

병풀 잎에서 triterpene glycosides의 시기별 함량변화

김옥태 · 김민영 · 김수정 · 김유정 · 김광수 · 안준철* · 김시욱** · 황백

전남대 생물학과, * 서남대 생명과학과, ** 조선대 환경공학부

Seasonal variations of triterpene glycosides contents in the leaf of *Centella asiatica* (L.) Urban

Ok Tae Kim, Min Young Kim, Soo Jung Kim, Yu Jeong Kim, Kwang Soo Kim,
Jun Cheul Ahn*, Si Wouk Kim** and Baik Hwang

Dept. of Biology, Chonnam National University, Gwangju, Korea

* Dept. of Life Sciences, Seonam University, Namwon, Korea

** Dept. of Environmental Engineering, Chosun University, Gwangju, Korea

ABSTRACT : The seasonal variation of two triterpene glycosides, madecassoside and asiaticoside, in the aerial parts of *Centella asiatica* from May through October was investigated. In leaves, the highest level of triterpene glycosides content was about 108.1 mg/g in September. In petiols, the content was as low as 19.02 mg/g. According to the experimental results obtained, we found that *Centella asiatica* leaf can accumulate the triterpene glycosides and September is the optimal season for the collection.

Key words : *Centella asiatica*, triterpene glycosides, asiaticoside, seasonal variation

緒 言

병풀(*Centella asiatica* L. Urban)은 산형과에 속하는 다년생 포복성 초본으로서 주로 고온 다습한 곳에서 자생하기 때문에 아프리카 Madagascar 섬, 인도양의 해안 지역, 인도 남방 및 Malaysia 지역에 분포한다(Hausen, 1993). 병풀의 주요성분으로서 α -amyrin-ursolic acid group에 속하는 pentacyclic triterpene glycoside인 asiaticoside와 madecassoside는 오래 전부터 피부 상처나 만성 궤양 등의 치료에 사용되어 왔다(Chasseaud et al., 1971; Booncong, 1989; Bonte et al., 1993). 또한 이 물질은 *Mycobacterium leprae*의 waxy capsule을 용해하므로 나병 치료에 사용되었다(Vogel et al., 1990; Hausen, 1993). 최근에는 병풀의 asiaticoside에서 유도

된 유도체들은 β -amyloid로 유도되는 세포 죽음으로부터 세포를 보호한다고 보고했다(Inhee et al., 1999).

병풀에 있어 주요성분의 중요성은 널리 인식되어 왔음에도 불구하고, 자생지나 국내재배에서 병풀의 채취 시기별, 조직부위별로 주성분인 triterpene glycosides의 함량 변화 및 축적에 대한 연구가 보고된 바 없다. 주로 triterpene glycosides는 병풀의 잎에 축적되는데 이들의 양적인 변화에 대한 서식 환경의 이해 없이는 기내에서 생합성을 통해 생산하는 것과 생합성 관련 대사 연구가 어려울 것이므로 병풀 잎의 유용물질 축적에 대한 체계적인 연구가 필요하다. 따라서, 본 연구에서는 이들의 잎에서 월별 생장 및 유용물질 변화를 조사함으로써 병풀 잎의 축적과정을 이해하기 위하여 수행하였다.

† Corresponding author (Phone) : 062-530-3392, E-mail : bhwang@chonnam.ac.kr

Received 19 September 2002 / Accepted 28 November 2002

材料 및 方法

공시재료

1996년 제주도에서 채취한 병풀의 조직을 멸균과정을 통해 기내에서 배양, 보존 중이며 본 연구에서 사용된 병풀은 생물반응기에 5 l의 MS(Murashige & Skoog, 1962) 액체배지 (sucrose 3 %, pH 5.6)에서 8주간 무균 배양 후 생산된 식물체를 일정한 토지면적 (2 m × 2 m)에 병풀식물체 10 개체를 4월 초순에 토양에 이식하여 5월부터 단위 면적당 생산량 및 triterpene glycosides 함량을 조사하였다.

공시재료의 수확 및 잎내의 triterpene glycosides 분석

수확은 2001년 5월부터 2001년 10월까지 매달 초에 이루어졌고, 2 m² 면적에 모든 병풀의 잎과 엽병을 포함한 지상부를 수확하였다. 수확된 병풀은 잎과 엽병으로 분리하여 액체질소로 급냉시켜 -50 °C에서 동결건조 시켰다.

Triterpene glycosides의 추출은 Booncong(1989)의 방법을 약간 변형시켜 수행하였다. 각각의 마쇄된 건조 분말 100 mg을 5 ml의 70 % ethanol에 넣고 20분간 초음파처리로 추출하였고, 추출액은 Whatman (No. 1, 70 mm Ø) 여과지로 여과한 다음 회전증발기에서 농축하였다. 농축액은 petroleum ether로 재 용해시켜 수층만을 수집하고 -5 °C acetone을 첨가하여 섞은 후 수층만을 수집하여 질소가스를 사용해서 농축하였으며, 농축액은 1 ml methanol에 재용해시켜 그 중 10 µl를 HPLC 시료로 사용하였다. HPLC 분석을 위한 장치로는 Waters사의 injector (600), detector (486 Tunable absorbance)과 µ-Bondapak C₁₈ column (10 µm, 3.9 mm × 300 mm)을 사용하여 26 °C에서 분석하였다. 용매로는 methanol : water (60 : 40, v/v)를 사용하여 유속 0.8 ml/min로 하여 214 nm에서의 자외흡광도로 화합물을 검출하였다.

結果 및 考察

1. 시기별 생장변화

2000년 5월부터 11월까지 매달 초에 면적이 2 m × 2 m되는 토지에서 병풀을 수확하여 생산량을 측정한 결과는 Table 1에서 보여주고 있다. 5월부터 8월까지 병풀 생산량이 점차 증가하였고, 9월에는 병풀의 생산량이 점차 감소하였다. 특히, 7월에 급격한 증가를 나타내는데 이는 6월 중순부터 시작된 장마기간동안 충분한 수분이 공급되어 포복경으로 영양생식을 하는 식물체에게 물리적으로 뿌리를 쉽게 내릴 수 있었으며, 그들의 영역을

확장하여 포복경으로부터 새로운 신초가 생성되었기 때문으로 사료된다.

Table 1. The seasonal variations of the growth of the aerial parts of *Centella asiatica* from May through October

		Dry weight (g)					
		May	June	July	August	September	October
*per 2 m ²		58.34	103.87	340.4	350.8	343.54	338.13

* *Centella asiatica* was cultured in the same area in the same house.

2. 시기별 잎과 엽병에 부위별 함량변화

그림 1에 A는 madecassoside와 asiaticoside을 각각 2.5 mg/ml으로 표준용액을 만들어 10 µl 주입하였을 때의 chromatogram이며, madecassoside와 asiaticoside의 retention time은 각각 6.7분과 8.4분에 나타났다. 병풀의 월별 triterpene glycosides 함량 측정은 수확 후 잎과 엽병을 분리하여 수행하였다. 그림 1의 B와 C는 각각 잎과 엽병에 대한 HPLC 분석한 결과이다. 병풀의 triterpene glycosides 함량은 주로 잎에서 검출되는 것으로 보아(전체 함량의 84.3 %) 이들 triterpene glycosides의 생합성 장소는 잎으로 추정 가능하였다.

식물 조직내에 이차대사산물은 그들이 서식하는 환경에 영향을 받는다. Yoo et al. (1986)은 매자나무 (*Berberine koreanum*)의 berberine은 계절적 변화에 영향을 받는 것으로 조사되었다. 또한 삼지구엽초 (*Epimedium koreanum*)에서 flavonoid glycosides는 무더운 7월에 많이 합성되어진다고 보고한바 있다(Kang & Kim, 1991). 병풀에서 triterpene glycosides 함량변화는 그림 2와 같이 5월부터 매달 계속 증가하다가 장마가 시작되는 7월에 급격히 감소하다가, 9월에 가장 높은 함량을 보였다. 이는 장마로 인하여 충분한 수분이 공급되어 식물체 생장이 최적을 이루었기 때문에, 이차대사산물인 triterpene glycosides는 반대로 감소하였는데 이는 병풀 식물체 생장시 이차대사보다는 일차대사가 더 활발하였기 때문이라 사료된다. 일조량이 가장 많은 9월에 가장 높은 함량을 보여주고 있는데 이는 광합성을 하는 잎부위에서 triterpene glycosides가 합성되어지는 것으로 추측된다. 반면에 엽병에서 triterpene glycosides 함량 변화는 잎과 유사하나 8월에 가장 낮았으며, 5월에 가장 많이 축적되는 것으로 조사되었다. 하지만, 엽병에서 함량변화는 그림 3에서와 같이 큰 차이는 없었다.

병풀 잎에서 triterpene glycosides의 시기별 함량변화

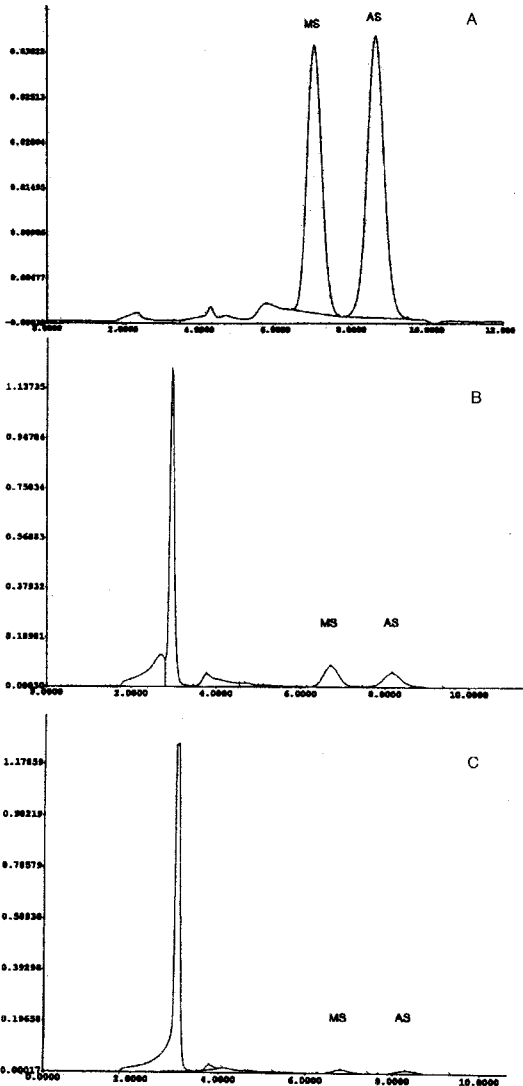


Fig. 1. HPLC chromatogram of triterpene glycosides (A); standard (B); MeOH extracts from leaf of *Centella asiatica* (C); MeOH extracts from petioles of *Centella asiatica* (MS : madecassoside, AS : asiaticoside).

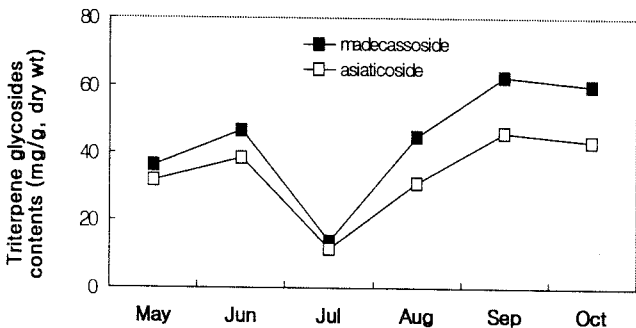


Fig. 2. Seasonal variation of triterpene glycosides contents in the leaf from *Centella asiatica*.

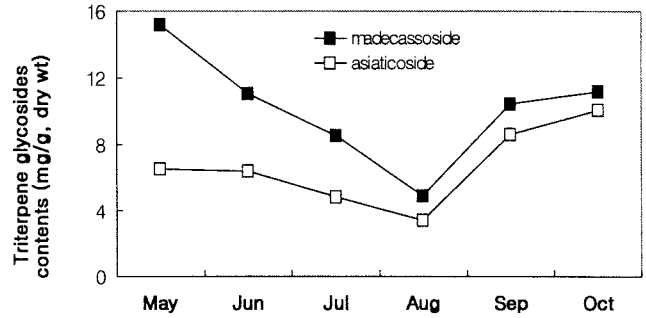


Fig. 3. Seasonal variation of triterpene glycosides contents in the stems from *Centella asiatica*.

謝 辭

본 연구는 학술진흥재단 기초과학연구비(2001-015-DP0482)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사 드립니다.

摘 要

5월부터 10월까지 병풀의 지상부에 triterpene glycosides인 madecassoside와 asiaticoside의 시기별 함량변화를 조사하였다. 잎에서는 9월에 약 108.1 mg/g으로 가장 높은 수준의 함량을 보였다. 엽병에서는 19.02 mg/g으로 잎에서 보이는 수준보다는 낮은 수준을 나타냈다. 병풀의 triterpene glycosides는 잎에 주로 축적되며, 가장 적절한 병풀의 수확시기는 9월로 잠적 확인되었다.

LITERATURE CITED

Bonte F, Dumas M, Chaudagne C, Meybeck A (1993) Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen I synthesis. *Plant Med* 60 : 133-135.

Booncong P (1989) A pharmacognostic and taxonomic study of *Centella asiatica* (Apiaceae). Ph.D. thesis, Miami University

Chasseaud LF, Fry BJ, Hswkins DR, Lewis JD, Sword IP, Taylor T, Hathway DE (1971) The metabolism of asiatic acid, madecassic acid and asiaticoside in the rat. *Arzneim, Forsh* 9 : 1379-1384.

Hausen BM (1993) *Centella asiatica* (Indian pennywort), an effective therapeutic but a weak sensitizer. *Contact Dermatitis* 29 : 175-179.

Inhee MJ, Shin JE, Yun SH, Huh K, Koh JY, Park HK, Jew SS, Jung MW (1999) Protective effects of asiaticoside derivatives against beta-amyloid neurotoxicity. *J Neurosci. Research* 58 : 417-425.

Kang SS, Kim JS (1991) Seasonal variation of flavonoid glycosides in *Epimedium koreanum*. *Kor. J. Pharmacogn* 22 : 85-90.

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid

- growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15 : 473-497.
- Vogel HG, De Souza NJ, D'SA A (1990) Effect of terpenoids isolated from *Centella asiatica* on granuloma tissue. *Acta Therapeutica* 16 : 285-298.
- Yoo SJ, Lee KB, Kwak JH (1986) Studies on the seasonal variation of berberine contents in *Berberis koreana*. *Kor. J. Pharmacogn* 17 : 123-128.