

## 靈芝의 安全性에 관한 研究

金明孜 · 金河元 · 李榮純\* · 沈美慈\*\* · 崔應七 · 金炳珏

서울大學校 藥學大學 및 獸醫科大學\* · 서울市立大學\*\*

## Studies on Safety of *Ganoderma lucidum*

Myung Ja Kim, Ha Won Kim, Young Soon Lee\*, Mi Ja Shim

Eung Chil Choi and Byong Kak Kim

Department of Microbial Chemistry, College of Pharmacy and College of Veterinary Medicine\*  
Seoul National University, Seoul 151, and Seoul City University,\*\* Seoul 131, Korea

**Abstract:** To examine safety of *Ganoderma lucidum*, it was extracted with hot water (Fraction A). After the extract was dialyzed and freeze-dried, a polysaccharide fraction (Fraction B) was obtained and examined for acute and subacute toxicity. In the acute toxicity tests of Fr. A and Fr. B on mice, both agents did not show any serious and lethal effects. The results showed that 50% lethal doses were higher than 5,000 mg/kg. The experiments of oral administration of Fr. A (5,000 mg/kg) to mice for 30 days showed that there were no changes in body weight, hematological features and organ weight.

**Keywords:** *Ganoderma lucidum*, *Polyporaceae*, Basidiomycete, Toxicity, Urinalysis, Hematological examination, Organ weight change.

영지는 담자균류의 多孔菌科 *Polyporaceae*에 속하는 버섯으로서 한국에서는 영지, 불노초, 또는 만년버섯 등으로, 일본에서는 영지 및 만년버섯으로, 그리고 중국에서는 靈芝 또는 芝草로 불리우고 있으며 학명은 *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karsten이다.

영지로 추정되는 생약은 중국의 가장 오래된 藥物書인 神農本草經의 上品에 「赤芝, 黑芝, 黃芝, 紫芝, 白芝, 青芝」의 6종으로 분류되어 있으며 利水, 補肝, 強壯, 精神安全作用 및 關節炎, 咳嗽, 氣管支炎 등의 치료약으로서 약효가 이미 기재되어 있다. 한방에서는 滋補強壯, 解毒收斂, 消積, 血中脂質降下, 祛痰, 平喘 등의 약리 작용이 있어서 動脈硬化症, 高血壓症, 腦卒症, 狹心症, 각종 癌, 重症筋無力症, 頭暈, 不眠 등을 수반하는 神經衰弱, 위궤양, 소화불량 등의 慢性病, 慢性氣管支炎, 咳嗽, 氣喘, 急性 病毒性 肝炎 등에 다른 한방약과 배합하여 사용해왔다.

영지의 형태적 특징을 살펴보면, 갓과 줄기는 모두 광택이 있으며, 갓은 코르크질로 되어 있고, 신장형, 반원형을 이루고 있는 것이 있으며, 갓을 형성하지 않

고 줄기 형태로만 分枝된 것도 있는데 이를 녹각지라 부르고 있다. 갓의 색은 황갈색 또는 자갈색이며, 불분명한 환을 방사상으로 이루고 있다. 갓의 크기는 성장 조건에 따라 다양하지만 대개 5~15 cm이며, 두께는 1~1.5 cm이고, 특히 큰 것은 갓의 지름이 20 cm, 두께 2 cm 정도의 대형도 있다.

갓의 아랫면은 황백색을 나타내며 수많은 작은 구멍이 있다. 이것이 다공균과의 특징이다. 영지 뒷면의 작은 구멍내의 내벽은 자실층을 이루고 있으며, 포자는 자실층에서 형성된다. 특히 인공 재배시 작은 구멍에서 나온 포자가 갓의 윗부분에 떨어져 갈색을 나타내게 되며, 물로 세척하면 광택을 나타낸다. 포자의 형태는 계란형이며, 크기는 9~11×5, 5~7 $\mu$ 이다. 포자의 막은 2층으로 구성되어 있으며, 외막은 대개 무색이며, 내막은 옅은 황갈색으로 된 예리한 줄기가 형성되어 있는데 이런 포자의 형태는 다공균과중 *Ganoderma*속, *Elfvigia*속 및 *Trachyderma* 속에서만 관찰된다. 영지의 줄기는 갓의 한 쪽 끝 또는 중앙부근에 형성되며, 표면에 불규칙한 요철이 있으며, 색은

갓의 표면과 동일하다.

영지의 분포는 아시아의 태평양 연안, 유럽의 온대, 중앙 아프리카의 산지(1,500 m) 등과 북반구의 온대에 널리 분포하며, 한국에서는 경북 및 경기도에서 발견된 바 있다(Cho *et al.*, 1979; Kim *et al.*, 1980). 영지균사의 생리적 특징을 보면 호기성균이며 potato dextrose agar 배지에서 잘 성장하며, 성장 가능 온도는 10~40°C이지만, 성장 온도는 24~36°C이며 최적 성장 온도는 30°C이다. 자실체는 활엽수의 죽은 나무에서 잘 자란다. 생리적 성질이 다른 계통이 많이 존재하며, 같은 계통간에는 자실체 성장시 쉽게 융합하는 성질이 있으며, 계통이 다르면 갓의 융합이 일어나지 않는다. 이것을 대치선(antagonist line)이라고 한다. 또한 영지는 빛, 온도, 습도에 매우 예민하다(中村, 1981).

영지의 약효에 대해서는 한방이나 기타 고전에 여러 가지로 기재되어 있지만 이러한 약효는 그 시대의 경험적 결과를 근거로 한 것이므로 주관적 의견이 섞여 있다고 볼 수 있다. 영지에 대한 과학적 실험 결과는 1970年代에 들어와서 비로소 발표되기 시작했다. 1977년에 Sugiura 등은 영지의 독성에 대한 연구를 발표하였는데, 영지의 자실체를 물로 가열 추출한 polysaccharide 분획에 대해 급성 및 만성 독성을 살펴본 결과, 급성 독성으로서 LD<sub>50</sub>은 경구 투여시 rat의 경우 16,700 mg/kg씩 30일 동안 연속 투여하여도 아무런 독성이 없음을 발표한 바 있다.

한국산 자생 영지에 관한 연구는 처음으로 본 연구실이 1978년에 영지의 sterol 성분을 확인하여 발표한 바 있다(Shim *et al.*, 1978). 1979년에 有地 등은 영지의 열수 추출액의 고분자 물질이 자연 발생된 고혈압 쥐에서 혈압을 완만하게 강하시킴을 확인하였다. 즉 영지의 갓 부분과 줄기 부분의 추출액이 혈압 강하작용이 있었으며, 분자량에 따라 비교한 결과, 분자량 10만 이상이 가장 혈압 강하 작용이 강하였으며, 그 다음은 5만에서 10만 사이의 분획이 혈압 강하 작용이 강했다. 이들 고분자 물질의 구성은 당과 아미노산으로 구성되어 있음을 보고하였다. 또한 25명의 本態性 고혈압 환자에게 영지의 열수 추출액을 냉동건조시켜 날마다 140~280 mg씩 투여하였던 바, 혈압의 安定化作用, 특히 최저 혈압의 강하 작용이 인정되었다.

1980년 역시 久保 등은 실험적 고지혈증 쥐에게 영지의 열수 추출물을 하루에 100 mg/kg의 용량으로 투여하였던 바, 高脂血症의 개선 작용이 있음을 밝혔다. 즉 血清 cholesterol, 中性脂肪,  $\beta$ -lipoprotein 등의 저하 작용이 있었으며, 산지에 따라 약효가 다르게 나타났

으므로 시판하는 영지를 취급할 때나 輸入時에는 生理學的 活性面을 검토한 후 使用해야 한다고 주장하였다. 한편 본 연구실은 1980년에 한국산 야생 영지를 채집하여 항암 실험을 실시하였다. 즉 sarcoma 180 肉腫을 이용하여 항암 실험을 진행한 결과 50 mg/kg의 용량으로 10일간 투여하였을 때 87.6%의 억제율을 보였으며, 5마리는 肉腫이 완전히 退化하였다. 이항암 성분이 다당류 27%와 단백질 72%로 구성되어 있음을 밝혔다. 야생 영지의 자실체는 채집하기가 힘들기 때문에 1981년 본 연구실은 영지의 자실체에서 분리한 菌絲를 액내배양하여 분리한 성분도 동일한 항암효과가 있음을 확인하였다. 항암효과는 均사체에서 분리한 것이 자실체에서 분리한 것보다 조금 떨어지는 면이 있으나, 항암 성분의 대량 생산 가능성을 보여주었다. 영지의 항암효과의 메카니즘을 밝히기 위해 hemolytic plaque-forming cell을 관찰해본 결과 항암 성분은 암세포를 직접 공격하는 것이 아니라 암세포에 대한 숙주의 면역 능력을 증가시켜 줌으로써 간접적으로 억제 작용이 나타난다는 것을 입증하였다(Kang *et al.*, 1981).

같은 해 Miyazaki 등은 영지의 녹지에서 분자량 약 4만의 polysaccharide를 추출한 후 20 mg/kg의 용량으로 10일간 ICR mouse에 복강 투여한 결과 sarcoma 180 肉腫에 대하여 95~98%의 억제율이 있음을 보고하였다(Miyazaki *et al.*, 1981).

1981년 Kubo 등은 영지의 열수추출액에서 분자량 10만 이상 100만 이하의 fucose, fructose, glucose로 구성된 polysaccharide를 순수하게 분리 정제하여 본태성 고혈압 치료 효과뿐 아니라 혈청 총 cholesterol, 혈청 중성지방 및 혈청  $\beta$ -lipoprotein 등을 저하시킴을 발견하여 일본 특허를 신청하였다(Kubo *et al.*, 1981).

영지의 약효 성분을 연구해 오던중 1982년 近畿大學의 Kubota와 협조자들은 영지의 chloroform 엑기스로부터 쓴 맛을 나타내는 성분을 분리한 후 <sup>13</sup>C-NMR, proton NMR 및 mass spectrum을 이용하여 그 화학 구조를 밝히는 데 성공하였다. 즉 이들 고미 성분은 lanostane系의 triterpene 유도체인 ganoderic acid A, B로 명명되었다. 그 화학명은 7 $\beta$ , 15 $\alpha$ -dihydroxy-3, 11, 23-trioxo-5 $\alpha$ -lanost-8-en-26-oic acid 및 3 $\beta$ , 7 $\beta$ -dihydroxy-11, 15, 23-trioxo-5 $\alpha$ -lanost-8-en-26-oic acid이다. 이 연구결과는 영지의 저분자 성분 중에서 최초로 그 화학 구조가 밝혀졌다는 점에서 획기적인 업적이라고 볼 수 있으며, 그 다음 계속 보고되는 약효 성분도 결국은 ganoderic acid A 및 B의 유도체이다

(Kubota *et al.*, 1982).

1983년에 Kubo 등은 영지를 가열 추출한 엑기스를 사용하여 실험 동물에 대하여 파종성 혈관내 응고(disseminated intravascular coagulation)에 미치는 작용을 연구하여 발표하였다. 실험 방법은 실험 동물에 장내 세균에서 분리한 endotoxin을 쥐의 꼬리 정맥에 주사하면, endotoxin은 전신을 순환하여, 혈관내 heparin factor를 활성화, 혈관 내피의 세포 장해, 혈소판 응집, 보체결합 반응부활 등의 다양한 체내 반응을 일으켜 파종성 혈관내 응고가 일어난다. 유발된 파종성 혈관내 응고에 대하여 혈소판 수, fibrinogen량, prothrombin시간, 혈중 fibrin 분해 산물량을 지표로하여 검토한 결과 영지의 열수 추출물은 혈소판 응집을 저해할 뿐만 아니라 파종성 혈관내 응고에 대해 억제 작용이 있음을 보고하였다. 또한 혈중 지질의 상승은 응고계의 활성화, 선용 기능의 저하, 즉 혈전 형성이 용이한 상태로 되기 때문에 고지혈증 실험 동물에 endotoxin을 주사하여 유발된 파종성 혈관내 응고에 대하여 영지의 작용을 연구한 결과 간 정맥에서 혈전의 형성을 억제하는 작용이 있음을 보고하였다(Kubo *et al.*, 1983).

같은 해 木村 등은 영지의 수 가용성 분획이 당 대사에 미치는 영향에 관하여 실험을 실시하여 당뇨병 치료 여부를 시험하여 결과를 발표하였다. 즉 실험 동물에게 stress를 줄 경우, catecholamine이 분비되어 혈당은 상승하며, insuline 분비는 억제된다. 이때 영지의 수 가용성 분획을 투여하여 glucose tolerance와 insuline의 변화 양상을 관찰한 결과 혈당이 감소함을 관찰하였으며, 영지 추출물이 포도당의 장관 흡수에는 아무런 영향이 없으므로 단순한 흡수 억제로 인한 혈당 저하라기보다는 말초 조직에서 당의 이용을 촉진시키는 것으로 볼 수 있다. 뿐만 아니라 영지 추출물의 투여 후 30분 후에 혈중 insuline이 상승하는 것으로 미루어 영지는 insuline분비 촉진 작용이 있다고 주장하였다(木村 등, 1983).

木村 등은 영지를 대상으로 실험을 계속하여 1984년에 영지의 추출물이 肥胖細胞로부터 히스타민 유리에 미치는 영향을 실험하여 발표하였다. 이 실험에서 추출물중 水溶性 分劃 및 acetone 溶出分劃은 75%의 阻 止 率을 나타내었고 이것은 d, 1- $\alpha$ -tocopherol  $10^{-4}$ M 농도에 의한 肝 microsomes의 과산화 지질 생성의 억제 작용보다 더 강한 것이었다. 또한 ADP와 ascorbic acid에 의한 肝 mitochondria의 과산화 지질 생성을 영지의 水溶性 分劃과 acetone 溶出 分劃이 1 mg/ml의

농도에서 각각 57% 및 90%의 阻 止 作用을 나타내었다. 이 阻 止 作用은  $\alpha$ -tocopherol  $10^{-4}$ M 농도에 의한 肝 mitochondria의 과산화지질 생성의 阻 止 作用과 거의 동일하거나 더 강한 효과였다(木村 등, 1984).

1984년 Kim 등은 영지의 핵산과 그 구성 성분인 mononucleotide의 분포를 연구하여 보고하였다. 즉 영지의 자실체 형성前과 後의 RNA를 抽出하여 정량한 결과 RNA의 形成前에 더욱 많았다. 이 RNA를 加水 分解하여 그 구성 mononucleotide를 분석하였던 바, XMP와 GMP가 확인되었고 CMP로 추정되는 성분이 검출되었음을 발표하였다(Kim *et al.*, 1984). 물론 이것은 영지가 실험 동물이나 인체에 어떤 영향을 미치는가를 실험한 것은 아니지만, 이들 핵산 성분이 생체 내에서 가장 중요한 역할을 담당하고 있기 때문에 영지에 이러한 성분이 함유되어 있는 것은 매우 흥미있는 결과이며 앞으로 연구가 더 진행됨에 따라 재미있는 성과가 기대된다.

1983년에 Toth 등은 영지 균사체에서 lanostane계통의 새로운 물질 6개를 분리하여 구조를 밝혔다. 그러나 영지의 lanostane 계통은 Kubota 등이 이미 ganoderic acid로 명명하였기 때문에 Toth도 영지 균사체 배양에서 얻은 성분을 ganoderic acid U, V, W, X, Y 및 Z로 명명하였다. 이들 성분은 정상 간세포에는 독성이 없지만 간암 세포에는 특이하게 독성을 나타내므로 영지가 간암치료에 사용될 수 있음을 직접 증명한 것이 되었다(Toth *et al.*, 1983).

영지의 약효 성분 분리는 전 세계적으로 계속 경쟁적으로 이루어지고 있으며, 1984년에 Nishibota 등은 영지 자실체에서 고미 성분으로서  $C_{27}$  및  $C_{30}$  terpenoid를 분리하여 구조를 밝혔다. 즉  $C_{27}$  계열은 영지의 종명을 따서 lucidenic acid A, B 및 C라 하였으며,  $C_{30}$  계열은 이미 알려진 ganoderic acid B, lucidenic acid A, B 및 C라 하였으며,  $C_{30}$  계열은 ganoderic acid C와 이미 알려진 ganoderic acid B이었다(Nishibota *et al.*, 1984).

1985년에 Kohda 등은 영지 자실체에서 histamine 유리 억제 물질로서 이미 알려진 ganoderic acid A 및 B와 새로운 구조를 가진 ganoderic acid C와 ganoderic acid D를 분리하여 보고하였다. 특히 이들이 처음으로 구조를 밝힌 것은 ganoderic acid C와 D였으며, 이것이 histamine 유리를 강력히 억제시키기 때문에 영지가 각종 allergy 치료에 이용될 수 있음을 과학적으로 증명한 것이 되었다. 여기서 문제가 되는 것은 1984년에 Nishibota가  $C_{30}H_{42}O_7$  (Mw=514)를 ganoderic acid

C로 명명한 바가 있음에도 불구하고 1985년에 Kohda가  $C_{30}H_{46}O_7$  (Mw=518)을 ganoderic acid C로 또다시 명명하여 혼란을 야기시킨 것이 문제가 된다(Kohda *et al.*, 1985).

1985년 초에 본 연구실에서는 우리나라에서 재배된 영지를 최신분석 기기인 ICPAES(inductively coupled plasma atomic emission spectrophotometry)법을 이용하여 무기 원소를 분석하여 발표하였다. 즉 영지의 각 부분의 회분 함량은 1.48%였으며, 이 회분 중 Ca가 가장 많았고 그 다음에 Mg, Na, Mn, Fe, Zn, Cu, Ge의 순서로 함유되어 있었다. 별도로 녹각지를 분석하여본 바, 회분은 1.40%이었고 Mg가 가장 많이 함유되어 있었으며, 그 다음은 Ca, Na, Zn, Mn, Fe, Cu, Ge의 순서였다. 여기서 주목할 만한 사실은 Ge의 함량이 제일 적었고, 0.09~1.15 ppm에 불과하였다는 점이다. 일부 학자들이 영지의 약효가 그 Ge때문일 것이라고 추측하는 경우가 있었는데 이렇게 미량으로는 그러한 약효를 기대할 수 없음을 간접적으로 증명하였다(Shin *et al.*, 1985).

같은 해 Park등은 한국산 영지에 대하여 Novozym 234를 이용하여 원형질체 형성과 재생에 관한 실험을 시행하여 원형질체 형성 수는 최대  $8.6 \times 10^6$  cells/ml였으며, 재생율은 0.26%임을 보고하였다(Park *et al.*, 1985). 같은 해에 계속하여 한국산 영지의 균사체 배양액에서 전분을 강력하게 분해하는 amylase를 정제하여 그 효소의 기본적 성질을 조사하였다. 특히 각종 기질에 대한 분해 능력을 조사한 결과 열 처리를 받은 전분류는 분해하였으나, 생전분은 그 분해 속도가 느렸고, maltose에 의해 효소활성이 저해되었으며, 그 저해 양상은 competitive inhibition을 나타냄을 보고하였다(Do *et al.*, 1985).

Nishitoba 등은 영지 자실체에서  $C_{27}$  및  $C_{30}$  terpenoid 계통의 고미 성분을 보고하였다. 그러나 이들은 이미 밝혀진 lucidenic acid A, B, C 및 ganoderic acid B 및 C의 구조를 한 번 더 확인한 결과가 되었다(Nishitoba *et al.*, 1985a). 이들은 같은 해에 6 kg의 영지 자실체를 추출하여 고미 성분으로서 lucidenic acid D와 lucidenic acid E를 처음으로 분리했으며, ganoderic acid D와 lucidone A와 lucidone B를 밝혀냈다. 이들은 특히 고미 성분을 상호 비교하기도 하였다. 즉 고미의 강도순서는 lucidenic acid D > ganoderic acid C > lucidone A > lucidenic acid A > ganoderic acid B > lucidenic acid B, C 및 E이었다. 그러나 Kohda등은  $C_{30}H_{42}O_7$  (Mw=514)를 ganoderic acid D라고 발표한 반면에 Nishitoba

등은  $C_{30}H_{42}O_8$  (Mw=530)을 ganoderic acid D라 하여 혼란이 생기게 되었다(Nishitoba *et al.*, 1985b). 영지의 약효 성분에 관한 보고는 계속되어 Kikuchi 등은 triterpene 계통의 물질 분리가 어렵기 때문에 영지 자실체 추출액을 미리 methylation시켜 분리하여 ganoderic acid D, E, F 및 H를 분리하여 그 구조를 해명하였다(Kichuchi *et al.*, 1985a). 이들은 실험을 계속 진행하여 ganoderic acid G, I와 함께 ganolucidic acid A, B를 분리하여 보고하였다(Kichuchi *et al.*, 1985b).

영지에는 혈소판 응집 저해 물질이 함유되어 있음은 Kubo 등이(1983) 보고한 바 있으나 그 물질의 구조에 관한 보고는 없었기 때문에 Shimizu 등은 영지의 혈소판 응집 저해 물질을 분리해 보았다. 그 결과 영지에서 혈소판 응집 저해 물질은 adenosine임이 밝혀졌다(Shimizu *et al.*, 1985).

이같이 영지의 성분이나 약효에 대한 연구가 확대되고 있고 최근에 영지버섯이 국내에서도 대량 생산되어 건강식품으로 널리 이용되고 있으므로 한국에서 재배된 영지의 안전성을 검토하기 위하여 저자 등은 본 연구에 착수하였다. 열수 추출 엑기스와 고분자 분획을 Fr. A 및 Fr. B로 각각 명명한 뒤 급성 독성과 아급성 독성으로 나누어 실험을 하여본 바, 급성 독성에서는 치사에는 관찰되지 않았으며 투여 가능한 최고 투여량에서 무해하였다. 아급성 독성 실험에서는 체중 측정, 혈액학적 검사, 장기 중량, 장기 조직의 병리학적 조직 검사, 뇨 검사를 실시하였던 바, 모두 정상치임을 확인하였기에 이를 보고코자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용한 재료는 영지 *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. (the family *Polyporaceae*)의 자실체이며 韓國에서 재배된 千年靈芝를 사용하였다.

### 검체 조제

건조한 영지의 자실체를 증류수로  $95 \pm 5^\circ C$ 에서 15시간 열수 추출을 하였다. 1차 여과후에 죽 모양이 될 때까지 waring blender로 잘게 분쇄하여 다시 15시간 가열 추출하였다. 다시 여과한 후 1차 여과한 여액과 합하여 감압 농축, 냉동 건조를 거쳐 얻은 영지의 열수 추출 엑기스 fraction을 Fraction A로서 실험에 공급하여 다시 이 Fraction A를 증류수에 용해시켜서 2배의 ethanol로 침전을 시켜 10,000 rpm에서 20분간 원심분리후 얻은 갈색 침전물을 증류수에 용해시킨 후

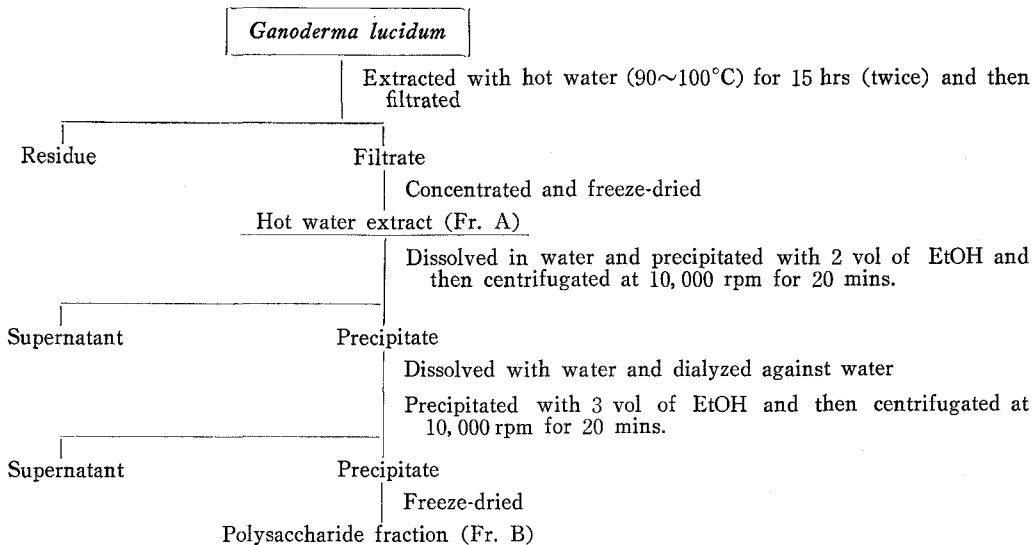


Fig. 1. Procedure for extraction of polysaccharide fraction from *Ganoderma lucidum*.

투석막에 넣어 증류수로, stirrer 장치와 함께 4°C에서 5일간 투석을 시켜 저분자 물질을 제거하였다. 투석후 다시 3 배의 ethanol로 침전시켜 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다.

여기서 얻은 침전물을 냉동 건조하여 얻은, 다당체를 주르하는 고분자 분획을 Fraction B로서 실험에 사용하였다(Fig. 1).

독성 시험

1) 급성 독성 시험

(1) 실험 동물

서울대학교 동물 사육장에서 사육된 ICR 마우스중 체중이 20±2 g에 해당하는 암컷 40 마리 수컷 40 마리 총 80 마리를 사용하였다. 마우스를 받아들인 뒤 1주일간

의 예비 사육을 거쳐 순조로운 체중 증가를 나타내는 건강한 동물을 사용하였다.

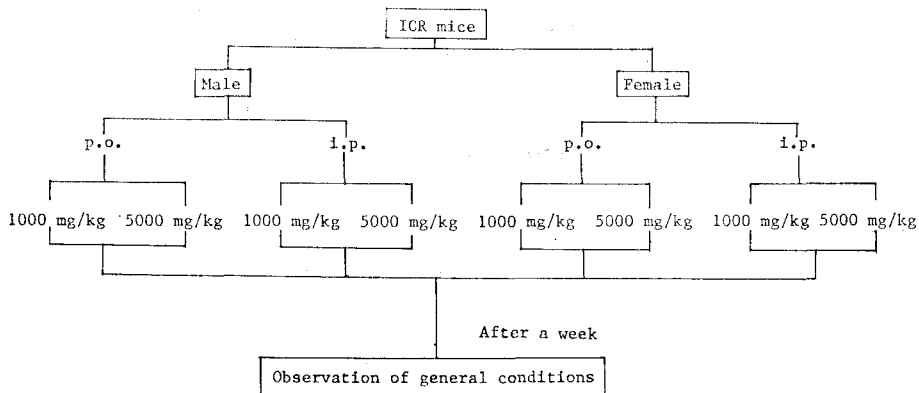
사료는 삼양유지 사료사의 삼양 실험 동물 사료를 사용하였고 물과 사료는 자유롭게 먹게하였다.

사육실은 20±2 °C였으며 통풍이 잘 되는 곳이었다.

(2) 검체 조제 및 투여

냉동 건조시킨 시료중 Fraction A와 Fraction B를 각각 2g을 증류수에 녹여서 5,000 mg/kg의 농도가 되게 조제한 후 0.1 ml씩 암컷 10 마리, 수컷 10 마리에 복강내 주사를 하였고, 0.25 ml씩 암컷 10 마리, 수컷 10 마리에 경구 투여를 강제로 행한 뒤 1 회 투여후 7 일간 동물의 일반 상태 변화를 관찰하였다.

각 실험군은 10 마리의 동물을 사용하였으며 2가지



Scheme I. Procedure for the acute toxicity test of Fr. A and Fr. B of *Ganoderma lucidum*. Each group consisted of 10 mice.

시료를 경구 및 복강 투여 경로를 통하여 암, 수로 나누어진 총 8군으로 나누어 실험하였다.

이상의 과정을 다음 Scheme I에 요약하였다.

2) 아급성 독성 시험

(1) 실험 동물

서울대학교 동물사육장에서 사육된 ICR 마우스중 체중이  $20 \pm 5$ g에 해당하는 암컷 30 마리, 수컷 30 마리를 사용하였다. 마우스를 받아들인 뒤 1주일간의 예비 사육을 거쳐 순조로운 체중 증가를 나타내는 건강한 동물을 사용하였다.

체중이 골고루 분포되게 총 6군으로 나누었으며 각 군당 10 마리씩 사용하였다.

(2) 검체 조제 및 투여

열수 추출 total extract인 Fr. A를 각각 1,000 mg/kg, 5,000 mg/kg의 농도로 조제하였으며 control로서 멸균 생리식염수를 사용하였다.

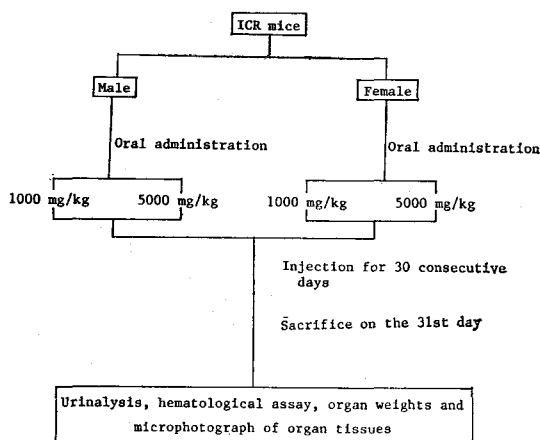
이상의 3가지 농도에 의해 암, 수로 나누어진 총 6군을 마우스용 경구 투여 주사기를 사용해서 30일간 일정 시간에 강제 투여하였다.

31일째 되는 날 치사시켜서 각 test를 시행하였다 (Scheme II).

(3) 실험 항목

① 체중 변화

sample 투여 개시후 3일에 1번씩 체중을 측정하였다.



**Scheme II.** Procedure for the subacute toxicity test of Fr. A that was obtained from *Ganoderma lucidum*. The samples were orally administered and each group consisted of 10 mice. Body weights were checked every third day.

② 뇨 검사, 혈액 검사, 장기 중량

30일간 sample의 연속 투여후 31일째 되는날 pentobarbital sodium(Pitman-Moore, Inc., U.S.A.)을 체중 kg당 1 ml를 복강내 주사로 마취시킨후 26G disposable syringe(주식회사 녹십자)로 직접 심장천자법으로 1 ml를 채취하여 EDTA-bottle(주식회사 녹십자)에 넣어 혈액 검사에 이용했으며 뇨 검사는 개복한 후 방광의 cervix 부위를 forcep으로 잡고 방광을 절제한 후 직접 lab stick (Behringer, Mannheim, West Germany)에 뇨를 묻히어서 pH, protein, glucose, bilirubin을 측정했고 장기 채취는 심장, 신장, 간을 떼어낸 후 혈액 및 지방 조직을 떼어낸 후 chemical balance를 이용하여 무게를 측정했으며 채취된 혈액의 RBC와 WBC는 hematological chamber를 이용하여 1 mm<sup>3</sup>당 갯수로, PCV는 microcapillary tube를 이용하여 원심분리기에서 12,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 total solid meter를 이용하여 측정했으며 hemoglobin은 cyano hemoglobin method를 이용하여 측정했다.

③ 병리조직학적 검사

마우스를 부검해서 장기를 육안으로 관찰한 후 검사 장기 8개(폐, 심장, 간, 비장, 위, 소장, 췌장, 신장)를 적출하여 10% 중성 formalin에 5일간 고정시켰으며 고정이 끝난 후 다시 각 장기를 두께 3 mm 정도로 세절하여 paraffin에 embedding시킨 후, embedding된 각 장기는 rotary microtome으로 4~5 μ 두께로 절편을 만들어 슬라이드 글래스에 얹어서 hematoxylin & eosin 염색을 행한 후 관찰하였다.

결 과

급성 독성 시험

Fraction A와 Fraction B는 어느 투여 경로에 의해서도 투여 가능한 최고 투여량에서 치사에는 볼 수 없었으며 LD<sub>50</sub>의 산출이 불가능하였다.

투여후의 일반 증상에서는 Fr. A와 Fr. B의 복강내 투여에서 처음 투여시에 약간의 진정 상태를 관찰하였으나 몇시간 후에는 정상으로 회복해서 심각한 증상이 다르다는 예나 사망에는 보이지 않았다(Table I).

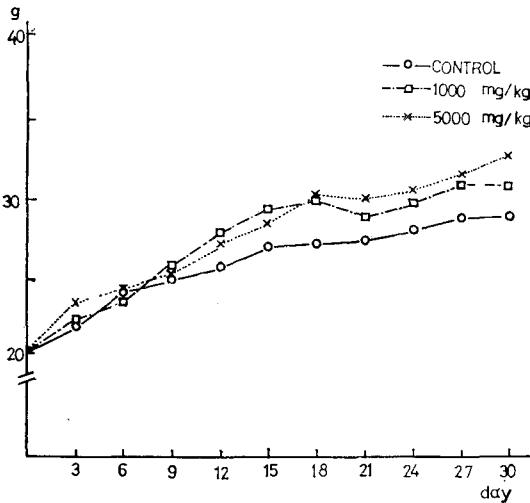
아급성 독성 시험

1) 일반 증상 관찰

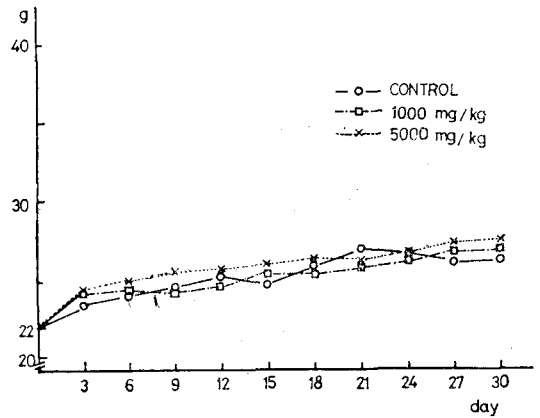
sample 투여후 일시적인 자발 운동의 억제와 잠시동안의 진정을 찾지 못하는 예가 있었지만 다음 투여시에는 전부 정상으로 회복하였다.

**Table I.** Acute toxicity of Fr. A and Fr. B of *Ganoderma lucidum* on mice.

Route	Fr. A			Route	Fr. B		
	Dose(mg/kg)	Sex	Mortality		Dose(mg/kg)	Sex	Mortality
<i>p.o.</i>	5000	♂	0/10	<i>p.o.</i>	5000	♂	0/10
		♀	0/10			♀	0/10
<i>i.p.</i>	5000	♂	0/10	<i>i.p.</i>	5000	♂	0/10
		♀	0/10			♀	0/10
LD <sub>50</sub>	(mg/kg) > 5000			LD <sub>50</sub>	(mg/kg) > 5000		



**Fig. 2.** Changes in body weights of male mice on oral administration of Fr. A of *Ganoderma lucidum* for 30 days.



**Fig. 3.** Changes in body weights of female mice on oral administration of Fr. A of *G. lucidum* for 30 days.

(Fig. 2 및 3).

3) 뇨 검사

Fraction A를 1,000 및 5,000 mg/kg씩 30일간 투여 하였을 때 glucose, protein, bilirubin 모두 negative로 나타나서 정상임을 알 수 있었으며, pH도 6.0~8.0의 정상 범위안에 들었다(Table II).

4) 혈액 검사

2) 체중 변화

영지의 열수 추출 총액기스인 Fraction A를 5,000 mg/kg씩 30일간 경구 투여한 결과 암컷보다 수컷의 체중 증가가 매우크며, 암 수 모두에서 투여기간 동안 대조군과의 유의차가 없이 순조로운 체중 증가를 나타내었다

**Table II.** Urinalysis of mice on oral administration of Fr. A of *G. lucidum* for 30 days.

Mouse	Dose (mg/kg/day)	No. of mice	Glucose		pH	Protein		Bilirubin	
			-	+		-	+	-	+
Male	5000	10	10	0	*6.88±1.19	10	0	10	0
	1000	10	10	0	8.00±0.50	10	0	10	0
	Control	10	10	0	7.50±0.41	10	0	10	0
Female	5000	10	10	0	6.50±1.32	10	0	10	0
	1000	10	10	0	6.75±0.87	10	0	10	0
	Control	10	10	0	7.50±0.70	10	0	10	0

\* Mean±SD

**Table III.** Hematological examination of mice on oral administration of Fr. A of *G. lucidum* for 30 days.

Sex	Dose (mg/kg/day)	RBC ( $\times 10^4/mm^3$ )	Hb (g/dl)	PCV** (%)	WBC ( $\times 10^2/mm^3$ )
Male	5000	$773.33 \pm 162.66$	$14.87 \pm 0.98$	$42.33 \pm 0.58$	$35.50 \pm 6.95$
	1000	$796.67 \pm 36.17$	$13.20 \pm 0.66$	$38.67 \pm 0.58$	$26.00 \pm 4.77$
	Control	$878.75 \pm 114.12$	$13.83 \pm 1.42$	$37.75 \pm 4.50$	$28.63 \pm 13.16$
Female	5000	$830.00 \pm 22.91$	$13.97 \pm 0.60$	$41.33 \pm 1.53$	$25.00 \pm 1.00$
	1000	$828.75 \pm 96.38$	$14.28 \pm 1.60$	$40.00 \pm 1.83$	$21.50 \pm 15.64$
	Control	$767.50 \pm 104.28$	$14.00 \pm 0.20$	$39.00 \pm 2.83$	$30.00 \pm 6.35$

\* Mean  $\pm$  SD, \*\*Packed cell volume

Table III에서 보여주는 것처럼 Fraction A를 1,000 및 5,000 mg/kg씩 30일간 투여하였을 때 백혈구 수, 적혈구 수, hemoglobin 량, hematoglute 치 등이 대조군에 비교해서 통계학적 유의차가 발견되지 않았다 (Table III).

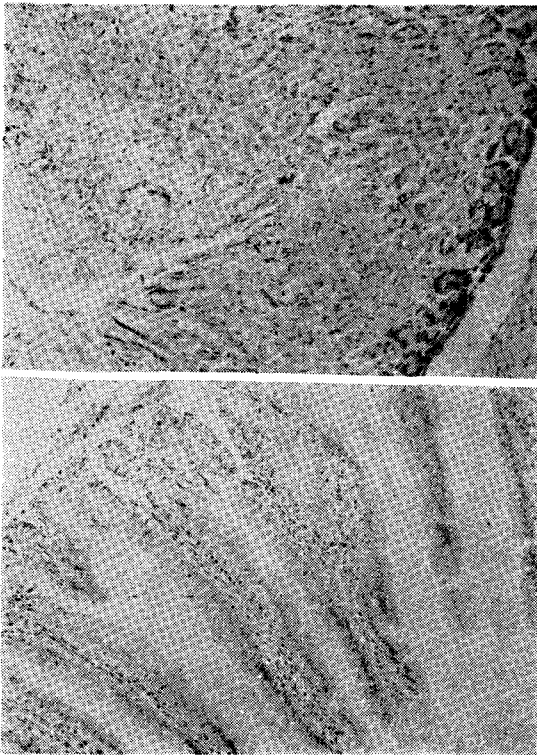
5) 장기 증량

Fraction A를 1,000 및 5,000 mg/kg씩 30일간 투여

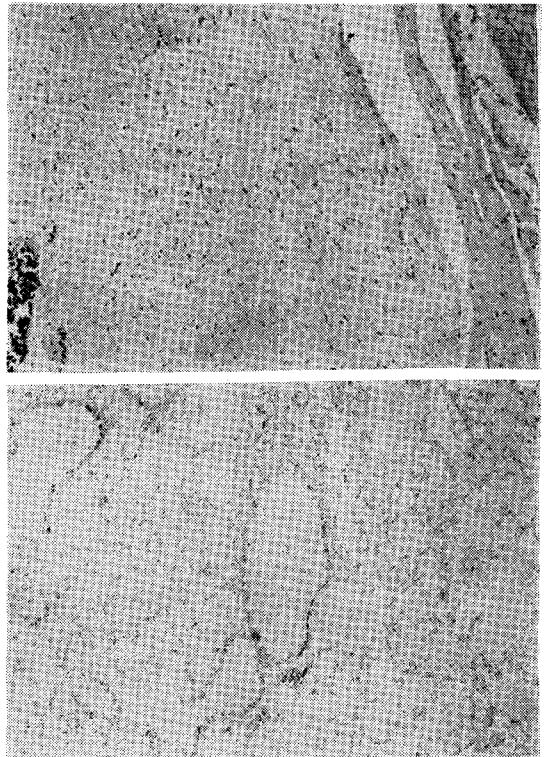
하였을 때 심장, 간, 비장, 신장에 대해 대조군과 통계학적 유의차를 발견할 수 없었다 (Table IV).

6) 장기의 병리학적 조직 검사 (Fig. 4, 5, 6, 7).

영지의 열수 추출 총액기스인 Fraction A를 1,000 mg/kg씩 30일간 경구 투여한 후 31일째에 각 장기를 적출하여 표본을 만든 후 현미경 관찰을 시행한 결과는 다음과 같다.



**Fig. 4.** Microphotograph of stomach (above) and small intestine (below) of the mice on oral administration of Fr. A for 30 days.



**Fig. 5.** Microphotograph of heart (above) and lung (below) of the mice on oral administration of Fr. A for 30 days.



**Table IV.** Organ weight in mice on oral administration of Fr. A of *G. lucidum* for 30 days.

Sex	Dose (mg/kg/day)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	5000	*0.21±0.03	1.85±0.31	0.28±0.05	0.14±0.03
	1000	0.14±0.01	1.74±0.11	0.23±0.02	0.14±0.03
	Control	0.18±0.04	2.20±0.32	0.25±0.02	0.11±0.01
Female	5000	0.16±0.04	1.48±0.16	0.21±0.04	0.14±0.03
	1000	0.15±0.01	1.60±0.12	0.20±0.01	0.17±0.07
	Control	0.15±0.01	1.80±0.17	0.17±0.01	0.07±0.01

\* Mean ± SD

① 위 : 위 점막 세포나 염산 분비하는 방세포의 형태적, 수적 변화가 없으며 상피하에 염증성 증상이 없이 정상이다.

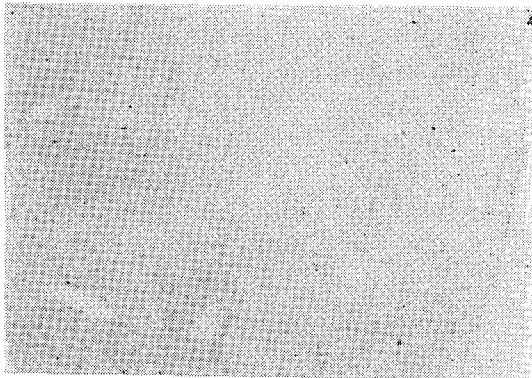
② 소장 : 상피세포의 형태가 정상이며 어떠한 neutrophil infiltration의 염증성 증상도 출현하지 않고 있다.

③ 심장 : 심장 근육의 섬유에 necrosis나 calcification

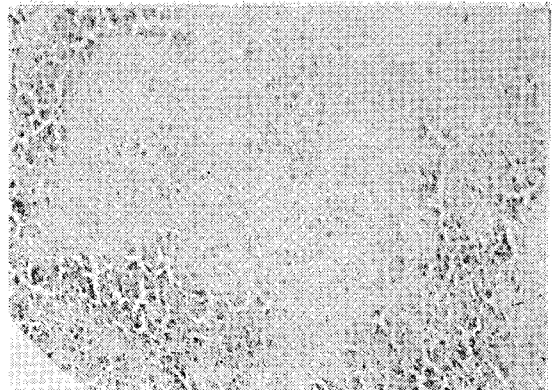
혹은 myocarditis의 증상이 눈에 띄지 않고 정상이었다.

④ 폐 : 세 기관지 주위와 여포에 호중구나 기타 임파구의 침윤이 없이 정상이며 macrophage의 출현도 눈에 띄지 않았다.

⑤ 신장 : 피질의 사구체나 뇨세관에 아무런 염증성 증상이 눈에 띄지 않고 수질에도 아무런 이상이 발견



**Fig. 6.** Microphotograph of liver (above) and kidney (below) of the mice on oral administration of Fr. A for 30 days.



**Fig. 7.** Microphotograph of spleen (above) and pancreas (below) of the mice on oral administration of Fr. A for 30 days.

되지 않았다.

⑥ 비장: 백비수나 적비수 (red pulp)의 발달이 정상이며 비장의 수축이나 기타 형태적 변화가 관찰되지 않았다.

⑦ 췌장: 선방이나 그 간질의 어느 곳에도 염증성 증상이나 변성이 일어나지 않고 정상이었다.

⑧ 간: 소엽 중심성으로 간 세포가 잘 정돈되어 있으며 어떠한 지방변성도 눈에 띄지 않았다. portal triad의 문맥이나 담관도 정상적 형태를 나타내고 있었다.

## 고 찰

한국에서 재배된 영지의 자실체의 열수 추출 액기스인 Fraction A와, ethanol 침전과 투석에 의해 얻을 수 있는 다당류를 주로하는 고분자 분획 Fraction B의 독성 여부를 검토하였는 바, 먼저 급성 독성에서 보면 Fr. A 및 Fr. B의 1회 투여에 의한 증독 현상은 복강내 투여에 있어서 잠시 동안의 진정 상태를 나타내었지만 투여 가능한 최대량에서 중대한 증상은 나타나지 않았다. 물론 사망 예도 보이지 않았다.

아급성 실험에서 30일간 매일 일정 시간에 시료를 투여한 후의 관찰을 보면, 일반적으로 동물 생체에서 암컷보다 수컷에서의 체중증가가 현저함을 감안해 볼 때 특히 5,000 mg/kg의 농도 투여군의 현저한 체중 증가도 별로 특기할만한 현상은 아니라고 사료된다.

노 검사에서도 protein이 약간씩 검출되었지만 특기할만한 양이 아니고 장기를 떼어낼 때 부위의 조직 구성 protein이라고 사료된다.

혈액학적 검사에서 적혈구 수, hematoglute 치, hemoglobin 량에서는 정상 albino mouse의 정상 범위에 모두 해당함을 확인했으며 백혈구의 수가 정상 albino mouse (20~25 g)의 정상 범위보다 현저하게 줄어 들었음을 특이하게 발견할 수 있었지만, 이는 한국에서 사육되고 있는 mouse의 사료에는 모두 항생제가 약간씩 첨가되어 있기 때문에 이에 의한 백혈구 수의 감소에 해당한다고 사료되며, 같은 조건하에서 사육된 control group과 통계학적 유의차는 없기 때문에 특기할만한 일이 아니라고 사료된다.

장기 중량 등, 부전선 소견을 보면 검체의 영향을 수반하는 것은 발견할 수 없었다. 병리학적 조직 검사에서의 현미경 관찰에서도 sample 투여군에 한해서 보여지는 이상 현상은 볼 수 없었고 특이적인 독성을 대조군에 비교해서 검체 투여군에서 찾는 것이 가능하지

않았다.

외국에서는 영지에 대한 고혈압에 미치는 효과, 당뇨병에 미치는 효과, 파종성 혈관내 응고에 대한 작용, 인슐린 분비 작용, 과산화 지질 생성에 대한 억제 작용 등, 여러 연구가 시행되고 있는데 한국에서 재배되고 있는 한국산 영지에서도 특정병에 대한 세밀한 효과 연구 및 임상 연구를 시행해볼 가치가 있다고 사료된다.

## 적 요

국내에서 재배된 영지의 안전성을 검토하기 위하여 크게 급성 독성 실험과 아급성 독성 실험으로 나누어 실험하여본 결과, 급성 독성 실험에서는 투여 가능한 최대 투여량(5,000 mg/kg)에서 암, 수 모두에서 치사에는 관찰할 수 없었으며, 아급성 독성 실험에서는 체중 측정, 혈액학적 검사, 장기 중량, 장기 조직의 병리학적 조직 검사, 노 검사를 실시하여 본 바, 대조군과 비교할만한 통계학적 유의차를 발견할 수 없었다.

## 문 헌

- Cho, D.H. and Lee, J.Y. (1979): Higher fungi in the northern area of Kyungsangbuk-Do. *Kor. J. Mycol.* 1: 1-7.
- Do, J.H. and Kim, S.D. (1985): Properties of amylase produced from higher fungi *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 13: 177-178.
- Kang, C.Y., Shim, M.J., Choi, E.C., Lee, Y.N. and Kim, B.K. (1981): Studies on antineoplastic components of Korean basidiomycetes, mycelial culture and antineoplastic components of *Ganoderma lucidum*. *Korean Biochem. J.* 14: 101-112.
- Kikuchi, T., Tatsuda, S., Kadota, S., Murai, Y. and Ogita, Z. (1985): Ganoderic acid D, E, F and lucidenic acid D, E, and F, new triterpenoids from *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 2624-2627.
- Kikuchi, T., Matsuda, S., Murai, Y. and Ogita, Z. (1985): Ganoderic acid G and I and ganolucidic acid A and B, new triterpenoids from *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 2628-2631.
- Kim, B.K., Chung, H.S., Chung, K.S. and Yang, M.S. (1980): Studies on the antineoplastic com-

- ponents of Korean basidiomycetes. *Kor. J. Mycol.* 8: 107-113.
- Kim, J.H. and Nam, J.S. (1984): Studies on distribution of the mononucleotides in *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Mycol.* 12: 111-116.
- Kohda, H., Tokumato, W., Sakamoto, K., Fujii, M., Hirai, Y., Yamasaki, K., Komoda, Y., Nakamura, H., Ishihara, S. and Ushida, M. (1985): The biologically active constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst., histamin release inhibitory triterpenes. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 1367-1374.
- Kubo, M., Tatsuda, H., Nogami, M., Arichi, S. and Takahashi, T. (1983): Studies on *Ganoderma lucidum* (IV), effects on the disseminated intravascular coagulation. *Yakugaku Zasshi* 103: 871-877.
- Kubota, T., Asaka, Y., Miura, I. and Mori, H. (1982): Structure of ganoderic acid A and B, two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. *Helv. Chim. Acta* 65: 611-619.
- Miyazaki, T. and Nishijima, M. (1981): Studies on fungal polysaccharides (XXVII), structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. 29: 3611-3616.
- Morinaga Milk Industry Co, Ltd. (1981): *Ganoderma lucidum* antihypertensive component. *Jpn. Kokai Tokkyo* 81: 57801.
- Nishitoba, T., Sato, H., Kasai, T., Kawagishi, H. and Sakamura, S. (1984): New bitter C<sub>27</sub> and C<sub>30</sub> terpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* (Reishi). *Agric. Biol. Chem.* 48: 2905-2907.
- Nishitoba, T., Sato, H., Kasai, T., Kawagishi, H. and Sakamura, S. (1985): New bitterness C<sub>27</sub> and C<sub>30</sub> terpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* (Reish). *Agric. Biol. Chem.* 49: 1793-1798.
- Nishitoba, T., Sato, H. and Sakamura, S. (1985): New terpenoids from *Ganoderma lucidum* and their bitterness. *Agric. Biol. Chem.* 49: 1547-1549.
- Park, Y.D., Park, G.S. and Lee, J.S. (1985): Protoplast formation and regeneration of *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 13: 311-314.
- Shim, M.J., Lee, S.I. and Kim, B.K. (1978): Studies on the constituents of the higher fungi of Korea (XIV), sterols of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. *Seoul Univ. J. Pharm. Sci.* 3: 65-70.
- Shimizu, A., Yano, T., Saito, Y. and Inada, Y. (1985): Isolation of an inhibitor of platelet aggregation from a fungus, *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 3012-3015.
- Shin, H.W., Kim, H.W., Choi, E.C. and Kim, B.K. (1985): Studies on constituents of the higher fungi of Korea (XLII), inorganic components of *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Mycol.* 13: 53-55.
- Sugiura, H. and Ito, H. (1977): Toxicological studies of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. *Tokyo Yakka Daigaku Kenkyu Nempo* 27: 722-733.
- Toth, J.D., Luu, B. and Ourisson, G. (1983): Les acides ganoderiques T a Z, triterpens cytotoxiques de *Ganoderma lucidum* (Polyporaceae). *Tetrahedron Letters* 24: 1081-1084.
- 中村克哉(1981): 버섯사전, 朝倉書店, 東京, pp.492.
- 有地滋, 谿忠人, 久保道德, 松田秀秋, 吉村成年, 桐ヶ谷紀昌(1979): 영지(*Ganoderma lucidum*, 子實體)의 연구(제 1 보), 만년버섯 열수 추출 엑기스의 혈압강화작용. 기초와 임상 13: 4239-4244.
- 有地滋, 上原清史, 上野隆, 河井洋, 谷勲, 長谷初恵, 仕垣勝治, 谿忠人, 久保道德, 桐ヶ谷紀昌(1979): 靈芝(*Ganoderma lucidum*, 子實體)의 연구(제 2 보), 만년버섯 熱水 抽出 엑기스의 臨床應用. 基礎와 臨床 13: 4245-4253.
- 久保道德, 松田秀秋, 田中基晴, 木村善行, 谿忠人, 有地滋, 奥田拓道, 桐ヶ谷紀昌(1980): 영지(*Ganoderma lucidum*, 子實體)의 연구(제 3 보), 만년버섯 열수 추출 엑기스의 실험적 고지혈증에 대한 작용. 기초와 임상 14: 2455-2460.
- 木村善行, 奥田拓道, 有地滋, 高橋猛(1983): 靈芝의 糖代謝에 미치는 영향. 기초와 임상 17: 17-20.
- 木村善行, 奥田拓道, 有地滋, 高橋猛(1984): 영지(*Ganoderma lucidum*, 子實體)의 과산화지질 형성억제 작용에 관하여. 기초와 임상 18: 339-342.
- 木村善行, 奥田拓道, 有地滋(1984): 肥滿細胞로부터의 히스타민 遊離에 미치는 靈芝 抽出物과 덩굴차 粗사포닌의 영향, 基礎와 臨床 18: 833-836.

<Received October 7, 1985;

Accepted November 12, 1985>