大韓方劑學會誌 : 제8권 1호
KOMP Vol. 8. No. 1. 2000.

상황버섯으로부터 분리한 고분자 다당류의 특성

이은숙*, 서부일**

(*경산대학교 한의예과, **경산대학교 본초학교실)

ABSTRACT

Characteristics of the Polysaccharide extracted from *Phellinus linteus*

Eun-Sook, Lee*., Bu-il, Seo**.

Department of preparatory oriental medicine, Kyungsan university.

Department of herbology, College of oriental medicine, Kyungsan university.

To examine the chemical properties of the polysaccharide from *Phellinus linteus*, we obtained the polysaccharide treated by the alkali and hot water. The carbohydrate and protein contents of each polysaccharide was 81.1%, 37.4% and 6.2%, 21.8%, respectively. The carbohydrate consisted of six monosaccharides and the protein contained 16 amino acids.

*Key Word: 상황버섯, Polysaccharide, *Phellinus linteus*

Ⅰ. 서 론

상황버섯은 다공균과(Polyporaceae)에 속하

말한다. 상황은 중약대사전에 柳, 桑, 楮 및 楡의 樹幹에 자생하는 버섯이라 하여 桑臣, 桑黃姑, 姑弧眼 등의 이명을 가지고 있으며, 학명은 *Phellinus linteus* (Berk, et Curt) Aoshima.라고 불린다. 상황버섯은 뽕나무의 그루터기에 자생하는 노란색의 버섯으로 그 모양은 초기에는 노란 진흙덩이가 뭉친 것 같은 형태를 유지하다가 다 자란 후의 형태는 그루터기에 혓바닥을 내민 모습이어서 樹舌이라고도 한다. 혓바닥 같은 형태의 윗부분이 상황의 품종에 따라 약간의 차이는 나지만 진흙과 같은 색깔을 나타내기도 하고, 감나무의 표피와 같이 검게 갈라진 모습 등으로 나타나기도 한다. 담자균류의 약리활성에 관한 연구는 1957년도 Lucas 등이 그물버섯 열수 추출물이 sarcoma 180 고형암에 대한 저해활성능이 있다고 보고한 이래 많은 연구가 이루어지고 있으며, 이후 약리활성 본태가 β-glucan 임이 규명됐다[1]. 담자균류에 대한 본격적인 연구는 1969년 Chihara 등이 일본 및 아시아지역에서 종양에 유효한 민간약인 한방약에 기초하여 *Phellinus linteus, Coriolus hirsutus, Ganoderma lucidum, Ganoderma applanatum* 등의 열수 추출물을 이용하여 sarcoma 180 고형암에 대한 흥미로운 결과를 얻었다 [2]. 본 실험에서는 상황버섯 자실체를 열수와 알카리 추출하여 이들의 이화학적 특성을 알아보고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 사용버섯

본 실험에 사용된 버섯은 시중에 유통되어 있는 상황버섯 자실체를 구입하여 사용하였으며, 이를 세절하여 열수 및 알칼리 추출에 이용하였다.

2. 시약

총당 정량을 위한 sulfuric acid 및 phenol은 Sigma(USA, ST), 단백질 정량은 BCA(Bicinchoninic Acid) 단백질 정량 Kit를 (Pierce Co.)를 사용하였다. 이외의 모든 시약은 특급 또는 일급품 이상의 것을 사용하였다.

3. 고분자 다당류의 제조

버섯 자실체를 1×2㎝의 크기로 세절하여 10배(w/v, %)의 물을 가해 121℃에서 30분 동안 3회 반복 추출하고, 75㎛의 체로 여과한 여액을 모아 1/4량으로 농축하였다. 농축물에 3배량의 에탄올을 가해 24시간 동안 방치한 다음 원심분리를 실시하였다 (PL-H). 알칼리 추출을 위해서는 세절한 자실체에 최종 2N이 되게 NaOH를 가하여 24시간 동안 방치한 후, 중화하고 원심분리하여 얻은 상등액에 ethanol 3배량을 가하여 24시간 동안 방치한 다음 원심분리하여 침전물을 얻었다 (PL-A). 이후 각각의 추출물은 투석과정을 거쳐 동결건조하여 다당류를 얻어 실험에 이용하였다(Fig. 1).

4. 당 및 단백질의 정량

당의 함량은 phenol-sulfuric acid 법[3]으로 측정하였으며, 단백질 함량은 BCA단백질 정량 시약을 사용하여 측정하였다[4].

5. 구성당의 분석

구성당을 분석하기 위해 각 시료 10㎎을 0.1N HCl에 용해시켜 질소를 충진시킨후, 100℃에서 5시간동안 가수분해시켰다. 여기에 3배량의 ethanol을 가해 4℃에서 하룻밤 방치한 후 원심분리하여 얻은 상등액을 동결건조하였다. 이것을 1㎖의 pyridine에 용해시키고 0.2㎖의 hexamethyl disilazane과 0.1㎖의

trimethyl chlorosilane을 가하고 80℃에서 30분간 반응시켰다. 반응액 중의 당은 GLC(Shimadzu GL 9A)를 이용하여 분석하였으며, 분석조건은 다음과 같다. Column;3% OV-17(80~100 mesh Shimalite) 3㎜(D) × 2m(L) boronsilicate glass column, Column temperature; 150℃~180℃ gradient, Detector temperature; 190℃, Flow rate; N_2-50㎖/min, H_2-60㎖/min, air 60㎖/min, Attenuation; $10^2 \times 2^1$ a.f.s.

6. 구성 아미노산의 분석

시료중의 아미노산은 Beckman system 6300 amino acid analyzer를 이용하여 분석하였다. 각 시료 4㎎을 1㎖의 6N HCl에 용해시켜, 질소를 충진한 후 밀봉하여 110℃에서 24시간 동안 가수분해시킨 후 여과하여 침전을 제거하고 감압농축하여 건조된 시료를 0.08M sodium citrate와 0.2N HCl이 함유된 완충용액 2㎖에 용해시켜 이중 50㎕를 아래의 조건에서 분석하였다. Column; Beckman 2.6㎜ D×200㎜ L, ion exchange resin No. 338076, Flow rate; buffer solution 0.33㎖/min, ninhydrin 0.17㎖/min, Analysis cycle time; 60min, Column pressure; 147㎏/㎠, Ninhydrin pressure; 7㎏/㎠, Column temperature; 50℃~70℃ gradient, N_2 pressure; 2.8㎏/㎠, Reaction bath temperature; 130℃, Wavelength; 440㎚, 540㎚, Detector; tungsten.

Ⅲ. 결 과

1. 조다당류의 수율 및 성분

상황버섯 자실체로부터 얻은 고분자와 저분자 분획의 수율과 화학적 조성을 알아본 결과는 Table 1과 같다. 상황자실체를 세절하여 10배의 물을 가해 121℃에서 30분동안 열수 추출물 및 알칼리 추출물에 대한 다당류의 수율은 각각 1.06% 및 4.4%로 알칼리 추출시에 높은 수율을 나타내었다. 열수와 알칼리 추출물 분획의 총당 함량은 각각 81.1%와 37.4%이었고, 단백질은 6.2%와 21.8%로 조사되었다.

2. 구성당의 분석

상황버섯 자실체로부터 분리한 고분자 다당류들의 구성당 분석결과는 Table 2와 같다. 단당성분은 glucose와 galactose가 주를 이루고 있으며, xylose, ribose 및 frustose 등으로 구성되어 여러 가지 당이 결합된 구조를 이루는 다당류임을 알 수 있었다. 특히 열수와 알칼리 추출 분획 모두에서 galactose의 함량이 높게 나타나는 것으로 조사되었다.

3. 구성 아미노산의 분석

상황버섯 자실체로부터 분리한 고분자 다당류의 구성당 분석결과는 Table 3에 나타낸 바와 같이 16여종의 아미노산으로 구성되어 있었다. 열수 추출 다당류에서는 Ser이 19.1%, 알칼리 추출 분획에서는 Asp, Gly 및 Glu 등과 중성 아미노산인 Ala 등을 많이 함유하고 있었으며, 일반적인 담자균류의 아미노산 조성과 유사한 경향을 나타내었다[5].

Ⅳ. 고 찰

상황에 관한 연구는 항암활성 및 면역증강 효과를 나타내는 성분을 함유하고 있는 것으로 보고가 되어왔으나 [6-8], 구조적 특징과 관련하여 연구된 결과는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 상황버섯 자실체의 열수 및 알칼리 추출에 의해 얻어진 다당류의 이화학적 및 구조적 특성에 따른 약리학적 효과를 비교하고자 행한 실험이다. 상황 자실체 추출시 알칼리 처리시에 열수 추출시보다 약 4배정도의 수율증가가 관찰되었다. 이것은 일반적으로 담자균류가 chitin질 및 다당류에 의해

구성되어 있어[9], 열수에 의해 추출이 안되는 부분까지도 추출되는 결과로 설명할 수 있으며, 당과 단백질 함량을 측정하였을 때 59.2%를 함유하고 있는 것으로 조사되어 (Table 1), 버섯의 결합력에 관계하고 있는 당 유도체들이 많이 존재하고 있는 것으로 추정된다. 상황버섯 추출물은 6종이상의 단당으로 구성된 heteropolymer인 것을 확인 할 수 있었고, 일반적인 담자균류들이 glucose로 구성된데 반하여 특징적으로 galactose와 ribose를 상당량 함유하고 있는 것으로 조사되었다(Table 2). 아미노산 분석 결과 산성 아미노산인 Asp와 Gly, 중성 아미노산인 Ala를 다량 함유하고 있었으며, 일반적인 담자균류에서 나타낼 수 있는 아미노산의 조성을 갖고 있었다[5]. 일반적으로 당과 단백질의 결합양식은 *O*-glucosidic과 *N*-glucosidic 결합을 하고 있는 것으로 알려졌다[9]. *O*-glucosidic 결합은 peptide 쇄중의 Ser과 Thr 등과 같은 hydroxyamino acid의 수산기가 개입하여 glucosidic chain과 결합을 이루며, 이 결합은 알칼리 처리에 의해 β위 탈이에 의해 절단된다. 본 연구의 결과에서도 온화한 추출방법인 열수 처리시에는 7% 내외로 상대적으로 낮게 함유하고 있는 것으로 조사되어 이들 단백결합 다당류는 *O*-glucosidic 결합력을 이루고 있는 것으로 추정된다.

V. 요약

상황버섯 자실체의 열수 및 알칼리 추출 다당류에 대한 성분 분석을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 상황버섯 자실체를 열수 및 알칼리 추출시 수율은 각각 1.1%와 4.4% 였으며, 당은 각각 81.1%와 37.4%를 함유하고 있었다.

2. 구성당은 glucose와 galactose가 주를 이루고, 아미노산은 열수 추출분획은 Tre와 Ser을 다량 함유하고 있었으며, 알칼리 추출분획은 Asp와 Ala가 주를 이루는 것으로 조사되었다.

< 參考文獻 >

1. Lucas, E. H., R. L Ringler, R. U. Byerrum, J. A. Stevenes, D. A. Clarke, and C. C. Stock; Tumor inhibitors in Boletusedulis and other holobasidomycetes, *Antibiotics and Chemotheraphy*, Ⅶ, 1-4(1957).
2. Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F.: Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharide from *Lentinus edodus*, *Nature*. 222, 687~688 (1969).
3. Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Robers and F. Smith: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal, Biochem.*, 28, 350~356(1956).
4. Smith, P. K., R. I. Krohn, G. T. Hermanson, A. K. Mallia, F. H. Gartner. M. D. Provenzano, E. K. Fujimoto, N. M. Goeke, B. J. Olson and D. C. Klenk: Measurement of protein using bicinchoninic acid, *Anal. Biochem.* 150, 76~85(1985).
5. Flegg, P. B., D. M. Spencer and D. A. Wood: The biology and technology of the Cultivated mushroom, *Jone wiley and Sons*. pp. 211~230(1985).
6. IKeka, J., Nakamishi, M., Uehara, n., Chihara, G. and Fukuoka, F.: Antitumor action of some Basidiomycetes especially *Phellinus linteus*, *Gann*, 59, 155~157(1968).

7. Lee,J.H., Cho, S.M., Song, K.S., Han, S. B., Kim, H.M., Hong, N.D. and Yoo, I. D.: immunostimulation activity and characterization of polysaccharide from mycelium of *Phellinus linteus*. J. Microbiol. and Biotech. 6(3), 213~218(1996).
8. Chung, K.S., Kim, S.S., Kim, H.S., Han, M.W. and Kim, B.K. : Antitumor activity of Kp, a protein-polysaccharide from the mycelium culture of *Phellinus linteus*. *Yakhak Hoeji*, 38(2), 158~165(1994).
9. Griffin, D. H. : Fungal physiology, Wiley -Liss, New York, 23-62(1993)
10. Jeong, H., Lee, J.W. and Lee, K.H.: Studies on the anticomplementary activity of Korean higher fungi, *Kor. J. Mycol*, 18(3), 145~148(1990)

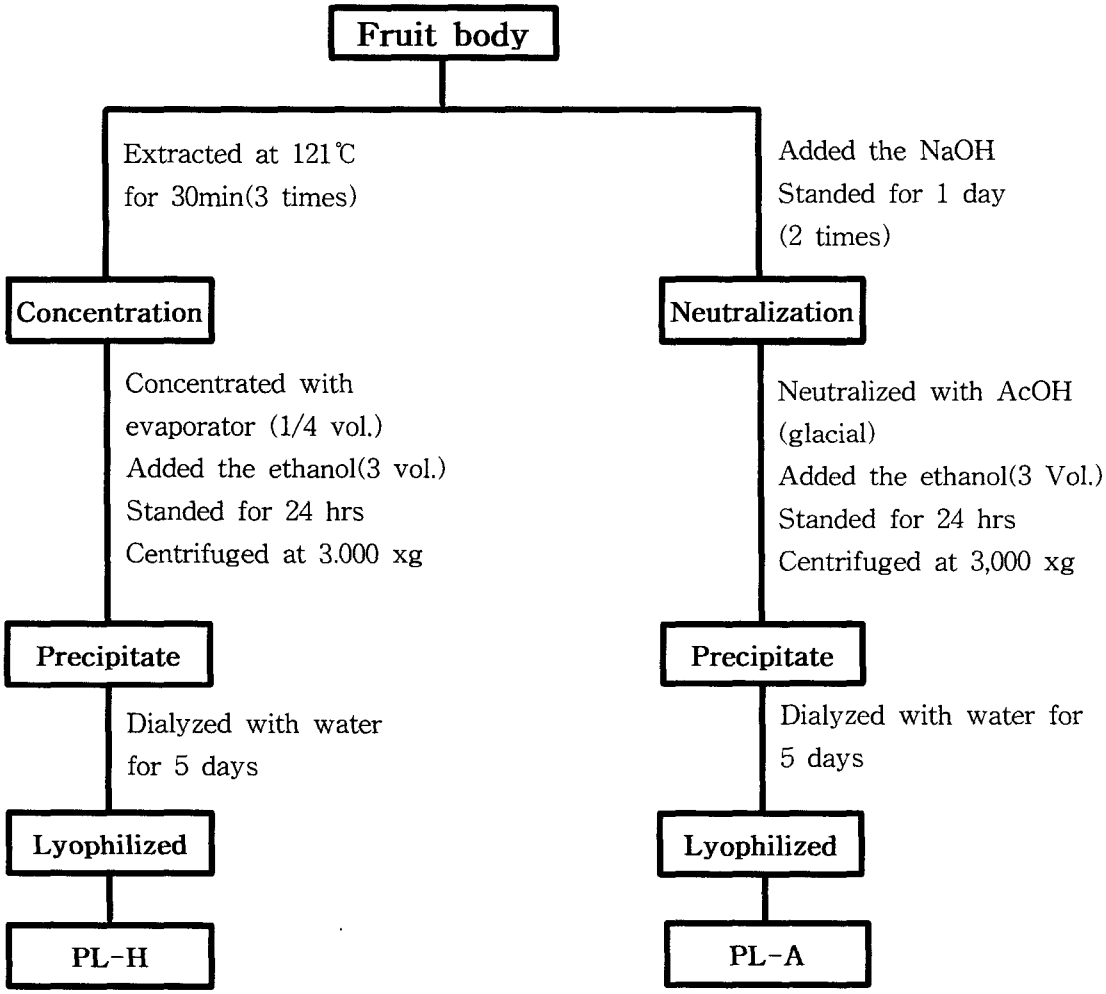

Fig. 1. Procedure for the hot water and alkali extraction of *Phellinus linteus* fruit body.

Table 1. The yield, content of total carbohydrate and protein of polysaccharide extracted from *Phellinus linteus* fruit body.

Fraction	Yield(%)	Total carbohydrate(%)	Protein(%)
PL-H	1.1	81.1	6.2
PL-A	4.4	37.4	21.8

Table 2. Monosaccharide composition of polysaccharide extracted from *Phellinus linteus* fruit body.

Monosaccharide	PL-H	PL-A
Rib	7.3	8.2
Xyl	16.1	20.0
Fru	6.8	7.1
Man	6.3	12.7
Gal	45.6	22.7
α-Glu	13.9	17.3
β-Glu	4.0	12.0

Table 3. Amino acids composition of the polysaccharide extracted from *Phellinus linteus* ftuit body.

Amino acid	PL-H	PL-A
Asp	11.2	13.5
Tre	10.1	7.4
Ser	19.1	7.1
Glu	6.8	6.9
Pro	6.8	5.6
Gly	10.1	6.8
Ala	13.0	10.0
Val	6.7	7.9
Met	0.6	0.8
Ile	3.9	5.0
Leu	5.1	9.6
Tyr	1.1	2.3
Phe	0.6	3.5
His	5.1	3.7
Lys	3.9	6.6
Arg	2.8	3.1