

클로피도그렐 황산수소염 고체분산체의 특성 및 용출률 개선

박 현 · 백종선 · 김다윗 · 이기원 · 전하얀 · 송정은 · 이순영 · 강길선[†]

전북대학교 BIN융합공학과, 고분자나노공학과, 유기신물질공학과, 고분자융합소재연구소
(2017년 8월 23일 접수, 2017년 9월 14일 수정, 2017년 9월 28일 채택)

Characterization and Improved Dissolution Rate of Clopidogrel Solid Dispersion

Hyun Park, Jong Seon Baek, David Kim, Gi Won Lee, Ha Yan Jeon,
Jeong Eun Song, Soon Young Lee, and Gilson Khang[†]

Dept. of BIN Convergence Tech, Dept. of PolymerNanoSci Tech & Advanced Organic Materials Engineering,
Chonbuk National University, 567 Baekje-daero, Jeonju 54898, Korea

(Received August 23, 2017; Revised September 14, 2017; Accepted September 28, 2017)

초록: 허혈성 뇌졸중 및 심근경색 예방에 효과적인 클로피도그렐은 높은 결정성을 갖는 난용성 약물이다. 본 연구에서는 클로피도그렐 약물의 용해도를 높이기 위해서, 고체분산법을 바탕으로 한 회전증발법을 이용하였다. 이때, PVP K-30을 수용성 담체로 사용하였고, 폴록사머는 계면활성화제로 사용하였다. 클로피도그렐을 포접하는 고체분산체의 물리화학적 분석은 SEM, DSC, XRD, FTIR로 측정하였으며, SEM, DSC, XRD를 통하여 고체분산체가 무정형임을 알 수 있었고, FTIR의 결과로 클로피도그렐과 PVP K-30분자간 상호작용을 통해 염을 형성하고 있다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 제조된 고체분산체는 인공위액(pH 1.2)에서 방출을 실험하였으며 HPLC를 통하여 측정하였다. 시판제인 클로피도그렐 황산수소염(이연제약주식회사)과 용출률을 비교한 결과 회전증발을 통한 고체분산체의 용출률이 클로피도그렐 황산수소염(이연제약주식회사)보다 크다는 것을 확인하였다.

Abstract: Clopidogrel, effective for the prevention of ischemic stroke and myocardial infarction, is a poorly soluble drug with high crystallinity. In this study, the rotary evaporation method base on the solid dispersion method was used to increase the solubility of clopidogrel drug. At this time, PVP K-30 was used as a water-soluble carrier, and poloxamer was used as a surfactant. Physicochemical analysis of solid dispersions containing clopidogrel was carried out by scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffractometry (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). It was possible to know that the solid dispersion was amorphous via SEM, DSC, and XRD. As a result of FTIR, it was confirmed that salt was formed through interaction between clopidogrel and PVP K-30 molecule. Dissolution behavior in a simulated artificial gastric juice (pH 1.2) of clopidogrel in the solid dispersions was measured using HPLC. As a result of comparing the dissolution rates with commercial Reyon clopidogrel, it was confirmed that the solid dispersion dissolution rate through rotary evaporation was higher than Reyon clopidogrel.

Keywords: clopidogrel, dissolution rate, rotary evaporation, solid dispersion.

서 론

티에노피리딘 유도체인 클로피도그렐(chlopidogrel)은 허혈성 뇌졸중 및 심근경색 예방효과가 아스피린보다 우수한 것으로 보고된다(Figure 1).¹ 그러나 클로피도그렐은 물에 거의 용해되지 않는 난용성 약물로 체내에서 약물의 흡수가 낮아 제제화하는 과정에서 많은 어려움을 겪고 있다. 이러한 난용

성 약물들의 대부분은 낮은 용해도로 인한 생체 이용률의 저하, 정제 크기 증가, 제제화의 어려움, 과량의 약물 복용, 경구 투여 후 생체 내 낮은 흡수율같은 문제점을 가지고 있어, 난용성 약물들의 용해도 향상을 위한 방법들이 연구되고 있다.²⁻¹¹

수용성 고분자 약물이 균일하게 분산되는 것을 의미하는 고체분산체(solid dispersion, SD)는 약물의 생체 내의 용출 특성을 개선함으로써, 경구 흡수율을 증가시키는 것으로 알려져 있다.¹² 또한 친수성 전달체 내에 난용성 약물과의 결합을 통하여 용해도 향상 및 용해 속도를 조절할 수 있다. 고체분산체의 제조 방법에는 용매증발법과 용융법이 있으며,

[†]To whom correspondence should be addressed.
gskhang@jbnu.ac.kr, ORCID[®] 0000-0002-6452-5653
©2018 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

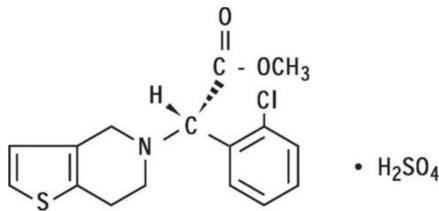


Figure 1. Chemical structure of clopidogrel hydrogen sulphate.

용매증발법은 진공건조, 동결건조, 분무건조, 회전증발 등의 방법이 있다.¹³⁻¹⁵ 본 연구에서는 클로피도그렐의 난용성을 개선하기 위하여, 회전증발법을 이용하여 고체분산체를 제조하였다. 이때, 고분자는 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone, PVP) K30를 사용하였으며 계면활성제로 폴록사머 407 (Poloxamer 407)를 사용하였다. PVP K30은 고체분산체의 제조와 정제, 캡슐제의 결합제로 이용될 뿐만 아니라, 난용성 약물의 용출률을 증가시키며 이를 조절할 수 있다. 또한 고체분산체의 물리화학적 특성을 관찰하고자 시차주사열량계(differential scanning calorimetry, DSC)와 X선-회절기(X-ray diffractometry, XRD) 분석을 통하여 결정성 변화를 관찰하였으며, 적외선 분광기(fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 분석을 통하여 화학적 변화를 관찰하였다. 또한 제조된 클로피도그렐 고체분산체(CSD)의 형태학적 변화를 관찰하기 위해 주사전자 현미경(scanning electron microscope, SEM)을 사용하였고, 난용성 약물의 가용화 특성을 분석하기 위해 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 사용하여 제조된 CSD의 용출특성을 관찰하였다.

실 험

시약 및 재료. 클로피도그렐은 명문제약에서 구입하였으며, 제조된 CSD와 방출거동을 비교하기 위해서 사용된 대조군으로는 시판 제형인 클로피도그렐 황산수소염정(이연제약 주식회사)을 사용하였다. 이 외의 사용된 용매와 기타 시약은 HPLC 등급을 사용하였으며, 증류수는 3차 정제한 것을 사용하였다.

클로피도그렐 고체분산체 제조. CSD 제조는 메탄올 100 mL에 클로피도그렐: poloxamer 407:PVP K-30 비율을 각 1:1:1(w/w%) 비율로 하여 회전 증발법(rotary evaporation, RO)을 사용하여 제조하였다.

약물과 고분자를 공용매에 용해시킨 다음 회전 증발기(N-1000, EYELA, 일본)를 사용하여 70 °C에서 내부에 진공을 이용하여 용매를 증발시켜 제조하였다. 제조한 CSD는 동결분쇄기(Freezer mill 6750, SPEX, 미국)로 분쇄한 후 250 μm 체로 걸렀다. 각각 180 mg으로 설정하여 고분자와 함께 직

Table 1. Formulation of Clopidogrel Solid Dispersion and Clopidogrel Sustained Release Tablets (unit: mg)

Batch	1	2	3	4
CSD	180	180	180	180
PVP K30	30			
MCC		30		
CMC			30	
MANNITOL				30
SSG		20		
HPMC LV100		8		
Mg st		2		
Total		240		

타법으로 정제를 Table 1과 같이 제조하였다. 이때, 첨가제로는 PVP K30, 마이크로 크리스탈린 셀룰로오스(microcrystalline cellulose, MCC), 카복시메틸 셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC), 만니톨(Mannitol)을 사용하였으며, 직접분말 압축법으로 정제를 제조하여 용출률 향상을 유도하였다. 부형제로는 소듐 스타치 글리코레이트(sodium starch glycolate, SSG), 활택제로는 마그네슘 스테아레이트(magnesium stearate, Mg st), 결합제로는 하이드록시 프로필 메틸셀룰로오스(hydroxypropyl methylcellulose, HPMC)를 사용하였다.

고체분산체의 약물함량 측정. 제조된 CSD의 약물함량을 분석하기 위해 먼저 20 mL의 메탄올에 CSD를 넣어, 용해시킨 후 약물을 추출하여, 0.45 μm의 PTFE(Tokyo Roshi Kaishm, Ltd., 일본) 필터를 이용하여 여과한 후, 20 μL를 취하여 HPLC를 분석하였고, 분석조건은 240 nm에서 흡광도를 측정하였다. 사용된 고분자의 양과 사용된 약물의 비를 검출된 약물의 양과 비교하여 다음과 같은 공식을 이용하여 포집률을 계산하였다.^{16,17}

$$\text{포집률(\%)} = \frac{\text{고체분산체 내의 약물함유량}}{\text{사용한 전체 약물의 양}} \times 100 \quad (1)$$

SEM 분석. CSD의 입자 상태와 표면 관찰을 위하여 샘플을 탄소테이프에 고정시킨 후 백금 코팅을 10.0 kV로 300초간 실시한 후 LV-SEM(S-3000N, Hitachi Co., Tokyo, 일본)을 이용하여 관찰하였다.

FTIR 분석. 제조된 CSD의 화학적 변화를 관찰하기 위하여 KBr과 시료의 비율을 100:1로 고루 섞은 후 얇은 디스크를 제조하였으며, 분석에는 FTIR(GX, Perkin Elmer, 미국)을 이용하여 400~4000 cm⁻¹ 파장에서 분석하였다.

XRD 분석. 제조된 CSD의 결정성을 확인하기 위하여 XRD(D/MAX 02299V, RIGAKU, 일본)를 이용하여 분석하

었다. X선 회절은 0.3 mm의 투명한 유리 기판에 일정량의 CSD 시료를 적층하여 5°/min의 속도로 10~60° 범위 내에서 30 mA, 40 kV 조건으로 측정하였다.

DSC 분석. 제조된 CSD의 열적 특성을 관찰하기 위하여 DSC(TA Instrument DSC 3100, Dupont, 미국)를 이용하여 10 °C/min의 승온 속도로 20~200 °C 범위에서 온도를 증가시켜 열적 특성을 확인하였다.

생체의 용출거동. 난용성 약물의 용출률 향상을 확인하기 위해, 용출실험은 대한약전 제 9개정에 기재된 용출시험법 제 2패들법을 사용하였으며, 용출액은 인공위액(pH 1.2)으로 대한약전에 기재된 방법을 통하여 제조하였다. 용출기는 DST-8(Lab House, 한국)을 사용하였으며, 패들속도는 50 rpm, 용출액의 온도는 37±0.5 °C, 용출액은 900 mL로 설정하였다. 정해진 시간에 1 mL의 시료를 취하였으며, 취한 만큼의 인공위액을 다시 충전하였다. 시료는 0.45 µm PTFE 필터로 여과한 후 HPLC 분석을 하였다. 용출거동을 확인하기 위한 HPLC 분석기는 펌프(P-100, Futecs, 한국), UV디텍터(UV-1000, Futecs, 한국) 오토샘플러(AS-1000, Futecs, 한국)로 구성되어졌다.¹⁸⁻²¹ 이동상은 메탄올과 3차 증류수를 80:20(v/v%) 비율로 제조한 후 인산을 이용하여 pH 3.2로 보정하여 제조하였으며, 사용하기 전에 초음파분쇄기를 이용하여 잔존가스를 제거한 후 사용하였다.²² 클로피도그렐의 검출파장은 240 nm로 설정하였으며, 분석에 사용한 컬럼은 ProntoSIL C18(250×4.6, 5 µm)을 사용하였다. 유속은 1.5 mL/min로 하였고 시료주입량은 20 µL로 설정하였다.

결과 및 토론

고체분산체의 형태학적 특성. CSD의 입자상태 및 표면을 관찰하기 위해 LV-SEM(S-3000N, Hitachi Co, Tokyo, 일본)을 이용하여 관찰하여 Figure 2에 나타내었다. Figure 2(a)는 클로피도그렐로서 결정성을 가지며 비교적 큰 입자 크기를 가지고 입자 크기가 일정하지 않음을 볼 수 있고, Figure 2(b)는 PVP K30으로 크기가 큰 미립자의 형태를 나타내고 있음을 볼 수 있으며, Figure 2(c)는 SD로 약물 특유의 결정성이 사라지고 무정형을 띠고 있다. Figure 2(d)~(g)의 Batch 1~4는 Table 1과 같은 방법으로 제조한 것으로 약물 본연의 성질인 결정성을 잃고 무정형을 띠고 있다. 이러한 미립자의 형상이 무정형인 이유는 용매의 증발속도 및 고온건조로 인해 고분자 내부의 나노 사이즈의 미세한 크기로 포집되어, 냉각되면서 벌크 상태에서 가지고 있는 특유의 결정성을 잃고 무정형을 띠는 것으로 판단된다.

제조된 고체분산체의 결정학적 분석. DSC를 통해 고분자 비율에 따른 CSD의 결정학적 분석을 확인하였다. Figure 3(a)는 클로피도그렐, PVP K30 및 제조된 CSD에 대한 DSC 그래프이다. 클로피도그렐은 184.91 °C에서 강한 흡열피크를

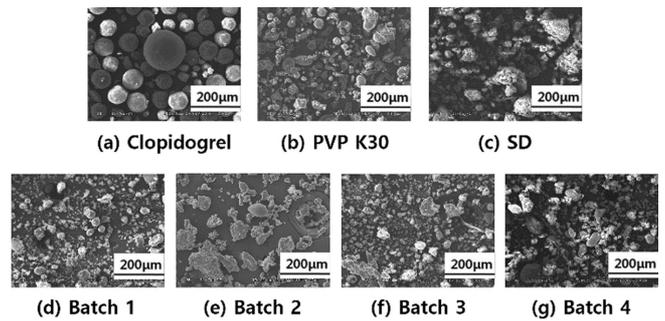


Figure 2. SEM images of (a) clopidogrel; (b) PVP K30; (c) SD (solid dispersion); (d) Batch 1; (e) Batch 2; (f) Batch 3; (g) Batch 4.

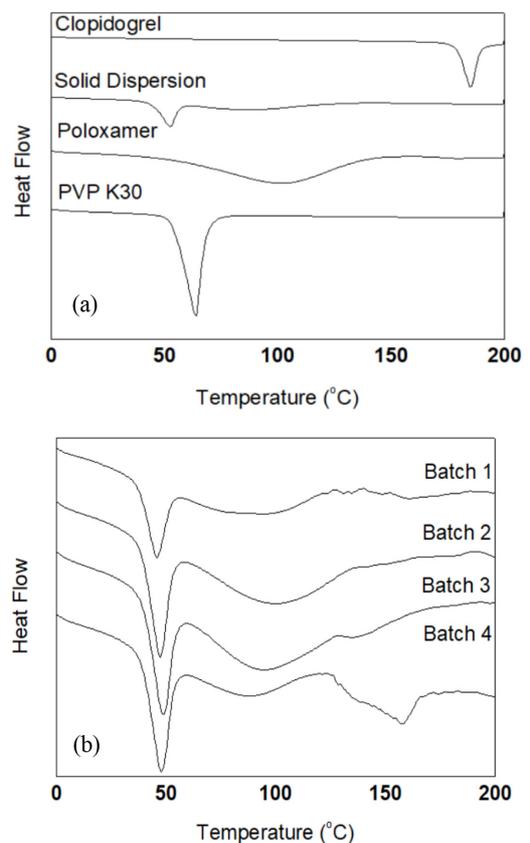


Figure 3. DSC thermograms of (a) clopidogrel, solid dispersion, poloxamer, and PVP K30; (b) Batch 1, Batch 2, Batch 3, and Batch 4.

보여 결정성 약물임을 확인할 수 있었고, poloxamer는 53 °C 사이에서 흡열피크를 보였으며, PVP K30은 100 °C 부근에서 완만한 흡열피크를 보였다. Figure 3(b)는 각각 Batch 1~4의 DSC 그래프로 결정성 피크가 사라진 것을 확인할 수 있었다. DSC 분석 결과에서 볼 수 있듯이 약물과 고분자가 가지고 있는 고유한 결정성이 회전증발 과정을 통해 특유의 결정성을 잃고 무정형으로 변한 것을 확인할 수 있다.

Figure 4는 XRD분석 결과이다. Figure 4(a)는 클로피도그

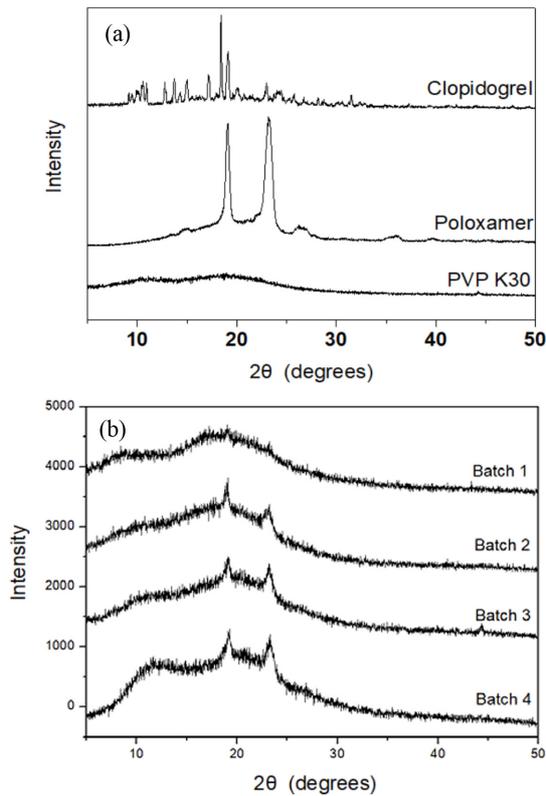


Figure 4. XRD spectra of (a) clopidogrel, poloxamer, and PVP K30; (b) Batch 1, Batch 2, Batch 3, and Batch 4.

렐의 고유 회절피크가 0~25°에서, poloxamer는 15~25°에서 보였고, PVP K30에서는 뚜렷한 회절피크가 관찰되지 않으므로 무정형임을 알 수 있었다. Figure 4(b)는 각각의 Batch 1~4의 피크로서 poloxamer의 약한 피크만 관찰되었다. 이는 무정형 상태의 PVP K30에 약물이 봉입되어 원 약물 특유의 결정성이 사라진 것으로 사료된다. DSC와 XRD로 분석한 결과를 토대로 클로피도그렐과 PVP K30 고분자 사이에 회전증발법을 통한 고체분산체를 제조할 경우에 원 약물이 가지는 결정성을 잃게 되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 회전증발 과정에서 약물이 무정형의 고분자에 봉입되어 약물의 형태가 무정형에 가깝게 변화한 것으로 사료된다.

제조된 고체분산체의 구조적인 분석. Figure 5는 클로피도그렐과 SD에 사용된 고분자 사이의 물리화학적 상호작용과 구조적인 변화를 확인하기 위한 FTIR 그래프이다. Figure 5(a)에서 클로피도그렐은 3108 cm^{-1} 에서 C-H 스트레칭, 1751 cm^{-1} 에서 C=O 스트레칭, 1170 cm^{-1} 에서 C-O 스트레칭을 나타내는 것을 확인하였다. Figure 5(a) poloxamer의 특정한 피크는 3446 cm^{-1} 에서 N-H와 O-H, 2891 cm^{-1} 에서 O-H 밴딩, 1113 cm^{-1} C-O 스트레칭을 나타내는 것으로 보인다. Figure 5(a) PVP K30은 1500~1700 cm^{-1} C=O 스트레칭, 2950 cm^{-1} 에서 C-H 스트레칭 피크가 나타난 것을 확인할 수

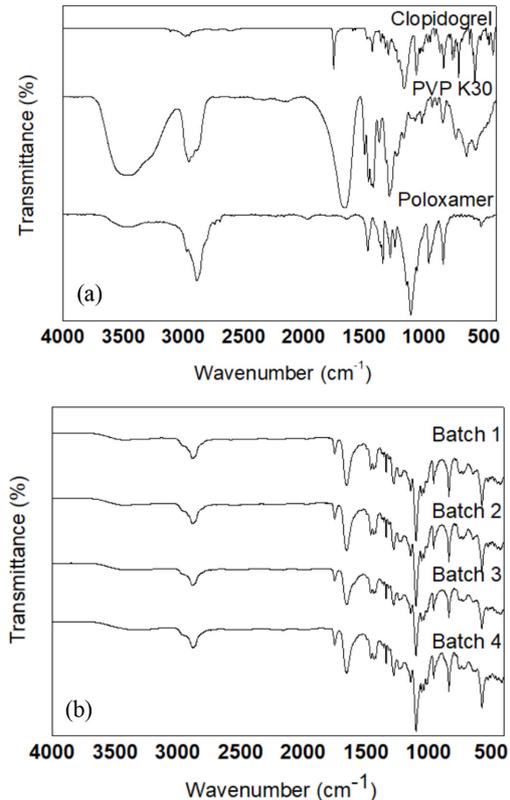


Figure 5. (a) Clopidogrel, PVP K30, and poloxamer; (b) Batch 1, Batch 2, Batch 3, and Batch 4.

있었다. 그리고 3200~3700 cm^{-1} 사이의 피크는 PVP K30이 가지고 있는 락탐고리의 N-H 스트레칭에 의한 것으로 사료된다. Figure 5(b)의 각각의 Batch마다의 FTIR 분석에서 약물의 특정한 피크로 보여지는 C-H(3108 cm^{-1}) 스트레칭 피크가 사라졌으며 이를 통해서 회전증발법으로 제조한 CSD의 결정구조가 순수한 클로피도그렐 결정과 다르다는 것을 의미하며, 분자간 어떤 상호작용이 존재할 것으로 판단된다.

생체의 방출 거동. Figure 6은 인공 위액에서 원 약물인 클로피도그렐과 CSD를 포함한 정제의 용출을 실험한 결과로써 시판제와 각기 다른 고분자 첨가에 따른 비교 용출 실험 결과이다. 시판제인 클로피도그렐 황산수소염(이연제약주식회사)은 초기 39%를 상회하는 방출률을 보였으며, 이 후 방출이 지속적으로 유지되어 최종적으로는 47%를 약간 넘기는 방출률을 보였다.

이와 달리 PVP K30과 poloxamer를 이용한 고체분산체 제조의 경우(Batch 1~4), 고분자의 종류에 따라 약간의 차이를 보였지만 시판제인 클로피도그렐 황산수소염(이연제약주식회사)보다 최고 90% 이상의 높은 방출률을 보였다. 특히 Batch 4가 다른 Batch들보다 초기 방출률 및 시간에 따른 방출률 역시 높다는 것을 확인할 수 있었다. 이는 고분자가 첨가된 고체분산체 내의 약물이 포집되어 클로피도그렐이 큰

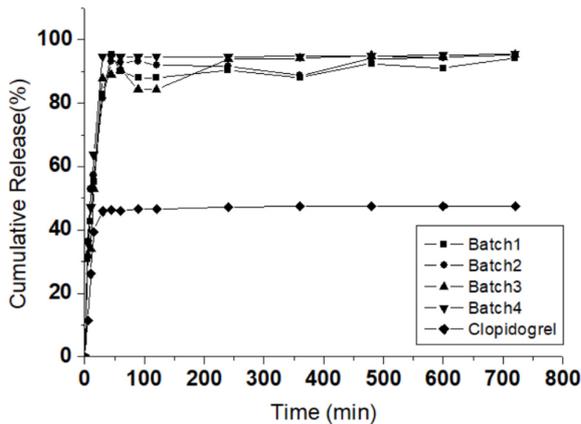


Figure 6. Release behavior of Batches of 1 to 4 with and clopidogrel.

표면적을 갖게 되며 약물 특유의 결정성을 잃고 무정형으로 변화되어 용해도가 증가되기 때문이며,^{23,24} 또한 물에 민감한 약품의 첨가제로 유용한 만니톨은 체내에서 장시간의 대사를 요하기 때문에 PVP, MCC, CMC에 비해 서방화 제형에 적합하기 때문으로 사료된다.²⁵ 따라서 본 연구를 통하여 회전증발을 통한 고분자와 약물의 비율 조성으로 인해 시판제형보다 우수한 약물의 용출률 및 고분자와 약물의 비율이 용출률에 미치는 상관관계를 얻을 수 있었다.

결론

본 연구는 난용성 약물인 클로피도그렐의 용출률 향상을 위해 poloxamer 및 PVP K30을 혼합하여 회전증발법을 이용해 CSD를 제조하여 실험을 수행하였고 그 결론은 다음과 같다. 상대적으로 각각의 Batch들의 용출률이 시판제형보다 향상함을 확인하였으며 특히 만니톨을 사용한 Batch 4에서 더 높은 용출률을 보였다. SEM을 통해 표면관찰을 하였으며 CSD의 형태학적 특성은 DSC 및 XRD를 통해 클로피도그렐 고체분산체가 무정형에 가까운 상태로 변화하였음을 관찰하였고, FTIR을 통해 클로피도그렐과 PVP K30과의 수소결합을 통한 염이 형성하는 것을 관찰하였다. 시판제인 클로피도그렐 황산수소염(이연제약주식회사)를 통해 CSD 정제와 비교 용출 시험을 실시한 결과로 고분자를 이용한 CSD의 용출률이 확연히 클로피도그렐 황산수소염(이연제약주식회사)에 비해 향상되는 효과를 가지는 것을 확인하였다. 이를 통해 PVP K30 고분자를 이용하여 난용성 약물의 용출률을 향상시키는 약제학적 경구용 제제의 가능성을 확인하였다.

감사의 글: 이 논문은 한국보건산업진흥원의 보건 의료기술 연구개발사업 (HI15C2996)과 한국연구재단의 기초 연구사업 (2017R1A2B3010270)의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

참고 문헌

1. CAPRIE Steering Committee, *Lancet*, **348**, 1329 (1996).
2. J. S. Hwang, S. H. Kim, S. H. Cho, and K. M. Huh, *Polym. Korea*, **37**, 442 (2013).
3. C. Leuner and J. Dressman, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 47 (2000).
4. E. Y. Lee, M. J. Oh, S. Kim, K. Y. Seong, Y. H. Lee, S. J. Kim, H. S. She, D. Lee, and G. Khang, *Polym. Korea*, **35**, 113 (2011).
5. G. Khang, S. W. Kim, J. C. Cho, J. M. Rhee, S. C. Yoon, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **11**, 89 (2001).
6. A. Alvarez-Laurena, J. F. Piniella, and E. Carrasco, *J. Crystallogr. Spectrosc.*, **22**, 323 (1992).
7. D. Horter and J. B. Dressman, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **46**, 75 (2001).
8. N. Rasenack and B. W. Muller, *Pharmaceut. Res.*, **19**, 1894 (2002).
9. E. Merisko-Liversidge, G. G. Liversidge, and E. R. Cooper, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **18**, 113 (2003).
10. N. Rasenack, H. Hartenhauer, and B. W. Muller, *Int. J. Pharm.*, **254**, 137 (2003).
11. D. J. van Drooge, W. L. J. Hinrichs, M. R. Visser, and H. W. Frijlink, *Int. J. Pharm.*, **310**, 220 (2006).
12. Y. T. Kim, H. J. Park, Y. H. Lee, H. K. Hong, S. Eom, Y. K. Kim, E. Y. Lee, M. G. Choi, J. J. Lee, Y. B. Cho, and G. Khang, *Polym. Korea*, **33**, 596 (2009).
13. V. B. Pokharkar, L. P. Mandpe, M. N. Padamwar, A. A. Ambike, K. R. Mahadik, and A. Paradkar, *Powder Technol.*, **167**, 20 (2006).
14. E. Rodier, H. Lochard, M. Sauceau, J. J. Letourneau, B. Freiss, and J. Fages, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **26**, 184 (2005).
15. T. Vilhelmsen, H. Eliassen, and T. Schaefer, *Int. J. Pharm.*, **303**, 132 (2005).
16. S. W. Park, J. H. Lee, D. S. Kim, W. Kim, J. H. Park, S. I. Ahn, Y. T. Kim, H. S. Shin, J. M. Rhee, and G. Khang, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **5**, 600 (2008).
17. J. S. Park, J. S. Oh, J. M. Oh, Y. T. Kim, J. H. Lee, J. H. Mo, H. B. Lee, and G. Khang, *Polym. Korea*, **32**, 193 (2008).
18. H. Agrawal, N. Kaul, A. R. Paradkar, and K. R. Mahadik, *Talanta*, **61**, 581 (2003).
19. J. H. Lee, J. W. Yang, J. Y. Park, C. J. Lee, N. K. Jang, J. H. Shin, D. K. Lim, and G. Khang, *J. Pharm. Invest.*, **45**, 201 (2015).
20. C. J. Lee, S. Y. Kim, H. G. Lee, J. W. Yang, J. Y. Park, S. R. Cha, D. K. Lim, D. W. Lee, and G. Khang, *Polym. Korea*, **38**, 656 (2014).
21. C. H. Kim, Y. S. Song, I. N. Choe, D. K. Kim, J. E. Song, N. Tripathy, D. W. Lee, and G. Khang, *Inter. J. Tissue Regen.*, **7**, 58 (2016).
22. S. Housheh, A. Daoud, S. Trefi, M. Haroun, and M. F. Chehna, *IJPSN*, **7**, 2371 (2014).
23. J. K. Lee, K. H. Kim, G. B. Park, M. J. Kim, S. J. Kang, D. W. Lee, and G. Khang, *Polym. Korea*, **37**, 28 (2012).
24. Z. Zhang and S. Feng, *Biomaterial*, **27**, 4025 (2006).
25. H. Abdelkader, O. Y. Abdalla, and H. Salem, *AAPS PharmSciTech.*, **9**, 675 (2008).