

## 흰쥐 척수에서 지속성 진통물질 6-파라돌에 의한 아데노신의 유리 증가

유은숙# · 김옥희\* · 이상섭\*\*

#제주대학교 의과대학, \*국립독성연구소, \*\*서울대학교 약학대학

(Received August 11, 2000)

### Induction of Adenosine Release by 6-Paradol, a Long Lasting Analgesic, in Rat Spinal Cord

EunSook Yoo#, OkHee Kim\* and SangSup Lee\*\*

#College of Medicine, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

\*National Institute of Toxicological Research, Seoul 122-704, Korea

\*\*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

**Abstract** — We previously demonstrated that 6-paradol, a compound structurally related to capsaicin, showed to produce prolonged analgesia in experimental animals. The effects of 6-paradol on the release of adenosine were investigated in the rat spinal cord synaptosomes by high performance liquid chromatography. In the presence of  $Ca^{++}$ , adenosine was released from synaptosomes of rat spinal cord by 6-paradol and capsaicin in a dose dependent manner. Nifedifine, L-type voltage sensitive calcium channel blocker, was found to be ineffective in releasing adenosine by 10  $\mu$ M 6-paradol. After exposure to 10  $\mu$ M capsazepine, a novel capsaicin selective antagonist, the level of adenosine evoked by 10  $\mu$ M 6-paradol was decreased by 75%, and that evoked by 10  $\mu$ M capsaicin was blocked completely. These results suggest that the analgesic effect of 6-paradol might be mediated by the vanilloid (capsaicin) sensitive pathway, or the direct binding to the vanilloid receptor.

**Keywords** □ 6-Paradol, capsaicin, nifedifine, capsazepine (CPZ) adenosine.

일반적으로 통증을 억제하는 진통작용물질은 endorphine이나 enkephaline의 수용체와 결합하여 진통작용을 나타내는 morphine계진통제와 prostaglandin 생합성을 억제하여 작용을 나타내는 aspirin 과 같은 해열진통제로 나누어진다. 알려진 morphine 계통의 진통작용으로는 morphine이 opioid 수용체에 결합하여 신경전달을 억제하는 등 직접적인 작용이 있으나, Sweeney는 adenosine을 유리하여 methylxanthine sensitive adenosine 수용체에 작용하여 진통효과를 나타내는 간접적인 작용에 대한 가능

성을 확인해 보고자 랫트의 척수로 synaptosome을 제조하여 morphine에 의한 adenosine 유리를 측정 한 실험에서 morphine에 의해 농도 의존적으로 adenosine 유리가 증가됨을 발표한 바 있다.<sup>1)</sup> 그 후 일차구심성 신경에 선택적으로 작용하는 신경독인 capsaicin을 성장한 랫트 척수에 투여하거나 신생 랫트에 피하주사한 경우에 *in vivo*, *in vitro* 모두에서 morphine에 의한 adenosine 유리가 크게 감소됨이 보고되었다.<sup>2)</sup> 그러나 척수의 후각 부분(ventral horn)으로 제조한 synaptosome에서는 morphine에 의해 adenosine이 유리되었으나 전각 부분에 의해서는 유리되지 않은 것으로 보아 morphine에 의해 유리되는 adenosine은 척수의 후각에 분포한 capsaicin 감각

# 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 064-754-3802 (팩스) 064-725-2593

일차 구심성 신경 말단으로부터 유래한 것으로 설명되고있다.<sup>2)</sup>

또한 본 연구팀은 morphine과는 다른 기전의 진통효과를 나타내는 것으로 알려진 지속적 진통물질 capsaicin 및 capsaicin 유사체 경우에 랫트 척수의 후각부분으로 제조한 synaptosome에서 농도 의존적으로 adenosine 유리를 증가시키므로 adenosine의 유리가 진통작용과 상관성이 있음을 보고하였다.<sup>3)</sup>

이와 비슷한 지속적 진통작용을 나타내는 물질 중 생강성분인 6-paradol은 capsaicin보다 진통작용은 약하나 세포독성이 약하고 쉽게 합성 할 수 있으므로 새로운 진통제제의 개발 가능성이 제시되고 있다. 6-Paradol은 생강 속의 매운맛을 가진 미량성분으로 고추의 매운성분 capsaicin과 유사한 구조를 갖고 있다. 즉 capsaicin의 acylamide 결합대신 ketoalkyl side chain이 결합되어 있는 것이 다르다(Fig. 1). 이 물질의 작용으로서 morphine이나 aspirin과는 다르게 지속적으로 진통효과를 나타내는 것이 보고되었으며,<sup>4)</sup> mechanical analgesia에<sup>5)</sup> 이어 chemical 및 thermal analgesia에 관하여 발표되었고<sup>4)</sup> 또한 6-paradol의 세포독성과 병리학적인 연구가 보고되었다.<sup>6)</sup>

Paradol류의 진통 작용기전에 관한 연구는 랫트 척수와 뇌 조직에서 신경 전달물질의 분비가 발표되었으나<sup>7)</sup> 그 외는 별로 보고된 것이없다. 따라서 본 연구에서는 지속적인 진통작용을 갖는 6-paradol의 작용기전을 밝히는 일환으로 흰쥐 척수의 synaptosome을 제조하여 6-paradol에 의한 adenosine 유리를 조사함으로써 이 진통작용에 대한 adenosine 관여 가능성을 알아보고자 하였다.

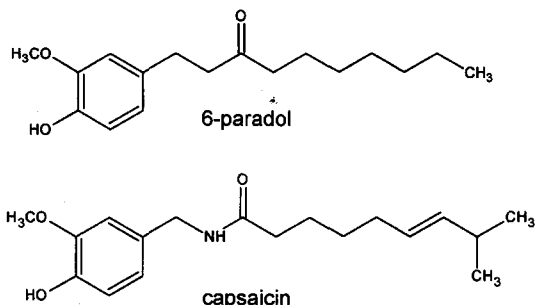


Fig. 1 - The structures of 6-paradol and capsaicin.

## 실험재료 및 방법

**시약 및 재료** - 6-Paradol은 Locksley와 Rainey의 방법으로<sup>8)</sup> dehydroparadol로부터 합성하였다. dehydroparadol은 Bolak perfumary Co.의 제품인 vanillin과 Nakarai pharm. Co. 제품인 keton류를 이용하여 같은 방법으로 합성하여 사용하였다. 비교 실험한 capsaicin은 Sigma사로부터 구입하였고 capsaicin의 선택적 길항제인 capsazepine(CPZ)은 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 그 외의 일반시약들은 특급이상의 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  $\lambda_{ex}$  280 nm,  $\lambda_{em}$  400 nm에서 정량 하였다.

**실험동물** - 실험에 사용한 ICR(♂) 마우스와 Sprague-Dawley(SD) (♂) 랫드는 서울대학교 실험동물 사육장으로부터 공급받아 2주 이상 실험사육장(약학대학 GLP실) 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

물과 사료는 자유로이 섭취하도록 하였고 사료는 제 일제당에서 시판하는 고품사료를 사용하였다. 사육실 내의 온도는  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도는 50~60%로 조절하고 조명은 12시간 명암 주기가 되도록 하였다.

**용량설정** - 본 실험에 사용한 6-paradol의 용량설정은 이미 논문에 발표된 6-paradol과 capsaicin의 급성 독성 및 진통작용<sup>4,9)</sup>을 참고로 동일한 용량 혹은 10배 낮은 용량으로 정하였으며 또한 Table I의 내인성 adenosine 유리량 결과와 각 항목의 예비실험을 거쳐 6-paradol과 capsaicin을 비교할 수 있는 용량으로 설정하였다.

**척수 synaptosome 제조** - 250~300 g의 SD 웅성 랫트를 단두 치사한 후 척수를 분리하여 빙냉의 0.32 M sucrose 용액에 넣어 척수의 혈관, 경막(dura)을 제거해 내고 척수 중 후각(dorsal horn) 부분을 취해 실험하였다.

한 번 실험에 랫트 20마리로부터 얻은 척수를 사용

하였다.

척수 synaptosome은 White 등의 방법<sup>10)</sup>에 따라 제조하였다. 척수에 빙냉의 0.32 M sucrose 5 ml를 가한후 Teflon-glass homogenizer로 균질화하여 1,000×g에서 10분간 원심분리 하였다. 침전에 빙냉의 0.32 M sucrose 50 ml를 가하여 다시 균질화 한 후 1,000×g에서 10분간 원심분리 하였다. 두 상층액을 20,000×g에서 30분간 원심분리하고 얻어진 침전을 Krebs-Henseleit bicarbonate medium(KH) 40 ml에 현탁시켜 37°C, CO<sub>2</sub> 배양기에서 30분간 배치하였다. KH medium을 가하기 전까지의 과정을 모두 4°C 이하에서 행하였으며 KH medium은 제조 후 pH가 7.4로 유지되도록 CO<sub>2</sub> 배양기 내에 보관하였다.

**Adenosine 유리** - synaptosome 현탁액을 microcentrifuge에서 최고 속도로 10분간 원심분리하고 이 pellet에 대하여 1~2 mg/ml protein을 포함하도록 KH medium으로 재현탁 하였다. Microcentrifuge 시험관에 시험 약물을 미리 30 μl 씩 취하여 37°C에서 30분간 방치한 후 최종 synaptosome 현탁액을 700 μl씩 넣고 잘 혼합하여 37°C의 CO<sub>2</sub> incubator에서 15분간 방치하였다. 다음 microcentrifuge 에서 최고속도로 5분간 원심 분리하고 상층액 400 μl를 취하여 adenosine 정량에 사용하였다. 즉 synaptosome에서 약물에 의해 15분 동안 유리된 adenosine 양을 p mol/mg protein으로 구하였다.

**Adenosine 정량** - Sweeney의 방법<sup>11)</sup>에 따라 상층액 0.4 ml에 0.3 M ZnSO<sub>4</sub>와 0.3 M Ba(OH)<sub>2</sub>를 각각 0.2 ml씩 가하고 혼합한 후 microcentrifuge에서 최고 속도로 5분간 원심분리하여 단백질을 제거하였다. 상층액 0.425 ml를 취해 4.5% chloroacetaldehyde 75 μl와 합하여 20분간 끓이고 ethenoadenosine을 형성시켜 100 μl를 취해 HPLC로 정량하였다.

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

**Nifedipine의 영향** - 6-Paradol에 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.

**Capsazepine(CPZ)의 영향** - 6-Paradol에 의한 adenosine 유리가 CPZ에 의해 선택적으로 억제되는지 조사하고자 capsaicin의 경쟁적 길항제인 CPZ 5 μM, 10 μM 존재하에 6-paradol 등에 의한 adenosine 유리를 측정하였다.

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

### 실험결과

**6-Paradol, capsaicin, morphine 및 K<sup>+</sup>에 의한 adenosine 유리 증가** - 6-Paradol은 1, 10 μM에서 농도 의존적으로 adenosine을 유리하였다. Capsaicin의 경우에도 0.1 μM, 1 μM, 10 μM에서 농도 의존적으로 adenosine을 유리하였으며 K<sup>+</sup> 및 morphine도 adenosine을 유리하였다(Table I). 같은 농도에서는 6-paradol 이 morphine에 비해 adenosine 유리량이 더 큰 것으로 나타났다.

**6-Paradol에 의한 adenosine 유리의 Ca<sup>++</sup> 의존성** - 척수 synaptosome 제조시에 KH medium에서 Ca<sup>++</sup>를 배제하거나 여기에 1 mM EGTA를 포함하게 하여 adenosine 유리를 측정함으로써 adenosine 유리를 위해 Ca<sup>++</sup>이 필수적인지에 대해 조사하였다. 그 결과 6-paradol은 Ca<sup>++</sup>의존적으로 adenosine을 유리시키는 것으로 나타났고 capsaicin 및 K<sup>+</sup> 모두 Ca<sup>++</sup>의존적으로 adenosine을 유리시키는 것으로 나타났다(Table II).

**Table I** - Release of endogenous adenosine evoked by 6-paradol, capsaicin morphine and K<sup>+</sup> from dorsal spinal cord synaptosomes

		Evoked adenosine (pmol/ mg protein/15 min)
6-Paradol	1 μM	112.93 ± 4.07
	10 μM	144.39 ± 8.47
	100 μM	116.84 ± 28.39
Capsaicin	0.1 μM	87.15 ± 6.10
	1 μM	160.88 ± 19.26
Morphine	10 μM	160.88 ± 19.26
	1 μM	39.37 ± 8.15
K <sup>+</sup>	10 μM	93.45 ± 12.59
	6 mM	59.10 ± 11.74
	12 mM	91.08 ± 11.31

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

**Table II** - Ca<sup>++</sup>-dependence of adenosine release evoked by 6-paradol, capsaicin and K<sup>+</sup>

		Evoked adenosine (pmol/mg protein/15min)		
		Ca <sup>++</sup> (+)	Ca <sup>++</sup> (-)	Ca <sup>++</sup> (-)+1 mM EGTA
6-Paradol	10 μM	85.21 ± 7.00	N.D.	N.D.
Capsaicin	1 μM	163.19 ± 20.36	12.02 ± 0.96**	N.D.
	10 μM	213.03 ± 17.37	N.D.	N.D.
K <sup>+</sup>	12 mM	96.30 ± 4.58	68.55 ± 7.46*	N.D.

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

N.D. Not detectable

\*P<0.05, \*\*P<0.01

**Table III** - Effect of nifedipine on adenosine release evoked by 6-paradol, capsaicin, morphine and K<sup>+</sup>

		Evoked adenosine (pmol/mg protein/15 min)		
		10 nM Nif(-)	10 nM Nif(+)	Nif(+)/Nif(-)(%)
6-Paradol	10 μM	147.38 ± 5.25	142.82 ± 3.47	96.9
Capsaicin	1 μM	106.64 ± 21.36	70.07 ± 7.82*	65.7
Morphine	10 μM	95.16 ± 2.86	1.83 ± 0.75***	1.9
K <sup>+</sup>	12 mM	99.49 ± 5.90	N.D.	-

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

N.D. Not detectable

\*P<0.05, \*\*\*P<0.001

**Table IV** - Effect of capsazepine on adenosine release evoked by 6-paradol, capsaicin, morphine and K<sup>+</sup>

		Evoked adenosine (pmol/mg protein/15 min)		
		CPZ (-)	CPZ (5 μM)	CPZ (10 μM)
6-Paradol	10 μM	234.16 ± 10.5	220.95 ± 11.3	53.82 ± 10.97***
Capsaicin	10 μM	163.39 ± 4.01	51.38 ± 2.69***	N.D.
Morphine	10 μM	149.99 ± 8.6	113.42 ± 16.4	103.41 ± 10.8*
K <sup>+</sup>	12 mM	142.13 ± 22.3	116.94 ± 22.3	93.5 ± 19.4*

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

N.D. Not detectable

CPZ: Capsazepine

\*P<0.05, \*\*\*P<0.001

**Nifedipine의 효과** - L-type voltage sensitive calcium channel 차단제인 nifedipine 10 nM이 포함된 조건에서 adenosine 유리를 측정하였을 때 6-paradol 10 μM에 의한 adenosine 유리는 거의 영향을 받지 않았으나(Table III) 마약류 진통제 morphine 10 μM에 의한 유리는 98% 억제되었다.

또한 capsaicin에 의한 adenosine 유리는 nifedipine 존재에 의해 35% 정도 억제되었다.

**Capsazepine(CPZ)의 효과** - CPZ은 capsaicin의 경쟁적 길항제로서 최근에 알려진 물질이다. CPZ 5 μM과 10 μM이 포함된 조건에서 adenosine 유리를 측정하였을 때 6-paradol은 CPZ 5 μM에서는 별로

영향을 받지 않았으나 10 μM에서는 adenosine 유리가 크게 억제되었다. 또한 CPZ 5 μM 농도에서 capsaicin 10 μM에 의한 adenosine 유리는 70% 억제되었고 morphine 10 μM과 K<sup>+</sup> 12 mM 모두 크게 영향을 받지 않았다(Table IV).

## 고 찰

6-Paradol(1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-decan-3-one)과 구조적으로 유사한 capsaicin(8-methyl-N-vanillyl-6-noneamide, Fig. 1)은 6-paradol과 다르게 작용기전에 관한 연구가 많이 보고되어 있다. capsaicin은

특이적인 수용체가 있는 생체막에 작용하여 지속적으로 진통효과를 나타낸다고 알려져 있다.<sup>11-13)</sup>

또한 Dray 등은 capsaicin과 구조적으로 유사한 유사체를 이용하여 capsaicin에 특이적으로 작용하는 결합부위를 규명하여 감각신경에 capsaicin 또는 vanilloid 수용체가 존재하는 것을 확실히 밝힌 바 있다.<sup>14)</sup>

Park 등은 capsaicin 작용 시 나타나는 neuropeptide 유리나 감각상실을 유발하는데  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  특히  $\text{Ca}^{++}$  이 필수적이라고 하였고,<sup>15)</sup> 선택적으로 capsaicin 작용을 저해하는 경쟁적 길항제인 CPZ이 dorsal root ganglia 배양 세포에서 capsaicin이 야기하는 감각상실 현상을 저해한다고 보고한 바 있다.<sup>12-13)</sup> 이에 따라 6-paradol 등에 의해서 진통작용과 상관성을 보이는 adenosine이 유리될 때<sup>3)</sup>  $\text{Ca}^{++}$  channel이 작용하는지에 대한 실험에서 농도 의존적으로 adenosine이 유리되는 것을 알 수 있었다(Table II).

비슷한 구조 비슷한 지속적 진통작용 이외에 neuropeptide의 유리나 감각상실이 일어날 때  $\text{Ca}^{++}$ 이 필수적인 점이 밝혀진 것을<sup>16)</sup> 고려하면 6-paradol은 capsaicin과 비슷한 action mechanism을 나타낼 가능성을 보여주고 있다.

Wood에 따르면 진통작용을 나타내는데 수용체 결합과 관련하여  $\text{Ca}^{++}$  이 관여하므로 본 실험에서는 활성화 기간이 길고 channel blocker에 예민한  $\text{Ca}^{++}$  channel L-type의 차단제 nifedipine을 투여하여  $\text{Ca}^{++}$  유입을 감소시키고 6-paradol에 따른 adenosine 유리를 측정하였다(Table III).

6-Paradol 등에 대한 nifedipine 영향으로는 capsaicin 1  $\mu\text{M}$  경우 30% 정도 adenosine 유리가 저하되었고 6-paradol 10  $\mu\text{M}$ 은 거의 영향을 받지 않았다. 이것은 마약류 진통제와 지속적 진통물질의 수용체 결합 양식이 다름을 나타내며 capsaicin과 6-paradol은 L-type voltage sensitive  $\text{Ca}^{++}$  channel 관계에 있어서 다소 차이가 있음을 보여주고 있다.

Capsaicin의 경쟁적 길항제인 CPZ의 발견으로 감각신경에 capsaicin 또는 vanilloid수용체가 존재함을 밝힘에 따라<sup>17-19)</sup> 실시한 6-paradol의 작용에 미치는 효과에서,  $\text{K}^+$ 와 morphine은 거의 영향을 받지 않았으나 6-paradol은 CPZ 10  $\mu\text{M}$ 에서 75% 억제되었고 capsaicin은 CPZ 농도에 따라 70%, 100% 억제됨을 나타냈다.

이와같이 6-Paradol에 의한 adenosine 유리가 억제된 것은 구조적인 차이로 인하여 capsaicin 만큼은 아

니나 capsaicin에 특이적인 수용체에 상당부분 작용하고 있는 것을 암시한다.

Morphine은 opioid 수용체에 결합하여 통증 전달물질로 알려진 substance P(SP)의 유리를 직접 억제하거나, adenosine을 유리시켜 이것이 시냅스 전후에 분포된 adenosine 수용체와의 결합으로 시냅스 전달을 억제하는 것과 동시에 제 2의 통증전달 물질인 흥분성 아미노산(glutamate)의 유리를 억제하여 작용을 나타내는 것으로 알려져있다.<sup>20-21)</sup> 이에 비해 6-paradol은 가상적인 vanilloid 수용체에 결합하여 capsaicin과 비슷한 작용을 나타내고 있다. 즉 6-paradol이 수용체에 결합하여 세포 내로 순간적인  $\text{Ca}^{++}$ 의 도입을 증가시켜 탈분극을 계속 유지시켜 그 결과 감각 상실을 유도하고 자극으로 인한 통증 전달물질인 SP의 유리가 억제되어 그 진통효과가 나타나는 것으로 생각된다.

또한 6-paradol은 급성독성이 capsaicin 보다 훨씬 약한 반면 진통작용도 다소 약한 것을 고려한다면 위의 실험결과를 종합해 볼 때 capsaicin 혹은 vanilloid 수용체가 6-paradol이 진통 작용을 나타내는데 있어서 상당히 기여하는 것으로 생각된다.

## 문 헌

- 1) Sweeney, M. I., White, T. D. and Sawynok, J.: Involvement of adenosine in the spinal antinociceptive effects of morphine and nonadrenaline, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **243**(2), 657 (1987).
- 2) Sweeney, M. I., White, T. D., and Sawynok, J.: Morphine, capsaicin and  $\text{K}^+$  release purines from capsaicin sensitive primary afferent nerve in the spinal cord, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **248**(1), 447 (1988).
- 3) Yoo, E. S., Kim, O. H. and Lee, S. S.: Involvement of adenosine in the spinal antinociception by capsaicinoids, *Yakhak Hoeji* **43**, 1, 55 (1999).
- 4) Kim, O. H.: Analgesic effect and metabolism of 6-paradol in rats. *Ph.D. Thesis, Seoul Natl. Univ.* (1988).
- 5) Lee, S. S., Kim, K. C., and Lee, S. K.: Substance P mediated new analgesics: Capsainoids and gingerol analogues, *In Contemporary Themes in Biochemistry*. Ed. D. L. Kon, 637646, ICSU Press and Cambridge University Press, London and New York (1986).

- 6) Kim, O. H., Yoo, E. S., Jung, I. K. and Lee, S. S. : Cytotoxic and pathological studies of 6-paradol a pungent principle of ginger, *Environmental Mutagens & Carcinogens* **18-1**, 32 (1998).
- 7) Kim, O. H., Yang, J. S., Jung, H. J. and Lee, S. S. : Effects of long lasting analgesia, 8-paradol on the biosynthesis of neurotransmitter, *The Report of NISR*, **4**, 203 (1991).
- 8) Locksley, H. D., and Rainey, D. K. : Pungent compounds part I. An improved synthesis of the paradols (alkyl 4-hydroxy-3-methoxyphenethyl ketones) and an assessment of their pungency. *J. Chem. Soc., (perkin)* **1**, 23, 3001 (1972).
- 10) White, T. D., Downie, J. D. and Leslie, R. A. : Characteristics of K<sup>+</sup> and veratridine induced release of ATP from synaptosomes prepared from dorsal and ventral spinal cord, *Brain Res.*, **334**, 373 (1985).
- 11) 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).
- 12) Sawynok, J., Sweeny, M. I. and White, T. D. : Classification of adenosine receptors mediating antinociception in the rat spinal cord, *Br. J. Pharmacol.*, **88**, 923(1986).
- 13) Holmgren, M., Hedner, J., Mellstrand, T., Nordberg, G. and Hedner, T. : Characterization of the antinociceptive effects of some adenosine analogues in the rat, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **334**, 290 (1986).
- 14) Dray, A. and Dickenson, A. : Systemic capsaicin and olvanil reduce the acute algogenic and the late inflammatory phase following formation injection into rodent paw, *Pain*, **47**, 79 (1991).
- 15) Park, Y. H., Yoo, E. S., Kim, W. B. and Lee, S. S. : DA-5018 novel vanilloid type analgesic, *Arch. Pharm. Res.*, **20**, 1, 93 (1997).
- 16) Wood, J. N., Winter, J., James, I. F. and Bevan, S. : Capsaicin-induced ion fluxes in dorsal root ganglion cells in culture, *J. Neurosci.*, **8**, 3208 (1988).
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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).
- 20) Jurna, I. : Cyclic nucleotides and aminophylline produce different effects of nociceptive motor and sensory response in the rat spinal cord, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **327**, 23 (1984).
- 21) Delander, G. and Hopkins, C. J. : Involvement of A2 adenosine receptor in spinal mechanisms of antinociception, *Eur. J. Pharmacol.*, **139**, 215 (1987).