

수용성 키토산으로 제조한 미세구의 분해성과 약물 방출 거동

장미경 · 최창용 · 김원석* · 정영일** · 나재운†

순천대학교 공과대학 고분자공학과, * (주)키토라이프 기술연구소,

**전남대학교 의과대학 의과학연구소

(2004년 1월 7일 접수, 2004년 5월 13일 채택)

Drug Release Behavior and Degradability of Microspheres Prepared using Water-Soluble Chitosan

Mi-Kyeong Jang, Changyong Choi, Won-Seok Kim*, Young-Il Jeong**, and Jae-Woon Nah†

Department of Polymer Science and Engineering,

Sunchon National University, Jeonnam 540-742, Korea

*Technical R&D Center, KITTO LIFE CO., LTD., Gyeonggi 459-050, Korea

**Research Institute of Medical Sciences, Chonnam National University,

Medical School, Guangju 501-746, Korea

†e-mail : jwnah@sunchon.ac.kr

(Received January 7, 2004; accepted May 13, 2004)

초록 : 수용성 키토산의 농도와 가교제 (글루타알데히드)의 양을 변화시키면서 미네랄 오일 내에서 키토산용액의 유화법에 의해 수용성 키토산 미세구를 제조하였다. 그리고 약물이 봉입되어진 수용성 키토산 미세구의 분해에 따른 형태의 변화, 약물의 봉입효율, 약물 방출 거동과 같은 물리화학적 특성을 규명하였다. Norfloxacin이 봉입된 수용성 키토산 미세구는 표면의 약물에 의해 나타나는 과량의 약물 방출이 없는 높은 약물 봉입 함량을 보였다. 표면에 약물이 존재하지 않음을 X-선 회절 분석으로 확인하였다. 수용성 키토산 미세구의 분해 특성과 약물방출 거동을 관찰한 결과 가교제의 양이 약물의 봉입량, 방출, 그리고 분해에 중요한 역할을 하는 것을 확인하였다. 수용성 키토산 미세구는 가교제의 양이 증가함에 따라 분해속도가 느렸으며, 이와 동시에 약물이 천천히 방출되었음을 확인하였다.

ABSTRACT : Water-soluble chitosan microspheres were prepared by emulsification of chitosan solution in mineral oil followed by crosslinking reaction with different amount of the crosslinking agent (glutaraldehyde), different chitosan concentration. Then, the physicochemical properties such as morphological change by degradation, drug loading efficiency, and drug release profiles were investigated with the drug loaded water-soluble chitosan microspheres. Norfloxacin loaded water-soluble chitosan microspheres showed excellent drug entrapping capacities without burst release caused by surface bound drug. The absence of the surface bound drug also confirmed by X-ray diffraction study. Degradation and drug release studies showed that the amount of the crosslinking agent played a crucial role for drug loading, release and degradation. The water-soluble chitosan microspheres showed more sustained drug release profiles with slower degradation and larger particle size by increasing crosslinking agent.

Keywords : water-soluble chitosan, degradation, microsphere, norfloxacin, glutaraldehyde.

1. 서론

키토산은 무척추동물 특히 새우나 게와 같은 갑각류, 연체동물인 갯 오징어의 뼈 그리고 곤충류의 겹껍질의

주성분인 키틴을 탈아세틸화하여 추출된 자연성 양이온 다당류이다. 키토산은 생체 적합성, 분해성, 무독성, 무공해성 등이 우수하다는 것이 입증되어 인공피부나 수술용 봉합사, 약물 전달체, 혈액응고 방지제, 인공위장막 등

의 의약 분야뿐만 아니라 식품, 섬유, 환경, 화장품, 농축산 등에 이르기까지 그 연구 및 응용이 여러 분야에서 활발히 진행되고 있다.¹⁻³ 그러나 합성물질이나 다른 값비싼 생체물질에 비해 우수한 장점을 가진 키토산도 용해성이 매우 낮기 때문에 실제 생체에 적용하는 것뿐만 아니라 약물 전달체, 생리활성 물질의 전달 및 보조제로서의 응용에도 한계가 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 키토산을 PEG⁴나 카복시메틸기와⁶ 같은 수용성기로 치환하거나 염의 형태로 개질하여 의약품 분야에서 많이 응용하고 있다.

Kawashima 등은⁶ indomethacin을 키토산으로 코팅한 미립의 방출 지연성에 관하여 발표하였으며, Miyazaki 등은⁷ 키토산젤을 indometacin과 papaverin hydrochloride로 분산된 형태의 키토산 미립을 제조하여 방출 지속성 제제에 관한 연구를 수행하였고, Sawayanagi 등은⁸ 키토산과 키토산을 마니톨, 유당, 감자전분 등과 혼합하여 정제형 제제로서의 응용을 시도하였다. 국내의 경우 키토산을 이용하여 다음과 같은 연구가 이루어져있다. Kim 등은⁹ 키토산을 이용하여 다공성 키토산 비드를 제조하고 중금속(Cu^{2+})의 흡착에 관하여 연구하였으며, Ha 등은¹⁰ 키토산을 이용하여 메틸 바이올렛이 봉입된 키토산 마이크로캡슐을 제조하고 방출 특성에 관하여 발표하였다. Park 등은^{11,12} 키토산, 폴리(비닐 알코올), 글리세린, 그리고 폴리(N-비닐 피롤리돈)으로 구성되어 있는 하이드로젤을 제조하여 그 특성에 관하여 연구하였으며, Kim 등은¹³ 키토산을 황산화시켜 항응고성에 관하여 연구하였다. 그리고 Choi 등은¹⁴ 수용성 키토산, 폴리(비닐 알코올), 폴리(N-비닐 피롤리돈), 그리고 헥실렌글리콜을 혼합하여 수화젤을 제조하고 이의 상처 치료효과 및 항균성에 관하여 연구하였다. 또한 저자 등은¹⁵ 키토산 매트릭스를 제조하여 항류마티스 치료제인 프레드니솔론의 전달체로서의 응용 가능성을 고찰한 바 있다. 그러나 이러한 기존의 약물 제형이 가지고 있는 문제점으로는 투여 초기에 약물이 급격하게 방출되는 burst effect로 인한 혈중 약물의 농도가 높아지면서 독성을 나타내게 되어 인체에 심각한 부작용을 일으키는 것과 투여되는 약물이 선택적이고 지속적으로 작용하지 않기 때문에 충분한 치료효과를 얻기 위해 과량의 약물이 투여됨에 따라 극심한 부작용이 나타난다는 것이다. 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위한 목적으로 키토산이나 다른 생체 고분자를 이용한 새로운 약물 전달체를 개발하기 위한 많은 연구가 이루어지고 있다.

인체내 약물의 불필요한 분포를 억제하여 비표적 부위를 보호하고 표적부위로만 약물을 전달하는 표적 지향적 약물 전달체와^{16,17} 약물의 부작용을 줄이고 치료효과를

극대화함으로써 적당한 양의 약물을 효율적으로 전달할 수 있는 지속성 약물 방출시스템 등이¹⁸ 있다. 이러한 제제를 만들기 위해 고분자물질로 보호피막을 형성한 미세구나 마이크로캡슐이 약물의 제어 방출 시스템에 이용되고 있다.¹⁹ 이는 미세구나 마이크로캡슐이 체내의 특정 부위에 약물을 전달함으로써 특정 부위의 항암치료, 유전자 치료, 바이러스성 질환, 박테리아 감염과 같은 질병의 치료에 효과적이기 때문이다. 또한 미세구는 아주 작은 크기로서 경구투여제로 많이 사용되고 있으며, 표면적이 크기 때문에 위나 장의 점막에 점착하여 오랜 시간동안 지속적으로 약물을 방출할 수 있다는 장점을 가지고 있다.²⁰ 이러한 미세구의 제조방법으로는 고분자를 약물과 같이 유화시킨 후 글루타알데히드 등의 가교제를 이용해 화학적으로 가교시키는 유화법이 주로 사용되고 있으며, 이 외에도 방사선 중합, 용매 증발법, 분무 건조법 등이 있다.²¹⁻²⁶ Thanoo 등은²⁷ 고분자량의 키토산을 이용하여 미세구를 제조하였고, *in vitro*에서 약물 방출의 특성에 관해 조사한 바 있다. Park 등은²⁸ 에리트로마이신이 봉입되어진 폴리카프로락톤과 폴리(에틸렌 옥사이드) 마이크로캡슐을 제조하고 이의 특성에 관하여 연구하였다. 그리고 Park 등은²⁹ 토코페롤이 함유되어진 폴리(ϵ -카프로락톤) 마이크로캡슐을 제조하고 방출 특성에 관하여 연구하였다.

본 연구에서는 수용성 키토산을 이용하여 항생제인 norfloxacin (NFX)을 국소 부위에서 초기 약물의 과다방출 없이 서서히 약물이 영차로 방출할 수 있도록 하고, 점액 점착 특성을 갖게 하기 위하여 W/O 형태의 유화법으로 약물을 담지한 미세구를 제조하였다. 또한 이렇게 제조된 수용성 키토산 미세구를 pH 7.4 인산염 완충용액 내에서 가교제의 양에 따른 미세구의 약물 방출 거동과 분해 특성을 고찰하였다.

2. 실험

시약. 본 연구에서 약물 전달체로 사용된 수용성 키토산 (M_w 13 kDa, 탈아세틸화도 : 83%)은 (주)키토라이프에서 공급받아 사용하였다. 글루타알데히드 (25% aqueous solution), span 80 (Sorbitan Monooleate)은 Aldrich사의 제품을, norfloxacin (NFX)과 미네랄 오일 (light white oil)은 Sigma사의 제품을 구입하여 사용하였다. 기타 시약들은 일급시약으로 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

수용성 키토산 미세구의 제조. 10%의 수용성 키토산 용액 20 g을 제조한 후 이 용액에 span 80 유화제 1.4 mL와 미네랄 오일 140 mL이 균일상으로 섞여있는 용액을 교반기를 사용하여 600 rpm으로 교반하면서 30분에

걸쳐 첨가 한 후 30분 동안 교반하였다. 그 후 톨루엔에 포화된 글루타알데히드를 3 mL (0.008 mol) 첨가하고 1 시간 후에 25% 글루타알데히드 2 mL (0.006 mol)을 첨가하여 최종농도가 0.1 M이 되도록 한 후 90분 동안 교반 반응시켰다. 반응 후 오일을 제거하기 위하여 헥산으로 수회 세척하였으며, 차가운 증류수를 이용하여 미반응 가교제를 제거한 후 동결 건조하여 수용성 키토산 미세구를 제조하였다.

수용성 키토산 미세구의 표면 관찰. 수용성 키토산 미세구의 표면을 관찰하기 위해 건조한 수용성 키토산 미세구를 금속 스테브 위에 올려놓고 금으로 진공 증착하여 시차주사 전자현미경 (SEM, Hitachi S570)을 사용하여 수용성 키토산 미세구의 표면을 관찰하였다.

수용성 키토산 미세구의 분해성 실험. 인산염 완충용액 (이온강도; 0.154 M) 10 mL에 수용성 키토산 미세구 0.01 g을 넣고 37.0 ± 0.5 °C에서 100 rpm으로 교반하면서 0, 7, 14, 21일마다 일정량의 수용성 키토산 미세구를 취하여 상온에서 건조 한 후, SEM을 사용하여 수용성 키토산 미세구의 크기 및 형태를 관찰하였다. 또한 미세구가 분해됨에 따라 흡광도가 감소하기 때문에 UV 분광광도계 (Shimadzu, UV-1601)를 이용하여 시간에 따른 흡광도를 측정하였다. 이때 UV 분광 광도계의 흡수파장은 350 nm 이고 각 시료를 인산염 완충용액에 1 mg/mL이 되도록 분산시킨 후 37.0 ± 0.5 °C에서 100 rpm으로 교반하면서 14일 동안 관찰하였다. 시료당 3개를 취하여 흡광도를 측정하고 이들의 평균값을 이용하였다.

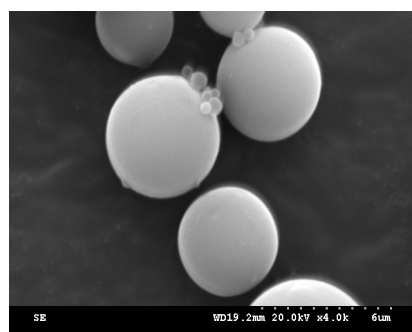
X-선 회절 분석. NFx이 봉입된 수용성 키토산 미세구의 특성을 알아보기 위해 X-선 회절기 (Rigaku, D/Max-1200)을 사용하여 분말처리 방법으로 측정하였으며 이때의 분석 조건은 Ni-여과 된 $\text{CuK}\alpha$ 선으로 40 kV, 20 mA, 주사 속도 5°/min을 사용하여 2 : 5~90°의 범위에서 측정하였다.

수용성 키토산 미세구의 약물 함유량 및 약물 방출 특성. 수용성 키토산 미세구의 약물 함유량은 2 mg의 수용성 키토산 미세구를 10 mL의 메탄올에 넣어 교반 및 초음파로 분해시킨 후 원심분리하여 상층액을 UV 분광광도계 (Shimadzu, UV-1601)로 약물 농도를 측정하여 식 (1)에 의해 계산하였다. 제조된 수용성 키토산 미세구로부터의 NFx의 방출량은 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 수용성 키토산 미세구 5 mg을 1 mL 인산염 완충용액에 분산시키고 투석막에 넣었다. 이 투석막을 시료병에 넣고 9 mL의 인산염 완충용액을 첨가한 후 37.0 ± 0.5 °C, 100 rpm의 속도로 교반시켰다. 약물의 포화를 방지하기 위하여 전체 보존액을 갈아주고 약물 방출량을 측정하였다. 특정 시간 간격으로 전체 보존액 (9 mL)을 새로운 동

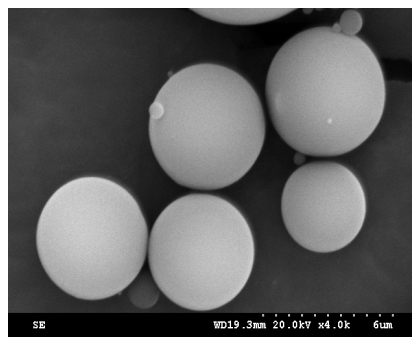
량의 인산염 완충용액으로 교체하고 NFx의 방출 농도는 322 nm에서 UV 분광광도계로 측정하였다. 약물의 봉입 효율은 식 (2)에 의해 계산하였다.

$$\text{약물의 함량} = \frac{(\text{미세구내의 약물의 잔존량})}{(\text{미세구의 약물의 잔존량} + \text{키토산의 양})} \times 100 \quad (1)$$

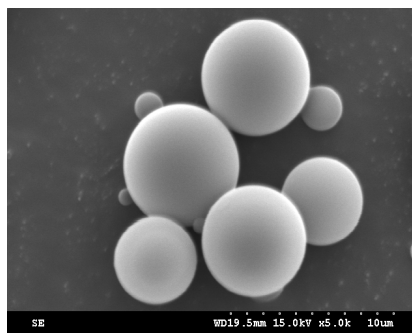
$$\text{약물의 봉입 효율} = \frac{(\text{미세구내의 약물의 양})}{(\text{초기 공급된 약물의 양})} \times 100 \quad (2)$$



(a)



(b)



(c)

Figure 1. The morphology determined by SEM of water-soluble chitosan microspheres according to the amount of the glutaraldehyde ; (a) 0.008 mol, (b) 0.014 mol, and (c) 0.028 mol.

3. 결과 및 토론

Figure 1은 가교제의 양을 각각 0.008, 0.014, 0.028 mol 첨가하여 제조된 수용성 키토산 미세구의 표면을 SEM으로 관찰한 결과를 나타낸 것으로, 가교제의 양을 0.008, 0.014, 0.028 mol 첨가하여 제조한 수용성 키토산 미세

구 모두가 2~8 μm 정도의 크기로 표면이 아주 매끄러운 구형을 가지는 수용성 키토산 미세구가 제조되었음을 확인할 수 있었다.

Figure 2~4는 SEM을 사용하여 수용성 키토산 미세구의 크기 및 형태를 관찰한 결과이다. 가교제의 양을 10 mL 첨가하여 제조한 수용성 키토산 미세구의 경우

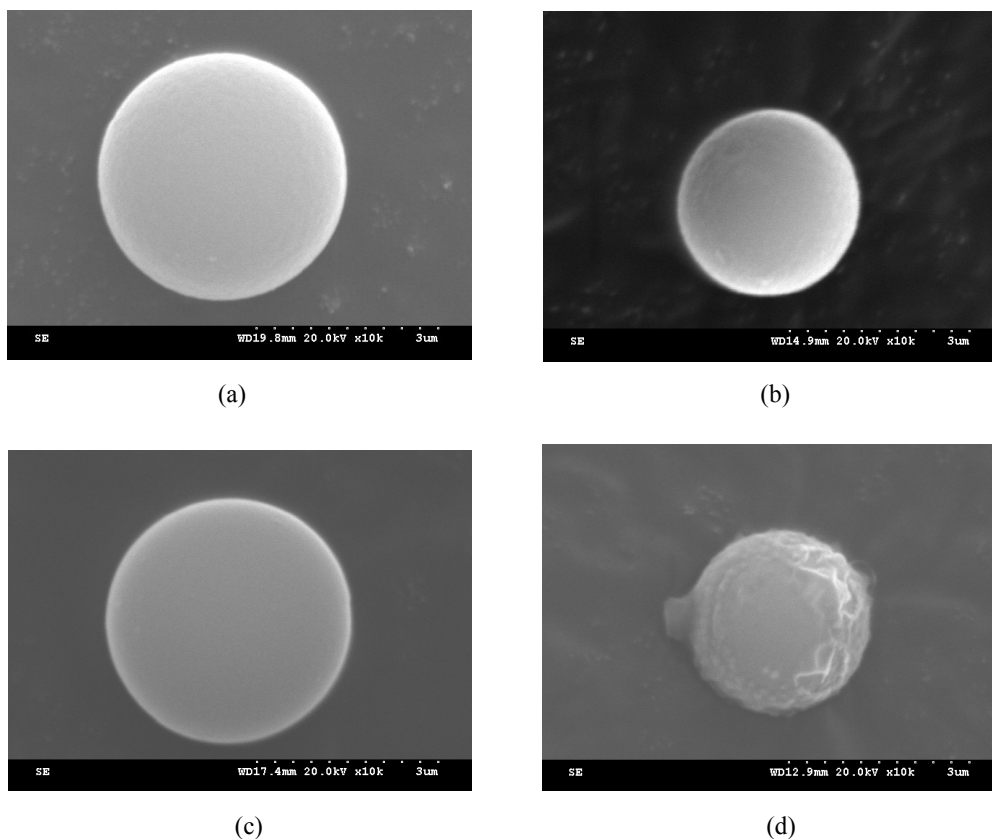


Figure 2. The morphology determined by SEM of water-soluble chitosan microspheres degradation added to glutaraldehyde 0.028 mol ; (a) control, (b) 7 days, (c) 14 days, and (d) 21 days.

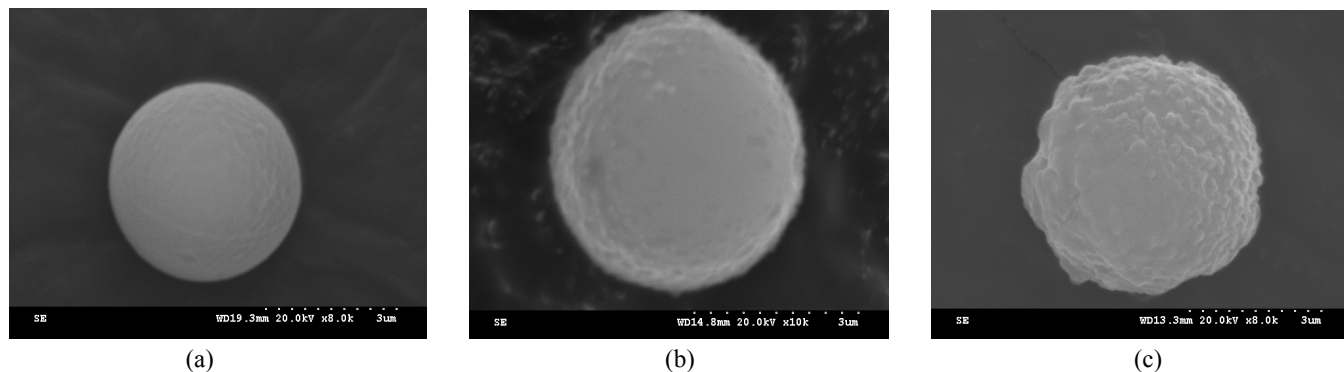


Figure 3. The morphology determined by SEM of water-soluble chitosan microspheres degradation added to glutaraldehyde 0.014 mol ; (a) control, (b) 7 days, and (c) 14 days.

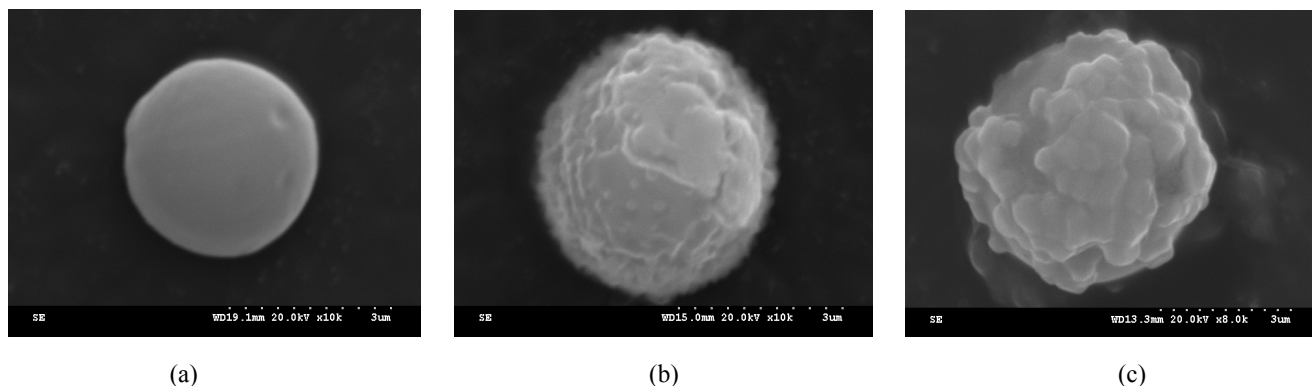


Figure 4. The morphology determined by SEM of water-soluble chitosan microspheres degradation added to glutaraldehyde 0.008 mol ; (a) control, (b) 7 days, and (c) 14 days.

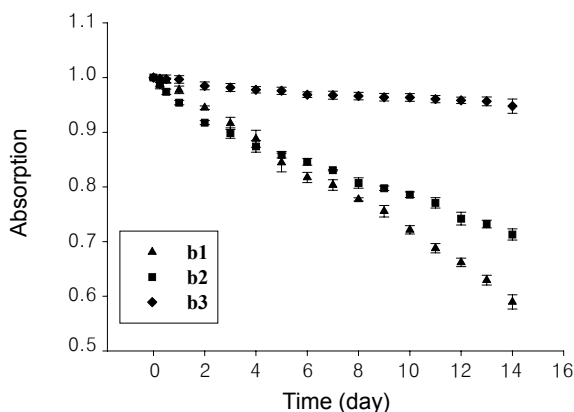


Figure 5. The turbidity assay of water-soluble chitosan microspheres prepared with various concentrations of glutaraldehyde (b1 : 0.008 mol, b2 : 0.014 mol, b3 : 0.028 mol) as a function of incubation time.

0~14일까지는 수용성 키토산 미세구의 표면에는 별다른 변화가 없었으나 14일 이후 분해가 일어났다. Figure 3은 가교제를 0.014 mol을 첨가하여 제조한 수용성 키토산 미세구로써 시간이 경과함에 따라 표면에서 분해가 느리게 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 Figure 4는 가교제 양을 0.008 mol 첨가하여 제조한 수용성 키토산 미세구로써 0.014, 0.028 mol 첨가하여 제조된 수용성 키토산 미세구보다 시간이 경과함에 따라 표면의 분해가 빠르게 일어남을 알 수 있었다.

Figure 5는 UV 분광 광도계를 이용하여 분해성을 측정 한 결과로 비교를 더욱 용이하게 위하여 초기의 흡광도 값을 1로 보정한 것이다. Figure 5에서 가교제의 양이 0.008 mol 첨가된 (a)의 경우는 시간이 지남에 따라 흡광도가 지속적으로 감소한 반면에 가교제의 양이 0.028 mol 첨가된 (c)의 경우는 초기 상태와 거의 변화가 없음

Table 1. Characterization of NFx-loaded Water-soluble Chitosan Microspheres

NO.	Conc. of WSC (wt%)	Crosslinking agent (mol)	Particle size (μm)	Drug contents (wt%)	Loading efficiency (wt%)
a1	10	0.014	5.0 ± 0.5	9.18	10.12
a2	15	0.014	6.4 ± 0.5	14.44	16.88
a3	20	0.014	7.8 ± 0.5	19.24	23.82
b1	10	0.008	7.8 ± 0.5	11.47	12.96
b2	10	0.014	5.0 ± 0.5	9.18	10.12
b3	10	0.028	3.2 ± 0.5	7.33	7.91

을 확인하였다. 이 결과는 위에서 확인한 SEM의 결과와 일치하였다. 이러한 결과로부터 수용성 키토산 미세구 제조시 첨가되는 가교제의 양이 감소할수록 또 시간이 경과함에 따라 분해 현상이 빠르게 일어남을 확인할 수 있었다.

수용성 키토산의 농도와 가교제의 양에 따른 미세구의 크기와 함유량과 봉입 효율을 Table 1에 나타내었다. 수용성 키토산의 농도가 증가함에 따라 거의 비례적으로 크기가 커지는 이유는 비뉴톤 유체 중 딜라턴트 유체의 이론에 근거한 것으로 에멀전 형성시 수용성 키토산의 농도 증가로 인해 수용성 키토산 용액의 점도가 증가하고 이는 전단응력을 증가시키게 되어서 미세구의 크기가 증가하게 된다. 그리고 가교제의 양이 감소함에 따라 수용성 키토산의 가교 밀도가 감소하게 되고 이는 키토산 미세구를 느슨하게 함으로써 크기가 증가하게 된다. 또한 수용성 키토산의 농도가 증가할수록, 가교제의 양이 감소할수록 약물 함유량과 봉입 효율이 증가하였다. 이러한 현상은 수용성 키토산의 농도가 증가할수록, 가교제의 양이 감소할수록 수용성 키토산 미세구의 입자크기가 커지기 때문에 세척과정에서 용매들과의 접촉 표

면적이 상대적으로 작아지기 때문에 약물 함유량이 증가하는 것으로 사료된다.

Figure 6은 NFx이 봉입된 수용성 키토산 미세구의 특성을 밝히기 위해 X-선 회절 분석기를 사용하여 NFx, 약물이 담지되지 않은 수용성 키토산 미세구, NFx와 약물이 담지되지 않은 수용성 키토산 미세구를 1:10의 비율로 혼합한 물리적 혼합물 그리고 NFx이 19.24 wt% 봉입된 수용성 키토산 미세구를 측정한 X-선 회절 결과이다. Figure 6에서 보듯이 물리적 혼합에서 관찰된 NFx의 X-선 회절 특성 피크는 NFx가 봉입된 수용성 키토산 미세구에서는 관찰되지 않았다. 이는 약물이 입자 내에서 분산상태로 존재하며 또한 약물이 아주 잘 봉입된 수용성 키토산 미세구가 제조되었음을 나타낸다. 이러한 결과로 수용성 키토산 미세구가 국소 부위에서 초기 약물의 과다방출을 최소화하면서 약물을 영차 속도로 방출할 수 있는 약물 전달체로서의 가능성을 보여주었다.

Figure 7과 8은 약물의 방출거동을 나타낸 결과이다. Figure 7의 결과에서는 수용성 키토산의 농도가 증가함에 따라 제조된 약물의 방출이 지연되었다. 이러한 결과는 수용성 키토산의 농도가 증가함에 따라 수용성 키토산 미세구의 크기가 증가하게 됨으로 이는 미세구 내부의 약물이 외부로 분산되는 속도가 느려지며, 또한 약물 함유량이 증가되면 동일한 양의 미세구에서 약물이 차지하는 비율이 상대적으로 높아지기 때문이다. Figure 8은 가교제의 양에 따른 방출 거동을 나타낸 결과로 가교제의 양이 증가할수록 약물의 방출이 지연됨을 알 수 있었다. 가교제의 양이 증가할수록 입자의 크기나 약물 함유량은 감소하지만 표면의 가교밀도 증가로 인해 약

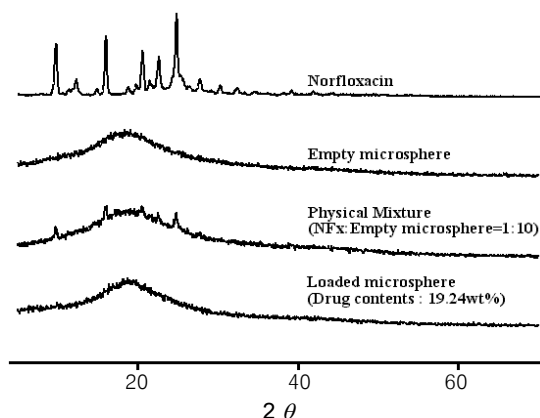


Figure 6. The X-ray diffractometer patterns of water-soluble chitosan microspheres. NFx, water-soluble chitosan microspheres (empty), NFx loaded water-soluble chitosan microspheres (drug loading contents : 19.24 wt%), physical mixture of NFx/empty water-soluble chitosan microspheres (weight ratio : 1/10).

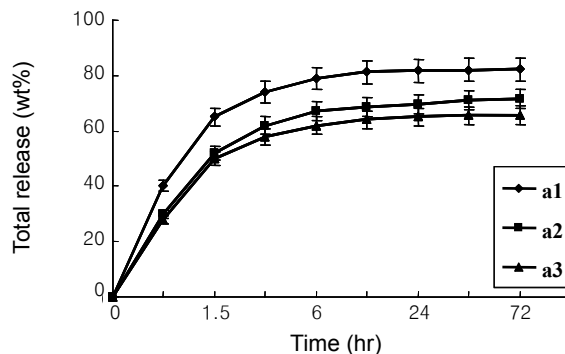


Figure 7. The NFx total release profiles from water-soluble chitosan microspheres prepared with water-soluble chitosan solutions of different concentrations (a1 : 10 wt%, a2 : 15 wt%, a3 : 20 wt%).

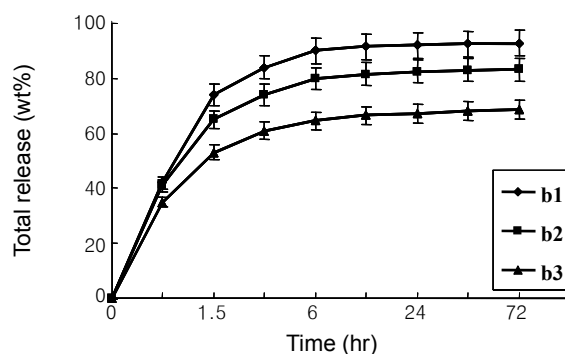


Figure 8. The NFx total release profiles from water-soluble chitosan microspheres prepared with glutaraldehyde of different quantities (b1 : 0.008 mol, b2 : 0.014 mol, b3 : 0.028 mol).

물의 방출이 지연된 것으로 사료되어진다. 이러한 결과들로부터 약물의 방출 거동에 입자크기와 약물 함유량이 영향을 주지만 상대적으로 가교제의 양이 약물의 방출 거동에 더욱더 큰 영향력을 가지고 있음을 시사하고 있다.

4. 결론

본 연구에서는 수용성 키토산을 이용하여 W/O 형태의 유화법으로 표면이 아주 매끄러운 구형을 가지는 약물을 담지한 수용성 키토산 미세구를 제조하였다.

pH 7.4 인산염 완충용액 내에서 가교제의 양에 따른 수용성 키토산 미세구의 분해 특성 실험 결과 가교제의 양이 증가할수록 분해속도가 느리게 일어남을 알 수 있었다. 약물의 함유량과 봉입 효율은 수용성 키토산의 농도가 증가할수록 가교제의 양이 감소할수록 증가하였다. 약물이 봉입된 수용성 키토산 미세구의 특성을 밝히기

위해 X-선 회절 분석기를 이용하여 측정한 결과 물리적 혼합에서 관찰된 약물인 NFx의 X-선 회절 특성 피크가 약물이 봉입된 수용성 키토산 미세구에서는 관찰되지 않음으로써 수용성 키토산 미세구가 약물을 국소 부위에서 초기 약물의 과다방출을 최소화하면서 약물이 영차 속도로 방출할 수 있는 약물 전달체로서의 가능성을 보여 주었다. 수용성 키토산 미세구의 약물 방출 특성은 가교제의 양이 증가할수록, 입자 크기가 클수록 그리고 약물의 함유량이 증가할수록 느린 약물 방출 거동을 나타내었다.

감사의 글 : 본 연구는 2003년도 순천대학교 공과대학 학술재단 연구비에 의하여 수행되었습니다.

References

1. R. A. A. Muzzarelli, *Chitin*, Pergamon Press, 259 (1997).
2. L. Illum, *Pharm. Res.*, **15**, 1326 (1998).
3. D. K. Singh and A. R. Ray, *J. Memb. Sci.*, **155**, 107 (1999).
4. T. Yui, K. Imada, K. Okuyama, Y. Obata, K. Suzuki, and K. Ogawa, *Macromolecules*, **27**, 7601 (1994).
5. T. Ouchi, H. Nichizawa, and Y. Ohya, *Polymer*, **39**, 5171 (1982).
6. Y. Kawashima, T. Handa, A. Kasai, H. Take-naka, and S. Y. Lim, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 36 (1986).
7. S. Miyazaki, K. Ishi, and T. Nadai, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3067 (1981).
8. Y. Sawayanagi, N. Nambu, and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4216 (1982).
9. T. Y. Kim, K. J. Kim, and J. H. Yang, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **10**, 268 (1999).
10. B. J. Ha, O. S. Lee, and Y. S. Lee, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **6**, 951 (1995).
11. K. R. Park, and Y. C. Nho, *Polymer(Korea)*, **25**, 728 (2001).
12. K. R. Park, and Y. C. Nho, *Polymer(Korea)*, **26**, 792 (2002).
13. K. S. Kim, J. W. Lee, and S. H. Cho, *Polymer(Korea)*, **27**, 583 (2003).
14. E. K. Choi, H. I. Kim, and Y. C. Nho, *Polymer(Korea)*, **27**, 349 (2003).
15. J. W. Nah and Y. H. Park, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **14**, 297 (1999).
16. T. Ishibashi, K. Ikegami, H. Kubo, M. Kobayshi, M. Mizobe, and H. Yoshino, *J. Control. Release*, **58**, 361 (1999).
17. P. He, S. S. Davis, and L. Illum, *Int. J. Pharm.*, **166**, 75 (1998).
18. K. Kafuji, T. Ito, Y. Murata and S. Kawashima, *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 579 (2000).
19. M. L. Lorenzo-Lamosa, C. Remunantopez, J. L. Vila-Jato and M. J. Alonso, *J. Control. Rel.*, **52**, 109 (1998).
20. L. Zhang, U. Jin, H. Liu, and Y. Du, *J. Appl. Polym. Sci.*, **82**, 584 (2001).
21. B. J. Ha, O. S. Lee, and Y. S. Lee, *Macromolecular Reports*, **A33**, 297 (1996).
22. Y. M. Wang, H. Sato, I. Adachi, and I. Horikoshi, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 1204 (1996).
23. M. Burjak, M. Bogataj, M. Velnar, I. Grabnar, and A. Mrhar, *Int. J. Pharm.*, **224**, 123 (2001).
24. S. T. Lim, G. P. Martin, D. J. Berry, and M. D. Brown, *J. Control. Rel.*, **66**, 281 (2000).
25. P. He, S. S. Davis, and L. Illum, *Int. J. Pharm.*, **187**, 53 (1999).
26. F. Mi, T. Wong, S. Shyu, and S. Chang, *J. Appl. Polym. Sci.*, **71**, 747 (1999).
27. B. C. Thanoo, M. C. Sunny, and A. Jayakrishnan, *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 283 (1992).
28. S. J. Park, S. H. Kim, J. R. Lee, H. B. Lee, and S. K. Hong, *Polymer(Korea)*, **27**, 449 (2003).
29. S. J. Park, K. S. Kim, B. G. Min, and S. K. Hong, *Polymer (Korea)*, **28**, 103 (2004).