

폴리에틸렌 옥사이드—실리콘 Segment Device에서 헤파린 용출

金 成 鎬

조선대학교 약학대학

(Received November 4, 1986)

Heparin Release from Polyethyleneoxide-Polydimethylsiloxane Devices

Sung Ho Kim

College of Pharmacy, Cho-Sun Univ ersity., Gwangju 500, Korea

Abstract—The release of heparin from monolithic devices composed of different ratios of polyethylene oxide(PEO MW 20,000) and polydimethylsiloxane was investigated. Water soluble PEO plended into the polydimethylsiloxane proved a controlled release of heparin. The release rate of heparin could be controlled by varying the content of PEO and loading dose of heparin. The release rate of heparin from the devices increased as the content of PEO and heparin in the devices increased. The releaase rate of heparin from devices were related to nature of solute(ionic strength) and temperature. The release mechanism may be associated with the creation of pore or domine through the devices the water-uptake and the change in the physical structure of the polydimethylsiloxane network.

인공장기에 사용하는 의용재료인 고분자화합물들은 현재 혈액에 대한 적합성과 혈전성이 주로 문제되고 있다. 이와 같은 문제를 해결하고자 많은 연구자들이 연구를 계속하고 있다. 즉, 고분자 자체의 성질 때문에 일어나는 혈액응고를 방지하기 위하여 고분자막의 표면성질을 변화 시키거나 또는 새로운 고분자 재료를 개발한다. 또 약학적 측면에서는 항혈액응고제, 항혈소판제로 사용하는 헤파린, 헤파린—알부민 복합체, 그리고 여러 헤파린분획을 의용재료로 이용할 수 있는 고분자에 분산¹⁾, 흡수²⁾, 이온결합^{3~5)}, 공유결합^{6~11)}시켜 헤파린의 약효를 얻을 수 있었다. 특히 분산하는 조건에 따라서 헤파린의 방출량을 조절할 수 있으며 의용재료인 실리콘 segment에서 약물의 방출은 소수성 또는 비이온성 약물로 제한되어 있으나¹²⁾ 글리세롤, 폴리에틸렌글리콜 NaCl, alginate-Na과 같은 친수성 부형제를 실리콘 segment에 분산시켜 morphine sulfate¹³⁾, sulfanilamide¹⁴⁾, heparin-Na¹⁵⁾, 5-fluorouracil¹⁶⁾ 등의 방출량을 증가시켰다.

그러나, 실리콘 segment에서 지속적인 혈액의 항응고 작용을 얻기 위해서는 임계항응고 농도¹⁷⁾ 이상의 헤파린 방출농도를 지속시키는 것이 필요하다.

이 연구의 목적은 수용성 polyethyleneoxide (PEO, MW 200,000)를 실리콘 segment에 분산시켜 *in vitro*에서 헤파린의 임계항응고농도를 지속적으로 유지시키고자 하는 것이다.

실 험

실험재료 및 기기—실리콘 segment(polydimethylsiloxane)(Dow Corning 사), stannous octoate(Dow Corning 사), polyethylene oxide(PEO MW 20,000)(Sigma Chem 사), CHCl₃(Fisher scientific 사), 200 mesh체 만을 통과한 heparin-Na [porcine intestinal mucosal heparin(Diosynth 사)]을 사용하였으며 기기로서는 Lambda UV/Vis 스펙트로포토메타(perkin-Elma 사)을 사용하였다.

실험방법—실리콘 segment devices(이하 SD로

약함)는 실온에서 폴리에틸렌板 위에서 경화하여 만들었으며 개시제로서는 stannous octoate를 전체량 5g에 2방울을 사용하였다. 경화하기에 앞서, 일정량의 PEO를 클로르포름에 용해한 다음 일정량의 실리콘 segment에 넣어 교반하여 균일한 혼합물을 얻은 다음 클로르포름을 진공건조기 안에서 완전하게 제거하고 헤파린을 균일하게 분산하여 개시제를 첨가하고 진공건조기(20mm Hg)를 이용하여 시료안의 공기를 제거하고 순수한 실리콘으로만 제조한 膜위에서 일정한 두께로 상온에서 24시간 동안 경화시켰다.

이 device들의 헤파린 방출실험은 일정한 온도(24±1°C와 36±1°C)에서 시행하였으며 용매는 탈이온수와 생리식염수의 용액을 사용하였으며 70ml의 용매를 100ml의 비이커에 넣고 device들은 닉켈-크롬전을 이용하여 고정하였으며 경계효과를 제거하기 위하여 용매를 1600rpm으로

계속 교반하였고 신선한 용매를 일정한 간격으로 교환하였다.

헤파린 방출량을 측정하기 위해서, 시료 0.6 ml.씩 취한 후 즉시 동량의 용매를 추가하여 일정량을 유지시켰다. 채취한 시료를 Hurst 등의 방법¹⁸⁾에 따라서 655nm에서 용매를 대조로하여 방출된 헤파린 양을 측정하였다. 위의 모든 실험은 반복하여 시행하였다.

실험결과 및 고찰

헤파린 방출량은 매트릭스내의 PEO의 함량에 따라서 변하며 함수율도 PEO 함량에 따라서 변하고 있다. monolithic device에서 약물의 방출량은 약물의 초기 loading dose에 의한다는 것은 매우 잘 알려져 있으며 헤파린 방출에 미치는 헤파린과 PEO 함량에 대한 실험결과는 Fig. 1과 2에 나타냈다.

소수성 매트릭스에 분산된 PEO는 함수율을 증가시키며 높은 함수율은 매트릭스안에 분산된 헤파린의 용해를 촉진하게 된다. 水和된 매트릭

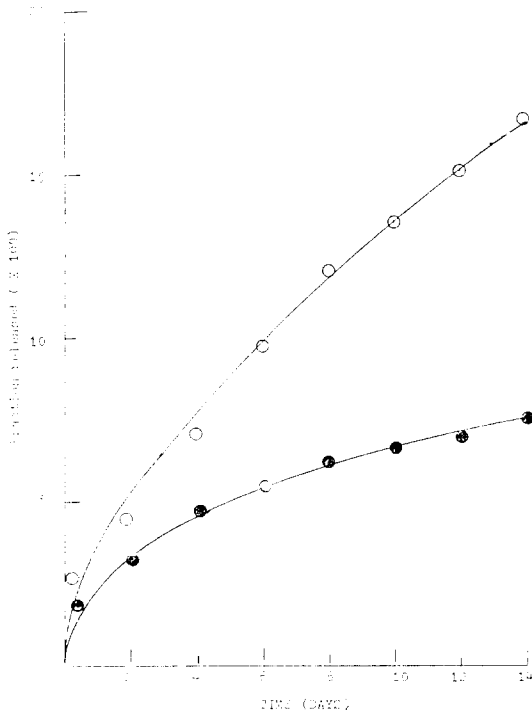


Fig. 1-Fractional release of heparin released in physical saline solution from silicone segment matrices with different heparin and different PEO loading.

○ : 5% heparin-20% PEO, ● : 10% heparin-15% PEO

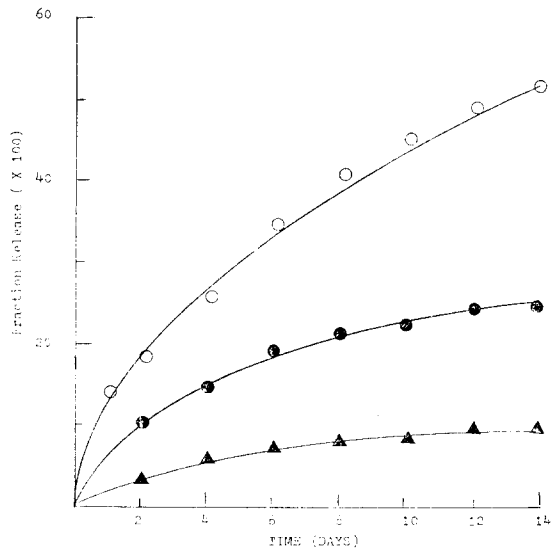


Fig. 2-Fractional release of heparin released in deionized water from silicone segment matrices with different heparin and different PEO loading.

▲ : 5% heparin-20% PEO, ● : 10% heparin-15% PEO, ○ : 10% heparin-20% PEO.

스는 새로운 細孔(pore)을 형성하여 헤파린의 확산을 촉진한 것으로 보인다.

헤파린방출에 미치는 용매의 영향을 Table I 과 II에 나타냈다.

생리식염수에서 헤파린 방출량은 5% 헤파린—20% PEO—75% 실리콘 SD에서 $11.566 \times 10^{-1} \text{mg/cm}^2$ 이고 10% 헤파린—15% PEO—75% 실리콘 SD에서는 $4.232 \times 10^{-1} \text{mg/cm}^2$ 으로서 방출율이 63.41% 감소하고 있으며 함수율도 감소하고 있다. 한편, 탈이온수에서 10%헤파린—15% PEO—75% 실리콘 SD는 $15.340 \times 10^{-1} \text{mg/cm}^2$ 인 반면에 5% 헤파린—20% PEO—75% 실리콘 SD는 $16.610 \times 10^{-1} \text{mg/cm}^2$ 로서 10% 헤파린—15% PEO—75% 실리콘 SD와 비교하면 헤파린 방출량이 108.28% 증가하고 10% 헤파린—20% PEO—70% 실리콘 SD에서는 35.740mg/cm^2 로서 10% 헤파린—15% PEO—75% 실리콘 SD와 비교하면 232.96%가 증가하고 있으며 5% 헤파린—20% PEO—75% 실리콘 SD와 비교하면 215.17%가 증가하고 있다.

이상의 실험결과에 의하면 탈이온수와 생리식염수의 용매에서, 실리콘 SD의 헤파린 방출량은 헤파린의 loading dose 보다 補溶媒(PEO)의

loading dose 의존성을 보이고 있으나 특히 생리식염수 용매에서, 용매의 이온강도로 인하여 PEO와 물사이의 상호결합이 억제되어 함수율과 헤파린 방출량이 낮은 값을 나타내는 것으로 보인다.

용매의 온도가 헤파린의 방출에 미치는 영향은 10% 헤파린—20% PEO—70% 실리콘 SD의 헤파린의 방출량이 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 $35.740 \times 10^{-1} \text{mg/cm}^2$ 이고 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 $23.700 \times 10^{-1} \text{mg/cm}^2$ 의 값을 나타내고 있으며 용매의 온도가 상승함에 따라서 방출량과 SD의 함수율이 감소하고 있다.

소수성실리콘 SD에서 헤파린의 방출과 device의 물의 함수율은 용매와 용매의 온도 간에 밀접한 관계를 나타내고 있다.

Polson¹⁹⁾과 Graham 등²⁰⁾에 의하던 PEO와 물사이에서의 상호결합은 PEO농도의 증가에 따라서 증가하는 反面에 온도가 증가하던 상호결합은 감소한다. 이와같이 PEO-물의 상호결합에 의해서 PEO자체는 random coil을 형성하여 구조적변화가 일어나며 PEO內에 분산되어 있는 헤파린은 수용액 중에서 PEO의 random coil 구조안으로 확산되어 있게 되며 device가 물을 흡수함으로써 분산된 헤파린과 PEO가 응해되면서

Table I—Effect of heparin and PEO loading on silicone segment in physiological saline solution at 24°C .

Heparin loading(%)	PEO loading(%)	Heparin fraction ^{a)} released(%)	Cumulative total ^{b)} amount of released(mg/cm ²)	Water fraction ^{c)} (%)
5	20	16.75	11.566×10^{-1}	29.74
10	15	7.42	4.232×10^{-1}	15.50

- a) $\frac{\text{weight of released heparin}}{\text{initial loading dose}} \times 100$, b) cumulative amount of released heparin per initial surface area,
 c) $\frac{\text{wet weight} - \text{dry weight}}{\text{dry weight}} \times 100$. * All matrices were released for 14 days.

Table II—Effect of heparin and PEO loading on silicone segment in deionized water at 24°C .

Heparin loading(%)	PEO loading(%)	Heparin fraction released(%)	Cumulative total amount of released(mg/cm ²)	Water fraction (%)
5	20	25.62	16.610×10^{-1}	31.4
10	15	9.69	15.340×10^{-1}	18.9
10	20	54.74	35.740×10^{-1}	47.1

* All matrices were released for 14 days.

Table III—Effect of temperature on 10% (w/w) heparin—20% (w/w) PEO—70% (w/w) silicone segment device in deionized water.

Temp.	Heparin fraction released (%)	Cumulative total amount of released (mg/cm ²)	Water fraction (%)
24°C	54.74	35.740 × 10 ⁻¹	47.10
36°C	33.65	23.700 × 10 ⁻¹	39.60

* All matrices were released for 14 days.

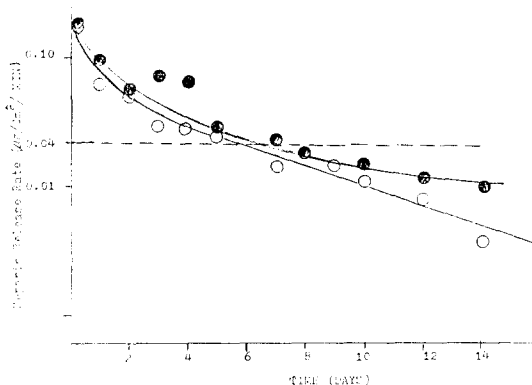


Fig. 3—Release rate of heparin released in different solution from silicone segment matrices.

- = 10% heparin—15% PEO were released in deionized water.
- = 10% heparin—15% PEO were released in physiological saline solution.

細孔 또는 domine을 형성하게 된다. 고분자 devices에서 약물방출의 특성은 함수율과 밀접한 관계를 가지고 있기 때문에 소수성 고분자에서 헤파린 방출 조절에 補溶媒로서 PEO을 이용할 수 있다.

10% w/w 헤파린—15% w/w PEO—75% w/w 실리콘 SD의 방출율을 Fig. 3에 나타냈다. 고분자에서 헤파린의 임계항응고농도는 $4 \times 10^{-2} \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 이며¹⁷⁾ 생리식염수와 탈이온수의 용매에서 헤파린 방출율을 약 6일 정도 지속시킬 수 있었다.

실리콘 segment에 헤파린과 PEO의 분산량을 조절함으로써 헤파린 방출량을 조절할 수 있으며 헤파린/PEO/실리콘 segment을 항혈액응고 재료 (biomaterial)로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

결론

補溶媒로 이용된 PEO와 소수성 실리콘 SD에 분산되어 있는 헤파린 방출량은 PEO와 H₂O간의 상호작용에 의한 PEO의 수화에 의한 것으로 생각된다.

PEO/실리콘 SD에 분산된 헤파린 방출량은 헤파린과 PEO의 loading dose, 용매의 이온강도 및 온도에 의한 영향을 받는다.

헤파린/PEO 20,000/실리콘 SD에서 헤파린의 임계항응고농도 ($0.04 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)를 장시간 유지시키기 위해서는 헤파린과 PEO의 loading dose를 증가시켜야 할 것이다. *in vivo*에서 헤파린의 방출 기구에 대한 보다 많은 연구가 요구되며 장시간의 항혈전성 작용이 있을 것으로 기대된다.

문헌

- 1) Kim, S.W., Ebert, C.D., Lin, J.Y. and McRea: J.C., Nonthrombogenic polymer: Pharmaceutical approaches, *ASAIO*, **6**, 76-87 (1980).
- 2) Hennick, W.E., Dost, L., Feijen, J. and Kim, S.W.: Interaction of albumin-heparin conjugate preadsorbed surface with blood, *Trans. ASAIO*, **29**, 200-205 (1983).
- 3) Leininger, R.I., Cooper, C.W., Falb, R.D., and Grode, G.A.: Nonthrombogenic plastic surfaces, *Science*, **152**, 1625-1626 (1966).
- 4) Mori, Y., Nagaoka, S., Masubuchi, Y. Itoga, M. Tanzawa, H., Kikuchi, T., Yamada, Y., Yonaha, T. Watanabe, H. and Idezuki, Y.: The effect of released heparin from the heparinized hydrophilic

- polymer on the process of thrombus formation, *Trans. ASAIO*, **24**, 736-745 (1978).
- 5) Larson, R.L., Hjelte, M.B., Erikson, J.C., Lagergren, H.R. and Olsson, P.: The stability of glutaraldehydestabilized³⁵ heparinized surfaces in contact with blood, *Throm. Haemostas.*, **37**, 262-273 (1977).
 - 6) Schmer, G.: The biological activity of covalently immobilized heparin, *Trans. ASAIO*, **18**, 321-324 (1972).
 - 7) Labarre M. and Jozefowicz, M.: Properties of heparinpoly (methymethacrylate) copolymers. II., *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 283-295 (1977).
 - 8) Lindon, J., Rosenberg, R., Merrill, E. and Salzman, E.: Inactivation of human platelets with heparinized agarose gel, *J. Lab. Clin. Med.*, **91**, 47-59 (1978).
 - 9) Miura, Y., Aoyagi, S., Kusada, Y. and Miyamoto, K.: The characteristics of anticoagulation by covalently immobilized heparin, *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**, 619-630 (1980).
 - 10) Larsson, R. Olsson, P. and Lindahl, U.: Inhibition of thrombin on surface coated with immobilized heparin and heparin-like polysaccharides; A crucial nonthrombogenic principle, *Throm. Res.*, **19**, 43-54 (1980).
 - 11) Goosen M.F.A. and Sefton, M.V.: Properties of a heparinpolyvinyl alcohol hydrogel coating, *J. Biomed. Mater. Res.*, **17**, 359-374 (1983).
 - 12) Langer R. and Folman, J.: Sustained release of macromolecules from polymer, in: R.J. Kostlink (Ed.) *Polymeric Delivery Systems*, Midland macromolecular monographs vol. 5, Gordon and Breach Science pub., N.Y., pp.175-196 (1978).
 - 13) McGinity, J.W., Hunk, L.A. and Combe, A.B.: Effect of water soluble carries on morphine-sulfate release from silicone rubber, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 662-664 (1979).
 - 14) Dicolo, G., Carelli, V., Mannipier, E., Serafin, M. F., Vitale, D. and Bottari, F.: Effect of different watersoluble additives on the sustained release of sulfanilamide from silicone rubber matrices, *IL Farmaco*, **37**, 377-389 (1982).
 - 15) 金成鎬, 실리콘 segment device로 부터의 헤파린放出에 미치는 폴리에틸렌글리콜의 影響, 藥學會誌, **29**, 70-75 (1985).
 - 16) 金成鎬, 崔俊植, 白采善, 劉永鍾, 李治榮, 抗癌劑劑形開發에 관한 研究: Silicone rubber—水溶性添加劑의 Device에서 5-Fluorouracil의 溶出, 약제학회지, **16**, 1-7 (1986).
 - 17) Tanzawa, H., Mori, Y., Harmiya, N., Miyama, H. Hori, M., Ohshima, N. and Idezuki, Y.: Preparation and evaluation of a new nonthrombogenic heparinized hydrophilic polymer for use in cardiovascular systems, *Trans. Am. Artif. Intern. Organs*, **14**, 188-194 (1973).
 - 18) Hurt R.E. and Setine, J.M.: An accurate colorimetric method of measurement of sulfaminohoxose in heparin sulfates, *Ann. Biochem.*, **115**, 88-92 (1981).
 - 19) Polson, A. A theory for the displacement of protein and virus with polyethylene glycol, *Preparative Biochem.*, **7**, 129-154 (1977).
 - 20) Graham, N.B., Nwachuku, N.E. and Walsh, D.J.: Interaction of poly(ethylene oxide) with solvent: I. preparation and swelling of crosslinked poly(ethylene oxide) hydrogel, *Polymer*, **33**, 1345-1349 (1982).