

천연 식품자원에서부터 Prolyl Endopeptidase의 저해 효과 탐색

이성현[†] · 박홍주 · 조용식 · 정인경 · 송경식*

농촌진흥청 농업과학기술원 농촌생활연구소
*경북대학교 농화학과

Screening of Prolyl Endopeptidase Inhibition from Korean Natural Foods

Sung-Hyeon Lee[†], Hong-Ju Park, Yong-Sik Cho, In-Kyung Chung and Kyung-Sik Song*

Division of Agriproduct Science, National Rural Living Science Institute NIAST RDA,
Suwon 441-853, Korea

*Division of Applied Biology and Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

This study was performed to find natural foods with high anti-dementia effects from natural plant resources which have been used for mental health. We screened inhibitors of prolyl endopeptidase which could be implicated in the processing of Alzheimer's disease, the principal part of dementia. One hundred natural foods were examined for prolyl endopeptidase inhibitors. Out of them, methanol extract of *Acorns* and *Raspberry* inhibited more than 90% of prolyl endopeptidase activity at 40 ppm. Also, methanol extract of *Walnut* inhibited 73% of prolyl endopeptidase activity at the same concentration. Therefore, the result suggests that these natural foods may have the potential to be used for preventing and treating dementia like Alzheimer disease.

Key words: natural foods, prolyl endopeptidase, dementia, alzheimer's disease

서 론

UN은 노령인구 비율이 7% 이상을 고령화사회, 14% 이상을 고령사회, 20% 이상을 초고령사회로 분류하고 있으며, 2022년에는 14.3%를 기록해 고령사회에 진입하고 2030년에는 19.3%로 초고령사회에 진입할 것으로 전망하고 있다(1). 경제 발전 및 의로기술과 생활환경의 향상으로 평균 수명이 길어지고 빠른 노인 인구의 증가를 보이고 있어서, 우리나라의 노인 인구는 1995년에 5.9%, 2000년에 7%, 2021년에는 13%의 고령화 사회로 접어들 것으로 예측되고 있으며 노인 인구에 대한 관심이 높아지고 있다(2). 이 고령화 인구의 증가에 따라 일상생활은 물론 지역사회에서의 활동, 더 나아가서는 직업활동을 할 수 없는 기억장애현상인 노인성 치매가 증가하는 추세에 있다. 우리나라도 고령화, 핵가족화로 인해 치매노인의 문제는 이제 우리들의 문제로 인식하게 되었다.

치매의 종류는 주로 혈관 내에 형성된 혈전에 의해 뇌출혈, 뇌졸중 등이 발생하는 경우 발병 주변의 뇌세포가 상해를 입어 기억력 상실 등을 유발시키는 혈관성 치매(cerebrovascular dementia; CVT)와 중년과 노년에 주로 나타나는 노인성 치매(Alzheimer type dementia; AD)로 나뉜다(3). 일본의 경우 65세 이상의 약 5%, 80세 이상의 약 20%가 노인성 치매를

앓고 있는 것으로 알려져 있고(4), 미국에서는 치매가 1992년 400만명 환자의 사망률 4위에 이르며, 유럽에서는 65세 이상 인구의 약 10%가, 80세 이상의 40~50%가 노인성 치매인 것으로 보고되어지고 있다(3).

진행성이고 퇴행성 질병인 노인성 치매는 치명적인 정신능력의 손실을 가져오는 것으로 알려져 있으나, 그 원인과 경로가 완전히 밝혀지지는 않았다. 병리학적 특성인 노인반(senile plaque)과 신경섬유 덩어리(neurofibrillary tangle), acetylcholine성 기능장애를 통하여 병인을 추적하고 있고(5-7), 소위 'amyloid 가설'로 알려진 노인반의 주된 구성물이며, 이 병의 발병, 진행에 영향을 준다고 생각되어지는 β -amyloid가 발병기전으로 유력하다(8,9). 또한 amyloid를 생성하는데 관여하는 효소의 하나로 prolyl endopeptidase(PEP)가 지목되고 있어 이 효소의 저해제가 치매의 예방과 치료제 탐색에 큰 관심이 되고 있다(10). 동물 실험 결과 PEP 저해제가 뇌 내 노인반의 감소와 항견망효과를 나타낸다는 것이 보고되었다(11,12). 이러한 결과를 종합해 볼 때, β -amyloid를 형성하는데 중요한 역할을 하는 PEP를 저해함으로써 노인성 치매의 병원이 되는 β -amyloid를 근원적으로 차단하여 가장 근원적인 방법으로 노인성 치매의 예방과 치료를 할 수 있을 것으로 생각되어진다.

[†]Corresponding author. E-mail: lshin@rda.go.kr
Phone: 82-31-299-0561, Fax: 82-31-299-0553

앞에서 제시한 것과 같이 노인 인구의 증가에 따라 노인성 치매 문제가 더욱 심각하게 대두되고 있으며 이에 대한 예방 및 치료 방안이 요구되고 있다. 일반적으로 치매는 치료보다 예방 차원에서 약물 개발 연구가 진행되고 있으나, 최근 천연식품에 대한 관심이 높아지면서 천연자원에서 그 효과를 찾으려는 연구들이 시작되고 있다. 우리나라는 약식동원이라 하여 먹는 음식과 질병을 치료하는 약의 근본이 같다고 하였고, 특히 치매 예방에 많은 식품들이 이용되어 왔으나 과학적인 연구결과는 여전히 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 우리나라에서 치매 및 정신 건강 관련하여 이용되고 있거나 민간에서 구두로 알려진 식품 총 100종을 대상으로, 메탄올 추출물에 대하여 prolyl endopeptidase에 대한 활성 저해율을 비교함으로써 항치매 식품 및 약품 개발을 위한 기초자료로 사용하고자 한다.

재료 및 방법

시험재료

본 연구에서는 우리가 상용하는 식품 중에서 치매예방 및 개선 효과가 기대되는 재료 100종(곡류·전분류·콩류와 그제품, 종실류, 과실류·채소류, 기타)을 선정하였다. 즉, 민간요법에서 치매 개선 및 뇌 기능 활성을 위해 이용되는 식품이나 비타민 함량이 높아 식품성분표에서 항산화 효과가 있을 것으로 예상되는 시료를 선정하였고, 메탄올에서 추출하여 시료로 사용하였다.

Prolyl endopeptidase의 저해활성 측정

Prolyl endopeptidase(PEP) 저해활성 측정법은 Toda 등의 방법을 변형하여 사용하였는데(13), prolyl endopeptidase(PEP; EC 3.4.21.26)는 *Flavobacterium meningosepticum*에서 유래된 것을 生化學工業株式會社(日本)로부터 구입하여 이용하였다. Substrate로는 Z-Gly-Pro-pNA(生化學工業株式會社, 日本), Z-Arg-pNA, Z-L-Tyr-pNA, N-Suc-(Ala)₃-pNA(Sigma Co., USA)를, positive control에 사용된 Z-proprinalin은 Bakker 등의 방법(14)으로 합성하여 사용하였고, ELISA autoreader는 ELX 808 BIO-TEK를 사용하였다. 즉, 0.1M Tris-HCl buffer(pH 7.0) 200 µL와 0.25 unit/mL enzyme 20 µL 그리고 sample 10 µL의 혼합액을 96 wall plate에 채취하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 20 mM Z-Gly-Pro-pNA 20 µL를 가하여 37°C에서 30분 동안 반응하고 410 nm에서 흡광도를 측정하였다(A). 따로 0.1 M Tri-HCl buffer(pH 7.0) 240 µL, sample 10 µL의 혼합액을 준비하여 역시 410 nm에서 흡광도(B)를 측정한 후 아래와 같은 식으로 저해율을 조사하여 활성의 지표로 삼았으며 이때 control은 sample 대신 sample을 녹인 용매를 사용하여 측정된 흡광도 값이다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{Control} - (A - B)}{\text{Control}} \times 100$$

A: enzyme + substrate + buffer + sample

B: buffer + sample

Control: enzyme + substrate + buffer

결 과

본 연구에서는 곡류·전분류·콩류와 그제품, 종실류, 과실류·채소류, 기타 식품을 대상으로 PEP의 저해 활성을 비교하였다. 그 결과 곡류와 콩류로 분류된 Table 1에서 보여주는 바와 같이 엿기름에서 PEP 활성 저해율이 46.4%로 가장 높았고, 녹두가 34.2%, 감자가 25.0%, 홍국은 20.4%이었으며, 그 외는 10% 미만으로 나타났다. 종실류에서는 도토리가 96.0%의 가장 높은 PEP 활성 저해율을 보였고, 호두가 73%, 흑임자가 28.8%, 참깨가 20.5% 순으로의 PEP 활성 저해율을 나타내었다(Table 2). 과실과 채소류에서는 산딸기가 92.0%로 가장 높은 PEP 활성 저해율을 보였고, 호박, 마늘, 양파는 PEP 활성 저해율이 30~40% 수준이었으며, 더덕, 가지, 적고추, 청고추, 파의 초록색부분, 부추, 호박잎, 생강은 20~30%의 PEP 활성 저해율을 보였다. 그 외의 과실 및 채소류는 20% 미만으로 낮은 PEP 활성 저해율을 나타내었다(Table 3). 그리고 기타 식품에서 녹차가 56.1%, 로즈마리가 30.2%, 대추가 26.6%의 PEP 활성 저해율을 보였으나 그 외의 식품은 20% 미만의 낮은 PEP 활성 저해율을 보였다(Table 4).

지금까지의 연구결과 40 ppm 농도의 식품 추출물을 가지고 PEP(prolyl endopeptidase) 활성 저해율을 측정하였을 때, 곡류와 콩류에서는 엿기름과 녹두가 높은 경향을 보였고, 종실류에서는 도토리와 호두가 70% 이상의 높은 경향을 보였으며, 과실과 채소류에서는 산딸기가 92%로 높게 나타났다. 기타 식품에서는 녹차가 높은 PEP 저해 활성을 나타내었고, 홍국, 가지, 호박, 호박잎, 생강, 당근, 더덕, 엿기름, 참깨, 대

Table 1. Inhibitory activity of methanol extract of cereals, starches and pulses at a concentration of 40 ppm against prolyl endopeptidase

Samples	Inhibition rate (%)	Samples	Inhibition rate (%)
Malt	46.4	Job's tears	9.8
Mungbeans	34.2	Chongkuk jang	6.8
Potatoes	25.0	Rice, black	6.2
Red yeast rice	20.4	Seo ri tae	3.4
Rice germ	10.5	Buck wheat	3.2

Table 2. Inhibitory activity of methanol extract of seeds and nuts at a concentration of 40 ppm against prolyl endopeptidase

Samples	Inhibition rate (%)	Samples	Inhibition rate (%)
Acorns	96.0	Kyulmyung ja	14.4
Walnuts	73.0	<i>Cornus officinalis</i>	8.4
Black sesame	28.8	Safflower kernel	5.9
Sesame	20.5	Gingko nuts	3.0
Pine nuts	18.0	Omija	2.7

Table 3. Inhibitory activity of methanolic extract of fruits and vegetables at a concentration of 40 ppm against prolyl endopeptidase

Samples	Inhibition rate (%)	Samples	Inhibition rate (%)
Wild berries	92.0	Paprica	13.5
Wild plant, Cham na mul	42.3	Sweet pepper, red	12.9
Onion	37.1	Bracken	12.1
Garlic	31.9	Sowthistle	11.5
Squash	30.7	Wild garlic	11.4
Eggplant	24.8	Burdock	11.2
Red pepper	29.2	Mustard leaves	11.0
Pumpkin leaves	28.8	Sweet pepper, green	10.8
Leek	28.6	Persimmon	9.9
Green pepper	28.4	Cabbage	9.2
Mallow	26.8	Parsley	8.6
Welsh onion (green part)	25.8	Tomatoes	8.5
Eggplant	24.8	Grape	7.5
Butterbur	24.8	Soybean sprout	6.8
Ginger	23.9	Perilla leaves	6.2
D. DK	22.1	Dried persimmon	6.1
Mulberry leaves	20.0	Spinach	6.0
Asterscaber (chwi namul)	19.7	Shepherd's purse	5.6
Persimon leaves	19.1	Water dropwort	5.6
Mungbean sprout	19.1	Do ra ji	5.3
Welsh onion (white part)	18.4	Sedum	5.3
Stem of taro	18.0	Chinese quince	5.0
Mugwort	16.9	Burdock	2.0
Vegetable wasps	16.3	Green garlic	1.6
Carrot	15.3	Chard	1.6
Chicory	14.9	Artemisia capillaris thunb	1.5
Kale	14.5	Celery	0.2
Turnip, root	13.8	Lettuce, red	0.1

Table 4. Inhibitory activity of methanolic extract of other foods at a concentration of 40 ppm against prolyl endopeptidase

Samples	Inhibition rate (%)	Samples	Inhibition rate (%)
Green tea, dried	56.1	<i>Angelica keishei</i>	8.9
Herb	30.2	Boxthorn, dried	8.6
Jujube, dried	26.6	Lentinus edodes, dried	8.0
<i>Ganoderma lucidium</i> , dried	18.5	Coffee	7.7
Pine Leaves	17.4	Dung gul Re	7.0
Dandelion leaves	14.3	Glycyrrhiza, licorice root, dried	6.4
Gingko leaf	12.0	Letinus edodes	6.0
Sea tangle, dried	11.3	Yam	6.0
Sam baek cho	10.0	Arrowroot, dried	5.9
<i>Taxus cuspidata siebold et zuccarini</i> , leaves	9.4	Ginseng	0.9

추, 마늘, 흑임자, 녹두, 홍고추, 청고추, 감자, 파, 부추, 양파, 참나물 등의 52종은 50%미만의 PEP 저해 활성을 보였다.

따라서, 곡류·전분류·콩류와 그 제품, 종실류, 과실류·채소류 및 기타 식품의 PEP 저해 활성을 측정된 결과 도토리 와 산딸기가 90%이상으로 가장 높았고, 호두, 녹차, 참나물, 홍국, 가지, 호박, 호박잎, 생강, 당근, 더덕, 옛기름, 참깨, 대추, 마늘, 흑임자, 녹두, 홍고추, 청고추, 감자, 파, 부추, 양파 등의 순으로 나타났다.

고 찰

지금까지 항 노인성 치매(Alzheimer's disease)의 연구와 개발은 choline성 기능을 향진시키는 것에 초점을 둔 신경전달물질계에 작용하는 화합물들에 관한 것이었다(15). 이러한 약리학적 접근방법은 노인성 치매의 제 증상을 완화시키려

는 목적으로 개발되어 일시적으로 증세만을 경감시켰으나 원인적 치료를 위한 약물의 개발이 아직도 이루어지지 않았고, 이에 대한 가장 큰 이유 중의 하나는 아직까지 노인성 치매의 확실한 발병기전을 규명하지 못하였기 때문이다(16). 그러나 최근 뇌 내의 β -amyloid protein이 이 병의 발생에 중요한 원인으로 주목을 받고 있고, 이 단백질의 생성에 prolyl endopeptidase(PEP)가 관여하고 있는 것으로 알려졌다. Aoyagi 등(17)의 연구에서 노인성 치매 환자의 뇌 및 혈청 중의 효소활성을 정상인의 수준과 비교시 PEP의 현저한 활성 증가가 관찰되었고, PEP가 항치매 활성의 지표로 설정되었는데, 이는 이 효소의 저해제를 찾는 것이 치매의 원인치료가 가능한 의약품의 개발을 가능케 한다고 생각되기 때문이다.

현재 PEP 활성 저해에 있어 비교적 우수한 생리활성을 보이는 식품 중에서 톳은 구입하기 쉽고 식용의 장점을 가지고 있다. 톳의 메탄올에 의한 대량추출 및 각종 유기용매에

대한 순차적 분배추출 후 PEP에 대한 활성을 지표로 하여 활성물질을 추적하고 있고, 한 연구에서는 40 ppm 농도에서 쌍발이모자반, 짝잎모자반, 큰잎모자반, 지층이, 감태, 패, 툫이 90%이상의 저해활성을 보고하였다. 또 이외에 40 ppm의 농도에서 60%이상의 저해활성을 보인 해산물들은 파배기모자반, 열매의감말, 개서실, 쌍발이서실, 불동풀가사리, 작은구슬산호말, 비단풀, 모자반, 옥덩쿨, 청각, 누운청각 등이었으며(18), 이들이 항치매제 개발의 천연자원으로서 유용한 것으로 제시되었다. 담자균 추출물의 연구를 보면(3), *Amanita aspera*, *Phellinus chrysoloma*의 균사체 추출물 및 배양 여액의 에틸아세테이트 가용성 분획이 40 ppm에서 모두 90%이상의 저해 활성을 나타내었고, 분홍겹질고약버섯(*Peniophora quercina*), 잎새버섯(*Grifola frondosa*), *Wolfiporia extensa*, 좀나무싸리버섯(*Clavicornia pyxidata*) 및 *Phanerochaete sordida*의 배양액이 90%이상의 저해활성을 나타내었다. 또, 조개껍질버섯(*Lenzites betulina*), *Phellinus chrysoloma*, *Wolfiporia extensa*, *Phanerochaete sordida*의 균사체 추출물과 *Hypocrea nigricans*, *Coriolus azureus*, 팽나무버섯(*Flammulina velutipes*), *Phlebotis gigantea* 및 *Bondarzewia montana*의 배양여액 에틸아세테이트 가용성 분획이 PEP에 대해 40%정도의 저해활성을 나타내 이들이 항치매제 개발의 천연자원으로서 유용한 것으로 평가되었다.

다른 연구(18)에서도 gallyotannin류 PEP 저해제는 이들에 대한 저해활성이 매우 낮았고, 이 화합물들은 PEP에 대해 비교적 특이적으로 저해활성을 나타내는 것으로 보고되었다. 따라서 1,2,3,4,6,-bi-D-pentagalloyl glucopyranose 및 gallyotannin 화합물은 앞으로 치매의 예방과 치료를 위한 선도 물질로 이용될 수 있을 것으로 기대되고 있다(19). 천연물로부터의 또 다른 연구를 보면, 호장근, 지유, 정향, 육계, 대황, 계지, 유근피, 마가목, 빈랑자, 조구등, 가자, 소목, 석련자, 후박, 목단피, 향유, 쇠양 등이 40 ppm 농도에서 PEP에 대해 70% 이상의 저해활성을 나타내는 것으로 보고되어졌다(20). 그리고 녹차에서 추출한 물질이 PEP 저해제로서의 가능성을 보여준 실험(21)과 방글라데시 약용식물인 *E. officinalis* (22)가 PEP 저해제로서 치매의 치료를 위해 사용될 수 있을 것으로 예측하고 있다. Eurystatin(13), Poststatin(23), stauroporine(24), SNA-8073-B(25), Propeptin(26), Polyozellin(27) 등의 PEP 저해제들은 미생물학적인 출처에서 추출하여 발견되어졌으나, 그 대부분이 분자량이 큰 oligo peptide성 화합물로 경구 투여시 Blood-Brain-Barrier(BBB)를 통과하지 못하는 단점이 있으므로 치료제로 개발되기 어려운 단점이 있고 식물로부터 발견된 연구들은 많지 않다(28).

본 연구에서는 예로부터 민간에서 항치매 예방을 위해 이용되어 오는 전통식품 또는 우리가 주로 섭취하는 식품 중에서 항산화력이 높아 치매예방에 효과가 있을 것으로 추정되는 식품 100종에서 치매에 관련된 PEP활성 저해 효과를 탐색하였다. PEP 활성 저해 분석시 시료 농도는 많은 선행연

구의 메탄올 추출물 농도(3,18,20)을 고려하여 40 ppm으로 하였고, 연구결과 PEP 활성 저해율은 도토리(96.0%), 산딸기(92%), 호두(73.0%), 녹차(56.1%), 엿기름(46.4%), 참나물(42.3%)의 순으로 나타났다. 나머지 94종은 50%미만으로 그 중 홍국, 감자, 녹두, 참깨, 흑임자, 더덕, 가지, 호박, 호박잎, 마늘, 적고추, 청고추, 파, 부추, 양파, 생강, 뽕잎, 아욱, 머위, 대추, 허브가 20~40% 수준을 보였다. 따라서 담자균 추출물, 해산물 및 탄닌류(3,18,20) 뿐 아니라 도토리, 산딸기, 호두, 녹차는 치매 예방 및 관리 차원에서 좋은 식품으로 보이고, 앞으로 좀 더 많은 상용 및 약식동원 식품에서의 항치매 효과 검색이 이루어져야 할 것으로 생각된다. 천연물을 대상으로 한 PEP 저해활성 탐색은 새롭고 다양한 골격을 지니고 있는 저해제 발견에 큰 도움이 될 수 있을 것으로 보이고, 천연물의 대사산물이 대부분 저분자, 저극성 화합물이라는 점을 고려하면 BBB를 통과할 수 있는 항 치매선도물질을 개발할 수 있을 것으로 생각된다. 본 실험결과를 토대로 메탄올 추출물에서 PEP저해 활성이 높게 나타난 식품들을 용매별로 분획하여 기능성 물질을 분리·동정하고, 치매 동물을 이용한 항치매 효과 검증 및 확인 연구가 계속되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

우리나라가 고령화사회에서 고령사회로, 고령사회에서 초고령사회로 도달하는 시간이 각각 22년과 10년으로 추정되며 선진국에 비해 진입속도가 빠를 것으로 보고 있다. 고령화 인구에 따라 일상생활은 물론 지역사회에서의 활동, 더 나아가서는 직업활동을 할 수 없는 기억장애현상인 노인성 치매가 더욱 문제시된다. 따라서 본 연구에서는 우리나라에서 정신 건강 관련하여 이미 이용되고 있거나 민간에서 구두로 알려진 식품 총 100종을 선정하고, 메탄올 추출물에 대하여 prolyl endopeptidase에 대한 활성 저해율을 측정하였다. 그 결과, 40 ppm 농도에서 도토리가 96.0%로 가장 높은 활성 저해율을 보였고, 산딸기가 92.0%, 호두가 73.0%로 나타났으며, 그 외의 나머지 식품들은 56.1%인 녹차를 제외하고는 모두 50% 미만의 수준이었다. 본 연구결과 PEP에 비교적 특이적으로 작용하는 저해제로서 도토리와 산딸기를 확인할 수 있었고, 현재까지 개발되고 보고된 합성 peptide인 PEP저해제와는 달리 천연 식품이란 점에서, 앞으로 이 식품들이 항치매 예방 기작 구명에 유용하게 이용되고 동시에 치매의 예방을 위한 기능성 식품으로서 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

문 헌

1. UN. 1998. 『World Population Prospects』.
2. Cho EJ. 1999. Characteristics and vision for the elderly. Ministry of Health and Welfare Form 29: 6-16.
3. Lee HJ, Kim JS, Heo GY, Lee KB, Rhee IK, Song KS. 1999.

- Inhibitory activities of basidiomycetes on prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase and coagulation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 336-343.
4. Hardy JA. 1997. The presenility and Alzheimer's disease. *TINS* 20: 154-158.
 5. Pike CJ, Walencewicz AJ, Glabe CG, Cotman CW. 1991. In vitro aging of beta-amyloid protein causes peptide aggregation and neurotoxicity. *Brain Res* 563: 311-314.
 6. Katzman R. 1986. Alzheimer's Disease. *N Eng J Med* 314: 964-973.
 7. Selkoe DJ. 1990. Deciphering Alzheimer's Disease: the amyloid precursor protein yields new clues. *Science* 248: 1058-1060.
 8. Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K. 1985. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Natl Acad Sci* 82: 4245-4249.
 9. Selkoe DJ. 1991. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* 6: 487-498.
 10. Ishiura S, Nishikawa T, Tsukahara T, Momoi T, Ito H, Suzuki K, Sugita H. 1990. Distribution of Alzheimer's disease amyloid A4-generating enzyme in rat brain tissues. *Neurosci Lett* 115: 329-334.
 11. Kato A, Fukunari A, Tabira T, Shimizu T, Arahata K, Sugita HD. 1997. Prevention of amyloid-like deposition by a selective prolyl endopeptidase inhibitor, Y-29794, in senescence-accelerated mouse. *J Pharmacol Exp Therap* 283: 328-335.
 12. Yoshimoto T, Kado K, Matsubara F, Koriyama N, Kaneto H, Tsuru D. 1987. Specific inhibitors of prolyl endopeptidase and their anti-amnesic effect. *J Pharmacobio Dyn* 10: 730-735.
 13. Toda S, Obi Y, Numata K, Hamagishi Y, Tomita K, Komiyama N, Kotake C, Furumai T, Oki T. 1992. Eurystatins A and B, new prolyl endopeptidase inhibitors. I. Taxonomy, production, isolation and biological activities. *J Antibiotics* 45: 1573-1579.
 14. Bakker AV, Jung S, Spencer RW, Vinick FJ, Faraci WS. 1990. Slow tight-binding of prolyl endopeptidase by benzoyloxycarbonyl-prolyl-prolinal. *Biochem J* 274: 559-562.
 15. Katsuo T, Masahiko S, Yohko I, Takako F, Kazuhiro O, Atsuhiro U. 1997. A novel prolyl endopeptidase inhibitor, JTP-4819, with potential for treating Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research* 83: 147-151.
 16. Schneider JS, Giardiniere M, Morain P. 2002. Effects of the prolyl endopeptidase inhibitor S 17092 on cognitive deficits in chronic low dose MPTP-treated monkeys. *Neuropsychopharmacology* 26: 176-182.
 17. Aoyagi T, Wada T, Nagai M, Kojima F, Harada S, Tkeuchi T, Takahashi H, Hirokawa K, Tsumita T. 1990. Deficiency of kallikrein-like enzyme activities in cerebral tissue of patients with Alzheimer's disease. *Experientia* 46: 94-97.
 18. Lee HJ, Kim JH, Lee JH. 1999. Inhibitory activities of sea weeds on prolyl endopeptidase, tyrosinase and coagulation. *Kor J Pharmacogn* 30: 231-237.
 19. Kim SI, Song KS. 2000. 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloyl- β -D-glucopyranose, A prolyl endopeptidase inhibitor from mountain cortex. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 158-161.
 20. Lee KH, Lee HJ, Park HI. 1997. Screening of prolyl endopeptidase inhibitors from natural products. *Yakhak Hoeji* 41: 153-160.
 21. Kim JH, Kim SI, Song KS. 2001. Prolyl endopeptidase inhibitors from green tea. *Arch Pharm Res* 24: 292-296.
 22. Khanom F, Kayahara H, Tadasa K. 2000. Superoxide-scavenging and prolyl endopeptidase inhibitory activities of Bangladeshi indigenous medicinal plants. *Biosci Biotech Biochem* 64: 837-40.
 23. Aoyagi T, Nagai M, Ogawa K, Gojima F, Okada M, Ikeda T, Hamada M, Takeuchi T. 1991. Poststatin, a new inhibitor of prolyl endopeptidase, produced by *Streptomyces viridochromogens* MH 534-30F3. I. Taxonomy, production, isolation, physico-chemical properties and biological activities. *J Antibiotics* 44: 949-955.
 24. Kimura K, Kawguchi N, Yoshihama M, Kawanishi G. 1990. Staurosporine, a prolyl endopeptidase inhibitor. *Agric Biol Chem* 54: 3021-3022.
 25. Kimura K, Kanou F, Yoshihama M, Koshino H, Uramoto M. 1997a. SNA-8073-B, a new isotetracenone antibiotic inhibits prolyl endopeptidase. *J Antibiotics* 50: 291-296.
 26. Kimura K, Kanou F, Takahashi H, Esumi Y, Uramoto M, Yoshihama M. 1997b. Propeptin, a new inhibitor of prolyl endopeptidase produced by microbisporea. I. Fermentation, isolation and biological properties. *J Antibiotics* 50: 373-378.
 27. Hwang JS, Song KS, Kim WG, Lee TH, Koshino H, Yoo ID. 1997. Polyozellin, a new inhibitor of prolyl endopeptidase from polyozellus multiflex. *J Antibiotics* 50: 773-777.
 28. Kim S. 1999. Purification of prolyl endopeptidase from Mountain Cortex. *MS Thesis*. Kyungpook National University, Daegu. p 4.

(2003년 4월 8일 접수; 2003년 10월 9일 채택)