Korean Journal of Life Science
Vol. 10 No. 6. 617~620, 2000

능이버섯에서의 lanosterol과 ergosterol의 확인

김종봉* · 박홍덕

대구가톨릭대학교 생물학과

Identification of Lanosterol and Ergosterol in *Sarcodon aspratus* Berk. (S. Ito)

Jong Bong Kim* and Hong Duok Park

Dept. of Biology, Catholic University of Daegu, Kyongbuk 712-702, Korea

Abstract

Methanol extract of *Sarcodon aspratus* Berk. (S. Ito) was analyzed by thin layer chromatography, gas chromatography and mass spectrophotometer. Nine fractions from primary methanol extract were observed by TLC. Six fractions were observed by the second TLC analysis of the second and the third fractions. 27,28-dihydrolanosterol($C_{30}H_{52}O$), ergost-7-en-3-ol($C_{28}H_{48}O$) were identified from two fractions of the second TLC analysis by mass spectrophotometer. The molecular weights of 27,28-dihydrolanosterol and ergost-7-en-3-ol were 413 and 400 respectively.

Key Words – *Sarcodon aspratus*, lanosterol, ergosterol, mass spectrophotometer, methanol extract

서 론

근래 버섯에서 항암성, 항균성, cholesterol저하, 고혈압 치료, 면역강화 등 다양한 약리기능물질들이 발견됨에 따라 버섯의 성분 분석에 대한 연구들이 활발하게 이루어지고 있다[6,7]. 한국에서 자생하고 있는 992여종의 버섯 중[13], 능이는 민무늬주름버섯목, 굴뚝버섯과에 속하며 9~10월초에 걸쳐 주로 활엽수림에서 자생하고 있는 버섯으로 식용과 약용으로 같이 사용하던 버섯이다. 민간과 한방에서는 고기를 먹고 체했을 때 이를 복용하여 왔다. 이러한 능이의 약리적 특성과 관련하여 많은 연구가 이루어져 Lee[10]는 능이버섯 중에 다량의 단백질 가수분해효소가 함유되어 있음을 밝혀내었다. Eun 등[4]은 능이버섯 중에 함유된 단백질 소화 활성이 다른 수종의 식용버섯에 비하여 월등하게 강하고, 그 특성은 alkaline protease임을 확인하였다. Park[16]은 능이버섯에서 효소분획을 추출한 후 casein을 위시하여 수종의 식품단백질에 대한 가수분해실험을 시행한 결과, 여러 기질에 대해 표준 pepsin과 거의 동일한 역가를 나타내었다고 보고하였다. 또 Yang 등[19]은 proteolytic enzyme의 안정성과 순수분리에 관한 연구를, Eun 등[5]은 아미노산배열을, Ryu[18]와 Kim[7]은 serine protease의 특성을 연구하였다. 그 밖에 복수암세포에 우수한 항암효과가 있음이 밝혀졌으며[11] 또한 식물병원성진균에 항진균효과[12] 및 항돌연변이효과[6]가 있음이 밝혀졌다. 그러나 그 이외의 특성에 관한 것으로는 아미노산과 무기염류구성 등에 관한 보고[14,15]와 최근 암세포의 괴사물질인 TNF-α를 유도 생성케 하고 fucogalactan을 확인한 연구[11] 뿐이다. 본 연구에서는 능이버섯에서도 이외에 다양한 생리 혹은 약리활성물질들이 함유되어 있을

*To whom all correspondence should be addressed
Tel (053)850-3775
E-mail : jbkim@cuth.cataegu.ac.kr

것으로 보고 이를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

능이는 전북 진안의 농가에서 구입하여 충분히 건조시킨 것을 motor로 완전히 갈아 재료로 하였다. 100% methanol을 시료의 3-4배가 되게 넣고 3-4시간 60℃로 가열하여 끓인 후 여과지로 여과하였다. Methanol로 추출한 용액을 rotary evaporator를 이용하여 농축시킨 다음 분획하였다.

분획

능이농축액에 대하여 ethyl ether, ethyl acetate, butanol 분획을 하였고, 이 중 ethyl ether 분획물을 농축하여 thin layer chromatography(TLC)분석을 실시하였다. 분획깔때기에 능이의 methanol 추출액과 ethyl ether를 가하고 충분히 혼합하여 상층의 ethyl ether와 하층의 methanol층으로 분획하였다. 상층의 ethyl ether에 대하여 흡착력을 높이기 위하여 Na_2SO_4를 미리 넣고 이를 농축하여 일차 TLC 분석재료로 하였다.

TLC분석

Silica gel을 흡착제로 한 유리판을 이용하여 TLC분석을 하였다. Chloroform과 methanol의 비를 5:1로 하여 TLC chamber에 넣은 다음 silica gel을 입힌 유리판에 ethyl ether 농축액을 모세관으로 spot하였다. 유리관을 TLC chamber에 넣고 용매가 다 올라가면 이를 꺼내 hexane과 ethylacetate를 2:1로 넣은 TLC chamber에 넣었다. 이를 꺼내어 황산으로 발색하여 관찰하였다. 2차 TLC분석은 1차 분석에서 분획이 뚜렷하게 이루어진 2번과 3번 분획을 추출하여 같은 방법으로 다시 분획하였다. 또한 2차 TLC분석에서 2-2 와 2-4 분획에 대하여 gas chromatography 와 mass spectrophotometer 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

Fig. 1에서와 같이 능이의 methanol 추출한 성분을 1차 TLC로 분석한 결과, 9가지의 분획으로 나뉘어졌고 이 중 band의 수가 많은 2와 3의 분획에 대한 2차 TLC분석을 한 결과, 2분획과 3분획에서 각각 6개의 새로운 분획을 관찰할 수 있었다.

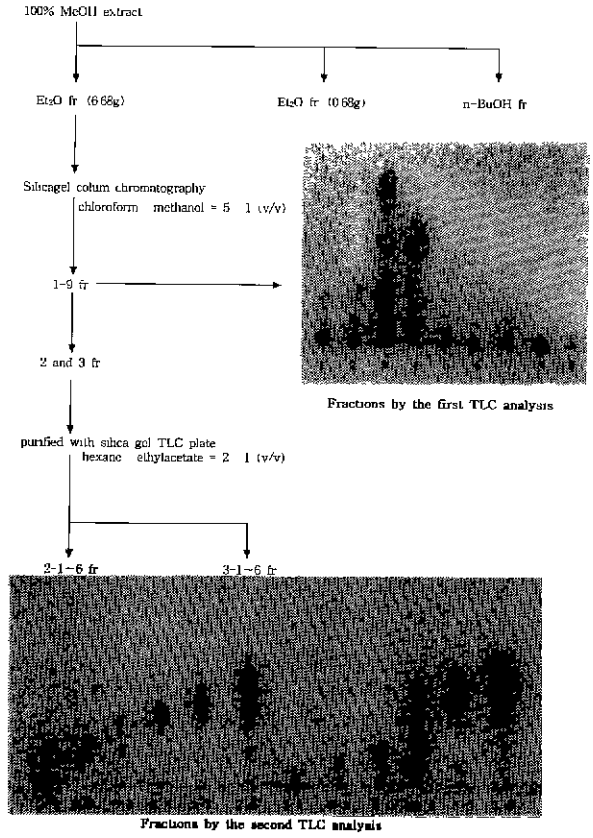

Fig. 1. Methanol extract from *Sarcodon aspratus* and fractions by thin layer chromatography.

또한 mass spectrophotometer에서 확인된 분자들로서 ergost-7-en-3-ol($C_{28}H_{48}O$)과 27,28-dihydrolanosterol($C_{30}H_{52}O$)이 확인되었고(Fig. 2 and 3), 그들의 분자량은 lanosterol이 413이고 ergosterol이 400이었다.

능이버섯의 성분 분석은 Park[14,15]에 의하여 아미노산과 mineral분석이 이루어진 것 외에는 주로 능이의 protease에 관한 연구들이다. Park에 의한 아미노산 분석결과에 의하면 유리아미노산이 21종, 산가수분해물의 전아미노산이 22종이었으며 희귀아미노산으로 ornithine, α-aminobutric acid가 확인되었다. 또한 단백질함량은 31.5%였고 다당류의 함량은 25%, 52.8%였다. mineral분석에서 Ca, Mg, Fe, Ca등 11종이 함유되어 있음이 밝혀졌다. 최근에는 능이에서 암세포의 괴사를 일으키는 TNF-α를 생성케하는 fucogalactan이라는 mitogen이 있음을 확인한 바 있다[13]. Ergosterol은 맥각, 버섯 등에서 발견되며 이들에게서 생체막의 구성성분이 된다[3]. 이들에게서 보고된 ergosterol은

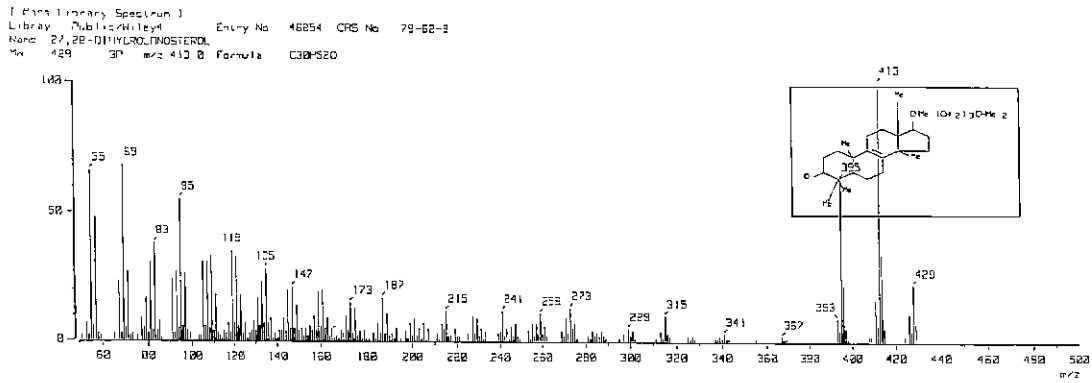

Fig. 2. Mass Spectrophotogram and molecular structure of 27,28-lanosterol.

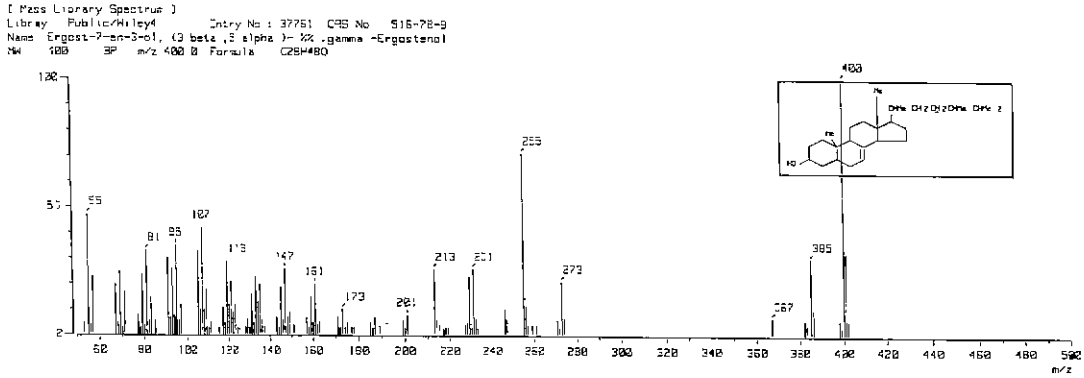

Fig. 3. Mass Spectrophotogram and molecular structure of ergost-7-en-3-ol.

분자식이 $C_{28}H_{44}O$이나 능이는 $C_{28}H_{48}O$이고 이중결합의 수나 위치 등에 차이를 나타내어 이성질체로 보여진다. Ergosterol과 lanosterol은 진균류에서 2차대사산물로 isoprenoid 대사경로를 거쳐 합성되는 것으로 밝혀졌다[3]. 따라서 능이의 경우도 같은 2차대사 산물일 것으로 추정된다. 그 외에 lanosterol은 버섯의 독소나 냄새 등의 성분합성의 전구물질이 되기 때문에 능이에서의 독특한 향기나 색소와 관련이 있을 것으로 추정된다. 또한 ergosterol은 비타민 D_2의 모체가 되는 것으로 인체의 골격, 치아, 내장의 발육에 관계하며, 칼슘과 인의 흡수를 촉진하며 골연화증의 개선, 혈당강하효과가 있고 ergosterol산화유도체 1종은 항암작용(Hella 세포증식억제작용)과 세포독성에 의한 세포증식저지효과 등이 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서 현재 능이에서 확인된 ergost-7-en-3-ol($C_{28}H_{48}O$)과 27,28-dihydrolanosterol($C_{30}H_{52}O$)에 대하여 다른 약리기능효과의 검색이 필요하다고 생각된다.

요 약

능이버섯의 methanol추출물에 대한 TLC와 gas chromatography, 그리고 mass spectrophotometer분석을 실시하였다. 1차 methanol추출물에서 9개의 분획이 관찰되었다. 1차분석에 의한 분획물 중 두번째 분획과 세번째 분획에 대한 2차 TLC분석 결과, 각각에서 6개의 분획이 관찰되었다. 2차분석물에 대한 mass spectrophotometer에 의하여 27, 28-dihydrolanosterol($C_{30}H_{52}O$)과 ergost-7-en-3-ol($C_{28}H_{48}O$)이 확인되었다. 27, 28-dihydrolanosterol($C_{30}H_{52}O$)과 ergost-7-en-3-ol($C_{28}H_{48}O$)의 분자량은 각각 413과 400이었다.

참 고 문 헌

1. Ahn, D. K. 1992. Medical fungi in Korea. *Kor. J. Mycol.* **20(2)**, 154-166.
2. Arakawa, N., H. Enomoto and H. Mukohyama. 1977. Effect of basidiomycetes on plasma cholesterol in

rats. *Eio To Shokuryo* **30(1)**, 29-39.
3. Deacon, J, W. 1997. Moden mycology(3rd Ed.), Blackwell Science Co. Ltd.
4. Eun, J. S., J. H. Yang, D. Y. Cho and T. K. Lee. 1988. Studies on fungi in Korea(I). The activity of protelytic enzyme from *Sarcodon aspratus*(Berk.) S. Ito. *J. Kor. Pharm. Sci.* **18(3)**, 125-131.
5. Eun, J. S., J. H. Yang, T. K. Lee, and D. S. Choi. 1989. N-terminal amino acid sequence and some properties of proteolytic enzyme from *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. *J. Kor. Pharm. Sci.* **18(3)**, 127.
6. Jong, S. C. and R. Donovick, R. 1989. Antitumor and antiviral substance from fungi. *Advances in Applied Microbiology* **34**, 183-262.
7. Kim, T. Y. 1996. Purification and characterization of the protease extracted from *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. M. D. Thesis. Seoul National University
8. Lee, T. K. 1986. Purification and characteristics of the alkaline protease from *Neungee* [*Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito]. M. D. Thesis. Chonbuk National University
9. Maruyama, H., K. Yamazaki, S. Murotushi, C. Konda and T. Ikewa. 1989. Antitumor activity of *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito and Ganderma lucidum(FR) KARST. *J. Pharmaco. Dyn.* **12**, 118-123.
10. Mizuno, M., Y. Shiomi, K. Minato, S. Kawakami, H. Ashida and H. Tsuchida. 2000. Fucogalactan isolated from *Sarcodon aspratus* elicits release of tumor necrosis factor-α and nitric oxid from murine macrophages. *Immunopharmacology* **46**, 113-121.
11. Park, W. H. 1983. Studies on the components of *Sarcodon aspratus* (I). *Kor. J. Mycol.* **11(2)**, 85-89.
12. Park, W. H. 1983. Studies on the components of *Sarcodon aspratus* (II). *Kor. J. Mycol.* **11(4)**, 159-162.
13. Park, W. H. 1986. Studies on enzymes of higher fungi of Korea (I). - Identification of protease in *Sarcodon aspratus*. *Kor. J. Mycol.* **14(1)**, 25-30.
14. Park, W. H. and H. D. Lee. 1999. Illustrated book of Korean medical mushrooms. Kyo-Hak Publishing Co. Ltd.
15. Ryu, K. S. 1989. Characterization of a serine protease from *Sarcodon aspratus*. M. D. Thesis. Chonbuk National University
16. Yang, Z. H., J. S. Eun and J. D. Her. 1989. Studies on higher fungi in Korea (VI) - Studies on proteolitic enzyme preparation using *Sarcodon aspratus* extract. *J. Kor. Pharm. Sci.* **19(4)**, 203-212.