

다시마 식이가 흰쥐에서 글리피지드의 체내동태에 미치는 영향

최한곤 · 장보현 · 이종달 · 유봉규 · 용철순[†]

영남대학교 약학대학

(2003년 5월 14일 접수 · 2003년 6월 10일 승인)

The Effect of *Laminaria japonica* Diet on the Pharmacokinetics of Glipizide in Rats

Han-Gon Choi, Bo Hyun Jang, Jong Dal Rhee, Bong-Kyu Yu and Chul Soon Yong[†]

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

(Received May 14, 2003 · Accepted June 10, 2003)

ABSTRACT—Drug interactions with food, on occasion, lead to serious nutritional and functional changes in the body as well as alternations of pharmacological effect. It, therefore, should be necessary to take drug interactions with food into consideration for effective and safe therapeutics. Diabetes mellitus is a heterogeneous group of disorders characterized by abnormal glucose homeostasis, resulting in hyperglycemia, and is associated with increased risk of microvascular, macrovascular, and neuropathic complications. However, the precise mechanism of diabetes mellitus remains unclear. Three basic objectives in the care of diabetic patients are maintaining optimal nutrition, avoiding hypo- or hyperglycemia and preventing complications. The purpose of this study was to investigate the effect of *Laminaria japonica* diet on the absorption, distribution, metabolism and excretion of glipizide which are frequently used in the treatment of diabetes. Diabetic rats induced by streptozotocin were employed in this study. Blood concentrations of oral hypoglycemic agents were measured by HPLC and resultant pharmacokinetic parameters were calculated by RSTRIP. The mechanisms of drug interaction with food were evaluated on the basis of pharmacokinetic parameters such as k_a , $t_{1/2}$, C_{max} , t_{max} , and AUC. Administration of glipizide in normal rats treated with *Laminaria japonica* diet showed significant increase in AUC, k_a , $t_{1/2}$, t_{max} and decrease in C_{max} , compared to those without *Laminaria japonica* diet. This might result from adsorption of glipizide on components of *Laminaria japonica*, causing delayed absorption. Administration of glipizide in diabetic rats treated with *Laminaria japonica* diet showed significant increase in $t_{1/2}$ and t_{max} , and decrease in C_{max} , compared to those without *Laminaria japonica* diet. This might also result from adsorption of glipizide on components of *Laminaria japonica*, causing delayed absorption and flattened blood concentration of glipizide. The oral glucose test showed that *Laminaria japonica* diet could lower blood glucose level probably through either inhibiting the activity of disaccharidases, intestinal digestive enzymes, or delaying the absorption of glucose. More studies should be followed to fully understand pharmacokinetic changes of glipizide caused by long-term *Laminaria japonica* diet.

Keywords—Glipizide, *Laminaria japonica*, Diabets, Pharmacokinetics

약물과 음식물의 상호작용은 임상적으로 중요한 영향을 나타낼 수 있으며, 이 분야에 대한 연구는 다음과 같은 이유로 지속적이고 광범위하게 수행되고 있다.¹⁾ 약물과 음식물의 상호작용에 의해 의도하였던 치료효과가 나타나지 않거나 부작용이 일어날 수 있다. 또한 약물로 인하여 영양부족상태가 유발될 수 있고, 경우에 따라 불쾌한 부작용으로 약물복용을 중단하는 일도 발생한다.²⁾ 그러므로 효과적이고 안전한 처방을 위해서는 음식물과 약물의 상호작용을 항상 신중하게 고려하면서 약물치료를 시행하여야 한다.³⁾ 외국의 경우 이러한 분야에 많은 연구가 진행되어 많은 연구결과가

보고되고 축적되었으나 한국의 경우 연구실적이 매우 미미한 실정이다.

당뇨병은 확실하게 밝혀지지 않은 기전에 의하여 생체가당을 이용하는 능력이 감퇴되어 일어나는 만성질환으로 혈중에 과도하게 존재하는 당에 의하여 다양한 합병증을 유발하는 전신질환이다.⁴⁾ 현재 전세계적으로 약 1억 5천만 정도의 당뇨병환자가 존재하며, 운동량이 줄어드는 생활습관, 에너지가 풍부한 음식의 섭취 및 비만 등의 이유로 2025년에는 이 숫자가 약 3억만 명으로 늘어날 전망이다.⁵⁾ 이러한 당뇨병에 대하여 운동, 경구용 혈당강하제, 인슐린 및 적절한 식이를 통하여 신장질환, 신경질환, 백내장 및 고혈압과 같은 당뇨병의 합병증을 효과적으로 예방할 수 있다.

한국과 일본에서만 주로 소비되는 해조류의 섭취량이 최

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 053)810-2812, E-mail : csyong@yumail.ac.kr

근 급속하게 증가하고 있다. 이러한 해조류는 식이섬유를 38% 함유하고 있으며, 그 중 1/3이 불용성, 2/3가 수용성 식이섬유에 해당한다.⁶⁾ 수용성 섬유질은 수분과 쉽게 반응하여 점도가 높은 겔을 형성하므로 포만감을 느끼게 하고, 다른 영양소의 소화나 흡수 등을 지연시켜 당뇨병환자의 당내성을 증가시킬 수 있다. 또한 수용성 식이섬유는 미세음모에 인접한 unstirred water layer의 두께를 증가시켜 포도당의 확산을 저해하여 당내성을 증가시킬 수 있다.⁷⁾ 이러한 식이섬유질은 약물복용시에는 약물의 생체이용률에 큰 영향을 미칠 수 있다.

해조류에 존재하는 다불포화지방산은 세포막의 중요한 성분이며 프로스타글란딘의 전구물질로서의 역할을 하는 중요한 물질이다. 그러나 인슐린 의존성 당뇨병환자에서는 인슐린 결핍으로 이들 다불포화지방산의 대사장애가 나타나 만성 합병증 유발과 깊은 관련을 나타낸다.⁸⁾ 그 외에도 해조류에 존재하는 비타민 A를 비롯한 비타민과 칼슘이나 철 등은 무기질의 공급원으로 매우 중요하다. 그러므로 당뇨병 치료의 극대화를 위한 기본적인 자료로 활용하기 위하여 약물영양소 상호작용, 특히 한국인이 독특하게 섭취하고 있으며 최근 양질의 식품으로 많은 관심을 끌고 있는 해조류중 다시마와 경구용 혈당강화제와의 상호작용에 대한 깊은 이해가 필요하다.⁹⁾

약물자체에 의한 부작용과 영양소와의 상호작용에 의한 부작용이 당뇨병환자에서 일어나기 쉽고, 그 결과 약물중독이 발생하는 경우가 많다. 따라서 당뇨병 환자, 특히 합병증을 동반하고 있는 노인의 약물요법에서는 이러한 부작용을 방지하는 것이 최대의 과제다. 즉 이러한 약물을 장기간 투여시 효과적이고 안전한 처방을 위해서는 음식물과 약물의 상호작용이 신중히 고려되어야 한다. 이를 위해서는 식이조건이 약물의 체내동태에 미치는 영향과 그에 따른 부작용의 발현에 대한 연구가 필요하다.¹⁰⁻¹²⁾ 신체적 변화에 깊게 관련된 식이섭취와의 관계를 체계적으로 검토하여, 당뇨병 치료시 최소한의 부작용과 최대한의 약물효과를 얻기 위한 최적의 식이요법으로 삶의 질을 높일 수 있는 기본적인 자료 구축을 위한 연구가 필요하다.

일본이나 미국과 유럽 등의 선진국과 마찬가지로 급격한 경제성장과 더불어 생활환경이 개선되고 양질의 영양공급을 받을 수 있는 문명생활권에 접한 한국인의 평균수명이 연장됨에 따라 점차 고령화사회로 진입하고 있다. 그러나 이로 인한 성인병의 문제점이 점차 사회 문제로 지적되고 있으며, 복지국가의 개념이 점차 현실적으로 도입되어 삶의 질을 생각하는 단계로 이행되고 있는 시점에 있다. 만성적인 질환 중 특히 노인에게서 유병률이 높은 당뇨병을 효과적으로 치

료하기 위해서는 투여되는 다양한 약물과 음식물간의 상호작용에 기인하는 문제점을 규명하여 약물치료 효과를 극대화하기 위한 시도가 절실히 필요하다.¹³⁾ 최근 한국인이 독특하게 섭취하고 있는 해조류에 대한 관심이 높아지고 있으므로, 이러한 음식이 당뇨병에 사용되는 약물의 흡수, 분포, 대사, 세포내 이입 및 배설 등에 어떠한 영향을 미치는가를 규명하는 것이 필요하다.¹⁴⁾

본 연구는 다시마를 함유한 식이를 흰쥐에 투여한 후 당뇨병 치료에 빈용되는 글리피지드¹⁵⁾의 체내에서의 흡수, 분포, 대사 및 배설에 대한 소견을 얻는 것을 그 목적으로 하였으며, 설폰닐우레아계인 글리피지드는 인슐린 분비를 촉진시켜 혈당강화작용을 나타낸다.¹⁶⁾ 해조류를 함유한 식이조건에서 사육된 흰쥐를 대상으로 글리피지드를 투여한 후 약물농도-시간의 관계로부터 약물 동태학적 파라미터를 구하였다.¹⁷⁾ 실험에서 구한 다양한 약물동태학적 파라미터를 근거로 상호작용이 일어나는 기전을 예측하여 차후 당뇨에 투여되는 약물에 적합한 식이를 개발하는 자료로 활용할 수 있을 것이다.¹⁸⁾ 또한 streptozotocin¹⁹⁾을 투여하여 당뇨병 모델 실험동물을 만들어 동일한 과정으로 실험한 결과와 비교 분석하여 식사력 (dietary history)과 약물체내동태학적 변화와의 상관관계를 규명하고자 하였다.

이러한 결과들은 차후 임상연구에 적용하여 만성적 당뇨병 치료시 약물요법과 더불어 최대의 치료효과를 얻을 수 있는 적절한 식사처방에 관한 구체적인 자료로 활용될 수 있을 것이다.

이러한 식사처방을 약물요법과 함께 병행해 최적의 약물복용방법을 확립하고 부작용을 최소화시킬 수 있어 의료비 절감의 부차적인 효과와 더불어 당뇨병 환자, 특히 당뇨병 노인 환자들의 삶의 질을 높이는 데 기여할 수 있을 것이다.

실험방법

시약 및 기기

본 실험에 사용한 약물인 글리피지드 (Mw=445.55) 및 streptozotocin은 Sigma사에서 구입하였다. 시약인 헤파린은 중외제약(한국), 에테르, 에탄올, sodium phosphate (monobasic), sodium phosphate (dibasic)는 Duksan Pure Chemicals Co. Ltd.사로 부터 구입하였고, 메탄올, 아세토니트릴은 Merck사로부터 구입하였으며, Glucose-E kit 시약은 영동제약(주) 것을 구입하였다. 이외의 모든 시약은 특급 혹은 일급을 사용하였고, 실험에 사용한 모든 완충액은 3차증류수를 사용하여 제조하였다. 본 연구 수행에 이용된 주요 기기와 기구로는 high performance liquid chromatography (Jasco,

Japan), magnetic stirrer (Corning, USA), sonicator (Branson, USA), aspirator (Eyela, Japan), Eppendorf centrifugifier (Centrifuge 5415 C, Germany), shaking water bath (KMC-1205SW1, Vision Co., Korea), pH meter (Orion Research Inc., USA) 및 ultra-pure water system (Millipore, USA) 을 사용하였다.

실험 동물

실험에 사용한 동물은 국립독성연구소에서 구입하였고, 본 대학 동물사의 환경은 오전 7시에 점등되고 오후 7시에 소등하여 12시간 명암주기가 되도록 조절하였으며, 실내온도가 $22\pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도는 $55\pm 5\%$ 로 유지시켰다. 건강한 웅성 S.D.계 흰쥐 (3-4 주령, 체중 150 g 정도)를 무작위로 diet (Table I. 다시마 급여군) 군과 control (Table I. 다시마 비급여군)군으로 분류하여 21일 동안 사육한 다음 사용하였다. 당뇨병 모델 동물은 0.05 M citrate buffer (pH 4.5)에 녹인 streptozotocin (45 mg/kg body weight)을 5분간 대퇴부로 투여하여 7일 경과 후 혈당이 300 mg/100 ml 이상인 것을 사용하였다. 실험에 사용한 식이의 처방은 Table I과 같다.

글리피지드의 HPLC 정량법

혈중 글리피지드의 농도는 다음과 같은 HPLC방법을 사용하여 정량하였으며, HPLC 조건은 다음과 같다.^{20,21)} 고정상으로 C₁₈ column (Crestpak C18S 4.6×150 mm, 5 μm particle size), 이동상으로 acetonitrile/phosphate buffer (0.01 M, pH 7.0)=25/75(v/v%)를 사용하였으며, 20 μl-loop를 사용하여 시료를 주입하였고, flow rate는 1.0 ml/min이었으며, 275 nm에서 검출하였다. 정량한도는 signal to noise ratio를 3으로 하여 구하였다. 검량선 작성을 위한 시료의 처리는 다음과 같다. 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10 및 20 μg/ml농도의 글리피

지드 50 μl를 E-tube에 가한 다음 질소가스로 증발 건조시켰다. E-tube에 혈장 50 μl를 가하여, 충분히 진탕한 다음, 내부 표준물질로 benzenesulfonamide를 50 μl (200 μg/ml in methanol) 가하였다. 충분히 혼합한 E-tube에 dichloromethane 1.0 ml를 가하여, 충분히 진탕하여, 글리피지드와 benzenesulfonamide를 추출하였다. 유기용매층을 분리하여 질소가스로 증발 건조시킨 다음 E-tube에 이동상 50 μl를 가하여 진탕한 후 HPLC로 정량하였다. 담즙과 요중의 글리피지드를 정량하기 위하여 원심분리 (12,000 rpm, 5 min) 후 적절히 희석시킨 다음 혈액에서와 동일한 조건에서 HPLC로 정량하였다.

약물동태학적 연구

투여할 약물의 용량은 선행 약물동태를 따르는 상용량을 기준으로하여 8 mg/kg body weight^{22,23)} 경구로 투여하였다. 경구투여시 실험전 하루동안 물만 공급하며 절식하였다. 다시마가 약물의 흡수, 분포, 대사 및 배설에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 다시마 급여군을 글리피지드와 다시마 식이(4.0 g/kg body weight) 동시투여군, 다시마 식이(4.0 g/kg body weight)투여 2시간 후 약물투여군으로 나누어 사용하였다. 실험전 각각 다른 군의 흰쥐 (n=8)를 에테르로 가볍게 마취한 다음 polyethylene tubing(PE-50, Clay Adams, Parsippany, NJ, USA)을 사용하여 대퇴부에 삽관하였다. 약물투여 후 1, 2, 3, 5, 7, 9, 12, 15 및 20시간에서 약 120 μl를 대퇴부 동맥에 삽입한 cannula를 통해 채혈하였고, 관속에 남아있는 혈액은 10 unit/ml 헤파린을 함유한 증류수를 사용하여 흰쥐의 체내로 이입시켰으며 손실된 혈액을 보상하기 위하여 정맥으로 약 200 μl 생리식염수를 주입하였다. 채취한 혈액은 즉시 12,000 rpm/min에서 2분간 원심분리한 다음 혈장 50 μl를 E-tube에 취하여 -20°C 에서 냉동 보관하였다.

글리피지드를 경구로 투여한 후의 혈장 농도 추이를 비선형 최소자승 회귀분석 프로그램인 RSTRIP²⁴⁾으로 stripping하여 초기 값을 구한 다음, 가중치를 0 (혈장중 약물농도 0승의 역수)²⁵⁾으로 두어 피팅하였고, 피팅의 적합도는 Akaike²⁶⁾의 정보량기준치(AIC)에 따라 결정하였다. 약물동태학의 주요 파라미터인 k_a , $t_{1/2}$, t_{max} , C_{max} , AUC 등을 다음과 같이 구하여, 글리피지드와 다시마 식이의 상호작용 기전을 평가하였다. 시간 0으로부터 무한대까지의 혈장농도-시간 곡선하 면적 (AUC)을 trapezoidal rule extrapolation방법으로 구하였으며,²⁷⁾ 마지막 데이터로부터 무한대까지의 면적은 마지막 농도를 소실속도 상수로 나누어 구하였다. 모든 측정치와 계산치는 산술평균±표준편차 (S.D.)로 표시하였으며 실험결과

Table I—Components of Diets

Component	Normal diet(g)	<i>L. japonica</i> diet(g)
Casein	20.0	20.0
DL-Methionine	0.3	0.3
Cornstarch	15.0	15.0
Sucrose	40.0	40.0
Corn oil	5.0	5.0
Lard	10.0	10.0
α-Cellulose	5.0	—
<i>Laminaria japonica</i>	—	15.0
Mineral mixture	3.5	3.5
Vitamin mixture	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.1	0.1

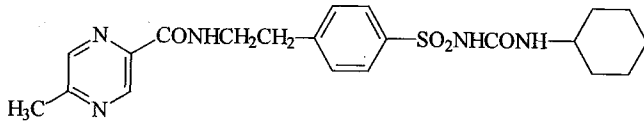


Figure 1-The structure of glipizide.

의 유의성 검증은 Student's *t*-test를 사용하여 평가하였으며,²⁸⁾ 유의성 있는 차이는 $p < 0.05$ 로 판단하였다.

담즙배설 실험

흰쥐의 복부를 절개한 후 담관을 polyethylene tubing (PE-10, Clay Adams)으로 삽관하였다. 복부를 수술하여 덮은 후 체온을 따뜻하게 유지시켰다. 대퇴부 정맥으로 글리피지드를 투여한 후 담즙을 cannula를 통하여 채취하여 30분 간격으로 150분까지 시료를 얻었으며, 담즙액을 12,000 rpm에서 5분간 원심분리한 상등액을 정량하기 전까지 -70°C 에서 냉동 보관하였다.

소변배설 실험

흰쥐에 대퇴부 정맥을 통하여 글리피지드를 주입한 후 metabolic cage에 넣고 소변 시료를 채취하였다. Metabolic cage를 증류수로 세척하여 배설된 약물을 회수하며, 방광을 절개하여 잔뇨를 채취하여 함께 정량하였다. 채취한 시료를 12,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액을 정량할 때까지 -70°C 에서 냉동 보관하였다.

혈장단백결합 실험

글리피지드의 혈장단백과의 결합 정도를 각 군의 흰쥐로부터 모은 혈장과 평형투석방법을 사용하여 측정하였다. 1 ml의 혈장을 volume shift를 방지하기 위해 3% 텍스트란을 함유한 isotonic pH 7.4 phosphate buffer 1 ml에 대하여 투석하였다. Dialysis cell의 부피는 1 ml이며, Spectra/Por membrane 2 (mol wt cutoff 12,000-14,000, Spectrum Medical, LA, CA)를 사용하였다. 평형에 도달하는 시간을 단축시키기 위해 약물을 혈장을 함유한 compartment에 가하였으며, 약물을 첨가한 dialysis cell을 24시간 동안 50 rpm, 37°C 로 유지된 water-bath shaker에서 incubation시켰다.

다시마 성분이 경구 당내성에 미치는 영향

정상 흰쥐를 경구 당내성 실험 실시 16 시간 전 절식을 시킨 후, 증류수 투여군 (control), 글리피지드 투여군, 다시마 성분 투여군으로 분류하여 각 식이 및 글리피지드를 투여하였다. 30분 후 feeding syringe²⁹⁾를 통하여 포도당 (3 g/kg)을 경구로 투여하였다. 혈액은 글리피지드를 투여하기

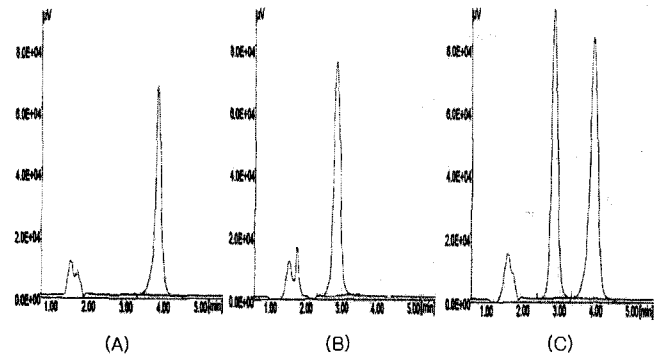


Figure 2-HPLC chromatogram of glipizide (A) plasma spiked with glipizide, (B) plasma spiked with internal standard, (C) 40-minute plasma sample spiked with internal standard after oral administration of glipizide (8 mg/kg) to rats.

30 분전, 포도당을 경구로 투여하기 직전, 투여한 후 30, 60, 90, 120 및 150분 후 흰쥐 꼬리정맥에서 채취하였으며, 혈중 포도당 함량은 Thomson 등의 방법에 따라 조제된 kit 시액을 이용하여 측정하였다.³⁰⁾ 흰쥐에 streptozotocin을 투여하여 당뇨병 모델을 만든 다음 정상 흰쥐에서와 동일한 과정에 따라 경구 당내성 실험을 수행하였다.

다시마 식이가 체중 변화에 미치는 영향

각 흰쥐의 체중변화를 관찰하기 위하여 3 주 동안 체중을 측정하였다.

실험 결과

글리피지드의 검량선

Figure 2는 혈장내 글리피지드와 내부표준물질인 benzenesulfonamide의 HPLC 분석에 의한 크로마토그램을 나타낸다. 글리피지드의 retention time은 약 4.01분이었고, 내부표준물질인 benzenesulfonamide의 retention time은 약 2.92분이었으며, 혈장 성분과의 간섭현상이 없었다. Blank는 처치하지 않은 흰쥐의 혈장에 글리피지드와 benzenesulfonamide를 가하여 만들었다. 전술한 동일한 방법으로 추출한 다음 각각의 시료 20 μl 를 주입하여 크로마토그램을 얻었다. 이러한 방법을 7 개의 시료에 대해 반복하였으며, 평균회수율은 85%이었고, 정량한도는 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 전술한 방법의 precision을 측정하기 위하여 동일한 aliquots를 사용하였으며, relative standard deviation이 3.5%로 재현성이 있는 것으로 나타났다. 정량방법의 linearity를 결정하기 위하여 글리피지드의 농도가 0.1-20 $\mu\text{g/ml}$ 인 7개의 표준시료를 사용하였으며, 이러한 방법으로 작성된 검량선의 식은, 피크의 넓이비 = $0.0875 \times \text{농도} + 0.0092$ 였으며, r^2 은 0.9999이었다. 이러한 농

도범위에서, 일내변동계수 (C.V. %)는 9.2% 이하, 일간변동계수는 8.7% 이하이었다. 담즙에서의 글리피지드의 정량한도는 0.1 µg/ml이었으며, 정량방법의 linearity를 결정하기 위하여 글리피지드의 농도가 2-100 µg/ml인 6개의 표준시료를 사용하였으며, 이러한 방법으로 작성된 검량선의 식은 피크의 넓이비=69602×농도-90562, r=0.9996이었다. 요중에서의 정량한도는 0.1 µg/ml이었으며, 정량방법의 linearity를 결정하기 위하여 글리피지드의 농도가 2-200 µg/ml인 7개의 표준시료를 사용하였으며, 이러한 방법으로 작성된 검량선의 식은 피크의 넓이비=62039×농도-91815, r=0.9998이었다. 요 및 담즙에 대한 글리피지드의 정량결과는 모두 혈장에 대한 정량결과의 실험 오차범위 내에 존재하였으며, 본 정량방법이 글리피지드의 흰쥐에서의 체내동태 연구에 적합한 것으로 사료되었다.

약물 동태 및 동력에 미치는 영향

정상 흰쥐를 다시마 식이와 글리피지드 (8 mg/kg) 동시 투여군, 다시마 식이 투여 2시간 후 글리피지드 투여군, 정상식이와 글리피지드 동시 투여군으로 나누어 실험하여 얻은 혈중 글리피지드 농도 추이를 Figure 3에 나타내었다.

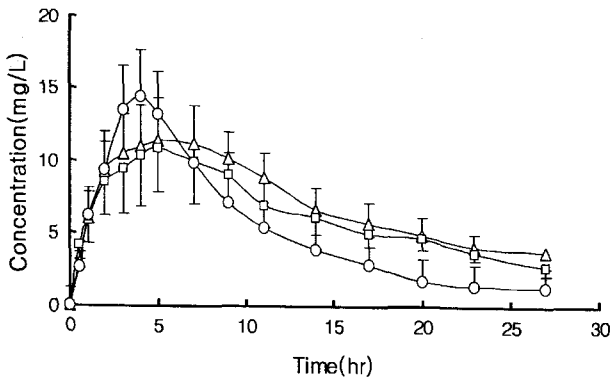


Figure 3—Concentration-time profiles of glipizide in normal rats (○); Normal diet, (△); Coadministration with *Laminaria japonica* diet, (□); Administration of glipizide 2 hours after *Laminaria japonica* diet.

Figure 3에 나타난 실험 성적으로부터 약물동태학적 파라미터를 구한 결과를 Table II에 나타내었다. 다시마 식이를 투여한 경우 정상식이군에 비하여 AUC가 유의성 있게 증가하였으며, t_{max} 길어지고, k_a 는 작아지며, C_{max} 는 낮아져 다시마 식이에 의하여 약물이 서서히 흡수되는 양상을 나타내었다. 이러한 결과는 다시마의 식이섬유가 글리피지드를 흡착하여 흡수를 지연시키거나 위내용물 배출시간을 연장하는 것으로 사료된다. 또한 다시마 식이 투여 2시간 후 글리피지드를 투여한 군과 약물과 다시마 식이를 동시에 투여한 군간에 유사한 체내동태를 나타낸 것은 다시마 식이군에 포함된 다량의 식이 섬유질에 의하여 위내용물 배출시간이 지연되어 다시마 식이와 약물을 동시에 투여한 경우와 유사한 약물동태학적 파라미터를 나타낸 것으로 사료된다. Figure 4는 streptozotocin으로 유도한 당뇨모델 흰쥐를 사용하여 다시마 식이와 글리피지드 (8 mg/kg) 동시 투여군, 다시마 식이 투여 2시간 후 글리피지드 투여군, 정상식이와 글리피지드 동시 투여군으로 나누어 실험하여 얻은 혈중 글리피지드 농도 추이이며, 약물동태학적 파라미터를 구한 결과는 Table III에 나타내었다. 정상식이를 투여한 경우 다시마 식이군에 비하

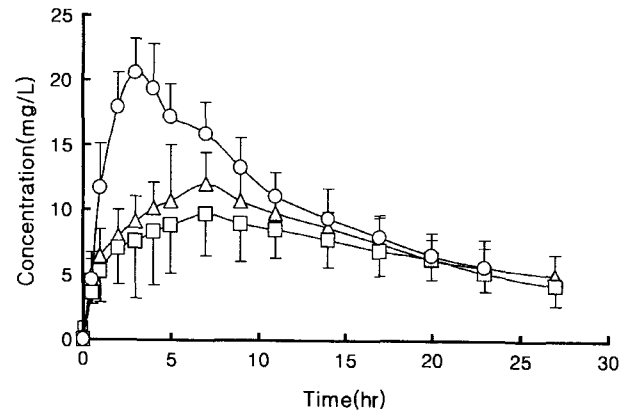


Figure 4—Concentration-time profiles of glipizide in diabetic rats (○); Normal diet, (△); Coadministration with *Laminaria japonica* diet, (□); Administration of glipizide 2 hours after *Laminaria japonica* diet.

Table II—Pharmacokinetic Parameters of Glipizide in Normal Rats

Group (n=8)	k_a (hr ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (µg · ml ⁻¹)	t_{max} (hr)	AUC (µg · h · ml ⁻¹)
A	0.47±0.288	10.71±3.52	11.39±3.15	4.85±1.06	240.74±31.32
B	0.57±0.350	10.69±2.51	10.46±4.01	4.30±1.05	213.32±26.66
C	0.37±0.104	3.45±1.12	12.76±2.56	3.97±1.02	141.09±21.71

A: Coadministration with *Laminaria japonica* diet
 B: Administration of glipizide 2 hours after *Laminaria japonica* diet
 C: Coadministration with normal diet
 Data: Mean±S.D.

Table III—Pharmacokinetic Parameters of Glipizide in Diabetes Rats

Group (n=8)	k_a (hr ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μg · ml ⁻¹)	t_{max} (hr)	AUC (μg · h · ml ⁻¹)
A	0.52±0.244	17.15±3.31	11.18±4.21	5.32±1.56	343.02±40.10
B	0.53±0.224	20.32±2.10	9.33±3.76	5.55±2.10	330.35±42.19
C	0.69±0.184	9.22±3.10	19.92±4.75	3.59±1.78	347.21±42.66

A: Administration of glipizide 2 hours after *Laminaria japonica* diet
 B: Coadministration with *Laminaria japonica* diet
 C: Normal diet
 Data: Mean±S.D.

여 AUC가 약간 증가하였으나 통계학적으로 유의성 있는 결과는 아니었다. 반면 정상 흰쥐에서의 체내동태와 유사하게 다시마식이를 투여할 경우 t_{max} 는 연장되고, k_a 는 작아지고, C_{max} 는 낮아졌으며, 이러한 현상은 다시마 식이에 의하여 약물이 서서히 흡수되고 서서히 소실되어 전체적인 혈중농도-시간 profile이 편편해지는 양상을 나타내었다. 실험한 모든 군에서 글리피지드가 대사되지 않고 담즙으로 분비되는 약물은 다시마 식이 투여군과 비투여군 간에서 검출되지 않았다. 이러한 결과는 글리피지드가 주로 대사된 후 뇨로 배설된다는 보고와 일치하였다.³¹⁾

다시마를 투여하지 않은 흰쥐와 다시마를 투여한 흰쥐의 혈당을 채취하여 글리피지드의 단백결합시험 결과 정상식이 투여군에서는 96.7±1.9%, 다시마 식이군에서는 97.1±2.3%의 높은 결합율을 나타내었으며, 두 군간의 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다. 다시마 식이의 장기간 투여에 의해 글리피지드의 혈장단백결합에 유의성 있는 변화가 일어나지는 않는 것으로 사료되었다.

다시마 식이가 경구 당내성 실험 및 체중변화에 미치는 영향

Figure 5에서 보듯이 절식시킨 정상 흰쥐의 혈당치는 약 80 mg/dL를 나타냈으며, 경구로 대조군에 glucose를 투여할 경우 혈당치가 250 mg/dL로 상승하였다가 약 90분 내에 원래의 혈당치로 환원되었다. 반면 글리피지드 투여 후 30분 후 경구 당내성 실험시 혈당치는 약 170 mg/dL 정도 상승하였다가 약 60분 후 정상 혈당치로 하강하였다. 다시마 성분 투여군에서의 경구 당내성 실험 결과 대조군에 비하여 약간 낮은 혈당치를 나타냈으나 유의성 있는 차이를 나타내지는 않았다. Figure 6은 streptozotocin으로 유도된 당뇨모델 흰쥐에서의 경구 당내성 실험 결과를 나타내었다. 대조군에서의 초기 혈당치는 약 450 mg/dL였으며, 경구로 glucose 투여시 650 mg/dL로 상승된 후 일정하게 유지되었다. 글리피지드를 투여한 군에서는 초기 혈당치가 약 400 mg/dL였으며 경구 당내성 실험시 600 mg/dL로 상승하였다가 약 60

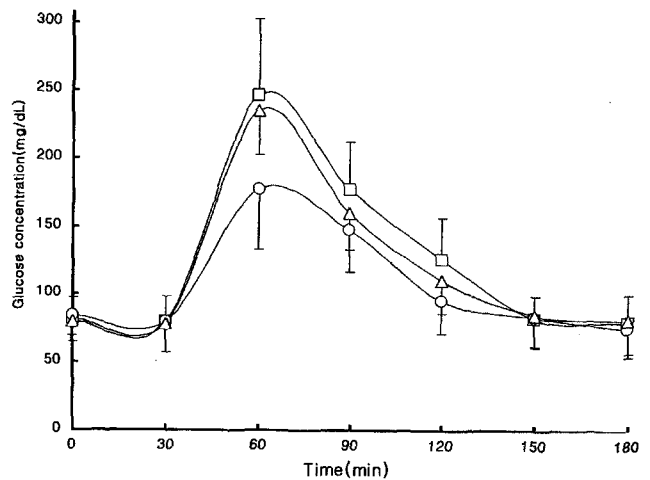


Figure 5—The oral glucose tolerance test in normal rats using *Laminaria japonica* diet, (Δ); *Laminaria japonica* diet, (○); Glipizide, (□); Control.

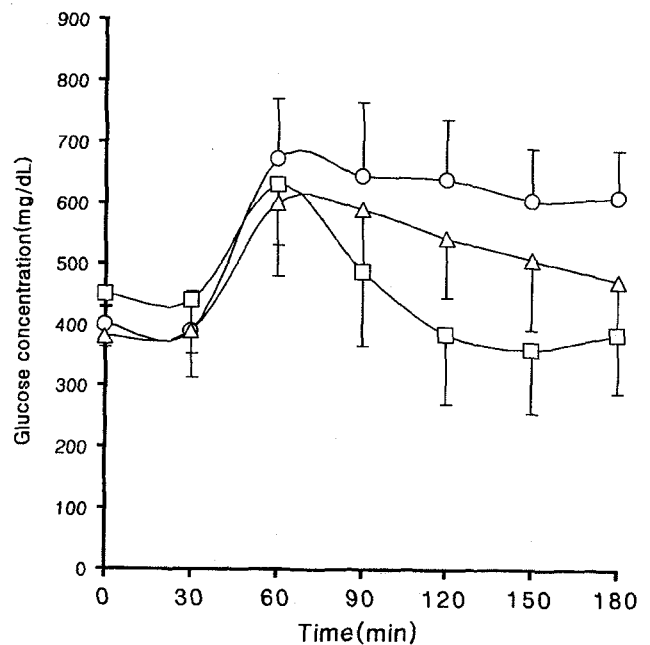


Figure 6—The oral glucose tolerance test in streptozotocin-diabetic rats using *Laminaria japonica* diet, (Δ); *Laminaria japonica* diet, (○); Glipizide, (□); Control.

분 후 다시 400 mg/dL 정도로 하강하였다. 다시마 성분 투여군에서의 경구 당내성 실험 결과 대조군에 비하여 낮은 혈당치를 나타내었으며, 서서히 감소하는 경향을 나타내었다.

이러한 결과는 위장관 내에서의 전분의 소화와 흡수에 다시마에 다량 함유된 점도가 높은 수용성 섬유질이 일종의 물리적 장벽으로 작용하며, 식후 혈중 포도당 농도를 편편하게 유지시키고, 장기간 섭취할 경우 당내성을 현저히 저하시킬 수 있는 것으로 사료된다.³²⁾ Schneeman³³⁾은 guar gum과 같이 점도가 높은 섬유질이 위배출시간을 연장시키거나 소장의 소화효소와 상호작용을 일으켜 소장에서의 당질의 흡수를 지연시킨다고 보고하였다. 즉, 소장의 brush border에 존재하는 disaccharidases는 이당류를 단당류로 가수분해시켜 흡수를 촉진시킬 수 있으며,³⁴⁾ 섬유질을 함유한 식이를 섭취한 흰쥐에서 혈당강하작용이 나타나는 것은 바로 소장의 disaccharidases 활성이 감소한 것으로 사료된다.^{35,36)} 그러므로 다시마 식이 투여군에서 혈당강하 작용이 나타날 수 있는 것은 물리적으로 섬유질이 효소에 흡착되거나 또는 효소의 기질이 효소에 접근하는 것을 저해하여 활성이 저하되고, 이것이 결과적으로 포도당의 흡수를 감소시켜 당뇨병 동물에 고혈당증에 내성을 나타낼 수 있는 것으로 사료된다. 또한 불용성 섬유질을 다량 함유한 다시마 식이는 소장에서 불용성의 매트릭스를 형성하여 포도당의 흡수를 저하시킬 수 있을 것으로 사료된다.³⁵⁾

전술한 실험결과와 현재까지의 다양한 보고에 의하면, 불용성 섬유질의 당뇨병에 미치는 영향의 기전이 확실하게 규명되지는 않았으나, glycemic index 가 낮은 식품은 위장관에서의 탄수화물의 흡수속도를 감소시키는 것으로 생각되며, 특히 식후 혈중 포도당 농도를 유의성 있게 저하시키는 것으로 사료된다. 불용성 섬유질을 다량 함유하여 “slow-release” 혹은 “lente” 탄수화물로 분류될 수 있는 음식물의 섭취는 당뇨 및 관상동맥성 질환의 치료 및 예방에 매우 중요한 역할을 할 것이다.³⁷⁾ Figure 7은 다시마 식이가 정상 흰쥐 및 당뇨병 흰쥐의 체중 변화에 미치는 영향을 나타내었으며, 정상 흰쥐에서 다시마식이 투여군과 정상식이 투여군간의 체중변화는 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 당뇨 흰쥐군중 경구용 혈당강하제를 투여하지 않은 군은 다시마 식이에 의하여 체중이 유의성 있게 증가하지 않았으나, 경구용 혈당강하제를 다시마 식이, 또는 정상식이와 동시에 투여할 경우 체중이 유의성 있게 증가하였다. 이것은 다시마 식이가 글리피지드와 동시에 투여될 경우 혈중 포도당 농도 조절에 효과적으로 작용할 수 있기 때문으로 사료되며, 이러한 결과는 당뇨병 치료에 필요한 식이조절에 대한 심도 있는 연구의 기본자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

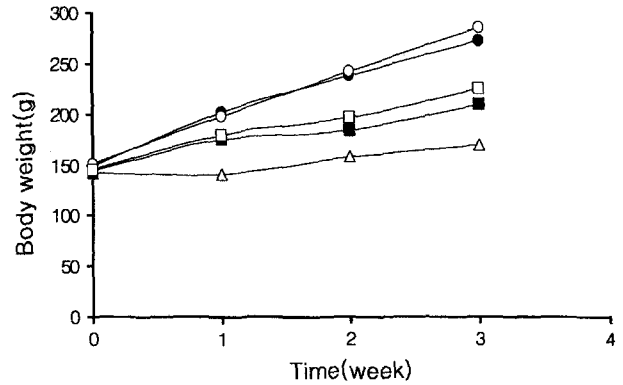


Figure 7-The effect of *Laminaria japonica* diet on body weight change in rats, (●); Normal rat with normal diet, (○); Normal rat with *Laminaria japonica* diet, (△); Diabetic rat with *Laminaria japonica* diet, (□); Diabetic rat with normal diet and glipizide, (■); Diabetic rat with *Laminaria japonica* diet and glipizide.

결 론

해조류가 당뇨병치료 약물의 체내동태에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 당뇨병 치료에 자주 사용되는 설포닐우레아계인 글리피지드를 선택하였다. 본 실험에서는 흰쥐를 특수한 식이조건하에서 사육하여 사용하였으며, 약물의 체내동태학적 해석은 약물동태학적 파라메타를 이용하여 규명하였다. 정상 흰쥐에 글리피지드를 투여할 경우 다시마식이 투여군은 비교군에 비하여 AUC, t_{1/2}, 및 t_{max}가 증가하였고 C_{max}는 감소하였다. 또한 당뇨병 흰쥐에 글리피지드를 투여할 경우 다시마식이 투여군은 비교군에 비하여 t_{1/2} 및 t_{max}가 증가하였고 C_{max}는 감소하였다. 이러한 결과는 다시마가 글리피지드를 흡착하여 흡수를 지연시키고 서서히 약물을 소실시키며, 다시마의 불용성 및 수용성 섬유가 위내용배출 시간에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 다시마 식이 투여시 글리피지드의 대사, 배설 및 단백결합에는 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 경구 혈당 내성 실험 결과 다시마 식이 투여군이 정상식이 투여군에 비하여 혈중 포도당 농도를 낮출 수 있었으며, 이것은 다시마 식이 성분이 포도당 흡수를 저해하거나 disaccharidases의 활성을 저해하는 것으로 사료된다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 글리피지드의 투여와 병행한 장기간의 다시마 식이 투여에 의한 약물의 체내동태 이외에도, 면역반응 인슐린측정을 병행하여 지속적인 다시마 식이 투여시의 저혈당작용기전에 대한 깊은 연구가 필요하다고 생각된다.

문 헌

- 1) D.A. Roe, Therapeutic significance of drug-nutrient interac-

- tion in the elderly, *Pharmacol. Rev.*, **36**, 109s-121s (1984).
- 2) I. Torsdottir, M. Alpsten, G. Holm, A.S. Sandberg and J. Tolli, A small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and emptying in humans with diabetes, *J. Nutr.*, **121**, 795-798 (1991).
 - 3) P.P. Lamy, Effects of diet and nutrition on drug therapy, *J. Am. Geriatr. Soc.*, **30**, 99s-111s (1982).
 - 4) R.E. Notari; *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*; Marcel Dekker, New York, 1987.
 - 5) H. King, R.E. Aubert, W.H. Herman, Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections, *Diabetes Care*, **21**, 1414-1431 (1998).
 - 6) 박정난, 식이섬유질의 종류와 함량이 장의 기능과 형태에 미치는 영향, *한양대학교 대학원 석사학위 논문*, 1992.
 - 7) B. Flourie, N. Vidon, C.H. Florent and J.J. Bernier, Effect of pectin on jejunal glucose absorption and unstuffed layer thickness in normal man, *Gut*, **25**, 936-939 (1984).
 - 8) K.W. Woodhouse and O.F.W. James, Hepatic drug metabolism and aging, *Br. Med. Bulletin*, **46**, 22-35 (1990).
 - 9) R.M. Wayne, Metformin: an antihyperglycemic agent for treatment of type diabetes, *Ann. Pharmacother.*, **30**, 158-64 (1996).
 - 10) W.J. MacLennan, The aging society, *Br. J. Hospital Med.*, **39**, 112-120 (1988).
 - 11) A. Melander, K. Danielson, B. Schesten and E. Wahlin, Enhancement of the bioavailability of propranolol and metoprolol by food, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **22**, 108-112 (1977).
 - 12) L. Z. Benet, N. Massoud and J. G. Gambertoglio, *Pharmacokinetic Basis for Drug Treatment*, Raven press, New York, 1983.
 - 13) M. Gibaldi and D. Perrier, *Pharmacokinetics*, 2nd ed., Marcel Dekker, New York, 1982.
 - 14) N. Paul, Transfer of metformin across monolayers of human intestinal caco-2 cells and across rat intestine, *Int. J. Pharm.*, **128**, 155-62 (1996).
 - 15) Y. Min, L.S. Guang, Q.Y. Zhi, Y.X. Yong, Pharmacokinetics and bioavailability of glipizide tablets in healthy volunteers, *Zhong Guo Yao Xue Zha Zhi*(中國藥學雜誌), **30**, 218-221 (1995).
 - 16) L.C. Groop, Sulphonylureas in NIDDM, *Diabetes Care*, **15**, 737-754 (1992).
 - 17) M.L. Chen, G. Lam, M.G. Lee, and W.L. Chiou, Arterial and venous blood sampling in pharmacokinetic study: Griseofulvin, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1386-1389 (1982).
 - 18) W.L. Chiou, C.Y. Lui, and G. Lam, Plasma area method in relative bioavailability evaluation of drugs with changing biological half-lives, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 109-112 (1981).
 - 19) N. Takasu, M. Komatsu, T. Aizawa, Y. Nagasawa and T. Yamada, Alloxan-induced DNA strand breaks in pancreatic islets. Evidence for H₂O₂ as an intermediate, *J. Biol. Chem.*, **266**, 2112-2114 (1991).
 - 20) X.R. Qing, X.Z. Lin, Determination of glipizide in human plasma by RP-HPLC, *Zhong Guo Yi Yuan Yao Xue Zha Zhi* (中國醫院藥學雜誌), **14**, 451-452 (1994).
 - 21) E. Wahlin-Boll and A. Melander, High-performance liquid chromatographic determination of glipizide and some other sulfonylurea drugs in serum, *J. Chromatogr.*, **164**, 541-546 (1979).
 - 22) Q.C. Chen and C.Q. Yang, Pharmacokinetics and bioavailability of glipizide, *Yao Xue Xue Bao*, **30**, 476-80 (1995).
 - 23) X.R. Qing, D.S. Shan, Pharmacokinetics and relative bioavailability of glipizide tablets and capsules in healthy volunteers, *Zhong Guo Yao Xue Za Zhi*, **30**, 353-355 (1995).
 - 24) M.L. Ramson, *RSTRIP-polyexponential Curve Stripping/least Square Parameter Estimation, User Handbook*, Micromath. Inc., Salt Lake City, Utha, 1987.
 - 25) H.G. Boxenbaum, S. Riegelman and R.M. Elashoff, Statistical estimation in pharmacokinetics, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **2**, 123-148 (1974).
 - 26) K. Yamaoka, T. Nakagawa, and T. Uno, Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **6**, 165-175 (1978).
 - 27) R.D. Purves, Optimum numerical integration methods for estimation of area under the curve(AUC) and area under the moment curve (AUMC), *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **20**, 211-216 (1992).
 - 28) W.L. Chiou, New calculation method for mean apparent drug volume of distribution and application to rational dosage regimen, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1068-1069 (1979).
 - 29) F.M. Al-awadi, M.A. Khatat and A. Gumaa, On the mechanism of the hypoglycemic effect of a plant extract, *Diabetologia*, **28**, 432-434 (1985).
 - 30) R.H. Thomson, Colorimetric glucose oxidase method for blood glucose, *Clin. Chim. Acta*, **13**, 133-135 (1966).
 - 31) H.A. Schmidt, M. Schoog, K.H. Schweer and E. Winkler, Pharmacokinetics and pharmacodynamics as well as metabolism following orally and intravenously administered C14-glipizide, a new antidiabetic, *Diabetologia*, **Sep**, 320-330 (1973).
 - 32) D.J. Jenkins, T.M. Wolever, A.R. Leeds, M.A. Gassull, P. Haisman, J. Dilawari, D.V. Goff, G.L. Metz and K.G. Alberti, Dietary fibers, fiber analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity, *Br. Med. J.*, **1**, 1392-1394 (1978).
 - 33) B.O. Schneeman, Pancreatic and digestive function. In: Vahouny G.V., Kritchevsky D., eds. *Dietary fibre in health and disease*. New York: Plenum Press, pp. 72-83, 1982.
 - 34) G. Semenza, Anchoring and biosynthesis of stalk brush border membrane protein: glucosidases and peptidases of enterocytes and renal tubuli, *Ann. Rev. Cell Biol.*, **2**, 255-313 (1986).
 - 35) C.D. Nandini, K. Sambaiah and P.V. Salimath, Effect of dietary fibre on intestinal and renal disaccharides in diabetic rats, *Nutr. Res.*, **20**, 1301-1307 (2000).
 - 36) S. Khokhar, Dietary fibre, their effect on intestinal digestive enzyme activities, *J. Nutr. Biochem.*, **5**, 176-180 (1994).
 - 37) D.J.A. Jenkins, C.W.C. Kendall, L.S.A. Augustin and V. Vuskan, High-complex carbohydrate or lente carbohydrate foods, *Am. J. Med.*, **113**, 30s-37s (2002).