

## 관류 랫드 장관모델에서의 케토프로펜의 흡수기전 연구

김미정<sup>†</sup> · Majella E. Lane\*

식품의약품안전청 \* 런던대학교

(2007년 1월 19일 접수 · 2007년 4월 5일 승인)

### Mechanistic Studies of Ketoprofen Absorption in Perfused Rat Intestine Model

Mi-Jeong Kim<sup>†</sup> and Majella E. Lane\*

Korea Food and Drug Administration/ \*University of London

(Received January 19, 2007 · Accepted April 5, 2007)

**ABSTRACT** – The aim of this study was to investigate the absorption properties of ketoprofen. The in-situ perfusion model has advantages over in vitro models as it provides intact lymphatic and blood flow circulation. The absorption properties of six different concentrations of ketoprofen have been studied in single pass in-situ rat intestine model. <sup>14</sup>C-PEG 4000 was used as a permeability marker and the possibility of an energy dependent contribution to ketoprofen absorption was also investigated using the metabolic inhibitor sodium azide. Three different concentrations of sodium azide were studied to examine its effect on absorption of ketoprofen from the rat intestine. The findings of this study suggest that mono-carboxylic type drugs like ketoprofen cause permeability changes in the intestine. This is shown by the increase in absorption of <sup>14</sup>C-PEG 4000 as the concentration of ketoprofen is increased. However, the trend for ketoprofen permeability is to decrease over the concentration ranges. It was observed that the Papp values for ketoprofen with sodium azide shows a trend towards reduction in the amount of ketoprofen absorbed from the rat intestine which was significantly different ( $p < 0.05$ ) from that of ketoprofen with sodium azide 3.0 mM. This indicates that sodium azide has an affect on the absorption of ketoprofen. The pH of all the perfusion solutions was altered to ~pH 6.7 by the buffering capacity of the small intestine secretions. The results suggest that mechanisms other than passive diffusion may be involved in ketoprofen absorption. This would be consistent with the involvement of active transport or saturatable processes in the absorption of drugs containing mono-carboxylic acid group, as has been previously suggested from in vitro data.

**Key words** – Ketoprofen, Absorption, Perfusion, Permeability

소화관에서의 약산성약물의 흡수는 pH분배이론에 따라 지질막을 통해 비이온화 형태로 passive trans cellular diffusion에 의해 설명될 수 있다. 이 이론에 따라 pH가 감소함에 따라 약산성의 비이온화형태의 약물의 증가 때문에 투과도는 증가한다고 예측할 수 있다.<sup>1,2)</sup> 하지만 이 기전에 의해 케토프로펜의 광범위한 약물 흡수를 설명하기란 어렵다. 왜냐하면 소장 점막에서의 microclimate pH가 6.0~7.1 이라고 간주하면 케토프로펜의 경우 거의 모두 이온화되기 때문이다.<sup>3,6)</sup> 비록 약산성약물의 이온화형태가 tight junction을 통해 paracellular transport로 수송될 수 있다<sup>7)</sup> 하더라도 tight junction의 면적은 전체 면적의 약 0.01%에 불과하기 때문에 약산성약물의 주된 경로는 아닐 것이다.<sup>17,32)</sup> NSAIDs 중 monocarboxylic group을 가진 많은 약물들은 약산성으로

pKa 값이 3.0~5.5이며 일반적으로 소화관에서 잘 흡수된다고 알려져 있으나<sup>2)</sup> 아직까지 소장내 상피를 통한 수송기전에 대해서는 그 연구가 미흡한 실정이다.

케토프로펜은 비스테로이드성소염진통제(NSAIDs)로서 Biopharmaceutics Classification System(BCS) 중 Class II에 해당하여 용해도는 낮지만 투과도가 높아 흡수가 잘 되는 약물로 알려져 있다. 동물실험에서 투과도(permeability)의 포화(saturation)가 일어난다는 것이 입증되어 케토프로펜 흡수에 능동수송(active transport)이 관여할 수도 있다는 것이 시사되었다.<sup>8-9)</sup> 최근 benzoic acid, lactic acid, atrovastatin, pravastatin 및 carindacillin등과 같은 몇몇 약물이 Caco-2 세포를 통해 수송되고 토끼의 jejunal brush-membrane vesicle에서 MCT1(monocarboxylate transport 1)이란 막을 통한 proton gradient에 의해 유도되는 carrier mechanism이 보고되었다.<sup>10-12)</sup> 이와는 반대로 Takagi등은 인공 리포솜의 지질 이중막을 통한 monocarboxylsalicylic acid의 수송이 막을 통한 proton gradient에 의해 유도됨을 보여 주고 있어 이 기

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 02)380-1717, E-mail : mjkim99@kfda.go.kr

전은 monocarboxyl moiety를 가진 약물의 소장내 흡수를 설명해 준다고 볼 수 있다.<sup>13)</sup> 따라서 이 두가지 proton gradient dependent mechanism이 소화관내에서의 케토프로펜의 신속한 흡수를 설명해 줄 수 있다. 그러나 오랜 세월 동안 케토프로펜은 이부프로펜, 나프록센과 함께 수동수송(passive route)을 통해 잘 흡수된다고 받아 들여졌다. NSAIDs의 투과도변화를 측정한 in vitro 모델로는 Legen & Kristle이 Ussing-chamber를 사용하여 낮은 농도 (<5 mM)에서의 케토프로펜이 랫트 소장에서 플루오레스신의 투과도를 증가시킨다는 제한된 보고가 있는데 이는 저농도에서 프로스타글라딘의 tight junction control 감소로 인한 것이라 추측되며<sup>14)</sup> 고농도에서의 투과도변화는 ATP고갈에 의한 것으로 사료된다.<sup>9)</sup> 관류 랫트 장관모델과 비교했을 때 고투과도약물이 좀더 낮은 투과도값을 나타내는 것은 세포막특성 유지에 필요한 비교반수층(unstirred water) 및 sink condition의 부재와 혈액공급의 부족이라 볼 수 있다.<sup>18)</sup>

Lane 등<sup>19)</sup>은 케토프로펜, 이부프로펜 및 나프록센이 관류 랫트 장관모델에서의 투과도 변화를 연구하였고, 특히 고농도(0.5~2.0 mg/mL)의 케토프로펜이 PEG4000의 투과도를 인산완충액보다 통계적으로 유의하게 증가시킨다고 제시한 바 있다. 또한 최선옥 등<sup>20)</sup>은 Caco-2 세포배양 모델에서 케토프로펜(0.02~0.2 mg/mL)의 경우 농도에 따른 유의성 있는 투과도의 차이는 관찰되지 않았다고 보고하였다. 세포배양모델의 경우 일반적으로 분자수준에서의 변화를 주로 고찰하는 것으로 화합물의 계면활성작용 때문에 임상적으로 유의성 있는 농도에서 통상적인 NSAIDs의 투과도 규명은 어렵고,<sup>9)</sup> 매우 낮은 농도의 약물을 사용하였기 때문에 in vivo 동물모델과 in vitro 세포배양모델 사이의 좋은 상관성을 얻기란 어려운 실정이다.

이에 본 연구에서는 좀 더 다양한 농도(0.0625~2.0 mg/mL)의 케토프로펜이 in situ 관류 장관모델에서 소장내 투과도에 미치는 영향과 약물수송의 특성을 고찰하고자 하였다.

## 실험 방법

### 시약

케토프로펜은 Sigma-Aldrich(Poole, UK)로부터, <sup>14</sup>C Polyethylene glycol 4000은 Amersham Life Sciences (USA)로부터 각각 구입하였고, 케타민은 Trinity College Dublin BioResources Unit에서 분양받아 사용하였다. 그 밖의 다른 시약은 analytical grade를 모두 사용하였다.

### 실험동물

Wistar 랫드는 Trinity College Dublin BioResources Unit

의 animal house가 제공하는 개별적으로 스테인레스-스틸 뚜껑과 깔짚 바닥으로 된 폴리프로필렌 표준케이지(45×28×20 cm)내에서 음식물과 수분을 자유로이 섭취하고 항온(20±2°C), 12:12 h light-dark의 쾌적한 환경에서 사육되었다. 실험프로토콜은 아일랜드 Trinity College Dublin의 동물실험 윤리위원회의 규정을 따라 수행되었으며, 유럽연합의 실험동물 보호법인 European Communities Council Directive 1986을 준수하였다.

### Perfusion study

케토프로펜은 6농도(0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/mL)의 sorensen's phosphate buffer 용액을 사용하였고 약물 용해 후 최종 pH가 6.8이 되게 조정하였다. in vivo 모델로서 single pass intestinal perfusion model을 사용하여 투과도의 변화를 고찰하였는데 본 연구에서는 실험개시 24시간 동안 절식한 웅성 Wistar 랫드(280~320 g)를 케타민으로 복강내 마취시킨 다음 Komiya등의 방법을 사용하였다.<sup>15)</sup> 약물의 관류는 2시간 동안 유지하며 관류된 용액을 일정한 시간간격으로 모아 HPLC로 정량하여 소장 내 남아있는 약물농도를 계산하였다. NSAIDs는 소화관 내에서 국소 및 전신적 장애를 일으킨다고 잘 알려져 있으며<sup>23,24)</sup> 랫드에서 소장의 투과도를 변화시킨다고 보고되어 왔다.<sup>8, 25)</sup> 고분자물질인 PEG4000은 이 물질이 정상상태에서는 소장에 흡수되지 않으므로 소장의 water flux 연구에 주로 사용되어 왔고,<sup>16)</sup> 만약 소장의 막기능이 손상되면 이 물질이 흡수되므로 본 연구에서는 permeability marker로서 다양한 농도의 케토프로펜이 PEG4000 흡수에 어떤 영향을 미치는 가를 고찰하여 그 Papp를 계산하였다.

관류용액은 2시간 동안 10분마다 수집하였고, 사용된 소장의 길이는 10 cm이었으며 permeability marker로서 <sup>14</sup>C-PEG 4000 용액(0.50 Ci/mL)을 사용하였다. 수집된 각 관류용액은 HPLC를 사용하여 Lalande 등<sup>21)</sup>의 방법으로 분석하였다. 또한 각 관류용액 중 <sup>14</sup>C-PEG 4000 측정은 Tri-Carb<sup>®</sup> liquid scintillation counter (Packard<sup>®</sup>)를 사용하였다.

약물은 체내에서 pre-systemic 또는 intracellular metabolism이 일어나는 경우가 있기 때문에 관류용액에서의 약물농도 감소가 항상 혈관으로의 약물의 유입을 나타내는 것이 아니므로 이러한 문제를 극복하기 위해 관류하는 동안의 plasma 약물농도를 측정하였다. 관류 2시간 및 관류 이후 2시간 동안 30분마다 랫드의 꼬리정맥으로부터 혈액을 채취하여 Lalande 등<sup>21)</sup>의 방법으로 전처리 후 HPLC로 분석하였다.

### 겉보기투과계수(Papp)

PEG4000을 함유한 각 관류용액의 흡수되지 않은 케토프

로펜의 농도 변화를 시간의 경과에 따라 그래프로 나타내어 steady-state에서 겔보기투과계수(Papp)를 아래 계산식에 따라 산출하였다. 각 시간대에서 케토프로펜의 Papp값은 각 관류 용액의 steady-state에서의 평균값으로 하였고, 각 랫드에서의 Papp값으로부터 평균값과 표준편차를 계산하였다. 소장 내 비흡수된 water flux분획 ( $C_1/C_0$ )은 Pérez 등<sup>33)</sup>의 방법으로 보정하였다.

$$P_{app} = \frac{-Q}{2\pi r l} \times \ln\left(\frac{C_1}{C_0}\right)$$

$C_0$ : 관류 전 최초 약물농도

$C_1$ : 관류 후 약물농도

r: 유효한 lumen radius (0.18 cm)

Q: 관류 유속 (0.2×60 mL/sec)

l: 실험에 사용된 소장 segment (10 cm)

약물농도 증가에 따른 Papp값의 차이는 Minitab<sup>®</sup> Statistical Software version 13.1을 사용하여 repeated measures ANOVA로 분석하였는데 p값이 0.05이하인 경우 유의성이 있다고 정의하였다.

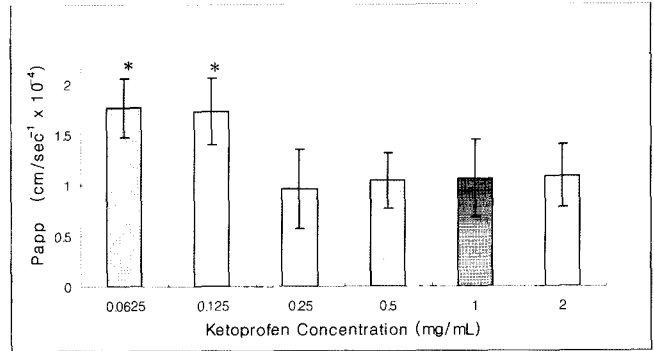
### 케토프로펜의 장관내 흡수기전

케토프로펜의 투과도 특성에 대한 연구를 바탕으로 동 약물의 흡수기전을 규명하기 위해 ATP 고갈을 일으켜 흡수에 필요에 에너지의 감소시킨다고 알려진 sodium azide를 metabolic inhibitor로 사용하여 케토프로펜 0.125 mg/mL 및 1 mg/mL를 가지고 각각 투과도에 미치는 영향을 고찰하였다.

## 결과 및 고찰

### in situ 투과도 연구

각 관류용액의 steady state는 관류 개시 후 90~120분에 이루어졌다. 케토프로펜의 약물 농도가 증가함에 따라 Papp는  $1.772 \times 10^{-4}$  cm/sec에서  $0.965 \times 10^{-4}$  cm/sec로 감소됨을 보여주었고, (Figure 1) 0.0625 및 0.125 mg/mL에서의 Papp값은 다른 고농도에서의 값과 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내었으나(n=8,  $p < 0.05$ ), 다른 농도에서의 유의적인 차이는 관찰되지 않아 (n=8,  $p > 0.05$ ) 고농도에서의 케토프로펜 포화를 확인할 수 있었다. 관류 전후의 약물농도의 차이는 없는 것으로 보아 실험을 진행하는 동안 케토프로펜의 침전 생성은 없음을 알 수 있었다. Fagerholm 등<sup>22)</sup>은 Papp값이 약  $0.2 \times 10^{-4}$  cm/sec 이상이면 완전하게 흡수되는 화합물로 간주했으므로 본 실험결과에 의한 값은 모두 이 값보다 크므로 사람에게 적용시켰을 때 99.9% 이상 흡수된다고 사료된다.



$p < 0.05^*$  (n=8)

**Figure 1**—Ketoprofen permeability coefficients (Papp) at different concentrations of ketoprofen in phosphate buffer (pH 6.8).

**Table 1**—Papp Values for PEG 4000 with Ketoprofen in Phosphate Buffer (pH 6.8)

System	Papp(cm/sec <sup>-1</sup> × 10 <sup>-5</sup> )	S.D	n
Phosphate buffer (pH 6.8)	0.211	0.064	5
Ketoprofen 2 mg/mL	2.264*	0.185	7
Ketoprofen 1 mg/mL	1.410	0.055	7
Ketoprofen 0.5 mg/mL	1.054	0.094	7
Ketoprofen 0.25 mg/mL	1.073	0.121	8
Ketoprofen 0.125 mg/mL	1.008	0.078	6
Ketoprofen 0.0625 mg/mL	0.993	0.095	8

$p < 0.05^*$

### PEG4000 투과도 연구

케토프로펜 2 mg/mL의 PEG4000에 대한 Papp값은 다른 저농도에서 얻은 어느 값보다 유의적으로 훨씬 높은 값을 나타내고 있어 ( $p < 0.05$ ) 케토프로펜의 고농도 존재가 PEG4000의 흡수를 유도함을 알 수 있는데(Table I), 이는 케토프로펜이 PEG4000의 투과도를 인산완충액(control) 보다 통계적으로 유의하게 증가시킨다는 점에서 Lane 등<sup>19)</sup>의 보고와 일치한다. 다만, PEG4000에 대한 투과도가 Lane 등<sup>19)</sup>의 보고와 차이를 보이는 것은 in situ 모델의 경우 장관 내 경이 완전히 넓어져서 세포간극의 hydrostatic pressure를 증가시키므로 소장에서의 투과도 또는 absorption clearance에 영향을 줄 수 있기 때문에<sup>34)</sup> 본 실험에 사용된 소장 segment의 부위 및 길이의 차이에 따른 것이라 사료된다.

### 관류용액의 pH profile

각 관류용액의 pH는 시간이 경과함에 따라 시험 출발시점에서의 값으로부터 점차 변화하여 50분 이후 pH 약 6.7에서 steady-state를 나타내었다.(Figure 2) Desai 등<sup>26)</sup>은 최초 pH값이 각각 9.5 및 4.5인 완충액이 랫드 소장내에서 급속하게 pH 6.5를 향해 변화됨을 보고하였고, Ikuma 등<sup>6)</sup>은 성인

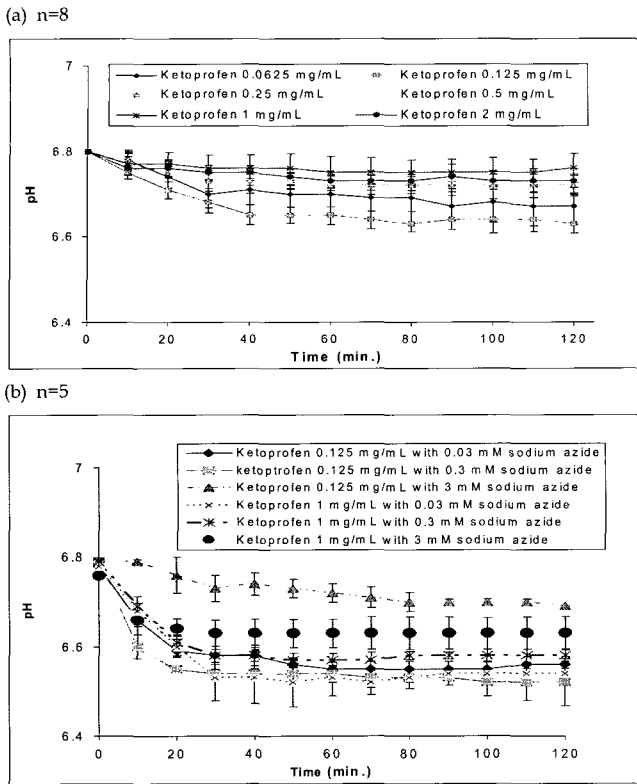


Figure 2—PH versus time profile for ketoprofen absorption studies at different ketoprofen concentrations in phosphate buffer (pH 6.8).

랫드에서 jejunal microclimate pH가  $6.12 \pm 0.04$ 임을 보여 주었으며 랫드 jejunum의 세포 표면이 in vitro에서 acidic microclimate를 가지고 있어 이 microclimate가 luminal membrane을 통한  $H^+$  분비의 역동적 평형 및 흡수, luminal membrane로 향한 확산을 통해 유지된다고 알려져 있다.<sup>5,27)</sup> 따라서 50분 이후 관류용액의 pH 변화의 감소는 이 microclimate pH-maintenance system의 고갈을 암시한다. 일부 연구에서 약물 및 영양소의 흡수과정이 microclimate pH에 의해 영향을 받는다고 보고되었다.<sup>28)</sup>

관류용액에서의 pH변화는 이온화된 약물의 함량변화를 유발한다. 케토프로펜의 이러한 pH변화는 무시될 수 있다. 분자량 200이하의 약물은 aqueous pore를 통과할 수 있고<sup>29)</sup> 비이온화된 약물분획의 경우 transcellular transport가 일어날 수 있다.<sup>30)</sup> 분자량이 206인 케토프로펜의 high permeability 및 이온화정도는 이 약물이 주로 paracellular route를 통해 흡수되거나 아니면 MCT1(monocarboxylate transport 1)<sup>10)</sup>이 관여될 수 있음을 암시해 준다.

**케토프로펜의 plasma profile**

Satterwhite and Boudinot는 monocarboxylic acid를 함유

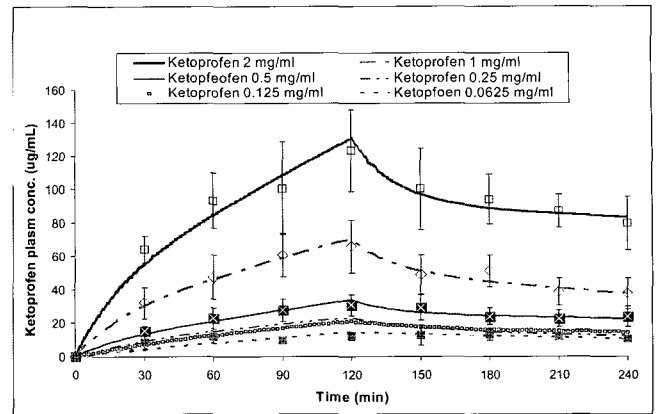


Figure 3—Plasma ketoprofen concentration versus time profile (n=5).

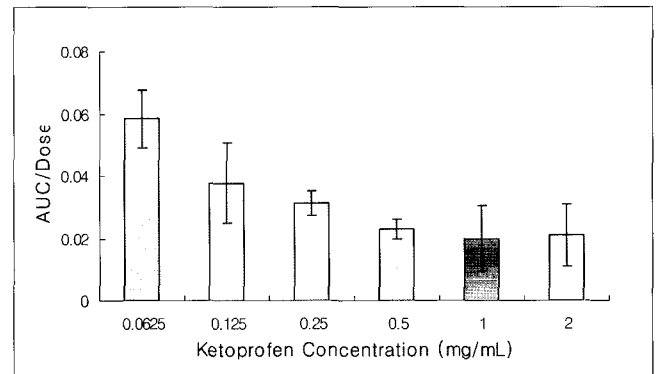
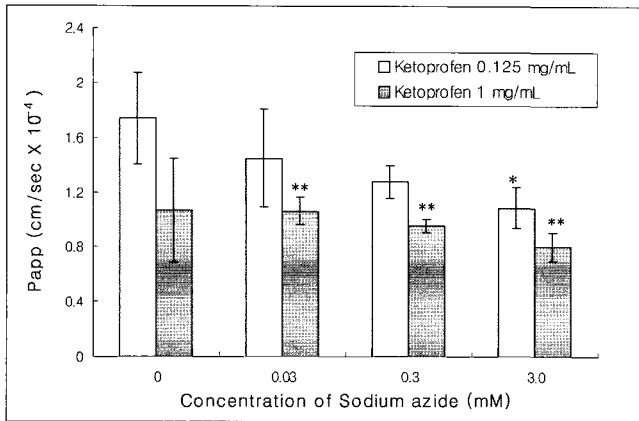


Figure 4—Plasma profile of ketoprofen concentration versus AUC/Dose (n=8).

한 NSAIDs가 랫드에서 two-compartment의 약물동태를 보인다고 보고하였다.<sup>31)</sup> 시간에 대한 plasma내 케토프로펜의 농도를 Scientist® Experimental Data Fitting Programm을 사용하여 최적화시킨 프로파일을 이들의 실제 데이터와 함께 Figure 3에 나타내었다. 이 plasma data를 AUC/Dose 대 Dose의 형태로 다시 나타내면 용량이 케토프로펜의 용량이 증가함에 따라 Clearance는 감소되어 케토프로펜의 Papp의 변화 양상과 일치되는 결과를 보여주고 있다. (Figure 1 & 4) 이 결과는 또한 PEG4000의 투과도변화와 반대양상을 보여주는데 이것은 케토프로펜의 약물흡수에 pore route가 중요하지 않음을 시사해 준다.

**Sodium azide를 포함한 케토프로펜의 약물흡수**

Sodium azide 포함 케토프로펜 1 mg/mL의 Papp값은 sodium azide의 농도가 증가함에 따라 감소됨이 관찰되었으나 케토프로펜 단독용액에서의 값과 통계학적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다 ( $p > 0.05$ , Figure 5). 또한 케토프로펜 0.125 mg/mL의 Papp값도 sodium azide의 농도가 증가함에



$p < 0.05^*(n=5), p > 0.05^{**}(n=5)$

**Figure 5**—Ketoprofen Papp values in different system of Sodium azide in phosphate buffer (pH 6.8).

따라 감소됨이 관찰되었으며 sodium azide 3 mM을 포함한 케토프로펜 0.125 mg/mL의 Papp값은 케토프로펜 단독용액에서의 값보다 유의적으로 낮아 ( $p < 0.05$ , Figure 5) 케토프로펜의 약물흡수에 있어 ATP의 고갈이 어느 정도 관여함을 시사해 주고 있다.

## 결 론

케토프로펜의 농도가 증가할수록 소장 PEG4000의 투과도를 증가시킴을 보여주어 케토프로펜의 농도 증가가 소장의 투과도 특성의 변화를 유도함을 제시하였다. 하지만 케토프로펜 농도의 증가가 케토프로펜 자체의 소장내 투과도를 증가시키지 않았는데 이것은 이미 보고된 바와 같이 고농도에서의 케토프로펜의 포화가 은폐됨에 따라 케토프로펜 약물수송에서 carrier mediated procedure가 과소평가되었음을 시사한다. 또한 케토프로펜의 투과도의 추세는 농도의 증가에 따라 감소되는 경향을 보이므로 유도된 투과도의 변화가 케토프로펜의 흡수를 증가시키지는 않음을 암시해 주었다. 모든 관류용액의 pH는 소장의 완충용적 (buffering capacity)에 의해 일정한 값으로 조절되었다. 본 동물모델의 연구결과는 in vitro 세포배양 모델에서 앞서 제시된 바 있는 monocarboxylic acid group 함유 약물의 흡수가 능동수송 또는 포화과정과의 관련성이 있다는 보고와 일치된다.<sup>9,32)</sup>

## 감사의 말씀

이 논문은 한국학술진흥재단의 해외 Post-doc.연수지원 (KRF-2005-214-E00036)에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 1) Brodie, B. B. and Hogben, C. A. M., Some physico-chemical factors in drug action. *J. Pharm. Pharmacol.*, **9**, 345-380 (1957).
- 2) Högerle, M. L. and Winne, D., Drug absorption by the rat jejunum perfused in situ. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **322**, 249-255 (1983).
- 3) Rechkemmer, G., Wahl, M., Kuschinsky, W. and von Engelhardt, W., pH-microclimate at the luminal surface of the intestinal mucosa of guinea pig and rat., *Pflügers Arch.*, **407**, 3340 (1986).
- 4) Hidalgo, I. J., Ryan, F. M., Marks, G. J. and Smith, P. L., pH-dependent transepithelial transport of cephalexin in rabbit intestinal mucosa, *Int. J. Pharm.*, **98**, 83-92 (1993).
- 5) T. Shimada, Factors affecting the microclimate pH in rat jejunum, *J. Physiol.*, **392**, 113-127 (1987).
- 6) M. Ikuma, H. Hanai, E. Kaneko, H. Hayashi and T. Hoshi, Effects of aging on the microclimate pH of the rat jejunum, *Biochim. Biophys. Acta*, **1280**, 1926 (1996).
- 7) Shiao, Y. F., Fernandez, P., Jackson, M. J. and MacMonagle, S., Mechanisms maintaining a low-pH microclimate in the intestine, *Am. J. Physiol.*, **248**, 608-617 (1985).
- 8) Davies, N. M., Wright, M. R. and Jamali, F., Anti-inflammatory drug-induced small intestinal permeability: the rat is a suitable model, *Pharm. Res.*, **11**, 1652-1656 (1994).
- 9) Assessment and prevention of gastrointestinal toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs, Majella E, Lane and Mi-Jeong Kim, *Journal of pharmacy and pharmacology*, **58** (10), 1295-1304 (2006).
- 10) Tamai, I., Takanaga, H., Maeda, H., Sal, Y., Ogihara, T., Higashida, H. and Tsuji, A., Participation of a proton-cotransporter, MCT1, in the intestinal transport of monocarboxylic acids, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**, 482-489 (1995).
- 11) Ogihara, H., Suzuki, T., Nagamachi, Y., Inui, K. and Takata, K., Peptide transporter in the rat small intestine: ultrastructural localization and the effect of starvation and administration of amino acids, *Histochem. J.*, **31**, 169-174 (1999).
- 12) Atorvastatin transport in the Caco-2 cell model: contributions of P-glycoprotein and the proton-monocarboxylic acid cotransporter., *Pharm Res.*, **17**(2), 209-215 (2000).
- 13) Takagi, M., Taki, Y., Sakane, T., Nadai, T., Sezaki, H., Oku, N. and Yamashita, S., A new interpretation of salicylic acid transport across the lipid bilayer: implications of pH-dependent but not carrier-mediated absorption from the gastrointestinal tract. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **285**, 1175-1180 (1998).
- 14) Legen, I., Žakelj, S. and Kristl, A., Polarised transport of monocarboxylic acid type drugs across rat jejunum in vitro: the effect of mucolysis and ATP-depletion, *Int. J. Pharm.*, **7419**, 1-6 (2003).
- 15) I. Komiya, J. Y. Park, A. Kamani, N. H. F. Ho and W. I. Higuchi, Quantitative mechanistic studies in simultaneous

- fluid flow and intestinal absorption using steroids as model solutes., *Int. J. Pharm.*, **4**, 249-262 (1980).
- 16) Sutton, S. C. and Rinaldi, M. T. S., Comparison of the gravimetric, phenol red, and <sup>14</sup>C-PEG-3350 methods to determine water absorption in the rat single-pass intestinal perfusion model, *AAPS Pharm. Sci.*, **3** Article **25** (2001).
  - 17) Swenson E. C. and Curatolo W. J., Intestinal permeability enhancement for proteins, peptides and other polar drugs: mechanisms and potential toxicity, *Adv. Drug Del. Rev.*, **8**, 39-92 (1992).
  - 18) Berggren S., Hoogstraate J., Fagerholm U. and Lennernas H., Characterization of jejunal absorption and apical efflux of ropivacaine, lidocaine and bupivacaine in the rat using in situ and in vitro absorption models, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **21**(1), 553-560 (2003).
  - 19) Majella E. Lane, Karl Levis, George S. A. McDonald and Owen I. Corrigan, Comparative assessment of two indices of drug induced permeability changes in the perfused rat intestine, *International Journal of Pharmaceutics*, **312**(1-2), 196-199 (2006).
  - 20) 최선옥, 박기숙, 정성희, 정서정, 엄소영, 장은정, 정수연, 박혜영, 의약품의 생물학적특성분류 및 평가, 식품의약품안전청 연구보고서 **8**(2), 1703-1708 (2004).
  - 21) Lalande, M., Wilson, D. L. and McGilveray, I. J., Rapid high-performance liquid chromatographic determination of ibuprofen in human plasma, *J. Chromatogr. B*, **337**, 410-414 (1986).
  - 22) Fagerholm, U., Johansson, M. and Lennernas, H., Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum, *Pharm. Res.*, **13**, 1336-1342 (1996).
  - 23) Cioli, V., Putzolu, S., Rossi, V., Barcellona, P. and Corradino, C., The role of direct tissue contact in the production of gastrointestinal ulcers by anti-inflammatory drugs in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **50**, 283-289 (1979).
  - 24) Bundgaard, H. and Nielsen, N. M., Glycolamide esters as a novel biolabile prodrug type for non-steroidal anti-inflammatory carboxylic acid drugs, *Int. J. Pharm.*, **43**, 101-110 (1988).
  - 25) Ford, J., Martin, S. W. and Houston, J. B., Assessment of intestinal permeability changes induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the rat, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **34**, 9-16 (1995).
  - 26) Desai, K. J., Biophysical model approach to the study of intestinal transport of drugs., *Thesis for Pharmaceutical Chemistry*, University of Michigan (1977).
  - 27) Iwatsubo, T., Yamazaki, M., Sugiyama, Y., Suzuki, H., Yanai, S., Chool Kim, D., Satoh, H., Miyamoto, Y., Iga, T. and Hanano, M., Epidermal growth factor as a regulatory hormone maintaining a low pH microclimate in the rat small intestine, *J. Pharm. Sci.*, **78**, 457-459 (1989).
  - 28) N. Lister, P. D. Bailey, I. D. Collier, C. A. R. Boyd and J. R. Bronk, The influence of luminal pH on transport of neutral and charged dipeptides by rat small intestine, in vitro., *Biochim. Biophys. Acta*, **1324**, 245-250 (1997).
  - 29) H. Lennernas, Does fluid flow across the intestinal mucosa affect quantitative oral drug absorption? Is it time for a reevaluation?, *Pharm. Res.*, **12**, 1573-1582 (1995).
  - 30) Chan and B. H. Stewart, Physicochemical and drug-delivery considerations for oral drug bioavailability. *Drug Discov. Today* **1**, 461-473 (1996).
  - 31) Satterwhite, J. H. and Boudinot, F. D., Pharmacokinetics of ketoprofen in rats: effect of age and dose, *Biopharm. Drug Disp.*, **13**, 197-212 (1992).
  - 32) Igor Legen and Albin Kristl, pH and energy dependent transport of ketoprofen across rat jejunum in vitro, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **56**(1), 87-94 (2003).
  - 33) M. A. C. Pérez, H. G. Díaz, C. F. Teruel, J. Plá-Delfina and M. B. Sanz, A novel approach to determining physicochemical and absorption properties of 6-fluoroquinolone derivatives: experimental assessment, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **53**, 317-325 (2002).
  - 34) Chiou, W., Determination of drug permeability in a flat or distended stirred intestine, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **32** 474-482 (1994).