

당쇄를 이용한 표적지향성 약물전달체의 개발

조 종 수 · 정 영 일

1. 서 론

Ringsdorf에 의해 미사일 약물(missile drug)이 제안된 이후¹ 고분자 약물 또는 프로약물(prodrug)을 이용한 효율적인 약물전달체를 개발하기 위한 수 많은 접근이 이루어졌다. 이러한 노력은 프로약물,² 콜로이드성 운반체(colloidal carriers),³ 고분자 미셀,⁴ 나노입자,^{5,6} 리포솜^{7,8} 등 다양한 접근이 수행되었다. 이러한 체계의 이점은 약물의 조절 방출, 특정한 조직이나 기관에 의한 불필요한 작용의 회피, 약물의 용해도와 안정성 등을 들 수 있다. 그러나, 아직 많은 문제점이 남아 있는데 병소에 대한 선택성의 결여, 고분자의 독성, 그리고 약물이 병소에만 작용하지 않고 몸 전체에 고르게 확산되어 버리는 등 결정적인 문제점은 해결하지 못한 상태이다. 이러한 문제를 해결하기 위해 단일클론항체⁹⁻¹¹ 또는 당쇄^{12,13} 등을 이용한 표적지향성 고분자 운반체를 이용한 새로운 형태의 약물전달체계가 제안되었다. 표적부위에 약물을 선택적으로 전달하는 것은 일반 조직과의 비특이적 상호작용을 줄이고 표적부위와의 친화성을 증가시켜 달성할 수 있을 것이다. 이러한 선택성은 독성이 심한 항암제,¹⁴ 또는 체액(body fluid)이나 조직(tissue)에서 불안정한 유전자 약물(gene medicine) 등에 가장 적합할 것이다. 특히, Ashwell 등에 의해 간에서의 당쇄 리셉터(carbohydrate receptor), 즉 hepatocyte의 asialoglycoprotein 리셉터(ASGP-R)와 Kupffer 세포와 내피(endothelial)세포의 mannose 리셉터 등이 보고되고 잘 입증됨으로서^{16,17} 미사일 약물을 개발하는 촉진제가 되었다. 이 발견으로부터 수 많은 과학자들이 표적지향성 부분으로서 galactose^{18,19} 또는 mannose를²⁰ 가진 훨씬 더 효율적인 고분자 약물운반체를 개발하여 간특이적 약물운반에 이용하였다.^{21,22} 여기에서는 당쇄를 이용한 표적지향성 약물전달을 위

한 고분자 운반체와 그들의 receptor-mediated endocytosis와 앞으로의 전망 등에 대하여 논하기로 하겠다.

2. 표적지향성 약물전달체를 위한 고분자의 특징

표적지향성 약물운반체로 다양한 종류의 천연, 또는 합성고분자가 사용되어져 왔다. 운반체는 다음과 같은 적합한 성질을 가지고 있어야 한다; (a) 생체 적합성, (b) 무독성, (c) 면역반응이 없을 것, (d) 생체에 축적되지 않을 것, (e) 약물을 화학적으로 결합시킬 적절한 관능

조종수



1970 서울대학교 잠사학과(B.S)
1974~ 동경농공대학교 고분자공학과 (M.S)
1976 동경공업대학교 고분자공학과 (Ph.D)
1979 미국 워싱턴대학교 박사연구원
1984 미국 유타대학교 박사연구원
1990~ 전남대학교 고분자공학과 교수
현재

정영일



1986~ 전남대학교 공업화학과(B.S)
1991 전남대학교 공업화학과(M.S)
1993 전남대학교 고분자공학과 박사과정
현재

Development of Targeted Drug Delivery System Using Carbohydrate

전남대학교 고분자공학과(Chong-Su Cho and Young-Il Jeong, Department of Polymer Engineering, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Buk-gu, Kwangju 500-757, Korea)

기가 있거나 또는 약물을 봉입할 수 있는 적절한 구조를 가지고 있을 것, (f) 약물이 작용해야 할 부위에 도착할 때까지 고유의 활성을 유지할 것, 등을 들 수 있다. 이러한 고분자 운반체는 다음과 같이 여러 가지 부류로 나눌 수 있다; (a) 프로약물(예 : 항암제나 항바이러스 약물을 고분자에 결합시킨 것), (b) 유전자 약물-고분자 복합체(recombinant DNA, antisense oligonucleotide), (c) 단백질-고분자 복합체, (d) 콜로이드성 운반체, 등을 들 수 있다. 이러한 고분자의 생체내에서의 분포나 배출은 분자량, 전하, 친수성/소수성비, 입자크기 등에 의해 결정된다고 알려져 있다.²²

약물전달에 있어서 다른 측면에서 접근해 보면 크게 수동적(passive), 능동적(active), 국소부위 지향적(compartmental), 물리적(physical) 표적지향성 등으로 구분할 수 있다. 수동적 표적지향성은 폐의 모세관(lung capillaries)에 의한 여과작용(입자크기 >10 μm)과 같은 입자의 크기에 따라서 각각의 장기에 약물을 도달하도록 하는 것이다. 국소부위 지향성은 knee joint, lungs, peritoneal cavity와 같은 특정부위에 입자를 직접 주입하는 것으로 정의된다. 물리적 표적지향성은 온도나 자성력(magnetic field) 등을 이용하여 원하는 부위에 입자가 도달하도록 하여 약물을 방출시키는 것이다. 능동적 표적지향성은 더 많은 관심을 끌어왔는데 당쇄(mannose, galactose, etc) 또는 단일클론항체, 렉틴(lectin)과 같은 것으로 라벨시킨 입자를 선택된 부위로만 가서 축적되도록 하는 receptor-mediated 과정을 이용하는 것으로서 다른 방법보다 더 많은 주목을 받아왔다.

한편, 약물전달의 또 다른 중요한 분류방법으로 Widder 등이 제안한 표적지향성의 수준을 들 수 있다.²⁴ 표적지향성의 수준은 1차(first-order), 2차(second-order), 3차(third-order) 표적지향성으로 구분할 수 있다. 1차 표적지향성은 특정기관·조직으로만 입자의 생체내 분포를 제한하는 것이고 2차 표적지향성은 입자가 표적세포로만 선택적으로 가서 축적되도록 하는 것이고 3차 표적지향성은 약물이 세포내의 특정부위에만 가서 작용하도록 하는 것이다. 이 개념은 고분자 운반체를 이용한 약물의 표적지향성의 전략을 세우는데 유용하게 쓰일 수 있으며 약물동역학(pharmacokinetics)을 각각 원하는 특정기관, 특정세포, 세포내의 특정부위의 수준에서 조절할 수 있게 해줄 것이다.

3. 아시알로당단백질 리셉터를 통한 약물의 간세포 특이적 지향성

간은 hepatic lobule내에 다음과 같은 네가지의 주요 세포형태로 구성되어 있다; hepatocytes(78%), endothelial cells(2.8%), Kupffer cells(2.1%), fat-storing

cells(1.4%). 그리고 그 나머지 부분은 sinusoids(10.6%), Disse space(4.9%), biliary tree(0.4%) 등으로 구성되어 있다.^{25,26} Hepatocytes는 연속적인 3차원격자와 같은 것을 형성하면서 서로 연결되어 있는 laminae를 형성한다. Endothelial cells은 기공(fenestrae : average diameter(100 nm))을 가진 sinusoids안의 sieved wall을 형성한다. Endothelial cells의 이러한 배치는 hepatocytes가 Disse space를 경유하여 혈장(plasma)과 기질을 교환할 수 있게 해준다. 고정되어 있는 대식세포(macrophage)로 여겨지는 Kupffer cells은 sinusoids의 교차점에서 endothelium에 묻혀 있는 sinusoidal lumen에 위치해 있다. 지방저장 세포는 endothelial cells과 hepatocytes 사이의 Disse space에 위치해 있다. Biliary canicular space는 인접한 hepatocytes의 플라즈마막(plasma membrane) 사이의 인접에 의해 Disse space로부터 분리되어 있다.

Receptor-mediated endocytosis의 개념은 1974년에 아시알로당단백질의 hepatic uptake와 배양된 fibroblasts에 의한 저밀도 lipoprotein 과정을 설명하려는 Ashwell과 Morell^{16,17} 그리고 Goldstein과 Brown²⁷ 등에 의해 처음으로 명확하게 밝혀지게 되었다. 생체내에서 순환하는 당단백질의 올리고당 사슬로부터 떨어져 나온 penultimate sialic acid의 ASGPs의 혈장소실은 말단의 갈락토스잔기를 가진 당단백질을 인식하는 hepatocyte의 표면 리셉터와의 상호작용 이후에 개시된다.²⁸ 이러한 receptor-mediated endocytosis는 동물세포가 그들의 특정 리셉터에 의해 다양한 세포외부 물질을 삼입하는 일반적인 기구이다(그림 1). 약물운반체에 부착된 배위자(ligand)는 세포막 표면위의 특정 리셉터에 부착한다. 분리되어져 나온 영역안에 배위자-bound receptors cluster는 coated pits라고 불리며 endocytic vesicles 또는 endosomes을 형성하여 세포안으로 함입시키는 과정이다. 이 vesicles은 아주 작으며(직경 : 100 nm) 배위자의 크기는 이것을 초과할 수가 없다. 배위자와 리셉터는 endosome안의 산성 pH(5-5.5)에서 서로 떨어지게 되어 리셉터는 다시 세포표면으로 돌아가고 배위자는 대부분이 lysosomes으로 전달되어 분해가 된다. Receptor recycling의 성질은 표적세포로 약물운반 복합체의 연속적인 운반을 가능하게 해준다. 약물-운반체의 lysosome에서의 분해는 결국 cytosol안으로 약물이 방출되게 할 것이다.

ASGP 리셉터를 경유한 hepatocyte 표적지향성은 Rogers 등에 의해 처음으로 제안되었다.²⁹ Hepatocytes, Kupffer cells(liver macrophages) 같은 nonparenchymal cell types, 내피세포와 지방저장 세포는 단백질에 대해 질적·양적으로 서로 다른 정도로 세포표면의 리셉터를 나타낸다.²⁷⁻³¹ Hepatocyte는 주로 galactose-와 N-

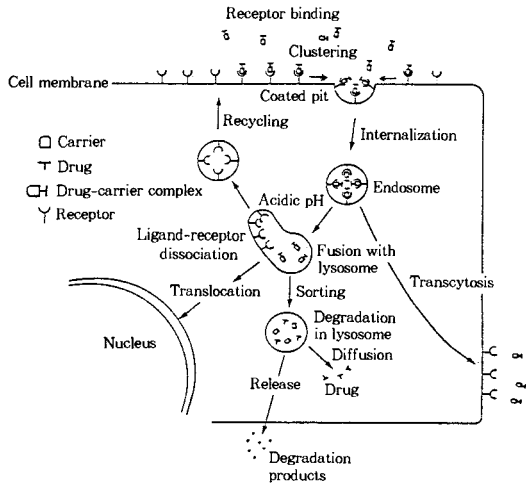


그림 1. Schematic illustrations of receptor-mediated endocytosis.

acetyl galactoseamine-terminated glycoproteins을 인식하여 삼입시키고 Kupffer cells은 galactose groups이 연결된 입자를 삼입하거나 내피세포와 함께 fucose-, mannose, N-acetylglucoseamine-terminated glycoproteins을 인식한다. 위에서 설명한 것을 표 1에 나타내었다. 특히, 주목되는 것은 간실질 세포(parenchymal cell, 즉 hepatocyte)에 존재하는 아시알로당단백질 리셉터(ASGP-R)이다. 이 리셉터는 동물렉틴으로서 처음으로 1974년 Ashwell에¹⁶ 의하여 단리되었다. 이 막단백질은 주로 간실질 세포에 존재하여 혈류중의 아시알로당단백질을 세포내로 잡아들이기 위한 단백질이다. ASGP-R에 유사한 단백질은 매크로파지(macrophage) 위에도 발견되고 있지만 기능적으로나 양적으로 간실질 세포에만 존재한다고 해도 무방하다. 따라서 간특이적 리셉터를 이용한 DDS는 그의 발견 직후부터 활발하게 진행되기 시작했다. 내피세포는 또한 음전하를 가진 단백질을 인식하여 삼입하는 scavenger 리셉터를 포함한다.³² 또한, 이외에도 hepatocytes의 IgA와 Kupffer세포와 내피세포의 IgG와 같은 immunoglobulin의 리셉터도 존재한다. 인식부위는 hepatocytes가 transferrin과 저밀도 lipoprotein(LDL) 입자에 대해 가능하고 hepatic lipocytes는 mannose-6-phosphate-terminated proteins을 인식할 수 있다. 그러나 이상에서 언급한 리셉터가 반드시 간에서만 특이적인 것이 아니고 그 정도는 작지만 다른 조직에서도 표현이 된다는 것이 문제이다. 예를 들면, 골수와 혈액세포에서도 그러한 리셉터가 있는 것으로 알려져 있다. 표 2에 당쇄에 관련된 세포인식계(carbohydrate-related cell-specific recognition systems)를 요약하였다.

간에 특이적인 표적지향성인 당쇄를 가진 고분자 약물

표 1. Carbohydrate Recognition by Liver Cell

Liver cell	Carbohydrate
Parenchymal cell	Galactose, Mannose, GlcNAc
Nonparenchymal cell	Mannose, GlcNAc
Kupffer cell	Mannose, Glucose, Galactose, GalNAc, Fucose

표 2. Carbohydrate-Related Cell-Specific Recognition Systems

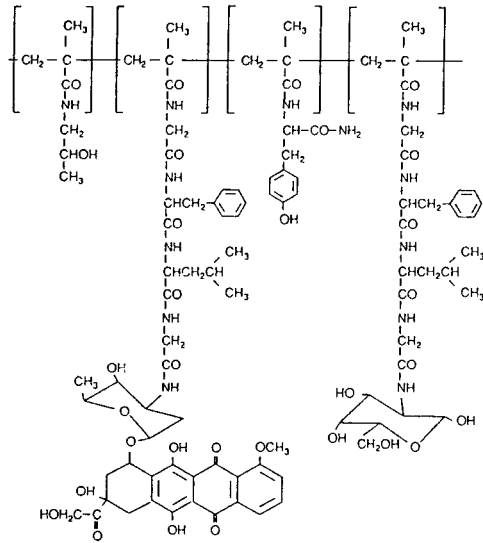
Carbohydrate residues on the macromolecules	Cell possessing receptor
Galactose	Liver hepatocytes
	Liver Macrophages
	Hepatoma
Mannose	Macrophages
	Fibroblasts
N-acetyl glucosamine/Fucose	Liver cells
	Liver cells
Mannose-6-phosphate	Mouse leukaemia
Fucose	Lewis lung carcinoma

운반체를 그림 2에 나타내었다.

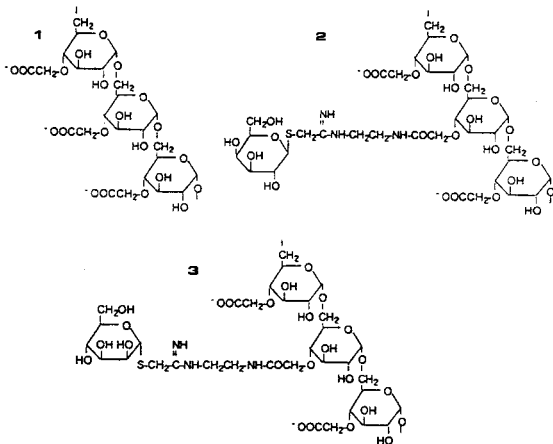
Kopecek과 그의 동료들은³³ 생체적합성 poly-N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide에 oligopeptide 배열을 이용하여 약물을 공유결합시킨 미사일 약물을 고안해 내었다(그림 2(a)). 단백질은 lysosome의 특정 효소에 의해서만 끊어지도록 설계되었다.

그림 2(b)에서 Hashida 등은 hepatic targeting을 위해 carboxymethyl-dextran(CMD)을 galactose와 mannose 잔기를 가진 CMD(Gal-CMD, Man-CMD)로 변형하였으며 쥐를 이용하여 ¹⁴C-labelled dextran의 생체내 분포 등을 보고하였다.³⁴ 당쇄 리셉터에 의해 Gal-CMD와 Man-CMD는 각각 빠르게 간실질 세포(liver parenchymal cell)과 비실질 세포(nonparenchymal cells)에 축적되었으며 생체내의 분포 실험에서 hepatocytes에 투여량의 80%가 선택적으로 축적되었다. 또한, galactosylated poly-L-glutamic acid을 이용한 실험에서³⁵ hepatic clearance는 galactose 잔기의 수에 연관되어 있으며 약물동력학적인 분석을^{36,37} 통해서 고분자의 종류, 분자량, 투여량 등이 간표적지향성 약물전달에 중요한 인자가 됨을 보고하였다.

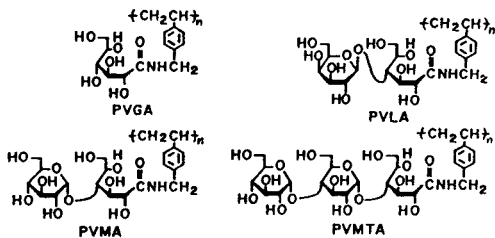
Akaike 등(그림 2(c))은 lactose, glucose, mannose, maltose와 같은 다양한 당쇄를 가지는 styrene homopolymer를 합성하여 lactose carrying polystyrene(PVLA)과 hepatocytes사이에 현저한 특이적 상호작용이 있음을 보고하였다.^{38,39} 또한, 고농도의 배위자를 가지는 PVLA 나노입자가 receptor-mediated endocytosis에 의해 쉽게 hepatocytes안으로 들어가는 데 비하여 저농도의 ligands를 가지는 PVLA 나노입자는 주로 세포표면에 부착됨을 보고하였다.^{40,41} 간표적지향성을 위한 생체내 분포의 약리학적인 응용에서 ¹²⁵I-la-



(a)



(b)



(c)

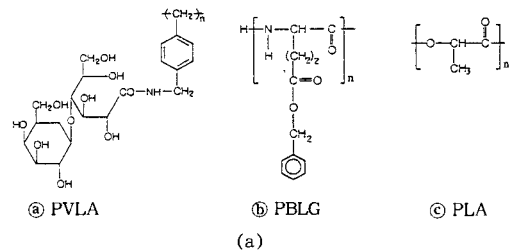
그림 2. Various macromolecular carriers. Poly-N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide (a), 1. carboxymethyl-dextran (CMD), 2. galactose-CMD, 3. mannose-CMD (b), and carbohydrate-carrying polystyrene (c).

belled PVLA가 고농도로 한시간 이내에 간에 집적되며 간에 집적된 입자중 97%가 간실질 세포에 축적되고(12배 이상의 선택성) 비실질 세포에는 단지 3%만이 축적이 됨을 보고하였다.⁴²

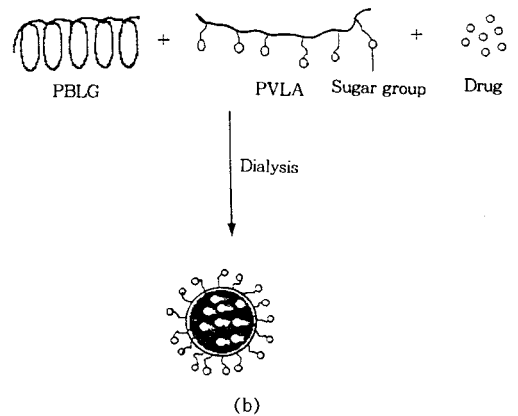
이상의 수많은 집적적인 연구에도 불구하고 표적지향성 약물전달에는 아직 고분자 운반체의 개질의 어려움, 약물을 화학적으로 고분자에 결합시켰을 때 고유활성의 상실, 고분자-약물 공유결합체로부터 약물유리속도, 생분해성 등, 여러 가지 문제점이 남아 있다.

그래서 본 저자들은 간표적지향성 약물전달을 위한 간단하고 새로운 생체인식성·콜로이드성 운반체를 고안해 내었다(그림 3).⁴³ 당쇄로서 갈락토스를 갖는 고분자인 PVLA가 고농도로 생분해성 고분자 표면에 코팅된 poly(γ -benzyl L-glutamate)(PBLG) 또는 poly(lactic acid) homopolymer 나노입자를 투석방법에 의해 손쉽게 만들었으며 갈락토스를 갖는 고분자로 코팅한 이 PBLG 또는 PLA 나노입자가 hepatocytes에 의해 잘 인식된다는 것을 보고하였다.

또다른 방법으로서 말단에 갈락토스 잔기를 가진 poly(γ -benzyl L-glutamate)와 poly(ethylene oxide)로 구성된 이중블록공중합체를 새로운 표적지향성 전달체를

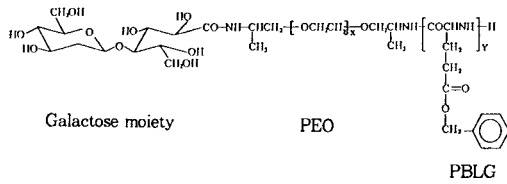


(a)

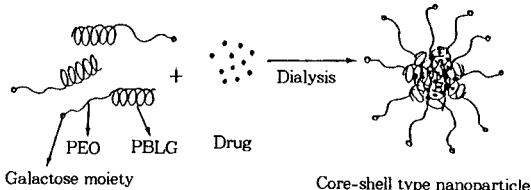


(b)

그림 3. Chemical structure of PVLA, PBLG, PLA (a) and biorecognition surface-modified PBLG or PLA nanoparticles coated with PVLA.



(a)



(b)

그림 4. Chemical structure of poly(γ -benzyl L-glutamate)/poly(ethylene oxide) diblock copolymer endcapped with galactose moiety (a) and biorecognition core-shell type nanoparticles (b).

합성하여(그림 4)⁴⁴ 항암제인 taxol을 함유한 표면에 galactose가 배향된 core-shell 형태 나노입자를 만들었다.⁴⁵ 항암제인 taxol은 나노입자의 inner-core에 쉽게 고농도로 화학적 결합이 아닌 물리적으로 봉입되었으며 taxol이 담지된 나노입자의 암세포에 대한 세포독성 실험에서 taxol 단독과 비교하여 동일한 약물농도에서는 거의 동등한 결과가 나왔으며 약물방출 실험에서 9일 이상 0차방출 속도에 가까운 양상을 보였다. 이러한 생체인식성 표면개질 또는 core shell 형태 나노입자는 콜로이드성 운반체 안에 약물을 물리적으로 봉입시키므로 화학적 결합으로 인한 약물활성의 소실과 같은 위험성이 없으며 오랜기간 동안 약물의 조절방출이 가능하다는 장점을 가지고 있다.

4. 앞으로의 전망

표적지향성 약물전달을 위해 고분자 운반체의 생체내 이용을 확립하기 위해서는 위에서 열거한 것과 같이 조직·기관수준(organ), 세포수준(cellular), 세포내 수준(subcellular)에서의 고분자와 약물의 동태와 그에 대한 생체와 세포의 반응에 대한 체계적인 분석과 접근이 요구된다고 보겠다. 특히 실제 임상에서의 응용과 성공을 위해서는 고분자와 약물의 합리적인 물리화학적 설계, 인체생리에 대한 이해, 인체내에서의 고분자의 동태에 대한 조사, 고분자의 면역반응과 독성의 최소화, 효율적이고 적절한 표적장기(targeting moiety)의 선택 등을 들 수 있겠다. 특히, 효율적이고 적절한 표적장기 분야의 연구발전을 위해서는 당쇄공학의 발전이 필수적이라 믿는다. 우리나라의 당쇄공학의 학문수준은 선진국에 비하면 아직

초보적인 수준에 머물러 있는 상황으로서 앞으로 당쇄공학을 이용한 생물공학의 발전을 위해서는 고분자학, 약물학, 약물동력학, 생화학, 면역학, 세포학, 분자생물학 등 다양한 분야에서의 연구가 서로 유기적인 협력 하에 발전이 이루어져야 하리라고 본다.

참 고 문 헌

1. H. Ringsdorf, *J. Polym. Sci.*, **51**, 135 (1975).
2. V. J. Stella and K. J. Himmelstein, *J. Med. Chem.*, **23**, 1275 (1980).
3. L. Illum, S. S. Davis, C. G. Wilson, N. W. Thomas, M. Frier, and J. G. Hardy, *Int. J. Pharm.*, **12**, 135 (1982).
4. M. Yokoyama, M. Miyachi, N. Yamada, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, and S. Inoue, *J. Controlled Rel.*, **11**, 269 (1990).
5. R. Gref, Y. Minamitake, M. T. Peracchia, V. Trubetskov, V. Torchilin, and R. Langer, *Science*, **263**, 1600 (1994).
6. E. Alleman, R. Gurny, and E. Doelker, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **39**, 173 (1993).
7. M. C. Woodle and D. D. Lasic, *Biochim. Biophys. Acta*, **1113**, 171 (1992).
8. G. Blume and G. Cevc, *Biochim. Biophys. Acta*, **1029**, 91 (1990).
9. T. M. Allen, A. K. Agrawal, I. Ahmad, C. B. Hansen, and S. Zalipsky, *J. Liposome Res.*, **4**, 1 (1994).
10. G. Blume, G. Cevc, M. D. J. A. Crommelin, I. A. J. M. Bakker-Woudenberg, C. Kluft, and G. Storm, *Biochim. Biophys. Acta*, **1149**, 180 (1993).
11. T. D. Heath, R. T. Fraley, and D. Papahadjopoulos, *Science*, **210**, 539 (1980).
12. R. Duncan, J. Kopecek, P. Rejmanova, and J. B. Lloyd, *Biochim. Biophys. Acta*, **755**, 518 (1983).
13. P. R. Dragsten, D. B. Mitchell, G. Covert, and T. Baker, *Biochim. Biophys. Acta*, **926**, 270 (1987).
14. K. B. O'Hare, I. C. Hume, L. Scarlett, V. Chytry, P. Kopeckova, J. Kopecek, and R. Duncan, *Hepatology*, **10**, 207 (1989).
15. G. Y. Wu and C. H. Wu, *Biochemistry*, **27**, 887 (1988).
16. G. Ashwell and A. G. Morell, *Adv. Enzymol.*, **41**, 99 (1974).
17. G. Ashwell and J. Harford, *Annu. Rev. Biochem.*, **51**, 531 (1982).
18. R. Duncan, L. C. W. Seymour, L. Scarlett, J. B. Lloyd, P. Rejmanova, and J. Kopecek, *Biochim. Biophys. Acta*, **880**, 62 (1986).
19. M. Goto, H. Yura, C. W. Chang, A. Kobayashi, T. Shinoda, A. Maeda, S. Kojima, K. Kobayashi, and T. Akaike, *J. Controlled Rel.*, **28**, 223 (1994).
20. R. W. Jansen, G. Molema, T. L. Ching, R. Oosting, G. Harms, F. Moolenaar, M. J. Hardonk, and D. K. F. Meijer, *J. Biol. Chem.*, **266**, 3343 (1991).
21. M. Nishikawa, A. Kamijo, T. Fujita, Y. Takakura, H. Sezaki, and M. Hashida, *Pharm. Res.*, **10**, 1253 (1993).
22. D. K. F. Meijer and P. Sluijs, *Pharm. Res.*, **6**, 105 (1989).
23. Y. Takakura and M. Hashida, *Pharm. Res.*, **13**, 820 (1996).

24. K. J. Widder, A. E. Senyei, and D. F. Ranney, *Adv. Pharmacol. Chemother.*, **16**, 213 (1977).
25. E. R. Weibel, W. Staubli, H. R. Gragi, and F. A. Hess, *J. Cell Biol.*, **42**, 68 (1969).
26. A. Blouin, R. P. Bolender, and E. R. Weibel, *J. Cell Biol.*, **72**, 441 (1977).
27. J. L. Goldstein, M. S. Brown, R. G. W. Anderson, D. W. Russell, and W. J. Schneider, *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1**, 1 (1985).
28. A. L. Schwartz, *C. R. C. Crit. Rev. Biochem.*, **16**, 207 (1984).
29. J. C. Rogers and S. Kornfeld, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **45**, 622 (1971).
30. P. Stahl and A. L. Schwartz, *J. Clin. Invest.*, **77**, 657 (1986).
31. T. C. Wileman, C. Harding, and P. Stahl, *Biochem. J.*, **232**, 1 (1985).
32. G. Ashwell and C. J. Steer, *JAMA*, **246**, 2358 (1981).
33. L. W. Seymour, K. Ulbrich, S. R. Wedge, I. C. Hume, J. Strohalm, and R. Duncan, *Br. J. Cancer*, **63**, 859 (1991).
34. M. Nishikawa, A. Kamiyo, T. Fujita, Y. Takakura, H. Sezaki, and M. Hashida, *Pharm. Res.*, **10**, 1253 (1993).
35. H. Hirabayashi, M. Nishikawa, Y. Takakura, and M. Hashida, *Pharm. Res.*, **13**, 880 (1996).
36. Y. Takakura and M. Hashida, *Pharm. Res.*, **13**, 820 (1996).
37. M. Hashida, H. Hirabayashi, M. Nishikawa, and Y. Takakura, *J. Controlled Rel.*, **46**, 129 (1997).
38. A. Kobayashi, T. Akaike, K. Kobayashi, and H. Sumitomo, *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, **7**, 645 (1986).
39. K. Kobayashi, H. Sumitomo, A. Kobayashi, and T. Akaike, *J. Makromol. Sci. Chem.*, **A25**, 655 (1988).
40. A. Maruyama, T. Ishihara, N. Adachi, and T. Akaike, *Biomaterials*, **15**, 1035 ((1994).
41. N. Adachi, A. Maruyama, T. Ishihara, and T. Akaike, *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, **6**, 463 (1994).
42. M. Goto, H. Yura, C. W. Chang, A. Kobayashi, T. Shinoda, A. Maeda, S. Kojima, K. Kobayashi, and T. Akaike, *J. Controlled Rel.*, **28**, 223 (1994).
43. C. S. Cho, Y. I. Jeong, T. Ishihara, R. Takei, J. U. Park, K. H. Park, A. Maruyama, and T. Akaike, *Biomaterials*, **18**, 323 (1997).
44. C. S. Cho, S. J. Chung, M. Goto, A. Kobayashi, and T. Akaike, *Chem. Lett.*, **1817** (1994).
45. C. S. Cho, Y. I. Jeong, S. H. Kim, J. W. Na, H. C. Lee, K. A. Roh, M. Y. Chang, I. C. Kang, and T. Akaike, *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **24**, 761 (1997).