

비 마약성 진통제 DA-5018의 급성독성시험

강경구 · 김동환 · 백남기 · 김원배* · 양중익

동아제약(주)연구소

Acute Toxicity Study of DA-5018, A Non-narcotic Analgesic Agent

Kyung Koo KANG, Dong Hwan KIM, Nam Gi BAIK, Won Bae KIM and Junnick YANG

47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Youngin-si, Kyunggi-do, Korea 449-900

Research Laboratories, Dong-A Pharmaceutical Co. Ltd.

(Received January 8, 1997; accepted March 8, 1997)

Abstract – Intravenous and oral acute toxicity tests in ICR mice and SD rats and percutaneous acute toxicity tests in SD rats and NZW rabbits were conducted to evaluate the toxicity of DA-5018 and DA-5018 cream, respectively. Clinical signs observed in mice and rats after the administration of DA-5018 were similar regardless of administration route. The observed clinical signs were jumping, wild running, lacrimation, ataxia, reddening of extremities and ears, ventral or lateral recumbency, respiratory distress, cyanosis, convulsion and death. Pulmonary enlargement and hemorrhage were observed in the animals died immediately after the dosing of DA-5018. At terminal necropsy, pulmonary enlargement and hemorrhage, corneal opacity and focal scabbing and depilation around nose were seen. LD₅₀ values of DA-5018 are 11.5 mg/kg (mice, male), 12.6 mg/kg (mice, female), 88.3 mg/kg (rat, male) and 73.2 mg/kg (rat, female) in oral toxicity tests and 11.0 mg/kg (mice, male), 18.7 mg/kg (mice, female), 0.12 mg/kg (rat, male) and 0.32 mg/kg (rat, female) in i.v. toxicity tests. In the percutaneous acute toxicity tests of DA-5018 cream, no deaths occurred in all the tested groups during 14-day observation period. There were also no abnormalities in the general conditions, body weight changes and on necropsy findings in all groups. LD₅₀ values of 0.1~0.9% DA-5018 creams in male and female rats and rabbits are >2000 mg/kg.

Keywords □ DA-5018, non-narcotic analgesic agent, acute, toxicity

DA-5018(N-{3-(3,4-Dimethylphenyl)propyl}-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxy phenyl acetamide)은 동아제약(주) 연구소에서 연구중인 비마약성 진통물질로 capsaicin 유도체이다. Capsaicin은 고추의 매운맛을 내는 주성분이며 화학적으로는 vanillyl amide 유도체(8-methyl-N-vanillyl-6-non-enamide)이다(Holzer, 1991). 현재까지 capsaicin은 많은 연구자들에 의하여 물리화학적 성질, 약리학적 성질 및 신경 전달물질의 하나인 substance P와 연관되어 나타나는 진통 효과를 이용한 치료학적 이용가능성이 연구되었으나, 전신 투여 후 신경계, 호흡기계, 심혈관계 등에서 나타나는 부작용 때문에 전신적인 치료제로는 아직 사용되지 못하고 있다(Surh와 Lee, 1995; Rebecca와 Frank, 1992; Holzer, 1991; Maggi, 1991; Lynn, 1990; Monsereenusorn 등, 1982). 그러나 최근에 GenDerm사에서 capsaicin을 0.075% 함유하고

있는 국소도포용 크림제(Zostrix-HP[®])로 개발하여 postherpetic neuralgia, diabetic neuropathy, arthritis, psoriasis 등의 치료에 사용하고 있다(Ellis 등, 1993; Watson 등, 1993; Tandan 등, 1992; Deal 등, 1991; Donofrio, 1991). 그렇지만, 이 제제 또한 도포 후 초기에 작열감(burning pain), 화끈거림(sensation)과 같은 자극성이 출현하기 때문에(Basha와 Whitehouse, 1991) 이와 같은 부작용을 경감시킬 수 있는 capsaicin 유도체에 관한 연구가 진행되고 있다(Janusz 등, 1993; Park 등, 1995).

DA-5018 또한 동아제약(주) 연구소에서 연구중인 capsaicin 유도체로서 여러가지 동물실험 모델에서 기존의 진통제 보다 우수한 진통효력을 나타내었으며, 의존성이 형성되지 않는 비마약성이며 변이원성도 없는 것으로 나타나 독성측면에서도 모핵인 capsaicin 보다 약한 것으로 평가되어 새로운 진통제로의 개발이 기대되는 물질이다(Lee 등, 1994). 본 시험은 DA-5018을 전신투여 혹은 국소도포시 나

* To whom correspondence should be addressed.

타나는 독성을 평가하기 위하여 각각 마우스와 랫드 및 랫드와 토끼를 이용한 DA-5018 원체와 DA-5018 cream제의 단회투여 급성독성시험을 실시하였다.

실험방법

본 시험은 의약품 등의 독성시험기준(국립보건안전연구원, 1994)에 준하여 실시하였다.

시험물질

시험물질인 DA-5018과 DA-5018 cream은 각각 본 연구소 합성연구실 및 제제연구실에서 공급받아 사용하였다. 시험에 사용한 DA-5018은 Lot No.가 DA-5018-KR002 이었으며 분자량 407의 염산염으로 백색의 분말이었다. 시험물질의 조제는 주사용 증류수를 이용하여 용시조제하였다. DA-5018 cream은 0.1%(Lot No. C-152), 0.3%(Lot No. C-138T1) 및 0.9%(Lot No. C-171)를 사용하였으며, 대조물질로는 DA-5018 cream base(Lot No. C145)를 사용하였다. 시험물질은 모두 냉장보관하며 시험에 사용하였다.

시험동물 및 사육환경

DA-5018의 급성독성시험에는 SPF ICR계 마우스와 SD계 랫드를 사용하였다. 모든 동물은 5주령의 것을 일본 CRJ(Charles River Japan)사로부터 구입하여 1주 이상 검역 및 순화사육을 거쳐 시험에 사용하였다. DA-5018 cream제의 급성독성시험에는 랫드와 토끼를 사용하였다. 랫드는 CRJ사에서 구입한 5주령의 SD계 SPF 동물을 사용하였으며, 토끼는 연암축산에서 구입한 New Zealand White계(2.5-3.0 kg, 10-12주령) 동물로 1주일간 순화사육 후 외견상 건강한 동물만을 시험에 사용하였다. 랫드와 마우스를 이용한 모든 시험은 본 연구소 SPF 동물 사육구역내에서 실시하였으며, 토끼를 이용한 시험은 본 연구소 일반동물 사육구역내에서 실시하였다. DA-5018의 독성시험에서는 랫드와 마우스 모두 폴리카보네이트 사육상자에 5마리씩 분리 수용하였으며, DA-5018 cream제의 독성시험에서는 랫드와 토끼 모두 1마리씩 분리수용하였다. 동물의 사육환경은 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 15\%$, 조명시간(07:00-19:00)의 조건을 유지하였으며 사료와 물은 자유섭취시켰다.

투여경로, 투여용량 및 군구성

DA-5018의 급성독성시험

DA-5018 원체의 급성독성시험은 마우스와 랫드 2종에 대해 경구 및 정맥의 2개 경로로 시험을 실시하였다. DA-5018의 투여량 설정은 각각의 동물종과 투여경로에 따른 예비시험 자료를 참고로 하여 결정하였다. 경구투여 시험의 경우, 마우스에는 243 mg/kg 부터 1 mg/kg까지 6개군을, 랫드에는 729 mg/kg부터 3 mg/kg까지 6개군을 각각 공비 3으로 하여 설정하였으며, 정맥투여시험의 경우, 마우스

에는 72.9 mg/kg부터 0.9 mg/kg까지 5개군을 공비 3으로, 랫드에는 0.64 mg/kg부터 0.04 mg/kg까지 5개군을 공비 2로 하여 설정하였다. 대조군에는 DA-5018의 용매인 주사용증류수를 투여하였다. 각 군의 동물수는 암수 각 10마리로 하였다.

DA-5018 cream의 급성독성시험

DA-5018 cream의 급성독성시험은 랫드와 토끼에 대하여 임상사용예정농도인 0.3% DA-5018 cream의 도포량을 변화시킨 경피투여독성시험과 도포량을 고정시킨 다음 DA-5018 cream의 농도를 0.1%~0.9%까지 변화시킨 경피투여독성시험을 실시하였다. 투여량의 설정을 위한 예비시험에서 0.1%와 1.0%의 DA-5018 cream을 2.0 g/kg의 용량으로 랫드 등부위 피부에 단회 혹은 7일간 반복 투여해도 투여부위 피부에서의 국소독성이나 전신적인 독성변화가 관찰되지 않았으며, 경피투여시험의 경우 시험물질의 투여한계를 2.0 g/kg으로 한다(Hayes, 1989)는 점에 근거하여 0.3% DA-5018 cream으로 실시한 시험에서는 2.0 g/kg을 최고용량으로 하고 이하 공비 2로 감소시켜 0.125 g/kg까지 모두 5개 용량으로 실시하였으며, 0.1~0.9% DA-5018 cream으로 농도를 변화시킨 시험에서는 2.0 g/kg 단일용량으로만 실시하였다. 대조군에는 DA-5018 cream base를 사용하였다. 각 군의 동물수는 랫드의 경우 암수 각 5마리, 토끼의 경우는 암수 각 2마리로 하였다.

투여방법

DA-5018의 급성독성시험

마우스와 랫드를 이용한 DA-5018의 급성독성시험의 경우 주사용증류수에 DA-5018을 용해하여 각 투여군의 농도에 맞춘 다음, 경구투여 시험에서는 마우스 및 랫드용 존데를 사용하여 각 용량군에 맞게 20 ml/kg의 액량으로 단회 투여 하였으며, 정맥투여 시험에서는 랫드의 경우 1 ml/kg, 마우스의 경우 5 ml/kg의 액량으로 미정맥내로 단회투여 하였다. 경구투여 시험의 경우 마우스와 랫드는 모두 18시간 절식시킨 후 사용하였다.

DA-5018 cream의 급성독성시험

시험물질 도포 하루전에 랫드와 토끼의 등부위를 electric clipper(Oster)로 제모한 다음 유성펜으로 적용부위를 표시하였다. 시험물질 적용부위의 면적은 경피투여 시험에서 일반적으로 이용되는 체표면적의 10%에 해당하는 면적이었다. 시험물질은 동물의 등부위 피부에 적용한 다음 균일하게 도포하였으며, DA-5018 cream의 임상 적용 방식에 준하여 occlusion은 실시하지 않았다.

관찰, 측정 및 검사

시험물질인 DA-5018 투여후 경구투여 시험에서는 14일간, 정맥투여 시험에서는 7일간 일반상태, 동물의 폐사여부, 체중변화 등을 관찰하였다. 일반증상 관찰시 투여 당일 은 투여전 1회 및 투여후 8시간까지는 수차례, 투여 익일

부터는 1일 2회씩(오전, 오후) 관찰하였다. 체중은 경구투여의 경우 마우스와 랫드 모두 시험물질 투여일, 투여후 3일, 7일, 10일 및 13일에 측정하였고, 정맥투여의 경우 시험물질 투여일, 투여후 3일과 7일에 측정하였다. 폐사된 동물은 발견즉시 부검을 실시하였으며, 시험기간 종료후 모든 동물은 부검을 실시하여 복강 및 흉강장기를 관찰하였으며, 육안적 병변이 관찰된 경우 병리조직학적 검사를 실시하였다. DA-5018 cream제의 급성독성시험에서도 도포후 14일간 일반상태, 동물의 폐사여부, 체중, 부검 등의 모든 항목을 DA-5018 원체의 급성독성시험과 동일하게 실시하였다.

통계학적분석

단회투여 급성독성시험에서 반수치사량을 구하는 경우 DATOX(Dong-A Toxicology System)를 이용하여 probit법에 의해 산출하였으며, 그외 본 시험에서 얻어진 체중 등의 자료에 대한 통계학적 분석은 duncan's multiple range test를 이용하여 대조군과의 구간 유의차를 검정하였다(p<0.05).

실험결과

DA-5018의 급성독성시험

각 투여경로에 대한 마우스와 랫드의 LD₅₀치와 95% 신뢰구간, 투여량, 폐사상황 및 폐사율은 Table I에 나타내었다.

경구투여 급성독성시험

LD₅₀치는 마우스의 경우 수컷이 11.5 mg/kg (6.1~20.0), 암컷이 12.6 mg/kg (8.3~19.2)이었으며 랫드의 경우 수컷이 88.3 mg/kg (48.7~161.4), 암컷이 73.2 mg/kg (32.8~160.7)로 나타났다.

DA-5018 투여후 관찰된 임상증상으로는 시험물질 투여 약 5-10분 이후부터 사지 및 귀발적, 옹크림, 운동성 감소, 유루, head flicking, 세안운동, 안검하수, 보행실조, 복외위 자세, 호흡곤란, 복식호흡, 경련, 혼수, 발작, 폐사 등이었다. 마우스의 경우 1 mg/kg의 용량군에서 이상과 같은 증상이 미약하였으나 3 mg/kg 이상 용량군에서는 강도와 지속시간에 있어 용량상관성을 보이며 강하게 나타났고 9 mg/kg에서 처음으로 폐사가 관찰되었다. 랫드의 경우에도 동일한 증상이 3 mg/kg에서 부터 약하게 관찰되었으며 9 mg/kg 용량군부터는 심하게 관찰되었고 27 mg/kg에서 부터 폐사가 출현하였다. 시험물질 투여직후 폐사한 동물의

Table I. Mortalities in mice or rats following a single administration of DA-5018

Routes	Species	Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death		Lethality (%)	LD ₅₀ (mg/kg) (95% C.L.)
					Days after administration			
					0	1~7 or 14		
Oral	Mouse	M	0	10	0	0	0	11.5 (6.1~20.0)
			1	10	0	0	0	
			3	10	0	0	0	
			9	10	3	3	60	
			27	10	7	1	80	
			81	10	8	1	90	
			243	10	7	3	100	
	F	0	10	0	0	0	12.6 (8.3~19.2)	
		1	10	0	0	0		
		3	10	0	0	0		
		9	10	3	0	30		
		27	10	8	1	90		
		81	10	7	3	100		
		243	10	9	1	100		
Rat	M	0	10	0	0	0	88.3 (48.7~161.4)	
		3	10	0	0	0		
		9	10	0	0	0		
		27	10	4	0	40		
		81	10	2	0	20		
		243	10	8	0	80		
		729	10	10	0	100		
	F	0	10	0	0	0	73.2 (32.8~160.7)	
		3	10	0	0	0		
		9	10	0	0	0		
		27	10	4	0	40		
		81	10	7	0	70		
		243	10	5	1	60		
		729	10	9	0	90		

Table I. Continued.

Routes	Species	Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death		Lethality (%)	LD ₅₀ (mg/kg) (95% C.L.)
					Days after administration			
					0	1~7 or 14		
I.V.	Mouse	M	0	10	0	0	0	11.0 (5.26~25.19)
			0.9	10	3	0	0	
			2.7	10	0	0	0	
			8.1	10	2	0	0	
			24.3	10	7	0	0	
			72.9	10	10	0	100	
	Rat	F	0	10	0	0	0	18.7 (11.0~33.4)
			0.9	10	0	0	0	
			2.7	10	1	0	10	
			8.1	10	1	0	10	
			24.3	10	5	0	50	
			72.9	10	10	0	100	
I.V.	Rat	M	0	10	0	0	0	0.12 (0.08~0.16)
			0.04	10	0	0	0	
			0.08	10	3	0	30	
			0.16	10	8	0	80	
			0.32	10	9	0	90	
			0.64	10	10	0	100	
	Rat	F	0	10	0	0	0	0.32 (0.21~0.55)
			0.04	10	0	0	0	
			0.08	10	0	0	0	
			0.16	10	3	0	30	
			0.32	10	6	0	60	
			0.64	10	7	0	70	

경우는 모두 30분 이내 폐사하였으며, 생존한 개체의 경우 회복에 걸리는 시간은 투여한 시험물질의 용량과 상관성을 보이며 길어졌다. 한편, 지연형으로 나타난 임상증상으로는 마우스에서 3-5일에 폐사한 동물이 있었으며 9 mg/kg 용량군에서 각막혼탁이 관찰되었고, 랫드의 경우에는 투약후 1일에 1마리가 폐사하였으며 27 mg/kg 용량군부터 안구 각막의 혼탁과 안면부 탈모가 관찰되어 시험기간 종료시까지 지속되었다.

체중의 변화는 마우스의 경우 암수 모두 9 mg/kg 이상 용량군에서 각각 체중증가억제 및 체중감소를 3일째 이후 나타내었으며 암컷의 경우 10일째 이후 회복되었으나 수컷의 경우 27 mg/kg 투여군을 제외하고는 시험기간 종료시까지 지속되었다. 랫드의 경우 체중감소 또는 증가억제는 암수 모두 27 mg/kg 이상 용량군에서 4일째 부터 나타났으며 암컷의 경우 8일째 부터 정상으로 회복되었으나 수컷 27 mg/kg 투여군은 14일째 회복되었지만 그이상 용량군에서는 시험기간 종료시까지 감소상태가 지속되었다(Table II).

병리조직학적 검사에서 시험물질 투여직후 폐사한 동물에서는 폐장의 확장과 출혈이 관찰되었으며 기관 강내에는 혈액성 또는 수액성의 수포가 가득차 있었다. 그외 흉강 및

복강장기에서 이상은 관찰되지 않았다. 시험기간중 폐사한 동물에서는 폐장의 확장과 점상출혈반점 및 소장(십이지장 및 공장)의 충, 출혈과 소장강내 암적색의 수양성 내용물이 가득차 있었다. 시험기간 종료후 생존한 개체의 부검소견에서는 폐장의 점상출혈 반점은 모든 용량군에서 관찰되었으며, 그외 마우스의 경우 9 mg/kg 이상에서 각막혼탁이, 랫드의 경우 27 mg/kg 이상 투여군에서 안면부 가피형성과 탈모 및 안구의 각막혼탁이 관찰되었다. 그외 흉강 및 복강장기에서 특기할만한 소견은 관찰되지 않았다.

정맥투여 급성독성시험

LD₅₀치는 마우스의 경우 수컷이 11.0 mg/kg (5.26~25.19), 암컷이 18.7 mg/kg (11.0~33.4)이었으며 랫드의 경우 수컷이 0.12 mg/kg (0.08~0.16), 암컷이 0.32 mg/kg (0.21~0.55)로 나타났다.

DA-5018 투여후 관찰된 임상증상으로는 마우스의 경우 시험물질 투여직후 흥분, 돌진, jumping 등의 운동성증가를 보이다가 곧바로 보행실조, 복와 혹은 횡와자세, 움크림, 안검하수, 진전, 활동력감소, 호흡곤란, 복식호흡, 지속적인 경련, 혼수, 청색증 등의 증상을 보이며 폐사하였다. 이와같은 증상중에서 경련은 사망예를 제외하고는 30-40분 사이

Table II. Body weight changes in mice and rats administered with DA-5018

Routes	Species	Sex	Dose (mg/kg)	Days after administration				
				0	3	7	10	13
Oral	Mouse	M	0	423.7±1.2	30.6±1.7	32.8±1.5	34.4±1.7	35.0±1.6
			1	23.6±1.1	29.9±1.5	31.4±1.6	32.8±1.5	33.8±1.3
			3	23.8±0.9	29.9±2.2	32.2±1.8	33.7±1.7	34.6±1.7
			9	23.5±0.9	19.9±4.6*	25.7±5.8*	29.0±3.8*	32.1±2.4*
			27	23.4±1.1	23.9±3.5*	29.9±0.8	25.9±3.2*	33.1±0.4
			81	23.5±0.7	18.5±1.1*	23.5±--	25.9±--	28.6±--
		243	23.8±0.7	17.9±0.9*	- ^a	-	-	
		F	0	20.0±0.9	23.5±0.9	24.6±1.4	26.0±1.5	26.2±1.8
			1	20.4±0.8	24.2±0.9	24.9±0.9	25.9±1.0	26.5±1.7
			3	20.0±0.7	23.8±1.3	24.6±1.3	25.9±1.4	26.0±1.4
			9	20.2±0.9	20.8±3.0*	23.2±2.9*	25.1±2.2	25.8±1.9
			27	20.4±1.0	19.9	23.5	25.9	28.6
	81		20.3±0.7	16.6	-	-	-	
	243	20.2±0.9	17.4	-	-	-		
	Rat	M	0	171.4±4.2	192.5±12.9	248.1±3.6	278.5±4.6	305.8±7.3
			3	171.2±6.0	204.7±8.5	248.8±12.6	280.5±14.3	307.4±16.6
			9	171.0±2.9	200.7±9.1	246.5±9.7	277.2±9.6	304.6±9.1
			27	171.8±4.1	189.5±11.8	223.5±38.2*	256.3±37.2*	286.3±34.8
			81	171.6±6.2	172.8±14.1*	214.5±12.3*	251.5±11.1*	283.5±9.6*
			243	172.1±5.5	148.5±3.5*	188.0±12.7*	216.5±20.5*	251.5±27.6*
		729	171.9±6.2	-	-	-	-	
		F	0	14.1±5.4	160.2±9.1	176.3±12.4	187.1±12.9	201.0±13.5
			3	14.1±5.1	159.8±4.1	172.0±4.5	189.0±7.0	201.4±7.3
			9	14.1±3.6	152.9±7.4	172.0±5.4	182.4±4.5	197.0±8.0
27			14.1±3.9	140.2±13.3*	166.8±9.6	182.5±10.0	197.0±10.0	
81			14.1±3.8	132.7±6.7*	168.7±8.0	187.0±8.9	207.3±8.7	
243	14.2±3.5		126.3±9.1*	158.0±6.1*	175.5±7.6	185.3±6.7*		
729	14.1±6.2	132	163	184	213			
I.V.	Mouse	M	0	28.5±1.4	32.1±1.8	33.1±1.9		
			0.9	28.9±1.4	34.9±2.1	35.6±1.7		
			2.7	29.0±1.3	34.6±1.6	36.1±1.9		
			8.1	28.7±1.0	35.0±2.5	35.4±1.6		
			24.3	28.7±1.2	34.6±1.7	34.8±1.2		
			72.9	29.3±1.3	-	-		
	F	0	24.2±1.3	26.0±1.9	27.0±2.0			
		0.9	23.6±1.1	26.5±1.7	27.4±1.5			
		2.7	23.9±1.1	26.8±1.2	27.8±1.0			
		8.1	24.0±1.4	27.3±1.6	28.0±1.7			
		24.3	23.3±1.1	26.8±1.3	26.4±1.0			
		72.9	23.7±0.8	-	-			
	Rat	M	0	172.6±4.5	211.1±6.2	252.9±9.3		ND ^b
			0.04	174.2±3.1	208.5±4.1	253.1±6.7		
			0.08	174.4±3.5	207.4±6.1	249.0±10.1		
			0.16	174.3±2.9	21.3±0±2.8	252.5±4.9		
			0.32	174.8±4.9	207	243		
			0.64	174.8±5.0	-	-		
F	0	135.2±3.8	155.1±3.7	171.2±5.0				
	0.04	135.1±4.3	156.3±7.1	173.1±8.6				
	0.08	134.7±4.4	154.8±4.8	173.2±7.1				
	0.16	134.6±3.7	156.7±3.4	177.6±5.5				
	0.32	135.0±4.4	160.0±5.7	179.8±4.3				
	0.64	134.6±2.8	154.6±6.7	172.0±7.5				

Each figure represents mean ± S.D. ^aAll animals were dead. ^bNot determined. *Significantly different from the control (P<0.05).

에 멈추었으며, 이후에는 웅크림, 복와 혹은 횡와자세, 호흡곤란, 침울(depression) 상태가 유지되다가 약 6시간 이후에는 회복되는 양상을 띄었다. 이상에서 관찰된 증상은 암수 모두 0.9 mg/kg 이상 용량군부터 특징적으로 출현하였으며 강도와 지속시간 등이 용량반응성 있게 관찰되었다. 한편, 회복된 동물에서는 시험기간 동안 특기할만한 임상증상을 나타내지 않았다. 랫드의 경우에는 0.04 mg/kg 투여군에서는 투여중 또는 투여직후 발생, 투여직후 운동성증가, 웅크림, sedation, 유루 등의 증상이 나타났으며, 0.08 mg/kg 투여군에서는 투여직후 운동성증가, 유루, 보행실조, 사지 및

귀발적, 복와, 호흡곤란 그리고 경련 등의 증상이 나타났으며 수컷 동물에서 투여후 5분 이내 3마리가 폐사하였다. 0.16mg/kg 이상 투여군에서는 이상과 같은 임상증상이 더욱 강하게 나타났으며 투여직후 흥분증상에 이어 곧바로 심한 호흡곤란, 청색증과 경련 그리고 코주위에 혈액성 혹은 수액성의 비루를 보이며 폐사하였다. 폐사동물은 대부분 5분 이내 폐사하였으며, 생존 동물은 그후 1주일간의 관찰기간중 특이한 임상증상을 나타내지 않았다.

시험기간 중 측정된 체중은 마우스와 랫드의 경우 전 투여군에서 시험물질 투여에 따른 변화를 나타내지 않았으며

Table III. Mortalities in the rats or rabbits percutaneously administered with DA-5018 cream

Route	Species	Sex	Drug	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death		Lethality (%)	LD ₅₀ (mg/kg)
						Days after administration			
						0	1-14		
Dermal	Rat	M	base	2000	5	0	0	0	> 2000
			0.3% DA-5018 cream	125	5	0	0	0	
			250	5	0	0	0		
		500	5	0	0	0			
		1000	5	0	0	0			
		2000	5	0	0	0			
	F	base	0	5	0	0	0	> 2000	
		0.3% DA-5018 cream	125	5	0	0	0		
		250	5	0	0	0			
		500	5	0	0	0			
		1000	5	0	0	0			
		2000	5	0	0	0			
Rabbit	M	base	0	5	0	0	0	> 2000	
		0.3% DA-5018 cream	500	5	0	0	0		
		1000	5	0	0	0			
	2000	5	0	0	0				
	F	base	0	5	0	0	0		> 2000
		0.3% DA-5018 cream	500	5	0	0	0		
1000		5	0	0	0				
Rat	M	base	2000	5	0	0	0	> 2000	
		0.1%	2000	5	0	0	0		
		0.3%	2000	5	0	0	0		
		0.9%	2000	5	0	0	0		
	F	base	2000	5	0	0	0	> 2000	
		0.1%	2000	5	0	0	0		
		0.3%	2000	5	0	0	0		
		0.9%	2000	5	0	0	0		
	Rabbit	M	base	2000	5	0	0	0	> 2000
			0.1%	2000	5	0	0	0	
			0.3%	2000	5	0	0	0	
			0.9%	2000	5	0	0	0	
F	base	2000	5	0	0	0	> 2000		
	0.1%	2000	5	0	0	0			
	0.3%	2000	5	0	0	0			
	0.9%	2000	5	0	0	0			

순조로운 증가를 나타내었다(Table II).

시험물질 투여직후 폐사한 동물의 부검에서는 마우스와 랫드 모두 투여용량에 상관없이 전 동물에서 폐장의 확장이나 출혈소견이 관찰되었을 뿐 그외 특이한 소견은 관찰되지 않았다. 시험기간 종료후 실시한 부검에서는 일부 동물에서 폐장의 출혈반점이 관찰되었으나 그외 장기는 육안 소견상 모두 정상으로 관찰되었다.

DA-5018 cream의 급성독성시험

0.3% DA-5018 cream으로 실시한 시험 및 0.1~0.9% DA-5018 cream으로 실시한 시험 모두에서 폐사된 동물은 관찰되지 않았다(Table III).

0.3% DA-5018 cream의 경피투여 급성독성시험

0.3% DA-5018 cream을 랫드와 토끼에 투여한 결과, 2000 mg/kg을 투여한 최고용량군 및 기타 0.3% DA-5018 cream을 투여한 모든 군에서 시험기간 중 폐사는 관찰되지 않았으며, 대조군인 0.3% DA-5018 cream base만을 투여한 경우에도 동물의 폐사는 관찰되지 않았다.

0.3% DA-5018 cream 2000 mg/kg을 투여한 최고용량군에서 부터 125 mg/kg을 적용한 최저 용량군까지 시험물질을 경피로 적용한 직후나 14일간의 관찰기간중 투여와 연관된 임상증상은 랫드와 토끼 모두에서 관찰되지 않았으며 대조군에서도 시험기간중 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다. 체중의 변화에 있어서도 0.3% DA-5018 cream을 투여한 랫드와 토끼의 모든 군의 체중은 각각 base만을 투여

한 대조군과 비교하여 유의성있는 변화($p<0.05$)를 나타내지 않았다(Table IV). 14일간의 관찰기간 종료후 실시한 부검에서도 0.3% DA-5018 cream을 투여한 랫드나 토끼의 모든 시험군에서 시험물질 투여와 관련된 육안소견은 관찰되지 않았으며 0.3% DA-5018 cream base만을 투여한 대조군에서도 특기할만한 육안소견은 나타나지 않았다.

0.1%~0.9% DA-5018 cream의 경피투여 급성독성시험

0.1%, 0.3% 혹은 0.9% DA-5018 cream 2000 mg/kg을 도포한 랫드와 토끼 모든 시험군의 동물에서 폐사는 관찰되지 않았으며(Table III), 시험물질과 연관된 것으로 판단되는 임상증상도 시험물질 투여직후나 2주간의 관찰기간 동안 출현하지 않았다. 대조물질인 DA-5018 cream base 투여군에서도 폐사나 특기할만한 임상증상을 나타낸 동물은 관찰되지 않았다(Table III).

시험기간중 측정된 각군 동물의 체중에 있어서도 투여한 DA-5018 cream의 농도에 상관없이 시험물질을 적용한 모든 시험군에서 시험물질 투여에 따른 체중의 유의성 있는 변화는 나타나지 않았으며($p<0.05$), 랫드와 토끼의 암수 모든 동물이 순조로운 체중증가를 나타내었다(Table IV).

시험기간 종료후 실시한 부검소견에서도 각 농도의 DA-5018 cream을 투여한 랫드와 토끼의 암수 모든 동물에서 시험물질과 연관된 것으로 판단할 만한 소견은 관찰되지 않았으며, 시험물질 적용부위인 skin에서도 대조군을 포함하여 DA-5018 cream을 도포한 모든 시험군의 동물이 정상

Table IV. Body weight changes in the rats and rabbits percutaneously administered with DA-5018 creams

Route	Species	Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Days after administration			
					0	3	7	13
Dermal	Rat	M	base	2000	222.4±10.6	266.6±15.4	288.8±19.2	366.4±29.1
				125	222.8±10.8	266.8±13.4	291.0±17.5	366.2±24.2
			0.3% DA-5018 cream	250	221.8±9.8	264.0±13.7	290.6±18.0	366.2±18.3
				500	222.0±6.4	260.8±11.5	286.6±9.3	356.2±10.0
				1000	221.4±6.0	262.0±10.0	284.2±6.7	353.4±5.03
			2000	219.0±8.3	252.0±10.9	275.0±15.8	355.6±19.4	
			F	base	0	158.0±2.6	183.2±5.6	189.4±7.5
	125	156.4±9.9			180.0±13.6	195.2±17.2	230.8±18.6	
	0.3% DA-5018 cream	250		160.8±7.8	183.2±8.9	196.6±15.1	231.2±28.3	
		500		156.2±4.8	177.8±2.2	185.4±4.3	220.4±6.4	
		1000		155.4±3.4	179.2±2.8	191.4±2.6	223.6±9.0	
	2000	154.0±8.0		175.8±5.1	186.6±8.1	218.8±8.4		
	Rabbit	M		base	0	3.3±0.1	3.5±0.3	3.6±0.1
			500		3.0±0.3	3.3±0.4	3.5±0.3	3.6±0.3
0.3% DA-5018 cream			1000	3.1±0.2	3.3±0.2	3.5±0.3	3.7±0.3	
			2000	3.0±0.1	3.4±0.5	3.5±0.5	3.8±0.5	
F		base	0	2.8±0.0	3.0±0.1	3.2±0.2	3.4±0.4	
			500	2.8±0.1	2.9±0.1	3.0±0.4	3.2±0.2	
		0.3% DA-5018 cream	1000	2.7±0.1	3.0±0.1	3.1±0.1	3.3±0.3	
2000	2.8±0.4	3.0±0.5	3.1±0.5	3.4±0.4				

Table IV. Body weight changes in the rats and rabbits percutaneously administered with DA-5018 creams

Route	Species	Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Days after administration			
					0	3	7	13
Dermal	Rat	M	base	200	179.0±5.9	194.6±10.1	223.0±19.5	289.2±23.1
			0.1%	2000	180.6±2.8	198.4±7.1	232.8±10.0	297.4±16.5
			0.3%	2000	179.6±6.2	196.8±7.2	232.6±8.2	300.4±11.1
			0.9%	2000	180.6±2.5	197.8±8.8	225.2±16.8	288.0±33.3
		F	base	200	148.2±3.7	160.4±5.9	180.6±6.8	211.2±11.2
			0.1%	2000	146.4±5.1	163.6±8.9	183.4±11.7	209.8±9.8
			0.3%	2000	148.0±3.1	156.8±4.0	179.2±6.6	209.2±5.9
			0.9%	2000	148.4±5.5	159.0±6.4	178.8±7.5	208.0±14.3
	Rabbit	M	base	200	2.22±0.07	2.36±0.11	2.50±0.10	2.66±0.04
			0.1%	2000	2.23±0.32	2.28±0.28	2.37±0.25	2.46±0.22
			0.3%	2000	2.29±0.47	2.41±0.60	2.50±0.62	2.54±0.66
			0.9%	2000	2.41±0.04	2.46±0.01	2.56±0.08	2.72±0.10
F		base	200	2.12±0.06	2.24±0.16	2.36±0.04	2.53±0.11	
		0.1%	2000	2.08±0.66	2.25±0.57	2.41±0.52	2.56±0.43	
		0.3%	2000	2.15±0.06	2.24±0.07	2.27±0.08	2.39±0.06	
		0.9%	2000	2.02±0.58	2.27±0.37	2.39±0.42	2.50±0.46	

Each figure represents mean ± S.D.

으로 관찰되었다.

고 찰

DA-5018은 동아제약(주) 연구소에서 postherpetic neuralgia, diabetic neuropathy, arthritis 등을 적응증으로 하여 개발예정인 진통제로 capsaicin 유도체이다. 현재까지 DA-5018은 여러 동물모델의 시험에서 천연 capsaicin과 비교하여 우수한 진통효과를 보였고 독성측면에서도 모핵인 capsaicin 보다 약한 것으로 평가되고 있으며, 그 작용기전이 morphine이나 NSAIDs와 달라(Lee 등, 1994) 새로운 진통제로 개발이 기대되고 있다. 또한, 본 연구소에서 연구중인 cream type의 국소도포용 진통제로 실시한 효력시험과 스크리닝 독성시험에서도 동일계 약물인 Zostrix-HP® 보다 동등이상의 효력과 보다 약한 독성을 나타내 대체 진통물질로 기대되는 약물이다. 본 시험에서는 DA-5018의 안전성 평가의 일환으로 DA-5018 원체와 DA-5018 cream제의 급성독성을 평가하기 위하여 각각 마우스와 랫드 및 랫드와 토끼를 이용한 투여경로별 급성독성시험을 실시하였다.

DA-5018 원체의 급성독성시험은 마우스와 랫드에 대하여 각각 경구투여 및 정맥투여 2가지 투여경로로 실시하였다. 시험물질 투여후 관찰된 임상증상으로는 마우스와 랫드 모두에서 경구투여의 경우 시험물질 투여후 약 5-10분부터, 정맥투여의 경우 시험물질 투여직후부터 사지 및 귀 발적, 움크림, 운동성 감소, 유루, head flicking, 세안운동, 안검하수, 보행실조, 복외위자세, 호흡곤란, 복식호흡, 청색

증, 경련, 혼수, 발작 등의 증상이 관찰되었으며 증상의 강도와 지속시간이 용량상관성을 나타내었다. 이와같은 증상 중 운동성감소, 복외위자세, 움크림 등의 증상은 급성독성이 심한 동물에서 흔히 나타나는 자기 방어적 기작의 일반적인 증상으로 사료되었으며 유루, 혼수, 진전, 발작 증상은 주로 자율신경계통과 관련있는 증상으로서 시험물질이 자율신경계에 직,간접적인 영향을 주었을 것으로 추정되었다. 호흡곤란, 복식호흡 등의 일반증상은 심장이나 폐의 병변에 따른 것인지 중추신경계내의 호흡중추의 장애 등에 기인한 것인지 명확히 알 수는 없었으나 이들의 영향에 따른 것으로 추측되었다(Hayes, 1989). 즉, DA-5018은 저용량 투여시 유루, 안검하수, 움크림, 운동성감소와 같이 자율신경계나 중추신경계에 영향을 미치며 용량이 증가하면서 흥분, 보행실조, 호흡곤란, 청색증, 경련 등을 나타내 더욱 강하게 중추신경계, 자율신경계, 호흡기계, 신경근접합부 등에 넓게 영향을 미치는 것으로 추정되었다. 한편, 동물의 폐사는 경구투여시험의 경우 마우스 9 mg/kg 이상, 랫드 27 mg/kg 이상 용량군부터 출현하였고, 정맥투여시험의 경우 마우스 0.9 mg/kg 이상, 랫드 0.08 mg/kg 이상 용량군부터 위의 증상을 보이며 급성적으로 폐사하였다. 즉, 폐사는 경구투여시험의 경우 대부분 약물투여후 2시간이내, 정맥투여시험의 경우 약 5-10분 이내에 일어났는데, 폐사한 동물을 부검하였을 경우 모든 동물에서 폐장이 크게 확장되고 폐표면이 선홍색 또는 암적색으로 변색되어 있는 점에 미루어 보면, DA-5018 투여후 심한 호흡곤란에 이어 폐출혈로 동물이 폐사하며 이와같은 급성적인 호흡곤란을 넘긴

동물은 생존하는 것으로 사료되었다. Glinsukon 등(1980)은 capsaicin을 랫드에 투여하면 1-2분 이내 흥분, 경련이 나타나고 곧바로 무호흡상태가 되어 2-5분 이내에 호흡부전으로 폐사하며, 폐사하지 않는 동물은 30분 이내 회복된다고 하였다. 또한 Glinsukon 등(Glinsukon 등, 1980)은 capsaicin의 LD₅₀치는 마우스에서 정맥투여시 0.56 mg/kg, 경구투여시 60-75 mg/kg 이라고 하였으며, 부검소견으로는 경구투여의 경우에 mucus 물질의 분비증가를 동반한 desquamatic necrosis와 같은 위점막 변화 이외에는 특기할만한 조직소견을 나타내지 않았다고 하였다. 본 시험에서도 부검소견으로 시험기간 중 폐사한 동물의 경우 소장외의 변화가 관찰되었으나, 시험기간 종료후 부검한 동물에서는 경구 및 정맥투여 모두에서 특기할만한 육안소견을 나타내지 않아 이와 유사한 결과로 사료되었다. 한편, Tatar 등(Tatar 등, 1988)은 capsaicin을 고양이에게 정맥내로 투여시 5-15 µg/kg의 농도에서도 pulmonary C-fibre receptor가 흥분하여 apnea, bradycardia 등의 증상이 출현한다고 하였으며, 개에서는 2-4 µg/kg의 농도에서 apnea, bradycardia, hypotension 등의 증상이 심하게 나타난다고 알려져 있다(Winning 등, 1986). 이와같은 자료와 본 시험결과 나타난 DA-5018에 의한 임상증상, 폐사형태 및 부검소견등의 결과에 미루어 보면 DA-5018도 capsaicin과 유사한 형태의 독성증상을 유발하지만 독성의 세기는 capsaicin 보다 약한 것으로 추정되었다.

한편, 시험기간중에 나타난 임상증상으로는 경구투여시험에서만 마우스의 경우 9 mg/kg 이상, 랫드의 경우 27 mg/kg 이상 용량군에서 각막혼탁이 출현하여 부검시까지 지속되었다. 이와같은 안구병변은 DA-5018의 신경독성시험(I)과 DA-5018의 랫드에 대한 경구투여 4주 아급성독성시험(미발표자료 a, b)에서도 각각 12.5 mg/kg 이상 및 50 mg/kg 용량군에서 관찰된 결과이며, Shimizu 등(Shimizu 등, 1984)의 마우스와 랫드를 이용한 capsaicin의 안구독성시험에서 동물종에 상관없이 12.5 mg/kg 이상 용량군에서 각막혼탁과 같은 안구병변이 출현한다고 한 시험결과와 유사하였으나 동물종과 투여방법의 차이가 있어 직접적인 용량비교는 어려웠다. 본 시험에서 나타난 안구는 육안적으로는 안구 중심부에서 흰색 혹은 회백색의 반점이 나타나 크게 돌출하거나 함몰되었으며 안구각막이 불투명하게 관찰되었고, 조직학적으로는 안구 각막상피세포의 각화, 증생, 변성과 각막 기질층의 섬유화 및 혈관의 신생이 인지되었다. 이와같은 소견은 동일계 약물인 capsaicin으로 실시한 안구독성시험의 소견과 일치하며(Shimizu 등, 1984; 1987), 본 연구소에서 실시했던 신경독성시험에서의 소견과도 일치하는 결과였다. Shimizu 등(1987)은 capsaicin에 의해 유발되는 neuroparalytic keratitis-like corneal lesion은 삼차신경의 감각신경지배 이상에 의해 유발되는 것이라고 하였으

며 각막상피에서의 변화와 nerve axon 손실이 특징적인 조직학적 소견이라고 하였다. 이와같은 점에 근거하여 판단하면, 본 시험에서 DA-5018에 의해 나타난 안구병변의 육안적 소견과 안구 각막상피세포에서의 조직학적 소견이 모두 capsaicin과 유사한 것으로 미루어 볼때 DA-5018도 동일계 약물인 capsaicin과 유사한 기전으로 각막의 병변을 일으키는 것으로 사료되었다.

DA-5018 투약후 나타난 안면부 좌상이나 상처부위 탈모, 가피형성 등의 증상도 지연형으로 관찰된 증상중의 하나로 전신적으로 출현하는 것이 아니라 얼굴부위나 목부위에 국한되어 관찰되었다. 동일계 약물인 capsaicin의 경우에도 랫드에서 이와같은 안면부 좌상(wound, scab, spot of alopecia)이 나타나는 것으로 보고되어 있으며, 그 이유로는 첫째 시험물질을 투여한 경우 동물의 behavior가 변화(ex, excitation, fighting)하거나, 둘째 capsaicin이 안면부에 광범위하게 분포하는 sensory trigeminal nerve에 영향을 미치고 따라서 삼차신경에 의해 유지되는 안면부의 tissue integrity가 저하되어 발생하거나, 셋째 세안작용과 같은 microtrauma 작용이 반복되어 나타난다고 알려져 있다(Maggi 등, 1987). 이에 근거하여 판단하면 본 시험에서 관찰된 DA-5018 투여후 나타나는 흥분, 돌진, 세안운동증가 등이 안면부 좌상을 유발하는 원인으로 작용하였거나, 안구병변의 발생기전 처럼 sensory trigeminal nerve가 연관되었을 가능성도 있는 것으로 추정되었다.

DA-5018 cream제의 급성독성시험에서는 임상사용예정농도인 0.3% DA-5018 cream 및 농도별(0.1~0.9%) DA-5018 cream을 랫드와 토끼에 경피투여 하였다. 시험결과 두 시험의 경우 모두 랫드나 토끼에서 시험물질 투여직후 및 14일간의 시험기간 중 폐사된 동물이나 시험물질 투여에 따른 임상증상은 관찰되지 않았다. 또한 체중에 있어서도 시험물질 투여에 따른 영향을 관찰되지 않았으며, 부검시에도 실질장기나 투여부 피부에서의 전신적인 독성이나 국소적인 독성변화는 나타나지 않았다. 임상사용예정농도인 0.3% DA-5018 cream으로 실시한 시험에서 최고용량인 2.0 g/kg을 DA-5018만의 양으로 환산하면 6.0 mg/kg에 해당한다. 이와같은 양은 DA-5018 원체로 시험한 경우 랫드나 마우스에서 경구 및 정맥투여시 전신적인 급성독성과 폐사가 나타나는 용량이며, 랫드에 피하투여시에도 1 mg/kg/5 ml (0.02%) 이상에서 전신독성이 나타났고 0.3 mg/kg/5 ml (0.006%) 이상에서 투여부위 피하출혈과 같은 국소독성이 관찰된 시험자료(미발표자료 c)에 미루어 보면, 전신적인 독성과 국소독성이 충분히 나타날 수 있는 용량이다. 그러나 본 시험에서는 cream제 도포후 전신적인 독성이나 국소독성이 출현하지 않아 0.3% DA-5018 cream제는 피하투여에 비하여 국소독성은 20-50배이상, 전신독성은 6-15배 이상 약한것으로 판단되었다. 이와같이 경피투여시

독성이 약하게 나타나는것은 투여경로에 따른 흡수율의 차이, 흡수속도 및 국소에서 농도 등에 기인하는것으로 추정된다. 한편, 이상과 같은 시험결과는 0.3% DA-5018 cream을 랫드에 1주간 반복투여한 결과 2.0 g/kg의 용량까지 피부에 홍반이나 발적 등의 특이한 변화가 관찰되지 않았다는 결과(Powell과 Baik, 1996)나 1.0% DA-5018 cream으로 실시했던 랫드 경피투여 시험(미발표자료 d)에서 시험물질과 연관된 특기할 만한 소견이 없었다는 결과와 유사한 결과이다. Hayes에 따르면 경피적용 약물인 경우 투여한계를 2.0 g/kg으로 삼으며 이 농도에서 독성이 관찰되지 않을 경우 안전한 물질로 판단한다고 하였는데(Hayes, 1989), 이에 근거하면 0.1%~0.9% DA-5018 cream은 경피로 적용할 경우에 전신적인 독성이나 도포부위에서의 국소 독성은 문제가 되지 않을것으로 판단된다.

이상의 실험결과로부터 DA-5018은 1회 경구 및 정맥 투여시 심급성으로 자율신경계, 중추신경계 그리고 호흡기계 등에 영향을 미치며, 경구투여시 신경손상에 의한 각막 혼탁과 피부에서의 탈모 및 가피형성 등의 지연형 독성을 나타내었다. 또한, DA-5018의 LD₅₀치는 경구투여시 마우스의 경우 수컷이 11.5 mg/kg (6.1~20.0), 암컷이 12.6 mg/kg (8.3~19.2)이었으며 랫드의 경우 수컷이 88.3 mg/kg (48.7~161.4), 암컷이 73.2 mg/kg (32.8~160.7)로 나타났으며, 정맥투여시 마우스의 경우 수컷이 11.0 mg/kg (5.26~25.19), 암컷이 18.7 mg/kg (11.0~33.4)이었으며 랫드의 경우 수컷이 0.12 mg/kg (0.08~0.16), 암컷이 0.32 mg/kg (0.21~0.55)로 나타났다. 한편, DA-5018 cream제의 경피투여 급성독성 시험 결과 0.1~0.9% DA-5018 cream은 2000 mg/kg까지의 용량에서 동물의 폐사, 임상증상, 체중변화 및 부검소견 등에서 시험물질과 연관된 것으로 판단되는 특기할 만한 소견을 나타내지 않았으며, LD50치는 랫드와 토끼 모두에서 임수 각각 2000 mg/kg 이상인 것으로 나타났다.

감사의 말씀

본 연구는 과학기술처의 특정연구개발사업의 지원을 받아 실시되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Basha, K. M. and Whitehouse, F. W. (1991). Capsaicin: A therapeutic option for painful diabetic neuropathy. *Henry Ford Hosp. Med. J.* **39**, 138-140.
- Deal, C. L., Schnitzer, T. J., Lipstein, E., Stevens, R. M., Levy, M. D., Albert, D. and Renold, F. (1991). Treatment of arthritis with topical capsaicin: double-blind trial. *Clin. Ther.* **13**, 383-395.
- Donofrio, P. (The capsaicin study group). (1991). Treatment of painful diabetic neuropathy with topical capsaicin. A multicenter, double-blind, vehicle-controlled study. *Arch. Intern. Med.* **151**, 2225-2229.
- Ellis, C. N., Berberian, B., Sulica, V. I., Alan Dodd, W., Jarratt, M. T., Katz, H. I., Prawer, S., Krueger, G., Rex, I. H. and Wolf, J. E. (1993). A double-blind evaluation of topical capsaicin in pruritic psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **29**, 438-442.
- Fitzgerald, M. (1983) Capsaicin and sensory neurones-A Review. *Pain* **15**, 109-130.
- Glinsukon, T., Stitmunnaithum, V., Toskulkao, C., Buranawuti, T. and Tangkrisanavinont, V. (1980). Short communications Acute toxicity of capsaicin in several animal species. *Toxicol.* **18**, 215-220.
- Hayes, A. W. (1989). Principles and methods of toxicology. 3rd ed. Raven press. New York. USA.
- Holzer, P. (1991). Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* **43**, 143-201.
- Janusz, J. M., Buckwalter, B. L., Young, P. A., LaHann, T. R., Farmer, R. W., Kasting, G. B., Loomans, M. E., Kerckaert, G. A., Maddin, C. S., Berman, E. F., Bohne, R. L., Cupps, T. L. and Milstein, J. R. (1993). Vanilloids. 1. Analogs of capsaicin with antinociceptive and antiinflammatory activity. *J. Med. Chem.* **36**, 2595-2604.
- Lee, B., Kim, J. H., Park, N. S. and Kong, J. Y. (1994) KR-25018: A Novel, orally active analgesic with non-narcotic properties. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 304-308.
- Lynn, B. (1990). Capsaicin: Actions on nociceptive C-fibres and therapeutic potential. *Pain* **41**, 61-69.
- Maggi, C. A. (1991). Capsaicin and primary afferent neurons: from basic science to human therapy?. *J. Auto. Ner. Sys.* **33**, 1-14.
- Maggi, C. A., Borsini, F., Santicoli, P., Geppetti, P., Abelli, L., Evangelista, S., Manzini, S., Theodorsson-Norheim, E., Somma, V., Amenta, F., Bacciarelli, C. and Meli, A. (1987). Cutaneous lesions in capsaicin-pretreated rats. A trophic role of capsaicin-sensitive afferents?. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **336**, 538-545.
- Monsereenusorn, Y., Kongsamut, S. and Pezalla, P. D. (1982). Capsaicin-A literature survey. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **10**, 321-339.
- Park, N. S., Park, I. Y., Lee, J. C. and Kim, Y. B. (1995). KR-25003, a potent analgesic capsaicinoid. *Acta. Crystallogr. C.* **51**, 927-929.
- Powell, L. A. J. and Baik, N. G. (1996) DA-5018 analgesic cream, preliminary toxicity to rats by dermal administration for 1 week. *Unreported data.*
- Rebecca, M. C. and Frank, P. (1992). Therapeutic potential of capsaicin-like molecules. Treatment parameters of desensitization to capsaicin. *Life Sci.* **51**, 1767-1775.
- Shimizu, T., Fujita, S., Izumi, K., Koja, T., Ohba, N. and Fukuda, T. (1984). Corneal lesions induced by the systemic administration of capsaicin in neonatal mice and rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **326**, 347-351.
- Shimizu, T., Izumi, K., Fujita, S., Koja, T., Sorimachi, M., Ohba, N. and Fukuda, T. (1987). Capsaicin-induced corneal lesions in mice and the effects of chemical sym-

- pathectomy. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **248**, 690-695.
- Surh, Y. J. and Lee, S. S. (1995). Capsaicin, a double-edged sword: Toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life Sci.* **56**, 1845-1855.
- Tatar, M., Mebber, S. E. and Widdicombe, F. C. (1988). Lung C-fibre receptor activation and defensive reflexes in anesthetized cats. *J. Physiol.* **402**, 411-420.
- Tandan, R., Lewis, G. A., Krusinski, P. B. and Fries, T. J. (1992). Topical capsaicin in painful diabetic neuropathy. Controlled study with long-term follow-up. *Diabet. Care.* **15**, 8-14.
- Watson, C. P., Tyler, L. K., Bickers, D. R., Millikan, L. E., Smith, S. and Coleman, E. (1993). A randomized vehicle-controlled trial of topical capsaicin in the treatment of postherpetic neuralgia. *Clin. Ther.* **15**, 510-526.
- Winning, A. J., Hamilton, R. D., Shea, S. A. and Guz, A. (1986). Respiratory and cardiovascular effects of central and peripheral intravenous injections of capsaicin in man; evidence for pulmonary chemosensitivity. *Clin. Sci.* **71**, 519-526.
- 의약품등의 독성시험 기준. (1994). 국립보건안전연구원 고시 제94-3호.
- 미발표자료 a. DA-5018의 신경독성시험(I) : BALB/c new born mouse에서 DA-5018의 안구독성시험
- 미발표자료 b. DA-5018의 랫드에 대한 경구투여 4주 아급성 독성시험
- 미발표자료 c. DA-5018의 랫드에 대한 피하 투여 예비 급성 독성시험
- 미발표자료 d. DA-5018 cream의 랫드에 대한 1주 반복 경피 투여 독성시험