

## 새로운 캡사이신유도체 DA-5018의 피하주사 및 국소도포시 진통효과

김희기 · 배은주 · 신명수 · 손분호 · 김순희 · 김원배\* · 양중익 · 공재양<sup>1</sup>  
동아제약(주) 연구소, 한국화학연구소

### Analgesic Effects of DA-5018, a New Capsaicin Derivative, after Subcutaneous Injection and Topical Application

Hee Kee KIM, Eun Ju BAE, Myeong Soo SHIN, Moon Ho SON, Soon Hoe KIM,  
Won Bae KIM\*, Junnick YANG and Jae Yang KONG<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>Drug Screening Research Laboratories, Korea Research Institute  
of Chemical Technology (KRICT), Taejon 305-606, Korea

(Received March 15, 1997; accepted May 25, 1997)

**Abstract**—The analgesic effects of DA-5018, a new capsaicin derivative, were evaluated in various experimental pain models. Drugs were administered subcutaneously or topically. When drugs were administered subcutaneously, 1) the ED<sub>50</sub> values of DA-5018, morphine · HCl, capsaicin and acetaminophen were 0.091-2.0, 0.3-4.3, 1.4-26.5 and 45.4-643 mg/kg, respectively in various pain or inflammatory models including acetic acid writhing, formalin, tail flick, Randall-Selitto, hot plate and croton oil-induced ear edema test, 2) the AD<sub>2</sub> values (the dose for doubling of pain threshold of vehicle control) of DA-5018, capsaicin and ketoprofen were 1.07±0.18, 23.47±4.46 and 2.97±0.43 mg/kg in Freund's complete adjuvant (FCA)-induced arthritic pain model. And by topical application, 1) neither DA-5018 0.3% cream nor Zostrix-HP (capsaicin 0.075%) were effective in formalin test, 2) although DA-5018 0.3% cream significantly inhibited the croton oil-induced ear edema being better than Zostrix-HP and Kenofen (ketoprofen 3%). 3) In FCA model, DA-5018 0.3% cream reversed the decreased pain threshold of arthritic rat from 136.4 g (day 0) to 289.0 g (day 5) and 250.1 g (day 10), which was similar to Zostrix-HP. These results suggest that DA-5018 administered subcutaneously has a potent and broad analgesic spectrum than nonsteroidal antiinflammatory drugs against acute and chronic pain, and by topical application it exerts comparable analgesic and antiinflammatory effects to capsaicin cream.

**Keywords** □ DA-5018, capsaicin derivative, acute pain, arthritis, subcutaneous, topical application, analgesia

Capsaicin(trans-8-methyl-n-vanillyl-6-nonenamide)은 고추 (*Capsicum annuum L.*)의 매운맛 성분으로서 통증을 전달하고 염증반응을 유발하는 비수초성 구심성 감각신경에 주로 작용하여 초기 흥분후 탈감작을 일으켜(Lynn등, 1992; Inoue등, 1993) 진통 및 항염증효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Bernstein등, 1989). Capsaicin은 경구투여하면 흡수과정중 장관막과 간을 통과하면서 대사되기 때문에(Kawada등, 1984), capsaicin에 의한 진통효과 및 작용기전 연구는 주로 피하주사 또는 국소도포를 통하여 행해졌다(Otsuki등, 1986). Capsaicin을 피부에 도포하면 감각신경말

단에서 substance P(SP)를 유리, 고갈시켜(Virus와 Gebhart, 1979) 진통작용을 나타낸다(Deal등, 1991; McCarthy와 McCarty, 1992). 이러한 기전에 근거하여 capsaicin을 함유하는 외용크림이 개발되어 당뇨병성 신경병의 통증(Karen과 Fred, 1991), 대상포진후의 통증(Frank등, 1988), 류마치스성 관절염이나 골관절염에 수반되는 통증(Deal등, 1991; McCarthy와 McCarty, 1992)의 개선에 효과를 보고있으나 발적, 작열감같은 부작용이 있으며, 불충분한 피부흡수로 인하여 효능에도 한계를 보이고 있다.

DA-5018은 capsaicin 유도체로서 진통효능은 강력하지만, 피부자극성은 약한 특성이 있기 때문에 외용진통제로 개발을 시도하고 있는 화합물이다(Park등, 1993). 피하주사는 외

\* To whom correspondence should be addressed.

용제와 투여경로의 유사성이 가장 크기 때문에 본 실험에서는 우선 DA-5018 원말을 피하투여하여 급만성 통증모델에서의 진통효력을 검토한 후, 크림제를 제조하여 국소도포 통증모델에서 진통효과를 capsaicin 크림과 비교하고자 하였다.

## 실험 방법

### 시험물질

DA-5018[N-(3-(3,4-dimethylphenyl)propyl)-4-(2-amino-methoxy)-3-methoxyphenylacetamide hydrochloride salt]은 동아제약주식회사 연구소에서 합성하였다. 피하주사에는 DA-5018은 주사용증류수에, capsaicin과 ketoprofen은 ethanol: Tween 80:saline(1:1:8) 용매에 녹였고, acetaminophen 은 5% arabia gum에 현탁시켜 사용하였다. 국소도포용 DA-5018 크림은 연구소 제품개발연구실에서 제조한 0.1%, 0.3 % 크림을 사용하였으며, 대조물질로 Zostrix<sup>®</sup>-HP(capsaicin 0.075%), Kenofen<sup>®</sup> gel(ketoprofen 3%)을 사용하였다.

### 시약 및 기기

Acetaminophen, acetic acid, brewer's yeast, capsaicin, croton oil, formalin, ketoprofen 및 mineral oil(heavy white oil)은 Sigma 사(USA), morphine · HCl은 동광약품, 사멸된 *Mycobacterium butyricum*은 Difco 사(USA)에서 각각 구입하였다. Kenofen<sup>®</sup> gel(일동제약주식회사), Zostrix<sup>®</sup>-HP(Gen Derm, USA)는 시중에서 구입하였다.

Hot plate, Randall-Selitto analgesymeter 및 plethysmometer는 Ugo Basile(Italy), tail flick analgesia tester는 Hugo Sachs Elektonik(Type 812, Germany)사의 제품을 사용하였다.

### 실험동물 및 사육조건

실험동물은 Sprague-Dawley(SD)계 웅성 랫드와 ICR계 웅성 마우스로서 특정병원체부재(SPF)동물을 사용하였다. 랫드는 미국 B&K에서, 마우스는 일본 CRJ에서 구입하여 1주일이상 순화시켜 랫드는 100-200 g을, 마우스는 20 g전후를 사용하였다. 사육기간중 온도는 23±2℃, 습도는 40-70%, 조명시간은 12시간(07:00-19:00)을 유지하였다. 사료는 실험동물용 고형사료(제일제당(주))를 사용하였으며, 사료와 음료수는 자유롭게 섭취시켰다.

### 급성 통증 모델

#### 초산 writhing 법

랫드에 시험물질을 피하주사하고, 10분후에 3% 초산용액(0.1ml/100g)을 복강주사하였다. 초산투여 10분 후부터 30분간의 총 writhing횟수를 측정하였다. 아래 식을 이용하여 % inhibition을 계산하고 ED<sub>50</sub>을 구하였다. 대조군은 주사용증류수를 체중 100 g당 0.1 ml를 피하주사하였다(Drower 등, 1987).

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

### Randall-Selitto 법

랫드의 오른쪽 뒷발바닥에 주사용증류수에 현탁시킨 20% brewer's yeast 0.1 ml을 피하주사하고, 2시간 후에 시험물질을 목뒤에 피하주사하였으며, 용매 피하주사군을 대조군으로 두었다. 통각역치는 Randall-Selitto analgesymeter를 이용하여 발등에 일정속도로 증가하는 압력을 가할 때 소리를 지르거나 발을 빼려고 하는 순간의 압력으로 하였다. 시험물질 피하주사후 30분, 1, 2, 3 시간에 역치를 측정하였으며, 대조군에 비해 10 cm 더 이동한 것을 100% 진통효과로 정하고 아래의 식을 이용하여 % inhibition을 계산한 후 ED<sub>50</sub>을 구하였다(Randall과 Selitto, 1957).

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Drug threshold} - \text{Control threshold})}{10} \times 100$$

### Tail Flick 법

랫드에 약물을 피하주사한 후 15, 30분 및 1, 2 시간에 꼬리끝 2-5 cm 부위에 고밀도 광선을 조사하였으며, 광선조사부터 꼬리를 옆으로 피할 때까지의 시간을 측정하였다. 꼬리의 손상을 피하기 위하여 cutoff는 15초로 하였으며, 아래의 식을 이용하여 % Inhibition을 구한 후 ED<sub>50</sub>을 구하였다(D'Amour와 Smith, 1941). 용매 피하주사군을 대조군으로 하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Drug latency} - \text{Control latency})}{(15 - \text{Control latency})} \times 100$$

### Hot Plate 법

마우스에 약물을 피하주사한 후 1, 3, 5시간에 온도 55℃의 hot plate에 올려 놓았을 때, 뒷발을 입으로 핥거나 뛰어오를 때까지의 시간(latency time)을 측정하였다. 조직손상을 피하기 위하여 cutoff는 60초로 하였으며, 아래의 식을 이용하여 % Inhibition을 구한 후 ED<sub>50</sub>을 구하였다(Woolfe와 McDonald, 1944). 용매 피하주사군을 대조군으로 하였다.

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

### Formalin 법

랫드에 시험물질을 피하주사하고 20분후에 5% formalin 20 μl을 오른쪽 뒷발바닥에 피하주사하였다. 즉시 투명한 랫드용 케이지에 넣고 5분 간격으로 60분동안 주사부위의 licking 시간을 측정하였다. 시간별로 licking duration을 표시하고 formalin 주사후 0-10 분까지를 phase I, 15-60 분까지를 phase II로 하여 사다리꼴 면적 공식을 이용하여 각각의 AUC를 계산하였다. ED<sub>50</sub>은 AUC 감소로부터 계산하였다. 또한 시험약물을 국소도포하는 경우에는 도포 5시간후에 미온수로 세척한 다음, 동일 방법으로 측정하여 AUC를 계산하였다(Dubuisson와 Dennis, 1977). 피하주사시에는 용매를, 국소도포시에는 기제를 투여한 군을 대조군으로 하

였다.

**염증 모델**

**Croton oil-induced Ear Edema 법**

마우스에 시험물질을 피하주사하고 30분에 오른쪽귀에 2% croton oil 25  $\mu$ l를 도포하였고, 왼쪽귀는 처치하지 않았다. 6시간후에 경추탈골 치사시키고, 내경 7 mm의 펀치로 양쪽귀의 일정부위를 절취한 후 무게를 측정하였으며, 오른쪽 귀무게에서 왼쪽귀무게를 뺀 값을 부종의 크기로 하였다. 국소도포 경우에는 2% croton oil 도포 1시간 후에 시험약물 20 mg을 오른쪽 귀에 도포하였다. 5시간후에 경추탈골 치사시키고 동일 방법으로 부종을 측정하였고 아래의 식을 이용하여 % inhibition을 구하였다(Robert 등, 1985). 피하주사시에는 용매를, 국소도포시에는 무처치군을 대조군으로 하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(\text{Control swelling weight} - \text{Drug swelling weight}) / \text{Control swelling weight}] \times 100}$$

**관절염 통증모델 (Freund's complete adjuvant arthritis model, FCA 모델)**

**FCA 모델제작 및 측정방법**

*Mycobacterium butyricum* 0.6 mg을 white mineral oil 0.1 ml에 현탁시키고 이를 고압증기멸균(121 $^{\circ}$ C, 20분)하여 FCA를 제조한 후, 랫드의 왼쪽 뒷발바닥에 0.1 ml씩 피내주사하였다(Ivan과 Marcia, 1985). Mineral oil만을 피내주사한 군을 대조군으로 하였다. 그후 경시적으로 체중, 뒷발부피 및 통각역치를 측정하면서 모델 유발과정을 검토하였다. 양쪽 뒷발 용량은 plethysmometer를 사용하여 측정하였으며, FCA 접종 전후값의 차이를 부종으로 하였다(Ivan과 Marcia, 1985). 오른쪽 뒷발의 통각역치는 Randall-Selitto법으로 측정하였고, 조직 손상을 피하기 위하여 cutoff는 450 g으로 하였다. 모델 제작 과정중 랫드에 통각역치 측정훈련을 시켰으며, 연속측정한 값중 차이가 15% 이내인 값의 평균을 통각역치로 하였다(Kayser와 Guilbaud, 1990).

**피하주사에 의한 진통효과**

FCA 접종 20일에 오른쪽 뒷발의 통각역치, 부종 및 체중을 측정된 후 통각역치, 부종 및 체중에 차이가 없도록 군분리를 행하였다. 군분리 다음 날부터 시험물질을 1일 1회씩 5일간 피하주사하였으며, 대조군은 용매를 피하주사하였다. 피하주사 2시간후에 통각역치, 부종 및 체중을 측정하였다. 약물용량-통각역치 곡선으로부터 AD<sub>2</sub>(통각역치를 대조군의 2배로 증가시키는 시험물질의 용량)을 계산하였다(Hirose 등, 1984).

**국소도포에 의한 진통효과**

FCA 접종 30일에 오른쪽 뒷발의 통각역치와 체중을 측정한 후, 통각역치와 체중에 차이가 없도록 군분리하였다. 군분리 다음날부터 DA-5018 0.3%크림, Zostix-HP, Keno-

fen-Gel 100 mg씩을 1일 1회 100 mg씩 10일간 오른쪽 뒷발에 도포하였으며, 대조군은 DA-5018 기제를 도포하였다. 도포부위를 파라필름으로 감싸주고, 목에 칼라를 씌워 입으로 도포한 부위를 접촉하는 것을 방지하였고, 5시간 후에 미온수로 씻었다. 시험약물 도포 5일과 10일에 약물세척후 30분에 통각역치와 체중을 측정하였다. 통각역치 및 체중의 변화율은 아래와 같이 계산하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(\text{value after application} - \text{value before application}) / \text{value before application}] \times 100}$$

**통계처리**

급성통증모델에서 경시적으로 진통효과를 측정한 경우에는 최대반응을 기준으로 least square analysis 방법으로 ED<sub>50</sub>을 계산하였다. 유의성 검정은 ANOVA test를 실시하여 유의성이 인정될 경우 Duncan's test를 실시하였다. FCA 관절염통증에서는 paired t-test 또는 unpaired t-test를 실시하였다. 유의수준은 p<0.05 또는 p<0.01을 이용하였다. 측정치는 mean  $\pm$  S.E.M.으로 표시하였다.

**실험 결과**

**급성 통증 모델**

**초산 writhing 법**

대조군의 평균 writhing 횟수는 30분간 29.0  $\pm$  2.8회이었다. DA-5018, morphine, capsaicin 및 acetaminophen은 용량의존적으로 writhing을 억제하였으며, 각각의 ED<sub>50</sub>은 0.09, 0.30, 1.44 및 45.4 mg/kg이었다(Table I).

**Randall-Selitto 법**

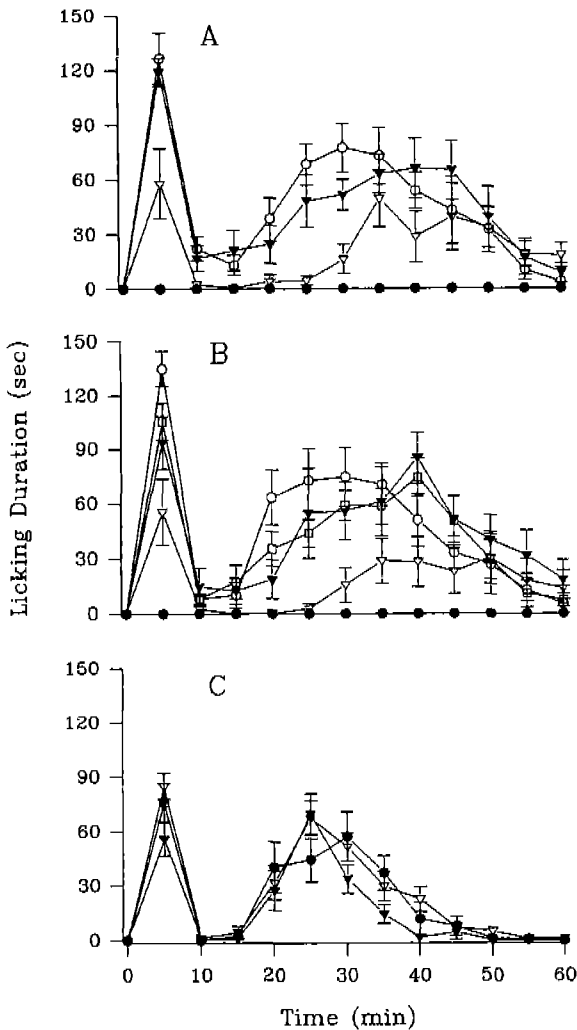
대조군의 통각역치는 용매투여후 30분에 약 200 g이었으며, yeast 투여 3시간 후에 약 80 g으로 감소하였다. DA-5018, morphine, capsaicin 및 acetaminophen은 용량의존적으로 통각역치를 증가시켰으며, 각각의 ED<sub>50</sub>은 0.66, 3.9, 4.2, 643 mg/kg이었다(Table I).

**Tail flick 법**

대조군의 latency는 약 4~5초이었다. DA-5018, morphine, capsaicin은 용량의존적으로 latency를 증가시켰으며, 각각의 ED<sub>50</sub>은 2.0, 2.6, 14.2 mg/kg이었으나, acetaminophen

**Table I.** Effects of DA-5018, morphine, capsaicin and acetaminophen on acute models

Compound	ED <sub>50</sub> (mg/kg, sc)				
	Acetic acid writhing	Randall-Selitto	Tail Flick	Hot plate	Croton oil
DA-5018	0.09	0.66	2.0	1.7	1.8
Morphine	0.30	3.9	2.6	-	-
Capsaicin	1.44	4.2	14.2	26.5	15.8
Acetaminophen	45.4	643	>1,000	>2,000	-



**Fig. 1.** Time-effect curve of formalin-induced licking behavior in rats. A: DA-5018(sc, vehicle, ○; 0.1 mg/kg, ▼; 0.2 mg/kg, ▽; 0.5 mg/kg, ●), B: morphine(sc, vehicle, ○; 1 mg/kg, □; 2 mg/kg, ▼; 5 mg/kg, ▽; 10 mg/kg, ●), C: topical application(DA-5018 base, ▽; DA-5018 0.3% cream, ●; Zostrix-HP, ▼). Each point represents the mean ± S.E.M. of 7-16 rats.

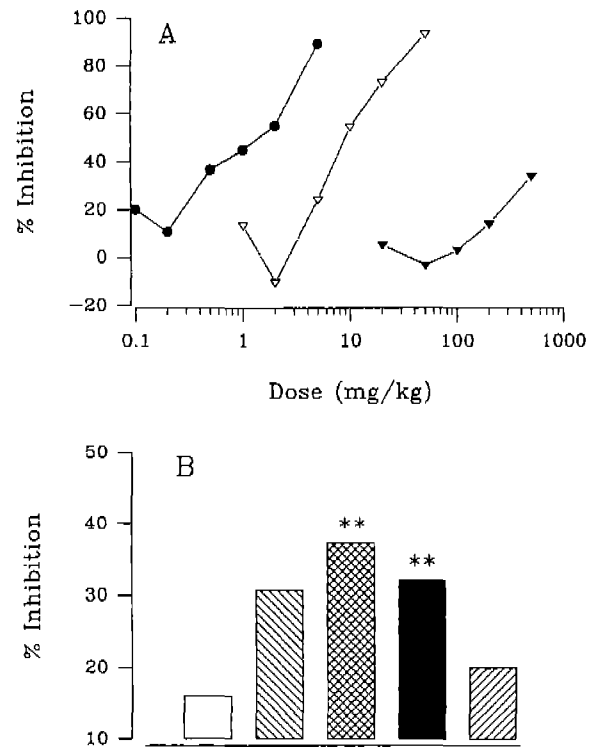
은 1,000 mg/kg이상이었다(Table I). DA-5018과 capsaicin의 고용량군에서는 안검하수, 진정등의 부작용이 관찰되었다.

**Hot plate 법**

대조군의 latency는 19.8±0.9초였으며, DA-5018, capsaicin은 용량의존적으로 반응하여 각각의 ED<sub>50</sub>은 1.7, 26.5 mg/kg이었으나, acetaminophen은 2,000 mg/kg이상이었다(Table I).

**Formalin 법**

피하주사시 대조군의 phase I, II 반응의 AUC는 각각 696±50, 2062±383 min·scc이었다. DA-5018(Fig. 1, A)과 morphine(Fig. 1, B)은 모두 용량의존적으로 phase I, II 반응을 억제하였으며, 두 약물의 ED<sub>50</sub>은 각각 phase I에서 0.2, 3.



**Fig. 2.** Effects of DA-5018, capsaicin, ketoprofen on croton oil-induced ear edema in mice. A: DA-5018 (●), capsaicin (▽) and ketoprofen (▼) injected subcutaneously. B: DA-5018 base (□, N=70), DA-5018 0.1% cream (▨, N=20), DA-5018 0.3% cream (▩, N=81), Zostrix-HP (■, N=71) and Kenoten (▧, N=10) applied topically. An asterisk denotes a significant difference from the DA-5018 base at p<0.01 by Duncan's test.

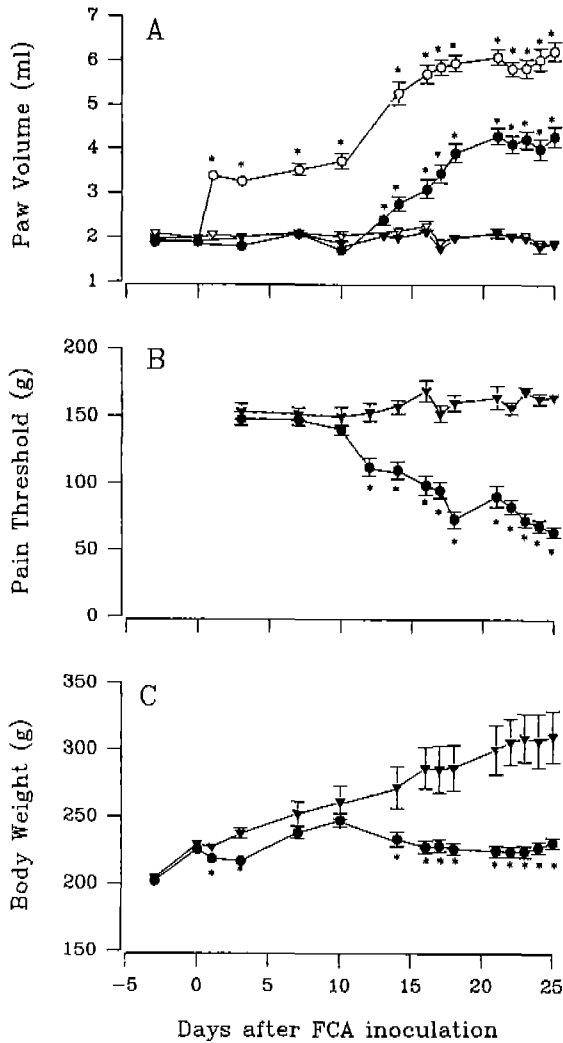
5 mg/kg, phase II에서 0.17, 4.3 mg/kg이었다. 국소도포경우 기제대조군의 phase I, II 반응의 AUC는 각각 428±35, 1085 ±112 min·sec이었다. DA-5018 0.3% 크림과 Zostrix-HP는 phase I 반응을 11.2%, 34.7%, phase II 반응을 7.1%, 30%를 각각 억제하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1, C).

**염증 모델**

**Croton oil-induced Ear Edema 법**

대조군은 7.5±0.2 mg의 부종이 발생하였다. 피하주사시 DA-5018, capsaicin 및 ketoprofen은 용량의존적으로 부종 발생을 억제하였고, 각각의 ED<sub>50</sub>은 각각 1.6, 12.7 및 710 mg/kg이었다(Fig. 2, A). 국소도포시 기제처치군은 6.3±0.2 mg으로 무처치 대조군에 비해 부종이 15.9% 억제되었다. DA-5018 0.1%크림, 0.3%크림 및 Zostrix-HP는 각각 5.2±0.4 mg(30.3%), 4.7±0.2 mg(36.9%) 및 5.1±0.2 mg(32.0%)으로 부종을 억제하였고, 기제처치군에 비하여 0.3%크림 및 Zostrix-HP 처치군은 유의적인 부종억제효과가 관찰되었다. Kenofen은 20.4% 억제하였으나, 기제처치군과 유의적인 차이는 보이지 않았다(Fig. 2, B).

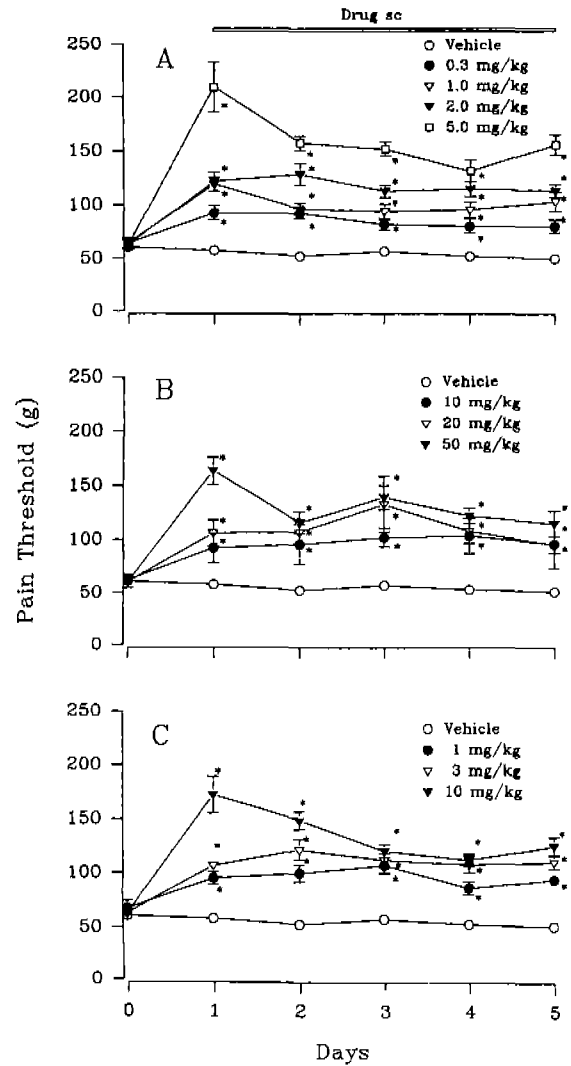
**관절염 통증모델 (Freund's complete adjuvant model)**



**Fig. 3.** Time courses of paw volume (A), pain threshold (B) and body weight (C) changes in FCA-rats. Each group was treated with vehicle, mineral oil (left; ▽, right; ▼) or FCA (left; ○, right; ●) on their left paw. Each point represents the mean ± S.E.M. of 10 (normal) or 24 (FCA) rats. An asterisk denotes a significant difference from the control group at  $p < 0.05$  by unpaired t-test.

**FCA 모델제작**

FCA 현탁용매를 투여한 대조군은 투여전과 비교할 때 정상적인 체중증가를 보였으며, 오른쪽 뒷발의 용적이나 통각역치는 변화가 없었다(Fig. 3). FCA 투여군은 대조군에 비해 유의적으로 체중증가가 둔화되었으며, 왼쪽 뒷발의 용량은 주사전 1.90 ml로, 주사후 1일에 3.38 ml로 증가하여 유지되다가 14일후부터 25일까지 5.27-6.24 ml로 증가하였다. 오른쪽 뒷발의 용량은 주사전 1.88 ml이었으나, 14일부터 증가가 시작되어 최대 4.29 ml까지 증가하였다. 통각역치는 주사전 148 g이었으나, 12일부터 감소하여 25일에는 63.9 g까지 감소하였으며, FCA투여군에서는 꼬리결절, 운동둔화도 육안관찰되었다.



**Fig. 4.** Effects of DA-5018 (A, N=9-17), capsaicin (B, N=5-17) and ketoprofen (C, N=9-17) administered subcutaneously on pain threshold by Randall-Selitto test in FCA-rats. An asterisk denotes a significant difference from the control group at  $p < 0.05$  by unpaired t-test.

**피하주사에 의한 통각역치 및 발부종의 변화**

통각역치는 대조군에서는 변화가 없었으나, DA-5018군은 투여 1일째에 0.1 mg/kg 이상의 용량에서 유의적으로 통각역치가 증가되었으며, 이후 5일동안 0.3-5.0 mg/kg에서 용량의존적으로 통각역치가 상승되었다(Fig. 4, A). Capsaicin 10, 20, 50 mg/kg 및 ketoprofen 1, 3, 10 mg/kg군도 5일동안 유의적인 통각역치의 상승이 나타났다(Fig. 4, B, C). DA-5018, capsaicin, ketoprofen의  $AD_{50}$  값은 1일차에 각각 0.66, 17.38, 3.76 mg/kg이었다(Table II). 오른쪽 뒷발의 부종은 대조군에서는 약간 증가하는 경향을 보였으나, DA-5018과 capsaicin 군은 그대로 유지되는 경향을 보여 대조군과 유의적인 차이는 없었다. Ketoprofen은 3, 10 mg/kg에서 투여 4, 5일에 대조군에 비하여 20%이상 유의적으로 감소시켰다.

**Table II.** Analgesic effects of subcutaneously administered DA-5018, capsaicin and ketoprofen on FCA-induced arthritic pain

Compound	AD <sub>2</sub> (mg/kg, sc)				
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
DA-5018	0.66	0.72	1.16	1.65	1.17
Capsaicin	17.38	30.04	12.73	19.93	37.25
Ketoprofen	3.76	1.41	2.77	3.52	3.42

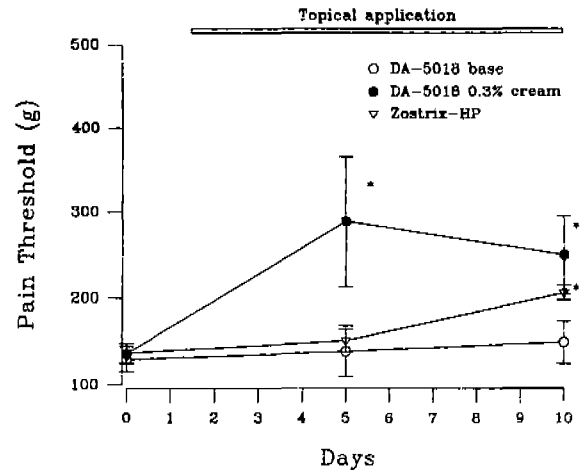
### 국소도포에 의한 통각역치 및 체중의 변화

기계대조군은 통각역치가  $129.9 \pm 14.5$  g에서  $149.9 \pm 24.2$  g으로 증가하는 경향을 보였으나, 기체를 도포하지 않고 파라펠름과 칼라치치를 한 무처치군과 차이를 보이지 않았다(데이터 생략). DA-5018 0.3% 크림 군은 도포전  $136.4 \pm 11.3$  g에서 5일에  $289.0 \pm 75.8$  g, 10일에  $250.1 \pm 45.2$  g으로 도포 전에 비하여 유의적인 통각역치 증가를 보였다. Zostrix-HP군은 도포 5일에  $151.3 \pm 12.9$  g로 증가경향을 보였으며, 10일에  $206.8 \pm 8.4$  g으로 유의성을 나타냈다(Fig. 5). DA-5018 0.3% 크림군과 Zostrix-HP군간의 차이는 5일에 유의성이 있었지만, 10일에는 없었다. 체중은 대조군이  $188.8$  g에서  $208.0$  g으로 증가하는 경향이 보였고, DA-5018 0.3% 크림과 Zostrix-HP군은 각각  $194.5$  g에서  $215.6$  g,  $199.6$  g에서  $221.1$  g으로 대조군과 유의성있는 차이는 보이지 않았다.

## 고 찰

DA-5018은 피하주사시에 급성 및 만성모델에서 강력하고 용량의존적인 진통효과를 나타내었다. 비스테로이드성 소염진통제의 검색법으로 널리 이용되는 초산 Writhing법과 Randall-Selitto법의 경우 DA-5018의 ED<sub>50</sub>은 각각 0.09, 0.66 mg/kg으로, 모화합물인 capsaicin에 비해 약 6-16배, 마약성진통제인 morphine에 비해 3-6배로서 매우 강력한 진통효과를 나타내었다. 강력진통제를 검색하는 tail flick 법과 hot plate법의 경우에도 DA-5018의 ED<sub>50</sub>은 2.0, 1.7 mg/kg으로 전자의 검색법에 비해 높은 ED<sub>50</sub>을 나타내었으나, capsaicin 대비 효력비율은 7-16배로 그대로 유지되었다. 이는 DA-5018과 capsaicin이 동일 골격의 화합물로서 작용기전의 유사성을 시사해 준다. 또한 실험한 여러 통증 모델에서 DA-5018은 경구투여시(손문호등, 투고중)에 비하여 피하주사시의 진통효력이 매우 강한데, 그 이유는 경구투여에 비해 피하주사시 흡수가 빠르고 생체이용율이 높기 때문이라고 생각된다(Lee등, submitted). 그러나, 비스테로이드성 진통제인 acetaminophen은 ED<sub>50</sub>이 tail flick과 hot plate에서 각각 1,000과 2,000 mg/kg이상으로 DA-5018은 acetaminophen보다 진통 스펙트럼을 넓은 것으로 판단되었다.

Formalin법의 경우, DA-5018의 피하주사는 formalin의



**Fig. 5.** Effects of DA-5018 cream base (N=8), Zostrix-HP (N=11) and DA-5018 0.3% cream (N=11) applied topically on pain threshold by Randall-Selitto test in FCA-rats. An asterisk denotes a significant difference from the day 0 at  $p < 0.05$  by paired t-test.

phase I, II 반응을 용량의존적이며 morphine과 유사한 양상으로 억제하였다. 이로 미루어 볼때 DA-5018의 피하주사시의 작용점은 morphine과 마찬가지로 중추일 가능성이 크다고 생각된다. Croton oil은 C-fiber가 매개하여 생기는 신경원성 염증 유발물질로 알려져 있으며, croton oil 유발 부종은 C-fiber에 선택성을 보이는 capsaicin의 전처리에 의하여 억제된다(Ohkubo등, 1990a). DA-5018은 capsaicin에 비해 약 8배의 강력한 항염효과를 나타내었으며 이는 골격과 작용기전의 유사성으로 예상되는 결과이다. FCA 모델은 사람의 만성 류마치스성 관절염의 동물 모델(Lyness등, 1989; Colpaert, 1979; Gouret등, 1976; Pircio등, 1975)로서, 특히 2차반응으로 오는 압자극의 통각역치 저하로 인하여 진통약물의 효력을 평가하는데 매우 유용하며(Ferreira와 Nakamura, 1979a; Ferreira와 Nakamura, 1979b; Winter와 Flataker, 1965; Kayser등, 1987; Millan등, 1986), 내성발현이 빨라 내성 연구에 많이 이용되었다(Kayser와 Guilbaud, 1985; Kayser등, 1986). FCA모델의 유발은 체중, 발의 부종, 통각역치 저하, 육안소견으로 확인하였으며 문헌보고(Kayser등, 1989)와 일치하는 결과를 얻었다. Capsaicin은 C-fiber에 작용하여 통증을 억제하고(Lynn등, 1992), 발목 관절에서는 SP의 농도를 감소시켜 부종을 억제(Ahmed등, 1995)하는 것으로 알려져 있으며, 본 실험에서도 강력한 진통효과를 확인할 수 있었다. DA-5018은 0.3-5 mg/kg의 범위에서 강력하고 용량의존적인 진통효과를 나타내었으며, 5일간 투여시 내성은 생성되지 않았다. 진통효력은 capsaicin에 비해 약 20배, ketoprofen에 비해 약 3배 강력하였으나, 효능은 서로간에 차이가 없음을 알 수 있었다.

국소도포하여 진통효과를 평가한 실험중에서 DA-5018

0.3% 크림은 formalin법에서는 진통효과가 없었고, croton oil 유발 귀부종과 FCA모델에서는 유의적인 진통효과를 확인할 수 있었다. Formalin의 phase I 반응은 척수의 후근신 경절과 dorsal horn에서 SP를 매개하여 발생하며(Ohkubo 등, 1990b), phase II 반응은 formalin을 주사한 국소부위의 염증반응으로 알려져 있다. DA-5018 0.3% 크림이 phase I 반응을 억제하지 못한 것은 흡수된 DA-5018 량이 척수수준에서 진통효과를 나타내기에는 너무 적었고, phase II에서는 항염증효능이 낮기 때문이라 생각된다. Croton oil에 의한 귀부종 실험에서 DA-5018 0.3% 크림은 capsaicin 크림인 Zostrix-HP보다 강력한 억제 효과를 나타내었다. Kenofen은 유의적인 억제를 보이지 않았으며, 이는 모델의 병태생리에 기인된 것으로 생각된다. 만성관절염모델인 FCA모델에서 DA-5018 0.3% 크림은 도포 5일과 10일에 통각역치를 112%, 83%씩 유의성있게 증가시켰으며, Zostrix-HP와 동등이상의 진통효과를 나타내었으며, 진통작용의 발현도 Zostrix-HP보다 빠른 결과를 얻었다. 류마치스성 관절염 환자에서는 관절내의 활액에 고농도의 SP가 존재하며(Levine 등, 1984), SP는 혈류량의 증가, histamine 유리촉진, 혈장단백 누출, 염증세포의 화학주성을 일으켜(Kimball, 1990) 관절염의 병태생리에 관여하기 때문에 capsaicin의 유도체인 DA-5018 크림을 관절에 반복적으로 도포하여 진통효과가 나타나는 것은 관절내 SP의 유리고갈을 고려할 수 있겠다.

이상의 결과로부터 DA-5018은 피하 및 국소투여시 여러 유해자극에 의한 급성 및 만성통증모델에서 강력한 진통효과를 나타내며, 비스테로이드성 소염진통제보다 진통 스펙트럼도 넓다고 생각된다.

### 감사의 말씀

관절염모델작성방법을 지도해 주신 강원대학교 약학대학 김현표교수님께 깊은 감사를 드립니다. 아울러 본 연구는 1994년도 과학기술처 선도기술개발사업의 지원에 의해 이루어 졌으며, 이에 대해서도 감사드립니다.

### 참고문헌

Ahmed, M., Bjurholm, A., Srinivasan, G. R., Lundeberg, T., Theodorsson, E., Schultzberg, M. and Kreicbergs, A. (1995). Capsaicin effects on substance P and CGRP in rat adjuvant arthritis. *Regul. Pept.* **55**(1), 85-102.

Bernstein, J. E., Korman, N. J., Bickers, D. R., Dahl, M. V. and Millikan, L. E. (1989). Topical capsaicin treatment of chronic postherpetic neuralgia. *J. Am. Acad. Dermatol.* **21**, 265-270.

Colpaert, F. C. (1979). Can chronic pain be suppressed despite purported tolerance to narcotic analgesia? *Life Sci.* **24**,

1201-1210.

D'Amour, F. E. and Smith, D. L. (1941). A method for determining loss of pain sensation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **72**, 74-79.

Deal, C. L., Schnitzer, T. J., Lipstein, E., Siebold, J. R., Stevens, R. M., Levy, M. D., Albert, D. and Renold, F. (1991). Treatment of arthritis with topical capsaicin: a double-blind trial. *Clin. Therapeutics* **13**(3), 383-395.

Drower, E. J., Stapelfeld, A., Mueller, R. A. and Hammond, D. L. (1987). The antinociceptive effects of prostaglandin antagonists in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* **133**, 249-256.

Dubuisson, D. and Dennis, S. G. (1977). The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* **4**, 161-174.

Ferreira, S. H. and Nakamura, M. (1979a). Prostaglandin hyperalgesia: the peripheral analgesic activity of morphine, enkephalins and opioid antagonists. *Prostaglandins* **18**, 191-200.

Ferreira, S. H. and Nakamura, M. (1979b). Prostaglandin hyperalgesia: relevance of the peripheral effect for the analgesic action of opioid-antagonists. *Prostaglandins* **18**, 201-208.

Frank, A. B., Christopher, F. G. and Gregory, B. K. (1988). Successful treatment of postherpetic neuralgia with capsaicin. *Am. J. Ophthalmol.* **106**, 758-759.

Gouret, C., Mocquet, G. and Raynaud, G. (1976). Use of Freund's adjuvant arthritis test in antiinflammatory drug screening in the rat: value of animal selection and preparation at the breeding center. *Lab. Anim. Sci.* **26**, 281-287.

Hirose, K., Jyoyama, H., Kojima, Y., Eigyo, M., Htakeyama, H., Asanuma, F., Umehara, H. and Yamaguchi, T. (1984). Pharmacological properties of 2-[4-(2-thiazolyloxy)-phenyl]-propionic acid (480156-S), a new non-steroidal antiinflammatory agent. *Arzbeim.-Forsch/Drug Res.* **34**(3), 280-286.

Inoue, H., Nagata, N. and Koshihara, Y. (1993). Profile of capsaicin-induced mouse ear oedema as neurogenic inflammatory model: comparison with arachidonic acid-induced ear oedema. *Br. J. Pharmacol.* **110**, 1614-1620.

Ivan, G. O. and Marcia, L. B. (1985). Laboratory models for testing nonsteroidal antiinflammatory drugs. in *Nonsteroidal antiinflammatory drugs* (Joseph G.L., Ed.), pp. 111-252. A wiley-interscience publication, New York.

Kawada, T., Suzuki, T., Takahashi, M. and Iwai, K. (1984). Gastrointestinal absorption and metabolism of capsaicin and dihydrocapsaicin in rats. *Toxicol. and Applied Pharmacol.* **72**, 449-456.

Kayser, V. and Guilbaud, G. (1985). Can tolerance to morphine be induced in arthritic rats? *Brain Res.* **334**, 335-338.

Kayser, V., Neil, A. and Guilbaud, G. (1986). Repeated low doses of morphine induce a rapid tolerance in arthritic rats but a potentiation of opiate analgesia in normal animals. *Brain Res.* **383**, 392-396.

Kayser, V., Besson, J. M. and Guilbaud, G. (1987). Paradoxical hyperalgesic effect of exceedingly low doses of systemic morphine in an animal model of persistent pain (Freund's adjuvant-induced arthritic rats). *Brain Res.* **414**,

- 155-157.
- Kayser, V., Fournie-Zaluski, M. C., Guilbaud, G. and Roques, B. P. (1989). Potent antinociceptive effects of ketolorphan (a highly efficient inhibitor of multiple enkephalin-degrading enzymes) systemically administered in normal and arthritic rats. *Brain Research* **497**, 94-101.
- Kayser, V. and Guilbaud, G. (1990). Differential effects of various doses of morphine and naloxone on two nociceptive test thresholds in arthritic and normal rats. *Pain* **41**, 353-363.
- Karen, M. and Fred, W. (1991). Capsaicin; A therapeutic option for painful diabetic neuropathy. *Henry Ford Hosp. Med. J.* **39**(2), 138-140.
- Kimball, E. S. (1990). Substance P, cytokines and arthritis. *Ann. NY Acad. Sci.* **594**, 293-308.
- Lee, J. J., Shim, H. J., Kim, S. H., Lee, S. D., Kim, W. B., Yang, J. and Lee, M. G. Pharmacokinetics of a non-narcotic analgesic, DA-5018, in rats. *Biopharm. Drug Dispos.*, Submitted.
- Levine, J. D., Clark, R., Devor, M., Helms, C., Moskowitz, M. A. and Basbaum, A. I. (1984). Intra-neuronal substance P contributes to the severity of experimental arthritis. *Science* **226**, 547-549.
- Lyness, W. H., Smith, F. L., Heavner, J. E., Iacono, C. U. and Garvin, R. D. (1989). Morphine self-administration in the rat during adjuvant-induced arthritis. *Life Sci.* **45**(23), 2217-2224.
- Lynn, B., Ye, W. and Cotsel, B. (1992). The actions of capsaicin applied topically to the skin of the rat on C-fibre afferents, antidromic vasodilatation and substance P levels. *Br. J. Pharmacol.* **107**, 400-406.
- McCarthy, G. M. and McCarty, D. J. (1992). Effect of topical capsaicin in the therapy of painful osteoarthritis of the hands. *J. Rheumatol.* **19**, 604-7.
- Millan, M. J., Millan, M. H., Czlonkowski, A., Hillt, V. and Pilcher, C. W. T. (1986). A model of chronic pain in the rat: response of multiple opioid systems to adjuvant-induced arthritis. *J. Neuroscience* **6**(4), 899-906.
- Ohkubo, T., Shibata, M. and Takahashi, H. (1990a). Participation of the sensory nerves in the inflammatory response induced by irritants. *Nippon Yakurigaku Zasshi* **96**(5), 243-53.
- Ohkubo, T., Shibata, M., Takahashi, H. and Inoki, R. (1990b). Role of substance P and somatostatin on transmission of nociceptive information induced by formalin in spinal cord. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **252**(3), 1261-1268.
- Otsuki, T., Nakahama, H., Niizuma, H. and Suzuki, J. (1986). Evaluation of the analgesic effects of capsaicin using a new rat model for tonic pain. *Brain Res.* **365**, 235-240.
- 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.
- Pircio, A. W., Fedele, C. T. and Bierwagen, M. E. (1975). A new method for the evaluation of analgesic activity using adjuvant induced arthritis in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* **31**, 207-215.
- Randall, L. O. and Selitto, J. J. (1957). Pain and temperature sensibilities, in *Medical Physiology*, Vol. 1 (Mountcastle V. B., ed.) C.V. Mosby, St. Louis.
- Robert, R. B., Kenneth, R. B., George, E. D. and Kim, E. M. (1985). Anti-inflammatory activity of orpanoxin administered orally and topically to rodents. *Agents and Actions* **16**(5), 369-376.
- 손문호, 배은주, 김희기, 신명수, 김순희, 김원배, 양중익, 박노상. 새로운 캡사이신유도체 DA-5018의 급성통증모델에서의 진통작용. *응용약물학회지* 투고중.
- Virus, R. M. and Gebhart, G. F. (1979). Pharmacologic actions of capsaicin: apparent involvement of substance P and serotonin. *Life Sci.* **25**, 1273-84.
- Winter, C. A. and Flataker, L. (1965). Reaction thresholds to pressure in oedematous hindpaws of rats responses to analgesic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **150**, 164-171.
- Woolfe, G. and McDonald, A. D. (1944). The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **80**, 300-307.