

폴리카프로락톤 매트릭스로부터 세파드록실의 방출에 미치는 BSA의 영향

김승렬 · 정연진 · 김영미 · 이치호 · 김대덕*†

부산대학교 약학대학, *서울대학교 약학대학
(2004년 8월 4일 접수 · 2004년 8월 17일 승인)

The Effect of BSA on the Release of Cefadroxil from a Polycaprolactone Matrix

Seung-Ryul Kim, Yun Jin Jung, Young Mi Kim, Chi-Ho Lee and Dae-Duk Kim*†

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received August 4, 2004 · Accepted August 17, 2004)

ABSTRACT—In order to investigate the effect of bovine serum albumin (BSA), as a pore former, on the controlled release of an antibiotic from a biodegradable polymeric device, polycaprolactone (PCL)-cefadroxil matrices were prepared by the solvent casting method. The amount of cefadroxil released from various formulations at 37°C was measured by HPLC. The duration of antimicrobial activity of matrices against *S. aureus* was evaluated by measuring the diameters of the inhibition zone. The morphology of the matrices was investigated by scanning electron microscopy (SEM). The release rate and extent of cefadroxil from PCL matrix increased as the loading dose and particle size of BSA/cefadroxil mixture powder increased. Cefadroxil released from the matrix exhibited antibacterial activity for up to 4 days. SEM of the cross-section of matrix showed the typical channel formation after 3 days of release study. Thus, a biodegradable polymeric matrix loaded with antibiotic/BSA mixture can effectively prevent bacterial infection on its surface, thereby bringing about an enhancement of biocompatibility of biomaterials.

Key words—Cefadroxil, BSA, Pore former, Polycaprolactone, Controlled release

약물을 봉입한 합성고분자물질(polymer)을 이용한 제어 방출성 이식형 약물전달체(implantable local controlled drug delivery system)에 대한 많은 연구가 최근에 보고되고 있다. 이러한 polymer들은 대부분 생체조직과 직접적으로 접촉하기 때문에 인체적용에 앞서 광범위한 안전성과 유효성에 대한 적절한 검사가 필수적이다. 고분자물질의 안전성의 중요한 결정요소는 조직환경 내에서의 생체 적합성(biocompatibility)이다.¹⁾ 이러한 생체적합성의 요소 중에서 특히 감염 등을 통한 표면에서의 biofilm의 생성이 심각한 문제로 대두되어 있다. 따라서 고분자물질을 인체내 조직 및 세포들과 친화성을 갖도록 표면을 처리한다든지, 혹은 고분자 물질 내에 항혈액응고 성분을 분산시킨 후 일정한 속도로 표면으로 방출시켜 혈액응고를 방지하는 등의 연구가 진행되고 있다.²⁾ 또한 생체내 이식후 생기는 각종 균에 의한 감염을 방지하기 위해 균들이 생체고분자물질의 표면에 흡착하여 성장하는 것을 방지하기 위한 수단으로 항생제를 고분자물질의 내부로부터 일정한 속도로 장시간 동안 표면으로 방출시켜서 생체고분자물

질의 생체적합성을 향상시키는 연구도 많이 보고되어 있다.³⁻⁵⁾

본 연구자 등은 catheter나 각종 인공 장치의 재료로 폭 넓게 사용되고 있는 대표적인 생체재료물질인 polyurethane (PU)에 항생물질인 세파드록실과 pore former로서 bovine serum albumin(BSA)을 함께 넣은 matrix를 제조한 후, 표면으로 세파드록실을 장시간 방출시켜 미생물의 부착과 성장을 억제함으로써 생체 고분자 물질의 생체적합성을 증가시킬 수 있음을 보고한 바 있다.⁶⁾ 그러나, PU와 같은 non-biodegradable polymer는 생체 내에서 분해가 되지 않으므로 이차적으로 생체재료물질의 제거를 위해 수술을 하여야 하는 단점이 있다. 따라서 생체고분자물질을 이식한 후 감염이 우려되는 초기 단계에 항생제를 표면에 신속히 방출한 후 생체 내에서 분해가 가능한 biodegradable polymer를 이용하는 것이 더욱 바람직할 것으로 예상하였다.

Poly(DL-lactic-co-glycolide) (PLGA)의 생체내 분해성 약물송달체와 봉합사로의 성공적인 이용은 자연스럽게 다른 지방족 polyesters의 연구로 이어져 *in vivo*에서의 polycaprolactone (PCL)의 생분해성을 발견하게 되었다.⁷⁾ PCL의 homopolymer 자체의 생분해는 PLGA 등의 분해속도에 비해 매우 느리기 때문에 1년간의 지속성 피임제인 Capronor™의 경우와 같이

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)880-7870, E-mail : ddkim@snu.ac.kr

장기간의 약물 제어 방출에 적합한 것으로 알려져 있다.⁸⁾

따라서 본 연구에서는 독성에 대한 많은 연구를 통해 안전성이 확보되어 있는 PCL을 이용하여 cefadroxil을 함유한 biodegradable polymer matrix를 제조하고 이들로부터 항생물질의 방출특성을 조절할 수 있는 여러 가지 요인들을 연구하고자 하였다. 또한 최적 처방에 따라 제조한 biodegradable polymer devices를 *S. aureus*를 이용하여 *in vitro*에서 항균력의 지속여부를 평가함으로써 실제적인 응용가능성을 조사하고자 하였다.

실험 방법

시약 및 재료

세파드록실은 조아제약(Seoul, Korea)으로부터 제공받았다. Bovine serum albumin (BSA)과 polycaprolactone (PCL, average M_n ca. 80,000)은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. *Staphylococcus aureus* (ATCC25923)는 동의의료원(Pusan, Korea)의 미생물실험실에서 제공하였고, Muller-Hinton II agar와 blood agar plate는 유민 메디칼(Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 그 외 다른 시약들은 특급시약으로 구입하여 사용하였다.

Polymer matrix의 제조

합성고분자물질로부터 일정속도로 약물을 방출하게 하기 위하여 약물을 고분자물질에 봉입하는 다양한 방법들이 알려져 있는데, 본 연구에서는 대표적인 solvent casting method를 사용하여 matrix를 제조하였고 pore former로는 BSA를 사용하였다.⁶⁾

세파드록실 2g과 BSA 2g을 일정비율(1:1, weight ratio)로 150 mL의 멸균증류수에 완전히 녹인 후 12시간 동안 동결건조(-80°C, 50 mTorr)시켰다. 이 혼합 수용액을 체(micro sieve)를 통과시켜 일정 크기의 입자별로 분류하였다(<62, 62-88, 88-125, 125-177 μ m). Pore former(BSA)를 섞지 않는 control matrix를 만들기 위하여 4g의 세파드록실을 150 mL의 멸균증류수에 녹인 후 동일한 방법으로 powder를 제조하였다. PCL분말을 5:2 (THF:PCL, w/w)의 비율로 THF에 넣고 60°C의 water bath에서 천천히 교반하면서 녹였다. PCL 분말을 완전히 녹인 후, 동결 건조시킨 BSA/세파드록실 혼합 분말을 10, 20, 30, 40 및 50% (w/w, 각각 세파드록실 5, 10, 15, 20 및 25%에 해당량)의 분율이 되도록 넣고 상온에서 계속 교반하여 잘 섞었다. 초음파를 이용하여 기포를 제거한 후, Teflon mold에 붓고 상온에서 약 12시간 이상 동안 건조하였다. 완전히 건조한 matrix를 다시 상온의 진공

건조기 내에서 48시간 이상 건조시킨 후, 일정한 크기(0.4-0.5 mm의 두께, 1.0 cm²의 면적)로 잘라서 사용할 때까지 4°C에서 보관하였다.

세파드록실 방출 실험

위의 방법으로 제조된 다양한 조성의 PCL matrix를 20 mL의 3차 증류수가 담긴 vial에 넣고, 37°C의 shaking water bath에 설치하였다. 미리 정해진 시간 간격으로 정해진 시간 동안 5 mL의 용액을 취하고 동량의 새로운 증류수를 채워주었다. Sample은 -20°C에서 냉동보관 후 HPLC로 분석하였다. Matrix 내의 총 cefadroxil양에 대한 방출된 양의 백분율을 시간에 대한 함수로 표시하였다. 각 실험은 최소한 3회 이상 반복하여 평균치를 구하였다.

Cefadroxil의 분석

Sample 중의 세파드록실의 양은 문헌에 나온 방법을 약간 변형하여 binary pump system (Gilson Model 305 and 306) HPLC와 automatic injector (Gilson Model 234)를 사용하여 분석하였다.^{9,10)} Ultraviolet detector (Gilson Model 118,240 nm)와 C₁₈ LiChroCART[®] 125-4 column (5 μ m, 125 × 4 mm, Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였고 mobile phase는 methanol과 acetate buffer (10 mM, pH 4.8)의 혼합액 (5:95)을 사용하였으며, flow rate는 1.0 mL/min 이었고 injection 용량은 20 μ L로 하였다. 이러한 조건에서 세파드록실은 별다른 방해물질 없이 분리가 잘 되었으며 검량선도 100 μ g/mL까지 좋은 직선성을 보였고 검출감도도 1.0 μ g/mL 이하였다.

SEM study

제조된 matrix의 형태를 고찰하기 위하여 Scanning Electron Microscopy(SEM)를 사용하여 내부절단면을 관찰하였다. SEM 촬영 전에 Au-sputter(Hitachi, Japan)을 이용하여 coating한 후 Hitachi S-4200 SEM(Tokyo, Japan)을 사용하여 matrix 조성의 변화에 따른 내부 구조의 변화를 관찰하였다.

항균력의 지속성 시험

제조된 polymer matrix에서 방출된 세파드록실이 실제로 항균력이 있는지의 여부와 또 어느 정도 지속적으로 항균력을 유지하는지를 시험하기 위해, 감염반응에 주요한 *Staphylococcus aureus*를 대상으로 Ditch plate method¹¹⁾를 변형하여 사용하였다. 이 방법은 면섬유, cellulose 및 chitosan을 지지체로 이용하여 지속적 항균력을 가진 고분자 prodrug의 개발 과정에서 사용한 실험방법으로서 여러 차례 문헌에 보고된

바 있다.^{12,13} 간단히 요약하면, 30 mL Muller-Hinton II agar를 petri dish에 부어서 culture plate를 만들어 두고 blood agar plate에 도말되어 있는 균을 trypticase-soy broth에 풀어서 37°C에서 12시간 배양시켰다. 이것을 면봉에 적셔서 culture plate에 골고루 도말하였다. 준비된 polymer disc(1.0 cm²)를 plate의 중앙에 놓고 37°C에서 24시간 incubation시켜서 형성된 inhibition zone의 직경을 측정하였다. PCL matrix의 항균력이 어느 정도 지속되는지를 관찰하기 위해 24시간 incubation시킨 matrix를 새로운 plate에 옮겨서 다시 24시간 배양한 후 inhibition zone을 측정하였다. 이러한 과정을 계속 반복하여 inhibition zone이 형성되지 않을 때까지의 시간을 측정하였다. Control군으로서 세파드록실을 넣지 않은 blank matrix를 사용하였다.

결과 및 고찰

In vitro 세파드록실 방출 실험

폴리우레탄 matrix로부터의 세파드록실의 방출 pattern을 연구한 이전의 보고에 의하면,⁶⁾ pore former를 함유하지 않고 50%(w/w) 세파드록실 분말만을 봉입한 matrix와 비교할 때, 세파드록실의 방출속도 및 총방출량이 BSA > d-mannitol > PEG1450의 순서로 증가하는 양상을 보여주었다. 이는 수용성이 높은 pore former의 첨가로 인하여 matrix 내부로 물의 이동속도가 커지고 이에 따라 세파드록실이 pore former와 함께 쉽게 가용화 되어 방출이 용이해 졌기 때문인 것으로 추측되었다. 또한, 가장 좋은 방출결과를 나타낸 BSA를 pore former로 사용하여 제조한 폴리우레탄 matrix로부터의 세파드록실의 방출에 미치는 particle size와 loading dose의 영향은 조사한 결과에서는, BSA와 세파드록실의 혼합분말의 입자경이 클수록 또한 loading양이 30%에서 50% (BSA로서는 15%에서 25%)로 증가할수록 세파드록실의 방출속도와 총방출량은 증가하는 것으로 나타났었다.⁶⁾ 이는 봉입한 분말의 입자경이 커질수록 matrix내의 channel 또는 pore가 커져서 약물의 방출을 용이하게 하고, loading 양이 늘어날수록 matrix내에 분산된 약물 입자간의 거리가 상대적으로 가까워져서 matrix내의 channel 형성을 쉽게 하여 약물의 방출을 증진시킨 것으로 추측되었으며 이전의 보고들과 잘 일치하였다.^{2,14)} 이상의 결과로부터, solvent casting법을 이용하여 BSA/세파드록실 혼합 분말의 입자경과 loading 양을 변화시킴으로써 polymer matrix부터 세파드록실의 방출속도를 조절하는 것이 가능함을 알 수 있었다.

PCL matrix를 제조하는 본 연구에서는 이러한 결과를 바탕으로 하여, pore former로서는 BSA를 선택하였다. BSA/

세파드록실 (1:1,w/w) 혼합분말과 세파드록실 단독분말을 각각 사용하여 PCL matrix를 제조하고 각각의 방출백분율을 시간에 대하여 관찰한 결과는 Figure 1과 같았다. BSA의 양을 5% (BSA/세파드록실 혼합분말 10%에 해당)에서 25%로 증가함에 따라 방출속도가 증가하면서 방출 백분율도 늘어나 25% BSA의 경우 거의 100%에 달하였다. 반면 세파드록실 단독분말의 경우 BSA 혼합분말에 비하여 방출속도가 느리고 방출량도 낮지만 역시 loading양이 늘어나면서 방출속도와 방출량이 증가하였다. 이는 역시 봉입한 분말의 loading양이 늘어날수록 matrix내에 분산된 약물 입자간의 거리가 상대적으로 가까워져서 matrix내의 channel형성을 쉽게 하여 약물의 방출을 증진시킨 것으로 여겨진다. Figure 1의 결과 중, 20% 세파드록실 단독분말과 20% BSA/세파드록실 (1:1,w/w) 혼합분말 (세파드록실 10%에 해당) 그리고 40% BSA/세파드록실

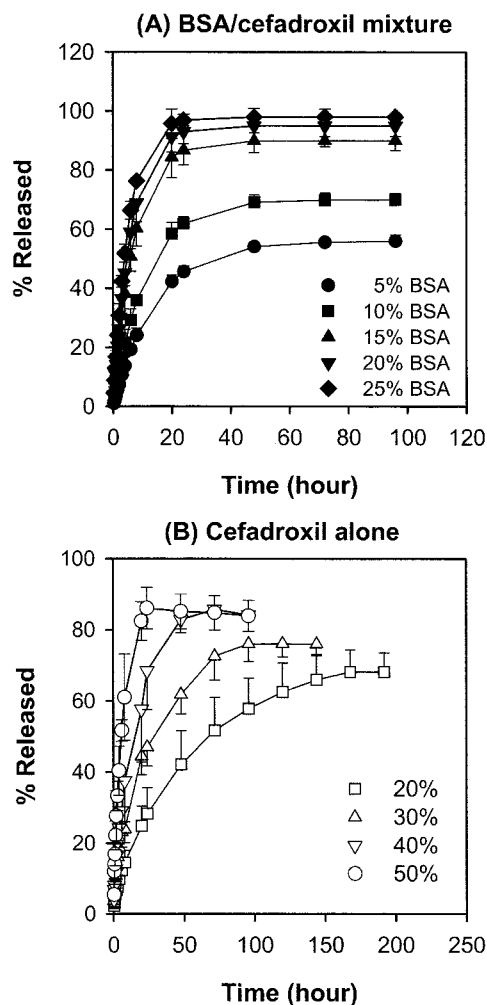


Figure 1—Effect of loading dose of lyophilized BSA/cefadroxil (1:1) mixture powder (A) and lyophilized cefadroxil alone (B) on the release of cefadroxil from polycaprolactone matrix. Particle size=62–88 μm, Mean±SD (n=3).

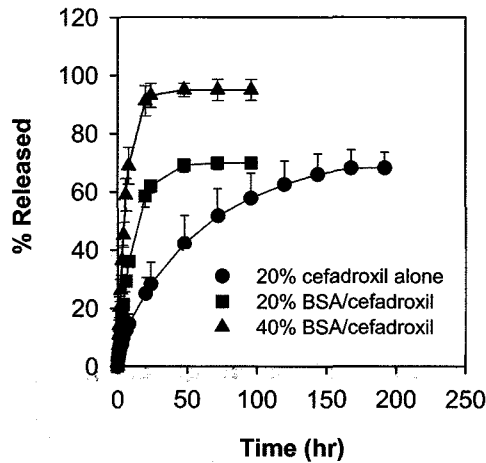


Figure 2—Effect of BSA on the release of cefadroxil from the polycaprolactone matrix. Particle size=62–88 μm , (●) 20% lyophilized cefadroxil alone, (■) 20% lyophilized BSA/cefadroxil mixture powder, and (▲) 40% lyophilized BSA/cefadroxil mixture powder, Mean \pm SD (n=3).

(1:1,w/w) 혼합분말(세파드록실 20%에 해당)을 봉입시킨 세가지의 matrix를 비교하여 보았다(Figure 2). 세파드록실 단독 분말로 20%를 함유한 matrix와 BSA/세파드록실 혼합분말로 20%를 함유한 matrix의 경우에는 방출 백분율은 비슷하지만 (약 70%) BSA의 영향에 의해 방출속도는 혼합분말이 유의성 있는 증가를 보여주었다. 또한 동일한 20% cefadroxil을 함유하는 두 matrix를 비교한 경우에도 단독으로 함유한 경우 보다 BSA를 사용한 matrix가 훨씬 높은 방출량과 방출속도를 나타내었다.

이러한 결과를 방출 속도론적으로 해석하여 보면, release profile은 아래와 같은 임의의 비선형적 속도식으로 regression 할 수가 있었다.¹⁵⁾

$$\text{Cumulative Amount (mg)} = A_0 \cdot (1 - \exp^{-kt})$$

여기서, A_0 는 각 matrix에서 최대 방출될 수 있는 양 (mg)이고 k 은 속도 상수이고 t 는 시간을 의미한다. 최대 방출 가능한 양인 A_0 는 같은 20% 세파드록실을 함유한 matrix의 경우, 세파드록실 단독일 때와 BSA를 함유하였을 때 각각 2.47 mg과 3.57 mg으로서 BSA에 의해 약 1.5배의 방출량의 증가를 나타내었다(Table I). 또한 방출속도 상수인 k , 은 세파드록실 20%를 함유한 BSA/세파드록실 혼합의 경우 (0.161 hr^{-1})는 물론이고 10% 세파드록실을 함유한 BSA/세파드록실 혼합분말(0.091 hr^{-1})과 비교하여도 20% 세파드록실 단독분말의 경우(0.022 hr^{-1})에 더 느린 방출을 보여주고 있다. 이는 Figure 2의 방출실험 결과와 잘 일치하는 것으로서 방출량과 방출속도에 미치는 BSA의 영향을 속도론적으

Table I—Release Kinetic Parameters of Cefadroxil from Various Polycaprolactone Matrices

Formulation	A_0 (mg)	k_r (hr^{-1})
20% cefadroxil alone	2.47 ± 0.16	0.022 ± 0.003
20% BSA/cefadroxil (1:1,w/w)	1.24 ± 0.05	0.091 ± 0.006
40% BSA/cefadroxil (1:1,w/w)	3.57 ± 0.03	0.161 ± 0.014

Cumulative Amount (mg) = $A_0 \cdot (1 - \exp^{-kt})$
Mean \pm SD of three determinations

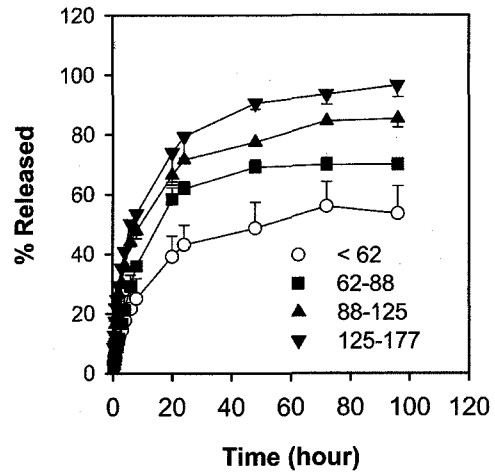


Figure 3—Effect of particle size of lyophilized BSA/cefadroxil (1:1) mixture powder on the release of cefadroxil from polycaprolactone matrix. Matrix contains 20% lyophilized powder, equivalent to 10%(w/w) BSA (Mean \pm SD, n=3).

로도 확인할 수 있었다.

BSA를 pore former로 사용하여 제조한 PCL matrix로부터 세파드록실의 방출에 미치는 입자경의 영향은 Figure 3과 같았다. BSA와 세파드록실 혼합분말의 입자경이 크면 클수록 세파드록실의 방출속도와 총방출량은 증가하는 것으로 나타났다. 이는 역시 봉입한 분말의 입자경이 커질수록 matrix 내의 channel이 커져서 약물의 방출을 용이하게 하여 최대 방출량의 증대를 가져온 것으로 보여진다.

항균력의 지속성 시험

Figure 4는 *S. aureus*에 대한 PCL matrix의 항균력의 지속성을 나타낸 것이다. BSA를 함유하지 않은 세파드록실 단독분말을 사용하여 제조한 PCL matrix에 비하여 BSA/세파드록실 혼합분말을 사용한 matrix는 항균력의 지속시간은 보다 짧았으며 이는 앞의 방출 실험결과와도 잘 일치하는 것이다. 그러나, BSA/세파드록실 혼합분말에 방출량의 증가에도 불구하고 inhibition diameter로 나타낼 수 있는 항균력의 세기는 크게 변하지는 않았다. 생체고분자물질을 체내에 이식한 후 나타나는 감염의 현상은 이식 후 수일 내에 일어나

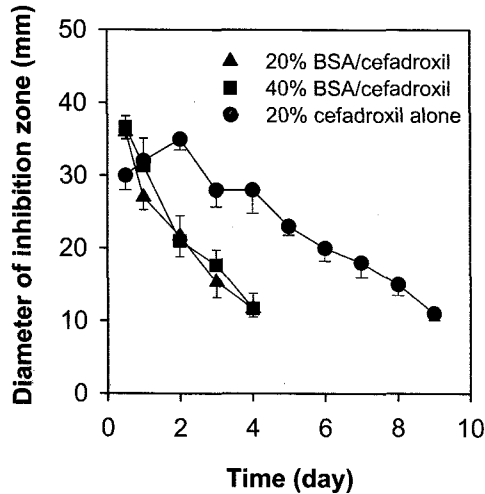


Figure 4—Effect of BSA on the antibacterial activity of polycaprolactone matrix loaded with lyophilized BSA/cefadroxil (1:1) mixture powder or cefadroxil alone powder (particle size=62–88 μm) against *S. aureus* (Mean±SD, n=3).

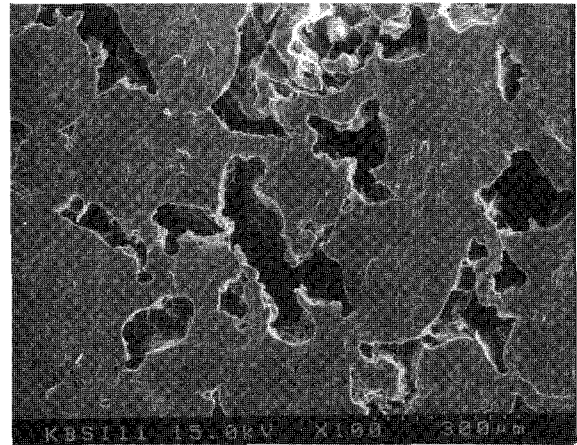
는 경우가 대부분이므로^{3,4)} pore former를 항생제와 혼합하여 생체고분자물질에 봉입함으로써 신속히 다량의 항생제를 표면에 방출하여 항균력을 나타내는 것이 바람직할 것으로 예상된다. 또한, 생체고분자물질을 코딩처리하여 막을 형성한 후 항생제의 방출을 0차 속도로 장시간 유지하고자 할 경우 polymer로부터의 약물방출은 최대한 신속히 이루어져서 코딩막을 통한 약물의 투과가 율속단계가 되도록 하는 것이 중요하다. Pore former를 약물과 함께 봉입하여 신속히 약물을 방출하고자 하는 본 연구는 이와 같은 다양한 방법으로 응용이 가능할 것으로 생각된다.

SEM study

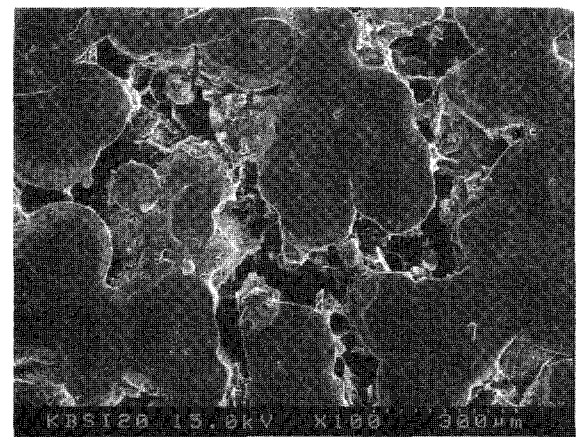
Figure 5는 20% 및 40% BSA/세파드록실 혼합분말을 함유한 PCL matrix를 3일간 방출실험한 후의 matrix 단면의 형태변화를 전자현미경으로 촬영한 것이다. 방출 후 세파드록실과 BSA 혼합분말입자의 방출로 인한 channel의 형성을 확인할 수 있었다. 또한, 분말의 loading양이 40%인 경우가 20%인 경우 보다 channel의 형성이 다소 많아지는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나, PCL 자체의 분해는 관찰되지 않았는데 PCL의 생분해 속도가 매우 느린 것을 감안하면 예상할 수 있는 결과인 것으로 생각된다.

결 론

PCL matrix로부터 세파드록실의 방출속도와 총방출량은 봉입시킨 BSA/세파드록실 혼합분말의 loading dose와 입자



(A)



(B)

Figure 5—SEM of cross-section of the polycaprolactone matrix after 3 days of release study. Matrix was loaded with (A) 20% lyophilized BSA/cefadroxil (1:1) mixture powder (equivalent to 10% BSA) or (B) 40% lyophilized BSA/cefadroxil (1:1) mixture powder (equivalent to 20% BSA) (particle size=62–88 μm).

경 등을 변화시킴으로서 조절할 수 있었다. 따라서, 단시간 내에 많은 양의 항생제를 방출하고자 하는 경우 혹은 약물의 방출속도 조절을 외부의 코팅 막으로 하고자 하는 경우에는 BSA와 같은 pore former를 함께 봉입하여 matrix를 제조하는 것이 바람직할 것으로 생각된다. 또한, 이와 같이 항생제를 봉입시킨 polymeric device로부터 다양한 속도로 표면에 항생제를 방출함으로써 표면에 생성되는 균의 감염을 막아 생체재료물질의 생체적합성을 증진시킬 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 부산대학교 학술연구조성비의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) R.E. Baier, The role of surface energy in thrombogenesis, *Bull. NY Acad. Med.*, **48**, 257-272 (1972).
- 2) D.D. Kim, M.M. Takeno, B.D. Ratner and T.A. Horbett, Glow discharge plasma deposition (GDPD) technique for the local controlled delivery of hirudin from biomaterials, *Pharm. Res.*, **15**, 783-786 (1998).
- 3) G. Golomb and A. Shipigelman, Prevention of bacterial colonization on polyurethane *in vitro* by incorporated antibacterial agent, *J. Biomed. Mater. Res.*, **25**, 937-952 (1991).
- 4) L.A. Sampath, N. Chowdhury, L. Caraos and S.M. Modak, Infection resistance of surface modified catheters with either short-lived or prolonged activity, *J. Hosp. Infect.*, **30**, 201-210 (1995).
- 5) J.M. Schierholz, H. Steinhauser, A.F.E. Rump, R. Berkels and G. Pulverer, Controlled release of antibiotics from biomedical polyurethane: Morphological and structural features, *Biomaterials*, **18**, 839-844 (1997).
- 6) J.E. Kim, S.R. Kim, S.H. Lee, C.H. Lee and D.D. Kim, The effect of pore formers on the controlled release of cefadroxil from a polyurethane matrix, *Int. J. Pharm.*, **201**, 29-36 (2000).
- 7) C.G. Pitt, A. Schindler and Capronor, in G.I. Zatuchni, A. Goldsmith, J.D. Shelton and J.J. Sciarra (eds.), *Long-Acting Contraceptive Delivery Systems*, Harper and Row, Philadelphia, p. 48-63 (1984).
- 8) M.H. Briggs and M. Briggs, Clinical and biochemical investigations of a variable-dose combined type oral contraceptive. *Curr. Med. Res. Opin.*, **5**, 213-216 (1977).
- 9) Z. Yuan, H.Q. Russlie and D.M. Canafax, Sensitive assay for measuring amoxicillin in human plasma and middle ear fluid using solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Chromatog. B. Biomed. Appl.*, **674**, 93-99 (1995).
- 10) P. Muth, R. Metz, H. Beck, W.W. Bolton and H. Vergin, Improved high-performance liquid chromatographic determination of amoxicillin in human plasma by means of column switching, *J. Chromatogr. A*, **729**, 259-266 (1996).
- 11) J.F. Kennedy, S.A. Barker and A. Zamir, Active insolubilized antibiotics based on cellulose-metal chelates, *Antimicro. Agents Ch.*, **6**, 777-782 (1974).
- 12) Y.M. Kim, S.K. Han, K.J. Lee and Y.T. Kim, Development of cotton fabrics with prolonged antimicrobial action, *Arch. Pharm. Res.*, **12**, 119-124 (1989).
- 13) Y.T. Kim, Y.M. Kim, S.K. Han, Y.J. Jung and J.H. Yu, Development of polymeric drugs utilizing dithiocarbamate chitosan: formation and antimicrobial activities of dithiocarbamate chitosan-Ca(II)-tetracycline complex, *Yakhak Hoeji*, **39**, 48-54 (1995).
- 14) W.D. Rhine, D.S.T. Hsieh and R. Langer, Polymers for sustained macromolecule release: Procedures to fabricate reproducible delivery systems and control release kinetics, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 265-270 (1980).
- 15) M. Grassi, L. Zemab, M.E. Sangalli, A. Maroni, F. Giordano and A. Gazzaniga, Modeling of drug release from partially coated matrices made of a high viscosity HPMC, *Int. J. Pharm.*, **276**, 107-114 (2004).