약제학회지(2002), 제 32 권 제 1 호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 32, No. 1, 1-6 (2002)

Butorphanol tartrate 함유 구강점막 점착성 [P(AA-co-PEGMM)] 공중합체 필름의 평가

김준식 · 한 건†
충북대학교 약학대학
(2001년 7월 31일 접수 · 2001년 1월 24일 승인)

Evaluation of buccal mucoadhesive [P(AA-co-PEGMM)] copolymer films containing butorphanol tartrate

Joun Sik Kim and Kun Han†
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea
(Received July 31, 2001 · Accepted January 24, 2001)

ABSTRACT–The mucoadhesive characteristics of [P(AA-co-PEGMM)] films by estimating the glass transition temperature (T_g), analyzing surface energy and studying FT-IR was previously reported. In this study, the possibility of buccal mucoadhesive dosage form of [P(AA-co-PEGMM)] films by mucoadhesive force measurements and dissolution tests were also investigated. Mucoadhesiveness of [P(AA-co-PEGMM)] films was compared with cr-PAA and cr-PEGMM films cross-linked with 3% ethyleneglycol dimethacrylate (EGDMA). The buccal mucoadhesive force of [P(AA-co-PEGMM)] films increased with increasing content of PEGMM. [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] films showed a significantly greater mucoadhesiveness than cr-PAA and cr-PEGMM films. The mucoadhesive force measured in normal saline (pH 5.0) was higher than that measured in phosphate buffer (pH 6.8) because of the pH dependence of hydrogels with carboxyl ions within the PAA. Moreover, the mucoadhesive force of [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] films was at maximum after 2 hr attachment of buccal mocosa and it was maintained over 1 N/cm^2 for up to 10hr. In dissolution studies, the release of butorphanol tartrate from [P(AA-co-PEGMM)] films increased with increasing PEGMM content, and films prepared with 18 mole% PEGMM gave almost zero order release kinetics.

Keywords–butorphanol tartrate, [P(AA-co-PEGMM)] films, mucoadhesive, zero order

구강점막은 최근 점막을 통한 친수성 거대분자 약물의 비경구적 대체투여 부위로서 관심이 높아지고 있다.[1-4] 구강점막은 응급 상황에서 약물을 빠르고 안전하게 체내로 투여하기 위해 주로 사용되어 왔다. 구강점막을 통한 약물 투여의 장점으로는 주사제에 비해 특별한 투여기술이 필요하지 않으며 통증이 없고, 무의식 상태나 연하곤란 환자에게 투여가 가능하고, 약물의 송달을 임의대로 조절할 수 있으며 이용가능한 부위가 넓다는 장점이 있다. 이외에도 경구투여시의 간초회통과 효과뿐만 아니라 위 내의 효소와 위산에 의한 약물분해를 피할 수 있고, 상처받기 쉬운 비강점막에 비해 매우 튼튼하며 연속적인 치료에도 잘 견딘다. 또한 점막점착성 성질이 있는 구강점막 패취같은 새로운 투여제형의 적용이 용이하고 응급시에 제거가 간편하다는 장점이 있다. Hussain *et al.* 등[5]은 여러 opioid 진통제 및 그의 길항제들이 랫트에 있어서 매우 낮은 생체이용률을 가지고 있으며, 이들을 구강점막으로 투여시 생체이용률이 유의성 있게 증가 되었음을 보고하였다. 한편 Li 등[6]은 압력에 민감한 점막점착성 패취에 갑상선유리호르몬(thyrotropin releasing hormorne, TRH)를 함유시켜 쥐에 적용한 후 부착 30분까지 갑상선자극호르몬(thyroid stimulating hormone, TSH)이 혈장에서 증가하여 최종 TSH의 농도는 최소치보다 4-7배에 달하는 것으로 보고하였다.

본 연구에서는 opioid receptor의 Kappa 수용체에 작용하여 진통효과가 있으며 morphine 유도체 중 탐닉성이 적어 널리 사용되고 있는 butorphanol tartrate의 구강점막 점착성 [P(AA-co-PEGMM)] 필름제에 대한 연구를 수행하였다. 즉 전보[7]에서 유리전이온도측정, 접촉각 측정, 수화시험 및 ATR-FTIR를 통해 [P(AA-co-PEGMM)] copolymer film의 점막점착 특성을 규명한 데 이어 본 연구에서는 이들의 구강점막 점착제제로의 이용 가능성을 점착력 시험 및 약물 방출시험을 통하여 검토하였다.

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 043)261-2820, E-mail : khan@cbucc.chungbuk.ac.kr

실험방법

시약

Butorphanol tartrate(경동제약, Korea)는 약전품을 사용하였다. 또한 tetramethyl ammonium hydroxide(TMAH, Aldrich Chem. Co., U.S.A.), ammonium acetate(Sigma Co. Ltd., U.S.A.), isotonic saline, acetonitrile, cyanoacrylate, methanol 및 기타 시약은 모두 분석용 및 특급품을 사용하였다.

돼지 구강점막의 채취[8]

돼지의 구강점막을 떼어내어 0℃ 등장식염수 용액에 담그고 실험직전 4℃, pH 6.8 인삼염완충액에 담근 후 최소한 2시간 이내에 결합조직을 제거하고 점막점착력 실험에 사용하였다.

구강점막 점착력 시험[9]

[P(AA-co-PEGMM)], cr-PAA 및 cr-PEGMM 필름의 구강점막 점착력 비교-점착력 측정은 지름 2 cm의 원형 아크릴판 두개에 cyanoacrylate 접착제를 사용하여 구강점막을 각각 접착시킨 후 필름을 사이에 끼워 INSTRON®(Model 4400, Instron Co., U.S.A)을 사용하여 측정하였다. 즉 구강점막은 미리 실험 전에 5분 동안 pH 6.8 인산염완충액에 담가두었다가 사용하였으며, 전보[7]의 방법으로 제조한 두께 1 cm의 [P(AA-co-PEGMM)], cr-PAA 및 cr-PEGMM 필름은 미리 37℃, pH 6.8 인산염완충액에서 10분 동안 수화시킨 후 아크릴판에 부착한 구강점막 사이에 넣고 점착력을 측정하였다. 이때 초기압력은 0.5 N/cm^2, 초기접촉시간은 5 min, 속도는 5 mm/min으로 하였으며 필름의 점막점착력은 점막과 필름의 점착을 떼어내는 데 필요한 힘으로 평가하였다.[9]

구강점막점착력에 미치는 점착 매개용매 pH의 영향-필름의 점막점착력에 대한 매개 용매 pH의 영향을 검토하기 위해 다양한 pH(pH 1.5, pH 3.0, pH 5.0, pH 6.8)의 인산염완충액에서 미리 수화시킨 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름의 구강점막 점착력을 측정하여 비교하였다.

필름의 점막점착 후 시간 경과에 따른 점착력의 변화-[P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름을 0.5 N의 힘과 5 mm/min의 속도로 5분 동안 접촉시키고 48시간 동안 시간 경과에 따른 필름의 점막점착력 변화를 측정하였다. 또한 필름의 수화시간이 점막점착력에 미치는 영향을 알아보기 위해 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름을 구강점막에 부착하기 전 pH 6.8 인산염완충액에서 수화시간을 5분에서 120분까지 다양하게 하여 점착력을 측정한 후 점착력 세기를 비교하였다.

필름의 구강점막 점착력의 지속성-점막점착력 효과의 지속성을 알아보기 위해 PEGMM 함유 [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] 필름을 실온에서 일정기간 (1일, 1주, 2주, 5주, 8주) 동안 방치 후 점착력 변화를 측정하였다.

필름으로부터 butorphanol tartrate의 방출

Butorphanol tartrate 함유 필름의 제조-[P(AA-co-PEGMM)] 필름과 cr-PAA 필름 1 g을 10 μg/ml butorphanol tartrate 용액 5 ml에서 10시간 동안 팽윤시킨 후 실온에서 24시간 동안 건조시켜 필름 1 g당 약 30 μg의 butorphanol tartrate를 함유하도록 했다. 단, cr-PEGMM 필름은 수화력이 낮기 때문에 butorphanol tartrate 용액의 농도를 높여 20 μg/ml에서 팽윤시켰다. 필름내로 약물의 봉입은 필름 합성시 고온에 의한 약물의 파괴를 방지하기 위하여 필름 합성후 soaking 방법을 썼다.

Butorphanol tartrate의 HPLC에 의한 정량-Butorphanol tartrate의 정량은 Willey[10]의 HPLC에 의한 정량법을 개량하여 사용하였다. HPLC는 Jasco Co. Ltd.의 HPLC (Model Pu-980 Pump, As-950-10 Intelligent autosampler)와 검출기로서 Hitachi Co. Ltd.의 형광광도계 (Model F-1050)를 사용하였으며, 컬럼은 ODS 컬럼 (5 μm, 150 mm × 4.6 mm)을 사용하였다. 이동상으로는 탈이온수 : methanol : acetonitrile의 조성비율을 116 ml : 40 ml : 40 ml로 하고, 초산으로 pH 6.0으로 조정한 1.0 M tetramethyl ammonium hydroxide -1.0 M ammonium acetate 1 : 1 혼합용액 4 ml를 가하여 사용하였다. 유속은 1.0 ml/min, 파장은 excitation =223 nm, emission=329 nm로 하였고 정량은 절대검량선법을 이용하여 구했으며 이때 butorphanol tartrate의 유지시간은 약 11.2분이었다.

필름 중 butorphanol tartrate의 함량시험-필름중의 약물의 함량은 기지 농도의 약물이 담긴 용액에 필름을 soaking 시켜 약물을 봉입하고 soaking 전후의 중량차의 비로부터 약물 함량을 산출하였다. 또한 건조된 필름을 일정량 취하여 24시간 동안 용출 시킨후 용출시험액 중의 약물의 함량을 측정하여 전자와 비교시 약물 함량에 유의적인 차이가 없음을 확인하였다.

필름으로부터 butorphanol tartrate의 용출시험-필름으로부터 butorphanol tartrate의 용출시험은 대한약전 제7개정의 용출시험 규정에 따라 회전검체통법을 써서 시행하였으며, 시험조건은 37±0.5℃, 100 rpm에서 필름 1 g을 pH 6.8 인산염완충액 500 ml에 넣고 용출시험을 하였다. 시험액은 시간별로 200 μl를 채취하여 멤브레인 필터로 여과하였다. 그

중 75 μl를 취하여 HPLC로 정량하여 butorphanol tartrate의 용출률을 계산하였다. [P(AA-co-PEGMM)] 필름 (30 μg/g films)로부터 약물의 방출은 PEGMM의 농도를 3~18 mole%로 변화시켜 [P(AA-co-PEGMM)] 필름을 제조하고, PEGMM의 함량 변화에 따른 butorphanol tartrate의 방출을 관찰하였다. 또한 [P(AA-co-PEGMM)] 필름으로부터 약물방출에 대한 시험액의 pH의 영향을 관찰하기 위해 PEGMM의 함량을 18 mole%로 고정하고 용출시험액의 pH가 1.5, 4.0 및 6.8 인산염완충액에서 약물 용출율을 측정, 비교하였다. 이외에도 cr-PAA 및 cr-PEGMM 필름으로부터 butorphanol tartrate(30 μg/g films)의 용출시험을 pH 6.8 인산염완충액 (37℃)에서 시행하고 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름의 경우와 비교 검토하였다.

결과 및 고찰

구강점막 점착력 시험

[P(AA-co-PEGMM)], cr-PAA 및 cr-PEGMM 필름의 구강점막 점착력 비교-폴리머의 수화정도는 점막점착에 있어서 매우 중요한 요소로서 수화와 구강점막 점착력은 밀접한 관계가 있다.[11] [P(AA-co-PEGMM)] 필름에 있어 PEGMM의 함량이 낮을수록 수화는 높아지고 점막점착력은 감소하며, PEGMM의 함량이 증가함에 따라 팽윤은 감소하며 점착력은 증가하는 것으로 나타났다. 이는 높은 수화의 경우 필름의 지나친 팽창으로 인해 점막점착 결합에 있어 점착력에 기여하는 AA내의 COO^- 이온이 점막내의 glycoprotein 등과 결합하지 못해 점막점착 성질이 감소하기 때문으로 생각된다.[12] Figure 1은 pH 5.0 생리식염수와 pH 6.8 인산염완충액에서 PEGMM의 함량비율에 따른 [P(AA-co-PEGMM)] 필름의 구강점막 점착력을 측정한 것으로 PEGMM이 증가할수록 점막점착력은 증가하였으며 0~18 mole% 까지 급격한 증가를 보이다가 18 mole% 이상에서는 일정하게 유지되었다. Table I은 [P(AA-co-PEGMM)], cr-PAA 및 cr-PEGMM의 점착력을 측정한 것으로 cr-PAA의 점막점착력은 0.292 N/cm^{2}로 PEGMM 60 mole% 함유 [P(AA-co-PEGMM)] 필름 (1.326 N/cm^2)의 약 1/4이었다. 이러한 결과는 전보[7] Table II의 접촉각 측정 결과로부터 cr-PEGMM이 [P(AA-co-PEGMM)] 필름보다 훨씬 점착력이 높을 것이라는 예측과 다르며 이는 실제 점막과 필름의 점막점착력은 접촉각 측정에서 필름의 친유성 성질외에 필름의 수화와 내부 구조에 의한 점막과의 상호 작용이 매우 중요함을 보여주는 것이라 할 수 있다.[13,14] [P(AA-co-PEGMM)] 필름의 점착력은 pH 6.8 인산염완충액에서 보다 생리식염수에서 더 높은 경향을 보였으며 이는 PAA를 함유한 hydrogel의 점착력은 pH 의존성이 있기 때문으로 생각된다.[15] 즉 pH 6.8의 완충액에서보다 pH 5.0의 생리식염수에서 AA내의 COO^- 이온 증가에 의해 점막의 glycoprotein 성분과 결합하여 점착력이 증가하는 것으로 설명할 수 있다. Figure 2는 [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] 필름과 cr-PAA, cr-PEGMM 필름의 구강점막

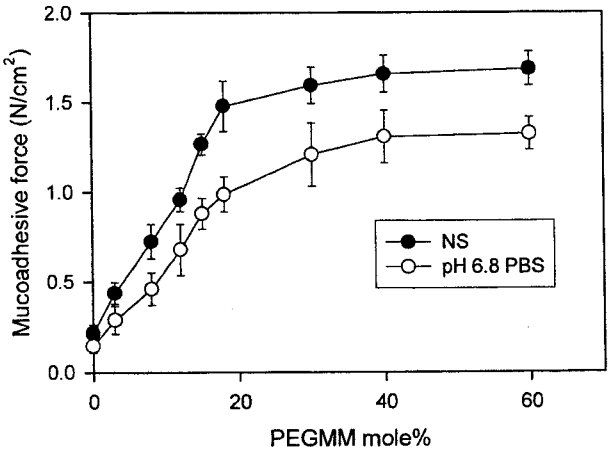

Figure 1–*In vitro* effect of PEGMM content on buccal mucoadhesive force of [P(AA-co-PEGMM)] films in pH 5.0 normal saline(NS) and pH 6.8 phosphate buffer solution(PBS) at 37℃. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

Table I–*In vitro evaluation of buccal mucoadhesive force of [P(AA-co-PEGMM)], cr-PAA[a] and cr-PEGMM[b] films in pH 5.0 normal saline(NS) and pH 6.8 phosphate buffer solution(PBS) at 37°C*

		Mean force in NS (N/cm2 ± S.E)	Mean force in PBS (N/cm2 ± S.E)
[P(AA-co-PEGMM)]			
AA[c] (mole%)	PEGMM[d] (mole%)		
100	0	0.217 ± 0.048	0.146 ± 0.040
97	3	0.437 ± 0.060	0.289 ± 0.077
92	8	0.725 ± 0.095	0.461 ± 0.090
88	12	0.958 ± 0.066	0.679 ± 0.141
85	15	.268 ± 0.059	0.881 ± 0.088
82	18	479 ± 0.139	0.988 ± 0.098
70	30	1.595 ± 0.102	1.210 ± 0.176
60	40	1.659 ± 0.102	1.310 ± 0.146
40	60	1.688 ± 0.093	1.326 ± 0.089
cr-PAA		0.352 ± 0.085	0.292 ± 0.098
cr-PEGMM		0.781 ± 0.056	0.658 ± 0.073

[a], [b]crosslinked with 0.3% EGDMA
[c]acrylic acid
[d]polyethylene glycol(PEG MW 200) monoethylether monomethacrylate macromers

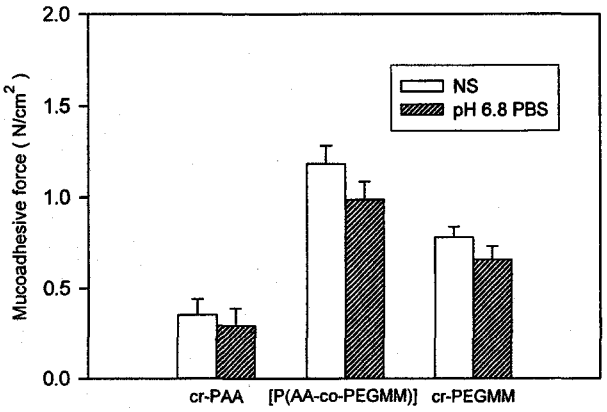

Figure 2–*In vitro* evaluation of buccal mucoadhesive force of [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}], cr-PAA and cr-PEGMM films in normal saline(NS) and pH 6.8 phosphate buffer solution(PBS) at 37°C. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

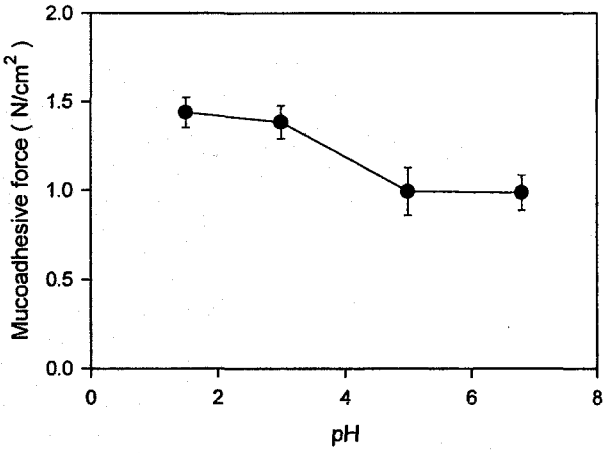

Figure 3–*In vitro* influence of pH on buccal mucoadhesive force of [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] films in pH 6.8 phosphate buffer at 37°C. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

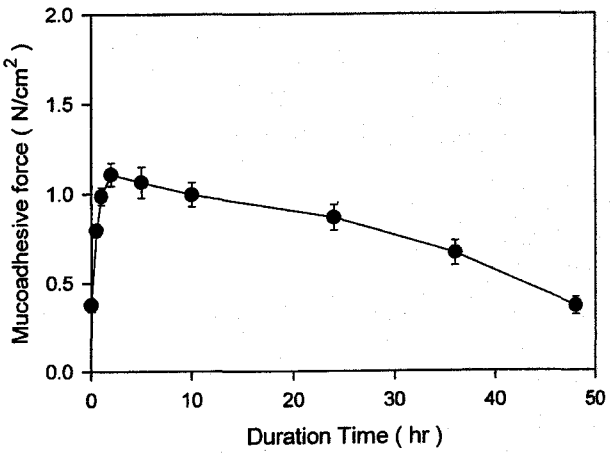

Figure 4–*In vitro* effect of aging on buccal mucoadhesive force of [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] films in pH 6.8 phosphate buffer at 37°C. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

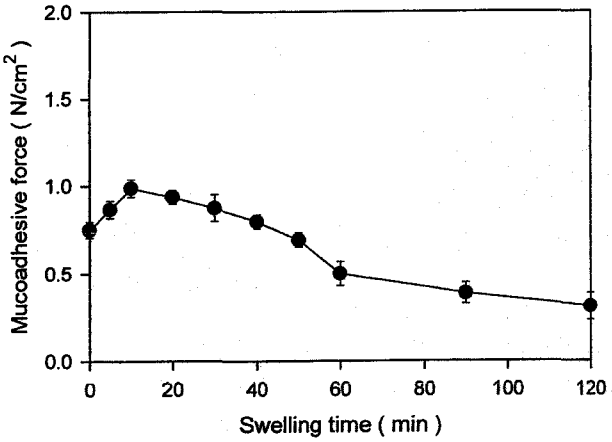

Figure 5–*In vitro* effect of swelling time on buccal mucoadhesive force of [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] films in pH 6.8 phosphate buffer at 37°C. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

점착력을 생리식염수와 pH 6.8 인산염완충액에서 측정한 것으로 생리식염수에서 점착력이 더 큰 경향을 나타내었고, 필름 중 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름의 점착력이 가장 큰 것으로 나타났으며 이때 pH 6.8 인산염완충액에서 점착력의 세기는 cr-PAA 필름에 비해 2.3배 높았다.

구강점막 점착력에 미치는 점착 매개용매 pH의 영향–Figure 3은 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름의 구강점막 점착력에 대한 pH의 영향을 나타낸 것으로 pH가 낮을수록 점착력이 큰 경향을 나타내었다. 이는 Figure 1에서 설명한 바와 같이 COO^- 이온에 의한 pH 의존 성질에 의해 낮은 pH에서 폴리머의 낮은 수화 때문으로 생각된다.

필름의 점막점착 후 시간 경과에 따른 점착력의 변화–Figure 4는 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름을 구강점막에 부착한 후 일정한 힘으로 5분간 접촉 시킨후 시간경과에 따른 필름의 점막점착력을 측정한 것으로 점착력은 시간이 지남에 따라 2시간까지 급격히 증가하다가 서서히 감소하기 시작하여 10시간까지 점착력이 1 N/cm^2 이상으로 유지되었다.

필름의 수화시간에 따른 점막점착력–Figure 5는 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름을 점막에 부착하기 전 미리 pH 6.8 인산염완충액에서 수화시킬 때 필름의 수화시간이 점막점착력에 미치는 영향을 실험한 것으로 10분 동안 수화시킨 필름에서 가장 높은 점착력이 나타났으며 이로써 필름의 최적 수화시간이 10분임을 알 수 있었다.

필름으로부터 butorphanol tartrate의 용출

[P(AA-co-PEGMM)] 필름의 PEGMM 함량비율의 영향–

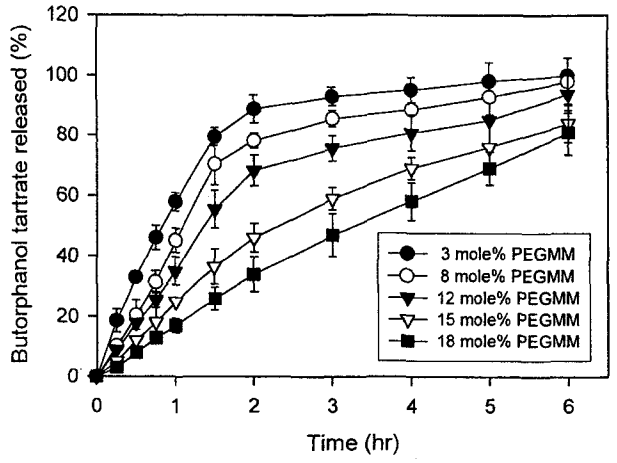

Figure 6–Effect of PEGMM content on release of butorphanol tartrate (30 μg/g patch) from [P(AA-co-PEGMM)] films in pH 6.8 phosphate buffer at 37°C. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

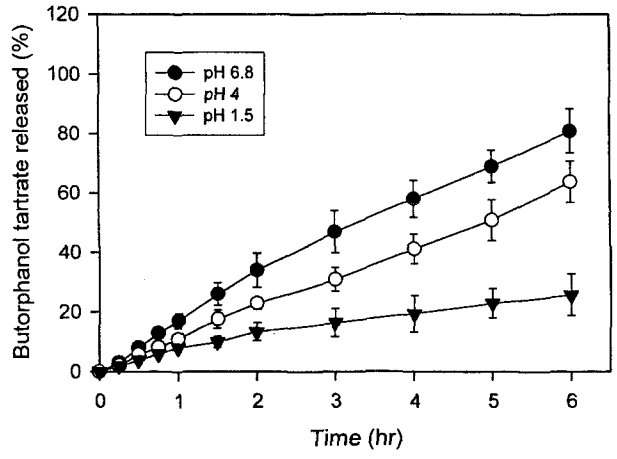

Figure 7–Release profiles of butorphanol tartrate (30 μg/g patch) from [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] films in various pH phosphate buffer at 37°C. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

Figure 6은 pH 6.8 인산염완충액(37°C)에서 6시간 동안 [P(AA-co-PEGMM)] 필름으로부터 PEGMM 함량변화에 따른 butorphanol tartrate(30 μg/g patch)의 방출 양상을 나타낸 것으로 PEGMM 함량이 증가함에 따라 약물의 방출이 지연되는 것으로 나타났으며 PEGMM 함량이 18 mole%의 경우 0차 방출의 양상을 나타냈으며 방출율은 6시간 동안 약 78%였다.

용출 시험액의 pH의 영향-Figure 7은 pH 1.5, pH 4, pH 6.8 인산염완충액에서의 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름으로부터 butorphanol tartrate(30 μg/g patch) 용출율을 비교한 것으로 pH가 낮을수록 butorphanol tartrate의 용출율은 낮게 나타나서 pH 1.5에서는 6시간동안 20%의 용출율을 보였다. 이러한 결과는 전보[7]의 Fig. 5의 팽윤실험 결과에서 보여준 필름의 pH 의존성 때문으로 설명할 수 있다.

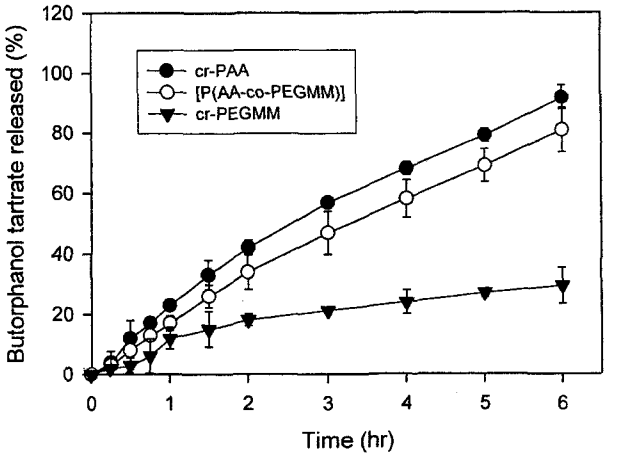

Figure 8–Release profiles of butorphanol tartrate (30 μg/g patch) from [P{AA-co-PEGMM (18 mole%)}] films, cr-PAA and cr-PEGMM in pH 6.8 phosphate buffer at 37°C. Error bars represent the mean ± S.E. of three experiments.

[P(AA-co-PEGMM)], cr-PAA 및 cr-PEGMM 필름으로부터 butorphanol tartrate 용출-Figure 8은 pH 6.8 인산염완충액(37°C)에서 [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}], cr-PAA 및 cr-PEGMM 필름으로부터 butorphanol tartrate(30 μg/g patch)의 용출을 비교한 것으로 cr-PAA 필름은 [P(AA-co-PEGMM)] 필름에 비해 약간 빠르나 비슷한 양상을 나타냈으며, cr-PEGMM 필름은 6시간 동안 불과 29%의 용출을 보였다.

결 론

1. [P(AA-co-PEGMM)] 필름의 구강점막 점착력은 PEGMM이 증가할수록 증가하였으며 특히, [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름의 점착력은 cr-PAA보다 3.2배 높았으며 cr-PEGMM에 비해 약간 높게 나타났다.

2. [P(AA-co-PEGMM)] 필름의 점막점착력은 PAA를 함유한 hydrogel내의 COO^-에 의한 pH 의존성 때문에 pH 6.8 인산염완충액에서 보다 pH 5.0의 생리식염수에서 더 높았다. 필름을 구강점막에 부착한 후 점착력은 시간이 경과함에 따라 점차 증가하여 2시간에 최고치를 나타냈으며, 점착력의 세기는 10시간까지 1.0 N/cm^2 이상으로 유지되었다.

3. [P(AA-co-PEGMM)] 필름의 용출실험에서 butorphanol tartrate의 용출은 PEGMM의 함량이 증가함에 따라 늦어지는 경향을 나타내었으며, [P{AA-co-PEGMM(18 mole%)}] 필름으로부터 용출은 0차방출 특성을 나타내어 6시간 동안 약 78%의 용출률을 보였다.

문 헌

1) R. Gurny and H.E. Junginger, Bioadhesion : possibilities and future trends, *Proceedings of the 1st international joint workshop of the Association for Pharmaceutical Technology and the Controlled Release Society*, Leiden, The Netherlands (1989).

2) T. Nagai and R Konishi, Buccal/gingival drug delivery systems, *J. Control. Rel.*, **6**, 353-360 (1987).

3) B.J. Aungst and N.J. Rogers, Site dependence of absorption-promoting actions of laureth-9, Na salicylate, Na_2 EDTA and aprotinin on rectal, nasal and buccal insulin delivery, *Pharm. Res.*, **5**, 305-308 (1988).

4) B.J. Aungst and N.J. Rogers, Comparison of the effects of various transmucosal absorption promoters on buccal insulin delivery, *Int. J. Pharm.*, 227-235 (1989).

5) M.A. Hussain, B.J. Aungst and E. Shefter, Buccal and oral bioavailability of nalbuphine in rats, *J. Pharm. Sci.*, **75**(2), 218-219 (1986).

6) C. Li, V.A. Raul, P.I.P. Bhatt, P.L. Koch and T.P. Johnson, Transbuccal delivery of a model tripeptide, *Proceedings of the American Association of Pharmaceutical Scientists Meeting*, Orlando, U.S.A., pp. S-201 (1993).

7) J.S. Kim, J.S. Park and K. Han, Synthesis of [P(AA-co-PEGMM)] copolymer films and its physicochemical characteristics, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **31**(3), 173-180 (2001).

8) M.E. de Vries, H.E. Boddé, J. C. Verhoef, M. Ponec, W.I.H.M. Craane and H.E. Junginger, Localization of the permeability barrier inside porcine buccal mucosa : a combination *in vitro* study of drug permeability, electrical resistance and tissue morphology, *Int. J. Pharm.*, **76**, 25-32 (1991).

9) S.A. Mortazavi and J.D. Smart, An *in-vitro* method for assessing the duration of mucoadhesion, *J. Control. Rel.*, **31**, 207-212 (1994).

10) T.A. Willey, G.F. Duncan, L.K. Tay, K.A. Pittman and R.H. Farme, High-performance liquid chromatographic method for the quantitative determination of butorphanol, hydroxybutorphanol, and norbutorphanol in human urine using fluorescence detection, *J. Chromatography B.*, **652**, 171-178 (1994).

11) S.S. Leung and J.R. Robinson, Polymer structure features contributing to mucoadhesion. II, *J. Control. Rel.*, **12**, 187-194 (1990).

12) K. Park and J.R. Robinson, Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery; method to study bioadhesion, *Int., J. Pharm.*, **19**, 107-127 (1984).

13) N.A. Peppas and P.A. Buri, Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues, *J. Control. Rel.*, **2**, 257-275 (1985).

14) H.S. Ch'ng, H. Park, P. Kelly and J.R. Robinson, Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery. II. Synthesis and evaluation of some swelling, water-insoluble bioadhesive polymers, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 399-405 (1985).

15) K. Park and J.R. Robinson, Mechanisms of mucoadhesion of poly (acrylic acid) hydrogels, *Pharm. Res.*, **4**, 457-464 (1987).