

# 이진탕 분획엑스가 synaptosomal NaK ATPase와 Ca ATPase의 활성도에 미치는 영향

조영욱 · 한승호 · 김창주 · 민병일\* · 이태희\*\* · 윤상협 · 오수명\*\*\*

## ABSTRACT

### Effects of Ijintang fractions on activities of NaK ATPase and Ca ATPase in rat brain synaptosome

To explore the action mechanism of Ijintang in the brain, the authors investigated the effects of Ijintang fractions on MgNaK ATPase and MgCa ATPase in rat brain synaptosomes prepared from cerebral cortex. The activities of MgNaK ATPase and MgCa ATPase were assayed by the level of inorganic phosphate liberated from the hydrolysis of ATP. Fraction WH-95-7 at the concentration of 10<sup>-2</sup>% decreased the activity of MgNaK ATPase about 34.1% and also reduced the activity of MgCa ATPase about 49.3%. But, other fractions (WB-95-7, WC-95-7, MB-95-7, MC-95-7, MH-95-7) did not significantly change the activities of the MgNaK ATPase and MgCa ATPase. The decreased activity of MgNaK ATPase by WH-95-7 will decrease the rate of Ca<sup>2+</sup> efflux, probably via an Na-Ca exchange mechanism and will increase the rate of Ca<sup>2+</sup> entry by the depolarization of nerve terminals. The reduced activity of MgCa ATPase by WH-95-7 will result in the decreased efflux of Ca<sup>2+</sup>. As a conclusion, it can be speculated that lithium elevates the intrasynaptosomal Ca<sup>2+</sup> concentration via inhibition of the activities of MgNaK ATPase and MgCa ATPase, and this increased [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> will cause the release of neurotransmitters.

\*경희대학교 의과대학 생리학교실

\*\*경원대학교 한의과대학 본초학교실

\*\*\*경희대학교 동서의학연구소

※ 본 논문은 1995년도 보건복지부 연구비 보조로 이루어 졌음.

Key word : Herbal medicine, Nak APTase, CaATPaes, Synaptosome

## 서 론

二陳湯은 太平惠民和劑局方<sup>1)</sup>에 수록된 처방으로 韓醫學의 病因으로 볼 때, 痰飲이 원인인 질환을 치료하는 대표적 처방이다.

中風은 痰飲이 원인이 되어 발생하는 질환으로 오늘날 뇌졸중에 해당된다고 간주되고 있는데, 東醫寶鑑에서 증풍의 병리기전은 濕生痰, 痰生熱, 熱生風으로 설명하고 있다.

二陳湯의 실험적 보고로는 張<sup>2)</sup>, 柳<sup>3)</sup>등에 의하여 소화관 및 진통, 진경, 소염작용이 있으며, 윤<sup>4)</sup>등은 이진탕이 뇌경색시의 국소뇌혈류량과 뇌 부종에 미치는 이진탕의 水 및 매탄올 추출액스의 효능을 보고한 바 있다.

한편 다른 조직에서와 마찬가지로 brain synaptosome에 존재하는 Na-K ATPase는 ATP를 가수분해하면서  $3Na^+$ 을 outward로  $2K^+$ 은 inward로 이동시키고<sup>5)</sup> 여러 가지의 synaptic phenomena와도 연관되어 있으며 neurotransmitter의 release와도 깊은 연관성이 있다<sup>6)</sup>. Synaptosomal Ca ATPase (ATP-dependent  $Ca^{2+}$  transport)는 ATP를 가수 분해하면서 calcium ion을 outward로 능동적 이동시키는 효소이다<sup>7,8)</sup>. 따라서 brain synaptosome의 Na-K ATPase와 Ca ATPase의 활성도의 억제는 synaptosome으로부터 calcium efflux를 방해하게되어 cytosolic calcium의 증가가 나타나게 된다<sup>9)</sup>. 한편, nerve terminal에서의 calcium concentration의 변화는 synaptic space로의 neurotransmitter release에 중요한 조절작용을 담당하고 있다<sup>10)</sup>. 즉, free intracellular  $Ca^{2+}$  concentration이 증가되면 neurotransmitter release를 증가시키는 trigger로서 작용하게 된다<sup>11)</sup>.

본 연구에는 증풍증에 사용되는 이진탕의 작용기전을 규명하고자 이진탕의 분획들인 WB-95-7, WC-95-7, WH-95-7, MB-95-7, MC-95-7, MH-95-7들이 brain synaptosome Na-K ATPase

와 Ca ATPase에 어떠한 영향을 주고 이에 따라 brain synaptosome으로부터의 neurotransmitter release에 어떠한 변화가 나타나는가를 보기 위해 본 실험을 진행하였다.

## 실 험

### 1. 사용약재 및 분획추출

#### 1) 사용약재

분획제조에 사용된 개별약재는 경원대학교 한의과대학 본초학교실에서 엄선하였으며 용량은 다음과 같다.

白茯苓(Poria)	240kg
半夏(Pinelliae Rhizoma)	120kg
陳皮(Citrus Pericaepium)	120kg
甘草(Glycyrrhizae Radix)	120kg
白礬(Alumen)	17.4kg
生薑(Zingiberis Rhizoma)	60kg

#### 2) 이진탕의 분획추출

##### (1) H<sub>2</sub>O extraction and fractionation

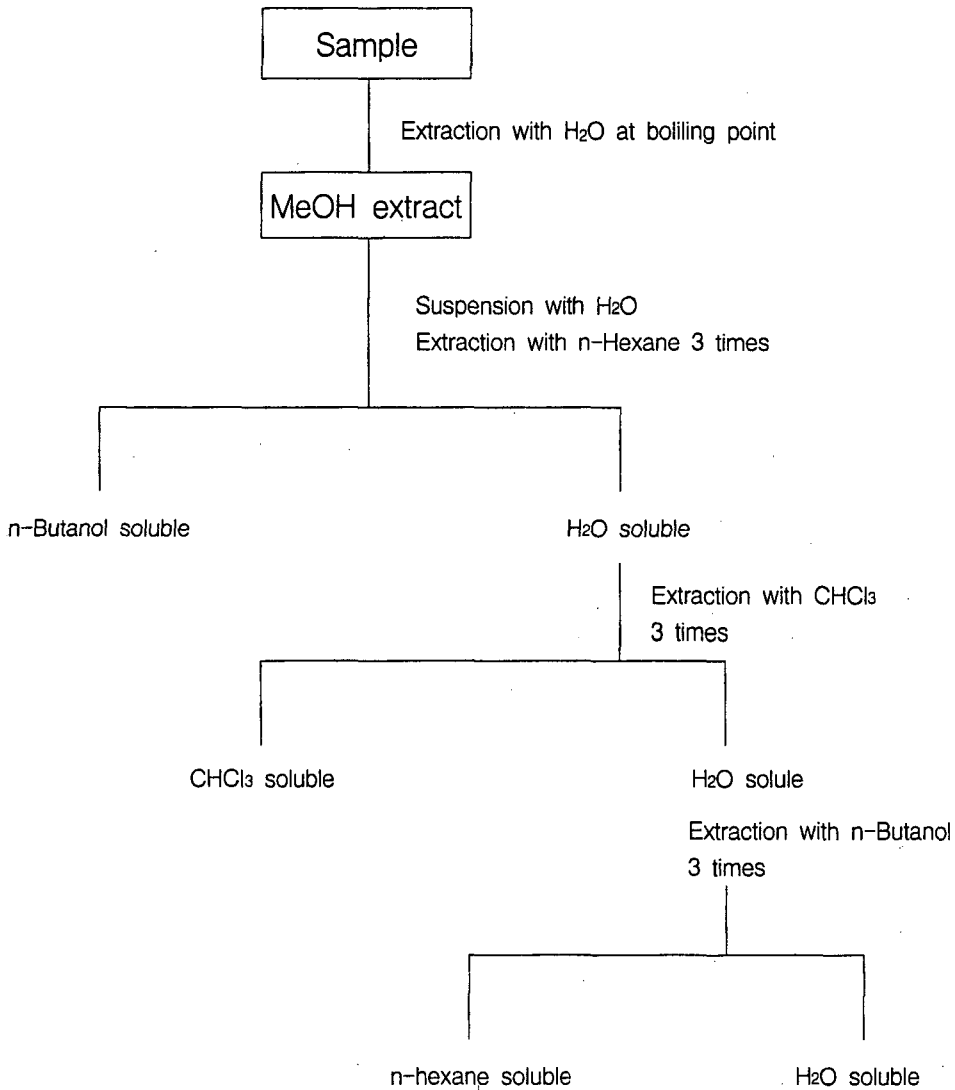
시료를 증류수의 적당한 부피로 12시간 상온에서 추출하고 4시간동안 끓여서 H<sub>2</sub>O extract를 얻었다.

이 H<sub>2</sub>O extract를 여과 후, 냉동건조기를 이용하여 완전히 건조시켰다. 다시 증류수에 현탁시켜 Scheme I에 따라 용매분획하여 n-hexene fraction(이하 WH957이라 함), CHCl<sub>3</sub> fraction(이하 WC957이라 함), n-Butanol fraction(이하 WB957이라 함)을 얻었다. 이들 fraction을 다시 냉동건조기로 건조하여 실험에 사용하였다.

##### (2) Methanol extraction and fractionation

시료를 methanol의 적당한 부피로 상온에서 침적하여 3일동안 방치한 후 추출하였다. 추출액

Scheme I H<sub>2</sub>O extracton and fractionation



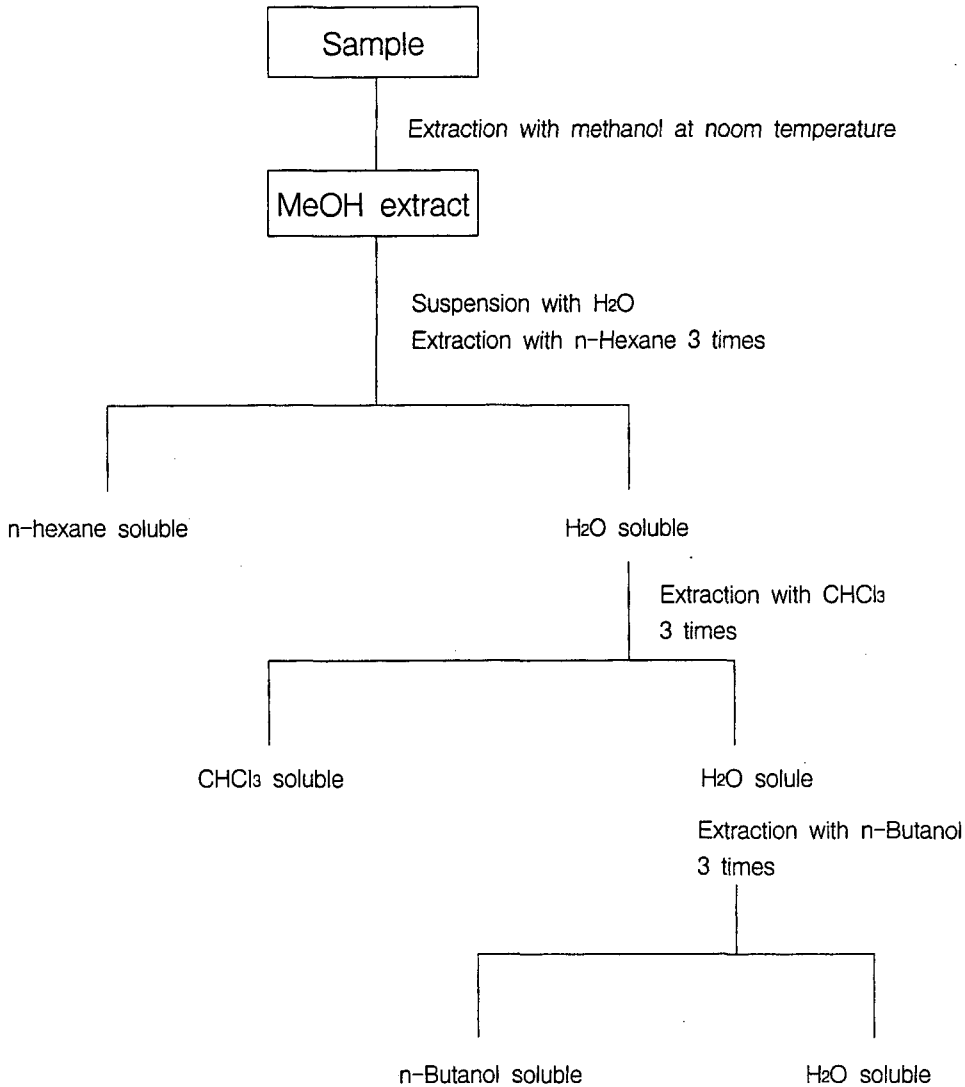
은 40°C 이하의 진공에서 농축하여 methanol extract를 얻었다. 이를 다시 증류수에 현탁시켜 Scheme II에 따라 용매분획하여 n-hexane fraction (이하 MH957이라 함), CHCl<sub>3</sub> fraction(이하 MC957이라 함), n-Butanol fraction(이하 MH957이라 함)을 얻었다. 이들 fraction을 다시 냉동건

조기로 건조시켜 사용하였다.

## 2. synaptosome의 분리

실험 동물은 Adult male Sprague-Dawley rats (250~300g)를 이용하였다. Synaptosome의 분리는 Booth and Clark<sup>12)</sup>의 방법을 이용하였다.

Scheme MeOH extracton and fractionation



이를 간략히 요약하면 다음과 같다. 실험 동물을 decapitation한 후 cerebral cortex를 분리해 낸다. Cerebral cortex를 ice-cold isolation medium (0.32 M-sucrose/1 mM-potassium EDTA/ 10 mM-Tris/HCl, pH 7.4)에 넣고 작은 조각으로 분쇄한다. Isolation medium을 이용해 혈액과 기

타 조직들을 씻어낸 후 상청액을 추출한다.

이 작업을 몇 회 반복한 다음 분쇄된 조직을 homogenization한다. 이 homogenate을 60 ml의 isolation medium으로 희석한 다음 1,300g로 3분 동안 centrifugation한다(Beckman J2-21 centrifuge,

4°C). 상청액을 17,000g에서 10분 동안 원심 분리하면 crude mitochondrial/synaptosomal pellet이 얻어진다. 이 pellet을 다시 3ml의 isolation medium에 resuspension시키고 12ml의 12% Ficoll sucrose medium [12%(w/w) Ficoll, 0.32M sucrose, 50 $\mu$ M-potassium EDTA, pH 7.4]로 희석시킨 후 부드럽게 homogenization한다.

이 crude mitochondrial suspension을 centrifuge tube에 넣고 그 위에 3ml의 7.5% Ficoll/sucrose medium [7.5%(w/w) Ficoll, 0.32 M-sucrose, 50  $\mu$ M-potassium EDTA, pH 7.4]를 넣는다. 마지막으로 그 위에 3ml의 isolation medium을 넣는다. 99,000g에서 30분 동안 Beckman L8-80 ultracentrifuge의 swing-out rotor를 이용해 원심 분리한다.

첫 번째와 두 번째의 interphase에 myelin과 synaptosome band가 형성된다. Myelin layer를 조심스럽게 제거한 후 synaptosome layer를 추출한다. 분리된 synaptosome band 부위를 30ml의 isolation medium으로 희석한 후 다시 부드럽게 homogenization한다. 이 synaptosome suspension을 마지막으로 60ml로 희석시킨 다음 5,500g에서 10분 동안 원심 분리한다.

최종적으로 분리된 synaptosomal pellet을 isolation medium을 이용해 30ml이 되도록 한다. 이 synaptosomal suspension은 1ml당 0.269mg의 단백질이 포함되어 있으며 실험 전에는 -70°C에서 보관한다.

### 1) ATPase 활성도의 분석

MgNaK ATPase의 활성도에 대한 이진탕 분획의 효과 분석은 Massery<sup>9)</sup>의 방법을 이용하였다. Synaptosomal MgNaK ATPase의 활성도는 1mM ATP의 hydrolysis로부터 유리되는 inorganic phosphate를 이용하여 측정하였다. MgNaK ATPase의 측정을 위한 incubation medium의 조성은 다음과 같다; (in mM) 150NaCl, 10KCl, 5MgC<sup>12</sup>, 50Tris-HCl, 1EDTA, pH 7.4. 여섯 개의 이진탕

분획의 농도는 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>%의 용액으로 만들어 실험하였다. 0.7ml의 incubation medium에 0.1ml의 이진탕 분획 용액과 0.1ml의 synaptosome suspension을 넣은 후 30초 간격으로 10mM ATP solution을 넣으면서 37°C에서 60분간 incubation하였다. 이 반응은 1ml의 ice-cold 10% trichloroacetic acid를 넣으면서 정지시키고 이 용액을 3,300g에서 10분간 원심 분리하였다. 상청액 0.3ml을 뽑아서 inorganic phosphate (Pi)의 양을 Bausch and Lomb spectrophotometer (Spectronic 2000)를 이용해 Chen<sup>13)</sup>의 방법에 따라서 측정하였다. MgNaK ATPase의 활성도는 단백질 1mg당 1시간 동안 유리되는 Pi의 양을 micromoles 단위로 측정하여 기록하였다.

### 2) MgCa ATPase의 분석

MgCa ATPase 활성도에 대한 이진탕 분획의 효과는 MgNaK ATPase 활성도의 측정과 마찬가지로 과정을 거쳤으나 방법은 Massery<sup>9)</sup>과 Michaelis<sup>14)</sup>의 방법을 응용해 진행하였다. MgCa ATPase의 활성도 측정을 위한 incubation medium의 조성은 다음과 같다; (in mM) 2MgC<sup>12</sup>, 50KCl, 0.1 CaC<sup>12</sup>, 0.1ouabain, 25Tris-HCl, pH7.4. 기타 나머지 과정은 MgNaK ATPase의 경우와 마찬가지이다.

### 3) 단백질 정량

Synaptosomal suspension의 단백질 정량은 Lowry<sup>15)</sup>의 방법을 이용하였다. 표준 단백질로는 bovine serum albumin을 이용하였다.

## 3. 사용시약

ATP(disodium salt), ouabain, and Ficoll 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입하였다. 그 외의 모든 시약들은 analytical grade의 시약들을 이용하였다.

#### 4. 통계 처리

통계 처리는 Student's t-test를 이용하였으며 0.05이하의 P value를 의미 있는 것으로 간주하였다.

### 실험성적

#### 1. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 WB-95-7의 효과

이진탕 분획 중 WB-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과 Figure 1에서 보는 바와 같은 결과를 얻었다. Control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 따라서 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대해서 WB-95-7은 영향이 없었다.

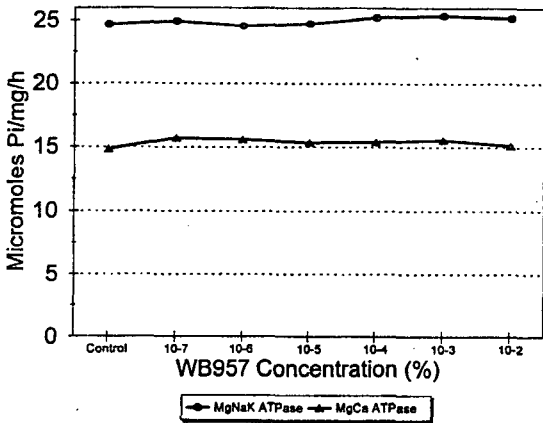


Figure 1. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 WB-95-7의 효과

WB-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과이다. 10<sup>-7</sup>%에서부터 10<sup>-2</sup>%까지의 농도에서 control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 각 data는 4회의 실험에

대한 평균치이다. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도는 micromoles Pi/mg protein/h로 표시하였다. 실험 조건은 재료 및 방법에서 서술한 바와 같다.

#### 2. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 WC-95-7의 효과

이진탕 분획 중 WC-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과 Figure 2에서 보는 바와 같은 결과를 얻었다. Control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 따라서 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대해서 WC-95-7은 영향이 없었다.

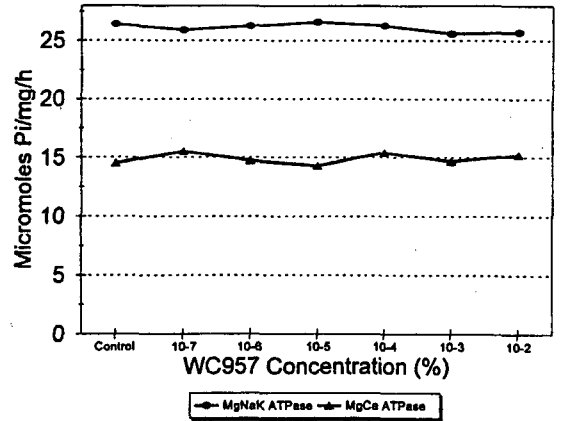


Figure 2. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 WC-95-7의 효과

WC-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과이다. 10<sup>-7</sup>%에서부터 10<sup>-2</sup>%까지의 농도에서 control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 각 data는 4회의 실험에 대한 평균치이다. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도는 micromoles Pi/mg protein/h로 표시하였다. 실험 조건은 재료 및 방법에서 서술한 바와 같다.

### 3. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 WH-95-7의 효과

이진탕 분획 중 WH-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과 Figure 3에서 보는 바와 같은 결과를 얻었다. MgNaK ATPase의 활성도에 대해서는  $10^{-2}\%$ 의 WH-95-7이 통계적으로 유의성이 있는 억제 효과를 나타내었다. 그 억제 정도는 34.1%였다. 한편, MgCa ATPase의 활성도에 대해서는  $10^{-2}\%$  용액에서 의미 있는 억제가 나타났으며 그 정도는 49.3%였다.

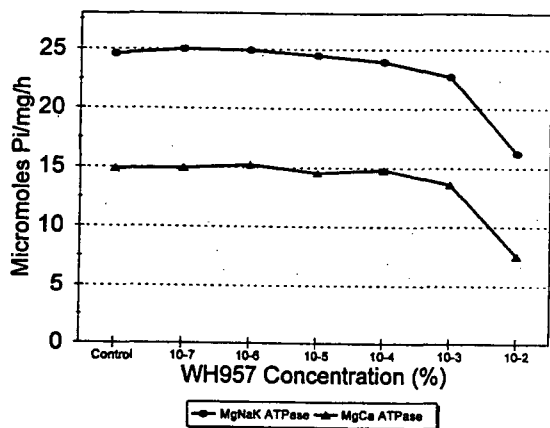


Figure 3. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 WH-95-7의 효과

WH-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과이다.  $10^{-7}\%$ 에서부터  $10^{-3}\%$ 까지의 농도에서 control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 그러나 MgNaK ATPase의 활성도에 대해서는  $10^{-2}\%$ 의 WH-95-7이 통계적으로 유의성이 있는 억제 효과를 나타내었다. 그 억제 정도는 34.1%였다. 한편, MgCa ATPase의 활성도에 대해서는  $10^{-2}\%$  용액에서 의미 있는 억제가 나타났으며 그 정도는 49.3%였다. 각 data는 4회의 실험에 대한 평균치이다. Mg NaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도는 micromoles

Pi/mg protein/h로 표시하였다. 실험 조건은 재료 및 방법에서 서술한 바와 같다.

### 4. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 MB-95-7의 효과

이진탕 분획 중 MB-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과 Figure 4에서 보는 바와 같은 결과를 얻었다. Control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 따라서 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대해서 MB-95-7은 영향이 없었다.

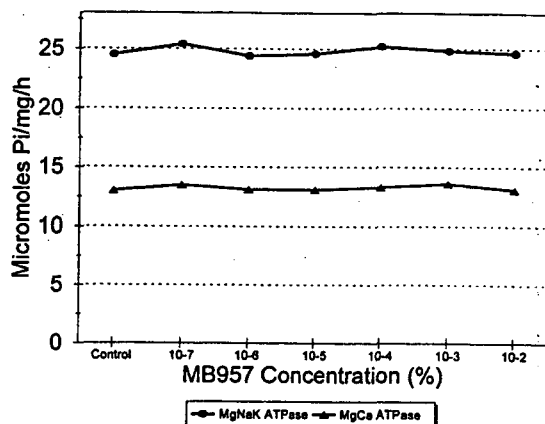


Figure 4. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 MB-95-7의 효과

MB-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과이다.  $10^{-7}\%$ 에서부터  $10^{-2}\%$ 까지의 농도에서 control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 각 data는 4회의 실험에 대한 평균치이다. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도는 micromoles Pi/mg protein/h로 표시하였다. 실험 조건은 재료 및 방법에서 서술한 바와 같다.

### 5. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 MC-95-7의 효과

이진탕 분획 중 WC-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과 Figure 5에서 보는 바와 같은 결과를 얻었다. Control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 따라서 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대해서 MC-95-7은 영향이 없었다.

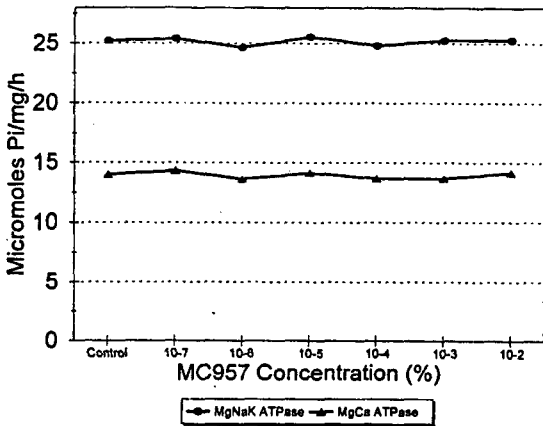


Figure 5. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 MC-95-7의 효과

MC-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과이다. 10<sup>-7</sup>%에서부터 10<sup>-2</sup>%까지의 농도에서 control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 각 data는 4회의 실험에 대한 평균치이다. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도는 micromoles Pi/mg protein/h로 표시하였다. 실험 조건은 재료 및 방법에서 서술한 바와 같다.

## 6. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 MH-95-7의 효과

이진탕 분획 중 MH-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과 Figure 6에서 보는 바와 같은 결과를 얻었다. 10<sup>-2</sup>%의 MH-95-7에서

MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도가 약간 감소되는 양상을 보였으나 control 값에 비해 통계적으로 유의성은 없었다. 따라서 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대해서 MH-95-7은 영향이 없었다.

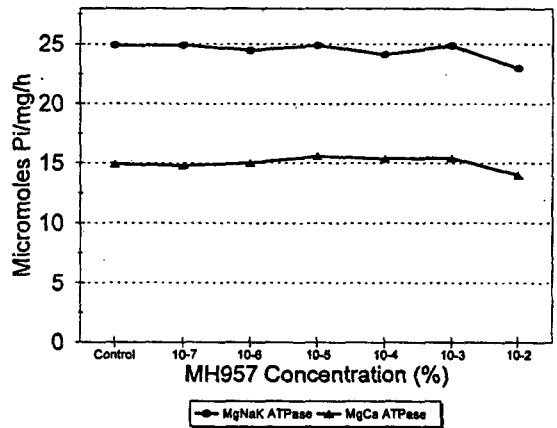


Figure 6. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 대한 MH-95-7의 효과

MH-95-7이 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 실험한 결과이다. 10<sup>-7</sup>%에서부터 10<sup>-2</sup>%까지의 농도에서 control 값에 비해 통계적으로 유의성이 없는 변화를 나타내었다. 각 data는 4회의 실험에 대한 평균치이다. MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도는 micromoles Pi/mg protein/h로 표시하였다. 실험 조건은 재료 및 방법에서 서술한 바와 같다.

## 고 찰

이진탕의 분획들이 어떠한 기전을 거쳐서 작용하는가를 알아보기 위해 central nervous system neuron의 여러 가지 성질들을 포함하고 있는 것으로 알려져있는 synaptosome (isolated nerve ending particle)을 rat brain의 cerebral cortex에서 분리하여 Na-K ATPase와 Ca ATPase의 활성도의 변화에 대한 분획들의 작용을 실험하였다<sup>16)</sup>.



Synaptosome의 분리는 Booth and Clark<sup>12)</sup>의 방법을 응용하였으며 Na-K ATPase와 Ca ATPase의 활성도 측정은 Massry<sup>9)</sup>과 Michaelis<sup>14)</sup> 등의 방법을 응용하였다.

Na-K ATPase와 Ca ATPase의 활성도에 대한 이진탕 분획의 효과를 보기 위한 screening 과정으로 MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도의 변화를 관찰한 결과 MgNaK ATPase의 활성도는 10<sup>-2</sup>%의 WH-95-7에 의해 억제되었으며 control에 비해 약 34.1% 감소되었고 MgCa ATPase의 활성도는 10<sup>-2</sup>%의 WH-95-7에 의해 49.3% 억제되었다. 그 외의 다른 분획에서는 통계적으로 의미 있는 변화는 관찰되지 않았다.

Intraneuronal free calcium ion 농도는 0.1~1.0μM 정도의 범위 내에서 조절되고 있으며 이는 neuronal excitability와 neurotransmitter release에 중요한 관련이 있다<sup>17)</sup>. Nerve terminal의 작용에 중요한 free cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration을 조절하는데는 2가지 기전이 작용하고 있다. 하나는 Ca ATPase 또는 Ca pump이고<sup>10)</sup>, 다른 하나는 Na-Ca exchanger이다<sup>10,18)</sup>.

한편, Na-K ATPase 활성도의 감소는 intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration의 조절에 2가지 면에서 작용을 미친다. 첫 번째, 감소된 Na-K ATPase 활성도에 의해 synaptosomal membrane을 통한 Na<sup>+</sup> gradient를 감소시킨다<sup>11,18)</sup> 감소된 Na<sup>+</sup> gradient로 인해 Na-Ca exchange mechanism을 통한 Ca<sup>2+</sup> efflux가 감소된다<sup>18)</sup>. 따라서 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>가 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>에 비해 약 100배 이상 크게 증가된다<sup>10)</sup>. 두 번째, 감소된 Na-K ATPase 활성도는 synaptosomal membrane을 탈분극시킨다<sup>19)</sup>. Nerve terminal이 탈분극되면 Ca<sup>2+</sup> entry를 증가시켜 intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration이 증가된다. 이상이 두 가지 작용으로 인해 synaptic terminal의 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>가 증가되고 이 증가된 Ca<sup>2+</sup>이 neurotransmitter release를 유발시키는 trigger로 작용<sup>10,11,19)</sup>하게 될 것이다.

Synaptosomal membrane의 Ca ATPase는 calcium ion을 밖으로 배출<sup>7,8,20)</sup>시키므로 Ca ATPase

의 활성도가 억제되면 Ca<sup>2+</sup>의 efflux가 억제된다. 따라서, Intraneuronal Ca<sup>2+</sup> concentration이 증가되고 증가된 Ca<sup>2+</sup>이 neurotransmitters release를 유발<sup>10,11,21)</sup>시키게 될 것이다

그러나 본 실험에서는 synaptosomal membrane에서 유리될 neurotransmitter가 어떤 종류이며 어느 정도인지에 대한 실험이 진행되지 못하였다. 따라서 이 면에 대한 실험이 더 이루어져야 할 것이다.

## 결 론

이진탕의 분획들이 어떠한 작용 기전을 갖는가를 알아보기 위해 rat brain에서 synaptosome을 분리하여 synaptosomal MgNaK ATPase와 MgCa ATPase의 활성도가 어떠한 영향을 받는가를 실험하였다. Na-K ATPase와 Ca ATPase의 활성도의 측정은 ATP의 가수 분해로 유리되는 inorganic phosphate의 양으로 판단하였다. 이진탕의 분획 중에서 WH-95-7은 10<sup>-2</sup>%의 농도에서 MgNaK ATPase의 활성도를 34.1% 억제하였고 MgCa ATPase의 활성도는 49.3% 억제하였다. 그러나 WB-95-7, WC-95-7, MB-95-7, MC-95-7, MH-957은 통계적으로 의미 있는 변화를 나타내지 못하였다. MgNaK ATPase 활성도의 억제로 인해 Na-Ca exchange mechanism을 통해 Ca<sup>2+</sup> efflux가 감소될 것이며 nerve terminal이 depolarization될 것이다. 또한, MgCa ATPase의 활성도가 억제됨으로써 Ca<sup>2+</sup>의 efflux가 억제될 것이다. 따라서, WH-95-7은 intrasynaptosomal Ca<sup>2+</sup> concentration을 증가시키게 되고 이는 neurotransmitter를 유리시키는 작용을 나타내게 되리라 판단된다.

## 참고문헌

1. 陳師文: 太平惠民和劑局方, 臺北, 旋風出版社, 卷四, p.3, 1975.

2. 張泰水 : 二陣湯의 鎮痛, 鎮痙, 消炎 및 gastrin과 uropepsin의 분비에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學院, 1983.
3. 柳聖圭 : 二陣湯의 效能에 관한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學院, 1983.
4. 윤상협, 민병일, 류재환 : 뇌경색유발 흰쥐의 국소뇌혈류량과 뇌부종에 대한 이진탕의 수 및 메탄올엑스의 효과. 대한한의학회지 17 : 161-167, 1996.
5. Glynn IA, Karlish SJD : The sodium pump. Annual Rev Physiol 37 : 13-15, 1975.
6. Gilbert JC, Wyllie MG, Davison DV : Nerve terminal ATPase as possible trigger for neurotransmitter release. Nature, Lond 225 : 237-238, 1975.
7. Javors MA, Bowden CL, Ross DH. Kinetic characterization of  $Ca^{2+}$  transport in synaptic membranes. J Neurochem 37 : 381-387, 1981
8. Robinson JD : Effects of cations on  $(Ca^{2++}Mg^{2+})$ -activated ATPase from rat brain. J Neurochem 3 : 140-146, 1981.
9. Massry SG, Hajjar SM, Koureta P, Fadda GZ, Smorgorzewski M : Phosphate depletion increases cytosolic calcium of brain synaptosomes. Am J Physiol 260 (12) : F 12-18, 1991.
10. Gill DL, Grollman EF, Kohn LD : Calcium transport mechanisms in membrane vesicles from guinea pig synaptosomes. J Biol Chem 256 : 184-192, 1981.
11. Nachshen DA : Regulation of cytosolic calcium concentration in presynaptic nerve endings isolated from rat brain. J Physiol 363 : 87-101, 1985.
12. Booth RFG, Clark JB : A rapid method for the preparation of relatively pure metabolically competent synaptosomes from rat brain. Biochem J 176 : 365-370, 1978.
13. Ames BN : Assay of Inorganic Phosphate, Total Phosphate and Phosphatases ; Assay of Inorganic Phosphate. In : Methods in Enzymology. Vol. VIII. (New York : Academic Press, pp.115-116, 1966.
14. Michaelis EK, Michaelis ML, Chang HH, Kitos TE. : High affinity  $Ca^{2+}$ -stimulated  $Mg^{2+}$ -dependent ATPase in rat brain synaptosomes, synaptic membranes, and microsomes. J Biol Chem 258(10) : 6101-6108, 1983.
15. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ : Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193 : 265-275, 1951.
16. Erecinska M, Dagani F : Relationships between the neuronal sodium/potassium pump and energy metabolism. J Gen Physiol 95 : 591-616, 1990.
17. Katz B, Miledi R : Further study of the role of calcium in synaptic transmission. J Physiol 207 : 789-801, 1970.
18. Blaustein MP, Oborn CJ : The influence of sodium on calcium fluxes in pinched-off nerve terminals in vitro. J Physiol (Lond.) 247 : 657-686, 1975.
19. Blaustein MP : Effects of potassium, veratridine and scorpion venom on calcium accumulation and transmitter release by nerve terminals in vitro. J Physiol 247 : 617-655, 1975.
20. Sorensen RG, Mahler HR : Calcium-stimulated adenosine triphosphatases in synaptic membranes. J Neurochem 37 : 1407-1418, 1981.
21. Blaustein MP, Goldring JM : Membrane potentials in pinched-off presynaptic nerve terminals monitored with a fluorescent probe : evidence that synaptosomes have potassium diffusion potentials. J Physiol 247 : 589-615, 1975.