

우르소데옥시콜린산 및 이의 베타-시클로덱스트린 포접복합체간의 *in-vitro* 용출, *in-vivo* 흡수 및 이담효과의 비교

이승룡* · 정연복* · 한 건* · 최정현
일양약품 중앙연구소, *충북대학교 약학대학

(Received May 13, 1994)

Comparison between Ursodeoxycholic Acid and Its β -Cyclodextrin Inclusion Complex: *in-vitro* Dissolution, *in-vivo* Absorption and Choleric Effect

Seung Yong Lee*, Youn Bok Chung*, Kun Han* and Jung Hyun Choi

Central Research Institute of Il Yang Pharm. Co., Yongin-gun, Kyunggi-do 449-900, Korea

*College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 360-763, Korea.

Abstract—Choleric effect and absorption of ursodeoxycholic acid (UDCA) in rats were studied using UDCA alone and its β -cyclodextrin (β -CyD) inclusion complex (UDCA-IC). In spite of increase in solubility and dissolution rate, absorption of UDCA-IC was decreased compared with UDCA alone. Choleric effect of UDCA-IC was also decreased. It looks that UDCA forms stronger inclusion complex with β -CyD than any other drug or organic biological material. From this study, it was suggested that UDCA might be used as a new potential competing agent when inclusion complexes of drugs with β -CyD were administered for the improvement of poor bioavailability.

Keywords □ ursodeoxycholic acid, β -cyclodextrin, inclusion complex, choleric effect, absorption, competing agent,

우르소데옥시콜린산(UDCA)은 케노데옥시콜린산(CDCA)의 7 β -epimer로서 콜레스테롤 담석 용해 작용이 있으며¹⁾ 대사와 물리화학적 특성에 대하여 많은 보고가 되었다.²⁻¹³⁾ UDCA의 콜레스테롤의 용해작용 기전은 미셀형성에 의한 용해와 액상결정화(liquid crystalline)에 의한 것이다.⁵⁾ 이는 CDCA가 주로 미셀형성에 의해 콜레스테롤을 용해시키는 것과는 차이가 있다. 콜레스테롤 담석 용해 효과 이외의 UDCA는 담즙산 pool을 증가시켜 담즙산 분비를 증가시키는 작용이 있다.¹⁴⁻¹⁶⁾

UDCA가 정상적인 흰쥐와 실험실적으로 담즙부전을 유발시킨 흰쥐에서 담즙 배출 및 담즙유량을 증가시키는 Mizoguchi 등¹⁷⁾에 의해 발표되었다. Onishi 등¹⁸⁾은 UDCA의 간의 담즙유체에 대한 치료효과를,

Matsumoto 등¹⁹⁾은 UDCA의 대장점막에 대한 효과를 보고하였다. 환상의 올리고당체인 베타시클로덱스트린(β -CyD)이 많은 약물과 포접 복합체를 형성함은 널리 알려져 있다.²⁰⁾ 이러한 포접복합체는 약물의 용해도를 높이고 용출을 향상시킬 뿐 아니라 약물의 안정성을 증가시킨다.^{21,22)} β -CyD은 경구투여시 위장관에서 거의 흡수되지 않으므로²³⁾ 약물이 흡수되기 위하여는 포접복합체로부터 약물이 유리되어야 한다.²⁴⁾ Miyajima 등²⁵⁾은 포접복합체로부터 약물이 유리될 수 있는 것은 담즙산염이 β -CyD과 포접복합체를 형성하기 때문이라 하였다. Nakanishi 등²⁶⁾은 체내 담즙산염이 포접복합체를 형성한 약물과 치환된다는 것을 흰쥐의 소장 *in situ* 실험을 통하여 입증하였다. Frijlink 등²⁷⁾은 *in vitro* 실험으로 포접복합체로부터 약물이 담즙산염에 의해 치환되어 유리될 수 있음을

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

밝혔다.

저자 등은 UDCA가 β -CyD와 안정된 결합을 함으로써 용해도 증가와 현저한 용출률 향상을 보고하였다.^{28,29)} 많은 약물에 있어 β -CyD의 포접복합체가 용해, 용출과 함께 흡수가 증가하여 생체이용율이 향상된다고 보고되었다. 그러나 UDCA는 다른 약물에 비하여 β -CyD와 상대적으로 강한 포접복합체를 형성하기 때문에 복합체로부터 UDCA가 유리되기 어려우므로 용출과 흡수의 상관관계를 확인하는 것은 의미가 있을 것으로 사료되어 UDCA의 β -CyD 포접복합체를 제조하여 UDCA와 비교하여 용출시험을 실시하고 흰쥐를 사용하여 흡수와 이담효과에 관한 연구 결과를 보고하고자 한다.

실험방법

시약 및 기구—베타시클로덱스트린(β -CyD)은 일본 식품화학제품을 사용하였고 우르소데옥시콜린산(UDCA)은 Sigma Chemical 시약급을 사용하였다. 또한 우르소데옥시콜린산의 β -CyD 포접복합체(UDCA-IC)는 앞서 발표된 방법²⁹⁾에 따라 제조하여 사용하였으며 혈중 담즙산의 분석은 일본 극동 제약의 담즙산 시약 kit를 사용하였다. 기타의 시약들은 특급 및 1급품을 사용하였다. 기기로서는 HPLC System (Waters, USA), 용출시험기(NV-2F, Toyama, Japan), 원심분리기(HP-4, Hanil Co., Korea)와 자외가시부 분광광도계(UV 210A, Shimadzu, Japan)를 사용하였다.

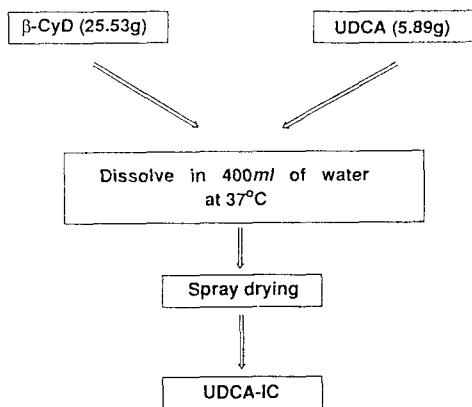


Fig. 1—Schematic diagram of UDCA-IC preparation.

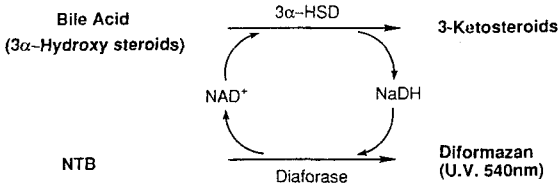
UDCA 포접복합체의 제조—500 ml 용기에 증류수 400 ml를 가하고 β -CyD 25.53 g과 UDCA 5.89 g을 넣고 37°C에서 교반 용해한 후 분무건조하여 UDCA-IC를 제조하였다(Fig. 1).

용출시험—UDCA와 UDCA-IC를 UDCA로서 75 mg에 해당하는 양을 취하여 Hydraulic press(Graseby Sepecac, England)로 200 kg/cm²의 압력하에 직경 12mm의 평판디스크를 만들어 사용하였다. 시험액으로는 pH 1.2와 pH 7.2의 USP 표준완충액 200 ml를 사용하여 37±0.5°C에서 50 rpm으로 대한약전 회전검체통법으로 일정시간마다 용출액 2 ml를 취하고 동량의 완충액을 보충하였다. 채취한 용출액을 0.45 μ m 멤브레인필터로 여과하고 HPLC법으로 UDCA의 양을 정량하였다. UDCA의 분석은 굴절률 검출기로 분석하였으며 μ -Bondapak C₁₈ 칼럼과 이동상으로 아세토니트릴, 물, 빙초산혼합액(60 : 39 : 1)을 사용하였으며 유속은 1 ml/min로 하였다. 이때 UDCA 피크의 유지 시간은 5.58분이었다.²⁹⁾

이담효과—16시간 절식시킨 체중 200~250 g의 Wistar 흰쥐(삼육축산 공급)는 각군 5마리씩 3군으로 나누어 에텔 마취하에 개복하여 총 담관에 폴리에틸렌튜브(PE 10, Clay Adams, USA)를 삽입하고 개복 부위를 거즈로 덮어 주고 1시간 동안 담즙을 받았다. 1시간 후 즉시 십이지장을 통하여 UDCA, UDCA-IC를 pH 7.4 인산염 완충용액에 용해하여 UDCA로서 20 mg/kg에 해당하는 양을 투여한 후 다시 1시간 동안 폴리에틸렌튜브를 통해 담즙을 받아 각각 약물투여 전후 1시간동안의 담즙배출량을 산출하였다. 대조군은 약물 대신 생리식염수를 투여하였다.

십이지장 투여시 문맥혈중 담즙산 농도의 측정—16시간 절식시킨 체중 200~250 g의 Wistar 흰쥐를 각군 35마리씩 2군으로 하고 대조군은 5마리로 하였다. 에텔 마취하에서 개복하여 한 군은 UDCA를, 다른 한군은 UDCA-IC를 pH 7.4 인산염 완충액에 녹인 후 UDCA로서 20 mg/kg에 해당하는 양을, 대조군은 생리식염수를 12지장내에 투여하고 곧 개복부위를 봉합하였다. 약물투여 15, 30, 60, 90, 180, 240분 후에 각각 5마리씩 에텔마취하 개복하여 문맥으로부터 혈액 약 1 ml를 채취 후 치사시켰다. 채취한 혈액을 즉시 원심분리관에 넣고 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상징액을 취하여 담즙산시약 kit를 사용하여 문맥혈중의 총 담즙산의 양을 측정하였다.

Principle



Composition

- 3α-HSD (3α-Hydroxysteroid Dihydrokinase)
- NTB(Nitrotetrazolium blue)
- Diaforase
- NAD
- Cholic Acid (for standard)
- Phosphat buffer (for enzyme dissolution)
- 0.1N-HCl (for stopping the enzyme reaction)

Fig. 2—Principle of bile acid assay and reagent kit composition.

총 담즙산 분석의 측정 원리는 Fig. 2에서와 같이 3α-hydroxysteroid인 담즙산은 3α-hydroxysteroid dehydrokinase (3α-HSD)의 작용으로 3-keto steroid로 변화하며 이때 수소수용체 NAD는 NADH로 된다. NADH는 diaforase의 작용에 의해 nitrotetrazolium blue(NTB)에 의해 수소를 공여하여 청자색의 diformazan을 생성하며 이 청자색을 파장 540 nm에서 비색 측정하여 담즙산의 양을 구한다.³⁰⁾

담즙산을 측정하기 위한 시약 kit의 구성은 효소 시액(3α-HSD, NAD, NTB, Diaforase), 대조시액(NAD, NTB, diaforase), 완충액(pH 7.4 인산 완충액), 반응정지액(0.1 N, HCl) 및 표준액(cholic acid 50 μmol/l)으로 구성되어 있다.

측정조작법으로는 각각 혈액시료에 대하여 시료용 및 시료대조용 시험관을 준비하고 표준액에 대하여는 표준용 및 표준대조용 시험관을 준비한다. 각각의 시료를 0.2 ml 취하여 시료용 및 시료대조용 시험관에 취한 후 시료용에는 효소시액 0.5 ml를, 시료대조용에는 대조시액 0.5 ml를 가하고 37°C 수욕상에서 정확히 10분 반응시킨 후 반응정지액 0.5 ml를 넣어 쉬고 60분 이내에 분광광도계를 사용하여 파장 540 nm에서 흡광도를 측정하고, 표준액에서 얻은 흡광도치를 이용하여 혈중 총 담즙산의 농도를 측정하였다.

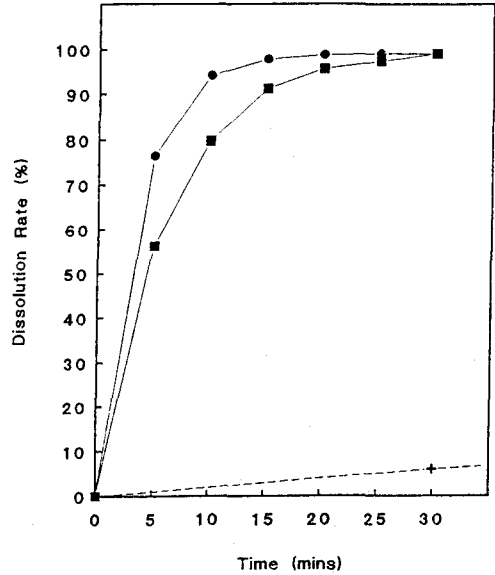


Fig. 3—Dissolution profiles of UDCA(+, pH 7.2) and UDCA-IC(●, pH 7.2; ■, pH 1.2) at 37°C.

결과 및 고찰

용출—UDCA와 UDCA-IC에 대하여 pH 1.2와 pH 7.2 완충용액에서 용출시험한 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

UDCA-IC는 pH 1.2와 pH 7.2에서 30분 이내에 거의 완전히 용출되었으며 반면 UDCA는 pH 7.2에서는 180분에 27.8% 용출되었으나 pH 1.2에서는 거의 용출되지 않아 용출율을 측정하지 못하였다. UDCA는 난용성 약물로 물과 산성 용액에서는 거의 녹지 않고 알칼리 용액에서는 잘 녹는다. UDCA-IC의 경우 pH 3.0에서 9.0의 영역에서 pH에 비의존적으로 용해도가 크게 증가하였다.²⁹⁾ 용출곡선으로부터 50%의 UDCA가 용출되는 시간(T_{50%})은 pH 7.2에서 UDCA의 경우 327.5분이었으나 UDCA-IC의 경우 pH 7.2에서는 3.22분이었으며 pH 1.2에서도 4.44분으로써 현저하게 용출이 향상되었다. 이와 같이 UDCA-IC의 용출 속도가 빠른 것은 포접복합체의 hydrophilicity, 용해도 및 습윤도의 향상에 기인하는 것으로 사료되었다.

이담효과—위의 총담즙관에 튜브를 삽입하여 지속적으로 담즙산을 채취하는 경우 담즙의 양은 시간이 지남에 따라 양이 점점 줄어들고 어느 정도 시간이 지나면 감소의 폭이 좁아진다. 심이지장을 통해 생

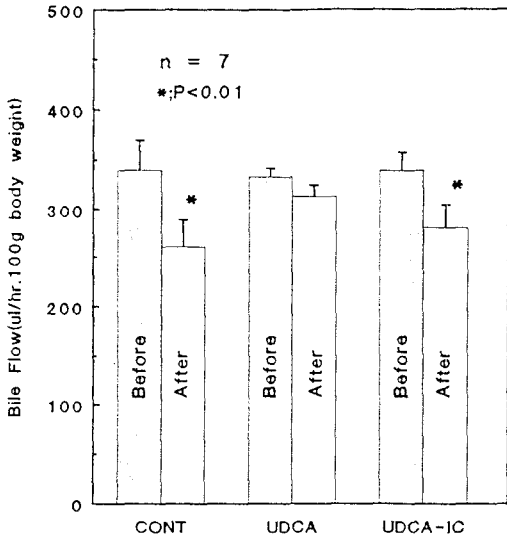


Fig. 4—Effects of UDCA-IC on bile flow in normal rats.

Table I—Bile output after administration of UDCA and UDCA-IC analyzed by unpaired Student t-test

	Bile Flow		
	CONTROL	UDCA	UDCA-IC
Before	340.0 ± 29.5	332.8 ± 8.67	339.6 ± 18.6
After	260.4 ± 28.9	312.8 ± 11.6	280.8 ± 123.8

Unit : $\mu\text{L/hr}/100\text{ g of body weight}$

리식염수를 투여한 대조군, UDCA투여군, UDCA-IC 투여군에서의 투여전후 1시간 동안에 담관을 통해 유출된 담즙을 받아 체중 100 g당 1시간 동안의 배출량을 산출하여 Fig. 4에 나타내고 unpaired Student t-test로 분석한 결과를 Table I에 표시하였다.

대조군에서의 1시간당 담즙 배출량 $340\ \mu\text{L/hr}/100\text{ g}$ 은 Uchida 등³¹⁾이 통제조사한 가령 18~23주의 Wistar계 흰쥐의 체중 kg당 1시간당 담즙류량 $3.22 \leq 0.437\text{ ml}$ 의 수치와 동일하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 대조군의 생리식염수 투여 전후 1시간의 담즙 배출량은 $P < 0.01$ 의 유의성 있는 감소를 보였다. 이 담효과가 있는 것으로 알려진 UDCA투여 전후의 배출량의 감소는 유의성이 없었다. 이는 UDCA투여에 따라 담즙배출량이 증가했기 때문인 것으로 사료되었다. 그러나 UDCA-IC 투여시에는 대조군에 비하여 감소폭은 다소 작았으나 $p < 0.01$ 의 유의성 있는 감소를 보였다. 이는 UDCA가 $\beta\text{-CyD}$ 과 포접복합체를

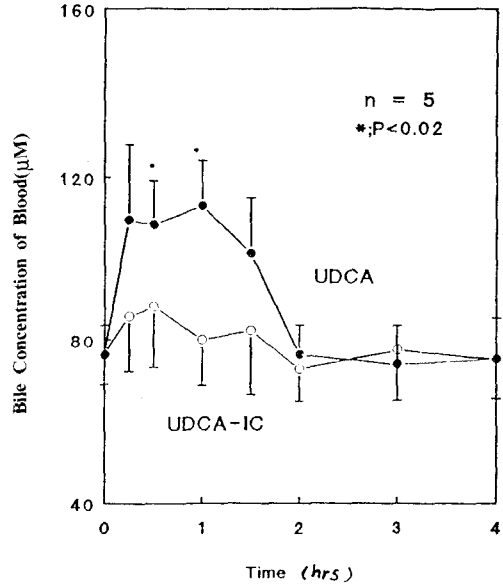


Fig. 5—Effects of UDCA and UDCA-IC on bile concentration in portal blood.

Table II—Pharmacokinetic parameters of UDCA and UDCA-IC calculated by one compartment model

Parameter	UDCA	UDCA-IC
AUC	53.51 $\mu\text{M hr/L}$	14.04 $\mu\text{M hr/L}$
C_{max}	37.64 $\mu\text{M/L}$	12.93 $\mu\text{M/L}$
T_{max}	1.0 hr	0.5 hr

Blank = $76.47 \pm 7.20\ \mu\text{M}$

형성함으로써 용출의 향상에도 불구하고 흡수가 저하되어 담즙배출 효과가 감소되어 나타나는 결과로 사료되었다.

십이지장 투여시 문맥혈중 담즙산의 농도—유리형 담즙산은 소장 전역에 걸쳐 단순확산으로 흡수되며 복합 담즙산은 회장 하부로부터 능동수송에 의해 재흡수되어 혈장알부민과 결합, 문맥을 거쳐 간장으로 돌아오고 여기서 추출이 되어 간장의 담즙산 pool로 들어간다. Onishi 등¹⁸⁾은 정상쥐와 담즙 부전을 유발시킨 쥐에 UDCA를 mesenteric vein으로 투여하여 담즙 분비량을 측정하였다. 본 실험에서는 UDCA와 UDCA-IC의 흡수를 비교 관찰하기 위하여 십이지장 내로 투여하여 문맥혈중으로부터 총담즙산을 측정하여 시간에 따른 문맥혈중 담즙산의 농도를 Fig. 5에

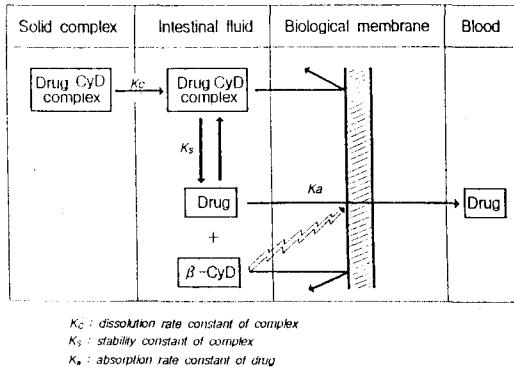


Fig. 6 - Schematic diagram of drug absorption from the β -CyD complex.

나타내었다. 대조군의 문맥혈중 총 담즙산의 농도는 $76.47 \pm 7.2 \mu\text{M}$ 로서 체내 순환계의 혈중 농도 $5 \sim 10 \mu\text{M}$ 에 비해 높은 농도를 나타내었다. UDCA 투여군이 UDCA-IC 투여군에 비하여 2시간까지 높은 혈중농도를 보였으며 30분과 60분의 농도는 $p < 0.02$ 로 유의성 있는 증가를 확인할 수 있었다.

UDCA와 UDCA-IC 투여군과 대조군의 혈중 농도의 차이를 Multiforte 프로그램의 one compartment 모델을 적용하여 약동력 parameter를 산출하여 Table II에 나타내었다. AUC는 UDCA투여군이 $55.31 \mu\text{M}\cdot\text{hr/l}$ 로서 UDCA-IC투여군 $14.04 \text{ nM}\cdot\text{hr/l}$ 보다 3배가 높았으며 T_{max} 와 C_{max} 는 거의 차이가 없었다.

β -CyD와 포접복합체를 형성하여 용해도와 용출이 증가된 약물은 대체적으로 혈중 약물 농도의 증가, 최고 혈중농도 도달 시간의 단축, AUC의 증가 등 생체이용율이 향상된다고 보고되었다. β -CyD 자체가 위장관에서 거의 흡수되지 않으므로, 약물과 β -CyD의 포접복합체를 투여하면 포접복합체 상태로서는 생체막을 통해 혈관으로 흡수되지 못하며, 포접복합체로부터 약물이 해리되어야 비로소 흡수가 이루어진다 (Fig. 6). 약물과 β -CyD의 포접복합체를 경구 투여시 생체이용율의 증가는 용출의 향상과 용해된 포접복합체로부터 약물이 유리되어 흡수가 증가하기 때문이다.

포접복합체로부터 약물의 유리에는 체내 담즙산이 작용한다는 보고가 있었다.²⁵⁻²⁷⁾ 본 실험에서 UDCA는 β -CyD와 포접복합체를 형성하여 용출률은 현저히 향상되었으나, 흡수는 오히려 감소하였음을 확인하였으며, 담즙 배출 효과도 감소하였다. 이는 UDCA가

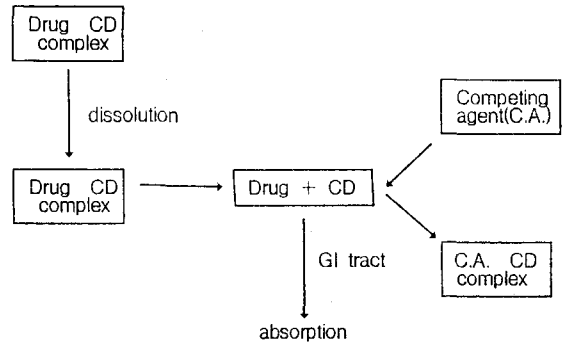


Fig. 7 - The role of competing agent in the process of drug absorption from the β -CyD complex.

β -CyD와 다른 약물이나 체내의 물질보다 높은 안정도정수로 강하게 복합체를 형성하여 포접복합체로부터 UDCA가 유리되기 어렵기 때문에 사료되었다. Cinnarizine에 있어 β -CyD와 포접복합체의 용해도가 증가하였으나 생체이용율은 변화가 없었다. 이 경우 phenylalanine이나 isoleucine을 competing agent로서 병용 투여하여 포접복합체로부터 약물의 유리를 야기시켜 흡수가 촉진되었다.³²⁾ Indomethacin에 있어서도 isoleucine이 β -CyD에 대하여 상경적으로 작용하여 유리되는 indomethacin의 양이 증가하였다.³³⁾ 이와 같이 β -CyD의 포접복합체의 용출의 향상에 불구하고 *in vivo* 생체이용율이 변화 없거나 감소하는 경우, 약물과 β -CyD에 대하여 상경적으로 작용하여 복합체로부터 약물을 유리시킬 수 있는 제 3의 물질, 즉 competing agent를 병용 투여하여 생체이용율을 높일 수 있음이 보고되었다(Fig. 7).

본 실험 결과로 생체이용율이 낮은 약물에 대해 β -CyD와의 포접복합체를 만들어 경구투여할 경우 UDCA를 병용 투여하면 β -CyD에 대하여 competing agent로 작용하여 약물의 흡수를 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

UDCA-IC는 UDCA보다 용해도와 용출에 있어 현저한 증가를 보였으나 흰쥐에 대한 흡수 시험결과 문맥 혈중농도는 유의성있게 감소하였으며 담즙배출량도 현저히 감소하였다. 이는 UDCA가 β -CyD와 포접복합체를 형성함으로써 복합체로부터 UDCA가 유리되기 어렵기 때문인 것으로 사료되었다.

본 실험의 결과를 통하여 약물의 β -CyD 포접복합체를 경구투여시, UDCA와 같은 담즙산을 병용투여하면 β -CyD에 대해 약물과 competing agent로 작용하여 약물의 생체이용률 향상의 가능성이 시사되었다.

문 헌

- 1) Gathy L. Rosenbaum and Robert J. Cluxton Jr., Ursodiol: A cholesterol gallstone solubilizing agent, *Drug Intel. Clin. Pharmacy*, **22**, 941-954 (1985).
- 2) I. Makino, K. Schinazaki and K. Yoshino, Dissolution of cholesterol gallstone by ursodeoxycholic acid. *Jpn. J. Gastroenterol.*, **72**, 690-802 (1975).
- 3) H. Igimi, Ursodeoxycholate. A common bile acid in gallbladder bile of Japanese subjects, *Life Sci.*, **18**, 993-999 (1976).
- 4) M. Okumura, K. Tanikaria and Y. Chuman, Clinical studies on dissolution of gallstone using ursodeoxycholic acid, *Gastroenterol. Japonica*, **12**, 469-475 (1977).
- 5) K. Kutz and A. Schute, Effectiveness of ursodeoxycholic acid in gallstone therapy, *Gastroenterology*, **73**, 632-633 (1977).
- 6) P. N. Maton, G. M. Murphy and R. H. Dowling, Ursodeoxycholic acid treatment of gallstones. Dose-response study and possible mechanism of action, *Lancet*, **2**, 1297-1301 (1977).
- 7) K. Von Bergmann, M. Gutzfeld, K. Schulze-Hagen and G. Von Unruh, Effects of ursodeoxycholic acid on biliary lipid secretion in patients with radiolucent gallstones. In: G. Paumgartner, A. Stiehl and W. Gerok, eds. Biological effect of bile acids, Lancaster U. K.: MTP Press, 1979 pp. 61-66.
- 8) G. Salvioli, R. Salati, A. Fratolocchi and R. Lugli, The Ursodeoxycholic acid therapy for radiolucent gallstone dissolution, *Curr. Ther. Res.*, **26**, 995-1004 (1979).
- 9) G. Salen, A. Gollalillo, D. Verga, E. Bagan, G. S. Tint and S. Shefer, The effect of high and low doses of ursodeoxycholic acid on gallstone dissolution in humans, *Gastroenterology*, **78**, 1422-1418 (1980).
- 10) M. C. Bateson, A. Hill and I.A.D. Bouchier, Analysis response to ursodeoxycholic acid for gallstone dissolution. *Digestion*, **20**, 358-364 (1980).
- 11) H. Kameda, Chairman Tokyo Cooperative Gallstone Study Group, Efficacy and indications of ursodeoxycholic acid treatment for dissolving gallstones. A multicenter double blind trial, *Gastroenterology*, **78**, 542-548 (1980).
- 12) R. H. Dowling, Medical treatment of gallstone with CDCA and UDCA. In: G. Paumgartner, A. Stiehl and W. Gerok, eds. Bile acid and lipid, Lancaster, U. K.: MTP Press, 1981 pp. 329-339.
- 13) W. H. Bachrach and A. F. Hofmann, Ursodeoxycholic acid in the treatment of cholesterol cholelithiasis, *Dig. Dis. Sci.*, **27**, 737-856 (1982).
- 14) K. Schinozaki, Pharmacokinetics study of oral ursodeoxycholic acid tolerance test, *Acta. Hepatol. Jpn.*, **20**, 782-784 (1979).
- 15) C. Sama, A. M. Morselli, F. Bazzoli, A. Roda, E. Roda and L. Barbara, Bioavailability and pharmacology of UDCA in man, Abstract. 5th International Symposium on Bile Acids, Cortina d'Ampezzo, Italy, (1979).
- 16) H. Nitteno, A. Tokita, M. Hayashi, N. Nakatsu and T. Miyano, Ursodeoxycholic acid in biliary atresia, *Lancet* **1**, 528 (1988).
- 17) Y. Mizoguchi, K. Kioka, S. Seki, K. Kobayashi and S. Morisawa, Choleretic effects of ursodeoxycholic acid on experimentally induced intrahepatic cholestasis, *Osaka City Med. J.*, **35**, 83, (1989).
- 18) H. Onish, A. Tokamura, T. Tomoda, M. Yamada and Y. Muto, UDCA therapy for intrahepatic cholestasis, *Tokyo Tanabe Q. No. rinzo*, **57** (1988).
- 19) H. Matsumoto, A. Yagita, H. Ito, T. Oda, N. Takeuchi, M. Ono, M. Mitajima and N. Fukuzuma, The effect of colonic mucosa of ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid, *Ther. Res.*, **8**, suppl **1**, 356 (1988).
- 20) J. L. Lach and W. A. Pauli, Interactions of pharmaceuticals with Schardinger dextrans. VI. *J. Pharm.Sci.*, **55**, 32 (1966).
- 21) D. Duchene, F. Glomot and C. Vaution, Pharmaceutical applications of cyclodextrins. In D. Duchene(Ed.), Cyclodextrins and Their Industrial Uses, Editions de Sante, Paris. 1987 pp. 211-258.
- 22) R. J. Bergeron. Cycloamylose-substrate binding. In

- J. L. Atwood, J. E. D. Davis and D. D. Mac Nicol (Eds.), Inclusion Compounds, *Academic Press. London*, 1984, vol. 3, pp 391-443.
- 23) K. Uekama, M. Otagiri, *CRC Crit Rev. Ther. Drug Carrier Syst*, **3**, 1 (1987).
- 24) H. W. Frijlink, A. C. Eissens, A. J. M. Schoonen and C. F. Lerk, The effects of cyclodextrins on drug absorptions, II. *In vivo observations Int. J. Pharm.*, **64**, 195 (1990).
- 25) K. Miyajima, M. Yokoi, H. Komatsu and M. Nakagaki, Interaction of β -cyclodextrin with bile salts in aqueous solutions, *chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1395 (1986).
- 26) K. Miyajima, K. Nakanishi, M. Masada and T. Nadal. Effect of the interaction of drug- β -cyclodextrin complex with bile salts on the drug absorption from rat small intestinal lumen. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 211 (1989).
- 27) H. W. Frijlink, A. J. M. Schoonen and C. F. Lerk. The effects of cyclodextrins on drug absorption I : *In vitro observations. Int. J. Pharm.*, **49**, 91 (1989).
- 28) Seung yong Lee, Yeon Bok Chung and Kun Han, Solubility studies on bile acids with β -cyclodextrin, *Yakhak Hoeji*, **38**, 78 (1994).
- 29) Seung yong Lee, Yeon Bok Chung and Kun Han, Studies on physicochemical properties of ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid inclusion complexes with β -cyclodextrin, *Yakhak Hoeji*, *in press* (1994).
- 30) F. Mashige, N. Tanaka, S. Kamei and M. Yamanaka, *Clin. Chem.*, **27**, 1352 (1981).
- 31) U. Kiyohisa, Y. Nomura, M. Kadowaki, H. Takase, K. Takano and N. Takeuchi, Age-related changes in cholesterol and bile acid metabolism in rats, *J. Lipid Res.*, **19**, 544 (1978).
- 32) T. Tokumura, Y. Tsushima, K. Tastushi, M. Kayano and Y. Machida, Enhancement of bioavailability of cinnarizine from it's β -cyclodextrin complex on oral administration with *l*-isoleucine as a competing agent, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1275 (1986).
- 33) N. Celeb, *In vitro* investigation of the absorption of indomethacin from it's β -cyclodextrin complex with competing agents, *Pharmazie*, **44**, 133 (1989).