

캡사이신 유사체들의 척수 진통작용을 매개하는 아데노신

유은숙[#] · 김옥희* · 손여원* · 정인경** · 이상섭***

대웅제약중앙연구소, 식품의약품안전청, 삼육대학교 약학대학, 서울대학교 약학대학

(Received September 28, 1998)

Involvement of Adenosine in The Spinal Antinociception by Capsaicinoids

Eun Sook Yoo[#], Ok Hee Kim*, Yeo Won Son*,
In Kyung Jung** and Sang Sup Lee***

[#]*Dae Woong Pharm. Co., Research & Development Center, Kyunggi, Sungnam 462-120, Korea*

^{*}*Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea*

^{**}*Department of Pharmacy, Sahn Yook University, Seoul 139-742, Korea and*

^{***}*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*

Abstracts—To investigate analgesic mechanism of capsaicin and its analogues (capsaicinoids), adenosine release was measured by high performance liquid chromatography from rat spinal cord synaptosomes. Exposure of synaptosomes to K^+ and morphine produced a dose dependent release of adenosine in the presence of Ca^{++} . Capsaicin (0.1, 1, 10 μM), and its analogues: NE-19550 (1, 10, 100 μM), DMNE (1, 10, 100 μM) and KR 25018 (0.1, 1, 10 μM) produced a concentration dependent release of adenosine in the presence of Ca^{++} . Nifedifine, L-type voltage sensitive calcium channel blocker, inhibited K^+ (6, 12 mM)- and morphine (10 μM)-evoked release of adenosine partially. Capsazepine, a novel capsaicin selective antagonist, blocked only capsaicin and capsaicinoids induced release of adenosine. Therefore, it is suggested that the adenosine release by capsaicin and capsaicinoids having antinociceptive effects involves activation of capsaicin specific receptor and capsaicin sensitive Ca^{++} channel.

Keywords □ Capsaicin, capsaicinoids, nifedifine, capsazepine, adenosine.

Adenosine 또는 그 유사체에 의한 진통효과는 N-(p-phenyl iso-propyl)-adenosine(R-PIA)을 환쥐에 전신투여한 후 behavioral test로서 진통작용을 확인한 보고에서 최초로 언급되었다.¹⁾ 이후 adenosine agonist를 뇌실내 투여 했을에도 마찬가지로의 진통효과를 나타냈고, 이 효과는 theophylline과 같은 methylxanthine 계통의 adenosine 수용체 길항제에 의해 감소되었으며,^{2,3)}이 길항제가 척수내 투여 되었을 때 진통 작용 실험에서 통각 과민 증상을 일으켰다.²⁾ 한편 adenosine 수용체 길항제인 aminophylline 을 전신투여한 후 morphine을 i.v.로 투여했을때 진통작용이 억제되는 결과가 보고되

어 morphine의 진통작용에 adenosine이 관여하는 가능성이 암시되었다.⁴⁾ 이어 adenosine 및 그 agonist가 척수내 투여된 morphine과 상승효과를 보인 결과가 보고되었고⁵⁾ 또한 통증 신경전달물질 substance P와 NMDA(N-methyl-D-aspartate)를 adenosine 또는 adenosine agonist와 함께 척수내 투여하였을 때 통증 전달물질에 의해 초래되는 통증이 감소되었다.⁶⁾

이러한 연구결과들로부터 morphine이 opioid 수용체에 결합하여 신경전달을 억제하는 직접적인 진통작용 외에도 adenosine을 유리하여 methylxanthine-sensitive adenosine 수용체에 작용하여 진통효과를 나타내는 간접적인 기전을 생각하게 되었다. 이 가능성을 확인해 보고자 환쥐의 척수로 synaptosome을 제조하여 morphine에 의한 adenosine 유리를 측정할 실험에서

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0342-41-7700 (팩스) 0342-49-5535

morphine 1~100 μM 에서 농도의존적으로 adenosine 유리가 증가되었다.⁷⁾ 또한 이 실험에서는 24 mM K^+ 와 50 μM veratridine으로 탈분극을 유도했을 때 척수의 전각 부분으로 제조한 synaptosome에서보다 후각부분의 synaptosome에서 3배 정도 많은 양의 adenosine이 유리됨을 확인하고 adenosine 이 후각부분에서 기능적으로 중요함을 강조하였다. 그후 morphine에 의해 유리되는 adenosine의 근원신경에 관해 조사하였는데, 선택적으로 작용하는 신경독인 capsaicin을 성장한 흰쥐 척수내에 고용량 투여하거나 신생 흰쥐에 피하 주사한 경우에 *in vivo*, *in vitro* 모두에서 morphine에 의한 adenosine 유리가 크게 감소 되었다.⁸⁾ 하지만 척수의 전각 부분(ventral horn)으로 제조한 synaptosome에서는 morphine에 의해 adenosine이 유리되지 않았다⁸⁾. 이것으로, morphine에 의해 유리되는 adenosine은 척수의 후각에 분포한 capsaicin-감작 일차구심성 신경말단으로부터 유래한다고 여겨진다. 또한 morphine과는 다른 기전의 진통효과를 나타내는 것으로 알려진 capsaicin 경우에도 흰쥐 척수의 후각부분으로 제조한 synaptosome에서 농도 의존적으로 adenosine 유리를 증가시켰고, 전각부분으로 제조한 synaptosome에서는 adenosine 유리를 증가시키지 않았으며 신경독으로서 capsaicin을 전처리한 경우 morphine과 마찬가지로 adenosine의 유리를 크게 감소시켰다.⁸⁾

따라서 본 연구에서는 진통작용이 있는 capsaicin 유사체들의 진통작용기전을 밝히는 일환으로서 흰쥐 척수의 synaptosome을 제조하여 capsaicin 유사체들에 의한 adenosine 유리를 조사함으로써 capsaicin 유도체의 진통작용에 대한 adenosine 관여 가능성을 비교 검토 하고자 하였다.

실험재료 및 방법

시약 및 재료 - Capsaicin, resiniferatoxin은 Sigma사로부터 구입하였고 NE-19550, DMNE 는 서울대학교 약학대학 보관품을, KR 25018은 한국화학연구소의 박노상박사로부터 제공받아 사용하였다. Capsaicin의 선택적 길항제인 capsazepine은 Research Biochemicals International(U.S.A)제품을 사용하였다. Adenosine, nifedipine, 1-octanesulfonic acid, bovine serum albumin, barium hydroxide, zinc sulfate, gelatin, EGTA 및 mounting medium은 Sigma사 제품을,

chloroacetaldehyde는 Aldrich사 제품을 사용하였다. Acetonitrile과 methanol은 Merck사의 HPLC grade를 사용하였고 그외의 일반시약들은 reagent grade이상의 것을 사용하였다. HPLC 분석에 사용한 column은 reverse phase C18-column(Shim-pack CLC-ODS (M), 4.6×250 mm, particle size 5 μm , Shimadzu, Japan)이었고 fluorescence detector(RF-535, Shimadzu, Japan)로 λ_{ex} , 280 nm, λ_{em} , 400 nm에서 정량하였다. Mobile phase는 50 mM acetate buffer(pH 4.5), 2 mM 1-octanesulfonic acid, 16% acetonitrile로 하였으며 flow rate 0.9 ml/min 에서 retention time은 약 4.2분 이었다.

실험동물 - 실험에 사용한 웅성 Sprague-Dawley (SD) 흰쥐는 서울대학교 실험동물 사육장으로부터 공급받아 2주 이상 실험사육장(약학대학 GLP실) 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 물과 사료는 자유로이 섭취하도록 하였고 사료는 제일제당에서 시판하는 고품사료를 사용하였다. 사육실 내의 온도는 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 50~60%로 조절하고 조명은 12시간 명/암 주기가 되도록 하였다.

척수 synaptosome 제조 - 250~300 g의 SD 웅성 흰쥐를 단두치사한 후 곧 손상되지 않은 상태로 척수를 분리하여 병냉의 0.32 M sucrose 용액에 넣었다. 척수의 혈관, 경막(dura)을 제거해 내고 척수를 전각과 후각 부분으로 나누었다. 한 번 실험에 흰쥐 20마리로부터 얻은 척수를 사용하였다.

척수 synaptosome은 White 등의 방법⁹⁾에 따라 제조하였다 반으로 나뉘어진 척수에 각각 병냉의 0.32 M sucrose 5 ml를 가한후 Teflon-glass homogenizer로 균질화하여 1,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 침전에 병냉의 0.32 M sucrose 50 ml를 가하여 다시 균질화한 후 1,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 이 상층액을 먼저 따라놓은 상층액과 합하여 20,000×g에서 30분간 원심분리하고 얻어진 침전을 Krebs-Henseleit bicarbonate medium(KH) 40 ml에 현탁시켜 37°C CO₂ 배양기에서 30분간 배치하였다. KH medium을 가하기 전까지의 과정을 모두 4°C 이하에서 행하였으며 KH medium은 제조 후 pH가 7.4로 유지되도록 CO₂ 배양기 내에 보관하였다.

Adenosine 유리 - synaptosome현탁액을 microcentrifuge에서 최고속도로 10분간 원심분리하고 이 pellet에 대하여 ml에 1~2 mg protein을 포함하도록 KH

medium으로 재현탁하였다. 1.5 ml microcentrifuge tube에 시험하고자 하는 약물을 미리 30 μ l씩 취하여 37°C에서 30분간 방치한 다음 최종 synaptosome 현탁액을 700 μ l씩 tube에 가하고 잘 혼합하여 37°C CO₂ 배양기 내에서 15분간 반응시켰다. 다음 microcentrifuge에서 최고속도로 5분간 원심분리하여 반응을 종료시키고 상층액 400 μ l를 취하여 adenosine 정량에 사용하였다. 즉 synaptosome에서 약물에 의해 15분 동안 유리된 adenosine 양을 pmol/mg protein으로 구하였다.

Adenosine 정량 - Sweeny의 방법⁷⁾에 따라 상층액 0.4 ml에 0.3 M ZnSO₄와 0.3 M Ba(OH)₂를 각각 0.2 ml씩 가하고 혼합한 후 microcentrifuge에서 최고속도로 5분간 원심분리하여 단백질을 제거하였다. 상층액 0.425 ml를 취해 4.5% chloroacetaldehyde가 75 μ l 담겨져 있는 tube에 가하고 20분간 boiling하여 ethenoadenosine을 형성시켰다. tube를 실온으로 식힌 후 100 μ l를 취해 HPLC로 정량하였다.

Ca⁺⁺ 의존성 Adenosine 유리 - 척수 synaptosome에서 약물에 의한 adenosine유리가 Ca⁺⁺에 의존적인지를 조사하기 위하여 Ca⁺⁺이 없는 KH medium을 사용했으며 약물과 반응시키는 단계에서 1 mM EGTA로 Ca⁺⁺을 착화 한 후 유리된 adenosine을 같은 방법으로 정량하였다.

Nifedipine의 영향 - Capsaicin 유사체에 의한 adenosine 유리에 voltage-sensitive calcium channel이 관여하는지 보기 위하여 L-type calcium channel 길항제인 nifedipine 10 nM 존재 시에 같은 방법으로 약물에 의한 adenosine 유리를 측정하였다.

Capsazepine의 영향 - Capsaicin과 그 유사체들에 의한 adenosine 유리가 capsazepine에 의해 선택적으로 억제되는지 조사하고자 capsaicin의 경쟁적 길항제인 capsazepin 5 μ M, 10 μ M 존재하에 K⁺, morphine과 capsaicin 유사체들에 의한 adenosine 유리를 측정하였다.

통계처리 - Student t-test 방법에 의해 평균치를 검정하였으며 p-value가 0.05 미만일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

실험결과

Capsaicin 및 그 유사체들에 대하여 흰쥐 척수의 synaptosome으로부터 adenosine유리를 측정하였다.

Table I— Release of endogenous adenosine evoked by K⁺, morphine and capsaicin from dorsal spinal cord synaptosomes

		Adenosine (pmol/mg protein/15 min)	
		Basal	Evoked
KCl		189.62±33.80	
	6 mM 12 mM		59.10±11.74 91.08±11.31
Morphine		220.18±14.25	
	1 μ M 10 μ M		39.37±8.15 93.45±12.59
Capsaicin		191.63±7.20	
	0.1 μ M 1 μ M		87.15±6.10 160.88±19.26
	10 μ M		204.65±22.77

Values are means±S.E. of three or four experiments.

K⁺, morphine 및 capsaicin 유사체에 의한 adenosine 유리 - K⁺는 6 mM과 12 mM, morphine은 1 μ M과 10 μ M 그리고 capsaicin의 경우에는 0.1 μ M, 1 μ M, 10 μ M에서 농도의존적으로 adenosine을 유리하였으며(Table I) 같은 농도에서는 morphine에 비해 capsaicin에 의한 adenosine 유리량이 더 큰 것으로 나타났다.

Capsaicin과 구조적으로 유사하며 진통효과가 있는

Table II— Release of endogenous adenosine evoked by capsaicinoids from dorsal spinal cord synaptosomes of the rats

Capsaicinoids (μ M)	Adenosine (pmol/mg protein/15 min)	
	Basal release	Evoked
NE-19550		237.02±21.9
	1 10 100	26.16±2.36 67.90±5.66 139.51±9.31
		169.99±26.94
DMNE		169.99±26.94
	1 10 100	94.36±6.24 151.50±21.06 199.02±9.72
		198.62±27.62
KR 25018		198.62±27.62
	0.1 1 10	76.96±15.1 138.18±17.86 181.95±9.72
		171.01±26.89
RTX		171.01±26.89
	0.1 1 10	130.24±5.45 132.14±4.70 103.33±3.02

Values are means±S.E. of three or four experiments.

Table III—Ca⁺⁺ dependence of adenosine release evoked by K⁺ or capsaicinoids

		Evoked adenosine (pmol/mg protein/15 min)		
		Ca ⁺⁺ (+)	Ca ⁺⁺ (-)	Ca ⁺⁺ (-)+1 mM EGTA
K ⁺	12 mM	96.30±4.58	68.55±7.46	N.D.
Capsaicin	0.1 μM	88.91±7.97	N.D.	N.D.
	1 μM	163.19±20.36	12.02±0.96	N.D.
	10 μM	213.03±17.37	N.D.	N.D.
NE-19550	10 μM	138.49±8.29	N.D.	N.D.
DMNE	10 μM	153.54±21.06	30.42±4.79	N.D.
KR25018	1 μM	151.70±12.77	N.D.	N.D.
	10 μM	202.81±18.37	48.77±5.44	27.77±2.83

Total release Ca(+) 845.73±2.13

Ca(-) 1135.12±1.14

Ca(-), EGTA 1 mM 1295.88±130.82

Values are means±S.E. of three or four experiments.

N.D. Not detectable

Table IV—Effect of nifedipine on adenosine release evoked by K⁺, morphine or capsaicinoids

		Evoked adenosine (pmol/mg protein/15 min)		
		10 nM Nif(-)	10 nM Nif(+)	Nif(+)/Nif(-)(%)
K ⁺	6 mM	35.77±9.53	1.97±0.15	5.5
	12 mM	99.49±5.90	N.D.	-
Morphine	10 μM	95.16±2.86	1.83±0.75	1.9
Capsaicin	1 μM	106.64±21.36	70.07±7.82	65.7
NE-19550	10 μM	151.61±2.92	79.53±2.71	52.5
DMNE	10 μM	141.99±9.51	100.81±8.44	71.1
KR 25018	1 μM	135.96±1.88	82.64±3.45	60.8

Basal release : Nif(-) 109.99±11.74

Nif(+) 123.7±10.48

Values are means±S.E. of three or four experiments.

N.D. Not detectable

물질에 대해서도 adenosine 유리를 조사하였는데 NE-19550와 DMNE는 1, 10, 100 μM, KR 25018은 0.1, 1, 10 μM에서 농도의존적으로 adenosine을 유리하였다(Table II).

Capsaicin 유사체에 의한 adenosine 유리의 Ca⁺⁺ 의존성 - 척수 synaptosome 제조시에 KH medium에서 Ca⁺⁺를 배제하거나 여기에 1 mM EGTA를 포함하게 하여 adenosine 유리를 측정함으로써 adenosine 유리를 위해 Ca⁺⁺이 필수적인지에 대해 조사하였다. 결과 K⁺와 capsaicin 및 capsaicin 유사체 모두 Ca⁺⁺ 의존적으로 adenosine을 유리시키는 것으로 나타났다(Table III).

Nifedipine의 효과 - L-type voltage sensitive calcium channel 차단제인 nifedipine 10 nM 이 포함된 조건에서 adenosine 유리를 측정하였을 때 K⁺ 6 mM과 12 mM 그리고 morphine 10 μM에 의한 adenosine 유리량은 nifedipine이 없는 상태에서 유리된

adenosine양의 10% 이하였다. 그러나 capsaicin과 capsaicin 유사체인 NE-19550, DMNE 및 KR 25018의 adenosine 유리는 nifedipine 존재에 의해 크게 영향받지 않았다(Table IV). 이 결과로부터 capsaicin이나 capsaicin 유사체가 관여하는 Ca⁺⁺ channel은 voltage sensitive calcium channel이 아닌 것으로 생각된다.

Capsazepine의 효과 - Capsazepine은 capsaicin의 경쟁적 길항제로서 최근에 알려진 물질이다. 5 μM과 10 μM이 포함된 조건에서 adenosine 유리를 측정하였을 때 K⁺ 12 mM과 morphine 10 μM에 의한 adenosine 유리는 크게 영향을 받지 않았으나 capsaicin 10 μM에 의한 adenosine 유리는 capsazepin 5 μM 농도에서 70%, 10 μM 농도로는 100% 억제되었다. Capsaicin의 구조적 유사체인 NE-19550, DMNE, KR 25018에 의한 adenosine 유리도 10 μM capsazepine에 의해 50%~77%까지 억제되었다(Table V).

Table V — Effect of capsazepine on adenosine release evoked by K⁺ morphine or capsaicinoids

		Evoked adenosine (pmol/mg protein/15 min)		
		CPZ (-)	CPZ (5 μM)	CPZ (10 μM)
K ⁺	6 mM	142.13±22.3	116.94±22.3	93.5±19.4
Morphine	10 μM	149.99±8.6	113.42±16.4	103.41±10.8
Capsaicin	10 μM	163.39±4.01	51.38±2.69	N.D.
NE-19550	10 μM	156.06±22.19	102.71±6.02	63.6±7.76
DMNE	10 μM	361.94±13.3	222.85±18.4	125.52±10.3
KR25018	1 μM	241.52±26.49	127.1±7.05	120.7±6.76

Values are means±S.E. of three or four experiments.
N.D. Not detectable

고 찰

Capsaicin의 진통작용 기전에 관한 연구는 계속되어 왔고 capsaicin의 수용체를 순수하게 분리하려는 시도와 더불어 생체막에 작용하는 현상들이 많이 조사되었으나 그 확실한 작용기전에 대하여는 아직 잘 알려져 있지 않다. 그러나 ³H RTX를 ligand로 사용한 binding assay 및 capsacin에 특이적이면서 경쟁적 길항제인 capsazepin의 발견으로부터 감각신경에 capsaicin 또는 “vanilloid” 수용체가 존재함이 확실해 졌다.¹⁰⁻¹³⁾

일차구심 신경 세포의 말단에서 유리된 adenosine이 진통작용에 관여할 가능성이 있음이 보고^{2,7)} 됨에 따라 본 실험에서는 capsaicin 및 그 유사체들에 대하여 흰쥐 척수의 synaptosome으로부터 adenosine 유리를 측정하였는데 capsaicin을 물론 NE-19550, DMNE, KR 25018 모두 농도 의존적으로 adenosine을 유리하였다. 또한 Ca⁺⁺이 medium 내에 결여되거나 EGTA로 완전히 착화 되었을 때에 위의 capsaicinoids에 의한 adenosine 유리가 크게 감소되는 것은 capsaicinoids에 의해 유리되는 adenosine이 신경전달 물질일 가능성을 뜻하는 결과로 여겨진다. Capsaicin이나 capsaicin 유사체에 의한 adenosine 유리가 단순히 비선택적인 독성효과와의 결과가 아님은 앞선 연구에서 보고된 바 있다. 즉 capsaicin에 의한 adenosine 유리는 흰쥐 척수의 후각 부분으로 제조한 synaptosome에서 현저하게 나타났으며 전각부분으로 제조한 synaptosome에서는 거의 나타나지 않았다.⁸⁾ 더욱이 *in vitro* 실험으로서 분리된 척수에 capsaicin을 적용시켰을 γ-aminobutyric acid, glutamate 또는 glycine은 유리되지 않았다.¹⁴⁾

Morphine 이나 K⁺ 그리고 capsaicinoids가 동일한 calcium channel에 작용하는지 보기 위하여 L-type calcium channel 길항제인 nifedipine을 처리하고

capsaicinoids에 의한 adenosine 유리를 조사한 결과 K⁺와 morphine에 의한 adenosine 유리는 nifedipine에 의해 영향받았으나 capsaicinoids에 의한 adenosine 유리는 nifedipine 처리에 의해서 크게 영향받지 않았다. 이는 capsaicin과 그 유사체들이 주로 관여하는 calcium channel이 voltage-sensitive calcium channel이 아닌 ligand specific calcium channel일 가능성을 뜻하는 결과로 생각된다.

위의 실험 결과로부터 morphine이나 capsaicin 유사체들의 작용기전을 정리해 보면, morphine은 opioid 수용체에 결합하여 통증 전달물질로 알려진 substance P의 유리를 직접 억제하거나, adenosine을 유리시켜 이것이 시냅스 전후에 분포된 adenosine 수용체와의 결합으로 시냅스 전달을 억제하는 것과 동시에 제 2의 통증 전달 물질인 흥분성 아미노산(glutamate)의 유리를 억제하는 것으로 생각된다. 이에 비해 capsaicin 및 capsaicin 유사체들은 가상적인 capsaicin 수용체에 결합하여 morphine과는 달리 substance P와 adenosine을 함께 유리시키며 이때 유리된 substance P에 의해 초래되는 초기 통증은 adenosine의 시냅스 전달 억제작용으로 약화될 수 있다. Capsaicin의 수용체 결합은 세포내로 순간적인 Ca⁺⁺의 도입을 증가시켜 탈분극을 계속 유지시키는데 이 결과 신경말단에 존재하는 voltage-sensitive calcium channel이 지속적으로 불활성됨으로써 다음의 자극으로 인한 통증 전달물질인 substance P의 유리가 억제되어 그 진통효과가 나타나는 것으로 추정할 수 있다.

문 헌

1) Vapaatalo, H., Onken, O., Neuvonen, P. J., and Westermann, E. : Sterospecificity in some

- central and circulatory effects of phenylisopropyladenosine (PIA), *Arzneim, Forsch. (Drug Res.)*, **25**, 407 (1975).
- 2) Sawynok, J., Sweeney, M. I., and White, T. D. : Classification of adenosine receptors mediating antinociception in the rat spinal cord, *Br. J. Pharmacol.*, **88**, 923 (1986).
 - 3) Holmgren, M., Hedner, J., Mellstrand, T., Nordberg, G., and Hedner, T. : Characterization of the antinociceptive effects of some adenosine analogues in the rat, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **334**, 290 (1986).
 - 4) Jurna, I. : Cyclic nucleotides and aminophylline produce different effects of nociceptive motor and sensory response in the rat spinal cord, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **327**, 23 (1984).
 - 5) Delander, G., and Hopkins, C. J. : Involvement of A2 adenosine receptor in spinal mechanisms of antinociception, *Eur. J. Pharmacol.*, **139**, 215 (1987).
 - 6) DeLander, G. E., and Wahl, J. J. : Behavior induced by putative nociceptive neurotransmitters is inhibited by adenosine analogs coadministered intrathecally, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **246**, 565 (1988).
 - 7) Sweeney, M. I., White, T. D., and Sawynok, J. : Involvement of adenosine in the spinal antinociceptive effects of morphine and noradrenaline, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **243**(2), 657 (1987).
 - 8) Sweeney, M. I., White, T. D., and Sawynok, J. : Morphine, capsaicin and K⁺ release purines from capsaicin sensitive primary afferent nerve terminals in the spinal cord, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **248**(1), 447 (1988).
 - 9) White, T. D., Downie, J. D. and Leslie, R. A. : Characteristics of K⁺ and veratridine induced release of ATP from synaptosomes prepared from synaptosomes prepared from dorsal and ventral spinal cord, *Brain Research.*, **334**, 373 (1985).
 - 10) Szallasi, A., and Blumberg, P. M. : Specific binding of resiniferatoxin an ultrapotent capsaicin analog, by dorsal root ganglion membranes, *Brain Res.*, **524**, 106 (1990)a.
 - 11) Szallasi, A., and Blumberg, P. M. : Resiniferatoxin and its analogs provide novel insights into the pharmacology of the vanilloid (capsaicin) receptor, *Life Sci.*, **47**, 1399 (1990)b.
 - 12) Bevan, S., Hothi, S., Hughes, C. A., James, I. F., Rang, H. P., Shah, K., Wapole, C. C. J., and Yeats, J. C. : The development of a capsaicin antagonist for the sensory neuron excitant, *Br. J. Pharmacol.*, **102**, 77p, (1991).
 - 13) Dray, A., and Dickenson, A. : Systemic capsaicin and olvanil reduce the acute algogenic action the late inflammatory phase following formalin injection into rodent paw, *Pain*, **47**, 79 (1991).
 - 14) Akage, H., Otsuka, M., and Yanagisawa, M. : Identification by high performance liquid chromatography of immunoreactive substance P released from isolated rat spinal cord, *Neurosci. Lett.*, **20**, 259 (1980).