

차가버섯 분획물의 항돌연변이 활성 및 암세포 성장억제효과

함승시[†] · 오상화 · 김영균* · 신광순** · 장현유*** · 정국훈****

강원대학교 식품생명공학부, *국민대학교 임신공학과
경기대학교 식품생명공학과, *한국국립농업대학 버섯학과
****두산그룹 생명공학연구소합

Antimutagenic and Cytotoxic Effects of Ethanol Extract from the *Inonotus obliquus*

Seung-Shi Ham[†], Sang-Wha Oh, Young-Kyun Kim*, Kwang-Soon Shin**,
Hyun-You Chang*** and Guk-Hoon Chung****

School of Food Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

*College of Forest Science, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

**Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea

***Dept. of Mushroom Science, Korea National Agricultural College, Gyeonggi 445-890, Korea

****Biotec BU, Doosan Corporation, Gyeonggi 449-795, Korea

Abstract

This study was performed to determine the antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extract, ethylacetate fraction, water fraction and water soluble and insoluble polysaccharides I and II isolated from *Inonotus obliquus* using Ames test and SRB assay. Each sample itself did not show mutagenic effect. Among samples, the water insoluble polysaccharides II in the presence of 50 µg/plate showed the strongest antimutagenic effect with over 90% against MNNG, 4NQO, B(a)P and Trp-P-1. However, ethyl acetate fraction (1 mg/mL) which had 90.8%, 94.3% and 83.5% inhibitory effect against on MCF-7, A549, AGS showed the strong cytotoxic effect compared to other samples.

Key words: antimutagenicity, cytotoxicity, *Inonotus obliquus*

서 론

차가버섯(*Inonotus obliquus*)은 러시아와 일본 등 한랭한 곳의 자작나무에서 발견되지만, 때때로 오리나무, 마가목, 물푸레나무에서도 발견된다. 주산지인 러시아에서는 이미 1958년부터 차가버섯에 대한 연구가 시작되었다. 차가버섯은 뜨거운 물에 우려먹는 방법으로 일찍부터 이용되어 왔으며, Bulatov 등(1)은 차가버섯 우린 물이 항종양 활성을 나타낸다고 보고하였으며 Shivrina(2)는 이들 활성은 차가버섯에 함유되어있는 steroides 또는 aromatic polyphenol 화합물들이 관여한다고 보고하였다. 그 후에 차가버섯 중에는 lanosterol, inotodiol(3)과 betulinal(4)같은 triterpene 성분들이 풍부하고 그 밖의 다른 sterol류(5)도 존재하는 것으로 보고되었다. Loviagina와 Shivrina(6)는 차가버섯의 inotodiol이 항종양 활성을 나타내며, lanosterol, ergosterol, triterpene alcohol 등은 종양의 활성을 지연시키고, triterpene acid류는 종양세포를 불활성화 시키는 것으로 보고하였다. Kahlos 등(7)은

inotodiol, lanosterol, 3β-hydroxy-lanosta-8,24-dien-21-al, trametenolic acid 등을 사용한 항암활성 연구결과 3β,22-dihydroxy-lanosta-8,24-dien-7-one과 3β,22-dihydroxylanosta-7,9(11),24-triene Walker 256 종양세포와 MCF-7 유방암 세포 그리고 P388 혈액암 세포에 대하여 매우 강한 세포독성을 나타내었다고 보고하였다.

또한 influenza virus A 및 B에 대한 차가버섯의 생리활성을 탐색한 결과, 40 µg/mL의 농도로 human influenza virus A와 B 그리고 horse influenza virus A를 100% 저해한다고 보고하였다(8). 한편 Saitoh 등(9)은 차가버섯의 항돌연변이 원성에 대하여 2-amino-3-methylimidazo(4,5-f)quinoline (IQ) 또는 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF2)의 직접 변이원보다 Trp-P-1, Trp-P-2 및 B(a)P 등의 간접 변이원에 대하여 억제효과가 월등히 높다고 보고하였다. Ichimura 등(10)은 차가버섯 물 추출물이 human immunodeficiency virus type I의 protease를 저해하며, 그 물질이 고분자의 수용성 lignin임을 밝혔다. 차가버섯에서 분리한

[†]Corresponding author. E-mail: hamss@kangwon.ac.kr
Phone: 82-33-250-6453, Fax: 82-33-250-6453

수용성 및 불용성 당단백은 혈당조절의 효소 cdc25와 cdc2/cyclin B의 cell cycle을 조절하여 혈당을 떨어뜨리는 효과가 있는 것으로 밝혀졌다(11). 이와 같이 차가버섯에 대해서는 오래전부터 여러 가지 생리활성 연구가 이루어져 왔다. 따라서 본 연구에서는 이와 같이 여러 가지 기능성 성분을 함유하고있는 차가버섯에 대하여 좀더 구체적인 항암활성을 구명하여 새로운 암예방 및 항암소재로서의 개발을 목적으로 항돌연변이활성 및 세포독성 효과를 실험하였으며 그 결과를 밝힌다.

재료 및 방법

시약 및 기기

4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), D-biotin, β -NADP, glucose-6-phosphate(G-6-P) gentamycin sulfate, sulforhodamine B(SRB)는 미국 Sigma사의 것을, benzo(a)pyrene (B(a)P)과 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indol (Trp-P-1), L-histidine는 일본 和光純藥 특급시약을 사용하였다. Nutrient broth는 Difco laboratory(USA)사의 것을 사용하였다. RPMI 1640과 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM), minimum essential medium(MEM) 및 HEPES buffer, fetal bovine serum(FBS), Trypsin-EDTA는 Gibco사(USA) 제품을 사용하였다. Giemsa stain solution (Gurr 66)는 British drug house (BDH)사의 제품을 사용하였으며 그의 일반시약은 특급시약을 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기는 UV-visible spectrophotometer (Kontron Co., UVIKON 922), Microplate reader(UVT 05975, Molecular Devices), Inverted microscope(PM-CBSP Olympus optical Co.), Colony counter(Protos plus, Synoptics Co.), CO₂ incubator(KMC-8409C, Vision Co.), Freeze dryer(VD-16, Taitec Co.), Optical density(ANA-1, Tokyo photoelectric Co.) 그리고 Centrifuge(Hm-150 IV, Hanil Industrial Co.)를 사용하였다.

암세포주 및 실험균주

본 실험에 이용된 암세포주는 인간 폐암세포 A549(lung carcinoma, human), 인간 유방암세포 MCF-7(breast adenocarcinoma, pleural effusion, human), 인간 위암세포 AGS (stomach adenocarcinoma, human)가 이용되었고, 정상세포주는 293(transformed primary human embryonal kidney)을 Korea Cell Line Bank(KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. A549, MCF-7, AGS 세포주는 RPMI Medium 1640 복합배지를, 그리고 293 세포주는 MEM(minimum essential medium)을 이용하여 1% fetal bovine serum을 첨가하여 37°C, 5% CO₂에 적응시켜 각각 배양시켰다. 실험에 사용한 *Salmonella typhimurium*

LT-2의 histidine 영양요구성 변이주(auxotroph)는 TA98, TA100의 두 종류였으며, 미국 California 대학의 B.N. Ames로부터 제공 받았다.

추출 및 저분자 물질과 수용성 조다당류 분리

실험에 사용한 차가버섯은 러시아에서 수입한 것으로, 건조, 분말화한 후 -20°C 냉동실에 보관하면서 실험에 사용하였다. 차가버섯을 분말화한 후 Mizuno 등(11)의 방법에 따라 추출, 분획하였다. Fig. 1과 같이 저분자물질과 수용성 조다당류의 분리는 시료중량의 10배의 99% 에탄올을 첨가하고 교반하면서 24시간 동안 6회 추출하여 액내의 저분자물질을 얻었다. 얻어진 잔사를 95°C, 8시간씩 3회 추출한 후, 상등액의 4배의 ethanol을 첨가하여 수용성 조다당을 침전시켰다. 침전물을 30%의 (NH₄)₂SO₄ 용액으로 투석하여 분자량 10,000 이상의 수용성 조다당 분획을 얻었으며, 침전여액은 에틸 아세테이트 용액으로 분획하여 에틸 아세테이트 분획물과 물 분획물을 얻었다.

불용성 조다당류 분리

열수추출 후 잔사를 10% ZnCl₂로 100°C에서 8시간 3회 추출한 후 5% NaOH 용액으로 24시간, 2회 추출하였다. 여기서 얻은 상등액을 99% 초산용액을 가하여 pH 5로 산성화하고 세척하여 불용성 조다당 분획 I, II를 얻었다.

항돌연변이 활성

차가버섯의 각 분획물에 대한 돌연변이원성 실험은 *Salmonella typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation법(12)으로 실시하였으며, 대사 활성물질로서 S-9 mix를 첨가하였다. 차가버섯의 분획물들을 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 각각의 농도별로 50 μ L씩을 가하고 여기에 전배양시킨 *S. typhimurium* 배양균액을 100 μ L씩을 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45°C)를 2 mL씩 가하여 잘 혼합 후에 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판고화시켜 37°C 배양기에서 48시간 배양하여 생성된 복귀돌연변이수를 측정하여 추출물의 돌연변이원성의 유무를 판정하였다. 그리고 항돌연변이원성 실험은 건열멸균시킨 glass cap tube에 추출물 및 분획물들을 각각의 농도별로 50 μ L씩 첨가하고 변이원 물질을 각각 50 μ L씩 첨가한 다음 대사활성물질이 필요한 경우에는 S-9 mix를 250 μ L를 각각 첨가하였다. 여기에 전배양시킨 *S. typhimurium* 균액을 100 μ L씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 상기의 돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀돌연변이 colony수를 측정하여 항돌연변이원성 유무를 판정하였다. 각 시료와 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며 항돌연

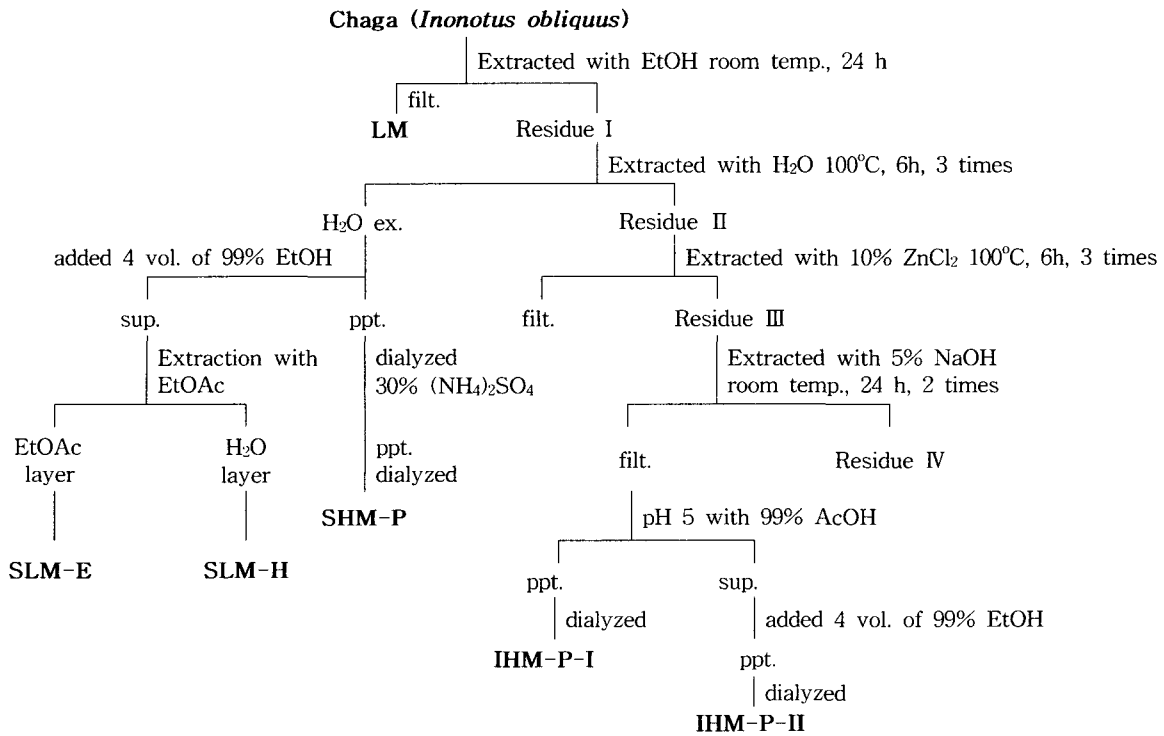


Fig. 1. Scheme of fractionation of *Inonotus obliquus*.

변이 활성은 변이원물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition, %)로 나타내었다.

Inhibition (%) = $[(M-S_1)/(M-S_0)] \times 100$, M: 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀 돌연변이 수, S₀: 자연 복귀 돌연변이 수, S₁: 시료를 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이 수

암세포 성장 억제효과 실험

SRB assay에 의해 측정하였다(13). 즉, 10% fetal bovine serum 및 각각의 암세포(A549, MCF-7, AGS, 293)를 함유하는 RPMI 1640 배지를 5×10^4 cells/mL 농도로 100 µL씩 각 well에 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 0.2 M 이하의 DMSO로 녹인 시료를 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL 농도로 100 µL씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 냉장보관한 10%(w/v) TCA를 100 µL씩 첨가한 후 1시간 동안 4°C에서 방치한 후 증류수로 다섯번 정도 행구었다. 실온에서 건조시킨 후 1%(v/v) acetic acid에 녹인 0.4%(w/v) SRB용액 100 µL를 첨가해 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1%(v/v) acetic acid용액으로 네 번 정도 행구어, 다시 건조시킨 후 10 mM Tris buffer 100 µL로 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

돌연변이원성 및 항돌연변이원성

Salmonella typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames

test를 행한 결과 Table 1에 나타낸 바와 같이 음성대조군의 복귀돌연변이 집락수는 TA98이 18 ± 3 , TA100은 176 ± 7 이었다. 에탄올 추출물을 10, 15, 20, 50 µg/plate의 여러 농도를 첨가하여 시험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 변화에 따른 집락수의 큰 변화를 나타내지 않으므로 차가버섯 분획물 자체로는 돌연변이원성을 나타내지 않은 것으로 판단되었다.

차가버섯 분획물의 돌연변이원성 억제작용을 검토하기 위하여 Ames test에서 양성반응을 나타내며, 직접 변이원물질로 알려진 MNNG와 4NQO 그리고 대사활성을 필요로 하는 간접변이원물질인 B(a)P과 Trp-P-1을 사용하여 각각의 농도에 따른 돌연변이원성 억제효과를 검토하였다.

MNNG(0.4 µg/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 50 µg/plate에서 수용성 다당과 불용성 다당-II가 각각 99.1% 및 91.0%로 높은 억제효과가 나타났다. 그 외의 분획물들은 저분자 물질, 에틸 아세테이트, 물 분획물

Table 1. Mutagenicity of fraction from *Inonotus obliquus* in *S.typhimurium* TA98 and TA100

Dose (µg/plate)	His ⁺ revertants/plate ¹⁾	
	TA98	TA100
Spontaneous	16 ± 4	206 ± 3
10	18 ± 2	193 ± 4
15	20 ± 1	202 ± 2
20	19 ± 2	196 ± 3
50	17 ± 3	207 ± 2

¹⁾Each value represents the mean ± SD of three plates.

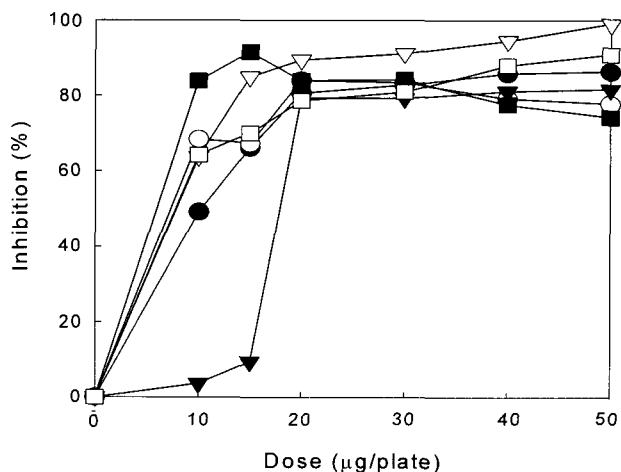


Fig. 2. The antimutagenic effects of each fraction from *Inonotus obliquus* against MNNG (0.4 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA100.

- LM: Lowest m.w. compounds.
- SLM-E: Soluble low m.w. EtOAc fraction.
- ▼ SLM-H: Soluble low m.w. H₂O fraction.
- ▽ SHM-P: Soluble high m.w. polysaccharide.
- LHM-P-I: Insoluble high m.w. polysaccharide I.
- LHM-P-II: Insoluble high m.w. polysaccharide II.

및 불용성 다당-I이 각각 86.5%, 77.9%, 81.8%, 74.3% 순으로 나타났다(Fig. 2). 한편, Fig. 3은 4NQO(0.15 µg/plate)에 대한 항돌연변이성을 나타낸 결과로서 TA98 균주에서 시료농도 50 µg/plate에서 불용성 다당-II이 96.2%의 높은 억제효과를 보였으나, 수용성 다당, 물 분획물의 경우, 시료농도 20 µg/plate에서 각각 98.3%와 95.9%를 보였으며, 저분자 물질, 에틸 아세테이트 분획물, 불용성 다당-I은 각각 40.5% 및 72.0%, 84.8%의 억제효과를 보였다. TA100 균주의 경우, 저분자 물질, 에틸 아세테이트, 물 분획물, 수용성 다당, 불용성 다당-I은 시료농도 20 µg/plate에서 각각 53%, 79%, 81%, 92.4% 그리고 93.0%의 억제효과를 나타내었으며 불용성 다당-II는 시료농도 50 µg/plate에서 85.3%의 강한 억제효과를 보였다.

그리고 microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접변이원으로서 실제로 식품을 통해 흡수될 수 있는 B(a)P과 아미노산 가열분해물인 Trp-P-1을 사용하여 실험을 수행하였다. Trp-P-1(0.15 µg/plate)을 사용한 Fig. 4에서는 *S. typhimurium* TA98 균주에서는 시료농도 20 µg/plate에서 저분자 물질, 에틸 아세테이트, 물 분획물, 수용성 다당 및 불용성 다당 I 및 II에서 각각 55%, 46.5%, 58%, 36.3%, 43% 그리고 64.5%의 순으로 억제효과를 나타냈으나, TA100 균주의 경우, 시료농도 50 µg/plate에서 에틸 아세테이트 분획물 및 수용성 다당과 불용성 다당 I과 II에서 각각 90.7%, 84.9%, 91.3%, 75.9%로 대부분의 시료들이 80% 이상의 억제효과를 보였으며, 저분자 물질, 물 분획물이 각각 59.3% 및 9.6%의 억제효과를 나타내었다. 또한 B(a)P(10 µg/plate)에서는 TA98 균주의 경우, 50 µg/plate의 시료농도

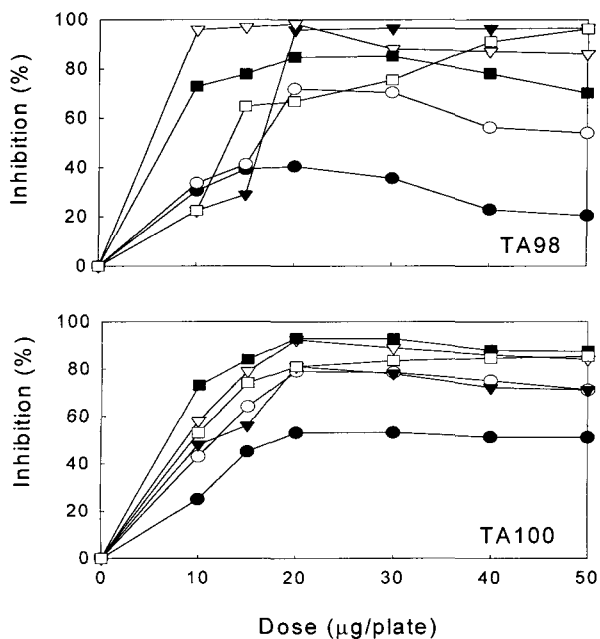


Fig. 3. The antimutagenic effects of each fraction from *Inonotus obliquus* against 4NQO (0.15 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

- LM: Lowest m.w. compounds.
- SLM-E: Soluble low m.w. EtOAc fraction.
- ▼ SLM-H: Soluble low m.w. H₂O fraction.
- ▽ SHM-P: Soluble high m.w. polysaccharide.
- LHM-P-I: Insoluble high m.w. polysaccharide I.
- LHM-P-II: Insoluble high m.w. polysaccharide II.

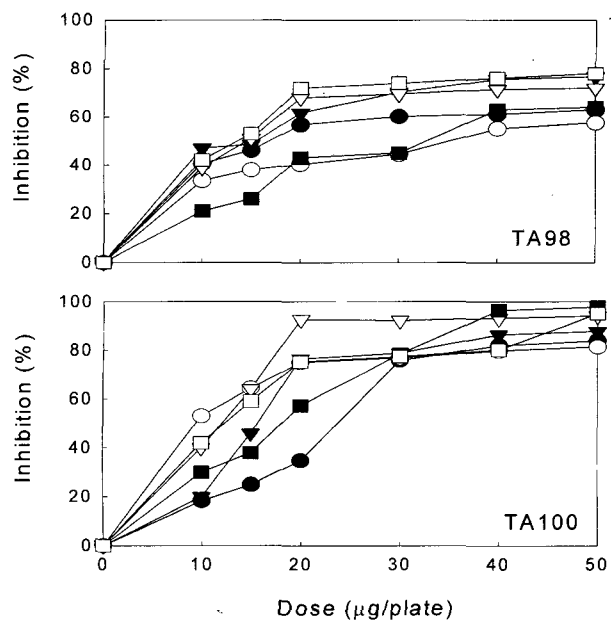


Fig. 4. The antimutagenic effects of each fraction from *Inonotus obliquus* against B(a)P (10 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

- LM: Lowest m.w. compounds.
- SLM-E: Soluble low m.w. EtOAc fraction.
- ▼ SLM-H: Soluble low m.w. H₂O fraction.
- ▽ SHM-P: Soluble high m.w. polysaccharide.
- LHM-P-I: Insoluble high m.w. polysaccharide I.
- LHM-P-II: Insoluble high m.w. polysaccharide II.

에서 저분자 물질, 에틸 아세테이트, 물 분획물, 수용성 다당 및 불용성 다당 I과 II에서 각각 63.0%, 57.6%, 76.7%, 72.2%, 64.5% 및 78.0%의 억제효과를 나타내었으며, TA100 균주에서는 50 µg/plate의 시료농도에서, 특히 수용성 다당과 불용성 다당 I 및 II에서 각각 94.2%, 97.8% 그리고 95.1%로 높은 억제효과를 나타내었다. 그 외의 저분자 물질과 에틸 아세테이트 및 물분획물이 각각 84.0%, 81.5%, 87.9%의 억제효과를 보였다(Fig. 5).

Ji 등(14)은 아가리쿠스 버섯 추출물에서 모두 높은 항돌연변이원성 효과를 나타내었는데 특히 직접변이원인 4NQO에서 TA 100균주에 대하여 메탄올 추출물(200 µg/plate)이 94.7%로 가장 높은 항돌연변이원성 효과를 나타내어 본 실험 결과에서도 수용성 다당과 불용성 다당류에서 높은 항돌연변이원성 효과를 나타내어 비슷한 결과를 나타내었다. 또한 Miyazaki 등(15)은 다당류인 글루칸을 동충하초로부터 분리해 내어 항종양 효과를 마우스를 가지고 실험한 결과 매우 높은 효과를 나타내었다. 이러한 결과로부터 추후 차가버섯에 대한 더 세부적인 연구가 필요한 것으로 사료되었다.

암세포 성장억제효과

본 실험에서는 암세포로 인간 폐암세포 A549, 인간 유방암세포 MCF-7과 인간 위암세포 AGS를 이용하여 이들 암세포주에 대하여 SRB assay를 이용한 차가버섯 분획물의 저해

효과를 검토하였다. 그 결과 Fig. 6에서와 같이 A549 세포에 대한 분획물들의 억제효과에서는 4 mg/mL 첨가시 물 분획물과 수용성 다당과 불용성 다당II 그리고 저분자 물질이 각각 83.3%, 82.2%, 78.6%, 및 68.4%의 비교적 높은 억제효과를 보였으며, 에틸 아세테이트 분획물과, 불용성 다당 I은 1 mg/mL 첨가시 90.8%와 81.8%의 높은 억제효과를 나타내었다. AGS 세포의 경우 Fig. 7에서와 같이 에틸아세테이트 분획물이 1 mg/mL의 농도에서 94.3%로 현저히 높은 억제효과를 보였다. 저분자 물질과 물분획물 그리고 수용성 다당은 4 mg/mL의 농도에서 각각 57.9%, 59.6% 그리고 61.4%의 억제효과를 보였으며, 불용성 다당 I과 II는 시료농도 1 mg/mL에서 각각 76.8%과 72.6%의 억제효과를 보였다. MCF-7 세포의 경우 역시 에틸아세테이트 분획물이 1 mg/mL의 시료농도에서 83.5%의 높은 억제효과를 보였으나 다른 분획물의 경우, 4 mg/mL의 농도에서 저분자 물질과 물 분획물, 수용성 다당 그리고 불용성 다당 I과 II는 각각 63.7%, 52.1%, 55.3%, 40.2% 및 49.7%의 억제효과를 나타내었다(Fig. 8).

Fig. 9는 인간 정상 신세포 293에 대한 각 시료의 농도에 따른 세포독성효과를 나타낸 것으로 각종 암세포에 시료 첨가시 70% 전후의 억제율을 보이는데 반해 293에 대해서는 50% 이하의 낮은 생육 억제율을 보였다. 이는 암세포에 대한 높은 억제효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타낼을 알 수 있었다.

버섯 다당류들의 항종양 작용은 암세포를 직접적으로 공격하지 않고 숙주의 면역계에 작용하여 생체방어력 증가에 의한 것으로 알려지고 있다(16). 최근 국내에서 한국산 버섯류의 항종양 활성에 관한 연구들이 보고되고 있다. 활성성분

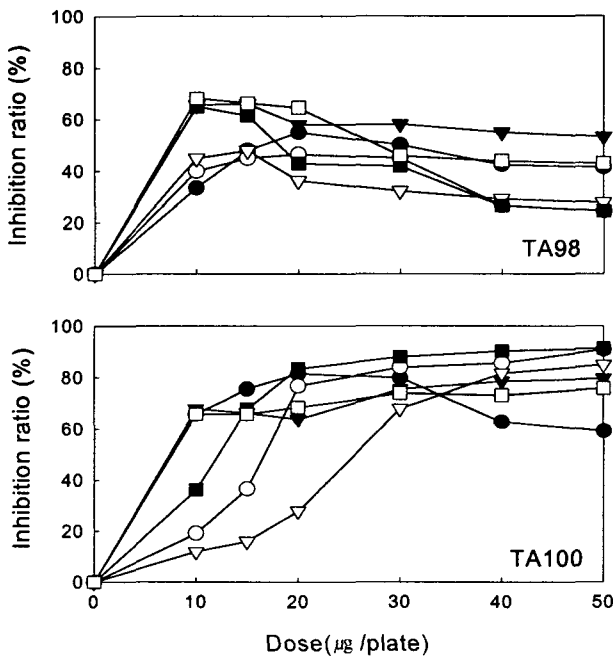


Fig. 5. The antimutagenic effects of each fraction from *Inonotus obliquus* against Trp-P-1 (0.5 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

- LM: Lowest m.w. compounds.
- SLM-E: Soluble low m.w. EtOAc fraction.
- ▼ SLM-H: Soluble low m.w. H₂O fraction.
- ▽ SHM-P: Soluble high m.w. polysaccharide.
- LHM-P-I: Insoluble high m.w. polysaccharide I.
- LHM-P-II: Insoluble high m.w. polysaccharide II.

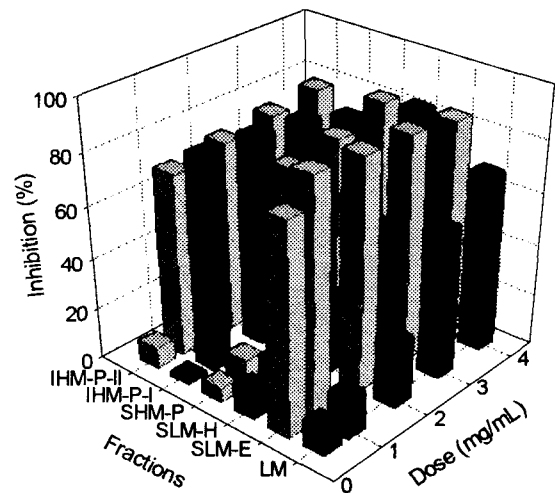


Fig. 6. Inhibitory effect of A549 cell (human lung carcinoma) growth by each fractions from *Inonotus obliquus*.

- LM: Lowest m.w. compounds.
- ▨ SLM-E: Soluble low m.w. EtOAc fraction.
- ▩ SLM-H: Soluble low m.w. H₂O fraction.
- ▧ SHM-P: Soluble high m.w. polysaccharide.
- ▦ LHM-P-I: Insoluble high m.w. polysaccharide I.
- ▤ LHM-P-II: Insoluble high m.w. polysaccharide II.

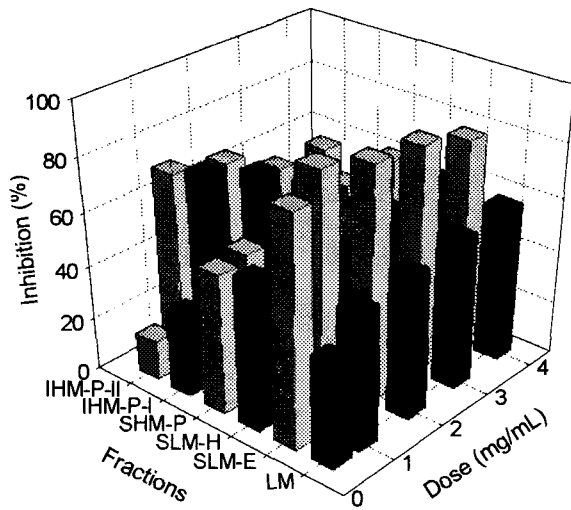


Fig. 7. Inhibitory effect of AGS cell (human gastric carcinoma) growth by fractions from *Inonotus obliquus*.

■ LM: Lowest m.w. compounds.
 ▨ SLM-E: Soluble low m.w. EtOAc fraction.
 ■ SLM-H: Soluble low m.w. H₂O fraction.
 ▨ SHM-P: Soluble high m.w. polysaccharide.
 ■ IHM-P-I: Insoluble high m.w. polysaccharide I.
 ▨ IHM-P-II: Insoluble high m.w. polysaccharide II.

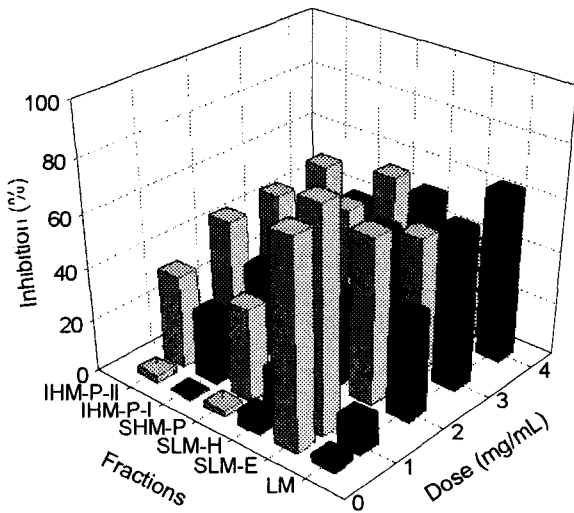


Fig. 8. Inhibitory effect of MCF-7 cell (human breast carcinoma) growth by each fractions from *Inonotus obliquus*.

■ LM: Lowest m.w. compounds.
 ▨ SLM-E: Soluble low m.w. EtOAc fraction.
 ■ SLM-H: Soluble low m.w. H₂O fraction.
 ▨ SHM-P: Soluble high m.w. polysaccharide.
 ■ IHM-P-I: Insoluble high m.w. polysaccharide I.
 ▨ IHM-P-II: Insoluble high m.w. polysaccharide II.

대부분 버섯 자실체나 액체 배양균사체로부터 추출된 다당류들로서 대표적으로 표고버섯 자실체에서 분리한 순수 다당류 lentinan이 sarcoma-180에 대하여 강한 항암작용을 나타낸다고 보고되었다(17). 본 실험 결과에서는 차가버섯 추출물 다당류에서 부동한 암세포에 대하여 비교적 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내어 기능성 식품소재로서의 가능

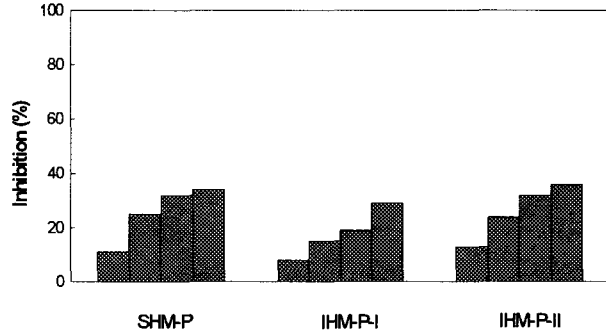
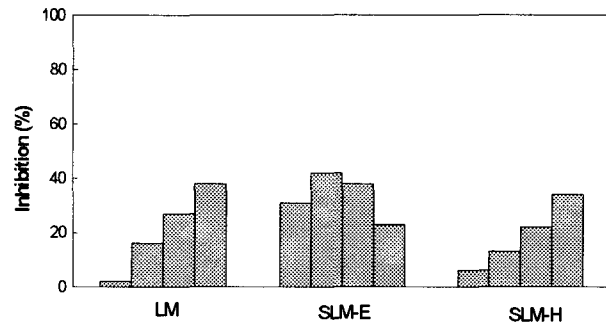


Fig. 9. Inhibitory effect of 293 cell (transformed primary human embryonal kidney) growth by each fractions (1, 2, 3, 4 mg/mL) from *Inonotus obliquus*.

성을 제시하였다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(01-PJ1-PG4-01PT04-0014)의 일부로 연구지원에 감사를 드립니다.

요 약

차가버섯 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 및 물 분획물 그리고 수용성 다당과 불용성 다당 I, II에 대하여 항돌연변이원성 실험과 암세포성장억제 실험을 행한 결과, 각 시료에서 돌연변이원성은 없는 것으로 나타났으며 직접변이원인 MNNG와 4NQO, 간접변이원인 B[a]P와 Trp-P-1 모두에서 시료농도 50 µg/plate에서 불용성 다당 II가 90% 이상의 높은 억제효과를 나타내었다. 또한 암세포 성장 억제 실험에서는 에틸아세테이트 분획물에서 다른 분획이나 시료들보다 시료농도 4 mg/mL에서 A549, AGS, 그리고 MCF-7 세포에 대하여 각각 90.8%, 94.3%, 83.5%의 높은 암세포 성장억제 효과를 나타내었다.

문 헌

1. Bulatov PK, Berezina MP, Jakimov PA. 1959. Tsaga ii ee letseboje primenie pri rake IV. Stadii, Leningrad. p 326.
2. Shivrina AN. 1967. Chemical characteristics of compounds

- extracted from *Inonotus obliquus*. *Chem Abstr* 66: 17271-17279.
3. Kier L. 1961. Triterpenes of *Poria obliqua*. *J Pharm Sci* 50: 471-474.
 4. Kahlos K, Hiltunen R. 1983. Identification of some lanostane type triterpenes from *Inonotus obliquus*. *Acta Pharm Fenn* 92: 220-224.
 5. Ludwiczak RS, Wrzeczono U. 1975. Forschungen uber die chemischen bestandteil de *Inonotus obliquus*. IV. *Ergosterol Rocz Chem* 34: 1701-1705.
 6. Loviagina EV, Shivrina AN. 1962. On steroid compound of the Chaga fungus. *Biobimija* 27: 794-800.
 7. Kahlos K, Kangas L, Hitunen R. 1987. Antitumour activity of some compounds and fractions from an n-hexane extract of *Inonotus obliquus*. *Acta Pharm Fenn* 96: 33-40.
 8. Kahlos K, Lesnau A, Lange W. 1996. Preliminary tests of antiviral activity of two *Inonotus obliquus* strains. *Fitoterapia* Vol LX VII, p 4.
 9. Saitoh A, Sato C, Niiyama K. 1996. チャガカバノアナタケの變異原性抑制効果について. 道衛研所報 第6集.
 10. Ichimura T, Watanave O, Maruyama S. 1998. Inhibition of HIV-1 protease by water-soluble lignin-like substance from an edible mushroom, *Fuscoporia obliqua*. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 575-577.
 11. Mizuno T, Zhuang C, Abe K, Okamoto H, Kiho T, Ukai S, Leclerc S, Meijer L. 1999. Antitumor and hypohlycemic activities of polysaccharides from the Sclerotia and Mycelia of *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) Pil. (Aphylophoromycet-ideae). *Int J Med Mushrooms* 1: 301-316.
 12. Yahagi T, Degawa M, Seino Y, Matsushima T, Nagao M, Sugimura T, Hashimoto Y. 1975. Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives. *Cancer Letter* 1: 91-97.
 13. Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemaker R, Paul K, Bistica D, Hose C, Langley J, Cronise P, Vaigro-Wolff A, Gray-Goodrich M, Campbell H, Mayo J, Body M. 1991. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human cell lines. *J Natl Cancer Inst* 83: 757-766.
 14. Ji JH, Kim MN, Choi KP, Chung CK, Ham SS. 2000. Anti-mutagenic and cytotoxicity effect of *Agaricus blazei* Murill extracts. *Korean J Food Sci* 32: 1371-1378.
 15. Miyazaki J, Oikawa N, Yamada H. 1977. Studies on fungal (*Penicillium chrysogenum*) polysaccharides. XX. Galactomannan of *Cordyceps sinensis* (Lepi doptera). *Chem Pharm Bull* 25: 3324-3330.
 16. Kweon MH, Lim EJ, Sung HC. 1998. Studies on bioactive polysaccharide isolated from *Agaricus bisporus*. *Agric Chem Biotechnol* 41: 60-66.
 17. Goro C, Jnuli H, Yukiko Y, Yoshiko A, Fumoko F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with masked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res* 30: 2776-2781.

(2003년 2월 13일 접수; 2003년 9월 3일 채택)