

## 담자균 추출물의 Prolyl Endopeptidase, Acetylcholine Esterase 저해 및 혈전 응고활성

이현진 · 김종식<sup>1</sup> · 허건영 · 이경복<sup>2</sup> · 이인구 · 송경식\*

경북대학교 농화학과, <sup>1</sup>건양대학교 화학과, <sup>2</sup>의과대학 생화학교실

**초록 :** 담자균류로부터 치매 예방 및 치료 효과를 갖는 생물활성물질을 탐색하기 위한 기초 자료를 확립하기 위하여 56종의 배양 균사체 메탄올 추출물 및 배양 여액의 ethylacetate(EtOAc) 가용성 분획에 대하여 prolyl endopeptidase(PEP), acetylcholine esterase(AChE) 및 혈전 응고에 대한 저해활성을 측정하였다. 그 결과 PEP에 대하여 *Amanita aspera*, *Phellinus chrysoluma*의 균사체 추출물 및 배양여액의 EtOAc 가용성 분획이 40 ppm에서 모두 90% 이상의 저해활성을 나타내었으며 분홍껍질고약버섯(*Peniophora quercina*), 잎새버섯(*Grifola frondosa*), *Wolfiporia extensa*, 좀나무싸리버섯(*Clavicornia pyxidata*) 및 *Phanerochaete sordida*의 배양액이 90% 이상의 저해활성을 나타내었다. AChE에 대하여는 40 ppm의 농도에서 어느 것도 강한 활성을 나타내지 못하였으나 조개껍질버섯(*Lenzites betulina*), *Phellinus chrysoluma*, *Wolfiporia extensa*, *Phanerochaete sordida*의 균사체 추출물과 *Hypocreagigantea*, *Coriolus azureus*, 팽나무버섯(*Flammulina velutipes*), *Phlebiopsis gigantea* 및 *Bondarzewia montana*의 배양여액 EtOAc 가용성 분획이 40% 정도의 저해활성을 나타내었다. 한편 혈전응고 저해활성의 지표로 삼은 thrombin times(TT) assay에서는 *Amanita aspera*, *Oxyporus latemarginata*, 분홍껍질고약버섯(*Peniophora quercina*), 말굽버섯(*Fomes fomentarius*)의 배양여액 EtOAc 추출물과 *Clitocybe clavipes*, *Trametes versicolor*, *Phlebiopsis gigantea*의 균사체 추출물이 550 ppm의 농도에서 혈전 생성에 걸리는 시간을 2배 내지 3배 연장하는 효과를 나타내었으나 activated partial thromboplastin times(APTT) assay에서는 어느 것도 효과를 인정할 수 없었다. (1999년 7월 14일 접수, 1999년 8월 4일 수리)

### 서 론

치료 및 예방용 의약품을 비롯하여 향장품 또는 기능성 식품 등의 개발에 관한 연구는 세계적으로 광범위하게 수행되고 있다. 그 중에서도 특히 의약품의 경우 활성이 알려진 기존 화합물의 골격을 기본으로 활성을 높이고 부작용은 줄이는 방향으로 유도체를 합성하고자 하는 전략이 유용하게 사용되어 왔다. 그러나 기존에 알려진 화합물 골격은 그 수가 한정되어 있어 drug design에 의한 신규 활성물질 개발에는 한계가 있는 것으로 평가되고 있다. 따라서 새로운 골격을 갖는 의약품 선도물질 개발이라는 측면에서 볼 때 다양한 천연자원에서 생리활성물질을 탐색하고자 하는 시도는 매우 중요하다고 할 수 있다.<sup>1)</sup>

버섯류는 그 용도에 따라 식용버섯, 약용버섯, 독버섯 및 감상버섯으로 나눌 수 있다.<sup>2)</sup> 한국산 버섯은 현재 992종이 분류되어 있고, 이중 162종이 여러 가지 약리작용을 가진 것으로 보고되어 있을 뿐이며, krestin(구름버섯),<sup>3)</sup> lentinan(표고버섯),<sup>4)</sup> shizophyllan(치마버섯)<sup>5)</sup>등의 일부 다당류를 제외하고는 버섯에 대한 성분학적 연구 및 약리적 효과는 많이 연구되어 있지 않다.

한편 산업 및 의학의 발전으로 인해 인구의 고령화가 가속화되고 이에 따라 뇌의 퇴행성 질환의 하나인 치매 역시 급격히 증가하고 있다. 노인성 치매질환은 이미 미국에서는 1992년

현재 400만 명의 환자에 사망률 4위를 점유하고 있으며 2000년대 중반까지는 1,500만 명이 발생되리라 예전하고 있다. 또 유럽에서는 65세 이상 인구의 약 10%, 80세 이상 인구의 약 40~50%에서 Alzheimer's disease가 발생하고 있으며 일본의 경우도 65세 이상의 약 5%, 80세 이상의 약 20%가 이 병을 앓고 있는 것으로 추정하고 있다.<sup>6)</sup>

치매의 종류는 크게 혈관성 치매(cerebrovascular dementia; CVD)와 노인성 치매(Alzheimer type dementia; ATD)로 나눌 수 있는데<sup>7)</sup> CVD는 주로 혈관 내에 형성된 혈전(thrombus)에 의해 뇌출혈, 뇌졸중 등이 발생하는 경우 발병 주변의 뇌세포가 상해를 입어 기억력 상실 등의 치매증상을 유발시키는 것으로 알려져 있다. ATD의 경우 아직 확실한 발병기전은 알려져 있지 않으나 뇌 내의 acetylcholine 등의 신경전달 물질 감소가 확인되고 있어<sup>8)</sup> 뇌 내 choline성 기능을 항진시켜 노인성치매의 제증상을 완화시키려는 목적으로 acetylcholine esterase (AChE)의 저해제인 tacrine과 같은 약물이 개발되어 사용되고 있으며 이와 같은 약리학적 접근방법은 일시적으로 증세를 경감시키는 효과를 기대할 수 있다. 또한 뇌에 대한 해부학적 관찰 결과 노인반(senile plaque)과 신경섬유 덩어리(neurofibrillary tangle)가 발견됨에 따라 최근 ATD의 발병 원인 인자의 하나로 β-amyloid가 주목받기 시작하였다.<sup>9)</sup> 이후의 여러 실험 결과 β-amyloid가 이 병의 발병, 진행에 영향을 준다는, 소위 'amyloid 가설'이 발표되었으며 현재로서는 이 설이 가장 유력한 것으로 평가되고 있다.<sup>9,10)</sup> 이 amyloid를 생성하는 데 관여하는 효소의 실체는 아직 밝혀져 있지 않으나 가장 가능성 있는 효소의 하나로 prolyl endopeptidase(PEP)가 지목되고 있

찾는말 : prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase, anti-coagulation, Basidiomycetes, mycelial culture, screening

\*연락처자

어 이 효소의 저해제가 치매의 예방 및 치료제를 탐색하는 가장 큰 목표 중의 하나로 꼽히고 있다.<sup>11,12)</sup>

이와 같이 치매는 한 가지 원인에 의해서 진행되는 것이 아닌 소위 multisystem disorder로 알려져 본 연구에서는 담자균류로부터 치매의 예방, 치료 선도물질 개발을 위한 기초 자료를 얻기 위하여 56종의 담자균 배양 균사체와 배양 여액에 대하여 PEP, AChE 및 혈전 응고에 대한 저해효과를 탐색하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 기기

본 연구에 사용한 담자균류 자설체들은 생명공학연구소 유전자원센터 유전자은행(KCTC)으로부터 분양받았다. PEP

(*Flavobacterium* 유래) 및 기질인 Z-Gly-Pro-p-NA은 일본 생화학공업(Seikagakukougyo Co., Japan)으로부터 구입하여 사용하였다. Z-Pro-prolinal은 Bakker<sup>13)</sup>등의 방법에 준하여 합성하였다. AChE(human erythrocyte 유래), acetylthiocholine iodide, tacrine, dithiobisnitrobenzoic acid, activated partial thromboplastin time 시약, plasma, thrombin(bovine 유래), fibrinogen reference 및 heparin은 Sigma사(St. Louis, USA) 제품을 구입하여 이용하였다. 혈전의 응고시간 측정은 KC 1 A micro coagulation analyzer(Heinrich Amelung GmbH, Lemgo, Germany)를 이용하였으며 ELISA reader는 Microplate reader ELx808(Bio-TEK Instruments, Inc.)를 사용하였다.

### 균사체 배양 및 시료의 조제

본 실험에 사용한 담자균류의 균사체는 Table 1에 나타낸 바

Table 1. Mycelial culture conditions of Basidiomycetes

Korean name <sup>a</sup>	Sample name	Medium <sup>b</sup>	Temp.(°C)	pH	KCTC <sup>c</sup> No.
Korean name <sup>a</sup>	Scientific name				
광대버섯속	<i>Alleurodiscus amorphus</i>	MEA(B) <sup>d</sup>	21±1	6.0±0.2	6764
	<i>Amanita aspera</i>	PDA <sup>e</sup>	26±1	5.6±0.2	6490
좀나무싸리버섯	<i>Bondarzewia montana</i>	MEA <sup>f</sup>	26±1	6.0±0.2	6715
	<i>Clavicorona pyxidata</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	16042
깔때기버섯속	<i>Climacodon septentrionalis</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	6884
두엄벽물버섯	<i>Clitocybe clavipes</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6727
동충하초	<i>Coprinus atramentarius</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6690
동충하초속	<i>Cordyceps militaris</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6064
구름버섯속	<i>Cordyceps ophioglossoides</i>	PSA <sup>g</sup>	23±1	5.6±0.2	6743
띠미로버섯	<i>Coriolus azureus</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	16000
미로버섯속	<i>Daedalea dickinsii</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	16023
콩버섯	<i>Daedalea quercina</i>	YMG <sup>h</sup>	26±1	6.2±0.2	6343
좀별집버섯	<i>Daldinia concentrica</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	6843
팽나무버섯	<i>Favolus arcularius</i>	PDA	23±1	5.6±0.2	6527
말굽버섯	<i>Flammulina velutipes</i>	PDA	23±1	5.6±0.2	6367
아까시재목버섯	<i>Fomes fomentarius</i>	PDA	23±1	5.6±0.2	6363
소나무잔나비버섯	<i>Fomitella fraxinea</i>	PDA	23±1	5.6±0.2	6355
불로초속	<i>Fomitopsis pinicola</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	6208
불로초(영지)	<i>Ganoderma applanatum</i>	YMG	26±1	6.2±0.2	6281
조개버섯속	<i>Ganoderma lucidum</i>	PDA	23±1	5.6±0.2	6283
잎새버섯	<i>Gloeophyllum abietinum</i>	YMG	26±1	6.2±0.2	6356
	<i>Grifola frondosa</i>	PSA	21±1	5.6±0.2	6476
	<i>Hypocrella citrinan var. citrina</i>	YMG	21±1	6.2±0.2	6863
	<i>Hypocrella lactea</i>	MEA	21±1	5.6±0.2	6518
	<i>Hypocrella nigricans</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6741
시루쁜버섯속	<i>Inonotus weiri</i>	YMG	26±1	6.2±0.2	6646
덕다리버섯	<i>Laetiporus sulphureus</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	6358
묘고버섯	<i>Lentinus edodes</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6733
조개껍질버섯	<i>Lenzites betulina</i>	YMG	26±1	6.2±0.2	6354
	<i>Leucogyrophana mollusa</i>	PDA	21±1	5.6±0.2	6768
큰갓버섯	<i>Macrolepiota procera</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	6361
아교버섯	<i>Merulius tremelloides</i>	MEA(B)	21±1	6.0±0.2	6762
송곳버섯속	<i>Mycoacia fuscoatra</i>	MEA(B)	21±1	6.0±0.2	6756
알보리수버섯	<i>Nectria cinnabaria</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	6841
휩살버섯속	<i>Oxyporus latemarginata</i>	YMG	26±1	6.2±0.2	6661
분홍껍질고약버섯	<i>Peniophora quercina</i>	MEA(B)	21±1	6.0±0.2	6758
	<i>Phanerochaete sordida</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	6757
진흙버섯속	<i>Phellinus chrysoluma</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	6226

Table 1. Continued

Korean name <sup>a</sup>	Sample name	Medium <sup>b</sup>	Temp.(°C)	pH	KCTC <sup>c</sup> No.
	Scientific name				
진흙버섯속	<i>Phellinus laevigatus</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	6229
가는주름버섯속	<i>Phlebia radiata</i>	MEA(B)	21±1	6.0±0.2	6759
	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	PDA	26±1	6.0±0.2	6706
검은비늘버섯	<i>Pholiota adiposa</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6738
느타리속	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6731
벌집버섯	<i>Polyporus arcularius</i>	PSA	23±1	5.6±0.2	6523
주걱간버섯	<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6725
	<i>Rigidoporus vinctus</i>	YMG	26±1	6.2±0.2	6672
흰데꽃구름버섯	<i>Stereum gausapatum</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6709
꽃구름버섯	<i>Stereum hirsutum</i>	PDA	23±1	5.6±0.2	1819
황소비단그물버섯	<i>Suillus bovinus</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	6360
송편버섯속	<i>Trametes versicolor</i>	PDA	26±1	5.6±0.2	6714
흰목이속	<i>Tremella mesenterica</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	7131
옻솔버섯속	<i>Trichaptum pergamenum</i>	YMG	23±1	6.2±0.2	6237
복령	<i>Wolfiporia cocos</i>	MEA	26±1	6.0±0.2	6480
복령속	<i>Wolfiporia extensa</i>	YMG	26±1	6.2±0.2	6294
콩고투리버섯속	<i>Xylaria cubensis</i>	PDA	21±1	5.6±0.2	6566
다형콩고투리버섯	<i>Xylaria polymorpha</i>	MEA	21±1	6.0±0.2	6577

<sup>a</sup>Named according to reference 23) and 24). Mushrooms which do not have Korean name were presented in genus name.<sup>b</sup>Refer reference 22) for media composition.<sup>c</sup>Korean collection for type cultures.<sup>d</sup>Malt extract agar (B) medium.<sup>e</sup>Potato dextrose agar medium.<sup>f</sup>Malt extract agar medium.<sup>g</sup>Potato sucrose agar medium.<sup>h</sup>Yeast malt glucose agar medium.

양조건에 따라 한천 평판배지 상에서 일정기간 배양 후 약 1 cm<sup>2</sup>의 크기로 절편을 떼어내 액체배지에 옮기고 회전 진탕 배양기 상에서 100 rpm으로 암조건 하에서 배양하였다. 균사체가 충분히 성장한 후(약 10일~30일) 여과자로 감압여과하여 균사체와 배양액을 분리하였다. 균사체에 적당량의 메탄올(MeOH)을 가하여 초음파 추출기로 약 한 시간 추출하고 추출액을 수거하여 농축하였으며 배양 여액의 경우 동량의 ethylacetate (EtOAc)로 1회 추출 후 탈수, 농축하였다. 각각의 농축 건고물에 적당량의 MeOH, acetone 또는 DMSO를 가하여 PEP 및 AChE의 경우에는 mg/ml, 혈전 응고 저해활성의 측정에는 3.3 mg/ml의 농도로 맞추어 활성검정에 이용하였다.

### PEP의 효소활성 측정

PEP 활성 측정은 Toda 등<sup>14)</sup>이 이용한 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 7.0) 200 µl, 2 mM Z-Gly-Pro-pNA(in 40% dioxane) 20 µl, sample 10 µl 및 0.1 unit/ml PEP 20 µl의 혼합액 250 µl를 30°C에서 30분간 반응시킨 후 ELISA reader로 410 nm에서 흡광도(A)를 측정하고 따로 0.1 M Tris-HCl(pH 7.0) 240 µl, sample 10 µl의 mixture를 준비하여 역시 410 nm에서 흡광도 (B)를 측정한 후

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{A}_{410} \text{ of Control} - (\text{A} - \text{B})}{\text{A}_{410} \text{ of Control}} \times 100$$

로 나타내어 활성의 지표로 삼았다. Control은 sample을 녹이는데 사용한 용매를 사용했을 때의 A<sub>410</sub> 값이며 이 때 positive control로는 tacrine을 사용하였으며 IC<sub>50</sub> 값은 255 ppb였다. 실험은 2구 2반복하였으며 결과는 평균치로 나타내었다.

positive control로는 Z-Pro-prolinal을 사용하였으며 IC<sub>50</sub> 값은 22 ppb였고 실험은 2구 2반복하였으며 결과는 평균치로 나타내었다.

### Acetylcholine esterase 활성 측정

AChE 활성 측정은 Ellman<sup>15)</sup>과 Kuno 등<sup>16)</sup>이 이용한 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 0.1 M phosphate buffer(pH 8.0) 170 µl, 2 mM dithiobisnitrobenzoic acid 20 µl, sample 20 µl 및 AChE 20 µl(0.2 unit)의 혼합액 230 µl를 37°C에서 10분간 전처리한 후 여기에 3.75 mM acetylthiocholine iodide 20 µl를 가하고 37°C, 30분간 반응시킨 후 ELISA reader로 410 nm에서 흡광도(A)를 측정하고 따로 0.1 M phosphate buffer(pH 8.0) 230 µl, sample 20 µl의 혼합액을 준비하여 역시 410 nm에서 흡광도(B)를 측정한 후

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{A}_{410} \text{ of Control} - (\text{A} - \text{B})}{\text{A}_{410} \text{ of Control}} \times 100$$

로 나타내어 활성의 지표로 삼았다. Control은 sample을 녹이는데 사용한 용매를 사용했을 때의 A<sub>410</sub> 값이며 이 때 positive control로는 tacrine을 사용하였으며 IC<sub>50</sub> 값은 255 ppb였다. 실험은 2구 2반복하였으며 결과는 평균치로 나타내었다.

### Anti-coagulation 활성 측정<sup>17)</sup>

시료를 적당량의 DMSO에 녹인 후 중류수로 희석하여 3.3 mg/ml이 되도록 하였다. Activated partial thromboplastin times

(APTT) test는 시료 50 μl와 혈장 100 μl를 잘 섞어 혼합한 후 이 중 50 μl를 취하여 sample cup에 넣고 정확히 2분간 incubation한다. 여기에 상온 상태의 APTT 시약(0.1 mM) 50 μl를 넣어 정확히 3분간 37°C에서 incubation한 다음 20 mM CaCl<sub>2</sub> 50 μl를 넣고 응고 시간을 측정한다. (분석시 최종 시료 농도 약 367 ppm) 이 때 control은 54.6초였으며 시료첨가시의 응고시간(초)을 control로 나눈 값에 100을 곱하여 항응고 활성을 %로 나타내었다. Positive control로는 heparin을 사용하였다. Thrombin times(TT) test는 thrombin 시약 1 vial(3~4 NIH unit)을 5 ml 증류수에 녹이고 fibrinogen reference 시약 1 vial (250 mg/ml)를 4 ml 증류수에 녹인 후 thrombin 시약 50 μl와 시료 50 μl를 1:1로 섞어 혼합한 후 이 중 50 μl를 취하여 정확히 2분간 반응시킨 다음 fibrinogen reference 시약 100 μl를 넣고 응고시간을 측정한다(분석시 최종 시료농도 약 550 ppm). 이 때 sample 대신 증류수를 첨가한 control은 61.2초였으며 APTT assay와 같은 방법에 의하여 항응고 활성을 %로 나타내었다. 실험은 3회 반복하였으며 결과는 이들의 평균치로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

현재까지 항치매제 개발의 초점은 대부분 신경전달물질계에 작용하는 화합물들로 주로 choline성 기능을 항진시키는 것이 목적이었다. 이러한 화합물들은 노인성치매를 원인적으로 치료 한다기 보다는 제 증상을 일시적으로 경감시키는 효과를 기대 할 수 있으므로 현재 가장 활발히 사용되고 있는 분석법이다. 원인적 치료가 가능한 약물의 개발이 아직도 이루어지지 않은 가장 큰 이유 중 하나는 아직까지 AD의 확실한 발병기작을 규명하지 못하였기 때문인 것으로 알려져 있다. 그러나 최근 뇌 내의 β-amyloid protein이 이 병의 발생에 중요한 원인적 인자의 하나가 되는 것으로 주목을 받고 있으며 이 단백질의 생성에는 prolyl endopeptidase(PEP)가 관여하고 있는 것으로 알려져 있다.<sup>11,12,18)</sup> 특히 Aoyagi 등<sup>8)</sup>은 ATD 뇌 및 혈청중의 효소 활성을 정상인의 그것과 비교한 결과 PEP의 현저한 활성 증가를 목격한 바 있어 이 효소에 대한 저해제를 탐색하는 것은 곧 치매의 원인치료가 가능한 의약품의 개발을 시사한다고 할 수 있다.

Table 2에 나타낸 바와 같이 PEP에 대하여 *Amanita aspera*, *Phellinus chrysoloma*의 균사체 추출물 및 배양 여액의 EtOAc 가용성 분획이 40 ppm에서 모두 90% 이상의 저해활성을 나타내었으며 분홍껍질고약버섯(*Peniophora quercina*), 잎새버섯

Table 2. Inhibitory activities of mycelial cultured Basidiomycetes against prolyl endopeptidase and acetylcholine esterase

Korean name <sup>a</sup>	Scientific name	Inhibition (%)							
		Mycelium ext. (ppm) <sup>b</sup>				Broth (ppm) <sup>c</sup>			
		PEP <sup>d</sup>		AChE <sup>e</sup>		PEP <sup>d</sup>		AChE <sup>e</sup>	
		5	40	5	40	5	40	5	40
-	<i>Alleurodiscus amorphus</i>	45±3	47±6	20±1	25±6	52±7	56±4	21±4	27±1
광대버섯속	<i>Amanita aspera</i>	66±0	96±1	17±3	37±2	58±2	93±0	16±3	15±3
-	<i>Bondarzewia montana</i>	62±0	48±4	34±3	36±6	56±2	56±1	47±4	49±7
좀나무싸리버섯	<i>Clavicorona pyxidata</i>	68±1	85±1	31±4	31±4	76±1	90±1	27±0	27±5
-	<i>Climacodon septentrionalis</i>	46±1	50±5	8±6	16±5	42±4	58±6	29±5	27±0
깔때기버섯속	<i>Clitocybe clavipes</i>	42±1	44±1	0±2	5±2	43±2	53±1	5±5	11±3
두엄먹물버섯	<i>Coprinus atramentarius</i>	46±1	41±2	15±5	27±4	43±5	37±2	0±1	10±5
동충하초	<i>Cordyceps militaris</i>	42±1	47±3	7±6	11±8	47±2	43±1	4±4	5±4
동충하초속	<i>Cordyceps ophioglossoides</i>	62±2	59±2	19±0	13±1	68±0	85±4	3±1	16±2
구름버섯속	<i>Coriolus azureus</i>	54±2	55±4	32±4	36±1	57±0	53±0	15±3	40±6
띠미로버섯	<i>Daedalea dickinsii</i>	56±4	69±5	26±4	22±1	53±2	63±2	27±7	29±7
미로버섯속	<i>Daedalea quercina</i>	49±3	46±3	33±4	32±4	52±0	53±0	20±3	32±5
콩버섯	<i>Daldinia concentrica</i>	39±3	34±3	15±3	22±5	38±1	40±1	18±3	19±4
좀별집버섯	<i>Favolus arcularius</i>	48±2	54±1	17±2	28±1	49±3	55±1	25±3	21±7
팽나무버섯	<i>Flammulina velutipes</i>	38±1	31±1	17±3	13±2	30±3	46±4	18±1	41±4
말굽버섯	<i>Fomes fomentarius</i>	45±3	66±4	21±5	33±4	48±5	78±0	24±5	30±2
아까시재목버섯	<i>Fomitella fraxinea</i>	38±2	40±1	11±5	19±4	43±1	52±3	25±2	21±5
소나무잔나비버섯	<i>Fomitopsis pinicola</i>	42±1	41±0	0±1	11±4	50±0	65±3	0±0	8±0
불로초속	<i>Ganoderma applanatum</i>	46±1	52±4	27±3	23±0	47±4	50±3	28±3	30±4
불로초(영지)	<i>Ganoderma lucidum</i>	33±2	44±1	21±2	24±4	41±1	62±1	6±4	15±3
조개버섯속	<i>Gloeophyllum abietinum</i>	67±1	78±3	28±3	32±2	55±1	70±0	28±2	32±2
잎새버섯	<i>Grifola frondosa</i>	61±1	57±4	29±6	39±9	87±0	98±0	24±1	39±3
-	<i>Hypocreah citrinan var citrina</i>	51±1	72±0	18±5	25±3	74±0	86±3	21±1	30±5
-	<i>Hypocreah lactea</i>	57±1	51±3	24±4	30±0	68±0	79±0	19±7	20±1
-	<i>Hypocreah nigricans</i>	57±0	54±2	29±0	36±5	64±1	79±0	38±2	41±2
시루뻔버섯속	<i>Inonotus weiri</i>	62±0	63±3	0±3	11±5	54±1	68±1	20±3	29±4
덕다리버섯	<i>Laetiporus sulphureus</i>	52±2	77±0	19±4	11±3	50±2	58±1	8±4	12±5
표고버섯	<i>Lentinus edodes</i>	54±0	47±0	7±5	2±2	44±4	57±4	0±1	11±1

Table 2. Continued

Korean name <sup>a</sup>	Scientific name	Inhibition (%)							
		Mycelium ext. (ppm) <sup>b</sup>				Broth (ppm) <sup>c</sup>			
		PEP <sup>d</sup>		AChE <sup>e</sup>		PEP <sup>d</sup>		AChE <sup>e</sup>	
5	40	5	40	5	40	5	40	5	40
조개껍질버섯	<i>Lenzites betulina</i>	57±3	82±1	33±1	44±1	50±4	50±3	27±4	27±5
-	<i>Leucogyrophana mollusa</i>	48±3	63±2	13±0	19±2	74±1	89±1	15±0	21±3
큰갓버섯	<i>Macrolepiota procera</i>	51±1	46±3	18±5	13±2	44±0	54±3	15±5	28±3
아교버섯	<i>Merulius tremellosus</i>	68±1	78±2	16±1	23±3	67±0	75±2	13±0	24±1
송곳버섯속	<i>Mycoacia fuscoatra</i>	42±0	68±2	26±3	23±4	56±3	83±2	31±3	38±3
알보리수버섯	<i>Nectria cinnabaria</i>	48±6	52±4	20±5	13±6	57±3	51±3	18±2	12±0
흰살버섯속	<i>Oxyporus latemarginata</i>	47±3	55±0	10±4	15±0	55±3	74±0	14±5	32±0
분홍껍질고약버섯	<i>Peniophora quercina</i>	65±3	69±0	22±4	35±5	84±0	99±0	17±4	32±1
-	<i>Phanerochaete sordida</i>	55±5	57±1	16±2	41±2	86±2	97±0	17±2	32±4
진흙버섯속	<i>Phellinus chrysoluma</i>	73±0	92±0	27±3	45±6	69±0	95±0	25±4	28±2
진흙버섯속	<i>Phellinus laevigatus</i>	47±2	50±1	24±7	29±0	50±2	51±2	24±8	23±0
가는주름버섯속	<i>Phlebia radiata</i>	61±2	67±5	12±4	13±0	64±5	73±3	18±3	20±1
-	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	52±4	63±1	16±6	34±4	68±2	67±4	21±5	40±3
검은비늘버섯	<i>Pholiota adiposa</i>	46±1	45±1	17±2	19±5	40±0	69±2	17±4	22±5
느타리속	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	51±2	45±2	25±3	20±3	58±1	68±2	18±3	31±3
벌집버섯	<i>Polyporus arcularius</i>	40±2	35±2	17±4	16±6	44±2	47±0	10±6	16±2
주걱간버섯	<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	58±1	72±1	18±9	19±5	53±1	56±1	23±3	21±3
-	<i>Rigidoporus vinctus</i>	54±1	59±7	26±5	24±2	52±4	89±2	23±4	27±5
흰데꽃구름버섯	<i>Stereum gausapatum</i>	62±3	70±2	10±7	19±3	53±2	62±2	6±2	14±2
꽃구름버섯	<i>Stereum hirsutum</i>	40±1	39±1	22±3	26±2	36±2	41±3	16±5	30±3
황소비단그물버섯	<i>Suillus bovinus</i>	40±3	30±1	7±5	13±1	28±1	33±2	8±4	15±2
송편버섯속	<i>Trametes versicolor</i>	49±2	54±1	21±6	29±1	59±0	59±0	26±8	38±5
흰목이속	<i>Tremella mesenterica</i>	-	-	-	-	46±1	45±1	24±6	24±4
옻솔버섯속	<i>Trichaptum pergamenum</i>	57±2	57±1	21±4	26±1	57±0	60±2	22±3	28±6
복령	<i>Wolfiporia cocos</i>	58±4	71±1	19±6	21±4	57±0	61±1	20±7	28±6
복령속	<i>Wolfiporia extensa</i>	57±1	52±2	30±1	45±5	72±1	96±1	25±1	27±1
콩고투리버섯속	<i>Xylaria cubensis</i>	46±1	42±0	7±4	11±8	46±2	56±0	8±7	12±6
다형콩고투리버섯	<i>Xylaria polymorpha</i>	53±3	64±3	10±4	18±4	55±1	50±5	15±4	22±4

<sup>a</sup>Named according to reference 23) and 24). Mushrooms which do not have Korean name were presented in genus name.

<sup>b</sup>Liquid mycelial culture was filtered through filter paper. The mycelium was collected and extracted with methanol.

<sup>c</sup>The subsequent filtrate was partitioned with ethylacetate and the ethylacetate soluble fraction was evaporated to dryness.

<sup>d</sup>Prolyl endopeptidase.

<sup>e</sup>Acetylcholine esterase.

(*Grifola frondosa*), *Wolfiporia extensa*, 좀나무싸리버섯 (*Clavicorona pyxidata*) 및 *Phanerochaete sordida*의 배양액이 90% 이상의 저해활성을 나타내었다. AChE에 대하여는 40 ppm의 농도에서 어느 것도 강한 활성을 나타내지 못하였으나 조개껍질버섯(*Lenzites betulina*), *Phellinus chrysoluma*, *Wolfiporia extensa*, *Phanerochaete sordida*의 균사체 추출물과 *Hypocreah nigricans*, *Coriolus azureus*, 팽나무버섯(*Flammulina velutipes*), *Phlebiopsis gigantea* 및 *Bondarzewia montana*의 배양여액 EtOAc 가용성 분획이 40% 정도의 저해활성을 나타내 이들이 항치매제 개발의 천연자원으로서 유용한 것으로 판단되었다.

한편 항 혈전 응고 활성의 지표로는 외인계(extrinsic system)를 검색하는 activated partial thromboplastin times(APTT) assay<sup>17,19</sup>과 thrombin times(TT) assay<sup>20,21</sup>를 설정하였는데 전자는 tissue thromboplastin(혹은 tissue factor)과 Ca<sup>2+</sup>을 통하여 clotting에 소요되는 시간을 측정하는 방법으로 이 방법은 factor

X, V, prothrombin, fibrinogen을 포함한 전반적인 응고계 clotting system)를 검색함으로서 경구용 항혈액응고제 monitor에 범용되는 것으로 알려져 있으며, 후자는 fibrinogen에서 fibrin으로의 전환을 측정하는 검색방법으로 fibrin clot이 생성되는 시간을 측정하여 여러 농도의 thrombin에 대한 clotting time 검량선을 작성하고 활성을 측정하고자 하는 시료를 동일한 방법으로 측정하여 역가를 측정하는 방법이다. 상기의 두 방법이 혈전 생성 억제제를 탐색하기 위한 초기 assay system으로 가장 유용할 것으로 생각되어 이 방법에 의하여 담자균류의 활성을 측정한 결과 강력한 연장효과를 나타내는 담자균류는 없었으나 TT assay에서는 약 550 ppm의 시료농도에서 *Amanita aspera*, *Oxyporus latemarginata*, 분홍껍질고약버섯 (*Peniophora quercina*), 말굽버섯(*Fomes fomentarius*)의 배양여액 EtOAc 추출물과 *Clitocybe clavipes*, *Trametes versicolor*, *Phlebiopsis gigantea*의 균사체 추출물이 혈전 생성에 걸리는 시간을 2배 내지 3배 연장하는 효과를 나타내었다. 그러나 APTT

assay에서는 어느 것도 주목할 만한 효과를 나타내지 못하였다 (Table 3).

한편 잎새버섯, 팽나무버섯의 경우 비교적 우수한 생리활성을 나타내었는데 이들은 재배되고 있는 버섯으로 입수가 용이하고 식용이라는 장점을 가지고 있어 앞으로 기능성 식품의 재료로서 이용할 수 있을 것으로 기대된다. 현재 이들에 대하여 MeOH에 의한 대량추출 및 각종 유기용매에 대한 순차적 분배 추출 후 우선 PEP에 대한 활성을 지표로 하여 활성물질을 추

적하고 있는 중이며 앞으로 담자균류를 이용한 생리활성물질의 개발에 필요한 기초 data를 확립하기 위해서는 보다 다양한 sample의 확보, 다각적인 bioassay의 target 설정 및 screening의 결과를 바탕으로 한 생리활성물질의 추출, 정제, 동정이 필요할 것이다.

또한 현재까지 개발된 항치매제의 후보물질들은 대부분 합성 oligopeptide 또는 그 유도체로서 BBB(blood-brain barrier)를 통과하기 어렵다는 단점이 있었으므로 버섯류의 지용성 분획에

Table 3. Anti-coagulating activity of mycelial cultured Basidiomycetes

Korean name <sup>a</sup>	Scientific name	Inhibition (%)			
		Mycelium ext. (ppm) <sup>b</sup>		Broth (ppm) <sup>c</sup>	
		APTT <sup>d</sup>	TT <sup>e</sup>	APTT <sup>d</sup>	TT <sup>e</sup>
-	<i>Alleurodiscus amorphus</i>	138.1±9.7	71.4±6.9	108.9±9.7	135.6±3.6
광대버섯속	<i>Amanita aspera</i>	106.8±2.9	124.8±8.2	105.3±3.0	194.4±9.2
-	<i>Bondarzewia montana</i>	122.1±8.2	99.3±2.2	145.3±9.9	127.1±9.9
좀나무싸리버섯	<i>Clavicorona pyxidata</i>	131.2±9.9	119.0±9.8	86.4±7.6	101.6±9.8
-	<i>Climacodon septentrionalis</i>	136.1±0.3	132.5±5.2	105.5±8.2	132.0±3.0
깔때기버섯속	<i>Clitocybe clavipes</i>	113.1±6.9	229.4±9.8	109.5±2.2	127.5±9.8
두엄먹물버섯	<i>Coprinus atramentarius</i>	126.3±4.3	152.3±3.6	115.3±5.3	123.6±5.5
동충하초	<i>Cordyceps militaris</i>	112.3±5.3	119.9±8.8	110.0±3.6	132.1±5.5
동충하초속	<i>Cordyceps ophioglossoides</i>	117.3±9.8	112.9±9.7	108.3±9.8	128.8±9.5
구름버섯속	<i>Coriolus azureus</i>	101.1±9.8	69.6±4.3	106.2±8.3	116.8±9.8
띠미로버섯	<i>Daedalea dickinsii</i>	123.6±4.4	140.0±5.8	92.7±5.5	110.1±7.5
미로버섯속	<i>Daedalea querquina</i>	112.3±6.6	131.5±9.8	115.8±5.3	146.7±9.9
콩버섯	<i>Daldinia concentrica</i>	123.2±2.3	125.3±6.6	115.3±8.3	119.9±8.9
좀별집버섯	<i>Favolus arcularius</i>	120.6±9.8	143.3±9.8	96.9±1.6	80.2±5.1
팽나무버섯	<i>Flammulina velutipes</i>	132.3±4.5	156.3±9.9	123.4±5.6	145.6±7.8
말굽버섯	<i>Fomes fomentarius</i>	122.8±9.8	177.8±9.9	123.1±9.9	281.5±9.8
아까시재목버섯	<i>Fomitella fraxinea</i>	125.3±8.8	126.6±9.9	115.3±4.6	115.6±9.8
소나무잔나비버섯	<i>Fomitopsis pinicola</i>	125.0±8.0	181.4±7.1	102.5±3.7	99.3±3.5
불로초속	<i>Ganoderma appianatum</i>	107.4±9.9	93.3±7.8	96.9±9.9	123.3±9.9
불로초(영지)	<i>Ganoderma lucidum</i>	120.3±5.6	132.3±4.5	112.3±4.5	136.9±5.6
조개버섯속	<i>Gloeophyllum abietinum</i>	106.0±6.7	130.9±9.9	109.7±2.1	82.0±4.4
잎새버섯	<i>Grifola frondosa</i>	104.0±9.5	98.4±3.1	104.6±9.6	88.9±8.3
-	<i>Hypocre a citrinan var citrina</i>	128.5±9.9	78.1±5.7	106.7±7.6	76.6±5.8
-	<i>Hypocre a lactea</i>	132.7±9.8	64.1±6.7	102.5±7.2	82.7±4.4
-	<i>Hypocre a nigricans</i>	125.6±9.8	120.6±5.7	95.5±9.7	138.2±9.8
시루뻔버섯속	<i>Inonotus weiri</i>	121.3±4.5	115.3±3.6	112.3±4.5	115.3±5.3
덕다리버섯	<i>Laetiporus sulphureus</i>	106.9±9.9	96.6±4.4	77.3±9.1	105.1±3.6
표고버섯	<i>Lentinus edodes</i>	97.6±3.5	74.7±5.3	77.3±8.6	90.8±3.8
조개껍질버섯	<i>Lenzites betulina</i>	112.3±2.1	80.2±8.2	104.6±9.5	134.3±9.9
-	<i>Leucogyrophana mollusa</i>	115.9±5.6	79.1±9.2	103.2±9.9	65.4±6.2
큰갓버섯	<i>Macrolepiota procera</i>	147.4±9.8	175.0±9.8	95.5±8.5	144.0±9.8
아교버섯	<i>Merulius tremellosus</i>	107.4±8.0	167.2±9.8	84.3±8.6	119.0±9.7
송곳버섯속	<i>Mycoacia fuscoatra</i>	125.3±4.2	122.3±5.3	115.3±4.2	152.3±3.6
알보리수버섯	<i>Nectria cinnabaria</i>	129.9±9.9	95.4±8.5	111.6±4.1	116.0±9.5
환살버섯속	<i>Oxyporus latemarginata</i>	120.0±7.6	184.6±8.5	88.5±8.7	279.1±9.9
분홍껍질고약버섯	<i>Peniophora quericina</i>	104.6±3.1	161.1±8.2	105.3±9.9	211.8±9.9
-	<i>Phanerochaete sordida</i>	124.9±9.9	128.3±8.9	120.1±9.8	111.1±9.7
진흙버섯속	<i>Phellinus chrysoluma</i>	160.0±9.8	127.8±9.9	99.7±4.6	120.3±9.9
진흙버섯속	<i>Phellinus laevigatus</i>	132.0±4.2	125.8±9.8	100.4±6.9	164.9±9.7
가는주름버섯속	<i>Phlebia radiata</i>	132.0±6.6	115.5±5.6	93.4±4.6	117.2±6.9
-	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	87.8±9.8	284.0±9.9	134.8±9.9	104.9±7.0
검은비늘버섯	<i>Pholiota adiposa</i>	107.3±3.6	105.2±3.6	115.3±8.6	120.0±1.5
느타리속	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	119.3±3.1	122.3±8.6	152.3±1.6	119.3±2.3
별집버섯	<i>Polyporus arcularius</i>	112.3±5.6	118.3±8.9	115.3±5.6	114.6±5.6

Table 3. Continued

Korean name <sup>a</sup>	Scientific name	Inhibition (%)			
		Mycelium ext. (ppm) <sup>b</sup>		Broth (ppm) <sup>c</sup>	
		APTT <sup>d</sup>	TT <sup>e</sup>	APTT <sup>d</sup>	TT <sup>e</sup>
주걱간버섯	<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	134.0±9.9	104.1±4.3	97.6±5.5	98.7±7.9
	<i>Rigidoporus vinctus</i>	108.3±7.7	118.8±9.9	101.3±1.4	104.7±9.8
흰테꽃구름버섯	<i>Stereum gausapatum</i>	96.2±9.8	63.2±0.4	95.5±9.8	112.7±9.8
꽃구름버섯	<i>Stereum hirsutum</i>	125.3±2.5	112.3±5.8	118.9±8.6	117.5±6.3
황소비단그물버섯	<i>Suillus bovinus</i>	125.3±4.4	132.3±4.5	133.3±2.3	152.3±4.4
송편버섯속	<i>Trametes versicolor</i>	123.5±4.5	298.2±9.9	99.0±15.7	142.8±2.1
흰목이속	<i>Tremella mesenterica</i>	121.3±2.3	115.3±5.3	112.3±4.6	115.3±5.5
온솔버섯속	<i>Trichaptum pergamenum</i>	131.9±7.8	105.4±8.5	100.4±9.8	147.5±8.2
복령	<i>Wolfiporia cocos</i>	106.7±9.8	121.9±9.8	129.9±9.9	97.4±4.4
복령속	<i>Wolfiporia extensa</i>	90.7±9.5	93.6±9.2	110.2±9.1	124.7±9.9
콩꼬투리버섯속	<i>Xylaria cubensis</i>	110.3±5.5	123.0±4.6	112.0±2.8	145.6±5.5
다형콩꼬투리버섯	<i>Xylaria polymorpha</i>	120.3±1.6	123.3±3.6	142.3±2.3	115.3±3.6

<sup>a</sup>Named according to reference 23) and 24). Mushrooms which do not have Korean name were presented in genus name.<sup>b</sup>Liquid mycelial culture was filtered through filter paper. The mycelium was collected and extracted with methanol.<sup>c</sup>The subsequent filtrated was partitioned with ethylacetate and the ethylacetate soluble fraction was evaporated to dryness.<sup>d</sup>Activated partial thromboplastin times assay. In this assay control time was 54.6 seconds.<sup>e</sup>Thrombin times assay. In this assay control time was 61.2 seconds.

대한 활성물질 탐색으로 BBB를 통과할 수 있는 새로운 type의 항진망, 항치매 선도물질의 획득이 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 1998년도 한국 학술진흥재단 과학기술 기초증점 연구지원 농업과학 연구과제 연구비 지원으로 이루어졌음을 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Suffness, M. and Douros, J. (1982) Current status of the NCI plant and animal product program. *J. Nat. Prod.* **45**, 1-14.
2. Mizuno, T. (1995) Bioactive molecules of mushrooms: food function and medicinal effect of mushroom fungi. *Food Rev. Intern.* **11**, 7-21.
3. Nomoto, K., Yoshikumi, C., Matsunaga, K., Fujii, T. and Takeya, K. (1975) Restoration of antibody-forming capacities by PS-K in tumor bearing mice. *Gann* **66**, 365-374.
4. Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F. (1969) Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Nature* **222**, 637-688.
5. Komatsu, N., Okubo, S., Kikumoto, S., Kimura, K., Saito, G. and Sakai, S. (1969) Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann* **60**, 137-144.
6. Suh, Y.-H. (1992) Molecular biology of Alzheimer's disease. *Saengwhahak nyusu* **12**, 238-241.
7. Nabeshima, T. (1997) The present condition in anti-dementia drug development. *Farumashia* **33**, 1228-1234.
8. Aoyagi, T., Wada, T., Nagai, M., Kojima, F., Harada, S., Takeuchi, T., Takahashi, H., Hirokawa, K. and Tsumita, T. (1990) Prolyl endopeptidase inhibitors. *Experientia* **46**, 94-97.
9. Hardy, J. (1997) Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *TINS* **20**, 154-158.
10. Selkoe, J. D. (1990) Ciphering Alzheimer's disease: The amyloid precursor protein yields new clues. *Science* **245**, 1508-1060.
11. Ishiura, S., Tsukahara, T., Tabira, T., Shimizu, T., Arahata, K. and Sugita, H. (1990) Identification of putative amyloid A-4-generating enzyme as a prolyl endopeptidase. *FEBS Lett.* **260**, 131-134.
12. Shinoda, M., Toide, K., Ohsawa, I. and Kohsaka, S. (1997) Specific inhibitor for prolyl endopeptidase suppresses the generation of amyloid  $\beta$  protein in NG 108-15 cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **235**, 641-645.
13. Bakker, A. V., Jung, S., Spencer, R. W., Vinick, F. J. and Faraci, W. S. (1990) Slow tight-binding of prolyl endopeptidase by benzyloxy-carbonyl-prolyl-proline. *Biochem. J.* **271**, 559-562.
14. Toda, S., Obi, Y., Numata, K., Hamagishi, Y., Tomita, K., Komiyama, N., Kotake, C., Furumai, T. and Oki, T. (1992) Euristatin A and B, new prolyl endopeptidase inhibitors. *J. Antibiotics* **45**, 1573-1579.
15. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, Jr. V. and Featherstone, R. M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholine esterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **7**, 88-95.
16. Kuno, F., Otoguro, K., Shiomi, K., Iwai, Y. and Omura, S. (1996) Arisugacins A and B, novel and selective acetylcholine esterase inhibitors from *Penicillium* sp. FO-4259. I. Screening, taxonomy, fermentation, isolation and biological activity. *J. Antibiotics* **49**, 742-747.
17. Thompson, A. R. and Harker, L. A. (1983) In 'Manual of hemostasis and thrombosis', 3rd ed., 178-185, F. A. Davis, PA, Philadelphia, USA.
18. Kato, A., Fukunari, A., Sakai, Y., and Nakajima, T. (1997) Prevention of amyloid-like deposition by a selective prolyl

- endopeptidase inhibitor, Y-29794, in a senescence-accelerated mouse. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **283**, 328-335.
19. Verstraete, M. (1990) Heparin and thrombosis: A seventy year long story., 4-11, suppl 1, Haemostasis, Basel.
  20. Baughman, D. J. (1973) Thrombin assay. *Methods Enzymol.* **19**, 145-151.
  21. Rupin, A., Mennecier, P., de Nanteuil, G., Laubie, M. and Verbeuren, T. J. (1995) A screening procedure to evaluate the anti-coagulant activity and the kinetic behaviour of direct thrombin inhibitors. *Thromb. Res.* **78**, 217-225.
  22. KCTC (1996) In 'Catalogue of strains', 4th ed., 283-322, KIST, Korea.
  23. Park, W. -H. and Lee, H. -D. (1991) In 'Colored fungi of Korea', 1st ed., Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul, Korea.
  24. Kim, S. -S. and Kim, Y. -S. (1990) In 'Korean mushrooms', 1st ed., Yupoong Publishing Co., Seoul, Korea.

### Inhibitory Activities of Basidiomycetes on Prolyl Endopeptidase, Acetylcholine Esterase and Coagulation

Hyun-Jin Lee, Jong-Sik Kim,<sup>1</sup> Gun-Young Heo, Kyung-Bok Lee,<sup>2</sup> In-Koo Rhee and Kyung-Sik Song\*(Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Kyungpook National University, 1370, Sankyuk-Dong, Taegu, 702-701, Korea; <sup>1</sup>Department of Chemistry, and <sup>2</sup>College of Medicine, Konyang University, Nae-Dong, Nonsan, 320-711, Chungnam, Korea)

**Abstract:** Fifty six mycelial cultured Basidiomycetes were screened for their inhibitory effects against prolyl endopeptidase(PEP), acetylcholine esterase(AChE) and thrombus coagulation. Out of them, methanolic extract of mycelium and/or ethylacetate(EtOAc) soluble fraction from culture broth of *Peniophora quercina*, *Amanita aspera*, *Phellinus chrysoluma*, *Grifola frondosa*, *Wolfiporia extensa*, *Clavicorona pyxidata* and *Phanerochaete sordida* inhibited more than 90% of PEP activity at 40 ppm. The extracts of *Lenzites betulina*, *Phellinus chrysoluma*, *Wolfiporia extensa*, *Phanerochaete sordida*, *Hypocrea nigricans*, *Coriolus azureus*, *Flammulina velutipes*, *Phlebiopsis gigantea* and *Bondarzewia montana* exhibited about 40% of inhibitory activity against AChE at 40 ppm. In thrombin times assay, the extracts of *Amanita aspera*, *Oxyporus latemarginata*, *Peniophora quercina*, *Fomes fomentarius*, *Trametes versicolor*, and *Phlebiopsis gigantea* delayed coagulation of thrombus about two to three times over control at ca 550 ppm. In activated partial thromboplastin times assay, none of the tested Basidiomycetes showed significant effect.

Key words : prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase, anti-coagulation, Basidiomycetes, mycelial culture, screening  
\*Corresponding author