

수종 생약추출물의 NMDA(*N*-Methyl-D-Aspartate) 수용체 glycine binding site에 대한 친화력 검색

김영섭 · 김정섭 · 김성기 · 허정희 · 이병의 · 유시용*

한국화학연구원 화학물질연구부

Binding affinity of some herbal extracts on the glycine binding site of NMDA (*N*-Methyl-D-Aspartate) receptor

Young Sup Kim, Jeung Seob Kim, Seong-Kie Kim, Junghee Heor,
Byung Eui Lee and Shi Yong Ryu*

Bio-Organic Science Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-343, Korea

Abstract – The water extracts of 82 Korean medicinal herbs were prepared and were examined for the binding affinity on the glycine binding site of NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) receptor prepared by the synaptic membranes from the forebrains of male Sprague-Dawley rats. Among the tested, the extracts of *Dioscoreae Rhizoma*, *Hoveniae Semen cum Fructus*, *Astragali Radix*, *Armeniacae Semen*, *Huttuynia cordata Herba*, *Acanthopanax Cortex*, *Aurantii nobilis Pericarpium*, *Phellinus linteus*, *Amomi Fructus*, *Artemisiae capillaris Herba*, *Polyporus*, *Agastachis Herba* and of *Galli Stomachichum Corium* were found to exhibit significant competitions with [³H]-MDL 105,519 for the glycine specific binding site of NMDA receptor in a dose dependent manner, respectively.

Key words – glycine binding site, NMDA, binding affinity, medicinal herb, *Dioscoreae Rhizoma*.

노인성치매(Senile dementia)는 흔히 알츠하이머병(Alzheimer Disease)으로 알려진 퇴행성 뇌질환의 일종으로 현대의학의 눈부신 발전에도 불구하고 아직껏 정확한 질병의 원인이 규명되지 못함에 따라 근본적인 원인치료 없이 단지 대증요법에 의한 일시적인 병증의 완화만이 부분적으로 시술되어지고 있는 실정이다. 최근에는 치매의 주병변으로 알려진 tau protein 및 β -amyloid 단백질에 대한 분자생물학적 연구의 급속한 진전으로 말미암아 이들의 발생을 직간접으로 제어하고자 하는 시도가 보다 활발하게 진행되고 있다.^{1,2)} 그러나 현재 전세계적으로 진행되고 있는 치매 치료제 연구개발의 주방향은 cholinergic drug(인지기능개선제)의 개발이라고 할 수 있겠다. 이는 노인성치매로 유발된 각종 인지기능장애는 주로 대뇌 기저부

의 acetylcholine성 신경세포의 손상에 기인된다는 연구가설에 따라 얻어진 연구결과로서 현재 여러가지 다양한 기전을 갖는 acetylcholine성 약물들(수용체 효능제, acetylcholinesterase 저해제 등)이 개발되어 있으며 다소간의 효과가 입증된 바도 있다.^{3,5)} 본 연구자들 역시 다양한 식물추출물을 대상으로 하여 인간 재조합 무스카린성 acetylcholine 수용체(rh-mAChR-M₁)에 대한 친화력 및 acetylcholinesterase에 대한 효소활성 저해효과를 검색하여 본 바 있다.^{6,7)} 한편, 최근 이와 같은 cholinergic drug(인지기능개선제)의 개발과 함께 glutamate, NMDA(*N*-Methyl-D-Aspartate) 등 각종 흥분성 아미노산에 의한 뇌세포의 손상을 방지함으로써 치매 및 뇌허혈 등 기타 퇴행성 뇌질환을 제어하고자 하는 연구가 새롭게 주목받고 있으며^{8,9)} 특히 흥분성 신경전달물질인 glutamate의 수용체에 대한 선택적인 길항제를 개발하고자하는 연구가 활발하게

*교신저자 : Fax : 042-860-7160

이루어지고 있다.^{10,11)}

Glutamate는 mammalian brain에서 작용하는 중요한 흥분성 신경전달물질(excitatory neurotransmitter)일 뿐만 아니라 치매와 관련된 learning and memory 등 각종 인지기능의 손상과도 밀접한 연관을 가지고 있다고 알려져 있다. 또, glutamate가 뇌세포의 손상을 야기시키기 위하여서는 우선 glutamate 수용체와의 결합이 선행되어야 한다. 현재까지 4종 이상의 glutamate 수용체가 밝혀져 있는데 이중 metabotropic glutamate receptor는 intracellular second messenger cascade를 통해 각종 신호를 전달하는데 관여하고 나머지 종류의 수용체들은 ligand-gated ion channel의 기능을 나타내는 관계로 ionotropic receptor라고 불리우며 NMDA 수용체를 비롯하여 AMPA(alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate) 수용체 및 kainate 수용체 등이 잘 알려져 있다. 이 중 NMDA 수용체는 신경세포에서 Ca^{++} -dependent signaling mechanism을 촉발시키게 된다. 즉, NMDA 수용체는 신경세포에서 가장 중요한 Ca^{++} channels로 작용하며 NMDA 등 각종 NMDA agonist에 의하여 신경세포 내로 Ca^{++} 의 유입을 촉진시킴으로써 결과적으로 신경세포의 사멸(apoptosis)을 유도하게 되고 이러한 apoptotic process는 MK-801과 같은 NMDA antagonist에 의하여 저지될 수 있다.

이러한 연구배경 하에 본 연구자들은 보다 우수한 NMDA 수용체 길항제(NMDA antagonist)를 천연자원 중에서 탐색하여 보고자 우선 다양한 생약의 추출물들을 대상 시료로 하여 이들 시료들이 흰쥐의 대뇌로부터 분리한 NMDA 수용체 분획과 이 수용체의 glycine binding site에 선택적인 리간드로 알려진 [³H]-MDL 105,519와의 결합을 저해하는 효과를 지표로 하여 NMDA 수용체에 대한 친화력을 검색하여 보았다.^{11,12)}

재료 및 방법

생약의 추출 및 시료 조제 - 실험에 사용된 생약시료들은 경동시장에서 구입하여 전문가의 정확한 감정을 거친 후 실험에 사용하였으며 voucher specimen은 한국화학연구원에 보관되어 있다.

건조된 생약시료 100 g을 증류수 1 L에 넣고 3시간 동안 환류 추출하고 마포를 사용하여 열시 여과하였다. 여액은 rotary evaporator에서 적당량(100 ml)으로

농축 후 즉시 동결건조하였다.⁶⁾

시약 및 기기 - Liquid scintillation counter로 Micro Beta 1450 Plus(Wallac, Finland)를 사용하였으며 Inotech harvester (96-well) 및 shaking incubator (Rosi 1000, Thermolyne) 를 사용하였다.

수용체 친화력 시험에 사용된 ligand 시약 [³H] MDL 105,519는 Amersham Pharmacia Biotech으로부터 구입하였으며, 대조약물로 사용한 NMDA antagonist 약물로는 5,7-DCKA (5,7-Dichlorokynurenic acid, IC_{50} value for Glycine binding site is estimated as 1.00 μ M)을 RBI사로부터 구입하여 사용하였다.

수용체의 분리 - 실험에 사용한 NMDA 수용체는 상법에 따라 웅성흰쥐(Sprague-Dawley)의 전뇌의 synaptic membrane을 분리하여 사용하였다.¹⁾ 즉, 흰쥐(Sprague-Dawley)의 전뇌를 적출하여 잘게 잘라 10배 용량의 차가운 sucrose 용액(0.32 mM)을 가한 후 teflon-glass homogenizer를 이용하여 균질화시키고 즉시 1,000×g(10분, 4°C, Beckman J2-21 M/E 원심분리기)로 원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액은 20,000×g (20분, 4°C)로 재차 원심분리하여 침전물을 얻었다. 얻어진 침전에 20배 용량의 차가운 증류수를 가하여 Brinkman Polytron Homogenizer로 30초 동안 균질화시킨 후 4°C에서 30분간 교반한 다음 8,000×g(20분, 4°C)로 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액을 다시 39,800×g(25분, 4°C, Beckman L8-M 초원심분리기)로 원심분리하여 얻은 침전물을 -70°C에서 냉동보관하였다. 냉동보관된 침전물을 상온에서 10분간 녹인 다음 20배 용량의 0.04% Triton X-100을 함유한 50 mM Tris-acetate 완충액(pH 7.1)에 균질화시키고 이를 37°C에서 20분간 교반시킨 후 39,800×g(20분, 4°C)로 재차 원심분리하여 침전을 얻었다. 얻어진 침전은 20배 용량의 50 mM Tris-acetate 완충액(pH 7.1)로 3번 더 세척(균질화시킨 후 원심분리)한 후 Tris-acetate 완충액에 현탁하여 Bradford의 방법에 따라 단백질 농도를 측정하고 다음 단백질 농도를 1 mg/ml로 분주하여 -70°C에서 보관하였으며 이를 용시에 녹여 수용체로 사용하였다.

수용체 친화력 시험 - 미리 -70°C로 냉동보관된 수용체 분획을 50 mM Tris-acetate 완충액(pH 7.1)으로 현탁하여 단백질 함량을 5 μ g/well 농도로 조정하였다.

Assay buffer로는 50 mM Tris-acetate(pH 7.1)를 사용하였다. 반응액의 최종 부피는 0.25 ml로 하였으며

Table 1. Binding affinity of some herbal extracts on the glycine binding site of NMDA (N-methyl-d-aspartate) receptor

Species	Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
Saussurea Radix (복향)	0.005	5.5
	0.05	32.9
	0.5	80.4
Hedyotis Herba (백화사설초)	0.005	5.5
	0.05	15.4
	0.5	85.1
Saururus chinensis Herba (삼백초)	0.005	17.0
	0.05	49.1
	0.5	87.4
Dioscorea glabra (황약자)	0.005	0.0
	0.05	19.7
	0.5	65.0
Glycyrrhizae Radix (감초)	0.005	10.8
	0.05	43.8
	0.5	92.0
Astragali Radix (황기)	0.005	31.7
	0.05	78.3
	0.5	76.6
Angelicae koreanae Radix (강활)	0.005	21.4
	0.05	67.4
	0.5	99.5
Armeniacae Semen (행인)	0.005	30.0
	0.05	60.7
	0.5	104.1
Houttuynia cordata (어성초)	0.005	39.8
	0.05	71.5
	0.5	104.8
Acanthopanax Cortex (오가피)	0.005	42.4
	0.05	71.3
	0.5	108.2
Aurantii nobilis Pericarpium (진피)	0.005	31.5
	0.05	55.0
	0.5	97.4
Phellinus linteus (상황자칠체)	0.005	49.7
	0.05	82.9
	0.5	118.9
Hoelen (복령)	0.005	0.3
	0.05	55.7
	0.5	91.5
Saururus chinensis Rhizoma (삼백초근)	0.005	13.5
	0.05	64.1
	0.5	84.5

Table 1. Continued

Species	Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
Araliae cordatae Radix (독활)	0.005	6.4
	0.05	69.1
	0.5	105.7
Zedoariae Rhizoma (봉출)	0.005	24.6
	0.05	74.7
	0.5	100.7
Cinnamomi Ramulus (계지)	0.005	0.0
	0.05	42.8
	0.5	100.1
Visci Ramulus (꼭기생)	0.005	10.1
	0.05	40.1
	0.5	94.2
Amomi Fructus (공사인)	0.005	34.8
	0.05	73.6
	0.5	114.3
Artemisiae capillaris Herba (인진)	0.005	41.4
	0.05	72.8
	0.5	105.6
Prunellae Spica (하고초)	0.005	20.2
	0.05	70.6
	0.5	102.7
Epimedii Herba (음양곽)	0.005	18.4
	0.05	66.9
	0.5	99.1
Coicis Semen (의이인)	0.005	26.8
	0.05	48.9
	0.5	85.6
Polyporus (저령)	0.005	54.9
	0.05	84.6
	0.5	102.2
Sophorae Radix (고삼)	0.005	3.6
	0.05	34.1
	0.5	92.6
Xanthii Fructus (창이자)	0.005	0.0
	0.05	4.2
	0.5	101.0
Angelicae gigantis Radix (당귀)	0.005	2.7
	0.05	12.4
	0.5	89.0
Sophorae subprostratae Radix (산두근)	0.005	12.1
	0.05	23.7
	0.5	93.1
Smilacis Rhizoma (토복령)	0.005	0.0
	0.05	3.9
	0.5	92.6

Table 1. Continued

Species	Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
Lonicerae Flos (금은화)	0.005	0.0
	0.05	0.0
	0.5	41.2
Scutellaria barbata (반지련)	0.005	2.5
	0.05	23.1
	0.5	95.3
Pinelliae Tuber (반하)	0.005	0.4
	0.05	6.8
	0.5	88.1
Akebiae Caulis (목통)	0.005	9.1
	0.05	10.7
	0.5	81.2
Cassiae Semen (결명자)	0.005	15.4
	0.05	60.7
	0.5	96.7
Dioscoreae Rhizoma (산약)	0.005	56.6
	0.05	95.3
	0.5	104.8
Hoveniae Semen cum Fructus (지구자)	0.005	9.0
	0.05	21.4
	0.5	82.7
Taraxaci Herba (포공영)	0.005	22.1
	0.05	24.9
	0.5	98.0
Coptidis Rhizoma (황련)	0.005	0.0
	0.05	10.6
	0.5	77.0
Polygonati Rhizoma (황정)	0.005	0.0
	0.05	20.7
	0.5	72.0
Cordyceps sinensis (동충하초)	0.005	0.0
	0.05	89.4
	0.5	105.3
Carthami Semen (홍화자)	0.005	0.0
	0.05	3.1
	0.5	87.4
Polygalae Radix (원지)	0.005	0.0
	0.05	1.3
	0.5	89.5
Ledebouriellae Radix (방풍)	0.005	0.0
	0.05	19.0
	0.5	96.7
Atractylodis Rhizoma alba (백출)	0.005	0.0
	0.05	0.0
	0.5	15.7

Table 1. Continued

Species	Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
Bupleuri Radix (시호)	0.005	0.0
	0.05	22.9
	0.5	94.1
Eucommiae Cortex (두충)	0.005	0.0
	0.05	0.0
	0.5	21.4
Lycii Radicis Cortex (지골피)	0.005	7.3
	0.05	26.4
	0.5	81.0
Ponciri Fructus (지실)	0.005	2.7
	0.05	63.9
	0.5	89.5
Chrysanthemi Flos (감국)	0.005	0.4
	0.05	30.4
	0.5	88.1
Rhei Rhizoma (대황)	0.005	0.0
	0.05	23.6
	0.5	97.6
Paeoniae Radix (작약)	0.005	7.9
	0.05	5.1
	0.5	80.3
Gastrodiae Rhizoma (천마)	0.005	20.2
	0.05	62.0
	0.5	108.8
Moutan Cortex Radicis (목단)	0.005	0.0
	0.05	30.1
	0.5	75.4
Carthami Flos (홍화)	0.005	27.7
	0.05	74.3
	0.5	105.0
Phellinus pini	0.005	10.7
	0.05	51.6
	0.5	104.8
Cnidii Rhizoma (천궁)	0.005	13.1
	0.05	62.7
	0.5	104.9
Salviae Radix (단삼)	0.005	6.7
	0.05	36.5
	0.5	89.6
Scutellariae Radix (황금)	0.005	0.0
	0.05	19.8
	0.5	71.5
Paeoniae Radix rubra (적작약)	0.005	8.4
	0.05	40.6
	0.5	109.0

Table 1. Continued

Species	Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
Uncariae Ramulus et Uncus (조구등)	0.005	0.0
	0.05	2.8
	0.5	79.2
Ephedrae Herba (마황)	0.005	0.0
	0.05	17.7
	0.5	112.7
Acori graminei Rhizoma (석창포)	0.005	23.6
	0.05	64.2
	0.5	112.9
Alismatis Rhizoma (택사)	0.005	29.6
	0.05	72.5
	0.5	121.3
Angelicae tenuissimae Radix (고분)	0.005	24.2
	0.05	66.2
	0.5	103.9
Nepetae Spica (헹개)	0.005	12.8
	0.05	40.3
	0.5	117.7
Zingiberis Rhizoma (건강)	0.005	0.0
	0.05	43.8
	0.5	103.0
Rehmanniae Radix Preparata (숙지황)	0.005	0.0
	0.05	0.0
	0.5	112.6
Menthae Herba (박하)	0.005	0.0
	0.05	1.4
	0.5	8.9
Phellodendri Cortex (황백)	0.005	2.0
	0.05	54.6
	0.5	103.3
Cervi Parvum Cornu (녹각)	0.005	24.3
	0.05	84.8
	0.5	104.8
Aconiti Tuber (부자)	0.005	4.4
	0.05	22.2
	0.5	90.6
Persicae Semen (도인)	0.005	19.0
	0.05	68.7
	0.5	108.3
Dianthi Herba (구맥)	0.005	23.4
	0.05	49.8
	0.5	93.4

Table 1. Continued

Species	Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
Myrrha (몰약)	0.005	0.0
	0.05	6.0
	0.5	56.2
Cimicifugae Rhizoma (승마)	0.005	6.1
	0.05	38.4
	0.5	95.8
Galli Stomachichum Corium (계내금)	0.005	42.9
	0.05	82.2
	0.5	103.4
Curcuma longae Rhizoma (강황)	0.005	18.9
	0.05	36.6
	0.5	93.4
Agastachis Herba (괘향)	0.005	31.7
	0.05	40.3
	0.5	98.3
Hoveniae Semen cum Fructus (지구자)	0.005	55.1
	0.05	92.0
	0.5	119.7
Farfarae Flos (관동화)	0.005	0.0
	0.05	30.6
	0.5	76.0
Terminariae Fructus (가자)	0.005	0.0
	0.05	6.0
	0.5	39.8

50 μ l의 hot-ligand 4 nM [3 H]MDL 105,519 (140,000 DPM)와 10 μ l의 시험약물이 포함되게 하였다. 또, nonspecific binding을 보정하기 위하여 5 mM 글리신 50 μ l를 첨가하였다. 반응의 시작은 100 μ l의 receptor suspension을 첨가한 후 25°C에서 30분간 shaking incubator에서 반응시켰다.

Incubation 후 0.2 ml의 차가운 50 mM Tris-HCl in 0.9% saline (pH 7.4)을 가하여 반응을 종료시키고 즉시 Wallac glass fiber filtermat GF/C (Wallac, P.O. Box 10, FIN-20101 Tutku, Finland)를 이용한 Inotech cell harvester system으로 여과하고 차가운 완충액으로 9회 반복 세척하였다. Filtermat를 microwave oven에서 건조시킨 후 radioactivity를 liquid scintillation counter로 측정하여 수용체에 대한 ligand의 결합율을 산출하였다. 각 생약시료는 소량의 dimethylsul-

foxide(DMSO)에 녹인 후 buffer로 희석하였으며 반응액 중의 DMSO 농도가 0.1% 미만인 되도록 하였고 모든 시료는 duplicate로 측정하여 평균값을 산출하였다. 표준 대조약물로는 5,7-DCKA(5,7-Dichlorokynurenic acid)을 RBI사로부터 구입하여 사용하였다. 5,7-DCKA는 수용체에 대한 ligand의 결합을 1.0 μ M 농도에서 50% 저해하는 것으로 관찰되었다.¹²⁾

결과 및 고찰

감초(Glycyrrhizae Radix) 등 82종 생약의 열수추출물을 대상시료로 하여 이들 시료가 흰쥐의 대뇌로부터 분리정제한 NMDA 수용체와 이 수용체의 glycine binding site에 선택적인 리간드로 알려져 있는 [³H]-MDL 105,519와의 결합을 저해하는 효과를 지표로 하여 NMDA 수용체에 대한 친화력을 검색하여 보았다. 각 생약시료를 각각 5 μ g/ml, 50 μ g/ml 및 500 μ g/ml의 측정농도로 수용체에 대한 친화력을 test한 결과 대부분의 생약시료들은 NMDA 수용체에 대하여 모두 농도의존적으로 [³H]-MDL 105,519의 결합을 저해하였으며 특히 산약(Dioscoreae Rhizoma) 등 12종의 생약시료들은 5 μ g/ml의 농도에서도 30% 이상의 높은 저해효과를 보여주었다. 또, 500 μ g/ml의 측정농도에서는 대부분의 검색시료들이 80% 이상의 높은 수용체, ligand 결합저해효과를 나타내고 있어 이러한 검색결과가 실제로 검색시료들이 수용체에 대하여 친화력을 가지고 있기 때문에 나타난 결과인가에 대한 의문을 남겼으며 아마도 이는 고농도 시료로 말미암아 nonspecific binding에 의한 false positive 실험결과일 가능성을 배제할 수 없었으며 결론적으로 본 수용체를 활용한 receptor binding assay system에서 고농도(500 μ g/ml)의 생약시료를 사용하는 것은 실험결과에 판단에 착오를 불러일으킬 소지가 있어 바람직하지 못하다는 결론을 얻을 수 있었다(Table 1).

Glutamate, NMDA (N-Methyl-D-Aspartate) 등 각종 흥분성 신경전달물질에 의한 뇌세포의 손상을 방지함으로써 즉, 흥분성 신경전달물질의 수용체에 대한 선택적인 길항제를 개발하여 이들을 치매 및 뇌허혈 등 기타 퇴행성 뇌질환을 제어하는 약물로 활용하고자 하는 연구는 현재 주로 glutamate 등 흥분성 아미노산의 화학구조를 근간으로 분자모델링방법에 의거하여 design된 합성의약품들을 중심으로 집중적으로 연구되어져 왔으며^{10,11)}, 금번 연구에서와 같이 천연물

을 대상으로 한 검색작업은 일찍이 행하여진 바가 없으며 따라서 식물추출물 등 천연물에 기원을 둔 약제들도 전무한 실정이다.

현재 본 연구진은 5 μ g/ml의 측정농도에서 30% 이상의 높은 수용체, ligand 결합저해율을 보여준 산약(Dioscoreae Rhizoma), 지구자(Hoveniae Semen cum Fructus), 황기(Astragali Radix), 행인(Armeniacae Semen), 어성초(Huttyunia cordata), 오가피(Acanthopanax Cortex), 진피(Aurantii nobilis Pericarpium), 상황버섯(Phellinus linteus), 공사인(Amomomi Fructus), 인진(Artemisiae capillaris Herba), 저령(Polyporus), 광향(Agastachis Herba) 및 계내금(Galli Stomachichum Corium) 등의 생약재를 대상으로 하여 수용체와 리간드의 결합을 저지하는 활성성분들을 활성유도분획법(activity-guided fractionation)에 따라 추적 연구 중에 있다.

금번 NMDA수용체에 대한 친화력 검색연구방법, 즉 NMDA 수용체와 리간드([³H]-MDL 105,519)와의 결합을 저해하는 효과를 지표로 하여 NMDA 수용체 glycine binding site에 대한 친화력을 검색하는 연구 방법은 향후 치매치료제의 연구개발에 있어서 유용하게 활용할 수 있는 중요한 tool이 될 수 있으며 특히 이 방법에 준한 생약자원의 약효검색작업은 차후 보다 많은 자원을 대상으로 하여 계속적으로 수행할 필요성이 있으리라 사료된다.

결 론

감초(Glycyrrhizae Radix) 등 82종 생약의 열수추출물들이 흰쥐의 대뇌로부터 분리한 NMDA 수용체와 이 수용체의 glycine binding site에 선택적인 리간드로 알려져 있는 [³H]-MDL 105,519와의 결합을 저해하는 효과를 지표로 하여 NMDA 수용체에 대한 친화력을 검색하여 본 결과, 산약(Dioscoreae Rhizoma), 지구자(Hoveniae Semen cum Fructus), 황기(Astragali Radix), 행인(Armeniacae Semen), 어성초(Huttyunia cordata), 오가피(Acanthopanax Cortex), 진피(Aurantii nobilis Pericarpium), 상황버섯(Phellinus linteus), 공사인(Amomomi Fructus), 인진(Artemisiae capillaris Herba), 저령(Polyporus), 광향(Agastachis Herba) 및 계내금(Galli Stomachichum Corium) 등 13종의 생약재들이 5 μ g/ml 이상의 측정농도에서 수용체, ligand 결합을 농도의존적으로 저해하였다.

사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용기술개발사업단의 연구비 지원(PF002103-03)에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

1. Ferber, D. (2001) Neurodegenerative disease. Using the fruit fly to model tau malfunction. *Science* 292(5524): 1983.
2. Bugiani, O. (1999) Pathogenesis of Alzheimer's disease and dementia. *Rev. Neurol.* 155 Suppl. 4: S28-S32.
3. Polinsky, R. J. (1998) Clinical pharmacology of rivastigmine: a new generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Clin Ther.* 20(4): 634-647.
4. Levey, A. I. (1996) Muscarinic acetylcholine receptor expression in memory circuits: implications for treatment of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93(24): 13541-13546.
5. Messer, W. S., Jr., Rajeswaran, W. G., Cao, Y., Zhang, H. J., El-Assadi, A. A., Dockery, C., Liske, J., O'Brien, J., Williams, F. E., Huang, X. P., Wroblewski, M. E., Nagy, P. I., Peseckis, S. M. (2000) Design and development of selective muscarinic agonists for the treatment of Alzheimer's disease: characterization of tetrahydropyrimidine derivatives and development of new approaches for improved affinity and selectivity for M₁ receptors. *Pharm. Acta Helv.* 74(2): 135-140.
6. 김영섭, 김정섭, 김성기, 허정희, 이병의, 유시용 (2001) 수종 생약추출물의 muscarinic acetylcholine 수용체(mAChR-M₁)에 대한 친화력 검색. 한국생약학회지 *in press*.
7. 김영섭, 이봉호, 최병욱, 김정섭, 김성기, 허정희, 유시용(2001) 수종 생약추출물의 acetylcholinesterase (AChE) 저해효과검색. 한국생약학회지 *in press*.
8. Kim, S. R., Sung, S. H., Kwon, S. W., Park, J. H., Huh, H., Kim, Y. C. (2000) Dammarane derivatives protect cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurotoxicity. *J. Pharm. Pharmacol.* 52(12): 1505-1511.
9. 조정숙, 양재하, 박창국, 이희순, 김영호(2000) 뇌졸중 치료생약추출물의 흥분성 신경독성 억제효과. 약학회지 44(1): 29-35.
10. Muir, K. W. and Lees, K. R. (1995) Clinical experience with excitatory amino acid antagonist drugs. *Stroke* 26(3): 503-513.
11. Leeson, P. D. and Iversen, L. L. (1994) The glycine site on the NMDA receptor: Structure-activity relationships and therapeutic potential. *J. Med. Chem.* 37(24): 4053-4067.
12. Cho, J., Joo, N. E., Kong, J. Y., Jeong, D. Y., Lee, K. D., Kang, B. S. (2000) Inhibition of excitotoxic neuronal death by methanol extract of *Acori graminei* Rhizoma in cultured rat cortical neurons. *J. Ethnopharmacol.* 73: 31-37.

(2001년 7월 30일 접수)