

# 차가버섯 물 추출물의 추출온도에 따른 효능 비교 연구(I) - 산화반응 억제효과 -

박규천<sup>#1</sup>, 길기정<sup>2</sup>, 이영종<sup>\*1</sup>

1: 경원대학교 한의과대학 본초학교실, 2: 중부대학교 한의과대학

## The Comparative Study of the Effects of Fructificatio Inonoti Obliqui Aqueous Extract according to the Extraction Temperature(I) -Anti-oxidative effect-

Kyu-Cheon Park<sup>#1</sup>, Ki-Jung Kil<sup>2</sup>, Young-Jong Lee<sup>\*1</sup>

1: Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University  
Seongnam 461-701, Korea

2: Dept. of Oriental Plant Medicine Resources, Joongbu University

### ABSTRACT

**Objectives :** The present study purposed to compare the anti-oxidative effect of Fructificatio Inonoti Obliqui aqueous extract according to extraction temperature.

**Methods :** We measured the total phenol content and anti-oxidative activity of Fructificatio Inonoti Obliqui total extract and 50°C low-temperature leachate.

**Results :** Anti-oxidative activity of Fructificatio Inonoti Obliqui total extract and 50°C low-temperature leachate was different according to extraction temperature, concentration, and antioxidant effect measuring method. In all experiments, the total extract showed higher antioxidant than n-BuOH fraction. The total phenol content was higher in Fructificatio Inonoti Obliqui total extract than 50°C low-temperature leachate.

**Conclusions :** Both Fructificatio Inonoti Obliqui total extract and Fructificatio Inonoti Obliqui 50°C low-temperature leachate have significant anti-oxidative effect.

**Key words :** Inonotus obliquus, Fructificatio Inonoti Obliqui, anti-oxidative effect.

---

\* 교신저자 : 이영종, 경기도 성남시 수정구 복정동 산 65, 경원대학교 한의과대학 본초학교실.  
· Tel: 031-750-5415 · E-mail : garak@kyungwon.ac.kr  
# 제1저자 : 박규천, 경원대학교 한의과대학 본초학교실  
· 접수 : 2007년 11월 12일 · 수정 : 2007년 12월 11일 · 채택 : 2007년 12월 21일

## 서론

차가버섯 *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat은 소나무 비늘버섯과(Hymenochaetaceae)에 속하는 약용 버섯으로, 주로 북위 45° 이상의 러시아를 비롯한 한랭지역에서 자생하는 검은 자작나무, 오리나무, 물푸레나무 등에 기생하는 균핵이다<sup>1,2)</sup>.

차가버섯의 학명에 대해서 러시아와 핀란드에서는 *Inonotus obliquus*라고 명명하고, 일본에서는 *Fuscoporia oblique*로 명명하였으나 1980년대 이후 동일한 종류의 균을 놓고 두개의 학명이 존재한다는 사실이 밝혀지면서 국제관례에 따라 먼저 등록한 구소련 쪽의 학명인 *Inonotus obliquus*를 사용하게 되었다<sup>3)</sup>. 최근의 연구에 의하면 현재 국내에서 자작나무버섯으로 수입되어 시판되고 있는 균주들로는 *Inonotus obliquus* 외에 이와 형태학적으로 아주 유사하지만 아직 약효나 독성에 대해 확인된 바가 없는 *I. mikadoi*, *I. dryophilus*, *I. hispidus* 등의 종들도 함께 유통되고 있는 실정이다<sup>4)</sup>.

中華本草<sup>5)</sup>에는 동속의 *Inonotus cuticularis* (Bull. ex Fr.) Karst가 榭菌이라는 명칭으로 수재되어 있는데, 중국의 吉林, 江蘇, 浙江, 福建, 湖南, 廣東, 臺灣 등지에 분포하며, 味甘 性平하여 順氣, 益神, 祛風, 抗腫瘤의 효능이 있어서 胃病, 麻風, 腫瘤 등을 치료하는 효능이 있다고 하였다.

차가버섯은 다당류, 폴리페놀, 옥시페놀 카본산, 리그닌, 섬유소, 유기산, 미네랄 등을 함유하고 있어 다양한 생리활성을 가진 것으로 보고되고 있다<sup>2,6)</sup>.

러시아에서는 1958년도부터 연구가 시작되었으며, Bulatov 등<sup>7)</sup>이 차가버섯 추출물에서 항종양 활성을, Shvrina<sup>2)</sup>는 차가버섯 중의 steroides 또는 aromatic polyphenol 화합물들이 활성을 나타낸다고 보고하였는데, 차가버섯의 항종양 활성 성분으로 lanosterol, inotodiol1), betulin<sup>6)</sup> 등의 triterpene 성분들과 기타 sterol<sup>8)</sup>류를 보고하였다.

차가버섯의 약리활성은 주로 항종양<sup>9-13)</sup>에 대한 연구가 많이 이루어졌지만, 이 밖에 항산화활성<sup>14)</sup>, 항바이러스 작용<sup>15)</sup>, 당뇨병<sup>16)</sup>, 에이즈<sup>17)</sup>, 전립선 비대증<sup>18)</sup>에 효과가 있다고 보고되었다.

차가버섯은 뜨거운 물에 우려먹는 방법으로 일찍부터 이용되어 왔으며<sup>14)</sup>, 차가버섯을 비롯한 대부분 버섯류의 생리활성 성분중에서 항종양 활성 성분은 물 추출물중에 함유된 다당체에 기인하는 것으로 알려져 있어서 차가버섯의 적절한 효능과 경제성을 고

려할 때 수용성 추출물이 가장 바람직하다고 하였다<sup>19)</sup>. 그리고 시중에서 차가버섯을 복용하는 방법으로 고온으로 煎湯하여 복용하는 경우와, 50°C 내외에서 우려먹는 경우 등이 있는데, 추출온도에 따른 효능의 차이에 대해서는 아직 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 차가버섯의 추출온도에 따른 효능의 변화를 구명하기 위하여 차가버섯 물 추출물의 추출 온도에 따른 항산화 효과를 in vitro에서 비교하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실험

### 1. 재료

실험에 사용된 차가버섯 *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat은 러시아 이르크츠크 주에서 생산되었으며, 허벤텡 주식회사(서울, 한국)에서 2004년 수입한 것을 구입하여 기원의 眞偽와 품질의 優劣을 暎園大學校 韓醫科大學 本草學教室에서 감정하였다.

### 2. 방법

#### 1) 추출

##### (1) 전탕 추출

차가버섯 100g에 1L의 증류수를 가하고 약탕기(웅진약탕기, 한국)를 이용하여 3시간 동안 끓인 다음 여과지로 여과한 후 감압증류장치를 이용하여 수분을 제거하여 분말로 만들었다.(수율 Table 1)

##### (2) 저온 침출

차가버섯의 분말 100g에 1L의 증류수를 가하고 전탕 배양기(Jeiotec, 한국)를 이용하여 50°C, 37°C, 실온에서 각각 3시간 동안 저온 침출 하였다. 전탕 후 여과지로 여과한 다음 감압증류장치를 이용하여 수분을 제거하고 분말로 만들었다.(수율 Table 1)

#### 2) 분획

실제 임상에서 사용되는 전탕액과, 각 온도별 물 추출물의 DPPH 소거능을 비교 분석한 결과 선택된 50°C 저온 침출물을 아래와 같은 방법으로 분획하였다. 차가버섯의 전탕액 분말과 50°C 저온 침출 분말 20g에 증류수 400ml를 넣고 극성이 다른 용매(n-hexan, ethyl acetate, ethyl ether, n-butanol)를 이용하여 단계적으로 분획하였다. 극성에 의해 얻어진 분획물은 감압증류장치를 이용하여 용매를 완전

히 제거한 후 실험에 사용하였다(Fig. 1).

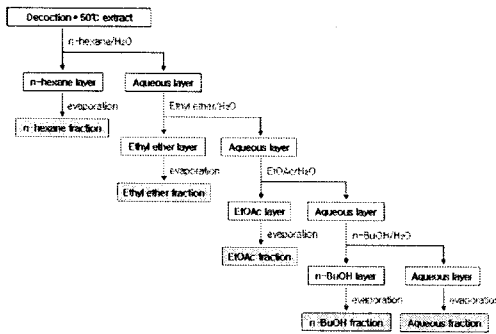


Fig. 1. Procedure of various solvent fractions from decoction extract and 50°C aqueous extract of Fructificatio Inonoti Obliqui .

### 3) 산화반응 억제 효과 측정

#### (1) DPPH 소거능 측정

최적의 추출 온도 선택과, 선택된 추출물의 최적의 분획물을 선택하기 위해 DPPH 소거능을 측정하였다. 추출 분말 또는 분획 분말 회석액 4ml에 1.5x10<sup>-4</sup>M DPPH/MeOH 1ml을 넣고 잘 흔들어 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 흡광도 517nm에서 측정하였다.

$$\text{DPPH 소거능(\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{추출물의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

#### (2) TBA법(16)에 의한 지질과산화물 억제율 측정

Linoleic acid 0.052ml에 99%의 ethanol 4ml와 50mM phosphate buffer(pH 7.0) 4ml를 혼합한 후 분획물을 농도별로 1ml씩 첨가하였다. 여기에 최종 volume이 10ml이 되도록 증류수 0.948ml를 가하여 40°C에서 10일간 자동산화 반응하였다. 이렇게 제조한 반응액 200μl를 clean test tube에 넣고, 8.1% sodium dodesyl sulfate (SDS) solution 225μl를 가하여 5초 동안 vortex mixer로 혼합 하였다. 여기에 20% acetic acid 1.5ml를 가하고 증류수 75μl를 더한 후 5초 동안 vortex mixer 로 혼합 하였다. 1.2% thiobarbiture acid solution을 1ml 가하고 clean dry marble로 덮은 후 water bath에서 30분간 가열하였다. 이 후 실온에서 30분간 방치하고 3,000rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{지질 과산화 물억제율(\%)} = \frac{\text{대조군 과산화물가} - \text{추출물 과산화물가}}{\text{대조군 과산화물가}} \times 100$$

#### (3) SOD 활성도 측정

분획물 회석액 1ml에 60μM PMS/phosphate buffer(pH 7.4) 1ml과 486μM NADH phosphate buffer 1ml, 그리고 150μM NBT/phosphate buffer 1ml을 혼합하여 실온에서 5분간 방치한 후 흡광도 560nm에서 측정하였다.

$$\text{SOD 활성도(\%)} = \frac{\text{대조군 산화물 O.D 값} - \text{추출물 산화물 O.D 값}}{\text{대조군 산화물 O.D 값}} \times 100$$

#### (4) 총페놀 함량 측정

총페놀 함량 측정은 Folin-Denis 법(20)을 응용하여 측정하였다. 각 추출물과 n-BuOH 분획물 1mg을 증류수 1ml에 녹여서 10배의 회석액을 만들었다. 회석액 2ml에 2배로 희석한 Folin 시약 2ml을 첨가하고 잘 혼합한 후 3분간 실온에서 방치한 후 2ml의 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 가하였다. 이 혼합액을 실온에서 1시간동안 방치한 후 ELISA reader(Sunrise, TEKAN, Austria)를 이용하여 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 함량을 구하였다.

#### 4) 세포독성 측정

세포독성 측정은 SRB assay법(21)을 응용하여 실험에 사용하였다. Human lung fibroblast cells (mLFC)를 37°C의 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 후 Trysin-EDTA를 처리하여 단일 세포들이 되도록 떼어내어 96well plate에 2x10<sup>6</sup> cells/well 가 되도록 분주하고 incubator에서 2시간 배양 하였다. 배양 후 각 약물 전당액 회석액을 가한 후 48시간 배양 하였다. 배양 종료 후 배양액을 버리고 D-PBS로 2회 washing 후 각 well에 50%TCA(trichloroacetic acid)를 50μl 씩 가하여 4°C에서 1시간동안 방치 하였다. 증류수로 5회 washing 후 공기 중에서 건조하였다. 건조된 후 SRB(0.4%/1% acetic acid) 용액을 100μl/well씩 가하고 실온에서 30분간 염색하였다. 그리고 0.1% acetic acid 용액으로 5회 washing 후 공기 중에서 건조하고 10mM Tris Base 100μl/well 로 용해 시켰다. ELISA reader를 이용하여 흡광도

540nm에서 측정하였다.

5) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과를 ANOVA multi t-test (JAVA, Bonferroni Ver 1.1)로 분석하여 p값을 구하였다. 각 실험군을 대조군과 비교하여  $p < 0.05$  일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 추출 온도에 따른 수율과 DPPH 소거능

최적의 추출방법을 선택하기 위해, 차가버섯을 4가지 방법(전탕, 50°C, 37°C, 실온)으로 추출한 후, DPPH 소거능을 측정한 결과, 수율과 DPPH 소거능 모두 전탕액, 50°C, 37°C, 실온 침출의 순으로 높았으며, 10%에 비해 5%와 1%에서 DPPH 소거능이 높게 나타났다(Table 1-2).

Table 1. Yield of Aqueous Extracts from Fructificatio Inonoti Obliqui at Various Temperature

	Decoctio n	50°C	37°C	Room Temperature (22-24°C)
Yield(%)/ (50g)	20.5%	16%	13.5%	12%

The values are the percentage of the yield of aqueous extracts from Fructificatio Inonoti Obliqui at various temperature

Table 2. Scavenging Activity of Aqueous Extracts from Fructificatio Inonoti Obliqui at Various Temperature on DPPH Free Radical

	Decoction	50°C	37°C	Room Temperature (22-24°C)
10%	37.2±1.5	30.2±6.0	36.3±3.7	21.4±3.9
5%	64.6±4.9	57.9±5.5	62.2±4.2	50.7±2.1
1%	63.2±1.7	64.5±4.5	58.2±2.7	56.9±8.0

Various concentrations of the aqueous extracts from Fructificatio Inonoti Obliqui were reacted with DPPH for 30 minutes at room temperature. The absorbance was measured at 517nm. The values are the mean ± SD of three independent experiments.

2. 분획에 따른 수율 및 DPPH 소거능

차가버섯의 전탕액과, 50°C, 37°C 및 실온 침출액의 수율과 DPPH 소거능을 근거로, 수율 및 DPPH 소거능이 대체적으로 양호하게 나타난 50°C 저온 침출액과, 전탕액을 선택하여 각각 분획하였다(Table 3).

Table 3. Scavenging Activity of Various Fractions of Decoction Extract and 50°C Aqueous Extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on DPPH Free Radical

Fraction	%	Decoction(%)	50°C(%)
Total ex.	10	0.0±0.4	0.0±1.3
	5	15.3±5.4	19.8±3.1
Hexane	1	37.7±4.7	49.2±2.8
	10	34.7±1.2	59.6±2.0
Ethyl ether	5	42.3±4.8	51.6±3.8
	1	43.7±5.1	33.3±3.4
EtOAc	10	53.4±1.2	88.1±0.3
	5	66.6±0.4	88.9±0.1
n-BuOH	1	82.5±0.3	63.2±2.1
	10	83.9±2.3	84.8±0.8
Aqueous	5	86.4±1.9	86.0±0.3
	1	86.6±0.3	64.5±1.1
	10	80.1±1.2	77.6±0.5
	5	86.4±0.2	82.7±0.1
	1	77.6±0.1	81.0±0.6
	10	0.0±5.8	2.4±3.2
	5	0.0±4.7	40.2±2.4
	1	67.5±0.1	73.0±0.7

The total extract and various fractions of Fructificatio Inonoti Obliqui decoction were reacted with DPPH for 30 minutes at room temperature. The absorbance was measured at 517nm. The results are expressed as the mean ± SD.

1) 차가버섯 전탕액

차가버섯 전탕액을 극성이 다른 용매(n-hexan, ethyl acetate, ethyl ether, n-butanol, H2O)를 이용하여 단계적으로 분획한 후 수율과 DPPH 소거능을 측정한 결과, 물 분획물의 수율이 85%, EtOAc와 n-BuOH 분획이 5%의 수율을 나타냈으며, DPPH 소거능은 ethyl acetate, n-butanol 층에서 높게 나타났다(Table 4, Fig. 2).

Table 4. Yield of Various Fractions of Fructificatio Inonoti Obliqui Decoction

	n-Hexane	Ethyl ether	EtOAc	n-BuOH	Aqueous
Yield(%)/ (20g)	2.5%	2.5%	5%	5%	85%

The values are the percentage of the yield of various fractions of Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

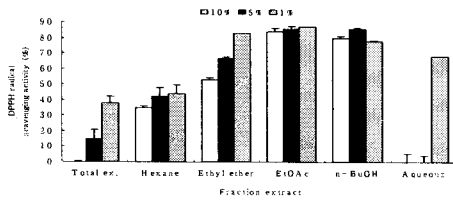


Fig. 2. Scavenging activity of total extract and various fractions of Fructificatio Inonoti Obliqui decoction on DPPH free radical.

The total extract and various fractions of Fructificatio Inonoti Obliqui decoction were reacted with DPPH for 30 minutes at room temperature. The scavenging activity was measured in the absorbance at 517nm. The values are the mean  $\pm$  SD of three independent experiments.

### 2) 차가버섯 50°C 저온 침출액

차가버섯 50°C 저온 침출액을 극성이 다른 용매 (n-hexan, ethyl acetate, ethyl ether, n-butanol, H<sub>2</sub>O)를 이용하여 단계적으로 분획 한 후 DPPH 소거능을 측정한 결과, ethyl ether, ethyl acetate, n-butano 층에서 높은 DPPH 소거율을 나타내었다 (Table 5, Fig. 3).

Table 5. Yield of Various Fractions of 50°C Aqueous Extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

	n-Hexane	Ethyl ether	EtOAc	n-BuOH	Aqueous
Yield(%)	2.5%	5%	10%	20%	60%

The values are the percentage of the yield of various fractions of 50°C Aqueous Extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

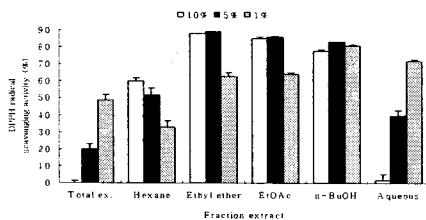


Fig. 3. Scavenging activity of total extract and various fractions of 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on DPPH free radical.

The total extract and various fractions of 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui were reacted with DPPH for 30 minutes at room temperature. The scavenging activity was

measured in the absorbance at 517nm. The values are the mean  $\pm$  SD of three independent experiments.

### 3. 산화반응 억제효과

#### 1) TBA법에 의한 지질과산화

차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50°C 저온 침출액 및 50°C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물을 10%와 1%로 희석하여 linoleic acid의 지질과산화물 생성을 억제하는 효과를 측정한 결과, 전탕액보다 50°C 저온 침출액에서 높은 억제 효과를 보였고, total extract가 n-BuOH fraction 보다 높은 억제 효과를 보였으며, 1%에서 10%에 비하여 전체적으로 높은 억제 효과를 보였다 (Table 6).

Table 6. Inhibitory Effect of Total Extract and n-BuOH Fraction of FIO and FIO50°C Against Lipid Acid Peroxidation

	%	Total ex.(%)	n-BuOH fraction(%)
FIOd	10	52.7 $\pm$ 4.0	35.0 $\pm$ 7.0
	1	63.2 $\pm$ 5.4	56.3 $\pm$ 1.2
FIO50°C	10	56.2 $\pm$ 8.7	50.0 $\pm$ 4.1
	1	69.7 $\pm$ 11.0	62.0 $\pm$ 6.3

Antioxidative activity against lipid acid peroxidation of total extracts and n-BuOH fractions of the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui was measured by TBA (2-thiobarbituric acid) method using linoleic acid.

FIOd: Decoction extract from Fructificatio Inonoti Obliqui  
FIO50°C: 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

The values are the mean  $\pm$  SD of three independent experiments.

#### 2) Superoxide dismutase (SOD) 활성도

차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50°C 저온 침출액 및 50°C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물의 SOD 활성도를 측정하여 비교한 결과, 차가버섯 50°C 저온 침출액보다 차가버섯 전탕액에서 높은 활성도를 보였고, total extract가 n-BuOH fraction 보다 높은 SOD 활성도를 보였으며, 차가버섯 50°C 저온 침출액의 total extract에서 10%보다 1%의 활성도가 높은 것을 제외하고 모두 1%보다 10%에서 SOD 활성도가 높게 나타났다 (Table 7).

Table 7. Effects of Total Extract and n-BuOH Fraction of FIOd and FIO50°C on SOD Activity

	%	Total ex.(%)	n-BuOH fraction(%)
FIOd	1	49.6±11.0	47.1±0.1
	1	46.2±0.1	36.7±1.1
FIO50°C	1	41.2±0.3	42.8±0.1
	1	44.7±0.1	31.8±0.6

Superoxide dismutase was assayed in observance at 560nm. FIOd: Decoction extract from Fructificatio Inonoti Obliqui FIO50°C: 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui  
The values are the mean ± SD of three independent experiments.

3) 총페놀 함량

차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50°C 저온 침출액 및 50°C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물의 총페놀 함량을 측정 비교한 결과, 전탕액이 50°C 저온 침출액보다 높은 페놀 함량을 나타내었다. 차가버섯의 전탕액에서는 total extract와 n-BuOH 분획물의 총페놀 함량이 비슷하였고, 차가버섯 50°C 저온 침출액에서는 n-BuOH 분획물보다 total extract에서 총페놀 함량이 높게 나타났다(Table 8).

Table 8. Volume of Phenolic Compound in Total Extracts and n-BuOH Fractions of Decoction and 50°C Aqueous Extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

	Total ex.(µg/g)	n-BuOH fraction(µg/g)
FIOd	213.0±34.4	215.3±33.6
FIO50°C	215.0±32.4	169.0±0.9

Total Phenolic compounds were assayed by Folin-Denis' method. FIOd: Decoction extract from Fructificatio Inonoti Obliqui FIO50°C: 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui  
The results are the mean ± SD of three independent experiments.

4. 세포독성 검사

차가버섯의 전탕액과 50°C 저온 침출액의 세포에 대한 독성 검사를 실시하여 비교한 결과, 모두 0.1%에서 세포의 생존율이 가장 높게 나타났다(Table 9).

Table 9. Cytotoxicity of FIOd, FIO50°C on Human Lung Fibroblast

	50%	25%	10%	1%	0.1%
FIOd	10±2	9±4	5±3	49±2	62±6
FIO50°C	1±7	1±1	1±5	39±6	56±4

Human lung fibroblast cells (hLFCs) were treated with various concentrations(50%, 25%, 10%, 1%, 0.1%) of the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui.  
FIOd: Decoction extract from Fructificatio Inonoti Obliqui FIO50°C: 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui  
The values are the mean ± SD of three independent experiments.

고찰

차가버섯 *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat은 소나무 비늘버섯과(Hymenochaetaceae)에 속하는 약용 버섯으로 주로 북위 45° 이상의 러시아를 비롯한 한랭지역에서 자생하는 검은 자작나무, 오리나무, 물푸레나무 등에 기생하는 균핵이다. 자실체는 수피 밑에 얇고 넓게 퍼져 있으며 다갈색을 띠며 두께는 2-8mm 정도이고 갓을 형성하지 않으며, 균핵의 표면은 딱딱하고 검은 광택이 있으며 종횡으로 균열이 많고, 내부는 황갈색으로 목질진흙버섯과 비슷하며 직경은 10-20cm정도이다. 포자의 색은 담갈색이며 크기는 7-10 x 6-8 µm 정도이다. 자생하는 주요 지역은 러시아의 시베리아와 캐나다, 일본의 홋카이도로 알려져 있다.<sup>1,2)</sup>

차가버섯은 다른 약용 버섯과 마찬가지로 다당류, 폴리페놀, 옥시페놀 카본산, 리그닌, 섬유소, 유기산, 미네랄 등을 함유하고 있어 다양한 생리활성을 가진 것으로 보고되고 있다.<sup>2,6)</sup>

차가버섯에는 항종양 활성을 나타내는 다당체를 많이 함유하고 있는데, 특히 xylogalactoglucan이 주요 생리활성 성분으로 알려져 있다.<sup>10,13)</sup> 차가버섯 자실체로부터 추출된 수용성 및 불용성 다당체는 각각 17.7% 및 13.3%를 차지하고 있는데, 균사체 배양으로부터 얻어진 다당체 보다 항종양 활성이 2-3배 높은 것으로 보고되었다<sup>10)</sup>. 이러한 다당체의 구조는 β-(1,3) 주쇄에 β-(1,6) 곁가지로 구성된 glucan으로 고분자의 다당체에서 항종양 활성이 강하다고 하였다.<sup>11)</sup>

Loviagina 등<sup>9)</sup>은 차가버섯의 inotodiol 성분이 항종양 활성이 있고, lanosterol, ergosterol과 triterpene

alcohol 성분은 종양의 활성을 감소시키고 triterpene acid 류는 종양세포를 억제한다고 하였다. 또 Kahlos 등<sup>13)</sup>은 inotodiol, lanosterol, 3 $\beta$ -hydroxy-lanosta-8,24-dien-21-al 및 trametanolic acid 등의 성분으로 Walker 256 종양세포, MCF-7 유방암 세포 그리고 P388 혈액암 세포에 강한 억제 효과가 있다고 하였으며, Ham 등<sup>12)</sup>도 차가버섯에서 얻은 활성 분획 중에서 특히 에틸아세테이트 분획물에서 폐암 세포주 A549, 유방암세포주 MCF-7, 위암세포주 AGS의 세포 성장을 억제시킨다고 보고하였다.

차 등<sup>19,22)</sup>은 차가버섯 수용성 추출물이 대장암세포 HCT-15 및 위암세포 AGS를 억제한다고 하였고, 황 등<sup>23)</sup>은 차가버섯 추출물이 대장암세포 HT-29 및 위암세포 SNU484를 억제한다고 하였으며, 함 등<sup>24)</sup>은 차가버섯 에틸아세테이드 분획물이 폐암세포 A549, 유방암세포 MCF-7, 위암세포 AGS에 높은 성장억제효과가 있었다고 보고하였다.

또한 Kahlos 등<sup>15)</sup>은 차가버섯 추출물이 40 $\mu$ g/ml의 농도에서 human influenza virus A 및 B와 horse influenza virus A를 100% 저해한다고 보고하였으며, Ichimura 등<sup>25)</sup>은 차가버섯 물 추출물이 human immunodeficiency virus type 1의 protease를 저해하는데, 주된 성분은 고분자의 수용성 lignin이라고 하였다.

Saitoh 등<sup>26)</sup>은 항돌연변이 활성 연구에서 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide(AF2)와 같은 직접 변이원보다 Trp-P-1, Trp-P-2 및 B(a)P 등의 간접 변이원에 대한 돌연변이 억제효과가 크다고 하였으며, Mizuno 등<sup>27)</sup>은 차가버섯에서 분리된 수용성 및 불용성 당단백이 혈당조절의 효소인 cdc25와 cdc2/cyclin B의 cellcycle을 조절하여 혈당을 떨어뜨리는 효과가 있다고 하였다.

그리고 송 등<sup>28)</sup>은 차가버섯의 열수추출물이, Cui 등<sup>29)</sup>은 차가버섯의 80% 에탄올 추출물이 항산화효과가 있다고 보고하였고, 함 등<sup>14)</sup>은 차가버섯 에틸아세테이드 분획물이 높은 항산화효과가 있다고 보고하였으며, Cui 등<sup>29)</sup>은 차가버섯 추출물이 항산화효과가 있다고 보고하였다.

Park 등<sup>30)</sup>은 차가버섯 methanol 추출물이 in vivo 및 in vitro에서 소염작용이 있다고 하였고, 이 밖에 Hwang 등<sup>16)</sup>은 차가버섯 자체 추출물이 당뇨병에, Kazuo 등<sup>17)</sup>은 에이즈에, Chung 등<sup>18)</sup>은 전립선 비대증에 효과가 있다고 하였다.

인체는 생명활동에 필요한 에너지를 만들기 위해 끊임없이 산소가 필요하다. 그러나 산화적 스트레스

(oxidative stress), 즉 신체의 산화 환원 반응이 깨져 반응력이 큰 산소화합물이 많이 생성되면 질병의 원인이 된다. 인체에서 일어나는 산화촉진에 대한 항산화 기작은 세포막에서 지질 과산화 및 자유 라디칼의 생성을 억제하는 반응, 생성된 자유 라디칼의 소거반응, 손상된 세포의 복구반응으로 이루어져 있다. 암, 동맥경화, 류머티즘, 당뇨 등의 질병과 관련된 활성산소(ROS, reactive oxygen species) 및 자유 라디칼의 역할에 대한 연구와 함께 천연 항산화제 개발에 대한 연구도 지속적으로 이루어지고 있다.<sup>28)</sup>

따라서 본 연구에서는 차가버섯의 추출온도에 따른 효능의 변화를 구명하기 위하여 차가버섯 물 추출물의 추출 온도에 따른 산화반응 억제 효과를 비교 관찰하였다.

차가버섯을 여러 가지 온도(전탕, 50 $^{\circ}$ C, 37 $^{\circ}$ C, 실온)에서 추출하여 그 수율과 DPPH 소거능을 분석한 결과, 전탕액과 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액을 사용하기로 하였다. 전탕액과 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액을 극성이 서로 다른 여러 용매를 이용하여 분획한 후 각 분획의 수율과 DPPH 소거능을 관찰한 결과, total extract와 n-BuOH 분획물을 실험에 이용하기로 하였다. 따라서 본 실험에서는 차가버섯의 1) 전탕액 total extract, 2) 전탕액 n-BuOH 분획물, 3) 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액 total extract 그리고 4) 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액 n-BuOH 분획물이 이용되었다.

천연물 항산화 효과를 측정하는 데에는 천연물에 함유된 항산화 물질 자체에 대한 측정, GSH 관련지표 측정, 지질 과산화 측정 등의 방법이 있는데, 본 실험에서는 DPPH 소거능 외에도 지질 과산화도와 SOD 생성 저해효과를 측정하고 아울러 항산화 물질로 알려져 있는 페놀 함량을 측정하였다.

TBA법은 지질이 산화되면서 생성되는 lipoperoxide가 TBA와 반응하여 생성되는 MDA를 정량하여 지질 산화도를 측정하는 방식이다. 이 방법을 이용하여 지질과산화물 생성 억제도를 측정한 결과, 차가버섯의 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액이 전탕액보다, total extract가 n-BuOH 분획물보다 더 높은 억제 효과를 보였다.

SOD (Superoxide Dismutase)는 과산화수소로 변환되는 반응을 촉매하며, GR과 GSSG로 환원되는 반응을 촉매하고, 과산화 음이온을 과산화수소와 산소로 전환시키는 항산화 효소이다. 본 실험에서 SOD 활성도를 측정한 결과, 차가버섯 전탕액이 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액보다, total extract가 n-BuOH 분획

물보다 높은 SOD 활성도를 나타내었다.

페놀 화합물은 유지 산화물의 중간체인 free radical과 작용하여 항산화 활성을 나타내며, 지질의 산화를 촉매하는 금속이온을 차단하고, 일중항 산소를 제거하기도 한다<sup>34)</sup>. 본 실험에서 차가버섯의 전탕액과 50℃ 저온 침출액의 총 페놀 함량을 측정한 결과 전탕액이 50℃ 저온 침출액보다 높은 페놀 함량을 나타내었다.

이상의 결과에서 볼 때, 차가버섯 추출물의 산화반응 억제효과는 물 추출 온도 뿐 아니라 항산화 효능 측정 방법에 따라서도 다르게 나타났으며, 전반적으로 n-BuOH 분획물보다는 total extract에서 높은 항산화 효능을 보여 주었다. In vitro 의 산화반응 억제효과 실험 결과만으로는 차가버섯을 복용할 경우 고온으로 煎湯하거나 50℃에서 우려서 복용하는 방법 모두 가능하다고 추정되나, in vitro 뿐만 아니라 in vivo 실험에 의한 항산화실험을 수행하여 보다 확실한 결과를 검증할 필요가 있다고 사료된다.

## 결론

차가버섯 물 추출물의 추출 온도에 따른 산화반응 억제효과를 비교 분석한 결과 다음의 결론을 얻었다.

차가버섯 전탕액과 50℃ 저온 침출액의 산화반응 억제효과는 추출온도와 농도, 항산화능 측정 방법 등에 따라 차이가 있었으나, 모든 실험에서 total extract가 n-BuOH 분획물보다 높은 항산화 효능을 나타내었으며, 총페놀 함량은 차가버섯 전탕액에서 50℃ 저온 침출액보다 높았다.

위와 같은 결과로 보아 차가버섯을 복용할 경우 고온으로 煎湯하거나 50℃에서 우려서 복용하는 방법 모두 가능하다고 추정되나, in vitro 뿐만 아니라 in vivo 실험에 의한 항산화실험을 수행하여 보다 확실한 결과를 검증할 필요가 있다고 사료된다.

## 참고문헌

1. Kier L. Triterpenes of *Poria obliqua*. J. Pharm. Sci. 1961;50:471-474.
2. Shibirina AN. Chemical characteristics of compounds extracted from *Inonotus obliquus*. Chem. Abstr. 1967;66:17271-17279.
3. 김성윤, 이재운, 김기영, 박재민, 김문옥, 이태호, 이재동. ITS 염기서열에 기초한 차가버섯과 근연속간 유연관계분석. THE KOREAN JOURNAL OF MYCOLOGY. 2004;32:152-157.
4. 김성윤, 이재운, 김기영, 이기원, 박재민, 김문옥, 이태호, 이재동. Phylotype에 의한 수종의 *Phellinus*속의 분류체계 확립 및 종간구별을 위한 신속동정법 개발. 한국균학회. 2003;31:121-128.
5. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1999;1:544.
6. Kahlos K, Hiltunen R. Identification of some lanostane type triterpenes from *Inonotus obliquus*. Acta Pharm Fenn. 1983;92:220-224.
7. Bulatov PK, Berezina MP, Jakimov PA. Tsaga ii ee letsebnioje primenie pri rake IV. Stadii, Leningarad. 1959:326.
8. Ludwiczak RS, Wrzecziono U. Forschungen uber die chemischen Bestandteil de *Inonotus obliquus*. IV. Ergosterol Recz Chem. 1975;34:1701-1705.
9. Loviagina EV, Shivrina AN. On steroid compound of the Chaga fungus. Biobimija. 1962;27:794-800.
10. Wasser SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. appl. Microbiol. Biotehnl. 2002;60:258-274.
11. Mizuno T, Minato K, Ito H, Kawade M, Terai H and Tsuchida H. Antitumor polysaccharede from the mycelium of liquid-cultured *Agricus blazei* Murrill. Biochem. Mol. Biol. Int. 1999;47:707-714.
12. Ham S S, Oh S W, Kin Y K, Shin K S, Chang K Y and Chung G H. Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extract from the *Inonotus obliquus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2003;32:1088-1094.
13. Kahlos K, Kangas L, Hitunen R. Antitumor activity of some compounds and fractions from an n-hexane extract of *Inonotus obliquus*. Acta Pharm Fenn. 1987;96:33-40.
14. 함승시, 오상화, 김영균, 신광순, 장현유, 정국훈. 차가버섯 분획물의 항산화활성 및 유전독성 억제효과. 한국식품영양과학회지. 2003;32(7):1071-1075.
15. Kahlos K, Lesnau A, lange W. Preliminary



tests of antiviral activity of two *Inonotus obliquus* strains. *Fitoterapia*. Vol. XVII. 1996:4.

16. Hwang Y J, Noh G W and Kim S H, effect of *Inonotus obliquus* Extracts on Proliferation and Caspase-3 Activity in Human Gastro-Intestinal Cancer Cell Lines. *J. Korean Nutr. Soc.* 2003;36(1):18-23.

17. Kazuo S. Liquid Culture of *Fuscopia Obliqua* (FR). Aoshima Japan Patent. 1997;10:191,783.

18. Chung K H, Han J J, Lee C W, Park J D, and Ko E C. Coposition Containing Chaga Mushroom Extract as an Active Ingredient. Korean Patent Unexained Publication. 2003;10:0065964.

19. 차재영, 전병삼, 박정원, 문재철, 조영수. 차가버섯과 여성초 함유 발효 조성물이 인체 위암 AGS 및 대장암 HCT-15 세포 생육에 미치는 영향. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 2004;47(2):202-207.

20. Lowry OH, Posenbrough NN, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry.* 1951;193:265-275.

21. Cookson J, Dai F, Smith V, Heald RA, Laughton CA, Stevens MF, Burger AM. Pharmacodynamics of the G-quadruplex-stabilizing telomerase inhibitor RHPS4 in vitro: activity in human tumor cells correlates with telomere length and can be enhanced, or antagonized, with cytotoxic agents. *Mol Pharmacol.* 2005:8.

22. 차재영, 전병삼, 문재철, 유지현, 조영수. 대장암 세포암종 HCT-15 세포 및 위암 세포암종 AGS 세포에서 차가버섯 조성물에 의한 세포생육 억제 효과. *한국식품영양과학회지.* 2004;33(4):633-640.

23. 황용주, 노건웅, 김선희. 차가버섯 추출물이 소화기계 암세포의 증식 및 Caspase-3 활성화에 미치는 영향. *한국영양학회지.* 2003;36(1):18-23.

24. 함승시, 오상화, 김영균, 신광순, 장현유, 정국훈. 차가버섯 분획물의 항돌연변이 활성 및 암세포 성장억제효과. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2003;32(7):1088-1094.

25. Ichimura T, Watanave O, Maruyama S. Inhibition of HIV-1 protease by water-soluble

lignin-like substance from an edible mushroom, *Fuscopia obliqua*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1998;62:575-577.

26. Saitoh A, Sato C, Niiyama K. *チャガカバノアナタケの變異原性 抑制効果について.* *道衛研究報.* 1996:6.

27. Mizuno T, Zhuang C, Abe K, Okamoto H, Kiho T, Ukai S, Leclerc S, Meijer L. Antitumor and hypohlycemic activities of polysaccharides from the Sclerotia and Mycelia of *Inonotus obliquus* (Pers.:Fr.) Pil. (Aphyllphoromycetidae). *Int J Med Mushrooms.* 1999;1:301-316.

28. 송희순, 이영종, 김승균, 문원국, 김동우, 김영식, 문기영. AGI-1120과 차가버섯의 NF-KB 활성화 억제 및 항산화 효과. *생약학회지.* 2004;35(1):92-97.

29. Cui Y, Kim DS, Park KC. Antioxidant effect of *Inonotus Obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology.* 2005;96:79-85.

30. Park YM, Won JH, Kim YH, Choi JW, Park HJ, Lee KT. In vivo and in vitro anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of the methanol extract of *Inonotus obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology.* 2005;101:120-128.