

수종 식물추출물의 항히스타민작용

이신웅* · 이윤주 · 손종근

영남대학교 약학대학

Antihistaminic Action of the Several Medicinal Plant Extracts

Shin-Woong LEE*, Yeun-Ju LEE and Jong-Keun SON

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea

(Received February 9, 1996; accepted February 17, 1996)

Abstract – The antihistaminic action of eighteen herbal medicines was investigated by the radioligand binding and functional assays. The hexane fractions of *Trichosanthis radix*, *Mori cortex radidis* and *Evodiae fructus* dose-dependently inhibited [³H]mepyramine binding to H₁ receptor in guinea-pig brain homogenates and histamine-induced contraction of isolated guinea-pig ileum. Antihistaminic action of the hexane and ethyl acetate fractions of *Mori cortex radidis* and the hexane fraction of *Evodiae fructus* was more potent than their antimuscarinic action evaluated from the inhibition of [³H]QNB binding and carbachol response. The ethyl acetate and chloroform fractions from *Scutellariae radix* also inhibited histamine-induced contraction, but antihistaminic potencies of these fractions were almost identical with their antimuscarinic potencies. The hexane fractions of *Mori cortex radidis* and *Evodiae fructus* inhibited selectively the increase of histamine-induced cutaneous vascular permeability in the rat dorsal skins. However, the ethyl acetate fraction from *Scutellariae radix* inhibited equipotently the effects of histamine and serotonin on the vascular permeability. These results demonstrate that the hexane and ethyl acetate fractions of *Mori cortex radidis* and the hexane fraction of *Evodiae fructus* have the selective histamine H₁ receptor blocking activity.

Keywords □ medicinal plants, antihistaminic action, H₁ receptor, [³H]mepyramine, [³H]QNB, brain homogenate, ileum, vascular permeability

Histamine H₁ 수용체 차단제(항histamine제)는 지난 50여 년 동안 알레르기 질환의 예방 및 치료 목적으로 널리 사용되어 온 약물군으로 제 1세대와 제 2세대 약물로 크게 구분되고 있다(Douglas, 1985; Adelman과 Terr, 1994). 제 1세대 항histamine제는 histamine의 기본 구조를 변형시켜 개발한 약물들로서 지용성이 커서 혈액-뇌 관문(blood-brain barrier)을 비교적 쉽게 통과할 뿐 아니라 H₁수용체 차단작용 이외에도 muscarine수용체 차단작용이 있어 진정, 구갈, 기도분비억제와 같은 부작용을 나타낸다(Carruthers 등, 1978; Ambre 등, 1991). 반면, astemizole(Laduron 등, 1982; Richards 등, 1984), terfenadine(Sorkin과 Heel, 1985), tazyfylline(Poizot등, 1986) 등과 같은 제 2세대 항histamine제는 histamine과의 구조적 상관성이 없고 제 1세대 항histamine제보다 극성이 커서 혈액-뇌 관문을 잘 투과하지 못하므로 상용량에서는 중추성 부작용을 거의 일으키지 않으며 작용의

지속시간도 긴 것으로 알려지고 있다(Brandon, 1985; Hilbert, 1987). 이와 같이 제 1세대 항histamine제의 주 부작용인 진정작용을 거의 나타내지 않는 제 2세대 항histamine제, 즉 비수기성 항histamine제의 소개는 항histamine요법에서의 새로운 발전일 뿐 아니라, 더욱 효과적인 약물개발의 가능성을 예견할 수 있게 하였다. 그러나 이들 약물 역시 말초에서는 muscarine수용체 차단에 의한 부작용을 나타낼 수 있어 녹내장, 전립선 비대증, 축노 등의 환자에게는 그 사용의 제한을 받으므로 앞으로 H₁수용체에 대한 선택성이 큰, 즉 상용량에서는 muscarine수용체에 대한 작용이 없으면서 H₁수용체를 차단하는 약물개발이 필요하다.

본 연구에서는 한방 또는 민간에서 알레르기 및 알레르기 관련질환의 치료제로 사용되는 것으로 예상되는 식물들을 선정하여 이들 식물추출물의 H₁수용체 차단작용 여부를 [³H]mepyramine결합실험과 기능적 실험으로 검색하고 이중 H₁수용체 차단작용이 상대적으로 강하다고 추정되는 식물추출물을 선정하여 이들 추출물이 histamine에 의한 혈관

* To whom correspondence should be addressed.

투과성 증가와 같은 반응을 억제하는 지를 검토함으로써, H₁수용체 차단제로서의 개발 가능성에 대한 기초 자료를 얻고자 하였다.

실험방법

실험동물 및 시약

실험동물은 외관상 건강한 웅성 기니픽(Hartley, 350~550 g)과 흰쥐(Sprague-Dawley, 180~250 g)를 한국 Life Science로부터 구입, 사용하였다.

[³H]mepyramine과 (-)[³H]quinuclidinyl benzilate([³H]QNB)는 New England Nuclear(DuPont)사로부터, atropine sulfate, 1,4-bis[2-(5-phenyloxazolyl)]benzene(POPOP), carbamylcholine(carbachol) chloride, 2,5-diphenyloxazole(PPO), Evans blue, histamine hydrochloride, 5-hydroxytryptamine creatinine sulfate complex(serotonin), triprolidine hydrochloride는 Sigma사로 부터, Triton X-100은 Fluka사로부터 구입, 사용하였고 이외의 완충액과 영양액 제조에 필요한 모든 시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

뇌 homogenate의 제조

기니픽을 단두 도살한 후 뇌 전체를 적출하고 뇌 무게의 20배가 되는 50 mM Na/K phosphate buffer(37.8 mM Na₂HPO₄ + 12.2 mM KH₂PO₄, pH 7.5) 중에 넣어 Ultra-Turrax (IKA, T25)를 사용하여 13,500 rpm으로 15초 동안 3번 균질화하였다. 이 homogenate를 55,000 g에서 10분 동안 2회 원심분리하고 pellet에 뇌 무게의 10배 용적의 50 mM phosphate buffer를 가하여 motor-driven glass-teflon pestle로 균질화(140 V, 80%max)한 다음 직접 또는 -70°C에 저장하였다가 결합실험에 사용하였다.

단백질 농도 측정

분리한 homogenate의 단백질 농도는 bovine serum albumin 용액을 표준용액으로 하여 Lowry 등의 방법(1951)에 의하여 측정하였다.

생약 추출물의 제조

가래나무 뿌리를 제외한 대상 식물들은 대구시 약령시에 서 구입하였으며, 가래나무 뿌리는 강원도 창평군 산악지대에서 채집하여, 상온에서 2주간 건조한 후 시료로 사용하였다. 각 식물 500 g을 methanol(1 l, 2회)로 24시간 환류 추출하고 추출액을 감압하에 증발건조하여 각 식물의 methanol extract를 얻었다. 이들 중 팔루근, 마치현, 상백피, 오수유, 황금의 methanol extract는 각각 증류수(500 ml)에 진탕하여 현탁액으로 한 후, n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol의 순으로 추출하였으며(500 ml, 2회) 각 추출액과 남은 수용액을 따로 증발건조시켜 용매분획으로 하였다.

[³H]Mepyramine 및 [³H]QNB 결합실험

방사능표지약물 결합실험은 여과법(Wallick과 Schwartz,

1974)에 의하였다. 즉 50 mM Na/K phosphate buffer 중에 5 nM [³H]mepyramine 또는 100 pM [³H]QNB를 가하고 homogenate 단백질 1 mg, 또는 50 µg을 가하여 최종 용적이 각각 0.5 ml와 2 ml 되게 한 다음 [³H]mepyramine 결합 실험의 경우 30°C에서 60분간, [³H]QNB결합실험의 경우 37°C에서 150분간 반응시켰다. 결합반응은 각 tube에 5 ml의 빙냉의 50 mM phosphate buffer를 가하여 종료시키고 즉시 GF/B glass fiber filter상에서 흡입여과하였으며 filter를 빙냉의 50 mM phosphate buffer 5 ml로 3번 세척하였다. 세척한 filter를 scintillation vial에 넣고 광원하에서 2시간 건조한 다음 여기에 8 ml의 scintillation액(PPO : 6 g, POPOP : 0.225 g, Triton X-100 : 500 g, toluene : 1 l)을 가하여 12시간 이상 방치한 후 liquid scintillation counter로 그 방사능을 측정하였다. H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine의 특이결합은 상기 반응액 중에 2 µM triprolidine을 가하지 않았을 때의 전체결합에서 2 µM triprolidine을 가하였을 때의 비특이결합을 뺀 값으로 하였으며, muscarine수용체에 대한 [³H]QNB의 특이결합은 전체결합에서 10 µM atropine 존재하에서 측정되는 비특이결합을 뺀 값으로 하였다.

식물추출물의 영향을 보는 실험에서는 상기 반응액 중에 식물추출물과 방사능표지약물을 가하고 10분 동안 preincubation한 후 homogenate 단백질을 가하여 반응시켰다.

[³H]Mepyramine 및 [³H]QNB포화결합실험

50 mM Na/K phosphate buffer(pH 7.5)를 함유하는 용액 중에 단백질 1 mg 및 여러 농도의 [³H]mepyramine를 가하여 총 용적이 0.5 ml가 되게 하고 30°C에서 60분 동안 반응시킨 후 흡입여과, 세척 및 방사능을 측정하여 [³H]mepyramine 각 농도에서의 [³H]mepyramine결합을 산출하였다. [³H]QNB의 경우 단백질 50 µg을 사용하고 총 용적이 2 ml가 되게 하여, 37°C에서 150분간 반응시켰다. [³H]mepyramine 및 [³H]QNB결합의 affinity(K_i)와 결합부위농도(B_{max})는 [³H]mepyramine 및 [³H]QNB 각 농도에서의 결합(B)을 $B = -K_D \cdot B/F + B_{max}(F : [^3H]mepyramine \text{ 또는 } [^3H]QNB \text{의 free concentration})$ 에 적용시켜 Scatchard plot(Scatchard, 1949)하여 구하였고 [³H]mepyramine과 [³H]QNB의 Hill coefficient(nH)는 포화결합실험 성적을 $-\log[Y/(1-Y)] = n \log[F] - \log K_D (Y = B/B_{max}, n = \text{Hill coefficient})$ 에 적용시킨 다음 각 점을 잇는 회귀선의 기울기로부터 구하였다.

Histamine과 carbachol의 회장수축작용 관찰

기니픽 후두부를 강타하여 치사케 한 후 복부를 절개, 회장을 적출하고 조직의 손상을 피하면서 장내용물을 Tyrode 영양액(137 mM NaCl, 2.68 mM KCl, 1.84 mM CaCl₂, 1.05 mM MgSO₄, 11.9 mM NaHCO₃, 0.42 mM KH₂PO₄, 5 mM glucose, pH 7.8)으로 충분히 세척한 다음 약 1.5 cm의 절편을 만들고 이를 15 ml의 Tyrode액이 든 bath내에 현수, Grass FT-03 force transducer에 연결하여 1 g tension하에서

그 운동을 polygraph(Grass Model 7E)상에 기록하였다. Bath내의 영양액의 온도는 37°C로 유지하고 계속 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 gas를 공급하였다.

회장절편을 bath내에 현수하고 1시간 이상 기다려 회장 운동이 일정함을 관찰한 다음 미리 영양액에 용해, 제조한 histamine(3×10^{-7} M) 혹은 carbachol(5×10^{-8} M)을 약 20분 간격으로 가하여 동일 반응(10% 이하의 variation)을 일으키는 지 관찰한 후 최저 반응을 일으키는 농도에서부터 최대 반응을 일으키는 농도까지 cumulative dose로 가하여 각 농도에서의 반응을 측정하였다. Histamine 혹은 carbachol의 최대 효과가 나타남을 본 다음 회장편을 영양액으로 충분히 세척하였으며 그 후 30분 이상 기다려 운동이 원상태로 또는 이에 가깝도록 되돌아 오를 보고 두번째 농도 증가에 따른 반응증가를 관찰하였다.

Histamine과 carbachol의 ED₅₀치

Histamine 및 carbachol의 ED₅₀치는 histamine 또는 carbachol에 의한 최대 반응을 100%로 하고 이들 약물 각 농도에서의 반응을 최대 반응의 백분율로 나타낸 다음 이를 $\log[\% \text{ response}/(100-\% \text{ response})]=\log[\text{agonist}]-\log[\text{ED}_{50}]$ 의 식에 적용하여 log-logit plot하고 각 점을 잇는 회귀선의 X 축과 만나는 점으로부터 구하였다.

Histamine 및 carbachol 효과에 미치는 식물추출물의 효과 관찰

식물추출물의 효과를 조사하고자 하는 실험에서는 대조 실험으로 효능제인 histamine 또는 carbachol의 ED₅₀ 농도에서의 반응을 관찰한 다음 표본을 세척하고 bath내에 일정 농도의 식물추출물을 가하였다. 추출물을 가하고 10분 이상 경과한 후 추출물 존재하에서 대조실험에서와 동일한 농도의 histamine 또는 carbachol을 가하여 그 반응을 관찰하고 이를 추출물로 처리하기 전의 대조반응과 비교, 평가하였다.

피부혈관투과성 실험

흰쥐 등부위의 털을 깎고 약물을 복강내로 주사한 다음 1시간 후 에테르로 마취, 등피부에 histamine(5×10^{-5} g/ml) 또는 serotonin(10^{-6} g/ml)을 각각 0.1 ml씩 주사하였다. Histamine 및 serotonin 주사 즉시 evans blue(5 mg/kg)를 함유

한 생리식염수 1 ml를 femoral vein으로 주사하고 1시간 후 femoral vein으로 공기를 주입하여 치사케 한 후 등부위에 누출된 색소량을 측정하였다. 즉 색소가 누출된 부위를 동글게 잘라 공전 시험관에 넣고 1 N KOH 1 ml를 가하여 37°C에서 하룻동안 incubation 하였으며 이 시험관에 0.6 N 인산·아세트 혼액(5:13) 9 ml를 가한 다음 진탕하고 여과하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였다(Katayama 등, 1978). 식물추출물의 효과는 식물추출물을 투여했을 때의 누출 색소량과 용매만을 투여했을 때의 대조 누출 색소량을 측정하고 식물추출물 투여에 의한 색소누출 감소정도를 대조치의 백분율로 환산, 평가하였다. 실험은 대조군과 실험군으로 나누어 시행하였으며 1군은 5마리로 하였다.

통계처리

모든 성적은 평균치 ± 표준오차로 나타내었으며, 실험적 유의성 검정은 Student's *t* test에 의하였고 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

실험결과

[³H]mepyramine 및 [³H]QNB의 평형결합

기니픽 뇌 homogenate에서 방사능표지약물 결합실험이 가능한 지를 알아보기 위하여 5 nM [³H]mepyramine 또는 100 pM [³H]QNB 존재하에서 각 방사능표지약물의 평형결합실험을 시행하였다. 예비실험결과 이 조건에서 [³H]mepyramine은 약 15분에, [³H]QNB는 약 90분에 평형에 도달하였으므로 본 실험에서는 평형에 도달하는 충분한 시간인 60분 및 150분을 각각 반응시간으로 하였다. Table I에서 보는 바와 같이 mepyramine의 경우 전체결합의 약 90%가 H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine의 특이결합이었고, 2 μM triprolidine 존재하에서 측정된 비특이결합은 전체결합의 약 10%였으며, QNB의 경우 전체결합의 약 95%가 muscarine수용체에 대한 [³H]QNB의 특이결합이었고, 10 μM atropine 존재하에서 측정된 비특이결합은 약 5%에 불과하였다. 따라서 기니픽 뇌 homogenate를 이용하여 본 실험에 목적인 H₁ 및 muscarine 수용체에 대한 [³H]mepyramine과 [³H]QNB 결합실험을 수행할 수 있을 것으로 추

Table I. [³H]mepyramine and [³H]QNB equilibrium binding to guinea-pig brain homogenate

	[³ H]Mepyramine binding (fmol/mg)	% from total binding	[³ H]QNB binding (gmol/mg)	% from total binding
Total	84.2±3.1	100	712.3±28.3	100
Nonspecific	8.6±0.9	10.2	38.3± 4.2	5.4
Specific	75.6±2.6	89.8	673.9±24.3	94.6

Guinea-pig brain homogenates (1 mg for [³H]mepyramine binding and 50 μg for [³H]QNB binding) were added to the tube containing 50 mM Na/K phosphate buffer (pH 7.5) and 5 nM [³H]mepyramine or 100 pM [³H]QNB in the presence or absence of unlabeled drug in a final volume of 0.5 ml and 2 ml, respectively. Values represent the mean ± S.E.M. of three separate preparations performed in triplicate.

정하였다.

단백질 농도 변화에 따른 [³H]mepyramine 결합 변화

Fig. 1은 5 nM [³H]mepyramine을 함유하는 medium중에 여러 농도의 단백질을 가하고 주어진 조건으로 반응시킨 다음 단백질 농도 증가에 따른 [³H]mepyramine의 결합 정도를 나타낸 것으로, [³H]mepyramine결합은 단백질 1.5 mg까지는 농도 증가에 따라 정비례하여 증가하였다. 따라서, 이후 [³H]mepyramine결합실험에서는 단백질량을 1 mg으로 하였다.

[³H]mepyramine 및 [³H]QNB의 KD치

식물추출물이 뇌 homogenate의 [³H]mepyramine 및 [³H]QNB결합에 미치는 영향을 사용하는 이들 방사능표지약물의 농도에 따라 달라진다. 따라서 일정 농도의 [³H]mepyramine 또는 [³H]QNB를 선택하여 그 결합실험을 시행한 후 각 추출물에 의한 억제 정도를 상호 비교하기 위해서는 두 방사능표지약물의 수용체에 대한 affinity(KD)를 측정한다. 다음 이 affinity를 기준으로 결합강도가 유사한 적절한 농도를 선택하여야 한다. 따라서 본 실험에서는 먼저 H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine 및 muscarine수용체에 대한 [³H]QNB의 affinity를 추정하고자 두 방사능표지약물의 포화결합실험을 시행하였다.

뇌 homogenate에서 [³H]mepyramine 및 [³H]QNB특이결합은 각 방사능표지약물 농도 증가에 따라 증가되다가 [³H]mepyramine결합의 경우 약 8 nM, [³H]QNB결합의 경우 약 300 pM에서 포화되는 포화성 결합이었으며, 방사능표지약물 각 농도에서의 평형결합을 Scatchard plot 했을 때 각 점을 잇는 회귀선의 직선성이 인정되었다(Fig. 2). 즉, 기니

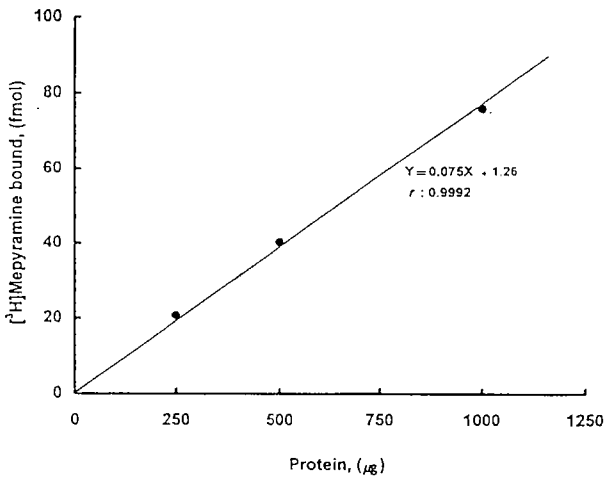


Fig. 1. Effect of protein concentration on specific [³H]mepyramine binding to guinea-pig brain homogenates. 5 nM [³H]mepyramine was incubated with various concentrations of protein in a final volume of 0.5 ml as described under "Methods" and Table I. Each point is the mean of three determinations.

픽 뇌 homogenate에는 각 방사능표지약물에 대한 단일 결합부위가 존재하였으며 H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine의 K_D치는 약 3 nM, muscarine수용체에 대한 [³H]QNB의 K_D치는 약 70 pM이었다. 또한, 본 실험결과에서 homogenate 단백질 1 mg당 H₁수용체는 약 100 fmol, muscarine수용체는 약 1200 fmol로서(Table II) 기니픽 뇌의 muscarine수용체에 대한 H₁수용체의 분포율은 약 8%였다.

각 식물 methanol추출물이 [³H]mepyramine 평형결합에 미치는 영향

각 식물의 methanol추출물이 H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine결합에 미치는 영향을 조사하고자 반응액 0.5 ml 중에 추출물 250 µg을 가하고 [³H]mepyramine(5 nM)평형결합실험을 시행하였다. 본 실험에서 물에 가용성인 것은 50 mM phosphate buffer(pH 7.5)에 용해하였고, 지용성인 것은 dimethylsulfoxide(DMSO)에 용해하여 반응액 중의 DMSO로서의 최종 농도가 2% 이하가 되도록 하였으며, 이 경우

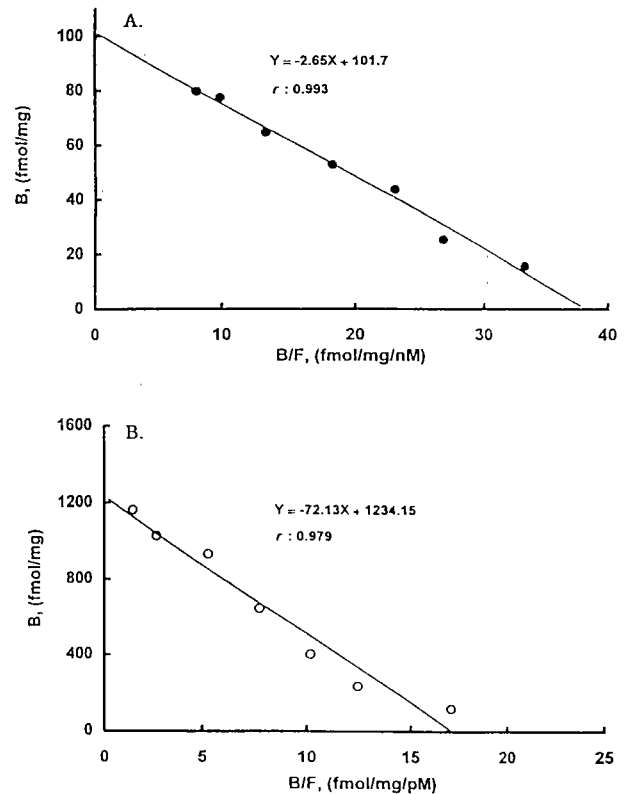


Fig. 2. Scatchard plot of [³H]mepyramine (A) and [³H]QNB (B) saturation binding data. Homogenates ([³H]mepyramine binding: 1 mg, [³H]QNB binding: 0.05 mg) were incubated with various concentrations of [³H]mepyramine for 60 min at 30°C in a final volume of 0.5 ml(A), or with various concentrations of [³H]QNB for 150 min at 37°C in a final volume of 2 ml(B). Bound radioligand (B) was plotted as a function of bound radioligand(B)/free radioligand(F). Each point represents the mean of three preparations.

Table II. Binding parameters of [³H]mepyramine and [³H]QNB to guinea-pig brain homogenate

	K _D (nM)	B _{max} (fmol/mg)	nH
[³ H]Mepyramine	2.650±0.320	101.70± 20.5	1.01±0.01
[³ H]QNB	0.072±0.008	1234.15±159.7	1.08±0.05

K_D and B_{max} were calculated from Scatchard analysis. Hill coefficient (nH) was taken as the slope of the regression line of the Hill plots. Values are the mean±S.E.M. of three preparations.

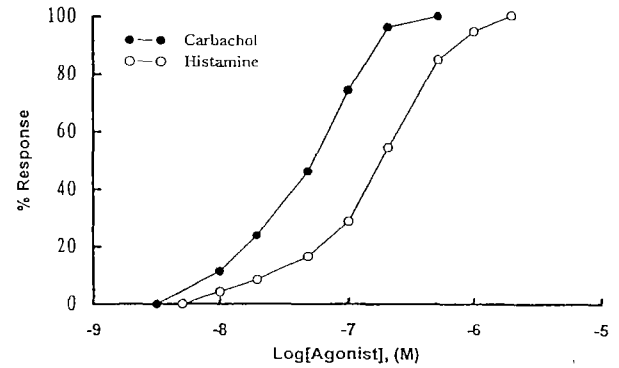
Table III. Effect of methanol extracts on [³H]mepyramine binding to guinea-pig brain homogenates

Medicinal plant	% Inhibition
Juglans radix (가래)	IMS
Glycyrrhizae radix (감초)	IMS
Trichosanthis radix (팔루근)	NS
Platycodi radix (길경)	NS
Aloe (노회)	NS
Portulacae herba (마치현)	31.2±3.0
Saussureae radix (목향)	NS
Aconiti tuber (부자)	16.2±2.2
Atractylodis Rhizoma alba (백출)	NS
Mori cortex radicis (상백피)	IMS
Bupleuri radix (시호)	NS
Evodiae fructus (오수유)	49.1±2.6
Achyranthis radix (우슬)	NS
Paeoniae radix (작약)	NS
Ponciri fructus (지각)	16.8±6.1
Ponciri fructus (지실)	22.9±1.7
Taraxaci herba cum radix (포공영)	15.8±4.5
Scutellariae radix (황금)	IMS

Homogenates (1 mg) were incubated with 5 nM of [³H]mepyramine and 250 µg of extract for 60 min at 30°C in a final volume of 0.5 ml. Other assay conditions were as described under "Method". IMS: Impossible to measure specific binding. NS: Not significant inhibition. Control equilibrium binding of [³H]mepyramine was 75.6±2.6 fmol/mg protein from three different preparations.

DMSO만의 대조실험을 실시하였다.

Table III은 이 결과를 요약한 것으로 마치현과 오수유 methanol추출물에서 30~50%의 비교적 강한 [³H]mepyramine결합 억제제를 보였고, 부자, 지각, 지실 및 포공영은 그 작용이 아주 약하였으며 팔루근, 길경, 노회, 목향, 백출, 시호, 우슬 및 작약의 경우 이 농도에서 아무런 영향을 미치지 못하였다. 한편, 가래, 감초, 상백피 및 황금의 경우 methanol추출물 존재하에서 측정되는 방사능이 대조치보다 약 10~20배 높았으며 이러한 높은 방사능이 2 µM triprolidine에 의해서도 억제되지 않아 이들 분획 존재하에서는 H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine특이결합 측정이 불가능하였다.

**Fig. 3.** Dose-response curves of carbachol (●) and histamine (○) in the guinea-pig ileum.

Responses were expressed as a percentage of the maximum contraction elicited by carbachol or histamine. Each point is the mean response of twelve to eighteen experiments.

적출회장에서 histamine 및 carbachol의 ED₅₀치

Methanol추출물 중 [³H]mepyramine결합실험으로 H₁수용체에 대한 영향을 평가할 수 없는 추출물이 있었으므로 적출회장편에서 이들 추출물이 histamine과 carbachol의 수축 반응에 미치는 영향을 조사하고자 하였으며 아울러 [³H]mepyramine결합실험이 가능한 추출물에 대해서도 그 결과를 기능적 실험결과와 비교하고자 하였다. 본 실험에서도 동일한 작용강도의 histamine과 carbachol을 사용하기 위하여 먼저 histamine과 carbachol의 용량-반응곡선으로부터 이들 약물의 ED₅₀치를 추정하였다. 대조실험으로 bath내에 회장편을 현수하고 30~60분 기다린 후 histamine 또는 carbachol을 누적용량으로 bath내에 가하면서 각 농도에서의 효과를 관찰하였다. Fig. 3은 histamine 및 carbachol의 농도 증가에 따른 회장수축력 증가를 각 효능제에 의한 최대 반응의 백분율로 환산하여 용량-반응곡선으로 도시한 것으로 histamine의 경우 20 nM에서부터 반응을 보이기 시작하여 2 µM에서 최대 반응을 나타내었으며, carbachol의 경우 수축력 증가를 나타내는 농도는 10 nM, 최대 반응을 나타내는 농도는 500 nM이었다. 이와 같이 histamine 및 carbachol의 회장 수축력 증가작용은 농도의존적이었으며, 이 용량-반응곡선과 이들 약물 각 농도에서의 반응 백분율을 log-logit plot 하여 구한 histamine과 carbachol의 ED₅₀치는 약 285 nM과 53 nM이었다(Table IV).

각 식물 methanol추출물 및 용매분획이 histamine의 회장수축반응에 미치는 영향

Histamine(3×10⁻⁷ M)의 대조반응이 일정함을 확인한 다음 각 생약추출물 100 µg/ml을 bath내에 가하고 10분 후 동일 농도의 histamine반응을 조사하여 대조군과 비교하였던 바 18종의 생약 중 팔루근, 상백피, 오수유, 포공영 및 황금에서 상당한 histamine반응 억제작용을 보였다(Table V). 따라서 이들 methanol추출물을 다시 용매 추출하여 각 분획

Table IV. ED₅₀ values of histamine and carbachol in the guinea-pig ileum

Agonist	n	ED ₅₀ (nM)
Histamine	12	285.3±41.8
Carbachol	18	53.4± 3.7

ED₅₀ value was calculated graphically from a plot of log concentrations vs percentage of the maximum response produced by each agonist in individual experiment. Data are shown as mean±standard error of the mean from the indicated numbers of experiments (n).

Table V. Effect of methanol extracts on histamine-induced contraction in guinea-pig ileum

Medicinal plant	% Inhibition
Juglans radix	NS
Glycyrrhizae radix	NS
Trichosanthis radix	53.9±11.9
Platycodi radix	NS
Aloe	NS
Portulacae herba	NS
Saussureae radix	NS
Aconiti tuber	NS
Atractylodis Rhizoma alba	NS
Mori cortex radicis	38.5±3.8
Bupleuri radix	10.9±5.9
Evodiae fructus	72.6±7.3
Achyranthis radix	NS
Paeoniae radix	NS
Ponciri fructus (1)	NS
Ponciri fructus (2)	NS
Taraxaci herba cum radix	53.9±11.9
Scutellariae radix	43.0± 3.0

The contraction responses of histamine in the absence or presence of 10 µg/ml of methanol extract were obtained by adding histamine 3×10⁻⁷ M. Methanol extract was left in contact with the ileum for 10 min before adding histamine. The inhibitory effects of methanol extract were expressed as the percentage inhibition of control response to histamine. NS: Not significant inhibition. All data represent the mean±S.E.M. of three separate preparations.

50 µg/ml 존재하에서 histamine(3×10⁻⁷ M) 및 carbachol(5×10⁻⁸ M)의 수축반응에 미치는 영향을 비교, 조사하였다. Table VI에서 보는 바와같이 상백피의 경우 hexane, BuOH, EtOAc 및 CHCl₃분획에서 정도의 차이는 있었으나 histamine과 carbachol반응을 억제하였으며 수층은 오히려 효능제로 작용하였다. 특히 hexane과 EtOAc분획은 histamine 반응 억제작용이 carbachol반응 억제작용보다 3~4배 더 강하였다. 오수유의 hexane분획에서는 histamine반응 억제작용이 carbachol반응 억제작용보다 2배 강하게 나타났으나 BuOH 및 CHCl₃분획은 효능제로 작용하였다. 한편, 황금의

Table VI. Effect of several solvent fractions on histamine and carbacholinduced contraction of guinea-pig ileum

Medicinal plant	Fraction	% Inhibition	
		Histamine	carbachol
Trichosanthis radix	Hexane	33.3±5.1	12.3±4.2
	BuOH	34.2±4.8	13.5±3.4
	EtOAc	50.7±6.2	18.2±4.2
	CHCl ₃	12.5±4.4	NS
	H ₂ O	NS	NS
Portulacae herba	Hexane	NS	NS
	BuOH	NS	NS
	EtOAc	agonist	
	H ₂ O	NS	NS
Mori cortex radicis	Hexane	59.4±5.8	13.1±4.1
	BuOH	24.0±7.7	10.2±3.3
	EtOAc	88.9±9.8	24.3±5.2
	CHCl ₃	75.2±8.3	37.5±6.1
	H ₂ O	agonist	
Evodiae fructus	Hexane	57.7±5.5	27.2±8.9
	BuOH	agonist	
	EtOAc	29.9±4.2	15.8±2.0
	CHCl ₃	agonist	
Scutellariae radix	H ₂ O	NS	NS
	Hexane	38.6±7.0	49.9±2.2
	BuOH	NS	NS
	EtOAc	65.9±8.3	70.8±5.1
	CHCl ₃	74.2±8.4	75.4±3.9
H ₂ O	NS	NS	

The inhibitory effects of each fraction against histamine (3×10⁻⁷ M) or carbachol (5×10⁻⁸ M) were examined in the presence of 50 µg/ml of each fraction. All data represent the mean±S.E.M. of three different preparations.

hexane, EtOAc 및 CHCl₃분획은 histamine의 작용 뿐 아니라 carbachol의 작용도 거의 유사한 강도로 억제하였고, 마치현 EtOAc분획은 그 자체가 효능제로 작용하였다.

각 용매분획에 의한 [³H]mepyramine 및 [³H]QNB결합억제 전술한 바의 식물추출물에 의한 [³H]mepyramine결합 억제제가 용량 의존적인 것인지 또 이러한 작용이 H₁수용체에 대하여 선택적인 것인지를 확인하기 위하여 추출물의 용량에 따른 [³H]mepyramine결합 억제정도를 조사하고 이를 [³H]QNB결합에 미치는 영향과 비교하였다. 본 실험에서는 muscarine수용체에 대한 [³H]QNB결합 강도를 5 nM [³H]mepyramine을 사용했을 때의 H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine결합 강도와 유사하게 하기 위하여 [³H]mepyramine과 [³H]QNB의 농도를 각각 5 nM과 100 pM로 하였다.

Table VII에서 보는 바와 같이, 팔루근과 상백피의 hexane분획, 마치현의 hexane 및 EtOAc분획과 오수유의 hexane 및 CHCl₃분획에서 [³H]mepyramine결합이 비교적 강하게 억제되었으나, [³H]QNB결합은 아무런 변화가 없어 이

들 분획이 H₁수용체에 대한 상당한 선택성을 가짐을 추정할 수 있었다. 한편, 상백피와 황금의 EtOAc와 CHCl₃분획 존재하에서는 전술한 바와 같은 높은 비특이방사능으로 인

Table VII. Effect of several solvent fractions on [³H]mepyramine and [³H]QNB binding to guinea-pig brain homogenates

Medicinal plant	Fraction	% Inhibition	
		[³ H]mepyramine binding	[³ H]QNB binding
Trichosanthis radix	Hexane	28.5±4.5	15.4±2.0
	BuOH	NS	-
	EtOAc	IMS	4.4±2.2
	CHCl ₃	19.8±0.3	-
Portulacae herba	Hexane	44.3±2.2	22.7±2.1
	BuOH	9.8±2.0	-
	EtOAc	44.3±2.7	18.1±1.5
	H ₂ O	NS	-
Mori cortex radidis	Hexane	51.2±2.0	4.1±2.0
	BuOH	IMS	-
	EtOAc	IMS	8.4±1.8
	CHCl ₃	IMS	NS
	H ₂ O	NS	-
Evodiae fructus	Hexane	57.7±2.5	11.2±2.7
	BuOH	IMS	48.5±4.3
	EtOAc	IMS	9.1±1.9
	CHCl ₃	41.8±2.2	24.9±1.3
	H ₂ O	NS	NS
Scutellariae radix	Hexane	3.7±1.4	-
	BuOH	2.9±1.9	-
	EtOAc	IMS	38.3±2.9
	CHCl ₃	IMS	30.0±1.0
	H ₂ O	NS	-

Assay conditions were as described under Table III and "Methods". IMS: Impossible to measure specific binding. NS: Not significant inhibition. -: Binding assays were not done. All data represent the mean±S.E.M. of three different preparations.

하여 [³H]mepyramine결합실험이 불가능하였다. 본 실험에서 [³H]mepyramine 결합실험이 가능하였던 분획의 용량에 따른 [³H]mepyramine결합 억제력을 비교하였던 바 Table VIII에서 보는 바와 같이 상백피의 hexane분획, 마치현의 hexane과 EtOAc분획, 및 오수유의 hexane 및 CHCl₃분획은 농도의존적으로 [³H]mepyramine결합을 억제하였다. 그러나 팔루근 hexane분획의 경우 고용량(250 µg)에서만 [³H]mepyramine결합 억제작용을 보였고 그 작용 역시 미약하

Table VIII. Concentration-dependent inhibition of [³H]mepyramine binding to guinea-pig brain homogenates by several solvent fractions

Medicinal plant	Fraction	Dose (µg)	% Inhibition	
Trichosanthis radix	Hexane	250	28.5±4.5	
		100	17.8±3.5	
		50	NS	
Portulacae herba	Hexane	250	44.3±2.2	
		100	14.9±1.0	
		50	NS	
	EtOAc	250	44.3±2.7	
		100	29.8±2.9	
Mori cortex radidis	Hexane	250	51.2±2.0	
		100	26.3±2.2	
		50	9.5±1.3	
	Evodiae fructus	Hexane	250	57.7±2.5
			100	20.6±2.6
Scutellariae radix	CHCl ₃	250	41.8±2.2	
		100	27.7±6.4	
		50	13.4±2.5	

Brain homogenates (1 mg) were incubated with 5 mM of [³H]mepyramine in the presence or absence of an indicated dose of each fraction in a final volume of 0.5 ml. NS: Not significant inhibition. All data represent the mean±S.E.M. of three different preparations.

Table IX. Effect of solvent fractions on the increase of vascular permeability induced by histamine and serotonin in rat dorsal skin

Drug	Dose mg/kg)	N	Histamine		Serotonin	
			Amount of dye (µg/g tissue)	Inhibition (%)	Amount of dye (µg/g tissue)	Inhibition (%)
Control	-	5	19.1±4.8		29.5±4.3	
T.R. (Hexane)	100	5	16.6±3.5	13.1± 6.2	25.3±2.9	14.2±6.8
M.C.R. (Hexane)	100	5	7.9±2.8	58.6± 8.1*	25.2±9.9	14.6±7.2
E.F. (Hexane)	100	5	3.9±1.1	79.6±10.8**	24.3±7.7	17.6±7.5
S.R. (EtOAc)	100	5	7.4±1.9	61.4± 9.9**	10.2±2.6	65.4±8.8**
Ketotifen	0.1	5	2.9±1.0	84.8± 4.2**	23.9±3.9	19.0±5.9*

T.R.: Trichosanthis radix. M.C.R.: Mori cortex radidis. E.F.: Evodiae fructus. S.R.: Scutellariae radix. Histamine (5 µg) or serotonin (0.1 µg) was injected intradermally into rat dorsal skin in a final volume of 0.1 ml and then Evans blue (5 mg/250 g) injected immediately into femoral vein in a final volume of 1.0 ml. Each drug was administered intraperitoneally 1 hour before histamine or serotonin injection. *p<0.05, **p<0.01.

였다.

각 용매분획이 histamine과 serotonin의 혈관투과성 증가 작용에 미치는 영향

Histamine과 serotonin은 흰쥐 등피부의 혈관투과성을 현저히 증가시켰으며 오수유 및 상백피 hexane분획의 복강투여(100 mg/kg)에 의하여 histamine에 의한 투과성 항진은 60~80% 억제되었으나 serotonin에 의한 투과성 항진은 거의 영향을 받지 않았다. 한편, 팔루근 hexane분획은 histamine과 serotonin의 작용 모두를 억제하지 못한 반면, 황금의 EtOAc분획은 histamine과 serotonin의 작용을 다같이 약 60% 억제하였고, 본 실험에서 대조약물로 사용한 ketotifen(0.1 mg/kg)의 경우 histamine작용을 약 85%, serotonin작용을 약 20% 억제하였다(Table IX).

고 찰

식물추출물의 항histamine작용 여부를 방사능표지약물 결합실험, 적출회장편을 이용한 기능적실험 및 피부혈관투과성 실험으로 검토하여 상백피의 hexane과 EtOAc분획 및 오수유의 hexane분획이 상당한 H₁수용체 차단작용을 가짐을 알았다.

항histamine제는 주로 알레르기 질환의 예방 및 치료에 응용되고 있는 약물로서, 이들 약물들은 histamine의 H₁, H₂ 및 H₃수용체 중 H₁수용체에 대한 선택적 길항작용을 나타내므로(Douglas, 1985; Hill, 1990) 새로운 항histamine제의 개발과정에서는 후보물질의 H₁수용체 차단작용 여부의 검색이 필연적이다. 근래 H₁수용체에 선택적으로 결합하는 [³H]mepyramine, [³H]methyldiphenhydramine, [125I]iodobolpyramine과 같은 방사능표지약물이 소개됨으로써(Watson과 Arkinstall, 1994) H₁수용체와 이에 결합하는 약물과의 상호작용에 관한 보다 직접적인 정보를 얻을 수 있게 되었으며 현재 시판되고 있는 제 2세대 항histamine제들의 개발과정에서도 그 효과분석을 더욱 용이하고 신속하게 할 수 있게 하였다. 특히 [³H]mepyramine은 H₁수용체의 조직 및 종에 따른 분포차이와 H₁수용체에 결합하거나 결합할 것으로 예상되는 약물의 효력평가에 널리 이용되어 왔다(Chang 등, 1979; Hill과 Young, 1981; Laduron 등, 1982; Poizot 등, 1986). 본 실험에서도 기니픽 뇌 homogenate의 [³H]mepyramine결합이 선택적, 가역적 및 포화성이었고, H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine의 K_D치가 약 3 nM로서 이미 보고된(Tran 등, 1978; Poizot 등, 1986) [³H]mepyramine의 결합성질과 유사하였다. 따라서 각 식물분획의 H₁수용체에 대한 작용은 먼저 여러 가지 식물분획이 기니픽 뇌 homogenate의 [³H]mepyramine결합을 억제하는지의 여부로 평가하고자 하였다.

본 실험에 사용한 18종 식물의 메탄올추출물 중 마치현

과 오수유 메탄올 추출물에서 상당한 [³H]mepyramine결합 억제를 보였다. 그러나 가래, 감초, 상백피 및 황금 메탄올 추출물 존재하에서는 이들 추출물을 가하지 않았을 때의 대조 방사능보다 그 방사능이 훨씬 높았고 이러한 높은 방사능은 비특이결합을 측정하기 위하여 사용한 2 μM triprolidine 존재하에서도 그대로 나타났다. 이는 이들 추출물이 [³H]mepyramine의 필터(filter)결합을 유도하거나 homogenate 단백질에 [³H]mepyramine을 비특이적으로 결합 또는 부착시킬 가능성을 시사하므로 [³H]mepyramine결합 실험으로는 이들 추출물의 H₁수용체에 대한 작용여부의 평가가 불가능한 것으로 판단하였다.

특정 수용체에 대한 방사능표지약물의 결합은 그 수용체에 작용하는 길항제 뿐만 아니라 효능제에 의해서도 억제되므로 전술한 마치현과 오수유 메탄올 추출물이 H₁수용체에 효능제로 작용하는지 또는 길항제로 작용하는지를 조사하고 또 [³H]mepyramine결합실험이 불가능하였던 메탄올분획의 H₁수용체에 대한 작용여부를 알아보기 위해서는 기능적 실험이 불가피하였다. 본 실험에서 오수유 메탄올 추출물은 histamine에 의한 기니픽 회장편의 수축반응을 현저히 억제하는데 반해, 마치현 메탄올 추출물은 histamine 반응에 전혀 영향을 미치지 않았을 뿐 아니라 오히려 그 자체가 회장편을 수축시켰음은 오수유 추출물의 경우 길항제로, 마치현 추출물의 경우 효능제로 작용하였음을 시사한다. 또한, 본 기능적 실험을 통하여 [³H]mepyramine결합 실험이 불가능했던 상백피와 황금추출물에서 강한 histamine 반응 억제작용이 있음을 알았고, 특히 [³H]mepyramine결합을 전혀 억제하지 못했던 팔루근 및 포공영 추출물이 histamine의 수축반응을 현저히 억제하였음은 이들 추출물의 경우 H₁수용체에 직접 작용하지 않고 수용체 흥분으로 유도되는 신호전달체계(signal transduction system)의 활성을 억제하는 것으로 생각된다.

일반적으로 항histamine제 사용시 나타나는 구갈, 축뇨, 기도분비억제 등(Carruthers 등, 1978; Ambre 등, 1991)의 부작용은 이들 약물의 muscarine수용체 차단작용에 기인하는 것으로 약물선정시는 가능한 한 H₁수용체에 대한 선택성이 큰 약물을 선택하여야 한다. 따라서 본 검색과정에서도 전술의 실험을 통하여 선정된 팔루근, 마치현, 상백피, 오수유 및 황금 메탄올추출물을 용매분획한 후 각 분획의 H₁수용체와 muscarine수용체에 대한 작용을 비교, 분석하였다. 본 실험에서와 같이 각 수용체에 대한 효능제가 다르고 또한 각 수용체에 선택적으로 결합하는 방사능표지약물을 각각 다른 조건에서 비교해야 하는 경우 그 결과를 바르게 평가하기 위해서는 사용하는 지표약물의 농도를 동일한 작용강도를 갖는 농도로 표준화시켜야 한다. 따라서, 회장편을 이용하는 기능적 실험에서는 histamine과 carbachol의 ED₅₀치를 추정하고 이 ED₅₀치를 각 효능제의 농도로 하였

다. 또한, 본 실험에서 muscarine수용체에 결합하는 약물의 지표약물로 사용한 [³H]QNB는 muscarine수용체에 선택적으로 결합하는 약물로서 muscarine수용체의 성질 및 특정 약물의 muscarine수용체에 대한 작용을 연구하는데 널리 이용되어 왔으며(Yamamura와 Snyder, 1974; Luthin과 Wolfe, 1984; Lee와 Kim, 1994) 본 실험에서도 기니픽 뇌 homogenate에 대한 K_D치가 약 70 pM로 muscarine수용체에 대한 선택성과 친화성이 매우 크다는 것이 확인되었으므로 각 분획에 의한 [³H]mepyramine과 [³H]QNB결합 억제 정도의 직접 비교가 가능한 것으로 추정하였다. 그러나 이 경우에도 기능적 실험에서와 같이 각 분획의 농도를 같게 한다 하더라도 그 억제정도가 이들 방사능 표지약물의 사용농도에 따라 달라질 것이므로 각 표지약물의 해당 수용체에 대한 결합정도가 유사한 농도를 선택하여야 한다.

본 실험의 [³H]mepyramine포화결합실험으로 추정한 [³H]mepyramine의 K_D치(3 nM)를 적용하여 5 nM의 [³H]mepyramine을 사용했을 때 전체 H₁수용체에 대한 [³H]mepyramine결합 수용체의 백분율을 계산하면 약 60%가 되며 [³H]QNB를 이와 유사한 정도의 muscarine수용체에 결합하도록 하기 위해서는 [³H]QNB의 K_D치(70 pM)를 기준으로 볼 때 약 100 pM을 사용하여야 하므로 본 실험의 방사능표지약물 결합실험에서는 5 nM의 [³H]mepyramine과 100 pM의 [³H]QNB를 사용하여 이들 방사능표지약물결합에 미치는 각 분획의 영향을 비교, 평가하였다. 그 결과, 팔루근과 상백피의 hexane분획, 마치현의 hexane 및 EtOAc분획, 오수유의 hexane 및 CHCl₃분획이 용량의존적으로 [³H]mepyramine결합을 억제하였을 뿐 아니라, 동일 농도에서 [³H]QNB결합에는 거의 영향을 미치지 않거나 그 억제정도가 [³H]mepyramine결합억제보다 훨씬 약하였고, 특히 팔루근, 상백피 및 오수유 hexane분획의 경우 방사능표지약물 결합실험결과가 적출회장편에서의 각 효능제에 의한 수축반응의 억제양상과 유사하였음은 이들 분획이 H₁수용체에 대한 상당한 선택성이 있음을 말해주고 있다. 그러나 마치현의 EtOAc분획과 오수유의 BuOH 및 CHCl₃ 분획의 경우 그 자체가 회장편을 수축시키는 것으로 보아 이들은 길항제보다는 오히려 효능제로서 [³H]mepyramine결합을 억제한 것으로 생각되며, 마치현 hexane분획의 경우 [³H]mepyramine 결합을 억제하는 것으로 나타났으나 기능적 실험에서 histamine의 수축반응에는 아무런 영향을 미치지 않았음은 hexane분획 중에 효능제로 작용하는 EtOAc분획이 일부 혼입되어 그 길항효과가 상실되었을 가능성이 있음을 시사한다. 그러나 이 점에 관해서는 앞으로 hexane분획을 단계 분리하여 각 분획의 작용을 더욱 분석하여야 할 것으로 생각된다.

한편, 황금은 오래전부터 염증 및 알레르기 질환의 치료 목적으로 사용되어 왔으며 특히 flavonoid성분들이 항염증

작용과 항알레르기 작용이 있는 것으로 알려지고 있다(Koda 등, 1970; Kimura 등, 1981; Koda 등, 1982; Kubo 등, 1984). 본 실험에서 황금의 hexane, EtOAc 및 CHCl₃ 분획이 histamine의 회장수축작용을 비교적 강하게 억제하였음은 황금의 항알레르기 작용을 부분적으로 뒷받침해 주는 결과라 하겠으나 이들 분획의 histamine작용 억제강도가 carbachol작용 억제강도와 유사하여 H₁수용체에 대한 선택성을 인정할 수 없었다.

이상의 *in vitro* 실험에서 보여진 바와 같은 황금 용매분획의 선택성 결여와 상백피 hexane, EtOAc분획 및 오수유 hexane분획의 H₁수용체에 대한 선택적 길항작용은 흰쥐를 사용한 *in vivo* 실험에서도 나타났다. 즉, 황금 EtOAc분획은 histamine과 serotonin의 피부혈관투과성 증가작용을 거의 같은 수준으로 억제한 데 비해 상백피와 오수유 hexane분획의 경우 serotonin의 작용에는 영향을 주지 않으면서 histamine의 피부혈관투과성 증가작용을 현저하게 억제하였음은 이들 분획의 H₁수용체에 대한 선택적 길항작용을 더욱 뒷받침해 주는 결과라 할 수 있다. 따라서, 앞으로 상백피의 hexane과 EtOAc분획 및 오수유의 hexane분획으로부터 H₁수용체에 대한 선택적 길항작용이 있는 성분을 분리하여 H₁수용체 차단제로서의 개발 가능성을 추구하고 볼 필요가 있다고 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 1995년도 보건 의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참고문헌

- Adelman, D. C. and Terr, A. (1994). Allergic and immunologic disorders. In *Current medical diagnosis and treatment* (L. M. Tierney, S. J. McPhee and M. A. Apakakis, Eds.). pp. 640-663. Appleton & Lange, Norwalk Connecticut.
- Ambre, J. J., Bennett, D. R., Cranston, J. W., Dickinson, B. D., Evans, R. M., Glade, M. J., Kosman, M. E., Lampe, K. F., McCann, M. A., Pang, D. C., Proudfit, C. M., Ropoza, N. P., Ratko, T. A., Seidenfeld, J., Smith, S. J. and Weaver, R. H. (1991). Histamine and antihistamines. In *Drug Evaluations Annual 1991*. American Medical Association, pp. 1601-1604.
- Brandon, M. L. (1985). Newer non-sedating antihistamines. Will they replace older agents? *Drugs* 30(5), 377-381.
- Carruthers, S. G., Shoeman, D. W., Hignite, C. E. and Azarnoff, D. L. (1978). Correlation between plasma diphenhydramine level and sedative and antihistamine effects. *Clin. Pharmacol. Ther.* 23(4), 375-382.
- Chang, R. S. L., Tran, V. T. and Snyder, S. H. (1979). Heterogeneity of histamine H₁-receptors: Species variations in

- [³H]mepyramine binding of brain membranes. *J. Neurochem.* **32**, 1653-1663.
- Douglas, W. W. (1985). Histamine and 5-hydroxytryptamine (serotonin) and their antagonists. In, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (A. G. Gilman, L. S., Goodman, T. W. Rall and F. Murad, Eds.). pp. 605-628, Macmillan, New York.
- Hilbert, J. (1987). Pharmacokinetics and dose proportionality of loratadine. *J. Clin. Pharmacol.* **27**(9), 694-698.
- Hill, S. J. and Young, J. M. (1981). Characterization of [³H]mepyramine binding to the longitudinal muscle of guinea pig small intestine. *Mol. Pharmacol.* **19**, 379-387.
- Hill, S. J. (1990). Distribution properties and functional characteristics of three classes of histamine receptor. *Pharmacol. Rev.* **42**, 45-83.
- Katayama, S., Shionoya, H. and Ohtake, S. (1978). A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. *Microbiol. Immunol.* **22**(2), 89-101.
- Kimura, Y., Kubo, M., Tani, T., Arichi, S., Ohminami, H. and Okuda, H. (1981). Studies on *Scutellariae Radix*. III. Effects on lipid metabolism in serum, liver and fat cells of rats. *Chem. Pharm. Bull.* **29**(8), 2308-2312.
- Koda, A., Nagai, H. and Wada, H. (1970). Pharmacological actions of baicalin and baicalein. 2. On passive anaphylaxis. *Nippon. Yakurigaku. Zasshi.* **66**(2), 237-247.
- Koda, A., Nishiyori, T., Nagai, H., Matsuura, N. and Tsuchiya, H. (1982). Anti-allergic actions of traditional oriental medicine-actions against types I and IV hypersensitivity reactions. *Nippon. Yakurigaku. Zasshi.* **80**(1), 31-41.
- Kubo, M., Matsuda, H., Tanaka, M., Kimura, Y., Okuda, H., Higashino, M., Tani, T., Namba, K. and Arichi, S. (1984). Studies on *Scutellariae Radix*. VII. Anti-arthritis and anti-inflammatory actions of methanolic extract and flavonoid components from *Scutellariae Radix*. *Chem. Pharm. Bull.* **32**(7), 2724-2729.
- Laduron, P. M., Janssen, P. F. M., Gommeren, W. and Leysen, J. E. (1982). *In vitro* and *in vivo* binding characteristics of a new long-acting histamine H₁ antagonist, astemizole. *Mol. Pharmacol.* **21**, 294-300.
- Lee, S. W. and Kim, J. G. (1994). Binding profiles of oxememazine to the muscarinic receptor subtypes. *Korean J. of Pharmacology* **30**(1), 49-57.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Luthin, G. R. and Wolfe, B. B. (1984). Comparison of [³H]pirenzepine and [³H]quinuclidinyl benzilate binding to muscarinic cholinergic receptors in rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **228**(3), 648~655.
- Poizot, A., Dumez, D., Ferrandon, P., Lefournier, C., Michel, A. and Armstrong, J. M. (1986). Animal pharmacology of the selective histamine H¹-receptor antagonist tazifylline. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **36**(1), 695-702.
- Richards, D. M., Brogden, R. N., Heel, R. C., Speight, T. M. and Avery, G. S. (1984). Astemizole. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* **28**(1), 38-61.
- Scatchard, G. (1949). The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51**, 660-672.
- Sorkin, E. M. and Heel, R. C. (1985). Terfenadine. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* **29**(1), 34-56.
- Wallick, E. T. and Schwartz, A. (1974). Thermodynamics of the rate of binding of ouabain to the sodium, potassium-adenosine triphosphatase. *J. Biol. Chem.* **249**, 5141-5147.
- Watson, S. and Arkininstall, S. (1994). *The G-protein linked receptor. Facts Book*. pp. 152-158. Academic Press, San Diego.
- Yamamura, H. I. and Snyder, S. H. (1974). Muscarinic cholinergic binding in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**(5), 1725-1729.