

## 아드레날린성 $\beta$ -수용체에 대한 higenamine의 약리학적 특성

윤효인·장기철·이창엽\*\*

충남대학교 수의과대학

경상대학교 의과대학\*

서울대학교 수의과대학\*\*

(1991. 10. 22 접수)

### Pharmacological characteristics of higenamine on adrenergic $\beta$ -receptors

Hyo-in Yun, Ki-churl Chang\*, Chang-eop Lee\*\*

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University

College of Medicine, Gyeongsang National University\*

College of Veterinary Medicine, Seoul National University\*\*

(Received Oct. 22, 1991)

**Abstract :** Higenamine is an *Aconiti tuber* derived compound whose chemical structure is 1-(4'-hydroxybenzyl)-6, 7-dihydroxy-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline containing catechol ring and tetrahydroisoquinoline nucleus in its own structure, both of which are well known to have agonistic effects on adrenergic receptors. Using guinea-pig atria (rich in  $\beta_1$ -receptor) and trachea (rich in  $\beta_2$ -receptor), we studied pharmacological actions of higenamine on these organs with special interest of its relevancy of  $\beta$ -receptor selectivity. In order to further clarify its pharmacological characteristics, the influences of pretreatment of reserpine or cocaine were also investigated. The results were summarized as follows :

1. Higenamine had remarkable chronotropic, inotropic and bronchodilator effects in guinea-pig spontaneously beating right atria, left atria and trachea, in dose-dependent manners.
2. All of above actions were blocked competitively by propranolol, which shows nonselectivity of higenamine on  $\beta$ -receptors.  $pA_2$  values of propranolol against higenamine were 7.93, 7.76 and 8.46 in guinea-pig right atria, left atria and trachea, respectively.
3. Reserpine pretreatment (5mg/kg, ip, 24h) did not show any decrease in pharmacological actions of higenamine, which suggests higenamine has direct action on  $\beta$ -receptor not via catecholamine release.
4. Cocaine pretreatment (1  $\mu$ M) had no influence on pharmacological actions of higenamine in contrast with nor epinephrine, which suggests there is no neuronal uptake mechanism of higenamine in the studied organ preparations.

**Key words :** higenamine,  $\beta$ -receptor, nonselectivity, cocaine, reserpine.

### 서 론

동의학에서 널리 사용되어 왔던 부자에서 강심 활성성분이라고 추정되는 물질을 Kosuge et al<sup>1</sup>이 순수 분리하

여 화학구조를 밝히고 higenamine이라고 명명한 이래 그 작용기전을 밝히려는 다양한 연구가 있어 왔다. 즉 권 등<sup>2</sup>은 집토끼의 우심실 유두근에서의 higenamine의 강심 작용은 디기탈리스 배당체와는 달리 catecholamine에 의

\* 본 연구는 한국과학재단 연구비의 지원에 의해 수행되었음.

한 심근수축시에 보여지는 제특성을 나타낸다는 보고를 하였고 김 등<sup>3</sup>은 돼지 근장근에서 칼슘 유도에 의한 칼슘유리를 증대시킨다고 하였으며, Park et al<sup>4</sup>은 짐토끼 심방근에서 심근 수축력은 아드레날린성  $\beta$ -수용체(이하 ' $\beta$ -수용체'로 표기) 차단제인 propranolol에 의해 효과적으로 억제되는 것을 관찰하고 그 강심작용은 심장에서 분포하고 있는  $\beta$ -수용체의 흥분과 관련이 있을 것으로 시사하였다. 한편 민간약 성분에 관심을 가지고 있는 중국에서도 higenamine의 합성<sup>5</sup>에 성공하여 이에 대한 약리학적 연구가 활발하게 진행되고 있는 바 Liu et al<sup>6</sup>은 마취 개에서 isoproterenol과 유사한 혈동학적 효과를 나타낸다고 하였으며, Han et al<sup>7</sup>은 쥐의 배양 심근세포를 이용하여  $\beta$ -수용체에 작용함을 보고하였다. 이상에서 살펴본 바와 같이 higenamine에 대한 연구는 주로 심장에 대해 이루어져 왔으며 작용기전으로  $\beta$ -수용체와 밀접한 관계를 가지고 있음이 제시되고 있음을 알 수 있다.

그러나 중국의 민간약종 higenamine이 분리되는 Aconitum목 중 어떤 과의 식물은 기관지 천식치료제로 사용되고 있다는 점<sup>8</sup>과 그리고 higenamine의 화학구조의 모핵인 tetrahydroisoquinoline(이하 'TIQ'로 표기)이 호흡, 심장, 평활근, 중추신경에 대한 다양한 약리작용을 가지고 있다는 점과<sup>9-11</sup> TIQ계 화합물의 합성과정중에서 발견된 trimetoquinol이 guinea-pig의 심장<sup>12</sup>뿐만 아니라 기관평활근<sup>13</sup>에서도 현저한 약리작용을 가지고 있음을 고려해 볼 때 trimenoquinol과 매우 유사한 구조를 가지고 있는 higenamine도 기관 평활근에 대한 이완작용을 가지고 있음을 유추할 수 있다. 저자 등은 처음으로 guinea-pig 적출 기관 평활근에 대한 higenamine의 이완효과를 확인하였으며 그 작용기전으로 기관 평활근의  $\beta$ -수용체가 관여함을 제시한 바 있다.<sup>14</sup>

Guinea-pig의 심장은  $\beta_1$ -수용체가, 기관 평활근은  $\beta_2$ -수용체가 주로 분포되어 있는 것으로 알려져 있어<sup>15,16</sup> 약물의  $\beta$ -수용체 선택성 작용을 추구하기 위해 유용하게 사용되고 있다.<sup>17</sup> 그러나 아직까지 guinea-pig의 심장에 대한 higenamine의 약리작용은 연구된 바가 없다. 따라서 본 실험에서는 higenamine의 약리학적 특성을 구명하기 위해 이 동물의 자동성이 있는 우심방(변주기성 작용)과 전기자극에 의한 좌심방(변력작용)에 미치는 영향을 살펴보고 아울러 비선택적  $\beta$ -수용체 차단제에 의한 약리작용의 변화를 조사하여 기관 평활근에 대한 약리작용과 비교 관찰함으로써 조직에 따른 친화성 여부를 알아보고자 하였다. 또한 higenamine의 약리작용을 더욱 추구하기 위하여 reserpine 전처치에 의한 약리작용의 변화 양상에 따른 간접성 약물의 특성과 cocaine 전처치에 의한 신경말단 흡수기작이 있는지도 알아 보고자 하

였다.

## 재료 및 방법

체중 500~600g의 건강 성숙 Hartley계 guinea-pig를 암수 구별하지 않고 후두부를 타격하여 신속하게 흉강을 절개한 후 심장, 폐, 기관을 함께 절제하여 즉시 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 연속 공급되는 Krebs-Henseleit 용액<sup>14</sup>(pH 7.4)이 담긴 Petri-dish에 옮긴 후 우심방, 좌심방, 기관을 각각 분리하였다.

**용량-반응 곡선의 묘기**: 심박동수에 대한 반응을 알아보기 위해 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> 혼합가스가 연속 공급되는 Krebs-Henseleit 용액 (37°C, pH 7.4)이 담긴 organ bath(20ml)에 자동성이 있는 우심방 표면의 한쪽을 organ bath의 고리에 그리고 다른쪽을 Myograph-60(isometric force-displacement transducer, Narco Biosystem, U.S.A.)에 부착하였다. 현수된 표본에 500mg의 부하장력을 가한 후 즉시 자동성 수축이 묘기되는 것을 약 1시간정도 equilibrium을 시켰으며 그동안 15분 간격으로 신선한 영양액으로 교환하였다. 기록계는 Physiograph MK IV-P(Narco Biosystem, U.S.A.)를 사용하였다. 기록계 용지를 충분히 빨리 진행시켜 30초동안의 심수축 회수를 세어 이를 2배하여 1분간의 심박동수로 간주하였다. 사용약물의 투여는 Van Rossum and Van Den Brink<sup>18</sup>의 방법에 따라 누적적으로 첨가하였으며(0.5 log unit 간격) 더 이상의 반응의 증대가 보이지 않을 때 다음 용량을 첨가하였다.

심수축력에 대한 반응은 좌심방의 하단을 백담선으로 만들어진 organ bath의 하단에 묶는 것을 제외하고는 위와 같은 요령으로 하였다. 전기자극기(SI-10, Narco Biosystem, U.S.A.)를 이용하여 4V, 3Hz, 4msec로 자극하였다.

기관 평활근의 이완반응은 기관 평활근 절편의 양단을 organ bath 고리와 transducer에 각각 묶고 500mg의 부하장력을 가한 후 장력변화가 일정한 수준으로 유지되었을 때 carbachol 2  $\mu$ M을 처리하여 근수축을 야기시킨 후 사용약물의 이완효과를 측정하였다.

**Reserpine 전처치가 higenamine의 약리작용에 미치는 영향**: 24시간 전에 reserpine(5mg/kg, ip)을 전처치하여 내인성 catecholamine을 고갈시킨 후 상기한 바와 같은 방법에 의해 용량-반응 곡선을 묘기하여 higenamine과 isoproterenol의 약리작용이 직접적으로 나타나는지 또는 catecholamine의 방출에 의한 간접적인 성질이 있는지를 조사하였다. 전처치에 의한 이들 사용약물의 약리작용에 대한 예민도(sensitivity)는 대조군과 전처치군의 pD<sub>2</sub>를 각각 이용하여 상호비교하여 구하였다.

**Cocaine 전처치가 higenamine의 약리작용에 미치는**

**영향** : 사용약물을 투여하기 30분전에 organ bath에 교감 신경말단으로의 재흡수를 차단하는 cocaine 1 $\mu$ M을 첨가하여 각 실험표본에서 약리작용의 변동을 관찰하여 교감신경말단에서의 흡수기작이 존재하는지를 알아보았다. 대조약물로서 흡수기작이 있는 norepinephrine과 흡수기작이 없는 것으로 알려진 isoproterenol을 이용하여 비교 관찰하고 또한 cocaine의 전처치에 의한 예민도의 변동을 구하였다.

**Higenamine의  $\beta_1$ -수용체 및  $\beta_2$ -수용체에 대한 효과** : 비선택적  $\beta$ -수용체 차단제인 propranolol을 사용약물 투여 30분전에 organ bath에 적용하고 난 뒤 나타난 용량-반응 곡선이 우측으로 평행이동되어 경쟁적 길항작용이 있을 경우 Arunlakshana and Shild의 방법<sup>19</sup>에 따라 pA<sub>2</sub>를 구하였다.

**사용약물** : 서울대 생약연구소에서 합성한 higenamine HI를 실험에 공시하였으며 다른 사용약물은 아래 회사의 것을 사용하였다 : (-)-isoproterenol chloride(Sigma), (-)-norepinephrine bitartrate(Sigma), propranolol HCl(Sigma), reserpine(Ciba), cocaine HCl(대원제약).

**계산방법** : 50% 반응용량 (pD<sub>50</sub>)은 Van Rossum<sup>20</sup>의 방법에 의해 구하였다. 상대효능(relative efficacy)는 isoproterenol을 1로 하고 사용약물의 최대반응후 isoproterenol의 최대반응을 나타내는 농도보다 큰것(supramaximal)인 10<sup>-4</sup>M을 투여하여 나타난 누적반응에 대한 비율로 결정하였다. 효력비(potency ratio)는 비교약물의 같은 반응효과를 나타내는 용량(pD<sub>2</sub> 이용)의 비를 이용하여 구하였다. 두 평균간의 비교서는 Student의 non-paired t-test에 의해 검정하였으며 p<0.05일 때 유의성이 있다고 간주하였다.

## 결 과

**Higenamine의 guinea-pig 심박동수에 미치는 영향** : Guinea-pig의 자동성이 있는 우심방에서 약물투여전의 심박동수는 Table 1에서 보는 바와 같이 1분당 약 150회 내외의 박동수를 나타내었으며 higenamine과 isoprotere-

rol의 최대용량에서의 박동수 증가분은 각각 63.1 $\pm$ 12.4 및 66.4 $\pm$ 11.9bpm으로 비슷하게 증대되었다(Table 1). 이들 두 약물 모두 용량에 따라 비례하여 심박동수가 증가되는 양상을 보였다. Higenamine과 isoproterenol의 pD<sub>2</sub>는 각각 6.57 $\pm$ 0.42와 8.54 $\pm$ 0.48로 그 효력비(potency ratio)는 isoproterenol을 100으로 하였을 때 higenamine은 1.1로 그 효력이 낮았다(Table 2). 상대효능(relative efficacy)을 알아보기 위해 higenamine의 최대반응이 나타나고 난 뒤 isoproterenol의 supramaximal 용량인 10<sup>-4</sup>M을 추가하여 나타난 누적반응에 대한 higenamine의 최대심박동수의 비율은 약 0.95로 나타났다(Table 2). 실험표본에 따라 isoproterenol의 supramaximal 농도를 추가 투여하더라도 심박동수 증대가 더이상 나타나지 않는 것도 있었다.

**Higenamine의 guinea-pig 심수축력에 미치는 영향** : Guinea-pig 좌심방에서 전기자극에 의한 수축양상에 대한 higenamine의 효과는 용량에 비례하여 증대반응을 나타내었다(Fig 1). Higenamine 및 isoproterenol의 pD<sub>2</sub>는 각각 6.21 $\pm$ 0.23, 8.23 $\pm$ 0.27로서 higenamine은 isoproterenol의 효력의 약 1/100에 해당되었다. 상대효능(relative efficacy)는 isoproterenol의 0.93이었다(Table 2). 실험표본에 따라 isoproterenol 최대반응 초과 용량에서 더 이상 추가의 수축반응이 나타나지 않는 것도 있었다.

**Higenamine의 guinea-pig 기관 평활근 이완에 미치는 영향** : Carbachol 2 $\mu$ M로 전수축시킨 guinea-pig 기관 평활근에 대해 higenamine은 현저한 이완작용을 나타내었다. 사용약물에 대한 이완효과는 전수축된 기관 평활근의 장력에서 그 약물에 의한 최대반응을 나타내는 하강의 크기에 대한 각 용량에서의 하강의 크기를 백분비로 하여 용량-반응곡선(그림 제시하지 않음)을 작성하였을 때 higenamine과 isoproterenol은 용량에 비례하여 이완작용을 나타내었다. Higenamine과 isoproterenol의 pD<sub>2</sub>는 6.73 $\pm$ 0.16, 7.87 $\pm$ 0.21이었으며 higenamine의 isoproterenol에 대한 효력비는 7.2로 상대적으로 낮았으나 상대효능은 isoproterenol의 0.98로 거의 isoproterenol에 필적하였다(Table 2).

**Reserpine 전처치가 higenamine의 약리작용에 미치는 영향** : Higenamine의 심박동수 증가, 심수축력 증가, 기관 평활근 이완작용이 amphetamine, tyramine 등과 같이 내인성 catecholamine의 방출에 의한 간접성 작용에 의한 것인가를 알아보기 위해 실험실시 24시간전에 guinea-pig 체중 kg당 5mg을 복강주사하여 신경말단의 catecholamine을 고갈시킨후 사용약물의 약리작용을 관찰하였다. Reserpine의 전처치에 의한 우심방의 자동성 기초 심박동수는 개체에 따라 저하가 일어나는 것도 있었으나 본 실험에서는 심박동수가 잘 유지되는 것을 사용하였으

**Table 1.** Chronotropic responses of higenamine and isoproterenol in the isolated guinea-pig spontaneously beating right atria (bpm : beats per minute)

| Drugs         | n <sup>a</sup> | Initial rate <sup>b</sup><br>(bpm) | Max. increase in rate <sup>c</sup><br>(bpm) |
|---------------|----------------|------------------------------------|---|
| Higenamine    | 6              | 145.7 $\pm$ 5.9 <sup>d</sup>       | 63.1 $\pm$ 12.4                             |
| Isoproterenol | 6              | 150.3 $\pm$ 5.1                    | 66.4 $\pm$ 11.9                             |

a : Number of observations

b : Rate obtained prior to the beginning of the dose-response to each drug

c : Maximal increase in rate obtained in response to each drug

d : Mean $\pm$ S.E.M.

**Table 2.** pD<sub>2</sub> values, relative efficacy and potency ratio for higenamine and isoproterenol on isolated guinea-pig right atria, left atria and tracheal smooth muscle

| Drugs         | Right atria    |                              |                 |                 |   | Left atria      |      |     |   | Tracheal smooth muscle |      |     |
|---------------|----------------|------------------------------|-----------------|-----------------|---|-----------------|------|-----|---|------------------------|------|-----|
|               | n <sup>a</sup> | pD <sub>2</sub> <sup>b</sup> | re <sup>c</sup> | pr <sup>d</sup> | n | pD <sub>2</sub> | re   | pr  | n | pD <sub>2</sub>        | re   | pr  |
| Higenamine    | 6              | 6.57±0.42 <sup>e</sup>       | 0.95            | 1.1             | 6 | 6.21±0.23       | 0.93 | 1.0 | 6 | 6.73±0.16              | 0.98 | 7.2 |
| Isoproterenol | 6              | 8.54±0.48                    | 1               | 100             | 6 | 8.23±0.27       | 1    | 100 | 6 | 7.87±0.21              | 1    | 100 |

a : Number of observations

b : Negative logarithmic dose required to produce 50% of its own maximum effect

c : re(relative efficacy) is expressed as the maximum responses relative to that for isoproterenol as 1.

d : pr(potency ratio) is the ratio of pD<sub>2</sub> values compared with that for isoproterenol which has been arbitrarily assigned a value of 100.

e : Mean±S.E.M.

**Table 3.** Effect of reserpine pretreatment on the sensitivity of the guinea-pig right atria, left atria and tracheal smooth muscle to higenamine, isoproterenol and norepinephrine

| Drugs          | Reserpine <sup>a</sup> pretreatment | n <sup>b</sup> | pD <sub>2</sub> <sup>c</sup> |            |           | Sensitivity ratio <sup>d</sup> |            |                   |
|----------------|-------------------------------------|----------------|------------------------------|------------|-----------|--------------------------------|------------|-------------------|
|                |                                     |                | Right atria                  | Left atria | Trachea   | Right atria                    | Left atria | Trachea           |
| Higenamine     | (-)                                 | 6              | 6.57±0.24 <sup>e</sup>       | 6.21±0.23  | 6.73±0.16 |                                |            |                   |
|                | (+)                                 | 6              | 6.65±0.48                    | 6.26±0.54  | 7.02±0.18 | 1.20                           | 1.12       | 1.95 <sup>f</sup> |
| Isoproterenol  | (-)                                 | 6              | 8.54±0.48                    | 8.23±0.27  | 7.87±0.21 |                                |            |                   |
|                | (+)                                 | 6              | 8.67±0.57                    | 8.33±0.68  | 8.28±0.34 | 1.35                           | 1.26       | 2.57 <sup>f</sup> |
| Norepinephrine | (-)                                 | 6              | 7.58±0.56                    | 7.34±0.34  | 5.46±0.37 |                                |            |                   |
|                | (+)                                 | 6              | 7.57±0.67                    | 7.32±0.56  | 5.35±0.39 | 0.98                           | 0.95       | 1.17              |

a : Reserpine(5mg/ml ip) was pretreated 24hrs before the experiment. (-) indicates no pretreatment.

b : Number of observations

c : Negative logarithmic dose required to produce 50% of its own maximum effect under different experimental conditions

d : Sensitivity ratio is the antilog pD<sub>2</sub> difference between control(as 1) and reserpine pretreatment group.

e : Mean±S.E.M.

f : p<0.05

**Table 3.** Effect of cocaine pretreatment on the sensitivity of the guinea-pig right atria, left atria and tracheal smooth muscle to higenamine, isoproterenol and norepinephrine

| Drugs          | Cocaine <sup>a</sup> pretreatment | n <sup>b</sup> | pD <sub>2</sub> <sup>c</sup> |            |           | Sensitivity ratio <sup>d</sup> |                   |                   |
|----------------|-----------------------------------|----------------|------------------------------|------------|-----------|--------------------------------|-------------------|-------------------|
|                |                                   |                | Right atria                  | Left atria | Trachea   | Right atria                    | Left atria        | Trachea           |
| Higenamine     | (-)                               | 6              | 6.57±0.24 <sup>e</sup>       | 6.21±0.23  | 6.73±0.16 |                                |                   |                   |
|                | (+)                               | 6              | 6.33±0.57                    | 6.02±0.36  | 6.69±0.24 | 0.58                           | 0.65              | 0.91              |
| Isoproterenol  | (-)                               | 6              | 8.54±0.48                    | 8.23±0.27  | 7.87±0.21 |                                |                   |                   |
|                | (+)                               | 6              | 8.42±0.69                    | 8.13±0.68  | 7.62±0.36 | 0.76                           | 0.79              | 0.56              |
| Norepinephrine | (-)                               | 6              | 7.58±0.56                    | 7.34±0.34  | 5.46±0.37 |                                |                   |                   |
|                | (+)                               | 6              | 8.29±0.53                    | 7.97±0.27  | 5.93±0.23 | 5.13 <sup>f</sup>              | 4.27 <sup>f</sup> | 2.95 <sup>f</sup> |

a : Cocaine(1 μM) was pretreated 24hrs before the experiment. (-) indicates no pretreatment.

b : Number of observations

c : Negative logarithmic dose required to produce 50% of its own maximum effect under different experimental conditions

d : Sensitivity ratio is the antilog pD<sub>2</sub> difference between control(as 1) and reserpine pretreatment group

e : Mean±S.E.M.

f : p<0.05

며 이 경우 reserpine 무처리군과 거의 동등한 초기조건을 보여주었다. 좌심방의 심수축력 및 기관 평활근 이완 실험의 경우는 외인적인 조건에 의해 실시되었기 때문에 전표본을 대상을 실험을 실시하였다.

Higenamine, isoproterenol, norepinephrine의 우심방, 좌심방, 기관 평활근에서의 최소반응을 나타내는 용량은 무처리군과 각각 비교할 때 변동을 인정할 수 없었다. Higenamine은 reserpine 전처치에도 불구하고 우심방,

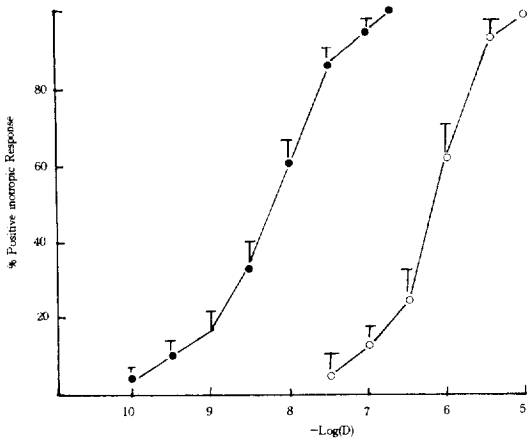


Fig 1. Log dose-response curves for isoproterenol(●) and higenamine(○) in isolated guinea-pig left atria. Each response is expressed as a percentage of the maximum delta inotropic response to the agonist. Vertical lines indicate S.E.M.

좌심방, 기관 평활근에서 각각 현저한 심박동수 증가, 심수축력 증가, 기관 평활근 이완이 용량에 따라 비례적으로 나타나 higenamine의 약리작용은 catecholamine의 방출을 매개로 한 간접성 작용이 아님을 알 수 있었다. 대조약물로 사용한 isoproterenol과 norepinephrine도 동일한 양상을 보였다. Reserpine 전처치에 의해  $pD_2$ 는 변동이 인정되었는데 higenamine과 isoproterenol의 경우 예민도(sensitivity)는 모든 실험표본에서 증가되었으나 통계적으로 유의한 차이를 나타낸 것은 기관 평활근(higenamine, 1.95배; isoproterenol, 2.57배)뿐이었다(Table 3). Norepinephrine은 이와는 달리 reserpine 전처치에 의해 우심방, 좌심방에서 오히려 감소되었고, 기관 평활근에서는 증가되었으나 통계적인 차이를 인정할 수 없었다(Table 3). Reserpine 전처치에 의한 기관 평활근에서의 higenamine의 용량-이완반응 곡선은 Fig 2에서 보는 바와 같이 좌측으로 이동(left-shift)됨을 알 수 있다.

**Cocaine의 전처치에 의한 higenamine의 약리작용에 미치는 영향**: 교감신경 말단에서 catecholamine의 흡수(U)를 방해하는 cocaine을, 사용약물을 누적적으로 첨가하기 전 30분 투여하여 용량-반응 곡선의 변동여부를 관찰하였다. Higenamine이 심장말단에서의 흡수기작을 가지고 있다면 cocaine에 의해 반응은 증강될 것이고 흡수되지 않는다면 그 반응은 증강되어 나타나지 않을 것이다. 사용약물을 투여하기 전에 cocaine을 전처치하였을 때의 심박동수, 심수축력, 기관 평활근의 기본반응의 크기는 예상한 바와 같이 증대되어 나타났다. 교감신경 말단 흡수기작이 있는 것으로 알려져 있는 norepineph-

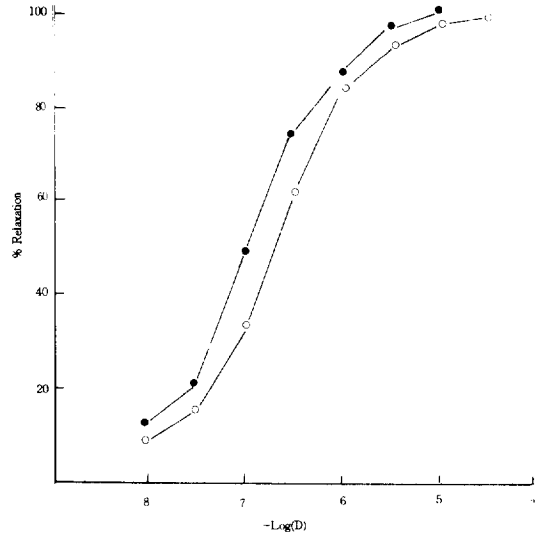


Fig 2. Effect of reserpine pretreatment on log dose-response curves to higenamine in guinea-pig tracheal smooth muscle. Responses in the absence(○) and presence(●) of reserpine.

rine은 cocaine 전처치에 의해 우심방, 좌심방, 기관 평활근에서의 예민도가 각각 5.13, 4.27, 2.95배 증강되었으나 ( $p < 0.05$ ), higenamine과 isoproterenol은 오히려 감소하였다(Table 4). 즉, higenamine은 우심방에서 0.58, 좌심방에서 0.65, 기관 평활근에서 0.91로서 예민도가 감소하였는데 통계적으로 유의하지는 않았다. Cocaine 전처치에 의한 norepinephrine과 higenamine의 용량-반응곡선은 각각 좌측이동 및 경미한 우측이동 양상을 나타내었다(그림 제시하지 않음).

**Higenamine의  $\beta$ -수용체에 대한 작용**: Higenamine이 guinea-pig의 우심방, 좌심방 및 기관 평활근에서 현저한 약리작용을 확인하였기 때문에 이러한 작용이  $\beta$ -수용체와의 관련성을 알아보기 위해 사용약물 투여전 비선택적  $\beta$ -수용체 차단제인 propranolol을 전처치하여 사용약물의 반응을 관찰하였다. Higenamine과 isoproterenol은 propranolol에 의해 그 반응이 억제되었으며 같은 효과를 나타내기 위해서는 더 많은 용량의 증대가 필요하였다. Propranolol을 전처치하더라도 최대반응효과는 처리전의 그것에 비해 모든 실험표본에서 약리작용이 감소하지 않았다. Propranolol  $3 \times 10^{-8}M$ ,  $10^{-7}M$ ,  $3 \times 10^{-7}M$ 을 각각 전처치하였을 때의 higenamine의 용량-반응 곡선은 우측이동하였으며 여기에서 나타난  $pD_2$  및  $dr$ (용량비)을 이용하여 Arulnlakshana and Shild의 방법<sup>19</sup>에 따라 Schild plot한 결과 propranolol의 higenamine에 대한  $pA_2$ 는 우심방에서 7.93, 좌심방에서 7.76, 기관 평활근에서 8.46으로(그림 제시하지 않음) higena-

mine은 비선택적으로  $\beta$ -수용체에 작용함을 알았다. 대조약물로 사용한 isoproterenol에 대한 propranolol의  $pA_2$ 는 우심방에서 8.81, 좌심방에서 8.73, 기관 평활근에서 8.59이었다.

## 고 찰

Higenamine은 catechol환과 TIQ핵을 공유하고 있는 부자에서 유래된 benzyl tetrahydroisoquinoline계 [1-(4'-hydroxybenzyl)-6, -7-dihydroxy-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline] 약물이다. 부자는 동의학에서 강심, 이뇨, 진통, 홍분 등의 목적으로 지금까지 널리 사용되어온 주요 생약재제이기 때문에 higenamine이 분리 및 합성이 가능한 이래 많은 연구자가 그 약리작용을 밝히려는 시도를 하고 있다. 대체로 지금까지의 연구는 higenamine의 심장 아드레날린성 수용체 관련성에 대해 집약이 되고 있는 실정이다. 이러한 관심에서 민간약의 신약화에 깊은 관심을 가지고 있는 중국에서 higenamine을 서맥성 부정맥에 대한 신약으로 개발 사용하고 있음<sup>20</sup>은 특기할 만한 사실이다. 그러나 higenamine이 유도된 부자가 동의학에서 강심제뿐 아니라 다양한 용도로 사용되고 있고 또한 부자가 속한 식물의 같은 목종 어떤 것은 중국에서 현재 기관지 천식 치료제로 사용되고 있으며<sup>8</sup>, 무엇보다도 higenamine의 화학구조가 catechol환과 TIQ핵을 공유하고 있어 이들의 다양한 약리작용을 함께 고려해 볼 때 심장이외의 다른 장기들에서 약리작용을 나타낼 수 있으리라는 것은 당연하다 할 것이다.

Iwasawa and Kiyomoto<sup>13</sup>는 higenamine과 매우 유사한 구조를 가지고 있는 trimetoquinol[1-(3, 4, 5-trimethoxybenzyl)-6, 7-dihydroxy-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline]이 guinea-pig의 기관 평활근에 현저한 이완작용을 나타내었고 이러한 작용은  $\beta$ -수용체 차단제인 pronethalol에 의해 경쟁적으로 억제됨을 보고하였다. 저자 등은 구조상의 유사성과 상기 민간약의 용도 등을 고려할 때 higenamine도 기관 평활근 이완작용이 있을 것으로 추정하여 이에 대한 실험을 실시하였던 바 higenamine이 guinea-pig 기관 평활근에서 강력한 이완효과를 나타냄을 확인하였다.<sup>14</sup> 그러나 아직까지 higenamine의 guinea-pig 심장에 대한 연구가 이루어져 있지 않았기 때문에 본 실험에서  $\beta$ -수용체에 대한 약물의 약리작용 연구에 적합한 guinea-pig를 이용하여 higenamine의 심장(주로  $\beta_1$ -수용체 분포) 및 기관 평활근(주로  $\beta_2$ -수용체 분포)에 대한 작용을 비교 검토하고 이 동일동물(guinea-pig)에서의 higenamine의  $\beta$ -수용체에 대한 상대적인 선택성과 나아가 그 작용이 수용체에 직접작용하는지 또는 교감신경말단에서의 흡수기작이 있는지를 알아보아 higenamine의 약리학적 특성을 구명하고자 하였다.

자동성이 있는 우심방에서 higenamine은 뚜렷한 심박동수 증가작용을 보였으며  $10^{-10} \sim 3 \times 10^{-10}M$ 에서 심박동수 증가작용이 나타나기 시작하여 용량의존적으로 증가양상을 나타내어 약  $5 \times 10^{-5}M$ 에 최대반응을 보이고  $pD_2$ 는  $6.57 \pm 0.42$ 이었다. 대조약물로 사용한 isoproterenol에 대한 higenamine의 효력비는 isoproterenol 100에 대해 1.1로 효력은 낮았으나 higenamine의 효능은 isoproterenol의 0.95에 상당하여 거의 full agonist에 가깝게 작용하였다. 몇개의 실험표본에서는 higenamine의 최대반응이 isoproterenol의 최대반응을 훨씬 초과하는 용량인  $10^{-4}M$ 을 추가투여하였을 때도 변동이 되지 않음을 관찰한 경우도 있어 higenamine이 full agonist에 가깝게 작용하는 것으로 인정이 되었다. Higenamine이 full agonist로 작용하는 것을 더욱 확인하기 위하여 미리 isoproterenol을 전처치하여  $\beta$ -수용체의 desensitization시킨 후<sup>2, 23</sup> higenamine의 반응을 관찰하였으나 감소하여 나타나지 않았다. 만약에 higenamine이 partial agonist로 작용한다면 심박동수 증가가 나타나지 않거나 또는 감소되어 나타날 것이다.<sup>24</sup> 따라서 higenamine은 guinea-pig 좌심방에서 full agonist에 가깝게 작용할 것으로 사료되었다.

한편 자동성이 없는 좌심방에서는 전기자극에 의한 심수축력 증가작용에 대한 실험을 실시하였는데 higenamine의 우심방에서의 심박동수에 대한 효과에 비교해 볼 때 효력은 다소 낮아 최소반응용량이  $2 \times 10^{-6}M$ 이었고  $pD_2$ 는  $6.21 \pm 0.23$ 이었다. 이러한 결과는 중국에서 higenamine이 서맥에 대한 치료제로 사용되는 사실<sup>25</sup>과 관련하여 볼 때 그 타당성이 어느 정도 인정된다 하겠다. 대조약물로 사용한 isoproterenol의  $pD_2$ 는  $8.23 \pm 0.27$ 로 higenamine의 isoproterenol에 대한 효력비는 약 1/100에 해당하여 우심방에서의 그것과 비슷한 수치를 나타내었다. 심수축력에 대한 higenamine의 효능은 isoproterenol에 비해 약 0.93이었으나 우심방에서의 경우와 동일하게 어떤 표본에서는 isoproterenol 고용량 투여에 의한 변화가 없는 것도 있었고 또한  $\beta$ -수용체 desensitization 수액에 의해서도 higenamine의 최대반응은 재현되었기 때문에 심수축력에 있어서도 full agonist에 가깝게 작용한다고 사료되었다.

Higenamine은 기관 평활근에서도 뚜렷한 이완작용을 나타내었으며 용량에 의존하여 그 작용이 증대되었다. Guinea-pig 기관 평활근에서의 higenamine의  $pD_2$ 는  $6.73 \pm 0.16$ 으로서 우심방, 좌심방에 비해 그 효력이 높았다. 이는 같은 benzyl tetrahydroisoquinoline계 약물인 trimetoquinol이 guinea-pig 기관 평활근에서의  $pD_2$ 가 8.81로  $\beta_2$ -수용체에 대한 작용이 높다는 것<sup>13</sup>과 관련하여 생각해볼 때 이와같은 구조는 기관 평활근에 더욱 높은

선택성을 나타낼 수 있다고 생각된다. 본 실험에서 higenamine의 기관 평활근에서의  $pD_2(6.73)$ 는 지자 등<sup>14</sup>이 이전에 발표한 성적( $pD_2 = 5.65$ )보다 조금 높게 나타났는데 이는 이전 실험에서 기관 평활근 전수축제로 사용한 carbachol의 농도가  $10^{-6}M$ 에 비해 본 실험에서 사용한 농도가  $2 \times 10^{-6}M$ 로, 폴링성 수용체에 의한 기관 평활근의 수축과 이완약물에 의한 이완작용 사이에 기능적 길항작용(functional antagonism)<sup>26,27</sup>에 의해 설명이 가능할 것으로 생각된다. 또한 부가적인 설명으로 본 실험에서의 실험표본은 이전 실험에 비해 충분히 상피, 점막 등을 제거하였기 때문에 약물침투에 물리적 장벽으로 작용하는 상피가 제거됨으로써 이완제의 침투가 더욱 용이<sup>28</sup>하게 됨에 따라 그 작용이 증강되어 나타날 수도 있다고 생각된다. 기관 평활근에서도 혈관 내피세포에서 분비되는 유래인자(EDRF)와 같은 이완물질이 있다는 견해도 있으나 본 실험의 경우에서와 같이 상피를 제거한 것이 오히려 이완효과가 더욱 크게 나타났기 때문에 그러한 이완물질의 작용은 미미하리라 사료가 되었다. higenamine의 기관 평활근에서의 효능은 isoproterenol에 비해 0.97이었고 우심방, 좌심방에서와 동일하게 isoproterenol 전처치에 의해  $\beta$ -수용체를 desensitization시킨 경우에도 효능은 감소되지 않아 full agonist에 가깝게 작용한다고 생각되었다. 이와같이 higenamine이 우심방, 좌심방, 기관 평활근 모두에서 full agonist에 가깝게 작용하는 것은 비슷한 구조를 가진 trimetoquinol이 guinea-pig 기관 평활근에서는 full agonist로 작용한다고 보고한 Iwasawa and kiyomoto<sup>13</sup>의 성적과는 일치하고 있으나 심장에서는 partial agonist로 작용한다는 Sato et al의 보고<sup>12</sup>와는 대조를 이루고 있다.

Higenamine이 guinea-pig 우심방, 좌심방 그리고 기관 평활근에서 뚜렷한 약리작용을 가지고 있음을 본 실험에서 확인하였기 때문에 이러한 작용이  $\beta$ -수용체와 관련 여부를 알아보기 위해 비선택적  $\beta$ -수용체 차단제인 propranolol을 전처치하여 higenamine의 약리작용을 관찰하였다. 그 결과 모든 실험표본에서 higenamine의 약리작용은 감소되었으며 이러한 감소된 반응은 higenamine의 용량을 증대시켰을 때 최대반응이 재현되었고, propranolol의 존재에 의한 higenamine의 용량-반응 곡선이 우측으로 평행이동됨을 관찰하였기 때문에 higenamine은 실험표본에 존재하는  $\beta_1$  및  $\beta_2$  수용체 모두에 비선택적으로 작용하는 것을 알았다. Higenamine에 대한 propranolol의 Schild plot에 의하면, 우심방, 좌심방, 기관 평활근에서의 기울기가 각각  $-0.83$ ,  $-0.82$ ,  $-0.87$ 로서 기울기가 1로부터 현저한 차이가 나지 않아 이를 이용하여  $pA_2$ 를 구한바 각각 7.93, 7.76, 8.46으로, 우심방과 좌심방에서의  $pA_2$ 가 서로 비슷하고 기관 평활근에서의 p-

$A_2$ 가 그들보다 큼을 고려하면 guinea-pig의 심장과 기관 평활근에서의  $\beta$ -수용체는 서로 상이하고 나아가 higenamine은  $\beta_2$ -수용체에 더 친화력이 높은 것을 시사해 주고 있다. 추후 이들  $\beta$ -수용체에 대한 binding study에 의한 보완적 실험이 기대된다 하겠다.

본 실험에 사용된 모든 표본에서 higenamine이  $\beta$ -수용체를 경유하여 그 약리작용을 나타냄을 확인하였으나(비선택적  $\beta$ -수용체 작용), 이러한 작용이 amphetamine, tyramine 등과 같이 catecholamine의 방출에 의한 간접적 작용에 의해 나타날 수 있기 때문에 reserpine 5mg/kg를 실험실시 24시간전에 복강에 주사하여 내인성 catecholamine을 저장소로부터 고갈시킨 후 higenamine의 약리작용을 관찰하였다. 만약에 higenamine이 catecholamine을 매개한 간접성  $\beta$ -수용체 작용약물이라면 효과는 거의 나타나지 않을 것이다. 본 실험에서는 실험표본 모두에서 higenamine의 약리작용은 감소되지 않음을 관찰하여 higenamine은  $\beta$ -수용체에 직접작용하여 약리작용을 나타냄을 알았다. 오히려 higenamine과 isoproterenol에 의해 그 예민도가 증가하였다(Table 3). 그러나 기관 평활근( $p < 0.05$ )을 제외하고는 통계적인 유의미한 차이를 보이지 않았다. 이러한 예민도의 증가는 catecholamine의 고갈에 의한 비특이적 과민성의 증가<sup>29</sup>와 관련하여 설명할 수 있겠다. 이와같이 higenamine이  $\beta$ -수용체에 직접작용함으로써 효과를 나타낸다는 사실은 구조가 유사한 TIQ가  $\beta$ -수용체에 직접작용하여 약리작용을 나타낸다고 한 Collins et al의 보고<sup>11</sup>와는 일치하나 catecholamine의 방출을 촉진시켜 간접적으로  $\beta$ -수용체에 작용한다고 한 Cohen et al<sup>31</sup>의 보고와는 상이한 특성을 보이고 있다.

Cocaine에 의한 higenamine의 약리작용의 변동에 의해 higenamine의 신경말단에서의 흡수기작을 알아볼 수 있다. 잘 알려진 바와 같이 cocaine은 교감신경말단에서의 재흡수( $U_1$ )을 차단하는 약물이다. 만약 higenamine이 간접적 교감신경양 약물이라면 cocaine에 의해 norepinephrine의 흡수가 차단되어 교감신경 내부에서의 norepinephrine의 이용이 저하되어 그 결과 higenamine의 용량-반응곡선은 우측으로 이동될 것이나 위에서 살펴본 바와 같이 higenamine은 본 실험에서 사용한 모든 실험표본에서  $\beta$ -수용체에 직접작용하기 때문에 고려에서 제외할 수 있다. 따라서  $\beta$ -수용체에 직접작용하는 higenamine이 신경말단에서 흡수기작을 가지고 있다고 고려하던 cocaine에 의해 흡수가 차단될 것이고 따라서  $\beta$ -수용체에 대한 약리작용이 증대되어 나타나 용량-반응곡선은 좌측으로 이동될 것이다. 그러나 본 실험에서 higenamine은 모든 실험표본에서 통계적으로 유의하지는 않지만 예민도가 오히려 저하되어 나타났으며(Table 4),

용량-반응곡선은 경미하지만 우측으로 이동되는 경향을 관찰하였다. 이러한 경향은 대조약물로 사용한 isoproterenol에서도 관찰되었으나 흡수기작이 있는 것으로 알려진 norepinephrine은 각 실험표본에서 현저하게 예민도가 증가하였으며(Table 4), 용량-반응곡선이 우측으로 이동하였다.

이상에서 살펴본 바와 같이 동일한 동물인 guinea-pig에서 유래한 우심방, 좌심방, 기관 평활근에서 higenamine은 각각 뚜렷한 심박동수 증가작용, 심수축력 증가작용, 기관평활근 이완작용을 나타내었으며 이러한 작용은  $\beta$ -수용체를 경유하여 나타내있는 바 guinea-pig의  $\beta$ -수용체 분포에 따른 특이성을 고려하여 higenamine은  $\beta_1$ -수용체(심장) 및  $\beta_2$ -수용체(기관 평활근)에 모두 작용하는 비선택적  $\beta$ -수용체 효능제임을 확인하였다. 한편 reserpine과 cocaine의 전처치에 의해 higenamine의 약리작용은 영향을 받지 않는 것으로 미루어 보아 higenamine은  $\beta$ -수용체에 직접작용하며 또한 신경말단에서의 흡수기작도 존재하지 않는 것으로 사료되었다.

## 결 론

Higenamine은 화학구조상 catechol환과 tetrahydroisoquinoline핵을 가지고 있는 약물로 이러한 함유 모핵들의  $\beta$ -수용체에 대한 작용은 잘 알려져 있다. 따라서 higenamine의 약리작용은  $\beta$ -수용체와 관련성이 있음을 유추할 수 있다. Guinea-pig의 심방은 주로  $\beta_1$ -수용체가 분포하고 그리고 기관 평활근은 주로  $\beta_2$ -수용체가 분포하고 있어  $\beta$ -수용체에 작용하는 약물의 선택성을 알아보기 위해 유용한 실험표본들이다. Higenamine의 약리학적 특성을 구명하기 위해 guinea-pig의 우심방, 좌심방, 기관 평활근 절편을 이용하여 그 약리작용을 관찰하고 이러한 약리작용에  $\beta$ -수용체 관여 여부와 조직에 따른 선택성을 조사하였다. 나아가 reserpine 및 cocaine의 전처치에 의한 영향을 관찰함으로써 higenamine의 약리학적 특성을 더욱 추구하고 보았다.

1. Higenamine은 guinea-pig의 자동성이 있는 우심방에서 심박동수 증가작용과 좌심방에서 심수축력 증가작용 그리고 기관 평활근에서 이완작용을 나타내었으며  $pD_2$ 는 각각 6.57, 6.21, 6.73이었다. 대조로 사용한 isoproterenol의 그것은 각각 8.54, 8.23, 7.23이었다. Higenamine의 isoproterenol에 대한 상대효능은 각각 0.95, 0.93, 0.98로 각 조직 모두에서 full agonist에 가깝게 작용하였다.

2. 이러한 작용은  $\beta$ -수용체 차단제인 propranolol에 의해 경쟁적으로 억제되었으며 higenamine에 대한 propranolol의  $pA_2$ 는 우심방에서 7.93, 좌심방에서 7.76, 기관 평활근에서 8.46으로 higenamine은  $\beta_1$ (심장) 및  $\beta_2$

(기관 평활근) 수용체 모두에 작용하여  $\beta$ -수용체에 비선택적으로 작용하였다.

3. Reserpine 전처치(5mg/kg, ip, 24h)에 의해 higenamine의 약리작용은 감소되지 않았기 때문에 higenamine은 내인성 catecholamine의 방출에 의한 간접적 작용이 아닌  $\beta$ -수용체에 대한 직접작용을 가지고 있는 것으로 사료되었다.

4. Cocaine 전처치(1  $\mu$ M)에 의해서도 higenamine의 작용은 대조로 사용한 norepinephrine과 달리 변동이 야기되지 않는 것으로 미루어 보아 guinea-pig 우심방, 좌심방 그리고 기관 평활근에서 신경 흡수기작은 존재하지 않는 것으로 생각되었다.

## 참 고 문 헌

1. Kosuge T, Yokota M, Nagasawa M. Studies on cardiac principles in Aconite roots. I. Isolation and structural determination of higenamine. *Yakugaku Zasshi* 1987; 93 : 1370~1375.
2. 권명중, 조성일, 엄대용 등. Higenamine이 심근의 활동성 전압 및 수축에 미치는 영향. *중양의대지* 1981; 6 : 543~550.
3. 김주현, 이영균, 김혜원 등. Higenamine이 심근 sarcoplasmic reticulum의 칼슘 운반에 미치는 영향에 관한 연구. *대한약학회지* 1982; 18 : 79~87.
4. Park CW, Chang KC, Lim JK, et al. Effects of higenamine on isolated heart adrenoceptor of rabbit. *Arch Int Pharmacodyn* 1984; 267 : 279~288.
5. Huang LE, Zhang DY, Wang CY. Synthesis of higenamine. *Yaoxue Xuebau* 1981; 16 : 931~933.
6. Liu L, Li Y, Chen CC, et al. Higenamine and isoprenaline on the hemodynamics in anesthetized dogs. *Yao Hsueh Tung Pau* 1981; 16 : 50.
7. Han HW, Wang TZ, Sun FL, et al. Effect of dimethylcoclaurine on the bata adrenoceptors of cultured heart cells. *Yao Hsueh Tung Pao* 1980; 15 : 41.
8. Xiao PG. Recent developments on medicinal plants in China. *J Ethnopharmacol* 1983; 7 : 95~109.
9. Hjort AM, De Beer EJ, Fassett DW. Some tetrahydroisoquinolines. I. Their relative toxicology and sympatomatology. *J Pharmacol Exp Ther* 1938; 62 : 165~173.
10. Fassett DW, Hjort AM. Some tetrahydroisoquinolines. II. Their action on blood pressure, respiration and smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1938; 63 : 253~271.
11. Collins AL, Cashaw JL, Davis VE. Dopamine-de-



- rived tetrahydroisoquinoline alkaloid : inhibitors of neuroamine metabolism. *Biochem Pharmac* 1973;22 : 2337~2348.
12. Sato M, Yamaguchi I, Kiyomoto A. Studies on tetrahydroisoquinoline(THI). II . Pharmacological action on cardiovascular system. *Jap J Pharmacol* 1967; 17 : 153~163.
  13. Iwasawa Y, Kiyomoto A. Studies on tetrahydroisoquinoline(THI). I. Bronchodilation activity and structure-activity relationships. *Jap J Pharmacol* 1967;17 : 153~163.
  14. 윤효인, 장기철, 홍성근 등. Higenamine의 guinea-pig 기관 평활근 이완작용. 대한수의학회지 1987;27 : 35~40.
  15. Farmer JB, Levy GP, Marshal RJ. A comparison of the  $\beta$ -adrenoceptor stimulant properties of salbutamol, orciprenaline and soterenol with those of isoprenaline. *J Pharm Pharmac*. 1970;22 : 945~946.
  16. Cohen ML, Kurz KD, Mason NR, et al. Pharmacological activity of the isomers of LY 58857. Potent and selective 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 234 : 319~323.
  17. O'Donnell RS, Wanstall JC. The importance of choice of agonist in studies designed to predict  $\beta_2$  :  $\beta_1$  adrenoceptor selectivity of antagonists from pA<sub>2</sub> values on guinea-pig trachea and atria. *Naun-Schmedeberg Arch Pharmacol* 1979; 308 : 183~190.
  18. Van Rossum JM, Van den Brink FG. Cumulative dose-response curves. I. Introduction to the technique. *Arch Int Pharmacodyn* 1963;143 : 240~246.
  19. Arunlakshana O, Schild HO. Some quantitative uses of drug antagonists. *Br J Pharmacol* 1959;14 : 48~58.
  20. Van Rossum JM. Cumulative Dose-response curves. II . Technique for the making of dose-response curves in isolated organ and the evaluation of drug parameter. *Arch Int Pharmacodyn* 1963;143 : 299~330.
  21. Chang HY, Klein RM, Kunos G. Selective desensitization of cardiac beta adrenoceptors by prolonged *in vivo* infusion of catecholamine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 221 : 784~789.
  22. Davies AO, Lefkowitz RZ. *In vitro* desensitization of batak adrenergic receptors in human neutrophils. *J Clin Invest* 1983;71 : 565~571.
  23. Stadel JF, Strulovici B, Nombi P, et al. Desensitization of  $\beta$ -adrenergic receptors of frog erythrocytes recovery and characterization of the down-regulated receptors in sequestered vehicles. *J Biol Chem* 1983;258 : 3032~3038.
  24. Kenakin TP, Beek D. Relative efficacy of prenalterol and pirbuterol for beta-1 adrenoceptors. Measurement of agonist affinity by alteration of receptor number. *J Pharmacol Exp Ther* 1984;229 : 340~345.
  25. Xiao PG. A brief introductory note on medical plants on the 1977 edition of the Chinese Pharmacopoeia. *WHO DPM/WP*. 1978.
  26. Buckner CK, Saini RK. On the use of functional antagonism to estimate dissociation constants for beta adrenergic receptor agonists in isolated guinea-pig trachea. *J Pharmacol Exp Ther* 1975;194 : 565~574.
  27. Buckner CK, Trophy T, Costa DJ. Studies on  $\beta$ -adrenoceptors mediating changes in mechanical events and adenosine 3',5'-monophosphate levels. *Eur J Pharmacol* 1978;47 : 259~271.
  28. Holroyde MC. The influence of epithelium on the responsiveness of guinea-pig isolated trachea. *Br J Pharmacol* 1986;87 : 501~507.
  29. Hudgins PW, Fleming WW. A relative nonspecific supersensitivity in aortic strips resulting from pretreatment with reserpine. *J Pharmacol Exp Ther* 1966;153 : 70~80.
  30. Cohen ML, Mytilneou C, Baret RE. 6, 7-Dihydroxytetrahydroisoquinoline. Uptake and storage by peripheral sympathetic nerve of rat. *Science* 1972;175 : 1269~1272.