

오메프라졸과 베타-시클로덱스트린과의 포접화합물 형성에 따른 특성

소재일 · 이창현 · 이계주

충남대학교 약학대학

(Received August 7, 1991)

Studies on the Formation of Inclusion Complex between Omeprazole and β -cyclodextrin

Jae-Il So, Chang Hyun Lee and Gye Ju Rhee

College of Pharmacy Chung-nam National University, Daejeon 302-764, Korea

Abstract—To increase the stability and bioavailability of Omeprazole(OMP), which is used newly as a proton-pump inhibitor, inclusion complex of OMP with β -cyclodextrin(β -CD) was prepared by coprecipitation method and its characteristics were ascertained by means of solubility test, DSC, IR, and the accelerated stability analysis. The type of OMP inclusion complex is classified as Bs-type on phase solubility diagram, and the stoichiometric ratio of OMP: β -CD complex is 1 : 2 and formation constant is 80.82/mole. The solubility of the complex could be increased remarkably by complexation compare with OMP. Degradation process of both OMP and OMP complex followed apparent first-order kinetics, of which degradation rate constants and activation energies are $k_{25} = 8.1 \times 10^{-4}$ /day, $E_a = 22$ Kcal/mole (OMP), and $k_{25} = 4.65 \times 10^{-6}$ /day, $E_a = 35$ Kcal/mole (complex), respectively. These results show the increase of the stability and solubility of OMP markedly, therefore it is believed that the improvement of stabilization for OMP by inclusion complexation might be practically available.

Keywords □ Omeprazole, inclusion complex, solubility diagram, apparent first-order, activation energy.

약물을 제제의 형태로 인체에 투여할 때 부작용이 큰 약물이나 안정성이 불량한 약물 또는 환자의 복용순응도 등의 문제점 때문에 제제화가 어렵거나, 제제로서 개발되었다 하더라도 안정성, 생체이용률 등의 측면에서 개선의 여지가 많은 경우가 있다. 따라서 기존 의약품의 제제학적 문제 뿐만 아니라, 신약개발에서도 약물의 치료 효과를 극대화 시키기 위해서는 보다 개선된 제제설계 분야의 연구가 절실히 요구된다. 최근에 약물의 작용기전이나 생체내 동태 등이 자세히 밝혀짐에 따라, 약물의 치료효과를 제어할 수 있고 약효발현을 최적화시켜 치료효과를 극대화시키고자 하는 새로운 개념의 약물수송체에 관한 연구가 집중되고 있다. 최근의 신약들이나 내인성 물질들은 물리화학적 측면에서 매우 불안정한 경우가

많고, 생체내의 흡수 등 생체내 이용율을 제어하기가 까다로운 것이 많기 때문에 보다 차원 높은 제제화 기술이 요구된다.

최근 위·십이지장 궤양치료제로서 획기적이라 할 수 있는 제4세대 위·십이지장 치료제로서 sulfinyl benzimidazole 유도체들이 신약으로 개발되었거나, 개발되고 있는데, 이 부류의 약물들은 모두 산에 매우 불안정하고¹⁻³⁾ 소장 상부에서만 흡수가 잘되는 독특한 특성을 갖는 약물로서 흡수 부위가 매우 제한되어 있기 때문에 보통의 제제로서는 완제 의약품으로서 개발하기가 매우 까다로운 부류에 속하는 약물들이다. 이 유도체 중의 하나인 omeprazole⁴⁻¹²⁾은 위장관벽 세포에 존재하는 $K^+ - H^+$ ATPase(proton pump)의 기능을 차단하여 위장관내에서 H^+ 의 농도를 저하시

김으로써 위산의 생성을 억제하여 위산으로 인한 여러가지 소화관 질환을 효과적으로 치료하기 시작한 약물이다.

이에 저자들은 물에 매우 녹기 어려우며 산에 매우 불안정^{13, 18)}한 omeprazole (OMP)을 선택하여, 이를 제제화 할 수 있는 기초연구 및 실용화 할 수 있는 가능성을 보다 구체적이고 계통적으로 연구하여 산 불안정성 약물의 수송체를 개발할 연구의 일환으로, 우선 구조적으로 환원성 말단이 없고 수분, pH, 열 및 기계적 자극 등에 매우 안정하고 수용성이 큰 β -cyclodextrin(β -CD)과의 inclusion compound를 합성하고, 이 화합물에 대한 용해도, 가속 안정도 시험 및 용출시험 등을 통하여 omeprazole의 안정성과 용해성의 향상으로 생체 이용율을 개선하고자 하였다.

실험방법

시료 및 시약—5-Methoxy-2-[(4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridinyl)methyl]sulfinyl]-1H-benzimidazole은 Hanmi Pharm. Co. Ltd.(Seoul, Korea)에서 제공되었고 β -cyclodextrin은 Sigma. Chemical Co. Ltd.에서 구입하였으며, HPLC용 acetonitrile, methanol, water는 Merck사에서 구입하였고, 기타 모든 시약 및 용매류는 특급 혹은 일급시약을 사용하였다.

실험기기—HPLC는 Waters Co.(Injector U6K, Integrater 740, Detector 481, Pump 510), UV/Visible spectrophotometer는 Pye Unicam Co. Model PU 8800, I·R spectrophotometer는 Perkin Elmer Co. 780 series, differential scanning calorimeter는 Perkin Elmer Co, DSC-4, 그리고 life tester 및 dissolution tester 등을 사용하였다.

용해도 실험—Higuchi와 Lach 등¹⁹⁾에 의한 용해도시험법에 따라 0~0.02 mole의 β -CD 용액을 만들어 각 10 ml씩을 test tube에 취한 후 각 시험관에 OMP 0.087 M씩을 정확히 가한 다음 밀봉한다. 이를 시험관 혼합기에 고정하고 25°C에서 7일간 반응시켜 평형에 도달시켰다.

각 용액을 millipore membrane(0.45 μ m)을 통하여 여과하고 여액 5 ml를 취하여 borate buffer(pH 10.0)로 200배 희석한 후 spectrophotometer를 사용하여 302 nm에서 흡광도를 측정하고 검량선으로부터 OMP

의 양을 구하였다.

따로 여과 후의 잔사를 회수하여 미량 잔존하는 OMP를 CHCl_3 소량으로 세척 제거하고 남은 잔사를 감압하에 상온에서 건조하여 시료로 하였다. 건조한 시료 약 20 mg을 정확히 달아 borate buffer(pH 10.0) 100 ml에 녹인다음, 이 액 20 ml를 취하여 다시 borate buffer를 가하여 50 ml로한 다음 302 nm에서 흡광도를 측정하여 OMP의 양을 구하고, 따로 잔사 중의 수분을 Karl-Fischer 법으로 측정하여 보정하였다.

Inclusion complex의 제조—Inclusion complex의 제조방법은 공침법으로 다음과 같이 제조하였다. 즉 OMP : β -CD : H_2O = 300 mg : 2.27g : 100 ml의 비율로 β -CD를 먼저 증류수에 용해한 다음 OMP를 가하고 2일 동안 실온에서 잘 교반하였다. 생성된 미세분말을 millipore membrane(0.45 μ m)을 통하여 여과하고 과량으로 잔존하는 OMP는 소량의 CHCl_3 로 씻어내고 감압하에 상온에서 건조하였다.

Complex의 분석—Complex 중의 OMP의 함량분석은 건조시료 소량을 정확히 취하여 borate buffer (pH 10.0)에 녹이고 0.45 μ m의 Millex HV filter로 여과하고 아래와 같은 조건으로 HPLC를 행하였다. 따로 표준품 OMP 100 mg을 정확히 취하여 phosphate buffer(pH 10.0)에 녹이고 100 μ g/ml의 농도액을 표준액으로 하였다. 또한 수분의 양은 Karl-Fischer법으로 정량하여 보정하였다.

HPLC conditions

Column ; C_{18} -Radial Pak, Mobile phase ; CH_3CN : phosphate buffer(pH 7.6) = 34 : 66, Flow rate ; 1.2 ml/min, Sensitivity ; 0.1 Aufs, Detector ; 280 nm, Injection volume ; 10 μ l, Concentration ; 100 μ g/ml

열분석—DSC를 이용하여 OMP, OMP : β -CD = 1 : 2 (mole비)의 혼합물 그리고 complex 각각 소량씩을 취하여 T_{\min} = 50°C, T_{\max} = 250°C, 승온온도 20°C/min 및 chart speed = 0.5 mm/sec의 조건으로 분석하였다.

IR 측정—OMP, OMP- β -CD(1 : 2) 혼합물 및 OMP-complex 각각 소량씩을 취하여, KBr disc 법으로 IR을 측정하여 비교하였다.

가속 안정도 시험—OMP 10 mg과 OMP-complex 40 mg을 각각 정확히 칭량하여 작은 cup에 넣은 후, 상대습도 70%에서 40, 50, 60 및 70°C의 life tester에서 경시적으로 확대시키면서 일정시간 간격으로

시료를 취하여 borate buffer(pH 10.0)에 녹인 다음 Millex HV filter(0.45 μm)로 여과하여 OMP의 잔존량을 위의 HPLC법으로 정량하였다.

용출 실험—OMP 정제는 100 mesh 체를 통과한 30 mg의 OMP와 mannitol 270 mg으로, OMP-complex 정제는 complex 227.27 mg(OMP로서 30 mg)에 mannitol 270 mg을 혼합하여 IR용 disk 제조기를 이용하여 압력 3000 psi의 조건으로 정제를 제조하여, phosphate buffer(pH 6.8)을 용출액으로 하여 대한약전 제 2법에 따라 용출시험을 시행하였다. 시료의 채취량은 5 ml를 취하였으며 분석법은 위의 HPLC 법으로 정량하였다.

결과 및 고찰

용해도 시험

OMP의 검량곡선—OMP 일정량을 정확히 칭량하여 0.02 M-borate buffer(pH 10.0)에 녹여서, $0 \sim 1 \times 10^{-4}$ mole의 용액을 만들어 검량선을 작성하였다. 또한 UV 파장에서의 OMP 정량의 가능성을 검토한 결과 pH 11.0에서 반감기가 약 300일 정도 되어 solubility test 기간 중에도 오차범위 내에서 정량이 가능하였으며, β -CD의 UV 간섭은 일어나지 않았다. 이상의 검량선으로부터 구한 OMP의 extinction coefficient는 14680이었으며, 검량선의 correlation coefficient는 1.000이었다.

용액중의 OMP 정량—이상의 시험법에 따라 용액을 분석하고 computer regression을 통하여 β -CD의 농도범위에서 확실하게 직선을 나타내는 0.000~0.008 mole의 data를 regression analysis한 결과 다음의 1차 방정식을 얻었다.

$$[\text{OMP}] = 0.00437 + 0.261 \cdot [\beta\text{-CD}] \quad (1)$$

또한, β -CD의 농도범위 0.013~0.017 mole의 data를 regression analysis한 결과는 다음과 같다.

$$[\text{OMP}] = 0.0118 + 0.393 \cdot [\beta\text{-CD}] \quad (2)$$

위의 두 1차방정식에 의해서 β -CD의 농도범위 0.000~0.008 mole은 식 (1)에 의해서 도시되고, 0.013~0.017 mole은 식 (2)에 의하여 도시된다. 또한 0.010~0.012 mole은 plateau 부분으로서 OMP 농도를 평균하여 수평직선으로 도시하였다. 이상과 같은

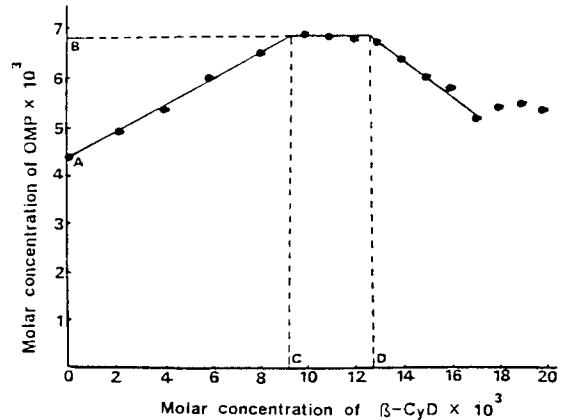


Fig. 1—Phase solubility diagram of OMP and β -CD system in borate buffer (pH 10.0) at 25°C for 7 days.

Key: A; solubility of OMP in water, B, C; saturated concentration with OMP and complex, D; all of the solid OMP has passed into solution

3개의 직선을 조합하여 phase solubility diagram을 작성하였다(Fig. 1).

Phase solubility diagram을 이용하여 OMP와 β -CD간의 complex 형성에 있어서 두 물질간의 mole 비와 formation constant를 계산하면,

$$\text{mole ratio} = \frac{[\beta\text{-CD}]_d - [\beta\text{-CD}]_c}{[\text{OMP}]_{\text{total}} - [\text{OMP}]_b} \quad (3)$$

$[\text{OMP}]_{\text{total}}$ = total concentration of OMP added

$[\text{OMP}]_b$ = concentration of OMP corresponding to the plateau CD

$[\beta\text{-CD}]_d$ = maximum concentration of β -CD corresponding to the plateau CD

$[\beta\text{-CD}]_c$ = minimum concentration of β -CD corresponding to the plateau

식 (3)에 의하여 구한 mole비는 1.83이고, phase solubility diagram에서 구한 OMP- β -CD complex 형성 mole비는 1:2이었다. 따라서 두 방법으로 구한 mole비는 1:2로 일치한다고 보아진다. Formation constant는 phase solubility diagram의 초기 상승부분을 이용하여 다음과 같이 계산하여 K_f 값 80.82 M^{-1} 을 얻었다.

Table I—Analytical data of OMP-β-CD complex in residue obtained by solubility study

OMP(mole)	β-CD(mole)	mole ratio (OMP: β-CD)
6.50×10^{-6}	1.467×10^{-5}	1 : 2.25
6.02×10^{-6}	1.467×10^{-5}	1 : 2.44
6.78×10^{-6}	1.480×10^{-5}	1 : 2.19

$$K_f = \frac{(S_f - S_0)}{[S_f - (S_f - S_0)] [L - (S_f - S_0)]}$$

$$= \frac{\text{slope}}{\text{intercept} \cdot (1 - \text{slope})} \quad (4)$$

S_f = concentration of OMP added

L = concentration of β-CD added

S_0 = solubility of OMP

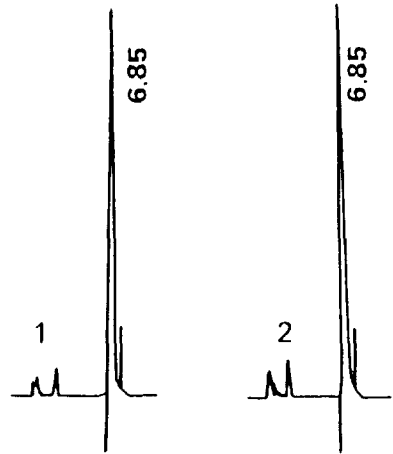
따라서 OMP와 β-CD와의 사이에 형성되는 complex의 유형은 Higuchi와 Connors의 분류에 의하면 B_s-type에 속하며, 따라서 complex의 단리가 용이하고 phase solubility diagram을 이용하여 두 물질간의 complex 형성 mole비와 formation constant를 쉽게 구할 수 있었다.

잔사중의 OMP의 분석—Solubility test에서 얻어진 잔사를 분석한 결과는 다음과 같다(Table I).

이상과 같이 complex를 분석한 결과 OMP-β-CD 간의 complex 형성의 mole비가 1 : 2임을 알 수 있다. 또한 이와 같은 결과는 여액 분석결과와도 잘 일치하는 것이다. Higuchi와 Connors⁽⁸⁾의 용해도 분석에 따르면 complex를 형성하는 2 물질간에는 용해도가 증가하는 A-type과 용해도가 어느정도 증가한 후 plateau를 형성하는 B-type으로 크게 구분되며, 다시 A-type은 A_L, A_P, A_N으로 B-type은 B_S, B_I 등으로 세분⁽²⁰⁾ 되는데, 여기에서 생성된 OMP-complex는 B_S-type으로 간주된다. 일반적으로 A-type는 결정의 단리가 곤란하고 비교적 불안정한데 반하여, B-type는 안정하여 용해도상도를 이용하여 2 물질간의 complex 형성 mole비와 formation constant⁽²¹⁻²⁶⁾를 쉽게 계산할 수 있다.

OMP-β-CD complex 중의 OMP의 분석—HPLC 방법으로 OMP 및 OMP-complex를 분석한 결과는 다음과 같이 만족할만한 chromatogram을 얻었다.

Chromatogram에서 보는 바와 같이 OMP와 OMP-

**Fig. 2**—Liquid chromatogram of OMP(1) and OMP-complex(2) in borate buffer(pH 10.0).

complex는 모두 retention time 6.85분에서 OMP의 peak를 나타낸다. 즉 OMP와 OMP-complex간에 retention time의 차이를 볼 수 없다. 이는 OMP가 complex를 형성한다 하여도 용액 중에서 OMP가 β-CD의 소수성 동공에서 유리되기 쉬우며, 또한 HPLC column 내에서 complex의 결합을 유지하기가 어렵기 때문이라고 생각된다. 그러나 동일한 조건으로 HPLC를 시행하여서 complex 중의 OMP의 정량이 가능하였다. 위와 같은 방법으로 제조한 complex 중의 OMP 함량이 13.2%로서 OMP : β-CD의 mole비는 1 : 2이며, 이는 solubility study에서 분석한 용액 및 잔사중의 결과와도 잘 일치하는 값이다.

OMP-β-CD Interaction—Inclusion complex의 제조방법은 여러가지가 있으나 본 실험에서는 공침법을 사용하였다. Complex 형성을 확인하기 위한 방법으로 OMP와 OMP : β-CD = 1 : 2(mole비)의 혼합물, 그리고 제조된 complex를 각각 소량씩 취하여 DSC(Fig. 2) 및 IR(Fig. 3) 측정결과 다음과 같다.

OMP의 DSC 곡선에서는 156°C에서 용점에 해당하는 흡열 peak를 나타내었으나, complex에서는 peak가 완전히 사라졌고 physical mixture에서는 약화되었다. 이는 complex에서 OMP가 β-CD의 동공 속으로 entrap되어 열에 대하여 β-CD의 보호를 받기 때문이라고 생각된다. 다만 complex와 혼합물의 곡선에서는 100°C 부근에서 기화열에 의한 흡열 peak가 나타날 뿐이다.

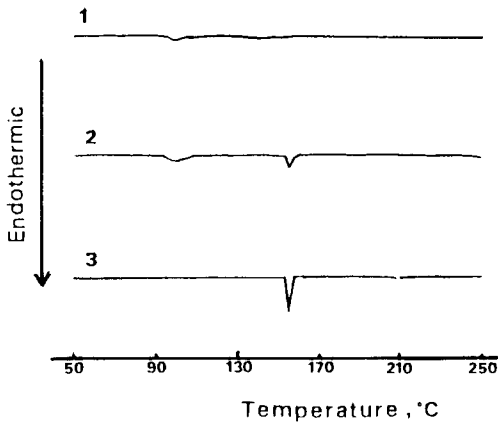


Fig. 3—DSC curves of CMP-complex(1), physical mixture of OMP and β -CD(2), and OMP(3).



Fig. 4—IR spectra of OMP-complex, physical mixture of OMP and β -CD, and OMP.

Key: —; OMP, ----; physical mixture of OMP and β -CD, —●—; complex.

IR spectra 상에서는 화합물간에 명확한 차이점을 발견할 수 없으나 complex 형성으로 인한 몇 가지 spectra의 변화를 볼 수 있다. 즉 OMP에서 나타나는 $3500\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 의 N-H stretching peak, 1500 cm^{-1} 의 aromatic stretching peak, 그리고 $1342\sim 1268\text{ cm}^{-1}$ 의 C-N stretching peak가 complex의 spectrum에서는 소실되었다. 이와 같은 spectrum의 소실의 의미는 정확히 해석할 수 없으나 OMP와 β -CD간의 interaction에 기인하는 것으로 생각된다.

Accelerated stability analysis—OMP와 OMP-complex에 대하여 가속 안정도시험을 시행한 결과는 다음 Fig. 5와 같다.

이상의 Fig. 5에서 보는 바와 같이 OMP와 OMP-complex의 분해반응은 pseudo first order임을 알 수 있었고, 이로부터 구한 분해속도정수는 OMP는 $k_{40} =$

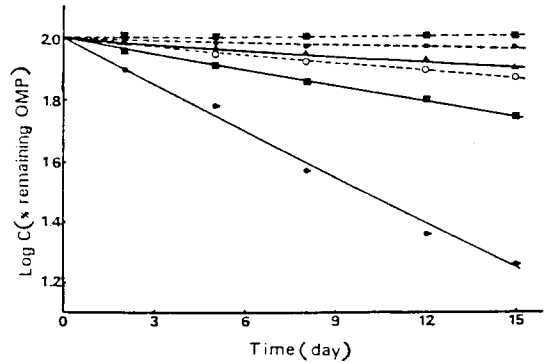


Fig. 5—Accelerated breakdown of OMP and OMP- β -CD complex at elevated temperature.

Key: —; OMP, ● (60°C), ■ (50°C), ▲ (40°C), ----; OMP-complex. ○ (70°C), ● (60°C), ■ (50°C).

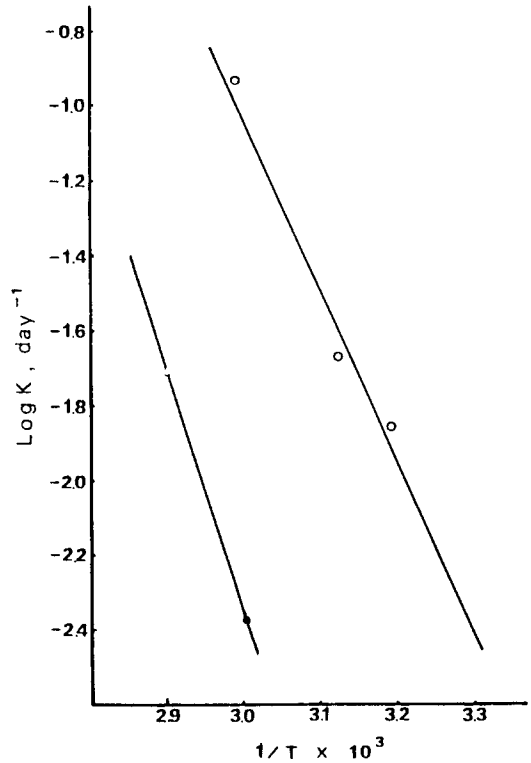


Fig. 6—Arrhenius plot for degradation of OMP and OMP-complex at elevated temperature.

Key: —○—: OMP, —●—: OMP-complex

$1.4 \times 10^{-2}/\text{day}$, $k_{50} = 2.2 \times 10^{-2}/\text{day}$, $k_{60} = 1.18 \times 10^{-1}/\text{day}$ 이고, OMP-complex는 $k_{50} = 8.24 \times 10^{-4}/\text{day}$, $k_{60} =$

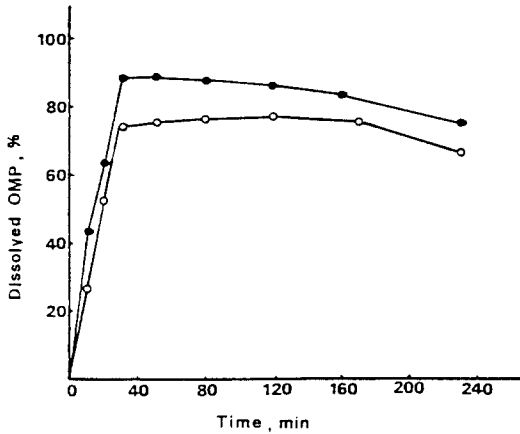


Fig. 7—Dissolution curves of OMP and OMP-complex in phosphate buffer (pH 6.8) at $37.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$.
Key; —○—: OMP, —●—: OMP-complex

$4.2 \times 10^{-3}/\text{day}$, $k_{70} = 1.9 \times 10^{-2}/\text{day}$ 이다. 또한 OMP의 상온에서의 속도정수는 $k_{25} = 8.1 \times 10^{-4}/\text{day}$ 이고, activation energy는 22 Kcal/mole 이며, OMP-complex의 속도정수는 $k_{25} = 4.65 \times 10^{-6}/\text{day}$ 이며 activation energy는 35 Kcal/mole 로서 complex의 안정성이 크게 향상되어서 OMP의 제제화에 있어서 보다 안정성과 유효성을 보장할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 이로부터 Arrhenius plot을 하면 Fig. 6과 같다.

용출시험—OMP와 OMP-complex 정제를 타정하여 시행한 용출시험 결과는 Fig. 7과 같다. 즉 OMP-complex가 OMP에 비하여 용출율이 약 15% 상승하였다. 타정상의 여러문제를 고려하지 않았기 때문에 정확히 분석하기가 어려우나 이와 같이 complex의 용출율이 증가한 것은 OMP-complex의 용해도가 증가한데 기인한다고 생각된다.

결 론

Omeprazole의 제제학적 문제점을 개선하여 그 안정성과 유효성을 제고시키기 위한 방법으로 omeprazole과 β -cyclodextrin간의 포접화합물을 제조하여 용해도, DSC 및 IR 등으로 complex의 특성을 측정하고, 안정성을 시험한 결과 다음과 같다.

1. Omeprazole과 β -cyclodextrin의 interaction은 omeprazole이 β -cyclodextrin의 소수성 동공내로 유입되어 inclusion complex가 형성됨을 추정할 수 있

었다.

2. Omeprazole- β -cyclodextrin complex 형성 양상은 Higuchi와 Connors 등의 분류에 따를 때, B_S-type에 속하는 phase diagram을 나타내었으며, complex 형성 mole비는 OMP : β -CD = 1 : 2이고 formation constant는 $80.82/\text{mole}$ 이었다.

3. 가속 안정도 시험결과 OMP 및 OMP-complex의 분해는 pseudo first-order 반응이었으며, 분해속도정수는 OMP가 $k_{25} = 8.1 \times 10^{-4}/\text{day}$ 이고 E_a 는 22 Kcal/mole 인데 비하여, complex의 속도정수는 $k_{25} = 4.65 \times 10^{-6}/\text{day}$ 이고 E_a 가 35 Kcal/mole 로서 안정성이 크게 높아졌으며, phase solubility diagram과 용출시험 결과 complex 형성에 의하여 OMP의 용해성이 크게 향상되어 OMP의 제제학적 문제점을 해결할 수 있는 가능성이 있었다.

문 헌

- 1) Lövgren, K.I., Gunnar, A.G., Yasumura, M., Morigaki, S., Oda, M. and Ohishi, N.: Pharmaceutical formulations of acid labile substances of oral use. *European Patent Application*. 0,244,380(1987).
- 2) Lövgren, K.I., Yasumura, M., Morigaki, S., Oda, M. and Ohishi, N.: New pharmaceutical preparation for oral use. *U.S. Pat.* 4,787,505(1988).
- 3) Junggren, U.K. and Sjöstrand, S.E.: Gastric acid secretion inhibiting substituted 2-(2-benzimidazolyl) pyridines pharmaceutical preparations containing same and method for inhibiting gastric acid secretion. *U.S. Pat.* 4,255,431(1981).
- 4) Pilbrant, A. and Cedeberg, C.: Development of an oral formulation of omeprazole. *Scand. J. Gastroenterol.* **20**, 113-120(1985).
- 5) 한국병원약사회뉴스. Proton pump Inhibitor의 임상약리. 4(1988).
- 6) Wallmark, B., Lorentzon, P. and Larsson, H.: The mechanism of action of omeprazole- A survey of its inhibitory action *in vitro*. *Scand. J. Gastroenterol.* **20**, 37-51(1985).
- 7) Larsson, H., Mattson, H., Sundell, G. and Carlsson, E.: Animal pharmacodynamics of omeprazole- A survey of its pharmacological properties *in vivo*. *Scand. J. Gastroenterol.* **20**, 23-35(1985).

- 8) Clissold, S.P. and Campoli-Richards, D.M.: Omeprazole- A preliminary review of its pharmacodynamics and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in peptic ulcer disease and Zollinger-Ellison syndrome. *Drugs*. **32**, 15-47(1986).
- 9) Howden, C.W., Meredith, P.A., Forrest, J.A.H. and Reid, J.L.: Oral pharmacokinetics of omeprazole. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **26**, 641-643(1984).
- 10) Okabe, S.: Effects of gastric proton pump inhibitors on gastric secretion and peptic ulcers. *Folia pharmacol. japon.* **87**, 351-360(1986).
- 11) Lagerström, P.O. and Persson, B.A.: Determination of omeprazole and metabolites in plasma and urine by liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **309**, 347-356(1984).
- 12) Persson, B.A., Lagerström, P.O. and Grundevik, I.: Determination of omeprazole and metabolites in plasma and urine. *Scand. J. Gastroenterol.* **20**, 71-77(1985).
- 13) Saenger, W.: Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **19**, 344-362(1980).
- 14) Hamada, Y., Nambu, N., and Nagai, T.: Interactions of α - and β - cyclodextrin with several non-steroidal antiinflammatory drugs in aqueous solution. *Chem. Pharm. Bull.* **23**, 1205-1211(1975).
- 15) Tsuruoka, M., Hashimoto, T. and Seo, H.: Enhanced bioavailability of phenytoin by β -cyclodextrin complexation. *Yakugaku Zasshi.* **101**, 360-367(1981).
- 16) Hibi, T., Tatsumi, M. and Hanabusa, M.: Stabilization and reduction of irritant taste of anti-inflammatory drug pirofen by β -cyclodextrin complexation. *Yakugaku Zasshi.* **104**, 990-996(1984).
- 17) Sato, Y., Matsumaru, H. and Irie, T.: Improvement of local irritation induced with intramuscular injection of tiamulin by cyclodextrin complexation. *Yakugaku Zasshi.* **102**, 874-880(1982).
- 18) Higuchi, T. and Connors, K.A.: Phase solubility technics. *Adv. Anal. Chem. Instr.* **4**, 117(1965).
- 19) Higuchi, T. and Lach, J.L.: Investigation of some complexes formed in solution by caffeine. *J. Am. Pharm. Assoc.* **18**, 349-354(1954).
- 20) Uekama, K.: Pharmaceutical applications of cyclodextrin complexation. *Yakugaku Zasshi.* **101**, 857-873(1981).
- 21) Ikeda, Y., Matsumoto, K., Kunihiro, K., Fuwa, T. and Uekama, K.: Inclusion complexation of essential oils with α - and β -cyclodextrins. *Yakugaku Zasshi.* **102**, 83-88(1982).
- 22) Uekama, K., Ikeda, Y., Hirayama, F., Otagiri, M. and Shibata, M.: Inclusion complexation of p -hydroxybenzoic acid esters with α - and β -cyclodextrins: Dissolution behaviors and antimicrobial activities. *Yakugaku Zasshi.* **100**, 994-1003(1980).
- 23) Higuchi, T. and Kristiansen, H.: Binding specificity between small organic solutes in aqueous solution: Classification of some solutes into two groups according to binding tendencies. *J. Pharm. Sci.* **59**, 1601-1608(1970).
- 24) Uekama, K., Hyrayama, F., Otagiri, M., Otagiri, Y. and Ikeda, K.: Inclusion complexation of β -cyclodextrin with some sulfonamides in aqueous solution. *Chem. Pharm. Bull.* **26**, 1162-1167(1978).
- 25) Uekama, K., Hyrayama, F., Yamasaki, S., Otagiri, M. and Ikeda, K.: Circular dichroism study on inclusion complexes of some prostaglandins with α - and β -cyclodextrins. *Chem. Lett.* 1398-1392(1977).
- 26) Connors, K.A. and Mollica, Jr., J.A.: Theoretical analysis of comparative studies of complex formation. *J. Pharm. Sci.* **55**, 772-780(1966).