

## Poly(DL-lactide)로 피막된 고분자 매트릭스로부터 약물 방출 조절 I. pH 1.2 염산 용액에서 피막물질이 약물방출에 미치는 영향

†나재운 · 박영훈

순천대학교 공과대학 고분자공학과

(접수 : 1999. 2. 10., 게재승인 : 1999. 5. 15.)

### Control of Drug Release from Polymeric Matrices Coated with Poly(DL-lactide) I. Effect of Coating Substance on the Drug Release in pH 1.2 Hydrochloride Solution

Jae-Woon Nah† and Yung-Hoon Park

Department of Polymer Science and Engineering, Suncheon National University, Chonnam 540-742, Korea

(Received : 1999. 2. 10., Accepted : 1999. 5. 15.)

The polymeric matrices coated with poly(DL-lactide) were prepared using chitosan derivatives such as chitosan, chitosan hydrochloride, and sulfonated chitosan for application of drug delivery systems. The drug release study using prednisolone as a model drug was performed in the hydrochloride solution at pH 1.2. The release rate of drug was decreased according to the increased content of matrices. The release rate of prednisolone according to the kinds of polymeric matrices coated were decreased in the order of chitosan, sulfonated chitosan, and chitosan hydrochloride. Drug release rate of polymeric matrices coated with poly(DL-lactide) was not only two times slower than noncoated one, but also the burst effect of initial period of drug release was decreased in comparison with noncoated one. From these results, it was expected that these formulations based on the chitosan derivative matrices coated with poly(DL-lactide) were acceptable drug delivery devices for a sustained-release dosage form of drug.

Key Words : polymeric matrices, poly(DL-lactide), chitosan derivatives, prednisolone

#### 서론

키틴은 가공성의 문제점으로 인하여 대부분 폐기되어 왔으나 최근에 이르러 그 활용성을 높이기 위한 노력이 다각도로 연구되고 있다. 특히 키틴의 N-아세틸기를 탈아세틸화하여 아미노기로 치환된 키토산은 용해성의 증가 및 기능성의 향상으로 식품공업, 의약품공업, 섬유, 농축산, 환경 등에 이르기까지 연구 및 응용이 여러 각 분야에서 활발히 진행되고 있다(1-4).

약물전달시스템(drug delivery system, DDS)에서 방출속도 제어불능의 경구투여 약물은 부작용 및 독성을 일으켜 치료유효혈중농도(therapeutic plasma level)를 증가하며 급격한 약효의 하락은 치료를 더욱 어렵게 한다(5,6) 이러한 문제들을 해결하는데 방출 조절형 의약(controlled release device)이 필요하게 되었고 키토산은 생체적합성, 생분해성, 무해성 등의 특성(7)을 지니고 있어 이 분야의 활로를 전망 할 수 있으며 최

근 연구동향은 다음과 같다. Miyazaki(8) 등은 indomethacin과 papaverine hydrochloride로 키토산 피막을 만들어 방출 지속성 제제에 관한 연구를, Sawaynagi(9) 등은 키틴과 키토산을 만니톨, 락토오스, 전분 등과 혼합하여 정제(tablet)로서의 이용을 시도하였다. 저자(10,11) 등은 키틴 및 키토산을 이용하여 경피흡수형 제제와 경구투여제인 정제형 고분자 매트릭스를 제조하여 그 사용 가능성을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 생체분해성 고분자로서 가장 많이 사용되고 있는 poly(DL-lactide)(DL-PLA)로 고분자 매트릭스에 피막을 형성하게 하는 새로운 약물전달시스템을 제시하였다. 이 제형의 목적은 높은 약물 방출속도를 유지하면서 급속한 약물의 방출속도 변화를 나타내는 문제점을 제거하기 위하여 고분자 피막을 입힌 키토산, 키토산 염산염 및 술폰화 키토산을 매트릭스로 이용하였으며, 모델 약물로는 항 류마티스 치료제인 프레드니솔론(prednisolone)을 사용하였다. 따라서 고분자 매트릭스의 약물 방출 특성을 살펴보기 위하여 인공위액인 pH 1.2 염산 용액(hydrochloride solution, HS)에서 생체분해성 고분자 피막(bioerodible coated matrix)이 약물의 방출거동에 미치는 영향을 비교 검토함으로써 지속적이고 조절된 제형으로서의 사용 가능성을 고찰하였다.

† Corresponding Author · Department of Polymer Science and Engineering, Suncheon National University, Chonnam 540-742, Korea

Tel : 0661-750-3566, Fax : 0661-750-3508

e-mail : jwnah@suncheon.suncheon.ac.kr

## 재료 및 방법

### 시약

Prednisolone, DL-lactic acid, chlorosulfonic acid, antimony (III) oxide 등은 Aldrich Chemical Co의 제품을, dimethyl sulfoxide는 Yakuri Pure Chemical Co.의 제품을 정제없이 그대로 사용하였다. Stannous octoate, potassium polyvinylsulfate (PVSK), toluidine blue, dimethylformamide(DMF) 및 tetrahydrofuran(THF)는 Sigma Chemical Co의 특급 시약을 정제없이 그대로 사용하였다

### DL-PLA의 합성

DL-lactic acid 100 g과 antimony(III) oxide 1.1 g을 질소기류 하에서 120°C로 2시간 동안 탈수반응시킨 후 온도를 180°C까지 높이고 5 mmHg에서 6시간 반응시켰다. 그 후 반응기 내의 온도를 250~260°C로 상승시켜 1시간 동안 반응시킨 후 연한 노란색의 부산물을 포함하고 있는 DL-lactide를 얻었다. 생성물을 클로로포름과 아세트산 에틸로 재결정한 다음 동결건조하여 순수한 백색의 DL-lactide를 얻었다(12) DL-lactide의 수득률은 44.2%, 녹는점은 98.0°C(DSC peak temperature)였다.

DL-lactide 1.0 g, lauryl alcohol 0.1 g 및 stannous octoate 0.3 g을 질소기류 하에서 220°C로 4시간 동안 반응시켰다 얻어진 생성물을 아세트산 에틸/석유 에테르 혼합 용매로 추출한 후 동결건조하여 백색의 DL-PLA를 얻었다 DL-PLA의 수득률은 94.3%, 유리전이온도( $T_g$ )는 64.3°C였다

### 키토산 유도체 합성

약물전달체로 사용된 키토산 유도체(키토산, 키토산 염산염 및 술폰화 키토산)의 합성 방법은 다음과 같다.

### 키토산 합성

수산화 폐기물인 계, 새우 등으로부터 얻은 키토인 물질을 Hackman방법(13)에 의해 단리하여 순백색의 키토인을 제조하였다. 키토인 분말시료 40 g을 47%-수산화나트륨 400 mL 수용액으로 110°C에서 1시간 동안 탈아세틸화 반응을 한 후 증류수로 세척하였다. 이와 같은 과정을 3회 반복하여 탈아세틸화도를 높였다. 반응 종료 후 증류수로 충분히 씻어 알칼리를 제거하고 무수 에탄올, 무수 에테르 등의 순서로 처리하여 80°C에서 진공건조(4 mmHg)하였다(14) 키토산의 수득률은 73.0%, 녹는점은 88.0°C(DSC peak temperature)였다.

### 키토산 염산염 합성

키토산 6.0 g을 2%-초산 320 mL에 용해시킨 후에 과량의 35%-염산 수용액을 가하여 키토산의 염산염을 석출시켜 여과한 후 여액중에  $Cl^-$  이온이 검출되지 않을 때까지 무수 메탄올로 처리한 다음 진공건조(4 mmHg)하였다(15). 키토산 염산염의 수득률은 82.0%, 녹는점은 102.0°C(DSC peak temperature)였다.

### 술폰화 키토산 합성

피리딘 100 mL와 클로로술폰산 168 mL을 약 5°C에서 혼합시킨 용액에 피리딘 60 mL에 키토산 10 g을 분산시킨 고분자 용액을 서서히 적가한 후 95°C에서 90분 동안 환류 반응시켰다.

이 반응물을 증류수 400 mL에 추가하여 얻은 생성물을 25 N-수산화나트륨 수용액과 에탄올로 처리하였으며 셀룰로오스 튜브에서 3일 동안 투석한 후에 무수 에탄올 240 mL로 처리하여 70°C에서 진공건조(4 mmHg)하였다(16) 술폰화 키토산의 수득률은 30.0%, 녹는점은 95.0°C(DSC peak temperature)였다

### 약물전달체 제조

키토산, 키토산 염산염 및 술폰화 키토산을 각각 10%-초산용액에 12시간 동안 팽윤시켜 약물인 프레드니솔론을 가하여 교반한 다음 이 고분자 용액을 캐스팅하여 60°C에서 24시간 동안 건조하였다. 건조된 고분자 매트릭스의 반지름은  $6.30 \pm 0.01$  mm, 두께는 각각 2.08, 2.09,  $2.10 \pm 0.01$  mm였으며 그 조성은 Table 1과 같다

고분자 매트릭스의 피막 재질로는 DL-PLA를 사용하였다 DL-PLA는 생체 내에서 효소의 작용에 영향을 거의 받지 않고 젖산(lactic acid)의 형태로 분해되는 무해한 생체분해성 고분자이다(17) DL-PLA를 약물이 분산된 고분자 매트릭스에 피막하기 위해서 딥 코팅(dip coating) 방법을 사용하였다. DL-PLA를 클로로포름에 녹인 후 이 고분자용액에 고분자 매트릭스를 메달아 클로로포름의 액면이 낮아짐에 따라 피막이 형성 되도록 하였다 피막용 고분자 용액은 클로로포름 10 mL에 DL-PLA 10 g을 녹여 만들었으며 피막은 1분간에 3회 처리하였다. 이때 피막의 두께는  $0.07 \pm 0.01$  mm였다.

### 약물방출실험

약물방출 실험장치는 *in vitro*에서  $37.0 \pm 0.5^\circ C$ 의 pH 12 HS 1000 mL에 대한 약물의 방출속도를 측정하였으며 교반 속도는 100 rpm(United States Pharmacopoeia, USP)을 유지하였다. 약물방출 용액은 1회에 5 mL씩 처음 1시간 동안은 10분마다, 그 이후에는 1시간 간격으로 채취하여 약물의 농도를 측정하였으며 약물방출 용액을 꺼낸 직후에 동량의 pH 12 HS를 보충하였다 방출된 약물의 농도는 파장 242 nm에서 UV-spectrophotometer를 사용하여 측정하였다.

### 키토산의 탈아세틸화도(DAC) 측정

키토산 1.0 g을 증류수 100 mL와 0.4 M 아세트산 완충용액(pH 4.0) 100 mL의 혼합 용액에 용해시켰다. 용해된 키토산 콜로이드 용액 1.0 g을 채취하여 증류수 30 mL와 혼합하고 톨루이딘 청색 지시약 2방울을 떨어뜨려 2.5 mN PVSK 용액으로 적정하였다 이때 용액의 색깔이 푸른색에서 보라색으로 변하는 점을 종말점으로 하여 탈아세틸화도(degree of deacetylation,  $D_{Ac}$ )를 식(1)에 의해 계산하였다(18).

$$D_{Ac} = \frac{100}{\left(\frac{50}{4.30V} - 1\right) 0.793 + 1} \quad (1)$$

여기서 V는 적정액의 부피(mL)이다.

### 키토산의 점도 평균분자량(MV) 측정

4 M 요소, 0.2 M 초산 및 0.1 M 염화나트륨의 3성분계(1:1:1, v/v) 혼합 용액에 건조된 키토산 분말을 각각 0.05, 0.1, 0.15 및 0.2%가 되도록 용해하고 냉암소에 24시간 동안 방치하

Table 1. Composition of coated monolithic polymeric matrices forming solution

Drug carriers(g)* I, II, III	Prednisolone (g)	10% Acetic acid (mL)	Thickness(mm)	
			Matrix	Coating
0.3	0.2	5.0	2.08±0.01	0.07±0.01
0.6	0.2	5.0	2.09±0.01	0.07±0.01
1.0	0.2	5.0	2.10±0.01	0.07±0.01

\*Drug carriers; I: chitosan, II: chitosan hydrochloride, III: sulfonated chitosan.

였다. 25.0±0.05℃ 항온조에서 각각 Cannon-Fenske형 모세관 점도계(Kimax No. 100)를 사용하여 모세관을 통과한 시간을 측정, 고유점도[η]를 계산하고 식(2)로부터 분자량을 계산하였다(19).

$$[\eta] = 8.93 \times 10^{-4} M_w^{0.71} \text{ (dL/g)} \quad (2)$$

**분석방법**

DL-lactide와 DL-PLA의 합성구조를 확인하기 위하여 FT-NMR spectrophotometer(Bruker AC-300F, 300 MHz)는 가속 전압 20 KV의 조건으로 tetramethyl silane(TMS)를 내부표준 물질로 하고 0.1 g/mL의 농도로 CDCl<sub>3</sub>에 녹여 측정된 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C으로부터 합성을 확인하였다. 키토산, 키토산 염산염 및 술폰화 키토산은 FT-IR spectrophotometer(Bruker IFS-66)로 4000~500 cm<sup>-1</sup> 범위 내에서 KBr법으로 각각의 시료를 마노유 팔과 유봉으로 충분히 분쇄한 후 압착하여 투명한 원반을 만들어 감도를 80으로 고정하고, 종축을 투과율(T, %), 횡축을 파수(cm<sup>-1</sup>)로 하여 측정하였다. 녹는점을 측정하기 위하여 시차주사 열량계(differential scanning calorimeter, DSC)(Mettler Co DSC-30)는 -10~300℃의 온도범위에서 승온속도 10℃/min으로 질소 하에서 측정하였다. DL-PLA 분자량을 측정하기 위해서는 겔 투과 크로마토그래피(gel permeation chromatography, GPC) (Shimazu, GPC-800 series)는 2 mg/mL 농도로 tetrahydrofuran(THF)에 녹여 20 μL를 주입하였다. 이동상 THF의 흐름속도는 1 mL/min로 하였고, 표준물질로는 폴리스티렌으로 하였다. 방출된 약물의 농도를 측정하기 위하여 UV-spectrophotometer(Shimazu 2101PC)는 채취된 시료를 미공저크개(millipore filter, pore size 0.2 μm)를 통과시킨 후 최대파장 242 nm에서 pH 1.2 HS를 대조로하여 그 흡광도를 측정하여 산출하였다

**결과 및 고찰**

**DL-PLA의 구조 확인**

DL-lactic acid로부터 합성된 DL-lactide는 <sup>1</sup>H-NMR에서 methyl group(-CH<sub>3</sub>)내의 3개의 수소가 1.66 ~1.69 ppm 부근에서, methenyl group(=CH)내의 1개 수소가 5.03~5.10 ppm 부근에서 흡수피크를 보였으며, <sup>13</sup>C-NMR에서 methyl group(-CH<sub>3</sub>)내의 탄소가 15.80 ppm에서, methine group(=CH)내의 탄소가 72.25 ppm에서, ester group(-(C=O)O-)내의 탄소가 167.75 ppm에서 흡수피크를 보여 DL-lactide의 합성을 확인할 수 있었다. DL-lactide로부터 합성된 DL-PLA는 <sup>1</sup>H-NMR에

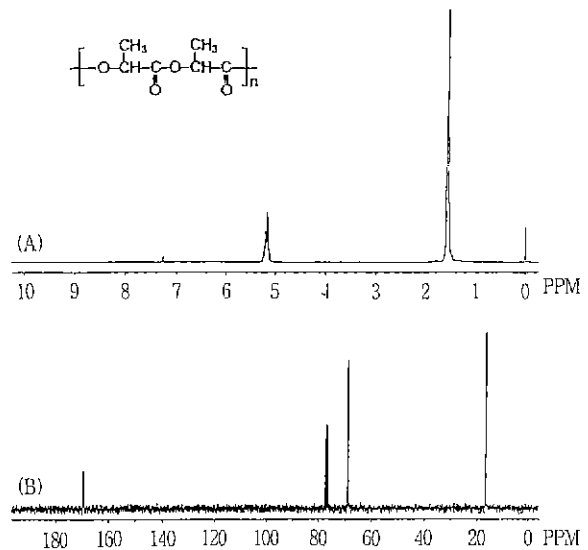


Figure 1. <sup>1</sup>H FT-NMR(A) and <sup>13</sup>C FT-NMR(B) spectra of poly(DL-lactide) in CDCl<sub>3</sub>.

서 -CH<sub>3</sub>내의 3개의 수소가 1.55~1.60 ppm 부근에서, =CH내의 1개 수소가 5.13~5.26 ppm 부근에서 흡수피크를 보였으며, <sup>13</sup>C-NMR에서 -CH<sub>3</sub>내의 탄소가 16.62 ppm에서, =CH내의 탄소가 72.92 ppm에서, -(C=O)O-내의 탄소가 169.34~169.59 ppm에서 흡수피크를 보여 DL-PLA의 합성을 확인할 수 있었다(Figure 1). 그리고 GPC로 측정된 DL-PLA의 평균분자량(M<sub>w</sub>)는 120000 이었다.

**키토산 유도체들의 구조 확인**

키틴을 탈아세틸화시켜 순백색의 키토산을 합성하고 키틴 및 키토산의 FT-IR spectrum(Figure 2 (a), (b))을 비교하여 그 합성여부를 확인하였다. 키틴의 특성피크인 CH<sub>3</sub> wagging 흡수가 952 cm<sup>-1</sup>에서, C=O결합 신축진동이 1655 cm<sup>-1</sup>에서 나타났으나 키토산에서는 매우 약하게 관측되었다. 키틴의 1550 cm<sup>-1</sup>의 NH bending 흡수피크만 키토산의 1552 cm<sup>-1</sup>에서 남아있어 키토산이 합성되었음을 확인할 수 있었다. 탈아세틸화에 따른 C=O와 NH결합 사이에 작용하는 수소결합력의 차이에 의해 키틴의 3250 cm<sup>-1</sup>와 3090 cm<sup>-1</sup>의 NH 신축진동에 의한 흡수피크가 키토산의 경우에는 매우 약하게 나타났다. 그리고 식(1)에 의해 산출한 키토산의 탈아세틸화도는 87%였으며, 식(2)에 의해 산출한 점도 평균분자량은 4.0×10<sup>4</sup>(고유점도[η] 1.653 dL/g)이었다. 키토산으로부터 키토산 염산염을 합성한 FT-IR spectrum

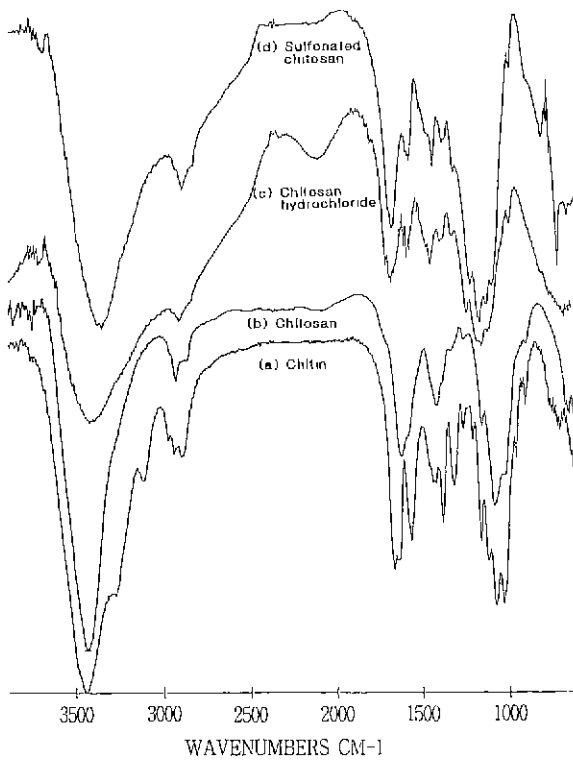


Figure 2. FT-IR spectrum of (a) chitin, (b) chitosan, (c) chitosan hydrochloride, and (d) sulfonated chitosan.

(Figure 2 (c))에서 특성피크인 NH<sub>3</sub> 흡수가 1527 cm<sup>-1</sup>에서의 신축진동과 2105 cm<sup>-1</sup>에서 광범위한 흡수피크가 나타났다. 또한 술폰화 키토산(Figure 2 (d))의 특성피크인 S=O 결합의 흡수가 1260 cm<sup>-1</sup>에서, N-S-O 결합의 흡수가 706 cm<sup>-1</sup>에서 나타난 것으로 보아 술폰화 키토산이 합성되었음을 확인하였다

**약물전달체가 약물 방출에 미치는 영향**

약물로 사용된 프레드니솔론의 함유량을 0.2 g으로 동일하게 하고 약물전달체의 함유량을 각각 0.3, 0.6 및 1.0 g으로 변화시킨 후 방출 거동에 대한 결과는 다음과 같다 시간에 대한 누적 약물방출량(%)과 시간의 제곱근(t<sup>1/2</sup>)에 대해 도시한 결과 약물 방출량의 증가가 직선적 관계(linearity)를 나타내는 것은 고분자 매트릭스로부터 약물 방출이 조절된다는 것을 의미하며, 또한 방출 조절형에서 요구되는 지속성 방출 형태(sustained release pattern)를 보여주고 있다.

약물전달체의 함유량 증가에 따른 지속적인 약물 방출 시간은 키토산의 경우에 82, 90, 99시간(Figure 3)이었고, 키토산 염산염의 경우는 65, 70, 75시간(Figure 4), 술폰화 키토산의 경우는 71, 74, 78시간(Figure 5)으로 지연되었다. 약물전달체의 함유량이 증가함에 따라 약물 방출거동이 느린 것은 단위 부피당 차지하는 약물의 함유량이 상대적으로 낮아져 방출속도가 떨어졌음을 의미한다 또한 약물 방출속도는 키토산 염산염이 가장 높았고 그 다음이 술폰화 키토산, 키토산의 순서를 나타내었는데 그 이유는 염의 형태인 키토산 염산염은 이온이 하전되어 있어 수화가 키토산보다 용이하고 썬비터 이온(zwitterion) 현상때문에 방출속도가 가장 빠른 것으로 생각된다.

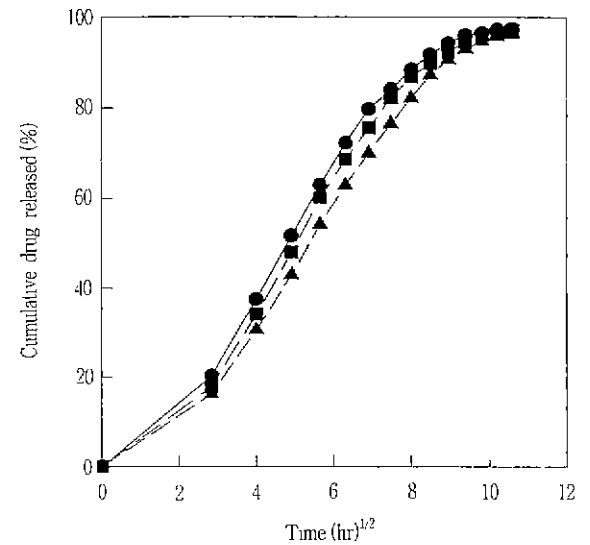
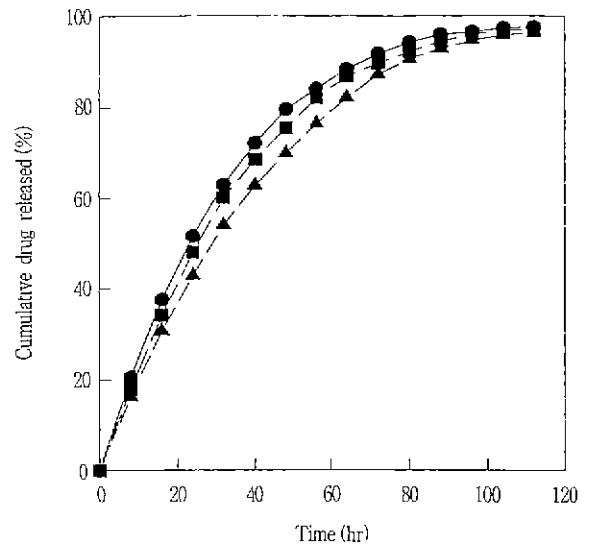


Figure 3. Cumulative drug release versus time(t) and square root time(t<sup>1/2</sup>) from chitosan matrix coated by poly(DL-lactide) at pH 1.2. [chitosan; 0.3g(●), 0.6g(■), 1.0g(▲)].

**생체분해성 고분자 피막이 약물 방출에 미치는 영향**

전보(11)에 보고되었던 고분자 매트릭스(noncoated monolithic polymeric matrix)에서의 약물 방출속도는 초기에 과량의 약물이 방출되었다 이에 반해 피막형 고분자 매트릭스(coated monolithic polymeric matrix)는 초기 약물의 과량 방출량이 DL-PLA 피막에 의하여 현저히 줄어들었으며 따라서 피막형 매트릭스 제제는 피막되지 않은 경우보다 2배 정도의 방출시간이 지연되는 결과를 보였다 즉 DL-PLA로 고분자 매트릭스에 피막을 함으로써 약물의 방출속도의 변화를 줄일 수 있었다. 상기의 결과는 DL-PLA가 젯산으로 분해되면서 점차 막으로써의 기능을 잃기 때문인 것으로 생각된다. 위의 두 경우에 있어서 약물의 방출시간 범위를 비교한 결과를 Table 2에 나타내었다.

결과적으로 이러한 생체분해성 고분자로 피막된 제제는 피막이 분해되는 속도와 약물이 고분자 매트릭스를 투과하는 속도를

Table 2. The comparison of linearly released time range form for monolithic and coated monolithic polymeric matrices at pH 1.2

		Linearly released time range(hr)					
		Noncoated monolithic polymeric matrix**			Coated monolithic polymeric matrix		
Amount of chitosan derivatives		0.3	0.6	1.0	0.3	0.6	1.0
Drug carriers*	I	40	48	54	82	90	99
	II	32	37	42	65	70	75
	III	37	41	44	71	74	78

\* Drug carriers, I: chitosan, II: chitosan hydrochloride, III: sulfonated chitosan.

\*\* The values shown in the parentheses are from the reference 11.

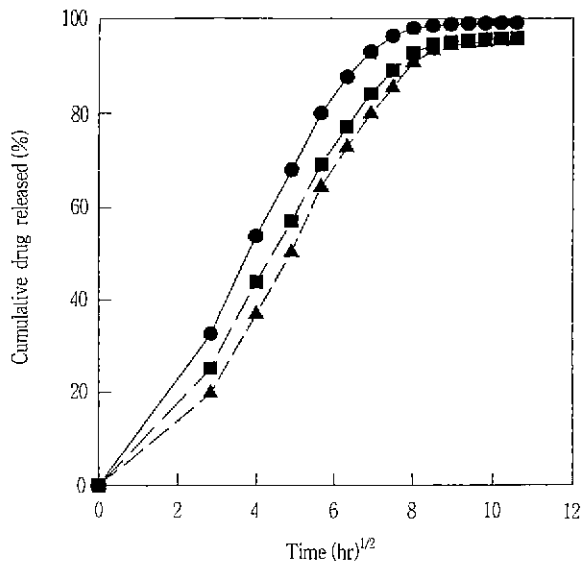


Figure 4. Cumulative drug release versus square root time ( $t^{1/2}$ ) from chitosan hydrochloride matrix coated by poly(DL-lactide) at pH 1.2. : [chitosan hydrochloride: 0.3g(●), 0.6g(■), 1.0g(▲)].

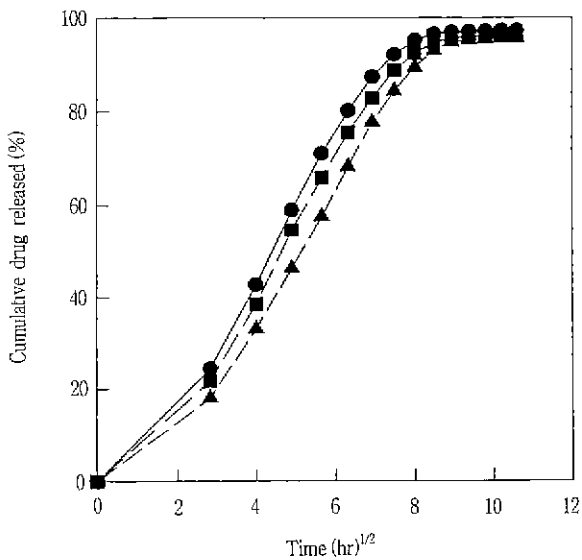


Figure 5 Cumulative drug release versus square root time ( $t^{1/2}$ ) from sulfonated chitosan matrix coated by poly(DL-lactide) at pH 1.2. : [sulfonated chitosan, 0.3g(●), 0.6g(■), 1.0g(▲)].

조합한 것이므로 초기의 급격한 약물 방출속도의 변화를 줄이면서 지속성 약물 방출 형태를 나타내었다. 피막형 매트릭스가 방출 조절형 제제로서 더 바람직한 결과를 보였다. 따라서 *in vivo* 실험을 통해 위장내 체류가 장기간 확인된다면 본 실험에서 제조한 피막형 매트릭스는 하루 이상 위장 내에 머무르면서 서서히 약물을 방출하는 1일 1회 투여용 경구제제로 응용될 수 있리라 기대된다.

요 약

Poly(DL-lactide)로 피막된 고분자 매트릭스를 약물전달시스템에 이용하기 위해 키토산, 키토산 염산염 및 술폰화 키토산으로 제조되었다. 모델 약물로 프레드니솔론을 사용하는 본 약물 방출에 관한 연구는 pH 1.2 염산 용액에서 실험을 하였다. 약물 방출 속도는 고분자 매트릭스의 함유량이 증가할 수록 감소하였다. 피막된 고분자 매트릭스의 종류에 따라 지연된 약물의 방출 시간은 키토산의 경우가 가장 길었으며, 술폰화 키토산, 키토산 염산염의 순서였다. DL-PLA로 피막된 고분자 매트릭스가 피막되지 않는 고분자 매트릭스 보다 약물 방출 시간이 2배 정도의 지연되었을 뿐만 아니라 초기에 약물 과잉방출 현상도 작아 피막된 경우가 방출 조절형 제제로서 더 바람직한 결과를 보였다. 따라서 DL-PLA로 피막된 고분자 매트릭스는 장시간의 약물 방출을 위한 약물전달체로써의 응용이 기대된다.

참 고 문 헌

1. Austin, P. R., C. J. Brine, J. E. Castle, and J. P. Zikakis (1981), Chitin, *New Facets Res. Sci.*, 212, 749-753.
2. Jeuniaux, C (1958), Recherches sur les Chitinases, I. Dosage Nephelometrique et Production de Chitinase par des Streptomycetes, *Arch. Inter. Physiol. Biochem*, 66, 408-427.
3. Muzzarelli, R. A. A. (1977), Chitin, pp. 139-150, Pergamon press, Oxford.
4. Knorr, D. (1984), The Use of Chitinous Polymers in Food, *Food Technol.*, 38, 85-97.
5. Guy, R. H and J Hadgraft (1987), Drug Parameters Important for Transdermal Delivery, PP.4-6, Vol. 3, CRC press, Florida.
6. Jacobs, I. C. and N. S. Mason (1993), Polymer Delivery Systems Concepts, *Polymeric Delivery System Properties*

- and Applications, Magda, A. E. and David, M. P. ed., PP. 1-17, Book Crafters, USA.
7. Johnson, P. and J. G. Lloyd-Jones (1984), Drug Delivery Systems, p.107, Ellis Horwood press, England.
  8. Miyazaki, S., K. Ishii, and T. Nagai (1981), The Use of Chitin and Chitosan as Drug Carriers, *Chem. Pharm Bull.*, **29**, 3067-3069.
  9. Sawayanagi, Y., N. Nambu, and T. Nagai (1982), Directly Compressed Tablets Containing Chitin or Chitosan in Addition to Lactose or Potato Starch, *Chem. Pharm Bull.*, **30**, 2935-2940.
  10. Kim, S. I. and J. W. Na (1993), Preparation and Evaluation of Antibacterial Transdermal Device using Chitosan Matrices, *J. Korean Chem. Soc.* **37**, 527-536.
  11. Cha, W. S., S. I. Kim, J. W. Na, and D. B. Lee (1995), Control of Drug Release using Chitosan Derivatives, *J. Korean Ind. & Eng. Chem.*, **6**, 8-14.
  12. Reed, A. M. (1978), In Vivo and In Vitro Studies of Biodegradable Polymers for Use in Medicine and Surgery, Ph.D. Thesis, University of Liverpool, 1978.
  13. Hackman, R. H. (1962), Studies on Chitin, *Aust. J. Biol. Sci.*, **15**, 526-537
  14. Rigby, G. W. (1936), Chemical Products and Process of Preparing the Same, U.S. Patent 2072771.
  15. Kim, Y. M. and K. S. Chio (1985), Chitosan-Based Chelating Polymers, Their Synthesis and Metal Ion Adsorption Characteristics, *Polymer (Korea)*, **9**, 417-434.
  16. Wolfrom, M. L. and T. M. Shen (1958), The Sulfonation of Chitosan, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 1764-1766.
  17. Lewis, D. H. (1990), Controlled Release of Bioactive Agents from Lactide/Glycolide Polymers, Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems, Mark, C. and Robert, L. ed., PP 1-41, Marcel Dekker, Inc., New York
  18. Maeda, M., H. Murakami, H. Ohta, and M. Tajima (1992), Stimulation of IgM Production in Human-Human Hybridoma HB4C5 Cells by Chitosan, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 427-431.
  19. Rutherford III, F. A. and P. R. Austin (1978), Chitin/Chitosan, Proc. 1st. Int'l Conf., p.182, Held in Boston.