동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 10. No. 2, 1999

四物安神湯의 抗痙攣 效果 및 作用機轉에 關한 實驗的 硏究

*: 우석대학교 한의과대학 신경정신과학교실 **: 동국대학교 한의과대학 신경정신과학교실

權 保 亨* · 具 炳 壽**

Ⅰ. 緖 論

痙攣은 突發的이고 一過性인 發作을 特徵으로 하는 慢性中樞神經系疾患을 總稱하는 것으로, 不隨意的이고 全般的인 激烈한 筋肉의 攣搐을 症狀으로 하며[1-6], 韓醫學에서는 瘛瘲, 拘急, 拘攣 등이 類似한 意味로 使用되었고[7-11], 癎[12-18], 癲癎[19-21], 驚癎[22], 五癎[23], 風癎[24] 등의 用語로 表現되고 있다.

痙攣性疾患은 癎疾, 先天性 中樞神經系發達異常, 中樞神經系感染, 生化學的 代謝障碍, 腦腫瘍, 外傷에 의한 頭蓋骨損傷, 腦血管疾患, 退行性 腦機能障碍, 熱性痙攣 등 주로 中樞神經系의 異常으로 인해 招來되는 것으로, 이 중 가장 代表的인 疾患으로 癎疾이 言及되고 있다[25-27].

癎疾은 大腦神經元의 갑작스러운 過度하고 無秩序한 放電에 起因하여 痙攣性運動이 나타나는 것으로[1-3], 癎疾의 原因은 明確하게 밝혀지진 않았으나 近來에 急增하는 交通事故와 産業現場에서의 安全事故에 의한 頭蓋骨損傷 및 電子娛樂, 藥物 誤濫用에 의한 中毒 등이 癎疾發作의 한 原因이 되고 있는 점을 考慮할 때, 癎疾患者는 점차 增加하고 있는 趨勢이다[28-30].

한편 이러한 痙攣發作의 發生機轉은 正確하게 밝혀지고 있지 않으나 最近에 와서 中樞의 興奮性 神經傳達機能과 抑制性 傳達機能 사이의 均衡消失이 發作의 原因이라는 學說이 提示된 후, 中樞神經系에서 興奮性 또는 抑制性 神經傳達物質로 作用하는 아미노산들이 關心의 對象이 되고 있다[28-30]. 특히 興奮性 神經傳達物質의 하나인 glutamic acid와 抑制性 傳達物質인 GABA의 機能的 均衡障碍가 發作機轉의 重要한 原因으로 作用한다는 硏究報告가 發表되었으며, 그 治療 또한 GABA代謝 抑制物質을 中心으로 硏究되어지고 있다[31,32].

韓醫學에서는 痙攣을 項背强急, 四肢抽搐, 角弓反張이 主症인 病症으로 說明하고 있으며, <內經·經筋篇>에서는 "經筋之病 寒則反折筋急"이라 하였고, <內經·至眞要大論>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[33-35], <金匱要略>에서는 津液의 耗傷으로 筋脈이 濡養을 받지 못하는 것도 原因이 될 수 있다고 하였다[36]. <醫學入門>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[13].

四物安神湯은 龔[37]의 <萬病回春>에 "治心中無血養, 故作怔忡"이라 記載된 이래, 許 등[38,39]은 心血虧損에 의한 怔忡, 躁動, 失眠, 多夢, 不安, 易驚, 健忘, 恍惚 등의 症狀에 應用하였고, 最近 黃[40]은 鎭靜, 鎭痛, 血壓降下效果, 柳[41]는 心筋의 虛血狀態를 改善하는 作用, 權[42]은 抗스트레스 效果가 있음을 報告한 바 있으나 抗痙攣에 對한 報告는 아직 接한 바가 없었다.

이에 著者는 養血安神, 淸心瀉火의 效能을 가진 四物安神湯의 抗痙攣 效果와 그 機轉을 實驗的으로 立證하고자, 實驗動物에서의 毒性反應 檢査, 中樞神經系에 미치는 影響, 抗痙攣 效果, GABA와 glutamic acid의 腦組織 中 含量變化를 通한 抗痙攣 效果의 作用機轉, 痙攣 誘發時 腦中 活性酸素의 生成 및 分解系에 미치는 影響 등을 檢討한 結果 有意한 成績을 얻어 報告하는 바이다.

Ⅱ. 實 驗

1. 材料

1) 試藥 및 機器

試藥 中 pentylenetetrazol, pentobarbital, chlorpromazine, strychnine, bicuculline, picrotoxin, γ-aminobutyric acid (GABA), L-glutamic acid, o-phthaldialdehyde(OPA), 2-aminoethylisothiouronium bromide(AET), bovine serum albumin(BSA), ATP, nicotinamide, NADH, NADPH, α-ketoglutaric acid, aminopyrine, glutathione reductase, N-methylnicotinamide, 2, 4-dinitrochlorobenzene, L-α-aminobutyric acid, UDP-glucuronic acid는 Sigma製, glycine, N,N′-methyl-bis-acrylamide, malondialdehyde는 Aldrich製, propionaldehyde, reduced glutathione, pyridoxal 5′-phosphate (PLP), oxidized glutathione는 Fluka製, semicarbazide, 2-mercaptoethanol, phenol reagent는 Junsei chemical製, trichloroacetic acid, sodium tungstate는 Katayama製, High performance liquid chromatography (HPLC)에 使用된 물과 methanol 및 ethanol은 Merck社 製品을 使用하였으며, 기타 使用한 試藥은 特級 내지 一級品을 使用하였다.

實驗에 使用한 機器는 membrane filter(Gelman, 47 mm, 0.2 μm: Microfilteration systems, 13 mm, 0.2 μm), filter holder(Milipore, 47 mm: Gelman, 13mm), UV-spectrophotometer(Shimadzu, UV-240), refrigerated centrifuge(Beckman, J2-21), ultracentrifuge(Hitachi, 65-P7), HPLC column(Water, RP-C18, 4.0 mm I.D. 10 μm), HPLC pump(Varian 5000), HPLC controller(Varian ODS 401), fluoresence detector(Varian), cold lab. chamber (Korean manhattan, KMC-8512), ECT unit 7801(Ugo Basile, Italy) 등이었다.

2) 藥材 및 檢液의 調製

藥材는 東國大學校附屬韓方病院에서 購入하여 嚴選한 것을 使用하였으며, 處方은 <東醫寶鑑>[38]에 記載된 四物安神湯으로 1貼의 處方內容과 分量은 Table 1과 같다.

Table 1. The Compositions of Samulanshintang

構成藥物	生藥名	用量(g)
當歸	Angelicae gigantis Radix	2.625
白芍藥	Paeoniae Radix	2.625
生地黃	Rehmanniae Radix	2.625
熟地黃	Rehmanniae Radix	2.625
人蔘	Ginseng Radix	2.625
白朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	2.625
白茯神	Poria	2.625
酸棗仁(炒)	Zizyphi Semen	2.625
黃連(炒)	Coptidis Rhizoma	2.625
梔子(炒)	Gardeniae Fructus	2.625
麥門冬	Liriopis Tuber	2.625
竹茹	Phyllostachy	2.625
辰砂(細末)	Cinnabaris	1.875
大棗	Zizyphi inermis Fructus	3.600
米(炒)	*Oryza sativa L.*	0.800
烏梅	Mume Fructus praeparatus	5.200
	Total amount	42.975 g

上記 處方 10貼 分量 中 辰砂를 除外한 411g을 水洗하여 蒸溜水로 2回 8時間 加熱 抽出하고 吸引濾過한 濾液을 rotary evaporator로 減壓 濃縮한 다음 粗粘狀 抽出物을 凍結乾燥하여 粉末 86.53g을 얻어 本 實驗에 必要로 하는 濃度로 生理食鹽水로 稀釋하여 使用하였다. 檢液의 投與는 mouse 體重 1kg當 100, 200, 300, 500mg의 四物安神湯煎湯液과 用量을 計算한 辰砂를 生理食鹽水에 懸濁하여 1日 1回 10日間 經口로 投與하였다.

3)動物

實驗動物은 韓國實驗動物開發로부터 分讓 받아 動物舍에서 一定한 條件(溫度 : 20±2℃, 濕度 : 40-60%, 明暗 : 12時間 light/dark cycle)으로 2周 동안 適應시킨 體重 25g 內外의 ICR系 雄性 mouse를 使用하였다. 實驗開始 前 24時間 동안 물만 먹이고 絶食하였다. 이때 酵素活性의 日

中變動을 考慮하여 實驗動物을 一定時間(午前 10:00-12:00) 內에 處置하였다.

2. 中樞神經系에 미치는 影響

1) 睡眠延長作用

雄性 ICR mouse를 1群 10마리로 하여 使用하였다. 實驗物質을 經口投與하고 1時間 後에 pentobarbital 50mg/kg을 腹腔內 投與하여 正向反射의 消失時間 및 覺醒時間을 測定 比較하였다. 陽性對照物質은 chlorpromazine을 使用하였다.

2) 自發運動量 測定

雄性 mouse를 1群 10마리, 1組 2마리로 하여 實驗 前日에 外觀上 健康한 mouse를 選別하였고 實驗前 5分間 acitivity cage[43]에 適應시킨 後 實驗物質을 經口投與하고, 動物의 움직임에 따라 電氣的 信號를 發生해 一定時間에 그 數를 計算하여 運動性을 測定하는 器機인 activity cage를 利用하여 0.5, 1, 2, 4時間에 5分間의 mouse의 自發運動量을 測定하였다. 陽性對照物質은 chlorpromazine을 使用하였다.

3) 運動協助能 測定

雄性 mouse 10마리를 1群으로 하여 Dunham의 方法[44]에 따라 直徑 4cm, 8rpm으로 回轉하는 回轉棒에 5分 以上 落下하지 않는 mouse를 實驗 前日에 選別하여 實驗物質을 經口投與하고 0.5, 1, 2, 4時間에서 2分內에 落下하는 mouse의 數를 計算하였으며, 陽性對照物質은 chlorpromazine을 使用하였다.

3. 抗痙攣 效果

1) 最大電擊痙攣

Woodbury 등의 方法[45]에 準해 電擊痙攣 刺戟裝置를 利用, 生理食鹽水를 点適한 兩眼에 50mA, 110V, 60Hz의 定電流를 0.2秒간 通電하여 뒷발의 强直性 振顫痙攣의 發現을 指標로 最大電擊痙攣의 發現 및 死亡의 有無를 觀察하였다.

2) Strychnine으로 誘發된 痙攣

Araki 등의 方法[46]에 準해 strychnine 2.5mg/kg을 腹腔內에 注射하여 痙攣의 發現 및 死亡의 有無를 觀察하였다.

3) Pentylenetetrazol(PTZ)로 誘發된 痙攣

Sohn 등의 方法[47]에 準해 PTZ(70mg/kg, s.c.)을 注射하여 痙攣의 發現 및 死亡의 有無를 觀察하였다.

4) Bicuculline 및 picrotoxin으로 誘發된 痙攣

Holland 등의 方法[48]에 準해 bicuculline(3.2mg/kg) 및 picrotoxin(5.0mg/kg)을 注射하여 痙攣의 發現 및 死亡의 有無를 觀察하였다.

4. 酵素源의 調製

實驗動物을 炭酸가스로 麻醉 致死시켜 頭蓋骨을 正中線을 따라 切開하여 腦組織을 摘出하고 0.9% 生理食鹽水로 씻은 後 組織 1g當 1ml의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 加하여 氷冷下에서 glass teflon homogenizer로 磨碎하였다. GABA-T 活性 測定의 酵素源은 磨碎 均質液을 35,000xg에서 30分間 遠心分離하여 얻은 上澄液을 使用하였다. GAD 活性 測定의 酵素源은 腦組織을 1mM aminoethylisothiouronium bromide와 2mM pyridoxal-5'-phosphate를 包含하는 0.3M triethanolamine buffer(pH 6.8)로 均質 磨碎한 다음 15,000xg에서 20分間 遠心分離하여 얻은 上澄液을 酵素源으로 使用하였다.

腦組織 1g當 4倍量의 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 加하여 氷冷下에서 glass teflon homogenizer로 磨碎하였다. 이 磨碎液을 homogenate 分劃으로 하였으며, 이것을 600xg에서 10分間 遠心分離하여 核 및 未磨碎 細胞部分을 除去하고 다시 10,000xg에서 20分間 遠心分離하여 그 沈澱物에 一定量의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 加하고 懸濁시켜 mitochondria 分劃으로 하고 上澄液을 다시 105,000xg에서 1時間 동안 超遠心分離하여 얻은 上澄液

을 cytosol 分劃으로, 그 沈澱物에 同一한 量의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 加하여 懸濁시킨 液을 microsome 分劃으로 하였다. mitochondria와 microsome 分劃은 懸濁한 後 再遠心分離하여 酵素源으로 使用하였다. 이렇게 얻어진 homogenate는 glutathione 및 lipid peroxidation 含量의 測定, cytosol 分劃은 xanthine oxidase, aldehyde oxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase 活性의 測定에 使用하였으며, mitochondria 分劃은 catalase 活性 測定의 酵素源으로 使用하였다.

5. 血液의 生化學的 檢査 및 血液學的 檢査

血液의 生化學的 檢査는 各 動物을 炭酸가스로 麻醉시킨 後 腹部 正中線을 따라 開腹하여 腹部大動脈으로부터 血液을 採取하고 遠心分離하여 血淸을 分離하였다. Clinical Spectrophotometer(Shimadzu, CL-700)를 利用하여 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase(ALP), γ -glutamyltranspeptidase(GGT) 및 sorbitol dehydrogenase(SDH)의 活性度를 測定하였다. 血液學的 檢査는 EDTA와 구연산나트륨 등의 抗凝固劑를 添加한 血液에서 白血球(WBC), 赤血球(RBC) 및 血色素에 對하여 血球自動測定器(Japan, Sysmex K-1000 Cell Counter)를 利用하였다.

6. 腦組織 中 GABA 및 glutamic acid의 含量 測定

腦組織 中 GABA 및 glutamic acid 含量 測定은 Allen 등의 方法[49]을 약간 變更하였다. 腦組織을 1mM aminoethylisothiouronium bromide와 2mM pyridoxal-5′-phosphate를 包含하는 0.3M triethanolamine buffer(pH 6.8)로 10% 磨碎均質液을 調製한 다음 15,000xg에서 20分間 遠心分離하여 얻은 postmitochondria 分劃을 一定量의 200mM potassium phosphate buffer (pH 6.8)에 添加한 後 氷冷의 ethanol로 除蛋白시켰다. 이것을 遠心分離하여 얻은 上澄液을 membrane filter를 使用하여 濾過한 다음 濾液 中에 含有된 GABA 및 glutamic acid의 含量을 高速液體 크로마토그래프를 利用하여 分離시킨 後 標準品의 維持時間(GABA: 11.3分, glutamic acid: 19.8分)과 比較確認한 後 標準 檢量線에 準해 그 含量을 算定하였다 (Table 2). GABA 및 glutamic acid의 含量은 組織 蛋白質 1mg當 nmole로 나타내었다.

Table 2. Conditions of HPLC for the Determination of Brain GABA and Glutamic Acid Concentration in Mouse

Parameter	Conditions
Column	RP-C18(150 x 4.0 mm I.D., 10 μm)
Flow rate	0.6ml/min
Mobile phase	10mM potassium acetate buffer (pH 6.5) - Methanol
Gradient	Methanol 20% → 70%/40min
Attenuation	8
Detector	Fluorescence detector (λAC : 340nm, λEm : 450nm)

7. 腦組織 中 過酸化脂質의 含量測定

Ohkawa 등의 方法[50]에 準하여 腦組織 1g當 9倍量의 生理食鹽水를 加해 磨碎하고, 이 磨碎液에 8.1% sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer(pH 3.5) 및 發色의 目的으로 0.8% thiobarbituric acid를 加한 後 95℃에서 1時間 동안 反應시킨 後 室溫에서 冷覺시켜 n-BuOH : Pyridine(15 : 1)을 添加하여 15分間 遠心分離시킨 後 紅色의 n-BuOH : Pyridine 層을 取하여 波長 532nm에서 그 吸光度를 測定하고 標準曲線에서 그 含量을 腦組織 1g當 malondialdehyde nmole로 表示하였다.

8. 腦組織 中 glutathione의 含量測定

腦組織 中 glutathione含量 測定은 Ellman의 方法[51]에 準하여 腦組織 homogenate 0.5ml에 4% sulfosalicylic acid 0.5ml를 加하고 2,500rpm에서 10分間 遠心分離한 後 上澄液 0.3ml를 取하여 disulfide reagent 2.7ml를 넣고 20分間 放置 後 412nm에서 吸光度를 測定하고 標準檢量線

에 準하여 算定하였다.

9. 酵素活性 測定

1) GABA-T의 活性測定

GABA-T의 活性은 Bergmeyer의 方法[52]에 따라 一定量의 0.15M potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 60mM α-ketoglutaric acid 100㎕와 基質인 4μM GABA 50㎕ 및 調製된 酵素源 100㎕를 添加하여 incubator에서 30分間 反應시킨 다음, 이때 生成된 succinic semialdehyde에 助酵素인 0.12mM NADP 10㎕를 添加하고 20分間 反應시켜 生成되는 NADPH를 340nm에서 測定하여 酵素 活性을 算定한다.

2) GAD의 活性測定

GAD의 活性은 Allen 등의 方法[49]에 따라 一定量의 200mM potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 基質인 0.4mM glutamic acid 200㎕와 助酵素인 10mM pyridoxal-5'-phosphate 400㎕ 및 調製된 酵素源 100㎕를 함께 添加하여 incubator에서 20分間 反應시킨 後 氷冷의 ethanol로 反應을 終了시키고 遠心分離하여 얻은 上澄液을 membrane filter를 使用하여 濾過한 다음 그 濾液 中에 含有된 GABA의 含量을 高速液體 크로마토그래프를 利用하여 定量하였다.

3) Xanthine oxidase의 活性測定

Stirpe과 Della의 方法[53]에 準하여 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 3.0ml에 酵素液 0.4ml를 加하고 基質인 60μM의 sodium xanthine 0.1ml를 加하여 37℃에서 反應시킨 後 20% trichloroacetic acid를 加하여 除蛋白시키고 上澄液을 取한 後 生成된 uric acid를 波長 292㎚에서 吸光度를 測定하고 標準檢量線에 根據하여 活性度를 算出하였다. 酵素活性의 單位는 1分當 1㎎ protein이 生成하는 uric acid의 量을 nmole로 나타내었다.

4) Aldehyde oxidase의 活性測定

Rajagopalan 등의 方法[54]에 準하여 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 基質인 N-methylnicothinamide chloride와 酵素液을 加하여 反應시킨 後 生成物인 2-pyridone을 300㎚에서 吸光度를 測定하고 標準檢量線에 基準하여 活性度를 算定하였다. 酵素活性의 單位는 1分當 1㎎ protein이 生成하는 2-pyridone의 量을 nmole로 나타내었다.

5) Superoxide dismutase(SOD)의 活性測定

Marklund와 Marklund의 方法[55]에 準하여 0.2M potassium phosphate buffer(200 μM cyochrome C, 100μM EDTA 含有 pH 8.6) 1.0ml에 酵素液 0.2ml를 加하여 ice bath 上에서 20分間 放置하고, test에는 alkaline dimethyl sulfoxide(DMSO) 溶液 0.5ml, blank에는 non-alkaline DMSO 溶液 0.5ml를 各各 加하여 37℃에서 30分間 反應시킨 後 波長 550nm에서 減少되는 cytochrome C의 吸光度를 測定하고 alkaline DMSO-mediated cytochrome C reduction을 50% 抑制하는 enzyme量을 1 unit로 算定하여 活性度를 表示하였다.

6) Catalase의 活性測定

Aebi의 方法[56]에 準하여 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 中에 基質인 10mM H_2O_2의 還元되는 程度를 波長 240nm에서 吸光度를 測定하고 分子吸光計數 0.041mM-1cm-1를 利用하여 活性度를 算定하였다. 酵素活性의 單位는 1分當 1mg protein이 分解하는 hydrogen peroxide의 量을 nmole로 表示하였다.

7) Glutathione peroxidase의 活性測定

Paglia와 Valentine의 方法[57]에 準해 hydrogen peroxide 및 glutathione이 含有된 0.1mM Tris buffer(pH 7.2) 中에서 酵素液을 加하여 波長 340nm에서 吸光度를 測定하고 標準檢量線에 準하여 活性度를 算定하였다. 酵素活性의 單位는 1分當 1mg protein이 生成하는 NADP의 量을 nmole로 表示하였다.

10. 急性毒性(LD_{50}) 測定

急性毒性의 測定은 Behrens-Kerber法[58](平均致死量

法)에 따라 mouse를 各 群當 30마리씩 하여 四物安神湯煎湯液을 2,000 · 2,500 · 3,000 · 3,500 · 4,000 · 4,500 · 5,000 mg/kg으로 投與 用量을 다르게 하면서 腹腔內에 注射한 後 24時間 동안 死亡與否를 觀察하여 다음 式에 따라 LD^{50} 値를 求하였다.

$$LD_{50} = D - \Sigma zd/m$$

D : 全例 死亡하는 投與量 z : 두 連續量에 의한 動物의 死亡數
d : 連續用量의 差異 m : 1群中의 動物數

11. 蛋白質 定量 및 統計處理

蛋白質의 含量은 Lowry 등의 方法[39]에 準하여 bovine serum albumin (Sigma, Fr. No. IV)을 標準品으로 하여 測定하였다. 本 實驗에서 얻어진 結果는 平均値±標準偏差로 表示하였고, 統計的 有意性은 Duncan's new multiple range test를 利用하였다.

Ⅲ. 實驗成績

1. 四物安神湯煎湯液 投與時의 影響

1) 肝機能의 變化

四物安神湯煎湯液의 亞急性中毒을 檢査할 目的으로 血液의 生化學的 檢査를 施行하였는데 有意性있는 變化를 나타내지 않았다(Table 3).

2) 亞急性毒性에 미치는 影響

血液 中 WBC, RBC 및 Hb를 測定하였으나 有意性있는 變化는 나타나지 않았다(Table 4).

Table 3. Effect of Samulanshintang Water Extract (SMAT) on Serum Aminotransferase, Alkaline Phosphatase, Sorbitol Dehydrogenase, γ -glutamyltranspeptidase Activities in Rats

Parameter	/ Dose(mg/kg) / No. of Animal	0 10	100 10	200 10	300 10	500 10
ALT(U/L)		36.7±4.21^{ns}	42.3±8.97	39.6±5.27	43.0±9.00	38.4±6.27
AST(U/L)		68.9±15.3^{ns}	63.0±14.6	70.8±17.4	71.7±19.6	65.4±13.8
ALP(U/L)		124.0±30.5^{ns}	139.2±32.8	135.0±22.5	131.0±38.2	126.8±36.7
GGT(U/L)		23.7±2.24^{ns}	26.5±1.98	28.4±2.40	24.8±2.14	25.9±1.87
SDH(U/L)		19.4±1.60^{ns}	20.4±2.10	19.3±1.74	18.3±1.62	18.9±1.53

The assay procedure was described in the experimental methods.
Values represent means ± S.D.
^{ns} : not significant

Table 4. Hematological Values of Rats Intraperitoneally Treated with SMAT

Parameter	/ Dose(mg/kg) / No. of Animal	0 10	100 10	200 10	300 10	500 10
WBC($\times 10^3/\mu l$)		13.8±2.17^{ns}	14.3±2.18	13.6±3.21	15.3±4.01	15.8±2.76
RBC($\times 10^3/\mu l$)		7.63±0.27^{ns}	7.72±0.30	7.57±0.43	7.55±0.39	7.87±0.32
Hb(g/dl)		15.0±0.62^{ns}	15.3±0.51	14.3±0.65	14.8±0.35	15.3±0.67

The assay procedure was described in the experimental methods.
Values represent means ± S.D.
^{ns} : not significant

3) 急性毒性에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液을 投與한 全 用量에서 死亡例는 觀察할 수 없었다(Table 5).

Table 5. Acute Toxicity Test of SMAT

Dose(mg/kg)	2,000	2,500	3,000	3,500	4,000	4,500	5,000
Dead / Treated	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30

* : The number of dead mice for 24hrs after intraperitoneally injection of SMAT

2. 中樞神經系에 미치는 影響

1) 睡眠延長作用에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液은 pentobarbital 誘發 睡眠作用에 있어 正向反射 消失時間 및 睡眠時間에 전혀 影響을 나타내지 않았다. 그러나 陽性對照物質로 使用한 chlorpromazine 10mg/kg의 經口投與는 有意性있는($p<0.05$) 睡眠延長作用을 나타내었다(Table 6).

Table 6. Effect of SMAT on Pentobarbital Induced Sleeping Time in Mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	N	Onset (min)	Duration (min)
Control		10	3.60 ± 0.17[a]	80.16 ± 6.04[a]
SMAT	100	10	3.47 ± 0.21[a]	78.07 ± 5.87[a]
	200	10	3.37 ± 0.19[a]	76.46 ± 3.26[a]
	300	10	3.41 ± 0.20[a]	87.21 ± 2.46[a]
	500	10	3.33 ± 0.14[a]	89.90 ± 3.62[a]
CPZ	10	10	2.76 ± 0.26[b]	178.5 ± 26.3[b]

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample. The procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. and values followed by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

2) 自發運動量에 미치는 影響

Mouse의 自發運動量에 대하여 四物安神湯煎湯液은 어떠한 影響도 나타내지 않았으나 陽性對照物質로 使用한 chlorpromazine 10mg/kg의 經口投與 後 30分부터 2時間까지 有意性있는($p<0.05$) 自發運動量의 減少를 나타내었다(Table 7).

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample. The procedure was described in the experimental

Table 7. Effect of SMAT on the Locomotor Activity in Mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	N	Locomotor activity(count/5min)				
			0	0.5	1	2	4hr
Control		10	667.3±40.3[a]	480.2±51.9[a]	354.3±42.1[a]	258.8±27.4[a]	200.8±31.3[a]
SMAT	100	10	694.6±29.9[a]	499.4±47.8[a]	372.1±47.5[a]	271.1±35.3[a]	210.2±45.3[a]
	200	10	700.8±37.5[a]	484.0±40.0[a]	351.9±35.2[a]	245.5±26.2[a]	200.7±35.5[a]
	300	10	703.0±29.8[a]	490.6±56.1[a]	384.7±34.3[a]	300.6±43.3[a]	230.3±34.9[a]
	500	10	702.5±39.6[a]	480.7±40.2[a]	363.9±30.2[a]	290.8±44.3[a]	200.6±35.5[a]
CPZ	10	10	659.6±45.0[a]	255.1±33.7[b]	124.2±33.7[b]	142.6±29.9[b]	188.9±27.1[a]

methods. Values are mean ± S.D. and values followed by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

3) 運動協助能에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液은 100, 200mg/kg의 投與에서는 特異한 影響을 나타내지 않았으나, 300, 500mg/kg의 投與에서는 1時間부터 4時間代에 20%의 減少率을 나타내었다. 그러나 陽性對照物質로 使用한 chlorpromazine 10mg/kg의 經口投與 後 30分, 1, 2, 4時間에서 各各 20, 40, 70, 30%의 減少率을 나타내었다(Table 8).

Table 8. Effect of SMAT on the Rotarod Test in Mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	N	Inhibition of performance(%)			
			0.5	1	2	4hr
Control		10	0	0	0	0
SMAT	100	10	0	0	0	0
	200	10	0	10	10	0
	300	10	10	20	20	10
	500	10	10	20	30	10
CPZ	10	10	20	40	70	30

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one our after the final treatment of sample. The procedure was described in the experimental methods.

3. 抗痙攣 效果

1) 最大電擊痙攣에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液은 maximal electric seizure(MES)로 痙攣을 誘發시켰을 때, 各 實驗例에서 有意한 差異를 나타내지 않았다. 그러나 陽性對照物質로 使用한 phenobarbital 100mg/kg 經口投與에서는 强直性痙攣 및 死亡數를 抑制시켰다(Table 9).

Table 9. Effect of SMAT on the MES-Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	N	Convulsion(%)		Mortality (%)
			T.E.	C.C.	
Control		10	100	10	90
SMAT	100	10	100	20	80
	200	10	100	10	90
	300	10	100	20	80
	500	10	100	10	90
PHB	100	10	0	100	0

Each sample was administrated once a day for ten days orally to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received electric shock(110V, 50mA, 0.2seconds). The procedure was described in the experimental methods.

T.E., tonic extensive convulsion : C.C., clonic convulsion

2) Strychnine으로 誘發된 痙攣에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液은 strychnine으로 痙攣을 誘發시켰을 때, 各 實驗例에서 對照群에 比하여 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다. 그러나 陽性對照物質로 使用한 phenobarbital 100mg/kg 經口投與에서는 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間을 有意的으로 增加시켜 抗痙攣作用을 나타내었다(Table 10).

Table 10. Effect of SMAT on the Strychnine Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	N	Onset		T.E.		Mortality	
			Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	0	10	100	240.6 ± 10.3^{a}	100	$232.6\pm15.8^{a,b,c}$	100	$258.4\pm10.2^{a,b}$
SMAT	100	10	100	241.8 ± 20.6^{a}	100	249.7 ± 18.2^{c}	100	$267.2\pm20.3^{b,c}$
	200	10	100	269.3 ± 16.9^{a}	100	260.2 ± 13.3^{c}	100	$270.2\pm17.2^{b,c}$
	300	10	100	250.7 ± 21.3^{a}	100	273.6 ± 12.9^{c}	100	$269.2\pm18.7^{a,b,c}$
	500	10	100	260.2 ± 16.8^{a}	100	272.4 ± 20.7^{a}	100	$273.3\pm19.4^{a,b,c}$
PHB	100	10	90	484.4 ± 40.6^{a}	40	-	0	-

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received strychnine(2.5mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. and values followed by the same superscript are not significantly differen t($p<0.05$) each other by new multiple square method.
T.E., tonic extensive Inc., incidence : Lat., latent time from strychnine treatments.

3) Bicuculline 및 picrotoxin으로 誘發된 痙攣에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液은 bicuculline 및 picrotoxin으로 痙攣을 誘發시켰을 때, 各 抽出物에서의 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다. 그러나 陽性對照物質로 使用한 phenobarbital 100mg/kg 經口投與에서는 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間을 有意的으로 增加시켜 抗痙攣作用을 나타내었다(Table 11 · 12).

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received bicuculline(3.2 mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. and values followed by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.
T.E., tonic extensive convulsion : Inc., incidence: Lat., latent time from bicuculline treatments.

Table 11. Effect of SMAT on the Bicuculline-Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	N	Onset		T.E.		Mortality	
			Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	0	10	100	352.2 ± 45.2^{a}	100	$373.8\pm45.8^{a,b,c}$	100	$392.4\pm31.6^{a,b}$
SMAT	100	10	100	339.3 ± 28.0^{a}	100	365.9 ± 28.5^{c}	100	$385.2\pm33.5^{b,c}$
	200	10	100	334.9 ± 37.5^{a}	100	368.6 ± 33.3^{c}	100	$382.1\pm23.9^{b,c}$
	300	10	100	331.9 ± 28.8^{a}	100	356.9 ± 42.9^{c}	100	$378.5\pm31.1^{a,b,c}$
	500	10	100	329.3 ± 37.2^{a}	100	347.0 ± 30.9^{a}	100	$374.6\pm26.9^{a,b,c}$
PHB	100	10	0	-	0	-	0	-

Table 12. Effect of SMAT on the Picrotoxin-Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	N	Onset		T.E.		Mortality	
			Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	0	10	100	615.0 ± 25.3^{a}	100	$627.6\pm35.7^{a,b,c}$	100	$651.3\pm21.5^{a,b}$
SMAT	100	10	100	629.2 ± 38.1^{a}	100	655.6 ± 28.1^{c}	100	$671.1\pm33.4^{b,c}$
	200	10	100	624.1 ± 27.4^{a}	100	655.5 ± 23.2^{c}	100	$672.0\pm23.3^{b,c}$
	300	10	100	621.8 ± 48.5^{a}	100	646.7 ± 22.5^{c}	100	$665.4\pm21.9^{a,b,c}$
	500	10	100	618.2 ± 37.9^{a}	100	637.9 ± 30.6^{a}	100	$664.6\pm26.1^{a,b,c}$
PHB	100	10	0	-	0	-	0	-

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received picrotoxine(5.0 mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. and values followed by the same superscript are not significantly differen t($p<0.05$) each other by new multiple square method. T.E., tonic extensive convulsion : Inc., incidence : Lat., latent time from picrotoxin treatments.

4) PTZ로 誘發된 痙攣에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液은 PTZ로 痙攣을 誘發시켰을 때, 100, 200mg/kg의 投與에서는 對照群에 比하여 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다. 그러나 300, 500mg/kg을 投與하였을 때는 痙攣發現時間 및 死亡率에서 有意的으로 增加시킴을 觀察할 수 있었다. 陽性對照物質로 使用한 phenobarbital 100mg/kg 經口投與에서는 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間을 有意的으로 增加시켜 抗痙攣作用을 나타내었다(Table 13).

Each sample was administrated once a day for ten days orally to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70 mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values are Mean ± S.D. and values followed by the same superscript are not significant($p<0.05$) each other by new multiple square method. T.E., tonic extensive: Inc., incidence: Lat., latent time from PTZ treatments.

5) 辰砂를 除去한 四物安神湯煎湯液이 PTZ로 誘發된 痙攣에 미치는 影響

四物安神湯 處方에서 辰砂를 除去한 煎湯液 100, 200, 300mg/kg의 投與에서는 對照群에 比하여 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다. 그러나 500mg/kg을 投與하였을 때는 痙攣發現時間 및 死亡率에서 辰砂를 添加한 四物安神湯에 比하여 有意的으로 增加를 나타내지는 않았으나, PTZ에 의하여 誘導되는 痙攣을 輕減시킴을 觀察할 수 있었다. 陽性對照物質로 使用한 phenobarbital 100mg/kg 經口投與에서는 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間을 有意的으로 增加시켜 抗痙攣作用을 나타내었다(Table 14).

Table 13. Effect of SMAT on the PTZ-Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	N	Onset		T.E.		Mortality	
			Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	0	10	100	45.7 ± 3.26^{a}	100	158.5 ± 5.87^{a}	100	187.6 ± 5.87^{a}
SMAT	100	10	100	48.6 ± 2.36^{a}	100	166.4 ± 7.36^{a}	100	193.2 ± 4.26^{a}
	200	10	100	50.3 ± 5.97^{a}	100	180.6 ± 8.26^{b}	100	$200.9\pm7.46^{a,b}$
	300	10	100	60.7 ± 6.27^{c}	100	$200.7\pm9.27^{b,c}$	100	250.3 ± 11.0^{c}
	500	10	100	62.9 ± 7.23^{c}	100	220.3 ± 10.3^{c}	100	260.4 ± 11.3^{c}
PHB	100	10	0	-	0	-	0	-

Table 14. Effect of SMAT Except for Jinsa on the PTZ-Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Dose (mg/kg,p.o.)	N	Onset		T.E.		Mortality	
			Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	0	10	100	47.3 ± 2.37^{a}	100	151.7 ± 8.27^{a}	100	$185.3\pm7.10^{a,b}$
SMAT	100	10	100	46.2 ± 2.13^{a}	100	155.3 ± 6.39^{a}	100	188.2 ± 8.42^{a}
	200	10	100	51.0 ± 3.11^{a}	100	160.8 ± 9.21^{a}	100	180.4 ± 8.99^{a}
	300	10	100	$53.1\pm2.97^{a,b}$	100	168.6 ± 7.96^{a}	100	196.1 ± 6.35^{b}
	500	10	100	59.8 ± 3.00^{b}	100	163.6 ± 8.55^{b}	100	$210.9\pm9.11^{b,c}$
PHB(mg/kg)	100	10	0	-	0	-	0	-

Each sample was administrated once a day for ten days orally to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values are Mean ± S.D. and values followed by the same superscript are not significant($p<0.05$) each other by new multiple square method. T.E., tonic extensive: Inc., incidence: Lat., latent time from PTZ treatments.

6) 四物安神湯香氣가 PTZ로 誘發된 痙攣에 미치는 影響

四物安神湯方劑를 箱子(크기 11.0×11.0×5.0cm/30마리, 42.975g/30마리)에 넣어 clean bench에서 2, 4, 8, 12, 24時間 實驗動物에 吸入하고 PTZ로 痙攣을 誘發시켰을 때, 對照群에 比하여 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다(Table 15).

Fragrance was inhalated for 2, 4, 8, 12, 24 hours a day to mice. An ten minute after the final inhalation of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. T.E., tonic extensive: Inc., incidence: Lat., latent time from PTZ treatments.

ns : not significant

Table 15. Effect of Samulanshintang Fragrance(SMATF) on the PTZ-Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Hr	N	Onset		T.E.		Mortality	
			Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	0	10	100	48.6 ± 3.34^{ns}	100	162.3 ± 4.86^{ns}	100	192.6 ± 6.30^{ns}
SMATP	2	10	100	49.7±3.36	100	167.8±5.75	100	190.2±5.47
	4	10	100	48.3±4.29	100	171.0±6.39	100	184.7±6.98
	8	10	100	51.1±5.33	100	172.8±7.22	100	180.9±7.55
	12	10	100	50.9±6.34	100	165.3±6.74	100	191.4±8.37
	24	10	100	49.2±5.13	100	168.0±8.99	100	189.8±9.11
PHB(mg/kg)	100	10	0	-	0	-	0	-

Table 16. Effect of Samulanshintang Distiled Water(SMATW) on the PTZ-Induced Convulsion and Mortality in Mice

Treatment	Dose (ml/kg,p.o.)	N	Onset		T.E.		Mortality	
			Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	0	10	100	43.9±3.87[a]	100	159.1±10.0[a]	100	183.1±8.10[a,b]
SMATW	8	10	100	45.3±4.29[a]	100	160.3±9.78[a]	100	179.9±7.56[a]
	16	10	100	46.0±4.58[a]	100	157.7±9.36[a]	100	180.6±8.90[a]
	24	10	100	45.7±5.31[a]	100	153.9±10.4[a]	100	181.9±7.84[a]
	32	10	100	43.4±4.55[a]	100	161.4±11.7[a]	100	178.4±9.97[a]
PHB(mg/kg)	100	10	0	-	0	-	0	-

7) 四物安神湯蒸溜液이 PTZ로 誘發된 痙攣에 미치는 影響

四物安神湯煎湯液 製造時 發生하는 水蒸氣를 冷覺한 蒸溜液 8, 16, 24, 32ml/kg을 10日間 經口投與하고 PTZ로 痙攣을 誘發시켰을 때, 對照群에 比하여 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다. 한편 陽性對照物質로 使用한 phenobarbital 100mg/kg 經口投與에서는 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間을 有意的으로 增加시켜 抗痙攣作用을 나타내었다(Table 16).

Each sample was administrated once a day for ten days orally to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70 mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values are Mena ± S.D. and values followed by the same superscript are not significant($p<0.05$) each other by new multiple square method. T.E., tonic extensive: Inc., incidence: Lat., latent time from PTZ treatment.

4. 腦 中 GABA 및 glutamic acid 含量에 미치는 四物安神湯煎湯液의 影響

GABA 含量의 경우 對照群이 2.16±0.11 GABA nmole /mg protein인데 比하여 PTZ 投與群은 1.17±0.08 GABA nmole/mg protein으로 減少하였고, 四物安神湯煎湯液 300mg/kg 및 500mg/kg 投與群은 1.87±0.17, 1.89±0.20 GABA nmole/mg protein으로 對照群 水準으로 回復되고 있음을 觀察할 수 있었다(Table 17).

Glutamic acid의 含量은 對照群이 9.67±0.42 glutamate nmole/mg protein인데 PTZ 投與群은 18.52±0.39 glutamate nmole/mg protein으로 增加를 보였고, 四物安神湯煎湯液 300mg/kg 및 500mg/kg 投與群은 12.32±0.50, 10.45±0.29 glutamate nmole/mg protein으로 나타나 有意性이 認定되었다(Table 18).

한편 100mg/kg 및 200mg/kg 投與群은 PTZ에 의하여 減少되는 腦 中 GABA 濃度 및 glutamic acid 濃度에는 影響을 미치지 못하였다.

Table 17. Effect of SMAT on the Brain GABA Level in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Content[1)]	% of control
Control		2.16±0.11[a]	100
PTZ	70	1.17±0.08[b]	54
SMAT	100	1.32±0.15[b]	61
	200	1.46±0.14[b,c]	68
	300	1.87±0.17[c]	87
	500	1.89±0.20[c]	88

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The

procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

[1]content : GABA nmole/mg protein

Table 18. Effect of SMAT on the Brain Glutamic Acid Level in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Content[1]	% of control
Control		9.67±0.42[a]	100
PTZ	70	18.52±0.39[b]	192
SMAT	100	15.37±0.30[b,c]	159
	200	14.89±0.36[c]	154
	300	12.32±0.50[d]	127
	500	10.45±0.29[d]	108

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

[1]content : Glutamate nmole/mg protein

5. 腦 中 GABA-T 및 GAD의 生合成과 代謝에 關與하는 四物安神湯煎湯液의 影響

GABA-T의 活性은 對照群이 1.42±0.07 NADPH nmole/mg protein인데 比하여 PTZ 投與群은 2.21±0.12 NADPH nmole/mg protein으로 增加하였고, 四物安神湯煎湯液 300, 500mg/kg의 投與群은 1.62±0.13, 1.54±0.10 NADPH nmole/mg protein으로 對照群 水準으로 回復되고 있음을 觀察할 수 있었다. 한편, 四物安神湯煎湯液 100, 200mg/kg의 投與에서는 PTZ 投與로 顯著히 增加되는 GABA-T의 活性을 沮止하지는 못하였다.

GAD의 活性은 對照群이 7.31±0.31 GABA nmole/mg protein인데 比하여 PTZ 投與群은 7.87±0.29 GABA nmole/mg protein으로 增加를 보였으나 統計的인 有意性은 없었으며, 四物安神湯煎湯液 100, 200, 300, 500mg/kg의 前處理로 酵素의 活性은 多少 變動이 있었으나 對照群과 有意的인 變化는 없었다(Table 19 · 20).

Table 19. Effect of SMAT on the Brain GABA-T Activity in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Activity[1]	% of control
Control		1.42±0.07[a]	100
PTZ	70	2.21±0.12[b]	156
SMAT	100	1.78±0.17[c]	125
	200	1.89±0.15[c]	133
	300	1.62±0.13[d]	114
	500	1.54±0.10[d]	108

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

[1]activity : NADPH nmole/mg protein/hr

Table 20. Effect of SMAT on the Brain GAD Activity in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Activity[1]	% of control
Control		7.31±0.31[a]	100
PTZ	70	7.87±0.29[a]	108
SMAT	100	7.29±0.23[a]	100
	200	7.43±0.20[a]	102
	300	7.56±0.34[a]	103
	500	7.84±0.42[a]	107

Each sample was administrated once a day for ten

days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

[1)]activity : GABA nmole/mg protein/hr

6. PTZ 痙攣時 腦組織의 過酸化脂質 含量에 미치는 四物安神湯煎湯液의 影響

過酸化脂質의 含量을 測定한 結果, 對照群이 42.7±7.20 nmole/g of tissue인데 比하여 PTZ 投與群은 146.7±32.8 nmole/g of tissue로 顯著히 增加되었으며, 300, 500mg/kg 前處理群에서 90.7±10.6, 87.6±12.4 nmole/g of tissue로 有意性있는 減少를 보였다(Table 21).

Table 21. Effect of SMAT on the Brain Lipid Peroxide Content in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Content[1)]	% of control
Control		42.7±7.20[a]	100
PTZ	70	146.7±32.8[b]	344
SMAT	100	132.9±28.3[b]	311
	200	109.4±21.5[c]	256
	300	90.7±10.6[c]	212
	500	87.6±12.4[c,d]	205

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

[1)]content : MDA nmole/g of tissue

7. PTZ 痙攣時 腦 中 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 活性에 미치는 四物安神湯煎湯液의 影響

Xanthine oxidase의 活性은 對照群이 1.52±0.18 uric acid nmole/mg protein/min인데 比하여 3.84±0.24 uric acid nmole/mg protein/min로 顯著히 增加되었으나, 四物安神湯煎湯液 300 및 500mg/kg 前處理群은 2.36±0.30, 2.47±0.47 uric acid nmole/mg protein/min로 有意性있는 減少를 보였으며, 100, 200mg/kg 前處理群은 PTZ로 痙攣을 誘導한 群과 活性의 差異는 있으나 有意性이 없었다.

Aldehyde oxidase의 活性도 xanthine oxidase의 活性과 유사한 傾向을 나타내었다(Table 22).

Table 22. Effect of SMAT on the Brain Cytosolic Enzyme Activities in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Activity	
		Xanthine Oxidase	Aldehyde Oxidase
Control		1.52±0.18[a]	0.84±0.06[a]
PTZ	70	3.84±0.24[b]	1.46±0.12[b]
SMAT	100	3.68±0.20[b]	1.25±0.17[b,c]
	200	3.33±0.25[b,c]	1.24±0.13[c]
	300	2.36±0.30[d]	1.01±0.08[d]
	500	2.47±0.47[d]	0.90±0.09[d]

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

* : uric acid nmole/mg protein/min

** : pyridone nmole/mg protein/min

8. PTZ 痙攣時 腦組織 中 glutathione의 含量에 미치는 四物安神湯煎湯液의 影響

對照群이 38.4±5.53 nmole/mg of tissue인데 比하여 PTZ에 의한 痙攣 誘發時 19.8±4.62 nmole/mg of tissue로 顯著히 減少되었으며, 四物安神湯煎湯液 300, 500mg/kg을 10日間 前處理하고 PTZ로 痙攣을 誘發시켰을 때는 腦 中 glutathione의 含量이 對照群 水準에는 미치지 못하나 顯著히 增加됨을 볼 수 있었다. 한편, 100, 200mg/kg의 前處理에서는 PTZ에 의하여 減少되던 腦 中 glutathione의 含量을 改善하지는 못하였다(Table 23).

Table 23. Effect of SMAT on the Brain Glutathione Content in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Content[1)]	% of control
Control		38.4±5.53[a]	100
PTZ	70	19.8±4.62[b]	52
SMAT	100	22.6±3.52[b]	59
	200	25.9±5.10[b,c]	67
	300	32.7±4.29[c]	85
	500	30.7±3.92[c]	80

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

[1)]content : nmole/mg of tissue

9. PTZ 痙攣時 腦 中 SOD의 活性에 미치는 四物安神湯煎湯液의 影響

對照群이 4.42±0.21 unit/mg protein인데 比하여 PTZ에 의한 痙攣 誘發時 7.32±0.28 unit/mg protein으로 顯著히 增加되었으며, 四物安神湯煎湯液 300, 500mg/kg의 前處理群은 5.33±0.42, 5.12±0.35 unit/mg protein으로 對照群 水準에 가깝게 減少되었다(Table 24).

Table 24. Effect of SMAT on the Brain SOD Activity in PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Activity[1)]	% of control
Control		4.42±0.21[a]	100
PTZ	70	7.32±0.28[b]	166
SMAT	100	6.93±0.30[b]	157
	200	6.89±0.27[b,c]	156
	300	5.33±0.42[d]	121
	500	5.12±0.35[d]	116

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

[1)]activity : unit**/mg protein

** : 1 unit of SOD activity was defined as the which inhibited the reduction of alkaline DMSO-mediated cytochrome C by 50%

10. PTZ 痙攣時 腦 中 catalase 및 glutathione peroxidase의 活性에 미치는 四物安神湯煎湯液의 影響

腦 中 catalase의 活性은 對照群이 1.36±0.14 hydrogen peroxide decreased nmole/mg protein/min인데 比하여 PTZ에 의한 痙攣 誘發時 3.46±0.13 hydrogen peroxide decreased nmole/mg protein/min로 顯著히 增加되었으며, 四物安神湯煎湯液 300, 500mg/kg 前處理群은 2.17±0.17, 2.20±0.15 hydrogen peroxide decreased nmole/mg protein/min로 痙攣 誘發群에 比하여 有意性있는 減少를 보였다.

한편 glutathione peroxidase의 活性度는 catalase의 活

性과 類似한 傾向을 나타내었다(Table 25).

Table 25. Effect of SMAT on the Brain Catalase and Glutathione Peroxidase Activities on the PTZ-Induced Mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Activity	
		Catalase	Glutathione peroxidase
Control		1.36±0.14[a]	132.6±26.4[a]
PTZ	70	3.46±0.13[b]	240.8±30.9[b]
SMAT	100	3.42±0.18[b]	234.6±21.8[b]
	200	3.30±0.20[b,c]	220.9±31.4[b]
	300	2.17±0.17[d]	180.6±20.6[c]
	500	2.20±0.15[d]	173.9±18.4[c]

Each sample was administrated once a day for ten days to mice. An one hour after the final treatment of sample, animals were received PTZ(70mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods. Values represent means±S.D.(n=7) and by the same superscript are not significantly different ($p<0.05$) each other by new multiple square method.

* : hydrogen peroxide decreased nmole/mg protein/min

** : oxidized NADPH nmole/mg protein/min

Ⅳ. 考 察

痙攣은 項背强急, 四肢抽搐, 角弓反張을 主症狀으로 하는 病症으로, <內經·經筋篇>에서는 "經筋之病 寒則反折筋急"이라 하였고, <內經·至眞要大論>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[33-35], <金匱要略>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[36]. <醫學入門>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[13].

痙攣과 類似한 意味로는 瘛瘲, 拘急, 拘攣 등이 使用되고 있으며[7-11], 癎[12-18], 癲癎[19-21], 驚癎[22], 五癎[23], 風癎[24] 등의 用語로 表現하기도 하였는데, 그 詳細한 鑑別을 살펴보면 癎病과 痙病은 相同하나 癎病이 撲時口中作聲, 將醒時吐涎沫, 醒後又復發하는 것에 對해 痙病은 亦時發時止, 然身强直, 反張如弓한다고 하여 癎의 身軟, 或如猪犬牛羊之鳴하는 것과는 같지 않다고 說明하고 있다[60].

癎의 病因病理로는 大驚大恐으로 損傷肝腎 肝風躁動하여 觸及痰涎하고 肝陽易亢함으로서 痰隨火升해서 阻蔽心包하는 것과, 飮食不節로 脾胃損傷 水濕聚則爲痰함으로서 痰涎聚於經絡한 것, 發熱極盛하여 上損神明하고 灼津爲痰함으로서 痰迷心竅한 것, 先天的인 要因으로 母腹中受驚하여 稟賦不足한 것, 外傷絡阻로 血滯經脈함으로서 나타나는 것에 대해 言及하고 있다.

治療에 對해서도 發作時와 不發作時의 治療原則을 다르게 適用해야 된다고 말하고 있는데[60-62], 發作時에는 痰火鬱結로 痰蒙淸竅한 것이 原因이 되므로 豁痰開竅 淸火去痰濕의 治法을 原則으로 提示하고 있고, 不發作時에는 重扶正氣의 原則에 따라 陰虛不足한 것이 原因이 되면 滋陰法, 陽亢한 것이 原因이 되면 平肝潛陽法, 血虛한 것이 原因이면 補血法, 氣虛한 것이 原因이 되면 益氣法, 陽虛한 것이 原因이면 壯陽法을 使用함으로서 陰陽을 調和롭게 해주는 것을 主要治法으로 提示하고 있다[60-62].

本 實驗의 實驗方劑인 四物安神湯은 四物湯과 酸棗仁湯 合方의 加減方으로, 心血虧損에 의한 心悸, 易驚, 健忘, 恍惚, 不眠, 多夢, 遺精, 便燥, 口舌生瘡, 舌紅少苔 등의 症狀에 使用하며, 養血安神, 淸心瀉火를 目標로 한 處方이다[38,39].

四物安神湯 構成藥物의 效能을 살펴보면, 當歸는 性溫味甘辛 主生血 補心扶虛 逐瘀結, 白芍藥은 性微寒 味酸苦 腹痛痢 能收能補 虛寒忌, 生地黃은 性寒 味甘苦 淸濕熱 骨蒸煩勞 消瘀血, 熟地黃은 性微溫 味甘 滋腎水 補血烏髭 益精髓, 人蔘은 性微溫 味甘微苦 補元氣 止渴生津 調榮衛, 白朮은 性溫 味甘微苦 健脾胃 止瀉除濕 兼痰痞, 白茯神은 性平 味甘 補心 善鎭驚 恍惚健忘 怒恚情, 酸棗仁은 性平 味甘酸 汗煩躁 生能少睡 炒多眠, 黃連은 性寒 味苦 主淸熱 除痞明目 止痢泄, 梔子는 性寒 微苦 降小便 吐衄鬱煩 胃火煽, 麥門冬은 性微寒 味甘微苦 除虛熱 淸肺補心 煩渴

撒, 竹茹는 性微寒 味甘 止嘔 除寒痰 胃熱玆噦 不寐堪, 辰砂는 性微寒 味甘 定魂魄 鎭心養神 鬼邪辟, 大棗는 性溫 味甘 和百藥 益氣養脾 滿休嚼, 米는 性平 味甘 和胃主 壯骨益陽 渴瀉愈, 烏梅는 性溫 味酸澁 收斂肺 止渴生津 등의 效能을 가지고 있다[63,64].

西洋醫學에서는 痙攣에 대해 突發的이고 一過性인 發作을 特徵으로 하는 慢性中樞神經系疾患을 總稱하는 것으로 不隨意的이고 全般的인 激烈한 筋肉의 攣搐을 症狀으로 하며, 脊髓神經의 興奮으로 일어나는 强直性 痙攣, 腦幹·延髓의 興奮으로 일어나는 間代性 痙攣 및 大腦皮質의 興奮으로 일어나는 癎疾性 痙攣 등으로 分類하고 있다[1-6].

痙攣發現疾患으로는 癎疾을 비롯한 驚風[65-67], 驚厥[68], 癲亂轉筋[67], 痓痙[65-67,69], 破傷風[65,67], 先天性 中樞神經系發達異常, 中樞神經系 感染, 生化學的 代謝障碍, 腦腫瘍, 外傷에 의한 頭蓋骨 損傷, 腦血管 疾患, 退行性 腦機能障礙, 熱性痙攣, 藥物中毒, 情緖障碍 등으로 因해 招來되는 것으로 생각되고 있으며[25-27], 이중 가장 代表的인 疾患으로 癎疾이 言及되고 있다[70-73].

癎疾患者는 現在 全世界的으로 人口의 약 1% 정도로 推定되고 있으며, 最近 急增하는 交通事故와 産業現場에서의 安全事故에 의한 頭蓋骨 損傷 및 電子娛樂, 藥物 誤濫用에 의한 中毒 등이 癎疾發作의 한 原因이 되고 있는 점을 考慮할 때 癎疾患者는 점차 增加하고 있는 趨勢이다[28-30]. 하지만 痙攣의 發生機轉은 正確하게 밝혀지고 있지 않으며 最近에 와서 中樞의 興奮性 神經傳達機能과 抑制性 傳達機能 사이의 均衡消失이 發作의 原因이라는 學說이 提示된 후, 中樞神經系에서 興奮性 또는 抑制性 神經傳達物質로 作用하는 아미노산들이 關心의 對象이 되고 있다[28-30]. 특히 興奮性 神經傳達物質의 하나인 glutamic acid와 抑制性 傳達物質인 GABA의 機能的 均衡障碍가 發作機轉의 重要한 原因으로 作用한다는 硏究報告가 發表되었으며, 癎疾治療劑의 開發은 주로 이와 같은 硏究를 土臺로 하여 이루어지고 있다[31,32].

中樞神經系 大部分의 神經纖維에서 興奮性 神經傳達物質로 利用되는 glutamic acid는 食餌로 攝取되거나 體內에서 生合成되며, 일부 抑制性 神經纖維 및 局所 介在性 神經纖維에서는 glutamate decarboxylase에 의하여 GABA로 代謝되어 神經傳達物質로 利用된다. GABA는 哺乳動物의 腦와 脊髓에 多量 存在하는 中樞神經系의 抑制性 神經傳達物質로, 腦組織에서의 GABA는 L-glutamic acid가 glutamate decarboxylase에 의해 decarboxy- lation되어 生合成되는데, GABA의 前驅體인 glutamate는 주로 TCA cycle에서 由來된 α-ketoglutarate가 transamination되어 生成된다. 또한 肝, 腎, 脾, 肺 등의 末梢組織에서는 putrescine으로도 生合成되며, 이렇게 生成된 GABA는 GABA-aminotransaminase에 의해 代謝되어 glutamic acid와 succinic semialdehyde로 된다[74-77].

抑制機能을 하는 GABA의 腦 中 濃度가 減少하게되면 不安, 癎疾, 感情障碍, 精神分裂症, Huntington's chorea, Parkinson病, 小腦萎縮症 등의 中樞神經異常疾患을 誘發할 수 있다[78]. 睡眠劑, 抗不安劑는 GABA受容體와 結合하여 GABA抑制性 神經의 活動을 强化함으로서 濃度를 增加시켜 藥物效果를 나타내고 있으며, 現在 使用되어지고 있는 癎疾 治療藥은 腦 中 GABA로서 作用하는 性質의 藥物이 主流를 이루고 있어 GABAergic neuron에 의한 抑制를 强化함으로서 癎疾 防止作用을 하고 있다[1,2,30,78].

現在 使用되고 있는 抗痙攣劑는 1912年 phenobarbital이 紹介된 이래 많은 治療劑가 開發되었으나, 長期間의 服用 혹은 過用하게 되면 過度한 中樞神經 抑制作用과 心血管 虛脫, 眼球震盪, 말더듬, 肝組織 損傷 등의 심각한 副作用이 따르며, 輕微하게는 졸음, 頭痛, 錯亂, 憂鬱症 등의 副作用이 頻繁하게 나타나는 問題點이 있어, 새로운 治療藥物의 開發이 절실히 要求되고 있다[79-83].

한편 抗痙攣에 關한 實驗的 硏究로 李[84]는 瀉靑丸이, 丁[85]은 芍藥甘草湯이, 金 등[86-88]은 加味鉤藤飮, 小靑龍湯, 淸心溫膽湯이, 玄[89]은 抑肝散이, 張[90]은 蔓荊子散이 痙攣에 有效함을 報告하였으며, 四物安神湯에 대한 硏究報告로는 黃[40]은 鎭靜, 鎭痛, 血壓降下效果, 柳[41]는 心筋의 虛血狀態를 改善하는 作用, 權[42]은 抗스트레스 效果가 있음을 報告한 바 있으나, 아직 四物安神湯의 抗痙攣效果 및 作用機轉에 關한 報告는 接한 바가 없었다.

이에 著者는 養血安神, 淸心瀉火의 效能을 가진 四物安神湯이 陰血不足, 津液耗傷, 情志所傷에 의해 誘發되는 痙

攣症狀에 대해 效果가 있을 것으로 思料되어, 腦 中에서 痙攣과 關聯이 깊은 腦組織 中의 아미노산含量을 定量하고 이들 아미노산의 生合成과 代謝에 關與하는 酵素活性의 變動 및 痙攣時 惹起되는 腦 中 活性酸素의 生成 및 分解系를 比較觀察함으로서 四物安神湯의 抗痙攣作用 機轉을 究明하고자 本 實驗을 實施하게 되었다.

四物安神湯의 亞急性毒性 및 急性毒性反應을 檢査할 目的으로, 四物安神湯을 물로 抽出하여 四物安神湯煎湯液(SMAT)을 製造, 實驗動物에 用量을 다르게 하면서 投與하였다. 亞急性中毒을 檢査할 目的으로 SMAT의 投與用量(0 · 100 · 200 · 300 · 500mg/kg)을 다르게 하면서 血液의 生化學的 檢査(Table 3)와 成分(Table 4)을 檢索한 結果 뚜렷한 差異를 發見할 수 없었다. 急性中毒의 檢査結果 역시 全 用量에서 死亡例를 觀察할 수 없어(Table 5), 四物安神湯이 毒性없는 安全한 藥임을 立證하였다.

中樞神經系에 미치는 影響을 觀察하기 위해 睡眠延長作用, 自發運動量 및 運動協助能에 미치는 影響을 測定한 結果, 睡眠延長作用(Table 6)과 自發運動量(Table 7)에는 影響을 나타내지 않았고, 運動協助能에 있어 SMAT 300, 500mg/kg 投與群에서는 1時間부터 4時間代에 20%의 減少率을 나타냈으나(Table 8), 全般的으로 中樞神經系에는 뚜렷한 影響이 없는 것으로 생각된다.

四物安神湯이 痙攣에 미치는 效果를 살펴보고자 電擊痙攣裝置를 利用하여 最大電擊痙攣 및 死亡率을 觀察한 結果 有意性있는 變化는 없었고(Table 9), strychnine으로 誘發된 痙攣에 대하여서도 痙攣發現時間 및 死亡時間을 測定한 結果 有意性이 認定되지 않았다(Table 10). *Maximal electric seizure*의 試驗은 *gland mal*의 特徵的인 徵候인 generized tonic chlonic seizure의 調節에 關聯이 있으며, strychnine은 中樞神經系를 全般的으로 興奮시키지만 주로 脊髓部位를 興奮시킨다. 이의 作用機轉은 脊髓에서 抑制性 傳達因子인 glycine과 選擇的 拮抗 및 renshow 細胞의 活動을 遮斷하여 接合後 抑制機能(postsynaptic inhibition)을 沮害시켜 興奮 및 强直性 痙攣을 일으키는 것으로 알려져 있다[91-94].

Bicuculline(Table 11)과 picrotoxin(Table 12)으로 痙攣을 誘發시켰을 때도 역시, 各 抽出物에서의 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다. Bicuculline 및 picrotoxin은 中樞神經系의 接合前 抑制機能(pre-synaptic inhibition)을 沮害시켜 興奮作用이 나타나며, 이의 機轉은 GABA-A受容體와 選擇的으로 拮抗하여 痙攣을 일으키는 것으로 알려져 있다[91-94].

GABA는 從前까지 알려진 receptor를 GABAA receptor, 그에 反해 새로이 發見된 receptor를 GABAB receptor로 分類하였다. GABAA receptor는 muscimol, isoguvacine과 같은 藥物에 의하여 興奮되어지고, bicuculline에 의해서는 常經的으로, picrotoxin에 의해서는 非常經的으로 拮抗한다. GABAA receptor가 活性化되면 chloride ion conductance가 增加하고, benzodiazepine receptor agonist는 GABAA receptor에 對한 GABA의 結合力을 增加시킨다. GABAB receptor는 mucimol에 의해 活性化되지 않고 bicuculline에 拮抗되지 않는 receptor로 baclofen에 의해 活性化되며, chloride channel과는 聯關性이 없으나 potassium ion conductance의 上升을 隨伴한 過分極에 聯關이 있는 것으로 알려져 있고, adenylate cyclase나 calcium channel과의 聯關性도 提起되고 있다[95-98].

PTZ로 誘發된 痙攣에 대하여 痙攣發現時間, 强直性 伸展痙攣時間 및 死亡時間을 測定한 結果, SMAT群은 300mg/kg 및 500mg/kg의 投與群에서 PTZ에 의하여 誘導되는 痙攣發作狀態를 減少시키는 傾向이 觀察되었다(Table 13). 한편 辰砂를 除去한 四物安神湯煎湯液이 PTZ에 의하여 誘發된 痙攣에 미치는 影響을 測定한 結果, 500mg/kg을 投與하였을 때 痙攣發現時間 및 死亡率에서 辰砂를 添加한 四物安神湯에 比하여 有意的으로 增加를 나타내지는 않았으나 PTZ에 의해 誘導되는 痙攣이 輕減됨을 觀察할 수 있었으며(Table 14), 이는 辰砂의 抗痙攣作用을 確認한 結果로 思料된다.

그러나 四物安神湯 藥材를 箱子에 넣어 四物安神湯香을 實驗動物에 吸入하게 한 實驗(Table 15)과 四物安神湯煎湯液 製造時 發生되는 蒸溜液을 實驗動物에 經口投與하고(Table 16), PTZ로 痙攣을 誘發시켰을 때 對照群에 비하여 모두 痙攣發現時間, 死亡率 및 死亡時間에서 有意한 差異를 나타내지 않았다.

PTZ는 strychnine과 picrotoxin과는 달리 接合前 및 接

合後 機能에 關係없이 中樞神經 興奮劑로 chloride이온 傳導에 미치는 GABA의 作用을 沮害하는 것으로 報告되어 있으나 자세한 沮害 機轉은 알려지고 있지 않으며, 現在 absence seizure나 myochlonic seizure의 痙攣樣相을 일으키는 癎疾發作 實驗모델로서의 用度로만 주로 使用되고 있는 藥物이다[100,101].

SMAT를 前處理한 實驗動物에 PTZ를 投與하고 腦 中 GABA의 含量을 測定하였을 때, 對照群에 比해 PTZ 單獨 投與群에서는 GABA의 含量이 顯著히 減少하였으나, SMAT群에서는 GABA含量의 減少現狀이 顯著히 抑制되어 對照群 水準에 가깝게 增加되었다(Table 17).

GABA-T의 活性은 PTZ 單獨 投與群에서 對照群에 比해 약 56% 정도 增加하였으나, SMAT群에서는 PTZ에 의하여 增加되던 酵素의 活性이 抑制되었다(Table 19, Fig. 14). GABA-T는 腦組織 中에서 抑制性 神經纖維末端과 網狀細胞界 등에 分布되며, 再吸收된 GABA를 glutamic acid와 succinic semialdehyde로 不活性化시키는 役割을 하는 酵素이다[102-104]. 이와 같은 GABA-T活性의 變動은 GABA含量의 變化와 聯關시켜 생각할 수 있으며, 四物安神湯煎湯液의 抗痙攣 作用은 腦 中 GABA-T와 이에 따른 GABA含量의 變動에 起因하는 것으로 생각할 수 있다.

한편 PTZ에 의하여 誘導되는 痙攣發作狀態에서 腦 中의 glutamic acid의 含量變化를 檢討하였을 때 顯著한 含量의 增加現狀을 觀察할 수 있었으며, 이러한 現狀은 SMAT를 前處理함으로서 含量이 減少되는 傾向을 보였다(Table 18). 따라서 PTZ에 의해 誘發되는 痙攣의 發作狀態가 腦 中 glutamic acid의 含量과 無關하지 않을 것으로 생각된다.

Glutamic acid의 含量 增加現狀은 抑制性 神經纖維(GABAergic neuron)에서 GABA-T活性의 增加로 因한 代謝産物로서의 增加와, 興奮性 神經纖維(glutaminergic neuron) 末端에서 遊離되는 神經傳達物質로서의 增加라는 두 가지 要因과 聯關지어 說明할 수 있다[105-107]. 그러나 PTZ에 의해 誘發되는 發作狀態에서 腦 中 glutamic acid 含量 增加現狀의 정도가 GABA- T의 活性 정도에 比하여 顯著한 差異가 있으므로, 이런 現狀은 抑制性 神經纖維에서 GABA-T活性의 增加로 因한 GABA 代謝産物이 增加한 때문이라기보다는 興奮性 神經纖維의 作用이 GABA의 含量減少로 因해 低下되었기 때문이라고 생각되지만, 이 部分에 對해서는 좀더 깊은 硏究가 檢討되어야 할 것으로 思料된다.

攝取되거나 生合成된 glutamic acid는 腦 中 抑制性 神經纖維에 分布하는 酵素인 GAD에 의하여 GABA로 代謝된다[43,108-111]. Glutamic acid가 PTZ의 投與로 顯著한 含量 增加를 보이는 것에 比하여, GAD의 活性은 다소 增加하는 傾向만을 보이므로(Table 20), glutamic acid의 含量增加에 關與하는 抑制性 神經纖維 作用의 比重은 크지 않을 것으로 생각할 수 있다. 이런 現狀은 SMAT 前處理에 의하여 별다른 變動을 보이지 않는 것으로 보아, GABA 含量을 調節하는 SMAT의 作用은 GAD와는 無關한 것으로 생각된다.

以上의 結果에서 SMAT 前處理로 PTZ에 의한 抗痙攣 效果의 機轉은 腦 中 GABA 및 glutamic acid의 含量과 聯關이 있을 것으로 보이며, 이러한 作用은 GABA-T의 活性에 의한 것보다는 興奮性 神經纖維 自體의 活性에 起因된 것으로 생각된다. 또한 興奮性 神經纖維上에서 GABA-B 受容體가 發見됨으로서 GABA 含量의 減少가 興奮性 神經纖維 活性化와 聯關性이 있는 것으로 思料된다.

Epoxide類는 炭素間의 不飽和 結合代에 하나의 酸素가 插入되어 만들어지는 物質로서 여러 種類의 酵素活性을 抑制[112,113]하여 毒性을 誘發하며 때로는 突然變異源 또는 發癌 및 老化 등을 爲始한 代謝性 疾患의 要因이 되는 것으로, 그 生成源은 自然環境 및 産業의 工程過程에서 생기는 外因性과 生體內 生合成에 存在하는 內因性으로 區分할 수 있다[114-116]. 最近 痙攣 誘發時 腦에서의 毒性도 밝혀지고 있으나[117-121] 確實한 機轉은 導出되고 있지 않으며, PTZ로 痙攣 誘發時 腦 中 過酸化脂質의 含量 變動과 이에 따른 活性酸素의 生成 및 分解 機轉에 어떤 影響이 있는가를 알아보고자 本 實驗을 行하였다.

PTZ로 痙攣 誘發時 腦 中 過酸化脂質의 含量을 觀察하였던 바, 對照群에 比해 PTZ 投與時 過酸化脂質의 含量이 약 244% 增加하였는데, SMAT의 前處理로 過酸化

脂質의 含量이 有意性있게 減少되었다(Table 21).

一般的으로 藥物의 代謝酵素系는 oxidation과 nonsynthesis 段階인 phase I과 conjugation과 synthesis 段階인 phase II로 나눌 수 있다. 그 중 phase I 段階에 關與하는 cytochrome P-450은 mixed function oxidase로 microsomal protein의 약 20%를 차지하며 藥物을 爲始한 다른 外因性 物質들을 酸化시키는 酵素系로 藥物이 結合하는 形態 및 存在組織에 따라 서로 다른 spectrum을 나타내는데, aminopyrine을 基質로 하여 formaldehyde를 生成하는 type I과 aniline을 基質로 하여 p-aminophenol을 生成하는 phase II로 分類하고 있으며, 이는 microsomal系의 free radical生成에 關與하고[122-125], 이 외 non-microsomal oxidation을 하는 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase도 free radical의 生成에 關與하고 있다[126,127].

本 實驗에서는 腦 中 free radical生成의 指標인 過酸化脂質의 含量이 顯著히 增加됨을 觀察하였던 바, 그 生成系의 關與 酵素인 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 活性은 PTZ로 痙攣을 誘發시킨 實驗動物에서 顯著히 增加되었으나, SMAT를 前處理한 群에서는 PTZ에 의하여 增加되던 酵素의 活性이 抑制됨을 觀察할 수 있었다 (Table 22).

Xanthine oxidase는 酸化還元酵素의 하나로 動植物 및 細菌 등 모든 生物種에 널리 分布되어 있고 動物組織에서는 肝 및 小腸組織의 細胞質에서 活性이 높다고 알려져 있다[128,129]. 特히 實驗動物에서 virus, 細菌 및 寄生蟲 등에 感染되었을 때 xanthine oxidase의 活性變動이 觀察되어지며 血液中의 活性도 매우 增加된다고 報告되고 있다[130,131]. Xanthine oxidase는 遊離되는 한 개의 電子를 받아 還元되는 電子受容體의 種類에 따라 Type D와 Type O의 두 가지 形態로 區分될 수 있다. 즉 基質과 本 酵素에 의한 生化學的 酸化反應에서 NAD가 NADH로 還元되는 것을 NAD-dependent xanthine oxidase(Type D)라 하고, 生化學的인 酸化反應에서 基質로부터 電子를 分子上의 酸素에 傳達하여 基質을 酸化시키는 것을 oxygen-dependent xanthine oxidase(Type O)라고 부른다[132,133].

正常的인 狀態의 生體內에서는 이 酵素가 주로 Type D로 存在하고 있으나, 病的 狀態, 過剩의 蛋白分解 酵素에 의한 加水分解를 받은 경우 Type O로 形轉換이 일어나는 多樣한 實驗이 觀察되었다[134]. 한편 形轉換된 xanthine oxidase가 superoxide anion 生成에 關與할 것이라는 報告와 함께 小腸, 腎臟 및 心臟 등의 虛血 再灌流에 의한 組織損傷實驗에서 組織病變의 直接的인 原因은 活性酸素나 이들에 의하여 生成되어지는 free radical일 것이라는 可能性을 提示, 이 酵素의 生體內 役割이 많은 關心의 對象이 되었다[135,136]. 즉 酸素缺如狀態의 組織에 酸素를 再供給할 때 形轉換된 xanthine oxidase에 의해 生成된 superoxide anion, hydrogen peroxide 및 hydroxyl radical과 같은 oxygen-derived free radical이 cellular deterioration의 一次的인 原因임을 提示하는 많은 硏究報告가 發表되고 있다. 그러나 이러한 分野에서 xanthine oxidase가 갖는 役割에 對한 정확한 機轉은 밝혀져 있지 않은 實情이다. 近年에는 老化過程과 이에 따른 여러 가지 難治性 成人病의 原因이 free radical에 起因하는 것으로 推定되어지고 있으며, free radical의 生成過程에 xanthine dehydrogenase로부터 形轉換된 oxidase形이 生化學的으로 重要한 役割을 隨行하고 있음이 여러 硏究陣에 의하여 報告되고 있다[137]. Aldehyde oxidase는 xanthine oxidase와 더불어 cytosol分劃에 存在하는 molybden含有 酸化酵素로서 生化學的 反應을 觸媒하는 過程에서 xanthine oxidase와 同一한 作用을 가지는 酵素이다.

이는 SMAT 前處理 後 PTZ에 의하여 誘發된 腦 中 過酸化脂質의 含量變動이 cytosol에 存在하는 酵素系를 調節함으로서 나타나는 結果인 것으로 생각된다.

한편 phase II 反應은 內因性物質이나 外部에서 投與되어진 毒性物質에 대한 解毒의 機轉으로 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase를 들 수 있는데[128,138], PTZ에 의하여 痙攣이 誘發됨으로서 glutathione의 含量(Table 23)과 SOD(Table 24), catalase 및 glutathione peroxidase(Table 25)의 活性이 增加되던 것이 SMAT의 前處理로 正常水準에 가깝게 減少되었다.

이는 PTZ에 의하여 痙攣 誘導時 cytosol 酵素인 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 增加로 superoxide 形成이 增加되어 이 때 生成된 superoxide를 H_2O_2로 轉換시키는데 關與하는 SOD의 活性이 增加되며[128],

또한 SOD活性의 增加로 因하여 生成된 H_2O_2를 H_2O와 酸素로 分解하는 catalase 및 生成된 遊離基를 물로 分解하는 glutathione peroxidase의 活性도 增加되는 것으로 思料되며, xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 活性變動에 의해 SMAT 前處理로 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase의 活性이 正常水準으로 減少되는 것으로 생각된다.

以上의 結果를 綜合하여 볼 때 PTZ의 誘導에 의한 四物安神湯煎湯液의 抗痙攣 效果는 腦 中 GABA의 減少 및 glutamic acid의 含量增加現狀과 關聯이 있으며, 腦 中 過酸化脂質 含量의 調節에 있어 腦 中에서 free radical의 生成에 關與하는 cytosol 酵素系에 의한 것으로 腦 中에 存在하는 아미노산 이외에 過酸化脂質의 生成에도 지대한 影響을 招來하는 것으로 생각된다. 따라서 癎疾, 癒瘁, 驚風과 같은 痙攣性 疾患에 臨床的으로 活用價値가 있을 것으로 思料된다.

V. 結 論

四物安神湯의 抗痙攣 效果와 그 機轉을 實驗的으로 立證하고자, 實驗動物에서의 毒性反應 檢査, 中樞神經系에 미치는 影響, 抗痙攣 效果, GABA와 glutamic acid의 腦組織 中 含量變化를 通한 抗痙攣 效果의 作用機轉, 痙攣誘發時 腦 中 活性酸素의 生成 및 分解系에 미치는 影響 등을 檢討한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 四物安神湯은 毒性試驗 結果 毒性反應이 없는 安全한 藥임을 確認하였다.

2. 四物安神湯이 中樞神經系에 미치는 影響을 觀察한 結果 有意性이 認定되지 않았다.

3. 四物安神湯煎湯液(SMAT)은 maximal electric seizure, strychnine, bicuculline 및 picrotoxin에 의하여 誘導된 痙攣에는 별다른 影響이 없었으나, pentylenetetrazol(PTZ)에 의해 誘導된 痙攣發作狀態는 顯著히 減少되었다.

4. 辰砂를 除去한 四物安神湯煎湯液이 pentylenetetrazol에 의해 誘發된 痙攣에 미치는 影響을 觀察한 結果 有意性있게 減少되었다.

5. 四物安神湯香氣와 四物安神湯蒸溜液이 pentylenetetrazol로 誘發된 痙攣에 미치는 影響을 觀察한 結果 有意性이 認定되지 않았다.

6. Pentylenetetrazol에 의한 痙攣 誘發時 腦 中 GABA의 含量은 減少되었으나 四物安神湯煎湯液의 前處理로 增加되었다.

7. Pentylenetetrazol에 의한 痙攣 誘發時 腦 中 glutathione의 含量이 減少되었으나 四物安神湯煎湯液의 前處理로 增加되었다.

8. Pentylenetetrazol에 의해 增加된 GABA-T의 活性은 四物安神湯煎湯液의 前處理로 抑制되었다.

9. Pentylenetetrazol에 의한 痙攣 誘發時 腦 中 過酸化脂質의 含量이 增加되었으나 四物安神湯煎湯液의 前處理로 有意性있게 減少되었다.

10. Pentylenetetrazol에 의한 痙攣 誘發時 腦 中 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 活性이 顯著히 增加되었으나 四物安神湯煎湯液의 前處理로 活性이 抑制되었다.

11. Pentylenetetrazol에 의한 痙攣 誘發時 superoxide dismutase(SOD), catalase 및 glutathione peroxidase의 活性이 增加되었으나 四物安神湯煎湯液의 前處理로 減少되었다.

以上의 實驗結果를 綜合해보면 四物安神湯은 毒性反應이 없는 安全한 藥으로 腦 中 glutamic acid의 濃度를 減少시키고 GABA의 濃度를 增加시킴으로서 pentylenetetrazol로 誘發된 痙攣에 있어 抗痙攣 效果가 認定되며, 痙攣 誘發時 腦 中 活性酸素의 生成 및 分解系에 有意한 影響을 미치는 바, 癎疾, 驚風, 癒瘁과 같은 痙攣性 疾患에 보다 많은 臨床的 活用이 可能할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 민성길 외 : 최신정신의학, 서울, 一潮閣, pp.418~419, 1998.
2. 李定均 : 精神醫學, 서울, 一潮閣, p.472, 1987.
3. 아담스신경과학 편찬위원회 편 : 신경과학, 서울, 정담, p.287, 1998.

4. 李丙允 : 精神醫學辭典, 서울, 一潮閣, pp.28~29, 1990.
5. 李文鎬 외 : 病과 治療, 서울, 濟動書館, pp.127~132, p.199,202, 1997.
6. Jackson, J.h. : On the anatomical, physiological and pathological initigation of epilepsies. In "Selected writings of John Hughlings Jackson" J.H. Jackson eds., vol. 1. Hodder & Stoughton, London, p.94, 1931.
7. 文濬典 외 : 傷寒論精解, 서울, 慶熙大學校出版局, pp.58~62, 1998.
8. 丁奎萬 : 東醫小兒科學, 서울, 杏林出版, pp.460~470, 1985.
9. 南京中醫學院 : 諸病源候論校釋, 北京, 人民衛生出版社, pp.19~50, 1983.
10. 王顯明 : 中醫內科辨證學, 臺北, 人民衛生出版社, pp.408~443, 1984.
11. 黃文東 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.396~401, 1986.
12. 林枫琴 : 類證治裁, 臺北, 旋風出版社, pp.239~240, 1978.
13. 李梴 : 醫學入門, 서울, 翰成社, p.398, 1977.
14. 王肯堂 : 證治準繩, 上海, 上海科學技術出版社, pp.309~313, 1984.
15. 李用碎 : 證治彙補, 臺北, 旋風出版社, pp.327~328, 1976.
16. 王燾 : 外臺秘要(上), 서울, 教育週補社出版社, pp.396~400, 1975.
17. 張子和 : 儒門事親提要, 臺北, 旋風出版社, p.8, 1972.
18. 程國彭 : 吳批醫學心悟, 臺北, 旋風出版社, pp.206~208, 1964.
19. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, p.816,819, 841,2869, 1982.
20. 康命吉 : 濟衆新編, 서울, 杏林書院, pp.69~70, 1982.
21. 陳言 : 三因方, 上海, 文瑞書局, pp.338~342, 1977.
22. 孫思邈 : 備急千金要方, 北京, 人民衛生出版社, pp.110~119,130~136, p.176, pp.258~261, 1982.
23. 巢信 : 古今醫鑑, 臺北, 藝文印書館, p.7110, 1971.
24. 濫永升 : 素問玄機原病式解釋, 香港, 浙江科學技術出版社, pp.170~197, 1984.
25. 서울대학교의과대학 : 신경학원론, 서울, 서울대학교출판부, pp.569~576, 1997.
26. Kokenge, R., Kutt, H. and McDowell, F. : Neurological sequelae following dilantin overdose in a patient and in experimental animals. Neurol., 15, 823, 1965.
27. Raines, A., Niner, J.M. and Pace, D.G. : A comparison of the anticonvulsant, neurotoxic and lethal effects of diphenylbarbituric acid, phenobarbital, diphenylhydantoin in the mouse. J. Pharmacol. Exp. Ther., 186, 315, 1973.
28. Crawford, J.M. : The effect upon mice if intraventricular injection of excitant and depressant amino acids. Biochem. Pharmacol., 12, 1443, 1963.
29. Baughman, R.W. and Gilbert, C.D. : Aspartate and glutamate as possible neurotransmitters of cells in layer 6 of the visual cortex. Nature, 287, 848, 1980.
30. Croucher, M.J., Collins, J.F. and Meldrum, B.S. : Anticonvulsant action of antagonists of neuronal excitation due to dicarboxylic amino acids. Science, 216, 899, 1982.
31. Hauser, W.A. : Epidermiology of epilepsy. Adv. Neurol., 19, 313, 1978.
32. Porter, R.J. : Antiepileptic drug development program. Cleve. Clin. Q., 51, 293, 1984.
33. 黃義完 외 : 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社, p.351,352, 1987.
34. 洪元植 : 精校黃帝內經靈樞, 서울, 東洋醫學研究員出版部, p.11, pp.102~104, 1985.
35. 洪元植 : 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院出版部,p.18,23,32,44,78,87,89,145,163,209,210,221,222,235,304,305, 1985.
36. 張機 : 金匱要略, 서울, 大星文化社, pp.16~17, 1995.
37. 龔廷賢 : 增補萬病回春, 서울, 一中社, pp.226~228,230~231, 1991.
38. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.75,97, 1974.
39. 柳熙英 : 東醫精神科學, 서울, 南山堂, pp.50~51, 1988.

40. 黃義完 외 : 四物安神湯의 效能에 關한 實驗的 硏究, 경희한의대논문집, 6 : 169~183, 1983.
41. 柳敬烈 외 : 歸脾湯 및 四物安神湯의 臨床效果에 關한 硏究, 동의신경정신과학회지, 4(1) : 135~153, 1993.
42. 權保亨 외 : 拘束스트레스 흰쥐에 미치는 四物安神湯의 效能에 關한 硏究, 동의신경정신과학회지, 5(1) : 81~91, 1994.
43. Svensson, T.H. and Thieme, G. : An investigation of a new instrument to measure motor activity of samll animals. Psychopharmacologia, (Berl.) 14, 157, 1969.
44. Dunham, N.W., Miya, T.S. and Edwards, C.D. : Pharmacological activity of a series of basic esters mono and dialkyl malonic acid. J. Am. Pharm. Assoc., 46, 208, 1957.
45. Woodbury, L.A. and Davenport, V.D. : Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. Arch.. Int. Pharmacodyn., 92, 97, 1952.
46. Araki, S. and Ueki, S. : Changes in sensitivity to convulsion in mice with olfactory bulb ablation. Jap. J. Pharmacol., 22, 447, 1972.
47. Sohn, Y.J., Levitt, B. and Raines, A: Anticonvulsant properties of diphenylthiohydantoin. Arch. Int. Phamacodyn., 188, 284, 1970.
48. Holland, K.D., McKeon, A.C., Canney, D.J., Covey, D.F. and ferrendelli, J.A. : Relative anticonvulsant effect of GABAmimetic and GABA modulatory agents. Epilepsia, 33, 981, 1992.
49. Allen, I.C. and Griffthis, R. : Reversed~phase high performnace liquid chromatographic method for determination of brain glutamate decarboxylase suitable for use in kinetic studies. J. Chromatography, 336, 385, 1984.
50. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem., 95, 351, 1979.
51. Ellman, G.L. : Tissue sulfhydryl group, Arch. Biophys., 30, 2409, 1959.
52. Bergmeyer, H.U. : Method of enzymatic analysis, 3 eds., vol. 2, Academic press, New York, pp.191~192, 1983.
53. Stirpe, F. and Della, C.E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase : Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase(Type D) to oxidase(Type O), J. Biol. Chem., 244, 3855, 1969.
54. Rajagopalan, K.V., Fridovich, I. and Handler, P. : Hepatic aldehyde oxidase : Purification and properties, J Biol. Chem., 237, 922, 1962.
55. Marklund, S. and Marklund, G. : Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, Eur. J. Biochem., 47, 469, 1974.
56. Aebi, H. : Catalase. In "Methods of enzymetic analysis" Vergmeyer, M.U., Academic Press, New York, 2, 673, 1974.
57. Paglia, E.D. and Valentine, W.N. : Studies on the quantitative and qualitative charaterization of erythrocytes glutathione peroxidase, J. Lab. Clin, Med., 70, 158, 1967.
58. 주왕기 외 : 藥物學 및 毒性學實驗, 서울, 신일상사, p.43, 1993.
59. Lowry, O.H., Rodebrough, N.J. Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurment with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
60. 呂光榮 외 : 中醫腦病證治, 台北, 南天書局, pp.116~118, 1989.
61. 何裕民 : 中國傳統精神病理學, 上海, 上海科學普及出版社, pp.123~125, 1995.
62. 張明淮 외 : 心-腦-神志病辨證論治, 哈尒濱, 黑龍江科學技術出版社, pp.33~36, 1988.
63. 李尙仁 외 : 韓藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.105,116,153, 308,320,322,354, pp.357~358, p.360,371,412,417,454, 1990.
64. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp.1~2, p.13, pp.55~

56, p.68, pp.80~81, p.85, pp.88~89,92~93,112~113,163~164, p.374, pp.516~517, p.641, pp.709~710, p.728, 1988.

65. 楊思澍 외 : 中醫臨床大全, 서울, 醫聖堂, p.243,253,809, 1993.
66. 錢乙 : 小兒藥證直訣, 臺北, 宇宙醫學出版社, pp.27~28, 1962.
67. 張필립 : 癎疾重疊患者의 臨床分析, 神經精神醫學, 23(3) : 313,318, 1984.
68. 上海中醫學院 편 : 中醫兒科學, 香港, 商務印書館, pp.140~149, 1981.
69. 李載熙 : 金匱要略詳解, 大田, 美和出版社, pp.115~142, 1981.
70. 李文鎬 외 : 內科學, 서울, 學林社, pp.1~9,219~229, p.1882,2369, 1986.
71. 醫學敎育硏修院 편 : 應急處置, 서울, 서울대학교출판부, pp.199~221, 433~366, 1987.
72. 金明宰 : 重金石 中毒, 大韓醫學協會誌, 25(5) : 409~413, 1982.
73. 서정규 외 : 成人 痙攣의 原因的 考察, 大韓神經外科學會誌, 3(2) : 194~202, 1985.
74. Gibbs, E.L., Gibbs, F.A. and Lennox, W.G. : Cerebral dysrhythmias of epilepsy. Arch. Neurol. Psychiatr., 39, 298, 1938.
75. Lennox, W.G. : Epilepsy and related disorders. little brown, Boston, pp.31~34, 1960.
76. Curtis, D.R., Johnston, G.A.R. : amino acid transmitters in the mammalian nervous system. In "Review of Physiology, pharmacology and Biochemistry" vol. 69. Springer, Berlin Heidelberg, pp.97~188, 1974.
77. Enna, S.J., Maggi, A., Worms, P. and Lloyd, K.G. : Mucimol: Brain pernatration and anticonvulsant potency following GABA-T inhibition. Brain. Res. Bull., 5, 461, 1980.
78. 이귀녕 외 : 臨床病理화일, 서울, 醫學文化社, p.77, pp.1109~1111, 1993.
79. Berl, S., Lajtha, A. and Waelsch, H. : Amino acid and protein metabolism. Ⅵ. Cerebral compartments of glutamic acid metabolism. J. Neurochem., 7, 186, 1961.
80. Kokenge, R., Kutt, H. and McDowell, F. : Neurological sequelae following Dilantin overdose in a patient and in experimental animals. Neurol., 15, 823, 1965.
81. Raines, A., Niner, J.M. and Pace, D.G. : A comparison of the anticonvulsant, neurotoxic and lethal effects of diphenylbarbituric acid, phenobarbital, diphenylhydantoin in the mouse. J. Pharmacol. Exp. Ther., 186, 315, 1973.
82. Kinsley, E., Tweedale, R. and Tolman, K.G. : Hepatotoxicity of sodium valproate and other anticonvulsant in rat hepatocyte cultures. Epilepsia, 21, 699, 1980.
83. Booker, H. E. : Trimethadione toxicity. In "Antiepileptic drugs" D.M. Woodbury, J.U. Penry and C.E. Pippenger eds., Raven, New York, pp.701~703, 1982.
84. 李源哲 외 : 小兒熱性疾患에 應用되는 瀉靑丸이 鎭痛, 鎭痙, 解熱作用에 미치는 影響, 경희한의대논문집, 4 : 227~233, 1981.
85. 丁奎萬 외 : 芍藥甘草湯이 抗痙攣, 鎭痛, 解熱, 抗炎症 및 抗潰瘍 效果에 미치는 影響, 경희한의대논문집, 5 : 209~225, 1982.
86. 金德坤 외 : 加味鉤藤飮의 抗痙攣作用에 關한 實驗的 硏究, 대한한의학회지, 14(1) : 24~30, 1993.
87. 金基昌 외 : 小靑龍湯의 鎭痛, 抗痙攣 및 흰쥐의 肺損傷에 미치는 影響, 경희한의대논문집, 8 : 129~137, 1985.
88. 金在亨 외 : 淸心溫膽湯이 白鼠의 抗痙攣, 解熱, 鎭痛, 鎭靜 및 GABAergic system에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1) : 95~109, 1997.
89. 玄禹天 외 : 抑肝散과 抑肝散加味方의 鎭痙 및 鎭痛效果에 關한 實驗的 硏究, 동의신경정신과학회지, 5(1) : 69~79, 1994.
90. 張炳秀 외 : 蔓荊子散의 鎭痛, 解熱, 鎭靜 및 消炎效果에 미치는 影響, 대한한의학회지, 9(2) : 59~70, 1988.
91. Hildebrandt, F. : Pentametylenetetrazole(Cordiazol).

Arch. Exp. pathol. Pharmakol., 116, 100, 1926.

92. Swinyard, E.A. : Laboratory evaluation of antiepileptic durgs. Epilepsia, 10, 107, 1969.
93. Bitcher, R.P., Kanai, T. and Wang, S.C. : Intravenous, cortical and intraventricular dose~effect relationship of pentylenetetrazol, picrotoxin and deslanoside in dogs. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 14, 256, 1962.
94. Chapman, A.G., Riley, K., Evans, M.G. and Meldrum, B.S. : Acute effect of sodium valproate and γ~vinyl GABA on regional amino acid metabolism in the rat brain. Neurochem. Res., 7, 1089, 1982.
95. Simmonds, M.A. : A site for the potentiation of GABA~mdeiated responses by benzodiazepins. Nature, 284, 558, 1980.
96. Bowery, N. G. : Baclofen; 10 years on. Trends Pharmacol. Sci., 3, 400, 1982.
97. Mc-Geer, P. L., Eccles, S. J. C. and Mc-Geer, E. G. : Inhibitory amino acid neurotransmitters, In Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain ed. by Mc~Geer, P. L., et al., Pleum Press, pp.19 7~234, 1987.
98. Sieghart, W. : Multiplicity of GABAA-benzodiazepine receptors. Trends Pharmacol. Sci., 10, 407, 1989.
99. Bowery, N. G. : GABAB receptors and their significance in mammalian pharmacology. Trends Pharmacol. Sci., 10, 401, 1989.
100. Metcalf, B.W. : Inhibitors of GABA metabolism, Biochem, Pharmacol., 28, 1705, 1979.
101. Holdiness, M.R. : Chromatographic analysis of glutamic acid decarboxylase in biological samples. J. Chromatography, 277, 1, 1984.
102. Annegers, J.F., Hauser, W.A. and Elveback, L.R. : Remission of seizures and relapse in patients with epilepsy. Epilepsia, 20, 729, 1979.
103. Dulac, O. and Arthuis, M. : Open trials with vaproate in epilepsy. Epilepsia, 25, S23, 1984.
104. Elwes, R.D.C., Johnson, A.L., Shorvon, S.D. and Reynolds, E.H. : The prognosis for seizure control in newly diagnosed epilepsy. NEJM, 311, 944, 1984.
105. Callaghan, N. and Goggin, T. : Adjunctive therapy in resistant epilepsy. Epilepsia, 29, S29, 1988.
106. Dulac, O., Chiron, C. and Luna, D. : Vigavatrin in childhood epilepsy. J. Child Neuro., 6, 2S30, 1991.
107. Sachdeo, R., Kramer, L.D., Rosenberg, A. and Sachdeo, S. : Felbamate monotherapy: controlled trial in patients with partial onset seizure. Ann. Neurol., 32, 368, 1992.
108. Leppik, I.E., Willmore, L.J. and Homan, R.W. : Efficancy and safety of zonisemide: results of a mulicenter study. Epilepsy Res., 14,165, 1993.
109. Shorvon, S.D. : Medical assessment and treatment of chronic epilepsy. B.M.J., 302, 363, 1991.
110. Harold, K., Kailash, N.S., Phillippe, L., David, W.R. and J. David, L. : Preparation and anticonvulsant activity of a series of functionalized α-heteroatom-substituted amino acids. J. Med. Chem., 34, 2444, 1991.
111. Sheryl, J.H., Michael, J.R., Daniel, F.O., Graham, J., Roy, D.S., Denise, K.B., Laura, F.C., Mark, G.V. and Peter, A.B. : Substituted 2-bezothiazolamines as sodium flux inhibitors: quantitative structure-activity relationships and anticonvulsion activity. J. Pharmaceut. Sci., 83, 1425, 1994.
112. Dunham, N.W., Miya, T.S. and Edwards, C.D. : Pharmacological activity of a series of basic esters mono- and dialkyl malonic acid. J. Am. Pharm. Assoc., 46, 208, 1957.
113. Zampaglione, N., Jollow, D. J., Mitohell, J. R., Manrick, M. and Gillette, J. R. : Role of detoxifying enzymes in bromobenzene- induced liver necrosis. J. Pharmacol. Exp. Ther., 187, 218, 1973.
114. Thomas, W.E., Mekeluy, J.F. and Shorn, N. : Specific and irreversible inhibition of lysozyme by

2, 3, -epoxypropyl β- glycosides of N-acetyl O-glucosamine olimers. Nature, 22. 485, 1969.

115. Milewski, E. : Epoxypeptides, A novel group to metabolic inhibitrs in prokariotic and eukariotic micro-organisms. Drug. Exp. Clin. Res., 8, 11, 1982.

116. Bolt, H. M., Laib, R. J. and Filser, J. G. : Reactive metabolism and caroiogenicity of halogenated ethylenes. Biochem. Pharmacol., 31, 1, 1982.

117. Kinsley, E., Tweedale, R. and Tolman, K.G. : Hepatotoxicity of sodium valproate and other anticonvulsants in rat hepatocyte culture. Epilepsia, 21, 699, 1980.

118. Booker, H.E. : Trimethadione toxicity. In "Antiepileptic drugs" D.M. Woodbury, J.U. Penry and C.E. Pippenger eds., Raven, New York, p.701, 1982.

119. Chen, G., Weston, J.K., Bratton, A.C. : Anticonvulsant activity and toxicity of phesuximade, methsuximide and ethosuximide. Epilepsia, 4, 66, 1963.

120. Gonzalez, M.P., Canadas, S., Munoz, F., Sanchez-Pieto, J. and Morales, V. : Method of assay for 4-aminobutyrate-2- oxoglutarate aminotransferase. Revista Espanola de Fisiologia, 39, 179, 1983.

121. Scheibler, P. and Kittner, H. : Einfluss von propranolol auf die lipid peroxidation im cortex pentetrazol-gekindelter ratten. Pharmazie., 49, 622, 1994.

122. Fowler, S., De Duve, C. : Digestive activity of lysosome. Ⅲ. The digestion of lipids by extracts of rat liver lysosome, J. Biol. Chem., 244, 471, 1969.

123. Greenberg, N.J., Hatch, F.T., Drummey, G.D. and Isselbacher, K.J. : Pancrestitis and hyperlipemia : a study of serum lipid alteration in 25 patients with acute pancreatitis, Medicine(Baltimore), 78, 336, 1971.

124. Liang, C.S. and Lowenstein, J.M. : Metabolic control of circulation. J. Clin. Invest., 62, 1092, 1978.

125. Irle, C., Cocher, O. and Gabbiani, G. : Contractility of myofibroblasts during experimental liver cirrhosis, J. Submicrosc. Cytol., 12, 209, 1980.

126. Lewis, K.O. and Paton, A. : Could you superoxide cause cirrhosis? Lancet, 2, 188, 1982.

127. Battelli, M.G., Della Corte, E. and Stripe, F. : Xanthine oxidase type(D) in the intestinal and other organs of the rat. biochem. J., 126, 747, 1972.

128. 金永坤 외 : 프리라디칼, 서울, 麗文閣, p.6,7,23,pp.11~14,81~83, 1997.

129. Crosby, P.F., Matos, M.L. and Rivera-Collazo, E. : Liver xanthine oxidase activity in mice infected with schistosoma mansoni. J. Parasit., 55, 673, 1969.

130. Ziegler, D.W., Hutchinson, H.D. and Kissling, R.E. : Induction of xanthine oxidase by virus infection in new born mice. Infec. Immun., 3, 237, 1971.

131. Kielley, R.K. : Purification of liver xanthine oxidase. J. Biol. Chem., 216, 405, 1955.

132. Ramboer, R.W.H. : A sensitive and nonradioactive assay from serum and tissue xanthine oxidase. J. Lab. Clin. Med., 74, 828, 1969.

133. McCord, J.M. and Fridovich, I. : The reduction of cytochrome C by milk xanthine oxidase. J. Biol. Chem., 243, 5753, 1968.

134. Duke, E.J., Joyce, P. and Ryan, J.P. : Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. Biochem. J., 131, 187, 1973.

135. Grum, C. M., Ragsdale, R. A., Ketai, L. H. and Shlater, M. : Absence xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase in the rabbit anyocardium. Biochem. Biophys. Res. Commun., 141(3), 1104, 1986.

136. Grover, A. K. and Samson, S. E. : Impurities in commercial xanthine oxidase inhihit Ca-pump and interfere in contractility of pig coronary artery. Biochim. Biophys. Res. Commun., 143(2), 575, 1987.

137. Cohen, G. : Oxygen radicals and Parkinson's disease, Oxygen radicals and tissue injury, Bethesda,

Maryland, p.130, 1988.

138. Persson, J.O., Terelius, Y. and Ingelman-Sundberg, M. : Cytochrome P450-dependent formation of oxygen radicals. Isoenzyme-specific inhibition of P450-mediated reduction of oxygen and carbon tetrachloride, Xenobiotica, 20, 887, 1990.

=Abstract=

Experimental studies on the anticonvulsion effect and mechanism of Samulanshintang

Bo-Hyung Kwon* · Byung-Su Gu**

* : Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Woo Suk University, Joenjoo, Korea

** : Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dong Guk University, Seoul, Korea

For experimental studies on the anticonvulsion effect and it was measured in mice that toxigenic effect, influence on the central nervous system, anticonvulsion effect, mechanism of anticonvulsion effect by change of GABA level and glutamic acid in brain, effect of the creation and degradation system of brain oxygen free radicals in convulsion. The results were obtained as follows :

1. Samulanshintang was perfect medicine without toxigenic effect.

2. Pretreatment of Samulanshintang did not influence on the central nervous system.

3. Pretreatment of Samulanshintang did not influence on maximal electric seizure(MES), strychnine, bicuculine and picrotoxin, but pentylenetrazol(PTZ)-induced convulsion significantly decreased.

4. Effect of Samulanshintang except for Jinsa on the PTZ-Induced convulsion decreased.

5. Effect of Samulanshintang fragrance(SMATF) and Samulanshin- tang distiled water(SMATW) on the PTZ-induced convulsion did not influence.

6. Decrease of brain GABA level in PTZ-induced convulsion was increased by pretreatment of Samulanshintang.

7. Decrease of brain glutathione content in PTZ-induced convulsion was increased by pretreatment of Samulanshintang.

8. GABA-T activity increased by PTZ-induced was controlled by the pretreatment of Samulanshintang.

9. Increase of brain lipid peroxide content in PTZ-induced convulsion was decreased by pretreatment of Samulanshintang.

10. Significant increase of brain xanthine oxidase and aldehyde oxidase activities in PTZ-induced was controlled by pretreatment of Samulanshintang.

11. Decrease of brain superoxide dismutase(SOD), catalase and glutathione peroxidase activities in PTZ-induced was decreased by pretreatment of Samulanshintang.

From the above results, Samulanshintang was perfect medicine without toxigenic effect and was recognized anticonvulsion effect by decreasing brain glutamic acid level and increasing brain GABA level.

Samulanshintang have an effect on creation and degradation system of brain oxygen free radicals in convulsion, thus it was considered that Samulanshintang could be applied in convulsive disorder as epilepsy, febrile seizure and spasm etc.