

全蝎이 腦組織의 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性에 미치는 影響

東國大學校 韓醫科大學 內科學教室

尹鍾榮 · 申鉉喆 · 尹哲浩 · 徐雲教 · 金鍾吳 · 鄭智天

I. 緒論

대부분의 살아 있는 動物 細胞에서는 細胞膜에 존재하는 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 에 의하여 Na^+ 은 細胞 안에서 밖으로, K^+ 은 細胞 밖에서 안으로 이동되고 있어 細胞膜을 경계로 Na^+ 농도는 외부가 내부보다 높게 되고 K^+ 은 내부가 외부보다 높은 水準에서 유지되고 있다.¹⁾ Na^+ 의 이같은 이동으로 神經細胞나 心筋細胞가 흥분을 전달할 수 있고, 근육이 수축할 수 있는 등^{2,3)} 여러 가지 生理的 機能이 수행되고 있다. 이러한 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 는 1957년에 Skou⁴⁾가 神經細胞에서 처음 발견한 후 여러 細胞에서 그 존재가 확인되었다.

神經末端에서 神經傳達物質이 遊離되는 機轉은 神經末端의 脫分極⁵⁾, 細胞內 Na^+ 의 역할⁶⁾ 및 Ca^{2+} 의 流入에 의한 Na^+ 의 流入⁷⁾ 등이 제시되어 왔다. 이 후 神經이 包含된 小腸 筋肉組織⁸⁾, 大腦皮質 切片^{9,10)} 및 기타 여러 神經組織^{11,12)}에서 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性을 抑制하는 ouabain을 處理한 結果 acetylcholine의 遊離가 增加되고 있음이 確認되었다. Carmichael 등¹⁰⁾은 大腦組織에서 ouabain에 의해 acetylcholine 뿐만 아니라 serotonin도 遊離가 增加되는 것으로 觀察하였다. $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性은 溶液內 Na^+ 을 除去하면 抑制되는데, 여러 神經組織을 Na^+ 을 除去한 溶液內 露出시켜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性을 抑制한 結果 역시 acetylcholine의 遊離가 增加되었다.^{8,11,13)} 이러한 結果들은 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性 抑制가 神

經組織에서 神經傳達物質의 遊離를 增加시켜 神經細胞의 機能에 關係할 것임을 暗示하고 있다.

東洋醫學에서 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 와 關聯된 實驗研究로는 三和散^{14,15,16)}이 腎臟 心臟 大腦皮質, 勝金散¹⁷⁾이 心臟, 莎芎散¹⁸⁾이 大腦皮質에서 各各 活性을 抑制한다고 하였다.

全蝎은 熄風鎮痙 解毒散結 化痰祛瘀 등의 效能으로 驚癇抽搐 急慢驚風 破傷風 中風 口眼喎斜 偏正頭痛 등의 治療에 활용되어 왔으며,¹⁹⁻³⁸⁾ 藥理實驗에서는 抗痙攣 및 鎮靜鎮痛作用 등^{28,32,39)}이 밝혀지고 있다.

이에 著者들은 全蝎이 神經細胞의 興奮이나 收縮·痙攣 등과 有關한 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性에 影響을 미칠 것으로 생각되어 大腦皮質에서 分離한 synaptosome에서 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性에 對한 效果를 檢討하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗

1. 材料

1) 藥材

全蝎(*Buthus martensi* Karsch)을 市中에서 購入한 後 精選하여 使用하였다.

2) 動物

體重 1.5-2 kg 되는 New Zealand 白色 成兔를 雌雄 구별 없이 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

全蝸 150 g을 細切하여 1,000 ml round flask에 넣고 蒸溜水 500 ml를 加한 다음 冷却器를 附着하여 2時間 동안 加熱煎湯하고 2回 吸引濾過한 濾液을 rotary vacuum evaporator에 넣어 減壓濃縮한 後 冷凍乾燥시켜 액기스 粉末 28.18 g을 얻어 本 實驗에 必要한 濃度로 稀釋하여 使用하였다.

2) 大腦 synaptosome 分離

토끼 大腦皮質에서 Hojos⁴⁰⁾의 方法으로 synaptosome을 分離하였다. 토끼를 犧牲시킨 後 大腦皮質을 分離하여 組織의 約 10倍 되게 0.3 M sucrose 溶液을 添加하여 Potter-Elvehjem homogenizer로 均等質을 만들었다. 이를 遠心分離器 (Sorvall RC-5B)를 利用하여 1,500 × g에서 10分間 遠心分離하여 上澄液을 얻어 다시 9,000 × g에서 20分間 遠心沈澱하여 얻은 沈澱液을 0.3 M sucrose液에 浮游시켰다. 이 浮游液을 0.8 M sucrose 溶液 위에 넣고 9,000 × g에서 25分間 遠心分離하여 0.8 M sucrose 溶液 속에 包含된 部分을 0.3 M sucrose液에 浮游시켜 20,000 × g에서 30分間 遠心分離하여 그 沈澱物을 synaptosome으로 利用하였다. 이를 110 mM KCl, 20 mM NaCl, 1.2 mM CaCl₂, 10 mM glucose 및 20 mM Hepes/Tris(pH 7.4)로 된 溶液內 浮游시켜 使用하였다.

3) Na⁺-K⁺-ATPase 活性 測定

分離된 synaptosome에서 Na⁺-K⁺-ATPase 活性은 ATP로부터 分解되어 遊離되는 無機磷酸(Pi)의 濃度를 測定하여 評價하였다. 總 ATPase 活性은 100 mM Na⁺, 10 mM K⁺, 3 mM Mg²⁺, 20 mM Tris/HCl(pH 7.4), 3 mM

ATP가 存在하는 溶液 속에서 測定하였으며, Mg²⁺-ATPase 活性은 總 ATPase 活性을 測定하는 溶液 內에서 K⁺을 除外하고 代身 1 mM ouabain을 添加하여 測定하고 總 ATPase와 Mg²⁺-ATPase 活性의 差異를 Na⁺-K⁺-ATPase 活性으로 하였다. ATP가 들어 있지 않은 上記 溶液內 synaptosome을 0.25 mg/ml 되게 添加하여 37°C에서 10分 동안 preincubation한 後 ATP를 添加하여 反應을 始作하였으며 10分 後에 冷한 6% perchloric acid 0.2 ml를 加하여 反應을 停止시켰다. 反應液을 3,500 × g에서 10分 동안 遠心分離한 後 上澄液內 無機磷酸의 濃度를 Fiske와 SubbaRow의 方法⁴¹⁾으로 測定하였고, 蛋白質 濃度는 Bradford의 方法⁴²⁾으로 測定하였다.

4) 統計 處理

成績은 平均치 ± 표준오차로 나타내었으며, 平均치間의 有意性은 Student's t-test를 利用하여 檢定하였고 p값이 0.05 未滿일 때 有意한 것으로 判定하였다.

III. 成績

1. Na⁺-K⁺-ATPase 活性에 對한 效果

大腦皮質에서 分離한 synaptosome에서 Na⁺-K⁺-ATPase 活性은 6.46 ± 0.95 μM Pi/mg protein/hr이었으며, 全蝸 抽出物의 濃度를 0.05%에서 0.5%로 添加함에 따라 酵素 活性은 添加濃度에 比例하여 減少하였다. 0.1%일 때 酵素 活性은 4.00 ± 0.30 μM로 有意性이 認定되었으며, 0.5%일 때는 1.59 ± 0.57 μM로 約 75% 抑制되었다.(Fig.1)

2. Incubation 溶液內 電解質의 濃度變化에 對한 效果

1) Incubation 溶液內 Na^+ 濃度變化에 對한 效果

溶液內的 Na^+ 濃度를 5 mM과 100 mM로 變化시키고 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制效果를 調査한 結果 Na^+ 濃도가 5 mM일 때의 酵素 活性은 $1.43 \pm 0.54 \mu\text{M Pi/mg protein/hr}$ 이었고 0.25%의 全蝸 抽出物이 存在할 때에는 $0.85 \pm 0.05 \mu\text{M}$ 로 約 40% 抑制되었다. 100 mM일 때는 $6.37 \pm 0.99 \mu\text{M}$ 에서 $3.24 \pm 0.08 \mu\text{M}$ 로 約 49% 抑制됨으로서 Na^+ 濃도가 5 mM일 때나 100 mM로 增加시켰을 때나 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制程度는 類似하였다. (Fig. 2)

2) Incubation 溶液內 K^+ 濃度變化에 對한 效果

溶液內的 K^+ 濃度를 0.5 mM과 10 mM로 變化시키고 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制效果를 調査한 結果 K^+ 濃도가 0.5 mM일 때의 酵素 活性은 $4.13 \pm 0.85 \mu\text{M Pi/mg protein/hr}$ 이었고 0.25%의 全蝸 抽出物이 存在할 때에는 $1.98 \pm 0.05 \mu\text{M}$ 로 約 52% 抑制되었다. 10 mM일 때는 $7.37 \pm 0.78 \mu\text{M}$ 에서 $3.24 \pm 0.07 \mu\text{M}$ 로 約 56% 抑制됨으로서 K^+ 의 濃度 變化에 따라서도 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制效果는 影響을 받지 않는 것으로 나타났다. (Fig. 3)

3) Incubation 溶液內 Mg^{2+} 濃度變化에 對한 效果

溶液內的 Mg^{2+} 濃度를 0.2 mM과 5 mM로 變化시키고 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制效果를 調査한 結果 Mg^{2+} 濃도가 0.2 mM일 때의 酵素 活性은 $2.03 \pm 0.12 \mu\text{M Pi/mg protein/hr}$ 이었고 0.25% 全蝸 抽出物이 存在할 때에는 $0.95 \pm 0.11 \mu\text{M}$ 로 約 53% 抑制되었다. 5 mM일 때는 $8.07 \pm 1.39 \mu\text{M}$ 에서 $4.36 \pm 0.14 \mu\text{M}$ 로 約 46% 抑制되어 Mg^{2+} 의 두 濃度間에 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制程度는 有意한 差異가 없었다. (Fig. 4)

3. Incubation 溶液內 ATP 濃度變化에 對한 效果

溶液內的 ATP 濃度를 0.1 mM과 3 mM로 變化시키고 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制效果를 調査한 結果 ATP 濃도가 0.1 mM일 때의 酵素 活性은 $1.25 \pm 0.13 \mu\text{M Pi/mg protein/hr}$ 이었고 0.25% 全蝸 抽出物이 存在할 때에는 $0.57 \pm 0.04 \mu\text{M}$ 로 約 54% 抑制되었다. 3 mM일 때는 $9.15 \pm 1.32 \mu\text{M}$ 에서 $4.57 \pm 0.54 \mu\text{M}$ 로 約 50% 抑制됨으로서 ATP 濃度變化에 따른 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制效果는 影響을 받지 않는 것으로 나타났다. (Fig. 5)

4. 全蝸 抽出物과 sulfhydryl group의 相互作用

對照群에 DTT를 添加하였을 때의 酵素 活性은 多少 增加는 하였으나 有意性은 없었고, Sulfhydryl group과 反應하여 酵素 活性을 抑制하는 物質로 알려진³⁾ PCMB를 處理한 結果 約 65% 抑制되었으나 DTT를 同時에 處理하였을 때는 抑制程度가 約 17%로 有意性있게 防止되었다. 全蝸 抽出物이 PCMB와 같이 sulfhydryl group과 反應하여 抑制效果를 나타낸다면 그 抑制效果는 DTT에 依해 防止될 것이지만 表에서와 같이 全蝸 抽出物의 抑制效果는 DTT에 依해 影響을 받지 않았다. (Table 1)

5. 全蝸 抽出物과 ouabain의 相互作用

Synaptosome을 1 mM ouabain에 露出시켰을 때의 酵素 活性은 $8.05 \pm 0.95 \mu\text{M Pi/mg protein/hr}$ 에서 $4.29 \pm 0.56 \mu\text{M}$ 로 約 46% 抑制되었고, 0.25% 全蝸 抽出物이 存在할 때에는 $3.62 \pm 0.85 \mu\text{M}$ 로 約 55% 抑制되었다. 그러나 ouabain과 全蝸 抽出物을 同時에 添加하였을 때에는 酵素 活性이 $3.38 \pm 0.77 \mu\text{M}$ 로 그 抑制

效果는 全蝎 抽出物 單獨 存在時에 比하여 有意한 差異가 없었다.(Table 2)

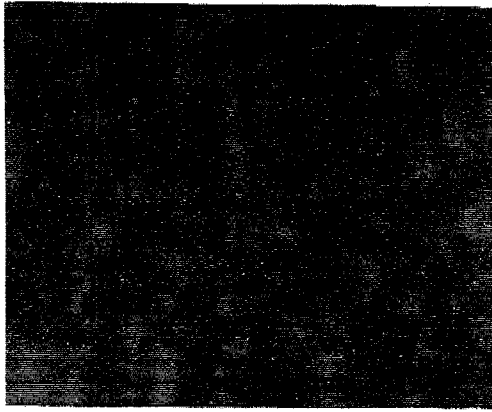


Fig. 1. Effect of *Buthus* extraction on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity in synaptosomes isolated from brain cortex. The enzyme activity was measured at 37°C for 10min in 100mM Na^+ , 10mM K^+ , 3mM Mg^{2+} , 20mM Tris/HCl (pH 7.4), and 3mM ATP in the presence or absence of various concentrations of *Buthus*. Data are mean \pm SE of four experiments. * $p < 0.05$ compared with the absence of *Buthus*.

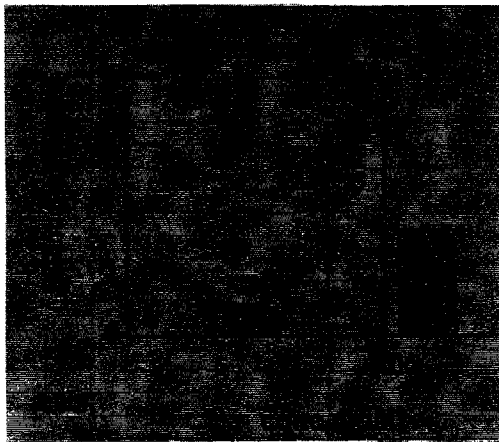


Fig. 2. Effect of Na^+ on *Buthus* extraction-induced inhibition of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity in synaptosomes isolated from

brain cortex. The enzyme activity was measured at 37°C for 10min in 5 or 100mM Na^+ , 10mM K^+ , 3mM Mg^{2+} , 20mM Tris/HCl (pH 7.4), and 3mM ATP in the presence or absence of *Buthus* (0.25%). Data are mean \pm SE of four experiments. * $p < 0.05$.

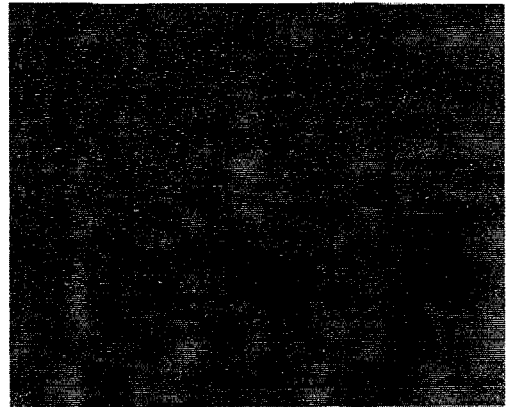


Fig. 3. Effect of K^+ on *Buthus* extraction-induced inhibition of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity in synaptosomes isolated from brain cortex. The enzyme activity was measured at 37°C for 10min in 100mM Na^+ , 0.5 or 10mM K^+ , 3mM Mg^{2+} , 20mM Tris/HCl (pH 7.4), and 3mM ATP in the presence or absence of *Buthus* (0.25%). Data are mean \pm SE of four experiments. * $p < 0.05$.

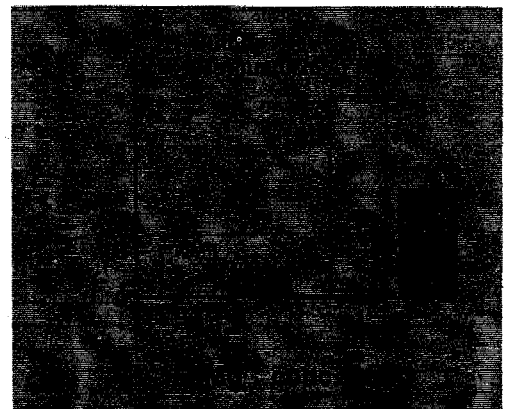


Fig. 4. Effect of Mg^{2+} on *Buthus* extrac-

tion-induced inhibition of Na⁺-K⁺-ATPase activity in synaptosomes isolated from brain cortex. The enzyme activity was measured at 37°C for 10min in 100mM Na⁺, 10mM K⁺, 0.2 or 5mM Mg²⁺, 20mM Tris/HCl(pH 7.4), and 3mM ATP in the presence or absence of *Buthus* (0.25%). Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05.



Fig. 5. Effect of ATP on *Buthus* extraction-induced inhibition of Na⁺-K⁺-ATPase activity in synaptosomes isolated from brain cortex. The enzyme activity was measured at 37°C for 10min in 100mM Na⁺, 10mM K⁺, 3mM Mg²⁺, 20mM Tris/HCl(pH 7.4), and 0.1 or 3mM ATP in the presence or absence of *Buthus* (0.25%). Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05.

Table 1. Effects of DTT and *Buthus* extract on Na⁺-K⁺-ATPase activity in cerebral synaptosomes

Conditions	Activity (μM Pi/mg protein/hr)	% of Control
Control	7.36 ± 1.05	100
+ DTT(2mM)	8.05 ± 0.79	109
+ PCMB(0.1mM)	2.59 ± 0.88	35
+ PCMB + DTT	6.08 ± 0.65	83
Control	7.36 ± 1.05	100
+ <i>Buthus</i> (0.25%)	3.19 ± 0.92	43
+ <i>Buthus</i> + DTT	3.68 ± 0.77	44

Data are mean±SE of four experiments. DTT, dithiothreitol ; PCMB, p-chloromercuric benzoic acid.

Table 2. Effects of ouabain and *Buthus* extract on Na⁺-K⁺-ATPase activity in cerebral synaptosomes

Conditions	Activity (μM Pi/mg protein/hr)	% of Control
Control	8.05 ± 0.95	100
+ Ouabain(1mM)	4.29 ± 0.56	53.29
+ <i>Buthus</i> (0.25%)	3.62 ± 0.85	44.97
+ Ouabain + <i>Buthus</i>	3.38 ± 0.77	44.47

Data are mean±SE of five experiments.

IV. 考 察

全蝸은 蝸蝸科(Buthidae)에 屬하는 節足動物 昆蟲인 全蝸(蝸蝸, *Buthus martensi* Karsch)의 乾燥體로 性味는 辛 平하고 毒性이 있으며 肝經에 歸經한다.^{19-21,24-27,29-32} 效能^{19,22,25,26,29,30,32,33}은 熄風鎮痙 解毒散結 通絡止痛 및 化痰祛瘀 等이고, 主治證^{19-23,27-29,31,38}은 熄風鎮痙의 效能으로 驚癇抽搐 破傷風 痙攣 中風 口眼喎斜 癱瘓 拘攣 振顫 等に 多用되며, 解毒散結의 效能으로 瘡瘍腫毒 痔瘡發痒 癩癧結核 流痰 癭瘤 淋巴結核 等に 利用되고, 通絡止痛의 效能으로 偏正頭痛 風濕痺痛 關節拘攣 脫疽 乳癖 等に 利用되고 있다. 最近 中醫^{22,29,31,38}에서는 化痰祛瘀의 效能으로 中風後遺症 出血性腦梗塞 脫疽 乳癖 痔瘡 陽痿 扁桃腺炎 等に 활용하고 있다. 그 밖에도^{22,23,32,33} 高血壓 動脈硬化 血栓 閉塞性血管炎 急性扁桃腺炎 三次神經痛 小兒 癱瘓 腰痛 甲狀腺腫大 癌 等に 廣範圍하게 應 用되고 있다. 藥理作用^{22,31,32,39}은 抗痙攣, 血壓 降下, 鎮靜鎮痛, 抗癌, 出血, 抑菌, 子宮收縮, 胃液分泌增加 作用 等이 밝혀지고 있다.

以上과 같이 東洋醫學에서 全蝸은 傳統의 熄風鎮痙의 效能으로 痙攣性 疾患에 多用

되고 있으며, 最近 中醫에서 化痰祛瘀에 比重을 두고 있고 各種 藥理實驗에서도 痙攣·收縮 등에 對한 鎮靜作用과 人體 各種 代謝障礙에 對한 影響이 報告되고 있어^{22,29-32)} 이와 關聯해 生體內的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性에 對한 全蝸 抽出物의 抑制效果가 기대되는 바이다.

이에 大腦皮質에서 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性에 對한 全蝸 抽出物의 作用機轉을 알아보기 위하여 酵素活性 抑制藥物(PCMB, ouabain), 保護藥物(DTT) 및 酵素活性和 有關한 電解質(Na^+ , K^+ , Mg^{2+})과 ATP 濃度와의 關聯性에 對하여 究明해 보고자 하였다.

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 는 正常的인 細胞의 機能에 重要한 役割을 하고 있으며, 特히 神經細胞에서는 興奮의 發生과 傳達에 重要한 酵素임은 잘 알려진 事實이다. 그러나 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性을 抑制하는 여러 가지 藥物들이 norepinephrine이나 acetylcholine과 같은 神經傳達物質의 遊離를 增加 或은 減少시키는 것으로 알려져 있다.^{43,44)} 이러한 效果가 生理學的으로 어떤 役割을 하는 지는 正確히 밝혀지지 않았으나 興奮劑로서의 役割을 가지거나 反對로 腦의 機能 安定化에 影響을 미칠 수도 있을 것이다.

本 實驗에서 全蝸 抽出物이 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性에 어떤 影響을 미치는 지를 調査한 結果 酵素의 活性을 濃度에 比例하여 抑制시키는 效果를 나타내었다. 이러한 全蝸 抽出物의 作用機轉을 밝히기 爲하여 溶液內的 電解質의 造成 및 酵素의 活性을 抑制하거나 保護하는 藥物들이 全蝸 抽出物의 抑制效果에 어떤 影響을 미치는 지를 調査하였다.

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 는 溶液內的 電解質에 따라 活性이 決定되며, 特히 Na^+ , K^+ 및 Mg^{2+} 에 依해 活性化되는 것으로 알려져 있기 때문에^{1,3)} 酵素 活性을 抑制하는 藥物들이 이들 이온들의 作用을 妨害하여 나타날 수도 있다. 그러나 本 研究에서 全蝸 抽出物에 依한 抑制 程度는 溶液內的 Na^+ , K^+ 또는 Mg^{2+} 의 濃度 變化에 따라 影響을 받지 않음으로서 酵素와 이들 이

온들과의 相互作用에 影響을 미쳐 酵素 活性을 抑制하는 것이 아님을 確認하였다.

또한, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 는 ATP를 分解하는 酵素로 이들이 結合하는 것을 妨害한다면 酵素의 活性이 抑制될 것이다. 全蝸 抽出物이 酵素에 ATP의 結合을 妨害하여 酵素의 活性을 抑制한다면 溶液內 ATP 濃度를 變化시켰을 때 抑制效果가 달라질 것이다. 그러나 全蝸 抽出物의 抑制 效果는 溶液內的 ATP 濃度 變化에도 影響을 받지 않음으로서 基質이 酵素와 結合하는 것을 妨害하여 그 活性을 抑制하지 않음을 보였다.

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 를 包含한 많은 酵素들이 그 構造中에 sulfhydryl group을 가지고 있고, 이 部分이 酵素의 活性에 重要하여³⁾ 減少하거나 構造가 變하게 되면 酵素의 活性이 減少하게 된다. 本 實驗에서는 全蝸 抽出物이 酵素의 活性에 重要한 sulfhydryl group과 反應하여 抑制 效果를 나타내는 지를 確認하기 爲하여 sulfhydryl group의 保護劑인 DTT에 依해 全蝸 抽出物의 抑制 效果가 影響을 받는 지를 調査하였다.

그 結果 sulfhydryl group과 反應하여 酵素의 活性을 抑制하는 藥物인 PCMB³⁾를 處理한 結果 酵素의 活性이 抑制되었고 여기에 sulfhydryl group 保護物質인 DTT를 同時에 添加하였을 때 抑制되었던 酵素의 活性이 거의 正常水準까지 回復됨으로서 PCMB가 sulfhydryl group과 反應하여 酵素의 活性을 抑制하고 있음을 보였다. 따라서 全蝸 抽出物이 sulfhydryl group과 反應하여 酵素의 活性을 抑制한다면 DTT와 같이 添加하게 되면 全蝸 抽出物에 依한 酵素의 抑制效果가 減少할 것이다. 그러나 本 實驗에서 全蝸 抽出物의 抑制效果는 DTT에 依해 影響을 받지 않았다.

Ouabain은 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性을 特異하게 抑制하는 藥物로 알려져 있는데, 이 藥物이 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性을 抑制하는 作用으로 여러 組織에서 重要한 生理學的 作用을 나타내고 있다.³⁾ 例를 들면 이 藥物이 心臟에서는

強心作用을 나타내고, 腎臟에서는 尿排泄을 增加시킴으로서 浮腫 같은 疾病의 治療에 利用될 수도 있다. 本 實驗에서 全蝸 抽出物이 ouabain과 類似한 機轉으로 作用하여 酵素의 活性을 抑制하는 지를 밝히기 위하여 全蝸 抽出物과 ouabain을 同時에 synaptosome에 處理하여 酵素의 活性을 調查하였다. 만약 全蝸 抽出物이 ouabain과 다른 機轉으로 酵素의 活性을 抑制하였다면 이들 두 藥物이 同時에 處理되었을 때는 各 藥物을 單獨 處理時와 比較하여 그 抑制效果는 附加的으로 나타나기 때문에 單獨處理時 보다 抑制效果가 增加될 것이다. 그러나 같은 機轉에 依해 酵素의 活性을 抑制한다면 이들 두 藥物들을 同時에 添加하였을 때 各 藥物을 單獨으로 添加했을 때와 比較하여 그 抑制效果가 附加的으로 나타나지 않을 것이다. 實驗 結果 全蝸 抽出物이 ouabain의 存在時에는 그 抑制效果가 ouabain이 없을 때와 比較하여 差異가 없었다. 이러한 結果는 全蝸 抽出物이 ouabain과 類似한 機轉으로 酵素의 活性을 抑制할 可能性을 提示하고 있다.

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性에 對한 全蝸 抽出物의 抑制效果가 實際로 어떤 機能的 效果와 關聯 있는 지는 알 수 없으나, 神經末端에서 acetylcholine의 遊離와 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 活性 抑制가 關聯되어 있다는 事實이 알려져 있다.⁴⁵⁾ 中樞神經系에서 acetylcholine은 高度의 精神, 運動, 感覺 및 學習, 記憶 등의 多様な 機能을 하고 있고, 末梢副交感神經은 acetylcholine을 遊離하는 神經纖維들로 이루어져 있음은 잘 알려진 事實이다.⁴⁶⁾ 따라서 中樞나 末梢에서 acetylcholine의 遊離가 增加된다면 身體機能에 여러 가지 變化를 招來하게 된다. 實際로 triflupromazine, chlorpromazine, imipramine 등과 같은 抗精神性 藥物들이 神經系의 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性을 抑制하며 이들 藥物들이 試驗管內에서 酵素의 活性을 抑制하는 效果와 生體內에서 中樞神經系에 作用하는 效果 사이에 密接한 相關關係가 있음이

밝혀졌다.⁴⁷⁾

이와 같이 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 活性 抑制는 中樞 및 末梢神經系에서 acetylcholine의 遊離를 增加시키고, 여러 가지 抗精神性 藥物들이 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性을 抑制함으로써 그 效果를 나타내고 있으나, 全蝸 抽出物이 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 活性을 抑制함으로써 中樞 및 末梢神經系에 어떤 作用을 나타내는 지는 더 究明해 보아야 할 것으로 생각된다.

IV. 結 論

熄風鎮痙 散結 祛瘀 등의 效能으로 中風 口眼喎斜 偏正頭痛 등의 治療에 活用되고 있는 全蝸이 神經細胞에서 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性에 어떤 影響을 미치는 지를 確認하기 위하여 大腦皮質에서 synaptosome을 分離하여 酵素 活性에 對한 效果를 調查하였다.

全蝸 抽出物의 濃度を 0.05-0.5% 範圍에서 觀察한 結果 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性은 濃도에 比例하여 抑制되었고, 酵素 活性은 溶液內의 Na^+ 濃도가 5 mM에서 100 mM, K^+ 은 0.5 mM에서 10 mM, Mg^{2+} 은 0.2 mM에서 5 mM로 높아짐에 따라 增加하였으나, 全蝸 抽出物의 酵素 活性에 對한 抑制 效果는 이들 이온들의 濃度 變化에 크게 影響을 받지 않았다. 또한 酵素 活性은 溶液內의 ATP 濃도가 0.1mM에서 3 mM로 높아짐에 따라 增加하였으나, ATP의 濃度 變化는 全蝸 抽出物의 抑制效果에는 影響을 주지 않았다. 0.1 mM PCMB는 酵素 活性을 65% 抑制하였으나 2 mM DTT에 의해 거의 正常水準으로 回復되었고, 全蝸 抽出物에 依한 酵素 活性의 抑制效果는 DTT에 依해 影響을 받지 않았다. 全蝸 抽出物과 ouabain을 同時에 處理하였을 때 藥物의 附加的인 效果는 나타나지 않았다.

이러한 結果들은 全蝸 抽出物이 강력한 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性 抑制劑로 作用하고 있

으며, ouabain과 類似한 作用機轉에 의해 나타남을 가르킨다.

參考文獻

1. Albers, R. W. : Biochemical aspects of active transport. *Ann. Rev. Biochem.*, 36:727-756, 1967.
2. Hokin, L. E. and Dahl, J. L. : the sodium-potassium adenosinetriphosphatase : *Metabolic Pathways*, 3rd ed., VI. *Metabolic Transport*, edited by Hokin, K. E., Academic Press Inc, pp.270-315, 1972.
3. Schwartz, A., Lindenmayer, G. E. and Allen, J. C. : The sodium-potassium adenosine triphosphatase : *Pharmacological, physiological and biochemical aspects*. *Pharmacol. Rev.*, 27:3-134, 1975.
4. Skou, J. C. : The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochim. Biophys. Acta.*, 23:394-401, 1957.
5. Liley, A. W. : The effect of presynaptic polarization on the spontaneous activity at the mammalian neuromuscular junction. *J. Physiol.*, 134:427-443, 1956.
6. Birks, R. I. : The role of sodium ions in the mechanism of acetylcholine. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39:2573-2597, 1963.
7. Birks, R. I. and Cohen, M. W. : The action of sodium pump inhibitors on neuromuscular transmission. *Proc. Res. Soc. B.*, 170:381-399, 1968.
8. Paton, W. D., Vizi, E. S. and Zar, M. A. : The mechanism of acetylcholine release from parasympathetic nerves. *J. Physiol.*, 215:819-848, 1971.
9. Fischer, H. D., Von Schwazefeld, I. and Oelsner, W. : Influence of membrane functions on synthesis of acetylcholine increased by cholinomimetic drugs in

- slices of telencephalon of rats. Acta. Biol. Med. Germ., 32:535-543, 1974.
10. Carmichael, F. J. and Israel. Y. : Effects of ethamnlol on neurotransmitter release by rat brain cortical slices. J. Pharmacol. Ecp. Ther., 193:824-834, 1975.
 11. Vizi, E. S. : Release mechanism of acetylcholine and the role of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$: Cholinergic Mechanisms(ed. Waser PG), Raven Press, New York, pp.199-211, 1975.
 12. Vizi, E. S. : Termination of transmitter release by stimulation of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$: role of the sodium pump in triggering action. J Physiol, 226:95-117, 1977.
 13. Vizi, E. S., Illes, P., Ronai, A. and Knoll, J. : The effect of lithium on acetylcholine release and synthesis. Neuropaharmacology, 11:521-530, 1972.
 14. 鄭智天 : 三和散이 家兔 腎臟機能에 미치는 影響, 韓醫學研究所論文集, 1(11):55-80, 1992.
 15. 申鉉喆 外 : 三和散이 心臟 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 17(2):264-276, 1996.
 16. 金吉燮 外 : 三和散이 大腦皮質 microsome 分割에서 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 16(1):281-294, 1995.
 17. 全燦鎔 : 虛血性 心臟에 對한 勝金散의 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院 博士學位論文, 1994.
 18. 安日會 外 : 莎芎散이 實驗動物의 止血·腦壓·血壓 및 心血管系에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 15(1):80-98, 1994.
 19. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, p.502, 503, 1986.
 20. 吳儀洛 : 本草從新, 北京, 人民衛生出版社, p.345, 1990.
 21. 黃宮綉 : 本草求真, 臺北, 宏業書局, p.89, 1987.
 22. 郝麗莉 外 : 中藥全蝎的研究進展, 中醫藥學報, 5:49-55, 1994.
 23. 孟景春 : 全蝎與山藥, 江蘇中醫, 16(1):29, 1995.
 24. 張錫純 : 醫學衷中參西錄(上冊), 河北, 河北科學技術出版社, p.137, 138, 1985.
 25. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, p.295, 296, 1988.
 26. 康秉秀 外 : 本草學, 서울, 永林社, p.506, 507, 1991.
 27. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 醫聖堂, pp.2282-2285, 1993.
 28. 寇宗奭 : 本草衍義, 北京, 人民衛生出版社, p.128, 1990.
 29. 凌一揆 : 中藥學, 上海, 上海科學技術出版社, p.201, 202, 1996.
 30. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館香港分館, p.846, 847, 1983.
 31. 顏正華 : 中藥學, 北京, 人民衛生出版社, p.694, 695, 1995.
 32. 新文豐出版公司 編 : 中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, pp.709-711, 1995.
 33. 楊思澍 : 中醫百症用藥配伍指南, 北京, 中醫古籍出版社, pp.489-491, 1990.
 34. 孫秋凌 : 蟲類藥在中風後遺症臨床運用, 新中醫, 24(4):55, 1992.
 35. 陳立富 : 益氣活血法治愈出血性腦梗塞, 四川中醫, 12:37, 1993.
 36. 楊美琳 外 : 烏梢蛇全蝎和珍珠中的氨基酸成分, 吉林中醫藥, 5:39, 1994.
 37. 王文生 外 : 龍蝎膠囊治療中風52例, 山東中醫雜誌, 12(6):20, 1993.
 38. 錢斌 : 四蟲湯治療慢性頭痛100例, 江蘇中醫, 15(9):5, 1994.
 39. 許敬美 外 : 全蝎水鍼이 鎮痛 및 鎮痙效果에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 13(1):392-403, 1996.
 40. Hojos, F. : An improved method of the

- preparation of synaptosomal fraction in high purity. *Brain Res.*, 93:485-489, 1975.
41. Fiske, C. H. and SubbaRow, Y. : The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. chem.*, 66:375-400, 1925.
 42. Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-524, 1976.
 43. Brosemer, R. W. : Effects of inhibitors of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ on the membrane potentials and neurotransmitter efflux in rat brain slices. *Brain Res.*, 334:125-137, 1985.
 44. Gilbert, J. C. and Wyllie, M. G. : The relationship between nerve terminal adenosine triphosphatase and neurotransmitter release: as determined by the use of actidepressant and other CNS-active drugs. *Br. J. Pharmacol.*, 69:215-225, 1980.
 45. Woolfolk, C. A. and Stadtam, E. R. : Cumulative feedback inhibition in the multiple endproduct regulation of glutamine synthetase activity in *Escherichia Coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 17:313-320, 1964.
 46. 서유현 : 신경전달물질, 민음사, pp.93-215, 1992.
 47. De Robertis, E., Pellegrino De Iraldi, A., Rodriguez De Lores Arnaiz, G. and Salganicoff, L. : Cholinergic and non-cholinergic nerve endings in brain I. *J. Neurochem.*, 9:23-35, 1962.

ABSTRACT

Effect of *Buthus* on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity
in cerebral synaptosomes

Jong-yeong Yoon, Hyeon-chul Shin, Chul-ho Yoon,
Un-Kyo Seo, Jong-dae Kim and Ji-cheon Jeong
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,
Dongguk University

This study was undertaken to determine whether *Buthus* extract(BTE) affects $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of nervous tissues. The enzyme activity was measured in synaptosomal fraction prepared from rabbit brain cortex. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity was inhibited by BTE over concentration range of 0.05-0.5% in a dose-dependent manner. The enzyme activity was increased by an increase in Na^+ concentration from 5 to 100mM, K^+ concentration from 0.5 to 10mM, and Mg^{2+} concentration from 0.2 to 5mM. These changes in ion concentrations did not produce any effect on the inhibitory effect of BTE on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity. An increase in ATP concentration from 0.1 to 3mM caused an increase in the enzyme activity. The inhibition of the enzyme activity by BTE were not different between two ATP concentrations. A sulfhydryl group protector DTT prevented PCMB-induced inhibition of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity, but the BTE-induced inhibition was not altered by DTT. The inhibition of enzyme activity by combination of ouabain and BTE was not different from that by *Buthus* alone.

These results suggest that *Buthus* exerts inhibitory effect on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity in cerebral synaptosomes, and the action mechanism is similar to that of ouabain.

Key Words : *Buthus*, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, ouabain