

## 설파디아진은의 방출제어를 위한 알지네이트-키토산 미립구의 제조 및 특성

조 애 리

덕성여자 대학교 약학대학  
(2001년 5월 10일 접수)

### Preparation and Characterization of Alginate-Chitosan Microsphere for Controlled Delivery of Silver Sulfadiazine

Ae-Ri Cho

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea  
(Received May 10, 2001)

**ABSTRACT**—Alginate-chitosan (anion-cationic polymeric complex) was prepared to control the release rate of silver sulfadiazine (AgSD). Na-alginate (2%) solution containing AgSD was gelled in CaCl<sub>2</sub> solution. The gel beads formed were immediately encapsulated with chitosan (CS). The gel matrix and membrane were then reinforced with chondroitin-6-sulfate (Ch6S). Release rate of AgSD from the gel matrix was investigated by placing alginate beads in the sac of cellulose membrane simmered in HEPES-buffer solution. The concentration of AgSD released was analyzed by UV at 264 nm. Incorporation capacity of AgSD in Ca-alginate gel was more than 90%. Alginate-Ch6S-CS could control the release rate of AgSD. The amount of AgSD release was dependent on the AgSD loading dose. Incorporation of tripolyphosphate (polyanionic crosslinker) onto the alginate-Ch6S-CS bead increased the release rate of AgSD. Collagen-coating had no influence on the AgSD release rate. Alginate-Ch6S-CS beads with a sufficiently high AgSD encapsulation were capable of controlling the release of the drug over 10 days. In summary, alginate-Ch6S-CS beads could be used as a sustained delivery for AgSD and provide local targeting with low silver toxicity and patient discomfort.

**Keywords**—Alginate, Chitosan, Microbeads, Silver sulfadiazine

Alginic acid는 해조로부터 추출된 탄수화물로 β-(1,4)-D-mannuronic acid (M)와 α-(1,4)-L-guluronic acid(G)의 잔기로 이루어진 천연고분자로서 calcium 혹은 barium과 같은 2가 이온에 의해 gel을 형성하는 특성을 가지고 있다.<sup>1)</sup> Gel의 강도 혹은 gel 내에서 약물의 확산속도는 alginic acid의 구성단위인 guluronic acid의 함량에 따라 결정된다. Gel 내에서 2가 이온은 GG 단위에 의해 형성되는 “egg-box” 구조에 결합하여 alginate 분자 사이를 연결하는 가교제 역할을 한다.<sup>2)</sup> 이러한 alginate gel의 특성으로 인해 세포 및 효소의 고정화,<sup>3)</sup> 약물방출제어형 제형<sup>4,5)</sup> 및 식품첨가제<sup>6)</sup> 등에 이용되고 있다. 그러나, alginate gel은 가교제인 2가 이온의 유출로 인해 gel의 강도약화, 확산속도의 증가 및 matrix disintegration 등의 문제점을 가지고 있다.<sup>7)</sup> 최근에 양이온 천연고분자인 chitosan에 의해 alginate gel 표면을 캡슐화하는 것이 gel matrix의 안정성을 향상시킬 수 있고, gel 내에 봉입된 약물의 확산속도를 제어할 수 있음이 연구 보고

되고 있다. Gaserod 등은 chitosan 캡슐에 의한 alginate bead의 안정성 향상 및 투과도 조절을 시도하였다.<sup>8,9)</sup> 또한, Murata 등은 alginate gel을 약물방출 특성을 조절하기 위해 chondroitin sulfate를 첨가하였으며,<sup>10)</sup> Shirashi 등은 indomethacin의 방출속도가 alginate 내에 GG의 함량이 더 높을수록 줄어드는 것을 보고하고 있다.<sup>11)</sup>

상처부위의 감염예방에 silver nitrate 등은 오랜 역사를 두고 사용되어져 왔다. 하지만 silver nitrate는 상처부위에 적용 시 고통과 심각한 전해질의 불균형을 일으키고, 적용부위와 접촉되는 옷감을 물들이는 것이 문제가 되고 있었다.<sup>12)</sup> 1940년대에 sulfonamide의 발견은 특히 화상부위의 감염을 치료하는 데 새로운 지평을 열었다. 하지만 우리 몸의 key enzyme인 carbonic anhydrase 효소 억제 작용 등의 심각한 부작용이 있다. 1968년에 Fox는 silver와 sulfadiazine을 결합하여 국소 적용 제제를 소개하였다. AgSD는 광범위한 항생제로 G(+)와 G(-)균 모두에 효력이(MIC: 16-64 µg/ml) 있으며 특히 다른 항생제에 비해 내성발현이 적은 것으로 보고되고 있다. 이는 silver가 항생제에 내성을 나타내는 균주에 특히 효력이 있으며, AgSD는 silver와 sulfadiazine 각기

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : (02)901-8501, E-mail : aeri@center.duksung.ac.kr

단일제재 보다 sulfadiazine 에 내성을 나타내는 균주에 대해서는 silver ion이 bacteria의 DNA의 double helix 구조의 unzipping 단계를 방해하므로써, 박테리아균의 증식을 방지한다.<sup>13)</sup> 특히 화상환자의 화상부위에 적용 시 고통이 없고 2차 감염의 치료제재로 지난 20년간 제일로 많이 처방되고 있는 약이다. AgSD는 수용액에 아주 소량이 녹는( $K_{sp}=8.12 \times 10^{-12}$ , 25°C, PH 7-8) 난용성 약물로 수용액에서의 용해도(2.85  $\mu\text{mol/L}$ )가 아주 낮다. 또한 silver ion은 chloride ion과 반응하여  $\text{AgCl}$ ( $K_{sp}=1.56 \times 10^{-10}$ , 25°C, PH 7-8)의 침전을 형성하여 상처부위로부터의 silver ion의 전신 흡수는 없을 것으로 추정되었으나, 상처부위에 존재하는 chloride, peptide, protein들과의 착이온( $\text{AgCl}^{2-}$  등,  $K_f=1 \times 10^{-5}$ )을 형성하여 용해도가 300배까지 증가되며 이로 인하여 silver ion의 상처부위를 통한 전신 흡수 등의 부작용이 보고되고 있다.<sup>14,15)</sup> 특히 glutathione peroxidase의 억제제는 간 조직의 괴사를 유도하고, 근위 세뇨관에 심각한 독성으로 신 기능의 장애를 일으키는 것이 보고되고 있다.<sup>16)</sup> 현재 화상환자의 감염예방에 사용되고 있는 1% AgSD cream 제재는 유효 치료농도를 유지시켜주기 위해서는 하루에 2-4차례 화상부위에 도포를 해야 하고, cream 기제가 생분해성이 아니므로, 화상부위로부터 cream 제재를 제거하는 과정에서 환자에게 또 다른 외상을 입히게 되므로써, 환자에게 큰 고통과 손상되었던 상피세포의 재생과정을 지연시키는 점 등이 큰 문제점으로 지적되고 있다. 이에 AgSD의 화상부위의 적용횟수를 줄일 수 있고, 상처의 자체 내 치유과정을 방해하지 않으며, silver ion의 전신흡수는 최소화 할 수 있는 제형이 요구되어지고 있다. 이를 위하여 AgSD를 지속적으로 방출할 수 있는 wound dressing 제재의 개발을 위하여 항생제를 포함시킨 상처 도포제에 대한 연구 등이 90년대 이후 발표되어 지고 있다.<sup>17-19)</sup> Collagen sponge 내의 관능기(COOH, NH<sub>2</sub>, SH)들과 AgSD와의 이온결합을 이용한 방출제어형, poly-L-leucine,<sup>20)</sup> PEG-PHEMA에 AgSD를 결합시킨 제형 등이 보고되고 있다.<sup>21,22)</sup> 이에 본 연구실에서는 수용성인 sodium alginate를 coating material로 선택하여 AgSD의 방출조절형 미립구를 제조하고자 하였다. Alginate는 uronic acid의 단량체인 탄수화물 고분자이다. 카르복실기의 음전하와 양전하(아미노기)를 띤 고분자와의 결합에 의한 복합체의 형성은 alginate 젤 표면에 막을 형성하여 단백질과 같은 고분자 물질의 제어 방출을 가능하게 한다. 또한, alginate는 chondroitin-6-sulfate(Ch6S) 등과 같은 음전하 고분자와 복합적으로 사용되었을 때 가교제를 형성하여 젤의 강도 및 확산 속도를 조절할 수 있다.<sup>19)</sup> 젤의 표면 막을 형성시키기 위한 재질로 양전하 고분자인 poly-L-lysine, chito-

san 등이 이용되고 있다. 약물 담체인 미립구를 포함한 wound dressing은 화상 및 창상 등의 치료 효과를 증진하는 역할을 할 수 있다. 본 논문에서는 항생제의 방출제어에 의한 새로운 창상치유 dressing에의 응용을 위하여, AgSD를 alginate-gel bead에 봉입 시킨 후, 젤 표면 막을 강화시킨 AgSD의 방출제어형 미립구 제조 및 특성연구의 결과를 보고하고자 한다.

## 실험방법

### 재료

Na-alginate(Sigma)는 low viscosity grade를 사용하였고, chitosan(Fluka)은 분자량 20,000과 Chondroitin-6-sulfate(Sigma)를 사용하였다. Silver sulfadiazine은 동화약품에서 구하였다. 기타시약은 Sigma에서 구입하거나, 기타 시약 급을 사용하였다.

### 기기

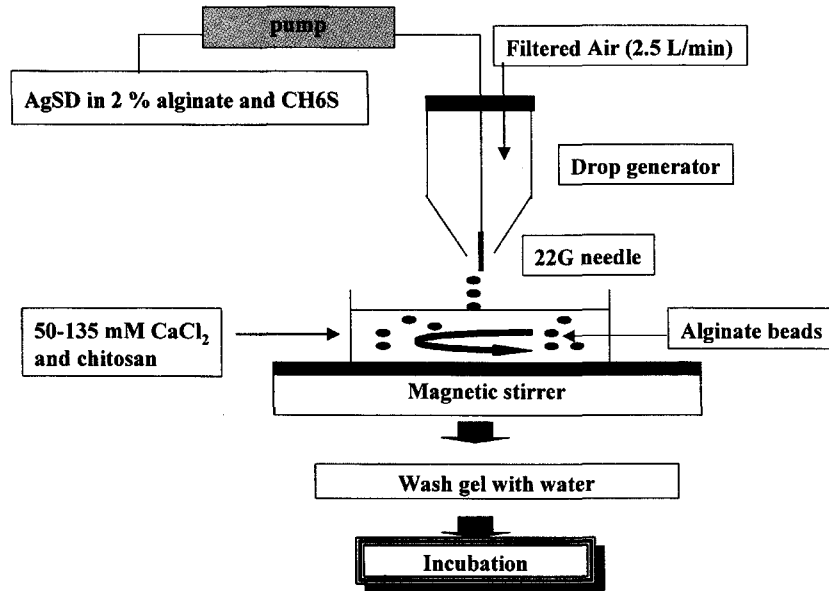
UV-spectrometry(Hewlett Packard 8452A, USA), Silver ion selective electrode(Orion Research, Inc., USA), PH meter(Orion Research, Inc., USA), Voltax mixer(Maximix II, Thermolyne), Water bath(Polyscience, USA), Shaking Incubator(Lab-Line Instruments, Inc., USA), Pump(Dwyer, RMA-21-SSV, USA) Constant temperature circulators(Polyscience, USA), Microscope(Meiji Techno, MA326, Japan) 등이 사용되었다.

### Bead 제조

Alginate bead는 scheme 1에 도식되어진 대로 drop-generator를 이용하여 300-800  $\mu\text{m}$  정도의 크기로 제조하였다. 간략히 설명하면, 증류수에 용해시킨 2% alginate 4 ml 을 50-135 mM의  $\text{CaCl}_2$  용액 40 ml에 점적 시켜 gel화 시켰다. AgSD를 봉입할 때는 일정농도의 약물과 alginate 용액을 혼합한 후 bead를 제조하였다. Alginate의 확산속도를 제어하기 위해 0.05-2.4% 농도의 chitosan 용액에서 캡슐화하였다. Chondroitin-6-sulfate(Ch6S) 첨가되는 경우에는 alginate 용액에 0.05% Ch6S를 혼합하여 bead를 제조하였다.

### 캡슐화

AgSD의 방출속도를 제어하기 위해 bead의 표면을 chitosan으로 캡슐화하였다. Chitosan은 분자량 20,000 부근의 것을 사용하고, 방출실험결과 농도는 0.5%-1%로 조정하였다. 액상의 chitosan 용액에 20분간 함침시켜 캡슐화시켰다.



Scheme 1-Procedures for the preparation of various reinforced alginate beads.

**Tripolyphosphate 처리 및 AgSD 방출실험**

약물이 봉입된 5 ml의 alginate bead를 증류수로 세척 후, 0.0083-0.125% tripolyphosphate(TPP) 수용액 10 ml에서 3 분간 저속 교반 하면서 bead를 집어넣어 반응시켰다. TPP 0.125%의 경우 chitosan : TPP=2:1(25 mg:12.5 mg), 0.0125 %의 경우 chitosan : TPP=20:1(25 mg:1.25 mg), 0.0083%의 경우 Chitosan : TPP=30:1(25 mg: 0.833 mg)이 된다. 반응이 끝난 bead는 HEPES 용액으로 세척한 후, 체에 걸러서 투석막에 담고 HEPES 용액 50 ml에서 약물방출실험을 수행 하였다. 0, 1, 2, 4, 6, 18 및 24시간에 0.1 ml씩 취하여 HEPES 용액으로 10배 희석한 후, AgSD 분석 시까지 냉동 보관하였다. 대조군은 모든 조건을 동일하게 하고 TPP 용액을 가하지 않은 Alginate + CaCl<sub>2</sub> + chitosan bead로 한다.

**Collagen coating**

Collagen(4 g/L) 용액을 각각 20배, 40배, 80배 희석하여 상기의 방법으로 제조된 bead를 collagen 용액에서 5분간 교반 시켜 coating을 하였다.

**Alginate bead로부터 약물방출속도 측정**

제조된 alginate bead를 300 μm sieve를 사용하여 분리한 후 증류수로 세척하고, 투석막에 넣었다. 이때 투석막의 면적은 1.1×3.2 cm로 조절하였다. 약물의 용출속도는 투석막에 bead를 넣은 후 HEPES 용액 50 ml에 침적시키고, 37 °C 항온수조에서 보관하면서 일정시간 간격으로 sample을 1 ml씩 취한 후 HEPES 용액으로 희석하여 냉동 보관하였다.

이때 투석막은 alginate bead로 부터의 AgSD 방출 속도 측정을 위한 검액 채취 시 bead의 혼재를 방지하기 위하여 사용되었다. AgSD 농도 측정은 264 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 결정하였다. HEPES 용액은 HEPES 10 mM과 KCl 140 mM로 만들었다. HEPES 용액은 AgSD의 용해도를 증가시켜 용출실험시 sink condition을 유지시켜주기 위하여 선택하였다.

**약물의 봉입효율 측정**

Alginate bead를 건져낸 잔액에서 1 ml씩을 취하여 여액 중에 존재하는 AgSD의 양을 측정하였다. 봉입효율은 ( $F_c$ , %) 는  $F_c = \frac{[D_c - D_i]}{D} \times 100$ 의 관계식으로 구하였다.  $D$ 는 bead를 제조 후 여액 중에 존재하는 AgSD의 양이고,  $D_c$ 는 제조시 첨가된 약물의 양이다.

**결과 및 고찰**

AgSD의 Ca-alginate bead내에 봉입효율은 90% 이상이었다. Figure 1에서 보듯이, 비교되어진 제형 Alg/CaCl<sub>2</sub>, Alg/CaCl<sub>2</sub>/Ch6S, Alg/CaCl<sub>2</sub>/CS 및 Alg/CaCl<sub>2</sub>/Ch6S/CS의 봉입효율은 각각 97.6, 98.6, 92.4 및 93.7%이었다. Ch6S의 첨가가 봉입 효율에 미치는 영향은 크지 않은 것으로 나타났으나, chitosan capsule에 의해 봉입 효율은 다소 떨어지는 경향을 보였다. 이는 음이온 고분자인 alginate와 양이온 고분자인 chitosan 사이에 형성되는 ionic complex의 dehydration으로 인해 alginate bead의 제조시 제형의 표면에 존재

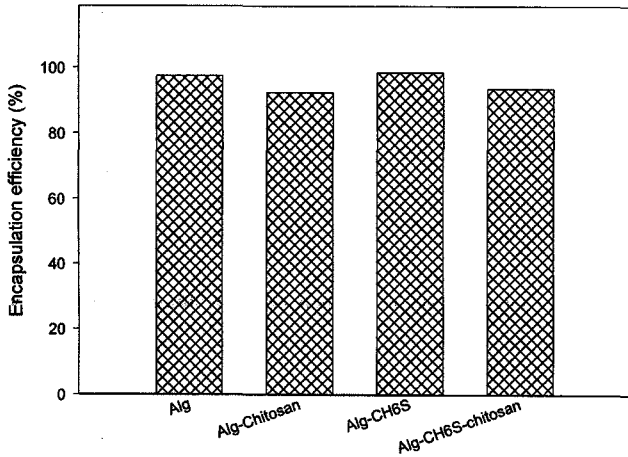


Figure 1-Incorporation efficiency of AgSD in CH6S and/or chitosan-reinforced alginate beads.

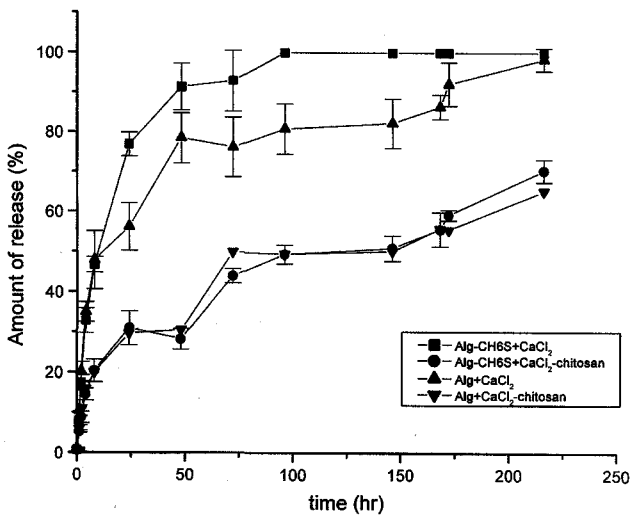


Figure 2-Release study of AgSD from reinforced alginate beads: CaCl<sub>2</sub>- and chitosan-treated beads can suitably control the release rates.

하는 AgSD의 유출에 기인하는 것으로 생각된다. 제조되어진 alginate bead는 직경이 300-500 μm 정도였고, chitosan capsule에 따라 bead 크기에는 차이가 없었다.

Figure 2에서 제형에 따른 AgSD의 방출정도를 경시적으로 비교하였다. 실험에 사용된 AgSD의 봉입 농도는 alginate bead 기준으로 2 wt%이었다. Alg/CaCl<sub>2</sub>와 Alg/CaCl<sub>2</sub>/Ch6S bead의 경우, 초기 24시간 동안 약물의 방출은 빠른 속도로 일어났고, 이후 방출속도는 현저히 줄어드는 양상을 보였다. Alg/CaCl<sub>2</sub>/Ch6S가 Alg/CaCl<sub>2</sub>의 경우에 비해 높은 방출량을 보였는데, 이는 chondroitin sulfate의 첨가에 형성된 interpenetrating polymer network에 기인하는 것으로 생각된다. 즉, chondroitin sulfate에 의해 Ca-alginate gel net-

work의 rigidity가 감소하여 porosity가 증가한 것으로 이해된다. 유사한 결과가 Murata 등에 의해 보고된 바 있다.<sup>10)</sup> 또한, alginate gel network은 calcium ion의 유실에 의해 disintegration되므로 경시적으로 porosity가 증가할 것으로 예상된다. Chitosan capsule이 있는 경우는 약물의 초기 방출 속도는 비슷한 양상을 보였으나, 시간이 지남에 따라 제어되는 것으로 나타났다. 이는 gel matrix 내부에 존재하는 calcium ion의 유출에 기인하는 alginate 분자의 유동성 증가로 bead 표면의 alginate-chitosan complex 막의 밀도가 증가하여 막의 porosity를 감소시키는 결과로 해석된다. 이와 같은 해석은 chondroitin sulfate가 첨가된 제형의 경우에도 적용될 수 있다.

봉입된 약물의 농도에 따른 방출속도를 비교하기 위해 1, 2 및 3%의 AgSD가 봉입된 Alg/CaCl<sub>2</sub>/Ch6S/CS bead를 제조하여 10일 동안 약물방출거동을 조사하였다. Figure 3에서 보듯이, 봉입된 농도에 따라 약물방출속도가 증가하는 것이 관찰되었다. 이는 봉입 약물의 양에 의해 약물전달속도를 제어할 수 있음을 의미한다. Chitosan capsule의 강도를 증가시킬 것으로 예상되는 다가 음이온인 tripolyphosphate (TPP)가 봉입효율 및 AgSD 방출에 미치는 영향을 조사하였다. Alg/CaCl<sub>2</sub>/CS bead를 여러 농도의 TPP 용액에 처리하였을 때, 봉입효율은 큰 차이를 보이지 않았다(Figure 4(a)). 그러나, TPP 처리에 의해 Alg/CaCl<sub>2</sub>/CS bead로부터 AgSD의 방출속도는 TPP 농도에 영향을 받는 것으로 관찰되었다. Figure 4(b)에 나타난 바와 같이 TPP 처리에 의해 bead로부터 약물의 방출속도는 농도 의존적으로 증가하는 것으로 나타났다. TPP와 chitosan은 불용성 침전을 형성하고 음이온 고분자인 alginate와 경쟁적으로 chitosan과 결합하는

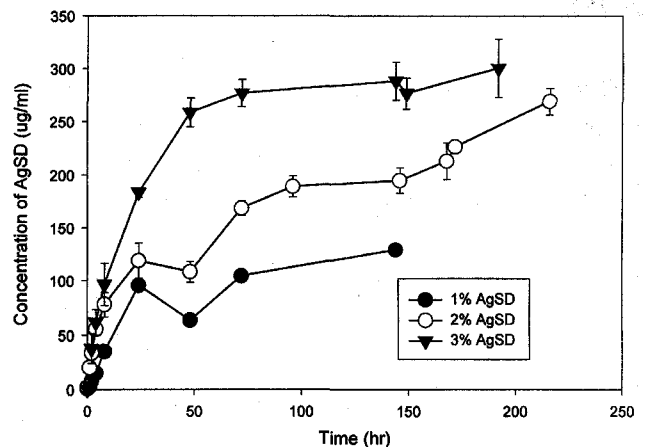
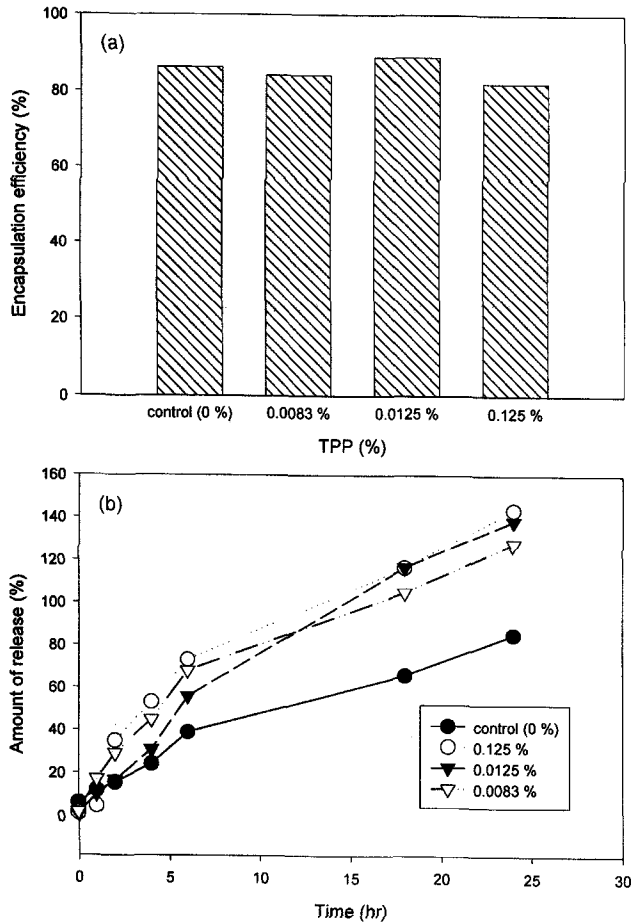


Figure 3-Effect of loading dose of AgSD on the release profile from alginate bead reinforced with Ch6S and chitosan :Alginate-CaCl<sub>2</sub>-chitosan-Ch6S.

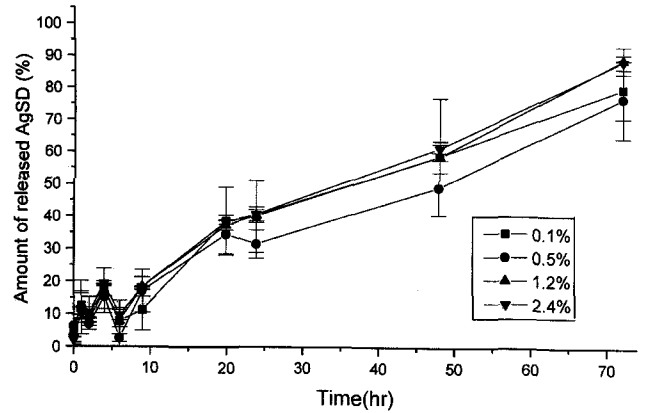


**Figure 4**(a)-Effect of Tripolyphosphate (TPP) on the encapsulation efficiency of AgSD. Beads were prepared from the alginate-CaCl<sub>2</sub>-chitosan. (b)-Effect of Tripolyphosphate (TPP) on the release profile of AgSD from the chitosan-CaCl<sub>2</sub> cross-linked alginate beads. Figures in the inset mean the percentage of TPP.

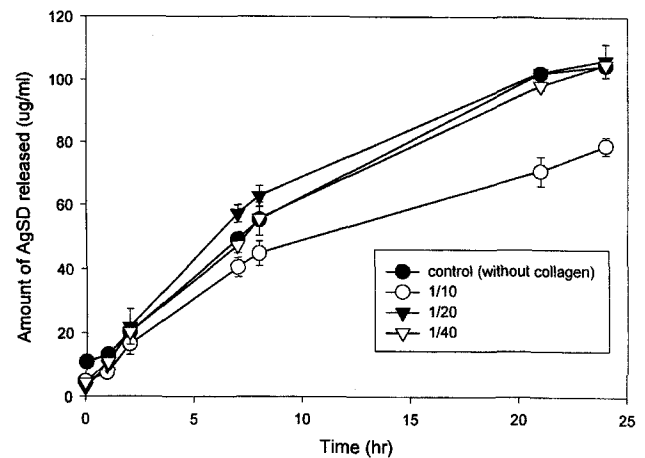
것으로 조사되었고, TPP 용액 내에서 Alg/CaCl<sub>2</sub>/CS bead의 surface erosion이 광학현미경으로 관찰되었다(data not shown). 이 같은 현상은 capsule 표면에 위치한 chitosan 막의 disintegration을 유도하고 막의 pore size를 증가시킬 것으로 예상된다.

Chitosan capsule의 막 밀도를 증가시키기 위해 chitosan 처리 농도를 증가시키면서 Alg/CaCl<sub>2</sub>/CS bead를 제조하였다. 봉입된 AgSD의 방출량은 실험에 사용된 농도(0.1-2.4%)의 영역에서는 큰 영향을 받지 않는 것으로 조사되었다(Figure 5). 사용되어진 chitosan 농도가 alginate 미립구 표면에서의 coating 포화농도인 것으로 생각되었다.

Alg/CaCl<sub>2</sub>/CS의 생체적합성을 증가시키기 위해 collagen coating을 시도하였으나, AgSD의 방출속도를 증가시키는 효과가 관찰되었다. 이는 Figure 4(b)에서 보여진 TPP-효과와 유사한 기전에 의해 collagen/chitosan complex의 형성이 막



**Figure 5**-Effect of concentration of chitosan on the release profile of AgSD from chitosan-reinforced alginate beads. Inset shows the concentrations of chitosan-coating solutions.



**Figure 6**-Effect of collagen coating on the release profile of AgSD from Alginate-Ch6S-CaCl<sub>2</sub>-chitosan beads.

의 integrity를 손상시키는 것으로 생각된다. 그러나, 그 영향은 상대적으로 미미한 것으로 조사되었다(Figure 6). 그러나, 저 농도의 collagen은 약물의 방출속도를 낮추는 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 AgSD의 방출제어형 미립구를 포함하는 상처도포용 matrix의 제조 시, collagen을 coating 함으로써 dermal matrix의 70%를 이루고 있는 collagen과의 생체적합성이 개선된 미립구의 제조가 가능함을 보여주고 있다. 본 연구실에서는 AgSD를 미립구 내에 포함시켜 collagen sponge matrix에 결합시킨 방출제어형 sponge를 제조하고 방출특성에 대한 연구를 수행하고 있다.

## 결론

AgSD와 혼합된 alginate gel을 drop generator를 사용하여 bead를 제조하고 bead의 표면을 CS/Ch6S/TPP/collagen

등과 complex를 형성시켜 표면막을 변형시키고, 각각의 조성에 대한 방출특성을 조사하였다. Ch6S와 chitosan 으로 coacervate 시킨 alginate bead에서 가장 AgSD의 용출속도가 지연되고 있으며, initial bursting도 관찰되지 않았다. TPP 처리에 의해 bead로부터 약물의 방출속도는 하는 것으로 나타났다. TPP는 Alg/CaCl<sub>2</sub>/Ch6S/CS bead로부터 AgSD의 방출속도를 농도 의존적으로 증가시켰으며, collagen coating은 방출속도에 크게 영향을 미치지 않았다. Alg/CaCl<sub>2</sub>/Ch6S/CS bead의 조성 및 AgSD의 봉입 약물 농도를 변화시킴으로써 silver sulfadiazine의 방출 속도 및 bead 내의 봉입 효율을 조절할 수 있었다.

### 감사의 말씀

본 연구는 덕성여자 대학교 2000년도 약학연구소의 연구비 및 1998년 한국학술진흥재단의 학술연구비에 의하여 지원되었음. 실험을 성실히 수행해준 덕성여자 대학교 김현정, 박지영 학생에게 감사드립니다. Silver sulfadiazine의 시료를 제공하여 주신 동화약품의 유재만 박사님께 감사드립니다.

### 문헌

- 1) B. Thu, P.Bruheim, T. Espevik, O. Smidsr d, P. Soon-Shing and G. Skj k-Braek., Alginate polycation Microcapsules, *Biomaterials.*, **17**, 1031-1040 (1996).
- 2) S. Dumitriu, *Polysaccharides in medicinal chemistry*, Marcel Dekker, New York, USA, pp. 197-198 (1996).
- 3) Geert M.R. et al., The molecular weight-cut-off of microcapsules is determined by the reaction between alginate and polylysine. *Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 381 (1993).
- 4) Y. Murata, T. Maeda, E. Miyamoto, T. Yamamoto, K. Murata and S. Kawashima, The in vitro sustained release of diclofenac from calcium-induced alginate gel beads, *Drug Delivery System.*, **8**, 199-203 (1993).
- 5) M.M. Meshali and K.E. Gabr, Effect of interpolymer complex formation of chitosan with pectin or acacia on the release behaviour of chlorpromazine HCl, *Int. J. Pharm.*, **89**, 177-181 (1993).
- 6) L.F. Tay, L.K. Khoh, C.S. Loh and E. Khor, Alginate-chitosan coacervation in production of artificial seeds. *Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 449-454 (1993).
- 7) Y. Murata, K. Nakada, E. Miyamoto, S. kawashima and S.H. Seo, Influence of erosion of calcium-induced alginate gel matrix on the release of brilliant blue, *J. Control. Release.*, **23**, 21-26 (1993).
- 8) O. G serod, O. Smidsr d and G. Skj k-Braek, Microcasules of alginate-chitosan I A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. *Biomaterials.*, **19**, 1815-1825 (1998).
- 9) O. G serod, A. Sannes and G. Skj k-Braek, Microcapsules of alginate-chitosan. II. A study of capsule stability and permeability, *Biomaterials.*, **20**, 773-783 (1999).
- 10) Murata Y. et al., Additive effect of chondroitin sulfate and chitosan on drug release from calcium-induced alginate gel beads. *J. Control. Release.*, **38**, 101 (1996).
- 11) S. Shirashi, T. Imai and M. Otagiri, Controlled release preparation of Indomethacin using calcium alginate gel. *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 1164-1168 (1993).
- 12) H.A. Mannfred, Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals, *Clinical Reviews in Toxicology.*, **26**, 255-260 (1996).
- 13) J. B. Wright, K. Lam and R.E. Burrell, Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance : a role for topical silver treatment, *Am. J. Infect. Control.*, **26**, 572-577 (1998).
- 14) R.U. Nesbitt and B.J. Sandmann, Solubility studies of silver sulfadiazine, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 519-522 (1977).
- 15) N. Tspouras, C. J. Rix and P.H. Brady, Solubility of sulfadiazine in physiological media and relevance to treatment of thermal burns with silversulfadiazine cream, *Clin. Chem.*, **41**, 87-91 (1995).
- 16) N. Tspouras, C. J. Rix and P.H. Brady, Passage of silver ions through membrane-mimetic materials, and its relevance to treatment of burn wounds with silver sulfadiazine cream, *Clin. Chem.*, **43**, 290-301 (1997).
- 17) A. Linchtenstein and R. MAgarit, Liposome-encapsulated silver sulfadiazine for the topical treatment of infected burns: thermodynamics of drug encapsulation and kinetics of drug release, *J. Inorg. Biochem.*, **60**, (1995) 187-198
- 18) P. Bugmann, S. Taylor, D. Gyger, A. Lironi, B. Genin, A. Vunda, G. La Scala, J. Birraux and C. Le Coultre, A silicone-coated nylon dressing reduces healing time in burned paediatric patients in comparison with standard sulfadiazine treatment : a prospective randomized trial, *Burns.*, **24**, 609-612 (1998)
- 19) A. Cho, J. Yoon, H.Leem., Y.Park, K. Jung and J.Lee, Preparation of alginate-microsphere and collagen sponge for controlled release and its application to wound dressing, *Proc. Int. Symp. Cont. Rel. Bioact. Mater.*, **26**, 471-472 (1999).
- 20) Y. Kuroyanagi, E. Kim and N. Shioya, Evaluation of a synthetic wound dressing capable of releasing silver sulfadiazine, *J. Care. Rehabil.*, **12**, 106-115 (1991).
- 21) E.C. Robb and P. Nathan, Control of experimental burn wound infection : comparative delivery of antimicrobial agent (silver sulfadiazine) either from a cream base or from a solid synthetic dressing, *J. Trauma.*, **21**, 889-893 (1981).
- 22) E.C. Robb, D.G. Fitz and P. Nathan, Delivery of topical antimicrobial agents silver sulfadiazine, gentamicin and nystain to infected burn wounds in rats from preloaded synthetic dressings, *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.*, **26**, 533-536 (1980).