

담즙산류과 베타-사이클로덱스트린간의 복합체 형성

이승룡# · 정연복 · 한 건 · 최송암*

충북대학교 약학대학, *일양약품 중앙연구소

(Received February 4, 1994)

Complexation of Bile Acids with β -Cyclodextrin

Seung Yong Lee, Youn Bok Chung, Kun Han and Song Am Choi*

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

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

Abstract—From phase solubility studies bile acids and bile salts were found to form stable inclusion complexes with β -cyclodextrin in aqueous solution. Stability constant of bile acids were larger than that of bile salts. Phase solubility diagrams of most bile acids showed Higuchi's A_L type but lithocholic acid showed B_S type. Not only the solubility of bile acids but also that of β -cyclodextrin increased, especially in cases of cholic acid and ursodeoxycholic acid. Solubility increase of bile acids from their β -cyclodextrin inclusion complex followed the order: cholic acid > ursodeoxycholic acid > chenodeoxycholic acid > deoxycholic acid > lithocholic acid. It seems that solubility of inclusion complexes was directly related with the hydrophilicity of bile acids.

Keyword □ Bile acids, bile salts, β -cyclodextrin, inclusion complex, phase solubility, stability constant.

환상 다당체인 베타-사이클로덱스트린(β -CyD)이 많은 약물과 포접 복합체를 형성함은 널리 알려져 있다.¹⁾ 이러한 포접복합체는 약물의 용해도를 높이고 용출을 향상시킬 뿐 아니라 약물의 안정성을 증가시킨다.^{2,3)} 약물의 용해도와 용출율의 향상은 경구투여시 위장관 흡수의 유효단체인 것이다.^{4,5)} β -CyD은 경구투여시 위장관에서 거의 흡수되지 않는 것으로 밝혀졌고⁴⁾ 포접 복합체는 위장관에서 거의 흡수될 수 없으므로 약물이 흡수되기 위하여는 포접복합체로부터 약물이 유리될 필요가 있다.⁶⁾ Miyajima 등⁷⁾은 장내에서 포접복합체로부터 약물이 유리될 수 있는 것은 담즙산염이 β -CyD과 포접복합체를 형성하기 때문이라 하였다. 담즙산염은 일종의 계면활성제로서 가용화와 습윤작용을 가지고 있어 지방이나, 지용성 비타민, 지용성 약물의 흡수를 돕는 역할을 하며, β -CyD과 포접복합체를 형성한 약물과 상경적으로 작

용한다. Miyazaki 등^{8,9)}은 단순 담즙산염에 의한 난용성 약물이 인도메타신과 페닐북타존의 용출향상 기구에 관한 연구에서 전자는 미셀 가용화에 의한 것이고, 후자는 습윤화에 의한 것임을 시사하였다. Bakatselou 등¹⁰⁾은 타우로콜린산나트륨에 의한 스테로이드성 항염증 약물의 용출 증가에 관한 보고를 하였다. 또한 Naylor 등¹¹⁾은 타우로콜린산나트륨과 레시틴의 혼합미셀 용액에서 히드로코르티손의 용출 기구의 연구에서 혼합미셀에서의 용출이 단순미셀에서 보다 4배의 용출 효과가 있었으며, 혼합미셀용액에서는 가용화에 의한 용출증가인 반면 단순미셀에서는 습윤 향상에 의한 것임을 밝혔다. Nakanishi 등¹²⁾은 체내 담즙산염이 포접복합체를 형성한 약물과 치환된다는 것을 쥐의 소장 *in situ* 실험을 통하여 입증하였다. Frijlink 등¹³⁾은 *in vitro* 실험으로 포접복합체로부터 약물이 담즙산염에 의해 치환되어 유리될 수 있음을 밝혔다. Miyajima⁷⁾ 등은 콜린산나트륨,

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

데옥시콜린산나트륨, 글리코콜린산나트륨 및 타우로콜린산나트륨과 β -CyD간의 복합체형성에 대한 안정도 정수를 형광광도 분석법에 의해 측정하였고, Tan 등¹⁴⁾은 flow microcalorimetry법으로 13종의 담즙산염 및 복합 담즙산염에 대한 β -CyD와의 안정도 정수를 측정하고, β -CyD과 담즙산염의 구조적 결합비에 관한 연구를 하였다.

본 연구에서는 담즙산인 콜린산(CA)과 케노데옥시콜린산(CDCA), 이들의 대사체인 데옥시콜린산(DCA)과 리소콜린산(LCA) 그리고 케노데옥시콜린산의 7 β epimer인 우르소데옥시콜린산(UDCA), 반합성 담즙산인 데히드로콜린산(DHCA)과 이들의 나트륨염에 대하여 용해도측정과 용해도상도를 통해 담즙산류와 β -CyD 상호작용을 검토하였다.

실험방법

시약 및 기기— β -사이클로덱스트린(β -CyD)은 일본 식품화공의 제품을 사용하였고, 콜린산(CA), 데옥시콜린산(DCA), 디히드로콜린산(DCA), 리소콜린산(LCA)과 이들 담즙산의 나트륨염은 일본 화광순약의 시약급을 사용하였으며, 우르소데옥시콜린산(UDCA)과 케노데옥시콜린산(CDCA)은 미국 Sigma Chemical Co.의 시약급을 썼다. 그리고 UDCA와 CDCA의 나트륨염은 UDCA와 CDCA에 같은 몰수의 수산화나트륨을 수용액에서 교반반응 시켜 동결건조하여 얻은 분말을 사용하였다. 완충액은 USP의 표준완충용액을 조제 사용하였으며 기타의 시약들은 시약특급과 시약 1급을 사용하였다. 기기로는 진탕항온수조(EI-10, Eylea, Japan), 교반기(RW 20 DZM, Janke & Kunkel, Germany), 분무건조기(HI-TEC, Niro Atomiser, Denmark)와 HPLC system(Waters, USA) 등을 사용하였으며 HPLC는 굴절률검출기(Waters 410), 펌프(Waters 590), 주입기(Reodyne 7125), 데이터처리장치(Waters 746)로 구성된 시스템을 사용하였다.

용해도 측정—10 ml 공전 시험관에 pH 3.0~pH 9.0의 완충액 5 ml를 취해 과량의 β -CyD와 각각의 담즙산을 가하고 마개를 하여 20°C의 진탕항온수조(20 회/분)에서 24시간 진탕 용해시킨 후 0.45 μ m 멤브란레인 필터로 여과하여 필요시 여액을 완충액으로 희석하여 HPLC를 사용하여 β -CyD와 담즙산의 용해도를 측정하였다.

담즙산류와 β -CyD의 분석—담즙산과 β -CyD의 분석은 HPLC를 사용하여 굴절률 검출기로 분석하였으며 담즙산은 μ -Bondapak C₁₈ 칼럼(5×300 mm, 10 μ m, Waters, USA)과 이동상으로 아세토니트릴·물·빙초산(60 : 39 : 1 v/v)을 사용하였으며 유속은 1 ml/min로 하였다. 담즙산염도 같은 조건으로 분석하였다. β -CyD은 Carbohydrate 칼럼(5×300 mm, 10 μ m Waters, USA)과 이동상 용매는 아세토니트릴·물·빙초산 혼합액(75 : 24 : 1 v/v)을 사용하여 유속은 2.0 ml/min로 하였다.

담즙산류과 β -CyD의 용해도상도—10 ml 공전시험관에 물 5 ml를 취하고 여기에 β -CyD의 농도가 2 mM에서 65 mM이 되도록 한 후 60°C로 가열하여 용해시킨 다음 실온으로 방치한 후 과량의 CA, DCA, DHCA, UDCA, CDCA 및 LCA를 가하였다. 이것을 20°C의 진탕항온수조(20회/분)에서 24시간 진탕시킨 후 0.45 μ m 멤브란레인 필터로 여과하고, 필요시 증류수로 희석하여 HPLC법으로 담즙산과 β -CyD를 분석하여 용해도상도를 작성하였다.

담즙산염류와 β -CyD의 용해도상도—10 ml 공전시험관에 물 5 ml를 취하고 여기에 담즙산염의 농도가 5 mM에서 30 mM이 되도록 CA-Na, DCA-Na, DHCA-Na, UDCA-Na 및 CDCA-Na를 용해하고 과량의 β -CyD를 가하여 20°C의 진탕항온수조(20회/분)에서 24시간 진탕시킨 후 0.45 μ m 멤브란레인 필터로 여과하여, 필요시 증류수로 희석하여 위의 HPLC의 조건으로 담즙산염과 β -CyD를 정량하여 용해도상도를 작성하였다.

안정도정수—담즙산과 β -CyD간의 겉보기 안정도정수(Ks)는 Higuchi 등¹⁵⁾의 방법에 따라 용해도상도의 초기직선 부분으로부터 다음의 eqn. (1)식에 따라 기울기와 절편으로부터 산출하였다.

$$K_s = \frac{\text{slope}}{\text{Intercept}(1 - \text{slope})} \quad (1)$$

결과 및 고찰

담즙산류의 구조—CA, DCA, UDCA, DCA, DHCA와 LCA는 Fig. 1에서와 같이 5 β -cholan-24-oic acid의 구조를 가지고 있으며 반합성 담즙산인 DHCA를 제외하고는 3, 17, 12 위치에 하나에서 세

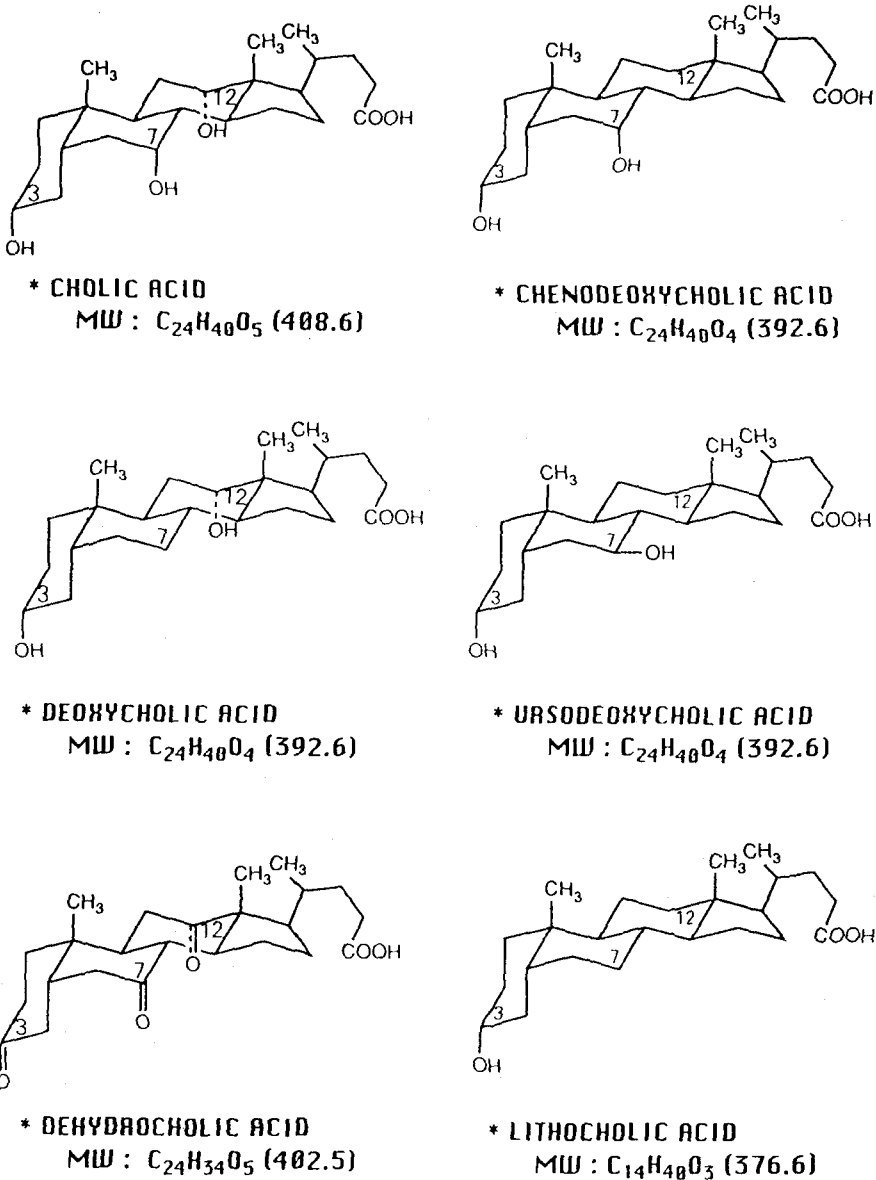


Fig. 1—Chemical structure of bile acids.

개의 히드록실기를 갖고 있다. UDCA의 7 위치의 히드록실기만이 β 구조를 취하고 있으며 그밖의 모든 히드록실기는 α 구조를 갖고 있다. DHCA는 CA의 3, 17, 12의 히드록실기가 케톤으로 치환되어있는 것이 다른 담즙산과 차이가 있다.

담즙산의 HPLC 분석—담즙산 분석 조건에서의 HPLC 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다. DHCA, CA, UDC, CDCA, DCA, LCA의 순서로 분리되었으며

유지시간은 4.26, 5.12, 5.58, 8.50, 8.92, 18.17분이었다. 3, 7 및 12위치에 히드록실기를 갖는 담즙산은 히드록실기가 많을수록 빨리 분리되었고 β form의 히드록실기를 갖는 것이 α form의 히드록실기를 갖는 것보다 빨리 분리 된것을 알 수 있었다.

β -CyD와 담즙산류의 pH에 따른 용해도—담즙산류의 물에 대한 용해도는 CA 0.028%, DHCA 0.018%, DCA 0.024%이었으며 UCDA와 CDCA는 물에 거의

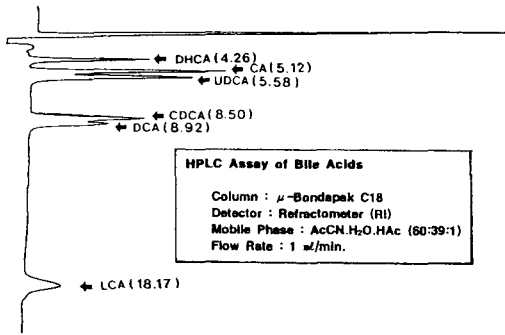


Fig. 2—HPLC assay and chromatogram of bile acids.

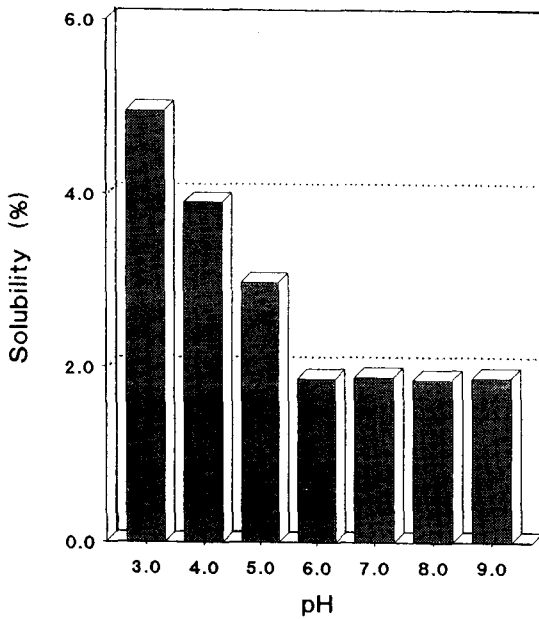


Fig. 3—Solubility of β -CyD at different pH value.

녹지 않았다. 한편 β -CyD의 물에 대한 용해도는 1.85%이다. pH 변화에 따른 β -CyD와 담즙산류의 용해도의 변화를 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. β -CyD는 pH 6.0 이상에서는 약 1.85%로 일정하였으며 pH가 낮아짐에 따라 용해도는 증가하여 pH 5에서 2.96%, pH 4에서 3.9%, pH 3에서는 4.95%로 증가하였다. 반면 담즙산은 pH증가에 따라 용해도가 증가하여 pH 9.0에서는 UDCA 0.53%, DHCA 0.78%, DCA 0.98%, CDCA 0.99%, CA 0.64%를 나타내었다.

담즙산의 용해도상도 및 안정도정수- β -CyD의 농도변화에 따른 CA, DCA, DHCA, UDCA와 CDCA의

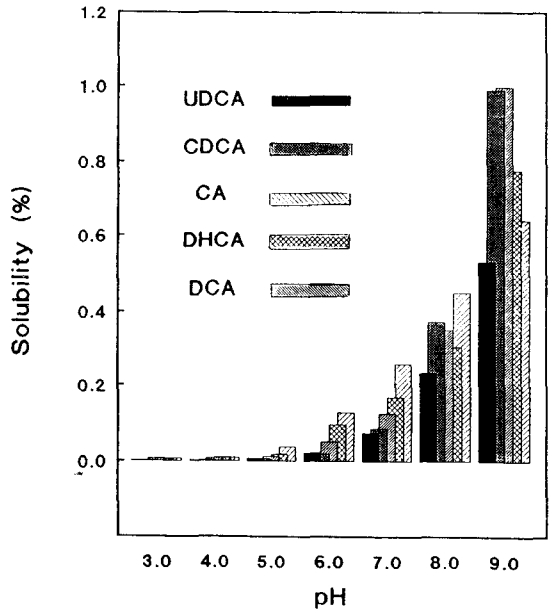


Fig. 4—Solubility of bile acids at different pH value.

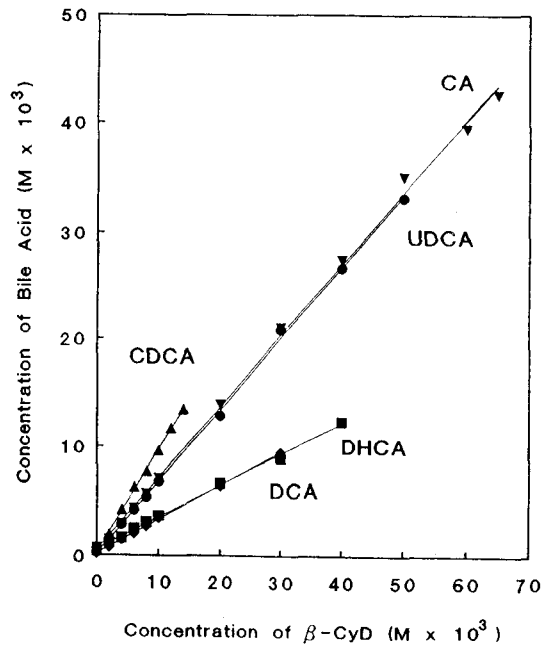


Fig. 5—Phase solubility diagram of bile acids.

용해도상도를 Fig. 5에, LCA는 Fig. 6에 나타내었다. 일반적인 약물에서는 β -CyD의 자체용해도인 20mM (약 1.85%) 이하의 농도에서 상도가 얻어진다. 담즙산에 있어서는 β -CyD 농도 증가에 따른 담즙산 용

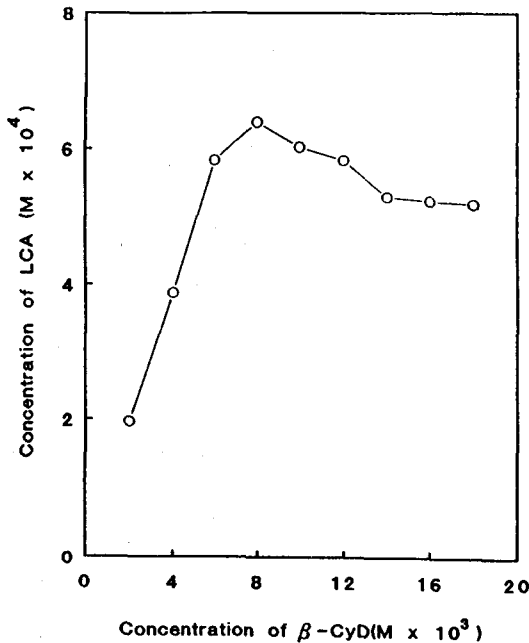


Fig. 6—Phase solubility diagram of lithocholic acid.

해도 증가가 β -CyD의 용해도에 영향을 주어 DCA는 30 mM, DHCA는 40 mM, UDCA는 50 mM 그리고 CA의 경우는 65 mM 농도까지 상도를 얻을 수 있었다. 반면 CDCA와 LCA에서는 β -CyD가 용해도가 증가되지 않았다. 용해도상도의 실험에 있어 β -CyD를 물에 용해하여 과량의 약물을 가하여 용해된 약물을 분석하여 용해도 증가를 측정하지만 담즙산의 경우는 β -CyD가 용해도 이상으로 용해되어 포접화합물을 형성하므로 담즙산과 함께 β -CyD도 분석하여야 정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료되었다. 담즙산의 용해는 LCA를 제외하고는 DCA 10 mM로부터 DHCA 12 mM, CDCA 13 mM, UDCA 33 mM, CA는 43 mM의 순으로 담즙산 자체의 용해도보다 현저히 증가하였다. 용해도상도에 있어서 β -CyD 농도 증가에 따라 약물의 용해도가 직선상으로 증가하면 Higuchi의 A_L 형이라하며, 초기에는 직선적으로 용해도가 증가하나 정점이 관찰된 후 감소되는 현상이 나타나면 Higuchi의 B_S 형 이라고 한다. LCA의 경우는 β -CyD의 농도 6 mM 이하에서 LCA의 용해도는 직선적으로 증가하였으나 그 이후는 점차 감소하여 Higuchi의 B_S 형의 상도를 나타내었고 이때 LCA의 최대 용해도는 0.65 mM로서 다른 담즙산에 비하여 매우 낮았

Table I—Parameters of bile acids obtained from phase solubility diagram

| | CA | UDCA | CDCA | DHCA | DCA | LCA |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| slope | 0.663 | 0.665 | 0.954 | 0.289 | 0.311 | 0.097 |
| $r(1/\text{slope})$ | 1.508 | 1.504 | 1.048 | 2.461 | 3.213 | 10.43 |
| intercept | 0.459 | 0.119 | 0.235 | 0.651 | 0.174 | 0.0017 |
| $K_s(M^{-1})$ | 4300 | 16700 | 88200 | 3600 | 2600 | 64300 |

K_s : complex formation stability constant

r : molar ratio of β -CyD/bile acid

다. 그외의 담즙산은 전형적인 Higuchi의 A_L 형을 나타내었다.

한편 히드록시프로필 시이클로덱스트린(HP- β -CyD)와 인도메타신,¹⁶⁾ 스테로이드 호르몬,¹⁷⁾ 벤질페니실린,¹⁸⁾ 오메프라졸¹⁹⁾간의 용해도상도는 HP- β -CyD의 높은 농도까지 약물의 용해도가 직선적으로 증가한 A_L 형이었으나 β -CyD와는 B_S 형을 나타내었다. 일반적으로 약물과 β -CyD의 용해도상도 양상은 β -CyD의 용해도가 비교적 낮기 때문에 B_S 형을 나타낸다. 그러나 담즙산의 경우 약물과 β -CyD 상호 용해도 증가로 HP- β -CyD와 같은 A_L 형의 양상을 보였다. 용해도상도로 부터 기울기와 y절편을 구하고, 기울기로부터 용액상에서의 담즙산과 β -CyD의 몰비율 r (β -CyD/담즙산)을 구하였다. 또한 Higuchi 등의 (1)식에 따라, 측정된 안정도정수를 Table 1에 나타내었다. 용해도가 낮은 UDCA, CDCA, LCA의 안정도정수는 16700, 88200, 64300 M^{-1} 이었으며 상대적으로 용해도가 높은 CA, DCA, DHCA는 4300, 2600, 3600 M^{-1} 이었다. 이러한 안정도정수 값은 일반적인 약물의 안정도정수보다 10~100배의 높은 수치로 담즙산이 β -CyD과 안정한 포접복합체를 형성함을 알 수 있었다.

용액상에서 담즙산과 β -CyD의 몰비율은 LCA가 10.43으로 가장 높았으며 DHCA, DCA가 3.461과 3.213, CA, UDCA는 1.508, 1.504로 비슷한 값을 보였고, CDCA는 1.048로서 가장 낮았다.

담즙산염류의 용해도상도 및 안정도 정수—담즙산염의 경우는 담즙산과 달리 물에 대한 용해도가 크기 때문에 용해도상도 및 β -CyD의 농도 변화에 따른 담즙산염의 용해도 증가를 측정하는 일이 어려우므로, 담즙산의 경우와는 달리 담즙산염의 농도 변화에 따른 β -CyD의 용해도를 측정하여 Fig. 7에 나타내었다. 담즙산나트륨염의 상도는 Higuchi의 A_L 형이며 대체적

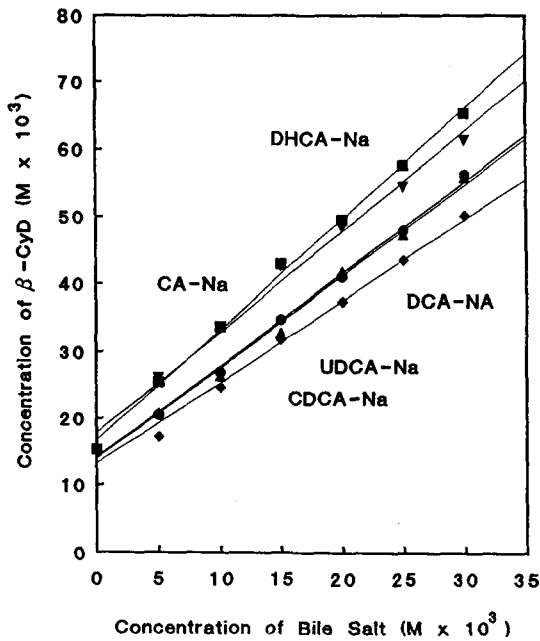


Fig. 7—Phase solubility diagram of bile salts.

으로 유사한 양상을 보였다.

담즙산염의 용해도상도에서 기울기와 절편을 구하

고, 용액상에서의 담즙산과 β-CyD의 몰비율 r(β-CyD/담즙산)을 구하였다. Higuchi 등의 방법에 따라 식(1)으로부터 안정도정수를 측정할 결과 CA-Na, DCA-Na, DHCA-Na, UDCA-Na, CDCA-Na는 각각 170, 150, 430, 260, 270M⁻¹이었다. 이는 담즙산염이 약물과 β-CyD간의 포접복합체로부터, 상경적으로 β-CyD와 안정된 포접복합체를 형성하여 약물을 치환 유리시키기에는 낮은 수치였다. Fig. 7에서 y절편의 값은 β-CyD의 수용액의 용해도(S₀)와 일치하고, 일반적으로 β-CyD의 농도 0에서부터 phase solubility study를 실시하므로 (1)식을 아래의 (2)식과 같이하여 물에 용해성이 높은 담즙산염류의

$$\text{안정도 정수}(K_s) = \frac{\text{slope}}{(\text{y intercept}-S_0)(1-\text{slope})} \quad (2)$$

안정도정수를 측정하였다. 이때의 CA-Na, DCA-Na, DHCA-Na, UDCA-Na, CDCA-Na는 1100, 1950, 2740, 3110, 2670M⁻¹로 식(1)보다 10배 정도 높은 수치를 얻었다(Table 2).

담즙산염류에 대해 Miyazima 등⁷⁾의 형광광도법에 의한 안정도정수, Tan 등¹⁴⁾의 flow microcalorime-

Table II—Parameters of bile salts obtained from phase solubility diagram

| | CA-Na | UDCA-Na | CDCA-Na | DHCA-Na | DCA-Na |
|--------------------------|-------|---------|---------|---------|--------|
| slope | 1.469 | 1.371 | 1.361 | 1.213 | 1.646 |
| intercept | 17.81 | 14.10 | 13.88 | 13.19 | 16.69 |
| intercept-S ₀ | 2.53 | 1.20 | 1.41 | 2.09 | 1.31 |
| K _s (Eq.1) | 170 | 260 | 270 | 430 | 150 |
| K _s (Eq.2) | 1190 | 3110 | 2670 | 2740 | 1950 |

S₀: Solubility of β-CyD in aqueous solution

K_s(Eq.1): Stability constant from Eq.1

K_s(Eq.2): Stability constant from Eq.2

Table III—Comparison of complex formation stability constants of bile salts obtained from different test methods

| | CA-Na | UDCA-Na | CDCA-Na | DHCA-Na | DCA-Na |
|---------------------------|-------|---------|---------|---------|------------|
| K _s (Eq.2) | 1190 | 3110 | 2670 | 2740 | 1950 |
| K _s (Miyazima) | 1100 | — | — | — | 2670 |
| K _s (Tan) | 3160 | 32400 | 22900 | 2400 | 61500(170) |
| K _s (acid) | 4300 | 16700 | 88200 | 3400 | 2600 |

K_s(Eq. 2): Stability constant of bile salts from phase solubility method

K_s(Miyazima): from spectrophotometry method by Miyazima et al.(1986).

K_s(Tan): from flow microcalorimetry method by Tan et al.(1990)

K_s(acid): stability constant of bile acids from phase solubility method

try법에 의한 안정도정수, 본 연구에서 저자 등의 (2) 식으로 용해도법에 따라 측정한 안정도 정수를 Table 3에 비교하였다. Miyazaki 등의 결과와 저자 등의 용해도법 (2)식의 결과는 일치하였으며, Tan 등의 담즙산염의 안정도정수는 용해도법의 담즙산의 안정도정수와 유사하였다. DCA-Na의 차이는 용해도법이 1:1의 구조적 결합을 가정하에서 측정한 수치며, Tan등은 DCA-Na는 1:2로 결합한다하여 1차와 2차 안정도정수를 측정하였기 때문에 사료되었다. 포접복합체의 안정도정수는 pH와 온도에 따라 큰 영향을 받지만 결합구조(stoichiometry)의 가설이 정확하다면 측정방법이 다르더라도 상당히 유사한 값을 나타내어야 하나 실제로는 많은 편차가 있다.²⁰⁾ (2)식으로부터 측정한 담즙산염의 안정도정수로부터 β -CyD와 안정된 포접복합체 형성 가능성을 확인할 수 있었다. β -CyD-담즙산 포접복합체의 용해도 측정—Fig. 5와 Fig. 6에서 포화상태의 β -CyD의 농도와 이때의 담즙산 농도로부터 포접복합체의 용해도를 산출하여 Fig. 8에 나타내었다.

CA의 포접복합체(CA-IC)의 용해도가 가장 높아 9.12% (CA : 1.74%, β -CyD : 7.38%), UDCA-IC 6.98% (UDCA : 1.30%, β -CyD : 5.68%), DHCA-IC 5.04% (DHCA : 0.50%, β -CyD : 4.54%), DCA-IC 3.78% (DCA : 0.37%, β -CyD : 3.41%), CDCA-IC 2.12% (CDCA : 0.53%, β -CyD : 1.59%)의 순으로 나타났다. LCA는 이들에 비해 매우 낮은 용해도를 보였다. 담즙산으로서의 용해도는 CA-IC > UDCA-IC > CDCA-IC > DHCA-IC > DCA-IC > LCA-IC의 순이었다. β -CyD과의 복합체에서 3, 7 및 12위치에 히드록실기를 갖고 있는 담즙산의 용해도는 히드록실기가 많을수록 증가하였으며 7위치에 β 구조를 갖고 있는 UDCA의 용해도는 α 구조를 갖는 CDCA에 비하여 상대적으로 높았다. 이는 HPLC 분석에서 나타난 chromatogram으로 부터 담즙산의 hydrophilicity가 높은 순서임을 알 수 있었다. CA-IC와 UDCA-IC의 경우 담즙산의 용해도는 물론 β -CyD의 용해도 증가도 현저하였으나, UDCA의 7- β epimer인 CDCA-IC는 β -CyD의 용해도는 증가하지 않았다.

결 론

담즙산류 및 담즙산염류와 베타사이클로덱스트린의

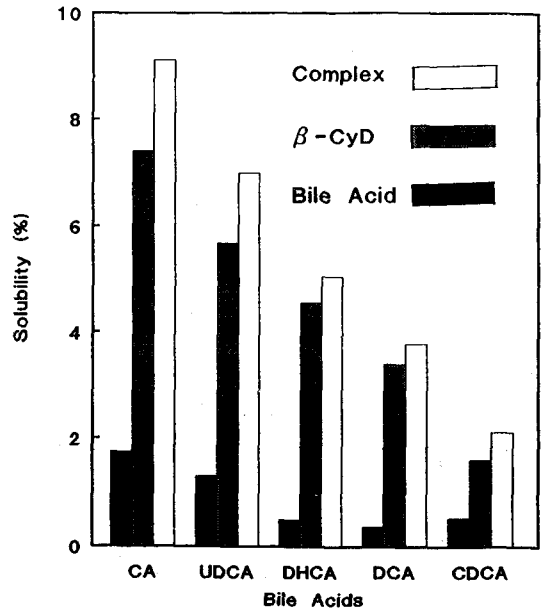


Fig. 8—Solubility of bile acids- β -cyD complexes from phase solubility diagram.

phase solubility study를 통하여 담즙산은 타 약물에 비하여 높은 안정도정수로 포접복합체를 형성하였으며, 그래프의 형태는 리소콜린산을 제외하고는 포화 용해 상태에 이르기까지 β -사이클로덱스트린 용해도 증가에 따라 용해도가 비례적으로 증가하는 Higuchi의 A₁형을 나타내었다. 이 사실로 담즙산류와 담즙산염류는 β -사이클로덱스트린에 대하여 대부분의 약물보다도 쉽게 강력한 포접복합체의 형성이 가능할 것으로 사료되었다.

문 헌

- 1) J. L. Lach and W. A. Pauli, Interactions of pharmaceuticals with Schardinger dextrans. VI. *J. Pharm. Sci.*, **55**, 32 (1966).
- 2) 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.
- 3) 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.

- 4) K. Uekama, and M. Otagiri, *CRC Crit Rev. Ther. Drug Carrier Syst*, **3**, 1 (1987).
- 5) F. Mollgaard Andersen and H. Bundgaard, *Arch. Pharm. Chem., Sci. Ed.*, **11**, 7 (1983).
- 6) H. W. Frijlink, A. C. Eissens, A. J. M. Schoonen and C. F. Lerk, The effects of cyclodextrins on drug absorptions, II. In vivo obserbations. *Int. J. Pharm.*, **64**, 195 (1990).
- 7) K. Miyajima, M. Yokoi, H. Komatsu and M. Nakagaki, Interaction of β -cyclodexytrin with bile salts in aqueous solutions, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1395 (1986).
- 8) S. Miyazaki, H. Inoue, T. Yamahira, and T. Nadai. Interactions of drugs with bile components: I. Effects of bile on bile salts on the dissolution behavior of indomethacin and Phenylbutazone, *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 2468 (1979).
- 9) S. Miyazaki, T. Yamahira, Y. Morimotom and T. Nadai. Micellar interaction of indomethacin and phenylbutazone with bile salts. *Int. J. Pharm.*, **8**, 303 (1981).
- 10) V. Bakatselou, R. Oppenheim, and J. Dressman. Solubilization and wetting effects of bile salts on the dissolution of steroids. *Pharm. Res.*, **8**, 1461 (1991).
- 11) L. Naylor, V. I Bakatselou, and J. Bressman, Comparison of the mechanism of dissolution of hydrocortisone in simple and mixed micelle systems. *Pharm. Res.*, **10**, 865 (1993).
- 12) K. Miyajima, K. Nakanishi, M. Masada and T. Nadai. 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).
- 13) H. W. Frijlink, A. J. M. Schoonen and C. F. Lerk. The effects of cyclodextrins on drug absorption I: In vitro obserbations. *Int. J. Pharm.*, **49**, 91 (1989).
- 14) X. Tan., and S. Lindenbaum. Studies on complexation between β -cyclodextrin and bile salts. *Int. J. Pharm.*, **74**, 127 (1991).
- 15) T. Higuchi and K. A. Connors, Phase-solubility techniques. *Adv. Anal. Chem. Instrum.*, **4**, 117 (1965).
- 16) T. Backensfeld, B. W>Muller and K. Kolter, Interaction of NSA with cyclodextrins and hydroxyl cyclodextrin derivatives. *Int. J. Pharm.*, **74**, 85 (1991).
- 17) E. Albers and B. W. Muller, Comparison of steroid hormones with cyclodextrin derivatives: Substituent effect of guest molecules on solubility and stability in aqueous solution. *J. Pharm. Sci.*, **81**, 756 (1992).
- 18) E. Pop, T. Loftsson and N. Bodor, Solubilization of a benzylpenicillin chemical delivery system by 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Pharm. Res.*, **8**, 10 44 (1991).
- 19) Gye-Ju Rhee, Sung-Joo Hwang and Ki-Myung Lee, Complexation and properties of omeprazole with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Yakhak Hoeji* **37**, 331 (1993).
- 20) J. Szejtli, "Cyclodextrin Technology", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1988.