

새로운 캡사이신유도체 DA-5018의 일반약리작용

김순희 · 손문호 · 신명수 · 김희기 · 배은주 · 차봉진 · 김원배* · 양중익

동아제약주식회사 연구소

General Pharmacology of DA-5018, a New Capsaicin Derivative

Soon Hoe KIM, Moon Ho SON, Myeong Soo SHIN, Hee Kee KIM, Eun Ju BAE,
Bong Jin CHA, Won Bae KIM* and Junnick YANG

Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co. Ltd., 47-5, Sanggal-ri,
Kiheung-up, Yongin-si, Kyunggi-do, 449-900, Korea

(Received December 17, 1996; accepted March 8, 1997)

Abstract – DA-5018(N-(3-(3,4-dimethylphenyl)propyl)-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxyphenylacetamide) is a new capsaicin derivative under development as topical analgesic agent. The general pharmacological properties of DA-5018 on central nervous, cardiovascular, gastrointestinal and other organ systems were studied in experimental animals. DA-5018 cream (0.3%) had no effects on behavior, hexobarbital-induced sleeping time, body temperature, spontaneous activity, blood pressure, heart rate, intestinal charcoal propulsion, urine volume and electrolyte excretion even at a high dose of 2000 mg/kg in rats. In addition, DA-5018 cream had little skin irritation compared to Zostrix-HP (capsaicin, 0.075%) cream in rabbits. In isolated guinea pig tissue studies, DA-5018 increased the contractility of trachea and ileum and also increased sinus rate of atrium in a range of 10^{-8} - 10^{-5} M, but its efficacy as an agonist was weak. These results suggest that DA-5018 cream might be used topically without serious side effects.

Keywords □ DA-5018, topical analgesic cream, general pharmacology

DA-5018은 동아제약주식회사에서 진통제로 개발중인 캡사이신 유도체 화합물이다(Park 등, 1991). 캡사이신은 고추의 매운맛 성분으로서 통증을 전달하고 염증반응을 유발하는 비수초성 구심성 지각신경(C-fiber)에 주로 작용하여 초기 흥분후 탈감작을 일으켜 진통 및 항염증효과를 나타내며, 동물실험에서의 진통효능은 기존의 비스테로이드성 소염진통제보다 강력하고, 모르핀과 동등하다고 보고되어 있다(LaHann과 Farmer, 1983). 외용진통제로 캡사이신 크림이 개발되어 당뇨병성신경병증(조대욱 등, 1993; Karen과 Fred, 1991; Levy 등, 1991; Tandan 등, 1990), 대상포진(Frank 등, 1988; Joel 등, 1987) 및 관절염(Chad 등, 1991)에 수반되는 통증의 개선에 효과를 보고있으나, 발적, 작열감 같은 부작용이 있으며, 불충분한 피부흡수로 인하여 효능에도 한계가 있는 등의 단점(Carter, 1991)이 지적되고 있다.

DA-5018은 전신 또는 국소투여에 의해 여러 가지 급성 및 만성 통증모델에서 캡사이신보다 강력한 진통효과를 나타내면서도 피부자극성은 매우 약하기 때문에(손문호 등,

투고중; 배은주 등, 투고중), 외용진통제로 개발을 시도하고 있다. 본 연구에서는 DA-5018크림을 피부도포시에 사람에게서 나타날지도 모르는 부작용을 예견하고 기타 특이한 약리작용의 유무를 밝히기 위하여 일반약리작용을 검토하였다.

실험방법

시험물질 및 시약

DA-5018(N-(3-(3,4-dimethylphenyl)propyl)-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxyphenylacetamide)은 분자식 $C_{22}H_{30}N_2O_3$, 분자량 370.49, 융점 $114^{\circ}C$ 로서, 물에는 녹기어려우나 에탄올, 아세톤 등의 유기용매에는 잘 녹는 백색 또는 미백색의 결정성 분말이다. 실험에 사용한 DA-5018 원료는 동아제약(주) 연구소에서 합성하였으며, *In vivo* 실험에는 제제연구실에서 제조한 0.3% DA-5018크림을 사용하였다. *In vitro* 실험에는 DA-5018 염산염을 증류수에 용해하여 사용하였다. 그 밖에 haloperidol, hexobarbital-Na, chlorpromazine, pentetrazole, carbachol, furosemide, histamine, indomethacin은 Sigma시약을 사용하였다. Morphine · HCl

* To whom correspondence should be addressed.

(제일제약)과 Zostrix-HP(GenDerm, USA)는 시판품을 구입하여 사용하였다.

실험동물

체중 200 g 전후의 웅성 SD(Sprague-Dawley)계 랫드를 미국의 B&K사에서 구입하였고, NZW(New Zealand White)계 토끼 및 기니픽은 국내업자로부터 공급받아 순화기간을 거친 후 사용하였다. 순화기간과 실험기간중의 동물 사육환경은 온도 23±3℃, 습도 55±15%, 조명시간 12시간(07:00-19:00)의 조건을 유지하였으며, 사료와 물은 자유섭취시켰다. 단 장관수송능에 대한 작용 실험에서는 랫드를 24시간 절식 후 사용하였다.

용량설정 및 약물처리

랫드(도포면적 3×4 cm²) 및 토끼(12×12 cm²)의 등에 DA-5018크림을 도포시에는 최대도포량인 2000 mg/kg을 고용량으로 하고, 600 mg/kg을 중용량, 200 mg/kg을 저용량으로 하였으며, 기제를 대조군으로 하였다. *In vitro* 실험에서는 랫드 피하 ED₅₀ 값인 1 mg/kg 투여시의 최고혈중농도치의 약 30배 농도인 10⁻⁵ M을 최고 농도로 설정하였다. 크림제는 실험 전날 등털을 전기면도기로 상처가 생기지 않도록 잘 깎은 다음, 실험 당일 일정면적에 비닐장갑을 낀 손가락으로 약 60초간 퍼서 발랐으며, 케이지당 1마리씩 넣고 실험하였다.

중추신경계에 미치는 영향

일반증상 및 행동에 대한 작용

랫드를 군당 10마리씩 사용하였다. 일반증상의 관찰은 Irwin의 다차원관찰법(Irwin, 1968)을 변형하여 행동변화, 신경증상, 자율신경증상 및 중독증상을 관찰하였다. 시험용 크림 도포후 1, 3, 6 및 24시간에 일반증상을 관찰하였다. 비교약물로는 haloperidol 10mg/kg을 경구투여하였으며, 시험용 크림과 같은 시간에 관찰을 행하였다.

Hexobarbital-Na 수면에 대한 작용

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림을 도포하고 6시간 후에 hexobarbital-Na (100 mg/kg, i.p.)을 복강주사하고 수면유도시간과 수면시간을 측정하였다. Hexobarbital-Na 주사부터 정향반사 소실까지를 수면유도시간으로, 정향반사 소실부터 회복까지의 시간을 수면시간으로 하였다. 비교약물로는 chlorpromazine 50 mg/kg을 경구투여하였으며, 1시간후에 hexobarbital-Na을 투여하였다.

경련유발작용

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림을 도포하고 6시간 후에 5분동안 Convuls-1(Columbus Instruments, USA)을 이용하여 경련을 측정하였다. 비교약물로서는 pentetrazole 60 mg/kg을 복강내 투여하였으며, 투여직후부터 5분동안의 경련을 동일한 방법으로 측정하였다.

정상체온에 대한 작용

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림 도포전과

도포후 1, 3, 6 및 24시간에 Thermister 온도계를 항문으로부터 약 3 cm 삽입하여 직장체온을 측정하였다. 비교약물로서는 aminopyrine 50 mg/kg을 경구투여하였으며, 동일한 방법으로 측정하였다.

자발운동에 대한 작용

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림 도포 15, 60, 120 및 240분 후에 방음실내에서 Opto-Varimax (Columbus Instruments, USA)를 이용하여 5분간씩 자발운동을 측정하였다. 매번 대조군과 시험물질군의 랫드 1마리씩을 각각의 측정 케이지에 넣고 동시에 측정하였다. 비교약물로는 chlorpromazine 10 mg/kg을 증류수에 녹여 경구투여하였다.

Catalepsy 유발작용

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림을 도포한 후 1, 3, 6 및 24시간에 catalepsy를 측정하였다. Catalepsy의 stage와 score 측정은 Verna 등의 방법(Verma와 Kulkarni, 1992)에 따라 아래와 같이 실시하였으며, 비교약물로는 haloperidol 10 mg/kg을 경구투여하였다.

- (stage 1) 자유롭게 움직임 Score=0점
 - (stage 2) 만지거나 누르면 움직임 Score=0.5점
 - (stage 3) 앞발을 3 cm 높이의 철봉에 올려 놓았을 때 10초 이상 정상체위로 돌아가지 못하고 그 상태를 유지함. Score=각 앞발 당 0.5점, 총 1점
 - (stage 4) 앞발을 9 cm 높이의 철봉에 올려 놓았을 때 10초 이상 정상 체위로 돌아가지 못하고 그 상태를 유지함. Score=각 앞발 당 1점, 총 2점
- (완전한 catalepsy 반응을 보이면 score는 3.5점으로 정함.)

혈압 및 심박수에 미치는 영향

랫드를 군당 5-6마리씩 사용하였다. 랫드의 경동맥에 캐눌라 삽입수술을 하고, 18-24 시간 동안 안정화 시킨 다음, 시험용 크림을 도포하였다. 도포후 30분 간격으로 10시간 동안 랫드가 자유롭게 움직이는 상태에서 Signal Processor (Modular Instruments, USA)를 사용하여 혈압과 심박수를 측정하였다.

적출장기에 미치는 영향

기니픽 적출회장에 대한 작용

체중 250 g 전후의 기니픽을 방혈치사시켜 회장을 적출한 후, Krebs's액(NaCl 118.4 mM; KCl 4.7 mM; CaCl₂ · 2H₂O 1.9 mM; MgSO₄ · 7H₂O 1.2 mM; KH₂PO₄ 1.2 mM; NaHCO₃ 25 mM; Dextrose 10.1 mM; CaNa₂ · EDTA 0.01 mM)에 담고 cecum에서 약 10 cm되는 부위는 버리고 그 윗부분을 1.5 cm 취하여 표본을 작성하였다. 표본을 37℃의 Magnus 장치에 현수한 뒤 isotonic transducer에 연결하였으며, 500 mg의 정지장력을 걸어주었다. 1 시간동안 15분 간격으로 씻어주면서 안정화시켰다. 시험약물은 10⁻⁹~

10^{-5} M까지 누적적으로 가하여 용량반응곡선을 구하였다. 비교약물로는 carbachol을 사용하였으며, carbachol의 최대 수축력을 100%로 하고 이에 대한 시험물질의 상대수축력을 %로 나타내었다.

기니픽 적출기관에 대한 작용

체중 250 g 전후의 기니픽을 방혈치사시켜 기관을 적출한 후, Krebs's액에 담고, 지방조직을 제거하였다. 2 mm 폭으로 절개한 후, 6-7개의 표본을 실로 고정하고, 37°C의 Magnus 장치에 현수한 다음, isometric transducer에 연결하였다. 1 g의 정지장력을 준 후 1 시간동안 15분 간격으로 씻어주면서 안정화시켰다. 비교약물로서 carbachol을 10^{-9} ~ 10^{-5} M까지 누적적으로 가하여 용량반응곡선을 얻고, 씻어준 후 1 시간 동안 다시 안정화시켰다. 시험약물을 10^{-9} ~ 10^{-5} M까지 누적적으로 가하여 농도반응곡선을 얻었다. 시험약물의 수축력은 carbachol의 최대 수축력을 100%로 하고 이에 대한 상대 %로 구하였다.

기니픽 적출심방 및 유두근에 대한 작용

체중 250 g 전후의 기니픽을 방혈치사하고 신속히 심장을 적출하여 Krebs's액에 넣고 폐를 비롯한 주변조직을 제거하였다. 우심방 및 우심실 유두근 표본을 제작하여 Magnus장치에 현수하고 isometric transducer에 연결하였다. 심방표본에 1 g, 유두근표본에 0.5 g의 정지장력을 가하였으며, 유두근표본에는 전기자극(1 Hz, 5 ms)을 가하였다. 이후 1 시간동안 15분 간격으로 씻어주면서 안정화시켰다. 시험약물은 10^{-9} ~ 10^{-5} M까지 누적적으로 가하여 농도반응곡선을 얻었다.

반응은 약물을 가하기 전의 수축력 또는 박동수를 기준으로 하여 %변화율로 나타내었다.

뇨량 및 뇨전해질에 미치는 영향

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림을 도포하고 즉시 개별 대사케이지에 넣고, 24시간 동안 뇨를 채취하여 뇨량을 측정하고, 뇨중 Na^+ , K^+ 및 Cl^- 농도를 Na/K/Cl instant ISE analyzer (LYTENING system 30)를 이용하여 정

량하였다. 비교약물로는 furosemide 15 mg/kg을 경구투여하였으며, 이 경우에는 6시간 동안 뇨를 채취하여 사용하였다.

소화기계 미치는 영향

장관 수송능에 대한 작용

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림을 도포하고 6시간 후에 5% charcoal meal (0.5% CMC-Na로 현탁)을 마리당 2 ml씩 경구투여하였다. 30분 후에 랫드를 치사시켜 위장관을 적출하고 유문부에서 직장까지의 charcoal의 이동거리를 측정하였다. 소장 길이에 대한 charcoal 이동거리의 비율을 구하여 이동율로 하였다.

위, 십이지장 점막 자극작용

랫드를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림을 도포하고, 4시간 후에 랫드를 치사시켜 위와 십이지장을 적출하고 1% formalin액을 20 ml 씩 채워넣었다. 1% formalin액에 담가서 2시간 동안 방치한 후, 위와 십이지장을 절개하여 내벽의 gastric lesion을 관찰하였다.

피부에 미치는 영향

3 kg전후의 토끼를 군당 6마리씩 사용하였다. 시험용 크림을 일정면적에 도포하고 24시간에 도포한 피부의 상태를 Draize법(Draize, 1965)에 따라 관찰하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 사용하여 나타내었다. 각 군간의 차이는 ANOVA와 Dunnett's t-test 또는 Fisher exact test로 비교하였으며, 대조군과 비교하여 $p < 0.05$ 일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험방법

중추신경계에 미치는 영향

일반증상 및 행동에 대한 작용

DA-5018크림은 200, 600 및 2000 mg/kg의 모든 용량군에서 이상 증상이나 행동은 보이지 않았다(Table I). Haloperidol은 경계성저하, 상동증상, 자발운동저하, 사지긴장도

Table I. Effect of DA-5018 cream on general behaviors in SD rats

	Time after administration																			
	1 hr					3 hr					6 hr					24 hr				
	Group																			
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
1) Behavioral profile																				
Alertness	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	0
Stereotypy	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	9*	0	0	0	0	8*	0	0	0	0	0
Grooming	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vocalization	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Irritability	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spontaneous activity	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	0
Pain response	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table I. Continued.

	Time after administration																			
	1 hr					3 hr					6 hr					24 hr				
	Group																			
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
2) Neurological profile																				
Startle response	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Straub's tail	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tremour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Abnormal gait	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Righting reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grip strength	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	0
Pinna reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Corneal reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ipsilateral flexor reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3) Autonomic profile																				
Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hypothermia	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	9*	0	0	0	0	9*	0	0	0	0	0
Writhing	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin color	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Respiratory rate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Palpebral size	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	10*	0	0	0	0	9*	0	0	0	0	0
Exophthalmos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4) Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A: Base 2000 mg/kg, B: DA-5018크림 200 mg/kg, C: DA-5018크림 600 mg/kg, D: DA-5018크림 2000 mg/kg, E: Haloperidol 10 mg/kg, p.o. *indicates significant difference at p<0.001 level when compared with the control group. Each value is the number of rats showing clinical signs out of 10 rats used.

Table II. Effect of DA-5018 cream on hexobarbital-induced sleeping time in SD rats

Treatment	Dose (mg/kg)	Sleep-inducing Time (min)	Sleeping Time (min)
Base	2000	3.8±0.2	22.0±1.9
DA-5018 cream	200	4.1±0.4	18.5±1.3
	600	4.2±0.2	21.7±1.4
	2000	4.3±0.2	20.0±3.1
Chlorpromazine	20 ^a	3.0±0.3*	42.8±5.4**

^amg/kg, po. ***indicates significant difference at p<0.05 and p<0.01 levels when compared with the control group.

Table III. Proconvulsive effect of DA-5018 cream in SD rats

Treatment	Dose	Impulse counts/sec
Base	2000	0.349±0.116
DA-5018 cream	200	0.242±0.126
	600	0.458±0.103
	2000	0.352±0.108
Pentetrazole	60 ^a	2.346±0.265**

^amg/kg, ip. **indicates significant difference at p<0.01 levels when compared with the control group.

저하, 체온강하 등이 관찰되었다.

Hexobarbital-Na 수면에 대한 작용

Table IV. Effect of DA-5018 cream on rectal temperature in SD rats

Time after administration (hr)	Body Temperature (°C)					
	Base	DA-5018 (mg/kg)				Aminopyrine
	2000	200	600	2000	50 ^a	
0	37.2±0.0	37.2±0.2	37.2±0.1	37.1±0.1	37.3±0.2	
1	36.9±0.2	37.1±0.1	37.1±0.2	37.1±0.2	36.5±0.1*	
3	36.9±0.1	37.0±0.1	36.9±0.1	36.8±0.1	36.5±0.2*	
6	37.0±0.1	37.1±0.1	37.0±0.1	36.8±0.2	36.8±0.1	
24	37.3±0.1	37.2±0.1	37.1±0.1	37.2±0.1	37.2±0.1	

^amg/kg, po. *indicates significant difference at p<0.05 level when compared with the body temperature at time 0 hr.

Table V. Effect of DA-5018 cream on spontaneous activity in SD rats

Time (min)	Distance Traveled (cm)							
	200 mg/kg		600 mg/kg		2000 mg/kg		10 mg/kg, po	
	Base	DA-5018	Base	DA-5018	Base	DA-5018	Vehicle	CPZ
15	1173±127	1109±145	1245± 87	839± 91	1630±127	1343±128	1436± 80	1080±221
60	511±128	608±104	411± 96	509±124	706±106	696±171	1024±219	237± 86**
120	408± 90	443± 99	548±135	499± 85	446± 65	531± 61	556± 75	109± 41**
240	354± 71	328± 78	265± 61	336± 68	217± 32	110± 43	533±174	84± 21**

**indicates significant difference at $p < 0.01$ level when compared with the vehicle(D.W.) treated group.

Table VI. Effect of DA-5018 cream on catalepsy in SD rats.

Time after administration (hr)	Catalepsy score				
	Base		DA-5018 (mg/kg)		Haloperidol
	2000	200	600	2000	10"
0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	1.5±0.6**
3	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	3.2±0.2**
6	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	3.2±0.2**
24	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

"mg/kg, po. **indicates significant difference at $p < 0.01$ level when compared with the control group.

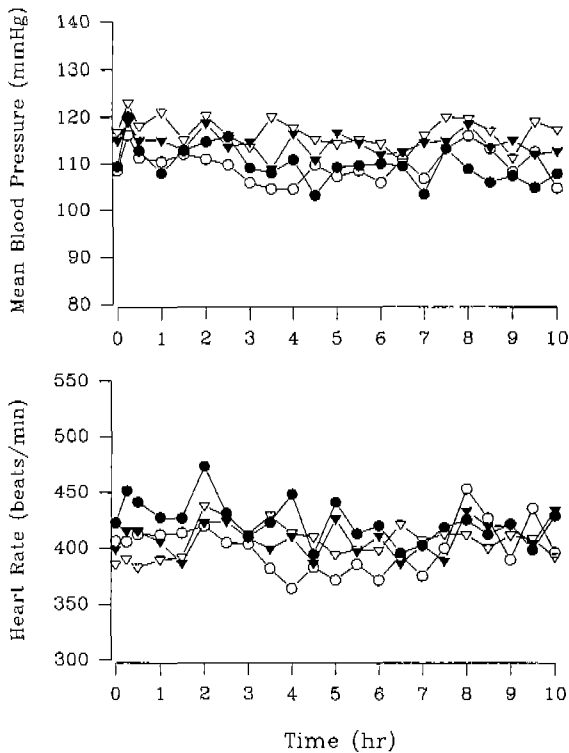


Fig. 1. Effects of DA-5018 cream(0 mg/kg, ○; 200 mg/kg, ●; 600 mg/kg, ▽; 2000 mg/kg, ▼) on hemodynamics of conscious SD rats.

DA-5018크림은 모든 용량군에서 hexobarbital에 의한 수면유도시간 및 수면시간에 차이를 보이지 않았다(Table II).

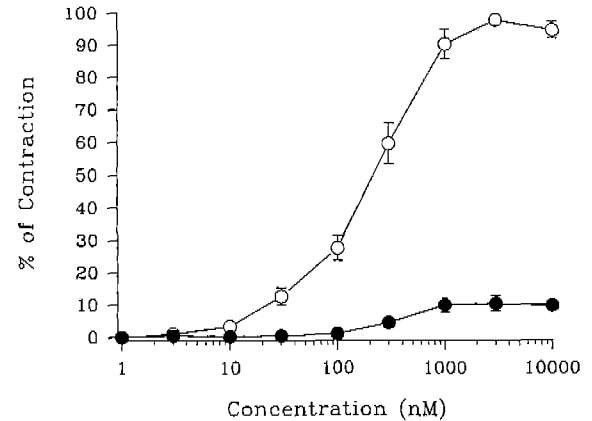


Fig. 2. Effect of DA-5018 (●) and carbachol (○) on the contractility of isolated guinea pig ileum. Each point represents the mean of 6 to 8 preparations.

Chlorpromazine은 수면유도시간을 유의적으로 감소시켰으며, 수면시간은 유의적으로 증가시켰다.

경련유발작용

DA-5018크림은 모든 용량군에서 경련의 지표인 impulse counts/sec에 차이가 없었으나, pentetrazole은 매우 유의적인 차이를 보였다(Table III).

정상체온에 대한 작용

도포후 1, 3, 6, 24시간의 체온은 DA-5018크림을 도포한 모든 용량군에서 차이를 보이지 않았으나, aminopyrine 투여군은 투여 1시간 및 3시간에 투여전에 비해 유의적으로 체온이 낮았다(Table IV).

자발운동에 대한 작용

DA-5018크림은 모든 용량군에서 자발운동량의 차이를 보이지 않았다(Table V). 그러나, chlorpromazine 투여군은 투여 60분, 120분, 240분에서 대조군에 비해 유의적인 자발운동량 감소를 보였다.

Catalepsy 유발작용

DA-5018크림은 모든 용량군에서 catalepsy를 나타내지 않았다(Table VI). 그러나, haloperidol은 투여 1, 3, 6시간에서 catalepsy를 나타내었으며, 24시간에는 catalepsy가 사라졌다.

혈압 및 심박수에 미치는 영향

대조군 및 DA-5018크림 도포군 모두, 도포후 10시간 동

안 측정된 평균혈압 및 심박수는 약물도포 전과 비교하여 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

적출장기에 미치는 영향

기니픽 적출회장에 대한 작용

Cabarchol은 10^{-8} ~ 10^{-5} M범위에서 농도-수축반응을 보였

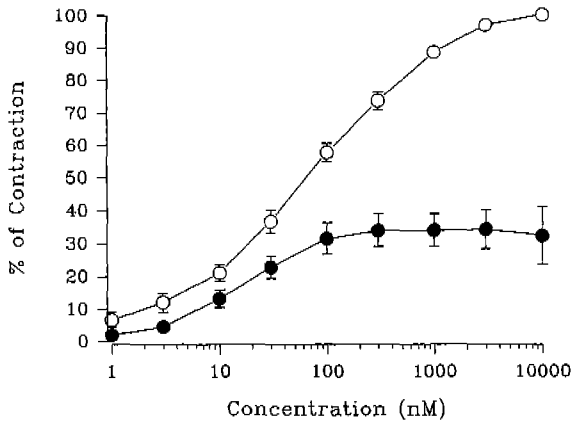


Fig. 3. Effect of DA-5018 (●) and carbachol (○) on the contractility of isolated guinea pig trachea. Each point represents the mean of 7 to 8 preparations.

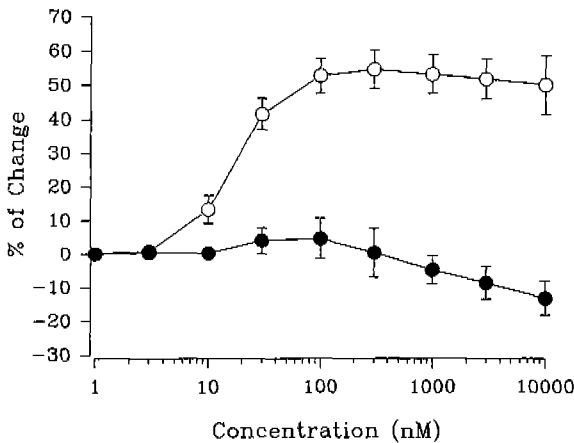


Fig. 4. Effect of DA-5018 on the contractile force of isolated papillary muscle (●) and sinus rate(○) of isolated atrium of the guinea pig. Each point represents the mean of 5 to 7 preparations.

다(Fig. 2). DA-5018의 수축반응은 10^{-6} M에서 나타났으며, 수축력은 carbachol의 약 10%정도로 미약했다.

기니픽 적출기관에 대한 작용

Cabarchol은 10^{-9} ~ 10^{-5} M범위에서 농도-수축반응을 보였다(Fig. 3). DA-5018은 10^{-8} M에서부터 수축을 시작하여 10^{-6} M에서 최대로 수축을 하였으며, 수축력은 carbachol의 약 35%정도였다.

기니픽 적출심방 및 유두근에 대한 작용

DA-5018은 심실 유두근의 수축력에는 거의 영향을 주지 않았으나, 우심방의 박동수는 10^{-8} ~ 10^{-6} M범위에서 농도의 존적으로 증가시켰다(Fig. 4).

노량 및 전해질 배설에 미치는 영향

DA-5018크림은 모든 용량군에서 24시간뇨의 노량 및 배설이온량에 차이가 없었으나, furosemide는 6시간뇨의 노량 및 배설이온량이 vehicle처치군에 비하여 유의성있게 증가하였다(Table VII).

Table VIII. Effect of DA-5018 on intestinal propulsion in SD rats

Treatment	Dose (mg/kg)	Impulse counts/sec
Base	2000	0.349±0.116
DA-5018 cream	200	0.242±0.126
	600	0.458±0.103
	2000	0.352±0.108
Pentetrazole	60 ^a	2.346±0.265**

^amg/kg, sc. **indicates significant difference at p<0.01 level when compared with the control group.

Table IX. Effect of DA-5018 cream on gastric irritation in SD rats

Treatment	Dose (mg/kg)	Gastric lesion (mm ³)
Base	2000	0.0±0.0
DA-5018 cream	200	0.0±0.0
	600	0.0±0.0
	2000	0.0±0.0
Indomethacin	40 ^a	6.83±2.5**

^amg/kg, po. **Indicates significant difference at p<0.01 level when compared with the control group.

Table VII. Effect of DA-5018 cream on urinary volume and electrolyte in SD rats

Treatment	Dose (mg/kg)	Urinary volume (ml)	Urinary Electrolyte Excretion (μ Eq)		
			Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Vehicle	0	2.2±0.2	281.4±38.4	197.9±19.8	363.2±37.9
Furosemide	15	6.6±0.6**	804.4±71.0**	304.1±28.7*	1067.1±77.5*
Base	2000	18.6±4.3	816.2±82.2	1370.8±102.8	890.9±109.9
DA-5018 cream	200	23.9±5.5	721.5±140.0	1447.9±176.3	921.2±143.7
	600	16.9±4.1	939.3±140.0	1454.8±133.7	1076.3±148.0
	2000	14.7±3.5	796.0±71.9	1263.2±121.4	922.4±74.1

***indicates significant difference at p<0.05 and p<0.01 levels when compared with the vehicle treated group.

Table X. Effect of DA-5018 cream on skin irritation in NZW rabbits

Treatment	Dose (mg/kg)	Erythema	Edema
Base	2000	0.0±0.0	0.0±0.0
DA-5018 cream	200	0.0±0.0	0.0±0.0
	600	0.0±0.0	0.0±0.0
	2000	1.3±0.2*	0.0±0.0
Zostrix-HP	2000	1.5±0.2*	0.2±0.2

*Range of irritation index is "mildly irritating".

소화기계에 미치는 영향

장관수송능에 대한 작용

DA-5018크림은 모든 용량군에서 대조군에 비해 charcoal이동율에 차이가 없었으나, morphine·HCl군은 charcoal이동율이 유의적으로 감소되었다(Table VIII).

위, 십이지장 점막 자극작용

DA-5018크림과 대조군은 위점막에 gastric lesion이 생성되지 않았으나, indomethacin은 유의적으로 gastric lesion을 유발하였다(Table IX).

피부에 미치는 영향

DA-5018크림의 기제는 토끼에서의 피부자극성 시험결과 erythema와 edema를 일으키지 않았으며, DA-5018크림은 edema는 생기지 않았으며 미약한 erythema를 볼수 있었다(Table X). 그러나 대조약물인 Zostrix-HP는 erythema와 edema를 유발하였다.

고 찰

DA-5018크림은 일반증상 및 행동, 수면증강, 경련유발, 정상체온, 자발운동에 전혀 부작용을 보이지 않은 점으로 보아 중추신경계에 대한 영향은 없다고 생각된다. 또한 혈압, 심박수의 순환기계, 뇨량, 전해질 배설의 비뇨계 및 장관수송능, 위 십이지장 점막자극 같은 소화기계에 대해서도 특기할만한 영향은 보이지 않았다. 캡사이신은 경구 또는 피하로 고용량을 전신투여하였을 때, 중추신경계, 호흡순환기계, 소화기계 등에 다양한 부작용을 일으킬 수 있다고 알려져 있기 때문에, 캡사이신 유도체인 DA-5018크림을 국소도포한 상기 실험의 경우 부작용이 전혀 보이지 않았던 이유로서는 먼저 DA-5018의 전신흡수 여부를 고려해 볼 필요가 있겠다. DA-5018은 국소용 외용진통제로 개발 중인 물질로서, 랫드에 피하주사시의 ED₅₀은 Randall-Selitto법의 경우 0.66 mg/kg, Tail flick법의 경우 2.0 mg/kg이기 때문에 0.3% DA-5018크림을 최대량으로 도포하더라도 전신작용에 의한 진통효과를 기대하기는 어렵다. 실제로 ¹⁴C-표식-DA-5018을 가지고 동일한 기제를 사용하여 조제한 DA-5018크림을 랫드에 국소도포하여 약동력학적 검토를 수행한 결과, 검출한계가 2 ng임에도 불구하고, 도포후

24시간까지 혈중에서 검출되지 않았다(이응두 등, 투고중). 현재 개발이 검토되고 있는 DA-5018 크림제는 도포부위에서의 저류성이 매우 크기때문에 도포부위로부터 순환기계를 매개로 하여 전신혈액으로 이행하는 속도가 매우 느려 거나, 거의 이행이 일어나지 않는 것으로 생각된다. 따라서 DA-5018크림을 국소도포할 때 부작용을 나타내지 않는 주요 원인은 혈중에서 방사활성이 검출되지 않을 정도로 전신흡수율이 낮기 때문이라고 생각된다. 한편 *in vitro* 실험의 경우, DA-5018은 기관표본에서는 3 nM, 회장표본에서는 100 nM의 비교적 낮은 농도부터 수축반응을 나타내기 시작하였다. 그러나, 최대수축은 비교약물의 최대수축에 비해 매우 작아서 작용약으로서의 효능이 매우 낮았다. *In vitro*의 기니픽 심장부분표본실험에서도 DA-5018은 10 nM의 낮은 농도에서부터 심박수를 증가시켰으나, *in vivo*로 실시한 도포실험에서는 최고용량군에서도 12시간동안 심박수에 전혀 영향이 없었다. 이것은 기니픽이 랫드보다 캡사이신에 대한 감수성이 크기 때문에(Jansco 등, 1970; Glinsukon 등, 1980) 중차를 고려해 볼 수 있겠으나, 전신흡수가 거의 일어나지 않았던 것이 더 큰 이유라고 생각된다. *In vitro*에서의 작용은 작용약으로서의 효능이 비교적 낮고 전신흡수가 거의 이루어지지 않는다는 사실로 미루어 크게 고려할 부작용은 아니라고 생각된다. 기존의 캡사이신크림은 피부자극성이 커다란 단점이 되고 있다(Carter, 1991). 토끼피부 자극성시험에서 DA-5018크림은 대조약물인 Zostrix-HP에 비해 자극성이 미약했다. 마우스와 랫드를 사용한 시험계에서는 DA-5018크림이 Zostrix-HP에 비해 자극성이 현저히 적음이 검토된 바 있었다(손문호 등, 투고중).

이상의 실험결과들을 종합해 볼 때, 국소용 외용제인 DA-5018크림은 진통효과를 기대하는 임상 적용용량 범위 내에서 의미있는 전신적 부작용을 나타내지 않을 것으로 생각된다.

참고문헌

- 배은주, 김순희, 손문호, 김희기, 신명수, 차봉진, 김현지, 김원배, 양중익. 당뇨병성 신경병증 모델에서 새로운 캡사이신 유도체 DA-5018의 진통효과. 대한당뇨병학회지 투고중.
- Carter, R. B. (1991). Topical capsaicin in the treatment of cutaneous disorders. *Drug Dev. Res.* **22**, 109-123.
- Chad, L. D., Thomas, J. S., Esther, L., James, R. S., Randall, M. S., Moise, D. L., Daniel, A. and Frederick, R. (1991). Treatment of arthritis with topical capsaicin. A double-blind trial. *Clin. Ther.* **13**, 383-395.
- Draize, J. H. (1965). Appraisal of the safety of chemical in foods and cosmetics-dermal toxicity. Association of Food and Drug Officials of the United States, Topeka, Kansas, 46-59.
- Frank, A. B., Christopher, F. G. and Gregory, B. K. (1988). Successful treatment of postherpetic neuralgia with cap-

- saicin. *Am. J. Ophthalmol.* **106**, 758-759.
- Glinsukon, T., Stitmunnaithum, V., Toskulkao, C., Buranauti, Y. and Tangkrisanavinont, V. (1980). Acute toxicity of capsaicin in several animal species. *Toxicol.* **18**, 215-220.
- Irwin, S. (1968). Comprehensive observational assessment; Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologica* **13**, 222-257.
- Jancso, G., Szolcsanyi, J. and Jancso, N. (1970). Irreversible impairment of thermoregulation induced by capsaicin and similar pungent substances in rats and guinea pigs. *J. Physiol. (Lond.)* **206**, 495-507.
- Joel, E. B., David, R. B., Mark, V. D. and Jay, Y. R. (1987). Treatment of chronic postherpetic neuralgia with topical capsaicin. *J. Am. Acad. Dermatol.* **17**, 93-96.
- 조대옥, 김재만, 김덕윤, 우정택, 김성운, 양인명, 김진우, 김영설, 김광원, 최영길. (1993). 동통을 동반한 당뇨병성 말초신경병증 환자에서 capsaicin 국소도포의 효과. *당뇨병* **17(4)**, 411-417
- Karen, M. and Fred, W. (1991). Capsaicin; A therapeutic option for painful diabetic neuropathy. *Henry Ford Hosp. Med. J.* **39(2)**, 138-140.
- LaHann, T. R. and Farmer, R. W. (1983). Antinociceptive actions of capsaicin in rodents. *Proc. West. Pharm. Soc.* **26**, 145-149.
- 이용두, 이종진, 심현주, 이상득, 김원배, 양중익, 이명걸. 피하주사 및 국소도포시 [¹⁴C] DA-5018의 약동력학. *응용약물학회지 투고중.*
- Levy, D. M., Abraham, R. R. and Tomlinson, D. R. (1991). Topical capsaicin in the treatment of painful diabetic neuropathy. *N. Engl. J. Med.* **14**, 1176-1177.
- Park, N. S., Ha, D. C., Choi, J. K., Kim, H. S., Lim, H. J. and Lee, B. Y. (1991). N-Aralkylated 4-(2-aminoethoxy) phenylacetamide derivatives as potent analgesic and anti-inflammatory agents. *Korean J. Med. Chem.* **1(1)**, 36-43.
- 손문호, 배은주, 김희기, 신명수, 김순희, 김원배, 양중익, 박노상. 새로운 캡사이신 유도체 DA-5018의 급성통증 모델에서의 진통작용. *응용약물학회지 투고중.*
- Verna, A. and Kulkarni, S. K. (1992). D1/D2 dopamine and N-methyl-D-aspartate(NMDA) receptor participation in experimental catalepsy in rats. *Psychopharmacology(Berl.)* **109**, 477-483.
- Tandan, R., Aronin, N., Chad, D., Donofrio, P., Ramamurthy, S., Scheffler, N. and Kallal, J. (1990). Topical capsaicin in painful diabetic polyneuropathy. *Neurology* **40(Suppl 1)**, 380.