

パルスを持つ薬剤放散システム構築のための機能膜の作製

西井靖博* 赤瀬香穂* 横山敏啓* 長刀 樹*

磯崎知美* 村上日香* 衣笠 巧* Eric Nuxoll**

Fabrication of Functional Films for Pulsatile Drug Release System

Yasuhiro Nishii* Riho Akase* Toshihiro Yokoyama* Itsuki Naginata*
Tomomi Isozaki* Haruka Murakami* Takumi Kinugasa* Eric Nuxoll**

We investigated the properties and behaviors of two kinds of functional films for designing pulsatile drug release system, which are barrier and depot films. Barrier film consists of enzyme film and ZnO film. Enzyme film can create acid from glucose in order to swell depot film containing drugs. ZnO film plays a role in making lag time, which creates pulsatile releases. The rate of hydrogen ion generation by enzyme film was explained by combining diffusion and reaction processes. The ratio of MMA/DMA greatly affected swelling and drug release of depot film, which indicates the possibility of controlled drug release. The decrease of cross-linker, DVB concentration in depot film reduced toughness of depot film. For successful pulsatile release, the adequate ratio of MMA/DMA and DVB concentration should be found.

1. 緒言

抗生物質や抗がん剤は血中薬剤濃度の高い状態が長時間続くと薬効が低下する薬剤耐性が問題となっている。これを防ぐために体内で薬剤を定期的に時間差をもって繰り返し放散させる方式である「パルス薬剤放散」が注目されている^{[1],[2]}。これを実現するためにバリア膜と薬剤膜を重ね合わせた「薬剤放散ブロック」を多重積層してシステム化した『薬剤放散デバイス』を作製する。薬剤放散ブロックでは、外部の刺激剤によってバリア膜に生じた副刺激剤が薬剤膜を膨潤させて薬剤を放散する。ここで、バリア膜に薬剤膜の薬剤放散に「遅れ時間」を作る副刺激剤の消費剤を含有することで、パルス薬剤放散を可能にする。

今までに、酸溶液中でのパルス薬剤放散を実現しており、最大 10 パルスに成功している^[3]。本研究の目的は、体内での使用を想定したパルス薬剤放散システムである。体内での実際の薬剤放散を想定し、血中グルコースを刺激剤としてバリア

膜内の酵素と反応させることで副刺激剤としてのグルコン酸を生じさせる。この酸がバリア膜内の酸化亜鉛粒(消費剤)と反応することで遅れ時間を作り出す。酸化亜鉛粒が消費された後、この酸は薬剤膜へと浸透し反応することで薬剤膜は膨潤、薬剤放出する。また薬剤膜は膨潤することで上部のバリア膜の剥離を誘発する。Fig.1 及び Fig.2 にパルスを持つ薬剤放散メカニズムを模式的に示した。このようなメカニズムにより体内で有効なパルス放散が可能な薬剤放散デバイスとなる^[4]。バリア膜と薬剤膜の作製条件を検討することで、体内で長期間に渡り複数の薬剤を自由なタイミングで放散できる画期的な「長期自己制御型薬剤放散システム」を『薬剤放散デバイス』を用いて実現する。

本論文では、薬剤放散デバイスを構成するバリア膜及び薬剤膜について種々の条件で作成した場合の特性について報告する。

2. 実験

平成 28 年 9 月 20 日受付 (Received September 20, 2016)

* 新居浜工業高等専門学校生物応用化学科 (Department of Applied chemistry and Biotechnology, National Institute of Technology, Niihama College, Niihama, 792-8580, Japan)

** Department of Chemical and Biochemical Engineering, University of Iowa, Iowa City, 52242, USA

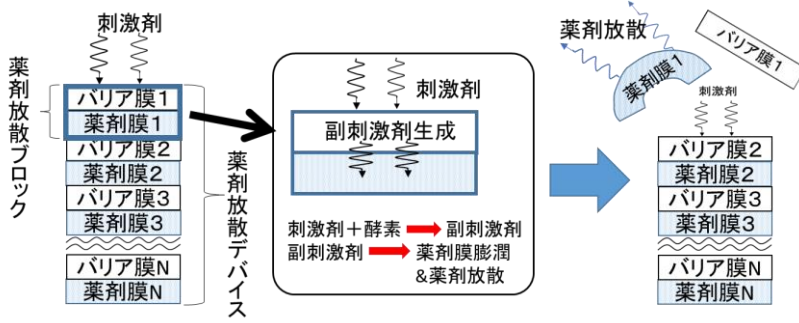


Fig. 1 薬剤放散デバイスによる薬剤放散メカニズムの模式図

2.1 バリア膜の作製

本来の目的ならバリア膜にはグルコン酸を生成する目的で酵素であるグルコースオキシダーゼ(以下 GO)と、遅れ時間を作る目的で酸化亜鉛粉末(以下 ZnO)の両方を含有させるべきだが、現象を単純化するためにそれぞれ別の膜として作製しそれぞれ「酵素膜」、「ZnO膜」とした。

まず各膜のベースとなる 10 wt% のポリビニルアルコール (PVA) 水溶液を調整した。溶解の際には蒸留水を約 80 度に加熱しマグネティックスターラー1200 rpm で攪拌しながらゆっくりと所定量の PVA 粉末を継ぎ足すことを繰り返した。全量の PVA を溶かし込んだら溶液に含まれる気泡を取り除くためラップで密閉して常温で一晩静置した。

酵素膜には GO を PVA に対する固体質量比で 10% の間で含有させた。なおグルコースが GO と反応する際に必要な酸素を補うため、カタラーゼ(以下 CT)を GO 質量に対して 1/3 で含有させた。結果として膜中の GO 濃度は 8.8 wt% となった。少量の蒸留水で溶解した酵素水溶液に PVA 水溶液を流し込み気泡が入らないようにマグネチックスターラーで 100 rpm、2 時間攪拌した。その後、テフロン板へキャストし、膜厚調整ブレードを用い厚さ調節し、通気可能なカバーで覆い一晩自然乾燥させた。10 wt% PVA 水溶液であるから、自然乾燥後の膜厚は膜厚調整ブレードの設定厚みの約 1/10 になる。さらに真空乾燥器を用いて 120°C で 2 時間真空乾燥し架橋することで非水溶性の膜とした。ZnO 膜には ZnO を PVA 量に対して 10wt% として作製した。ZnO は水に不溶性であるため少量の蒸留水に分散させた後、超音波分散機にてさらに細分散させ、その液を PVA 水溶液に加えゆっくりと攪拌し一晩静置した。

2.2 バリア膜特性検証実験

2.2.1 酵素膜特性検証実験

酵素膜を用いてグルコン酸生成速度を測定した。20 mL サンプル瓶に 14.5 ml の 0.1 mol/L 塩化ナトリウム水溶液と 0.5 ml の 3.0 mol/L グルコース水溶液を入れた。結果として 0.1 mol/L グルコース水溶液となった。マグネチックスターラーで 600 rpm で攪拌しながら pH メーターで pH の経時測定を行い安定するまで待った。予めコルクポーターで直径 16 mm の円形に打ち出した酵素膜を溶液の中に入れた。投入時間を開始時間として pH の経時変化を測定し、水素イオン濃度増加をグルコン酸生成速度と見なした。

2.2.2 酵素性能検証実験

膜内での酵素反応は様々な要素を含むため現象を単純化する目的で、GO 自体のグルコン酸生成能力を測定する実験を行った。各種濃度の GO 水溶液を調整し、そこにグルコース水溶液を添加し、マグネティックスターラー600 rpm で攪拌しながら溶液の pH 経時変化を測定することで酵素そのもののグルコン酸生成速度を測定した。

2.2.3 ZnO 膜特性検証実験

ZnO 膜による遅れ時間を検証する実験を行った。Fig. 3 の実線のようにグルコースとの作用時間とグルコン酸生成量の関係はシグモイド曲線になり、生成速度の極大値を經由し定常状態に至る挙動を示すと考えられる。バリア膜に ZnO を含有すると、薬剤膜を膨潤させる GO から生じたグルコン酸と ZnO が反応し消費することで、点線のように「遅れ時間」を生じさせることができる。

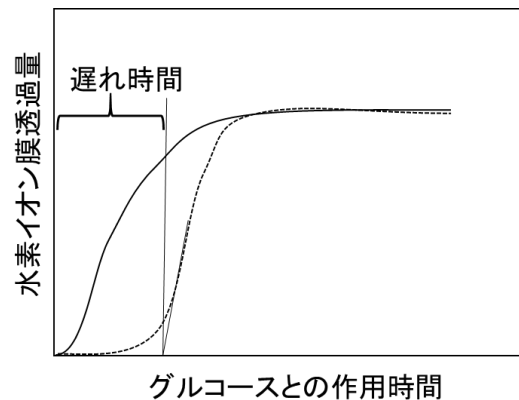


Fig. 3 酸化亜鉛膜による遅れ時間の発生

この遅れ時間は、ZnO の膜中濃度、膜厚に影響を受けると考えられる。今回は膜厚が 10~350 μm の範囲で 10wt% の ZnO 膜を作製し実験を行った。

Fig. 4 に実験装置を示す。左のセルには所定 pH3 のグルコン酸バッファを入れ、右のセルには 0.1 mol/L の塩化ナトリウム水溶液を入れた。セル間に ZnO 膜を設置し両セルをマグネティックスターラーで攪拌しながら、右のセルの pH を経時測定した。時間とともに膜中の ZnO がグルコン酸により消費され右のセルへ透過し始めた。右のセルの pH 変化から ZnO 膜を通り抜けてくる水素イオン濃度についてのシグモイド曲線を作成し、その最大勾配を持つ直線の横軸切片から遅れ

時間を求めた。なおグルコン酸バッファと ZnO 膜の有効接触面の直径は 26 mm であった。

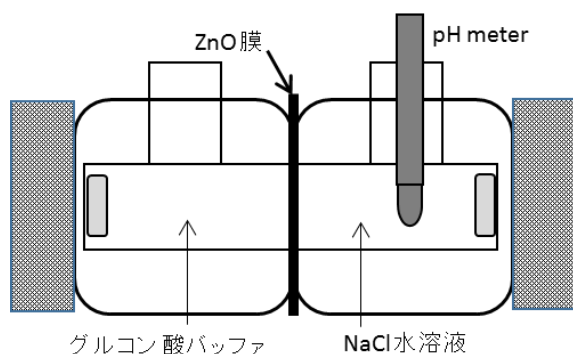


Fig. 4 ZnO 膜による遅れ時間の実験装置図

2.3 薬剤膜の作製

薬剤膜は、酸刺激により膨潤する性質を持ち、その膨潤挙動に関する知見が多く存在する^{[5],[6],[7]}ことからメチルメタクリレート (以下 MMA) とジメチルアミノエチルメタクリレート (以下 DMA) との共重合体を採用し作製した⁸⁾。MMA、DMA は膜の骨格となり、ジビニルベンゼン(以下 DVB)は架橋剤として働く。また 2,2-アゾビスイソブチロニトリル(以下 AIBN)を開始剤として用いた。

MMA/DMA 共重合体合成の前処理として、MMA、DMA、DVB は、アルミナ粉末に通すことで不純物を吸着させた。ポリマー溶液を流しシート状にするためのガラス板は、予め 20 vol% オルガノクロロシラン-トルエン溶液を用いてシラン化を行い、重合後のポリマー膜 (薬剤膜) を剥がれやすくした。

それぞれの組成比に対応する体積および質量の化学種をサンプル瓶に取り小型マグネチックスターラーで 1200 rpm で攪拌させながら 60~80°C に加熱し重合反応させた。完全に重合反応が進む前にガラス板に流し込む必要があるため、ポリマー溶液の渦の凹みを目視観察し、渦の凹みが消失したタイミングで一度加熱を止め反応を停止させた。渦の凹みが消失する直前に全体量の 5wt% になるようにメチレンブルーを混合し、十分に分散させるために超音波分散機にて細分散させた。なおここでメチレンブルーは親水性のモデル薬剤である。そのあとすばやくポリマー溶液をガラス板上に流し込み上から別のガラス板で挟み込んだ。予めガラス板には厚さ約 100 μm のテフロンシートで正方形のスペーサー枠を設置しておき、ポリマー膜の厚みを調節した。ガラス板の周りを 8 個のクリップで固定した状態で、60°C に設定した乾燥器に直立に設置して 18 時間で重合反応を完成させた。その後、カミソリを用いてガラスから剥がし取り試料としての薬剤膜を得た。

2.4 薬剤膜を用いた膨潤挙動検証実験

MMA/DMA 重合体には網目構造が形成されるが、DMA は第 3 級アミノ基を有するためバリア膜にてグルコン酸由来の水素イオンと弱い相互作用を示し、4 級化しプロトン化する。その結果、陰イオンが膜内へ引き寄せられ陰イオン濃度が増

し浸透圧が上がり水が入り込む膨潤が起こる⁹⁾。膨潤と並行してポリマーマトリックスが緩むことで薬剤放散が進むと考える。したがって、MMA/DMA の組成比は膨潤挙動に大きく影響を与えることが予想される。そこで、MMA/DMA 組成比を 72/28 及び 65/35 に変化させ膨潤挙動とそれに伴う薬剤放散挙動を調べた。pH3~4.5 のグルコン酸バッファ溶液 100 ml が入ったビーカーにコルクポラー8 番で打ち抜いた直径 16 mm の薬剤膜を入れマグネティックスターラーで攪拌しながら一定時間毎に溶液を 4 ml 採取した。採取したサンプルを紫外可視吸光度計にて 665 nm における吸光度を測定しメチレンブルー濃度を決定した。また所定時間毎に薬剤膜の厚み、質量、直径も測定した。さらに架橋剤である DVB 濃度を変化させて作成した薬剤膜についても同様に膨潤挙動を調べた。

3. 結果と考察

3.1 酵素膜特性検証実験：グルコン酸生成速度に及ぼす GO 濃度の影響

外部水相中のグルコースは酵素膜に含まれる GO との酵素反応によりグルコン酸に変化する。その過程を詳しく述べるとグルコースがまず酵素膜内へ拡散、浸透し、GO に達したところで CT による酸素供給も伴って酵素反応が起こる。酵素反応により生じたグルコン酸は膜中を拡散し外部水相へ放出され pH 変化として検出される。膜厚はグルコースとグルコン酸の膜内拡散の両方に影響を及ぼす。

Fig. 5 に酵素膜厚み変化に対して水素イオン生成速度を測定した結果を示す。膜厚の増加とともに水素イオン生成速度は減少した。図中の実線は、グルコースとグルコン酸の膜内拡散のみを考慮した理論線である。膜厚が小さいほど実線から外れている。これは膜内拡散時間が短いほど、酸を生成する酵素反応速度が支配的になるためと考えられる。図中の点線は酵素反応速度を考慮した理論線であり、実験値の傾向に近づいた。しかしバラツキが大きく、さらなる検討が必要である。

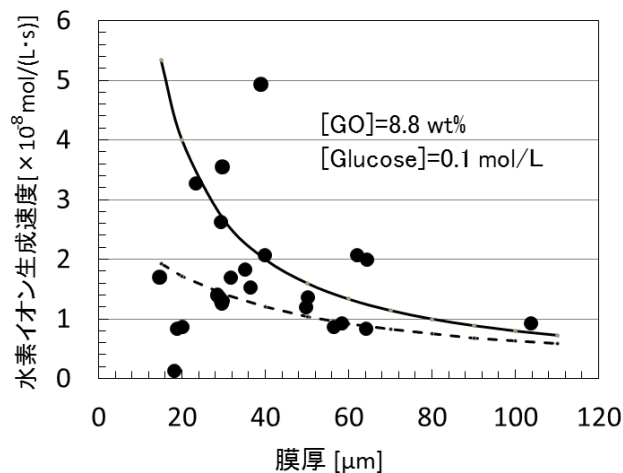


Fig. 5 水素イオン生成速度に及ぼす酵素膜厚みの影響

3.2 酵素性能検証実験 : GO 水溶液を用いた酵素反応実験

酵素膜では、グルコースの浸透と拡散、GO との酵素反応、生じたグルコン酸の外部への拡散というプロセスを経る。ここでは現象を単純化するために、グルコースを直接 GO に作用させる実験を行い、酵素反応速度だけの測定を試みた。

Fig.6 に水素イオン生成速度に及ぼす GO 水溶液濃度の影響を示す。水溶液はマグネティックスターラーで 600rpm で十分に攪拌しているので境膜物質移動抵抗はほとんど無視できる。0.008% から単調に増加し 0.015% 付近に突出した値があるが、それ以上では $3.5 \times 10^{-7} \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ 付近で一定となった。GO 濃度とともに基質であるグルコース分子と GO の接触する頻度が増加したからと考えられる。それ以降の頭打ちになっている領域では酵素反応律速となっていたと考えられる。しかしグルコース濃度は GO に比して大過剰に存在する。GO は約 $2 \times 10^5 \text{ unit/g}$ であり例えば $[\text{GO}] = 0.02\%$ では 1 秒間に $6 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ のグルコースをグルコン酸に変化できる。結果が 3 桁ほど小さかったのは GO の酵素反応条件が最適でなかったのかもしれない。またグルコン酸の解離定数も考慮すべきである。

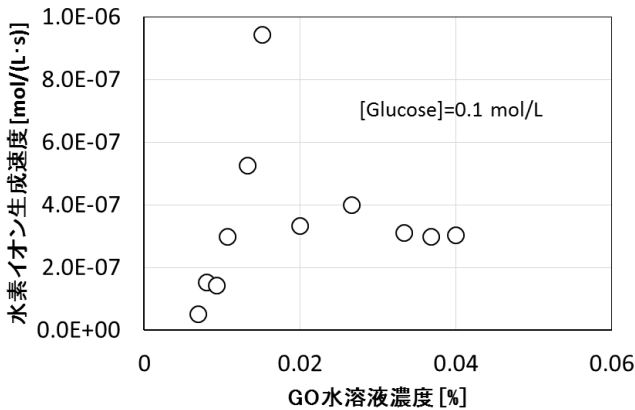


Fig. 6 水素イオン生成速度に及ぼす GO 水溶液濃度の影響

3.3 ZnO 膜特性検証実験 : 遅れ時間に及ぼす ZnO 膜厚みの影響

遅れ時間は薬剤を所定時間間隔で放散させるために重要なファクターとなる。これを数分から数時間の範囲で自在に調節可能にできれば、様々な薬剤放散時間を有する薬剤システムを構築できる。ZnO 膜に含まれる ZnO 濃度を一定にし、膜厚を変えた場合の遅れ時間を測定した。実験データから Fig.3 に示すようなシグモイド曲線を作成し、最大勾配を示す直線を横軸と交差させその切片を遅れ時間と定義した。Fig.7 に遅れ時間と ZnO 膜厚みの関係を示す。膜厚が $50 \mu\text{m}$ 以下で 1 時間未満の遅れ時間を作り出せた。また $150 \mu\text{m}$ 以上で 5~6 時間、さらに $350 \mu\text{m}$ では約 17 時間の遅れ時間を作り出せた。膜厚によりさまざまなニーズに応じた遅れ時間を持つバリア膜を作成できることが示された。Yang, Nuxoll and Cussler⁹⁾ および Siegel and Cussler¹⁰⁾ は遅れ時間 t_L と膜厚 l 及び ZnO 濃度 C_{X0} の関係を以下のように示している。

$$t_L = \frac{l^2}{6D} \left(1 + \frac{3C_{Y0}}{vHC_{X0}} \right) \quad \text{式(1)}$$

ここで D は水素イオンの拡散係数、 H は膜への分配係数、 v は ZnO とグルコン酸との反応におけるグルコン酸の量論係数、 C_{X0} は水素イオン濃度である。この式は膜中で溶質 (ここでは ZnO) が均一に分散していると仮定して導かれている。式(1)に基づく理論曲線を Fig.7 に実線として示した。実測結果は理論曲線とほぼ一致しており妥当性が示された。しかし膜厚が大きくなるにつれ理論値とのずれが大きくなった。今後、遅れ時間に対する ZnO 濃度の影響も合わせて検証することが課題である。

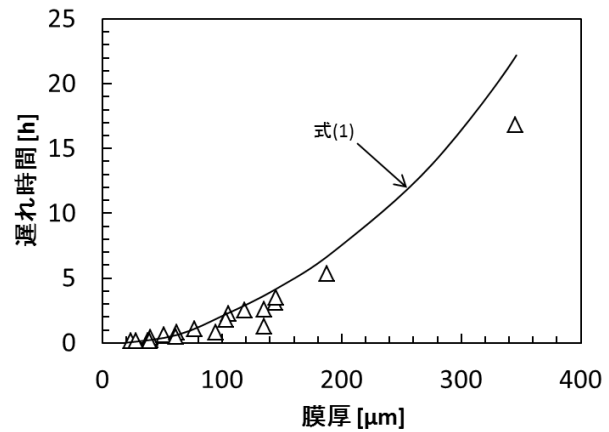


Fig. 7 遅れ時間と ZnO 膜厚みの関係

3.4 薬剤膜の膨潤挙動

3.4.1 MMA/DMA 組成比の影響

Fig.8~15 に膨潤挙動に及ぼす MMA/DMA 比の影響のグラフを示す。

Fig.8, 9 は含水率に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響について、それぞれ MMA/DMA=72/28 及び 65/35 の結果を示す。ここで含水率は、乾燥膜質量に対する含有水分質量と定義した。いずれの MMA/DMA 比においてもグルコン酸バッファの pH が上がるにつれ含水率の増加は遅くなった。特に pH4 と pH4.5 の間で大きな挙動の差が認められた。水の膜への浸透は、DMA にあるアミノ基のプロトン化することで溶液中の陰イオンが内部へ集まり浸透圧が高くなり、水の膜中への移動が起こるといふメカニズムと考えられる¹⁰⁾。また MMA/DMA 比で DMA の割合が大きい 65/35 の方が膨潤速度は速く、さらに平衡含水率も大きくなった。これは DMA の含有率が多いことで水の取り込みが速くなったことと、水の取り込める場が増加したことが原因と考えられる。

Fig.10, 11 に直径比変化に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響を示す。サンプル薬剤膜の直径変化を比として示し、(直径)/(初期直径)と定義した。

いずれの MMA/DMA 比でも pH が低いほど直径比増加は速くなった。また直径は 2 倍程度大きくなることが分かった。DMA 含有率が多い方が速く膨潤する結果となった。しかし MMA/DMA=65/35 の場合、1~2 時間後に薬剤膜がバ

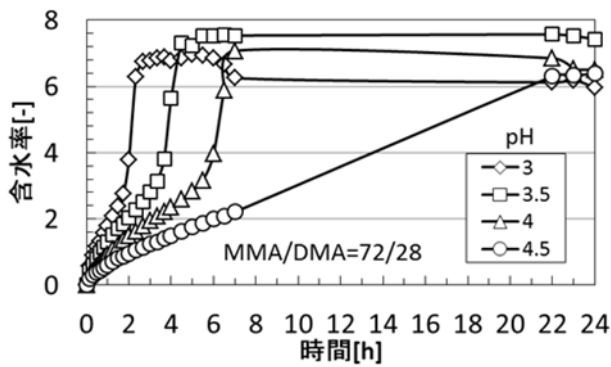


Fig. 8 含水率に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響 (MMA/DMA=72/28)

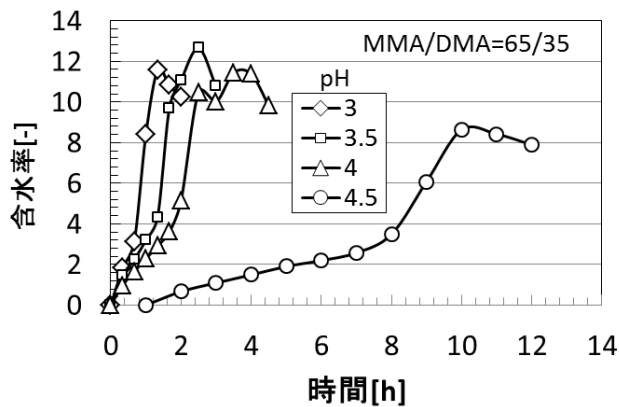


Fig. 9 含水率に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響 (MMA/DMA=65/35)

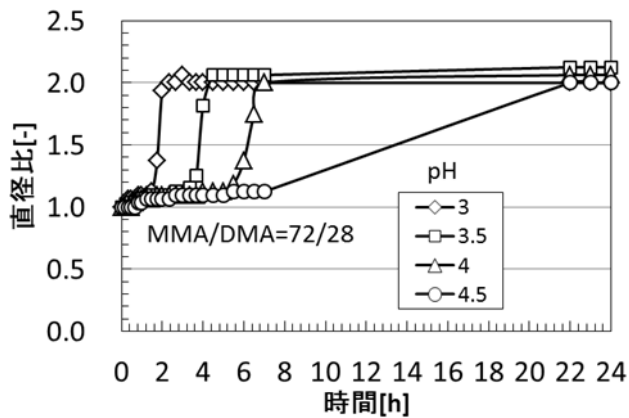


Fig. 10 直径比変化に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響 (MMA/DMA=72/28)

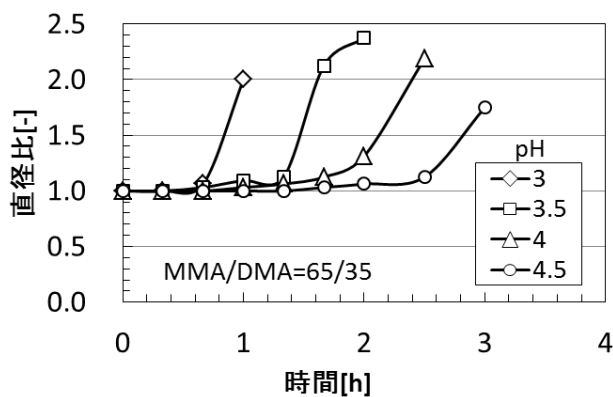


Fig. 11 直径比変化に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響 (MMA/DMA=65/35)

ラバラに碎けてしまい直径を測ることが出来ない現象が起きた。Fig.11 で平衡値が観測できていないのはこれが原因である。つまり薬剤膜がバリア膜を剥離するのに十分な強度を持ち合わせていないことになる。したがってパルス放散は MMA/DMA=65/35 の組成比では実現が難しいと考えられる。

Fig. 12、13 にメチレンブルー放散率の結果を示す。放散率も含水率、直径比と同様に pH が低いほど速くなっていた。モデル薬剤としてのメチレンブルーは膨潤挙動 (含水率、直径比増加) と連動して放散が起きていることが分かる。MMA/DMA=65/35 の組成比ではすべての pH で 3.5 時間後にはメチレンブルーの放散が平衡に達しているが、直径比のグラフの考察である通り、薬剤膜が分裂しておりパルス放散が実現できないため、放散が速く分裂の起こらない組成比を探索する必要がある。

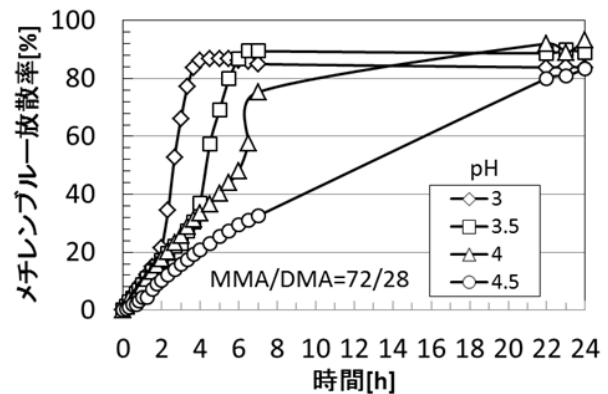


Fig. 12 メチレンブルー放散率に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響 (MMA/DMA=72/28)

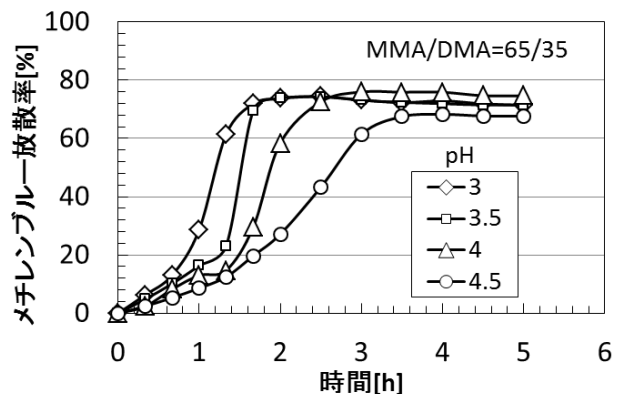


Fig. 13 メチレンブルー放散率に及ぼすグルコン酸バッファ pH の影響 (MMA/DMA=65/35)

Fig.14、15 にメチレンブルー放散率と含水率変化の関係を示す。いずれの MMA/DMA 比においても含水率増加とともにメチレンブルー放散率が増加していることが分かった。水の膜への浸透は膨潤を促し、膨潤に伴いポリマーマトリックスに存在する溶質としてのメチレンブルーが放出されていると考えられる。

同じ含水率で比べると pH が高いほど放散率が高くなる傾向を示した。pH が低いほど薬剤膜はプロトン化し溶液中の陰イオンが膜内へ浸透しやすくなる。すると膜中の浸透圧が上昇し水が膜へ入り込む⁶⁾。膜の膨潤 (水の取り込み) と溶

質の放散は逆向きの現象であり pH が低いほど外部から水の膜への移動が顕著に起こり、含水率上昇がある程度収まった段階で、薬剤放散が一気に起こったのではないかと考えられる。

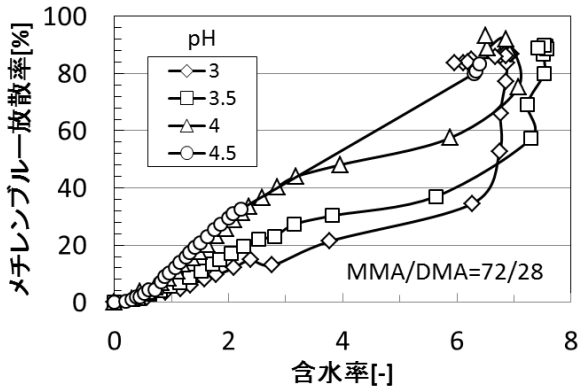


Fig. 14 メチレンブルー放散率と含水率の関係 (MMA/DMA=72/28)

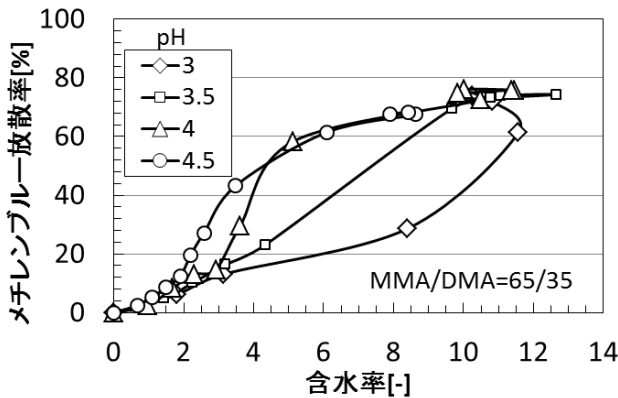


Fig. 15 メチレンブルー放散率と含水率の関係 (MMA/DMA=65/35)

3.4.2 架橋剤 DVB 濃度の影響

DVB は MMA/DMA 共重合体を作成する際に、架橋剤として用いている。すなわち DVB 濃度により骨格の強度を変化させることができると考えられる。そこで3種類に濃度を変え膨潤挙動を観察した。

Fig.16 に含水率変化に及ぼす架橋剤 DVB 濃度の影響を示す。3.4.1 節以前に示した膨潤実験ではすべて[DVB]=0.094%一定であった。MMA/DMA=72/28、グルコン酸バッファ pH は 3.0 で行った。0.076%の時がもっとも膨潤しやすかった。しかし膨潤に伴い薬剤膜がバラバラに破れてしまった。0.040%、0.094%時には破れなかった。架橋剤濃度が低いほど架橋度が低く裂けやすいと考えられたが予想と異なる実験結果となった。考えられる原因として薬剤膜厚が関係しているかもしれない。DVB 濃度 0.094、0.076、0.040%のとき、それぞれ 163、136、215 μ m であり 0.040%の時でも所定厚み以上であれば薬剤膜の分裂が起こりにくかったのかもしれない。膜厚を一定にした条件で再実験が必要である。

薬剤膜の DMA 含有率、DVB 濃度は共に膨潤しやすくする役割を果たすが、膜が破裂しない強度を保つ濃度の探索が必要である。

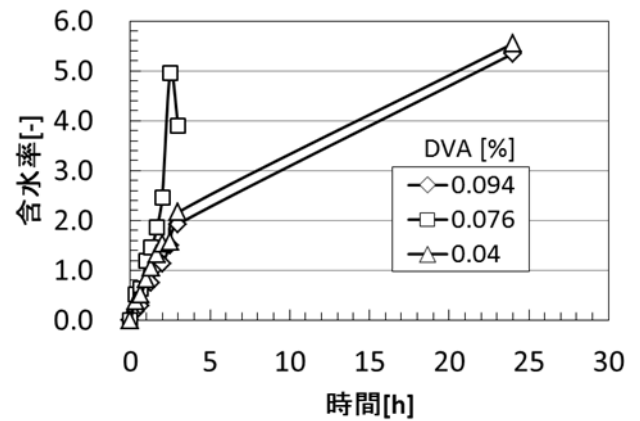


Fig. 16 含水率変化に及ぼす架橋剤 DVA 濃度の影響 (MMA/DMA=72/28)

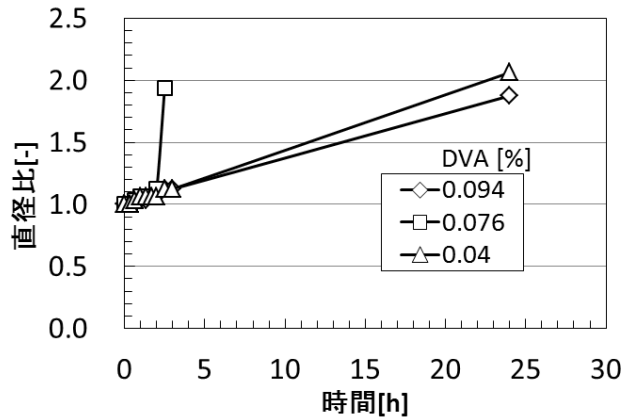


Fig. 17 直径比変化に及ぼす架橋剤 DVB 濃度の影響 (MMA/DMA=65/35)

Fig.17 に直径比変化に及ぼす架橋剤 DVB 濃度の影響を示す。この結果も含水率の結果と同様に、0.076%時には 2.5 時間経過後には分裂してしまい直径が測定不能になってしまった。

4. 結論

パルスを持つ薬剤放散システム構築を目指し、バリア膜、薬剤膜を作成し以下の知見を得た。酵素膜では膜厚の実験結果より水素イオン生成速度は、グルコースとグルコン酸の膜内拡散及び酵素反応を考慮すべきことが示唆された。GO 水溶液を用いた実験では GO のグルコン酸生成能が理論値とは大きく剥離しており最適条件を探索する必要がある。薬剤膜では、MMA/DMA 比により膨潤挙動は変化し DMA 含有率が大きいほど膨潤しやすくなり、膨潤・薬剤放散を制御できることが示された。DVB 濃度は架橋度を変化させ、膨潤挙動を大きく変化したが生じたが膨潤後に膜が分裂してしまう濃度範囲が存在した。いずれのファクターもパルス薬剤放散を実現するために、膜の分裂しない最適条件を探索する必要がある。

5. 引用・参考文献

[1] A. Gazzaniga, L. Palugan, A. Foppoli, M.E. Sangalli, Oral

- pulsatile delivery systems based on swellable hydrophilic polymers, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68 (2008) 11-18.
- [2] E.S.K. Tang, L.W. Chan, P.W.S. Heng, Coating of multiparticulates for sustained release, *American Journal of Drug Delivery*, 3 (2005) 17-28.
- [3] Gandhi S, Gosse MD, Nishii Y, Nuxoll E. Barrier-Mediated Pulsatile Release. *Journal of Membrane Science*, 495(2015) 351-360
- [4] Yasuhiro Nishii, Swapnil Gandhi, and Eric Nuxoll, Glucose-Powered Pulsatile Release, *Chemical Engineering Research and Design*, 106(2016) , 298-307
- [5] Ronald A. Siegel and Bruce A. Firestone, pH-Dependent Equilibrium Swelling Properties of Hydrophobic Polyelectrolyte Copolymer Gels, *Micromolecules*, 21(11), 1988, 3254-3259
- [6] Ronald A. Siegel, Mahmood Falamarzian, Bruce A. Firestone and Bret C. Moxley, pH-Controlled Release From Hydrophobic / Polyelectrolyte Copolymer Hydrogels, *Journal of Controlled Release*, 8(1988) 179-182
- [7] J. Varshosaz, M. Falamarzian, Drug diffusion mechanism through pH-sensitive hydrophobic/polyelectrolyte hydrogel membranes, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 51(2001) 235-240
- [8] Eric E. Nuxoll, Ronald A. Siegel, E.L. Cussler, Layered reactive barrier films, *Journal of Membrane Science* 252 (2005) , 29–36
- [9] Chuanfang Yang, Eric E. Nuxoll and E. L. Cussler, Reactive barrier films, *AIChE Journal*, Vol47, Issue 2, pp 295–302 (2001)
- [10] R.A. Siegel and E.L. Cussler, Reactive barrier membranes: some theoretical observations regarding the time lag and breakthrough curves, *Journal of Membrane Science*, 229 (2004), 33–41

