

운지버섯(*Coriolus versicolor*) 자실체 조 추출물의 항산화 활성 및 생리활성 연구

최병용¹, 이형환^{2*}

¹동방문화대학원대학교 자연치유학과 ²건국대학교 생명과학특성화학과

Antioxidant and Physiological Activities of *Coriolus versicolor* Fruit Body Crude Extracts

Choi, Byeong Yong¹, Hyung H. Lee^{2*}

¹Dept. of Naturopathic Medicine, Dongbang Culture Graduate Univ.

²Dept of Biological Sciences, Konkuk University

요약 본 연구는 운지버섯 자실체의 열수추출물(HE)과 메탄올 추출물(ME)의 총 polyphenol과 flavonoid 함량과 일부 생리 활성을 2015년 3월부터 2016년 2월에 조사하였다. 자료 분석은 SPSS 2.0을 이용하였다. 연구결과는 HE의 총 polyphenol 함량(129.60 mg/dl)은 ME함량(43.80 mg/dl)보다 85.8 mg/dl가 더 높았으며, 열수에서 추출이 더 높았다. HE의 총 flavonoid 함량(30.50 mg/dl)은 ME함량(20.90 mg/dl)보다 9.5 mg/dl가 더 높았다. DPPH의 소거활성은 HE 1 mg/ml에 비해서 3 mg/ml에서는 41.03%가, ME 1 mg/ml에 비해서 3 mg/ml에서는 16.36%로 더 높았으며, Tyrosinase저해활성은 HE 1 mg/ml에 비해서 3 mg/ml에서는 8.29%, ME 3 mg/ml에서는 10.32%가 더 높았고, Elastase 저해활성은 HE 1 mg/ml에 비해서 3 mg/ml에서는 3.12%가, ME에서는 21.53%가 더 높았다. Collagenase저해활성은 HE 1 mg/ml에 비해서 3 mg/ml에서는 5.44%가, ME에서는 4.07%로 더 높았다. 상기 효소활성은 모두 추출액농도증가에 비례하여 활성이 증가하였다. 결론적으로 상기의 두 종류의 추출물은 항산화 및 생리활성기능을 나타내어 피부의 주름의 완화제로서 유용하다고 판단되었다

Abstract In this research, the total polyphenol and flavonoid contents in the hot water extract (HE) and methanol extract (ME) of the *Coriolus versicolor* fruiting body and their partial bioactivities were investigated from March, 2015 to February, 2016. For the analysis of the data, the software used was SPSS 2.0. The results indicate that the total polyphenol content in the HE (129.60 mg/dl) was 85.8 mg/dl higher than that in the ME (43.80 mg/dl). The total flavonoid content in the HE (30.50 mg/dl) was 9.5 mg/dl higher than that in the ME (20.90 mg/dl). The DPPH scavenging activities of the HE and ME at a concentration of 3 mg/ml were 41.03% and 16.36% higher than those at a concentration of 1 mg/ml. The tyrosinase inhibitory activities of the HE and ME at a concentration of 3 mg/ml were 8.29% and 10.32% higher than those at a concentration of 1 mg/ml. The elastase inhibitory activities of the HE and ME at a concentration of 3 mg/ml were 3.12% and 21.53% higher than those at a concentration of 1 mg/ml. The collagenase inhibitory activities of the HE and ME at a concentration of 3 mg/ml were 5.44% and 4.07% higher than those at a concentration of 1 mg/ml. In conclusion, these two kinds of extracts are judged to be useful as skin wrinkle relaxants, due to their anti-oxidative and bioactive functions.

Keywords : *Coriolus versicolor* fruit body, polyphenol, flavonoid, tyrosinase, elastase, collagenase

1. 서론

최근에는 천연물을 이용한 피부와 주름등 건강에 대한 관심이 어느 때 보다 높은 시대가 되었다. 또한 사람들의 삶 또한 이전보다 더욱 다양화, 개성화 되면서 자신

1.1 연구의 필요성

*Corresponding author: Hyung H. Lee(Konkuk Univ.)

Tel: +82-2-2299-3118, +82-10-7774-3118

E-mail: sanggido@nate.com, bychoi02@hanmail.net

Received July 18, 2016

Revised (1st July 28, 2016, 2nd August 1, 2016)

Accepted August 11, 2016

Published August 31, 2016

만의 미에 대한 욕구도 함께 증가되었고, 고운 피부와 동안 피부에 대한 관심이 피부미용 분야의 지속적이고도 놀라운 발전을 가져오게 하였다. 이러한 사람들의 관심이 자연친화적인 소재에 눈을 돌리게 되었고 특히 천연물 소재에 향산화[1], 항염[2], 항균[3], 항암[4, 5], 항노화 및 면역증강의 효과[6, 7]에 기능성 화장품의 출현을 앞당기게 되었다. 이러한 기능성 천연원료 등에 있어 그 원료에 따라 다양한 생리활성을 나타낸다[8, 9, 10, 11, 12].

특히 버섯류 중에 운지버섯(일명 구름버섯, *Coriolus versicolor*)은 담자균류의 민주름버섯목 구멍장이 버섯과에 속하고, 봄부터 가을에 걸쳐 활엽수의 썩은 줄기나 가지에 군생하며, 전 세계적으로 분포하기 때문에 생육 시기나 장소에 구애받지 않고 쉽게 채취가 가능하며, 오랫동안 민간요법에 사용되어온 약용버섯으로 우리나라에서는 약 10여종이 자생하고 있는 것으로 알려져 있다[13]. 운지버섯의 자실체의 성분으로는 수분 5.62%, 단백질 4.20%, 탄수화물 65.09%, 섬유질 23.24%, 회분 6.37%, 지방질 1.10%를 함유하고 있고, 핵산, 아미노산, 다당류, 스테로이드 등이 보고되어 있다[14]. 또한 다당체의 화학성분은 다당체 42.2%, 단백질 10.5%이고, 다당류는 항암작용, 항바이러스, 항 박테리아와 항종양효과, 항응고 작용 등의 약리작용이 있는 것으로 알려져 있다[15, 16, 17, 18].

이외에도 지금까지 운지버섯에 대한 연구는 균사체 추출물에 대한 항암성분과 함암효과[16, 19], 운지버섯 배양액의 지질대사에 미치는 영향, 항산화, 항암활성 및 장내세균의 생육에 미치는 영향[20, 21, 22] 등에 대한 연구가 일부 되어져 있을 뿐, 운지버섯 자실체에 대한 생리활성 연구는 미비한 실정이다.

1.2 연구의 목적

버섯 등의 기능성 소재를 탐색하여 화장품등의 기초 자료로 사용하기 위하여 본 연구에서는 운지버섯 자실체를 대상으로 열수(hot water)와 메탄올로 추출하여 활성을 연구하는 것이 목적이었으며, 구체적으로는 다음과 같다.

- 1) 추출물들의 polyphenol의 함량을 조사한다.
- 2) 추출물들의 flavonoid의 함량을 조사한다.
- 2) 항산화 활성조사로 DPPH의 소거기능 조사한다.
- 3) 생리활성을 연구로는 Tyrosinase, Elastase, Collagenase의 저해활성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험 재료 및 연구기간

운지버섯 자실체(*Coriolus versicolor* fruit body)는 2015년 봄에 야산에서 버섯채집 전문가가 채집한 것을 받아 사용하였다. 연구기간은 2015년 3월부터 2016년 2월까지 수행하였다.

2.2 시료의 추출과 제조

운지버섯 자실체는 건조한 후, 분쇄기로 파쇄 하였으며, 열수 추출은 분말 5.0 g를 증류수 50 ml에 넣고 100℃에서 1시간 진탕하여 추출하였다. 메탄올 추출도 100%메탄올 50 ml에 분말 5.0 g를 넣고, 30초 간격으로 30분 간 초음파 처리하여 추출하였으며, 각각 2회 추출하였다. 추출물은 원심분리(7,000 rpm, 30 min, 4℃)하여 상등 액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 후, 열수 추출물은 -70℃에서 동결 후 동결건조기(II-Shin Bio Base, SD5508, Korea)에서 동결 건조하였고, 메탄올 추출물은 회전 감압농축기(Eyela Co. N-N, Japan)와 40℃ 항온수조(Eyela Co. SB-651, Japan)로 감압농축한 후 시료로 사용하였다. 또한 유리아미노산 분석을 위해서는 시료 1.0 g에 30 ml의 열수와 메탄올을 각각 가하고, 30분간 초음파기(Newtown, C.T., U.S.A)로 처리하여 2회 추출 하였고, 5,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상등 액을 농축하였다. 상등 액은 각 시료의 분석용 sample dilution buffer(pH 2.2) 2.0 ml에 용해한 후, 여과지(0.25 μm)로 여과하여 분석용 시료로 사용하였다.

2.3 추출물의 조성과 함량 분석

운지버섯 자실체 추출물의 총 polyphenol과 총 flavonoid 함량을 분석하였다.

2.3.1 총 polyphenol 함량

추출물의 총 polyphenol 함량 측정은 Fortin-Coachlet's 발색법[23]으로 측정 하였다. 먼저 각각의 추출물 0.5 ml에 2% Na₂CO₃ 5.0 ml을 넣고, 충분히 혼합한 후 2분간 실온에 방치하였다. 다음 50% Fortin-Coachlet's reagent 0.5 ml을 넣고 다시 30분간 방치한 후, 분광분석기(Shimadzu Co., UV-1601 Spectrophotometer, Japan)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준 곡선 작성은 catechol (Sigma-Eldritch Co. St. Louis, MO,

USA)을 사용하였고, polyphenol 함량은 catechol(mg/dl) 양으로 환산 하였다.

2.3.2 총 flavonoid 함량

추출물의 총 flavonoid 함량은 측정은 Lee *et al.*, [24] 와 [25]를 수정해서 사용하였다. 먼저 추출물 0.1 ml에 diethyleneglycol 1 ml을 가하여 잘 혼합 한 다음, 여기에 1 N NaOH(w/v) 0.1 ml을 넣고, 잘 혼합하여 37℃에서 1시간 동안 반응 시킨 후, 분광분석기 (Shimadzu Co. UV-1601 Spectrophotometer, Japan)를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 이때 blank는 시료용액 대신 각각의 추출 용매로 하였다. 표준곡선 작성은 rutin 을 사용하였으며, 총 flavonoid 함량은 rutin mg/dl 양으로 환산 하였다.

2.4 생리활성 평가

운지버섯 자실체 열수와 메탄올 추출물의 일부 생리활성은 다음과 같은 방법으로 조사하였다.

2.4.1 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 의한 전자공여능 측정

운지버섯 자실체 추출물에서 DPPH (Sigma- Eldritch, St. Louis, MO, USA) 의 측정은 방법은 Kim *et al.*,[26] 과 Lee *et al.*,[27]을 이용하였다. 각각의 시료 100 µl(최종농도 0.3, 0.5, 1 mg/ml)에 100 mm Tris-Hal(pH 7.4) 400 µl을 잘 혼합한 후, 500 µM DPPH용액 (1,1-diphenyl- 2-picrylhydrazyl, 0.04929 g /250 ml methanol)용액 500 µl을 넣고 잘 혼합하였다. 반응물은 실온에서 20분간 방치 한 다음 분광분석기(Shimadzu Co., UV-1601 Spectrophotometer, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, blank는 시료용액 대신 순수한 각각의 추출용매를 사용하였으며, 양성 대조구로는 BHA(butyrate hydroxy anisole 1.0 mg + 100% methanol 100 ml)과 BHT(butyrate hydroxy toluene 1.0 mg + 100% methanol 100 ml)를 사용하여 비교하였다. 전자공여효과는 시료 첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 다음 공식에 따라 백분율로 나타내었다[26]. Electron donating ability (%) = $(1 - A / B) \times 100$. A는 sample의 흡광도이고, 그리고 B는 blank의 absorbance이다.

2.4.2 Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase 저해 활성은 측정[28]은 먼저 35℃ 수조에서 온도를 미리 조정된 0.175 M phosphate buffer(pH 6.8) 0.2 ml, 5 mm L-DOPA 용액 0.2 ml 및 추출시료 용액을 각각 최종농도 1, 2, 3 mg/ml의 혼합액에 운지버섯 tyrosinase(110 units/ml, Sigma. Co.) 0.1 ml을 첨가하여 35℃에서 2분간 반응시켰다. 이후 분광분석기 (Shimadzu Co., UT-1601 Spectrophotometer, Japan)를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정한 값(S_{abs})과 대신에 증류수 0.1 ml을 첨가하여 흡광도를 측정한 값(B_{abs}), 추출시료 용액 대신에 증류수 0.5 ml을 첨가하여 흡광도를 측정한 값(C_{abs})을 이용하여 다음 식에 의해 계산하였다[28].

$$\text{Inhibitory effect (\%)} = \{1 - (S_{abs} - B_{abs}) / C_{abs}\} \times 100$$

2.4.3 Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성 측정은 James *et al.*,[29]의 방법을 수정하여 사용하였다. 먼저 각각의 농도별 시료를 0.2M Tris-HCl buffer(pH 8.0)로 희석 배수에 따라 희석하고, 0.8 M N-succinyl- (Ala)₃-p-nationalties 20 µl을 첨가하였다. 이것을 25℃에서 10분간 방치하고, 1.0 µg/ml의 porcine pancreatic elastase(Sigma Co.)를 20 µl씩 첨가하였다. 반응 혼합물은 다시 37℃에서 30분간 방치한 후, 4℃에서 침전으로 반응을 정지 시키고, Microphyte reader(VERSA max microphyte reader, USA)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 시료대신 증류수를 가해 효소의 활성을 측정 하였으며, 또한 비교 대조군으로는 ursolic acid(0.1 mg/ml)를 사용하였다. Elastase 저해활성 (%) = $\{1 - (S-B)/C\} \times 100$. S는 효소액 및 시료용액 첨가 흡광도, B는 효소액 대신 buffer 첨가 흡광도, C는 시료용액 대신 buffer 첨가 흡광도 측정치이다.

2.4.4 Collagenase 저해활성 측정

Collagenase 저해활성은 Wunsch & Heindrich [30] 방법을 수정하여 사용하였다. 먼저 각각의 농도별 시료에 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mm CaCl₂를 첨가한 용액에 4-phenyl- azobenzyloxycarbonyl-Pro-Leu-D-Arg(0.3 mg/ml)를 녹인 기질액 250 µl를 첨가하고, 여기에 collagenase (0.2 mg/ml) 150 µl를 첨가하여 실온에 20분간 방치 후, 6% citric acid 500 µl를 넣어 반응을 정

지시킨 후, ethyl acetate 1,500 μ l을 첨가하여 분광분석기(Shimadzu Co., UV-1601 Spectrophotometer, Japan)로 320 nm에서 흡광도를 측정 하였다. collagenase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무 첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다. 저해율 산정공식은 다음과 같다. collagenase 저해 활성 (%) = $\{1-(S-B)/C\} \times 100$. S는 효소액 및 시료용액 첨가 흡광도, B는 효소액 대신 buffer 첨가 흡광도, C는 시료용액 대신 buffer 첨가 흡광도 측정치이다.

2.5 통계분석

각각의 실험은 실험에 따라 3회 실시하였으며, 실험 결과는 각 항목에 따라 평균치 \pm 표준편차를 구하였고, 사후 검증으로는 프로그램인 SPSS(Statistical Package) 20.0이용하여 Duncan's multiple range test를 실시하였고, 통계적 유의 수준은 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

운지버섯 자실체의 열수와 메탄올로 추출한 추출물의 수율과, 총 polyphenol과 총 flavonoid 함량, 항산화 활성 및 일부 생리활성을 조사한 결과는 다음과 같았다.

3.1 운지버섯 자실체 추출물의 수율

운지버섯 자실체 5 g를 열수와 메탄올로 추출한 결과 추출물의 수율은 Table 1에서 보는 바와 같이 열수 추출물에서는 0.495 g이었고, 메탄올 추출물에서는 0.246 g로 열수추출물에서 메탄올 추출물에서보다 약 2배 많은 것으로 나타났다.

Table 1. Extracts obtained from *C. versicolor* fruit body lysates

Item	Hot water	MeOH
Extracts(g)	0.495	0.246

Each extract was from 5 g of *C. versicolor* fruit body powder in 50 ml hot water and MeOH, respectively.

3.2 총 polyphenol 및 총 flavonoid 함량

운지버섯 자실체의 열수와 메탄올 추출물의 총 polyphenol과 flavonoid 함량은 Table 2에 제시하였다. 총 polyphenol 함량은 열수 추출물에서 129.60 ± 0.73 mg/dl이었고, 메탄올 추출물에서는 43.80 ± 0.41 mg/dl

로 나타나, 열수 추출물이 메탄올 추출물에서 보다 약 3배 높은 함량을 나타내었다. 또한 총 flavonoid 함량은 열수 추출물에서는 30.50 ± 0.63 mg/dl이었고, 메탄올 추출물에서는 20.90 ± 0.09 mg/dl로 열수추출물에서 메탄올 추출물에서 보다 약간 많은 것으로 나타났다.

Table 2. Total polyphenol and flavonoid contents of *C. versicolor* fruit body extracts

Solvents	Amounts(mg/dl) of contents	
	polyphenol	flavonoid
Hot water	129.60 ± 0.73	30.50 ± 0.63
MeOH	43.80 ± 0.41	20.90 ± 0.09

Total polyphenol contents were expressed as catechol equivalent. Total flavonoid contents were expressed as rutin equivalent. Each value represents the mean \pm S.D. from three independent experiments.

이와 유사한 연구로 Lee *et al.*, [31]은 상황버섯 추출물의 페놀화합물은 80% 에탄올에서 28.36 mg/dl이었으며, 물 추출물에서는 4.02 mg/dl로 나타났다고 하여 80% 에탄올 추출물에서는 운지버섯 자실체 메탄올 추출물보다는 약간 높은 것으로 나타났으나, 운지버섯 자실체 열수 추출물은 상황버섯 물 추출물에서보다 월등이 높은 함량을 나타내었다. 또한 Yoon *et al.*, [32]는 야생 팽나무버섯 추출물의 총 폴리페놀 함량을 조사한 결과 물 추출물의 총 폴리페놀 함량은 9.83~11.14 mg/g 이었다고 보고한바 있다. 따라서 이와 같은 결과들로 볼 때 버섯 자실체 추출물은 어느 정도 polyphenol과 flavonoid 성분을 함유하고 있는 것으로 나타났다.

3.3 생리활성 평가

3.3.1 DPPH에 의한 라디칼 소거활성

운지버섯 자실체의 열수와 메탄올 추출물의 DPPH radical 소거 활성을 조사한 결과는 Table 3에 제시하였다. 열수 추출물에서는 처리농도(1, 2, 3 mg/ml)에 따라 소거활성비율은 각각 $24.46 \pm 0.51\%$, $39.29 \pm 0.57\%$, $65.49 \pm 0.51\%$ 이었고, 메탄올 추출물에서는 처리농도에 따라 소거활성비율은 각각 $3.26 \pm 0.08\%$, $8.37 \pm 0.44\%$, $19.62 \pm 0.74\%$ 로 나타나 열수와 메탄올 추출물 모두는 처리농도가 증가함에 따라 radical 소거 활성은 증가되는 것으로 나타났으며, 또한 열수 추출물이 메탄올 추출물 보다 상당히 높은 경향을 나타내었고, 이는 통계학적 유의성이 있는 것으로 나타났다($p < 0.001$). 그러나 이들 모두는 대조구인 BHA나 BHT와 비교해서는 낮은 값을 나

타냈지만, 운지버섯 열수 3 mg/ml 처리 이상에서는 항산화능이 65.49 ± 0.514%로 나타나 항산화능이 높은 것으로 나타났다.

Table 3. DPPH radical scavenging activity of *C. versicolor* extracts

Samples & solvents	Scavenging activity (%) according to amounts of extracts(mg/ml)			F	p*
	1	2	3		
Hot water	24.46 ± 0.51 ^a	39.29 ± 0.57 ^b	65.49 ± 0.51 ^c	4596.78	.000***
MeOH	3.26 ± 0.08 ^a	8.37 ± 0.44 ^b	19.62 ± 0.74 ^c	843.34	.000***
BHA	76.95 ± 0.23				
BHT	76.64 ± 0.26				

DPPH radical scavenging activity was measured by 1, 2 and 3 mg/ml concentration of hot water and methanol extracts. Concentration of butylated hydroxy anisole (BHA) and butylated hydroxy toluene(BHT) are 1 mg/ml in methanol, respectively. Each value represents the mean ± S.D. from three independent experiments. a-c values with different letters are significantly different at $p < .05$ by duncan's multiple range test. *** $p < .001$.

이와 유사한 연구로 Lee *et al.*, [20]은 감귤 농축액에서 배양한 운지버섯 배양추출물의 항산화 활성을 조사한 결과 extract-I와 extract-II는 처리농도가 높아질수록 항산화력이 증가하였다고 보고하여 이 연구의 결과와는 유사한 경향이였다. 또한 extract-I, 3.6 mg/ml을 처리 할 경우 약 65%의 항산화 효과가 있는 것으로 나타나 이 연구에서 운지버섯 자실체 3 mg/ml 처리 시 65.49%와 유사하여, 운지 버섯 자실체나, 배양추출물의 항산화능력은 모두 높은 것으로 나타났다.

반면 메탄올 추출물은 처리 농도에 비례하여 증가하긴 하였으나, 열수 추출물에서 보다는 현저히 낮은 것으로 조사되었다. 또한 Song *et al.*, [33]은 켈레영지버섯 자실체 추출물의 DPPH 항산화 활성을 조사한 결과 처리농도가 증가할수록 높은 DPPH radical 제거 효과성을 나타내었으며, 농도 의존적으로 증가하였다고 하였고, 1 mg/ml 처리 시 91.3 ± 0.8%의 높은 radical 제거활성을 나타내었다고 하여, 이 연구에서 열수 1 mg/ml 처리 시 24.46 ± 0.5% 보다는 현저히 높은 radical 제거활성을 나타내어 차이를 보였다.

이외에도 Kim *et al.*,[34]는 상황버섯 자실체 추출물의 항산화 효과성을 조사한 결과 에틸아세테이트 분획의 자유라디칼 소거활성(FSC₅₀)이 2.94 µg/ml로 이 연구에서 사용한 운지버섯 메탄올 추출물보다 현저히 높은 것

으로 나타났다. 따라서 이와 같은 결과들로 볼 때 버섯추출물의 DPPH radical 저해활성은 처리농도가 높아질수록 증가하고, 또한 추출 용매의 종류 및 배양배지 등에 따라서 생리활성 정도가 상당한 차이가 있음을 알 수 있으며, 동시에 버섯의 생리활성은 버섯의 생장 조건 및 환경에 따라서 상당한 차이가 있는 것으로 사료되어진다.

3.3.2 Tyrosinase 저해 활성

운지버섯 자실체 열수와 메탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 조사한 결과는 Table 4에 제시하였다. 열수 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 각각의 처리농도(1, 2, 3 mg/ml)에 따라서 17.57 ± 0.26%, 21.00 ± 0.16, 25.86 ± 1.09%로 처리농도에 비례하여 증가하는 경향으로 통계학적 유의성이 있었다($p < .001$). 또한 메탄올 추출물의 경우에서도 처리농도에 비례하여 각각 25.15 ± 0.17%, 30.01 ± 0.40, 35.47 ± 0.48%로 증가하는 경향이였으며, 이것역시 통계학적 유의성이 있었다($p < .001$). 그러나 열수와 메탄올 추출물 모두는 대조구인 arbutin의 농도에 따른 tyrosinase 저해 활성 정도보다는 조금 낮은 것으로 나타났다.

Table 4. Tyrosinase inhibitory effect of *C. versicolor* extracts

Solvent	Inhibitory effect (%) according to amounts of extract(mg/ml)			F	p*
	1	2	3		
Hot water	17.57 ± 0.26 ^a	21.00 ± 0.16 ^b	25.86 ± 1.09 ^c	121.87	.000***
MeOH	25.15 ± 0.17 ^a	30.01 ± 0.40 ^b	35.47 ± 0.48 ^c	572.14	.000***
arbutin	39.08 ± 0.12 ^a	43.57 ± 1.26 ^b	47.69 ± 0.76 ^c	76.574	.000***

Tyrosinase activity was measured by extracted by 1, 2 and 3 mg/ml concentration of hot water and methanol extracts. Control arbutin was treated with 1mg/ml. Each value represents the mean ± S.D. from three independent experiments.

a-c values with different letters are significantly different at $p < .05$ by duncan's multiple range test. *** $p < .001$.

본 연구와 유사한 연구로 Park & Chang[35]는 한국산 식용버섯류 8종(느타리버섯, 목이버섯, 석이버섯, 양송이버섯, 팽이버섯, 표고버섯, 영지버섯, 운지버섯)의 메탄올 추출물(1.0 mg)의 tyrosinase 저해 활성 정도를 조사한 결과, 느타리버섯 1.9%, 목이버섯 17.8%, 석이버섯 10.0%, 양송이버섯 12.0%, 팽이버섯 3.1%, 표고버섯 40.5%, 영지버섯 12.2%, 운지버섯 8.6%라고 보고한바 있어 약간의 차이가 있는 것으로 나타났다. 또한 이의 결

과와 이 연구의 열수 추출물에서의 tyrosinase 저해 활성과 비교해보면 목이버섯 추출물과는 유사하였으나, 표고버섯보다는 낮았고, 나머지 버섯 추출물보다는 높은 경향이었다. 또한 메탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 운지버섯 자실체 추출물이 표고버섯 추출물에서 보다는 낮았으나, 기타(느타리버섯, 목이버섯, 석이버섯, 양송이버섯, 팽이버섯, 영지버섯) 버섯 추출물들에서 보다는 높은 결과를 나타내었다.

3.3.3 Elastase 저해활성

운지버섯 자실체 열수와 메탄올 추출물의 elastase 저해 활성을 처리 농도에 따라 조사한 결과는 Table 5에 제시하였다. 운지버섯 자실체 열수 추출물(1, 2, 3 mg/ml)의 elastase 저해 활성은 각각 $13.81 \pm 0.68\%$, $14.24 \pm 0.27\%$, $16.93 \pm 0.92\%$ 로 처리농도에 따라 약간씩 증가하는 경향이었으며, 이는 통계학적 유의성이 인정되었다($p < .005$). 또한 메탄올 추출물을 처리한 경우에 있어서는 $11.40 \pm 0.65\%$, $22.58 \pm 0.81\%$, $32.93 \pm 0.81\%$ 로 처리농도에 비례하여 증가하는 경향으로 이의 결과도 역시 통계학적 유의성이 있었다($p < .001$). 열수와 메탄올 추출물을 경우에서는 2~3 mg/ml 처리농도에서는 열수추출물에서 보다는 메탄올 추출물에서 매우 높은 것으로 나타났다. 그러나 열수와 메탄올 추출물 모두는 대조군으로 사용한 ursolic acid 보다는 상당히 적게 나타나 운지버섯 자실체 추출물의 elastase 저해 활성은 낮은 것으로 나타났다.

Table 5. Elastase inhibitory effects of *C. versicolor* extracts

Solvent/control	Inhibitory effect(%) according to amounts(mg/ml) the extracts				
	1	2	3	F	p*
Hot water	13.81 ± 0.68^a	14.24 ± 0.27^a	16.93 ± 0.92^b	18.62	.030*
MeOH	11.40 ± 0.65^a	22.58 ± 0.81^b	32.93 ± 0.81^c	601.53	.030*
Ursolic acid	65.73 ± 1.60				

Elastase activity was measured by each 1, 2 and 3 mg/ml concentration of hot water and methanol extracts. Control ursolic acid was treated with 0.1 mg/ml. Each value represents the mean \pm S.D. from three independent experiments. a-c values with different letters are significantly different at $p < .05$ by Duncan's multiple range test.

3.3.4 Collagenase 저해활성

운지버섯 자실체 열수와 메탄올 추출물의 collagenase

저해활성을 조사한 결과는 Table 6에 제시하였다. 운지버섯 자실체의 열수 추출물의 각각의 처리 농도(1, 2, 3 mg/ml)에 따른 collagenase 저해 활성은 $46.39 \pm 0.41\%$, $49.87 \pm 1.15\%$, $51.83 \pm 0.84\%$ 이었다. 또한 메탄올 추출물에서는 각각의 처리 농도(1, 2, 3 mg/ml)에 따라 $37.65 \pm 0.83\%$, $38.27 \pm 0.39\%$, $41.72 \pm 0.77\%$ 저해 활성을 나타내 대조군으로 사용된 retinyl acetate(1 mg/ml)는 $28.90 \pm 1.39\%$ 보다는 높은 것으로 나타나 주름 방지효과엔 매우 우수한 것으로 판단된다.

Table 6. Collagenase inhibitory effects of *C. versicolor* fruit body extracts

Solvent/control	Inhibitory effect(%) according to the amounts of extract(mg/ml)				
	1	2	3	F	p*
Hot water	46.39 ± 0.41^a	49.87 ± 1.15^b	51.83 ± 0.84^c	31.10	.000***
MeOH	37.65 ± 0.83^a	38.27 ± 0.39^a	41.72 ± 0.77^b	30.18	.000***
Retinyl acetate	28.90 ± 1.14				

Collagenase activity was measured by 1, 2 and 3 mg/ml concentration of hot water and methanol extracts. Control retinyl acetate was treated with 1.0 mg/ml. Each value represents the mean \pm S.D. from three independent experiments. a-c values with different letters are significantly different at $p < .05$ by duncan's multiple range test. *** $p < .001$.

따라서 이와 같은 Table 7의 결과로 볼 때 운지버섯 자실체 열수와 메탄올 추출물은 collagenase 저해 활성이 상당히 높은 것으로 나타나 주름생성을 억제하는 화장품 원료로서의 활용 가능성이 있는 것으로 사료되어진다.

운지버섯의 자실체의 성분으로는 핵산, 아미노산, 다당류, 스테로이드 등이 있는 함유되었고[14], 함유된 다당체의 화학성분인 다당류는 항암작용, 항바이러스, 항박테리아와 항종양효과, 항응고 작용 등의 약리작용이 있는 것이 보고되었다[15, 16, 17, 18, 19]. 운지버섯 배양액의 지질대사에 미치는 영향, 항산화, 항암활성 및 장내세균의 생육에 미치는 영향[20, 21, 22] 등에 대한 연구가 일부 되어져 있을 뿐, 운지버섯 자실체에 대한 생리적 활성에 대한 연구 보고는 미진하였다. 본 연구에서 운지버섯 자실체의 추출물이 항균 성분인 polyphenol과 flavonoid 성분이 다량 검출되었고, 또한 효소 tyrosinase, elastase, collagenase 등의 효소저해 활성도 새로이 확인되어 운지 버섯의 활용 면이 다양하게 되었다고 판단이 되었다.

4. 결론

운지버섯 자실체의 열수와 메탄올 추출물의 총 polyphenol과 flavonoid 함량과 일부 생리활성을 조사하였다. 운지버섯 열수와 메탄올 추출물의 총 polyphenol 함량은 열수 추출물에서 129.60 ± 0.73 mg/dl이었고, 메탄올 추출물에서는 43.80 ± 0.41 mg/dl로 나타나, 열수 추출물이 메탄올 추출물에서 보다 약 3배 높은 함량을 나타내었다. 또한 총 flavonoid 함량은 열수 추출물에서는 30.50 ± 0.63 mg/dl이었고, 메탄올 추출물에서는 20.90 ± 0.09 mg/dl로 열수추출물에서 메탄올 추출물에서 보다 약간 많은 것으로 나타났다.

DPPH radical 소거 활성은 열수와 메탄올 추출물에서 모두 처리농도에 비례하여 증가하는 경향이였다. Tyrosinase 저해 활성은 열수와 메탄올 추출물에서 모두 처리농도에 비례하여 증가하는 경향이였으나 대조구인 arbutin 보다는 낮아 tyrosinase 저해 활성은 낮은 것으로 나타났다. Elastase 저해 활성은 열수와 메탄올 추출물에서 모두 처리농도에 비례하여 증가하는 경향이였으나 대조군으로 사용한 ursolic acid(0.1 mg/ml) 보다는 상당히 적게 나타나 elastase 저해 활성은 낮은 것으로 나타났다. Collagenase 저해 활성은 열수와 메탄올 추출물에서 모두 처리농도에 비례하여 증가하는 경향이였고, 대조구로 사용된 retinyl acetate(1 mg/ml)는 $28.90 \pm 1.39\%$ 보다는 높은 것으로 나타났다. 따라서 이상과 같은 결과로 볼 때 운지버섯 자실체 열수 추출물은 천연 항산화제로서의 활용가능성 제시될 뿐만 아니라 열수와 메탄올 추출물은 collagenase 저해 활성이 상당히 높게 나타났다.

References

- [1] Y. K. Lee, Y. S. Song, K. K. Lee. "Evaluation of Antioxidant, Tyrosinase Inhibitory and Anti-inflammatory Activities of *C. longa* extracts", *International Journal of Beauty, Cultures and Arts*, 1(1), pp. 2-8, 2012.
- [2] S. C. Bae, D. Y. Kim, T. H. Kim. *et al.* "Nitric Oxide in Inflammatory Arthritis", *Korean Journal of Medicine*, 52(1), pp. 32-41, 1997.
- [3] M. S. Kim, D. C. Lee, J. E., Hong, *et al.* "Antimicrobial Effects of Ethanol Extracts from Korean and Indonesian plants", *Korean Journal of Food Sciences and Technology*, 32(4), pp. 949-958, 2000.
- [4] G. Kuttan, D. M. Vasudevana, R. Kuttan. "Effect of a Preparation from *Viscum album* on Tumor Development *in vitro* and in Mice", *Journal of Ethnopharmacology*, 29(1), pp. 35-41, 1990.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741\(90\)90095-B](http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741(90)90095-B)
- [5] U. R. Hengge, B. Benninghoff, T. Ruzicka, M. Goos. "Topical Immunomodulators Progress Towards Treating Inflammation, Infection, and Cancer", *Lancet Infectious Disease*, 1(3), pp. 189-198, 2001.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(01\)00095-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(01)00095-0)
- [6] B. J. An, C. E. Lee, J. H. Son, *et al.* "Antioxidant, Anticancer and Tyrosinase Inhibition Activities of Extracts from *Rhododendron mucronulatum* T", *Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 48(3), pp. 280-284, 2005.
- [7] E. J. Roh, B. K. Kim, D. S. Kim. "Antioxidative Activity and Antiaging Effects of *Tetrapanax papyrifera* Extract.", *Journal of Korean Oil Chemists Society*, 28(2), pp. 219-224, 2011.
- [8] J. A. Lee, J. Y. Kim, W. J. Yoon, *et al.* "Biological Activities of *Oenothera laciniata* Extracts (Onagraceae, Myrtales)", *Korean Journal of Food Sciences and Technology*, 38(6), pp. 810-815, 2006.
- [9] M. S. Ko. "Chemical Components in Stalks and Leaves of *Sasa borealis* Makino and Antioxidative and Antimicrobial Activities of Extracts", *Korean Journal of Food Preservation*, 15(1), pp. 125-132, 2008.
- [10] J. W. Nho, I. G. Hwang, E. M. Joung, *et al.* "Biological Activities of *Magnolia denudata* Desr. Flower Extracts", *Journal of Korean Society for Food Science and Nutrition*, 38(11), pp. 1478-1484, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.11.1478>
- [11] H. J. Ban, M. Y. Kim, K. S. Ko. "A Study on the Cosmeceutical Ingredient of the Methanol Extract of *Acanthopanax sessiliflorus* Seeman", *Journal of Korean Society for Beauty, Culture and Arts*, 2(2), pp. 36-42, 2013.
- [12] J. S. Yoo, K. K. Lee, M. K. Kim. "Biological Activities of the Hot Water and Ethanol Extracts from *Opuntia humifusa*", *Journal of Applied Biological Chemistry*, 55(2), pp. 117-121, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3839/jabc.2011.068>
- [13] J. Y. Lee. *Coloured Korean mushroom*. Academy Book Co. Seoul, Korea. p.241, 1993.
- [14] L. Mau, H. C. Lin, C. C. Chen. "Non-volatile Components of Several Medicinal Mushroom", *Food Research International*, 60: pp. 763-766, 1997.
- [15] P. D. Critten, and N. Proter. "Lichen forming Fungi: Potential Sources of Novel Metabolites", *Trends Biotechnology*, 20, pp. 311-315, 1991.
- [16] B. W. Lee, M. S. Lee, K. M. Park, *et al.* "Anticancer Activities of the Extract from the Mycellia of *Coriolus versicolor*", *Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 20, pp. 311-315, 1992.
- [17] Y. Dong. C. Y. Kwan, Z. N. Chen, M. M. Yang. "Antitumor Effect of a Refined Polysaccharide Peptide Fraction isolated from *Coriolus versicolor in vitro* and *in vivo* studies", *Research. Communications in Molecular Pathology and Pharmacology*, 92, pp. 140-148, 1996.
- [18] K. W. Tsang, C. L. Lam, W. K. Lam. "*Coriolus versicolor* Polysaccharide Peptide Slows Progression of

Advanced non-small Cell Lung Cancer”, *Respiratory Medicine*, 97, pp. 618-624, 2003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/rmed.2003.1490>

[19] E. K. Park, B. K. Kim. “Antineoplastic Components of Mushroom-antineoplastic Activities of PS-K, a protein-bond Polysaccharide of *Coriolus versicolor* (Fr.) quel”, *Korean Journal of Mycology*, 5(2), pp. 25-30, 1997.

[20] S. J. Lee, S. H. Moon, T. Kim, *et al.* “Anticancer and Antioxidant Activities of *Coriolus versicolor* Culture Extracts Cultivated in the Citrus Extracts”, *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(4), pp. 362-367, 2003.

[21] J. B. Koh. “Effects of Liquid Culture of *Coriolus versicolor* on Lipid Metabolism and Enzyme Activities in Rats Fed Cholesterol Diet”, *Journal of Life Sciences*, 15(5), pp. 790-795, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2005.15.5.790>

[22] K. R. Park, W. J. Lee, M. G. Cho, *et al.* “Effects of the Extracts from *Gyrophora esculenta* and *Coriolus versicolor judae* Mycelia on the Growth of Intestinal Bacteria”, *Journal of Korean Society for Food Science and Nutrition*, 39, pp. 820-825, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.6.820>

[23] V. L. Singleton, R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventos. “Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-ciocalteu reagent”, *Methods in Enzymology*, Elsevier, 1999.

[24] S. K. Lee, S. Y. Park, I. C. Hwang & H. Kang. “Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Ethanol Extracts from *Fagopyrum tataricum*”, *Journal of Naturopathy*, 5(1&2), pp. 9-14, 2016.

[25] Korean Society of Food and Nutrition.. *Handbook of Food and Nutrition Experiments*.. Seoul, Hyoil Publisher, 2000.

[26] A. R. Kim, J. E. Kim, S. N. Park. “Antioxidative Activity and Component Analysis of *Phellinus linteus* Extracts”, *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 37(4), pp. 309-318, 2011.

[27] S. K. Lee, S.Y. Park, I. C. Hwang, H. Kang. “Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Ethanol Extracts from *Fagopyrum tataricum*”, *Journal of Naturopathy*, 5(1&2), 9-14, 2016.

[28] S. W. Jung, N. K. Lee, S. J. Kim, D. Han. “Screening of Tyrosinase Inhibitor from Plants”, *Korean Journal of Food Science and Technology*, 27(6), pp. 891-896, 1995.

[29] A. E. K.. James, D. W. Timothy, L. Golden. “Inhibition of Human Leukocyte and Porcin Pancreatic Elastase by Homologes of Bovine Pancreatic Tyrosine Inhibitors”, *Biochemistry*, 35, pp. 9090-9096, 1996.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/bi953013b>

[30] E. Wunsch, H. G. Heindrich. “Zur Quantitative Bestimmung der Collagenase”, *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie*, 333, pp. 149-151, 1963.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1515/bchm2.1963.333.1.149>

[31] K. H. Lee, H. J. Kwon, S. S. Chun, *et al.* “Biological Activities of Extracts from *Phellinus linteus*”, *Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 49(4), pp. 298-303, 2006.

[32] H. S. Yoon, J. S. Choi, K. S. Kim, *et al.* “Analysis of

Physiological Activities of Wild *Flammulina velutipes*”, *Journal of Mushroom Society for Production*, 8(1), pp. 22-26. 2010.

[33] J. H. Song, H. S. Lee, J. K. Hwang, *et al.* “Physiological Activities of *Phellinus ribis* Extracts”, *Korean Journal of Food Science and Technology*, 35(4), pp. 690-695, 2003.

[34] M. K. Kim, K. K. Lee, A. R. Jang. “A Study on Cosmetic Physiological Activities of *Sasa borealis* Root Extracts”, *Journal of Korean Society for Cosmetics*, 16(4), pp. 1017-1027, 2011.

[35] Y. H. Park, S. K. Chang. “Screening of Inhibitory Effect of Edible Mushrooms on Tyrosinase and Isolation of Active Component”, *Journal of Food Hygiene and Safety*, 12(3), pp. 195-199, 1997.

최 병 용(Byeong Yong Choi)

[정회원]



- 1991년 4월 : 비콜크리스찬 의학대 학원 의학박사
- 1998년 8월 : 고려대학교 법무대학원 법학석사
- 2002년 2월 : 서울대 보건대학원 의료정책과정
- 2014년 3월 : 동방문화대학원대학교 자연치유학과 박사과정
- 1996년 9월 : 현재 신구대학교 방사선과, 피부미용과 겸임 교수
- 2008년 3월 ~ 현재 : 고려대학교 의과대학 외래교수
- 1993년 5월 ~ 현재 : 탐정형외과원장

<관심분야>

자연치유, 생명과학, 의학

이 형 환(Hyung H. Lee)

[정회원]



- 1971년 2월 : 연세대학교 대학원 생명과학과(생명과학석사)
- 1975년 8월 : 미국 Brigham Young U. 대학원(생명과학석사)
- 1979년 3월 : 미국 U of Idaho, Molecular Biol.(Ph.D 분자생물학)
- 1975년 8월 ~ 1976년 8월 : 미국 U of Utah Medical School 연구원
- 1979년 3월 ~ 2006년 2월 : 건국대학교 생명과학과 교수 역임
- 2008년 2월 ~ 2016년 2월 : 동방문화대학원대학교 자연치유학과 석좌교수 역임
- 2006년 3월 ~ 현재 : 건국대학교 생명과학특성화학과 명예교수

<관심분야>

자연치유, 생명과학, 의생명학