

韓國產 高等 菌類의 成分 研究(VIII)

구름버섯의 스테롤 成分

金炳珏 · 張承燁 · 沈美慈

서울대학교 藥學大學 微生物藥品化學敎室

Studies on the Constituents of the Higher Fungi of Korea(VIII)

Sterols of *Coriolus versicolor* (Fr.) Quél.

Byong Kak Kim, Seung Yup Jang and Mi Ja Shim

Department of Microbial Chemistry, College of Pharmacy

Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract : Attempts were made to investigate the sterol components of *Coriolus versicolor* (Fr.) Quél. which is one of medicinal fungi and which grows wildly in Korea.

Its carpophores were collected in the Gyeong Gi Province and extracted with chloroform and methanol. Four Compounds were isolated and one of these compounds was identified as ergosterol by T.L.C., G.L.C. and chemical tests. β -Sitosterol appears to exist also in the carpophore.

서 론

고등 균류에 속해 있는 버섯의 성분에 관한 연구는 근년에 와서 각국에서 매우 활발해졌다. 그러나 우리나라산 버섯류의 분류 및 성분에 관한 연구는 매우 적다. 일부 야생 식용 버섯류의 아미노산 함량에 대한 보고가 있었으며(허, 1960; 정 등, 1974), 고등균류의 알칼로이드 성분의 검색 결과를 보고한 바 있다(김 등, 1970; 김 등, 1971; 김·최, 1975; 김 등, 1976a 및 1976b; 김 등, 1977).

최근 일본에서 구름 버섯의 protein-bound polysaccharide의 항암작용에 관한 연구가 보고되었다(Miyazaki et al., 1974; Fuji et al., 1974; Tsukagoshi and Ohashi, 1974; Ito et al., 1976; Hirase et al., 1976). 저자들이 시행한 알칼로이드 함유 확인 시험 결과, 음성으로 보고된 것 이외에는 한국산 구름버섯에 관한

연구 보고는 발표된 바 없다. 이번 실험에서 한국산 구름버섯으로부터 sterol을 확인하였기에 보고하는 바이다.

구름버섯(*Coriolus versicolor* (Fr.) Quél. = *Polysticus versicolor* Fr.)은 구멍장이 버섯과(*Polyporaceae*)에 속하는 담자균류로서 서울, 경기도 광릉지방, 기타 전국 각지, 세계 각지에 분포하며 여름철에 많이 볼 수 있으며 활엽수의 마른 가지나 또는 밀줄기에 기생하여 백부물 일으킨다. 자실체는 좌생, 혹은 반배착이며 증첩하여 군생한다. 갓은 반원형이며 발생하는 위치에 따라 여러 모양이 된다. 표면은 회색이 가장 많이 차지하고 갈색, 노란색, 붉은색, 녹색, 흑색 등의 환문이 있고 부드러운 털로 덮여 있다. 살은 백색, 혁질, 섬유질 또는 콜크질이고 두께는 1mm 내외이다(이 등, 1959; Imazeki and Hongo, 1957).

실험 재료 및 방법

1) 재 료

본 실험에 사용한 재료는 1977년 7월 경기도 수원에서 야생하는 구름버섯 *Coriolus versicolor* (Fr.) Quel을 채집하여 건조한 것이다.

2) 추출 및 정제

재료 60g(건조중량)에 chloroform : methanol (2 : 1) 1200ml를 가한 다음 blender로 homogenize하여 이를 500ml 삼각플라스크 6개에 옮겨 shaker로 40시간동안 진탕 추출하였다. 여과하여 여액은 보관하고 잔사는 chloroform : methanol (2 : 1) 600ml를 가하여 4개의 500ml 삼각플라스크에 옮기고 shaker로 24시간 동안 진탕 추출하였다.

여과한 다음 여액을 앞의 여액과 합하여 rotary evaporator를 사용하여 감압 증발 농축하였다. 잔사에 10% alcoholic KOH 300ml를 가하여 수욕상에서(반응 온도는 80~85°C 유지) 4시간 동안 reflux시키면서 검화하였다. 검화시킨 액을 3l 분액 여두에 옮기고 ether

400ml와 증류수 500ml를 가하여 진탕하고 30분 동안 방치한 후 ether층과 수층을 분리하였다. ether층(unsaponified fraction)을 증류수로 여러번 세척하였다. 세척한 마지막 수층을 TOYO pH test paper (BTB 사용)에 점적하여 중성임을 확인하였다.

이 ether층을 분리하고 Na₂SO₄를 가하여 15시간 동안 방치하여 탈수시켰다. 이를 여과하여 Na₂SO₄를 제거하고 ether층을 rotary evaporator에서 감압 증발 농축하여 황갈색의 물질을 얻었다.

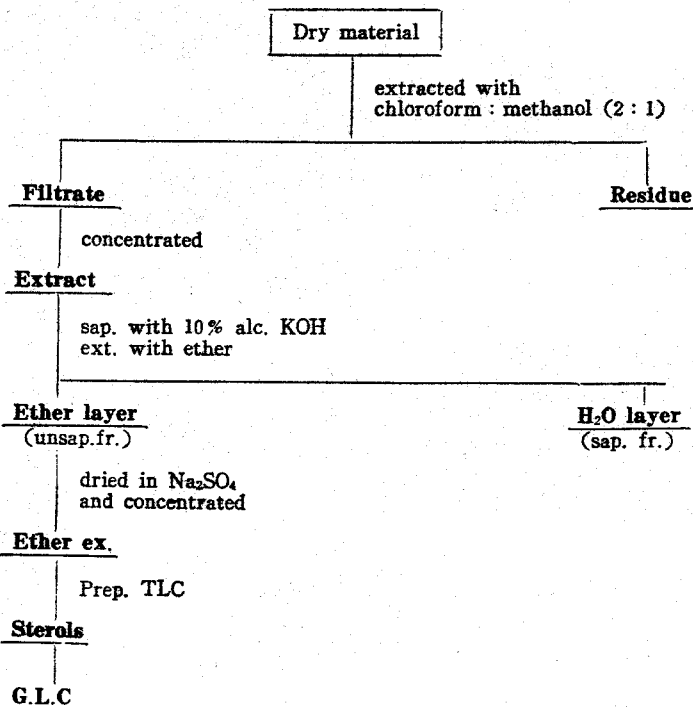
3) Sterol함유 여부의 확인

이 물질에 Liebermann-Bürchard test를 하였더니 상층(chloroform+acetic anhydride)은 청록색, 하층(H₂SO₄층)은 적색으로 되어 양성 반응이 나타났다.

4) 분 리

A) T.L.C.

Silica gel로 만든 T.L.C.판에 이 물질의 chloroform 액과 그 옆에 cholesterol의 chloroform액을 각각 spot 하고 ether : petroleum ether (1 : 1)을 전개 용매로 하여 10cm 전개하였다. 진한 황산을 분무하여 4개의



Scheme 1. Isolation and identification procedure of sterols

spot를 확인하였다.

B) Preparative T.L.C.

6장의 T.L.C.판에 이 물질의 chloroform액을 여러번 점적하여 ether : petroleum ether (1 : 1)을 전개 용매로 하여 10cm 전개하였다. methanol을 분무하여 4개의 불투명한 band를 확인하고 각 band를 긁어 ether를 넣은 다음 Silica gel을 여과하고 수욕상에서 농축하였다. 이것을 Rf치가 적은것부터 A, B, C, D라 하였다.

C) Liebermann-Bürchard test

화합물 A, B, C, 및 D의 sterol 여부를 판정하기 위하여 Liebermann-Bürchard test를 하였다.

D) G.L.C.

standard sterol과 B fraction에 대해 G.L.C.를 실시하였다. Packing material : 3% OV-Shimalite W (80-100); carrier gas : nitrogen, 70ml/min; detector : flame ionization detector; temperature of column : 200°C; temperature of detector : 230°C; chart speed : 5mm/min.

결과 및 고찰

1) T.L.C.

황갈색 물질에 대해 T.L.C.를 시행한 결과 4개의 spot를 확인하였다. 그 Rf치와 색은 Table I과 같이 나타났다.

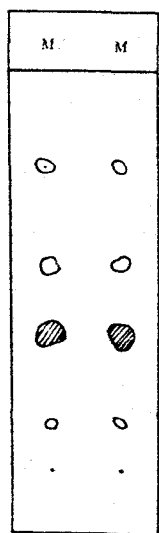


Fig. 1. T.L.C. chromatogram

Table I : Rf values of four compounds

Spot	Rf value	Color
A	0.12	green
B	0.34	brown
C	0.51	yellow
D	0.76	yellow

standard cholesterol의 Rf치는 0.34로 나타났으므로 B fraction을 sterol로 추정하였다.

2) Preparative T.L.C.

4개의 band의 Rf치가 각각 0.12, 0.34, 0.51, 0.76이었으며, methanol 분무에 의한 불투명한 각 부분을 긁어내었다.

3) Liebermann-Bürchard test

화합물 A, B, C, 및 D에 대해 시행한 결과 B fraction만이 양성으로 나타났으며 이를 sterol로 추정하였다.

4) G.L.C.

standard sterol을 chloroform에 녹여 G.L.C.를 시행한 결과 각각의 retention time은 Table II와 같았다.

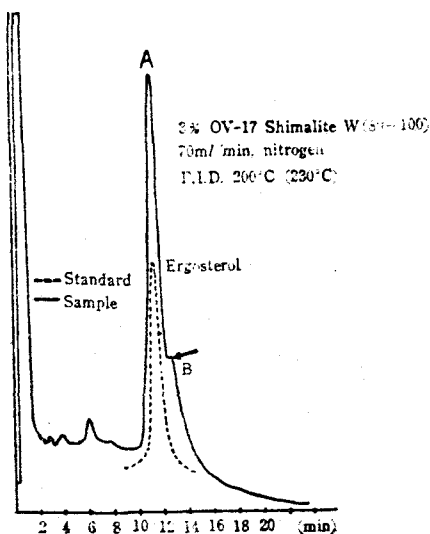


Fig. 2 : Gas chromatogram of sterols of *Coriolus versicolor* (Fr.) Qué.

Table I : Retention times of standard sterols

Standard sterols	Retention time (min)
cholesterol	8.8
ergosterol	11.3
stigmasterol	11.9
β -sitosterol	13.2

B fraction에 대해 같은 조건으로 G.L.C.를 시행하여 Figure 2와 같이 나타났다. 이 곡선은 A 물질의 curve와 B 물질의 curve가 합쳐진 것으로 A 물질은 11.3min의 peak가 나타나 이것은 ergosterol에 해당한다. 화살표의 변곡점(12.7min)은 B 물질의 최고 peak가 아니고 실제 최고 peak는 12.7min보다 오른쪽에 나타나므로 β -sitosterol (13.2min)으로 추정하였다. A 물질의 peak를 확인하기 위하여 sample 일정량과 standard ergosterol의 혼합액을 G.L.C. 장치에 주입하였더니 점선과 같은 gas chromatogram을 얻었다.

결 론

구름버섯 *Coriolus versicolor* (Fr.) Quél.의 chloroform : methanol 추출액의 비점과 부분에서 ergosterol을 확인하였고, β -sitosterol로 추정되는 peak를 관찰하였다.

감사의 말씀

이 연구에 소요되는 경비의 일부는 峨山社會福祉事業財團의 연구비로 충당되었으므로 이에 대하여 심심한 감사를 표하는 바이다. 또한 이 연구에 사용된 스테롤 표준품을 제공하여 주신 서울대학교 약학대학 학장 이상섭 교수에게 감사하며 실험에 협조하여 준 강창을, 박은규 두 학사, 그리고 약학대학 중앙기분분석실의 여러분에게 감사한다.

References

- Fuji, K., Ito, H., and Naruse, S. (1974), *Folia Pharmacol. Jpn.* 70, 571.
- Hirase, S., Nakai, S., Akatsu, T., Kobayashi, A., and Oohara, M. (1976), *J. Pharm. Soc. Jpn.* 96, 413.
- Imazeki, R., and Hongo, T. (1957), "Coloured Illustration of Fungi of Japan", Hoikusha Publishing Co., Osaka, p. 137.
- Ito, H., Naruse, S., and Sugiura, M. (1976), *Folia Pharmacol. Jpn.* 72, 77.
- Jung, J.K., Jung, T.Y., and Na, S.M. (1974), *Korean J. Nutrit.* 7, 117.
- Kim, B.K., Kim, N.D., Choi, N.J., and Lee, Y.N. (1970), *J. Pharm. Soc. Kor.* 14, 15.
- Kim, B.K., Lim, J.H., Yoon, I. H., Park, O.J., and Kim, H.S. (1971), *Kor. J. Pharmacogn.* 2, 95.
- Kim, B.K., Choi, E.C. (1975), *Kor. J. Pharmacogn.* 6, 49.
- Kim, B.K., Gang, C.Y., Choi, E.C., and Kim, K.H. (1976 a), *Kor. J. Mycol.* 4, 27.
- Kim, B.K., Choi, H.K., and Choi, E.C. (1976 b), *J. Natl. Acad. Sci. (Nat. Sci. Ser.)* 15, 211.
- Kim, B.K., Lee, Y.S., Choi, E.C., Shim, M.J., and Lee, Y.N. (1977), *Korean Biochem. J.* 10, 47.
- Lee, J.Y., Lee, Y.W., Lim, J.H. (1959), "Colored Illustration of Korean Fungi", Bai Moon Gak, Seoul, p. 101.
- Miyazaki, T., Yadomae, T., Sugiura, M., Ito, H., and Fuji, K. (1974), *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 22, 1739.
- Tsukagoshi, S., and Ohashi, F. (1974), *Gann* 65, 557.

(1978年 1月 9日 접수)