

## Polyoxyl 40 Hydrogenated Castor Oil이 실리마린과 우루소데옥시콜린산 복합제제중 실리마린의 용해성 및 생체이용률에 미치는 영향

장우익\* · 남권호 · 조재열 · 이재휘 · 유영호 · 박명환 · 김재환  
(주) 대웅제약 중앙연구소

## Effects of Polyoxyl 40 Hydrogenated Castor Oil on Solubility and Bioavailability of Silymarin in Combined Preparation Containing Silymarin and Ursodeoxycholic Acid

Woo Ik CHANG\*, Kweon Ho NAM, Jae Youl CHO, Jae Hwi LEE,  
Young Hyo YU, Myung Hwan PARK and Jae Hwan KIM  
R & D center Daewoong Pharm. Co. Ltd., Sunghnam 462-120, Korea

(Received April 10, 1997; accepted July 22, 1997)

**Abstract** - The effect of nonionic surfactant (polyoxyl 40 hydrogenated castor oil, PHCO), a common solubilizer, on the solubility of silymarin in the combined preparation containing ursodeoxycholic acid (UDCA) and silymarin was investigated *in vitro* using HPLC. The solubility of silybin, a major component of silymarin, was enhanced by increasing the amount of PHCO. The effect of PHCO on bioavailability was also evaluated in rats. The bioavailability was calculated by silybin content in bile juice that was excreted for 24 hr after oral administration. It was found that the bioavailability of silymarin containing PHCO was significantly increased compared to that of control. These results suggest that PHCO may improve the solubility and bioavailability of silymarin when it is combined with UDCA and silymarin.

**Keywords** □ polyoxyl 40 hydrogenated castor oil, surfactant, silymarin, ursodeoxycholic acid, HPLC, silybin, solubilization, bioavailability

Silymarin은 *Cardus marianus* extract의 성분으로서 주로 silybin, isosilybin, silycristin, silidianin 등으로 구성되어 있고 그중 silybin이 주요 활성성분으로 밝혀져 있으며 간세포 재생효과(Magliuo와 Carosi, 1979), 과산화지질 생성 억제효과(Valenzuela 등, 1985), 간세포 보호작용(Tyutyukova 등, 1981)이 있다고 알려졌다. 체내에 흡수된 silybin은 대부분이 glucuronide와 sulfate 포함체를 형성하여 담즙으로 배설되며 이에 비하여 혈중농도는 매우 낮은 것으로 보고 되어 있다(Lorenz 등, 1984). 또한 현재 간질환 치료 목적으로 널리 사용되고 있는 약물중 ursodeoxycholic acid (UDCA)는 이담작용(Kitani와 Kanai, 1982; Schoenfield, 1980), 담석 용해작용(Iwamura, 1980), 간혈류 증가작용(Ward 등, 1984), 지방의 흡수 촉진작용(Lanzini와 Northfield, 1988) 및 미세담도를 통한 노폐물 배설작용(Roslyn 등, 1989)을

가지고 있으며, 경구 흡수된 UDCA는 주로 taurine과 포함에 의해 활성물질인 tauroursodeoxycholic acid(TUDCA)를 형성하여 장간순환을 하므로 순환혈액중에는 거의 존재하지 않는 것으로 밝혀져 있다. 본 연구소에서는 UDCA와 silymarin을 적당한 비율로 배합함으로써 각 약물의 단점을 보완하고자 많은 노력을 기울여 왔으며 이러한 배합조성이 간질환 치료 및 예방에 우수한 효과가 있음을 동물모델에 의한 급성 간손상, 지방간, 약물중독 등의 실험을 통하여 확인하였다(Nam 등, 1994).

두 종류 이상의 약효성분을 함유하는 경우, 각 성분들간의 약물상호작용에 의해 흡수, 분포, 대사 및 배설에 영향을 주어 생체내에서의 약효에 영향을 미칠 수 있다. 또한 흡수단계는 각 약물의 용해도에 의해 크게 영향을 받으므로 난용성 약물의 경우에 이를 극복하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(Yang과 Kim, 1992).

본 연구에서는 비이온성 계면활성제인 polyoxyl 40 hy-

\* To whom correspondence should be addressed.

drogenated castor oil(PHCO)이 난용성으로 생체이용률이 낮은 실리마린의 용해도를 증가시킨다는 보고(크리빠, 1990)에 의해서 일반적으로 연질캡셀의 유성용제로 많이 사용되는 soybean oil(SBO)과 yellow beeswax(YBW)를 첨가한 대조군에 대해 PHCO를 연질캡셀에 첨가한 군을 비교하여 상대적인 생체이용률을 검토하고자 하였다.

**실험방법**

**시약 및 기기**

약물 조제를 위한 재료로 *Cardus marianus* extract(Indena, 이태리, 이하 CME)와 ursodeoxycholic acid(대웅화학, 이하 UDCA)를 사용하였다. Silybin(Roth, 독일), polyoxyl 40 hydrogenated castor oil(BASF, 독일)를 사용하였으며, β-glucuronidase 및 arylsulfatase는 Sigma(미국)제품을, tert-butyl methyl ether(이하 TBME), 메탄올(HPLC grade), 에탄올(HPLC grade), n-헥산(HPLC grade), 메틸렌 클로라이드(HPLC grade) 및 Extrelut 3 column 등은 Merck(미국)사 제품을 사용하였다. 기타 시약은 특급 및 1급 시약을 사용하였다. 기기로는 centrifugal vaporizer(EYELA, 일본), 원심분리기(Jouan, 독일) 및 고성능 액체 크로마토그래피(Waters(미국) 및 Jasco(일본), 이하 HPLC)를 이용하였다.

**In vitro 용해성 시험**

**시험물질의 제조**

용해성 시험에 사용된 처방구성은 Table I과 같으며 실리마린은 CME 100 mg 중에 실리마린으로서 71.43 mg, 실리빈으로서 21.43 mg을 함유하는 것을 사용하였다. UDCA, CME 그리고 SBO의 조성비율은 모든 경우에 동일하였고 기체인 YBW와 PHCO의 조성비율만을 변화시켜 이중 PHCO의 비율이 실리마린에 대하여 1:1, 1:1.5, 1:2, 1:2.5 그리고 1:3의 조성비를 갖도록 하였다. 각 제제의 제조 방법은 다음과 같으며 순서나 조건은 모두 동일하게 하여 실시하였다. 먼저 YBW와 SBO를 50°C에서 혼화하고 계속해서 PHCO를 정확히 칭량하여 실리마린과 함께 충분히 섞어 주

었다. 여기에 UDCA를 넣고 30 rpm에서 천천히 혼화시켰으며 대조군은 PHCO를 넣지 않고 YBW와 SBO 및 주성분들로 동일하게 조제하였다. PHCO에 의한 실리마린의 용해성 증가에 대한 구성성분들의 영향을 확인하기 위해 실리마린과 PHCO만을 동일 조건에서 혼화하여 조제하였다.

**용해성시험**

배합 조성량인 833.93 mg을 정확히 칭량하여 100 ml 용량플라스크에 넣고 정제수 100 ml를 가하여 진탕항온수조(HB-205SW, Hanback Scientific Co., 한국)에서 혼화(37°C, 2시간, 100회/분)하였다. 혼화후 0.45 μm 멤브레인필터(Acrodisc® LC13 PVDF, Gelman Sciences, 미국)를 사용하여 수층을 여과한 후 여액을 HPLC를 사용하여 Table II의 조건으로 분석하였다. 실리빈 표준액으로는 실리빈 상용표준품(Carl Roth, 독일)을 메탄올에 녹여 사용하였다. 용해율 계산식은 다음과 같다.

$$\text{용해율(\%)} = \frac{\text{표준품 취한 양 (mg)} \times \text{샘플 면적}}{\text{샘플 취한 양 (mg)} \times \text{표준품 면적}} \times 100$$

**In vivo 생체이용률 시험**

**실험동물**

B & K사(중국)에서 분양받은 5~6주령된 Sprague Dawley계 숫컷 흰쥐를 1주 이상 순화시켜 체중 200~250 g 범위의 것을 사용하였다. 동물실내의 명암은 12시간으로 자동조절시켰으며 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

**사용약제**

각각에 대한 주성분의 함량은 동일하게 하였고 PHCO를 첨가한 것과 첨가하지 않은 것으로 구분하였으며 각각의 기체에 동량의 실리마린만 첨가한 것을 대조군으로 사용하였다(Table III). 투여용량은 흰쥐당 실리마린으로서 25와 100 mg/kg이 되도록 하였다.

**약물투여 및 담즙 채취**

실험에 사용한 모든 흰쥐는 실험전 16시간 이상 절식시켰고 체중을 측정한 다음 수술을 실시하였다. 흰쥐를 에텔

**Table I.** Prescriptions used to compare the effect of PHCO on the solubility of silymarin

Ingredient (mg)	Control	Prescription No.				
		A	B	C	D	E
UDCA <sup>a</sup>	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
CME <sup>b</sup>	71.43	71.43	71.43	71.43	71.43	71.43
(Silymarin)	(50.00)	(50.00)	(50.00)	(50.00)	(50.00)	(50.00)
SBO <sup>c</sup>	450.00	450.00	450.00	450.00	450.00	450.00
YBW <sup>d</sup>	262.50	212.50	187.50	162.50	137.50	112.50
PHCO <sup>e</sup>	-	50.00	75.00	100.00	125.00	150.00

<sup>a</sup>Ursodeoxycholic acid. <sup>b</sup>*Cardus marianus* extract. <sup>c</sup>Soybean oil. <sup>d</sup>Yellow beeswax. <sup>e</sup>Polyoxyl 40 hydrogenated castor oil.

**Table II.** HPLC conditions for determination of silybin

Instrument	In vitro analysis	In vivo analysis
Absorbance (nm)	283	280
Column	μ-Bondapak C <sub>18</sub> (Waters)	Lichrosorb Diol (5 μm, Merck)
Mobile phase	45% methanol	n-Hexane: methylene chloride: ethanol=65:25:10 (acidify with H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 20 μl)
Temperature	room temperature	27°C
Flow rate (ml/ml)	0.8	1.0
Injection volume (μl)	18	5~20

**Table III.** Prescriptions used to compare the effect of PHCO on the bioavailability of silymarin

Ingredient (mg)	Prescription No.	1		
		2	3	4
UDCA <sup>a</sup>	50.00	-	50.00	-
CME <sup>b</sup>	71.43	71.43	71.43	71.43
(Silymarin)	(50.00)	(50.00)	(50.00)	(50.00)
SBO <sup>c</sup>	450.00	450.00	450.00	450.00
YBW <sup>d</sup>	112.50	112.50	262.50	262.50
PHCO <sup>e</sup>	150.00	150.00	-	-

<sup>a</sup>Ursodeoxycholic acid. <sup>b</sup>*Cardus marianus* extract. <sup>c</sup>Soybean oil. <sup>d</sup>Yellow beeswax. <sup>e</sup>Polyoxyl 40 hydrogenated castor oil.

로 가볍게 마취시키고 복부 정중선을 2~3 cm 정도 절개하여 총담관을 분리해 낸 다음 간의 가까운 부위 약 0.5~1 cm 사이에서 폴리에틸렌관(PE-10, Intramedic, Clay Adams Co.)을 삽관하여 담즙을 채취하였다. 약물은 투여전까지 37°C에서 가온하여 점도를 감소시키고 흰쥐가 마취에서 완전히 깨어난 것을 확인한 후 sonde를 이용하여 위내에 투여하였다. 담즙은 약물투여 후 24시간까지 받았으며 정량시까지 -20°C이하로 냉동보관하였다. 담즙의 부피는 비중을 1로 보고 무게를 측정하여 이로부터 구하였다(Nam 등, 1994).

#### 실리마린 농도분석

실리마린의 담즙중 배설은 주요약효성분인 실리빈을 기준으로 정량하였다. 담즙중 실리빈은 대부분 glucuronide와 sulfate 포함형태이므로 효소처리를 통해 유리형으로 전환시켜 Martinelli 등(1991)의 방법을 개량하여 사용하였다(Nam 등, 1994). 24시간 동안 채취한 총담즙량의 무게를 잰 후 이중 200 µl를 β-glucuronidase(44U)와 arylsulfatase(21U)를 녹인 초산염 완충액(pH 5.0) 0.1 ml씩과 섞어 주고, 37°C에서 48시간 동안 반응시켜 실리빈을 유리형으로 변형시켰다. 이를 Extrelut 3 column에 주입하고 13 ml의 TBME로 추출하여 여액을 얻고 이를 centrifugal vaporizer로 45°C에서 증발·건조한 후 메탄올 300 µl에 녹이고 최종적으로 5~20 µl를 Table II의 조건으로 HPLC에 주입하였다. 검량선은 실리빈 표준품을 메탄올에 녹인 후(10.14 mg/100 ml) 각각의 농도(5.07, 10.14, 50.7, 101.4 µg/ml)가 되도록 희석하여 표준용액을 조제하였다. 이들을 1.5 ml Eppendorf tube에 40 µl씩 취하고 메탄올을 모두 날려보낸 후 잔사에 blank 담즙 200 µl씩을 가하여 녹이고 상기와 같은 방법으로 정량하였다. 이와같은 방법을 1일 3회 3일간 반복하여 피크면적의 평균값을 구하고 이로부터 검량선을 작성하였다. 계산은 담즙배설량이 흡수정도를 반영한다고 가정하고, 약물을 경구투여한 후 24시간까지의 총담즙중 실리빈을 지표물질로 하여 아래 수식으로부터 구하였다.

$$\text{담즙배설률} = \frac{\text{담즙중배설량 (실리빈으로서)}}{\text{투여용량 (실리빈으로서)}} \times 100$$

#### 통계처리

모든 측정치와 계산치는 평균±표준오차로 나타내었으며 Student's *t*-test로 검증하여 유의성을 판정하였다.

## 결 과

#### 약물의 정량

실리빈에 대한 검량선의 상관계수는 *in vitro*와 *in vivo* 둘다에서 0.999 이상으로 좋은 직선성을 보여 주었고 일내 및 일간 변동계수는 10% 미만의 결과를 나타내었다. 각각의 시료중 실리빈의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. 크로마토그램에서 보듯이 *in vitro*의 경우(A, B)에는 이성질체가 분리되어 24분과 28분에 피크를 나타냈고 *in vivo*의 경우(C, D)에는 단일 피크로써 27분에 나타났다.

#### *In vitro* 용해성

Fig. 2에서 보듯이 실리마린에 대한 PHCO의 비율이 증가할수록 실리마린의 용해성이 증가하였으며 1:3의 비율에서 가장 높은 용해성을 보였다. 이는 대조군(3.0%)에 비해 약 25배가 높은 결과를 나타내었다. 한편, PHCO에 의한 실리마린의 용해성 증가에 대한 구성성분의 영향을 평가하기 위한 실험에서 Table I의 처방 E와 실리마린에 PHCO만을 1:3의 비율로 배합한 처방에 대해 각각 78.6%와 83.4%로 약 4.8%의 용해량의 차이를 나타내어 PHCO 이외의 성분은 실리마린의 용해성에 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

#### *In vivo* 생체이용률

흰쥐 kg당 실리마린으로서 25 mg과 100 mg을 투여한 후 24시간까지 담즙중으로 배설된 실리빈의 투여량에 대한 비율을 Fig. 3과 4에 각각 나타내었다. 실리마린 25 mg/kg의 투여용량에서 처방 1군이 처방 3군에 비해 유의적으로 증가하였으며 PHCO를 첨가한 군(처방 1, 2군)에서는 흡수율의 차이가 나타나지 않았고 PHCO를 첨가하지 않은 군(처방 3, 4군)에서는 흡수율의 차이가 유의적으로 나타났다. 그러나 투여량을 25 mg/kg에서 100 mg/kg으로 증가시켰을 때 PHCO의 첨가에 따른 실리빈의 흡수율은 UDCA의 첨가와 무관하게 유의적인 증가를 보였다. 즉, 저용량 투여군에서 UDCA가 실리빈의 흡수에 영향을 미치기는 하지만 PHCO의 첨가로 이를 개선하였으며, 고용량 투여군에서 이러한 현상이 보이지 않은 것은 실리빈의 흡수에 있어서 포화현상이 나타나는 것으로 생각되며 각 처방을 흰쥐에 저·고용량 두가지로 투여했을 때 PHCO의 첨가로 실리빈의 흡수율이 현저히 증가했음을 보여 주었다.

## 고 찰

제제내에서 주 약효성분의 체내 흡수를 결정하는 용해단계는 생체이용률 증가와 약효상승 유도를 위해 매우 중요

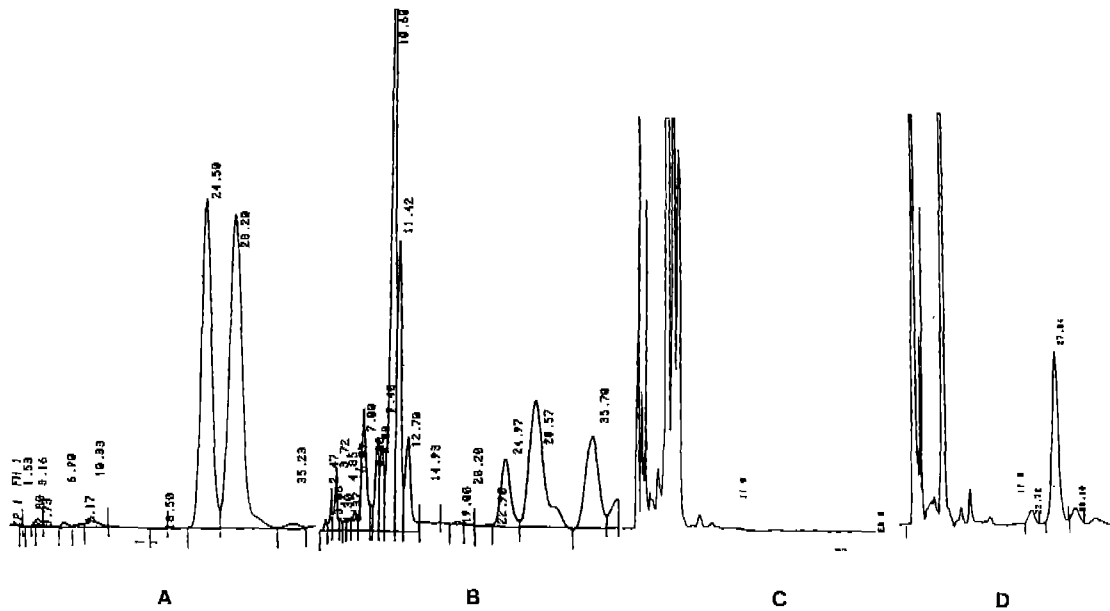


Fig. 1. HPLC chromatogram of silybin in water and rat bile. A: Standard silybin in blank water. B: Solubilized silybin from prescription E. C: Blank rat bile. D: 24 hours after oral dosing of prescription 1.

한 단계로 알려져 있다. 이에 따라 난용성인 약물의 경우 용해성 증가를 위한 많은 연구들이 진행되었다(Yang and Kim, 1992; Park 등, 1992).

난용성 성분들의 가용화 방법은 계면활성제의 이용, 용해보조제의 이용, 복합체 형성에 의한 용해성 증가 및 약물 유도체화 등이 있다(서성훈, 1990). 이들 방법 중 계면활성제의 이용은 액제의 개발이나 연질캡셀제의 개발에 있어서 가장 많이 사용되는 방법중 하나이다. 현재 널리 사용되는 계면활성제로는 Tween 및 PHCO 등이 있으며 이들은 각각

의 약물에 따라 용해시키는 정도가 다른 것으로 알려져 있다. 이들 계면활성제의 선택은 약물에 대한 micelle의 제한된 수용능력, 계면활성제의 생체에 대한 유해작용 및 보존제, 방향제, 착색제 등 첨가제에 대한 여러 가지 문제점들을 충분히 고려해야 한다(서성훈, 1990).

간장질환 치료에 널리 이용되는 실리마린은 용해성과 생체이용률이 낮은 난용성 약물이다. 따라서 많은 연구들은 염형태의 합성이나 계면활성제를 이용한 용해성 증가를 시도하거나, 방출제어에 의한 효과 증진을 시도하였다(크리빠, 1990; Bulles 등, 1975; Ho 등, 1995; Schandalik 등, 1992). 특히 펠레세 크리빠(1990)는 실리마린과 PHCO를 1:4에서 1:28까지의 비율로 섞어 제제화하였을 때 실리마린의 액상제제화가 가능하다고 보고하였다. 따라서 이를 기초로 본 연구에서는 PHCO를 이용하여 실리마린을 정제나 경질캡셀제보다 용해성이 크고 생체이용률도 증가(Augsberger, 1990)시킬 수 있는 반고형제제 형태의 연질캡셀제로 개발하였을 경우, 실리마린의 용해성 증가를 평가하고자 하였으며 배합성분들에 의해서 흡수율이 어떻게 변화되는가를 알아보고자 하였다. 그 결과 Fig. 2에서 보듯이 실리마린과 PHCO가 1:3의 비율로 처방되었을 때 가장 높은 용해성을 보였으며 PHCO의 비율에 의존적으로 용해성이 증가되었다(실리마린:PHCO=1:1일 때 15.7%, 1:2일 때 37.2%, 1:3일 때 78.7%). 연질캡셀제의 용제로 널리 이용되는 SBO와 YBW만으로 처방된 대조군은 4% 이하로서 처방 E와 약 25배의 차이를 보였다. 한편 연질캡셀제 제조시 용제나 UDCA가 실리마린의 용해성에 미치는 영향을 조사하기 위해 실리마린 단독과 PHCO를 1:3 비율로 조제하여 용해성

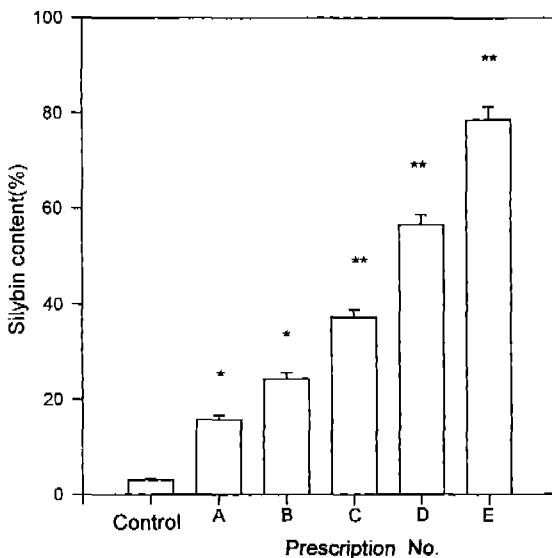


Fig. 2. Effect of PHCO on solubilization of silybin (n=3). \*p <0.05, \*\*p<0.01: Significantly different from control group.

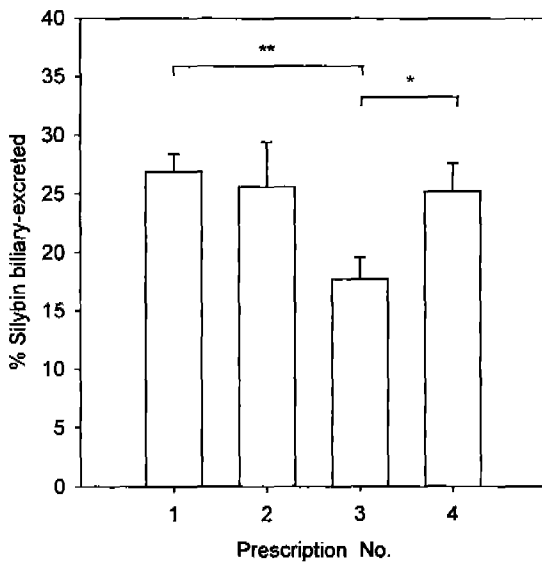


Fig. 3. Biliary excreted percent of total silybin for 24 hours after oral administration of silymarin (25 mg/kg) in rats (n=6~8). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ : Significantly different from control group.

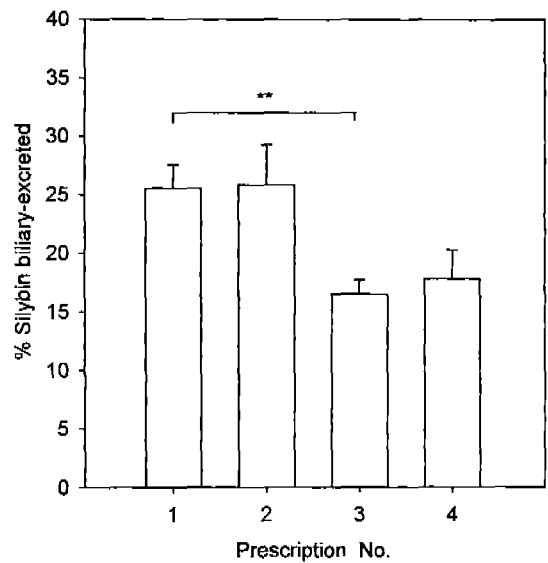


Fig. 4. Biliary excreted percent of total silybin for 24 hours after oral administration of silymarin (100 mg/kg) in rats (n=6~8). \*\* $p < 0.01$ : Significantly different from control group.

시험을 실시하였다. 그 결과 처방 E에 비해 약 4.8% 정도만 상승되었을 뿐 큰 차이를 보이지 않았다. 이것은 연질캡셀 제제내에서도 PHCO의 가용화효과는 타성분이나 용제 등에 의해 영향받지 않는다는 것을 의미한다. 또한 PHCO의 비율이 1:3보다 증가할수록 용해성은 더욱 개선되거나 제형이 액상 형태를 가지게 되어 캡셀제로 개발하기에는 곤란하였다.

한편 계면활성제의 선정은 제제의 안정성에 대한 영향, 피복제 및 착색제와의 상호작용, 장단기간의 유해작용 등을 유의해서 고려해야 한다(서성훈, 1990). 더우기 간장질환 치료제의 경우 장기복용이 불가피하므로 연질캡셀 제제내 계면활성제의 비율증가는 여러 가지 부작용을 초래할 수 있을 것으로 판단된다. 따라서 연질캡셀 제제하시 실리마린과 PHCO의 비율은 1:3이 가장 적절할 것으로 판단되며, 이에 대한 *in vivo* 실험을 실시하였다.

흡수된 실리마린은 간장을 통해 대사되어 대부분 담즙을 통해 배설되며 극히 일부가 요를 통해 배출되며(Schandalik 등, 1992), 혈액내 농도는 매우 낮고 유리형보다는 대부분 포합형으로 존재하므로 몇몇 연구자들(Martinelli 등, 1992; Schandalik 등, 1992; Weyhenmeyer 등, 1992)은 담즙중 실리마린의 농도변화를 통해 생체이용률이나  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  및 AUC (area under the curve) 등과 같은 약물동태학적 파라메타를 구한 바 있다(Schandalik 등, 1992; Lorenz 등, 1984; Morazoni 등, 1993; Nam 등, 1994). 따라서 본 연구에서는 담즙으로 분비되는 실리마린의 배설량을 생체이용률로 가정하여 제제내에서 실리마린의 흡수정도를 확인하였으며, 이를 통해 실리마린에 대한 상대 생체이용률을 구하고자 하였다. 특히 저자 등은 이전 연구에서 배설된 대부분의 실리마린은

24시간 이내에 90% 이상 분비되는 것을 확인하였으므로(Nam 등, 1994) 본 실험에서는 24시간 동안 담즙을 채취하여 실리마린의 배설량을 구하였다.

Fig. 3과 4에서처럼 흰쥐에서 실리마린 흡수율은 PHCO를 첨가하지 않은 처방(처방 3, 4)을 25 mg/kg로 투여했을 때 흡수율의 차이가 보인 것을 제외하고 두용량(25, 100 mg/kg)으로 투여된 각각의 군(처방 1, 2)에서 PHCO의 첨가로 유의적인 증가를 보였다. 그러나 전체적으로 *in vitro* 용해성 시험 결과 25배 이상의 용해성 상승에 비해 생체흡수율에 있어서는 50% 정도의 증가로 용해성 상승이 그대로 흡수율에 반영되지는 않았다. 이것은 위장관 내에서의 약물의 흡수는 절대적으로 용해상태에 의존되는 것은 아니며 그외에 다른 요인에 의한 영향도 클 것으로 사료된다. PHCO를 첨가하지 않은 처방(처방 3, 4)을 25, 100 mg/kg의 두용량으로 투여했을 때 처방 4에서 흡수율의 차이가 나타난 것은 UDCA에 의한 영향인 것으로 사료되나 투여용량이 많아질수록 그 영향은 체내흡수기전의 포화나 흡수한계 등의 작용에 의해 UDCA의 영향이 상대적으로 작아지는 것으로 생각된다. 한편 100 mg/kg 투여군에서는 25 mg/kg 투여군보다 낮은 실리마린 배설률을 관찰하였는데 이것은 실리마린의 위장관 흡수에 있어서의 포화현상 또는 SBO, YBW 그리고 UDCA의 투여용량이 증가됨에 따라 흰쥐의 위장관내 흡수가 저하되었기 때문으로 생각된다.

결론적으로 실리마린과 UDCA를 연질캡셀의 유성용제로 SBO를, 경화제로 YBW를 사용하여 제제화할 경우 실리마린의 경구흡수율은 UDCA에 의해 저하될 가능성이 있으며 이는 비이온성 계면활성제인 PHCO에 의해 개선될

수 있을 것으로 사료된다.

### 참고문헌

- Augsberger, L. L. (1990). Soft gelatin capsules, In Modern Pharmceutics, 2nd Ed. (Banker, G. S. and Rhodes, C. T.) Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, pp. 478.
- Bulles, H., Bulles, J., Krumbiegel, G., Mennicke, W. H. and Nitz, D. (1975). Untersuchungen zur verstoffwechselung und zur ausscheidung von silybin bei der ratte. *Arzneim. - Forsch.* **25**, 902-905.
- Ho, B. K., Park, K. O., Kang, C. Y. and Seo, S. H. (1995). Controlled release of silymarin from chitosan carrier. *J. Kor. Pharm. Sci.* **25**, 137-46.
- Iwamura, K. (1980). Clinical studies on cheno- and ursodeoxycholic acid treatment for gallstone dissolution. *Hepato-Gastroenterology* **27**, 26-35.
- Kitani, K. and Kanai, S. (1982). Effect of ursodeoxycholate on the bile flow in the rat. *Life Sci.* **31**, 1973-1985.
- Lanzini, A. and Northfield, T. C. (1988) Effect of ursodeoxycholic acid on biliary lipid coupling and on cholesterol absorption during fasting and eating in subjects with cholesterol gallstones. *Gastroenterology*, **95**, 408.
- Lorenz, D., Lucker, P. W., Mennicke, W. H. and Wetzelsberger, N. (1984). Pharmacokinetic studies with silymarin in human serum and bile. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, **6**, 655-661.
- Magliulo, E. and Carosi, G. P. (1979). Investigations on the actions on regenerating rat liver. *Arzneim-Forsch.* **29**, 1024-1028.
- Martinelli, E. M., Morazzoni, P., Livio, S. and Ubert, E. (1991). Liquid chromatography assay of silybin in human plasma and urine. *J. of Liquid Chromatography* **14**, 1285-1296.
- Morazzoni, P., Montalbetti, A., Malandrio, S. and Pifferi, G. (1993). Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharinet* **18**(3) 289-297.
- Nam, K. H., Kim, D. O., Cho, J. Y., Yeom, J. H., Kim, Y. M., Yoo, E. S., Yu, Y. H. and Park, M. H. (1994). Biliary and urinary excretion of DWP305, the combined preparation of ursodeoxycholic acid and silymarin for hepatic disorders in rats. *Yakhak Hoeji*, **38**, 646-653.
- Park, G. B., Jung, E. I., Cho, J. K. and Lee, K. P. (1992). Preparation of temacepam soft elastic gelatin capsule(softgel) and bioavailability in rabbits. *J. Kor. Pharm. Sci.* **22**, 49-54.
- Roslyn, J. J., Abedin, M. Z., Strichartz, S.D., Abdou, M. S. and Palant, C. E. (1989) Regulation of gallbladder ion transport (role of bile lipids). *Surgery*, **105**, 207.
- Schandalik, R., Gatti, G. and Perucca, E. (1992). Pharmacokinetics of silybin in bile following administration of silipide and silymarin in cholecystectomy patients. *Arzneim. -Forsch*, **42**, 964-968.
- Schoenfield, L. (1980). Medical dissolution of gallstones. *Tokyo Tanabe Quarterly* **31**, 155-163.
- Tyutyukova, N., Tuneva, S., Gorantcheva, U., Tanev, G., Zhivkov, V., Chelibonova, L. H. and Bozhkov, S. (1981). Hepatoprotective effect of silymarin on liver of D-galactosamine treated rats. *Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol.* **3**, 71-77.
- Valenzuela, A., Lagos, C., Schmidt, K. and Videla, L. A. (1985). Silymarin protection against hepatic lipid peroxidation induced by acute ethanol intoxication in the rat. *Biochem. Pharmacol.* **34**, 2209-2212.
- Ward, A., Brogden, R. N., Heel, R. C., Speight, T. M. and Avery, G. S.(1984). Ursodeoxycholic acid; A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, **27**, 95.
- Weyhenmeyer, R., Marcher, H. and Birkmeyer, J. (1992). Studies on dose linearity of the pharmacokinetics of silybinin diastereomers using a new stereospecific assay. *International J. of Clin. Pharmacol. Therapy and Toxicology* **30**, 134-138.
- Yang, J. H. and Kim, Y. I. (1992). Studies on the bilavailability of berberine preparations. *J. Kor. Pharm. Sci.* **22**, 55-62.
- 서성훈 (1990). 난용성 약물의 가용화, in 액상제제의 처방설계 및 제조공정, 제2회 제제기술워크샵, 한국약제학회, pp. 39-59.
- 펠리세 크리파 (1990). 실리마린 및 약학 또는 화장품조성물의 용해방법. KP16107.