

## 당이 THP로 단순화된 새로운 아시아티코사이드 유도체의 상처치유효과

장민선 · 박은희 · 김희두<sup>#</sup>

숙명여자대학교 약학대학

(Received September 5, 2007; Revised October 11, 2007)

### Wound Healing Effect of Novel Asiaticoside Mimetics Simplified the Sugar Moiety by Tetrahydropyrans

Minsun Chang, Eun Hee Park and Hee-Doo Kim<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

**Abstract** - Novel asiaticoside mimetics simplified the sugar moiety by tetrahydropyrans (THP) were designed, synthesized and tested their wound healing effects by tensile strength measurement. From this study, it is speculated that the sugar moiety of asiaticoside could be simplified to tetrahydropyrans without a significant loss of wound healing effect.

**Keywords** □ asiaticoside, sugar, tetrahydropyrans, wound healing effects, tensile strength measurement

*Centella asiatica*는 인도, 마다가스카르 등지에서 자생하는 미나리과 식물로서, 그 추출물은 고대로부터 상처치유, 나병 등 여러 용도의 민간약으로 사용되어 왔다.<sup>1)</sup> 프랑스의 Laroche Navarron사가 이 식물의 유효성분의 정량적 추출물(TECA, Titrated Extracts of *Centella Asiatica*)을 얻는데 성공하여 이 추출물의 제제를 Madecassol<sup>®</sup> 이라는 상품명으로 시판하였다. 추출물의 주성분은 asiaticoside, asiatic acid, madecassic acid로서 이들의 정량 추출물은 현재 우리나라에서도 피부각질화를 방지할 목적의 창상치유제로 시판되고 있다.<sup>2)</sup> Asiaticoside는 자연에서는 드물게 발견되는 몇 안되는 1-O-acyl-D-glucopyranose로서 비당체인 asiatic acid에 2분자의 glucose와 rhamnose로 구성된 trisaccharide가 에스테르 형태로 붙어 있다.<sup>3)</sup> Asiaticoside는 그 자체보다는 비당체인 asiatic acid로 가수분해되어 약효를 나타내는 것으로 알려져 있다.<sup>4)</sup> 그러나, asiatic acid 보다 asiaticoside의 형태로 투여하는 것이 상처치유 효과가 우수한 것으로 알려져 있으며 상처치유효과는 skin dermis에서의 콜라겐 합성에 연관된 것으로 보고되어 있다.<sup>5)</sup> Asiaticoside의 약리작용에 관해 많은 연구가 이루어졌음에도 불구하고 당에 관한 뚜렷한 역할이 알려져 있지 않은 상태이다.<sup>6)</sup> 1996년 저자 등은 새로운 상처 치유

제를 개발할 목적으로 당 부분을 alkoxyalkyl ester 형태로 단순화하고 A환의 triol부분을 triacetate로 변환한 새로운 asiaticoside 유도체(2)들을 개발하여 상처치유 효과를 높이는데 성공하였다.<sup>7)</sup>

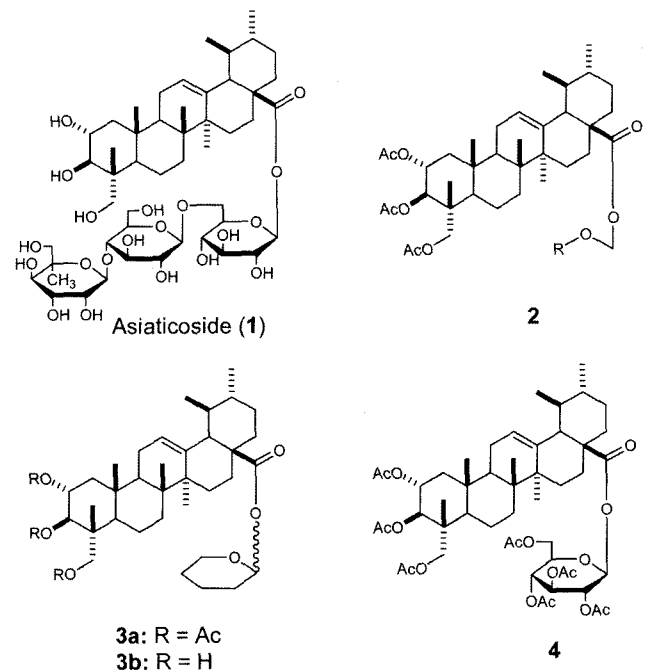


Fig. 1 - Structure of asiaticoside and its derivatives.

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-710-9567 (팩스) 02-703-0736  
(E-mail) hdkim@sm.ac.kr

본 연구는 배당체에 있어서의 당의 역할을 좀 더 구체적으로 규명하기 위한 연구의 일환으로 alkoxyalkyl ester보다 좀 더 sugar의 구조에 접근한 아래의 pyran구조(3, 4)를 지닌 유도체를 설계 및 합성하여 상처 치유효과와의 상관관계를 관찰하고자 하였다 (Fig. 1).

### 실험방법

Asiatic acid는 asiaticoside 36~44%, madecassic acid 28%, asiatic acid 28%를 각각 함유하고 있는 정량 추출물로부터 칼람 크로마토그래피하여 사용하였다. 일반 시약은 Aldrich사의 제품으로 97% 이상의 순도를 가진 것들을 사용하였다. THF (tetrahydrofuran)는 질소 기류하에서 benzophenone sodium ketyl로부터 증류하여 사용하였고 pyridine, *N,N*-dimethylformamide 및 dichloromethane은 CaH<sub>2</sub>에서 증류하여 사용하였다. 핵자기 공명(NMR) 스펙트라는 Varian Gemini 300BB 또는 Varian 400 spectrometer를 이용하여 TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준 물질로 하여 측정하였으며, 화학적 이동(chemical shift)은  $\delta$  단위로, coupling constant는 Hz로 나타내었다. IR 스펙트라는 Jasco FT/IR-430 분광광도계로 측정하였으며, cm<sup>-1</sup>로 표시하였다. Optical rotation은 Jasco DIP-1000 digital polarimeter를 사용하여 측정하였다. Low 및 high resolution mass spectra는 JEOL JMS600을 이용하여 EI 이온화법으로 측정하였으나, FAB 이온화법을 이용한 high resolution mass spectra의 측정에는 JEOL JMS-AX505WA를 사용하였다. 녹는점은 Büchi 535 녹는점 측정기와 SYBRON Thermolyne으로 측정하였다. 박층 크로마토그래피(TLC)는 silica gel(Kieselgel 60F254, Merck)를 사용하였고, 컬럼 크로마토그래피는 silica gel(Kieselgel 60, 230~400 mesh, Merck)를 사용하였다.

#### Asiatic acid(5)의 분리

미황색 분말의 *Centella asiatica*의 정량 추출물 2 g을 methanol (30 ml)에 녹이고 여기에 silica gel(60~230 mesh) 5.0 g을 혼합하고 감압, 농축하여 건조한 분말로 만들었다. 이것을 silica gel 칼람에 loading하여 dichloromethane과 methanol의 15대 1의 비율로 혼합된 전개용매로 column chromatography 하여 543 mg의 백색 고체인 asiatic acid를 얻었다: mp 254~256°C; IR(KBr) cm<sup>-1</sup> 3350, 1720; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.16(m, 1H), 3.64~3.57(m, 2H), 3.46(d, 1H, *J*=11.2 Hz), 3.26(dd, 2H, *J*=9.6, 11.2 Hz), 2.12(d, 1H, *J*=11.2 Hz), 1.90~1.80(m, 5H), 1.60~1.50(m, 5H), 1.47~1.20(m, 10 H), 1.10~0.90(m, 9H), 0.86~0.81(m, 4H), 0.78~0.64(m, 8H); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +20.8 (*c* 0.44, THF). LRMS(FAB) m/e(relative intensity) 487 [(M-H)<sup>+</sup>, 5].

#### 2,3,23-Triacetyl asiatic acid(6)

Asiatic acid(212 mg, 2.31 mmol)를 무수 피리딘(5 ml)에 녹인 후, acetic anhydride(2 ml)를 가하고 3시간 교반하였다. 포화 sodium carbonate(1 ml)를 가하고 10분간 교반 후, ethyl acetate로 희석하였다. 유기층을 5% HCl, 물, 포화식염수로 순서대로 세척하고, 무수망초로 건조한 뒤, 여과하여 얻은 여액을 감압농축하여 얻은 잔사를 column chromatography(n-hexane : ethyl acetate=2 : 1)하여 흰색 거품상 고체인 triacetyl asiatic acid(242 mg, 91%)를 얻었다: mp 160~164°C; IR(KBr) cm<sup>-1</sup> 3350, 1750; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.22~5.10(m, 2H), 5.05(d, 1H, *J*=10.0 Hz), 3.82(d, 1H, *J*=11.6 Hz), 3.55(d, 1H, *J*=11.6 Hz), 2.17(d, 1H, *J*=11.2 Hz), 2.06(s, 3H), 2.00(s, 3H), 2.0~1.0(m, 20H), 1.96(s, 1H), 1.07(s, 3H), 1.05(s, 3H), 0.92(d, 3H, *J*=6.4 Hz), 0.85(s, 3H), 0.82(d, 3H, *J*=6.4 Hz), 0.75(s, 3H); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>26</sup> +23.8(*c* 1.0, THF); HRMS(FAB) calcd for C<sub>36</sub>H<sub>55</sub>O<sub>8</sub>(M+H)<sup>+</sup> 615.3897, found 615.3888.

#### 2,3,23-Triacetylasiatic acid, 2'-tetrahydropyranyl ester (3a)

2,3,23-Triacetylasiatic acid(6, 1150 mg, 1.88 mmol)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml)에 용해시키고 3,4-dihydro-2H-pyran(0.68 ml, 7.52 mmol)을 가하고 빙냉한 후 *p*-toluenesulfonic acid(10 mg)를 가하고 10시간 교반하였다. 반응액을 ethyl acetate로 희석하고 유기층을 포화중조수, 물, 포화식염수로 차례로 세척하고 무수망초로 건조한 뒤, 여과하여 얻은 여액을 감압농축하여 얻은 잔사를 column chromatography(n-hexane : ethyl acetate=4 : 1)를 행하여 백색 분말성 고체 1,183 mg(90%)을 얻었다: mp 178~181°C; IR (NaCl, neat) cm<sup>-1</sup> 1740, 1240; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.88(m, 1/2H), 5.84(m, 1/2H), 5.2(m, 1H), 5.09(dt, 1H, *J*=4.0, 10.0 Hz), 5.01(d, 1H, *J*=10.0 Hz), 3.8(m, 1H), 3.78(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 3.6(m, 1H), 3.52(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 2.22(d, 1/2H, *J*=11.0 Hz), 2.19(d, 1/2H, *J*=11.0 Hz), 2.02(s, 3H), 1.95(s, 3H), 1.91(s, 3H), 1.03(s, 3H), 1.02(s, 3H), 0.88(d, 3H, *J*=6 Hz), 0.81(s, 3H), 0.79(d, 3H, *J*=6.4 Hz), 0.71(d, 3H, *J*=3.6 Hz), 2.0~1.0(m, 26H); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +18.9(*c* 0.2, ethyl acetate); HRMS(FAB) calcd for C<sub>41</sub>H<sub>63</sub>O<sub>9</sub>(M+H)<sup>+</sup> 699.4472, found 699.4464.

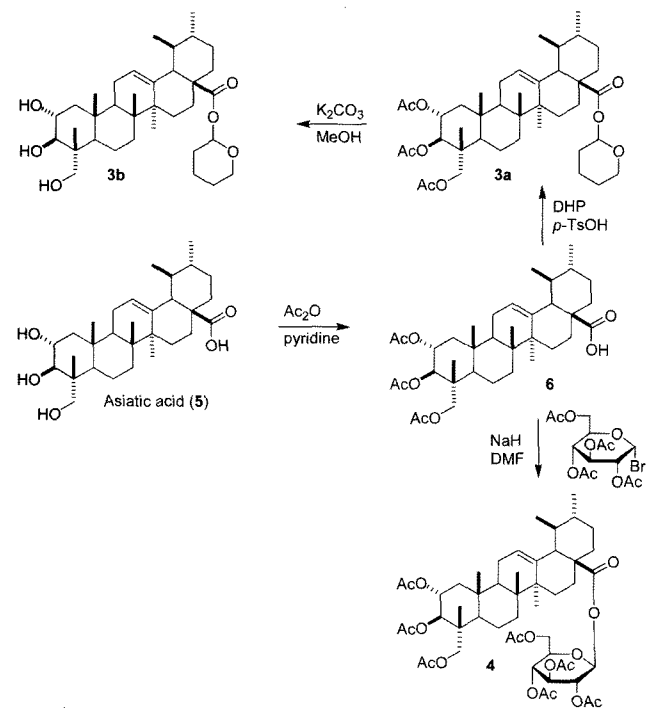
#### Asiatic acid, 2'-tetrahydropyranyl ester(3b)

2,3,23-Triacetylasiatic acid의 2'-tetrahydropyranyl ester(3a, 500 mg, 0.72 mmol)을 4 ml MeOH-THF(3 : 1)의 혼합용매에 녹이고 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(200 mg)을 가해 12시간 교반하였다. 용매를 감압농축 후 ethyl acetate로 희석하고 유기층을 물, 포화중조수 및 포화식염수로 차례로 세척하고 무수망초로 건조한 뒤, 여과하여 얻

은 여액을 감압농축하여 고체 410 mg(100%)을 얻었다. 이것을 MeOH-H<sub>2</sub>O의 혼합액으로 재결정하여 295 mg(72%)의 미색 분말성 고체를 얻었다. mp 200~203°C; IR(NaCl, CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> 3400, 1720; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.93(m, 1/2H), 5.89(m, 1/2H), 5.24(m, 1H), 3.85(m, 1H), 3.72(m, 1H), 3.70~3.60(m, 2H), 3.42~3.37(m, 2H), 3.18(m, 1H), 2.4~1.0(m, 30H), 1.06(s, 3H), 1.00(s, 3H), 0.92(d, 3H, J=6.0 Hz), 0.87(s, 3H), 0.84(d, 3H, J=6.4 Hz), 0.75(d, 3H, J=4.8 Hz); [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> +50.0(c 0.2, ethyl acetate); HRMS(FAB) calcd for C<sub>35</sub>H<sub>57</sub>O<sub>6</sub> (M+H)<sup>+</sup> 573.4155, found 573.4151.

**2,3,23-Triacetylasiatic acid, 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl ester(4)**

Triacetyl asiatic acid(6, 350 mg, 0.6 mmol)를 무수 dimethylformamide(10 ml)에 녹이고 NaH(60% in oil, 30 mg, 0.75 mmol)를 넣은 후 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosyl bromide(300 mg, 0.73 mmol)을 가해 12시간 교반시켰다. 반응액에 ethyl acetate(30 ml)를 가해 희석하고 유기층을 물로 수차례 세척한 뒤, 포화식염수로 세척하고 무수망초로 건조하였다. 여과 후 얻은 여액을 감압농축하여 얻은 잔사를 column chromatography(n-hexane : ethyl acetate=3 : 1)를 행하여 백색고체(280 mg, 40%)를 얻었다: mp 148~149°C; IR(NaCl, CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> 3000, 2950, 1740, 1450, 1370, 1240; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.54(d, 1H, J=8.0 Hz), 5.30(t, 1H, J=3.3 Hz), 5.4~5.0(m,



Scheme 1 - Synthesis of asiaticoside derivatives.

5H), 4.28(dd, 1H, J=4.4, 12.4 Hz), 4.03(dd, 1H, J=2.0, 12.4 Hz), 3.87(d, 1H, J=11.8 Hz), 3.78(ddd, 1H, J=2.0, 4.4, 12 Hz), 2.2(d, 1H, J=11 Hz), 2.09(s, 3H), 2.07(s, 3H), 2.03(s, 6H), 2.02(s, 6H), 1.99(s, 3H), 1.10(s, 3H), 1.07(s, 3H), 0.95(s, 3H), 0.89(s, 3H), 0.89(s, 3H), 0.85(d, 3H, J=6.5 Hz), 0.77(s, 3H) 2.0~1.0(m, 18H); LRMS(EI), m/z, 924(M<sup>+</sup>-21), 917, 890, 884, 738, 764, 684, 613, 568; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> +4.3(c 0.6, ethyl acetate).

**Tensile strength method에 의한 창상치유효과 측정**

창상치유효과는 linear incisional wound model 을 이용한 절개창 장력 강도측정법(tensile strength method)을 이용하여 측정하였다. 본 연구에 사용된 유도체들은 1% 농도의 연고로 제작되었으며, 각각의 실험에서 1% TECA, 1% asiatic acid 연고, 연고기체 처치 대조군, 무처치대조군에 대해서 비교하였다. 연고의 기체는 madecassol 연고의 기체와 동일한 조성으로 polyethylene glycol: glycol stearate: white petrolatum: distilled water를 30%: 15%: 5%: 50% 비율로 만든 것을 사용하였다. 절개창 장력강도 측정법은 Schulte and Domenjoz의 방법을 일부 개량하여 측정하였다.<sup>8)</sup> 체중 200±20 g의 Sprague-Dawley계 자성 랫드를 창상 유발 하루전에 배부의 털을 70% 알코올로 소독하고 목선에서 3 cm 아래 지점을 시각점으로 하여 정중선에 따라 외과용 메스를 사용하여 2 cm 길이로 피부전층을 절개하였다. 절개부위는 외과용 봉합침과 봉합사를 이용하여 0.5 cm 간격으로 연속봉합하고, 감염방지를 위해 gentamicin(80 mg/2 ml/vial)을 창상유발일로부터 개별 cage에 방지하며 피검 화합물의 연고는 창상유발일로부터 5일째까지 6일간 1일 1회, 0.05 ml/site 씩 1 ml syringe에 취하여 면봉으로 도포하였다. 창상유발 후 3일째에 봉합사를 제거하고 6일째에 치유된 창상부를 적출하여 RHEOMETER(2 cm/min)로 장력강도(tensile strength, g/cm<sup>2</sup>)를 측정하였다.

**자료분석 및 통계처리**

모든 실험결과는 평균±표준편차로 표기하였으며 실험군 간의 통계적 유의성은 Student t-test로 하였으며 P<0.05인 경우에 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

**실험결과 및 고찰**

**합성**

Centella asiatica의 정량 추출물을 column chromatography하여 얻은 asiatic acid를 출발물질로 사용하였다. Asiatic acid를 피리딘에 용해시키고 acetic anhydride를 가하여 triacetyl화된 2,3,23-triacetyl asiatic acid를 91%의 수율로 얻었다. 이렇게 하

여 히드록실기를 acetoxy기의 형태로 보호하고, 산 촉매하에서 3,4-dihydro-2H-pyran과 반응시켜 카르복실기를 tetrahydropyranyl ester 형태로 변화시켜 화합물 **3a**를 얻었다. 입체적인 차이를 이용하여 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 에스테르 중 acetate 만을 선택적으로 가수분해하여 asiatic acid의 tetrahydropyranyl ester **3b**를 얻었다. 유도체 **4**를 합성하기 위해 필요한  $\alpha$ -acetobromoglucose (2,3,4,6-tetraacetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide)는 문헌기지의 방법에 의해 D-glucose로부터 2단계에 걸쳐 합성하였다.<sup>9)</sup> 합성된  $\alpha$ -acetobromoglucose의 anomeric center 상의 수소가 6.61 ppm에서 doublet으로 split되었고 J 값이 3.9 Hz인 것을 확인함으로써  $\alpha$ -anomer인 것을 재확인 할 수 있었다. Triacetylasiatric acid를 dimethylformamide 용매에서 NaH로 salt로 만들고  $\alpha$ -acetobromoglucose와 반응시켜 화합물 **4**를 합성하였다. 5.54 ppm에서 anomeric center 상의 수소가 doublet으로 split되었으며 J 값이 8.0 Hz였다. 이로부터 비당체인 triacetylasiatric acid가 위쪽에서 공격하여 형성된  $\alpha$ -anomer임을 확인할 수 있었다.

#### 피부장력측정에 의한 상처치유효과

합성된 asiatic acid 유도체들의 창상치유효과는 앞서 기술한 linear incisional wound model 을 이용한 절개창 장력 강도측정법(tensile strength method)을 이용하여 측정하였으며, 그 결과는 Table I에 나타내었다. 무처리 대조군에 비해 asiatic acid와 asiaticoside 로 처리한 피부 절개창의 장력강도가 각각 46% 및 62% 증가하였다. 배당체인 asiaticoside가 비당체인 asiatic acid 비해 장력 강도가 강해 창상치유 효과가 보다 우수한 것으로 관찰되었다. 당 부분을 tetrahydropyran(THP)으로 단순화한 화합물 **3b**는 asiatic acid보다는 우수한 효과를 나타내었으며 asiaticoside와는 동등한 정도의 효과를 나타내었다. 3개의 OH기를 아세틸화하여 지용성을 증가시킨 THP 유도체인 **3a**는 상처 치유효과가 약간 더 개선된 것으로 보이거나 커다란 유의성을 보여주지는 못했다. 비당체 부분의 OH기와 glucose의 OH기를 모두 아세틸화하여 지용성을 증가시키고 THP가 아닌 glucose를

연결시킨 화합물 **4**에서는 asiaticoside와 유사한 정도의 상처치유효과를 나타내었다.

## 결 론

Asiaticoside는 glucose 두 분자와 rhamnose 한 분자로 구성된 trisaccharide가 asiatic acid와 ester 결합을 한 것으로 일종의 prodrug으로 볼 수 있다. 배당체 화합물이나 의약품이 비당체보다 우수한 약효를 나타내는 것은 흔히 관찰되는 현상이기는 하나 당의 역할이 정확히 규명되지 않은 경우가 허다하다. 따라서 본 연구에서는 asiaticoside의 당 부분이 상처치유에 미치는 영향을 측정하고자 보다 구조적으로 당과 유사한 THP혹은 glucose가 도입된 Asiatic acid ester 를 설계하고 합성하였다. 그러나, Table I의 결과에서 보듯이, 비당체의 카르복실기에 붙은 알코올의 구조적 특이성은 상처치유효과에 민감하게 반영되고 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 복잡한 구조의 배당체보다는 단순화된 asiatic acid의 ester 유도체로부터도 좋은 상처 치유제가 개발될 수 있음을 시사하는 결과라 할 수 있다.

## 감사의 말씀

이 논문은 숙명여자대학교 2005년도 약학연구소 특별연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Boiteau, P., Buzas, A., Lederer, E. and Polonsky, J. : Chemical constitution of asiaticoside, a heteroside used against leprosy. *Bull. Soc. Chem. Biol.* **31**, 46 (1949).
- a) Pointel, J. P., Boccalon, H., Cloarec, M., Ledevhat, C. and Joubert, M. : Titrated extract of *Centella asiatica* (TECA) in the treatment of venous insufficiency of the lower limbs. *Angiology* **38**, 46 (1987). b) Poizot, A. and Dumez, D. : Modification of the healing kinetics after iterative exeresis in the rat. Action of titrated extract of *Centella asiatica* (TECA) on duration of healing. *C. R. Acad. Sci. [D]* **286**, 789 (1978).
- Polonsky, J., Sach, E. and Lederer, E.: The chemical constitution of the glucidic part of asiaticoside. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 880 (1959).
- a) Bonte, F., Dumas, M., Chaudagne, C. and Meybeck, A. : Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen I synthesis. *Planta Med.* **60**, 133 (1994). b) Rush, W. R., Murray, G. R. and Graham, D. J. M. : The comparative steady-state bioavailability of the active ingredients of madecassol. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin.* **18**, 323 (1993). c) Maquart, F. X., Bellon, G., Gillerey, P.,

Table I - Wound healing effect of asiaticoside derivatives

Compound <sup>a</sup>	Tensile strength (g/cm <sup>2</sup> ) <sup>b</sup>	Relative value
Control	287±12.7	100
Asiatic acid	418±39.9*	146
Asiaticoside	446±40.2**	162
<b>3a</b>	496±31.2**	173
<b>3b</b>	481±27.2*	168
<b>4</b>	473±32.7**	165

<sup>a</sup>Each group contained 8 or more rats. One skin incision was made in each rats, and treated topically with 50 mg of 1% ointment of test compounds once a day during the experimental period.

<sup>b</sup>Tensile strength was measured by Rheometer (Fudoh Kogyo, Japan) with digital readout. Each value represents mean±S.E.

\*P<0.05, \*\*P<0.01.

- Wegrowski, Y. and Borel, J. P. : Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by a triterpene extracted from *Centella asiatica*. *Connect. Tissue Res.* **24**, 107 (1990).
- 5) Bonte, F., Dumas, M., Chaudagne, C. and Meybeck, A. : Comparative activity of asiaticoside and madecassoside on type I and III collagen synthesis by cultured human fibroblasts. *Ann. Pharm. Fr.* **53**, 38 (1995).
- 6) a) Lawrence, J. C. : The effect of asiaticoside on guinea pig skin. *J. Invest. Dermatol.* **49**, 95 (1967). b) Laerum, O. D. and Iversen, O. H. : Reticuloses and epidermal tumors in hairless mice after topical skin applications of cantharidin and asiaticoside. *Cancer Res.* **32**, 1463 (1972). c) Boiteau, P. and Ratsimamanga, A. R. : Asiaticoside extracted from *Centella asiatica* and its therapeutic uses in cicatrization of experimental and refractory wounds (leprosy, cutaneous tuberculosis and lupus). *Therapie* **11**, 125 (1956). d) Boiteau, P., Niegeon-Dureuil, M. and Ratsimamanga, A. R. : An investigation of asiatic acid by means of experimental tuberculosis of the mouse. *Compt. Rend.* **232**, 760 (1951). e) Farris, G. : Therapeutic action of asiaticosides in the field of dermatology. *Minerva Med.* **56**, 2244 (1960). f) Lawrence, J. C. : Morphological and pharmacological effects of asiaticoside upon skin *in vitro* and *in vivo*. *Eur. J. Pharmacol.* **1**, 414 (1967).
- 7) Shim, P.-J., Park, J.-H., Chang, M.-S., Lim, M.-J., Kim, D.-H., Jung, Y. H., Jew, S.-S., Park, E. H. and Kim, H.-D. : Asiaticoside mimetics as wound healing agent. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **6**, 2937 (1996).
- 8) Schulte, R. and Domenjoz, R. : Methode zur bestimmung, der reifestgkeit heilinder hautwunden ber ratten. *Med. Pharmacol. Exp.* **16**, 453 (1967).
- 9) Redemann, C. E. and Nielman, C. : Acetobromoglucose. *Organic Synthesis Coll.* **3**, 11 (1955).