

도라지의 약리성분

정진환* · 신평균¹ · 류진창² · 장대식³ · 조성환

경상대학교 식품공학과, ¹농촌진흥청 고령지농업시험장,
²농촌진흥청 농업과학기술원 분자유전과, ³경상대학교 농화학과.

초록 : 도라지는 약리성분을 많이 함유하고 있으며 식품 및 생약재료로 널리 사용되고 있다. 재배도라지 24년근 및 3년근의 주요성분을 동정하기 위하여 약리성분을 분석하고 비교하였다. 재배도라지의 에탄올 추출물에서는 24년근에서 역상column을 사용한 HPLC분석에서 retention time이 약 50분 이후부터 3년근에는 보이지 않았던 peak가 나타나고 있어 연수에 따라 다수의 약리성 물질이 생성되거나 미량물질이 생성되었다. 재배도라지의 sterol 조성비 및 saponin 함량에서는 24년근과 3년근간에는 별다른 차이가 없었다. 재배도라지 15년근 및 23년근, 인삼 6년근, 더덕 3년근 모두 유의성있는 항보체 활성효과는 없었다. (1996년 11월 15일 접수, 1997년 1월 17일 수리)

서 론

도라지 *Platycodon grandiflorus* (jacqin) A. De Candolle는 길경으로 초롱꽃과(Campanulaceae)에 속하는 다년생 초본의 뿌리로서 한국을 위시하여 중국 및 일본 등지에서 널리 자생하며 최근 식품 및 약리성 건강식품으로 소비량이 증가하면서 재배면적이 확대되고 있다.^{1,2)} 우리나라에서는 옛날부터 약용보다는 식용으로 더 많이 이용해오고 있으며 식용으로는 도라지가 당질이 많고 칼슘과 철분을 비교적 많이 함유하고 있어 생채, 나물, 전, 산적, 자반, 정과 등으로 조리되었다. 조리시 도라지는 독특한 쓴맛과 향긋한 효과를 주어 식품으로서 뿐만 아니라 약효과도 뛰어나 일석이조의 효과를 얻을 수 있는 효율성이 높은 식품으로 알려져 있다.³⁾ 또한 도라지는 옛부터 약용으로서 전통적으로 사용한 예가 많은데 신농본초경⁴⁾에 최초의 기록이 나와 있으며 우리나라에서는 동의보감⁵⁾에 호흡기 계통 질환에 특효를 나타낸다고 수록되어 있다. 최근에는 여러가지 약리효과를 검증한 결과 항염증작용, 중추억제작용, 혈압강화작용, 항choline효능성작용, 용혈작용이 보고되어 있을뿐만 아니라 항보체 활성연구도 진행중에 있다.^{6,9)} 그리고 약리성분에 대한 연구는 1940년 辻本¹⁰⁾이 처음으로 사포닌의 aglycone인 platycodigenin을 분리하였고, Kubota 등¹¹⁾ 및 Akiyama 등¹²⁾은 saponin의 구조를 밝혔는데, 이들은 전부 triterpenoid계 saponin으로 알려졌다. 그 후 1984년 Ishii 등¹³⁾은 새로운 17종의 saponin의 구조를 밝혔다. 국내에서는 도라지의 sterol, 일반성분, saponin 함량, 향기성분, platycodin D 및 종류별 saponin 함량차이 등이 조사되었다.¹⁴⁻¹⁹⁾ 따라서 본 실험에서는 재배 도라지의 일반성분 분석자료를 기초로 하여 에탄올 추출물, sterol, saponin, 항보체 활성성분 등 약리성분을 비교분석하고자 한다.

재료 및 방법

시료

재배도라지의 시료는 지리산일대에서 재배된 3년근과 24년근의 도라지 뿌리를 사용하였다. 항보체활성 성분용 시료는 재배도라지 23년근 및 15년근, 재배된 인삼 6년근, 더덕 3년근을 사용했는데, 굵기가 직경 10 mm 이하는 그대로 10 mm 이상은 굵기에 따라 2~4등분으로 세로로 길게 절단하여 망사에 넣고 바람이 잘 통하는 음식에 매달아 15일간 자연건조한 후 파쇄분말하여 사용하였다.

시약 및 기구

시약 및 기구는 thin layer chromatography (TLC)에 사용된 silica gel TLC plate로는 Kiesel gel (80F254, Merck)을 사용하였고, 각 정제단계에 사용된 methanol, ethyl acetate, acetone, chloroform, ethanol, *n*-butanol, *n*-hexane 등의 용매는 1급 시약을, HPLC 및 GC용매는 Aldrich Co. 및 Baker Co.제품의 특급을 사용하였다. 농축장치 (rotary vacuum evaporator)는 EYELA Co.사의 제품을 사용하였다.

에탄올 추출물용 UV Spectrum은 Shimadzu UV 60 Spectrophotometer를, HPLC는 Waters사의 μ Bondapak C₁₈(3.9 mm×30 cm)의 역상 column을 사용하였다. Sterol 용 gas-chromatography는 FID가 부착된 Shimadzu GC-14A를 사용하였다. Saponin용 HPLC는 Waters HPLC 600을 사용하였다. 항보체활성성분용 EA cell은 일본 Biotest 연구소의 것을 사용하였다.

방법

(1) 에탄올 추출물

찾는말 : 도라지, 약리성분, 에탄올추출물, sterol, saponin, 항보체활성성분
*연락처자

도라지 3년근, 24년근을 물과 ethanol로 세척한 후 풍건하였다. 풍건된 시료의 에탄올 추출은 풍건한 도라지 뿌리를 분쇄하거나 잘게 썰어 ethanol로 온침하여 여과한 후 수층에 2N-HCl를 가하여 감압하에서 농축하였다. 수지물질, chlorophyll 등을 제거하기 위해 여별하여 제거한 후 더 증발 농축하였다. 농축액에 ethanol를 가하고 불순물이 있으면 여과하고 이를 다시 농축한후 소량의 물을 가하여 용해하였다. 이 수용액을 diethylether로 추출하여 배당체나 유기당 등을 제거하고 남은 수용액에 NH₄Cl를 처리하고 CHCl₃으로 추출하였다.²⁰⁾ Total ethanol 추출물을 TLC로 전개한 후 dragendorff's reagent, phosphomolybdic acid, ferric chloride, 10% H₂SO₄ 정색반응을 시키거나 또는 정색반응없이 UV조사에 의해 분석하였다. Total ethanol extrats의 UV spectrum은 Shimadzu UV 60 spectrophotometer를 사용하여 400 nm에서 190 nm까지 scanning하였다. HPLC는 μ Bondapak C₁₈(3.9 mm×30 cm)의 역상 column을 사용하여 203, 254, 278 nm에서 각각 분석하였다.

(2) Sterol

Sterol의 분리는 속시렛 장치에서 diethylether로 총지방을 추출하여 0.5% H₂SO₄가 함유된 알콜용액 50 ml를 가하여 12시간 환류한 다음 10% KOH가 함유된 알콜용액 50 ml를 첨가하여 1시간 환류시켜 검화된 유지를 분액깔대기에 옮기고, 물과diethylether를 첨가하여 불검화물(ether층)을 분리하였다. 불검화물을 n-hexane: diethylether (6 : 4)를 전개용매로 사용하여 TLC로 분리한 후 Rf=0.31 spot를 용출한 다음 GC에 의해 분석하였고, 분석조건은 다음과 같다. Instrument, Shimadzu GC-14A; column, Alltech Econo-Cap SE-54(30 m×0.32 mm×0.25 μ m); column temperature, 240~280°C(2°C/min); Injector temperature, 280°C; Carrier gas, He, 1.5 kg/cm².

(3) Saponin

Saponin 분리는 Ando 등²¹⁾의 수포화 부탄올 추출법에 준하였다. 분말시료 3g에 80% 수용성 메탄올 100 ml를 가하여 75°C에서 2시간씩 4회 추출하고 여과하여 여과액을 70°C 이하에서 감압농축한 다음, 50 ml의 증류수를 가하여 용해하고 diethylether 50ml를 2회씩 가하여 진탕하여 ether층으로 이행되는 지용성 물질을 제거하였다. 물층에 50 ml의 수포화 부탄올을 가하여 4회반복 추출하고 50 ml의 증류수로 2회 세척한후 55°C에서 감압농축을 하고, 다시 105°C에서 2시간 건조한 다음 그중량을 n-butanol extract (crude saponin)로 표시하였다. 그리고 saponin의 패턴조사는 TLC를 사용하였다. 검액은 5%메탄올 용액을 10 μ l씩 silica gel 60F₂₅₄ TLC plate에 점적한 후 클로로포름/메탄올/물(65 : 30 : 10, 하층)로 전개하고 30% 황산을 분무하여 110°C에서 10분간 가열발색시켜 비교 조사하였다. Saponin분석은 홍 등²²⁾의 방법에 준하여 HPLC로 분석하였고, 분석조건은 다음과 같다. Instrument, Waters HPLC 600; column, Uchrosorb NH₂(Merck CO, 10 μ m, 4 mm ID×250 mm); Mobile phase, Acetonitrile/H₂O/n-butylalcohol (80/20/10); Flowrate, 1 ml/min; Chart speed, 0.5 cm/

min; Detector, Differential Refractometer; Attenuator 64; Injection volume, 20 μ l.

항보체활성성분

(1) 시료조제

시료분말 100 g을 취하여 1 litre증류수를 부가하고 100°C 이상에서 2시간 가량 열탕 추출한 액을 여지 520B (Schleicher & Schuell)로 여과하였다. 여액에 2.5배의 에탄올을 첨가시켜 4°C에서 하루밤 방치한 후 원심분리(8000Xg, 15분) 하여 얻은 침전물은 아세톤으로 2~3회 세척하고 건조한 다음 증류수로 용해시켜 동결건조하여 항보체 활성검정의 시료로 사용하였다.

(2) 활성측정

항보체 활성의 측정은 Yamada 등²³⁾의 방법에 준하여 측정하였다. NHS(Normal human serum), GVB²⁴(gelatin veronal buffered saline, pH 7.5)와 시료용액에 각각 50 μ l씩 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 연속 희석하고 EA cell(1×10⁸ cell/ml)를 이용, 잔존용혈활성을 측정하였다. 한편 대조구는 동일조건에서 시료를 함유하지 않은 채 측정하였으며, 항보체 활성은 대조구 대비 총보체용혈(TCH₅₀, 50% of total complement hemolysis)의 저지율(ITCH₅₀(%), inhibition of 50% of total complement hemolysis)로서 나타내었다.

$$ITCH_{50}(\%) = \frac{TCH_{50} \text{ of control} - TCH_{50} \text{ treated with sample}}{TCH_{50} \text{ of control}}$$

결과 및 고찰

에탄올 추출물의 성분

재배도라지의 약리성분을 분석하기 위해 total ethanol extracts를 silica gel TLC로 분석하였다. n-Hexane : ethyl acetate(4 : 1)에서 전개된 TLC plate를 saponin 발색 시약인 Liebermann-Burchard reagent를 처리하고 가열하였을 때 Rf가 0.85인 spot가 24년근에는 없고 3년근에만 존재하는 사실을 확인하였다(Fig. 1-B). 또한 MeOH-chloroform으로 추출한 분획을 silicagel TLC로 분리하여 10% phosphomolybdic acid를 처리한 다음 가열하였을 때 24년근에서 Rf가 0.88인 희미한 spot이 보였다.(Fig. 1-C)

3년근과 24년근의 UV spectrum의 특성은 278 nm에서 최대의 흡수 peak을 보였다. 에탄올 추출물을 278 nm에서 HPLC로 분석한 결과 Fig. 2에서 보여주듯이 3년근에 없는 peak가 24년근에서 몇가지 더 나타남을 보여주고 있어, 도라지는 연수가 경과할수록 어떤 물질인지는 모르지만 다수의 물질이 생성되는 것으로 추정된다.

Sterol 성분

불검화합물에 함유된 sterol 성분을 silica gel TLC로 분리하여 GC로 분석한 결과는 Table 1과 같다. Table 1에서와 같이 sterol함량이 가장 높은 것은 sitosterol인데 3년근

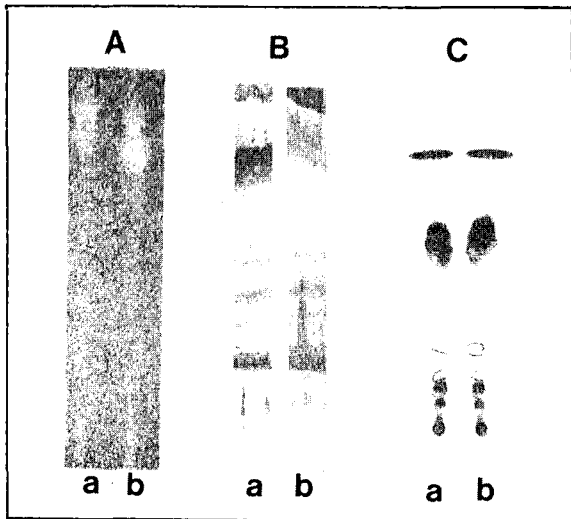


Fig. 1. Thin layer chromatograms of total extracts from *Platycodon* roots

A : 312 nm (UV light), B : Liebermann-Burchard reagent, C : 10% phosphomolybdic acid, a : total extracts from three-year-old root, b : total extracts from 24-year-old root.

Table 1. Compositions of sterols from three-year-old and 24-year-old *Platycodon* roots cultivated in a local farm

Sterol	Concentrations (%)		Retention time (min)	
	Three-year-old root	24-year-old root	Three-year-old root	24-year-old root
Campesterol	0.86	1.79	5.7	5.7
Stigmasterol	11.41	12.17	19.0	19.1
Sitosterol	50.62	45.85	19.9	20.0
Unknown	37.11	40.19	21.4	21.5
Total	100.0	100.0		

에서 50.62%, 24년근에서 45.85%였다. Campesterol은 3년근에서 0.86%, 24년근에서 1.79%로 3년근보다 24년근에서 약 2배정도 함량이 높게 나타났다. 그런데 Table 1을 검토해 보면 3년근과 24년근의 sterol함량에서는 근소한 차이가 있으나 조성비는 별차이가 없었다. 다만 정¹⁴⁾이 도라지의 free-sterol를 분석한 결과는 α -spinasterol 이 50.25%로 가장 높은 함량을 보였으나, 본 실험에서는 sitosterol 함량이 45~51%로 가장 높은 함량을 보인점이 특이하다.

이렇게 sitosterol이 새롭게 검출된 것을 보아 앞으로 도라지의 sterol에 관한 분석과 연구가 좀더 깊이 있게 수행되어야 할 것으로 생각된다.

Saponin 성분

도라지의 사포닌인 platycodigenin A, B, C, D, D₂ 등의 구조가 밝혀졌으며¹⁰⁻¹³⁾ 그 약리효과도 검증되었다.^{6,9)} 따라서 재배년수에 따른 도라지의 약리성분중 사포닌을 분석하기 위해 24년근과 3년근의 도라지 뿌리를 동체(몸통)와 잔뿌리로 나누어 추출한 후 TLC로 분리하여 HPLC에 의해 분석한 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4과 같다. 잔뿌리에서는 3년근에서 retention time이 2분 정도에서 나타난 peak외에는 유

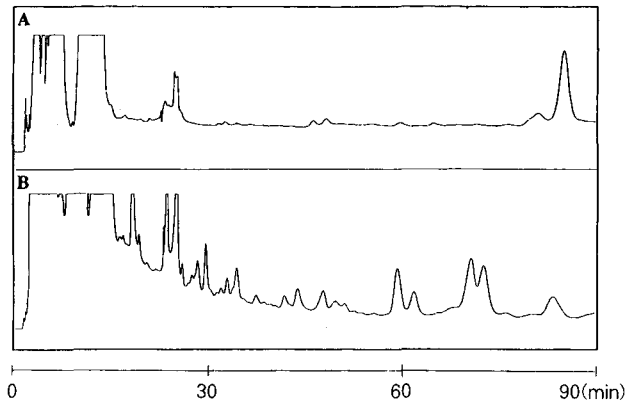


Fig. 2. Comparison of HPLC chromatograms of ethanol extracts from three-year-old(A) and 24-year-old(B) *Platycodon* roots.

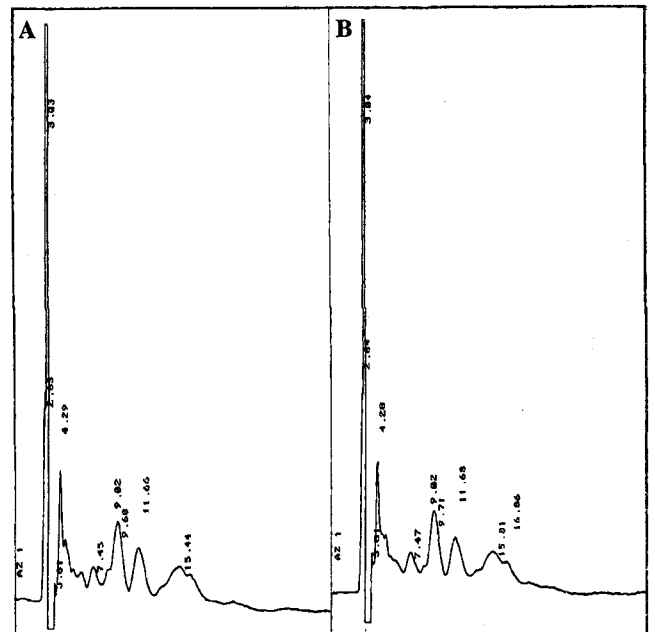


Fig. 3. HPLC chromatograms of saponin from body of three-year-old (A) and 24-year-old(B) *Platycodon* roots.

사한 pattern을 보였고, 동체에서는 같은 pattern을 보여 재배년수에 따른 saponin의 pattern에는 차이가 없었다. 신등¹⁰⁾은 도라지를 자연산, 재배산 등으로 나누어 crude saponin을 분석한 결과 주요한 peak는 같았지만 1~2개의 미세한 peak 차이를 보였으나 함량에 있어서는 자연산이 높게 나타났다고 보고하였다. 그러므로 재배년수에 따른 saponin의 성분은 차이가 없는 것으로 보아 에탄올 추출물에서 새로운 성분의 생성은 saponin에서의 새로운 성분의 생성보다는 함량의 차이에 의하거나 saponin이 아닌 다른 약리성분의 차이일 것으로 사료된다.

항보체 활성 성분

일반적으로 다당체에 의한 항보체 활성검정의 약리적 효능은 시료의 고분자획분 1000 mg/ml 농도에서 대조구대비 총보체 용혈저지율[ITCH₅₀(%)]이 70% 이상일 경우에 인정되고 있으며 Table 2에서와 같이 수용성 다당체 획분을 이

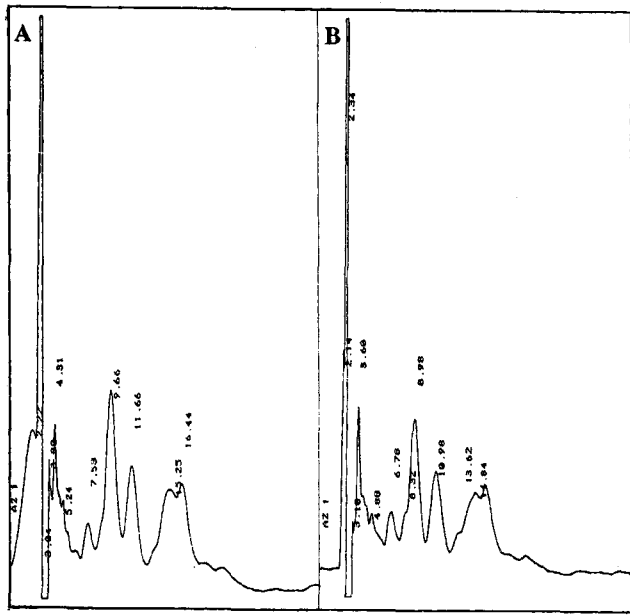


Fig. 4. HPLC chromatograms of saponin from root-hair of three-year-old(A) and 24-year-old(B) *Platycodon* Roots.

Table 2. Anticomplementary activity of cultivated *Platycodon* and other plant roots of various ages.

Sample	Year	ITCH ₅₀ (%)
<i>Ginseng</i>	6	47
<i>Condonopsis</i>	3	40
<i>Platycodon</i>	15	18
<i>Platycodon</i>	23	21

*ITCH₅₀(%) : Inhibition of 50% of total complement hemolysis.

용하여 항보체 활성을 검정한 결과 인삼, 더덕, 및 도라지등에서는 모두 항보체활성효과가 없으며, 특히 도라지는 신등²⁴⁾의 결과와 유사하였으며, 재배년수에 따른 항보체활성의 증감의미가 관찰되지 않았다.

참고 문헌

1. 柳基億 (1995) 韓國産 桔梗科(*Campanulaceae*) 植物의 分類學的 研究. 江原大學校 大學院 博士學位 論文.
2. 李相仁 (1981) 本草學, p.329, 修書院, 서울, 한국.
3. 식생활개선 범국민운동본부 (1985) 더덕, 도라지 이래서 좋습니다. (손경희). 월간식생활개선 2월호 p 88-91.
4. 沈湘寶 (1967) 神農本草經. 綜合出版社.
5. 허 준 (1976) 국역증보 동의보감. p.1197. 남산당. 서울 한국.
6. 李殷芳 (1974) 桔梗의 藥理學的 研究. 生藥學會誌 **5**(1), 49-60.
7. 高木敬次郎, 李殷芳 (1972) 桔梗의 藥理學的 研究 (第2報) 組 *Platycodin* の抗炎症作用, 摘出臟器 におよぼす作用および 其他の 藥理作用. 藥學雜誌 **92**(8), 961-986.
8. 李殷芳 (1973) 桔梗의 藥理學的 研究(第4報) 組 *Platycodin* の 實驗藥理效果と 桔梗의 臨床治療效能との 對比. 藥學雜誌

9. 久保道德, 長尾孝治, 松田秀秋, 難波建輔 (1986) 桔梗의 免疫 藥理學的 研究(第1報) 마우스 食食能에 及ぼす 影響. 生藥學雜誌 **40**(4), 367-374.
10. 辻本孫三郎 (1940) 農化 **16**, 613.
11. Kubota, T., H. Kitatan and H. Hinoh (1969) The structure of platycodigenic acid A, B and C, further triterpenoid constituents of *Platycodon grandiflorum* A. De. *Candolle. Chemical Commun.* **22**, 1314.
12. Akiyama, T., O. Tanaka and S. Shibata (1972) Chemical studies on the oriental plant drugs. XXX. Sapogenins of the roots of *Platycodon grandiflorum* A. De *Candolle*. (1) Isolation of the sapogenins and the stereochemistry of polygalacic acid. *Chem. Pharm. Bull.* **20**(9), 1945-1951.
13. Ishii, H., K. Tori, T. Tozoyo and Y. Yoshimura (1984) Saponins from Roots of *Platycodon grandiflorum* (Part 2. Isolation and structure of New Triterpene Glycosides). *Chem. Soc. Perkin Trans.* p 661-668.
14. 鄭泰泳 (1985) 도라지 뿌리의 Sterol에 관한 연구-제2보, 도라지 뿌리의 Sterylester, Free sterol, Steryl glycoside 및 Acylated steryl glycoside에 대해서. 釜山大學校 家庭大學 研究報 **11**, 7-16.
15. 曹圭成 (1988) 재배도라지와 재배더덕의 化學成分 比較에 관한 研究. 第1報 一般成分 및 Saponin 組成. 安城農業專門 大學 論文集 **20**, 426-439.
16. 鄭泰泳, 金貞林, 早瀬文孝, 加藤博加通 (1987) 도라지 뿌리의 향기성분에 관하여. 韓國營養食糧學會誌 **16**(2), 136-146.
17. 曹圭成, 張榮相 (1989) 재배도라지와 재배더덕의 化學成分 比較에 관한 研究(第2報 無機成分 및 Amino acid 組成). 安城農業專門大學 論文集 **21**, 170-181.
18. 김택제, 이상인, 이태희, 고재식 (1990) 길경 중 *Platycodin* D의 분리 및 분석. *Journal of Korean Society of Analytical Science* **3**(3), 399-404.
19. 辛正植, 康秉秀 (1993) 桔梗의 種類別 saponin 含量差異에 관한 研究. 圓光大學校 韓醫學研究所報 **3**(1), 167-179.
20. 우원식(1984) 천연물화학연구법, 민음사.
21. Ando, T., O. Tanaka and S. Shiabta (1971) Chemical studies on the oriental plant drugs. Comparative studies on the saponin and sapogenins of ginseng and related crude drugs. *Syoyakugaku Zasshi* **25**(10), 28.
22. Soon-Keun Hong, Eun-Kyue Park, Choon-Young Lee, Myong-Un Kim (1979) High performance liquid chromatographic determination of ginseng saponins. *Yakhak Hoeji* **23**, 245-250.
23. Yamada, H., Nagai, T., Cyong, J. C. and Otsuka, Y. (1985) Relationship between chemical structure and anti-complementary activity of plant polysacchrides. *Carbohydrate Research.* **144**, 101-111.
24. Shin, K. S., Kwon, K. S. and Yang, H. C. (1992) Screening and characteristics of anti-complementary polysaccharides from chinese medicinal herbs. *J. Korean Agri Chem. Soc.* **35**, 42-50.

Pharmaceutical Substances of *Platycodon grandiflorus* (jacquin) A. De Candolle.

Jin-Hwan Chung*, Pyung-Gyun Shin¹, Jin-Chang Ryu², Dae-Sik Jang³ and Sung-Hwan Cho (Department of Food Science and Technology; ¹National Alpine Agricultural Experiment Station, RDA, Pyeongchang 232-950, Korea; ²National Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea; ³Department of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea.)

Abstract : *Platycodon* root contains abundant pharmaceutical substances and is widely used as a food and a medicinal herb. The three-year-old and the 24-year-old *Platycodon* roots cultivated in a local farm were analyzed and compared with their pharmaceutical substances to identify the major components. Reverse column HPLC analysis of ethanol extracts from the 24-year-old roots showed some distinctive peaks after the retention time of 50 min which were absent in the extracts from the three-year-old roots. This indicates that several pharmaceutical substances are present in the older roots. There were no differences in sterol composition and saponin content between the 24-year and three-year-old roots. The 15-year-old and the 23-year-old *Platycodon* roots, the 6-year-old *Ginseng* root, and the three-year-old *Condonopsis* root all did not show significant anticomplement activity.

*Corresponding author

Keywords : *Platycodon*, pharmaceutical substances, sterol, saponin, anticomplementary activity compositions.

Abbreviations

1. *Platycodon* : *Platycodon grandiflorus* (jacquin) A. De Candolle