

제비쑥(*Artemisia japonica*) 잎에서의 Monoterpenes의 계절적 변이

김 종 희

경남대학교 자연대학 생물학과

Seasonal Variation of Monoterpenes in *Artemisia japonica* Leaf

Kim, Jong-Hee

Department of Biology, Kyungnam University, Masan 630-701, Korea

ABSTRACT

The composition and concentration of monoterpenes in the leaves of *Artemisia japonica* were determined. And seasonal variation in monoterpenes of *A. japonica* were investigated. Samples were taken from five sites at Mt. Muhak. Monoterpenes in the leaves were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry. The leaf monoterpene fractions were dominated by R.T. 5.026, α -thujene, sabinene, β -pinene, cyclohexane (R.T.=12.859) and R.T. 23.149. There were marked seasonal differences in concentration and composition of leaf monoterpenes. There were many kinds of monoterpenes in leaf of spring time, however most of monoterpenes concentration was small. On the other hand, there were not many kinds of monoterpenes in late time, but monoterpene concentrations were increased.

Key words : Monoterpene, *Artemisia japonica*, β -Pinene, Cyclohexane.

서 론

Terpene은 식물의 2차 대사 산물로서 비교적 많은 화합물이다. 이들 화합물들은 주로 식물의 내분비선에서 분비되는데 꽃, 잎, 열매, 목질부 및 수피 등에 이르기까지 거의 모든 부위에 존재하며 식물종이나 부위에 따라서 독특한 향기나 향미를 나타낸다. 비교적 분자량이 적은 monoterpene들은 다른 terpene에 비해서 쉽게 주위 환경으로 발산되고, 발산된 물질들은 생태계에서 여러 가지 작용 (Kim and Langenheim 1994)을 하는 것으로 알려졌다. Monoterpene의 생합성 과정은 acetyl CoA로부터 mevalonic acid pathway를 거쳐 합성되는데, 그 중 geranyl pyrophosphate(GPP)가 monoterpene의 선구물질이다. Monoterpene들은 약 38개의 다른 형태를 갖는데, 구조에 따라 분류한다면 크게 acyclic, cy-

clohexanoid, cyclopentanoid 그리고 irregular(불규칙)한 형태를 갖는다(Fig. 1). 따라서 식물이 함유하고 있는 monoterpene의 조성과 함량은 같은 그룹의 선구물질로부터 기인한다고 한다(Barnola *et al.* 1997).

Terpene 함량에 대한 변이는 계절적 (Books *et al.* 1987, Nerg *et al.* 1994), 잎의 위치 (Gambliel and Cates 1995, Hall and Langenheim 1986) 그리고 그 밖의 여러 가지 환경적 요인들 (Adams and Hagerman 1977, Hopfinger *et al.* 1979, Kainulainen *et al.* 1992)에 의해서 그 변이가 나타난다. 또한 이 물질들은 미생물의 침입 (Yashphe *et al.* 1992), nitrification의 저해 (Kim and Langenheim 1994, White 1991), 그리고 chemotaxonomic한 연구 (Williams *et al.* 1995) 등과 같이 미생물학, 분류학, 계통학 (Harbone and Turner 1984), 생태학과 같은 순수 학문분야로부터 생약학, 식품학 등의 응용분야에 이르기까지 다양한 연구의 대상이 되고

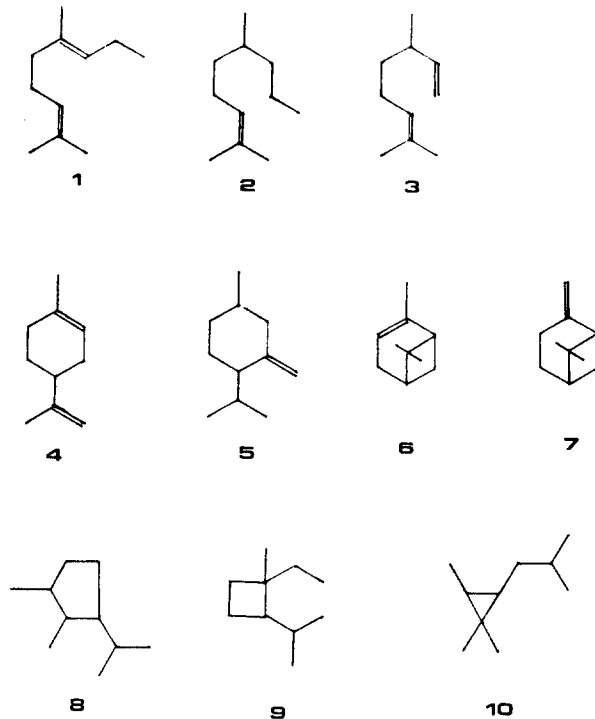


Fig. 1. Examples of monoterpene structures.
Acyclic : geraniol(1), citronellol(2), myrcene(3)
Cyclohexanoid : limone(4), menthone(5), α -pinene(6), β -pinene(7)
Cyclopentanoid : iridane(8)
Irregular : fragranol(9), chrysanthemane(10)

있다.

특히 방산된 monoterpene의 생태학적 연구는 그 기능이 초식자들로부터 (Levin 1976, Gambiel and Cates 1995, Zou and Cates 1995) 또는 인근의 타 식물의 성장을 저해함으로써 자기를 방어하는 기작으로 쓰이는 allelochemicals로서의 역할에 그 초점이 맞추어지고 있다 (길 등 1991, Jimenez-Osornio *et al.* 1996). 쑥속에 속하는 식물들은 다양한 종류와 많은 양의 terpene을 함유하고 있으며 (Brown 1994, Halligan 1975, Rojatkar *et al.* 1996, Todorova *et al.* 1996) 우리나라에서는 전통으로 하체나 두통, 현기증 등 한방의학에 많이 이용되어 오고 있는 다년생 초본들로서 우리나라 전역에 분포한다. 그러나 우리나라에서는 쑥속 식물들에 대한 monoterpene의 함량과 조성에 대한 연구가 쑥 (Kim 1996), 비쑥과 뽕쑥 (Kim 1997) 그리고 황해쑥 (길 등 1994)에 대한 결과가 있을 뿐 매우 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구의 목적은 제비쑥 (*Artemisia japonica*) 잎에 함유되어 있는 monoterpene의 총함량과 조성에 대한 계절적 변이에 주안점을 두고 다른 쑥속 식물의 monoterpene과 비교 연구하였다.

재료 및 방법

시료는 제비쑥 (*Artemisia japonica*)의 성장기인 4월부터 9월까지 약 일주일 간격으로 경상남도 마산시 무학산에서 채취하였다. 서로 다른 다섯 개 지역에서 제비쑥의 잎을 채취하여 플라스틱 봉지에 봉인한 후 실험실로 가져와 즉각 3g의 잎을 순수 모래를 첨가하여 분쇄한 다음 Pentane에 추출시켰으며, internal standard로서 1% tetradecane 1 ml 를 사용하였다. 추출액은 황산 나트륨 (sodium sulfate)으로 여과시켜 미세한 질소 가스로 농축시켰으며 각 추출액의 1 μ l를 GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry; HP-5890 GC)의 injector에 주입하였다.

Terpenes의 분석에 이용한 GC-MS는 내경 0.25 mm, 길이 30 m의 HP-5MS capillary column을 사용하였다. 이때 GC-MS의 분석조건은 injector 온도가 220 $^{\circ}$ C이고 detector 온도는 320 $^{\circ}$ C, carrier gas는 helium gas를 사용하였으며 flow rate는 1.8 ml/min로 하였다. 초기 oven 온도는 37 $^{\circ}$ C에서 5분간 유지하고 180 $^{\circ}$ C까지는 분당 5 $^{\circ}$ C 비율로 증가시켰으며 그 후 320 $^{\circ}$ C까지는 분당 20 $^{\circ}$ C 비율로 증가시켰다 (Kim and Langenheim, 1994).

물질의 동정은 MS의 Wiley library와 이미 알고 있는 standard (Aldrich Chem. Co.)의 retention time과의 일치로 확인하였고, 정량은 standard와 tetradecane의 양과 농도에 의거 비례식으로 계산하였다. 본 연구는 monoterpene의 동정에 대한 내용은 미흡할지 모르나 이들의 절대적 함량, 상대적 차이 그리고 시기에 따른 변이에 대한 정보를 제공해 줄 수 있다.

이들 물질의 변이에 대한 분산 분석(ANOVA)은 Sokal and Rohlf (1973)의 계산법에 따랐고 excel program (ver. 7.0)을 사용하여 컴퓨터로 출력했으며 t-test를 실시하였다.

결과 및 고찰

Fig. 2는 제비쑥에서의 monoterpene의 총 함량에 대한 계절적 변이를 나타낸 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 계절적으로 유의적 차가 있었으며 ($F=0.000168$),

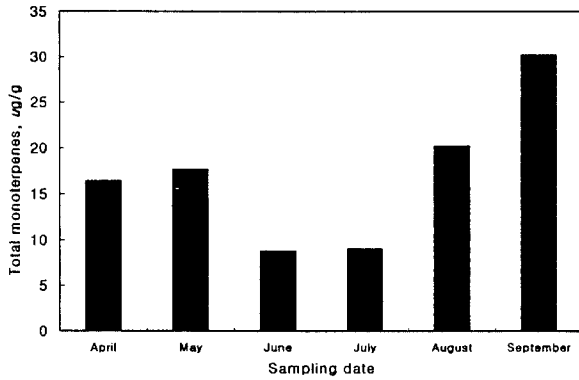


Fig. 2. Seasonal variation of total monoterpenes in *Artemisia japonica*. There is a significant difference ($F=0.000168$). Each data represent the average obtained from the first week of each month.

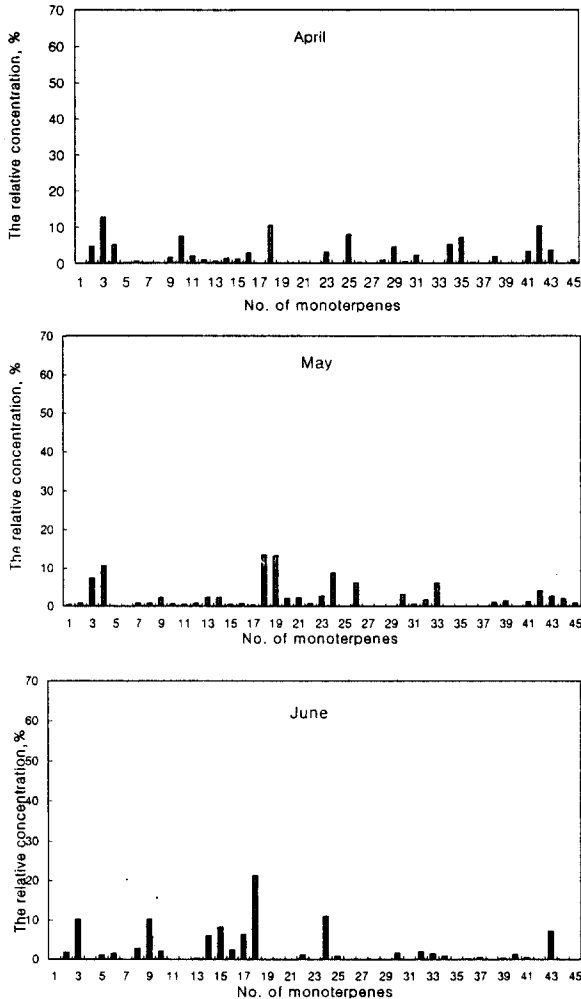


Fig. 3a. Seasonal variation of the relative concentration monoterpenes in April, May and June of *A. japonica*.

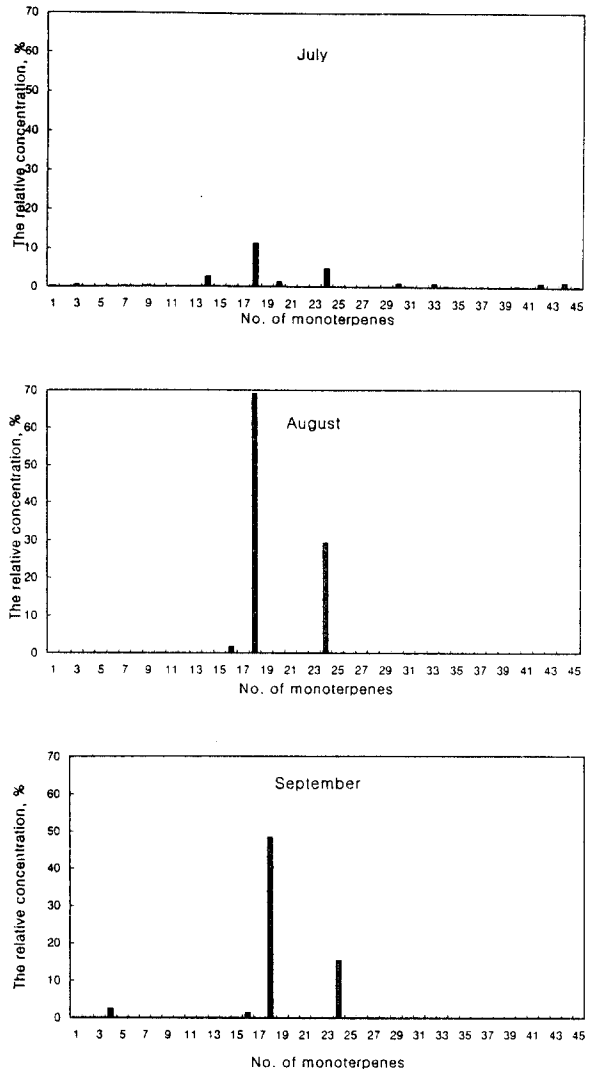


Fig. 3b. Seasonal variation of the relative concentration monoterpenes in July, August and September of *A. japonica*.

9월의 함량이 가장 많은 것으로 나타났다. 그리고 6월과 7월이 가장 적은 함량을 지닌 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 다른 쑥속 식물들과 비교해 볼 때 유사한 결과를 보인다. 즉 *Artemisia princeps* (Kim 1996), *A. scoparia* 그리고 *A. feddei* (Kim 1997)의 경우 5월초의 monoterpene 총 함량이 가장 많았다가 6월초와 7월의 총 함량이 급격히 감소하는 결과를 나타냈는데, 제비쑥의 경우 역시 6월과 7월에서 급격한 감소가 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 retention time이 비교적 빠른 monoterpene들이 높은 온도(Kim과 Langenheim, 1994, Simon *et al.* 1994)와 빛의 세기(Staudt and Seu-

Table 1. The major monoterpene concentration ($\mu\text{g/g}$ f.w.) in the leaves of *A. japonica*

No.	R.T.	Compound	April	May	June	July	Aug.	Sep.
1	4.575	octene	—	0.0964	—	0.0853	—	—
2	4.705		0.7515	0.2163	0.3886	—	—	—
3	5.026		2.0485	1.9661	2.3624	0.2442	—	—
4	5.455		0.8118	2.8238	—	0.0054	—	—
5	5.815		0.0197	—	0.2210	—	—	—
6	6.372		0.0786	—	0.3360	—	—	—
7	6.765		—	0.2239	—	0.0930	—	—
8	6.971		—	0.1919	0.6305	—	—	—
9	7.109		0.2324	0.6137	2.3845	0.1688	—	—
10	7.347	α -thujene	1.1699	0.1392	0.4703	—	—	—
11	7.588		0.3004	0.1342	0.0058	0.0141	—	—
12	8.039		0.1303	0.1998	0.0022	0.0228	—	—
13	8.501		0.0801	0.6099	0.0321	—	—	—
14	9.328	α -pinene	0.2052	0.6132	1.3821	1.4771	—	—
15	9.798	camphene	0.1707	0.1220	1.8985	—	—	—
16	10.616	sabinene	0.4420	0.1803	0.5503	—	0.3728	0.0006
17	10.728		—	0.0765	1.4684	—	—	—
18	11.001	β -pinene	1.6575	3.5928	4.9888	6.3980	15.0936	23.7233
19	11.174		—	3.5348	—	—	—	—
20	11.545	β -myrcene	—	0.5738	—	0.6809	—	—
21	11.717		0.0181	0.5889	—	—	—	—
22	12.318		—	0.1816	0.2452	—	—	—
23	12.514	dl-limonene	0.4774	0.7145	—	—	—	—
24	12.859	cyclohexane	—	2.3397	2.5527	2.6529	6.3955	7.5335
25	13.039		1.2615	—	0.1665	—	—	—
26	13.518	octatriene	0.00824	1.6369	0.0039	—	—	—
27	14.593		—	—	0.0018	—	—	—
28	16.026		0.1215	—	—	—	—	—
29	16.193		0.7109	—	—	—	—	—
30	16.891	naphtalene	0.0571	0.8248	0.3569	0.5303	—	—
31	17.389	isomenthone	0.3512	0.1540	0.0019	0.0343	—	—
32	18.552		—	0.4386	0.4412	—	—	—
33	19.121		—	1.6476	0.3095	0.5102	—	—
34	20.521		0.8162	—	0.1609	0.1247	—	—
35	20.678	bornyl acetate	1.1280	—	0.0018	—	—	—
36	21.955		0.0302	—	0.0165	—	—	—
37	21.830		—	—	0.0983	0.0566	—	—
38	22.025		0.2805	0.2704	—	—	—	—
39	22.128		—	0.3927	0.0464	0.1073	—	—
40	22.180		—	—	0.2709	—	—	—
41	22.345		0.5104	0.3311	0.80829	—	—	—
42	22.819	geranyl acetate	1.6259	1.0839	—	0.5661	—	—
43	23.149		0.5491	0.7181	1.6539	—	—	—
44	23.010		—	0.5432	—	0.6754	—	—
45	23.495		0.1458	0.2265	—	0.1386	—	—

R.T. : Retention time

— : No detection

fert 1995)에 보다 더 휘발적이기 때문에 6월과 7월의 높은 온도에서 휘발된 것으로 판단된다. Barnola 등

(1997)의 연구는 *Pinus caribaea* 잎에서의 monoterpene 함량과 조성은 계절적 변이는 물론 심지어는 일변화 그

리고 canopy 수준에 의해서도 변한다고 하였는데, 특히 총 함량은 밤에 가장 낮은 것으로 보고하였다. 이 같은 이유 역시 빛의 세기의 영향인 것으로 판단하였다. 따라서 본 연구의 경우 6월과 7월의 총 함량 감소는 낮의 길이가 긴 기간동안 발생하였다는 점에서 일치되는 결과로 사료된다. 그러나 8월 이후의 총 함량의 변화는 썩, 비썩 그리고 뽕썩의 경우 data가 제시되지 않아 비교할 수 없었으며, 증가된 함량은 결가지에서 새로이 출현한 잎에서의 증가로 판단된다.

Table 1은 제비썩에서 동정된 45개의 monoterpene들의 함량이다. 표에서 보는 바와 같이 4월, 5월, 6월까지는 monoterpene의 조성이 다양하게 증가하다가 7월에는 20개의 monoterpene만이 확인되었고, 8월에는 3개, 9월에는 4개의 monoterpene이 발견되었다. 이 같은 사실은 초봄에 많은 종류의 monoterpene이 존재하다가 식물의 성장기를 지나 많은 종류의 monoterpene이 사라짐을 알 수 있는데, 이는 야외에서 제비썩이 내는 방향성 냄새가 초봄에는 심하다가 가을에는 방향성 냄새가 없는 것과 일치하는 것으로 여겨진다. 또한 β -pinene과 No. 24의 미동정 compound (R.T.=12.859, Wiley library의 분석에 의하면 구조적으로 cyclohexane류로 밝혀짐)는 초봄으로부터 꾸준히 그 양이 증가하여 8월과 9월에는 가장 많은 양을 지닌 monoterpene으로써 제비썩의 특징적 monoterpene으로 사료된다.

Fig. 3a, b는 각 monoterpene들의 상대적 비를 계절적으로 나타낸 것으로서, 위에서 제시한 바와 같이 이른 봄부터 초여름까지는 (Fig. 3a) 비교적 많은 종류의 monoterpene이 적은 비율로 분포되어 있음을 보이나 시간이 경과하면서, 특히 6월과 7월의 더운 시기를 지나면서 많은 종류의 monoterpene이 사라지고, β -pinene, 그리고 No. 24의 미동정 cyclohexane류의 상대적 함량이 뚜렷이 증가함을 알 수 있다 (Fig. 3b). 이 같은 이유는 β -pinene 역시 cyclohexane류의 monoterpene으로서 그들의 생합성 경로가 같기 때문에 (Fig. 1 참조, Barnola *et al.* 1997, Dey and Harbone 1997) 이 두 화합물들이 많이 함유되어 있는 것으로 판단된다. 몇몇 연구자들이 (Li and Madden 1995, Barton *et al.* 1991) 제시한 바와 같이 식물체 앞에서 생산되는 정유는 환경적 요인에 의하여 그 조성보다는 함량이 보다 더 변이가 심한 것으로 알려져 있다. 마찬가지로 제비썩이 지닌 대표적 monoterpene은 β -pinene과 No. 24의 cyclohexane류로서 초봄부터 가을까지 항상 존재하는 monoterpene으로, 조성에 대한 계절적 차이보다 함량에 대한 계절적 차이

가 많은 것으로 밝혀졌다. 이처럼 제비썩이 갖는 독특한 냄새는 monoterpene의 조성에 의하며, 식물들이 지니고 있는 monoterpene의 조성은 유전적이고 생합성적이므로 (Li and Madden 1995, Barnola *et al.* 1997) β -pinene과 cyclohexane류에 의해 제비썩의 monoterpene은 특징 지워진다고 할 수 있겠다.

적 요

제비썩의 잎에 있는 monoterpene들의 조성 및 함량이 계절적으로 분석되어졌다. 표본들은 무학산의 5개의 다른 장소에서 취해졌고, 잎에 있는 monoterpene은 GC-MS로 분석되었다. 잎에 있는 주요한 monoterpene으로는 R.T. 5.026, α -thujene, sabinene, β -pinene, R.T. 12.859 (cyclohexane류) 그리고 R.T. 23.149이었다. 그리고 제비썩 잎의 monoterpene 함량은 계절적으로 뚜렷한 차이가 있었다. 특이한 점은 초봄으로부터 여름까지는 많은 종류의 monoterpene들이 각각 작은 함량으로 분포하였으며, 성장기를 지나 많은 종류의 monoterpene들은 사라지고, β -pinene, No. 24의 cyclohexane류의 미동정 화합물이 8월과 9월에 집중적으로 분포되었다.

인 용 문 헌

- 길봉섭, 김영식, 윤경원. 1991. 썩에 들어 있는 생장억제 물질의 작용. 한국생태학회지 14: 121-135.
- _____, 윤경원, 이승엽, 한동민. 1994. 황해썩에 포함된 화학물질이 다른 식물과 미생물의 생장에 미치는 영향. 한국생태학회지 17: 23-35.
- Adams, R.P. and A. Hagerman. 1977. Diurnal variation in the volatile terpenoids of *Juniperus scopulorum* (Cupressaceae). Am. J. Bot. 64: 278-285.
- Barnola, L.F., A. Cedeño and M. Hasegawa. 1997. Intraindividual variations of volatile terpene contents in *Pinus caribaea* needles and its possible relationship to *Atta laevigata* herbivory. Biochem. Syst. Ecol. 25: 707-716.
- Barton, A.F.M., P.P.Cotterill and M.I.H. Brooker. 1991. Short note: Heritability of cineole yield in *Eucalyptus rochii*. Silvae Genetica 40: 37-38.
- Brown, G.D. 1994. Phytene-1,2-diol from *Artemisia*

- annua. *Phytochemistry* 36: 1553-1554.
- Books, J.E., J.H. Borden, H.D. Jr Pierce and G.R. Lister. 1987. Seasonal variation in foliar and bud monoterpenes in Sitka spruce. *Can. J. Bot.* 65: 1249-1252.
- Dey, P.M. and J.B. Harbone. 1997. *Plant biochemistry*. Academic press. NewYork. pp417-434.
- Gamabliel, H.A. and R.G. Cates. 1995. Terpene changes due to maturation and canopy level in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) flush needle oil. *Biochem. Syst. Ecol.* 23: 469-476.
- Hall, G.D. and J.H. Langenheim. 1986. Temporal changes in the leaf monoterpenes of *Sequoia sempervirens*. *Biochem. Syst. Ecol.* 14: 61-69.
- Halligan, J.P. 1975. Toxic terpenes from *Artemisia californica*. *Ecology* 56: 999-1003.
- Harbone, J.B. and B.L. Turner. 1984. *Plant Chemosystematics*. Academic Press. London.
- Hopfinger, J.A., J. Kumamoto and R.W. Scora. 1979. Diurnal variation in the essential oils of Valencia orange leaves. *Am. J. Bot.* 66: 111-115.
- Jimenez-Osornio, J.J., J. Kumamoto and C. Wasser. 1996. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. *Biochem. Syst. Ecol.* 24: 1956-2005.
- Kainulainen, P., J. Oksanen, V. Palomäki, J.K. Holopainen and T. Holopainen. 1992. Effect of drought and waterlogging stress on needle monoterpenes of *Picea abies*. *Can. J. Bot.* 70: 1613-1616.
- Kim, J. H. 1996. Seasonal variation in concentration and composition of monoterpenes from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Kor. J. Ecol.* 19: 321-328.
- _____. 1997. Variation of monoterpenoids in *Artemisia feddei* and *Artemisia scoparia*. *J. Plant Biology*. 40: 267-274.
- _____. and J.H. Langenheim. 1994. The effects of *Pseudotsuga menziesii* monoterpenoids on nitrification. *Kor. J. Ecol.* 17: 251-260.
- Levin, D.A. 1976. The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 7: 121-159.
- Li, H. and J.L. Madden. 1995. Analysis of leaf oils from a *Eucalyptus* species trial. *Biochem. Syst. Ecol.* 23: 299-318.
- Nerg, A., P. Kainulainen, M. Vuorinen, M. Hanso, J.K. Holopainen and T. Kurkela. 1994. Seasonal and geographical variation of terpenes, resin acids and total phenolics in nersery grown seedlings of Scots pine(*Pinus sylvestris*). *New Phyto.* 128: 703-713.
- Rojatkar, S.R., S.S. Pawar, P.P. Pujar, D.D. Sawaikar, S. Gurunath, V.T. Sathe and B.A. Nagasampagi. 1996. A germacranolide from *Artemisia pallens*. *Phytochemistry* 41: 1105-1106.
- Sokal, R.R. and F.J. Rohlf. 1973. *Introduction to Biostatistics*. W.H. Freeman, San Francisco. pp. 94-109.
- Simon, V., B. Clement, M.L. Riba and L. Torres. 1994. The Landes experiment: monoterpenes emitted from the maritime pine. *J. Geophys. Res.* 99: 16501-16510.
- Staudt, M. and G. Seufert. 1995. Light-dependent emission of monoterpenes by holm oak (*Quercus ilex* L.). *Naturwissenschaften* 82: 89-92.
- Todorova, M.N., E. T. Tsankova, A.B. Trendafilova and C.V. Guessev. 1996. Sesquiterpene lactones with the uncommon rotundane skeleton from *Artemisia pontica* L. *Phytochemistry* 41: 553-556.
- White, C.S. 1991. The role of monoterpenes in soil nitrogen cycling processes in ponderosa pine. *Biochemistry* 12: 43-68.
- Williams, C.A., J.C. Onyilagha and J.B. Harbone. 1995. Flavonoid profiles in leaves, flowers and stems of forty-nine members of the Phaseolinae. *Biochem. Syst. Eco.* 23: 655-667.
- Yashphe, J., R. Segal, A. Breuer, and G. Erdreich-Naftali. 1979. Antibacterial activity of *Artemisia herba*. *J. Pharm. Sci* 68: 924.
- Zou, J. and R.G. Cates. 1995. Foliage constituents of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco (Pinaceae)): their seasonal variation and potential role in Douglas fir resistance and silviculture management. *J. Chem. Ecol.* 21: 387-402.