

흰쥐에서 다시마 식이가 메트포르민의 체내동태 및 당 흡수에 미치는 영향

최한곤 · 장보현 · 이종달 · 김정애 · 유봉규 · 용철순[†]

영남대학교 약학대학

(2003년 5월 7일 접수 · 2003년 6월 21일 재심사 · 2003년 8월 5일 승인)

The Effects of *Laminaria japonica* Diet on the Pharmacokinetics of Metformin and Glucose Absorption in Rats

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

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

(Received May 7, 2003 · Revised June 21, 2003 · Accepted August 5, 2003)

ABSTRACT—Drug interactions with food, on occasion, lead to serious nutritional and functional changes in the body as well as alterations 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. *Laminaria japonica* is a brown macroalgae which can be used as a functional diet due to high content of dietary fiber. The purpose of this study was to investigate the effect of *Laminaria japonica* diet on the pharmacokinetics of metformin which are frequently used in the treatment of diabetes. Diabetic rats induced by streptozotocin were employed in this study. Blood concentrations of oral hypoglycemic agent, metformin, 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 metformin in normal and diabetic rats treated with *Laminaria japonica* diet showed significant decrease in AUC, C_{max} , and k_a , and increase in t_{max} , compared to those with normal diet. This might result from adsorption of metformin on components of *Laminaria japonica*, causing delayed absorption. 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 metformin caused by long-term *Laminaria japonica* diet.

Key words—Metformin, *Laminaria japonica*, Diabetes, Pharmacokinetics

약물과 음식물의 상호작용은 임상적으로 중요한 결과를 초래할 수 있으므로, 이 분야에 대해 지속적이고 광범위한 연구가 수행되고 있다.¹⁾ 즉, 약물과 음식물의 상호작용에 의해 의도하였던 치료효과가 나타나지 않거나 부작용이 일어날 수 있을 뿐 아니라 약물로 인하여 영양부족상태가 유발될 수 있고, 경우에 따라 불쾌한 부작용으로 약물복용을 중단하는 일도 발생한다.²⁾ 그러므로 효과적이고 안전한 약물 치료를 위해서는 음식물과 약물의 상호작용을 항상 신중하게 고려하여야 한다.³⁾ 외국의 경우 이러한 분야에 많은 연구정보가 축적되었으나 한국의 경우 연구실적이 매우 미미한 실정이다.

당뇨병은 확실하게 밝혀지지 않은 기전에 의하여 생체가 당을 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 약 3억만 명으로 늘어날 전망이다.⁵⁾

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 식이조

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

건이 약물의 체내동태에 미치는 영향과 그에 따른 부작용의 발현에 대한 연구가 필요하다.^{6,8)} 신체적 변화에 깊게 관련된 식이섭취와의 관계를 체계적으로 검토하여, 당뇨병 치료 시 최소한의 부작용과 최대의 약물효과를 얻기 위한 최적의 식이요법으로 삶의 질을 높힐 수 있는 기본적인 자료 구축을 위한 연구가 필요하다.

신장질환, 신경질환, 백내장 및 고혈압과 같은 당뇨병의 합병증을 효과적으로 예방하기 위하여 운동, 경구용 혈당강하제, 인슐린 및 적절한 식이가 처방되고 있다.

한국과 일본에서 주로 소비되는 해조류의 섭취량이 최근 급속하게 증가하고 있다. 이러한 해조류는 식이섬유를 38% 함유하고 있으며, 그 중 1/3이 불용성, 2/3가 수용성 식이섬유에 해당한다.⁹⁾ 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 미세용모에 인접한 unstirred water layer의 두께를 증가시켜 포도당의 확산을 저해하여 당내성을 증가시킬 수 있다.¹⁰⁾ 이러한 식이섬유질은 약물복용시에는 약물의 생체이용률에도 큰 영향을 미칠 수 있다. 한편, 해조류에 존재하는 다불포화지방산은 세포막의 중요한 성분이며 프로스타글란딘의 전구물질로서의 역할을 하는 중요한 물질이다. 그러나 인슐린 의존성 당뇨병환자에서는 인슐린 결핍으로 인한 다불포화지방산의 대사장애가 만성 합병증 유발과 깊은 관련을 가진다고 보고되었다.¹¹⁾

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.¹²⁾ 최근 양질의 식품으로 많은 관심을 끌고 있는 해조류중 다시마와 경구용 혈당강하제와의 약물동태학적, 약물약력학적 상호작용에 대한 연구를 통하여 당뇨병 치료율의 극대화에 기여할 수 있다고 생각된다.¹⁴⁾

메트포르민은 제2형 당뇨병 환자에게 40년 이상 사용되어온 인슐린분비를 자극하지 않는 경구용 혈당강하제로¹⁴⁾ 과도한 저혈당증을 유발하지 않는다고 알려져 있다. 메트포르민은 인슐린의 말초 감수성을 개선하고, 포도당의 위장관 흡수를 저해하며,¹⁵⁾ 당생성을 감소시킨다.¹⁶⁾

본 연구는 다시마를 함유한 식이를 정상적인 흰쥐와 스트렙토조토신¹⁷⁾으로 유발시킨 당뇨병 모델 흰쥐에 투여한 후 당뇨병 치료에 반응되는 메트포르민의 약물농도-시간의 관계로부터 약물동태학적 파라미터를 구하여¹⁸⁾ 다시마 식이와 메트포르민과의 상호작용에 대한 평가를 목적으로 하였다. 실험에서 구한 다양한 약물동태학적 파라미터를 근거로 상호작

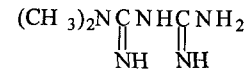


Figure 1-The structure of metformin.

용이 일어나는 기전을 예측하여 차후 당뇨에 투여되는 약물에 적합한 식이를 개발하는 자료로 활용할 수 있을 것이며, 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 병행해 최적의 약물복용방법을 확립하여 부작용을 최소화시킨다면 의료비 절감의 부차적인 효과와 더불어 당뇨병 환자, 특히 당뇨병 노인 환자 등의 삶의 질을 높이는 데 기여할 수 있을 것이다.

실험 방법

시약 및 기기

본 실험에 사용한 약물인 메트포르민(분자량; 129.17, Figure 1) 및 스트렙토조토신은 Sigma사에서 구입하였다. 시약인 헤파린은 중외제약(한국), 에테르, 알코올, 일인산나트륨, 이인산나트륨은 Duksan Pure Chemicals Co. Ltd. 사로부터 구입하였고, 메탄올, 아세트니트릴은 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 centrifuger (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±2°C, 상대습도는 55±5%로 유지시켰다. 건강한 웅성 S.D.계 흰쥐(3-4주령, 체중 150 g 정도)를 무작위로 다시마 급여군과 다시마 비급여군(대조군)으로 분류하여 3주 동안 사육한 다음 사용하였다. 다시마 식이가 체중 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 정상흰쥐에 정상식이 투여군, 정상흰쥐에 다시마 급여군, 당뇨 흰쥐에 정상식이 투여군, 당뇨

Table I—Components of Diet

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	-
Laminaria japonica	-	15.0
Mineral mixture	3.5	3.5
Vitamin mixture	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.1	0.1

흰쥐에 정상식이 및 메트폴민 투여군, 당뇨흰쥐에 다시마 식이 및 메트폴민 투여군으로 분류하여 3주 동안 체중을 측정하였다. 메트폴민은 매일 오전 9시 경구로 350 mg/kg body weight을 투여하였다. 실험에 사용한 식이의 처방은 Table I과 같다. 당뇨모델 동물은 0.05 M 구연산 완충액(pH 4.5)에 녹인 스트렙토조토신(45 mg/kg body weight)을 5분 간 대퇴부 정맥으로 투여하여 7일 경과 후 혈당이 300 mg/100 ml 이상인 것을 사용하였다.

메트폴민의 HPLC 정량법

시료 중 메트폴민의 농도는 보고된 문헌^{19,21)}의 방법을 변형하여 다음과 같은 HPLC를 사용하여 정량하였으며, 컬럼은 Crestpak C18S(4.6×150 mm, 5 μ m particle size), 20 μ l loop로 시료를 주입하였으며, 유동상은 acetonitrile/phosphate buffer (0.005 M, pH 3.5)=25/75(v/v)(1000 ml에 8% SDS 2 ml 함유)이었고 유속은 1.0 ml/min이었고 232 nm에서 검출하였다. 시료는 다음과 같이 처리하였다. 0.1, 0.3, 0.5, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0 μ g/ml(methanol)농도의 메트폴민 50 μ l를 E-tube에 가한 다음 질소가스로 증발 건조시켰다. E-tube에 혈장 50 μ l를 가하여, 충분히 vortex한 다음, 내부표준물질인 benzenesulfonamide 50 μ l (125 μ g/ml, 메탄올)와 18% SDS 15 μ l를 가하여 vortex하였다. 충분히 혼합한 E-tube에 ether:dichloromethane (2:1) 1.0 ml를 가하여, 충분히 vortex한 후, 메트폴민과 benzenesulfonamide를 추출하였다. 유기용매층을 분리하여 질소가스로 증발 건조시킨 다음 E-tube에 SDS를 함유하지 않는 유동상 50 μ l를 가하여 vortex한 후 HPLC로 정량하였다.

담즙과 요중의 메트폴민을 정량하기 위하여 원심분리 (12,000 rpm, 5 min) 후 적절히 희석시킨 다음 혈액에서와 동일한 조건에서 HPLC로 정량하였다. 정량한도는 신호대

잡음비를 3으로 하여 구하였다.

약물동태학적 연구

경구투여 용량은 선형 약물동태를 따르는 약물의 상용량을 기준으로 하여 350 mg/kg body weight로 하였다.²²⁾ 경구투여 실험전 하루동안 물만 공급하며 절식하였다. 다시마 식이가 약물의 체내동태에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 약물과 다시마 식이(4.0 g/kg body weight)를 동시에 투여한 군, 약물과 정상 식이(4.0 g/kg body weight)를 동시에 투여한 군, 다시마 식이 투여 2시간 후 약물투여한 군 및 정상 식이 투여 2시간 후 약물투여한 군으로 나누어 실험하였다. 위내 배출시간이 흡수에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 식이 투여 2시간 후 약물을 투여하여 약물과 식이 동시 투여군과 비교하였다. 정상 흰쥐와 당뇨 쥐에 대하여 실험을 수행하였으며, 모든 식이는 물에 가하여 죽상으로 만든 후 feeding syringe를 사용하여 투여하였다.

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 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 17, 20, 23 및 27시간에서 약 120 μ l를 대퇴부 동맥에 삽입한 cannula를 통해 채혈하였고, 관속에 남아있는 혈액은 10 unit/ml 헤파린을 함유한 증류수를 사용하여 흰쥐의 체내로 이입시켰으며 손실된 혈액을 보충하기 위하여 정맥으로 약 200 μ l 생리식염수를 주입하였다. 채취한 혈액은 즉시 12,000 rpm에서 2분간 원심분리한 다음 50 μ l를 E-tube에 가한후 -20°C에서 냉동보관하였다. 메트폴민을 경구로 투여한 후의 혈장 농도 추이를 비선형 최소자승 회귀분석 프로그램인 RSTRIP²³⁾으로 stripping하여 약물동태학의 주요 파라미터인 k_a , $t_{1/2}$, t_{max} , C_{max} 등을 구하여, 메트폴민과 다시마 식이의 상호작용 기전을 평가하였다. 시간 0으로부터 무한대까지의 혈장농도-시간 곡선하 면적(AUC)을 trapezoidal rule extrapolation방법으로 구하였으며,²⁴⁾ 마지막 데이터로부터 무한대까지의 면적은 마지막 농도를 소실속도 상수로 나누어 구하였다. 모든 측정치와 계산치는 산술평균±표준편차(S.D.)로 표시하였으며 실험 결과의 유의성 검증은 Student's *t*-test를 사용하여 평가하였으며,²⁵⁾ 유의성 있는 차이는 p<0.05로 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 메트폴민을 투여한 후 담즙을 cannula를 통하여 채취하여 30분 간격으

로 150분까지 연속적으로 시료를 얻었으며, 담즙액을 12,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 정량하기 전까지 -70°C 에 냉동 보관하였다.

요중배설 실험

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

혈장단백결합 실험

메트포르민의 혈장단백과의 결합 정도를 각 군의 흰쥐로부터 모은 혈장과 평형투석방법을 사용하여 측정하였다. 1 ml의 혈장을 volume shift를 방지하기 위해 3% 텍스트란을 함유한 등장인산완충액(pH 7.4) 1 ml에 대하여 투석하였다. 투석셀의 부피는 1 ml이며, Spectra/Por membrane 2 (M.W. cutoff 12,000–14,000, Spectrum Medical, LA, CA)를 사용하였다. 평형에 도달하는 시간을 단축시키기 위해 약물을 혈장에 가하며, 약물을 첨가한 투석셀을 24시간 동안 50 rpm, 37°C 로 유지된 water-bath shaker에서 incubation시켰다.

다시마 식이가 경구 당내성에 미치는 영향

정상 흰쥐를 경구 당내성 실험 실시 16시간 전 절식을 시킨 후, 증류수 투여군(대조군), 메트포르민 투여군, 다시마 식이 투여군으로 분류하여 각 식이 및 메트포르민을 투여하였다. 30분 후 feeding syringe²⁶⁾를 통하여 포도당(3 g/kg)을 경구로 투여하였다. 혈액은 메트포르민을 투여한 직후, 포도당을 경구로 투여하기 직전 및 투여한 후 30, 60, 90, 120 및 150분 후 흰쥐 꼬리에서 채취하였으며, 혈중 포도당 함량은 Thomson 등²⁷⁾의 방법에 따라 조제된 kit 시약을 이용하여 측정하였다. 흰쥐 당뇨모델에 대하여도 정상 흰쥐에서와 동일한 과정에 따라 경구 당내성 실험을 수행하였다.

결과 및 고찰

메트포르민의 검량선

Figure 2는 혈장내 메트포르민과 내부표준물질인 benzenesulfonamide의 HPLC 크로마토그램을 나타내었다. 메트포르민은 약 4.65분에, 내부표준 물질인 benzenesulfonamide은 약 2.67분에 검출되었으며, 혈장 성분과의 간섭현상이 없었다. 7개의 시료에 대한 평균회수율은 80%이었고, 정량한도는

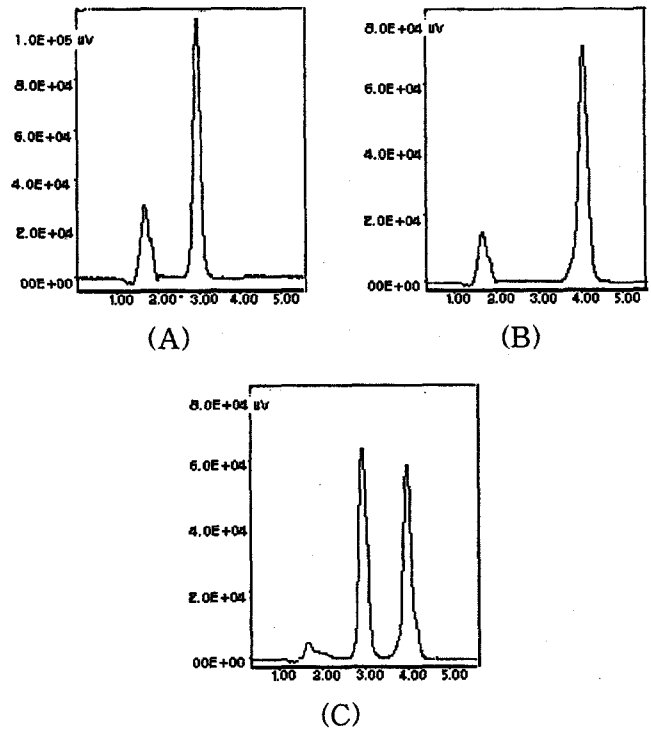


Figure 2—HPLC chromatogram of metformin (4.65 min) and internal standard (2.67 min). (A) plasma spiked with metformin, (B) plasma spiked with internal standard, (C) plasma sample obtained after 40 min after oral administration of metformin (350 mg/kg) to rats.

0.1 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 본 정량방법의 정밀성을 측정하기 위하여 동일한 aliquots를 사용하였으며, relative standard deviation이 3.2%로 재현성이 있는 것으로 나타났다. 정량방법의 선형성을 결정하기 위하여 메트포르민의 농도가 0.1–20 $\mu\text{g/ml}$ 인 7개의 표준시료를 사용하였으며, 이러한 방법으로 작성된 검량선의 식은 피크의 넓이비 = $0.2879 \times \text{농도} - 0.0044$ 였으며, r 은 0.9999이었다. 이러한 농도범위에서, 일내변동계수(C.V. %)는 8.6% 이하, 일간변동계수는 9.4% 이하이었다. 담즙에서의 메트포르민의 정량한도는 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, 정량방법의 선형성을 결정하기 위하여 메트포르민의 농도가 2–100 $\mu\text{g/ml}$ 인 6개의 표준시료를 사용하였으며, 이러한 방법으로 작성된 검량선의 식은 피크의 넓이비 = $20880 \times \text{농도} - 17168$, $r = 0.9995$ 이었다. 요중에서의 정량한도는 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, 정량방법의 선형성을 결정하기 위하여 메트포르민의 농도가 2–200 $\mu\text{g/ml}$ 인 7개의 표준시료를 사용하였으며, 이러한 방법으로 작성된 검량선의 식은 피크의 넓이비 = $18611 \times \text{농도} - 17544$, $r = 0.9993$ 이었다. 요 및 담즙에 대한 메트포르민의 정량결과는 모두 혈장에 대한 정량결과의 실험 오차범위 내에 존재하였으며, 본 정량방법이 메트포르민의 흰쥐에서의 체내동태 연구에 적합한 것으로 사료되었다.

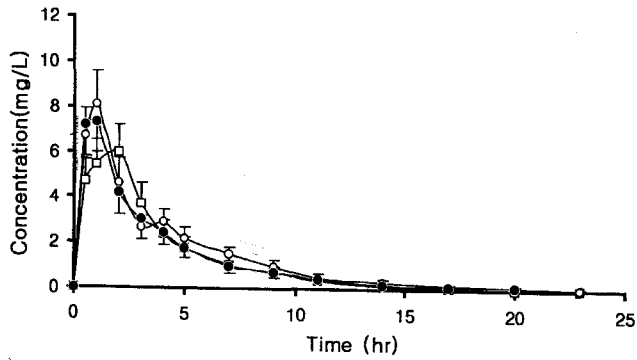


Figure 3—Concentration-time profiles of metformin in normal rats. (○); Coadministration with normal diet, (□); Coadministration with *Laminaria japonica* diet, (●); Administration of metformin 2 hr after *Laminaria japonica* diet.

약물 동태에 미치는 영향

정상 흰쥐를 다시마 식이와 메트포르민(350 mg/kg) 동시 투여군, 다시마 식이 투여 2시간 후 메트포르민 투여군, 정상식이와 메트포르민 동시 투여군으로 나누어 실험하여 얻은 혈중 메트포르민 농도 추이를 Figure 3에, 약물동태학적 파라미터를 Table II에 나타내었다. 다시마 식이를 메트포르민과 함께 투여한 경우 정상식이군에 비하여 k_a 와 AUC가 유의성 있게 감소하였으며, t_{max} 는 길어지고 C_{max} 는 낮아져 다시마 식이에 의하여 약물이 서서히 흡수되는 양상을 나타내었다. 그러나 다시마 식이를 투여한 2시간 후 메트포르민을 투여한 경우 정상식이군과 유사한 약물동태학적 양상을 나타내었다. Figure 4는 스트랩토조토신으로 유도한 당뇨모델 흰쥐를 사용하여

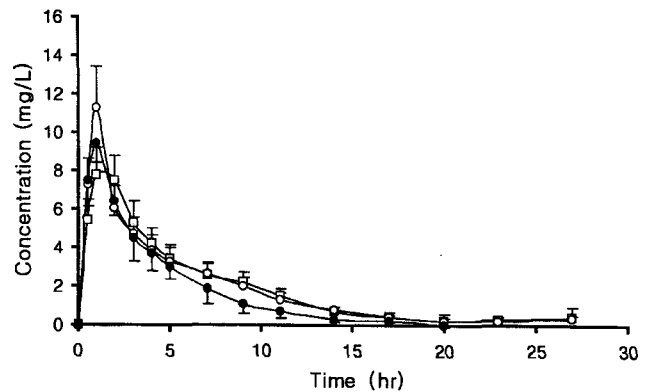


Figure 4—Concentration-time profiles of metformin in diabetic rats. (○); Coadministration with normal diet, (□); Coadministration with *Laminaria japonica* diet, (●); Administration of metformin 2 hr after *Laminaria japonica* diet.

다시마 식이와 메트포르민(350 mg/kg) 동시 투여군, 다시마 식이 투여 2시간 후 메트포르민 투여군, 정상식이와 메트포르민 동시 투여군으로 나누어 실험하여 얻은 혈중 메트포르민 농도 추이이며, 약물동태학적 파라미터를 구한 결과는 Table III에 나타내었다. 다시마 식이를 투여한 경우 정상식이군에 비하여 k_a 와 AUC가 감소하였으며, t_{max} 는 0.73시간에서 1.36시간으로 지연되었고, C_{max} 는 낮아졌다. 다시마식이 투여 2시간 후 메트포르민을 투여한 경우 정상식이와 함께 메트포르민을 투여할 때와 유사한 약물동태학적 양상을 나타내어 정상 흰쥐를 사용한 약물동태학적 실험결과와 유사하였다.

메트포르민은 위에서의 흡수율이 매우 낮고 십이지장에서

Table II—Pharmacokinetic Parameters of Metformin in Normal Rats

Group	k_a (hr ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μg · ml ⁻¹)	t_{max} (hr)	AUC (μg · h ⁻¹ · ml ⁻¹)
A	1.82±0.31*	2.21±0.37	5.96±1.15*	1.24±0.21*	24.83±5.32*
B	3.28±0.75	1.98±0.41	7.29±1.01	0.71±0.17	27.76±6.16
C	2.33±0.44	2.13±0.35	7.36±0.95	0.63±0.14	28.25±5.21

A: Coadministration with *Laminaria japonica* diet.
 B: Administration of metformin 2 hr after *Laminaria japonica* diet.
 C: Coadministration with normal diet.
 Each value represents the mean±S.D. of 8 experiments.
 Significant differences from C were determined by Student's *t*-test (**p*<0.05).

Table III—Pharmacokinetic Parameters of Metformin in Diabetic Rats

Group	k_a (hr ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μg · ml ⁻¹)	t_{max} (hr)	AUC (μg · h ⁻¹ · ml ⁻¹)
A	2.30±0.27*	2.32±0.34	6.91±1.40*	1.36±0.25*	28.21±5.27*
B	2.93±0.84	2.18±0.49	8.64±1.41	0.86±0.18	37.60±7.16
C	2.73±0.52	1.89±0.38	7.96±1.52	0.73±0.21	35.25±8.02

A: Coadministration with *Laminaria japonica* diet.
 B: Administration of metformin 2 hr after *Laminaria japonica* diet.
 C: Coadministration with normal diet.
 Each value represents the mean±S.D. of 8 experiments.
 Significant differences from C were determined by Student's *t*-test (**p*<0.05).

흡수가 잘되며, 십이지장으로의 이동과정이 흡수에 큰 영향을 미치게 된다.²⁸⁾ 즉, 다시마 식이와 함께 투여된 메트폴민은 다시마식이의 점도 높은 섬유질에 의하여 위내용배출시간이 연장되어 흡수속도가 지연되는 것으로 사료된다. 메트폴민은 강염기성(pKa 11.5) 약물로 생리 pH에서 protonated 상태로 존재하며, 이온화된 메트폴민은 음전하를 띠고 있는 장관 상피세포에 흡착되는 성향이 있으므로 약물의 흡수 양상에 영향을 미치게 된다.²⁹⁾ 다시마 식이를 투여할 경우 섬유질에 의하여 위장관의 unstirred water layer의 두께가 증가될 수 있으므로 메트폴민이 장관 상피세포로 접근하는 것을 저해하여 흡수되는 속도 및 양을 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다. 식이 종류 및 약물투여시간에 관계없이 메트폴민의 반감기는 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 이것은 높은 극성을 갖고 있는 메트폴민의 대부분이 섬유질에 흡착되지 않고 흡수된 후 신장으로 신속하게 배설되기 때문으로 사료된다.

실험한 모든 군에서 대사되지 않고 담즙으로 분비되는 메트폴민은 검출되지 않았으며 다시마 식이 투여에 의하여 변화를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 극성이 강한 메트폴민이 대사되지 않고 신속하게 요중으로 배설된다는 보고와 일치하였다.²⁹⁾ 또한 350 mg/kg을 경구로 투여시 요중으로 배설되는 양은 정상 흰쥐에서 다시마 식이를 메트폴민과 동시에 투여한 군(157±34.3 mg/kg)과 정상 식이를 투여한 군(165±29.7 mg/kg)간에 유의성 있는 차이가 없었으며, 당뇨성 흰쥐에서도 다시마 식이를 메트폴민과 동시에 투여한 군(172±26.8 mg/kg)과 정상 식이를 투여한 군(167±32.9 mg/kg)간에 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다. 다시마를 투여하지 않은 흰쥐와 다시마를 투여한 흰쥐의 혈당을 채취하여 메트폴민의 단백결합시험 결과 모두 1% 이하의 낮은 결합율을 나타내었으며, 두 군간의 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다. 다시마 식이의 장기간 투여에 의해 약물결합에 관여하는 혈장단백질의 조성에 유의성 있는 변화가 일어나지는 않는 것으로 사료된다.

다시마 식이가 경구 당내성 실험 및 체중변화에 미치는 영향

Figure 5에서 보듯이 절식시킨 정상 흰쥐의 혈당치는 약 80 mg/dL를 나타냈으며, 경구로 대조군에 포도당을 투여할 경우 혈당치가 250 mg/dL로 상승하였다가 약 90분 내에 원래의 혈당치로 환원되었다. 반면 메트폴민 투여 후 30분 후 경구 당내성 실험시 혈당치는 약 160 mg/dL 정도 상승하였다가 약 60분 후 정상 혈당치로 하강하였다. 다시마 성분 투여군에서의 경구 당내성 실험 결과 대조군에 비하여 약간

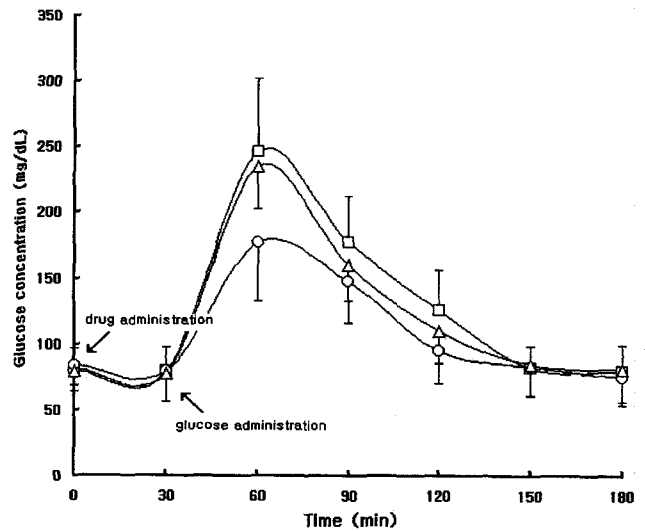


Figure 5—The oral glucose tolerance test in normal rats using *Laminaria japonica* diet. (△); *Laminaria japonica* diet, (○); Metformin, (□); Control.

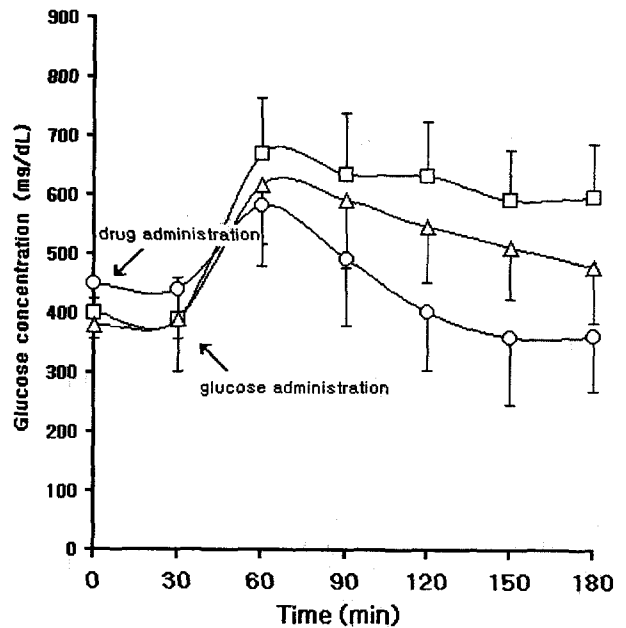


Figure 6—The oral glucose tolerance test in diabetic rats using *Laminaria japonica* diet. (△); *Laminaria japonica* diet, (○); Metformin, (□); Control.

낮은 혈당치를 나타냈으나 유의성 있는 차이를 나타내지는 않았다. Figure 6은 스트렙토조토신으로 유도된 당뇨모델 흰쥐에서의 경구 당내성 실험 결과를 나타내었다. 대조군에서의 초기 혈당치는 약 400 mg/dL였으며, 경구로 포도당 투여시 650 mg/dL로 상승된 후 일정하게 유지되었다. 메트폴민을 투여한 군에서는 초기 혈당치가 약 440 mg/dL였으며 경구 당내성 실험시 590 mg/dL로 상승하였다가 약 60분 후 340 mg/dL 정도로 하강하였다. 다시마 성분 투여군에서의 경

구 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 작용하고, 점도 증가로 인하여 장관의 fluid convection에 대한 운동성 효과를 저해하며, 식후 혈중 포도당 농도를 편편하게 유지시키고, 장기간 섭취할 경우 당내성을 현저히 저하시킬 수 있는 것으로 사료된다.³⁰⁾ Schneeman³¹⁾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,³²⁾ 섬유질을 함유한 식이를 섭취한 흰쥐에서 혈당강하작용이 나타나는 것은 바로 소장의 disaccharidases 활성이 감소한 것으로 사료된다.^{33,34)} 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 동물이 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.³³⁾ 혈중 포도당 농도를 낮추는 이유는 소장에서 포도당의 흡수를 감소시키며, 이것은 또는 위내용 배출시간을 현저하게 저해하여 포도당의 흡수를 감소시킨다.

전술한 실험결과와 현재까지의 다양한 보고에 의하면, 불용성 섬유질의 당뇨병에 미치는 영향의 기전이 확실하게 규명되지는 않았으나, glycemic index가 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.³⁵⁾ Figure 7은 다시마 식이가 정상 흰쥐 및 당뇨병 흰쥐의 체중 변화에 미치는 영향을 나타내었으며, 메트폴민을 투여하지 않은 군에서는 다시마 식이가 체중 증가에 유의성 있는 영향을 미치지 않았으나 메트폴민과 다시마 식이를 동시에 투여할 경우 정상 식이를 투여한 군에 비하여 체중이 유의성 있게 증가하였다. 이것은 다시마 식이가 메트폴민과 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.

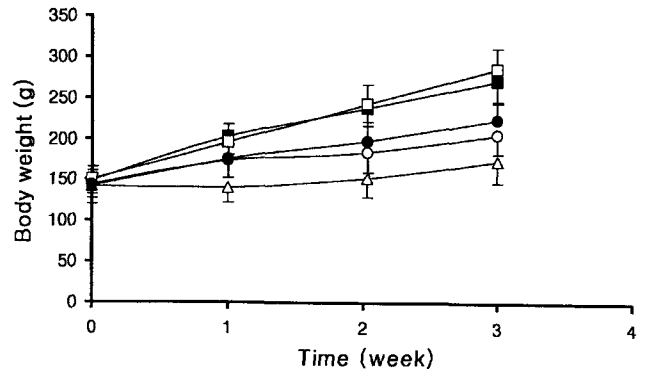


Figure 7—The effect of *Laminaria japonica* diet on body weight change in rats. Normal rat with normal diet (■); Normal rat with *Laminaria japonica* diet (□); Diabetic rat with normal diet (△); Diabetic rat with normal diet and metformin (○); Diabetic rat with *Laminaria japonica* diet and metformin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

결 론

해조류가 당뇨병치료 약물의 체내동태에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 당뇨병 치료에 자주 사용되는 biguanide계인 메트폴민을 선택하였다. 본 실험에서는 흰쥐를 특수한 식이조건하에서 사육하여 사용하였으며, 약물의 체내동태학적 결과는 약물동태학적 파라미터를 이용하여 해석하였다. 정상 흰쥐 및 당뇨병 흰쥐에 메트폴민을 투여할 경우 다시마투여군은 대조군에 비하여 AUC, C_{max} 및 k_a는 감소하였으며 t_{max}는 증가하였고, t_{1/2}에는 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 다시마의 점도 높은 섬유질에 의하여 메트폴민의 흡수속도 및 양이 감소하며, 이것은 다시마의 불용성 및 수용성 섬유가 위내용배출 시간에 영향을 미치거나 unstirred water layer의 두께에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 다시마 식이 투여시 메트폴민의 대사, 배설 및 단백결합에는 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 경구 혈당 내성 실험 결과 다시마 식이 투여군이 당뇨 흰쥐에서 혈중 포도당 농도를 낮출 수 있었으며, 이것은 다시마 식이 성분이 포도당 흡수를 저해하거나 disaccharidases의 활성을 저해하는 것으로 사료된다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 메트폴민의 투여와 병행한 장기간의 다시마 투여에 의한 약물의 체내동태 이외에도, 다시마 식이가 혈당조절 작용에 미치는 영향에 관한 연구 및 면역반응 인슐린 측정을 병행하여 지속적인 다시마 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 and W.H. Herman, Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections, *Diabetes Care*, **21**, 1414-1431 (1998).
 - 6) W.J. MacLennan, The aging society, *Br. J. Hospital Med.*, **39**, 112-120 (1988).
 - 7) 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).
 - 8) L. Z. Benet, N. Massoud and J. G. Gambertoglio, Pharmacokinetic basis for drug treatment, Raven press, New York, 1983.
 - 9) 박정난, 식이섬유질의 종류와 함량이 장의 기능과 형태에 미치는 영향, 한양대학교 대학원 석사학위 논문, 1992.
 - 10) 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).
 - 11) K.W. Woodhouse and O.F.W. James, Hepatic drug metabolism and aging, *Br. Med. Bulletin*, **46**, 22-35 (1990).
 - 12) N. Paul, Transfer of metformin across monolayers of human intestinal caco-2 cells and across rat intestine, *Int. J. Pharm.*, **128**, 155-62 (1996).
 - 13) R.M. Wayne, Metformin: an antihyperglycemic agent for treatment of type diabetes, *Ann. Pharmacother.*, **30**, 158-64 (1996).
 - 14) N.F. Wiernsperger and C.J. Bailey, The antihyperglycemic effect of metformin: therapeutic and cellular mechanisms, *Drugs*, **58**, 31-39 (1998).
 - 15) M.B. Davidson and A.L. Peters, An overview of metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus, *Am. J. Med.*, **102**, 99-110 (1997).
 - 16) R.S. Hundal, M. Krssak, S. Dufour, D. Laurent, V. Lebon and V. Chandramouli, *et al.*, Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes, *Diabetes*, **49**, 2063-2069 (2000).
 - 17) A.A. Like and A.A. Rossini, Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus, *Science*, **193**, 415-417 (1976).
 - 18) 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).
 - 19) G. Caille, Y. Lacasse, M. Raymond, H. Landriault, M. Perrotta, G. Picirilli, J. Thiffault and J. Spénard, Bioavailability of metformin in tablet form using a new high pressure liquid chromatography assay method, *Biopharm. Drug Dispos.*, **14**, 257-263 (1993).
 - 20) K.H. Yeun and K.K. Peh, Simple high-performance liquid chromatographic method for the determination of metformin in human plasma, *J. Chromatogr. B*, **710**, 243-246 (1998).
 - 21) C.L. Cheng and C.H. Chou, Determination of metformin in human plasma by high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection, *ibid.*, **762**, 51-58 (2001).
 - 22) C.J. Bailey and K.J. Mynett, Insulin requirement for the antihyperglycemic effect of metformin, *Br. J. Pharmacol.*, **113**, 793-796 (1994).
 - 23) M.L. Ramson, *RSTRIP-polyexponential curve stripping/least square parameter estimation*, user handbook, Micromath. Inc., Salt Lake City, Utha, 1987.
 - 24) R.D. Purves, Optimum numerical integration methods for estimation of area under the curve(AUC) and area under the moment curve (AUMC), *ibid.*, **20**, 211-216 (1992).
 - 25) 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).
 - 26) F.M. Al-awadi, M.A. Khattar and A. Gumaa, On the mechanism of the hypoglycemic effect of a plant extract, *Diabetologia*, **28**, 432-434 (1985).
 - 27) R.H. Thomson, Colorimetric glucose oxidase method for blood glucose, *Clin. Chim. Acta.*, **13**, 133-135 (1966).
 - 28) N. Vidon, S. Chaussade, M. Noel, C. Franchisseur, B. Huchet and J.J. Bernier, Metformin in the digestive tract, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **19**, 223-229 (1988).
 - 29) D. Stepensky, M. Friedman, W. Srouf, I. Raz and A. Hoffman, Preclinical evaluation of pharmacokinetic and pharmacodynamic rationale for oral CR metformin formulation, *J. Control. Release*, **71**, 107-115 (2001).
 - 30) 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).
 - 31) B.O. Schneeman, Pancreatic and digestive function. In: *Dietary fibre in health and disease*. Vahouny G.V., Kritchevsky D., eds. New York: Plenum Press, pp. 72-83, 1982.
 - 32) 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).
 - 33) 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).
 - 34) S. Khokhar, Dietary fibre, their effect on intestinal digestive enzyme activities, *J. Nutr. Biochem.*, **5**, 176-180 (1994).
 - 35) 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).