

人蔴根 由來 칼루스組織의 사포닌 含量에 미치는  
2, 4-D 와 키네틴의 影響

金明媛·崔光泰·裴孝元·康榮薰\*

(한국인삼연초연구소·\*연세대학교 생물학과)

Effects of 2, 4-D and Kinetin on the Production of  
Saponin in Ginseng Tissue Culture

Kim, Myong Won, Kwang Tae Choi,  
Hyo-Won Bae and Young Hee Kang\*

(Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Seoul and

\*Department of Biology, Yonsei University, Seoul)

ABSTRACT

In the present study effects of 2,4-D and kinetin on the callus tissue growth of Korean ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer), in relation to the synthesis of saponin were investigated. The saponin synthesis in the callus culture of ginseng root was enhanced by 2,4-D and kinetin. The total saponin content of callus grown on the optimum growth conditions, that is, 5 mg/l of 2,4-D and 2 mg/l of kinetin, was about three times as high as that of the 6 year-old ginseng roots commercially used as herbs. The kinetin specifically increased the synthesis of protopanaxadiol group ginsenoside and decreased the synthesis of protopanaxatriol group in callus cultures, while 2,4-D caused to an increase in the synthesis of protopanaxatriol group ginsenoside and decrease the synthesis of protopanaxadiol group.

緒論

고등식물은 식물, 목재, 섬유 등 2차 대사산물을 생산, 공급할 뿐만 아니라 때로는 약용 성분을 많이 함유하고 있는 경우도 있다. 그런데 최근에 이트더 이러한 약용식물이 여러 가지 환경공해로 소멸되어 가고 있고 경제적으로나 기술적으로 야생 약용식물을 재배하기에 어려운 점이 많이 야기되고 있어 조직배양을 통해 이러한 난점을 극복하여 하고 있다. Callus 조직은 합성 배지내에서 부균상태로 배양하기 때문에 열중 아무래나 이용할 수 있고 물질대사도 보통 식물체보다 간단

하기 때문에 화학 및 생물학 연구에도 쉽게 이용할 수 있다. 특히 약용식물의 조직배양에 있어서 배양세포내에서의 alkaloid, steroid, 항생물질 및 효소의 생성은 대단히 중요한 문제로 제기되고 있고 현재 많은 연구가 진행 중에 있다(Hiraoka et al., 1973; Tabata et al., 1974; Misawa et al., 1975). 특히 인삼과 같이 재배가 어려운 식물은 조직배양을 통한 유익성분 생성 문제가 시급한 것으로 대두되고 있다.

West and Staba (1957)가 *Atropa belladonna* 뿌리에서 유기된 callus 조직을 배양하여 0.47~0.53%의 atropine를 생성해 낸 이후, 당근의 callus에서 alkaloid를 생성시키고(Hiraoka et al., 1973), *Dios-*

*corea deltoidea*의 조직배양에서 diosgenin (Kaul et al., 1969)을, *Lithospermum erythrorhizon*의 callus 조직은 원 씩률 뿐만 아니라 8배나 많은 naphtoquinone 을 형성한다(Tabata et al., 1974)고 보고된 바 있다. 특히 조직배양에서 씩률생장 조절물질은 배양세포의 생장이나 분화를 촉진할 뿐만 아니라 2차 대사산물 생성을 조절한다. 2,4-D는 *Nicotiana tabacum* 배양세포에서 nicotine 합성을 억제하는 반면에 kinetin은 nicotine 합성을 증가시키는데 이는 nicotine 대사에 관여하는 주효소의 활성을 2,4-D나 kinetin이 억제하거나 증가시키기 때문이다(Tabata et al., 1971b), 1974년에는 *Lithospermum erythrorhizon*의 조직배양에서 2,4-D나 NAA에 의해 shikonin 합성이 억제되며, IAA에 의해서는 거의 영향을 받지 않는다고 하였다(Tabata et al., 1974). 이 밖에 *Morinda citrifolia* 배양에서 anthraquinone 생성은 NAA에 의해 촉진되고, 2,4-D에 의해 억제되며 (Zenk et al., 1975), *Cassia tora* 배양에서는 2,4-D가 anthraquinone 합성에는 영향을 주지 않으나 (Tabata et al., 1975), *Dioscorea* 배양에서 diosgenin(Kaul et al., 1969)생성과 *Muconea* 배양에서 L-Dopa(Brain, 1974)의 생성을 촉진한다고 하였다.

이와 같이 배양세포내에서 2차 대사생성물의 합성에 관하여 많이 연구되어 오고 있으나 아직 인삼조직배양에서 saponin 합성에 대한 연구결과는 보고된 바 없기 때문에 인삼 callus에서의 saponin 합성과 인삼배양세포의 생장촉진에 가장 효율적인 배양기를 개발하는 연구의 일환으로 본 실험을 수행하였던 바, 그 결과를 이에 보고자 한다.

### 材料 및 方法

공시 재료 6년생 고려인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer) 뿌리를 Murashige and Skoog (1962)의 기본 배양기에 2,4-D 1, 5, 10 mg/l를 각각 첨가한 2,4-D 단용배양기와 여기에 kinetin을 1, 2 mg/l씩 각각 첨가한 2,4-D+kinetin 혼용배양기에 접종하여 10개월간 암배양후 사용하였으며 30~40일마다 계대배양하였다.

**Liebermann-Buchard 반응** 인삼근과 인삼 callus 를 각각 1 mg 씩  $\text{CHCl}_3$  1 ml에 침지하고 루수 acetic acid 1 ml를 가한 후 2 ml의  $\text{c-H}_2\text{SO}_4$ 를 조심스럽게 넣어서 자색으로의 변색 유무를 확인하였다.

**粗 Saponin 추출방법** 6년생 인삼의 뿌리 1g과 각 배양기별로 10개월간 배양한 인삼 callus 0.1~0.5 g 을 각각 80% MeOH 10 ml에 1일간釀침하여 1회 추

출하고, 80% MeOH 5 ml로 3시간씩釀침 2회 추출하여 얻어진 여액을 갑암농축하여 인삼근과 callus의 MeOH extract를 얻었다. MeOH extract에  $\text{H}_2\text{O}$ 를 가하고 ethyl ether를 사용하여 지용성 물질 등을 제거한 후  $\text{H}_2\text{O}$  층을 수포화된 n-BuOH로 3회 추출하였다. 그리고  $\text{H}_2\text{O}$  층은 제거하고 n-BuOH 층을  $\text{H}_2\text{O}$ 로 2~3회 씻은 후 갑암농축시켜 조 saponin을 얻었다(Fig. 1).

### Materials

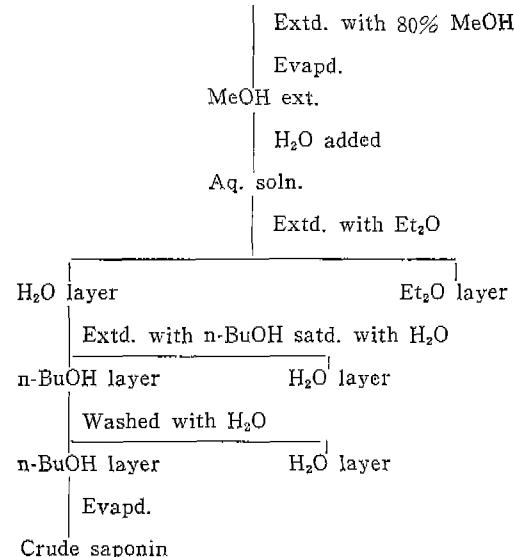


Fig. 1. Extraction procedure of crude saponins from ginseng root and ginseng callus.

**全 Saponin 정량** 上記方法에 의하여 얻은 粗 saponin을 MeOH 0.5 ml에 녹여 Vanillin- $\text{H}_2\text{SO}_4$ 法(Hiai et al., 1975)에 의하여 全 saponin을 정량하였다.

**粗 Saponin의 TLC**에 의한 분리 Silica gel G (MERCK)로 0.25 mm 두께의 plate ( $20 \times 20$  cm)를 만들어 110°C 乾燥器에서 1시간 활성화시켜 사용하였다. 前記의 粗 saponin MeOH 용액을, 활성화시킨 plate에 spot하고 展開 溶媒은  $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{H}_2\text{O} = 65 : 35 : 10$  (v/v/v) (low layer)를 사용하여 plate 上 17 cm 까지 展開시킨 후 air dryer로 溶媒을 제거하여 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 로 發色시켰다.

**粗 Saponin의 High Performance Liquid Chromatography**에 의한 分離 前記方法에 依하여 抽出된 粗 saponin MeOH 溶液을 HPLC (Waters model 244)를 이용하여 saponin을 각 分割으로 分離하였다. 粗 saponin MeOH 溶液을 1  $\mu\text{l}$  주입시켰고 carbohydrate analysis column을 사용하였으며 전개용매로는  $\text{AcCN}/\text{H}_2\text{O} = 80/20$  (v/v)를 사용하였다. 이 때 flow

rate는 2.0 ml/min로 조절하였으며 RI detector(Waters)를 사용하여 saponin을 분리하였다.

### 結 果

人蔘 Callus 細胞의 全 Saponin 含量에 미치는 2,4-D와 Kinetin의 影響 Callus와 人蔘根 모두 Liebermann-Buchard 반응에서 그 變色速度가 느리기는 하였으나 陽性反應을 나타내어 callus에서 saponin이 합성됨을 확인할 수 있었다.

人蔘 callus의 全 saponin 함량에 대한 2,4-D와 kinetin의 효과를 구명하기 위하여 2,4-D를 1, 5, 10 mg/l을 각각 첨가한 2,4-D單用培養基와 2,4-D 1, 5, 10 mg/l에 각각 kinetin 1, 2 mg/l을 첨가한 2,4-D+kinetin 混用培養基에서 배양한 人蔘 callus의 全 saponin을 정량하였던 바, 그 결과는 Table 1과 같다.

Table 1. Effects of 2,4-D and kinetin on saponin content in callus of ginseng

Concentration (mg/l)		Total saponin (%)
2,4-D	Kinetin	
5	0	3.14
10	0	5.46
5	1	3.62
10	1	8.73
5	2	16.53
10	2	2.36

Saponin content in ginseng root: 4.75%

2,4-D 1 mg/l를 첨가한 배양기에서는 callus가 계속 성장을 하지 않아 全 saponin을 측정 할 수 없었고, 2,4-D 5 mg/l, 10 mg/l를 첨가한 2,4-D單用培養基의 callus와 2,4-D 5 mg/l, 10 mg/l에 각각 kinetin

을 1 mg/l, 2 mg/l 첨가한 2,4-D+kinetin 混用培養基에서만 全 saponin을 정량 할 수 있었다. Table 1에서 보는 바와 같이 2,4-D單用培養基와 kinetin 1 mg/l 첨가한 2,4-D+kinetin 混用培養基에서는 2,4-D를 5 mg/l 첨가했을 때보다 10 mg/l 첨가하였을 경우 배양 세포내 saponin含量이 약 200% 증가되었으나 kinetin 2 mg/l 첨가한 2,4-D+kinetin 混用培養基에서는 2,4-D 10 mg/l 첨가한 배지가 2,4-D 5 mg/l 첨가한 배지보다 세포내 全 saponin 함량이 2.36%로 감소되어 2,4-D 5 mg/l 첨가 배지보다 14.3% 감소하였다. 또 kinetin 첨가농도에 따른 세포내 全 saponin 함량을 조사하여 본 결과 2,4-D 5 mg/l 첨가하였을 때는 kinetin 농도가 증가함에 따라 세포내 全 saponin 함량이 15%~400%까지 증가 되었으며, 특히 2,4-D 5 mg/l, kinetin 2 mg/l 첨가 배양기의 세포내 全 saponin 함량이 16.53%나 되어 人蔘뿌리의 全 saponin 함량보다 3배가량 높았다.

Ginsenoside 生成에 미치는 2,4-D와 Kinetin의影響 상기 방법에 의하여 10개월간 배양한 callus에서 합성된 saponin을 人蔘뿌리와 비교하기 위하여 callus와 人蔘 6년근에서 粗 saponin을 추출하여 TLC로 비교하였던 바, 그 결과는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2에서 보면 2,4-D單用培養基의 callus와 2,4-D+kinetin 混用培養基의 callus는 공히 定性的으로 그 TLC의 분포가 人蔘뿌리와 비슷하였다. 그러나 定量的인 면에서는 각 saponin의 含有比에서 큰 차이를 보였다(Table 2). TLC法에 의하여 saponin의 각 분획으로 분리하고 HPLC에 의해 분리된 각 분획과 비교 확인한 결과 Peak 2는 Rg<sub>2</sub>, 3은 Rg<sub>1</sub>, 5, 6, 7, 8, 9, 10 각 순서로 Re, Rd, Rc, Rb<sub>3</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>1</sub>으로 판단되었다(Fig. 3). HPLC에 의해 각 분획으로 분리된 ginsenoside 합성에 대한 2,4-D와 kinetin의 효과를 조사하여 Fig. 4 및 Fig. 5와 같은 결과를 얻었다. 각 배양기별 callus의 ginsenoside와 뿌리의 ginsenoside 양상이 相異하게 나타났는데 callus에서는 2,4-D 혹은 kinetin

Table 2. Ratio of protopanaxadiol-saponin and protopanaxatriol-saponin in ginseng root and callus

	2,4-D 5 mg/l	2,4-D 8 mg/l	2,4-D 10 mg/l	2,4-D 3 mg/l +KIN* 2 mg/l	2,4-D 8 mg/l +KIN 2 mg/l	2,4-D 10 mg/l +KIN 2 mg/l	Root
PD**	0.33	0.30	0.25	0.45	0.61	0.39	0.52
PT	0.67	0.70	0.75	0.56	0.40	0.73	0.47
PD/PT	0.49	0.43	0.33	0.80	1.52	0.58	1.11

\* KIN: Kinetin

\*\* PD : Protopanaxadiol saponin

PT : Protopanaxatriol saponin

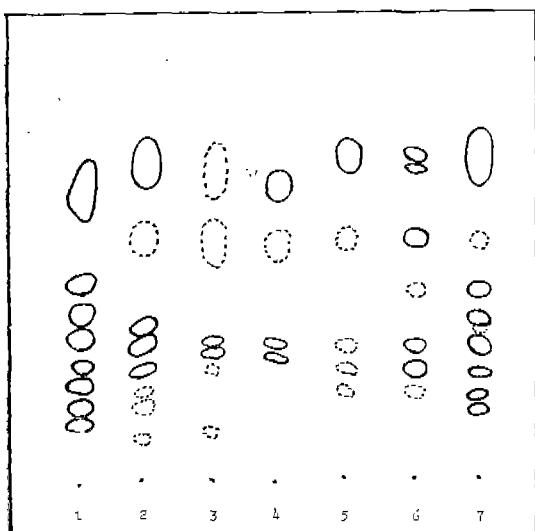


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of saponins in ginseng root and ginseng callus grown with 2,4-D and kinetin.

1, 2, 4-D 5 mg/l; 2, 2, 4-D 8 mg/l; 3, 2, 4-D 10 mg/l; 4, 2, 4-D 3 mg/l+kinetin 1 mg/l; 5, 2, 4-D 8 mg/l+kinetin 2 mg/l; 6, 2, 4-D 10 mg/l+kinetin 2 mg/l; 7, ginseng root.

농도에 따라 차이가 있기는 하나 ginsenoside Re 가 다른 ginsenoside에 비하여 200~300% 정도 더 많이 합성되었으며 뿌리의 함량보다 200% 더 많이 합성된 것으로 나타났다(Fig. 6). Rd 또한 뿌리보다 callus에서의 함량이 증가되었고 이들은 모두 2,4-D 와 kinetin의 농도에 대단히 민감하여 다른 ginsenoside 보다 훨씬 가변적이었다(Fig. 6).

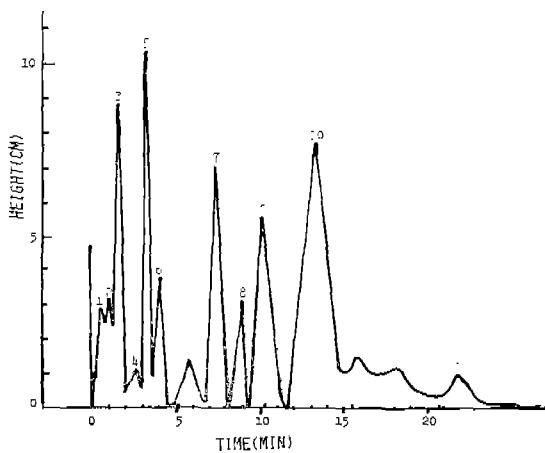


Fig. 3. Quantitative high performance liquid chromatogram in ginseng root.

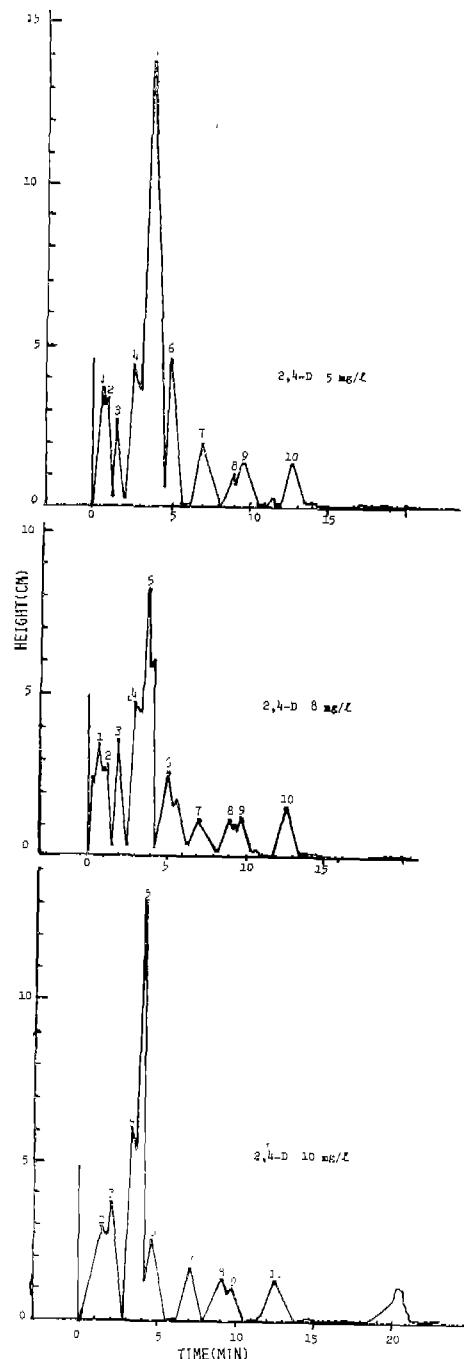


Fig. 4. Quantitative high performance liquid chromatogram in ginseng callus grown with 2,4-D.

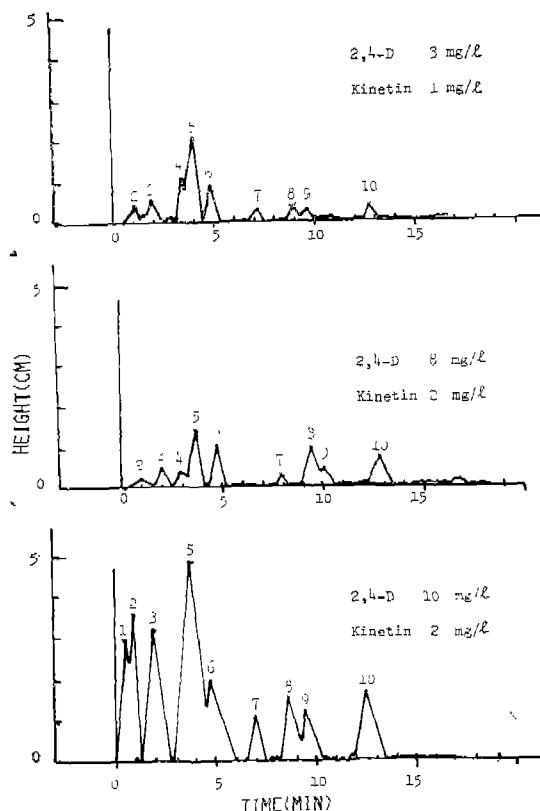


Fig. 5. Quantitative high performance liquid chromatogram in ginseng callus grown with 2,4-D+ kinetin.

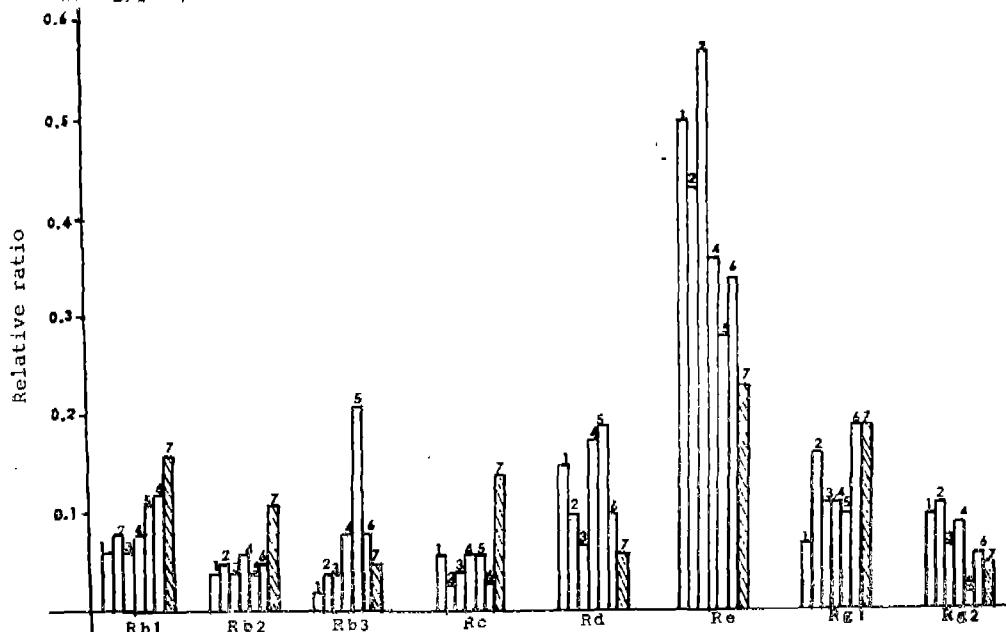


Fig. 6. Histogram of ginsenoside ratio by HPLC analysis of saponin.  
1, 2, 4-D 5 mg/l; 2, 2, 4-D 8 mg/l; 3, 2, 4-D 10 mg/l; 4, 2, 4-D 3 mg/l+kinetin 5 mg/l;  
5, 2, 4-D 5 mg/l+kinetin 2 mg/l; 6, 2, 4-D 10 mg/l+kinetin 2 mg/l; 7, ginseng root.

Ginsenoside  $Rb_3$ 는 kinetin 농도 증가에 따라 비례하여 증가하였으나 kinetin 2 mg/l, 2, 4-D 10 mg/l의 고농도 첨가 배양기에서는 오히려 감소하는 경향을 보였다. 또 ginsenoside  $Rd$ 는 kinetin 보다는 2, 4-D에 더 예민하게 반응하여 2, 4-D 농도가 높아질에 따라 현저하게 감소하였으며, kinetin을 첨가하지 않은 배양기의 callus에 비해 kinetin을 2 mg/l 첨가한 배양기의 callus에서는 30%로 감소하였다. 그리고 ginsenoside  $Rb_1$ ,  $Rb_2$ ,  $Rc$ ,  $Rg_1$ ,  $Rg_2$  등은 2, 4-D 와 kinetin 농도에 따라 뚜렷한 차이가 없었으나 일반적으로 2, 4-D는 protopanaxadiol 계의 ginsenoside 합성을 감소시키고, kinetin은 protopanaxadiol 계의 ginsenoside 합성을 증가시키는 반면에 protopanaxatriol 계의 합성을 감소시켰다. 이와 같이 뿌리에서 유기된 callus 임에도 불구하고 뿌리에서 분리된 ginsenoside의 양상과는 달리 callus에서는 식물생장 조절물질의 첨가 농도에 따라 protopanaxadiol 계와 protopanaxatriol 계의 비율이 달라졌다. 특히 kinetin을 배양기에 첨가해 줌으로 인하여 protopanaxadiol 계와 protopanaxatriol 계의 비율이 거의 1에 가깝게 되어 뿌리의 양상과 거의 비슷한 현상을 나타내었다(Table 2).

## 考 察

Callus 배양은 합성배지에서 인공적으로 배양되는 것 이기 때문에 callus의 물질대사는 원래의 식물보다 더

단순하여 2次代謝產物의 생성이 배양조건에 따라 달라진다(Furuya, 1968). 人蔘의 callus에서 saponin이 합성되었는가를 확인하기 위하여 Liebermann-Buchard 반응을 본 결과 callus와 人蔘 모두 Liebermann-Buchard 반응에서 양성을 나타내어 紫色으로 상당히 빠른 속도로 變色되는 것을 관찰할 수 있었다. 이것은 triterpenoid계 saponin의 變色速度가 steriod의 變色速度보다 상당히 느리다는 사실로 보아 callus에도 인삼뿌리와 마찬가지로 triterpenoid계 saponin이 존재한다는 것을 확인할 수 있었다.

식물생장 조절물질은 조직배양에서 세포의 생장이나 세포의 분화등을 조절할 뿐만 아니라 세포내의 대謝등에도 관여하여 대謝產物의 합성을 촉진시킨다든지 혹은 억제하는 작용을 한다. Kato et al.(1972)과 Tabata et al. (1971a, b)은 2,4-D가 nicotine 생성을 억제하고 callus의 생장을 촉진한다고 했으며, Nettleship and Slaytor (1974)는 carboline alkaloid가 2,4-D에 의해 강하게 억제된다고 했다. 그러나 Kaul et al. (1969)은 2,4-D에 의해 diosgenin 생성이 촉진된다고 보고하였다. 이와같이 2,4-D에 의해 대사산물이 증감하는 것은 2,4-D가 불질대사를 촉매하는 주효소의 활성을 촉진시키거나 혹은 억제시킴에 따라 대謝產物이增加 혹은減少하게 된다.

人蔘組織培養에서도 2,4-D 농도를 높혀 줌에 따라 callus組織의 全 saponin合成이增加되었는데 이는 2,4-D가 saponin代謝의 주효소의活性를 높여 주었던지 아니면 주효소의合成을 증가시켜 주었기 때문인 것으로思料된다. 合成된 全 saponin 함량을 보면 2,4-D 5 mg/l와 kinetin 2 mg/l 첨가한 경우 가장 많이 합성이되어 16.53%인데 비해 Furuya (1968)와 Furuya et al. (1970)은 2,4-D 1 mg/l 첨가한 배양기에서 全 saponin 함량이 21.1%로서 人蔘뿌리의 全 saponin 함량보다 4~5 배가량 많다고 보고하였다.

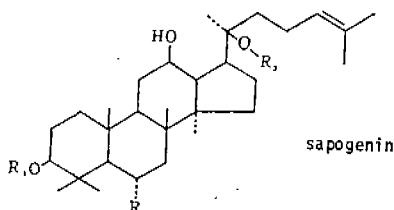
이와같이 2,4-D 1 mg/l의 적은 양을 첨가하여 생장을 20배나 되고 全 saponin 함량도 本實驗의 결과와 상이하게 나타난 것은 Furuya et al. (1970)은 suspension culture를 이용하여 배양세포의 호흡내지 영양 공급이 agar 배지에서보다 훨씬 좋았고 계배배양 기간도 3년이나 되어 세포내의 변이에 의한 차이도 있을 것으로 생각된다.

2,4-D 외에 kinetin도 적당한 농도에서는 人蔘 callus 조직내의 全 saponin 함량을 증가시켜 2,4-D와 상승적으로 작용하나 kinetin을 고농도 첨가하게 되면 2,4-D 농도가 비교적 낮을 경우에는 2,4-D 농도에 비례하여 saponin 함량도 증가되나 2,4-D 10 mg/l의 고

농도에서는 오히려 全 saponin 함량이 감소되었다. 이것은 Vanderhoef and Stahl (1975)가 kinetin, zeatin, benzyladenine 등이 actinomycin D나 cycloheximide 등과 같은 단백질 합성 억제물질과 같이, auxin에 의한 증가를 강하게 억제한다는 역할을 한다고 보고한 것 등으로 미루어보아 人蔘 callus 내에서 saponin 합성이 2,4-D나 kinetin에 의해 촉진되나 2,4-D나 kinetin이 고농도가 되면 2,4-D에 의한 saponin 합성 촉진을 kinetin이 억제할 것으로 추정되며, feedback inhibition에 의해 고농도의 2,4-D와 kinetin을 첨가했을 경우 saponin 합성이 억제될 가능성이 있을 것으로 생각된다.

人蔘의 刻能面에서 볼 때 全 saponin 함량 뿐만 아니라 각 ginsenoside 함량 특히 protopanaxadiol 계와 protopanaxatriol 계의 함량비가 중요시되고 있는데 이는 protopanaxadiol 계의 ginsenoside와 protopanaxatriol 계의 ginsenoside는 서로 길항적으로 작용하기 때문이다. Protopanaxadiol 계인 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc 등은 溶血防禦作用을 하는 반면, protopanaxatriol 계인 Re, Rg<sub>1</sub> 등은 溶血作用을 하여 Rb<sub>1</sub> 등과 Re는 서로 길항적으로 작용을 한다(Namba et al., 1974). 또한 최근에 와서 Yamamoto et al. (1968)에 의하면 ginsenoside Rb<sub>2</sub>, Rc, Re, Rg<sub>1</sub>은 DNA, RNA, 단백질, 치질, cyclic-GMP의 합성을 증가시키나 cyclic-AMP 합성을 감소시키며 Rb<sub>1</sub>은 뚜렷한 증감현상을 나타내지 않는다고 하였다. 이러한 효능면에서 볼 때 callus의 saponin 양상은 상당히 중요할 것으로 생각되는데 callus에서 분리된 ginsenoside와 人蔘뿌리의 ginsenoside의 종류에는 차이가 있으나 callus에서는 ginsenoside Re가 특히 뿌리보다 현저하게 많이 합성되었고 2,4-D와 kinetin 첨가에 따라 면이도 신하였다. 또한 ginsenoside Rd, Rb<sub>3</sub>도 뿌리의 Rd, Rb<sub>3</sub>보다 많이 합성되었으며 ginsenoside Re, Rd, Rb<sub>3</sub>는 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rg 등에 비해 2,4-D와 kinetin에 의해 영향을 많이 받아 증감현상이 뚜렷하였다.

이와같이 2,4-D와 kinetin의 saponin 합성을 관여하는 작용기작은 알 수 없으나, 2,4-D는 protopanaxatriol 계의 ginsenoside 합성을 증가시킨 반면에 protopanaxadiol 계의 ginsenoside 합성을 감소시켰고, kinetin은 protopanaxadiol 계의 ginsenoside 합성을 증가시킨 반면에 protopanaxatriol 계의 ginsenoside 합성을 감소시켰다. 만약 sapogenin (Fig. 7)이 먼저 합성된 후 3번 탄소의 OH기에 당시 결합하여 protopanaxadiol 계가 합성되고, 또 6번 탄소의 OH기에 당시 결합하여 protopanaxatriol 계가 합성이 될다면 2,4-D



$R_{b_1}$ ;  $R_1 = \text{glu-2-l-glu}$ ,  $R_2 = H$ ,  $R_3 = \text{glu-6-l-glu}$   
 $R_{b_2}$ ;  $R_1 = \text{glu-2-l-glu}$ ,  $R_2 = H$ ,  $R_3 = \text{glu-6-l-ara}$   
 $R_{b_3}$ ;  $R_1 = \text{glu-2-l-glu}$ ,  $R_2 = H$ ,  $R_3 = \text{glu-6-l-xyl}$   
 $R_c$ ;  $R_1 = \text{glu-2-l-glu}$ ,  $R_2 = H$ ,  $R_3 = \text{glu-6-l-ara}$   
 $R_d$ ;  $R_1 = \text{glu-2-l-glu}$ ,  $R_2 = H$ ,  $R_3 = \text{glu}$   
 $R_e$ ;  $R_1 = H$ ,  $R_2 = \text{glu-2-l-rham}$ ,  $R_3 = \text{glu}$   
 $R_f$ ;  $R_1 = H$ ,  $R_2 = \text{glu-2-l-glu}$ ,  $R_3 = H$   
 $R_g$ ;  $R_1 = H$ ,  $R_2 = \text{glu}$ ,  $R_3 = \text{glu}$   
 $R_{g_2}$ ;  $R_1 = H$ ,  $R_2 = \text{glu-2-l-rham}$ ,  $R_3 = H$

Fig. 7. Chemical structure of ginsenosides.

는 3번 탄소에 땅이 결합하는데 필요한 효소의 작용은 억제하고 6번 탄소에 땅이 결합하는데 필요한 효소의 작용은 증가시키며, kinetin은 이와 반대로 작용하여 sapogenin에 당 결합을 촉진 혹은 억제하는 것으로 추측된다. 또 만약 sapogenin 합성시에 이미 protopanaxadiol 계와 protopanaxatriol 계가 따로따로 합성된다면 2,4-D와 kinetin은 sapogenin 합성 이전의 합성기작에 각각 작용할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 미루어 보아 2,4-D와 kinetin의 농도를 조절함으로써 각 ginsenoside의 합성을 증감시키고 원하는 바의 ginsenoside를 합성할 수 있을 것으로 생각되며 2,4-D와 kinetin의 작용기작은 saponin 합성기작과 함께 앞으로 더욱 연구해 보아야 될 문제점으로 생각된다.

## 概要

高麗人蔘(*Panax ginseng* C. A. Meyer) callus에서의 saponin 합성은 2,4-D와 kinetin에 의하여 증가되었다. 2,4-D 농도가 증가함에 따라 callus 내 全 saponin 합성이 증가되었고 kinetin의 농도가 증가함에 따라서도 callus 内 全 saponin 합성이 증가되었으나 kinetin이 2 mg/l, 2,4-D가 10 mg/l의 고농도로 첨가된 배양기에서는 오히려 全 saponin 합량이 크게 감소되었다. Saponin 각 분획별로 ginsenoside 합성에 2,4-D와 kinetin이 미치는 영향을 조사한 결과 2,4-D와 kinetin이 서로相反되는 작용을 하는 것을 알 수 있었다. 즉 protopanaxadiol 계는 2,4-D의 농도 증가에 따라 감소되었고 kinetin에 의해서는 증가되었으며 protopanaxatriol 계는 이와는 반대로 kinetin에 의해 감소되고 2,4-D에 의해 증가되었다.

## 参考文献

- Brain, K. R. 1974. Accumulation L-Dopa in cultures from *Muconia pruriens*. Abst. 3rd Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture, Leicester No. 73.
- Furuya, T. 1968. Metabolic products and their chemical regulations in plant tissue cultures. *Kitasato Arch. Expt. Med.* 41: 47~64.
- , H. Kojima, K. Syono and I. Ishii. 1970. Isolation of ginseng callus. *Chem. Pharm. Bull.* 18: 2371~2372.
- Hiraoka, N., M. Tabata and M. Konoshima. 1973. Formation of acetyl tropine in *Datura* callus cultures. *Phytochem.* 12: 795~799.
- Hiai, S., H. Oura, Y. Odaka and T. Nakajima. 1975. A colorimetric estimation of ginseng saponins. *Planta Medica* 28: 363~369.
- Kato, K., T. Matsumoto, A. Koiwai and S. Mizusaki. 1972. Liquid suspension culture of tobacco cells. *Ferment. Technol. Today Proc.* 4: 689~795.
- Kaul, B., S. J. Stoba and E. J. Staba. 1969. *Dioscorea* tissue cultures III. Influence of various factors on diosgenin production by *Dioscorea deltoidea* callus and suspension cultures. *Lloydia* 32: 347~359.
- Misawa, M., H. Tanaka, O. Chiyo and N. Mukai. 1975. Production of a plasmin inhibitory substance by *Scopolia japonica* suspension cultures. *Biotechnol. Bioeng.* 17: 305~314.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.* 15: 473~479.
- Namba, T., M. Toshizaki, T. Tomimori, K. Kobashi, K. Mitsui and J. Hase. 1974. Fundamental studies on the evaluation of the crude drugs (I). Hemolytic and its protective activity of ginseng saponins. *Planta Med.* 25: 28~37.
- Nettleship, L. and M. Slaytor. 1974. Limitations of feeding experiments in studying alkaloid biosynthesis in *Peganum harmala* callus cultures. *Phytochem.* 13: 735~742.
- Tabata, M., H. Hizukami, N. Hiraoka and M. Konoshima. 1974. Pigment formation in callus cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. *Phytochem.* 13: 927~932.
- , N. Hiraoka, M. Ikenoue, Y. Sano and M. Konoshima. 1975. The production of anthraquinones in callus cultures of *Cassia tora*. *Lloydia* 38: 131~134.
- , H. Yamamoto and H. Hiraoka. 1971a. Alkaloid production in the tissue cultures of some solanaceous plants. *Les cultures de tissus de plants. Paris: C.N.R.S.* 389~402.
- , H. Yamamoto, N. Hiraoka, Y. Marumoto and M. Konoshima. 1971b. Regulation of nicotine production in tobacco tissue culture by plant growth regulators. *Phytochem.* 10: 723~729.
- Vanderhoef, L. N. and C. A. Stahl. 1975. Separation of two responses to auxin by means of cytokinin inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72: 1822~1825.
- West, F. R. Jr. and E. J. Staba. 1957. Synthesis of atropine

by isolated roots and root-callus cultures of belladonna.  
*Bot. Gaz.* 119 : 50~54.  
Yamamoto, M., M. Masaka, K. Yamada, Y. Hayashi, A. Hiai and A. Kumagai. 1978. Stimulatory effect of ginsenosides on DNA, protein and lipid synthesis in rat bone marrow and participation of cyclic nucleotides..

*Arzneim-Forsch/Drug Res.* 28 : 2238~2241.  
Zenk, M. H., H. El-Shagi and U. Schulte. 1975. Anthraquinone production by cell suspension cultures of *Morinda citrifolia*. *Planta Med.* Suppl. 79~101.

(1981. 2. 3. 接受)