

## 세포탁심의 공장 및 비점막흡수에 미치는 이온쌍의 효과

박기배\* · 전 승 · 이광표

중앙대학교 약학대학, \*(주) 한독약품 중앙연구소  
(1995년 10월 20일 접수)

### Effect of Ion-Pair on Jejunal and Nasal Absorption of Cefotaxime

Gee-Bae Park\*, Seung Jeon and Kwang-Pyo Lee

College of Pharmacy, Chung-Ang University  
\*R&D CENTER, HANDOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

(Received October 20, 1995)

The purpose of this study was to investigate the intestinal and nasal absorption enhancement of cefotaxime (CTX) by ion-pairing with counterions and to design an effective oral and intranasal drug delivery system for antibiotics. Counterions for absorption promotion were cationic surfactants [cetylpyridinium chloride (CP), cetrizime (CT) and benzalkonium chloride (BA)]. In the presence of counterions, the apparent partition coefficient of cefotaxime was increased depending on the molar concentration of the counterions. Anion interference was observed for ion-pairing of cefotaxime with counterions because of the counterbalance between an anion and counterions. The present study employed the *in situ* simultaneous nasal and intestinal perfusion technique in rats. The apparent permeabilities ( $P_{app}$ ) of cefotaxime were  $1.43 \pm 0.04 \times 10^{-5}$  cm/sec (mean  $\pm$  S.E) in the nasal cavity and 0 in the jejunum, respectively, which indicated that the intrinsic absorptivity of cefotaxime was greater in the nasal cavity than in the jejunum. When ionupairing formers were used, the decreasing order of apparent cefotaxime permeability ( $P_{app}$ ,  $10^{-5}$  cm/sec), corrected for surface area of absorption, was as followings: BA ( $7.50 \pm 0.36$ ) > CT ( $4.92 \pm 0.24$ ) > CP ( $3.01 \pm 0.17$ ) in the jejunum and BA ( $22.31 \pm 1.36$ ) > CP ( $18.24 \pm 0.81$ ) > CT ( $16.22 \pm 1.87$ ) in the nasal cavity. The increase in permeability of cefotaxime was about 13-fold in the rat nasal cavity and was marked in the rat jejunum for ion-pairing with counterions as compared to those without ion-pairing. The damages of jejunal and nasal mucosal membrane by counterions were observed within approximately 2hrs after removal of ion-pair of cefotaxime with counterions from the nasal cavity and jejunum. These results suggest that CP can be used as an ion-pairing former in the jejunum and CP and CT can be used as ion-pairing formers in the nasal cavity for cefotaxime, as well as for poorly absorbed drugs with a negative charge due to ionization.

**Keywords**—Cefotaxime, Ion-pair, Jejunal absorption, Nasal absorption, Absorption enhancement

세포탁심은 제3세대 세파로스포린계 항생제로서 포도상구균, 호기성 및 혐기성 연쇄구균, 폐렴 연쇄상구균, 나이세리아속, 인플루엔자균, 대장균, 살모넬라속, 예르시니아속, 클로스트리듐속, 박테로이드속 등 대부분의 그람양성 및 그람음성균에 유효하여 호흡기도감염증, 신장 및 요로감염증, 패혈증, 세균성 심내막염, 수막염, 이비인후감염증, 생식기감염증, 체내 저항력이 떨어져 있는 환자의 감염예방 및 치료등의 적응증을 지닌 광범위 항생제이지만, 산에 매우 불안정하며

친수성이 크고 친유성이 작아 경구투여시 위장관으로부터 거의 흡수가 되지 않기 때문에 현재 정맥 및 근육 주사제로만 이용되고 있는 단점을 가지고 있다.

주사제로 투여시 작용발현시간이 신속하고 초회통과효과도 없기 때문에 치료효과는 우수하지만, 정맥 혹은 피하주사시 주사부위의 피하지방의 위축이나 비대해지는 부작용을 유발하기도 하고 사용상 불편으로 인하여 자가치료가 불가능하다. 또한 주사로 인한 동통으로 인하여 환자의 복약순응도가 시간이 지남에 따라 크게 감소되기 때문에 치료의 극대화를 꾀할 수 없

\*본 논문에 대한 문의는 이 저자에게로

다. 따라서 경구, 비강, 피부, 구강, 눈, 질점막을 통한 약물의 대체투여경로에 대하여 많은 연구가 진행되고 있다.<sup>1)</sup>

특히 세과계 항생물질중 세포타심은 세펩핵 C<sub>4</sub> 위치의 카르복시기가 경구투여시 이온화되어 수용성이 크게 증가하여 경구 또는 비강투여시 위장관이나 비점막으로부터 거의 흡수가 되지 않는다. 이때 이온화된 약물에 반대이온(counterion)으로 이온쌍(ion-pair)을 형성하여 친수성을 감소시키고 친유성을 증가시키는 방법이 있다. 이온쌍형성은 친유성을 증가시킬 뿐만 아니라 지질막을 통과하는 약물의 수송률을 증가시키는 적절한 방법으로 보여지며 약물동력학적 약물상호작용의 가능한 기전으로 생각된다.<sup>2-4)</sup>

생체막을 통과하여 흡수된다는 고전적인 개념은 단지 충분한 지질용해성을 가진 비극성약물만이 지질이 중층을 통해 흡수될 수 있는 것으로 알려져 왔다. 그러나 paraquat, suxamethonium, phenothiazines과 같은 이온화된 물질도 장으로부터 흡수가 잘 되었는데 이러한 사실은 흡수에 관한 pH-분배가설을 발전시킨 Shanker<sup>5)</sup>에 의하면 유기이온은 장내에서 정상적으로 존재하는 어떠한 물질과 복합체를 형성함으로써 극성이 작게 되어 소장막을 통과할 것이라고 의견을 제시하였다. Klink<sup>6)</sup>는 이온쌍의 개념을 설명하였고 이온쌍을 형성하기 위하여 이온을 결합시키는 정전기적 힘을 수화적인 전지에서 토론하였다.

유기음이온과 양이온 사이의 상호작용은 약물의 제형설계시, 특히 약물의 병용투여, 안정성 및 생물학적 이용률 등에 관한 것을 알고자 할 때 도움이 되므로 이와같은 발생가능한 상호작용의 성질에 대하여 배우는 것은 당연하다. 예를 들면, 가용화, 안정화 및 방부의 목적으로 약제학적 제형에 있어 전하를 띤 표면활성분자의 사용이 점차 증가하고 있고, 제형에 있어서 반대 전하를 띠는 약물, 또는 기타 첨가제의 존재는 상당한 물리화학적 상호작용을 유도할 수 있다. 수용액에서 유기이온들간에 일어나는 상호작용이 model system을 이용하여 연구되어졌는데 ion-pair formation, complexation, coacervation, hindered precipitation 등이 이와같은 model system에 속한다.<sup>7)</sup>

이온쌍수송은 많은 요인에 의해 영향을 받을 수 있다.<sup>2)</sup> Lee<sup>8)</sup>은 실리코 고무막을 통한 약물의 수송은 이온쌍의 크기에 의존한다는 것을 발견하였다. Neubert 와 Dittrich<sup>9)</sup>는 steric effect 때문에 dodecanol collodion막을 통과하는 ampicillin의 수송에 있어서

반대이온의 영향을 연구하였는데 단지 dodecylsulphate만이 ampicillin의 수송률에 상당한 증가를 가져왔다. 친수성약물(Bretylum, Pholedion)의 수송에 있어서 다양한 친유성 반대이온의 영향이 연구되었는데 이 연구는 이온쌍수송의 실용화에 물리화학적 적응성을 가진 지질친유성 반대이온의 사용이 바람직하기 때문에 물리화학적 반대이온의 연구에 중점을 두었다.<sup>3)</sup> 또한 Neubert<sup>10)</sup>는 ampicillin, bacampicillin, pivampicillin의 흡수촉진시험을 위하여 여러 종류의 이온쌍형성을 위한 반대이온을 가지고 실험을 하였는데 그 실험을 통하여 각 약물은 각각 특별한 반대이온이 필요하다고 보고 하였다.

이온이 쌍을 형성하게 되면 기본적으로 각 이온은 전하의 전부 또는 일부를 잃게 된다. 그리하여 용액내에 소량만이 전하를 띠게 된다. pH-분배 가설은 4급암모늄화합물, sulfonic acid, dextromethorphan, tetracyclines등과 같은 극도로 이온화된 약물의 흡수에 관해서는 설명할 수 없기 때문에 이온쌍형성 과정과 이온쌍이 위장관지질막을 통과하는 것은 약물흡수의 중요한 기전을 구성하는 요소가 될 것으로 가정하였으며 isopramide의 이온쌍형성을 통해 지용성을 증가시킴으로써 마우스에서 산동작용의 증가를 보여주었다. 또한 이온쌍형성을 위한 적절한 반대이온의 선택을 통하여 tetracyclines과 같이 완전히 이온화되는 약물의 위장관으로부터의 흡수효과, 흡수속도, 흡수의 일관성 등이 상당히 증가되었다.<sup>7)</sup>

Walking<sup>11,12)</sup>은 mixidine의 유수분배계수, lethality study 와 혈장농도등을 측정하는 실험을 통하여 이온쌍에 의한 흡수증가를 증명하였다.

4급암모늄약물은 모든 생리적 pH에서 완전하게 이온화되어 수용성이 커지고 지용성이 작아져 경구투여시 낮고 불규칙한 흡수를 때문에 경구투여에 많은 제한이 따른다. 수동흡수의 pH-분배가설에 따르면 이러한 이온화된 약물은 지질막에서 느리게 수송되기 때문에 단지 극소량만이 흡수된다. 4급암모늄약물을 경구투여 하였을 때는 위장관 흡수율이 낮기 때문에 경구와 주사제로 투여시 투여경로에 따라 치료효과의 극명한 차이를 보여준다. 따라서 4급암모늄약물은 수용액 상에서 양전하를 띠기 때문에 음이온을 첨가할 경우 흡수율이 크게 증가하게 된다.<sup>13)</sup> 또한 quinine-bromthymol blue<sup>14)</sup>, quinine-chlorpheniramine<sup>15)</sup>, pranoprofen-phenylephrine<sup>16)</sup>, hexamethonium chloride-pralidoxime chloride<sup>13)</sup>, N,N-bis(phenylcarba-

moylmethyl)dimethylammonium chloride-trichloroacetic acid<sup>17)</sup>, sodium cromoglycate-dodecylbenzylidimethylammonium chloride<sup>18)</sup>, brenthium-hexylsalicylic acid<sup>3)</sup>등의 이온쌍형성을 통한 흡수증가실험을 실시한 논문들도 보고되었다.

이온화된 약물이 막을 통과할 경우에는 수용성 구멍이 존재하여야만 하거나 수용성환경으로의 이온의 수송 즉, lipoprotein을 가로지르는 이동이 반드시 일어나야만 한다.<sup>19)</sup> 이온의 막수송(ionophoresis)은 일반적으로 막내에 내인성 ionophoric한 물질 즉, ionophore shunt 수송을 유발하게 하거나 콜레스테롤과 막에 손상을 줄 수 있는 복합체를 형성할 수 있어서 막에 손상을 입히거나 투과도를 높이는 detergents 또는 항생제가 존재할 수 있다는 견지에서 이를 논하였다. 이온수송시 합성 계면활성제의 작용을 고려하였을 때 계면활성제는 이온쌍형성(즉 ionophore로서의 작용), 또는 막이 이온화된 약물이온의 통과를 허용할 수 있도록 막의 체계가 변형되도록 하는 작용을 할 수 있다고 생각된다.<sup>18)</sup> 또한 Whitmore 등<sup>20)</sup>은 약물의 막투과도를 증가시키는 모든 종류의 계면활성제는 막에 손상을 가할 것이라고 보고하였으며 Muranishi<sup>21)</sup>는 겔보기 이온쌍매개흡수는 mucosal binding 또는 mucosal erosion과 관련이 있으므로 이온쌍형성에 의한 흡수실험이 항상 흡수증가기전을 명확하게 설명하지는 않는다고 보고하였다.

최근 약물의 흡수율을 증가시키기 위한 방법으로서는 복합체형성이 가능한 방법으로 여겨지고 있다. 이론적으로 난흡수성 약물을 흡수율이 좋은 복합체를 형성하여 흡수를 증가시킨다는 착상은 약물의 화학적 변형없이 또는 생물학적막의 변화없이 약물의 흡수율을 높이고 생체이용률을 높이므로 매우 유망하다. 이러한 착상은 많은 복합체가 상호작용의 구성요소보다 훨씬 더 친유성이라는 잘 알려진 사실에 바탕을 두고 있다. 그러나 실질적으로, 아직도 위장관액과 같은 수용성 매체에서 복합체 형성이 약물의 흡수문제를 해결할 수 있는 특별한 접근방법이라고 증명된 예는 많지 않다.<sup>22)</sup>

Beskid등<sup>23)</sup>은 glyceride를 흡수촉진제로 사용하여 ceftriaxone의 장관, 경구, 직장을 통한 흡수실험을 하였다. Ceftriaxone은 효과가 우수한 3세대 항생제이지만 위액에 의해 분해되고 위장관도에서 흡수율이 낮아 단지 주사제로만 사용되고 있다. 이런 이유로 자가투여가 어려워 병원에서만 투여되고 있는 단점을 극복하기 위하여 경구와 직장내에서의 약물송달시스템에 대

한 연구를 하였다. 이러한 약물 송달체계를 개발하기 위하여 적절한 흡수촉진제를 첨가한 ceftriaxone의 제제가 필요하다고 역설하였다. 여러가지 흡수촉진제가 다른 기타 항생물질의 직장흡수를 증가시키기 위하여 연구되었고 또한 몇가지는 동물에서의 항생물질의 장관 및 경구투여시 흡수를 증가시키기 위하여 연구되었다. 흡수촉진제 중에는 살리실레이트와 같은 계면활성제, 아미노산의 에나민유도체, 소염진통제, 카르복시산 유도체등이 포함된다. 어떤 학자들은 동물과 인간에 있어서 triglycerides 와 glyceryl mono-, di-, 및 tri-caprylates의 혼합물을 사용하여 항생물질의 흡수증가를 보여주었으며 Beskid는 두개의 C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> chain length mono-, diglycerides (Capmul)을 사용하여 장관, 경구 및 직장투여시 ceftriaxone의 흡수증가를 설명하였다.

이와 관련된 주제로 연구한 학자들을 조금 더 살펴보면 Perrin<sup>24)</sup>은 4급암모늄 화합물의 유수분배계수와 위장관 흡수에 대한 담즙산염의 영향을 연구하였으며 Utsumi<sup>25)</sup>는 thiamine disulfide compound의 흡수에 미치는 sod. glycocholate, sod. laurylsulfate, polysorbate 80 등 계면활성제들의 영향에 관하여 *in situ*, *in vivo* 흡수실험을 하였다.

앞에 서술한 여러 연구결과를 살펴보면 지용성 이온쌍 복합체의 형성을 통한, 또는 흡수촉진제를 이용한 난흡수성 약물의 흡수를 증가시키는 연구가 현재 생물약제학적으로 커다란 관심이 되고 있음을 알 수 있다.

이에 본 연구에서는 생리적 pH에서 이온화되어 음전하를 띠는 제3세대 주사용 세파계 항생제인 세포막심을 선택하여 양전하를 띠는 세가지의 반대이온 즉, cetylpyridinium chloride, cetrimide, benzalkonium chloride와의 이온쌍형성을 통하여; 1) 유수분배계수를 측정하여 세포막심의 지용성의 증가여부를 조사하였으며, 2) Hirai<sup>26)</sup>와 Farraj<sup>27)</sup>등의 환류장치를 발전시킨 *in situ* 동시연속환류법을 이용하여 비강 및 공장에서의 흡수실험을 실시함으로써 세포막심의 흡수율에 미치는 영향을 관찰하였다. 또한 3) 유수분배계수 실험시 음이온(trichloroacetic acid)을 첨가하여 음이온의 간섭현상을 관찰함으로써 세포막심과 반대이온간의 이온쌍형성을 확인하였으며, 4) *in situ* 환류실험시 반대이온의 안전성 즉, 공장 및 비강점막에 대한 손상여부를 대략적으로 평가하고 흡수촉진효과와의 기전을 확인하기 위하여 흡수부위의 손상도 평가 실험을 통하여 이를 검토하였다.

따라서 본 연구를 통해 주사제로 투여되고 있는 세포탁심을 이온쌍을 형성하여 흰쥐의 공장 및 비강에서 흡수실험을 실시함으로써 대체적인 송달수단으로서 경구 및 경비투여의 유효성을 고찰하는데 궁극적인 목적이 있다.

## 실험방법

### 재료 및 기기

본 실험에 사용한 cefotaxime(CTX)은 한독약품으로부터 제공받았다. 반대이온으로 사용한 cetrimide (CT)는 안센사의 제품이며 benzalkonium chloride (BA)는 Sigma사의 제품이고, cetylpyridinium chloride(CP)는 상아제약으로부터 원료를 제공받았다. 한편 음이온으로 사용한 trichloroacetic acid(TA)는 Sigma사로부터 구입하였다. 그외에 분석용시약은 모두 analytical grade를 사용하였다. Isotonic phosphate buffer (IPB)액은  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  4.00 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  4.73 g,  $\text{NaCl}$  4.80 g의 조성으로 구성되었으며, 증류수에 녹여 전량이 1 l가 되게 하여 인산으로 pH6.8로 조절한 후 여과해서 사용하였다.

기기로는 Hewlett Packard Series 1050의 HPLC를 사용하였으며, 컬럼은 Merck사의 LiChrospher100 RP-18 No. 387038 (5  $\mu\text{m}$ ) (100  $\times$  4.6 mm), detector는 HP 1050 VW detector를 사용하였고 데이터를 분석하는 컴퓨터 프로그램은 Interface Engineering Co., Ltd.에서 작성한 Cromate DSH version 2.2를 통하여 분석하였으며, 유수분배계수 측정은 Cary 3 UV/Visible spectrophotometer (Varian Co., USA)를 사용하여 측정하였다.

*In situ* 환류실험은 시료와 IPB액을 환류시키는 peristaltic pump (model-1303P2 Vision Co., Korea)와 환류액을 적정농도로 유지시키면서 교반시켜주는 stirrer/hot plate (Corning Co., USA)를 사용하였다.

### 세포탁심의 정량

환류액중에 잔존하는 세포탁심의 농도는 HPLC로 정량하였다. 일정시간마다 0.1 ml 시료를 채취해서 0.1 ml 메탄올을 가해 제단백조작을 행하고 3분간 5,000rpm으로 원심분리 하였다. 그 상정액을 membrane micro-filter로 여과한 다음 20  $\mu\text{l}$ 를 취해 분석에 이용하였다. 검출파장은 235 nm, 유속은 1.5 ml/

min이었다. 이동상은  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3.5 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  11.6 g, 메탄올 221 ml를 HPLC용 증류수 1000 ml에 녹여 조제한 후 0.5  $\mu\text{m}$  여지로 여과하여 사용하였다.

### 실험동물

체중 100~150 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 구입하여 고형사료와 물을 자유로이 먹도록 하면서 2주간 이상 동일조건 (실내온도 20~25°C, 상대습도 50~60%)에서 사육한 후 체중 240~260 g 범위의 것을 시험에 사용하였다. 실험 24시간 전부터는 고형사료의 공급을 중단하여 절식시켰으나 물은 자유로이 먹도록 하였다.

### 유수분배계수의 측정

유상과 수상의 제조는 유상으로 n-옥탄올을, 수상으로는 IPB (pH 6.8)액을 사용하였는데, 실험 하루전 두 용매를 섞은 후 방치하여 상호 포화될 수 있도록 하였다. 분배실험은 미리 포화시킨 수상 IPB액 25 ml에 CTX ( $1 \times 10^{-4}\text{M}$ )와 반대이온인 CP, CT, BA를 원하는 농도비 즉, 1:1, 1:5, 1:10으로 조제하였으며 10분 동안 vortexing을 하여 이온쌍형성을 유도하였다. 여기에 포화시킨 n-옥탄올 25 ml를 가하여 magnetic bar를 넣고 1시간동안 교반한 후 분액깔대기에 넣고 20시간동안 정치하였다. 정치 후 수상을 취하고 IPB액으로 희석한 후 235 nm에서 흡광도를 측정하여 분배계수 값을 구하였다

### 음이온 간섭현상의 시험<sup>26)</sup>

CTX와 반대이온간의 이온쌍형성을 확인하기 위한 실험으로서 음전하를 띠는 CTX와 양전하를 띠는 세가지의 반대이온에 또 다른 음전하를 띠는 trichloroacetic acid(TA)를 가하여 전하의 상쇄여부를 통해 유수분배계수를 측정함으로써 음이온이 미치는 영향을 살펴보았다. 이때 만약 CTX와 반대이온이 이온쌍을 형성한다면 여기에 가해진 음이온이 CTX와 결합할 반대이온과 결합을 하여 CTX와 반대이온간의 이온쌍형성을 저해하게 되므로 음이온의 첨가에 따라 분배계수 값이 감소하게 되는 변화가 나타날 것으로 예상된다. 이때 각 약물의 농도는 CTX ( $1 \times 10^{-4}\text{M}$ ), 반대이온 ( $1 \times 10^{-3}\text{M}$ ), 음이온 ( $1 \times 10^{-3}\text{M}$ )을 1:10:10의 비율로 조제하였다.

### *In situ* 환류법에 의한 비강 및 공장 동시 흡수실험

본 실험은 Hirai등<sup>26)</sup>이 개발한 *in situ* 경비 환류법과 Farraj등<sup>27)</sup>이 개발한 *in situ* 장관 환류법을 이용하

여 공장 및 비강에서의 동시 흡수 실험을 실시하였다. 체중 240~260 g의 흰쥐 수컷 3마리를 1군으로 하여 체중 kg당 50 mg의 치오펜탈 나트륨을 복강내 주사하여 전신마취시킨 후 목부분을 절개하여 기도를 노출시킨다. 기도의 윗부분을 약간만 절개하여 폴리에틸렌관(PE-260)을 폐쪽으로 향하여 삽입한다. 기도의 바로 아래에 있는 식도의 윗부분도 역시 약간만 절개하여 폴리에틸렌관을 위장쪽에서 비강의 후방을 향하여 삽입한 다음 약액이 비강에서 구강으로 배출되는 것을 방지하기 위하여 비구개관을 순간강력접착제(ALKA-SQ102)를 떨어뜨려 막는다. Tygon tube를 식도에 삽입한 폴리에틸렌관에 연결시킨다. 또한 흰쥐의 코와 drug reservoir 사이에 깔대기를 두어 콧구멍으로부터 흘러나오는 환류액을 안전하게 drug reservoir에 모을 수 있도록 한다. 24 µg/ml의 CTX를 함유하는 환류액 10 ml를 drug reservoir에 넣고, 이 drug reservoir 안에 magnetic stirring bar 1개를 넣어 회전시킴으로써 약액을 교반해 주며 drug reservoir를 37±0.5°C로 유지된 water-jacketed beaker에 넣고서 peristaltic pump를 작동시켜 2 ml/min의 환류속도로 약액을 환류시켰다. 30분마다 약액 100 µl를 Pipetman (Gilson)으로 취하여 HPLC로 잔존하는 CTX의 양을 측정하였다.

한편 공장흡수실험은 흰쥐의 십이지장하부(위장으로부터 15 cm 하부)에서부터 시작하여 약 10 cm 길이로 양단의 윗부분을 조금 절단하여 PE-260관으로 전방과 후방을 cannulation하고 봉합사로 단단히 묶은 후 *in situ* 경비환류법과 동일한 peristaltic pump에 연결시켜서 실험하였다. 실험조작이 끝나면 노출시킨 공장을 꼬이지 않게 복강에 넣은 후 수화상태를 유지하기 위해서 IPB액으로 직선 거즈로 복강을 자주 덮어 준다. 또한 흰쥐의 체온을 유지시켜주기 위해서 흰쥐의 복강위에 100W 전구를 설치하여 조사하였다. Cannulation한 장관에 시료를 환류시키기 전에 pH6.8 완충액으로 공장내를 환류시켜 깨끗이 세척한 다음 공장내에 남아있는 세척액은 펌프를 공회전시켜 완전히 제거시켰다. 실험을 시작할 때에는 약물이 들어있는 환류액을 공장내에 완전히 채우고, 공장내에 기포가 있는지를 확인하였다. 만일 기포가 있을 때는 이를 제거시킨 다음 2시간 동안 환류시켰다. 환류액은 peristaltic pump에 의해서 drug reservoir로부터 Tygon tube를 지난 후 cannula와 장관을 통해서 계속 환류시킨다. 환류액, 환류조건 및 시료채취법은 비

강과 동일하게 하였다.

#### 반대이온에 의한 흡수부위 손상도 평가실험

반대이온에 의한 공장 및 비점막에 대한 손상여부를 대략적으로 평가하고 흡수촉진 효과의 기구를 확인하기 위하여 CTX와 반대이온으로 이온쌍을 형성시킨 IPB액을 1시간 동안 *in situ* 환류법으로 전처리한 후 IPB용액으로 20분동안 공장 및 비강을 flush하여 씻고 공장 및 비강내에 남아있는 IPB액을 peristaltic pump를 공회전시켜 완전히 제거한 후 2시간 동안 흡수촉진제가 첨가되지 않고 CTX만 함유하고 있는 IPB액을 환류시켜서 30분 간격으로 시료를 채취하여 전처리를 하였을 경우와 하지 않았을 경우의 환류액 속의 약물의 잔존률을 비교하여 공장 및 비점막의 손상여부를 측정하였다.

#### 공장 및 비강내에서의 흡수 및 흡수촉진 효과에 대한 평가

*In situ* 환류액중의 약물농도의 잔존률을 시간에 따라 도시하면 1차 속도식에 따른다. 직선의 기울기로부터 1차흡수속도상수를 (1)식에 의해 구한다. 그리고 공장의 길이당 표면적은 실험시 공장의 길이를 측정하고, 체중 250 g인 흰쥐의 공장 평균직경을 문헌<sup>29)</sup>으로부터 인용하여 장점막 투과도를 다음의 (2)식으로 산출한다. 또한 체중 250 g인 흰쥐의 비강 평균표면적은 문헌<sup>1)</sup>에서 인용하여 (2)식에 대입하여 약물의 고유흡수도를 비교할 수 있는 투과도를 산출하였다.

$$\ln C(1)/C(0) = -k_{obs} \times t \quad (1)$$

$$P_{app} = k_{obs} \cdot V/S \quad (2)$$

C(0) : 환류액의 초농도

C(1) : 환류액의 잔류농도

$P_{app}$  : 겔보기투과도 ( $\text{cm} \cdot \text{sec}^{-1}$ )

$k_{obs}$  : 1차흡수속도상수 ( $\text{sec}^{-1}$ )

V : 환류액의 체적 ( $\text{cm}^3$ )

S : 평균표면적 ( $\text{cm}^2$ )

- 비강 : 10.4 (250 g 흰쥐의 평균표면적)

- 공장 :  $2\pi r l$  (r: 직경, l: 길이)

일반적으로 *in situ* 환류법은 흡수촉진효과의 평가법으로 가장 많이 이용되고 있는데 그 이유는 비강 및 소화관 각 부위를 인위적으로 특징지어 일정량의 흡수촉진제를 일정부위에 작용시키는 것이 가능하기 때문에 흡수촉진제와 각 부위 점막과의 상호작용을 정량적으로 평가하는데 유효하다. 따라서 *in situ* 환류법을 이

용하여 이온쌍을 형성한 CTX-CP, CTX-CT, CTX-BA의 공장 및 비강에서의 흡수촉진효과를 1차 속도정수와 투과도를 구하여 평가하였다.

### 통계처리

Tallardia와 Murray<sup>30)</sup>가 개발한 group t-test computer program을 이용하여 CTX단독군과 반대이온과 이온쌍을 형성한 군에 대한 각 농도투여군의 1차 흡수속도상수와 투과도간의 유의성을  $p=95\%$ 의 신뢰수준으로 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 세포타실의 정량

세포타실의 농도와 UV 흡광도간에는  $Y = 26.251X - 0.153$  (상관계수  $R=0.998$ )의 직선회귀식이 성립하며, 환류액중의 CTX의 HPLC 크로마토그램의 분리상태는 양호하였고 CTX의 유지시간은 6.308분으로 나왔다. CTX를 IPB액에 녹여 2, 4, 6, 10, 20  $\mu\text{g/ml}$  농도로 표준용액을 조제하여 HPLC로 분석한 결과 각각의 농도에 대한 피크면적의 값을 얻었다. CTX농도와 피크면적의 값에 대해 최소자승 선형회귀법을 실시하여 얻은 선형회귀식은  $Y = 6.494 \times 10^{-4} X - 0.055$  (상관계수 = 1.000)로 피크 면적과 농도간에는 양호한 직선관계를 나타내었다.

### 유수분배계수 측정

Table I에 나타난 바와 같이 CTX단독 및 CTX와 이온쌍을 형성하고 있는 CTX-CP, CTX-CT, CTX-BA의 분배계수를 비교해 보면 반대이온의 농도에 비례하여 유수분배계수가 증가하였으며, 이온쌍형성에

따른 분배계수의 상승효과는 물비가 1:1일 때에는  $CT > BA > CP$ , 1:5일 때에는  $CP > BA > CT$ , 1:10일 때에는  $CP > CT > BA$ 의 순으로 나타났다. 이는 CTX단독으로 측정할 때보다 1:10으로 이온쌍을 형성할 경우 분배계수값이 10배이상 증가하는 것으로 볼 때 CTX가 이온화되어 띠게되는 음전하를 양전하를 띠고 있는 반대이온이 상쇄함으로써 CTX의 이온화를 방지하여 지용성이 훨씬 증가된 것으로 추정된다. 따라서 반대이온을 이용한 이온쌍형성이 CTX의 흡수성을 증가시킬 수 있는 방법으로 추측된다.

### 유수분배계수 측정시 음이온의 간섭현상

CTX와 반대이온(양이온)간의 이온쌍형성을 증명하기 위하여 CTX와 양이온을 혼합하고 여기에 음이온인 trichloroacetic acid를 가한 후 분배계수를 측정하여 보았다. Table II에 나타난 바와 같이 분배계수값이 음이온을 가했을 때가 가하지 않았을 때보다 현저하게 감소하였다. 이것은 음이온이 반대이온의 전하를 상쇄하였기 때문인 것으로 풀이된다. 따라서 CTX에 반대이온을 가하였을 때 분배계수값의 상승은 두 물질간의 이온쌍형성에 의한 것임을 알 수 있었다.

### 세포타실의 공장 및 비점막 환류액에서의 안정성

CTX 용액이 점막의 효소나 환류시 분해가 되는지를 확인하기 위해서 IPB액 10  $\mu\text{l}$ 만을 *in situ* 공장 및 비강 동시환류법을 이용하여 흰쥐의 공장 및 비강에서 1시간동안 환류시킨 후 그 환류액에 20  $\mu\text{g/ml}$  CTX를 가하여 2시간 동안 *in situ* 환류법으로 환류시키며 시료를 30분마다 채취하여 분석한 결과, 농도의 변화가 없는 것으로 관찰되었으므로 CTX는 공장 및 비강내에서 안정한 것으로 사료된다.

Table I—Effect of Counterion Ion-Pairing on the Apparent Partition Coefficient of CTX ( $1 \times 10^{-4} M$ )

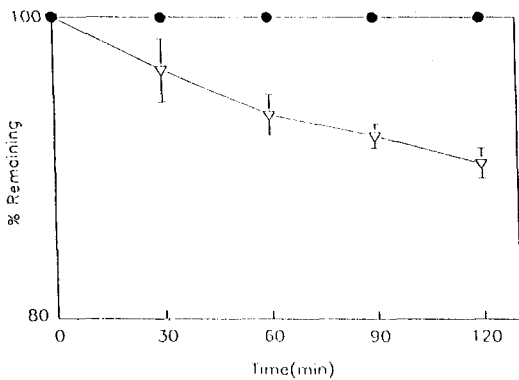
Counterions	Conc. of Counterions	Apparent Partition Coefficient	Ratio
None		0.0559 (0.0028)*	1
CP	$1 \times 10^{-4} M$	0.1240 (0.0125)	2.2218
	$5 \times 10^{-4} M$	0.4856 (0.0180)	8.6869
CT	$1 \times 10^{-4} M$	0.1549 (0.0050)	2.7711
	$5 \times 10^{-4} M$	0.3330 (0.0286)	5.9571
BA	$1 \times 10^{-4} M$	0.1351 (0.0062)	2.4168
	$5 \times 10^{-4} M$	0.4220 (0.0091)	7.5492
	$10 \times 10^{-4} M$	0.6328 (0.0156)	11.3202

\*Numbers in parentheses denote standard errors. (n=3)  
p<0.05, vs. None

**Table II**—Effect of Anion on the Apparent Partition Coefficient of CTX-Variou Cation Ion-Pairing (CTX= $1 \times 10^{-4}$ M, TA and Cations= $1 \times 10^{-3}$ M)

Compound	Apparent Partition Coefficient	Ratio
CTX	0.0559 (0.0028)*	1
CTX+TA	0.0530 (0.0043)	0.9481
CTX+CP+TA	0.1391 (0.0042)	2.4884
CTX+CT+TA	0.1494 (0.0081)	2.6720
CTX+BA+TA	0.1505 (0.0120)	2.6852

\* Numbers in parentheses denote standard errors. (n=3)  
p<0.05, vs. CTX



**Figure 1**—Semilogarithmic plots of the percentage of CTX remaining versus time in the rat jejunum and nasal cavity from the *in situ* perfusate at 37°C.  
Key : ●: Jejunum, ▽: Nasal Cavity

**세포막의 흡수부위 특이성**

CTX는 경구투여시 산에 불안정하며 친수성이 크고 친유성이 작기 때문에 장점막에서 흡수가 되지 않는다. 이 실험에서는 지용성이 낮은 CTX의 흡수부위 특이성을 고찰하기 위하여 공장과 비강에서 *in situ* 동시 환류법을 이용하여 비교 검토하였다. *In situ* 환류액중의 잔존률을 시간에 따라 분석한 결과 공장에서는 전혀 흡수가 되지 않았고, 비강에서는 Fig.1과 같이 1차 속도식을 따랐다. 이 직선의 기울기로부터 1차속도상

수를 구하였고 식 (2)에 의해서 약물의 고유흡수도를 비교할 수 있는 겐보기투과도를 산출하였다. Table III과 같이 비강에서 CTX의 투과도는  $1.43 \pm 0.004 \times 10^{-5}$  cm/sec로서 비강에서만 흡수가 되어 공장보다 비강에 흡수부위 특이성이 있는 것으로 나타났다. 이는 비점막에 미세용모가 공장보다 많이 분포되어 있고, 또한 비점막의 단위면적당 담체수가 공장보다 많아서 흡수속도 및 흡수율이 크게 나타난 것으로 사료된다.

**이온쌍에 의한 세포막의 흡수촉진효과**

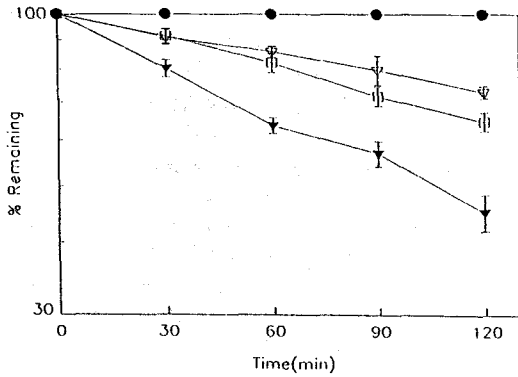
Fig.2와 Fig.3은 CTX와 반대이온간에 이온쌍을 형성하여 *in situ* 환류법을 이용하여 흰쥐의 공장과 비강 내에서 동시에 흡수실험한 결과로서 Fig.2는 공장에서, Fig.3은 비강내에서 *in situ* 환류액중의 CTX농도의 잔존률을 시간에 따라 도식한 결과로서 1차 속도식에 따름을 알 수 있었다. 이 그래프로부터 구한 1차속도정수와 투과도는 Table IV와 같다. Table IV에서 나타난 바와 같이 공장내에서의 1차속도정수는 BA)CT)CP, 또한 투과도도 BA)CT)CP 순으로 나타났다. 한편 비강내에서는 Table V에서와 같이 1차속도정수는 BA)CP)CT, 투과도는 BA)CP)CT의 순으로 나타났다. 이와 같은 결과로서 BA가 공장 및 비강에서 흡수촉진효과가 가장 좋은 것으로 나타났다.

**세포막과 반대이온간의 이온쌍형성에 의한 공장 및 비점막에 대한 손상도 평가**

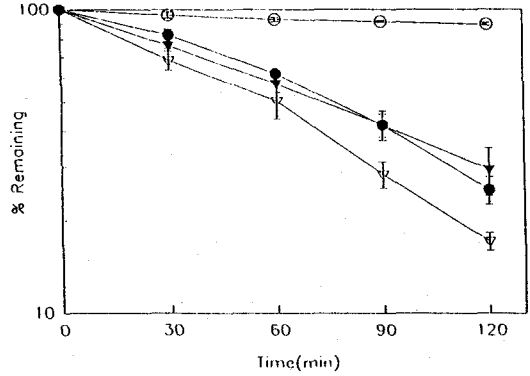
**Table III**—Comparison of Percentage Absorbed, Apparent First-Order Absorption Rate Constants and Apparent Permeabilities of CTX through the Rat Jejunum and Nasal Cavity from *In Situ* Perfusing Solutions at 37°C. Each contains 24 µg/ml of CTX (CTX =  $1 \times 10^{-4}$ M)

Route	Percentage Absorbed(%)	Apparent first-Order Rate Constant	Apparent Permeability
Jejunum	0	0	0
Nasal Cavity	10.30 (1.00)*	0.89 (0.06)	1.43 (0.04)

\* Numbers in parentheses denote standard errors. (n=3)



**Figure 2**—Semilogarithmic plots of the percentage remaining of CTX as ion-pairs with counterions versus time in the rat jejunum from the *in situ* perfusate at 37°C.



**Figure 3**—Semilogarithmic plots of the percentage remaining of CTX as ion-pairs with counterions versus time in the rat nasal cavity from the *in situ* perfusate at 37°C.

Key : ○: CTX, ●: CTX+CP, ▼: CTX+CT, ▽: CTX+

약물을 공장 및 비강으로 투여하는데 있어 약물의 흡수를 증진시킬 목적으로 사용되는 흡수촉진제는 독성과 자극성이 없어야 하며, 흡수촉진 작용의 발현은 신속하며 작용시간이 지속적인 것으로 조직에 손상을 주지 않는 안전성을 갖추어야 한다.

Muranishi등<sup>31)</sup>은 oleic acid와 monooleic acid등의 지질과 sodium taurocholate, sodium glycocholate

등의 담즙산염으로 제조한 혼합미셀을 가지고 소화관으로부터의 흡수촉진실험시 혼합미셀이 장점막에 미치는 손상여부를 고찰하기 위한 실험에서 혼합미셀은 가역성실험 결과 전처리에 의해서는 흡수촉진효과가 나타나지 않는 것으로부터 장점막에 대한 작용은 일과성일 것으로 생각할 수 있으며 형태학적으로도 안전성이

**Table IV**—Comparison of Percentage Absorbed, Apparent First-Order Absorption Rate Constants and Apparent Permeabilities of CTX through the Rat Jejunum from *In Situ* Perfusing Solutions of CTX-Counterions at 37°C. Each contains 24 µg/ml of CTX (CTX=1×10<sup>-4</sup>M, Counterions=1×10<sup>-3</sup>M)

Compound	Apparent Partition Coefficient	Ratio
CTX	0	0
CTX+CP	26.90 (1.81)	2.55 (0.04)
CTX+CT	35.22 (2.49)	4.17 (0.42)
CTX+BA	54.71 (3.28)	6.36 (0.55)

\* Numbers in parentheses denote standard errors (n=3).  
p<0.05, vs. CTX

**Table V**—Comparison of Percentage Absorbed, Apparent First-Order Absorption Rate Constants and Apparent Permeabilities of CTX through the Rat Nasal Cavity from *In Situ* Perfusing Solutions of CTX-Counterions at 37°C. Each contains 24 µg/ml of CTX (CTX=1×10<sup>-4</sup>M, Counterions=1×10<sup>-3</sup>M)

Compound	Percentage Absorbed (%)	Apparent First-Order Rate Constant (min <sup>-1</sup> ×10 <sup>3</sup> )	Apparent Permeability (cm/sec×10 <sup>3</sup> )
CTX	10.30 (1.00)*	0.89 (0.06)	1.43 (0.04)
CTX+CP	74.67 (2.61)	11.38 (0.74)	18.24 (0.81)
CTX+CT	70.37 (5.40)	10.12 (1.27)	16.22 (1.87)
CTX+BA	82.79 (1.15)	13.92 (0.90)	22.31 (1.36)

\* Numbers in parentheses denote standard errors (n=3).  
p<0.05, vs. CTX



**Table VI**—Comparison of Percentage Absorbed, Apparent First-Order Absorption Rate Constants and Apparent Permeabilities of CTX through the Rat Jejunum from In Situ Perfusing Solutions after Pretreatment with CTX-Counterions at 37°C. Each contains 24 µg/ml of CTX (CTX=1×10<sup>-4</sup>M, Counterions=1×10<sup>-3</sup>M)

Compound (Pretreatment)	Percentage Absorbed (%)	Apparent First-Order Rate Constant (min <sup>-1</sup> ×10 <sup>-3</sup> )	Apparent Permeability (cm/sec×10 <sup>-5</sup> )
CTX×CP	0	0	0
CTX×CT	27.20 (2.38)*	2.73 (0.03)	1.61 (0.10)
CTX×BA	24.21 (1.89)	2.05 (0.02)	1.12 (0.09)

\*Numbers in parentheses denote standard errors (n=3).

**Table VII**—Comparison of Percentage Absorbed, Apparent First-Order Absorption Rate Constants and Apparent Permeabilities of CTX through the Rat Jejunum from In Situ Perfusing Solutions after Pretreatment with CTX-Counterions at 37°C. Each contains 24 µg/ml of CTX (CTX=1×10<sup>-4</sup>M, Counterions=1×10<sup>-3</sup>M)

Compound (Pretreatment)	Percentage Absorbed (%)	Apparent First-Order Rate Constant (min <sup>-1</sup> ×10 <sup>-3</sup> )	Apparent Permeability (cm/sec×10 <sup>-5</sup> )
CTX×CP	20.55 (2.74)*	2.02 (0.02)	3.24 (0.21)
CTX×CT	21.23 (2.01)*	1.97 (0.03)	3.16 (0.18)
CTX×BA	59.81 (2.12)	7.16 (0.06)	11.47 (0.32)

\*Numbers in parentheses denote standard errors (n=3).

있는 것으로 보고한 바 있다.

Table VI은 공장에서의 CTX와 반대이온간의 이온쌍 형성에 의한 손상도평가 실험결과를 나타낸 것이고, Table VII은 비강에서의 손상도평가 실험결과를 나타낸 것이다. 공장에서 전처리에 의한 장점막손상은 CT가 가장 크고, 그 다음이 BA이었으며 CP는 전처리 후에도 전혀 CTX가 흡수되지 않아 CP는 장점막에 전혀 손상을 주지 않는 것으로 나타났다. 비강에서의 전처리에 의한 비점막손상은 BA가 가장 크고, CT와 CP가 비슷하게 나타났다. 이 결과로 장점막에는 CT와 BA가 약간의 손상을 주었으나 CP는 전혀 손상을 주지 않았고, 비점막에는 BA가 손상을 크게 주었으나 CT와 CP는 크게 손상을 주지 않은 것을 알 수 있었다.

따라서 이온쌍형성을 통한 CTX의 경구 및 비강내 투여체제의 개발가능성을 연구하기 위하여 사용한 세 가지의 반대이온 중 공장에서는 CP가, 비강에서는 CP와 CT가 흡수율의 상승과 더불어 점막에 대한 안전성이 높은 것으로 사료된다.

## 결 론

주사제로 사용되는 CTX의 대체투여경로로 경구 및

비강을 통한 흡수를 연구할 목적으로 유수분배계수 측정 및 *in situ* 환류법으로 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. CTX단독 및 반대이온과의 이온쌍형성 후 분배계수 값을 측정해 본 결과 CTX단독 보다 이온쌍을 형성한 CTX가 몰비가 1:1인 경우 2배이상, 1:5인 경우 5배 이상, 1:10인 경우 11배 이상으로 나타났다.
2. CTX와 반대이온간에 음이온을 가하여 유수분배계수 값을 측정한 결과 분배계수 값이 음이온을 가하지 않았을 때보다 현저히 감소함으로써 CTX와 반대이온간의 혼합물의 분배계수 값이 증가하여 지용성이 커진 이유는 이온쌍형성 때문인 것을 알 수 있었다.
3. CTX가 공장 및 비강을 통해서 투여가 가능한 가를 *in situ* 동시연속환류법으로 실험한 결과 공장에서는 흡수가 되지 않았으며 비강에서의 흡수율(%), 1차 속도정수(min<sup>-1</sup>×10<sup>-3</sup>) 및 투과도(cm/sec×10<sup>-5</sup>)는 각각 10.30(±1.00), 0.89(±0.06), 1.43(±0.04)로 나타났다.
4. 이온쌍형성을 통한 공장에서의 CTX의 투과도(cm/sec×10<sup>-5</sup>)는 BA(7.50±0.36) > CT(4.92±0.24) > CP(3.01±0.17)순으로 나타났으며, 비강에서는 BA(22.31±1.36) > CP(18.24±0.81) > CT(16.22±1.87)순으로

나타났다. 이 결과로 CTX의 흡수촉진을 위한 이온쌍의 효과는 공장에서는 전혀 흡수가 되지 않았던 CTX의 투과도가 상승하였으며, 비강에서도 약 11배~15배 이상의 투과도가 증가하여 공장 및 비강에서 흡수촉진효과가 큰 것을 알 수 있었다.

5. 반대이온과의 이온쌍에 의한 공장 및 비점막의 손상도를 연구한 결과 공장에서는 CT가 손상도가 컸으나, BA는 크지 않았고, CP는 전혀 손상을 주지 않아 공장에서는 CP가 가장 적절한 반대이온인 것으로 사료되며, 비강에서는 BA가 높은 손상도를 나타냈으나 CP와 CT는 비점막에 거의 손상을 주지 않아 비강에서의 반대이온으로 사용가능함을 알 수 있었다.

6. 세가지 반대이온 중 CP가 공장 및 비점막에 손상을 주지 않으며 CTX의 경구 및 비강 투여시 CTX의 흡수촉진효과를 크게 증가시키는 반대이온으로서 유의성이 있는 것으로 사료된다.

7. 이 연구 결과로 생리적인 pH에서 전부 이온화되어 수용성이 크고 지용성이 낮아 위장관으로부터 흡수가 되지 않기 때문에 주사제에만 사용되고 있는 약물을 각 약물이 띠는 전하에 따라 적절한 반대이온을 선택하고 안전성을 검토한 후 이온쌍을 형성하여 흡수율을 높임으로써 경구 및 경비투여제제의 개발이 가능하다고 사료된다.

## 문 헌

- 1) Y. W. Chien, K. S. E. Su and S. F. Chang, *Nasal Systemic Drug Delivery*, Maccel Dekker, New York (1989).
- 2) R. Neubert, Ion-pairing transport across membranes. *Pharm. Res.*, **6**, 743-747 (1989).
- 3) R. Neubert and S. Fischer, Influence of lipophilic counterions on the transport of ionizable hydrophilic drugs. *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 204-206 (1991).
- 4) R. Amlacher, A. Hartl and R. Neubert, Influence of ion-pair formation on the pharmacokinetic properties of drugs. Pharmacokinetic interactions of bretylium and hexylsalicylic acid in rabbits. *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 794-797 (1991).
- 5) L. S. Schanker, *Advances in Drug Research*, **1**, 72-103 Harper, N.J., Simmonds, A.B. (eds), Academic Press (1964).
- 6) P. R. Klink and John L. Colaizzi, Effect of trichloroacetate anion on partition behavior

- of tetracyclines. *J. Pharm. Sci.*, **62** (1), 97-100 (1973).
- 7) E. Tomlinson and S.S. Davis, Interactions between large organic ions of opposite and unequal charge : 1. Complexation between alkylbenzylidimethylammonium chlorides, bischromones, and indigo carmine. *J. Colloid. Int. Sci.*, **66** (2), 335-345 (1978).
- 8) S. J. Lee, T. Kurihara-Berfstom and S. W. Kim, Ion-paired drug diffusion through polymer membranes. *Int J. Pharm.*, **47**, 59-73 (1987).
- 9) R. Neubert and T. Dittrich, Ampicillin Ionepaartransport im Vergleich mit dem Transport weiterer Penicilline. *Pharmazie*, **44**, 67-68 (1989).
- 10) R. Neubert and T. Dittrich, Ion-pair approach of ampicillin using *in vitro* methods. *Pharma. Acta. Helv.*, **65** (7), 186-188 (1990).
- 11) W. D. Walking, A. C. Bonfilio and H. I. Jacoby, Possible ion-pair mediated absorption of mixidine I : Partitioning and lethality studies. *J. Pharm. Sci.*, **67** (7), 945-947 (1978).
- 12) W. D. Walking, D. G. Holmes and W. A. Cressman, Possible ion-pair mediated absorption of mixidine II : Plasma level and histology. *J. Pharm. Sci.*, **67** (7), 948-950 (1978).
- 13) S. I. Bhuta, E. T. Sugita and P. J. Niebergall, Influence of various anions on intestinal disappearance of hexamethonium chloride and pralidoxime chloride in rats. *J. Pharm. Sci.*, **69** (8), 923-927 (1980).
- 14) J. Nakamura, N. Muranish and T. Kimura, Further studies on the mechanism of the absorption of ion-pair complex from the rat small intestine. *Chem. Pharm. Bull.*, **25** (5), 851-858 (1977).
- 15) E. Suzuki, M. Tsugi, S. Muranishi, H. Sezaki and the late K. Kakemi, The absorption from the gut of quinine and chlorpheniramine given with various anion agents. *J. Pharm. Pharmacol.*, **24**, 138-144 (1972).
- 16) T. Ogawa, K. Ohara and H. Shimizu, Effects of pretreatment with mydriatics on intracocular penetration of 0.1% pranoprofen. *Jpn. J. Ophthalmol.*, **37**, 47-55 (1993).
- 17) Milo Gibaldi and Babara Grundhofer, Enhancement of intestinal absorption of a quaternary ammonium compound by salicylate and trichloroacetate. *J. Pharm. Sci.*, **62**

- (2), (1973).
- 18) E. Tomlinson and S.S. Davis, Altered ocular absorption and disposition of sodium cromoglycate upon ion-pair and complex coacervate formation with dodecylbenzyltrimethylammonium chloride. *J. Pharm. Pharmacol.*, **31**, 749-753 (1981).
  - 19) M. J. Selwyn and A.P. Dawson, *Biochem. Rev.* **5**, 1621-1629 (1977).
  - 20) D. A. Whitmore, L. G. Brookes and K. P. Wheeler, Relative effect of different surfactants on intestinal absorption and the release of proteins and phospholipids from the tissue. *J. Pharm. Pharmacol.*, **31**, 277-283 (1979).
  - 21) K. Kakemi, H. Sezaki and S. Muranishi, Absorption and excretion of drug. XL. Enhancement of the rectal absorption of pharmaceutical amines with lauryl sulfide and saccharinate anions. *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1641 (1969).
  - 22) W. L. Hyton, D. E. Guttman and G. Ley, Effect of complex formation on drug absorption XI : Complexation of prednisolone with dialkylpropionamide and its effect on prednisolone transfer through an artificial lipid barrier. *J. Pharm. Sci.*, **61** (3), 356-361 (1972).
  - 23) G. Beskid, J. Unowsky and C. R. Behl, Enteral, oral, and rectal absorption of ceftriaxone using glyceride enhancers. *Pharmacol. Chemother.*, **34**, 77-84 (1988).
  - 24) T. S. Gaginella, P. Bass and J. H. Perrin, Effect of bile salt on partitioning behavior and GI absorption of a quaternary ammonium compound, isopropamide iodide. *J. Pharm. Sci.*, **62** (7), 1121-1125 (1973).
  - 25) I. Utsumi, K. Kohno and Y. Takeuchi, Surfactant effect on drug absorption III : Effect of sodium glycocholate and its mixtures with synthetic surfactants on absorption of thiamine disulfide compounds in rat. *J. Pharm. Sci.*, **63** (5), 676-681 (1974).
  - 26) S. Hirai, Y. Takatsuka, T. Matsuzawa and H. Mina, Absorption of drugs from the nasal mucosa of rat. *Int. J. Pharm.*, **7**, 317-325 (1981).
  - 27) N. F. Farraj, S.S. Davis, G.D. Parr and H. N. E. Stevens, Absorption of progabine from aqueous solution in a modified recirculating rat intestinal perfusion system. *Int. J. Pharm.*, **42**, 93-100 (1988).
  - 28) A. R. Hurwitz and C. F. Carney, Enhancement of ampicillin partition behavior. *J. Pharm. Sci.*, **62** (2), 138-140 (1977).
  - 29) G. B. Park and A. K. Mitra, Mechanism and site dependency of intestinal mucosal transport and metabolism of thymidine analogues. *Pharm. Res.*, **9**, 322-327 (1992).
  - 30) R. J. Tallarida and R. B. Murray, *Manual of Pharmacologic Calculations with Computer Programs*, Spinger-Verlag, New York, NY., pp. 112-113 (1981).
  - 31) S. Muranishi, N. Muranishi and H. Sezaki, Improvement of absolute bioavailability of normally poorly absorbed drugs: Inducement of the intestinal absorption of streptomycin and gentamycin by lipid-bile salt mixed micelles in rat and rabbit. *Int. J. Pharm.*, **2**, 101-111 (1979).