동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 18. No. 3, 2007

定癎湯의 抗痙攣 效果 및 작용기전에 관한 硏究

공대종, 정희상, 이동웅*, 김근우, 구병수
동국대학교 한의과대학 신경정신과학교실
동국대학교 과학기술대학 생명공학과*

Anticonvulsant Effects of JeongGan-Tang and Its Putative Action Mechanism

Dae-Jong Kong, Hee-Sang Jeong, Dong-Ung Lee*, Geun-Woo Kim, Byung-Soo Koo
Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongguk University
Dept.of Biotechnology, College of Science and Technology, Dongguk University*

Abstract

Objective : This study was performed to examine the anticonvulsant effects of the extracts of JeongGan-Tang and explanation of its action mechanism.

Method :

1) The inhibitory effect on convulsions induced by pentylenetetrazole, picrotoxin and strychnine was investigated in vivo

2) The inhibitory effect on GABA transaminase activity was evaluated in vivo and in vitro.

3) The brain GABA level and glutamate level in pentylenetetrazole-induced convulsion model were analyzed by HPLC,

Results :

1) JeongGan-Tang showed the significant effect on the pentylenetetrazole-induced convulsion, which may mean that its anticonvulsant effect would be resulted from the activation of GABA receptor and chloride channel rather than the presynaptic- or postsynaptic inhibition.

2) JeongGan-Tang exhibited proper inhibitory activity on GABA transaminase in vitro and in vivo.

3) JeongGan-Tang increased the brain GABA level but did not affect the brain glutamate content, which may suggest that this drug supresses the convulsion by increase of GABA, an inhibitory neurotransmitter.

Conclusion : JeongGan-Tang can be used as an anticonvulsant prescription by the modulation of GABAergic neurotramission.

Key words : JeongGan-Tang, Anticonvulsant, GABA-transaminase, GABA, glutamate

---

투고일 : 10/11 수정일 : 11/6 채택일 : 11/8
교신저자 : 구병수, 경기도 고양시 일산동구 식사동 814, 동국대학교 일산한방병원 신경정신과
Tel : 031-961-9140, Fax : 031-961-9009 E-mail: koobs@dongguk.ac.kr

I. 緖 論

포유동물의 중추신경계는 주로 synapse전종말부에 있는 신경전달물질에 의해 수용체가 받아서 세포로 전달하는 양상으로 신경정보를 주고받는다. 신경전달물질의 농도가 변하거나 뇌세포 중에서 불균형을 이루게 되면 각종 신경계 증상이나 질환이 발생한다.[1)]

돌발적이고 일과성의 痙攣 발작을 특징으로 하는 중추신경계의 만성 질환중 하나인 경련은 주로 중추신경계의 장애로 초래되며, 대표적인 만성질환 중 하나로 간질 (epilepsy)이 언급되고 있다[2-4)]. 간질의 유병률은 전 인구의 0.3-1.5% 정도이며, 1년 동안의 새로운 환자의 발생률은 0.05%이다[5)]. 최근에는 교통사고와 안전사고의 급증, 청소년의 향정신성 의약품의 오남용 및 과도한 전자오락 등으로 경련발작이 증가되는 경우가 늘고 있는 추세이다[6)].

韓醫學에서는 ≪素問·奇病論≫[7)]에 癎疾이라는 명칭이 기록되어 있으며, ≪太平聖惠方≫[8)]에 癲癎이라는 독립된 병명으로 기재된 후 여러 醫家들에 의해 연구되었다[9,10)].

현재까지 개발된 진정제를 비롯한 항경련 의약품은 불안 증상을 경감시키는 항불안효과 외에 항경련제, 수면제, 근육이완제 등으로 중추신경 억제제가 사용되고 있으나 여러 가지 부작용을 야기하므로 이상적인 항경련제의 개발이 필요하다.[11)] 또한 임상에서 사용되는 항경련제는 대부분 선택성은 적고 여러 가지 부작용이 있어 사용에 많은 제약을 받고 있으므로 장기간 사용할 수 있는 새로운 약재의 개발이 요구되어 왔다[11,12)]. 현재까지 항경련에 관한 단미제 또는 복합방에서 향기의 흡입법에 의한 효과[13-15)]와 경구투여에 의한 효과[16-21)]에 관한 실험적 연구는 있으나 아직 定癎湯의 항경련효과에 대한 연구보고는 없다.

定癎湯은 청대에 편찬된 ≪醫宗金鑑≫[22)]의 癲癎門에 기재된 처방으로, 陰癎을 치료하는 방제중 하나이며, 凌霄花는 活血祛瘀藥으로 行血祛瘀, 凉血祛風하는 효능이 있고, 血중에 伏火하여 나타나는 모든 瘀血이나 血熱로 된 질환의 치료 및 "風癎"도 치료한다고 되어있다[23,24)].

본 연구에서는 定癎湯의 항경련효과를 동물모델을 대상으로 측정하였으며 신경전달에 관여하는 효소의 활성변동을 측정하였고 또한 이들이 뇌조직중의 신경전달물질의 농도에 어떠한 변화를 주는지를 관찰하였다. 중추흥분성 경련은 여러 가지 원인에 의해 나타날 수 있는데 염소이온 (chloride ion)의 전도저해, 신경계의 접합전 및 접합후 억제기능 저하 등이 보고되어 있다. 定癎湯의 항경련작용 기전을 밝히기 위하여 중추신경계에서 염소이온의 전도에 영향을 미치는 GABA (γ-aminobutyric acid)의 작용을 저해하여 경련을 유발하는 물질인 pentylenetetrazole, 중추신경계의 접합후 억제기능을 저해시켜 경련을 유발하는 물질인 strychnine, 그리고 중추신경계의 접합전 억제기능을 저해시켜 경련을 유발하는 물질인 picrotoxin을 각각 투여하여 경련을 유발시켰을 때 그 작용양상을 비교 분석하였다.

II. 實 驗

1. 實驗動物 및 藥材

1) 실험동물

실험에 사용한 백서는 한국실험동물개발로부터 구입하였으며 미생물 monotoring에서 모두 음성을 나타낸 건강한 ICR계 웅성 mouse

(30±1g)를 본 대학 동물사육사에서 일정한 조건으로 사육하여 사용하였다. 사육조건은 온도는 22±1℃, 습도는 55±5% 그리고 명암은 12시간 light/dark cycle을 유지시켰다. 실험동물을 1주일간 사육실에서 적응시켰으며 실험개시전 24시간 동안 물만 먹이고 절식시켰다. 동물처치는 효소활성의 일중변동을 고려하여 오전 10-12사이에 실시하였다.

2) 藥材

본 실험에 사용한 약재는 동국대학교 한방병원에서 처방하는 약재를 사용하였고, 定癎湯의 처방구성[22]은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Composition of JeongGan-Tang prescription

韓藥名	學名	用量
白　朮	Atractylodis macrocephalae rhizoma	20g
酸棗仁	Zizyphi spinosae semen	20g
天竺黃	Bambusae concretio silicea	16g
釣鉤藤	Uncariae ramulus et uncus	16g
人　蔘	Ginseng radix	12g
當　歸	Angelicae gigantis radix	12g
白芍藥	Paeoniae radix alba	12g
白茯神	Poria cocos alba	12g
遠　志(去心)	Polygalae radix	12g
琥　珀	Succinum	12g
橘　紅		12g
半　夏(薑制)	Pinelliae rhizoma	12g
天　麻	Gastrodiae rhizoma	12g
甘　草(炙)	Glycyrrizae radix	8g
定癎湯	Total Amount	188g

2. 약재추출물의 제조

定癎湯 추출물은 건조된 약재를 분말로 만들어 추출하였으며 약재 376g에 70% methanol 3.0ℓ을 넣고 3시간 동안 약 90℃의 수욕상에서 가온하에 추출하였다. 추출물을 온시 여과한 다음, 여액을 진공농축기 (Eyela NE, Japan)로 농축하고 다시 냉동건조기 (일신엔지니어링 type SK-100)로 건조하여 분말로 만들었다. 추출물의 수득량은 40.5g이었다.

3. 효소원의 제조

실험동물에서 뇌조직을 적출한 다음, 조직 1g당 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 가하여 약 4℃에서 homogenizer(Heidolph RZR 2021 (Germany)로 마쇄하였다. 이 마쇄균질액 일부는 지질과산화 억제효과실험에 사용하였으며 나머지를 600×*g*에서 10분간 원심분리기(Beckman, USA)를 이용하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 다음, 상징액을 다시 1시간 동안 100,000×*g*에서 초원심분리기 (Kontron T-2080 ultracentrifuge, Switzerland)로 분리하여 cytosol분획을 얻어 효소원으로 하여 효소활성 실험에 사용하였다 (Scheme 2). 상기의 모든 조작은 0-4℃에서 실시하였다.

4. 항경련효과 측정

동물모델을 이용한 항경련효과는 실험동물에 약재 추출물을 7일간 경구투여한 다음, 서로 다른 경련유발 기전을 가진 경련유발물질인 picrotoxin (5.0mg/kg), strychnine (2.5mg/kg) 및 pentylenetetrazole (70mg/kg)을 각각 0.1ml씩 피하주사함으로써 인위적으로 경련을 유발시켰다. Picrotoxin과 pentylenetetrazole은 saline (0.9% 염화나트륨 용액)에 녹였으며 strychnine은 20% Tween80+0.5% citric acid+4% benzyl alcohol의 혼액에 용해시켜 사용하였다. 경련유발물질의 주사후에 나타나는 경련발현시간 (onset time), 경련지속시간 (duration) 및 사망률 (lethality)을 각각 측정하

였으며 경련은 5초 이상 지속되는 것을 유효경련으로 인정하였다. 용어의 정의는 다음과 같다.

Onset time: 최초 경련 시작시간

Duration = ∑[각 경련 종결시간 - 각 경련 시작시간]/총 경련회수

5. 신경계 효소활성 측정

*In vivo*에서의 GABA-T (γ-aminobutyric acid transaminase, EC 2.6.1.19)의 활성측정은 Bergmeyer등의 방법[25]에 따라 일정량의 0.15 M potassium phosphate buffer (pH 8.0)에 α-ketoglutaric acid와 기질인 GABA 및 실험동물 뇌조직의 cytosol분획을 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 다음, 이때 생성된 succinic semialdehyde에 25.5mM의 β-NADP를 첨가시키고 20분간 반응시켜 생성되는 NADPH를 340nm에서 흡광도(Shimadzu UV-2001S spectrophotometer, Japan)를 측정하여 효소활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 GABA-T의 % activity로 표시하였다. *In vitro*에서의 GABA-T 억제활성 측정 약재 시료를 용량별(1mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml)로 하여 정상쥐의 뇌에서 제조한 효소원과 반응시킨 다음, 위와 같은 방법으로 측정하여 대조군과 그 활성을 비교, 검토하였다.

6. 뇌조직중의 신경전달물질 함량 정량

뇌 조직 중의 GABA 및 glutamate의 함량 측정은 Allen등의 방법[26]을 약간 변경하여 실시하였다. 뇌조직을 1mM 2-aminoethylisothiouronium bromide와 2mM pyridoxal-5- phosphate를 포함하는 0.3M triethanolamine buffer (pH 6.8)로 10% 마쇄균질액을 제조한 다음, 15,000×g에서 20분간 원심분리하여 postmitochondria 분획을 얻었다. 상징액 30㎕를 취하고 여기에 ice-cold ethanol 1ml를 가한 다음 (단백질 제거 목적), 8,800×g에서 5분간 원심분리하였다. 상징액 50㎕에 OPA 시약 50㎕를 넣고 실온에서 90초간 방치한 다음 (유도체화 반응) membrane filter (0.2μm, 13mm)로 여과한 후, 15㎕를 HPLC(Shimadzu LC-10AD, Japan)에 injection하였다. GABA와 glutamate 표준품을 측정시는 농도별 GABA (25μM, 100μM, 200μM)와 농도별 glutamate (100μM, 150μM, 200μM)에 OPA 시약 각 50㎕를 넣고 실온에서 90초간 방치한 다음 여과한 후, 15㎕를 HPLC에 injection하여 측정하였다. 뇌조직중의 GABA 및 glutamate의 함량을 고속액체크로마토그래피 (HPLC)로 측정하여 표준품 (GABA 및 glutamate)의 retention time과 비교, 확인하고 표준검량선에 준해 그 함량을 산정하였다. HPLC 분석에서 column은 Shim-Pack CLC-ODS (150×6mm), 용매는 20% methanol과 10mM potassium acetate buffer(pH 5.6) 혼액을 사용하였으며 유량은 1.0ml/min, injection volume은 10μl/min으로 하여 형광검출기((λex: 340nm, λem: 450nm)로 측정하였다.

7. 단백질 정량

단백질의 정량은 Bradford reagent (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 실시하였다.

8. 統計處理

모든 실험결과는 통계프로그램인 Origin (Version 3.78)으로 처리하였으며 data는

mean±S.E.로 표시하였고 통계적 유의성은 SPSS 10.0 (SPSS Inc., USA) program을 이용하여 Student's *t*-test 또는 ANOVA로 검정하였으며 유의수준을 P value (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$)로 나타내었다.

III. 實驗結果

1. 抗痙攣效果

1) Pentylenetetrazole-유도 경련억제효과

먼저 경련발현시간에 미치는 영향을 살펴보았다. 약재 추출물을 7일간 경구투여한 다음, 중추신경계에서 chloride ion의 傳導에 영향을 미치는 GABA (ɣ-aminobutyric acid)의 작용을 저해함으로써 경련을 유발하는 물질인 pentylenetetrazole을 투여하여 경련을 유발시켰을 때, 어느 정도 경련을 억제시키는지를 관찰하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 정간탕 500mg/kg 투여시는 경련발현시간이 대조군에 비해 약 2배, 1000mg/kg 투여시는 약 3.2배 지연되어 유의적인 효과 (각각 $p<0.05$)를 나타내었다.

다음으로 약재 투여가 pentylenetetrazole 투여에 의한 경련의 지속시간에 미치는 효과를 관찰한 결과, 정간탕은 대조군에 비해 500mg/kg과 1000mg/kg에서 각각 15.4%($p<0.05$), 8.6% 단축시켰으며 용량을 증가시켜도 그에 따른 효과증가는 없었다(Table 2). 약재를 투여하면 대조군에 비해 사망률이 감소하였는데 특히, 500mg/kg 투여시에는 사망한 동물이 없었다.

Table 2. Anticonvulsant effect of the drug extracts on PTZ-induced convulsion and lethality in mice

Treatment	Dose	Onset time(min)	Duration (sec)	Lethality (%)
Control	–	4.68±1.24	12.02±2.77	71.4
JeongGan-Tang	500mg/kg	9.47±3.77*	10.17±2.91*	0
	1000mg/kg	14.82±4.67*	11.68±4.07	57.1

Anticonvulsive effect of the drug extracts. PTZ(70mg/kg) was injected intraperitoneally at final day. Values represent mean±S.E. for 7 animals.
*: significantly different from the control group, $p<0.05$.

2) Picrotoxin-유도 경련억제효과

한약재 추출물을 7일간 경구투여한 다음, 중추신경의 접합전 억제기능을 저해(blockade of presynaptic inhibition)시켜 경련을 유발하는 물질인 picrotoxin을 투여하여 경련을 유발시켰을 때, 어느 정도 경련을 억제시키는지를 관찰하였다. Table 3에서 보는 바와 같이 약재 추출물 1000mg/kg 투여시, 정간탕은 경련발현시간이 대조군에 비해 17.1% 지연되어 경련발현이 유의적($p<0.05$)으로 억제되었다. 약재 투여가 picrotoxin 투여에 의한 경련의 지속시간에 미치는 효과를 관찰한 결과, 추출물 1000mg/kg 투여시, 대조군에 비해 16.2% 단축되어 경련지속시간이 짧아졌다 (Table 3). 사망률도 대조군에 비해 다소 감소하였다.

Table 3. Anticonvulsant effect of the drug extracts on picrotoxin-induced convulsion and lethality in mice

Treatment	Dose	Onset time(min)	Duration (sec)	Lethality (%)
Control	–	12.96±1.17	10.33±1.25	71.4
JeongGan-Tang	1000mg/kg	15.18±2.12*	8.66±1.05*	42.8

Anticonvulsive effect(onset time) of the drug extracts. Picrotoxin(5.0mg/kg) was
injected intraperitoneally at final day. Values represent mean±S.E. for 7 animals.
*: significantly different from the control group, $p<0.05$.

3) Strychnine-유도 경련억제효과

다음으로 약재 추출물을 7일간 경구투여한 다음, 중추신경의 접합후 억제기능을 저해(blockade of postsynaptic inhibition)시켜 경련을 유발하는 물질인 strychnine을 투여하여 경련을 유발시켰을 때, 어느 정도 경련을 억제시키는지를 관찰하였다. Table 4에서 보는바와 같이 정간탕은 대조군과 거의 차이가 없었다(Table 4). 그리고 약재 투여가 strychnine 투여에 의한 경련의 지속시간에 미치는 효과에서는 추출물 1000mg/kg 투여시 경련시간을 오히려 지속시킨 것으로 나타났다. 이는 strychnine 유발 경련에 대해서는 정간탕이 항경련 효과를 나타내지 않는 것을 의미하는 것으로 풀이된다. 그러나 사망률은 대조군에 비해 다소 감소하였다.

Table 4. Anticonvulsant effect of the drug extracts on strychnine-induced convulsion and lethality in mice

Treatment	Dose	Onset time(min)	Duration (sec)	Lethality (%)
Control	–	7.53±0.82	10.61±2.71	100
JeongGan-Tang	1000mg/kg	7.58±1.92	15.18±5.39*	66.7

Anticonvulsive effect(onset time) of the drug extracts. Strychnine(2.5mg/kg) was injected intraperitoneally at final day. Values represent mean±S.E. for 7 animals.

4) 경련유발물질에 따른 항경련효과 비교

서로 기전이 다른 3종의 경련유발물질이 일으킨 경련에 대하여 각 약재추출물 1000mg/kg 투여시의 경련억제효과를 경련발현시간을 지표로 하여 상호비교해 본 결과, 정간탕은 pentylenetetrazole에 의한 경련을 크게 억제한데 비해 다른 경련유발물질에 대해서는 억제효과가 미약하였다. 이러한 결과는 이들 약재가 시납스 접합에 영향을 미치기보다는 chloride ion의 傳導에 영향을 미침으로서 신경수용체를 활성화시켜 항경련작용을 나타내는 것으로 분석된다.

2. 신경계 효소활성에 미치는 영향

1) *In vivo*에서의 GABA-T 억제활성

Pentylenetetrazole (PTZ)을 투여한 대조군의 뇌중 GABA-T activity는 125.4%로서 정상보다 유의적으로 크게 증가하므로서 경련이 유발되었음을 알 수 있으며 정간탕 투여군의 경우에는 효소활성이 감소하여 경련을 억제시킴을 알 수 있었는데 1000mg/kg의 용량에서 GABA-T activity가 75%로 나타나 25%의 효소활성 억제효과가 있는 것으로 나타났다(Table 5).

Table 5. Effect of the drug extracts on GABA-T activity in vivo.

Treatment	Dose	Activity(%)
Control	–	100
PTZ	70mg/kg	125.4
JeongGan-Tang	1000mg/kg	75

PTZ(70mg/kg) was injected intraperitoneally at final day. Values represent mean±S.E. for 7 animals.

2) *In vitro*에서의 GABA-T 억제활성

약재 추출물을 용량별로 GABA-T 효소원과 *in vitro*에서 반응시켰을 때, Table 6에서 보는바와 같이 약재의 용량이 증가함에 따라 효소활성을 억제하였다. 즉, 1.0mg/ml, 5.0mg/ml, 10.0mg/ml의 농도에서 효소활성이 각각 17.4%, 25.8%, 43.2% 억제되었다.

Table 6. Effect of the drug extracts on GABA-T activity in vitro.

Treatment	Dose	Activity(%)
Control	-	100
JeongGan-Tang	1.0mg/kg	82.6
	5.0mg/kg	74.2
	10.0mg/kg	56.8

3. 뇌조직중의 신경전달물질 함량에 미치는 영향

1) GABA 및 glutamate의 검량선

약재 추출물을 투여한 실험동물의 뇌중 GABA 함량을 HPLC법으로 정량하기 위하여 먼저 표준 검량선(calibration curve)을 작성하였다. GABA 25μM, 100μM, 200μM의 표준용액을 조제한 다음, HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram으로부터 피크면적을 구한 후, 이들 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성하였다. 이때의 회귀직선 방정식은 y=0.18333x-2.99405 (결정계수 r^2=0.99845)이었다. Glutamate의 경우에는 100μM, 150μM, 200μM의 표준용액을 사용하여 위와 같은 방법으로 작성하였는데 이때의 회귀직선 방정식은 y=0.11136x-10.085 (결정계수 r^2=0.99987)이었다.

2) 뇌조직중의 신경전달물질 함량 변화

약재 추출물이 뇌중의 GABA 및 glutamate 함량 변화에 미치는 영향을 조사하여 Table 7에 나타내었다. 대조군의 GABA level이 38.85μM이었으며 PTZ 투여군은 20.84μM로 크게 감소하여 GABA 부족으로 인해 경련이 유발되었음을 알 수 있었다. 그러나 정간탕을 7일동안 경구투여한 실험군은 22.85μM로서 PTZ 투여군에 비해 GABA 함량이 9.6% 증가하였다. 한편, glutamate level에서는 대조군의 경우, 85.45μM이었으며 PTZ 투여군은 91.14μM로 증가하여 glutamate 증가로 인해 경련이 유발되었음을 알 수 있었다. 그러나 약재를 투여한 경우에는 모두 PTZ 투여군과 유의성 있는 차이가 없어 이들 약재가 glutamate 함량에는 변동을 주지 않는 것으로 생각된다. 대조군과 실험군의 GABA 및 glutamate함량을 측정한 chromatogram을 Fig. 1에 나타내었다.

Table 7. Comparison of the effects of the drug extracts on the brain
GABA and glutamate level in PTZ-induced mice

Treatment	Dose	GABA level (μM)	Glutamatge level(μM)
Control	-	38.85	85.45
PTZ	70mg/kg	20.84	91.14
JeongGan-Tang	1000mg/kg	22.85	91.55

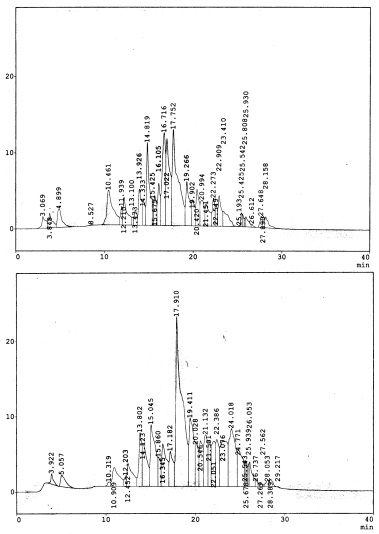


Fig. 1. HPLC chromatograms of control(left) and JeongGan-Tang(right). All samples were treated with ice-cold ethanol and OPA reagent before meaurements. Retention time of GABA : 16.345min (a), 16.717min (b) Retention time of glutamate : 10.909min (a), 10.461min (b)

Ⅳ. 考 察

포유동물의 신경전달물질에는 억제성 물질인 γ-aminobutyric acid (GABA), dopamine, norepinephrine, serotonin 등과 흥분성 물질인 aspartate, glutamate, acetylcholine 등이 있다. 이중에서 경련은 GABA의 과다분해가 주원인이 되는 것으로 보고되고 있다[27]. 간질(epilepsy)은 돌발적이고 일과성의 痙攣 발작을 특징으로 하는 중추신경계의 만성 질환으로 중추신경계의 장애로 초래되는 대표적인 만성 질환 중 하나로 언급되고 있다[2-4,28]. 일단의 뉴런들이 동시에 작용하여 인접하는 뉴런집단에 흥분을 전달하며, 약물, 저산소증, 저혈당증, 지각성 자극 등에 의해 가속된다[29-35]. 현재까지의 연구결과로 보면 간질의 원인은 뇌졸중, 뇌종양, 뇌염 등과 같은 뇌병변에 의해 주위의 대뇌피질을 자극하면 그 부위에 해당하는 간질이 발생할 수 있으나 자연발생한 병적 상태가 77.6%로 대부분을 차지한다[29-35]. 간질의 유병률은 전 인구의 0.3-1.5% 정도이며, 1년 동안의 새로운 환자의 발생률은 0.05%이다[5]. 최근에는 교통사고와 안전사고로 인한 뇌병변의 급증이나, 청소년의 향정신성 의약품의 오남용과 같은 약물중독[36] 및 과도한 전자오락 등으로 경련발작이 증가되는 경우가 늘고 있는 추세이다[6].

韓醫學에서는 突然昏倒, 先有驚叫, 意識喪失, 兩目上視, 牙關緊急, 角弓反張, 手足抽搦, 嘔吐白沫 등의 발작 증상 후 혼수상태에 빠졌다가 각성되면 두통, 전신 무력 등의 증상을 발하는 일련의 발작성 神志喪失症이며 한편으로는 活動突然中止, 不動不語, 落手中之物, 兩目凝視 등의 발작 후 평소 상태로 회복되는 방면으로 나타난다고 보았다[37,38]. 증후학적 범주에서는 癎, 癲癎, 驚癎, 五癎[39-43] 등의 용어로 표현되는 것을 포함한다. 또한 ≪靈樞·經筋篇≫[44]에서는 "經筋之病 寒則反折筋急"이라 하였고, ≪素問·至眞要大論≫[7]에서는 "諸痙項强 皆屬于濕", "諸暴强直 皆屬于風"이라 하여 發病原因으로서 風·寒·濕을 들고 있으며[7,44,45], ≪金匱要略≫[46]에서는 津液의 耗傷으로 筋脈이 濡養을 받지 못하는 것도 痙病을 일으키는 原因이 될 수 있다고 하였다. ≪醫學入門≫[42]에서는 痰·火·驚 三者를 癲癎의 주된 原因으로 들고 있으며, 특히 肥人은 多痰한 것이 瘦人은 火盛한 것이 原因이 된다고 하여, 痰火가 가장 基本的인 要因임을 言及하고 있다. 이와 같이 ≪素問·奇病論≫[7]에 癎疾이라는 명칭이 최초로 기록된 것으로 이후 ≪太平聖惠方≫[8]에 癲癎이라는 독립된 병명으로 기재된 후 여러 醫家들에 의해 연구된 증상으로 현대 의학적인 간질과 같은 양상이라고 인식되고 있다[9,10,47].

간질의 치료는 원인질환과 종류에 따라 가장 적절한 1차의 단일약을 충분한 치료량을 투여하며, 효과가 없으면 2차약을 한가지씩 추가하는 경향인데, 주로 phenytoin(Dilantin), diazepam, phenobarbital, primidone 등이 주로 쓰이고, 복용기간은 2-5년 이상의 장기간이다[31,33-35]. 이러한 항경련 의약품은 불안 증상을 경감시키는 항불안효과 외에 항경련제, 수면제, 근육이완제 등으로 중추신경 억제제들은 진정제로 여러 가지 부작용을 야기하므로 이상적인 항경련제의 개발이 필요하다[11]. 또한 임상에서 사용되는 항경련제는 대부분 선택성은 적고 여러 가지 부작용이 있어 사용에 많은 제약을 받고 있으므로 장기간 사용할 수 있는 새로운 약재의 개발이 요구되어 왔다[11,12]. 또 드물게는 불안증상의 악화와 적개심의 야기 등 역설적인 반응을 일으키는 수도 있어 이상적인 진정제로서는 한계가 있다[48].

항경련에 관한 한의학적 연구는 蘇合香元[13], 天麻葛根湯[14], 鎭肝熄風湯[15] 등의 복합방과

龍腦[16], 薄荷[17], 釣鉤藤[18], 石菖蒲[19], 甘松香[20], 白殭蠶[21] 등 單味劑의 향기 흡입법에 의한 효과와 경구투여에 의한 효과에 관한 실험적 연구는 있으나 定癎湯의 항영련효과에 관한 연구는 보고된 바 없다. 定癎湯은 ≪醫宗金鑑≫[22]에 수록된 방제로 "臟肢厥冷, 偃臥拘急面白靑, 吐沫聲微脈沈細, 醒脾固眞"하는 陰癎에 활용되는 처방이다. 人蔘 白朮 白芍藥 白茯神 酸棗仁(炒) 遠志(去心) 琥珀 天竺黃 白朮 橘紅 半夏 天麻 釣鉤藤 甘草(炙)로 구성되어 있다[24,27].

먼저 pentylenetetrazole-유도 경련억제효과에서 경련발현시간에 미치는 영향을 보면, 정간탕 추출물을 7일간 경구투여한 다음, pentylenetetrazole을 투여하여 경련을 유발시켰을 때, 용량의존적으로 유의적($p<0.05$)인 항경련효과를 나타내었다. 경련지속시간에 미치는 영향에서는 pentylenetetrazole 투여에 의해 정간탕은 대조군에 비해 경련지속시간을 단축시켰는데 용량의존적 경향을 보여주지는 않았다. Pentylenetetrazole은 chloride ion의 傳導에 영향을 미치는 GABA의 작용을 저해함으로서 경련을 유발하는 것으로 알려져 있으나 아직 자세한 기전은 명확하지 않다[49,50]. 다음으로 picrotoxin-유도 경련억제효과를 보면 경련발현시간에 미치는 영향에서는 약재 추출물을 7일간 경구투여한 다음, picrotoxin을 투여하여 경련을 유발시켰을 때, 경련발현이 억제되었으며 경련지속시간도 짧아졌다. Picrotoxin은 중추신경의 접합전 억제기능을 저해(blockade of presynaptic inhibition)시켜 흥분을 야기하는데 이 때, $GABA_A$ 수용체와 선택적으로 길항하여 경련을 일으키는 것으로 알려져 있다[51-54]. 다음으로 strychnine-유도 경련억제효과를 보면 경련발현시간에 미치는 영향에서는 약재 추출물을 7일간 경구투여한 다음, strychnine을 투여하여 경련을 유발시켰을 때, 어느 정도 경련을 억제시키는지를 관찰한 결과, 대조군과 거의 차이가 없었다. 그러나 경련지속시간은 오히려 늘어남으로서 정간탕은 strychnine 유발 경련에 대해서는 항경련 효과를 나타내지 않는 것으로 보인다. Strychnine은 중추신경계를 전반적으로 흥분시키지만 주로 脊髓부위를 흥분시키는데 그 기전은 脊髓에서 억제성 전달물질인 glycine과 선택적 길항 및 renshow세포의 활동을 차단하여 接合後 억제기능을 저해(blockade of postsynaptic inhibition)시킴으로서 강직성 경련을 일으키는 물질로 알려져 있다[51-54]. 경련유발물질에 따른 항경련효과를 상호비교해 보면 서로 기전이 다른 3종의 경련유발물질이 일으킨 경련에 대하여 약재추출물의 경련억제효과를 경련발현시간을 지표로 하여 상호비교해 본 결과, pentylenetetrazole에 의한 경련을 크게 억제한데 비해 다른 경련유발물질에 대해서는 억제효과가 미약하였다. 이러한 결과는 정간탕이 시납스 접합에 영향을 미치기보다는 chloride ion의 傳導에 영향을 미침으로서 신경수용체를 활성화시켜 항경련작용을 나타내는 것으로 분석된다. 정간탕은 경련유발물질에 의한 사망률을 감소시키는 것으로 나타났다.

신경계 효소活性에 미치는 영향을 보면 *in vivo*에서의 GABA-T 억제활성에서는 pentylenetetrazole을 투여한 대조군의 뇌중 GABA-T activity가 정상보다 유의적으로 크게 증가하여 경련이 유발되었음을 알 수 있으며 약재투여군의 경우에는 효소활성이 감소하여 경련을 억제시킴을 알 수 있었다. 한편, *in vitro*에서는 약재의 용량이 증가함에 따라 용량의존적으로 효소활성을 억제하였다. 정간탕이 동물모델에서의 항경련효과와 함께 GABA-T에 대한 억제효과가 있으므로 이러한 효과를 확인하기 위하여 약재를 경구투여한 다음, 실험동물의 뇌중 GABA 및 glutamate의 함량을 정량하였다. GABA는 포유동물의 뇌와

척수에 다량 존재하는 억제성 신경전달물질로 glutamate decarboxylase (GAD)에 의해 glutamate로 부터 생합성되는데 다시 GABA-T에 의해 glutamate와 succinic semialdehyde로 분해된다[55-58]. 따라서 약재가 GABA-T에 대한 억제효과가 있으면 뇌중 GABA의 농도가 증가하고 상대적으로 glutamate의 농도는 감소할 것으로 예상된다. 먼저 약재 추출물을 투여한 실험동물의 뇌중 GABA 함량을 고속액체크로마토그래피(HPLC)법으로 정량하기 위하여 먼저 표준 검량선을 작성한 다음, 약재 추출물을 투여한 실험동물의 뇌중 GABA 및 glutamate 함량을 HPLC로 정량하였다. GABA의 경우에는 대조군에서 감소한 GABA를 정간탕 7일 경구투여로 다시 증가시킴으로서 정간탕이 신경전달물질인 GABA의 증가에 의해 항경련효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 뇌중 glutamate함량 변화에 있어서는 대조군에서 증가된 glutamate level을 약재투여에 의해 다시 감소되지는 않은 것으로 나타나 정간탕은 glutamate 함량에는 변동을 주지 않는 것으로 생각된다.

Ⅴ. 結 論

定癎湯의 항경련효과를 동물모델을 대상으로 측정하였으며 신경전달에 관여하는 효소의 활성변동을 측정하였고 또한 이들이 뇌조직중의 신경전달물질의 농도에 어떠한 변화를 주는지를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정간탕은 pentylenetetrazole이나 picrotoxin으로 유도된 경련을 효과적으로 억제하였으며 경련지속시간도 단축하여 우수한 항경련작용을 나타내었는데 pentylenetetrazole-유도 경련을 보다 효과적으로 억제하였다. 그러나 strychnine-유도 경련억제효과는 나타내지 않았다.

2. 정간탕이 pentylenetetrazole에 의한 경련에 강한 억제효과를 보임에 따라 그 작용기전은 chloride ion의 傳導에 영향을 미쳐 신경수용체를 활성화시킴으로서 항경련작용을 나타내는 것으로 추정된다.

3. 정간탕은 *in vitro*와 *in vivo*에서 모두 GABA-T 효소활성 억제효과를 나타내었으며 *in vitro*에서의 효과는 용량의존적이었다.

4. 정간탕은 억제성 신경전달물질인 GABA의 함량을 증가시켰으나 흥분성 신경전달물질인 glutamate 함량에는 변동을 주지 않는 것으로 나타나 신경흥분 억제에 의해 항경련효과를 나타내는 것으로 추정된다.

결론적으로 定癎湯은 뇌중 경련억제성 신경전달물질을 증가시키고 신경수용체를 활성화시킴으로서 우수한 항경련효과를 가진다는 사실이 실험적으로 검증되었으므로 항경련에 유효한 처방이 될 수 있을 것으로 사료된다.

參考文獻

1. Richard F. Thompson 金基錫 譯. 腦-神經科學入門. 서울:도서출판 星苑社. 1996:98.
2. 황광민, 권준수, 이부영. 불안증상의 치료효과에 관한 busprione과 diazepam의 비교연

구. 정신의학. 1990;15:87-93.
3. Jackson, J.H.. On the anatomical, physiological and pathological investigation of epilepsies. In Selected writings of John Hughlings Jackson. Vol. I. London:Hodder & Stoughton, 1931:94.
4. Poter, R.J. Antiepileptic drug development program. Cleve. Clin. Q., 1984:51, 293.
5. 대한신경정신의학회 편. 神經精神科學. 서울:하나의학사. 1998:251-252.
6. Croucher, M.J., Collins, J.F. and Meldrum, B.S. Anticonvulsant action of antagonists of neuronal excitation due to dicarboxylic amino acids. Science. 1982:216, 899.
7. 楊維傑. 黃帝內經素問譯解. 서울:成輔社. 1980: 52, 88, 102, 207, .293, 325, 361, 381, 443, 474, 551, 593, 702.
8. 王懷隱. 太平聖惠方. 서울: 翰成社. 1980:2743-2744.
9. 金德坤. 東醫癎疾學. 서울: 書苑堂. 1998:25, 31-39.
10. 黃文東. 實用中醫內科學. 上海: 上海科學技術出版社. 1986:370-378.
11. Skolnick, P. and Paul, S. The benzodiazepine/GABA receptor chloride channel complex. I.S.I. Atlas of Science. Pharmacol.. 1988;2:19.
12. Tagaki, H., Oomura, Y., Ito, M. and Otsuka, M. Biowarning system in the brain. Tokyo:University of Tokyo Press. 1988: 227-241.
13. 辛容玹. 加減蘇合香元 香氣 및 癎寶丹이 中樞神經抑制 및 腦神經受容體 活性에 미치는 影響. 東國大學校 大學院. 2000.
14. 김성욱, 공대종, 안현국, 김근우, 구병수. 天麻葛根湯의 $GABA_A$/benzodia- zepine 神經受容體 效能活性에 關한 硏究. 대한한방신경정신과학회지. 2004;15(1):77-86.
15. 李相澤. 鎭肝熄風湯이 中樞神經系에 미치는 효능에 관한 硏究, 東國大學校 大學院, 2002.
16. 최은규. PTZ에 의해 痙攣誘發된 mouse에서 龍腦香의 抗痙攣效果에 대한 實驗的 硏究. 東國論集 제18집 醫學篇. 1999;257-295.
17. 金京玉. 薄荷와 龍腦 複合香氣의 抗痙攣效果 機轉에 관한 實驗的 硏究. 東國大學校 大學院. 2001.
18. 文相泰. 釣鉤藤의 痙攣억제 및 睡眠증강 效果에 關한 硏究. 東國大學校 大學院, 2001.
19. 朴慶洙. 石菖蒲 精油 香氣의 吸入이 白鼠痙攣抑制에 미치는 影響. 東國大學校 大學院. 2002.
20. 金大根. 甘松香 香氣液의 신경안정 및 기억증진 效果에 관한 硏究. 東國大學校 大學院. 2002.
21. 許 聖. 白殭蠶의 中樞神經系 약리효능에 관한 硏究. 東國大學校 大學院. 2002.
22. 吳 謙 등 編著. 御纂 醫宗金鑑. 北京:人民衛生出版社. 1998:591-592.
23.韓醫科大學本草學敎授 共著. 本草學. 서울:永林社. 1988: 302, 434, 448, 465, 492, 493. 496, 503, 504, 531, 536, 540, 578, 581.
24. 김창민 외 3인. 完譯 中藥大辭典. 서울:도서출판 정담. 1998: 1082-1086.
25. Bergmeyer, H.U. Method of enzymatic analysis, 3 eds., vol. 2. New York:Academic Press. 1983: 191-192.
26. Allen, I.C. and Griffthis, R. Reversed-phase high performance liquid chromatographic method for determination of brain glutamate decarboxylase suitable for use in kinetic studies. J. Chromatography. 1984:336, 385.
27. Hauser, W.A. Epidermiology of epilepsy.

Adv. Neurol. 1978:19, 313.
28. 해리슨 내과학 편찬위원회 편. 해리슨내과학 제13판. 서울:도서출판 정담.1997:2398, 2405-2406.
29. 서울대학교병원. 전공의 진료편람 내과 제1판. 서울:의학출판사. 1994:155.
30. 서울대학교 의과대학. 신경학 제2판. 서울:서울대학교출판부. 1988:165.
31. 여환호, 김영균, 김수관. 치과환자의 응급처치 및 의과적 고려사항 제1판. 서울:나래출판사. 1996:309.
32. 의학교육연수원. 가정의학 제4판. 서울:서울대학교출판부. 1989:289.
33. 이우주. 약리학강의 제3판. 서울:의학문화사. 1992:221.
34. Sonis, S.T., Fazio R.C., Fang L. Principles and practice of oral medicine, 1st ed. Philadelphia, W.B. Saunders. 1984:389.
35. Wilkins, R.H., Rengachary, S.R. Neurosurgery, 1st ed. New York: McGraw-Hill Book Co. 1985:304.
36. 이준형, 이근, 양혁준. 경련을 유발하는 약물중독의 임상적 고찰. 대한응급의학회지. 2000;9(1):148-155.
37. 王天才. 癲癎靈治療癲癎239例臨床治療觀察. 天津中醫. 1991;5:16-17.
38. 張愛國. 交際除癎丸治療癲癎476例. 山東中醫雜誌 1992;11(6):14-15.
39. 孫思邈. 備急千金要方. 서울: 大星文化社. 1992:139-141.
40. 李時珍. 本草綱目. 서울: 醫聖堂. 1993:895, 900, 902, 910, 1941-1942, 1945, 1965-1968.
41. 林杌琴. 類證治裁. 臺北: 旋風出版社. 1978:239-240.
42. 李梴. 醫學入門. 서울: 翰成社. 1977:398.
43. 龔信. 古今醫鑑. 臺北: 藝文印書館. 1971:7110.
44. 楊維傑. 黃帝內經靈樞譯解. 서울:成輔社. 1980:89, 105-145, 148-151, 250, 269, 359, 367-374.
45. 黃義完 외. 東醫精神醫學. 서울: 現代醫學書籍社. 1987:351,352.
46. 張機. 金匱要略. 서울: 大星文化社. 1995:16～17.
47. 趙 佶. 聖濟總錄. 北京:人民衛生出版社. 1978.
48. 황광민, 권준수, 이부영. 불안증상의 치료효과에 관한 busprione과 diazepam의 비교연구. 정신의학 15. 1990:87-93.
49. Metcalf, B.W. Inhibitors of GABA metabolism. Biochem. Pharmacol. 1979;28: 1705.
50. Holdiness, M.R. Chromatographic analysis of glutamic acid decarb- oxylase in biological samples. J. Chromatog. 1984: 277.
51. Hildebrandt, F. Pentamethylenetetrazole (Cordiazol). Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 1926:100, 116.
52. Swinyard, E.A. Laboratory evaluation of antiepileptic drugs. Epilepsia. 1969; 10:107.
53. Bitcher, R.P., Kanai, T., Wang, S.C. Intravenous, cortical and intraventricular dose-effect relationship of pentylenetetrazol, picrotoxin and deslanoside in dogs. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 1962;14:256.
54. Chapman, A.G., Riley, K., Evans, M.G., Meldrum, B.S. Acute effect of sodium valproate and ɣ-vinyl GABA on regional amino acid metabolism in the rat brain. Neurochem. Res. 1982;7:1089.
55. Horton, R.W. GABA, epilepsy and anticonvulsant drugs. In Trimble, M. and

Reynolds, E.H. (eds.) What is epilepsy? Edinburgh:Chulchill Livingston. 1984: 281-292.

56. Berl, S., Lajtha, A. and Waelach, H. amino acid and protein metabolism. VI. cerebral compartments of glutamic acid metabolism. J. neurochem. 1961;7: 186.
57. Gibbs, E.L., Gibbs, F.A. and Lennox, W.G. Cerebral dysrhythmias of epilepsy. Arch. Neurol. Psychiatr. 1938;39:298.
58. Lennox, W.G. Epilepsy and related disorders. Boston:Little Brown. 1960:31-34.