

한국산 영지버섯에서 분리한 항응고성 다당

나경수 · 이별나 · 이현순* · 권미향*

대구공업전문대학 식품영양과, * 고려대학교 생명공학 연구소

An Anticoagulant Polysaccharide Isolated from *Ganoderma lucidum*

Kyung-Soo Ra, Byul-La Lee, Hyun-Sun Lee* and Mee-Hyang Kweon*

Dept. of Food and Nutrition, Taegu Technical Junior College,

831 Bon-dong, Dalseo-gu, Taegu 704-350 Korea

*Institute of Biotechnology, Korea University

Abstract

The anticoagulant polysaccharide was screened from the edible mushrooms. Among them, alkali extract of *Ganoderma lucidum* showed the highest activity in aPTT. A crude polysaccharide fraction (GL-I) was prepared from the 1N NaOH solution extract of *Ganoderma lucidum* followed by methanol-reflux, precipitation with ethanol, dialysis and lyophilization. GL-I inhibited the intrinsic pathway in blood coagulation pathway and exhibited concentration dependent anticoagulation effects. The anticoagulant activity of GL-I was decreased greatly by periodate oxidation, but was not changed by pronase digestion. These suggest that carbohydrate moiety may be related to the anticoagulant activity. GL-I consisted of glucose, galactose, fucose, xylose, mannose, arabinose in a molar ratio of 19.3 : 3.0 : 2.3 : 1.3 : 1.0 : 0.3. GL-I was partially purified on the DEAE-Toyopearl 650C (GL-Ia → GL-If) and on the Sephadex G-100 (GL-Ic-I → GL-Ic-II).

Key words : anticoagulant , polysaccharide , *Ganoderma lucidum*

서론

최근 생활수준의 향상과 더불어 건강에 대한 관심이 급속히 높아져 가고 있는 추세이며, 특히 현대 도시 생활자들은 40대 중반부터 찾아오는 성인병의 예방과 치료에 대한 관심이 높아지고 있다. 최근 선진국의 조사에 의하면 혈관 순환기계 질환이 현대인의 사망원인의 1위를 차지하고 있으며, 우리 나라의 1995년 통계보고에서도 선진국에서와 마찬가지로 사망자수 및 원인에 있어서 1위는 악성종양으로서 약 21%, 2위는 뇌혈관 질환으로서 약 17%, 3위는 심장질환으로서 약 9%라고 하였다. 그러나 2위 및 3위의 질환은 모두 혈관내 장애에 의해 일어나며 그 사망율의 합계는 약 26%로서 악성종양보다 훨씬 상회하고 있는 추세이다¹⁾. 따라서 현재 혈관장애에 대한 기초 및 임상적 연구가 활발히 진행되고

있다. 어떤 병적인 원인에 의해 지혈에 관련되는 인자들의 활성이 증가하면 혈전의 발생율이 높아진다. 특히 고지혈증, 동맥경화, 그밖의 여러 대사성 질환에서는 혈장 지질성분의 증가때문에 혈전의 발생이 증가한다고 보고되고 있다²⁾. 혈관내에 생성된 혈전은 정맥 및 동맥에서 혈관의 순환을 방해하여 조직으로의 영양공급 및 산소공급을 차단함으로써 뇌출혈, 뇌혈전, 심부전, 심근경색, 동맥경화 등의 중대한 성인병을 일으킨다³⁾.

혈관에서의 혈전생성은 크게 3단계로 나누어지는데, 제1단계는 출혈시 손상된 조직 또는 파괴된 혈소판에서 thromboplastin이 유리되는 과정이며, 제2단계는 Ca^{2+} 의 존재하에서 prothrombin이 thrombin으로 전환되는 과정이며 마지막으로 제3단계는 thrombin에 의해 혈장중의 fibrinogen이 불용성의 fibrin으로 전환되는 과정이다⁴⁾. 최근 혈전 생성을 방지하는 항응고성 물질에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔는데⁵⁾, 현재까지

Corresponding author : Kyung-Soo Ra

알려진 항응고제로는 소의 심장이나 돼지의 소장에서 추출한 heparin⁶⁾, 거머리에서 분리한 hirudin⁷⁾, 유기 합성 제재인 coumarin⁸⁾과 warfarin⁹⁾ 등이 있다. 최근 식품의 3차 기능적 특징이 강조되면서 자연계에 존재하는 천연 물질로부터 인체에 대한 유효한 생리활성을 나타내는 물질에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다¹⁰⁾. 이러한 노력의 일환으로 버섯의 유효 성분중¹¹⁾ 항암효과를 지니는 물질에 관한 특성을 규명하고자 하는 연구가 활발히 진행되어 왔으며 이외에도 버섯의 유효한 생리활성으로는 면역 증강 활성¹²⁾, 항보체 활성¹³⁾, 혈압 상승 억제 및 혈장과 간의 cholesterol 수준 저하 효과¹⁴⁾, 항산화 효과¹⁵⁾, 혈당 강하 작용¹⁶⁾, 혈소판 응집 저해 작용¹⁷⁾ 등이 보고되었다.

본 연구는 한국산 식용버섯들의 항응고 활성을 검색한 결과 강력한 활성을 나타낸 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)으로부터 항응고 활성 물질을 추출, 분리 및 부분 정제하여 이 물질의 특성과 항응고 활성 기작을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

본 실험에 사용한 한국산 버섯류의 자실체는 경동시장에서 산지가 명확한 것만을 선별한 후 구입하여 사용하였으며 항응고 활성 측정시 이용되는 혈장(platelet pool plasma)은 고려대학교 부속병원에서 구입하여 사용하였으며 Dade[®] Actin[®] Activated Cephaloplastin Reagent, Dade[®] Thromboplastin C Plus, Dade[®] Data-Fi[®] Thrombin reagent(bovine)은 Dade(USA)사 제품을 사용하였다.

2. 일반성분 분석 및 구성당 분석

총당 함량은 glucose를 표준물질로 하여 phenol-sulfuric acid법¹⁸⁾으로, 산성당함량은 galacturonic acid를 표준물질로하여 *m*-hydroxydiphenyl법¹⁹⁾으로 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Lowry법²⁰⁾으로 정량하였으며, 구성당 분석은 Jones 등의 방법²¹⁾에 따라 중성당을 alditol acetate 유도체로 전환시켜 gas liquid chromatography(GLC)로 구성당을 분석하였으며 GLC의 분석조건은 3% OV-225 chromosorb WHP 100/120의 packed column이 장착된 Shimadzu GC-14A/FID/Shimadzu GC-R6A chromopac(column temp. 200, inject temp. 230, detect temp. 230)에서 실시하여 표준 구성당들의 retention time과 비교하여 시료 중의 구성당을 분석하였

다. 구성당의 molar ratio는 각 peak들의 면적비와 구성당들의 alditol acetate 유도체의 분자량으로부터 계산하였다.

3. 항응고 활성 측정

1) Activated partial thromboplastin time(aPTT)

시료를 함유한 100 μ l의 혈장(platelet pool plasma)을 aPTT 진단시약 100 μ l와 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 정확히 3분간 예열한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 미리 예열된 20mM CaCl₂ 100 μ l를 가한 후 blood coagulation analyzer (BC 2210, (주)京都第一科學, Japan)를 사용하여 응고가 될 때까지의 시간을 기록하였으며 대조구는 순수한 혈장 100 μ l를 이용하여 응고시간을 측정하였다⁷⁾.

2) Prothrombin time (PT)

시료를 함유한 100 μ l의 혈장을 37 $^{\circ}$ C에서 정확히 3분간 예열한 다음, 37 $^{\circ}$ C에서 미리 예열된 prothrombin time 진단시약을 100 μ l 가한 후 blood coagulation analyzer를 사용하여 응고가 될 때까지의 시간을 기록하였다²²⁾.

3) Thrombin time(TT)

시료를 함유한 100 μ l의 혈장을 37 $^{\circ}$ C에서 정확히 3분간 예열한 다음, 37 $^{\circ}$ C에서 미리 예열된 thrombin time 진단시약 100 μ l 가한 후 blood coagulation analyzer를 사용하여 응고가 될 때까지의 시간을 기록하였다⁷⁾.

4. 수종의 식용버섯으로부터 항응고 활성 검색

동결건조 및 분쇄한 수종의 버섯 자실체 1g을 2시간 동안 열수 및 0.1N NaOH로 환류추출후 원심분리 및 여과를 거쳐 동결건조하여 열수 추출물로 사용하였으며 알칼리 추출물은 중화, 원심분리, 여과 및 투석한 후 동결건조하여 시료로 사용하였다.

5. 영지버섯으로부터 항응고 물질의 추출 및 정제

분쇄한 영지버섯 1g에 cold water, methanol, acetone, chloroform, 1% Triton X-100, 0.1N HCl 용액 150ml씩을 가해 환류추출하여(산추출물의 경우 중화) 원심분리(6,500rpm, 20분)한 후, 유기용매 추출물의 상등액은 감압건조하고 그 외 추출물의 상등액은 투석, 동결건조하여 aPTT 법으로 항응고 활성을 측정하였다. NaOH는 농도와 추출시간을 달리하여 상기의 방법으로 실시하였다.

분쇄한 영지버섯 300g을 95~97 $^{\circ}$ C에서 8시간 동안

1N NaOH 용액으로 환류 추출한 후 Fig. 2와 같이 ethanol 침전을 실시하여 2개의 획분으로 분획하였다. 이 중에서 활성이 가장 높았던 GL-I을 3M NaCl/0.2M glycine-NaOH buffer(pH 9.0)로 평형화 된 DEAE-Toyopearl 650C column(Cl⁻ form, 3.5 × 28.5cm)에 흡착시킨 후 증류수로 세척후 NaCl 농도를 증가시키면서 5개의 흡착획분(GL-I-Ia→I-f)을 얻었다. 이온 교환 수지에서 얻은 획분 중 GL-Ic(30mg)을 0.2M 용액으로 평형화된 Sephadex G-100 column(3.0 × 94cm)에서 0.2ml/min의 유속으로 4℃에서 겔 여과 크로마토그래피를 행하여 2개의 획분(GL-Ic-I →GL-Ic-II)을 얻었다.

6. 항응고 활성 본체의 규명

1) GL-I의 pronase처리

항응고 활성을 나타낸 GL-I(30mg)을 10mM CaCl₂가 함유된 50mM tris-HCl buffer(pH 7.5) 50ml에 용해시킨 후 10mg의 pronase를 가해서 37℃에서 48시간 동안 반응시킨 후 5분간 가열하여 반응을 정지시켰다. 반응액은 투석, 동결, 건조하여 GL-I의 pronase 소화물을 얻었다²³⁾.

2) GL-I의 periodate 산화

항응고 활성을 나타낸 GL-I(30mg)을 50mM acetate buffer(pH 4.5) 50ml에 용해시킨 후 50mM sodium periodate(NaIO₄)를 가한 혼합물을 4℃ 암소에서 3일간 교반후 잔여 periodate를 제거하기 위해 ethylene glycol 5ml을 첨가후 1시간 방치한 다음 투석하였다. 비투석 획분을 약 20ml로 농축한 다음 20mg의 NaBH₄를 가하여 실온에서 12시간 교반하여 중화, 투석한 후 비투석 획분을 동결건조하여 periodate 산화물로 조제하였다²³⁾.

결과 및 고찰

1. 수종의 식용버섯으로부터 항응고 활성의 검색

식용버섯 자실체를 대상으로 항응고 활성을 검색한 결과 열수 추출물에서 항응고 활성을 나타내는 버섯이 없었으나 알칼리로 추출 용매를 달리한 경우에는 영지버섯(양평산)이 89.8초, 잎새버섯이 62.0초(control time:45sec)로 높은 항응고 활성을 나타냈다. Table 1의 결과에서 항응고 활성은 추출 용매에 따라 차이가 있음을 알 수 있었으며 동일한 영지 버섯일지라도 양평산 영지버섯이 89.8초인데 비해 강화산 영지버섯은 58초로 산지에 따라 활성 차이가 있었다.

Table 1. Anticoagulant activities of fruit bodies from edible mushrooms

Korean name(source)	Scientific name	Anticoagulant activity (sec)	
		Hot water extract	0.1N NaOH extract
느타리버섯	<i>Pleurotus ostreatus</i>	45.0	49.0
노루궁뎅이	<i>Hericeum erinacium</i>	37.4	33.0
동고	<i>Lentinus edodes</i>	51.5	53.6
목이버섯	<i>Auricularia auricula</i>	38.0	57.3
흰목이버섯	<i>Tremella fuciformis</i>	34.0	79.6
흑목이버섯	<i>Auricularia polytricha</i>	40.2	43.4
백화고	<i>Lentinus edodes</i>	47.7	49.4
석이버섯	<i>Gyrophora esculanta</i>	43.0	75.7
송이버섯	<i>Tricholom matsutake</i>	42.5	43.7
양송이버섯	<i>Agricus bisporous</i>	48.0	59.5
영지(강화산)	<i>Ganoderma lucidum</i>	48.0	58.0
영지(상주산)	<i>Ganoderma lucidum</i>	41.7	61.6
영지(양평산)	<i>Ganoderma lucidum</i>	45.9	89.8
잎새버섯	<i>Grifola frindosa</i>	40.0	62.0
팽나무버섯	<i>Flammulina velutipes</i>	40.3	45.2
표고(강원도 설악산)	<i>Lentinus edodes</i>	47.7	34.4
표고(양수리산)	<i>Lentinus edodes</i>	39.0	39.2
표고(예산산)	<i>Lentinus edodes</i>	47.0	61.4
표고(충남 서산산)	<i>Lentinus edodes</i>	36.2	54.0
표고(충남 청양산)	<i>Lentinus edodes</i>	46.3	56.5

Anticoagulant activities of each sample(1,000μg/ml) was examined through the activated partial thromboplastin time(aPTT) and control time was 45sec.

Table 2. Comparison of anticoagulant activities of among the differents solvents from *Ganoderma lucidum*

Solvent	Extraction time(H)	Extraction temp.(°C)	Yield (%)	Anticoagulant activity(sec)		
				aPTT	PT	TT
Hot water	2	b.p.	9.95	35.9	15.8	10.9
Cold water	24	r.t.	6.41	34.4	14.8	14.6
Methanol	2	b.p.	3.60	35.8	15.5	11.3
Acetone	2	b.p.	0.99	36.9	16.1	10.5
Chloroform	2	b.p.	0.81	34.2	15.9	11.0
1% Triton X-100	2	r.t.	4.61	36.0	15.8	12.2
0.1N HCl	12	b.p.	7.08	31.9	10.6	13.4
0.1N NaOH	2	b.p.	10.23	89.8	14.4	19.2

The each sample was assayed for anticoagulant activity with 1,000 μ g/ml as aPTT, PT and TT and each control time was 45sec, 17.1sec and 13.4sec, respectively.

2. 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)으로부터 항응고 활성물질의 추출

Table 1의 결과에서 추출 용매에 따른 항응고 활성차이가 있었으므로 검색 결과 활성이 가장 높았던 양평산 영지버섯의 추출용매의 종류에 따른 항응고 활성을 비교한 결과에서 1,000 μ g/ml의 농도에서 항응고 활성은 0.1N NaOH을 제외한 모든 추출용매에서 활성을 나타내지 않았다(Table 2). 영지버섯 자실체를 알칼리 농도를 달리하여 실시한 결과(Fig. 1) 항응고 활성은 전체적으로 1.0N>0.5N>0.1N>0.05N로 알칼리 농도가 높을수록 활성이 높았으며 수율은 추출 시간이 증가하면 증가하였으나 알칼리 농도에서는 유의적 차이는 없었다. 또한 추출 시간과 활성의 관계에서 모든 농도에서

추출 8시간까지는 추출 시간과 항응고 활성이 상관성이 있게 증가하였다.

0.1N NaOH에서 8시간 추출물의 항응고 활성이 가장 높았으므로 분쇄한 영지버섯 자실체 300g을 0.1N NaOH로 8시간 동안 환류추출하였으며 추출액을 중화, 투석 및 동결건조하여 추출획분 GL-0(16.57g)을 얻었다(Fig. 2). GL-0획분을 methanol로 5회 환류 추출하여 GL-M(0.3g)을 얻은 후 물에 재용해한 다음 동량(v/v)의 ethanol을 첨가하여 2개의 획분(GL-I, II)으로 분획하였다. GL-0으로부터 분획된 3개 획분의 항응고 활성을 측정된 결과(Fig. 3) GL-0이 250 μ g/ml의 농도에서 164.5초의 항응고 활성을 가지고 있는 반면 GL-I(precipitate of 50% EtOH conc.)은 동일 농도에서 173.5초, GL-II(supernatant of 50%

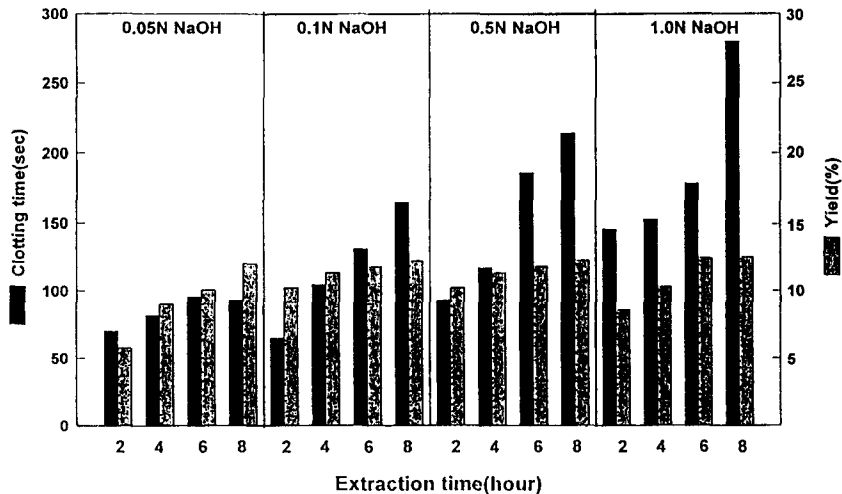
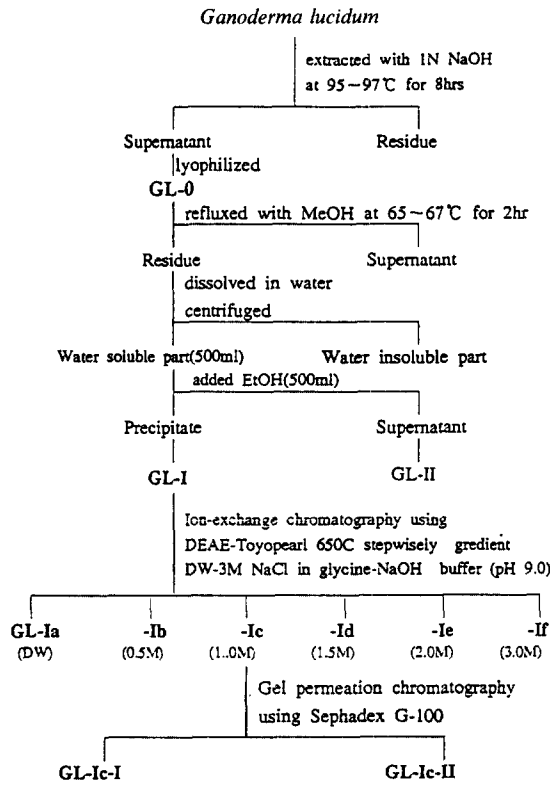


Fig. 1. Effect of alkali concentration and extraction time on anticoagulant activity. The clotting time of each sample(1,000 μ g/ml) was examined through the aPTT and control time was 45sec.



Ganoderma lucidum

Fig. 2. Isolation and separation procedure of crude polysaccharide fraction from *Ganoderma lucidum*.

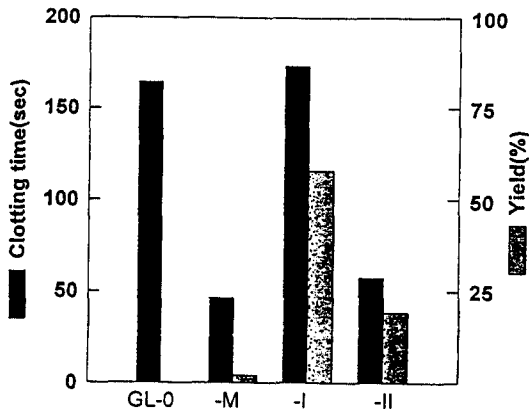


Fig. 3. Anticoagulant activities and yields of separated fractions by ethanol addition from *Ganoderma lucidum*. The clotting time of each sample (250µg/ml) was examined through the aPTT and control time was 45sec.

EtOH conc.)는 동일 농도에서 57.5초의 활성을 나타냈으며 GL-M(methanol soluble fraction)은 거의 활성을 나타내지 않았다. GL-I은 GL-0에 비해 110%의 항응고 활성을 나타냈으며 수율 또한 59.92%였다. 따라서 영지버섯으로부터 추출한 항응고성 물질은 비교적 극성과 분자량이 큰 물질임을 추정할 수 있었다.

3. 항응고 활성의 본체 확인

최근 식물 기원 항응고성 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있고 활성의 본체는 다당체라고 보고되고 있으며²⁴⁾ 또한 거머리 등에서 추출, 정제된 강력한 thrombin inhibitor는 약 68~70개의 아미노산으로 이루어졌다고 보고되었다⁷⁾. GL-I 확분에는 당 및 단백질 함량이 거의 1:1로 항응고 활성 본체를 파악하기 위하여 pronase 처리에 의한 단백질 분해와 periodate를 이용하여 당 부위를 선택적으로 분해한 결과 pronase를 처리한 GL-I에서는 활성이 유지된 반면 periodate 산화물은 활성이 GL-I에 비해 54%로 감소되었다(Fig. 4). 따라서 영지버섯 추출물의 항응고 활성 또한 기존에 보고되고 있는 식물기원 항응고성 물질처럼 항응고 활성이 다당에 기인함을 알 수 있었다.

4. 항응고 활성 다당의 정제

영지버섯으로부터 추출한 항응고 조다당 GL-I 확분을 DEAE-Toyopearl 650C(Cl-form)을 이용하여 이

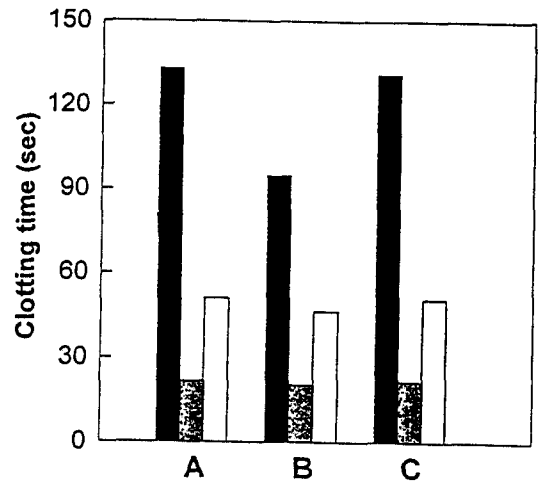


Fig. 4. Anticoagulant activity of periodate oxidated and pronase digested GL-I. A : GL-I(250µg/ml), B : periodate oxidated GL-I(250µg/ml), C : pronase digested GL-I(250µg/ml). ■: aPTT, ▨: PT, □: TT.

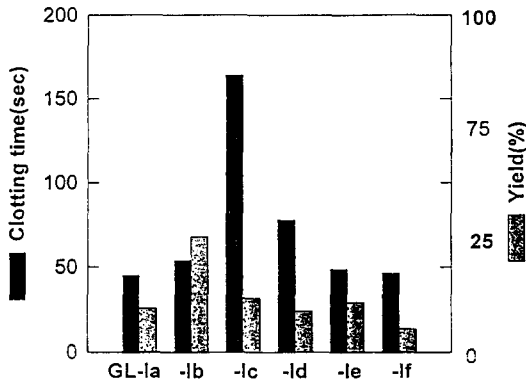
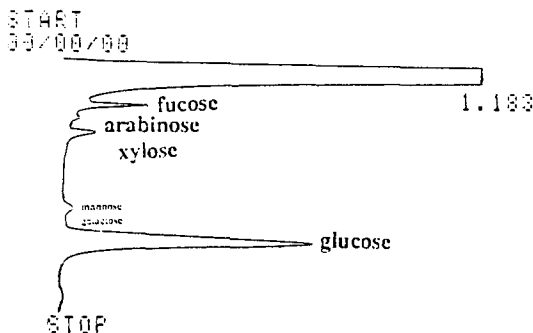


Fig. 5. Anticoagulant activities and yields of separated fractions by DEAE-Toyopearl 650C of GL-I from *Ganoderma lucidum*. The clotting time of each fraction (250µg/ml) was examined through the aPTT and control time was 45sec.

Table 3. Purification outline of the anticoagulant polysaccharide and GLC pattern of sugar composition of GL-I-III from *Ganoderma lucidum*

Composition	Fraction	GLC		
		GL-0	GL-I	GL-I-III
Protein		46.1	41.0	18.6
Total sugar		46.3	49.8	14.4
Uronic acid		10.8	11.0	4.0
Sugar composition (molar ratio)				
Fucose		1.27	2.29	1.84
Arabinose		0.35	0.29	0.22
Xylose		1.03	1.31	0.78
Mannose		1.00	1.0	1.00
Galactose		0.48	3.03	0.43
Glucose		6.71	19.26	22.6



은고크로마토그래피를 실시한 결과 증류수에 용해된 NaCl의 농도구배에서는 3.0M NaCl에서 용출된 획분이 가장 높은 활성을 보였으나(결과 생략) 0.2M gly-

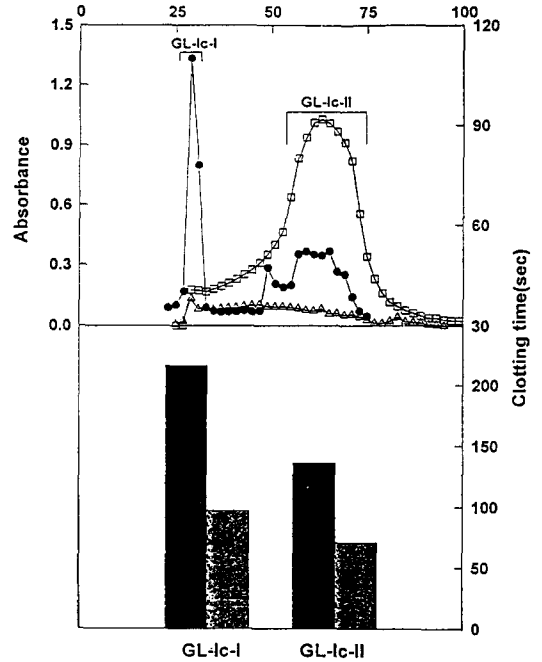


Fig. 6. Sephadex G-100 chromatography of GL-Ic and anticoagulant activities of its subfractions. ●-● : anticoagulant activity, △-△ : total sugar(490nm), □-□ : protein(280nm). The clotting time of each fraction was examined through the aPTT and control time 45sec, respectively. ■ : 250µg/ml, ▨ : 125µg/ml.

cine-NaOH buffer(pH 9.0)에 용해한 NaCl의 농도구배에서는 1.0M 농도에서 용출된 획분(GL-Ic)이 가장 활성이 높았다(Fig. 5). GL-Ic는 GL-I 획분에 비해 산성당 함량은 감소하였으며 구성당에서는 glucose 몰 비율이 증가하였음을 알 수 있었다(Table 3). GL-Ic 획분을 Sephadex G-100을 이용하여 2개의 획분으로 분획한 결과 void volume에서 용출된 GL-Ic-I은 250µg/ml의 농도에서 215.9초로 GL-Ic에 비해 136%의 항응고 활성을 나타냈으며 GL-Ic-II는 동일 농도에서 131.6초로 83%의 항응고 활성을 나타내었다. 비록 GL-Ic-II 획분은 활성이 GL-Ic-I에 비해 조금 낮지만 비교적 분자량이 낮은 물질로 추정되며 이는 고분자량 항응고 물질의 단점⁵⁾을 극복할 수 있을 것으로 사료되므로 따라서 이후 GL-Ic-I과 GL-Ic-II 모두 정제도 확인, 분자량 파악, 활성기작 및 구조적 차이에 대해 연구할 계획이다.

요 약

식용버섯을 대상으로 항응고 활성을 검색한 결과 영지버섯 알칼리 추출물이 가장 높은 활성을 보였다. 영지버섯으로부터 추출한 조다당 획분인 GL-I은 1N NaOH로 8시간 추출물(GL-0)을 methanol 환류, 에탄올 침전을 거쳐 투석, 동결건조하여 조제하였다. GL-I 획분은 periodate 산화에 의해서는 활성이 크게 변하지만 pronase 소화시 활성의 변화가 거의 없는 것으로 보아 항응고 활성의 본체는 주로 당과 관계되는 것으로 추정된다. GL-I의 구성당은 glucose:galactose:xylose:mannose:arabinose가 19.3 : 3.0 : 2.3 : 1.3 : 1.0 : 0.3의 molar ratio로 구성되어 있다. GL-I 획분을 DEAE-Toyopearl 650C(GL-Ia→If)와 Sephadex G-100(GL-Ic-I→GL-Ic-II)을 이용하여 부분 정제하였다.

감사의 글

본 연구는 1996년 한국학술진흥재단의 자유 공모 과제 연구비에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- National Statistical Office Republic of Korea, Korea Statistical Yearbook(1995).
- 김용택 : 청국장에서 분리한 *Bacillus* sp.가 생산하는 혈전 용해소의 특성에 관한 연구, 세종대학교 박사학위 논문 (1995).
- Craog, M.J. : Blood coagulation. *Ann. Rev. Biochem.*, **49**, 765 (1980).
- Kennrth, G., Mann, R.J.J. and Krishnaswamy, S. : Cofactor proteins the assembly and expression of blood clotting enzyme complexes. *Ann. Rev. Biochem.*, **57**, 915 (1988).
- Jack, H. and Valentin, F. : Guide to anticoagulation therapy part I. Heparin. *Circulation*, **89**, 520 (1994).
- 이상권, 손정훈, 최의성, 이상기 : 한국산 거머리로부터 항혈전단백질의 검색과 분리 정제, *한국생화학회지*, **26**, 3 (1993).
- Irving, F., Adrian, D., Peter, L., Jane, E., Kathleen, F., Elizabeth, L., Don, H., Tim, M., and John, M. : Anticoagulant activity of Hirulog™, a direct thrombin inhibitor, in humans. *Blood Coagul. Fibro.*, **69**, 157 (1993).
- Reider, W. : Vitamin K antagonism of coumarin anticoagulation. *Biochem. J.*, **236**, 685 (1986).
- Dzung, T., Robert, T., Weitert, B. K., Savilla, K. J. and Samnel, I. R. : The international normalized ratio (INR) for monitoring warfarin therapy. Reliability and relation to other monitoring methods. *Ann. Inter. Med.*, **120**, 552 (1994).
- Rashmi, S., Dinesh, K. : Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry*, **28**, 11, 2877 (1989).
- Q. Y. Yang and S. C. Jong : Medical mushroom in China, Mushroom science Ⅲ(Part I) Proceeding of the twelfth international congress on the science and cultivation of edible fungi. Braunschweig, Germany(FRG) (1987).
- H. X. Wang, W. K. Liu, T. B. Ng, V. E. C. Ooi, and S. T. Chang : Immunomodulatory and antitumor activity of a polysaccharide-peptide complex from a mycelia culture of *Trichoroma* sp., a local edible mushroom. *Life Science* **57**, 3, 269 (1995).
- 이준우, 정훈, 정천희, 이권행 : 영지 균사체의 추출물이 보체계와 망내계에 미치는 영향. *Kor. J. Mycol.*, **18**, 3, 137 (1990).
- Yearul K., Shuichi K., and Tsutomu T. : Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **34**, 433 (1988).
- 이인경, 송경식, 김찬진, 김환목, 오구택, 유익동 : 구지 봉나무로부터 분리한 flavonoid계 화합물의 암세포성장 저해 및 항산화 활성. *한국농화학회지*, **37**, 2, 105 (1994).
- Hikono, H., M. Ishiyama Y., Suzuki and C. Konno : Mechanism of Hypoglycemic activity of *Ganoderma* B. A glycan of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Medica.*, **55**, 423 (1989).
- Michinori K., Hideaki M., Mari N., Shigeru A. and Takeshi T. : Studies *Ganoderma lucidum*. IV. Effects on the disseminated intravascular coagulation. *Yakugaku zasshi*, **103**, 8, 871 (1983).
- Dubois, M., K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Sonisth, F. : Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956).
- Blumenkronz, N., and Asboe-Hansen, G. : New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.*, **54**, 484 (1973).
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, L., and Rindall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 256 (1951).
- Jones, T. M., and Albersheim, P. O. : A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharides. *Plant Physiol.*, **49**, 926 (1972).
- 김영주 외 : 혈액학 실습, 295, 고려의학, 서울 (1993).
- Haruki Y., Xiao-Bo S., Tsukasa M., Kyong-Soo R., Masumi H., and Hiroaki K. : Purification of anti-ulcer polysaccharides from the roots *Bupleurum falcatum*. *Planta Med.* **57**(1991).
- Takashi, N., Yuuzou, T. and Terukazu, N. : Isolation and partial characterization of a novel β -D-galactan sulfate from the brown seaweed *Laminaria angustata* var. *longissima*. *Carbohydrate Polymers*, **23**, 165(1994).