

진공 건조법에 의해 제조된 BCNU/PLGA웨이퍼의 BCNU 방출거동

박정수 · 신준현 · 이두희 · 이종문 · 김문석* · 이해방* · 강길선†

BK-21 고분자 BIN 융합연구팀, *한국화학연구원 생체분자전달제어팀

(2007년 1월 24일 접수, 2007년 3월 22일 채택)

BCNU Release Behaviour from BCNU/PLGA Wafer Prepared by Vacuum Drying Method

Jung Soo Park, Joon Hyun Shin, Doo Hee Lee,

John M. Rhee, Moon Suk Kim*, Hai Bang Lee*, and Gilson Khang†

BK-21 Polymer BIN Fusion Research Team, Chonbuk, National University,

664-14, Dukjin Ku, Jeonju 561-756, Korea

*Nanobiomaterials Lab, Korea Research Institute of Chemical Technology,

P. O. BOX 107, Yuseong, Daejeon 305-506, Korea

(Received January 24, 2007; accepted March 22, 2007)

초록 : 폴리락타이드, 폴리글리콜라이드, 및 글리콜라이드-락타이드 공중합체(PLGA)와 같은 생분해성 고분자들은 쉬운 약물방출량 조절과 부산물독성이 없이 지지체의 완벽한 분해와 좋은 생체적합성을 갖고 있다. 그러나 PLGA는 *in vitro* 실험에서의 피상침식, 과도한 초기방출 후의 방출량이 감소하는 단점을 갖고 있다. 본 연구에서 PLGA 재결정 분말은 진공건조법을 이용하여 제조하였으며 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitro-sourea(BCNU, carmustine)가 함유된 PLGA 웨이퍼의 방출거동을 알아보았으며 동시에 수용성 첨가제를 넣어 약물의 방출거동을 알아보려고 하였다. 진공건조법으로 재결정한 PLGA 웨이퍼가 일반방법으로 제조한 PLGA 웨이퍼보다 수분 흡수율 감소와 웨이퍼 자체 초기의 분해 속도 감소로 인하여 초기 방출량이 감소하고 지속적 방출거동을 가지는 것을 확인하였다.

Abstract : Biodegradable polymers such as polylactide, polyglycolide and poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) have been extensively investigated because of easily controlled drug release rate, completely degradable materials without the toxic by-product, and good biocompatibility. But, according to the bulk erosion property of PLGA *in vitro* test, it had the disadvantage that first-order release reduced releasing amount slowly after excessive initial burst. In this study, we used PLGA powder obtained through recrystallization to revise bulk erosion property of PLGA. The PLGA used in this study was prepared by vacuum drying method and to estimate release profiles of BCNU loaded PLGA wafer. We also evaluated the release profile of drug with the water soluble additive. It was found that the drug loaded PLGA recrystallized by vacuum drying method exhibited the initial burst and the constant rate of drug release compared to that prepared by a conventional method.

Keywords : PLGA, morphology, BCNU, biodegradable.

서 론

합성 생분해성 고분자들은 체내 이식제로 오랫동안 연구되었다. 젖산과 글리콜산의 공중합체로 구성된 지방성 폴리에스터류는 약물을 완전히 방출한 후 생체에 무해한 이산화탄소와 물로 분해하여 체외로 분비에 이를 제거하기 위한 추가적 기술이 필요하지 않기 때문에, 미식품의약품 안전청으로부터 약물전달체로서 응용이 안전한 것으로 알려졌다. 글리콜라이드-락타이드 공중합체(PLGA)는¹⁻⁴

수 십 년 이상 약물의 서방성 제제를 위한 기재로 사용되었다. PLGA는 분자량과 락타이드, 글리콜라이드의 몰비에 따라 분해기간을 조절할 수 있고,⁵ 분해 후에는 생체에 비독성인 물질로 일반적인 배설 경로를 통해 완전히 분해되기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 이유로 PLGA는 서방성 약물전달체와⁶⁻¹⁴ 조직공학 분야에서¹⁵⁻¹⁸ 널리 활용되고 있다. PLGA의 분해는 PLGA가 습기와 접하게 되었을 때 글리콜산과 젖산으로 분해되며, 분해산물들에 의해 PLGA의 분해가 가속화되는 것으로 알려졌다.

1,3-Bis(2-chloroethyl)-1-nitro-sourea(BCNU, carmustine)는 혈뇌장벽을 투과할 수 있기 때문에 뇌종양 치료에 있어서 가

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

장 유용한 화학요법제 중 하나로 알려졌다.¹⁹ 본 연구팀에서는 BCNU의 서방형 약물전달,²⁰ 웨이퍼의 형태변화²¹ 첨가제에²²⁻²⁴ 따른 방출거동, 여러 중앙세포들에 대한 세포독성,^{25,26} 그리고 생체 내 형암활성 등이 연구되었다. 그러나 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼는 초기 과량방출 이후 방출이 지연되는 특성을 지니고 있다. 초기의 과량의 방출은 심각한 독성을 야기할 우려가 있어 서방형 전달체로서 PLGA 웨이퍼의 개발에 커다란 장애로 남아있다. PLGA 웨이퍼로부터 약물의 초기 방출 이후 수일에서 수주까지 지연시간이 지속되기 때문에, 환자들은 충분한 약물을 공급받을 수 없으며, 효율적인 치료를 받을 수 없다. PLGA의 방출특성은 고분자의 벌크 분해 특성으로 인해 웨이퍼 표면의 약물입자의 신속한 방출과 함께 팽윤된 PLGA 웨이퍼 내부로 흡수된 수분에 의해 확산이 일어나기 때문이다.²⁷⁻³⁰

본 실험에서는 PLGA 웨이퍼로부터 BCNU의 방출특성을 개선하기 위하여 물리적 혼합, 회전용매증발법³¹⁻³⁴ 그리고 진공건조법을 이용하여 BCNU가 함유된 PLGA 웨이퍼를 제조하였고, 이들의 형태 특성에 따른 약물 방출 형태를 분석하였다.

실 험

시약 및 재료. 본 실험에서 사용한 고분자와 수용성 첨가제로써 PLGA (Resomer® RG 502 H, 락타이드/글리콜라이드 물분율, 50/50, 분자량 8000 g/mole)과 글리콜라이드 단량체를 베링거인겔하임(독일)에서 구입하였고, 주성분으로 BCNU는 시그마 화학(세인트루이스, 미주리, 미국)에서 구입하였다. 메틸렌클로라이드(MC, 진화학, 한국)는 PLGA의 용해와 약물의 분석에 사용하였고, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)의 이동상으로 HPLC 등급의 메탄올(준세이화학, 일본)을 이용하였다. 또한, 인산완충용액(PBS, pH 7.4)은 밀리-Q 정화 시스템(밀리포어, 물심, 프랑스)으로 증류수를 제조하여 사용하였으며, 기타 시약들은 HPLC 등급으로 이용하였다.

진공건조된 PLGA 분말과 웨이퍼의 제조. 새로운 형태의 분말을 얻기 위하여 PLGA를 상온에서 MC로 용해시킨 후 고점도가 될 때까지 회전식 감압농축기(Rotavapor, Büchi, 스위스)로 MC를 건조시켜 진공펌프를 이용하여 PLGA 재결정을 얻었다. 이를 BCNU와 교반-와동법을 이용하여 혼합한 후 몰드에 넣고 가압 프레스를 이용하여 5초 동안 20 kgf의 힘을 가하여 웨이퍼를 제조하였다. 이때, 웨이퍼는 반지름 3×두께 1 mm² 크기의 평면형태이고 사용시 까지 0 °C에서 보관하였다.

형태학적 관찰. 주사전자현미경(SEM, S-2250N, Hitachi, Japan)은 진공건조 이전과 후의 PLGA 분말과 웨이퍼의 형태를 측정하기 위하여 이용하였다. SEM을 관찰하기 위한 모든 시료들은 양면테이프를 붙여 샘플판에 올려놓은 후 플라즈마 스퍼터(SC 500 K, Emscope, UK)에서 90초 동안 백금 코팅을 하였다.

생체의 방출거동. 실험에서 이용할 진공건조 전후의 PLGA와 BCNU가 혼합된 시료를 각각 10 mg씩 취한 후 HPLC를 이용하여 웨이퍼에 포함되는 약물의 초기 함량을 분석하였다. BCNU를 함유하는 PLGA 웨이퍼들은 MC 1 mL로 완전히 용해한 후 PLGA를 침전시키기 위하여 9 mL의 메탄올을 첨가하고 원심분리한

후 상등액의 100 μL를 취하여 HPLC 분석을 실시하였다. PLGA 웨이퍼로부터 BCNU의 방출은 pH 7.4인 인산완충용액(PBS)에 넣은 후 37.5 °C에서 실시하였다. 웨이퍼는 각각 20 mL의 PBS에 넣고, 110 rpm으로 일정하게 교반하였다. 일정한 시간 후 방출을 실시한 웨이퍼는 수집되어 48시간 동안 냉동 건조시켰다. 건조된 웨이퍼는 약물함량 측정 실험 방법과 동일한 방법으로 실시하였고, PBS상에 방출된 BCNU는 급격한 가수 분해를 일으키기 때문에 웨이퍼에 잔존하는 BCNU의 양을 통하여 웨이퍼로부터의 방출량을 알 수 있었다.³⁵

생체의 분해거동. 질량 감소는 중량측정을 통하여 측정하였다. 각각의 웨이퍼는 초기무게, PBS로부터 수집된 후의 젖은 무게, 그리고 생체의 분해 후 건조한 웨이퍼의 무게를 측정하였다. 질량감소(%)와 수분흡수율(%)은 식 (1), (2)를 이용하여 계산하였다.

$$\text{질량감소}(\%) : (W_i - W_d) / W_i \times 100 \quad (1)$$

$$\text{수분흡수율}(\%) : (W_w - W_d) / W_w \times 100 \quad (2)$$

W_i , W_d , 그리고 W_w 는 각각 웨이퍼의 초기무게, 건조된 웨이퍼의 무게 그리고 젖은 웨이퍼의 무게이다. PBS의 pH 측정은 pH meter 340(Corning, Medfield, USA)으로 수행하였다.

결과 및 토론

PLGA의 형태 관찰. Figure 1는 진공처리 전후 PLGA 분말의 SEM 사진을 나타낸 것이다. 진공건조 처리를 하지 않은 PLGA는 다공성을 가진 백색의 덩어리 형태를 가지는 반면, 진공건조 처리를 한 PLGA는 다공이 사라진 넓은 판상의 형태를 가지고 있었다. SEM을 이용하여 변형 전후의 PLGA로부터 제조한 웨이퍼들의 표면과 단면의 사진들을 Figure 2에서 나타내었다. 대조군 PLGA분말은 비교적 입자의 크기가 크고, 많은 다공을 가지고 있기 때문에 물의 투과가 쉬운 반면, 재결정 PLGA로 제조한 웨이퍼에서는 다공이 완전히 사라져 전자의 웨이퍼에 비해 수분의 침투가 용이하지 않다.

약물 함량 및 생체의 방출 실험. BCNU는 온도, 대기, 그리고 수분에 민감하기 때문에, BCNU를 함유하는 PLGA 웨이퍼의 제조 공

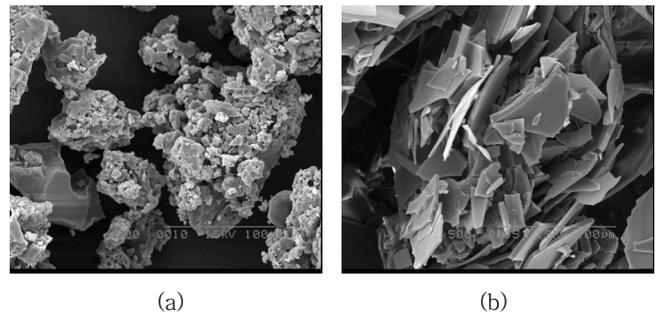


Figure 1. SEM micrography of PLGA powder; (a) non-treated PLGA and (b) PLGA prepared by vacuum drying method. (Original magnification : x 500).

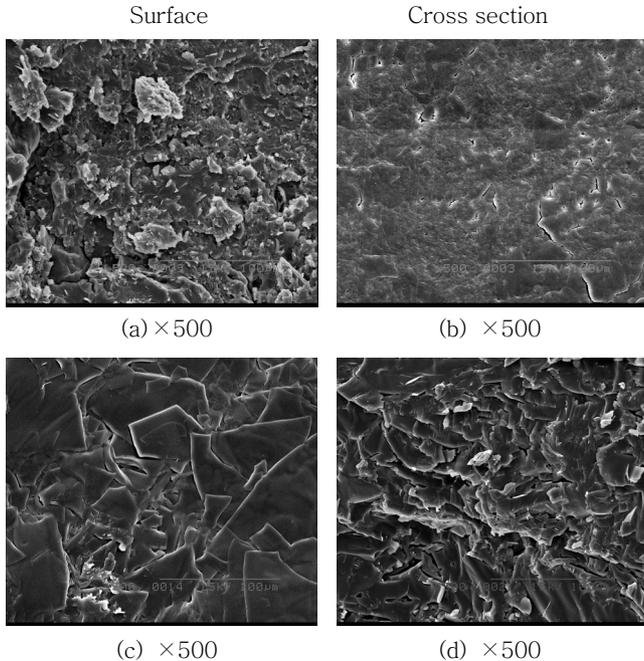


Figure 2. SEM morphology of surface and cross section BCNU-loaded PLGA wafer; (a), (b) non-treated PLGA and (c), (d) PLGA prepared by vacuum drying method.

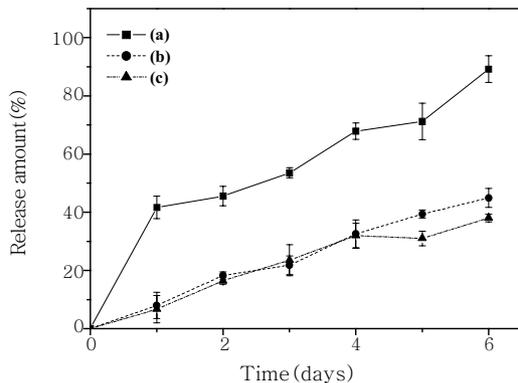


Figure 3. Release profile of BCNU from BCNU-loaded PLGA wafer; (a) non-treated PLGA, (b) PLGA prepared by vacuum drying method, and (c) PLGA and BCNU mixture prepared by vacuum drying method.

정은 매우 제한적이다. 이전 실험에서, BCNU 함유 PLGA 웨이퍼는 교반-외동법, 냉동분쇄법, 고체분산건조법, 분쇄법 등을 통하여 제조하였다.^{23,25,26} 교반-외동법을 제외한 방법들은 BCNU가 외부 환경들에 노출될 수 있다. 교반-외동법은 BCNU가 외부환경 요인들에 영향 없이 PLGA에 균일하게 분산시킬 수 있는 방법이다. 특히, 진공제결정 PLGA는 BCNU와의 분산도가 높아 약물의 함량이 균일하게 나타남을 알 수 있다.

Figure 3은 서방성 약물방출을 위한 BCNU를 함유한 PLGA로부터 BCNU의 방출거동을 나타낸 것이다. 본 연구에서, 대조군으로써 분자량 8000 g/mole인 PLGA를 사용하였으며, 실험군으로는 대조군을 진공건조 처리하여 얻은 PLGA를 이용하였다. BCNU를

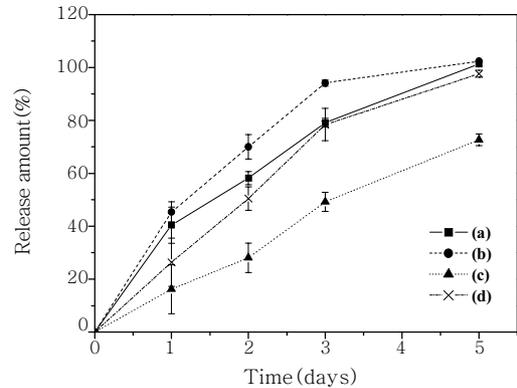


Figure 4. The release profile of BCNU from wafer with non-treated PLGA and PLGA; (a) non-treated PLGA wafer with glycolide 10%, (b) non-treated PLGA wafer with glycolide 20%, (c) PLGA wafer with glycolide 10% (by vacuum drying method), (d) PLGA wafer with glycolide 20% (by vacuum drying method).

이용한 상용화 중인 이식용 웨이퍼인 Gliadel®과 같은 BCNU를 함유하고 있는 폴리안하이드라이드 웨이퍼는 표면분해 특성을 가지고 있고, 약물방출거동에 있어서 BCNU의 방출량이 일정하게 유지하고 있다. BCNU를 포함하는 PLGA의 경우에는 약물방출 1일 이내에 전체 약물 함량의 40% 이상 방출되고 이후 방출량이 꾸준히 감소하여 초기방출에 비해 방출속도가 느리게 나타나는데 이러한 방출거동은 PLGA의 벌크분해 특성에 기인하여 웨이퍼의 외부 뿐만 아니라 내부에서도 침투된 수분에 의하여 약물의 방출이 수행되기 때문이다. 반면, 진공건조 처리한 PLGA 웨이퍼로부터의 약물 방출은 Figure 3에서처럼 초기방출량이 감소하였고, 약물방출 기간이 연장되고 있음을 볼 수 있다. 이전 실험에서, BCNU의 방출속도는 첨가된 글리콜라이드 단량체의 증가에 따라 증가하였으며, BCNU의 방출속도를 0차 방출거동으로 이끌어낼 수 있었다.

Figure 4는 진공건조 처리 전후의 PLGA에 글리콜라이드 단량체를 각각 10%와 20% 첨가하여 제조한 웨이퍼로부터 BCNU의 방출거동을 나타내었다. 대조군의 PLGA 웨이퍼의 경우 방출 이후 3일째에 글리콜라이드 단량체의 첨가로 인하여 BCNU의 방출량이 각각 70%와 90%로 증가하였다. 반면, 실험군으로 제조한 웨이퍼는 같은 시간에서 약물의 방출량이 40%와 70%로 증진되었다. 이 결과들로부터 본 제제방법을 이용하여 PLGA체제의 0차 방출 경향을 가지는 서방형의 제제를 얻을 수 있으며, 첨가제의 이용을 통하여 방출거동의 변화 없이 속방형의 제제까지도 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

생체의 분해 거동. Figure 5에는 (a) 순수한 PLGA와 (b) 재결정 PLGA로 제조한 웨이퍼의 수분 흡수율은 PBS에 침지시킨 후 일정시간 후 채집된 웨이퍼를 냉동건조시켜 측정치를 나타내었다. (b)의 초기 수분 흡수량은 (a)의 그것과 상당히 다르다. PLGA의 분해로 인하여 시간이 지남에 따라 모든 웨이퍼의 수분 흡수율은 증가하였다. 하지만 1일 후 (a)와 (b)에서 수분은 각각 23%와 5%가 투과되었음을 알 수 있으며, (a)는 20일까지 수분 흡수율이 점차 증가한 반면, (b)는 13일째에 90%까지 증가한 이후 PLGA의 형태 변화에 따라 그 양이 감소하였다. 이러한 사실들로부터

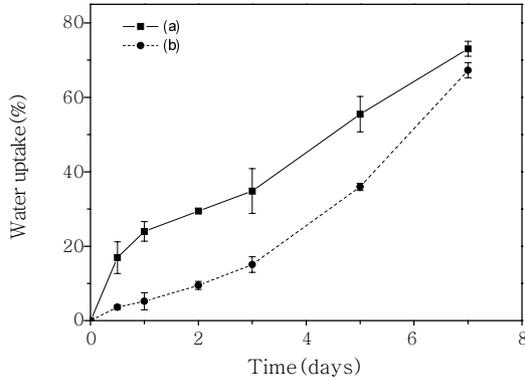


Figure 5. Water uptake of 50:50 PLGA wafers after immersed in PBS; (a) non-treated PLGA and (b) PLGA prepared by vacuum drying method.

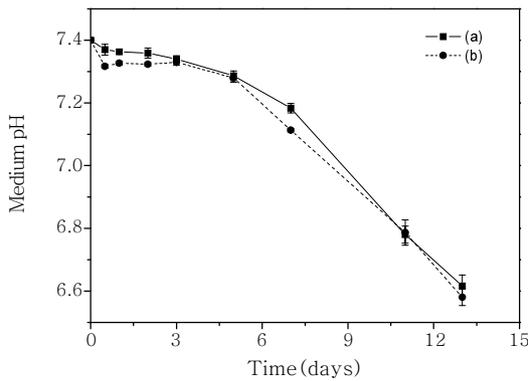


Figure 6. Change of medium pH during degradation of 50:50 PLGA wafers; (a) non-treated PLGA and (b) PLGA prepared by vacuum drying method.

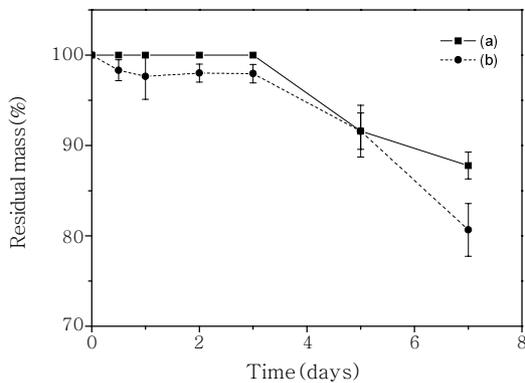


Figure 7. Molecular weight change and mass loss of 50:50 PLGA; (a) non-treated PLGA and (b) PLGA prepared by vacuum drying method.

진공건조를 통하여 얻은 PLGA 웨이퍼는 순수한 PLGA로 제조한 웨이퍼보다 낮은 수분 침투율을 갖는 것으로 추측할 수 있다.

순수한 PLGA로 제조한 웨이퍼와 재결정 PLGA로 제조한 웨이퍼에서 측정된 보존액의 pH 변화와 질량 감소는 Figures 6과 7에 나타내었다. 보존액의 pH감소는 PLGA 웨이퍼가 보존액 내

에서 위치하는 시간이 증가됨에 따라 증가하였다. 보존액의 pH는 분해되어진 PLGA 웨이퍼로부터 확산된 산성 단량체들의 형태에 의해 영향을 받기 때문에, 순수한 PLGA로 제조한 웨이퍼와 재결정 PLGA로 제조한 웨이퍼의 pH와 잔존 질량 감소에서 1일 이후에 거의 유사한 분해 속도를 가짐을 알 수 있다.

이러한 결과들로부터, 진공건조를 이용하여 얻은 PLGA로 제조한 웨이퍼는 수분 흡수율의 감소로 인하여 초기 방출량이 감소하고 꾸준한 방출거동을 가지는 것으로 사료된다.

결론

본 실험에서는 체내에서 완전한 분해를 통해 체외로 배출되는 생분해성 고분자인 PLGA에서 큰 초기방출량 없이 꾸준한 서방형의 0차 방출에 이용할 수 있도록 진공건조법에 의해 얻어진 PLGA를 제조하였다. 이 PLGA는 입자의 형태에서 다공이 사라진 평면구조를 얻었다. PLGA의 형태변화는 수분의 웨이퍼 내부로의 침투와 잔류하는 것을 막아주는 역할을 하기 때문에 방출 초기에 웨이퍼의 내부와 외부에서 약물이 함께 방출되어 과량이 방출되는 현상을 막아 줄 수 있었으며, 분해 거동에 있어서 표면 분해에 가까운 거동을 보여 방출의 시작에서 완료까지 일정한 양의 BCNU가 PLGA로부터 방출할 수 있도록 하는 역할을 하고 있다. 또한 방출의 속도가 전반적으로 느려지지만 PLGA 입자 형태의 변화에 추가하여 수용성 고분자 등의 첨가로 방출거동을 속방형과 서방형으로 모두 이용할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 이상의 실험 결과로부터 이러한 PLGA의 형태 변화를 통하여 PLGA 매트릭스를 이용하여 첨가제를 이용하지 않고 일정한 형태의 약물방출거동을 가지는 제제를 연구할 수 있으며, 다양한 방출 속도를 얻을 수 있을 것이다.

감사의 글 : 본 연구는 과학기술부(2004-01352, 2004-00274)의 연구지원에 의하여 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. G. Khang, M. S. Kim, S. H. Cho, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **1**, 9 (2004)
2. W. Y. Jang, S. H. Kim, I. W. Lee, M. S. Kim, J. M. Rhee, G. Khang, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 100 (2005)
3. K. S. Seo, K. D. Hong, H. Hyun, M. S. Kim, G. Khang, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 109 (2005)
4. S. K. Kim, K. D. Hong, S. H. Kim, M. S. Kim, G. Khang, I. W. Lee, C. W. Han, H. K. Lee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 130 (2005)
5. M. Miyajima, A. Koshika, J. Okada, A. Kusai, and M. Ikida, *Int. J. Pharm.*, **169**, 255 (1998).
6. 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).
7. I. K. Park, S. H. Oh, and J. H. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **1**, 164 (2004)
8. S. K. Kim, K. D. Hong, S. H. Kim, M. S. Kim, G. Khang, I. Lee, H. K. Lee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**,

- 130 (2005)
9. C. W. Han, Y. H. Shin, S. Y. Kwon, Y. K. Cho, B. K. Jo, Y. Y. Kim, S. H. Kim, K. S. Park, and G. Khang, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 123 (2005).
 10. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **4**, 95 (2001).
 11. S. A. Seo, H. S. Choi, D. H. Lee, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 884 (2001).
 12. H. S. Choi, G. Khang, H. C. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
 13. J. S. Lee, J. H. Shin, J. K. Jeong, J. M. Rhee, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **27**, 9 (2003).
 14. G. Khang, S. A. Seo, H. S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Macromol. Res.*, **10**, 246 (2002).
 15. G. Khang, S. J. Lee, J. H. Lee, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 179 (1999).
 16. G. Khang and H. B. Lee, in *Cell-synthetic Surface Interaction: Physicochemical Surface Modification*, A. Atala and R. Lanza, Editors, Academic Press, London, pp. 771-797 (2001).
 17. S. J. Lee, G. Khang, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **13**, 197 (2002).
 18. G. Khang and H. B. Lee, *Biomedical Polymer*, Korean Chemical Society Press, Munundang, Seoul, Korea, 2001.
 19. P. Paoletti, *J. Neurosurg. Sci.*, **28**, 51 (1984).
 20. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
 21. G. S. Chae, J. S. Lee, J. K. Jeong, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 335 (2004).
 22. T. K. An, H. J. Kang, D. S. Moon, J. S. Lee, H. S. Seong, J. K. Jeong, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 670 (2002).
 23. T. K. An, H. J. Kang, J. S. Lee, H. S. Seong, J. K. Jeong, G. Khang, Y. Hong, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 691 (2002).
 24. J. S. Lee, T. G. An, G. S. Chae, J. K. Jeong, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **59**, 169 (2005).
 25. H. S. Seong, T. K. An, G. Khang, S. Choi, C. O. Lee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **251**, 1 (2003).
 26. J. S. Lee, T. G. An, P. K. Shin, G. S. Chae, J. K. Jeong, B. Lee, S. H. Cho, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **27**, 217 (2003).
 27. J. L. Cleland, *Biotechnol. Prog.*, **14**, 102 (1998).
 28. C. G. Pitt, *Int. J. Pharm.*, **59**, 173 (1990).
 29. R. P. Batycky, J. Hanes, R. Langer, and D. A. Edwards, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 1464 (1997).
 30. S. Cohen, T. Yoshioka, M. Lucarelli, L. H. Hwang, and R. Langer, *Pharm. Res.*, **8**, 713 (1991).
 31. P. N. Kumta, D. Gallet, A. Waghay, G. E. Blomgren, and M. P. Setter, *J. Power Sources*, **72**, 91 (1998).
 32. J. Guo, Q. Ping, and Y. Chen, *Int. J. Pharm.*, **216**, 17 (2001).
 33. J. S. Lee, G. S. Chae, T. K. An, G. Khang, S. H. Cho, and H. B. Lee, *Macromol. Res.*, **11**, 183 (2003).
 34. E. K. Park, S. Y. Lee, T. H. Kim, P. H. Choung, G. Khang, Y. S. Son, S. K. Kim, and S. Y. Kim, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 55 (2005).
 35. H. Zhang and S. Gao, *Int. J. Pharm.*, **329**, 122 (2007).