

## 새로운 캡사이신 유도체 DA-5018의 진통활성 기전연구 : Opiate 수용체 및 Prostanoid와의 상관성

손미원 · 손문호 · 배은주 · 김순희 · 김원배\* · 양종의  
동아제약(주)연구소

## Analgesic Action Mechanism of DA-5018, a New Capsaicin Derivative : Relationship to Opiate Receptors and Prostanoids

Miwon SON, Moon Ho SON, Eun Ju BAE, Soon Hoe KIM,  
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 February 25, 1997; accepted March 8, 1997)

**Abstract** – DA-5018, a new capsaicin derivative, showed potent analgesic effect comparable to that of morphine in various experimental acute pain models. In this study, whether the analgesic mechanism of DA-5018 is related to opiate receptors or prostanoids was investigated. The affinity of DA-5018 for opiate receptor was determined by receptor binding assay. The  $K_i$  values of DA-5018 for nonspecific and specific  $\mu$ ,  $\kappa$ ,  $\delta$ -opiate receptor was  $299 \pm 8.88$ ,  $735 \pm 215$ ,  $2930 \pm 163$ ,  $1550 \pm 813$  nM, respectively and DA-5018 exhibited lower affinity than morphine. DA-5018 ( $10^{-9} \sim 3 \times 10^{-5}$  M) inhibited electrically-evoked contractions of the guinea pig ileum and rat vas deferens, and these inhibition was not antagonized by naloxone (10 nM), an opiate receptor antagonist. Antagonism of analgesic effect of DA-5018 by naloxone was examined by tail pinch test. Analgesic action of DA-5018 (0.1~2 mg/kg, s.c.) was not antagonized by naloxone (1 mg/ $\mu$ g, i.p.). These results indicate that pharmacological action of DA-5018 is not related with opiate receptor. Cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activities in rat peritoneal neutrophil treated with A23187 and arachidonic acid were measured by radioimmunoassay. DA-5018 stimulated the cyclooxygenase activity and the concentration showing the two fold increase of activity was 124  $\mu$ M. DA-5018 slightly inhibited 5-lipoxygenase activity and these results together indicate that analgesic action of DA-5018 is not mediated through inhibition of cyclooxygenase or lipoxygenase. These results suggest that the analgesic effect of DA-5018 is not due to blocking opiate receptor or to inhibiting the synthesis of prostanoids in the arachidonic acid metabolism pathway.

**Keywords** □ DA-5018, capsaicin, mechanism, opiate receptor

고추의 매운맛 성분인 캡사이신의 진통효능은 이미 알려진 바 있다. 캡사이신은 신생랫드에서 구심성 감각신경의 비가역적 손상을 유도함으로써 유해 자극에 대한 감수성을 낮추고(Szolcsanyi와 Jancso, 1975; Nagy와 Kooy, 1983; Saunet와 Duclaux, 1982), 성숙한 랫드에서는 가역적으로 유해자극에 대한 감수성을 낮추는 것으로 알려져 있다(LaHann과 Farmer, 1983). 캡사이신의 이러한 진통효능은 기존의 비스테로이드성 소염진통제와는 달리 매우 강력하여 모르핀과 동등하다고 보고되어 있고(LaHann과 Farmer, 1983), 더 나아가 LaHann 등은 새로운 기전의 진통제개발

로 캡사이신유도체 연구를 제시한 바 있다(LaHann, 1982). 최근에는 캡사이신에 비해 약 1,000배의 효력을 나타내는 resiniferatoxin이 발견되어 생체내 캡사이신의 특이적 결합 부위가 밝혀짐으로서 그 유도체연구가 활발히 진행되고 있으며(Geza등, 1994; Arpad 등, 1993), 그중 하나로서 *o*-vanil이 경구투여시 진통효능이 있는 것으로 보고되어 주목 받은 바 있다(Brand등, 1987).

DA-5018(KR-25018)은 화학연구소의 박노상 박사 연구팀에서 최초로 합성한 캡사이신유도체로서 전신 또는 국소투여에 의해 여러 급성 및 만성진통모델에서 캡사이신보다 강력한 진통효력이 확인되어지고 있다(Park, 1993). 본 연구에서는 이와같은 DA-5018의 진통활성에 대한 작용기전을

\* To whom correspondence should be addressed.

밝히기 위해 opioid와 prostanoid와의 관련성을 검토하고자 하였다. Opioid관련여부를 확인하기 위해 opiate수용체 결합시험, 기니픽회장과 랫드 수정관표본에서 수축에 대한 영향 및 날록손에 의한 길항 여부, 진통효과의 날록손에 의한 길항여부와 모르핀과의 교차 내성을 관찰하고자 하였다. Prostanoid관련성을 확인하기 위해 cyclooxygenase효소활성과 lipoxygenase효소활성에 대한 영향을 확인하고자 하였다.

## 실험방법

### 실험재료

DA-5018(N-{3-(3,4-dimethylphenyl)propyl}-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxyphenylacetamide hydrochloride salt)은 동아제약 연구소 합성연구실에서 합성하여 사용하였다. 캅사이신, 인도메타신, 날록손, A23187, arachidonic acid 등은 Sigma사에서, 모르핀·HCl(이하 모르핀)은 동광약품에서 구입하여 사용하였다.

### 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley(SD)계 음성 랫드로서 특정 병원체 부재(SPF) 동물을 미국 B&K에서 구입하여 1주간 순화사육을 거쳐 체중 180-250 g 동물을 사용하였다. 사육 기간중 온도는  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도는 40~70%, 조명시간은 12시간(07:00~19:00)을 유지하였고, 사료와 음수는 자유롭게 섭취시켰다.

### Opiate 수용체 결합시험

#### 비선택적 opiate 수용체

SD계 랫드(150-200 g)를 단두치사하고, 뇌(소뇌제거)를 분리하여 0.05 M Tris완충용액(Tris-HCl buffer, pH 7.7)에서 Brinkman Polytron을 사용하여 균질화한 후 초고속 원심분리(49000×g, 30분, 4°C)하였다. 분리한 랫드 뇌의 균질화액을 비선택적 opiate수용체로 사용하였다(Childers 등, 1979). 수용체 결합시험은 다음과 같이 행하였다. 반응액(2 ml)에는 균질화액(30 mg protein/ml), 1.1 nM의 [<sup>3</sup>H]-naloxone (20 Ci/mmol), 50µg/ml의 bacitracin을 사용하였고, 비특이 결합시험에는 1µM의 날록손을 사용하였다. 반응은 25°C에서 90분간 시켰으며 반응후 여지(GF/B glass filter)를 사용하여 세포수확기로 여과하였다. 5 ml의 차가운 Tris완충용액으로 세척하고 수확된 여지를 건조 후 TopCount (Packard)를 사용하여 방사성활성을 측정하였다. 포화분석(saturation analysis)에는 [<sup>3</sup>H]-naloxone을 0.025~10.0 nM 사용하였고, 상경적분석(competitive analysis)에는 모르핀을 사용하여 DA-5018과 비교하였다.

#### 선택적 opiate 수용체

Kappa(κ) 수용체로는 기니픽 소뇌 세포막액을 사용하였고(Kinouchi와 Pasternak, 1991), Mu(μ)(Yoburn 등, 1991)와 Delta(δ)(Vaughn 등, 1989) 수용체로는 랫드 뇌의 균질

액을 사용하였다. 수용체의 분리는 비선택적 opiate 수용체에서와 동일한 방법으로 행하였다. Kappa 수용체 결합시험은 반응액(2 ml)을 기니픽 소뇌 세포막액(10 mg/ml wet weight), 1 nM의 [<sup>3</sup>H]U69593와 5 mM의 MgSO<sub>4</sub>을 함유한 potassium phosphate buffer (50 mM, pH 7.4)을 사용하여 25°C에서 45분간 반응시켰다. 비특이 결합에는 10µM의 날록손을 사용하였고, 포화분석에는 0~5 nM의 [<sup>3</sup>H]U69593를 사용하였다.

Mu수용체 결합시험에는 랫드 뇌의 균질화액(30 mg/ml), 1 nM의 [<sup>3</sup>H][D-Ala<sup>2</sup>, NMePhe<sup>4</sup>, Gly-ol<sup>5</sup>]enkephalin(DAGO)을, delta수용체 결합시험에는 10 nM의 [<sup>3</sup>H][D-Pen<sup>2</sup>, D-Pen<sup>5</sup>]enkephalin(DPDPE)을 사용하여 25°C에서 90분간 반응시켰다. 비특이 결합에는 1 µM의 날록손을 모두 사용하였고, 포화분석에는 0.078~10.0 nM의 [<sup>3</sup>H]DAGO 또는, 0.078~80 nM의 [<sup>3</sup>H]DPDPE를 각각 사용하였다.

### Opioid와의 길항시험

#### 기니픽 적출회장

기니픽(250-300 g) 회장을 적출하여 약 1.5 cm 표본을 적출장기장치에 현수한 후 0.5 g의 resting tension을 걸고, isotonic transducer에 연결하였다. 70volt, 0.1 Hz, 1 msec의 전기자극으로 회장표본의 수축을 유발시킨 뒤 1시간 동안 안정화시켰다. 모르핀 또는 DA-5018을  $10^{-9}$ ~ $3 \times 10^{-5}$  M까지 cumulative로 가하고 수축력감소를 기록하였다. 수축력감소가 모르핀 수용체매개에 기인하는가를 확인하기 위해서 날록손 10 nM 전처치하에서 동일한 실험을 반복하였다(Paton, 1957; Gyang과 Koster litz, 1966).

#### 랫드 적출 수정관

SD계 랫드의 수정관을 적출하여 2.5 cm 표본을 적출장기장치에 현수한 후 0.5 g의 resting tension을 걸고 isometric transducer에 연결하였다. 100 volt, 0.1 Hz, 1 msec의 전기자극으로 수정관 표본의 수축을 유발시킨 뒤 1시간 동안 안정화시켰다. 모르핀 또는, DA-5018을  $10^{-9}$ ~ $3 \times 10^{-5}$  M까지 연속하여 가하고, 수축력감소를 기록하였다. 수축력감소가 모르핀 수용체매개에 기인하는가를 확인하기 위해서 날록손 10 nM 전처치하에서 동일한 실험을 반복하였다(Hughes 등, 1975).

#### 랫드 진통활성

체중 120~170 g의 음성 SD계 랫드를 군당 8~13마리 사용하였다. DA-5018 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 mg/kg 및 모르핀 2, 5, 10 mg/kg는 피하주사하고, 날록손은 1, 3, 10 mg/kg를 복강주사한 후 30, 60, 90분 후에 tail pinch test를 실시하였다. 또한 날록손 1 mg/kg를 복강주사한 직후에 DA-5018 및 모르핀을 피하주사하고, 같은 방법으로 진통길항여부를 관찰하였다(Smits와 Takemori, 1970; Tulunay 등, 1976).

Tail pinch test는 다음과 같이 행하였다(Saito와 Nomura, 1989). 랫드의 꼬리에 압력을 가하는 기구로서 1.0 kg의 힘

을 가할 수 있는 랫드 동맥검자를 사용하였다. 랫드 꼬리 끝에서 약 3~5 cm 부위를 동맥검자로 집은 후 랫드가 몸을 돌려서 검자나 꼬리를 물거나 핏을 때까지 걸린 시간을 측정하였고, 꼬리의 손상을 피하기 위해 cutoff는 60초로 하였다. 약물투여 1시간 전에 2회 측정하여 2회째에 10초 내에 반응을 보인 개체를 선별한 후 약물을 경구투여하였고, 약물투여 0.5, 1, 2시간 및 4시간에 역치를 측정한 후 다음의 식을 이용하여 % inhibition 계산하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Drug latency} - \text{Control latency})}{(60 - \text{Control latency})} \times 100$$

**내성**

체중 100~200 g의 음성 SD계 랫드를 군당 10마리 사용하였다. 랫드에 DA-5018 50, 100 mg/kg 및 모르핀 100 mg/kg을 30일(모르핀은 5일) 동안 1일 1회 경구투여하고 약물투여 1, 3, 5, 10, 20, 30일 째, 약물투여 1시간 후에 tail pinch test와 tail flick test를 실시하였다. 또한, DA-5018 50 mg/kg을 30일 동안 투여한 후 31일째에 모르핀 100 mg/kg을 투여하고 교차 내성 생성여부를 시험하였다(Auerbach, 1967; Carrano 등, 1975).

Tail pinch test는 위와 같은 방법으로 행하였고, tail flick test는 다음과 같이 행하였다(Harris 등, 1976). 랫드에 약물을 경구투여한 후 0.5, 1, 2시간 및 4시간에 랫드 꼬리끝 2~5 cm 부위에 고밀도 cutoff(Hugo Sachs Elektonik, type 812)를 비쳤을 때 꼬리를 옆으로 피할 때까지 걸리는 시간을 측정하였다. 꼬리의 손상을 피하기 위해 cutoff는 15초로 하였고, 다음의 식을 이용하여 % inhibition을 계산하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Drug latency} - \text{Control latency})}{(60 - \text{Control latency})} \times 100$$

**Cyclooxygenase와 5-lipoxygenase 활성측정**

SD계 랫드에 12% 카제인용액 20 ml을 복강내에 투여하고 21시간 후 에테르마취 후 복강으로부터 호중구를 분리하였다. Cyclooxygenase활성 측정은 분리한 호중구를 HBSS에 현탁시키고, 이 세포액(5×10<sup>6</sup> cells/ml)에 약물을 가하고 37℃에서 5분간 배양하고, A23187(최종농도: 1 μM)을 가하여 5분간 배양한 후 arachidonic acid (최종농도: 30 μM)를 가하여 15분간 반응하였다. 반응배양액을 원심분리하고, 상등액을 취하여 β-keto-PGF<sub>1α</sub>에 대한 방사선면역측정법

(radioimmunosay)를 행하였다. 5-Lipoxygenase활성측정은 호중구세포현탁액(5×10<sup>6</sup> cells/ml)에 약물을 가하여 5분간 배양 후 A23187을 가하여 30분간 배양하였다(Palmer와 Salmon, 1983; Safayhi 등, 1985). 배양액을 원심분리하여 상등액의 leukotriene B<sub>4</sub>량을 방사선면역측정법으로 측정하였다. DA-5018의 cyclooxygenase에 대한 효과는 인도메타신과 비교하여 검토하였다.

**통계처리**

*In vitro* 실험은 통계적유의성을 확보하기 위해 모든 실험을 triplicate로 3번 별도의 시험을 행하였고, 유의성 검정은 student t-test를 이용하였다. *In vivo* 실험결과의 통계처리는 용매 대조군과 약물처리군 사이의 결과차이를 student t-test로 분석하였다.

**실험결과**

**Opiate 수용체 결합시험**

Opiate수용체는 복합성(multiplicity)을 나타내어 다른 약리적 성격을 갖는 4종류의 수용체로 분류되며, 각각의 다른 내인성 리간드를 갖고 있으므로 랫드 또는, 기니픽 뇌로부터 분리한 각 수용체들에 대한 성격을 규명하고자 포화분석을 행하였으며 결과는 Table I과 같다.

각 수용체들에 대한 DA-5018의 상경적분석을 하였으며, 비교약물로는 opiate수용체 길항약인 모르핀과 날록손 그리고 카사이신을 사용하였다. 각각 리간드에 대한 약물의 특이결합의 억제정도를 Ki값으로 나타냈으며, 결과는 Table II와 같다. DA-5018은 모르핀과 동일하거나 좀 더 강한 진통효과를 나타내지만 DA-5018은 opiate수용체결합 시험결과 100~1000배 정도 높은 Ki값을 나타내어 리간드의 opiate수용체결합에 대한 특이적 억제효과를 나타내지 못하였다. 그러므로 DA-5018은 opiate수용체에 대한 친화력이 모르핀에 비해 현저히 낮으며 이는 DA-5018의 진통활성이 opiate수용체를 경유하지 않음을 뒷받침한다.

**Opioid와의 길항시험**

**기니픽 회장표본**

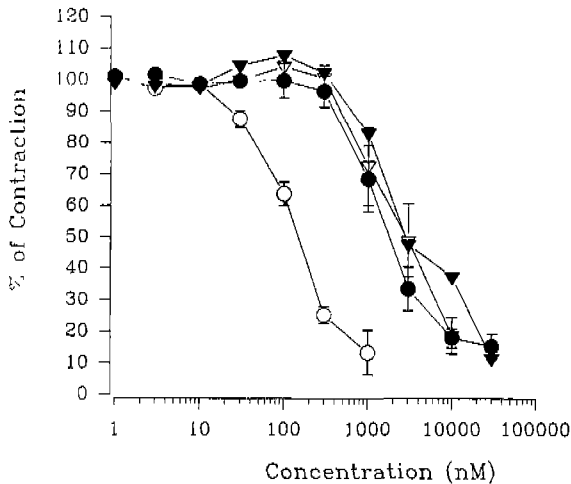
회장표본은 전기자극에 의하여 콜린계 신경에서 아세틸콜린을 유리시켜 회장을 수축시킨다. 모르핀은 μ수용체를 매개로 해서 이같은 아세틸콜린의 유리를 억제시키고, 결

**Table I.** Saturation analysis of [<sup>3</sup>H]ligand binding to opiate receptors. The K<sub>d</sub> and B<sub>max</sub> values were obtained by nonlinear regression analysis of the saturation curves. Saturation binding assay was performed as mentioned in method. Values represent mean ± S.D. of 3 separate experiments.

Ligand	Receptor			
	Nonselective	μ-opiate	κ-opiate	δ-opiate
<sup>3</sup> H-naloxone		<sup>3</sup> H-DAMGO	<sup>3</sup> H-DPDPE	<sup>3</sup> H-U6953
K <sub>d</sub> (nM)	1.258 ± 0.760	1.650 ± 0.445	1.600 ± 0.163	0.400 ± 0.508
B <sub>max</sub> (pmoles/mg protein)	0.150 ± 0.022	0.212 ± 0.029	0.208 ± 0.021	0.150 ± 0.015

**Table II.** Competition of DA-5018, capsaicin, morphine and naloxone for opiate receptors labeled with [<sup>3</sup>H]ligands. The K<sub>i</sub> values were obtained from K<sub>d</sub> and IC<sub>50</sub>, which were determined from log-probit plots. Saturation binding assay was performed as mentioned to method. Values represent mean ± S.D. of separate experiments.

Drug	K <sub>i</sub> (nM)			
	Nonselective	μ-opiate	κ-opiate	δ-opiate
DA-5018	299 ± 8.88	735 ± 215	2930 ± 163	1550 ± 813
Capsaicin	93300 ± 6690	70500 ± 29600	20400 ± 755	77900 ± 5960
Morphine	0.94 ± 0.76	4.95 ± 4.45	44.8 ± 5.08	11.5 ± 0.88
Naloxone	-	-	1.27 ± 0.635	22 ± 1.63



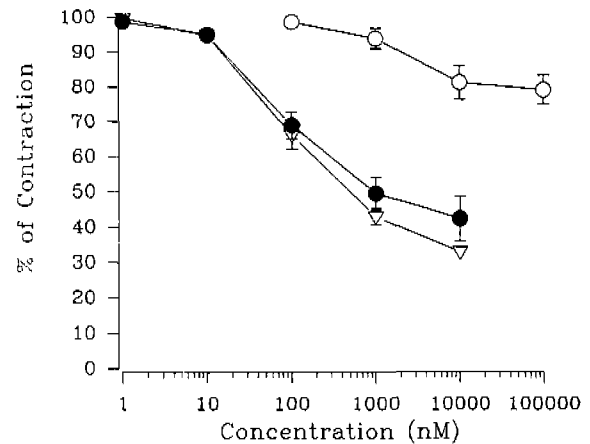
**Fig. 1.** Naloxone antagonism against DA-5018 and morphine induced muscle relaxation in guinea pig ileum preparation. Each value is the mean ± S.E. of 6 animals. (○) morphine; (●) morphine+naloxone (10 nM); (▽) DA-5018; (▼) DA-5018+naloxone (10 nM).

국 수축력의 감소를 나타내었다. 이러한 모르핀에 의한 수축력감소는 opiate수용체 길항제인 날록손에 의해 차단되었다. 그러나 동일실험계에서 DA-5018에 의해 나타난 수축력감소 효과는 날록손의 영향을 받지 않았다(Fig. 1). 따라서 DA-5018의 장관평활근 이완에 대한 기전은 확인하지 못했으나 opiate수용체를 경유하지 않음을 확인하였다.

**랫드 수정관 표본**

랫드의 수정관표본은 전기자극에 의해 전시냅스(presynapse)에서 노어아드레날린(noradrenaline)을 유리시켜서 수축반응을 나타낸다. 모르핀은 opiate수용체를 매개로 이같은 노어아드레날린의 유리를 억제시켜서 수축력 감소를 유발시킨다. 랫드의 수정관 표본에 있어서 전기자극에 의한 수축력 감소는 모르핀에 의해 감소되었으나, 작은 변화였기 때문에 날록손(10 nM) 전처치는 무의미하고 반면, DA-5018에 의한 수축력감소는 유의성 있게 현저하였으며, 이러한 수축력감소 효과는 날록손(10 nM)의 영향을 받지 않았다(Fig. 2). 따라서 DA-5018의 수정관평활근 이완에 대한 기전은 opiate수용체를 경유하지 않음 것으로 생각된다.

**랫드 진통활성**



**Fig. 2.** Naloxone antagonism against DA-5018 and morphine induced muscle relaxation in rat vas deferens preparation. Each value is the mean ± S.E. of 6 animals. (○) morphine; (●) DA-5018; (▽) DA-5018+naloxone (10 nM).

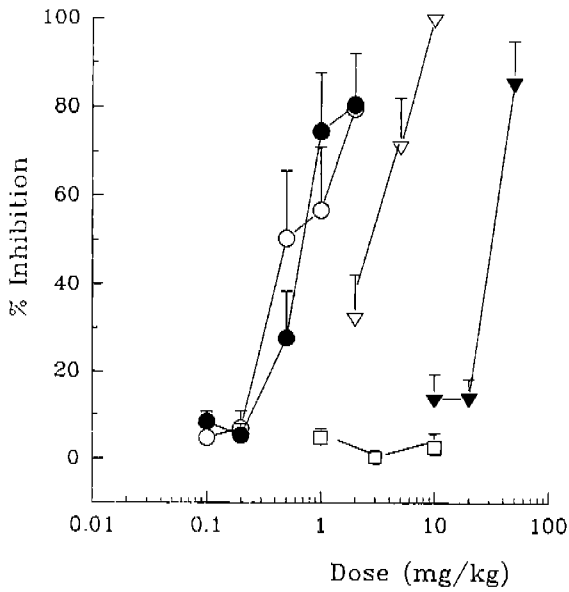
DA-5018의 진통효과가 opiate수용체를 경유하여 나타내는지 알기 위해 opiate수용체 길항제인 날록손에 의해 길항 여부를 관찰하고자 하였다. 모르핀은 1~10 mg/kg에서 tail pinch test에서 진통효과를 나타내었으며, 이러한 진통효과는 날록손(1 mg/kg) 전처치에 의해 차단되었다. DA-5018은 0.1~1 mg/kg에서 진통효과를 나타내었으나, 날록손에 의해 영향을 받지 않았다(Fig. 3). 따라서 DA-5018의 진통효과는 opiate수용체를 경유하지 않는다고 생각된다.

**내성**

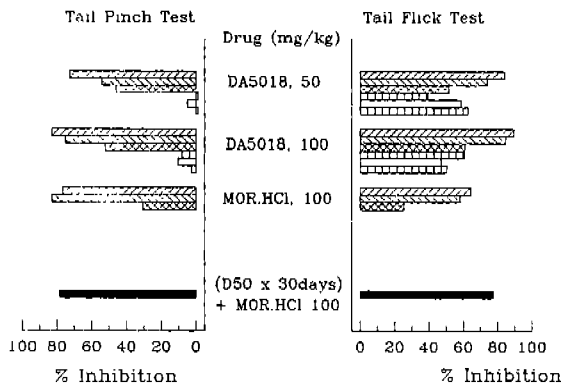
모르핀의 임상적용시 대두되는 문제점 중의 하나는 내성의 발현이다. 모르핀은 약물투여 5일 후 tail flick과 tail pinch 모두 비슷한 수준의 내성이 나타났다. DA-5018은 tail pinch 실험 결과 경구투여 10일후 내성이 나타나고 30일까지 유지되었고 반면 tail flick의 경우, Day 1에 비해 진통효과가 감소하나 Day 10이후에서는 Day 1 진통효과의 60~70%가 유지되어 모르핀에 비해 약한 내성을 나타내었다(Fig. 4). DA-5018을 30일 동안 투여후 모르핀을 투여시 진통효과가 그대로 유지되어 교차내성은 전혀 없음을 관찰하였다.

**Cyclooxygenase와 5-lipoxygenase 활성**

DA-5018의 진통작용에 대한 기전연구로서 염증과 통증

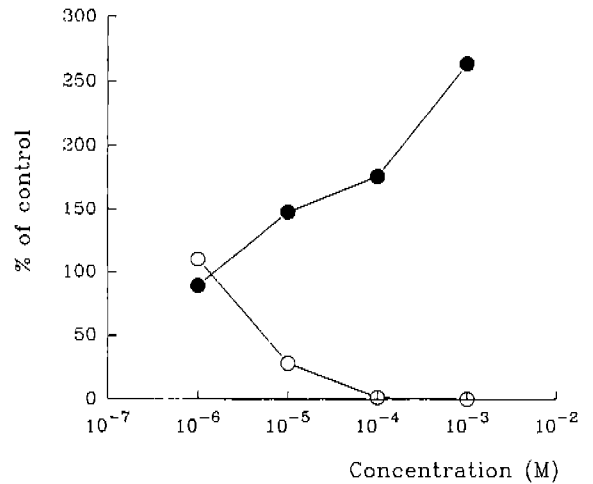


**Fig. 3.** Antagonism of naloxone against effects of DA-5018 and morphine by tail pinch test in rats. Each value is the mean  $\pm$  S.E. of 6 animals. (○) DA-5018; (●) DA-5018+naloxone; (▽) morphine; (▼) morphine+naloxone; (□) naloxone. DA-5018 and morphine were administered s.c., and naloxone i.p.



**Fig. 4.** Tolerance against analgesic effects of DA-5018 administrated for 30 days and morphine for 5 days and cross tolerance in tail pinch test(left) and tail flick test(right) in rats. ▨ day 1, ▩ day 2, ▧ day 5, ▦ day 10, ▥ day 20, ▤ day 30, ▣ day 31.

의 매개인자인 prostanoids의 생성경로인 arachidonic acid 대사과정에 대한 DA-5018의 억제활성을 검토하기 위해 cyclooxygenase와 5-lipoxygenase의 활성에 대한 DA-5018의 활성을 측정하고자 하였다. 두 효소들의 활성측정은 랫드의 복강으로 부터 분리한 호중구를 사용하였으며, 생성된  $\beta$ -keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 과 leukotriene B<sub>4</sub>를 정량하여 cyclooxygenase와 5-lipoxygenase활성을 측정하였다. 인도메타신의 경우 cyclooxygenase 억제활성은 IC<sub>50</sub>가 7.31  $\mu$ M로 나타났으며 DA-5018은 cyclooxygenase활성을 촉진시켰으며, 124



**Fig. 5.** Effect of DA-5018(●) and indomethacin(○) on 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  formation from arachidonic acid by Ca<sup>2+</sup>-ionophore(A23187)-stimulated rat peritoneal neutrophils. Data represented are representative results from one experiment.

$\mu$ M에서 2배 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 5). 5-Lipoxygenase활성에 대해서는 DA-5018이 10<sup>-3</sup>~10<sup>-6</sup> M 농도에서 약하게 억제시키는 것이 관찰되었다. 이상의 결과로부터 DA-5018의 진통활성은 prostanoids의 생성억제와 무관함을 확인하였다.

### 고찰

DA-5018은 여러 급만성 진통모델에서 모르핀과 유사한 진통활성을 나타내었다. 모르핀을 포함한 opioids들은 opiate수용체에 결합하여 중추적으로 강력한 진통활성을 나타낸다. DA-5018은 opiate수용체- $\mu$ ,  $\delta$ , k-에 대한 친화력이 100~1000배 정도 적었으므로 DA-5018의 진통활성은 opiate수용체를 경유하지 않음을 *in vitro*로 확인할 수 있었다. 기근회장의 myenteric plexus-longitudinal muscle은 모르핀(Paton, 1957)에 특이적으로 예민하여 opioid의 bioassay를 위해 고전적으로 사용되어 왔다. 모르핀은 흥분성 신경전달물질인 아세틸콜린의 유리를 억제함으로써 전기자극으로 유도되는 근육수축을 억제한다(Paton과 Zar, 1968). 이러한 활성은 이 조직내 콜린성 신경섬유안에서 한개 이상의 수용체가 존재하여 복잡성을 띄게 된다. DA-5018은 이 조직의 전기자극에서 모르핀과 같이 장관평활근 수축력 억제효과를 나타내었으나 opiate수용체 길항제인 날록손의 전처치에 의해 길항되지 않았으므로 기전은 확실히 밝혀지지 않았지만 DA-5018의 장관 평활근 이완효과는 opiate수용체를 경유하지 않음을 확인할 수 있었다. 랫드의 수정관 표본도 opioid의 bioassay에 전형적으로 사용되어진다. 수정관에서 모르핀의 작용은 교감신경성 신경전달물질인 노

어아드레날린의 유리를 억제함으로써 전기자극으로 활성화된 평활근 수축을 억제한다(Hughes 등, 1975). 랫드 수정관 표본실험에서도 회장표본에서와 동일하게 날록손에 의해 억제되지 않아 이 활성화와 opiate수용체와 무관함을 확인할 수 있었다.

진통활성에 있어서도 opioids들과 직접적인 비교를 위해 이 약물이 선택적으로 진통효과를 나타내는 tail pinch test로 길항여부를 관찰하였다(Patricia 등, 1990). DA-5018 (0.1 ~ 1 mg/kg)은 tail pinch test에서 모르핀(1~10 mg/kg)보다 동등이상의 효능효과를 나타내었으나, 날록손의 전처리로는 진통효과가 감소되지 않았다. 이상의 결과들로 부터 DA-5018의 우수한 진통효력이 중추신경계 진통제인 opioid와는 다른 기전에 의해 발현됨을 확인할 수 있었다. Opioid계열 약물의 특징은 내성의 발현으로서, tail pinch test나 tail flick test에서 비슷한 수준의 내성을 나타내었다. 그러나 DA-5018의 경우는 tail pinch test에서는 내성을 나타내었으나 tail flick에서는 tail pinch test의 경우와 비교하여 내성의 정도가 약한 것을 알 수 있었다. 이처럼 검색법에 따라서 내성의 평가결과가 변화하는 것은 캡사이신의 경우도 보고되어 있는데 캡사이신 20  $\mu\text{mol/kg}$ 을 4일간 피하투여 한 후, tail flick과 초산 writhing test에서는 내성이 발현되나 Randall-Selitto test에서는 내성이 나타나지 않았다.

DA-5018은 비스테로이드성 소염진통제들(NSAIDs)에 비해 비교적 넓은 범위의 진통효능을 갖고 있다(미발표). 염증과정 중 생성되는 여러 종류의 prostanoids(PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>)는 유해자극 수용체를 흥분시키거나, 그들로 하여금 다른 자극에 예민하게 함으로써 말초의 통증 전달에 기여한다. 이러한 prostanoids의 생성경로는 arachidonic acid 대사경로로서 cyclooxygenase와 5-lipoxygenase가 주된 생성 효소이며 이 효소들의 억제제가 진통소염제 및 항염증제로서 개발되고 있다(Brag, 1986). DA-5018은 in vitro에서 prostanoid들의 주요 생성효소들인 cyclooxygenase와 5-lipoxygenase 억제활성이 나타나지 않았다.

이상의 결과를 요약해 보면 캡사이신 유도체인 DA-5018의 진통효능은 opiate수용체를 경유하는 마약성 진통제와 비스테로이드성 소염진통제와는 다른 기전을 가질 것으로 사료된다.

## 참고문헌

Arpad, S., Nancy, A. L. and Peter, M. B. (1993). Vanilloid (capsaicin) receptor in the rat : positive cooperativity of resiniferatoxin binding and its modulation by reduction and oxidation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **266**(2), 678-683.

Auerbach, A. J. (1967). A pain-tolerance determination technique for evaluating analgesic drug efficacy. *Can. J. Psychol.* **21**(6), 490-5.

Brand, L., Berman, E., Schwen, R., Loomans, M., Janusz, J., Bohne, R., Maddin, C., Gardner, J., Lahann, T., Farmer, R., Jones, L. and Chiabrand, C. (1987). Vanilloids. 1. analogs of capsaicin with antinociceptive and antiinflammatory activity. *Drugs Exptl. Clin. Res.* **13**(5), 259-265.

Bray, M. A. (1986). Leukotriens in inflammation. *Agents and Actions.* **19**, 87-99.

Carrano, R. A., Kimura, K. K., McCurdy, D. H. (1975). Analgesic and tolerance studies with AP-237, a new analgesic. *Arch. Int. Pharmacodyn Ther.* **213**(1), 41-57.

Childers, S. R., Creese, I., Snowman, A. M. and Snyder, S. H. (1979). Opiate receptor binding affected differentially by opiate and opioid peptides. *Eur. J. Pharm.* **55**, 11-18 (nonselective).

Geza, A., Miklos, P. and Peter, M. B. (1994). [<sup>3</sup>H]Resiniferatoxin binding by the human vanilloid(capsaicin) receptor. *Mol. Brain Res.* **23**, 185-190.

Gyang, E. A., Kosterlitz, H. W. (1966). Agonist and antagonist actions of morphine-like drugs on the guinea-pig isolated ileum. *Br J Pharmacol.* **27**, 514-527.

Hughes, J., Kosterlitz, H. W., Leslie, F. M. (1975). Effects of morphine on adrenergic transmission in the mouse vas deferens. Assessment of agonist and antagonist potencies of narcotic analgesics. *Br. J. Pharmacol.* **53**, 371-381.

Kinouchi, K. and Pasternak, G. W. (1991). Evidence for K1 opioid receptor multiplicity in guinea pig cerebellum. *Eur. J. Pharm.* **207**, 135-141 (Kappa).

LaHann, T. R. (1982). Method of producing analgesia. U.S. Patent No. 4, 313, 958.

LaHann, T. R. and Farmer, R. W. (1983). Antinociceptive actions of capsaicin in rodents. *Proc. West. Pharm. Soc.* **26**, 145-149.

Nagy, J. I. and Kooy, D. (1983). Effects of neonatal capsaicin treatment on nociceptive thresholds in the rat. *J. Neurosci.* **3**, 1145-1150.

Palmer, P. M. J. and Salmon, J. A. (1983). Release of leukotriene B<sub>2</sub> from human neutrophils and its relationship to degranulation induced by N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine, serum-treated zymosan and the ionophore A 23187. *Immunology* **50**, 65-73.

Park, N. S., Ha, D. C., Choi, J. K., Kim, H. S., Hong, M. S., Lim, H. J. and Lee, K. S. (1993). Phenylacetamide derivatives and pharmaceutical compositions thereof. U.S. Patent No. 5, 242, 944.

Paton, W. D. M. (1957). The action of morphine and related substances on contraction and on acetylcholine output of coaxially stimulated guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **12**, 119-127.

Paton, W. D. M. and Zar, M. A. (1968) The origin of acetylcholine released from guinea-pig intestine and longitudinal muscle fibers. *J. Physiol(lond)* **194**, 13-33.

Patricia F. O., Daniel B. C., Arthur K., James W. K., Nancy E. A. and Szyfelbein S. K. (1990). Antinociception in the rat induced by a cold environment. *Brain Res.* **507**, 11-16.

Safayhi, H., Tiegs, G. and Wendel, A. (1985). A novel biologically active seleno organic compound-V: Inhibition by Ebselen (PZ51) of rat peritoneal neutrophil lipoxygenase.

- Biochem. Pharmacol.* **34**, 2691-2694.
- Saito, H. and Nomura, Y. (1989). *Screening methods for drug evaluation*. Hirokawa Publishing Company., Tokyo.
- Saunet, J. L. and Duclaux, R. (1982). Analgesia induced by neonatal treatment in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **16**, 241-243.
- Smits, S. E., Takemori, A. E. (1970). Quantitative studies on the antagonism by naloxone of some narcotic and narcotic-antagonist analgesics. *Br. J. Pharmacol.* **39**(3), 627-38.
- Szolcsanyi, J. and Jancso, G. A. (1975). Functional and fine-structure characteristics of the sensory neuron blocking effects of capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **287**, 157-169.
- Tulunay, F. C., Yano, I., Takemori, A. E. (1976). The effect of biogenic amine modifiers on morphine analgesia and its antagonism by naloxone. *Eur. J. Pharmacol.* **35**(2), 285-92.
- Vaughn, L. K., Knapp, R. J., Toth, G., Wan, Y. P., Hruby, V. J. and Yamamura, H. I. (1989). A high affinity, highly selective ligand for the delta opioid receptor: [<sup>3</sup>H]-[D-Pen<sup>2</sup>, PC1-Phe<sup>4</sup>, d-Pen<sup>5</sup>]enkephalin *Life Sci.* **45**, 1001-8.
- Yoburn, B. C., Lutfy, K. and Candido, J. (1991). Species differences in  $\mu$ - and  $\delta$ -opioid receptors. *Eur. J. Pharm.* **193**, 105-108.