



남 아프리카인들의 전통적인 약제로 사용되는 추출물의 항균, 항염증, 항 콜린에스테라제 및 변이원성 효과

김 은 경

식품기능연구본부

I. 서론

천연물과 그들의 유도체들은 자연계에서 약 25% 정도를 차지하고 있는 고등식물 유래 물질들과 함께 임상적으로 사용되는 모든 약들의 50% 이상을 차지한다. 염증반응은 백혈구 및 여러 종류의 매개분자 집합체가 국소적인 증가를 보이는 질환이다. 프로스타글란딘은 염증을 포함한 세포와 조직의 반응을 개시하고 조절하는 도처에 산재한 물질이다. 이들의 생합성은 또한 심장질환, 암, clonic adenoma와 알차이머 (Alzheimer's diseases) 질환과 관계가 있다. 여러 감염질환들은 전세계적으로 죽음을 이르게 하는 원인의 선두주자로 꼽힌다. 현재 존재하는 많은 항생제의 임상학적인 효과는 다중 의약품에 저항하는 병원체 (multidrug-resistant pathogens)의 출현에 의해 위협받고 있다. 식물 추출액은 그들 자신만의 환경에서 미생물에 대응하는 항균방어 작용을 부여하는 물질들을 생산해 내는 능력을 가지고 있다. 생태학적인 논리는 이러한 항생제의 근원을 유출한다. 아세틸콜린은 유기물로서 신경전달물질이며 신경말단에

서 분비된다. 이들은 합성효소인 콜린에스테라제에 의해 합성되고, 이 효소는 아세틸 코엔자임 에이 (acetyl coenzyme-A)와 콜린을 기질로 사용하며 cholinergic neuron으로 알려진 특이적인 세포에서 아세틸콜린을 생산한다. 신경전달 방해물 (neurotransmitter disturbances)과 불충분한 cholinergic function은 중심신경계 질환에서 확인되었다. 고전적으로 식물은 인지기능을 증가시키고, 알차이머 질환과 연관된 다른 증상들을 완화시켜 주는데 사용되어 왔다. 남아프리카에서는 많은 수의 사람들 중 특히 농촌지역의 사람들이 심지어 의사들과 진료상담을 한 후에도 전통적인 치료사들 (traditional healer)과 상의를 한다. 그러므로 이러한 치료사들에 의해 사용되는 식물들의 과학적인 평가가 신속히 이루어져야 할 필요성이 있다. 비록 대부분 사용되는 의학용 식물들 (medicinal plants)들의 부작용이 문헌으로 정리가 되어있지 않더라도, 식품으로 사용되는 몇몇 식물들 또는 전통적인 식물 유래 약들은 이미 스크리닝이 되었고, *in vitro* assay에서 변이원성 효과를 보인다고 알려져 있

다. 이러한 점이 전통적인 약용식물들을 장기간 복용함으로써 오는 잠재적인 변이원적 위해성에 관한 경각심을 불러 일으킨다. 본 연구의 목적은 남아프리카 사람들이 전통적으로 향균, 항염증, 항콜라게나제 활성 때문에 사용하는 약들중 몇몇 식물(tree)로부터 얻어진 추출액을 조사 선별하고 이들의 사용에 결과한 잠재적인 돌연변이 효과를 조사하는 것이다.

II. 재료 및 방법

1. Plant material

본 실험에서 조사된 식물종들(tree species)의 선택은 남아프리카인들의 전통적인 의학에 사용된 것들을 근거로 한다 (Table 1). 식물재료 (잎, 뿌리, 나무껍질)는 National Botanical Garden Pietermaritzburg 와 KwaZulu-Natal Pietermaritzburg의 식물원으

로부터 수집하였다. Voucher specimens (표본)들은 KwaZulu-Natal 대학의 Natal Herbarium안에 보관하였다 (Table 1). 수집된 시료들은 말리고, 분쇄한 후 각 각을 에틸아세테이트, 에탄올, 그리고 물을 이용하여 1시간 동안 sonication하는 방법으로 추출하였다. 추출물은 Whatman No. 1 여과지로 여과하고, 상온에서 팬(fan)하에 말렸다.

2. Disc-diffusion assay

Disc-diffusion assay (Rasoanaivo and Ratsimamanga-Urverg, 1993)는 세가지 종류의 그램 양성 세균 - *Bacillus subtilis* ATCC No. 6051, *Staphylococcus aureus* ATCC No. 12600, *Micrococcus luteus* (ATCC No. 4698)와 두 가지 종류의 그램 음성 세균 - *Escherichia coli* (ATCC No. 11775), *Klebsiella pneumoniae* ATCC No. 13883)를 이용해 식물 추

Table 1
Botanical name, family, voucher specimen and traditional uses of tree species screened for biological activity

Botanical name	Family	Voucher specimen	Traditional uses and references
<i>Acacia nilotica</i> (L.) Willd. ex Del. spp. <i>kraussiana</i> (BENTH.) Brenan	Mimosaceae	Eldeen 8	Bark decoctions taken for dry coughs and eye complaints. Roots used in various parts of Africa for respiratory ailments including tuberculosis (Watt and Breyer-Brandwijk, 1962; Khan et al., 1980)
<i>Acacia sieberiana</i> Dc. var. <i>woodii</i> (Burr Davy) Key & Brenan	Mimosaceae	Eldeen 1	Bark infusions used for pain in the back. Leaves used for inflammation (Hutchings et al., 1996)
<i>Albizia dianthifolia</i> (Schumach.) W.F. Wight.	Fabaceae	Eldeen 6	Roots used as drops for inflammation of eyes. Powdered bark taken as snuff for headaches, stomachache and as purgatives (Jenking, 1987; Pujol, 1990; Hutchings et al., 1996)
<i>Combretum kraussii</i> Hochst.	Combretaceae	Eldeen 9	Dry leaves used as dressings for wounds. Leaves and roots used together as a snakebite antidote. Bark infusions administered orally for stomachache and fever (Neuwinger, 1996)
<i>Faidherbia albida</i> (Del.) A. Chev.	Mimosaceae	Eldeen 2	Bark used for stomach disorders. Leaves used for colds and ophthalmia (Watt and Breyer-Brandwijk, 1962; Hutchings et al., 1996)
<i>Ficus sur</i> Forssk	Moraceae	Eldeen 4	Root and bark decoctions are administered for pulmonary tuberculosis, influenza and skin diseases (Watt and Breyer-Brandwijk, 1962; Hutchings et al., 1996)
<i>Prunus africana</i> (Hook. f.) Kalkm.	Rosaceae	Eldeen 10	Bark used as an effective drug for chest pain, diarrhoea and fever. Extracts of powdered bark traditionally drunk as tea for genito-urinary complaints, allergies, inflammation, kidney diseases, malaria, fever and stomachache among many other uses in folkloric African medicine (Pujol, 1990)
<i>Salix mucronata</i> Thunb.	Salicaceae	Eldeen 7	Different plant parts used to treat rheumatism and fever. Europeans in South Africa use a decoction of the leaves for muscular rheumatism and rheumatic fever (Watt and Breyer-Brandwijk, 1962; Rood, 1994)
<i>Terminalia sericea</i> Burchel ex Dc.	Combretaceae	Eldeen 3	Root decoctions used for stomachache, diarrhoea and swollen painful eyes. Bark used for treating diabetes and wounds (Hutchings et al., 1996; Neuwinger, 1996)
<i>Trichilia dregeana</i> Sond.	Meliaceae	Eldeen 5	An infusion of the bark taken for hot pain in the back, stomachache and fever. Root used as a remedy for fever and as a purgative (Watt and Breyer-Brandwijk, 1962)

출액의 항균활성을 측정하는데 사용하였다. 기본 배지는 살균한 Mueller-Hinton (MH) agar (Biolab) 10 ml을 살균된 페트리디쉬 (9 cm)에 10 ml를 붙인다. 녹아있는 살균된 MH를 48 °C로 유지시키고, 검사 미생물이 10^6 - 10^8 /ml 되는 액체배지를 MH 배지에 접종하고, 이것을 위에서 제조된 기본 배지에 붓는다. 식물 추출액 10 μ l를 6 mm (Whatma No.3) filter paper disc 위에 넣는데, 이 농도는 disc당 1 mg의 식물추출물 양에 해당한다. Disc는 공기 중에 말린 후, agar 표면에 올린다. 각 각의 추출물은 4 반복하여 테스트하였고, 대조군으로 neomycin disc (0.2 mg/ml)을 두었다. Plate는 상온에서 18 hr 배양하였다. 항균활성은 neomycin 표준품에 의해 생성된 저해환에 대해 식물추출물에 의해 생성된 저해환의 비율 (ratio)로서 표현하였다.

3. Micro-dilution antibacterial assay

Eloff (1998)에 의해 설명된 연속적인 희석기법은 96 well micro plates를 사용하였다. 항균활성을 위한, 최소 저해농도 (MIC, minimum inhibitory concentration)는 4가지 종류의 세균 - 2 종류의 그램 양성 세균인 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*와 2종류의 그램 음성세균인 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* 배양액 2 ml 씩을 준비하고, 37 °C water bath에 넣어 하루 밤 동안 방치하였다. 배양액을 멸균된 MH broth에 희석하였다(1ml bacteria / 50 ml MH). 물 추출물은 멸균된 증류수에, 유기 추출물은 에탄올에 각각 50 mg/ml의 농도가 되도록 다시 현탁하였다. 각각 4 종류의 세균들이 사용되기 위하여, 100 μ l의 현탁된 추출물들은 살균된 96-well micro plate상에서 살균된 증류수 100 μ l로 2배 연속 희석되었다. 세균에 대한 positive control로서 neomycin (Sigma) 0.1 mg/ml도 같은 방법으로 희석되었다. 각각의

100 μ l의 세균 배양액이 well에 첨가되었다. Plate는 덮개를 하고 37 °C에서 하루 밤 동안 배양하였다. 미생물 성장을 지표하기 위하여 0.2 mg/ml *p*-iodonitrotetrazolium violet (INT) 50 μ l를 각각의 well에 첨가하고, 37 °C에서 30분간 반응시켰다. 미생물 성장은 붉은 색깔로 표시되었으며, 한편 clear well은 시험하는 물질에 대한 저해를 나타내는 것이었다.

4. Cyclooxygenase assays

식물 추출액에 의한 프로스타글란딘 생합성 저해는 COX-1과 COX-2 분석방법을 가지고 조사되었다. 기본적인 실험방법은 두 효소에 대한 추출물의 저해 효과를 비교하는 것이다. COX-1 bioassay는 Jäger (1996) 등에 의한 방법으로 수행하였다. COX-1 효소 (ram seminal vesicles로 부터 분리함, Sigma-Aldrich)는 co-factor 용액을 가지고 활성화시켰으며, 얼음에서 5분간 전배양(pre-incubate)하였다. 60 μ l COX-1 효소/co-factor 용액에 20 μ l의 식물 추출액 (20 μ l 수용성 추출용액, 2.5 에탄올 추출용액 + 17.5 μ l 물)를 첨가시키고, 상온에서 5분간 전배양 하였다. [14 C] 아라키돈산 (arachidonic acid) 20 μ l를 테스트 시료에 첨가하고 37 °C에서 10분간 배양하였다. 배양 후에 반응은 2N HCl을 10 μ l 첨가하는 것으로 종결하였다. 0.2 mg/ml carrier 용액인 unlabelled prostaglandins을 4 μ l 첨가하였다. COX-2 분석은 Noreen 등이 (1998) 고안한 방법을 조금 수정한 방법 (Zschocke and van Staden, 2000)을 따랐다. N-terminal 부근에 six-histidine 서열을 함유하는 인간 재조합 COX-2를 Sf 21 세포 안에 있는 Baculovirus overexpression system에서 분리된 것을 Sigma-Aldrich로 부터 구입하였다. Co-factor 용액이 다른 것 만을 (COX-1과 COX-2에는 각각 0.3과 0.6 mg의 아드레날린이 사용되었다) 제외하고는 COX-1 실험방법과 동

일하였다. 각각의 분석에서 4개의 대조군 (control) 이 사용되었다. 2개는 백그라운드로 각각의 효소가 [14 C] 아라키돈산 첨가 전에 HCl로 불활성화되었고, 두개는 solvent blank 였다. 표준품으로서 indomethacin이 첨가되었다 (COX-1 방법에는 5 μ M, COX-2 방법에는 200 μ M). 식물추출물의 percentage 저해는 solvent blank에 대해 시료 존재하의 radioactivity양을 비교 함으로서 계산되었다.

5. Acetylcholinesterase enzyme inhibitory activity

식물 추출물에 의한 아세틸콜린에스테라제 생합성의 저해는 TLC 와 micro-plate assay에 의해 조사되었다. 이들 방법은 Ellman 방법 (Ellman et al., 1961)을 약간 수정하여 사용하였다. 효소활성은 이 효소가 dithiobisnitrobenzoate ion과 반응했을 때 thiocholine으로 부터 생성되는 노란색의 증가를 관찰함으로서 측정되었다. 전기장어 (electric eels, type VI-S lyophilized powder)로부터 acetylthiocholine iodide (ATCI), acetylcholinesterase (AChE)를 구하였고 Sigma-Aldrich로부터 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB)를 구입하였다. 실험에는 다음과 같은 buffer를 사용하였다. - Buffer A : 50mM Tris-HCl, pH 8; Buffer B : 50mM Tris-HCl, pH 8, containing 0.1% bovine serum albumin (BSA); Buffer C : 50mM Tris-HCl, pH 8, containing 0.1M NaCl and 0.02M MgCl₂ · H₂O. TLC 분석을 위해 10 μ l의 식물 추출액과 5 μ l 0.2 mM galanthaminehydrobromide를 TLC plate에 spotting하였고, chloroform : methanol 8 : 2로 전개시켰다. TLC plate는 5mM ATCI와 5mM DTNB in 50 mM Tris-HCl (pH 8)로 silica가 충분히 포화되기 전까지 spray 시켰다. 식물추출물의 효소저해활성은 기질(1mM ATCI in Buffer A), 염색약(1mM DTNB in BufferA) 및 효소

(3U/ml AChE in Buffer A)를 spray 시킴으로써 측정되었다. 2-5 분 후에 AChE 저해 물질에 의한 백색 spot과 함께 노란색 백그라운드가 나타났다. 이들은 모두 5분 안에 관찰되고 기록되었다. False-positive 반응은 TLC plate 위에 spray 하기 전에 기질과 함께 효소를 섞음으로써 제거되었다. Micro-plate assay에는 Opsys MR 96-well micro-plate reader를 사용하였다. 96-well plate에는 25 μ l의 15 mM ATCI in water, 125 μ l의 3 mM DTNB in buffer C, 50 μ l의 Buffer B 그리고 25 μ l의 시료가 첨가되었다. 흡광도는 405 nm에서 매 45초 (5회) 간격으로 측정하였다. 그 후 25 μ l의 0.2 U/ml의 효소가 첨가되었고, 매 45초 (8회) 간격으로 측정하였다. 반응속도도 함께 측정하였다. 기질의 자발적인 가수분해에 의한 어떠한 흡광도 증가도 효소를 첨가한 이후의 속도로부터 효소를 첨가하기 전까지의 반응 비율을 차감해 줌으로서 보정되었다. % 저해는 blank (methanol in Buffer A)에 대한 시료의 반응속도를 비교함으로서 계산되었다.

6. Genotoxicity test

조사된 식물의 잠정적인 변이원성 효과는 Ames test로 측정되었다. Ames assay는 Maron과 Ames (1983) 및 Elgorashi 등 (2003)에 의해 기술된 대로 plate incorporation procedure를 이용하여 *Salmonella typhimurium* strain TA98을 가지고 수행하였다. 100 μ l의 bacterial stock을 20 ml Oxoid Nutrient에 넣고 37 °C 에서 orbital shaker를 이용해 16 시간 배양하였다. 하루 밤 배양한 배양액 0.1 ml을 2 ml top agar(biotin과 histidine이 미량 함유됨)에 0.1 ml 시험용액(식물 추출액, solvent control 및 positive control)과 0.5 ml phosphate buffer를 함께 넣었다. 위의 top agar mixture는 agar plate 표면에 부어졌고, 37 °C에서 48 시간

배양하였다. 배양 후에 복원된 집락군 즉, 변이원 (revertant colonies, mutants)의 숫자를 측정하였다. 각각의 분석에서 모든 배양은 3반복으로 이루어졌고, solvent control에 한해 5반복 하였다. 분석은 2회 반복하였다. Positive control로 2 µg/ml 농도의 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO)를 사용하였다.

III. 결과

1. Antibacterial activity

78개의 에탄올, 에틸아세테이트, 물로 추출한 추출물의 항균활성은 disc-diffusion assay, micro-

dilution assay로 얻었다. 조사된 식물추출물에서, disc-diffusion assay에 의해 그램양성균과 그램음성균 모두에서 80% 정도 항균활성을 나타내었다. 가장 우수한 저해효과는 *Terminalia sericea*의 뿌리를 에탄올로 추출한 것에서 나타났다 (저해환은 그램음성균에서 1.2-2.66, 그램양성균에서 0.6-2.33 mm였다). *Salix mucronata*의 잎, *Acacia nilotica* 나무 껍질 부분, *Terminalia sericea*의 나무껍질부분, *Ficus sur*의 뿌리 부분 등의 물 추출물을 제외하고는 유기용매 추출이 물 추출물보다 더 강한 항균활성을 나타내었다. Micro-dilution assay를 사용하여 얻어진 식물추출물의 MIC값은 Table 2에 나타내었다. 실험한 식물추출물 중에서 60%

Table 2
Antibacterial activity (MIC) of plant extracts (mg ml⁻¹) obtained from trees used in South African traditional medicine as determined by the micro-dilution assay

Plant species	Plant part analysed	Bacteria tested															
		Ethyl acetate extract				Ethanol extract				Aqueous extract							
		Bs	Sa	Ec	Kp	Bs	Sa	Ec	Kp	Bs	Sa	Ec	Kp				
<i>Acacia nilotica</i> spp. <i>kraussiana</i>	Leaf	0.780	1.560	3.125	3.125	0.780	1.560	3.125	3.125	5.00	6.25	>12.5	>12.5				
	Bark	0.092	0.092	0.780	0.780	0.940	0.092	0.780	0.780	0.780	0.780	6.125	6.125				
	Root	0.195	0.390	0.780	0.780	0.780	0.780	1.560	1.560	2.500	0.600	6.250	6.250				
<i>Acacia sieberiana</i> var. <i>woodii</i>	Leaf	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5	0.390	3.125	0.780	1.560	0.390	0.780	1.560	0.390				
	Bark	0.780	0.780	0.780	0.780	0.500	0.780	1.170	0.780	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5				
	Root	0.146	0.092	0.092	>12.5	1.170	3.170	3.170	3.170	3.120	1.560	1.560	1.560				
<i>Albizia adianthifolia</i>	Bark	6.250	6.250	12.50	na	3.125	3.125	6.250	6.250	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5				
	Root	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na				
<i>Combretum kraussii</i>	Leaf	0.780	1.56	6.250	6.250	0.510	1.560	6.250	6.250	3.125	3.125	6.250	6.250				
	Bark	0.600	3.125	6.250	9.000	1.300	1.340	1.560	1.560	1.560	1.560	3.125	3.125				
	Root	0.195	0.780	1.560	3.125	0.780	0.780	1.560	0.560	3.125	3.125	3.125	3.125				
<i>Faidherbia albida</i>	Leaf	0.780	6.250	6.250	6.260	0.780	1.560	1.560	3.125	4.000	1.560	3.125	6.250				
	Bark	3.125	3.125	6.250	>12.50	0.580	0.390	4.600	6.250	0.780	6.260	6.250	>12.5				
<i>Ficus sur</i>	Leaf	6.250	6.250	6.250	>12.5	0.780	0.780	3.125	6.250	6.250	6.250	>12.5	>12.5				
	Bark	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5	0.270	0.092	2.180	3.125	1.560	0.580	6.250	6.250				
	Root	0.390	0.092	1.560	1.560	0.580	1.560	3.125	6.250	3.125	0.780	4.600	1.250				
<i>Prunus africana</i>	Leaf	6.250	6.250	3.125	6.125	1.560	2.900	3.125	6.250	3.125	5.000	6.250	6.250				
	Bark	3.125	3.125	6.250	6.250	3.120	1.560	3.125	2.900	2.900	2.900	3.125	6.250				
<i>Salix mucronate</i>	Leaf	4.710	6.250	4.700	6.250	3.125	1.560	3.125	3.125	0.195	0.560	0.540	0.390				
	Bark	2.340	3.125	3.125	6.250	0.580	3.125	3.125	6.250	1.560	6.250	>12.5	>12.5				
	Root	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5	3.125	6.250	6.250	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5				
<i>Terminalia sericea</i>	Bark	1.560	1.560	1.560	1.560	0.780	1.560	3.125	3.125	0.780	0.780	0.780	0.780				
	Root	0.390	1.560	1.560	0.780	1.560	1.560	1.560	1.560	1.560	1.560	1.560	na				
<i>Trichilia dregeana</i>	Leaf	3.123	6.250	6.250	6.250	3.125	1.560	3.125	3.125	3.125	1.560	3.125	3.125				
	Bark	3.125	3.125	3.125	6.250	2.340	1.170	6.250	3.125	>12.5	>12.5	6.250	>12.5				
	Root	6.250	6.250	6.250	6.250	6.250	6.250	6.250	6.250	>12.5	>12.5	>12.5	>12.5				
Neomycin (µg ml ⁻¹)		Bs = 0.098				Sa = 1.5				Ec = 3.1				Kp = 0.78			

Bacteria: Bs, *Bacillus subtilis*; Ec, *Escherichia coli*; Kp, *Klebsiella pneumoniae*; Sa, *Staphylococcus aureus*; MI, *Micrococcus luteus*. na: not active.

정도가 MIC값이 ≤ 1.5 mg/ml이었다. *Acacia sieberiana*의 나무껍질을 에틸아세테이트로 추출한 것과 *Acacia nilotica*의 뿌리 및 나무껍질을 에틸아세테이트로 추출한 것이 0.8 mg/ml 이하 농도에서 그램양성균 및 그램음성균 모두를 저해하였다. *Acacia sieberiana* 잎의 물 추출물은 그램음성균인 *Klebsiella pneumoniae*에 대해 낮은 MIC 값 (0.39 mg/ml)을 나타낸 반면 같은 식물의 뿌리를 에틸아세테이트로 추출한 것은 *Escherichia coli*의 성장을 MIC값 0.092 mg/ml로 저해하였다.

2. Cyclooxygenase activity

COX-1과 COX-2 효소를 저해하는 물질을 스크

리닝하여 평균값 \pm 표준편차로 Table 3에 나타내었다. 식물추출물의 활성은 일반적으로 물 추출물이 유기 용매 추출물보다 활성이 낮다 (Jäger et al., 1996). 효소 저해 활성이 있다고 간주되려면 물 추출물과 유기용매 추출물은 각각 최소 저해가 50%와 70%가 되어야 한다. *Albizia adianthifolia*의 뿌리의 에탄올 및 물 추출물, *Terminalia sericea* 모든 나무껍질 및 뿌리 추출물, *Combretum kraussii*의 뿌리의 에탄올 추출물과 나무껍질의 물 추출물로부터 얻어진 추출물은 오직 COX-1에 대해서만 활성을 가진다. *Trichilia dregeana*의 잎을 에틸아세테이트로 추출한 것은 COX-2에 대해 선택적인 저해 활성을 보인다. 모든 *Acacia sieberiana*의 뿌

Table 3
Inhibition (%) of prostaglandin synthesis by plant extracts (0.25 mg ml^{-1}) obtained from trees used in South African traditional medicine as determined by the cyclooxygenase (COX-1 and COX-2) assays

Plant species	Plant part analysed	Extracts tested (50 mg ml^{-1})					
		COX-1 inhibition (%)			COX-2 inhibition (%)		
		Ethyl acetate	Ethanol	Aqueous	Ethyl acetate	Ethanol	Aqueous
<i>Acacia nilotica</i> spp. <i>kraussiana</i>	Leaf	93 \pm 3.1	96 \pm 1.9	96 \pm 3.1	89 \pm 2.9	89 \pm 2.9	90 \pm 2.7
	Bark	94 \pm 3.0	96 \pm 1.7	97 \pm 5.5	88 \pm 3.1	96 \pm 4.6	96 \pm 1.3
	Root	87 \pm 2.8	91 \pm 2.6	95 \pm 5.2	89 \pm 4.6	94 \pm 3.8	97 \pm 5.5
<i>Acacia sieberiana</i> var. <i>woodii</i>	Leaf	80 \pm 0.8	85 \pm 3.9	61 \pm 2.4	77 \pm 1.1	88 \pm 1.5	50 \pm 3.3
	Bark	81 \pm 5.1	88 \pm 3.6	76 \pm 1.7	70 \pm 4.4	76 \pm 4.9	52 \pm 1.3
	Root	67 \pm 4.0	58 \pm 3.0	40 \pm 2.5	13 \pm 2.3	48 \pm 3.8	48 \pm 4.9
<i>Albizia adianthifolia</i>	Bark	87 \pm 7.4	75 \pm 3.3	65 \pm 4.2	87 \pm 4.4	81 \pm 1.4	58 \pm 4.0
	Root	88 \pm 5.9	90 \pm 3.7	61 \pm 3.1	84 \pm 3.9	22 \pm 3.4	36 \pm 2.9
<i>Combretum kraussii</i>	Leaf	90 \pm 1.9	93 \pm 3.1	71 \pm 1.6	96 \pm 2.7	90 \pm 5.1	52 \pm 3.6
	Bark	97 \pm 2.1	85 \pm 2.9	69 \pm 4.6	90 \pm 1.5	34 \pm 3.8	41 \pm 2.9
	Root	90 \pm 1.2	73 \pm 4.1	60 \pm 3.1	20 \pm 4.0	29 \pm 2.1	39 \pm 2.4
<i>Faidherbia albida</i>	Leaf	80 \pm 5.3	88 \pm 4.4	91 \pm 1.6	81 \pm 2.0	82 \pm 0.9	53 \pm 1.6
	Bark	71 \pm 2.2	82 \pm 5.1	80 \pm 2.6	74 \pm 2.2	76 \pm 2.1	57 \pm 1.0
<i>Ficus sur</i>	Leaf	66 \pm 1.9	15 \pm 1.9	22 \pm 0.9	60 \pm 3.3	24 \pm 4.4	29 \pm 1.5
	Bark	79 \pm 3.1	82 \pm 5.5	89 \pm 4.4	22 \pm 5.2	16 \pm 2.9	19 \pm 4.3
	Root	84 \pm 2.9	80 \pm 3.8	73 \pm 3.1	21 \pm 1.7	13 \pm 7.1	43 \pm 2.2
<i>Prunus africana</i>	Leaf	88 \pm 3.4	90 \pm 2.8	55 \pm 5.2	84 \pm 2.5	84 \pm 4.1	51 \pm 1.0
	Bark	90 \pm 4.1	96 \pm 1.1	60 \pm 3.1	79 \pm 1.9	88 \pm 1.2	58 \pm 2.4
<i>Salix mucronata</i>	Leaf	82 \pm 2.4	80 \pm 3.2	71 \pm 1.1	74 \pm 6.1	78 \pm 2.6	67 \pm 5.7
	Bark	78 \pm 2.1	93 \pm 4.3	83 \pm 4.7	82 \pm 1.1	70 \pm 3.1	56 \pm 2.3
	Root	94 \pm 1.7	87 \pm 2.9	61 \pm 7.8	74 \pm 1.8	77 \pm 6.3	58 \pm 1.1
<i>Terminalia sericea</i>	Bark	90 \pm 3.9	72 \pm 1.8	59 \pm 4.0	41 \pm 3.5	20 \pm 2.7	23 \pm 2.3
	Root	85 \pm 3.2	78 \pm 2.4	55 \pm 2.1	37 \pm 1.6	32 \pm 2.6	28 \pm 6.1
<i>Trichilia dregeana</i>	Leaf	57 \pm 1.1	46 \pm 3.5	25 \pm 3.3	81 \pm 2.1	22 \pm 6.2	17 \pm 6.3
	Bark	78 \pm 0.9	46 \pm 3.0	27 \pm 2.6	19 \pm 1.9	20 \pm 4.1	33 \pm 5.1
	Root	37 \pm 2.4	27 \pm 1.9	22 \pm 4.1	11 \pm 3.7	49 \pm 3.1	13 \pm 3.1

Inhibition obtained (%) is expressed as mean \pm S.D. Percentage inhibition of prostaglandin synthesis by indomethacin (standard) was 80 \pm 1.9% for COX-1 and 69 \pm 2.4% for COX-2.

리 및 *Ficus sur*의 잎을유기용매 및 물로 추출한 것은 COX-1과 COX-2 모두에게 약한 저해활성을 보였다. 물 추출물의 COX-2 저해효과는 일반적으로 유기용매 추출물에 비해 낮았다. 흥미로운 것은 *Acacia nilotica*의 물 추출물은 이러한 사실에서 예외였다. 조사된 나무의 다른 식물부분들 (잎, 뿌리, 나무껍질)로부터 얻어진 식물추출물의 70%가 COX-1과 COX-2 모두에 강한 저해 활성을 가진다는 것은 주목할만하다.

3. Acetylcholinesterase enzyme inhibitory activity

조사된 식물추출물의 아세틸콜린에스테라제의 저해활성은 Table 4에 나타내었다. 조사된 식물추출물 중에서, TLC와 micro-dilution assay 모두에서 아세틸콜린에스테라제에 대해 21% 저해활성을 보였다. 1mg/ml의 농도에서, *Combretum Kraussii*의 잎을 에틸아세테이트로 추출한 것이 가장 높은 저해 활성(96%)을 나타내었다. IC₅₀ 값은0.2 mg/ml이었다. 적당한 저해활성값 (<60%)이 *Acacia nilotica* (잎을 에틸아세테이트와 에탄올로 추출), *Albizia*

adanthifolia (나무껍질을 에탄올로 추출), *Trichilia dregeana* (나무껍질을 에틸아세테이트로 추출)로부터 관찰되었다. 가장 낮은 IC₅₀ 값은 *Combretum kraussii* (0.04 mg/ml)의 나무껍질을 에탄올로 추출한 것으로 부터 얻어졌다. Galanthamine (positive control)의 % 저해는 20 μM 일때 93%였고, IC₅₀ 값은 2 μM 이었다.

4. Ames genotoxicity assay

유도된 복원된 집락균의 수에 근거한 *Salmonella* TA98을 이용해 여러 식물들의 변이원성을 측정하여 결과를 얻었다. 만약 유도된 복원된 집락들이 blank (negative control)의 복원된 집락균의 수에 대해 두배의 숫자가 되면 식물추출액은 변이원성이 있는 것으로 간주하였다. 조사된 어떠한 식물들도 잠정적인 변이원 효과를 나타내지 않았다.

IV. 결론

본 연구에서 조사된 식물 추출물은 여러가지 다양한 그룹의 화합물을 함유하고 있다. Alkaloids, tannins, lactones, triterpenoids, hydroxystilbene

Table 4
Inhibition (percentage and IC₅₀ values) of acetylcholinesterase enzyme activity by plant extracts (1 mg ml⁻¹) obtained from trees used in South African traditional medicine as determined by the micro-plate assay

Plant species	Plant part analysed	Inhibition (%) and IC ₅₀ values Extracts tested (1 mg ml ⁻¹)			
		Ethyl acetate extract	IC ₅₀	Ethanol extract	IC ₅₀
<i>Acacia nilotica</i> spp. <i>kraussiana</i>	Leaf	53 ± 3.7	0.7 ± 0.1	56 ± 6.3	0.5 ± 0.1
	Bark	41 ± 2.1	1.3 ± 0.1	na	-
<i>Acacia sieberiana</i> var. <i>woodii</i>	Root	60 ± 4.3	0.4 ± 0.1	62 ± 4.1	0.4 ± 0.0
<i>Albizia adianthifolia</i>	Bark	61 ± 5.1	0.4 ± 0.2	53 ± 2.2	0.7 ± 0.1
	Root	45 ± 2.1	1.2 ± 0.1	51 ± 3.4	0.9 ± 0.1
<i>Combretum kraussii</i>	Leaf	96 ± 4.6	0.2 ± 0.1	88 ± 3.1	0.2 ± 0.1
	Bark	82 ± 6.1	0.14 ± 0.1	83 ± 4.5	0.04 ± 0.1
	Root	81 ± 4.1	0.2 ± 0.1	82 ± 5.2	0.13 ± 0.0
<i>Salix mucronata</i>	Bark	82 ± 3.9	0.3 ± 0.1	na	-
<i>Trichilia dregeana</i>	Bark	55 ± 4.4	0.8 ± 0.1	na	-

Only the extracts of the six species that showed biological activity are listed. Inhibition (%) of acetylcholinesterase enzyme by galanthamine (20 μM) was 93 ± 3.2% and the IC₅₀ value 2 ± 0.1 μM. na: not active. Inhibition (%) obtained and IC₅₀ values are expressed as means ± S.D.

glycosides 등이 *Combretum*과 *Terminalia* 종에서 발견되었다(Hutchings et al., 1996; McGaw et al., 2000). Albilicin, flavonoids, acetyl histamine, imidazoleacetic acid는 *Albizia adianthifolia*에서 나타났다(Maat and Beyerman, 1983), limonoids는 *Trichilia* 종에 존재한다(Mulholland and Taylor, 1980). Tannins, ethylgalate, Flavonoids, octasanol, β -amyrine, α -betulin은 *Acacia*종에 존재하고, (Ayoub, 1984; Abdelnabi et al., 1992; Neuwinger, 1996). Ferulic esters, terpenoids, phytosterols, amygdalin은 *Prunus Africana*에 존재한다(Hutchings et al., 1996). 이러한 화합물 중, β -glycyrrhetic acid와 다른 유도체들, albilicin, flavonoids, limonoids, α -betulin, β -sitosterol triterpenoids, hydroxystilbene glycoside phytosterols, amygdalin, stilbenoids 등은 항염증과 항균 작용을 동시에 또는 각각 하나씩만 갖는 것으로 알려져 있다(Uberti et al., 1990; Witte et al., 1992; Bruneton, 1995; Hutchings et al., 1996). 이러한 화합물들은 아마도 본 연구에서 항균과 항염증 활성을 위해 조사된 조 추출물에서 나타난 활성과 관련이 있는 것 같다. Tannins은 false positive 항염증활성의 주된 부분에 책임이 있는 것으로 알려져 있다. 그들은 cytoooxygenase 효소를 저해함으로써 프로스타글란딘 합성을 저해하도록 이끄는 단백질과 강하게 결합하는 능력을 가짐으로 인해 고도로 정제된 효소에 영향을 준다(O'Neill and Lewis, 1993). 이러한 현상은 아마도 *Acacia* 종에서 관찰되는 높은 활성을 설명해 줄 수도 있다. 획득된 결과는 그램양성균과 그램음성균 모두에 대해 서로 다른 수준의 활성을 보여주었다. 그램음성균은 많은 수의 감염질환에 책임이 있는데, 이러한 질환은 그들이 특별한 항균화합물의 투과를 불가능하게 하는 lipopolysaccharide를 함유한 독특한 외막을 가지고 있기 때문이다(Clements et al., 2002). 몇몇 식물추출액은 (*Terminalia*와

Acacia 종들) 낮은 MIC 값 (0.092-0.8 mg/ml)을 가지고 그램양성과 그램음성균에 대해 항균활성을 보였다. 이러한 결과는 유망한 항균물질의 존재를 의미하는 것이다. 이러한 결과들은 *Acacia*와 *Terminalia* 종들의 항균성질에 관한 이전의 보고들을 확인하는 것이다(Khan et al., 1980; Moshi and Mbwambo, 2005). Alkaloids는 많은 수의 약학 및 생물학적인 성질을 나타내는 것으로 알려져 있다. 예를 들면 galanthamine은 최근 알차이머 질환을 치료할 수 있는 항 콜린에스테라제 약으로서 임상에서 사용되는 것이 소개되었다. 아세틸콜린에스테라제 저해활성을 보여주는 식물추출물은 서로 다른 타입의 알칼로이드를 포함하는 것으로 보여진다. *Combretum* 종들은 saponartine과 2개의 주요 알칼로이드 및 Comnretine A와 B, betonicine의 stereoisomers를 구성하는 4개의 아미노염기를 가지고 있다고 알려져 있다(Bruneton, 1995). *Arbizia adianthifolia*는 acetylhistrine과 imisazoleacetic acid 그리고 다른 소수의 imidazole 화합물을 생산한다(Hutchings et al., 1996). 알칼로이드 존재는 식물추출물에서 관찰된 아세틸콜린에스테라제 효소활성의 저해를 설명할 수도 있다. 모든 식물추출물은 아세틸콜린에스테라제에 대한 활성을 보였으며, cyclooxygenase에도 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 항염증 약들이 또한 알차이머 질환과 같은 신경퇴화질환의 지연에 사용될 수도 있다는 의견제시를 뒷받침한다(Lopez et al., 2002; Howes and Houghton, 2003). 추출물로부터 얻어진 COX-2의 서로 다른 저해효과에도 불구하고, 대부분의 조사된 식물들은 오직 *Trichilia dregeana*를 제외하고 COX-1에 강한 저해를 보여주었다. COX-1 저해는 위에서 위궤양과 다른 심각한 부작용을 유발하는 프로스타글란딘 생성을 감소시킨다고 보고되어 있다(Wallace and chin, 1997; Henry et al., 2002). 이러한 사실은 만약 이들 식물들을 전통적인 약물로 사용했을 때,

그들이 잠정적으로 부작용을 유발할 수 있다는 것을 의미한다. 전통적인 약물에 대한 불충분한 환자의 인식 또는 부적절한 사용으로 인해 예를 들면 Kampo 같은 전통적인 약물들을 섭취함으로써 알레르기 반응, 복통, 설사, 고열, 위장장애, 두통, 혈뇨, 구토 등의 위해한 약물과의 상호작용의 많은 사례들을 경험할 수 있다(WHO 2004). 비록 조사된 식물들이 항염증과 항균활성을 가지고 있다고 보고되어도, 본 연구에서는 어떤 식물 추출물들은 강한 활성을 보이지 않았다. 그러나 이러한 부정적인 결과가 생리활성 함유물질의 존재가 없거나 식물 자체에 활성이 없다는 것을 의미하는 것은 아니다. 활성화합물은 아마도 작용되는 농도 수준에서 활성을 보이기에선 조 추출물 안에 충분한 양이 없는 것 일수도 있다 (Taylor et al., 2001). 활성의 부재는 많은 양을 사용하여야만 증명될 수 있다(Farnsworth, 1993). 만약 이러한 활성이 충분한 양으로 높게 존재한다면 이들 물질의 양성효과에 대한 길항작용 (antagonistic)과 부정 (negating) 효과를 나타내는 다른 물질들이 존재할 수도 있다 (Jäger et al., 1996). 본 실험에서 항균활성이 전혀 없는 식물추출물들일지라도 실험에 사용되지 않은 다른 세균들에 대해서는 활성을 나타낼지도 모른다 (shale et al., 1999). 몇몇 추출물들은 micro-diffusion assay에서는 미생물의 생육을 억제했으나 disc-diffusion assay에서는 항균 활성을 나타내지 않았다. 이것은 활성물질의 확산이 agar 상에서 영향을 받는 것으로 추측된다. 비록 조사된 모든 식물이 어떠한 잠정적인 변이원성을 보이지는 않았어도, 이것이 안전한 전통약제로서 그들의 사용을 정당화하는 즉, 부작용이 없다는 것을 의미하지는 않는다. 변이기작의 복잡성 때문에 정교하게 고안된 기법을 이용한 약용식물의 변이원성을 정확하게 평가하는 것이 필요하다 (Debnath et al., 1991). 일반적으로 획득된 결과들

은 정제되지 않은 항균과 항염증 약으로서 식물을 전통적으로 사용하는 것과 같은 선상에 놓인다. 그러나 전통적인 치료사들은 그들의 추출물에 절대로 단일 식물을 사용하지 않는다. 많은 경우, 치료의 이득은 식물의 여러 부분을 조합하거나 혼합된 식물을 섭취함으로써 이루어진다 (Etikin, 1986; Taylor et al., 2001). 현대의학과 전통의학은 종종 나란히 길을 가지 절대로 협력하지는 않는다. 전통약제는 원료, 생산방법, 최종생산물질의 품질관리 측면에서 표준화된 방법이 부족하다 (Anand and Nityanand, 1984). 전통약제의 사용은 영적인 것과 정신적인 것에 근거한 마법 같은 신비주의와 무형의 힘에 의존한다. 이러한 것들이 심리학적으로 유효할 수 있더라도, 그들은 과학적으로는 합리화될 수 없다(Addae-Mensah, 1992; Iwa, 1994). 그러므로 약용식물의 약리학적인 스크리닝은 지속적인 전통 식물의 사용과 새롭고 효과적인 안전한 치료약의 잠정적인 근원을 사회에 공급한다는 측면에서 중요한 과제로 남는다.

V. 참고문헌

1. Abdelnabi, O.M., Reisinger, E.C., Reinthaler, F.F., Still, F., Fibel, U., Kreis, G.J., 1992. Antimicrobial activity of *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del. Var. *nilotica* (Mimosaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 37, 77 - 79.
2. Addae-Mensah, I., 1992. Towards a Rational Scientific Basis for Herbal Medicine—A Phytochemist's Two-Decade Contribution. Ghana University Press, Accra, ISBN 9964-3-0203-7.
3. Anand, N., Nityanand, S., 1984. Integrated approach to development of new drugs from plants and indigenous remedies. In: Krogsgaard, P., Christensen, S., Kofod, H. (Eds.), *Natural*

- Products and Drug Development. Munksgaard, Copenhagen, pp. 78 - 93.
- Ayoub, S.M.H., 1984. Polyphenolic molluscicides from *Acacia nilotica*. *Planta Medica* 50, 532 - 540.
 - Balandrin, M.F., Kinghorn, A.D., Farnsworth, N.R., 1993. Plant-derived natural products in drug discovery and development. An overview. In: Kinghorn, A.D., Balandrin, M.F. (Eds.), *Human Medicinal Agents from Plants*, ACS Symposium Series 534. American Chemical Society, Washington, USA, ISBN 0-8412-2705-5, pp. 2 - 12.
 - Bandow, J.E., Brotz, H., Leichert, L.I.O., Labischinski, H., Hecker, M., 2003. Proteomic approach to understanding antibiotic action. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, 948 - 955.
 - Bruneton, L., 1995. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plant*. Intercept, Hampshire, UK, ISBN 2-7430-0028-7.
 - Clements, J.M., Coignard, F., Johnson, I., Chandler, S., Palan, S., Waller, A., Wijkmans, J., Hunter, M.G., 2002. Antibacterial activities and characterization of novel inhibitors of LpxC. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 1793 - 1799.
 - Debnath, A.K., Lopez de Compadre, R.L., Debnath, G., Shusterman, A.J., Hansch, C., 1991. Structure - activity relationship of mutagenic aromatic and hetroaromatic nitro compounds. Correlation with molecular orbital energies and hydrophobicity. *Journal of Medicinal Chemistry* 34, 786 - 797.
 - Elgorashi, E.E., Taylor, J.L.S., Maes, A., van Staden, J., De Kimpe, N., Verschaeve, L., 2003. Screening of medicinal plants used in South African traditional medicine for genotoxic effects. *Toxicology Letters* 143, 195 - 207.
 - Ellman, G.L., Courtney, D., Andies, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7, 88 - 95.
 - Eloff, J.N., 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica* 64, 711 - 713.
 - Etkin, N.L., 1986. *Multidisciplinary Perspectives in Interpretation of Plants Used in Indigenous Medicine and Diet*. Redgrave Publishing Company, New York, pp. 2 - 29.
 - Farnsworth, N.R., 1993. Biological approaches to the screening and evaluation of natural products. In: Rasoanaivo, P., Ratsimamanga-Urverg, S. (Eds.), *Biological Evaluation of Plants with Reference to the Malagasy Flora, Madagascar*, pp. 35 - 43.
 - Gibbons, S., 2003. An overview of plant extracts as potential therapeutics. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 13, 489 - 497.
 - Greenblatt, H.M., Kryger, G., Lewis, T., Silman, I., Sussman, X.L., 1999. Structure of acetylcholinesterase complexed with (-) galanthamine at 2.3 Å resolution. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 463, 321 - 326.
 - Henry, G.E., Momin, R.A., Nair, M.G., Dewitt, D.L., 2002. Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food.

- Journal of Agriculture and Food Chemistry 50, 2231 - 2234.
18. Howes, M.R., Houghton, P.J., 2003. Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 75, 513 - 527.
 19. Hutchings, A., Scott, A.H., Lewis, G., Cunningham, A.B., 1996. *Zulu Medicinal Plants. An Inventory.* University of Natal Press, Pietermaritzburg.
 20. Iwu, M.M., 1994. African medicinal plants in the search for new drugs based on ethnobotanical leads. In: Prance, G.T., Marsh, J. (Eds.), *Ethnobotany and the Search for New Drugs*, Ciba Foundation Symposium 185. Wiley, Chichester, pp. 116 - 129.
 21. Jäger, A.K., Hutchings, A., van Staden, J., 1996. Screening of Zulu medicinal plants for prostaglandin-synthesis inhibitors. *Journal of Ethnopharmacology* 52, 95 - 100.
 22. Jenking, M.D., 1987. *Madagascar: An Environmental Profile.* IUCN, Gland, Switzerland.
 23. Khan, M.R., Ndaalio, G., Nkunya, M.H.H., Wevers, H., Sawney, A.N., 1980. Studies on medicinal plants. Part 1. Preliminary screening of medicinal plants for anti bacterial activity. *Planta Medica Supplement*, 91 - 97.
 24. Lindsey, K.L., Jager, A.K., Raidoo, D.M., van Staden, J., 1999. Screening of plants used by southern African traditional healers in the treatment of dysmenorrhoea for prostaglandin-synthesis inhibitors and uterine relaxing activity. *Journal of Ethnopharmacology* 64, 9 - 14.
 25. Lipsky, P., 1999. The clinical potential of COX-2 specific inhibitors. *The American Journal of Medicine* 106, 51S - 57S.
 26. López, S., Bastida, J., Viladomat, F., Codina, C., 2002. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. *Life Sciences* 71, 2521 - 2529.
 27. Maat, L., Beyerman, H.C., 1983. The imidazole alkaloids. In: Brossi, A. (Ed.), *The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology*, vol. 22. Academic Press, San Diego, pp. 282 - 331.
 28. Mantri, P., Witiak, D.T., 1994. Inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. *Current Medicinal Chemistry* 1, 328 - 355.
 29. Maron, D.M., Ames, B.N., 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research* 113, 173 - 215.
 30. McGaw, L.J., Jager, A.K., van Staden, J., 2000. Anti-bacterial, anthelmintic and anti-amoebic activity in South African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 72, 247 - 263.
 31. Moshi, M.J., Mbwambo, Z.H., 2005. Some pharmacological properties of extracts of *Terminalia sericea* roots. *Journal of Ethnopharmacology* 97, 43 - 47.
 32. Mulholland, D.A., Taylor, D.A.H., 1980. Limonoids from the seed of the Natal mahogany *Trichilia dregeana*. *Phytochemistry* 19, 2421 - 2425.
 33. Neuwinger, H., 1996. *African Ethnobotany Poisons and Drugs Chemistry* (Germany). Chapman and Hall GmbH, D-69469 Weinheim (Bundes Republik Deutschland), ISBN

- 3-8261-0077-8.
34. Noreen, Y., Ringborm, T., Perera, P., Danielson, H., Bohlin, L., 1998. Development of a radiochemical cyclooxygenase-1 and-2 in vitro assay for identification of natural products as inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *Journal of Natural Products* 61, 2 - 7.
35. O'Neill, M.J., Lewis, J.A., 1993. The renaissance of plant research in the pharmaceutical industry. In: Kinghorn, A.D., Balandrin, M.F. (Eds.), *Human Medicinal Agents from Plants*, ACS Symposium Series 534. American Chemical Society, Washington, pp. 48 - 55.
36. Personeni, C.D., Bentley, P.D., Fletcher, R.J., Kinkaid, A., Kryger, B.P., Taylor, A., Taylor, R., Taylor, I., Viner, R., Silman, I., Sussman, X.L., Greenblatt, H.M., Lewis, T., 2001. A structure-based design approach to the development of novel, reversible AChE inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* 44, 3203 - 3215.
37. Pujol, I., 1990. *Naturafrica--The Herbalist Handbook*. Jean Pujol Natural Healers, Foundation, Durban, South Africa.
38. Rasoanaivo, P., Ratsimamanga-Urverg, S., 1993. *Biological Evaluation of Plants with Reference to the Malagasy Flora*, vols. 72 - 83. Napreca, Madagascar, pp. 9 - 43.
39. Rood, B., 1994. *Uit die Veldapteek*. Tafelberg, Uitgewers, Cape Town, South Africa.
40. Shale, T.L., Strik, W.A., van Staden, J., 1999. Screening of medicinal plants used in Lesotho for antibacterial and anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology* 67, 347 - 354.
41. Smith, W.L., De Witt, D.L., 1995. Biochemistry of prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and synthase-2 and their differential susceptibility to NSAIDs. *Seminar in Nephrology* 15, 179 - 194.
42. Taylor, J.L.S., Rabe, T., McGaw, L.J., Jager, A.K., van Staden, J., 2001. Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. *Plant Growth Regulation* 34, 23 - 37.
43. Uberti, E., Martinelli, E.M., Pifferi, G., Gagliardi, L., 1990. HPLC analysis of n-docosyl ferulate in *Pygeum africana* extract and pharmaceutical formulations. *Fitoterapia* 61, 342 - 347.
44. Wallace, J.L., Chin, B.C., 1997. New generation NSAIDs: the benefits without the risks? *Drugs Today* 33, 371 - 378.
45. Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G., 1962. *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and East Africa*. E and S Livingstone Ltd., London, pp. 53 - 54.
46. Witte, L., Ernst, L., Adam, H., Hartman, T., 1992. Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid-containing *Senecio* species. *Phytochemistry* 31, 559 - 565.
47. World Health Organization, 2004. *New Guidelines on the Proper Use of Traditional Complementary and Alternative Medicines*.
48. Zschocke, S., van Staden, J., 2000. *Cryptocarya* species - substitute plants for *Ocotea bullata*? A pharmacological investigation in terms of cyclooxygenase-1 and -2 inhibition. *Journal of Ethnopharmacology* 71, 473 - 478.
- <출처 : J. Ethnopharmacol., 102, 457-464, 2005>