

# 설폰라판과 라스베라트롤의 병용투여가 흰 쥐의 안면부 통증조절에 미치는 영향

박민경<sup>1</sup> · 천세희<sup>2</sup> · 김경민<sup>3</sup> · 김혜진<sup>4</sup> · 이민경<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>경운대학교 치위생학과 부교수, <sup>2</sup>마산대학교 치위생과 조교수

<sup>3</sup>동의대학교 치위생학과 조교수, <sup>4</sup>동의대학교 치위생학과 교수

<sup>5</sup>동의대학교 치위생학과 부교수

## Effects of Combined Administration of Sulforaphane and Resveratrol on Orofacial Pain Control in Rats

Min-kyoung Park<sup>1</sup>, Sae-hee Cheon<sup>2</sup>, Kyung-min Kim<sup>3</sup>, Hye-jin Kim<sup>4</sup>, Min-kyung Lee<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Dental Hygiene, Kyung-Woon University, Associate professor

<sup>2</sup>Dept. of Dental Hygiene, Masan University, Assistant professor

<sup>3</sup>Dept. of Dental Hygiene, Dong-eui University, Assistant professor

<sup>4</sup>Dept. of Dental Hygiene, Dong-eui University, Professor

<sup>5</sup>Dept. of Dental Hygiene, Dong-eui University, Associate professor

**Objectives:** This study was designed to confirm the effects of natural products on the control of facial pain.

**Methods:** In this study, 5% formalin was injected into the face of the experimental animals to induce pain behavioral responses, and sulforaphane 15  $\mu\text{g}$  or 150  $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$  and resveratrol 20  $\mu\text{g}$  or 200  $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$  were pre-treated to confirm the pain control effects.

**Results:** The two drugs showed pain-modifying effects in a concentration-dependent manner. In addition, a significant analgesic effect was confirmed when the two drugs were co-administered at low concentrations.

**Conclusions:** Therefore, through this experiment, sulforaphane and resveratrol can be effective therapeutic agents for controlling orofacial pain.

**Keywords** Combined administration, Orofacial pain, Sulforaphane, Rat, Resveratrol

Received on Aug 10, 2023. Revised on Aug 23, 2023. Accepted on Aug 23, 2023.

\* Corresponding Author (E-mail: lmk849@deu.ac.kr)

이 논문은 2023학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(202301220001).

## I. 서론

통증은 다양한 원인에 의해 인체 전반에서 빈번하게 발생하는 감각이상으로, 조직을 보호하기 위한 긍정적인 측면과 손상부위의 기능저하 혹은 일상생활에 지장을 초래할 정도의 정서적 불쾌함 등 부정적인 측면을 함께 가진다. 염증 및 조직의 손상은 통증을 동반하는 경우가 대부분이며, 이러한 통증조절을 위해 일차적으로 약물치료를 시행한다.

통증 발생 원인에 따라 처방되는 약물은 여러 가지로 나뉘어질 수 있으나, 크게 스테로이드성 약물과 비스테로이드성 약물로 구분될 수 있다. 두 가지 약물은 모두 통증 처치에 효과적이며, 그 중에서 통증 질환의 조절하기 위해 일차적으로 처방하는

비스테로이드성 약물(non-steroidal anti-inflammatory drugs)은 통증, 염증 및 발열을 촉진하는 프로스타글란딘 형성을 담당하는 COX(cyclooxygenase) 효소를 억제하는 작용을 통하여 효과를 나타낸다[1]. 하지만 비스테로이드성 약물을 지속적으로 사용하게 되면 지혈 장애, 위십이지장병증, 상처 치유 지연 등의 부작용이 동반될 수 있고, 고용량 사용 시 심혈관 질환의 위험이 증가될 수도 있다[2]. 이러한 약물 처방은 구강 안면부 통증의 근본적인 병태생리학을 표적으로 한 항염증제가 아니며 환자의 급성 통증 완화 약물의 규칙적인 사용으로 약물 남용 등의 전반적인 통증 양상에 영향을 미칠 수 있다[3]. 뿐만 아니라, 통증 조절을 위해 흔히 처방 혹은 복용하는 비스테로이드성 약물은 우수한 진통, 소염 효과를 얻는 이면에 다양한 부작용이 동반된다. 가장 흔히

소화기관의 출혈, 천공, 협착 등의 증상이 부작용으로 유발되는데, 최근에는 하부장관에 해당하는 소장손상에 대한 부작용이 보고되고 있다[4].

천연물에서 기원하는 약리적 성분들은 다양한 질병을 치료하기 위해 수 세기 동안 널리 사용되어왔다. 최근에는 통증 조절을 위해 이러한 천연물에 대한 관심이 높으며, 실제로 다양한 연구를 통해 천연물의 약리적 효능이 검증되어 진통제 개발을 비롯한 다양한 치료 후보 물질로도 사용되고 있다. 특히, 천연물의 가장 큰 장점은 합성의약품 복용에 의한 구토와 오심을 비롯한 위장장애, 간장애 및 신장장애 등의 부작용을 일으키지 않고 효과적으로 질병을 치료할 수 있다는 것이며, 그러한 이유로 예로부터 사용되고 있는 다양한 천연물이 치료물질 후보로 관심이 증가하고 있는 실정이다.

설포라판(Sulforaphane)은 양배추와 브로콜리 등의 십자화과 채소에 함유되어 있는 이소티오시아네이트(isothiocyanate) 화합물이며, 라스베라트롤(resveratrol)은 포도, 라스베리, 크랜베리 등의 식물에 함유된 스틸베노이드(stilbenoid)로 일종의 식물이 스트레스 받을 때 활성화되는 방어물질로 알려져 있다[5,6,7]. 두 물질은 강력한 항암 및 항산화 효과를 가진다는 연구결과들이 보고되어져 있으며[8,9], 최근에는 안면부 염증조절에 효과적이라고 밝혀졌다[10]. 그러나 두 물질의 통증조절에 대한 연구는 보고된 것이 없으므로 통증동물모델을 이용하여 안면부 통증의 변화를 측정하고, 그 후 두 물질의 투여를 통해 통증크기의 변화를 측정하고자 하였다.

따라서, 본 연구에서는 안면부 통증조절을 위해 설포라판과 라스베라트롤의 효과를 확인하고자 하였으며, 각각 단독투여 효과와 두 물질의 병용투여에 의한 효과를 분석하였다.

## II. 연구방법

### 1. 실험동물

본 연구에 사용된 실험동물은 효창사이언스(대구)로부터 구입한 수컷의 Sprague-Dawley (240-80g)를 사용하였다. 12시간 주/야 순환 주기 및 23-24°C의 실내 온도를 유지하면서 일정한 환경을 제공하였고, 물과 사료는 자유로이 공급하였다. 통증의 변화를 측정하는 것이 연구의 주 목적이므로 실험 전 행동적인 억압 등에 의한 스트레스를 최소화하였다. 본 연구는 통증연구학회의 윤리적 규정에 따라 실험 동물의 가이드를 준수하였다.

### 2. 안면부 통증유발

생리식염수에 희석한 5% 포르말린(50  $\mu$ l)을 인슐린 주사기를 사용하여 실험동물의 오른쪽 안면부(수염부) 피하에 주입하였고, 주입 직후부터 안면부를 문지르거나 긁는 행위를 통증반응으로 간주하여 행위반응의 숫자를 측정하였다. 총 45분간 관찰하면서 통증행위반응의 숫자를 기록하였으며, 측정된 값의 크기를 통증의 크기와 비례하는 것으로 분석하였다.

### 3. 약물투여

설포라판과 라스베라트롤은 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)의 시약을 구매하였고, 각각의 용매는 2.5 % DMSO와 100% DMSO를 사용하였다. 약물의 사용 농도는 설포라판은 15  $\mu$ g/50  $\mu$ l (0.3 mg/ml) 와 150  $\mu$ g/50  $\mu$ l (3 mg/ml)이고, 라스베라트롤은 20  $\mu$ g/50  $\mu$ l (0.4 mg/ml)와 200  $\mu$ g/50  $\mu$ l (4 mg/ml)이다.

실험동물은 아무런 처치를 하지 않은 대조군(n=6), 생리식염수를 투여한 약물 대조군(n=6), 포르말린을 투여한 실험군(n=6)과 약물 투여군(n=6)으로 분류하였다.

약물의 효과를 확인하기 위하여 설포라판과 라스베라트롤은 통증유발과 동일한 부위에 표식을 해두고 포르말린 주입 10분 전 주입하였다. 병용투여 실험 시에는 각각의 약물을 혼합하지 않고 구분하여 이어서 주입하였다.

### 4. 통계분석

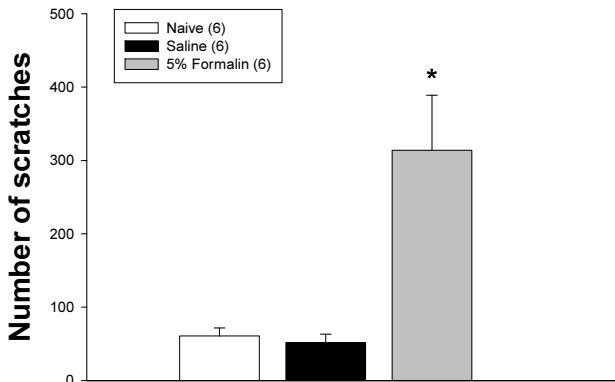
본 연구 결과의 통계분석은 다중 그룹에서 반복측정자료의 분산분석법과 LSD post-hoc test를 이용하였다. 연구 결과의 통계적 유의성에 대한 표준값은  $p < 0.05$ 로 설정하였고, 모든 결과는 평균  $\pm$  표준 오차(SEM)로 표기하였다.

## III. 결과

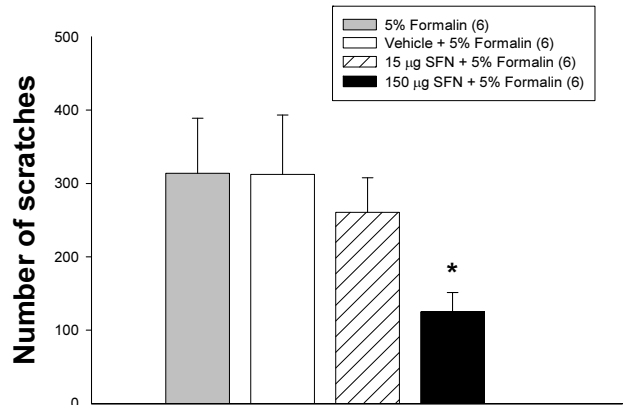
### 1. 포르말린 투여에 의한 안면부 통증행위반응의 변화

실험동물의 안면부 피하에 포르말린을 주입으로 유발된 통증행위반응의 변화를 <Figure 1>에 나타내었다. 총 45분간 누적된 행위반응의 수를 기록한 결과를 그래프로 표시하였다.

아무런 처치도 하지 않은 대조군(Naive)은 평균  $60 \pm 12.8$ 회의 통증행위반응이 나타났고, 이와 유사하게 생리식염수(saline)를



<Figure 1> Changes in orofacial inflammatory pain response by administration of 5% formalin. \*p<0.05 (compared with the Naive group).



<Figure 2> Effects of sulforaphane(SFN) administration on the orofacial pain response. \*p<0.05 (compared with the 5% formalin-treated group).

주입한 실험대조군에서는 평균 51±15.3회의 결과를 보였다. 그러나 5% 포르말린을 주입한 실험군은 평균 313±67.1회의 유의하게 증가된 통증행위반응을 보였다. 이러한 결과를 통해 포르말린의 주입이 안면부 통증을 유발할 수 있음을 알 수 있다.

### 2. 설포라판 투여가 안면부 통증행위반응에 미치는 효과

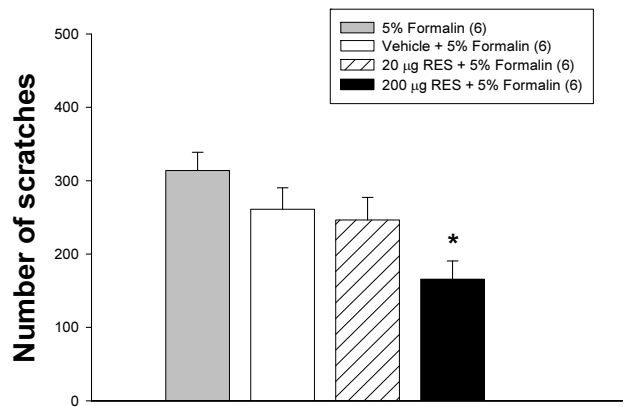
설포라판의 전처치는 농도의존적인 경향을 나타내며 통증행위반응을 조절함을 보여주었다. 포르말린 실험군이나 용매를 투여한 실험대조군에 비해 약물을 투여한 실험군에서는 통증행위반응의 수가 줄어드는 것을 확인할 수 있었고, 150µg의 고농도 투여군은 평균 125±21.5회로 높은 통증 경감효과를 보였고, 15µg의 저농도 투여군은 평균 260±50.8회로 통증행위반응이 감소하였으나 유의한 통증 경감효과를 나타내지는 못했다<Figure 2>.

### 3. 라스베라트롤의 투여가 안면부 통증행위반응에 미치는 효과

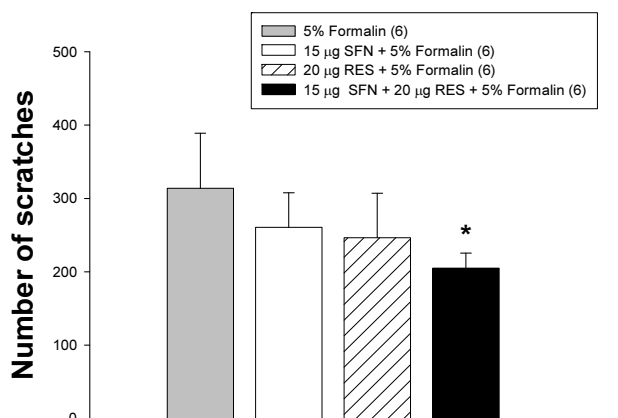
라스베라트롤 전처치에 대한 효과는 설포라판 실험과 마찬가지로 약물의 농도증가와 함께 통증행위반응도 유의하게 경감됨을 보여주었으며, 고농도인 200µg을 주입하였을 때 평균 165±39.5회로 매우 효과적으로 통증행위반응을 감소하였고, 20µg을 처치한 경우에는 평균 246±58.8회로 포르말린 대조군에 비해서 통증행위반응은 줄었으나 유의하지는 않았다<Figure 3>.

### 4. 설포라판과 라스베라트롤의 병용투여가 안면부 통증행위반응에 미치는 효과

설포라판과 라스베라트롤 모두 저농도 투여 시에는 유의한 통증조절효과를 나타내지 못했다. 그러나 상대적으로 낮은 진통효과를 보이는 15µg의 설포라판과 20µg의 라스베라트롤을 동시에 투여하였을 때에는 평균 205±21.5회의 유의한 통증조절효과를 보였다. 이것은 15µg의 설포라판과 20µg의 라스베라트롤을 단독으로 사용하였을 때보다 통증행위반응이 훨씬 크게 경감된 효과를 나타낸다. 이러한 결과를 바탕으로 두 가지 이상의 약물을 병용투여 할 경우 고농도의 단독 투여와 비슷한 통증경감효과를 얻을 수 있다는 것을 알 수 있다<Figure 4>.



<Figure 3> Effects of resveratrol(RES) administration on the orofacial pain response. \*p<0.05 (compared with the 5% formalin-treated group)



<Figure 4> Effect of mixed administration of and on the orofacial pain response. \*p<0.05 (compared with the 5% formalin-treated group)

#### IV. 고찰

1960년대에 알려진 이후 현재까지 세계적으로 가장 많이 사용되는 약물인 비스테로이드성소염제(Non-steroidal anti-inflammatory drugs)는 염증 및 발열, 통증 치료에 일반적으로 사용되고 있다 [11]. 비스테로이드성 소염제는 류마티스, 관절염, 두통, 치통 등 다양한 통증 질환 및 임상 증상에 다 사용되고 있으나, 심혈관계 부작용, 신독성, 위장관계의 천공 같은 부작용의 보고가 많이 있으며, 이에 대한 대체 약물의 처방에 대한 지침이 많이 제공되고 있다[12]. 비스테로이드성 소염제는 프로스타글란딘 (prostaglandin) 합성에 관여하는 COX-1과 COX-2 효소를 억제시켜 진통과 소염 및 해열의 효과를 일으킨다. 인체에서 COX-1은 프로스타글란딘과 트롬복산(thromboxane) A2를 활성화시켜 신기능 유지, 위점막 보호 같은 방어작용을 담당하며, COX-2는 여러 조직의 염증 매개체 역할 및 사이토카인을 활성화시켜 염증 및 통증을 발생시킨다[1]. 비스테로이드성 소염제는 COX 선택성에 따라 비선택적 비스테로이드성 소염제, COX-2 선택적 비스테로이드성 소염제로 분류된다. 비선택적 비스테로이드성 소염제는 COX-1과 COX-2를 모두 억제하고, COX-2 선택적 비스테로이드성 소염제는 대개 COX-2만을 억제한다. 하지만 비선택적 비스테로이드성 소염제는 COX-1을 억제시켜 위점막의 보호 효과의 저해 및 항혈소판 작용을 일으켜서 소화기관 궤양과 같은 위장관계 부작용을 발생시키는 단점이 있어 COX-2 선택적 비스테로이드성 소염제가 등장하였으나, 아직 심혈관 및 신독성 부작용에 대한 문제가 보고되고 있다[13]. 비스테로이

드성 소염제의 통증조절, 소염 및 해열의 효과를 유지하며 부작용을 해소시켜 줄 대체 물질의 효과분석에 대한 연구가 많으며, 화학제제와는 달리 부작용이 거의 없는 천연물에서 추출된 성분을 이용한 염증 및 통증효과에 대한 연구가 많이 진행되고 있다 [14,15]. 이에 본 연구에서는 안면부 통증모델을 이용하여 천연물질 가운데 설폰라판과 라스베라트롤의 투여가 통증조절에 미치는 영향을 알아보고, 이 두 물질의 저농도 병용투여에 대한 효과를 확인하였다.

라스베라트롤은 포도, 오디, 뽕잎 등에 함유되어 있는 천연물질로서, 심혈관 질환 예방, 항암 작용 등의 효과를 가지는 것으로 알려져있다. 또한, 동물 및 세포실험을 통한 연구결과에서 라스베라트롤의 항염증 효과가 입증되었다[5,6]. 설폰라판(Sulforaphane)은 브로콜리, 양배추 등 십자화과에 많이 포함되어 있으며 이소티오시아네이트(isothiocyanate)의 화학 구조를 갖는 항산화 기능이 우수한 물질이다[7]. 두 물질에 대한 많은 연구결과들이 축적되어 있지만 안면부 통증조절에 관한 연구는 미비한 실정이고, 본 연구를 통해 통증조절 효과를 확인하고자 하였다.

실험동물의 안면부에 통증유발 물질을 주입하기 전에 설폰라판의 농도를 달리하여 전처치하였을 때, 농도 의존적인 경향으로 통증행위반응의 크기가 줄어드는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 설폰라판을 직접 생쥐의 척수 또는 복강 내로 적정량을 주입하고 신경병증성 통증모델을 적용해서 신경병증성 통증에 설폰라판이 영향을 주는지를 확인하여 통증이 경감하는 것을 확인한 연구결과와 일치하였다[16]. 뿐만 아니라, 라스베라트롤의 농도를 달리하여 투여하였을 때, 저농도에서보다 고농도에서의 통증 조절효과가 유의미하게 높아지는 것을 확인하였으며, 이는 박 등[10]의 연구결과에서와 같이 라스베라트롤의 투여 시 통증의 경감정도가 높아지는 결과와 일치하였다.

최근 많은 연구결과를 통해 단독투여 시 약효가 크지 않은 저농도의 약물들을 병용투여함으로써 시너지 효과를 확보할 수 있다는 것이 밝혀지고 있고, 본 연구에서도 각각의 약물이 저농도의 경우 단일 투여 시 통증조절효과가 미비하였으나 설폰라판과 라스베라트롤을 병용 투여 했을 경우 통증행위반응이 유의하게 감소하는 것을 확인하였고, 통계적으로도 유의한 것을 확인할 수 있었다. 이는 박 등[10]의 연구에서 설폰라판과 라스베라트롤을 병용투여하였을 때 염증유발인자 발생 조절에 유의한 효과를 보여준 결과와 일치하였고, 김 등[15]의 연구에서 통증 신호전달 과정에는 다양한 세포 내에 염증인자들이 활성화되고 발현되는 것을 천연물질에 의해 조절될 수 있다고 보고하였다. 또한, 최

등[17]의 연구결과를 근거로 하였을 때 고농도로 단일 투여한 경우보다 계피와 강황을 저농도로 병용 투여하였을 경우 통증의 경감 정도가 훨씬 더 높아진 결과는 본 연구의 결과와 유사하다고 보여진다. 이러한 연구결과들과 본 연구결과들을 바탕으로 볼 때, 설포라판과 라스베라톨이 항염증효과와 통증조절효과에 기여한다는 것을 시사한다고 생각된다.

본 연구는 안면부 통증조절에 대한 천연물질의 약리적 효능을 확인하는 연구로써, 부작용을 줄이고 통증조절에 효과적인 치료 물질을 발굴하는데 의의가 있다. 안면부 통증모델을 이용하여 설포라판과 라스베라톨의 투여가 안면 통증조절에 가능성이 있음을 확인하였고, 이러한 결과는 통증조절을 위한 새로운 치료 제 개발에 기초자료로써 제공될 것이라 사료된다.

## V. 결론

본 연구는 통증, 염증 및 해열을 조절하기 위해 적용하는 의약품, 특히 비스테로이드성 소염제를 대체하기 위한 천연물질의 약리적 효능을 확인하기 위해 수행되었다. 이에 항산화, 항염, 항암 등의 다양한 효과가 입증된 설포라판과 라스베라톨의 투여가 안면부 통증조절에 미치는 효과를 확인하였고, 두 약물은 모두 유의미한 통증조절효과를 보여주었다.

본 연구를 통해 확보한 연구결과는 다음과 같다.

포르말린으로 유발된 안면부 통증행위반응은 설포라판과 라스베라톨의 투여로 효과적으로 감소되었다.

설포라판과 라스베라톨의 투여는 농도의존적인 경향으로 고농도에서 통증조절효과가 증대되었다.

저농도의 설포라판과 라스베라톨의 단일 투여는 통증조절 효과가 미비했지만, 두 약물의 병용투여는 유의한 통증경감효과를 보여주었다.

## REFERENCES

1. Lee Y, Rodriguez C, Dionne RA: The role of COX-2 in acute pain and the use of selective COX-2 inhibitors for acute pain relief. *Current Pharmaceutical Design* 11(14):1737-1755, 2005.  
DOI: 10.2174/1381612053764896
2. Choi JS, Lim JY: Diagnosis and treatment of xerostomia.

- Korean Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery 59(6):424-429, 2016.  
DOI: 10.3342/kjorl-hns.2016.59.6.424
3. Aminoshariae A, Kulild JC, Donaldson M, Hersh EV: Evidence-based recommendations for analgesic efficacy to treat pain of endodontic origin: a systematic review of randomized controlled trials. *Journal of the American Dental Association* 147(10):826-839, 2016.  
DOI: 10.1016/j.adaj.2016.05.010
4. Heo C, Kim SW, Kim KJ, Kim DW, Kim HJ, Do JH et al.: Protective effects of matic in non-steroidal anti-inflammatory drug induced gut damage and bacterial traslocation in a rat model. *The Korean Journal of Medicine* 71(4):354-361, 2006.
5. Gu J, Hu W, Zhang DD: Resveratrol a polyphenol phytoalexin, protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Journal of cellular and molecular medicine* 19(10):2324-2328. 2015.  
DOI: 10.1111/jcmm.12633
6. Sales JM, Resurreccion AV: Resveratrol in peanuts. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54(6):734-770, 2014.  
DOI: 10.1080/10408398.2011.606928.
7. Bricker GV, Riedl KM, Ralston RA, Tober KL, Oberyszyn TM, Schwartz SJ: Isothiocyanate metabolism, distribution, and interconversion in mice following consumption of thermally processed broccoli sprouts or purified sulforaphane. *Molecular Nutrition & Food Research* 58(10):1991-2000, 2014.  
DOI: 10.1002/mnfr.201400104
8. Fahey JW, Holtzclaw WD, Wehage SL, Wade KL, Stephenson KK, Talalay P: Sulforaphane bioavailability from glucoraphanin-rich broccoli: control by active endogenous myrosinase. *PLoS One* 10(11):e0140963, 2015.  
DOI: 10.1371/journal.pone.0140963.
9. Elshaer M, Chen Y, Wang XJ, Tang X: Resveratrol: an overview of its anti-cancer mechanisms. *Life Sciences* 207:340-349, 2018.  
DOI: 10.1016/j.lfs.2018.06.028
10. Park MK, Lee MK, Hyun KY: The effects of reseveratrol and sulforaphane on the regulation of inos/nrf2 paths in the orofacial inflammation-induced model. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research* 5(8):193-196, 2018.
11. Abdulla A, Adams N, Bone M, et al.: Guidance on the management of pain in older people. *AGe Ageing* 42(1):11-57, 2013.

- DOI: 10.1093/ageing/afs200
12. Park MG, Yoo JD, Lee KH: Current guidelines for non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of the Korean Orthopaedic Association* 55(1):9-28, 2020.  
DOI: 10.4055/jkoa.2020.55.1.9
13. Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F: Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs:an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* 16(5):821-847, 2013.  
DOI: 10.18433/J3VW2F
14. Lee JS, Lee MK, Kim YK, Kim KE, Hyun KY: Attenuant effects of hovenia dulcis extract on inflammatory orifacial pain in rats. *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society* 15(8):5088-5094, 2014.  
DOI: 10.5762/KAIS.2014.15.8.5088
15. Kim YK, Hyun KY, Lee MK: Anti-inflammatory and antioxidative effects of acaiberry in formalin-induced orofacial pain in rats. *The Korean Society of Dental Hygiene Science* 14(2):240-247, 2014.
16. <https://patents.google.com/patent/KR101188945B1/ko>
17. Choi JH, Nam SH, Lee MK: Efficacy of combined administration of cinnamon and curcumin on acute orofacial inflammatory pain enhanced by xerostomia. *Journal of Korean Society of Oral Health Science* 9(4):40-46, 2021.  
DOI: 10.33615/jkohs.2021.9.4.40