

암갈색그물버섯(*Boletus umbriniporus*)에서 분리한 indole alkaloid

이윤주 · 황병순 · 송자경 · 김대원 · 우이음 · 이인경 · 윤봉식*

전북대학교 생명공학부

An Indole Alkaloid from the Fruiting Body of *Boletus umbriniporus*

Yoon-Ju Lee, Byung-Soon Hwang, Ja-Gyeong Song, Dae-Won Kim, E-Eum Woo, In-Kyoung Lee and Bong-Sik Yun*

Division of Biotechnology, Chonbuk National University, 79 Gobong-ro, Iksan 570-752, Korea

ABSTRACT : Mushrooms are valued as a nutritional food and also as an important source of useful medicinal components. They produce various secondary metabolites which have interesting biological activities and unique chemical structures. As part of our ongoing investigation on chemical constituents and bioactive components of Korean native mushrooms, compound **1**, an indole alkaloid, was isolated from the fruiting body of *Boletus umbriniporus*. *B. umbriniporus* is characterized by its yellow flesh, which changes to pallid blue when exposed to air, and its chemical constituent has not been reported. Chemical structure of compound **1** was determined to be flazin on the basis of ESI-mass, ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹H-¹H COSY, HMQC, and HMBC analysis. This compound was isolated from the fruiting body of *B. umbriniporus* for the first time.

KEYWORDS : *Boletus umbriniporus*, Flazin, Indole alkaloid, Mushroom

버섯은 담자포자를 형성하는 담자균문(Basidiomycota)과 자낭포자를 형성하는 자낭균문(Ascomycota) 중에서 육안으로 관찰할 수 있는 자실체를 말하며 대부분 담자균문에 속한다. 버섯은 자연계에서 유기물질을 분해하여 순환시키는 organic recycling에 매우 중요한 분해자의 역할을 수행한다. 세계적으로 약 30,000 여종의 버섯 자원이 분포하는 것으로 추산되며, 그 중에서 10% 이상이 약용 및 식용으로 활용 가능한 것으로 알려져 있다. 우리나라의 경우

는 약 1,600여종이 분포하며, 그 중 330여종이 식용 및 약용으로 분류되고 있으나 실제적으로 이용되고 있는 버섯은 수십종을 넘지 못하고 있다. 최근 건강에 대한 관심의 고조로 소비량이 증가하여 연간 1조원에 육박하는 시장을 형성하고 있는 버섯은 국민의 건강을 위한 식소재로서 뿐만 아니라 다양한 생리활성을 지니고 있어 의약소재 발굴을 위한 바이오자원으로서의 가치가 높다. 버섯은 다당체, 알칼로이드, 페놀성 화합물, 테르펜 등 다양한 생리활성물질을 생성하며, 이들 중 인돌 알칼로이드 성분은 항염증[1], 항세균[2], 항진균[3], 항에이즈[4,5] 활성 및 콜린에스테라아제 억제 활성[6]을 나타내는 것으로 알려져 있다. 버섯을 이용하여 의약품, 건강기능식품, 향장 소재를 개발하고자 다양한 연구가 이루어지고 있음에도 불구하고 국내 자생 버섯 자원의 체계적인 활용연구는 미미한 수준에 머물러 있다. 따라서 자생 버섯 자원의 종 다양성을 확보하고, 다양한 생물학적 기능을 규명하여 고부가 바이오소재로의 개발이 요원한 실정이다.

암갈색그물버섯(*Boletus umbriniporus*)은 그물버섯과 그물버섯속에 속하는 버섯으로 갓은 지름은 4~9 cm로 반구형 또는 평반구형이며 표면은 황색 바탕에 암갈색의 작은

Kor. J. Mycol. 2015 March, 43(1): 68-70
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.1.68>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: bsyun@jbnu.ac.kr

Received February 27, 2015
 Revised March 9, 2015
 Accepted March 9, 2015

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

점들을 지니고 있다. 조직의 갓 부위는 담황색이고, 대부분은 황색으로 와인적색의 줄기가 있으며, 상처 시 청색으로 변하는 특징을 지니고 있다. 주로 여름에서 가을 사이에 메밀밭땀나무, 떡갈나무림과 상수리나무, 졸참나무림의 지상에서 군생하며 한국, 일본, 중국 등에 분포한다. 암갈색 그물버섯의 에탄올 추출물이 여러 종류의 그람음성균에 대하여 항균 활성을 나타내는 것으로 밝혀졌으나[7] 이외의 연구결과는 보고된 바 없다.

본 연구는 전라북도 무주군 덕유산 일대에서 채집한 암갈색그물버섯에서 버섯의 갈색 색소에 중요한 역할을 하는 인돌 알칼로이드 화합물을 분리하였고 다양한 분광학적 방법을 통하여 화합물의 화학구조를 규명한 것이다.

추출 및 분리

암갈색그물버섯을 메탄올로 추출하고 추출물은 감압 농축하였다. 농축한 추출물 108 g에 물을 부가한 후 hexane, chloroform, ethyl acetate를 순차적으로 부가하여 용매 분획하였다. 색깔을 띠는 ethyl acetate 층을 감압 농축하였으며, 농축한 시료 519 mg을 10~100% 메탄올을 전개용매로 역상(reversed-phase, C₁₈) Sep-pak cartridge chromatography를 실시하였다. 각 분획물을 high-performance liquid chromatography (HPLC)로 확인하여 주 분획물을 얻은 뒤 100% methanol을 전개용매로 이용하여 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하였다. 최종적으로 HPLC (C18 column, i.d. 4.6 × 150 mm, flow rate 1 mL/min)를 수행하여 retention time 16.6 분의 갈색화합물 compound 1 (3.2 mg)을 정제하였다. 분리 정제 과정을 Fig. 1에 나타내었다.

화학구조 결정

암갈색그물버섯으로부터 분리한 화합물 compound 1의 분자량을 확인하기 위하여 electron impact (EI) mass 및 electrospray ionisation (ESI) mass spectrum을 측정하였

고, 화학구조를 규명하기 위하여 dimethyl sulfoxide (DMSO)-d₆에 녹인 후 JEOL JNM-ECA600 FT-NMR spectrometer를 사용하여 ¹H NMR, ¹³C NMR 등의 1차원 NMR과 ¹H-¹H COSY, HMQC, HMBC 등의 2차원 NMR spectrum을 측정하여 해석하였다.

EI-mass spectrum을 측정한 결과 분자량이 검출되지 않았고, ESI-mass spectrum을 측정한 결과 m/z 309.0에서 [M+H]⁺ 및 m/z 306.9에서 [M-H]에 기인하는 mass 피크가 관찰되었으나 이는 매우 낮은 intensity를 나타내어 분자량을 확정할 수 없었다. 화합물 compound 1의 화학구조는 1차원 및 2차원 NMR의 측정 및 해석에 의하여 결정되었다. 즉 화합물을 DMSO-d₆에 녹여 ¹H NMR spectrum을 측정한 결과, 8.42, 7.35, 7.65, 7.83 ppm에서 네 개의 방향족 methine proton이 관찰되었고, 7.43, 6.63 ppm에서 furan moiety에 기인하는 두 개의 방향족 methine proton이 관찰되었다. 또한 8.84 ppm에서 방향족 methine proton 및 4.68 ppm에서 oxygenated methylene proton이 관찰되었다(Table 1). ¹³C NMR spectrum에서는 17개의 탄소 피크가 관찰되었다. 즉 166.5(C-1') ppm에서 carbonyl carbon, 157.3(C-5'), 151.2(C-2') ppm에서 두 개의 oxygenated sp² quaternary carbon, 128.9(C-8), 122(C-6), 120.5(C-7), 115.8(C-3), 112.8(C-9), 111.0(C-3'), 109.2(C-4') ppm에서 일곱 개의 sp² methine carbon, 141.4(C-10), 137.0(C-1), 132.5(C-2), 131.9(C-11), 129.8(C-4), 120.9(C-5) ppm에서 여섯 개의 sp² quaternary carbon, 55.9(C-6')

Table 1. ¹H and ¹³C NMR spectral data of compound 1 in DMSO-d₆

No.	δ _c	δ _H
1	137.0	
2	132.5	
3	115.8	8.84 (1H, s)
4	129.8	
5	120.9	
6	122.0	8.42 (1H, d, J = 7.34 Hz)
7	120.5	7.35 (1H, t, J = 8.25 Hz)
8	128.9	7.65 (1H, t, J = 7.34 Hz)
9	112.8	7.83 (1H, d, J = 8.25 Hz)
10	141.4	
11	131.9	
1'	166.5	
2'	151.2	
3'	111.0	7.43 (1H, d, J = 2.75 Hz)
4'	109.2	6.63 (1H, d, J = 2.75 Hz)
5'	157.3	
6'	55.9	4.68 (2H, s)
NH		11.6 (1H, s)

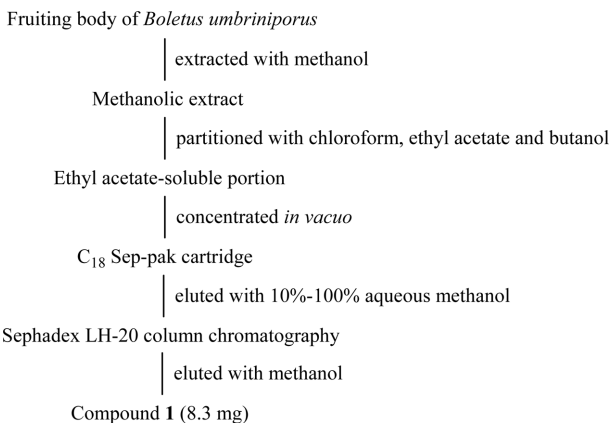


Fig. 1. Purification procedure of compound 1 from the fruiting body of *Boletus umbriniporus*.

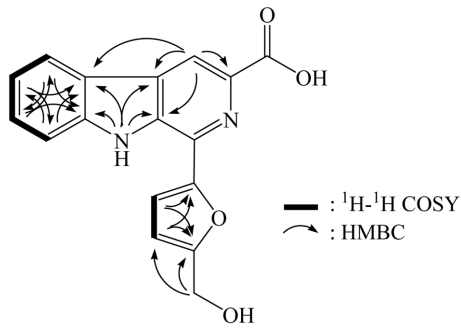


Fig. 2. Two-dimensional NMR data of compound 1.

ppm에서 한 개의 methylene carbon이 관찰되었다(Table 1). $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY spectrum을 해석한 결과 두 개의 부분구조 1,2-disubstituted benzene과 furan으로부터 유래된 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 를 결정할 수 있었다(Fig. 2). HMQC spectrum을 측정하여 해석한 결과 수소에 직접 결합하고 있는 탄소를 규명할 수 있었고, HMBC spectrum을 측정한 결과 Fig. 2와 같이 화학구조를 결정할 수 있었다. 즉 11.6 ppm의 NH proton으로부터 141.4, 131.9, 129.8, 120.9 ppm의 carbon에 long-range correlation이 관찰되어 indole 골격의 구조가 결정되었고, 8.84 ppm의 methine proton으로부터 132.5, 131.9, 129.8, 120.9 ppm의 carbon에 long-range correlation이 관찰되었다. 또한 4.68 ppm의 oxygenated methylene proton으로부터 157.3, 109.2 ppm의 탄소에 long-range correlation이 관찰되어 oxygenated methylene group이 furan ring에 결합하고 있음을 알았다. 이상의 NMR data로부터 해석된 부분구조가 기존에 분리 보고된 indole alkaloid 화합물인 flazin과 매우 유사한 특성을 나타내었다. 따라서 본 화합물의 NMR spectrum과 기존에 보고된 flazin의 NMR spectrum을 비교하였으며, 그 결과 NMR spectrum이 매우 잘 일치하여 본 화합물의 구조를 flazin으로 동정하였다[4].

암갈색그물버섯은 한국과 일본에 주로 분포하는 버섯으로 이 버섯에 관한 연구는 거의 수행되어 있지 않으며 특히 화학적 구성성분은 전혀 연구된 바 없다. 본 연구는 우리나라 자생 버섯에 함유된 화학적 구성성분을 탐색하던 중 암갈색그물버섯에서 indole alkaloid 화합물을 분리하고 mass 및 NMR 분석을 통하여 화학구조를 flazin으로 동정한 것이다. Flazin은 젓비단그물버섯(*Suillus granulatus*)으로부터 분리된 적이 있으며 약한 anti-HIV 활성을 지닌 것으로 보고된 바 있으나[8] 그 외의 다른 버섯으로부터 flazin성분이 보고된 바는 없다. 따라서 본 연구에 의하여 암

갈색그물버섯이 flazin 성분을 함유하고 있음이 처음으로 밝혀졌다.

적 요

우리나라 자생 버섯에 함유된 화학적 구성성분을 조사하던 중 암갈색그물버섯에서 indole alkaloid 화합물을 분리하고 mass 및 NMR 분석을 통하여 화학구조를 flazin으로 동정하였다. 비록 Flazin 화합물이 젓비단그물버섯에서 분리되어 보고된 적은 있으나 본 연구에 의하여 암갈색그물버섯에도 flazin 성분을 함유하고 있음이 처음으로 밝혀졌다.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the Korea Forest Service, Republic of Korea.

REFERENCES

- Chen YF, Kuo PC, Chan HH, Kuo IJ, Lin FW, Su CR, Yang ML, Li DT, Wu TS. β -carboline alkaloids from *Stellaria dichotoma* var. *lanceolata* and their anti-inflammatory activity. *J Nat Prod* 2010;73:1993-8.
- Tanaka JC, Silva CC, Oliveira AJ, Nakamura CV, Dias Filho BP. Antibacterial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. *Braz J Med Biol Res* 2006;39:387-91.
- Zhang JW, Gao JM, Xu T, Zhang XC, Ma YT, Jarussophon S, Konishi Y. Antifungal activity of alkaloids from the seeds of *Chimonanthus praecox*. *Chem Biodivers* 2009;6:838-45.
- Tang JG, Wang YH, Wang RR, Dong ZJ, Yang LM, Zhenq YT, Liu JK. Synthesis of analogues of flazin, in particular, flazinamide, as promising anti-HIV agents. *Chem Biodivers* 2008;5:447-60.
- Wang YH, Tang JG, Wang RR, Yang LM, Dong ZJ, Du L, Shen X, Liu JK, Zheng YT. Flazinamide, a novel beta-carboline compound with anti-HIV actions. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;355:1091-5.
- Macabeo AP, Vidar WS, Chen X, Decker M, Heilmann J, Wan B, Franzblau SG, Galvez EV, Aquinaldo MA, Cordell GA. *Mycobacterium tuberculosis* and cholinesterase inhibitors from *Voacanga globosa*. *Eur J Med Chem* 2011;46:3118-23.
- Park SS, Lee KD, Min TJ. Study on the screening and development of antibiotics in the mushrooms: the screening of bacterial and fungal antibiotics in basidiomycetes(II). *Kor J Mycol* 1995;23:176-89.
- Dong ZJ, Wang F, Wang RR, Yang LM, Zheng YT, Liu JK. Chemical constituents of the fruiting bodies from the basidiomycete *Suillus granulatus*. *Zhongcaoyao* 2007;38:17-9.