

Ganoderma lucidum IY 009로 부터 분리된 항암성 다당류의 정제 및 구조분석

이권행* · 정훈¹ · 이준우¹ · 한만덕¹ · 최경숙² · 오두환

연세대학교 식품생물공학과 생물산업소재연구센터, ¹일양약품(주) 중앙연구소 생물공학연구실,
²연세대학교 산업기술연구소

Purification and Structural Analysis of Antitumor Polysaccharides Obtained from *Ganoderma lucidum* IY 009

Lee, Kweon-Haeng, Hoon Jeong¹, June-Woo Lee¹, Man-Deuk Han¹,
Kyoung-Sook Choi² and Doo-Hwan Oh*

Department of Food Engineering, College of Engineering, Yonsei university,
Bioproducts Research Center, Seoul 120-749, Korea

¹Biotechnology Lab., Central Institute of Research, Il Yang Pharmaceutical Co., Ltd.,
Yongin, 449-900, Korea

²Engineering Research Institute, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Abstract — Alkali soluble(AS) fraction, revealed the highest antitumor activity of the alkali extracted fractions of *G. lucidum* IY 009, was loaded on DEAE cellulose(OH form) column. AS-1, AS-2, AS-3, AS-4 and AS-5 were obtained by stepwise elution with H₂O, 0.1 M NaHCO₃, 0.3 M NaHCO₃, 0.5 M NaHCO₃ and 0.5 N NaOH respectively, and their antitumor activities(I.R. %) against the sarcoma 180 were 97.5%, 68.0%, 73.0%, 81.0% and 66.0% respectively. AS-1 observed highest antitumor activity was appeared as single peak on the Sepharose CL-4B column chromatography, and their molecular weight was about 580,000 dalton. The carbohydrate content of AS-1 was 98.9%, their monosaccharide consisted of 67.5% of mannose, 22.5% of xylose, 5.8% of glucose, 1.8% of galactose and 2.0% of ribose. AS-1 was assumed α -linked xylomannan having infrared absorption at 864.3 cm⁻¹. The main alditol acetates of AS-1 were identified as 1,5-Di-O-acetyl-2,3,4-Tri-O-methylxylitol, 1,4,5-Tri-O-acetyl-2,3,6-Tri-O-methylmannitol and 1,3,4,5-Tetra-O-acetyl-2,6-Di-O-methylmannitol by methylation analysis, and their molar ratio was 1 : 2 : 1. The core portion of AS-1 might be α -(1→4)mannopyranosyl unit branched with side chain, C1 of xylopyranosyl residue linked to C3 of every 3 mannopyranosyl units, and the degree of polymerization of structural unit in AS-1 was about 835.

Ganoderma lucidum (Fr.) Karsten은 polyporaceae과에 속하는 고등균류로 예로부터 한국, 일본 및 중국에서 강장, 강심, 해열, 진정, 이뇨, 건위, 정장, 간염, 고혈압, 뇌졸중 및 심장병등과 같은 질병을 치료하기 위한 전통 약으로 중요시 되어왔다(1).

인공재배에 의한 자실체의 양산과 더불어 1980년을 전후하여 약효에 관한 연구가 많이 진전되었는데, 약효물질은 triterpenoid등의 저분자 물질과 단백질

질이 결합된 다당류인 고분자 물질로 대별된다. 이들 중 저분자 물질은 항염증작용(2), 간암세포 성장억제작용(3), 혈압강하작용(4), cholesterol 합성억제작용(5), 고지혈증 개선작용(6), 과산화지질 생성억제작용(7), 혈소판 응집 저해작용(8)등이 있으며, 고분자 물질은 혈압강하작용(9, 10), 혈당강하작용(11, 12), 항암작용(13-16)등이 있는 것으로 알려지고 있다.

최근 *G. lucidum* 다당의 약리효과 중 관심을 모으고 있는 항암효과는 화학요법제에서 나타나는 독성이나 부작용이 없을 뿐만 아니라 항원성이 없는 것으로 보고되고 있다. *G. lucidum*의 항암효과에 관해서는 Kim등(13), Miyazaki와 Nishijima(14), Sone등(15)이

Key words: *Ganoderma lucidum*, Antitumor activity, Sarcoma 180, DEAE cellulose, Sepharose CL-4B, α -linked Xylomannan
*Corresponding author

보고하였는데, 이들은 β -glucan이 항암활성에 주요한 역할을 하고 있음을 시사하고 있다.

본 연구는 국내에서 자생하는 *G. lucidum* IY 009의 배양 균사체의 알칼리 추출물을 분획, 정제하여 항암활성이 강한 다당체를 분리하고 그 구조를 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용한 균주는 전보(16, 17)에서 보고한 *G. lucidum* IY 009이었다.

실험동물 및 종양세포

Mouse는 20-25 g의 ICR계 웅성으로 삼육축산에서 구입하여 사용하였고, sarcoma 180은 한국 인삼 연구소에서 제공받아 사용하였다.

시약

DEAE-cellulose, Sepharose CL-4B 및 Sephadex LH-20는 Sigma사의 제품을 사용하였으며, dimethyl sulfoxide, methyl iodide, calcium hydride, sodium hydride in oil, sodium borohydride, pyridine 등은 Wako Chemical사에서, Dowex 50X8은 Merck사에서 각각 구입하여 사용하였다.

발효조 배양과 조다당류의 분획 조제

발효조 배양과 조다당류의 분획 조제는 전보(16, 17)에서와 같은 방법으로 하였다.

조다당 분획 AS의 정제

조다당 분획, AS 0.2 g을 물에 녹여 DEAE cellulose (OH⁻ form)로 충전된 column(size ; 20 mm D×600 mm L)에 load하여 물로 용출시켰다. 이때 flow rate는 1 ml/min이고, fraction volume은 10 ml로 하였다. 물에 의해 용출되지 않는 것은 0.1 M NaHCO₃, 0.3 M NaHCO₃, 0.5 M NaHCO₃ 및 0.5 N NaOH 등으로 차례로 용출시켰으며, 각 분획은 흐르는 물에 3일간 투석한 다음 동결건조하여 항암활성을 측정하였다. 항암활성이 우수한 분획 20 mg을 0.3 N NaOH에 용해시켜 Sepharose CL-4B column에서 0.3 N NaOH로 용출시켰다. 각 chromatography에서 elute 중의 당은 phenol-sulfuric acid method(17)에 의해 측정하였고, 단백질은 280 nm에서 직접 O.D.를 측정하였다.

Sarcoma 180에 대한 항암효과의 측정

Sarcoma 180에 대한 항암효과의 측정은 전보(16)에서와 같은 방법으로 하였다.

분자량의 측정

분자량은 Sepharose CL-4B column에서 fraction volume을 2 ml로 하여, 조다당 분획 AS의 정제와 동일한 방법으로 chromatography를 행하여 측정하였으며, molecular weight standard는 Sigma사의 dextran을 사용하였다.

시료의 당 및 단백질의 분석

시료의 당과 아미노산 분석은 전보(16, 17)에서와 같은 방법으로 하였다.

IR spectrum

각 분획의 IR spectrum은 FT-IR(Bruker, IFS-48)로 측정하여 얻었다.

당의 methylation, hydrolysis, reduction 및 acetylation(19)

다당 시료 10 mg에 2 ml의 DMSO를 가하여 상온에서 20분간 초음파 처리한 후 0.8 ml의 methylsulfinyl methyl sodium solution을 가하여 상온에서 20분간 초음파 처리하였다. 0.6 ml의 dry methyl iodide를 가하고 15분간 초음파 처리하여 반응물을 상온에서 24시간 방치한 후, 0.6 ml의 물과 6 ml의 chloroform을 가하여 1분 동안 vortex한 후 원심분리하여 chloroform층에 녹아 있는 methylated polysaccharide를 회수하였다. Chloroform층을 물로 5회 수세한 후 40°C의 vacuum oven에서 chloroform을 제거하였다. 위와 동일한 과정을 2회 반복하였으며 methylation 과정이 끝난 잔사를 0.3 ml의 chloroform-acetone mixture(2 : 1)에 용해시켜 Sephadex LH-20으로 충전된 column(1 cm D×18 cm L)에 load하고 동일한 용매로 1 ml씩 분획하여 정제하였다.

Methylated polysaccharide에 1 ml의 90% formic acid를 가하여 105°C에서 2시간 동안 반응시킨 후 formic acid를 제거하고, 2 ml의 0.15 M H₂SO₄을 가하여 질소를 충전한 다음, 105°C에서 18시간 동안 가수분해하였다.

가수분해된 monosaccharide 용액에 1 mg의 sodium borohydride를 가해 실온에서 12시간 동안 방치한 후 반응액을 Dowex 50(H⁺) resin이 충전된 ion exchange column에 통과시켜 중화하고 vacuum oven에서 용매를 제거하였다. 남아 있는 잔사에 증

류된 methanol을 가하여 vortex한 후 oven에서 methanol을 제거하였다. 이 과정을 3회 반복하여 모든 borate가 휘발성의 trimethyl borate로 제거되도록 하였다.

잔사에 0.5 ml의 acetic anhydride와 pyridine mix (1 : 1)를 가하고 105°C에서 2시간 동안 acetylation시킨 후 용매를 제거하였다. 여기에 5 ml의 ether를 가해 oven에서 용매를 제거하는 과정을 8회 반복하여 모든 acetic anhydride와 pyridine을 제거하였다.

반응이 모두 완료된 시료를 100 µl의 chloroform에 용해시켜 G.L.C.와 M.S.로 분석하였다.

결과 및 고찰

조다당 분획 AS의 정제 및 성분 분석

G. lucidum IY 009의 조다당분획 중 sarcoma 180에 대한 암증식 저지활성이 87.0%로 가장 우수한 AS분획을 정제하였다. AS분획 0.2 g을 물에 녹여 DEAE cellulose column에 load하여 물로 용출시켰다. 물에 의해 용출되지 않는 것은 0.1 M NaHCO₃, 0.3 M NaHCO₃, 0.5 M NaHCO₃ 및 0.5 N NaOH등으로 차례로 용출시켰다. Fig. 1에서와 같이 물로 용출된 중성다당 분획 AS-1의 경우 단백질이 거의 용출되지 않았으나, NaHCO₃ 용액으로 용출된 산성다당류는 상당량의 단백질이 당과 함께 용출되었다. 각 분획을 물에 3일 동안 투석한 후 동결건조하여, 물로 용출된 AS-1분획

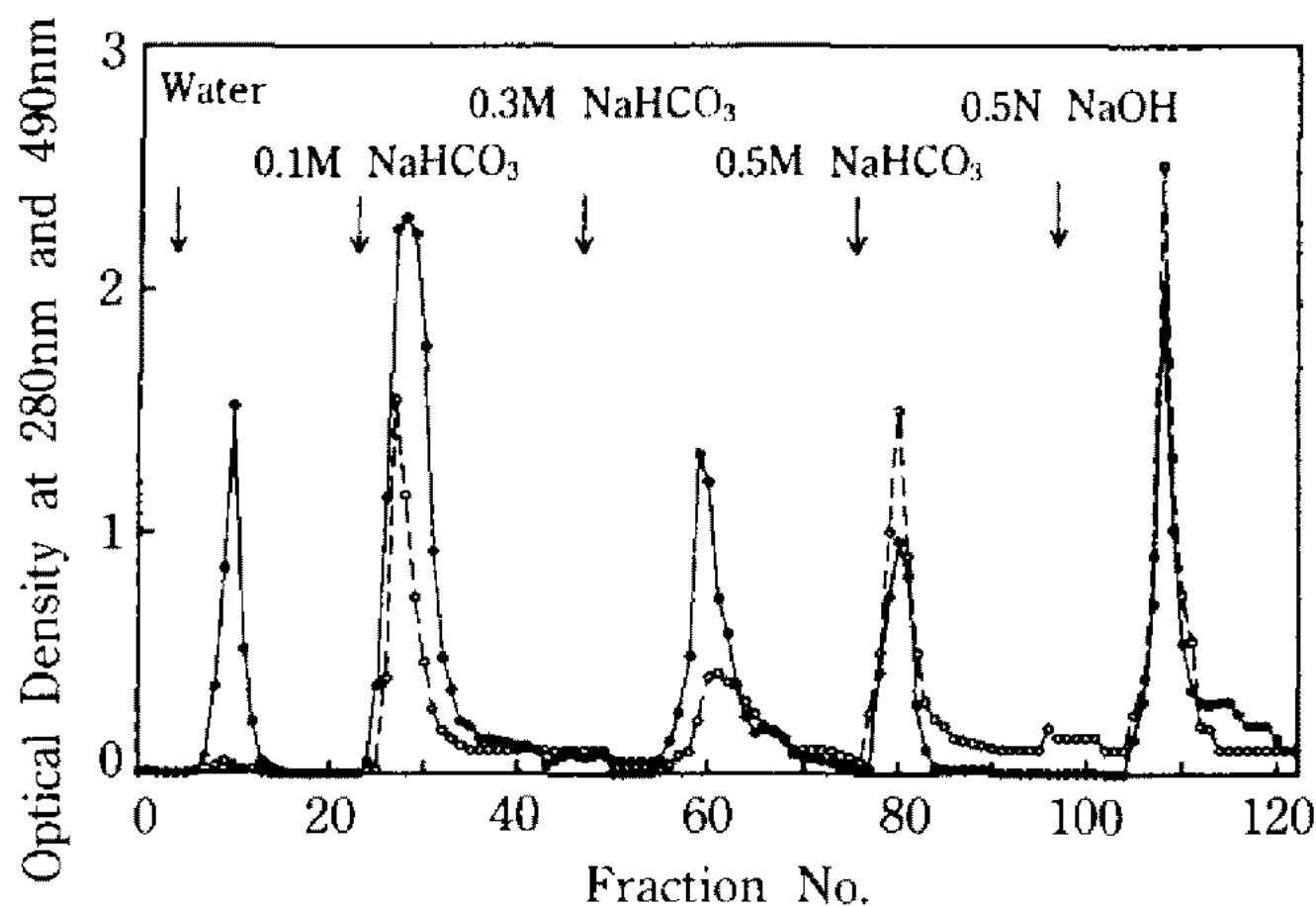


Fig. 1. Elution profile of the alkali extracted crude polysaccharide fraction AS obtained from *G. lucidum* IY 009 on DEAE cellulose chromatography.

0.2 g of fraction AS was loaded on the column and eluted at 1 ml/min. Each column fraction volume was 10 ml, and elutate was checked by measuring absorbance at 490 nm after phenol-sulfuric acid reaction for carbohydrate (-●-), at 280 nm for protein(-○-).

19 mg, 0.1 M NaHCO₃로 용출된 AS-2분획 58 mg, 0.3 M NaHCO₃로 용출된 AS-3분획 58 mg, 0.5 M NaHCO₃로 용출된 AS-4분획 23 mg 및 0.5 N NaOH로 용출된 AS-5분획 38 mg을 얻었다(Table 1). AS-1, AS-2, AS-3, AS-4 및 AS-5의 당함량은 각각 98.9%, 96.6%, 77.1%, 77.7% 및 79.5%였고, 단백질 함량은 각각 1.0%, 2.7%, 11.3%, 7.1% 및 2.4%였으며, 항암활성은 각각 97.5%, 68.0%, 73.0%, 81.0% 및 66.0%로 물로 용출된 중성다당 분획인 AS-1의 항암 활성이 가장 우수하였으나, AS-1 이외의 다른 분획은 AS분획보다 낮은 활성을 나타냈다(Table 2). 이와 같은 결과는 항암활성을 나타내는 다당이 어떤 특정 성분이라기 보다는 여러 종류의 다당이 활성을 가지고 작용했을 가능성을 시사하고 있다.

AS-1분획의 구성당을 분석하기 위해 10 mg을 0.1 N HCl에 가수분해시킨 후 TMS화 하여 gas chromatography를 행하였다(Fig. 2). AS-1분획의 당은 manose 67.5%, xylose 22.5%, glucose 5.8%, galactose 1.8% 및 ribose 2.0%로 구성되어 있었고(Table 3), 이미노산은 67.3%가 tryptophan이었으며(Table 4),

Table 1. Yields of the polysaccharides fraction from liquid culture of *G. lucidum* IY 009

*Subfractions of AS fraction	Yields of polysaccharide fractions from 1 l culture (g/l) (% of total Wt.)	
AS-1	0.082	4.36
AS-2	0.245	13.02
AS-3	0.098	5.21
AS-4	0.106	5.63
AS-5	0.164	8.72

*AS designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of the mycelia of *G. lucidum* IY 009. AS-1, AS-2, AS-3, AS-4 and AS-5 were obtained from fraction AS by column chromatography on DEAE cellulose.

Table 2. Carbohydrate content, protein content and antitumor activity of the polysaccharide fraction of *G. lucidum* IY 009

Subfraction of AS fraction	Carbohydrate content (%)	Protein content (%)	Antitumor activity (I.R.%)
AS-1	98.9	1.0	97.5
AS-2	96.6	2.7	68.0
AS-3	77.1	11.3	73.0
AS-4	77.7	7.1	81.0
AS-5	79.5	2.4	66.0

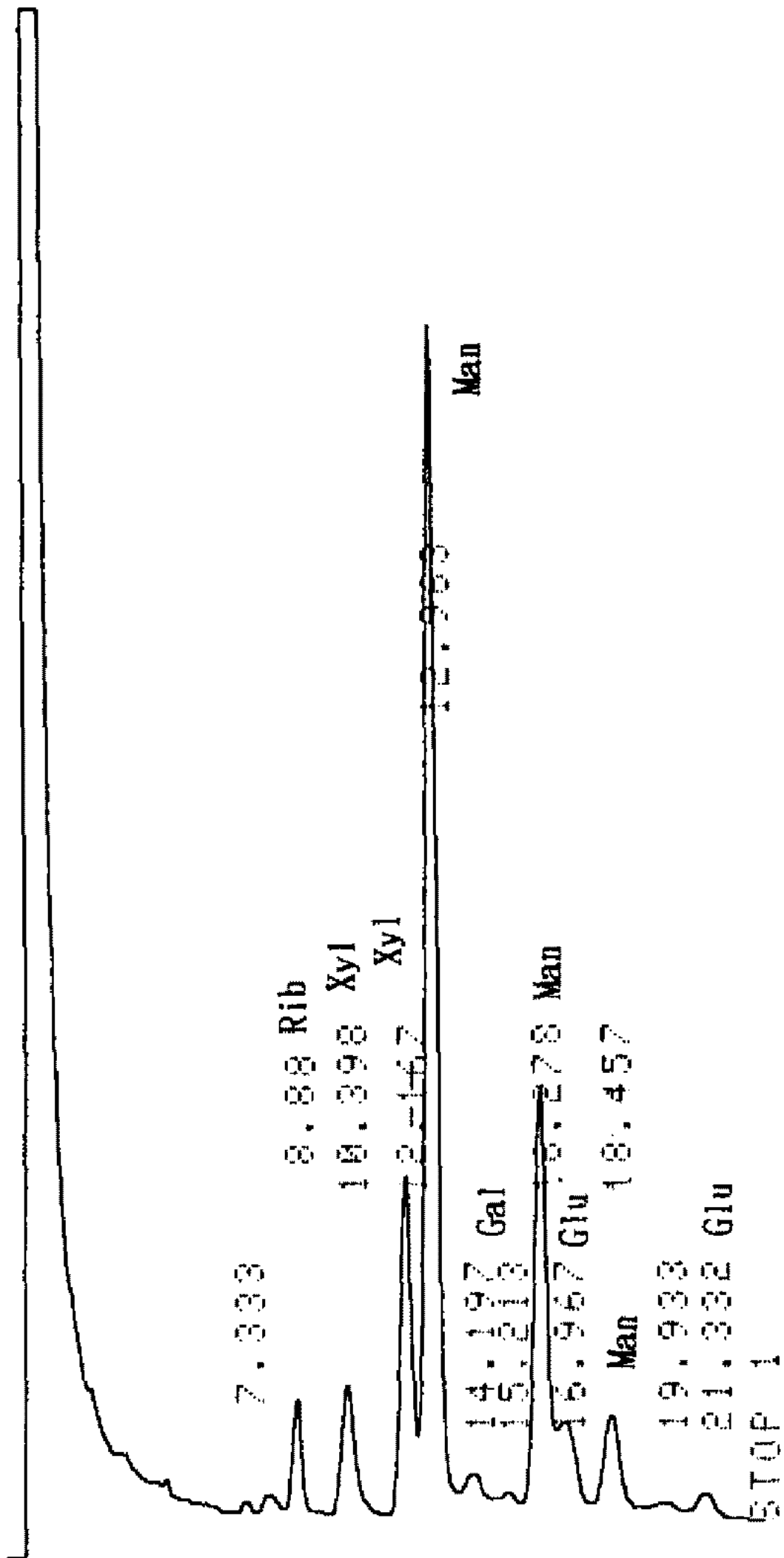


Fig. 2. G.L.C. patterns of monosaccharides of AS-1 obtained from *G. lucidum* IY 009.

Table 3. Monosaccharide contents of the polysaccharide fraction of *G. lucidum* IY 009

Monosaccharides	Contents(area %)				
	AS-1	AS-2	AS-3	AS-4	AS-5
Arabinose	—	—	—	—	—
Ribose	2.0	13.9	3.0	1.4	1.0
Xylose	22.5	12.0	6.5	2.7	1.5
Mannose	67.5	13.5	16.3	16.7	17.3
Galactose	1.8	17.7	13.9	17.5	16.5
Glucose	5.8	42.9	60.3	62.2	63.9

8643 cm^{-1} 에서 infrared 흡수파장이 나타나(Fig. 3), α -xylomannan으로 생각되었다. 이러한 결과는 항암활성을 나타내는 다당 성분의 활성 중심은 β -1,3-glycan으로 되어 있다는 일반적인 보고(20-22)와는 달리 결합 다당도 항암활성을 나타낼 수 있음을 보여주는 것이다.

Table 4. Amino acid contents of the polysaccharide fraction of *G. lucidum* IY 009

Amino acids	Amount(area %)				
	AS-1	AS-2	AS-3	AS-4	AS-5
Aspartic acid	—	2.5	8.5	17.1	15.2
Threonine	1.4	1.2	3.3	3.8	3.1
Serine	5.7	2.1	4.1	3.3	3.5
Glutamic acid	—	2.6	6.1	14.3	9.0
Proline	—	0.9	2.7	4.9	3.6
Glycine	13.2	4.3	10.6	16.8	14.7
Alanine	4.9	0.1	4.6	6.9	5.5
Valine	—	7.2	3.9	1.9	1.7
Methionine	—	—	—	0.8	—
Isoleucine	0.6	0.2	0.8	1.9	1.2
Leucine	1.7	0.9	2.1	3.9	2.8
Tyrosine	0.3	0.3	0.5	0.7	0.7
Phenylalanine	0.3	0.3	0.9	1.4	0.8
Tryptophan	67.3	76.7	49.8	15.2	32.2
Histidine	2.4	—	—	1.7	1.5
Lysine	2.2	0.7	2.1	3.5	3.0
Arginine	—	—	—	1.8	1.5

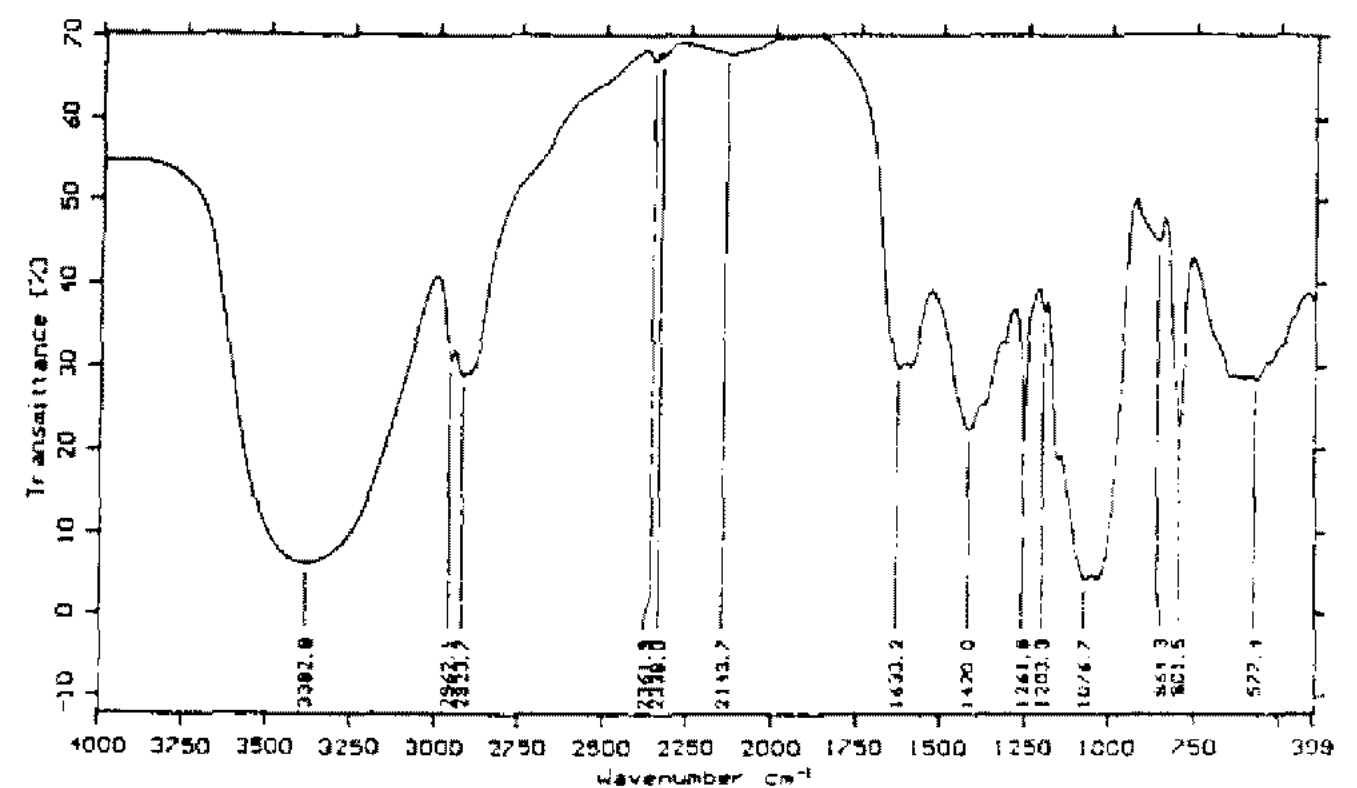


Fig. 3. I.R. spectrum of AS-1 obtained from *G. lucidum* IY 009.

중성 다당 AS-1의 정제 및 분자량 측정

AS-1분획을 정제하기 위해 20 mg을 0.3 N NaOH에 용해시켜 Sepharose CL-4B column에 load하여 0.3 N NaOH로 용출시킨 결과, Fig. 4에서와 같이 AS-1 분획은 20번에서 26번 사이의 분획에서 거의 용출되어 단일 peak를 보였다. 또한 AS-1의 분자량을 알아보기 위해, molecular weight standard로 dextran을 이용하고, fraction volume을 2 ml씩, 상기와 동일한 조건으로 Sepharose CL-4B column에서 chromatography를 행한 결과, AS-1의 분자량은 약 580,000 dalton이었다(Fig. 5).

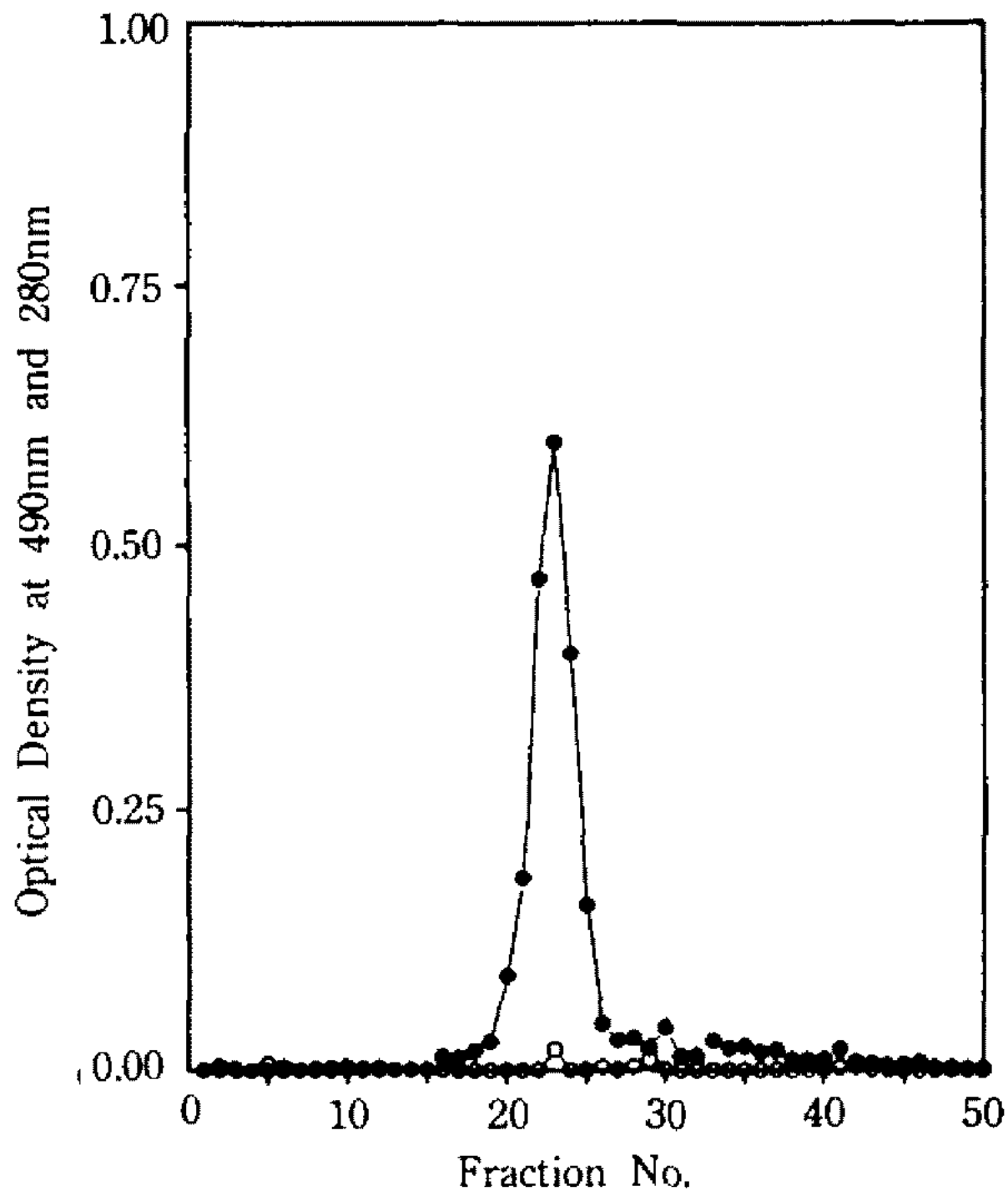


Fig. 4. Elution profile of the polysaccharide fraction AS-1 obtained from *G. lucidum* IY 009 on the Sepharose CL-4B chromatography.

The volume of each fraction was 10 ml, and eluates were checked by measuring absorbance at 490 nm after phenol-sulfuric acid reaction for carbohydrate(●-), O.D at 280 nm for protein(○-).

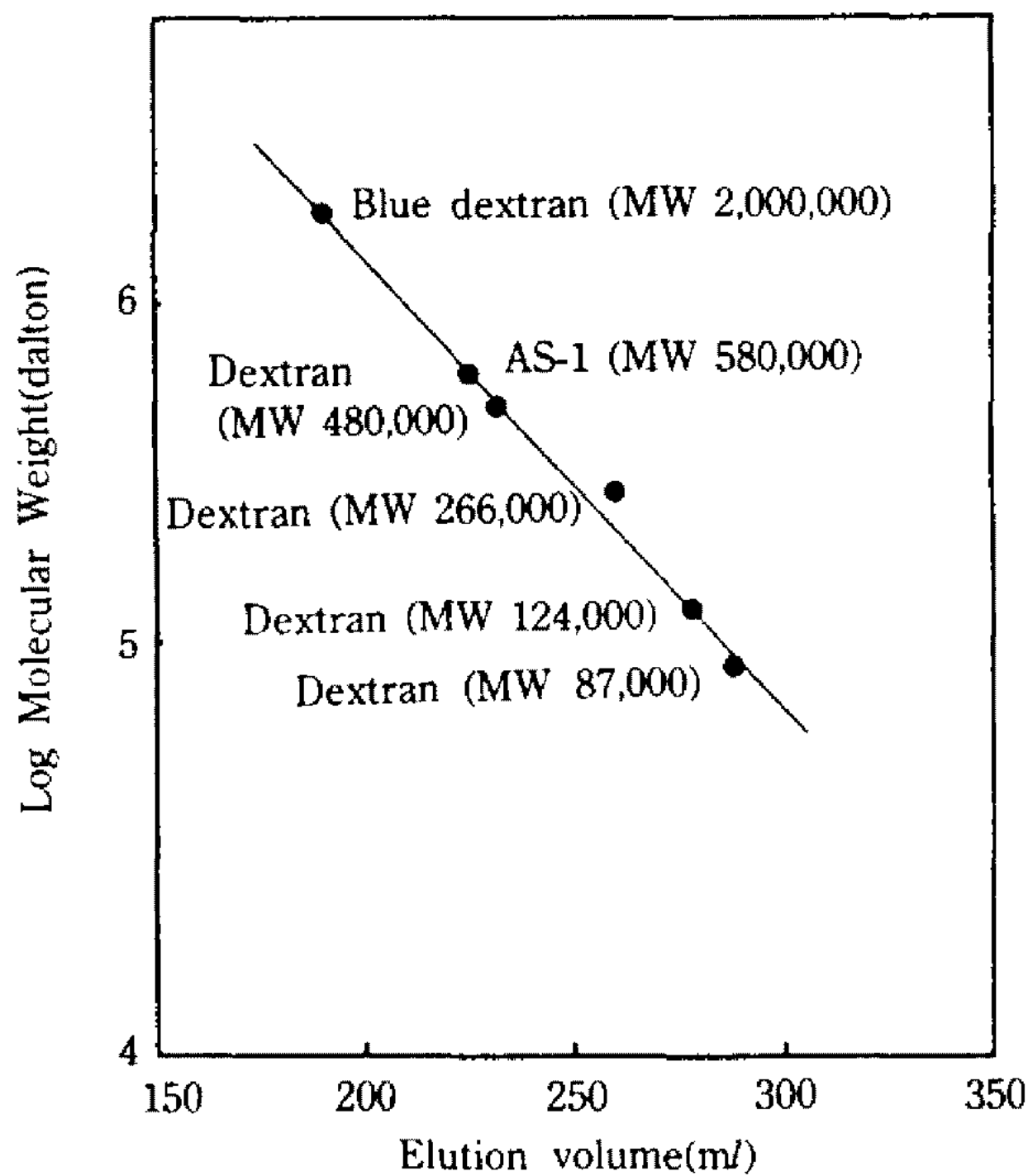


Fig. 5. Determination of molecular weight of the polysaccharide fraction AS-1 obtained from *G. lucidum* IY 009 on the Sepharose CL-4B chromatography.

The volume of each fraction was 10 ml, and eluates were checked by measuring absorbance at 490 nm after phenol-sulfuric acid reaction for carbohydrate.

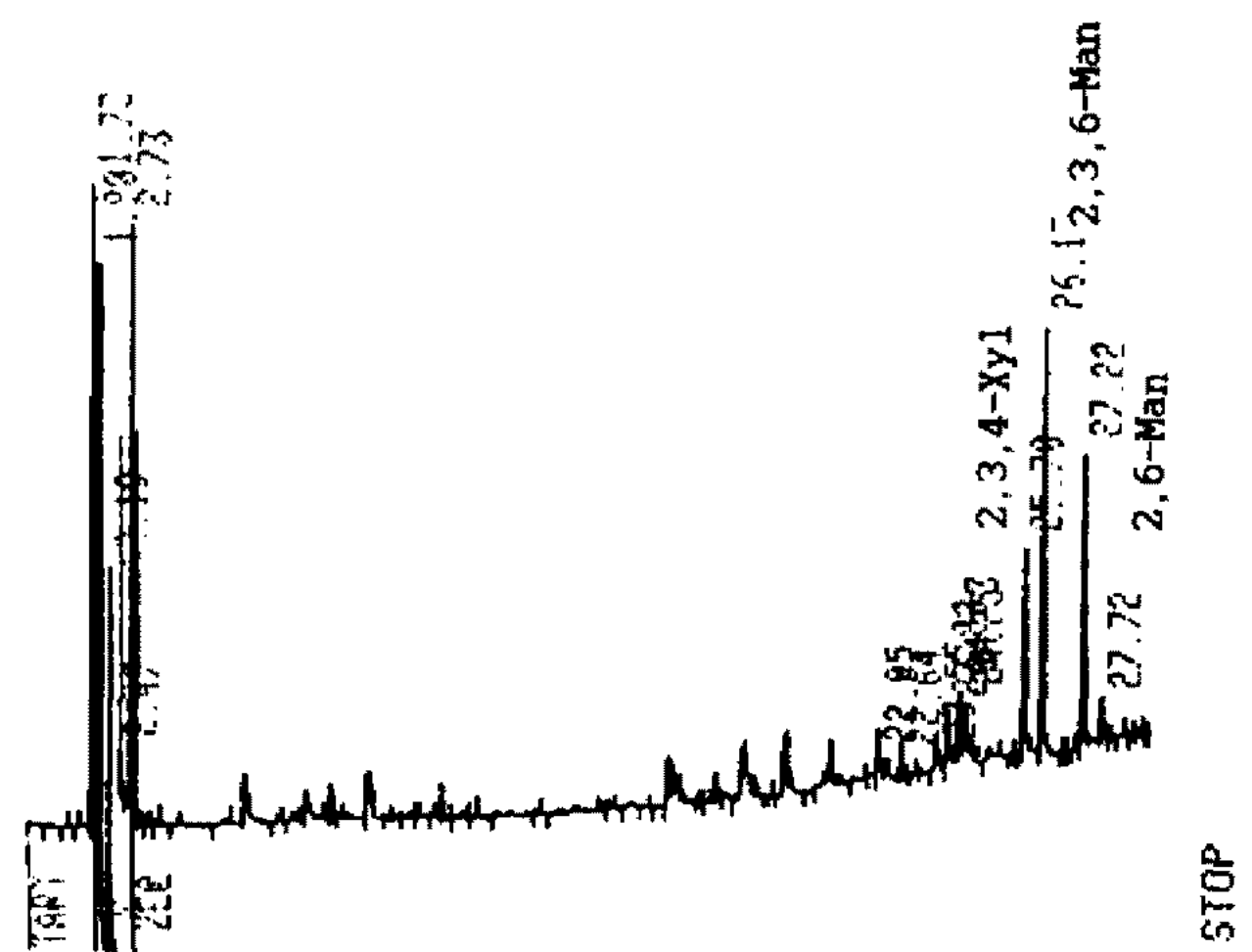
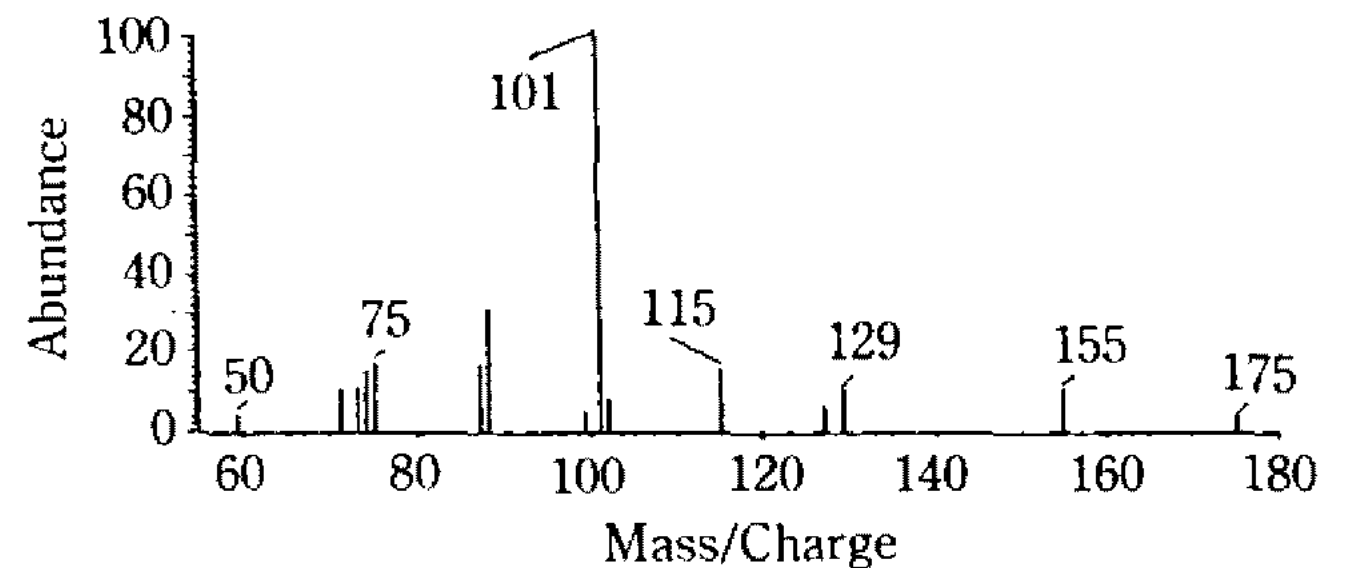
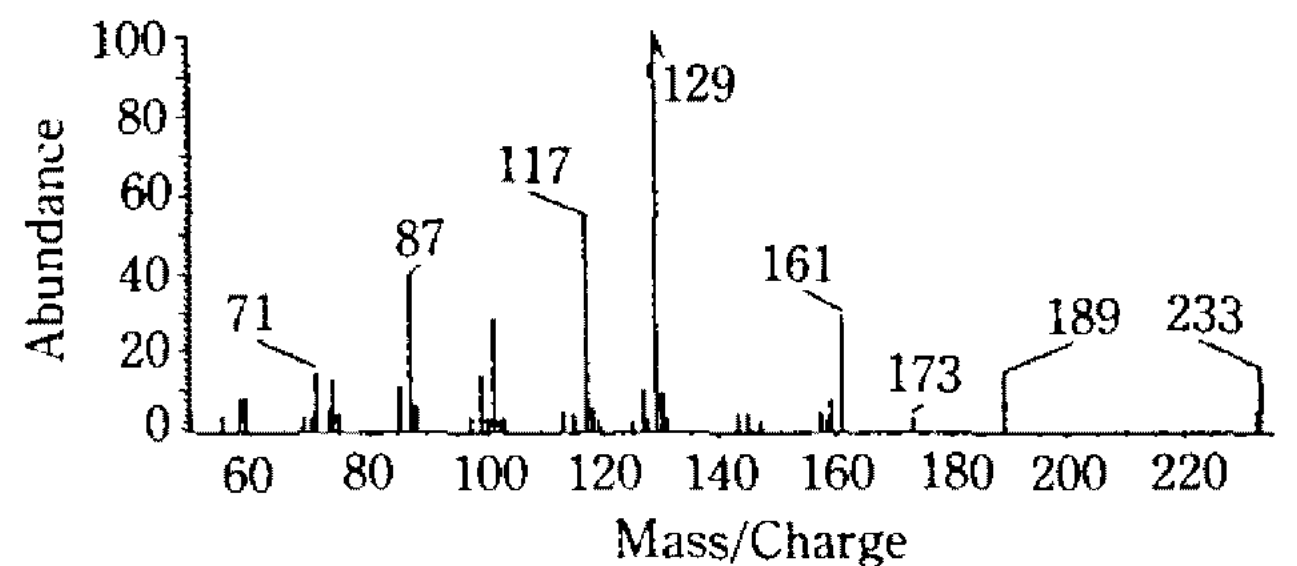


Fig. 6. G.L.C. pattern of methylated, hydrolysed, reduced and acetylated polysaccharide fraction AS-1 obtained from *G. lucidum* IY 009.

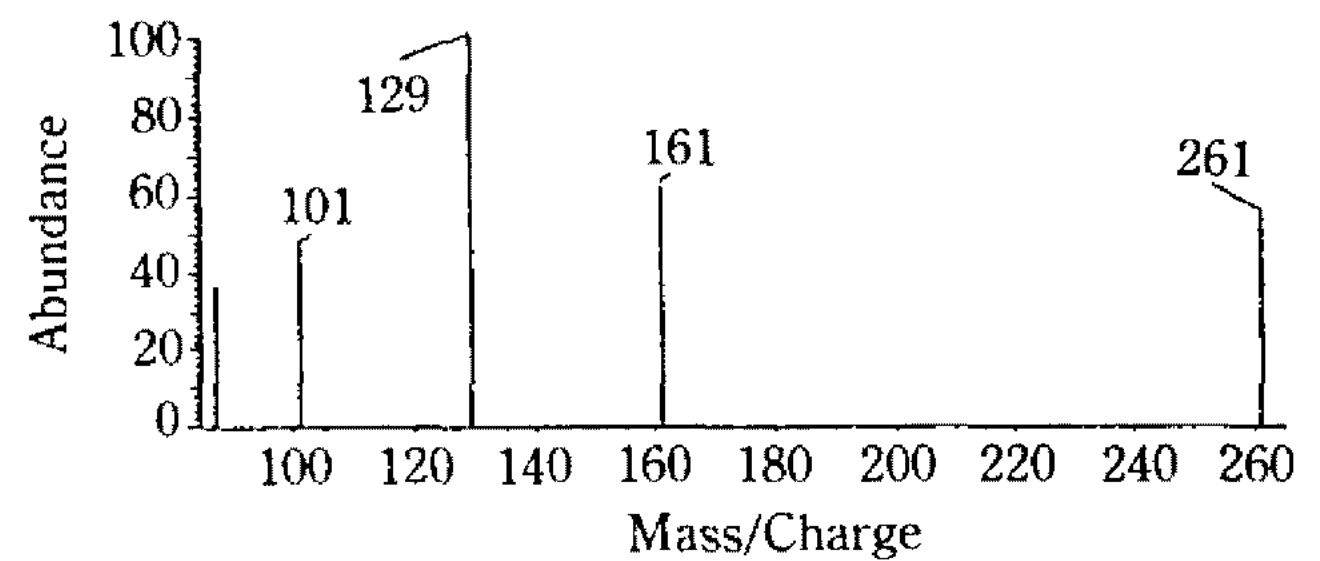
2,3,5-Xyl = 1,4-Di-O-acetyl-2,3,5-Tri-O-methyl xylitol, 2,3,6-Man = 1,4,5-Tri-O-acetyl-2,3,6-Tri-O-methyl mannitol, 2,6-Man = 1,3,4,5-Tetra-O-acetyl-2,6-Di-O-methyl mannitol.



Scan 25.70 min. of G.L.C. data



Scan 26.15 min. of G.L.C. data



Scan 27.22 min. of G.L.C. data

Fig. 7. Mass spectra of the methylated, hydrolysed, reduced and acetylated polysaccharide fraction AS-1 obtained from *G. lucidum* IY 009.

Table 5. GC-MS of the methylated alditol acetates derived AS-1 of *G. lucidum* IY 009 and sugar linkage of AS-1

Retention ^{a)} time(min)	Mass fragment	Position of ^{b)} methylation	Sugar linkage	Molar ratio
25.70	59,75,87,101,129,161,175	2,3,5-Xyl	[Xyl]1→	1
26.15	45,117,161,233	2,3,6-Man	→1[Man]4→	2
27.22	45,87,101,129,161,189,261	2,6-Man	→1[Man] ₄ ³ →	1

^{a)}Column; HP OV 101(0.2 mm×25 m, most nonpolar, dimethylsilicone) capillary column, Column temperature; 100°C-240°C gradient, Rate 4°C/min, Initial time; 1 min, Final time; 10 min, Injector temperature; 250°C, Detector temperature; 250°C, He flow rate; 14.4-15.2 ml/min(2 kg/cm²), H₂ flow rate; 2 kg/cm², O₂ flow rate; 3 kg/cm²

^{b)}2,3,5-Xyl=1,4-Di-O-acetyl-2,3,5-Tri-O-methyl xylitol, 2,3,6-Man=1,4,5-Tri-O-acetyl-2,3,6-Tri-O-methyl mannitol, 2,6-Man=1,3,4,5-Tetra-O-acetyl-2,6-Di-O-methyl mannitol.

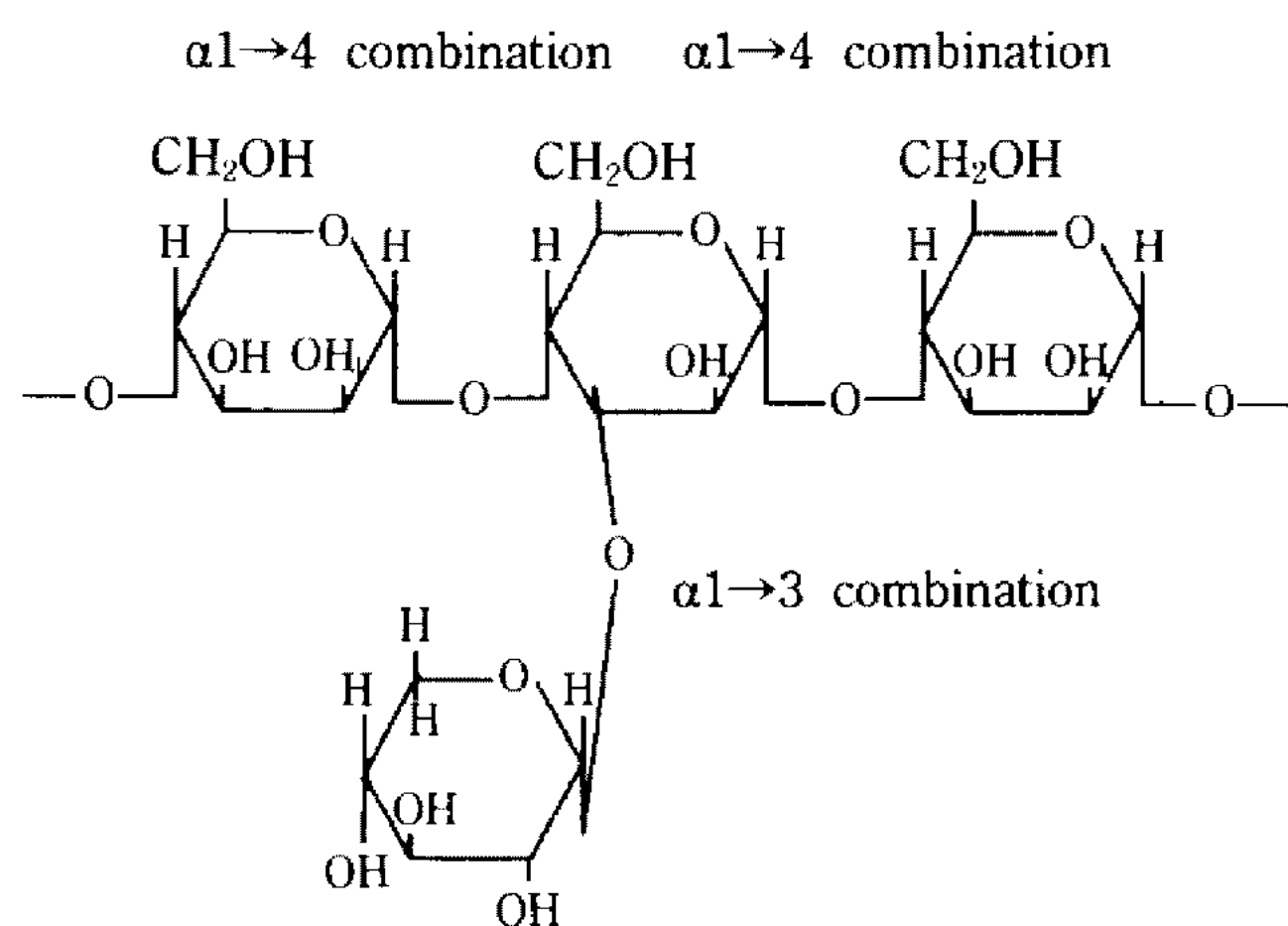


Fig. 8. Possible repeating units of polysaccharide fraction AS-1 obtained from *G. lucidum* IY 009.

G. lucidum IY 009 다당 분획, AS-1의 당 linkage 분석

AS-1의 당 linkage를 분석하기 위해 10 mg을 methylation, hydrolysis, reduction 및 acetylation시켜 G.L.C.로 분석한 결과, Fig. 6에서와 같이 AS-1의 주요 methylated alditol acetate의 G.L.C. peak는 retention time 25.70분, 26.15분 및 27.22분에서 나타났으며, 이들의 molar ratio는 대략 1 : 2 : 1였다. Retention time 25.70분 peak의 mass fragment는 59, 75, 101, 115, 129, 155, 175이고, 26.15분 peak의 mass fragment는 71, 87, 117, 129, 161, 173, 189, 233였으며, 27.22분 peak의 mass fragment는 101, 129, 161, 261로 나타났다(Fig. 7). 각 peak의 mass fragment를 standard methylated alditol acetate의 mass fragment와 비교한 결과, 이들이 각각 1,4-Di-O-acetyl-2,3,5-Tri-O-methylxylitol, 1,4,5-Tri-O-acetyl-2,3,6-Tri-O-methylmannitol 및 1,3,4,5-Tetra-O-acetyl-2,6-Di-O-methylmannitol로 확인되었고(Table 5), 이들의 molar ratio는 대략 1 : 2 : 1였으므로, AS-1의 core portion은 (1

→4)linked mannopyranosyl unit로 매 3개의 (1→4) linked mannopyranosyl residue마다 1개의 xylopyranosyl residue가 mannopyranosyl residue와 (1→3) 결합을 하고 있는 structural unit를 가진 xylomannan으로 추정되었으며(Fig. 8), structural unit의 분자량이 618이고 AS-1의 분자량이 580,000이므로 중합도는 약 835였다.

요 약

Ganoderma lucidum IY 009로부터 얻어진 조다당 분획, AS분획 0.2 g을 물에 녹여 DEAE cellulose(OH⁻ form)로 충전된 column에서 물, 0.1 M NaHCO₃, 0.3 M NaHCO₃, 0.5 M NaHCO₃ 및 0.5 N NaOH등으로 차례로 용출시켜 AS-1분획, AS-2분획, AS-3분획, AS-4분획 및 AS-5분획을 각각 얻었다. AS-1, AS-2, AS-3, AS-4 및 AS-5의 sarcoma 180에 대한 암저지활성은 각각 97.5%, 68.0%, 73.0%, 81.0% 및 66.0%로 몰로 용출된 중성다당 분획인 AS-1가 가장 우수하였다. AS-1분획은 Sepharose CL-4B column에서 용출시켰을 때 단일 peak를 보였으며, 분자량은 약 580,000 dalton이었다. AS-1분획의 당 함량은 98.9%로 mannose 67.5%, xylose 22.5%, glucose 5.8%, galactose 1.8% 및 ribose 2.4%로 구성되어 있으며, I.R. spectrum 864.3 cm⁻¹에서 흡수파장이 나타나 α-xylomannan이라고 생각되었다.

AS-1의 주요 methylated alditol acetate는 1,4-Di-O-acetyl-2,3,5-Tri-O-methyl-xylitol, 1,4,5-Tri-O-acetyl-2,3,6-Tri-O-methylmannitol 및 1,3,4,5-Tetra-O-acetyl-2,6-Di-O-methylmannitol로 확인되었고, molar ratio는 대략 1 : 2 : 1였으므로, AS-1의 core portion은 (1→4)linked mannopyranosyl unit로 매 3개의(1→4)linked mannopyranosyl residue마다 1개의 xylopyranosyl residue가 mannopyranosyl residue와 (1

→3)결합을 하고 있는 structural unit를 가진 xylomanan으로 추정되었으며, structural unit의 중합도는 약 835였다.

참고문헌

1. 久保道德. 1986. 靈芝. Pp. 9-13. 김병각, 조필형 역. 명옥출판사.
2. Kohda, H., W. Tokumoto, K. Sakamoto, S. Ishihara and M. Uchida. 1985. The biologically active constituents of *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karst. Histamine release-inhibitory triterpenes. *Chem. Pharm. Bull.* **33**: 1367-1374.
3. Toth, J.O., B. Luu and G. Ourisson. 1983. Les acides ganoderques T and Z: Triterpens cytoxiques de *Ganoderma lucidum*(Polyporacea). *Tetrahedron Lett.* **24**: 1081-1084.
4. Morigiwa, A., K. Kitabatake, Y. Fujimoto and N. Ikekawa. 1986. Angiotensin converting enzyme-inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* **34**: 3025-3028.
5. Komoda, Y., M. Shimizu, Y. Sonda and Y. Sato. 1989. Ganoderic acid and its derivatives as cholesterol synthesis inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 531-533.
6. 久保 道德, 松田 秀秋, 谿 忠人, 有地 滋. 1980. 靈芝(*Ganoderma lucidum*, 子實體)의 研究. 만넨타케 熱水抽出エキ스의 實驗高脂血症對作用 基礎と 臨床 **14**: 2455-2460.
7. 木村 善行, 有地 滋, 高橋 猛. 1984. 靈芝(*Ganoderma lucidum*, 子實體)의 過酸化 脂 質形成 抑制作用. 基礎と 臨床について **18**: 2071-2074.
8. Shimizu, A., T. Yano, Y. Saito and Y. Inada. 1985. Isolation of an inhibitors platelet aggregation from a fungus, *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* **33**: 3012-3015.
9. Kanmatsuse, K., N. Kajiwara, K. Hayashi, S. Shimogaichi, I. Fukinbara, H. Ishihawa and T. Tamura. 1985. Studies on *Ganoderma lucidum*. 1. Efficacy against hypertension and side effects. *Yakugaku Zasshi* **105**: 942-947.
10. 이권행, 정훈, 김영일, 김병각. 1990. 산업폐자원을 이용한 발효에 의한 영지의 항고혈압 성분의 생산. 한국균학회지 **19**: 79-84.
11. 木村 善行, 有地 滋, 高橋 猛. 1983. 靈芝의 糖代謝に及ぼす 影響. 基礎と 臨床 **17**. 1 **64**: 2127-2130.
12. Hikono, H., M. Ishiyama, Y. Suzuki and C. Konno. 1989. Mechanisms of hypoglycemic activity of Ganoderan B, a glycan of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Medica.* **55**: 423-428.
13. Kim, B.K., H.S. Chung, K.S. Chung and M.S. Yang. 1980. Studies on the antineoplastic components of korea basidiomycetes. *Kor. J. Mycol.* **8**: 107-114.
14. Miyazaki, T. and M. Nishijima. 1981. Studies on fungal polysaccharides, XXVII. Structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* **29**: 3611-3616.
15. Sone, Y., R. Okuda, N. Wada, E. Kishida and A. Misaki. 1985. Structure and antitumor activities of the polysaccharide of *Grifora umbellata*. *Agric. Biol. Chem.* **49**: 2641-2653.
16. Lee, Kweon-Haeng, June-Woo Lee, Man-Deuk Han, Hoon Jeong, Young-Il Kim and Doo-Hwan Oh. 1994. Correlation between anticomplementary and antitumor activity of the crude polysaccharide from *Ganoderma lucidum* IY 009. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **22**: 45-51.
17. Lee, Kweon-Haeng, Chong-Ock Lee, June-Woo Lee, Hoon Jeong, Man-Deuk Han, June-Ho Jeong and Doo-Hwan Oh. 1994. Pharmacological, toxicological studies of antitumor polysaccharides obtained from *Ganoderma lucidum* IY 009. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **22**: 182-189.
18. Duboise, M, K, A, Gilles, J, K, Hamilton, P, A, Rebers and F, Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 350-356.
19. Chaplin, M.F and J.F. Kennedy. 1986. Carbohydrate analysis, Pp. 55. IRL Press, Oxford, Washington DC.
20. Miyazaki, T. and N. Oikawa. 1973. Studies on fungal polysaccharide, XII. Water-soluble polysaccharide of *Grifora umbellata*. *Chem. Pharm. Bull.* **21**: 2545-2548.
21. Miyazaki, T., N. Oikawa, H. Yamada and T. Yadomae. 1978. Structural examination of antitumor, water-soluble glucans from *Grifora umbellata* by use of four types of glucanase. *Carbohydr. Res.* **65**: 235-243.
22. Ohno, N., Y. Adachi and T. Yadomae. 1988. Conformations of fungal β -D-glucans in the fruit body of edible fungi assessed by cross polarization-magic angle spinning carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.* **36**: 1198-1204.

(Received July 12, 1993)