

짚레 영지버섯(*Phellinus ribis*) 추출물의 생리활성

송재환 · 이현숙 · 황진국 · 정태영 · 홍성렬 · 박기문*
성균관대학교 생명공학부

Physiological Activities of *Phellinus ribis* Extracts

Jae-Hwan Song, Hyun-Sook Lee, Jin-Kook Hwang, Tae-Young Chung,
Sung-Ryul Hong and Ki-Moon Park*

Faculty of Life Science and Technology, Sungkyunkwan University

Physiological activities of 40% ethanol extracts of *Phellinus ribis* were studied by employing several biological and biochemical assays. The extracts of *Phellinus ribis* displayed nitrate-scavenging activities (NSA) at pH 1.2 as with 64% NSA with 1.0 mg/mL of the extracts. They also had 91% 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities at the concentration of 1.0 mg/mL. Antioxidant activities of the extracts (at 0.5 mg/mL) on the autoxidation of linoleic acid ($p < 0.001$) were also observed. The inhibitory effect of the extracts on angiotensin converting enzyme was 11%. Cytotoxic effects of *Phellinus ribis* extracts against human cancer cell lines were also examined using MTT assay. The extracts (at 50 mg/mL) had severe growth inhibitory effects on A549, Hela, AGS, and SK-Hep-1, which were 8, 44, 76 and 42%, respectively. Ames test indicated that the extracts had no mutagenic effects on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

Key words: *Phellinus ribis*, antioxidant activity, radical scavenging activity, mutagenesis, cytotoxicity

서 론

현대사회는 심각한 환경오염과 스트레스, 그리고 산업화에 따른 식품원료의 오염 및 가공식품에 의한 식생활 패턴의 변화 등으로 인하여 암을 비롯한 순환기계 질병 등 각종 생활 습관병의 발생 위험이 증가하고 있으며 이와 같은 질병을 예방하기 위한 생리활성 물질의 탐색 연구가 진행되고 있다. 식용 가능한 천연물에는 돌연변이 억제 및 항산화, 항염증, 항고혈압, 콜레스테롤 및 혈청 지질 저하, 면역부활 물질 등 다양한 생리활성물질이 함유되어 있다^(1,2). 천연물 중 생약재를 포함한 herb류가 가장 많이 연구되고 있으며, 버섯류도 향미 및 영양성분 이외에 항암활성 및 면역증강 효과, 항산화효과 등의 약리작용 때문에 최근에는 건강식품 및 의약품 소재로 널리 이용되고 있다. 예를 들면, *Schizophyllum commune*에서 추출한 단백질 다당체가 항암성 면역증강제로 사용되고 있으며 이러한 효과는 종양세포에 대하여 직접 작용하여 항암효과를 나타내는 것보다, 면역계의 host mediated 면역반응에 관여하여 면역기능을 회복시켜주며, 생체 내에서

감염방어 등의 기능을 나타내는 보체계를 활성화시킨다고 알려져 있다⁽³⁻⁵⁾. 또한, *Tricholoma lobayense*로부터 추출한 단백질 다당체도 T-cell 분열촉진과 복강 침출세포의 식균작용 회복, TNF- α 증가 등에 따른 면역활성 증가 및 cytotoxicity를 나타냈으며, *Phellinus linteus*과 *Coriolus versicolor* 등으로부터 추출한 다당체는 natural killer cell과 macrophage를 활성화시켜 면역활성을 증가시키고 종양세포에 대하여 독성을 나타내는 것으로 알려져 있다⁽⁶⁻⁸⁾. 그 외에 *Coriolus versicolor*로부터 추출한 단백질 다당체의 경우 *in vitro*에서 recombinant HIV-1 reverse transcriptase의 저해활성도 보고되었다⁽⁹⁾. 노화와 관련되어 superoxide와 hydroxyl radical 등의 활성산소에 의해 발생하는 DNA 손상 및 암, 당뇨, 간경화증, 심혈관 질환 등을 감소시킬 수 있는 버섯류의 항산화활성은 *Lentinus edodes*⁽¹⁰⁾ 및 *Dictyophora indusiata*⁽¹¹⁾, *Pleurotus ostreatus*⁽¹²⁾의 경우 추출물의 polyphenol 함량에 따라 free radical 제거 활성, reducing power, ferrous ions의 chelating effects 등이 농도 의존적으로 증가하고, *Coriolus versicolor* 등 8종의 버섯⁽¹³⁾ 및 *Grifola frondosa*⁽¹⁴⁾으로부터 추출한 단백질 다당체에 대한 free radical 제거활성도 보고되었다. 그밖에 *Grifola frondosa*의 자실체 추출물에 고혈압에 관련된 angiotensin I-converting enzyme 저해활성이 존재함을 확인하였다⁽¹⁵⁾.

본 논문에서는 국내에서 약용으로 채집되어 관절염 및 암 등의 질병에 일부 사용하고 있으나 그 활성이 전혀 밝혀지지 않은 *Phellinus ribis*(짚레 영지버섯) 자실체 추출물의 생

*Corresponding author : Ki-Moon Park, Faculty of Life Science and Technology, Sungkyunkwan University, 300 Chunchun-dong, Janggan-gu, Suwon, Kyunggi-do 440-746, Korea
Tel: 82-31-290-7806
Fax: 82-31-290-7816
E-mail: kimoon@skku.ac.kr

리활성을 확인하고자 항산화 활성 및 세포독성, 돌연변이원성, angiotensin converting enzyme 저해에 의한 항 고혈압성 등을 확인하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험에 사용한 버섯은 식용으로 사용하지는 않고 있으나 약용효과가 있는 것으로 알려진 *Phellinus ribis*(절레 영지버섯, 충청도산)를 건조하여 사용하였다. 추출물의 제조는 자실체 100 g를 조 분쇄한 후 20배의 40% 에틸알코올을 첨가하여 40°C에서 48시간 환류 추출하고 여과 후 50°C에서 100 g으로 감압 농축하였다. 농축 시료는 0.22 µm membrane filter (Adventec MFS, Inc., No. 25)로 제공하여 -20°C 이하에서 보관하면서 사용하였다.

항산화활성

Nitrite 제거활성: Kato 등⁽¹⁶⁾의 방법에 따라 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 시료용액 0.6 mL를 첨가하고 0.1 N HCl를 사용하여, pH 1.2로 조정한 후 10 mL로 하였다. 37°C에서 1시간 반응시킨 반응액을 1 mL씩 취하고 2% acetic acid 5 mL, 30% acetic acid로 제조한 Griess시약 0.4 mL를 가하여 혼합 후 상온에서 15분 반응시킨 다음 520 nm에서 분광광도계 (Phamacia Biotech, Ultrospec 1000, Cambridge, England)로 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Nitrite scavenging activity (\%)} = 1 - \left(\frac{A - B}{B} \right) \times 100$$

- A: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료용액을 첨가하여 1시간 방치 후의 흡광도
- B: 1 mM NaNO₂ 용액의 흡광도
- C: 시료 자체의 흡광도

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical의 제거활성: Chu 등⁽¹⁷⁾의 방법에 따라 절레버섯 추출물의 농도별 희석용액 0.2 mL에 4 × 10⁻⁴ M DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 0.8 mL를 가하여 10초간 혼합하고, 상온에서 10분간 방치 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{DPPH radicals scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 흡광도}}{\text{대조군 흡광도}} \right) \times 100$$

Linoleic acid 자동산화 억제활성: Kiharu 등⁽¹⁸⁾의 방법을 변형하여 99.5% ethanol 2 mL 및 ethanol로 희석한 2.5% linoleic acid 2.05 mL 1시간 이상 aeration시킨 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 4 mL에 처리농도 별로 시료 일정량을 첨가한 후 증류수를 첨가하여 10 mL로 조정하였으며, 70°C 암소에서 24시간 동안 반응시켰다. 그리고, 3시간 간격으로 반응액 0.1 mL를 취하여 75% ethanol 9.7 mL를 넣고, 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL 및 3.5% HCl · 0.02 M ferrous chloride 혼합용액 0.1 mL를 차례로 첨가하여 상온에서 3분간 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성: Cuvette에 시료용액 50~150 µL를 첨가하고, 5 mM xanthine (Sigma, x-7375) 5 µL, 10 mM EDTA 5 µL, 2 mM nitroblue tetrazolium 5 µL, 50 mM phosphate buffer(pH7.8) 430 µL, xanthine oxidase(50 unit) 5 µL를 첨가하여 500 µL로 조정한 후 560 nm에서 60초간 흡광도 변화를 측정하였다. 그리고 control O.D 값에 시료용액에 의한 O.D값을 나눈 수치를 R값으로 하여 R이 1.6~2.4가 되도록 시료량 및 농도를 조절하였다⁽¹⁹⁾.

$$\text{SOD like activity (unit/g)} =$$

$$\left(\frac{1}{R \text{이 2일때의 sample 량 (mL)}} \right) \times \text{희석배수} \times 1000$$

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성

Cushman과 Cheung⁽²⁰⁾의 방법에 따라 0.3 M NaCl · 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)로 용해한 12.5 mM HHL(Hip-Hip-Leu, Sigma 4884) 기질 100 µL에 시료 5 µL를 첨가하고 sodium borate buffer 45 µL를 가한 후 37°C에서 5분간 반응시켰다. 반응 후 rabbit lung acetone powder(Sigma L0756)로 제조한 ACE 150 µL를 가하고 다시 37°C, 1시간 반응시킨 다음 0.5 N HCl 250 µL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 이 용액에 ethyl acetate 1.5 mL를 넣고 1분간 혼합한 후 상온에서 1,000 × g로 10분간 원심분리하여 상등액 1 mL를 취하고 140°C에서 20분간 건조시켜 1 M NaCl 3 mL를 가하여 용해시킨 후 228 nm에서 흡광도를 측정하는 통상법으로 측정하였다.

$$\text{ACE inhibitory activity (\%)} = \left(\frac{E_c - E_s}{E_c - E_b} \right) \times 100$$

- Ec: 시료대신 증류수를 넣었을 때의 흡광도
- Es: 시료첨가시의 흡광도
- Eb: 반응 정지 후 시료 첨가한 것의 흡광도

세포독성

인체 암세포 A549(lung carcinoma; KCLB 10185), HeLa (cervix uterine denocarcinoma; KCLB 10002), AGS(stomach adenocarcinoma; KCLB 21739), SK-Hep-1(liver adenocarcinoma; KCLB 30052)를 한국 세포주은행(KCLB)에서 분양받아 10% fetal bovine serum(FBS) 와 1% penicillin 및 streptomycin이 포함된 RPMI-1640에서 배양하였다. 버섯추출물의 cytotoxicity는 Carmichael 등⁽²¹⁾의 방법에 따라 MTT assay로 실험하였다. 즉, 5 × 10⁴ cell/well 농도로 96 well plate에 분주 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 16시간 배양 후, 전 배양에 사용된 배지를 제거하고 배지 180 µL와 버섯추출물 20 µL를 첨가하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 완료 후 배지를 제거하고 0.5 mg/mL 농도의 MTT시약을 well 당 200 µL씩 분주한 다음 4시간 후 MTT 시약이 포함된 배지를 제거하고, dimethyl sulfoxide 100 µL를 가한 후 Sorenson's buffer(0.1 M NaCl · 0.1 M glycine, pH 10.5) 20 µL를 처리하여 상온에서 5분간 발색시키고 ELISA microplate reader(Bio-tec, ELx800, USA)를 이용, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Cytotoxicity}(\%) = \left(\frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \right) \times 100$$

돌연변이원성

Maron과 Ames의 방법⁽²²⁾에 따라 시료의 농도 증가에 따른 *Salmonella typhimurium* TA98(KCTC 2053) 및 TA100(KCTC 2054)의 돌연변이원성을 알아보기 위하여 멸균된 micro tube에 시료를 2.5, 5.0, 10.0 µL씩 넣은 후 S9 mix 500 µL, 균주 100 µL를 첨가하고 37°C water bath에서 20분간 전 처리하였다. 처리 후 0.5 mM histidine · biotin이 포함된 top agar 2 mL에 첨가하고 minimal glucose agar plates에 중층하여 37°C에서 48시간 배양 후 revertant colony 수가 spontaneous colony의 수보다 2배 이상이면 돌연변이성이 있는 것으로 하였다.

결과 및 고찰

항산화활성

Nitrite 제거활성: Nitrosamine 생성 원인물질인 nitrite 제거 활성을 확인한 결과 다음의 Fig. 1과 같이 pH 1.2 조건하에서 반응시킨 경우, 쥘레 영지버섯 추출물 0.1 mg/mL 이하 농도에서는 16~22% 정도의 nitrite 제거활성을 나타냈으며, 0.5 mg/mL에서는 42.8±1.8%, 그리고 1 mg/mL 처리 시 64.0±1.6%를 보여 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타냈다. 항산화제로 식품에 사용되고 있는 vitamin C(Vit. C) 및 vitamin E(Vit. E)와 합성 항산화제인 butylated hydroxytoluene (BHT)을 대조군으로 0.1 mg/mL 농도로 첨가하여 nitrite 제거활성을 측정할 결과 각각 99.2±0.3, 67.2±1.6, 98.4±0.1%로 동일 농도에서 시료활성인 22.0±2.2%는 상대적으로 낮은 활성임을 알 수 있었다. 그러나, 대조군으로 사용된 정제 물질과는 달리 녹차 및 솔잎, 팽이버섯, 마늘 등의 식물 추출물⁽²³⁾의 경우에도 처리농도 10 mg/mL에서 nitrite 제거활성(pH 1.2)이 20~100% 수준으로, 본 실험에 사용한 쥘레 영지버섯 추출물의 1 mg/mL 농도에서 64%의 nitrite 제거활성은 높은 수준의 활성을 보인 것으로 판단된다. Gray 등⁽²⁴⁾이 보고한 것

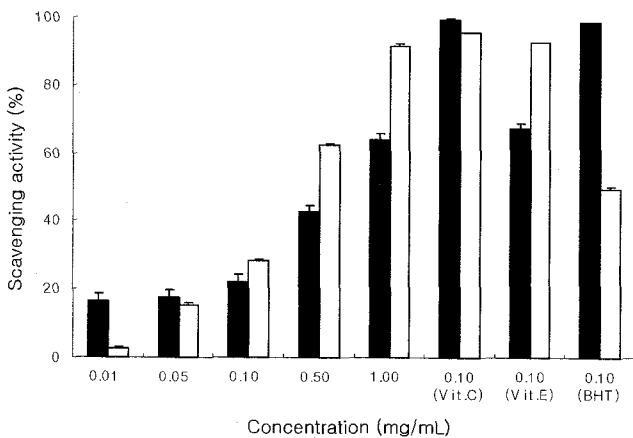


Fig. 1. Scavenging activity of nitrite (pH 1.2, ■) and DPPH radicals (□) of 40% ethanol extracts of *Phellinus ribis*. The values are mean ± standard deviation of 4 replications.

과 같이 nitrite는 아민류와 반응하여 발암물질인 nitrosoamine을 형성하는 과정이 pH가 낮을수록 반응속도가 빨라지기 때문에 pH 1.2에서 nitrite 제거활성을 나타낸 쥘레 영지버섯 추출물의 경우 *in vivo*에서도 nitrite 제거 효과가 기대된다.

DPPH radicals 제거활성: 처리농도가 증가하면서 0.1 mg/mL에서는 28.1±0.5%, 0.50 mg/mL에서는 62.5±0.3%, 그리고 1 mg/mL 처리 시 91.3±0.8%의 높은 DPPH radical 제거 활성을 나타냈으며, 농도 의존적으로 증가 하였다(Fig. 1). Radicals 제거활성 역시 항산화 활성과 관련되었기 때문에 식품에 항산화제로 사용되고 있는 Vit. C 및 Vit. E, BHT의 제거활성을 0.1 mg/mL 수준에서 측정할 결과 95.4±0.0, 92.6±0.0, 49.6±0.7%로 동일 농도의 쥘레 영지버섯 추출물의 28.1±0.5%보다 강한 활성을 나타내었다. Cheung 등⁽¹⁰⁾이 보고한 *Lentinus edodes*의 경우 물 추출물에서 5 mg/mL 첨가 시 DPPH의 radical 제거 활성이 94.9%로 나타나 쥘레 영지버섯 추출물의 1 mg/mL에서의 결과와 유사하였다. 이와 같은 radicals 제거활성은 Kang 등⁽²⁵⁾이 보고한 버섯 자실체 추출물 내에 존재하는 flavonoids 및 기타 phenolic 물질에 의한 작용으로 산화성 생물활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 효과가 쥘레 영지버섯에도 존재함을 확인할 수 있었다.

Linoleic acid 자동산화 억제활성: Linoleic acid의 자동산화에 미치는 영향은 0.1 mg/mL의 시료 첨가 시 p<0.05 수준에서, 그리고 0.5 및 1.0 mg/mL에서는 p<0.001 수준에서 유의성 있게 산화 억제활성이 나타났다(Fig. 2). 즉, 쥘레 영지버섯 추출물 0.5와 1.0 mg/mL를 첨가한 linoleic acid 용액의 70°C, 24시간 반응 후 O.D. 값은 각각 0.072±0.007, 0.096±0.001로 천연 항산화제인 vit. E와 합성 항산화제인 BHT와 유사한 항산화력을 보여주었다. 이러한 linoleic acid의 자동산화 억제 활성 역시 추출물 내에 존재하는 polyphenol류의

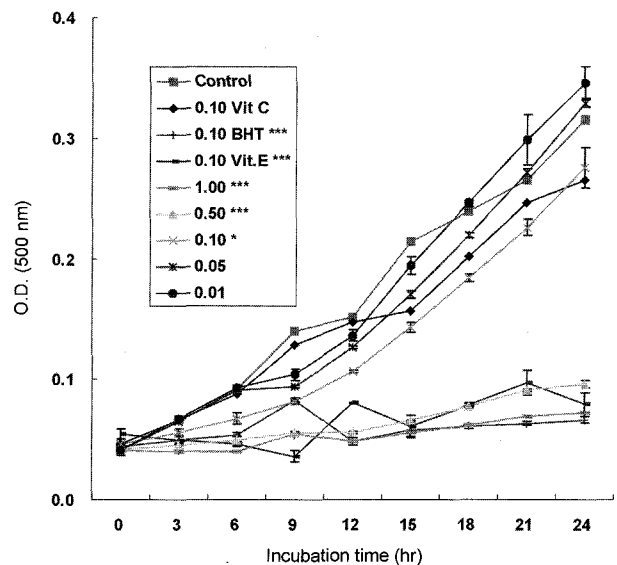


Fig. 2. Antioxidant effects of 40% ethanol extracts (mg/mL) of *Phellinus ribis* on the autoxidation rate of the linoleic acid store at 70°C.

The values are mean ± standard deviation of 4 replications. Significantly different from control at *p<0.05 and ***p<0.001 by Student's t-test.

Table 1. Superoxide dismutase like activity and angiotensin converting enzyme inhibition rate of 40% ethanol extracts of *Phellinus ribis*¹⁾

Attribute	<i>Phellinus ribis</i> extracts
SOD like activity	530 ± 81 unit/g
ACE inhibition rate	12.0 ± 1.5%

¹⁾Value is expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements.

작용으로 판단된다. 그러나, 0.1 mg/mL 이하의 저 농도에서는 반응 12시간 이 후 급격히 산화가 일어나기 시작하여 항산화제 보다는 항산화의 synergic 효과를 가진 물질인 vit. C 와 동등 수준의 약한 항산화력을 나타냈으며, 0.01 mg/mL 에서는 항산화 효과가 거의 나타나지 않았다.

SOD 유사활성: 절레 영지버섯 추출물의 SOD 유사활성은 530 ± 81 unit/g으로 나타났다(Table 1). SOD는 superoxide를 정상상태의 산소로 환원시킴으로써 superoxide가 관여하는 각종 질병이나 노화를 억제할 수 있는 효소이며, 이와 유사한 작용을 하는 SOD 유사활성물질은 저분자 물질로 주로 phytochemical에 속하는 물질이다. Park 등⁽²⁶⁾은 *Armillariella mellea*(뽕나무버섯) 및 *Daedalea dickinsii*(테미로버섯), *Fomitella fraxinea*(아카시목재버섯)의 추출물에 의하여 SOD 활성이 증가한다고 하였으며, Lee 등⁽¹⁴⁾도 면역활성을 증가시키는 버섯 추출물의 단백 다당체 역시 항산화활성을 가지고 있기 때문에 절레 영지버섯 추출물 역시 polyphenol 성분과 단백 다당체 등에 의해 SOD 유사활성이 나타난 것으로 판단된다. 일반적으로 버섯 추출물은 항산화의 SOD 유사활성 g당 10³~10⁴ unit보다는 낮은 SOD 유사활성을 나타내었다⁽²⁷⁾.

ACE 저해활성

절레 영지버섯 추출물의 ACE저해 활성은 Table 1과 같이 12.0 ± 1.5%로 나타났다. 버섯류를 이용한 ACE 저해활성은 Choi 등⁽¹⁵⁾이 *Grifola frondosa* 등 10종의 자실체를 사용하여 추출 용매에 따라 ACE 저해활성을 측정 한 결과 *Grifola frondosa*의 cold water추출물이 58.7%의 저해활성을 나타냈으며, ACE 저해활성을 나타내는 물질은 주로 저분자의 peptide 물질로 hexapeptide로 구성되어 있음을 확인하였다. 절레 영지버섯 추출물의 경우 ACE 저해활성은 기존에 밝혀진 Youm 등⁽²⁸⁾이 보고한 고등어 근육단백질이나 Chung 등⁽²⁹⁾이 보고한 고추의 52%에 비해 저해활성이 높지 않음을 알 수 있었다.

세포독성

Human 유래 암세포에 대한 절레 영지버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과는 다음과 같다(Fig. 3). 즉, 폐암세포주인 A549의 경우 시료 처리농도에 비례하여 세포증식이 억제하는 경향을 보이나 100 mg/mL 농도에서도 16%로 매우 낮게 나타나 폐암세포에 대한 증식 억제 효과가 거의 없는 것으로 나타났다. 자궁암 세포주인 HeLa의 경우 5 mg/mL 이하의 농도에서는 억제율이 16% 이하로 낮았으나, 50 mg/mL에서는 45%로 증가하였고 100 mg/mL의 농도 처리 시에는 오히려 증식 억제율이 50 mg/mL보다 감소하였다. 위암 세포주인 AGS의 경우 0.1 mg/mL 이하의 농도에서는 약 3%의 증

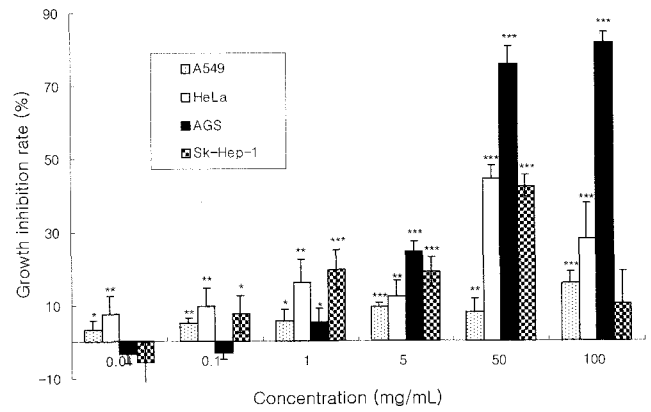


Fig. 3. Dose-response effects of 40% ethanol extracts of *Phellinus ribis* on the cytotoxicity of human cells. The values are mean ± standard deviation of 6 replications. Significantly different from control at *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 by Student's t-test.

식 촉진을 보였으며, 1 mg/mL 이상에서는 농도에 비례하여 증식이 억제되어 5 mg/mL에서는 24%, 50 mg/mL에서는 76% 까지 세포증식을 억제하였다. 간암 세포주인 SK-Hep-1에 대한 세포독성은 자궁암 세포주인 HeLa에서 보였던 절레버섯의 증식 억제 경향과 비슷하게 0.01 mg/mL 처리 시에는 5% 정도 증식을 촉진하였으나 0.1~5 mg/mL의 농도에서는 20%의 증식 억제를 50 mg/mL에서 42%의 증식 억제를 나타냈다. 영지버섯의 새로운 약효성분의 개발에 관한 연구⁽³⁰⁾에서 간암세포 Sk-Hep-1에 대한 MTT assay 결과 100 µg/mL의 농도에서 중성분확인 콜로로포름층이 세포 증식억제효과가 90.4%로 가장 높다고 보고하였으나 본 실험에서는 절레 영지버섯 추출물의 처리 농도가 5 mg/mL 이상으로 처리해도 인체 암세포에 대한 세포독성이 약한 것은 농축하지 않은 시료를 사용하여 실험하였고, 특정 성분을 추출하지 않았기 때문에 나타난 결과이다. 따라서, 절레 영지버섯 추출물을 50 mg/mL 농도로 첨가 시 약 50% 이상의 세포독성을 나타낸 HeLa 및 AGS, SK-Hep-1의 경우 특정 성분을 추출, 정제하여 좀더 상세한 연구를 진행해야 할 것으로 판단된다.

돌연변이원성

절레 영지버섯의 *Salmonella typhimurium* TA98에 대한 절레버섯의 돌연변이원성은 자연복귀 집락의 수가 54.3 ± 2.6인데 비해 절레 영지버섯 추출물의 처리 농도가 증가하여도 histidine positive revertant colony의 수가 2.5 및 5.0, 10.0 µg/plate 처리 시 각각 33.3 ± 6.8, 36.3 ± 6.9, 45.5 ± 0.9로 자연복귀 집락의 수보다 유의차 있게 감소하여 돌연변이성이 없고 일부 돌연변이를 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 4). *Salmonella typhimurium* TA100의 경우 자연복귀 집락의 수가 48.5 ± 9.7이고, 절레 영지버섯 추출물 2.5 및 5.0, 10.0 µg/plate 처리 시 각각 54.0 ± 14.8, 48.0 ± 1.6, 45.3 ± 1.8로 자연복귀 집락보다 2.5 µg/plate 처리에만 histidine positive revertant colony 수가 높았으나 자연복귀 집락의 수의 2배 이상 증가하지 않았고, 5.0 및 10.0 µg/plate 처리했을 때는 자연복귀 집락보다 낮게 나타나 역시 돌연변이성이 없는 것으로 밝혀졌

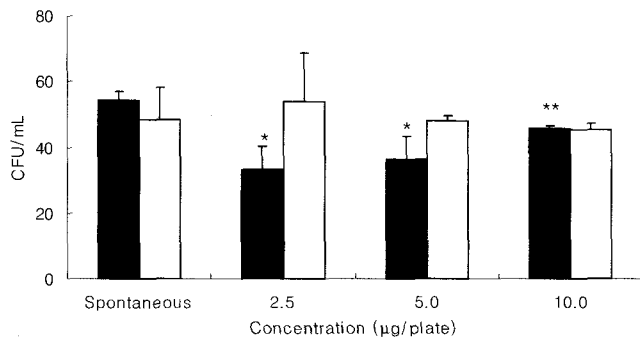


Fig. 4. Reverse mutation test of 40% ethanol extracts of *Phellinus ribis* in *Salmonella typhimurium* TA 98 (■) and TA 100 (□).

The values are mean \pm standard deviation of 4 replications. Significantly different from control at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ by Student's t-test.

다(Fig. 4). Bae 등⁽³¹⁾은 능이버섯 추출물을 이용하여 돌연변이원성 유무를 확인한 결과 시료자체에 의한 돌연변이원성은 존재하지 않다고 보고하였으나, Kim 등⁽³²⁾은 싸리버섯 수용성 추출물이 균주에 따라 돌연변이원성이 있음을 보고한 것처럼 버섯 종류에 따라 돌연변이원성에 차이가 있음을 알 수 있다. 따라서, 질레버섯 추출물은 *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100에 대해 돌연변이 유발 위험성이 없는 것으로 밝혀졌다.

요 약

Phellinus ribis(질레 영지버섯)는 약용버섯으로 일부 항암 및 관절염 치료에 사용되고 있으나 그 활성이 전혀 알려지지 않아 1차적으로 40% ethanol 추출물의 생리활성을 확인하였다.

항산화 활성에 있어 nitrosamine의 원인물질인 nitrite 제거 활성은 pH 1.2에서 0.5 mg/mL 이하 농도에서는 50% 이하, 그리고 1 mg/mL 처리 시 $64.0 \pm 1.6\%$ 의 제거활성을 나타냈으며, 농도 의존적으로 증가하였다. DNA 손상 및 암, 당뇨, 간경화증, 심혈관질환 등의 원인물질에 관련하여 DPPH radicals의 제거활성은 0.5 mg/mL에서 $62.5 \pm 0.3\%$, 1 mg/mL 처리 시 $91.3 \pm 0.8\%$ 로 높게 나타났다. 2.5% linoleic acid의 자동산화에 미치는 항산화 활성을 측정된 결과 0.01 mg/mL 처리 시 $p < 0.05$ 수준에서, 0.5 및 1 mg/mL에서는 $p < 0.001$ 수준에서 유의성 있게 산화를 억제하였으며, superoxide dismutase 유사활성은 530 ± 81 unit/g으로 나타났다. 그리고, 항고혈압에 관련된 angiotensin converting enzyme 저해 활성은 $12.0 \pm 1.5\%$ 로 그 활성이 미약하였다. Human 유래 암세포에 대한 세포독성 실험결과 폐암세포인 A549의 경우 100 mg/mL 농도에서도 16%로 나타나 세포독성이 미약하였고, 자궁암 세포인 HeLa의 경우 50 mg/mL에서 45%의 효과를, 위암 세포인 AGS에서는 5 mg/mL 처리 시 24%, 50 mg/mL에서는 76%, 그리고 간암 세포주인 SK-Hep-1의 경우 50 mg/mL에서 42%의 세포독성을 나타내었다. *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100에 대한 돌연변이원성 시험결과 질레 영지버섯 추출물은 자연복귀 집락보다 histidine revertant colony 수가 2

배 이상 증가하지 않았고, 추출물의 첨가농도를 증가시켜도 histidine revertant colony 수가 증가하지 않아 돌연변이성이 없었다.

감사의 글

이 논문은 2001년도 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2001-005-G00005)에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Park, J.G., Hyun, J.W., Lim, K.H., Shin, J.E., Won, Y.J., Yi, Y.D., Shin, K.H., Chang, I.M. and Woo, W.S. Antineoplastic effects from traditional medicinal plants. *Korean J. Pharmacol.* 24: 223-230 (1993)
- Chung, K.S., Toon, K.D., Kwon, D.J., Hong, S.S. and Choi, S.Y. Cytotoxicity testing of fermented soybean products with various tumour cells using MTT assay. *Korean J. Appl. Microbiol.* 25: 477-482 (1997)
- Park, Y.D., Hong, Y.K., Whang, W.K., Huh, J.D., and Park, S. Comparisons of protein-bound polysaccharide contents obtained from mycelial cultured broth and fruit body of *Coriolus versicolor*. *Korean J. Mycol.* 17: 223-228 (1989)
- Maeda, Y. and Chihara, H. Lentinan, a new immunoaccelerator of cell mediated response. *Nature* 229: 634-639 (1971)
- Dennert, G. and Tucker, D. Antitumor polysaccharide lentinan a T cell adjuvant. *J. Natl. Cancer Inst.* 51: 1727-1735 (1973)
- Liu, F., Ooi, V.E.C., Liu, W.K. and Chang, S.T. Immunomodulation and antitumor activity of polysaccharide-protein complex from the culture filtrates of a local edible mushroom, *Tricholoma lobayense*. *Gen. Pharmac.* 27: 621-624 (1996)
- Kim, H.M., Han, S.B., Oh, G.T., Kim, Y.H., Hong, D.H. Hong, N.D. and Yoo, I.D. Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int. J. Immunopharmac.* 18: 295-303 (1996)
- Wang, H.X., Ng, T. B., Liu, W.K., Ooi, V.E.C. and Chang, S.T. Polysaccharide-peptide complexes from the cultured mycelia of the mushroom *Coriolus versicolor* and their culture medium activate mouse lymphocytes and macrophages. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 28: :601-607 (1996)
- Collins, R.A. and Ng, T.B. Polysaccharopeptide from *Coriolus versicolor* has potential for use against human immunodeficiency virus type I infection. *Life Sci.* 60: 383-387 (1977)
- Cheung, L.M., Cheung, P.C.K. and Ooi, V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 80: 1-7 (2003)
- Mau, J.L., Lin, H.C., and Song, S.F. Antioxidant properties of several speciality mushrooms. *Food Res. Int.* 35: 519-526 (2002)
- Yang, J.H., Lin, H.C. and Mau, J.L. Antioxidant properties of several commercial mushroom. *Food Chem.* 77: 229-235 (2002)
- Liu, F., Ooi, V.E.C. and Chang, S.T. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci.* 60: 763-771 (1997)
- Lee, B.C., Bae, J.T., Pyo, H.B., Choe, T.B., Kim, S.W., Hwang, H.J. and Yun, J.W. Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. *Enz. Microb. Technol.* 6274: 1-8 (2003)
- Choi, H.S., Cho, H.Y., Yang, H.C., Ra, K.S. and Suh, H.J. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Grifola frondosa*. *Food Res. Int.* 34: 177-182 (2001)
- Kato, H., Lee, I.E., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* 51: 1333-1338 (1987)
- Chu, Y.H., Chang, C.L. and Hsu, H.F. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant mushrooms (*Agricus*

- bisporus*). J. Sci. Food Agric. 80: 561-566 (2000)
18. Kiharu, I., Miho, I. and Toshimi, H. Major antioxidative substances in leaves of atsumi-kabu. Agric. Biol. Chem. 54: 1053-1055 (1990)
 19. Beaucham, C. and Fridovich, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal. Biochem. 44: 276-287 (1971)
 20. Cushman, D.W. and Cheung, H.S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol. 20: 1637-1648 (1971)
 21. Carmichael, J.W.G., DeGraff, A., Gazdar, J.M. and Mitchell, J.B. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay. Cancer Res. 47: 936-942 (1987)
 22. Maron, D.M. and Ames, B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutation Res. 113: 173-215 (1983)
 23. Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 626-632 (2001)
 24. Gray, J.I. and Dugan, J.R. Inhibition of N-nitrosamine in model food systems. J. Food Sci. 40: 981-984 (1975)
 25. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 232-239 (1996)
 26. Park, S.W., Yu, K.H. and Min, T.J. Antioxidant activities of extracts from fruiting bodies of mushrooms. Korean J. Mycol. 26: 69-77 (1998)
 27. Kim, J.H. and Park, K.M. Nitrite scavenging and superoxide dismutase like activities of herbs, spices and curries. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 706-712 (2000)
 28. Yeun, D.M., Lee, T.G., Byun, H.S., Kim, S.B., and Park, Y.H. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of mackerel muscle protein. Bull. Korean Fish. Soc. 23: 229-235 (1992)
 29. Chung, M.S., Jung, S.H., Lee, J.S. and Park, K.M. Physiological activities of commercial instant curry powders and individual spices. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 125-131 (2003)
 30. Bok, J.W., Lee, S.K. and Kim, B.K. Studies of development of new pharmacologically active components of *Ganoderma Lucidum*. Korean Biochem. J. 27: 149-153 (1994)
 31. Bae, J.T. and Lee, K.R. Antimutagenic and DNA topoisomerase I inhibition effects of *Sarcodon aspratus* extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 917-921 (2000)
 32. Kim, J.M. and Jung, Y.M. The mutagenicity of *Ramaria botrytis* extract. Korea J. Vet. Publ. Helth. 19: 191-197 (1995)
-
- (2003년 2월 25일 접수; 2003년 6월 12일 채택)