

중쇄지방산염 함유 Eudispert hv 하이드로겔의 인슐린 직장 흡수증대효과

한 건¹ · 김준식 · 유정희 · 정연복

충북대학교 약학대학

(1997년 7월 28일 접수)

Enhancement of Rectal Absorption of Insulin in Eudispert hv Hydrogels Containing Medium Chain Fatty Acid Salts in Rats

Kun Han¹, Joun Sik Kim, Jeoung Hee Yoo and Youn Bok Chung

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju,
Chungbuk 361-763, Korea

(Received July 28, 1997)

The purpose of the present study was to investigate the effect of medium chain fatty acid salts, reported as enhancers in insulin nasal absorption, on the rectal absorption of insulin in rats. The serum glucose and remained insulin level in perfusate were measured after rectal recirculation of insulin with or without sod. laurate, sod. caprate and sod. caprylate *in situ*. The addition of sod. laurate or sod. caprate reduced serum glucose concentration considerably. Sod. caprate (1.0%) showed the greatest promoting effect on the decrement of serum glucose. Eudispert hv hydrogels containing insulin with medium chain fatty acid salts were, thereby, prepared and evaluated. The release rate of insulin from Eudispert hv hydrogels was reduced with an increase in the content of Eudispert hv, and was raised with increasing NaOH concentration. Ten percent Eudispert hv hydrogels were offered for the rectal administration of insulin. The addition of 1.0% sod. caprate reduced serum glucose concentration remarkably after rectal administration of 10% Eudispert hv hydrogels containing insulin. The level of glucose decrement was greater by 30% compared to subcutaneous administration of insulin solution. From the above findings, Eudispert hv hydrogels would be used as useful rectal delivery systems of insulin.

Keywords—Insulin, Medium chain fatty acid salts, Rectal absorption, Promoting effect, Eudispert hv hydrogels.

최근 비경구·비주사 투여경로인 비강^{1,2)}, 직장^{3,4)}, 구강⁵⁾, 인⁶⁾, 질⁷⁾ 등의 점막경로를 통한 펩타이드 및 프로테인 약물 수송에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이 중에서 직장점막으로의 약물송달은 1) 소장 및 위장에 비해 효소활성이 낮고, pH가 중성이기 때문에 펩타이드 약물의 분해가 적고, 또한 간장 초회 통과 효과를 피할 수 있으며, 2) 음식물이나 위내용물 배출에 의해서 영향을 받지 않으며, 전신 순환계에 도달하기 전에 약물의 농도가 희석되는 것을 피할 수 있고,

3) 한 번에 많은 양의 약물을 투여할 수 있는 반면 과량투여나 약물에 의한 과민 반응이 일어날 경우 약물의 흡수를 중단시킬 수 있으며, 4) 유아나 어린이에게 안전하고 편리하게 투여할 수 있는 등의 장점이 있다.

이와 같이 직장점막으로의 약물투여는 많은 장점을 가지고 있음에도 불구하고 인슐린과 같은 거대분자들은 직장점막으로의 투과가 쉽지 않으며⁸⁾, 점막부위에 존재하는 단백분해효소에 의해 분해⁹⁻¹²⁾가 일어나므로 단백질 분해 효소억제제 및 점막투과촉진제 등을 이용하여 흡수를 촉진시키려는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 직장점막을 통한 흡수촉진제로서 주로 사용되고

¹본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

있는 것으로는 계면활성제^{13,14)}, enamine 유도체¹⁵⁻¹⁷⁾, 담즙산염¹⁸⁾, salicylate 유도체¹⁹⁾ 및 지방산염^{20,21)} 등이 보고된 바 있다. Aungst 등¹⁸⁾은 담즙산을 첨가하여 인슐린을 비강, 직장, 구강, 설하 등으로 투여했을 때 흡수량은 비강>직장>구강>설하 순으로 나타났으며, sodium glycocholate와 투여했을 때 인슐린의 흡수는 직장 및 비강에서는 거의 비슷하였으나 구강의 경우에는 그다지 효과적이지 못한 결과를 얻었다. Nishihata 등¹⁹⁾은 salicylate 유도체 중에서 sodium 5-methoxy salicylate가 직장 및 소장에서 인슐린의 흡수를 가장 촉진하였으며, 혈장 인슐린 농도는 직장투여 후 30분이 최대였다고 보고하였다. 또한 Umejima 등²⁰⁾은 지방산의 일종인 n-capric acid와 linoleic acid를 흡수촉진제로 사용하여 5-fluorouracil을 Eudispert hv hydrogel로 직장투여시 생체이용률이 각각 95.6%, 81.7% 증가함을 보고하였다. Yamazaki 등²¹⁾은 acyclovir의 직장투여에 있어서 지방산염인 lauric acid와 octanoic acid가 생체이용률을 37% 증가시켰음을 보고하였다.

저자 등²²⁾은 토끼의 비강점막 균질액에 중쇄지방산염의 첨가로 인슐린의 분해가 억제됨을 보고한 바 있으며, 중쇄지방산염(sodium caprate) 함유 Eudispert hv 또는 polycarophil 하이드로겔로 LHRH를 질점막으로 투여시 하이드로겔의 점막체류성으로 인하여 흡수가 증진됨을 보고한 바 있다.²³⁾ 본 연구에서는 인슐린의 직장점막 투여 제제의 개발을 위해 비강점막균질액에서 인슐린 분해 억제효과가 있었던 중쇄지방산염을 첨가하여 Eudispert hv 하이드로겔을 제조하고 인슐린의 직장점막 투여제형으로서의 유용성을 검토하였다.

실험방법

시약 및 기기

시약으로는 crystalline bovine Zn insulin(Sigma Chemical Co.), peridochrom glucose (Boehringer Ingellheim), Eudispert hv(R hm Pharma Co.) 및 sodium caprylate, sodium caprate, sodium laurate (Tokyo Chemical Industries, Co.) 등을 사용하였으며 기타 시약은 분석용 및 특급품을 사용하였다. 기기는 HPLC(L-6000, Hitachi Co.), Photometer(4020, Hitachi Co.), Microtube pump (MP-3, Tokyo Rikakikai Co.), 점도계(VT-550, Haake Co.) 등을 사용하였다. 실험동물은 삼육동물(경기도, 안성)에서 Sprague-Dawley계 웅성흰쥐

(230-250 g)를 공급받아 사용하였다.

In situ 관류법에 의한 인슐린의 직장흡수 실험

In situ 관류실험은 Crommelin 등의 방법^{24,25)}을 개선하여 실시하였다. 흰쥐(230-250 g)를 적어도 16시간 정도 절식 시킨 후 pentobarbital-Na(50 mg/Kg)를 복강주사하여 마취시킨 다음 복부를 절개하여 직장을 노출시켰다. 한 개의 cannula(polyvinyl tube)를 직장상부 약간 위쪽에서부터 삽입하여 직장상부에 이르도록 한 후 실로 봉합하고, 다른 하나의 cannula를 항문쪽에서부터 약 0.5~1 cm 정도 삽입한 다음 실로 봉합하여 관류액에 노출된 직장의 길이가 약 2cm 정도가 되도록 하였다. 관류액(6 ml)은 등장 인산염완충액(pH 7.4)을 일정 온도(38°C)로 유지하면서 유속 2 ml/min으로 관류하였다. 관류실험 개시 전 수분간 완충액으로 직장내에 있는 노폐물을 세척하였다.

관류액 중 인슐린 및 중쇄지방산염의 농도는 각각 일정량의 보존용액을 취하여 인슐린 농도가 20, 50 $\mu\text{M/ml}$, 중쇄지방산염의 농도가 0.5, 1.0%(w/v)가 되도록 등장 인산염완충액(pH 7.4)을 가하여 희석하여 조제하였다. 인슐린의 보존용액은 bovine Zn insulin 일정량을 분취하여 0.005N-HCl에 용해시켜 1,000 $\mu\text{M/ml}$ (insulin 1 μM 은 147 IU에 해당 됨)가 되도록 조제하고, 중쇄지방산염(sod. caprylate, sod. caprate, sod. laurate)의 보존용액은 농도가 10%(w/v)가 되도록 미리 조제하여 사용하였다.

관류액 중 잔존 인슐린 농도의 정량

관류실험 개시 후 180분 동안 일정시간 간격으로 관류액으로부터 50 μl 씩 시료를 채취하고, 아세트니트릴 100 μl 를 가하여 조직단백을 침전시켰다. HPLC 분석을 위한 내부표준물질로서 트립토판 용액(16 $\mu\text{g/ml}$) 25 μl 를 가한 후, 원심분리기(10,000 g)로 3분 동안 원심분리하여 응고된 단백질을 제거하고 상정액을 취하였다. 질소기류하에서 아세트니트릴을 증발시킨 다음 농축액 10 μl 를 HPLC에 주입하였다. 인슐린의 정량은 Lee 등²⁶⁾의 HPLC법을 변형하여 사용하였다. 컬럼은 Vydac C₁₈ 컬럼(4.6×250 mm, 5 μm)을 사용하였고, 이동상은 0.6% ethanolamine을 가하고 인산으로 pH 3.0으로 조정한 물과 아세트니트릴을 사용하였으며 비율을 14%에서 30%까지 단계적으로 증가시켜가는 gradient system을 이용한 분석법을 응용하였다. UV 검출기의 파장은 230nm로 고정하였고, 유속은 0.7 ml/min으로 하였다. 인슐린 및 트립토판(내부표준물질)의 피크 출현시간은 각각 20.00±0.5 min 및

5.20±0.4 min이었다.

인슐린 함유 Eudispert hv 하이드로겔의 제조 및 물성시험

유발에 1 mM의 insulin과 pH 7.4 인산염완충액을 넣고 유봉으로 혼화한 다음 Eudispert hv를 넣고 다시 유봉으로 혼화하여 현탁액으로 만들었다. 이 현탁액을 motorized mortar에 넣고 NaOH 용액을 가한 다음 5분 정도 급격히 혼화하고 실온에 30분 정도 방치하였다. 다시 5분 정도 혼화하여 겔이 균일하게 되도록 한 다음 실온에 24시간 동안 방치하였다.

최적의 Eudispert hv 함량과 NaOH 중화당량을 찾아내기 위해 Eudispert hv 함량 변화에 따른 하이드로겔의 점도를 측정하고, 아울러 각 농도별로 NaOH (3~9mEq)를 가해 제조한 하이드로겔의 pH 및 점도를 측정하였다.

하이드로겔로부터 인슐린의 방출특성을 살펴보기 위하여 Eudispert hv(5%, 10% 또는 15%)에 NaOH 7mEq를 가하여 하이드로겔을 제조하고, 또한 10% Eudispert hv에 각종 농도의 NaOH(5, 6, 7, 8, 9 mEq)를 가하여 하이드로겔을 제조하였다. 방출시험은 이들 하이드로겔 2g을 원형 one-side open disc(용량 2 ml, 직경 1.8 cm)에 채워 넣은 후 대한약전 제 6개정의 용출시험 규정(패들법)에 준하여 37 0.5°C, 100 rpm에서 실시하였다. 시험액은 pH 7.4 인산염완충용액 500 ml를 사용하였으며, 210 nm에서 흡광도를 측정하여 인슐린의 용출량을 산출하였다. 이때 하이드로겔 중의 인슐린 함량은 18 IU/gel(g)이 되도록 하였다.

인슐린의 용액 및 Eudispert hv 하이드로겔의 직장투여

실험 시작 전 16시간 이상 절식시킨 흰쥐(230-250 g)의 복강에 pentobarbital-Na(50 mg/kg)을 주사하여 마취시키고, sod. caprate를 함유하지 않은 각종 농도의 인슐린 용액(7.5, 10, 15, 30 IU/kg)과 sod. caprate 0.5% 또는 1.0%를 첨가한 인슐린 용액(15 IU/kg) 0.2 ml를 항문의 1 cm 상부에 투여한 후 새어나오는 것을 방지하기 위해 항문을 클립으로 봉하였다. 또한 인슐린 함유 Eudispert hv 하이드로겔(15 IU/kg)에 sod. caprate 0.5% 또는 1.0%를 첨가하여 직장으로 투여하였다. 대조군으로는 sod. caprate를 함유하지 않은 인슐린 용액(15 IU/kg) 0.2 ml를 경정맥 및 피하로 주사하였다.

혈청 중 글루코스 농도의 정량

혈청중 글루코스 농도는 Enzymatic Colorimetric

Method²⁷⁾로 측정하였다. 즉 흰쥐의 대퇴동맥에 polyethylen tube(PE-50, Intramedic)를 삽입하여 경시적으로 혈액을 채취하고 3분간 원심분리(10,000g)하여 혈청을 얻었다. 혈청 10 µl를 취하여 Peridochrom 시액 1,000 µl에 넣고 30분간 상온에서 반응시킨 다음 photometer로 글루코스 농도를 측정하였다. 혈당강하도(D%)는 Hirai 등²⁸⁾의 방법에 따라 다음식으로부터 산출하였다.

$$D(\%) = [(AUC_c - AUC_s) / AUC_c] \times 100 \quad (1)$$

여기서 AUCc는 인산염완충액을 직장투여한 후 얻어진 혈청중 글루코스 농도-시간 곡선하면적을, AUCs는 인슐린을 함유한 하이드로겔 제제를 직장투여한 후 얻어진 혈청중 글루코스 농도-시간 곡선하면적을 나타낸다.

결과 및 고찰

중쇄지방산염이 인슐린 용액의 직장흡수에 미치는 영향

본 연구에서는 인슐린의 직장흡수 정도를 알아보기 위하여 인슐린이 흡수됨에 따라 나타나는 혈당강하도를 측정하였고 아울러 관류액 중 잔존 인슐린량을 정량하였다. Figure 1은 인슐린 20 µM/ml 및 중쇄지방산염 0.5%, 또는 1.0%(w/v)를 함유하는 관류액을 흰쥐의 직장내에 3시간 동안 관류시켰을 때 얻어진 혈당강하율(Figure 1의 A-1)과 관류액 중 인슐린 농도(Figure 1의 B-1)를 나타낸 것이다. Figure 1의 A-1에서와 같이 sod. caprate 또는 sod. laurate 0.5% 첨가에 의해서 현저한 혈당강하효과를 나타내었으나, sod. caprylate의 경우 0.5% 첨가에 의해서는 거의 효과가 없는 것으로 나타났다. 또한 중쇄지방산염을 함유하지 않은 대조군에서 1시간 이후 혈당증가가 나타난 것은 *in situ* 관류에 의해 실험동물의 stress 등에 기인한 것으로 추정된다. 한편, 관류액 중의 잔존 인슐린 농도는 혈당강하도와 상응하는 경향을 보이며 감소하였다. 0.5%의 sod. caprylate 첨가에 의해 혈당강하효과는 없었으나, 관류액 중의 잔존 인슐린을 정량시 직장점막에 존재하는 효소에 의한 인슐린의 단백질분해 억제효과가 있는 것으로 나타났다. 또한 중쇄지방산염을 함유하지 않은 대조군의 관류액 중에서 인슐린 농도는 계속하여 감소하는 결과를 나타냈는데, 이것은 흡수에 의한 감소라기 보다는 직장점막에 존재하는 효소에 의한 인슐린의 단백질분해에 기인한 것으로 보여진

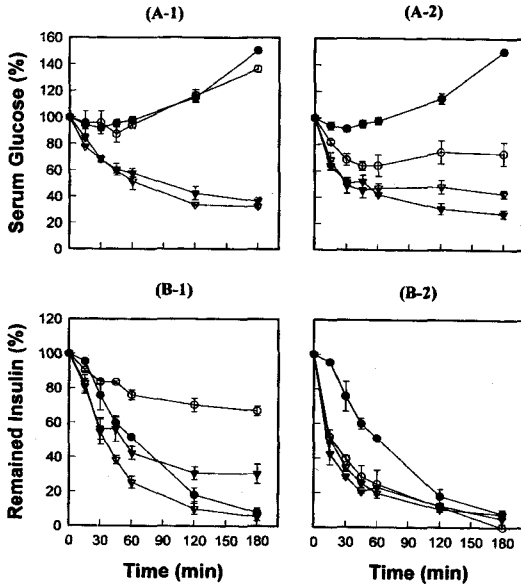


Figure 1—Decrement of serum glucose (A) and insulin level in perfusate (B) in rats after rectal perfusion of insulin solutions. Insulin concentration was 20 $\mu\text{M}/\text{ml}$ with 0.5% and 1.0% fatty acid salt. Each point represents the Mean \pm S.E. of 3 rats. Key: (●): control, (○): sod. caprylate (0.5%), (▼): sod. caprate (0.5%), (▽): sod. laurate (0.5%)

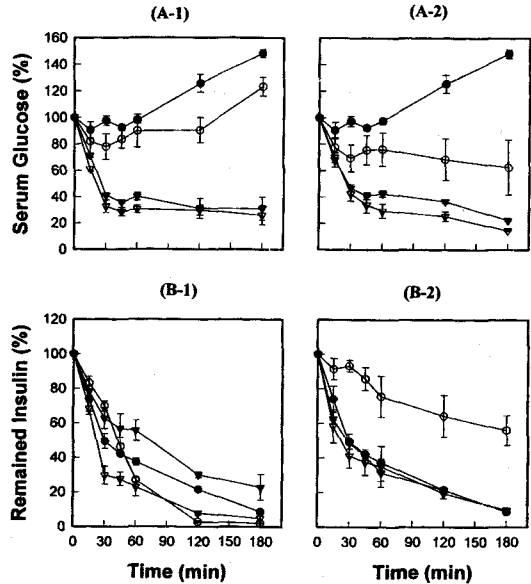


Figure 2—Decrement of serum glucose (A) and insulin level in perfusate (B) in rats after rectal perfusion of insulin solutions. Insulin concentration was 50 $\mu\text{M}/\text{ml}$ with 0.5% and 1.0% fatty acid salt. Each point represents the Mean \pm S.E. of 3 rats. Key: (●): control, (○): sod. caprylate (0.5%), (▼): sod. caprate (0.5%), (▽): sod. laurate (0.5%)

다(Figure 1의 B-1).

Figure 1의 A-2는 중쇄지방산염 농도를 1.0%(w/v)로 증가시킨 경우의 실험결과로 중쇄지방산염을 1.0%로 증가시키에 따라 0.5%에 비해 우수한 혈당강하 효과가 나타났다. 특히 sod. caprylate의 경우 0.5%의 첨가에서 볼 수 없었던 현저한 혈당의 감소를 볼 수 있었으며 이러한 효과는 초기 30분 안에 급속히 이루어졌다. 관류액내에서의 인슐린의 감소도 sod. caprylate, sod. caprate 및 sod. laurate 모두 초기 30분 안에 급속히 이루어졌다. 이와같은 결과는 인슐린의 농도를 증가시키고(20 \rightarrow 50 $\mu\text{M}/\text{ml}$), 중쇄지방산의 첨가농도를 증가시킨(0.5 \rightarrow 1.0%) 모든 경우에 나타나고 있다(Figure 1, Figure 2). 이 결과는 Nishihata 등²⁹⁾이 인슐린을 함유한 microenema를 직장내에 투여한 후 혈중 인슐린 농도 변화와 유사한 양상을 보여주고 있다. 또한 관류액내에서의 인슐린 혈당강하는 중쇄지방산염을 첨가한 경우가 중쇄지방산염을 첨가하지 않은 대조군에 비해 실험개시 후 2시간까지 현저하게 촉진되었다.

Figure 2의 A-1, B-1은 인슐린을 50 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 로 증량하고 중쇄지방산염 0.5%를 첨가하여 얻어진 결과를 나타낸 것으로 sod. caprate와 sod. laurate의 경우 인슐

린의 농도를 20에서 50 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 로 증가시키에 따라 혈당강하효과는 약간 상승하였다. 그러나 sod. caprylate 첨가시에는 별 영향이 없었으며, 인슐린 농도를 증량했음에도 불구하고 sod. caprylate 농도가 높은 경우(Figure 1의 A-2)에 비해 혈당강하효과는 오히려 떨어지는 것으로 나타났다. Figure 2의 A-2, B-2는 50 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 의 인슐린 용액에 중쇄지방산염의 첨가 농도를 1.0%로 증가시켰을 때의 혈중 글루코스 농도 및 관류액 중 잔존 인슐린 농도를 나타낸 것으로 인슐린의 농도를 20 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 에서 50 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 로 증가시켰어도 혈당강하효과는 비슷한 결과를 얻었다. 따라서 인슐린의 직장흡수는 인슐린의 농도범위가 20~50 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 의 범위에서는 인슐린 농도보다는 오히려 중쇄지방산염의 첨가량에 더 영향을 받는 것으로 생각된다.

인슐린의 직장흡수에 의한 혈당강하효과를 상대적으로 평가한 혈당강하도(D%) 값을 Table I에 나타내었다.

중쇄지방산염 농도가 인슐린 용액의 직장흡수에 미치는 영향

Figure 3은 중쇄지방산염의 최적 첨가 농도를 알아보기 위해 인슐린의 농도를 20 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 로 고정하고 중쇄지방산염 중 효과가 우수한 것으로 나타난 sod.

Table I—Mean Area under Serum Glucose Level-Time Curve after Rectal Administration of Insulin with Promotors in Rats^{a)}

Promotors	Insulin Dose (μM/ml)	Glucose decrement AUC (0~3 hr) (hr · (%))	D (%) ^{b)}
None(Control)	0	336.4±11.7	0
	20	333.9±16.5	0.53±4.9
	50	366.3±12.2	-8.9±3.6
Sod. caprylate(C ₈)	20	325.6±11.4	3.2±3.4
	50	281.4±25.4	16.3±7.6
	20	217.3±18.3	35.4±5.5
	50	216.2±39.0	35.7±11.6
Sod. caprate (C ₁₀)	20	162.6±5.2	51.7±1.6
	50	121.2±13.9	63.9±4.1
	20	125.8±7.7	62.6±2.3
	50	126.4±2.9	62.4±0.8
Sod. laurate (C ₁₂)	20	145.9±5.2	56.6±1.5
	50	104.9±6.0	68.8±1.8
	20	152.2±7.3	54.8±2.2
	50	100.7±9.2	70.1±2.7
S.C. Injection	51 (7.5 IU/kg)	184.2±3.5	45.2±1.1

a) Each value represents the Mean±S.E. of 3 rats.

b) Relative decrement (D%) of serum glucose levels was calculated from the following equation :

$$D(\%) = ((AUC_c - AUC_s) / AUC_c) \times 100, AUC_c = 300$$

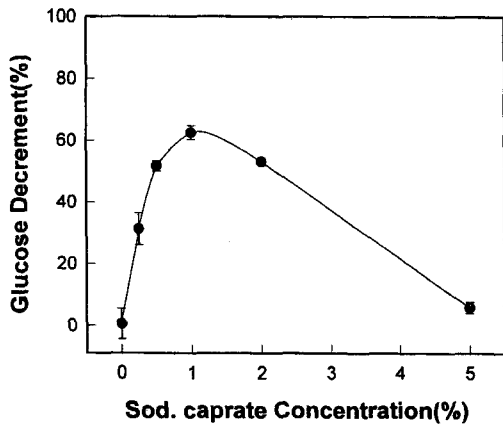


Figure 3—Effects of sod. caprate concentration on the relative decrement (D%) of serum glucose levels. Relative decrement (D%) was calculated from the following equation : $D(\%) = ((AUC_c - AUC_s) / AUC_c) \times 100$. Insulin concentration was 20 μM/ml. Each point represents the Mean±S.E. of 3 rats.

caprate의 농도를 0.25에서 5.0%까지 단계적으로 변화시켰을 때의 혈당강하효과를 D(%값)으로 나타내어 도시한 것이다. D(%값)은 sod. caprate의 농도가 1.0%

에서 62.6으로 가장 좋은 효과를 나타냈으며, 2.0%에서는 53.1, 5.0%에서는 5.9로 과량의 첨가에 의해서는 오히려 효과가 감소하는 결과를 나타내었다. 또한 0.5%에서는 51.7, 0.25%에서는 31.3으로 역시 1.0%보다 낮은 첨가량에 의해서도 효과는 감소하는 것으로 나타났다. 그 원인은 저자 등²²⁾이 가토의 비강점막 균질액중에서 인슐린 분해에 미치는 중쇄지방산염의 효과에서 보고한 바와 같이 sod. caprate의 농도가 1.0% 이하에서는 직장점막에서 인슐린의 단백질분해를 효과적으로 저지하지 못하고, 1.0% 이상에서는 인슐린의 aggregation을 촉진시켜 막투과성을 저하시킨 결과라고 추정된다. 한편, 중쇄지방산염의 비강흡수 촉진작용에 대해 Mishima 등³⁰⁾은 막에 대한 세포용해효과나 삼투압에 의한 영향 이라기 보다는 leucine aminopeptidase 활성의 저해작용에 기인한다고 설명하고 있다.

하이드로겔의 물리적 특성 및 인슐린의 방출 특성

하이드로겔의 물리적 상태를 알아보기 위해 Eudispert hv의 함량 및 NaOH의 농도를 달리하여 중화시킨 하이드로겔을 조제하였다. NaOH의 농도(3~9mEq)에 따른 10% Eudispert hv 하이드로겔의 점

도를 shear rate 100 sec^{-1} 에서 측정된 결과 NaOH의 농도가 3mEq일 때 점도값은 $6,500 \text{ mPa} \cdot \text{S}$ 이었으며, NaOH의 농도가 9mEq일 때 $4,000 \text{ mPa} \cdot \text{S}$ 로 NaOH의 농도가 증가할수록 점도값은 거의 직선적으로 감소하는 경향을 나타내었다.

Eudispert hv 함량(5~15%)에 따른 Eudispert hv 하이드로겔(NaOH의 농도 7mEq)의 점도는 Eudispert hv 함량이 증가할수록 증가하는 경향을 나타내어 Eudispert hv 함량이 15%일 때 $12,000 \text{ mPa} \cdot \text{S}$ 의 점도를 나타내었다. Eudispert hv 하이드로겔은 비뉴턴 운동(non-Newtonian fluid) 양상을 나타내며 아래와 같이 OstWald-de-Waale식에 의해 fit하였다.

$$\tau = k \cdot r^n \quad (2)$$

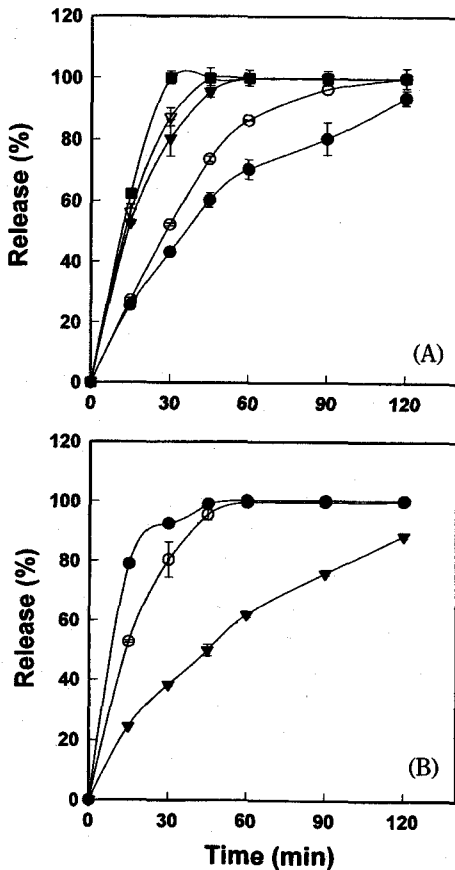


Figure 4—Insulin release profile(A) from 10% Eudispert hv hydrogels neutralized with NaOH 5mEq (●), 6mEq (○), 7mEq (▼), 8mEq (▽) and 9mEq (■). Insulin release profile(B) from 5% (●), 10% (○) and 15% (▼) Eudispert hv hydrogel neutralized with NaOH 7mEq. Insulin content was 18 IU/g(gel). Each point represents the Mean \pm S.E. of 3 data.

여기서 τ 는 전단응력(shear stress), r 는 전단속도(shear rate), k 는 상수를 각각 나타낸다.

10% Eudispert hv 하이드로겔의 각기 다른 NaOH 농도(3~9mEq)에 따른 pH를 측정된 결과 염기농도가 3, 4, 5mEq일 때 pH는 6에 가까웠고, 6, 7mEq일 때는 pH 7을 유지했으나 8mEq에서 pH가 급격히 증가하는 경향을 나타내었다.

Figure 4(A)는 NaOH 농도가 각각 5~9mEq인 10% Eudispert hv 하이드로겔을 제조한 후 용출실험을 한 결과를 나타낸 것으로 염기의 농도가 증가함에 따라 인슐린 용출이 촉진됨을 보였다.

Figure 4(B)는 NaOH의 농도가 7mEq인 각각의 Eudispert hv 5, 10, 15% 하이드로겔을 제조한 후 인슐린 용출실험을 한 결과를 나타낸 것으로 Eudispert hv의 함량이 증가함에 따라 용출이 지연됨을 보였다.

인슐린 용액의 직장투여시의 혈당강하효과

Figure 5(A)는 인슐린의 농도를 각각 달리하여 조제한 인슐린 용액(7.5, 10, 15, 30 IU/kg)을 흰쥐의 직장으로 투여했을 때의 혈당강하율을 나타낸 것으로 혈당은 투여 후 30분까지 급속히 감소하여 최소를 나타냈으며, 투여한 인슐린의 농도가 증가할수록 인슐린의 혈당 감소효과는 증가하였다. 인슐린용액을 투여한 지 30분이 지난 후에는 혈당이 증가하기 시작하여 투여 60분 후에는 투여 전의 90%까지 올라갔으며 120분에는 약물투여 전의 혈당치로 회복됨을 볼 수 있었다. 그러나 30 IU/kg 인슐린을 투여했을 때 투여 후 30분의 혈당감소는 15 IU/kg 인슐린의 경우와 비슷하게 나타났으며, Figure 5(B)에서와 같이 D(%)값은 인슐린 15 IU/kg의 직장 투여에서 평형에 도달하였다. 따라서, 최대효과를 기대할 수 있는 적절한 인슐린 투여 농도는 15 IU/kg임을 알 수 있었다.

Figure 6은 인슐린 용액(15 IU/kg)을 정맥, 피하 및 직장으로 투여했을 때의 상대적 혈당강하율을 나타낸 것이다. 직장으로 투여시 투여 직후 30분에서 나타난 혈당강하율은 피하와 정맥투여에 비해 매우 낮았으며, D(%)값도 피하와 정맥투여시에 비해 31%, 62% 정도로 낮게 나타났다.

인슐린 함유 Eudispert hv 하이드로겔의 직장투여시 Sodium Caprate의 영향

Figure 7은 sod. caprate를 각각 0%, 0.5%, 1.0% 첨가한 인슐린 용액(15 IU/kg)을 직장으로 투여했을 때의 혈당강하율을 나타낸 것으로 sod. caprate의 농

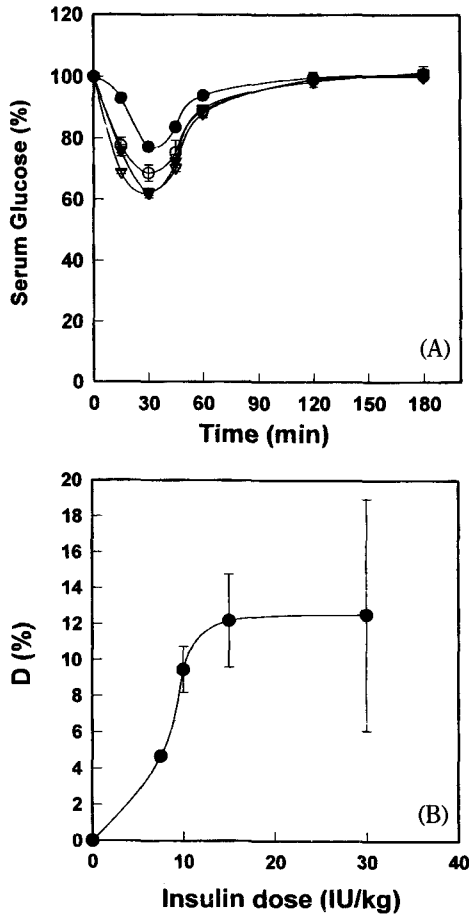


Figure 5—Decrement of serum glucose after rectal administration of insulin solution(A). Insulin doses were 7.5 IU/kg (●), 10 IU/kg (○), 15 IU/kg (▼) and 30 IU/kg (▽). Relative decrement(D%) of serum glucose levels after rectal administration of insulin with dose from 7.5 to 30 IU/kg in rats(B). Each point represents the Mean±S.E. of 3 rats.

도가 증가됨에 따라 혈당강하효과가 비례적으로 증가되었다. 특히 sod. caprate 1.0%를 첨가한 인슐린 용액의 직장투여 후 혈당강하효과는 인슐린 용액 15 IU/kg을 피하로 투여했을 때보다 약 9% 증가된 결과를 나타내었다. 또한 sod. caprate 0.5% 또는 1.0%를 첨가한 인슐린 함유 Eudispert hv 하이드로겔의 직장투여(15 IU/kg) 후의 혈당강하율은 인슐린 용액을 직장으로 투여한 후 30분에 최대의 혈당강하효과를 보인 반면, 45분에 최대효과를 나타냈다. 이는 폴리머로부터 약물의 방출이 지연되었기 때문으로 생각된다. 그러나 45분 이후의 혈당강하효과는 sod. caprate 1.0%를 첨가한 인슐린 용액을 투여했을 때보다 현저하게

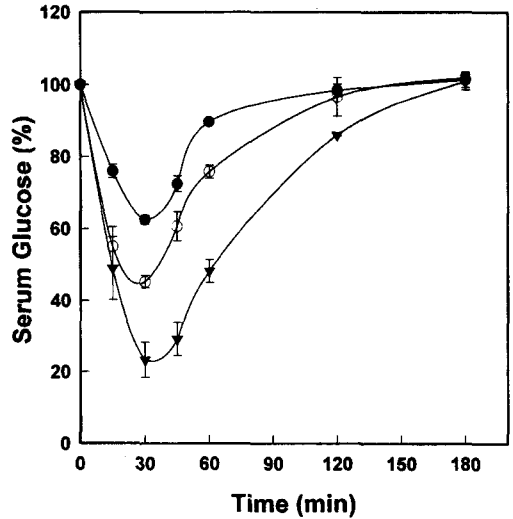


Figure 6—Effect of administration route of insulin (15 IU/kg) on the glucose decrement. Each point represents the Mean±S.E. of 3 rats. Key: (●): rectal, (○): subcutaneous, (▼): intravenous

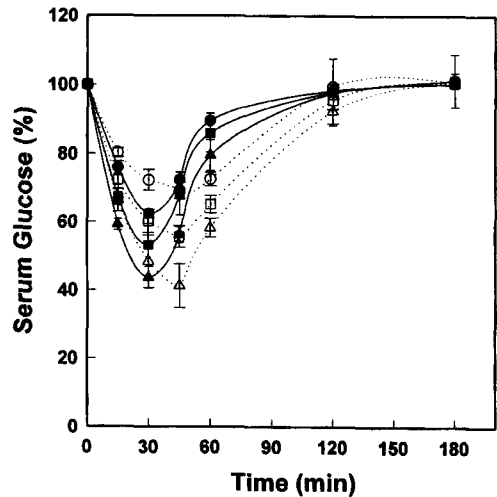


Figure 7—Decrement of serum glucose after rectal administration of insulin (15 IU/kg) solution(—) and Eudispert hv hydrogel(...) containing sod. caprate. Each point represents the Mean±S.E. of 3 rats. Key: sod. caprate 0%(●), 0.5%(■) and 1.0%(▲) in solution of insulin, and sod. caprate 0%(○), 0.5%(□) and 1.0%(△) in Eudispert hv hydrogel of insulin.

지속되어 D(%)는 인슐린용액을 투여했을 때와 비교하여 약 20% 증대효과를 나타내었고, 피하주사시에 비해 약 30%의 증대효과를 나타내었다. 이와같은 결과는 Eudispert hv 하이드로겔이 직장점막에 체류함에 따라 인슐린의 직장점막 흡수를 촉진하였기 때문인 것으로 보인다. Table II는 인슐린을 Eudispert hv 하이

Table II—Mean Area under Serum Glucose Level-Time Curve after Rectal Administration of Insulin (15 IU/kg) with Promoters in Rats.^{a)}

Dosage form	Promoters	Glucose decrement AUCs (0~3 hr) (hr · (%))	D (%) ^{b)}
Solution None	None	263.4±7.8	12.2±2.6
	Sod. caprate(0.5%)	253.5±8.5	15.5±2.8
	Sod. caprate(1.0%)	242.4±5.6	19.2±1.9
Hydrogel (Eudispert hv)	None	263.4±4.8	12.2±1.6
	Sod. caprate(0.5%)	246.3±1.7	17.9±0.6
	Sod. caprate(1.0%)	230.9±2.6	23.0±0.9

^{a)} Each value represents the Mean S.E. of 3 rats.

^{b)} Relative decrement (D%) of serum glucose levels was calculated from the following equation :

$$D(\%) = \frac{(AUC_c - AUC_s)}{AUC_c} \times 100, AUC_c = 300$$

드로겔 또는 용액으로 투여했을 때 sod. caprate 첨가 효과를 비교한 것으로 sod. caprate 0.5% 또는 1.0%를 첨가한 Eudispert hv 하이드로겔의 경우가 용액으로 투여시에 비해 혈당강하율(D%)이 훨씬 높게 나타났다.

결 론

1. 중쇄지방산염을 첨가한 인슐린 용액을 흰쥐의 직장으로 관류시 인슐린 흡수는 초기 30분 내에 신 속히 일어났으며, 중쇄지방산염 첨가에 의한 인슐린 혈당강하효과는 sod. caprate(C₁₀) ≃ sod. laurate(C₁₂) ≃ sod. caprylate(C₈) 순이었다. 특히 sod. caprate의 농도가 1.0%일 때 인슐린의 흡수 촉진 효과가 가장 큰 것으로 나타났다.

2. Eudispert hv 하이드로겔의 점도는 Eudispert hv의 함량이 증가함에 따라 증가했으며, NaOH의 첨가 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 Eudispert hv 하이드로겔로부터 인슐린의 용출 양상은 Eudispert hv 함량이 증가함에 따라 지연되었으며, NaOH의 농도가 높을수록 촉진되는 경향을 나타내었다. 따라서 최적의 점도를 나타내는 Eudispert hv의 함량은 10%, NaOH의 농도는 5~7mEq인 것으로 나타났으며, 이때 하이드로겔의 pH는 6~7로 중성을 나타내었다.

3. 인슐린 용액을 흰쥐의 직장투여 후 혈당강하율(D%)은 피하주사시에 비해 31% 낮은 것으로 나타났으나 1.0% sod. caprate를 첨가하여 흰쥐의 직장투여한 결과 피하주사시에 비해 혈당강하율이 9% 증가된 결과를 나타내었다. 또한 1.0% sod. caprate를 첨가한 10% Eudispert hv 하이드로겔로 흰쥐의 직장점막으로 투여한 결과 1.0% sod. caprate를 첨가한

인슐린 용액의 직장투여에 비해 혈당강하율이 약 20% 증가된 결과를 나타내었고, 피하주사시에 비해 약 30% 증가된 결과를 나타내었다. 따라서 sod. caprate를 첨가한 Eudispert hv 하이드로겔은 인슐린의 직장점막 투여제형으로서 매우 유용할 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 논문은 1995년 충북대학교 학술연구재단 연구비에 의하여 연구되었기에 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) J.P. Longenecker, A.C. Moses, J.S. Flier, R. D. Silver, M.C. Cary and E.J. Dubovi, Effects of sodium taurodihydrofusidate on nasal absorption of insulin in sheep, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 351-355 (1987).
- 2) A.S. Harris, E. Svensson, Z.G. Wagner, S. Lethagen and I.M. Nilsson, Effect of viscosity on particle size, deposition and clearance of nasal delivery systems containing desmopressin, *J. Pharm. Sci.*, **77**, 405-408 (1988).
- 3) T. Nishihata, C.S. Lee, M. Yamamoto, J.H. Rytting and T. Higuchi, The effect of salicylate on the rectal absorption of phenylalanine and some peptides and the effects of these peptides on the rectal absorption of cefoxitin and cefmetazole, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1326-1328 (1984).
- 4) T. Murakami, N. Yata, H. Tamauchi, J. Nakai, M. Yamazaki and A. Kamada, Studies on absorption promoters for rectal delivery preparations. I. Promoting efficacy of enamine derivatives of amino acids for the

- rectal absorption of β -lactam antibiotics in rabbits, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1998-2004 (1986).
- 5) B.J. Aungst, N.J. Rogers, and E. Shefter, Comparison of nasal, rectal, buccal, sublingual and intramuscular insulin efficacy and the effects of a bile salt absorption promoter, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **244**, 23-27 (1988).
 - 6) R.E. Jr. Stratford, L.W. Carson, D.K. Satish and V.H.L. Lee, Systemic absorption of orally administered enkephalinamide and insulin in the albino rabbit: Extent, pathway, and vehicle effects, *J. Pharm. Sci.*, **77**, 838-842 (1988).
 - 7) H. Okada, I. Yamazaki, Y. Ogawa, S. Hirai, T. Yashiki and H. Mima, Vaginal absorption of a potent luteinizing hormone-releasing hormone analog (leuprolide) in rats I: Absorption by various routes and absorption enhancement, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1357-1371 (1982).
 - 8) M.C. McMartin, L.E.F. Hutchinson, R. Hyde, and G.E. Peters, Analysis of the structural requirements for the absorption of drugs and macromolecules from the nasal cavity, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 535-540 (1987).
 - 9) R.E.Jr. Stratford and V.H.L. Lee, Aminopeptidase activity in albino rabbit extraocular tissue relative to small intestine, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 731-734 (1985).
 - 10) J.H. Lee, Hydrolysis of peptides in the nasal cavity of humans, *J. Pharm. Sci.*, **79**, 947-948 (1990).
 - 11) A. Hussain, J. Faraj, Y. Aramaki and J.E. Truelove, Hydrolysis of Leucine Enkephalin in the nasal cavity of rat-A possible factor in the low bioavailability of nasally administered peptidase, *Biochem. and Biophys. Res. Com.*, **133**, 923-928 (1985).
 - 12) R.E.Jr. Stratford and V.H.L. Lee, Aminopeptidase activity in homogenates of various absorptive mucosae in the albino rabbit, implications in peptide delivery, *Int. J. Pharm.*, **30**, 73-82 (1986).
 - 13) E. Touitou, M. Donbrow and E. Azaz, New hydrophilic vehicle enabling rectal and vaginal absorption of insulin, heparin, phenolred and gentamicin, *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**, 662-663 (1978).
 - 14) M. Shichiri, Y. Yamasaki, R. Kawamori, M. Kikuchi, N. Hakui and H. Abe, Increased intestinal absorption of insulin : an insulin suppository, *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**, 806-808 (1978).
 - 15) A. Kamada, T. Nishihata, S. Kim, M. Yamamoto and N. Yata, Study of enamine derivatives of phenylglycine as adjuvants for the rectal absorption of insulin, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2012-2019 (1981).
 - 16) S. Kim, A. Kamada, T. Higuchi and T. Nishihata, Effect of enamine derivatives on the rectal absorption of insulin in dogs and rabbits, *J. Pharm. Pharmacol.*, **35**, 100-103 (1983).
 - 17) T. Nishihata, Y. Okamura, A. Kamada, T. Higuchi, T. Yagi, R. Kawamori and M. Shichiri, Enhanced bioavailability of insulin after rectal administration with enamine as adjuvant in depancreatized dogs, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 22-26 (1985).
 - 18) B.J. Aungst and N.T. Rogers, Site dependence of absorption-promoting actions of laurth-9, Na salicylate, Na EDTA and absorption on rectal, nasal and buccal insulin delivery, *Pharm. Res.*, **5**, 305-309(1988).
 - 19) T. Nishita, J.H. Rytting, T. Higuchi and L. Caldwell, Enhanced rectal absorption of insulin and heparin in rats in the presence of non-surfactant adjuvants, *J. Pharm. Pharmacol.*, **33**, 334-335 (1981).
 - 20) H. Umejima, A. Kikuchi, N.S. Kim, T. Uchida and S. Goto, Rectal absorption of 5-fluorouracil from Eudispert hv gels in rats, *J. Pharm. Sci.*, **84**(2), 199-202 (1985).
 - 21) M. Yamazaki, S. Itoh, M. Kobayashi, S. Suzuki, T. Komatsu and K. Tanabe, The effect of fatty acids on the rectal absorption of acyclovir in rats, *J. Pharm. & Pharmacol.*, **42**(6), 441-443 (1990).
 - 22) K. Han, C. H. Cha, Y. B. Chung and J. S. Park, Effect of fatty acid salts on proteolysis of insulin in the nasal tissue homogenates of rabbits, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**, 97-104 (1992).
 - 23) K. Han, H.B. Park, J.S. Park and Y.B. Chung, Transvaginal Delivery of LHRH Using Bioadhesive Hydrogel, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **27**, 15-22 (1997).
 - 24) T. Nishihata, J.H. Rytting and T. Higuchi, Enhancement of rectal absorption of drugs by adjuvants, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 744 (1980).
 - 25) T. Nishihata, J.H. Rytting and T. Higuchi, Effects of salicylate on rectal absorption of theophylline, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 71 (1981).
 - 26) E. Hayajawa, A. Yamamoto, Y. Shoji and V. H.L. Lee, Effect of sodium glycocholate and polyoxyethylene-9-lauryl ether on the hydrolysis of varying concentration of insulin

- in the nasal homogenates of the albino rabbit, *J. Life Sciences*, **4**, 167-174 (1989).
- 27) P. Trinder, *Ann. Clin. Biochem.*, **6**, 24 (1969).
- 28) S. Hirai, T. Yashiki and H. Mima, Effect of surfactants on the nasal absorption of insulin in rats, *Int. J. Pharma.*, **9**, 165-172 (1981).
- 29) T. Nishihata, J.H. Rytting, A. Kamada, T. Higuchi and L. Caldwell, Enhancement of rectal absorption of insulin using salicylates in dogs, *J. Pharm. Pharmacol.* **35**, 148 (1983).
- 30) M. Mishima, Y. Wakita and M. Nakano, Studies on the promoting effects of medium chain fatty acid salts on the nasal absorption of insulin in rats, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **10**, 624-631 (1987).