

한국 자생 버섯의 다양성 및 자원화 이용기술 개발연구

Studies on the Diversity of Korean Mushroom and Development of Bioactive Compounds

주관연구기관	한국생명공학연구원
연구책임자	유익동
발행년월	2000-09
주관부처	과학기술부
사업관리기관	한국생명공학연구원
NDSL URL	http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO200200051092
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 15:56:59

저작권 안내

- ① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.
- ② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.
- ③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.
- ④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

한국 자생 버섯의 다양성 및 자원화
이용기술 개발연구

Studies on the Diversity of Korean Mushroom and
Development of Bioactive Compounds

생명공학연구소

과학기술부

제 출 문

과학기술부 장관 귀하

본 보고서를 "한국 자생 버섯의 다양성 및 자원화 이용기술 개발연구" 과제의 보고서로 제출합니다.

2000년 9월 일

주관연구기관명 : 생명공학연구소

주관연구책임자 : 유 익 동

연 구 원 : 윤 봉 식

연 구 원 : 김 종 평

연 구 원 : 김 원 곤

연 구 원 : 유 인 자

연 구 원 : 이 인 경

연 구 원 : 이 상 준

연 구 원 : 강 희 철

위탁연구기관명 : 우석대학교

위탁연구책임자 : 조 덕 현

요 약 문

I. 제 목

한국 자생 버섯의 다양성 및 자원화 이용기술 개발연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

○ 지구상의 생물종은 매년 약 250-300종이 멸종되고 있는 것으로 추산되고 있으며 이와 같은 생물다양성의 소실과 훼손은 생물공학 기술 개발에 필수적인 유전자원의 소실이라고 하겠다.

○ 지구상에는 수천 종의 버섯이 자생하고 있어 유전자원으로서의 중요성이 지대할 뿐만 아니라 기호성 식품소재 내지는 각종 약리 활성을 나타내는 기능성 소재로도 크게 주목을 받고 있다.

○ 우리나라에 자생하고 있는 버섯은 총 1000여종이 보고되었고 그중 328종이 식용 및 약용버섯으로 활용 가능한 것으로 분류되고 있으며 전체 재배 면적도 현재 3,602,000평, 농가호수는 18,349호로 농가 소득작물의 중요한 위치를 차지하고 있다.

○ 또한 년도별 재배 생산량을 보면 1985년 44,405 M/T, 1990년 63,923 M/T, 1995년 92,600M/T 으로 생산량이 급격히 증가하고 있고 수출입 량도 매년 증가하고 있어 국가적으로도 매우 중요한 농산 자원으로 인정받고 있다.

○ 그 이유로는 버섯류가 함유하고 있는 각종 성분 특히 생리활성 성분이 규명되어 고부가가치 기능성 식물소재로 인정받기 때문이며 더 나아가서는 신규 의약품으로의 개발 가능성까지 기대되어 크게 주목을 받고 있기 때문이다.

○ 따라서 국내 자생 버섯류의 자원확보 및 버섯 유래 기능성 생리활성물질의 응용개발연구는 농가의 소득증대는 물론 신규 약리활성 소재로 개발하여 2000년 약 2,736억불로 예상되는 세계 의약품 시장에 적극 참여하여 국제화 개방화에 따른 국제 경쟁력 제고에 크게 기여할 것이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구과제는 생명공학연구소, 우석대학 등 학연이 협력하여 연구를 수행하였

다. 국내 자생버섯류의 확보, 수집, 및 분포조사 분류동정은 우석대학에서 담당하였으며 버섯이 생산하는 유용물질의 탐색 및 추출정제 화학구조, 생물활성 연구는 생명공학연구소가 담당하였다.

1. 국내 자생 버섯의 자원조사

자생버섯이 풍부한 지리산 지역을 중심으로 자생버섯의 자원을 수집, 분류, 동정하여 그 다양성을 밝히고 표본을 확보한다.

2. 국내 자생 버섯류의 균학적 특성조사

확보된 자생버섯의 갓의 크기, 모양, 표면상태, 색, 냄새 등 육안적 형태를 관찰한 후 자실층의 모양, 대의 부착상태, 밀도, 주름살의 상태 등 균학적 특성을 조사한다.

3. 국내 자생버섯으로부터 유용물질 생산 균주의 탐색 및 선발

항암활성 및 항산화 활성물질 탐색계를 이용하여 확보된 자생 버섯류로부터 강력한 활성산소소거물질 및 항암활성물질을 생산하는 우수한 버섯류를 선발 확보한다.

4. 자생 버섯으로부터 유용물질의 추출정제

수집된 자생 버섯으로부터 약리 활성을 나타내는 물질을 유기용매 추출, column chromatography, TLC, HPLC 등의 각종 분리·정제기술을 이용하여 순수 분리한다.

5. 자생버섯으로부터 추출한 화합물의 물리화학적 특성조사 및 화학구조분석

순수하게 분리 정제된 약리활성 물질의 각종 물리화학적 특성을 조사하며, NMR, MS, IR spectroscopy 등 여러 가지 기기분석을 통하여 물리화학적 특성 및 완전 화학구조를 결정한다.

6. 유용물질의 약리활성 연구

버섯류가 생산하는 신규 화합물의 약리활성을 규명함과 동시에 안전성 등을 검토하여 독버섯 유무를 판정하고 활용성을 검토한다.

7. 자생버섯의 자원화

국내 자생 버섯으로부터 각종 유용물질 생산 여부를 판정하고 새로운 활용 가능성이 높은 버섯을 개발하여 농가소득 증대에 기여할 수 있는 기반기술을 확립한다.

IV. 연구개발결과

1. 국내 자생 버섯의 다양성을 조사하기 위하여 한라산 국립공원, 지리산 국립공원, 변산반도 국립공원, 전라북도 대아리 수목원, 만덕산, 가야산, 소백산, 오대산, 두륜산, 한국도로공사 수목원 등을 대상지역으로 조사한 결과, 1문, 2아문, 4강, 2아강, 13목, 54과, 133속, 295종의 다양한 버섯이 자생하고 있는 것을 확인하였다.

2. 국내 자생 버섯의 계절별 우점종은 봄에는 목이류, 목재부후 자낭균류, 여름에는 송이과, 무당버섯과, 가을에는 끈적버섯과, 그물버섯과, 구멍장이버섯과가 우점하고 있었다.

3. 본 연구에 의해서 아직 보고되지 않은 다음과 같은 16종의 미기록종의 버섯이 자생하고 있음을 확인하였다.

송이과 : *Collybia neofucipes* Hongo (신암갈색애기버섯)

Marasmius wettsteinii Sacc. & Syd. (물낙엽버섯)

Mycena oortiana Hora (알애주름버섯)

광대버섯과 : *Amanita esculenta* Hongo & Matsuda (맛광대버섯)

갓버섯과 : *Cystoderma japonicum* Thoen & Hongo (일본낭피버섯)

Lepiota fucipes Hongo (암갈색갓버섯)

Leucocoprinus subglobisporus Hongo(둥근포자각시버섯아재비)

L. denudatus (Rab.) Sing. f. major Hongo (벗은각시버섯아재비)

Leucocoprinus lanzonii Bon, Migliozi & Brunori (비듬각시버섯)

먹물버섯과 : *Coprinus narcoticus* (Batsch. : Fr.) Fr. (마취먹물버섯)

벚꽃버섯과 : *Hygrocybe coccineocrenata* (Orton) Moser (진빨간꽃버섯아재비)

끈적버섯과 : *Cortnarius aureobrunneus* Hongo (황금끈적버섯)

굴뚝버섯과 : *Phellodon tomentosus* Corner (숨살팽이버섯)

Hydnellum careulum (Hornem.:Pers.) Karst.(살갓갈색갈대기버섯)

독청버섯과 : *Phaeomarasmius erinaceella* (Peck) Sing. (바늘갈색낙엽버섯)

흰목이과 : *Tremella pulvinaria* Kobay. (방석흰목이)

4. *Tylophilus neofelleus* (제주쓴맛그물버섯)의 자실체로부터 신규 peptide계 항생물질 tylopeptin A 및 B를 분리 정제하였다. 본 화합물은 흰색분말로 분자량 1,539, 분자식 $C_{73}H_{120}N_{18}O_{19}$ 의 신규 항생물질 tylopeptin A 및 분자량 1,548, 분자식 $C_{72}H_{118}N_{18}O_{19}$ 의 신규 항생물질이었으며 gram양성 세균에 선택적으로 강한 항균활성을 나타냈다.

5. *Boletus* sp.의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 항균활성 및 항암활성을 나타내는 신규 항생물질 boletusin 및 chrysospermin A, B, C, D를 분리 정제하고 물리화학적 특성 및 화학구조를 규명하였다. boletusin 및 chrysospermin A, B, C, D 화합물은 흰색분말의 분자식 $C_{90}H_{140}N_{22}O_{23}$, $C_{91}H_{142}N_{22}O_{23}$, $C_{91}H_{142}N_{22}O_{23}$, $C_{92}H_{144}N_{22}O_{23}$, $C_{91}H_{142}N_{22}O_{23}$ 인 5종의 peptide 항생 항암 물질로 밝혀 졌으며 그 중 boletusin은 신규 화합물이다. 이들 화합물은 다양한 병원성 세균에 강한 항균활성과 leukemia, 전립선 암세포주에 강한 항암효과를 나타내었다.

6. *Paxillus panuoides*의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 지질과산화 억제 활성을 나타내는 화합물 leucomentin-2, 4, 5 및 6을 분리 정제하고 물리화학적 특성 및 화학구조를 규명하였다. Leucomentin-2, 4, 5 및 6은 각각 분자량 766, 546, 698 및 750, 분자식 $C_{42}H_{38}O_{14}$, $C_{30}H_{26}O_{10}$, $C_{38}H_{34}O_{13}$, $C_{42}H_{38}O_{13}$ 인 4종의 terphenyl 화합물로 그 중 leucomentin-5 및 -6은 신규 화합물이다. 이들 화합물은 천연 항산화제인 vitamin E보다 10배 이상 강한 지질과산화 저해효과를 나타냈다.

7. *Stereum hirsutum*의 균사체 배양액으로부터 신규 sesquiterpene계 항생물질 sesquinin A 및 B를 분리 정제하고 물리화학적 특성 및 화학구조를 규명하였다. 본 화합물은 흰색분말로 분자식 $C_{15}H_{22}O_3$, $C_{15}H_{22}O_3$ 인 신규 sesquiterpene계 항생물질이었으며 항균활성을 나타냈다.

V. 연구개발결과의 활용계획

본 연구는 한라산 국립공원, 지리산 국립공원, 변산반도 국립공원, 전라북도 대아리 수목원, 만덕산, 가야산, 소백산, 오대산, 두륜산, 한국도로공사 수목원 등을 대상으로 국내 자생 버섯의 다양성을 조사하였으며 그 결과 1문, 2아문, 4강, 2아강, 13목, 54과, 133속, 295종의 다양한 버섯이 자생하고 있는 것을 확인하였다. 이같은 버섯 다양성의 조사결과는 국내 생물 생태의 변화 및 자연 환경 변화 조사에 유용한 기초자료로써 활용될 것이다. 또한 국내에서 미보고된 16종의 미기록종의 균류

는 학문적 성과 뿐 많이 아니라 새로운 생물자원의 개발을 가져왔으며 앞으로 균류를 이용한 유용물질 탐색에 새로운 생물자원을 제공하게 되었다.

또한 *Tylophilus neofelleus*(제주쓴맛그물버섯)의 자실체로부터 신규 peptide계 항생물질 tylopeptin A, B 및 *Boletus* spp.의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 항균 활성 및 항암활성을 나타내는 신규 항생물질 boletusin A, B, C, D, E를 분리 정제하였다. 앞으로 이들 화합물의 정확한 활성기작의 규명 및 독성실험을 수행한다면 새로운 항생 항암물질의 개발을 가져올 수 있는 근거를 제공할 것이다. 그 외에 *Paxillus panuoides*의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 지질과산화 억제 활성을 나타내는 신규 화합물 leucomentin-2, 4, 5 및 6을 분리 정제하고 화학구조를 규명하였으며 이들 화합물이 널리 활용되고 있는 항산화제인 vitamin E보다 10배 이상 강한 지질과산화 저해효과를 나타냄을 밝혀 새로운 천연 산화억제제의 개발을 도출하였다. 앞으로 이들 화합물은 새로운 항생 항암물질 및 천연 항산화제로 활용할 수 있을 것이며 또한 이들 화합물을 화학합성적으로 변형하는 연구를 수행한다면 새로운 합성 항생 항암물질 및 항산화제의 개발에 선도물질로서도 활용될 것이다.

SUMMARY

Research Title

Studies on the Diversity of Korean Mushroom and Development of Bioactive Compounds

Results

We investigated the diversity of Korean mushroom on national parks and representative mountains of Korea including Halla-mountain, Chiri-mountain, Odae-Mountain, and Sokni-mountain. In result, we found 295 species in 133 genus. Among them, 16 species are reported for the first time in Korea. The unreported species in Korea are as follows:

- 1) *Collybia neofucipes* Hongo, 2) *Marasmius wettsteinii* Sacc. & Syd,
- 3) *Mycena oortiana* Hora, 4) *Amanita esculenta* Hongo & Matsuda,
- 5) *Cystoderma japonicum* Thoen & Hongo, 6) *Lepiota fucipes* Hongo,
- 7) *Leucocoprinus subglobisporus* Hon., 8) *L. denudatus* (Rab.) Sing. f. major Hon.,
- 9) *Leucocoprinus lanzonii* Bon, Mig. & Bru., 10) *Coprinus narcoticus* (Batsch. : Fr.) Fr.
- 11) *Hygrocybe coccineocrenata* (Orton) Moser, 12) *Cortnarius aureobrunneus* Hongo,
- 13) *Phellodon tomentosus* Corner, 14) *Hydnellum careulum* (Hornem.:Pers.) Karst.
- 15) *Phaeomarasmius erinaceella* (Peck) Sing., 16) *Tremella pulvinaria* Kobay.

In the course of the searching for biologically active compounds from the Korean mushroom, we have isolated the short sequence peptaibol compounds, tylopeptins A and B, from *Tylopilus neofelleus*. Tylopeptins A and B were isolated from the methanolic extract of the fruiting body of the mushroom *Tylopilus neofelleus*. These peptides were identified as peptaibols possessing an acetylated *N*-terminal residue, fourteen amino acids, and leucinol as the *C*-terminal amino alcohol. Sequential determination and complete ¹H and ¹³C NMR assignments were carried out on the basis of positive ion FAB mass spectroscopy and two dimensional NMR techniques. These peptides were

subsequently shown to be active against some Gram-positive bacteria but inactive against pathogenic fungi and Gram-negative bacteria.

A new peptaibol, boletusin, was also isolated from the methanolic extract of the fruiting body of the mushroom *Boletus* spp. Sequential determination by positive FAB MS/MS showed that boletusin is a peptide consisting of 19 amino acids, with one acetylated *N*-terminus residue, phenylalanine, and a *C*-terminal amino alcohol, tryptophanol. This peptide also showed antimicrobial activity against several Gram-positive bacteria.

Free radicals such as active oxygen species are involved in the pathogenesis of various diseases including myocardial and cerebral ischemia, atherosclerosis, diabetes, rheumatoid arthritis, cancer-initiation and the aging process. These diseases have been reported to be ameliorated by antioxidative agents and thus useful free radical scavengers have been searched from natural sources. We have screened biologically active antioxidants having the potential as protective agents against free radical injury from basidiomycetes. In result, we have isolated four *p*-terphenyl compounds from the methabolic extract of the fruit body of *Paxillus panuoids*. Two of them were identified as leucomentin-2 and -4, which were previously isolated from *Paxillus atrotomentosus* and the others were determined to be new leucomentin derivatives through spectroscopic analysis and by the comparison with NMR spectra of the known leucomentins. These compounds showed strong lipid peroxidation inhibition activities with IC₅₀ values of 0.06–0.11 μg/ml, in a dose-dependent fashion.

Also, two new sesquiterpene antibiotics were isolated from the culture broth of the mushroom *Stereum hirsutum*. The structures of both compounds with same molecular formula of C₁₅H₂₂O₃ were also determined by various spectroscopic analysis.

CONTENTS

Chapter I. Introduction	1
Chapter II. Domestic and abroad current status	3
Section 1. Domestic current status	3
Section 2. Abroad current status	4
Chapter III. Reserch scope and results	6
Section 1. Material and methods	6
1. Materials	6
2. Spectroscopic analysis	6
3. Chemical agents	7
4. Isolation and purification of bioactive principles	7
5. Lipid peroxidation inhibitory activity	8
6. Cytotoxicity	12
7. Antimicrobial activity	12
Section 2. Distribution, identification, and diversity of Korean mushrooms	41
1. Biodiversity of Korean mushroom in 1997	41
2. Biodiversity of Korean mushroom in 1998	42
3. Biodiversity of Korean mushroom in 1999	43
Section 3. Structures and biological activities of the compounds isolated from Korean mushrooms	52
1. Tylopeptins A and B from <i>Tylophilus neofelleus</i>	53
2. Boletusin from <i>Boletus</i> sp.	66
3. Sesquinins A and B from <i>Stereum hirsutum</i>	74
4. Leucomentins-2, -4, -5, and -6 from <i>Paxillus panuoides</i>	108
5. Bioactive compounds from <i>Pleurotus ostreatus</i>	88
Chapter IV. Achievement and contribution	91
Section 1. Achievement	91
Section 2. Contribution	91
Chapter V. Application of the study	95
Chapter VI. References	98

목 차

제 1 장 서론	1
제 2 장 국내외 기술개발 현황	3
제 1 절 국내의 기술개발현황	3
제 1 절 국외의 기술개발현황	4
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	6
제 1 절 재료 및 방법	6
1. 실험재료	6
2. 분석기기	6
가. 선광도	6
나. 자외선 스펙트럼 (UV spectrum)	6
다. 적외선 스펙트럼 (IR spectrum)	6
라. 질량분석 스펙트럼 (mass spectrum)	7
마. 핵자기공명 스펙트럼 (NMR spectrum)	7
3. 기타 시약	7
4. 활성물질의 추출 및 분리	7
5. 지질과산화 억제 활성	8
가. Microsome의 분리	8
나. 지질과산화 억제 활성의 측정	10
6. 세포독성 측정	12
가. 암세포주의 배양	12
나. 세포독성의 측정	12
7. 항균활성	12
제 2 절 국내 자생 버섯류의 분류동정 및 지리적 분포	14
1. 1997년도 국내 자생 버섯류의 분류동정 및 지리적 분포	14
가. 연구된 균류	14
나. 우점종	14
다. 한국산 미기록종	14
라. 균류의 다양성 및 지리적 분포	14

2. 1998년도 국내 자생 버섯류의 분류동정 및 지리적 분포	23
가. 연구된 균류	23
나. 우점종	23
다. 한국산 미기록종	23
라. 균류의 다양성 및 지리적 분포	25
3. 1999년도 국내 자생 버섯류의 분류동정 및 지리적 분포	37
가. 연구된 균류	37
나. 우점종	37
다. 한국산 미기록종	37
라. 균류의 다양성 및 지리적 분포	37
제 3 절 생리활성물질의 분리, 동정 및 생물활성	52
1. 제주쓴맛 그물버섯 (<i>Tylophilus neofelleus</i>)으로부터 분리한 신규 peptaibol 화합물 tylopeptin A 및 B	52
가. 제주쓴맛 그물버섯 (<i>Tylophilus neofelleus</i>)의 채취 및 분류 동정	52
나. 신규 peptaibol 항생물질 tylopeptin A 및 B의 분리 및 정제	52
다. Tylopeptin A 및 B의 물리화학적 특성	53
라. Tylopeptin A 및 B의 화학구조	55
마. Tylopeptin A 및 B의 항균활성	64
2. 버섯 <i>Boletus</i> sp.로부터 분리한 항암항균활성 펩타이드	66
가. <i>Boletus</i> sp. 버섯 유래 항암항균활성 펩타이드의 분리 및 정제	66
나. 분리된 펩타이드의 물리화학적 특성	67
다. Boletusin의 화학구조 결정	67
라. <i>Boletus</i> sp. 버섯 유래 펩타이드 화합물의 생물활성	72
3. 꽃구름버섯 (<i>Stereum hirsutum</i>)의 배양액으로부터 신규 화합물 sesquinin A 및 B의 분리	74
가. 연구개요	74
나. 꽃구름버섯 (<i>Stereum hirsutum</i>)의 분류 동정	74
다. 꽃구름버섯으로부터의 균사체 획득	74
라. 꽃구름버섯의 생장곡선 및 화합물의 생성양상	75
마. 꽃구름버섯 배양액으로부터 sesquinin A 및 B의 분리 정제	75

바. Sesquinin A 및 B의 물리 화학적 특성	76
사. Sesquinin A 및 B의 화학구조 해석	77
4. <i>Paxillus panuoides</i> 로부터 분리한 para-terphenyl 화합물	
leucomentin-2, -4, -5 및 -6	81
가. 연구개요	81
나. <i>Paxillus panuoides</i> 로부터 leucomentin 화합물의 분리정제	81
다. Leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 물리 화학적 특성	82
라. Leucomentin의 화학구조	83
마. Leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 생물활성	86
5. 느타리 버섯 (<i>Pleurotus ostreatus</i>)이 생산하는 생리활성물질	88
가. 느타리버섯의 일반적인 특성	88
나. 느타리버섯의 형태학적 특성	88
다. 느타리버섯으로부터 분리한 지방산 및 nucleoside	89
라. Leucomentin의 화학구조	83
마. Leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 생물활성	86
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	91
제 1 절 연구개발목표의 달성도	91
제 2 절 연구개발의 대외기여도	94
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	95
제 6 장 참고문헌	96

제 1 장 서 론

생물다양성은 인간생활에 필수적인 물질을 공급하여 주는 지구상의 생물자원으로 생물다양성의 보전과 계획적인 이용은 우리 인류의 영원한 번영과 지속적인 자원의 공급을 보장하여 주는 국가 기간산업이라고 하겠다. 그러나 지구상의 생물종은 매년 약 250-300종이 멸종되고 있는 것으로 추정되고 있으며 이와 같은 생물다양성의 소실과 훼손은 생물공학 기술 개발에 필수적인 유전자원의 소실이라고도 하겠다.

한편 지구상에는 수천 종의 버섯이 자생하고 있어 유전자원으로서의 중요성이 지대할 뿐만 아니라 기호성 식품소재 내지는 각종 약리 활성을 나타내는 기능성 소재로도 크게 주목을 받고 있다. 우리나라에 자생하고 있는 버섯은 총 1000여종이 보고되었고 그중 328종이 식용 및 약용 버섯으로 활용 가능한 것으로 분류되었으며 재배되고 있는 주요버섯의 전체 재배면적은 1994년 현재 3,602,815평, 농가호수도 18,349호로 농가소득작물의 중요한 위치를 차지하고 있다. 또한 년도별 재배생산량을 보면 1985년 44,405 M/T, 1990년 63,923 M/T, 1994년 92,600 M/T으로 생산량이 급격히 증가하고 있고 수출입 량도 매년 증가하고 있어 국가적으로도 매우 중요한 농산 자원으로 인정을 받고 있다. 그 이유로는 버섯류가 함유하고 있는 각종 성분 특히 생리활성성분이 규명되어 고부가가치 기능성 식물소재로 인정을 받았기 때문이며 더 나아가서는 신규 의약품 개발 가능성까지 기대되어 크게 주목을 받고 있기 때문이다. 따라서 국내 자생 버섯류의 자원 확보 및 버섯 유래 기능성 생리활성물질의 응용 개발 연구는 버섯재배 농가의 소득증대는 물론 WTO 체제 출범으로 인한 국제화, 개방화에 따른 농업국제경쟁력 제고에 크게 기여할 것이다.

한편 버섯류로부터의 각종 기능성 소재 개발연구를 경제·산업적 측면에서 고찰하여 볼 때 버섯류는 지금까지는 주로 기호식품 내지는 영양식품으로써의 1차 기능만 강조하여 저 부가가치 식품소재로만 이용되어 왔다. 그러나 버섯류가 함유하고 있는 생리활성물질을 규명하여 기능성 식품소재 또는 신규 약리 활성 소재로 개발할 경우 고부가가치 소재로 전환되어 경제·산업적 파급효과가 매우 클 것으로 예상되며 버섯재배 농가의 소득이 월등히 증가할 것이다. 특히 1993년 현재 세계 의약품 시장규모는 총 1,790억불로 추정되며 1997년에는 2,203억불, 2001년에는

2,736억불로 성장할 것으로 예측되어 버섯 유래 약리 활성 소재가 의약품으로 개발된다면 경제적 효과가 막대할 것으로 추정되며 따라서 버섯의 자원화는 국제 경쟁력에 크게 기여 할 것이다. 또한 국내 자생 버섯류가 고기능성 식품소재로 활용될 경우 현재 유통되고 있는 Kg당 3,000원~6,000원의 버섯가격을 월등히 상회할 수 있는 수익성 있는 농산물이 될 것이다. 한편 산업적 응용범위는 유전자원의 확보 및 효율적 이용에 따른 미생물 발효산업의 기반강화 및 활성화가 기대되고 그 결과 산업전반에 걸쳐 응용범위가 확대될 것이다.

최근 우리나라도 경제적으로 생활이 향상되고 윤택해짐에 따라 인간의 수명이 급격히 증가하고 있어 국민의 노령화가 가속되고 있고 생활수준에 따른 국민의 건강한 생활이 크게 요구되고 있어 국가차원에서의 대책이 시급히 요구된다. 또한 성인병의 예방 등 건강한 식생활 개선이 필요하며 국민 개개인이 건강식에 대한 인식이 높아가고 있어 기능성 식품소재의 개발은 더욱 그 요구도가 더해갈 것으로 예상된다. 따라서 유용한 생리활성 성분을 함유한 각종 버섯류의 탐색 및 자원화 개발은 높은 국제 경쟁력을 가져 선진국에 대한 기술종속화를 예방할 수 있을 뿐만 아니라 오히려 주도적 세계시장에 참여할 수 있는 계기가 될 것이다.

따라서 국내 자생 버섯류의 자원 확보 보존 및 버섯류 유래 생리활성물질 소재의 개발은 국민보건 향상에 기여 할 것이고 물질특허의 확보 등 경제, 사회, 문화적 측면에서 연구개발의 필요성이 크다고 하겠다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국외의 기술개발현황

버섯류는 오래전부터 기호성 식품 또는 민간 전통한약으로 전래되어 오며 각종 질병에 대한 민간요법제로 이용되어 왔다. (神農本草經 500年頃 綱弘景, 本草綱目 1552년 李時珍). 특히 담자균류가 생산하는 생리활성물질은 부작용이 적어 독성면에서 매우 안전한 반면 인체내 면역계의 기능을 강화시켜 탁월한 항암효과가 있다는 보고와 함께 한국, 일본, 중국 등을 중심으로 연구되어져 왔다. 버섯의 주 영양성분을 보면 건물당 단백질이 20~50%로 제일 많고 당류가 40~70%, 그 밖에 지질 1~8%, 회분 5~16%로 구성되어 있으며 기타 vitamin B₁, B₂, provitamin D, ergosterol 등이 함유되어 있어 기호성 식품 또는 식물섬유성 식품으로 밝혀졌다. 그밖에 고미성분으로 영지버섯으로 부터 많은 종류의 ganoderic acid류, lucidenic acid류가 보고되었으며 *Gymnopilus spectabilis* 버섯으로 부터 gymnopilin, *Cryptoporus volvatus* 버섯으로 부터 cryptoporic acid 등이 연구되었고 기타 신미성분으로 lactarorufin, vellerolactane 등이, 향기성분으로 송이버섯, 서양양송이 등으로 부터 수종의 향기성분이 보고되었다. 그러나 버섯류 유래 유용물질을 실제 의약품으로 연구하기 시작한 것은 1970년초 부터인데 그중 몇 종류의 버섯류가 생산하는 다당류 (polysacchride)를 항암면역증강제로 개발하여 의약품으로 이용하려는 연구가 주도되었다. 그 결과 구름버섯, 표고버섯, 치마버섯 등으로 부터 Krestin, Lentinan, Schizophyllan, Copolang 등의 다당류 항암면역증강제가 개발되어 현재 시판되고 있으며 시장규모만도 연간 약 3억불 규모를 형성하고 있어 대형 의약품으로 급성장하고 있다.

이들 항암면역증강 활성을 나타내는 다당류들은 모두 평균 분자량이 10만-50만 정도의 화합물로 macrophage, 보체, T세포, B세포, NK세포 등과 관련하여 인체내의 면역기능을 강화하여 인터루킨이나 인터페론 등 cytokine의 생산을 촉진함으로써 항암효과 (Biological Response Modifiers, BRM의 일종)를 나타내는 특징이 있기

때문에 부작용이 없는 것이 장점이라 하겠다.

그중 버섯류가 생산하는 항종양 고분자 성분으로서는 β -glucan이 주요 성분이라고 알려져 있으나 β -glucan 이외에도 heteroglucan, chitin, peptidoglucan, proteoglycan, lectin, 핵산 (RNA), 불소화성 다당류 (식용섬유) 등의 활성이 발견되고 있다.

또 자궁암 (Hela 세포), 간암 (hepatoma 세포)등 암세포의 증식을 억제하는 화합물을 screening한 결과 버섯류에서는 항종양 고분자 성분인 polysaccharide 뿐만 아니라 항종양활성을 나타내는 terpenoid, steroid계통의 저분자 물질이 발견되어 주목을 받고 있다.

한편 버섯류가 생산하는 항생물질은 현재까지 약 100종 정도가 문헌상 보고되고 있으나 실제 항생물질로 사용되고 있지는 않다. 그러나 버섯류 유래 항생물질 중에는 강한 항암작용, 면역조절작용, 혈압강하작용 등을 나타내는 물질들이 많아 앞으로의 이 분야의 응용이 기대된다. 현재까지 보고된 항생물질은 polyacethylene계 화합물로서 agrocybin, biformin, marasin, nemotin 등 20여종이 알려져 있으며 항균 spectrum이 넓은 특징이 있으나 일반적으로 공기중에서 불안정하여 활성을 잃어버리는 경우도 많다. 버섯류 유래 항생물질로는 terpenoid계 항생물질이 제일 많이 보고되었는데 *Aleurodiscus mirabilis*가 생산하는 aleurodiscal, *Coriolus consors*가 생산하는 gram 양성균에 항균활성을 나타내는 coriolin, *Clytocybe illudens*이 생산하는 항암항생물질 illudin 등이 보고되었으며 기타 marasmic acid, melleolide, merulidial 등이 보고되었다. 또 방향족 화합물로 grifolin, oudemansin, steobilurin 등이 알려졌으며 기타 basidalin, cordycepin, clavine 등 강한 항균활성 물질등이 발견되었다.

그 이외의 생체기능조절물질로서 혈당강하물질 ganoderan 화합물, 콜레스테롤 감소물질 eritadenin, 신경제작용물질 ibodenic acid, lipoxygenase 저해물질 grifolic acid, 유독물질인 amanitin, phalloidin 등 다양한 분야에서의 연구가 진행되었다.

제 2 절 국내의 기술개발 현황

국내 자생 버섯류의 수집, 분류 동정 등 생물 다양성과 관련된 연구는 주로 농

촌진흥청 농업과학기술연구원의 연구팀들에 의해 주도되었으며 그밖에도 서울대학교 미생물학과, 청주 교원대학, 우석대학, 숙명여대, 생명공학연구소 등이 주도가 되어 연구가 수행되었다. 그 결과 국내의 버섯 집중 자생지역의 분포도 조사 및 서식하고 있는 새로운 버섯류 등이 많이 동정되었으며 현재도 계속하여 신종이 분류동정되고 있다. 그러나 전 세계적으로 약 3,000여종이 보고된 것을 미루어 볼 때 아직도 국내에서 미기록종 버섯들이 많이 있을 것으로 추정되어 본 연구가 수행될 경우 획기적으로 버섯종의 다양성이 확보될 것이다. 한편 버섯으로부터 유용물질의 이용연구 분야를 보면 한국과학기술연구원 생명공학연구소의 본 연구팀에서 미생물 대사산물로부터 신규 항생항암활성 선도물질 연구를 수행하면서 많은 경험과 기술 축적을 하였다. 그 결과 최근에는 방선균의 일종인 *Streptomyces* sp.로부터 macrolide 신규 항생물질인 geri-155 화합물, *Cudrania tricuspidata*로부터 신규 항암활성물질 gericudranin A, B, C, D 및 E, *Ulmus davidiana*로부터 신규 항암활성물질 davidianon A, B, C, D, E, F, *Streptomyces* sp.의 일종으로부터 diacylglycerol계 신규 항레지오넬라 항생물질 AL072 등이 개발되었다. 또한 본 연구팀에서는 담자균으로부터 각종 신기능 활성을 갖는 물질을 탐색한 결과 까치버섯으로부터 terphenyl계 신규 항암물질 polyozellin, 버들송이 버섯으로부터 멜라닌 생합성 저해활성을 나타내는 신규 indol계열의 화합물, 상항버섯으로부터 polysaccharide계 항암면역활성물질 meshima 등 신물질 탐색에 성공하고 있으며 기타 많이 신규 화합물로 예상되는 균주를 확보하고 있다.

산업계에서는 한국신약, 광동제약, 일양약품 등에서 다당체 항암활성물질을 개발하였는데 한국신약에서 *Phellinus linteus*로부터 meshima, 광동제약에서 *Coprinus versicolor*로부터 copolang이 개발되어 시판되고 있고 일양약품에서는 *Ganoderma applanatum*으로부터 간염치료 물질을 개발중에 있다. 또한 학계에서는 서울대학교 약학대학, 동국대학 자연과학대학, 충남대학 약학대학에서 일부 연구가 수행중에 있다.

한편 버섯류의 분류 동정을 위한 미생물학적 특성연구 및 품종개량, 재배방법 등에 관련된 연구는 농촌진흥청이 주관이 되어 많은 연구가 수행되었다. 특히 품종개량 분야에서는 느타리버섯류의 원형질체 분리 및 이종간 원형질체 융합에 의해서 우량 품종이 집중적으로 육성 보급되었다. 그러나 버섯류로부터 신기능성 생리활성 물질의 개발 연구는 시작 단계라 하겠다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 재료 및 방법

1. 실험재료

국내 버섯 다양성조사를 위하여 채취한 시료는 채집지 및 지리적 분포 특성을 조사한 후 실험실로 운반하여 분류 동정을 실시하였다. 분류 동정에는 형태적 특성을 비롯하여 광학현미경을 이용한 포자의 모양 및 크기등을 조사하였고 유액의 분비 및 KOH등을 이용한 생리적 특성도 조사하였다. 버섯 자실체 혹은 균사체 배양 산물로부터의 유용 생리활성물질의 분리정제를 위하여 사용한 재료는 최근 수년간 6월에서 10월 사이에 지리산, 계룡산, 속리산 등지에서 채취한 것으로 자실체가 쉽게 손상되는 것들은 채취 후 곧바로 methanol에 침지하여 분리, 정제용 시료로 사용하였다.

2. 분석기기

가. 선광도

선광도는 POLARTRONIC Universal(Schmidt + Haensch) polarimeter에 의하여 측정하였으며 그 값은 아래의 식에 의해서 산출되었다.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times c}$$

- α : 관측된 회전
 l : 시료관의 길이 (dm)
 c : 용액의 농도 (g/ml)

나. 자외선 스펙트럼 (UV spectrum)

UV/Vis spectrum은 UVIKON spectrophotometer 930 (Kontron instruments)에 의해 측정되었고 최대 흡광 피크에 대한 몰흡광계수(log ϵ)를 Beer-Lambert 법칙에 의해 산출하였다.

다. 적외선 스펙트럼 (IR spectrum)

적외선 스펙트럼은 정제한 화합물을 KBr pellet을 만들어 FT-IR Equinox 55

spectrophotometer를 사용하여 측정하였다.

라. 질량분석 스펙트럼(mass spectrum)

EI-mass 및 high resolution EI(electron impact)-mass spectra는 JEOL JMS-SX 102A spectrometer를 사용하여 70 eV에서 측정하였고 FAB(Fast atom bombardment)-mass는 JEOL JMS-HX 110A/HX 110A spectrometer를 사용하여 측정하였다. FAB-mass 측정시 matrix로는 glycerol 혹은 *m*-nitrobenzyl alcohol을, 내부표준물질로는 polyethylene glycol을 사용하였다.

마. 핵자기공명 스펙트럼 (NMR spectrum)

핵자기공명 스펙트럼은 Varian사의 Varian UNITY 300 (300 MHz), UNITY 500 (500 MHz) 및 Bruker사의 DMX 600 (600 MHz), DRX 300 (300 MHz) spectrometer를 사용하여 측정하였으며 내부표준물질로는 TMS (tetramethylsilane)를 사용하였다. 용매로는 CDCl₃, CD₃OD, DMSO-*d*₆ 혹은 이들 용매의 혼합용매를 사용하였으며 chemical shift는 ppm (δ)으로 나타내었다. NMR spectrum은 ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT등의 1차원 NMR을 비롯하여 DQF-COSY, HMQC, HMBC, NOESY등의 2차원 NMR을 측정하였다.

3. 기타 시약

분석용 및 분취용 silica gel TLC는 Merck사의 Kiesel gel 60F₂₅₄ (0.25 mm) plate 및 Kiesel gel 60F₂₅₄ (0.5 mm) plate를, 역상 TLC는 Merck사의 RP-18 F254 plate를 사용하였다. Flash column chromatography용으로 사용한 수지로서 silica gel은 Kiesel gel 60 (230-400 mesh)을 사용하였고, Sephadex LH-20 resin은 pharmacia 사의 제품을, ODS resin은 YMC 사의 제품 (lot No. 51252)을 구입하여 사용하였다. HPLC정제에는 Senshu pak ODS column 및 YMC C18 column등을 주로 사용하였으며 용출용매는 Merck사의 HPLC용 MeOH, MeCN, H₂O을 사용하였고 photodiode-array detector를 사용하여 검출하였다. 기타 시약은 일급시약을 사용하였다.

4. 활성물질의 추출 및 분리

활성물질의 추출 및 용매분획, silica gel column, Sephadex LH-20 column 등에 사용한 *n*-hexane, ether, benzene, CHCl₃, EtOAc, BuOH, MeOH 등의 용매는 18L 공업용 용매를 재정제하지 않고 사용하였으며 물은 2차 증류수를 사용하였다. Silica gel column 및 Sephadex LH-20 column chromatography, HPLC 등을 이용한 정제과정의 상세한 내용은 결과 및 고찰에 기술하였다.

5. 지질과산화 억제 활성

가. Microsome의 분리

Microsome은 rat의 간으로부터 Hogeboom의 방법에 따라 차등 원심분리법으로 분리하였으며, 모든 조작은 4°C 또는 0°C의 저온에서 행하였다. Rat으로부터 간을 적출하여 얼음으로 냉각된 0.25 M sucrose 용액에 넣어 2~3회 세척하고 여지로 sucrose 용액을 제거한 후 해부용 가위로 약 0.5 cm 두께로 세절하여 간 1 g당 4 ml의 완충용액(0.25 M sucrose, 0.1 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4)을 가한 다음 조직 분쇄기(Tekmar Co., Germany)를 사용하여 8,000 rpm으로 2분간씩 2회 마쇄하였다. 균일하게 마쇄된 간을 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리(Beckman)한 후 세포 핵 분획인 침전물을 제거하고 상등액만을 취하여 10,000 rpm에서 다시 10분간 원심분리하여 미토콘드리아 분획이 제거된 상등액을 얻었다. 이것을 30,000 rpm에서 1시간 동안 초원심분리하여 기타 세포내 가용성 물질들이 있는 상등액을 제거하고 붉고 투명하며 단단한 침전물을 수거한 후 여기에 소량의 Tris-HCl buffer를 가하여 resuspension 시켜서 microsome 분획을 얻었다. 조제한 microsomal fraction을 상기 완충용액으로 분산시켜 Lowery 법으로 단백질을 정량한 후 10 mg protein/ml이 되도록 EDTA을 제거한 완충용액(0.25 M sucrose, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4)으로 희석하였다(그림 1).

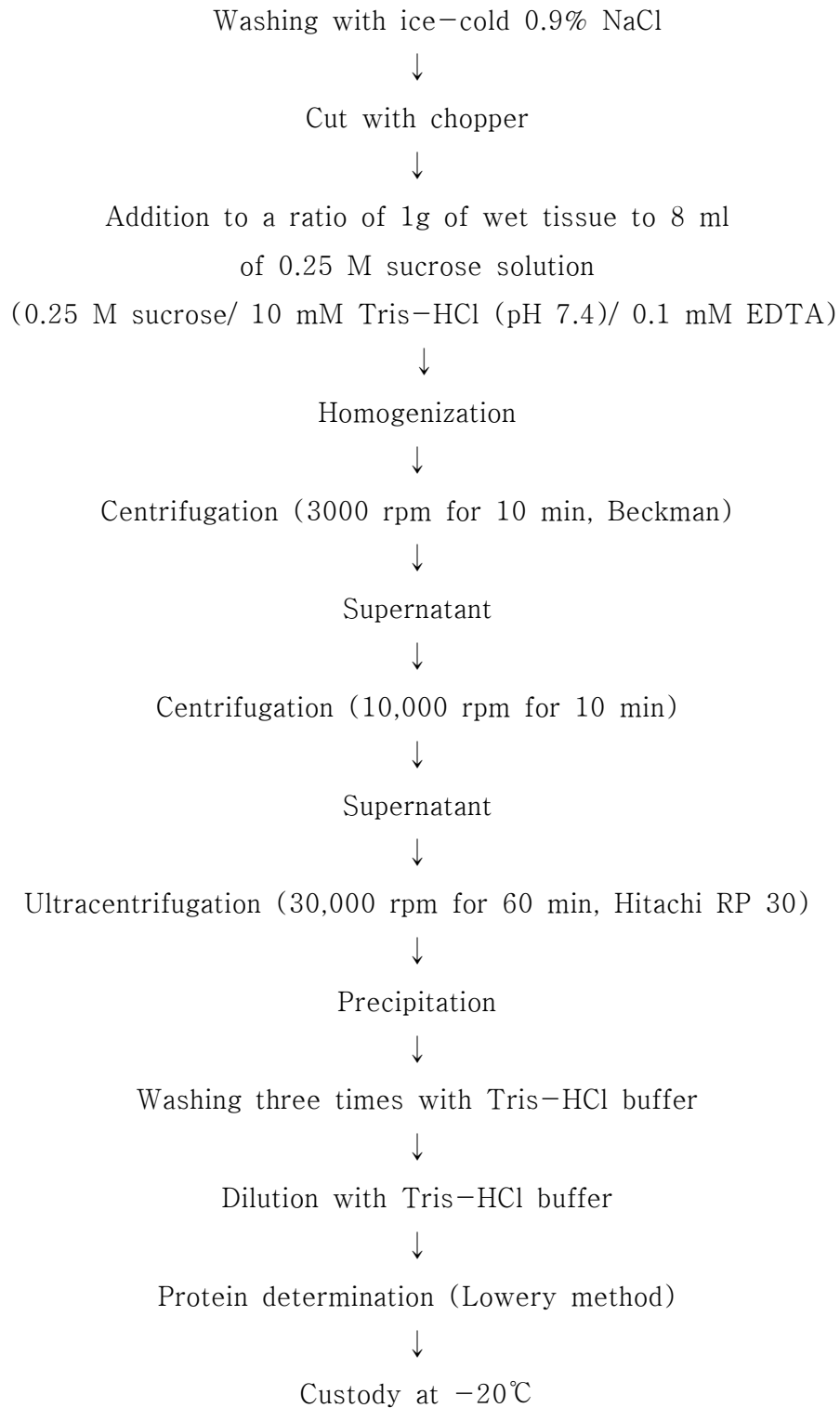


그림 1. Rat liver microsome의 분리 방법.

나. 지질과산화 억제 활성의 측정

분리된 microsome을 지질원으로 하여 Ohkawa 등의 방법¹⁾에 따라 효소적 방법인 Fe^{2+} /ascorbate 반응계를 이용한 지질과산화 억제 활성을 측정하였다. 즉, Fe^{2+} /ascorbate 반응계에 의하여 최종적으로 생성된 hydroxyl 라디칼($\cdot\text{OH}$)에 의한 microsome의 지질과산화 결과로 생성된 malondialdehyde (MDA)를 thiobarbituric acid를 이용한 분광학적 방법으로 정량하여 지질과산화 정도를 측정하였다. 이때 시료 첨가에 의한 MDA생성의 감소 정도를 지질과산화 억제활성 지표로 하여 α -tocopherol과 각 화합물의 활성을 비교하였으며, 그 과정은 다음과 같다. Tris-HCl 완충용액(100 mM, pH 7.4) 0.5 ml, ascorbic acid (2 mM) 0.1 ml, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 ml 및 microsome 용액 (10 mg protein/ml) 50 μ l가 포함된 혼합용액에 MeOH에 녹인 화합물 시료 (3 mg/ml ~ 0.03 mg/ml) 50 μ l를 혼합한 다음 37 $^{\circ}\text{C}$ 진탕배양기에서 30분간 반응시킨 후 3 M TCA-2 N HCl (1:1) 혼합용액 0.25 ml을 가하여 반응을 중지시켰다. 이것을 3,500 g에서 10분간 원심분리하여 상등액 1 ml을 취한 다음 0.67% TBA 용액 0.25 ml을 가하고 100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 끓인 후 상온으로 냉각하여 530 nm에서의 흡광도를 측정하였다(그림 2). 시료의 지질과산화 억제 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도(A_C)와 시료를 첨가한 반응구에서의 흡광도(A_S)차를 시료 및 FeSO_4 용액을 첨가하지 않은 blank의 흡광도(A_B)와 대조구의 흡광도(A_C)에 대한 백분율 $[(A_C - A_S)/(A_C - A_B) \times 100]$ 로 산출하였다. 각 화합물의 활성을 상기의 방법으로 측정한 후 지질과산화 반응을 50% 억제하는 시료의 농도를 억제활성유효농도(IC_{50})로 나타내었다.

Microsome solution (10 mg protein/ml) 0.05 ml
 Tris-HCl buffer (100 mM, pH 7.4) 0.5 ml
 FeSO₄·7H₂O (4 mM) 0.1 ml
 Sample 0.05 ml
 ↓
 Adjust to pH 7.4
 ascorbic acid solution (2 mM) 0.1 ml
 Reaction for 60 min at 37°C
 ↓
 TCA (3M)-HCl (2N) (1:1) mixture solution 0.25 ml
 ↓
 centrifugation (3500g ×10 min)
 ↓
 supernatant 1ml + TBA solution (0.67%) 0.25 ml
 ↓
 100°C, boiling for 20 min
 ↓
 Detection of absorbance (530 nm)
 ↓
 Antioxidative activities (Lipid peroxidation inhibitory activity)

Lipid peroxidative activities (%) = $(A_c - A_s) \times 100 / (A_c - A_B)$

A_c : Absorbance of control without sample

A_s : Absorbance of reactant with sample

A_B : Absorbance of blank without sample and FeSO₄·7H₂O

그림 2. 지질과산화 억제활성 측정방법

6. 세포독성 측정

가. 암세포주의 배양

세포주는 미국의 NCI에서 제공한 것을 사용하였으며 모든 세포주는 10 passage 이내에서 사용하였다. 세포의 배양배지는 RPMI1640을 사용하였으며 10%의 calf serum을 첨가하여 사용하였다. 세포는 5% CO₂ incubator를 사용하여 37°C에서 배양하였다. 사용된 각각의 세포는 본문중에 기술하였다.

나. 세포독성의 측정

세포독성의 측정은 NCI의 방법²⁾에 따라서 시행하였다. 각 세포주의 농도는 세포주의 성장속도에 따라서 다르게 하였다. 즉 각각의 세포주는 0 Day에 분주를 한 후에 약물을 처리하는 날에 Time Zero plate(Tz plate)를 만들어 계산시에 영점으로 계산하였다. 각각의 시료는 30, 10, 3, 1, 0.3 µg/ml의 농도로 희석을 하여 용매의 최종농도가 0.1%가 되도록 하였다. 처리 48시간 후 각 plate에 50% TCA 100 µl/wel를 부가하여 고정하고 4°C에서 60분간 방치하였다. 각 plate를 tap water로 4~5번 세척한 후 건조하였으며 건조한 plate는 0.4% SRB(Sulforhodamine B를 0.1% acetic acid로 용해한 용액)용액을 well당 100 µl씩 가하였다. 30분간 실온에서 방치한 후 0.1% acetic acid로 세척을 하여 결합하지 않은 염색시약을 세척하였다. 세척된 plate를 건조한 후 10 mM Tris Base (pH 10.5)를 well 당 100 µl 씩 가하여 염색시약을 용해시킨후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정한 흡광도는 용매처리 군에 대한 백분율로 계산하였다.

7. 항균활성

Bacillus subtilis, *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp., *Salmonella typhimurium*, *Corynebacterium lilium*, *Salmonella typhimurium*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus aureus* 등 9종의 세균, *Alternaria mali*, *Fusarium solani*, *Magnaporthe grisea*, *Colletotrichum lagenarium*, *Mucor ramannianus*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Fusarium oxysporium* 등의 곰팡이 및 효모 *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여 항균활성을 측정하였다. 항균활성 측정에 사용된 방법은 agar diffusion test 방법을 사용하였으며, 8 mm paper disc에 메탄올에 녹인 적정농도의 시료를 부가

하였다. 시료가 포함된 paper disc를 각각의 미생물을 접종한 petri-dish에 올려 놓은 후 bacteria의 경우 37℃에서 24시간, yeast의 경우 27℃에서 24시간, 곰팡이의 경우 27℃에서 48 시간을 배양한 후 inhibition zone을 측정하여 항균 활성을 평가하였다.

제 2 절 국내 자생 버섯류의 분류동정 및 지리적 분포

1. 1997년도 국내 자생 버섯류의 분류동정 및 지리적 분포³⁻³²⁾

가. 연구된 균류

국내 자생 버섯을 1997년 8월부터 1998년 6월까지 지리산을 중심으로 채집하여 동정한 결과, 1문, 2아문, 4강, 4아강, 12목, 31과, 60속, 103종을 확인하였다.

나. 우점종

이 지역에서의 우점종은 봄에는 목재를 부후시키는 자낭균류와 목이류가 우점종이었고 여름철엔 송이과, 무당버섯과이었고, 가을철인 그물버섯과, 구멍장이버섯과가 우점과였다.

다. 한국산 미기록종

한국산 미기록 종으로 사료되는 *Thyphula quisquiliaria*, *Meruliopsis taxicola*, *Hydnophlebia chrysorhiza*, *Pulcherrium careuleum*은 외부관찰, 세포학적 관찰, 생태학적 관찰을 진행중에 있다.

라. 균류의 다양성 및 지리적분포

Crepidotaceae 귀버섯과

Crepidotus applanatus (Pers.:Fr.) Kumm. 평평귀버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 오대산.

Tricholomataceae 송이과

Collybia confluens (Pers.:Fr.) Kummer 밀버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 가야산, 발왕산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 다도해 해상
국립공원(금오도), 오대산.

C. dryophila (Bull.:Fr.) Kummer 애기버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 지리산, 발왕산, 소백산, 변산반도, 다도해 국립공원(금

오도), 오대산.

C. peronata (Bolt.:Fr.) Sing 가랑잎애기버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 월출산, 속리산, 소백산, 발왕산, 가야산, 두륜산, 다도해
해양국립공원(금오도), 오대산.

Laccaria. amethystea (Bull.) Murr. 자주줄각버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 발왕산, 가야산, 속리산, 방태산, 소백산.

L. laccata (Scop.:Fr.) Berk. et Br. 줄각버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 지리산, 발왕산, 두륜산, 방태산, 가야산, 오대산.

Marasmiellus candidus (Bolt.) Sing. 하얀선녀버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 지리산, 발왕산, 소백산, 다도해 해양국립공원.

M. nigripes (Schw.) Sing. 검은대낙엽버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 변산반도, 다도해 해양국립공원, 오대산.

M. calopus (Pers.:Fr.) Fr. 나막낙엽버섯,

분포 : 지리산

M. delectans Morgan 환희낙엽버섯,

분포 : 지리산, 방태산.

M. graminum (Lib.) Berk. 풀잎낙엽버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 월출산. 변산반도, 발왕산, 소백산.

M. maximus Hongo 큰낙엽버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 속리산, 변산반도, 방태산.

M. siccus (Schw.) Fr. 애기낙엽버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 월출산, 속리산, 소백산, 발왕산, 가야산.

Mycena acicula (Schaeff.:Fr.) Kummer 뺨애주름버섯,

분포 : 지리산, 방태산.

M. haematopoda (Pers.:Fr.) Kummer 적갈색애주름버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 소백산, 오대산.

M. pura (Pers.:Fr.) Kummer 맑은애주름버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 가야산, 지리산, 방태산, 발왕산, 오대산.

M. rorida (Scop:Fr.) Quel 절릴애주름버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 변산반도, 오대산.

Amanitaceae 광대버섯과

Amanita citrina (Schaeff.) Pers. 애광대버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 속리산, 방태산.

A. hemibapha (Berk. et Br.) Sacc. 달걀버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 월출산, 가야산, 발왕산, 소백산, 두륜산, 다도해
해상국립공원.

A. verna (Bull. Fr.) Roques 흰알광대버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 속리산, 발왕산, 소백산, 오대산.

Agaricaceae 주름버섯과

Agaricus arvensis Schaff.:Fr. 흰주름버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 발왕산, 가야산, 다도해 해상국립공원.

A. subrutilescens (Kauffm.) Hotson & Stuntz 진갈색주름버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 월출산, 지리산, 두륜산, 가야산, 변산반도.

Coprinaceae 먹물버섯과

Coprinus micaceus (Bull.:Fr.) Fr. 갈색먹물버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 소백산.

Psathyrella candolliana (Fr.:Fr.) Maire 족제비눈물버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 월출산, 가야산, 발왕산, 소백산, 변산반도, 다도해 해상
국립공원.

Strophariaceae 독청버섯과

Naematoloma fasciculare (Hudson:Fr.) Karst. 노란다발,

분포 : 지리산, 발왕산, 가야산.

Pholiota squarrosoides (Peck) Sacc. 침비늘버섯,

분포 : 지리산

Cortinariaceae 끈적버섯과

Inocybe albodisca Peck 백색꼭지땀버섯,

분포 : 지리산.

Cortinarius elatior Fr. 키다리끈적버섯,

분포 : 지리산

C. fasciatus (Scop.) Fr. 띠끈적버섯,

분포 : 지리산.

C. traganus (Fr.) Fr. 라일락끈적버섯,

분포 : 지리산

Entolomataceae 외대버섯과

Entoloma album Hiroe 흰꼭지외대버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 방태산, 가야산, 다도해 해상국립공원.

E. cuspidatum (Pk.) Sacc. 노란꼭지외대버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 방태산, 가야산, 월출산, 다도해 해상국립공원.

Russulaceae 무당버섯과

Russula adusta (Fr.) Fr. 흑갈색무당버섯,

분포 : 지리산.

R. marie Marie 수원무당버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 가야산, 두륜산.

R. compacta Frost & Peck apud peck 참뽕주름무당버섯,

분포 : 지리산, 발왕산.

R. cyanoxantha (Secr.) Fr. 청머루무당버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 속리산, 지리산, 두륜산, 방태산, 월출산, 다도해
해상국립공원.

R. delica Fr. 푸른주름무당버섯,

분포 : 지리산, 속리산, 가야산.

R. emetica (Fr.) S.F.Gray 냄새무당버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 가야산, 발왕산, 속리산, 두륜산, 방태산, 변산반도, 다도
해 해상국립공원, 오대산.

R. laurocerasi Melger 밀짚색무당버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 발왕산, 속리산, 두륜산, 변산반도, 방태산, 다도해 해상

국립공원, 오대산.

R. senecis Imai 흙무당버섯,

분포 : 지리산, 월출산. 다도해 해상국립공원, 오대산.

R. sororia (Fr.) Romell 회갈색무당버섯,

분포 : 지리산. 속리산, 두륜산, 방태산, 월출산.

R. virescens (Zanted) Fr. 기와버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 월출산.

R. xerampelina (Secr.) Fr. 포도무당버섯.

분포 : 지리산, 발왕산, 속리산, 가야산.

Lactarius akahatsu Tanaka, 피젓버섯,

분포 : 지리산, 발왕산.

L. piperatus (Fr.) S.F. Gray 굴털이,

분포 : 지리산, 가야산, 발왕산, 방태산, 월출산, 오대산.

L. volemus (Fr.) Fr. 배젓버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 속리산, 가야산, 다도해 해상국립공원, 오대산.

Boletaceae 그물버섯과

Phylloporus bellus (Mass.) Corner. 노란길민그물버섯,

분포 : 지리산, 소백산.

Suillus bovinus (Fr.) O.kuntgze 황소비단그물버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 가야산, 속리산, 발왕산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 방태산, 다도해 해상국립공원, 오대산.

S. granulatus (Fr.) O. Kuntze 젓비단그물버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 속리산, 월출산, 오대산.

Xanthoconium affine (Peck) Sing. 사촌보석그물버섯,

분포 : 지리산

Xerocomus astraicola Imaz. 먼지산그물버섯,

분포 : 지리산, 속리산.

Boletus auripes Peck 수원그물버섯,

분포 : 지리산, 속리산, 가야산.

B. luridus Fr. 독그물버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 방태산, 월출산, 오대산.

B. reticulatus Schaeff. 그물버섯 아재비,

분포 : 지리산, 가야산, 발왕산, 변산반도, 방태산.

Leccinum extremiorientale (L.Vass.) Sing., 꺾꺾이그물버섯,

분포 : 지리산, 변산반도, 속리산, 월출산.

Strophariaceae 귀신그물버섯과

Strobilomyces confusus Sing. 술방울귀신그물버섯,

분포 : 지리산, 두륜산, 변산반도, 속리산.

S. floccopus (Fr.) Karst. 귀신그물버섯,

분포 : 지리산, 두륜산, 월출산, 방태산, 가야산, 속리산, 변산반도, 다도해 해상
국립공원.

Boletellus elatus Nagasawa 긴대밤그물버섯,

분포 : 지리산.

B. russellii (Frost) Gilb 털밤그물버섯,

분포 : 지리산.

Schizophyllaceae 치마버섯과

Schizophyllum commune Fr.:Fr. 치마버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 가야산, 속리산, 발왕산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 방태
산, 다도해 해상국립공원.

Podoscyphaceae 꽃잎버섯과

Stereopsis burtianum (Peck) Reid 자루민꽃버섯,

분포 : 지리산.

Sparassidaceae 꽃송이버섯과

Sparassis crispa Wulf.:Fr. 꽃송이버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 다도해 해상국립공원.

Polypraceae 구멍장이버섯과

Cerrena unicolor (Fr.) Murr. 단색(털)구름버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 방태산, 다도해 해상국립공원.

C. montagnei var. *montagnei* Fr. 계단겨우살이버섯아재비,

분포 : 지리산

Coriolus consors (Berk.) Imaz. 송곳니구름버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 변산반도.

C. versicolor (Fr.) Que'l. 구름버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 월출산, 가야산, 발왕산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 다도해 해상공원.

Irpex lacteus (Fr.:Fr.) Fr. 기계충버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 오대산.

Laetiporus sulphureus (Fr.) Bond. et Sing. 덕다리버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 월출산, 오대산.

Lenzites betulina (L.:Fr.) Fr. 조개껍질버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 지리산, 속리산, 변산반도, 방태산, 다도해 해상국립공원.

Daedaleopsis confragosa (Bolt.: Fr.) Schroet. 도장버섯,

분포 : 지리산.

D. tricolor (Fr.) Band. et Sing. 삼색도장버섯,

분포 : 지리산, 가야산.

Favolus arcuarius Que'l. 벌집버섯,

분포 : 지리산, 발왕산, 소백산, 변산반도, 방태산.

Fomitella fraxinea (Fr.) Imaz. c. n., 아까시채목버섯,

분포 : 지리산, 남산.

Microporus vernicipes (Berk.) O.Kuntze. 메꽃버섯부치,

분포 : 지리산, 방태산, 지리산, 가야산, 두륜산, 변산반도, 다도해 해상국립공원, 오대산.

Trichaptum abietinum (Fr.) Ryv. 옷솔버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 월출산, 소백산, 가야산, 두륜산.

Bjerkandera adusta (Fr.) 줄버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 두륜산, 변산반도, 다도해 해상국립공원, 오대산.

Ganodermataceae 불로초과

Elfvignia applanata (Pers.) Karst. 잔나비겉상,

분포 : 지리산, 방태산, 발왕산, 두륜산, 변산반도, 오대산.

Ramariaceae 싸리버섯과

Ramaria apiculata (Fr.) Donk 바늘싸리버섯,

분포 : 지리산, 소백산, 발왕산, 오대산.

R. botrytis (Fr.) Ricken 싸리버섯,

분포 : 지리산, 두륜산, 방태산, 가야산.

Dacrymycetaceae 붉은목이과

Guepinia spathulria (Schw.) Fr. 혀버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 소백산, 다도해 해상국립공원, 오대산.

Calocera coralloides Kobay. 산호끈적싸리버섯,

분포 : 지리산, 오대산.

Auriculariaceae 목이과

Auricularia auricula (Hook.) Underw 목이,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 변산반도, 다도해 해상국립공원.

Tremellaceae 흰목이과

Exidia glandulosa Fr. 줌목이,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 소백산, 오대산.

E. uva-passa Lloyd 아교줌목이,

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 변산반도, 다도해 해상국립공원.

Sclerodermataceae 어리알버섯과

Scleroderma areolatum Ehrenb. 점박이어리알버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 두륜산, 변산반도, 방태산, 오대산.

Calostomataceae 연지버섯과

Calostoma japonicum P.Henn. 연지버섯,

분포 : 지리산, 선운산

Astraeaceae 먼지버섯과

Astraeus hygrometricus (Pers.) Morg. 먼지버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 가야산, 속리산, 발왕산, 두륜산, 변산반도, 소백산, 다도해 해상국립공원, 오대산.

Lycoperdaceae 말불버섯과

Calvatia craniformis (Schw.) Fr. 말징버섯,

분포 : 지리산, 가야산, 월출산.

Lycoperdon mammaeforme Pers. 비늘말불버섯,

분포 : 지리산

Clathraceae 바구니버섯과

Pseudocolus schellenbergiae (Sumst.) Johns. 세발버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 가야산, 발왕산, 방태산

Pyromenataceae(=Humariaceae) 접시버섯과

Scutellinia scutellata (L.: St.Amons) Lamb 접시버섯,

분포 : 지리산, 월출산, 발왕산, 방태산, 속리산, 변산반도, 오대산.

S. umbarum (Fr.) Lamb. 그늘접시버섯,

분포 : 지리산

Dermateaceae 살갓버섯과

Chlorosplenium aeruginosum (Gray) de Not. 녹청균,

분포 : 지리산, 가야산, 방태산, 지리산, 속리산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 오대산.

Mollisia cinerea (Batsch.:Merat) Karst. 재연한살갓버섯,

분포 : 지리산, 방태산, 지리산, 한라산.

M. revincta (Karst.) Rehm. 말림연한살갓버섯,

분포 : 지리산.

Orbiliaceae 바퀴버섯과

Orbilbia coccinella (Somm.) Karst. ss.Mos. 원추바퀴버섯,

분포 : 지리산

2. 1998년도 국내 자생버섯류의 분류동정 및 지리적 분포³⁻³²⁾

가. 연구된 균류

국내에 자생하는 버섯을 1998년 8월부터 1999년 6월 30일까지 지리산, 만덕산을 중심으로 채집하여 동정한 결과 1문, 2아문, 4강, 2아강, 11목, 36과, 66속, 122종이었다.

나. 우점종

이 두지역에서의 우점종은 봄에는 목이류이었고, 여름철엔 송이과, 무당버섯과이고 가을철엔 그물버섯과, 근적버섯과이었다.

다. 한국산 미기록종

한국산 미기록종으로 사료되는 *Mycena oortiana* Hora 알애주름버섯(신칭), *Leucocoprinus denudatus* (Rab.) Sing. f. major Hongo 벗은각시버섯아재비(신칭), *Leucocoprinus lanzonii* Bon, Migliozz & Brunori 비듬각시버섯(신칭), *Phaeomarasmius erinaceela* (Pec.) Sing. 바늘갈색낙엽버섯 등 4종을 새롭게 발견하여 버섯이름을 명명하고 미생물학적 관찰, 지리적분포, 세포학적, 생태학적 특성 등을 조사하였다.

Mycena oortiana Hora 알애주름버섯 (신칭)

Phillips, Mushrooms, 71, 1981.

균모의 지름은 2-4cm로 둥근 원추형이고 백색에서 회갈색으로 된다. 얇은 올리브색의 줄무늬 선이 있다. 살은 균모 밑은 백색이고 맛은 온화하고 냄새는 강하다. 주름살은 밀생하고 올린주름살이고 처음은 백색에서 핑크색으로 된다. 자루의 길이는 2-3cm이고 굵기는 1.5-2mm로 회색이고 오래되면 퇴색한다. 자루의 속은 회색이고 비어 있다. 밑은 하얀 균사로 덮여 있다. 포자는 $6-7 \times 3.5-4.55 \mu\text{m}$ 이고 타원형이고 기름방울을 함유하는 것도 있다. 아미로이드, 포자문은 백색이다.

발생 : 여름에서 가을 사이에 활엽수의 고목 또는 떨어진 가지에 군생. 식용 여부는 확실치 않다. 목재부후균.

분포 : 한국(만덕산), 유럽.

동정에 사용된 표본 : CHO-2074 (1991. 6. 20.)로 만덕산에서 채집하였다.

Leucocoprinus denudatus (Rab.) Sing. f. major Hongo 벗은각시버섯아재비(신칭)

今關六也, 本郷次雄, 原色日本新菌類圖鑑 (I), 148, Pl. 38, f. 256, 1987.

균모의 지름은 2.5-3.5cm로 둥근 산모양에서 차차 편평하게 퍼지나 가운데가 볼록하다 연한 황색이고 황색의 비늘이 있다. 가장자리에는 방사선의 줄무늬 홈선이 있다. 주름살은 떨어진주름살이고 밀생한다. 자루의 길이는 7-8cm이고 굵기는 3-3.5mm로 근부는 약간 부풀어 있다. 표면은 비늘이 분포하고 턱받이는 쉽게 탈락하고 속은 비어 있다. 포자는 $6-8.5 \times 5-6.5 \mu\text{m}$ (또는 $7-11 \times 6-8 \mu\text{m}$)이고 넓은 난형이고 발아공은 없다. 균사는 $8-24 \times 3-3.5 \mu\text{m}$ 이고 원통형이며 격막이 2중으로 된다.

발생 : 가을에 유기질이 풍부한 흙에 군·속생한다.

분포 : 한국(만덕산), 일본, 유럽.

동정에 사용된 표본 : CHO-2151 (1991. 7. 8.)로 만덕산에서 채집하였다.

Leucocoprinus lanzonii Bon, Miglio & Brunori 비듬각시버섯(신칭)

Breitenbach & Kranzlin, Fung. Switz. 214, f. 247, 1995.

균모의 지름은 3-5cm로 둥근 산모양에서 차차 편평하게 퍼지나 가운데는 약간 볼록하거나 오목하다. 갈색의 인편이 있고, 바탕색은 백색에서 황색으로 되고 매끈하다. 자루의 길이는 4-6cm이고 굵기는 2-3mm로 원통형이다. 근부는 둥글고 부풀

다. 백색에서 황백색의 담자기는 $15-18 \times 6.5-7.5 \mu\text{m}$ 이고, 방망이형이다. 연낭상체는 $30-70 \times 5-10 \mu\text{m}$ 이고 원통형이다.

발생 : 여름에서 가을 사이에 숲속의 땅에 단·군생한다.

분포 : 한국(만덕산), 유럽.

동정에 사용된 표본 : CHO-3208 (1993. 7. 1.)로 만덕산에서 채집하였다.

Phaeomarasmium erinaceela (Pec.) Sing. 바늘갈색낙엽버섯

今關六也, 本郷次雄, 原色日本新菌類圖鑑(I), 148, Pl. 52, f. 369, 1987.

균모의 지름은 2-4cm로 처음에는 반구형이나 둥근산모양으로 되었다가 편평하여진다. 가장자리에는 피막조각이 부착한다. 적갈색 또는 황갈색이다. 알갱이 같은 인편이 분포하고 인편이 탈락하면 연한 황색의 표피가 나타난다. 주름살은 바른-올린 주름살이고 밀생한다. 황백색 또는 회백색이다. 가장자리는 황백색의 미세한 거치상. 자구의 길이는 2-5cm이고 굵기는 2-3mm이며 원통형이고 속은 처음은 차 있다가 비게 된다. 턱받이의 위는 황색이고 아래는 적갈색이다. 포자는 $6-7 \times 4-5 \mu\text{m}$ 이고 나뭇잎형이며 낭상체는 $27-30 \times 7-8 \mu\text{m}$ 이고 방망이형이다.

발생 : 봄에서 가을 사이에 활엽수의 고목에 군생. 목재부후균.

분포 : 한국(만덕산), 일본, 북아메리카.

동정에 사용된 표본 : CHO-3633 (1989. 8. 25.)으로 만덕산에서 채집하였다.

라. 균류의 다양성 및 지리적 분포

Eumycota	진균문
Basidiomycotina	담자균아문
Eubasidiomycotes	진정담자균강
Hymenomycetes	모균아강
Agaricales	주름버섯목

Pleurotaceae 느타리과

Lentinus lepideus (Fr.:Fr.) Fr. 잣버섯

분포 : 지리산, 가야산

Crepidotaceae 귀버섯과

Crepidotus herbarum (Pk.) Sacc. 풀귀버섯

분포 : 지리산, 방태산, 모악산.

C. subsphaerosporus (J. Lange) Kühn. et Romagn 주걱귀버섯

분포 : 지리산, 월출산, 발왕산, 소백산, 오대산.

Tricholomataceae 송이과

Asterophora lycoperdoides (Bull.) Ditm. : Fr. 덧부치버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 월출산, 무등산, 모악산.

Campanella gunghuhnii (Mont.) Sing. 유착나무종버섯

분포 : 지리산, 방태산.

Cyptotrama asprata (Berk.) Redhead et Ginus 등색가시비녀버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 소백산.

Laccaria amethystia (Bull.) Murr. 자주줄각버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 월출산, 발왕산, 가야산, 속리산, 방태산, 소백산.

L. laccata (Scop.:Fr.) Berk. et Br. 줄각버섯

분포 : 지리산, 월출산, 지리산, 발왕산, 두륜산, 방태산, 가야산, 오대산.

Lampteromyces japonicus (Kawam.) Sing. 화경버섯

분포 : 지리산, 광능.

Macrocyttidia cucumis (Pers.:Fr.) Joss. 큰낭상체버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 발왕산, 오대산.

Melanoleuca melaleuca (Pers.:Fr.) Murr. 잔디배꼽버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 남산.

Mycena epipterygia (Scop.:Fr.) S.F. Gray 솔잎애주름버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 다도해해상국립공원, 변산반도.

M. galericulata (Scop.:Fr.) S.F. Gray 콩나물 애주름버섯

분포 : 지리산, 방태산, 발왕산, 변산반도, 다도해해상국립공원, 오대산.

Mycena oortiana Hora 알애주름버섯

분포: 만덕산

Omphalina epichysium (Pers.:Fr.) Quél. 요리솔밭버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 모악산, 선운산, 변산반도.

O. ericetorum (Fr.) Lange 줄솔밭버섯

분포 : 지리산.

Oudemansiella mucida (Schrad.:Fr.) Höhnelt 끈적긴뿌리버섯

분포 : 지리산, 가야산, 오대산.

O. platyphylla (Pers.:Fr.) Moser in Gams 넓은솔밭버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 월출산, 가야산, 방태산, 두륜산, 다도해해상국립공원,
오대산.

Tricholoma album (Schaeff.:Fr.) Kummer 흰송이

분포 : 지리산.

Tricholomopsis rutilans (Schaeff.:Fr.) Sing. 솔밭버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 가야산, 속리산, 방태산, 다도해해상국립공원.

Xeromphalina campanella (Batsch.:Fr.) Maire 이끼살이버섯

분포 : 지리산, 방태산, 소백산, 가야산, 변산반도, 다도해해상국립공원, 오대산.

Amanitaceae 광대버섯과

Amanita citrina (Schaeff.) Pers. 애광대버섯

분포 : 지리산, 월출산, 속리산, 방태산.

A. hemibapha var. *javanica* 자마달걀버섯

분포 : 지리산, 방태산, 속리산, 오대산.

A. pantherina (Dc.:Fr.) Krombh. 마귀광대버섯

분포 : 지리산, 월출산, 가야산, 다도해해상국립공원, 속리산.

A. vaginata (Bull.:Fr.) Vitt. 우산버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 월출산, 가야산, 속리산, 발왕산, 방태산.

A. vaginata var. *fulva* (Schaeff.) 고동색우산버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 속리산, 발왕산, 방태산, 가야산, 소백산, 다도해해상국
립공원.

Lepiotaceae 갓버섯과

Lepiota rubrotincta Pk. 주홍갓버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 오대산.

Leucocoprinus (Rab.) Sing. f. major Hongo 벗은각시버섯아재비

분포: 만덕산

L. lanzonii Bon, Migliozi & Brunori 비듬각시버섯

분포: 만덕산

Cystoderma amianthinum (Scop.:Fr.) Fayod 참낭피버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 가야산, 발왕산.

Coprinaceae 먹물버섯과

Coprinus atramentarius (Bull.:Fr.) Fr. 두엄먹물버섯

분포 : 지리산, 삼례

Bolbitiaceae 소똥버섯과

Agrocybe praecox (Pers.:Fr.) Fayod 벗짚버섯

분포 : 지리산, 방태산, 변산반도.

Strophariaceae 독청버섯과

Naematoloma fasciculare (Hudson:Fr.) Karst. 노란다발

분포 : 지리산, 발왕산, 가야산.

Pholiota adiposa (Fr.) Kummer 검은비늘버섯

분포 : 지리산.

P. highlandensis (Peck) A.H.Smith et Hesler 재미늘버섯

분포 : 지리산.

Phaeomarasmium erinaceola (Peck) Sing. 비늘갈색낙엽버섯

분포 : 만덕산

Cortinariaceae 끈적버섯과

Cortinarius collinitus (Fr.) Fr. 진흙끈적버섯

분포 : 북반구 온대 이북.

C. fasciatus (Scop.) Fr. 띠끈적버섯

분포 : 지리산.

C. pseudosalor J. Lange 가지색끈적버섯

분포 : 지리산.

Inocybe albodisca Peck 백색꼭지땀버섯

분포 : 지리산.

I. cookei Bres 단발머리땀버섯

분포 : 지리산, 속리산, 소백산.

I. nodulospora Kobay. 결절땀버섯

분포 : 지리산, 소백산.

Entolomataceae 외대버섯과

Clitopilus prunulus (Scop.:Fr.) Kummer 응달깔대기버섯

분포 : 지리산

Entoloma album Hiroe 흰꼭지외대버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 가야산, 다도해해상국립공원.

Russulaceae 무당버섯과

Russula. aeruginea Limdbl. apud Fr. 구릿빛무당버섯

분포 : 지리산.

R. flavida Frost et Peck 노랑무당버섯

분포 : 지리산, 소백산.

R. foetens (Fr.) Fr. 깔대기무당버섯

분포 : 지리산, 가야산.

R. fragilis (Pers.:Fr.) Fr. 홍색애기무당버섯

분포 : 지리산, 가야산, 월출산.

R. japonica Hongo 흰무당버섯아재비

분포 : 지리산, 다도해해상국립공원, 오대산.

R. lepida Fr. 줄각무당버섯

분포 : 지리산, 속리산, 가야산.

R. ochroleuca (Secr.) Fr. 쫄개무당버섯

분포 : 지리산, 월출산, 속리산.

R. polyphylla Sing. 이파리무당버섯

분포 : 지리산.

R. pseudodelica Lange 흰무당버섯아재비

분포 : 지리산, 속리산, 가야산.

Lactarius chrysorrheus Fr. 노란젓버섯

분포 : 지리산, 가야산.

L. hatsudake Tanaka 젓버섯아재비

분포 : 지리산, 속리산, 월출산.

L. hygrophoroides Berk. et Br. 넓은갯젓버섯

분포 : 한국, 일본, 중국, 시베리아, 유럽, 북아메리카.

Boletaceae 그물버섯과

Boletus aureus Bull. ex Fr. 구릿빛그물버섯

분포 : 한국, 일본, 중국, 유럽, 호주..

B. erythropus (Fr.) Secr. 붉은대그물버섯

분포 : 지리산.

B. fraternus Peck 붉은그물버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 다도해해상국립공원.

B. griseus Frost 검정그물버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 두륜산, 방태산, 속리산.

B. luridus Fr. 독그물버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 가야산, 방태산, 월출산, 오대산.

B. ornatipes Peck 밤색갯그물버섯

분포 : 지리산.

Gyroporus castaneus (Fr.) Qué. 흰둘레그물버섯

분포 : 지리산, 가야산, 방태산, 속리산, 다도해해상국립공원.

G. cyanescens (Bull.:Fr.) Qué. 남빛둘레그물버섯

분포 : 지리산.

Leccinum extremiorientale (L. Vass.) Sing. 꺾꺾이그물버섯 (왕그물버섯)

분포 : 지리산, 만덕산, 변산반도, 속리산, 월출산.

Suillus aeruginascens (Secro.) Snell 녹슨그물버섯

분포 : 한국, 일본, 중국, 시베리아, 유럽, 북아메리카.

S. bovinus (Fr.) O.kuntgze 황소비단그물버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 월출산, 가야산, 속리산, 발왕산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 방태산, 다도해해상국립공원, 오대산.

Tylophilus chromapes (Frost) Sing. 노란대꺾꺾이그물버섯

분포 : 지리산, 가야산.

Strophariaceae 귀신그물버섯과

Austroboletus fuisporus (Kwam. apud Imaz. et Hongo) Walfe 방추남방버섯

분포 : 지리산.

Pulveroboletus ravenelii (Berk. et Curt.) Murr. 갓그물버섯

분포 : 지리산, 속리산,

Aphyllophorales 민주름버섯목

Cantharellaceae 피꼬리버섯과

Cantharellus cibarius Fr. 피꼬리버섯

분포 : 지리산, 속리산, 월출산.

Hydnaceae 턱수염버섯과

Hydnum repandum Fr. var. album Quel. 흰턱수염버섯

분포 : 지리산, 가야산.

Stereaceae 꽃구름버섯과

Stereum gausapatum Fr.:Fr. 피즙꽃구름버섯

분포 : 지리산.

S. ostrea (Bl. Nbbb) Fr. 갈색꽃구름버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 지리산, 두륜산, 방태산, 속리산, 소백산, 가야산, 오대산.

Hymenochaetaceae 소나무비늘버섯과

Cyclomyces fuscus Kunze 고리버섯

분포 : 지리산, 한국, 일본, 아시아, 아프리카등의 난·열대지방.

Inonotus mikadoi (Llogd) Imaz. 시룻뻘버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 다도해해상국립공원, 가야산.

Polypraceae 구멍장이버섯과

Cerrena unicolor (Fr.) Murr. 단색(털)구름버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 발왕산, 방태산, 다도해해상국립공원.

Datronia mollis (Sommerf.) Donk 구멍주름버섯

분포 : 지리산.

Favolus arcuarius Quél. 벌집버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 소백산, 변산반도, 방태산.

Irpex lacteus (Fr.:Fr.) Fr. 기계층버섯

분포 : 지리산, 가야산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 오대산.

Laetiporus sulphureus (Fr.) Bond. et Sing 덕다리버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 월출산, 오대산.

L. sulphureus var. *miniatus* (Jungh.) Imaz. 붉은덕다리버섯

분포 : 지리산, 발왕산.

Polyporus arcularius (Fr.) Ames. 좀벌집버섯

분포 : 지리산, 방태산, 발왕산, 오대산.

Polyporellus brumalis (Fr.) Karst. 겨울우산버섯

분포 : 지리산.

P. squamosus (Fr.) Karst. 개덕다리겨울우산버섯

분포 : 한국, 일본, 전세계적.

Roseofomes subflexibilis (Berk. et Curt.) Aoshi. 변덕장미버섯아재비

분포 : 지리산, 남산.

Ganodermataceae 불로초과

Ganoderma lucidum (Fr.) Karst. 불로초

분포 : 지리산, 만덕산, 방태산, 소백산, 다도해해상국립공원, 오대산.

Clavariaceae 국수버섯과

Clavaria purpurea Muell.:Fr. 자주국수버섯

분포 : 지리산, 만덕산.

Typhula erythropus Fr. 선녀부들국수버섯

분포 : 지리산, 변산반도.

T. setipes (Grev.) Berthier 절반부들국수버섯

분포 : 지리산, 방태산.

Protohymenomycetidae 원생모균아강

Dacrymycetales 붉은목이목

Dacrymycetaceae 붉은목이과

Calocera coralloides Kobay. 산호끈적싸리버섯

분포 : 지리산, 오대산.

C. cornea (Batsch:Fr.) Fr. 끝붉은끈적싸리버섯

분포 : 지리산, 방태산, 가야산, 오대산.

C. viscosa (Pers.:Fr.) Fr. 등황색끈적싸리버섯

분포 : 지리산, 소백산, 오대산.

Gasteromycetes 복균강

Sclerodermatales 어리알버섯목

Sclerodermataceae 어리알버섯과

Scleroderma areolatum Ehrenb. 점박이어리알버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 월출산, 두륜산, 변산반도, 방태산, 오대산.

S. citrinum Pers. 황토색어리알버섯

분포 : 지리산, 두륜산, 변산반도, 방태산, 가야산.

Tulostomatales 연지버섯목

Calostomataceae 연지버섯과

Calostoma japonicum P.Henn. 연지버섯

분포 : 지리산, 선운산

Astraeaceae 먼지버섯과

Astraeus hygrometricus (Pers.) Morg. 먼지버섯

분포 : 지리산, 방태산, 가야산, 속리산, 발왕산, 두륜산, 변산반도, 소백산, 다
도해 해상국립공원, 오대산.

Nidulariales 찻잔버섯목

Nidulariaceae 찻잔버섯과

Crucibulum leave (Huds.:Fr.) Kambly 찻잔버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 방태산, 속리산, 가야산, 발왕산, 소백산, 오대산.

Cyathus stercoreus (Schw.) De Toni 줌주름찻잔버섯

분포 : 지리산, 소백산, 다도해해상국립공원, 오대산.

Geastraceae 방귀버섯과

Geastrum sessile (Sow.) Pouz. 테두리방귀버섯

분포 : 지리산, 속리산, 오대산.

G. triplex (Jungh.) Fisch. 목도리방귀버섯

분포 : 지리산, 속리산, 방태산.

Phallales 말뚝버섯목

Phallaceae 말뚝버섯과

Mutinus bambusinus (Zoll.) Fisch. 끝검은뱀버섯

분포 : 지리산, 월출산.

Jansia boninensis (Fisch.) Lloyd 황갈색머리말뚝버섯

분포 : 지리산, 속리산, 방태산, 다도해해상국립공원.

Ascomycotina 자낭균아문

Discomycetes 반균강

Pezizales 주발버섯목

Pyromenataceae(=Humariaceae) 접시버섯과

Tarzetta cupularis (Fr.) Lamb 오목땅주발버섯

분포 : 지리산.

Pezizaceae 주발버섯과

Peziza vesiculosa Bull.:St. Amans 주발버섯

분포 : 지리산, 만덕산.

P. badia Pers.:Fr. 자주주발버섯

분포 : 한국, 일본, 중국, 유럽, 북아메리카.

Helotiales 고무버섯목

Hyaloscyphaceae 거미줄종지버섯과

Dasyscyphus apalus (Berk. & Br.) Dennis 백색털컵버섯

분포 : 지리산, 방태산.

D. bicolor (Bull.:Merat) Fuckel 쌍색털컵버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 오대산.

D. clandestinus (Bull.:Merat) Fuckel 밀생털컵버섯

분포 : 지리산, 방태산.

Sclerotiniaceae 균핵버섯과

Bisporella citrina (Batsch.:Fr.) Kort et Carpenter 황색황고무버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 두륜산, 방태산, 지리산, 소백산, 변산반도, 오대산.

Pyrenomycetes 핵균강

Clavicipitales 맥각균목

Clavicipitaceae 동충하초과

Cordyceps militaris (L.:St. Amans) Link. 동충하초

분포 : 지리산, 소백산, 속리산, 가야산, 월출산.

C. nutans Pat. 노린재동충하초

분포 : 지리산, 월출산, 속리산, 두륜산, 방태산, 가야산, 소백산.

Isaria japonica Yasuda 눈꽃동충하초

분포 : 지리산.

Sphaeriales 콩버섯목

Xylariaceae 콩꼬투리버섯과

Daldinia concentrica (Balt.:Fr) Ces. et de Not. 콩버섯

분포 : 지리산, 방태산, 지리산, 발왕산, 소백산, 두륜산, 변산반도, 가야산, 다
도해 해상국립공원, 오대산.

Hypoxylon howeianum Peck 빨강방석꼬투리버섯

분포 : 지리산, 변산반도.

Xylaria carpophila (Pers.) Fr. 젓가락콩꼬투리버섯

분포 : 지리산, 변산반도.

X. oxyacanthae Tul. 열매콩꼬투리버섯

분포 : 지리산. 만덕산.

X. polymorpha (Pers.:Mer.) Grev. 다형콩꼬투리버섯

분포 : 지리산, 가야산, 방태산.

Sordariaceae 흙탕버섯과

Lasiosphaeria ovina (Fr.) Ces. & de Not. 털구멍버섯

분포 : 지리산.

Sphaeriaceae 콩버섯과

Rosellinia thelena (Fr.) Rab. 젓꼭지장미버섯

분포 : 지리산.

Hypocereaceae 육좌균과

Creopus gelatinosus (Tode:Fr.) Link 끈적끈적버섯

분포 : 지리산.

Hypocera citrina (Pers.:Fr.) Fr. 노란점버섯

분포 : 지리산.

3. 1999년도 국내 자생버섯류의 분류동정 및 지리적 분포³⁻³²⁾

가. 연구된 균류

국내에 자생하는 버섯을 1999년 8월부터 2000. 6. 30까지 변산반도국립공원, 전라북도 대아리수목원, 한국도로공사수목원, 한라산국립공원등을 중심으로 채집하여 동정한 결과 1문, 2아문, 4강, 2아강, 13목, 39과, 85속, 166종 이었다.

나. 우점종

상기의 지역에서의 우점종은 봄에는 목이류, 여름에는 송이과, 무당버섯과, 가을에는 끈적버섯과, 그물버섯과이었다.

다. 한국산 미기록종

한국산 미기록종으로 생각되는 *Hygrocybe coccineocrenata* (Orton) Moser(진빨간꽃버섯아재비), *Collybia neofucipes* Hongo (신암갈색애기버섯), *Marasmius wettsteinii* Sacc. & Syd. (물낙엽버섯), *Amanita esculenta* Hongo & Matsuda (맛광대버섯), *Lepiota fucipes* Hongo (암갈색갓버섯), *Leucocoprinus subglobisporus* Hongo (등근포자각시버섯아재배), *Cystoderma japonicum* Thoen & Hongo(일본낭피버섯), *Coprinus narcoticus* (Batsch. : Fr.) Fr.(마취떡물버섯) 등 8종을 새롭게 발견하여 버섯이름을 명명하고 미생물학적 관찰. 지리적 분포, 세포학적, 생태학적 특성 등을 조사하였다.

라. 균류의 다양성 및 지리적분포

Eumycota 진균문

Basidiomycotina 담자균아문

Euabdsdiomycetes 진정담자균강

Agaricales 주름버섯목

Tricholomataceae 송이버섯과

Armillariella tabescens (Scop.) Sing. 뽕나무버섯붙이

분포 : 변산반도, 만덕산

A. mella (Vahl.: Fr). Karst. 뽕나무버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산

Baepspora myosuarea (Fr. : Fr). Sing 솔방울버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산, 만덕산

Clitocybe candicans (Pers : Fr.) Kummer 비단깔대기버섯

분포 : 변산반도, 발왕산

C. fragrans (With. : Fr.) Kummer 흰삿갓깔대기버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 방태산, 가야산

Collybia butyracea (Bull. : Fr.) Quél. 버터애기버섯

분포 : 변산반도, 아래산, 만덕산, 다도해해상국립공원, 방태산

C. neofucipes Hongo 신암갈색애기버섯

분포 : 변산반도, 아래산 지리산

Laccaria laccata (Scop. : Fr.) Berk. et Br. 줄각버섯

분포 : 지리산, 월출산, 지리산, 발왕산, 두륜산, 방태산, 가야산, 오대산

Lyophyllum sykosporum Hongo et Clemenccon 반투명만가닥버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 월출산, 만덕산

Macrocystidia cucumis (Pers. : Fr.) Joss. 큰낭상체버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 발왕산, 오대산

Mycena amygdalina (Fr). Kummer 가마애주름버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 오대산, 방태산

Marasmius graminum (Libert) Berk. 풀잎낙엽버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 만덕산, 발왕산, 소백산, 방태산

M. maximus Hongo 큰낙엽버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 만덕산, 발왕산, 소백산, 방태산

M. oreades (Bolt. : Fr.) Fr. 선녀낙엽버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 월출산

M. pulcherripes Peck 예쁜낙엽버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 방태산

M. ramealis (Bull. : Fr.) Fr. 마른가지낙엽버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 소백산, 오대산, 방태산

M. siccus (Schw.) Fr. 애기낙엽버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 발왕산, 월출산, 소백산, 방태산, 가야산

Oudemansiella. canarii (Jungh.) Höhnel. 얼룩 긴뿌리 버섯

분포 : 지리산, 변산반도, 가야산, 만덕산

O. pudens (Pers.) Pegler 털긴뿌리버섯

분포 : 지리산, 변산반도, 방태산, 만덕산

Tricholomopsis sasae Hongo 대나무술버섯

분포 : 변산반도, 무등산

Tricholoma saponaceum (Fr). Kummer 할미송이버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 무등산, 월출산

Xeromphaina caudicinalis (Fr.) Kühn. & Maire 가랑잎이끼살이버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 다도해해상국립공원

Amanitaceae 광대버섯과

Amanita citrina S. F. Gray 애광대버섯

분포 : 변산반도, 방태산, 만덕산, 속리산

A. ceciliae (Berk. & Br.) Bas 점박이광대버섯

분포 : 변산반도, 방태산, 속리산

A. flavipes Imai 노란대광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 가야산

A. fuligenea Hongo 회흑광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 방태산, 속리산

A. griseofarinoso Hongo 잿빛가루무당버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산, 가야산, 속리산

A. melliceps Hongo 파리버섯

분포 : 변산반도, 월출산, 가야산

A. pantherina (DC. : Fr.) Krombh. 마귀광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 다도해해상국립공원, 속리산, 가야산

A. pantherina var. *velutipes* (Atkinson) Jenkkins 마귀광대버섯아재비

분포 : 변산반도, 지리산, 다도해해상국립공원, 속리산

A. phalloides (Fr.) Link 알광대버섯

분포 : 변산반도, 가야산

A. porphyria (Alb. et Schw. : Fr.) Secr. 암회색광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 방태산, 속리산,

A. rubescens Pers. : Fr. 붉은점박이광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 가야산

A. spissacea Imai 뱀껍질광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산, 가야산

A. vaginata (Bull. : Fr.) Vitt. 우산버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 발왕산, 소백산, 오대산, 월출산, 속리산

A. verna (Bull. : Fr.) Roques 흰알광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 발왕산, 소백산, 오대산, 속리산

A. virgineoides Bas 흰가시광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 월출산, 오대산, 속리산

A. virosa (Fr.) Bertillon 독우산광대버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 오대산, 속리산, 가야산

Agaricaeae 주름버섯과

Agaricus subrutilescens (Kauffm.) Hotson et Stunz. 진갈색주름버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 발왕산, 월출산, 가야산

A. arveusis fulvus (Kawam.) S. Ito 황갈색주름버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 월출산, 두륜산, 가야산, 변산반도

Pluteaceae 난버섯과

Pluteus aurantiorugosus (Trog.) Sacc. 빨간난버섯

분포 : 변산반도

P. leoninus (Schaeff. : Fr.) Kummer 노란그늘치마버섯

분포 : 변산반도, 어래산

Lepiotaceae 갓버섯과

Cystoderma japonicum Thoen & Hongo 일본낭피버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 오대산, 방태산

Lepiota acutesquamosa (Weinm. : Fr.) Gill. 가시갓버섯

분포 : 변산반도

L. clypeolaria (Bull. : Fr.) Kummer 숨갓버섯

분포 : 변산반도, 가야산, 무등산, 어래산

L. cygnea J. Lge. 흰주름갓버섯

분포 : 변산반도, 무등산, 만덕산, 발왕산

L. clypeolaria (Bolt. : Fr.) Kummer 갈색고리갓버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산

L. fusciceps Hongo 암갈색갓버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산, 방태산

Leucocoprinus subglobisporus Hongo 등근포자각시버섯아재비

분포 : 변산반도

Macrolepiota procera (Scop. : Fr.) Sing. 갓버섯

분포 : 변산반도, 발왕산

M. alborubescens (Hongo) Hongo 두엄큰갓버섯

분포 : 변산반도, 만덕산

Coprinaceae 먹물버섯과

Coprinus disseminatus (Pers. : Fr.) S.F.Gray 고깔먹물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 방태산, 가야산

C. narcoticus (Batsch. : Fr.) Fr. 갈색비듬먹물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산

C. comatus (Muller : Fr.) Pers. 먹물버섯

분포 : 변산반도, 만덕산, 아래산

C. micacus (Bull. : Fr.) Fr. 갈색떡물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산

Psathyrella velutina (Pers.) Sing. 큰눈물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 월출산

Entolomataceae 외대버섯과

Clitopilus prunulus (Scop. et Fr.) Kummer 응달갈대기버섯

분포 : 지리산

Rhodophyllus crassipes (Imaz. et Toki) Imaz. et Hongo 외대덧버섯

분포 : 변산반도, 가야산

R. murraini (Berk. : Curt) Sing. 노란꼭지버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 발왕산, 월출산, 다도해해상국립공원, 방태산, 가야산

Cortinariaceae 끈적버섯과

Cortinarius purpurascens (Fr.) Fr. 풍선끈적버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 오대산, 속리산, 가야산

C. faciatus (Scop.) Fr. 띠끈적버섯

분포 : 지리산

Gymnopilus spectabilis (Fr.) Sing. 갈황색미치광이버섯

분포 : 지리산, 만덕산, 속리산

Inocybe asterospora Quélet. 삿갓담버섯

분포 : 지리산, 변산반도, 월출산, 속리산

I. albidisca Peck 백색꼭지담버섯

분포 : 지리산

Strophariaceae 독청버섯과

Naematoloma fasciculare (Hudson : Fr.) Karst. 노란다발

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 발왕산, 가야산

Paxillaceae 우단버섯과

Paxillus atrotomento (Batsch : Fr.) Fr. 줌우단버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 다도해해상국립공원

P. curtsii Berk. 꽃잎우단버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산

P. panuoides (Fr. : Fr.) Fr. 은행잎우단버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 방태산

Russulaceae 무당버섯과

Lactarius chrysorheus Fr. 노란젓버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 가야산

L. deliciosus var. *japonica* Kawam. 붉은젓버섯

분포 : 지리산, 변산반도, 방태산

L. gracilis Hongo 애기털젓버섯

분포 : 변산반도

L. hatsutake Tanaka 젓버섯아재비

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산

L. subplinthogalus Coker 얇은갓젓버섯

분포 : 변산반도, 다도해해상국립공원, 방태산

L. volemus (Fr.) Fr. 배젓버섯

분포 : 지리산, 발왕산, 속리산, 가야산, 다도해해상국립공원, 오대산

Russula delica Fr. 푸른주름무당버섯

분포 : 지리산, 속리산, 가야산

R. emetica (Fr.) S. F. Gray 냄새무당버섯

분포 : 지리산, 월출산, 가야산, 발왕산, 속리산, 두륜산, 방태산, 변산반도,

다도해해상국립공원, 오대산

R. flavida Frost et Peck 노랑무당버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 소백산

R. japonica Hongo 흰무당버섯아재비

분포 : 지리산, 다도해해상국립공원, 오대산

R. omiensis Hongo 보라장미무당버섯

분포 : 변산반도

R. senecis Imai 흙무당버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산, 다도해해상국립공원, 오대산

R. violeipes Quél. 자주빛무당버섯

분포 : 지리산

Boletaceae 그물버섯과

Boletus griseus Frost 검정그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 방태산, 속리산

B. ornatipes Peck 밤색갓그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 발왕산

Gyroporus castaneus (Bull. : Fr.) Quél. 흰둘레그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 다도해해상국립공원, 방태산, 속리산, 가야산

Phylloporus bellus (Mass.) Corner 노란길민그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 소백산

Suillus aeruginascens (Secro.) Snell 녹슨그물버섯

분포 : 한국, 일본, 중국, 시베리아, 유럽, 북아메리카.

S. grevilleii (Koltzsch) Sing. 큰비단그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 발왕산, 월출산, 어래산

S. pictus (Peck) Smith & Thiers 붉은비단그물버섯

분포 : 변산반도, 다도해해상국립공원, 방태산

Tylopilus felleus (Bull. : Fr.) Karst. 쓴맛그물버섯

분포 : 지리산, 변산반도, 방태산, 만덕산, 월출산

Xerocomus badius Hongo 갈색산그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 방태산

X. chrysenteron (St. Amans) Quél. 마른산그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 발왕산

X. subtomentosus (Fr.) Quél. 산그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 소백산, 방태산, 속리산, 가야산

Strobilomycetaceae 귀신그물버섯과

Boletellus chrysenteroides snell 비로도밤그물버섯

분포 : 지리산, 만덕산

B. obscurecoccineus (V. Höhn) Sing. 좀노란그물버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 방태산

Pulberoboletus ravenelii (Berk. : Curt.) Murr. 갓그물버섯

분포 : 지리산, 속리산

Strobilomyces floccopus (Fr.) Karst. 귀신그물버섯

분포 : 지리산, 두륜산, 월출산, 방태산, 가야산, 속리산, 변산반도,
다도해해상국립공원

Aphyllorphrales 민주름버섯목

Clavariaceae 국수버섯과

Clavaria vermicularis Fr. 국수버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 발왕산

Ramariopsis kunzei (Fr.) Donk 쇠뜨기버섯

분포 : 변산반도

Cantharellaceae 피꼬리버섯과

Cantharellus cinnabarinus Schw. 붉은피꼬리버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산

C. minor Peck 애기피꼬리버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 발왕산, 소백산, 다도해해상국립공원,
오대산, 방태산

Craterellus aureus Berk. : Curt. 황금뿔나팔버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산

C. cornucopioides (L. : Fr.) Pers. 뿔나팔버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산

C. cibarius Fr. 피꼬리버섯

분포 : 변산반도

Hydnaceae 턱수염버섯과

Hydnum repandum var. Quéel. 흰턱수염버섯

분포 : 지리산, 가야산

Ramariaceae 싸리버섯과

Ramaria apiculata (Fr.) Donk 바늘싸리버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 발왕산, 소백산, 오대산

R. botrytis (Fr.) Ricken 싸리버섯

분포 : 지리산, 두륜산, 방태산, 가야산

Hymenochaetaceae 소나무비늘버섯과

Coltricia cinnamomea (Jacq. : Fr.) Murr. 톱니겨우살이버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 발왕산, 소백산, 방태산, 속리산

C. montagnei var. *greenii* (Beck.) Imaz. 계단겨우살이버섯

분포 : 변산반도, 지리산

Hymenochaete villosa (Lev.) Bres. 긴털소나무비늘버섯

분포 : 변산반도

Inonotus mikadoi (Lloyd) Imaz. 시룻번버섯

분포 : 변산반도, 지리산

I. xeranticus Imaz. & Aoshima 기와층버섯

분포 : 변산반도, 지리산

Streaceae 꽃구름버섯과

Stereum spectabile Klotzsch 단풍꽃구름버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 속리산, 오대산, 소백산, 가야산

S. gausapatum (Fr. : Fr.) Fr. 피좁꽃구름버섯

분포 : 변산반도, 지리산

Schizophyllaceae 치마버섯과

Schizophyllum commune Fr. : Fr. 치마버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 만덕산, 발왕산, 소백산, 다도해해상국립공원,
오대산, 방태산, 가야산

Polyporaceae 구멍장이버섯과

Bjerkandera adusta (Fr.) Karst. 줄버섯

분포 : 변산반도, 어래산, 다도해해상국립공원, 오대산, 방태산

Climacocystis borealis (Fr.) Kolt. : Pouz. 물렁개떡버섯

분포 : 변산반도, 어래산, 소백산, 오대산

Coriolus brevis (Berk.) Aoshima 송곳니구름버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 가야산

C. versicolor (Fr.) Quél. 구름버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 만덕산, 발왕산, 월출산, 소백산, 오대산,
방태산, 속리산, 가야산

Daedaleopsis styrcina (P. Henn) Imaz. 때죽도장버섯

분포 : 변산반도, 지리산

D. purpurea (Cke.) Imaze. et Aoshi. 일본도장버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산

Fomitella fraxinea (Fr.) Imaz. c. n. 아까시재목버섯

분포 : 변산반도, 남산, 지리산

Fomes fomentarius (L. : Fr.) Fr. 말굽버섯

분포 : 변산반도

Gloeophyllum abietinum Fr. : Fr. 전나무조개버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산

Porodisculus pendulus (Schw.) Murr. 그물코버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 월출산

Pycnoporus coccineus (Fr.) Aoshima 간버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 다도해해상국립공원, 두륜산

P. cinnabarius (Jacq. : Fr.) Karst. 주걱송편버섯

분포 : 변산반도, 가야산, 지리산, 만덕산, 방태산

Polyporus arcularius (Fr.) Ames. 좀벌집버섯

분포 : 지리산, 방태산, 발왕산, 오대산

Trichaptum abietinum (Fr.) Ryv. 옷솔버섯

분포 : 지리산

T. fuscoviolaceus (Fr.) Ryv. 기와옷솔버섯

분포 : 지리산

Ganodermataceae 불로초과

Ganoderma lucidum (Leyss. : Fr.) Karst. 불로초(영지)

분포 : 변산반도, 지리산, 방태산, 가야산

G. neojaponicum Imaz. 일본불로초

분포 : 변산반도, 다도해해상국립공원, 오대산, 가야산

Climacodontaceae 수염버섯과

Steccherium ochraceum (Pers. : Fr.) S.F.Gray 바늘버섯

분포 : 변산반도, 방태산

Hydnum repandum L. : Fr. 턱수염버섯

분포 : 변산반도, 만덕산, 방태산

Hydnellum aurantiacum (Batsch. : Fr.) Karst. 황갈색갈대기버섯

분포 : 변산반도, 지리산

Pharagmobasidiomycetiae 격실담자균아강

Tremellales 흰목이목

Tremellaceae 흰목이과

Tremella foliacea Fr. 꽃흰목이

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 만덕산, 오대산, 방태산, 속리산

T. fuciformis Berk 흰목이

분포 : 변산반도, 아래산, 만덕산, 방태산

Gasteromycetes 복균강

Hymenogastales 알버섯목

Sclerodermatacea 어리알버섯과

Scloderma areolatum Ehrenb. 점박이어리알버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 오대산, 방태산, 속리산

S. cepa Pers. 양과어리알버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 오대산, 가야산

Tulostomtales 연지버섯목

Astraceae 먼지버섯과

Astraeus hygrometricus (Pers.) Mong 먼지버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 만덕산, 발왕산, 다도해해상국립공원, 오대산,
방태산

Phallales 말뚝버섯목

Phallaceae 말뚝버섯과

Mutinus bambusinus (Zoll.) Fisch. 끝검은뱀버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 월출산

Clathraceae 바구니버섯과

Pseudocolus schellenbergiae (Sumst.) Johnson 세발버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 만덕산, 발왕산, 월출산, 방태산, 가야산

Lycoperdales 말볼버섯목

Lycoperdaceae 말볼버섯과

Calvatia craniiformis (Schw.) Fr. 말징버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 월출산, 가야산

Lycoperdon perlatum Pers. 말볼버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 아래산, 만덕산, 발왕산, 다도해해상국립공원

Nidulariales 찻잔버섯목

Geastraceae 방귀버섯과

Geastrum mirabile (Mont.) Fisch. 꼬마방귀버섯

분포 : 변산반도, 속리산

G. triplex (Jungh.) Fisch. 목도리방귀버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 만덕산, 오대산, 방태산, 속리산, 가야산

Nidulariaceae 찻잔버섯과

Crucibulum leave (Huds. : Relh) Kambly 찻잔버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 만덕산, 오대산, 방태산, 속리산, 가야산

Ascomycotina 자낭균아문

Discomycetes 반균강

Pezizales 주발버섯목

Pyromentaceae 접시버섯과

Aleuria aurantia (Fr.) Fuckel 들주발버섯

분포 : 변산반도

Helvellaceae 안장버섯과

Helvella crispa Fr. 주름안장버섯

분포 : 변산반도, 지리산

Macroscyphus macropus Pers. : S.F.Gray 긴대주발버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 가야산

Sclerotiniaceae 균핵버섯과

Bisporella citrina (Batsch : Fr.) Korf et Carpenter 황색황고무버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 소백산, 오대산

Dermataceae 살갓버섯과

Chlorosplenium aeruginosum (Gray) de Not. 녹청균

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 만덕산, 오대산, 방태산, 속리산, 가야산

Protohymenomycetidae 원생모균아강

Dacrymycetaceae 붉은목이목

Dacrymycetaceae 붉은목이과

Guepinia spathularia Fr. 혀버섯

분포 : 변산반도, 다도해해상국립공원, 지리산, 만덕산, 오대산

Pyrenomycetes 핵균강

Clavicipitales 맥각균목

Clavicipitaceae 동충하초과

Cordyceps militarius (Vuill) Fr. 동충하초

분포 : 지리산, 소백산, 가야산, 방태산, 만덕산

Isaria japonica Yasuda 눈꽃동충하초

분포 : 변산반도, 지리산, 만덕산, 속리산

Sphaeralea 콩버섯목

Xylariaceae 콩꼬투리버섯과

Daldinia concentrica (Bolt. : Fr.) Ces. et de Not. 콩버섯

분포 : 변산반도, 지리산, 어래산, 발왕산, 소백산, 다도해해상국립공원, 오대산,
방태산

Hypocreaceae 육좌균과

Hypocrea rufa (Pers.:Fr.) Fr. 점버섯

분포 : 변산반도, 지리산

제 3 절 생리활성물질의 분리, 동정 및 생물활성

1. 제주쓴맛 그물버섯 (*Tylophilus neofelleus*) 으로부터 분리한 신규 peptaibol 화합물 tylopeptin A 및 B³³⁾

가. 제주쓴맛그물버섯 (*Tylophilus neofelleus*)의 채취 및 분류 동정

제주쓴맛그물버섯은 여름에서 가을 사이에 소나무와 졸참나무숲 속에 무리지어 나며 한국에서는 모악산, 두륜산, 지리산, 가야산, 속리산, 방태산, 다도해상국립공원 등에서 채취된 바 있고, 국외에서는 뉴기니아, 일본등에 분포한다. 본 실험에 공시한 균류는 97년 8월 중순경 전라북도 도립공원인 모악산의 금산사 주변에서 채취한 것으로 균류학적 특성은 다음과 같다. 갓의 지름은 5~11 cm로 둥근 산모양에서 차차 편평하게 되며 약간 벨벳 모양으로 끈적기가 없고 올리브색 또는 홍갈색을 띄었다. 살은 두껍고 단단하며 백색이다. 관공의 관은 백색에서 연한 홍색으로 변하며 구멍은 작고 홍색에서 포도주색으로 변한다. 올린 또는 끝볼은 관공이며 상처를 받아도 색은 변하지 않는다. 자루는 6~11×3.5~4μm, 장타원형 또는 아방추형이다. 연낭상체는 25~43×7.5μm, 협방추형, 측낭상체는 연낭상체와 비슷하나 꼭대기가 길다. 포자문은 약간 어두운 연한 홍색이었다. 이상의 결과로부터 본 균류를 *Tylophilus neofelleus*로 분류, 동정하였다.

나. 신규 peptaibol 항생물질 tylopeptin A 및 B의 분리 및 정제

건조중량 70 g의 제주쓴맛그물버섯을 2 L의 MeOH로 1회 추출한 후 1 L의 80% MeOH로 재차 추출하였다. 추출된 aqueous-MeOH 용액을 감압하에서 농축하여 메탄올을 제거하고 남겨진 물층에 *n*-hexane, chloroform, ethylacetate 용매를 순차적으로 가하여 추출하고, 얻어진 각각의 추출용매를 감압하에서 농축시켜 갈색의 오일상의 추출물 5g, 3.5g 및 1g을 얻었다. 얻어진 chloroform 추출물(3.5g)에 대하여 silica gel column을 실시하여 5개의 분획물을 얻었으며 이때 사용된 용매의 조건은 최초 CHCl₃/MeOH (20:1) 혼합용액으로부터 서서히 MeOH의 비율을 증가시켜 최종적으로 CHCl₃/MeOH (3:1)의 용매로 극성을 증가시켰다.

이상과 같이 얻어진 분획중 2번째 분획물을 Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 정제하여 비극성의 peptaibol 화합물인 tyropeptin A

및 B의 혼합물을 얻었으며 최종적으로 preparative HPLC를 수행하여 순수하게 정제된 흰색분말의 peptide계 항생물질 tylopeptin A (6 mg) 및 B (4 mg)을 정제하였다(그림 3).

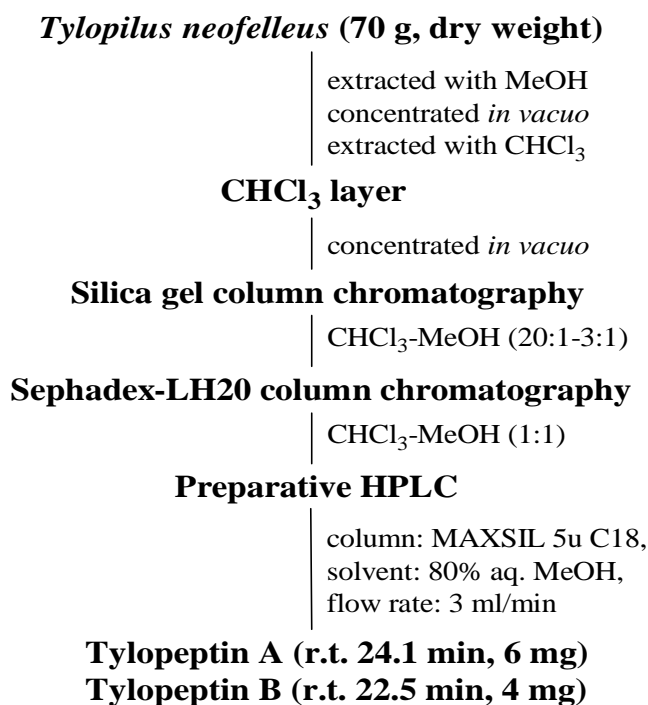


그림 3. Tylopeptin A 및 B의 분리, 정제 과정.

다. Tylopeptin A 및 B의 물리화학적 특성

제주쓴맛그물버섯의 메탄올 추출물로부터 분리한 비극성 peptide 화합물인 tylopeptin A 및 B의 물리화학적 특성을 조사하였으며 그 결과를 표 1에 나타내었다. 흰색분말의 성상을 지닌 tylopeptin A 및 B의 IR spectrum을 측정된 결과 tylopeptin A 및 B 공히 3400cm^{-1} 근처에서 hydroxyl기가 관찰되었고 또한 A는 1656cm^{-1} 에서, B는 1658cm^{-1} 에서 peptide의 amide carbonyl에 기인하는 band가 관찰되었다. Tylopeptin A의 분자량을 결정하기 위하여 FAB-mass를 측정된 결과 m/z 1553에서 $(M+H)^+$ 의 molecular ion peak가 관찰되어 분자량이 1552임을 알았다(그림 4). 또한 high resolution FAB-Mass를 측정된 결과 분자식을 $\text{C}_{73}\text{H}_{20}\text{N}_{18}\text{O}_{19}$ 으로 결정할 수 있었으며 이들 결과를 종합한 결과 비교적 큰 분자량을 갖는 비극성의 신규 peptide 화합물로 추정되었다.

표 1. Tylopeptin A 및 B의 물리화학적 특성

	Tylopeptin A	Tylopeptin B
Appearance	white powder	white powder
MP	215–218 °C	214–217 °C
$[\alpha]_D^{25}$	-36°(c 0.005, MeOH)	-25°(c 0.01, MeOH)
Molecular formula	C ₇₃ H ₁₂₀ N ₁₈ O ₁₉	C ₇₂ H ₁₁₈ N ₁₈ O ₁₉
FAB-Mass (m/z)	1554 (M+H) ⁺ 1576 (M+Na) ⁺	1540 (M+H) ⁺ 1562 (M+Na) ⁺
UV λ_{max} mm, MeOH	290 (sh), 280, 227	289 (sh), 280, 226
IR ν_{max} (KBr) cm ⁻¹	3432, 3315, 2924, 1656 1542, 1458	3420, 3310, 2930, 1658 1536, 1368
TLC (Rf value) ^a	0.44	0.44
HPLC ^b	27.2 min	25.0 min
Solubility		
soluble	MeOH, DMSO, EtOH	MeOH, DMSO, EtOH
insoluble	H ₂ O, Me ₂ CO, EtOAc	H ₂ O, Me ₂ CO, EtOAc

^a Silica gel plate (Silica gel 60 F254), MeOH–chloroform(3:7)

^b MetaSil 5 μ ODS, 4.6×250 mm, solvent: 80% MeOH, flowrate 0.7 mm/min, detector: UV 220 nm

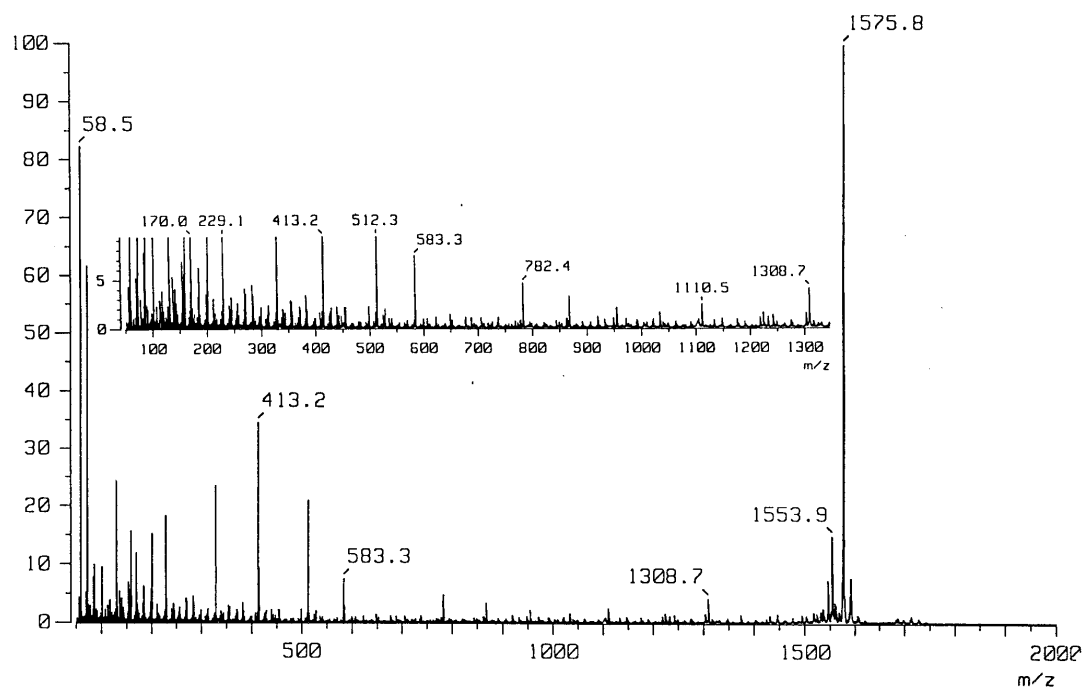


그림 4. Tylopeptin A의 FAB-mass spectrum.

Tylopeptin B 또한 mass 및 high resolution mass에 의하여 분자량 1539, 분자식 $C_{72}H_{118}N_{18}O_{19}$ 의 신규 펩타이드 화합물로 결정되었다. 이들 peptide의 경우 N-terminal이 아세틸기로 보호되어 있으며, C-terminal이 알코올로 환원되어 있어서 극성은 일반적인 펩타이드들과는 달리 매우 낮고, peptide 발색시약인 ninhydrin에 발색되지 않는 특성을 지닌다.

라. Tylopeptin A 및 B의 화학구조

(1) Tylopeptin A의 화학구조

Tylopeptin A는 15개의 아미노산으로 구성된 펩타이드로서 양끝 N-말단과 C-말단이 각각 아세틸기와 아미노알콜로서 보호됨으로서 보통의 펩타이드가 지닌 높은 극성의 특성을 나타내지 않고, 더욱이 구성성분의 아미노산들의 구조를 살펴볼 때 alanine, 2-amino isobutyric acid(Aib), leucine등의 상대적으로 비극성의 아미노산으로 구성되어 있어서 마치 cyclic peptide류와 같은 정도의 매우 높은 비극성 정도를 보여준다. 또한 tylopeptin은 FAB-mass에서 $1553 (M+H)^+$ 의 높은 molecular ion peak를 나타내고 이들의 fragmentaion pattern은 상기의 그림에서와 같이 나타나며 (그림 5), 이들은 tylopeptin A를 구성하고 있는 아미노산의 수와 종류에 대한 정보를 제공한다.

DMSO- d_6 를 용매로 1H -NMR spectrum을 측정한 결과 87-8 ppm 사이에서 다수의 peptide를 구성하는 각각의 아미노산들의 amide proton들에 기인하는 peak가 관찰되었고 이들의 개수로부터 peptide를 구성하는 아미노산의 개수를 추정할 수 있었다. 본 spectrum에서는 15개의 amide proton 이외에도 6.67 ppm 과 7.11 ppm 근처에서 4개의 glutamine에서 유래한 proton들이 나타났고 또한 3-4 ppm 근처에서 나타난 peaks들은 각각의 아미노산들의 α -proton임을 나타내었다.

^{13}C NMR spectrum을 측정한 결과 73개의 다소 복잡한 carbon signal들을 나타내었으며 amide의 carbonyl signal들은 170 ppm 근처에서 나타나고 각각의 아미노산의 α -carbon은 50-60 ppm 사이에서 나타났다. Peptide를 구성하는 각각의 아미노산의 구조결정을 위해서 TOCSY spectrum을 측정하였다(그림 6). TOCSY spectrum의 해석을 통해서 본 화합물을 구성하는 15개의 아미노산은 각각 한 개의 tryptophan, valine, isovaline, 3개의 alanine, 2개의 glutamine, 1개의 serine, 1개의 leucine, 4개의 Aib 그리고 1개의 2-amino-isopentanol임을 확인하였다.

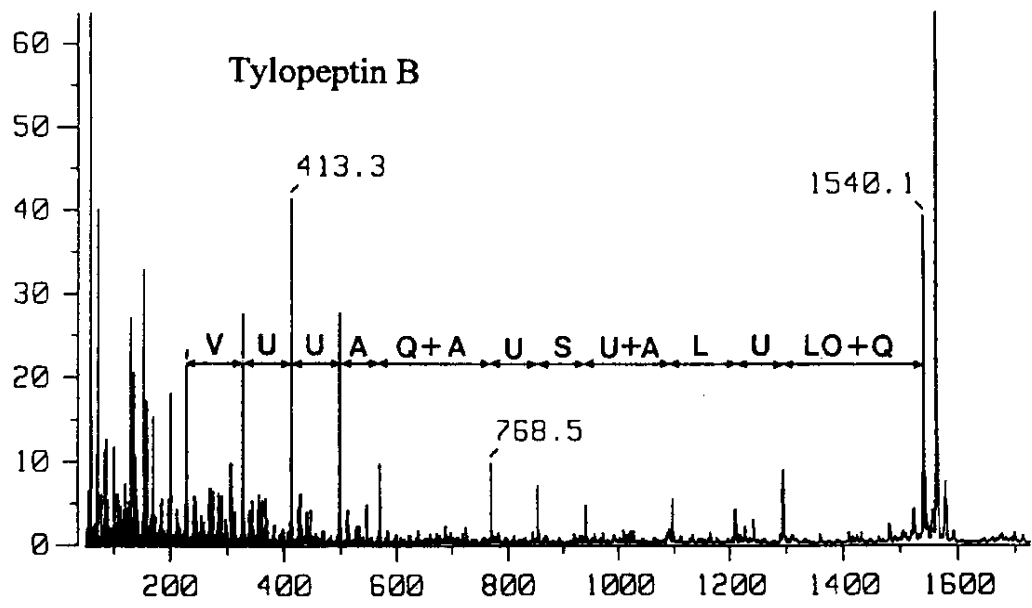
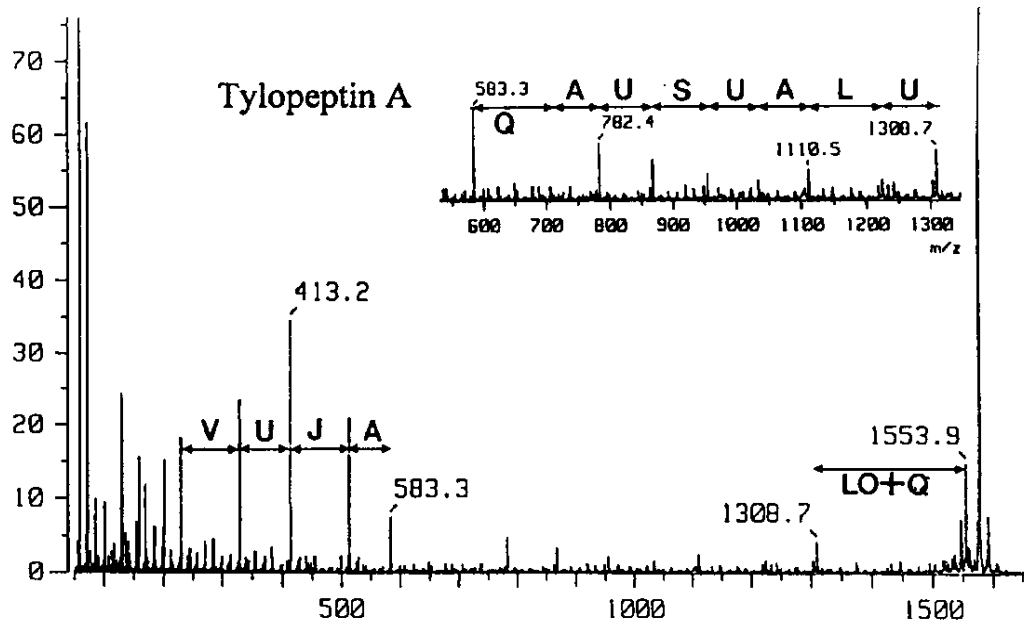
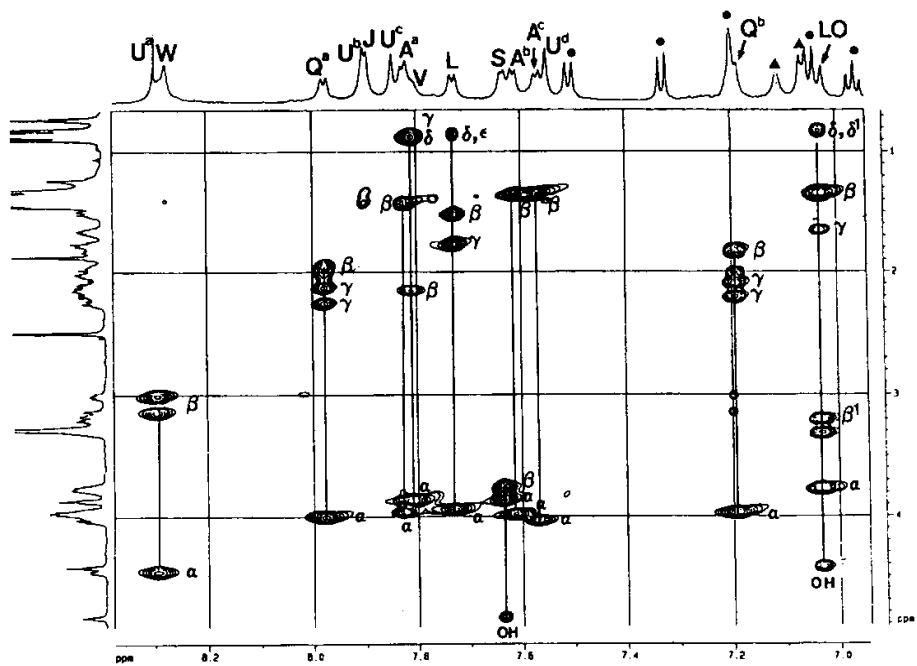


그림 5. Tylopeptin A의 FAB-mass fragment 및 부분구조.



Amide protons correlated with C $^{\alpha}$ proton and aliphatic proton resonances.
 U=Aib, J=Iva, LO=leuol, \blacktriangle =CO-NH $_2$ for glutamine, \bullet =aromatic proton signals of tryptophan.

그림 6. Tylopeptin A의 TOCSY spectrum.

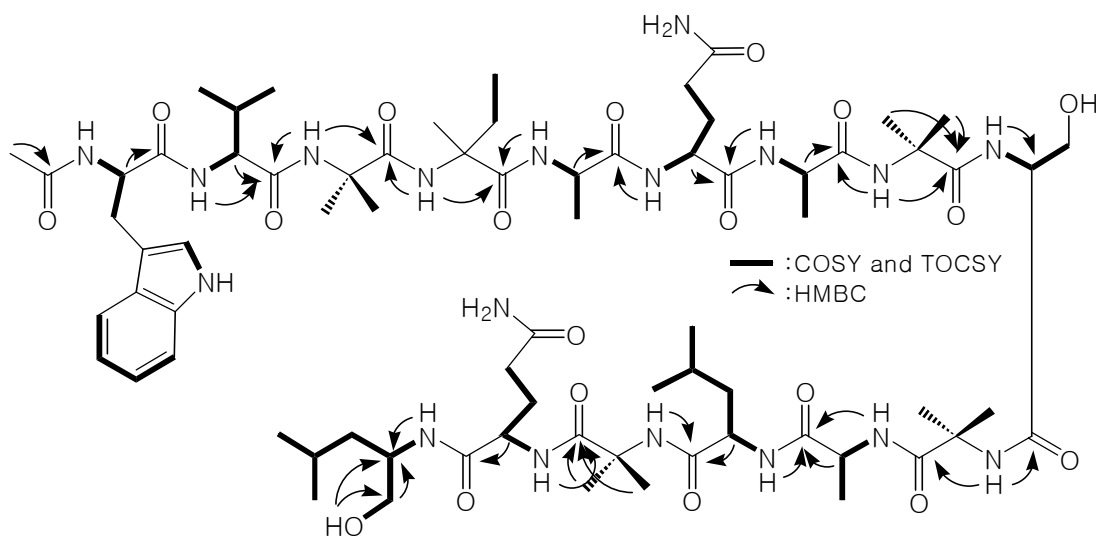
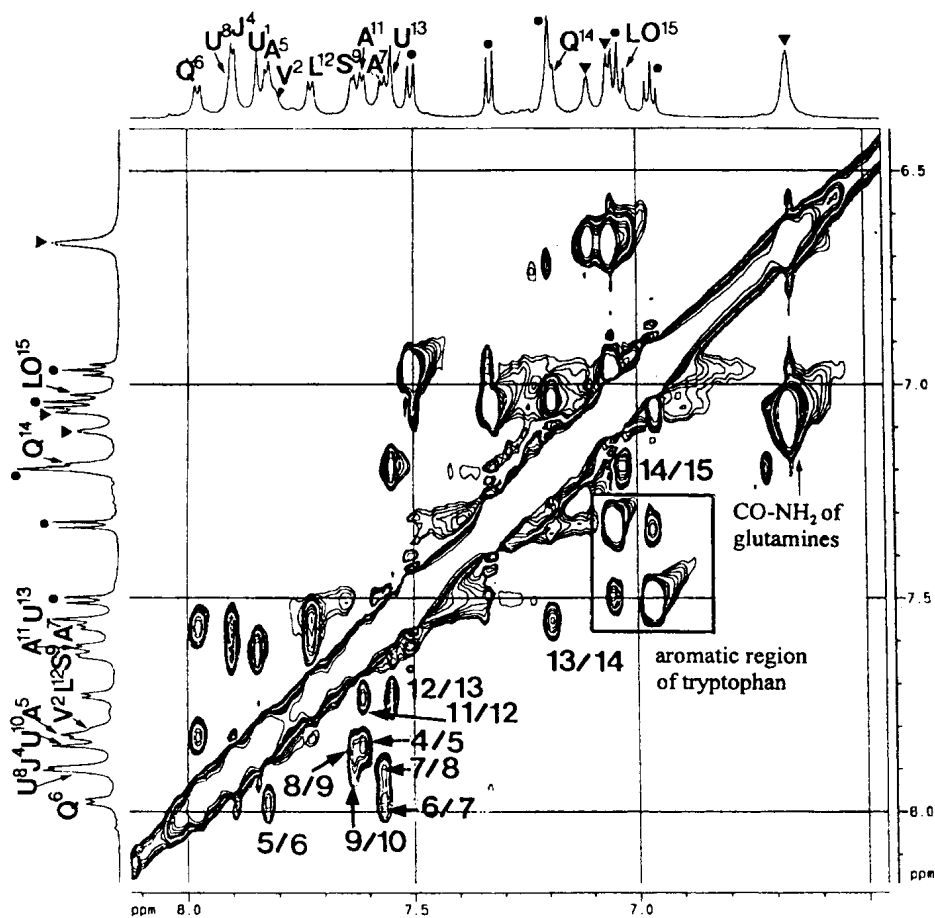


그림 7. Tylopeptin A의 COSY, TOCSY 및 HMBC correlation.

그리고 이들 아미노산들의 sequence를 결정하기 위하여 HMBC 및 ROESY spectrum을 측정 해석하였다(그림 7). HMBC spectrum에서, 각각의 amino acid들의 α proton과 amide proton들은 이웃한 아미노산의 amide carbonyl 탄소에 correlation을 보여준다. 이러한 correlation peak들은 각각의 아미노산 바로옆에 존재하는 아미노산에 관한 정보를 제공한다. 상기의 HMBC 방법에 의하여 본 화합물을 구성하는 부분구조 tryp-val, isoval-ala-glu-ala, 그리고 ala-leu등의 sequence를 밝혔다. 그 외의 HMBC data는 α -proton을 가지지 않는 Aib의 경우 β 위치의 methyl기들과 amide carbonyl과의 상관관계를 나타내어 준다. ROESY spectrum에서 보여주는 각각의 amide proton들간의 상관관계를 해석한 결과 NH(Val)/ α H(Try), NH(amino isopentanol)/ α H(Glu²), NH(Aib²)/ α,β H(Ser), NH(Try)/methyl(Acyl) 그리고 NH(Aib²)/NH(Ser)/NH(Aib¹)등의 부분구조를 밝혔다(그림 8).



▲=CO-NH₂ for glutamine, ●=aromatic proton signals of tryptophan.

그림 8. Tylopeptin A의 NOESY spectrum.

상기의 NMR spectrum의 해석 및 mass fragmentation 해석으로부터 tylopeptin A를 구성하는 아미노산의 종류와 이들의 sequence를 Acyl-Tryp-Val-Aib-Aib-Isoval-Ala-Glu-Ala-Aib-Ser-Aib-ALa-Leu-Aib-Glu-2-amino isopentanol로 결정할 수 있었다(그림 9). Tylopeptin A의 ^1H 및 ^{13}C NMR spectral data를 표 2에 나타내었다.

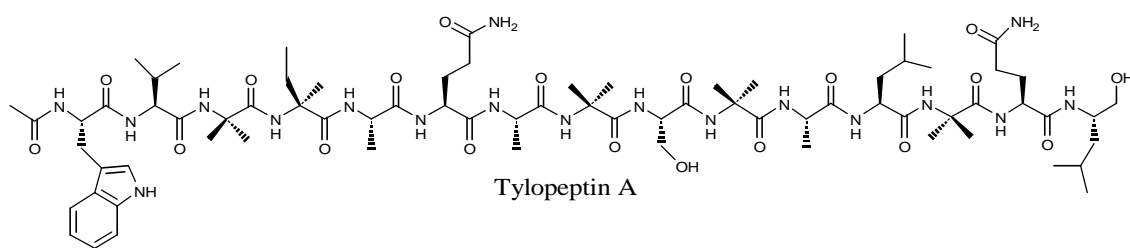


그림 9. Tylopeptin A의 화학구조.

표 2. Tylopeptin A의 ¹H, ¹³C NMR assignments (DMSO-d)

	δ C	δ H		δ C	δ H		δ C	δ H
Acyl			Ala			Ala		
C-1	170.5		N-H		7.82 d, 5.04	N-H		7.62 d, 5.1
C-2	22.6	1.87	C=O	175.2		C=O	174.4	
			α	51.0	3.97 q	α	51.1	3.98 m
Try			β	16.4	1.45	β	16.4	1.40
N-H		8.3 d, 6.5						
C=O	172.8		Glu			Leu		
α	54.6	4.45 m	N-H		7.97 d, 6.06	N-H		7.73 d, 5.88
β	27.0	3.16 dd, 4.2, 15.0 3.01 dd, 6.3, 15.0	C=O	173.7		C=O	173.2	
1(NH)		10.8	α	54.9	4.0	α	53.3	3.94
2	123.3	7.2 s	β	27.2	1.97	β	39.2	1.53 m
3	110.0		γ	31.4	2.15	γ	26.1	1.77 m
4	118.0	7.51 d, 7.5			2.27	δ	22.7	0.86 d
5	120.5	7.05 t, 7.5	C=O	171.8		ϵ	23.4	0.84 d
6	118.2	6.97 t, 7.5	NH ₂		6.67 br, 7.11 br			
7	111.3	7.33 d, 7.5				Aib		
8	136.2		Ala			N-H		7.55
9	127.2		N-H		7.57	C=O	173.8	
			C=O	173.9		α	56.1	
			α	51.3	4.04 m	β	23.1	1.38 s
Val			β	16.0	1.33	γ	23.8	1.37 s
N-H		7.8 brd						
C=O	172.5		Aib			Glu		
α	59.4	3.87	N-H		7.91	N-H		7.19
β	29.2	2.17	C=O	175.6		C=O	170.9	
γ	18.5	0.86 d	α	55.5		α	53.3	3.97 ^b
δ	19.1	0.90 d	β	24.1	1.35	β	27.0	1.83 m
			γ	26.0	1.44	γ	31.5	2.1, 2.22 ^b
Aib						C=O	173.3	
N-H		8.21 s	Ser			NH ₂		7.14 br, 6.67 br
C=O	175.0		N-H		7.64 d, 3.9			
α	55.8		C=O	171.7		2-Amino-isopentanol		
β	23.3	1.315 s	α	60.2	3.88	N-H		7.03
γ	23.9	1.388 s	β	60.4	3.77	C-1	63.9	3.21
			O-H		4.8 d, 5.82			3.32
Isoval						C-2	48.7	3.78
N-H		7.9 s	Aib			C-3	39.5	1.35
C=O	176.5		N-H		7.84 d, 5.7	C-4	22.7	1.65
α	58.4		C=O	175.4		C-5	21.6	0.80
β	25.5	2.18 1.66	α	55.6		C-6	21.1	0.82
γ	7.2	0.73 t,	β	26.1	1.45 s	O-H		4.49 t, 5.94
δ	22.5	1.32 s	γ	25.9	1.95 s			

^a Multiplicities, s: singlet, d: doublet, t: triplet, q: quartet, m: multiplet

^b Overlapped with other signals

(2) Tylopeptin B의 화학구조

분리된 펩타이드 tylopeptin B를 구성하고 있는 아미노산의 종류를 결정하기 위해 아미노산 분석기를 이용하여 분석하였다. 1 mg의 시료에 6N HCl 용액을 소량 첨가한 후 밀봉하고 110°C에서 24시간동안 반응시켜 펩타이드를 완전히 가수분해하였다. 반응 후 염산용액을 질소 가스를 이용하여 제거하고 남은 잔여물에 메탄올을 첨가하여 용해시킨 후 다시 질소가스로 남아있는 염산을 제거하였다. 이상의 과정을 수차 반복하여 염산을 제거하였다. 이상과 같이 가수분해된 펩타이드 시료를 아미노산 분석기로 분석하였을 때 tryptophan, valine, leucine, serine이 각각 1개씩 나타났으며, 3개의 alanine, 2개의 glutamine, 5개의 aminoisobutylic acid가 함유되어 있음이 확인되었다. 그리고 남아있는 1개의 잔기는 이후 NMR study를 통하여 leucine이 환원된 형태인 leucinol임이 확인되었다.

DMSO- d_6 를 용매로 ^1H -NMR spectrum을 측정한 결과 각각의 아마이드 수소는 7 ppm 이하에서 나타나며, 3.5 ppm과 5 ppm사이에서 펩타이드를 구성하고 있는 각각의 아미노산들의 α -proton signal들이 관찰되며, leucine, glutamine등의 methylene proton들이 2-3 ppm 사이에서 관찰되었다. 그리고 약 1.9 ppm에서 N-terminal의 아세틸 그룹의 메틸기의 proton signal이 관찰되었다. Tylopeptin B에 많이 함유되어있는 이상 아미노산인 aminoisobutylic acid의 methyl기의 proton signal들은 약 1.4 ppm에서 singlet으로 나타나며, leucine, valine등의 아미노산의 말단 메틸기의 proton들은 1 ppm 이하에서 관찰되었다. ^{13}C -NMR 스펙트럼을 측정한 결과 160-180 ppm사이에서 15개의 아마이드 카보닐 탄소 signal 및 2개의 glutamine의 말단 카르보닐 탄소 signal들이 관찰되었다. 또한 170 ppm 근처에서 acetyl기의 카보닐탄소 시그널을 관찰할 수 있었다. 100-140 ppm사이에서 tryptophan의 aromatic carbon signal들을 확인할 수 있었으며, C^α 탄소영역을 50-65 ppm사이에서 확인할 수 있었다. 그리고 여러 가지 aliphatic carbon signal들이 복잡하게 겹쳐있는 것이 40 ppm 근처에서 나타났다(그림 10).

Tylopeptin을 구성하고 있는 아미노산의 조성을 TOCSY spectrum을 이용하여 확인하였다. α -aminoisobutyric acid와 같이 α 탄소에 2개의 치환기로 치환되어 있는 화합물은 7 ppm이상의 아마이드 수소영역에서 singlet으로 나타나며 이들 peak는 각 아미노산의 α -proton과의 상관 피크를 제공하지 않았다. 그러나 일반적인 아미노산들은 아마이드 수소들이 doublet로 나타나며 이들 피크는 TOCSY

spectrum에서 상관피크들을 보이며 이러한 상관피크들은 각각의 구성 아미노산에 대한 정보를 제공한다.

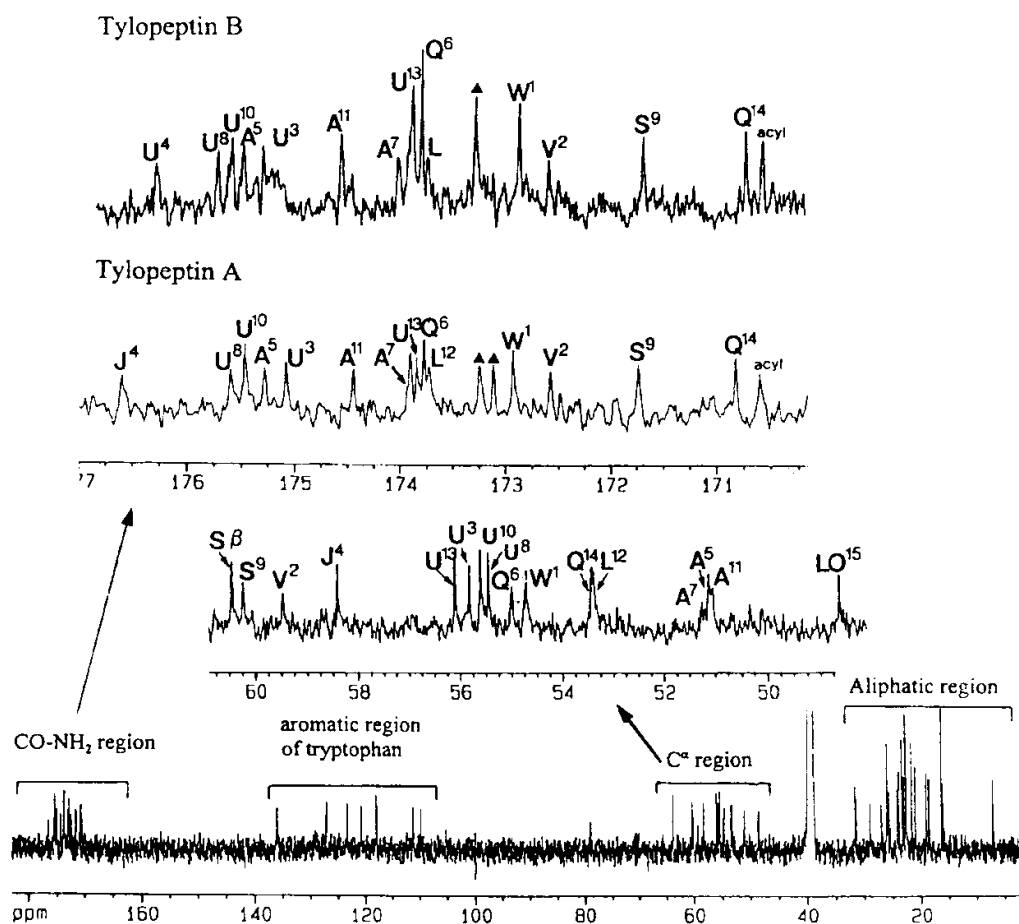


그림 10. Tylopeptin B의 ^{13}C NMR spectrum.

일반적인 linear 펩타이드의 경우 sequence를 결정하기 위하여 FAB-mass를 많이 사용한다. 그러나 본 연구에서 나타나는 tylopeptin B의 경우 이상아미노산들이 많이 존재하기 때문에 일반적인 아미노산으로 구성되어있는 펩타이드들과는 fragmentation 형태에서 다른 양상을 보여준다. Tylopeptin B는 m/z 1540 ($\text{M}+\text{H}$)⁺에서 molecular peak가 나타나며, Leuol+Gln, Aib, Leu, Ala+Aib, Ser, Aib, Ala+Gln, Ala, Aib, Aib, Val의 순서로 fragmentation이 일어나는 것을 m/z 1294, 1209, 1096, 940, 853, 768, 569, 498, 423, 328, 229 피크에서 관찰할 수 있었다. 그러나 Leuol+Gln, Ala+Aib 와 Ala+Gln등의 sequence는 FAB-mass에서 관찰되지 않으며,

전체적인 sequences는 최종적으로 HMBC spectrum과 ROESY spectrum에서 나타나는 결과와 조합하여 결정되었다. TOCSY spectrum에 의하여 밝혀진 각각의 아미노산 및 FAB-mass fragmentation에 의하여 밝혀진 부분구조는 HMBC 및 ROESY spectrum에 의하여 연결되었으며 이들 결과를 그림 11에 나타내었다. 따라서 본 화합물의 구조를 그림 12와 같이 결정하였다.

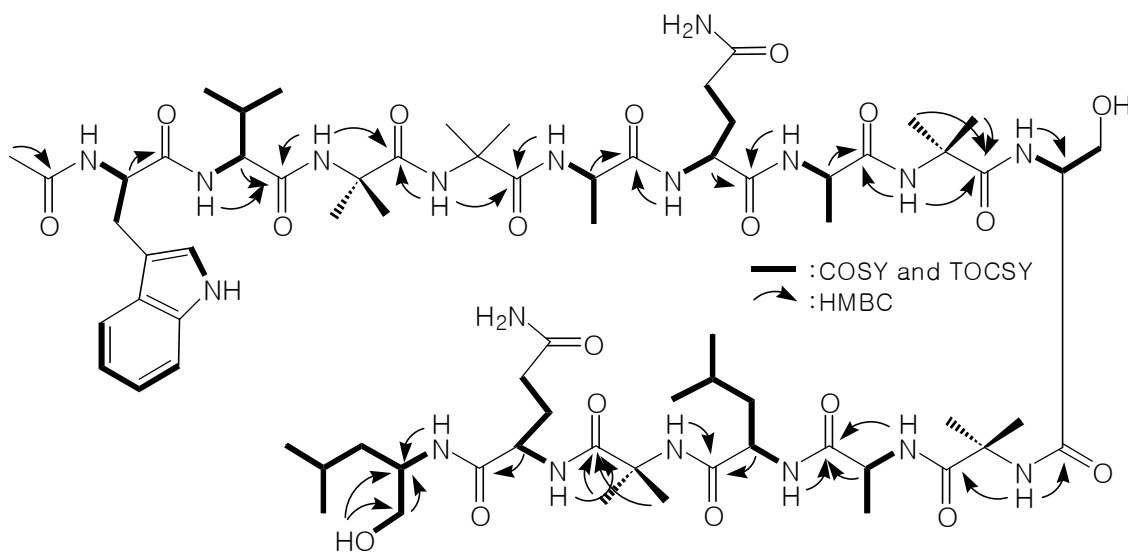


그림 11. Tylopeptin B의 COSY, TOCSY 및 HMBC correlation.

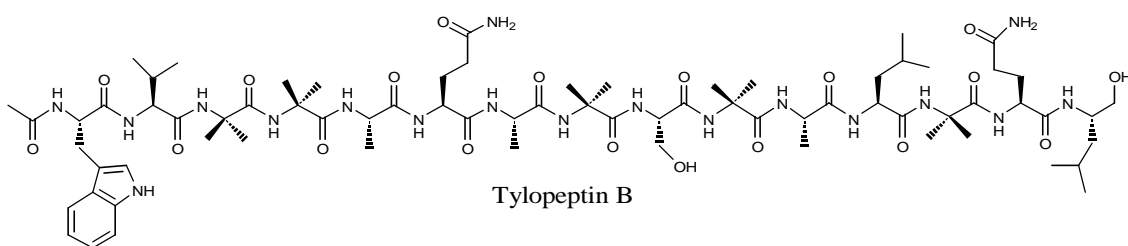


그림 12. Tylopeptin B의 화학구조.

이상의 tylopeptin B를 구성하는 amino acid들의 절대구조는 marfey reagent를 사용하여 결정되었다. 즉 D-form 과 L-form의 각각의 표준 아미노산들과 본 화합물의 가수분해물을 marfey reagent를 사용하여 유도체화 시킨 후 ODS 컬럼이 장착된 HPLC로 분석하였다. 이들 유도체로 치환된 표준 아미노산과 가수분해하여 얻은 아미노산의 유도체 화합물의 retention time을 비교하여 절대구조를 확인하였다. 그 결과 Fig. 2에서 나타낸 바와같이 tylopeptin B를 구성하는 아미노산들은 모두 L-form임을 알았다.

마. Tylopeptin A 및 B의 항균활성

Tylopeptin A와 B에 대하여 여러 가지 식물병원균에 대한 항균활성을 조사하였으며 그 결과를 표 3에 나타내었다.

사용된 균들은 곰팡이를 포함하여, yeast, Gram-negative bacteria, Gram-positive bacteria등이다. 항균활성 측정에 사용된 방법은 agar diffusion test 방법을 사용하였으며, 8 mm paper disc에 메탄올에 녹아있는 시료 각각 50 µg을 첨가하였다. 시료가 포함된 paper disc를 각각의 미생물을 접종한 petri-dish에 올려 놓은 후 bacteria의 경우 37°C에서 24시간, yeast의 경우 27°C에서 24시간, 곰팡이의 경우 27°C에서 48 시간을 배양한 후 inhibition zone을 측정하여 tylopeptin A 및 B의 항균 활성을 평가하였다.

Tylopeptin A와 B는 Gram-positive bacteria에 대하여 강한 항균활성을 나타내었다. 특히 백합시드름병을 유발시키는 *Corynebacterium lilium*에 대해서는 저해능력이 가장 탁월함을 보여준다. 반면에 실험에 사용된 곰팡이와 yeast등에 대해서는 실험에 사용된 시료의 농도에서는 활성을 보이지 않았다.

표 3. Tylopeptins A와 B 의 항균활성

Test organisms	Diameter of inhibition zone (mm)	
	tylopeptin A	tylopeptin B
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1609	14	13
<i>Staphylococcus aureus</i> R-209	13	15
<i>Staphylococcus aureus</i> IFO-12732	16	17
<i>Corynebacterium lilium</i> (wild type)	18	15
<i>Streptococcus</i> sp. (wild type)	—	—
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1926	—	—
<i>Escherichia coli</i> AB 1157	—	—
<i>Pasteurella haemolytica</i> (wild type)	—	—
<i>Pasteurella multocida</i> (wild type)	—	—
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC7039	—	—
<i>Candida albicans</i> IAM 4905	—	—
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642	—	—
<i>Magnaporthe grisea</i> IFO 5994	—	—
<i>Colletotrichum lagenarium</i> IFO 7513	—	—
<i>Fusarium solani</i> (wild type)	—	—
<i>Alternaria mali</i> IFO 8594	—	—
<i>Mucor ramannianus</i> IAM 6218	—	—

Determined by the agar diffusion test with 50 μ g of tylopeptins on a 8 mm paper disc. — : No activity

2. 버섯 *Boletus* sp.로부터 분리한 항암항균활성 펩타이드³⁴⁾

가. *Boletus* sp. 버섯 유래 항암항균활성 펩타이드의 분리 및 정제

건조중량 1 kg의 신선한 *Boletus* sp. 버섯 자실체를 5 L의 메탄올에 5 일 동안 침지시킨 후 2회 추출하였다. 추출한 메탄올용액을 감압하에 제거한 후 500 ml의 증류수에 녹인 후 hexane (1L×3회), chloroform (1L×3회), ethyl acetate (1L×3회)를 이용하여 순차적으로 용매추출을 하였다. Chloroform 용액을 감압하에 용매를 제거하여 오일상의 추출물 2.5 g을 얻었다. 상기에서 얻어진 추출물을 silica gel로 충전된 column에 loading한 후 CHCl₃:MeOH (20:1-3:1)의 혼합용매를 사용하여 10개의 분액으로 분취하였다. CHCl₃:MeOH (4:1)에서 용출된 분획물을 감압하에서 농축하여 용매를 제거하고 이들 오일상의 잔여물을 분취용 ODS column이 장착된 HPLC를 이용하여 분리하였으며 전개용매는 80% aq. MeOH을 사용하였다. 화합물 1/2는 23분에서 동시에 7 mg을 얻었으며, 3/4은 30분에서 15 mg 얻었다. 그리고 화합물 5는 45분에서 4 mg이 용출되었다(그림 13).

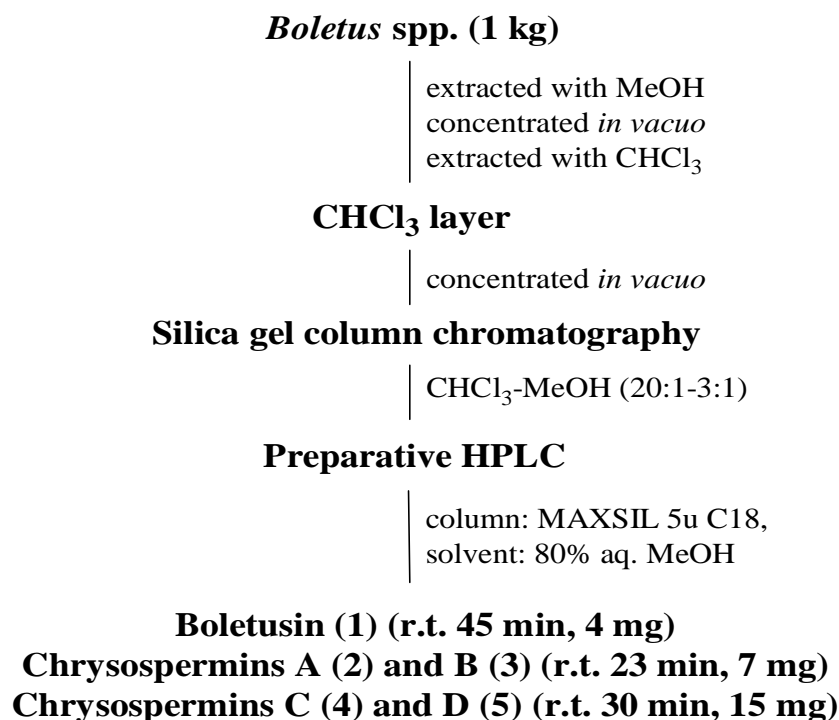


그림 13. *Boletus* sp. 버섯으로부터 항암항균활성 펩타이드의 분리 및 정제 과정.

나. 분리된 펩타이드의 물리 화학적 특성

Boletus sp.로부터 분리된 펩타이드 화합물들은 펩타이볼 (peptaibols)로 분류된다. 표 4에 이들 화합물의 물리화학적 특성을 나타내었다.

표 4. *Boletus* sp.로부터 분리한 펩타이드들의 물리화학적 특성

	Boletusin	1	2	3	4
Appearance	whitie powder	white powder	white powder	white powder	white powder
Melting points	250 °C (dec.)	250 °C(dec)	250 °C(dec)	250 °C(dec)	250 °C(dec)
MW	1897	1911	1911	1925	1897
Molecular formula	C ₉₀ H ₁₄₀ N ₂₂ O ₂₃	C ₉₁ H ₁₄₂ N ₂₂ O ₂₃	C ₉₁ H ₁₄₂ N ₂₂ O ₂₃	C ₉₂ H ₁₄₄ N ₂₂ O ₂₃	C ₉₁ H ₁₄₂ N ₂₂ O ₂₃
UVλ _{Max} MeOH	274 (5,400)	274 (5,430)	274 (5,600)	274 (5,650)	274 (5,390)
	282 (5,760)	282 (5,760)	282 (6,270)	282 (6,310)	282 (5,720)
	290 (5,040)	290 (5,070)	290 (5,350)	290 (5,390)	290 (5,030)
solubility					
soluble	MeOH,DMSO	MeOH, DMSO	MeOH, DMSO	MeOH, DMSO	MeOH, DMSO
insoluble	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O

이들 peptaibols 화합물들의 구조적인 특징은 함유한 아미노산들중 많은 수가 nonprotein amino acids인 aminoisobutyric acid이며, 따라서 물리적인 성질은 펩타이드로서 매우 극성이 낮으며, ninhydrin 발색시약에 negative하다. 그리고 극성이 높은 물에는 불용성이며, 클로로포름과 같은 극성이 낮은 용매에서도 불용성의 성질을 나타낸다. 메탄올과 아세트나이트릴 용매에 잘 용해되며, 메탄올용액에서 재결정화 될 수 있다. 이들 화합물들은 분자량이 m/z 1,890 이상의 매우 커다란 구조를 가지고 있다. 상기의 물리 화학적 특성 및 ¹H, ¹³C NMR spectrum을 근거로 미생물 유래 peptaibol 화합물을 대상으로 database 검색 및 문헌검색을 실시한 결과 화합물 1, 2, 3, 4는 각각 chrysospermin A, B, C 및 D로 동정되었으며 화합물 5는 신규 chrysospermin 유도체로 결정되었다. 따라서 화합물 5를 boletusin으로 명명하였으며 화학구조 규명 또한 화합물 5에 관하여만 기술한다.

다. Boletusin (5)의 화학구조 결정

(1) Boletusin (5)의 아미노산 분석

Boletusin을 구성하고 있는 아미노산의 종류를 결정하기 위해 아미노산 분석기를 이용하여 분석하였다. 1 mg의 시료에 6 N HCl 용액을 소량 첨가한 후 밀봉하고 110 °C 오븐에 24시간동안 반응시켜 펩타이드를 완전히 가수분해시킨다. 반응 후 염산용액을 질소 가스를 이용하여 제거하고 남은 잔여물에 메탄올을 첨가하여 용해시킨 후 다시 질소를 불어 남아있는 염산을 제거하였다. 이상의 과정을 2회 반복하였다. 이상과 같이 가수분해된 펩타이드시료를 아미노산 분석기로 분석하였을 때 aminoisobutyric acid (8), alanine (3), glutamine (2), glycine (1), isovaline (1), leucine (1), Proline (1), phenylalanine (1) 의 18개의 아미노산들 확인할 수 있었다. 그리고 이후 NMR과 mass spectrum을 통해서 amino alcohol인 tryptophanol을 확인하였다.

(2) Boletusin (5)의 화학구조

Boletusin은 19개의 아미노산으로 구성된 펩타이드로서 N-말단은 아세틸기로 보호되어 있으며, C-말단은 amino alcohol로 아미노산이 환원되어 있는 형태이다. 그리고 펩타이드 구성 아미노산들은 unusual 아미노산인 aminoisobutyric acid들이 많은 수가 포함되어 있기 때문에 극성이 매우 낮은 물성을 갖는다. 이 물질의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum을 살펴보면, 7-8 ppm 사이에 나타나는 다수의 signal들은 펩타이드를 구성하는 18개의 아미노산들과 한 개의 amino alcohol의 아마이드 proton들이며 glutamine의 말단기의 amide proton들이 6.8 ppm 근처에서 관찰된다. 또한 3 ppm에서 4.5 ppm 사이에서 각각의 아미노산들의 α proton들이 나타나며, 1.9 ppm에서 peptaibols의 특징적인 acetyl기의 methyl signal이 관찰된다. 1.4 ppm 근처에서 나타나는 피크들은 aminoisobutyric acid의 두개의 methyl의 peak들이다. Boletusin 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum은 매우 복잡한 형태를 가지며, 많은 피크들이 서로 겹쳐있다. 이러한 이유로 NMR data만을 가지고는 구조 해석이 불가능하다. 따라서 본 화합물의 화학구조는 chrysospermin 화합물과 mass 및 NMR spectrum을 비교 분석하여 수행되었으며 주로서 mass fragment ion peaks의 해석에 의하여 수행하였다.

(3) FAB mass와 tandem mass를 이용한 boletusin (5)의 sequence 결정

FAB mass spectrum에서 boletusin화합물의 분자량이 m/z 1,986임이 확인되었

다. 그리고 발생하는 연속적인 acylium ion들의 fragment ion peaks pattern을 관찰하여 amino acid sequence를 결정하였다. 그림 14에서 나타나듯이 boletusin은 Aib-Pro tertiary amide link가 존재하며 이 bond가 다른 amino acids로 연결된 amide bond에 비하여 매우 약하기 때문에 FABMS의 낮은 에너지에서도 쉽게 끊어진다. 따라서 m/z 1226에 나타나는 base peak 위쪽의 fragment ion peak들은 존재하지 않으므로 FABMS는 1226 이하의 N-terminal 부위의 sequence 만의 정보를 나타낸다. 그리고 1226의 C-terminal 부위의 counter part는 m/z 671에서 나타나며 FABMS에서는 counter part의 아미노산의 sequence의 정보는 나타나 있지 않다.

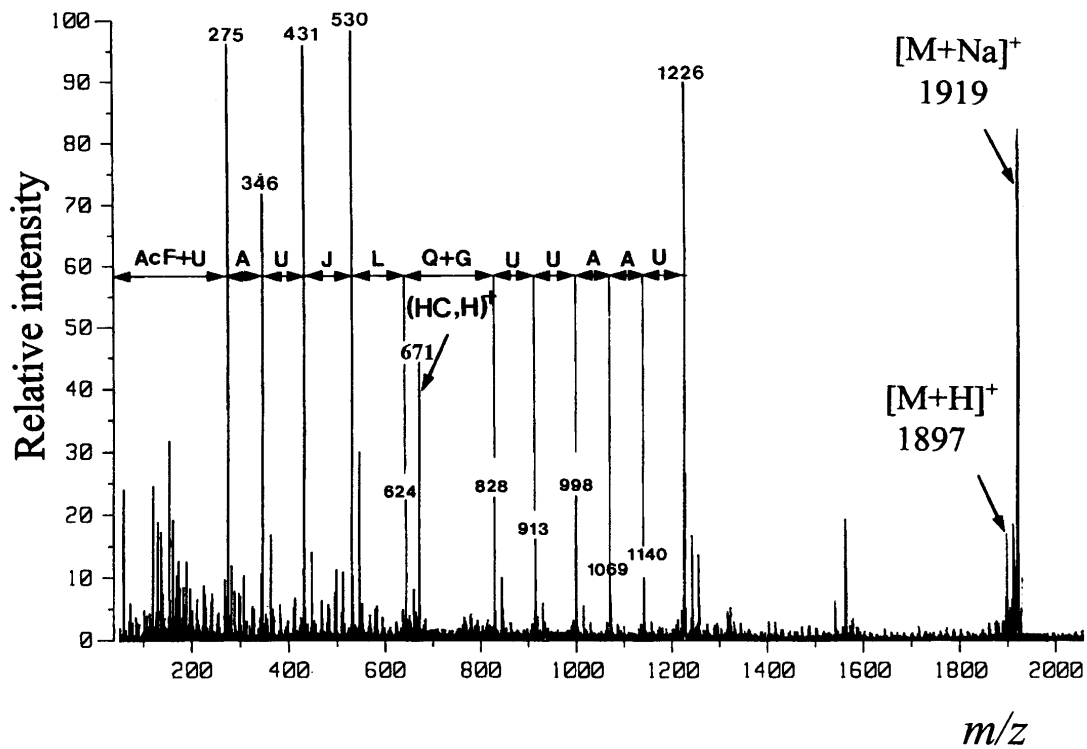


그림 14. *Boletus* sp.로부터 분리한 boletusin의 FAB-mass spectrum.

상기의 그림 14에서와 같이 m/z 1140, 1069, 998, 913, 828, 644, 530, 431, 346과 275에서 sequence-specific ion들이 관찰되며 이러한 정보는 boletusin의 1부터 13의 sequence가 Ac-F+U, A, U, J, L, Q+G, U, U, A, A, U의 서열임을 증명한다. 그러나 1번과 2번의 서열과 Q+G의 서열은 확인할 수 없었다. 따라서 13번 이후의 아미노산 서열에 대한 정보와 FABMS에서 확인되지 않은 Ac-F+U와 Q+C의 서열

은 MS/MS 기술을 이용하여 확인하였다(그림 15).

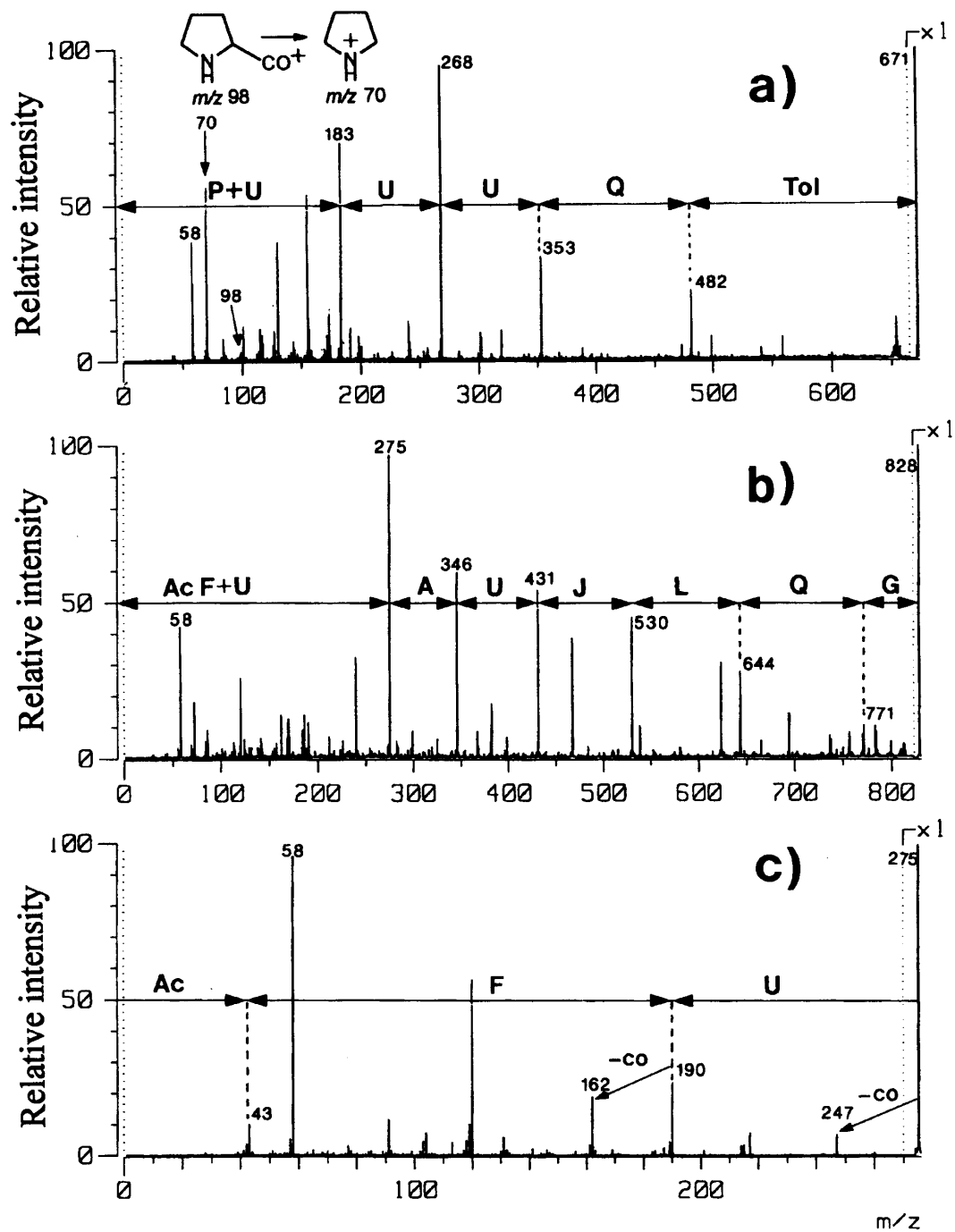


그림 15. *Boletus* sp.로부터 분리한 boletusin의 tandem mass spectrum.

그리고 m/z 1226 피크의 CID spectrum은 m/z 828, 913, 998, 1069, 1140의 sequence specific daughter ion들을 나타내며, 이러한 정보는 9-13의 sequence가 Pro-Aib-Aib-Aib-Gln-Trpol 임이 확인되었다. 또한 Q+C 의 7-8 sequence는 m/z 828의 sequence specific daughter ion으로 확인하였다.

이상의 결과를 가지고 boletusin의 amino acid sequence는 Ac-Phe-Aib-Ala-Aib-Iva-Leu-Gln-Gly-Aib-Aib-Ala-Ala-Aib-Pro-Aib-Aib-Aib-Gln-Trpol 임이 확인되었다. 그림 16에 boletusin 및 chrysospermins의 화학구조를 나타내었다.

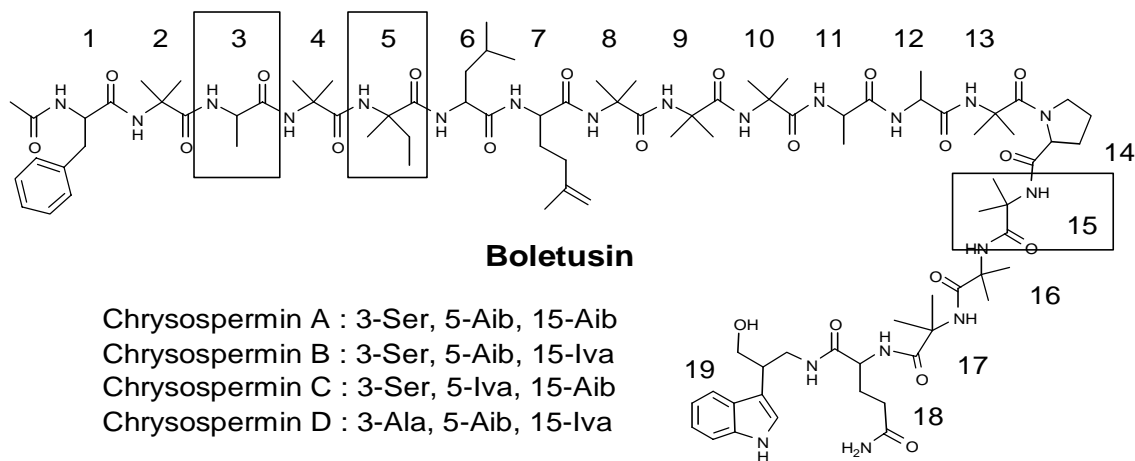


그림 16. *Boletus* sp.로부터 분리한 peptaibol 화합물의 화학구조.

이상의 아미노산들의 절대구조를 확인하기 위하여 marfey reagent를 사용하여 D-form 과 L-form의 각각의 표준 아미노산들을 유도체화 시킨 후 ODS 컬럼이 장착된 HPLC로 분석하였다. 이들 유도체로 치환된 표준 아미노산을 펩타이드 가수분해되어 얻은 아미노산의 유도체 화합물과 retention time을 비교하여 절대구조를 확인하였다. 최종적으로 boletusin을 구성하는 아미노산들은 D-isovaline을 제외하고는 L-form임이 확인되었다.

라. *Boletus* sp. 버섯 유래 펩타이드 화합물의 생물활성

(1) 항균활성

Boletus sp.으로부터 분리한 5개의 peptaibols들의 항균활성을 여러 가지 식물병원성 세균 및 곰팡이를 대상으로 조사하였다(표 5). 저해활성을 살펴보기 위한 실험 방법은 tylopeptin의 실험에서와 동일하다. 5가지의 peptaibol 화합물들은 실험에 사용된 Gram-positive bacteria에 대하여 모두 활성을 나타내고 있으며, 곰팡이 *Alternaria mali* IFO 8594 와 yeast *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여서도 약간의 활성을 나타내었다.

표 5. *Boletus* sp.로부터 분리한 boletusin 및 chrysospermin의 항균활성

Test organisms	Diameter of inhibition zone (mm)				
	Boletusin	1	2	3	4
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1609	10	10	10	11	11
<i>Staphylococcus aureus</i> R-209	11	10	10	11	11
<i>Corynebacterium lilium</i> (wild type)	22	21	20	20	21
<i>Streptococcus</i> sp. (wild type)	9	—	—	—	—
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1926	—	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> AB 1157	13	10	10	12	12
<i>Pasteurella haemolytica</i> (wild type)	—	—	—	—	—
<i>Pasteurella multocida</i> (wild type)	—	—	—	—	—
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC7039	9	9	9	9	9
<i>Candida albicans</i> IAM 4905	—	—	—	—	—
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642	—	—	—	—	—
<i>Magnaporthe grisea</i> IFO 5994	—	—	—	—	—
<i>Colletotrichum lagenarium</i> IFO 7513	—	—	—	—	—
<i>Fusarium solani</i> (wild type)	—	—	—	—	—
<i>Alternaria mali</i> IFO 8594	—	—	—	—	—
<i>Mucor ramannianus</i> IAM 6218	—	9	9	9	10

Determined by the agar diffusion test with 50 μ g of each samples on a 8 mm paper disc. — : No activity. chrysospermins A (1), B (2), C (3), and D (4).

(2) Tumor cell-line에 대한 세포독성

각각의 peptaibols들이 tumor cell-line들에 대하여 세포독성을 나타내는지를 확인하였다(표 6). 실험에 사용된 암세포주는 PC-3 (Prostate), A549 (Lung), UACC62 (melanoma), EL4 (Lymphoma), L562 (Leukemia)등의 5가지 세포주가 사용되었다. 세포주 중 EL4를 제외한 모든 세포주에 boletusin과 chrysospermin이 강한 세포독성을 나타내었다.

표 6. *Boletus* sp.로부터 분리한 boletusin 및 chrysospermin의 세포독성

Samples	PC-3	A549	UACC62	EL4	K562	Mean GI ₅₀
Boletusin	4.11	8.89	6.12	16.14	3.20	7.69
Chrysospermin A	1.71	3.40	2.01	10.28	1.09	3.70
Chrysospermin B	4.35	10.75	3.40	>10	3.47	>5.29
Chrysospermin C	2.35	3.69	1.73	6.99	1.32	3.22
Chrysospermin D	1.05	2.69	0.84	6.80	0.82	2.49
Adriamycin	1.00	0.62	0.22	0.45	0.58	0.58

PC-3: prostate, A549: lung, UACC62: melanoma, EL4: lymphoma, K562: leukemia.

3. 꽃구름버섯(*Stereum hirsutum*)의 배양액으로부터 신규 화합물 sesquinin A 및 B의 분리

가. 연구개요

구름버섯은 항암활성 및 항균활성을 지닌 다양한 sesquiterpene 화합물을 생성하는 것으로 알려져 있다. 즉, hirsutene, complicatic acid, 5-ketocoriolin B, 5-dihydrocoriolin, hypnophilin, pleurotellic acid 등이 항균 혹은 항암물질로 구름버섯으로부터 분리 보고되었다. 본 연구는 국내자생 구름버섯 중 꽃구름버섯(*Stereum hirsutum*)을 채취하여 균사체를 배양한 후 배양산물로부터 새로운 sesquiterpene 화합물을 탐색한 것이다. 화합물의 탐색방법으로는 sesquiterpene 화합물에 강한 양성 반응을 나타내는 anisaldehyde reagent를 사용하였으며 그 결과 2종의 신규 sesquiterpene 화합물 sesquinin A 및 B를 분리하였다.

나. 꽃구름버섯(*Stereum hirsutum*)의 분류 동정

덕유산지역에서 자생하는 담자균류 중에서 죽은 나무의 줄기나 가지에 자라는 1년생 또는 다년생의 버섯을 채집하여 분류 동정하였다. 채집된 버섯은 대(stalk)를 가지고 있지 않았고 나무의 줄기 혹은 가지의 표면에서 자라며 자실체의 윗쪽 표면은 털이 있고 물결형태의 띠를 두른 것 같은 모양을 나타내었다. 색깔은 오렌지빛 갈색 이나 노란갈색이며 오래된 조직은 회색에서 회갈색을 나타내었다. 자실체의 아래쪽 표면은 매끈하며 색깔은 오렌지빛황갈색에서 옅은 황갈색이었다. 갓은 1~2 mm로 얇고 가죽 같았고 서로 중첩되어 있는 선반모양을 형성하며 어린것의 갓은 위로 뒤틀려 있었다. 또한 조직은 나무와 같이 딱딱하였다. 이상에서 관찰된 특징들을 근거로 하여 Breitenbach 등의 버섯도감에 의해 동정한 결과 본 버섯을 꽃구름버섯(*Stereum hirsutum*)으로 동정할 수 있었다. 꽃구름버섯(*Stereum hirsutum*)은 담자균아문(Subdivision Basidiomycotina), 균심균강(Class Hymenomycetes), 민주름살버섯목(Order Aphyllophorales), Schizophyllaceae과, 꽃구름버섯속(*Stereum*)의 분류학적 위치에 놓여 있다.

다. 꽃구름버섯으로부터의 균사체 획득

공시균주인 꽃구름버섯의 자실체를 methanol로 표면소독한 후 살균된 칼로 조직

을 분리하여 배양한 결과 균사체를 획득할 수 있었다. 획득된 균사체가 꽃구름버섯으로부터 발생된 것인지 혹은 오염에 의한 것인지를 확인하기 위하여 담자균류에서 나타나는 감자연결(clamp connection)을 현미경하에서 관찰하였다. 그 결과 담자균류의 전형적인 감자연결(clamp connection)이 관찰되었으며 따라서 본 균사체가 꽃구름버섯으로부터 유래된 것임을 확인할 수 있었다.

라. 꽃구름버섯의 생장곡선 및 화합물의 생성양상

공시균주를 28°C, 120rpm에서 16일간 배양하여 하루나 이틀간격으로 시료를 채취하고 pH를 측정된 후 여과하여 배양여액과 균체로 나누었다. 배양여액으로부터 화합물의 생산량을 측정하였으며 균체는 건조시켜서 건조중량을 측정하였다. 본 균주는 3일 이후부터 6일까지 급격히 성장하였으나 6일 이후에는 생육이 정지되었다. 배지의 pH는 생육이 이루어지는 6일까지 계속 떨어져서 pH 3.6 근처에 이르렀으나 6일 이후부터는 다시 증가하기 시작하여 배양 16일에는 pH 6.8까지 증가되는 것이 관찰되었다. 본 균주가 생산하는 화합물의 생성량을 조사한 결과 균주가 왕성하게 생육하는 6일 이전까지는 화합물을 생산하지 않으나 6일 이후에 급격히 생산하기 시작하여 10일째에 가장 많은 생성량을 보이며 10일 이후에는 감소하는 양상을 나타내었다. 따라서 화합물의 분리 정제에는 10일간 배양한 배양액을 사용하였다.

마. 꽃구름버섯 배양액으로부터 sesquinin A 및 B의 분리정제

화합물 sesquinins A 및 B의 정제과정을 그림 17에 나타내었다. 공시균주를 배양, 원심분리하여 얻은 3L의 배양여액을 HP-20 resin에 흡착시켰다. 흡착된 물질들을 30% MeOH로 세척하고 70% MeOH로 용출하였다. 이 조시료를 농축하여 MeOH를 제거한 후 EtOAc로 추출 하였고 추출액을 농축한 후 CHCl₃:MeOH=50:1에서 CHCl₃:MeOH=1:1까지 용매의 극성을 높이면서 silica gel column chromatography를 수행하였다. Silica gel column chromatography에서 얻어진 분획을 최종적으로 preparative HPLC를 이용, 정제하여 retention time 19분대인 sesquinin A (1.6 mg)을 얻었고 20분대인 sesquinin B (2.1 mg)을 얻었다.

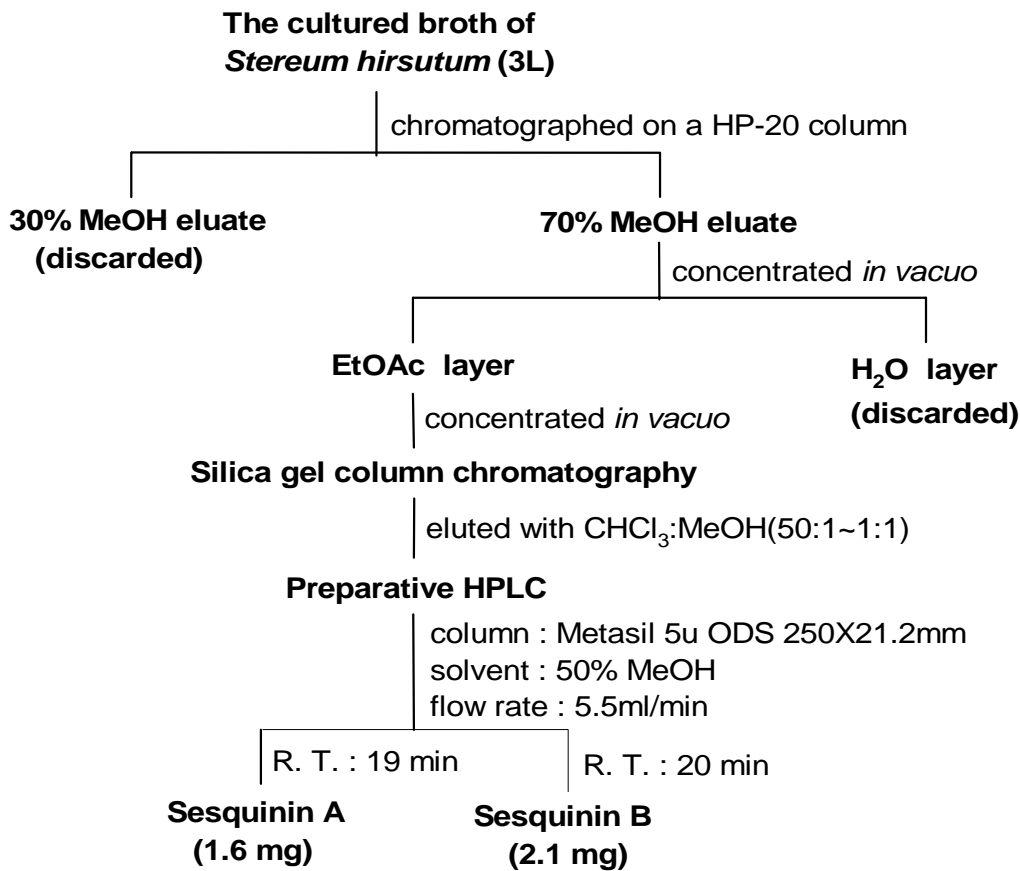


그림 17. 꽃구름버섯의 배양액으로부터 sesquinin A 및 B의 분리, 정제.

바. Sesquinin A 및 B의 물리 화학적 특성

Sesquinin A 및 B의 물리 화학적 특성을 표 7에 나타내었다. Sesquinin A는 흰 색분말로 획득되었고 $[\alpha]_D$ 값은 +32였다. High resolution EIMS의 측정 및 ¹H, ¹³C NMR 분석을 통하여 분자식을 C₁₅H₂₂O₃으로 결정할 수 있었다. MeOH을 용매로하여 측정한 UV spectrum에서는 231 nm에서 최대흡수피크를 나타내었다. IR spectrum을 살펴보면 3390cm⁻¹부근에서 hydroxyl기가 관찰되었고 1692cm⁻¹부근에서 α-β unsaturated carbonyl이 관찰되었다. 그리고 1633 cm⁻¹부근에서 C=C가 관찰되었다. Sesquinin A의 silica gel TLC상에서의 Rf 값은 CHCl₃:MeOH=5:1의 조건에서 0.63을 나타내었다.

Sesquinin B는 sesquinin A와 비슷한 물리, 화학적 특징을 지니고 있었다. Sesquinin B 또한 하얀색의 분말로 획득되었으며 $[\alpha]_D$ 값은 +60으로 나타났다. High

resolution EIMS 및 ^1H , ^{13}C NMR의 측정에 의해서 분자식을 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ 으로 결정할 수 있었다. MeOH을 용매로 측정한 UV spectrum에서는 232 nm에서 최대흡수피크를 나타내었다. 적외선 스펙트럼을 해석하면 역시 3380cm^{-1} 부근에서 hydroxyl기, 1692cm^{-1} 부근에서 α - β unsaturated carbonyl기 및 1636cm^{-1} 부근에서 C=C가 관찰되었다.

표 7. 꽃구름버섯으로부터 분리한 sesquinin A 및 B의 물리화학적 특성

	Sesquinin A	Sesquinin B
Appearance	white powder	white powder
$[\alpha]_D^{20}$	+32	+60
HR-EIMS(m/z)		
found	250.1575(M^+)	250.1576(M^+)
calcd.	250.1569	250.1569
Molecular formula	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$
UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm log ϵ)	231(1.58)	232(1.57)
IR (cm^{-1})	3394, 1692, 1633	3380, 1692, 1636
Rf value ^a	0.63	0.66

^a Silica gel TLC ; solvent, CHCl_3 : MeOH = 5 : 1

사. Sesquinin A 및 B의 화학구조 해석

(1) Sesquinin A의 화학구조

Sesquinin A의 화학구조를 밝히기 위하여 ^1H 및 ^{13}C NMR spectrum을 측정하였으며 그 결과를 표 8에 나타내었다. ^1H NMR spectrum을 측정한 결과 1 ppm 근처에서 3개의 methyl proton signal이 관찰되었고 1.5 ~ 3 ppm 사이에서 methine 및 methylene proton signal이 나타났다. 그리고 5.8 ppm 부근에서 olefinic methine signal이 관찰되었다.

^{13}C NMR spectrum을 해석한 결과 고자장부근에서 다수의 methyl, methylene carbon signal이 관찰되었다. 그리고 196 ppm과 124 ppm의 사급탄소는 이중 결합을 형성하고 있음을 알 수 있었고 이중 196 ppm의 carbon이 극히 저자장으로 shift한 것으로 보아 carbonyl과 결합한 5원환을 이루고 있음을 추정할 수 있었다. 그리

고 215 ppm에서 ketone 유래의 carbon이 관찰되었다. HMQC spectrum에 의하여 각 각의 carbon에 직접 결합($^1J_{CH}$)한 proton들을 해석할 수 있었다.

표 8. Sesquinin A 및 B의 1H , ^{13}C NMR assignment

Carbon No.	Sesquinin A		Sesquinin B	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	50	1.6(m)	81	3.6(d, 10)
1a		1.7(m)		
2	63	2.5(m)	67	2.2(d, 10)
3	55		54	
4	59	2.4(q, 7.3, 1.4)	59	2.4(q, 7.2, 1.6)
5	215		214	
6	123	5.8(d, 1.4)	123	5.8(d, 1.6)
7	196		194	
8	45	2.7(d, 15.7)	45	2.8(d, 15.3)
8a		2.8(d, 15.7)		2.7(d, 15.3)
9	93		87	
10	51	1.7(m)	53	1.9(d, 13.9)
10a		1.9(d)		1.6(d, 13.9)
11	37		45	
12	24	1.1(s)	21	1.2(s)
13	71	3.4(s)	27	1.05(s)
14	10	0.9(s)	10	1.07(s)
15	22	1(d, 7.3)	22	1.12(d, 7.2)

Sesquinin A의 구조는 $^2J_{CH}$ 혹은 $^3J_{CH}$ 를 관찰할 수 있는 HMBC spectrum의 측정에 의하여 결정되었다. 0.9 ppm의 methyl proton은 10, 55, 59, 63, 196 ppm의 carbon과 long range correlation을 나타내었고 1 ppm의 methyl proton은 22, 55, 59, 215 ppm의 carbon과 long range correlation을 나타내었다. 또한 2.7 및 2.8 ppm의 methylene proton은 22, 51, 55, 63, 93, 123, 196 ppm의 carbon과 long range correlation을 나타내었다. 1.1 ppm의 methyl proton은 37, 50, 51, 71 ppm의 carbon과 long range correlation을 나타내고 3.4 ppm의 methylene proton은 24, 37, 50, 51 ppm의 carbon과 long range correlation을 하고 있다. 그리고 1.73 ppm의 proton

은 24, 37, 50, 55, 63, 71, 93 ppm의 carbon과 long range correlation을 하고 있는데, 이는 1.6 ppm의 methylene proton이 24, 51, 93 ppm의 carbon 그리고 1.9 ppm의 methylene proton이 24, 45, 50, 71, 93 ppm의 carbon과 long range correlation을 하는 것과 중첩되어 있다. 2.4 ppm의 methine proton은 22, 55, 63, 215 ppm의 carbon과 2.5 ppm의 methine proton은 37, 59, 93 ppm의 carbon과 long range correlation을 하고 있다. 또한 5.8 ppm의 methine proton은 55, 59, 196, 215 ppm의 carbon과 long range correlation을 하고 있다. 이런 long range correlation을 해석하여 종합한 결과 sesquinin A는 그림 18에 나타낸 구조를 지닌 신규 sesquiterpene계 화합물임을 알 수 있었다.

(2) Sesquinin B의 화학구조

Sesquinin B의 화학구조를 규명하기 위하여 ^1H 및 ^{13}C NMR spectrum을 측정하였다(표 8). Sesquinin B의 ^1H NMR spectrum을 해석한 결과 1 ppm 근처에 sesquinin A와는 달리 4개의 methyl proton이 관찰되었고 1~3 ppm 사이에서는 sesquinin A와 유사한 methine 및 methylene signal이 관찰되었다. 그리고 5.8 ppm에서 olefinic methine proton signal이 관찰되었다.

^{13}C NMR spectrum을 해석한 결과 고자장 부근에서 다양한 methyl, methylene carbon signal이 관찰되었고 123 ppm과 194 ppm은 이중결합을 형성하고 있음을 알 수 있었다. 그리고 214 ppm에서 carbonyl carbon signal이 관찰되었다. 이들 탄소들은 DEPT spectrum의 측정결과 45, 53, 87, 194, 214 ppm의 탄소는 사급 탄소로, 53과 45 ppm의 탄소는 methylene 탄소로 나타났다.

또한 HMQC spectrum의 해석에 의하여 상호간에 이웃한 ^1H , ^{13}C 간의 연결성 ($^1J_{\text{CH}}$)을 결정할 수 있었다. 또한 proton의 결합상수에 의하여 3개의 부분구조 $\text{CH}_3\text{-CH}$, CH-CH , H-C=C-CH_2 를 결정할 수 있었다. 이들 부분구조는 HMBC spectrum의 해석에 의하여 연결되었다. HMBC spectrum을 해석한 결과 1.05 ppm의 methyl proton은 21, 27, 45, 53, 81 ppm의 탄소와 long range correlation을 나타내었고 1.07 ppm의 methyl proton은 10, 54, 59, 67, 194 ppm의 탄소와 long range correlation을 하고 있었다. 2.7과 2.8 ppm의 methylene proton은 54, 67, 87, 123, 194 ppm의 carbon과 long range correlation을 하고 있었고 1.6과 1.9 ppm의 methylene proton은 각각 21, 27, 45, 87 ppm과 21, 45, 67, 81, 87 ppm의 carbon과

long range correlation을 보였다. 또한 2.4 ppm의 methine proton은 10, 22, 54, 67, 214 ppm의 carbon과 long range correlation을 보이고 2.2 ppm의 methine proton은 54, 59, 81, 87 ppm의 carbon과 3.6 ppm의 methine proton은 21, 27, 45, 53, 67 ppm의 carbon과 long range correlation을 나타내었다. 이같은 HMBC spectrum을 종합하여 sesquinin B의 구조를 해석한 결과 그림 18에서 보여진 바와같이 새로운 sesquiterpene계 화합물로 결정할 수 있었다. Sesquinins A와 B의 구조적 차이점은 sesquinin A는 2번에 hydroxyl group이 결합하고 있는 반면 sesquinin B는 13번에 hydroxyl group이 결합하고 있다는 점이며 그 외에는 동일한 구조를 지녔다. 이들 화합물에 대한 생물활성은 조사되지 않았다.

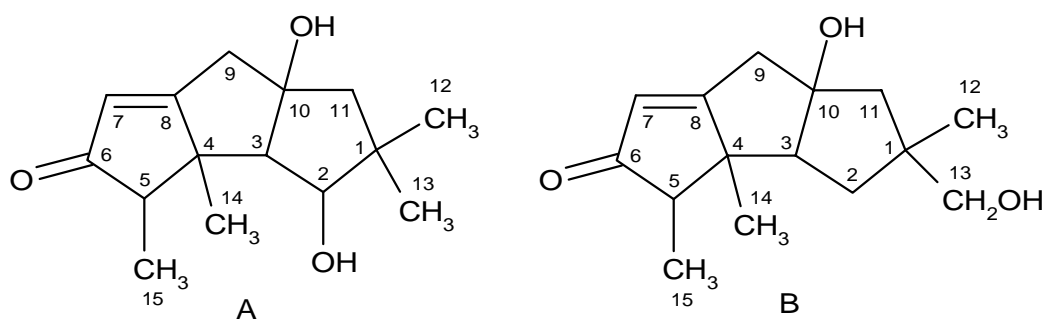


그림 18. Sesquinin A 및 B의 화학구조.

4. *Paxillus panuoides*로부터 분리한 *para*-terphenyl 화합물 leucomentin-2, -4, -5 및 -6³⁵⁾

가. 연구개요

속리산지역에서 자생하는 담자균류 중에서 썩은 나무의 줄기에서 자라는 1년생의 버섯을 채집하여 분류 동정하였다. 채집된 버섯은 대(stalk)를 가지고 있지 않았고 썩은 나무의 줄기표면에서 자란다. 색깔은 연노란색이며 오래된 조직은 회색을 나타내었다. 갓은 2-3 mm로 얇고 크기는 3-7 cm이었다. 이상에서 관찰된 특징 및 그 외의 형태적 특성들을 근거로 하여 Hongo 및 Breitenbach 등의 버섯도감에 의해 동정한 결과 본 버섯을 *Paxillus panuoides*로 동정할 수 있었다.

나. *Paxillus panuoides*로부터 leucomentin 화합물의 분리정제

화합물 leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 정제과정을 그림 19에 나타내었다.

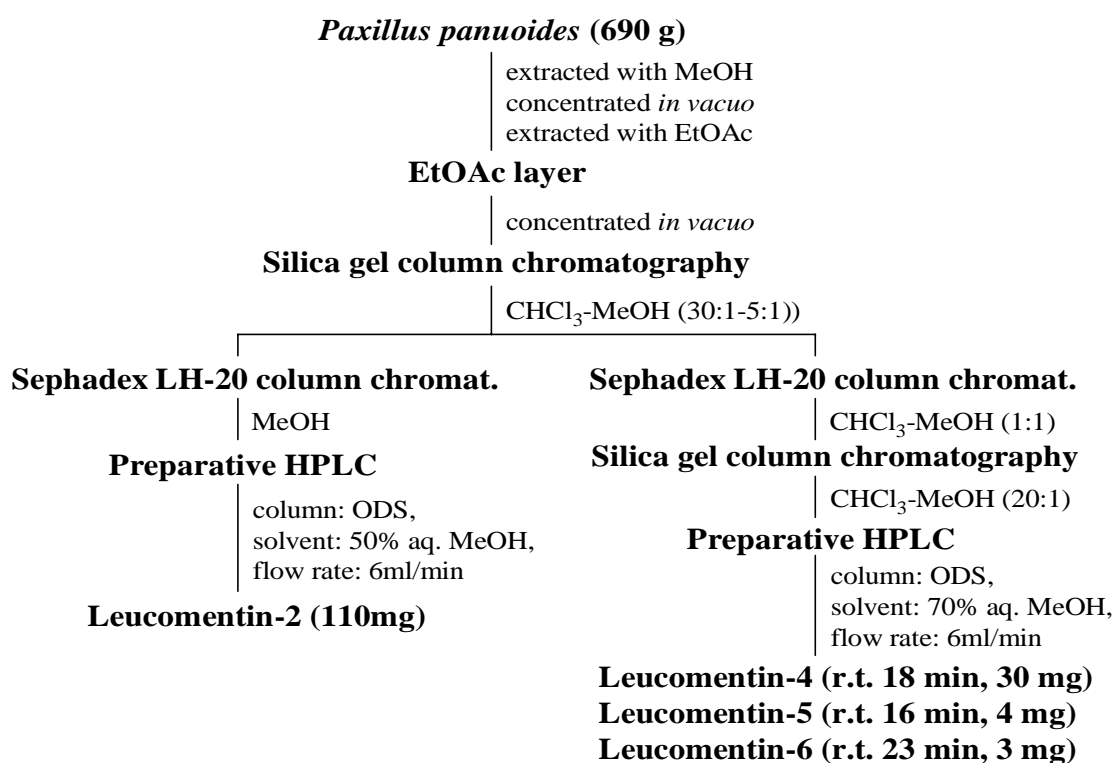


그림 19. *Paxillus panuoides*로부터 leucomentin 화합물의 분리 및 정제.

Paxillus panuoides 690g을 methanol로 추출한 후 추출물을 농축하여 methanol을 제거하였다. Methanol을 제거한 여액에 ethyl acetate를 부과하여 용매추출하고 지질과산화 저해활성을 나타낸 ethyl acetate 층을 농축한 후 CHCl₃:MeOH=30:1에서 CHCl₃:MeOH=5:1까지 용매의 극성을 높이면서 silica gel column chromatography를 수행하였다. Silica gel column chromatography에서 얻어진 두개의 활성분획을 농축한 후 그 중 한 분획을 Sephadex LH-20 column chromatography 및 preparative HPLC를 이용, 정제하여 leucomentin-2 (110 mg)를 분리하였다. 또 다른 활성분획은 CHCl₃:MeOH=1:1을 전개용매로 하여 Sephadex LH-20 column chromatography를 수행한 후 CHCl₃:MeOH=20:1의 용매로 silica gel column chromatography를 수행하였다. 활성분획을 농축한 후 preparative HPLC를 수행하여 3개의 화합물 leucomentin-4 (30 mg), leucomentin-5 (4 mg), leucomentin-6 (3 mg)을 분리하였다. 이들 중 leucomentin-2와 leucomentin-4는 기존에 분리 보고된 화합물이었으며 leucomentin-5와 leucomentin-6은 신규화합물로 동정되었다.

다. Leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 물리 화학적 특성

Leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 물리 화학적 특성을 표 9에 나타내었다.

표 9. Leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 물리 화학적 특성

	Leucomentin-2	Leucomentin-4	Leucomentin-5	Leucomentin-6
Appearance	Gray powder	Dark brown powder	Gray powder	Gray powder
Molecular weight	766	546	698	750
Molecular formula	C ₄₂ H ₃₈ O ₁₄	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	C ₃₈ H ₃₄ O ₁₃	C ₄₂ H ₃₈ O ₁₃
[α] _D	73° (c 2.95, MeOH)	13° (c 0.6, MeOH)	+64° (c 0.22, MeOH)	+55° (c 0.33, MeOH)
HRFAB-MS (<i>m/z</i>)				
found	767.2336 (M+H) ⁺	547.1566 (M+H) ⁺	721.1898 (M+Na) ⁺	773.2219 (M+Na) ⁺
calcd	767.2339	547.1604	721.1897	773.2210
UV λ _{max} ^{MeOH} nm (ε)	209 (42,100) 222 (45,500) 259 (18,800)	209 (58,900) 223 (51,900) 259 (26,400)	209 (4.58) 220 (sh) 258 (4.19)	210 (4.65) 220 (sh) 266 (4.52)
IR ν _{max} (KBr) cm ⁻¹	3397, 1754, 1639, 1612, 1525, 1446, 1414, 1394, 1242, 1128, 1002, 951, 851	3378, 1747, 1639, 1612, 1525, 1455, 1430, 1376, 1267, 1240, 1153, 1002, 975, 850	3464, 2925, 2855, 1748, 1640, 1613, 1525, 1450, 1273, 1130, 850	3435, 2970, 2929, 1748, 1638, 1613, 1525, 1447, 1413, 1271, 1133, 850
Solubility				
soluble	CHCl ₃ , MeOH, DMSO	CHCl ₃ , MeOH, DMSO	CHCl ₃ , MeOH, DMSO	CHCl ₃ , MeOH, DMSO
insoluble	H ₂ O, <i>n</i> -hexane	H ₂ O, <i>n</i> -hexane	H ₂ O, <i>n</i> -hexane	H ₂ O, <i>n</i> -hexane

Leucomentin-2, -5 및 -6은 재색분말로, leucomentin-4는 짙은 갈색으로 획득되었다. 이들 화합물의 $[\alpha]_D$ 값을 측정한 결과 각각 $+73^\circ$, $+13^\circ$, $+64^\circ$ 및 $+55^\circ$ 이었다. High resolution FAB-mass 및 ^1H , ^{13}C NMR spectrum의 분석에 의하여 각각 분자식을 $\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{O}_{14}$, $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$, $\text{C}_{38}\text{H}_{34}\text{O}_{13}$, $\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{O}_{13}$ 으로 결정하였다. MeOH을 용매로 측정한 UV spectrum에서는 각각 210, 220, 260 nm 부근에서 최대흡수피크를 나타내었다. 또한 적외선 스펙트럼을 측정 해석한 결과 $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ 부근에서 hydroxyl기, 1750 cm^{-1} 부근에서 carbonyl group 및 1610 cm^{-1} 부근에서 C=C에 기인하는 band가 관찰되었다. 이들 화합물의 용해도를 조사한 결과 각 화합물 모두 chloroform, methanol, DMSO에서는 잘 용해되나 물과 hexane에서는 난용이었다.

라. Leucomentin의 화학구조

Leucomentin-2와 leucomentin-4의 화학구조는 이들의 물리화학적 특성을 근거로 database 검색을 실시한 결과 *Paxillus atrotomentosus*로부터 분리 보고된 화합물로 밝혀졌다. 그러나 leucomentin-5 및 leucomentin-6은 leucomentin-2의 유도체로 신규 화합물임이 밝혀졌다. 따라서 leucomentin-5 및 leucomentin-6의 화학구조는 leucomentin-2와 비교에 의하여 규명되었으며 그 결과는 다음과 같다.

Leucomentin-5의 UV spectrum 및 IR spectrum이 leucomentin-2 및 leucomentin-4의 spectrum과 매우 유사하여 본 화합물 또한 *para*-terphenyl 계열의 화합물임을 알 수 있었다. CDCl_3 를 용매로 ^1H NMR spectrum을 측정한 결과 두 개의 1,4-disubstituted benzene 및 5.95–5.77 ppm 사이에 6개의 olefin proton, 3.95와 2.89 ppm에서 각각 3개의 methine proton, 1.97 ppm에서 한 개의 methyl proton, 1.36–1.33 ppm 사이에서 3개의 doublet methyl proton이 관찰되었다.

또한 ^1H NMR splitting pattern에 의하여 4,5-epoxy-2-hexenoic acid의 존재가 밝혀졌다. 상기의 NMR spectrum은 본 화합물이 leucomentin-4와 매우 유사함을 나타내었다. 그러나 leucomentin-5는 ^1H NMR peak의 적분치와 부가적인 한 개의 acetyl group을 지녀 leucomentin-4와는 구별되었다. Leucomentin-4는 *para*-terphenyl moiety에 4개의 4,5-epoxy-2-hexenoic acid가 결합된 구조를 지니고 있으나 본 화합물은 ^1H NMR peak의 적분치로부터 3개의 4,5-epoxy-2-hexenoic acid와 한 개의 acetyl group으로 구성되어 있음이 밝혀졌다. 이같은 결과는 leucomentin-4를 구성하는 4개의 4,5-epoxy-2-hexenoic acid 중 한 개가 leucomentin-5에서는 acetyl group으로 치환되어 있음을 나타낸다. 이들 각각

의 부분구조는 HMBC 실험(그림 20)에 의하여 확인되었으며 또한 mass 분석은 본 화합물의 구조가 확실함을 나타내었다. 즉 FAB-mass 측정 결과 m/z 721에서 $(M+Na)^+$ peak가 나타나 leucomentin-5의 화학구조가 leucomentin-4를 구성하는 4개의 4,5-epoxy-2-hexenoic acid 중 한 개가 acetyl기로 치환된 leucomentin 유도체인 것이 규명되었다.

Leucomentin-5에는 3개의 이중 결합이 존재하며 이들 이중 결합은 11.6 Hz의 coupling constant를 지녀 입체구조가 *cis*임을 알았다. 또한 3개의 oxirane 구조는 2.0Hz의 coupling constants로부터 상대입체구조가 *trans*로서 규명되었다.

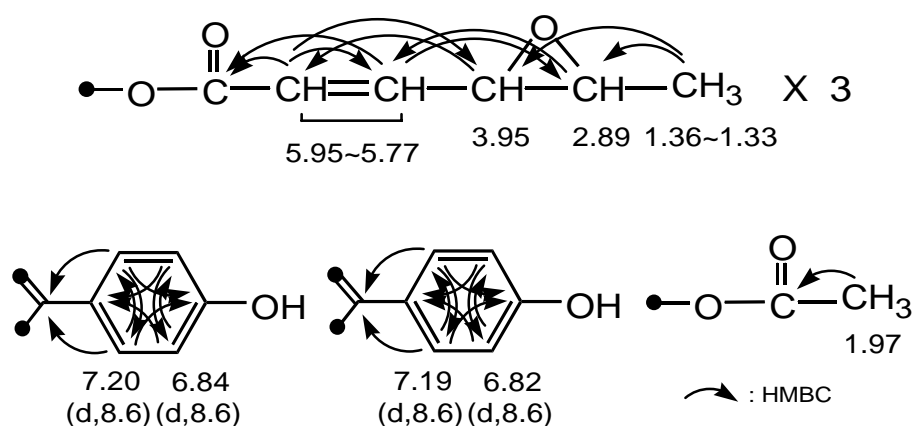


그림 20. HMBC 실험에 의하여 확인된 leucomentin-5의 부분구조.

Leucomentin-6의 UV spectrum 및 IR spectrum이 leucomentin-5와 매우 유사하여 본 화합물 또한 $C_{42}H_{38}O_{13}$ 의 분자식을 지닌 *para*-terphenyl 계열의 화합물로 추정되었다. $CDCl_3$ 를 용매로 1H NMR spectrum을 측정한 결과 7.20, 7.15, 6.81 및 6.80 ppm에서 두 개의 1,4-disubstituted benzene에 기인하는 proton, 5.93-5.73 ppm 사이에 6개의 olefin proton, 3.93와 2.87 ppm에서 각각 3개의 methine proton, 1.34 ppm에서 3개의 doublet methyl proton이 관찰되었다. 이들 peak는 다른 leucomentin 화합물에서도 공통적으로 나타난다. 본 화합물은 이들 proton에 더불어 7.15, 6.55, 6.07 및 5.49 ppm에서 4개의 olefin proton과 1.84 ppm에서 한 개의 doublet methyl proton이 추가적으로 관찰되었다. 이들 부가적인 proton은 $^1H-^1H$ COSY 실험 및 HMBC 실험(그림 21)에 의하여 2,4-hexadienoic ester group으로 동정되었다.

또한 1H NMR splitting pattern에 의하여 3개의 4,5-epoxy-2-hexenoic acid의

존재가 밝혀졌다. 상기의 NMR spectrum은 본 화합물이 leucomentin-5와 매우 유사함을 나타내었다. 그러나 leucomentin-5는 한 개의 acetyl group을 지녔으나 본 화합물은 acetyl group이 관찰되지 않았고 대신에 한 개의 2,4-hexadienoic ester group이 존재하여 leucomentin-5와는 구별되었다. 따라서 leucomentin-6은 *para*-terphenyl moiety에 3개의 4,5-epoxy-2-hexenoic acid와 한 개의 2,4-hexadienoic acid가 결합된 구조를 지니고 있음이 밝혀졌다. 이같은 결과는 mass 분석에 의하여 확인되었다. 즉 FAB-mass 측정 결과 m/z 773에서 $(M+Na)^+$ peak가 나타나 leucomentin-6의 화학구조가 추정하는 화학구조와 일치함을 알았다. 따라서 leucomentin-6은 leucomentin-4를 구성하는 4개의 4,5-epoxy-2-hexenoic acid 중 한 개가 2,4-hexadienoic acid로 치환된 leucomentin 유도체임이 규명되었다.

Leucomentin-6 또한 3개의 이중 결합이 존재하며 이들 이중 결합은 11.6 Hz의 coupling constant를 지녀 입체구조가 *cis*임을 알았고 또한 3개의 oxirane 구조는 2.0 Hz의 coupling constants로부터 상대입체구조가 *trans*임을 알았다. 2,4-hexadienoic acid를 구성하는 두 개의 이중결합은 각각 11.3 및 14.9 Hz의 coupling constants로부터 2*Z*, 4*E*로써 규명되었다.

Leucomentin-5 및 leucomentin-6의 화학구조를 그림 22에 나타내었다.

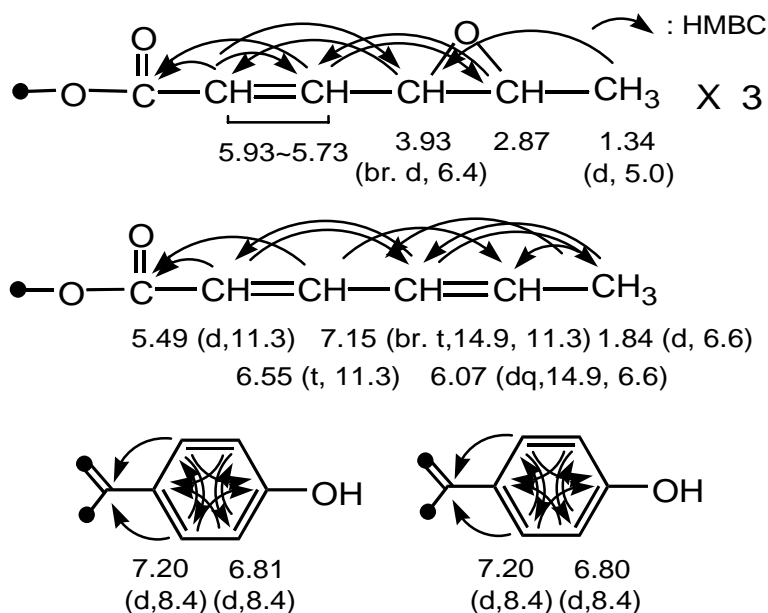
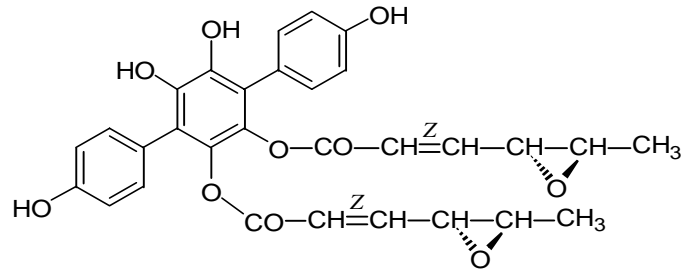


그림 21. HMBC 실험에 의하여 확인된 leucomentin-6의 부분구조.



Leucomentin-2

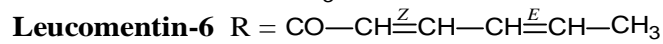
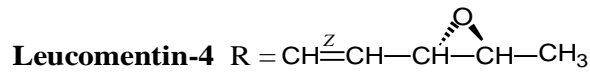
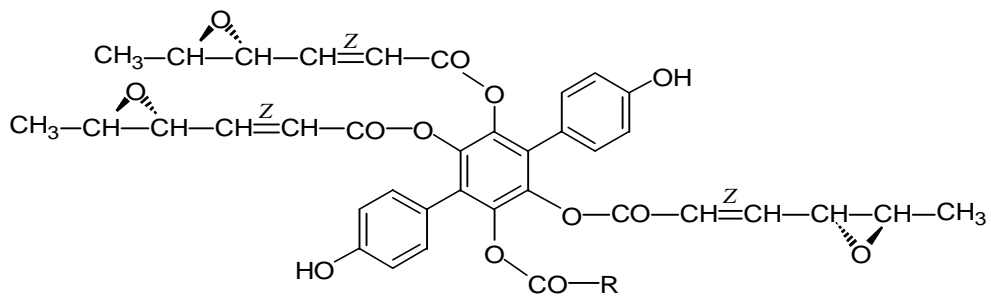
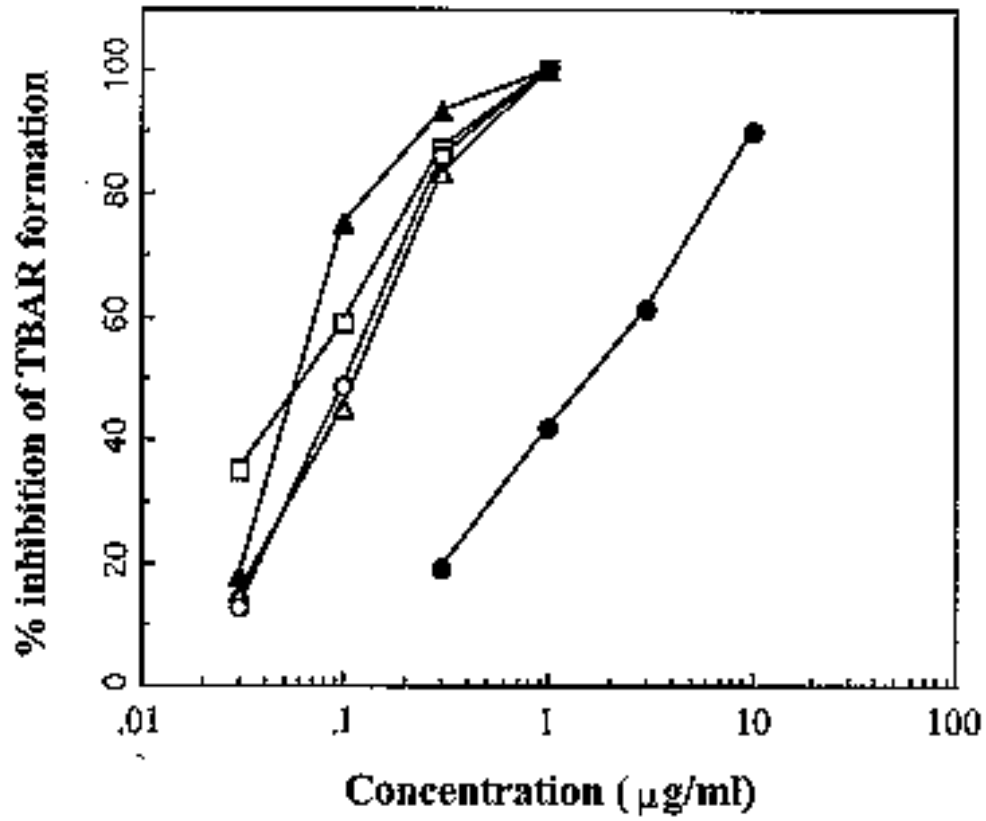


그림 22. Leucomentin-5 및 leucomentin-6의 화학구조.

마. Leucomentin-2, -4, -5 및 -6의 생물활성

Rat liver microsome을 이용하여 이들 화합물의 지질과산화 저해활성을 측정하였다(그림 23). 그 결과 leucomentin-2, -4, -5 및 -6은 각각 0.06, 0.11, 0.11, 0.06 $\mu\text{g/ml}$ 에서 IC₅₀ 값을 나타내었으며 이같은 활성은 농도에 의존적으로 나타났다. 특히 leucomentin-2와 leucomentin-6은 대조구로 사용한 vitamin E보다도 약 25배 강한 지질과산화 저해활성을 나타내었다. 따라서 이들 화합물은 강력한 항산화 효과를 나타냄을 알았다.



□ :leucomentin-2, △ :leucomentin-4, ○ :leucomentin-5
 ▲ :leucomentin-6, ● :vitamin E

그림 23. Leucomentin-5 및 leucomentin-6의 지질과산화 저해활성.

5. 느타리 버섯 (*Pleurotus ostreatus*)이 생산하는 생리활성물질

가. 느타리버섯의 일반적인 특성

느타리 버섯은 원래 야생의 것을 채취하여 식용으로 이용하였으나 근래에는 벗짚, 톱밥, 원목을 이용한 인공재배법이 개발되어 농가 소득원으로 각광받고 있을 뿐 아니라 계절에 구애받지 않고 식용으로 이용할 수 있게 되었다.

느타리 버섯의 식품학적 가치로서는 독특한 맛과 향기를 지니고 있으면서 각종 영양소가 골고루 함유되어 있다는 점을 들 수 있으며 특히, 근래에는 식생활의 다양화와 함께 자연식품, 저칼로리식품, 무공해식품의 선호 추세로 인하여 버섯의 수요가 꾸준히 증대될뿐 아니라 버섯의 성분에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다. 이미 느타리 버섯의 내용성분의 연구는 많이 되어왔으며 탄수화물, 아미노산, 정미 성분, 무기질등이 다량으로 존재하는 것으로 알려져 있으며 특히 느타리의 균사체와 자실체에는 많은 양의 지방산과 유기산이 존재하는 것으로 알려져 있으며 발육 과정에서 이러한 지방산, 유기산 변화가 있는 것으로 알려져 있다. 그리고 최근에는 느타리버섯의 식품학적 측면 뿐만 아니라 항종양 활성물질들의 보고가 있음에 따라 이들의 약리적인 활성에 대한 관심도 증대되고 있다.

이처럼 느타리 버섯에 대한 연구가 많이 보고되어 있음에도 이들 성분 이외에 많은 약리활성을 나타낼 가능성을 보이는 다른 유기화합물에 대한 보고는 전무한 것이 본 실험을 수행하는 가장 큰 목적이다.

나. 느타리 버섯의 형태학적 특성

담자균류의 느타리과에 속하는 버섯으로 먹을 수 있으며 인공재배도 가능하다. 균모의 지름은 5-15cm로 둥근 산 모양에서 차차 조개 껍질 모양 또는 반원형으로 되며 간혹 깔때기 모양으로도 된다. 표면은 매끄럽고 습기가 있으며 흑색 또는 청색을 띤 회색에서 회갈색, 회백색 또는 연한 황색으로 된다. 살은 두껍고 탄력이 있으며 백색이다. 주름살은 길게내린 주름살로 백색 또는 회색이고 성기다. 자루는 길이 1 - 3cm이며 굵기는 1 - 2.5cm미터로 백색이며 기부에 백색털이 뽁뽁히 나있다. 자루는 측생, 편심생, 중심생 등이다. 간혹 자루가 없는 경우도 있다. 포자의 길이는 7.5 - 11 μ m, 폭은 3 - 4 μ m로 무색의 원주형이다. 늦가을에서 봄사이애나는 저온성 버섯으로 활엽수 또는 침엽수의 죽은 나무그루터기에 겹쳐서 나는 백색부후균이다.

다. 느타리 버섯으로부터 분리한 지방산 및 nucleoside 화합물.

느타리버섯 2.5 kg을 90% methanol에 1일 침지하여 추출하였다. 추출물을 감압하에 농축하여 methanol을 제거하고 남은 여액에 *n*-hexane, CHCl₃, EtOAc, BuOH을 순차적으로 부과하여 용매추출하였다. 각 추출물로부터 silica gel column 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 수행하여 다수의 화합물을 분리하였다 (그림 24). 이들 분리된 화합물을 동정하기 위하여 mass 및 NMR spectrum을 측정 해석하였으며 그 결과 hexane 추출물로부터 다량의 지방산이 검출되었고 CHCl₃층으로부터 palmitic acid, linoleic acid, oleic acid등이 분리되었다. 또한 EtOAc층으로부터 adenosine, uridine, 5-methyluridine등이 분리되었고 BuOH층으로부터는 다당체로 보이는 다량의 고분자 화합물이 검출되었다. 그림 25에 EtOAc층으로부터 분리된 adenosine, uridine, 5-methyluridine의 화학구조를 나타내었다.

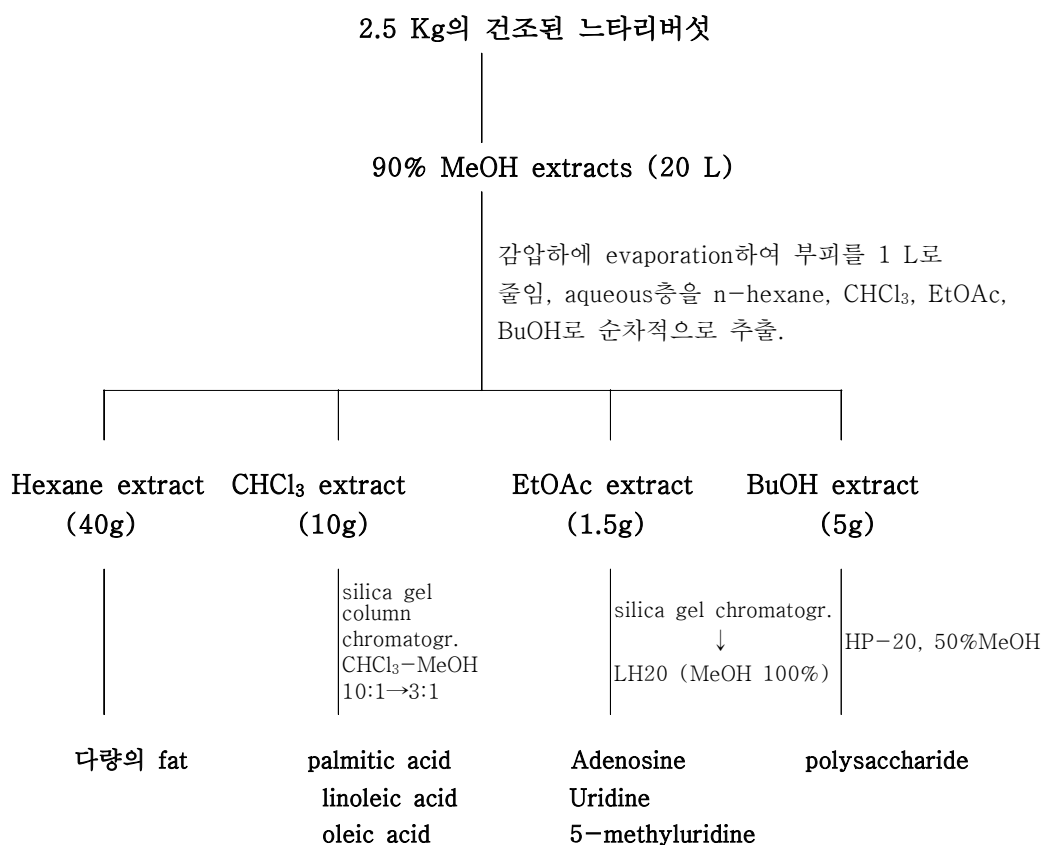
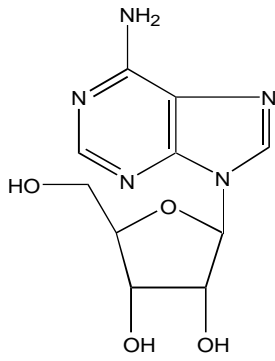
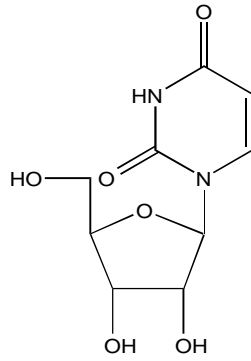


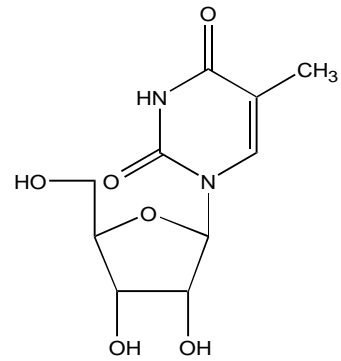
그림 24. 느타리 버섯으로부터 분리된 화합물 및 분리, 정제 과정.



Adenosine



Uridine



5-methyl Uridine

그림 25. 느타리 버섯 EtOAc 추출물로부터 분리된 화합물의 화학구조.

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1 절 연구개발목표의 달성도

세계적으로 약 250-300종의 생물종이 매년 지구상에서 멸종되고 있고 이같은 생물다양성의 소실과 훼손은 지구생태계의 파괴 뿐만이 아니라 생물공학 기술 개발에 필수적인 유전자원의 소실을 가져온다. 본 연구는 생물다양성 조사의 일환으로 국내 자생버섯의 분포 및 종 다양성을 조사하였으며 또한 국내 자생 버섯류가 함유하고 있는 각종 성분 특히 생리활성 성분을 규명하여 고부가가치 기능성 생물소재를 개발하는 것을 목표로 하였다. 연구개발목표의 세부사항은 다음과 같다.

◎ 국내 자생 버섯의 자원조사

자생버섯이 풍부한 지리산 지역을 중심으로 자생버섯의 자원을 수집, 분류, 동정하여 그 다양성을 밝히고 표본을 확보한다.

◎ 국내 자생 버섯류의 균학적 특성조사

확보된 자생버섯의 갓의 크기, 모양, 표면상태, 색, 냄새 등 육안적 형태를 관찰한 후 자실층의 모양, 대의 부착상태, 밀도, 주름살의 상태 등 균학적 특성을 조사한다.

◎ 국내 자생버섯으로부터 유용물질 생산 균주의 탐색 및 선발

항암활성 및 항산화 활성물질 탐색계를 이용하여 확보된 자생 버섯류로부터 강력한 활성산소소거물질 및 항암활성물질을 생산하는 우수한 버섯류를 선발 확보한다.

◎ 자생 버섯으로부터 유용물질의 추출정제

수집된 자생 버섯으로부터 약리 활성을 나타내는 물질을 유기용매 추출, column chromatography, TLC, HPLC 등의 각종 분리·정제기술을 이용하여 순수 분리한다.

◎ 자생버섯으로부터 추출한 화합물의 물리화학적 특성조사 및 화학구조분석

순수하게 분리 정제된 약리활성 물질의 각종 물리화학적 특성을 조사하며, NMR, MS, IR spectroscopy 등 여러 가지 기기분석을 통하여 물리화학적 특성 및

완전 화학구조를 결정한다.

◎ 유용물질의 약리활성 연구

버섯류가 생산하는 신규 화합물의 약리활성을 규명함과 동시에 안전성 등을 검토하여 독버섯 유무를 판정하고 활용성을 검토한다.

◎ 자생버섯의 자원화

국내 자생 버섯으로부터 각종 유용물질 생산 여부를 판정하고 새로운 활용 가능성이 높은 버섯을 개발하여 농가소득 증대에 기여할 수 있는 기반기술을 확립한다.

국내 자생버섯 다양성을 조사한 결과 한라산 국립공원, 지리산 국립공원, 변산반도 국립공원, 전라북도 대아리 수목원, 만덕산, 가야산, 소백산, 오대산, 두륜산, 한국도로공사 수목원 등지에 1문, 2아문, 4강, 2아강, 13목, 54과, 133속, 295종의 다양한 버섯이 자생하고 있는 것을 확인하였으며 국내 자생 버섯의 계절별 우점종은 봄에는 목이류. 목재부후 자낭균류, 여름에는 송이과, 무당버섯과, 가을에는 끈적버섯과, 그물버섯과, 구멍장이버섯과가 우점하고 있음을 알았다. 또한 본 연구에 의해서 아직 보고되지 않은 다음과 같은 16종의 미기록종의 버섯이 자생하고 있음을 확인하였다.

- 송이과 : *Collybia neofucipes* Hongo (신암갈색애기버섯)
Marasmius wettsteinii Sacc. & Syd. (물낙엽버섯)
Mycena oortiana Hora (알애주름버섯)
- 광대버섯과 : *Amanita esculenta* Hongo & Matsuda (맛광대버섯)
- 갯버섯과 : *Cystoderma japonicum* Thoen & Hongo (일본낭피버섯)
Lepiota fucipes Hongo (암갈색갯버섯)
Leucocoprinus subglobisporus Hongo(둥근포자각시버섯아재비)
L. denudatus (Rab.) Sing. f. major Hongo (벗은각시버섯아재비)
Leucocoprinus lanzonii Bon, Migliozi & Brunori (비듬각시버섯)
- 먹물버섯과 : *Coprinus narcoticus* (Batsch. : Fr.) Fr. (마취먹물버섯)
- 벚꽃버섯과 : *Hygrocybe coccineocrenata* (Orton) Moser (진빨간꽃버섯아재비)
- 끈적버섯과 : *Cortnarius aureobrunneus* Hongo (황금끈적버섯)
- 굴뚝버섯과 : *Phellodon tomentosus* Corner (솜살팽이버섯)
Hydnellum careulum (Hornem.:Pers.) Karst.(살갓갈색갈대기버섯)

독청버섯과 : *Phaeomarasmium erinaceella* (Peck) Sing. (바늘갈색낙엽버섯)

흰목이과 : *Tremella pulvinaria* Kobay. (방석흰목이)

이상의 연구결과는 본 연구의 1차적 목표인 버섯 생물다양성 조사 연구를 100% 달성하였음을 나타낸다.

본 연구의 2차적 목표인 버섯 자실체 및 균사체 배양산물로부터 생리활성물질의 분리 동정 연구를 수행하였으며 그 결과 *Tylophorus neofelleus*(제주쓴맛그물버섯)의 자실체로부터 신규 peptide계 항생물질 tylopeptin A 및 B를 분리 정제하고 이들 화합물을 분자량 1,539, 분자식 $C_{73}H_{120}N_{18}O_{19}$ 의 신규 항생물질 tylopeptin A 및 분자량 1,548, 분자식 $C_{72}H_{118}N_{18}O_{19}$ 의 신규 항생물질 tylopeptin B로 동정하고 gram 양성 세균에 선택적으로 강한 항균활성을 나타냄을 알았다. 또한 *Boletus* sp.의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 항균활성 및 항암활성을 나타내는 신규 항생물질 boletusin 및 chrysospermin A, B, C, D를 분리 정제하였으며 화학구조를 규명하였다. Boletusin 및 chrysospermin A, B, C, D는 흰색분말 성상의 분자식 $C_{90}H_{140}N_{22}O_{23}$, $C_{91}H_{142}N_{22}O_{23}$, $C_{91}H_{142}N_{22}O_{23}$, $C_{92}H_{144}N_{22}O_{23}$, $C_{91}H_{142}N_{22}O_{23}$ 인 화합물로 boletusin은 신규 peptide 항생 항암 물질로 밝혀졌으며 다양한 병원성 세균에 강한 항균활성과 leukemia, 전립선 암세포주에 강한 항암효과를 나타내었다. 또한 *Paxillus panuoides*의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 지질과산화 억제 활성을 나타내는 화합물 leucomentin-2, 4, 5 및 6을 분리 정제하고 물리화학적 특성 및 화학구조를 규명하였다. 화합물 leucomentin-2, 4, 5 및 6은 각각 분자량 766, 546, 698 및 750, 분자식 $C_{42}H_{38}O_{14}$, $C_{30}H_{26}O_{10}$, $C_{38}H_{34}O_{13}$, $C_{42}H_{38}O_{13}$ 인 화합물로 leucomentin-5와 -6은 신규 화합물이었다. 이들 화합물은 천연 항산화제 vitamin E보다 10배 이상 강한 지질과산화 저해효과를 나타내었다. *Stereum hirsutum*의 균사체 배양액으로부터 신규 sesquiterpene계 항생물질 sesquinin A 및 B를 분리 정제하고 물리화학적 특성 및 화학구조를 규명하였다. 본 화합물은 흰색분말로 분자식 $C_{15}H_{22}O_3$, $C_{15}H_{22}O_3$ 인 신규 sesquiterpene계 항생물질이었다. 이상과 같이 버섯으로부터 다양한 생리활성 물질을 분리 동정할 수 있었으며 이는 본 연구가 추구하는 목표를 100% 달성하였음을 나타낸다.

제 2 절 연구개발의 대외기여도

본 연구의 수행으로부터 도출한 버섯 다양성 조사 결과는 환경생태의 변화 및 변화 예측에 크게 기여할 것으로 생각되며 또한 버섯류로부터의 각종 기능성 소재 개발연구는 경제·산업적 측면에서 고찰하여 볼 때 버섯류는 지금까지는 주로 기호 식품 내지는 영양식품으로써의 기능만 강조하여 저 부가가치 식품소재로만 이용되어 왔으나 버섯류가 함유하고 있는 생리활성물질을 규명하여 기능성 식품소재 또는 신규 약리 활성 소재로 개발할 경우 고부가가치 소재로 전환되어 산업적 파급효과가 매우 클 것으로 예상된다. 버섯 유래 약리 활성 소재가 의약품으로 개발된다면 경제적 효과가 막대할 것으로 추정되며 따라서 버섯 자원화에 크게 기여 할 것이다. 또한 국내 자생 버섯류의 자원 확보 보존 및 버섯류 유래 생리활성물질 소재의 개발은 국민보건 향상 및 물질특허의 확보 등 경제, 사회, 문화적 측면에서 크게 기여할 것이다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구는 한라산 국립공원, 지리산 국립공원, 변산반도 국립공원, 전라북도 대아리 수목원, 만덕산, 가야산, 소백산, 오대산, 두륜산, 한국도로공사 수목원 등을 대상으로 국내 자생 버섯의 다양성을 조사하였으며 그 결과 1문, 2아문, 4강, 2아강, 13목, 54과, 133속, 295종의 다양한 버섯이 자생하고 있는 것을 확인하였다. 이같은 버섯 다양성의 조사결과는 국내 생물 생태의 변화 및 자연 환경 변화 조사에 유용한 기초자료로써 활용될 것이다. 또한 국내에서 미보고된 16종의 미기록종의 균류는 학문적 성과 뿐 많이 아니라 새로운 생물자원의 개발을 가져왔으며 앞으로 균류를 이용한 유용물질 탐색에 새로운 생물자원을 제공하게 되었다.

또한 *Tylophilus neofelleus*(제주쓴맛그물버섯)의 자실체로부터 신규 peptide계 향생물질 tylopeptin A, B 및 *Boletus* spp.의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 항균 활성 및 항암활성을 나타내는 신규 향생물질 boletusin A, B, C, D, E를 분리 정제하였다. 앞으로 이들 화합물의 정확한 활성기작의 규명 및 독성실험을 수행한다면 새로운 항생 항암물질의 개발을 가져올 수 있는 근거를 제공할 것이다. 그 외에 *Paxillus panuoides*의 자실체 메탄올 추출물로부터 높은 지질과산화 억제 활성을 나타내는 신규 화합물 leucomentin-2, 4, 5 및 6을 분리 정제하고 화학구조를 규명하였으며 이들 화합물이 널리 활용되고 있는 항산화제인 vitamin E보다 10배 이상 강한 지질과산화 저해효과를 나타냄을 밝혀 새로운 천연 산화억제제의 개발을 도출하였다. 앞으로 이들 화합물은 새로운 항생 항암물질 및 천연 항산화제로 활용할 수 있을 것이며 또한 이들 화합물을 화학합성적으로 변형하는 연구를 수행한다면 새로운 합성 항생 항암물질 및 항산화제의 개발에 선도물질로서도 활용될 것이다.

제 6 장 참고문헌

1. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. *Analyt. Biochem.* 95: 351.
2. Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Sheomaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A., Gray-Goodrich, M., Campbell, H., Mayo, J., Boyd, M. 1991. *JNCI* 83: 757.
3. 자연보존협회, 1995, 변산반도 국립공원 일대 종합학술조사 보고서
4. 조덕현, 1992. 발왕산 일대의 고등균류, 한국자연보존협회, 30:141-153
5. 조덕현, 1993, 지리산 일대의 고등균류, 한국자연보존협회, 31:229-240
6. 조덕현, 1994, 다도해 해상국립공원(금오지구)의 균류상, 자연보존협회, 32:139-149
7. 조덕현, 1995, 변산반도국립공원 일대의 균류상, 자연보존협회, 34:167-193
8. 조덕현, 1995, 소백산 일대의 고등균류상, 자연보존협회, 33:237-259
9. 조덕현, 1998, 지리산의 균류의 발생분포에 관한 연구, 과학재단.pp.47.
10. 조덕현, 1998, 오대산 국립공원일대의 균류상.자연보존협회, 38:193-226.
11. 조덕현, 1999, 지리산의 균류의 발생분포에 관한 연구(II) (2.생태적 균류자원을 중심으로), 한국자원식물학회, 12(1):69-79
12. 조덕현, 1999. 만덕산의 균류다양성과 생태적자원, 한국생물상지(인쇄중)
13. 조덕현, 김희운 1995, 방태산 북사면일대의 균류상, 자연보존협회, 35:223-258
14. 조덕현, 류인천, 1991. 속리산 일대의 균류상. 한국자연보존협회, 29:237-173
15. 조덕현, 박성식, 1990. 가야산 국립공원일대의 고등균류, 한국자연보존협회, 25:165-173
16. 조덕현, 방극소, 1999. 어래산 및 선달산의 균류다양성과 생태적균류자원, 한국자연보존협회, 39:163-182
17. 조덕현, 윤의수 1996, 방태산 남사면일대의 균류상, 자연보존협회, 37:155-185
18. 조덕현, 이지열, 1988. 월출산의 균류상, 자연보존협회, 27 : 213-219.
19. 조덕현, 유익동, 1998, 한라산의 균류다양성과 균류자원, 한국생물상연구지, 3:411-464.

20. 조덕현, 이정현, 박철휘. 1994, 두륜산 일대의 고등균류 ('94 자연생태계정밀 조사보고서), 환경부 (1200-6714-57-9502):237-267
21. Amiratii, J. A., Trauair and P. A. Organ, 1988. Poisonous Mushroom of the Northern United States and Canada, University of Minesota Press, Mineapolis.
22. Breitenbach, J. and F. Kranzlin(1-4), 1984-1995. Fungi of Switzerland.
23. Bresinsky, A. and H. Besl, 1985. Giftpilze, Wissenschaftlich Verlagsgesellschaft mbh, Stuttgart.
24. Cetto, B., 1987. Pilze(1-4), BLV verlagsgesellschaft Munchen Wien Zurich.
25. Dahncke, R. M., 1993. 1200 Pilze, At Verlag.
26. Dennis, R. W. G. 1981, British Ascomycetes, J, Cramer.
27. Imazeki, R. and T.Hongo, 1987, Colored Illustrations of Mushrooms of Japan Vol. I, Hoikusha, Japan.
28. Imazeki, R. and T. Hongo, 1989, Colored Illustrations of Mushrooms of Japan Vol. II, Hoikusha, Japan.
29. Mao Chang Ping et al., 1993. Economic Macrofungi of Tibet, Beijing Science & Technology Press. China.
30. Moser, M., and W.Julich, 1986. Colour Atlas of Basidiomycetes, Gustav Fischer Verlag.
31. Phillips, R. 1981, Mushrooms and other fungi of Great Britain and Europe.
32. Phillips, R. 1991, Mushrooms of North America, Little, Brown and Company.
33. Lee, S.-J., Yun, B.-S., Cho, D.-H., Yoo, I.-D. 1999. *J. Antibiotics* 52: 998-1006.
34. Lee, S.-J., Yeo, W.-H., Yun, B.-S., Yoo, I.-D. 1999. *J. Peptide Sci.* 5: 374-378.
35. Yun, B.-S., Lee, I.-K., Kim, J.-P., Yoo, I.-D. 2000. *J. Antibiotics* 53: 711-713.

주 의

1. 이 보고서는 과학기술부에서 시행한 특정연구개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 과학기술부에서 시행한 특정연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.