

리포익산 나노 입자의 식욕 억제에 대한 고분자의 영향

최혜민 · 박철호 · 이기업¹ · 박종열¹ · 고은희¹ · 김현식¹ · 이종휘[†]

중앙대학교 화학신소재공학부, ¹울산대학교 의과대학 아산생명과학연구소 내분비과

(2007년 8월 27일 접수 · 2007년 10월 7일 승인)

Polymer Effects on Appetite Suppression by Lipoic Acid Nanoparticles

Hyemin Choi, Chul Ho Park, Ki-Up Lee¹, Joong-Yeol Park¹, Eun-Hee Koh¹, Hyoun-Sik Kim¹ and Jonghwi Lee[†]

Department of Chemical Engineering and Materials Science, Chung-Ang University,
221 Heukseok-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-756, Korea (South)

¹Department of Internal Medicine and Asan Institute for Life Science, University of Ulsan College of Medicine,
388-1 Poongnap-dong, Songpa-ku, Seoul 138-736, Korea(South)

(Received August 27, 2007 · Accepted October 7, 2007)

ABSTRACT – For decades, the various virtues of α -lipoic acid (ALA), a natural material synthesized in most cells, have been intensively studied and proved. Recently it was reported that ALA caused significant bodyweight reduction via appetite suppression. Unfortunately, the efficacy requires an administration over 50 mg/kg. The low bioavailability and the short plasma half life of ALA lead us to explore novel pharmaceutical dosage forms using nanoparticles. In this study, the effect of polymeric stabilizers on the bioavailability improvement of ALA nanoparticles was investigated. The reduction of particle size via nano-comminution technology was successful resulting in volume average particle sizes of 320-340 nm. The *in vitro* release rate of ALA did not reflect the decrease of particle size, possibly because of the self polymerization of ALA during nano-comminution. The type of polymeric stabilizers could not affect the release rate either. However, the *in vivo* food intake results of ALA showed that nano-suspensions were more effective than microparticles or a salt form. The nano-suspension containing polyvinyl pyrrolidone as the primary stabilizer and polyacrylic acid as the secondary stabilizer showed more improved efficacy for 2 hours.

Key words – α -Lipoic acid, Appetite suppression, Bioavailability, Polymer, Nanoparticles

미토콘드리아의 필수요소인 알파 리포익산(ALA, α -Lipoic Acid)은 R-ALA와 S-ALA형태의 광학 이성질체가 존재한다. 모든 세포내에서 생합성 되는 알파리포익산은 특히 인체 내에서 R형태의 보조효소 형태로 구성된다.¹⁾ 특히 알파 리포익산 내의 고리 이황 결합은 쉽게 환원하는 능력이 있어 미 래형 산화방지제로 인식되고 있다. 약 10년 전부터, 알파 리포익산의 새로운 약효에 대한 연구결과들이 보고되고 있는데, 예를 들면, 당뇨병(diabetic neuropathy), 신경 퇴화(degenerative processes in neuronal disease) 등이 있다.²⁻⁶⁾ 최근 연구결과에서는 과량 복용 시(50 mg/kg 이상) 식욕 억제 효과 및 체중 감량이 일어난다는 새로운 연구결과가 발표되었다.⁷⁾ 하지만 뛰어난 생체 적합성 물질인 알파 리포익산을 비만 약물로 사용하기 위해서는 몇 가지 문제가 있다. 투여 량이 문제인데, 만약 어떤 사람의 몸무게가 80 kg이라고 하

면 한번 복용 시 4000 mg을 섭취해야만 식욕억제 효과가 있다.⁷⁾ 카복시기(COOH)가 있어 산성 물질인 알파 리포익산의 과량 투여는 인체 내의 부작용을 유발할 가능성도 있다. 또한 알파 리포익산은 짧은 혈중 농도 반감기(200 mg ALA 용액 복용 시 30분)와 낮은 생체 이용률(200 mg ALA 용액 복용 시 약 30%)을 가지고 있다.⁸⁾ 따라서 이러한 부작용을 줄이고 식욕 억제 효과를 최대화하기 위한 새로운 제제 연구가 필요하게 되었다.

난용성 약물의 생체 이용률을 증대시키기 위한 다양한 제제 기술들 중 최근에 나노결정 기술이 성공을 거두고 있다.⁹⁻¹¹⁾ 대부분의 약물은 결정성을 가지고 있기 때문에 분쇄 성질과 다양한 기계적 에너지를 이용하여 그 크기를 줄일 수 있다. 결정 입자 크기의 감소는 약물 용출을 위한 전체 입자 표면적 증가를 가져오고 이에 비례하여 난용성 약물의 전체 용출 속도를 증가시킬 수 있다.¹²⁾ 따라서 약물 결정을 나노 크기화함으로써 약물의 생체 이용률을 향상시킬 수 있다. 결정 크기를 줄이기 위한 많은 기술들이 있지만, 대부분은 나노영역

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)820-5269, E-mail : jong@cau.ac.kr

의 결정을 제조하지 못한다. 하지만 최근 들어 산업에 직접적으로 적용할 수 있는 습식 분쇄법을 통해서 나노 결정 약물을 효율적으로 제조할 수 있게 되었다.

본 기술은 기본적으로 물과 약물 입자, 그리고 안정화제로 구성되어 있는 슬러리 상을 분쇄기기를 사용하여 가공한다. 약물은 물에 용해되지 않는 난용성 성질을 가져야 하고 안정화제는 물에 녹아야 한다. 약물의 입자는 다양한 기계적 에너지들 중에서 일반적으로 전단력 및 충돌 에너지에 의해서 분쇄된다. 이렇게 생성된 많은 나노입자 표면들은 높은 표면 에너지를 가지고 있다. 안정화제는 바로 이 표면에너지들을 줄여 줌으로써 나노 크기를 유지할 수 있도록 도와준다.¹³⁻¹⁵⁾ 이렇게 제제된 약물은 현탁 상태로 존재하기 때문에 구강 및 주사 복용이 모두 가능하다는 장점이 있다.

난용성 약물의 생체 이용률은 결정의 크기를 줄이는 것과 동시에 적절한 부형제의 사용을 통해 극대화 될 수 있다. 이들 부형제들은 생체 내에서 비활성이면서 약물의 세포 침투성 향상 및 용해성 등 많은 부분에서 약물의 생체 이용률을 증대시킬 수 있기 때문이다. 본 연구에서는 많은 부형제들 중에서 나노입자 가공에 주로 사용되는 고분자 물질 한 종류 혹은 두 종류의 혼합을 이용하였다.

일반적으로 생체 적합성 고분자들은 여러가지 기작으로 약물의 생체 이용률을 증가 시키는데, 선택 시 생체 적합성, 생물 분해성과 작용기 등 다양한 영향을 고려하여 사용해야만 한다.¹⁶⁾ 생체 적합성 고분자 물질들로는 하이드록시프로필 셀룰로즈(HPC, hydroxypropyl cellulose), 폴리에틸렌 글리콜(PEG, polyethylene glycol), 폴리아크릴산(PAA, polyacrylic acid), 폴리비닐피롤리돈(PVP, polyvinyl pyrrolidone) 등이 있다. 먼저 HPC는 경구 복용 시 정제 분해를 위해서,¹⁷⁾ 혹은 알약에서는 바인더로서도 쓰인다.¹⁸⁾ 또한 HPC는 무독성, 무자극성 다당류이기 때문에 정제(tablet)에 많이 사용되고 있다.¹⁹⁾ 한편, PEG은 위장의 운반을 가속화 시키고 사람에게 약 흡수의 영향을 조정하는데 영향을 줄 뿐만 아니라,²⁰⁾ 물에 잘 녹지 않는 약물의 용해도를 향상시켜준다.²¹⁾ 삼중 블록 공중합체인 Poloxamer 또는 Pluronic[®](PEO-*b*-PPO-*b*-PEO)은 약의 안정화 및 수용액상에서의 용해도를 증가시키는 능력이 있다.²²⁻²⁴⁾ 이 공중합체는 양친성(amphiphilic)이기 때문에 수용액상에서 나노 크기의 미셀을 이루는 능력이 있어 난용성 약물의 포집 및 이동을 용이하게 하여 생체 이용률 향상시킨다.²⁵⁾ 또 다른 고분자 부형제로써 PAA (Carbopol[®])가 있다. 경구 투여를 위한 정제 내에 약간 가교된 PAA를 넣음으로써 약물의 용출 속도를 변화시킬 수 있다.²⁶⁾ 이 용출 속도는 가교 정도, 약물의 크기, 다른 부형제의 종류 및 비율, 정제의 크기 및 형태, 압축 정도와 약물의

용해도 등 많은 인자들에 의해서 약물의 용출 속도를 변화시킬 수 있는 장점이 있다.^{27,28)} 또한 고분자와 유효제의 상호 인력에 의한 응집을 통해서 새로운 개념의 용출 속도를 변화시키는데 이용되고 있다.^{29,30)}

본 연구는 알파 리포익산의 생체 이용률을 증가시키기 위해 나노 입자제제 및 이를 위한 다양한 생체 적합성 고분자 부형제들을 사용하였다. 이들 생체 적합성 고분자 부형제들은 mucoadhesive 특성이 있는 것으로 알려진 고분자들로 약물의 생체이용률 향상에 기여할 수 있을 것으로 기대할 수 있다. 제제된 나노 약물들은 용출 속도와 쥐들의 음식 섭취량을 조사함으로써 알파 리포익산의 생체 이용률을 향상시키기 위한 적절한 고분자 부형제들을 제시하고자 한다.

실험 방법

시약 및 재료

알파리포익산(ALA)은 Antibioticos SPA(Starada Rivoltana, Italy)사에서 제조된 것을 화학적 물리적 처리 없이 사용하였다. 현탁내의 알파리포익산의 표면 안정화제로 PVP ($M_w=35,000$ g/mol)를 사용하였고, ISP Technologies(Wayne, 미국)에서 구매하였다. 고분자 부형제들은 HPC($M_w=80,000$ g/mol), PEO($M_w=20,000$ g/mol), PAA($M_w=100,000$ g/mol)를 사용하였고, 이들 모두는 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich, Missouri, 미국)로부터 구매하였다. 이들 모든 물질들은 화학적 정제 없이 사용하였다. 트리스염 용액(Tris salt solution, tromethamine salt)형태의 알파리포익산은 부광제약(경기도, 한국)에서 구매하였다. 습식분쇄에 사용된 지르코니아(ZrO_2) 비드의 평균 직경은 1 mm였고, 물은 1차 증류수를 사용하였다. 용출실험에 사용된 염산(HCl), 인산이수소칼륨(KH_2PO_4)과 수산화나트륨(NaOH)은 덕산화학(경기도, 한국)에서 구매하였다.

저속 회전 습식 분쇄법 (Low-speed rotation wet comminution)

60 mL의 병에 알파리포익산 0.6 g, 안정화제(PVP) 0.1 g, 증류수 6.8 g을 넣고 지르코니아 비드는 약 30 mL를 채웠다. 실험은 모두 4°C에서 100 rpm의 교반속도에서 수행되었다. 습식 분쇄에 의해 생성된 현탁물들의 최소 나노 입자는 PVP를 사용하여 9시간 후에 얻어졌다. PVP 외에 추가로 첨가된 고분자 물질은 보조부형제(additional excipient)로 습식 분쇄 후 안정화제와 1:1의 무게비로 현탁물에 첨가하여 실험하였다.

입자 크기 분석

샘플의 입도 분석은 레이저 광 산란 입도분석기(LA-910 Horiba, 일본)가 사용되었다. 측정 조건은 분산매로 물 150 mL, 상대굴절률은 1.06, 1분 동안 초음파로(30 Hz) 분산시킨 후 부피평균 입자 분포를 얻었다. ALA의 개환은 자외선/가시광선 분석기(JASCO, V-500 series UV/Vis spectroscopy)를 통해 측정하였다. ALA의 고리 내 1,2-dithiolane의 최대 흡수 파장 340 nm에서의 가공 전과 후의 흡수량을 비교함으로써 정량화하였다. 이때 사용한 용매는 디메틸 술폭사이드(dimethyl sulfoxide)를 사용하였다.

In vitro 약물 용출 실험

모든 현탁액 샘플은 6시간 동안 증류수에 담귀 활성화시킨 투석막(Sigma-Aldrich, 폭 25 mm)에서 용출되었다. 용출 실험은 증류수 1 L에 KH₂PO₄(8.805 g)와 NaOH(0.896 g)를 넣어 만든 인공장액(pH 6.8)에서 측정하였다. 이때 미국 약전(United States Pharmacopoeia)에서 제시한 패들 II 타입을 사용하였다. 용출 실험 시 온도는 37±0.5°C였고, 패들 속도는 30 rpm이었다. UV/Vis spectroscopy를 사용하여 시간에 따른 ALA 용출량을 측정함으로써 용출속도를 측정하였다.

In vivo 식욕 억제 효과

쥐의 음식 섭취량을 바탕으로 식욕 억제 효능을 측정하였다. 8주 된 C57BL/6의 6마리 수컷 쥐를 한 그룹으로 하여 평균 섭취량을 조사하였다. 한 우리당 4마리의 쥐를 넣었으며 물과 음식에 대한 접근과 식사시간에 대한 제한이 없었다. 온도는 22±1°C였고, 12시간을 주기로 밤과 낮을 조절하였다. 주사량은 쥐의 몸무게 당(kg) ALA 50과 100 mg를 투여 후 매 2시간 섭취 음식량을 측정하였다. 이 섭취량을 비교함으로써 현탁 나노 약물의 생체 이용률을 비교하였다.

결과 및 고찰

약물 나노 제제

ALA의 화학적 불안정성 때문에 60°C를 넘어 갈 경우 자기중합이 주로 일어났다(Figure 1). 따라서 모든 나노 약물의 제조는 4°C에서 수행하였다. 일반적으로 습식 분쇄법에 의해서 제조되는 약물 입자들은 시간에 따라서 그 크기가 감소한다. 하지만 ALA의 경우에는 초기 9시간까지 입자 크기가 감소한 반면, 이후 시간에서는 입자 크기가 오히려 증가하였다. 이는 자기중합에 의해 생성된 고분자가 결정 안정화제(PVP)의 능력을 감소시켜 결정 크기를 증가시킨 것으로

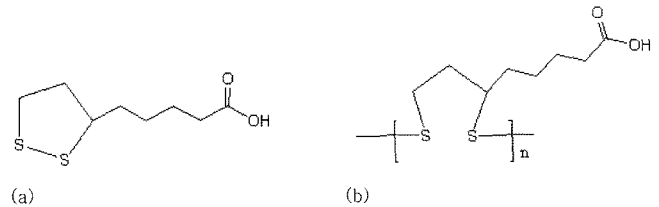


Figure 1—Chemical structures of α -lipoic acid(a) and its polymer(b).

Table I—Volume-averaged Mean Particle Sizes of ALA Measured by the Light Scattering Method (Comminution Time: 9 h, Sonication Time: 1 min, Average Standard Deviation of Nano-suspensions: ± 50 nm, $n \geq 10$)

Designation	Stabilizer/ Additional excipient	Mean particle sizes
AR	ALA as received	50 μ m (± 7 μ m)
PN	PVP/None	320 nm
PG	PVP/PEG	330 nm
PC	PVP/HPC	340 nm
PA	PVP/PAA	340 nm

예상된다. 따라서 가장 작은 나노 약물은 9 시간 후 제조되었다.

Table I에서는 9 시간 후 얻어진 각 현탁물 내의 입자 크기 부피 평균값을 보여주고 있다. 나노 결정의 안정화제로 PVP가 사용된 경우 약 320 nm였다. PEG 등의 고분자 부형제를 녹인 현탁물에서 나노 약물의 크기는 크게 변화하지 않았다. 이 고분자 부형제들은 ALA 나노 약물 입자의 안정성에 크게 영향을 주지 않은 것으로 판단된다. Table I에서 볼 수 있듯이 입자 크기들이 유사하며, 따라서 PN-PA 현탁물들의 *in vivo*와 *in vitro* 실험에서 나노 약물의 크기에 따른 영향을 배제할 수 있다.

In vitro 약물 용출 실험

Figure 2에서는 장액 조건에서 현탁물들의 용출 결과를 보여주고 있다. 실험한 5 종류의 샘플들은 고분자 종류에 의존하지 않고 유사한 용출거동을 보임을 알 수 있다. 용출속도는 Noyes-Whitney equation ($dM/dt = DSC_s/h$)으로 설명할 수 있다. 여기에서 D: 용액에서 용질의 확산 계수, S: 노출된 고체의 표면적, h: 확산층의 두께, Cs: 고체의 용해도, M: 시간 t에서 녹은 용질의 질량을 나타낸다. 습식 분쇄한 나노 약물의 입자 크기는 가공 전에 비해서 150 배정도 감소했기 때문에 전체 표면적이 현저히 증가하여 용출속도를 증가시킨다. 그럼에도 불구하고, 두가지 물질의 용출속도는 유사하였고, 위 수식에서 표면적 증가에 따른 보상적인 감소량을 나타낼 수 있는 인자는 확산계수밖에 없다.

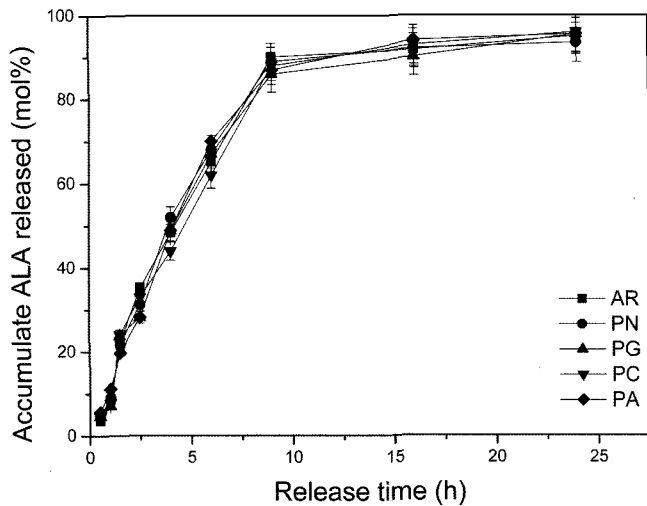


Figure 2—*In vitro* results of ALA released in simulated intestinal fluid at 37°C.

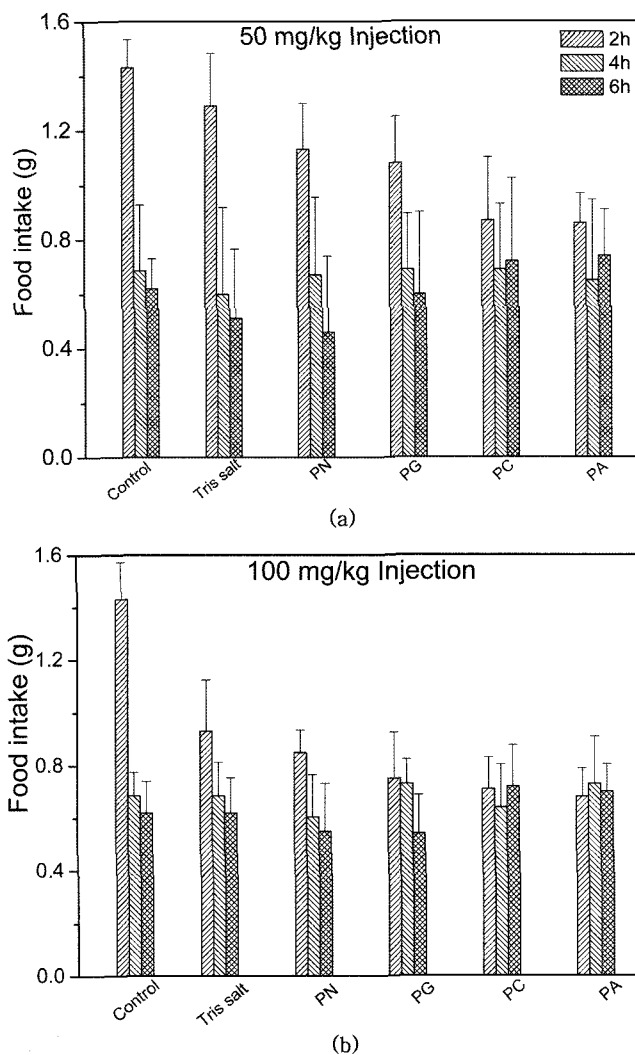


Figure 3—*In vivo* food intake results of mice at every 2 hours after 50 (a) and 100 (b) mg/kg injection.

ALA 나노입자는 전형적인 표면적 증가에 따른 용출속도의 증가를 보이지 않고 있다. 이는 ALA의 자기중합에 의해 생성된 고분자의 영향으로 이해할 수 있다. 자기중합에 의한 고분자화는 완전히 막을 수 없는 반응으로 소량이라도 얻어진 고분자는 ALA 방출에 큰 장애역할을 할 수 있다. 여기에 표면에 흡착된 고분자도 보조적인 영향을 할 수도 있을 것이다. 이러한 가설이 맞아 확산계수값이 변화했다면, 이의 감소량이 표면적 증가량과 거의 유사하여 전체적으로 용출 속도 값이 변화하지 않을 수 있을 것이다. ALA의 자기중합으로 만들어진 고분자에 대한 구체적인 연구는 현재 진행되고 있다.

PN-PA의 나노 현탁물들의 용출 속도를 비교해 보면, 모든 현탁물들의 용출 속도는 오차범위 내에서 거의 비슷하였다. 모든 나노 약물들의 결정 크기는 비슷하였기 때문에 용출 속도의 차이가 나타나지 않았을 것으로 사료된다. 보조로 첨가한 고분자 첨가물들은 용출 속도에는 크게 영향을 주지 않는다는 것을 알 수 있다.

In vivo 음식 섭취량 측정

복강 주사법에서 비교를 위한 대조 표준으로 ALA 트리프염 용액을 사용하였다. Figure 3에는 쥐에 각각 50 mg/kg (3a), 100 mg/kg (3b)을 복강 주사 후, 매 2시간 마다 섭취한 음식량을 측정된 결과들이다. ALA 염의 용출 속도는 이미 ALA가 물에 녹아 있는 상태이기 때문에 나노 현탁물과 용출 속도를 비교하는 것은 의미가 없다. 하지만 식욕 억제 효과에서는 용출 속도가 상당히 빠른 ALA 염 용액과 입자 안정화제(PVP)가 있는 나노 현탁물의 음식 섭취량이 오차범위내에서 유사하였다. 식욕 억제는 나노 약물의 용출 속도에 크게 영향을 받지 않은 것으로 예상된다. 일반적으로 약물이 효과를 나타내기 위해서는 최소 약물 유효 영역 이상의 혈중 농도를 요구한다. ALA 염의 최고 혈중 농도에 도달하는 시간은 30분 정도로 알려져 있다. 나노 현탁물의 경우 용출속도가 염에 비해서 느리지만 약물 유효 영역내에 혈중 농도를 유지하기 위한 시간이 2시간 정도였을 것이다.

반면 고분자 보조부형제가 녹아 있는 나노 약물의 효능은 증가하였다. 특히 PAA가 사용된 나노 약물(PA)의 경우 2시간 후 섭취한 음식량이 제일 크게 감소하였다. 아마 PAA의 카르복시산(COOH) 작용기가 ALA의 생체이용률 향상에 기여했을 것으로 추측된다. PAA는 점막 접착성이 큰 고분자 물질로 잘 알려져 있다. 즉 복강 투여로 인하여 PAA가 주위의 세포에 용이하게 접착하여 ALA의 생체 이용률을 증가시킬 수 있다.

투여량을 100 mg/kg으로 2배로 하였을 경우 음식 섭취량

은 2배로 감소하지 않았으나 식욕억제 효과는 모든 투여약물에서 증대됨을 알 수 있다. 섭취량의 감소가 투여량에 비례하지 않은 이유는 ALA의 낮은 생체 이용률 때문에 이러한 결과가 나타났을 것으로 추측된다.

Figure 3에서 2시간 후 섭취량에서 보인 고분자를 사용한 약물 나노제제의 효과는 그 시간이 길어질 수록 뚜렷하지 않은 경향을 보였고, 고분자 보조 부형제의 효과도 오차 범위 안으로 약해지는 것을 확인할 수 있었다.

결 론

본 실험은 ALA의 식욕 억제 효과의 향상을 위해 나노 약물 입자의 제조와 고분자 부형제를 이용한 생체 이용률 증가에 목적을 두고 있다. 나노 약물의 용출 속도는 ALA 용액보다 느림에도 불구하고 투여 2시간 이후의 식욕 억제 효과는 우수하였다. 고분자 보조 부형제를 사용하였을 경우 PAA가 녹아있는 나노 현탁물의 식욕 억제 효능이 가장 컸다. 이는 용출 실험으로 증명되지 못했지만, PAA의 점막 접착성 등의 특성에 의해 ALA의 생체이용률을 증가시켜 식욕 억제 효과를 향상시켰을 것으로 보인다.²⁶⁾ 또한 복용량을 2배로 증가시켰을 경우 ALA의 낮은 생체 이용률 때문에 음식 섭취량은 2배로 감소하지 않았지만, 모든 약물에서 음식 섭취량은 감소되었다. 본 실험의 결과들로부터, ALA의 생체 이용률을 증가시키기 위해 고분자를 사용한 나노제제가 효율적일 수 있음을 알 수 있다.

감사의 말씀

이 과제는 보건복지부 과제(0412-DB00-0101-006)에 의해서 수행되었습니다. ALA 약물을 제공해주신 다림 바이오텍에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) R. M. Cicchillo and S. J. Booker, Mechanistic investigations of lipoic acid biosynthesis in escherichia coli: Both sulfur atoms in lipoic acid are contributed by the same lipoyl synthase polypeptide, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 2860-2861 (2005).
- 2) D. Strodter, E. Lehmann, U. Lehmann, H. J. Trischler, R. G. Bretzel and K. Federlin, The influence of thioic acid on metabolism and function of the diabetic heart, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **29**, 19-26 (1995).
- 3) L. Parker, H. J. Tritschler and K. Wessel, Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid, *Free Radical*

- Biol. Med.*, **22**, 359-378 (1997).
- 4) M. K. Offermann and R. M. Medfod, Antioxidants and atherosclerosis: A molecular perspective, *Heart Dis. Stroke et al.*, **3**, 52-57 (1994).
- 5) B. Anna and W. Lidia, Lipoic acid-the drug of the future? *Pharmacological Reports*, **57**, 570-577 (2005).
- 6) W. J. Lee, I. K. Lee, H. S. Kim, Y. M. Kim, E. H. Koh, J. C. Won, S. M. Han, M.-S. Kim, I. Jo, G. T. Oh, I.-S. Park, J. H. Youn, S.-W. Park, K.-U. Lee, J.-Y. Park, Alpha-Lipoic acid prevents endothelial dysfunction in obese rats via activation of AMP-activated protein kinase, *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, **25**, 2488-2494 (2005).
- 7) M. S. Kim, J. Y. Park, C. Namkoong, P. G. Jang, J. W. Ryu, H. S. Song, J. Y. Yun, I. S. Namgung, J. H. Ha, I. S. Park, I. K. Lee, V. Benoit, J. H. Youn, H. K. Lee and K. U. Lee, Anti-obesity effects of alpha-lipoic acid mediated by suppression of hypothalamin AMP-activated protein kinase, *Nature Medicine*, **10**(7), 727-733 (2004).
- 8) K. Marangon, S. Devaraj, O. Tirosh, L. Packer and I. Jialal, Comparison of the effect of alpha-lipoic acid and alpha-tocopherol supplementation on measures of oxidative stress, *Free. Rad. Biol. Med.*, **27**, 1114 (1999).
- 9) D. H. Kim, H. J. Park, S. H. Kang, S. W. Jun, M.-S. Kim, S. Lee, J.-S. Park, S. J. Hwang, Preparation and characterization of lysozyme nanoparticles using solution enhanced dispersion by supercritical fluid (SEDS) process, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **35**(2), 89-94 (2005).
- 10) S. H. Park, J. H. Ahn, K. K. Moon, D. H. Bae, M.-S. Kim, S. Lee, T. W. Lee, J.-S. Woo, S.-J. Hwang, Study on the in vitro sun protection factor effect of nanosuspensions prepared using bead mill and high pressure homogenizer, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **35**(6) 411-416 (2005).
- 11) N. Rasenack and B. W. Müller, Micron-size drug particles: Common and novel micronization techniques, *Pharm. Dev. Technol.*, **9**, 1-13 (2004).
- 12) A. A. Noyes and W. R. Whitney, The rate of solution of solid substance in their own solutions, *J. Am. Chem. Soc.*, **19**, 930-934 (1897).
- 13) G. G. Liversidge and K. C. Cundy, Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs, *Int. J. Pharm.*, **125**, 91-97 (1995).
- 14) E. Merisko-Liversidge, G. G. Liversidge and E. R. Cooper, Nanosizing: A formulation approach for poorly-water-soluble compounds, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **18**, 113-120 (2003).
- 15) Y. Wu, A. Loper, E. Landis, L. Hettrick, L. Novak, K. Lynn, C. Chen, K. Thompson, R. Higgins, U. Batra, S. Shelukar, G. Kwei and D. Storey, The role of biopharmaceutics in the development of a clinical nanoparticle formulation of MK-0869: A beagle dog model predicts improved bioavailability and diminished food effect on absorption in human, *Int. J. Pharm.*, **285**, 135-146 (2004).
- 16) A. K. Andrianov and L. G. Payne, Polymeric carriers for oral uptake of microparticulates, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **34**,

- 155-170 (1998).
- 17) Y. Machida and T. Nagai, Directly compressed tablets containing hydroxypropyl cellulose in addition to starch or lactose, *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 2346-2351 (1974).
 - 18) G. W. Skinner, W. W. Harcum, P. E. Barnum and J. H. Guo, The evaluation of fine-particle hydroxypropylcellulose as a roller compaction binder in pharmaceutical applications, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **25**, 1121-1128 (1999).
 - 19) Anon, Final report on the safety assessment of hydroxyethylcellulose, hydroxypropylcellulose, methylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose and cellulose gum, *J. Am. Coll. Toxicol.*, **5**, 1-60 (1986).
 - 20) J. D. R. Schulze, E. E. Peters, A. W. Vickers, J. S. Staton, M. D. Coffinb, G. E. Parsons, and A. W. Basit, Excipient effects on gastrointestinal transit and drug absorption in beagle dogs, *Int. J. Pharm.*, **300**, 67-75 (2005).
 - 21) V. Majerik, G. Charbit, E. Badens, G. Horvath, L. Szokonya, N. Bosc and E. Teillaud, Bioavailability enhancement of an active substance by supercritical antisolvent precipitation, *J. of Supercritical Fluids*, **40**, 101-110 (2007).
 - 22) A. V. Kabanov, E. V. Batrakova and V. Y. Alakhov, Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery, *J. Control. Release.*, **82**, 189-212 (2002).
 - 23) R. Barreiro-Iglesias, C. Alvarez-Lorenzo and A. Concheiro, Controlled release of estradiol solubilized in carbopol/surfactant aggregates, *J. Control. Release*, **93**, 321-332 (2003).
 - 24) R. Barreiro-Iglesias, L. Bromberg, M. Temchenko, T. A. Hatton, C. Alvarez-Lorenzo and A. Concheiro, Solubilization and stabilization of camptothecin in micellar solutions of pluronic-g-poly(acrylic acid) copolymers, *J. Control. Release*, **97**, 537-549 (2004).
 - 25) P. Alexandridis, J. F. Holzwarth and T. A. Hatton, Micellization of poly(ethyleneoxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymers in aqueous solutions: Thermodynamics of copolymer association, *Macromolecules*, **27**, 2414-2425 (1994).
 - 26) M. Dittgen, M. Durrani and K. Lehmann, Acrylic polymers: A review of pharmaceutical applications, *S.T.P. Pharma Sci.*, **7**, 403-437 (1997).
 - 27) B. Perez-Marcos, C. Gutierrez, J. L. Gomez-Amoza, R. Martinez-Pacheco, C. Souto and A. Concheiro, Usefulness of certain varieties of carbomer in the formulation of hydrophilic furosemide matrices, *Int. J. Pharm.*, **67**, 113-121 (1991).
 - 28) J. Parojcic, Z. Ethuric, M. Jovanovic, S. Ibric and D. Jovanovic, Influence of dissolution media composition on drug release and in-vitro/in-vivo correlation for paracetamol matrix tablets prepared with novel carbomer polymers, *J. Pharm. Pharmacol.*, **56**, 735-741 (2004).
 - 29) M. Paulsson and K. Edsman, Controlled drug release from gels using surfactant aggregates: I. Effect of lipophilic interactions for a series of uncharged substances, *J. Pharm. Sci.*, **90**, 1216-1225 (2001).
 - 30) C. Alvarez-Lorenzo, J. L. Gomez-Amoza, R. Martinez-Pacheco, C. Souto and A. Concheiro, Evaluation of low-substituted hydroxypropylcelluloses(L-HPCs) as filler-binders for direct compression, *Int. J. Pharm.*, **197**, 107-116 (2000).