

부자 「부타놀」 분획의 강심 작용에 대한 Potassium 이온의 효과

서울의대 약리학교실

홍 사 악 · 김 명 석 · 박 찬 응

=Abstract=

The Effect of K^+ on the Inotropic Action of Aconitium Tuber

S.A. Hong, M.S. Kim, and C.W. Park

Dept. of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University

The effects of varying concentrations of extracellular potassium on the positive inotropic actions of Aconiti tuber butanol fraction and ouabain were studied on isolated left atrium of rat. The patterns of active tension increment, such as time to peak and total duration of tension development, was contrasted in Aconiti tuber butanol fraction to ouabain. Ouabain did not induce significant shortening in time to peak and total duration of tension development, but Aconiti tuber produce significant shortening. The isometric tension and peak dF/dt were not significantly different at the range of extracellular potassium concentration $2mEq \sim 10mEq$ per. liter in control studies. The ouabain-induced increase in active tension and peak dF/dt at $2mEq$. per. liter potassium concentration was significantly different from that of $6mEq$ or $10mEq$. per. liter, but there was no difference between $6mEq$ and $10mEq$. per. liter. but Aconiti tuber is not. In contrast to ouabain, Aconiti tuber butanol fraction did not show potassium dependent positive inotropic effect. It produced almost same increment of tension and peak dF/dt at all the concentration of extracellular potassium concentrations in this experiment.

서 론

1970년 김¹⁾등은 부자 (Aconiti tuber)의 강심성분은 부타놀에 이행되며, 이는 개구리 적출심방에서 신속히 현저한 강심효과를 나타냄을 보고한 이래 저자들은 부자 부타놀 분획의 강심작용 양상과 이의 기전 추구에 관한 실험들을 시행하였다.

기존 강심약물인 digitalis 배당체의 강심작용 및 강심기전에 대해서는 오래전부터 많은 연구가 있어 왔다. 이들의 강심기전에 있어서는 Lee¹⁾등은 digitalis 강심배당체의 심근 세포내 Ca^{++} -pool의 증가기전이 sarcoplasmic reticulum 이나 세포내 organelles에서의 능동

이동을 일으키는 것 보다는 세포막에 작용함에 의한 것이라는 가능성을 시사하고 있다. 1957년 Skou²⁾가 신경 세포막의 Na^+K^+ -activated ATPase의 활성도를 digitalis 강심배당체가 선택적으로 억제함을 보고하였고, 이후 digitalis의 membrane bound Na^+K^+ -activated ATPase의 억제와 digitalis의 독작용과의 관계는 명백한 연관성이 있을 것으로 생각되고 있다. 그러나 digitalis의 강심기전에 있어 Repke³⁾ 및 Schwartz²⁾등의 sodium pump가 digitalis의 직접적인 강심기전 수용체이리라는 추정에 대해서는 아직 논란의 여지가 있다.

최근 신⁴⁾등은 부자 부타놀 분획 역시 가토 심실근 microsomal Na^+K^+ -activated ATPase의 활성을 억

제하며, ATPase 활성 억제농도는 가토 심방근에서 강심작용을 나타내는 농도와 일치하며, ATPase 활성 억제 양상에 있어서 digitalis 배당체와 유사함을 보고하였다.

따라서 저자들은 본 실험에서의 microsomal ATPase 활성억제에 있어 potassium-activation 부위에 allosteric inhibition 을 하는 ouabain 을 대조약물로 하여 세포의 potassium 농도를 변화시켜 부자 부타놀 분획의 강심작용을 검토하여 강심효과의 potassium-dependency 부를 검토하여 강심기전을 추구하고자 하였다.

실험 재료 및 방법

1. 부자 부타놀 분획의 제조 : 草烏頭(acconitum volubile pallas var. pubescens Regel)의 95% 에타놀 추출물을 얻고 에타놀을 증발 건조시켜 물에 녹인후 1% Na₂CO₃ 로 알칼리화 시키고 이를 ether 와 CHCl₃ 처리하여 지방성분과 독성이 강한 aconitine, mesaconitine 등의 alkaloids 를 제거시켰다. 이후 alkaloids 제거 분획을 1% HCl 로 중화시킨 후 부타놀로 추출하여 부타놀 용해 분획을 감압건조하여 실험에 사용하였다.

2. 흰쥐 적출 좌심방의 수축력 및 흥분성의 측정 : 실험동물은 동일조건에서 사육된 체중 250~300gm 의 순종의 흰쥐를 암수 구별없이 사용하였으며, 두부에 타격을 가하여 치사시킨후 신속히 심장을 적출하여 95% O₂~5% CO₂ 가 계속 공급되는 potassium 2mM 의 Krebs' 용액하에서 좌심방을 분리하여 37°C 의 항온관류기에 연결된 2mM potassium 의 Krebs' 용액을 채운 magnus 장치에 현수한 후 resting tension 을 500mg 으로 유지시켰다. 전기자극은 electrical stimulator(Grass model S₄)로, 전기자극에 의해 자율신경의 흥분으로 수축력의 변화가 일어나지 않도록 좌심방근의 역치 전압보다 약간 높은 전압으로 자극빈도 60/min, duration 5msec 의 square wave pulse 를 가하였으며 이때 발생하는 active tension 을 isometric transducer 를 통하여 oscillograph 에 기록하였다. 매 실험 심방근은 평행상태에 도달토록 1시간 이상 경과후 역치 전압과 발생장력, 및 장력 발생속도(dF/dt)를 측정후, potassium 저농도(2mM)에서 흰쥐의 생리적 농도인 6mM, 고농도인 10mM 로 변화시켜 가며 각 농도에서 적어도 15분 이상 경과시키고 동일 방법으로 역치 전압 및 active tension 을 측정하였다. 이후 magnus 장치의 용액을 potassium 2mM 의 Krebs' 용액으로 바꾼후 처음의 potassium 2mM 에서와 동일한 active tension 으로 환원되는 심방근만을 사용하여 부자 부타놀 분획 및 ouab-

ain 을 투여하고 상기와 같은 방법으로 potassium 농도를 변화시켜 가며 역치전압, active tension, dF/dt 를 측정하였다.

실험에 사용한 부자 부타놀 분획과 제조 약물인 ouabain 의 organ bath 내의 농도는 potassium 2mM 의 Krebs' 용액 하에서 기준 수축력을 50%내외로 증가시키는 농도를 사용하였다. ouabain 의 농도는 2×10⁻⁵M, 부자 부타놀 분획은 5×10⁻⁴gm/ml 이 되도록 하였다.

실험 결과

1. Ouabain 및 부자 부타놀 분획의 active tension 의 증가 양상 : Ouabain 과 부자 부타놀 분획의 강심효과 양상은 Fig. 1에서와 같이 ouabain 은 장력 발생의 총 시간에는 거의 영향을 주지 않으며 최고 장력 도달 시간의 감소도 현저치 않았다. 부자 부타놀 분획은 이와는 달리 장력 발생 총 기간 및 최고 장력 도달 시간의 현저한 감소를 보였다.

2. Ouabain 감심작용에 대한 potassium 이온의 효과 : Ouabain 에 대하여 흰쥐 적출 심방근은 500mg 의 resting tension 하에서 인위적 전기 자극으로 나타나는 기준 장력 발생 양상은 흰쥐의 생리적인 농도인 potassium 6mM 에서 가장 큰 수축력을 보이며 저농도 및 고농도에서 약간 감소하는 양상을 보였으나 이는 통계적으로 유의한 것은 아니었다. Ouabain 에 의한 active tension 의 증가는 세포의 potassium 농도가 2mM 에서 가장 현저한 증가를 보였고, potassium 농도를 증가시켜감에 따라 기준 수축력에 대한 강심효과는 현저히 감소하였으며(Fig. 2), 기준 수축에 대한 percent 증가율로 볼때 2mM potassium 용액하에서의 증가는 6mM,

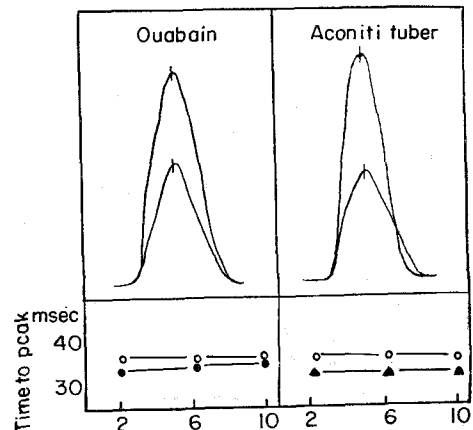


Fig. 1. Effect of inotropic agents on pattern or tension development of rat atrium.

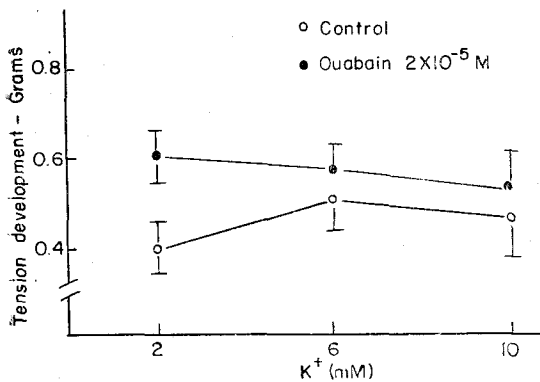


Fig. 2. Effect of ouabain on the tension development of rat left atrial muscle over the potassium concentration 2, 6, 10mM. Each point indicates the mean \pm S.E. of 8 experimental animals.

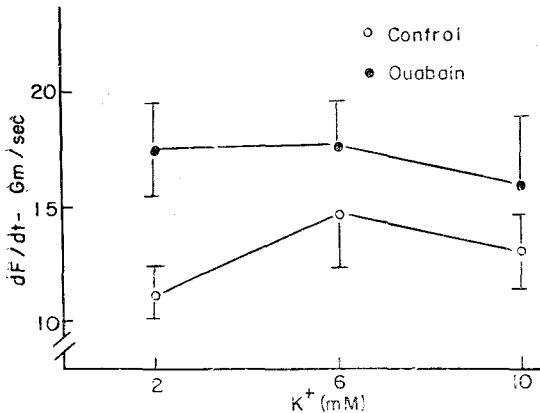


Fig. 3. Effect of ouabain on the dF/dt of rat atrium.

10mM의 potassium 용액하에서의 수축력 증가에 비해 현저히 컸으나($p < 0.001$), 6mM과 10mM에서는 서로 증가율의 차이를 볼 수 없었다(Fig. 6). 강심효과를 장력 발생속도(dF/dt)를 지표로 하여 볼 때 active tension 증가와 같은 결과를 보였다(Fig. 3, 7).

3. 부자 부타늘 분획의 강심작용에 대한 potassium 이온의 효과: 부자 부타늘 분획은 홍등⁵⁾의 실험 결과와 비교하여 가토와 흰쥐에 있어 종에 따른 강심효과와 감수성의 차이는 볼 수 없었다.

부자 부타늘 분획 처리 심방근의 bath 내 potassium 농도 변화에 따른 대조실험에서의 수축력의 양상은 ouabain의 경우와 동일한 양상을 보였다. 부자 부타늘 분획에 의한 심방근 수축력의 증가는 Fig. 4에서와 같이 세포의 potassium 농도를 2mM에서 10mM까지 변화

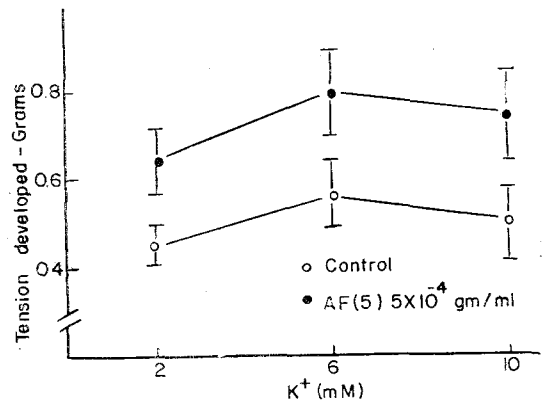


Fig. 4. Effect of Aconiti tuber on the tension development of rat atrial muscle. Each points indicates the mean \pm S.E. of 8 experimental animals.

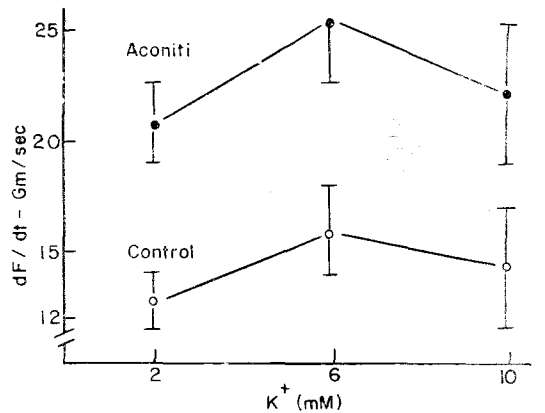


Fig. 5. Effect of Aconiti tuber on the dF/dt of rat left atrial muscle.

시켜 볼 때 수축력의 증가는 potassium 농도 변화에 무관한 증가를 보였으며, 이러한 양상은 percent 증가율에서도 같았으며(Fig. 6), 장력 발생속도(dF/dt)를 지표로 할 때 potassium-independent한 강심 효과를 보였다(Fig. 5, 7). 따라서 본 실험의 세포의 potassium-농도 범위에서는 부자의 강심작용의 potassium dependency를 인정할 수 없었다.

4. 부자 부타늘 분획 및 ouabain이 심방근 흥분성에 미치는 영향: Bath 내 potassium 이온의 변화에 따른 심방근의 흥분성은 역치 전압의 역수로 계산하였고 처음 실험조건의 2mM의 potassium 용액하에서의 흥분성을 100으로 하여 각 potassium 농도 및 약물 첨가 후의 흥분성을 표시 하였다.

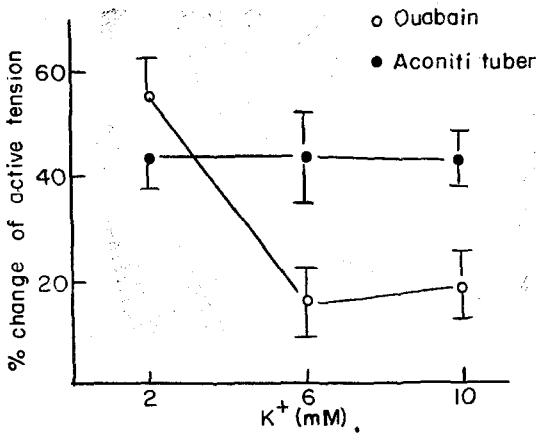


Fig. 6. Effect of inotropic agents on active tension of the rat atrial muscle.

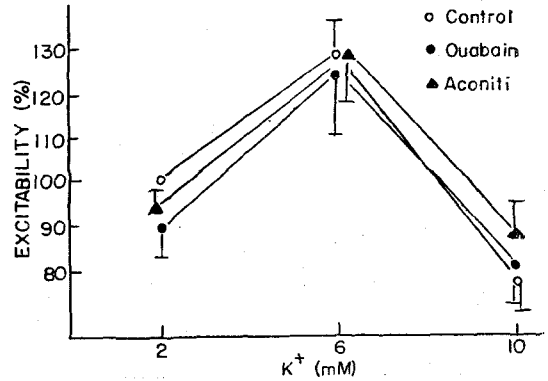


Fig. 8. Effect of the inotropic agents on the excitability of rat left atrial muscle.

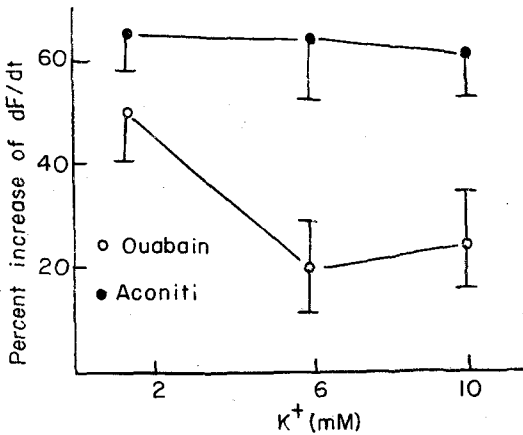


Fig. 7. Percent increase of dF/dt of rat atrium by inotropic agents.

대조군 실험에서 Magnus 장치내 potassium 농도를 6 mM로 증가시켰을 때 흥분성은 증가 하였으며, 고농도의 10mM에서는 흥분성이 2mM 때보다 약간 감소하였고 6mM에 비해서는 현저한 감소를 나타내었다. Ouabain 및 부자 부타놀 분획의 본 실험 농도는 potassium 각 농도에서 기준 흥분성의 변화 양상에 유의한 영향을 미치지 않았다.

고 찰

부자의 강심물질에 대해서는 1958년 矢數등²⁰⁾이 Aconiti tuber에서 독성이 잘 알려진 alkaloid₃를 제거한 분획에서 강심작용물질의 존재를 보고한 이후 홍등⁵⁾ 및 윤⁴⁾은 부자의 강심물질의 강심효과의 양상은 강심작용 출현의 신속함과 수축 장력증가 양상이 기존 digitalis 강심 배당체와는 상이함을 보고 하였다. 반면,

최근 신등²¹⁾은 부자 부타놀 분획이 가토 심실근 microsomal Na⁺-K⁺-activated ATPase의 활성도를 억제하며 이는 홍등⁵⁾의 보고에 의한 심방근에서 강심효과를 나타내는 농도와 일치함과 아울러 ATPase의 활성도 억제 양상이 ouabain과 유사함을 보고하였다.

한편 ouabain의 강심기전 및 독작용과의 membrane Na⁺-K⁺-activated ATPase의 활성도 억제와의 연관성에 있어서는 in vitro 및 in vivo 실험에서 세포의 potassium 농도의 증가는 심근 digitalis의 축적을 감소시키며¹⁰⁾, 독작용의 출현이 지연되거나 출현 용량을 증가시키는 것은 명백한 사실이며^{8,10,15,20)} 이는 membrane Na⁺-K⁺-activated ATPase와의 상호작용에서 potassium과 ouabain의 allosteric competition의 관계로 미루어 K⁺의 농도의 증가는 cardiac glycosides의 ATPase 활성도 억제를 감소시킴으로써 심근 세포에서의 potassium 유출을 감소시키기 때문이라고 추정되고 있다^{14,21)}. 그러나 digitalis의 강심 작용에 대해서는 세포 표면에 결합된 digitalis의 양과 강심 효과는 비례하며¹³⁾, microsomal bound 양과 비례하고¹²⁾ 또한 potassium 농도의 증가는 심근에 digitalis의 결합속도 및 수축력의 감소를 유발한다는 보고¹⁸⁾가 있으며, 심장근 microsomal Na⁺-K⁺-activated ATPase의 활성억제는 종에 따른 감수성과 일치하고^{14,19)} 강심효과의 크기와 비례한다^{6,7,19)}는 등으로 Schwartz 등²¹⁾은 Na⁺-K⁺-activated ATPase를 원차적인 digitalis의 강심기전 수용체라 추정하고 있다. 그러나 sodium pump의 억제에 의한 2차적인 심근내 Ca⁺⁺-pool의 증가에 대한 직접적인 증거가 결여되어 있어 Ca⁺⁺-K⁺-exchange 등의 가설을 내세우고 있다. 반면 Williams 등²³⁾은 potassium 농도의 증가에 따라 digitalis의 독작용은 억제되거나 강심효과

는 변화치 않는다고 보고하고 있고 Okita 등¹⁶⁾은 Langendorff 법에 의해 가토 심장에서 강심 배당체 처치 후 강심효과 출현후 약물을 씻어내면 강심효과는 사라지나 microsomal Na⁺-K⁺-activated ATPase 의 억제적 지속은 계속된다는 Na⁺-K⁺-activated ATPase 활성화도와 강심효과의 해리를 보고하고 있어 현재로서는 명백한 결론에 도달치 못하고 있다.

본실험 결과를 살펴보면 흰쥐 적출 심방의 수축력 발생 양상에 미치는 ouabain 및 부자 부타놀 분획의 수축력 증가 양상은 윤⁹⁾의 고양이 유두근에서의 보고와 유사한 양상을 보였다. 또한 실험 약물 농도에서 심방근 흥분성에 미치는 양상은 biphasic 하게 potassium 농도 증가에 따라 증가하나 고농도(10mM)에서의 흥분성의 감소는 Green¹¹⁾ 등이 2.15~8.15mEq, potassium 농도 사이에서 적출 심방근의 역치 전압의 대수치는 K⁺ 농도와의 사이에 직선적인 관계를 보이나 그 이상의 농도에서는 흥분성이 오히려 감소한다고 한 결과와 유사하였다.

본 실험에서 흰쥐의 실험 약물에 대한 감수성은 대조약물인 ouabain 의 경우에는 Koch-Weser 등¹⁷⁾의 보고와 같이 현저한 내성을 보였으며, 이는 심실근 microsomal Na⁺-K⁺-activated ATPase 의 종에 따른 ouabain 의 활성 억제 농도의 차이와 일치한다.

약물처리 전의 흰쥐 적출 심방근의 세포의 potassium 농도 변화에 따른 수축력의 양상은 Green¹¹⁾의 고양이 유두근에서 potassium 농도 2.15mM~10.15mM 범위에서는 변화가 없으며 이후의 농도에서는 수축력이 현저히 감소한다는 보고와 일치하며, 본 실험에서도 10mM 이상의 potassium 농도에서는 potassium 농도의 미세한 증가에서도 수축력이 현저히 감소하는 결과를 관찰할 수 있었다. 이러한 수축력의 감소 현상을 Cohn 등¹⁰⁾은 심근 actomyosin 의 association 에 대한 영향에 의한 것을 추측하고 있다.

Ouabain 에 의한 potassium 2mM 에서의 수축력의 증가는 6mM 또는 10mM 에 비해 현저하므로 potassium-dependent 한 강심 작용을 보였는데 이는 Cohn 등⁹⁾의 guinea pig 심방근에서의 potassium-dependent 한 ouabain 의 강심효과와 일치하는 결과이며, 이는 Cohn 등¹⁰⁾의 결과에 미루어 볼 때 potassium 농도의 증가가 membrane bound ouabain 의 유리를 초래했다고 사료할 수 있다.

한편 microsomal Na⁺-K⁺-activated ATPase 의 활성도를 억제하는 양이 ouabain 과 유사한 부자 부타놀 분획의 경우⁹⁾에는 potassium-independent 한 강심 작용

을 보이고 있다. 부자 부타놀 분획의 강심작용 및 강심기전에 대한 보고는 아직 충분치 않고, 그동안 많은 연구가 되어온 ouabain 의 궁극적 강심기전에 대해서도 아직 논란이 많아 명백히 결론을 지을수 있는 단계는 아니나, 본 실험 결과에 의하면 ouabain 의 경우종에 따른 감수성의 차이와 Na⁺-K⁺-activated ATPase 의 활성 억제농도의 일치점 및 potassium dependent 한 강심 효과는 sodium-pump 가 ouabain 의 강심기전의 수용체일 가능성이 더욱 시사되며, 부자 부타놀 분획의 경우에는 강심효과가 potassium 각 농도에서 potassium 이온 자체가 수축력에 미치는 효과와 상가적으로 작용함을 고려할 때, Na⁺-K⁺-activated ATPase 의 억제 양상이 potassium-activation site 와는 무관한 부위에서의 효소의 활성 억제를 일으킬 가능성을 생각할 수 있겠다.

요 약

흰쥐 적출 좌심방근을 사용하여 부자 부타놀 분획의 강심작용의 potassium-dependency 여부를 기존 강심제인 ouabain 을 대조 약물로 하여 검토한 결과는 다음과 같다.

- 1) 흰쥐 적출 좌심방근은 ouabain 에 대해서는 가토 등의 실험 동물에 비해 현저한 내성을 보였다.
- 2) 심방근의 수축장력은 세포의 potassium 농도를 2mM 에서 10mM 까지 변화 시켰을때 유의한 수축력의 변화를 볼 수 없었다.
- 3) Potassium 2mM 에서의 ouabain 의 강심 효과는 6, 10mM 에서 보다 현저한, 즉 potassium dependent 한 강심 효과를 나타내었으나, 부자 부타놀 분획의 강심 효과는 potassium-independent 한 양상이었다.
- 4) 흰쥐 심방근의 흥분성은 생리적 potassium 농도인 6mM 에서 가장 높았고 저 농도 및 고농도에서는 흥분성의 감소를 보였으며 본 실험에 사용 사용된 ouabain 2×10⁻⁶M, 부자 부타놀 분획 5×10⁻⁴gm/ml 의 농도는 심방근 흥분성에 별 영향을 주지 못했다.

REFERENCES

- 1) 김광철, 홍사약, 박찬용: 부자에서의 강심작용 물질검색에 관한 연구: 최신의학: 12(12):77-87, 1973.
- 2) 失數, 四郎: 日藥理誌 54:890, 1958.
- 3) 신상구, 임정규, 박찬용, 김명석: 부자 *Butanol*

- fraction* 이 가토 심장근 *microsomal Na⁺-K⁺-activated ATPase* 활성도에 미치는 영향 : 대한약리학잡지 : 12(1):7-14, 1976.
- 4) 윤충 : 수종강심약물과 부자 부타놀 분획이 심장근의 기계적 성질에 미치는 영향 : 대한약리학잡지 12(1):45-55, 1974.
 - 5) 홍사악, 박찬웅, 김명석, 신상구 : 부자 *Butanol fraction* 의 강심 작용에 관한 연구 : 대한약리학잡지 : 11(1):7-13, 1975.
 - 6) Akar, T., Larsen, F.S. and Brody, T.M.: *Correlation of cardiac sodium potassium activated adenosinetriphosphatase from the hearts of several mammalian species*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 170:17-26, 1969.
 - 7) Besch, H.R., Allen, J.C., Glick, G. and Schwartz, A.: *Correlation between the inotropic action of ouabain and its effects on subcellular enzyme systems from canine myocardium*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 171:1-12, 1970.
 - 8) Caprio, A. and Farah, A.: *The effect of the ionic milieu on the response of rabbit cardiac muscle to ouabain*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 155:403-414, 1967.
 - 9) Cohn, K.E., Piroges, S. and Harrison, D.C.: *The effects of potassium on the inotropic action of ouabain*, *Amer. Heart. J.*, 73:516-524, 1967.
 - 10) Cohn, K.E., Keliger, R.E. and Harrison, D.C.: *Influence of potassium depletion on myocardial concentration of tritiated digoxin*. *Cir. Res.*, 20:473-476, 1967.
 - 11) Green, J.P., Giarman, N.J. and Salter, W.T.: *Combined effects of calcium and potassium on the contractility and excitability of the mammalian myocardium*, *Am. J. Physiol.*, 171-177, 1952.
 - 12) Kim, N.D., Bailey, L.E. and Dresel, P.E.: *The correlation of the subcellular distribution of digitoxin with the positive inotropic effect*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 171:377-385, 1975.
 - 13) Kuschinsky, K., Lullmann, H. and Vanzwieten, P.A.: *A comparison of the accumulation and release of 3H-ouabain and 3H-digitoxin by guinea pig heart muscle*. *Brit. J. Pharmacol. Chemother*, 32:598-608, 1968.
 - 14) Lee, K.S. and Klaus. Wolfgang: *The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides*, *Pharmacological Reviews* 23(3):193-261, 1971.
 - 15) Lown, B., Weller, J.M., Wyatt, N., Hoigme, R. and Merrill, J.P.: *Effects of alterations of body potassium on digitalis toxicity*. *J. Clin. Invest.*, 31:648, 1952.
 - 16) Okita, G.T., Richardson, F. and Roth-Schechter, B.F.: *Dissociation of the positive inotropic action of digitalis from inhibition of sodium and potassium-activated adenosinetriphosphatase*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 185:1-11, 1973.
 - 17) Koch-Weser, J. and J. R. Blinks: *Analysis of the relation of the positive inotropic action of cardiac glycosides on the frequency of contraction of heart muscle*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 136:305-317, 1962.
 - 18) Prindle, K.H., Jr., Skeleton, C.L., Epstein, S.E. and Marcus, F.L.: *Influence of extracellular potassium concentration on myocardial uptake and inotropic effect of tritiated digoxin*. *Cir. Res.*, 28:337-345, 1971.
 - 19) Repke, K., Portiu, H.J.: *Analysis of structure activity relationship in cardioactive compounds on the molecular level*. *Scientiae Pharmaceuticae. Proceedings of Twenty-fifth Congress of Pharmaceutical Science. Prague, August, 24-27, 1965.*
 - 20) Schafter, H.H., Witham, A.C. and Burne, J.H.: *Digitalis tolerance and effect of acetylstrophantidin upon serum potassium of dogs with acidosis and uremia*. *Amer. Heart. J.*, 60:388-395, 1960.
 - 21) Schwartz, A., George, E.L. and Julius, C.A.: *The sodium potassium adenosinetriphatase: Pharmacological, Physiological and Biochemical aspects*, *Pharmacological Reviews*, 27(1):1-134, 1975.
 - 22) Skou, J.C.: *The influence of some cations on adenosinetriphosphatase from peripheral nerves*, *Biochem. Biophys. Acta.*, 23:394-401,

1957.

23) Williams, J.F., J.P., Klocke, F.J. and Braunwald, E.: *Studies on digitalis. XIII. A compari-*

*son of the effects of potassium on the inotropic and arrhythmia producing action of ouabain. J. Clin. Invest., 45:346-350, 1966**