

생약의 파골 세포 분화 저해활성 검색

이준원

배재대학교 과학기술바이오대학 생명유전공학과

Inhibitory Activity of Medicinal Plants against Differentiation of Osteoclasts

Junwon Lee

Department of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon, Korea, 302-735

Abstract – Bone is continuously remodeled by osteoblasts and osteoclasts. Osteoclasts play an important role in bone metabolism by resorbing the bone matrix. Thus, the compounds inhibiting osteoclasts can improve bone diseases such as osteoporosis. The methanol extracts of 159 herbal medicines were screened for the inhibitory activity against differentiation of osteoclasts. Among the tested extracts, Achuranthis Radix and Corydalis Tuber showed relatively strong inhibitory activity against differentiation of osteoclasts, whereas they have no significant effect on proliferation of osteoclasts.

Key words – medicinal plants, osteoclast, osteoporosis, differentiation, Achuranthis Radix, Corydalis Tuber

골은 파골세포 (osteoclast), 조골세포 (osteoblast)와 같은 뼈세포 (bone cell), 고원질 섬유 (collagenous crystal)와 같은 뼈 기질 (bone matrix) 그리고 칼슘과 인과 같은 무기질 성분으로 구성 된 매우 복잡한 조직이다. 이들은 중요 장기의 보호, 골수 (bone marrow), 칼슘 및 대사작용에 필요한 미네랄의 공급을 담당하는 기관이다. 골조직은 지속적으로 재형성되는 활발한 대사조직으로 노화된 뼈는 파골세포 (osteoclast)에 의해 용해되는데 뼈의 표면에 부착하여 산과 분해효소를 분비함으로써 뼈를 구성하는 뼈 기질 (matrix)를 제거한다. 반면에 새로운 뼈의 형성은 조골세포 (osteoblast)가 칼슘과 인을 분비하여 골격을 형성한다. 생체 내에서 이들 세포의 항상성 유지에 의해 일어나는 골흡수와 골형성은 근골격계의 정상적인 구조를 유지하는데 중요하다.^{1,2)}

파골세포 활성이 증가하거나 성숙 파골세포가 조기에 활성화되어 조골세포의 활성에 비해 증가함으로써 일어나는 골대사 질환의 대표적인 예인 골다공증 (osteoporosis)은 총 골질량 (total bone mass)이 감소하는 증상을 말한다. 이외에도 유방암과, 전립선암 등의 종양이 뼈로 전이된 뼈 전이암, 원발성 (primary)으로 뼈에 생성된 종양 (예, 다발성 골수종), 류마티스성 또는 퇴행성 관절염, 치주질환을 야기하는 세균에 의해 발생하여 치조골의 파괴가 일어난 치주질환, 각종 유전적인 소인에 의해 발생하는 파게트 질병 (Paget's disease)

등이 있다. 이러한 골대사 질환은 생체 내에서 호르몬과 물리적인 스트레스 등의 요인들에 의해 파골세포와 조골세포 간의 상호작용에 불균형이 초래되어 발생한다.¹⁾ 특히, 노화와 관련된 골질환이나, 여성들의 폐경에 의해 발생하는 골다공증은 골형성 보다는 파골세포의 골 흡수 활성 증가가 주된 원인이다.³⁾

파골세포는 조혈모세포 (hematopoietic precursor)에서 유래하며 단핵/대식세포 (monocyte/macrophage)로부터 분화된다. 일반적으로, macrophage stimulating factor (M-CSF)와 tumor necrosis factor (TNF)-related activation-induced cytokine (TRANCE, RANKL 또는 ODF) 두 가지 중요한 사이토카인에 의해 조혈모세포에서 파골세포로 분화된다.⁴⁾ 조골세포에서 분비되는 TRANCE는 Mi transcription factor (Mif), PU.1 그리고 nuclear factor of activated T cells c1 (NFATc1)과 같은 전사인자들의 발현과 활성을 유도하여 파골세포의 분화를 촉진시킨다고 알려져 있다.⁵⁾ 이러한 파골세포 분화의 중요한 system은 기본적인 골대사의 정보를 제공해주고 있으며, 뼈 질환 치료를 위한 신약후보 물질을 발굴하는 데에 중요한 단서를 제공해주고 있다.

최근 고령 인구가 증가하여 골질환 환자의 증가추세가 선진국 수준에 도달하고 있다. 골질환 질병들의 치료방법으로서 완전히 확립된 것은 없으며 일반적으로 뼈 손실이 더 이상 증가하지 않고 진행속도를 지연시키는 방법을 사용하고 있다. 현재 골다공증 치료제로 사용되고 있는 알렌드로네이

*교신저자 (E-mail): junwon@pau.ac.kr
(Tel): 82-42-520-5914

트와 같은 비스포스포네이드 (bisphosphonate) 계열의 약제들은 사용의 번거로움과 낮은 약효로 인해 사용에 많은 제한이 따르고 있다. 기존의 치료제는 부작용이 심해서 호르몬 대체요법인 에스트로겐 처방이 시도되어 왔으며 뼈 손실의 진행속도를 지연시켜 골량 유지에 효과적인 것으로 보고되고 있다. 그러나, 10년 이상의 장기 치료 시에는 유방암, 고혈압 발생 빈도의 증가 등의 부작용의 위험이 있는 것으로 보고되고 있다.⁶⁾ 최근에는 폐경기 여성을 대상으로 이소플라빈 (isoflavones)과 대두 단백질을 이용하여 골다공증을 치료하려는 연구,^{7,8)} quercetin과⁹⁾ curcumin¹⁰⁾의 파골세포 골흡수 억제 효과 연구 등 부작용이 적은 식품과 한약 소재를 이용한 골다공증 저해제 검색이 이루어 지고 있다.

따라서 본 실험에서는 현재까지 미비한 천연물 유래의 생약에서 파골세포 분화 저해제를 개발해 보고자 일차로 methanol 추출물에 대한 마우스의 골수세포로부터 분화하는 파골세포의 저해 효과를 검증하였다.

재료 및 방법

시약 - 파골세포의 분화에 사용되는 사이토카인인 M-CSF와 RANKL은 Pepro Tech (England)에서 구입하여 사용하였으며 α -Minimal essential medium (MEM), penicillin-streptomycin solution (5000 units/mL penicillin; 50000 μ g/mL streptomycin), fetal bovine serum (FBS)는 Gibco (Grand Island, NY, U.S.A)사에서 구입하였다.

파골세포의 분화 - 마우스 파골세포는 골수세포로부터 분리한다.¹¹⁾ 간단하게 설명하면, 6주령 ICR 수컷 마우스의 뒷다리 부위의 경골 (tibia)을 무균적으로 분리하였다. 분리한 경골에서 연골을 깨끗이 제거하고 주사기를 골수에 주입하여 골수세포를 얻은 후에 원심분리 (1500 rpm, 5 min)하여 상층액은 버리고 침전된 세포성분을 획득하였다. 10% α -MEM으로 세포를 현탁하고, M-CSF를 20 ng/mL로 넣어준 후, 2일 동안 배양한다. 전체 세포를 수거하고 이 세포를 파골세포로 분화시키기 위하여 RANKL 100 ng/mL, M-CSF를 30 ng/mL이 되게 첨가한다. 여기에 생약으로부터 얻은 시료들을 첨가하여 3일 동안 배양하고 TRAP solution assay와 MTT 방법을 수행하였다.

TRAP 활성 측정 - 골수세포에 M-CSF를 20 ng/mL로 넣어준 후, 2일 동안 배양한 세포를 96-well plate에 각 well당 2×10^4 cells/200 μ L로 분주하고 RANKL과 생약 시료를 처리하여 3일간 배양한다. 배지를 제거하여 PBS로 세척한 다음 substrate solution (1.36 mg/mL 4-nitrophenyl phosphate disodium salt, 10 mM tartrate, 50 mM citrate buffer)을 100 μ L씩 분주하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 새로운 plate에 50 μ L씩 분주하고 0.1 N NaOH로 반응을 중지시켜 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. TRAP활성은 생약

시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.

세포독성 측정 - 생약 시료의 세포독성을 측정하기 위해 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide (MTT) assay를 실시하였다. 골수세포에 M-CSF를 20 ng/mL로 넣어준 후, 2일 동안 배양한 세포를 96-well plate에 각 well당 2×10^4 cells/200 μ L로 분주하고 24시간 배양 후 배지를 제거한다. 여기에 농도 별 생약 추출물이 혼합된 α -MEM 배지 200 μ L를 각 well에 첨가하여 48 시간 배양한다. MTT (5 mg/mL) 용액 10 μ L를 각 well에 첨가하고 5시간 동안 배양한다. 배양 후에 상층액을 제거하고 각 well에 100 μ L의 DMSO를 첨가하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포독성은 대조군의 흡광도에 대한 시료의 흡광도를 백분율로 나타내었다.

생약 및 생약 시료의 조제 - 본 실험에 이용된 생약은 생명공학연구원 자생사업단에서 조제한 stock solution 시료를 구입하여 사용하였다. 건조한 시료 50 g을 methanol로 실온에서 7일간 추출한 후 40°C 이하에서 감압 농축하여 10 mg/mL 농도가 되도록 100% methanol에 녹여 stock solution으로 만들어진 시료를 일차 탐색에 사용하였다.

결과 및 고찰

159종의 식물 생약 methanol 추출물을 이용하여 파골세포 분화 표지 효소인 TRAP 활성 저해를 조사하였다. 일차적으로 생약 시료를 최종농도 20 μ g/mL에서 검색한 결과 Achuranthis Radix (우슬), Aconiti Jaluensis Tuber (초오), Cimicifugae Rhizoma (승마), Corydalis Tuber (현호색), Cynomorii Herba (쇄양), Cyperi Rhizoma (향부자), Gossypii Semen (면화자), Meliae Fructus (천련자)에서 50% 이하의 TRAP 활성을 나타내었고 그 중에서 특히 우슬, 현호색, 면화자는 각각 15%, 12%, 11%의 강한 저해활성을 보였다. (Table I) 일차 검색결과 선정된 생약 시료 8종의 methanol 추출물을 희석하여 최종 농도 10 μ g/mL, 5 μ g/mL, 2 μ g/mL에서 파골세포 분화 저해와 세포 독성을 측정한 결과 우슬, 현호색, 면화자는 5 μ g/mL 최종농도에서도 각각 49%, 35%, 32%의 강한 저해활성 효과를 나타냈다. 우슬과 현호색은 각 농도에서 세포 독성이 나타나지 않았으나, 면화자는 10 μ g/mL, 5 μ g/mL 최종농도에서 세포독성을 보였다. 초오, 승마, 쇄양, 천련자에서는 각 농도에서 50% 이상의 TRAP 활성을 나타냈으며, 세포독성은 나타나지 않았다. (Table II, III)

2차 저해활성 검색을 통해 TRAP 저해 활성을 보인 생약인 우슬은 *Achyranthes japonica* NAKAI (비름과)에 속하는 여러해 살이풀인 쇠무릎의 뿌리이다. 토우슬의 알코올 추출물은 쥐 뒷다리의 부종 (급성염증 반응)을 억제하고, 육아종의 생성을 억제한다고 보고되었다.¹²⁾ 현호색은 양귀비꽃과

Table I. TRAP activity of osteoclasts differentiation by the methanol extracts of natural plants

Samples		TRAP activity (%) ^a	
1	Acanthopanax Cortex	오가피	- ^b
2	Achuranthis Radix	우슬	15
3	Aconiti Jaluencis Tuber	초오	26
4	Aconiti Tuber	천오	-
5	Acori Graminei Rhizoma	석창포	-
6	Actinidiae Caulis	미후(도)등	-
7	Actinidiae Fructus	미후도	-
8	Ailanthi Radicis Cortex	저근백피	-
9	Akebiae Caulis	목통	-
10	Alismatis Rhizoma	택사(토)	-
11	Allii tuberosi Semen	구자	-
12	Aloe	노회	-
13	Alpiniae Officinari Rhizoma	고량강	-
14	Alpiniae Semen	익지인	-
15	Amomi Tsao-ko Fructus	초과	-
16	Amomi Cardamomi Fructus	백두구	-
17	Amomi Semen	사인	-
18	Ampelopsis Radix	백렴	-
19	Anemarrhenae Rhizoma	지모	-
20	Angelicae Dahuricae Radix	백지	-
21	Angelicae Gigantis Radix	당귀	-
22	Angelicae koreanae Radix	강활	-
23	Angelicae tenuissimae Radix	고본	-
24	Araliae Cordatae Radix	독활	-
25	Arctii Semen	우방자	-
26	Arecae Pericarpium	대복피	-
27	Arecae Semen	빈랑	-
28	Aristolchia Fructus	마두령	-
29	Armeniacae Semen	행인(거피)	-
30	Artemisiae Argyi Folium	애엽	-
31	Artemisiae Iwayomogii Herba	인진	-
32	Asiasari Radix	세신(근)	-
33	Asparagi Tuber	천문동	-
34	Asteris Radix	자완	-
35	Astragali Radix	황기(토)	-
36	Atractylodis Rhizoma	창출	-
37	Aurantii Fructus	지각	-
38	Aurantii Nobilis Pericarpium	진피	-
39	Bambusae Caulis in Taeniam	죽여	-
40	Bambusae Folium	죽엽	-

Table I. Continued

Samples		TRAP activity (%) ^a	
41	Belamcandae Rhizoma	사간	-
42	Benincasae Semen	동과자	-
43	Biotae Orientalis Folium	측백	-
44	Bletillae Rhizoma	백급	-
45	Broussonetiae Fructus	저실자	-
46	Buddlejae Flos	밀몽화	-
47	Bupleuri Radix	시호	-
48	Caesalpiniae Lignum	소목	-
49	Cannabis Semen	마자인	-
50	Carthami Flos	홍화	-
51	Carthami Semen	홍화자	-
52	Caryophylli Cortex	정향수피	-
53	Caryophylli Flos	정향	-
54	Cassiae Semen	결명자	-
55	Celosiae Semen	청상자	-
56	Chaenomelis Fructus	모과(목과)	-
57	Chaenomelis Langenariae Radix	해당근	-
58	Chelidonii Herba	백굴채	-
59	Chrysanthemi sibirici Herba	구절초	-
60	Chrysanthemi Flos	감국	-
61	Cibotii Rhizoma	구척(금모구척, 초)	-
62	Cimicifugae Rhizoma	승마	31
63	Cinnamomi Ramulus	계지	-
64	Cistanchis Herba	육종용	-
65	Citri tangerinae Semen	귤핵	-
66	Cnidii Rhizoma	천궁(토)	-
67	Coicis Semen	의이인	-
68	Coptidis Rhizoma	천황련	-
69	Corni Fructus	산수유	-
70	Corydalis Tuber	현호색	12
71	Crassirhizomae Rhizoma	관중	-
72	Curculiginis Rhizoma	선모	-
73	Curcumae longae Rhizoma	강황	-
74	Curcumae longae Radix	울금	-
75	Cuscutae Semen	토사자	-
76	Cynanchi Radix	백미	-
77	Cynomorii Herba	쇄양	44
78	Cyperi Rhizoma	향부자	46
79	Dalbergiae odoriferae Lignum	강진향	-
80	Dendrobii Herba	석곡	-

Table I. Continued

Samples		TRAP activity (%) ^a
81	Desmodii Herba	광금전초 -
82	Dioscoreae Rhizoma	산약 -
83	Dipsaci Radix	천속단 -
84	Drabae Semen	정력자 -
85	Drynariae Rhizoma	골쇄보 -
86	Echinopsis Radix	누로 -
87	Ecliptae Herba	한련초 -
88	Ephedrae Herba	마황 -
89	Ephedrae Radix	마황근 -
90	Equiseti Herba	목적 -
91	Eriobotryae Folium	비파엽 -
92	Erycibae Caulis	정공등 -
93	Eucommiae Folium	두충엽 -
94	Eucommiae Ramulus	두충지 -
95	Euphorbiae kansui Radix	감수 -
96	Evodiae Fructus	오수유 -
97	Fagopyri Semen	교맥 -
98	Farfarae Flos	관동화 -
99	Forsythiae Fructus	연교 -
100	Fraxini Cortex	목진피 -
101	Gardeniae Fructus	치자 -
102	Gastrodiae Rhizoma	천마 -
103	Gentianae Macrophyllae Radix	진범(=진교) -
104	Ginseng Radix	인삼 -
105	Gleditsiae Fructus	조협 -
106	Gleditsiae Semen	조각인 -
107	Gleditsiae Spina	조각자 -
108	Glycine Semen nigra	흑두 -
109	Glycyrrhizae Radix	감초 -
110	Gossypii Semen	면화자 (=면실자) 11
111	Hedyotidis Diffusae Herba	백화사설초 -
112	Hordei Fructus Germinatus	맥아 -
113	Hoveniae Lignum	지구자나무 -
114	Hydnocarpi Semen	대풍자 -
115	Illicii Veri Fructus	팔각향(대회향) -
116	Imperatae Rhizoma	모근(백모근) -
117	Inulae Flos	선복화 -
118	Inulae Radix	토목향 -
119	Isatidis Radix	판랍근 -
120	Kochiae Fructus	지부자 -
121	Ledebourieliae Radix	방풍 -
122	Leonuri Herba	익모초 -
123	Licii Radicis Cortex	지골피 -

Table I. Continued

Samples		TRAP activity (%) ^a
124	Ligustici Rhizoma	천궁 -
125	Ligustri Fructus	여정실 -
126	Lilii Bulbus	백합 -
127	Linderae Ramulus	황매목 -
128	Lini Semen	아마자 (아마인) -
129	Lithospermi Radix	자초 -
130	Longanae Arillus	용안육(말린 것) -
131	Lonicerae Flos	금은화 -
132	Lonicerae Folium	인동 -
133	Loranthi Ramulus	상기생 -
134	Luffae Fructus Retinervus	사과락 -
135	Lycii Fructus	구기자 -
136	Lycopi Herba	택란 -
137	Lygodii Spora	해금사 -
138	Lysimachiae Foenumgraeci Herba	영릉향 -
139	Magnoliae Cortex	후박 -
140	Magnoliae Flos	신이(화) -
141	Malvae Semen	동규자 -
142	Massa Medicata Fermentata	신곡 -
143	Maydis Stigma	옥촉서예 (옥밭) -
144	Melandrii Herba	왕불유행 -
145	Meliae Cortex	고련피 -
146	Meliae Fructus	천련자 47
147	Melonis Calyx	과체 -
148	Menthae Herba	박하 -
149	Mori Folium	상엽 -
150	Mori Fructus	상심자 -
151	Mori Cortex Radicis	상백피 -
152	Morindae Radix	파극천 (거심) -
153	Moutan Cortex Radicis	목단피 -
154	Mucunae Caulis	계혈등 -
155	Mume Fructus	오매 -
156	Myristicae Semen	육두구 -
157	Nardostachyos Rhizoma	감송향 -
158	Nelumbinis Semen	연자육 -
159	Nepetae Spica	형개 -

^aFinal concentration: 20 µg/ml.^b:- over than 50% TRAP activity.

Table II. TRAP activity of osteoclasts differentiation by each concentration of natural plants

Samples	Concentration ^a		
	10	5	2
Achuranthis Radix (우슬)	28	49	^b
Corydalis Tuber (현호색)	24	35	-
Gossypii Semen (면화자)	20	32	-
Aconiti Jaluencis Tuber (초오)	-	-	-
Cimicifugae Rhizoma (승마)	-	-	-
Cynomorii Herba (쇄양)	-	-	-
Meliae Fructus (천련자)	-	-	-
Cyperi Rhizoma (향부자)	-	-	-

^aUnit: µg/ml.^b: over than 50% TRAP activity.**Table III.** Survival rate of osteoclasts differentiation by each concentration of natural plants

Samples	Concentrations ^a		
	10	5	2
Achuranthis Radix (우슬)	^b	-	-
Corydalis Tuber (현호색)	-	-	-
Gossypii Semen (면화자)	35	58	-
Aconiti Jaluencis Tuber (초오)	-	-	-
Cimicifugae Rhizoma (승마)	-	-	-
Cynomorii Herba (쇄양)	-	-	-
Meliae Fructus (천련자)	-	-	-
Cyperi Rhizoma (향부자)	-	-	-

^aUnit: µg/ml.^b: over than 90% survival.

에 속하는 다년생초본으로서 중추신경에 대한 진통 작용을 하며, 성분인 protopine은 acetylcholinesterase의 활성을 억제하여 기억력 감퇴를 개선한다고 보고 되었다.¹³⁾ 면화자는 목화 (*Gossypium nanking Meyen*) 씨로 주요성분과 약리학적인 효능에 대하여는 잘 알려져 있지 않으나 여성의 자궁출혈과 대하에 좋고 유즙 분비를 촉진시키는데 효험이 있다고 알려져 있다.¹⁴⁾

하지만 새로운 골질환 저해제의 개발에 있어서 천연물 유래 저해물질에 대한 연구는 아직까지 미비한 상태이다. 그러므로 이 같은 생약에 대한 파골세포 분화 저해 물질의 검색은 향후에 파골세포가 관여하여 뼈를 파괴하는 골다공증, 류마티스성 관절염 등의 치료 약물들의 개발을 위한 기초연구로 활용될 수 있을 것이다.

결 론

생약 159종의 추출물로부터 파골세포 분화 표지 효소인 TRAP 활성 저해를 조사하였다. 그 결과 우슬, 현호색, 면화자, 초오, 승마, 쇄양, 향부자, 천련자에서 강한 TRAP 활성 저해 효과를 나타내었다. 2차 검색과 세포독성 측정 결과 우슬과 현호색을 최종 선정하였고 각각의 추출물을 chloroform, butanol, H₂O 층으로 용매 분획을 수행하여 파골세포 저해 활성을 갖는 물질의 분리를 수행하고 있다.

감사의 글

본 논문은 농림수산식품부 농림기술 관리센터의 2008년도 제 2차 농림기술개발 사업 (108164-03-1-HD110) 연구비 지원에 의해서 수행된 결과로 연구비 지원에 감사 드립니다.

인용문헌

- Roodman, G. D. (2004) Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med* **350**: 1655-1664.
- Lorenzo, J., Horowitz, M. and Choi, Y. (2008) Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev* **29**: 403-440.
- Del, Fattore, A., Teti, A. and Rucci, N. (2008) Osteoclast receptors and signaling *Arch Biochem Biophys* **473**: 147-160.
- Teitelbaum, S. L. (2000) Bone resorption by osteoclasts. *Science* **289**: 1504-1508.
- Lee, J., Lee, S. H., Choi, Y. and Kim, N. (2007) The negative role of IdS in osteoclastogenesis. *Adv Exp Med Biol* **602**: 23-31.
- Yasui, T., Uemura, H., Takikawa, M., and Irahara, M. (2003) Hormone replacement therapy in postmenopausal women. *J Med Invest* **50**: 136-145.
- Breitman, P. L., Fonseca, D., Cheung, A. M. and Ward, W. E. (2003) Isoflavones with supplemental calcium provide greater protection against the loss of bone mass and strength after ovariectomy compared to isoflavones alone. *Bone* **33**: 597-605.
- Potter, S. M., Baum, J. A., Teng, H., Stillman, R. J., Shay, N. F. and Erdman, J. W. Jr. (1998) Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* **68**: 1375S-1379S
- Wattel, A., Kamel, S., Prouillet, C., Petit, J. P., Lorget, F., Offord, E. and Brazier, M. (2004) Flavonoid quercetin decreases osteoclastic differentiation induced by RANKL via a mechanism involving NF kappa B and AP-1. *J Cell Biochem* **92**: 285-295
- Bharti, A. C., Takada, Y. and Aggarwal, B. B. (2004) Curcumin (diferuloylmethane) inhibits receptor activator of NF-kappa B ligand-induced NF-kappa B activation in osteoclast

- precursors and suppresses osteoclastogenesis. *J Immunol* **172**: 5940-5947
11. Lee, J., Kim, K., Kim, J. H., Jin, H. M., Choi, H. K., Lee, S. H., Kook, H., Kim, K. K., Yokota, Y., Lee, S. Y., Choi, Y. and Kim, N. (2006) Id helix-loop-helix proteins negatively regulate TRANCE-mediated osteoclast differentiation. *Blood* **107**: 2686-2693.
12. Vetrivelvan, T. and Jegadeesan, M. (2003) Effect of alcohol extract of *Achyranthes aspera* Linn. on acute and subacute inflammation. *Phytother Res* **17**: 77-79.
13. Kim, S. R., Hwang, S. Y., Jang, Y. P., Park, M. J., Markelonis, G. J., Oh, T. H. and Kim, Y. C. (1999) Protopine from *Corydalis ternata* has anticholinesterase and antiamnesic activities. *Planta Med* **65**: 218-221.
14. 생약학 (2006) 생약학교재편찬위원회. 동명사, 서울.

(2009년 3월 10일 접수)