

## 능이 자실체의 생리활성

문영희\* · 우은란 · 박영준  
조선대학교 약학대학

### Biological Activities of *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito

Young-Hee Moon\*, Eun-Rhan Woo, and Young-Jun Park

College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Republic of Korea

**Abstract** – *Sarcodon aspratus* (Thelephoraceae), a native mushroom, is distributed in Korea and Japan, and has been widely used in traditional food and folk medicines. To confirm the biological activities of *Sarcodon aspratus*, the liver protecting activity, anti-clotting activity, and anti-complementary activity of the water extract, EtOH extract, and the water soluble proteoglycan part of *S. aspratus* were investigated. The EtOH, and water extract of *S. aspratus* decreased the GOT and GPT releases induced by CCl<sub>4</sub> in a dose-dependent manner. On the other hand, the water soluble proteoglycan part of *S. aspratus* showed weak inhibitory activity. In addition, the EtOH and water extract of *S. aspratus* prevented CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity, as described by a liver histopathologic study. To confirm the anti-clotting activity, the APTT and PT assay were carried out. As a result, only the crude proteoglycan part of *S. aspratus* showed the anti-coagulating activity, and this result might be due to the inhibition of intrinsic clotting system. Also, the crude proteoglycan part of *S. aspratus* showed the anti-complementary activity, and the IC<sub>50</sub> value was 50 µl/ml.

**Key words** – *Sarcodon aspratus*, hepatoprotective effect, anti-coagulating activity, anti-complementary activity

버섯은 단백질, 비타민 및 무기질 등의 여러 영양소가 함유되어 있고 특유한 풍미가 있어 식품으로 널리 이용되어 왔을 뿐만 아니라 질병의 치료에도 사용되어 왔다.<sup>1,2)</sup> 최근에는 이의 항암효과,<sup>3,4)</sup> 항균성<sup>5)</sup> 및 효소<sup>6-9)</sup> 등에 관한 연구가 활발해지면서, 버섯에 대한 관심이 점차 높아지고 있으며 이에 따라서 버섯의 수요 또한 점진적으로 증가하고 있다.

능이(*Sarcodon aspratus*)는 굴뚝버섯과(Thelephoraceae)에 속하는 버섯으로 Lee 등<sup>10)</sup>은 단백질 분해효소가 함유되어 있음을 보고하였고, Lee 등<sup>11)</sup>과 Eun<sup>12-15)</sup>은 자실체중에 함유된 protease의 활성이 강함을 발견하고 이를 추출, 정제하여 그 특성을 연구 보고하였으며, Chang<sup>16)</sup>은 능이에서 추출한 단백질 분해효소가 폐계에 대해 연육 효과가 있다고 보고하였다.

Kim 등<sup>17)</sup>은 능이의 조추출물이 *Helicobacter pylori*의 urease에 대해 억제작용이 있다고 보고하였으며, Park<sup>18)</sup>은 다당류를 생쥐에 주사하였을 때 sarcoma 180 복수암에 대한 항암

작용이 없다고 보고하였으나, Maruyama 등<sup>19)</sup>은 sarcoma 180 고형암에 대하여 메탄올 추출물은 성장억제작용이 없으나 물 추출물은 억제작용이 있다고 보고하였다. Park<sup>18,20)</sup>은 능이의 성분으로 glutamic acid 등 유리아미노산 21종, Ca 등 9종의 금속원소와 단백질-다당체가 함유되어 있다고 보고하였다. Moon<sup>21)</sup> 등은 수용성 당단백을 분리하여 조성을 분석하고 이들이 sarcoma 180 고형암 및 복수암에 대해 억제작용이 있다고 보고하였다.

이에 저자는 옛날부터 민간에서 식용 및 약용으로 사용되어 온 능이추출물에 대해 기존에 보고되지 않은 간기능 보호작용, 항응고 활성도, 항보체작용 등에 미치는 영향을 실험하였기에 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 능이 *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito는 2002년 10월 초순에 지리산에서 채취한 것을 구입하여 그 기원을 확인하고 음건, 세절한 자실체를 증류수와 ethanol로 추출한 후 냉동 건조하여 43.5% 및 20.4%의 extracts를 얻었다. 또한 능이 800 g을 상온에서 ethanol로 추출한 잔사를

\*교신저자(E-mail) : yhmoon@chosun.ac.kr  
(FAX) : 062-222-5414

건조시킨 후 수욕상에서 증류수로 2회 추출하여 60°C로 감압상태에서 반 정도로 농축하여 2배량의 ethanol을 가하여 0°C에서 다당체를 침전시켜 조단백다당체 (이하 crude proteoglycan) 5.7%을 얻었다.

**시약 및 기기** - HEMOLAB Silimat와 Thrombomat는 bioMerieux사 제품을, GOT 및 GPT kit는 Boehringer Mannheim사 제품을, hemolysin (S-1389)은 Sigma Co에서 구입하여 사용하였고 그 외 시약은 1급 시약을 사용하였다. 기기로서 microplate reader는 Molecular devices Co제품, Photometer-5010은 녹십자 제품과 coagulator는 Behnk Elektronik사 제품을 사용하였다.

**간기능 보호 활성 측정** - 흰쥐 6마리를 1군으로 하고 간세포의 독성유도는  $CCl_4$ :olive oil (1:1)의 혼합액을 1회 1 ml/kg씩 2일간 오른쪽 등의 피하에 주사하여 유발시켰으며 정상군과 대조군에는 0.9% saline을, 실험군과 양성 대조군에는 시료를 각각 1 ml씩 5일 및 10일간 1일 2회 경구 투여하였다. 24시간 후에 경동맥으로부터 채혈하고 3000 rpm에서 원심분리하여 혈청을 분리하고 Photometer 5010으로 GOT 및 GPT를 kit를 사용하여 340 nm에서 측정하고 각 실험군별로 검토하였다.

**간장의 병리학적 변화** - 흰쥐를 각 실험군 모두 최종시료 투여 후 조직병변을 관찰하기 위하여 24시간이 경과한 다음 ether로 마취시키고 도살 즉시 간장의 일부를 채취하고 10%의 중성 formalin에 고정한 후 hematoxylin-eosin으로 염색하여 광학현미경으로 (x200) 간세포 조직을 관찰하면서 지방변성, 괴사 및 간조직의 재생 등을 각 실험군별로 비교 검토하였다.

**항응고 활성도 측정<sup>22)</sup>** - 집토끼의 심장으로부터 채혈한 혈액에 trisodium citrate(3.8%) 1/10량을 가하여 3000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 분리하고 coagulator를 사용하여 측정하였다. 시료는 조단백다당체를 증류수 1 ml당 5.0 mg 및 2.5 mg으로 용해시켜 사용하였다. Activated Partial Thromboplastin Times(APTT) test는 시료 20  $\mu$ l와 혈장 80  $\mu$ l를 sample cup에 넣어 잘 섞어 혼합한 후 APTT 시약(MEMOLAB Silimat) 100  $\mu$ l를 넣어 정확히 3분간 37°C에서 배양한 다음 0.025 M  $CaCl_2$  100  $\mu$ l를 넣고 응고 시간(초)을 측정한다. 이때 control치는 증류수 20  $\mu$ l를 넣어 측정하고 시료의 혈전 생성 억제율은 다음과 같이 구하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 최대응집시간}}{\text{control의 최대응집시간}}\right) \times 100$$

Thrombin Times(TT) test는 혈장 80  $\mu$ l에 시료 20  $\mu$ l를 넣어 잘 섞어 혼합한 후 정확히 2분간 37°C로 배양한 다음 PT 시약(HEMOLAB Thrombomat) 200  $\mu$ l를 넣고 응고시간을 측정하였으며, 기타는 APTT assay와 같은 방법에 의하여

항응고 활성율을 구하였다.

### 항보체 활성도 측정<sup>23)</sup>

**보체결합 반응** - 보체결합(complement fixation) 반응은 Klerx 등<sup>24)</sup>의 방법을 변형하여 사용하였다. CP상의 보체반응에 사용한 감작적혈구(sensitized erythrocytes, EA)는 양적혈구 회석 용액에 hemolysin 회석 용액을 동일 부피로 섞은 후 진탕배양(37°C, 30 min)하여 제조하였으며 사용시 원래의 적혈구 농도로 환원하였다. 본 반응은 완충 용액 80  $\mu$ l와 보체 회석용액 80  $\mu$ l를 microtiter plate (U type, 96 well) 상에서 섞고 1차 진탕배양(37°C, 30 min)한 후 여기에 감작적혈구 40  $\mu$ l를 가하여 동일 조건으로 2차 진탕배양하고 즉시 원심분리(800  $\times$  g, 4°C, 30 min)하여 완료하였다. 그 후 상등액중 100  $\mu$ l를 취하여 다른 plate(flat-bottomed type)에 옮긴 후 microplate reader(Emax precision microplate reader, Molecular Devices Co.)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**활성도 측정** - 먼저 본 반응과 동일한 농도로 증류수를 가하여 완전히 적혈구를 용혈시키고 이를 0~100%로 회석하여 각 농도별 흡광도를 측정한 후, 각 성분 농도별로 보체결합반응을 3반복으로 진행하여 측정된 용혈 흡광도를 용혈 농도로 환산, 각 실험구의 용혈율(% hemolysis)을 계산하였으며, 이로부터 시료의 항보체 활성도를 측정하였다. 본 반응에는 증류수로 본 반응과 동일한 농도로 감작적혈구를 용혈시킨 실험구와 불활성화된 보체(56°C, 30 min)를 사용한 실험구를 함께 측정하여 각각 최대 및 최저 용혈값으로 하였으며, 시료의 검정시 감작적혈구 대신 CVB<sup>2+</sup>(Gelatin Veronal Buffer) 용액을 동일부피로 넣은 실험구의 흡광도를 측정하여 시료자체의 색소에 의한 흡광도 상승을 보정하였다. 본 실험에서 항보체 활성도 측정에 사용된 계산식은 다음과 같다.

$$\% \text{ hemolysis} =$$

$$\frac{\text{OD (standard or sample lysis)} - \text{OD (corresponding background lysis)}}{\text{OD (maximum lysis)} - \text{OD (background lysis)}} \times 100$$

$$\text{Anticomplementary activity (\%)} = \left(1 - \frac{\% \text{ hemolysis of sample}}{\% \text{ hemolysis of standard}}\right) \times 100$$

## 결과 및 고찰

**간기능 보호활성에 미치는 영향** - 사업화탄소는 선택성이 없이 독성효과를 나타내어 세포막을 파괴하고  $Ca^{2+}$ 의 항상성을 깨뜨려 결국은 세포괴사를 일으키며<sup>25-27)</sup> cytochrome P-450에 의해 독성이 강한 대사물이 되어 결국 간세포의 지질과산화물을 일으켜 중심정맥 주위에 지방변성 및 괴사를 일

오킨다. 이러한 대사물이 간 microsome의 막 단백질 thiol과 결합하여 막의 지질 과산화 반응을 촉진하여 장애를 일으킴으로서 혈액 중으로 GOT, GPT 등의 효소가 유리되는 것으로 알려져<sup>28)</sup> 간기능 장애의 지표로 이용되고 있다. 흰쥐를 사염화탄소로 중독시키고 EtOH 엑스, 물 엑스 및 조단백다당체를 경구투여한 후 혈청 GPT 및 GOT에 미치는 영향을 보면 정상군에서는  $62.5 \pm 3.87$ ,  $128.8 \pm 5.48$  단위로 나타났으나 사염화탄소 투여에 의해  $111.0 \pm 5.52$  및  $180.8 \pm 13.06$  단위로 현저히 증가하여 간손상이 일어났음을 알 수 있으며, EtOH 엑스(100 mg/kg)투여한 군에서는 GPT 단위가 5일 후  $90.4 \pm 10.48$  단위로 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었으며 10일 후  $54.0 \pm 3.03$  단위로 유의성 ( $P < 0.01$ )있는 감소를 나타내었다. 물 엑스(100 mg/kg)투여군에서는 5일 후  $80.6 \pm 5.01$ , 10일 후  $56.0 \pm 4.53$  단위로 각각 유의성 있게 감소되었다. 그러나 조단백다당체 투여군은 유의성 있는 감소를 나타내지 않았다(Table I).

GOT 측정 결과를 비교하면 EtOH 엑스(100 mg/kg)투여한 군에서는 5일 후  $151.0 \pm 12.86$ 단위, 10일 후  $135.8 \pm 7.86$  단위로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었으며, 물 엑스(100 mg/kg) 투여군에서는 5일 후  $153.7 \pm 15.61$  단위로 감소되었으나 유의성은 없었으며 10일 후  $117.0 \pm 6.77$  단위로 유의성( $P < 0.01$ )있게 감소되었다. 그러나 조단백 다당체(50 mg/kg)투여군에서는 유의성이 없었다(Table II). 양성

대조 약물인 silymarin(50 mg/kg)투여군에서는 5일 후 및 10일 후 유의성 있게 감소되었다. 이를 종합하여 보면 능이의 물 엑스와 EtOH 엑스는 사염화탄소 투여로 증가된 혈청중 GPT, GOT치를 유의성 있게 감소시켰으므로 간기능 보호활성이 있다고 생각되며 조단백다당체는 효과가 없는 것으로 사료된다.

**간장의 병리학적 변화에 미치는 영향** - 사염화탄소에 의하여 손상된 간장은 독성이 강한 대사물이 간 microsome의 막단백 thiol과 강하게 결합하여 막의 지질 과산화반응을 촉진해서 장애를 일으켜 간에서의 단백질 합성 억제, 간 glycogen량의 감소, 간 ATP량의 감소. 혈중에서는 GOT, GPT 등의 이탈을 일으키고 또 조직학적으로는 간세포의 지방 변성, 괴사 및 섬유화 현상 등을 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>29,30)</sup> Michell 등<sup>31)</sup>은  $CCl_4$ 가 alkylating radical을 지닌 간 독성물질 group III로 규정하여  $CCl_4$ 가 glutathione을 고갈시키지는 않지만 glutathione의 조성을 변형시키는 것으로 그 독성기전을 밝혔다.

광학현미경으로 간장조직을 비교 관찰한 결과 정상군에서는 central vein을 중심으로 세포의 배열이 정상이며 Kupffer cell의 수나 형태는 정상이었다. 그러나 대조군은 10일 후에 central vein을 중심으로 간세포의 파괴와 지방변성이 매우 심하여 축적된 지방적의 크기는 작은 것에서부터 큰 것까지 매우 다양하였다. 또한 간 실질세포에서 반점괴사가 관

**Table I.** Effect of the crude proteoglycan and extracts from *Sarcodon aspratus* on S-GPT activity(IU/L) in rats treated with  $CCl_4$

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	Time course of S-GPT activity	
		5	10(days)
Normal	-	$62.5 \pm 3.87$	$62.5 \pm 3.87$
Control	-	$111.0 \pm 5.52$	$102.3 \pm 3.87$
EtOH Ex.	100	$90.4 \pm 10.48$	$54.0 \pm 3.03^{**}$
Water Ex.	100	$80.6 \pm 5.01^{**}$	$56.0 \pm 4.53^{**}$
Crude Proteoglycan	50	$99.2 \pm 12.01$	$98.7 \pm 8.01$
Silymarin	50	$66.5 \pm 6.12^{**}$	$57.8 \pm 5.37^{**}$

Mean  $\pm$  S.E. from 6 experiments. Asteriks indicate the significant decrease as compared with corresponding control value(\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ). Silymarin : Positive responded drug(PRD).

**Table II.** Effect of the crude proteoglycan and extracts from *Sarcodon aspratus* on S-GOT(IU/L) in rats treated with  $CCl_4$

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	Time course of S-GOT activity	
		5	10(days)
Normal	-	$128.8 \pm 5.48$	$128.8 \pm 5.48$
Control( $CCl_4$ )	-	$180.8 \pm 13.06$	$182.3 \pm 10.98$
EtOH Ex.	100	$151.0 \pm 12.86^*$	$135.8 \pm 7.86^{**}$
Water Ex.	100	$153.7 \pm 15.61$	$117.0 \pm 6.77^{**}$
Crude Proteoglycan	50	$169.1 \pm 15.01$	$170.3 \pm 13.08$
Silymarin	50	$139.1 \pm 7.03^{**}$	$129.9 \pm 8.09^{**}$

Mean  $\pm$  S.E from 6 experiments. Abbreviations are the same as in Table I.

찰되었다. EtOH 엑스 투여군은 central vein 중심으로 간세포의 파괴는 심하나 지방변성은 줄어들었음이 관찰되었다. 물 엑스 투여군은 central vein을 중심으로 지방변성이 심하나 문맥삼련 구조를 중심으로 간세포의 정상적인 재생이 관찰되었다. 조단백다당체 투여군은 central vein을 중심으로 지방변성이 심하며 간세포의 정상적인 재생소견은 관찰되지 않았다.

이상과 같이 간장에 대한 조직학적 변화를 검토한 결과 EtOH 엑스와 물 엑스 투여군은 대조군에 비하여 지방변성 및 간세포의 재생이 관찰되었으며 또한 혈청중 GOT 및 GPT의 유의성 있는 감소와 일치하여 간기능 보호활성이 있는 것으로 사료되나 조단백다당체는 보호 활성이 없는 것으로 사료된다.

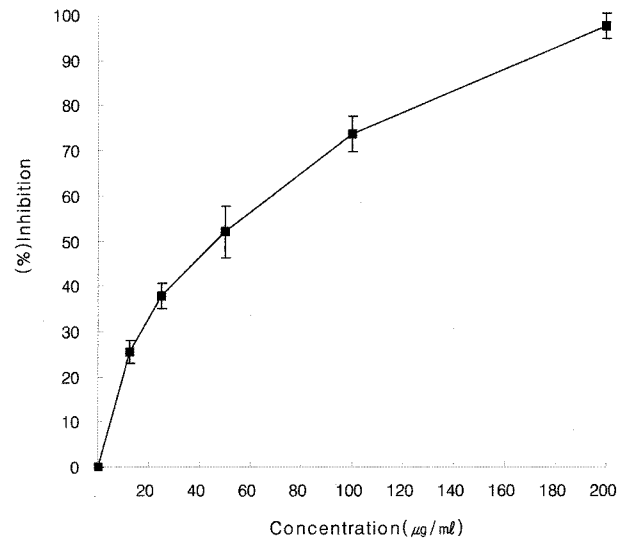
**항응고 활성에 미치는 영향** - 항혈전 응고 활성의 지표로는 외인계(extrinsic clotting system)를 검색하는 prothrombin time (PT) assay와 내인계(intrinsic clotting system)를 검색하는 activated partial thromboplastin time (APTT) assay를 설정하였는데 전자는 외인계의 결함 즉 factor VII, X, V인자 이상에 의한 것을, 후자는 factor VII 및 VIII인자를 제외한 모든 인자활성의 내인계 이상만을 검출하는데 이용되어 경구용 항혈액응고제 monitoring에 널리 사용되는 방법이다. 상기의 두 방법이 혈전 생성 억제를 탐색하기 위한 assay system으로 가장 유용할 것으로 사료되어 이 방법에 의해 활성을 측정한 결과 PT assay에서는 전 시료에서 연장의 효과가 없었으나, APTT assay에서는 조단백다당체 333 ppm의 시료농도에서 혈장의 응고시간(초)이 대조군에 비하여 88.65%, 시료농도 166.6 ppm에서 52.45%의 연장결과가 나타났으므로 조단백다당체는 내인계 혈액응고 인자의 억제제로 혈액응고 억제 작용이 나타난 것으로 사료된다 (Table III).

**항보체 활성에 미치는 영향** - 조단백다당체를 농도별로 항보체 활성을 검정한 결과 12.5 µg/ml에서 25.4%, 25 µg/ml에서 37.8%, 50 µg/ml에서 52.0%, 100 µg/ml에서 73.7%,

**Table III.** Anticoagulant activity of the crude proteoglycan and extracts from *Sarcodon aspratus* in rabbit serum

Sample	Concentration (PPM)	Inhibition(%)	
		PT	APTT
EtOH Ex.	166.6	12.2±1.41	1.20±0.11
	333.3	8.10±0.50	1.01±0.09
Water Ex.	166.6	12.16±1.32	7.77±0.49
	333.3	14.86±1.36	6.00±0.43
Crude Proteoglycan	166.6	14.87±1.25	52.45±3.71
	333.3	10.81±0.75	88.65±6.21

Mean ± S.E. from 3 experiments.  
PT: Prothrombin time. APTT: Activated partial thromboplastin time.



**Fig. 1.** Anticomplementary activity of the proteoglycan isolated from *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. All values are expressed as mean ± SD of triplicated experiments.

200 µg/ml에서 97.5%로 농도 의존적으로 활성이 증가하였다. 이 결과에 의하면 능이의 조단백다당체의 항보체 활성은 50%억제농도(IC<sub>50</sub>)가 50 µg/ml로 나타나 항보체 활성이 있는 것으로 사료된다.

**결론**

능이(*Sarcodon aspratus*)는 굴뚝버섯과(Thelepholaceae)에 속하는 버섯으로 한국과 일본에 자생하고 있으며 민간에서 식용 및 약용으로 사용되어 온 것으로 이의 활용성을 개발하고자 물 및 ethanol extract와 조단백다당체를 분리하여 간기능 보호활성 및 조직학적 변화, 항응고 활성도, 항보체 활성도를 측정하였다.

1) 사염화탄소(CCl<sub>4</sub>)로 중독시킨 흰쥐에 능이 엑기스를 투여하여 혈청 중 GOT 및 GPT에 미치는 영향을 측정한 결과 EtOH 엑기스와 물 엑기스는 대조군에 비교하여 현저하게 상승 억제되었으며, 투여 일수에 따라 억제효과도 강화되었다. 그러나 조단백다당체(crude proteoglycan)투여군은 감소는 되었으나 유의성이 없었다.

2) 사염화탄소(CCl<sub>4</sub>)투여로 인하여 간장의 세포파괴 및 지방변성이 심하였으나 능이 EtOH 엑기스와 물 엑기스의 투여군은 대조군에 비교하여 개선효과가 관찰되었다.

3) APTT와 PT assay에 의한 항혈액응고 효과에 있어서는 조단백다당체만이 APTT assay에서 대조군에 비교하여 응고 억제 효과가 있었으므로 내인계 혈액응고인자(intrinsic clotting system)의 억제에 의한 것으로 사료된다.

4) 항보체 활성은 (anticomplementary activity) 조단백다당체에서 나타났으며, IC<sub>50</sub> 값이 50 µg/ml이었다.

## 감사의 글

항보체작용의 실험을 도와주신 한국생명과학연구원 이형규 박사님에게 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Tasuziro, I. (1978) Morphology and classification, in the Biology an Cultivation of Ebile Mushroom, 3-35, Academic press, New York.
2. Holts, R. B. (1972) Qualitative and quantitative analysis of free neutral carbohydrate in mushroom tissue by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem.* **19**: 1272-1278.
3. Ikekawa, T., Uehara, N., Maeda, Y., Nakamishi, M., and Fukouka, F. (1969) Antitumor activity of aqueous extract of some edible mushroom. *Cancer Res.* **29**: 734-741.
4. Mizuno, T., Oshsawa, K., Hagiwara, N., and Kuboyama, R. (1982) Studies on the host-mediated antitumor polysaccharide part VI, fractionation. chemical structure, chemical modification and antitumor activity of homo and heteroglucans isolated from Mitake. the fruiting body of *Grifola frondosa*. *Bull. Fac. Arg.* **35**: 49-55.
5. Vogel, F. S., McGarry, S. J., Kemyer, L. A. K., and Graham, D. G. (1974) Bacteriological properties of a class of quinoid compound related to sporulation in the mushroom *Agaricus bisporus*. *Am. J. Pathol.* **76**: 165-171.
6. Yamasaki, Y. and Suzuki, Y. (1978) Purification and properties of  $\beta$ -glucosidase and glucamylase from *Lentimus edodes* (Berk.) *Sing. Agri. Biol. Chem.* **42**: 971-976.
7. Kaarcholm, N. C. and Schack, P. (1983) Characterization of papaya peptidase a as an enzyme of extreme basicity. *Acta Chem. Scand(B)*. **37**: 607-703.
8. Eun, J. S., Yang, J. H., Che, D. Y., Lee, T. K., and Park, I. H. (1989) Studies on Higher Fungi in Korea (II), proteolytic Enzyme of *Agaricus bisporus* *Sing. J. Kor. Pharm. Sci.* **19**: 9-14.
9. Lee, T. K., Eun, J. S., Yang, J. H., Jo, D. Y., and Yang, H. C. (1989) Studies on Higher Fungi in Korea (III), Purification and Stability of proteolytic Enzyme *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. *J. Kor. Pharm. Sci.* **19**: 81-86.
10. Lee, T. K. (1986) Purification and some Characteristics of the proteolytic enzyme in fruitbody of Neungee (*Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito.). *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **17**: 276-282.
11. Lee, T. K., Eun, J. S., Yang, J. H., Jo, D. Y., and Yang, H. C. (1989) Studies on Higher Fungi in Korea (III), Purification and Stability of proteolytic Enzyme *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. *J. Kor. Pharm. Sci.* **19**: 81-86.
12. Eun, J. S., Yang, J. H., Cho, D. Y., and Lee, K. T. (1988) Studies on Higher Fungi in Korea (I), Activity of proteolytic Ezyme from *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. *J. Kor. Pharm. Sci.* **19**: 125-131.
13. Uhm, T. B., Ryu, K. S., Kim, M. K., and You, J. S. (1991) Characterization of a Serine Protease from Neungee [*Sarcodon aspratus*(Berk.)S. Ito]. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **120**: 35-39.
14. Swada, J. (1964) Studies on the acid-protease of *Paecilomyces varioti* Bainer TPR-220. Part II, Some enzymatic properties of the crystalline acid-protease. *Arg. Biol. Chem.* **28**: 348-354.
15. Park, W. H. (1986) Studies on Enzymes of the Higher Fungi of Korea (I), Identification of protease in *Sarcodon aspratus*. *Kor. J. Mycol.* **14**: 25-30.
16. 장재철 (1989) 능이(能栢)가 생산하는 Proteolytic enzyme 이 폐계(廢鷄)에 미치는 軟肉效果. 群山大學 自然科學研究 . **6**: 159-168.
17. Kim, D. H., Bae, E. A., Jang, I. S., and Han, M. J. (1996) Anti-Helicobacter pylori Activity of Mushrooms. *Arch. Pharm. Sci.* **19**: 447-449.
18. Park, W. H. (1983) Studies on Components of *Sarcodon aspratus*(II). *Kor. J. Mycol.* **11**: 159-162.
19. Maruyama, H., Yamazaki, K., Murofushi, S., Konda, C. and Ikekawa, T. (1989) Antitumor Activity of *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito and *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. *J. Pharmacobio-pym.* **12**: 118-123.
20. Park, W. H. (1983) Studies on Components of *Sarcodon aspratus*(I). *Kor. J. Mycol.* **11**: 85-89.
21. Moon, Y. H., Woo, E. R., and Park, Y. J. (2002) Antitumor Activity of a Water Soluble Proteoglycan Isolated from *Sarcodon aspratus*(Berk.) S. Ito. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**: 224-229.
22. Thompson, A. R. and Horker, L. A. (1983) Manual of hemostasis and thrombosis. Davis, F. A. 178-185, Philadelphia.
23. Oh, S. R., Jung, K. Y., and Lee, H. K. (1996) Micro-screening Method for Natural Resources. *Agri. Chem. Biotech.* **39**: 147-152.
24. Klerx, J. P., Beukelman, H. V., Dijk, J. M., and Willers, M. N. (1983) Microassay for colorimetric estimation of complement activity in guinea pig, human and mouse serum. *J. Immunol. Methods* **63**: 215-220.
25. Berger, L. M., Bhatt, H. H., Combes, B., and Estabrook, R. W. (1986) CCl<sub>4</sub>-induced toxicity in isolated hepatocytes: The impotence of direct of solvent injury. *Hepatol.* **6**: 36-42.
26. Albino, E., Carinr, R., Parola, M., Bellomo, G., Gorla-Gatti, L. G., and Dianzani, M. U. (1989) Effects of carbon tetrachloride on calcium homeostasis, a critical reconsideration. *Biochem. Pharmacol.* **38**: 2719-2724.
27. Richard, O. R., Eric, A. G., and Robert, S. B. (1991) Free radical damage and lipid peroxidation. *Hepatotoxicology*, **40**: CRC Press, Florida.
28. Groot, H. and Noll, T. (1986) The crucial role of oxygen partial pressures in haloalkane free radical mediated lipid peroxidation. *Biochem. Pharamcol.* **35**: 15-20.

29. Kobayash, T. (1960) Fatty liver by hepatotoxic agents and lipid metabolism in rats(2). *Yakugaku Zasshi* **80**: 1612-1624.
30. Meda, S., Suda, K., Miyamoto, Y., Takeda, S., Shinbo, M., Aburada, M., and Ikeya, Y. (1982) Effects of Shizandra fruits on drugs induced hepatic damage in rats. *Yakugaku Zasshi* **102**: 579-588.
31. Mitchell, J. R., Hughes, H., Lauterburg, B. H., and Smith, C. V. (1982) Chemical nature of reactive intermediates as determinant of toxicologic responses. *Drug Metabol. Rev.* **13**: 539-550.

(2005년 10월 25일 접수)