

YENİ ZELANDA VE YERLİ TAVŞANLARIN PLAZMA VE BAZI DOKULARINDA ASİKLOVİR KONSANTRASYONUNUN DAĞILIMI

Haluk TESTERECİ¹ Hülya SAĞMANLIĞIL² Ali ERTEKİN¹ İdris TÜREL²
Tahir KAHRAMAN¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya-Fizyoloji Anabilim Dalı, Van -TÜRKİYE
²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Van -TÜRKİYE

Distribution of Acyclovir Concentration in Plasma and Some Tissues of New Zealand and Native Rabbits

Summary : The aim of this study is to determine acyclovir distribution in plasma and tissue of the rabbits. Acyclovir (200mg Hemovir® / animal) has been administered to 3 female New Zealand rabbits orally and blood samples were collected regular interval from vena saphena. The plasma acyclovir concentration was measured by HPLC. The plasma acyclovir concentration-time curves were generated to fit one compartment-open pharmacokinetics model. The mean Maximum Concentration C(max), t(max) and The Area Under the Curve(AUC) were found as 29.322 µg/mL, 45 min. and 5259.258 µg-dak./mL, respectively.

Acyclovir (200 mg/animal) has been administered to 3 female New Zealand and 3 female native rabbits dosed orally again after 48h. Two hours later rabbits have been slaughtered to collect tissues. Tissues were extracted with 30 % HClO₄. Supernatants were injected into C8 column after filtration. In HPLC, mobile phase was 0.02 M. HClO₄ (pH: 2.0). Detection was achieved at 260 nm excitation and emission at 375 nm. Acyclovir retention time was 2.8 minutes.

The mean acyclovir concentrations of New Zealand rabbit for heart, kidney, lung, brain, fat, ovaries, uterus, M. longissimus dorsi and M. gluteus were found as 29.457 µg/g ± 4.26 SE, 114.13 µg/g ± 11.38 SE, 57.004 µg/g ± 28.60 SE, 38.18 µg/g ± 9.46 SE, 10.997 µg/g ± 0.55 SE, 103.08 µg/g ± 15.80 SE, 68.173 µg/g ± 19.72 SE, 33.807 µg/g ± 4.25 SE, and 31.421 µg/g ± 3.09 SE, respectively.

The mean acyclovir concentrations of native rabbit for heart, kidney, lung, brain, fat, ovaries, uterus, M. longissimus dorsi and M. gluteus were found as 73.907 µg/g ± 30.88 SE, 132.83 µg/g ± 40.74 SE, 53.659 µg/g ± 41.24 SE, 82.287 µg/g ± 31.89 SE, 124.79 µg/g ± 60.97 SE, 227.03 µg/g ± 81.82 SE, 157.68 µg/g ± 69.19 SE, 50.456 µg/g ± 21.78 SE and 42.283 µg/g ± 19.76 SE, respectively.

Key words: Acyclovir, Rabbit, Plasma, Tissue, Pharmacokinetics, HPLC.

Özet : Bu çalışmanın amacı tavşanların plazma ve bazı dokularında asiklovirin dağılımını tayin etmektir. Asiklovir (200mg Hemovir® / animal) 3 dişi Yeni Zelanda tavşanına ağız yoluyla verildikten sonra kan örnekleri tavşanların vena saphena'sından düzenli aralıklarla toplandı. Plazma konsantrasyonları HPLC ile ölçüldü. Asiklovirin plazma konsantrasyon-zaman eğrisi tek kompartmanlı açık farmakokinetik modele göre düzenlendi. Asiklovirin ortalama Doruk Düzeyi C(max), Doruk Düzeye Ulaşma Zamanı t(max), ve Eğrinin Altındaki Alan (EAA) sırasıyla 29.322 µg/mL, 45 dakika ve 5259.258 µg-dak./mL olarak bulundu.

Asiklovir (200 mg/ animal) 3 dişi Yeni Zelanda ve 3 dişi yerli tavşana ağız yoluyla verildikten 48 saat sonra tekrar verildi ve 2 saat sonra tavşan kesilerek dokuları toplandı. Dokuların % 30 'luk HClO₄ (pH: 2.0) ile ekstraksiyonu yapıldı. Süpernatantlar filtre edildikten sonra C8 (159x4.6 mm) kolonuna enjekte edildi. Okumalar eksitasyon 260 nm ve emisyon 375 nm de yapıldı. Asiklovirin tutulma zamanı 2.8 dak. olarak belirlendi.

Yeni Zelanda tavşanın ortalama asiklovir konsantrasyonu kalp, böbrek, akciğer, beyin, yağ, ovaryum, uterus, M. longissimus dorsi ve M. gluteus için sırasıyla 29.457 µg/g ± 4.26 SE, 114.13 µg/g ± 11.38 SE, 57.004 µg/g ± 28.60 SE, 38.18 µg/g ± 9.46 SE, 10.997 µg/g ± 0.55 SE, 103.08 µg/g ± 15.80 SE, 68.173 µg/g ± 19.72 SE, 33.807 µg/g ± 4.25 SE, ve 31.421 µg/g ± 3.09 SE, olarak belirlenmiştir.

Yerli tavşanın ortalama asiklovir konsantrasyonu kalp, böbrek, akciğer, beyin, yağ, ovaryum, uterus, M. longissimus dorsi ve M. gluteus için sırasıyla 73.907 µg/g ± 30.88 SE, 132.83 µg/g ± 40.74 SE, 53.659 µg/g ± 41.24 SE, 82.287 µg/g ± 31.89 SE, 124.79 µg/g ± 60.97 SE, 227.03 µg/g ± 81.82 SE, 157.68 µg/g ± 69.19 SE, 50.456 µg/g ± 21.78 SE and 42.283 µg/g ± 19.76 SE, olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Asiklovir Tavşan, Plazma, Doku, Farmakokinetik, HPLC.

Giriş

Asiklovir (9-2-(hidroksimetil)guanin) yeni bir asiklik nükleozid analogudur ve Herpes simpleks virus ve Varisella zoster virusa karşı güçlü bir inhibitör etkiye sahiptir (1,2,3,23,25). Asiklovir yalnızca virüsle enfekte hücreleri etkileyen, normal hücreleri etki etmeyen ideal

bir antiviral ajandır (9). 2 ve 3 pozisyonundaki karbon atomlarının bulunmaması ile oluşan asiklik yan zincirler bu yapının guaninden farkını belirler. Asiklovir ilk önce kansere karşı üretilmiş olsa da, son zamanlarda mononükleozis, kronik hepatit, AIDS ve papillomatozis'e karşı kullanılan güçlü bir antiviral ilaçtır (2,8,18,23).

Asiklovir Herpes virüsle enfekte hücreler içinde fosforilize edilene kadar inaktiftir. Hücre içi timidin kinazdan çok, virüsün uyardığı timidin kinaz ile fosforilizasyon sonucu monofosfat formları açığa çıkar. Konakçının hücre içi kinazları bu monofosfat formlarını difosfat ve trifosfat formlarına dönüştürür. Asiklovir trifosfat viral DNA ile yarışmaya giderek DNA zincirini bozar ve viral DNA polimerazı inaktive ederek antiviral etki göstermektedir (8, 9, 13).

İnsan hekimliğinde kullanılan antiviral ajanlar oldukça azdır. Bunlardan çok azıda veteriner hekimlikte kullanılır. Bununla birlikte bu alanda birçok çalışma yapılmaktadır. Veteriner hekimlikte antiviral kemoterapinin önemli bir yere geleceği görüşü önem kazanmaktadır (10).

Asiklovirin köpeklerdeki farmakokinetik ve birikim çalışmaları (14, 15) ve yüksek dozlarının gastrointestinal emilim kapasitesinde meydana getirdiği değişikliklerle ilgili çalışmalar yapılmıştır (4).

Rodentlere subkutan verildikten sonra dokulardaki dağılımını ve plazma konsantrasyonunu belirleyen çalışmada, beyin dokusunda diğer dokulardan daha düşük seviyede olduğu bildirilmektedir. (7). İlacın çoğu böbrek dokusunda toplandığı ve idrardan değişmemiş olarak atıldığı bildirilmiştir. İdrarda iki metaboliti analiz edilmiştir (12).

Asiklovirin emilimi ve dağılımı tavşan, fare ,rat, maymun ve insanlarda incelenmiştir (4,5,6,7,11,12,16). HPLC (17,20,22) ve radyoimmunoassay yöntemleri asiklovirin miktar tayininde kullanılmıştır (19, 21).

Bu çalışmanın amacı Yeni Zelanda türü tavşanlarda asiklovirin plazma dağılımı ile yerli ve Yeni Zelanda tavşanlarının bazı dokularındaki dağılımını tesbit etmektir. Literatürlerde asiklovirin yağ dokusu, uterus ve ovaryumdaki dağılım düzeyleri hakkında bilgiye rastlanmamıştır.

Materyal ve Metot

Plazmanın hazırlanması: Tabletler (200 mg. *Hernovir*®) 10ml distile suda suspansiyon haline getirilip, 3 dişi Yeni Zelanda tavşana oral yolla verildi. Kan örnekleri (2ml.) ilaç verilmeden önce ilk dakikada ve verildikten sonra 15., 30., 45., 60., 90., 120., 180., 240., 300., 360., 420., 480. dakikalarda vena saphena'dan sıratlı tüplere alındı. 4000 devirde soğutmalı santrifüjde (Minifuge RF, Heraeus) 15 dakika santrifüj edildi. Ayrılan plazmanın 1 ml'si 10 µl %30' luk HClO₄ ile çöktürüldü. 4000 devirde tekrar 15 dakika santrifüj edilerek elde edilen berrak süpernatantlar filtrasyondan (0.45 µm) sonra bekletilmeden HPLC 'ye enjekte edildi.

Doku örneklerinin hazırlanması: Asiklovir tableti (200 mg *Hernovir*®) dozda 3 dişi Yeni Zelanda ve 3 dişi yerli tavşana ağız yoluyla verildikten 48 saat sonra aynı doz tekrar verildi. 2 saat sonra tavşan kesilerek, kalp, yağ, böbrek, beyin, ovaryum, uterus, M. Gluteus, M. longissimus dorsi, akciğer'e ait doku örnekleri alındı.

Belli miktarda tartıldıktan sonra, üzerlerine 1ml % 30'luk HClO₄ ilave edilip cam çubukla ezilerek homojenize edildi. Karışım soğutmalı santrifüjde (Minifuge RF, Heraeus) 5000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar, filtre edildikten sonra (0.45µm) HPLC' ye enjekte edildi.

Kromatografi:

Standart: Asiklovir standardı Dr. H. Mascher (Pharm analyt labor GmbH, Avusturya) dan sağlandı. Stok asiklovir standardı 20mg standart maddenin mobil fazda çözülmesiyle hazırlandı. 300 ng/ml çalışma standardı mobil faz ile seyreltilerek hazırlandı. Bütün solventler ve kimyasallar (Sigma) ACS grade olarak kullanıldı.

Mobil faz: Mobil faz 0.02 M. HClO₄ çift distile su ile hazırlandı. Pazma konsantrasyon çalışması için pH 'ı 1.2 'ye doku analizi için pH'ı 2.0 'a ayarlandı. Mobil faz filtre (Millipore, 0.45 µm) edildi ve kullanmadan önce vakum ile çözülmüş gazlarından arındırıldı.

Cihazlar: LC-10AD model HPLC pompası (Shimadzu, Japan) kullanıldı. Mobil fazı izokratik olarak vermek üzere plazma konsantrasyonu için 1.5 ml/dakika doku analizi için 1 ml/dakika akış hızında kullanılmıştır. Örnekler Rhodyne 7124 injeksiyon valfindan (20-µl loop) C8 kolonuna yüklenmiştir. RF-10A model spektrofotometrik dedektör (Shimadzu, Japan) vasıtasıyla 260 nm de eksitasyona maruz bırakılıp, 376 nm de yaydığı emisyonu okumakla tanınabilmiştir. Bu koşullar altında asiklovir piki 2.8 dakika sonra gözlenmiştir.

Hesaplamalar: Örnekler HPLC'de standarta göre C-R6A model Chromatopac integrator (Shimadzu) vasıtasıyla yükseklik ve alanlar ayrı ayrı hesaplanarak yapılmıştır. Kinetik hesaplamalar Pckalc paket programı (20) ile yapılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Üç Yeni Zelanda türü dişi tavşana ağızdan tek doz, 200 mg. asiklovirin verilmesini takiben HPLC yöntemiyle ölçülen plazma asiklovir düzeyinin zaman içindeki değişimi şekil 1 ve ortalama değerleri tablo 1'de gösterilmiştir. Buradan da görüldüğü gibi tek doz (200 mg.) verilen tavşanlarda plazma asiklovir düzeyleri ilk 45-90 dak içerisinde hızlı bir şekilde yükselmekte ve 45 dak. (t_{max}= 45 dak.) içinde en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Bu dozda elde edilen maksimum asiklovir konsantrasyonu 29.32 µg/ml olmuştur (Tablo 1).

Yeni Zelanda tavşanlarının ağız yoluyla asiklovir verilmesini takiben 8 saatlik süre içinde plazma asiklovir düzeyinde ortaya çıkan değişimler saptandı. Bu değerler kullanılarak asiklovirin değişim düzeyi eğrileri elde edildi. Bu eğrilerden, " Eğrinin Altındaki Alan (EAA), Maksimal Plazma Düzeyi (C_{max}) ve Maksimal Düzeye Ulaşma Zamanı (t_{max}) hesaplandı (Tablo 2).

İnsanlara asiklovirin (200 mg) oral olarak verilmesinden sonra farmakokinetik özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada ilacın maksimum

konsantrasyona ulaşma zamanı 1.5-1.75 saat olarak bildirilmiştir (24, 26). 200 mg tek doz asiklovir alınmasından bir saat sonra insan serumunda yaklaşık 60 ng/ml, tükürükte 1.5 µg/ml ve idrarda 7.5 µg/ml olduğu kaydedilmiştir (22).

Köpeklere asiklovirin i.v. verilerek yapıldığı farmakokinetik çalışmalarının sonuçlarının rat ve maymunlara benzediği bildirilmiştir (5).

Asiklovir köpeklere i.v. verildikten sonra ilacın iki kompartımanlı modele göre plazma konsantrasyon eğrisi çizilmiş ve buna göre asiklovirin yarı ömrü 2.3 + 0.1 saat ve dağılım hacmi 1.2 + 0.2 litre/kg olarak bildirilmiştir. (16).

Köpeklere i.v. ve p.o (kapsül) olarak 5, 20, 50 mg/ kg dozlarda verilen asiklovirin kross-over deney çalışmaları yapılmıştır. i. v. enjeksiyondan sonra plazma konsantrasyon eğrisi R.I.A ile analiz edilmiş ve t 1/2 2.2 ve 3.6 saat sonra terminal bir eksponansiyel bir düşüş gösterdiği belirtilmiştir (15).

Köpeklere ağız yoluyla (kapsül) verilen asiklovirin plazma konsantrasyon eğrisi çizilerek farmakokinetik profili ortaya konulmuştur. Yarı ömür ve Vd parametreleri i.v yolla elde edilen değerlere benzer bulunmuştur. Plazma ilaç konsantrasyonu 2 saat içinde en yüksek seviyeye ulaştığı aynı zamanda 5 ve 20 mg dozlarda verilen kapsül den iyi bir biyoyararlanım elde edildiği (% 91 ve % 80) fakat 50 mg/ kg dozda verildikten sonraki biyoyararlanımda (% 52) azalma olduğu bildirilmektedir. Araştırmacılar asiklovirin gastrointestinal absorpsiyonunun muhtemelen doyurulabilir bir işlem olduğu sonucuna varmışlardır (16).

Yeni Zelanda ve yerli tavşanların çeşitli organlarındaki asiklovir seviyesi şekil:2 'de verilmiştir. Şekil:2 genel olarak incelendiğinde üç Yeni Zelanda tavşanın çeşitli dokularında belirlenen ortalama asiklovir konsantrasyon değerleri kalpde 29.457 µg/g ± 4.26 SE . böbrekte 114.128 µg/g ± 11.38 SE . akciğerde 85.055 µg/g ± 28.60 SE , beyinde 98.180 µg/g ± 9.46 SE . yağda 10.997 µg/g ± 0.55 SE . ovaryumda 103.077 µg/g ± 15.80 SE , uterusda 68.173 µg/g ± 19.72 SE . M. longissimus dorsi 33.807 µg/g ± 4.25 SE ve M.gluteus da 31.421 µg/g ± 3.09SE , olarak bulunmuştur.

3 yerli tavşanın çeşitli dokularında belirlenen ortalama konsantrasyon değerleri ise kalpde 73.907 µg/g ± 30.88 SE , böbrekte 132.831 µg/g ± 40.74 SE , akciğerde 80.488 µg/g ± 41.24 SE . beyinde 82. 287 µg/g ± 31.89 SE , yağda 124.790 µg/g ± 60.97 SE . ovaryumda 227.030 µg/g ± 81.82 SE . uterusda 157. 68 µg/g ± 69.19 SE , M.longissimus dorside 50.456 µg/g ± 21.78 SE ve M.gluteusda 42.283 µg/g ± 19.76 SE olarak bulunmuştur.

Şekil 2 incelendiğinde yerli ırk tavşanların bazı dokularında asiklovirin daha yüksek yoğunlukta birikme eğilimi gösterdiği anlaşılmaktadır.

Yeni Zelanda tavşanlarında en düşük ortalama asiklovir miktarı yağ dokusunda (10.9 µg/g) en yüksek

Tablo 1: Tek doz oral Asiklovirin (Hernovir®) verilmesinden sonra plazma asiklovir düzeyi (µg/mL) değişimleri (20).

Zaman Aralığı	Asiklovir	C.V.
0.dakika	0.43±0.13	52.4
15. dakika	5.41±3.08	98.7
30.dakika	13.66±4.27	54.1
45.dakika	29.32±1.02	4.9
60.dakika	17.01±1.38	14.0
90.dakika	22.08±7.77	60.9
120.dakika	18.38±7.31	68.8
180.dakika	14.35±4.66	56.3
240.dakika	10.88±3.30	52.4
300.dakika	7.86±2.38	52.3
360.dakika	4.79±1.01	36.4
420.dakika	4.36±1.48	48.1
480. dakika	4.13±0.76	32.0

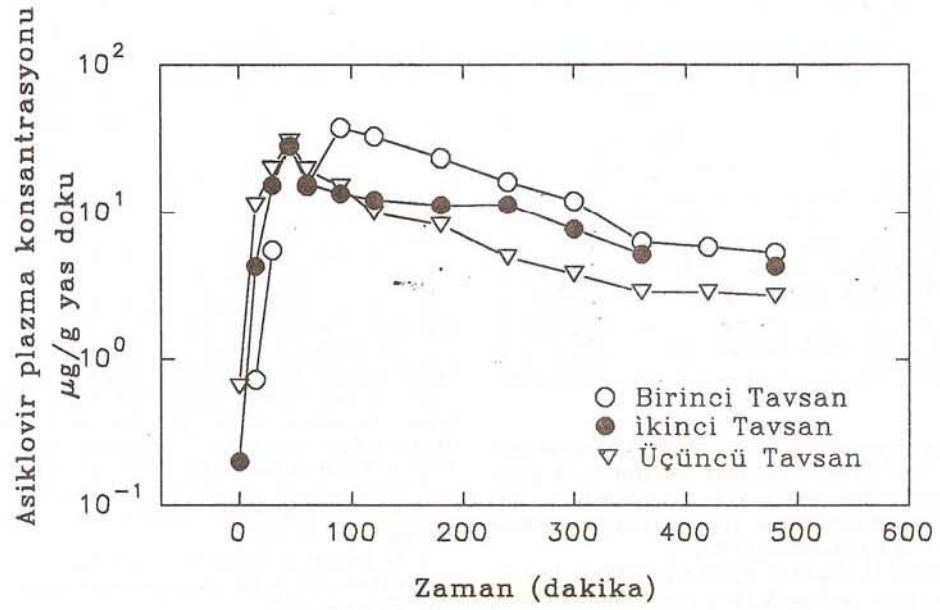
Tablo 2 Tavşanlarda tek doz oral asiklovir (Hernovir®) verilmesinden sonra 8 saat içinde asiklovir düzeyi değişimleri ile ilgili bazı farmakokinetik parametreler (20).

Hayvan sayısı (N=3)	C maksimum (µg/mL)	t maksimum (Dakika)	EAA(AUC) (µg-dak./ mL)
1. Tavşan	37.602	90	7210.695
2. Tavşan	28.307	45	4588.455
3. Tavşan	30.307	45	3719.595
Ortalama değerler	29.322	45	5259.258

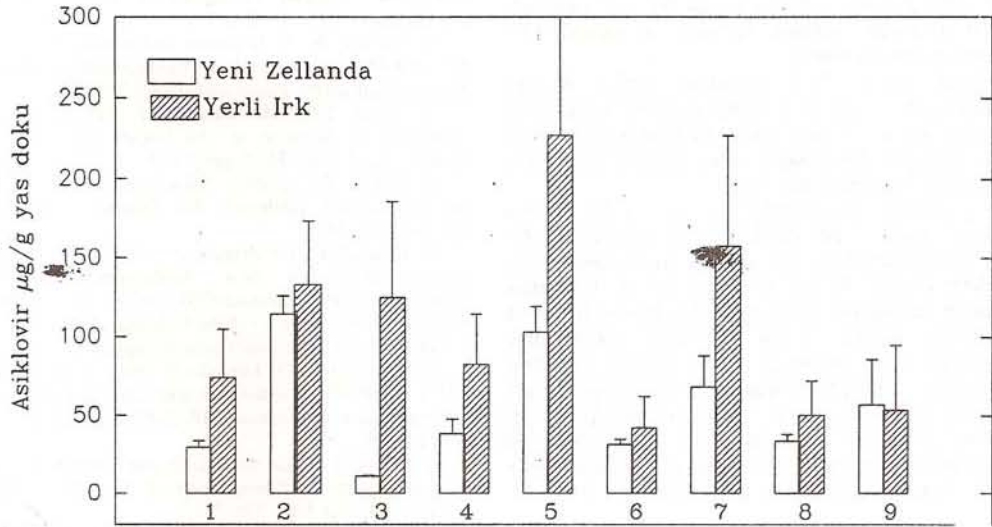
ise böbrekte (114.12 µg/g) bulunmuştur. Yerli tavşanda ise en düşük ortalama asiklovir düzeyi M.longissimus dorsi kasında (50.46 µg/g) en yüksek ovaryumda (227.03 µg/g) bulunmuştur.

Asiklovirin farmakokinetik profilleri serum, plazma, idrar, serebrospinal sıvı, süt, akciğer, kalp, beyin, spinal kord, tükürük, gözyaşı vb. de ortaya konulmuştur. (25).

Wagstaff ve arkadaşları (25), asiklovirin; serum, plazma, idrar, serebrospinal sıvı, süt, akciğer, karaciğer, kalp, beyin, spinal kord, tükürük, gözyaşı vb. gibi dokulardaki dağılımının ortaya konulduğu çalışmaları geniş bir derlemede halinde sunmuşlardır. Buna göre farklı dokulardaki dağılımı plazma dağılımı ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre insanlarda plazmaya göre böbrekte dağılımı % 100, karaciğer akciğer ve kalpte % 130 , beyin ve spinal kordda % 25-70, sütte % 324, amniyotik sıvıda % 300-600 oranında bulunmuştur.



Şekil 1. Üç Yeni Zelanda tavşanının plazma asiklovir konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimleri



Şekil 2. Ağız yolu ile 200 mg / hayvan asiklovir verildikten sonraki 2. saatte. Yeni Zelanda ve yerli tavşanların 1-Kalp, 2- Böbrek, 3-Yağ dokusu, 4-Beyin, 5-Ovaryum, 6-M. Gluteus, 7-Uterus, 8-M. Longissimus dorsi, 9-Akciğer organlarında ortalama asiklovir dağılımı.

Tablo 3: İkinci saatteki asiklovirin çeşitli organ dokularındaki asiklovir miktarlarının plazmaya göre % oranları.

Yeni Zelanda Tavşanın Organları	Plazmaya Göre Oranları (%)
Kalp	160.3
Böbrek	620.1
Yağ	59.8
Bevin	534.2
Ovaryum	560.8
M. Gluteus	170.9
Uterus	370.9
M. Longissimus dorsi	183.8
Akciğer	465.2

Tavşan çalışmasında, ikinci saatte plazma asiklovir düzeyi Yeni Zelanda tavşanında ortalama 18.38 µg/ml bulunmuştur. Buna göre asiklovir alınmasından sonraki ikinci saatte dokularındaki asiklovir düzeyleri, plazma değerleri ile kıyaslanmıştır (Tablo 3).

Farelerde 15. dakikada böbrekdeki asiklovir dağılımı plazmaya göre yaklaşık % 3400, 1 saat sonra % 450' ye indiği bildirilmiştir. Tavşanlarda ise böbrekte bu oran % 620.1 olarak bulunmuştur. Bu da asiklovirin en çok idrar yoluyla atıldığını teyid etmektedir. Farelerin birçok dokusunda radyoaktif asiklovir miktarının özellikle karaciğer böbrek ve barsaklarda plazmadan daha yüksek olduğu beyinde ise plazmadan daha düşük olduğu bildirilmiştir. Farelerde (50mg/kg) deri altı yolla radyoaktif asiklovir verilmiş bunun bir saat içerisinde çeşitli dokularda yaklaşık 22.5µg/g 'ın üzerinde bir dağılım gösterdiği bunun

ikinci saatte 22.5 µg/ml'ün altına düştüğü bildirilmiştir. Sıçanlara 5 mg/kg asiklovir verildiğinde bir saate kadar 2.3 µg/g civarında dokularda asiklovir tesbit edilmiştir. İkinci saatte bunun yaklaşık 1.2 µg/g'ın altına düştüğü görülmüştür (6).

Tavşanların dokularında ise oral yolla verilen asiklovir dozu, bir defalık insan dozuna eşdeğer miktarlarda verilmiştir. Bu nedenle tavşan dokularında asiklovir düzeyi, iki saat sonra bile fare ve sıçanlardan gram yaş dokusundan çok daha fazla bulunmuştur. Bu da asiklovirin sağlıklı tavşan dokusunda toksisitesinin olmadığına işaret etmektedir. Zaten literatür bilgileride asiklovirin sağlıklı dokularda toksisitesinin düşük olduğunu bildirmektedir (6, 7). Bu çalışma halen devam etmekte olup yeni yapılacak olan çalışmalarda bu organlarda zamana bağlı asiklovir düzeyi ve diğer kinetik parametrelerin incelenmesine devam edilmektedir.

Kaynaklar

1. Biron, K. K. and Elion, G. B. (1980) : In vitro Susceptibility of Varicella Zoster Virus to Acyclovir. *Antimicrob Agents Chemother.* 18, 443-447.
2. Corey, L. and (1982): Double-Blind Controlled Trial of Topical Acyclovir in Genital Herpes Virus Infections. *Ame. J. Medicine* 73: 326-334.
3. Collins, P. and Bauer, D. J. (1979): The Activity In vitro Against Herpes Virus of 9-(2-hydroxymethyl) Guanine (acycloguanosine), A New Antiviral Agent. *J. Antimicrob. Chemother.* 5, 431-436.
4. De Miranda, P., Krasny, H.C. and Elion, G. B. (1978a): Metabolic Disposition of 9-(2-hydroxyethoxymethyl) Guanine, A New Antiviral Drug. In abstracts of the 7th International Congress of Pharmacology, p. 354.
5. De Miranda, P., Krasny, H.C., Good, S., Page, D. A., Creagh, T.H. and Elion, G. B. (1978): Metabolic Disposition of 9-(2-hydroxyethoxymethyl) Guanine (BW 248U) in Different Species. In abstracts of the 18th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, abstr. no. 66, American Society for Microbiology, Washington, DC.
6. De Miranda, P., Good, S. S. and Laskin, O. L. (1981): Disposition of Intravenous Radioactive Acyclovir. *Clin. Pharmacol. Ther.* 30, 662-72.
7. De Miranda, P., Krasny, H. C. and Page, D. A. (1982): Species Differences in The Disposition of Acyclovir. *Am. J. Med.* 73 (Suppl), 31-5.
8. Douglas, R. G. (1974): Update Acyclovir Proceedings of the 24th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1984, Washington DC Park Row Publishers.
9. Dorsky, D. and Crumacker, C. S. (1987): Drug Five Years Later Acyclovir. *Ann. Int. Med.* 107, 859-874.
10. Fenner, F., Bachmann, P. A., Gibbs, E. P. J., Murphy, F.A., Studdert, J. M. and White, O. O. (1987): Viral Replication (Chapter 4). *Veterinarian Virology*, Academic Press, Orlando, USA, 55-87.
11. Gnann J. W., N. H. Barton, and Whitley, R. J. (1983): Acyclovir Mechanism of Action, Pharmacokinetics, Safety and Clinical Applications. *Pharmacotherapy* 3:275-283.
12. Good, S.S., De Miranda, P. (1982): Metabolic Disposition of Acyclovir in The Guinea Pig, Rabbit, and Monkey. *Am. J. Med.* 73 (Suppl), 91-5.
13. Heaton, C.L. (1990) : Herpes simple in *Dermatology*, eds. Moschella SL, Hurley HJ. WB. Saunders Comp. 8 th ed. 437- 444, 465- 451.
14. Krasny, H.C., De Miranda, P. and Elion, G.B. (1978): Pharmacokinetics A New Antitherpetic Drug, 9-(2-hydroxyethoxymethyl) Guanine (BW 248U) in Dogs After Oral Administration. In abstracts of the 18th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, abstr. no.68.
15. Krasny, H.C., De Miranda, P., Blum, M.R. and Elion, G.B. (1979): Pharmacokinetics and Bioavailability of 9-(2-hydroxyethoxymethyl) Guanine (BW 248U) in Beagle Dogs. *Fed. Proc.* 38, 585.
16. Krasny, H. C., De Miranda, P. and Blum, M. R. (1981): Pharmacokinetics and Bioavailability of Acyclovir in the Dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 216, 281-7.
17. Land, G., and Bye, A. (1981): Simple High Performance Liquid Chromatographic Method for the Analysis of 9-(2-hydroxyethoxymethyl) Guanine (acyclovir) in Human Plasma and Urine. *J. Chromatography* 224: 51-58.
18. O'Brien, J. J. and Campoli-Richards, J. (1989): Acyclovir, An Updated Review of its Antiviral Activity,

Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy. *Drugs* 37:233-309.

19. Quinn, R.P., De Miranda, P., Gerald, L. and Good, S. S., (1979): A Sensitive Radioimmunoassay for The Antiviral Agent BW 248U (9-(2-hydroxyethoxymethyl) Guanine). *Anal. Biochem.* 98:318-328.

20. Shumaker, R. C.(1987): Pkcalc Software. Merrell Dow Research Institute, 2110, East Galbraith Road, Cincinnati, Ohio 45215, 513-948-9111.

21. Skubitz, K.M., Quinn, R.P. and Litman, P.S. (1982): Rapid Acyclovir Radioimmunoassay, Using Charcoal Adsorption. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 21,352-4.

22. Testereci, H., Dülger, H, Ertekin, A. and Kahraman, T. (1995): An HPLC Method for the Determination of Acyclovir in Sheep Serum and Human Serum, Saliva and Urine. *Karadeniz Tıp Dergisi.* 8(3). Baskıda.

23. Thin , R. N. (1988):Management of Genital Herpes Simplex Infections. *Ame. J. Medicine.* 85:3-6.

24. Van Dyke, D.B., Connor, J.D. and Wyborny, C. (1982): Pharmacokinetics of Orally Administered Acyclovir in Patients with Herpes Progenitalis. *Am. J. Med.* 73 (Suppl), 176-81.

25. Wagstaff, J. A., Faulds, D. and Goa, K. I. (1994): Acyclovir: A Reappraisal of its Antiviral Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy. *Drugs* 47(1):153-205.

26. Whitley R. J. , Blum, M. R., Barton, N. and De Mirande, P.(1982): Pharmacokinetics of Acyclovir in Humans Following Intravenous Administration. A Model for The Development of Parenteral antivirals. *Ame. J. Medicine* 73:165-171.