

## 조구등(釣鉤藤) 성분의 항경련 효과 I. 에틸아세테이트 분획의 항경련 효과

김동영 · 최종원\* · 김희영 · 박민수 · 이정규

경성대학교 약학대학

### Anticonvulsant Effect of Uncariae Ramulus et Uncus. I. Anticonvulsant Effect of Ethyl Acetate Fraction.

Dong Young Kim, Jong Won Choi, Hoe Young Kim, Minsoo Park  
and Chung Kyu Lee

College of Pharmacy, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea

**Abstract** - To elucidate the activities of Uncaria Ramulus et Uncus, which has been used as anticonvulsant and antihypertensive in oriental region, the methanolic extract and its fractions were applied to inhibition of convulsion onset. The ethyl acetate fraction showed dose-dependent inhibitory activity against pentylenetetrazole-induced seizure.

**Key words** - Uncaria Ramulus et Uncus; anticonvulsant; pentylenetetrazole seizure.

경련은 돌발적이고 일과성인 발작을 특징으로 하는 만성 중추신경계 질환을 총칭하는 하는 것<sup>1)</sup>으로 경미한 경련 상태이거나 혹은 경련을 수반하지 않는 순간적인 의식 상실 등의 증상까지 포함할 때 총 인구의 약 1%의 비율로 흔하게 나타나는 질환으로 보고되고 있다.<sup>2,3)</sup> 더우기 근래에 급증하는 교통사고와 산업 현장에서의 안전 사고에 의한 두개골 손상 및 전자오락물, 약물 오·남용에 의한 중독 등이 간질 발작의 원인이 되고 있는 점을 고려할 때 간질환자는 점차 증가하고 있는 추세이다. 이러한 경련의 발생 기전은 정확하게 밝혀지고 있지 않으며 최근에 와서 중추의 흥분성 신경전달 기능과 억제성 전달 기능 사이의 균형 소실이 발작의 원인이라는 학설이 제시된 후 중추신경계에서 흥분성 또는 억제성 신경전달물질로 작용하는 아미노산들이 관심의 대상이 되고 있다.<sup>4-6)</sup> 1912년 phenobarbital이 경련 발작의 치료 약물로 소개된 이후 많은 간질 치료제가

개발 되었으나 그 부작용이 심각하여 사용되고 있지 않는 약물이 많을 뿐만 아니라 현재 이용되고 있는 간질 치료약물 또한 장기간 복용하거나 과용하면 과도한 중추신경 억제작용과 심혈관 허탈, 안구 진탕 및 간조직 손상 등의 심각한 부작용이 따르며, 경미하게는 졸음, 두통, 착란 및 우울증 등의 부작용이 빈번하게 나타나는 문제점이 있다. 그러므로 장기간 사용하여도 부작용이 적고, 경련의 발생 부위에도 선택적으로 작용하는 경련 억제제 개발, 특히 생약류 등의 천연약물로부터의 개발의 필요성이 절실히 요구되고 있다.<sup>7-10)</sup> 이에 본연구에서는 생약재료 및 천연물의 항경련활성을 검색하는 과정에서 약물의 임상적용에 연관된 maximal electric seizure, strychnine 및 pentylenetetrazole 경련 등에 대한 효과를 검토한 결과 조구등의 활성을 확인하였다.

조구등(釣藤) *Uncaria Ramulus et Uncus* 은 꼭두서니과(Rubiaceae)의 상록목질 藤本人 鈎 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jackson 혹은 화조구등 *Uncaria sinensis* (Olib.) Havil

\*교신저자 : Fax 051-628-6540

의 가시를 포함한 줄기를 햇볕에 말리거나 찌서 건조한 것으로 한방 혹은 민간에서 해열 진통 진경 항균 및 혈압강하의 목적으로 사용한다<sup>11)</sup>. 조구등의 성분으로는 rhynchophylline을 비롯한 수종의 oxindole계 알칼로이드류, 즉 isorhynchophylline, dihydrocorynantheine, hirsutine, firsutine 및 3  $\alpha$ -dihydrocadambine, corynoxine 및 isocorynoxine 등이<sup>12-15)</sup> 분리, 확인되었고, 생리활성 연구로는 알칼로이드성분의 혈압강하 혹은 혈관확장 작용에 관한 것<sup>16-20)</sup>이 보고되었다. 본연구자 등은 조구등의 효능 중 진경작용의 양식과 그 유효성분을 확인하고자 메탄올추출물로부터 디클로로메탄, 에틸아세테이트, *n*-부탄올 및 물 분획을 얻고 항경련활성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

**식물재료** - 시중 건재상의 조구등은 중국산으로 그 기원은 *U. rhynchophylla*와 *U. rhynchophylla*와 *U. sinensis*가 섞여 있는 것으로 양진한 것임을 확인하였다.

**실험동물** - 한국실험동물개발원에서 구입한 동물을 본대학 동물사에서 일정한 조건(온도:  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도: 40~60%, 명암: 12시간 light/dark cycle) 하에서 2주간 적응시킨 체중  $20 \pm 5$  g 내외의 ICR계 웅성 생쥐를 사용하였으며 각각 실험의 한 군을 10마리로 하여 실험 시작전 24시간 동안 물만 공급하고 절식시켰다.

**추출 및 분획** - 재료(4.8 kg)를 조말로 하여 95% 메탄올로 3회 열침추출한 다음 감압농축하여 메탄올 총 추출물(MeOH ex., 384 g)을 얻고 이것을 물에 현탁한 후 용매의 극성차이를 이용한 분배 조작을 거쳐 각각 디클로로메탄 분획(Dichlorometh. fr., 40 g), 에틸 아세테이트 분획(EtOAc fr., 88 g), 중간층(Interphase, 20 g), *n*-부탄올 분획(BuOH fr., 75 g) 및 물분획(Water fr., 150 g)을 얻었다.

**투여액 조제 및 투여 계획** - 시료는 1% CMC-Na 용액에 현탁하여 10일간 경구투여하였다. 양성대조 물질은 phenobarbital을 사용하였다.

**Maximal electric shock (MES)** - Woodbury 등<sup>21)</sup>의 방법에 준하여 마지막 시료투여 1시간 후에

전격 경련 장치(ECT unit, Ugo Basile사, Italy)를 이용하여 생리식염수를 점적한 양쪽 눈에 110 V, 60 Hz, 50 mA의 정전류를 0.2초간 통전하여 뒷발의 강직성 진전경련의 발현을 지표로 하여 최대 전격경련의 발현 및 사망의 유무를 관찰하였다.

**Strychnine (ST) 경련** - Araki 등<sup>22)</sup>의 방법에 준하여 마지막 시료투여 1시간 후에 strychnine  $\text{NO}_3$  2.5 mg/kg을 복강내에 주사하여 경련 발현의 시간 및 사망시간을 측정하였다.

**Pentylentetrazole (PTZ) 경련** - Sohn 등<sup>23)</sup>의 방법에 준하여 마지막 시료투여 1시간 후에 PTZ 150 mg/kg을 복강내에 주사하여 경련의 발현시간 및 사망시간을 측정하였다.

**통계처리** - 실험결과를 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성은 Duncan's new multiple range test를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

**조구등의 추출물 및 각 분획의 MES 경련에 미치는 영향** - 조구등 메탄올 추출물 및 각 등을 체중 kg당 250 mg을 10일간 경구투여한 후, 전기적충격을 주어 경련을 유발시켰을 때 각 시료 투여군은 대

**Table 1.** Effect of the methanolic extract and its fractions of *Uncariae Ramulus et Uncus* on the Maximal electric shock-induced convulsion and mortality in mice

Treatment <sup>a</sup>	Dose (mg/kg)	Convulsion(%) <sup>b</sup>		Mortality (%)
		T.E.	C.C.	
Control	-	100	20	80
MeOH Ex.	250	100	40	70
Dichlorometh. Fr.	250	100	20	80
EtOAc Fr.	250	100	50	80
Interphase	250	100	30	90
BuOH Fr.	250	100	20	80
Water Fr.	250	100	30	60
Phenobarbital	100	0	100	0

<sup>a</sup>Samples were administrated orally once a day for ten days to each group(10 mouce). One hour after the final treatment of sample, animals were received electric shock(110 V, 50 mA, 0.2 seconds). The procedure was described in the experimental methods.

<sup>b</sup>Type of convulsion: T.E., tonic extensive convulsion; C.C., chronic convulsion.

**Table II.** Effect of the methanolic extract and its fractions of *Uncariae Ramulus et Uncus* on the strychnine-induced convulsion and mortality in mice

Treatment <sup>a</sup>	Dose (mg/kg)	Onset Time <sup>b</sup>		Prolongation, T.E. <sup>b</sup>		Mortality <sup>b</sup>	
		Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	-	100	225.1±35.4 <sup>a</sup>	100	37.7±15.8 <sup>a,b,c</sup>	100	261.4±11.6 <sup>a,b</sup>
MeOH Ex.	250	100	239.3±18.2 <sup>a</sup>	100	265.7±18.2 <sup>c</sup>	100	281.2±13.5 <sup>b,c</sup>
Dichlorometh. Fr.	250	100	100.2±17.5 <sup>a</sup>	100	265.6±13.3 <sup>c</sup>	100	282.1±13.4 <sup>b,c</sup>
EtOAc Fr.	250	100	231.9±18.8 <sup>a</sup>	100	256.8±12.9 <sup>c</sup>	100	275.5±11.1 <sup>a,b,c</sup>
Interphase	250	100	228.3±17.0 <sup>a</sup>	100	247.0±20.7 <sup>a</sup>	100	274.6±16.2 <sup>a,b,c</sup>
BuOH Fr.	250	100	223.0±34.4 <sup>a</sup>	100	227.9±18.8 <sup>a</sup>	100	265.8±9.09 <sup>a,b</sup>
Water Fr.	250	100	228.1±33.0 <sup>a</sup>	100	235.6±17.3 <sup>a,b</sup>	100	255.9±11.7 <sup>a</sup>
Phenobarbital	100	90	475.3±40.1 <sup>b</sup>	30	-	0	-

<sup>a</sup>Samples were administrated orally once a day for ten days to 10 mice. One hour after the final treatment of sample, animals were administered strychnine nitrate (2.5 mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods.

<sup>b</sup>Values are expressed as mean±S.D. Values having the same superscript are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's new multiple range method. T.E., tonic extensive convulsion

**Table III.** Effect of the methanolic extract and its fractions of *Uncariae Ramulus et Uncus* on the pentylenetetrazole-induced convulsion and mortality in mice

Treatment <sup>a</sup>	Dose (mg/kg)	Onset Time <sup>b</sup>		Prolongation, T.E. <sup>b</sup>		Mortality <sup>b</sup>	
		Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	-	100	46.8±1.63 <sup>a,b</sup>	100	164.2±14.4 <sup>a,d</sup>	100	189.4±10.1 <sup>e</sup>
MeOH Ex.	250	100	89.2±7.27 <sup>c</sup>	100	207.6±13.8 <sup>c</sup>	100	244.0±12.1 <sup>b</sup>
Dichlorometh. Fr.	250	100	55.2±6.70 <sup>a</sup>	100	168.1±6.87 <sup>a,b</sup>	100	181.5±12.3 <sup>a</sup>
EtOAc Fr.	250	100	176.7±12.5 <sup>d</sup>	100	282.2±19.8 <sup>d</sup>	100	377.5±30.0 <sup>c</sup>
Interphase	250	100	50.9±4.52 <sup>b</sup>	100	170.2±13.2 <sup>a</sup>	100	190.9±9.05 <sup>a</sup>
BuOH Fr.	250	100	46.4±1.23 <sup>a,b</sup>	100	165.6±14.9 <sup>a</sup>	100	182.7±11.9 <sup>a</sup>
Water Fr.	250	100	50.9±4.19 <sup>b</sup>	100	149.6±21.8 <sup>a,b</sup>	100	181.5±14.9 <sup>a</sup>
Phenobarbital	100	0	-	0	-	0	-

<sup>a</sup>Samples were administrated orally once a day for ten days to 10 mice. hour after the final treatment of sample, animals were administered pentylenetetrazole(150 mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods.

<sup>b</sup>Values are expressed as Mean±S.D. Values having the same superscript are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's new multiple range method. T.E., tonic extensive convulsion; Inc., incidence and; Lat., latent time from pentylenetetrazole treatments.

조군에 비하여 강직성 경련발현 및 사망수에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나, 양성대조물질로 사용한 phenobarbital(100 mg/kg, p.o.) 투여군에서는 강직성 경련발현 및 사망수에서 유의적인 증가를 나타내어 항경련 작용이 확인되었다 (Table I).

**조구등 추출물 및 각 분획의 ST 경련에 미치는 영향**- 앞의 실험과 같이 조구등 추출물과 각 분획을 같은 방법으로 투여한 후 ST 유발 경련에 대한 영향을 관찰한 결과, 시료투여군은 대조군에 비하여 경

련 발현시간, 사망을 및 사망시간에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나, 양성 대조물질로 사용한 phenobarbital 투여군에서는 경련 발현시간 및 사망에서 유의적인 증가경향을 나타내어 항경련 작용을 확인할 수 있었다(Table II).

**조구등 추출물 및 각 분획의 PTZ 경련에 미치는 영향**- 조구등 추출물 및 각 분획의 MES 및 ST 유발 경련에 대하여 영향을 검토하였으나 유효성을 인정할 수 없었으므로 PTZ 경련에 대한 영향을 검토한 실험에서, 메탄올 총 추출물 및 에틸아세테이트

**Table IV.** Dose-dependent effect of ethyl acetate fractions of *Uncariae Ramulus et Uncus* on the pentylenetetrazole-induced convulsion and mortality in mice

Treatment <sup>a</sup>	Dose (mg/kg)	Onset Time <sup>b</sup>		Prolongation, T.E. <sup>b</sup>		Mortality <sup>b</sup>	
		Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)	Inc(%)	Lat(sec)
Control	-	100	46.8±1.63 <sup>a</sup>	100	164.2±14.4 <sup>a</sup>	100	189.4±10.10 <sup>a</sup>
Ethyl acetate Fr.	50	100	70.3±2.50 <sup>b</sup>	100	213.5±18.8 <sup>b</sup>	100	284.1±15.20 <sup>b</sup>
	150	100	126.4±9.25 <sup>c</sup>	100	246.3±21.6 <sup>c</sup>	100	344.0±9.69 <sup>c</sup>
	250	100	176.7±12.50 <sup>d</sup>	100	282.2±19.8 <sup>c,d</sup>	100	377.5±30.00 <sup>c,d</sup>
	350	100	191.6±13.70 <sup>d</sup>	100	290.8±27.2 <sup>d</sup>	100	394.1±20.50 <sup>d</sup>
	500	100	189.6±11.00 <sup>d</sup>	100	296.0±19.9 <sup>a</sup>	100	404.7±22.30 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>Sample of each dose was administrated orally once a day for ten days to 10 mice. One hour after the final treatment of sample, animals administered pentylenetetrazole(150 mg/kg, i.p.). The procedure was described in the experimental methods.

<sup>b</sup>Values are expressed as Mean±S.D. Values having the same superscript are not significantly different each other( $p < 0.05$ ) by Duncan's new multiple range method. T.E., tonic extensive convulsion; Inc., incidence and; Lat., latent time from pentylenetetrazole treatments.

분획 투여군에서만 경련 발현시간 및 사망율에서 유의적인 증가현상을 관찰할 수 있었으며, 특히 메탄올 층 추출물 투여군보다는 에틸 아세테이트 분획의 투여에서 항 경련 효과가 뚜렷하였다(Table III). MES시험은 grand mal의 특징적인 징후인 generalized tonic clonic seizure의 조절에 관련이 있으며,<sup>24, 25</sup> PTZ시험은 absence seizure나 myoclonic seizure의 경련 양상을 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>26, 27</sup> 이에 본 실험에서는 MES와 ST에 의하여 유도되는 경련은 저지하지 못하였으나 PTZ에 의한 경련효과를 저지하는 점으로 보아 조구 등의 항경련 효과의 효과는 에틸 아세테이트 분획중에 활성 물질이 함유되어 있을 것으로 생각되며, 이러한 항경련 효과의 작용기전은 뇌중의 chloride 이온의 전도에 미치는 GABA와 연관이 있지 않은가를 추론할 수 있다.

한편 에틸 아세테이트 분획의 용량 의존성을 검토한 실험에서는 50~500 mg/kg의 범위에서 단계적인 활성의 증가 경향을 보였으나, 500 mg/kg에서의 반응은 약간 둔화되었다. 또한 최고 농도에서의 사망시간이 늦추어지긴 하였으나 사망율을 감소시키지는 않았다(Table IV).

## 결 론

한방 혹은 민간에서 해열, 진통, 진경, 항균 및 혈압강하의 목적으로 사용되는 조구 등의 효능 중 진경

작용의 양식과 그 유효성분을 구명하고자 메탄올 추출물로부터 디클로로메탄, 에틸아세테이트, *n*-부탄올 및 물분획을 얻고 이들의 항경련 활성을 검토한 결과 MES와 ST에 의하여 유도되는 경련은 저지하지 못하였으나 PTZ에 의한 경련을 저지하였을 뿐만 아니라 용량 의존성이 있는 점으로 보아 조구 등의 에틸 아세테이트 분획 중에 활성물질이 함유되어 있을 것으로 생각되며, 이러한 항경련 효과의 작용기전은 뇌중의 chloride 이온의 전도에 미치는 GABA와 연관이 있지 않은가 추론되어 에틸 아세테이트 분획을 칼럼 크로마토그래피법에 의해 성분을 분리하고 분리성분에 대한 활성을 검토할 것이다.

## 인용문헌

1. Jackson, J.H. (1931) On the anatomical, physiological and pathological investigation of epilepsies. In J.H. Jackson eds., Selected writings of John Hughlings Jackson, (vol. 1, 94), Hodder & Stoughton, London.
2. Hauser, W.A. (1978) Epidermiology of epilepsy. *Adv. Neurol.* 19: 313-339.
3. Porter, R.J. (1984) Antiepileptic drug development program. *Cleve. Clin. Q.* 51: 293-305.
4. Crawford, J.M. (1963) the effect upon mice if intraventricular injection of excitant and depressant amino acids. *Biochem. Pharmacol.* 12: 1443-1444.
5. Baughman, R.W. and Gilbert, C.D. (1980) As-

- partate and glutamate as possible neurotransmitters of cells in layer 6 of the visual cortex. *Nature* 287: 848-850.
6. Croucher, M.J., Collins, J.F. and Meldrum, B. S. (1982): Anticonvulsant action of excitation amino acids antagonists. *Science* 216: 899-901.
  7. Kokege, R., Kutt, H. and McDowell, F. (1965) Neurological sequelae following dilantin overdose in a patient and in experimental animals. *Neurol.* 15: 823-829.
  8. Raines, A., Niner, J.M. and Pace, D.G. (1973) A comparison of the anticonvulsant, neurotoxic and lethal effects of diphenylbarbituric acid, phenobarbital, diphenylhydantoin in the mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 186: 315-322.
  9. Kinsley, E., Tweedale, R. and Tolman, K.G. (1980) Hepatotoxicity of sodium valproate and other anticonvulsants in rat hepatocyte culture. *Epilepsia* 21: 699-704.
  10. Booker, H.E. (1982) Trimethadione toxicity. In J.U., Penry and C.E. Pippenger (eds.), Antiepileptic drugs, 701-704. D.M. Woodbury, Raven, New York.
  11. 김재길(1995) 원색도감 동양전통약물, 160-161. 영림사, 서울.
  12. Kondo, H. and Ikeda, T. (1937) *Yakugaku Zasshi*. 57: 881-886, cited from 14.
  13. Haginawa, J., Sakai, S., Takahashi, K., Taguchio, M. and Seo, S. (1971) Studies of plants containing indole alkaloids. I. Alkaloids in *Uncaria genus*, *Yakugaku Zasshi* 91: 575-576.
  14. Haginawa, J., Sakai, S., Aimi, N., Yamanaka, E. and Shinma, N. (1973): Studies of plants containing indole alkaloids. (2) On the alkaloids of *Uncaria rhynchophylla* MIQ. *Yakugaku Zasshi* 93: 448-452.
  15. Aimi, N., Yamanaka, E., Fujiu, M., Kurita, J., Sakai, S. and Haginawa, J. (1977) Studies of plants containing indole alkaloids. IV. Minor bases of *Uncaria rhynchophylla* MIQ. *Chem. Pharm. Bull.* 25: 2067-2077.
  16. Endo, K. Oshima, Y., Kikuchi, N., Koshihara, Y. and Hikino, H. (1983) Hypotensive principle of *Uncaria hooks*. *Planta Med.* 49: 188-190.
  17. Yano, S., Horiuchi, H., Aimi, N., Sakai, S. and Watanabe, K. (1991) Ca<sup>2+</sup> channel blocking effects of hirsutine, an indole alkaloid from *Uncaria* genus, in the isolated rat aorta. *Planta Med.* 57: 403-405.
  18. Kawazoe, S., Tokuyama, N., Mizukami, H. and Ohashi, H. (1991) Method of harvesting the crude drug based on distribution of alkaloids in the hook and in the stem with hook of *Uncaria rhynchophylla*. *Planta Med.* 57: 47-49.
  19. Harada, M., Ozaki, Y. and Sato, M. (1974) Ganglion blocking effects of indole alkaloid contained in *Uncaria* genus and *Amsonia* genus and related synthetic compounds on the rat superior cervical ganglion *in situ*. *Chem. Pharm. Bull.* 22: 1372-1377.
  20. Aisaka, K., Hattori, Y., Kihara, T., Ishihara, T., Endo, K. and Hikino, H. (1985) Hypotensive action of 3 $\alpha$ -dihydrocadambine, an indole alkaloid glycoside of *Uncaria* Hooks. *Planta Med.* 51: 424-427.
  21. Woodbury, L.A. and Davenport, V.D. (1952) Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 92: 97-107.
  22. Araki, S. and Ueki, S. (1972) Changes in sensitivity to convulsion in mice with olfactory bulb ablation. *Jap. J. Pharmacol.* 22: 447-456.
  23. Sohn, Y.J., Levitt, B. and Raines, A. (1970) Anticonvulsant properties of diphenylthiohydantoin. *Arch. Int. Pharmacodyn Ther.* 188: 284-289.
  24. Elwes, R.D.C., Johnson, A.L., Shorvon, S.D. and Reynolds, E.H. (1984) The prognosis for seizure control in newly diagnosed epilepsy. *N. Eng. J. Med.* 311: 944-947.
  25. Callaghan, N. and Goggin, T. (1988) Adjunctive therapy in resistant epilepsy. *Epilepsia* 29: S29-35.
  26. Dulac, O., Chiron, C. and Luna, D. (1991): Vigabatrin in childhood epilepsy. *J. Child Neuro.* 6: 2S30-2S37.
  27. Sachdeo, R., Kramer, L.D., Rosenberg, A. and Sachdeo, S. (1992) Felbamate monotherapy: controlled trial in patients with partial onset seizure. *Ann. Neurol.* 32: 368-392.

(1995. 3. 8 접수)