creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

약학석사학위논문

베트남삼의 성분 분석

Analysis of ginsenosides
in *Panax vietnamensis*

2014년 2월

서울대학교 대학원
약학과 약품분석학전공
김 재 영

베트남삼의 성분 분석

Analysis of ginsenosides
in *Panax vietnamensis*

지도교수 권성원

이 논문을 약학석사학위논문으로 제출함

2013년 12월

서울대학교 대학원
약학과 약품분석학전공
김 재 영

김재영의 약학석사학위논문을 인준함
2013년 12월

위 원 장 **박 정 일** (인)

부 위 원 장 **송 준 명** (인)

위 원 **권 성 원** (인)

국 문 초 록

베트남삼 (*Panax vietnamensis*) 은 두릅나무과 (Araliaceae) 에 속하는 베트남삼의 뿌리로서 1973년 베트남 중부지방의 고지대에서 발견되었으며, 1985년 새로운 종으로 간주되어 *Panax vietnamensis* 로 명명되었다.

본 연구에서는 Yunnan 지역에서 채집된 야생 베트남삼 (Ye-Sanchi)과 Quangnam 지역에서 채집된 재배 베트남삼의 성분을 비교 분석 하였고 각각의 생약의 분석 및 정량에는 HPLC-ELSD (evaporative light scattering detector) 를 활용하였으며 Q-TOF MS/MS 가 각 성분의 정성 분석에 이용되었다. 베트남삼에는 고려인삼과는 달리 ocotillol 계열 진세노사이드인 majonoside R1(MR1), majonoside R2(MR2), vina-ginsenoside R2(VR2) 등이 함유되어 있으며 이 양이 전체의 50% 이상을 차지하고 있음을 확인할 수 있었다. 건조 중량 기준으로, 야생 베트남삼의 뿌리 (Radix) 에는 notoginsenoside R1(NR1), majonoside R1, ginsenoside Re+Rg1, majonoside R2, vina-ginsenoside R2, notoginsenoside R2(NR2), ginsenoside Rb1, Rc, Rb2, Rd의 함량이 각각 5.31, 20.66, 24.06, 32.45, 7.83, 4.01, 10.09, 3.31, 2.01, 1.36 mg/g 이었고 근경 (Rhizome) 에는 MR1, Re+Rg1, MR2, VR2, Rb1, Rd 가 41.10, 9.04, 8.20, 5.84, 15.49, 4.77 mg/g 이 함유되어 있음을 확인하였다. 근경에서는 notoginsenoside R1, notoginsenoside R2, ginsenoside Rc, Rb2 가 검출되지 않았다. 뿌리와 근경의 총 진세노사이드 함량은 각각 11.1%, 8.7%으로 재배 베트남삼의 12.6%, 15.3%보다 낮은 함량을 보였다.

또한 야생 베트남삼의 뿌리와 근경 부분에서 성분차이를 보였는데 이는 protopanaxatriol 계열 진세노사이드인 notoginsenoside R1, notoginsenoside R2, ginsenoside Re, Rg1의 함량차이가 각 부위의 성분차이에 영향을 미친다는 것을 분석을 통해 알 수 있었다. 각 부위의 protopanaxadiol 계열과 ocotillol 계열의 진세노사이드 함량은 거의 유사하였다.

이러한 뿌리와 근경 부위의 성분차이가 생기는 현상은 다른 야생삼인 장뇌삼(Wild *P. ginseng*), 야생 화기삼(Wild *P. quinquefolius*) 의 분석을 통해 야생 베트남삼에만 국한된 성질임을 확인할 수 있었다.

주요어 : 베트남삼 (*Panax vietnamensis*), 오코틸롤(Ocotillol) 진세노사이드, Ye-Sanchi

학 번 : 2012-21571

목 차

국문초록 ····· i
목 차 ····· iii
List of Figures ····· iv
List of Tables ····· v
List of Abbreviations ····· vi

Ⅰ. 서 론 ····· 1

Ⅱ. 실험 ····· 2
1. 시험 재료, 시약 및 기기 ····· 2
1-1. 시험재료 ····· 2
1-2. 시약 ····· 2
1-3. 실험 기구 및 기기 ····· 3
2. 베트남삼과 야생삼의 추출 및 분석 ····· 5
2-1. 추출 ····· 5
2-2. 베트남삼과 야생삼 HPLC-ELSD 분석 ····· 5
2-3. 베트남삼의 UPLC Q-TOF MS 분석 ····· 6
3. 정량 분석 ····· 7
3-1. 검량선 작성 ····· 7
4. 정성 분석 ····· 7

Ⅲ. 결과 및 고찰
1. 베트남삼의 성분 분석 ····· 9
1-1. 야생 베트남삼의 성분 분석 ····· 9
1-2. 재배 베트남삼의 성분 분석 ····· 12
2. 야생삼의 성분 분석 ····· 29

Ⅳ. 결론 ····· 32

Ⅴ. 참고문헌 ····· 33
Abstract ····· 35

List of figures

Figure 1. Picture of WPV ····· 2

Figure 2. Process of unknown peak identification ····· 8

Figure 3. HPLC-ELSD chromatogram of WPV ····· 11

Figure 4. Standard (Rg1, Rb1) calibration curve ····· 12

Figure 5. HPLC-ELSD chromatogram of CPV ····· 14

Figure 6. Contents bar graph of CPV and WPV ····· 16

Figure 7. Contents radial shape graph of CPV and WPV ····· 17

Figure 8. MS data of WPV Radix ····· 18-23

Figure 9. MS data of WPV Rhizome ····· 24-27

Figure 10. HPLC-ELSD chromatogram of wild *P. ginseng* ····· 30

Figure 11. Contents radial shape graph of wild *P. ginseng* ····· 30

Figure 12. HPLC-ELSD chromatogram of wild P. quinquefolius 31

Figure 13. Contents radial shape graph of wild *P. quinquefolius* 31

List of Tables

Table 1. Ocotillol-type ginsenosides ····· 10

Table 2. Contents of ginsenosides in WPV ····· 13

Table 3. Contents of ginsenosides in CPV ····· 15

Table 4. Contents of ginsenosides in CPV and WPV ····· 16

Table 5. Identification of WPV ····· 28

List of Abbreviations

ACN : Acetonitrile

MS : Mass spectrometry

MeOH : Methanol

HPLC : High performance liquid chromatography

UPLC : Ultra performance liquid chromatography

ELSD : Evaporative light scattering detector

WPV : Wild Panax vietnamensis

CPV : Cultivated Panax vietnamensis

Ⅰ. 서론

베트남삼 (*Panax vietnamensis*) 은 두릅나무과 (Araliaceae) 에 속하는 베트남삼의 뿌리로서 1973년 베트남 중부지방 고지대 (Ngoc Linh) 에서 발견된 후 1985년 새로운 종으로 간주되어 *Panax vietnamensis* 로 명명되었다. 베트남의 소수민족인 Sedang족은 심각한 질병 치료나 신체의 힘을 강화하는데 이 약물을 사용하였다고 기록되어 있다.

본 연구에서는 과거에는 *Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus* 로 명명되었으나 2003년 종 판별법(Govaerts R., 11-Nov-2003)에 의해 *Panax vietnamensis*의 synonym으로 분류되어 있는 야생 베트남삼 (Ye-Sanchi) 과 경작지에서 채집된 재배 베트남삼의 성분을 비교 분석을 하였다. 또한 야생 베트남삼에서 뿌리 (Radix) 와 근경 (Rhizome) 부위의 성분 차이가 생기는 현상을 다른 야생삼을 분석함으로써 확인하고자 하였다.

Ⅱ. 실험

1. 시험 재료, 시약 및 기기

1-1. 시험재료

야생 베트남삼은 Yunnan 지방에서 수집하였고, 재배 베트남삼은 Quangnam 지방에서 수집하였다. 장뇌삼은 중국, 야생 화기삼은 미국에서 각각 수집하였다.

1-2. 시약

추출에는 MeOH (Duksan, Korea) 를 특급으로 사용하였으며 HPLC에 사용할 ACN (Duksan, Korea), Water (Duksan, Korea) 는 HPLC grade로 구입하였다. Mass 용매로는 ACN (Fisher, USA), Water (J.T. Baker, USA), formic acid (Sigma Aldrich, St. Louis, Mo, USA)를 사용하였다.

Wild *P. vietnamensis* Radix

Wild *P. vietnamensis* Rhizome

Fig 1. Picture of wild *P. vietnamensis* (Radix and Rhizome)

1-3. 실험 기구 및 기기

본 실험에서 사용한 기기는 다음과 같다.

HPLC : PerkinElmer series 200 HPLC system
(PerkinElmer, Massachusetts, USA)

Column : Waters SunFire™ C18
(4.6 mm × 250 mm, 5μm, Waters)

Detector : Evaporative light scattering detector
(Alltech, Illinois, USA)

Mass spectrometer : Acquity™ UPLC (Waters, USA)

Column : Acquity™ UPLC column
(BEH C18, 2.1 x 100 mm, 1.7 μm, Waters)

Detector : micrOTOF-QⅡ mass spectrometer
(Bruker Daltonics Inc., Bremen, Germany)

- Centrifuge tube (2 mL, Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Adjust pipette (0.5～10μL, 20-200 μL, 100-1000 μL, Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Pipette tips (0.5～10μL, 20-200 μL, 100-1000 μL, Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Centrifuge (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)

- Nitrogen purge (EYELA MG-2200)
- Ultrasonicator (Sonics & Material, Inc., USA)
- Vortex mixer (Vortex genie 2)
- Conical tube (15 mL, 50 mL, SPL Life Sciences Co. Ltd)
- Volumetric flask (25 mL, Kimble, USA)

2. 베트남삼과 야생삼의 추출 및 분석

2-1. 추출

분쇄한 베트남삼 150 mg을 MeOH 10, 10, 5 mL로 각각 3, 2, 1 시간 동안 Ultrasonicator 내에서 60 ℃ 3회 추출하였고 매회 추출이 끝난 후 원심분리 (3000 rpm, 5 min)를 하고 상층액을 취하였다. 3회 추출 후 모아진 추출액은 Volumetric flask를 이용하여 25 mL로 정용하였다. 정용한 MeOH 추출액(6 mg/mL)은 Nitrogen purge를 통해 HPLC 분석에 적합한 농도(야생 베트남삼 : 18 mg/mL, 재배 베트남삼 : 24 mg/mL) 로 농축되었다. 그 후 0.5 μm PTFE syringe filter를 이용하여 필터한 후 HPLC-ELSD 및 UPLC Q-TOF MS 분석을 진행 하였다.

2-2. 베트남삼과 야생삼 HPLC-ELSD 분석

베트남삼과 야생삼의 HPLC-ELSD 분석조건은 다음과 같이 진행하였다.

solvent A: water, solvent B: acetonitrile; 0 - 1 min (18% B), 1 - 5 min (18 - 25% B), 5 - 25 min (25-32% B), 25-29 min (32% B), 29-40 min (32-38% B), 40-45 min (38-45% B), 45-46 min (45-100% B).

- Flow rate : 1 mL/min
- Column oven temp : 30 ℃
- Alltech ELSD 2000 : temperature 80 ℃, gas flow 2.0 L/min, gain 16
- Injection volume : 10 μL

2-3. 베트남삼의 UPLC Q-TOF MS 분석

베트남삼의 UPLC Q-TOF MS 분석조건은 다음과 같이 진행하였다.

solvent A: water (0.1% formic acid), solvent B: acetonitrile (0.1% formic acid); 0 - 1 min (18% B), 1 - 5 min (18 - 25% B), 5 - 25 min (25-32% B), 25-29 min (32% B), 29-40 min (32-38% B), 40-45 min (38-45% B), 45-46 min (45-100% B).

- Flow rate : 0.3 mL/min
- Column oven temp : 40 ℃
- Ion source : Electrospray (ESI) mode
- Ion polarity : Negative
- Capillary voltage : 3.5 kV
- Nebulizer pressure : 1.2 bar
- Dry gas : 8.0 L/min
- Dry Temp : 200 °C
- Injection volume : 5 μL
- Mass range : 400~1500 m/z
- Transfer time : 100 μs
- Pre puls storage : 5.0 μs

3. 정량 분석

정량 분석에는 HPLC-ELSD data를 이용하였다.

3-1. 검량선 작성

베트남삼의 성분 정량 분석을 위하여 진세노사이드 표준품 Rg1, Rb1 이 이용되었다. 각 표준품은 실험실 내에서 분리 정제가 완료된 것을 사용하였다. 각 표준품은 15~500 ppm 의 범위로 측정하였다.

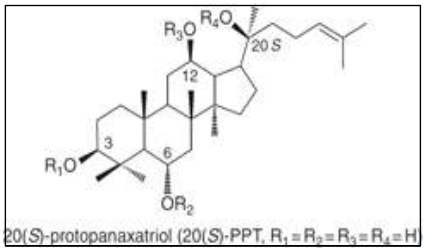
4. 정성 분석

UPLC Q-TOF MS data를 이용하여 정성 분석하였다. 진세노사이드 표준품이 있는 것에 대해서는 retention time 및 MS/MS 상의 fragment ions을 비교함으로써 성분을 확인 하였다. 또한 Unknown peak에 대해서는 negative mode 내에서 특정 m/z 값
(475 : protopanaxatriol, 459 : protopanaxadiol, 491 : ocotillol) 을 통하여 진세노사이드 type을 결정하였고 기존 MS 관련 reference paper를 참고하여 retention time 및 fragment ions 대조를 통하여 성분 확인을 진행하였다. (Fig. 2)

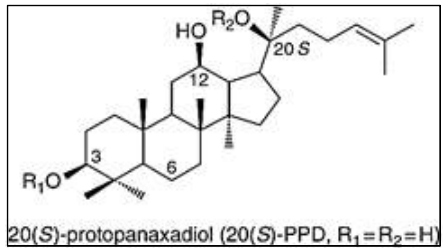
Selection of candidates (MS data)

↓

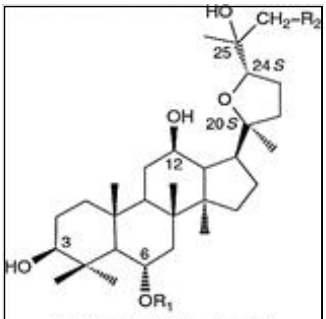
Determination of ginsenoside type (MS/MS data)



20(*S*)-protopanaxatriol (20(*S*)-PPT, $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$)



20(*S*)-protopanaxadiol (20(*S*)-PPD, $R_1 = R_2 = H$)



24(*S*)-Ocotillol ($R_1 = R_2 = H$)

Ginsenoside	Formula	Norminal MS	[aglycone-H]⁻
Protopanaxatriol	$C_{30}H_{52}O_4$	476	475
Protopanaxadiol	$C_{30}H_{52}O_3$	460	459
Ocotillol	$C_{30}H_{52}O_5$	492	491

↓

Comparison with fragment ions and retention time in library paper

Fig 2. Process of unknown peak identification

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 베트남삼의 성분 분석

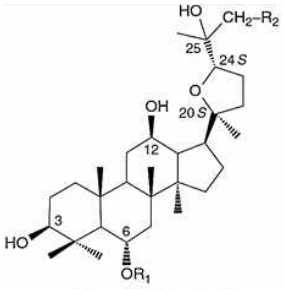
1-1. 야생 베트남삼의 성분 분석

야생 베트남삼의 정성 및 정량 분석 결과 건조 중량 기준으로, 뿌리 (Radix) 에는 notoginsenoside R1(NR1), majonoside R1(MR1), ginsenoside Re+Rg1, majonoside R2(MR2), vina-ginsenoside R2(VR2), notoginsenoside R2(NR2), ginsenoside Rb1, Rc, Rb2, Rd 의 함량이 각각 5.31, 20.66, 24.06, 32.45, 7.83, 4.01, 10.09, 3.31, 2.01, 1.36 mg/g 이었고 근경 (Rhizome) 에는 MR1, Re+Rg1, MR2, VR2, Rb1, Rd 가 41.10, 9.04, 8.20, 5.84, 15.49, 4.77 mg/g 이 함유되어 있었다(Table 2). 근경에서는 notoginsenoside R1, notoginsenoside R2, ginsenoside Rc, Rb2 가 검출되지 않았으며 뿌리와 근경의 총 진세노사이드 함량은 각각 111.09, 84.44 mg/g 으로 뿌리에 더 많은 진세노사이드가 함유되어 있음을 확인할 수 있었다. 또한 이러한 총 진세노사이드 함량의 차이는 protopanaxatriol 계열 진세노사이드인 notoginsenoside R1, notoginsenoside R2, ginsenoside Re, Rg1 의 함량 차이가 영향을 미친다는 것을 분석을 통해 확인 할 수 있었다. 각 부위의 protopanaxadiol 계열과 ocotillol 계열의 진세노사이드 함량 차이는 미미하였다.

1-2. 재배 베트남삼의 성분 분석

재배 베트남삼에는 건조 중량 기준으로, 뿌리 (Radix) 에는 notoginsenoside R1, majonoside R1, ginsenoside Re+Rg1,

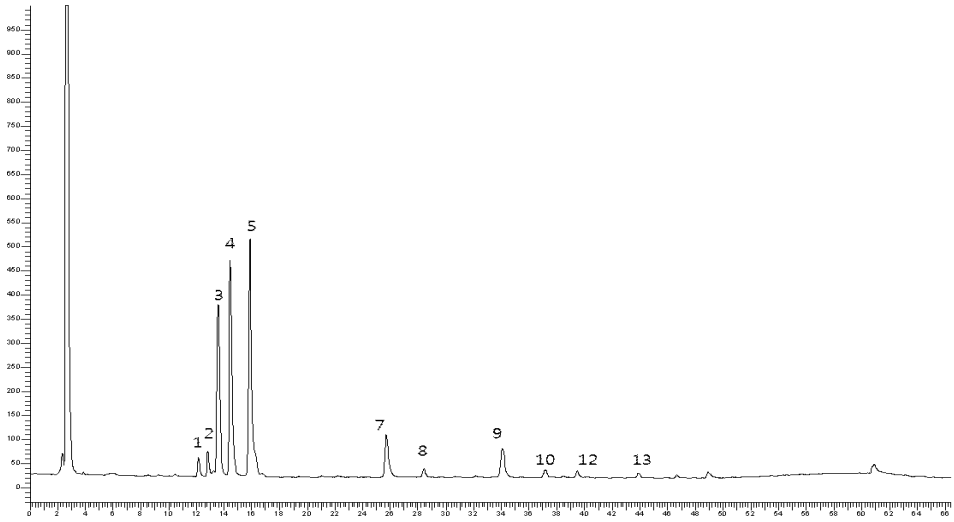
majonoside R2, vina-ginsenoside R2, notoginsenoside R2, ginsenoside Rb1, Rb2, Rd 의 함량이 각각 3.58, 8.66, 10.24, 59.44, 20.88, 11.08, 9.37, 1.93, 0.87 mg/g 이었고 근경 (Rhizome) 에는 3.63, 8.88, 11.09, 77.39, 29.99, 8.94, 7.98, 3.67, 1.92 mg/g 이 함유되어 있음을 알 수 있었다(Table 3). 재배 베트남삼에서는 야생 베트남삼과는 달리 뿌리와 근경의 ELSD 크로마토그램이 거의 일치함을 확인할 수 있었고 이를 통해 각 부위에 함유되어 있는 진세노사이드도 함량차이만 날뿐 종류는 거의 같음을 확인할 수 있었다. 또한 뿌리와 근경의 총 진세노사이드 함량은 12.6%, 15.3% 로 야생 베트남삼의 그것보다 더 높은 함량을 보였다(Table 4). 야생 베트남삼과 재배 베트남삼의 함량 비교를 막대 그래프와 방사형 그래프를 이용하여 표시하였다 (Fig 6,7).



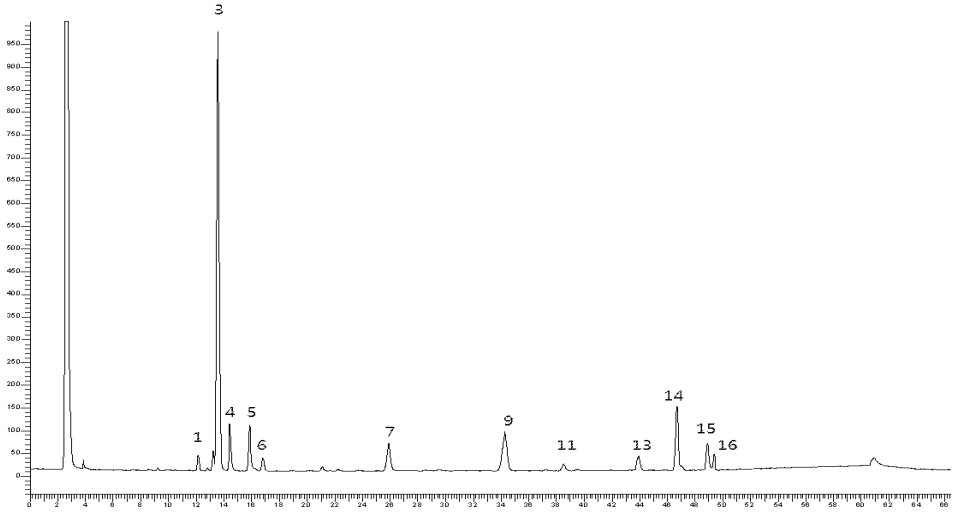
24(S)-Ocotillol ($R_1 = R_2 = H$)

Ginsenoside	Formula	R1	R2	Norminal MS
Ocotillol	$C_{30}H_{52}O_5$	–H	–H	492
24(S)–Majonoside R1	$C_{42}H_{72}O_{15}$	$-Glc^{2}-{}^{1}Glc$	–H	816
24(S)–Majonoside R2	$C_{41}H_{70}O_{14}$	$-Glc^{2}-{}^{1}Xyl$	–H	786
Vina-ginsenoside R1	$C_{44}H_{74}O_{15}$	$-Glc^{2}-{}^{1}Rha$ $^{6}\vert$ Ac	–H	842
Vina-ginsenoside R2	$C_{43}H_{72}O_{15}$	$-Glc^{2}-{}^{1}Xyl$ $^{6}\vert$ Ac	–H	828
Vina-ginsenoside R5	$C_{47}H_{80}O_{19}$	$-Glc^{2}-{}^{1}Xyl^{4}-\alpha Glc$	–H	948
Vina-ginsenoside R6	$C_{47}H_{80}O_{19}$	$-Glc^{2}-{}^{1}Xyl$ $^{6}\vert$ ${}^{1}\alpha Glc$	–H	948
Vina-ginsenoside R14	$C_{41}H_{70}O_{15}$	$-Glc^{2}-{}^{1}Xyl$	–OH	802

Table 1. Ocotillol-type ginsenosides

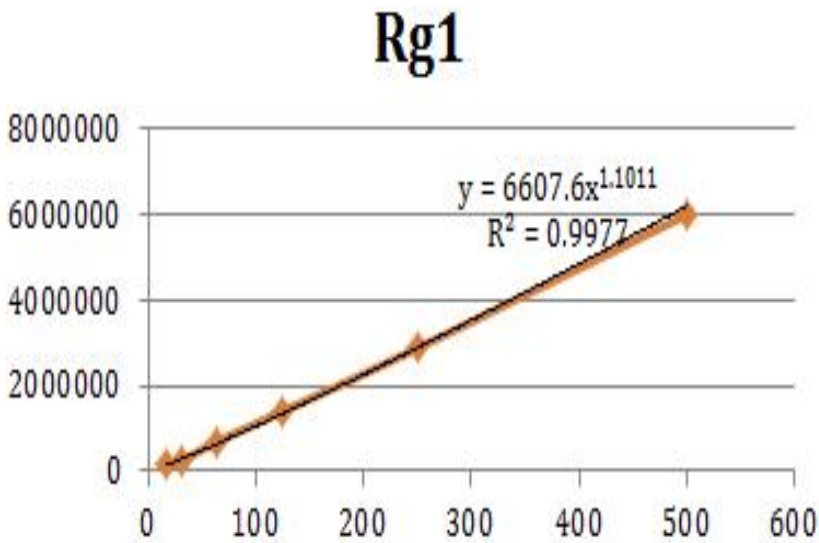


Wild *P. vietnamensis* Radix



Wild *P. vietnamensis* Rhizome

Fig 3. HPLC-ELSD chromatogram of wild *P. vietnamensis*
1:unknown1, 2:NR1, 3:MR1, 4:Rg1,Re, 5:MR2, 6:unknown2, 7:VR2, 8:NR2, 9:Rb1, 10:Rc, 11:unknown3(QR1), 12:Rb2, 13:Rd, 14:unknown4(GypenosideXVII), 15:unknown5, 16:unknown6



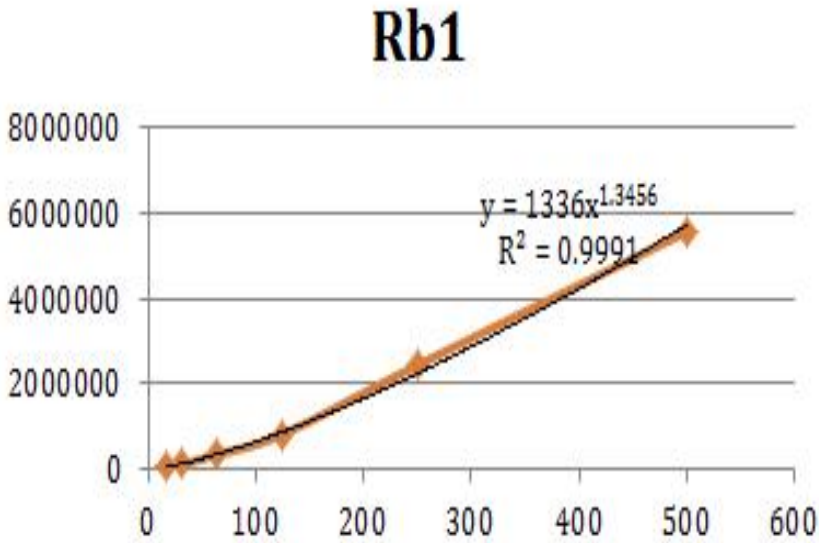


Fig 4. Standard (Rg1, Rb1) calibration curve

Peak no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16				
Assign	Unknown1	NR1	MR1	Re,Rg1	MR2	Unknown2	VR2	NR2	Rb1	Rc	Unknown3 (QR1)	Rb2	Rd	Unknown4 (Gypenoside XVII)	Unknown5	Unknown6 (F2/Rg3)	PPT	PPD	Ocotillol	Total
Radix-1	2.68	3.57	23.44	29.43	31.99		7.99	2.82	8.63	2.76		2.39	1.92							
Radix-2	1.98	3.66	18.65	19.04	21.96		6.19	4.89	5.70	4.07		1.44	0.88							
Radix-3	2.13	8.68	19.89	23.73	43.38		9.31	4.31	15.92	3.10		2.19	1.26							
Radix avg.	2.26	5.31	20.66	24.06	32.45		7.83	4.01	10.09	3.31		2.01	1.36				33.38	16.77	60.94	111.09
Rhizome-1	1.92		47.60	5.80	6.54	2.06	5.86		12.83		2.89		4.68	12.10	7.07	3.43				
Rhizome-2	3.70		40.17	10.60	6.39	1.96	6.88		14.20		3.43		3.19	2.58	4.64	0.92				
Rhizome-3	4.81		35.53	10.71	11.69	1.21	4.79		19.43		4.09		6.43	6.62	6.33	2.49				
Rhizome avg.	3.48		41.10	9.04	8.20	1.74	5.84		15.49		3.47		4.77	7.10	6.01	2.28	9.04	20.26	55.14	84.44

Table 2. Contents (mg/g) of ginsenosides in wild *P. vietnamensis*

(PPT, PPD 계열 진세노사이드는 음영표시를, Ocotillol 계열 진세노사이드는 밑줄표시를 이용하였으며, unknown peak 중 가장 가능성 높은 후보물질을 괄호 안에 작성하였다)

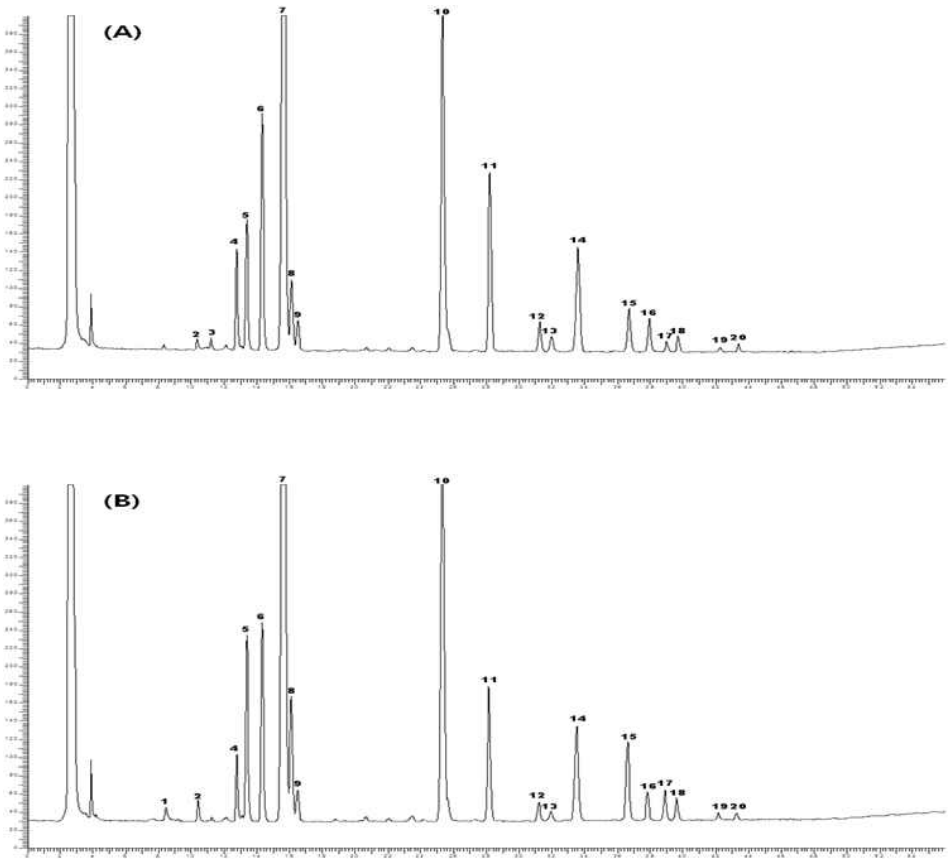


Fig 5. HPLC-ELSD chromatogram of cultivated *P. vietnamensis*
1:unknown1, 2:unknown2(VR14), 3:unknown3, 4:NR1, 5:MR1, 6:Rg1,Re, 7:MR2, 8:unknown4, 9:unknown5, 10:VR2, 11:NR2, 12:unknown6, 13:unknown7, 14:Rb1, 15:unknown8, 16:unknown9(QR1), 17:Rb2, 18:unknown9, 19:unknown10 20:Rd

peak no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Radix-1		1.10	1.23	3.96	9.45	9.91	59.31	4.08	1.38	22.85	11.14	3.95		11.88	5.42	5.56	2.79	3.17
Radix-2		1.14	0.70	3.53	11.49	11.67	71.43	5.49	1.43	20.23	15.62	3.27		13.72	5.91	3.92	1.87	2.07
Radix-3		1.31	3.43	3.02	6.83	7.16	40.20	2.81	1.26	14.85	5.58	0.75		3.00	3.18	0.70	0.84	0.88
Radix-4		0.92	3.07	1.99	9.38	10.95	55.13	4.05	2.33	22.12	10.35	2.22	2.06	11.48	6.86	3.62	3.52	2.56
Radix-5		0.88	0.96	6.22	8.36	13.59	77.21	5.69	2.89	26.37	14.52	3.75	2.65	11.25	5.45	4.15	1.66	2.25
Radix-6		0.86	2.02	2.76	6.45	8.13	53.35	3.87	2.19	18.89	9.25	1.32	0.61	4.89	3.96	1.17	0.91	0.98
Radix avg.		1.04	1.90	3.58	8.66	10.24	59.44	4.33	1.91	20.88	11.08	2.54	1.77	9.37	5.13	3.19	1.93	1.98
Rhizome-1	0.95	1.24		4.73	9.61	11.39	87.00	7.56	3.73	37.84	9.64	3.89	1.40	10.99	7.10	5.58	4.61	4.11
Rhizome-2	1.10	1.44		3.17	8.40	12.40	79.62	7.29	2.24	19.25	9.59	1.14		7.30	7.12	1.29	2.50	1.63
Rhizome-3	0.70	0.88		4.08	7.17	10.07	60.54	5.79	2.79	25.77	5.76	0.87	0.59	3.49	5.16	1.05	1.35	1.99
Rhizome-4	1.08	1.20		1.84	10.07	12.20	82.70	7.83	3.66	39.73	9.03	1.91	2.25	9.74	13.51	2.59	7.54	5.24
Rhizome-5	1.33	1.57		4.75	10.91	11.87	103.44	8.86	3.08	32.36	11.71	2.66	1.91	10.43	8.36	3.58	3.66	3.01
Rhizome-6	1.19	1.00		3.22	7.14	8.64	51.02	6.03	3.16	24.97	7.93	1.17		5.97	6.17	1.15	2.38	2.11
Rhizome avg.	1.06	1.22		3.63	8.88	11.09	77.39	7.23	3.11	29.99	8.94	1.94	1.54	7.98	7.90	2.54	3.67	3.01

Table 3. Contents (mg/g) of ginsenosides in cultivated *P. vietnamensis*

1:unknown1, 2:unknown2(VR14), 3:unknown3, 4:NR1, 5:MR1, 6:Rg1,Re, 7:MR2, 8:unknown4, 9:unknown5, 10:VR2, 11:NR2, 12:unknown6, 13:unknown7, 14:Rb1, 15:unknown8, 16:unknown9(QR1), 17:Rb2, 18:unknown9, 19:unknown10 20:Rd

	NR1	MR1	Re,Rg1	MR2	VR2	NR2	Rb1	Rc	Rb2	Rd	PPT	PPD	Ocotillol	Total
CPV Radix	3.58	8.66	10.24	59.44	20.88	11.08	9.37		1.93	0.87	24.89	12.17	88.98	126.04
CPV Rhizome	3.63	8.88	11.09	77.39	29.99	8.94	7.98		3.67	1.92	23.67	13.58	116.26	153.50
WPV Radix	5.31	20.66	24.06	32.45	7.83	4.01	10.09	3.31	2.01	1.36	33.38	16.77	60.94	111.09
WPV Rhizome		41.10	9.04	8.20	5.84		15.49			4.77	9.04	20.26	55.14	84.44

Table 4. Contents (mg/g) of ginsenosides in cultivated(CPV) and wild *P. vietnamensis*(WPV)

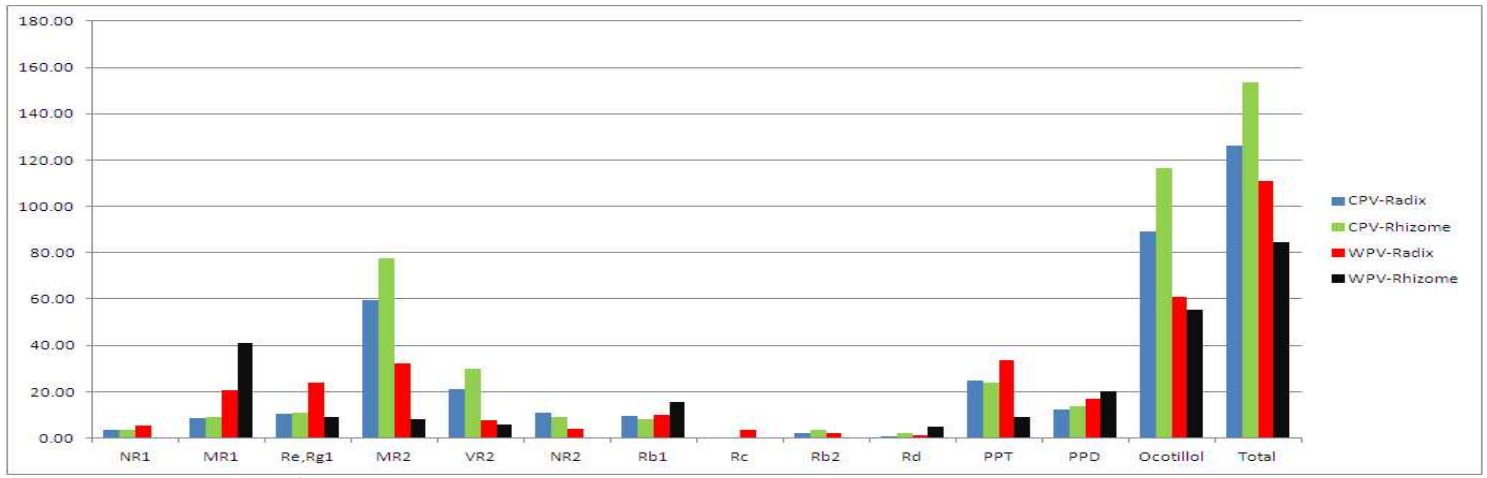


Fig 6. Contents (mg/g) bar graph of cultivated and wild *P. vietnamensis*

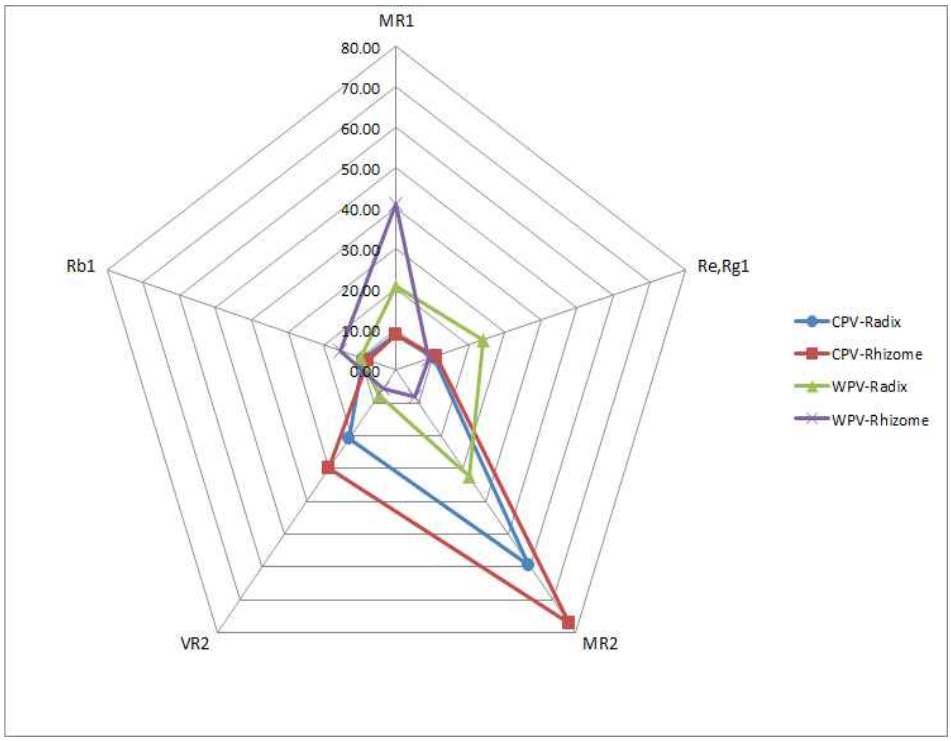
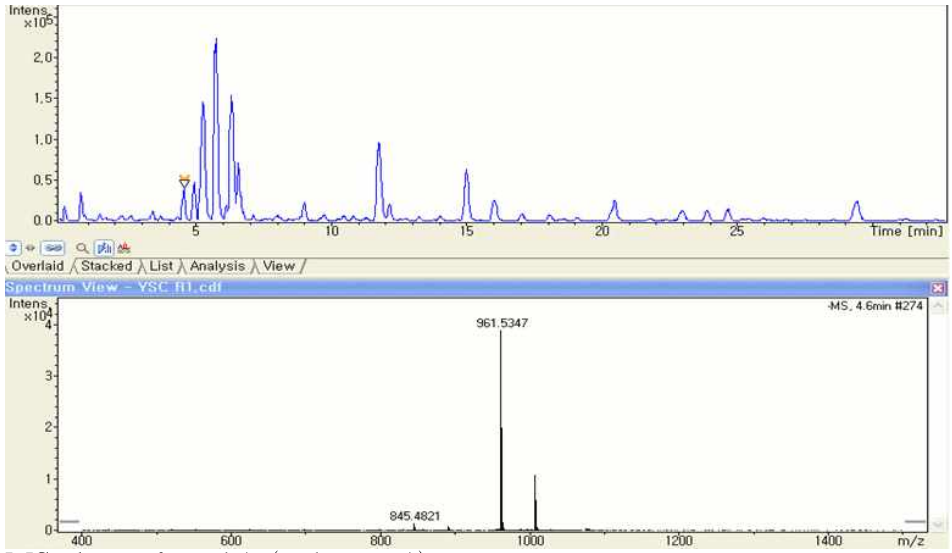
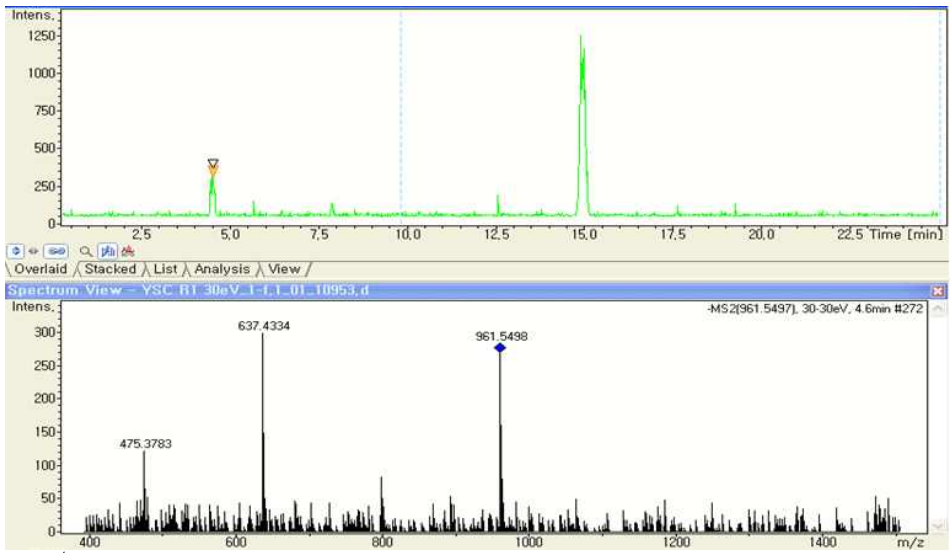


Fig 7. Contents (mg/g) radial shape graph of cultivated and wild *P. vietnamensis*



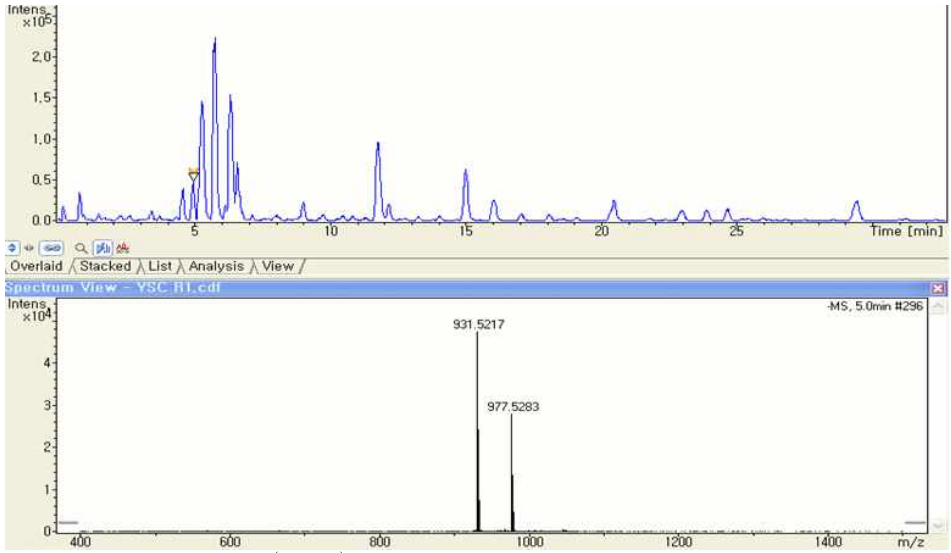
MS data of peak1 (unknown1)



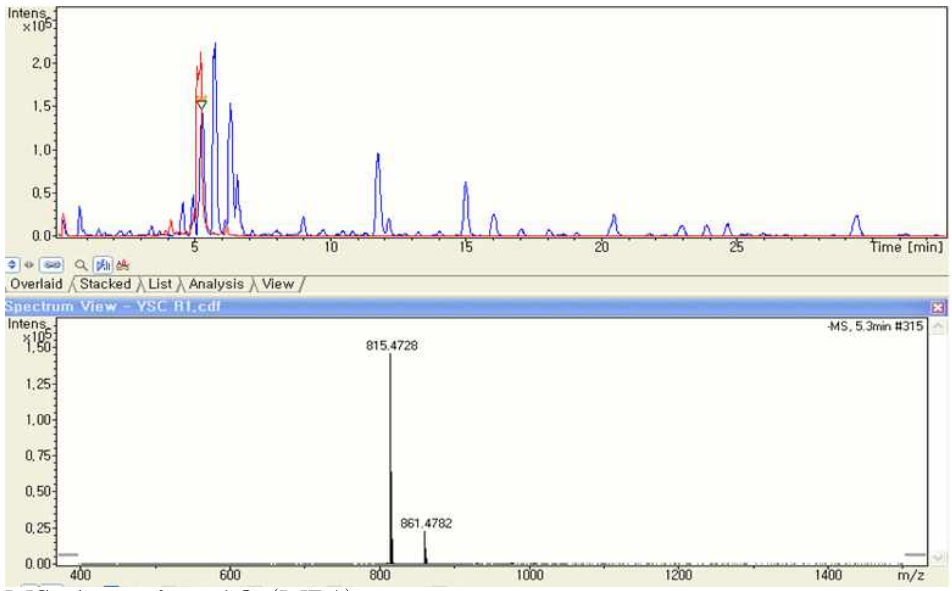
MS/MS data of peak1

(Candidates : Vina-ginsenoside R4 / Notoginsenoside R3 / Notoginsenoside R6)

Fig 8. MS data of wild *P. vietnamensis* Radix (다음 장에 계속)

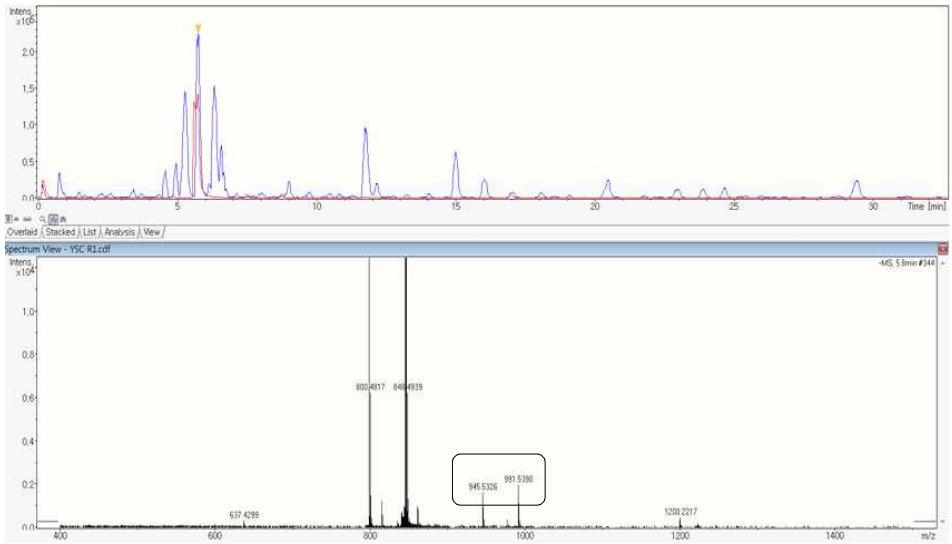


MS data of peak2 (NR1)

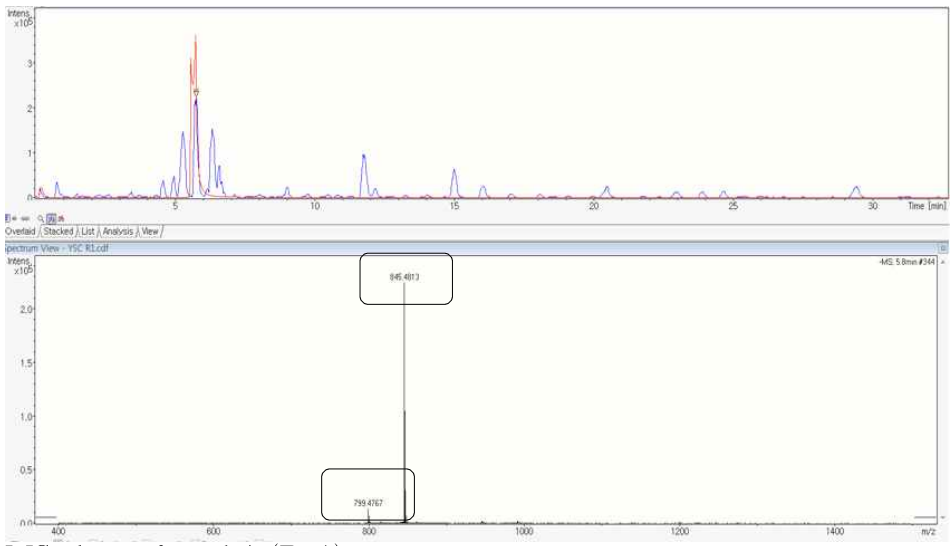


MS data of peak3 (MR1)

Fig 8. MS data of wild *P. vietnamensis* Radix (다음 장에 계속)

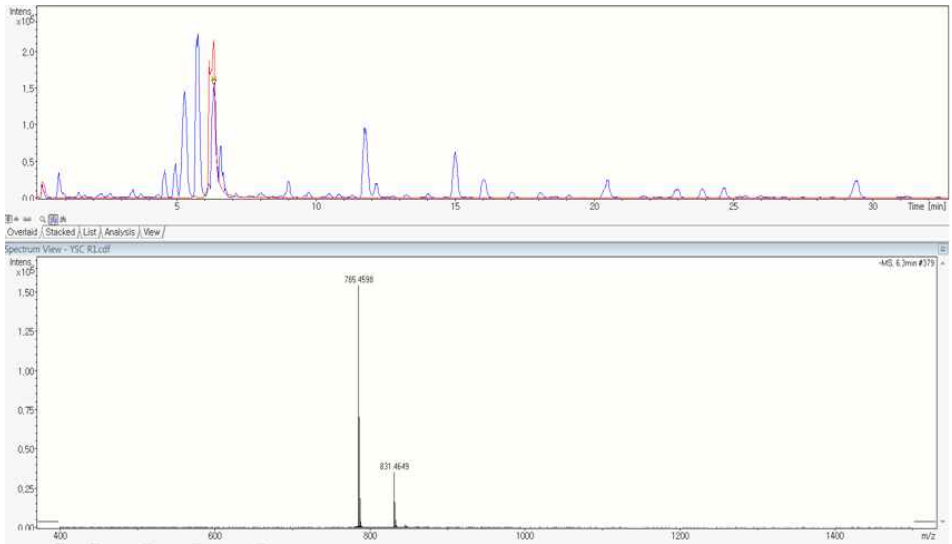


MS data of peak4 (Re)

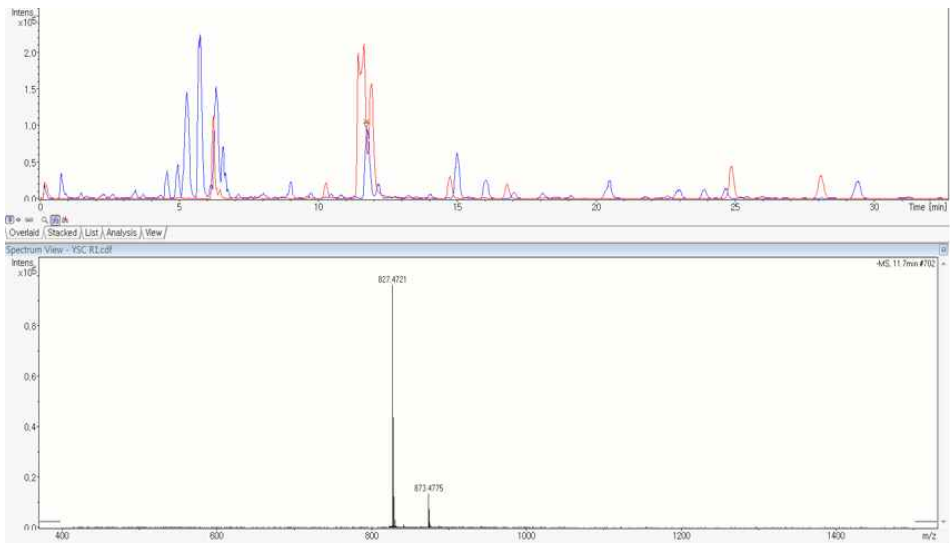


MS data of peak4 (Rg1)

Fig 8. MS data of wild *P. vietnamensis* Radix (다음 장에 계속)

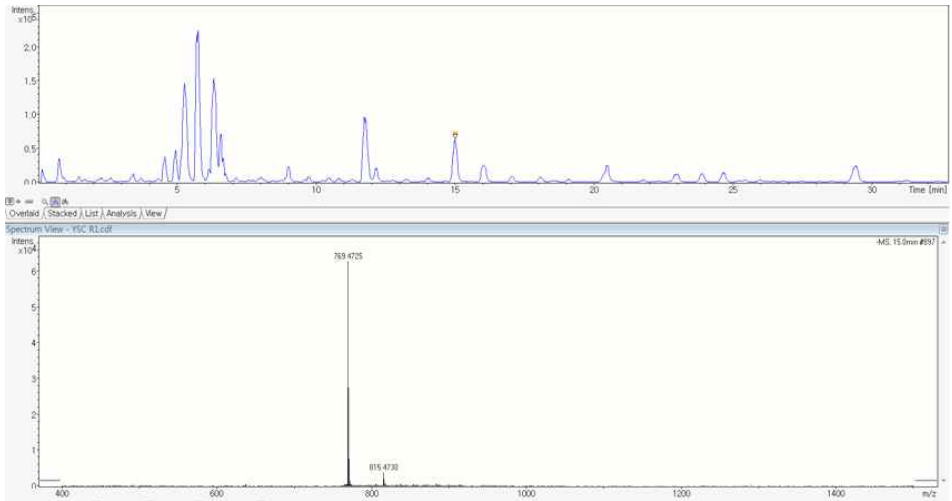


MS data of peak5 (MR2)

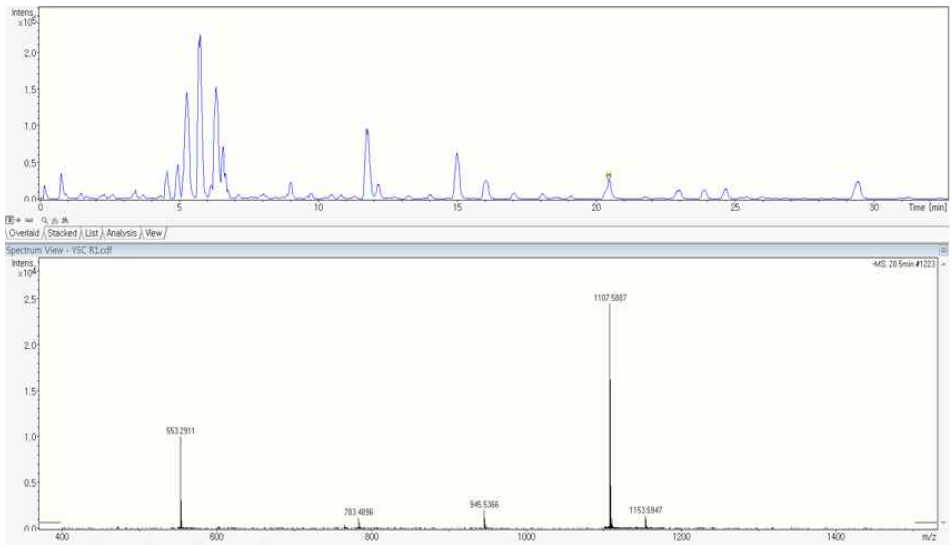


MS data of peak7 (VR2)

Fig 8. MS data of wild *P. vietnamensis* Radix (다음 장에 계속)

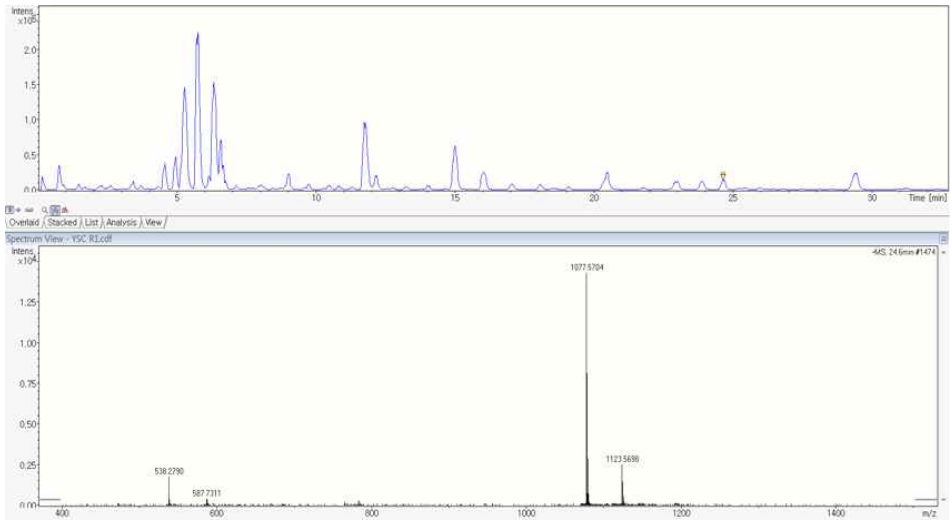


MS data of peak8 (NR2)

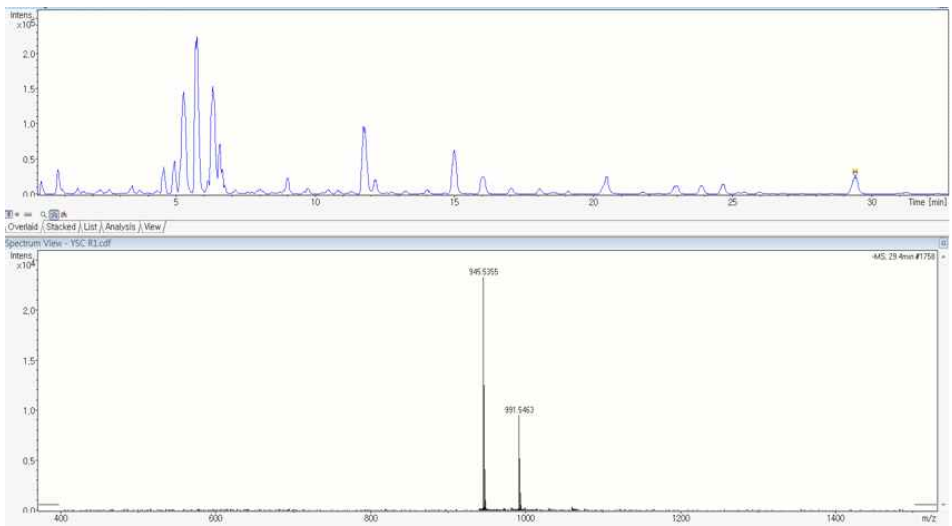


MS data of peak9 (Rb1)

Fig 8. MS data of wild *P. vietnamensis* Radix (다음 장에 계속)

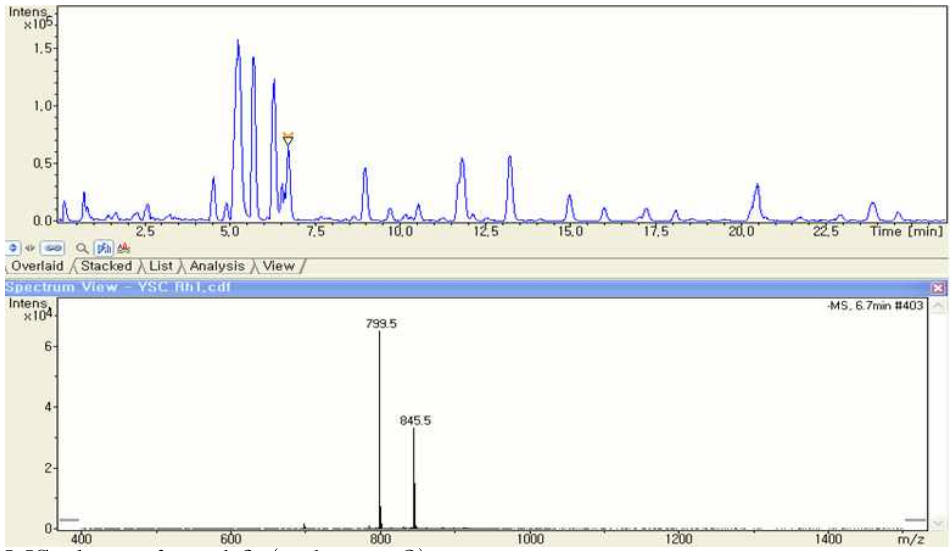


MS data of peak12 (Rb2)

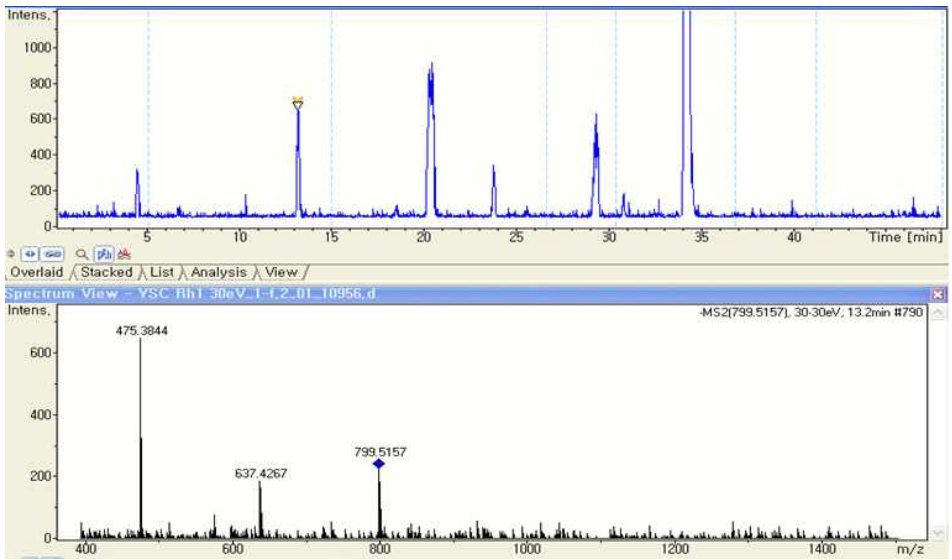


MS data of peak13 (Rd)

Fig 8. MS data of wild *P. vietnamensis* Radix (다음 장에 계속)



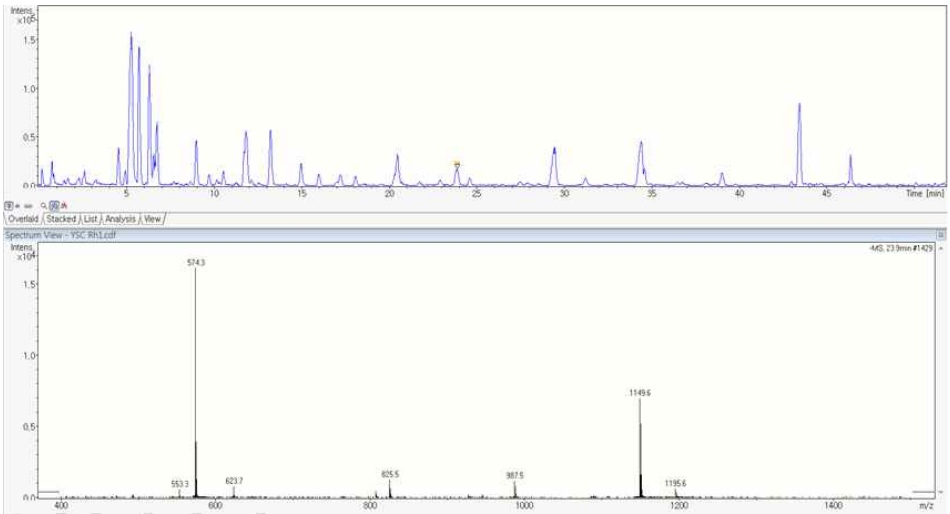
MS data of peak6 (unknown2)



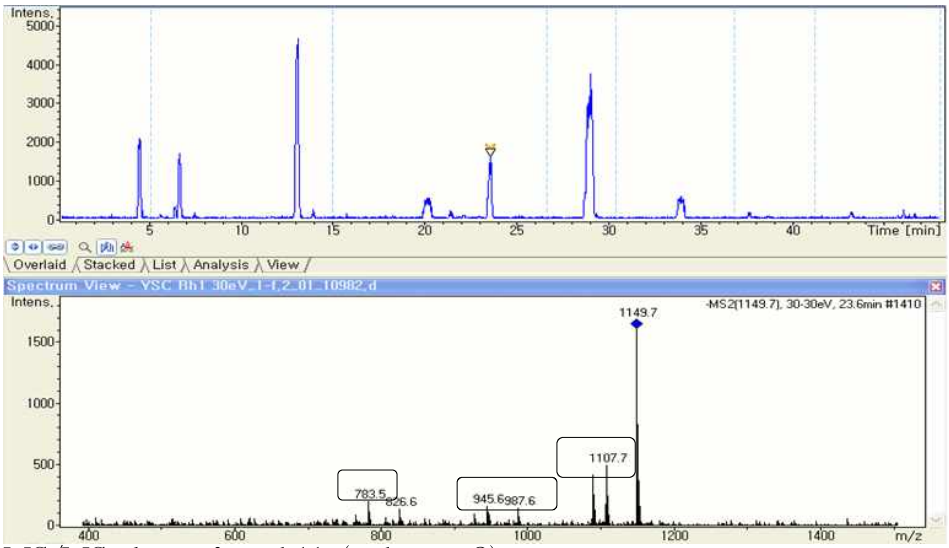
MS/MS data of peak6 (unknown2)

(Candidates : Rf / Majoroside F2 / Majoroside F3 / Majoroside F4 / Pseudoginsenoside F11)

Fig 9. MS data of wild *P. vietnamensis* Rhizome (다음 장에 계속)



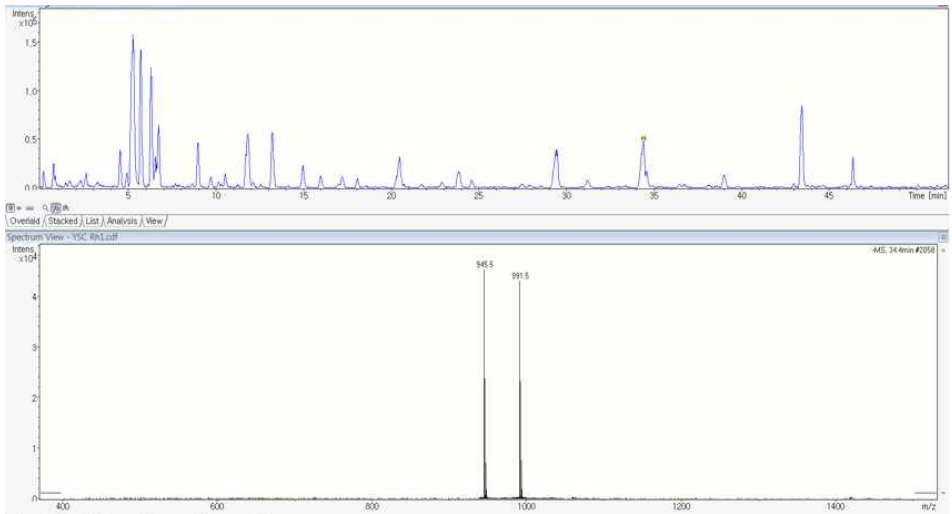
MS data of peak11 (unknown3)



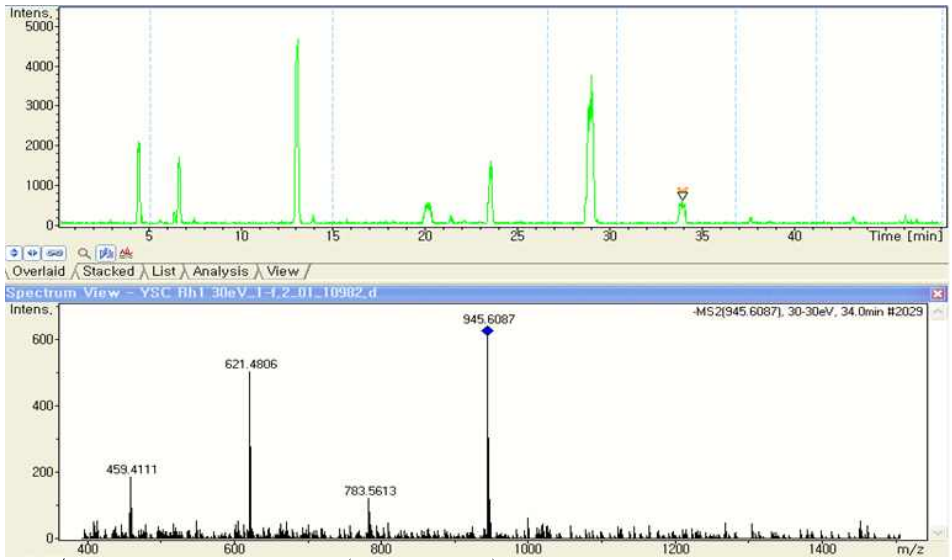
MS/MS data of peak11 (unknown3)

(Candidate : Quinquenoside R1)

Fig 9. MS data of wild *P. vietnamensis* Rhizome (다음 장에 계속)



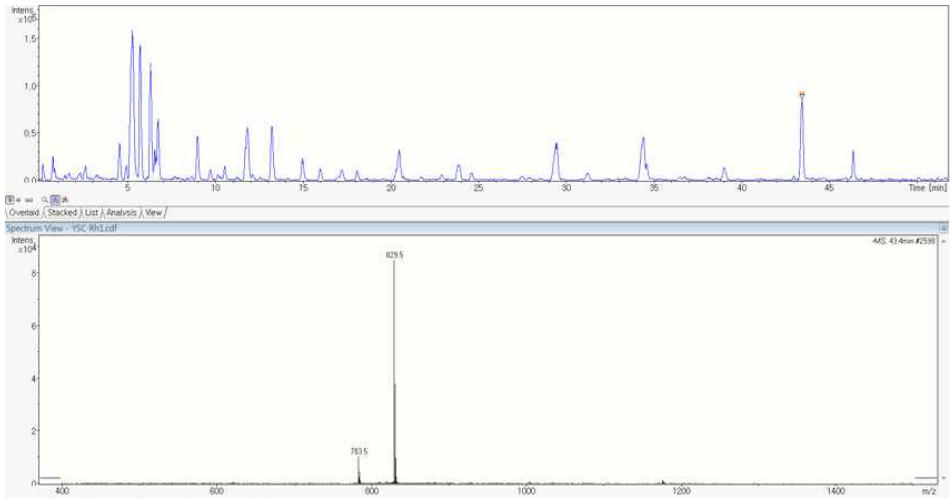
MS data of peak14 (unknown4)



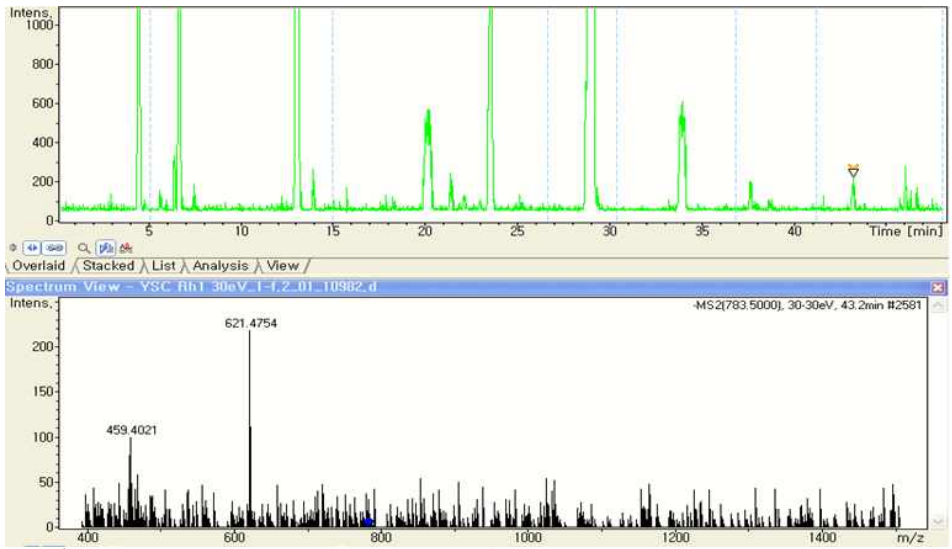
MS/MS data of peak14 (unknown4)

(Candidate : Gypenoside XVII)

Fig 9. MS data of wild *P. vietnamensis* Rhizome (다음 장에 계속)



MS data of peak16 (unknown6)



MS/MS data of peak16 (unknown6)

(Candidates : Ginsenoside F2 / Rg3)

Fig 9. MS data of wild *P. vietnamensis* Rhizome

Wild *P. vietnamensis* Radix

Peak no.	t_R(min)	Identification	Molecula formula	$[M-H]^-$ (m/z)	Fragment ions of $[M-H]^-$ (m/z)	Candidate
1	12.1	Unknown1		961.5	961.5; 799.5; 637.4; 475.3	VR4/NR3/ NR6
2	12.8	NR1	$C_{47}H_{80}O_{18}$			
3	13.5	MR1	$C_{42}H_{72}O_{15}$			
4	14.4	Rg1,Re	$C_{42}H_{72}O_{14}$			
5	15.8	MR2	$C_{41}H_{70}O_{14}$			
7	25.6	VR2	$C_{43}H_{72}O_{15}$			
8	28.4	NR2	$C_{41}H_{70}O_{13}$	769.4	769.4; 637.4; 475.3	
9	34.0	Rb1	$C_{54}H_{92}O_{23}$			
10	37.1	Rc	$C_{53}H_{90}O_{22}$			
12	39.4	Rb2	$C_{53}H_{90}O_{22}$			
13	43.9	Rd	$C_{48}H_{82}O_{18}$			

Wild *P. vietnamensis* Rhizome

Peak no.	t_R(min)	Identification	Molecula formula	$[M-H]^-$ (m/z)	Fragment ions of $[M-H]^-$ (m/z)	Candidate
1	12.1	unknown1		961.5	961.5;799.5;637.4; 475.3	VR4/NR3/ NR6
3	13.5	MR1	$C_{42}H_{72}O_{15}$			
4	14.4	Rg1,Re	$C_{42}H_{72}O_{14}$			
5	15.8	MR2	$C_{41}H_{70}O_{14}$			
6	16.8	unknown2		799.5	799.5; 637.4; 475.4	Rf/MF2*/ MF3/MF4 /PF11*)
7	25.9	VR2	$C_{43}H_{72}O_{15}$			
9	34.2	Rb1	$C_{54}H_{92}O_{23}$			
11	38.5	unknown3 (QR1)	$C_{56}H_{94}O_{24}$	1149.7	1107.7[M - CH3CO]$^-$;987.6[M - glc - H]$^-$;945.6[M - glc Ac - H]$^-$;783.5[M - glcAc - glc - H]$^-$	
13	43.9	Rd	$C_{48}H_{82}O_{18}$			
14	46.6	unknown4 (Gypenoside XVII)	$C_{48}H_{82}O_{18}$	945.6	783.56; 621.48; 459.41	
15	48.8	unknown5				
16	49.3	unknown6		783.5	621.4[M－H-(Glc-H2O)]$^-$;459.4[M－H-2(Glc-H2O)]$^-$	F2/Rg3

Table 5. Identification of wild P. vietnamensis

(*MF2 : Majoroside F, PF11 : Pseudoginsenoside F11,

후보가 유일하여 가능성이 매우 높은 것은 identification 열의 괄호 안에 작성하였다)

2. 야생삼의 성분 분석

야생 베트남삼에서 뿌리(Radix)와 근경(Rhizome)의 성분 차이가 생기는 현상을 다른 야생삼에서 확인하기 위하여 장뇌삼(Wild *P. ginseng*), 야생 화기삼(Wild *P. quinquefolius*) 성분 분석을 하였다. 야생삼은 재배삼에 비해 긴 근경(Rhizome) 부위를 갖는 것이 특징이고 이러한 긴 근경부위를 갖는 야생삼인 장뇌삼(Wild *P. ginseng*)과 야생 화기삼(Wild *P. quinquefolius*)을 분석해 본 결과 뿌리(Radix)와 근경(Rhizome) 사이의 차이가 거의 없었으며 함량차이는 있으나 크로마토그램 패턴은 거의 같음을 알 수 있었다. 이를 통해 뿌리(Radix)와 근경(Rhizome)의 성분 차이가 있는 현상은 야생 베트남삼에 국한된 성질로 사료된다. 야생 베트남삼의 뿌리와 근경의 함량 방사형 그래프는 패턴이 매우 다르며 (Fig 7) 장뇌삼과 야생 화기삼의 함량 방사형 그래프는 패턴이 매우 유사함 (Fig 11,13)을 통해서 이를 더욱 명확히 하였다.

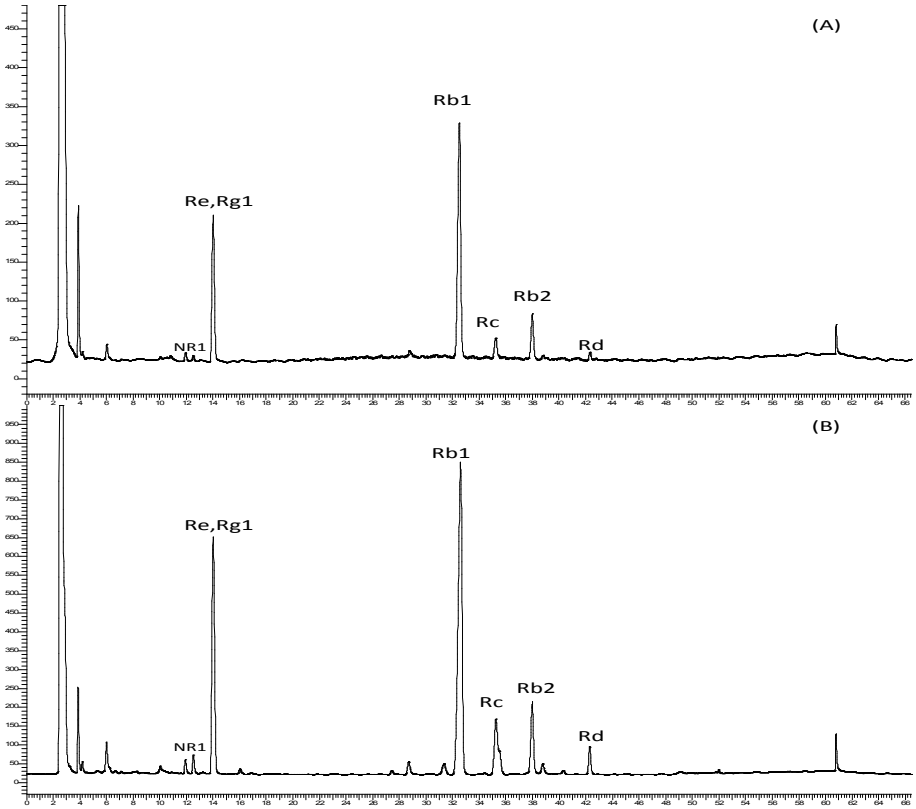


Fig 10. HPLC-ELSD chromatogram of wild *P. ginseng* (장뇌삼)

(A) : Radix, (B) : Rhizome

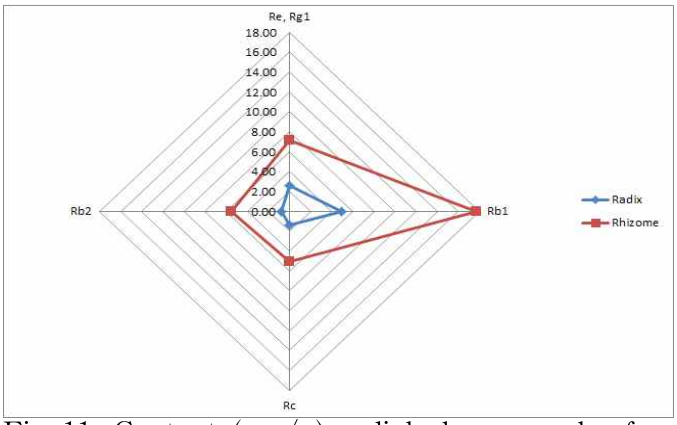


Fig 11. Contents(mg/g) radial shape graph of wild *P. ginseng*(장뇌삼)

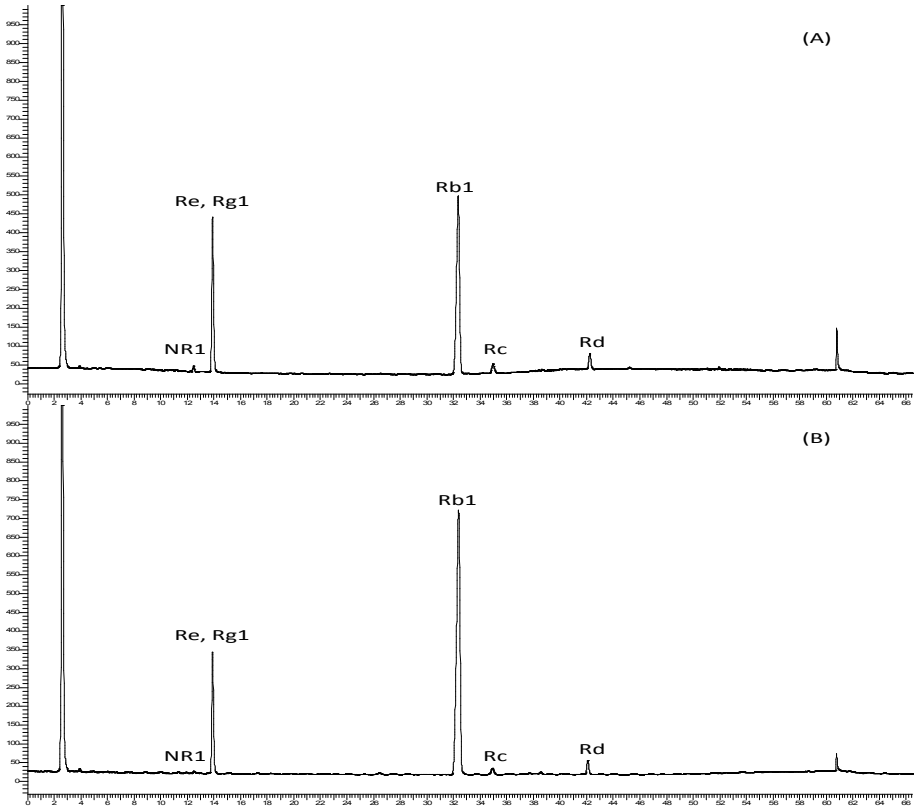


Fig 12. HPLC-ELSD chromatogram of wild *P. quinquefolius* (야생 화기삼) (A) : Radix, (B) : Rhizome

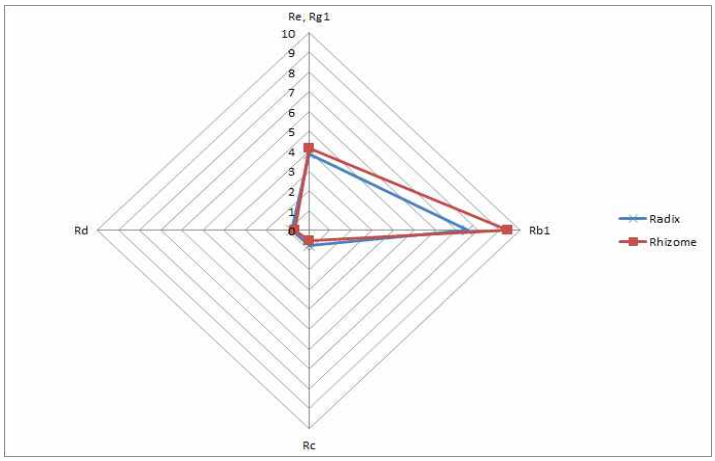


Fig 13. Contents(mg/g) radial shape graph of wild *P. quinquefolius*

Ⅳ. 결론

1. 베트남삼 내에 ocotillol 계열 진세노사이드가 총 함량의 50% 이상을 차지하고 있었고 총 진세노사이드 함량은 재배 베트남삼이 야생 베트남삼 보다 훨씬 높음을 분석을 통해 확인하였다.

2. Protopanaxatriol 계열 진세노사이드 (NR1, Re, Rg1, NR2) 함량 차이가 야생 베트남삼의 뿌리(Radix)와 근경(Rhizome)의 총 진세노사이드 함량 차이에 영향을 미치고 있음을 정량 분석 결과로 확인하였다.

3. 야생 베트남삼의 뿌리(Radix)와 근경(Rhizome)의 성분차이가 생기는 현상은 다른 야생삼인 장뇌삼(Wild *P. ginseng*), 야생 화기삼(Wild *P. quinquefolius*) 의 분석을 통하여 야생 베트남삼 에만 국한된 성질임을 확인할 수 있었다.

Ⅴ. 참고문헌

1) Qi LW, Wang HY, Zhang H, Wang CZ, Li P, Yuan CS., 2012. Diagnostic ion filtering to characterize ginseng saponins by rapid liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry. J Chromatogr A, 1230:93 - 99.

2) Zhu, S.; Zou, K.; Cai, S.; Meselhy, M. R.; Komatsu, K., 2004. Simultaneous determination of triterpene saponins in ginseng drugs by high-performance liquid chromatography. Chem. Pharm. Bull, 52, 995-998.

3) X.Q. Ma, H.B. Xiao, X.M., 2006. Liang, Identification of ginsenosides in Panax quinquefolium by LC - MS, Chromatographia 64. 31 - 36.

4) Fuzzati, N., Gabetta, B., Jayakar, K., Pace, R., Peterlongo, F., 1999. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric identification of ginsenosides in Panax ginseng roots. J. Chromatogr. 854, 69 - 79.

5) Woo, S. S., Song, J. S., Lee, J. Y., In, D. S., Chung, H. J., Liu, J. R., Choi, D.W.,2004. Selection of high ginsenoside producing ginseng hairy root lines using targeted metabolic analysis using targeted metabolic analysisPhytochemistry 65, 2751 - 2761.

6) Zhu, S., Zou, K., Fushimi, H., Cai, S., Komatsu, K., 2004. Comparative study on triterpene saponins of Ginseng drugs. Planta Med. 70: 666 - 677

7) Sun BS, Xu MY, Li Z, Wang YB, Sung CK., 2012. UPLC-Q-TOF-MS/MS analysis for steaming times-dependent profiling of steamed Panax quinquefolius and its ginsenosides transformations induced by repetitious steaming. J Ginseng Res, 36:277 - 290.

8) Christensen LP., 2009. Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects. Adv Food Nutr Res, 55:1-99.

9) Duc N. M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Nham N. T., Yamasaki K., Tanaka O., 1993. Saponins from Vietnamese ginseng, Panax vietnamensis Ha et Grushv. collected in central Vietnam. Chem. Pharm. Bull., 42, 634－640

Abstract

Analysis of ginsenosides in *Panax vietnamensis*

Jae Young Kim
Department of Pharmacy, Pharmaceutical Anaysis
The Graduate School
Seoul National Univerity

Panax vietnamensis is a species of plant in the Araliaceae family and known as a root of Vietnamese ginseng. It was discovered in highlands of central Vietnam province in 1973 and considered to be a new species in 1985.

In this study, the contents of ginsenosides in wild *P. vietnamensis* (Ye-Sanchi) collected from Yunnan province, and cultivated *P. vietnamensis* collected from Quangnam province were analyzed by HPLC with evaporative light scattering detector (ELSD). Q-TOF MS/MS was used for the identification of each peak. Unlike *P. ginseng*, *P. vietnamensis* contains ocotillol-type ginsenosides such as majonoside R1, R2, and vina-ginsenoside R2. More than 50% of total contents in Vietnamese ginseng are composed of ocotillol-type ginsenosides. On a dry-weight basis, the contents of notoginsenoside R1 (NR1), majonoside R1 (MR1),

ginsenoside Re+Rg1, majonoside R2 (MR2), vina-ginsenoside R2 (VR2), notoginsenoside R2 (NR2), ginsenoside Rb1, Rc, Rb2 and Rd in wild *P. vietnamensis* radix were 5.31, 20.66, 24.06, 32.45, 7.83, 4.01, 10.09, 3.31, 2.01 and 1.36 mg/g, respectively. In rhizome, the contents of MR1, Re+Rg1, MR2, VR2, Rb1 and Rd were 41.10, 9.04, 8.20, 5.84, 15.49 and 4.77 mg/g, respectively. NR1, NR2, Rc and Rb2 were not detected in the rhizome. Total contents of ginsenosides in the radix and rhizome were 11.1% and 8.4%, respectively. It showed lower contents than the cultivated *P. vietnamensis* as the total contents in radix and rhizome were 13.0% and 15.7%, respectively.

The contents of protopanaxatriol-type ginsenosides, such as NR1, Re, Rg1 and NR2, mostly contributed to differences in the total contents of radix and rhizome parts in wild *P. vietnamensis.* The contents of protopanaxadiol and ocotillol-type ginsenosides in radix and rhizome were quite similar. Wild ginseng's different peak pattern is limited in wild *P. vietnamensis* case and other wild ginsengs such as wild *P. ginseng* and wild *P. quinquefolius* have almost the same peak patterns.

Keywords: *Panax vietnamensis*, Ocotillol ginsenoside, Ye-Sanchi

Student ID: 2012-21571