

상황버섯 자실체로부터 분리된 수용성 다당류의 특성 분석 및 이의 베타 시크리타아제 활성 저해효과

조항수 · 최두진 · 정미자 · 박제권¹ · 박용일*

가톨릭대학교 생명공학과 & 가톨릭대학교 GRRC 생체의약선도분자연구센터, ¹가천대학교 약과학과

Characterization and β -secretase Inhibitory Activity of Water-soluble Polysaccharides Isolated from *Phellinus linteus* Fruiting Body

Hang Soo Jo, Doo Jin Choi, Mi Ja Chung, Jae Kweon Park¹ and Yong Il Park*

Department of Biotechnology & Research Center for Biopharmaceutical Lead Molecule, The Catholic University of Korea, Bucheon, Gyeonggi-do 420-743, Korea

¹Department of Pharmaceutical Science, Gachon University, Incheon 406-799, Korea

(Received 17, November 2012., Revised 22, November 2012., Accepted 22, November 2012)

ABSTRACT: A key molecule in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) is the β -amyloid peptide ($A\beta$) generated by β -secretase activity, an aspartic protease. This study was designed to evaluate inhibitory effect of the high-molecular weight water-soluble polysaccharides (Et-P) isolated and purified from *Phellinus linteus* fruiting body on β -secretase activity. The Et-P was purified from the hot water extract of *Phellinus linteus* fruiting body mainly by 75% ethanol precipitation and DEAE-Cellulose column chromatography. From the DEAE-Cellulose chromatogram and molecular weight analysis, the Et-P was shown to be a mixture of three polysaccharides with molecular mass of 1,629, 1,294, and 21 kDa, respectively. The monosaccharide composition of Et-P was determined to be glucose, galactose, and mannose as major sugars, glucose being the most prominent one (48% in mole percentage). The elemental analysis and FT-IR analysis suggested that Et-P is typical polysaccharides having at least partially β -linkages and possible existing as complex with phenolic compounds. The laminarinase digestion and HPAEC-PAD analysis suggested that Et-P is a variant of beta-(1,3)-glucans. The Et-P showed DPPH radical scavenging activity and, especially, a significant inhibitory activity on β -secretase activity (48% inhibition at 100 μ g/mL), suggesting that they may inhibit the formation of $A\beta$ which is the major causative of Alzheimer's disease. The results of this study suggest that the water soluble polysaccharides of *Phellinus linteus* fruiting body can be a potent material for the development of preventive or therapeutic agents for AD.

KEYWORDS: Alzheimer's disease, *Phellinus linteus*, Polysaccharide, β -Secretase

서 론

알츠하이머병이라는 노인성 치매질환은 아직까지 확실한 원인은 밝혀지지 않았지만 노화와 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있었으나(Brookmeyer *et al.*, 1998), 최근에는 젊은 사람들에게도 노인성 치매가 유발되고 있어 치매는 더 이상 노인성 질병이 아닌 것으로 알려져 있다(Kim *et al.*, 2008). 노령화, 고령화 사회가 지속되고 있고 건강하게 오랫동안 삶을 유지하고자 하는 바람에 의해 건강 특히 치매와 같은 신경계 뇌질환에 대한 예방 및 치료에 많은 관심이 집중되고 있다(Kim *et al.*, 2012). 알츠하이머 발병의 주요 원인 물질이 베타 아밀로이드 단백질($A\beta$)인 것으로 알려졌으며 이것을 생성하는데 가장 중요한 작용을 하는 효소가 β -secretase이다. 따라서 β -secretase 활

성을 억제하는 천연 소재를 개발하고자 하는 많은 연구들이 진행되고 있다(Kim *et al.*, 2008).

상황버섯(*Phellinus linteus*)은 분류학적으로 소나무 바늘버섯과(*Hymenochaetaceae*), 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하는 백색부후균이며(Choi *et al.*, 1996), 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 항암효과(Chung *et al.*, 1994; Ikekawa *et al.*, 1968), 항돌연변이 효과(Ham *et al.*, 2009) 장내 유해효소 저해효과(Kim *et al.*, 1998), 면역증진 효과(Kim *et al.*, 1996), 항산화(Lee *et al.*, 2006) 등 다양한 생리활성 효과가 알려져 있다. 그러나 상황버섯 유래 다당류의 β -secretase 활성 억제에 대한 연구보고는 전무하다.

본 연구에서는 상황버섯 자실체(*Phellinus linteus* fruiting body)로부터 수용성 다당류를 분리, 정제하고, 이 다당류의 성분당 조성 및 구조를 분석하고, β -secretase 활성 억제 효과를 조사하여 항치매 관련 기능성 소재로의 활용 가능성을 알아보려고 하였다.

*Corresponding author <E-mail : yongil382@catholic.ac.kr>

재료 및 방법

상황버섯 자실체로부터 다당류의 분리 및 정제

본 실험에 사용된 상황버섯 자실체(*Phellinus linteus* fruiting body)는 경북대 이준우 교수님으로부터 제공받아 자실체를 잘게 자른 후, 파쇄하여 끓는 물에서 4시간 동안 열수추출하고 Whatman No. 4로 여과한 뒤 동결 건조하였다. 동결 건조된 상황버섯 열수 추출물을 물에 용해시킨 다음, 75%의 에탄올이 되도록 에탄올을 가하여 4°C에 하루밤 방치한 후, 원심분리(18,000 rpm, 30 min)하여 침전물과 상층액을 분리하였다. 얻어진 에탄올 침전물은 동결건조로 분말화하여 -20°C에 보관하였다. 분말 에탄올 침전물을 증류수에 녹여 DEAE-cellulose column chromatography로 분획하여 상황버섯 자실체 수용성 고분자 물질을 정제(Et-P, 상황버섯 고분자 물질)하였다. 10 mg의 샘플을 1 mL의 증류수에 녹이고 DEAE-cellulose column(3 × 20 cm)에 주입한 후 증류수로 세척 후 NaCl 용액(0-1.5 M)으로 용출시키고, 각 분획에 대해 phenol-sulfuric acid method로 탄수화물을 정량하여 가장 큰 분획을 모아 증류수로 4°C에서 72시간 투석(MWCO 1,000)한 후, 동결건조하고 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

HPAEC-PAD에 의한 상황버섯 자실체 수용성 다당류의 성분당 조성 및 원소분석

정제된 상황버섯 자실체 유래 수용성 다당류(Et-P) 10 mg을 증류수 1 mL에 용해시킨 후, 동량의 4 M trifluoroacetic acid(TFA)를 첨가하여 100°C에서 4시간 동안 산 가수분해하였다. 반응이 끝난 후 실린지 필터(0.45 µm)로 여과한 후 Speed Vac(Module spin 40, Biotron, Korea)으로 진공 건조하였다. 성분당 분석을 위해 산가수분해된 샘플을 CarboPac PA-1 column(4 × 250 mm)을 장착한 Bio-LC(DX 500 Chromatography System, Dionex, USA) 시스템에서 High Performance Anion Exchange Chromatography(HPAEC) 법으로 분석하였다. 검출기는 pulsed amperometric detector(ED 50, Dionex, USA)를 사용하였으며, 1.0 mL/min의 속도로 검출하였다. 시료는 10 µL로 주입하였으며 표준물질은 Sigma사로부터 구입한 fucose, arabinose, rhamnose, galactose, glucose, mannose, xylose 혼합물을 사용하였다. 샘플에서 유래한 미지의 당은 표준 당의 RT(retention time)값을 비교하여 동정하였다.

정제 다당류(Et-P)의 원소분석(Elemental analysis)은 탄소(carbon), 수소(hydrogen), 질소(nitrogen), 황(sulfur) 원자에 대해 CHNS-Porapack PQS가 장착된 EA1112(CE Instrument, Italy)를 사용하여 분석하였으며, 약 1 mg의 샘플을 주입하고 He으로 용출하면서 TCD(Thermal conductivity detector, CE Instrument, Italy)로 검출하였다.

다당류의 분자량 측정

정제된 상황버섯 자실체 수용성 다당류(Et-P)의 분자량(molecular mass) 측정은 Shodex OHpak column(SB-806HQ, 8.0 × 300 mm, Showa Denko, Japan)을 장착한 HPLC(Dionex, USA) system으로 분석하였다. 검출기는 ELSD(Evaporative light scattering detector, Alltech)를 사용하였으며, 1% 농도의 시료 1 µL를 주입하고 용출용매인 증류수를 60°C로 유지하며 0.8 mL/min 속도로 용출하면서 검출하였다. 표준 분자량 다당류는 Sigma사로부터 구입한 Blue dextran(2,000 kDa)과 Pullulans(788, 404, 212, 22.8, and 11.8 kDa)을 사용하였다. 이들 표준 분자량 다당류들의 RT 값을 이용하여 표준곡선을 그려 정제된 Et-P의 RT 값을 추세선에 대입하여 분자량을 결정하였다.

다당류 Et-P의 FT-IR를 통한 구조분석

정제 다당류 Et-P에 대한 기초 구조분석을 위해 Et-P 다당류를 증류수에 용해하고 IRsolution software를 사용하는 IRAffinity-1 spectrophotometer(Shimadzu, Japan)를 이용하여 fourier transform infrared(FT-IR) spectra(spectral region 4,000-400 cm⁻¹, resolution 4 cm⁻¹)를 확인하였다.

Laminarinase 분해를 통한 Et-P 다당류의 성분당 결합구조 분석

정제 다당류 Et-P가 버섯에서 일반적으로 발견되는 베타-글루칸과 유사한 구조의 다당류인지를 조사하기 위해, 일반적으로 1-3 결합의 베타-글루칸을 분해하는 효소로 알려진 laminarinase로 효소 가수분해 후, 유리된 효소 분해물 당류를 HPAEC-PAD로 조사하였다. Et-P 다당류 5 mg을 sodium acetate buffer(pH 5.0) 500 µL에 용해시키고 laminarinase(2.5U, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA)를 첨가하여 37°C에서 48시간 동안 반응시켰다. Laminarinase의 활성을 확인하기 위해 베타-글루칸으로 알려진 laminarin(Sigma)을 control로 사용하였다. 효소 분해물은 CarboPac PA-1 column을 장착한 Bio-LC 시스템에서 HPAEC-PAD법으로 분석하였다. 검출기는 pulsed amperometric detector를 사용하였으며 용출용매로는 75 mM NaOH를 isocratic mode로 40분 동안 1.0 mL/min의 속도로 검출하였다. 시료는 10 µL로 주입하였으며 표준물질로는 Sigma사로부터 구입한 glucose와 glucose 두 분자가 beta-(1,6)로 연결된 gentiobiose를 사용하였다. 효소분해로 얻어진 분해물의 RT값과 표준물질의 RT값을 비교하여 동정하였다.

DPPH free radical 소거작용

DPPH free radical 소거능은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 환원력으로 측정하였다. 즉, 각

시료 5 μ L에 1.5×10^{-4} M DPPH 시약 100 μ L를 가하고 잘 섞은 후 실온에서 20분 동안 방치한 다음 Multi-Detection microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서 ascorbic acid를 사용하여 비교하였다.

β -Secretase 저해효과

β -secretase 효소 활성은 8 Units의 β -secretase(Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA)와 10 μ M 7-methoxycoumarin-4-acetyl-[Asn⁶⁷⁰, Leu⁶⁷¹]-amyloid β /A4 precursor protein 770 fragment 667-676-(2,4-dinitrophenyl)Lys-Arg-Arg amide(Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA)를 기질로 하여, 시료 및 0.1% Triton X-100을 포함한 20 mM sodium acetate(pH 4.5) 완충액의 총 부피가 100 μ L가 되도록 하여 섞은 후 실온에서 30분간 반응시킨 다음 Excitation 320 nm, Emission 405 nm에서 형광세기를 측정하였다. 대조구로서, 기지의 저해제인 β -secretase inhibitor 1(ANASPEC, San Jose, CA, Catalog No. 23958)을 사용하였다.

통계처리

실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 GraphPad InStat(GraphPad InStat Version 3.00, 2003) 통계 package를 이용하여 실험군당 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 각 농도의 평균치의 통계적 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 Tukey-Kramer multiple comparisons test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

DEAE-cellulose column chromatography에 의한 상황버섯 자실체 유래 수용성 다당류의 정제

상황버섯 자실체 열수 추출물로부터 75% 에탄올 침전

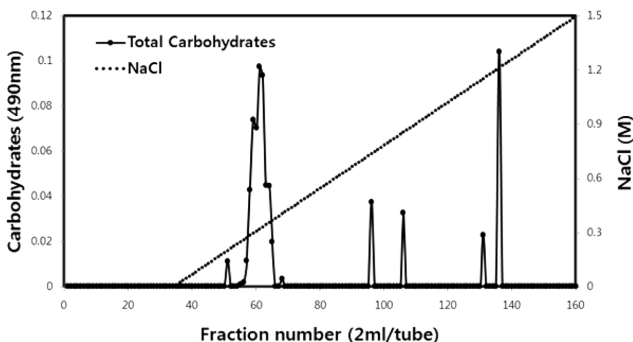


Fig. 1. DEAE-cellulose column chromatography of the ethanol-precipitated high-molecular weight polymers obtained from the hot-water extract of *Phellinus linteus* fruiting body. Each fraction was assayed for carbohydrate by phenol-sulfuric acid method.

을 통해 열수 추출물 대비 건량 약 27.22%의 수율로 조정제 고분자 물이 얻어졌으며, 이 조정제 고분자 물질을 DEAE-cellulose column chromatography로 분획한 결과 약 0.25 M NaCl에서 용출된 가장 큰 탄수화물성 peak(carbohydrate positive peaks)가 보였다(Fig. 1). Fig. 1에 나타난 바와 같이, 이 peak에는 작은 peak가 2개 정도 더 있는 것으로 나타나 3개의 탄수화물성 고분자가 혼재해 있는 분획으로 판단되었다. 이 분획(fraction tube number 55-66)을 합화하여 투석 후 동결건조하여 수용성 탄수화물성 고분자물을 정제하고 Et-P(Et-P fraction)라 표시하였다.

상황버섯 자실체 수용성 다당류의 성분당 조성, 원소 분석 및 분자량

상황버섯 에탄올 추출물 중 세 가지 주요물질의 RT와 표준물질인 galactose, glucose 그리고 mannose의 RT와 비교한 결과 같은 RT를 나타내었고, 그 결과는 Fig. 2와 같다. 성분당 분석 결과, 상황버섯 자실체로부터 분리된 수용성 고분자물 Et-P는 glucose, galactose, mannose가 주요 구성 단당류이고, fucose, xylose등이 소량으로 함유되어 있는 헤테로 다당류이고 glucose(48% in mole percentage)가 가장 많이 함유되어 있는 glucans 들임을 확인하였다.

또한, Table 1에 나타난 바와 같이, 원소분석의 결과, Et-P가 주로 carbon(35.92% w/w), hydrogen(5.34% w/w),

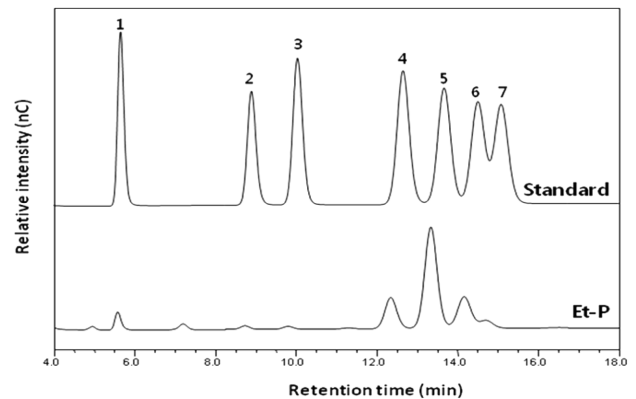


Fig. 2. Monosaccharide composition analysis by HPAEC-PAD analysis of the purified water-soluble polysaccharides (Et-P) of *Phellinus linteus* fruiting body. Standard monosaccharides(Sigma): 1, Fucose; 2, Arabinose; 3, Rhamnose; 4, Galactose; 5, Glucose; 6, Mannose; 7, Xylose.

Table 1. Elemental analysis of Et-P

Element	%N	%C	%H	%S
Experimental composition (%w/w)	1.1899	35.9227	5.3409	0.4056
Et-P ^a				

^aApproximately 1 mg of Et-P was used for analysis.

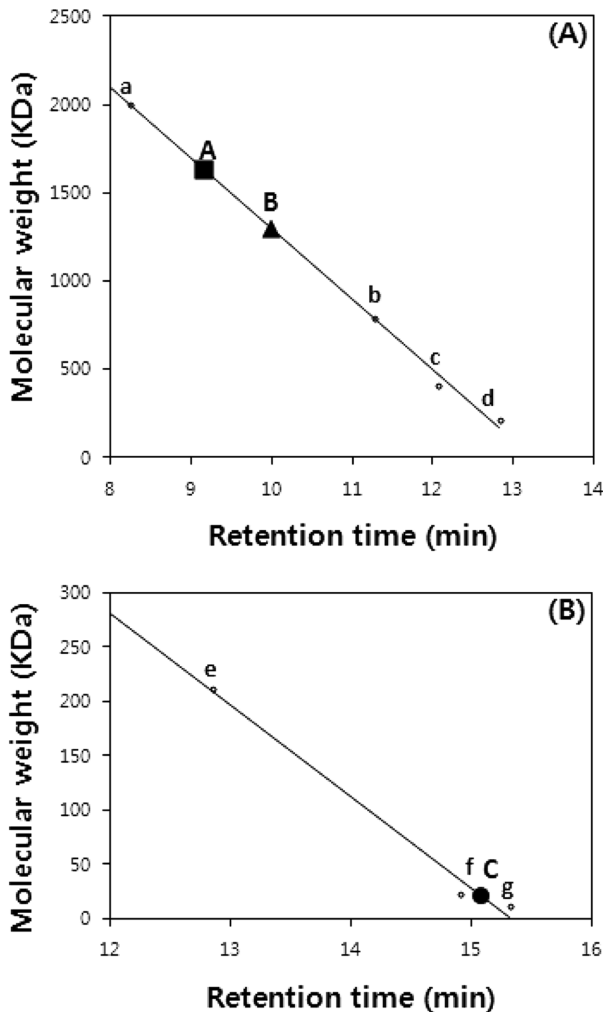


Fig. 3. Molecular weight determination of the purified polysaccharides (Et-P) of *Phellinus linteus* fruiting body by size-exclusion HPLC. The standard size markers were Dextran and Pullulans (Sigma): a, 2,000; b, 788; c, 404; d, 212; e, 22.8; f, 11.8 KDa (A, B, C: the polysaccharides of Et-P). (A), $R^2 = 0.9966$; (B), $R^2 = 0.9889$.

nitrogen(1.19%), sulfur(0.41%) 원자로 이루어져 있어, 단백질은 거의 없는 것으로 나타나 당단백이 아닌 탄수화물 다당류인 것으로 판단되었고, 황산기 또한 거의 없는 것으로 판단되었다. 또한, 탄소와 수소의 비가 매우 큰 것으로 보아 phenolic 화합물과 복합체 형태로 존재할 가능성이 있음을 보였다. 한편, HPLC를 이용한 분자량 측정 결과 Et-P는 분자량이 각각 1629, 1294, 21 kDa인 세 가지 polymer로 구성되어 있는 것으로 확인되었다(Fig. 3).

상황버섯 자실체 수용성 다당류 Et-P의 FT-IR를 통한 구조분석

정제된 다당류 Et-P에 대한 FT-IR spectrum은 Fig. 4와 같다. 상황버섯 고분자 물질의 FT-IR spectrum 밴드 확인은 Pereira 등(1999), Barre 등(2007) 그리고 Edwards 등

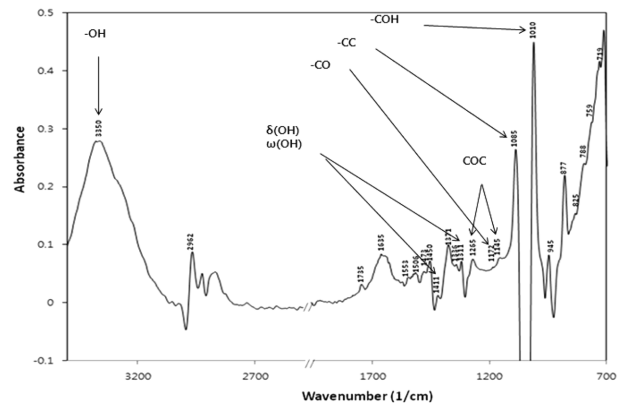


Fig. 4. FT-IR analysis of Et-P.

(2008)의 논문들을 참고하였다. FT-IR spectrum 분석 결과 1550-1800 cm^{-1} 에서는 대부분 폴리페놀성 아로마틱의 존재를 나타내며 3350 cm^{-1} 에서는 polysaccharide나 물의 전형적인 특징인 hydroxyl group의 OH stretching 진동을 나타내었다. 1411 cm^{-1} 과 1311 cm^{-1} 에서는 당의 프라이머와 세컨더리 hydroxyl group의 $\alpha(\text{OH})$ 와 (OH) 를 나타내고 있으며 1265 cm^{-1} 와 1145 cm^{-1} 에서는 알킬-아릴과 아릴-아릴 에스테르의 COC stretching 진동을 확인할 수 있었다. 900-1200 cm^{-1} 의 강한 신호는 carbohydrate의 특징이며 1172, 1085, 1010 cm^{-1} 에서 glycoside bond와 pyranoside ring을 가지는 polysaccharide의 CO와 CC의 stretching 그리고 COH bending 진동을 나타낸다. 따라서 FT-IR 밴드를 분석한 결과 상황버섯 자실체에서 분리된 수용성 다당류들인 Et-P는 페놀성(phenolic) 물질 및 polysaccharide의 복합체로 구성된 것으로 생각되었다. 이는 상기의 원소분석 결과에서 탄소와 수소의 비가 매우 크게 나타난 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 877 cm^{-1} 에서의 약한 밴드는 beta-polysaccharide의 특징이기도 하다. 따라서, 지금까지 알려진 버섯 자실체의 polysaccharide는 일반적으로 beta-glucan일 가능성이 높은 것으로 보고되었는데(Ham *et al.*, 2009), 본 연구에서 분리된 상황버섯 자실체 수용성 다당류인 Et-P가 최소한 일정부분 beta-glucan 구조를 갖는 다당류의 일종일 가능성이 있음을 보였다.

Laminarinase 분해에 의한 Et-P 다당류의 결합구조 분석

상기 FT-IR 분석을 통해 제시된 바와 같이, Et-P가 beta-glucan일 것으로 판단됨에 따라, 이를 확인하기 위하여 beta-(1,3)-linkage를 가수분해하는 효소로 알려진 laminarinase를 이용하여 Et-P를 효소 분해한 후, 그 분해산물을 HPAEC-PAD로 분석하였다(Fig. 5). 대조군 다당류로 사용한 laminarin은 beta-(1,3)-linkage 구조를 갖는 베타-글루칸으로서 laminarinase로 처리하였을 때, glucose peak를 나타내어(Fig. 5B), 본 효소의 활성이 정상임을 보였고,

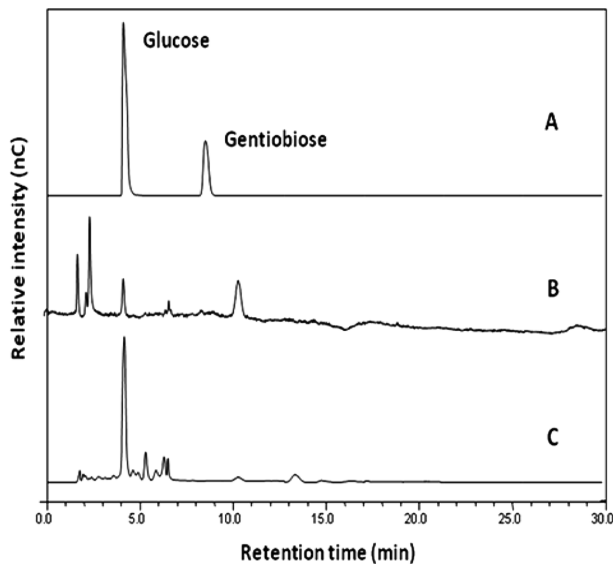


Fig. 5. HPAEC-PAD analysis of laminarinase-digested Et-P. The Et-P polysaccharides were hydrolyzed with laminarinase and portions of each hydrolysate were analyzed by HPAEC-PAD. (A), authentic glucose and gentiobiose; (B), laminarinase-hydrolyzed laminarin (Sigma); (C), laminarinase-digested Et-P.

이 효소로 Et-P 다당류를 처리한 결과(Fig. 5C), 현저히 많은 양의 glucose peak가 나타났다. 그러나, 2분자의 glucose가 beta-(1,6)-결합구조로 형성된 이당류인 gentiobiose peak는 거의 없는 것으로 나타났다. 따라서, Et-P는 최소한 일정 부분 beta-(1,3)-결합구조를 갖는 beta-glucans 들의 일종이고, beta-(1,6)-결합의 분자를 갖는 beta-(1,3)(1,6)-glucan은 아닌 beta-(1,3)-glucans임을 확인하였다.

상황버섯 자실체 수용성 다당류 Et-P의 DPPH radical 소거작용

상황버섯 자실체 열수 추출물(PL-WE)과 수용성 다당류(Et-P)의 DPPH radical 소거작용을 측정한 결과 Fig. 6과 같다. 1 mg/mL 열수 추출물과 1 mg/mL 고분자 물질을 첨가하였을 때 positive control로 사용한 ascorbic acid 보다는 둘 다 낮은 소거작용을 나타내었으나, 각각 46.4%와 43.3%의 DPPH radical 소거활성을 보였다. Ham 등 (2003)의 연구 보고에 의하면 차가버섯 수용성 고분자 조다당 분획물은 DPPH radical를 50% 소거시키는데 요구되는 시료의 양을 표시하는 RC_{50} 값이 77.4 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 이들 물질을 더 분획한 두 분획물들의 RC_{50} 값은 69.1과 360.4 $\mu\text{g/mL}$ 이라 보고하였다(Ham *et al.*, 2009). 따라서 차가버섯 조다당 분획물과 이들 분획물을 더 분획한 분획물들 모두 본 실험에 사용된 상황버섯 열수 추출물 및 고분자 물질보다 높은 DPPH radical 소거작용을 나타내었다.

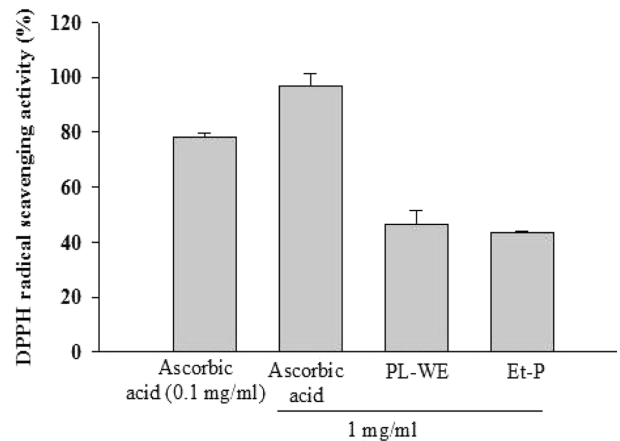


Fig. 6. DPPH radical scavenging activity of the hot-water extract and water-soluble polysaccharides (Et-P) of *Phellinus linteus* fruiting body. Results are from three independent experiments and expressed as mean $\pm$ SD ($n=3$). PL-WE, hot-water extract; Et-P, purified polysaccharides.

β -Secretase 저해효과

상황버섯 자실체 유래 수용성 다당류(Et-P)를 1, 10, 100 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때 농도 의존적으로 저해 활성을 나타내었으며, 특히, 시료 100 $\mu\text{g/mL}$ 처리했을 때는 대조군(Control)과 비교하여 약 48%의 저해 활성을 나타내어 Et-P가 β -secretase를 현저히 저해함을 보였다(Fig. 7). Kim 등(2008)의 보고에 의하면 인삼과 홍삼 추출물의 β -secretase 저해 활성을 검토한 결과 인삼보다는 홍삼이 더 효과적으로 β -secretase 활성을 저해하였다. 1차 증포 처리한 홍삼 추출물의 β -secretase 활성 저해율이 약 30%였으나 7차 증포 처리한 홍삼 추출물의 β -secretase 활성 저

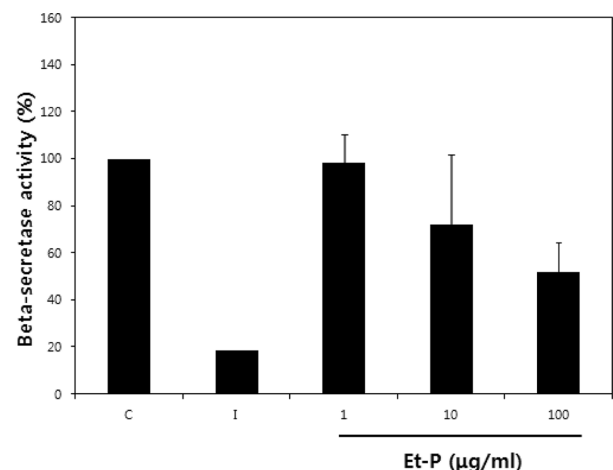


Fig. 7. Inhibitory effect of the water-soluble polysaccharides Et-P on β -secretase activity. Results are from three independent experiments and expressed as mean $\pm$ SD ($n=3$). *Significantly different from control. The level accepted as statistically significant difference was $P < 0.05$. C, Control; I, β -secretase inhibitor 1 (10 $\mu\text{g/mL}$).

해율이 약 50%였다. 따라서 본 연구에서 분리된 상황버섯 자실체 유래 수용성 다당류인 Et-P는 1차 증포 처리한 홍삼 추출물보다 가장 최적 증포 조건인 7차 증포 처리한 홍삼 추출물의 β -secretase 저해 효과와 유사한 수준의 저해 활성을 나타내었다.

노인반을 구성하는 주요 성분이 베타아밀로이드($A\beta$) 단백질이 생성은 알츠하이머병(Alzheimer's disease; AD)의 대표적인 병리학적 특징이다(Lin *et al.*, 2000). $A\beta$ 생성에 가장 중요한 작용을 하는 효소인 β -secretase를 저해하는 활성을 나타내는 추출물이나 천연 물질은 항치매 식의 약소제로 개발될 가능성이 있다. 따라서 본 연구에서 분리된 상황버섯 자실체 유래 수용성 다당류인 Et-P는 항 후보다 심도깊은 연구를 통해 항치매 효과를 나타내는 건강 식의약소제로 개발될 가능성이 있을 것으로 생각된다.

적 요

알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)의 진행과정의 주요 분자는 베타아밀로이드 펩타이드(β -amyloid peptide, $A\beta$)이며, $A\beta$ 생성에 가장 중요한 작용을 하는 효소가 β -secretase이다. 본 연구에서는 상황버섯 자실체로부터 수용성 고분자물을 분리, 정제하였고, 이들 고분자물이 주로 glucose, galactose, mannose 등으로 구성되어 있고, 특히, glucose 함량이 가장 많은 glucan의 일종으로서, FT-IR 구조분석, laminarinase 효소분석에 의한 결합구조 분석 등의 결과로부터, 최소한 일정 부분 beta-(1,3)-결합구조를 갖는 beta-glucans 들의 일종이고, beta-(1,6)-결합의 분지를 갖는 beta-(1,3)(1,6)-glucan은 아닌 beta-(1,3)-glucans임을 확인하였다. Et-P는 분자량이 각각 1,629, 1,294, 21 kDa인 다당류들로서, FT-IR 분석과 원소분석의 결과로 볼 때, Et-P가 페놀성(phenolic) 물질과 복합체 형태로 존재하는 다당류일 것으로 판단되었다. 상황버섯 자실체 열수 추출물로부터 분리된 수용성 다당류인 Et-P는 DPPH radical 소거능을 보이고, 특히, 뇌신경세포 사멸에 의한 치매 유발 물질로 알려진 베타-아밀로이드 펩타이드($A\beta$)를 생성하는 β -secretase 효소의 활성을 현저히 저해하는 효과를 나타냈다. 이는 상황버섯 자실체 유래 수용성 다당류인 Et-P가 항 후보다 심도 깊은 연구를 통해 항치매 효과를 나타내는 건강 식의약소제로 개발될 가능성이 있음을 보였다.

감사의 글

이 논문은 2012년 가톨릭대학교 경기도 GRRC 연구 사업과 가톨릭대 산학협력선도대학지원사업(LINC)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Barre, L. L., Vaughan, A. S. and Sutton S. J. 2007. On thermally-activated degradation of guar gum. *J. Mater. Sci.* 42:5497-5507.
- Brookmeyer, R., Gray, S. and Kawas, C. 1998. Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am. J. Public Health* 88:1337-1342.
- Choi, J. H., Ha, T. M., Kim, Y. H. and Rho, Y. D. 1996. Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. *Kor. J. Mycol.* 24:214-222.
- Chung, K. S., Kim, S. S., Kim, H. S., Kim, K. Y. and Han, M. W. 1994. Antitumor activity of Kp, a protein-poly-saccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus*. *Yakhak Hoeji*. 38:158-165.
- Edwards, H. G. M., Falk, M. J., Sibley, M. G., Alvarez-Benedi, J. and Rull, F. 2008. FT-Raman spectroscopy of gums of technological significance. *Spectrochim. Acta A*, 54:903-909.
- Ham, S. S., Oh, S. W., Kim, Y. K., Shin, K. S., Chang, H. Y. and Chung, G. H. 2003. Antioxidant and genotoxic inhibition activity of ethanol extract from the *Inonotus obliquus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32:1071-1075.
- Ham, S. S., Kim, S. H., Moon, S. Y., Chung, M. J., Cui, C. B., Han, E. K., Chung, C. K. and Choe, M. 2009. Antimutagenic effects of subfractions of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract. Mutation research/genetic toxicology and environmental mutagenesis. *Mutat. Res-Gen. Tox. En.* 672:55-59.
- Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F. 1968. Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann*. 59:155-157.
- Kim, D. W., Kim, Y. J., Lee, Y. J., Min, J. W., Kim, S. Y. and Yang, D. C. 2008. Conversion of ginsenosides by 9 repetitive steamings and dryings process of Korean ginseng root and its inhibition of BACE-1 activity. *Korean J. Oriental Physiology and Pathology* 22:1557-1561.
- Kim, S. M., Chung, M. J., Ha, T. J., Choi, H. N., Jang, S. J., Kim, S. O., Chun, M. H., Do, S. I., Choo, Y. K. and Park, Y. I. 2012. Neuroprotective effects of black soybean anthocyanins via inactivation of ASK1-KJNK/p38 pathways and mobilization of cellular sialic acids. *Life Sci.* 90:874-882.
- Kim, D. H., Choi, H. J. and Bae, E. A. 1998. Effect of artificially cultured *Phellinus linteus* on harmful intestinal bacterial enzymes and rat intestinal α -glucosidase. *J. Food Hyg. Safety*. 13:20-23.
- Kim, H. M., Han, S. B., Oh, G. T., Kim, Y. H., Hong, D. H., Ong, N. D. and Yoo, I. D. (1996) Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int. J. Immunopharmac.* 18:295-303.
- Pereira, M. S., Mulloy, B. and Mourao, P. A. S. 1999. Structure and anticoagulant activity of sulfated fucans. *J. Bio. Chem.* 19:7656-7667.
- Lee, K. H., Kwon, H. J., Chun, S. S., Kim, J. H., Cho, Y. J. and Cha, W. S. 2006. Biological activities of extracts from *Phellinus linteus*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 49:298-303.
- Lin, X., Koelsch, G., Wu, S., Downs, D., Dashti, A. and Tang, J. 2000. Human aspartic protease memapsin 2 cleaves the β -amyloid precursor protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 97:1456-1460.