어 triterpenoid에 당이 2분자 결합한 구조로 예상할 수 있었다.

화합물 II의  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta_c$ ) 스펙트럼에서는 총 42개가 관측되었고, 저자장 영역에서 관측된 olefine quaternary carbon [ $\delta_c$  130.594(C-25)]과 olefine methine carbon [ $\delta_c$  126.164(C-24)]의 두 signal로부터 이중결합이 하나 존재함을 알 수 있었다(Table 3). 산소가 치환된 영역에서는 2개의 anomeric carbon signal [ $\delta_c$  105.924(C-1''), 104.994(C-1')]과 다수의 oxygenated methine, methylene signal이 관측되어 당이 2분자 결합되어 있음을 확인하였고, chemical shift값으로부터 당의 종류가 glucose임을 확인하였다. 그리고 당이 결합하여 저자장으로 shift한 3번 carbon이  $\delta_c$  88.824에서 관측되었고, oxygenated quaternary carbon signal [ $\delta_c$  72.794(C-20)]과 oxygenated methine carbon signal [ $\delta_c$  70.814(C-12)]이 관측되었다. 고자장 영역에서는 다수의 methylene carbon signal과 8개의 methyl carbon signal [ $\delta_c$  28.114(C-28), 25.824(C-26), 27.084(C-21), 17.704(C-27), 17.024(C-30), 16.384(C-19), 16.624(C-29), 15.844(C-18)]이 관측되었다. 이상의 data로부터 이 화합물은 dammarane-type의 triterpenoid임을 확인하였으며, 당이 2분자 결합한 ginsenoside로 anomeric proton의 coupling constant값(7.0, 7.2 Hz)으로부터  $\beta$  결합하였음을 예상할 수 있었다. 당의 결합 위치는 2D NMR인 gHMBC로 확인하였다. gHMBC 스펙트럼에서 당의 anomeric proton signal [ $\delta_H$  3.26(1H, dd,  $J=11.2, 2.4$  Hz, H-3)]이 aglycon의 3번 carbon [ $\delta_c$  88.824(C-3)]과 cross peak를 보여 3번에 당이 결합하였음을 확인하였다. 이를 종합한 결과 이 화합물은 protopanaxadiol-type인 ginsenoside Rg<sub>3</sub>로 구조 동정하였다(Wang et al., 2007; Dong et al., 2003).

## 요 약

팬화홍삼으로부터 용매추출, 용매분획 및 silica gel column chromatography를 반복하여 두 개의 화합물을 분리하였다. 이들 두 화합물의 결정특성, 녹는점, 비선광도, Infrared spectrum 분석 결과, TLC에서의 R<sub>f</sub>값, HPLC에서의 retention time 및 NMR 데이터를 측정하여 고찰한 결과 두 개의 화합물은 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>와 ginsenoside Rg<sub>5</sub>임을 확인할 수 있었다. 특히  $^1\text{H-}$  및  $^{13}\text{C-NMR}$  데이터

를 HSQC 및 HMBC와 같은 2D-NMR 실험을 통하여 더욱 정확하게 동정하였다.

### 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원에 의해 선정된 고려인삼명품화사업단(KGCMVP)의 지원과 2009년도 경희대학교 교원 해외 연구과건 지원으로 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

Lee SJ. 1998. 본초강목. 중국의학대계 41책, Jungdam Pub. pp. 231-232, Seoul, Korea  
 Dong A, Ye M, Guo H, Zheng J, Guo D. 2003. Microbial transformation of ginsenoside Rb1 by *Rhizopus stolonifer* and *Curvularia lunata*. *Biotechnol. Lett.* 25: 339-344  
 Han CK, Hong HD, Kim YC, Kim SS, Sim GS. 2007. Effect of puffing on quality characteristics of red ginseng tail root. *J. Ginseng Res.* 31: 147-153  
 Kim SI, Park JH, Ryu JH, Park JD, Lee YH, Park JH, Kim TH,

Kim JM, Baek NI. 1996. Ginsenoside Rg5, a genuine dammarane glycoside from Korean red ginseng. *Arch. Pharm. Res.* 19: 551-553  
 Lee JH, Shen GN, Kim EK, Shin HJ, Myung CS, Oh HJ, Kim DH, Roh SS, Cho W, Seo YB, Park YJ, Kang CW, Song GY. 2006. Preparation of black ginseng and its antitumor activity. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* 20: 951-956  
 Lee DY, Cho JG, Lee MK, Lee JW, Park HJ, Lee YH, Yang DC, Baek NI. 2008. Identification of NMR data for ginsenoside Rg1. *J. Ginseng Res.* 32: 291-299  
 Nam KY. 2005. The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs processed ginsengs (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J. Ginseng Res.* 29: 1-18  
 Oh HL, Lee SJ, Do JH, Kim SD, Hong SK. 1981. Physical and chemical characteristics of *Panax ginseng* starch. *Korean J. Ginseng Sci.* 5: 114-121  
 Sun BS, Gu LJ, Fang ZM, Wang CY, Wang Z, Lee MR, Li Z, Li JJ, Sung CK. 2009. Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by HPLC-ELSD. *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 50: 15-22  
 Wang W, Zhao Y, Elizabeth R. Rayburn, Donald L. Hill, Wang H, Zhang R. 2007. *In vitro* anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng*. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 59: 589-601