

麥角菌의 培養에 關한 研究 (I)

菌核의 選定

金 炳 珪*

(Received Dec. 28, 1968)

Byong Kak Kim: Studies on the Culture of Ergot Fungus. (I)

Selection of Sclerotia

To select sclerotia to be used for strain isolation, water-soluble and water-insoluble alkaloids contents of the sclerotia of ergot fungus were determined. The sclerotia parasitic on the genus *Elymus* were found to contain greater amount of the alkaloids, up to 1.44%, than the sclerotia from the genus *Agropyron*. The major portion of the total alkaloid contents was the water-insoluble alkaloids. No correlation was found between the alkaloid contents and the lipid contents of the sclerotia analyzed.

子宮收縮劑, 血管收縮劑 및 止血劑로써 産科와 內科領域에서 重要한 治療藥으로 쓰이는 麥角알카로이드를 天然狀態로 얻지 않고 麥角菌을 培養하여 生産하려는 研究는 오래전부터 追究되어 오고 있다.¹⁻³⁾ Tyler 는 *Pennisetum typhoideum* 에 寄生하는 菌核으로 부터 菌株 47 A 를 分離하여 알카로이드生成에 미치는 條件을 檢討하였다.⁴⁾ 또한 Abou-Chaar 等은 菌株 47 A 와 菌株 2 N 59 를 同時培養한 後 少量의 lysergic acid 의 生成을 檢出하였음을 報告하였다.⁵⁾

培養法을 利用하여 麥角알카로이드를 生産하기 爲해서는 우선 알카로이드生成能이 높은 菌株를 分離하여야 하며 菌株의 分離는 菌核을 가지고 한다. 따라서 이러한 目的에 使用되는 菌核은 그 알카로이드 含量이 많은 것일 수록 良好하다고 할 수 있으며 이와 같은 菌核을 選定하기 爲해서 著者는 數種의 菌核의 알카로이드含量을 分析하였다. 알카로이드含量은 麥角알카로이드를 水溶性인 것과 非水溶性인 것을 別途로 分離定量하였으며 同時에 이것에 含有되는 脂質도 아울러 定量하였다.

實驗材料 및 方法

1) 材 料

本 實驗에서 使用한 菌核은 주로 美國의 네브라스카州에서 1961 年에 採取된 것이며 그 宿主植物과 採取地는 Table 1 과 같다.

* College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea.

Table 1. Sclerotia of Ergot Fungus

Sample No.	Host Plant	Site of Collection
1	<i>Elymus virginicus</i> L.	District 17, Buffalo County, Nebraska
2	<i>Elymus canadensis</i> L.	Northwest of Shelton, Nebraska
3	<i>E. canadensis</i> L.	West of Shelton, Nebraska
4	<i>E. canadensis</i> L.	North of Shelton, Nebraska
5	<i>Agropyron smithii</i> Rydb.	North of Shelton, Nebraska
6	<i>Elymus canadensis</i> L.	Northeast of Shelton, Nebraska
7	<i>E. canadensis</i> L.	East of Shelton, Nebraska
8	<i>E. canadensis</i> L.	Hall County, Nebraska
9	<i>E. canadensis</i> L.	Hall County, Nebraska
10	<i>E. virginicus</i> L.	Hall County, Nebraska
11	<i>E. virginicus</i> L.	Hall County, Nebraska
12	<i>Agropyron smithii</i> Rydb.	Hall County, Nebraska
13	<i>Elymus canadensis</i> L.	Northeast of Shelton, Nebraska

2) 實驗方法

알카로이드含量이 많은 菌核을 選定하기 爲하여 菌核中の 水溶性 및 非水溶性 알카로이드를 各各 定量하였다. 定量法은 Silber 와 Schulze 의 方法⁶⁾을 改良한것에 準하였으며 同一 試料에 對하여 2 回씩 分析하였다. 即 菌核 15 g 을 秤取, 粉碎하여 碎屑릿裝置에서 石油에틸로 20 時間 脫脂한 後 그 粉末과 抽出物을 通風乾燥器中에서 45°C 以下에서 44 내지 48 時間 乾燥하였다. 다시 兩者를 메씨케이타에 1 夜 放置後 秤量하여 脂質의 含量을 算出하였다. 脫脂된 菌核의 粉末을 더 微細하게 粉碎하여 1 夜 메씨케이타中에 放置하였다. 粉末을 0.07 내지 0.1 g 範圍內에서 精密히 秤取하여 試驗管에 넣고 여기에 無수에틸 6 ml 와 稀암모니아水 0.1 ml 을 加하여 마개를 한 後 振盪器上에서 2 時間 振盪抽出하였다. 抽出液을 遠心分離하여 上澄液을 取하여 液量計에 넣고 少量의 에틸로 試驗管과 마개를 洗滌하여 舍친 後 그 容量을 5 ml 로 調節하였다. 이를 分液漏斗에 옮긴후 少量의 에틸로 液量計를 씻어 내어 舍친다. 이 에틸液으로 부터 水溶性알카로이드를 1/15 M 의 磷酸緩衝液(pH 8) 1 ml 씩을 使用하여 2 分間씩 3 回 反覆 抽出하여 舍친다. 이어서 남어 있는 에틸液으로 부터 다시 2% 酒石酸 1 ml 씩으로 3 回 反覆抽出하여 그 酒石酸液을 舍친다. 各抽出液 또는 그 稀釋液의 2 ml 씩을 正確히 取하여 *p*-dimethylaminobenzaldehyde 試液(*p*-dimethylaminobenzaldehyde 0.20 g 과 鹽化 第 2 鐵 0.003 g 을 65% 黃酸 100 ml 에 加한 液) 4 ml 와 잘 混和하여 水銀燈下에서 7 分間 紫外線을 照射한 후 나타나는 紫靑色의 色度를 B. & L. Spectronic 20 을 使用하여 590 m μ 에서 optical density 를 測定하였다. 이것을 알카로이드 標準品으로 作成한 標準曲線에 依해서 含有하는 알카로이드를 換算하였다. 水溶性알카로이드는 ergonovine(分子量 325)으로, 또 非水溶性알카로이드는 ergotamine(分子量 582)으로 表示하였다.

實驗結果와 考察

上記한 方法으로 檢出된 菌核의 脂質含量과 水溶性 및 非水溶性알카로이드의 含量은 Table 2 와 같다.

Table 2. Analysis of Ergot Sclerotia

Sample No.	Alkaloid Content (%)			Lipid Content(%)
	Water-soluble Alkaloid	Water-insoluble Alkaloid	Total	
1	0.031 ±0.005	1.411 ±0.031	1.442	8.79 ±0.14
8	0.044 ±0.0035	1.266 ±0.002	1.310	9.72 ±0.50
11	0.032 ±0.0005	1.185 ±0.030	1.217	10.33 ±0.23
4	0.030 ±0.010	1.175 ±0.020	1.205	7.73 ±0.33
9	0.038 ±0.0005	1.154 ±0.025	1.192	10.82 ±0.25
6	0.035 ±0.0025	1.15 ±0.025	1.185	11.30 ±0.35
3	0.037 ±0.0020	1.132 ±0.043	1.169	7.07 ±0.26
10	0.029 ±0.0005	1.104 ±0.025	1.133	11.89 ±0.28
13	0.035 ±0.001	1.048 ±0.005	1.083	10.77 ±0.45
5	0.023 ±0.0005	1.006 ±0.003	1.029	13.96 ±0.26
12	0.030 ±0.001	0.946 ±0.014	0.976	14.70 ±0.14
2	0.019 ±0.0002	0.948 ±0.012	0.967	9.46 ±0.01
7	0.020 ±0.0005	0.668 ±0.0001	0.688	13.14 ±0.18

Table 2에서 보는 바와 같이 *Elymus virginicus*에서採取한 菌核 1號와 *E. canadensis*에서分離한 菌核 8號는 各各 1.44% 및 1.31%의 높은 値의 알카로이드량을 含有하고 있었고 *Agropyron smithii*에서採取된 5號와 12號는 그 含量이 *Elymus*屬의 菌核에 比해서 적었다. 水溶性알카로이드와 非水溶性알카로이드의 含量比는 大개 1:30~50의 比를 보여주고 있으며 主로 非水溶性알카로이드가 總量의 大部分을 차지하고 있으며 水溶性인 것은 全體의 2~3%에 不遇하다. 따라서 非水溶性알카로이드의 量이 總含有量을 左右한다고 볼 수 있다.

石油에틸로 抽出된 脂質의 含量은 7~14.7%이며 이 含量의 高低는 알카로이드 含量에는 關聯이 없음을 보여주고 있다.

美國 National Formulary (XI)와 日本藥局方의 規定에 의하면⁷⁻⁸⁾ 麥角菌核은 水溶性 알카로이드가 ergonovine으로 計算하여 0.01%以上, 그리고 알카로이드總量은 0.15%以上을 含有하여야 한다고 規定되어 있으나 本 研究의 試料로 쓰인 *Elymus*屬에 寄生하는 菌核은 그 보다 훨씬 더 많은 約 10倍量의 알카로이드가 含有되어 있음이 밝혀 졌다. 그러나 現在 大韓藥典 第2改正版⁹⁾에는 이 含量規定이 明記되어 있지 않음으로 이것은 是正되어야 한다고 思料된다.

上記한바와 같이 *Elymus*屬에 寄生하는 菌核이 높은 알카로이드량을 含有하고 있으므로 이들을 새 菌株의 分離에 使用하는 것이 有利하며 좋은 材料가 될 수 있다는 것이 分明하다.

結 論

1. *Elymus virginicus* 및 *E. canadensis*에 寄生하는 麥角菌의 菌核은 알카로이드含量이 1.44%에 까지 達하는 높은 含量을 가지고 있으며 *Agropyron smithii*에서採取한 菌核은 낮은 含量을 나타 내었다.

2. 대개 水溶性알카로이드 含量은 알카로이드 總量의 2~3%에 該當한다. 따라서 非水溶性알카로이드 量이 總含有量을 左右한다.

3. 脂質의 含量은 알카로이드 含量에는 아무런 相關關係가 없다.

本 研究들 遂行함에 있어 激勵과 助言을 주신 퍼듀大學校 藥大 學長 V.E. Tyler 博士께 그리고 菌核을 提供해 주고 指導를 하여 주신 워싱턴大學校의 Lynn R. Brady 博士께 深甚한 謝意를 表하는 바이다.

REFERENCES

- 1) M. Abe, T. Yamano, Y. Kozu and M. Kusumoto, *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, **25**, 458(1952).
- 2) M. Abe, T. Yamano, Y. Kozu and M. Kusumoto, *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, **29**, 697(1955).
- 3) V.E. Tyler, Jr., *J. Pharm. Sci.*, **50**, 629(1961).
- 4) V.E. Tyler, Jr., *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **47**, 787(1958).
- 5) C.I. Abou-Chaar, L.R. Brady and V.E. Tyler, Jr., *Lloydia*, **24**, 89(1961).
- 6) A. Silber und T. Schulze, *Pharmazie*, **8**, 675(1953).
- 7) Amer. Pharm. Assoc., *National Formulary Eleventh Edition*, 125 (1960) Washington, D.C.
- 8) 日本公定書協會, 第7改正 日本藥局方 第1部解説書, C-1073(1961) 廣川書店 東京.
- 9) 대한민국 보건사회부, 대한약전 제2개정판 제1부, 155(1967) 대한약사회 서울.