

스텐트 코팅용 생분해성 고분자의 약물 방출 특성

강혜수 · 김진설 · ¹김동운 · ²강병철 · 이봉희 · † 김범수
충북대학교 화학공학부, ¹의과대학, ²동의대학교 화학공학과
(접수 : 2003. 2. 4., 게재승인 : 2003. 4. 29.)

Drug Release Characteristics of Biodegradable Polymers for Stent Coating

Hye-Su Kang, Jin Seol Kim, Dong-Woon Kim¹, Byung Chul Kang², Bong Hee Lee, and Beom Soo Kim†
Department of Chemical Engineering, ¹College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
²Department of Chemical Engineering, Donggeui University, Pusan 614-714, Korea
(Received : 2003. 2. 4., Accepted : 2003. 4. 29.)

Biodegradable polymers, poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), poly(3-hydroxybutyrate) (PHB), and medium chain length polyhydroxyalkanoates (MCL-PHA) containing rose bengal (model drug) were coated onto the surface of stainless steel (stent materials) and their *in vitro* release characteristics were investigated. Drug release increased with; decreasing PLGA concentration, increasing rose bengal concentration, and increasing dip-coating duration. The order of drug release from the polymer coating was: PHB > PLGA > MCL-PHA. These results suggest that drug release can be controlled by; changing the concentration and type of polymer, the drug concentration, and the dip-coating duration.

Key Words : Stent coating, biodegradable polymer, drug release, PLGA, PHA

서론

스텐트 (stent)는 혈관, 위장관, 담도 등 혈액이나 체액의 흐름이 나쁠 때 좁아지거나 막힌 부위에 삽입하여 흐름을 정상화시키는데 사용되는 의료용 기기이다. 스텐트 기술은 중재술의 초기에는 90% 이상의 성공률을 보이지만, 시술 후에 내막박리, 혈전 형성 등으로 인하여 급성 혈관폐쇄 합병증 및 재협착과 같은 만성합병증이 나타나고 있어 이에 대한 대책이 시급한 실정이다. 현재 사용되고 있는 스텐트의 기술에서 나타나고 있는 상기의 문제점은 시술 상의 기술적 측면보다는 스텐트 재질의 생체적합성 및 치료제의 전달효능과 같은 스텐트 자체의 기능과 밀접한 관계를 맺고 있다. 스텐트는 높은 강도 및 우수한 신축력의 요구조건 때문에 stainless steel 등의 금속을 slotted tube 또는 coil 형태로 만들어 제조하고 있는데, 이러한 금속들은 인체와의 생체적합성이 좋지 않아 혈전이 쉽게 형성된다. 이러한 문제를 해결하고자 혈전 방지제 헤파린을 스텐트에 부착시키기 위해 저온 플라즈마 공정을 이용한 박막코팅 방법으로 스텐트의 표면을 화학적으

로 개질시키는 연구가 보고되었다(1).

약성종양이나 폐암을 치료하는데 이용되는 항암제로 잘 알려져 있는 항 microtubule 제제 paclitaxel (Taxol)은 인간의 혈관 평활근 세포의 증식과 이동을 억제하며 신생내막의 형성을 억제하는 특성이 있어 스텐트에 코팅시키는 연구가 보고되었다(2). 돼지 관상동맥에서 스텐트 과확장 손상후 스텐트 재협착에 대한 paclitaxel 국소전달요법은 전신적인 독성 없이 스텐트 내 신생내막 형성을 억제하였다는 결과도 보고된 바 있다(3).

Poly(lactic acid) (PLA), poly(glycolic acid) (PGA), poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) 등의 생분해성 고분자는 수술용 봉합사, 약물전달, 조직공학 등의 의료분야에 폭넓게 활용되어 왔으며, 스텐트에 코팅된 예도 보고되었다(4, 5). 또한 미생물이 합성하는 polyhydroxyalkanoates (PHA)는 물성이 다양하고 생분해성, 생체적합성이 우수하나 생산단가가 비싸 의료용 재료로의 활용이 제한되고 있다. 따라서 본 연구에서는 스텐트 시술후 재협착을 방지하는 약물인 paclitaxel을 포함하는 생분해성 고분자로 스텐트를 코팅하고자 하였다. 스텐트에 코팅된 생분해성 고분자 내의 약물방출 조절에 대해서는 아직까지 체계적인 연구가 수행되지 않았기 때문에 본 연구에서는 기초실험으로서 스텐트 재질인 stainless steel 판 위에 모델약물로 paclitaxel (MW = 853.9)과 분자량이 비슷한 rose bengal (MW = 1017.6)과 생분해성 고분자 PLGA,

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering,
Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
Tel : +82-43-261-2372, Fax : +82-43-269-2370
E-mail : bskim@chungbuk.ac.kr

poly(3-hydroxybutyrate) (PHB), medium chain length PHA (MCL-PHA)를 코팅하여 고분자의 농도 및 종류, 약물농도, dip-coating 시간 등에 따른 *in vitro* 약물방출 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

Rose bengal은 Sigma로부터 구입하였다. PLGA는 독일 Boeringer Ingelheim사의 RG503 (intrinsic viscosity = 0.4)을 사용하였다. 이는 D,L-lactic acid unit과 glycolic acid unit이 각각 50 mol%인 copolymer로서, 젤투파 크로마토그래피 결과 측정된 분자량은 약 34,000이었다. PHB와 MCL-PHA는 아래 방법으로 제조하였다.

PHA 제조

PHB는 *Ralstonia eutropha* (NCIMB 11599)의 회분식 배양에 의해 생산하였다(6). MCL-PHA는 *Pseudomonas oleovorans* (ATCC 29347)의 유기식 배양에 의해 생산하였다(7). 합성된 PHA를 chloroform 추출법으로 정제하였다. 배양액을 원심분리하여 균체를 모은 후 증류수로 세척하여 한번 더 원심분리시켰다. 동결건조기에서 24 h 이상 건조한 후 동결 건조된 균체 1 g 당 chloroform 100 ml를 가하여 상온에서 교반시키면서 24 h 동안 추출하였다. 여과하여 세포찌꺼기를 제거한 후 고분자가 용해된 투명한 여액을 메탄올에 침전시켰다. 침전된 PHA를 회수하여 동결건조시켰다. ¹H NMR 및 기체크로마토그래피 분석 결과, PHB는 homopolymer, MCL-PHA는 92 mol%의 3-hydroxyoctanoate unit과 8%의 3-hydroxycaproate unit으로 이루어진 copolymer 임이 밝혀졌다.

Dip-coating 및 *in vitro* 방출

본 연구는 *in vivo* 실험을 위한 기초 실험으로서 스텐트가 고가인 점을 고려하여 같은 재질의 stainless steel을 사용하였다. Rose bengal을 에탄올에 0.5 - 2% (w/v) 되도록 녹이고 생분해성 고분자를 chloroform에 3.5 - 7% (w/v) 되도록 녹여 두 용액을 섞었다. Stainless steel 판 (7 mm x 7 mm)을 상기 용액에 1회에 10 - 60 sec 동안씩 2회 담가 dip-coating시켰다. 하루 이상 건조시켜 용매를 증발시킨 후, 100 mL phosphate buffered saline (PBS) 용액을 포함하는 250 ml 용기 안에 코팅된 stainless steel 판을 넣어 37°C에 방치하였다. 적당한 시간간격으로 샘플을 취하여 방출된 rose bengal의 양을 알기 위해 spectrophotometer를 이용, λ_{max}인 544 nm에서 흡광도를 측정하였다. 모든 실험은 세 번씩 수행하여 평균값을 나타내었다.

결과 및 고찰

Fig. 1은 스텐트 재질인 stainless steel 표면에 rose bengal 1%를 포함한 PLGA 7% 용액을 dip-coating 하여 PBS 용액에서 15일 동안 약물 방출 후 찍은 사진이다. 염색약으로 이용되는 rose bengal이 코팅되어 붉은 색을 나타내고 있음을 알 수 있으며, 사진에서 희게 보이는 부분은 약물이 방출된

흔적을 나타낸다. Fig. 2는 Fig. 1을 1000배 확대한 SEM 사진으로 PLGA 가운데 묻혀 있던 rose bengal이 방출되고 PLGA가 일부 분해되어 생긴 구멍을 확인할 수 있다.

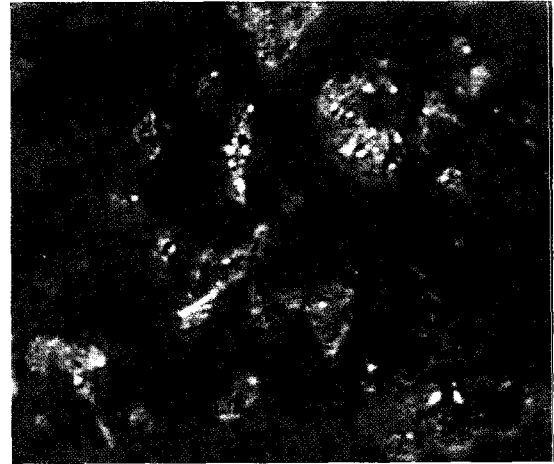


Figure 1. Photograph of PLGA containing rose bengal coated onto the surface of stainless steel (stent materials) after 15 days drug release in PBS solution.

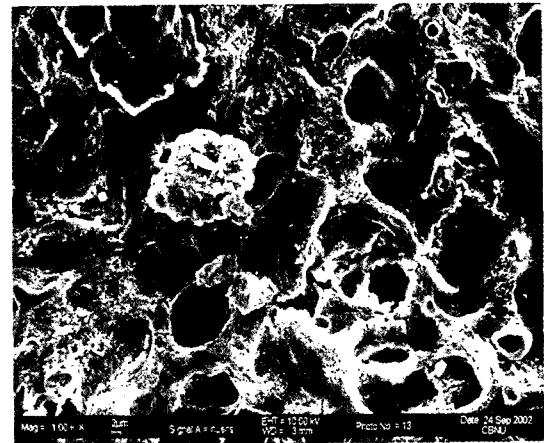


Figure 2. SEM photograph of Fig. 1 (1,000 X).

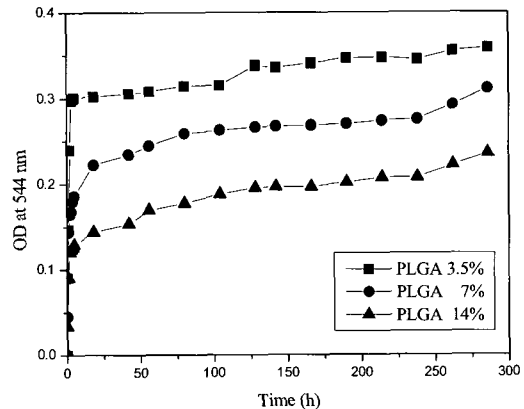


Figure 3. Effect of polymer concentration on *in vitro* drug release. (rose bengal concentration = 1%, dip-coating duration = 60 sec)

Fig. 3은 생분해성 고분자 PLGA의 농도에 따른 약물의 방출형태를 나타낸다. 약물농도와 dip-coating 시간은 각각 1%와 60 sec (30 sec x 2회)로 고정하고 PLGA 농도를 3.5, 7, 14%로 변화시켜 약물방출 특성을 고찰하였다. 약물방출은 초기 burst 후에 서서히 증가하였으며, PLGA 농도가 증가할수록 감소하였다. 이는 약물방출을 고분자 농도에 따라 조절할 수 있음을 나타낸다. 이러한 현상은 고분자 농도가 높을수록 약물전달매체의 밀도가 높아지는데 기인하는 것으로 생각된다. 약물전달매체의 농도가 증가할수록 약물방출이 감소하는 현상은 커들란 젤에서 bovine serum albumin의 방출에서도 관찰된 바 있다(8).

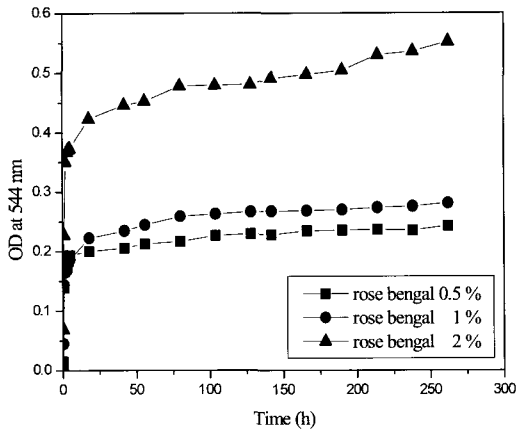


Figure 4. Effect of drug concentration on in vitro drug release. (PLGA concentration = 7%, dip-coating duration = 60 sec)

Fig. 4는 약물농도에 따른 방출형태를 나타낸다. PLGA의 농도와 dip-coating 시간을 각각 7%와 60 sec로 고정하고 약물농도를 0.5, 1, 2%로 변화시켜 약물방출 특성을 고찰하였다. 전체적인 방출형태는 Fig. 3과 유사한 형태를 나타냈다. 즉, 초기에 표면에 붙어 있던 약물방출에 의한 burst에 이어 고분자 내의 약물의 확산과 고분자의 분해에 의해 약물방출이 서서히 증가하였다. 또한 약물농도가 증가할수록 약물방출이 증가하였다. 이는 고분자 매체 내의 상대적인 약물 함유량이 높기 때문으로 생각된다. 이 결과는 고분자 농도 외에도 약물농도를 변화시켜 약물방출을 조절할 수 있음을 보여준다.

Fig. 5는 dip-coating 시간에 따른 약물방출형태를 나타낸다. PLGA의 농도와 약물농도를 각각 7%와 1%로 고정하고 dip-coating 시간을 20, 60, 120 sec로 변화시켰다. Dip-coating 시간이 길수록 초기 표면에 붙어 있는 약물 양이 많아 방출이 증가한 것으로 추측된다.

Fig. 6은 생분해성 고분자의 종류에 따른 약물방출형태를 나타낸다. 고분자 농도, 약물농도, dip-coating 시간은 각각 7%, 1%, 60 sec로 고정시켰다. PHB의 약물방출속도가 가장 높았고, 다음으로 PLGA, MCL-PHA의 순서였다. 고분자의 친수성/소수성 정도, 결정화도, 분자량, 분해속도, 약물과의 친화력 등이 약물방출속도에 복합적으로 영향을 주기 때문에 위의 결과를 명확히 설명하기 힘들다. 단, 미생물 합성 고분

자 중 상대적으로 친수성이 큰 PHB가 MCL-PHA보다 약물 방출속도가 더 높았다.

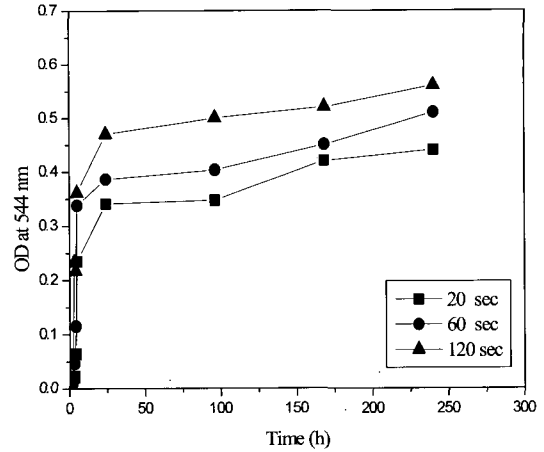


Figure 5. Effect of dip-coating duration on in vitro drug release. (PLGA concentration = 7%, rose bengal concentration = 1%)

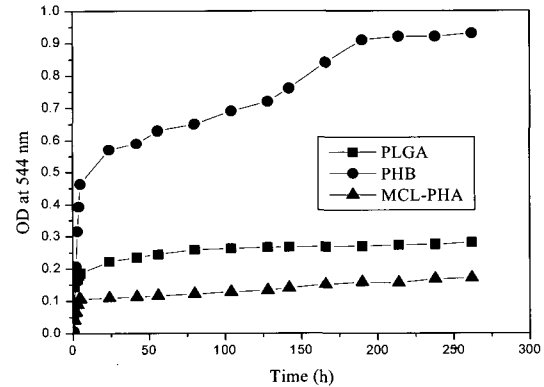


Figure 6. Effect of polymer type on in vitro drug release. (polymer concentration = 7%, rose bengal concentration = 1%)

van der Giessen 등 (5)은 PLGA, polycaprolactone, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), polyorthoester, polyethylene oxide/polybutylene terephthalate 5종류의 생분해성 고분자와 polyurethane, silicone, polyethyleneterephthalate 3종류의 비분해성 고분자를 스텐트에 코팅하여 돼지 관상동맥에 삽입한 후 생체적합성을 평가하였으나, in vitro test에서는 관찰되지 않은 염증반응과 혈전이 발생하였다. 이들은 고분자 자체의 생체 부적합성, 생분해 물질의 독성, 삽입물의 geometry 등을 실패의 이유로 들었다. 반면 Alt 등 (4)은 hirudin과 iloprost 등의 약물이 방출되는 생분해성 고분자 PLA를 10 μm의 두께로 스텐트에 코팅하여 양과 돼지 모델에서 반응을 조사한 결과, 코팅되지 않은 경우보다 재협착이 감소됨을 보고하였다. PLA, PLGA, PHA 등 생분해성 고분자는 생체적합성이 우수하여 의료분야에 폭넓게 활용되어 왔으므로 paclitaxel과 같은 약물과 함께 스텐트에 코팅하여 방출

속도를 조절할 경우 재협착을 방지하고 치료하는데 긍정적인 역할을 할 것으로 기대된다. 이상과 같이 생분해성 고분자의 농도 및 종류, 약물농도, dip-coating 시간 등을 변화시켜 약물방출속도를 조절할 수 있음을 알았으며, 본 결과는 향후 paclitaxel을 포함한 생분해성 고분자가 코팅된 스텐트의 *in vivo* test에 활용될 수 있을 것이다.

요 약

스텐트 재질인 stainless steel 표면에 모델 약물인 rose bengal을 포함한 생분해성 고분자 PLGA, PHB, MCL-PHA를 코팅하여 약물방출 특성을 조사하였다. PLGA의 농도가 낮을수록, rose bengal의 농도가 높을수록, dip-coating 시간이 길수록 약물방출이 증가하였으며, PHB > PLGA > MCL-PHA의 순서로 약물이 빨리 방출되었다. 이는 생분해성 고분자의 농도 및 종류, 약물의 농도, dip-coating 시간 등을 변화시켜 약물방출을 조절할 수 있음을 나타낸다.

감 사

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (R05-2001-000-01196-0) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Choi, W. J., M. H. Jeong, and D. L. Cho (1999), Fabrication of heparin grafted stent by low temperature plasma process, *Theo. Appl. Chem. Eng.* **5**, 4169-4172.
2. Heldman, A. W., L. Cheng, G. M. Jenkins, P. F. Heller, D.-W. Kim, M. Ware, C. Nater, R. H. Hruban, B. Rezai, B. S. Abella, K. E. Bunge, J. L. Kinsella, S. J. Sollott, E. G. Lakatta, J. A. Brinker, W. L. Hunter, and J. P. Froehlich (2001), Paclitaxel stent coating inhibits neointimal hyperplasia at 4 weeks in a porcine model of coronary restenosis, *Circulation* **103**, 2289-2295.
3. Cha, K. W., M. H. Jeong, S. U. Lee, C. S. Cho, S. B. Joo, N. H. Kim, K. H. Kim, J. H. Cho, S. H. Kim, Y. K. Ahn, J. G. Cho, J. H. Lee, C. S. Park, J. C. Park, and J. C. Kang (2000), The effects of local delivery of paclitaxel nanoparticle on porcine coronary stent restenosis, *Kor. Circulation J.* **30**, 208-220.
4. Alt, E., I. Hachnel, C. Beilharz, K. Prietzel, D. Preter, A. Stemberger, T. Flidner, W. Erhardt, and A. Schömig (2000), Inhibition of neointima formation after experimental coronary artery stenting: A new biodegradable stent coating releasing hirudin and the prostacyclin analogue iloprost, *Circulation* **101**, 1453-1458.
5. van der Giessen, W. J., A. M. Lincoff, R. S. Schwartz, H. M. M. van Beusekom, P. W. Serruys, D. R. Holmes, S. G. Ellis, and E. J. Topol (1996), Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries, *Circulation* **94**, 1690-1697.
6. Kim, B. S., S. C. Lee, S. Y. Lee, H. N. Chang, Y. K. Chang, and S. I. Woo (1994), Production of poly(3-hydroxybutyric acid) by fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with glucose concentration control, *Biotechnol. Bioeng.* **43**, 892-898.
7. Kim, B. S. (2002), Production of medium chain length polyhydroxyalkanoates by fed-batch culture of *Pseudomonas oleovorans*, *Biotechnol. Lett.* **24**, 125-130.
8. Kim, B. S., I. D. Jung, J. S. Kim, J.-h. Lee, I. Y. Lee, and K. B. Lee (2000), Curdlan gels as protein drug delivery vehicles, *Biotechnol. Lett.* **22**, 1127-1130.