

영지의 생리활성 물질

배우철 · 김용석* · 이준우¹
일양약품 중앙연구소, ¹경북전문대 식품가공과

Bioactive Substances from *Ganoderma lucidum*. Bae, Woo-Chul, Yong-Seok Kim*, and Jun-Woo Lee¹.
Ilyang Pharm. Co. Ltd., Central Research Institute, Yonginsi 449-900, Korea, ¹Department of Food Technology Kyungbuk College, Yeongjusi 750-712, Korea – The popular edible mushroom *Ganoderma lucidum* was considered the most valuable medicine in ancient Asia and was believed to bring longevity, due to its mysterious power of healing the body and calming the mind. Today, *Ganoderma lucidum* is still widely revered as a valuable health supplement and herbal medicine worldwide, as studies (mostly conducted in China, Korea, Japan, America) into the medicinal and nutritional values of *Ganoderma lucidum* revealed that it does indeed contain certain bioactive ingredient (such as polysaccharide, triterpene) that might be beneficial for the prevention and treatment of a variety of ailments, including diseases such as hypertension, diabetes, hepatitis, cancer, AIDS.

Key words: *Ganoderma lucidum*, polysaccharide, triterpene, bioactive substances

서 론

버섯은 예로부터 특별한 음식으로 취급되어 왔는데 그것은 특유의 맛과 향을 가지고 있고, 당질, 비타민, 무기질과 같은 영양소를 골고루 함유하고 있기 때문이다. 또한 항암 활성, 면역증강, 항산화 등의 약리 효과 때문에 최근에 건강 식품 및 의약품 소재로 많이 이용되고 있다. 그 중에서도 영지로 잘 알려진 담자균 *Ganoderma lucidum*은 한국, 중국, 일본을 중심으로 민간 전통약제로 오랜기간 이용되어 왔다. 기원전 1세기에 쓰여진 약물서인 본초강목에서는 영지가 이뇨, 보간, 강장, 정신안정, 관절염 및 기관지염에 효과가 있다고 언급되고 있을 정도로 동양권에서 중요한 전통약제로 인식되어 있다.

지난 20년간, 많은 연구자들이 영지에 polysaccharide, triterpene, nucleoside, steroid, fatty acid, alkaloid, 단백질, 아미노산, 무기염류 등이 포함되어 있는 것을 밝혀냈다. 이들 성분 중에서 polysaccharide 등의 고분자 물질과 triterpene 등의 저분자 물질이 다양하고 유망한 약리활성을 나타내서 많은 주목을 받게 되었다. 저분자 물질은 항염증, 항알러지, 간암세포 성장저해, 혈압강하, 혈소판 응집 저해 등의 활성이 있으며, 고분자 물질은 혈압강하, 정혈, 고지혈증 개선, 혈당강하, 면역, 항종양 등의 효과가 보고되었다 [37]. 따라서 본 총설에서는 영지의 생리활성에 대한 고찰을 통하여 기능성 식품, 산업 소재 및 의약품으로 개발하기 위한 기초 자료를 제공하려고 한다.

본 론

영지의 분류 및 형태적 특징

고등균류인 영지는 불로초, 만년버섯 등으로 불리우기도 하며 학명은 *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karsten이다. 처음에 구멍장이 버섯과(Polyporaceae)에 분류되었다가 이후 균계(mycota), 진핵균아계(Eumycota), 담자균아문(Basidiomycotina), 동담자균아강(Hymenomycetidae), 민주름목(Aphylllophorales), 불로초과(Ganodermataceae), 불로초속(*Ganoderma* ITO), 불로초속(*Ganoderma* KARST. em MUUR)로 분류되었다. 중국의 가장 오래된 약물서인 신농본초경의 상품에서는 영지를 청지, 적지, 자지 등의 6종으로 분류하여 기록하였다 [21].

Ganoderma 속(genus)을 확립한 사람은 핀란드의 식물학자인 P. Karsten이다. 그는 1881년 당시에 전세계에 *Ganoderma* 속에 속하는 종은 120 종 이상이며, 대부분이 동양권, 특히 중국에서 발견된다고 보고하였다[36]. 현재 영지는 북반구의 온대에 널리 분포되어 있으며, 북미나 아시아의 태평양 연안, 유럽의 온대 지역에 많은 것으로 보고되었다. 국내에서는 전국적으로 분포되어 있지만 경상북도와 경기도에서 많이 발견되고 있다. 우리나라와 일본에서의 영지는 15 속 80 종, 중국에는 53 종이 보고되어 있다[7].

영지 자실체는 동일한 균이라고 하여도 자생하는 온도, 광선, 습도, CO₂ 농도 등의 환경 조건 및 균주의 산지, 계통의 차이에 의하여 자실체(fruiting body)의 모양, 색, 육질, 고미 등이 다르다. 그러나 영지 자실체는 자연 발생한 것과 인공 재배한 것을 구분하기 어렵다고 한다. 일반적으로 발아하여 갖을 형성하는 것은 보통 심장형 또는 반원형으로 편목지라

*Corresponding author

Tel: 82-31-281-7851, Fax: 82-31-284-1010

E-mail: kys0908@chol.com

고 하며, 갓을 형성하지 못하는 사슴뿔 모양으로 성장하는 것을 늑각지라고 한다. 영지 자실체는 줄기가 보통 갓의 한 쪽에 편재해 있지만, 중심에 생길 수도 있다. 국내에서는 주로 편목지가 주종을 이루고 있다[21].

형태적 특징은 갓의 크기가 5-15 cm, 두께는 1-1.5 cm이고 대부분 신장형 또는 원형으로 표면이 견고한 각질로 덮여있다. 초기에는 황백색, 황갈색으로 유연하나 후에 적갈색, 자갈색을 띠며, 니스칠을 한 것처럼 광택이 난다. 갓과 줄기는 모두 광택이 나며 갓은 코르크질로 되어있다. 조직은 0.5-1 cm이고 자색-암갈색을 이루고 있다. 관공은 미세하며 원형이고, 대는 2.5-10 × 0.5-3 cm로 측생, 편심생이며 적색-적갈색 또는 흑갈색으로 광택이 나며 각질화되어 단단하다 (Fig. 1)[10].

현재 타이완의 과학자들을 주축으로 영지의 총 유전체 염기배열과 기능유전체의 분석을 진행하고 있다. 이 연구에서 영지의 계통과 유용신물에 대한 여러 유전자를 파악할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

영지의 분리와 보존

영지의 분리 및 보존법은 다른 버섯류와 큰 차이는 없다.

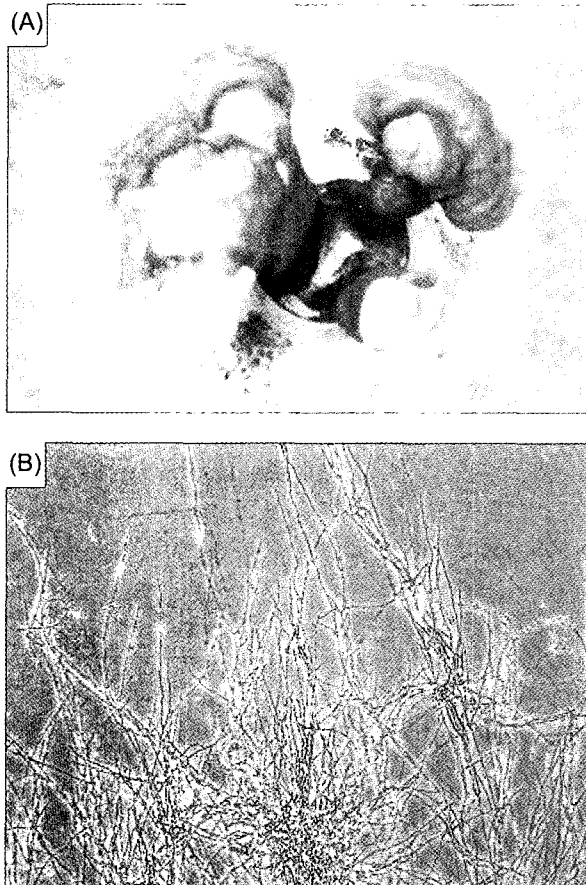


Fig. 1. Fruit body(A) of pot cultured and the mycelial(B) of liquid cultured of *Ganoderma lucidum*.

자실체를 분리배양의 재료로 이용하는 경우, 야외에서 채취한 영지의 표면에는 다양한 미소생물이 부착되어 있다. 또 영지의 내부에도 선충과 버섯파리의 유충 등이 숨어있는 경우도 있다. 영지의 분리배양을 위해서는 이들 미소생물에 오염되어서는 안된다. 따라서 가능하면 오래되지 않고, 오염되지 않았으며, 상태가 좋은 부분을 무균상태에서 소량 절취하여 평판 배지 위에 접종하여야 한다. 배지 위에 영지에서 유래한 것으로 보이는 콜로니가 성장하기 시작하면, 콜로니가 너무 크게 자라기 이전에 정상으로 생각되는 부위의 일부를 새로운 배지에 재이식한다. 이 때 형태가 다른 콜로니가 발생하지 않는가를 확인하면서 분리를 진행하여야 한다[8].

영지에서 얻어진 균사들은 다른 담자균류들과 마찬가지로 단핵균사(monokaryon)와 이핵균사(dikaryon)의 2가지 형태를 갖고 있다. 영지에서 핵을 하나 갖고 있는 단핵균사의 선발은 11.46%라는 낮은 수치가 보고되고 있지만, 육종 측면에서 단핵균주가 이용 범위가 넓기 때문에 여러 다양한 물리화학적 방법으로 단핵균주의 선발이 시도되고 있다[5].

포자로부터의 분리 배양법은 영지의 갓 주름이나 관공의 포자를 멸균된 종이나 배지 위에 낙하시켜서 배양하는 방법과 단일포자 분리법이 있다. 단일포자 분리법은 포자를 충분히 희석시켜서 배지위에 펼친 후에 현미경으로 보면서 바늘 등으로 건져서 각각 다른 배지에 이식하는 방법과 미세조작기(micromanipulator)를 이용하는 방법이 있다[8].

영지의 보존용 배지로는 Potato dextrose agar 등이 많이 이용되고 있지만, 목적에 따라서 적절하게 응용하는 편이 좋을 것이다. 또한 영지는 자실체 형성능, 효소와 유용성분의 생산능 등 그 본래의 활성을 잃지않게 균주를 유지보수하는 것이 상당히 어렵지만, 일반적으로 휴면 상태의 보존법쪽이 초기의 생리활성을 더 잘 유지한다고 알려져 있다. 현재 영지의 보존법에 많이 이용되는 방법으로는 3-4 개월 마다 신선한 배지에 이식 후 냉장보관하는 방법이 있다. 그러나 이 방법은 유전적 변이와 생리활성의 저하가 일어나기 쉽다는 단점이 있다. 다른 방법은 동결보존법으로 포자가 없고, 균사만으로 된 배양균주에 많이 이용되고 있다. 반면에 포자가 많이 포함된 경우에는 동결건조법이 우선되고 있다.

영지의 생리활성 물질

이전에 영지는 다른 담자균들과 달리 자연상태에서 채취하기가 어려워서 많은 연구가 시도되지 못하였으나 인공재배가 이루어진 1970년대부터 연구가 활발히 시작되었다. 영지 자실체는 ergosterol, lysozyme, acid protease 등을 담고 있다. 균핵(sclerotium)의 열수 추출물에서는 수용성 단백질, 아미노산, polypeptide, saccharide가 분리되었다. 균사체와 심부배양 여과물에서는 sterol, lactone, alkaloid, polysaccharide가 발견되었다. 이 중에서 생리활성과 약리적 기능에 대하여 많은 관심을 받고 있는 것이 polysaccharide와 triterpene으로 이들에 대한 관련논문들이 많이 발표되었

Table 1. Biological activities and pharmacological functions reported for the *Ganoderma lucidum*.

Biological activity	Type of compounds	Ref.
1. Antitumor activities	Polysaccharides, triterpenes, lipid	1, 7, 11, 16, 26, 31
2. Hypoglycemic activities	Polysaccharides	52
3. Immunomodulation	Polysaccharides, protein(LZ-8)	2, 17
4. Stimulation of cytokine production	Polysaccharides	21, 24, 47
5. Hepato-protection	Polysaccharides, triterpenes	13, 20
6. Inhibition of histamine release	Triterpenes	13
7. Inhibition of cholesterol synthesis	Triterpenes	13
8. Inhibition of protein farnesylation	Triterpenes	23
9. Stimulation of platelet aggregation	Triterpenes	41
10. Inhibition of platelet aggregation	Triterpenes	38, 45
11. Anti-Virus	Polysaccharides, triterpenes	6, 13
12. Induction of apoptosis	Polysaccharides, triterpenes	11, 25
13. Antioxidant	Polysaccharides, triterpenes, phenolic compounds	13, 20, 55

다. 영지유래 생리활성 물질들의 효과는 다음 표과 같다 (Table 1).

영지 polysaccharide(protein/peptide 결합 polysaccharide 포함)는 건조 자실체나 액체 균사 배양액에서 분리되는 생물활성을 갖는 거대분자로 넓은 물리화학적 특성과 다양한 구조적 특징을 갖는 물질이다. 이들 polysaccharide의 주된 형태는 β -D-glucan이다. Polysaccharide의 약리학적 중요성은 오랜 역사를 갖고 있지만, 실제 과학적인 접근을 하게 된 것은 Ringler 등(1957년)이 약용버섯의 항암, 면역조절 활성을 보고한 것이 최초이며[35], 이후 1977년에 Sugiura 와 Ito가(1977년) 영지 자실체와 갓, 줄기를 열수 추출한

polysaccharide를 Sarcoma-180이 이식된 마우스에 50 mg/kg 용량으로 투여한 결과 어떠한 부작용 없이 항암효과가 나타났다고 발표하였다[42].

이후, 영지 polysaccharide의 항암 활성은 암세포에 대한 직접적인 독성 보다는 NK세포, T세포, B세포, 대식세포 등을 통하여 interleukin, interferon, 항체 생성 등을 늘리고, 면역반응을 통하여 발암유전자를 막고 간접적으로 암전이를 저해하는 것으로 제시되었다[21, 49, 50]. Polysaccharide의 면역반응 촉진을 통한 항암기작은 다음과 같은 경로를 통하여는 것으로 생각되고 있다(Fig. 2).

또한 불용성 polysacchride가 수용성 polysacchride 보다

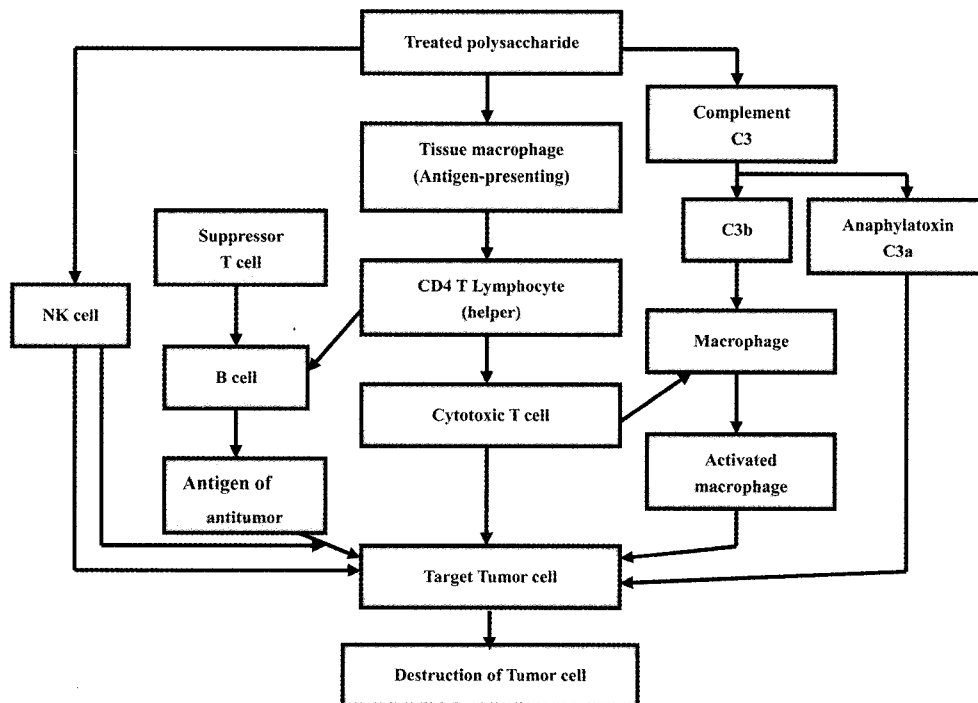


Fig. 2. Host mediated immune response by treatment of polysaccharide produced by *Ganoderma lucidum*.

더 높은 항암활성이 있다고 보고되었다. 이 때 수용성 polysacchride는 β -glucan과 glucurono- β -glucan으로 구성된 반면에 불용성 polysacchride는 hetero- β -glucan, xylomanno- β -glucan, manno- β -glucan으로 구성된 것으로 확인되었다 [31]. 지금까지 자실체, 포자, 균사체 배양액 등의 여러 형태와 여러 종류의 영지에서 200 종 이상의 polysaccharide가 분리된 것으로 보고되었다.

영지 polysacchride의 약리효과에 대한 많은 보고가 있지만, 그 중에서 최근의 주요 결과들을 정리하였다. (1) 영지 자실체에서 분리한 polysaccharide는 인간 단구와 대식세포에서 IL-1 β , TNF- α , IL-6을, T세포에서는 인터페론(IFN)- γ 생산을 촉진하였다. 이 polysaccharide에 유도된 cytokine은 백혈병 세포주의 분화와 증식을 저해하였으며, phosphatidylinositol(PI)-3-kinase/Akt pathway의 활성화를 통한 자발적 및 Fas-매개 apoptosis를 저해함으로써 호중구에서 면역반응을 촉진하고 항암효과를 증진시키는 것으로 확인되었다. 그리고 mitogen activated protein kinase(MAPK)와 protein kinase C(PKC) 경로를 통하여 호중구의 식세포(phagocytosis) 작용도 촉진하였다[11, 12, 47]. (2) 다른 polysaccharide는 glutathione S-transferase(GST) 활성을 유도하여 화학약품에 대한 보호 효과도 나타냈다[14]. (3) 영지 유래 aminopolysaccharide인 G009(β -Immunan)는 암의 병태생리를 나타내는 활성산소종(reactive oxygen species) 및 지질과산화, 비활성화 hydroxyl radical, superoxide 양이온 등을 저해하였다. 또한 G009는 DNA의 산화손상을 줄여서 화학약품에 대한 보호효과도 나타냈으며, 암세포의 전이와 혈관신생(angiogenesis)도 저해하였다[1, 15, 16, 20]. (4) Fucose를 포함하는 영지 추출물인 glycoprotein은 비장세포의 증식과 cytokine의 발현을 촉진하였다. 이 물질은 주로 D-glucose, D-mannose, D-galactose로 구성되어 있으며 fucose

잔기가 포함된 유일한 활성성분으로 확인되었다. 특히 조추출물(crude extract)에서는 cytokine의 발현을 촉진하지 않았지만, 열수 추출한 fucose함유 glycoprotein에서는 IL-1, IL-2, IFN- γ 의 발현을 유도하였다[48]. (5) 영지 자실체에서 분리한 proteoglycan도 D-glucose, D-galactose, D-mannose로 구성되어 있으며, 탄수화물 : 단백질의 비율이 11.5:1이었다. 이 proteoglycan은 B세포를 활성화시키고 증식시켜서 IL-2 생산을 촉진한 반면에 IL-4의 생산은 변화시키지 않았다. 그리고 B세포에서 PKC- α 와 β 의 발현을 촉진하였다[53]. (6) 산성단백질 결합 polysaccharide는 인간 헤르페스 바이러스(HSV)에 대한 항바이러스 활성을 나타냈으며, 이와 같은 항바이러스 활성은 HSV의 세포막에 있는 특정 당단백질과의 결합에 의한 것으로 확인되었다[6].

영지의 또다른 생리활성 물질인 triterpene 중 ganoderic acid는 Kubota 등(1982년)에 의하여 처음 분리되었다[15]. 이후 지금까지 영지 자실체, 포자, 균사체, 배양액에서 130 종 이상의 산화 triterpene(주로 lansotane형 triterpene)을 분리하였다. 일반적으로 triterpene은 항산화, 간세포 보호, 항알러지, 항고혈압, 콜레스테롤 저하, 혈소판 응집 저해 등에 효과가 있는 것으로 보고되었다. 특히 생리활성을 갖고 있는 ganoderic acid는 영지에서만 생산된다는 사실은 주목할 만 하다.

영지에서 분리된 triterpene 중 대부분이 ganoderic acid와 lucidenic acid이며, ganodermic acid, ganoderenic acid, lucidone, ganoderal, ganoderol 등도 있다. Triterpene은 각 영지 균주의 종류와 성장상태에 따라서 결사슬의 절단과 골격의 산화가 다양하게 나타난다[33]. Ganoderic acid는 위치에 따라서 40여 종류로 구분된다. Ganoderic acid A, B, H(type 1)는 자실체에서만 확인되었으며, 반면에 ganoderic acid R, S, T(type 3)는 균사체에서 많이 나타난다[9]. 주요 triterpene의 구조는 그림과 같다(Fig. 3).

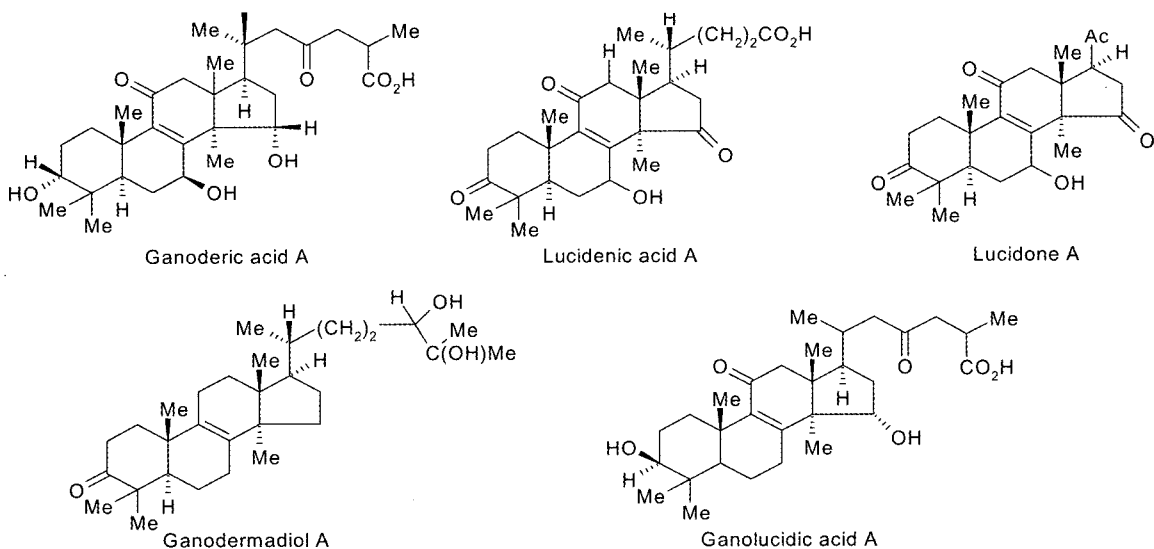


Fig. 3. Chemical structure of triterpenes produced by *Ganoderma lucidum*. *Me mean methyl group.

영지 triterpene의 약리효과에 대한 많은 보고가 있지만, 그 중에서 최근의 주요 결과들을 정리하면 다음과 같다. (1) Ganoderic acid A와 C는 세포형질 전환시에 필수적인 Ras 발암단백질 활성화의 중심역할을 하는 farnesyl protein transferase를 저해하였다[23]. (2) 영지 균사체에서 분리한 triterpene 분획이 protein kinase C를 저해하고, mitogen 활성화 protein kinase를 활성화시키고, G2 phase 세포주기의 진행을 억제시켜 인간의 간암세포의 성장을 저해하였다[25]. (3) 영지 추출 triterpene 분획이 혈구막에 대한 pyrogallol 유도 산화와 간(liver) 미토콘드리아에 대한 Fe(II)-ascorbic acid 유도 지질과산화 시험에서 항산화 효과가 있음을 확인하였다. 이 triterpene 분획의 주성분은 ganoderic acid A, B, C, D와 lucidenic acid B, ganodermatriol 등으로 확인되었다[55]. (4) 영지 포자에서 분리한 ganoderic acid B, lucidumol B, ganodermanodiol, ganodermanotriol, ganolucidic acid 등이 HIV-1 단백질 분해효소 활성 저해에 효과적이라고 보고되었다[29]. (5) 산화 triterpene인 Ganodermic acid S는 고용량 투여시에 인간 혈소판 응집을 촉진하였으며, 저용량 투여시에는 혈소판 응집을 저해하였다[41, 45].

그 외에 당지질 화합물인 cerebroside와 glycosphingolipid가 영지의 자실체에서 분리되었다. 이들 물질은 D-glucose, sphingosine, 2-hydroxypalmitoyl 또는 2-hydroxystearoyl fatty acid로 구성되어 있으며, 흥미롭게도 DNA polymerase를 저해하기 때문에 암세포의 DNA 복제 저해가 기대되고 있다[32]. 영지에는 염기성분으로 아데닌, 5'-GMP, 5'-XMP, RNA 등이 포함되어 있는데, 이들은 모두 정미(呈味)에 관계된 성분이다. 이후 영지의 알코올 추출물에 포함된 아데노신, 구아노신 등의 뉴클레오타이드 들에 혈소판 응집저해 작용도 확인 되었다[38].

영지 발아포자에서 분리한 lipid도 여러 암세포에 대한 항암활성을 나타냈으며[26], 영지에서 분리된 메탄올성 phenol 화합물도 지질과산화를 저해하는 항산화 효과는 나타냈다[28]. 영지에서 분리된 단백질인 LZ-8은 12 kDa의 homodimer로 면역글로불린 중사슬(heavy chain)의 가변영역과 유사도가 높은 아미노산 배열을 갖고 있으며, 마우스에 투여시에 항체 생산을 줄여 면역조절 효과를 나타냈으며, 또한 인슐린염(insulinitis)도 예방하였다[17, 18]. 영지는 게르마늄(Ge)을 많이 함유하는 것으로 보고되고 있으며, 특히 영지 polysaccharide의 항암활성은 Ge 함량의 상관관계도 관심을 받고 있다. 그러나 다른 연구에서는 Ge양이 미미한 수준이어서 생리활성과 큰 관계가 없을 것이라고 보고하였다[39].

영지의 배양 및 생리활성 물질 생산조건

영지 자실체는 매실, 참나무, 밤나무, 아카시아나무, 복숭아, 매화나무 등 각종 광엽수의 죽은 나무 또는 절단한 나무의 그루터기에서 자라면서 목재의 lignin을 분해한다. 영지

자실체는 버섯의 인공재배법이 발달함에 따라 널리 보급될 수 있게 되었다. 영지버섯을 용기에서 재배시 배지의 최적 수분함량이 70-75%, 균사생장 온도는 28-32도, pH는 4.2-5.3, 톱밥종류로는 참나무 톱밥에 미강을 10% 첨가하는 것이 균사의 생장에 좋다고 보고되었다[21].

영지 자실체의 양산과 더불어서 약효에 대한 관심이 증진되어 많은 유효성분 들이 분리되게 되었다. 이들 유효 성분들의 약효가 보고됨에 따라서 많은 수요가 발생하게 되었다. 그러나 기존의 영지버섯 자실체 배양에는 수개월의 기간을 필요로 하고 품질의 관리가 어렵고, 대량 생산을 할 수 없다는 단점을 갖고 있다. 이런 이유로 영지 균사체의 액체배양이 주목을 받게 되었다.

영지의 액체 배양은 80년대 이후에 시도되기 시작하여 여러 연구보고들이 이어져 왔다[40, 43]. 영지는 25-30°C의 온도에서 균사 생산성이 양호하였다. 그러나 10°C 이하에서는 균사의 생장이 멈추고 35°C 이상에서는 균사가 급격히 사멸하였으며 polysaccharide도 배양온도에 비례하여 증가하는 경향을 나타냈다. 영지의 초기 생육 pH는 4.5-5.0이라는 보고들이 많았지만, 영지는 균주에 따라서 최적 pH가 약간 상이하다는 보고도 있었다. 접종범위는 1-25%(v/v)까지 있었지만, 7-10%(v/v) 접종이 많이 보고되고 있으며, 높은 농도에서는 오히려 생육저해가 발생하였다[21, 22]. 균체와 다당류의 생육은 배지의 조성 과 배양 조건에 따라서 차이가 많았지만, 본 연구실의 실험결과에서는 기질은 배양 1일 쯤부터 급속히 소비되어서 4일 이후부터 완만하게 소비되었으며 6일까지 비교적 바르게 생육하였으나, 그 이후는 완만한 증가를 나타냈다. 배양의 종료 시점에서 pH는 약간 저하되었고, 이는 당의 대사과정에서 생성되는 유기산의 영향으로 생각되고 있다[21]. 영지의 polysaccharide 생산에 대한 추정 대사경로는 다음 그림과 같다(Fig. 4).

탄소원의 영향에서는 균주에 따라서 약간 상이한 결과가 나타났지만, 전분에서 균체와 다당류의 생산이 가장 많았으며 glucose, fructose 등에서도 높았다. 질소원에서는 corn steep liquor, yeast extract, soytone 등에서 생산량이 많았다[21, 22]. 특이한 점으로 배지에 oleic acid 등의 지방산을 첨가했을 때 수율이 2배 상승한 반면에 linoleic acid를 첨가하자 생육이 저해되는 결과가 발생하였다[51]. 배양 중에 기질의 소비에 따른 영지의 형태 변화도 관찰되었다. 초기 펠렛(pellet) 형태의 영지에서 균사가 돌기처럼 발생하기 시작하지만, 이때까지는 기질 소비가 이루어지지 않았다. 이후 이 돌기 형태의 균사가 펠렛에서 분리되어 2차 펠렛이 형성되면서 기질이 소비되고 polysaccharide 생산이 급속도로 증가하는 것으로 확인되었다[44].

산소공급과 전단응력(shear stress)도 영지의 배양에 큰 영향을 끼친다. 초기 kLa가 높은조건에서 수율이 높았으며, 마찬가지로 산소포화 농도가 높았을 때 수율이 높았다. 임펠러의 속도를 0.51, 1.02, 1.53 m/s로 설정하여 비교한 시험에

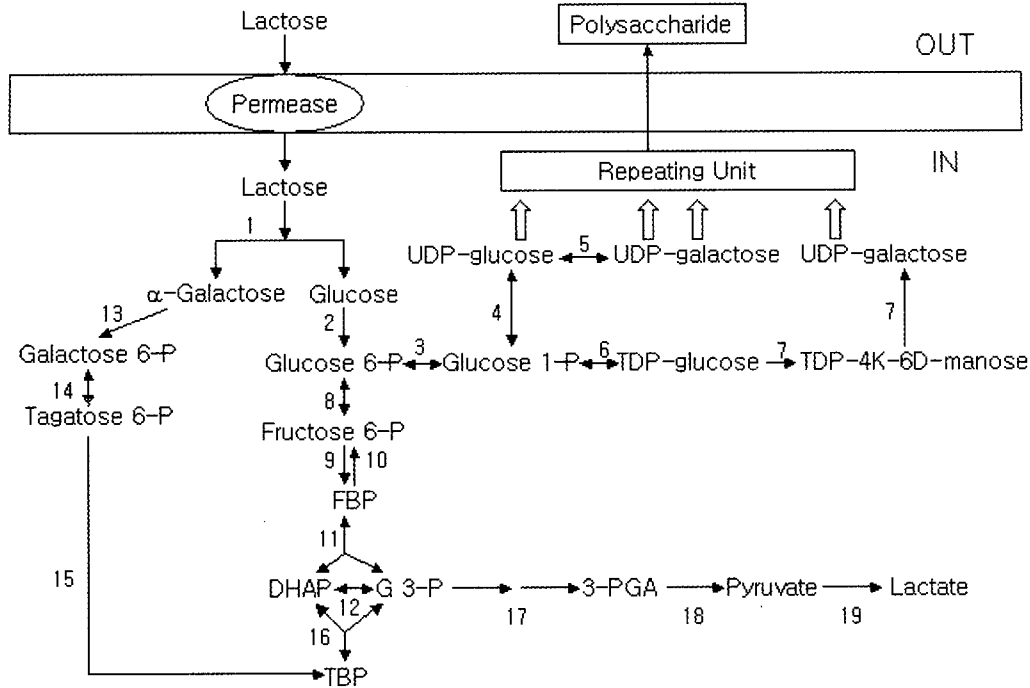


Fig. 4. Proposed pathway for polysaccharide biosynthesis by *Ganoderma lucidum* [54]. 1. β -galactosidase, 2. glucokinase, 3. α -phosphoglucomutase, 4. UDP-glucose pyrophosphorylase, 5. UDP-galactose-4-epimerase, 6. TDP-glucose pyrophosphorylase, 7. TDP-rhamnose biosynthetic system, 8. phosphoglucose isomerase, 9. 6-phosphofruktokinase, 10. fructose bisphosphate, 11. fructose-1,6-bisphosphate aldolase, 12. triose phosphate isomerase, 13. α -galactose kinase, 14. galactose-6-phosphate isomerase, 15. tagatose-6-phosphate kinase, 16. tagatose-1,6-bisphosphate aldolase, 17. glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase and phosphoglycerate kinase, 18. phosphoglyceromutase, endolase, pyruvate kinase, 19. lactate dehydrogenase. Abbreviations : DHAP(dihydroxyacetone phosphate), FBP(fructose 1,6-bisphosphate), G-3(glyceraldehyde 3-phosphate), P(phosphate), 3-PGA(3-phosphoglyceric acid), TBP(tagatose 1,6-bisphosphate), TDP(thymidine diphosphate), TDP-4K-6D-manose(TDP-4-keto-6-deoxymannose), UDP(uridine diphosphate).

서는 0.51 m/s에서, 배양액 부피 당 배양액 표면의 비율에서는 0.24, 0.9, 1.53 중에서 0.9 cm²/ml에서 수율이 가장 높았다[54].

현재 일부 회사에서는 영지의 산업규모 생산을 위한 배양이 실시되고 있다. 회분식 배양, 2단 배양에 대한 보고들도 있으며, modeling과 validation에 대한 연구들도 진행 중이다.

영지의 유용산물 추출법

영지에서 수용성 polysaccharide를 분리하기 위해서 가장 많이 이용되는 방법은 열수(95-100°C)를 이용하는 방법이다. 이후 농축된 물층에 에탄올을 더하여 침전물을 형성시킨 후 원심분리로 얻게 된다. 알칼리에 녹는 polysaccharide를 얻는 방법으로는 sodium hydroxide(0.1-1.0 M)를 더하여 열수 추출법을 대신하고 있다[7, 21, 30, 31]. 열수나 알칼리 추출 이전에 환류(reflux) 조건하에서 에탄올로 먼저 추출하거나 뜨거운 dichloromethane이나 methanol로 세척한 사례들도 있었다. 이같은 방법을 이용함으로써 영지에 존재하는 lipid가 제거되고 polysaccharide의 가수분해를 유도하는 효소도 불활성화시키는 장점이 있다고 한다[2, 3, 46]. 이후 에탄올 침전과 이어진 에탄올, 아세톤 세척 등이 실시되기도 하였다. 열수 추출 분획과 알칼리 추출 분획의 화학적 조성이 다르

며, 추출 용매와 분획법에 따라 생물활성이 다르게 나타날 것이라는 보고도 있었다[4].

영지에서 triterpene를 분리하기 위해서는 2종의 유기용매 추출법이 이용되고 있다. 첫 번째 방법은 유기용매와 물을 이용하여 총 triterpene을 분리하는 것으로 그 대표적인 예가 영지 포자에서 메탄올로 HIV 저해활성을 갖고 있는 triterpene을 추출한 것이다[29]. 마찬가지로 방법으로 영지 자실체의 CH₂Cl₂ 수용성 분획에서 ganolactone이라 명명된 새로운 triterpene을 포함하여 ganoderiol A, B, ganoderatriol을 얻었다[13]. 두 번째 방법은 산성 triterpene을 선택적으로 분리하는 방법이다. 대표적인 예로 영지 자실체를 95% 수성 에탄올로 환류조건하에서 추출하고, 감압하에서 건조 후, 남겨진 잔사를 물에 녹인후 다시 클로로포름으로 추출하였다. 포화된 NaHCO₃ 수성용액을 클로로포름에 넣어서 6N HCl로 산화시켜서 산성 triterpene만을 획득하였다[27].

결론

영지는 담자균에 속하는 진균류로서 다양한 생리활성 물질을 생산하여 여러 질병에 효과를 보이고 있다. 영지의 인공재배가 이루어진 1970년대부터 많은 연구가 진행되었으

며, 생리활성 성분 중에서 대표적인 물질로는 polysaccharide와 triterpene이 있다. 이들 물질들에 대한 *in vitro* 및 *in vivo* 시험 등에서 인체 내 signaling pathway에 대한 영향 등 다양한 약리 효과를 밝히는 노력이 지속되고 있다. 현재 영지 균사체를 이용하여 산업화 규모의 생산이 실시되고 있으며, 임상시험에서도 효과가 확인되고 있기 때문에 영지 유래 생리활성 물질들의 건강기능성 식품과 천연물 의약품으로 활용이 기대되고 있다.

요 약

대표적인 유명 식용버섯인 영지는 예전부터 아시아에서 가장 가치있는 약품으로 여겨졌으며 몸을 치료하고 정신을 안정화시키는 미스터리한 힘으로 사람들에게 장수를 가져다주는 것으로 믿어져왔다. 지금도 영지는 전세계에서 건강기능성 식품과 천연물 의약품으로 이용되고 있다. 중국, 한국, 일본, 미국 등에서 실시된 많은 연구에서 영지는 polysaccharide와 triterpene을 포함하여 여러 생리활성 물질을 갖고 있는 것으로 확인되었으며, 고혈압, 당뇨, 간장 질환, 암, AIDS 등에 대한 치료와 예방에 대한 효과가 기대되고 있다.

REFERENCES

1. Baek, S. J., Y. S. Kim, H. M. Yong, J. B. Chae, S. A. Lee, W. C. Bae, D. W. Park, D. Y. Kim, J. W. Lee, and S. K. Park. 2002. Antimetastatic effects of proteoglycan isolated from the mycelium *Ganoderma lucidum* IY 009 in vitro and in vivo. *Yakhak Hoeji* **46**: 11-17.
2. Bao, X. F., X. S. Fang, Q. Dong, J. N. Fang, and X. Y. Li. 2002. Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry* **59**: 175-181.
3. Bao, X. F., C. P. Liu, J. N. Fang, and X. Y. Li. 2001. Structural and immunological studies of a major polysaccharide from spores of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. *Carbohydr. Res.* **332**: 67-74.
4. Cheong, J. Y., W. T. Jung, and W. B. Park. 1999. Characterization of an alkali-extracted peptidoglycan from Korean *Ganoderma lucidum*. *Arch. Pharm. Res.* **22**: 515-519.
5. Eager, G. 1978. New way of breeding and strain protection for practical mushroom cultivation. *Muxh. Sci.* **10**: 415-420.
6. Eo, S.K., Y. S. Kim, C. K. Lee, and J. Han. 2000. Possible mode of antiviral activity of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* on herpes simplex viruses. *J. Ethnopharmacol.* **72**: 475-481.
7. Han, M. D. 1994. Antitumor activity of ganoderan extracted from mycelium of *Ganoderma lucidum* Ph. D. Thesis. Soonchunhyang University.
8. Hawksworth, D. L. 1974. *Mycologistis Handbook.*, p.233. Commonwealth Mycol. Inst., England.
9. Hirotoni, M. and T. Furuya. 1990. Changes of the triterpenoid patterns during formation of the fruit body in *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry* **29**: 3767-3771.
10. Hong, W. B., K. S. Chung, M. S. Woo, and B. K. Kim. 1982. Studies on constituents of higher fungi of Korea. *Kor. J. Mycol.* **10**: 147-154.
11. Hsu, M. J., S. S. Lee, and W. W. Lin. 2002. Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* inhibits spontaneous and Fas-mediated apoptosis in human neutrophils through activation of the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathways. *J. Leukoc. Biol.* **72**: 207-216.
12. Hsu, M. J., S. S. Lee, S. T. Lee, and W. W. Lin. 2003. Signaling mechanisms of enhanced neutrophil phagocytosis and chemotaxis by the polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum*. *Brit. J. Pharmacol.* **139**: 289-298.
13. Huie, C. W. and X. Di. 2004. Chromatographic and electrophoretic methods for Lingzhi pharmacologically active components. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **812**: 241-257.
14. Kim, H. S., S. Kacew, and B. M. Lee. 1999. In vitro chemopreventive effects of plant polysachrides (*Aloe barbadensis* Miller, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* and *Coriolus versicolor*). *Carcinogenesis* **20**: 1637-1640.
15. Kim, Y. S., W. C. Bae, J. M. Park, J. W. Lee, S. J. Baek, S. B. Lee, and K. Y. Yoon. 2004. Protective effects of β -Immunan isolated from the mycelium of *Ganoderma lucidum* IY 009 against cisplatin induced nephrotoxicity. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **32**: 271-276.
16. Kim, Y. S. 2004. Antitumor activity of proteoglycan β -Immunan extracted from mycelium of *Ganoderma lucidum* IY 009. Ph. D. Thesis. Soonchunhyang University.
17. Kino, K., A. Yamashita, K. Yamaoka, J. Watanabe, S. Tanaka, K. Ko, K. Shimizu, and H. Tsunoo. 1989. Isolation and characterization of a new immunomodulatory protein, Ling zhi-8 (LZ-8), from *Ganoderma lucidium*. *J. Biol. Chem.* **264**: 472-478.
18. Kino, K., K. Mizumoto, T. Sone, T. Yamaji, J. Watanabe, A. Yamashita, K. Yamaoka, K. Shimizu, K. Ko, and H. Tsunoo. 1990. An immunomodulating protein, Ling Zhi-8 (LZ-8) prevents insulinitis in non-obese diabetic mice. *Diabetologia.* **33**: 713-718.
19. Kubota, T., Y. Asaka, I. Miura, and H. Mori. 1982. Structure of ganoderic acid A and B, two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karst. *Helvetica. Chimica. Acta.* **65**: 611-619.
20. Lee, J. M., H. Kwon, H. Jeong, J. W. Lee, S. Y. Le, S. J. Baek, and Y. J. Surf. 2001. Inhibition of lipid peroxidation and oxidative damage by *Ganoderma lucidum*. *Phytother. Res.* **15**: 245-249.
21. Lee, J. W. 1996. Immunological activities and characterization of GLG isolated from mycelium of *Ganoderma lucidum* IY009 Ph. D. Thesis. Konkuk University.
22. Lee, S. Y. and T. S. Kang. 1996. Production conditions and characterization of the exo-biopolymer produced by

- Ganoderma lucidum* mycelium. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 111-118.
23. Lee, S., S. Park, J. W. Oh, and C. Yang. 1998. Natural inhibitors for the protein prenyltransferase. *Planta. Medica.* **64**: 303-308.
 24. Lei, L. S. and Z. B. Lin. 1992. Effect of *Ganoderma* polysaccharides on T cell subpopulations and production of interleukin 2 in mixed lymphocyte response. *Yao Xue Xue Bao.* **27**: 331-335.
 25. Lin, S. B., C. H. Lee, S. S. Lee, and L. S. Kan. 2003. Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. *Life Sci.* **72**: 2381-2390.
 26. Liu, X., J. P. Yuan, C. K. Chung, and X. J. Chen. 2002. Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of *Ganoderma lucidum*. *Cancer Res.* **22**: 3309-3318.
 27. Ma, J., Q. Ye, Y. Hua, D. Zhang, R. Cooper, M. N. Chang, J. Y. Chang, and H. H. Sun. 2002. New lanostanoids from the mushroom *Ganoderma lucidum*. *J. Nat. Prod.* **65**: 72-75.
 28. Mau, J. I., H. C. Lin, and C. C. Chen. 2002. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 6072-6077.
 29. Min, B. S., N. Nakamura, H. Miyashiro, K. W. Bae, and M. Hattori. 1998. Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease. *Chem. Pharm. Bull.* **46**: 1607-1612.
 30. Miyazaki, T. and N. Nishijima. 1981. Studies on fungal polysaccharides. XXVII. Structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* **29**: 3611-3616.
 31. Mizuno, T., N. Kato, A. Totsuka, K. Takenaka, S. Kenkichi, and M. Shimizu. 1984. Fractionation, structural features and antitumor activity of water soluble polysaccharide from "Reishi" the fruit body of *Ganoderma lucidum*. *Nippon Noeikagaku Kaishi* **58**: 871-880.
 32. Mizushima, Y., L. Hanashima, T. Takemura, F. Sugawara, M. Saneyoshi, S. Yoshida, and K. Sakaguchi. 1998. A mushroom fruiting body-inducing substance inhibits activities of replicative DNA polymerases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **249**: 17-22.
 33. Nishitoba, T., H. Sato, and S. Sakamura. 1987. Novel mycelial components ganoderic acid Ma, Mh, Mi, Mj, and Mk from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Agric. Biol. Chem.* **51**: 1149-1153.
 34. Nishitoba, T., H. Sato, S. Shirasu, and S. Sakamura. 1987. Novel triterpenoids from the mycelial mat at the previous stage of fruiting of *Ganoderma lucidum*. *Agric. Biol. Chem.* **51**: 619-622.
 35. Ringler, R. L., R. U. Byerrum, T. A. Steven, P. P. Clark, and C. C. Stock. 1957. Studies on the antitumor substances produced by Basidiomycetes. *Antibiot. Chemother.* **7**: 1-5.
 36. Ryvar den, L. 1991. Genera of Polypores, p. 363. *In Nomenclature and Taxonomy, Fungi*, Flora, Oslo.
 37. Shiao, M. S., K. R. Lee, J. J. Lin, and C. T. Wang. 1994. Phytochemicals for Cancer Prevention II, p. 342. *In C. T. Ho (eds), Teas, Spices and Herbs*. American Chemical Society, Washington.
 38. Shimizu, A., T. Yano, Y. Saito, and Y. Inada. 1985. Isolation of an inhibitor of platelet aggregation from a fungus, *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* **33**: 3012-3015.
 39. Shin, H. W., H. W. Kim, E. C. Choi, S. H. Toh, and B. K. Kim. 1985. Studies on inorganic composition and immunopotentiating activity of *Ganoderma lucidum* in Koera. *Kor. J. Pharmacol.* **16**: 181-190.
 40. Sone, Y., R. Okuda, A. Wada, A. Kishida, and A. Misaki. 1985. Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing cultures of mycelium of *Ganoderma lucidum*. *Agri. Biol. Chem.* **49**: 2642-2650.
 41. Su, C. Y., M. S. Shiao, and C. T. Wang. 1999. Differential effects of ganodermic acid S on the thromboxane A2-signaling pathways in human platelets. *Biochem. Pharmacol.* **58**: 587-595.
 42. Sugiura, T. and H. Ito. 1977. Toxicological studies of *Ganoderma lucidum* Karst. *Tokyo Yakka Daigak, Kenkyu Nempo.* **27**: 722-725.
 43. Tseng, T. C., M. S. Shiao, Y. S. Shieh, and Y. Y. Hau. 1984. Studies on *Ganoderma lucidum* 1. Liquid culture and chemical composition of mycelium. *Bot. Bull. Academia Sinica.* **25**: 149-157.
 44. Wagner, R., D. A. Mitchell, G. L. Sasaki, and M. A. L. A. Amazonas. 2004. Links between morphology and physiology of *Ganoderma lucidum* in submerged culture for the production of exopolysaccharide. *J. Biotechnol.* **114**: 153-164.
 45. Wang, C. N., J. S. Chen, M. S. Shiao, and C. T. Wang. 1991. The inhibition of human platelet function by ganodermic acids. *Biochem. J.* **277**: 189-197.
 46. Wang, G., J. Zhang, T. Mizuno, C. Zhuang, H. Ito, H. Mayuzumi, H. Okamoto, and J. Li. 1993. Antitumor active polysaccharides from the Chinese mushroom Songshan lingzhi, the fruiting body of *Ganoderma tsugae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **57**: 894-900.
 47. Wang, S. Y., M. L. Hsu, H. C. Hsu, S. S. Lee, M. S. Shio, and C. K. Ho. 1997. The antitumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophage and T lymphocytes. *Int. J. Cancer.* **70**: 699-705.
 48. Wang, Y. Y., K. H. Khoo, S. T. Chen, C. C. Lin, C. H. Wong, and C. H. Lin. 2002. Studies on the immuno-modulating and antitumor activities of *Ganoderma lucidum*(Reishi) polysaccharides : functional and proteomic analysis of a fucose-containing glycoprotein fraction responsible for the activities. *Bioorg. Med. Chem.* **10**: 1057-1062.
 49. Won, S. J., M. T. Lin, and W. L. Wu. 1992. *Ganoderma tsugae* mycelium enhances splenic natural killer cell activity and serum interferon production in mice. *Jpn. J. Pharmacol.* **59**: 171-176.
 50. Won, S. J., S. S. Lee, Y. H. Ke, and M. T. Lin. 1989. Enhancement of splenic NK cytotoxic activity by the extracts

- of *ganoderma lucidum* mycelium in mice. *J. Biomed. Lab Sci.* **2**: 201-213.
51. Yang, F. C., Y. F. Ke, and S. S. Kuo. 2000. Effect of fatty acids on the mycelial growth and polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in shake flask cultures. *Enzyme Microb. Technol.* **27**: 295-301.
52. Zhang, H. N. and Z. B. Lin. 2004. Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Acta Pharmacol. Sin.* **25**: 191-195.
53. Zhang, J., Q. Tang, M. Zimmerman-Kordman, W. Reutter, and H. Fan. 2002. Activation of B lymphocytes by GLIS, a bioactive proteoglycan from *Ganoderma lucidum*. *Life Sci.* **71**: 623-638.
54. Zhong, J. J. and Y. J. Tang. 2004. Submerged cultivation of medicinal mushrooms for production of valuable bioactive metabolites. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **87**: 25-59.
55. Zhu, M., Q. Chang, L. K. Wong, F. S. Chong, and R. C. Li. 1999. Triterpene antioxidants from *Ganoderma lucidum*. *Phytother. Res.* **13**: 529-531.

(Received Apr. 6, 2005/Accepted June 11, 2005)