

## 알칼로이드 진통제 DK 1001의 opioid 수용체 선택성 및 일반약리

김진숙 · 김대경 · 권태혈 · 용철순 · 하정희<sup>1</sup> · 허 근 · 김정애\*

영남대학교 약학대학, <sup>1</sup>영남대학교 의과대학

## Opioid Receptor Selectivity and General Pharmacology of DK1001, New Alkaloid Analgesic

Jin-Sook KIM, Dae-Kyung KIM, Tae-Hyub KWON, Chul-Soon YONG,  
Jeoung-Hee HA<sup>1</sup>, Keun HUH and Jung-Ae KIM\*

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749,

<sup>1</sup>College of Medicine, Yeungnam University, Taegu 705-717, Korea

(Received April 1, 1999; accepted October 8, 1999)

**Abstract**—DK1001 is a thebain derivative, which is newly synthesized as an alkaloid analgesic. This study was designed to study effects of DK1001 on the ligands binding to the opioid receptor subtypes, and general pharmacology of DK1001. DK1001 inhibited the binding of [<sup>3</sup>H]DAMGO, a selective mu-subtype agonist, to the opioid receptor of rat forebrain in a concentration-dependent manner. EC<sub>50</sub> of DK1001 was significantly lower than that of morphine. DK1001 inhibited the binding of [<sup>3</sup>H]DPDPE, a selective delta-subtype agonist concentration-dependently. DK1001(0.5 mg/kg) had no effects on behavior, body temperature, blood pressure, respiratory rate, and intestinal charcoal propulsion of mice. In addition, DK1001 did not affect on the contractilities of isolated muscle strips of aorta, ileum, and trachea of rats. These results suggest that DK1001 might be a potent analgesic without serious side effects.

**Keywords** □ alkaloid, opioid, receptor, selectivity, general pharmacology, DK1001

약물의 수용체 선택성은 길항제의 개발 및 선택에 있어서 기본 길잡이가 되며, 특히 opioid계 약물은 수용체 subtype에 따라 심각한 부작용인 호흡억제작용, 독성, 내성 및 금단증상 발현의 양상 및 기전이 상이하므로(Blake 등, 1995; Narita 등, 1993; Reisine와 Bell, 1993; Reisine, 1995; Satoh와 Miniarni, 1995), opioid계 약물의 opioid 수용체에 대한 결합반응의 특성 특히 subtype에 대한 선택성은 임상적용 전단계에서 필수적인 기본정보이다.

Opioid계 약물의 중요한 약리작용은 중추신경성 진통 및 지사작용이며 이외에도 졸음, 기분의 변동, 정신의 혼탁, 심한 호흡억제 및 장관운동억제 등의 부작용이 있다. 특히 강력한 진통제인 morphine의 호흡억제 작용은 심각하며, 아주 미량을 투여하여도 호흡은 억제되는데, morphine 중독시에는 호흡빈도가 1분당 3-4회까지 되어 호흡마비로 사망하게 된다. 치료용량의 morphine은 순환기계통에는 별다른 작용이 없으나, 대량을 투여하면 서맥(bradycardia)과 혈압하강이 일어난다. Opioid계 약물은 위장관계에도 상당한 영향을 미쳐, 진통목적으로 쓰이기 훨씬 이전부터 주로 이

질과 설사치료에 오랫동안 사용되어 왔는데, 이 계통의 약물은 장관의 추진성 운동(propulsive activity)을 억제시키고 장내용물의 지체시간을 연장시켜, 수분흡수를 증가시킨다(Reisine와 Bell, 1993; Reisine, 1995; Satoh와 Miniarni, 1995). 그러므로 신의약품 후보물질의 이러한 일반약리작용에 대한 정보를 얻음으로써 부작용의 발현양상을 예측할 수 있고 아울러 그 방지책을 고안하는데 중요한 자료가 될 것이며 아울러 진통 작용이외의 기타 특이한 약리작용의 유무를 밝힐 것으로 기대된다.

DK1001은 thebain 유도체로써, 새로이 합성된 알칼로이드 진통제이다. 이 약물은 생쥐에서 강력하고 용량의존적인 진통효과를 나타내었으며, 이는 기존의 buprenorphine이나 morphine보다 높은 것으로 관찰되었다. 뿐만아니라, DK1001은 opioid진통제들의 단점인 의존성 발현이 낮은 것으로 나타났다(Zvartau 등, 미발표). 이러한 DK1001의 강력한 진통작용의 양상은 전호현제양상을 나타내었으나(Zvartau 등, 미발표), 그 약리작용의 기전을 설명할 수 있는 수용체 선택성에 대한 연구는 행해진 바 없으며, 일반 약리작용에 대한 정보도 필수적인 것으로 생각되었다.

\*To whom correspondence should be addressed.

이에 본 연구를 통하여 신의약 후보물질인 알칼로이드계 진통제 DK1001의 opioid 수용체에 대한 결합반응의 특성 특히 subtype 선택성 일반약리작용에 대한 정보를 확보하고자 하였다.

## 실험방법

### 수용체 결합 반응

수용체 결합반응은 Yurdaydin 등(1995)의 방법을 사용하였다. 흰쥐(웅성, 250-300 g, Sprague-Dawley)는 단두하여 희생(decapitation)시켜, 즉시 forebrain을 분리하여 -80°C에 검사일까지 보관하였다. 검사 당일 각각의 forebrain 조직은 무게를 잰 후 50배 부피의 50 mM Tris citrate 완충용액(1 mM EDTA 및 100mM NaCl 포함, pH=7.6)에서 균질화(homogenization)하였다. 균질화한 조직은 원심분리기(20,000×g, 4°C)를 사용하여 20분간 원심분리시킨 후 그 결과 생겨나는 침전물은 다시 50배 부피의 Tris-Citrate 완충용액에 재분배하였다. 이와 같은 과정을 3회 반복한 후 최종적인 침전물을 실험에 사용하였다.

Mu 수용체 결합반응을 위해서는 [<sup>3</sup>H]DAMGO([D-Ala<sup>2</sup>, N-Me-Phe<sup>4</sup>, Gly-ol<sup>5</sup>]-Enkephalin, specific activity=55.3Ci/mmol)를 사용하였으며, 조직(0.08-0.7 mg), nonspecific binding을 위해 10 μM levallorphan을 사용하였다. Delta 수용체 결합반응을 위해서는 [<sup>3</sup>H]DPDPE([D-Pen<sup>2,5</sup>]-Enkephalin, specific activity=36.0 Ci/mmol)을 사용하였으며, 비특이 결합반응을 위해 100 μM DPDPE를 사용하였다. Kappa 수용체 결합반응을 위해서는 [<sup>3</sup>H]U69,593(specific activity=30-60 Ci/mmol)을 사용하였으며, 비특이결합반응을 위해 10 μM U50,488을 사용하였다. 모든 assay는 triplicate로 하여 적어도 한 실험을 6회 이상 반복하였다. 반응 혼합물이 든 시험관들은 25°C에서 한, 두시간 방치한 후 GF/B 여과지(0.03% polyethyleneimine으로 처리한 것) 상에서 Brandel M-24R(Brandel Instruments, Gaithersberg, MD, USA)을 사용하여 결합분획과 비결합분획을 신속히 분리하였다. 여과지상의 결합 분획이 내는 방사성 활성도는 liquid scintillation counter(Beckman LS 5801)을 사용하여 측정하였다. 제작한 대뇌조직의 단백질 함량을 bicinchoninic acid법(Pierce, Rockford, IL, USA)을 사용하여 측정하였다.

### 중추신경계 일반 약리작용 검색

#### 자발운동 및 기타 행동에 대한 작용

Mouse(ICR, male, 20-30 g)를 실험실 조건에서 충분히 적응시킨 후 알칼로이드계 진통제인 DK1001 0.5 mg/kg, 대조약물로서 morphine 10 mg/kg 및 생리적 식염수 동량을 대퇴근육에 주사후 실험동물의 자발운동 및 기타 행동의 변화를 관찰하였다. DK1001의 경우는 생쥐에서 실시한 hot plate 및 tail clip 검사에서 관찰된(Zvartau 등, 미발표) 진통작용의 ED100인 0.5 mg/kg을 실험동물에 주사하였다.

### 경련 유발 작용

Mouse에서 DK1001 투여로 인한 경련양상을 관찰하고, 대조약물 즉 경련독인 picrotoxin 및 pentylenetetrazole 투여로 인한 경련양상과 비교하였다.

### 정상 체온에 대한 작용

Mouse에 DK1001 투여 후 일정시간 간격으로 온도계를 항문으로부터 약 3 cm 삽입하여 직장온도를 측정한다. 대조약물로서 morphine 투여에 의한 체온변화도 관찰하였다.

### 위장관계 약리작용 검색

#### 적출장관근 수축력에 대한 작용

흰쥐(Sprague-Dawley, male, 250-350 g)는 단두(decapitation)하여 치사시켜 회장을 적출한 후 Krebs 완충용액에서 적출근 표본을 만들어 적출 장기 실험조(95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 공급되는 Krebs 완충용액 포함)에 현수하였다. 적출근이 안정화된 후 DK1001을 위시한 각종 약물 즉 장관근의 흥분성 요소인 cholinergic agonist인 bethanechol의 누적농도를 실험조에 첨가하여 관찰되는 수축성의 변화를 생체계측기(Polygraph, Grass Model 79E, MASS, USA)에 묘기하였다.

Krebs 완충용액의 조성은 아래와 같다(mM, pH=7.4).

NaCl, 118.5; KCl, 4.74; CaCl<sub>2</sub>, 2.5; MgSO<sub>4</sub>, 1.18; NaHCO<sub>3</sub>, 24.9; glucose, 10.0; EDTA, 0.03

#### 장관수송능에 대한 작용

Mouse에 DK1001 및 morphine sulfate를 투여 후 5% charcoal meal을 경구투여 하였다. 그 후 30분 후에 실험동물을 치사시켜 위장관을 적출하고 유문부에서 직장까지의 charcoal의 이동거리를 측정하였다. 소장의 길이에 대한 charcoal 이동거리의 비율을 구하여 이동율(percent movement, %)로 하였다.

#### 위십이지장 점막 자극작용

Mouse에 DK1001을 투여하고, 일정시간 후 실험동물을 치사시켜, 위와 십이지장을 절개하여 내벽의 육안적 변화를 관찰하였다. 그 후 병리조직검사를 위하여 조직을 10% 중성 포르말린(formalin)에 고정하고 탈수한 후 침투과정을 거쳐 파라핀에 포매한후 절편한 후 Hematoxylin-Eosin 염색(stain)하여 조직의 부식도를 관찰하였다.

### 심혈관계에 대한 약리작용 검색

#### 적출혈관 및 심근수축력에 대한 작용

흰쥐를 치사시켜 혈관 및 심근을 적출한 후 Krebs 완충용액에서 적출근 표본을 만들어 적출 장기 실험조(95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 공급되는 Krebs 완충용액 포함)에 현수하였다. 적출근이 안정화된 후 DK1001을 위시한 각종 약물을 실험조에 첨가하여 관찰되는 수축성의 변화를 생체계측기에 묘기하였다.

Krebs 완충용액의 조성은 아래와 같다(mM, pH=7.4).

NaCl, 118.5; KCl, 4.74; CaCl<sub>2</sub>, 2.5; MgSO<sub>4</sub>, 1.18;

NaHCO<sub>3</sub>, 24.9; glucose, 10.0; EDTA, 0.03

#### 혈압 및 심박수에 대한 작용

가토(2-3 kg)를 Ketamine(30 mg/kg)과 Xylazine(10 mg/kg)의 혼합액으로 마취시킨 후 대퇴동맥을 박리하고, 대퇴동맥에 헤파린을 함유한 캐눌러(직경 2 mm)를 삽관시키고, 대퇴동맥으로부터 혈압을 계속 모니터링하였다. 알칼로이드계 진통제인 DK1001을 위시한 각종 대조약물 투여에 의한 혈압 및 심박수의 변화를 생체계측기에 묘기하였다.

#### 호흡계에 대한 약리작용 검색

##### 적출기관근 수축력에 대한 작용

흰쥐를 치사시켜 기관근을 적출한 후 Krebs 완충용액에서 적출근 표본을 만들어 적출 장기 실험조(95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 공급되는 Krebs 완충용액 포함)에 현수하였다. 적출근이 안정화된 후 DK1001을 위시한 각종 약물을 실험조에 첨가하여 관찰되는 수축성의 변화를 생체계측기에 묘기하였다.

Krebs 완충용액의 조성은 아래와 같다(mM, pH=7.4).

NaCl, 118.5; KCl, 4.74; CaCl<sub>2</sub>, 2.5; MgSO<sub>4</sub>, 1.18; NaHCO<sub>3</sub>, 24.9; glucose, 10.0; EDTA, 0.03

##### 생체 호흡수에 대한 작용

Mouse에 DK1001을 투여하고 morphine에 의한 호흡수의 변화를 비교, 관찰하였다.

#### 사용 약물 및 시약

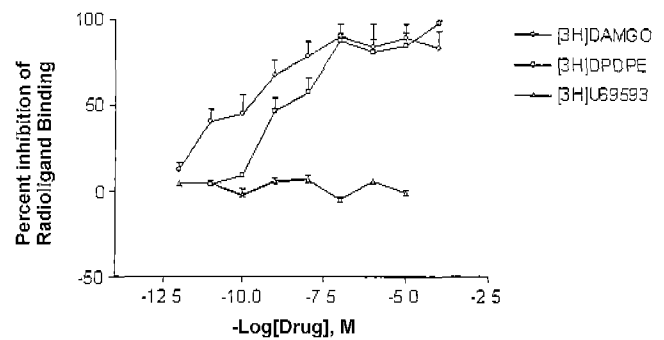
본 실험에 사용된 약물 중 방사성 동위원소는 Dupont-NEN(Boston, MA, USA)사에서 구입하였다. Levallorphan, DPDPE, morphine 및 U50,488는 RBI(Research Biochemical International Inc, Natick, MA, USA)로부터 구입하였다. Tris, citric acid, norepinephrine, carbachol, EDTA, polyethyleneimine, sucrose, sodium chloride 등의 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. Scintillation cocktail(aquasol)을 Packard사(Packard instrument B.V. Chemical operations, Groningen, Netherlands)에서 구입하였다.

#### 통계

실험성적은 Mean±S.E.로 표시하였다. 수용체 결합실험에서 얻어진 결과는 Prism(Graphpad Software, San Diego, CA, USA)을 사용하여 비선형회귀(nonlinear regression)시켜 분석하였다. 각군의 성적 변화의 통계학적 유의성 검정은 ANOVA로 분석 후 Neuman-Keul의 사후검정법(multiple comparison test, Systat, Intelligent Software, Evanston, IL, USA)를 사용하였다.

### 실험결과

DK1001은 선택적인 opioid 수용체의 mu-subtype 효현제인 [<sup>3</sup>H]DAMGO 결합반응을 농도의존적인 양상으로 억



**Fig. 1.** Effect of DK1001 on the ligands binding to the opioid receptor of rat forebrain. Values represent mean ± SE of 8 experiments.

제하였는데, DK1001 10<sup>-12</sup> M 농도에서는 [<sup>3</sup>H]DAMGO 결합반응에 대한 억제도(% inhibition)가 12.7±3.4%, 10<sup>-11</sup> M 농도에서는 40.5±7.4%, 10<sup>-10</sup> M 농도에서는 45.4±10.4%, 10<sup>-9</sup> M 농도에서는 67.6±8.7%, 10<sup>-8</sup> M 농도에서는 78.8±8.8%, 10<sup>-7</sup> M 농도에서는 90.2±7.0%, 10<sup>-6</sup> M 농도에서는 84.6±12.7%, 10<sup>-5</sup> M 농도에서는 90.0±7.6%, 10<sup>-4</sup> M 농도에서는 83.5±10.2%이었다(Fig 1). DK1001의 [<sup>3</sup>H]DAMGO 결합반응 억제효과는 levallorphan 및 mu-subtype의 전 효현제인 morphine과 유사한 양상을 나타내었으며, levallorphan 10<sup>-12</sup> M 농도에서는 [<sup>3</sup>H]DAMGO 결합반응에 대한 억제도(% inhibition)가 13.1±3.8%이었으며, 10<sup>-11</sup> M 농도에서는 30.1±6.8%, 10<sup>-10</sup> M 농도에서는 21.4±6.4%, 10<sup>-9</sup> M 농도에서는 62.5±9.0%, 10<sup>-8</sup> M 농도에서는 80.5±3.8%, 10<sup>-7</sup> M 농도에서는 96.0±2.3%, 10<sup>-6</sup> M 농도에서는 95.5±1.6%, 10<sup>-5</sup> M 농도에서는 97.7±2.5%, 10<sup>-4</sup> M 농도에서는 99.2±2.0%이었다. Morphine 10<sup>-12</sup> M 농도에서는 [<sup>3</sup>H]DAMGO 결합반응에 대한 억제도(% inhibition)가 4.8±3.0%이었으며, 10<sup>-11</sup> M 농도에서는 14.0±3.2%이었으며, 10<sup>-10</sup> M 농도에서는 22.3±8.7%이었으며, 10<sup>-9</sup> M 농도에서는 29.4±5.7%이었으며, 10<sup>-8</sup> M 농도에서는 59.2±4.5%이었으며, 10<sup>-7</sup> M 농도에서는 65.3±14.3%이었으며, 10<sup>-6</sup> M 농도에서는 110.6±0.17%이었으며, 10<sup>-5</sup> M 농도에서는 99.3±1.4%이었으며, 10<sup>-4</sup> M 농도에서는

**Table I.** EC<sub>50</sub> of DK1001, morphine and levallorphan on the inhibitory effect of [<sup>3</sup>H]DAMGO binding to the opioid receptor of rat forebrain

	EC <sub>50</sub> (nM)
DK1001	0.02 ± 0.001*
Morphine	2.3 ± 0.2
Levallorphan	1.2 ± 0.2

Data points were analyzed by nonlinear regression analysis for determination of EC<sub>50</sub>. Values represent mean ± SE of 8 experiments. \*p<0.05: Significantly different from others.

116.0±0.5%이었다. 현재 임상에서 강력한 진통제로 사용되고 있는 morphine과 비교하여 보았을 때, DK1001의 [<sup>3</sup>H]DAMGO 결합반응에 대한 억제효과의 중간유효 농도 (EC<sub>50</sub>, nM)는 DK1001의 경우는 0.02±0.001(n=8)으로서, morphine의 2.3±0.2(n=8)에 비하여 유의하게(p<0.05) 낮았다(Table I).

DK1001은 선택적인 delta-subtype 효현제인 [<sup>3</sup>H]DPDPE 결합반응을 농도의존적인 양상으로 억제하였는데, DK1001 10<sup>-11</sup>M 농도에서는 [<sup>3</sup>H]DPDPE 결합반응에 대한 억제도 (% inhibition)가 4.2±2.3%, 10<sup>-10</sup>M 농도에서는 9.5±12.0%, 10<sup>-9</sup>M 농도에서는 46.8±7.5%, 10<sup>-8</sup>M 농도에서는 58.0±8.1%, 10<sup>-7</sup>M 농도에서는 88.0±3.9%, 10<sup>-6</sup>M 농도에서는 81.3±8.0%, 10<sup>-5</sup>M 농도에서는 85.1±7.6%, 10<sup>-4</sup>M 농도에서는 98.2±1.8%이었다(Fig 1). DK1001의 [<sup>3</sup>H]DPDPE 결합반응 억제효과는 DPDPE의 그것과 비교하여 볼 때 유사한 양상을 나타내었는데, [<sup>3</sup>H]DPDPE 결합반응 억제효과의 중간유효농도(EC<sub>50</sub>, nM)는 DK1001의 경우는 1.26±0.31(n=8), DPDPE의 경우는 8.02±0.21(n=8)이었다(Table II).

DK1001은 선택적인 kappa-subtype agonist인 [<sup>3</sup>H]U69,593 결합반응에는 별다른 영향을 미치지 않았으나(Fig. 1), 선택적인 kappa-subtype agonist인 U50,488의 경우는 [<sup>3</sup>H]U69,593 결합반응에 대한 억제도가 10<sup>-12</sup>M 농도에서는 -2.3±1.6%이었으며, 10<sup>-11</sup>M 농도에서는 0.2±0.1%, 10<sup>-10</sup>M 농도에서는 0.5±7.0%, 10<sup>-9</sup>M 농도에서는 22.9±4.8%, 10<sup>-8</sup>M 농도에서는 27.3±3.6%, 10<sup>-7</sup>M 농도에서는 49.6±3.4%, 10<sup>-6</sup>M 농도에서는 65.8±6.9%, 10<sup>-5</sup>M 농도에서는

**Table II.** EC<sub>50</sub> of DK1001 and DPDPE on the inhibitory effect of [<sup>3</sup>H]DPDPE binding to the opioid receptor of rat forebrain

	EC <sub>50</sub> (nM)
DK1001	1.26 ± 0.31
DPDPE	8.02 ± 0.21

Data points were analyzed by nonlinear regression analysis for determination of EC<sub>50</sub>. Values represent mean ± SE of 8 experiments.

**Table III.** Effect of DK1001 on general behaviors in mice

	DK1001 0.5 mg/kg	Morphine sulfate 10 mg/kg
Straub's tail	4	10
Tremor	0	0
Convulsion	0	0
Righting reflex	10	10
Abnormal gait	0	0
Spontaneous activity	4	10

Each value is the number of mice showing clinical signs out of 10 mice used.

96.1±2.1%이었다.

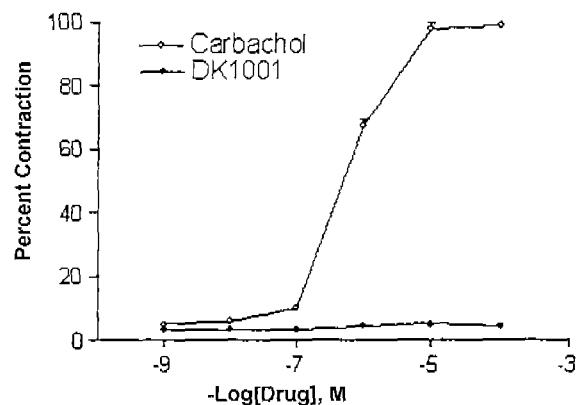
알칼로이드계 진통제인 DK1001 0.5 mg/kg을 mouse (ICR, male, 20-30 g)의 대퇴부에 근육주사후 실험동물의 일반행동을 관찰한 결과 mouse 10마리중 4마리에서 Straub's tail 현상과 자발운동의 증가(hyperambulation) 현상을 나타내었다. 그러나 진전(tremor), 경련(convulsion) 및 비정상적인 보행(abnormal gait) 현상은 관찰되지 않았으며, 정좌반사(righting reflex)의 소실 현상도 관찰되지 않았다. 강력한 opioid계 진통제인 morphine 10 mg/kg을 mouse의 대퇴부에 근육주사하였을 때, 실험동물 모두에서 Straub's tail 현상과 자발운동의 증가(hyperambulation) 현상을 나타내었다(Table III). 정상체온에 대한 작용을 검색하기 위하여 mouse에 DK1001 0.5 mg/kg 투여후 온도계를 항문으로부터 약 3 cm 삽입하여 직장온도를 측정된 결과 DK1001 투여군의 직장온도(°C)는 36.9±0.2로서 대조군의 37.2±0.1에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았으나, morphine sulfate 10 mg/kg 투여군에서는 34.2±0.1로서 대조군에 비하여 유의한(p<0.05) 감소를 나타내었다(Table IV).

위장관계 약리작용 검색을 위하여 적출장관근 수축력에 대한 작용을 관찰하였으며, 적출회장근이 적출장기조내에서 안정화된 후 10<sup>-10</sup>M에서 10<sup>-4</sup>M 농도의 DK1001을 첨가하였을 때 회장 수축성에 별다른 영향을 미치지 않았다(Fig 2). Mouse에 DK1001 투여후 5% charcoal meal을 경구 투여하고 소장의 길이에 대한 charcoal 이동거리의 비율(이

**Table IV.** Effect of DK1001 on the rectal temperature of mice

Treatment	Dose	Body temperature(°C)
Vehicle		37.2 ± 0.1
DK1001	0.5 mg/kg	36.9 ± 0.2
Morphine Sulfate	10 mg/kg	34.2 ± 0.1*

Values represent mean ± SE of 10 experiments. \*p<0.05: Significantly different from others.

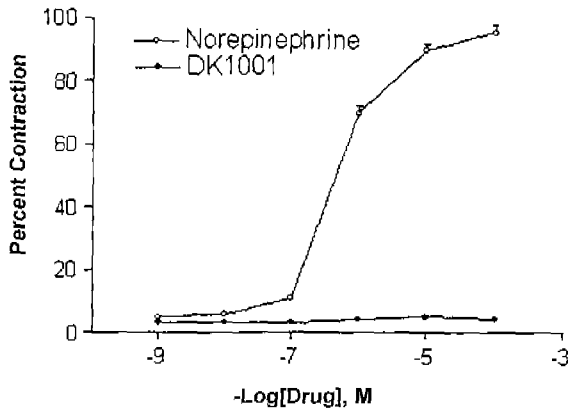


**Fig. 2.** Effects of DK1001 and carbachol on the contractility of isolated rat ileum. Each point represent the mean of 6 to 8 preparations.

**Table V.** Effect of DK1001 on intestinal propulsion of mice

Treatment	Dose	Percent movement
Vehicle		64.6 ± 3.4
DK1001	0.5 mg/kg	64.2 ± 2.6
Morphine Sulfate	10 mg/kg	38.6 ± 3.7*

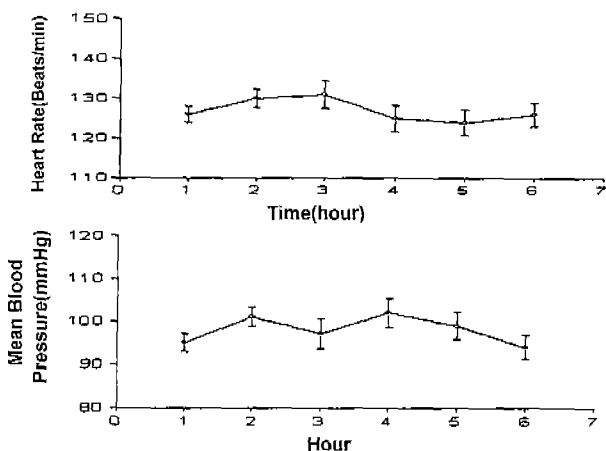
Values represent mean ± SE of 10 experimnets. \*p<0.05:Significantly different from others.



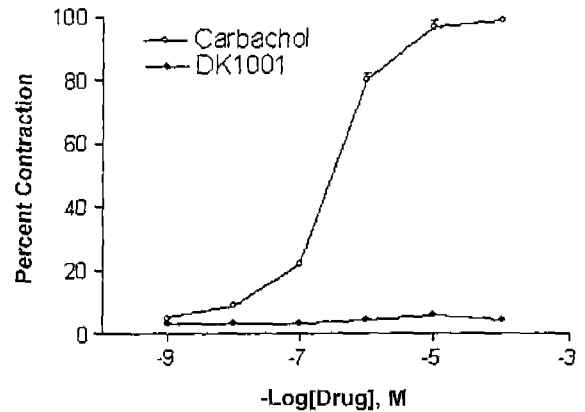
**Fig. 3.** Effects of DK1001 and carbachol on the contractility of isolated muscle strip of aorta. Each point represents the mean of 6 to 8 preparations.

동물, %)을 측정하였을 때, DK1001 투여군의 이동율은 64.2±2.6로서 대조군의 64.6±3.4에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았으나, morphine sulfate 10 mg/kg 투여군에서는 38.6±3.7로서 대조군에 비하여 유의한(p<0.05) 감소를 나타내었다(Table V). DK1001의 위십이지장 점막 자극 작용 검색을 위해 실시한 병리조직검사 결과 특별한 병리 소견을 나타내지 않았다.

심혈관계에 대한 약리작용 검색을 위하여 흰쥐의 적출혈관 및 심근 수축력에 대한 작용을 관찰하였으며, 적출혈관



**Fig 4.** Effects of DK1001 on hemodynamics of rabbits.



**Fig. 5.** Effects of DK1001 and carbachol on the contractility of isolated rat trachealis muscle. Each point represents the mean of 6 to 8 preparations.

**Table VI.** Effect of DK1001 on respiratory rate of mice

Treatment	Dose	Respiratory rate/minute
Vehicle		123.5 ± 8.9
DK1001	0.5 mg/kg	110.3 ± 13.2
Morphine Sulfate	10 mg/kg	95.7 ± 6.7*

Values represent mean ± SE of 10 experimnets. \*p<0.05:Significantly different from others.

및 심근이 적출장기조내에서 안정화된 후 10<sup>-10</sup> M에서 10<sup>-4</sup> M 농도의 DK1001을 첨가하였을 때, 적출혈관 및 심근 수축성에 별다른 영향을 미치지 않았다(Fig 3). 가토(rabbit, 2-3 kg)을 마취후 대퇴동맥으로부터 혈압 및 심박수(heart rate)의 변화를 생체계측기에 표기하였는데, DK1001 투여 후 6시간까지 실험동물의 평균 동맥압(mean arterial pressure) 심박수의 변화는 관찰되지 않았다(Fig 4).

호흡계에 대한 약리작용 검색을 위하여 흰쥐의 적출기관 수축력에 대한 작용을 관찰하였으며, 적출기관이 적출장기조내에서 안정화된 후 10<sup>-10</sup> M에서 10<sup>-4</sup> M 농도의 DK1001을 첨가하였을 때, 적출기관 수축성에 별다른 영향을 미치지 않았다(Fig 5). DK1001의 생체 호흡수에 대한 검색결과, DK1001 투여군의 분당 호흡수는 110.3±13.2로서 대조군의 123.5±8.9에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았으나, morphine sulfate 10 mg/kg 투여군에서는 95.7±6.7로서 대조군에 비하여 유의한(p<0.05) 감소를 나타내었다(Table VI).

**고 찰**

강력한 미약성 진통제인 morphine을 위시한 opioid수용체 효현제들은 주로 mu-subtype수용체와의 상호작용을 통하여 진통작용을 나타낸다. Mu-subtype수용체는 척수상부

진통, 호흡억제, 축동(miosis), 위장관운동저하 및 다행감(euphoria) 등을 매개하는 것으로 알려져 있다. 선택적인 kappa-subtype수용체 작용 약물은 mu-subtype수용체에 내성을 나타내는 실험동물에서 진통작용을 나타낸다. 이들은 주로 척수대개작용에 의한 것이며, mu-subtype수용체 효현제에 비하여 강력한 축동작용이나 호흡억제작용이 덜 저명하다. kappa-subtype수용체 작용약물은 다행감 대신에 불쾌감(dysphoria), 지남력상실(disorientation) 등을 나타내기도 한다. Delta-subtype수용체 효현제는 척수진통, 축동, 위운동억제, 호흡억제 및 저혈압의 작용을 나타낸다(Blake 등, 1995; Narita 등, 1993; Reisine와 Bell, 1993; Reisine, 1995; Satoh와 Miniarni, 1995). 이와 같이 opioid계 약물의 수용체 subtype 선택성에 따라 그 약리작용의 특성이 다양하므로, opioid계 약물의 opioid수용체에 대한 결합 반응의 특성 특히 subtype selectivity는 opioid계 신약의 필수적인 기본 정보이다. 이에 본 연구에서는 흰쥐 대뇌 opioid수용체의 각 subtype에 선택적인 방사성배위자의 수용체에 대한 결합반응에 미치는 신의약후보인 알칼로이드 진통제인 DK1001의 영향을 검색하여 기존의 morphine의 결합특성과 비교하였다.

실험 결과, 신의약후보인 DK1001은 mu-subtype의 전효현제(full agonist) morphine과 비슷한 양상을 나타내었으며, morphine과 EC<sub>50</sub>를 비교하여 보았을 때, 그 강도(potency)는 오히려 morphine보다 월등하게 높은 것으로 관찰되었으며, mu-subtype의 전효현제로서 생체에서의 강력한 진통작용과 깊은 연관성이 있을 것으로 생각된다. 이러한 DK1001의 적은 용량에서의 강력한 진통효과는 내성 및 의존성발현의 가능성을 감약시켜 줄 수 있는 좋은 기회가 될 것으로 기대된다. 뿐만아니라, DK1001은 수용체 결합반응 실험에서 delta-subtype의 전효현제인 DPDPE와 비슷한 양상을 나타내었으며, EC<sub>50</sub>를 비교하여 보았을 때, 그 강도가 DPDPE와 유사한 것으로 관찰되어, delta-subtype수용체 배위자로서의 가능성도 관찰되었다. 그러나 DK1001은 kappa-subtype수용체에는 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. 이러한 실험결과는 합성 thebain과 연관된 opioid 유발 진통작용의 작용기전에 mu- 및 delta- opioid수용체의 복합적인 작용 가능성을 시사한 Aceto등(1999)의 보고와 상응성을 보여주고 있다.

Opioid계 약물의 중요한 약리작용은 중추신경성 진통 및 지사작용이며 이외에도 졸음, 기분의 변동, 정신의 혼탁, 심한 호흡 억제 및 장관운동억제 등의 부작용이 있다(Blake 등, 1995; Reisine, 1995; Satoh와 Miniarni, 1995). 그러므로 새로운 알칼로이드계 진통제인 DK1001의 중추신경계, 호흡계, 심혈관계 및 위장관계의 약리작용 검색은 필수적이다(김순희 등, 1997). 본 연구에서는 DK1001의 중추신경계, 호흡계, 심혈관계 및 위장관계의 일반약리작용에

대한 정보를 확보하고자 실험을 시행하였다. 실험 결과, 알칼로이드계 진통제인 DK1001은 Straub's tail 현상과 자발운동의 증가(hyperambulation) 현상을 나타내었으며, 이는 치료용량의 morphine투여시 관찰되는 자발운동의 증가현상(Kuribara 등, 1994; Loggi등, 1991; Narita등, 1993a; Narita 등, 1993b)과 상응성을 나타내었다. 그러나 진전(tremor), 경련(convulsion) 및 비정상적인 보행(abnormal gait) 현상은 관찰되지 않았으며, 정좌반사(righting reflex)의 소실 현상도 관찰되지 않았다. DK1001은 morphine sulfate와 달리 정상체온에 대하여 별다른 영향을 미치지 않았다.

위장관계 약리작용 검색을 위하여 적출장관근 수축력에 대한 작용에서 DK1001은 적출회장근의 수축성에 별다른 영향을 미치지 않았다. Morphine sulfate 투여군과는 달리 mouse에 DK1001 투여후 5% charcoal meal을 경구투여 후 측정된 소장내 길이에 대한 charcoal 이동율은 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다. DK1001은 위십이지장 점막 자극작용 검색을 위해 실시한 병리조직검사 결과에서도 특별한 병리소견을 나타내지 않았다. 심혈관계에 대한 약리작용 검색을 위하여 흰쥐의 적출혈관 및 심근 수축력에 대한 작용을 관찰하였으며, DK1001은 적출혈관 및 심근 수축성에 별다른 영향을 미치지 않았다. 가토를 마취 후 대퇴동맥으로부터 혈압 및 심박수(heart rate)의 변화를 생체계측기에 묘기하였는데, DK1001은 실험동물의 평균 동맥압(mean arterial pressure) 및 심박수에 별다른 영향을 미치지 않았다. 호흡계에 대한 약리작용 검색을 위하여 흰쥐의 적출기관근 수축력에 대한 작용을 관찰하였으며, DK1001은 척출기관근의 수축성에 별다른 영향을 미치지 않았다. DK1001은 생체 호흡수에 대한 검색결과에서도, 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 이는 morphine sulfate 투여군에서 관찰된 호흡억제와 강한 대조를 보여주었다.

이상의 신의약후보인 DK1001의 일반약리작용에 대한 실험결과를 종합하여 볼 때, DK1001은 진정, 경련, 심한 호흡억제 등의 중추신경계 일반부작용을 보이지 않을 뿐 아니라, 위장관운동억제 등의 위장관계 및 심혈관계 부작용을 보이지 않는 것으로 생각되었다.

이상의 수용체 결합반응 및 일반약리작용에 대한 실험결과를 종합하여 볼 때, 신의약후보인 알칼로이드 진통제 DK1001의 강력한 진통작용 기전은 mu- 및 delta- opioid수용체를 활성화시킴으로써 나타날 것으로 생각되었으며, 진통효과를 기대하는 임상 적용용량 범위내에서 심각한 전신적 부작용을 나타내지 않을 것으로 생각되었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1996년도 과학기술처 선도기술과제(신약개발)

연구비 지원에 의해서 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Aceto, M. D., Harris, L. S., Abood, M. E. and Rice, K. C. (1999). Stereoselective mu- and delta-opioid receptor-related antinociception and binding with (+)-thebaine. *Eur. J. Pharmacol.* **365**(2-3), 143-147.
- Kuribara, H. and Uchihashi, Y. (1994). Interactions of opioids with caffeine: evaluation by ambulatory activity in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* **46**(2), 141-144.
- Loggi, G., Laviola, G., Alleva, E. and Chiarotti, F. (1991). Morphine effects on mouse locomotor/exploratory activity: test dependency, test reliability, uni- and multi-variate analyses. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **38**(4), 817-822.
- Narita, M., Suzuki, T., Funada, M., Misawa, M. and Nagase, H. (1993a). Involvement of delta-opioid receptors in the effects of morphine on locomotor activity and the mesolimbic dopaminergic system in mice. *Psychopharmacology-Berl.* **111**(4), 423-426.
- Narita, M., Takahashi, Y., Takamori, K., Funada, M., Suzuki, T., Misawa, M. and Nagase, H. (1993b). Effects of kappa-agonist on the antinociception and locomotor enhancing action induced by morphine in mice. *Jpn. J. Pharmacol.* **62**(1), 15-24.
- Reisine, T. and Bell, G. (1993). Molecular biology of opiate receptors. *Trends. Neurosci.* **16**, 506-510.
- Reisine, T. (1995). Opiate receptors. *Neuropharmacology.* **34**, 463-472.
- Satoh, M. and Miniami, M. (1995). Molecular pharmacology of the opioid receptors. *Pharmacol. Ther.* **68**, 343-364.
- Yurdaydin, C., Li, Y., Ha, J-H., Jones, E. A., Rothman, R. and Basile, A. S. (1995). Brain and plasma levels of opioid peptides are altered in rats with thioacetamide-induced fulminant hepatic failure: Implications for the treatment of hepatic encephalopathy with opioid antagonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **273**(1), 185-192.
- Zvartau, E. E., Kuzmin, A. V., Patkina, N. A. and Semenova, S. G. Comparative study of analgesic and addictive effects of DK1001 and buprenorphine in mice. Unpublished report.
- 김순희, 손문호, 신명수, 김희기, 배은주, 차봉진, 김원배, 양중익. (1997). 새로운 캡사이신 유도체 DA-5018의 일반약리작용. *응용약물학회지.* **5**: 74-81.