韓 國 菌 學 會 誌 第 8 卷 第 1 號
Kor. J. Mycol. Vol. 8, No. 1, 25~28 (1980)

韓國產 高等 菌類의 成分 硏究(XXI)

긴말징버섯의 스테롤 成分

權泰俊・朴東雨・李廷玉・姜昌律・金炳珏
서울大學校 藥學大學 微生物藥品化學敎室

Studies on the Constituents of Higher Fungi of Korea(XXI)

A Sterol from *Calvatia saccatum* (Vahl.) Fr.

Tae Joon Kwon, Dong Woo Park, Chong Ock Lee, Chang Yuil Kang and Byong Kak Kim
Department of Microbial Chemistry, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract: Attempts were made to investigate sterol components of *Calvatia saccatum* (Vahl.) Fr. which grows wildly in Korea. Its carpophores were collected in Gyeong Gi Province and extracted with chloroform and methanol. Two compounds were isolated from the extract and one of these compounds was identified as ergosterol by TLC, GLC and chemical tests.

緖 論

많은 종류의 버섯들이 오래전부터 食用으로 사용되어 왔으며, 질병의 치료에도 버섯이 사용된 경우가 많다. 그리고 치명적인 독을 가진 독버섯도 많이 알려져 있다. 이러한 버섯의 성분에 관한 연구는 근년에 와서 각국에서 활발해 졌으나, 우리 나라산 버섯류의 분류 및 성분에 관한 연구는 매우 적다. 일부 야생 식용버섯류의 아미노산 함량에 대한 보고가 있었으며(Jung *et al.*, 1974; Huh, 1960), 고등균류의 알칼로이드성분의 검색 결과가 보고된 바 있다(Kim *et al.*, 1970; Kim *et al.*, 1971; Kim *et al.*, 1975; Kim *et al.*, 1976). 스테롤 성분에 대한 연구 보고도 계속되고 있으며, 그 성분에 관한 연구가 전혀 보고되어 있지 않은 한국산 긴 말징버섯에서 스테롤 성분을 확인하였기에 보고하는 바이다.

긴 말징버섯*Calvatia saccatum* (Vahl.) Fr.은 말불버섯과(*Lycoperdaceae*)에 속하는 담자균류로서 서울, 경기도 광릉, 기타 전국 각지에 분포하며 여름철에 많이 볼 수 있다. Stem이 특징적으로 길고 드문드문 세로의 긴 주름이 있으며, 말불버섯(*L. gemmatum*)보다 상당히 크다. 아직 미숙했을때 peridium은 아주 미소한 작은 알맹이와 가시들로 덮여있으나, 성숙시에는 구형의 bowl의 외부피막이 peridium의 꼭대기 부분으로부터 분리되며, 내부피막이 분화구처럼 열리고 먹을 수 있는 올리브빛을 띤 갈색부분에 있는 spore가 유리된다(Rinaldi and Tyndalo, 1972).

實驗 材料 및 方法

1. 材 料

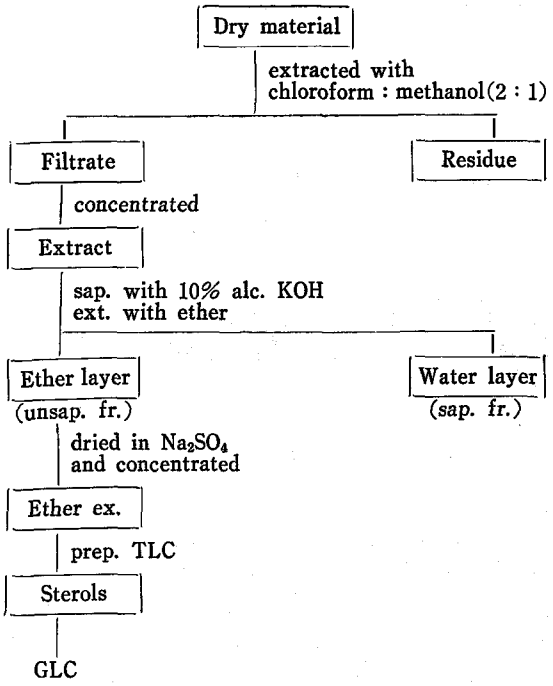
본 실험에 사용한 재료는 1978년 경기도 광릉 일대에 야생하는 긴 말징버섯 *Calvatia saccatum* (Vahl.) Fr.을 채집하여 건조시킨 것이다.

2. 抽出 및 精製

채집한 재료의 건조 중량 150g에 chloroform : methanol (2 : 1) 혼합용매 2,000ml를 가한 다음 blender에 넣고 homogenize한 뒤 이를 5개의 2,000ml 삼각플라스크에 나누어 넣은 뒤, orbital incubator에서 72시간 진탕시켰다. 흡입여과기로 여과하여 여액과 잔사를 분리하고, 잔사는 다시 chloroform : methanol(2 : 1) 1,000ml를 가하여 3개의 2,000ml 삼각플라스크에 나누어 옮기어 앞에서와 같은 방법으로 24시간 진탕시켰다. 이를 여과하여 그 여액을 앞의 여액과 합한 후, 회전식 증류기에서 감압 증발 농축하였다. 잔사에 10% 알

코올성 KOH용액 300ml를 가하여, 수욕상에서 5시간 동안 reflux 시키면서 검화시켰다. 이때 반응온도는 80°~85°C였다.

검화액을 2*l* 분액 여두로 옮기고 400ml의 에텔, 300 ml의 증류수를 가하여 진탕한 후 방치하여 에텔층과 수층을 분리시켰다. 에텔층(Unsaponified matter)을 계속하여 증류수로 여러번 세척하였다. 세척한 마지막 수층을 Toyo pH test paper (BTB 사용)에 검적하여 중성임을 확인하였다. 이 에텔층을 분리하고 여기에 Na_2SO_4를 가하여 20시간동안 방치하여 수분을 제거하였다. 이를 여과하여 Na_2SO_4를 제거하고 에텔층을 회전식 증류기에서 감압 증발 농축하여 미황색의 물질을 얻었다. 잔사를 chloroform에 녹여 Liebermann-Bürchard test를 시행 양성임을 확인하였다(Scheme I).



Scheme I. Isolation and identification procedure of sterols

3. 分 離

1) TLC

Silica gel G를 사용하여 常法에 따라 만든 TLC판에 미황색 물질의 chloroform액과 ergosterol의 chloroform 액을 각각 spot하고, ether : petroleum ether (1 : 1)을 전개용매로 하여 13cm 전개시켰다. anisaldehyde · H_2SO_4을 분무하여 2개의 spot를 확인하였다(Fig. 1).

2) Preparative TLC

TLC법으로 분석한 결과 스테롤을 확인하였으므로 이를 분리하기 위하여 큰 TLC판에 잔사의 chloroform액을 다량 집적하여 ether : petroleum ether (1 : 1)을 전개용매로 하여 10.5cm 전개하였다. methanol을 분무하여 2개의 불투명한 band를 확인하고 각 band를 긁어서 모우고 ether를 넣어 추출하고 silica gel을 여과하고 수욕상에서 농축하였다. 이것을 R_f치가 적은 것부터 A, B라 하였다(Fig. 2).

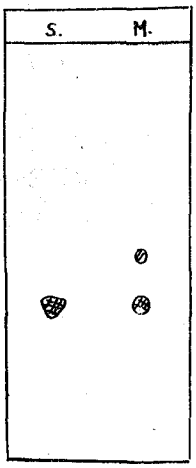


Fig. 1. TLC chromatogram
S : standard sterol
M : ether ex.
⊖ : sterol fraction
(Rf: 0.34)

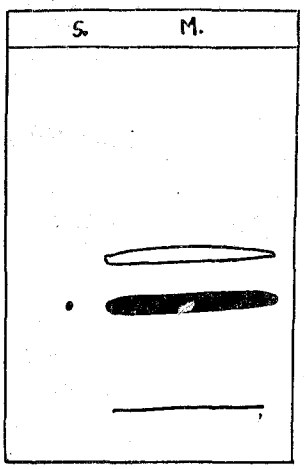


Fig. 2. Preparative TLC chromatogram

3) Liebermann-Bürchard test

화합물 A, B의 sterol 여부를 판정하기 위하여 常法에 따라 Libermann-Bürchard test를 하였다.

4) GLC

표준 sterol류와 A fraction에 대해 GLC를 실시하였다.

packing material: 3% OV-17 Shimalite W (80~100); carrier gas: Nitrogen, 80ml/min; Detector: Flame Ionization Detector; Temperature of column: 230°C; Temperature of detector: 250°C;Chart speed: 5mm/min.

結果 및 考察

1. TLC

미황색 물질에 대해 TLC를 행한 결과 2개의 spot를 확인 하였다. 그 R_f치와 색갈은 Table I과 같다.

Table I. R_f values and colors of TLC spots.

spot	R_f value	color
A	0.34	blue violet
B	0.52	pink

Standard ergosterol의 R_f치는 0.34로 나타났으므로 A fraction을 sterol로서 추정하였다.

2. Preparative TLC

2개의 band의 R_f치가 각각 0.34, 0.52이었으며 methanol 분무에 의한 불투명한 각 부분을 긁어내었다.

3. Liebermann-Bürchard test

화합물 A, B에 대해 시행한 결과 A fraction만이 양성으로 나타났으며 이를 sterol로 추정하였다.

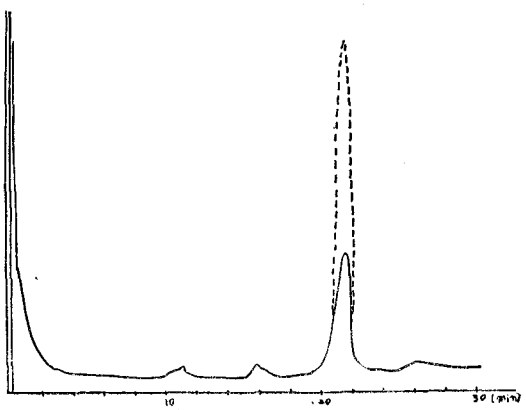
4. GLC

최종 시료가 어떤 sterol인가를 추정하기 위하여 standard sterol에 대하여 GLC를 시행한 결과 그 retention time은 Fig. 3과 같다.

A fraction에 대해 같은 조건으로 GLC를 시행한 결과 retention time 21.2min에서 peak가 1개 나타났으며, 이것은 standard ergosterol과 정확히 일치하였으므로 ergosterol임을 확인하였다.

Table II. Retention times of standard sterols

Standard	Retention time (min)
Cholesterol	17.8
Ergosterol	21.2
β-Sitosterol	25.3
Stigmasterol	23.0



Retention Time (min)

Fig. 3. Gas chromatogram of ergosterol derived from *Calvatia saccatum* (Vahl.) Fr.

3% OV-17 shimalite W (80~100)
80ml/min, Nitrogen
F.I.D. 230°C (250°C)

— : standard ergosterol
··· ; sample

結 論

긴말징버섯 *Calvatia saccatum* (Vahl.) Fr.의 chloroform : methanol (2 : 1) 추출액의 비검화 부분에서 ergosterol을 확인하였다.

감사의 말씀

이 연구에 소요되는 경비의 일부는 79년도 문교부 연구조성비로 충당되었으며 이에 깊이 감사하는 바이다.

이 실험에 협조하여 준 本 大學 中央機器分析室의 여러분과 微生物藥品化學敎室의 동학 여러분에게 감사한다.

참 고 문 헌

Huh, B. S. (1960): M.S. thesis, 31pp., Graduate School, Chung-Ang University, Seoul.

Imazeki, R., and T. Hongo (1969): *Coloured Illustrations of Fungi of Japan*, Vol. I, p. 114, Hoikusha Publ. Co., Tokyo, Japan.

Jung, J.K., J.Y. Chung, and S.M. La (1974): *Kor. J. Nutrition* 7, 12.

Kim, B.K., N.D. Kim, N.J. Choi, and Y.N. Lee (1970): *J. Pharm. Soc. Kor.* 14, 15.

Kim, B.K., J.H. Lim, L.H. Yoon, O.J. Park, and H.S. Kim (1971): *Kor. J. Pharmacogn.* 2, 31.

Kim, B.K., and E.C. Choi (1975): *Kor. J. Pharmacogn.* 6, 49.

Kim, B.K., H.K. Choi, and E.C. Choi (1976): *J. Natl. Acad. Sci. Republ. Korea* 15, 212.

Miller, M.W. (1961): *The Pfizer Handbook of Microbial Metabolites*, 770pp., McGraw-Hill Book Co., N.Y.

Rinaldi, A. and V. Tyndalo (1972): *The Complete Book of Mushrooms*, p. 230, Crown Publishers, Inc. New York.

Shibata, S., S. Natori, and S. Udagawa (1964): *List of Fungal Products*, 170pp., Univ. of Tokyo Press, Tokyo, Japan.

Shim, M.J., and Shim, S.H. (1979): *J. Duk Sung Women's College*, 171.

Singer, R. (1975): *The Agaricales in Modern Taxonomy*, 3rd ed., 912pp., J. Cramer, Liechtenstein.

Turner, W. B. (1971): *Fungal Metabolites*, 446 pp., Academic Press, London and New York.

〈Received 12 November 1979〉