

아시클로비아와 수용성 고분자를 이용한 고체분산체 제조 및 생체외 방출

안용산 · 이하영* · 홍금덕 · 정성범 · 조선행** · 이종문 · 이해방** · 강길선†

전북대학교 고분자·나노공학과, *전북대학교 유기신물질 공학과, **한국화학연구원 생체의료고분자팀
(2004년 4월 27일 접수 · 2004년 5월 17일 승인)

Preparation and *In Vitro* Test of Solid Dispersion using Acyclovir and Water Soluble Polymer

Yong San Ahn, Ha Young Lee*, Keum Duck Hong, Sung Beum Jung, Sun Hang Cho**,
John Moon Rhee, Hai Bang Lee** and Gilson Khang†

Department of Polymer·Nano Science and Technology, Chonbuk National University, 664-14, Dukjin, Jeonju 561-756, Korea
*Department of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University, 664-14, Dukjin, Jeonju 561-756, Korea
**Nanobiomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yusung, Daejeon 305-600, Korea
(Received April 27, 2004 · Accepted May 17, 2004)

ABSTRACT—Acyclovir(ACV) is an important antiviral drug used extensively against infections caused by herpes viruses, especially herpes simplex and varicella zoster. Because of high crystallinity and large particle size, solubility of intact ACV is very low in water(1.3 mg/ml). The goal of this work is to enhance the solubility of ACV. To make solid dispersion, Poly-ethyleneglycol, Hydroxypropylmethylcellulose and Polyvinylpyrrolidone were used as polymer carriers in this work. Polymer carriers and drug were dissolved in acetic acid. And then spray drying method and freeze drying method were used as solvent extraction. Morphology, crystallization and functional group were characterized using SEM, XRD and FT-IR. The result of *in vitro* test showed the sample using PVP as polymer carrier had higher dissolution rate(up to 466%) than intact ACV.

Key words—Acyclovir, Solid dispersion, Polymer carriers

약물의 장내 투과도와 함께 용해도는 생체이용률과 직결된다.^{1,2)} 따라서 체내에 투여된 약물이 흡수되기 위해서는 우선 체액에 용해되어 입자가 나노 사이즈로 감소해야 한다.^{3,4)} 약물의 흡수율 증진을 위해 필요한 진척리인 용해도 향상을 위한 방법으로는 용매화물이나 수용성염 형성, 가용성 복합체 형성, 계면활성제를 이용한 마이셀 형성, 프로드럭, 포접 복합체 등이 있으며, 이러한 방법을 통해 우수한 효과를 지녔으면서도 이용 불가했던 약물들이 개량 신약으로 등장하기에 이르렀다.⁵⁻¹⁶⁾

이들 중 가장 간단한 방법은 약물의 기계적 분쇄 등을 통한 입자크기의 감소 및 비표면적을 증대시키는 방식이다. 그러나 이러한 분말은 입자들끼리 서로 뭉치는 경향을 보였으며, 또한 입자들 사이에 존재하는 미세한 공기층이 오히려 용해거동을 방해하는 것으로 밝혀졌다. 이를 보완하기 위해서 용해도의 국부적인 증가 효과를 겸비한 나노 분자 수준의 분산체를 이용, 용해질의 접촉면적이 최대화 하는 방법이

제안되었다.^{17,18)}

본 실험에서 이용한 DDS인 고체분산체(solid dispersion)는 난용성 약물과 수용성 고분자를 동일한 용매에 용해시킨 후 용매를 제거하여 균일하게 혼합하는 방식이다.¹⁹⁻²¹⁾ 설파티아졸과 수용성 운반체인 우레아의 공용물이 설파티아졸 단독 투여보다 우수한 성능이 확인된 이후 빠른 방출과 서방성 제제 전반에 걸쳐 고체분산의 연구 영역이 발전해가고 있다.²²⁾ 고체분산체 과정을 거치면서 약물은 결정성이 감소하고, 입자 크기 또한 감소하여 용해도가 증가하게 되고 결국 생체 이용률이 증가할 수 있게 된다.²³⁻²⁵⁾

이 실험에서는 모델 약물로 항바이러스제 아시클로비아(acyclovir, ACV)를 이용하였다. 점막 및 피하에 발생한 재발성 단순 포진(herpes simplex virus type, HSV1, HSV2) 바이러스의 예방과 치료에 효과적인 ACV는 DNA 복제를 방해하여 항바이러스 작용을 한다.^{26,27)} 또한 단순 포진성 뇌염과 대상포진(HZV), 수두 대상 포진 바이러스(varicella zoster virus), 생식기 헤르페스 감염 및 치료에도 효과가 있는 것으로 밝혀진 약물이다.^{28,29)} ACV는 현재 여러 형태로 제조되어 이용되고 있으나, 물에 거의 녹지 않는 난용성 약

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 063)270-2336, E-mail : gskhang@chonbuk.ac.kr

물이며(1.3 mg/ml), 강산 및 강염기에서 용해도가 증가하는 것으로 보고되어 있다.^{30,31)} HSV1, HSV2 바이러스의 억제 를 위해서는 ACV의 15~20%의 낮은 생체이용률로 인해서 1일 5회 200 mg씩 4시간 간격으로 자주 투약해야 하는 번 거로움이 있다.^{32,33)} 투여 횟수 감소를 위한 ACV의 과다 투 여는 또한 구토, 신기능 손상, 발진, 신경독성 등의 부작용 이 발생할 수 있어서 생체이용률 향상을 위한 다양한 용해 도 향상 방법이 시도되고 있다.^{4,34)}

본 연구에서는 난용성 약물 ACV와 수용성 고분자인 PEG, HPMC 및 PVP를 용매인 아세트산에 용해시켜 용매 증발법 을 이용, 고체분산체를 제조하여 약물의 입자크기 및 결정성 감소를 통해 흡수율 증진을 위한 용해도 향상을 시도하였다.

실험 방법

시약

모델 약물로 사용된 ACV 원료 분말은(Zhejiang Xianju Charioteer, 상하이, 중국) 구입하여 사용하였다. 고체분산체 제조에 이용된 고분자들은 폴리에틸렌 글리콜(PEG 6000, Sigma Chem. Co., 밀워키, 미국), 폴리비닐 피롤리돈(PVP-K30, Aldrich Chem. Co., 미주리, 미국), 하이드록시 프로필 메틸 셀룰로오스(HPMC, Junsei Chem. Co., 도쿄, 일본)를 이용하였다. 모델 약물과 수용성 고분자 용해에 이용된 용매 는 아세트산(Junsei, 도쿄, 일본) 순도 99.2%인 것을 추가 정제 과정 없이 그대로 이용하였다. 약물함량 분석을 위한 용매 아세토니트릴(Burdic & Jackson, 마이애미, 미국)은 HPLC 등급을 그대로 이용하였다. 증류수(Milli-Q, Millipore, 몰심, 프랑스)는 18.2 M Ω -cm의 순수한 것을 사용하였다.

기기 및 기구

ACV와 고분자의 고체분산체 제조를 위한 분사 건조기는 EYELA(SP-1000, 도쿄, 일본)를 이용하였으며, 동결 건조기 는 Bondiro(Ilshin, 대전, 한국)를 사용하였다. 급속 동결기는 Gudero(Ilshin, 대전, 한국)를, 냉동 분쇄기는 SPEX 6700 (Metuchen, 뉴저지, 미국)을 이용하였다. 시료의 모폴로지는 SEM(scanning electronic microscopy, S-2250N, Hitachi Co., 도쿄, 일본)을 이용하여 관찰하였다. XRD(X-ray diffraction, P-1000, 도쿄, 일본)를 이용하여 시료의 결정성을 확인 하였다. ACV와 고체분산체 제조에 이용한 고분자 사이에서 일어날 수 있는 상호작용을 알아보하고자 적외선 스펙트럼 (Magna IRTM 550, 메사추세츠, 미국)을 사용하였다. 고성능 액체크로마토그래피(HPLC)시스템 중 UV검출기는 UV-2000(Thermo Separation Products, Fermint, 캘리포니아, 미

국)을, 펌프는 P2000(Thermo Separation Products, 플로리다, 미국)을, 자동시료주입기는 Spectra System AS1000을 이용 하였다. 컬럼은 Nova-Pak C₁₈(3.9×300 mm, Waters, 메사 추세츠, 미국)를 사용하였다.

모델 약물 및 수용성 고분자 용해도 실험

모델 약물인 ACV와 다양한 수용성 고분자들을 아세트산 에서 용해도를 확인하였다. 수용성 고분자인 PEG, HPMC 그리고 PVP를 아세트산 10 ml에 과량의 ACV 및 수용성 고 분자를 각각 넣고 24시간 동안 충분히 교반하였다. 15,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상등액 1 ml을 취하여 이동 상으로 100배 희석하여 HPLC로 정량하였다.

기계적인 혼합 모델 제조

수용성 고분자가 아세트산 내에서의 ACV 용해도에 미치 는 영향을 확인하기 위해 ACV와 수용성 고분자를 혼합하 여 냉동 분쇄기를 이용, ACV와 수용성 고분자 혼합 시료 (1:1, w/w)를 분쇄하였다. 이 과정은 3분간 시료 동결 과정, 3분간 분쇄 과정을 거쳐 제조하였으며, 수용성 고분자 임을 감안하여 시료 제조 후 진공 펌프를 이용하여 수분을 완전 히 제거하여 사용시까지 보관하였다.

고체 분산체 제조

분사 건조 방식은 아세트산 200 ml에 ACV 5 g을 첨가하 여 완전히 용해시켰다. 약물과 동일한 양의 수용성 고분자 (PEG, HPMC 그리고 PVP)를 각각 첨가한 후 용해시켰다. 아세트산의 끓는점(117.8°C)을 감안하여 분사 건조 과정을 제어하였다. 주입 공기 온도는 150±0.5°C, 펌프 속도는 150, 풍속은 0.27 m³/min, 분사속도는 18×10 kpa에서 작업 하였다. 제조 완료된 시료는 사용할 때까지 동결 건조시켰다.

동결 건조 방식은 40 ml의 아세트산에 1 g의 ACV와 동 량의 고분자를 용해시켰다. 시료를 급속 동결기를 이용하여 -80°C로 처리한 후 3일 이상 동결 건조기를 이용, 건조시켜 아세트산을 완전히 제거하였다.

분사 건조를 이용, ACV와 수용성 고분자 PEG 6000을 이 용한 고체분산체 시료는 SAE(Spray drying method, ACV, PEG)로 나타내었으며, PVP를 이용한 시료는 SAP, HPMC 를 이용한 시료는 SAH로 나타내었다. 동결 건조를 이용하 여 고체분산체를 제조한 시료들은 각각 FAE, FAP, FAH로 표기하였다.

약물 함량 측정

제조한 시료의 약물 함량은 이동상 10 ml에 시료를 0.01

g 첨가하여 보텍스혼합기를 이용, 완전히 용해시킨 후 이를 HPLC로 정량하여 계산하였다. 분석 결과 $100 \pm 5\%$ (w/w)이 내의 함량을 가진 시료만을 실험에 사용하였다.

제제의 모폴로지 관찰 (SEM)

모델 약물과 수용성 고분자 및 제조한 시료들의 모폴로지를 SEM을 이용하여 관찰하였다. SEM 사진 촬영을 위해 시료를 금속판 위에 고정시킨 후, 비활성 기체인 아르곤 가스를 충전하면서 1분 30초 동안 백금 코팅을 실시하였다. 코팅이 완료된 시료를 주사전자현미경을 이용, ACC voltage 15 kv에서 물리적인 혼합 모델은 500 배율로, 고체분산체 제조된 시료는 1,500 배율로 결정상태 및 제제화 된 형태를 관찰하였다.

결정성 관찰 (XRD)

모델 약물과 수용성 고분자들 그리고 고체분산체의 결정학적 구조는 X-선 회절 분석기를 사용하여 분석하였다. X-선은 40 mA, 40 kV에서 monochrometer를 사용하여 copper $K\alpha$ radiation을 발생시켰다. X-선 회절 유형은 0.3 mm 투명한 유리 기판에 일정량의 시료를 충분히 적층하여 배향이 발생하지 않도록 주의 하여 고정된 후 5~35°C를 0.5°C 간격으로 측정하였다.

FT-IR 분석

ACV와 고분자간의 상호작용을 알아보고자 고체분산체 시료에 대해 적외선 스펙트럼 촬영하여 순수한 ACV 및 고분자의 피크와 비교하였다. 과량의 KBr과 시료 0.001 g을 혼합하여 투명한 디스크 형태로 준비하였으며, 파장범위 4000~400 cm^{-1} 에서 주사회수를 64, resolution은 4 cm^{-1} 로 하여 분석하였다.

HPLC 분석 조건

분석에 이용한 컬럼은 C_{18} (3.9×300 mm), 10 μm (아일랜드) Waters사 제품을 이용하였다. 이동상은 증류수 3990 ml과 아세트산 4 ml을 2시간 동안 균일하게 혼합한 후, 이 용액의 3920 ml과 아세트니트릴 80 ml을 혼합하여 제조하였다. 멤브레인 필터(Nylon Acrodisc, 0.45 μm , Whatman, 캔트, 영국)를 이용하여 여과한 후, 1시간 동안 초음파를 실시하여 잔류 공기를 제거한 후 사용하였다. 유속은 1.0 ml/min, 시료 주입량은 20 μl 이었으며 검출과장 254 nm에서 ACV의 피크 출현시간은 약 12분이었다.

생체의 방출 실험

약물의 용해도는 pH에 따라 다르게 나타날 수 있음을 감

안하여 증류수, 인공위액 및 장액 각각 10 ml에 과량의 시료를 각각 첨가하여 인큐베이터 안에서 24시간 교반하였다 ($36.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$). 교반을 멈추고, 충분한 시간이 지난 후 과포화를 육안으로 확인한 다음, 2 ml을 취하여 15,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상층액 100 μl 을 취하여 증류수로 100배 희석하여 HPLC로 약물을 정량하였다(N=3). 실험에 사용한 인공위액은 대한약전(제 8개정 분해 실험법 제 1액-인공위액)에 따라 제조하였으며, 인공장액 또한 대한약전(제 2액)에 따라 제조하여 실험하였다.

결과 및 고찰

모델 약물 및 수용성 고분자 용해도 실험

모델 약물인 ACV와 다양한 수용성 고분자들을 용매인 아세트산에서 용해도를 확인하였다. 증류수에서 1.3 mg/ml의 용해도를 가지는 ACV의 경우, 아세트산에서 20배 이상 향상된 결과를 보였다. 수용성 고분자인 PEG, HPMC 그리고 PVP의 경우, 고체분산체 제조에 필요한 충분한 용해도를 보였다.

모폴로지 관찰 (SEM)

ACV, 수용성 고분자 및 약물 함량이 $100 \pm 5\%$ 범위를 가지는 제조한 시료들의 모폴로지를 SEM을 이용하여 관찰하였다(Figures 1, 2, 3 and 4). ACV 원료 분말은 판상 모양을 하고 있으며, 평균 입자크기는 25 μm 이었다. ACV를 수용성 고분자 없이 분사 건조와 동결 건조시킨 시료는 각각 구형과 무정형을 띠었다. 고체분산체 시료의 경우, 냉동 분쇄기를 이용하여 기계적으로 분쇄한 시료의 경우에 비해 입자 크기가 작고 고르며 또한 뭉침 현상이 거의 관찰되지 않았다. 결국 고체분산체 시료의 비표면적이 순수한 ACV 및 물리적인 혼합 시료에 비해 가장 클 것으로 예상되며 이로써 용해도의 국부적인 상승이 있을 것으로 판단되었다.

결정성 관찰 (XRD)

순수한 ACV, PEG, PVP, HPMC 및 이들의 고체분산체의 결정학적 특성을 Figures 5~8에 나타내었다. 순수한 ACV는 2θ 가 7.0, 8.2, 10.5, 11.5, 23.0, 23.8, 26.0, 28.5 및 29.0° 회절각에서 많은 결정성이 존재하는 반면 고분자 없이 ACV만 분사 건조시킨 시료는 거의 무정형이었으며, 동결 건조시킨 시료는 8.5, 11.9, 23.0 및 28.5°에서 소량의 결정성이 확인되었다. 물리적인 혼합 모델은 모든 시료에서 예상대로 ACV의 결정성에 변화가 없었다.

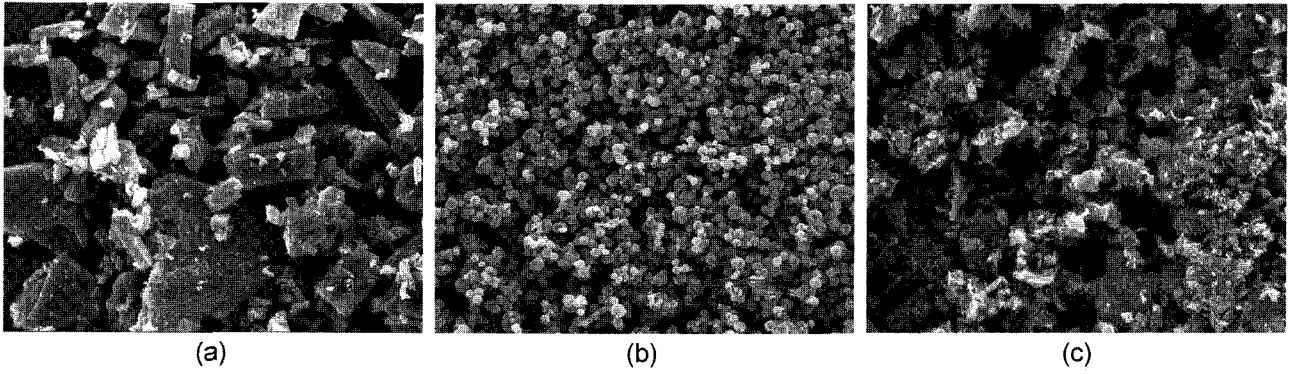


Figure 1—Morphology of (a) ACV, (b) spray dried ACV and (c) freeze dried ACV ($\times 1,500$).

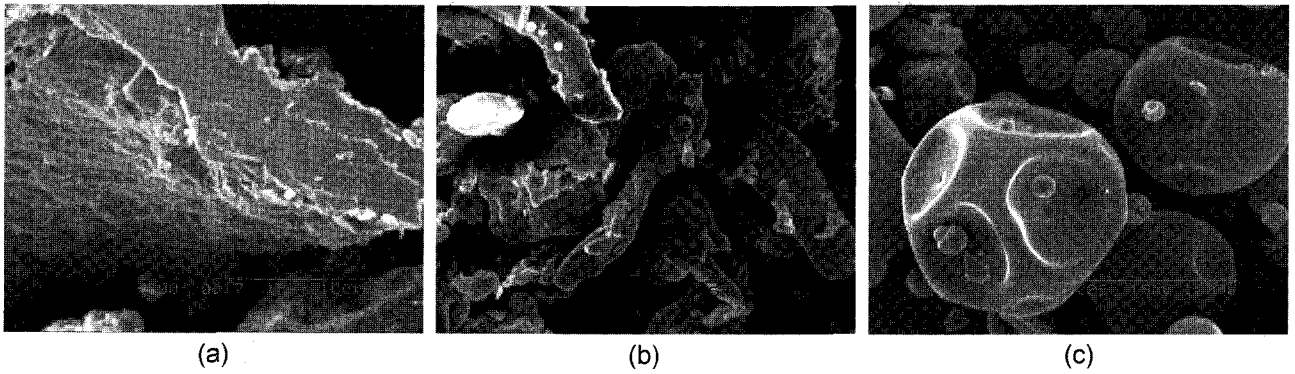


Figure 2—Morphology of mechanical mixing (a) ACV-PEG, (b) ACV-HPMC and (c) ACV-PVP ($\times 500$).

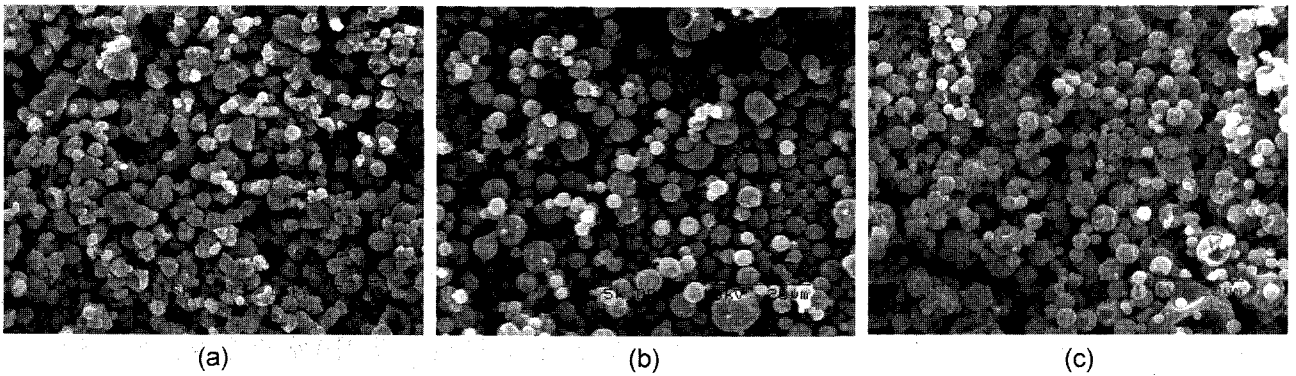


Figure 3—Morphology of (a) SAE, (b) SAH and (c) SAP ($\times 1,500$).

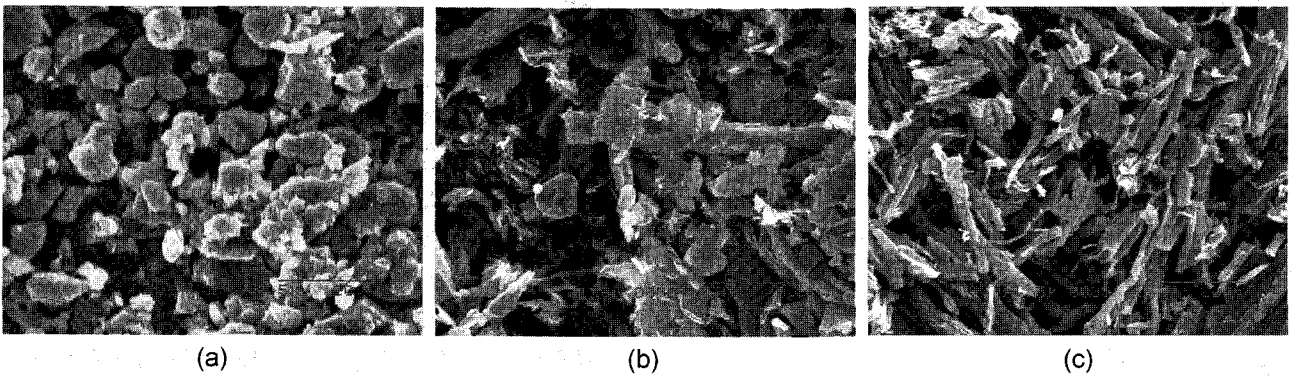


Figure 4—Morphology of (a) FAE, (b) FAH and (c) FAP ($\times 1,500$).

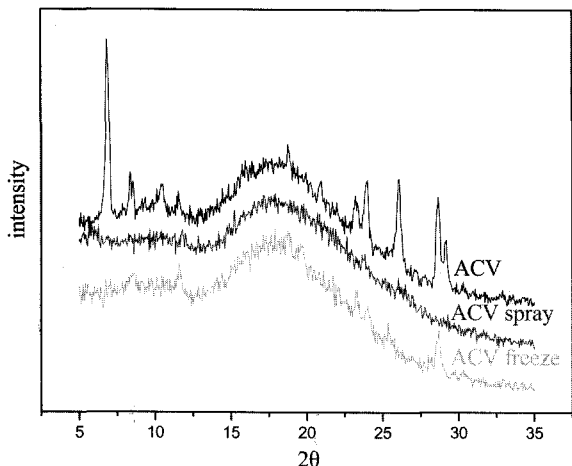


Figure 5—Crystallinity of ACV, spray dried ACV and freeze dried ACV.

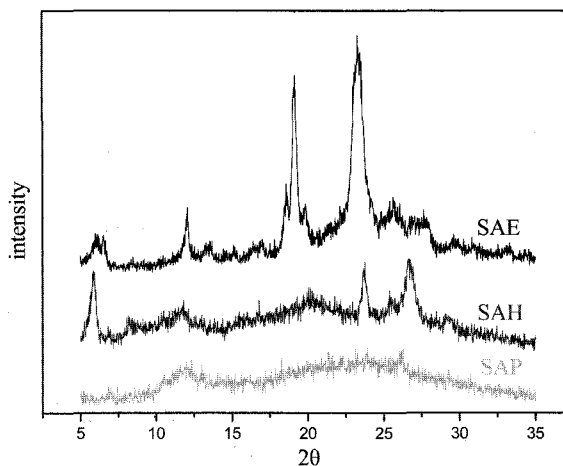


Figure 7—Crystallinity of SAE, SAH and SAP.

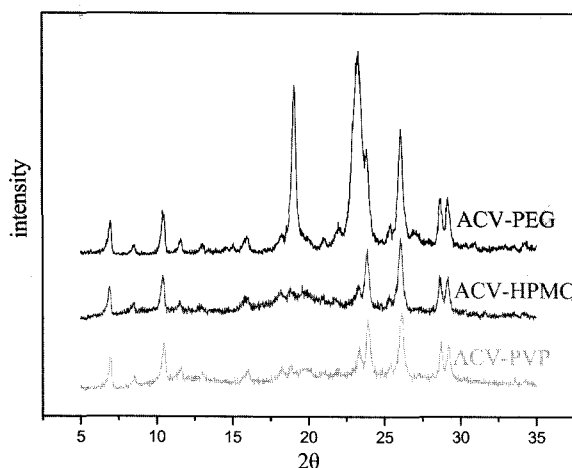


Figure 6—Crystallinity of mechanical mixing ACV-PEG, ACV-HPMC and ACV-PVP.

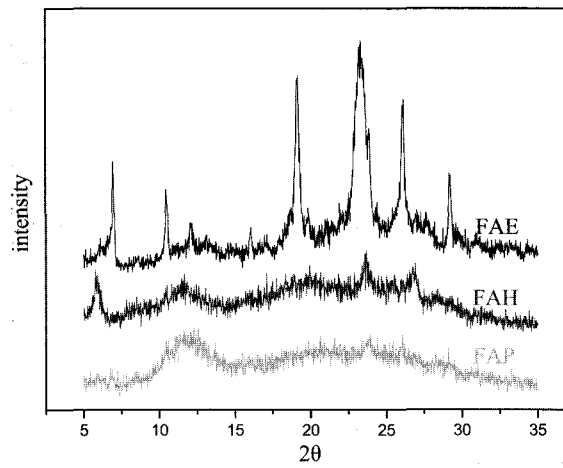


Figure 8—Crystallinity of FAE, FAH and FAP.

PEG를 이용한 고체분산체 시료의 경우 약물의 결정성은 상당 부분 감소하였으나, 고분자 본래 가지고 있는 결정성은 여전히 존재하였다. 이는 오히려 약물의 용해를 방해할 것으로 예상되었다. PVP를 이용한 고체분산체 시료는 모든 영역에서 결정성 피크가 관찰되지 않았으며, 이는 용매에 용해된 ACV의 결정성이 감소되었음을 의미하며 또한 용매가 제거된 상태에서도 재결정이 생성되지 않았음을 의미한다. 이용된 PVP 분자량은 30,000 g/mol이나 비결정성 고분자이며 고체분산체 제조에 적당하다고 판단되었다. HPMC를 이용한 시료의 경우, PEG와 PVP의 중간 정도의 결정성이 확인되었다.

FT-IR 분석 결과

FT-IR을 이용하여 제조한 시료 구성성분간의 상호작용을

조사하였다(Figures 9, 10, 11 and 12). 순수한 ACV는 1,000~1,200에서 C-O결합, 1,600, 1,475에서 방향족 C=C결합, 1,700~1,730에서 C=O결합, 3,450에서 NH₂ 결합 피크가 관찰되었다. 고체분산체 시료들에 대한 FT-IR촬영 결과 ACV와 PEG를 이용한 고체분산체 시료는 피크의 변화가 관찰 되지 않았으며, HPMC를 이용하여 동결건조방식으로 제조된 고체분산체 시료는 ACV의 NH₂의 피크가 감소함을 알 수 있었다. HPMC의 OH기와 반응이 진행 될 수 있으므로 예상 할 수 있다. PVP를 이용한 동일한 제조 방식의 고체분산체 시료에서도 NH₂결합이 상당부분 감소하였다.

이로서 고체분산체 제조를 통하여 고분자와 약물 사이의 반응을 통하여 용해도의 상승을 예상 할 수 있었다. 이는 물리적인 요소인 입자 크기 감소와 결정성 감소 및 수용성 고분자와의 화학적인 결합이 난용성 약물인 ACV의 용해도를 향상시킬 수 있음을 예상 할 수 있다. 또한 고체분산체 제

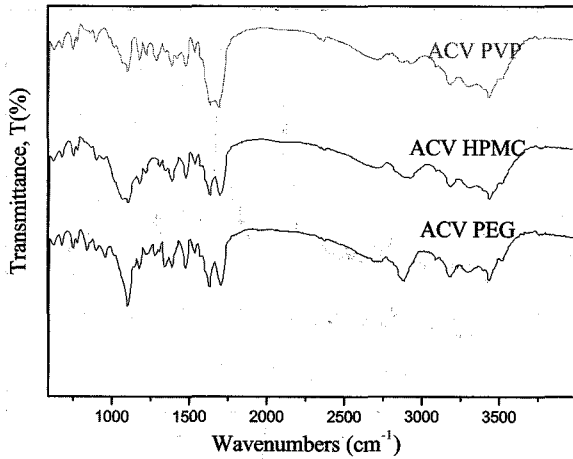


Figure 9—Result of FT-IR for mechanical mixing model.

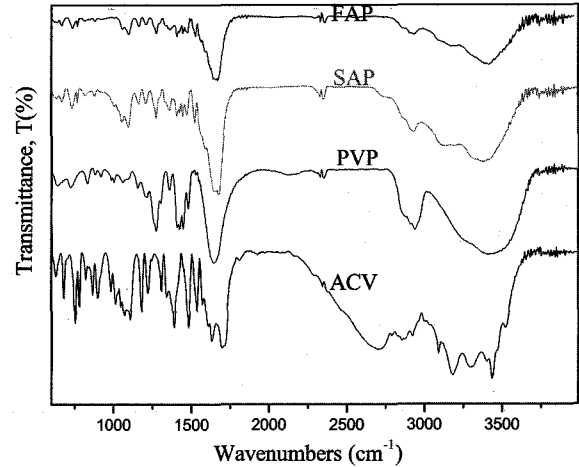


Figure 12—Result of FT-IR for ACV, PVP, SAP and FAP.

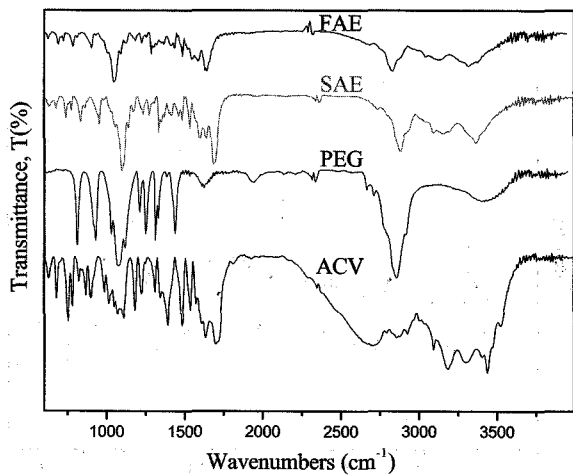


Figure 10—Result of FT-IR for ACV, PEG, SAE and FAE.

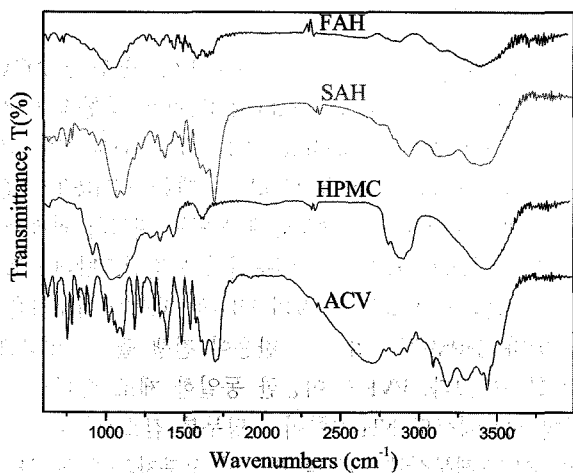


Figure 11—Result of FT-IR for ACV, HPMC, SAH and FAH.

조 과정에서 우려되었던, 약물의 변성은 없는 것으로 판단할 수 있었다.

Table I—Solubility of ACV in Various Solvents (Water, Gastric Juice and Intestinal Juice)

Sample	Solvent		
	Water	Gastric juice	Intestinal juice
Intact ACV	1.30±0.01	15.00±0.04	1.36±0.04
Spray dried ACV	1.37±0.03	15.02±0.07	1.36±0.02
Freeze dried ACV	1.42±0.03	15.69±0.01	1.42±0.08
ACV-PEG	1.32±0.05	17.90±0.07	1.58±0.01
ACV-HPMC	1.31±0.04	14.97±0.02	1.63±0.01
ACV-PVP	1.29±0.04	17.12±0.04	1.58±0.02
SAE	1.67±0.02	18.77±0.02	3.71±0.04
FAE	3.62±0.04	17.59±0.05	2.91±0.05
Solid dispersion	SAH 4.80±0.07	17.07±0.10	4.44±0.03
	FAH 5.40±0.05	18.06±0.03	5.12±0.06
	SAP 4.99±0.06	19.22±0.02	4.90±0.02
	FAP 6.06±0.02	17.33±0.03	5.27±0.08

(n=3, mean±standard error)

생체의 방출 실험

순수한 ACV, spray dried ACV, freeze dried ACV, freezer mill을 이용하여 물리적으로 혼합한 시료 3가지 및 고체분산체 시료 3종류에 대해서 실험을 수행하였다(Table D). 순수한 ACV원료 분말의 용해도는 증류수에서 1.3 mg/ml이었으며, 인공 위액 및 인공 장액에서는 각각 15.00와 1.36 mg/ml이었다. ACV만으로 분사건조 및 동결 건조시킨 시료 역시 용해도의 큰 차이를 보이지 않았다.

ACV와 수용성 고분자간의 물리적 혼합 시료들 모두 용해도 실험에서 순수한 ACV 원료의 그것과 별반 다르지 않았다. 이는 단순히 수용성 고분자와의 혼합은 약물의 용해도에 영향을 주지 못하며, 나노 수준의 작은 입도를 가지는 분산체 제조만이 약물의 용해도를 향상시킬 수 있음을 보여준다. 고체분산체를 제조한 경우, 특히 PVP를 이용한 고체분

산체 시료의 경우 최대 366% 높은 용해도가 관찰되었다. 결국 ACV의 고체분산체 제조를 통해 용해도 향상과 생체 이용률의 증가를 얻을 수 있을 것으로 예상되었다.

결 론

본 연구에서는 ACV의 고체분산체 제조를 통한 용출률 향상에 대한 실험을 수행하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 난용성 약물인 ACV의 수용성 고분자와의 분사 건조 및 동결 건조 방식을 이용한 고체분산체 제조를 통해 수용성 환경에서 용해도 향상을 확인하였다.
2. PVP (K-30)를 이용한 고체분산체 시료에 대한 용해도가 가장 높았으며, 이로써 무정형 수용성 고분자가 고체분산체 제조에 이용됨이 가장 타당함을 확인하였다.
3. ACV의 고체분산체 제조는 용해도 향상을 가져오며, 복용량의 감소를 통해 과다 복용에 따른 부작용을 감소시킬 것으로 예상된다.

감사의 글

본 연구는 KOSEF(R01-2001-00431)의 지원에 의하여 이루어 졌으므로 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) E.G. de Jalon, M.J. Blanco-Prieto, P. Ygartua and S. Santoyo, Topical application of acyclovir-load microparticles: Quantification of the drug in porcine skin layers, *J. Control. Rel.*, **75**, 191-197 (2001).
- 2) E.G. de Jalon, M.J. Blanco-Prieto, P. Ygartua and S. Santoyo, Increased efficacy of acyclovir-loaded microparticles against herpes simplex virus type 1 in cell culture, *Eur. J. Pharm.*, **56**, 183-187 (2003).
- 3) J.H. Lee, Y.S. Kim, C.K. Lee, H.K. Lee and S.S. Han, Antiherpetic activities of natural naringenin alone and in combinations with acyclovir and vidarabine, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **43**, 77-84 (1999).
- 4) S.H. Park, H.H. Kim and K.P. Lee, Dissolution rate bioavailability of acyclovir, antiviral agent, by cyclodextrin inclusion complexation, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 257-266 (1998).
- 5) Y.E. Nashed and A.K. Mitra, Synthesis and characterization of novel dipeptide ester prodrugs of acyclovir, *Spectrochimica Acta Part A, Mol. Bio. Spectro.*, **59**, 2033-2039 (2003).
- 6) C.U. Nielsen, R. Andersen, B. Brodin, S. Frokjaer and B. Steffansen, Model prodrugs for the intestinal oligopeptide transporter: model drug release in aqueous solution and in various biological media, *J. Control. Rel.*, **73**, 21-30 (2001).
- 7) C. McGuigan, M.J. Slater, N.R. Parry, A. Perry and S. Harris, Synthesis and antiviral activity of acyclovir-5'-(phenyl methoxy alaninyl) phosphate as a possible membrane-soluble nucleotide prodrug, *Bio. Med. Chem. Lett.*, **10**, 645-647 (2000).
- 8) J.K. Jeong, G. Khang, J.M. Rhee, H.C. Shin and H.B. Lee, Effect of molecular weights and mixture ratios of polyvinylpyrrolidone on the bioavailability of ipriflavone solid dispersion, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 235-239 (2000).
- 9) H.J. Kil, S.H. Cho, G. Khang, S.Y. Jeung, K.S. Seo, B.Y. Yoon, B.K. Kang and H.B. Lee, Preparation of solid dosage form containing SMEDDS of simvastatin by microencapsulation, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **33**, 121-127 (2003).
- 10) L.A. Hergert and G.M. Escandar, Spectrofluorimetric study of the β -cyclodextrin-ibuprofen complex and determination of ibuprofen in pharmaceutical preparation and serum, *Talanta*, **60**, 235-246 (2003).
- 11) M.E. Yue, T.F. Jiang and Y.P. Shi, Fast determination of flavonoids in Hippophae rhamnoides and its medicinal preparation by capillary zone electrophoresis using dimethyl-cyclodextrin as modifier, *Talanta*, **62**, 695-699 (2004).
- 12) L.M. Prince, A theory of aqueous emulsion. I. Negative interfacial tension at the oil/water interface, *J. Colloid Interface Sci.*, **23**, 165-173 (1967).
- 13) H.S. Kim, S.K. Lee, S.U. Choi, H.S. Park, H.J. Jeon and Y.W. Choi, Improved dissolution characteristics of ibuprofen employing self-microemulsifying drug delivery system and their bioavailability in rats, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **32**, 27-33 (2002).
- 14) D. Attwood, C. Mallon and C.J. Taylor, Phase studies of oil-in-water phospholipid microemulsions, *Int. J. Pharm.*, **84**, R5-R8 (1992).
- 15) M.A. Pue, S.K. Pratt, A.J. Fairless, S. Fowles, J. Laroche, P. Georgiou and W. Prince, Linear pharmacokinetics of penciclovir following administration of single oral doses of famciclovir 125, 250, 500 and 750 to healthy volunteers, *J. Anti. Chemo.*, **33**, 119-127 (1994).
- 16) E.J. Benjamin, B.A. Firestone, R. Bergstrim, M. Fass, I. Massey, I. Tsina and Y.T. Lin, Selection of a derivatives of the antiviral agent 9-[(1,3-dihydroxy-2-proxy)-methyl]guanine with improved oral absorption, *Pharm. Res.*, **4**, 120-125 (1987).
- 17) N. Coceani, I. Colombo and M. Grassi, Acyclovir permeation through rat skin: mathematical modeling and *in vitro* experiments: *Int. J. Pharm.*, **254**, 197-210 (2003).
- 18) K. Basavaiah and H.C. Prameela, Simple spectrophotometric determination of acyclovir in bulk drug and formulations: *IL FARM.*, **57**, 443-449 (2002).
- 19) G. Khang, J.K. Jeong, J.S. Lee, J.M. Rhee and H.B. Lee, Recent development trends of the improving bioavailability by polymeric nano vehicles of poorly water soluble drugs, *Poly. Sci. Tech.*, **13**, 342-359 (2002).
- 20) G. Khang, J.K. Jeong, J.M. Rhee, J.S. Lee and H.B. Lee, Effect of hydrophilic polymers on solid dispersion of ipriflavone to improve bioavailability, *Macro. Chem. Sym.*, **14**, 123-132

- (2001).
- 21) J.K. Jeong, G. Khang, J.M. Rhee, H.C. Shin and H.B. Lee, Comparative bioavailability of ipriflavone by pharmaceutical preparation types, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 21-26 (2000).
 - 22) K. Sekiguch and N. Obi, Studies on absorption of eutectic mixture. A comparison of behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man, *Chem. Pharm. Bull.*, **9**, 866-872 (1961).
 - 23) M. Zacchigna, G.D. Luca, V. Maurich and E. Boc, Syntheses, chemical and enzymatic stability of new poly(ethylene glycol)-acyclovir prodrugs, *IL FARM.*, **57**, 207-214 (2002).
 - 24) S.L. Law, K.J. Huang and C.H. Chiang, Acyclovir-containing liposomes for potential ocular delivery corneal penetration and absorption, *J. Control Rel.*, **63**, 135-140 (2000).
 - 25) J.K. Jeong, J.H. Kim, G. Khang, J.M. Rhee and H.B. Lee, The preparation and characterization of solid dispersion of ipriflavone with PVP, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **32**, 179-189 (2002).
 - 26) B. Conti, C. Bucolo, C. Giannavola, G. Puglisi, P. Ginuchedi and U. Conte, Biodegradable microspheres for the intravenous administration of acyclovir, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **5**, 287-293 (1997).
 - 27) H. Bando, M. Saahashi, T. Takagi, F. Yamashita, Y. Takakura and M. Hashida, Analysis of *in vitro* skin penetration of acyclovir prodrugs based on a diffusion model with a metabolic process, *Int. J. Pharm.*, **135**, 91-102 (1996).
 - 28) M. Demangone, J.M. Hill and B.S. Kwon, Effects of acyclovir therapy during simultaneous reactivation of latent HSV-1 in rabbits, *Anti. Res.*, **7**, 237-243 (1987).
 - 29) M. Yamazaki, S. Itoh, M. Sawanoi, M. Kobayshi, S. Suzuki, T. Komatsu and K. Tanabe, The effect of fatty acids on the rectal absorption of acyclovir in rats, *J. Pharm.*, **42**, 441-443 (1990).
 - 30) H. Vergin, C. Kikuta, H. Mascher and R. Metz, Pharmacokinetics and bioavailability of different formulations of acyclovir. *Arzneim-Forsch.*, **45**, 4 (1995).
 - 31) E.G. de Jalón, M.J. Blanco-Príeto, P. Ygartua and S. Santoyo, Increased efficacy of acyclovir-loaded microparticles against herpes simplex virus type 1 in cell culture, *Eur. J. Pharm.*, **56**, 183-187 (2003).
 - 32) J.B. Bell, R.A. Davies and E.J. Thompson, Herpes simplex encephalitis. A study of seven patients and their immunological response prior to routine acyclovir treatment, *J. Infect.*, **47**, 161-163 (2003).
 - 33) H. Takahashi, N. Hato, N. Honda, H. Kisaki, H. Wakisaka, S. Matsumoto and K. Gyo, Effects of acyclovir on facial nerve paralysis induced by herpes simplex virus type 1 in mice, *Auris Nasus Larynx.*, **30**, 1-5 (2003).
 - 34) T. Hasegawa, M. Kurokawa, T.A. Yukawa, M. Horii and K. Shiraki, Inhibitory action of acyclovir(ACV) and penciclovir (PCV) on plaque formation and partial cross-resistance of ACV-resistant varicella-zoster virus to PCV, *Anti. Res.*, **27**, 271-279 (1995).