

약물방출스텐트의 약물 방출 특성 평가 방법 개발

송정민 · 백홍 · 이승영 · 장동혁 · 서무엽 · 박길중 · 맹은호

한국화학융합시험연구원 의료기기본부 의료용품팀

Development of Evaluation Method for Drug Release Properties in Drug Eluting Stent

J. M. Song, H. Baek, S. Y. Lee, D. H. Jang, M. Y. Seo, G. J. Park and E. H. Maeng

Medical Device Team, Medical Device Assessment Headquarter, Korea Testing & Research institute

(Received March 12, 2013. Accepted May 29, 2013)

Abstract: The goal of this study is to develop test method for evaluating the drug eluting properties of drug eluting stents (DES). PBS and the detergent solutions, presented by each DES manufacturer, were used for drug release of DES coated with paclitaxel, zotarolimus and everolimus. The drugs which are coating DES were not released by PBS but released by the detergent solutions, finally paclitaxel 83.38%, zotarolimus 103.85% and everolimus 115.78%. It seems that the use of the detergents is necessary in order to release the drugs because those drugs are extremely hydrophobic. In conclusion, using of detergent solutions presented by each manufacturer were suitable for evaluating the drug eluting property of drug eluting stent.

Key words: Drug eluting stent, drug release, detergent

1. 서 론

스텐트란, 금속 또는 플라스틱으로 된 그물망의 튜브로서 전달시스템(카테터)에 의해 혈관이나 소화기 등의 좁아진 곳에 넣어서 관 내의 흐름을 좋게 하는 의료기기이다. 스텐트 디자인에 따라서 다음의 종류로 구분할 수 있는데, 기본적인 금속만으로 이루어진 금속스텐트(Bare Metal Stent)와, 재협착을 방지하기 위해 금속스텐트에 항암제 계열의 약물을 코팅한 약물방출스텐트(Drug Eluting Stent, DES)가 있으며, 2008년 기준 국내 시장의 경우 전체 스텐트 사용 비율 중 90% 이상을 약물방출스텐트가 차지하고 있다[1-3].

하지만 이러한 상황에도 불구하고 USP나 EP에서 약물방출스텐트의 평가에 관한 전문적인 시험방법은 제시되어 있지 않고 있다[4]. 학술활동을 보면, 2002년 consensus group에 의해 발표된 논문에서 약물방출스텐트의 약물방출 특성을 평가하기 위해서는 37°C의 온도에서 스텐트가 PBS에 완전히 잠기는 조건에서 적절한 교반이 있어야 약물방출스텐트의 약물방출 특성을 평가할 수 있다고 기술하고 있다[5]. 또한 다른 연구들에서도 PBS를 통해서 약물방출 특성을 평가하였다고 발표하였다[6-9].

일반적인 의료기기는 동일한 성능을 나타내게끔 제조되고 판매된다. 예를 들어, 치과용 임플란트는 시장에서 판매되는 모든 제품이 동일한 기준의 내구성을 갖도록 요구되고, 주사기나 주사침의 경우에도 동일한 성능과 생물학적 안전성을 갖도록 요구된다. 하지만, 시중에 판매되고 있는 약물방출스텐트의 약물방출 특성은 동일하지 않다. 각 약물방출스텐트는 코팅된 약물의 종류도 다를 뿐 더러 약물방출패턴과 약물이 방출되는 기간, 약물 총 함량, 약물밀도 등의 특성도 완전히 다르다. 따라서 본 연구에서는 시중에 판매되는 약물방출스텐트의 약물방출 특성을 평가하는 방법을 개발하고

Corresponding Author : Eun-Ho Maeng
(415-871) 7-6, Gomak-Ri, Wolgot-Myun, Gimpo-Si, Gyunggi-Do, Korea
Medical Device Assessment Headquarter, KOREA TESTING & RESEARCH INSTITUTE
TEL: +82-31-999-3181 / FAX: +82-31-999-3005
E-mail : mvirus@ktr.or.kr

본 연구는 2012년도 식품의약품안전평가원 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(12172미래평554)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

자 하는데, 위와 같이 각기 다른 성능과 특성을 나타내도록 설계되고 제조된 약물방출스텐트의 약물방출 특성을 평가하는 방법으로써 PBS만을 사용하여 연구하는 것이 타당한지를 간단한 실험을 통해서 살펴보고, 약물방출스텐트의 약물 방출 특성을 평가하는 방법을 개발하고자 한다.

II. 시험방법 및 결과

1. 시료의 선정

약물방출스텐트에 사용되는 약물의 종류는 크게 Paclitaxel 계열과 sirolimus계열이 있다. 따라서 본 연구의 시료를 선정함에 있어 두 종류의 약물을 반드시 포함하게끔 설정하였다. Paclitaxel을 사용한 심혈관 스텐트인 A sample과 (24 mm × 2.50 mm) 담관용 스텐트인 B sample(60 mm × 10 mm), sirolimus 계열의 약물인 zotarolimus를 사용한 심혈관용 스텐트인 C sample과(30 mm × 3.0 mm) everolimus를 사용한 심혈관용 스텐트인 D sample을(20 mm × 3.50 mm) 선정하였다. 선정된 모든 시료는 고분자가 함께 코팅되어 있는 스텐트이며, 모든 시험은 3개의 시료를 사용하여 평균과 표준오차를 구하였다.

2. PBS 약물 방출시험

자동용출기(VK-7025, Varian)에 200 mL PBS(GIBCO)를 넣고 각 vessel에 약물방출스텐트 A, C, D sample을 넣었다. 37°C에서 50rpm의 속도로 6시간동안 약물방출시험을 하였으며 1, 3, 6시간째에 5 mL씩 sampling 하였다.

3. Detergent solution 약물 방출 시험

갈색 유리 vial에 아래에 제시된 detergent가 포함된 solution을 넣고 각 시간간격마다 sampling 을 하였다. B sample의 경우는 0.1% Tween 20 in PBS(pH 7.4) solution을 3 mL 넣고 3일 간격으로 sampling하였으며, C sample의 경우는 0.4% SDS in 10mM Tris buffer (pH 6.0) solution을 3 mL 넣고 1일 간격으로 sampling을 하였으며, D sample의 경우는 0.7% Triton X-405 in 10 mM potassium phosphate buffer(pH 6.0) solution을 10 mL 넣고 1, 3, 6, 9, 24, 48시간에 sampling을 하였다. 위 solution은 각 스텐트의 제조사에서 약물방출 특성 연구 목적으로 사용하고 있는 solution이다.

4. 약물 정량

약물의 분석에는 HPLC system을 사용하였으며 (Waters 2695 alliance, C18 column) gradient조건을 사용하여 분석하였다. 이때 사용한 mobile phase는 10 mM ammonium acetate와 acetonitrile이며 paclitaxe은 230 nm,

everolimus와 zotarolimus는 277 nm에서 분석하였다. 본 연구에 사용한 standard는 paclitaxel, Sigma T7191; zotarolimus, Abbott ABT-578; everolimus, Sigma 07741 이다.

III. 결과분석

1. PBS 약물 방출 시험

약물방출스텐트는 혈관이나 담관 등의 인체내에 삽입되는데, 이는 곧 약물방출스텐트가 약물을 방출하는 조건은 pH 7.4의 PBS라고 볼 수 있다. 따라서 본 연구에서는 약물방출스텐트가 PBS에서 방출이 되어야 한다고 판단하고, 인체내의 환경을 단순하게 모의한 pH 7.4의 PBS, 37°C의 조건에서 약물방출스텐트에 코팅되어 있는 약물 성분이 방출될 것이라고 가정하였다. 하지만 PBS만으로 약물을 방출시켰을 때, 세 가지의 약물방출스텐트 모두에서 약물이 검출되지 않았으며(표 1), 0.1 mg/L의 분해능을 가지고 있는 분석장비의 특성으로 보아 코팅된 약물이 방출되지 않았음을 알 수 있었다. 이는 paclitaxel과 sirolimus계열의 약물이 소수성이기 때문에 PBS에서는 녹지 않는 것으로 보인다.

2. Detergent 약물 방출 시험

인체는 물로 구성되어 있기 때문에 소수성 약물이 방출될 수 없을 것이라고 추정되지만, 체액, 특히 혈액에는 지용성 성분이 포함되어 있기 때문에 약물방출스텐트의 소수성 약물이 방출 될 수 있을 것이다. 이에 따라 각 제조사에서는 PBS나 phosphate buffer에 detergent를 첨가한 용매를 사용하여 소수성 약물을 방출하는데 사용하고 있었다. 또한 각 용매는 pH나 detergent의 종류 및 농도가 다른데, 이는 in vitro에서도 in vivo에서와 유사한 약물방출 패턴을 보이는 용매를 찾는 결과로 보인다.

따라서 본 연구에서는 각 제조사에서 약물방출 특성을 평가하는데 사용하는, in vivo에서의 방출 패턴을 가장 유사하게 보여주는, 용매와 detergent를 이용해서 약물방출스텐트의 약물 방출 성능을 평가하였다. 하나의 용매를 사용해

표 1. PBS 약물 방출시험 결과

Table 1. The results of the PBS drug release test

Hr	1	3	6
A sample (paclitaxel)	N.D.	N.D.	N.D.
C sample (zotarolimus)	N.D.	N.D.	N.D.
D sample (everolimus)	N.D.	N.D.	N.D.

¹N.D.: Not detected

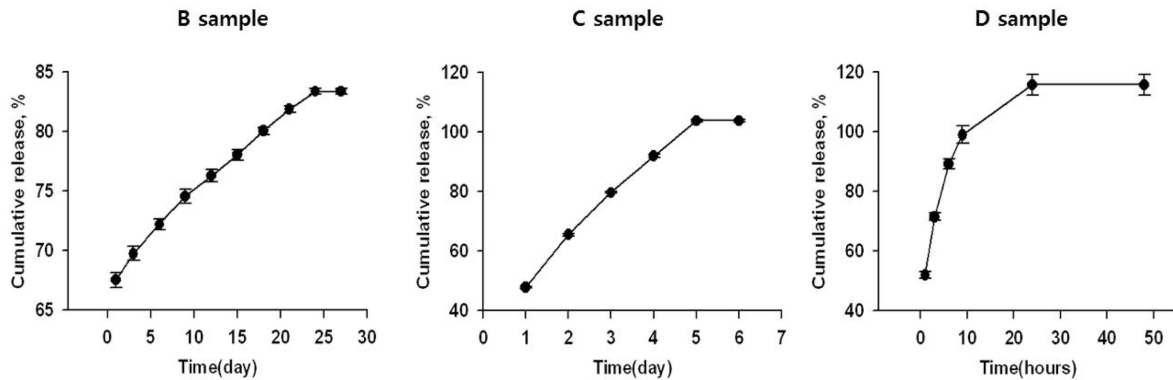


그림 1. Detergent solution 약물 방출 시험 : 약물방출율
Fig. 1. Drug release test of the detergent solution: Drug release rate

서 각기 다른 약물방출스텐트의 약물방출 특성을 평가하는 것은 전혀 맞지 않는 시스템을 억지로 적용하는 것이기 때문이다.

시험결과, detergent를 첨가한 용매에서는 아래의 그림에서 보이는 것처럼 약물이 방출되는 것을 알 수 있었다(그림 1). B sample은 1일째 67.54%가 방출이 되었고 24일째까지 83.38%가 방출되었으며, 1일부터 24일까지 일정한 비율로 paclitaxel이 방출되었음을 알 수 있었다. C sample은 1일에 47.87%가 방출되었고 5일까지 103.85%가 방출되었으며, 1일부터 5일까지 일정한 비율로 zotarolimus가 방출됨을 알 수 있었다. D sample은 1시간만에 52.03%가 방출되었고 24시간까지 115.78%가 방출되었으며, 0시간부터 6시간까지 급격하게 everolimus의 방출이 일어남을 알 수 있었다.

IV. 고찰 및 결론

2008년 consensus group에서 발표한 논문에 따르면, 약물방출스텐트의 약물동역학적 특성을 평가하기 위해서는 약물의 이화학적 특성을 고려하여 적절히 선택한 용매나 detergent를 사용해야 한다고 말하고 있으며[10], 실제로 제조업체에서도 in vivo에서의 약물방출 패턴과 가장 유사성을 나타내는 버퍼와 detergent를 조합하여 연구에 사용하고 있었다[11]. 또한 위의 참고문헌에 따르면 detergent가 없는 용매에서는 in vivo와 비교하여 너무 늦은 방출율을 보였으며, 오히려 이러한 늦은 방출패턴 때문에 분석시간이 길어졌으므로 약물이 분해되어버려 분석에 애로가 있었음을 밝히고 있다[11]. 즉, 본 연구에 사용되었던 버퍼와 detergent의 조합도 각 제조사에서 in vivo에서와 가장 근접한 방출 특성을 나타내기 위해 선택한 것으로 보인다. 이러한 사실과 본 연구결과로 미루어 보아 약물방출스텐트를 제조하는 산업계에서는 detergent를 사용한 용매를 사용하여 약물방출

특성을 평가하는 것이 일반적인 것으로 판단된다. 또한 C와 D sample을 제조한 제조사에서는 pH 6.0인 buffer를 사용해서 약물방출시험을 하고 있었는데, 이는 sirolimus 계열의 약물이 pH 7.4인 buffer에서 분해가 된다는 보고가 있기 때문이다[12].

각기 다른 제조사에서 제조한 약물방출스텐트의 약물 방출 성능을 평가하기 위해서는 한가지 용매를 사용해서 평가할 수가 없다. 즉, 각각 다른 약물방출 패턴을 나타내게끔 설계되어 있는 약물방출스텐트를 한가지 용매로 평가하게 된다면 의도되고 설계된 in vivo에서의 방출패턴 등을 볼 수가 없을 것이다. 본 연구에서도 나타나듯이 설계된 성능, 즉 약물방출스텐트의 총 약물방출 기간이나 방출율 곡선이 각 약물방출스텐트마다 전혀 다르기 때문이다.

따라서 본 연구에서는 각 제조사에서 제시하는, in vivo에서의 방출패턴과 가장 유사한 패턴을 나타내게끔 만들어진, 약물 방출 조건을 사용하여 코팅된 약물을 방출 시켰으며, 이러한 조건이 각 약물방출스텐트의 성능을 평가할 수 있는 최적의 방법이라고 판단할 수 있다. 따라서 한가지 용매를 사용하여 각기 다른 특성을 갖는 약물방출스텐트의 특성을 평가하는 것은 불가능하다고 판단된다.

따라서 향후 약물방출스텐트의 약물 방출 성능을 평가하기 위해서는 각 제조사에서 제시하는 기준과 약물방출 조건을 따라야 한다고 생각한다. 여전히 약물방출스텐트 전체를 포함하는 하나의 시험방법과 기준치에 대한 아쉬움이 있지만, 약물이 방출되는 시간, 속도 등이 각기 다른 약물방출스텐트를 하나의 기준에 의해 평가하는 것은 결국 불가능해 보인다.

References

- [1] 한국보건산업진흥원, 스텐트 시장동향, 2005.
- [2] P. A. Lemos, P. W. Serruys, R. T. Domburg, F. Saia, C. A. Arampatzis, A. Hoye, M. Degertekin, K. Tanabe, J. Daemen,

- T. K. K. Liu, E. McFadden, G. Sianos, S. H. Hofma, P. C. Smits, W. J. Giessen and P. J. Feyter, "Unrestricted Utilization of Sirolimus-Eluting Stents Compared With Conventional Bare Stent Implantation in the Real World," *Circulation*, vol. 109, pp. 190-195, 2004.
- [3] S. J. Park, "Drug-Eluting Stent : Present and Future," *J. Korean Med. Assoc.* vol. 51, no. 4, pp. 299-305, 2008.
- [4] A. Seidlitz, S. Nagel, B. Semmling, K. Sternberg, H. K. Kromer, W. Weitschies, "In vitro Dissolution Testing of Drug-Eluting Stents," *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol. 14, pp. 67-75, 2013.
- [5] R. S. Schwartz, E. R. Edelman, A. Carter, N. Chronos, C. Regoers, K. A. Robinson, R. Waksman, J. Weinberger, R. L. Wilensky, D. N. Jenson, B. D. Zuckerman, E. Virmani, "Drug-Eluting Stents in Preclinical Studies: Recommendation Evaluation from a Consensus Group," *Circulation*, vol. 106, pp. 1867-1873, 2002.
- [6] W. Khan, S. Farah, A. Nyska, A. J. Domb, "Carrier Free Rapamycin Loaded Drug Eluting Stent: In Vitro and In vivo Evaluation," *J Control Release*, vol. 168, no. 1, pp. 70-76, 2013.
- [7] C. P. Naseerali, P. R. Hari, K. Sreenivasan, "The Release Kinetics of Drug Eluting Stents Containing Sirolimus as Coated Drug: Role of Release Media," *J Chromatogr B Analyt Biomed Life Sci*, vol. 878, pp. 709-712, 2010.
- [8] S. Farah, W. Kahn, A. J. Domb, "Crystalline Coating of Rapamycin onto a Stent: Process Development and Characterization," *Int J Pharm*, vol. 10, pp. 99-20-28, 2013.
- [9] K. Steigerwald, S. Merl, A. Kastrati, A. Wienczorek, M. Vorpahl, R. Mannhold, M. Vogeser, J. Hausleiter, M. Joner, A. Schomig, R. Wessely, "The Pre-clinical Assessment of Rapamycin-Eluting, Durable Polymer-Free Stent Coating Concepts," *Biomaterials*, pp. 1-6, 2008.
- [10] R. S. Schwartz, E. Edelman, R. Virmani, A. Carter, J. F. Granada, G. L. Kaluza, N. A. F. Chronos, K. A. Robinson, R. Waksman, J. Weinberger, G. J. Wilson, R. L. Wilensky, "Drug-Eluting Stents in Preclinical Studies: Updated Concensus Recommendations for Preclinical Evaluation," *Circ Cardiovasc Intervent*, pp. 141-153, 2008.
- [11] M. Merciaquez, L. Alquier, R. Mehta, A. Patel, A. Wang, "A Novel Method for the Elution of Sirolimus (Rapamycin) in Drug-Eluting Stents," *Dissolution Technologies*, vol. 18, pp. 37-42, 2011.
- [12] F. C. Nelson, S. J. Stachel, C. P. Eng, S. N. Seghal, "Manipulation of the C(22)-C(27) Region of Rapamycin: Stability Issues and Biological Implications," *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 9, pp. 295-300, 1999.