

## 식용 식물자원으로부터 활성물질의 탐색 -XVIII. 상황버섯 (*Phellinus linteus*) 자실체로부터 Ergosterol 유도체의 분리

류하나 · 유종수 · 송명종 · 이대영 · 김동현 · 노영덕<sup>1</sup> · 김인호<sup>2</sup> · 백남인\*

경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터, <sup>1</sup>경희대학교 생명자원과학연구원, <sup>2</sup>한국식품연구원

### Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources XVIII. Isolation of Derivatives of Ergosterol from the Fruit Body of *Phellinus linteus*

Ha-Na Lyu, Jong-Su Yoo, Myoung-Chong Song, Dae-Young Lee, Dong-Hyun Kim, Young-Duk Rho<sup>1</sup>, In-Ho Kim<sup>2</sup> and Nam-In Baek\*

The Graduate School of Biotechnology & Plant Metabolism Research Center, Kyung Hee University, Suwon 446-701, Korea

<sup>1</sup>College of Life Science, Institute of Life Science & Resources, Kyung Hee university, Suwon 446-701, Korea

<sup>2</sup>Korea Food Research Institute, Sunghnam 463-746, Korea

Received December 5, 2006; Accepted February 12, 2007

The fruiting body of *Phellinus linteus* was extracted with 80% aqueous MeOH, and the concentrated extract was partitioned with EtOAc, *n*-BuOH and H<sub>2</sub>O. The repeated silica gel and ODS column chromatographies of the EtOAc fraction led to isolation of four sterols. From the result of spectral data including NMR, MS and IR, the chemical structures of the sterols were determined as ergosta-7,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol (episterol, 1), 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol (dehydroperoxyergosterol, 2), 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol (ergosterol peroxide, 3), and 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihydroxy-6 $\beta$ -methoxyergosta-7,22-diene (6-*O*-methylcervisterol, 4). The ergosterols have been first isolated from this mushroom in this study.

**Key words:** *Phellinus linteus*, ergosterol, episterol, dehydroperoxyergosterol, ergosterol peroxide, 6-*O*-methylcervisterol

#### 서 론

상황버섯(*Phellinus linteus*)은 담자균문(*Basidiomycotina*), 민주름버섯목(*Aphyllorphales*), 소나무비늘과(*Hymenochaetaceae*)의 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하는 백색부후균으로, 팽나무(*Morus alba*, Moraceae) 줄기에 자생하며 샷갓표면을 제외하고는 모두 황색이므로 상황(桑黃)이라고 불리며, 한국명은 목질진흙버섯이다.<sup>1)</sup>

상황버섯은 중국의 '약성론'에 상신(桑臣), 상이(桑耳)라는 이름으로 처음 수록된 이래 한국, 아시아, 호주, 필리핀, 북아메리카 등에 자생하는 것으로 알려져 있으며, 우리나라에서는 주로 강원도 지역에 자생하고 있다.<sup>2)</sup> 자실체는 버섯자루가 없고 전체가 목질화 되어 있는 편구형 또는 말굽 모양을 하고 있으며, 갈색, 암회갈색 또는 흑색을 띤다. 초기에는 노란색으로 진흙

덩이가 몽친 것 같은 형태를 유지하다가 성장할 때는 황금색으로 빛을 발하다가 다 자란 후 모습은 나무 그루터기에 헛바닥을 내민 모습이어서 수설(樹舌)이라고도 한다.<sup>1)</sup>

옛 문헌에 의하면 상황버섯은 본초강목<sup>3)</sup>에서 목이(木耳)의 항으로 분류하여 상이(桑耳), 상황(桑黃) 등으로 기록하고 있고, 동의보감<sup>4)</sup>에서는 탕액편에 상목이(桑木耳)라는 이름으로 기록되어 있으며 어혈, 혈병, 종양 등의 각종 질병 치료약으로 이용되어 온 것으로 기록되어 있다. 또한 상황버섯은 높은 항암활성<sup>5,6)</sup>, 항종양활성<sup>7)</sup>, 항돌연변이원성<sup>8)</sup>, 면역 활성<sup>9)</sup>, 지질 과산화 억제 효과 및 유리기 제거능<sup>10)</sup> 등의 다양한 생리학적 활성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다. 약리작용으로는 소화기 계통의 압인 위압, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암을 비롯한 간암수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 향진시키며<sup>11)</sup>, 자궁출혈 및 대하, 월경불순, 장출혈, 오장기능을 활성화시키고 해독작용을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>12)</sup>

그러나 상황버섯의 생리활성은 주로 면역, 항암 관련에 대한 보고가 집중되어 있고, 지금까지 상황버섯으로부터는 다당류, 아미노산 등 고분자 물질에 관한 성분들만이 분리, 보고되어 있

\*Corresponding author  
Phone: +82-31-201-2661; Fax: +82-31-201-2157  
E-mail: nibaek@khu.ac.kr

다.<sup>13)</sup> 따라서 상황버섯에 함유된 저분자 물질에 대한 약리활성에 관한 체계적이고 학술적인 연구가 시급하다고 볼 수 있다. 본 연구에서는 상황버섯의 활성연구에 선행하여 상황버섯의 화학적 성분연구의 결과로 4종의 ergosterol 화합물을 분리, 동정하였기에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**기기 및 시약.** NMR 스펙트럼은 Varian Inova AS 400 (Varian, USA)으로, 비선광도( $[\alpha]_D$ )는 Polarimeter P-1010 (JASCO, Japan)으로, IR 스펙트럼은 Spectrum One(Perkin-Elmer, USA)으로, EI/MS와 FAB/MS는 JMS-700(JEOL, Japan)로 측정하였다. 녹는점은 Fisher-John's Melting Point Apparatus(Fisher Scientific, USA)를 사용하여 측정하였고, 미보정하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck, Germany)을 octadecyl silica(ODS) gel은 LiChrorep RP-18(Merck, Germany)을 사용하였다. TLC는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>와 RP-18 F<sub>254</sub>를 사용하였고, TLC 상의 물질 검출에는 UV lamp와 10% aq. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였다. 시료의 추출과 분획에 사용한 유기 용매는 대정화학주식회사에서 생산한 1급 시약을 사용하였다.

**식물시료.** 본 실험에서 사용한 상황버섯은 한국식품연구원에서 제공한 것으로 원료시료인 상황버섯은 *linteus* 재배 농가(경남 진주상황버섯 영농조합법인 머쉬가이)에서 2005년 5월에 구입한 순수국산시료로, 우석대학교 약학대학 생약학실의 김대근 교수가 동정하였으며, 표본시료(KHU-05012)는 경희대학교 생명공학원 천연물화학실험실에 보관되어 있다.

**활성물질의 분리.** 상황버섯 1kg을 세절하여 80% MeOH 용액(30 l × 2)을 가하여 실온에서 하룻밤 추출한 후 여과지(Advantec, No. 2)로 여과하였다. 얻어진 여액을 45°C에서 감압 농축하고, 이 농축물을 물(1 l)과 ethyl acetate(EtOAc, 1 l × 2)로 분배 추출하였으며, 물층은 다시 *n*-butanol(*n*-BuOH, 1 l × 2)로 분배 추출하였다. 각 층을 감압농축하여 EtOAc분획(10 g), *n*-BuOH(18 g) 및 물분획(10 g)을 얻었다.

EtOAc 추출물(PLE)을 silica gel column( $\Phi$  6.5 × 17 cm) chromatography (C.C.)(CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 15 : 1 → 10 : 1 → 7 : 1 → 5 : 1 → 3 : 1 → 1 : 1)를 실시하여 22개의 분획물(PLE1~PLE22)을 얻었다. 그 중 PLE2(328 mg) 분획을 silica gel C.C.(*n*-hexane-EtOAc = 4 : 1 → 1 : 1,  $\Phi$  3.7 × 13 cm)를 이용하여 17개의 분획물(PLE2-1~PLE2-17)을 얻었다.

얻어진 분획물에 대하여 TLC를 확인한 결과 5번 분획(PLE2-5)과 6번 분획(PLE2-6)이 비슷한 발색양상을 보여, 두 분획을 합한 PLE2-5+6(45 mg)에 대하여 ODS C.C.(acetone-CH<sub>3</sub>CN = 1 : 3,  $\Phi$  2.4 × 7 cm)로 정제하여 화합물 1[PLE2-5+6-10, 6.5 mg, ODS TLC(acetone-CH<sub>3</sub>CN = 1 : 3, R<sub>f</sub>: 0.26)]를 분리하였다.

PLE2(328 mg)의 17개의 분획물(PLE2-1~PLE2-17) 중에서 TLC를 확인한 결과 비슷한 발색양상을 보이는 11번 분획(PLE2-11)부터 13번 분획(PLE2-13)을 합한 PLE2-11~13(80.7 mg)에 대하여 ODS C.C.(MeOH-H<sub>2</sub>O = 12 : 1,  $\Phi$  2.4 × 8 cm)로 정제하여 화합물 2[PLE2-11~13-5, 6.3 mg, ODS TLC(MeOH-

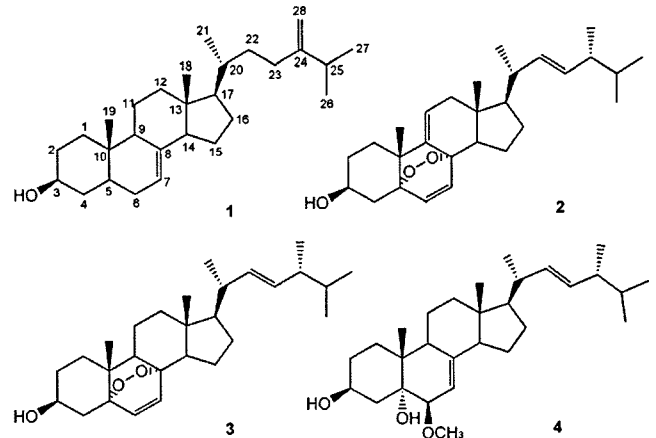


Fig. 1. Chemical structure of ergosterols from the *Pellinus linteus*.

H<sub>2</sub>O = 12 : 1, R<sub>f</sub>: 0.21)]과 화합물 3[PLE2-11~13-8, 16.6 mg, ODS TLC(MeOH-H<sub>2</sub>O = 15 : 1, R<sub>f</sub>: 0.21)]을 분리하였다.

또한 EtOAc 추출물(PLE)의 22개 분획물(PLE1~PLE22) 중 PLE4(312 mg) 분획을 silica gel C.C.(*n*-hexane-EtOAc = 2 : 1,  $\Phi$  3.7 × 13 cm)를 이용하여 22개의 분획물(PLE4-1~PLE4-22)을 얻었다.

얻어진 분획물에 대하여 TLC를 확인한 결과 13번 분획(PLE4-13)부터 16번 분획(PLE4-16)까지 비슷한 발색양상을 보여, 이 분획들을 합한 PLE4-13~16(61.3 mg)에 대하여 ODS C.C.(MeOH-H<sub>2</sub>O = 10 : 1,  $\Phi$  2.4 × 7 cm)로 정제하여 화합물 4[PLE4-13~16-6, 10.7 mg, ODS TLC(MeOH-H<sub>2</sub>O = 15 : 1, R<sub>f</sub>: 0.19)]를 분리하였다.

화합물 1 (ergosta-7,24(28)-dien-3β-ol; episterol): white powder (CHCl<sub>3</sub>); EI/MS *m/z*: 398 [M]<sup>+</sup>, 380 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D$  +21.3° (*c* = 0.2, CHCl<sub>3</sub>); IR (CHCl<sub>3</sub>, ν) 3420, 1620 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δH) 5.14 (1H, m, H-7), 4.69 (2H, br. s, H-28a), 4.64 (2H, d, *J* = 1.6 Hz, H-28b), 3.57 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-26), 1.00 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-27), 0.93 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.77 (3H, s, H-19), 0.52 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>c</sub>) 156.7 (C-24), 139.5 (C-8), 117.4 (C-7), 105.9 (C-28), 71.1 (C-3), 56.0 (C-17), 55.1 (C-14), 49.5 (C-9), 43.5 (C-13), 40.3 (C-5), 39.6 (C-12), 38.0 (C-4), 37.2 (C-1), 36.2 (C-20), 34.7 (C-22), 34.3 (C-10), 33.9 (C-25), 31.5 (C-2), 31.1 (C-23), 29.7 (C-6), 28.0 (C-16), 23.0 (C-15), 22.1 (C-26), 21.9 (C-27), 21.6 (C-11), 18.9 (C-21), 13.1 (C-19), 11.9 (C-18).

화합물 2 (5α,8α-epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3β-ol; dehydroperoxyergosterol): colorless crystals (CHCl<sub>3</sub>); m.p. 180-181°C; EI/MS *m/z*: 426 [M]<sup>+</sup>, 408 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 384 [M-O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 253, 69;  $[\alpha]_D$  +59.0° (*c* = 0.2, CHCl<sub>3</sub>); IR (KBr, ν) 3370, 1450, 1380, 1040, 1030, 960, 940 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>H</sub>) 6.56 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-7), 6.25 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 5.39 (1H, dd, *J* = 4.0, 1.6 Hz, H-11), 5.21 (1H, dd, *J* = 15.2, 6.4 Hz, H-22), 5.12 (1H, dd, *J* = 15.2, 7.6 Hz, H-23), 3.98 (1H, m, H-3), 1.06 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, d, *J* = 6.8 Hz,

H-21), 0.88 (3H, d,  $J=7.2$  Hz, H-28), 0.80 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.79 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-27), 0.70 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_c$ ) 142.4 (C-9), 135.4 (C-6), 135.0 (C-22), 132.3 (C-23), 130.7 (C-7), 119.7 (C-11), 82.7 (C-5), 78.3 (C-8), 66.3 (C-3), 55.9 (C-17), 48.2 (C-14), 43.6 (C-13), 42.8 (C-24), 41.2 (C-12), 39.9 (C-20), 38.0 (C-10), 36.1 (C-4), 33.1 (C-25), 32.6 (C-1), 30.6 (C-2), 28.7 (C-16), 25.6 (C-19), 21.0 (C-15), 20.8 (C-21), 20.0 (C-27), 19.7 (C-26), 17.6 (C-28), 13.0 (C-18).

화합물 3 (5 $\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol; ergosterol peroxide): colorless crystals( $\text{CHCl}_3$ ); mp 176-179°C; positive FAB/MS  $m/z$ : 429  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 396  $[\text{M}-\text{O}_2]^+$ ;  $[\alpha]_D -26.0^\circ$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (KBr,  $\nu$ ): 3400, 1459  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_H$ ) 6.48 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-7), 6.22 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-6), 5.20 (1H, dd,  $J=15.6, 8.0$  Hz, H-22), 5.11 (1H, dd,  $J=15.6, 7.6$  Hz, H-23), 3.95 (1H, m, H-3), 0.98 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-21), 0.88 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-28), 0.87 (3H, s, H-19), 0.81 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.79 (3H, d,  $J=6.4$  Hz, H-27), 0.79 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_c$ ) 135.3 (C-6), 135.1 (C-23), 132.2 (C-22), 130.6 (C-7), 82.1 (C-8), 79.4 (C-5), 66.4 (C-3), 56.2 (C-17), 51.7 (C-14), 51.1 (C-9), 44.6 (C-13), 42.8 (C-24), 39.8 (C-20), 39.4 (C-12), 37.0 (C-1), 37.0 (C-10), 34.7 (C-4), 33.1 (C-25), 30.2 (C-2), 28.7 (C-15), 23.5 (C-16), 20.9 (C-21), 20.7 (C-11), 20.0 (C-26), 19.7 (C-27), 18.2 (C-19), 17.6 (C-28), 12.9 (C-18).

화합물 4 (3 $\beta,5\alpha$ -dihydroxy-6 $\beta$ -methoxyergosta-7,22-diene; 6-O-methylcervisterol): white powder (MeOH); EI/MS  $m/z$ : 426  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 411  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{Me}]^+$ , 393  $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}-\text{Me}]^+$ ;  $[\alpha]_D -61.0^\circ$  ( $c=1.19$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (film,  $\nu$ ): 3400, 1640  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_H$ ) 5.39 (1H, br. d,  $J=5.2$  Hz, H-7), 5.22 (1H, d,  $J=15.2, 6.0$  Hz, H-23), 5.21 (1H, dd,  $J=15.2, 6.0$ , H-22), 3.95 (1H, m, H-3), 3.36 (3H, s, H-6-OMe), 3.14 (1H, d,  $J=4.8$ , H-6), 1.04 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-21), 0.97 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d,  $J=6.4$  Hz, H-28), 0.86 (3H, d,  $J=7.6$  Hz, H-27), 0.84 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.61 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_c$ ) 144.3 (C-8), 136.9 (C-23), 133.1 (C-22), 115.9 (C-7), 83.8 (C-6), 76.9 (C-5), 68.3 (C-3), 58.2 (C-6, OMe), 57.4 (C-17), 56.1 (C-14), 44.7 (C-9), 44.7 (C-13), 44.4 (C-24), 41.9 (C-20), 40.7 (C-12), 40.7 (C-4), 38.3 (C-10), 34.4 (C-25), 33.7 (C-1), 31.7 (C-2), 29.2 (C-16), 24.0 (C-15), 23.1 (C-11), 21.7 (C-27), 20.5 (C-26), 20.2 (C-21), 18.9 (C-19), 18.3 (C-28), 12.8 (C-18).

## 결과 및 고찰

상황버섯으로부터 얻어진 MeOH 추출물에 대하여 용매의 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및  $\text{H}_2\text{O}$ 로 순차 분획하고 각 분획은 감압농축하여 3개의 분획을 얻었다. EtOAc 분획을 silica

gel column chromatography와 ODS column chromatography로 정제하여 4개의 화합물 1(6.5 mg), 2(6.3 mg), 3(16.6 mg) 및 4(10.7 mg)를 분리하였다.

화합물 1(white powder)은 EI/MS에서 분자이온 피크가  $m/z$  426에서 관측되었고, IR(KBr,  $\nu$ ) 스펙트럼에서 수산기(3370, 1040, 1030  $\text{cm}^{-1}$ )와 이중결합(1450  $\text{cm}^{-1}$ )이 존재함을 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서  $\delta_H$  5.14(1H, m)의 signal로부터 olefinic methine proton 1개와  $\delta_H$  4.69(2H, br. s),  $\delta_H$  4.64(2H, d)의 signal로부터 exomethylene proton 그리고  $\delta_H$  3.57(1H, m, H-3)의 signal에서 oxygenated methine proton 1개가 관측되었다.  $\delta_H$  2.3 미만의 고자장 영역에서 다수의 methylene과 methine signal을 비롯하여, singlet methyl signal 2개( $\delta_H$  0.77, 0.52), doublet methyl signal 3개( $\delta_H$  1.01, 1.00, 0.93)가 관측되었다. 따라서 이 화합물은 1개의 exomethylene을 포함한 2개의 이중결합과 1개의 oxygenated methine을 가진 sterol로 추측되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서 총 28개의 carbon이 관측되어 이 화합물이 ergostane 골격을 갖는 것으로 추정되었다. 또한  $\delta_c$  156.7와  $\delta_c$  139.5의 signal로부터 olefinic quaternary carbon 2개와  $\delta_c$  117.4의 signal로부터 olefinic methine carbon 1개를 확인하였으며,  $\delta_c$  105.9에서는 exomethylene carbon을 확인하여 이중결합이 2개 있음을 알 수 있었다.  $\delta_c$  71.1에서는 oxygenated methine carbon을 관측할 수 있었다. 그리고  $\delta_c$  11.9~22.1에서 5개의 methyl carbon signal( $\delta_c$  22.1, 21.9, 18.9, 13.1, 11.9)이 관측되었다. 이와 같은 chemical shift값을 보아 이 화합물은 ring안의 이중결합 한 쌍과 chain 내에 exomethylene 이중결합 한 쌍을 포함하여 1개의 수산기를 가진 ergosterol 화합물임을 추정할 수 있었다. 이 결과를 종합하고 문헌<sup>14)</sup>과 비교 조사해본 결과 이 화합물을 ergosta-7,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol(episterol)로 동정하였다.

화합물 2(colorless crystals)은 EI/MS에서 분자이온 피크가  $m/z$  426에서 관측되었고, IR 스펙트럼에서는 수산기(3370  $\text{cm}^{-1}$ ) 흡수밴드가 관측되었다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서  $\delta_H$  6.56(1H, d,  $J=8.4$  Hz),  $\delta_H$  6.25(1H, d,  $J=8.4$  Hz),  $\delta_H$  5.39(1H, dd,  $J=4.0, 1.6$ ),  $\delta_H$  5.21(1H, dd,  $J=15.2, 6.4$ ),  $\delta_H$  5.12(1H, dd,  $J=15.2, 7.6$ )의 signal로부터 총 5개의 olefinic methine proton이 관측되었고,  $\delta_H$  3.98(1H, m)의 signal에서 oxygenated methine proton 1개를 관측할 수 있었다.  $\delta_H$  2.3 미만의 고자장 영역에서 다수의 methylene과 methine signal을 비롯하여, singlet methyl signal 2개( $\delta_H$  1.06, 0.70)와 doublet methyl signal 4개( $\delta_H$  0.97, 0.88, 0.80, 0.79)가 관측되었다. 따라서 이 화합물은 3쌍의 이중결합을 갖는 sterol로 추측되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서 총 28개의 carbon이 관측되어 이 화합물이 ergostane 골격을 갖는 것으로 추정되었다.  $\delta_c$  142.4의 signal의 olefinic quaternary carbon을 비롯하여, 5개의 olefinic methine carbon signal( $\delta_c$  135.4, 135.0, 132.3, 130.7, 119.7)을 확인할 수 있었으며,  $\delta_c$  82.7과  $\delta$  78.3의 signal에서 oxygenated quaternary carbon 2개와  $\delta_c$  66.3의 signal에서 oxygenated methine carbon이 관측되었다. 그리고  $\delta_c$  13.0~25.6의 고자장 영역에서 6개의 methyl carbon signal( $\delta_c$  25.6, 20.8, 20.0, 19.7, 17.6, 13.0)이 관측되었다. 이와 같은 chemical shift값과  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -

NMR을 종합하여 분석하여 본 결과, chain 구조상에서 *trans* 배향( $J=15.2$  Hz)을 갖는 이중결합과, ring 구조 안에 2개의 이중결합( $J=8.8$  Hz)을 비롯하여 산소가 결합한 3개의 탄소를 가지며, methyl기 6개를 가진 탄소수 28개의 ergosterol 화합물임을 추정할 수 있었다. 이를 문헌<sup>15)</sup>과 비교 조사해본 결과, 화합물 2는 ergosterol의 C-5와 C-8 사이에  $\alpha$ 배향의 peroxide와 C-3에  $\beta$ 배향의 수산기를 가지고, C-6(C-7), C-9(C-11) 및 C-22(C-23)에 3쌍의 이중결합을 가진  $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol(dehydroperoxyergosterol)로 동정하였다.

화합물 3(colorless crystals)은 positive FAB/MS 스펙트럼으로부터 분자량을 428로 결정하였고, IR 스펙트럼에서 수산기(3400  $\text{cm}^{-1}$ ) 이중결합 (1459  $\text{cm}^{-1}$ )의 존재를 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서  $\delta_{\text{H}}$  6.48(1H, d,  $J=8.8$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  6.22(1H, d,  $J=8.8$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  5.20(1H, dd,  $J=15.6, 8.0$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  5.11(1H, dd,  $J=15.6, 7.6$  Hz)의 signal로부터 총 4개의 olefinic methine proton이 관측되었고,  $\delta_{\text{H}}$  3.95(1H, m)의 signal에서 oxygenated methine proton 1개를 관측하였다.  $\delta_{\text{H}}$  2.2 미만의 고자장 영역에서 다수의 methylene과 methine signal을 비롯하여, singlet methyl signal 2개( $\delta_{\text{H}}$  0.87, 0.79)와 doublet methyl signal 4개( $\delta_{\text{H}}$  0.98, 0.88, 0.81, 0.79)가 관측되었다. 따라서 이 화합물은 2개의 이중결합과 1개의 oxygenated methine을 가진 sterol로 추측되었다. 특히 저자장 영역에서 두 개의 olefinic methine proton이 8.8 Hz로 coupling하고, 또 다른 두 개의 olefinic methine proton은 각각 15.6 Hz로 coupling 하는 것으로 보아 ring 안에 이중결합 한 쌍과 chain 상에 *trans* 구조를 갖는 이중결합 한 쌍이 있는 것으로 예상할 수 있었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서 총 28개의 carbon이 관측되었고,  $\delta_{\text{C}}$  135.3,  $\delta_{\text{C}}$  135.1,  $\delta_{\text{C}}$  132.2,  $\delta_{\text{C}}$  130.6의 signal로부터 olefinic methine carbon 4개를 확인하였다. 또한  $\delta_{\text{C}}$  82.1과  $\delta_{\text{C}}$  79.4의 signal에서 oxygenated quaternary carbon 2개와  $\delta_{\text{C}}$  66.4의 signal에서 oxygenated methine carbon이 관측되었다.  $\delta_{\text{C}}$  12.9~21.0 사이의 고자장 영역에서 6개의 methyl carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  21.0, 20.0, 19.7, 18.2, 17.6, 12.9)이 관측되었다. 이러한  $^1\text{H-}$  및  $^{13}\text{C-NMR}$ 을 종합하여 분석하여 본 결과, *trans* 배향( $J=15.2, 8.0$  Hz)을 갖는 chain 상의 이중결합과 ring 안의 이중결합( $J=8.8$  Hz)을 비롯하여 산소가 결합한 3개의 탄소 및 methyl기 6개를 갖는 탄소수 28개의 ergosterol 화합물임을 추정할 수 있었다. 이를 종합하고 문헌<sup>16)</sup>과 비교 조사해본 결과, 화합물 3은 ergosterol의 C-5와 C-8 사이에  $\alpha$  배향의 peroxide와 C3에  $\beta$ 배향의 수산기를 갖고, C-6(C-7) 및 C-22(C-23)에 2쌍의 이중결합을 가진  $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol(ergosterol peroxide)로 동정하였다.

화합물 4(white powder)는 EI/MS 스펙트럼의  $m/z$  426에서 분자이온 피크가 관측되었고, IR 스펙트럼에서 수산기(3400  $\text{cm}^{-1}$ )와 이중결합(1640  $\text{cm}^{-1}$ )의 흡수밴드가 관측되었다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서  $\delta_{\text{H}}$  5.39(1H, br. d,  $J=5.2$  Hz, H-7),  $\delta_{\text{H}}$  5.22(1H, d,  $J=15.2, 6.0$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  5.21(1H, dd,  $J=15.2, 6.0$  Hz)의 signal로부터 총 3개의 olefinic methine proton이 관측되었고,  $\delta_{\text{H}}$  3.95(1H, m),  $\delta_{\text{H}}$  3.14(1H, d,  $J=4.8$  Hz)의 signal에서 2개의 oxygenated methine proton이 관측되었다. 또한  $\delta_{\text{H}}$  3.36

(3H, s, H-6-OMe)에서 oxygenated singlet methyl proton이 관측되어 hydroxy group에 methyl group이 결합되어 있는 것으로 추정되었다.  $\delta_{\text{H}}$  2.4 미만의 고자장 영역에서 다수의 methylene과 methine signal을 비롯하여, singlet methyl signal 2개( $\delta_{\text{H}}$  0.97, 0.61)와 doublet methyl signal 4개( $\delta_{\text{H}}$  1.04, 0.93, 0.86, 0.84)가 관측되었다. 따라서 이 화합물은 2개의 이중결합, 2개의 hydroxy, 1개의 methoxy를 가지고 있는 sterol로 추측되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서는 총 29개의 carbon이 관측되었고,  $\delta_{\text{C}}$  144.34 signal의 olefinic quaternary carbon을 비롯하여, 3개의 olefinic methine carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  136.9, 133.1, 115.9)을 확인하였다. 또한  $\delta_{\text{C}}$  83.8와  $\delta_{\text{C}}$  68.3의 signal에서 oxygenated methine carbon 2개가 관측되었고,  $\delta_{\text{C}}$  76.9의 signal에서는 oxygenated quaternary carbon이,  $\delta_{\text{C}}$  58.2의 signal에서 oxygenated methyl carbon이 관측되었다.  $\delta_{\text{C}}$  12.8~21.7의 고자장 영역에서 6개의 methyl carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  21.7, 20.5, 20.2, 18.9, 18.3, 12.8)이 관측되었다. 이와 같은 chemical shift값과  $^1\text{H-}$  및  $^{13}\text{C-NMR}$ 을 종합하여 분석하여 본 결과, chain 구조상에서 *trans* 배향( $J=15.2, 6.0$  Hz)을 갖는 이중결합 한 쌍과 ring 안의 quaternary carbon과 연결된 이중결합 한 쌍이 있음을 알 수 있었고, 3개의 hydroxy기 중 하나에 methyl group이 결합되어 있으며, methyl group이 6개인 화합물로, methoxy 기의 탄소를 제외하면 28개의 탄소를 이루어진 ergosterol 화합물임을 추정할 수 있었다. 이를 종합하고 문헌<sup>17)</sup>과 비교 조사해본 결과, 화합물 4는 ergosterol의 C-3에  $\beta$ 배향의 수산기와 C-5에  $\alpha$ 배향의 수산기를 갖고, C-6에  $\beta$ 배향의 methoxy group이 있으며, C-7(C-8) 및 C-22(C-23)에 2쌍의 이중결합을 가진 3 $\beta,5\alpha$ -dihydroxy-6 $\beta$ -methoxyergosta-7,22-diene(6-*O*-methylcervisterol)로 동정하였다.

위에서 분리한 4가지 화합물(ergosta-7,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol (episterol, 1),  $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol(dehydroperoxyergosterol, 2), ergosterol peroxide(3), 6-*O*-methylcervisterol(4)은 이번에 상황버섯(*Phellinus linteus*)에서 처음으로 분리, 동정 되었다. 이와 같은 ergosterol 화합물은 그동안 주로 균류에서 발견되고 있다. Ergosterol peroxide(화합물 3)는 주로 fungi<sup>16,18)</sup>에서 발견되는 물질이나 Naematoloma fasciculare<sup>19)</sup>, Sphaerophysa salsula DC.<sup>20)</sup> 등의 plant와 Bacidia stipata<sup>21)</sup>와 같은 lichen에서도 분리, 보고되었다.  $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol(화합물 2)와 6-*O*-methylcervisterol(화합물 4)은 극히 드물게 존재하는 물질로 해면체<sup>15)</sup>와 해양식물<sup>22)</sup>에서 분리, 보고되어 있고, 6-*O*-methylcervisterol(화합물 4)은 mushroom<sup>17)</sup>에서 분리된 것으로 보고되어 있다. 또한 이와 같은 ergosterol 유도체는 상황버섯(*Phellinus linteus*)과 같은 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하는 버섯류에서도 분리, 보고되었다. *Phellinus gilvus*(마른진흙버섯)에서는 ergosterol, ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol, ergostadienol acetate<sup>29)</sup>가, *Phellinus pini*(낙엽진흙버섯)에서는 화합물 3과 같은 ergosterol peroxide<sup>30)</sup>와 ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one<sup>31)</sup>이 *Phellinus ribis*에서는 화합물 2 dehydroperoxyergosterol과 화합물 3 ergosterol peroxide이 분리된 것<sup>32)</sup>으로 보고되어 있다.

문헌에 의하면 화합물 2( $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,9(11),22-

trien-3 $\beta$ -ol)은 ovarian cancer에 대한 저해 활성과<sup>15)</sup>, stomach cancer cell에 대한 세포독성작용<sup>23)</sup>이 있으며, leukemia cell과 colon adenocarcinoma cell에 대한 성장을 저해하는 작용<sup>24)</sup>을 하는 것으로 보고되어 있다. 화합물 3(ergosterol peroxide)는 ovarian cancer에 대한 저해 활성<sup>15)</sup>, tumor cell에 대한 세포독성작용<sup>16)</sup>, immunosuppressive<sup>25)</sup>, antiviral<sup>26)</sup> 및 anti-inflammatory<sup>27)</sup> 등의 다양한 생리활성이 보고되어 있다. 또한 화합물 4(6-O-methylcervisterol)는 antitubercular activity와 Epstein-Barr virus activation에 대한 저해 효과<sup>28)</sup>, HeLa cell에 대한 세포독성효과<sup>17)</sup>가 보고되었다.

상황버섯은 최근 식품의약품안전청으로부터 식품으로 사용이 허가 되었을 뿐 아니라, 다양한 생리활성을 가지고 있어서 앞으로 폭넓은 약리학적 이용가능성을 시사하고 있다. 현재 상황버섯의 면역과 항암활성에 대한 연구는  $\beta$ -glucan성 다당류 등의 고분자 물질에 집중되어 있으나,<sup>9,10,33)</sup> 자실체에 다량으로 함유된 저분자 물질 약리 활성을 배제할 수 없다. 앞으로 이들 화합물들에 대한 다양한 생리적 및 약리적 활성을 검토함으로써 기능성 식품 또는 의약품의 소재로서의 충분한 가치가 있다고 여겨지며, 추후 이의 활용과 관련된 연구가 활발히 추진될 것으로 기대된다.

### 초 록

상황버섯 자실체를 80% MeOH 용액으로 추출하고, 추출물을 EtOAc, n-BuOH 및 물로 분배, 추출하였다. 이 중 EtOAc 분획을 silica gel 및 octadecylsilica gel(ODS) column chromatography로 정제하여 4종의 sterol 화합물을 분리하였다. 각 화합물의 화학구조는 NMR, MS 및 IR 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여, ergosta-7,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol(episterol, 1), 5 $\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol(dehydroperoxyergosterol, 2), 5 $\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol(ergosterol peroxide, 3), 및 3 $\beta,5\alpha$ -dihydroxy-6 $\beta$ -methoxyergosta-7,22-diene(6-O-methylcervisterol, 4)로 동정하였다. 이 화합물들은 이번에 상황에서 처음 분리 보고되었다.

**Key words:** 상황버섯, ergosterol, episterol, dehydroperoxy-ergosterol, ergosterol peroxide, 6-O-methylcervisterol

### 감사의 글

본 연구는 농림기술관리센터에서 지원하는 상황버섯의 ‘뼈기질 강화성분 구명’ 과제 및 한국과학재단 우수연구센터사업(경희대 식물대사연구센터) 연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. Lee, J. W. and Bang K. W. (2001) Biological activity of *phellinus* spp., *Kor. J. Food Industry and Nutr.* **6**, 25-33.  
 2. Park, W. H. and Lee, H. D. (1999) In *Korea illustrated*

*medicinal mushroom book*. Kyohaksa press, Korea, pp. 558  
 3. Li, S. (1993) In *Pents'ao kangmu*. Euseongdang press, China, pp. 1714-1715.  
 4. Heo, J. (1993) In *Donggeui Bogam*. Namsandang press, Korea, pp. 719.  
 5. Choi, J. H., Ha, T. M., Kim, Y. H. and Rho, Y. D. (1996) Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. *Kor. J. Mycol.* **24**, 214-222.  
 6. Han, S. B., Lee, C. W., Jeon, Y. J., Hong, N. D., Yoo, I. D., Yang, K. H. and Kim, H. M. (1999) The inhibitory effect of polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* on tumor growth and metastasis. *Immuopharmacol.* **41**, 157-164.  
 7. Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F. (1968) Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann.* **69**, 155-157.  
 8. Ji, J. H., Kim, M. N., Chung, C. K., and Ham, S. S. (2000) Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* **29**, 322-328.  
 9. Song, K. S., Cho, S. M. and Lee, J. H. (1995) B-lymphocytostimulating polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Chem. Pharm. Bull.* **43**, 2105-2108.  
 10. Lee, J. W., Baek, S. J., Bang, K. W., Kang, S. W., Kang, S. M., Kim, B.Y. and Ha, I. S. (2000) Biological activity of polysaccharide extracted from the fruit body and cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 726-735.  
 11. Yamamae, S. (1988) Medical treatment and new drug. **25**, 2357.  
 12. Kaneyoshi, A. (1974) In *Hwahanyaku*, Isikoyaku press, Tokyo. Japan, p. 694.  
 13. Bae, J. S., Jang, K. H., Rhee, M. H, Jeong, K. S., Jo, W. S., Choi, S. G, Kim, Y. H. and Park, S. C. (2003) Comparison on the morphology, general composition, elemental composition and mineral contents of *Phellinus linteus*, *Phellinus baumii* and *Phellinus gilvus*. *Kor. J. Vet. Res.* **43**, 423-428.  
 14. Shirane, N., Takenaka, I., Ueda, K., Hashimoto, Y., Katoh, K. and Ishii, H. (1996) Sterol analysis of DMI-resistant and -sensitive strains of *Venturia inaequalis*. *Phytochem.* **41**, 1301-1308.  
 15. Im, K. S., Nam, K. I., Sim, C. J. and Jung, J. H. (2000) Sterol peroxide derivatives from the marine sponge *Spirastrella abata*. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**, 401-406.  
 16. Bok, J. W., Lermer, L., Chilton, J., Klingeman, H. G. and Neil Towers, G. H. (1999) Antitumor sterols from the mycelia of *Cordyceps sinensis*. *Phytochem.* **51**, 891-898.  
 17. Kawagishi, H., Katsumi, R., Mizuno, T., Hagiwara, T. and Nakamura, T. (1998) Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*. *Phytochem.* **27**, 2777-2779.  
 18. Sgarbi, D. B., da Silva, A. J., Carlos, I. Z., Silva, C. L., Angluster, J. and Alviano, C. S. (1997) Isolation of ergosterol peroxide and its reversion to ergosterol in the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii*. *Mycopathologia.* **139**, 9-14.  
 19. Kim, D. S., Baek, N. I., Oh, S. R., Jung, K. Y., Lee, I. S., Kim, J. H. and Lee, H. K. (1997) Anticomplementary activity of ergosterol peroxide from *Naematoloma fasciculare* and reassignment of NMR data. *Arch. Pharm. Res.* **20**, 201-5.  
 20. Li, G. Y., Wang, J. H. and Li, X. (2005) Sterols from the

- pericarp of *Sphaerophysa salsula* DC. *J. Nat. Prod.* **7**, 165-169.
21. Piovano, M., Guzman, G, Garbarino, J. A. and Chamy, M.C. (1997) The chemistry of *Bacidia stipata* (Lichens, Ascomycotina). *Biochem. System. Ecol.* **27**, 663-664.
  22. Greca, M. D., Mangoni, L., Molinaro, A., Monaco, P. and Previtera, L. (1990) (20S)-4 $\alpha$ -methyl-24-methylenecholest-7-en-3 $\beta$ -ol, an allelopathic strol from *Typha latifolia*. *Phytochem.* **29**, 1797-1798.
  23. Yoshikawa, K., Ikuta, M., Arihara, S., Matsumura, E. and Katayama, S. (2001) Two new steroidal derivatives from the fruit body of *Chlorophyllum molybdites*. *Chem. Pharm. Bull.* **49**, 1030-1032.
  24. Kabori, M., Yoshida, M., Ohnishi-Kameyama, M., Takei, T. and Shinmoto, H. (2006) 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Epidioxy-22E-ergosta-6,9(11), 22-trien-3 $\beta$ -ol from an Edible Mushroom Suppresses Growth of HL60 Leukemia and HT29 Colon Adenocarcinoma Cells. *Biol. Pharm. Bull.* **29**, 755-759.
  25. Fujimoto, H., Nakayama, M., Nakayama, Y. and Yamazaki, M. (1994) Isolation and characterization of immunosuppressive components of three mushrooms, *Pisolithus tinctorius*, *Microporus flabelliformis* and *Lenzites betulina*. *Chem. Pharm. Bull.* **42**, 694-697.
  26. Lindequist, U., Lesnau, A., Teuscher, E. and Pilgrim, H. (1989) The antiviral action of ergosterol peroxide. *Pharmazie.* **44**, 579-580.
  27. Yasukawa, K., Akihisa, T., Kanno, H., Kaminaga, T., Izumida, M., Sakoh, T., Tamura, T. and Takido, M. (1996) Inhibitory effects of sterols isolated from *Chlorella vulgaris* on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation and tumor promotion in mouse skin. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 573-576.
  28. Akihisa, T., Franzblau, S. G., Tokuda, H., Tagata, M., Ukiya, M., Matsuzawa, T., Metori, K., Kimura, Y., Suzuki, T. and Yasukawa, K. (2005) Antitubercular Activity and Inhibitory Effect on Epstein-Barr Virus Activation of Sterols and Polyisoprenepolyols from an Edible Mushroom, *Hypsizigus marmoreus*. *Biol. Pharm. Bull.* **28**, 1117-1119.
  29. Ahmad, S., Hussain, G and Razaq, S. (1976) Triterpenoids of *Phellinus gilvus*. *Phytochem.* **15**, 2000.
  30. Lourenco, A., Lobo, A. M., Rodriguez, B. and Jimeno, M. L. (1996) Ceramides from the fungus *Phellinus pini*. *Phytochem.* **43**, 617-620.
  31. Jang, H. J. and Yang, K. S.(2006) Inhibition of nitric oxide synthesis by ergosterol derivative from *Phellinus pini* in LPS-activated RAW 264.7 cells. *Yakhak Hoechi.* **50**, 367-371.
  32. Moon, D. C., Hwang, K. H., Choi, K. Y., Choi, D. C., Kim, C. S., Kim, J. G, Lee, Y. M. and Zee, O. P.(1995) Some peroxysterols and ceramides from "Phellinus ribis", a Korean wild mushroom. *Anal. Sci. Tech.* **8**, 901-906.
  33. Kim, H. M., Han, S. B., Oh, G. T., Kim, Y. H., Hong, D. H., Hong, N. D. and Yoo, I. D. (1996) Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int. J. Immunopharmac.* **18**, 295-303