Polymer(Korea), Vol. 37, No. 1, pp. 28-33
http://dx.doi.org/10.7317/pk.2013.37.1.28
ISSN 0379-153X(Print)
ISSN 2234-8077(Online)

Polyoxalate 및 PLGA 미립구의 혼합 비율별에 따른 Zaltoprofen의 방출거동

이정근 · 김경희 · 김영래 · 박국빈 · 김민정 · 강수지 · 이동원 · 강길선†
전북대학교 BIN 융합공학과, 고분자나노공학과
(2012년 6월 25일 접수, 2012년 9월 11일 수정, 2012년 10월 15일 채택)

Effect of Ratio of Polyoxalate/PLGA Microspheres on the Release Behavior of Zaltoprofen

Jung Keun Lee, Kyoung Hee Kim, Young Lae Kim, Guk Bin Park, Min Jeong Kim, Su Ji Kang, Dongwon Lee, and Gilson Khang†

Dept. of BIN Fusion Tech & Dept. of PolymerNano Sci Tech, Chonbuk National University, 567 Baekje-daero, Jeonju 561-756, Korea
(Received June 25, 2012; Revised September 11, 2012; Accepted October 15, 2012)

초록: 잘토프로펜은 프로피온산 유도체인 비스테로이드성 소염진통제로서 카라기난, 나이스타틴에서 유발된 급성염증에 큰 억제 효과를 가지고 있을 뿐만 아니라 급성 및 만성 염증에도 효과를 가지고 있다. 초기 방출 및 지속적인 방출을 위해서 잘토프로펜이 함유된 폴리옥살레이트(POX)와 PLGA 미립구를 각각 O/W 용매증발법으로 제조 후 각각의 미립구의 혼합비율을 달리하였다. 주사현미경, X선 회절 분석법, 시차 주사 열량계, 그리고 적외선 분광 분석기를 이용하여 잘토프로펜이 함유된 미립구의 물리화학적 성질 및 표면형태를 조사하였다. POX 미립구의 혼합비율이 증가할수록 초기 약물방출이 증가하며, PLGA 미립구의 혼합비율이 증가할수록 느린 약물방출을 보인다. 본 연구에서 초기 약물방출량이 높은 POX 미립구를 PLGA 미립구와 혼합비율을 조절함으로써 약물이 함유된 미립구의 초기방출 계수를 제어할 수 있을 것으로 사료된다.

Abstract: Zaltoprofen, a propionic acid derivative non-steroidal anti-inflammatory drug, was known to have powerful inhibitory effects on acute, subacute and chronic inflammation. For initial release and sustained release, the microspheres were prepared using an emulsion-solvent evaporation method like an O/W emulsion method with varying the ratio of zaltoprofen-loaded polyoxalate (POX)/PLGA micropheres. The morphology of the microspheres was confirmed by scanning electron microscopy. The crystallinity of microspheres was analyzed by X-ray diffraction and differential scanning calorimeter. Fourier transform infrared spectroscopy was used to analyze the chemical structure of microspheres. The increased ratio of POX microspheres affected the initial drug release, and the sustained release of drug was influenced by ratio of PLGA microspheres. In this study, the initial release behavior of zaltoprofen can be controlled by the ratio of POX/PLGA microspheres.

Keywords: zaltoprofen, polyoxalate, PLGA, microspheres, solvent-evaporation method.

서 론

잘토프로펜(Zaltoprofen, $C_{17}H_{14}O_3S$, M_w 298.34 g)은 비스테로이드성 약물로 소염진통제 및 항염제로서 항염증제, 관절염치료제, 진통제, 해열제 및 요통치료제로 널리 사용되고 있다.[1-4] 하지만, 소염진통제는 점막에 대한 국소적 및 직접적인 작용에 의해 부분적으로 점막손상을 일으킨다.[5,6] 또한 잘토프로펜은 하루에 몇 번씩 복용해야 하는 불편함이 있기 때문에 환자의 편리성과 순응도를 개선할 수 있는 서방형 약물전달 시스템이 필요하다. 그 중 서방형 방출특성을 가지고 있는 약물전달시스템으로 편리성과 순응도를 개선할 수 있으며, 방출속도제어가 가능한 생분해성 미립구의 연구가 활발하게 진행되고 있다.[7,8]

서방형 약물전달시스템으로 주로 이용되고 있는 고분자로서는 폴리에스테르 계열의 고분자인 락타이드글리콜라이드 공중합체(PLGA)가 있으며 이 고분자는 생체적합성 및 생분해성 특징으로 인해 다양한 분야의 약물전달체로 사용되고 있다.[9-11] 이러한 고분자는 가수분해에 의해 이산화탄소와 물로 분해 및 방출조절이 가능하다는 장점이 있으며, 미국식품의약국인 FDA의 허가를 받은 물질이기도 하다.[12,13] 하지만, PLGA의 느린 분해시간때문에 1개월 이내에서 수개월 이상

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: gskhang@jbnu.ac.kr

에 걸친 약물의 방출은 수 일 내에 약물의 효과를 필요로 하는 급성 질환에의 적용에 어려움이 있다.

생체내에서 분해시 독성과 염증반응이 없으며, 가수분해에 의한 빠른 분해 및 약물의 방출이 가능한 생분해성 고분자의 필요성이 요구되었다. 폴리옥살레이트(polyoxalate, POX)는 수술용 봉합사나 약물전달체로 제안되어 왔으며, *in vivo*에서 독성과 염증반응을 일으키지 않고 생체내 분해시 체외로 배출이 쉽게 이루어질 수 있다.[14,15] 이러한 고분자를 이용한 미립구 제조방법은 용매추출/증발, 상분리, 분무건조 등 아주 다양하다. 그 중 용매추출/증발법을 이용한 미립구 제조는 대표적인 방법으로 산업적으로 대형화할 수 있으며, 무균의 미립구를 제조할 수 있다는 장점이 있어 널리 사용하고 있는 방법이다.[16]

본 연구에서 진통제로 사용되는 잘토프로펜을 함유한 PLGA 및 POX 미립구를 O/W 용매추출/증발법을 이용하여 제조하였으며, PLGA와 POX 미립구의 비율에 따른 차이를 확인하기 위해 생체외 방출거동과 PLGA와 POX 미립구의 특성이 어떻게 다른지를 확인하고자 하였다. 초기방출량이 높은 POX의 비율을 조절함으로써 초기방출률을 조절할 수 있는지를 확인하고자 하였으며, PLGA 고분자에 의한 지속적인 약물 방출 또한 확인하고자 하였다. 제조된 미립구의 크기, 표면의 상태, 분해 후의 상태는 전자주사 현미경(SEM)을 이용하여 관찰하였다. 제조된 미립구의 생체외 방출거동을 조사하기 위해 액체크로마토그래피(HPLC)를 사용하였으며 결정성 여부를 확인하기 위해 X-선 회절 분석기(XRD), 시차주사열량계(DSC)를 이용하였고, 구조적 변화를 확인하기 위해 적외선분광광도계(FTIR)을 이용하였다.

실 험

시약 및 재료. 본 연구에 사용된 약물인 잘토프로펜은 마성상사(한국)를 통해 구입하여 사용하였으며, 생분해성 고분자인 PLGA는 Resomer™ RG 502H(M_w 20000 g/mole, 75/25, Boehringer Ingelheim) 제품을 사용하였으며, polyoxalate (M_w 20000 g/mole)는 합성하여 사용하였다. 유화제로 사용한 PVA(poly(vinyl alcohol), M_w 22000 g/mole)는 Sigma-Aldrich (미국)에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 용매 및 시약은 HPLC 등급을 사용하였다.

폴리옥살레이트의 합성. 14 mL의 정제된 디클로로메탄에 1,4-사이클로헥산디메탄올 2 mol을 녹여주고, 옥살릴클로라이드 2 mol이 녹아있는 10 mL의 정제된 디클로로메탄을 넣어 중합을 시작한다. 질소가스 내에서 4시간 동안 POX의 중합반응을 시켜주고, 염화나트륨 수용액으로 반응을 종결한다. 유기용매층을 추출하여 무수 황산나트륨을 이용하여 수분을 제거하고, 얻어진 용매를 헥산에 넣어 불순물 등을 제거한다. 분자량은 젤투과 크로마토그래피(GPC)를 이용하여 측정하였다.[14,17]

미립구의 제조. 모델약물인 잘토프로펜을 함유하는 미립구의 제조는 O/W 유화용매 증발법을 이용하여 제조되었다. Table 1에서와 같이 PLGA와 POX를 각각 DCM에 용해시킨 후, 20 w/w% 잘토프로펜을 용해시켜 O상을 제조한다. 이후 제조된 1.0 w/v%의 PVA 용액에 700 rpm으로 교반하면서 O 용액을 피펫을 이용하여 적하한 후 5시간 동안 교반하여 용매를 증발시킴으로써 이중층 미립구를 제조하였다. 실험에 사용된 물리적 교반기로는 RZR 2102(Heidolph Instrument Gmbh & Co, Schwabach, 독일)을 사용하였다. 이렇게 제조된 미립구는 원심분리기를 이용하여 7500 rpm으로 5분 동안 원심분리하고 가라앉은 미립구를 제외한 상등액을 제거하고 새로운 증류수를 첨가하는 방법으로 5회 이상 세척한다. 이렇게 얻어진 미립구는 동결건조한 후 사용 전까지 습기를 제거하여 4 °C에서 보관하였다. 이후 만들어진 PLGA 미립구와 POX 미립구를 Table 3과 같이 비율별로 혼합하였다.

미립구의 형태학적 분석. 각각의 조건에 따라 제조된 PLGA 미립구와 POX 미립구의 표면의 특성분석은 SEM(LV-SEM, S-3000N, Hitachi Co, Tokyo, 일본)을 이용하여 분석하였다. 시료를 탄소테이프 위에 고정시키고 아르곤가스를 충전하여 백금-팔라듐코팅을 100초간 실시하였다. 코팅된 시료는 10.0 kV에서 관찰하였다. 또한 미립구의 분해거동을 관찰하기 위해서 10일 동안 생체외 방출 실험한 미립구를 수집하고 동결 건조하여 SEM 관찰을 통해 분해정도를 확인하였다.

FTIR 분석. 잘토프로펜과 PLGA 및 POX 그리고 각각의 미립구의 화학적인 변화를 나타내는지를 알아보기 위해서 각각의 고분자와 미립구를 FTIR(JASCO FT/IR-4200, Jasco Inc, Tokyo, 일본)을 이용하여 600~4000 cm^{-1} 파장에서 분석하였다.

결정화도 분석. 잘토프로펜과 PLGA 및 POX 그리고 제조된 미립구의 결정학적 구조를 XRD(MAX 2500 X-ray diffractometer, Rigaku, 일본)와 DSC(Model 4000, Perkin Elmer Instruments, 미국)를 이용하여 분석하였다. XRD는 0.3 mm 두께의 투명한 유리기판에 일정량의 시료를 충분히 적층하여 배향이 발생하지 않도록 4°/min의 속도로 10~80° 범위 내에서 30 mA, 40 kV 조건으로 측정하였다.[18] DSC는 10 °C/min의 승온속도로 30~290 °C의 범위에서 온도를 증가시키면서 결정성을 확인하였다.[19]

미립구내의 약물 함량 분석. 제조된 미립구내의 약물의 함량을 측정하기 위해서 먼저 20 mg의 미립구를 2 mL의 디클로로메탄에 넣어 PLGA와 POX를 각각 녹이고 메탄올을 18 mL을 첨가하여 미립구내에 존재하는 잘토프로펜을 추출하였다. 상등액 1 mL을 취하여 0.45 μm의 PTFE(Tokyo Roshi Kaisha, Ltd, 일본) 필터를 이용하여 여과한 후 20 μL를 취하여 289 nm에서 HPLC를 이용하여 측정하였다. 이후 총 사용된 고분자의 양과 약물의 비를 검출된 약물의 양과 비교하여 다음과 같은 공식을 이용하여 포접률(EE, enpapsulation

efficiency)을 계산하였다.[20,21]

$$\text{포접률}(\%) = \frac{\text{미립구내의 약물양}}{\text{사용한 전체 약물의 양}} \times 100$$

생체외 방출거동. 제조된 미립구에서 약물의 방출은 20 mL의 인산염 완충용액(PBS, PH 7.4)에 20 mg의 미립구를 넣어 현탁하고 인큐베이터 안에서 37 ℃, 100 rpm으로 교반하면서 일정 기간별로 시료를 취하여 HPLC 분석을 하였다. 약물의 방출거동을 확인하기 위한 HPLC 분석기는 NS-4000 HPLC System(Futecs, 한국)과 NS-6000 Autosampler(Futecs, 한국)로 구성되었다. 이동상은 아세토니트릴/증류수를 각각 60:40 (v/v%) 비율로 혼합한 후, 빙초산 0.2(v/v%)를 첨가하여 교반한 후 사용하였다. 이동상은 사용하기 전에 초음파분쇄기를 이용하여 잔존가스를 제거한 후 사용하였다. 잘토프로펜의 검출파장은 240 nm에서 측정하였고, 분석에 이용한 컬럼은 5 μm C_{18} 컬럼(150×4.6 mm, Luna, 미국)을 사용하였으며, 유속은 1.0 mL/min, 시료주입량은 20 μL로 설정하여 분석하였다.

결과 및 토론

미립구의 제조. 미립구를 제조하기 위해 사용된 약물은 잘토프로펜을 사용하였으며, 고분자는 POX와 PLGA를 사용하였다. O/W 유화용매 증발법에 의해 제조하였으며,[7] 제조된 미립구의 제조조건, 포접률 및 미립구의 크기는 Tables 1~2에 나타내었다. 제조된 미립구의 포접률은 PLGA 미립구의 경우 35~44%가 나타났고, POX 미립구의 경우 33~45%로 같은 조건에서 PLGA와 POX 미립구의 포접률은 크게 차이나지 않음을 확인할 수 있었다. 미립구의 크기는 PLGA 미립구가 POX 미립구보다 좀더 크게 형성이 되었는데 이는 PLGA 고분자의 점도가 POX 고분자의 점도보다 크기 때문에 PLGA 미립구의 크기가 POX 미립구의 크기보다 크게 제조된 것으로 사료된다. 이렇게 제조된 미립구를 Table 3과 같이 각각 비율별로 PLGA 미립구와 POX 미립구를 혼합하였다. PLGA와 POX 고분자를 같이 녹여 혼합하지 않은 이유는 PLGA 미립구와 POX 미립구의 분해 메카니즘이 다르기 때문이며 PLGA 미립구의 경우 내부에서부터 분해가 시작되기 때문에 약물의 방출속도가 느리다.[22,23] 하지만, POX 미립구의 경우는 외부에서부터 분해가 되기 때문에 방출속도가 빠르다. 각각 미립구의 방출 메카니즘이 다르기 때문에 같이 혼합하지 않고 각각 미립구로 제조하여 혼합하였다.

Table 3. Microsphere Ratio between PLGA-Microsphere and POX-Microsphere

Sample	Batch 1	Batch 2	Batch 3	Batch 4	Batch 5
POX	5	3	1	1	1
PLGA	1	1	1	3	5

폴리옥살레이트의 분해거동. 분자량 20000 g/mole의 POX의 분해거동은 PBS 내에서 가수분해에 의하여 옥살산과 1,4-사이클로헥산디메탄올 단량체로 빠르게 분해되었으며, 분해물은 체외로 배출이 쉽게 이뤄질 수 있다.[14,17] 또한 분자량에

Table 1. Preparation Conditions of Polyoxalate Microspheres

Batch No.	Initial drug loading (w/w%)	POX conc. (w/v%)	POX (M_w)	Solvent volume (mL)	PVA	Size (μm±SD)	EE (%)	Yield (%)
A1							39.1	65.3
A2							42.9	66.4
A3	20%	5%	20K	6	1%	49.90±12.26	45.6	67.7
A4							33.2	63.7
A5							34.1	68.8

The rotational speed for mix was set to 700 rpm.

Table 2. Preparation Conditions of PLGA Microspheres

Batch No.	Initial drug loading (w/w%)	POX conc. (w/v%)	PLGA (M_w)	Solvent volume (mL)	PVA	Size (μm±SD)	EE (%)	Yield (%)
B1							39.2	51.9
B2							38.1	61.7
B3	20%	5%	20K	6	1%	39.75±12.52	44.8	63.7
B4							42.1	54.1
B5							35.4	73.4

The rotational speed for mix was set to 700 rpm.

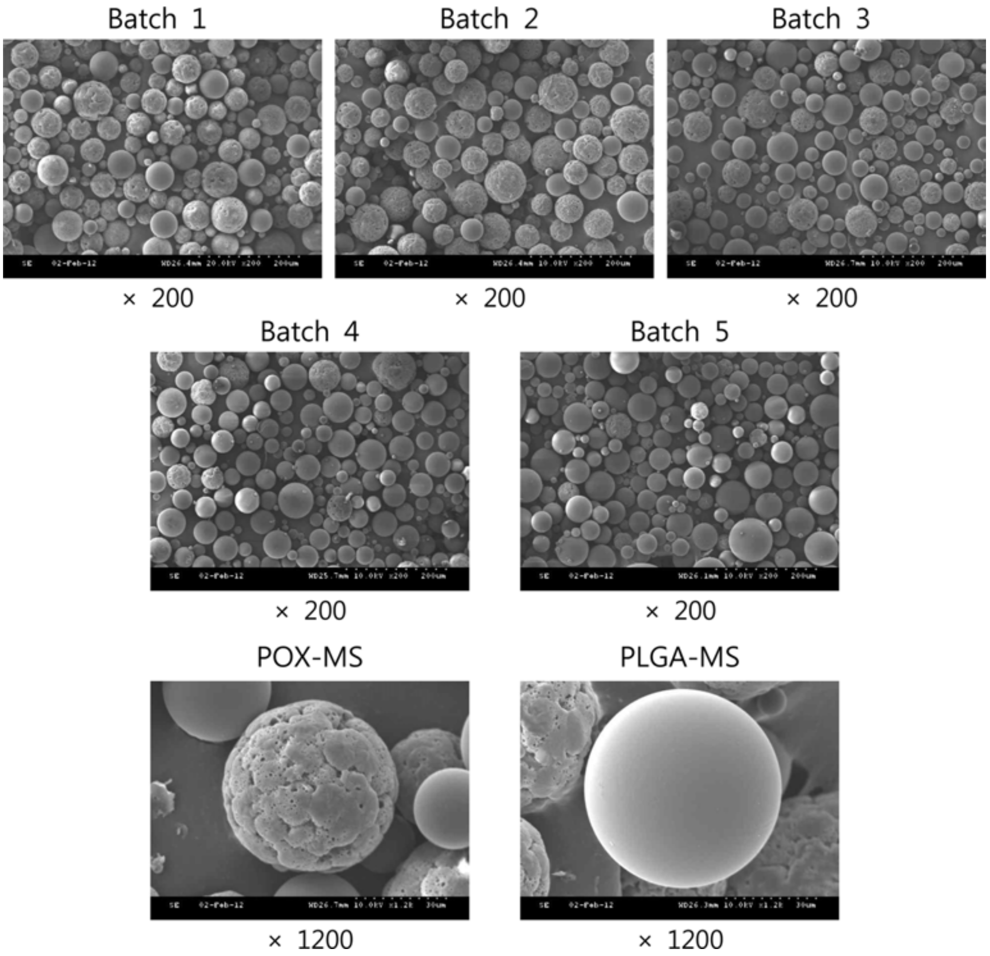

Figure 1. Surface morphology of zaltoprofen-loaded polyoxalate and PLGA microspheres.

따른 반감기는 각각 3, 4 그리고 7일 정도로 나타났으며, 이는 제조된 미립구의 분해에 직접적인 영향을 주었을 것으로 사료된다. POX의 분해거동은 미립구내의 약물방출에서도 중요한 영향을 주는 것을 확인하였다.

미립구의 형태학적 분석. PLGA와 POX 미립구를 비율별로 섞은 잘토프로펜이 포접된 미립구의 표면 형태를 Figure 1에 나타내었다. 제조된 PLGA 미립구의 표면은 둥글고 매끄러운 표면이 나타나는 것을 확인할 수 있었고, 제조된 POX 미립구는 PLGA 미립구와 비교하여 표면이 매끄럽지 못한 것을 SEM 분석을 통해서 확인할 수 있었다.

Batchs 1~5를 관찰한 SEM 사진을 보면 Batch 1에서 Batch 5로 갈수록 POX 미립구의 비율이 적어지며, PLGA 미립구의 비율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 비율별로 PLGA 미립구와 POX 미립구가 잘 혼합되었음을 확인할 수 있으며, 이러한 비율에 따라 방출거동이 다르게 나올 것이라 사료되었다.

Figure 2는 10일간 방출 후 형태를 SEM을 통해 분석하였다. 제조된 미립구는 둥근 형태의 모양을 가지고 있었지만, 방출 후 형태는 표면에 많은 다공이 존재함을 확인할 수 있었다. SEM 이미지를 통해 미립구의 분해거동을 확인한 결과 일그러짐과 다공이 증가하였음을 확인하였다. 이는 반감기가 10일 이내인 POX의 분해 시간에 따른 결과로써 표면에 존재하던 많은 다공에 의해 표면적이 증가하고, 그에 따라 미립구의 붕괴가 더욱 활발하게 진행된 것으로 사료된다.[24]

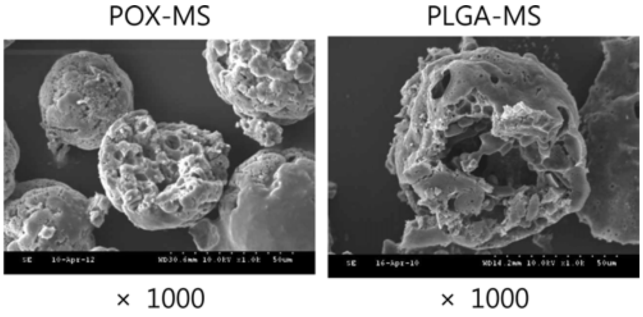

Figure 2. Degradation morphology of zaltoprofen-loaded polyoxalate and PLGA microspheres.

PLGA 미립구는 POX 미립구와는 다른 분해 메카니즘이 나타난다. PLGA 미립구는 분해시 표면에서부터 분해되지 않고 내부에 존재하는 다공이 점점 표면으로 확산되어 가면서 미립구의 붕괴가 일어난다.[22] 이러한 다공의 존재는 유화제 내에서 형성된 에멀젼의 형태가 구성되는 과정에서 유기용매가 증발하여 다공이 내부에 만들어 지고, PLGA 미립구의 내부에서부터 서서히 분해되는 것으로 사료된다.[24]

미립구의 결정학적 분석. Figures 3과 4는 잘토프로펜, PLGA, POX 및 제조된 미립구의 구조적인 변화를 나타내는 FTIR와 XRD 분석 결과이다. FTIR에서 잘토프로펜의 분석 결과 특정피크인 C=C(아로마틱) 스트레칭이 1400~1500 cm^{-1}에서 나타났으며 C=O(케톤) 스트레칭은 1705~1725 cm^{-1}에서, -COOH(카복실산) 스트레칭이 1700~1725 cm^{-1}에서 강하게 나타났다. 반면, 각각의 고분자와 각각의 미립구의 경우에는 1700 cm^{-1} 부근의 C=O 결합과 C-O 결합이 1200 cm^{-1} 부근에서 확인되었다.[25]

Figure 5는 DSC 분석 결과이다. DSC를 통한 잘토프로펜과 약물을 함유한 각각의 미립구, 각각의 고분자 결정성을 분석하였다. 잘토프로펜의 경우 약 134 ℃ 부근에서 흡열 피크를 보이며, 결정성을 가짐을 확인하였다. 또한 결정성 고분자인 PLGA와 POX의 경우에도 약 45와 156 ℃ 부근에서 약한 흡열 피크를 보임을 확인하였다. 약물을 함유하고 있는 각각의 미립구의 경우에는 잘토프로펜의 흡열 피크가 나타난 134 ℃ 부근에서는 피크가 나타나지 않으며 PLGA 및 POX 고분자와 비슷한 45와 160 ℃ 부근에서 흡열 피크가 나타났다.[26,27]

FTIR와 XRD 그리고 DSC의 분석 결과 용매증발법에 의해 제조된 미립구는 외부층이 각각의 고분자로 구성되어 있고 내부에는 약물을 포접하는 미립구 형태임을 확인할 수 있었다.

미립구의 생체외 방출거동. Figure 6은 POX와 PLGA 미립구를 각각 제조 후 비율에 따라 혼합된 미립구의 18일 동안 방출거동을 확인한 결과이다. 18일간의 방출거동을 확인한 결과 PLGA와 POX 미립구의 혼합 비율에 따라 다른 방출거동을 보였다. POX 미립구의 혼합 비율이 높을 때는 초기 약물방출률이 80% 이상의 방출률이 나타났다. 반면에, PLGA 미립구의 비율이 높을때는 초기 방출이 50% 이하의 방출률이 나타났다. 이러한 방출거동은 POX가 7일내에 대부분 분해되기 때문에 초기 약물방출률이 높은 것으로 사료된다.[16] 하지만, PLGA의 혼합비율이 높은 미립구일수록 초기 약물 방출률이 낮게 나타남을 확인할 수 있었고 18일간 서서히 방출되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 PLGA 미립구의

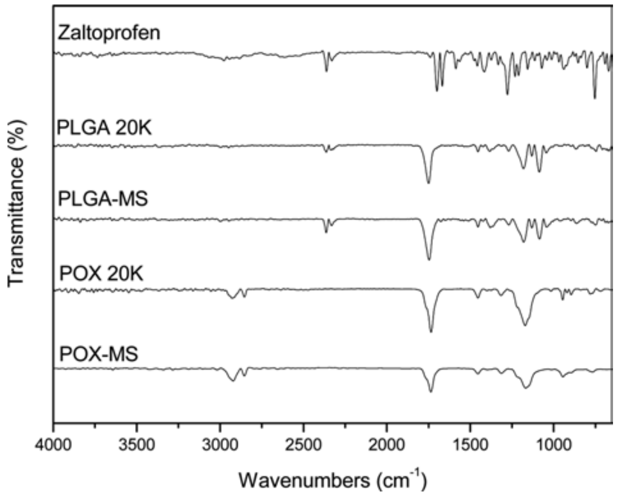

Figure 3. FTIR spectra of zaltoprofen, PLGA, PLGA-MS, POX, and POX-MS.

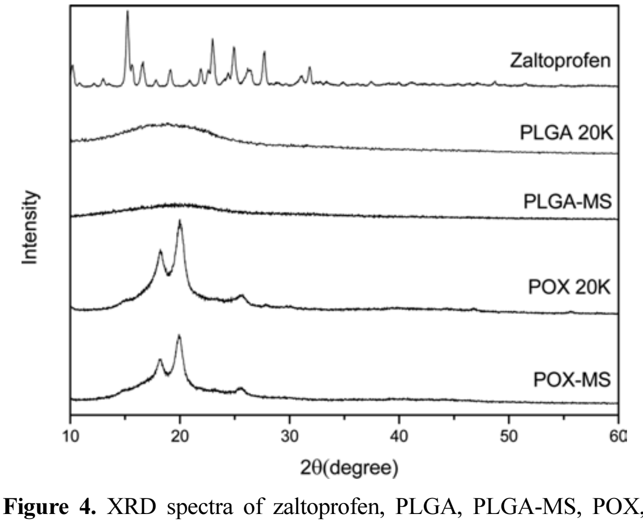

Figure 4. XRD spectra of zaltoprofen, PLGA, PLGA-MS, POX, and POX-MS.

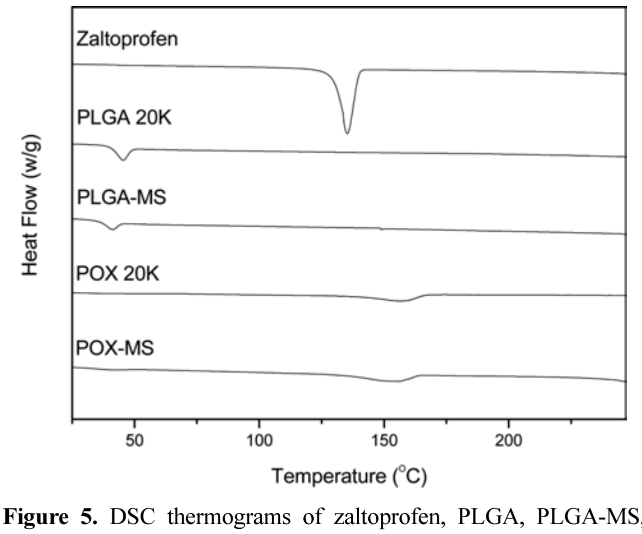

Figure 5. DSC thermograms of zaltoprofen, PLGA, PLGA-MS, POX, and POX-MS.

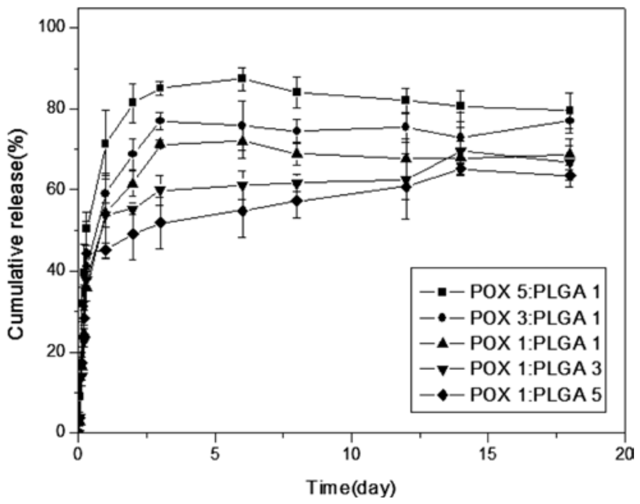

Figure 6. Release profiles of zaltoprofen from microspheres of different PLGA and POX ratios.

경우 내부에서부터 분해가 되기 때문에 표면에서부터 분해가 되는 POX 미립구보다 약물방출이 느린 것으로 사료된다. 결과적으로 POX는 7일내에 대부분 분해되고, PLGA는 20일 내에 대부분 분해된다.[27] 즉, POX와 PLGA 미립구의 비율에 따른 약물방출거동의 차이는 POX와 PLGA의 분해속도가 다르기 때문에 초기 약물방출거동의 차이가 나타난다 사료된다. 이러한 PLGA와 POX 미립구의 혼합 비율을 제어함으로써 초기 약물방출을 효과적으로 제어할 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 생분해성 고분자인 POX와 PLGA를 이용하여 소염진통제로 사용되는 잘토프로펜의 초기방출률 조절을 위해 각각의 미립구를 제조후 혼합하였다. O/W 유화용매 증발법을 이용하여 제조된 POX 및 PLGA 미립구는 같은 조건에서 제조하였으며 제조 후 비율별로 혼합하였다. 제조된 미립구의 표면이 구형인 형태임을 SEM을 통하여 확인할 수 있었고, FTIR, DSC, XRD를 통해 결정형 상태와 표면이 고분자로 구성되어 있으며, 내부에 약물이 포접되어 있는 구조임을 확인할 수 있었다.

약물방출거동은 POX와 PLGA 미립구의 혼합 비율에 따라 방출거동이 변화함을 확인할 수 있었다. POX의 미립구의 비율이 증가할수록 초기방출률이 증가함을 확인할 수 있었고, PLGA 미립구의 비율이 증가할수록 약물이 서서히 방출되는 것을 확인할 수 있었다. POX와 PLGA 미립구의 비율을 조절함으로써 원하는 시간 동안 약물의 방출을 효과적으로 제어할 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구를 통해 얻어진 방법은 잘토프로펜 뿐만 아니라 다른 약물의 초기방출률을 증가시킬수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글: 본 연구는 세계수준의 연구중심대학(WCU R31-20029)의 연구지원에 의하여 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. H. B. Tanga, A. Inouea, K. Oshitab, and Y. Nakata, *Neuropharm.*, **48**, 1035 (2005).
2. J. Cyriax, *Lancet*, **246**, 427 (1945).
3. K. Hirate, A. Uchida, Y. Ogawa, T. Arai, and K. Yoda, *Neurosci. Res.*, **54**, 288 (2006).
4. M. Matsumoto, M. Inoue, and H. Ueda, *Neurosci. Lett.*, **397**, 249 (2006).
5. J. M. Scheiman, E. M. Behler, K. M. Loeffler, and G. H. Elta, *Dig. Dis. Sci.*, **39**, 97 (1994).
6. T. Okamoto, Y. Kawasaki, and Y. Masuda, *Int. J. Mol. Med.*, **7**, 101 (2001).
7. S. Eom, S. C. Yoo, Y. K. Kim, Y. H. Lee, E. Y. Lee, H. Yu, D. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **34**, 333 (2010).
8. J. S. Park, J. C. Yang, S. H. Yuk, H. S. Shin, J. M. Rhee, M. S. Kim, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **31**, 189 (2007).
9. H. S. Choi, S. W. Kim, D. I. Yun, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 334 (2001).
10. W. Zheng, *Int. J. Pharm.*, **374**, 90 (2009).
11. R. A. Jain, *Int. J. Pharm.*, **334**, 137 (2007).
12. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
13. H. S. Choi, S. A. Seo, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
14. S. Kim, K. Seong, O. Kim, S. Seo, M. Lee, G. Khang, and D. Lee, *Biomacromolecules*, **11**, 555 (2010).
15. D. Hong, B. Song, H. Kim, J. Kwon, G. Khang, and D. Lee, *Therapeutic Delivery*, **2**, 1407 (2011).
16. P. Hohansen, H. P. Merkle, and B. Gander, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 413 (2007).
17. E. Lee, S. Kim, K. Seong, H. Park, H. Seo, G. Khang, and D. Lee, *J. Biomater. Sci.*, **22**, 1683 (2011).
18. E. J. Henderson, C. M. Hessel, and J. G. C. Veinot, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 3624 (2008).
19. P. D. Martino, R. Censi, C. Barthelemyb, R. Gobetto, E. Joiris, A. Masic, P. Odou, and S. Martelli, *Int. J. Pharm.*, **342**, 137 (2007).
20. T. H. Lee, J. Wang, and C. H. Wang, *J. Control. Release*, **83**, 437 (2002).
21. T. Nii and F. Ishii, *Int. J. Pharm.*, **298**, 198 (2005).
22. T. Q. Bao, N. T. Hiep, Y. H. Kim, J. M. Yang, and B. T. Lee, *J. Mater. Sci.*, **46**, 2510 (2011).
23. F. M. Paul, G. L. John, M. G. Luke, and L. H. Clement, *J. Mater. Sci.*, **45**, 1284 (2010).
24. B. S. Kim, J. M. Oh, K. S. Kim, K. S. Seo, J. S. Cho, G. Khang, H. B. Lee, K. N. Park, and M. S. Kim, *Biomaterials*, **30**, 902 (2009).
25. H. J. Park, H. K. Hong, Y. S. Song, M. S. Hong, H. S Seo, D. H. Hong, D. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **34**, 300 (2010).
26. J. S. Lee, J. H. Shin, J. K. Jeong, J. M. Rhee, J. B. Lee, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **27**, 9 (2003).
27. B. S. Zolnik and D. J. Burgess, *J. Control. Release*, **122**, 338 (2007).