

조직 혈액응고인자에 대한 식용버섯류의 저해활성

황금희 · 김현구 · 한용남*

한국식품개발연구원, *서울대학교 천연물과학연구소

Inhibitory Activity of Edible Mushrooms on the Tissue Thromboplastin (Tissue Factor)

Keum Hee Hwang, Hyun Ku Kim and Yong Nam Han*

Korea Food Research Institute

*Natural Product Research Institute, Seoul National University

Abstract

Tissue thromboplastin (tissue factor), a membrane bound glycoprotein is an important initiating factor in blood coagulation cascade, which leads to the formation of thrombin by activating both factor X and IX. Activation of blood coagulation by TF is essential for blood injury, and stimulates the blood coagulation in myocardial infarction, cancer and blood coagulatory diseases. High density lipoprotein, apolipoprotein A-II were known to be biological TF inhibitors. Recently, studies on search for TF inhibitors from natural products have been active in Korea. Among the edible mushrooms screened for inhibitory activities on the TF, *Lentinus edodes* showed the most strong activity, followed by *Agaricus bisporus* and *Ganoderma lucidum*. And the fractionation of the above mushrooms with the chloroform (CHCl₃) and ethylacetate (EtOAc) was done and evaluated for the inhibitory activities on TF. In *Ganoderma lucidum*, CHCl₃ fraction and H₂O layer were not active, but EtOAc fraction exhibited a strong inhibitory activity on TF and the IC₅₀ value was 1.07×10^{-4} g. In the case of *Agaricus bisporus*, there were no inhibitory activities on the TF in all of the fractions. CHCl₃ fraction and H₂O layer of *Lentinus edodes* did not show inhibition on the TF but EtOAc fraction showed strong inhibition on the TF, and the IC₅₀ value was 7.70×10^{-4} g.

Key words: tissue thromboplastin (tissue factor), inhibition, *Lentinus edodes*, *Agaricus bisporus*, *Ganoderma lucidum*

서 론

Tissue thromboplastin (tissue factor, TF)는 혈관 내피 세포에 존재하는 막 단백질로서 혈액응고계의 외인경로(extrinsic pathway) 뿐만 아니라 내인경로(intrinsic pathway)도 활성화시키는 혈액응고 개시인자이며⁽¹⁾ 최근 1차 구조가 밝혀졌다. TF에 대한 저해제의 연구도 활발해지고 있으나 혈액내의 단백질 성분에 국한되어 있다. 현재까지 잘 알려진 TF저해제로는 고밀도 지질 단백질(high density lipoprotein, HDL)과 EPI(extrinsic pathway inhibitor)가 있다^(2,3). 최근 국내에서 천연물로부터 TF 저해제를 찾아내고자 하는 연구가 시작되어 모동청에서 분리한 pubescenolic acid, pro-

sapogenin A, 지유에서 분리한 pomolic acid, ziyuglycoside II 그리고 은행잎 추출물에서 TF저해작용이 크게 나타나는 사실이 보고된 바 있다⁽⁴⁾. TF는 급성 염증, 감염, 동맥경화, 암 환자 등에 있어 급격히 유도되어 혈전이 생기기 쉬운 상태이므로 TF저해제에 대한 약물의 개발이 요청된다. 이러한 추세와 발맞추어 약물의 개발에 못지않은 기능성 식품에 대한 기대 역시 급증하고 있는 실정이며 잘못된 정보로 인한 식품의 오용과 남용으로 자칫 건강을 더욱 해칠 위험에까지 이르고 있다. 따라서 예로부터 식품으로서 널리 애용되어 오고 있는 식품을 대상으로 생리활성을 검색함으로써 기능성 식품에 대한 올바른 정보를 제공하고 기능성 식품으로 개발하는 일이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 식용으로 이용되고 있는 버섯류들의 기능성 탐색을 목적으로 몇 종의 식용 버섯류를 대상으로 TF저해활성을 검색하였으며 몇 가지 유기

Corresponding author: Keum Hee Hwang, Korea Food Research Institute, San 46-1 Bakhun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

용매를 이용하여 추출분획을 조제하고 이들의 TF에 대한 저해활성을 비교 검색하였다.

재료 및 방법

버섯류의 추출 및 용매분획

서울 가락시장과 산지 등에서 버섯류를 구입하였다. 생시료는 55°C oven에서 12시간 열풍건조하여 사용하였고 건조시료는 그대로 mixer로 마쇄하여 고운 입자로 한 후 50 g을 취하여 100% 메탄올을 1:10 (w/v)의 비로 가하여 100°C 수욕상에서 환류냉각하면서 3시간동안 가열 추출하였다. 추출된 시료를 실온으로 냉각한 후 깔때기에 탈지면을 깔고 여과하면서 그 박을 메탄올(MeOH)로 세척하여 여액이 각각 원래 가한 양과 같도록 하고 그 여액을 44°C 수욕상에서 환류냉각하면서 감압 농축하였다. 농축된 메탄올 추출액을 소량의 메탄올이 남아있는 상태로 물에 현탁시킨 후 동량의 클로로포름(CHCl₃)을 소량씩 가하고 세계 흔들어 섞은 후 방치하여 두층으로 나누어 클로로포름 가용분획을 얻고 이를 45°C 수욕상에서 감압 농축하여 클로로포름 분획을 조제하였다. 클로로포름에 불용성인 분획에 다시 소량의 메탄올을 가하고 여기에 5배량의 에틸아세테이트(EtOAc)를 가하여 에틸아세테이트 가용분획과 물층으로 나누어 에틸아세테이트 가용분획을 얻었으며 이를 45°C 수욕상에서 감압 농축하여 에틸아세테이트 분획을 조제하였다. 물층에 소량씩 남아있는 클로로포름과 에틸아세테이트를 농축하여 제거하고 메탄올에 녹여 다시 이를 45°C 수욕상에서 감압 농축하여 수용성 분획을 조제하였다 (Fig. 1).

버섯류의 tissue factor (TF)에 대한 저해활성

한 등의 방법⁽⁶⁾에 준하여 TF 저해활성을 측정하였다.

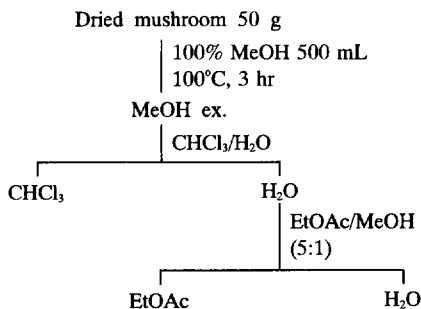


Fig. 1. Preparation of crude extracts of mushrooms.

재료

실험에 사용한 버섯류들은 서울 가락시장과 경동시장, 시내백화점 및 강원도 원주지방에서 수확된 것을 직접 구입하여 사용하였다.

Tissue factor의 분리

Sprague-Dawley rat (흰쥐) 수컷의 뇌 또는 폐 조직 5 g에 20 mL의 0.15 M NaCl 용액(saline solution)을 가하고 ice bath 속에서, 뇌 조직은 2분간 glass-teflon homogenizer로 마쇄하고 폐 조직은 1분간 stainless-steel blade homogenizer로 마쇄한 후 1분간 glass-teflon homogenizer로 마쇄하였다. 조직 마쇄 액을 2000 rpm, 4°C에서 20분간 원심분리하여 상정액을 다시 ultracentrifuge로 31,000 rpm (105,000×g), 4°C에서 1시간 초원심분리하고, 침전부분을 초원심분리한 후의 상정액과 같은 부피의 saline 용액으로 homogenize (glass-teflon)하여 이것을 tissue factor (TF) stock solution으로 사용하였다^(6,7)(Fig. 2).

Tissue Factor 활성 측정

혈장: 흰쥐를 ethyl ether로 마취시킨 후 3.13% sodium citrate 1 mL를 미리 넣어둔 주사기로 심장에서 혈액을 채취하여 10 mL가 되도록 하였다. 채취한 혈액을 플라스틱 시험관에 옮겨 2500 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층의 혈장 (citrated plasma) 부분만을 조심스럽게 취하여 플라스틱 시험관에 옮겼다.

One-stage clotting assay

Citrated plasma를 사용하여 prothrombin time을 측정하여⁽⁸⁻¹¹⁾ TF의 활성을 평가하였다. 플라스틱 시험관

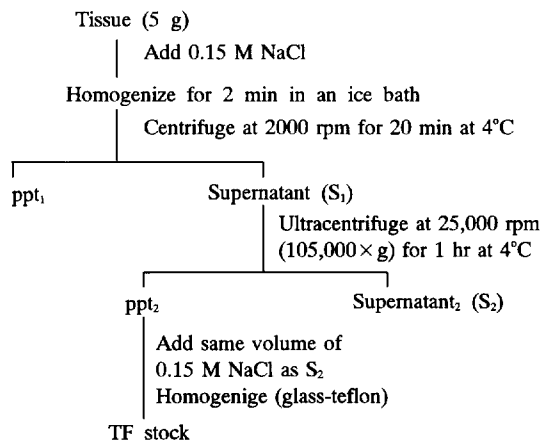


Fig. 2. Preparation of crude tissue factor.

을 37°C 수욕상에 담가두고 plasma 100 μ L, TF stock을 saline 용액으로 희석한 것 100 μ L (saline만 100 μ L 넣은 것을 blank로 함)를 가하고 25 mM CaCl₂ 100 mL를 넣고 섞은 후 시험관을 수욕상에서 꺼내 가만히 기울여 보고 다시 담그고 하면서 CaCl₂를 첨가한 후부터 응고할 때까지의 시간(prothrombin time)을 재며 모두 2회 반복 실시하였다.

단백질 정량

Lowry법에 의해 정량 하였다⁽¹²⁾. 시료용액 0.4 mL에 2 mL의 알칼리 동용액(50 mL의 2% Na₂CO₃ in 0.1 N NaOH, 1 mL의 1% sodium tartrate, 1 mL의 0.5% CuSO₄·5H₂O를 측정직전에 새로 섞어서 사용)을 가하고 섞은 후 실온에 10분 이상 방치하였다가 0.2 mL의 Folin-Ciocalteu phenol reagent를 가하고 1-2초내에 완전히 섞고 30분이상 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Bovine serum albumin (BSA) 용액 0.1 mg/mL~0.5 mg/mL에 대하여 동시에 실시하여 표준정량곡선으로 사용하였다(Fig. 3).

버섯류의 분획별 tissue factor 저해활성 검색

검액의 조제: 시판 버섯류의 생시료는 55°C oven에서 12시간 열풍건조시키고, 건조시료는 그대로 mixer로 마쇄하여 고운입자로 한 후 50 g에 100% 메탄올을 1:10 (w/v)의 비로 가하여 100°C 수욕상에서 환류냉각하면서 3시간동안 가열 추출하고 실온으로 냉각한 후 깔때기에 탈지면을 깔고 여과하면서 그 박을 메탄올로 세척하여 여액이 각각 원래 가한 메탄올의 양과 같도록 한 후 44°C 수욕상에서 감압농축하였다. 여기에

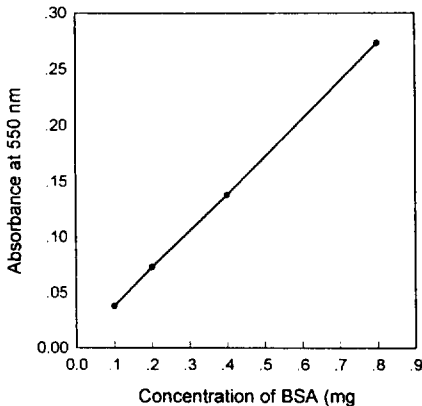


Fig. 3. Standard curve of bovine serum albumin (BSA). The equation for the curve is $Y=a X+b$, Where $a=0.3106$, $b=0.0042$ and correlation coefficient= 0.9994 .

100 ml 증류수를 가하여 현탁시키고 동량의 클로로포름을 가하여 클로로포름 가용분획을 얻고 물층에는 다시 메탄올과 에틸아세테이트를 각각 1:5의 비로 가하여 에틸아세테이트 가용분획으로 나누었다. 클로로포름 가용분획 및 에틸아세테이트 가용분획, 남은 물층을 농축하여 각각 1 mg을 취하여 증류수로 녹여 1 mL로 한 후 현탁시켜 검액으로 사용하였다.

Tissue Factor 저해작용의 검색: 식용버섯 3종에 대하여 *in vitro*에서 TF에 대한 저해작용을 검색하였다. 검체를 1 mL 중 최종농도가 1 mg이 되도록 직접 Eftendorf tube에 칭량하여 1 mL의 증류수에 녹인 후 사용하였다. 플라스틱 시험관을 37°C 수욕상에 담그고 혈장 100 μ L를 취하고, TF stock을 saline 용액으로 적절히 희석한 것과 검색 하고자하는 시료용액을 시료의 최종농도가 100 μ L중에 1, 5, 10 μ L 되도록 미리 섞어 놓은 것 100 μ L, 그리고 25 mM CaCl₂ 100 μ L를 가하고 섞은 후 시험관을 수욕상에서 꺼내어 가만히 기울여보고 다시 담그고 하면서 CaCl₂ 첨가한 후부터 응고할 때까지의 시간을 재었으며 2회 반복 실시하였다. Prothrombin time을 연장시키는 정도에 의해 나타내는 저해율(Ip)은 다음 Eq. 1에 의해, TF 활성도 단위를 감소시키는 정도에 의해 나타내는 저해율(Ia)은 다음 Eq. 2에 의해 계산하였다.

$$Ip (\%) = \frac{B-A}{BL-A} \times 100 \tag{Eq. 1}$$

여기에서 BL은 TF를 넣지않고 저해제만 농도별로

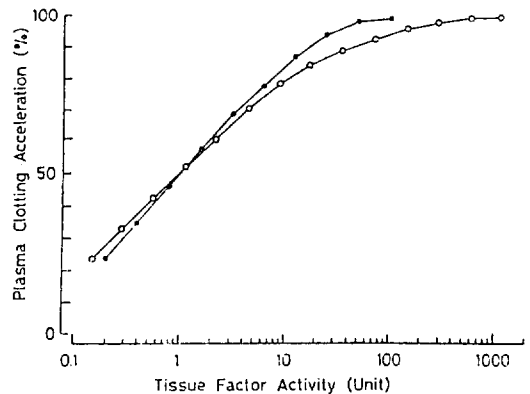


Fig. 4. Standard curve for TF activity of rat lung (○) and brain (●). It was arbitrarily defined as 100% activity when the plasma clotting time with tissue factor was 18 sec (lung) or 30 sec (brain), and the plasma recalcified clotting time without TF as 0% activity; The amount of TF which gave 50% acceleration of plasma clotting time on the standard curve was defined as one unit.

첨가했을 때 혈장응고시간(plasma recalcified clotting time)의 평균치, A는 TF만 넣었을 때의 prothrombin time, B는 TF와 저해제를 모두 넣었을 때의 prothrombin time이다.

$$Ia (\%) = \frac{A-Bu}{Au} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Tissue Factor 활성⁶⁾: 혈액을 채취한 흰쥐로부터 폐 조직을 취하고 앞에서 기술한 방법에 의하여 TF를 조제한 다음 one-stage clotting assay를 실시하여 prothrombin time을 측정 한 후 표준곡선으로부터 TF 활성을 구하였다(Fig. 4).

결과 및 고찰

버섯류의 추출

버섯류 각 50 g씩을 취하여 100°C 수욕상에서 환류 냉각하면서 3시간동안 가열 추출하였다. 추출된 시료를 실온으로 냉각한 후 깔때기에 탈지면을 깔고 여과 하면서 그 박을 메탄올로 세척하여 여액이 각각 원래 가한 양과 같도록 하고 그 여액을 44°C 수욕상에서 환류 냉각하면서 감압농축하였다. 이때 얻은 농축액은 양송이버섯 12.483 g, 영지버섯 2.367 g, 표고버섯 11.264 g으로 각각 총 건조중량의 25.0, 4.7, 22.5%이었으며 이 농축액에 클로로포름과 에틸아세테이트를 가하여 분획하여 얻은 각 분획물에 대한 용매분획별 수율을 Table 1에 나타내었다. 메탄올 농축액의 양은 양송이, 표고, 영지버섯의 순으로 많이 추출되었으며 총건조 중량에 대한 수율 역시 양송이, 표고, 영지버섯의 순으로 나타났었다.

Table 1. The yields¹⁾ of solvent extraction and fractionation for three kinds of edible mushrooms

Fractions	<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	<i>Agaricus bisporus</i> (양송이버섯)	<i>Lentinus edodes</i> (표고버섯)
Dried weight (g)	50 (100)	50 (100)	50 (100)
MeOH ext. (g)	2.367 (4.7)	12.483 (25.0)	11.259 (22.5)
CHCl ₃ ext. (g)	1.243 (2.5)	2.943 (5.9)	3.033 (6.1)
EtOAc ext. (g)	1.060 (2.1)	0.210 (0.4)	1.334 (16.5)
H ₂ O layer (g)	0.77 (1.5)	8.268 (16.5)	8.338 (16.7)

¹⁾The percent of extraction ratio to dried weight of mushrooms.

버섯류의 tissue factor에 대한 저해활성

메탄올 추출물의 TF에 대한 저해활성

한방 및 민간에서 각종 성인병의 치료목적으로 이용하거나 일반 식생활에서 널리 이용되고 있는 식용버섯류 8종을 대상으로 혈액응고계를 활성화시키는데 주된 역할을 하는 것으로 알려진 단백질인 tissue factor에 대한 저해활성을 시험관내에서 측정하였으며 그 결과를 Table 2에 요약하였다. 이들 버섯류의 TF에 대한 저해활성을 편의상 강력한 저해활성을 나타낸 경우 +++로, 중간정도의 저해활성을 나타낸 경우 ++로, 약한 저해활성은 +로, 저해활성을 나타내지 않은 경우 -로 표시하였다. 검색된 버섯류의 메탄올 추출물들은 모두 TF에 대한 저해활성을 나타내었으며 특히 표고버섯은 비교적 강한 저해활성을 나타내었고 양송이버섯과 영지버섯 역시 TF 저해활성을 갖는 것으로 나타났다.

메탄올 추출물의 IC₅₀

검색된 버섯류의 메탄올 추출물은 양송이, 영지, 표고 모두 TF에 대한 저해활성이 확인되었으며 특히 표고버섯은 강한 저해활성을 갖는 것으로 확인되었다. 양송이버섯과 영지버섯의 경우 TF를 넣지 않은 대조군의 경우에는 저해제를 넣으면 prothrombin time (PT)이 감소하는 경향을 보였는데 TF를 넣음에 따라 감소된 PT가 저해제의 첨가량이 증가함에 따라 다시 회복되는 경향을 보임으로써 TF를 저해하는 활성이 확인되었으며 표고의 경우는 TF를 넣지 않은 control의 경우 소량의 저해제를 가했을 때 감소하던 PT가 저해제의 양이 증가함에 따라 본래의 시간으로 회복되는 경향을 보였으며 이는 TF를 가했을 때에도 같은 양상을 나타냈으나 저해제의 양이 증가함에 따라 control에 가까워지도록 PT를 연장시킴으로써 표고의 TF 저해활성이 확인되었다. 이들의 저해율을 계산하

Table 2. Inhibition of methanol extracts of several edible mushrooms on TF

Mushrooms ¹⁾	Amounts (g)	Inhibition
<i>Agaricus bisporus</i> (양송이버섯)	12.483	++
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	0.947	++
<i>Lentinus edodes</i> (표고버섯)	11.259	+++

¹⁾Each fraction (10 mg) obtained from 50 g of mushrooms was taken and diluted with distilled water to make 10 mL of test solution. One mL of it was taken and assayed for examining TF inhibitory activity as described in the experimental method.

+++ : strong inhibitor, ++ : moderate inhibitor, + : weak inhibitor.

Table 3. IC₅₀ values of methanol extracts of several edible mushrooms on tissue factor *in vitro*

Mushrooms	TF added ¹⁾ (μg)	IC ₅₀ ²⁾ (μg)	IC ₅₀ /TF unit (μg/ 300 μl)
<i>Agaricus bisporus</i> (양송이버섯)	0.625	1.30	217
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	40	4.32	411
<i>Lentinus edodes</i> (표고버섯)	5	0.25	6.6

¹⁾Used a lung microsomal fraction from normal rats.

²⁾Each fraction (10 mg) obtained from 50 g of mushrooms was taken and diluted with distilled water to make 10 mL of test solution. One mL of it was taken and assayed to examine TF inhibitory activity as described in the experimental method.

여 이 저해율과 저해제의 농도로부터 log-log graph를 얻었다. PT를 50% 저해할 때의 저해제의 농도는 그래프의 직선과 50%의 직선이 만나는 때의 농도(IC₅₀)이며 그 값이 적을수록 강한 저해제이다. 표고가 가장 낮은 농도에서 TF를 50% 저해하므로 가장 강한 저해활성을 나타낸 것으로 보인다. 이 그림으로부터 구한 IC₅₀의 값을 Table 3에 나타내었다. 양송이버섯의 메탄올 추출물의 IC₅₀은 *in vitro*에서 1.30 μg이었고 영지버섯은 4.32 μg, 표고버섯은 0.25 μg으로 각각 조사되었다. 또 이들의 메탄올 추출물 총량에 대한 total activity를 계산한 결과는 양송이버섯 9.6×10⁶, 영지버섯 5.5×10⁶, 표고버섯 4.5×10⁷으로 이들 버섯류의 TF에 대한 저해활성이 표고>양송이>영지버섯의 순으로 강하게 나타났다(Table 3).

용매분획의 TF에 대한 저해활성

버섯류의 메탄올 추출물이 TF에 대해 비교적 강한 저해활성을 나타냈으나 메탄올 추출물에 존재하는 여러 폐놀화합물의 false positive effect일 가능성을 의심할 수 있으므로 실질적인 저해활성의 성질을 파악하기 위하여 유기용매를 이용하여 용매분획을 실시하고 각 용매분획의 TF저해활성을 측정하여 Table 4에 나타내었다. 표고버섯의 에틸아세테이트 분획에서 강한 TF 저해활성이 확인되었고 영지버섯의 에틸아세테이트 분획에서도 TF에 대한 저해활성이 나타났으며 표고버섯의 에틸아세테이트 분획에서 얻은 결정성 물질 역시 약하지만 TF를 저해하는 활성을 나타내었다. 메탄올 추출물에서와는 달리 TF를 가하지 않은 대조군의 경우 저해제에 대한 PT의 변화가 안정화된 것을 알 수 있었으며 이는 활성측정을 방해하는 물질이 용매분획의 과정에서 제거된 것으로 추정할 수 있었다.

Table 4. Inhibition of solvent fraction of several edible mushrooms on TF

Mushrooms	Inhibition		
	CHCl ₃	EtOAc	H ₂ O
<i>Agaricus bisporus</i> (양송이버섯)	-	-	-
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	-	++	-
<i>Ganoderma lucidum</i> Bud	-	-	-
<i>Lentinus edodes</i> (표고버섯)	-	+++	-

¹⁾Each fraction (10 mg) obtained from 50 g of mushrooms was taken and diluted with distilled water to make 10 mL of test solution. One mL of it was taken and assayed to examine TF inhibitory activity as described in the experimental method.

+++ : strong inhibitor, ++ : moderate inhibitor, + : weak inhibitor.

Table 5. IC₅₀ values of solvent fraction of several edible mushrooms on tissue factor *in vitro*

Mushrooms	IC ₅₀ (μg) ¹⁾		
	CHCl ₃	EtOAc	H ₂ O
<i>Agaricus bisporus</i> (양송이버섯)	-	-	-
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	-	107	-
<i>Ganoderma lucidum</i> Bud	-	-	-
<i>Lentinus edodes</i> (표고버섯)	-	770	-

¹⁾Each fraction (10 mg) obtained from 50 g of mushrooms was taken and diluted with distilled water to make 10 mL of test solution. One mL of it was taken and assayed to examine DBH inhibitory activity as described in the experimental method.

한편, 메탄올 추출물에서 비교적 강한 활성을 갖는 것으로 보이던 양송이버섯의 경우는 모든 용매분획에서 분명한 활성이 확인되지 않았는데 이는 용매분획 과정에서 TF 저해활성을 나타내던 성분이 분해하였거나 혹은 분산되었을 가능성을 제기하고 있다.

용매분획별 추출물의 IC₅₀

검색된 버섯류의 분획별 추출물의 TF에 대한 저해활성이 확인되었으므로 그 저해율을 계산하여 이 저해율과 저해제의 농도로부터 얻은 graph상에서 PT를 50% 저해할 때의 저해제의 농도인 IC₅₀값을 시료의 중량으로 환산하여 Table 5에 나타내었다. 모든 버섯의 물층에서는 활성이 확인되지 않았으며 영지버섯의 에틸아세테이트 분획의 IC₅₀은 107 μg, 표고버섯의 경우 770 μg의 값을 나타냈고 표고버섯의 에틸아세테이트 분획으로부터 얻은 결정성물질의 IC₅₀은 10.2 mg이었다. 또한 이들 분획의 total activity (TA)를 각 분획 총량에 대한 값으로 환산한 결과를 Table 6에 요약하였다. 영지버섯 에틸아세테이트 분획의 TA는 4.02×10², 표고버섯의 경우 2.14×10²의 TA값을 나타냈다. 영지

Table 6. Total activities of solvent fraction of several edible mushrooms on tissue factor *in vitro*

Mushrooms	Total Activity (unit) ¹⁾		
	CHCl ₃	EtOAc	H ₂ O
<i>Agaricus bisporus</i> (양송이버섯)	-	-	-
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	-	4.0 × 10 ²	-
<i>Ganoderma lucidum</i> Bud	-	-	-
<i>Lentinus edodes</i> (표고버섯)	-	2.1 × 10 ²	-

¹⁾Each fraction (10 mg) obtained from 50 g of mushrooms was taken and diluted with distilled water to make 10 mL of test solution. One mL of it was taken and assayed to examine DBH inhibitory activity as described in the experimental method.

버섯은 클로로포름 분획과 물 분획에서는 활성을 나타내지 않았으며 대부분의 활성성분이 에틸아세테이트 분획으로 이행함을 알 수 있었으며 양송이의 경우 모든 분획에서 분명한 활성이 확인되지 않았다. 또한 표고의 경우도 영지버섯과 마찬가지로 클로로포름 분획과 물 분획에서는 활성이 확인되지 않았으며 에틸아세테이트 분획으로부터 얻은 결정성 물질의 TA는 9.0 × 10²으로 표고의 경우에는 대부분의 활성성분이 에틸아세테이트 분획으로 이행하며 메탄올 추출물에서 확인된 강력한 저해활성은 대부분 이 결정성 물질에서 기인된 것으로 추정된다. 한편, 영지버섯 bud에서는 영지버섯과는 달리 TF에 대한 저해활성을 확인할 수 없었다. 이는 영지버섯의 bud가 영지버섯의 자실체보다 더욱 강한 항암활성을 나타낸다는 정 등⁽¹³⁾의 보고와 비교하여 아주 흥미로운 결과로 영지버섯의 활성성분 연구에 중요한 단서를 제공해 줄 것으로 기대한다.

요 약

식용버섯류를 대상으로 혈액응고계를 활성화시키는 데 주된 역할을 하는 것으로 알려진 단백질인 tissue factor에 대한 저해활성을 시험관내에서 측정하였으며 몇 가지 유기용매를 이용하여 추출분획을 조제하고 이들의 TF에 대한 저해활성을 비교 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 검색된 버섯류의 메탄올 추출물들은 모두 TF에 대한 저해활성을 나타내었으며 특히 표고버섯은 비교적 강한 저해활성을 나타내었고 양송이버섯과 영지버섯 역시 TF 저해활성을 갖는 것으로 나타났다. 양송이버섯의 메탄올 추출물의 IC₅₀은 *in vitro*에서 1.30 µg이었고 영지버섯은 4.32 µg, 표고버섯은 0.25 µg으로 각각 조사되었다. 유기용매를 이용하여 용매분획을 실시하고 각 용매분획의 TF 저해

활성을 측정된 결과 표고버섯의 에틸아세테이트 분획에서 강한 TF 저해활성이 확인되었고 영지버섯의 에틸아세테이트 분획에서도 TF에 대한 저해활성이 나타났으며 표고버섯의 에틸아세테이트 분획에서 얻은 결정성 물질 역시 TF를 저해하는 활성을 나타내었다. 모든 버섯의 물층에서는 활성이 확인되지 않았으며 영지버섯의 에틸아세테이트 분획의 IC₅₀은 107 µg, 표고버섯의 경우 770 µg의 값을 나타냈고 표고버섯의 에틸아세테이트 분획으로부터 얻은 결정성물질의 IC₅₀은 10.2 mg이었다.

문 헌

- Day, K.C., Hoffman, L.C., Palmier, M.O., Kretzemer, K. K., Huang, M.D., Pyla, E.Y, Spokas, E., Broze, G.J., Warren, T.G. and Wum, T.C.: Recombinant lipoprotein-associate coagulation inhibitor inhibits tissue thromboplastin induced intravascular coagulation in the rabbit. *Blood*, **76**(8), 1538 (1990)
- Gemmell, C.H., Broze, G.J.Jr., Turitto, V.T. and Nemerson, Y.: Utilization of a continuous flow reactor to study the ipoprotein-associated coagulation inhibitor (LACI) that inhibits tissue factor. *Blood*, **76**(11), 2266 (1990)
- Broze, G.J. Jr. and Miletich, J.P.: Characterization of the inhibition of tissue factor in serum. *Blood*, **89**(1), 150 (1987)
- 이인경 : 조직 혈액응고인자에 대한 천연물의 저해작용. 숙명여자대학교 박사학위논문 (1992)
- 한용남 : 항혈전작용측정법. "신물질 창출을 위한 생물활성 연구법" 한국생화학회편, p.865 (1990)
- Hvatum, M. and Prydz, H.: Studies on tissue thromboplastin : I. Solubilization with sodium deoxycholate. *Biochim. Biophys. Acta*, **130**, 92 (1966)
- Williams, W.J.: The activity of human placenta microsomes and brain particles in blood coagulation. *J. Biol Chem.*, **241**(8), 1840 (1966)
- Levy, G.A. and Edgington, T.S.: Lymphocyte cooperation is required for amplification of macrophage procoagulant activity. *J. Exp. Med.*, **151**, 1232 (1980)
- O'Brien, D.P., Giles, A.R., Tate, K.M. and Vehar, G.A.: Factor VIII bypassing activity of bovine tissue factor using the canine hemophilic model. *J. Clin. Invest.*, **82**, 206 (1988)
- Gonmori, H. and Takeda, Y.: Properties of canine tissue thromboplastins from brain, lung, arteries and veins. *Am. J. Physiol.*, **229**(3), 618 (1975)
- Williams, W.J.: The activity of lung microsomes in blood coagulation. *J. Biol. Chem.*, **239**(3), 993 (1964)
- 일본 생화학회 : "신 생화학 실험강좌" 제1권, p.92 (1989)
- 정경수 : 버섯류의 생리활성성분. 건강 및 기능성식품 국제심포지움 논문집. 한국식품과학회 (1996)

(1996년 9월 3일 접수)