

Diphenylhydantoin 및 Ouabain 이 흰쥐 적혈구세포막 ATPase 에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 약리학교실

박 찬 응

=Abstract=

The Effects of Diphenylhydantoin and Ouabain on ATPase Activity in Rat Erythrocyte Membranes

Chan Woong Park, M.D.

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

The effects of ouabain and diphenylhydantoin on ATPase activity in rat erythrocyte membranes were studied and also influence of K on ATPase activity was studied.

The ATPase activity of rat erythrocyte membrane has been shown to consist of two components.

The first component requires the Mg but occurs in the absence of Na or K (Mg-ATPase) and is not inhibited by ouabain and stimulated by diphenylhydantoin.

The second component requires the presence of Mg and also Na or K (Na-K-Mg-ATPase). It is inhibited by ouabain and is stimulated by diphenylhydantoin in low Na concentration and inhibited in high Na concentration.

K inhibit Na-K-Mg-ATPase which is inhibited by ouabain.

Ouabain and diphenylhydantoin show reversed effect to Na-K-Mg-ATPase activity.

It suggest that the therapeutic effect of diphenylhydantoin on digitalis induced cardiac arrhythmia may be resulted from their effect on ion transport mechanism of cell membrane.

And the relevance of these findings to the action of ouabain and diphenylhydantoin on membrane transport mechanism is discussed.

서 론

약물의 생체내에서의 생리학적, 생화학적 작용을 평가함에는 약물수용체로서의 세포막 또는 세포하구조막(Subcellular membrane)에 대한 작용을 고려하지 않을 수 없다.

세포내외의 이온평형을 위하여 세포막을 통한 이온 이동이 일어나고 있음은 잘 알려진 사실이며 여러가지 물질들이 직접 간접으로 세포막을 통한 이온이동에 영향을 미침도 사실이다.

1953년 Schatzman¹⁾은 냉각한 적혈구를 37°C의 포

도당 배양액에 넣었을 경우 Na 이 세포외로 이동하고 K 이 세포내로 이동함을 관찰하고 이같은 이온 이동은 Strophanthin에 의하여 억제됨을 보고한 이래 적혈구 세포막도 신경세포 또는 타조직세포에서와 같이 이온 이동이 일어나고 있으며 이들 이온이동은 세포막에 의한 ATP의 분열과 밀접한 관계가 있음도 널리 알려진 바 있다²⁻⁶⁾.

Post 등(1960)⁵⁾은 사람의 적혈구세포막을 분리하고 이 적혈구세포막내 ATPase의 성상을 광범하게 실험하여 적혈구세포막 ATPase도 정상 적혈구에서 일어나는 Na 및 K 이동에 관여함을 관찰하고 ATPase 활성도

및 이온이동에는 Na 및 K 이 존재하여야 하며 또 그 활성도는 강심배당체인 Ouabain 에 의하여 억제됨을 보고한 바 있다. Repke (1965)⁷⁾는 강심배당체에 의한 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-activated ATPase}$ 의 선택적인 억제현상은 강심배당체의 심장에 대한 작용과 밀접한 관계가 있으리라고 시사한 바 있다.

한편 Diphenylhydantoin (Dilantin)은 1938년 Merril 및 Putnam 에 의하여 전간의 대증요법제로 소개되어 현금까지도 주로 대발작치료제로 이용되고 있으며 그 작용기전을 구명하려는 많은 학자들의 시도가 있었으나 아직 만족할만한 해결을 보지 못하고 있다⁸⁾.

또 최근 dilantin 은 Conn (1965)⁹⁾ 및 Bernstein (1965)¹⁰⁾에 의하여 효과적인 부정맥 치료효과가 있음이 보고되었고 Woodbury (1955)¹¹⁾는 dilantin 이 뇌세포 골격근 및 심근세포내의 Na 농도를 저하시킴을 관찰하고 이는 dilantin 이 Na 의 세포외로의 대사성 이동을 자극함에 의한 것이 아닌가 시사한 바 있다.

또한 증독량의 digitalis 에 의하여 유발된 심장부정맥 및 심근의 K 소실이 dilantin 에 의하여 회복됨이 Helfant 등 (1968)¹²⁾에 의하여 보고된 바 있다.

저자는 흰쥐 적혈구세포막에 대하여 강심 배당체의 하나인 Ouabain 과 dilantin 이 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-activated ATPase}$ 의 활성도에 미치는 영향을 관찰코저 본 실험을 시행하여 이에 보고하는 바이다.

二. 본 론

1. 실험방법

가. 적혈구세포막 ATPase 의 제작

체중 250 Gm 내외의 흰쥐를 성에 구별없이 단두치사시켜 heparin(5000u/100 ml)을 항응고제로 하여 채혈하였다. 세포막의 분리는 Dunham and Glynn (1961)³⁾의 방법에 준하되 혈액 6 ml 를 0.15 M 식염수 36 ml 로 세번 씻어내고 적혈구층을 얻어 30 ml 의 얼음으로 냉각한 증류수로 용혈을 일으켰다. 증류수는 주사기를 통하여 힘주어 가함으로서 전 적혈구가 잘 섞여 용혈되도록 하였다. 이하의 조작은 전부 2°C 를 유지하도록 하였다.

용혈된 혈액은 10 분간 방치한 다음 20,000×g 로 20 분간 원심분리하여 상등액을 흡인하여 버리고 잔사에 Cysteine 2 mM 을 함유하는 imidazole buffer (pH 7.5) 를 40 ml 가 되도록 첨가한 다음 10,000×g 로 10 분간 원심분리하여 적혈구세포막을 얻었으며 이 적혈구세포막은 같은 buffer 로 여섯번 씻어내어 혈액색소를 제거하였다. 이같이 하여 얻어진 엷은 분홍색의 세포막표본

은 -20°C 에 저장하였다.

나. ATPase 활성도 측정

각 반응액은 1.5 mM Tris ATP 및 0.25~0.30 mg/ml 의 단백질량에 해당되는 적혈구세포막 ATPase 를 함유하는 60 mM imidazole-HCl buffer (pH 7.5)로서 MgCl_2 0.5 mM, Cysteine 1 mM 을 함유시켰으며 Na 및 K 은 NaCl, KCl 로서 실험에서 지시하는 농도를 가하여 최종반응액 전량 2.5 ml 로 전체전해질이 160 mM 이 되도록 하여 37°C 의 항온 수욕조중에서 60 분간 반응시킨후 유리된 무기인 (Pi)을 검출하였다.

반응은 10 분간 전처치한 다음 ATP 를 가했을때부터 시작되게 하였고 반응후 15% trichloroacetic acid 를 가함으로서 반응을 종료시켰다.

생성된 Pi 는 Horwitt¹³⁾의 방법에 따르되 Cysteine 에 의한 영향을 제거하기 위하여 약간의 변법을 사용하였다 적혈구세포막의 단백질량은 Lowry 등¹⁴⁾의 방법을 사용하여 측정하였다.

표준반응액의 ATPase 활성도를 total-ATPase-activity 로 하고 Na 과 K 을 함유하지 않은 반응액의 ATPase 활성도를 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase-activity}$ 로 하여 전자에서 후자를 제함으로서 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-Mg}^{2+}\text{-ATPase activity}$ 를 구하였고 ATPase 활성도는 단위단백질이 한시간에 생성한 Pi 의 양으로서 표시하였다.

다. 시 약

1) Tris-ATP ; 40 Gm 의 A 6 50 W-X 8 Resin 을 0.4 N HCl 용액 40 ml 에 넣고 5 분간 진탕한 다음 워틀만 따라내고 1 l 의 증류수로 다시 5 분간 진탕하여 워틀을 따라내어 상등액의 pH 가 5.2 가 될때까지 반복한 다음 resin 을 진공펌프로 흡인하면서 여과하여 말렸다. Na_2ATP 8 Gm 을 25 ml 의 물에 녹인 다음 마른 resin 에 가하여 15 분간 교반한 다음 흡인여과하고 resin 은 다시 5 ml 의 증류수로 씻어서 흡인여과하여 여액을 합하였다.

여액은 pH 가 6.8 이 되도록 Tris salt 로 적정하여 Tris-ATP 를 얻었고 Spectrophotometer 를 사용하여 259 m μ 에서 함량을 측정하여 -20°C 에 보관하였다.

2) 기타 시약은 Sigma 및 Merk 회사의 시약용을 사용하였고 모든 시약은 유리 그릇으로 증류한 증류수를 사용하여 만들었다.

2. 실험성적

가) 흰쥐 적혈구세포막 ATPase 에 대한 Na, K 의 영향.

Fig. 1 은 Na 및 K 에 의한 흰쥐 적혈구세포막 ATPase 의 활성도를 보여준다.

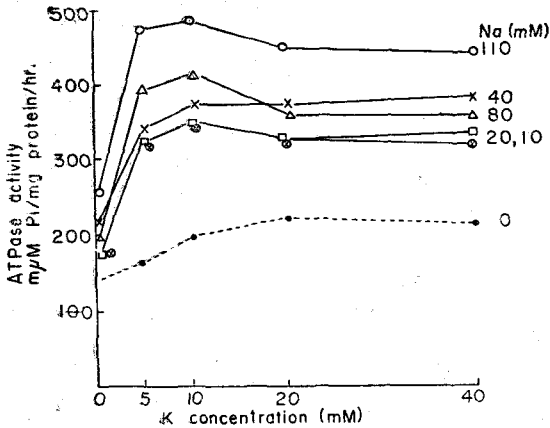


Fig. 1. Effect of K concentration on ATPase activity in rat erythrocyte membrane at different Na concentrations.

Na의 농도증가에 따라 각농도의 K (5~40 mM)에 의해 ATPase 활성도가 증가하였고 흰쥐 적혈구세포막 ATPase 활성에는 Na, K이 동시에 존재하여야 완전한 활성을 나타냄을 보여준다. 또 각농도의 Na (10~110 mM)에서의 ATPase의 활성은 K 농도 5 및 10 mM에서 최고에 달했고 K 농도가 40 mM까지 증가함에 따라 ATPase 활성이 억제됨을 보여준다.

나) 흰쥐 적혈구세포막 ATPase에 대한 Ouabain의 영향.

Fig. 2는 Ouabain 10^{-4} M에 의한 ATPase 활성을 나타낸다. 전반적으로 ATPase 활성은 Ouabain에 의해 억제되었고 각농도의 K (5~40 mM)에서 Na 농도의 증

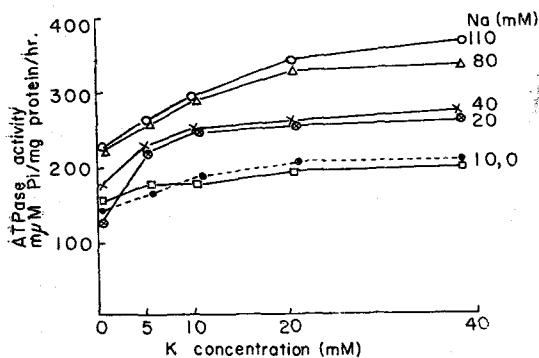


Fig. 2. Effect of K concentration on ATPase activity in rat erythrocyte membrane with ouabain (10^{-4} M) at different Na concentrations.

가에 따라 활성도가 증가되는 현상에는 변동이 없었으나 K 농도의 증가에 따라 Ouabain에 의한 억제가 완화된 것을 볼 수 있다.

다) 흰쥐 적혈구세포막 ATPase에 대한 dilantin의 영향.

Fig. 3은 dilantin 10^{-4} M이 ATPase 활성에 미치는 영향을 보여준다. dilantin은 ATPase 활성에 별 영향을 보이지 않으며 각 농도의 Na에 대해 K 농도의 증가에 따르는 ATPase 활성의 억제현상에도 별 영향을 볼 수 없다.

라) 흰쥐 적혈구세포막 Mg-ATPase에 대한 영향.

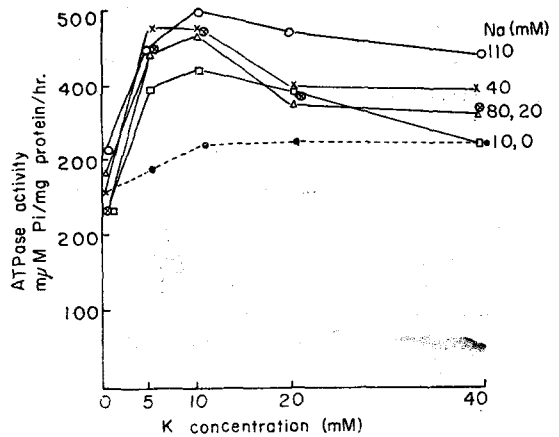


Fig. 3. Effect of K concentration on ATPase activity in rat erythrocyte membrane with diphenylhydantoin (10^{-4} M) at different Na concentrations.

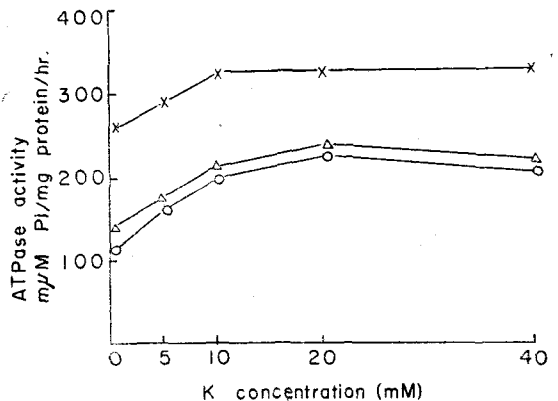


Fig. 4. Effect of diphenylhydantoin and ouabain on ATPase activity in rat erythrocyte membrane without Na in medium.

Δ ; normal, \times ; diphenylhydantoin, \circ ; ouabain

Fig. 4가 나타내는 바와 같이 Na 을 포함하지 않는 반응액중에서 각 농도의 K 이 나타내는 ATPase 활성에 대하여 ouabain 은 별 영향을 미치지 않았으나 dilantin 은 활성의 증가를 나타내고 있다.

마) Na-K-Mg-ATPase 에 대한 ouabain 및 dilantin 의 영향.

Total ATPase 활성에서 Mg-ATPase 활성을 제한 Na-K-Mg-ATPase 활성을 검토하여 보았다.

Table 1은 각 농도의 Na 및 K 에서의 ouabain 과 dilantin 이 흰쥐 적혈구세포막 Na-K-Mg-ATPase 활성에 미치는 영향을 종합하여 나타낸다. Na-K-Mg-ATPase 활성도 역시 각 농도의 Na (10~110mM)에 있어 K농도 5~10 mM에서 가장 높은 활성을 나타내었으며 이 Na-K-Mg-ATPase 는 ouabain 에 의해 현저한 억제물 나타내고 있다. 또 이같은 억제는 K 농도가 적을수록 더욱 심하게 나타나고 있다.

Table 1. Effects of Ouabain and Diphenylhydantoin on ATPase activity in rat erythrocyte membranes.

Na ⁺ conc. mM	K ⁺ conc. mM	Na-K-Mg-ATPase activity (A)	A+D (10 ⁻⁴ M)	% Inhibition	A+Ou (10 ⁻⁴ M)	% Inhibition
10	5	150*	190*	-27	30*	80
	10	180	225	-25	35	81
	20	155	185	-19	65	58
	40	170	115	32	62	64
20	5	155	232	-50	90	42
	10	182	245	-35	122	33
	20	172	160	7	125	27
	40	175	152	13	125	23
40	5	130	205	-57	55	58
	10	160	217	-36	82	49
	20	167	150	10	90	46
	40	187	145	22	105	44
80	5	215	165	23	55	74
	10	245	190	22	80	67
	20	180	100	45	105	42
	40	175	90	49	120	31
110	5	225	145	36	45	80
	10	235	195	17	75	68
	20	205	183	11	117	43
	40	195	140	28	150	23

*Values are expressed as $\mu\text{M Pi/mg protein/hr.}$

D=diphenylhydantoin

Ou=Ouabain

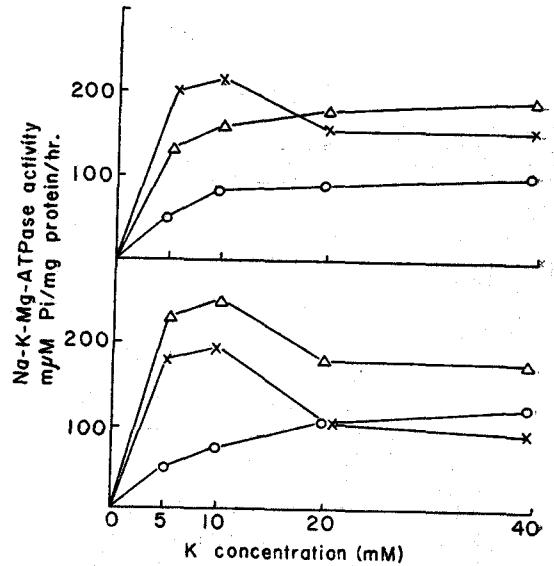


Fig. 5. Effect of diphenylhydantoin and ouabain on Na-K-Mg-ATPase activity in rat erythrocyte-membrane at two different Na concentrations of 10mM (upper) and 20 mM (lower).

△; control, ×; diphenylhydantoin
○; ouabain

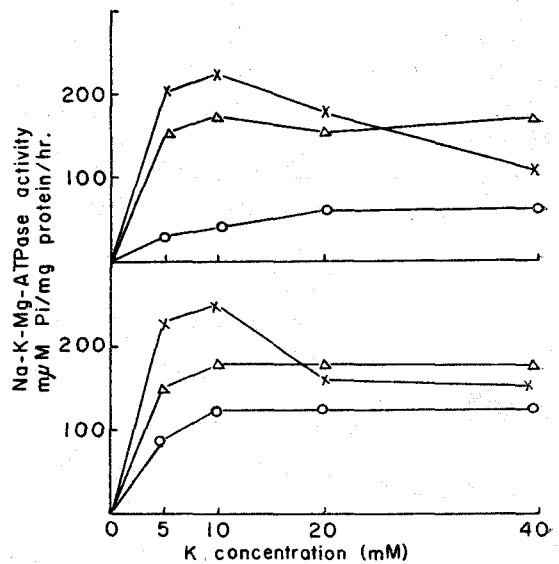


Fig. 6. Effect of diphenylhydantoin and ouabain on Na-K-Mg-ATPase activity in rat erythrocyte-membrane at two different Na concentrations of 40 mM (upper) and 80 mM (lower).

△; control, ×; diphenylhydantoin
○; ouabain

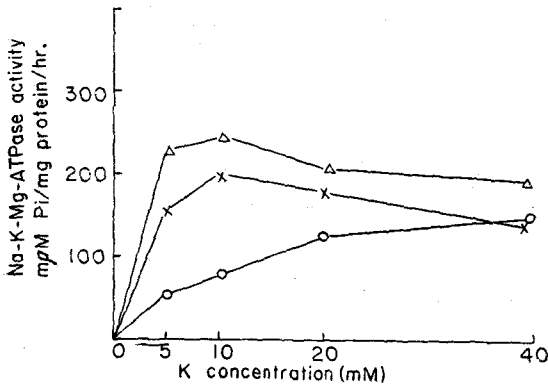


Fig. 7. Effect of diphenylhydantoin and ouabain on Na-K-Mg-ATPase activity in rat erythrocyte membrane at Na concentration of 110 mM.
 Δ; control, ×; diphenylhydantoin
 ○; ouabain

이와 반대로 dilantin은 K 농도의 증가에 따라 억제 가 상승하는 경향을 보였으며 저농도의 Na를 가진 반 용균에서는 K 농도가 낮은 경우 (5~10 mM) 오히려 Na-K-Mg-ATPase 활성의 증가를 보여주고 있으며 전 반적으로 Fig. 5, 6, 7에서 나타내는 바와 같이 ouabain 과 dilantin은 Na-K-Mg-ATPase 활성에 대하여 서로 반 대되는 작용을 하는 것 같은 인상을 보여주고 있다.

3. 고 찰

적혈구세포막에서의 이온의 능동적이동이 "energy-rich" phosphate의 분열에 의해 일어난다고 하는 것은 Caldwell (1956)¹⁵⁾, Dunham (1957)¹⁶⁾ 및 Whittam (1958)¹⁷⁾이 보고한 이온이동과 ATP 분열량과의 상관 관계로 잘 나타나고 있다. Skou (1968)가 계의 신경에 서 ATPase를 보고한 후 Post 등(1960)⁵⁾은 사람의 적혈 구세포막에서 ATPase를 증명하고 이 적혈구세포막 ATPase가 정상 적혈구에서의 이온이동에 관여함을 보 고하면서 이 ATPase의 활성에는 Na 및 K의 동시존 재가 필요하며 또 이 활성은 ouabain에 의해 억제되고 이같은 ouabain에 의한 억제현상은 K과 상경적으로 작용함을 보고한 바 있다. Dunham과 Glynn(1961)³⁾, Walz와 Chan (1966)¹⁸⁾도 역시 사람의 적혈구세포막 에서 ATPase를 증명하고 적혈구세포막 ATPase 활성 과 적혈구세포막을 통한 이온이동 간에 평행관계가 있 음을 보고한 바 있다. 본 실험결과도 Post 등⁵⁾의 결과 를 확인할 수 있었으며 Na과 K이 ATPase를 활성화 하고 이 ATPase 활성에 의해 Na 및 K의 세포막을 통 한 이동이 일어난다면 ouabain에 의한 ATPase 활성억

제에 대한 K의 상경적 작용은 세포막에 존재하는 K에 의한다고 볼 수 있으며 K에 의한 ATPase의 활성과 ATPase 활성에 대한 K의 상경작용은 세포막의 같은 수용체에 대한 작용임을 추측할 수 있다. Kahn(1955)¹⁹⁾은 angelicalactone, butyrolactone 및 propiolactone도 강심배당체에서와 같이 적혈구세포막에서의 이온이동 을 억제하였으며, 이온이동에 필요한 대사과정을 억제 하더라도 강심배당체에 의한 이온이동에 대한 작용에 는 별 영향이 없었음을 관찰하고 분자구조와 억제작용 과의 관계를 고찰한 바 있으며 Glynn (1957)²⁰⁾은 강심 배당체가 낮은 농도에서도 사람의 적혈구에서의 Na 및 K의 이동을 억제하며 이는 에너지공급원에 대한 작용 보다는 이온이동기전에 직접 작용할 것이라고 지적하고 K에 의한 상경작용은 강심배당체분자와 K이온이 같 은 수용체에 작용할 것이라고 시사한 바 있고, Hoffman (1966)²¹⁾은 적혈구세포막의 배당체수용체와 K 간에 상 경작용이 있으며 K의 수용체와 K이동장소와는 다른 을 보고한 바 있다.

Post 등 (1960)⁵⁾은 세포막 ATPase 활성에는 Mg의 존재가 필요함을 보고하였고 본 실험에서도 (Table 2) Mg이 존재하지 않을 경우 Na, K이 존재하더라도

Table 2. Effect of Mg on ATPase activity in rabbit erythrocyte membrane. Medium consist of 120 mM Na, 10 mM K, 1 mM cysteine in imidazole buffer (pH 7.5)

Mg conc. (mM)	ATPase activity (A)	A+D (10 ⁻⁴ M)	A+Ou (10 ⁻⁴ M)
0	nil	nil	nil
1.5	583	632	509
2.0	572	648	529

ATPase activity are expressed as mμM Pi/mg protein/hr.

D; diphenylhydantoin Ou; ouabain.

ATPase 활성이 나타나지 않음을 보았으며 이같은 Mg-ATPase의 활성은 ouabain에 의해서는 영향받지 않았 고 (Fig. 1) dilantin에 의해서는 활성의 증가를 보았 다. Rawson과 Pincus (1968)²²⁾는 흰쥐뇌의 microsomal fraction에서는 ouabain과 dilantin이 Mg-ATPase에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 본 실험에서 Total ATPase가 ouabain에 의해 현저하게 억제되었으나 dilantin에 의해 별 영향을 보이지 않고 Na-K-Mg-ATPase 활성은 dilantin에 의해 억제되는 현상은 Mg-ATPase 활성이 dilantin에 의해 증가되는 것에 의한다고 사료 된다.

Woodbury (1955)¹¹⁾는 정상 흰쥐에서 dilantin 은 뇌에서 세포내 및 전체 Na 양을 저하시키고 방사성 Na 의 뇌세포 내로의 이동속도를 증가시킴을 관찰하고 급성적으로 hyponatremia 를 만들었을때 세포내 Na 의 증가와 K 의 감소를 나타내었고 이같은 현상은 dilantin 에 의해 방지되었다고 보고하면서 dilantin 의 경련에 대한 작용은 뇌세포에서의 Na 의 능동적 이동에 관여하는 대사과정을 자극함에 의한다고 시사한 바 있다.

실험결과에서 보여주는 반응액중 Na 의 농도가 적을 경우에 dilantin 의 Na-K-Mg-ATPase 활성의 증가는 위의 사실과 관계가 있으리라고 추측된다.

Mosey 와 Tyler (1954)²⁰⁾는 개에서 digitalis 에 의해 유발된 심실빈맥이 dilantin 에 의해 효과적으로 치유됨을 보고하고 최근 Lang 등 (1965)²⁵⁾은 digitalis 에 의해 유발되는 심장 부정맥의 치료가치를 증명한 바 있다.

또 Helfant (1967)²³⁾는 dilantin 의 심장에 대한 전기생리학적인 면을 검토하여 dilantin 이 정상 또는 digitalis 에 증독된 심장에서의 심실자동능을 심히 감퇴시키고 digitalis 에 의해 발생하는 A-V block 을 저하시킴으로서 digitalis 와 길항적으로 작용한다고 하였다. 또 Helfant(1968)²²⁾는 심방과 심실에서의 심근 K 의 차이를 검토하여 증독량의 digitalis 가 심근에서의 K 소실을 초래하며 dilantin 을 투여함으로써 이와같은 심근 K 의 소실 및 심장부정맥이 방지됨을 보고하였다. 또한 이 실험을 통하여 digitalis 에 의한 증독현상은 세포막을 통한 이온이동기전을 억제함으로써 심근 K 의 소실을 초래되며 dilantin 에 의한 digitalis 증독 치료효과는 이같은 이온이동기전에 대한 복원현상에 의한다고 시사한 바 있다.

본 실험에서 ouabain 과 dilantin 의 동시투여를 시행하지 않았으나 낮은 Na 농도에서 dilantin 에 의해 Na-K-Mg-ATPase 의 증가를 보았고 또 전반적으로 ouabain 에 대해 ATPase 의 활성억제가 심할수록 dilantin 에 의한 억제는 적어지거나 또는 증가되는 현상은 ouabain 과 digitalis 가 세포막에서의 이온이동기전에 서로 길항적으로 작용함을 추측할 수 있겠다.

三. 결 론

- 1) 흰쥐 적혈구세포막 ATPase 에 대한 ouabain 및 dilantin 의 영향을 검토하였다.
- 2) Na 농도 110 mM 까지 Na 양의 증가에 따라 적혈구 ATPase 활성이 증가하였으며 K 농도 5~10 mM 에서 활성이 최고에 달하였고 K 농도 20 및 40 mM 증가시킴에 따라 적혈구 ATPase 활성이 억제되었다.

3) 흰쥐 적혈구세포막의 total ATPase 및 Na-K-Mg-ATPase 활성은 ouabain 에 의해 억제되었으며 K 농도의 증가로 이같은 억제가 완화되었다.

4) 흰쥐 적혈구세포막 total ATPase 활성은 dilantin 에 의해 큰 변동을 보이지 않으나 Na-K-Mg-ATPase 는 저농도의 Na 반응액중에서는 증가를 보이며 고농도의 Na 반응액중에서는 억제를 나타낸다. 이는 dilantin 에 의한 Mg-ATPase 활성의 증가에 의한 것 같다.

5) Ouabain 은 흰쥐 적혈구세포막 Mg-ATPase 활성에 별 영향을 미치지 않는다.

6) 적혈구세포막 ATPase 활성에는 Mg 을 필요로 한다.

7) 흰쥐 적혈구 Na-K-Mg-ATPase 활성에 대하여 ouabain 과 dilantin 은 서로 반대로 작용하는 경향을 보였다.

8) Ouabain 및 dilantin 의 세포막을 통한 이온이동기전과 K 에 의한 영향 및 Ouabain 과 dilantin 의 심장 부정맥에 대한 작용에 대하여 고찰하였다.

(본 연구는 1969년도 문교부 연구조성비의 보조로 수행하였음)

REFERENCES

- 1) Schatzman, H.J.: *Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium und Natrium Transport durch die Erythrocytenmembran. Helv. physiol. acta 11:346-354, 1953.*
- 2) Caldwell, P.C., Hodgkin, A.L., Keynes, R.D. and Shaw, T.I.: *The effects of injecting 'energy-rich' phosphate compounds on the active transport of ions in the giant axons of Loligo. J. Physiol. 152:561-590, 1960.*
- 3) Dunham, E.T. and Glynn, I.M.: *Adenosinetriphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions. J. Physiol. 156:274-293, 1961.*
- 4) Hoffman, J.F.: *The link between metabolism and the active transport of Na in human red cell ghosts. Fed. Proc. 19:127, 1960.*
- 5) Post, R.L., Merritt, C.R., Kinsolving, C.R. and Albright, C.D.: *Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte. J. biol. chem. 235:1796-1802, 1960.*
- 6) Skou, J.C.: *The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves.*

- Biochim. Biophys. Acta* 23:394-401, 1957.
- 7) Repke, K., Est, M. and Portius, H.J.: *Über die Ursach der Speciesunterschiede in der Digitalisempfindlichkeit.* *Biochem. Pharmacol.* 14:1785-1802, 1965.
 - 8) Goodman, L.S. and Gilman, A.: *The Pharmacological basis of Therapeutics*(3rd ed.) New York, Macmillan, 1965, p.219.
 - 9) Conn, R.D.: *Diphenylhydantoin sodium in cardiac arrhythmias.* *New Engl. J. Med.* 272:277-282, 1965.
 - 10) Bernstein, M.D., Gold, H., Lang, T.W., Pappelbaum, S. Bazika, V. and Corday, E.: *Sodium diphenylhydantoin in the treatment of recurrent cardiac arrhythmia.* *J. Amer. Med. Ass.* 191:695-697, 1965.
 - 11) Woodbury, D.M.: *Effect of diphenylhydantoin on electrolytes and radiosodium turnover in brain and other tissues of normal, hyponatremic and postictal rats.* *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 115:74-95, 1955.
 - 12) Helfant, R.H., Ricciutti, M.A., Scherlag, B.J. and Damato, A. N.: *Effect of diphenylhydantoin sodium (dilantin) on myocardial A-V potassium difference.* *Amer. J. Physiol.* 214:880-884, 1968.
 - 13) Horwitt, B.N.: *Determination of inorganic serum phosphate by mean of stannous chloride.* *J. Biol. Chem.* 193:537-541, 1952.
 - 14) Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *Protein measurement with the Folin phenol reagent.* *J. Biol. Chem.* 193:265-275, 1951.
 - 15) Caldwell, P.C.: *The effect of certain metabolic inhibitors on the phosphate esters of the squid giant axon.* *J. Physiol.* 132:35, 1956.
 - 16) Dunham, E.T.: *Parallel decay of ATP and active cation fluxes in starved human erythrocytes.* *Fed. Proc.* 16:33, 1957.
 - 17) Whittam, R.: *Potassium movements and ATP in human red cells.* *J. Physiol.* 140:479-497, 1958.
 - 18) Walz, F.G., and Chan, P.C.: *Adenosine triphosphate-dependent retention of sodium ions by sodium and potassium-activated adenosinetriphosphatase preparation from erythrocyte membranes.* *Arch. Biochem. Biophys.* 113:569-574, 1966.
 - 19) Kahn, J.B. and Acheson, G.H.: *Effects of cardiac glycosides and other lactones, and certain other compounds, on cation transfer in human erythrocytes.* *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 115:305-318, 1955.
 - 20) Glynn, I.M.: *The action of cardiac glycosides on sodium and potassium movements in human red celles.* *J. Physiol.* 136:148-173, 1957.
 - 21) Hoffman, J.F.: *The red cell membrane and the transport of sodium and potassium.* *Amer. J. Med.* 41:666-680, 1966.
 - 22) Rawson, M.D. and Pincus, J.H.: *The effect of diphenylhydantoin on sodium, potassium, magnesium-activated adenosine triphosphatase in microsomal fractions of rat and guinea-pig brain and on whole homogenates of human brain.* *Biochem. Pharmacol.* 17:573-579, 1968.
 - 23) Helfant, R.H., Scharlag, B. and Damato, A.N.: *The electrophysiological properties of diphenylhydantoin sodium as compared to procaine amide in the normal and digitalis-intoxicated heart.* *Circulation* 36:108-118, 1967.
 - 24) Mosey, L. and Tyler, M.D.: *Effect of diphenylhydantoin sodium, procaine hydrochloride, procaine amide hydrochloride and quinidine hydrochloride on ouabain induced ventricular tachycardia in unanesthetized dogs.* *Circulation* 10:65, 1954.
 - 25) Lang, T.W., Bernstein, M.D., Barbieri, F., Gold, H. and Corday, E.: *Digitalis toxicity: Treatment with diphenylhydantoin.* *Arch. Inter. Med.* 116:573, 1965.