Silymarin 함유제형, 레가론 캡셀 140® 및 타 실리마린 제제의 약동학적 특성에 관한 비교 연구†

서울대학교 의과대학 약리학교실 및 서울대학교병원 임상약리실, 서울대학교병원 임상의학연구소 임상시험센터*

조주연, 배균섭, 정인숙*, 유경상, 장인진, 신상구

= Abstract =

Pharmacokinetic Evaluation of Two Formulations Containing Silymarin : Legalon 140® cap. and Silymarin®

Joo-Youn Cho, Kyun-Seop Bae, Ihn-Sook Jeong*,
Kyung-Sang Yu, In-Jin Jang, Sang-Goo Shin.

*Department of Pharmacology, Seoul National University College of Medicine,
Clinical Pharmacology Unit, Clinical Trial Center*, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea*

Background : We evaluated the pharmacokinetic characteristics of a new silymarin containing formulation Legalon cap. 140® in healthy volunteers and compared the pharmacokinetic characteristics with those of Silymarin®

Methods : The trial was a single-blind, randomized, 2-way crossover Latin square design study in 18 healthy subjects. Subjects were separated into two groups, A and B. Subjects in group A were administered Legalon cap. 140® via oral route and 1 week later they were administered Silymarin®. Dosage was 120mg as silibinin (two capsules of Legalon 140® and four tablets of Silymarin®). Subjects in group B were administered the drugs with opposite sequence in the same manner. Blood samples were collected till 24hours after the drug administration. Plasma concentrations of silibinin diastereomers were assayed by HPLC and total silibinin concentrations were obtained. Pharmacokinetic parameters were estimated by noncompartmental analysis.

Results : Mean of AUC and Cmax of the Legalon cap. 140® were 2.5 and 2.9 times higher than those of

†본 연구는 서울대학교병원 위탁연구비(06-98-021) 지원에 의하여 이루어졌음.

교신저자 : 신상구

소 속 : 서울대학교 의과대학 약리학교실 및 서울대학교병원 임상약리실

주 소 : 서울특별시 종로구 연건동 28, ☎ 110-799

전 화 : 02) 740-8286 FAX : 02) 745-7996

Silymarin[®] respectively (AUC : 4045 ± 227 vs 1602 ± 114 ng · hr/ml, Cmax : 981 ± 54.9 vs 339 ± 31.5 ng/ml, Legalon[®] vs Silymarin[®] mean $\pm$ SEM). The difference of AUC and Cmax of those drugs were statistically significant ($p < 0.001$). Tmax, MRT and terminal half-life of those drugs were not statistically different (Tmax : 1.7 ± 0.15 vs 2.2 ± 0.26 hr, MRT : 5.38 ± 0.29 vs 5.57 ± 0.36 hr, terminal half-life : 4.33 ± 0.28 vs 3.96 ± 0.36 hr, Legalon[®] vs Silymarin[®] mean $\pm$ SEM). The confidence interval (95%) of the relative bioavailability (Legalon 140[®]/Silymarin[®]) was 228~307% and that of individual ratio of Cmax was 2.67~3.85.

Conclusion : Relative bioavailability of Legalon cap. 140[®] was at least 2 times higher than that of Silymarin[®] without any significant adverse events. It is expected that twice daily regimen of Legalon cap. 140[®] is equivalent to or better than thrice daily regimen of Silymarin[®] in terms of AUC or pharmacokinetics.

KEY WORDS : Legalon · Silymarin · Pharmacokinetics · Relative bioavailability.

서 론

Silymarin은 엉겅퀴 (milk thistle, *Silybum marianum*) 열매의 추출물이며 수 백년 전부터 간 담도계 질환에 자연 치료요법으로 사용되어 왔고, 현재 중독성 간 질환, 만성간염 및 간경화 등의 간 질환 치료의 보조 요법으로 이용되고 있다¹⁾. Silymarin은 silibinin의 네 가지 구조 이성질체 (structural isomers), 즉 silibinin, isosilibinin, silicristin과 sili-dianin를 포함하는데, 이 중 silibinin이 대부분의 약리작용을 나타내는 활성 성분이다^{2,3)}. Silymarin은 항산화제로서 free radical을 제거하고 지질 과산화물을 억제하는 것으로 보고되어 있다⁴⁾. 그 외에도 동물실험 모델에서 Kupffer 세포를 억제하며⁵⁾, 간의 섬유화를 막고³⁻⁵⁾, 항염증작용⁶⁾도 있는 것으로 알려져 있다. 또한 silymarin은 간 세포막에 있는 독성물질에 대한 수용체를 차폐함으로써 phalloidine 등의 독성물질이 이들 수용체와 결합하여 세포막을 파괴하는 작용을 방해하여 세포막을 안정시키며, 이러한 안정화작용이 간 세포 보호기전의 하나로 여겨진다. 또한 silymarin은 부작용이 거의 없어 매우 안전한 약물로 알려져 있다¹⁾. 그러나, silymarin은 난용성으로 생체이용률도 낮아, 생체이용률을 높이는 것이 약물개발에 중요한 주제가 되고 있다^{7,8)}.

Silymarin은 현재 국내 제약회사에서 다양한 제형

이 시판되고 있으며, 일일 권장 용량은 대개 비슷하다. 그러나, 각 제형 간의 상대적 생체이용률 (relative bioavailability) 등의 약동학적 특성에 관한 연구는 거의 되어있지 않다.

독일 MADAUS社에서 개발된 레가론 캡셀 140[®]은 기존 제형들에 비하여 생체이용률 (bioavailability)을 현저하게 개선시킨 제품으로서, 이러한 생체이용률 개선에 의해 기존의 1일 3회 복용법 대신 1일 2회 복용이라는 특징점이 기대되는 제형이다. 본 연구에서는 한국인 정상 성인에서 레가론 캡셀 140[®] 투약에 따른 주된 활성성분인 silibinin의 약동학적 특성을 검토하고 이러한 특성을 silymarin (silibinin)을 함유하는 국내 기존의 실리마린 제제와 그 특성을 비교 검토하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 피험자 및 연구설계

피험자는 공고를 통하여 모집한 자원자중 선정기준에 맞고 제외기준에 해당되지 않은 건강한 한국인 남성을 대상으로 하였다. 선정기준은 1) 20-40세의 일상생활에 지장이 없는 건강한 남성으로 이상체중의 15% 이내인 자원자 2) 본 연구에 대해 충분히 설명 (시험의 목적, 내용, 위험성, 약제의 성상 등)을 들은

후 서울대학교병원 임상시험심사위원회의 승인을 받은 동의서 양식에 자유의사에 따라 본 연구에 참여하기로 서명한 자원자 3) 시험개시전 3주 이내에 실시한 건강검진(문진, 신체검사, 12-전극 심전도, 일반 혈액검사, 혈액화학검사, 소변검사, 약물소변검사)결과 이상이 없는 자원자 등이었다. 제외기준은 1) 약물의 흡수, 분포, 대사, 배설에 영향을 줄 수 있는 과거 병력을 가진 자, 2) Silymarin에 과민성이 있는 자 3) 시험개시전 2개월 이내에 다른 임상연구에 피험자로 참여한 자 4) 시험개시전 1개월 이내에 헌혈한 자 5) 정신 질환자 6) 시험개시 7일 이내에 다른 약물 복용자 등이었다.

피험자수는 총 18명으로 두 군으로 무작위배정하였으며 각 군 9명으로 연구를 진행하였다. 피험자수의 근거는 라틴 방격법에 의한 설계(Latin square design)시 두 제제간의 파라미터 차이가 20% 이상이고 유의수준 0.05-0.10에서 이를 검출력(power, 1-beta) 80% 이상에서 검정하고자 할 때 필요한 총 피험자수가 14-20명인 점을 고려하여 선정하였다.

시험제제는 국내에 시판중인 레가론 캡셀 140[®]으로 하였고, 대조제제로는 K사의 실리마린 제제로 하였다. 피험자들의 인구학적 자료는 Table 1과 같다. 두 군간의 연령, 신장, 체중은 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 눈가림법은 단측 눈가림법(single blind)을 사용하였다. A군은 제 1기(period 1)에 레가론 캡셀 140[®]을 복용하였고, 제2기(period 2)에 K사의 실리마린 제제를 복용하였으며 제1기와 2기 사이에는 1주의 휴약기간을 두었다. B군은 제1기에 K사의 실리마린 제제를 복용하였고, 제2기에 레가론 캡셀 140[®]을 복용하였다. 용량은 silymarin으로서 두 제제 모두 280mg(레가론 캡셀 140[®]은 2캡셀, K사의 실리마린 제제는 4정, silibinin으로서 120mg)이었다. 제1기와 2기 사이에는 1주의 휴약기간을 두었다. 피험자들은 시험 1주일 전부터 음주 및 약물의 복용을 금지하였으며, 투약 10시간전부터 투약 4시간후까지 공복상태를 유지하였다. 투약에 따른 이상반응(adverse drug reaction)은 피험자의 자발적 보고

Table 1. Demographic data of study subjects (Mean $\pm$ SD)

	Group A	Group B	Total
No. of Subjects	9	9	18
Age(years)	24.6 $\pm$ 1.94	23.1 $\pm$ 1.62	23.9 $\pm$ 1.89
Height(cm)	173.2 $\pm$ 5.52	174 $\pm$ 3.89	173.6 $\pm$ 4.65
Weight(kg)	67.0 $\pm$ 7.16	65.3 $\pm$ 6.37	66.2 $\pm$ 6.63

IS : internal standard(내부표준물질),
naringenin.
S1, S2 : diastereomers of silibinin

Fig. 1. Chromatograms of predose plasma sample with internal standard naringenin (left) and plasma sample 6hr after a single dose of 120mg silibinin with internal standard naringenin(right).

및 시험담당의사의 문진 및 신체검사에 의해 모니터링하였고, 이상반응이 있을 시 양상, 출현시기, 지속시간, 정도, 인과관계 등을 증례기록지에 기록하였다.

채혈은 투약직전 생리식염수로 채워진 정맥내 카테터를 상박주전부에 거치한 후 투약직전, 투약직후 20, 40분, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 시간까지

Fig. 2. Mean($\pm$ SD) concentrations of silibinin after administration of Legalon cap. 140® and Silymarin®(K company)

각 8 mL의 혈액을 채취하였다. 채혈액은 heparinized vacutainer 튜브에 넣고, 30분 이내에 냉장(2~4°C)상태로 1500g에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후, 분리 혈장을 silibinin 농도 측정시까지 -20°C에 냉동 보관하였다.

2. 혈장 silibinin 농도의 측정

혈장 silibinin은 두 isostereomer의 형태로 존재하는데 이들을 역상 HPLC 방법으로 각각 측정하여 총 silibinin농도를 산출하였다. 측정방법은 Rickling 등의 방법을 기본으로 하였다⁹⁾. 혈장 총 silibinin 농도 측정을 위하여 내부표준물질(internal standard, IS)로는 naringenin을 사용하였고, 내부표준물질 50 ng를 함유하는 혈장 1 mL에 1M NaOAc buffer (pH

5.6) 1 mL를 가하여 산성화한 후 β -glucuronidase/arylsulfatase로 37°C에서 3시간 처리하여 포함체를 유리형태로 분해하였다. 이후 0.5M borate buffer 용액 (pH 8.5) 2 mL를 가하여 알칼리화 한 후 5 mL의 diethylether로 추출하고 저온에서 건조하였다. 이어 잔사에 methanol 100 μ L를 가하여 녹인 후 일부를 HPLC injector에 주입하였다.

Kromasil C₁₈ (3.5 μ m particle size, 4.6 $\times$ 150 mm) column을 이용하여 다음과 같은 조건에서 측정하였다.

Column oven : 40 $\pm$ 1°C

Mobile phase : 47/53 (v/v) mixture of

methanol and 0.1 M phosphate buffer pH 2.5

Flow rate : 0.6 mL/min

Table 2. Pharmacokinetic paramters of two silymarin formulaions(Mean±SEM)

Legalon cap. 140®				Silymarin®(K company)			p-value
No. of subjects	n=18			n=18			
	Mean	CV*(%)	SEM**	Mean	CV(%)	SEM	
AUC(ng · hr/ml)	4045	23.8	227.0	1602	30.2	114.2	p<0.001
Cmax(ng/ml)	981	23.8	54.9	339	39.3	31.5	p<0.001
Tmax(hr)	1.7	38.6	0.15	2.2	51.8	0.26	p>0.05
MRT(hr)	5.38	23.2	0.29	5.57	27.1	0.36	p>0.05
Terminal half-life(hr)	4.33	28.6	0.28	3.96	38.6	0.36	p>0.05
Relative Bioavailability(F)***	267%	32.2	20.3%	-	-	-	-

* CV : Coefficient of Variation

** SEM : Standard Error of the Mean

*** Relative bioavailability : AUC ratios of Legalon cap. 140®versus Silymarin®

Fig. 3. Percent unabsorbed to total amount to be absorbed estimated by Wagner-Nelson method

Total run time : 15 min

Detection : UV absorption, 288 nm

Retention time

silibinin 1 : 11.5 min

silibinin 2 : 12.7 min

naringenin (IS) : 13.7 min

Silibinin 및 내부표준물질의 stock solution은 10

Fig. 4. Simulated plasma concentrations of Legalon cap. 140® and Silymarin®(K company) at steady state, given Legalon cap. 140® every 12 hours and Silymarin®(K company) every 8 hours

mg/100 ml의 농도로 methanol에 녹여 -20℃에 보관하였다. 혈장 silibinin diastereomer 측정을 위한 표준검량선은 5~200 ng/mL의 농도 범위로 작성하였으며, 각각의 silibinin diastereomer와 내부표준물질(internal standard)의 peak height ratio를 측정하고 선형회귀식을 이용하여 사람 혈장에서의 농도를 정량하였다. 이러한 방법에 의한 총 silibinin diastereomer의 최저 검출 가능 농도는 약 5 ng/ml이었고, 회수율은 약 70%이었으며 측정치의 일간 변동(inter-day coefficient of variation)은 10% 이내이었다. 대표적인 크로마토그램은 Fig. 1과 같다.

3. Silymarin 제형의 약동학적 특성 및 통계분석

제형에 따른 silymarin의 약동학적 특성은 주 약효

성분인 총 silibinin 시간-농도곡선을 이용하여 분석하였다. 기존의 일반 제형의 생물학적동등성 시험에서 사용되는 파라미터인 시간-농도 곡선하 면적(AUC), 최고혈장농도(Cmax)뿐 아니라 최고혈장농도 도달시간(Tmax), 평균체내 잔존시간(MRT), 소실기 반감기(terminal half-life) 등의 파라미터를 noncompartmental analysis로 분석·비교하였다.

제형간의 약동학적 개별 파라미터의 비교는 먼저 라틴 방격법(Latin square design)에 대한 분산분석(ANOVA test)을 이용하여 약동학적 파라미터에 대하여 순서효과와 제제간의 차이를 확인하였다. 두 군간의 파라미터의 차이의 검정은 paired t-test를 이용하였으며, 이 때 유의수준(p-value)은 0.05로 하였다. 또한 각 약동학 파라미터의 비(ratio)를 95% 신뢰구간에서 검토하였다. 시간-농도 곡선하면적(AUC),

최고혈장농도(Cmax)에 대해서는 모든 통계분석을 자연대수변환(natural logarithmic transformation)후 비교·검토하였다.

결 과

두 제제의 시간-농도 곡선의 평균치는 Fig. 2에 나타내었고, 각 피험자에서 구한 파라미터의 평균치 및 이에 대한 유의확률(p-value)은 Table 2에 나타내었다. 라틴 방격법에 대한 분산분석(ANOVA test) 시 시간-농도 곡선하면적(AUC), 최고혈장농도(Cmax)에서 투약 순서의 효과는 없었고, 제제간의 시간-농도 곡선하면적(AUC) 및 최고혈장농도(Cmax)의 차이는 유의하였다. 레가론 캡셀 140[®]은 K사의 실리마린 제제에 비해 시간-농도 곡선하면적(AUC)이 2.5배정도 높았다(4045 ± 227 vs. 1602 ± 114 ng · hr/ml, mean $\pm$ SEM). 각 자원자에서 레가론 캡셀 140[®] 대 K사 실리마린제제의 상대 생체이용률(relative bioavailability)의 평균은 267% 이었다. 최고혈장농도(Cmax)는 레가론 캡셀 140[®]이 981 ± 54.9 로 K사의 실리마린 제제의 339 ± 31.5 보다 2.9배정도 높았고, 비의 평균(mean of ratio)은 3.26이었다. 시간-농도 곡선하면적(AUC)과 최고혈장농도(Cmax)는 paired t-test시 모두 유의한 차이를 보였다($p < 0.001$). 최고혈장농도 도달시간(Tmax)은 레가론 캡셀 140[®]이 1.7 ± 0.15 시간, K사의 실리마린 제제가 2.2 ± 0.26 시간(평균 $\pm$ 표준오차)이었다. MRT는 레가론 캡셀 140[®]이 5.38 ± 0.29 시간 K사의 실리마린 제제가 5.57 ± 0.36 시간(평균 $\pm$ 표준오차)이었고, 소실기 반감기(terminal half-life)는 레가론 캡셀 140[®], K사의 실리마린 제제가 각각 4.33 ± 0.28 , 3.96 ± 0.36 시간(평균 $\pm$ 표준오차)이었다. 최고혈장농도 도달시간(Tmax), MRT, 소실기 반감기는 paired t-test시 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 각 개인에서의 상대 생체이용률(레가론 캡셀 140[®]/K사 실리마린 제제)의 95% 신뢰구간은 228~307%이었고, 각 개인에서 최고혈장

농도(Cmax)의 비(ratio)는 2.67~3.85의 95% 신뢰구간을 보였다.

한편, 부작용 모니터링 결과 레가론 캡셀 140[®]을 복용한 1명에서 일시적인 어지러움을 호소하였으나 인과관계는 알 수 없었고 증상은 경미하였다. K사의 실리마린 제제를 복용한 1명에서 열감, 기침, 인후통을 호소하였으나 증상은 경미하였고 인과관계는 먼 것으로 판정되었다.

고 안

Silymarin은 간세포 보호 효과와 부작용이 적다는 장점으로 간질환 환자에 널리 사용되고 있다. 그러나, 난용성으로 인해 경구 투여시 생체이용률(absolute bioavailability)이 낮을 것으로 추정되어 용해도를 높임으로서 생체이용률을 높이기 위한 연구가 지속되어왔다^{7,8)}. 이 약제의 적응증인 간질환의 특성상 장기간의 투여가 요구되므로 경구투여가 가능하여야 하며, 경구 투여 제제의 생체 이용률은 높은 것이 일반적일 것으로 바람직하다. 따라서, 경구 제제끼리의 상대 생체이용률(relative bioavailability) 검토가 중요한 약물이다. 같은 용량 투여시 상대 생체이용률(relative bioavailability)은 다음과 같이 정의된다.

Relative Bioavailability(%) =

$$\frac{AUC_{oral \text{ of Drug A}}}{AUC_{oral \text{ of Drug B}}} \times 100 \text{ (with same dose)}$$

이번 시험에서 각 개인에서 신제형인 레가론 캡셀 140[®]의 기존제제에 대한 상대생체이용률(relative bioavailability)의 평균은 267%이었다. 이러한 결과는 동일 제형의 레가론 캡셀 140[®]을 외국에서 시판되고 있는 다른 silymarin 제형과 비교한 다른 연구에서의 결과와도 유사하다^{8,10)}. 레가론 캡셀 140[®]은 국내 K사의 실리마린 제제에 비하여 동량 투여시 혈장에서 높은 시간-농도 곡선하면적(AUC)과 최고혈장농도(Cmax)를 보였다. 두 제제는 silymarin을 주

성분으로 하는 제제로서 AUC의 증가는 절대 생체이용률(absolute bioavailability)도 증가했음을 의미한다.

두 제제의 흡수량상을 Wagner-Nelson 법에 의해 분석했을 때 레가론 캡셀 140[®]은 60분 이내에 흡수될 양의 91% 정도 흡수되었고 K사의 실리마린 제제는 90분 경과시 81% 흡수되었다(Fig. 3). 따라서, 레가론 캡셀 140[®]은 K사의 실리마린 제제에 비하여 장관내에서의 용해도 개선에 의해 비교적 짧은 시간에 많은 양을 체내 흡수시킬 수 있는 제제로 사료된다.

본 연구에서 얻은 결과들을 근거로 두 silymarin제제를 반복투여시 시간-농도 곡선에 대한 시뮬레이션 결과는 Fig. 4와 같다. Fig 4.에서 보듯이 농도의 fluctuation이 기존 제형에 비해 심해지나 본 연구 결과처럼 최고 혈중 농도 800-900 ng/ml 에서도 부작용이 나타날 가능성은 적을 것으로 사료된다. 하지만 부작용의 빈도를 알기 위해서는 추가의 연구가 필요하다. 시뮬레이션 결과에 따르면 레가론 캡셀 140[®]은 1일 2회 요법으로도 기존의 1일 3회 요법보다 약동학적으로 시간-농도 곡선하면적(AUC) 및 최저농도(trough level)가 크거나 같을 것으로 예상된다. 이는 효과에 대한 약력학적 모델 중 효과가 특정 농도 이상 지속된 시간에 비례하는 Threshold model이나 시간-농도 곡선하면적(AUC)에 비례하는 AUC model, 어느 것을 따르든지 적은 복용회수로도 동일하거나 높은 효과를 얻을 가능성을 제시한다. 약물의 복용회수 감소는 환자의 순응도(compliance)를 높여 치료 성공률을 높이게 되므로 환자 치료에 있어 중요한 요소라 하겠다.

요 약

연구배경 :

건강한 자원자들에서 silymarin 제제인 레가론 캡셀 140[®]의 약동학적 특성을 국내 타사의 기존 실리마린 제제와 비교·검토하고자 하였다.

방 법

시험은 단측 눈가림법에 의한 무작위 배정으로 2-

way crossover의 라틴 방격법에 따른 설계로 18명의 건강 남성 자원자를 대상으로 하였다. 18명을 9명씩 A, B 두 군으로 나누어 A군은 레가론 캡셀 140[®]을 투여하고 1주의 휴약기간을 거친 후 K사의 실리마린 제제를 동량 투여하였다. 용량은 silibinin으로서 120mg(레가론 캡셀 140[®]은 2캡셀, K사의 실리마린 제제는 4정)이었다. B군은 반대의 순서로 투여하였다. 체혈은 투약 후 24시간까지 시행하였다. 농도는 두 이성질체를 HPLC방법으로 각각 측정하여 총 silibinin 농도를 산출하였다. 농도-시간 곡선은 noncompartmental analysis를 시행하여 분석하였다.

결 과 :

레가론 캡셀 140[®]의 평균 AUC는 2.5배, 평균 최고혈장농도(Cmax)는 2.9배 정도 K사의 실리마린 제제에 비하여 높았다(AUC : 4045 ± 227 대 1602 ± 114 ng · hr/ml, Cmax : 981 ± 54.9 대 339 ± 31.5 , 평균 ± 표준오차). 시간-농도 곡선하면적(AUC), 최고혈장농도(Cmax) 모두 두 제제간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다.($p < 0.001$). 최고혈장농도 도달시간(Tmax). MRT(mean residence time), 소실기 반감기(terminal half-life)는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.(Tmax : 1.7 ± 0.15 대 2.2 ± 0.26 시간, MRT : 5.38 ± 0.29 대 5.57 ± 0.36 시간, terminal half-life : 4.33 ± 0.28 대 3.96 ± 0.36 시간, 평균 ± 표준오차) 각 개인에서 상대 생체이용률(레가론 캡셀 140[®]/K사의 실리마린 제제)의 평균은 267% 이었고, 95% 신뢰구간은 228~307% 이었다. 최고혈장농도(Cmax)의 비(ratio, 레가론 캡셀 140[®]/K사의 실리마린 제제)는 평균 3.26배이었고, 95% 신뢰구간은 2.67~3.85이었다.

결 론 :

레가론[®]은 K사의 실리마린 제제에 비하여 특별한 부작용의 증가 없이 2배 이상의 AUC와 Cmax를 가져 높은 생체이용률을 보였다. 따라서, 반복투여시 1일 2회 요법으로도 기존 제형의 1일 3회 요법보다 약동학적으로 높은 시간-농도 곡선하면적(AUC)을 얻을 수 있으리라 기대된다.

참 고 문 헌

1. Flora K, Hahn M, Rose H, Benner K. *Milk Thistle(Silybum marianum) for the therapy of liver disease, Am J Gastroenterol* 1998;93: 139-143
2. Dehmlow c, Erhard J, de Groot H. *Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of Sili-binin, Hepatology* 1996;23:749-754
3. Fuchs EC, Weyhenmeyer R, Weiner OH. *Effects of silibinin and of a synthetic analogue on isolated rat hepatic stellate cells and myofibroblasts, Arzneimittelforschung* 1997; 47(12):1383-1387
4. Boigk G, Stroedter L, Herbst H, Waldschmidt J, Riecken EO, Schuppan D. *Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats, Hepatology* 1997; 26:643-649
5. Schuppan D, Lang T, Gerling G, Leng-Peschlow E, Krummbiegel, Riecken EO, Waldschmidt J. *Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis induced by bile duct obliteration with ethibloc, Z Gastroenterol* 1994;32:45-46
6. Perta RD, martinez E, Bravo L, Ahumada MC. *Effect of silymarin on different acute inflammation models and on leukocyte migration, J Pharm Pharmacol* 1996;48:968-970
7. 장우익, 남권호, 조재열, 이재휘, 유영효, 박명환, 김재환. *Polyoxyl 40 Hydrogenated Castor Oil 이 실리마린과 우루소데옥시콜린산 복합제제중 실리마린의 용해성 및 생체이용률에 미치는 영향, 응용약물학회지* 1997;5:272-277
8. Schulz HU, Schurer M, Krummbiegel G, Wächter W, Wehenmeyer R, Seidel G. *Investigation of dissolution and bioequivalence of silymarin products, Arzneim-Forsch/Drug Research* 1995;45(1):61-64
9. Rickling B, Hans B, Kramarczyk R, Krummbiegel G, Weyhenmeyer R. *Two high-performance liquid chromatographic assays for the determination of free and total silibinin diastereomers in plasma using column switching with electrochemical detection and reversed-phase chromatography with ultraviolet detection, J Chromatogr B* 1995;670:267-277
10. Gatti G, Perucca E. *Plasma concentrations of free and conjugated silybin after oral intake of a silybin-phosphatidylcholine complex (silibide) in healthy volunteers, Int J Clin Pharmacol Ther* 1994;32:614-617