

한국산 고등균류에 관한 연구(제 4보) 송이엑스가 백서의 고지혈증에 미치는 영향

은재순·양재현[†]·김대근

전주우석대학

(1989년 8월 2일 접수)

Studies on Higher Fungi in Korea (IV)

Effect of *Tricholoma matsutake* Extract on Hyperlipemia in Rats

Jae Soon Eun, Jae Heon Yang[†], Dae Geun Kim

Jeonju Woosuk University, Jeonju 565-800, Korea

(Received August 2, 1989)

This study was attempted to investigate the effect of *Tricholoma matsutake* on experimentally induced hyperlipemia in rats. The levels of cholesterol, triglyceride and phospholipid were measured. Diagnostic attention has been paid to the cholesterol concentration associated with high density lipoprotein (HDL), which appears to be inversely related to the incidence of coronary artery disease. For these reasons, determination of HDL-cholesterol has significant meaning. Total cholesterol was determined by Abell-Kindall method, and to measure HDL-cholesterol, serum low density lipoproteins (LDL) were first selectively precipitated by HDL-precipitating reagent. The results obtained were as follows: 1) The level of total cholesterol in serum of hyperlipemic rats was decreased by oral administration of *Tricholoma matsutake* extract. 2) The level of HDL-cholesterol was increased by the mushroom extract. 3) The level of triglyceride was significantly decreased by the mushroom extract. 4) The level of phospholipid was slightly decreased by the mushroom extract.

Keywords—*Tricholoma matsutake*, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, phospholipid

송이버섯(*Tricholoma matsutake*)은 송림에서 「시로」라고 부르는 집락으로 발생하여 자생하고 있으며 한국 및 일본 등지에 분포하고 있다. 균모는 지름이 8~10 cm의 표면이 담황갈색의 섬유상 인편이며 자루는 10~20 cm 크기에 지름이 1.5~3 cm 정도이며 속이 차있는 식용버섯이다. 근래 식용버섯류는 그 연구가 활발하게 진행되어 그 분류, 영양성분 및 약효 등에 관한 결과가 보고되고 있다.^{1,2)}

Gavrilova 등³⁾은 패이버섯 중에 함유된 단백소화효소를 이온교환수지를 이용하여 분리하였고,

Ezmat 등⁴⁾은 5종의 식용버섯에서 아밀라제력⁴⁾이 있음을 보고하였고, Park 등⁵⁾은 조개껍질버섯 등에서 셀룰라제력이 있음을 확인하는 등 근래에 고등균류의 효소에 대한 연구보고가 증가하고 있다. Arakawa 등⁶⁾은 백서에 cholesterol 혈증을 일으킨 다음에 24종의 버섯을 투여하였을 때 그 중 9종의 버섯이 혈장 cholesterol 저하효과가 있다고 보고하였다. Tokuda 등^{7,8)}은 백서에 표고버섯과 cholesterol을 함께 투여한 경우가 cholesterol 단독으로 투여하였을 경우보다 혈장 및 간장 cholesterol 치가 낮게 검출되었다고 보고하였다.

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

Kimoto 등⁹⁾은 백서에 고지혈증을 유발시킨 다음 표고버섯을 투여하였을 때 혈장에서 총 cholesterol, 유리 cholesterol 및 phospholipid 치를 저하시켰으며 간장에 축적된 triglyceride와 cholesterol ester 치에도 영향이 있음을 보고하였다. Michi 등¹⁰⁾은 표고버섯에서 혈장 cholesterol 저하물질인 lentsine 을 열수로 추출하여 분리하였다고 보고하였다.

저자 등은 송이버섯과 표고버섯 등 몇 가지 버섯의 항 cholesterol 효과를 측정해 본 결과 송이버섯이 항 cholesterol 효과가 우수하다고 밝혀진 표고버섯과 거의 동등한 효과를 나타내었으므로 송이버섯액을 조제하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 rat는 미리 고지혈증을 유발시킨 다음에 항 cholesterol 효과 및 다른 지질성분의 변화를 관찰하였다.

혈청 중 cholesterol의 측정은 total cholesterol과 동맥경화 등을 예방하는 효과를 가진 것으로 알려진 고밀도 지질단백 (high density lipoprotein, HDL) cholesterol로 분리하여 실험하였으며 혈중 triglyceride 및 phospholipid의 양을 측정하였다.

실험방법

재료 및 기기

본 실험에 사용한 송이버섯 (*Tricholoma matsutake*)는 전북 남원군에서 채취한 것을 상온에서 통풍 건조하였다. 시약은 HDL-precipitating reagent (Sigma Chem. Co.)와 Enzyme Solution I (Triglyzyme-V), Enzyme Solution II (PL zyme)를 Eiken Chemical Co. Ltd.에서 구입하여 사용하였고 아세토니트릴과 이소프로판을 HPLC용으로 Wako Pure Chem. Co.에서 구입하여 사용하였다. 실험기기로는 고속액체크로마토그라프 (Model 244, Waters Associates, Inc.)와 흡광도측정기 (Shimadzu UV-250) 및 원심분리기 (Hanil Industrial Co.) 등을 사용하였다.

시료의 조제

송이를 세척하여 에탄올과 증류수의 혼합액

(50 : 50)으로 2시간씩 3회 가열추출하고 추출여액을 농축하여 연조엑스를 얻었다. 엑스의 수득량은 송이 20g 당 4.95g (24.75%)이었다. 시료의 조제는 송이엑스를 실험에 필요한 농도로 증류수에 용해하여 조제하였다.

실험동물

rat는 Sprague-Dawley 계로서 체중 200±20g의 수컷을 골라 일정기간 고형사료와 물을 자유롭게 공급하였다.

시료투여와 혈청분리

고지혈증에 사용한 랫트는 10일간 고지방식이 (사료 : 버터=3 : 1)로 사육시키고¹¹⁾ 고지방식으로 사육한지 7일째부터 cholesterol(500 mg/kg)을 1일 1회, 4일간 경구투여하여 고지혈증을 유발시켰다.

랫트를 4군으로 나누어 정상군에는 고형사료만을, 대조군은 고지방식이 및 cholesterol의 경구투여로 고지혈증을 유발시켜 일정기간 사육시켰다. 시료투여군은 고지혈증을 유발시키기 위해 cholesterol을 경구투여하기 시작한지 3일째부터 시료를 5일, 10일 및 15일간 투여군으로 나누어 각각 시료투여군 I은 300 mg/kg, 시료투여군 II는 600 mg/kg 씩 1일 2회로 5일, 10일 및 15일간 경구투여하였다.

시료를 투여한지 5일, 10일 및 15일 후에는 랫트를 25% urethane 액 (5 ml/kg, 복강투여)으로 마취시킨 다음 경동맥에서 채혈하여 혈청을 분리하였다.

혈청 중 Cholesterol 치의 측정

랫트를 정상군, 대조군, 시료투여군 I (300 mg/kg) 및 II (600 mg/kg), clofibrate (500 mg/kg) 투여군 등으로 나누어 5일, 10일 및 15일간 사육한 다음 경동맥에서 채혈하여 혈청을 분리하였다.

총 cholesterol 치의 측정은 Abell-Kendall 방법¹²⁾에 따라 혈청을 알코올성 KOH로 검화하고 헤산으로 추출하여 이소프로판에 녹여 HPLC에 주입하였다.

HDL-cholesterol 치의 측정은 Burnstein 방법¹³⁾을 응용하여 분리한 혈청을 알콜성 KOH로 검화시키고 HDL 침전시약 (phosphotungstate magnesium ions)을 넣어 LDL-cholesterol을

침전시킨 다음 원심분리(3000 rpm, 30 min)하여 상정액을 취해서 해산으로 추출한 다음 이소프로판올에 녹여 HPLC에 주입하였다.

HPLC의 분석조건은 다음과 같다.

칼럼: μ Bondapak C₁₈, 이동상: 아세토니트릴/이소프로판올(50:50), 유속: 1.0 ml/min, 검출: 214 nm, 감도: 0.02 aufs, 기록속도: 1.0 cm/min

혈청 중 Triglyceride 치의 측정

랫트를 cholesterol 치 측정시와 같이 사육하여 채혈하고 혈청을 분리하였다. 혈청 0.02 ml, 표준액(300 mg/dl) 0.02 ml와 대조로 종류수 0.02 ml를 취하고 여기에 효소시액 I(lipoprotein lipase, glycerol lipase, glycerol-3-phosphoric acid oxidase, peroxidase) 3.0 ml를 넣어 37°C에서 5분간 반응시킨 다음 실온으로 하여 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청 triglyceride 치(mg/dl)=

$$\frac{\text{검액의 흡광도}}{\text{표준액의 흡광도}} \times 300$$

혈청 중 Phospholipid 치의 측정

랫트를 cholesterol 치 측정시와 같이 사육하여 채혈하고 혈청을 분리하였다. 혈청 0.02 ml, 표준액(300 mg/dl) 0.02 ml와 대조로 종류수 0.02 ml를 취하고 여기에 효소시액 II(phospholipase D, urine oxidase, peroxidase) 3.0 ml를 넣고 혼들어 준 후 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 10분간 실온에서 냉장한 뒤에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청 phospholipid 치(mg/dl)=

$$\frac{\text{검액의 흡광도}}{\text{표준액의 흡광도}} \times 300$$

실험결과

HPLC 분석조건의 검토

cholesterol 치의 측정은 HPLC를 사용하였으며 역상 chromatography의 원리를 이용하여

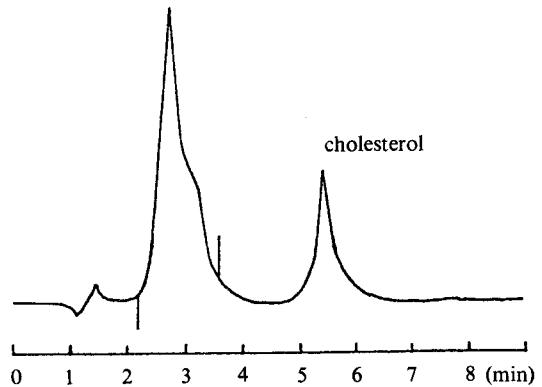


Figure 1—High performance liquid chromatogram of cholesterol in rat serum.

column은 μ Bondapak C₁₈을 사용하여 분리하였다. 이동상으로는 아세토니트릴·이소프로판올의 혼합액인데 비율이 40:60 또는 60:40의 용매를 사용한 경우 cholesterol 피크가 불분명하였으나 50:50일 경우에는 분리능이 양호하였다. 검출기는 cholesterol 이 210~220 nm 부근에서 흡수극대파장을 나타냈으므로 UV 214 nm filter를 사용하였다. 뱃트의 혈청에서 cholesterol를 추출하여 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램은 Fig. 1과 같다.

송이엑스가 혈청 중 Cholesterol 치에 미치는 효과

랫트에 고지혈증을 유발시키고 송이엑스를 투여한 후 cholesterol 치에 미치는 효과를 검토해 보면 정상군의 total cholesterol 치가 216.7±12.5 mg/dl이고 HDL-cholesterol 치는 27.3±1.7 mg/dl인데 고지혈증을 유발시킨 대조군은 total cholesterol 치가 5일째에 383.2±14.3, 10일째에 361.3±15.4, 15일째에는 352.1±11.4 mg/dl로 정상군보다 훨씬 높게 유지되었다.

송이엑스 300 mg/kg 투여군(시료투여군 I)은 total cholesterol 치가 5일째에 296.7±17.1, 10일째에 273.1±13.6, 15일째에는 246.7±12.3 mg/dl으로 저하되었다. 송이엑스 600 mg/kg 투여군은 5일째에 256.7±13.1, 10일째에는 233.8 ±15.7, 15일째에는 226.7±13.8 mg/dl로서 300 mg/kg 투여군보다 더 낮은 수치를 나타내었다. HDL-cholesterol 치의 변화는 시료투여군 II가

Table I—Effect of *T. Matsutake* Extract on Total and HDL-Cholesterol Levels in Serum (mg/dl) of Hyperlipemic Rats.

Group	Dose (mg/kg)	5		10		15 (days)	
		Total chol.	HDL-chol.	Total chol.	HDL-chol.	Total chol.	HDL-chol.
Normal		216.7 ± 12.0	27.3 ± 1.7	220.4 ± 10.3	28.1 ± 1.5	218.7 ± 11.5	26.7 ± 2.4
Control		383.2 ± 14.3	36.6 ± 3.3	361.3 ± 15.4	35.3 ± 4.9	352.1 ± 11.4	23.3 ± 2.6
Sample I	300	296.7 ± 17.1	24.6 ± 3.9*	273.1 ± 13.6*	23.9 ± 3.2*	246.7 ± 12.3*	25.2 ± 1.3
Sample II	600	256.7 ± 13.1*	24.3 ± 3.0*	233.8 ± 15.7*	30.2 ± 2.7	226.7 ± 10.8*	35.2 ± 1.9*
Clofibrate	500	210.0 ± 14.3*	25.8 ± 1.6*	200.8 ± 10.6*	205.3 ± 12.6*	27.1 ± 2.6	

Sample was administered orally 5, 10 and 15 days after inducing experimental hyperlipemia. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$). Each value represents mean ± S.E. of 6 rats

Table II—Comparison of Total Cholesterol and HDL-Cholesterol Levels in Rat Serum (mg/dl) after Oral Administration of *T. matsutake* and *L. edodes*.

Group	Dose (mg/kg)	3		7 (days)	
		Total chol.	HDL-chol.	Total chol.	HDL-chol.
Normal		216.6 ± 2.5	27.3 ± 1.7	219.8 ± 9.7	28.0 ± 2.3
Control		388.1 ± 5.0	39.2 ± 3.1*	371.3 ± 4.2	35.8 ± 2.1*
<i>L. Edodes</i> Ex.	500	283.3 ± 2.7*	37.2 ± 1.9	267.5 ± 2.3*	46.7 ± 3.6*
<i>T. Matsutake</i> Ex.	500	276.7 ± 3.4*	40.7 ± 4.1	247.7 ± 3.0	45.6 ± 2.1*

Sample was administered orally 3 and 7 days after inducing experimental hyperlipemia. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$). Each value represents mean ± S.E. of 6 rats.

송이엑스를 투여한지 5일째에 24.3 ± 3.0 , 10일째에 30.2 ± 2.7 , 15일째에는 35.2 ± 1.9 mg/dl로서 clofibrate 500 mg/kg 투여시에 나타난 25.8 ± 1.6 , 25.9 ± 4.3 , 27.1 ± 2.6 mg/dl의 수치보다 더 좋은 양상을 나타내었다 (Table I).

Table II는 송이엑스와 표고엑스 500 mg/kg을 고지혈증을 유발시킨 랫트에 각각 3일 및 7일간 투여한 후에 total cholesterol 및 HDL-cholesterol 치의 변화를 나타낸 것인데 송이와 표고버섯이 모두 비슷하였으며 양호한 항cholesterol 효과를 나타내었다.

송이엑스가 혈청 중 Triglyceride 치에 미치는 효과

랫트를 고지방식으로 고지혈증을 유발시키고 송이엑스를 5, 10 및 15일째에 투여한 후 triglyceride 치에 미치는 효과를 관찰해 보면 정상군은 각각 88.7 ± 3.6 , 90.5 ± 3.7 , 89.3 ± 2.5 mg/dl인데 고지방식으로 사육한 대조군은 147.1 ± 14.1 , 144.5 ± 12.3 , 143.2 ± 13.6 mg/dl 등으로 혈중 triglyceride 치가 상승되었다.

고지혈증을 유발시키면서 시료 300 mg/kg 투여군은 송이엑스를 투여한지 5일째에 120.0 ± 12.7 , 10일째에 111.8 ± 12.5 , 15일째에는 103.2 ± 6.6 mg/dl 으로 저하되었으며 시료 600 mg/kg 투여군은 115.3 ± 11.5 , 91.5 ± 7.1 , 94.2 ± 3.1 mg/dl로서 clofibrate 500 mg/kg 투여군의 108.9 ± 13.0 , 93.7 ± 4.2 , 92.0 ± 5.1 mg/dl과 매우 유사한 혈중 triglyceride 치의 저하효과를 나타내었다 (Table III).

송이엑스가 혈청 중 Phospholipid 치에 미치는 효과

랫트에 고지혈증을 유발시키고 송이엑스를 투여한 후 phospholipid 치에 미치는 효과를 보면 5, 10 및 15일째에 정상군은 각각 169.1 ± 7.9 , 171.2 ± 16.7 , 170.4 ± 7.5 mg/dl를 나타내었으나 고지혈증을 유발시킨 대조군은 각각 205.8 ± 15.8 , 200.8 ± 15.0 , 198.2 ± 18.0 mg/dl로 상승되었다.

시료 300 mg/kg 투여군은 송이엑스를 투여한지 5일째에 184.0 ± 12.3 , 10일째에 178.1 ± 12.0 , 15일째에는 177.4 ± 15.1 mg/dl로, 600 mg/kg 투여군은

Table III—Effect of *T. matsutake* Extract and Clofibrate on Triglyceride Levels in Serum of Hyperlipemic Rats (mg/dl).

Group	Dose (mg/kg)	Administered days		
		5	10	15
Normal		88.7 ± 3.6	90.5 ± 3.7	89.3 ± 2.5
Control		147.1 ± 14.1	144.5 ± 12.3	143.2 ± 13.6
Sample I	300	120.0 ± 12.7*	111.8 ± 12.5*	103.2 ± 6.6*
Sample II	600	115.3 ± 11.5*	91.5 ± 7.1*	94.2 ± 3.1*
Clofibrate	500	108.9 ± 13.0*	93.7 ± 4.2*	92.0 ± 5.1*

Sample was administered orally 5, 10 and 15 days after inducing experimental hyperlipemia. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$). Each value represents mean ± S.E. of 6 rats.

Table IV—Effect of *T. matsutake* Extract and Clofibrate on Phospholipid Levels in Serum of Hyperlipemic Rats (mg/dl).

Group	Dose (mg/kg)	Administered days		
		5	10	15
Normal		169.1 ± 7.9	171.2 ± 16.7	170.4 ± 7.5
Control		205.8 ± 15.8	200.8 ± 15.0	198.2 ± 18.0
Sample I	300	184.0 ± 12.3	178.1 ± 12.0	177.4 ± 15.1
Sample II	600	180.7 ± 12.6	177.9 ± 13.1	173.3 ± 15.2
Clofibrate	500	179.4 ± 14.5	175.5 ± 17.2	176.2 ± 17.7

Sample was administered orally 5, 10 and 15 days after inducing experimental hyperlipemia. Each value represents mean ± S.E. of 6 rats

180.7 ± 12.6, 177.9 ± 13.1, 173.3 ± 15.2 mg/dl 등으로 나타나 송이엑스 투여량과 혈중 phospholipid 치의 저하효과는 비례하지 않았다 (Table IV).

고 찰

송이엑스가 고지혈증을 유발시킨 랫트의 혈청 중 cholesterol 치에 미치는 효과는 total cholesterol 치가 대조군이 정상군보다 상당히 높아졌다 가 송이엑스의 투여량이 많아짐에 따라 저하되었는데 시료 600 mg/kg 투여군이 300 mg/kg 투여군보다 월등한 효과를 보여 주었다. 그러나 HDL-cholesterol 치는 600 mg/kg 투여가 300 mg/kg 투여보다 약간 증가되었으며 이것은 clofibrate 500 mg/kg 투여시 HDL-cholesterol 치보다 좋은 결과이다.

고지혈증이 유발된 랫트의 혈중 triglyceride 치는 정상군에 비해 크게 상승했으며 시료 300 mg/

kg 투여군과 600 mg/kg 투여군의 저하효과는 큰 차이는 없었으나 600 mg/kg 을 15일간 투여한 수치는 정상군과 비슷하며 clofibrate 500 mg/kg 투여시와 거의 같은 혈중 triglyceride 치 저하효과를 나타내었다. 그러나 고지혈증이 유발된 랫트의 혈중 phospholipid 치는 송이엑스를 투여함에 따라 점차 떨어졌으나 시료 투여량과는 크게 비례하지는 않았다. 이 결과는 Kimoto 등⁹⁾이 표고버섯으로 혈장지질성분에 미치는 영향을 연구한 보고에서 고지방식이와 함께 표고버섯을 투여한 후에 혈중 total cholesterol 저하효과가 우수하고 triglyceride 치, phospholipid 치 저하효과가 있다고 보고한 것과 유사한 것으로 송이버섯과 표고버섯은 고지혈증치료제로서 우수한 원료로 쓰일 수 있을 것으로 사료된다. Michi 등¹⁰⁾은 표고버섯의 항 cholesterol 물질로 lentysine 을 분리하였다고 보고하였는데 이 물질은 열에 비교적 안정한 것으로 알려져 있다.

Suzuki 등¹⁴⁾이 송이버섯에서 항암효과가 있는

물질로서 emitanin을 확인하였는데 송이버섯의 항 cholesterol 효과가 이 물질에 의하는지와 송이의 가열추출시의 약효성분의 열 안정성 등을 더욱 연구되어야 할 과제로 생각된다.

최근에 혈중 cholesterol 치에 대한 새로운 인식으로 저밀도 지질단백과 결합된 cholesterol (LDL-cholesterol)과 고밀도 지질단백과 결합된 cholesterol (HDL-cholesterol)로 분류하여 그 상반된 역할을 설명하고 있다. LDL은 혈관벽에 cholesterol을 침착시켜 관상동맥경화증을 비롯한 각종 동맥경화증 및 고혈압 등의 성인병을 유발시키는 인자로 설명되고 HDL은 혈관벽의 침착된 cholesterol을 제거하는 역할을 하는 것으로 알려지고 있다. 이러한 점으로 미루어 성인병 예방의 차원에서 볼 때 LDL-cholesterol과 HDL-cholesterol의 구체적인 규명과 함께 혈중 HDL-cholesterol 치를 높일 수 있는 약물의 개발이 필요하다고 생각되며 송이버섯과 표고버섯 등을 좋은 재료가 될 것으로 사료된다.

결 론

송이엑스를 실험적으로 고지혈증을 유발시킨 랫트에 투여하여 혈청 중의 total cholesterol 및 HDL-cholesterol 치에 미치는 영향과 혈중 triglyceride와 phospholipid 치의 변화를 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 송이엑스는 랫트의 혈중 total cholesterol 치를 저하시켰으며 HDL-cholesterol 치를 상승시켰다.
2. 랫트의 triglyceride 치는 송이엑스의 투여량이 증가됨에 따라 현저하게 저하되었다.
3. 송이엑스는 랫트의 phospholipid 치를 약간 감소시켰으나 투여량에 비례하지 않았다.
4. 송이엑스의 total cholesterol 치 저하효과는 clofibrate 보다 약간 낮았으나 HDL-cholesterol 치는 상승효과가 clofibrate 보다 높았다. triglyceride 및 phospholipid 치의 저하효과는 clofibrate 와 유사하게 나타났다.

감사의 말씀

이 논문은 1986년도 문교부 대학 부설연구소 지원 학술연구조성비의 일부로 연구되었으며 이에 감사드리는 바이다.

문 헌

- 1) O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, Protein measurement with phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
- 2) T. Ikekawa, N. Uehara and Y. Meada, Antitumor activity of aqueous extracts of some edible mushrooms, *Cancer Res.*, **29**, 734 (1969)
- 3) V.P. Gavrilova and N.N. Falina, Proteolytic enzyme isolated from a fungus, *Flammulina velutipes*, *Mikol. Fitopatol.*, **9**(5), 431 (1975)
- 4) M. Ezmat, E. Zalaki and M.A. Hamza, Edible mushrooms as producers of amylases, *Food Chem.*, **4**(3), 203 (1979)
- 5) W.H. Park, T.H. Kim and I.H. Ro, Studies on enzymes of the higher fungi of Korea(II), *Kor. J. Mycol.*, **14**, 225 (1986)
- 6) N. Arakawa, K. Enomoto and H. Mukhyama; Effect of basidiomycetes on plasma cholesterol in rats, *Eiyo To shokuryo*, **30**(1), 29 (1977)
- 7) S. Tokuda, A. Tagiri et al., Reducing mechanism of plasma cholesterol by mushroom, *Eiyo To Shokuryo*, **24**(9), 477 (1971)
- 8) S. Tokuda, E. Kano and T. Kaneda, Effect of mushrooms on cholesterol metabolism in rats (VIII), *Eiyo To Shokuryo*, **25**(8), 609 (1972)
- 9) M. Kimoto, et al.: Effect of "Shiitaka" feeding on the lipid components of plasma and liver of albino rats, *Eiyo To Shokuryo*, **29**(5), 275 (1976)
- 10) K. Michi, S. Sakurai and H. Kurihara; Isolation of hypocholesterolemic substance from 'SHITAKE', mushroom *Lentinus edodes*, *Eiyo To Shokuryo*, **23**(3), 218 (1970)
- 11) T. Kaneda and S. Tokuda, Effect of various mushroom preparations and cholesterol levels in rats, *J Nutrition*, **90**, 371 (1966)
- 12) I.W. Duncan, P.H. Culbreth and C.A. Burtis, Determination of free, total, and esterified cholesterol by high-performance liquid chrom-

- matography, *J. Chromatogr.*, **162**, 281 (1979)
- 13) M. Burnstein, H.R. Scholnick and R. Morfin,
J. Lipid. Res., **11**, 583 (1970)
- 14) W. Suzuki and T. Ikegawa, Anticancer substance, and emitanin, *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, **78**(106), 494 (1978)