

## 무우자갈버섯(*Hebeloma crustulineforme*)을 위시한 한국산 담자균류 46종의 용혈활성 검색

양희정 · 정수현 · 김진향 · 정경수\*

충남대학교 약학대학

### A Preliminary Screening of 46 Korean Basidiomycetes Including *Hebeloma crustulineforme* for Their Hemolytic Activities

Hee-Jung Yang, Soo-Hyun Chung, Jin-Hyang Kim and Kyeong-Soo Chung

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

**ABSTRACT:** To elucidate the hemolytic toxicities of Korean basidiomycetes, the cold-water extracts of 46 wild mushrooms were tested for hemolytic activity on mouse erythrocytes. Twelve species including *Amanita esculenta*, *A. griseofarinosa*, *A. longistriata*, *A. melleiceps*, *A. phalloides*, *A. rubescence*, *A. spissacea*, *A. vaginata*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Lepiota cygnea*, *Macrolepiota procera*, and *Oudemansiella platyphylla* showed strong hemolytic activities. Of these, *A. griseofarinosa* and *H. crustuliniforme* showed no decrease in their hemolytic activity even after five minutes' boiling.

**KEYWORDS:** Hemolytic activity, Basidiomycetes, *Amanita griseofarinosa*, *Hebeloma crustuliniforme*.

한국에 자생하는 1000여종의 버섯 중 독버섯은 50여종에 불과하나 독버섯과 식용버섯을 간단히 구분할 수 있는 방법이 없기 때문에 중독 사고가 끊이지 않고 발생하고 있다(Park, 1991). 독버섯의 독 성분은 화학적으로 매우 다양하나(Lampe, 1979) 그중 가장 잘 알려진 것은 광대버섯(*Amanita phalloides*) 등에 함유된 amanitin, phalloidin 등을 들 수 있다(Enjalbert 등, 1993; Faulstich 등, 1994; Wieland and Faulstich, 1978). 그러나 광대버섯 속의 독버섯들은 이들 독성분 외에도 용혈 독소(hemolysins) 등도 함유하고 있는데(Seeger 1975a; Seeger 1975b; Seeger 등, 1976, 1981; Seeger and Bunsen, 1980; Seitz 등, 1981) 이들은 적혈구를 파괴하여 빈혈을 일으키며 심한 경우 사망을 초래할 수 있기 때문에 매우 위험한 독소로 볼 수 있다. 그러나 버섯의 독성분은 2차 대사물로서 산지, 기후 등에 따라 그 함량 및 함유 여부 등이

달라질 수 있기 때문에 한국산 버섯들의 이러한 독 성분 함유 여부의 구체적인 확인은 반드시 수행되어야 할 과제이다. 이에 본 연구자들은 1차적으로 우리나라에 자생하는 46종의 버섯의 *in vitro* 용혈독 성을 검색하고 열안정성을 관찰하여 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 검색 시료

실험에 사용한 담자균류는 총 46종으로 *Amanita* 속 15종(*A. citrina*, *A. esculenta*, *A. exelsa*, *A. farinosa*, *A. griseofarinosa*, *A. longistriata*, *A. melleiceps*, *A. phalloides*, *A. rubescence*, *A. spissacea*, *A. vaginata*, *A. vaginata* var. *fulva*, *A. vaginata* var. *punctata*, *A. virgineoides*, *A. volvata*), *Clitocybe* 속 4종(*C. candicans*, *C. dealbata*, *C. fragrans*, *C. gibba*) 및 *Lepiota* 속 4종(*L. clypeoraria*, *L. cristata*, *L. cygnea*, *L. pra-*

\*Corresponding author

*tevisa*), *Hygrocybe* 속 2종(*H. conica*, *H. ovida*), *Lactarius* 속 2종(*L. vinaceoavellanea* L. *subzouariarius*), *Russula* 속 2종(*R. mariae*, *R. sororria*), 기타 속 17종(*Agaricus campetris*, *Asterophora lycoperdoides*, *Boletus pseudocalopus*, *Cantharellus cibarius*, *Chalociporus piperatus*, *Collybia dryophila*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Macrolepiota procera*, *Macroscyphus macropus*, *Mycena pura*, *Oudemansiella platyphylla*, *Pisolithus tinctorius*, *Porphyrellus pseudoscaber*, *Phylloporus bellus*, *Strobilomyces confosus*, *Suillus granulatus*, *Tylophilus neofellus*)이었다. 이들은 1995년 7월부터 9월에 걸쳐 충남대학교 구내, 계룡산 및 속리산 등지로부터 채집하였으며 그 자실체의 육안적 형태 및 현미경적 형태를 관찰하여 버섯도감들(Kim 등, 1990; Lee 등, 1993; Park 등, 1991; Gerhardt, 1995; Imazeki and Hongo, 1975; Imazeki 등, 1993; Pacioni, 1981)에 의거하여 동정하였다. 이들은 채집 즉시 통풍이 잘되는 실내에서 음건하거나 동결건조하였으며, 건조 자실체 0.1 g 또는 생버섯 1 g에 증류수 2 ml을 가하고 자주 흔들어 주며 빙육상에서 3~4시간 추출을 시행한 후 4°C에 하룻밤 방치하고 그 여액(냉침액)을 용혈 실험의 시료로 사용하였다.

### 마우스 적혈구

생후 약 5~6주령의 ICR 마우스 복강에 pentobarbital sodium(엔도발 注, 한림제약)을 주사하여 마취시킨 후 하지동맥을 절단하여 말초혈액을 채취하였다. 이를 헤파린 희석액(250 IU/ml) 12  $\mu$ l 가 담겨진 시험관에 가해 즉시 섞어준 후 다시 헤파린 5 IU/ml PBS로 10배 희석하여 실험 적혈구로 사용하였다.

### 용혈 실험

Seeger 등(1973)의 방법을 다음과 같이 변조하여 실험하였다. 즉 버섯 냉침액을 50  $\mu$ l에 2배 농도의 PBS 50  $\mu$ l를 가하고 여기에 마우스 적혈구 100  $\mu$ l를 가하고 37°C 수욕상에서 30분간 용혈반응을 진행하였다. 빙냉의 PBS(heparin 5 IU/ml) 1.8 ml을 가하여 반응을 종결시킨 후 4°C에서 2800 rpm

으로 10분간 원심분리하였으며 그 상등액 1.6 ml을 분취하여 415 nm에서의 흡광도를 측정하여 용혈 정도를 확인하였다. 한편 용혈활성이 확인된 시료는 끓는 수욕상에서 5분간 가열 처리한 후 동일한 방법으로 용혈실험을 시행하여 용혈독소의 열안전성을 확인하였다.

## 결과 및 고찰

Table 1에 나타낸 바와 같이, 실험한 46종의 버섯 중 12종이 강력한 용혈독성을 나타내었다. 그 중 *A. esculenta*, *A. griseofarinosa*, *A. longistriata*,

**Table 1.** Hemolytic activities of the cold-water extracts of Korean wild mushrooms on mouse erythrocytes<sup>a</sup>

	before boiling	after-boiling <sup>b</sup>
<i>Agaricus campetris</i>	+ <sup>c</sup>	n.d. <sup>d</sup>
<i>Amanita esculenta</i>	+++	-
<i>A. griseofarinosa</i>	+++	+++
<i>A. longistriata</i>	+++	-
<i>A. melliceps</i>	+++	-
<i>A. phalloides</i>	+++	-
<i>A. rubescens</i>	+++	-
<i>A. spissacea</i>	+++	-
<i>A. vaginata</i>	+++	-
<i>Clitocybe dealbata</i>	+	-
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	+++	+++
<i>Lepiota cygnea</i>	+++	-
<i>Macrolepiota procera</i>	+++	-
<i>Mycena pura</i>	+	n.d.
<i>Oudemansiella platyphylla</i>	+++	-
<i>Porphyrellus pseudoscaber</i>	+	-
<i>Russula sororria</i>	+	n.d.

<sup>a</sup>The 1:10 diluted peripheral blood of ICR mouse was used as erythrocytes.

<sup>b</sup>The cold-water extract was heated for five minutes on a boiling water bath.

<sup>c</sup>The intensity of the hemolytic activity was arbitrarily expressed as follows.

- :  $A_{415} < 0.75$ .

+ :  $A_{415} \geq 1.50, < 2.25$ .

++ :  $A_{415} \geq 2.25, < 3.00$ .

+++ :  $A_{415} \geq 3.00$ .

<sup>d</sup>n.d.=not done.

*A. melleiceps*, *A. phalloides*, *A. rubescence*, *A. spissacea*, *A. vaginata* 등 *Amanita* 속 버섯이 8종이었다. 이는 여타 버섯 31종 중 *H. crustuliniforme*(무우자갈버섯), *L. cygnea*(백조갯버섯), *M. procera*(큰갯버섯), *O. platyphylla*(넓은주름진뿌리버섯) 등 4종만이 용혈독성을 나타낸 점을 감안할 때 *Amanita*속 버섯 중 용혈독소 함유 버섯의 비율이 상대적으로 매우 높음을 보여주고 있다. 한편 본 연구에서 강력한 용혈 활성을 보여준 *A. esculenta*, *A. vaginata* 및 *M. procera*는 식용버섯으로 알려져 있어서 용혈독소 함유 여부와 식용 여부가 일치되지 않음을 알 수 있다. 그 이유는 대개의 용혈독소들이 열에 불안정하여 가열 조리할 경우 파괴되기 때문이다. 그러나 이들도 생식할 경우에는 중독 가능성을 배제할 수 없다. 특히 국내에서도 양송이버섯 등 버섯류의 생식 경향이 차츰 증가하고 있는 점을 고려할 때 그 동안 식용버섯으로 알려진 야생버섯들의 용혈 독소 함유 여부와 열안정성에 관한 광범위하고 체계적인 연구가 절실히 요구된다고 본다. 뿐만 아니라 *A. griseofarinosa* 및 *H. crustuliniforme*는 열에 비교적 안정한 hemolysin을 함유하고 있어서 특별한 주의가 요구된다.

## 적 요

한국산 야생버섯의 독성을 규명하기 위한 연구의 일환으로 46종의 야생버섯의 용혈독성을 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 1) 46종 중 *Amanita esculenta*, *A. griseofarinosa*, *A. longistriata*, *A. melleiceps*, *A. phalloides*, *A. rubescence*, *A. spissacea*, *A. vaginata*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Lepiota cygnea*, *Macrolepiota procera*, 및 *Oudemansiella platyphylla* 등 12종의 야생담자균 냉침액이 마우스 적혈구에 대하여 강력한 용혈활성을 나타내었다. 2) *A. griseofarinosa* 및 *H. crustuliniforme*은 100°C 수욕상에서 5분간 가열하여도 그 용혈 활성이 소실되지 않아 열에 매우 안정한 용혈성분을 함유하는 것으로 추정된다.

## 감사의 글

본 연구의 일부는 1995년도 충남대학교 약학대

학 부설 의약품개발연구소 연구비지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다. 시료의 채집과 동정에 함께 수고한 충남대학교 약학대학 미생물약품화학 교실 이 대우 석사, 김 상범 석사, 오 정연 학사, 박 소영 학사의 노고에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Enjalbert, F., Gallion, C., Jehl, F. and Monteil, H. 1993. Toxin content, phallotoxin and amatoxin composition of *Amanita phalloides* tissues. *Toxicol.* **31**: 803-807.
- Faulstich, H. and Weckauf. Bloching., M. 1974. Isolation and toxicity of two cytolytic glycoproteins from *Amanita phalloides* mushrooms. *Hoppe. Seylers. Z. Physiol. Chem.* **355**: 1489-1494.
- Gerhardt, E. 1995. "*BLV Handbuch, Pilze*", BLV Verlagsgesellschaft mbH, Munchen.
- Imazeki, R. and Hongo, T. 1975. "*Colored illustrations of fungi of Japan*", Hoikusha Pub., Osaka.
- Imazeki, R., Otani, Y. and Hongo, T. 1993. "日本の 버섯", Yama-Kei Pub., Tokyo.
- Kim, H. W., Choi, E. C. and Kim, B. K. 1994. Studies on the toxicity of *Auricularia polytricha*. *Kor. J. Microbiol.* **22**: 223-228.
- Kim, S. S. and Kim, Y. S. 1990. "*Korean Mushrooms*", Yupoong Pub., Seoul.
- Lampe, K. F. 1979. Toxic fungi. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **19**: 85-104.
- Lee, J. Y. 1993. "*Colored Korean Mushrooms*", Academy Pub., Seoul.
- Pacioni, G. 1981. "*Simon & Schuster's Guide to Mushrooms*", Simon & Schuster's Inc., New York.
- Park, W. H. 1991. "*Colored illustrations of Korean fungi*", Kyo-Hak Pub., Seoul.
- Seeger, R., Kraus, H. and Wiedmann, R. 1973. Presence of hemolysins in *Amanita* species. *Arch. Toxicol.*, **30**: 215-226.
- Seeger, R. 1975. Demonstration and isolation of phallolysin, a haemolytic toxin from *Amanita phalloides*. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.*, **287**: 277-287.
- Seeger, R. 1975. Some physico-chemical properties of phallolysin obtained from *Amanita phalloides*. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.*, **288**: 155-162.

- Seeger, R., Burkhardt, M., Haupt, M. and Feulner, L. 1976. The Haemolytic effect of phallolysin. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.*, **293**: 163-170.
- Seeger, R. and Bunsen, E. 1980. Degranulation of rat mast cells in vitro by the fungal cytolytins phallolysin, rubescenslysin and fascicularelysin. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.*, **315**: 163-166.
- Seeger, R., Odenthal, K. P. and Mengs, U. 1981. Toxic effects in mouse and rat of rubescenslysin from *Amanita rubescens*. *Toxicol.*, **19**: 409-417.
- Seitz, J., Adler, G., Stofft, E. and Faulstich, H. 1981. The mechanism of cytolysis of erythrocytes by the mushroom toxin phallolysin. Morphological and biochemical evidence for sodium influx and swelling. *Eur. J. Cell. Biol.*, **25**: 46-53.
- Wieland, T. and Faulstich, H. 1978. Amatoxins, phallolysin, and antamanide. The biologically active components of poisonous *Amanita* mushrooms. *CRC. Crit. Rev. Biochem.*, **5**: 185-260.