

## 방사열 자극실험쥐에서 Ketorolac과 Morphine의 병용투여 효과

연세대학교 의과대학 \*마취통증의학교실, † 마취통증의학연구소

노장호\* · 최동훈\* · 이윤우\*<sup>†</sup> · 윤덕미\*<sup>†</sup>

= Abstract =

### The Analgesic Interaction between Ketorolac and Morphine in Radiant Thermal Stimulation Rat

Jang Ho Roh, M.D.\*, Dong Hun Choe, M.D.\*, Youn-Woo Lee, M.D.\*<sup>†</sup>, and Duck Mi Yoon, M.D.\*<sup>†</sup>

\*Department of Anesthesiology and Pain Medicine, † Anesthesia and Pain Research Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background:** Previous studies have suggested synergistic analgesic drug interactions between NSAIDs and opioids in neuropathic and inflammatory pain models. The aim of this study was to investigate the analgesic drug interaction between intraperitoneal (IP) ketorolac and morphine in radiant thermal stimulation rat.

**Methods:** Initially, we assessed the withdrawal latency time of the hindpaw to radiant thermal stimulation every 15 min for 1 hour and every 30 min for next 1 hour after IP normal saline 5 ml (control group). The latency time was changed into percent maximal possible effect (%MPE). Next, IP dose response curves were established for the %MPE of morphine (0.3, 1, 3, 10 mg/kg) and ketorolac (3, 10, 30 mg/kg) to obtain the ED<sub>50</sub> for each agent. And we confirmed that the IP morphine effect was induced by opioid receptor through IP morphine followed by IP naloxone. At last, we injected three doses of IP ketorolac (3, 10, 30 mg/kg) mixed with one dose of morphine (2 mg/kg) for fixed dose analysis.

**Results:** IP morphine delayed the paw withdrawal latency time dose dependently, but not ketorolac. ED<sub>50</sub> of IP morphine was 2.1 mg/kg. And the IP morphine effect was reversed to control level by IP naloxone. IP ketorolac + morphine combination showed no further additional effects on paw withdrawal latency time over morphine only group.

**Conclusions:** IP ketorolac did not produce antinociceptive effect during radiant thermal stimulation. There was neither additional nor synergistic analgesic interaction between IP morphine and ketorolac in thermal stimulation rat. (Korean J Pain 2005; 18: 10-14)

**Key Words:** antinociception, drug interaction, ketorolac, morphine, thermal stimulation.

### 서 론

두 가지 이상의 약물을 복합 투여하는 경우에 상호 부가적 또는 상승 작용을 나타낸다면 각각의 약물의 용량을 최소화할 수 있으며, 원하는 작용은 극대화시키고 부작용은 최소화할 수 있다. 비스테로이드성소염제와 아편유사제의 병용투여는 진통 효과는 극대화시키면서 부작용을 최소화할 수 있는 장점이 있기 때문에<sup>1)</sup> 수술 후 통증 조절 등 통증 관리에 널리 사용되고 있다.<sup>2)</sup>

이러한 두 약제의 병용투여에 의한 진통 효과의 상승 작용은 많은 임상 연구를 통하여 확인된 바 있으나 환자를 대상으로 한 정량적인 분석은 윤리적인 제한이 있으므로 이를 보완하기 위해 여러 가지 통증 모델을 적용한 동물 실험이 진행되고 있다.<sup>3-5)</sup> 최근까지 발표된 연구에서는 신경병증 통증 모델과<sup>4)</sup> 염증 통증 모델에서<sup>5)</sup> 비스테로이드성소염제와 아편유사제의 병용투여에 의한 진통효과의 상승 작용이 확인되었으나 열자극 실험을 이용한 통각수용 모델에서는 이들 두 약제의 병용투여에 의한 효과에 대해서 잘 알려진 것이 없었다.

접수일 : 2005년 4월 8일, 승인일 : 2005년 5월 24일

책임저자 : 윤덕미, (120-752) 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 마취통증의학교실

Tel: 02-2228-2404, Fax: 02-312-7185, E-mail: dmyoon@yumc.yonsei.ac.kr

이 논문은 2004년 제 39차 대한통증학회 추계학술대회에서 발표되었음.

Received April 8, 2005, Accepted May 24, 2005

Correspondence to: Duck Mi Yoon, Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Anesthesia and Pain Research Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea. Tel: +82-2-2228-2404, Fax: +82-2-312-7185, E-mail: dmyoon@yumc.yonsei.ac.kr

This article was presented at the 39th meeting of Korean Pain Society.

본 연구에서는 방사열자극을 이용한 통각수용 모델에서 복강 내로 투여한 ketorolac이 morphine의 통각 억제 효과를 증강시킬 수 있는 지 동물 실험을 통하여 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

본 연구는 본교 의과대학 실험동물 윤리위원회의 승인을 받은 후 규정에 따라 진행되었다. 실험대상인 수컷 Sprague-Dawley (250-300 g) 쥐는 실험에 앞서 12시간을 주기로 낮-밤을 교대로 유지할 수 있는 사육장에서 3일 이상 온도와 습도가 유지되는 상태로 충분한 물과 먹이를 제공받았다.

통각수용 자극으로서 열 자극을 가하기 위해 방사열 자극기(radiant thermal stimulator, University California San Diego, San Diego, USA)를 사용하였으며 기본 설정은 전류 5.5 암페어, cut-off time (조직손상을 예방하기 위해 설정한 최대 자극 지속 기간)은 20초로 정하였다. 이 방사열 자극기의 상단에 설치된 유리판 표면에 실험동물을 올려놓고 약 20분간 기다려서 실험동물이 환경에 적응한 뒤 실험을 진행하였다. 방사열을 실험동물의 뒷발바닥에 가하기 시작하여 실험동물이 발바닥을 유리판 표면에서 들어올릴 때까지의 행동 반응 시간, 즉 잠복시간(latency time)을 유리판 밑에 부착된 센서로 자동 측정하였으며 좌우 뒷발바닥에 한차례씩 실험을 실시하여 잠복시간의 평균을 구하였다.

실험동물을 대조군과 실험군으로 나누어 삼 단계로 나누어 실험을 진행하였다.

일 단계로 대조군을 시행하였다. 흰쥐 5마리의 복강 내에 생리식염수를 5 ml 주사하고 처음 1시간은 15분 간격으로, 다음 1시간은 30분 간격으로 방사열 자극을 흰쥐 발바닥에 가하고 뒷다리 행동 반응 잠복시간을 측정하였다. 행동 반응 잠복시간을 percent maximal possible effect (%MPE = [(약물 투여 후 측정된 잠복시간 - 약물 투여 전 측정된 잠복시간) / {최대 자극지속 기간 - 약물 투여 전 측정된 잠복시간}] × 100)로 변환하여 계산하여 약물 투여 전과 후의 변화를 비교하였다.

이 단계로 실험군의 morphine과 ketorolac의 방사열 자극에 대한 용량반응곡선과 potency median effective dose (ED<sub>50</sub>)를 구하기 위한 실험을 실시하였다. Morphine 0.3, 1, 3, 및 10 mg/kg과 ketorolac 3, 10, 30 mg/kg 투여군으로 나누어 각 군마다 5마리의 흰쥐의 복강 내에 생리식염수로 희석한 약물을 총 5 ml 주사하고 방사열 자극을 시행하고 대조군과 같은 시간대에 행동 반응 잠복시간을 측정하였다. %MPE로 전환된 수치는 Tallarida와 Murray의<sup>6)</sup> 방법을 응용한 컴퓨터 프로그램을 통해 potency ED<sub>50</sub>를 계산하였다. 이때 morphine의 ED<sub>50</sub>는 2.1 mg/kg로 결과가 나왔으나 ketorolac은 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아 ED<sub>50</sub>를 구할 수 없었다.

Morphine의 효과가 아편유사제수용체에 의한 것인지 확인하기 위하여 morphine 2 mg/kg를 생리식염수에 희석하여 5 ml 투여한 후 35분 뒤에 naloxone 1 mg/kg를 생리식염수에 희석하여 1 ml 투여하며 방사열 자극을 가하여 행동 반응 잠복시간을 측정하였다.

마지막으로 약물 상호 작용을 실험하였다. Ketorolac의 ED<sub>50</sub>를 구할 수 없었기 때문에 morphine 용량을 고정하고 morphine 2 mg/kg만을 단독으로 복강 내에 투여한 군과 morphine 2 mg/kg + ketorolac 3, 10, 30 mg/kg를 생리식염수에 희석하여 5 ml 투여한 군으로 나누어 비교하여 morphine에 대한 ketorolac의 부가 또는 상승 작용의 여부를 관찰하였다.

실험이 끝나면 모든 실험동물은 흡입마취제를 과다 흡입시켜 안락사를 유도하였다. 각 실험군과 대조군을 비교하기 위해 %MPE는 평균 ± 표준오차로 표시하였으며 통계분석은 SPSS 11.5 프로그램을 이용하였다. 군내 비교를 위해 repeated measures ANOVA를 실시하였으며 각 실험군과 대조군을 비교하기 위해 one-way ANOVA를 실시한 후 Tukey method로 사후검정하였고 P값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

생리식염수를 투여 받은 대조군의 %MPE는 -2.5 ± 9.6 이었다(Fig. 1).

실험군에서 ketorolac을 투여 받은 실험군은 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며 ED<sub>50</sub>를 정할 수 없었다(Fig. 1). 반면 morphine을 투여 받은 실험군은 주사 후 15분 뒤부터 60분까지 유의하게 방사열 자극에 대한 행동

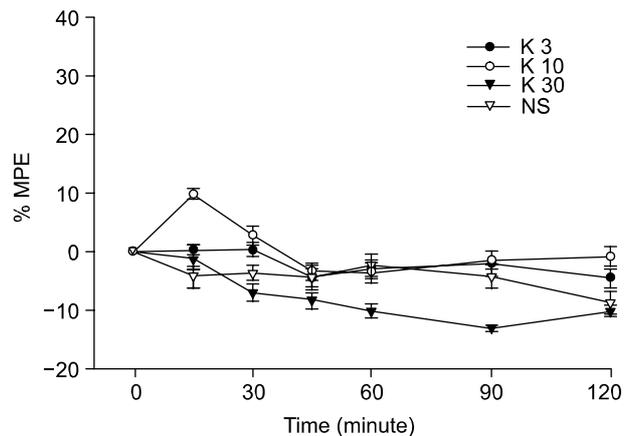


Fig. 1. Time course of the antinociceptive effect (%MPE) of IP ketorolac 3, 10, 30 mg/kg in radiant thermal stimulation. IP ketorolac did not produce significant antinociceptive effect. Each point shows the mean ± SEM in 5 rats. K3; ketorolac 3 mg/kg, K10; ketorolac 10 mg/kg, K30; ketorolac 30 mg/kg, NS; normal saline 5 ml.

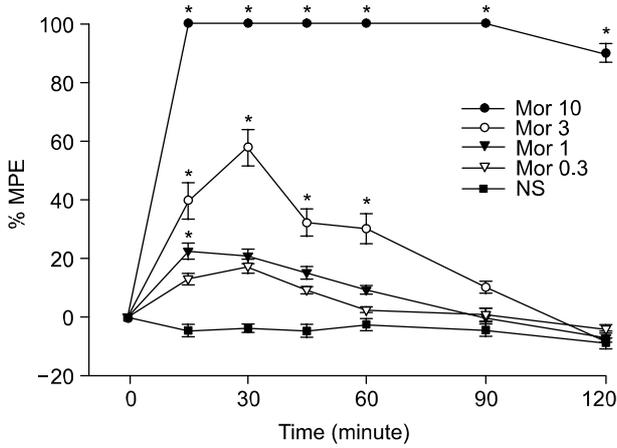


Fig. 2. Time course of the antinociceptive effect (%MPE) of IP morphine 0.3, 1, 3, 10 mg/kg in radiant thermal stimulation. IP morphine produced significant antinociceptive effect dose dependently. Each point shows the mean  $\pm$  SEM in 5 rats. M 10; morphine 10 mg/kg, M 3; morphine 3 mg/kg, M 1; morphine 1 mg/kg, M 0.3; morphine 0.3 mg/kg, NS; normal saline 5 ml. \*,  $P < 0.05$  compared with normal saline group.

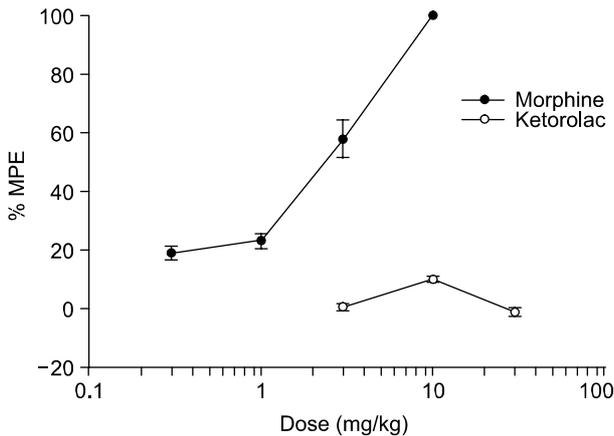


Fig. 3. Log dose response curves for antinociceptive effect (%MPE) of IP morphine and ketorolac in radiant thermal stimulation. IP morphine produced significant antinociceptive effect dose dependently, but IP ketorolac did not. Each point shows the mean  $\pm$  SEM in 5 rats.

반응 잠복시간이 용량에 비례하여 증가하였으며  $ED_{50}$ 는 2.1 mg/kg로 계산되었다(Fig. 2 & 3).

실험군에서 morphine 2 mg/kg를 복강 내에 투여 받은 군은 45분에 peak를 보여 %MPE는  $35.6 \pm 12.2$ 이었다(Fig. 4). Morphine을 투여 받은 후 35분 뒤에 다시 naloxone를 투여 받은 군은 45분부터 대조군과 비슷한 %MPE를 보였다(Fig. 4). Ketorolac 3 mg/kg + morphine 2 mg/kg, ketorolac 10 mg/kg + morphine 2 mg/kg, ketorolac 30 mg/kg + morphine 2 mg/kg를 투여 받은 군의 %MPE는 morphine 2 mg/kg 투여군과 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 못하였다(Fig. 4).

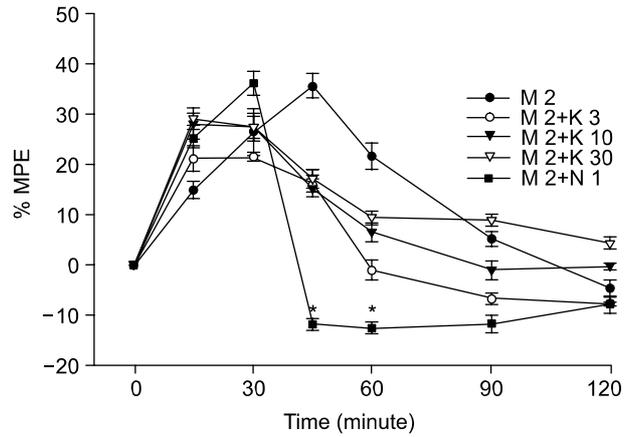


Fig. 4. Time course of the antinociceptive effect (%MPE) of IP morphine and ketorolac mixture in radiant thermal stimulation. The antinociceptive effect of IP morphine was reversed by IP naloxone. There was no additional analgesic interaction between IP morphine and ketorolac. Each point shows the mean  $\pm$  SEM in 5 rats. M 2; morphine 2 mg/kg, M 2 + K 3; morphine 2 mg/kg with ketorolac 3 mg/kg, M 2 + K 10; morphine 2 mg/kg with ketorolac 10 mg/kg, M 2 + K 30; morphine 2 mg/kg with ketorolac 30 mg/kg, M 2 + N 1; morphine 2 mg/kg followed by naloxone 1 mg/kg. \*,  $P < 0.05$  compared with morphine 2 mg/kg group.

### 고찰

비스테로이드성 소염제와 마약성 진통제를 병용 투여하는 것은 통증 조절에 필요한 약제 요구량을 줄일 수 있으면서 진통작용의 상승효과를 거둘 수 있는 장점이 있어서 임상적으로 널리 이용되는 방법이다. 특히 수술 후 통증 관리에서 ketorolac과 아편유사제의 병용 투여는 마약성 진통제의 요구량을 25-50% 정도 낮출 수 있기 때문에 마약성 진통제에 의한 부작용을 줄일 수 있어, 호흡기계 억제를 예방할 수 있을 뿐 아니라 위장관 계통의 빠른 회복을 기대할 수 있으며 가려움증, 배뇨 곤란 등을 최소화하고 병원 재원기간을 줄일 수 있다고 알려져 있다.<sup>7-9)</sup>

진통제가 통증 조절에 미치는 영향을 정량화하기 위해 여러 종류의 통증모델을 적용한 동물실험이 보고되고 있는데 본 연구에서 사용된 방사열 자극실험은 신경을 비롯한 조직의 손상이 없고 염증에 의한 신경말단의 수용체의 감각이나 중추신경계의 통증 조정 계통(pain modulation system)의 변화를 초래하지 않는 비염증성 통각수용 통증 모델(noninflammatory nociceptive pain model)로 인정받고 있다.<sup>10)</sup>

열자극 실험에서 단독으로 투여된 ketorolac의 항통각수용 효과는 다소 엇갈린 결과가 보고되었다. Tejwani와 Rattan은<sup>11)</sup> ketorolac을 단독으로 지주막하강에 투여할 경우 열자극에 대한 항통각수용 효과가 있다고 주장하였으나, Conklin과 Eisenach는<sup>12)</sup> 같은 실험을 통하여 항통각수용 효과가 없다는 결과를 발표하였다.

또한 Lashbrook 등은<sup>4)</sup> 신경병증 통증모델을 이용한 동물실험에서는 비스테로이드성 소염제, 특히 ketorolac을 정주하거나 지주막하강투여를 할 경우 단독으로는 효과가 없으나 morphine의 항이질통 효과(antiallo-dynic effect)를 증강시키고 열자극에 의한 침해성 통증모델에서는 지주막하강으로 투여된 ketorolac이 진통효과도 없고 morphine의 진통효과를 증강시키지도 못하는 것으로 보고하였다. Maves 등도<sup>13)</sup> ketorolac을 단독으로 정주하는 경우 주된 염증성 유발인자가 없는 급성 내장성 침해자극(대장-직장 팽창실험)에 대해서는 항통각수용 효과가 없다고 주장하였다.

본 연구에서도 복강 내로 ketorolac만을 투여 받은 군의 %MPE는 생리식염수를 투여받은 대조군의 그것과 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았으므로 ketorolac을 복강 내로 투여하는 것은 열자극에 대한 항통각수용 효과가 없는 것으로 보여진다. 비스테로이드성 소염제의 작용기전은 prostaglandin 합성의 억제,<sup>14)</sup> nitric oxide-cyclic GMP pathway의 활성화,<sup>15,16)</sup> 중추신경계에 대한 직접적인 작용<sup>17)</sup> 등을 들 수 있는데 염증성 반응이 배제된 통증모델에서는 ketorolac의 항통각수용 효과가 없으므로 prostaglandin 합성의 억제가 ketorolac의 주된 항통각수용 기전이라고 추정할 수 있을 것이다.

신경병증 통증모델과 염증성 통증모델에서 ketorolac과 아편유사제의 진통작용의 상승효과는 많은 연구에서 보고된 바 있다. Malmberg와 Yaksh는<sup>18)</sup> 쥐의 포르말린 테스트에서 지주막하강에 투여된 ketorolac은 morphine의 진통효과를 증강시킨다고 발표하였고 Lashbrook 등은<sup>4)</sup> 신경결찰에 의한 신경병증 통증 모델에서 ketorolac이 morphine의 항통각수용 효과를 증강시킨다고 보고하였다. 반면에 비염증성 통증모델인 대장-직장 팽창 실험에서도 정주된 ketorolac이 morphine의 항통각수용 효과를 증강시키는 것으로 Maves 등이<sup>13)</sup> 주장하였다. 이러한 morphine의 항통각수용 효과를 증강시키는 ketorolac의 작용 기전은 현재 완전히 밝혀져 있지 않지만 ketorolac이 중추신경계에서 아편유사제수용체에 대한 조정 효과가 있어서 상승효과를 나타내는 것으로 생각하거나<sup>15)</sup> ketorolac에 의해 영향을 받은 phospholipase A2 pathway를 통해 voltage-dependent-K<sup>+</sup> channel이 마약성 진통제의 효과에 영향을 미치는 것으로 추측하기도 한다.<sup>4)</sup>

본 연구에서는 ketorolac과 morphine을 복강 내에 함께 투여한 군의 %MPE가 morphine만 복강 내에 투여한 군의 그것과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 못했다. 즉 복강 내로 투여된 ketorolac이 morphine의 항통각수용 효과를 증강시키지 못한 것으로 보여지며 이것은 최근에 Kolesnikov 등이<sup>19)</sup> hydrocodone과 ibuprofen을 피하에 병용 투여하여 열자극에 의한 통각수용 통증 모델에서도 상승효과가 있다고 발표한 것과 반대되는 결과이다. 이러한 상반되는 결과의 원인은 아직 규명하기 어려우며 앞으로 보완 실험이 필요할 것으로 생각한다.

결론적으로 방사열 자극을 이용한 통각수용 통증 모델에서 복강 내에 투여한 ketorolac은 항통각수용 효과가 없고 morphine의 항통각수용 효과를 증강시키지 않는 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

1. Picard P, Bazin JE, Conio N, Ruiz F, Schoeffler P: Ketorolac potentiates morphine in postoperative patient-controlled analgesia. *Pain* 1997; 73: 401-6.
2. Wideman GL, Keffer M, Morris E, Doyle RT Jr, Jiang JG, Beaver WT: Analgesic efficacy of a combination of hydrocodone with ibuprofen in postoperative pain. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 65: 66-76.
3. Lopez-Munoz FJ, Diaz-Reval MI, Terron JA, Deciga-Campos M: Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat. *Eur J Pharmacol* 2004; 484: 157-65.
4. Lashbrook JM, Ossipov MH, Hunter JC, Raffa RB, Tallarida RJ, Porreca F: Synergistic antiallo-dynic effects of spinal morphine with ketorolac and selective COX1- and COX2-inhibitors in nerve-injured rats. *Pain* 1999; 82: 65-72.
5. Fletcher D, Benoist JM, Gautron M, Guilbaud G: Isobolographic analysis of interactions between intravenous morphine, propacetamol, and diclofenac in carrageenan-injected rats. *Anesthesiology* 1997; 87: 317-26.
6. Tallarida RJ, Murray RB: Manual of pharmacologic calculation with computer programs. 2nd ed. New York, Springer-Verlag. 1987, pp 1-95.
7. Gillis JC, Brogden RN: Ketorolac. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in pain management. *Drugs* 1997; 53: 139-88.
8. Carney DE, Nicolette LA, Ratner MH, Miner A, Baesl TJ: Ketorolac reduces postoperative narcotic requirements. *J Pediatr Surg* 2001; 36: 76-9.
9. Munro HM, Walton SR, Malviya S, Merkel S, Voepel-Lewis T, Loder RT, et al: Low-dose ketorolac improves analgesia and reduces morphine requirements following posterior spinal fusion in adolescents. *Can J Anaesth* 2002; 49: 461-6.
10. Luo ZD: Pain research. Totowa, Humana Press. 2004, pp 11-23.
11. Tejwani GA, Rattan AK: Antagonism of antinociception produced by intrathecal clonidine by ketorolac in the rat: the role of the opioid system. *Anesth Analg* 2000; 90: 1152-6.
12. Conklin DR, Eisenach JC: Intrathecal ketorolac enhances antinociception from clonidine. *Anesth Analg* 2003; 96: 191-4.
13. Maves TJ, Pechman PS, Meller ST, Gebhart GF: Ketorolac potentiates morphine antinociception during visceral nociception in the rat. *Anesthesiology* 1994; 80: 1094-101.
14. Lorenzetti BB, Ferreira SH: Mode of analgesic action of dipyrrone: direct antagonism of inflammatory hyperalgesia. *Eur J Pharmacol* 1985; 114: 375-81.
15. Duarte ID, dos Santos IR, Lorenzetti BB, Ferreira SH: Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide-cGMP pathway. *Eur J Pharmacol* 1992; 217: 225-7.
16. Lazaro-Ibanez GG, Torres-Lopez JE, Granados-Soto V: Participation of the nitric oxide-cyclic GMP-ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel pathway in the antinociceptive action of ketorolac. *Eur J Pharmacol* 2001; 426: 39-44.

17. Tortorici V, Vanegas H: Putative role of medullary off- and on- cells in the antinociception produced by dipyrene (metamizol) administered systemically or microinjected into PAG. *Pain* 1994; 57: 197-205.
  18. Malmberg AB, Yaksh TL: Pharmacology of the spinal action of ketorolac, morphine, ST-91, U50488H, and L-PIA on the formalin test and an isobolographic analysis of the NSAID interaction. *Anesthesiology* 1993; 79: 270-81.
  19. Kolesnikov YA, Wilson RS, Pasternak GW: The synergistic analgesic interactions between hydrocodone and ibuprofen. *Anesth Analg* 2003; 97: 1721-3.
-