

## 흰쥐에서 UDCA와 Silymarin을 함유한 간장질환 치료용 의약조성물(DWP305)의 담즙 및 요중 배설

남권호\* · 김동오 · 조재열 · 염제호 · 김영만 · 유은숙 · 유영효 · 박명환

(주)대웅제약 중앙연구소

(Received August 17, 1994)

### Biliary and Urinary Excretion of DWP305, the Combined Preparation of Ursodeoxycholic Acid and Silymarin for Hepatic Disorders in Rats

Kweon Ho Nam\*, Dong O Kim, Jae Youl Cho, Je Ho Yeom, Young Man Kim,  
Eun Sook Yoo, Young Hyo Yu and Myung Hwan Park  
R&D Center, Daewoong Pharm. Co. Ltd., Sungnam 462-120, Korea

**Abstract**—The pharmacokinetics of DWP305, a new combined preparation for hepatic disorders was examined in rats. DWP305 was composed of ursodeoxycholic acid(UDCA), *Cardus marianus* extract(silymarin 74.5%), fursulthiamine and riboflavin tetrabutyrate(RTB). Especially, this study was focused on the possibilities of drug interaction that the administration of DWP305 may affect the oral absorption of each component. After oral administration of DWP305 and each component drug to rats, the biliary excretion of silybin and tauroursodeoxycholic acid(TUDCA), and the urinary excretion of vitamins were measured by HPLC up to 48 hours. The cumulative amount of TUDCA or silybin in bile was not significantly different between DWP305 and UDCA/silymarin administered groups at doses of 25 and 100 mg/kg. In the case of vitamin study, the urinary thiamine excretion of equivalent molar fursulthiamine administered group was significantly higher than that of thiamine administered group. Urinary riboflavin level of equivalent molar RTB administered group was lower than that of riboflavin administered group, but not significant. These results suggest that the combined preparation may not affect the oral absorption of each component in respect of drug interaction. Also, fursulthiamine and RTB were more effective in oral absorption than thiamine and riboflavin, respectively.

**Keywords** □ DWP305, UDCA, TUDCA, silymarin, silybin, fursulthiamine, RTB, pharmacokinetics

현재 간질환 치료 목적으로 널리 사용되고 있는 약물중 ursodeoxycholic acid(UDCA)는 이담작용,<sup>1)</sup> 간혈류 증가작용,<sup>2)</sup> 지방의 흡수 촉진작용<sup>3)</sup> 및 미세담도를 통한 노폐물 배설작용<sup>4)</sup>을 가지고 있으며, 경구 흡수된 UDCA는 주로 taurine과 포함에 의해 활성 물질인 TUDCA를 형성하여 장간순환을 하므로 순환 혈액 중에는 거의 존재하지 않는 것으로 밝혀져 있다. 또한 silymarin은 *Cardus marianus* extract의 성분으로서 주로 silybin, isosilybin, silycristin, silidianin 등으로 구성되어 있고 그 중 silybin이 주요 활성성

분으로 밝혀져 있으며 간세포 재생효과,<sup>5)</sup> 과산화지질 생성 억제효과,<sup>6)</sup> 간세포 보호작용<sup>7)</sup>이 있다고 알려졌다. 체내에 흡수된 silybin은 대부분이 glucuronide와 sulfate 포함체를 형성하여 담즙으로 배설되며 이에 비하여 혈중농도는 매우 낮은 것으로 보고되어 있다. 이 외에도 간세포의 신진대사를 활성화시키기 위하여 비타민류가 사용되고 있으나 간질환의 원인이 다양하고 복잡한 증상을 나타내므로 단일물질에 의한 치료가 어려운 실정이다. 이러한 이유로 본 연구소에서는 UDCA, silymarin 그리고 비타민류를 적당한 비율로 배합함으로써 각 약물의 단점을 보완하고자 DWP305의 개발에 많은 노력을 기울여 왔으며 DWP

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

305가 간질환 치료 및 예방에 우수한 효과가 있음을 동물모델에 의한 급성 간손상, 지방간, 약물중독 등의 실험을 통하여 확인하였다.

따라서 본 연구에서는 흰쥐에서 silymarin과 UDCA의 담즙배설 및 fursulthiamine과 riboflavin tetrabutryrate(RTB)의 요중배설을 측정하여 DWP305 조성물의 각 성분들이 배합에 의하여 흡수 및 배설에 영향을 받는지를 검토하고자 하였다.

### 실험방법

**시약**—UDCA(대웅화학), Cardus marianus extract(Indena), fursulthiamine(Vertex), riboflavin tetrabutryrate(田邊製藥), silybin(Roth), tert-butyl methyl ether(Merck, 이하 TBME),  $\beta$ -glucuronidase(Sigma), arylsulfatase(Sigma), 메탄올(Merck, HPLC grade), 아세트니트릴(Merck, HPLC grade), 에탄올(Merck, HPLC grade), 헥산(Merck, HPLC grade), 메칠렌클로라이드(Baxter, HPLC grade) 등을 사용하였으며 기타 시약은 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

**실험동물**—한국실험동물원에서 분양받은 5~6주령의 Sprague Dawley 흰쥐 숫컷을 1주 이상 순화시켜 체중 200~250 g 범위의 것을 사용하였다. 동물실내의 명암은 12시간으로 자동조절시켰으며 물과 사료(신촌사료사)를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

**사용약제**—DWP305는 UDCA, Cardus marianus extract, fursulthiamine, RTB가 100 : 143 : 10 : 5의 조성비로 구성되어 있으며 용시 2% Na CMC에 현탁하여 제조하였고 fursulthiamine과 RTB의 평가시는 soybean oil에 현탁하여 사용하였다. Cardus marianus extract는 100 mg에 silymarin으로서 74.5 mg, silybin으로서 32.1 mg을 함유하는 것을 사용하였다. 투여용액은 흰쥐 kg당 2 ml가 되게 조제하였다.

**약물투여 및 시료의 채취**—실험에 사용한 모든 흰쥐는 실험전 하룻밤을 절식시켰고 체중을 측정한다음 수술을 시행하였다. 흰쥐를 에텔로 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 흰쥐가 마취에서 깨어나도록 충분히 방치한 다음 sonde를 통하여 위내에 투여하였다. 담즙의 채취시간은 약물투

여후, silymarin 평가시는 1, 2, 4, 8, 24, 30, 48시간, UDCA 평가시는 24시간이었고 정량시 까지 냉동보관하였다. 담즙의 부피는 비중을 1로 보고 무게를 측정하여 이로부터 구하였다.

요는 stainless steel제 metabolic cage를 이용하여 채취하였으며 비타민의 파괴를 방지하기 위하여 미리 채뇨관에 5N-HCl 0.5 ml씩을 취하고 24시간까지 채뇨하였다.

### 정량 방법

**담즙산의 정량**—담즙산의 정량은 A와 B 두 이동상을 Bilepak-II column에 gradient elution하여 각각의 담즙산으로 분리하고 여기에  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide(NAD)가 함유된 reagent를 3  $\alpha$ -hydroxy steroid dehydrogenase가 부착된 Enzymepak-HSD column에서 반응시켜서 dihydronicotinamide adenine dinucleotide(NADH)를 생성하여 형광을 측정하는 post-column reaction 방법을 이용하였다.

각각의 담즙산 표준품을 메탄올에 녹여 표준용액을 만들고 이를 이용하여 피크면적비로서 농도를 계산하였다. 약물투여후 24시간까지 채취한 담즙 200  $\mu$ 에 에탄올 1 ml를 가하여 수욕상에서 1분간 가온하고 원심분리하여 상정액을 취하였다. 남은 잔사에 위의 조작을 반복하여 앞의 상정액과 합하고 이를 증발·건고하였다. 여기에 메탄올 5 ml를 가하여 녹이고 20  $\mu$ 를 HPLC에 주입하였다. 이때의 크로마토그램 조건은 Table I과 같다.

**Silybin의 정량**—silymarin의 담즙중 배설은 주요 약효성분인 silybin을 기준으로 정량하였으며 silybin의 정량은 E. M. Martinelli 등의 방법을 개량하여 사용하였다.<sup>8)</sup> 각 시간별로 채취한 담즙 100  $\mu$ 를 acetate buffer 용액 0.5 ml에 녹인  $\beta$ -glucuronidase/aryl-sulfatase(44 U/21 U)와 37°C에서 48시간 동안 반응시켜 silybin을 free form으로 변형시켰다. 이를 Extrelut 3 column(Merck, USA)에 주입하고 15 ml의 TBME로 elution하여 여액을 얻어 이를 centrifugal vaporizer(CVE-100D, EYELA)로 37°C에서 증발·건고한 후 이동상 100  $\mu$ 에 녹이고 최종적으로 20  $\mu$ 를 HPLC에 주입하였다. 이때의 크로마토그램 조건은 Table II와 같다.

검량선의 작성을 위해서 silybin 표준품의 메탄올

**Table I**—HPLC conditions for determination of bile acids

Parameters	Conditions															
Pump	Jasco PU-980															
Integrator	Jasco 807-IT															
Autosampler	Jasco 851-AS															
Column	Bilepak II(125×4.6 mm, Jasco)															
Mobile phase	A: CH <sub>3</sub> CN/CH <sub>3</sub> OH/30 mM ammonium acetate(30/30/40) B: CH <sub>3</sub> CN/CH <sub>3</sub> OH/30 mM ammonium acetate(20/20/60)															
Flow rate	1.0 ml/min															
Injection volume	20 μl															
Reagent	0.3 mM NAD+ 10 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + 1 mM EDTA-2Na + 0.05% 2-mercaptoethanol, pH 7.80															
Immobilized enzyme column	Enzymepak-HSD(35×4.6 mm, Jasco)															
Reagent flow rate	1.0 ml/min															
Temperature	25°C															
Detector	Fluorometric detector, Jasco FP-920(Ex. 345 nm, Em. 470 nm)															
Gradient profile	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time</th> <th>%A</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>32.0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>42.0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>42.5</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	Time	%A	%B	0.0	0	100	32.0	100	0	42.0	100	0	42.5	0	100
Time	%A	%B														
0.0	0	100														
32.0	100	0														
42.0	100	0														
42.5	0	100														
Cycle time	50 min															

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

Parameters	Conditions
Pump	Waters 510
Integrator	Waters 764
Mobile phase	n-Hexane : methylene chloride : ethanol = 60 : 30 : 10
Column	Lichrosorb Diol(250×4 mm, 5 μm, Merck)
Flow rate	1.0 ml/min
Detector	UV, Waters 484(280 nm)
Temperature	Ambient
Injection volume	20 μl

용액을 2, 10, 100, 300 μg/ml가 되게 조제하여 1.5 ml tube에 100 μl씩을 각각 취하고 메탄올을 모두 날려보낸 후 잔사에 blank 담즙 100 μl씩을 가하여 녹이고 상기와 같은 방법으로 정량을 시행하였다. 이와 같은 방법을 3회 반복하여 피크면적의 평균값을 구하고 이로부터 검량선을 작성하였다.

**Table III**—HPLC conditions for determination of thiamine

Parameters	Conditions
Pump	Hitachi L-6000
Integrator	Hitachi D-2500
Mobile phase	Methanol : water = 95 : 5
Column	Supelcosil LC-18(250×2.1 mm, 5 μm, Supelco)
Flow rate	0.2 ml/min
Detector	Fluorometric detector, Waters 420 (Ex. 365 nm, Em. 425 nm)
Temperature	Ambient
Injection volume	5 μl

**Thiamine의 정량**—安田和人 등의 방법을 개량하여 이용하였다.<sup>9)</sup>

5N HCl 0.5 ml를 미리 가한 튜브에 24시간 채취하여 냉장보관한 요 100 μl를 취하고 30% NaOH에 녹인 K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>(1.2 mg/ml) 20 μl를 가하여 thiamine을 thiochrome으로 변형시켰다. 여기에 n-부탄올 100 μl를 가하고 혼화하여 추출한 다음 원심분리하여 n-부탄올층 5 μl를 HPLC에 주입하였다. 이 때의 크로마토그래피 조건은 Table III과 같다.

검량선의 작성을 위해 thiamine 표준액의 농도를 2.39, 4.77, 9.55, 19.09, 38.18 nmole/ml로 되게 조제하여 상기와 같은 방법으로 정량을 실시하였다. 이와 같은 방법을 3회에 걸쳐 반복 실시하여 피크높이의 평균값을 구하고 이로부터 검량선을 작성하였다.

**Riboflavin의 정량**—安田和人 등의 방법을 개량하여 이용하였다.<sup>9)</sup>

5N HCl 0.5 ml를 미리 가한 tube에 24시간 채취한 요를 원심분리하고 상정액을 취하여 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 20 μl를 HPLC에 주입하였다. 이때의 크로마토그램 조건은 Table IV와 같다.

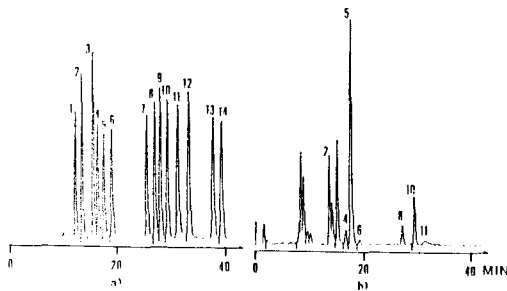
0.2N sodium acetate에 녹인 riboflavin 용액의 농도를 10, 50, 100, 500, 1000 ng/ml가 되게 조제하여 정량하고 피크높이로부터 검량선을 작성하였다.

**통계처리**—모든 측정치와 계산치는 평균±표준오차로 나타내었으며 Student's t-test로 유의성을 검증하여 p<0.05인 경우만을 유의성이 있다고 판정하였다.

## 실험결과

**Table IV**—HPLC conditions for determination of riboflavin

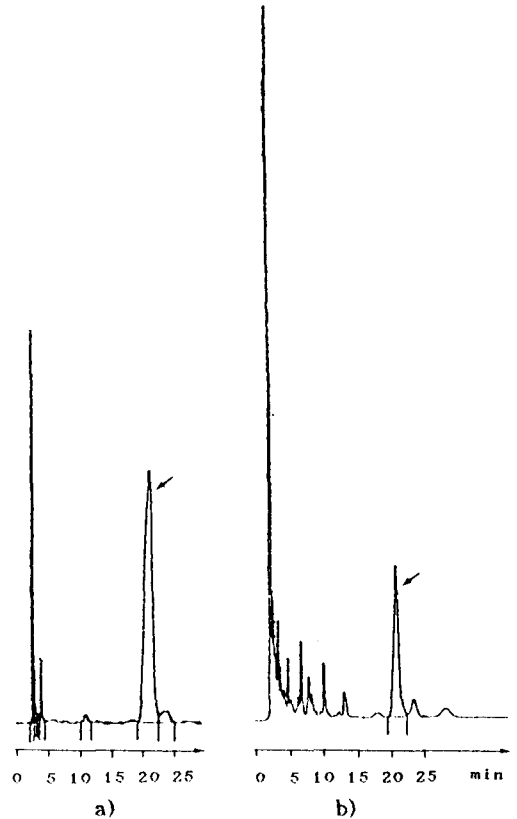
Parameters	Conditions
Pump	Hitachi L-6000
Integrator	Hitachi D-2500
Mobile phase	0.01M Phosphate buffer(pH 5.0) : Methanol= 65 : 35
Column	Supelcosil LC-18(250×2.1 mm, 5 μm, Supelco)
Flow rate	0.3 ml/min
Detector	Fluorometric detector, Waters 420 (Ex. 450 nm, Em. 530 nm)
Temperature	Ambient
Injection volume	20 μl



**Fig. 1**—HPLC chromatograms of bile acids.  
a) Standard bile acids in methanol.  
b) 24 hours after oral dosing of DWP305 in bile.  
\* peak

- 1 : Glycoursodeoxycholic acid(GUDCA)
- 2 : Tauroursodeoxycholic acid(TUDCA)
- 3 : Ursodeoxycholic acid(UDCA)
- 4 : Glycocholic acid(GCA)
- 5 : Taurocholic acid(TCA)
- 6 : Cholic acid(CA)
- 7 : Glycochenodeoxycholic acid(GCDCA)
- 8 : Taurochenodeoxycholic acid(TCDCA)
- 9 : Glycodeoxycholic acid(GDCA)
- 10 : Taurodeoxycholic acid (TDCA)
- 11 : Chenodeoxycholic acid(CDCA)
- 12 : Deoxycholic acid(DCA)
- 13 : Glycolithocholic acid(GLCA)
- 14 : Tauroolithocholic acid(TLCA)

**약물의 정량**—각 약물 검량선의 상관계수는 모두 0.999 이상으로 좋은 직선성을 보여 주었다. 흰쥐의 생체시료중 각 약물의 HPLC chromatogram은 Fig. 1~4와 같다. TUDCA는 13.6분, silybin은 21.5분, ri-

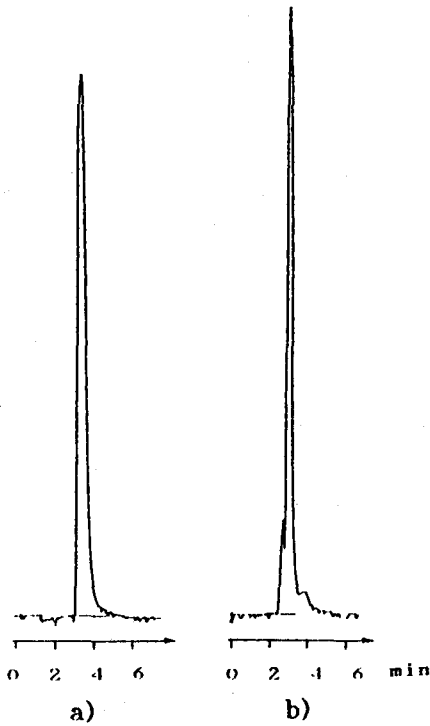


**Fig. 2**—HPLC chromatograms of silybin in rat bile.  
a) Silybin 300 μg/ml in blank rat bile.  
b) 1 hour after oral dosing of DWP305

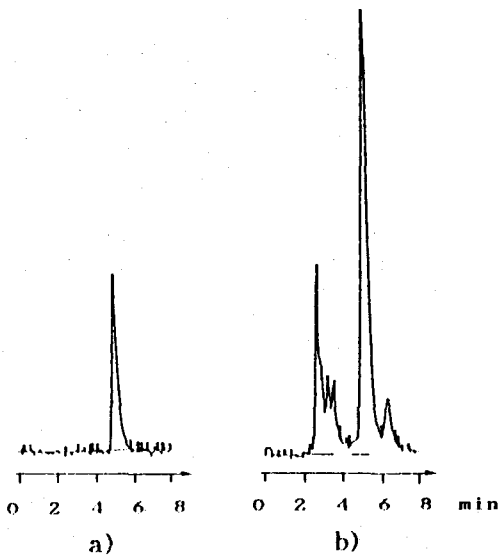
boflavin은 5.0분, thiochrome은 3.3분에 각각 피크 크가 나타났으며 크로마토그램상에서 잘 분리되었다.

**담즙중 TUDCA의 배설**—TUDCA의 담즙중 배설량을 Fig. 5에 나타내었다. 2% Na CMC만을 투여한 흰쥐에서의 24시간까지의 TUDCA 배설량은 흰쥐 kg 당  $6.28 \pm 0.76 \mu\text{mole}$ 로 UDCA 투여군에 비하여 소량이었고, UDCA 단독투여군과 DWP305 투여군에 있어서의 TUDCA 배설량은 서로 유의적인 차이가 없었으며 투여량에 비례하여 증가하는 경향을 보였다. 또 UDCA와 DWP305의 투여후 UDCA 자체로는 담즙중으로 거의 배설되지 않았다.

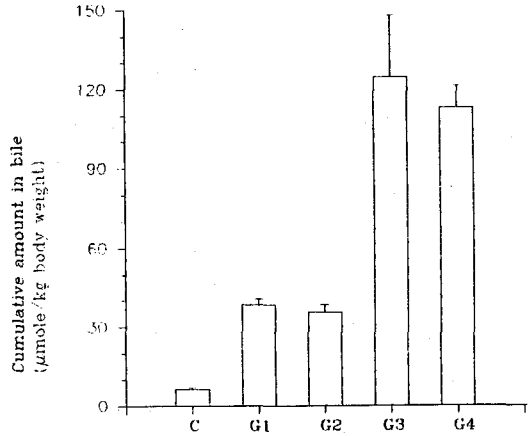
**담즙중 silybin의 배설**—약물투여후 48시간까지의 담즙중 silybin 배설량을 검토하였다. 초기 8시간까지는 UDCA 단독투여군에서 DWP305 투여군에 비해 배설량이 많았으나 이후로는 반전되는 양상을 보여 주었다. 48 시간까지의 담즙중 누적배설량은 유의적인 차이는 없었으나 DWP305 투여군에서 증가하는 경



**Fig. 3**—HPLC chromatograms of thiamine in rat urine.  
 a) Thiamine 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  in water solution.  
 b) 24 hours after oral dosing of DWP305.  
 \* peak : thiochrome

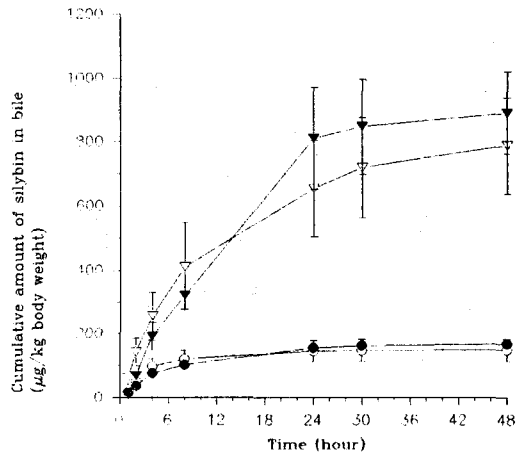


**Fig. 4**—HPLC chromatograms of riboflavin in rat urine.  
 a) Riboflavin 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  in 0.2N sodium acetate solution.  
 b) 24 hours after oral dosing of DWP305.



**Fig. 5**—Cumulative amount of excreted TUDCA from bile after oral dosing of each preparation in rats.

C: 2% Na CMC 2 ml/kg, n=5.  
 G1: UDCA 25 mg/kg, n=4.  
 G2: DWP305(25 mg/kg as UDCA), n=4.  
 G3: UDCA 100 mg/kg, n=4.  
 G4: DWP305(100 mg/kg as UDCA), n=4.

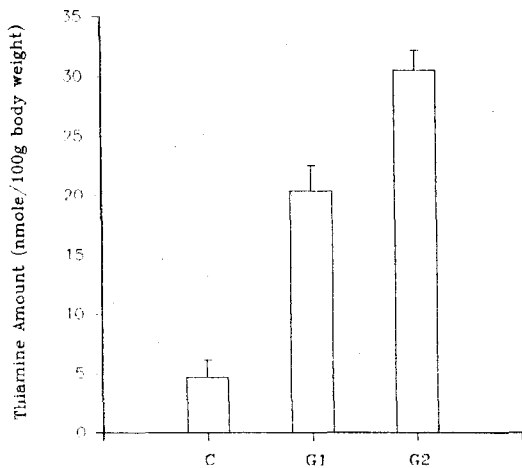


**Fig. 6**—Cumulative amount of excreted total silybin from bile after oral dosing of each preparation of silymarin in rats.

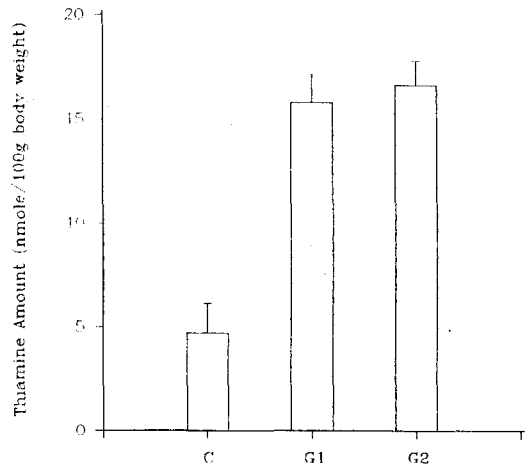
○: silymarin 25 mg/kg, n=5.  
 ●: DWP305(25 mg/kg as silymarin), n=5.  
 ▽: silymarin 100 mg/kg, n=3.  
 ▼: DWP305(100 mg/kg as silymarin), n=3.

향을 보였다(Fig. 6).

**Thiamine의 요중 배설**—Thiamine의 경구흡수율을 개선한 전구체인 fursulthiamine과 thiamine을 동 mole로 환취에 경구투여한 후 24시간까지의 요중



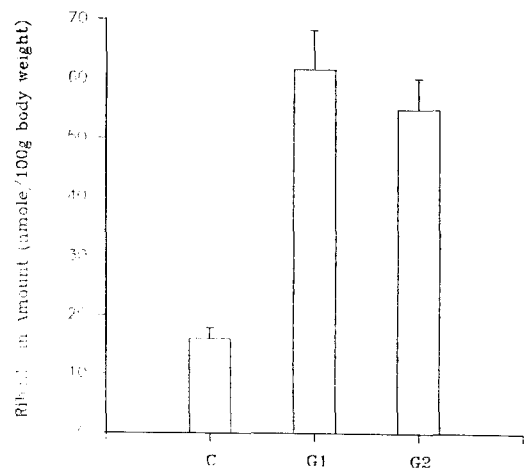
**Fig. 7**—Urinary recovery(24 hrs) of thiamine after oral dosing of thiamine and fursulthiamine.  
 C: soybean oil, n=6.  
 G1: thiamine HNO<sub>3</sub> 20 mg/kg, n=6.  
 G2: fursulthiamine 24.34 mg/kg, n=6.  
 \* p<0.01, between G1 and G2.



**Fig. 8**—Urinary recovery(24 hrs) of thiamine after oral dosing of fursulthiamine and DWP305.  
 C: soybean oil, n=6.  
 G1: fursulthiamine 10 mg/kg, n=6.  
 G2: DWP305(10 mg/kg as fursulthiamine), n=6.

배설물을 검토했었다. 정상 흰쥐에서 24시간 동안 thiamine의 요중 배설량은 흰쥐 100 g당 4.68±1.46 nmole이었고 thiamine HNO<sub>3</sub> 20 mg/kg와 동 mole의 fursulthiamine을 투여했을 경우는 각각 20.46±2.12, 30.59±1.67 nmole로 후자에서 유의성있는 증가를 보였다(Fig. 7). 또 fursulthiamine 단독과 DWP305를 투여한 경우의 요중 배설량은 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 8).

**Riboflavin의 요중 배설**—Riboflavin의 경구흡수율을 개선하고 조직 및 혈중농도를 고농도로 지속적으로 유지하는 riboflavin의 전구체인 RTB와 riboflavin을 동 mole로 흰쥐에 경구투여한 후 24시간까지의 요중 배설물을 검토했었다. 정상 흰쥐에서 24시간 동안 riboflavin의 요중 배설량은 흰쥐 100 g 당 15.97±1.9 nmole이었고 riboflavin 10 mg/kg와 동 mole의 RTB를 투여했을 경우는 각각 61.65±6.61, 54.93±5.28 nmole로 유의성은 없으나 후자에서 약간 감소하는 경향을 보였다(Fig. 9). 또 RTB 단독과 DWP305를 투여한 경우의 요중배설량은 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 10).



**Fig. 9**—Urinary recovery(24 hrs) of riboflavin after oral dosing of riboflavin and RTB.  
 C: soybean oil, n=6.  
 G1: riboflavin 10 mg/kg, n=6.  
 G2: RTB 17.45 mg/kg, n=6.

**고 찰**

본 연구는 간장질환에 널리 사용되고 있는 약물인

UDCA 및 silymarin과 fursulthiamine, RTB를 적절히 배합하여 우수한 약효가 확인된 DWP305의 각 성분들이 배합에 의하여 흡수 및 배설에 영향을 받는지를 규명하기 위한 것이었다.

흰쥐에 있어서 UDCA는 위장관에 흡수되어서 90% 이상이 간에서 taurine과 포함하여 담즙으로 배설되어

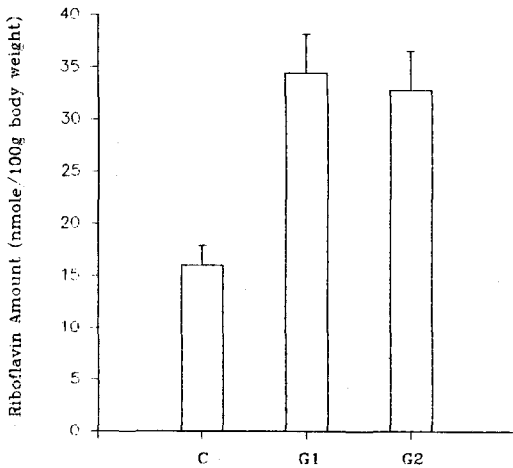


Fig. 10—Urinary recovery(24 hrs) of thiamine after oral dosing of RTB and DWP305.

C: soybean oil, n=6.

G1: RTB 5 mg/kg, n=6.

G2: DWP305(5 mg/kg as RTB), n=6.

장간순환을 하므로 TUDCA의 담즙으로의 배설률로부터 배합에 의한 UDCA의 상대적인 흡수정도를 알아보고자 하였다. 이미 보고된 바에 의하면<sup>10)</sup> UDCA는 24시간 이내에 투여량의 거의 100%가 담즙으로 배설되므로 본 연구에서도 투여 후 24시간까지의 담즙중 배설률을 구하였다. 결과적으로 UDCA 단독투여군과 DWP305 투여군에 있어서 담즙중 TUDCA의 배설량은 유의적인 차이가 없었으므로 배합에 의하여 UDCA의 흡수량은 영향을 받지 않음을 예측할 수 있었다.

Silymarin은 몇가지 화합물의 혼합체로서 그중 silybin이 주요한 활성성분으로 알려져 있고, 또한 silybin은 체내에서 주로 glucuronide와 sulfate 포함체를 형성하여 혈장중 total silybin의 약 10%만이 free form으로 존재한다고 보고되어 있다.<sup>11)</sup> 또한 silybin을 정맥주사했을 때 76%가 담즙중으로 배설되어 혈장중 농도는 매우 낮고 경구투여나 정맥투여시 모두 silybin의 배설총량중 80% 이상이 담즙을 통하는 것으로 보고되어 있으며<sup>12)</sup> Schandalik 등은 silybin의 담즙중 농도를 이용하여 bioavailability 연구를 수행한 바 있다.<sup>13)</sup> 따라서 본 연구에서는 담즙중의 total silybin의 배설량을 지표로 배합에 의한 silymarin의 상대적인 흡수량을 알아보았다. Silymarin 단독투여군에 비하여 DWP305에서는 초기의 담즙중 배설량이

낮은 것으로 보아 흡수시간이 다소 지연되었음을 알 수 있었다. 그러나 담즙중 총배설량의 경우, DWP305에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었으므로 배합에 의하여 silymarin의 흡수량에 있어서는 영향을 받지 않는 것으로 생각된다.

Fursulthiamine은 경구흡수율이 개선된 thiamine의 유도체로서 흡수되어 생체내에서 thiamine을 고농도로 유지하는 것으로 알려져 있다.<sup>14,15,16)</sup> 따라서 본 저자 등은 thiamine과 fursulthiamine의 투여에 따른 thiamine의 요중 배설량을 측정하여 이로서 fursulthiamine투여군이 thiamine투여군 보다 thiamine level이 높음을 확인하였고 또한 배합에 의하여 thiamine의 체내 level에는 영향을 받지 않음을 알 수 있었다.

RTB는 위장관에서 소량이 riboflavin과 butyrate로 분리되어 riboflavin 및 RTB로서 흡수되며, 흡수된 RTB는 조직중으로 분포되어 서서히 riboflavin과 butyrate로 유리되고 이어서 flavin mononucleotide (FMN), flavin adenine dinucleotide(FAD)로 전환되어 에너지 생성에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>17)</sup> 이와 같은 이유로 RTB는 riboflavin에 비해 혈중 riboflavin level이 흡수초기에는 낮으나 지속적으로 장시간 유지되며 요중 level도 riboflavin 투여군보다 낮은 것으로 보고되어 있다.<sup>18,19)</sup> 이번 연구에서 요중 riboflavin level이 RTB 투여군에서 더 낮게 나타난 것은 위의 보고와 일치하는 결과라 생각되며, 또한 DWP305와 RTB단독투여군과의 요중 riboflavin level에 유의적인 차이가 없는 것으로 보아 배합에 의하여 체내 riboflavin level에는 영향을 끼치지 않음을 알 수 있었다.

## 문 헌

- 1) Kitani, K. and Kanai S.: Effect of ursodeoxycholic acid on the bile flow in the rat. *Life Sci*, **31**, 1973 (1982).
- 2) Ward, A., Brogden, R. N., Heel, R. C., Speight, T. M. and Avery, G. S.: Ursodeoxycholic acid; A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, **27**, 95(1984).
- 3) Lanzini, A. and Northfield, T. C.: Effect of ursodeoxycholic acid on biliary lipid coupling and on cholesterol absorption during fasting and eating in

- subjects with cholesterol gallstones. *Gastroenterology*, **95**, 408 (1988).
- 4) Roslyn, J. J., Abedin, M. Z., Strichartz, S. D., Abdou, M. S. and Palant, C. E.: Regulation of gallbladder ion transport(role of bile lipids). *Surgery*, **105**, 207 (1989).
  - 5) Magliulo, E., Carosi, G. P.: Investigations on the actions on regenerating rat liver. *Arzneim. -Forsch.*, **29**(2), 1024 (1979).
  - 6) Valenzuela, A., Lagos, C., Schmidt, K. and Videla L. A.: Silymarin protection against hepatic lipid peroxidation induced by acute ethanol intoxication in the rat. *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 2209(1985).
  - 7) Tyutyukova, N., Tuneva, S., Gorantcheva, U., Tanev, G., Zhivkov, V., Chelibonova, L. H. and Bozhkov, S.: Hepatoprotective effect of silymarin on liver of D-galactosamine treated rats. *Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol.*, **3**, 71(1981).
  - 8) Martinelli, E. M., Morazzoni, P., Livio, S. and Uberti, E.: Liquid chromatographic assay of silybin in human plasma and urine. *J. Liquid Chromatography*, **14**(7), 1285(1991).
  - 9) 安田和人, 池田律子, 川田明子: 高速液體クロマトグラフィーによる血液および尿中のビタミンB<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>の測定. *臨床病理*, XXIX, **6**, 564 (1981).
  - 10) Masamichi Ota, Junko Isobe, Yuriko Tsuji, Taiju Kuramoto and Takahiko Hoshita: Metabolism of bile acids IV. Absorption, distribution, excretion and metabolism of orally administered ursodeoxycholic acid in rats. *Hiroshima J. Med. Sci.*, **26**(4), 233 (1977).
  - 11) Wethenmeyer, R., Mascher, H. and Birkmayer, J.: Study on dose-linearity of the pharmacokinetics of silibinin diastereomers using a new stereospecific assay. *Int. J. Clin. Pharmacol., Therapy and Toxicol.*, **30**(4), 134 (1992).
  - 12) Bulles, H., Bulles, J., Krumbiegel, G., Mennicke, W. H. und Nitz, D.: Untersuchungen zur verstoffwechslung und zur ausscheidung von silybin bei der ratte. *Arzneim. -Forsch*, **25**(6), 902 (1975).
  - 13) Schandalik, R., Gatti, G. and Perucca, E.: Pharmacokinetics of silybin in bile following administration of silipide and silymarin in cholecystectomy patients. *Arzneim. -Forsch*, **42**(7), 964 (1992).
  - 14) Baker, H., and Frank, O.: Absorption, utilization and clinical effectiveness of allithiamines compared to water-soluble thiamines. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **2** 2(Suppl.), 63 (1976).
  - 15) Yoshinori Itokawa, Tohoru Takeuchi, Masayoshi Matsuoka, and Yoshiro Hibi: Blood level and urinary excretion of vitamin B<sub>1</sub> after oral administration of a liquid preparation containing thiamin tetrahydrofurfuryl disulfide. *Vitamins(Japan)*, **63** (11), 563 (1989).
  - 16) Yoshinori Itokawa and Shogo Igarashi: Changes in blood concentrations and urinary excretion of vitamin B<sub>1</sub> following single oral administration of liquid preparations containing thiamin tetrahydrofurfuryl disulfide or thiamine to healthy male adults. *Vitamins(Japan)*, **66**(9), 533 (1992).
  - 17) Masako Yamada: Studies on fatty acid esters of flavins; (X III) Incorporation of <sup>14</sup>C-labeled riboflavin-tetrabutryrate into FMN and FAD in the organs of rat. *ビタミン*, **32**(1), 107 (昭和 40).
  - 18) 吉利 和, 織田敏次, 安田和人, 山本 學: ビタミンB<sub>2</sub>テトラ酪酸エステルシロップの吸収・排泄試験. *診断と治療*, **46**(5), 937 (1958).
  - 19) Patel, R. B., Gandhi, T. P., Patel, A. A., Patel, V. C. and Gilbert, R. N.: Pharmacokinetics and pharmacology of riboflavin tetrabutryrate (Lipabol) in animals. *The Medicine and Surgery*, April, 19 (1977).