

## 향유의 정유 분석 및 조직배양

지 형 준·신 순 희\*·장 정 인\*  
서울대학교 천연물과학연구소·덕성여자대학교 약학대학\*

### Analysis of Essential Oils from *Elscholtzia ciliata* and the Production of Essential Oils by Tissue Culture

Hyung Joon Chi, Soon-Hee Shin\* and Jung In Chang\*

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460 and

\*College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

**Abstract**—The essential oils of *Elscholtzia ciliata* and the cultivated tissue have been studied. The composition and contents of essential oils were identified by gas chromatography and mass spectrometry. The main component of essential oils of *E. ciliata* was naginata ketone. The essential oils from the flowers, leaves and stems of *E. ciliata* showed similar patterns of gas chromatogram. In experimental studies on the tissue culture of callus, it has been found that NAA induced higher growth rate and higher content of essential oils than 2,4-D. The essential oils from the cultivated callus showed different composition from that of mother plants.

**Keywords**—*Elscholtzia ciliata* • Labiatae • essential oil • tissue culture • GC-MS

향유(*Elscholtzia ciliata* Hylander)는 꿀풀과에 속하는 1년생 초본으로서 한국에 흔히 야생하며 군락을 이루는 식물로 한국 중요 정유 자원식물 중의 하나이며, 한방에서 향유의 꽃필매의 전초를 발한, 해열, 이노약으로 전신부종, 복통, 토사, 발열, 오한 등에 사용한다.<sup>1-3)</sup>

향유의 정유분획에는 주성분인 elscholtzia ketone 외에 naginata ketone, isobutyl isovalerate,  $\alpha, \beta$ -naginatene, 3-octanol, 1-octane-3-ol, n-caproic acid, citronellol,  $\beta$ -caryophyllene, geraniol, geranyl acetate 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며, 한편 정유 주성분이 다른 여러 변종이 보고된 바 있으나, 한국에 야생하는 향유에 대한 연구는 없다.<sup>4-6)</sup>

이에 저자들은 국산 정유자원 개발의 차원에서 한국 중부지방에 야생하는 향유의 꽃, 잎, 줄기 등에 함유된 정유의 함량 및 성분 조성을 분석하

고, 또한 조직배양에 의해 향유의 정유를 생산하는데 있어서의 적정조건을 찾으려는 목적으로 어린 잎으로부터 캘러스를 유도하여 여러 조건에서 배양하여 정유를 생성시켜 식물생장조절물질의 조성에 따른 정유의 조성을 비교하였으며, 또한 모 식물과 비교 분석한 결과를 보고하는 바이다.

## 실 험

### 정유의 추출 및 분석

재료 식물인 향유는 10월 중순에 경기도 천마산에서 채취하여 꽃, 잎, 줄기의 세부분으로 나누어서 수증기증류장치를 이용하여 5시간 동안 수증기증류하였다. 캘러스는 100 ml 삼각 flask에서 꺼내어 무게를 단 후 상법으로 수증기증류하였다. 여기서 얻은 정유는 Hewlett Pack-

ard 5840A GC System에서 OV-101 fused silica capillary column(0.2 mm i.d.×25 m)을 사용하여 조성을 비교하였으며, 증발시킨 정유 1ml를 Kieselgel 60 (70~230 mesh, Merck)을 충전시킨 column에서 n-hexane 및 dichloromethane: n-hexane(1:1)로 용출시켜 dichloromethane: n-hexane(1:1) 용출분에서 naginata ketone을 분리하였다.

#### 캘러스 배양

Murashige and Skoog medium에 성장 조절제 2,4-D 1ppm과 kinetin 5 ppm을 첨가한 배지와 NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지를 만들어서 기본 배지로 사용하였다. 서울대학교 천연물과학연구소에서 재배중인 향유의 어린 잎을 사용하여 증성세계 및 증류수로 세척한 후 70% ethanol에 5초 담근 후 clean bench 내에서 sodium hypochlorite(유효 염소량 0.4%)액에 담그어 2분 30초 동안 2회 진탕 세척하여 멸균 처리 후 멸균 증류수로 5회 세척하여 앞의 2가지 medium에 각각 이식하여 27±2°C에서 캘러스를 유도시킨 후 기본 medium에 성장조절제 2,4-D 1ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 실험군과 NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 실험군으로 나누어, 3개월에 걸쳐 4차에 걸쳐 계대배양하면서 정유 생성능을 관찰 하였다.

#### 실험 결과 및 고찰

##### 성장조절제가 캘러스 생장에 미치는 영향

3개월에 걸쳐 4차례 계대배양을 통해 자란 캘러스의 총 무게를 비교해 본 결과, NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지가 2,4-D 1ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지보다 캘러스생장에 미치는 영향이 큰 것으로 나타났다(Table I).

**Table I.** The weight of callus masses of *Elscholtzia ciliata*

Number of subculture	The wet weight of callus(g)	
	2,4-D 1ppm kinetin 5ppm	NAA 1ppm kinetin 5ppm
1	1.01	1.09
4	1.62	2.30

#### 정유의 정량

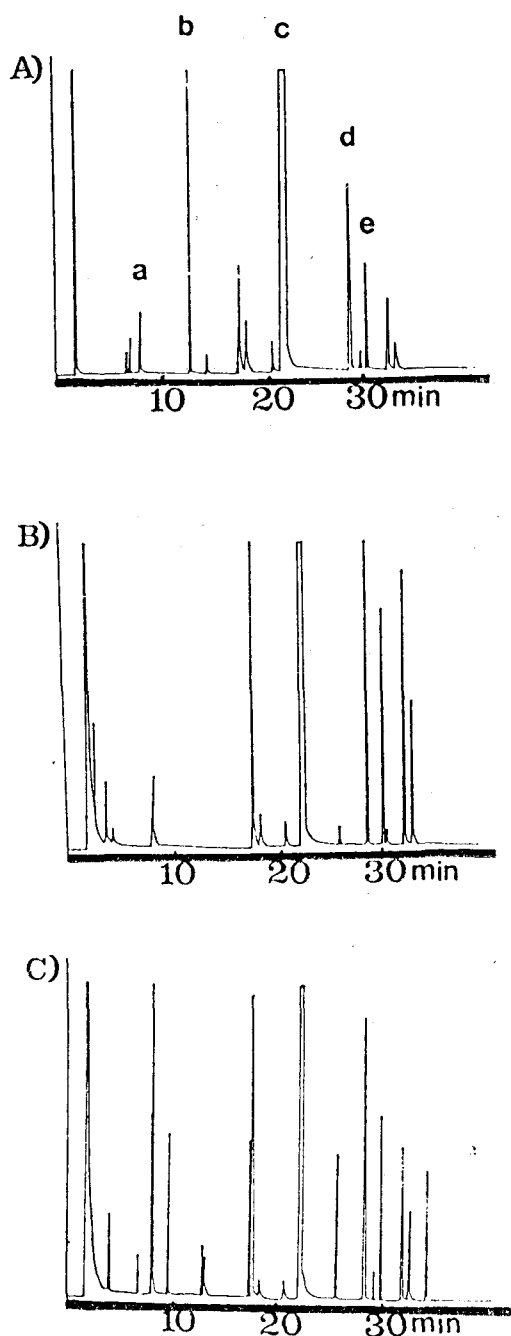
향유 재료 식물의 총 정유 함량은 꽃, 잎, 줄기의 순으로 높았으며, 또한 성장조절제 조성이 다른 배지끼리의 정유 생성을 비교에서는 2,4-D 1ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지에서 자란 캘러스의 총 무게 6.85 g에 대해 정유는 약 0.3 ml가 생성되었고 NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지에서는 총 무게 14.60 g에 대해 약 0.8 ml가 생성되었으므로 NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지에서 더 높은 정유 생성율을 나타냄을 알 수 있었다(Table II).

**Table II.** Contents of essential oils in *Elscholtzia ciliata*

Parts	Contents of essential oils(%)
Flowers	1.50
Leaves	1.20
Stems	1.04
Callus cultured on the medium containing 2,4-D and kinetin	4.40
Callus cultured on the medium containing NAA and kinetin	5.50

#### 정유 분석

향유의 꽃으로부터 추출한 정유를 GC-MS로 분석한 결과, Fig. 1의 peak a에 해당하는 물질은  $M^+=m/z$  150(base), 135( $M^+-15$ ), 107( $M^+-43$ ) 등의 peak가 monoterpene 및 methyl, isopropyl기 등을 시사하며  $m/z$  91은 aromatic ring의 존재를 나타내어, aromatic monoterpene인 carvacrol을 시사하였고 문헌상에 나타난 standard 물질의 spectrum과 비교한 결과 확인되었다.<sup>7-10</sup> 또한 peak b에 해당하는 물질은  $M^+=m/z$  166, 109(base), 151( $M^+-CH_3$ ), 94 [ $M^+-CH_2CH(CH_3)_2-CH_3$ ] 등의 peak를 종합하여 elscholtzia ketone으로 동정되었으며, peak c는  $M^+=m/z$  164, 93(base), 147, 136, 121로  $\beta$ -dehydroelscholtzia ketone, 즉 naginata ketone으로 확인되었으며, peak d는  $M^+=m/z$  204, 93(base), 189, 175, 161, 148, 133으로  $\beta$ -caryophyllene으로, 또한 peak e는  $M^+=m/z$  204이고 base peak가  $m/z$  93으로 나타나 sesquiterpene hydrocarbon 계통의 화합물로 추정되었다. 꽃,

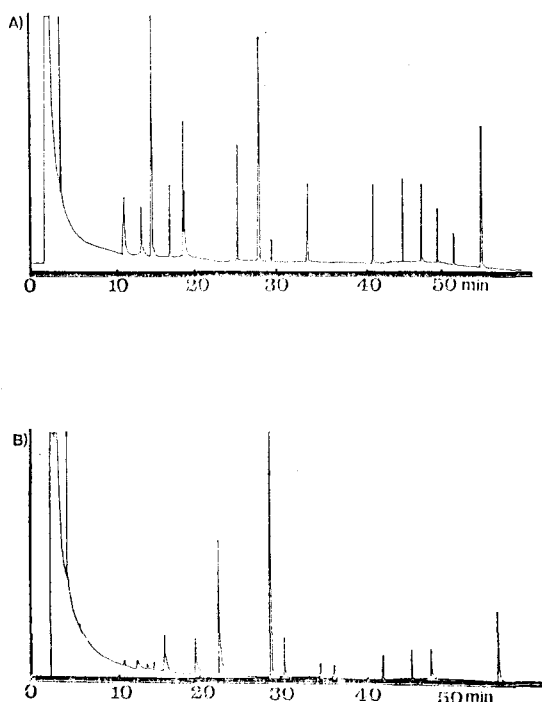


**Fig. 1.** GC of essential oils from the flowers(A), leaves(B) and stems(C) of *Elscholtzia ciliata*  
 Column: OV-101 fused silica capillary column (0.2 mm i.d. × 25 m), Temp.: 70°C(5min), Rate: 3°C/min until 25min, 2°C/min after 25 min, 10°C/min after 40min until 250°C, Carrier gas flow rate: Helium,  $\mu=23.0$  cm/sec (linear velocity), Inj. temp.: 260°C, FID temp.: 300°C

**Table III.** The area percents of the GC-peaks of the compounds in essential oils from *Elscholtzia ciliata*

Compounds	$t_R$ (min)	Area %		
		Flowers	Leaves	Stems
Carvacrol	12.94	1.150	0.026	0.001
Elscholtzia ketone	17.60	0.524	0.631	0.464
Naginata ketone	22.78	30.961	10.603	7.099
$\beta$ -Caryophyllene	28.61	0.075	0.610	0.406
Unknown sesquiterpene	30.17	0.517	0.420	0.324

있, 그리고 줄기의 정유는 조성에 있어서 유사한 pattern을 나타냈으나 peak area(%)에 의한 비교 결과 정유조성비율의 차이가 현저한 것으로 나타났다(Fig. 1, A, B, C). 즉 꽃에서는 주성분인 naginata ketone 다음으로 carvacrol 함량이 높은데 비해서 잎과 줄기에서는 elscholtzia ketone의 함량이 높음을 알 수 있었다(Table III).



**Fig. 2.** GC of essential oils from callus of *Elscholtzia ciliata*

- A: Essential oils from callus tissue on medium containing 2,4-D (1ppm) and kinetin (5ppm).  
 B: Essential oils from callus tissue on medium containing NAA (1ppm) and kinetin (5ppm).

Callus에서 분리한 정유는 향유의 꽃, 잎, 줄기의 정유와 전혀 다른 조성을 나타냈다. 식물 정유의 주성분으로 확인된 *naginata ketone*의 peak가 없었으며 그 외 *elscholtzia ketone*도 생성되지 않은 것으로 나타났으며, 캘러스의 정유 중 재료 식물 정유의 공통된 성분은 *caryophyllene*으로,  $t_R$  28 min에서 확인되었다. 또한 모 식물 정유의 GC에서는 35 min 이후에 거의 peak가 없는 것에 비해 캘러스의 정유 GC에서는 10개 이상의 peak가 나타난 것으로 미루어, 캘러스 정유에는 재료 식물에 비해 많은 양의 *sesquiterpene*이 함유되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 2).

2, 4-D 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지에서 자란 캘러스에서 추출한 정유와 NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지에서 자란 캘러스에서 추출한 정유 조성에도 차이가 있음을 알 수 있었다. 2, 4-D 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지에서 추출한 정유의 GC에서 나타난 20 min까지의 6개의 peak가 NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 배지에서 배양한 캘러스에서 추출한 정유에는 거의 없음을 볼 수 있었다.

## 결 론

실험 재료로 사용한 식물의 정유 함량은 꽃 1.50%, 잎 1.20%, 줄기 1.04%였으며, 주 성분은 꽃, 잎, 줄기의 경우 모두 *naginata ketone*인 것으로 확인되었으며 정유 중 *naginata ketone*의 함량은 꽃에서 가장 높은 것으로 나타났다.

향유의 어린 잎으로 부터 유도한 캘러스는 생장 조절제로 NAA 1 ppm, kinetin 5 ppm을 첨가

한 배지에서 배양했을 때, 2, 4-D 1ppm, kinetin 5 ppm을 첨가한 경우에 비해 빠른 성장을 나타내었으며, 정유함량도 높았다.

캘러스에서 추출한 정유는 모 식물체와는 대체로 다른 조성을 나타내었으며 모 식물 정유와 일치된 성분으로는  $\beta$ -*caryophyllene*을 확인하였다.

〈1992년 4월 24일 접수 : 5월 2일 수리〉

## 문 헌

1. 이창복 : 한국식물도감, 향문사, p. 660 (1980).
2. 박만규 : 한국쌍자엽식물지 (초본편), 정음사, p. 368 (1974).
3. 우린근, 윤혜숙, 지형준, 우원식 : 서울대학교 생약연구소엽적집 17, 17 (1978).
4. 채영복 외 : 한국유용식물자원연구총람, 한국화학연구소, p. 462 (1988).
5. 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典 1, 上海科學技術出版社, p. 1680 (1978).
6. 奥田 治 : 香料化學總覽 1, 廣川書店, p. 311 (1980).
7. Stenhagen, E., Abrahamsson, S. and McLafferty, F.W.: Registry of Mass Spectral Data, John Wiley and Sons, New York, p. 397 (1974).
8. Jennings, W. and Shibamoto, T.: Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography, Academic Press, p. 215 (1980).
9. McLafferty, F.W.: Interpretation of Mass Spectra, 2nd Edition, W.A. Benjamin, p. 109 (1973).
10. McLafferty, F.W. and Stauffer, D.B.: NBS Registry of Mass Spectral Data (1988).