

## 항 히스타민제의 H<sub>1</sub> 수용체와 무스카린 수용체에 대한 상대적 역가

이신웅\* · 박영주 · 이정수

영남대학교 약학대학

(Received June 14, 1993)

### Relative potency of antihistaminics for H<sub>1</sub>-and muscarinic receptors

Shin-Woong Lee\*, Young-Joo Park and Jeung-Soo Lee

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

**Abstract**—The muscarinic antagonist *l*-[benzyl-4,4'-<sup>3</sup>H]quinuclidinyl benzilate([<sup>3</sup>H]QNB) bound to a single class of muscarinic receptor with high affinity in guinea pig ileal membranes. The K<sub>D</sub> and B<sub>max</sub> values for [<sup>3</sup>H]QNB calculated from analysis of saturation isotherms were 54 pM and 156 fmol/mg, respectively. H<sub>1</sub>-blockers inhibited [<sup>3</sup>H]QNB binding to ileal membranes with K<sub>i</sub> values ranged from 0.008 μM to 1.6 μM. The pseudo-Hill coefficients of H<sub>1</sub>-blockers for inhibition of [<sup>3</sup>H]QNB binding to the ileal membranes were close to unit. The K<sub>i</sub> values for H<sub>1</sub>-blockers were similar to the K<sub>M</sub> values calculated by Schild plot of functional data obtained from inhibition of the carbachol-induced contraction in guinea-pig ileum, suggesting that binding of H<sub>1</sub>-blockers vs [<sup>3</sup>H]QNB in ileal membranes represents an interaction with a receptor of physiological relevance. The K<sub>H</sub> values of H<sub>1</sub>-blockers for H<sub>1</sub>-receptor estimated from inhibition of the histamine-induced contraction were the range of 0.15 nM to 56.5 nM. The K<sub>M</sub>/K<sub>H</sub> ratio of H<sub>1</sub>-blockers varied over a wide range of 3 to 2300. Thus, the antihistaminic potencies of H<sub>1</sub>-blockers do not correlate with their antimuscarinic potencies, which suggest that antihistamines have different antimuscarinic potencies in therapeutic blood levels causing similar antiallergic effect. Among 13 traditional antihistaminics examined in this study, drug having the highest and the lowest K<sub>M</sub>/K<sub>H</sub> ratio is triprolidine and diphenidol, respectively. The present results demonstrate that the antimuscarinic property of antihistaminics is not necessary for their antiallergic effect, and data on the affinity of antihistaminics for muscarinic and H<sub>1</sub>-receptors can be an important parameter in the selection and evaluation of these drugs.

**Keywords** □ Antihistaminics, muscarinic receptor, histamine H<sub>1</sub>-receptor, relative potency.

Histamine H<sub>1</sub>-receptor 차단제 (항 histamine제)는 histamine에 의한 평활근 수축이나 allergy반응을 억제하는 약물로서 임상에서는 주로 allergy증상의 예방 및 완화에 이용되고 있다.<sup>1-3)</sup> 그러나 이들 약물은 항 histamine작용 이외에도 부교감신경차단작용, 중추신경억제작용, 국소마취작용등이 있어 이들 약물 사용시 대부분의 경우 진정, 구갈, 기관지 분비 억제와 같은 여러가지 부작용을 나타내며,<sup>4,5)</sup> 특히 이들 약물의 부교감신경 차단작용은 멀미, Parkinson증후군 등에

서는 그 치료효과와도 관련이 있는것으로 생각되고 있으나 allergy 환자에 사용할때는 부작용이 된다.<sup>6,7)</sup>

일반적으로 효능제의 약리활성은 특정 receptor에 대한 약물의 결합능력(affinity)과 약물결합에 따른 반응으로의 전환능력(efficacy)에 의하여 결정되나 길항제의 효과는 receptor에 대한 affinity와 직접 관계되므로 약물의 흡수, 투여량, 투여회수, 반감기 등 외적요인이 유사할 경우 in vitro에서 측정되는 길항제의 receptor에 대한 affinity는 길항제의 효과를 예측할 수 있는 척도가 된다.<sup>8-10)</sup> 최근 저자들은<sup>11,12)</sup> 항 histamine제가 muscarinic receptor길항제인 [<sup>3</sup>H]

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

quinuclidinyl benzilate(QNB)의 muscarinic receptor 결합을 가역적, 경쟁적으로 억제한다는 점에서 항 histamine제의 부교감신경 차단작용은 이들 약물과 muscarinic receptor와의 직접적인 상호작용에 기인하는 것으로 추정하였으며, 이러한 muscarinic receptor에 대한 작용이 항 histamine제의 종류에 따라 상당한 차이가 있음을 알았다.

항 histamine제의 이러한 muscarinic receptor 차단 작용이 H<sub>1</sub>-receptor 차단 작용과 상관성을 갖지 않는다면 여러가지 항 histamine제의 H<sub>1</sub>-receptor와 muscarinic receptor에 대한 상대적 작용강도를 비교 검토함으로써 allergy 질환에 항 histamine제를 사용할 때 muscarinic receptor 차단 작용을 가능한 감소시키면서 H<sub>1</sub>-receptor 차단 효과가 큰 약물을 예측할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 여러가지 항 histamine제의 최장 muscarinic receptor에 대한 affinity를 [<sup>3</sup>H]QNB 결합 실험과 기능적 실험으로 측정하고, 이를 동일 장기에서 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 affinity와 비교 분석하여 각 항 histamine제의 이들 receptor에 대한 상대적 역가를 추정하고자 하였다.

### 실험방법

**실험재료 및 시약**— 재료: 실험동물로는 체중 400 g 내외의 guinea pig(Hartley)을 암수 구별없이 사용하였고, filter는 Whatman 회사의 GF/B filter를 사용하였다.

시약: [<sup>3</sup>H]Quinuclidinyl benzilate([<sup>3</sup>H]QNB, 41.6 Ci/mmol)는 Amersham International로부터, atropine sulfate, tris(hydroxymethyl)aminomethane(Tris), 1,4-bis[2-(5-phenyloxazolyl)]benzene(POPOP), 2,5-diphenyloxazole(POP), carbamylcholine(Carbamol) chloride, histamine dihydrochloride는 Sigma Chemical Co.로부터 구입, 사용하였고, 항 histamine제는 국립보건원으로부터 실험용으로 제공 받았으며, 이 외의 모든 시약은 특급 내지 일급품을 사용하였다.

**최장 homogenate 제조**— 기니픽 후두부를 강타하여 치사케 한 후 복부를 절개, 최장을 적출하고, 장 내용물을 10 mM Tris·Cl(pH 7.4)로 충분히 세척한 다음, 주위조직을 제거, 가위로 세절하였다. 여기에 장 무게의 10배가 되는 빙냉의 10 mM Tris·Cl(pH 7.4)를

가하여 blender로 15초 동안 4번 균질화 한 다음, 3,600×g에서 10분동안 2회 원심분리 하였다. 상정액을 다시 45,000×g에서 20분간 원심분리 한 다음, 분리된 pellet에 단백질 농도가 10~15 mg/ml가 되도록 소량의 10 mM Tris·Cl(pH 7.4)를 가하여 균질화 한 후 -70°C에 저장하였다가 결합실험에 사용하였다. Homogenate의 단백질 농도는 bovine serum albumin 용액을 표준액으로 하여 Lowry 등의 방법<sup>13)</sup>으로 측정하였다.

**[<sup>3</sup>H]QNB 결합실험**— [<sup>3</sup>H]QNB 결합실험은 여과법으로 하였다. 포화결합실험에서는 50 mM Tris·Cl과 10 mM MgCl<sub>2</sub>를 함유한 incubation medium(pH 7.4) 중에 여러농도(10~500 pM)의 [<sup>3</sup>H]QNB 및 단백질(0.5 mg)을 가하여 총 용적이 5 ml가 되게 한 후 37°C에서 150분간 반응시켰으며, 경쟁적 결합실험에서는 전술의 반응 medium 중에 100 pM [<sup>3</sup>H]QNB와 여러농도의 항 histamine제를 가하여 0.5 mg의 단백질과 반응시켰다. 일정시간 후 반응액을 GF/B glass fiber filter 상에서 흡입 여과하였으며 filter를 5 ml의 빙냉의 세척액(50 mM Tris·Cl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.4)으로 4회 세척한 다음 12시간 이상 광원하에서 건조시켰다. 이 filter를 8 ml의 scintillation액(PPO 6 g, POPOP 225 mg, Triton X-100 0.5 l, Toluene 1 l)이 든 vial에 넣고 12시간 방치 후 Packard liquid scintillation counter로 그 방사능을 측정하였다. 이 때 [<sup>3</sup>H]QNB의 비특이결합은 1×10<sup>-5</sup> M atropine 존재하에서 측정하였고 [<sup>3</sup>H]QNB의 muscarinic receptor에 대한 특이결합은 전체결합에서 비특이결합을 뺀 값으로 하였다.

**적출 회장 운동실험**— 적출한 회장을 조직의 손상을 피하면서 장내용물을 Tyrode 영양액(137 mM NaCl, 2.68 mM KCl, 1.84 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.05 mM MgCl<sub>2</sub>, 11.9 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.42 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 mM glucose, pH 7.4)으로 충분히 세척한 후 회장 절편을 약 2 cm의 길이로 자른 다음 이를 30 ml의 Tyrode액이 든 bath내에 현수하고 Grass FT 03 force transducer에 연결하여 1 g tension하에서 그 운동을 기록하였다. Bath내의 영양액의 온도는 37°C로 유지하고 계속 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>의 혼합 gas를 공급하였다. Bath내에 회장 절편을 현수하고 1시간 이상 기다려 회장운동이 일정함을 관찰한 다음 약 20분 간격으로 carbachol(1×10<sup>-7</sup>) 혹은 histamine(1×10<sup>-6</sup>)을 가하여 동일반

응(10%이하의 variation)을 일으키는지를 관찰한 후 약물의 효과를 측정하였다. 대조실험으로 carbachol 혹은 histamine의 농도 증가에 따른 반응증가를 두번 반복하여 dose-response가 유사할 때 일정농도의 항 histamine제를 가하여 20분 이상 기다린 후 carbachol 혹은 histamine을 cumulative dose로 가하여 대조반응과 비교하였다. Carbachol 혹은 histamine에 의한 최대반응을 100%로 하고 이들 약물 각 농도에서의 반응을 최대반응의 백분율로 나타낸 dose-response curve에서 이들 약물의 ED<sub>50</sub>치를 구하였다.

**실험성적 분석**—<sup>3</sup>H]QNB의 K<sub>D</sub>치 및 B<sub>max</sub>치는 포화결합 실험결과를 다음 식에 따라 Scatchard analysis<sup>14)</sup>하여 구하였다.  $B = -K_D \cdot B/F + B_{max}(F : [^3H]QNB \text{ free(unbound) concentration, } B : [^3H]QNB \text{ 일정 농도에서의 평형결합, } B_{max} : \text{결합부위농도})$ . <sup>3</sup>H]QNB의 Hill coefficient(nH)는  $\log[Y/(1-Y)] = nH \cdot \log[F] - \log[K_D]$  ( $Y = B/B_{max}$ ,  $F : \text{free(undound) } [^3H]QNB \text{의 농도}$ ) 식에 따라 Hill plot 하여 그 slope로부터 구하였다. 비표지약물의 K<sub>i</sub>치는 Cheng과 Prusoff의 방법<sup>15)</sup>에 따라 IC<sub>50</sub>치로부터 계산하였고 [ $K_i = IC_{50}/(1 + F/K_D)$ ], 비표지약물의 nH는  $\log[I/(100 - I)] = nH \cdot \log[D] - \log[IC_{50}]$  ( $I : [^3H]QNB \text{ 결합의 억제 percents, } D : \text{사용한 약물의 농도}$ )에 따라 산출하였다. 항 histamine제의 muscarinic receptor에 대한 pA<sub>2</sub>치(-log K<sub>M</sub>)와 histamine receptor에 대한 pA<sub>2</sub>치 (-log K<sub>H</sub>)의 추정치는 Arunlakshana와 Schild의 방법<sup>16)</sup>에 의하였다. 즉 carbachol 혹은 histamine에 의한 최대반응의 50%를 나타내는 이들 효능제의 ED<sub>50</sub>치와 특정 농도의 항 histamine제 존재 하에서의 carbachol 또는 histamine의 ED<sub>50</sub>치와의 비(DR)를 산출한 후 이를  $\log(DR - 1) = \log[D] - \log K_A$  ( $D : \text{항histamine제의 농도}$ )의 식에 따라 Schild plot하여 각 점을 잇는 회귀선의 X절편으로부터 구하였다.

**실험결과**

**회장 homogenate의 <sup>3</sup>H]QNB결합성질**—강력한 비선택성 muscarinic receptor길항제인 <sup>3</sup>H]QNB의 회장 muscarinic receptor에 대한 결합특성을 알아보기 위하여 회장 homogenate의 muscarinic receptor에

**Table 1**—The binding parameters of [<sup>3</sup>H]QNB to guinea-pig ileal membranes

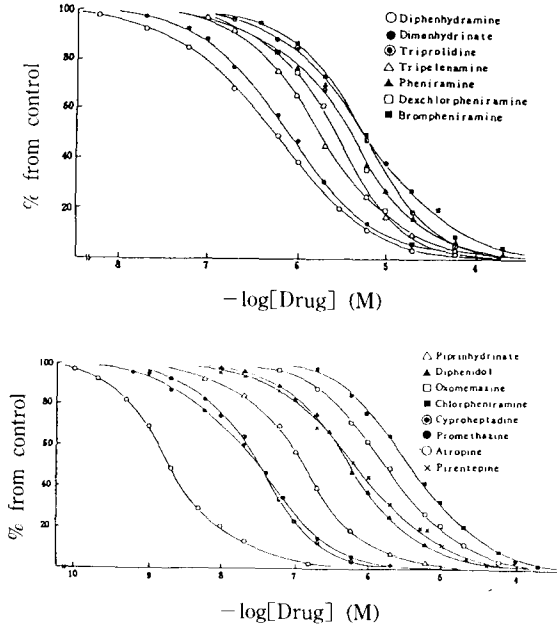
K <sub>D</sub> (pM)	B <sub>max</sub> (fmol/mg)	nH
53.5 ± 7.6	155.9 ± 13.5	1.01 ± 0.05

K<sub>D</sub> and B<sub>max</sub> were calculated from Scatchard analysis. Hill coefficient(nH) was calculated from Hill plot. Values are the mean ± SEM of five independent experiments.

대한 [<sup>3</sup>H]QNB 포화결합실험을 시행하였던 바 [<sup>3</sup>H]QNB특이결합은 [<sup>3</sup>H]QNB 500 pM 이상에서는 거의 포화되는 포화성 결합이었으나 atropine 10 μM 존재 하에서 측정된 비특이결합은 전체결합의 5% 미만이었고 [<sup>3</sup>H]QNB농도 증가에 따라 다소 증가되었다. 성적을 Scatchard분석하여 얻은 [<sup>3</sup>H]QNB의 K<sub>D</sub>치는 약 54 pM, 결합부위농도(B<sub>max</sub>)는 약 156 fmol/mg 이었다. 또 회장 homogenate에 대한 [<sup>3</sup>H]QNB의 Hill coefficient(nH)는 약 1로서 회장에는 [<sup>3</sup>H]QNB에 대하여 affinity가 같은 단일 muscarinic receptor site가 존재하는 것으로 추정되었다(Table 1).

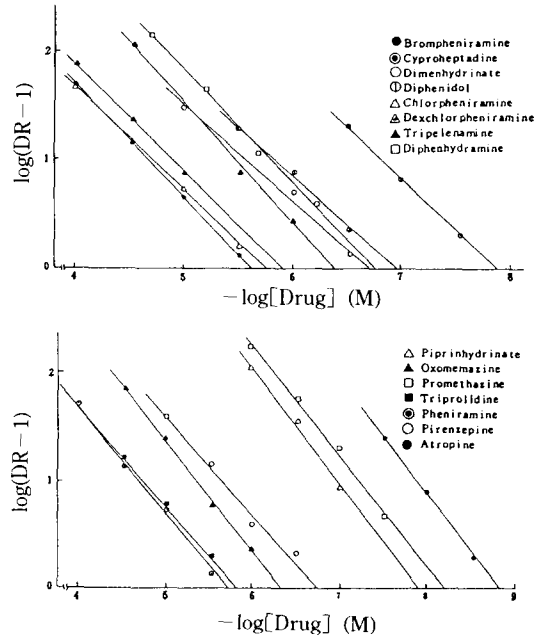
**[<sup>3</sup>H]QNB결합에 미치는 항 histamine제의 영향**—항 histamine제의 [<sup>3</sup>H]QNB결합 억제작용을 비교하고 그 결합부위에 대한 지견을 얻고자, 각 항 histamine제 여러농도 존재하에서 [<sup>3</sup>H]QNB(100 pM)와의 경쟁적 결합실험을 시행하였다. 회장 homogenate에 대한 [<sup>3</sup>H]QNB결합은 본 실험에 사용된 각 항 histamine제에 의하여 용량의존적으로 억제되었으며 그 최대 억제정도가 거의 100%로서 항 histamine제와 [<sup>3</sup>H]QNB는 회장 muscarinic receptor에 대하여 경쟁적으로 결합함을 추정할 수 있었다(Fig. 1). [<sup>3</sup>H]QNB결합을 50%억제하는 각 항 histamine제의 농도(IC<sub>50</sub>)로부터 계산된 K<sub>i</sub>치는 0.008~1.6 μM 범위로서 약물의 종류에 따라 muscarinic receptor 차단 작용에 현저한 차이가 있었으며, 이 중 특히 alkylamine유도체인 cyproheptadine(0.009 μM), piperazine유도체인 piprinhydrinate(0.04 μM), phenothiazine유도체인 promethazine(0.008 μM)이 다른 항 histamine제보다 [<sup>3</sup>H]QNB결합 억제작용이 강하였으나 [<sup>3</sup>H]QNB결합 억제에 대한 여러가지 항 histamine제의 Hill coefficient는 1에 가까웠다.

**Carbachol 효과에 미치는 항 histamine제의 영향**—Muscarinic receptor효능제인 carbachol의 회장수



**Fig. 1**—Inhibition of [<sup>3</sup>H]QNB binding to muscarinic receptor in the guinea-pig ileum by H<sub>1</sub>-blockers. Specific [<sup>3</sup>H]QNB binding to ileal membranes (0.5 mg) was carried out for 150 min with 100 pM of [<sup>3</sup>H]QNB at 37°C. Assay conditions were as described under “Methods”. Each point represents the mean of the data obtained in three separate experiments.

축력 증가작용에 미치는 여러가지 항 histamine제의 영향을 관찰하고 이를 회장에서의 muscarinic receptor 결합실험 결과와 비교 분석하였다. 본 실험에서 carbachol의 용량-반응곡선은 각 항 histamine제에 의하여 오른쪽으로 평행이동 하였으며 그 이동정도도 항 histamine제 농도 증가에 따라 커졌고, 이 결과를 Schild plot 했을때 각 점의 직선성이 인정되었을 뿐 아니라 그 slope 역시 1에 가까웠다. 즉 항 histamine제가 carbachol의 경쟁적 길항제로 작용함을 알았으므로 각 항 histamine제의 muscarinic receptor에 대한 pA<sub>2</sub>값을 추정하고 이로부터 K<sub>M</sub>치를 산출하였던 바 이 K<sub>M</sub>치는 receptor 결합실험에서 구한 K<sub>i</sub>치와 같이 항 histamine제의 종류에 따라 상당한 차이가 있었다.



**Fig. 2**—Schild plot of antagonism between carbachol and H<sub>1</sub>-blocker to isolated guinea-pig ileum. Dose ratio (DR = ED'<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>) was calculated from dose-response curve to carbachol in absence and presence of H<sub>1</sub>-blocker. The slope of regression line is not significantly different from unity, indicating competitive antagonism. The intercept on the abscissa equals the pA<sub>2</sub> values. Each point is the mean of three different preparations.

Fig. 3은 [<sup>3</sup>H]QNB와 각 항 histamine제와의 경쟁적 결합실험 성적으로부터 구한 여러가지 항 histamine제의 K<sub>i</sub>치와 기능적 실험에서 구한 K<sub>M</sub>치와의 상관성을 나타낸 것으로 각 점들 간에는 유의한 상관성이 있었으며 (γ : 0.983) 회귀선의 기울기도 약 1이었다. 따라서 [<sup>3</sup>H]QNB 결합실험으로 추정된 항 histamine제의 K<sub>i</sub>치를 약리학적으로 분류되는 muscarinic receptor에 대한 affinity(K<sub>M</sub>)로 간주할 수 있을 것으로 생각되었다.

**Histamine 효과에 미치는 항 histamine제의 영향**  
—여러가지 항 histamine제의 회장 histamine H<sub>1</sub>-receptor에 대한 affinity를 측정하여 전술에서의 muscarinic receptor에 대한 affinity와 비교하고자 histamine

**Table II**—Inhibition of [<sup>3</sup>H]QNB binding and carbachol-induced contraction to guinea-pig ileum by H<sub>1</sub>-blockers

	Ki(μM) <sup>a)</sup>	nH <sup>b)</sup>	K <sub>M</sub> (μM) <sup>c)</sup>	Schild's slope	Relative <sup>d)</sup> potency
<b>Alkylamines</b>					
Brompheniramine	1.67 ± 0.31	0.954 ± 0.028	2.32 ± 0.79	1.027 ± 0.121	0.082
Chlorpheniramine	1.44 ± 0.15	0.956 ± 0.029	1.69 ± 0.18	0.924 ± 0.105	0.112
Cyproheptadine	0.009 ± 0.0008	1.011 ± 0.069	0.013 ± 0.002	0.814 ± 0.081	14.615
Dexchlorpheniramine	0.85 ± 0.07	1.163 ± 0.021	0.62 ± 0.29	1.100 ± 0.315	0.306
Pheniramine	1.22 ± 0.11	0.918 ± 0.030	2.03 ± 0.12	0.954 ± 0.103	0.094
Tripolidine	1.60 ± 0.13	0.989 ± 0.023	1.50 ± 0.10	0.911 ± 0.078	0.127
<b>Ethanolamines</b>					
Dimenhydrinate	0.27 ± 0.02	1.090 ± 0.031	0.25 ± 0.06	0.897 ± 0.116	0.76
Diphenhydramine	0.19 ± 0.02	0.880 ± 0.090	0.19 ± 0.03	1.604 ± 0.090	1.00
<b>Ethylenediamine</b>					
Tripelenamine	0.66 ± 0.09	1.022 ± 0.051	1.32 ± 0.02	0.970 ± 0.101	0.144
<b>Phenothiazines</b>					
Oxememazine	0.67 ± 0.05	0.985 ± 0.027	0.45 ± 0.03	1.015 ± 0.097	0.42
Promethazine	0.008 ± 0.0006	0.815 ± 0.061	0.006 ± 0.0006	1.036 ± 0.059	31.67
<b>Piperazines</b>					
Diphenidol	0.18 ± 0.01	0.960 ± 0.124	0.16 ± 0.03	0.881 ± 0.115	1.188
Piprinhydrinate	0.04 ± 0.005	0.921 ± 0.023	0.024 ± 0.004	1.078 ± 0.073	7.917
<b>M-blockers</b>					
Atropine	0.0007 ± 0.00005	0.902 ± 0.019	0.0016 ± 0.0002	1.123 ± 0.067	118.75
Pirenzepine	0.25 ± 0.02	0.896 ± 0.027	0.19 ± 0.038	0.890 ± 0.053	1.0

a) Inhibition constant determined from inhibition of [<sup>3</sup>H]QNB binding in the presence of various drug concentrations.

b) Hill coefficient(nH) for drug calculated from Hill plot of [<sup>3</sup>H]QNB/unlabeled drug competition binding.

c) K<sub>M</sub> is the inhibition constant determined from Schild plot of carbachol-induced smooth muscle contraction in the presence of each drug.

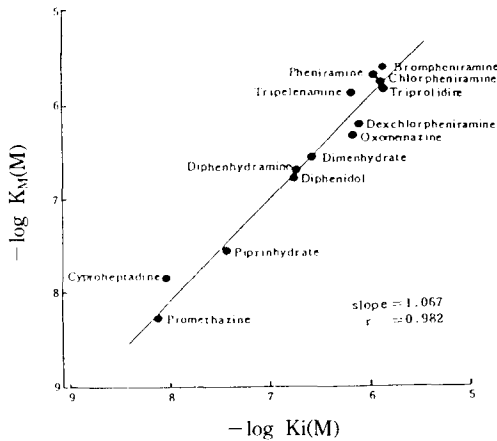
d) Calculated by dividing the K<sub>M</sub> of diphenhydramine by the K<sub>M</sub> of each H<sub>1</sub>-blocker.

Values are the mean ± SEM of three independent experiments.

mine의 회장수축력 증가작용에 미치는 항 histamine제의 영향을 조사하였다. 적출 기니픽 회장에서 histamine은 용량 의존적으로 그 수축력을 증가시켰으며 최대효과의 50%효과를 일으키는 histamine의 농도 (ED<sub>50</sub>)는 약 1.05 μM이었다. 한편, 항 histamine제 존재하에서는 histamine의 용량-반응곡선이 우측으로 평행이동하여 항 histamine제가 histamine H<sub>1</sub>-receptor에 대하여 histamine과 경쟁적으로 작용함을 확인할 수 있었다. 항 histamine제 존재하에서의 histamine의 용량-반응곡선을 Schild plot 했을때(Fig. 4), 경쟁적 길항에서 볼 수 있는 각 점의 직선성이 인정되었고 그 회귀선의 기울기가 1에 가까웠으므로 각 항 histamine제의 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 pA<sub>2</sub>치를

구하고 이로부터 affinity(K<sub>H</sub>)를 산출하였다. Table III에서 보는 바와 같이 본 실험에 사용한 항 histamine제의 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 K<sub>H</sub>치는 0.15-56.5 nM로서 항 histamine제에 따라 최대 약 370배의 차이가 있었고, diphenhydramine의 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 효력을 1로 하여 다른 약물의 상대적인 효력을 평가했을 때 piprinhydrinate의 경우 diphenhydramine보다 32.5배 강하였고 diphenidol의 경우 약 10배 약하였다.

**항 histamine제의 muscarinic receptor와 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 작용 비교**—Fig. 5는 여러가지 항 histamine제의 muscarinic receptor에 대한 K<sub>M</sub>치와 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 K<sub>H</sub>치간의 관계를 도시한 것으로 K<sub>M</sub>치와 K<sub>H</sub>치간의 상관계수가 약 0.28로서 그 상관성이



**Fig. 3**—Relationship between binding( $K_i$ ) and functional( $K_M$ ) data for antihistaminics in the guinea-pig ileum.

$IC_{50}$  value was the concentration of  $H_1$ -blocker which inhibited 50% of the specific [ $^3H$ ]QNB binding in the presence of 100 pM [ $^3H$ ]QNB and  $K_i$  value was calculated from the equation,  $K_i = IC_{50} / (1 + [^3H]QNB / K_i)$ .  $pA_2$  values ( $-\log K_M$ ) was derived from the Schild plot, according to the method of Arunlakshana and Schild from the dose-response curve of functional experiment. Slope = 1.067,  $r = 0.982$ .

인정되지 않았다. 본 실험 결과에서  $H_1$ -receptor 차단 작용이 강한 약물이 반드시 muscarinic receptor 차단 작용도 강한 것이 아님을 알았으므로 효과적으로  $H_1$ -blocker를 평가하는 방법의 일환으로 각 항 histamine제의  $H_1$ -receptor와 muscarinic receptor에 대한 결합상수의 비( $K_M/K_H$ 치)를 산출하였다. 본 실험에 사용된 항 histamine제 중에서  $K_M/K_H$ 치가 큰 약물, 즉 muscarinic receptor에 대한 affinity에 비하여  $H_1$ -receptor에 대한 affinity가 상대적으로 가장 큰 약물이 triprolidine이고 그 다음이 chlorpheniramine, dexchlorpheniramine, brompheniramine 등의 순이었으며,  $K_M/K_H$ 치가 작은 약물은 diphenidol, promethazine, dimenhydrinate, cyproheptadine 등의 순 이었고, 이 성적을 diphenhydramine과 비교하기 위하여 diphenhydramine의  $K_M/K_H$ 치를 1로 하고 각 항 histamine제의 상대적  $K_M/K_H$ 치를 산출하였던 바, triprolidine이 약 60.74로서 가장 컸고 diphenidol이 약 0.07

**Table III**—Inhibition constants, Schild's slopes and relative potencies of  $H_1$ -blockers to histaminic receptor in isolated guinea-pig ileum

	$K_H$ (nM) <sup>a)</sup>	Schild's slope	Relative potency <sup>b)</sup>
<b>Alkylamines</b>			
Brompheniramine	2.18 ± 0.56	1.04 ± 0.16	2.27
Chlorpheniramine	1.29 ± 0.15	0.98 ± 0.09	3.83
Cyproheptadine	0.71 ± 0.19	1.12 ± 0.10	6.96
Dexchlorpheniramine	0.50 ± 0.09	1.18 ± 0.08	9.88
Pheniramine	12.01 ± 2.41	1.25 ± 0.04	0.41
Triprolidine	0.65 ± 0.18	0.87 ± 0.07	7.60
<b>Ethanolamines</b>			
Dimenhydrinate	15.38 ± 2.55	0.92 ± 0.06	0.32
Diphenhydramine	4.94 ± 1.09	1.08 ± 0.10	1.00
<b>Ethylenediamine</b>			
Tripelenamine	3.34 ± 0.73	0.98 ± 0.10	1.48
<b>Phenothiazines</b>			
Oxememazine	4.31 ± 1.41	1.11 ± 0.08	1.15
Promethazine	0.98 ± 0.39	1.13 ± 0.08	5.04
<b>Piperazines</b>			
Diphenidol	56.54 ± 11.88	1.05 ± 0.10	0.09
Piprinhydrate	0.15 ± 0.05	0.94 ± 0.09	32.90

a)  $K_H$  is the inhibition constant determined from Schild plot of histamine-induced contraction in the presence of  $H_1$ -blocker.

b) Calculated by dividing the  $K_H$  of diphenhydramine by the  $K_H$  of each  $H_1$ -blocker.

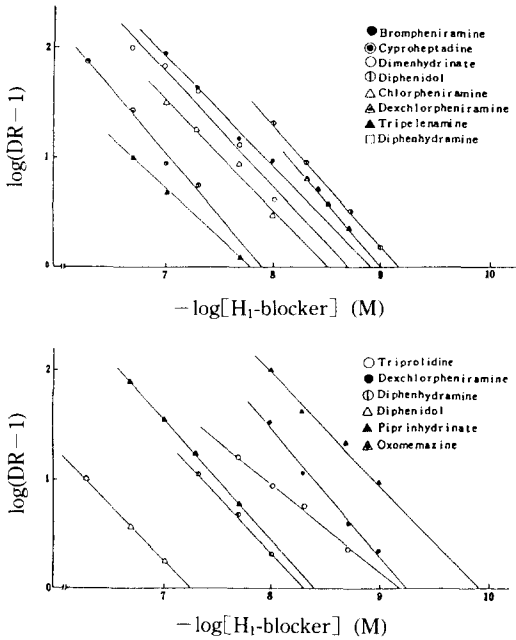
Values are the mean ± SEM of three independent experiments.

으로 가장 작았다.

## 고 찰

본 실험 결과 항 histamine제의 muscarinic receptor와  $H_1$ -receptor 차단작용이 약물의 종류에 따라 상당한 차이가 있을 뿐 아니라 이들 receptor 차단 작용간에는 상관성이 없음을 알았다.

[ $^3H$ ]Quinuclidinyl benzilate(QNB)는 여러조직에서 muscarinic receptor에 선택적으로 결합하는 약물로 muscarinic receptor와 이 receptor에 작용하는 약물과의 상호작용을 연구하는데 널리 이용되고 있다.<sup>17-19)</sup> 본 실험에서 회장 homogenate에 대한 [ $^3H$ ]QNB 결합이 포화성이고 가역적이었으며, 추정된 [ $^3H$ ]QNB의  $K_D$ 치(54 pM)가 심장과 대뇌에서의  $K_D$ 치와 유사하였

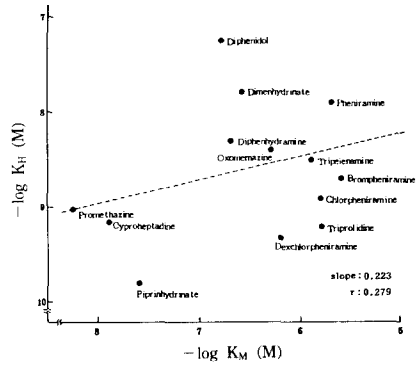


**Fig. 4**—Schild plot of antagonism between histamine and H<sub>1</sub>-blocker at histaminic receptor in the isolated guinea-pig ileum.

DR, the ratio of the concentrations of histamine which produce 50% of maximum muscle contraction in the presence vs the absence of the H<sub>1</sub>-blocker, was calculated from dose-response curve to histamine. The slopes of regression lines are close to unity indicating competitive antagonism. The intercept on the abscissa equals the pA<sub>2</sub> value. Each point is the mean of three different preparations.

고, [<sup>3</sup>H]QNB결합의 Hill coefficient 역시 1에 가까웠다는 점에서 [<sup>3</sup>H]QNB는 다른 조직에서와 마찬가지로 회장에서도 affinity가 같은 단일 muscarinic receptor에 결합하는 muscarinic receptor 길항제임을 확인할 수 있었다. 따라서 항 histamine제의 muscarinic receptor에 대한 결합성질도 [<sup>3</sup>H]QNB의 결합성질을 지표로 추정할 수 있을 것으로 생각되었다.

본 실험에 사용한 항 histamine제는 고농도에서 회장의 [<sup>3</sup>H]QNB 결합을 100% 억제하고 [<sup>3</sup>H]QNB 결합억제에 대한 각 항 histamine제의 Hill coefficient가 1에 가까운 것으로 보아 항 histamine제는 muscarinic receptor에 대하여 [<sup>3</sup>H]QNB와 경쟁적으



**Fig. 5**—Relationship of affinities for H<sub>1</sub>-blockers between muscarinic(K<sub>M</sub>) and histaminic(K<sub>H</sub>) receptors.

K<sub>M</sub> and K<sub>H</sub> were determined from Schild plots of carbachol and histamine-induced contraction, respectively, in the presence of H<sub>1</sub>-blocker to isolated guinea-pig ileum. No correlation (slope=0.22, correlation coefficient=0.28) was found between K<sub>M</sub> and K<sub>H</sub> values.

**Table IV**—Comparison of potencies of H<sub>1</sub>-blockers for muscarinic receptor(K<sub>M</sub>) and histaminic receptor(K<sub>H</sub>) in isolated guinea-pig ileum

	K <sub>M</sub> /K <sub>H</sub>	Relative K <sub>M</sub> /K <sub>H</sub>
Alkylamines		
Brompheniramine	1,064	28.00
Chlorpheniramine	1,310	34.47
Cyproheptadine	18	0.47
Dexchlorpheniramine	1,240	32.63
Pheniramine	169	4.45
Tripolidine	2,308	60.74
Ethanolamines		
Dimenhydrinate	16	0.42
Diphenhydramine	38	1.00
Ethylenediamine		
Tripelenamine	395	10.39
Phenothiazines		
Oxememazine	104	2.74
Promethazine	5.6	0.15
Piperazines		
Diphenidol	2.8	0.07
Piprinhydrinate	158	4.16

The K<sub>M</sub> and K<sub>H</sub> values are affinities of H<sub>1</sub>-blocker to M-receptor and H<sub>1</sub>-receptor, respectively.

a) Calculated by dividing the K<sub>M</sub>/K<sub>H</sub> of each H<sub>1</sub>-blocker by the K<sub>M</sub>/K<sub>H</sub> of diphenhydramine.

로 결합하는 것으로 추정되며 이러한 경쟁적 결합성질은 항 histamine제가  $[^3\text{H}]\text{QNB}$ 의 dissociation에는 영향을 주지 않고 association을 억제한다는 보고<sup>11)</sup> 및 항 histamine제에 의하여  $[^3\text{H}]\text{QNB}$  결합의 affinity는 감소되나 결합부위는 영향을 받지 않는다는 보고로<sup>11,12)</sup> 더욱 뒷받침 될 수 있다. 그러므로  $[^3\text{H}]\text{QNB}$ 와 항 histamine제와의 경쟁적 결합실험 성적으로부터 muscarinic receptor에 대한 각 항 histamine제의  $K_i$ 치를 산출하였던 바 심장 및 대뇌에서 측정된 각 약물의  $K_i$ 치와는 유사하였으나 약물 상호간에는 현저한 차이가 있었다. 즉 본 실험에 사용한 항 histamine제는 근래 소개되고 있는 muscarinic receptor subtype에 대한 선택성은 없으나 약물에 따라서 muscarinic receptor 차단작용의 효력(potency)에는 큰 차이가 있음을 시사한다.

약물-receptor 상호작용은 기능적 실험을 통하여 연구될 수도 있으나 특정 receptor에 affinity가 큰 방사능표지약물을 사용하여 직접 추구될 수 있다. 비록 특정 receptor에 대한 방사능표지약물 결합실험이 용이하면서도 직접적인 접근 방법이기도 하지만 이 실험에서는 특히 약물이 생리적 receptor와 결합한다는 것이 증명되어야 하고 이를 위해서는 결합 실험성과 기능적 실험성적이 일치하거나 상관성이 있어야만 한다.<sup>20) 22)</sup> 본 실험에서 항 histamine제가 carbachol의 최상 수축력 증가 효과를 경쟁적으로 억제하였고 각 항 histamine제의  $\text{pA}_2$ 치로부터 환산한 muscarinic receptor에 대한  $K_M$ 치가  $[^3\text{H}]\text{QNB}$  결합 실험으로 추정된  $K_i$ 치와 매우 유사하였다는 점은 항 histamine제가 생리적 반응과 관계되는 muscarinic receptor에 결합함을 말해 주고 있고 이는 곧 항 histamine제의 muscarinic receptor에 대한  $K_i$ 치를 muscarinic receptor 차단작용의 효력판정에 이용할 수 있음을 말한다. 따라서 전술한 바와 같이 이  $K_i$ 치를 비교하였던 바 항 histamine제의 종류에 따라 최고 200배의 차이가 있었으며 diphenhydramine에 대한 상대적 역가 면에서 볼때 promethazine은 diphenhydramine보다 35배 강한 반면 brompheniramine과 pheniramine은 약 10배 약하고 diphenidol은 diphenhydramine과 유사하였다. 이는 여러가지 항 histamine제의  $\text{H}_1$ -receptor 차단역가가 같을 경우 이들 약물사용에 의한 muscarinic receptor 차단작용을 평

가할 수 있는 지표가 될 수 있다. 그러나  $\text{H}_1$ -receptor 차단 역가가 다를 경우 이들 두 종류 receptor에 대한 affinity를 동시에 생각하여야 하므로 그 효력평가를 위해서는 항 histamine제의  $\text{H}_1$ -receptor에 대한 affinity를 알아야 한다.

Tran등은<sup>23)</sup>  $[^3\text{H}]\text{mepyramine}$  결합실험으로 측정된 항 histamine제의  $\text{H}_1$ -receptor에 대한 affinity가 histamine에 의한 최상수축억제제로 부터 추정된 이들 약물의 affinity와 밀접한 상관성이 있다는 점에서  $[^3\text{H}]\text{mepyramine}$ 이 생리적 기능과 관련되는  $\text{H}_1$ -receptor와 결합하는 것으로 추정하였다. 본 실험에서 기능적 실험을 통하여 측정된 각 항 histamine제의  $\text{H}_1$ -receptor에 대한 affinity( $K_H$ )가 기니픽 뇌<sup>24,25)</sup>와 소장<sup>26)</sup>에서  $[^3\text{H}]\text{mepyramine}$  결합실험으로 측정된 chlorpheniramine (0.9~1.4 nM), diphenhydramine(13.7 nM), promethazine(0.4~4.1 nM), tripelemamine(1.4 nM) 및 triprolidine(0.24~0.6 nM)의  $K_i$ 치와 유사하였을 뿐아니라 Ganelline 등<sup>27)</sup>과 Marshall 등<sup>28)</sup>이 기능적으로 측정된 chlorpheniramine(0.9~1.5 nM), diphenhydramine(7.2 nM), promethazine(1.2 nM)의  $K_H$ 와도 유사하였다. 따라서 본 실험에서 측정된 여러가지 항 histamine제의  $\text{H}_1$ -receptor에 대한  $K_H$ 치를 각 항 histamine제의 역가 판정에 이용할 수 있을 것으로 생각되어 이를 비교하였던 바, 항 histamine제의 종류에 따라 최고 150배의 차이가 있었고 이러한  $\text{H}_1$ -receptor에 대한 affinity의 차이가 muscarinic receptor에 대한 affinity의 차이와 상관성이 없었다. 예를 들면, cyproheptadine과 dexchlorpheniramine은  $\text{H}_1$ -receptor에 대해서는 affinity가 비슷하나 muscarinic receptor에 대해서는 cyproheptadine이 100배 크고, diphenhydramine과 diphenidol의 경우 muscarinic receptor에 대한 affinity는 같으나  $\text{H}_1$ -receptor에 대해서는 diphenhydramine의 affinity가 10배 크다. 이와 같이 두 receptor에 대한 affinity의 차이는 각 약물의 muscarinic receptor( $K_M$ )와  $\text{H}_1$ -receptor( $K_H$ )에 대한 affinity의 비(Table IV)로서 더욱 분명해 지며 본 실험에서 약물에 따라 3~2300의 값을 보였음은 동일한  $\text{H}_1$ -receptor 차단효과를 나타내는 농도에서 muscarinic receptor 차단효과는 약물에 따라서 최고 약 800배의 차이가 있음을 시사한다. 이를 흔히 사용되고 있는 diphenhydramine과 비교할 때 diphenh-



ydramine과 동일한 H<sub>1</sub>-receptor 차단효과를 나타낼 수 있는 농도에서 muscarinic receptor 차단효과는 diphenhydramine보다 triprolidine의 경우 약 60배 약하고, diphenidol의 경우 약 14배 강하다.

항 histamine제의 H<sub>1</sub>-receptor와 muscarinic receptor에 대한 affinity가 전술한 바와 같이 상당한 차이 (3~2300배)가 있지만 일반적으로 항 histamine제를 투여할때는 H<sub>1</sub>-receptor를 완전히 차단할 수 있는 충분한 양을 사용하고 이때의 혈중 농도는 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 K<sub>H</sub>치 보다 훨씬 초과하게 될 것이므로 이 농도에서 약물에 따라서는 일부 muscarinic receptor가 차단될 것으로 생각된다. 실제로 diphenhydramine의 두 receptor에 대한 affinity는 40배의 차이가 나지만 diphenhydramine 상용량(50 mg)을 경구 또는 정맥 투여시 최고 혈중농도는 각각 50 ng/ml(약 0.2 μM) 및 150 ng/ml(약 0.6 μM)로서<sup>3)</sup> 본 실험에서 추정된 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 K<sub>H</sub>치(5 nM)의 40~120배에 해당되며 이 농도는 muscarinic receptor에 대한 K<sub>M</sub>치 (0.19 μM)에 가까우므로 diphenhydramine 상용량으로도 상당한 muscarinic receptor 차단작용이 나타날것으로 예상할 수 있다. 그러나 brompheniramine과 chlorpheniramine의 경우 최고 혈중농도가 20~50 nM로서 이 농도는 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 K<sub>H</sub>치 (1.3~2.7 nM) 보다 10~20배 높은 농도이지만 muscarinic receptor에 대한 K<sub>M</sub>치(1.4~1.7 μM) 보다는 30~70배 낮으므로 이들 약물을 상용량 사용할때는 muscarinic receptor 차단작용이 거의 나타나지 않을 것으로 추측된다. 반면에 diphenidol의 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 affinity는 muscarinic receptor에 대한 affinity의 3배에 불과하여 항 histamine제로 사용하기에는 부교감신경차단에 의한 부작용이 클것으로 생각되며 이는 곧 임상에서 diphenidol을 항 histamine제 보다는 주로 진토제로 이용하고 있는 중요한 이유가 된다.

한편 중추에서의 항 histamine제의 muscarinic receptor 차단작용은 항 histamine제의 멀미예방, 진토 효과 및 Parkinson 증후군이나 약물에 의한 추체의 로증상의 치료효과와 관련이 되는것으로 알려지고 있으므로<sup>1,6,7)</sup> 항 histamine제를 구토, 멀미등에 사용할 때는 중추로 쉽게 투과할 수 있으면서 muscarinic receptor에 대한 affinity가 큰 약물을 선택함이 바람직

하다. 그러나 allergy 질환에 사용할 때는 특히 녹내장, 전립선비대증, 축노증, 폐쇄성 폐질환 등에서와 같이 부교감신경 차단작용이 있는 약물을 주의하여 사용하거나 사용할 수 없는 환자의 allergy에 사용할때는 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 affinity 크면서 muscarinic receptor에 대한 affinity가 작아 상용량에서는 부교감신경 차단효과가 거의 나타나지 않을 것으로 예상되는 약물을 선택하여야 한다. 그러므로 본 실험에서 추정된 항 histamine제의 H<sub>1</sub>-receptor와 muscarinic receptor에 대한 affinity 및 상대적 효력평가 자료는 특정 환자에 대한 효과적인 약물선정을 위해서 뿐아니라 새로운 항 histamine제의 효력을 비교하는 지표로도 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 결 론

항 histamine제의 H<sub>1</sub>-receptor와 muscarinic receptor에 대한 작용의 상대적 역가를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 기니픽 회장에는 [<sup>3</sup>H]QNB에 대한 단일 muscarinic receptor가 존재하였으며 [<sup>3</sup>H]QNB의 affinity와 결합부위 농도는 각각 54 pM 및 156 fmol/mg이었다.
2. 항 histamine제는 muscarinic receptor에 대한 [<sup>3</sup>H]QNB결합을 억제하였으며 [<sup>3</sup>H]QNB결합억제제로 부터 추정된 항 histamine제의 K<sub>i</sub>치는 0.008 μM~1.6 μM 이었고, 이 결과는 carbachol의 회장 수축반응 억제제로부터 추정된 각 항 histamine제의 muscarinic receptor에 대한 affinity(K<sub>M</sub>)와 유사하였다.
3. Histamine의 회장 수축반응 억제제로부터 추정된 각 항 histamine제의 H<sub>1</sub>-receptor에 대한 affinity(K<sub>H</sub>) 역시 0.15 nM~56.5 nM로서 약물에 따라 차이가 있었다.
4. 각 항 histamine제의 K<sub>M</sub>/K<sub>H</sub>비는 3~2300이었고, H<sub>1</sub>-receptor에 대한 역가와 muscarinic receptor에 대한 역가 사이에는 상관성이 없었다.
5. 본 실험에서 사용한 13종의 기존 항 histamine제 중 triprolidine이 K<sub>M</sub>K<sub>H</sub>/비가 가장 컸고 diphenidol이 가장 작았다.
6. 이상 결과 항 histamine제의 muscarinic receptor 차단작용은 이들 약물의 항 allergy효과에 필요한 작용이 아니며 항 histamine제를 효과적으로 응용하기

위해서는 이들 약물의 H<sub>1</sub>-respector와 muscarinic receptor에 대한 상대적 역가를 비교 검토하여야 할 것으로 생각된다.

### 감사의 말씀

이 논문은 1992년도 보건사회부의 신약개발연구구비 지원에 의하여 연구되었음.

### 참고문헌

- 1) Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.V. and Murad, F. : In The pharmacological basis of therapeutics. seventh ed., Macmillan Publ. Co., New York, pp. 620 (1985).
- 2) Chand, N. and Eyre, P. : Classification and biological distribution of histamine receptor subtype. *Agents Actions* **5**, 277 (1975).
- 3) Lilienfield, L.S., Rose, J.C. and Princiotto, J.V. : Antitussive activity of diphenhydramine in chronic cough. *Clin. Pharmacol. Ther.* **19**, 421 (1976).
- 4) Pearlman, D.S. : Antihistamine : Pharmacology and clinical use. *Drugs* **12**, 258 (1976).
- 5) Carruthers, S.G., Shoeman, D.W., Hignite, C.E. and Azarnoff, D.L. : Correlation between plasma diphenhydramine level and sedative and antihistamine effects. *Clin. Pharmacol. Ther.* **23**, 375 (1978).
- 6) Chinn, H.I. and Smith, P.K. : Motion sickness. *Pharmacol. Rev.* **7**, 33 (1955).
- 7) Jaju, B.P. and Wang, S.C. : Effects of diphenhydramine and dimenhydrinate on vestibular neuron activity of cat : a search for the locus of their antimotion sickness action. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **176**, 718 (1971).
- 8) Stephenson, R.P. : A modification of receptor theory. *Br. J. Pharmacol.* **11**, 379 (1956).
- 9) Furchgott, R.F. : The use of  $\beta$ -haloalkylamines in the differentiation of receptors and in the determination of dissociation constants of receptor-agonist complexes. *Adv. Drug Res.* **3**, 21 (1966).
- 10) Kenakin, T.P. : The classification of drugs and drug receptors in isolated tissues. *Pharmacol. Rev.* **36**, 165 (1984).
- 11) Lee, S.W., Park, Y.J., Lee, J.S., Ha, K.W. and Jin, K.D. : Interaction of antihistaminics with muscarinic receptor(\*) : Action on the cardiac muscarinic receptor. *Yakhak Haeji* **32**(2), 16 (1988).
- 12) Lee, S.W., Park, Y.J., Park, I.S. and Lee, J.S. : Interaction of antihistaminics with muscarinic receptor (II) : Action on the cerebral muscarinic M<sub>1</sub>-receptor. *Yakhak Haeji* **34**(4), 224 (1990).
- 13) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- 14) Scatchard, G. : The attraction of proteins for small molecules and ions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **51**, 660 (1949).
- 15) Cheng, Y.C. and Prusoff, W.H. : Relationship between the inhibition constant (K<sub>i</sub>) and the concentration of inhibitor which cause 50 percent inhibition(I<sub>50</sub>) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **22**, 3099 (1973).
- 16) Arunlakshana, O. and Schild, H.O. : Some quantitative uses of drug antagonist. *Br. J. Pharmacol.* **14**, 48 (1959).
- 17) Yamamura, H.I. and Snyder, S.H. : Muscarinic cholinergic binding in rat brain. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **17**, 1725 (1974).
- 18) Yamamura, H.I. and Snyder, S.H. : Muscarinic cholinergic receptor binding in the longitudinal muscle of the guinea pig ileum with [<sup>3</sup>H] quinuclidinyl benzilate. *Mol. Pharmacol.* **10**, 861 (1974).
- 19) Sorota, S., Adam, L.P. and Pappano, A.J. : Comparison of muscarinic receptor properties in hatched chick heart atrium and ventricle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **236**, 602 (1986).
- 20) Cuatrecasas, P. and Hollenberg, M.D. : Membrane receptors and hormone action. *Advances in Protein Chemistry.* **30**, 251 (1976).
- 21) Birdsall, N.J.M. and Hulme, E.C. : Biochemical studies on muscarinic acetylcholine receptors. *J. Neurochem.* **27**, 7 (1976).
- 22) Burt, D.R. : Criteria for receptor identification. In Neurotransmitter receptor binding, 2nd ed. eds. Yamamura, H.I., Enna, S.J. and Kuhar, M.J., Raven press, New York, pp. 41 (1985).
- 23) Tran, V.T., Chang, R.S.L. and Snyder, S.H. : His-

- tamine H<sub>1</sub> receptors identified in mammalian brain membranes with [<sup>3</sup>H]mepyramine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **75**, 6290 (1978).
- 24) Chang, R.S.L. and Snyder, S.H. : Histamine H<sub>1</sub>-receptor binding sites in guinea pig brain membranes : Regulation of agonist interactions by guanine nucleotide and cations. *J. Neurochem.* **34**, 916 (1980).
- 25) Chang, R.S.L., Tran, V.T. and Snyder, S.H. : Heterogeneity of histamine H<sub>1</sub>-receptor : Species variations in [<sup>3</sup>H]mepyramine binding of brain membranes. *J. Neurochem.* **32**, 1653 (1979).
- 26) Hill, S.J. and Young, J.M. : Characterization of [<sup>3</sup>H]mepyramine binding to the longitudinal muscle of guinea pig small intestine. *Mol. Pharmacol.* **19**, 379 (1980).
- 27) Ganellin, C.R. : In Pharmacology of Histamine Receptors. eds. Ganellin, C.R. and Parsons, M.E. Wright PSG, London, 10 (1982).
- 28) Marshall, P.B. : Some chemical and physical properties associated with histamine antagonism. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **10**, 270 (1955).