

보기, 보양, 온리약에 의해 유발된 이온전류와 흥분성 신경전달물질인 glutamate 수용체와의 관계

Relationship of *Bogi*, *Boyang*, *Onri* herbs activated ion currents and excitatory neurotransmitter, glutamate, receptor

이충열* · 김연정** · 김창주**

1. 서론

이 실험은 한의학에서 보기(補氣), 보양(補陽), 온리약(溫裏藥)으로 분류하고 있는 약물들의 작용상 차이를 객관적으로 검증해 보기 위해 계획되었다. 즉, 한의학의 사기(四氣)이론에 따라 한약의 성질을 음양적 관점에서 구분할 때 크게 한성(寒性)과 열성약(熱性藥)으로 나눌 수 있다. 이 경우 보기, 보양, 온리약은 모두 열성약의 범주에 속한다. 하지만 한의학에서 보기, 보양, 온리약은 같은 열성약의 범주에 속하면서도 서로 다른 인체의 병증을 개선하기 위해 운용된다. 그러므로 한의학에서의 약물 분류가 실제상의 어떤 구체적인 작용과 연결되어 있는 의미 있는 분류라면 이들 약물들의 작용 사이에도 어떤 차이가 나타나야한다. 이 실험은 한의학의 이론을 객관화하는 간접적인 방법으로 우선 보기, 보양, 온리약을 대상으로 하여 이들 약물들의 작용상 차이를 객관적으로 드러낼 수 있는 것이 있는지 찾아보는데

목적이 있다.

앞선 실험에서 한약을 크게 흥분성(熱性)과 억제성(寒性)으로 이대별(二大別)하고 이들 약물이 단일신경세포에서 어떤 종류의 이온전류를 유발하는지 또 그 차이는 무엇인지를 조사한 바 있다. 그 결과 흥분성 한약재들은 Ca^{2+} 이온 전류를 나타내었으나 억제성 한약재들은 Ca^{2+} 이온 전류를 나타내지 않는다는 경향성이 관찰되었다¹⁾²⁾. 이러한 결과는 한의학의 사기이론에 타당성이 있음을 보여주는 결과로서 의미가 있다. 그러나 Ca^{2+} 이온 전류의 유무만 가지고 모든 흥분성 한약내에서의 세분된 작용상 차이를 설명할 수 없다.

Ca^{2+} 과 glutamate 그리고 acetylcholine은 모두 신경계에서 흥분성 작용을 하는 대표적인 물질로 알려져 있다. 이중에서 보기, 보양, 온리약 등 흥분성 약물이 유발한 이온전류에 Ca^{2+} 전류가 포함되어 있음이 이미 밝혀진 만큼 glutamate, acetylcholine과 흥분성 약물의 상관성을 규명하는 것이 필요하다고 생각된다. 이 실험에서는 우선 보기, 보양, 온리약의 흥분성 신경전달 물질인 glutamate receptor에 대한 작용을 전위 고정하에서 nystatin-perforated patch clamp로 규명하고자 하였다.

* : 경원대학교 한의과대학 생리학교실

** : 경희대학교 의과대학 생리학교실

* 이 논문은 1998년 한국학술진흥재단의 학술연구비에 의하여 지원되었음.

보기약으로는 인삼, 황기, 보양약으로는 녹용, 육종용, 온리약으로는 부자, 건강을 선택하여 사용하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 중심회백질 신경세포의 분리

중심회백질 신경세포는 다음과 같은 방법으로 분리하였다³⁴⁾. 태어난 지 10일에서 15일 되는 Sprague-Dawley 흰쥐를 Zoletil로 마취 후 뇌를 꺼내어 microslicer(DSK, model DTK-1000, Japan)를 사용하여 400 μ m 두께로 slices를 만들었다. 중심회백질(Periaqueductal gray, PAG) 신경세포가 포함된 slice를 1mg/6ml 농도의 pronase로 30-40분간 32 $^{\circ}$ C에서 효소처리 후 이어서 1mg/6ml 농도의 thermolysin으로 동일한 조건으로 10분간 효소처리 하였다. 효소처리 후 slices는 incubation solution에서 5% CO₂-95% O₂ 혼합기체로 1시간 이상 bubbling 한 후 사용하였다.

중심회백질 신경세포 부위는 주사기를 이용하여 micropunching하였으며 standard solution이 들어 있는 culture dish에서 굵기가 다른 micropipette을 이용하여 기계적으로 분리하였다. 이러한 방법으로 분리된 단일 신경세포는 5분내에 culture dish 바닥에 부착되었다.

2. 용액

본 실험에 사용되는 incubation solution의 조성은 다음과 같다. (mM): NaCl 124, KCl 5, KH₂PO₄ 12, MgSO₄ 13, NaHCO₃ 26, 그리고 glucose 10. 이 용액의 pH는 5% CO₂-95% O₂의 혼합 기체로 bubbling 하여 7.4가 유지되게 하였다.

본 실험에 사용되는 standard solution의 조성은 다음과 같다. (mM): NaCl 150, KCl 5, MgCl₂ 1, CaCl₂, glucose 10, 그리고 N-2-hydroxyethyl

-piperazine-N-2-ethanesulphonic acid (HEPES). 이 용액의 pH는 tris-hydroxymethyl-aminomethane(Tris-base)를 이용하여 7.4가 유지되게 하였다.

Patch pipette에 사용되는 internal solution(mM)은 KCl 150, HEPES 10, 그리고 nystatin 200 μ g/ml로 구성되어 있으며 internal solution의 pH는 Tris-base를 이용하여 7.2로 유지하였다.

3. 약재

이 실험에서 보기약으로는 인삼(Ginseng radix)와 황기(Astragali radix)를, 보양약으로는 녹용(Cervi cornu)와 육종용(Bosniakia herba)를 그리고 보기약으로는 부자(Aconiti tuber)와 건강(Zingiberis rhizoma)를 선정 사용하였으며 한약재는 시중에서 구입하여 사용하였다.

한약재는 증류수로 추출한 후 농축하여 -70 $^{\circ}$ C에서 냉동 보관 후 사용하였으며 실험에서 모든 한약재의 희석은 standard solution을 사용하였다. Glutamate 수용체 길항제에 대한 실험에서는 Mg²⁺을 제거한 standard solution을 사용하였다.

이 실험에 사용된 시약은 다음과 같다. Zoletil은 Vibac사[France] 제품을 구입하였고, D-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (D-AP5), 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX)는 Tocris사[USA]를 사용하였으며 그리고 pronase, thermolysin, nystatin 그리고 그 외 모든 시약은 Sigma사 [USA]를 사용하였다. 약제는 'Y-tube' method로 투여하였으며³⁴⁾ 이 방법은 10-20 ms내에 신경세포 주위의 용액을 교체할 수 있다.

4. 전류의 측정

전류의 측정은 nystatin perforated patch recording 방법을 사용하였으며 patch-pipette은 외경이 1.5 mm인 glass capillaries를 이용하여

two stage puller(PB-7, Narishige, Japan)로 만들었다. 이온전류의 흐름은 patch clamp amplifier(EPC-7, List-Electronic, Germany)로 측정하였으며, storage oscilloscope(HS-5100A, Iwatsu, Japan)로 관찰하였으며 동시에 thermal-head pen recorder(Nippondenki San-ei, REC'TI-HORIZ-8K 21)로 기록하였다.

측정된 값은 means \pm standard error of mean (S.E.M)로 계산하였고 Student's t test로 통계 처리하였다. 모든 실험은 실온(20-22°C)에서 진행되었다.

Ionotropic glutamate receptor 중 NMDA receptor는 glycine에 의해 그 작용이 증폭되는 반면에 non-NMDA receptor는 glycine에 그 영향을 받지 않는다⁵¹.

따라서 보기, 보양, 온리약에 의해 유발되는 이온전류가 NMDA receptor와 관련이 있는지를 알기 위해 glycine이 없는 Mg^{2+} free standard solution에 한약재를 희석하여 신경세포에 투여하여 기록되는 이온전류를 대조군으로 하고 $10^{-6}M$ 의 glycine이 들어있는 Mg^{2+} free standard solution에 한약재를 희석하여 신경세포에 투여하여 기록되는 이온전류와 서로 비교하였다.

보기, 보양, 온리약에 의해 유발되는 이온전류가 NMDA receptor를 통하여 나타나는지 또는 non-NMDA receptor를 통하여 나타나는지를 확인하기 위해 Mg^{2+} free standard solution에 한약재만 단독으로 희석하여 투여했을 때의 이온전류를 대조군으로 하고 이를 NMDA receptor competitive antagonist인 D-AP5를 같이 투여했을 때의 변화와 non-NMDA receptor competitive antagonist인 CNQX를 한약재에 같이 희석했을 때 유발되는 이온전류의 변화와 서로 비교하였다.

III. 실험결과

1. 보기, 보양 그리고 온리약에 의하여 유발된 이온전류에 glycine이 미치는 영향

Glycine이 들어 있는 인삼(Ginseng radix) 1mg/ml 농도에 의하여 유발되는 이온전류는 glycine이 없는 용액에 의하여 유발되는 이온전류의 $98.35 \pm 3.04\%$ (n=4, p < 0.01)에 해당하는 이온전류를 나타내었다.

Glycine이 들어 있는 황기(Astragali radix) 1mg/ml 농도에 의하여 유발되는 이온전류는 glycine이 없는 용액에 의하여 유발되는 이온전류의 $101.75 \pm 0.018\%$ (n=10, p < 0.01)에 해당하는 이온전류를 나타내었다.

Glycine이 들어 있는 녹용(Cervi cornu) 1mg/ml 농도에 의하여 유발되는 이온전류는 glycine이 없는 용액에 의하여 유발되는 이온전류의 $109.35 \pm 2.56\%$ (n=4, p < 0.01)에 해당하는 이온전류를 나타내었다.

Glycine이 들어 있는 육종용(Boshniakia herba) 1mg/ml 농도에 의하여 유발되는 이온전류는 glycine이 없는 용액에 의하여 유발되는 이온전류의 $101.72 \pm 6.31\%$ (n=5, p < 0.01)에 해당하는 이온전류를 나타내었다.

Glycine이 들어 있는 부자(Aconiti tuber) 1mg/ml 농도에 의하여 유발되는 이온전류는 glycine이 없는 용액에 의하여 유발되는 이온전류의 $106.48 \pm 3.68\%$ (n=5, p < 0.01)에 해당하는 이온전류를 나타내었다.

Glycine이 들어 있는 건강(Zingiberis rhizoma) 1mg/ml 농도에 의하여 유발되는 이온전류는 glycine이 없는 용액에 의하여 유발되는 이온전류의 $99.67 \pm 3.92\%$ (n=6, p < 0.01)에 해당하는 이온전류를 나타내었다.

본 실험에서는 인삼과 건강을 제외한 약재에서 glycine에 의하여 이온전류가 약간 증가하였으나 (Figure 1) 그 증가량이 매우 미미하였다.

2. Glutamate 수용체 길항제가 보기약에 의하여 활성화되는 이온통로에 미치는 영향

보기약인 인삼(Ginseng radix) 1mg/ml에 의하여 유발되는 이온전류는 NMDA receptor

antagonist인 10^{-4} M D-AP5에 의하여 $10.28 \pm 9.63\%$ 억제되었으며($n=6$, $p > 0.05$), non-NMDA 수용체 길항제(non-NMDA receptor antagonist)인 10^{-4} M CNQX에 의하여 $45.60 \pm 16.85\%$ 억제되었다($n=6$, $p > 0.05$). 황기(Astragali radix) 0.5mg/ml에 의하여 유발되는 이온전류는 10^{-4} M D-AP5에 의하여 $0.80 \pm 0.80\%$ 억제되었으며($n=6$, $p > 0.05$), CNQX에 의하여 $12.13 \pm 3.23\%$ 억제되었다($n=6$, $p > 0.05$).

따라서 인삼과 황기 등 보기약에 의하여 유발된 이온전류는 D-AP5나 CNQX에 의하여 의미 있는 억제가 나타나지 않아 이러한 보기약은 glutamate receptor와는 관계가 적은 것으로 판단되었다(Figure 2).

3. Glutamate 수용체 길항제가 보양약에 의하여 활성화되는 이온통로에 미치는 영향

보양약인 녹용(Cervi cornu) 1mg/ 의하여 유발되는 이온전류는 NMDA receptor antagonist인 10^{-4} M D-AP5에 의하여 $7.47 \pm 2.67\%$ 억제되었으며($n=6$, $p < 0.05$), non-NMDA receptor antagonist인 10^{-4} M CNQX에 의하여 $22.43 \pm 5.47\%$ 억제되었다($n=6$, $p < 0.01$). 육종용(Boschniakia herba) 1mg/ml에 의하여 유발되는 이온전류는 10^{-4} M D-AP5에 의하여 $0.88 \pm 4.07\%$ 촉진되었으며($n=5$, $p > 0.05$), 10^{-4} M CNQX에 의하여 $11.76 \pm 4.19\%$ 억제되었다($n=5$, $p < 0.05$).

따라서 녹용과 육종용 등 보양약에 의하여 유발된 이온전류는 CNQX에 의해서는 모두 의미 있게 억제되었으나 D-AP5에 의해서는 녹용과 육종용이 서로 다른 효과가 나타나 보양약은 주로 non-NMDA receptor와 관련이 있는 것으로 판단되었다(Figure 3).

4. Glutamate 수용체 길항제가 온리약에 의하여 활성화되는 이온통로에 미치는 영향

온리약인 부자(Aconiti tuber) 1mg/ml에 의하

여 유발되는 이온전류는 10^{-4} M D-AP5에 의하여 $2.54 \pm 5.04\%$ 억제되었으며($n=5$, $p > 0.05$), 10^{-4} M CNQX에 의하여 $6.88 \pm 2.18\%$ 억제되었다($n=5$, $p < 0.05$). 건강(Zingiberis rhizoma) 1mg/ml에 의하여 유발되는 이온전류는 10^{-4} M D-AP5에 의하여 $4.93 \pm 4.93\%$ 촉진되었으며($n=5$, $p > 0.05$), 10^{-4} M CNQX에 의하여 $7.46 \pm 9.04\%$ 억제되었다($n=5$, $p > 0.05$).

따라서 온리약에서는 부자와 건강에 의하여 활성화되는 이온전류는 D-AP5에 의해서는 의미 있는 효과가 없는 반면 부자에 의하여 활성화되는 이온전류는 CNQX에 의하여 의미 있게 억제되었고 건강에 의하여 활성화되는 이온전류에는 아무런 영향을 미치지 않아 부자는 non-NMDA receptor와 관련이 있는 것으로 생각되어지나 건강은 glutamate receptor와 관련이 적은 것으로 나타났다(Figure 4).

IV. 토의

한약의 한열온량(寒熱溫涼) 사기(四氣)는 이들 약물이 인체 내로 들어와서 일으키는 작용을 중심으로 분류한 것이다. 한성약과 열성약의 차이에 대해서는 아직도 논란이 있으나 대체로 대사를 중심으로 생각하는 경우가 많다⁽⁶⁾⁽⁷⁾. 즉, 한성약은 열증(熱證), 열성약은 한증(寒證)을 치료하는데 사용하는데, 열증은 체내 대사의 항진상태로서 한성약은 인체에서 항진된 대사를 억제하는 방향으로 작용하며, 한증은 체내 대사의 침체상태로서 열성약은 인체에서 침체된 대사를 항진시키는 방향으로 작용한다고 보는 것이다⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾.

이러한 사기이론은 이들 약물의 사용 대상이 되는 인체의 병증분류와 밀접한 관련이 있다. 우선 모든 병증을 허증(虛證)과 실증(實證)으로 나눌 때 허증은 체내의 에너지나 물질이 부족하여 생긴 증후군이고, 실증은 외부의 인자가 가세하여 체내 장부의 생리기능에 변이를 일으킴으로써 생긴 증후군이다⁽⁶⁾. 허증은 기허(氣虛), 양허(陽虛), 혈허(血虛), 음허(陰虛)로 세분되고, 실증은

- 보기, 보양, 온리약에 의해 유발된 이온전류와 흥분성 신경전달물질인 glutamate 수용체와의 관계

$V_H = -50mV$

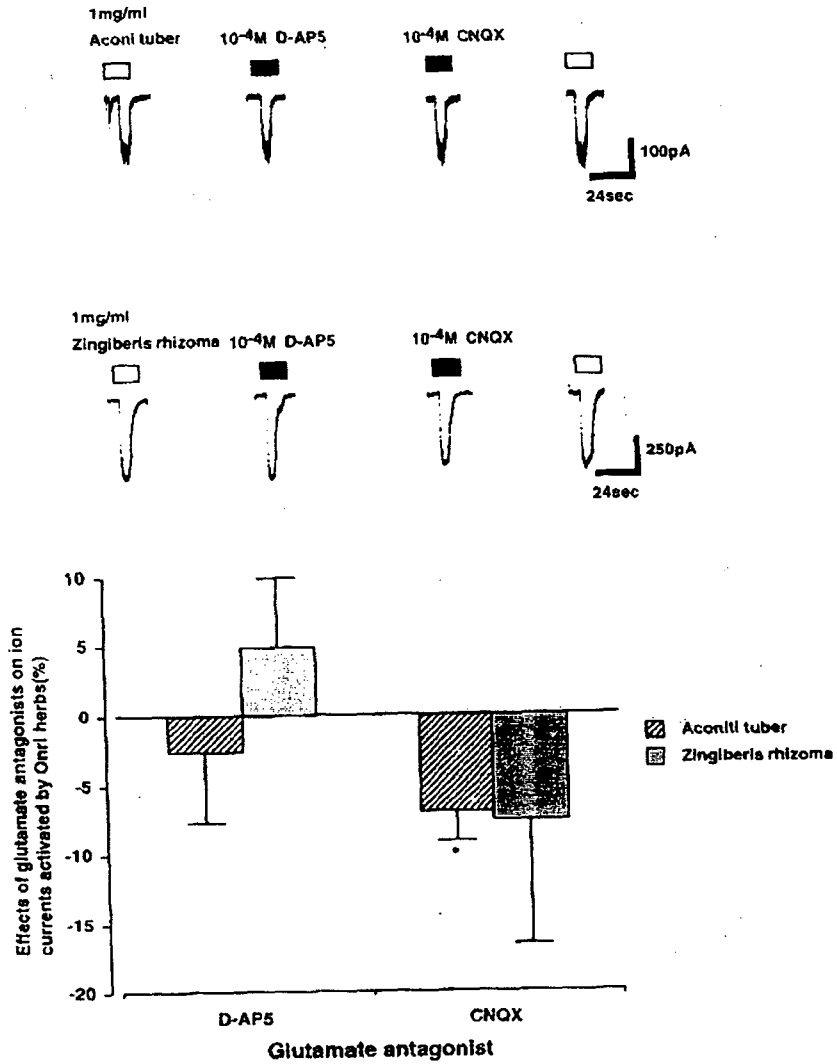


Figure 1: Effects of glycine on ion currents activated by *Bogi*, *Boyang* and *Onri* herbs.

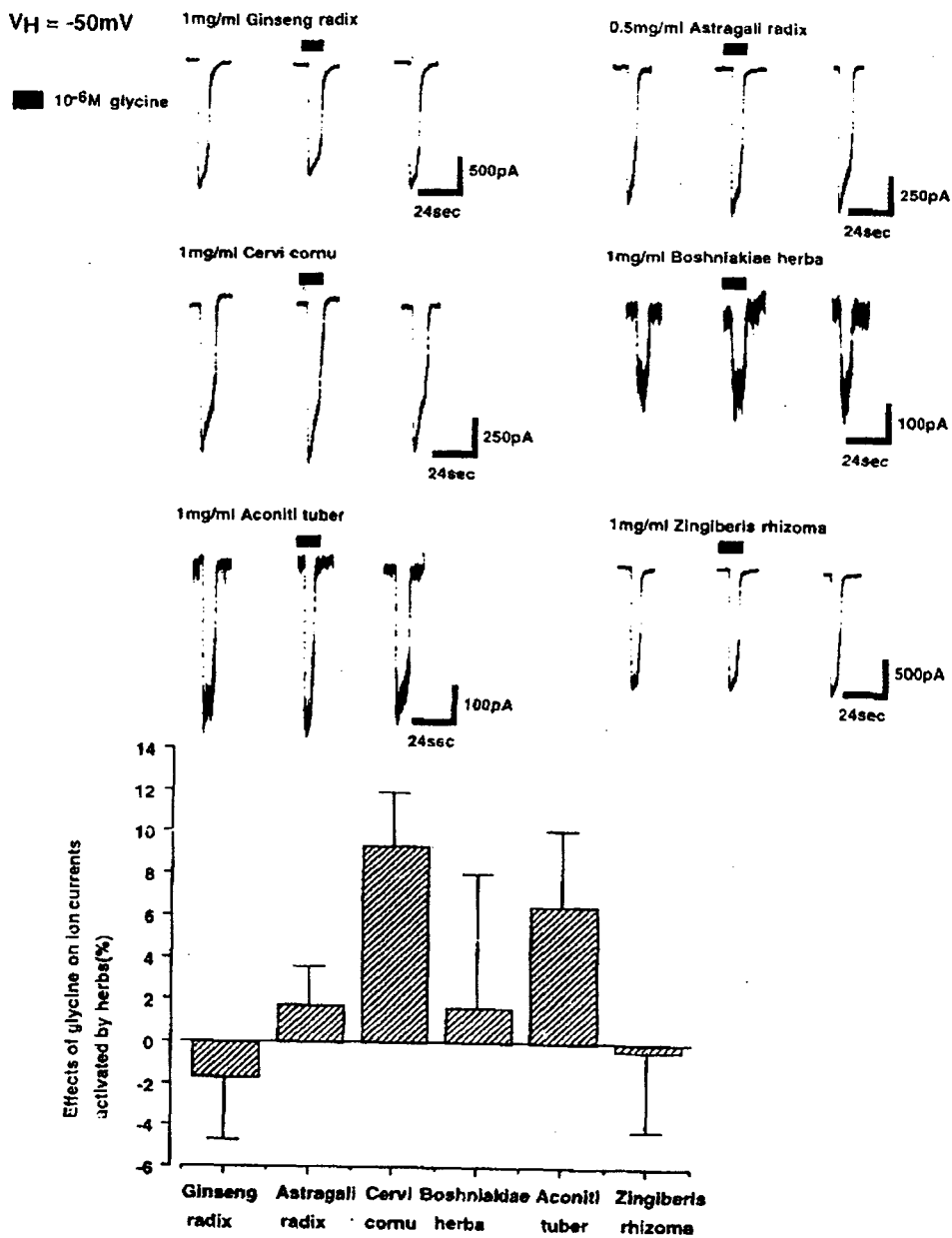


Figure 2: Effects of glutamate antagonists on ion currents activated by *Bogi* herbs. * = <0.05, ** = <0.01

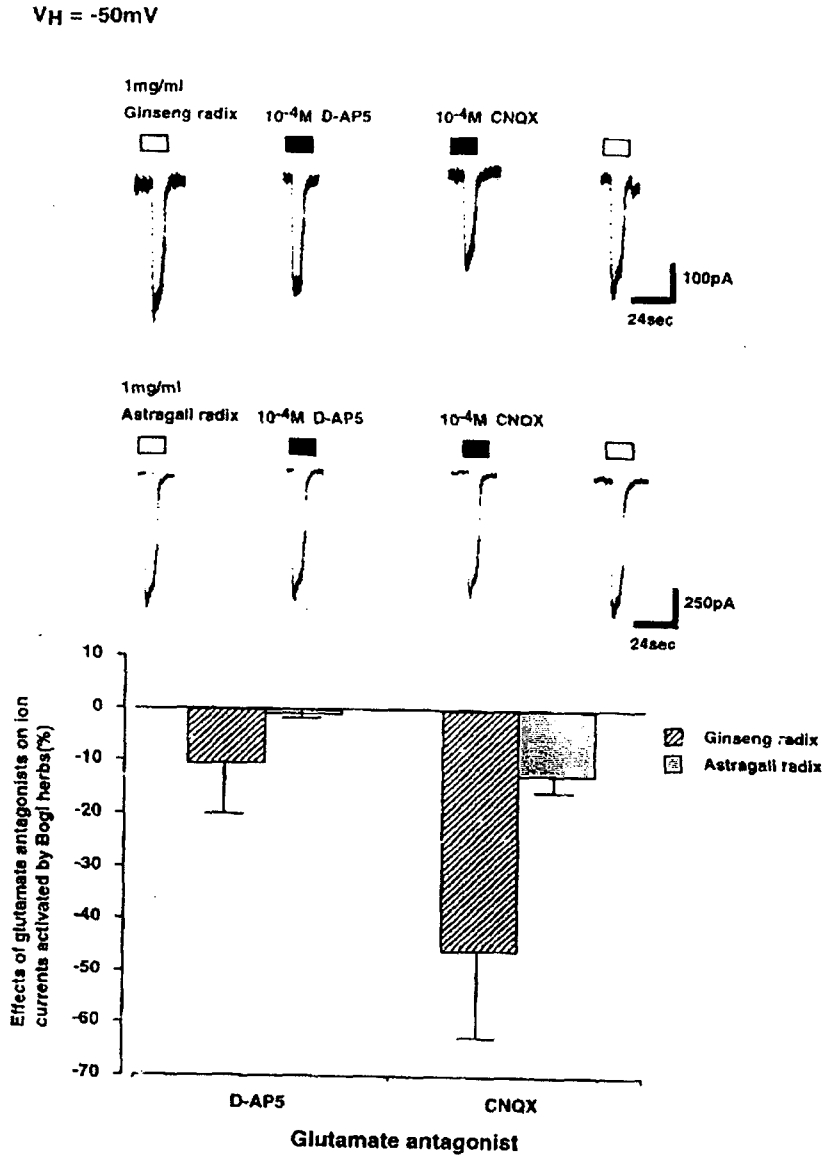


Figure 3: Effects of glutamate antagonists on ion currents activated by *Boyang* herbs. * = <0.05

$V_H = -50mV$

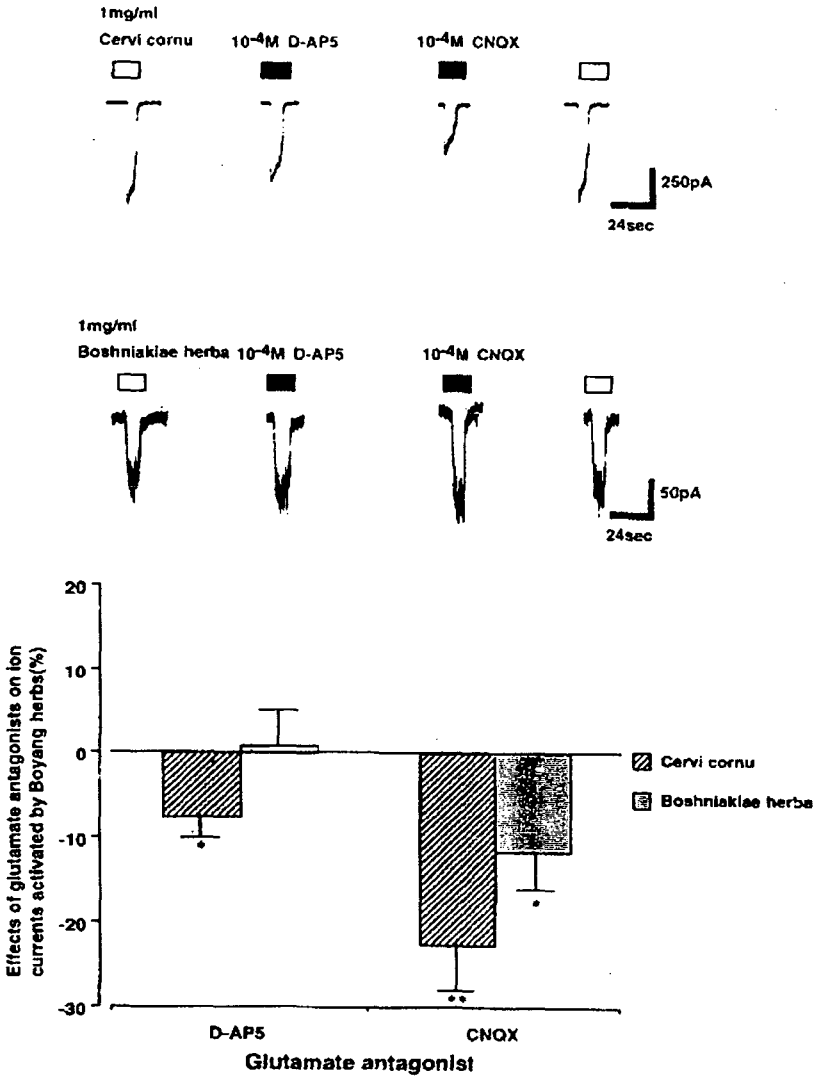


Figure 4: Effects of glutamate antagonists on ion currents activated by *Onri* herbs

음실(陰實), 양실(陽實)로 세분된다.

기허와 양허는 모두 체내 에너지의 부족으로 대사가 침체된 상황을 가리킨다. 기허와 양허는 유사하나 차이점이 있다면 양허는 기허에서 발전된 것으로 기허에 비해 수족궤냉(手足厥冷) 등 한증(寒症)을 수반하는 것이 특징(陽虛則外寒)이다. 혈허와 음허는 모두 체내 물질의 부족으로 생긴 증후이다. 혈허와 음허는 서로 유사하나 음허는 혈허에 비해 미약한 체온의 상승, 오후 피로 등 열증(熱症)을 수반하는 것이 특징(陰虛則內熱)이다. 넓게 보면 기허는 양허에, 혈허는 음허에 포함된다.

이러한 기허, 혈허, 양허, 음허를 치료하기 위해 각각 보기(補氣), 보혈(補血), 보양(補陽), 보음(補陰)의 방법을 사용하며 약물 또한 보기약, 보혈약, 보양약, 보음약이 응용된다. 보기약에는 인삼, 황기, 백출, 감초, 보혈약에는 당귀, 숙지황, 백작약, 보양약에는 녹용, 육종용, 음양곽, 두충, 보음약에는 사삼, 맥문동, 한련초, 황정, 구판등이 있다¹⁰⁾.

실증은 크게 음실증과 양실증으로 나눌 수 있는데 음실증은 외부인자의 가세로 체내 대사가 침체되어 나타나는 증후이고, 양실증은 외부인자의 가세로 체내 대사가 항진되어 나타나는 증후이다. 따라서 음실증은 한증(寒證)이 특징(陰實則內寒)이고, 양실증은 열증(熱證)이 특징(陽實則外熱)이다⁶⁾. 음실증에는 내한(內寒)을 제거하여 인체 대사를 항진시키기 위해 온리법(溫裏法)을, 양실증에는 외열(外熱)을 제거하기 위해 청열법(淸熱法)을 주로 사용한다. 음실증에는 온리약이 적용되는데 부자, 건강, 육계, 오수유등이 이에 해당되고, 양실증에는 청열약, 발산풍열약등이 적용되는데 석고, 지모, 황련, 금은화 등이 이에 해당된다¹⁰⁾.

위의 분류는 음양의 관점에서 팔강변증(八綱辨證)을 중심으로 분류한 것으로 본초학 교과서에서 분류하고 있는 내용과는 약간의 차이가 있다. 즉, 본초학 교과서¹⁰⁾에서는 보양약을 주로 신양(腎陽)을 보(補)하는 약물로, 온리약을 심양(心陽)

을 조(助)하고 비양(脾陽)을 온(溫)하는 약물로 분류하고 있다. 그러나 이 실험에서는 보기, 보양약을 허증이면서 한증에 적용하는 약물로, 온리약을 실증이면서 한증에 적용하는 약물로 규정하였다. 이러한 차이는 분류관점에서 나타난 것으로 이 실험에서의 분류는 음양과 팔강변증을 중심으로 하는 것인 반면에, 본초학에서는 팔대치법(八大治法)을 중심으로 하는 보다 세밀한 분류이다. 그러나 그 내용에 있어 본질적인 차이는 없는 것으로 생각된다.

이 실험은 이전 연구의 연장선상에서 계획되었다. 앞선 연구에서는 한약을 크게 흥분성(熱性)과 억제성(寒性)으로 이대별(二大別)하고 이들 약물이 단일신경세포에서 어떤 종류의 이온전류를 유발하는지 또 그 차이는 무엇인지를 조사한 바 있다. 그 결과 흥분성 한약재들은 Ca^{2+} 이온 전류를 나타내었으나 억제성 한약재들은 Ca^{2+} 이온 전류를 나타내지 않는다는 경향성이 관찰되었다¹²⁾. 이러한 결과는 한의학의 사기이론에 타당성이 있음을 보여주는 결과로서 의미가 있다. 그러나 Ca^{2+} 이온 전류를 나타낸다는 것만으로 흥분성 한약재에 속하는 보기, 보양, 온리약의 차이를 설명할 수 없다. 따라서 같은 흥분성 약물이라 하더라도 보기, 보양, 온리약에 따라 이들 약물의 생체에 대한 작용에 어떤 차이가 있는지 보다 심화된 연구를 할 필요가 생겼으며, 그 차이를 살펴보기 위해 이 실험을 계획하게 되었다.

흥분성 아미노산인 glutamate는 척추동물 중추신경계의 많은 synapse에 존재하며 막전위를 탈분극 시켜 흥분을 일으키는 물질로 알려져 있다¹¹⁾. 또한 ischemia시는 glutamate와 같은 흥분성 신경전달 물질의 유리가 증가됨으로써 excitatory neuron의 흥분이 지속되어 이것이 neuron의 death의 원인이 되며¹²⁾ 이러한 glutamate 증가는 calcium-independent efflux에 의한 과정에 의한 것으로 anoxia시 glutamate의 presynaptic release를 감소시키면 glutamate neurotoxicity를 감소시킬 수 있을 것으로 보고되었다¹³⁾.

Glutamate receptor는 ionotropic glutamate

receptor와 metabotropic glutamate receptor로 크게 두 가지로 분류되며, ionotropic glutamate receptor는 receptor를 활성화시키는 물질에 따라 크게 NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptor와 non-NMDA receptor로 분류되며 non-NMDA receptor는 다시 AMPA와 kainate로 나뉘어진다¹⁴⁾. 한편 glutamate가 G-protein과 연결된 receptor를 통하여 작용하는데 이를 metabotropic glutamate receptor라 한다¹⁵⁾.

NMDA와 non-NMDA receptor는 많은 신경세포에 동시에 존재하고 있으며 non-NMDA receptor는 cation을 통과시키는 반면에 NMDA receptor는 monovalent ion과 Ca^{2+} ion을 통과시키며 이 NMDA receptor는 Mg^{2+} ion에 의해 차단된다¹⁶⁾. 또 NMDA receptor는 glycine에 의해 그 작용이 증폭되는 반면에 non-NMDA receptor는 glycine에 그 영향을 받지 않는다³⁾. 따라서 이 실험에서는 일차적으로 보기, 보양, 온리약에 의해 유발되는 이온전류가 NMDA receptor와 관련이 있는지를 알기 위해 glycine이 없는 Mg^{2+} free standard solution에 한약재를 희석하여 신경세포에 투여하여 기록되는 이온전류를 대조군으로 하고 $10^{-6}M$ 의 glycine이 들어있는 Mg^{2+} free standard solution에 한약재를 희석하여 신경세포에 투여하여 기록되는 이온전류와 서로 비교하였다.

그러나 glycine을 통해 보기, 보양 그리고 온리약에 의하여 유발된 이온전류의 특성을 규명하려는 실험에서는 그 작용의 차이가 너무 미미하여 유의성있는 결과를 관찰할 수 없었다.

이차로 이 실험에서는 NMDA receptor competitive antagonist인 D-AP5와 non-NMDA receptor competitive antagonist인 CNQX를 사용하여 보기, 보양, 온리약에 의해 유발되는 이온전류가 NMDA receptor를 통하여 나타나는지 또는 non-NMDA receptor를 통하여 나타나는지를 확인하였다.

그 결과 보기약으로 분류된 인삼과 황기에 의하여 유발되는 이온전류는 glutamate receptor의

NMDA나 non-NMDA receptor와 전혀 관련이 없었으며, 보양약으로 분류된 녹용과 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 glutamate의 non-NMDA receptor와 관련이 있는 것으로 나타났고, 반면에 온리약으로 분류된 부자에 의하여 유발된 이온전류는 glutamate의 non-NMDA receptor와 관련이 있으나 건강은 NMDA와 non-NMDA receptor 모두와 관련이 없는 것으로 나타나 보기약과 같은 특성을 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 glutamate receptor와의 관계는 보기, 보양, 온리약의 작용상의 차이를 설명하는 단일한 지표는 될 수 없는 것으로 판단된다. 단, 이 실험에서 보기, 보양, 온리약에 속하는 약물들이 glutamate receptor에 대해 서로 다른 작용을 나타내었다는 점, 그리고 보기약에 속하는 인삼, 황기의 이온전류가 glutamate receptor와 전혀 관련이 없으며 보양약에 속하는 녹용과 육종용의 이온전류가 주로 non-NMDA receptor와 관련된 것으로 관찰되는 등의 경향성이 나타난 것은 의미있는 결과로 생각된다. 차후 또 다른 흥분성 신경전달물질인 acetylcholine receptor와 이들 약물 사이의 관계에 대한 실험을 진행할 예정이므로 이러한 일련의 실험결과들이 축적되어 종합된다면 흥미있는 결과가 도출될 수 있으리라 전망된다.

IV. 결론

보기, 보양, 온리약의 흥분성 신경전달 물질인 glutamate receptor에 대한 작용을 전위고정하에서 nystatin-perforated patch clamp 방법으로 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. $10^{-6}M$ 의 glycine이 들어 있는 용액은 인삼과 건강에 의하여 유발된 이온전류를 제외한 황기, 녹용, 육종용, 부자에 의한 이온전류를 약간 증가시켰으나 실험적인 의미를 둘 수 없었다.

2. 인삼과 황기 등 보기약에 의하여 유발된 이온전류는 D-AP5나 CNQX에 의하여 의미 있는 억제 나타내지 않아 이러한 보기약은

glutamate receptor와는 상관이 없는 것으로 관찰되었다.

3. 녹용과 육종용 등 보양약에 의하여 유발된 이온전류는 CNQX에 의해서는 의미 있게 억제되었으나 D-AP5에 의해서는 녹용과 육종용이 서로 다른 효과가 나타나 보양약은 non-NMDA receptor와 관련이 있는 것으로 관찰되었다.

4. 온리약에서는 부자와 건강에 의하여 활성화되는 이온전류는 D-AP5에 의해서는 의미 있는 효과가 없었으며, 부자에 의하여 활성화되는 이온전류는 CNQX에 의하여 의미 있게 억제된 반면 건강에 의하여 활성화되는 이온전류에는 아무런 영향을 미치지 않아 부자는 non-NMDA receptor와 관련이 있는 것으로 생각되나 건강은 glutamate receptor와 관련이 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 glutamate receptor와의 관계는 보기, 보양, 온리약의 작용상의 차이를 설명하는 단일한 지표는 될 수 없는 것으로 생각된다. 단, 이 실험에서 보기, 보양, 온리약에 속하는 약물들이 glutamate receptor에 대해 서로 다른 작용을 나타내었다는 점, 그리고 보기약과 보양약에 속하는 약물에 대한 실험결과에서 일부 경향성이 나타난 것은 의미있는 결과로 보이며, 차후 또 다른 흥분성 신경전달물질인 acetylcholine receptor에 대한 실험 등 일련의 연구결과들이 축적되어 종합된다면 흥미있는 결과가 도출될 수 있으리라 전망된다.

= Abstract =

Relationship of *Bogi*, *Boyang*, *Onri* herbs activated ion currents and excitatory neurotransmitter, glutamate, receptor

lee, Choong-Yeol* · Kim, Youn-Jung** · Kim, Chang-Ju***

*Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Kyung-Won University, Sunghnam, Korea

** Department of Physiology, College of Medicine, Kyung-Hee University, Seoul, Korea

The effects of *Bogi*, *Boyang* and *Onri* herbs on glutamate receptor using nystatin perforated patch clamp under voltage clamp were investigated and the following results was obtained.

Ginseng radix and *Astragali radix* were chosen as *Bogi* herbs. *Cervi cornu* and *Boshniakiae herba* were used as *Boyang* herbs. *Aconiti tuber* and *Zingiberis rhizoma* were selected as *Onri* herbs.

1. $10^{-6}M$ of glycine brought about the increase of the ion currents by *Astragali radix*, *Cervi cornu*, *Boshniakiae herba* and *Aconiti tuber* to a minute extent that has no experimental meaning.

2. It was assumed that *Bogi* herb had no effect on glutamate receptor since the ion currents of *Ginseng radix* and *Astragali radix* that are *Bogi* herbs had not been inhibited to a great extent by D-AP5 and CNQX.

3. *Boyang* herbs were seem to have meaningful relationship with non-NMDA receptor since the ion currents by *Cervi cornu* and *Boshniakiae* that are *Boyang* herbs were inhibited by CNQX but not inhibited to a meaningful extent by D-AP5.

4. D-AP5 had not a significant effect on the ion currents activated by *Onri* herbs such as *Aconiti tuber* and *Zingiberis rhizoma*. CNQX had a significant effect on the ion currents of *Aconiti tuber* but no effect on the ion currents of *Zingiberis rhizoma*. Therefore, it seemed that *Aconiti tuber* had a relationship with non-NMDA receptor while *Zingiberis rhizoma* had no relationship with glutamate receptor.

In summary, *Bogi*, *Boyang* and *Onri* herbs had different effects through different mechanisms on glutamate receptor. Hence it was believed that, through experiments on acetylcholine receptor, new classification could be made.

Key words: 보기약, 보양약, 온리약, glutamate current, NMDA receptor, non-NMDA receptor

參考文獻

1. 조선혜, 김창주, 이충열. 흰쥐 신경세포에서 맥문동과 부자에 의해 유발된 이온전류의 특성. 동의생리학회지 12(2):155-164, 1997
2. 이충열, 조선혜, 서종은, 한승호, 조영욱, 민병일, 김창주. 흰쥐 신경세포에서 억제성 및 흥분성 한약재가 유발한 이온전류의 특성. 대한 한의학회지 19(2): 450-467, 1998
3. Kim CJ, Rhee JS, Akaike N. Modulation of high-voltage activated Ca^{2+} channels in the rat periaqueductal gray neurons by μ -type opioid agonist. J Neurophysiol 77:1418-1424, 1997
4. Min BI, Kim CJ, Rhee JS, Akaike N. Modulation of glycine-induced chloride current in acutely dissociated rat periaqueductal gray neurons by μ -opioid agonist, DAGO. Brain research 734:72-78, 1996
5. Johnson JW, Ascher P. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. Nature 325:529-531, 1987
6. 윤길영, 동의학의 방법론 연구, 서울 : 정보사. 1983 : 28, 57-65.
7. 候燦, 八綱病態生理學基礎初步探討, 中醫雜誌 1964年 12期
8. 陳達理, 周立紅편, 中醫基礎理論現代研究. 上海中醫學院出版社. 1989.
9. 梁月華, 寒熱本質研究的進展. 中醫雜誌, 1988年 2期.
10. 전국한과대학 본초학교수 공편저, 본초학, 서울 : 영림사. 1991
11. Edmonds B, Gibb AJ, Colquhoun D. Mechanism of activation of glutamate receptors and time course of excitatory synaptic currents. Ann rev Physiol 57:495-519, 1995
12. Rothman SM, Olney JW. Excitotoxicity and the NMDA receptor. Trends Neurosci 10:299-302
13. Rubio I, Torres M, Miras-Portugal MT, Sanchez-Prieto J. Ca^{2+} -independent release of glutamate during in vitro anoxia in isolated nerve terminals. Journal of Neurochemistry 57:1159-1164, 1991
14. C. Hammond, Cellular and Molecular Neurobiology : Academic press. 1996 : 265
15. Seeburg PH. The molecular biology of glutamate receptor channel. Trends neurosci 16:359-365, 1993
16. Ascher P, Nowak L. The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of the mouse central neurons in culture. J Physiol 399:247-266, 1988