

능이버섯의 항고혈압 활성과 항통풍 활성

강민구¹ · Zanabaatar Bolormaa¹ · 이종석² · 서건식³ · 이종수^{1*}

¹배재대학교 생명유전공학과, ²충남대학교 병원, ³한국농수산대학

Antihypertensive Activity and Anti-gout Activity of Mushroom *Sarcodon aspratus*

Min-Gu Kang¹, Zanabaatar Bolormaa¹, Jong-Seok Lee², Geon-Sik Seo³ and Jong-Soo Lee^{1*}

¹Department of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea

²Hospitals of Chungnam National University, Daejeon 301-721, Korea

³Korea National College of Agricultural and Fishery, Hwasung, Kyonggi-do 445-893, Korea

(Received 7, March 2011., Accepted 21, March 2011)

ABSTRACT : We collected wild mushroom, *Sarcodon aspratus* from Deogyu Mt. of Muju, Jeollabuk-do and physiological functionalities of its water extract were investigated. The water extracts from *S. aspratus* showed the highest antihypertensive angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of 74.3% and also showed high anti-gout xanthine oxidase (XOD) inhibitory activity (59.6%). However, tyrosinase inhibitory activity was very low (17.3%), and antioxidant activity and SOD-likely activity were not detected. The ACE inhibitory activity of *S. aspratus* fruiting body was the highest when powder of the fruiting body was shaken at 30°C for 24 h by distilled water. Furthermore, the XOD inhibitory activity was also the highest by extraction at 50°C for 24 h with water.

KEYWORDS: Antihypertensive and anti-gout activity, *Sarcodon aspratus*

서 론

최근 건강기능성 식품에 관한 연구가 매우 활발하게 진행되어 다양한 제품들이 개발되어 상품화 되고 있다. 주로 약용식물들의 생리활성물질들이 이들의 소재로 이용되고 있지만 최근 주로 식용으로만 이용되어온 버섯에서도 우수한 약리기능성이 계속해서 밝혀짐에 따라 건강 기능성 식품 신소재로 버섯의 소비가 꾸준히 증가 하고 있다(유 등, 2010; 박 등, 2003; 이 등, 2003; 최 등 1996).

버섯은 당과 단백질 및 핵산이 풍부하며 특히 β -glucan과 Vitamin D의 전구체인 ergosterol을 함유하고 있어 민간요법이나 한방의약 소재로 근래에 많이 사용되고 있다. 지금까지 버섯의 중요 약리 효과로는 *Ganoderma lucidum*의 콜레스테롤 저해 효과(Kabir et al., 1998)와 *Tremella fuciformis*의 Glucuronoxylomannan의 혈당강하 작용(Kiho et al., 1994), *Cordyceps sinensis* 다당류들의 혈당 강하 작용(Kiho et al., 1993; Kiho et al., 1996), *Cordyceps militaris*의 nucleoside 유도체인 cordycepin의 HIV-1의 역전사 효소활성 억제 작용(Muller et al., 1990), *Clavicornia pyxidate*의 clavicornic acid의 항균작용(Erkel and Anke, 1992), *Tricholoma giganteum* polysaccharides의 항암작용(Mizuno et al., 1995), 버섯류의 혈

소관 응집 억제 물질과 혈전용해 물질(박 등, 2003; Choi et al., 1999)과 항염증 작용, 간 보호 작용, 항산화 작용, 정력 증강 작용(유 등, 2010) 등이 알려져 있다. 최근에 이 등(2004)은 *Tricholoma giganteum*에서 펩타이드 형태의 항고혈압성 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해물질의 특성을 조사하여 보고하였고 구 등(2006)도 *Pholiota adiposa*에서 역시 펩타이드 형태의 ACE 저해 물질을 분리하여 특성을 보고 하였으며, 장 등(2011)은 노랑느타리 버섯에서 항고혈압성 ACE 저해 물질을 정제하여 특성을 보고하였다. 그러나, 아직 까지도 버섯의 다양한 생리활성 탐색과 개발 연구가 체계적으로 진행되지 않아 버섯을 이용한 건강식품이나 의약대체 제품이 다양하게 개발되어 있지 않은 실정이다.

한편, 능이버섯(*Sarcodon aspratus*)은 담자균류의 민주름버섯목(*Aphyllophorales*)의 굴뚝버섯과(*Telephoraceae*)에 속하며 균근성으로 보통 참나무등에서 공생한다(주, 2008). 지금까지 알려진 능이버섯의 주요 대사산물로서는 강력한 활성을 가진 단백질 분해효소(Eun et al., 1988)와 향기 성분으로 1-octen-3-ol benzaldehyde 등(Jeong et al., 2001)이 알려져 있고 Cyclo(propyl-valyl)등의 항산화 물질(Kim et al., 2005), 유리당과 아미노산등의 영양성분(Lee et al., 2003) 등이 보고 되어있다. 또한 Song 등(2003)은 능이버섯 에탄올 추출물이 항산화 활성과 혈전용해 활성이 우수하였고 암세포에 대한 세포 독성도 있음을 보고하였다. 최근 Joo(2008)는 능

*Corresponding author <E-mail : biotech8@pcu.ac.kr>

이버섯의 영양성분과 항산화활성, 암세포에 대한 세포독성 등을 보고 하였다.

필자 등은 다양한 버섯으로 부터 보다 우수한 약리효능을 갖은 건강 소재들을 탐색하여 건강식품이나 대체의약 소재로 이용하고자 본 연구에서는 전북 무주의 덕유산 일대에서 채취한 능이버섯의 다양한 생리기능성을 측정하여 우수 생리기능성을 선발 한 후 이들 생리기능성 물질들의 추출 최적 조건을 검토하였다.

재료 및 방법

능이버섯과 시약

능이버섯은 2010년 가을 덕유산에서 자생하는 능이버섯 자실체를 수집하여 동결 건조시켜 분말로 한 다음 시료로 사용하였다.

생리기능성 측정용 시약과 효소로는 Hip-His-Leu과 angiotensin I-converting enzyme (ACE: rabbit lung acetone powder), Xanthine oxidase, pyrogallol, 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), tyrosinase 등은 Sigma사(St, Louis, Mo, USA) 제품을 사용하였고 그 밖의 시약은 특급을 사용하였다.

물과 유기용매 계통 추출

능이버섯 자실체 분말들의 추출은 다음과 같이 실시하였다. 즉, 자실체 분말에 증류수(1:40)을 가한 후 30°C에서 200 rpm으로 24시간 동안 진탕 한 후 이 추출액을 15,000×g로 10분간 원심 분리하여 상등액을 얻고 Whatman No.2로 여과 한 후 동결 건조하여 물 추출 시료로 하였다.

극성이 다른 유기용매를 이용한 계통 추출은 먼저 물 추출물과 hexane, 증류수를 1:10:9의 비율로 혼합하여 추출 분획한 후 rotatory vacuum evaporator로 농축하여 hexane 분획물을 얻고, 물층은 다시 chloroform, ethyl acetate 및 butanol로 분획여두에서 순차적으로 용매 분획한 다음 각 분획물을 농축하여 동결건조 하였다. 이것들은 밀봉 하여 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

생리기능성 측정

Angiotensin-converting enzyme(ACE) 저해활성은 Cushman 등(1971)의 방법에 따라 시료액에 동일 용량의 ethyl acetate를 처리하여 얻은 추출액 50 µl를 rabbit lung powder에서 추출한 ACE용액 150 µl(약 2.8~3 Unit)와 기질용액 (pH 8.3의 100 mM sodium borate 완충용액 2.5 ml에 300 mM NaCl과 25 mg Hip-His-Leu을 용해) 50 µl와 섞은 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCl로 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 유리되어 나오는 hippuric acid의 양을 228 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였고 시료 무첨가구를 대조구로 하여 저해율을 구하였다.

SOD 유사활성은 Marklund 등(1974)의 방법에 따라 시

료액 20 ml에 55 mM Tris-cacodylic acid buffer (TCB, pH8.2) 20 ml를 가한 후 균질화하고 원심분리하여 얻은 상등액을 pH 8.2로 조정 한 후 TCB를 사용하여 50 ml로 정용 한 후 시료액으로 사용하였다. 시료액 950 µl에 50 µl의 24 mM pyrogallol을 첨가하여 420 nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료액 무첨가구와 비교하였다.

항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)의 환원력을 이용하는 Blois(1958)의 방법으로 측정하였다. 시료 200 µl에 DPPH 용액 (DPPH 12.5 mg을 EtOH 100 ml에 용해) 800 µl를 가한 후 10분간 반응시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가 대조구와 활성을 비교하였다.

Tyrosinase 저해 활성은 Sung 등(1992)의 방법에 따라 시료액 0.5 mL에 5 mM L-DOPA 0.2 ml, 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.0)를 혼합한 후 tyrosinase 11U를 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액 무첨가구와 비교하였다.

Xanthine oxidase 저해 활성은 Noro 등(1983)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6 ml에 1 mg/ml로 녹인 시료 100 µl를 가하고 1 mM xanthine을 녹인 기질 용액 200 µl를 첨가하였다. 여기에 xanthine oxidase (0.2 U/ml) 100 µl를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1N HCl 200 µl를 가하여 반응을 정지시켰다. 이 때 12,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 단백질을 제거 후 생성된 uric acid를 292 nm에서 측정하였다.

결과 및 고찰

능이버섯의 생리활성

능이버섯 자실체의 물 추출물에 대한 생리활성을 측정한 결과 Table 1과 같이 항고혈압성 ACE 저해활성이 74.3%로 가장 우수하였고 항통풍성인 XOD 저해활성은 59.6%를 보였다. 그러나 tyrosinase 저해활성은 17.3%로 낮았고 항산화 활성과 SOD 유사활성은 없었다. 이 ACE 저해활성은 Sung 등(2003)이 강원도에서 채취한 능이버섯의 52.89%~57.63%보다 높은 활성이었으나 항산화 활성과 SOD 유사활성은 낮은 결과이었다. 또한 Joo(2008)의 경남 거창군 일대에 자생하는 능이버섯의 항산화 활성보다도 낮았다. 이와 같이 생리활성이 차이가 있는 것은 능이버섯의 지역적 생육 환경 차이에 따른 것으로 항고혈압 활성이 우수한 본 실험의 능이버섯이 자생한 생육환경을 면밀하게 조사하여 기능성

Table 1. Physiological functionalities of water extract from *Sarcodon aspratus* fruiting body

ACE ¹⁾ inhibitory activity(%)	Antioxidant activity(%)	SOD likely activity(%)	XOD ¹⁾ inhibitory activity(%)	Tyrosinase inhibitory activity(%)
74.3±1.3	ND ²⁾	ND	59.6±1.5	17.3±0.5

¹⁾ACE, angiotensin I-converting enzyme; XOD, xanthine oxidase.

²⁾ND, not detected.

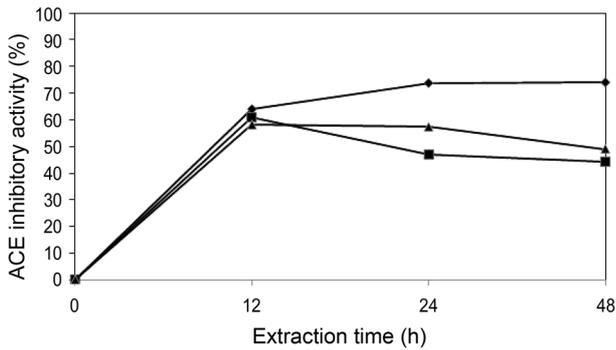


Fig. 1. Effect of extraction temperature and time on the angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of water extract from *Sarcodon aspratus* fruiting body.
 ◆30°C, ■50°C, ▲70°C : Extraction temp.

능이버섯의 인공 재배법 연구에 자료로 활용하면 좋을 것으로 사료된다.

능이버섯 항고혈압성 ACE 저해물질의 추출 최적 조건

능이버섯 자실체의 물 추출물의 항고혈압성 ACE 저해 활성 물질의 추출조건을 검토한 결과 추출 최적 온도와 시간은 각각 30°C, 24시간 이었고(Fig. 1), 추출 온도가 높아질수록, 추출 시간이 길어질수록 30°C외에는 오히려 약 간씩 활성이 낮아졌다.

또한, 능이버섯 자실체를 다양한 유기용매로 계통 추출하여 각각의 ACE 저해활성을 조사한 결과 Table 2와 같이 소수성인 hexane이나 chloroform의 추출물들 보다 친수성인 물과 부탄올의 추출물들에서 높은 활성을 보였다.

능이버섯 항통풍성 XOD 저해활성 물질의 추출 최적 조건

능이버섯 자실체의 물 추출물 중의 항통풍성 XOD 저해물질의 추출 최적 조건을 조사한 결과 Table 3과 같이 50°C에서 24시간 추출한 추출물이 60.6%로 가장 높은 저해 활성을 보였고 48시간 까지 추출 시간을 길게 하였을때 XOD 저해

Table 2. Effect of systematic solvents extraction on the angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity and xanthine oxidase (XOD) inhibitory activity of water extract from *Sarcodon aspratus* fruiting body (unit : %)

	ACE inhibitory activity	XOD inhibitory activity
Hexane	37.8±0.5	13.4±0.2
Chloroform	27.1±0.7	5.9±0.1
Ethyl acetate	38.7±0.6	ND ¹⁾
Butanol	56.3±0.3	55.3±1.4
DW ²⁾	52.5±0.5	46.7±0.2

¹⁾ND, not done.

²⁾DW, distilled water.

Table 3. Effect of extraction temperature and time on the xanthine oxidase (XOD) inhibitory activity of water extract from *Sarcodon aspratus* fruiting body

XOD inhibitory activity (%)			
Extraction temp. (°C)	Extraction time		
	12(hr)	24(hr)	48(hr)
30	21.2±0.1	43.8±0.4	36.8±0.2
50	18.2±0.3	60.6±0.8	38.3±0.4
70	3.8±0.2	19.1±0.3	2.1±0.4

활성은 오히려 낮아졌다.

한편, 능이버섯 자실체를 다양한 유기용매로 추출하여 XOD 저해활성을 측정된 결과 위의 ACE 저해활성과 비슷하게 친수성인 물과 부탄올 추출에서 높은 저해활성을 보였고 hexane 등의 소수성 용매에서는 매우 낮거나 활성이 보이지 않았다(Table 2).

이상의 결과들을 종합해 볼 때 능이버섯중의 항고혈압성 ACE 저해물질과 항통풍성 XOD 저해물질들은 모두 일반적인 버섯에서 함유되어 있는 항고혈압성 펩타이드(Jong *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2004; Koo *et al.*, 2006)와 같은 친수성 물질로 추정되며 현재 HPLC 등을 이용하여 이들을 정제하여 물질 특성을 조사하고있다.

적요

야생 능이버섯에 함유되어 있는 생리 기능성 물질들을 탐색, 분리하여 이들을 고부가가치의 건강식품 소재로 활용하고자 덕유산 일대에서 채집한 능이버섯의 물 추출물은 제조하여 몇 가지 생리 기능성을 측정하였다. 능이버섯 자실체의 물 추출물은 항고혈압성 엔지오텐신 전환효소(ACE) 저해 활성과 항통풍성 xanthine 산화효소(XOD) 저해활성이 각각 74.3%와 59.6%로 우수하였다. 그러나 tyrosinase 저해 활성과 항산화 활성, SOD 유사활성 등은 매우 낮거나 없었다. 능이버섯 자실체중의 ACE 저해활성은 자실체 분말의 물 현탁액을 30°C에서 24시간, XOD 저해물질은 50°C에서 24시간 진탕 시켰을 때 가장 높았다. 이들 두 가지 생리활성 물질을 함유한 능이버섯 물 추출물은 앞으로 건강식품이나 대체 의약 소재 개발에 매우 유용하게 활용 할 것으로 사료된다.

참고문헌

유영복, 구창덕, 김성환 서건식 신현동 이준우, 이창수, 장현유. 2010. 버섯학. 자연과 사람 (서울 Korea). pp. 385-420.
 박정식, 현광욱, 서승보, 조수목, 유창현, 이종수. 2003. 버섯으로부터 혈소판 응집억제물질 과 혈전용해물질의 탐색. 한국균학회지 31:114-116.
 이대형, 김재호, 정종천, 공원식, 유영복, 박정식, 유창현, 이종수. 2003. 각종 버섯류로부터 안지오텐신 전환효소 저해제의 탐색. 한국균학회지 31:148-154.
 최낙식, 서승엽, 김승호. 1996. 혈전용해능을 갖은 버섯류의 탐색.

- 한국식품 과학회지 31:553-557.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature*. 191:1199.
- Choi, N. S., Seo, S. Y. and Kim, S. H. 1999. Screening of mushrooms having fibrinolytic activity. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 31:553-557.
- Cushman D.W. and H.S Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20:1637-1648.
- Erkel, G and Anke, T. 1992. Antibiotics from bASI diomycetes XLI, Clavicornic acid, a novel inhibitor of reverse transcriptase from *Clavicornia pyxidate*. *J. Antibiotics.* 45:29-37.
- Eun, J. S, Yang, J. H., Cho, D. Y. and Lee, T. K. 1988. Studies on higher fungi in Korea (I) : Activity of proteolytic enzyme from *Sarcodon aspratus*. *J. Kor. Pharm. Sci.* 18:125-131
- Jang, J. H., Jeong, S. C., Lee, J. H., Ju, Y. C, and Lee, J. S. 2011. Characterization of a new antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *Pleurotus cornucopiae*. *Food Chemistry.* 127:412-418.
- Jeong, O.J., Yoon, H.S and Min, Y.K. 2001. Aroma characteristics of Neungee (*Sarcodon aspratus*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* 33: 307-312.
- Joo, O. S. 2008. Chemical components and physiological activities of neungee mushroom (*Sarcodon aspratus*). *Kor. J. Food Preserv.* 15(6):864-871.
- Kabir, Y.K., Kimura, S. and Tamura, T. 1998. Dietary effect of *Ganoderma lucidum*: Mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats (SHR). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 34:433-438.
- Kang, H.C., Yun, B.S., Yu, S.H and Yoo, I.D. 2000. Chemical structures of the compounds isolated from the edible mushroom *Sarcodon aspratus*. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 43: 298-302.
- Kiho, T., Hui, J., Yamane, A. and Ukai, S. 1993. Polysaccharides in fungi. XXXII. Hypoglycemic activity and chemical properties of a polysaccharide from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Biol. Pharm. Bull.* 16:1291-1293.
- Kiho, T., Yamane, A., Hui, J., Usui, S. and Ukai, S. 1996. Polysaccharides in fungi, XXXVI. Hypoglycemic activity of a polysaccharides (CS-F30) from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis* and its effect on glucose metabolism in mouse liver. *Biol. Pharm. Bull.* 19:294-296.
- Kim, J.W., Moon, B.S., Park, Y.M., Yoo, N.H., Ryoo, I.J., Chinh, N.T., Yoo, I.D. and Kim, J.P. 2005. Structures and antioxidant activity of diketopiperazines isolated from the mushroom *Sarcodon aspratus*. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* 48:93-97.
- Koo, K. C., Lee, D. H., Kim, J. H., Yu, H. E., Park, J. S. and Lee, J. S. 2006. production and characterization of antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Phaliota adiposa*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 16:757-763.
- Lee, D. H., Kim, J. H., Park, J. S., Yoo, C. H. and Lee, J. S. 2004. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum*. *Peptide.* 25:621-627.
- Lee, S.H., Kim, N.W. and Shin, S.R. 2003. Studies on the nutritional components of mushroom (*Sarcodon aspratus*). *Kor. J. Food Preserv.* 10:65-69.
- Marklund, S. and G. Marklund. 1974 Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47:469-474.
- Mizuno, T., Kinoshit, T. Zhung, C., Ito, H. and Mayuzumi, Y. 1995. Antitumor activity of heteroglycans from nioushimeji, *Tricholoma giganteum*. *Food Rev. International.* 59:563-567.
- Muller, W. E. G, Weiler, B. E., Charubala, R. W. and Schroder, H. C. 1990. Cordycepin analogue of 2'5'-oligoadenylate inhibitor of human immunodeficiency virus infection via inhibition of reverse transcriptase. *Biochemistry.* 30:2027-2033.
- Noro, T., Yasushi, O., Toshio, M., Akira, U. and Fukushima, S. 1983. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. *Chem. pharm. Bull.* 31:3984.
- Song, J.H., Lee, H.S., Hwang, J.K., Han, J.W., Ro, J.G, Keum, D.H. and Park, K.M. 2003. Physiological activity of *Sarcodon aspratus* extracts. *Kor. J. Food Sci. Animal Resour.* 23:172-179.
- Sung, C. K. and S. H, Cho. 1992. Studies on the purification and characteristics of tyrosinase from *Diaspyros kaki thunb*. *Kor. Biochem. J.* 25:79-87.