

## 철 킬레이터로서의 tetraphenylporphine의 혈관평활근세포의 성장억제효과와 고분자 코팅막으로부터의 방출 특성

박민희<sup>1</sup> · 강수용<sup>1</sup> · 박현정<sup>1</sup> · 서진선<sup>1</sup> · 박영아<sup>2</sup> · 김지은<sup>2</sup> · 김양근<sup>2</sup> · 왕배건<sup>2</sup>  
오돈치맥 문크자갈<sup>1</sup> · 심영기<sup>1</sup> · 고원규<sup>2\*</sup> · 이우경<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>인제대학교 공과대학 나노공학부, <sup>2</sup>인제대학교 의과대학 의학과

(2008년 1월 25일 접수 · 2008년 2월 15일 승인)

## Anti-Proliferative Effect of Tetraphenylporphine (TPP) as an Iron Chelator on Vascular Smooth Muscle Cells and its Release Profiles from Polymer Coating Layer

Min-Hee Park<sup>1</sup>, Soo-Yong Kang<sup>1</sup>, Hyun-Jeong Park<sup>1</sup>, Jin-Seon Seo<sup>1</sup>, Young -A Park<sup>2</sup>, Ji-Eun Kim<sup>2</sup>, Yang-Geun Kim<sup>2</sup>, Bae-Geon Whang<sup>2</sup>, Odonchimeg Munkhjargal<sup>1</sup>, Young Key Shim<sup>1</sup>, Weon-Gyu Kho<sup>2\*</sup> and Woo-kyoung Lee<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>School of nano engineering, Inje University, Gimhae, Korea

<sup>2</sup>College of medicine, Inje University, Busan, Korea

(Received January 25, 2008 · Accepted February 15, 2008)

**ABSTRACT** – The drug-eluting stent (DES) implantation is a widely acceptable treatment for coronary heart disease. It was reported that iron chelator had anti-proliferative effect on human vascular smooth muscle cells (HA-VSMCs). In this study, tetraphenylporphine (TPP) was selected as an iron chelator and drug for DES. MTT assay showed that TPP had anti-proliferative effect on HA-VSMCs. TPP and polycaprolactone (PCL) were coated onto stainless steel plate using a spray-coating method. From the surface morphology examination of the coated plate by SEM, smooth polymer coating layer could be observed. The thickness of coating layer could be controlled by changing repeating time of coating. From in vitro release test, sustained release of TPP was observed from plate during two weeks. Thus, TPP as iron chelator can be used as drug for stent coating because of its antiproliferative effect and sustain release profile.

**Key words** – Drug-eluting stent, Tetraphenylporphine (TPP), Polycaprolactone (PCL), Iron chelator, VSMC

심혈관 질환(coronary disease)은 전세계 사망원인의 29.2%에 달하는 높은 비중을 차지하고 있다. 심혈관 질환 중에서도 관상동맥 질환이 가장 많은 원인을 차지하며, 1986년부터 20여 년간 관상동맥중재시술을 받는 환자 역시 증가하고 있다.<sup>1)</sup> 그러나 관상동맥중재시술을 받은 후에도 재협착(restenosis)이 생길 수 있고 이를 막기 위한 방법으로 금속 스텐트(stent)를 병변부에 삽입할 수 있으나, 금속 스텐트 삽입 후에도 재협착율은 최고 30%에 달하는 한계점을 안고 있다.

스텐트 삽입 후 재협착의 주된 기전은 혈관평활근세포(human vascular smooth muscle cells, HA-VSMCs)에 의한 신생내막의 증식이다. 혈관평활근세포의 증식이 재협착 기간의 대부분 동안 일어나고 있으며, 재협착 기전에 있어 중요한 부분을 차지하고 있다. 스텐트 내 재협착은 삽입 후

6개월이 지난 후 최고조에 달하게 된다. 이를 막기 위한 방법으로 재협착 기전의 각 부분을 억제하는 약물을 전신투여 하기도 하지만 전신적 독성이 크다는 약점을 가지고 있다. 이에 반해 약물 용출 스텐트는 이러한 약물의 국소적 전달이 용이하므로 활발히 연구가 진행 중에 있다.<sup>2-4)</sup>

약물 용출 스텐트(drug-eluting stent, DES)는 기존에 쓰이고 있는 금속 스텐트에 중합체를 사용하여 약물을 코팅한 스텐트를 의미한다. 스텐트로부터 약물이 서서히 용출됨에 따라 재협착을 효과적으로 방지할 수 있게 되는 것이다. 재협착 기전의 단계 중에서 어디를 차단하느냐에 따라 여러 가지의 약물 카테고리 나눌 수 있다. 그 중에서 임상에서 널리 사용되고 있는 대표적인 약물은 sirolimus와 paclitaxel이다.

그러나 DES도 여러 가지 후기 합병증의 가능성을 가지고 있다. 특히 기존의 DES에 코팅되어 널리 쓰이고 있는 sirolimus와 paclitaxel은 혈관내피세포와 평활근세포를 모두 억제한다. 정상 혈관내피세포는 혈액 내 성장인자를 막는 역

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 055)320-3875, E-mail : wlee@inje.ac.kr(Woo-kyoung Lee)  
051)890-6732 wgkho@inje.ac.kr(Weon-Gyu Kho)

활을 할 뿐 아니라 헤파린, 산화질소 등 혈관평활근세포의 성장을 억제하는 물질을 분비하여 재협착을 막을 수 있기 때문에, 혈관내피세포의 증식은 촉진시키되, 혈관평활근세포의 증식을 억제시키는 제제를 선택할 필요가 있다.<sup>5,6)</sup>

세포 내에서 작용하는 철 킬레이터 제제는 혈관내피세포 성장인자의 발현을 촉진시켜 간접적으로 내피세포의 성장을 돕게 되며, 세포 증식 주기의 DNA 합성에 Ribonucleotide reductase가 철을 필요로 하므로, 철 킬레이터 제제는 혈관평활근세포 증식을 효율적으로 차단하는 약물의 후보로 사용 가능하다.<sup>7)</sup> 실제로 보고된 바에 의하면, 철 킬레이터의 하나인 desferri-exochelin 772SM(D-Exo)이 내피세포와 VSMC의 성장을 모두 억제하지만, 간접적으로는 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)의 분비를 촉진시키는 것이 발견되었다.<sup>8)</sup> 따라서, 철 킬레이터도 스텐트 코팅을 위한 약물로 사용될 가능성이 존재 한다.

본 연구에서는 철 킬레이터로서 Tetraphenylporphine(TPP)를 선택하였다(Figure 1). TPP는 포르피린 유도체로서, 현재 그가 가지고 있는 광감각(photosensitive)기능으로 인해 광역학 치료(photodynamic therapy)를 위한 광감각제(photosensitizer)로 활용되고 있다.<sup>9,10)</sup> 또한 소수성을 띠고 있어서 세포 내로의 침투가 용이하기 때문에, 세포 내 킬레이터로 작용하여 세포증식을 효율적으로 차단한다면, 두 가지 기능을 가진 효과적인 약물로 판단된다. 즉, 1차적으로는 킬레이터 효과로서 세포증식을 차단하고, 그럼에도 세포가 증식되어 재협착이 일어난다면, 추가적인 광역학 치료를 시도하여 추가적인 스텐트 시술없이 재협착을 막을 수 있는 효과적인 방법으로 생각된다.

따라서, 본 연구에서는 TPP의 VSMC 증식 차단 효과를 조사하고, 이를 고분자막에 코팅하였을 때, 얼마나 오랫동안 지속적인 방출이 일어나는지 평가하고자 한다.

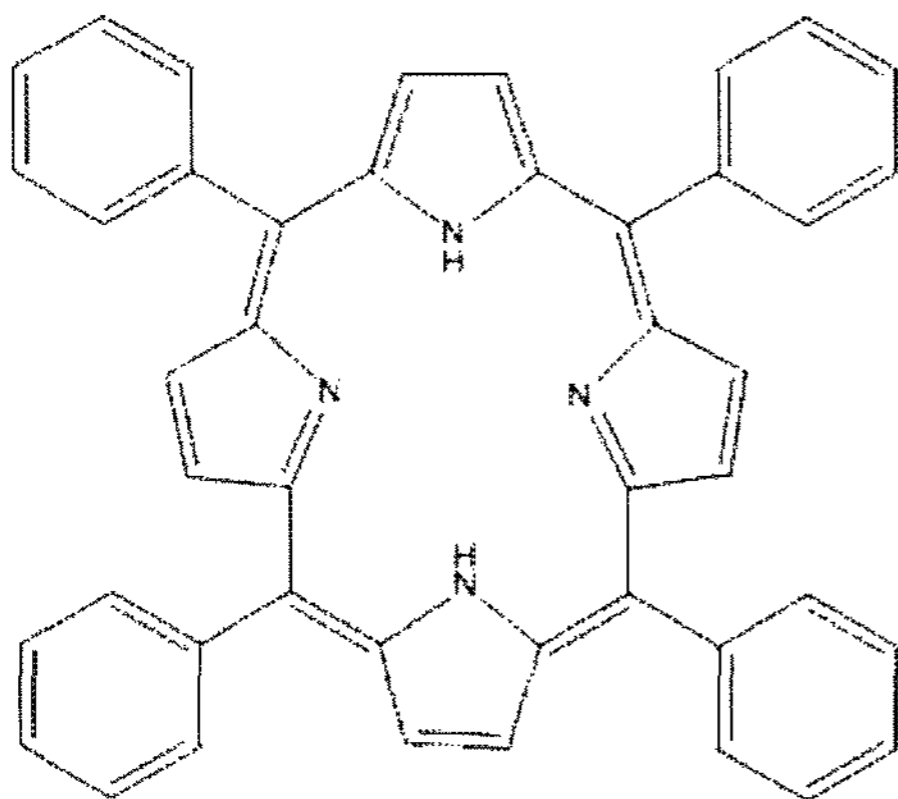


Figure 1-Tetraphenylporphine (TPP).

## 재료 및 방법

### 재료

Tetraphenylporphine (TPP), polycaprolactone (PCL, Mw : 65,000)등은 Sigma-aldrich에서 구입하였다. 316L 재질의 스테인리스 스틸 시편(SS-plate)은 강산전기에서 구입한 다음 폴리쉬 가공하여 이용하였다.

### 세포 배양

혈관평활근세포, T/G HA-VSMC(human vascular smooth muscle cell)를 배양하기 위하여 기본 배지인 RPMI 1640 배지에 10%의 Fetal bovine serum(FBS, JR Scientific Inc.)를 첨가 후, 0.05 mg/mL의 ascorbic acid, 0.01 mg/mL의 insulin, 10 mM의 HEPES를 첨가하였다. 또한 0.01 mg/mL의 transferrin, 10 ng/mL의 sodium selenite, 10 mM의 TES를 첨가하였다. 세포는 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 95%air/5%CO<sub>2</sub>)에서 배양하였다. 배지는 1~2일에 한번씩 갈아주었으며, 7일에 한번씩 0.25%의 Trypsin/EDTA용액으로 분리한 뒤 계대 배양하였다.

### MTT assay

세포 증식능을 평가하기 위해 MTT assay를 실시하였으며, 광감각제 효과에 의한 독성 효과를 배제하기 위해 빛을 차단한 상태에서 수행하였다. 이때 96well plate의 각 well당 세포 농도는 5×10<sup>3</sup>개/mL로 하였고, 플레이팅 된 세포는 12시간동안 안정시킨 후 개별 농도의 TPP가 첨가된 배지로 갈아 주었다. 이 때 TPP는 chloroform과 DMSO의 혼합용액(1:9)에 녹인 후 배지에 1 μM에서 0.001 μM의 농도로 사용하였으며, 첨가된 chloroform과 DMSO의 농도는 각각 0.005% 및 0.05%이었다. 48시간 후 10 μL의 MTT reagent (TACS)을 첨가하고, 5시간 후 MTT detergent (TACS) 100 μL을 첨가하였고, 12시간 이상 기다린 후 570 nm의 파장에서 Microplate reader (Synergy HT, BIOTEK)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 각 실험은 3회 반복 시행되었다.

### 세포 수 계산

혈관평활근세포를 0.25% Trypsin/EDTA용액으로 dish에서 분리시킨 후, Phosphate Buffer Saline(PBS)에 부유액을 만들었다. 이 부유액과 1:1의 양으로 Trypan blue 용액을 첨가하였고, 1분 후 Hemocytometer를 이용하여 세포 수를 계산하였다.

### 스프레이 코팅

약물 코팅은 스프레이 건(Binks Model 95A Automatic

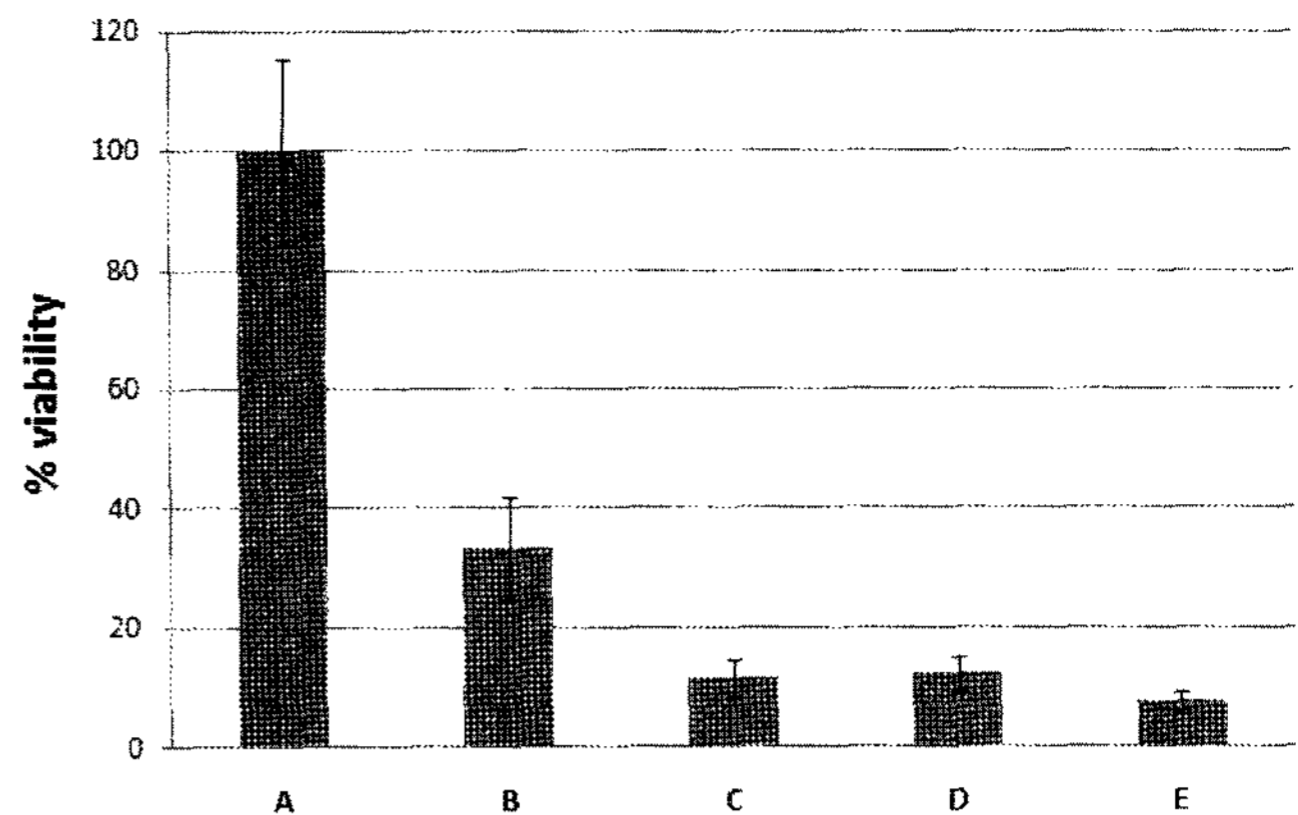
Conventional Air Spray Gun)을 사용하였다. 코팅은 폴리쉬 가공이 완료된 SS-plate에 시행하였으며, 코팅된 약물의 두께를 측정하기 위하여 코팅 횟수를 달리하여 실험을 시행하였고, 하나의 SS-plate에 코팅된 약물의 농도를 달리하여 실험을 시행하였다. 약물 코팅은 Chloroform 50 mL에 TPP 0.05 g과 PCL 0.5 g을 용해시킨 후 스프레이건에 주입하여 코팅하였고, 스프레이의 압력은 25 psi로 고정 하였으며, SS-plate는 스프레이의 수직 아래 9 cm의 거리를 두고, 회전속도 60 rpm으로 유지하여 코팅하였다. 코팅시간은 5초간 시행하였으며, 압축공기로 5초간 건조시킨 후 이를 10회, 20회, 30회 반복하여 코팅하였다.

**코팅막 특성 평가**

코팅 횟수에 따른 두께는 표면 단자 측정기(Tencor IQ-1000)를 이용하여 측정하였으며, 코팅된 SS-plate표면의 상태는 Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM, Hitachi)를 이용하여 관찰하였다. 코팅막에 함유된 약물의 양은 UV/Vis 분광분석기(S-3100, SCINCO, Korea)를 이용하여 측정 하였다. 코팅된 SS-plate를 10 mL의 chloroform에 넣고 흔들어 코팅막을 완전히 녹였으며, 녹아있는 TPP의 농도를 측정하기 위해 419 nm의 파장에서 시료의 흡광도를 측정하였고 기존에 측정된 표준검정곡선을 바탕으로 농도를 계산하였다.

**In vitro 약물 방출 실험**

TPP와 PCL이 코팅되어 있는 SS-plate를 10 mL의 0.1 M PBS(pH 7.4, 0.1% Tween 80) 완충용액에 담근 후에 incubator를 이용하여 37.5°C로 유지하였다. 정해진 시간 간격에 따라 SS-plate를 새로운 0.1M PBS 완충용액에 옮겼으며, 용출된 TPP의 양은 High Performance Liquid Chromatography(HPLC, Waters 600, USA)를 이용하여 측정하였다. HPLC는 역상크로마토그래피(reverse phase chromatography, C<sub>18</sub>) 방법으로 분리하였으며, 이동상은 THF와 증류수(5:5)를 섞은 용매를 이용하였고 등용매 조건에서 1 mL/min의 속도로 용리하였다. TPP 농도의 계산은 UV/Vis 검출기를 통해 419 nm의 파장에서 검출된 피크의 면적을 바탕으로 기존에 작성된 표준검정곡선을 이용하여 계산하였다. 방출실험이 끝난 SS-plate 시편은 시편에 남아있는 약물의 양을 구하기 위해 상기에 언급한 방법과 같이 chloroform에 녹인 후 녹아있는 TPP의 양을 구하였다. 100% 용출된 약물의 양은 마지막까지 방출된 약물 양의 총합과 시편에 남아있는 약물의 양을 합한 것으로 계산하였다.



**Figure 2**–VSMC viability test by MTT assay varying concentration of TPP. (A) medium only, (B) medium+solvent (0.005% chloroform, 0.05% DMSO), (C) 0.01 μM TPP, (D) 0.1 μM TPP, (E) 1.0 μM TPP (n=3).

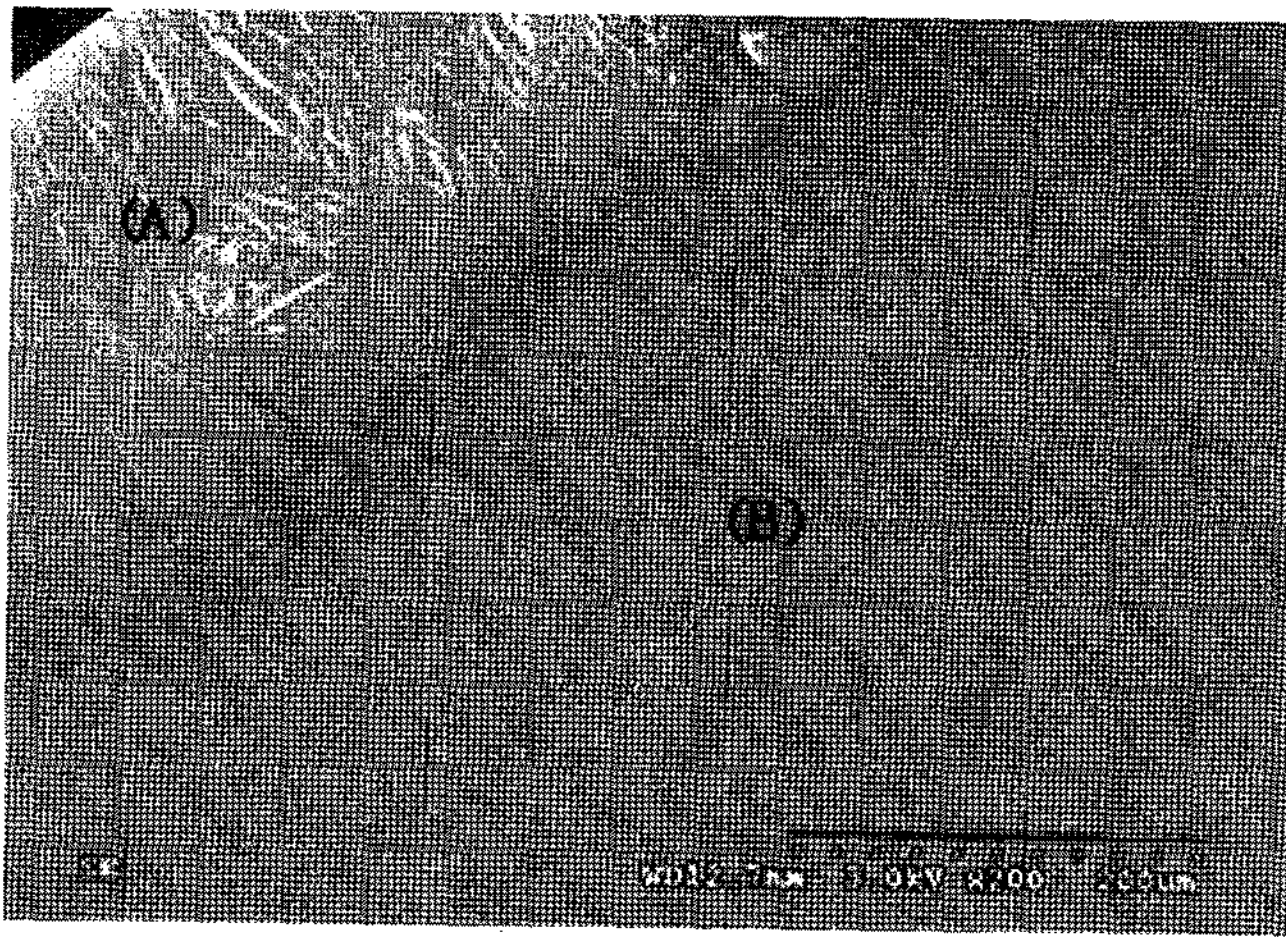
**결과 및 고찰**

**혈관평활근세포의 MTT assay**

혈관평활근세포에 다양한 농도의 TPP를 첨가하여 동일한 시간 동안 배양하였고, 48시간 후 MTT assay를 통해 살아있는 세포의 수를 측정하였다(Figure 2). 배지만 처리 했을 때에 비해 TPP를 녹이기 위해 사용한 용매(0.005% chloroform, 0.05% DMSO)만을 배지와 섞은 경우에도 33.0%의 세포만 살아 있었으며, 이는 사용한 용매의 독성 때문이라고 판단된다. 또한 0.01 μM TPP를 처리한 경우에는 세포 수가 더욱 감소하여 배지만 처리했을 때의 11.6%로 감소하였으며, 배지와 용매만 처리한 경우에 비해서도 34.9%로 유의하게 감소하였다.(*p*=0.020) 따라서, 사용한 용매의 독성뿐만 아니라, 첨가한 약물인 TPP에 의해서도 세포 수가 감소하였음을 알 수 있으며, 빛을 차단한 상태에서 실험하였기 때문에 TPP의 광감각제 효과에 의한 세포수 감소가 아니고 TPP 자체가 가지는 효과에 의한 것임을 알 수 있다. 또한 TPP의 농도를 0.1 μM로 증가시켰을 때는 0.1 μM에 비해 거의 변화가 없었으나, 1.0 μM로 증가시키면 조금 더 감소하였지만, 유의하지는 않았다.

MTT assay에서 효과를 나타낸 TPP의 농도를 기존에 널리 쓰이는 DES 제제인 sirolimus나 paclitaxel과 비교하였을 때, paclitaxel과의 비교에서는 효과를 나타내는 농도가 유사하였으나, sirolimus보다는 낮은 농도에서 TPP가 세포 수의 감소 효과를 나타내었다.<sup>11-13)</sup> 그러나, 본 실험결과만으로는 TPP에 의한 세포 수 감소가 세포 증식을 억제한 것인지, 아니면 세포 독성을 나타낸 것인지 분명하게 판단할 수 없다. 이에 대한 유의성을 확보하기 위해서는 MTT assay 외에 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다. 그리고 TPP는 광동역



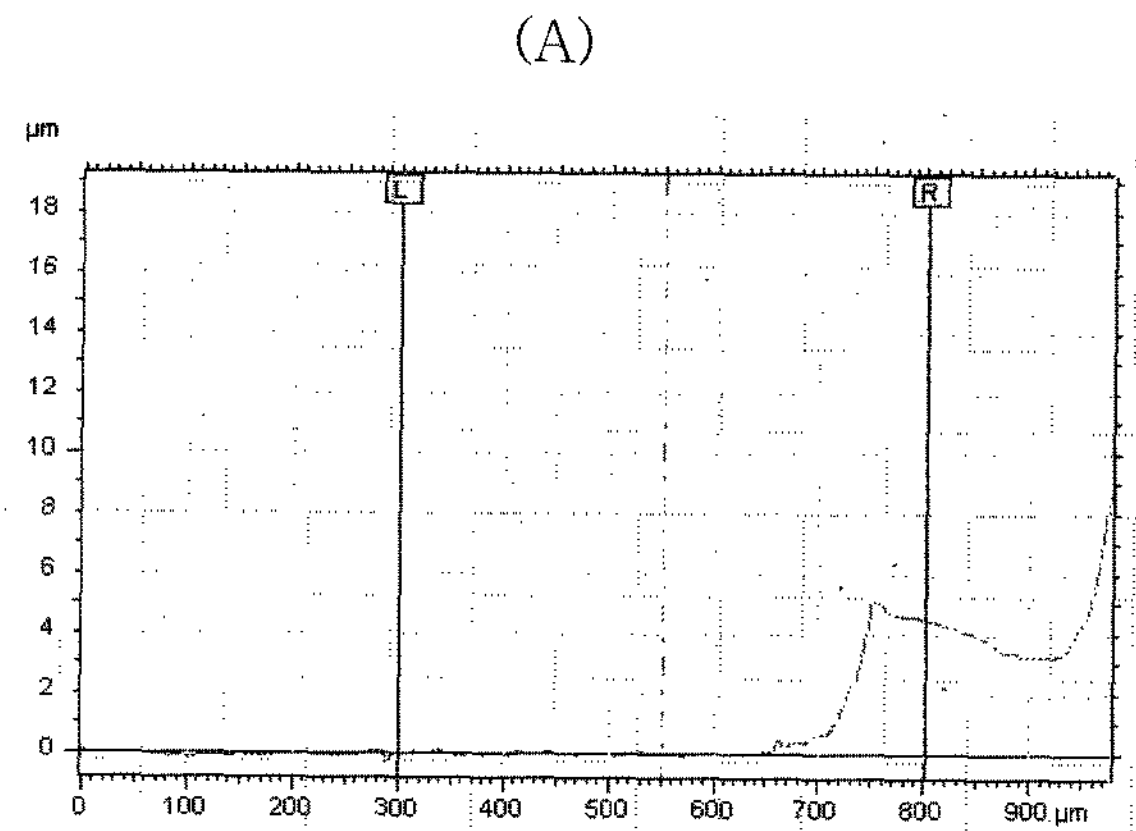


**Figure 3**—SEM image of stainless steel plate (SS-plate) coated with TPP and PCL. After the solution of TPP (0.1% w/v) and PCL (1.0% w/v) in chloroform was sprayed onto spinning SS-plate with compressed air (25 psi) for 5 sec, the only compressed air was sprayed for 5 sec to dry the coating layer. That coating process was repeated 30 times. (A) edge, (B) middle area of SS-plate surface (size bar: 200 μm).

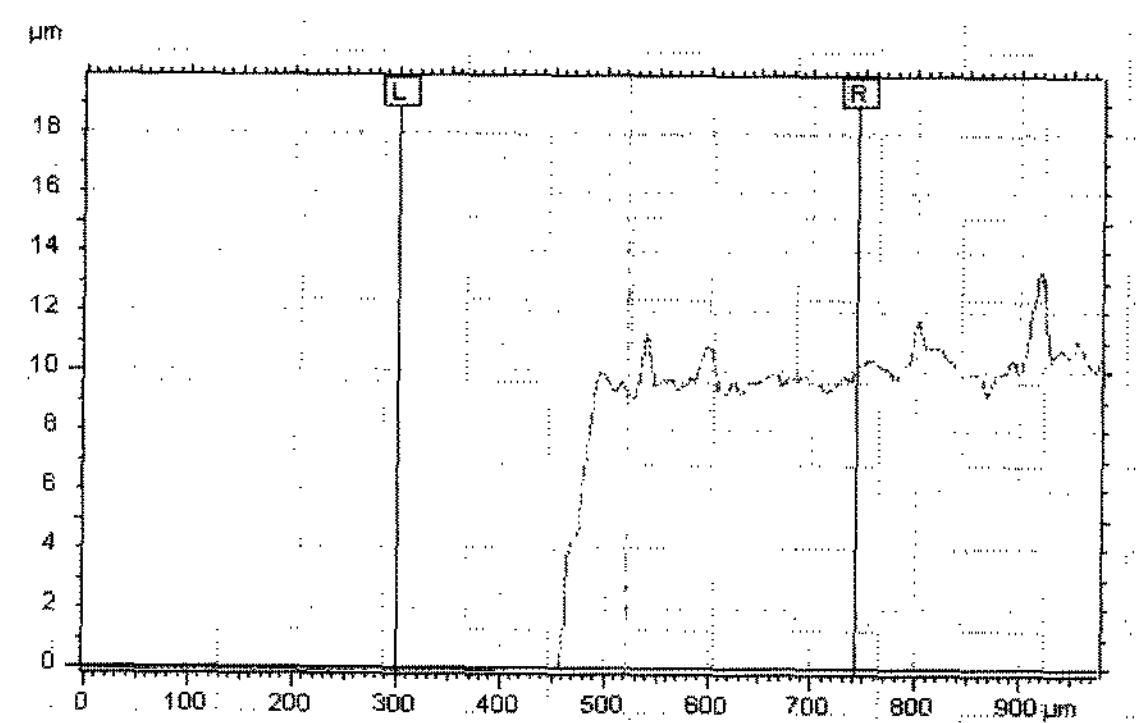
학 치료를 위한 약물로 주로 연구되어 왔기 때문에, 빛을 조사하였을 때 나타나는 TPP의 독성에 대해서는 연구가 되어 있으나<sup>9, 10)</sup> 빛을 차단한 상태에서 실시한 TPP 만의 독성에 대해서는 아직 보고된 연구결과가 없다. 또한 주로 여러 종류의 암세포에 대한 독성실험이었으며 혈관평활근세포에 대한 독성연구도 아직 보고된 바가 없기 때문에 스텐트 코팅용 약물로 사용되기 위해서는 본 연구를 시작으로 보다 폭넓은 연구가 수행되어야 할 것이다. 또한 본 연구에서는 TPP를 세포 내에서 작용하는 킬레이터 제제로 사용하였기 때문에, 보고된 다른 철 킬레이터 제제와 유사한 기전으로 내피세포의 성장을 억제하는 반면 혈관내피세포 성장인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF)의 분비를 촉진할 것인지<sup>8)</sup> 확인하기 위해 보다 면밀한 연구가 추가되어야 할 것이다. 다만, 본 실험결과를 통해서 확인할 수 있는 것은 TPP 첨가함으로써 혈관평활근세포의 수가 감소하였기 때문에, 스텐트에 코팅이 된다면 빛의 조사가 없는 조건에서도 혈관재협착을 어느 정도 방지할 수 있는 효과를 기대할 수 있다는 것이다.

**스프레이 코팅 후의 표면 상태**

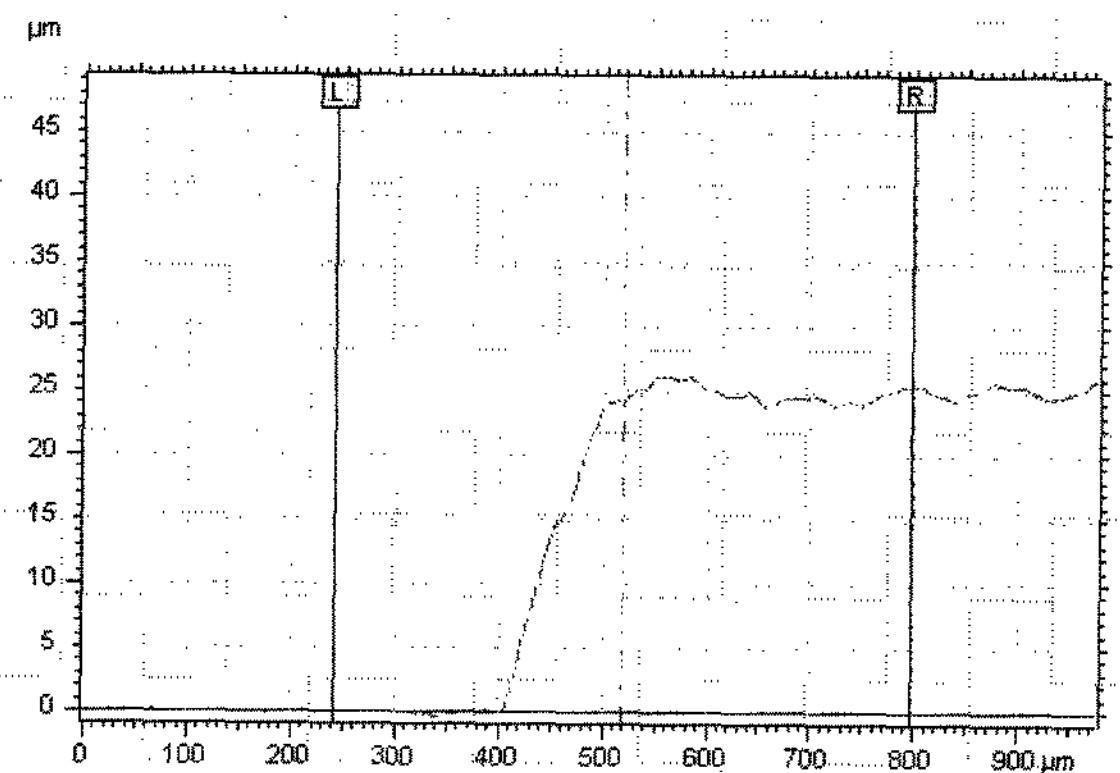
TPP를 생분해성 고분자인 PCL와 함께 SS-plate 위에 스프레이 방법을 사용하여 코팅하였고, 그 표면을 FE-SEM을 사용하여 관찰하였다(Figure 3). 코팅막을 벗긴 SS-plate의 가장자리(A)에 비해 고분자로 코팅된 내부(B)는 매끄러운 표면을 가지고 있었다. 따라서 고분자와 약물의 코팅이 전체적



(A)



(B)



(C)

**Figure 4**—Thickness measurements of PCL and TPP coating layer using α-Step (A) 10 times coating (4.5 μm), (B) 20 times coating (10.3 μm), (C) 30 times coating (25.3 μm).

으로 균질된 상태에서 코팅되어진 것을 관찰할 수 있다.

**코팅된 고분자 층의 두께 및 약물 함유량**

코팅 두께는 표면 단자 측정기를 이용하여 측정하였다 (Figure 4, Table I). 10회 반복 코팅 시(A) 두께가 4.5 μm 이었고, 20회 코팅 시(B) 두께는 10.0 μm, 30회 코팅 시(C) 두께는 25.3 μm로 측정되었다. 따라서 반복하는 코팅횟수를

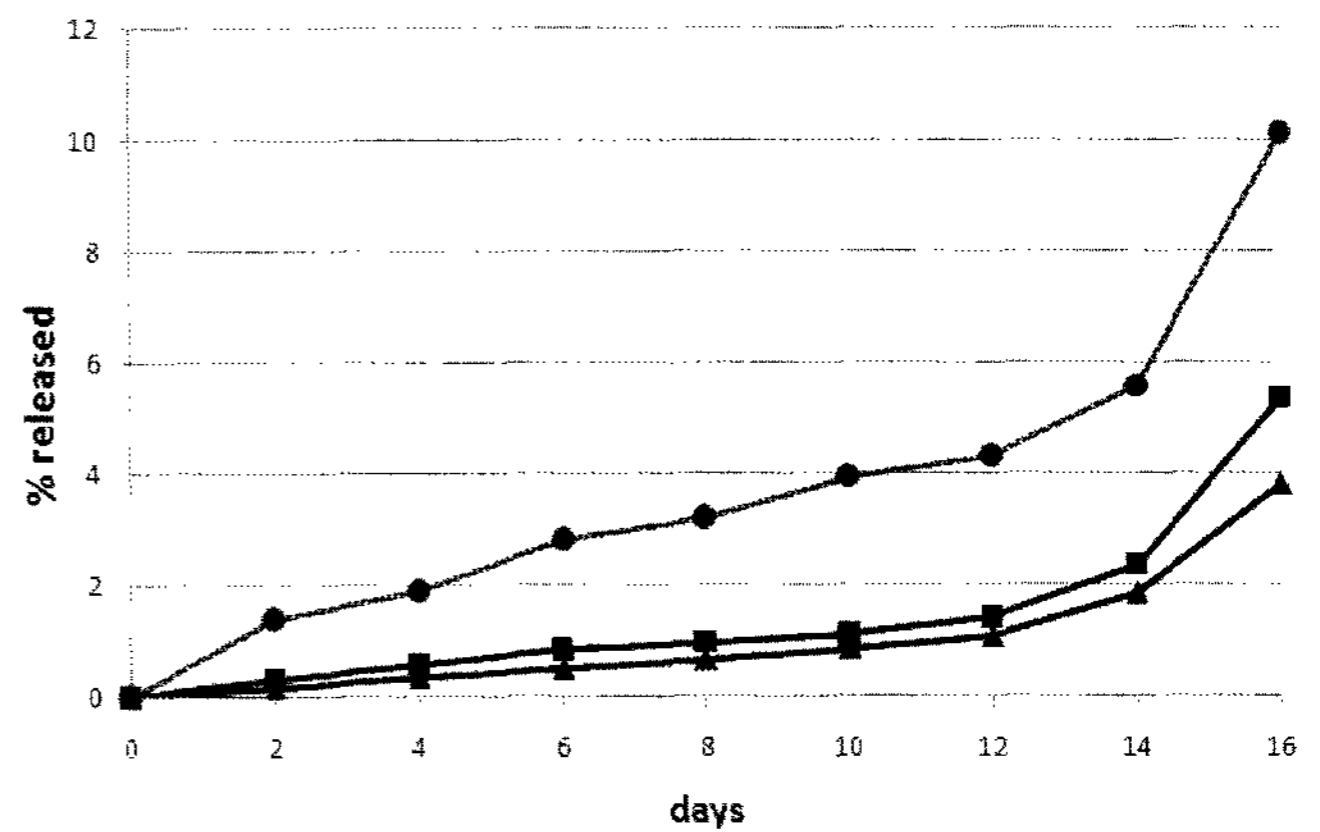
**Table I-Thickness of Coating Layer and Amount of Drug Loaded in SS-plate**

	(A)	(B)	(C)
Coating times	10	20	30
Thickness of coating layer (μm)	4.5	10.0	25.3
Amount of drug loaded (μg)	1.4	3.5	7.3

증가시킬수록 그 두께가 두꺼워짐을 확인할 수 있었다. 특이한 것은 코팅횟수를 반복할수록 코팅의 두께는 코팅횟수의 증가 폭보다 더 두꺼워지는 것을 발견할 수 있다. 즉, 10회에서 20회로 코팅횟수를 두배 증가시켰을 때, 코팅두께는 두배보다 약간 더 두껍게 코팅되지만, 10회에서 30회로 3배 증가시켰을 때는 5배 이상 두껍게 코팅이 되었다. 이는 스프레이 코팅의 특징에서 비롯된 것으로 보인다. 코팅을 반복하여 코팅막이 두꺼워지면 코팅막의 점도가 증가하고, 따라서 스프레이에서 분사되는 고분자와 약물이 기존의 코팅막에 더 잘 흡착되어 발생하는 현상으로 생각된다. 이와 같은 현상은 함유된 약물의 양에서도 관찰할 수 있었다. Table I에서 보는 바와 같이 (A)시편에 함유된 약물의 양은 1.4 μg이었으나, (B)시편에 함유된 약물의 양은 3.5 μg, 30회 코팅한 시편(C)에 함유된 약물의 양은 7.3 μg으로 이 경우에도 코팅횟수의 증가 폭보다 함유된 약물 양의 증가 폭이 더 컸다. 코팅 두께와 함유된 약물의 양 사이에는 비례관계가 성립하였고 98.9%의 상관관계를 가지고 있음이 확인되었다.

**In vitro 약물 방출 실험**

SS-plate에 코팅된 고분자 코팅막으로부터 약물이 방출되는 양상을 관찰하였고, 코팅막의 두께, 즉 코팅 횟수에 따른 약물 방출 농도를 시간에 따라 측정하여 어떻게 변화하는지 보았다(Figure 5). 코팅 두께가 두꺼울수록 약물의 방출 속도가 느린 것을 확인할 수 있었다. 고분자 막에서 약물이 방출되는 조건에 대한 수학적 모델에서는, 본 실험의 조건과 같이 고분자 층에 약물이 함유되어 있는 경우 약물이 외부의 용액으로 방출되는 속도는 고분자 막에서 약물의 확산계수, 고분자 막의 두께, 방출되는 표면의 단면적, 내부와 외부간의 약물 농도차이 등과 상관관계를 가지는 것으로 알려져 있다.<sup>14)</sup> 본 연구에서는 동일한 단면적을 가지는 SS-plate를 사용하였고 약물과 고분자의 종류가 동일하며, 고분자와 약물의 혼합 비율이 동일하였다. 따라서, 실험에 사용된 시편간에 확산계수와 표면적은 동일한 반면, 시료간에 차이는 코팅막의 두께와 내부와 외부간의 농도차이 두 가지다. 코팅막의 두께는 두꺼울수록 방출속도가 느리고, 농도차이는 클수록 방출속도가 다르다. (C)시편의 경우에는 두께는 두껍고 농도차이는 크기 때문에 그 효과가 서로 상반되



**Figure 5-In vitro drug release profile from coating layer varying with coating thickness (●) : 10 times of coating, (■) : 20 times of coating, (▲) : 30 times of coating.**

어 상쇄될 수 있었지만, 방출속도가 가장 느렸던 실제 실험의 결과에 따르면 두께에 따른 효과가 더욱 컸다고 생각된다. 보다 면밀한 검토를 위해서는 두께는 다르지만 함유된 약물의 양이 동일한 시편들, 그리고 두께는 같지만 약물의 양이 다른 시편들에 대한 연구가 추가되어야 할 것이라고 판단되며, 이는 현재 수행 중에 있다. 다만, 본 연구를 통해 확인할 수 있는 것은, 본 연구에 수행된 조건하에서는 코팅 횟수를 조절함으로써 약물의 방출속도를 조절할 수 있다는 것이라고 할 수 있다.

**결 론**

본 연구에서는 철 킬레이터 제제이며 동시에 광역학 치료제로 쓰일 수 있는 TPP가 스텐트 코팅을 위한 약물로 사용될 수 있는지 확인하고자 하였다. 우선 MTT assay를 통해 TPP를 처리하였을 때, 대조군에 비해 살아있는 VSMC의 수가 감소하였음을 확인하였다. 또한 TPP를 생분해성 고분자인 PCL과 함께 코팅하여 매끄러운 표면의 코팅막을 제조하였고 또 코팅횟수를 조절하여 두께도 조절할 수 있었다. 뿐만 아니라 이렇게 코팅된 코팅막으로부터 TPP가 지속적으로 방출되며, 코팅막의 두께를 조절함으로써 방출속도도 조절할 수 있음이 확인되었다. 차후의 연구를 통해서도 이렇게 코팅된 스텐트가 실제 동물모델에서 혈관의 재협착을 방지하는지, 또 광역학 치료를 통해 차후의 재협착을 방지할 수 있는지 확인할 필요성이 제기된다.

**감사의 말씀**

이 연구는 이공계교육과정개발 연구지원사업(E00001)의

지원을 받아 수행하였습니다.

### 참고문헌

- 1) Homepage of World Health Organization (<http://www.who.int/en/>).
- 2) G. Acharya; K. Park, Mechanisms of controlled drug release from drug-eluting stents. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **58**(3), 387-401 (2006).
- 3) K.R. Kamath; J.J. Barry; K.M. Miller, The Taxus drug-eluting stent: a new paradigm in controlled drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **58**(3), 412-36 (2006).
- 4) C. Yang; H.M. Burt, Drug-eluting stents: factors governing local pharmacokinetics. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **58**(3), 402-11 (2006).
- 5) J.E. Sousa; P.W. Serruys; M.A. Costa, New frontiers in cardiology: drug-eluting stents: Part II. *Circulation*, **107**(18), 2383-9 (2003).
- 6) J.E. Sousa; P.W. Serruys; M.A. Costa, New frontiers in cardiology: drug-eluting stents: Part I. *Circulation*, **107**(17), 2274-9 (2003).
- 7) N.T. Le; D.R. Richardson, Iron chelators with high antiproliferative activity up-regulate the expression of a growth inhibitory and metastasis suppressor gene: a link between iron metabolism and proliferation. *Blood*, **104**(9), 2967-75 (2004).
- 8) Y.K. Hodges; S.M. Reese; P.M. Pahl; L.D. Horwitz, Paradoxical effects of iron chelation on growth of vascular endothelial cells. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **45**(6), 539-44 (2005).
- 9) E. Weizman; C. Rothmann; L. Greenbaum; A. Shainberg; M. Adamek; B. Ehrenberg; Z. Malik, Mitochondrial localization and photodamage during photodynamic therapy with tetraphenylporphines. *J. Photochem. Photobiol. B.*, **59**(1-3), 92-102 (2000).
- 10) M. Canete; A. Villanueva; V. Dominguez; S. Polo; A. Juarranz; J.C. Stockert, Meso-tetraphenylporphyrin: photosensitizing properties and cytotoxic effects on cultured tumor cells. *Int. J. Oncol.*, **13**(3), 497-504 (1998).
- 11) D.I. Axel; W. Kunert; C. Goggelmann; M. Oberhoff; C. Herdeg; A. Kuttner; D.H. Wild; B.R. Brehm; R. Riessen; G. Koveker; K.R. Karsch, Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery. *Circulation*, **96**(2), 636-45 (1997).
- 12) S.J. Kim; T. Masaki; J.K. Leypoldt; C.D. Kamerath; S.F. Mohammad; A.K. Cheung, Arterial and venous smooth-muscle cells differ in their responses to antiproliferative drugs. *J. Lab. Clin. Med.*, **144**(3), 156-62 (2004).
- 13) J. Wiskirchen; W. Schober; N. Scharf; R. Kehlbach; A. Wersebe; G. Tepe; C.D. Claussen; S.H. Duda, The effects of paclitaxel on the three phases of restenosis: smooth muscle cell proliferation, migration, and matrix formation: an in vitro study. *Invest. Radiol.*, **39**(9), 565-71 (2004).
- 14) B. Narasimhan, Accurate models in controlled drug delivery systems : In *Handbook of Pharmaceutical controlled release technology*, D.L. Wise(Ed.), Marcel Dekker, U.S.A., pp. 155-181 (2000).