

형개의 조직배양에 의한 정유생산

신 승 원 · 김 금 실 · 지 형 준*
덕성여자대학교 약학대학 · *서울대학교 천연물과학연구소

Production of Essential Oils by Tissue Culture of *Schizonepeta tenuifolia*

Seung-Won Shin, Geum-Sil Kim and Hyung-Joon Chi*

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714 and

*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—The callus was induced from the seedlings of *Schizonepeta tenuifolia* Brig. (Labiatae) and the effects of culturing conditions on growth rate and essential oil formation of the callus were experimented.

It was found in the experiments, that the proper culturing temperature is 23°C and the addition of biosynthetic precursors (leucine, mevalonic acid lactone) inhibits the growth of the callus. The growth rate of the callus and the amount of essential oils of the callus in the medium containing NAA were higher than the medium containing 2,4-D. The essential oils from the callus and the leaves of the cultivated *Schizonepeta tenuifolia* showed different GC pattern, but pulegone was found in both oils.

Keywords—*Schizonepeta tenuifolia* · Labiatae · essential oils · tissue culture · GC-MS · leucine · mevalonic acid lactone

형개 (*Schizonepeta tenuifolia* Brig.)는 꿀풀과 (Labiatae)에 속하는 일년생 초본으로, 한방에서는 형개의 지상부를 荊芥라하여 감기의 발열, 인후종통, 마진, 산후의 중풍 및 대하증 등의 치료제로 사용되어 왔으며, 중국 원산 식물이나 우리나라 각지에서 재배되며, 근래에는 수입하기도 한다.^{1,2)}

형개의 성분으로는 정유 및 flavonoid 등이 알려져 있으며 정유는 *d*-menthone, *l*-pulegone을 주 성분으로 하고, 그의 *l*-isomenthone, *d*-limonene, isopulegone, α -pinene, β -pinene, camphene, piperitone, piperitenone 등의 monoterpene과 caryophyllene, β -elemene, β -humulene 등의 sesquiterpene, 그의 3-octanone, 3-octanol, 1-octen-3-ol 등으로 구성되어 있으며 그의 shizonepetoside A, B 등의 monoterpene glycoside가

보고된 바 있다.³⁻⁷⁾

저자 등은 형개의 어린 잎으로부터 캘러스를 유도하여 배양조건이 캘러스의 성장 및 정유의 생성에 미치는 영향을 실험하고 캘러스에 생성된 정유를 모식물 정유와 비교분석 하였다.

실험재료 및 방법

식물재료—형개의 씨를 소독한 후 25~26°C의 배양기에서 발아시킨 씨의 어린 잎을 2mm×2mm 정도로 절단한 것을 sodium hypochlorite (유효염소량 0.5%)액에 담가 5초간 소독한 후, 멸균 증류수로 5회 세척하여 배지위에 이식하여 캘러스를 유도하였다. 한편 비교용 모식물은 7월에 씨를 뿌려 3개월동안 화분에서 재배하였다.

배지—MS medium에 yeast extract 2g 및 3%

sucrose를 첨가한 후에 각종 생장조절제 및 정유생합성 전구체로 알려진 물질들을 첨가하고, 0.1N-NaOH 또는 0.1N-HCl로 pH를 5.55~5.85로 조절하였다. 여기에 0.8% agar를 첨가하여 100°C에서 10분간 가열하여 agar를 용해시킨 후, 24×150 mm의 시험관에 10 ml씩 분주하였다. 이를 121°C에서 15분간 가압 멸균하여 사면으로 굳혀서 사용하였다.

캘러스의 배양조건이 캘러스의 생장속도 및 정유생성에 미치는 영향—식물생장 조절물질의 영향은 23°C, 암소에서 2,4-D 2 ppm과 kinetin을 0.2 ppm을 첨가한 배지와 NAA 2 ppm과 kinetin 0.2 ppm을 첨가한 배지에 이식하고 캘러스를 배양하여 비교하였다. 한편 암소에서 20°C, 23°C, 28°C로 조절한 후 각각 배양하여 온도의 영향을 검토하였으며, 23°C에서, 암소와 1600 lux의 광선 조사했을 때를 비교하였다. 또한 정유생합성 전구물질의 영향은 0.5% leucine 및 0.1% mevalonic acid lactone을 첨가한 배지에서 시험하였다.

정유분석—7월초에 화분에 씨를 뿌려 실험 재배한 형개의 잎과 꽃, 그리고 각 조건에서 배양한 캘러스를 3시간 30분간 수증기 증류하고, 용매를 날려보낸 후 정유의 중량을 측정하고, OV-101 fused silica capillary column(0.2 mm i.d. × 25 m)를 사용하여 GC를 행하여 각 정유의 조성을 비교하였다.⁸⁾

실험결과 및 고찰

배양조건이 캘러스생장에 미치는 영향—20°C, 23°C 및 28°C에서 배양하여 비교한 결과, 캘러스의 생장률은 23°C에서 가장 높은 것으로 나타났다. 광선 및 생장호르몬조건에 의한 영향은 배양 시작후 3주까지의 캘러스 생장속도는 암소에서 배양하였을 때와 광선 조사하에서 배양하였을 때 별 차이가 없었으나 5주후에 측정된 결과에서는 암소에서 배양한 캘러스가 증식률이 약간 높았다(Fig. 1). 식물생장 조절물질로는 NAA를 첨가했을 때가 2,4-D를 첨가했을 때보다 전반적으로 캘러스 증식속도가 빠른 것으로 나타났으며 두가지 모두 3주 이후부터 캘러스의 생

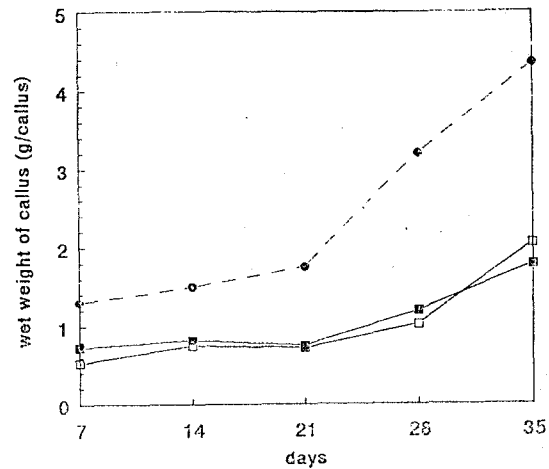


Fig. 1. Effects of plant growth regulators on growth of callus induced from the young leaves of *Schizonepeta tenuifolia* cultivated on MS medium containing 2 ppm 2,4-D(in the dark [■], in the light [□]) and 2 ppm NAA in the dark([●])

장속도가 현저하게 증가하였다. 한편 leucine 및 mevalonic acid를 첨가하여 배양한 경우에는 캘러스의 생장이 전반적으로 억제된 경향을 나타내었다.

정유의 분석—정유 생성량은 3주후부터 급격한 증가를 보였으며 NAA를 첨가한 배지에서 배양한 캘러스가 2,4-D를 첨가한 배지의 경우보

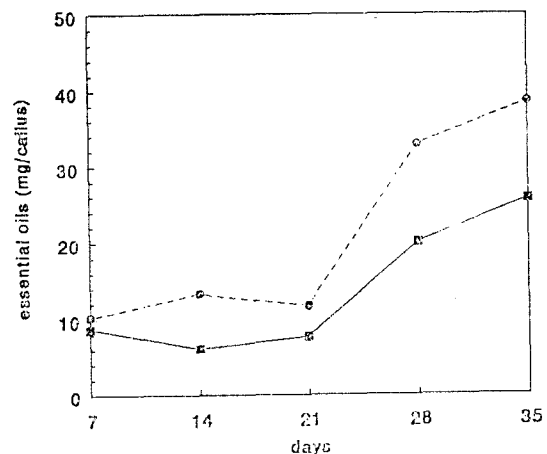


Fig. 2. Effects of plant growth regulators on production of essential oils in the callus from *Schizonepeta tenuifolia* cultivated on MS medium containing 2 ppm 2,4-D([■]) and 2 ppm NAA([●])

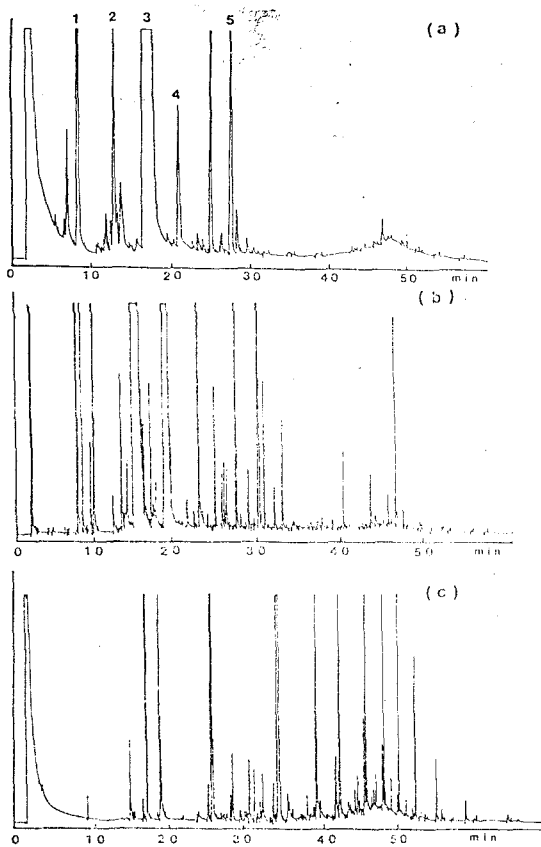


Fig. 3. GC chromatogram of essential oils from the flowers(a), the leaves(b) of *Schizonepeta tenuifolia*, and the callus cultivated on MS medium containing 2 ppm NAA and 0.2 ppm kinetin in the dark(c)

Column: OV-101 fused silica column(0.2 mm i.d.×25 m), Temp. 70°C(5 min), Rate: 3°C/min until 25 min, 2°C/min after 25 min, 10°C/min after 40 min until 250°C; Carrier gas: helium, Gas flow rate: $\mu=23.9$ cm/sec (linear velocity); Inj. temp.: 260°C; FID temp.: 300°C

다 높은 정유 생성률을 보였다(Fig. 2). 정유의 수득률은 형개 모식물의 꽃에서 0.43%, 잎에서 0.15%였으며, 2,4-D 1ppm과 kinetin 0.2 ppm을 첨가한 배지에서 35일간 배양한 캘러스에서는 1.83~2.18%를 나타내었다. 그리고 0.5% leucine 및 0.1% mevalonic acid의 첨가에 의해 캘러스의 정유생성량은 증가하지 않았다. 한편 GC로 분석하여 각 정유의 조성을 비교한 결과 꽃과 잎의 정유의 조성은 정성적으로는 유사하

나, 주성분인 pulegone(Fig. 3-a, peak No. 3) 및 menthone(2)함량에 있어서는 차이가 있는 것으로 나타났고 그의 limonene(1), piperitone(4) 및 t_R 25분 이후에 주로 나타난 β -guaiene(5) 등의 sesquiterpene 화합물들에 있어서도 peak 면적비의 차이가 있었다(Fig. 3). 한편 형개의 어린 잎으로부터 유도하여 각 조건에서 배양한 캘러스에 형성된 정유는 재배한 형개의 꽃과 잎의 정유와는 전혀 다른 조성을 나타내었다. 그러나 형개 꽃의 성분중 pulegone의 peak가 NAA를 첨가한 배지에서 배양한 캘러스에 생성된 정유의 GC에서 t_R 19.12에서 나타났고, 그의 성분은 확인되지 않았다(Fig. 3-c).

결 론

형개의 어린잎에서 유도한 캘러스의 성장속도는 23°C, 광선이 없는 암상태에서 배양했을 때 가장 빨랐고, 식물성장 조절물질에 의한 영향으로 NAA를 첨가했을 때에 캘러스성장 및 정유 생성률이 현저히 높았다.

재배한 형개의 잎과 꽃의 정유는 유사한 GC-pattern을 나타냈으며 menthone 및 pulegone의 함량 비율면에서는 큰 차이가 있었으며 캘러스 및 모식물의 정유는 pulegone을 공통으로 함유하는 것 이외에는 다른 조성을 나타내었다.

〈1994년 2월 14일 접수 : 2월 22일 수리〉

문 헌

1. Fujida, M. and Fujida, A.: *Shoyakugaku Zasshi* 93, 1622 (1973).
2. Sasaki, H., Taguchi, H., Endo, T., Yossoka, I. and Itaka, Y.: *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 1636 (1981).
3. Jennings, W. and Shibamoto, T.: *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*, p.346, Academic Press (1980).
4. Moshonas, M.G. and Lund, E.D.: *The Flavour Industry*, p.375 (1970).
5. Hsu, H.Y., Chen, Y.B. and Hong, M.: *The*

- Chemical Constituents of Oriental Herbs*, pp. 611~613, Oriental Healing Arts Institute (1982).
6. Tsukamoto, T., Yag, A., Mihashi, K. and Mori, Y.: *Chem. Pharm. Bull.* **16**, 2129 (1968).
7. Stenhagen, E., Abrahamsson, S. and McLafferty, F.W.: *Registry of Mass Spectral Data*, Vol. 1, p. 276, p. 402~420 and Vol. 2, p. 1026, Wiley-Interscience (1974).
8. Waller, G.R. and Dermer, O.C.: *Biochemical Applications of Mass Spectrometry*, John Wiley & Sons (1980).