

Naloxone의 Polyphosphazene 이식제제에 관한 연구

서성연 · 박주애 · 김길수[†]

이화여자대학교 약학대학

(1997년 8월 20일 접수)

Release and Bioavailability of Naloxone Sustained-Release Implants

Sung-Yun Suh, Joo-Ae Park and Kil-Soo Kim[†]

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

(Received August 20, 1997)

For the effective administration of naloxone, we attempted to investigate the naloxone sustained-release implants. Using the biodegradable polymer, poly((diethyl glutamate)-co-(ethyl glycinate)phosphazenes)(PGGP), the implantable devices containing naloxone hydrochloride(NLX·HCl) and naloxone base(NLX) were prepared. The release rates of NLX and NLX·HCl were compared. Influences of NLX contents on release rates were examined. For pharmacokinetic studies, NLX and NLX·HCl loaded devices were implanted subcutaneously in rabbits and then the plasma concentrations of NLX were determined by HPLC(ECD). NLX-containing devices were implanted with various doses and pharmacokinetic parameters according to dose were calculated. The relative bioavailabilities were evaluated and compared. Incorporation of NLX in the polymer led to a slow release. There were no differences of release rates based on drug contents. In pharmacokinetic parameters determined in 216 hours, NLX loaded devices resulted in enhanced bioavailability with the higher AUC ($p < 0.01$) than NLX·HCl loaded devices and MRT was significantly ($p < 0.05$) increased. This result demonstrates that NLX is more suitable for sustained release devices than NLX·HCl. Therefore it is anticipated that the effective concentrations of naloxone could be maintained for longer periods and bioavailabilities could be improved by naloxone sustained-release implants, with varying drug base/hydrochloride.

Keywords—Naloxone, Biodegradable polyphosphazene, Bioavailability

현재 전세계적으로 건강과 경제에 심각한 문제를 불러일으키고 있는 마약중독을 해결하기 위해서는 그 예방이 가장 좋은 방법이지만 일단 중독 후의 치료법으로는 마약길항제의 사용이 필수적이다. 마약중독환자의 장기치료라는 특성을 고려할 때 조절방출제(DDS)의 개발이 요구되며, 다양한 생체분해성 고분자를 이용한 마약길항제의 서방성이식제제화에 관한 연구가 진행되고 있다.¹⁾

생체분해성 고분자인 polyphosphazenes의 경우, 지금까지는 주로 치환기의 종류와 치환율을 변화시켜 방출 및 분해속도를 조절하고자 하였다. 그러나 poly(DL-lactic acid)의 경우 염기성 약물인 thioridazine³⁾,

clonidine⁴⁾ 등의 봉입으로 분해속도가 촉진되었으며 quinidine⁵⁾, gentamycin⁶⁾ 등으로 고분자를 안정화시켜 분해를 지연시킨 예가 있고, Park 등은⁷⁾ 수용성과 분자량이 각각 다른 세 가지 모델 약물로 mannitol, inulin, stearic acid를 사용하여 이들이 polyanhydride의 분해에 미치는 영향을 연구하여 생분해성인 polyanhydride의 분해는 고분자특성에만 의존하는 것이 아니라 봉입되는 약물의 특성에도 의존적임을 밝혔다. 그러므로 약물 송달 체제에 있어 봉입된 약물과 고분자 매트릭스의 상호작용이 고려되어야 한다. Polyphosphazenes에서는 melphalan과 그의 에스테르형인 melphalan methyl ester·2HCl와의 방출양상 비교가 이루어진 바 있으나 그 외의 약물에 의한 방출 및 분해속도에 대해서는 아직 연구되지 않았다.

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

본 논문에서는 생체분해성 고분자인 PGGP를 이용하여 만든 나록손 이식제에서 약물의 염산염과 염기형의 봉입, 약물투여량 등을 변화시켜 방출 및 분해실험을 통해 조절방출의 가능성을 검토하고, *in vivo*에서의 약물속도론적 파라미터와 생체이용률을 구하여 유효혈중농도가 지속될 수 있는 가장 적절한 투여 형태를 찾고자 하였다.

실험방법

시약

염산 나록손은 삼진제약에서 제공받았으며, 고분자의 주재료인 phosphonitrilic chloride trimer는 Aldrich Chemicals에서 구입하였다. 치환체인 glycine ethyl ester hydrochloride와 glutamic acid diethyl ester hydrochloride는 Sigma Chemical Co.로부터 구입하였다. 기타 naloxone의 정량에 사용한 시약은 HPLC grade, 특급 또는 1급을 사용하였다.

기기

고분자의 물성측정에는 IR-spectrophotometer (Perkin-Elmer 1420), GPC(Waters 510 pump, Styragel® HR 5E, 4E, 2 칼럼, Waters R401 Differential refractometer), DSC(DuPont 2100)등을 사용하였으며 용출시험에는 shaking water bath (CHANG SHIN Co.), 분해속도측정에는 freeze dry(LABCON Co.), 약물의 정량에는 HPLC (Waters 510 HPLC pump, Waters 745B Data Module, esa Coulochem II ECD detector와 Waters 484 UV detector)를 사용하였다.

PGGP의 합성, 확인 및 물리적 성질

생체분해성 고분자인 PGGP를 Park 등⁷⁾의 방법으로 합성하고 IR spectrum을 측정하여 PGGP의 합성 여부를 확인하였다. GPC를 사용하여 분자량을 측정하였다. 이동상은 tetra-hydrofuran이었고 유속은 1.0 ml/min, 칼럼의 온도는 30°C였다. 측정 시료를 각각 0.3% 농도로 THF에 녹여 injection하였다. 분자량표준품은 polystyrene monodisperse standards를 사용하였다.

DSC thermogram으로 고분자의 T_g 를 측정하였다. 시료양은 18±5 mg, -100°C~150°C의 범위에서 10°C/min의 속도로 측정하였다.

이식정의 제조

Casting법⁷⁾에 의해 5% NLX·HCl과 5, 2.5, 1.25%

NLX을 함유한 PGGP 이식정을 제조하였다. *In vivo* 약물속도론적 평가를 위한 이식정은 무균상자 내에서 무균조작하여 제조, 건조하였다.

NLX·HCl 및 NLX을 함유한 PGGP의 약물 방출 및 분해

제조된 이식정의 방출실험을 pH 7.4 인산염 완충액에서 30 rpm으로 행하였다. 일정시간 간격으로 검액을 취하여 고속액체크로마토그래프법 (HPLC)에 따라 μ -Bondapak C₁₈(10 μ m, 3.9 mm×30 cm) 칼럼, UV 검출기(280 nm)를 사용하여 1-pentanesulfonic acid·Na(0.871 g/l)을 함유한 acetonitrile-H₂O(70:30)의 이동상으로 분리, 정량하였다. NLX·HCl 표준용액으로 검량선을 작성하여 방출된 NLX 및 NLX·HCl의 양을 계산하였다. 이때 사용된 검량선은 $Y=0.0002316X+0.79241$ ($r=0.9999$) (X : peak area, Y : concentrations)으로 직선성이 성립하였다.

각 실험은 3회 또는 4회씩 실시하였다.

분해속도측정은 방출시험과 동일한 조건 및 방법으로 행하였으며 각 실험은 3회씩 실시하였다.

NLX·HCl 정맥투여 및 혈액채취

건강한 백색 토끼(수컷)를 실험동물로 사용하였으며, 각 실험 모두 실험 24시간 전부터 절식시키고 물은 자유로이 섭취시켰다. NLX·HCl를 주사용 멸균 생리 식염수에 녹여 건강한 백색 토끼 4마리의 귀정맥에 각각 0.5 mg/kg을 투여하였다. 주사액의 제조는 무균상자 내에서 실시하였으며 만든 주사액은 24시간 이내에 사용하였다. 투여 후 일정 시간 간격으로 귀정맥을 통해 채혈하였다.

이식시로 제조, 이식수술 및 혈액 채취

이식하루 전날 토끼의 등부위를 제모하였다. 2% lidocaine으로 이식부위를 침윤마취시키고, 목에서 10 cm 아래쪽 중앙을 길이 1 cm되도록 절개하였다. 절개한 부위를 통해 이식정을 양쪽으로 나누어 삽입한 후 봉합하였다. 투여량은 NLX·HCl 20 mg/kg, NLX 20 mg/kg, 10 mg/kg, 5 mg/kg(NLX·HCl로서)등으로 하였다. 각 군은 4마리 또는 3마리로, 이식 직 후부터 일정시간 간격으로 토끼의 귀정맥에서 채혈하였다.

NLX의 혈장농도분석

채혈한 혈액을 즉시 3000 rpm에서 15분 원심분리하여 얻은 혈장 200 μ l에 내부 표준액(50 ng/ml nal-trexone)을 30 μ l씩 가하였다. 1M sodium bicarbonate buffer(pH 9.1)를 250 l 가한 후, CHCl₃: 2-propanol을 9:1로 섞은 추출 용매 1 ml를 넣어 진

탕하였다. 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층을 제거하고 유기층의 일정량(500 μ l)을 취하여 상층에서 질소가스로 완전 건조시켰다. 다시 이동상 40 μ l에 녹여 HPLC로 정량하였다. HPLC분석조건은 Moon 등⁸⁾에서와 동일하였다.

약물속도론적 파라미터 및 생체이용률

토끼의 혈장농도 data로부터 약물속도론적 파라미터를 계산하였다. i.v.제제를 기준으로 한 각 이식제제의 상대 생체이용률(relative bioavailability)을 다음과 같이 계산하였다.

Relative bioavailability (%)

$$= \frac{[AUC]_{imp} \times Dose_{i.v.}}{[AUC]_{i.v.} \times Dose_{imp}}$$

여기서 $[AUC]_{imp}$ 는 각 이식제제의 AUC, $[AUC]_{i.v.}$ 는 i.v.시의 AUC, $Dose_{imp}$ 는 각 이식제제의 투여량(NLX·HCl기준), $Dose_{i.v.}$ 는 i.v.의 투여량이다. NLX·HCl와 NLX의 약물속도론적 파라미터 및 생체이용률의 통계적인 유의성 검정은 t-test로 행하였으며 NLX의 투여량에 따른 유의적 차이는 분산분석(ANOVA)을 사용하여 계산하였다. 분석 program은 PCSTAT를 이용하였고 각 data는 평균±표준 오차로 나타내었다. 봉입량, 농도 및 투여량은 모두 NLX·HCl량으로 나타내었다.

결과 및 고찰

PGGP의 합성, 확인 및 물리적 성질

PGGP의 IR spectrum에서 P-Cl의 피크는 나타나지 않았고 아미노산의 -NH, -C=O, -CH 등의 피크가 나타난 것으로 아미노산의 치환반응이 진행되었음을 확인하였다.

IR (film on BaF₂): cm⁻¹=3400-3200 (NH),

3000 (CH), 1750 (C=O ester),

1300-1100 (P=N)

GPC로 측정된 분자량과 DSC thermogram에서

Table I—Physicochemical Characterization of the Synthesized PGGP

	$M_{r,w}$	$M_{r,n}$	Polydispersity ($M_{r,w}/M_{r,n}$)	T_g (°C)
PGGP	33463	10683	3.132333	-11.59

$M_{r,w}$: Weight-average molecular weight

$M_{r,n}$: Number-average molecular weight

은 glass transition temperature(T_g)를 Table I에 정리하였다.

PGGP로부터 약물의 방출

NLX와 NLX·HCl를 PGGP에 봉입했을 때의 방출속도를 비교하였 때 산성이며 수용성인 NLX·HCl를 봉입했을 때보다 염기성이며 난용성인 NLX를 봉입했을 때 약물방출이 지연됨을 볼 수 있다(Figure 1). NLX·HCl의 경우 수용성이므로 고분자 내로 수분의 침투가 촉진되어 많은 pore와 channel을 형성하고 이로 인하여 침투한 수분과 접촉하는 고분자의 표면적이 넓어지므로 약물의 확산 속도 및 아미노산의 에스테르 결합의 가수분해속도가 빨라진다. Polyphosphazene의 분해는 에스테르형의 아미노산에서 에스테르기가 가수분해되어 카르복시산이 생기고 이것이 고분자 사슬의 분해에 촉매역할을 하기 때문이다.^{9,11)} 반면, 난용성의 NLX는 고분자 사슬의 소수성을 증가시켜 수분의 침투가 지연되므로 NLX·HCl보다 약물확산속도와 가수분해속도가 느려져서 방출속도가 감소하게 된다. 이는 Figure 2에 나타난 NLX·HCl 및 NLX을 봉입한 PGGP의 분해실험 결과와도 일치한다. 이러한 분해속도의 차이는 에스테르 결합이 분해되어 생성되는 고분자 사슬 말단의 카르복시산에 미치는 산성과 염기성 약물의 촉매역할 및 안정화 효과와도 관련이 있는 것으로 보인다. 따라서, 고분자 이식제로부터의 방출특성 및 *in vivo* lifetime을 결정하기 위해서는 고분자 이식제의 분해에 미치는 약물의 물리화학적 특성을 고려하여야 한다.

NLX의 봉입량에 따른 방출양상을 비교하기 위해 각

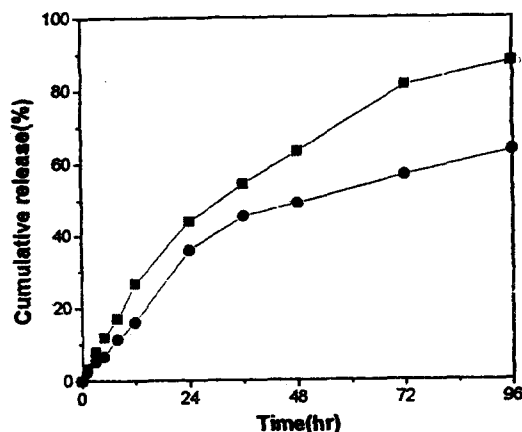


Figure 1—Cumulative release of 5% NLX·HCl/NLX from PGGP matrix in phosphate buffer pH 7.4 at 37°C. Key: ■: 5% NLX·HCl, ●: NLX (equivalent to 5% NLX·HCl)

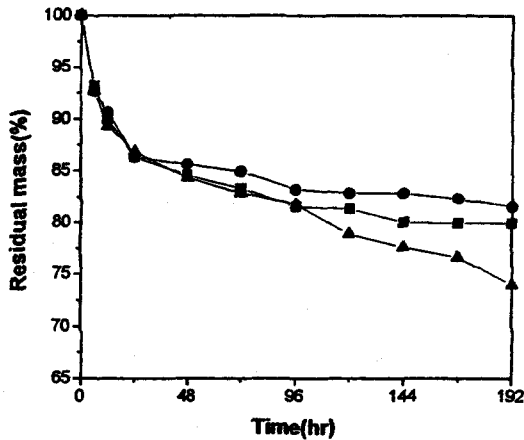


Figure 2—Influence of NLX·HCl/NLX on the degradation of PGGP in phosphate buffer pH 7.4 at 37°C (n=3). Key: ●: NLX loaded PGGP, ■: NLX·HCl loaded PGGP, ▲: control (drug is not loaded)

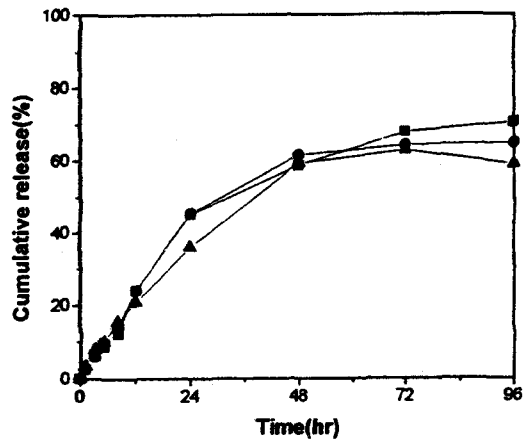


Figure 3—Influence of the drug contents on the *in vitro* release of NLX from PGGP matrix in phosphate buffer pH 7.4 at 37°C (n=4).

각 1.25%, 2.5%, 5% (NLX·HCl로서)의 NLX을 봉입하였을 때 누적방출율은 큰 차이를 보이지 않았다 (Figure 3).

약물속도론적 파라미터 및 생체이용율

생체이용율 및 생물학적 동등성을 평가하기 위해 사용되어 온 약물속도론적 파라미터에는 AUC, C_{max}, t_{max} 등이 있다.¹²⁾ AUC는 EBA(extent of bioavailability)를 규정하고 생물학적 동등성을 평가하기 위한 기준이며 일반제제뿐 아니라 서방성제제의 1회 혹은 반복투여 모두의 경우에 적용될 수 있다. 반면 RBA(rate of bioavailability)를 나타내는 C_{max} 및 t_{max}는 single point 파라미터이기 때문에 plateau나 multiple peak concentration-time curve로 나타나는 서방성 제제에는 쉽게 적용되기 어렵다. 또한 실험자의 관점이나 채혈 시간에 따라상당한 실험오차를 유

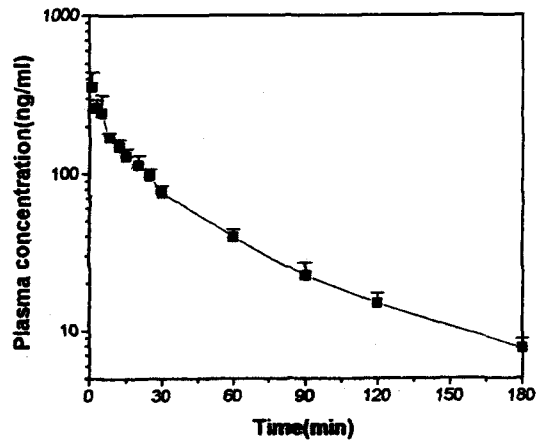


Figure 4—Plasma concentrations of naloxone hydrochloride after i.v. injection in rabbits (dose: 0.5 mg/kg). The error bars present the S.E.M. (standard error of the means) with n=4.

Table II—Pharmacokinetic Parameters Following i.v. Injection of NLX·HCl and s.c. Implantation of NLX·HCl/NLX loading PGGP Implants in Rabbits (n=4 or 3)

Pharmacokinetic Parameters	i.v. injection	s.c. implantation	
	0.5 mg/kg	NLX·HCL 5%	NLX 5%
AUC(ng·hr/ml)***	145.953±15.834 ^a	2130.453±108.968	3115.929±230.711**
t _{1/2} (hr)	0.775±0.053	-	-
MRT(hr)	0.890±0.071	37.147±1.399	47.203±3.014*
Cl _t (ml/hr)*	3531.66±327.15	9469.43±533.13	6528.74±499.06**
Vd _{ss} (ml)*	3116.87±320.49	351447.4±21494.24	305758.8±19726.89
BA(%) ^b	-	36.492±1.866	53.372±3.952**

^aEach value is the mean value ± S.E.M. (standard error of the means)

^bBA is relative bioavailability compared with i.v.

*: Significantly different from NLX·HCL (**: p<0.01, *: p<0.05 in t-test)

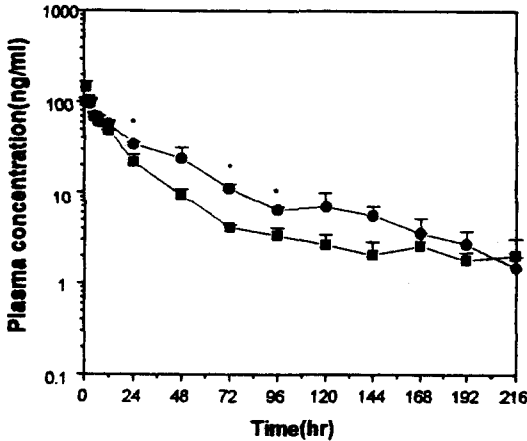


Figure 5—Plasma concentrations of naloxone after s.c. implantation of NLX·HCl/NLX loaded PGGP implants in rabbits. The error bars present the S.E.M. (standard error of the means) with n=4. Key: ■: NLX·HCl, ●: NLX

발할 수도 있다고 보고된 바 있다.¹³⁾ 이러한 C_{max} 및 t_{max} 의 제한성 때문에 서방성제제인 경우 MRT (mean residence time) 값으로도 나타낸다.

NLX·HCl를 정맥투여(0.5 mg/kg) 했을 때의 혈장 농도곡선 및 그 때의 약물속도론적 파라미터를 Figure 4 및 Table II에 나타내었다. 소실반감기 $t_{1/2}$ 는 약 47분으로 문헌¹⁴⁾에 보고된 바와 유사하며 MRT값은 약 55분이었다. NLX·HCl와 NLX을 봉입한 PGGP 이식정을 토끼에 이식했을 때의 약물의 혈장농도와 약물속도론적 파라미터 및 i.v.제제를 기준으로 하였을 때의 생체이용율을 Figure 5 및 Table II에 나타내었다. 적어도 216시간 동안 나록손의 혈장농도가 유효 혈장 농도인 1 ng/ml 이상으로 유지되었으며 임상적으로 사용되고있는 i.v.제제(Table II)와 비교할 때 모두 유의적 차이(p<0.0001)를 나타내었다. 특히

MRT값이 크게 증가되었다. NLX을 봉입한 이식제제의 경우에 NLX·HCl와 비교할 때 AUC가 유의성 있는(p<0.01) 증가를 보여 더 높은 생체이용율을 나타내었으며, MRT값이 증가하고(p<0.05) Cl_t 는 감소하여(p<0.01) NLX이 지속성 제제에 더 적합한 것을 알 수 있었다. 이것은 방출 실험에서 나타났듯이 NLX이 NLX·HCl에 비하여 초기의 약물방출이 지연되므로 좀더 지속적인 방출이 이루어지며 상대적으로 지용성이 커서 소실속도정수가 작아지기 때문으로 생각된다.

NLX의 투여량을 각각 20 mg/kg, 10 mg/kg, 5 mg/kg (NLX·HCl로서)로 하였을 때의 약물속도론적 파라미터와 혈장농도곡선을 Figure 6와 Table III에 나타내었다. 투여량간의 AUC와 상대적 생체이용율이 유의적 차이를 나타내었으나 용량 의존적 경향을 나타내지 않았다(Figure 7). 용량 비의존성을 NLX의 장간순환에 의한 것으로 설명한 문헌¹⁵⁾이 있으나 측정된 혈중농도

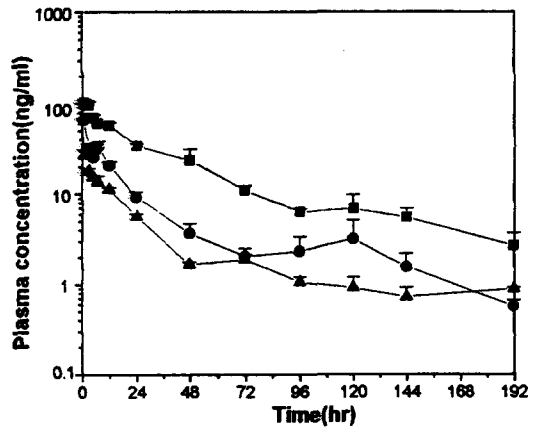


Figure 6—Plasma concentrations of naloxone after s.c. implantation of NLX loaded PGGP implants in rabbits. The error bars represent the S.E.M. with n=4 (20 mg/kg, 10 mg/kg) or n=3 (5 mg/kg). Key: ■: NLX 20 mg/kg, ●: NLX 10 mg/kg, ▲: NLX 5 mg/kg

Table III—Pharmacokinetic Parameters of Naloxone following Implantation of PGGP NLX Implants in Rabbits

Pharmacokinetic Parameters	NLX dose mg/kg		
	20	10	5
AUC(ng·hr/ml)***	3069.259±227.409	963.765±104.368 ^a	525.088±31.002 ^a
MRT(hr)	44.838±3.102	39.681±5.819	45.955±6.729
Cl_t (ml/hr)*	66.26.95±501.16	10759.17±1190.79 ^a	9593.29±601.94a
Vd_{ss} (ml)*	294765.05±19875.71	410966.4±29819.96 ^a	436.811±52853.34 ^a
BA(%) ^b	52.573±3.895	33.016±3.5e75 ^a	35.977±2.124 ^a

^aEach value is the mean value±S.E.M. (standard error of the means)

^bBA is relative bioavailability compared with i.v. (dose: 0.5 mg/kg)

***: p<0.001, **: p<0.01, *: p<0.05 in ANOVA, 20 mg/kg(n=4), 10 mg/kg(n=4), 5 mg/kg(n=3)

^aSignificantly different from 20 mg/kg (p<0.05)

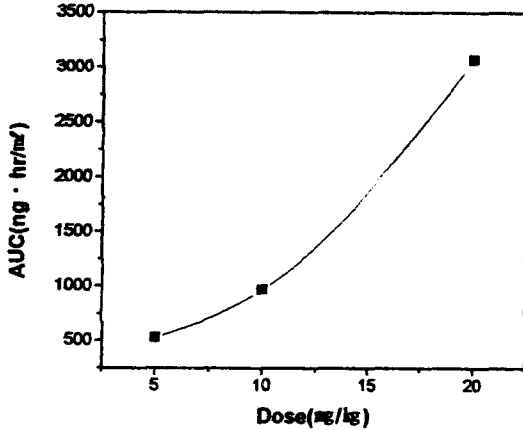


Figure 7—Plotting of the area under the plasma concentration-time curve(AUC) as a function of the dose of NLX after s.c. implantation in rabbits.

변화 양상으로 보아 capacity limited elimination effect¹⁰⁾에 의한 것으로 생각된다. 약물대사효소가 포화농도 이상의 약물에 대해서는 대사능력을 상실하므로 약물의 소실이 약물의 농도에 비례하여 증가하지 못하고 따라서 약물의 흡수가 투여량 증가율보다 더 크게 증가되는 것이다. MRT값은 유의적 차이를 나타내지 않았다.

결 론

PGGP에 수용성이고 산성인 NLX·HCl을 봉입한 이식제에 비하여 난용성이며 염기성인 NLX을 봉입한 이식제에서 약물확산속도 및 고분자의 분해속도가 감소하여 약물의 방출이 지연되었다. 토기에 이식 후 216시간까지의 혈중농도에서 약물속도론적 파라미터를 분석한 결과 NLX·HCl과 비교할 때 NLX을 봉입한 이식제에의 경우에 AUC가 유의성 있는($p < 0.01$) 증가를 보여 더 높은 생체이용율을 나타내고 MRT값이 증가하여($p < 0.05$) 지속성 제제에 더 적합하였다. 투여량에 따른 비교에서는 용량 의존적 경향을 나타내지 않았다. 따라서 마약중독치료를 위한 서방성 이식제에서 나록손의 염기형과 염산염을 이용한 조절 방출로써 나록손의 유효혈중농도의 지속 및 생체이용률의 증가가 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 연구는 1996년도 이화여자대학교 교내연구비지원에 의한 연구이며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) R.C. Capozza, L. Sendelbeck and W. and J. Balkenhol, Preparation and Evaluation of a bioerodible naltrexone delivery system, in: R. T. Kostelnik (Eds.), *Polymeric Delivery Systems*, Gordon and Breach, New York, 59-73 (1978).
- 2) S. Li, S. Girod-Holl and M. Vert, Hydrolytic degradation of poly(DL-lactic acid) in the presence of caffeine base, *J. Controlled Release*, **40**, 41-53 (1996).
- 3) H.V. Maulding, T.R. Tice, D.R. Cowsar, J.W. Fong, J.E. Pearson and J.P. Nazareno, Biodegradable microcapsules: acceleration of polymeric excipient hydrolytic rate by incorporation of a basic medicament, *J. Controlled Release*, **3**, 103-117 (1986).
- 4) A. Kishida, S. Yoshioka, Y. Takeda and M. Uchiyama, Formulation-assisted biodegradable polymer matrices, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1954-1856 (1989).
- 5) R. Bodmeier, K.H. Oh and H. Chen, The effect of the addition of low molecular weight poly(DL-lactide) on drug release from biodegradable poly(DL-lactide) drug delivery systems, *Int. J. Pharm.*, **51**, 1-8 (1989).
- 6) J. Mauduit, N. Bukh and M. Vert., Gentamycin/poly(lactic acid) blends aimed at sustained release local antibiotic therapy administered per-operatively. I. The case of gentamycin base and gentamycin sulfate in poly(DL-lactic acid) oligomers, *J. Controlled Release*, **23**, 209-220 (1993).
- 7) J.A. Park, S.J. Lee, H.K. Kim and K.S. Kim, Controlled release dosage form of narcotic antagonist(I): synthesis of biodegradable polyphosphazenes and preparation and release characteristics of naloxone implant, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **25**(2), 109-116 (1995).
- 8) M.R. Moon, J.A. Park, S.J. Lee, H.K. Kim and K.S. Kim, Controlled release dosage form of narcotic antagonist(II): biocompatibility and pharmacokinetics of naloxone implant, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **25**(2), 117-123 (1995).
- 9) J.H.L. Crommen, E.H. Schacht and E. H.G. Mense, Biodegradable polymers I. Synthesis of Hydrolysis-sensitive poly-[(organo)phosphazenes], *Biomaterials*, **13**, 511-520 (1992).
- 10) J. Crommen, J. Vanclorpe and E.H. Schacht, Degradable polyphosphazenes for biomedical applications, *J. Controlled Release*, **24**, 167-180 (1993).

- 11) A.R. Allcock, T.J. Fuller, D.P. Mack, K. Matsumura and K.M. Smelz, Synthesis of poly [(amino acid alkyl ester) phosphazene], *Macromolecules*, **10**, 824- 830 (1977).
- 12) M. Gibaldi and D. Perrier, *Pharma-cokinetics, 2nd Edition*. New York, Marcel Dekker, Inc., 145-198 (1982).
- 13) M. Bialer, S. Sussan, O.A. Salach, H.D. Danenberg, J.B. David, Y. Gibor and A. Laor, Criteria to assess in vivo performance of sustained release products: Application to diltiazem formulations, *J. Pharm. Sci.*, **84**(10), 1160-1163 (1995).
- 14) American Society of Hospital Pharmacists, 94 *AHFS Drug Information ASHP*, American Hospital Formulary Service, 1335-1344 (1994).
- 15) E.R. Garrett, W.C. Shyu and A. Ulubelen, Pharmacokinetics of morphine and its surrogates VII: Naloxone and naloxone conjugate pharmacokinetics in dogs as a function of dose and as affected by simultaneously administered morphine, *J. Pharm. Sci.*, **75**, 1127-1136 (1986).
- 16) L. Lachman, H.A. Lieberman and J.L. Kanig, *The theory and practice of industrial pharmacy, third edition*, LEA & FEBIGER · PHILADELPHIA, 216-218 (1986).