

약물 전달용 나노 입자

신병철 · 조선행 · 김문석

1. 서론

일반적으로 인체의 질병이나 손상된 부위를 치료하기 위하여 특정한 의약품을 사용하게 되는데, 이때 의약품에 의한 치료 효과를 극대화시키고 인체의 부작용을 최소화하기 위한 목적으로 의약품전달 시스템 (Drug Delivery System; DDS)이 이용되어지고 있다. 의약품전달 시스템은 의약품의 단순한 배합에서부터 고도의 기능성을 갖는 제형까지 통칭하는 것으로 경구, 주사, 경피, 점막, 이식 등 인체의 다양한 경로를 통하여 환자에게 적용되고 있다. 특히, 최근 관심을 갖는 분야 중의 하나인 약물 전달용 나노 입자의 응용 범위는 입자 자체의 크기 뿐만 아니라 입자의 고기능화에 연구의 초점이 맞추어지고 있다. 대표적인 약물 전달용 나노 입자의 제조 방

법으로는 자가유화 확산법을 이용한 고분자 나노 입자, 이온성 고분자의 complex 반응을 이용한 고분자 나노 입자, 친수/친유성 그룹을 갖는 블록 공중합체 등을 이용한 마이셀 형성을 통한 나노 입자, 덴드리머를 이용한 star-like 고분자의 합성, 그리고



조선행
 1980~ 1987 한남대학교 화학과 (학사)
 1988~ 1990 한남대학교 화학과 (석사)
 1990~ 1995 한국화학연구원 생체의료고분자팀 연구원
 1995~ 2000 한국과학기술원 화학과 (박사)
 2002~ 2003 University of Purdue (Post Doc.)
 1995~ 현재 한국화학연구원 나노생체재료팀 선임연구원



신병철
 1976~ 1983 아주대학교 화공과 (학사)
 1985~ 1987 연세대학교 화공과 (석사)
 1992~ 1998 한국과학기술원 화학과 (박사)
 1998~ 2000 Duke University (Post Doc.)
 1987~ 현재 화학소재연구부, 나노생체재료 연구팀장



김문석
 1986~ 1990 인하대학교 고분자공학과 (학사)
 1990~ 1995 삼성화학 페인트(주) 연구원
 1996~ 1998 인하대학교 고분자공학과 (석사)
 1998~ 2001 동경공업대학 전자화학과 (박사)
 2001~ 2002 University of Massachusetts Lowell (Post Doc.)
 2002~ 2003 University of Pennsylvania (Post Doc.)
 2003~ 현재 한국화학연구원 나노생체재료팀 선임연구원

Nanoparticles for Drug Delivery

한국화학연구원 화학소재부, 나노생체재료팀 (Byung Cheol Shin, Sun Hang Cho, and Moon Suk Kim, Nano-biomaterials Lab., Advanced Materials Division, KRICT, 100 Jang Dong, Yusong, Daejeon 305-606, Korea) e-mail:bcshin@pado.kRICT.re.kr

인지질을 이용한 친수성 캡슐형태의 나노 리포솜 (nanosome) 등이 있다. 또한, 이러한 나노 입자의 의약전달 시스템으로 활용은 다양한 방법으로 시도되고 있으며 그중 대표적인 예로서 백신, 면역 조절제로 사용되는 virus-like particles, 난용성 약물의 나노 입자화를 통한 가용화 기술, 경구나 점막전달용 제제, 유전체 (DNA) 전달용 나노 입자 그리고 항암제와 같이 특이한 부위에만 전달되는 표적지향형 (targeting) 약물전달과 같은 용도로 연구 또는 활용되어지고 있다. 본 고에서는 대표적인 약물 전달용 나노 입자의 제조방법 및 응용 가능한 전달 방법을 중심으로 설명하고자 한다.

2. 약물 전달용 나노 입자 종류

2.1 고분자 나노 입자 (Polymeric Nanoparticles)

자발적 유화용매 확산 (Spontaneous Emulsion Solvent Diffusion; SESD)법에서 고분자 용액을 제조하는 유기 용매의 구성은 유화제보다 나노 입자 재료인 고분자에 대한 친화도가 더 높은 용매 (아세톤)와 고분자보다 유화제에 대한 친화도가 더 높은 용매 (에탄올)의 혼합용매로 구성된다.¹ **그림 1**에 나타낸 바와 같이 첫 번째 단계에서 고분자 용액을 유화 수용액 안에서 분산시킬 때 고분자 용액이 1~5 마이크로 크기의 에멀전 방울이 계면에서 자발적으로 형성된다. 이러한 계면에서의 자발적인 작용은 Marangoni 효과에 의해서 설명된다.² 두 번째 단계에서 에탄올 용매는 고분자에 대한 친화도가 낮기 때문에, 우선적으로 에멀전으로부터 수용액 상으로 확산되어 빠져나가게 되어 에멀전의 1차적인 크기 감소가 일어난다. 세 번째 단계는 연속적으로 아세톤 용매가 에멀전으로부터 수용액 상으로 확산

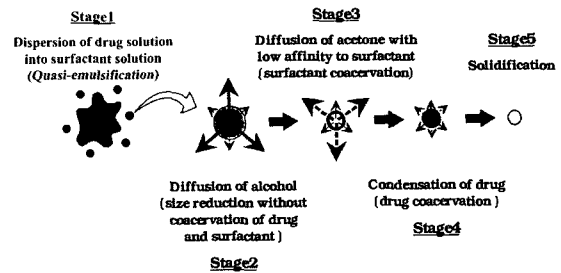


그림 1. SESD법에 의한 고분자 나노 입자의 형성과정.

되고, 계면에서는 아세톤 농도가 증가함에 따라 유화제와 함께 고분자의 coacervation이 일어나고 마지막 단계로 고분자의 solidification이 일어나 구형의 나노 입자를 형성하며 이러한 과정들은 순간격이며 자발적으로 진행된다.^{3,4}

2.2 지질성 나노 입자 (Solid Lipid Nanoparticles, SLN)

SLN은 1991년에 소개된 방법으로 에멀전, 리포솜, 고분자 마이크로·나노 입자와 같은 형태의 콜로이드 캐리어 (colloidal carriers)로 전통적인 약물전달 시스템의 장점을 결합하고 기존의 주요 단점을 해결하는 형태의 시스템이다. 이는 간단히 정의하면, 고체형태의 지질 (지방)이나 액체형태의 지질 (기름)을 사용하여 이를 일정온도로 용융시킨 후 유화제에 분산시켜, O/W 에멀전을 형성, 진공건조나 동결건조 등을 이용하여 제제화하는 기술이다.⁵ 다시 말해, SLN은 지질을 매트릭스로 하여 약물을 봉입시킨 후 고형화시켜 국소 전달용, 경구용, 전신주사용 제제로 사용하고자 하는 기술이다. **그림 2**는 이러한 SLN에서 약물의 봉입양상을 나타낸 그림이다. 그림에서와 같이 세 가지 유형으로 약물을 봉입하여 원하는 형태로의 제조가 가능하다. **그림 3**은 온도가 증가함에 따라 지질 매트릭스로부터 물이 지질상에서 수상으로의 분리를 보여줌과 동시에,

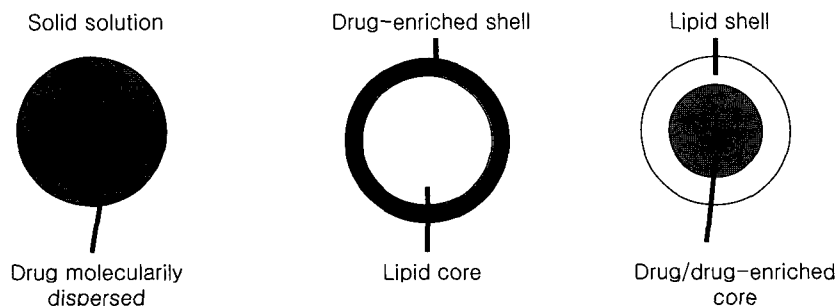


그림 2. 지질구조에서의 약물봉합의 세 가지 유형.

온도의 냉각이 진행됨에 따라 제조된 O/W 나노 에 멀전으로 약물이 다시 지질상으로 들어가는 것을 나타내는 모식도이다. 이러한 SLN은 생분해성, 저유해성, 저생산비 등의 특징을 가지면서, 원하는 장기나 조직에만 약물을 전달시키는 동시에 원하지 않는 부위에는 약물의 전달을 최소화할 수 있는 약물 전달체로 기존의 약물 전달체와 비교하여 치료효과를 극대화하고 부작용을 최소화할 수 있는 것으로 많은 연구진들에 의해 연구되고 있다.⁶⁻¹³

일반적으로 SLN을 제조하기 위해서는 고형지질, 유화제, 물 등이 필요하다. 통상 사용되는 지질로는 트리글리세라이드류 (트리스테아린), 글리세라이드류 (Imwitor), 지방산류 (스테아린 산), 스테이로드류 (콜레스테롤)와 왁스류 (세틸 팔미테이트) 등이 사용된다. SLN의 제조에 사용되는 유화제는 지질 분산체의 안정화를 유지하기 위해서 사용되는데 입자의 영김을 방지하여 그 역할을 하게 되는 것이다. 특히 유화제의 선택은 투여경로에 따라서 제한적이다. 표 1에 일반적으로 사용되는 지질과 유화제에 대하여 정리하였다.

2.3 나노솜 (Nanosomes)

일반적으로 리포솜은 소형 (직경 20~50 nm), 대형 (직경 0.1~10 μm)의 단일 이중층 및 다층 (100

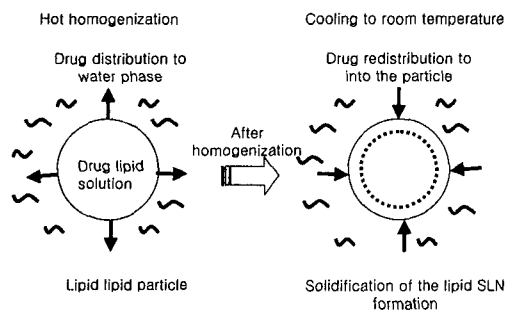


그림 3. 온도에 따른 지질내의 약물의 분리와 재분리.

표 1. 병원균과 상용화 단계의 입자형 면역 조절제의 상대적인 크기의 비교

| 천연 병원균 | 크기 | 입자형 면역조절제 | 크기 |
|-----------------|----------|----------------------|-------------|
| 박테리아 | 0.5~3 μm | microparticles | 1~10 μm |
| poxvirus | ~250 nm | liposome | 50 nm~10 μm |
| herpesvirus | ~100 nm | virosomes | 50 nm~1 μm |
| HIV | ~100 nm | MF59 | ~200 nm |
| influenza virus | 20~30 nm | iscoms | ~40 nm |
| poliovirus | 20~30 nm | virus-like particles | 20~50 nm |
| parvovirus | 20~30 nm | | |

~800 nm) 리포솜으로 나누어진다.¹⁴ 인지질을 수화하면 자발적으로 다층 리포솜이 형성된다. Phospholipid와 성장인자 수식 lipid 합성 및 liposome 안정성 증가를 위한 배합조건 연구를 통하여 기본 재료를 확보하고 이것을 클로로포름에 용해한 후 회전중발기를 이용해 플라스크 내에서 박막을 형성시킨 후 liposome과 항암제 수용액을 phospholipid의 전이온도 (T_i) 이상에서 충분히 혼합하여 microemulsion상의 용액을 제조한다. 이 용액은 초음파나 UF 멤브레인을 사용하여 수화의 반복 조작을 통하여 나노 입자를 제조하거나, SCF-UF, SCF 급팽창법을 이용하여 유기용매의 사용없이 나노 입자를 제조한다. 이온성 리포솜의 제조가 필요할 경우는 인지질과 함께 스테아릴아민 또는 디헥사데실 포스페이트의 공용매를 사용하여 양 또는 음의 하전을 가진 리포솜을 만들 수 있다.^{15,16} 한편 일정한 크기의 균질한 다층 리포솜은 폴리카보네이트 필름을 통한 압출로써 얻을 수 있다.¹⁷ 한편, 다층 리포솜은 인지질의 에테르 용액 속에 수용성 완충액을 도입하고 유기 용매를 제거함으로써 얻을 수 있다. 이 방법은 유기용매를 제거함으로써 역미셀이 붕괴되어 젤 같은 상태가 되고 이것이 궁극적으로는 이중층 배열을 만들게 된다. 이 방법은 역상 중발에 의해 만들어진 리포솜이 인지질의 단순 팽윤에 의해 만들어진 리포솜보다 큰 수용성 부분을 갖게 되는 장점이 있다.

3. 난용성 약물의 생체이용률 증진

3.1 생체이용률의 향상

일반적으로 난용성 약물을 사용해서 제제화된 제품은 약물의 흡수가 생체 내로 원하는 만큼 이루어지지 않아 생체이용률 향상에 제한을 받게 된다.¹⁸ 이러한 문제점을 해결하고자 많은 연구자들이 노력한 결과의 하나가 약물의 크기를 나노 크기로 입자화하는 것이다. 이렇게 작은 입자로 만든 나노 크기의 결정체는 일반적으로 모든 경로로 투여가 가능하다. 즉, 경구제, 주사제 (정맥주사, 근육주사 등), 국소 투여의 방법이 가능하다. 뿐만 아니라, 나노 크기의 액상 분산체는 정제, 캡셀 등으로 제조하여 쉽게 투여가 가능하다. 이러한 난용성 약물의 생체이용률에 영향을 미치는 요소 중 가장 중요한 것이 약물의 입자 크기이다. 이는 Nernst-Brunner와 Levich의

모델 (1)로 쉽게 설명된다.

$$dx/dt = (A \times D / \delta) \times (C - X / V) \quad (1)$$

여기서 X 는 용액내의 약물의 양, t 는 시간, A 는 표면적, D 는 약물의 확산 계수, δ 는 확산층, C 는 약물의 포화 용해도, 그리고 V 는 용액의 부피이다.

실제로 난용성 약물의 생체이용률에 관한 입자 크기의 효과를 **그림 4**에서 나타내었다. 입자의 크기가 감소함에 따라서 혈중농도가 증가하는 것을 관찰할 수 있으며, $5 \mu\text{m}$ 와 $0.1 \mu\text{m}$ 를 비교할 때 최고 혈중농도가 300% 이상 생체이용률이 향상되는 것을 관찰할 수 있다. 이는 생체이용률이 있어서 약물의 크기가 상당한 영향을 미친다는 것을 증명하는 실험 예이다. 이러한 나노 크기의 결정체는 약물의 크기를 감소시킴으로써 실제 복용하였을 때 약물의 표면적이 상대적으로 증가되어 용해도가 증가 되고, 이는 약물의 흡수율을 증진시켜 생체이용률의 향상을 꾀할 수 있다는 것이다.¹⁹ **그림 5**에서

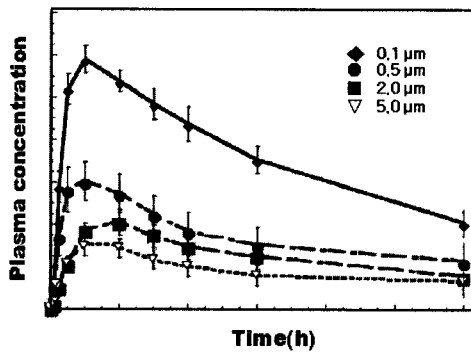


그림 4. 난용성 약물의 크기 감소에 따른 혈중 농도의 증가.

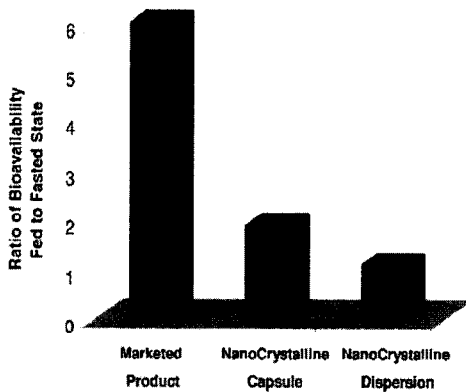


그림 5. Danazol의 투여방법에 따른 생체이용률의 증가.

기존 다이아졸 정제는 음식물의 복용에 따른 약물의 흡수속도가 큰 영향을 받는 약물이다. 나노 크기의 캡셀이나, 나노 크기의 분산체를 이용하였을 때가 기존의 상품에 비하여 음식물의 요소의 영향을 거의 받지 않고 일정한 흡수율을 나타냄을 보여준다. 이와 같은 이유로 현재 많은 연구가 약물을 나노 입자화하여 전달하는데 주안점을 두고 있는 실정이다.

3.2 경구투여 목적의 SLN

SLN의 경구투여의 형태는 일반적으로 정제, 과립제와 캡셀 등의 형태로 사용 가능하다. 약물전달 시스템에서 매트릭스 물질로 지질을 이용하여 경구투여제로 사용하는 것은 익히 잘 알려져 있는 바이다 (Mucosolvan® retard capsules). 이러한 형태의 경구투여 목적의 SLN은 만성적 약물치료에 있어서 상대적으로 다른 투여방법에 비하여 안전하고 환자의 순응이 좋고, 스스로 투여 또는 복용이 가능하다는 장점이 있다. 이러한 장점과 동시에 SLN은 다음과 같은 기능을 동시에 부여한다.

- ① 약물의 방출속도 조절과 약물 타겟팅이 가능하다.
- ② 약물의 안정성을 증진시킬 수 있다.
- ③ 친지질성 (lipophilic) 약물과 친수성 (hydrophilic) 약물의 제조가 가능하다.
- ④ 대량생산과 멸균에 대해 비교적 용이하다.
- ⑤ 유기용매의 사용을 없앨 수 있다.

3.3 약물전달체로의 SLN의 응용

SLN의 응용은 다양하다. 기본적으로 SLN은 나노 입자의 특별한 장점을 갖는 어떤 목적으로도 사용이 가능하여 응용분야가 국소투여에서 전신주사제까지 가능하다는 것이다.²⁰ 우선 SLN의 경구 투여는 액상의 분산체 혹은 정제, 과립제와 캡셀 혹은 분말로 전환된 형태로 투여가 가능하다. 이 중 경구적으로 투여가 가능한 SLN의 예로 스테아릭 산과 플록사머 188 (poloxamer 188®)로 만든 것으로 Camptothecin (CA)를 함유한 입자들이 있다.²¹ 이는 SLN 내에 존재하는 CA의 가수분해를 방지하고 이를 통해 서방형을 타겟으로 하여 제조한 것이다. 또 다른 예로는 piribedil을 함유한 SLN과 cyclosporin을 함유한 SLN 등이 있으며, 신장독성 등 부작용이 감소하는 것으로 알려져 있다.²²⁻²⁴ 이와 같은 경구투여 목적의 SLN으로부터 앞서 언급한 장점을 충분히 살리고 기존의 단점을 보완한다면 나노 입자를 이용한 약물전달은 앞으로 많은 발전을 가져올 것이다.

3.4 자가미세유화 약물전달시스템 (Self-Microemulsifying Drug Delivery System, SMEDDS)

약물의 용해도를 개선시킬 목적으로 가장 많이 쓰이는 방법 중 하나로, 계면활성제 및 약물의 전구체나 복합체를 만들어 지용성 약물의 용해도를 증가시켜줌으로써 흡수를 촉진시켜 주는 방법이 있는데 이를 자가미세유화 약물전달 시스템이라 한다.²⁵⁻²⁸ 즉, SMEDDS는 마이크로 에멀전의 구성 성분 중 수상이 제거된 액체 또는 고체 상태의 균일한 혼합물로서 복용시 소화액과 같은 수상을 만나 위 장관 운동 등과 같은 약한 힘에 의해서도 쉽게 마이크로 에멀전을 형성하는 약물전달 시스템을 말한다.²⁹⁻³³ 이러한 방법은 많은 난용성 약물을 마이크로 에멀전화하여 약물의 용해 속도를 향상시키며 약물의 물리화학적 작용에 의한 약물의 분해를 최소화하여 약물의 생체이용률을 극대화할 수 있는 방법이다. 마이크로 에멀전은 물과 오일에서 열역학적으로 안정하게 존재할 수 있으며 거의 투명한 형태로 존재한다. SMEDDS는 마이크로 에멀전에서 물이 제외된 것으로 마이크로 에멀전에 비해 부피가 작고 물에 의한 약물의 분해를 감소시킬 수 있다.

일반적인 난용성 약물이 함유된 경구투여용 정제의 경우, 위장 관에서 분해되고 용해되는 속도가 늦어 흡수가 지연되거나 결정성 약물의 경우 재결정이 형성되어 약물의 손실이 커 약물의 흡수율이 떨어져 생체이용률이 감소된다. 이러한 이유로 생체이용률을 증가시키기 위해 SMEDDS를 사용하고 있다. 이 방법을 이용해 시판되고 있는 제품으로는 사이클로스포린 A, 할로판트린을 비롯하여 비페닐디메틸 디카복실레이트 (DDB), 인도메타신 등과 같은 난용성 약물의 가용화와 처방화에 적용하여 약물의 흡수 및 생체이용률을 개선하였다. 또한 분무제, 겔제, 경질 캡셀제 및 연질 캡셀제 등의 다양한 제형으로 사용할 수 있다.³⁴⁻³⁷

4. 입자형 면역조절제

백신, 면역 조절제가 나노좀 또는 나노 입자 형태로 구성되어 있는 것을 Virosome이라 일컫는다. Virosome은 바이러스 표면 단백질을 지질의 표면에 코팅하여 바이러스의 항원성을 지니게 하고 입자의 크기도 바이러스와 유사하여 세포의 인식 또는 흡수를 용이하게 조작한 것으로 현재 이같은

Virosome은 인플렌자 백신 시장에 적용 단계에 있다. 표 2에서 보는 바와 같이 변형된 리포좀 구조를 갖는 cochelates는 소동물에서 전신성 및 점막 적용형 면역조절제로 시험중이며 중합형 리포좀은 장내에서 안정성이 향상된 것으로 나타나 점막 적용형 백신 개발에 사용 가능성이 높다. BioDelivery Science사가 개발한 cochelates는 Bioral이라는 명칭으로 DNA 백신을 포함하는 다양한 감염질환, 그 중에서도 특히 점막적용형 백신에 대해서 시험 중에 있다. Iscom 입자 중에서 대표적인 ISCOM은 콜레스테롤, 인지질, 사포닌 그리고 항원을 혼합하여 만들어지며 최근 가장 진보한 Iscom은 바이러스에서 추출한 당단백질을 운반하는 매체로서 influenza, feline leukemia, AIDS 바이러스에 면역 반응이 상당히 증가되는 것이 확인되었다. 미세 입자형은 PLGs (poly(lactide-co-glycolide)) 생분해성 고분자에 면역 보조제를 로딩하여 주사나 기타 방법으로 투여하는 것인데, 세포독성, T 임파구의 유도에 효과적이며 또한, DNA 백신에서 면역 조절제로서의 가능성이 매우 높다. 자기조합 입자형 단백질을 이용한 항원제시 세포로 항원을 전달하는 연구는 재조합 HbsAg가 강력한 면역원성을 지녀 체내에서 세포독성 T 임파구 (CTL) 반응을 유도하는데 사용될 수 있으며 또한, HBsAg와 바이러스 유사 입자 (virus-like particles)들과 함께 발현된 단백질에 대해서도 면역조절제로 사용될 수 있음이 발표되었다. Virus-like particles의 이용은 MedImmune사의 유두종 바이

표 2. SLN 제조에 사용되어지는 지질과 유화제의 종류

| | Lipids and emulsifiers |
|-----------------------------|--|
| Triglycerides | Tricaprin, Trilaurin, Trimyristin, Tripalmitin, Tristearin, Hydrogenated coco-glycerides (Softisan 142) |
| Hard fat types | Witepsol W 35, Witepsol H 35, Witepsol H 42, Witepsol E 85, Glycerol monostearate (Imwitor 900), Glycerol behenate (Compritol 888 ATO), Glycerol palmitostearate (Precirol ATO 5) |
| Fatty acids | Stearic acid, Palmitic acid, Decanoic acid, Behenic acid, Acidan N12 |
| Emulsifiers / Coemulsifiers | Soybean lecithin (Lipoid S 75, Lipoid S 100), Egg lecithin (Lipoid E 80), Phosphatidylcholine (Epikuron 170, Epikuron 200), Poloxamer 188, Poloxamer 182, Poloxamer 407, Poloxamine 908, Tyloxapol, Polysorbate 20, Polysorbate 60, Polysorbate 80, Sodium cholate, Sodium glycocholate, Taurocholic acid sodium salt, Taurodeoxycholic acid sodium salt, Butanol, Butyric acid, Dioctyl sodium sulfosuccinate, Monoctylphosphoric acid sodium |

리스에도 연구되고 있으며, Chiron사의 MF59와 MEDI491의 항체 반응을 개선하기 위해 사용되고 있다. 또한, Novavax사도 HPV를 virus-like particles에 응용하여 임상 실험 중에 있다.³⁸

5. DNA 전달 나노 입자

5.1 전달 벡터

세포내로의 유전자 전달은 크게 두 가지 전달 벡터를 이용하는 방법으로 대별된다. 그 한 가지 방법은 바이러스를 이용하는 방법으로, 즉 리트로 바이러스 (retroviruses), 아데노 바이러스 (adenoviruses), 아데노 결합 바이러스 (adeno-associated viruses) 등 외에 다양한 방법이 현재 연구 진행되고 있다. 이 벡터들을 이용한 유전자 치료법은 유전자 전달과 발현이 고효율을 나타내지만, 다양한 크기의 DNA 전달에 있어서의 한계, 독성, 고비용 등의 문제점을 또한 갖고 있다.

그러므로 비바이러스성 벡터를 이용하여 DNA를 50~200 nm로 응집시킬 수 있는 양이온성 거대분자의 개발은 새로운 관심을 갖게 되었다. 이상적 비바이러스성 유전자 전달 벡터는 안정하고, 독성이 없어야 하고, 생분해적이며, 외부 효소에 의한 DNA의 분해를 막아야 하는 기본적 요소 외에 세포내 전달과 endosomes으로부터의 방출을 용이하게 할 수 있도록 설계하는 것이 요구된다. 비바이러스성 벡터 설계의 성공을 위하여 확장되어 있는 DNA 사슬을 DNA 사슬 몇 개 이내의 컴팩트 입자, 즉 나노 크기로 만드는 것이 최근 몇 년 사이에 크게 연구되어

오고 있다. 양이온성 리피드, 폴리아민, 양이온을 띠는 고분자, 또는 단백질 등과 같은 비바이러스성 벡터는 DNA를 나노 입자로 만들 수 있는 화합물로 알려져 있다. 양이온성 화합물 등은 DNA의 전하를 중성화하는 과정에서 DNA의 여러 가지 형태를 변화시켜 구형, 막대형, toroid형 등 다양한 나노 입자를 형성하고 그 형태는 전자 현미경 등과 같은 다양한 분석학적 방법을 통해 확인되었다. 양이온성 리피드, 폴리아민, 양이온을 띠는 고분자, 또는 단백질 등과의 DNA 응집은 쉽게 형성되고 또한 가역 반응이다. 그러므로, 적은 양이온을 갖는 양이온성 화합물은 순환적 가역 반응을 통해 DNA와 양이온 화합물로 쉽게 분해되므로 이를 방지하기 위해 많은 양이온을 갖는 화합물 또는 화학적 변성을 통해 새롭게 합성된 양이온 화합물이 나노 입자의 안정성과 DNA 전달 효율을 증진시키기 위해 필요하다. 인식 하에 많은 연구가 진행되고 있다.

5.2 비바이러스 양이온성 벡터와 DNA응집

다양한 비바이러스 양이온성 화합물중 폴리아민은 그 구조 및 전하밀도가 DNA 응집 및 나노 입자 크기에 큰 효과를 갖고 있는 것으로 보고되어 있다. 표 3은 다양한 폴리아민과 DNA의 응집으로 형성된 나노 입자의 크기를 나타낸 것이다.³⁹ 여러 가지 양이온 화합물중 예를 들면, 폴리에틸렌이민 (PEI)과 DNA의 경우 AFM에서는 20~40 nm, 전자 현미경에서는 55±12 nm, DLS에서는 90~130 nm의 응집 크기를 보여주었다. 이러한 차이는 샘플 채취의 과정에서 나타나는 것으로 보고되어 있다. 이와 같이 양이온성 리피드, 폴리아민, 양이온을 띠는 고분자, 또는 단백질 등의 비바이러스성

표 3. DNA 응집제 그리고 DNA 나노 입자의 크기

| 응집제 | DNA | 크기 (nm) | 크기측정 방법 |
|---|---|---------|--------------|
| spermidine | T4, T7, viral f29, λ, PM2, calf thymus | 45-130 | DLS, EM, AFM |
| spermine | λ, pEGlacZ | 50-130 | DLS, EM |
| Co(NH ₃) ₆ ³⁺ | pUC12, λ, calf thymus, polynucleotides | 39-45 | DLS, EM |
| lipospermine | pSfiSVneo, pSfiSV19, pCISfi- γ IFN | 50-70 | SFM |
| poly(ethylenimine) | pSfiSVneo, pSfiSV19, pCISfi- γ IFN | 20-40 | SFM |
| cationic thiol detergent | pCMV-Luc | 35 | TEM |
| PLL-AsOR | pCMV-Luc | 50 | AFM |
| galactosylated PLL | pCMV-Luc | 30 | EM |
| poly-L-lysine | plasmid DNA | 10-100 | DLS |
| peptide | CMV- β -gal | 20-100 | PCS |
| poly(4-hydroxyproline) | pSV-CAT | 100 | DLS |

DLS : dynamic light scattering, EM : electron microscopy, AFM : atomic force microscopy, SFM : scanning force microscopy, TEM : transmission electron microscopy, PCS : photon correlation spectroscopy.

벡터를 이용한 DNA 응집은 20~150 nm의 나노 입자를 형성한다.

5.3 비바이러스 양이온성 벡터와 DNA 응집 메커니즘

DNA의 인산 음이온과 비바이러스 벡터 양이온의 정전기적 상호작용을 통한 중화의 과정을 통해 DNA의 응집이 발생된다. 매개체 (medium)의 이온 강도와 대응이온의 양이온 강도는 DNA 응집에 중요한 역할을 한다. 양이온은 DNA-용매 (medium)의 상호작용을 약하게 함에 의해 DNA 응집을 유발한다. DNA 응집에서 다가 양이온은 일정량 혼합에서 쿨롱 (coulombic) 인력이 무질서도 (entropic) 인력보다 우세하게 되므로 DNA는 구형, toroid, 또는 막대형으로 응집하게 된다. 이때 DNA 응집체의 크기는 DNA의 topology와 양이온 특성에 의존하며 대체적으로 200 nm 이하의 나노 입자를 형성한다. DNA 응집체의 형성에는 약 400~500의 염기 쌍이 관여하는 것으로 알려져 있다. 다가 양이온과 DNA사이의 응집이 정전기적 중화를 통한 자유에너지 변화에 주로 기인하지만, 입체적 그리고 화학적 변화, 즉 DNA의 벤딩, 수화, 혼합 등과 같은 요인 또한 DNA 응집에 있어 중요하게 작용하고 있다.

5.4 DNA 응집체의 세포내 전달

양이온성 리피드 또는 폴리아민에 의해 형성된 DNA 응집체는 과량의 양이온 전하를 갖게 되는데 이 양이온성 전하는 세포의 플라스마 멤브레인과 정전기적 상호작용을 가지게 되고 이때 플라스마 멤브레인의 음이온성 및 표면 리셉터의 작용을 통해 endocytosis (또는 DNA 응집체의 크기 또는 종류에 의존되어져서 pinocytosis, phagocytosis 등)를 유발시킨다. 최근의 연구는 세포막의 음이온 성분의 양과 전달벡터에 의한 DNA 응집체의 크기가 유전자 전달의 성공에 중요한 율속 단계임이 보고되고 있다. DNA 응집체를 함유한 endosomes은 lysosome에 기인해 불안정화되고 DNA 응집체를 방출하게 된다. 이 DNA 응집체는 세포핵 기공을 통해 세포핵 안으로 전달된다. 전달된 DNA 응집체는 세포성 양이온, histones, liposomes 등과의 상호작용을 통해 양이온 전달체로부터 DNA를 해리시킨다. 이러한 과정은 **그림 6**을 통해 나타내었다. 세포핵 내로의 전달 및 전달된 endosome으로부터 DNA 응집체를 효율적으로 방출시키기 위해 다양한 연구가 또한 시도되고 있다. 즉, DNA 응집체의 세포막 내로의 전달을 용이하게 하기 위해 fusogenic 단백질 변성된 벡터의 이용, 산성 vesicles의 endo-

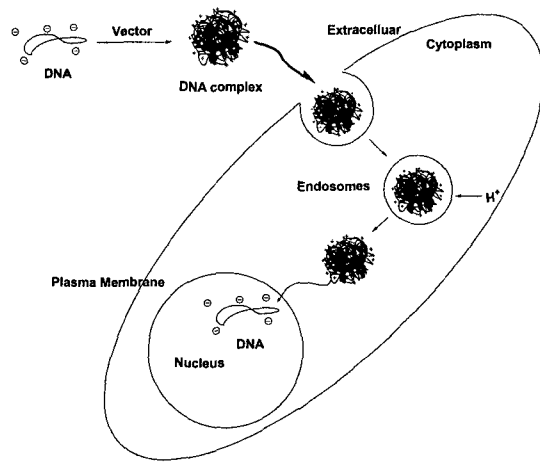


그림 6. DNA 전달 메커니즘. DNA가 다양한 벡터에 의해 구형, 막대형, toroid형의 구조를 형성하고 이 DNA 나노 응집체는 세포막 표면의 음이온성 효소에 의해 endocytosis 과정에 의해 세포 내부로 전달되어지고 endosomes의 pH증가에 의해 DNA나노 응집체가 세포내에서 방출되고 세포핵 기공을 통해 핵내로 전달된 후 벡터의 분리과정을 거쳐 DNA가 전달되는 그림을 나타내고 있다.

some내 축적을 유발하여 삼투압 작용에 의해 DNA 응집체의 endosome 방출을 촉진시킬 수 있는 chloroquine의 이용, 세포핵 내로 DNA를 효율적으로 전달하기 위해 nuclear localization signal 단백질로 변성된 DNA의 이용 등의 다양한 연구가 현재 진행되고 있다.

6. 표적 지향형 약물 전달 나노 입자

6.1 표적 지향성 약물 전달 시스템

표적 지향성 약물 전달은 다음과 같은 다양한 방법으로 연구 개발되고 있다. (ㄱ) 병리적 부위에 직접적으로 약물을 전달하는 방법, (ㄴ) 암, 경색 또는 염증 부위 등의 취약한 부위에 혈액 운반 과정을 통한 약물의 수동적 축적 방법, (ㄷ) 병리적 부위에 큰 친화력을 갖는 물질을 소유한 전달 벡터에 의한 약물의 전달 방법, (ㄹ) 병리적 부위에 운반된 약물 전달체에 온도 pH 등의 외부자극을 가함으로 인한 물리적 약물의 방출 방법, (ㅁ) 약물과 자기적 작용 기능을 갖는 전달체에 의해 병리적 부위에 전달 후 자기적 자극에 의한 약물의 방출 등이다. 위의 약물 전달 방법 중 (ㄴ)은 EPR 효과로서 (ㄷ)는 표적 지향성 작용기의 도입 방법으로 설명될 수 있다.⁴⁰

6.2 Enhanced Permeability and Retention (EPR) 효과

어떤 특이한 환경적 조건에서 즉, 암, 경색 또는 염증부 등과 같은 부위의 혈관은 매우 약하며 느슨한 구조를 갖고 있다는 것이 연구·보고되어 있다. 이 약하고 느슨한 구조의 혈관은 매우 높은 투과력을 보였다. 이러한 현상을 enhanced permeability and retention (EPR) 효과라 하고 **그림 7**에서 나타내고 있다.

EPR 효과의 특이성을 응용하여 표적 지향성 약물 전달 방법을 성공시키기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다. 예를 들면, 10~500 nm 크기의 마이셀, 리포솜 등은 이 약하고 느슨한 구조를 통해 쉽게 혈관 내로 통과할 수 있다. 만약 약물이 로딩된 나노 입자의 마이셀, 리포솜을 제조한다면 이 약물을 갖는 나노 입자들은 EPR 효과에 의해 쉽게 혈관내로 전달될 수 있다. 표적 지향성 약물전달 시스템은 병리적 부위에 충분한 양이 축적 작용하기 위하여서는 약을 갖는 나노 크기의 마이셀, 리포솜 등이 오랜 시간 동안 인체내의 혈관 내에서 순환하여야 할 필요가 있다. 오랜 시간 동안 혈관 내에서의 순환은 여러 가지 장점을 갖을 수 있다. 단일 복용으로 오랜 시간 동안 혈액에 약물 전달체를 통한 약물의 농도를 유지시킬 수 있다는 점, 단지 병리적 부위에서만 선택적으로 약물을 축적시킬 수 있다는 점, 선택적 방출에 의해 다른 부위에서의 부작용을 줄일 수 있다는 점 등이 그것이다. 오랜 시간 인체 내에서 순환 유지 안정화하기 위해 고분자 등과 같은 화합물을 도입하는 방법이 처음으로 1992년 Gabizon 등에 의해 이루어졌다.⁴¹ 그들은 항암제로서 doxorubicin을 PEG를 갖는 리포솜에 로딩한 후 EPR 효과를 갖는 항암치료제로서 연구하였고, 이 시스템은 현재 임상 적용되고 있다.

6.3 표적 지향성 작용기의 도입법

병리적 부위에 약을 직접 도입하는 것은 상당히 어렵다. 한편 병리적 부위는 투과도, 온도, pH 등이 일반적 조직과는 다르다. 그러므로 일반적인 약물에 특정 부위에 자극 반응 인식할 수 있는 표적 지향성 작용기를 도입할 수 있다. 선택적으로 약물을 투여하기 위한 시스템은 약물, 표적 지향성 작용기, 약물 전달 운반체 등의 3 가지 기본 구조로 현재 연구되고 있다. 항체 및 그 유사체, lectins, lipoproteins, hormones, 전하를 띠는 화합물, 단 또는 다가 폴리사카라이드, folate, 여러 가지 성장인자 등이 표적 지향성 작용기로 작용할 수 있다. 또한 하나의 표적 지향성 작용기에 고농도의 약물을 도입시키는 방법으로 여러가지 전달체인 마이크로캡슐, 나노 입자화, 리포솜, 마이셀화 등에 다량의 약물을 도입시키는 방법이 연구되고 있다. 이러한 방법들은 **그림 8**과 같이 일정 표면에 많은 양의 약을 도입할 수 있고, 크기의 조절을 통해 투과도 조절이 가능한 장점을 갖을 수 있다. 약물의 표적 지향성을 결정하는 요인으로는 표적지의 크기, 표적지 주변의 혈액의 흐름, 표적지 부위와 약물을 포함한 표적 지향성 화합물과의 결합력 등의 다양한 상호작용들이 작용한다.

7. 결론

기존의 약물을 이용하여 나노 크기의 제형으로 설계한 경우는, 특정 질병부위에 대한 선택적인 타겟팅이 가능하고 질병치료에 있어서 기존제형과 비교하였을 때 효과적인 치료가 가능하며 약물의 투여는 정상적인 기관, 조직, 세포 등에서 발생할 수 있는 여러 가지 부작용을 해결할 수 있는 유일한 방법으로 여겨져 차세대 기술로 대두되고 있다. 따라

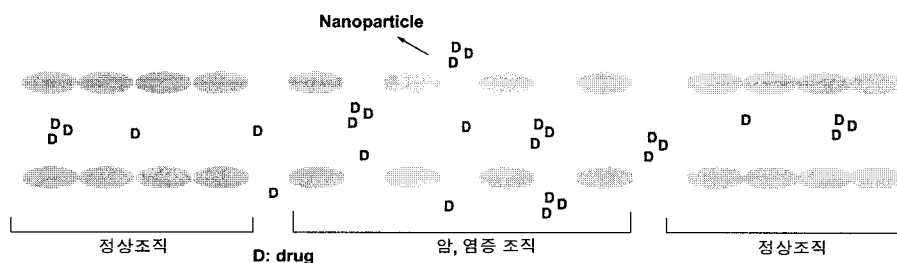


그림 7. EPR (enhanced permeability and retention)효과. 암, 염증 등의 부위의 조직에서는 혈관이 매우 약하며 느슨한 구조를 갖고 있으므로 전달된 약물이 쉽게 투과될 수 있다.

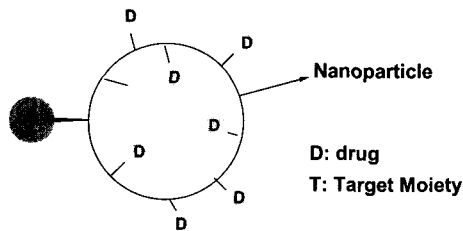


그림 8. 표적 지향성 작용기와 약물을 갖는 나노 입자.

서 난용성 약물의 나노 입자화, 표적지향형 나노 입자 및 나노 운송체 등을 이용한 약물 전달은 기존의 제한된 투여방법을 탈피하여 새롭고 다양한 투여방법이 가능하게 되었다는 점에서 국내·외 연구소 뿐만 아니라 제약회사에서 많은 연구가 진행되고 있는 실정이다. 앞으로 나노 전달체를 이용해 고부가가치 제품을 생산하기 위해서 집중적으로 투자와 기술개발에 박차를 가한다면 상당한 경제적 사회적 파급 효과가 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. H. Murakami, Y. Kawashima, T. Niwa, T. Hino, H. Takeuchi, and H. Kobayashi, *Int. J. Pharm.*, **43**, 149 (1997).
2. T. Niwa, H. Takeuchi, T. Hino, N. Kunou, and Y. Kawashima, *J. Controll. Rel.*, **25**, 89 (1993).
3. A. Schada, T. Niwa, H. Takeuchi, T. Hino, and Y. Kawashima, *Int. J. Pharm.*, **117**, 209 (1995).
4. H. Murakami, Y. Kawashima, T. Niwa, T. Hino, H. Takeuchi, and H. Kobayashi, *Int. J. Pharm.*, **149**, 43 (1997).
5. R. H. Muller, G. E. Hildebrand (Eds.), "Pharmazeutische Technologie : Moderne Arzneiformen, Lehrbuch für Studierende der Pharmazie-Nachschlagewerk für Apotheker in Offizin, Krankenhaus und Forschung 2", Erweiterte Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1998.
6. J. Schmitt, "Parenterale Fettemulsionen als Arzneistoffträger", in "Pharmazeutische Technologie : Moderne Arzneiformen Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft", eds. by R. H. Muller and G. E. Hildebr., p. 189, Stuttgart, 1998.
7. J. E. Diederichs and R. H. Muller, *Pharm. Ind.*, **56**, 267 (1994).
8. A. Fahr and T. Kissel, "Mikropartikel, Implan-

tate: Arzneiformen zur parenteralen Applikation", in "Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft", eds. by R. H. Muller and G. E. Hildebrand, p. 246, Stuttgart, 1998.

9. A. Smith and I. M. Hunneyball, *Int. J. Pharm.*, **30**, 215 (1986).
10. R. H. Muller, S. Maaben, H. Weyhers, F. Specht, and J. S. Lucks, *Int. J. Pharm.*, **138**, 85 (1996).
11. J. F. Pinto and R. H. Muller, *Die Pharmazie*, 506 (1999).
12. M. Demirel, Y. Yazan, R. H. Muller, F. Kilic, and B. Bozan, *J. Microencapsulation*, submitted, (2000).
13. S. A. Runge, Ph. D. thesis, Free University of Berlin (1998).
14. K. Garheng, A. Gopal, P. P. William, D. B. Rod, C. Michael, N. David, and W. D. Mark, *Cancer Research*, **60**, 6950 (2000).
15. Y. Nishimura, R. Murata, and M. Hiraoka, *British Journal of Cancer*, **73**, 270 (1996).
16. R. B. Diane, D. B. Corazon, S. Ricardo, B. M. John, F. Judah, and J. F. Isaiah, *International Journal of Oncology*, **14**, 401 (1999).
17. H. Hiroshi, K. Kenji, and T. Toru, *Bioconjugate Chem.*, **9**, 382 (1998).
18. G. G. Liversidge, K. C. Cundy, J. F. Bishop, and D. A. Czekai, U. S. Patent, 5,45,684 (1992).
19. S. Loper, "Poorly soluble compounds: vehicle selection and solubilization", in "Land O'Lakes Conference: Drug Metabolism and Pharmacokinetics", 1999.
20. L. Penkler, R. H. Muller, S. A. Runge, and V. Ravelli, "Pharmaceutical cyclosporin formulation with improved biopharmaceutical properties, improved physical quality and greater stability, and method for producing said formulation", WO 99/56733 (1999).
21. K. Yamamoto, M. Nakano, T. Arita, Y. Takayama, and Y. Nakai, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1484 (1976).
22. D. A. Wyatt, *Gattefosse*, **92**, 31 (1999).
23. B. J. Aungst, *J. Pharm. Sci.*, **82**, 970 (1993).
24. R. Arky, Physician's desk reference, *Medical Economics Company*, **53**, 875 (1999).
25. G. Khang, J. K. Jeong, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **14**, 123 (2001).
26. T. Gershanik and S. Benita, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 179 (2000).

27. P. P. Xu, M. L. Lu, M. L. Xu, and J. Zhu, *Chinese J. Pharm.*, **20**, 127 (1989).
28. J. Hyun and I. K. Chun, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **24**, 57 (1994).
29. Y. Tsuda, M. Ishida, E. Suzuki, and K. Sekiguchi, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2193 (1998).
30. D. Attwood, "Microemulsions", in "Colloidal Drug Delivery Systems", ed. by Kreuter, p. 31, Marcel Dekker, New York, 1994.
31. D. Langevin, *Adv. Colloid Interf. Sci.*, **34**, 583 (1991).
32. C. W. Pouton, *Int. J. Pharm.*, **27**, 335 (1985).
33. S. A. Charman, W. N. Charman, M. C. Rogge, T. D. Wilson, F. J. Dutko, and C. W. Pouton, *Pharm. Res.*, **9**, 87 (1992).
34. N. H. Shah, M. T. Carvajal, C. I. Patel, M. H. Infeld, and A. W. Malick, *Int. J. Pharm.*, **106**, 15 (1994).
35. M. J. Grouve and R. M. A. Mustafa, *J. Pharm. Pharmacol.*, **26**, 671 (1974).
36. R. T. Clay, K. Patel, and R. S. Cook, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 3 (1985).
37. B. Matuszewska, L. Hettrick, J. V. Bondi, and D. E. *Int. J. Pharm.*, **136**, 147 (1996).
38. 특허청, 2001 신기술동향조사 보고서 면역요법제, (2001).
39. V. Vijayanathan, T. Thomas, and T. J. Thomas, *Biochemistry*, **41**, 14085 (2002).
40. N. David and W. D. Mark, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **53**, 285 (2001).
41. A. A. Gabizon, *Cancer Res.*, **52**, 891 (1992).