

Hromatografske metode za predviđanje apsorpcije leka posle oralne primene

Olivera Čudina^{*}, Sote Vladimirov

Institut za farmaceutsku hemiju i analitiku lekova, Farmaceutski fakultet,
Univerzitet u Beogradu, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

Kratak sadržaj

Savremeni razvoj kombinatorijalne hemije omogućio je sintezu velikog broja jedinjenja sa potencijalnom biološkom aktivnošću. Ispitivanja koja uključuju izbor jedinjenja i studije farmakoloških osobina su dugotrajna, skupa i obično zahtevaju primenu eksperimentalnih životinja. Iz etičkih i/ili ekonomskih razloga, veliki naponi ulažu se u razvoj *in vitro* sistema koji mogu da pruže značajne informacije u ranim fazama razvoja leka.

Hromatografski modeli za predviđanje apsorpcije leka su eksperimentalno jednostavni, tačni i ne zahtevaju primenu eksperimentalnih životinja. Primena reverzno-faznih hromatografskih sistema dala je dobre korelacije samo za homologe serije jedinjenja. Uvođenje amfifilnih struktura u stacionarnu i/ili mobilnu fazu je bitan uslov za simulaciju interakcija farmakološki aktivnih jedinjenja sa fosfolipidnim dvoslojem u membrani.

Ključne reči: Micelarna tečna hromatografija, apsorpcija leka,
bioparticiona micelarna hromatografija

* Autor za korespondenciju: e-mail: ocudina@pharmacy.bg.ac.yu

Uvod

Istraživanja novih farmakološki aktivnih jedinjenja uključuju i ispitivanja farmakokinetičkih osobina, kao što su apsorpcija, raspodela, metabolizam i izlučivanje. Poznato je da je glavna barijera za apsorpciju lekova posle oralne primene intestinalna mukoza i da se najveći broj lekova apsorbuje mehanizmom pasivne difuzije. Apсорpcija leka zavisi od brojnih fizioloških faktora među kojima su najvažniji permeabilnost membrane i motilitet gastrointestinalnog trakta. Na apсорpciju leka utiču formulacija leka kao i fizičko-hemijski faktori: rastvorljivost i brzina otpuštanja leka iz farmaceutske oblika (disolucija), stepen jonizacije i protolitičke konstante (pK), lipofilnost, veličina i oblik molekula, sposobnost građenja vodoničnih veza i amfifilnost.

U ranim fazama razvoja leka, prati se veliki broj jedinjenja koja su nepotpuno karakterizovana. Ispitivanja permeabilnosti mogu da se obave na eksperimentalnim životinjama, ali cena i tehnologija značajno umanjuju kapacitet ovih eksperimenata. *In vivo* studije permeabilnosti kroz humanu intestinalnu membranu su skupe, a kada se izvode sa nepotpuno ispitanim jedinjenjima, potencijalno su štetne za volontere. Na ovaj način permeabilnost može da se određuje samo za mali broj potpuno karakterizovanih farmakološki aktivnih jedinjenja.

Iz etičkih i/ili ekonomskih razloga, veliki naponi se ulažu u razvoj *in vitro* modela koji omogućavaju predviđanje permeabilnosti kroz intestinalnu membranu za veliki broj farmakološki aktivnih jedinjenja. Dodatna prednost ovih modela je bolje razumevanje različitih stupnjeva procesa apсорpcije. *In vitro* modeli obuhvataju različite metode kao što su raspodela leka u dvofaznim sistemima, retencija farmakološki aktivnih jedinjenja u hromatografskim sistemima sa surfaktantima, veštačke membrane, intestinalne ćelijske kulture, kompleksne metode na izolovanim životinjskim tkivima.

Hromatografske metode koje se koriste za ispitivanje permeabilnosti farmakološki aktivnih jedinjenja

Hromatografija može da se koristi kao pogodna tehnika za određivanje fizičko-hemijskih parametara i procenu hemijske i biološke aktivnosti jedinjenja. Hromatografski sistemi su dinamički sistemi u kojima je moguća dobra kontrola eksperimentalnih uslova, tako da su dobijeni retencioni podaci reproduktivni. Osnovne osobine jedinjenja (hidrofobne, elektronske i sterne) pod odgovarajućim eksperimentalnim uslovima određuju ponašanje jedinjenja i u hromatografskim i u biološkim sistemima (1). Primena retencionih parametara u postavljanju prediktivnih modela za farmakološki odgovor ispituje se u QRAR (model kvantitativnog odnosa retencije i dejstva) studijama (2,3).

Hromatografski modeli za predviđanje apsorpcije leka eksperimentalno su jednostavni, tačni i ne zahtevaju primenu eksperimentalnih životinja.

Kolone imobilizovane veštačkim membranama – IAM kolone

Parametri dobijeni korišćenjem konvencionalnih RP kolona daju dobre korelacije sa stepenom apsorpcije samo za homologne serije jedinjenja odgovarajućih farmakoloških grupa. Kolone IAM sadrže različite vrste jednoslojnih fosfolipida koji su kovalentno vezani za čestice silikagela (4,5). To su slobodni fosfolipidi ili smeše fosfolipida koje uglavnom sadrže fosfatidilholin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilglicerol, fosfatidnu kiselinu i fosfatidilserin. Artursson i Karlsson (6) su ispitivali korelaciju koeficijentata permeabilnosti na Caco-2 ćelijama i retencionih faktora u IAM sistemu određenih na pH 7,4 ($\log K_{IAM}$) za 11 strukturno različitih lekova ($r^2 = 0,58$). Koeficijent korelacije poboljšan je uvođenjem korekcije za veličinu molekula $\log \frac{K_{IAM}}{Mr}$ ($r^2 = 0,73$). Ispitivana je i korelacija permeabilnosti određene perfuzionom tehnikom na tankom crevu pacova i $\log K_{IAM}$ određenom na pH 5,4 ($r^2 = 0,63$). Veći koeficijent korelacije se i ovde postiže uvođenjem $\log \frac{K_{IAM}}{Mr}$ ($r^2 = 0,74$). Parametri hidrofobnosti određeni su za 29 jedinjenja tipa slabih organskih baza u sistemu u kome su kolone impregnirane lecitinom kovalentno vezanim za propilamino-silikagel (7). Metodologija IAM je u eksperimentalnom smislu jednostavna i omogućava *screening* velikog broja jedinjenja čija se apsorpcija ispituje. Metoda zahteva male zapremine rastvora, može da se automatizuje, a retencionna vremena modifikuju primenom organskih rastvarača (5) ili menjanjem sadržaja fosfolipida (8).

Hromatografija sa imobilizovanim lipozomima - IL hromatografija

Raspodela rastvorenog leka između lipozoma i vode koristi se za predviđanje pasivne intestinalne apsorpcije (9), jer su fosfolipidi sličniji biološkim membranama nego jednostavni izotropni rastvarači. Ova ispitivanja izvode se sa lipozomima koji su suspendovani u vodenom rastvoru, pri čemu se određuje raspodela rastvora ispitivanog jedinjenja između dvostrukog sloja lipozoma i vode (9,10). Metoda ILC uspešno opisuje humanu intestinalnu apsorpciju strukturno različitih lekova kod kojih je $\log P$ dao nezadovoljavajuće rezultate (9). Metoda je ograničena na protolitička jedinjenja, ali ne zahteva razvoj analitičkih postupaka koji su specifični za svako jedinjenje.

Hromatografski IL sistem koristi stacionarnu fazu u kojoj su lipozomi sterno, hidrofobno, elektrostatički ili kovalentno imobilizovani u kuglice

agaroza-dekstran gela. Priprema kolona je jednostavna i kolone su stabilne u toku dužeg vremenskog intervala. Velika prednost IL hromatografije u odnosu na IAM hromatografiju je odsustvo organskog rastvarača u mobilnoj fazi za eluiranje izrazito hidrofobnih jedinjenja (11). Metoda ILC je pogodna za ispitivanje interakcija lek/membrana, jer sadržaj fosfolipida za pripremu lipozoma može da se menja, tako da se dobijaju lipozomi koji po sadržaju fosfolipida, proteina i holesterola odgovaraju sastavu membrane. Lundahl i saradnici (12) su razvili različite tehnike za imobilizaciju lipozoma, proteolipozoma i membranskih vezikula. Beigi i saradnici (11) su pripremali kolone imobilizovanjem fosfatidilholinskih lipozoma jajeta u kuglice od agara i dekstrana (Superdex 200). Autori su ustanovili hiperboličnu zavisnost vrednosti apsorbovane doze oralno primenjenog leka od specifičnih faktora kapaciteta dobijenih u ILC ($\log K_S$) za set od 12 strukturno različitih jedinjenja. Isti autori poredili su retenciju seta od 17 jedinjenja na fosfolipidnim lipozomima jajeta sa retencijom na fosfatidilholinu (PC) jajeta, lipidnim lipozomima membrane i vezikulama i osim u slučaju PC, dobili slične rezultate (13). Iz dobijenih rezultata zaključeno je da je osnova dobrog modela za biomembrane heterogenost dvostrukog sloja koji simulira membranu. Autori su poredili i retenciju seta jedinjenja na IAM.PC koloni sa retencijom na koloni sa PC lipozomima, pri čemu je dobijena zadovoljavajuća korelacija ($r^2 = 0,83$).

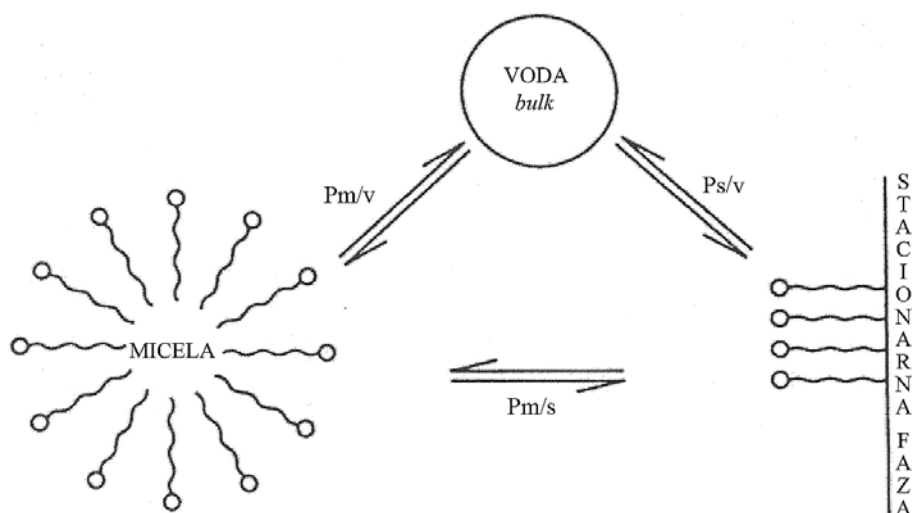
Određivanje particionog koeficijenta lipozom/voda za jonizabilna jedinjenja može da se izvodi u suspenziji lipozoma metodom pH-metrijske titracije (14). U sistemu u kome su lipozomi u sastavu biosenzorske površine, interakcije između leka i lipozoma direktno se prate korišćenjem SPR (*surface plasmon resonance*) tehnologije (15). Ovom metodom izvršena je gruba klasifikacija 27 farmakološki aktivnih jedinjenja prema stepenu intestinalne apsorpcije (visoka, umerena ili niska apsorpcija).

Micelarna tečna hromatografija (MLC)

Uvođenje amfifilnih struktura u stacionarnu i/ili mobilnu fazu je preduslov za simuliranje interakcija leka sa dvostrukim slojem fosfolipida u membrani. Amfifilni molekuli imaju afinitet za vodenu i za nepolarnu fazu i mogu da se koriste kao model sistemi za enzime i biomembrane. Pri nižim koncentracijama, amfifilni molekuli se rastvaraju u vodi. Pri nekoj višoj koncentraciji, amfifilni molekuli dostižu limit rastvorljivosti i počinju da formiraju klustere sa česticama koloidne veličine, tzv. micle. Micle imaju anizotropnu raspodelu vode unutar svoje strukture tj. koncentracija vode opada od površine prema unutrašnjosti, tako da je unutrašnjost micle potpuno

hidrofobna. Interakcija lek/micela može da se evaluira primenom dva deskriptora: molarnog kapaciteta solubilizacije (χ) i particionog koeficijenta micela/voda (K_x) koji je uspešno primenjen kao deskriptor za hidrofobnost (16,17).

Micelarna tečna hromatografija (MLC) je modifikacija reverzno-fazne tečne hromatografije koja kao mobilnu fazu koristi rastvor surfaktanta iznad kritične micelarne koncentracije, CMC (18,19). Micelarna mobilna faza dovodi do adsorbovanja monomera surfaktanta na stacionarnu fazu, što uslovljava hidrofobne i elektrostatičke interakcije. Prema "tri-faznom" modelu, retenciono ponašanje u MLC određeno je raspodelom rastvora jedinjenja između vode i micela ($P_{m/v}$), vode i stacionarne faze ($P_{s/v}$), kao i direktnom raspodelom rastvora jedinjenja između micela u mobilnoj fazi i stacionarne faze ($P_{m/s}$) (Slika 1).



Slika 1. Ravnotežni sistem u MLC

Pravilan izbor surfaktanta i sastava mobilne faze značajan je za bioparticioni proces. Za strukturno slična farmakološki aktivna jedinjenja i eksperimentalne uslove pod kojima su sva ispitivana jedinjenja u istom jonizovanom obliku, može se postići zadovoljavajuća korelacija, bez obzira na prirodu surfaktanta i sastav mobilne faze (20). Primena jonskih surfaktanata (natrijum-laurilsulfat, cetrimonijum-bromid) nije pokazala zadovoljavajuće rezultate u opisu bioparticionih procesa za strukturno različita jedinjenja (21). Detroyer i saradnici (22) su postavili linearni QRAR model korelacijom

retencionih faktora u MLC (natrijum-laurilsulfat + 10% *n*-propanol) i koeficijenata permeabilnosti na Caco-2 ćelijama i intestinalnim segmentima pacova za 6 beta-blokatora. Linearni QRAR modeli dobijeni metodom MLC dali su bolju korelaciju za taj set jedinjenja nego modeli koji koriste logP ili retencione faktore na IAM kolonama.

Retencioni parametri u IAM, ILC i MLC sistemima određeni su kombinacijom dva efekta: elektrostatičkim interakcijama između rastvorenog leka i površine lipida i raspodelom u lipidnoj fazi. To znači da retencija jedinjenja na ovim kolonama ne odražava uvek transport kroz ćelijsku membranu.

Bioparticiona micelarna hromatografija (BMC)

Bioparticiona micelarna hromatografija predstavlja hromatografski sistem u kome se kao surfaktant koristi polioksietilen (23) lauril etar (Brij 35) koji formira neutralni tip micela. Prednost nejonskog surfaktanta je niža CMC ($CMC_{\text{BRIJ 35}} = 9 \cdot 10^{-5} \text{ M}$), jer viša CMC jonskih surfaktanata nastaje kao posledica elektrostatičkih repulzija između njihovih polarnih grupa u miceli (23). Ovakav hromatografski sistem predstavlja *in vitro* tehniku za predviđanje apsorpcije lekova i dobro simulira uslove u organizmu, ekstracelularnim tečnostima i biološkim barijerama (24). Fosfolipidi, holesterol, masne kiseline i trigliceridi formiraju micelarne komplekse sa proteinima, tzv. lipoproteine (25). Prednost ovog hromatografskog sistema je i mogućnost analize hidrofobnih jedinjenja bez primene organskog modifikatora. Poznato je da drugi hromatografski sistemi (IAM metodologija) određuju retencione parametre izrazito hidrofobnih jedinjenja za različite koncentracije organskog modifikatora, a onda se ekstrapolacijom izračunavaju retencioni podaci za 0% organskog modifikatora (1).

U BMC sistemu koristi se nepolarna stacionarna faza C18 koja je posle saturacije modifikovana adsorbovanim monomerima surfaktanta Brij 35. Ovakom modifikovana stacionarna faza strukturno podseća na uređeni niz ugljovodoničnih lanaca u membrani. Adsorpcijom Brij 35 na stacionarnu fazu dolazi do povećanja hidrofobnosti stacionarne faze, ali ona ostaje neutralna. Hidrofilno/hidrofobni karakter adsorbovanih monomera podseća na uređeni niz ugljovodoničnih lanaca u membrani. Ovakav hromatografski sistem uspešno je primenjen u ispitivanju anestetičke blokade lokalnih anestetika koja zavisi od stepena jonizacije i hidrofobnosti ovih jedinjenja tipa slabih baza (26). Poznata je primena BMC u ispitivanju uticaja pH vrednosti različitih farmaceutskih oblika na dermalnu apsorpciju nesteroidnih antireumatika (27), predviđanju permeabilnosti kroz krvno-moždanu barijeru (28), ispitivanju aktivnosti heterogenih pesticida primenom QSPR (kvantitativni odnosi strukture i

osobina) metoda (29), proceni farmakoloških parametara lekova za kardiovaskularni sistem (30), ispitivanju mutagenih svojstava aromatičnih amina (31), kao i postavljanju QRAR modela za korelaciju retencionih faktora hinolona i njihove biološke aktivnosti u fiziološkim uslovima (32).

Literatura

1. Escuder-Gilabert L., Martinez-Pla J. J., Sagrado S., Villanueva-Camanas R. M., Medina-Hernandez M. J. Biopartitioning micellar separation methods: modelling drug absorption. *J. Chromatogr. B* 2003; 797: 21-35.
2. Seydel J. K., Albores Velasco M., Coats E. A., Cordes H-P., Kunz B., Wiese M. The importance of drug-membrane interaction in drug research and development. *Quant.Struct.-Act. Relat.* 1992; 11: 205-210.
3. Pidgeon C., Ong S., Choi H., Liu H. Preparation of Mixed Ligand Immobilized Artificial Membranes for Predicting Drug Binding to Membranes. *Anal. Chem.* 1994; 66: 2701-2709.
4. Pidgeon C., Ong S., Liu H., Qiu X., Pidgeon M., Dantzig A. H., Munroe J. Hornback W. J., Kasher J. S., Glunz L., Szczerba T. IAM chromatography: an in vitro screen for predicting drug membrane permeability. *J. Med. Chem.* 1995; 38: 590-594.
5. Valko K., Du C. M., Bevan C. D., Reynolds D. P., Abraham M. H. Rapid-gradient HPLC method for measuring drug interactions with immobilized artificial membrane: comparison with other lipophilicity measures. *J. Pharm. Sci.* 2000; 89: 1085-1096.
6. Artursson P., Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991; 175: 880-885.
7. Kaliszan R., Kaliszan A., Wainer I. W. Deactivated hydrocarbonaceous silica and immobilized artificial membrane stationary phases in high-performance liquid chromatographic determination of hydrophobicities of organic bases: Relationship to log P and CLOGP. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1993; 11: 505-511.
8. Osterberg T., Svensson M., Lundahl P. Chromatographic retention of drug molecules on immobilized liposomes prepared from egg phospholipids and from chemically pure phospholipids. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001; 12: 427-439.
9. Balon K., Riebsehl B. U., Muller B. W. Drug liposome partitioning as a tool for the prediction of human passive intestinal absorption. *Pharm. Res.* 1999; 16: 882-888.
10. Betageri G. V., Rogers J. A. Thermodynamics of partitioning of β -blockers in the n-octanol-buffer and liposome systems. *Int. J. Pharm.* 1987; 36: 165-173.

11. Beigi F., Yang Q., Lundahl P. Immobilized-liposome chromatographic analysis of drug partitioning into lipid bilayers. *J. Chromatogr. A* 1995; 704: 315-321.
12. Lundhal P., Beigi F. Immobilized liposome chromatography of drugs for model analysis of drug-membrane interactions. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1997; 23: 221-227.
13. Beigi F., Gottschalk I., Hagglund C. L., Haneskog L., Brekkan E., Zhang Y., Osterberg T., Lundahl P. Immobilized liposome and biomembrane partitioning chromatography of drugs for prediction of drug transport. *Int. J. Pharm.* 1998; 164: 129-137.
14. Avdeef A., Box K. J., Comer J. E. A., Hibbert C., Tam K. Y. pH-metric logP 10. Determination of liposomal membrane-water partition coefficients of ionizable drugs. *Pharm. Res.* 1998; 15: 209-215.
15. Danelian E., Karlen A., Karlsson R., Winiwarter S., Hansson A., Lofas S., Lennernas H., Hamalainen M. D. SPR biosensor studies of the direct interaction between 27 drugs and a liposome surface: correlation with fraction absorbed in humans. *J. Med. Chem.* 2000; 43: 2083-2086.
16. Čudina O., Karljiković-Rajić K., Ruvarac-Bugarčić I., Janković I. Interaction of hydrochlorothiazide with cationic surfactant micelles of cetyltrimethylammonium bromide. *Colloids and Surfaces A* 2005; 256: 225-232.
17. Čudina O., Janković I., Čomor M., Vladimirov S. Interaction of quinapril anion with cationic surfactant micelles of cetyltrimethylammonium bromide. *J. Colloid Interface Sci.* 2006; 301: 692-696.
18. Garcia Alvarez-Coque M. C., Torres-Lapasio J. R., Baeza-Baeza J. J. Modeling of retention behavior of solutes in micellar liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1997; 780: 129-148.
19. Khaledi M. G. Micelles as separation media in high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis: overview and perspectives. *J. Chromatogr. A* 1997; 780: 3-40.
20. Cuenca-Benito M., Sagrado S., Villanueva-Camanas R. M., Medina-Hernandez M.J. Quantitative retention-structure and retention-activity relationships of barbiturates by micellar liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1998; 814: 121-132.
21. Belena-Pozo I., Villanueva-Camanas R. M., Sagrado S., Medina-Hernandez M. J. Development and validation of a procedure for estimating the hydrophobicity of structurally unrelated compounds by micellar liquid chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* 1999; 37: 375-382.
22. Detroyer A., Vander Heyden Y., Carda-Broch S., Garcia Alvarez-Coque M.C., Massart D. L. Quantitative structure-retention and retention-activity relationships of β -blocking agents by micellar liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 2001; 912: 211-221.
23. Rangel-Yagui C. O., Pessoa JR A., Blankschtein D. Two-phase aqueous micellar systems - an alternative method for protein purification. *Braz. J. Chem. Eng.* 2004; 21: 531-544.

24. Molero-Monfort M., Escuder-Gilabert L., Villanueva-Camanas R. M., Sagrado S., Medina-Hernandez M. J. Biopartitioning micellar chromatography: an in vitro technique for predicting human drug absorption. *J. Chromatogr. B* 2001; 753: 225-236.
25. Guyton A., Hall J. *Medicinska fiziologija, Savremena Administracija*, Beograd 2003.
26. Canos-Rius N., Martin-Biosca Y., Sagrado S., Villanueva-Camanas R. M., Medina-Hernandez M. J. Estimation of the effect of the acidosis and alkalosis on the anesthetic potency of local anesthetics by biopartitioning micellar chromatography and micellar electrokinetic chromatography. *Eur. J. Med. Chem.* 2005; 40: 215-223.
27. Martinez-Pla J. J., Martin Biosca Y., Sagrado S., Villanueva-Camanas R. M., Medina-Hernandez M. J. Evaluation of the pH effect of formulations on the skin permeability of drugs by biopartitioning micellar chromatography. *J. Chromatogr. A* 2004; 1047: 255-262.
28. Escuder-Gilabert L., Molero-Monfort M., Villanueva-Camanas R.M., Sagrado S., Medina-Hernandez M. J. Potential of biopartitioning micellar chromatography as an in vitro technique for predicting drug penetration across the blood-brain barrier. *J. Chromatogr. B* 2004; 807: 193-201.
29. Ma W., Luan F., Zhang H., Zhang X., Liu M., Hu Z., Fan B. Quantitative structure-property relationships for pesticides in biopartitioning micellar chromatography. *J. Chromatogr. A* 2006; 1113: 140-147.
30. Wang S., Yang G., Zang H, Liu H., Li Z. QRAR models for cardiovascular system drugs using biopartitioning micellar chromatography. *J. Chromatogr. B.* 2007; 846: 329-333.
31. Torres-Cartas S., Martin-Biosca Y., Villanueva-Camanas R. M., Sagrado S., Medina-Hernandez M. J. Biopartitioning micellar chromatography to predict mutagenicity of aromatic amines. *Eur. J. Med. Chem.* 2007; 42: 1396-1402.
32. Wu L-P., Chen Y., Wang S-R., Chen C., Ye L-M. Quantitative retention-activity relationship models for quinolones using biopartitioning micellar chromatography. *Biomedical Chromatography* 2008; 22: 106-114.

Chromatographic methods in predicting oral drug absorption

Olivera Čudina, Sote Vladimirov

Institute of Pharmaceutical Chemistry and Drug Analysis, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

Summary

Today with the development of combinatorial chemistry hundreds and hundreds of compounds that have potential biological activity are synthesized. The studies which include the selection of drug candidates and the study of their pharmacological properties are time consuming, expensive and usually require the use of experimental animals. For ethical and/or economical reasons, a great deal effort is currently being made to develop *in vitro* systems and provide primary information about the capability of new compounds in the first steps of drug development.

Chromatographic models to predict drug absorption are experimentally easier than membrane-based permeability assays, because of their simplicity, accuracy and avoidance of experimental animals. Different chromatographic systems have been proposed to predict oral drug absorption. The use of conventional reversed-phase columns only has proven to provide adequate correlations for homologous series of compounds. The inclusion of amphiphilic structures in the stationary and/or mobile phases is a pre-requisite to emulate interactions of drugs with the phospholipids bilayers in the membranes.

Key words: Micellar liquid chromatography, Drug absorption, Biopartitioning micellar chromatography
