

## 팔미틴산덱사메타손이 봉입된 지질나노입자의 제조: 지질종류와 함량에 따른 물리적 특성

정석현 · 이정은 · 성하수 · 신병철†

한국화학연구원 생체분자전달제어팀  
(2006년 9월 15일 접수 · 2006년 10월 13일 승인)

### Preparation of Dexamethasone-21-palmitate Incorporated Lipid Nanosphere: Physical Properties by Varying Components and Ratio of Lipid

Suk Hyun Jung, Jung Eun Lee, Hasoo Seong, Byung Cheol Shin†

Bioactive Molecules Delivery & Control Team, Korea Research Institute of Chemical Technology,  
100 Jang Dong, Yuseong, Deajeon 305-343, Korea

(Received September 15, 2006 · Accepted October 13, 2006)

**ABSTRACT** – Intraarticular corticosteroid injections for therapy of rheumatic arthritis are administered with the aim of optimal local anti-inflammatory effect at the injection site. Since the side effects of corticosteroidal drug, dexamethasone (DEX), administered at high dose limited the therapeutic efficacy, there was a need to design a new drug delivery system for controlled release of dexamethasone. As a prodrug for continuous therapeutic efficacy, dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL) was prepared via esterification of palmitoyl chloride and dexamethasone. DEX-PAL was identified by NMR and MASS analysis. DEX-PAL or DEX was entrapped in lipid nanosphere which could be prepared by using a self emulsification-solvent evaporation method. Physicochemical characteristics such as mean particle diameter, zeta potential and drug loading efficiency of the lipid nanospheres were investigated with variation of either the kind of lipid or the lipid composition. The lipid nanospheres had a mean diameter 83~95 nm and DEX-PAL loading efficiency of up to 95%. The drug loading efficiency increased with the increase of aliphatic chain length attached to the phospholipid. The incorporation of cationic lipid was very efficient for both reducing particle size of lipid nanospheres and enhancing drug loading efficiency. The lipid nanospheres containing DEX-PAL may be a promising novel drug carrier for the controlled release of the poorly water-soluble drugs.

**Key words** – Dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL), Lipid nanosphere, Controlled release formulation

입자성 약물 전달체로서 많은 연구가 되고 있는 지질나노입자(lipid nanosphere)는 에멀전, 리포솜 또는 고분자 나노입자와 같은 기존의 약물 전달체가 갖는 불안정성과 낮은 약물 봉입효율의 문제를 극복할 수 있는 새로운 구조체로서 상온에서 고체상태인 지질을 고온 혹은 유기용매상에서 약물과 혼합하여 균일한 상을 제조하고 이를 서서히 냉각하거나 분산시켜 약물이 지질 결정 사이에 고체 용액(solid solution) 상으로 존재하는 구조체를 말한다.<sup>1)</sup> 지질나노입자는 물리적 안정성이 높고, 불안정한 약물의 분해를 억제하고, 약물의 방출을 속방형 또는 서방형으로 조절하며, 독성이 낮고 병소에 특이적으로 약물을 타겟팅(targeting) 할 수 있는 장점을 지니고 있어 주로 난용성 약물의 가용화, 체내 대사에 의해 활성이 저하되는 약물의 안정화에 기여한다. 한편, 약물의 봉입효율이 기존의 약물 전달체에 비해 높지만 보관기간 동안

지질결정구조의 전환 또는 수분의 함량이 높은 경우 약물이 구조체로부터 빠져나오는 단점이 있다. 따라서 화학적 구조가 다른 여러 가지 지질을 혼합하여 결정구조를 불완전하게 함으로써 약물이 봉입될 수 있는 공간을 늘여주거나 액상의 지질에 약물을 봉입시키고 고상의 지질이 그 계면을 안정화 시킴으로써 봉입효율과 안정성을 증가시키는 연구가 시도되고 있다.<sup>2)</sup>

관절염은 주로 노화나 비만 등으로 인해 연골의 퇴화와 마모로 발생하는 퇴행성 관절염(degenerative arthritis)과 면역력 약화와 세균감염에 의해 발생하는 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis)을 특징으로 하는 질환으로서 항염증 효능을 갖는 스테로이드계 약물을 관절강(cavum articulare)에 직접 투여하거나 정맥주사로 투여하여 치료한다.<sup>3)</sup> 덱사메타손(dexamethasone)은 항염증 효과가 우수한 스테로이드계 약물로서 안구, 피부 및 관절의 염증치료에 효과적이지만 주사제로 제조할 때 요구되는 물에 대한 용해도가 낮고 스테로이드 약물이 갖는 부작용인 부신피질의 기능저하, 당뇨 등의

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 042)860-7223, E-mail : bcshin@pado.kriict.re.kr

내분비계 이상, 우울증 및 불면 등의 정신신경계 장애 등의 부작용으로 인해 투여 용법과 용량에 많은 제약이 따르며, 체내에서 빠르게 소실되기 때문에 항염증 작용을 지속시키기 어려운 문제가 있다. 따라서 입자성 약물 전달체에 텍사메타손을 고농도로 봉입하여 수용액에 적정농도 이상으로 텍사메타손을 용해하고, 투여부위에서 약물 전달체로부터 텍사메타손이 지속적으로 방출되도록 함으로써 항염증 효능을 지속시키는 연구가 진행되고 있다.<sup>4,6)</sup> 약물 전달체로부터의 방출조절을 통해 효능을 지속시키고 동시에 텍사메타손의 전구약물(pro-drug)을 사용하여 약물방출 후에도 약효의 지속성을 향상시키는 방법이 시도되고 있다. 전구약물이란 생체 대사활성이 없도록 화학적으로 변형된 약물 또는 그 유도체로서 체내 효소 등에 의해 분해되도록 유도해 다시 생체대사활성을 갖는 물질로 활성화되는 약물이다. 전구약물로서 텍사메타손의 21번 탄소에 팔미틴산(palmitic acid)을 에스테르 결합시킨 팔미틴산텍사메타손(dexamethasone-21-palmitate, DEX-PAL)이 사용되고 있다. DEX-PAL은 체내에서 에스테르 분해효소인 에스테라제에 의해 점차 가수분해되어 생체활성형 대사물인 텍사메타손으로 대사되어 항염증작용을 나타내며 기존의 텍사메타손에 비해 지속적인 약효를 보인다.<sup>7)</sup>

본 연구에서는 텍사메타손 또는 텍사메타손의 지용성 유도체인 DEX-PAL을 수용액에 가용화하고 지질나노입자로부터 지속적인 약물의 방출이 가능하도록 하기 위하여 인지질, 이온성 지질 및 콜레스테롤로 구성된 지질나노입자를 자발유화 용매확산(self emulsification-solvent evaporation)법으로 제조하였다. DEX-PAL은 텍사메타손을 에스테르화 반응시켜 합성하였고 지질나노입자의 구성성분의 종류와 함량에 따른 텍사메타손 또는 DEX-PAL 함유 나노입자의 형성여부, 봉입효율 및 물리적 특성을 살펴보았다. 인지질의 소수성 꼬리(hydrophobic tail)인 지방족 탄화수소의 길이에 따른 약물 봉입효율의 변화, 양이온성 지질의 이온강도에 따른 나노입자의 물리적 특성 변화 등을 조사함으로써 지질 나노입자에 난용성 약물의 봉입과 지질나노입자의 안정화에 미치는 구성성분의 영향을 고찰하였다.

## 실 험

### 시약

지질나노입자를 제조하기 위하여 사용된 지질로써 1,2-dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine(DMPC), dimethyldioctadecyl-ammoniumbromide(DDAB), 1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine(DSPC), 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine(DOPE), 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-

phosphocholine(DPPC), 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane(DOTAP), L- $\alpha$ -phosphatidylcholine(soy-hydrogenated, HSPC), cholesterol(CHOL), 1,2-dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine(DMPC), 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine(DOPE)은 Avanti Polar Lipids Inc.(Alabaster, AL, 미국)에서, palmitoyl chloride는 Sigma Aldrich Inc.(미국)에서 구입하여 사용하였으며, 텍사메타손은 Tokyo Chemical Industry Co.(Tokyo, 일본)에서 구입하여 사용하였다. 모든 용매는 일급 또는 특급시약을 사용하였다.

### 팔미틴산텍사메타손(DEX-PAL)의 합성

텍사메타손의 지속적인 항염증작용을 위한 전구약물로서 DEX-PAL을 텍사메타손과 염화팔미토일의 에스테르화 반응을 통해 다음의 과정으로 합성하였다. 1.96 g(5 mmol)의 텍사메타손을 5 mL의 피리딘과 5 mL의 아세톤을 혼합한 용액에 녹인 후 1.9 ml(1.66 g, 6 mmol)의 염화팔미토일을 2.5 mL의 아세톤에 녹인 용액을 적가하여 실온에서 4시간 동안 반응시켰다. 20 mL의 증류수를 첨가하여 반응을 종결한 후, 4°C에서 12시간 이상 냉장 보관하여 친유층만을 분별침전법을 사용하여 3회 정제하였다. 정제된 친유층을 8 mL의 아세톤에 녹인 후 2%의 염화나트륨 수용액 40 mL를 첨가하여 미반응 염화팔미토일을 제거하였다. 생성된 백색의 고체를 거름종이를 사용하여 거른 후, 아세톤으로 5회 이상 세척하고 건조하여 DEX-PAL을 72.4%의 수율로 얻었다. 합성된 DEX-PAL의 분자량은 질량스펙트럼분석기(mass spectrometer, Auto spectrometer, Micromass, 영국)를 통하여 확인하였으며, 화학적 구조는 FT-핵자기공명분광기(nuclear magnetic resonance spectroscopy, AVANCE 500, Bruker, 독일)를 사용하여 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼으로 분석하였으며, 순도는 고 효율액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, SP930D, 영린기기, 한국)를 사용하여 결정하였다. HPLC 분석에서 이동상은 에틸아세테이트와 메탄올이 9:1(v/v)인 혼합용액을 사용하였고, 칼럼은 Atlantis dC18(4.6×15 cm)을 사용하여 0.5 ml/min의 유속으로 자외선(UV) 검출기로 검출하였다.

### 지질나노입자 제조 및 약물 봉입

지질나노입자는 유화-용매 확산 방법에 따라 다음과 같이 제조하였다.<sup>8,9)</sup> 인지질, 콜레스테롤과 양이온성 지질을 7:3:5의 몰 비율로 고정하고 각각의 지질의 종류를 변화시켜 제조하였다. 인지질은 알킬기의 탄소수가 각각 14, 16 또는 18인 DMPC, DPPC 또는 HSPC를 사용하였다. 이온성 지질은 DDAB 또는 DOTAP를 사용하였다. 먼저 40 mg의 텍

사메타손 또는 DEX-PAL을 8 mL의 메탄올에 용해시켜 덱사메타손 또는 DEX-PAL 용액을 제조하였고, 인지질, 콜레스테롤 및 양이온성 지질은 2 mL의 클로로포름에 용해시켜 준비하였다. 약물 용액과 지질 용액을 혼합한 10 mL의 용액을 20 mL의 증류수에 분산시켰다. 이때 고강도 초음파발생기 (ultrasonicator, Model 500, Fisher Scientific, 미국)를 사용해 초음파를 조사하면서 약물-지질혼합용액을 21 게이지의 주사기로 약 5 mL/min의 속도로 2분간 가하였고, 분산된 용액을 다시 30초 간격으로 1분간 5회 조사하였으며 증류수는 약 4°C 이하의 온도를 유지하였다. 제조된 30 mL의 분산용액은 감압회전증발농축기를 이용하여 총 용액의 부피가 8~10 mL가 될 때까지 증발, 농축하여 유기용매를 완전히 제거함으로써 덱사메타손 또는 DEX-PAL이 봉입된 지질나노입자가 분산되어있는 수용액을 얻었다. 지질나노입자가 분산되어있는 수용액은 0.2 µm의 주사여과기로 여과하여 지질나노입자의 형성에 참여하지 못한 지질, 콜레스테롤과 덱사메타손 또는 DEX-PAL을 제거하였다.

**지질나노입자의 크기와 표면전하 측정**

제조한 지질나노입자의 크기와 표면전하는 전기영동 광산란측정기(electrophoretic light scattering spectrophotometer, ELS-8000, Otuska Electronics, 일본)을 사용하여 측정하였다. 입자의 크기는 제조한 지질나노입자 용액 0.5 mL를 분취하여 2.5 mL의 증류수로 희석한 용액을 60°의 산란각에서 25°C를 유지하면서 측정하였다. 표면전하는 지질나노입자 용액 1 mL를 분취한 후 9 mL의 증류수로 희석하여 25°C, pH 7에서 측정하였다.

**지질나노입자의 봉입 효율 측정**

지질나노입자에 봉입된 덱사메타손의 봉입효율은 덱사메타손을 염산페닐히드라진으로 발색시킨 후, 흡광도를 자외/가시광 분광광도기(Shimadzu UV mini 1240, 일본)로 측정하여 계산에 의해 결정하였다.<sup>10)</sup> 발색반응에 사용한 염산페닐히드라진시액은 80 mL의 증류수와 170 mL의 황산을 혼합

한 용액 250 mL 중 100 mL를 분취한 용액에 65 mg의 염산페닐히드라진을 용해하여 제조하였다. 먼저 검량선 작성은 일정량의 덱사메타손을 10 mL의 에탄올에 용해한 용액 중 2 mL를 분취하여 10 mL의 염산페닐히드라진시액을 가하여 교반한 후, 60°C에서 20분간 발색반응시켰다. 반응이 종료된 용액을 상온까지 서서히 냉각시킨 후 최대 흡수파장 423 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였다. 지질나노입자에 봉입된 덱사메타손의 양은 지질나노입자가 분산된 맑은 수용액을 진공건조하여 수분을 완전히 제거한 후 검량선 작성시 동일한 방법으로 염산페닐히드라진시액을 가하여 발색반응 시켰다. 발색반응이 완료된 용액의 흡광도를 측정하고 미리 작성한 검량선과 비교하여 덱사메타손의 농도로 환산하였다.

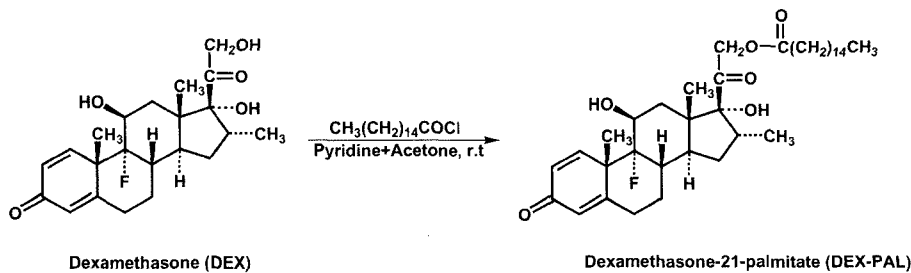
지질나노입자에 봉입된 DEX-PAL의 봉입효율은 200 µL의 지질나노입자용액을 분취하고 진공, 건조하여 수분을 완전히 제거한 후, 5 mL의 클로로포름과 메탄올이 혼합된 용액 (2:8, v/v)을 첨가하여 지질나노입자를 용해한 용액을 255 nm의 UV 파장에서 측정하고 미리 작성한 검량선과 비교하여 DEX-PAL의 농도로 환산하였다. 봉입효율은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{봉입효율(\%)} = \frac{\text{지질나노입자에 봉입된 덱사메타손 또는 DEX-PAL}}{\text{지질나노입자 제조 시 사용한 덱사메타손 또는 DEX-PAL}} \times 100$$

**결과 및 고찰**

**팔미틴산덱사메타손(DEX-PAL)의 합성 및 분석**

덱사메타손의 전구약물인 DEX-PAL은 Scheme 1과 같이 합성하였고 구조는 <sup>1</sup>H-NMR을 통하여 확인하였다. Figure 1의 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트라에 제시한 것과 같이 0.86, 1.25 및 1.66 ppm에서 각각 팔미틱산의 지방사슬에 의한 e, f 및 i의 수소 피크를 확인하였고, 0.91, 1.04 및 1.54 ppm에서 각각 덱사메타손이 가지는 3개의 메틸기에 의한 g, h 및 j 피크



Scheme 1-Synthetic scheme of dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL).

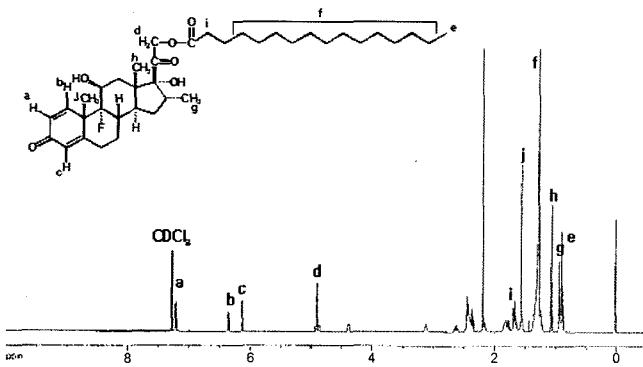


Figure 1—<sup>1</sup>H-NMR spectra of dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL).

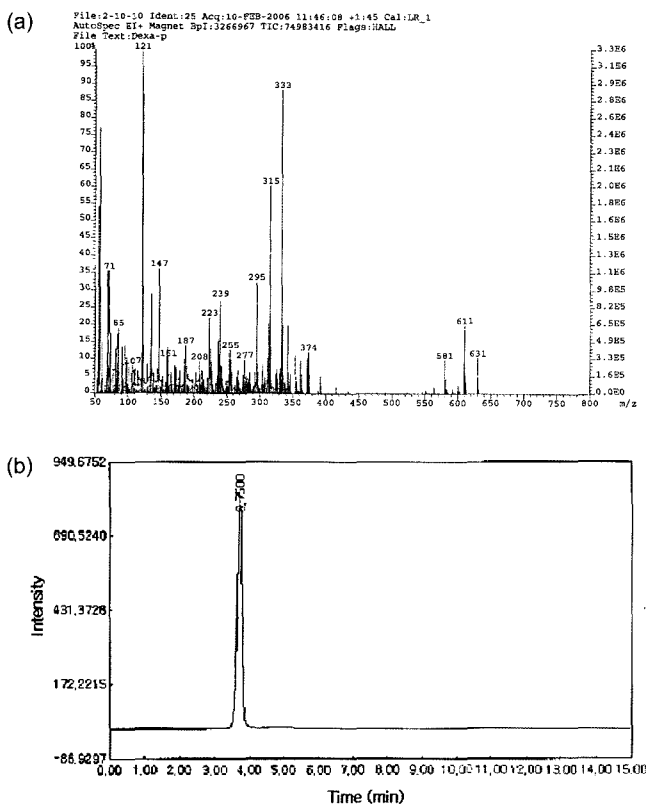


Figure 2—Mass spectra (a) and high performance liquid chromatographic chromatogram (b) of dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL).

를 확인하였으며, 7.20, 6.33 및 6.11 ppm에서 각각 텍사메타손의 1, 2 및 4번 탄소의 수소에 의한 a, b 및 c 피크를 확인하였다. 또한 21번 탄소의 수소는 4.88 ppm에서 d 피크로 확인하였다. 한편, Figure 2에 나타난 것과 같이 DEX-PAL의 질량분석 결과 (a)로부터 분자량 631을 확인하였고, HPLC의 분석결과 (b)로부터 255 nm에서 피크면적 100%로 물질의 순도를 확인하였다.

Table I—Mean Particle Diameter, Loading Efficiency and Zeta Potential of Dexamethasone (DEX) or Dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL)-loaded Lipid Nanospheres Prepared with a Variation of Phospholipid

Drugs	†Phospholipid	Mean particle diameter (nm)	Loading efficiency (%)	Zeta potential (mV)
DEX	HSPC	122	76.1	52.1
	DPPC	1205	0.3	49.2
	DMPC	±	-	-
DEX-PAL	HSPC	86.6	82.4	91.0
	DPPC	109.5	71.4	92.3
	DMPC	113.	765.7	99.5

†Molar ratio of phospholipid:CHOL:DDAB was set to 7:3:5.

‡Physical characteristics could not be measured due to formation of lipid aggregates.

지질나노입자의 물리적 특이성

인지질의 종류에 따른 지질나노입자의 물성 변화를 알아보기 위해 지방족 탄소수가 다른 인지질을 사용하여 제조한 지질나노입자의 특성을 Table I에 나타내었다. 인지질과 콜레스테롤 및 양이온성 지질의 물 비율을 7:3:5로 일정하게 유지하고 인지질의 종류를 변화하여 텍사메타손이 봉입된 지질나노입자를 제조하는 경우, DMPC는 나노입자가 형성되지 않았으며, HSPC는 지질나노입자의 크기가 122 nm, 텍사메타손의 봉입효율이 76.1%인 나노입자가 형성되었다. DEX-PAL가 봉입된 지질나노입자의 경우, DMPC는 입자크기가 113 nm DEX-PAL의 봉입효율이 65.7%인 지질나노입자를 형성하여 텍사메타손을 봉입했을 때와는 달리 지질나노입자가 형성되었다. 지질나노입자의 구성성분인 인지질로서 DMPC를 사용한 경우, 텍사메타손은 나노입자형성이 어렵고 DEX-PAL이 나노입자를 형성하는 이유는 텍사메타손이 지방쇄를 가지고 있지 않아 DEX-PAL에 비해 소수성이 약하고 상대적으로 인지질의 지방쇄와 인력이 약하기 때문이다. 인력이 따라서, 텍사메타손 보다 소수성이 강한 DEX-PAL의 경우 DMPC와 소수성 인력에 지질나노입자 구조체에 존재할 수 있으므로 나노입자형성이 유리한 것으로 생각되었다. 한편, HSPC, DPPC 및 DMPC는 두 개의 지방족을 갖는 포스파티딜 콜린(phosphatidyl choline)으로서 그 구조가 유사하지만 지방족 탄소수가 DMPC는 14개, DPPC는 16개 그리고 HSPC는 18개의 지방쇄를 함유한다. 가장 짧은 지방쇄를 갖는 DMPC로 지질나노입자를 제조하는 경우, 텍사메타손이 봉입된 지질나노입자가 형성되지 않았고 DEX-PAL를 봉입시켰을 때 HSPC나 DPPC를 사용한 경우에 비해 상대적으로 낮은 DEX-PAL 봉입효율을 나타내었다. 한편, 텍사메타손 및 DEX-PAL 모두 지방쇄가 가장 긴 HSPC를 사

용하여 지질나노입자를 제조한 경우 가장 높은 약물 봉입 효율을 나타내었다. 이와 같이 약물의 봉입효율이 지방쇄의 길이에 따라 비례하는 이유는 인지질의 지방쇄의 길이가 길수록 약물과 인지질간의 소수성 인력이 증가하기 때문인 것으로 생각되었다. 특히, 지질나노입자 구성성분과 비율이 같은 조건에서 DEX-PAL이 봉입된 나노입자는 덱사메타손이 봉입된 나노입자 보다 입자크기가 작음에도 불구하고 봉입효율이 높았다. 이는 DEX-PAL은 그 구조에 지방쇄를 가지고 있기 때문에 인지질간의 소수성 인력을 증강시키고 지질의 소수성 지방쇄와 강하게 회합할 수 있기 때문인 것으로 생각되었다.

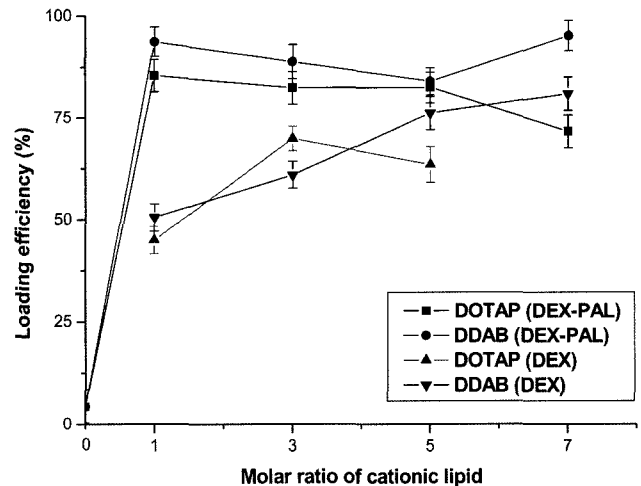
**입자형성과 표면전하의 관계**

DEX-PAL이 봉입된 지질나노입자의 제조에 있어서 이온성 지질이 입자형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 인지질과 콜레스테롤의 비율을 7:3으로 일정하게 유지한 후 인지질의 종류를 달리하여 제조한 지질나노입자와 실험과 인지질, 콜레스테롤 및 양이온성 지질인 DDAB의 비율을 7:3:5로 고정하여 제조한 지질나노입자의 특성을 분석한 결과를 Table II에 제시하였다. 양이온성 지질을 사용하지 않고 인지질과 콜레스테롤만으로 제조함으로써 사용하여 표면전하가 거의 중성인 지질나노입자는 DEX-PAL의 봉입효율이 인지질 종류와 관계없이 9% 이하였으며, 입자의 크기는 330 nm 이상의 값을 나타내었다. 같은 조건에서 양이온성 지질인 DDAB를 5 몰 비율로 첨가하여 표면전하가 양이온성인 나노입자를 제조한 경우 65% 이상의 약물 봉입효율과 114 nm 이하의 입자크기를 나타내었다. 이러한 현상은 수용액 내에서 지질나노입자가 형성되는 과정에서 양이온성 지질이 지질나노입자의 응집을 억제하고 200 nm 이상의 크기로 형성된 나노입자가 여과과정에서 제거되었기 때문인 것으로 생

**Table II—Mean Particle Diameter, Loading Efficiency and Zeta Potential of Dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL)-loaded Lipid Nanospheres with or Without Existence of a Cationic Lipid, DDAB**

†Lipid composition	Mean particle diameter (nm)	Loading efficiency (%)	Zeta potential (mV)
HSPC : CHOL	426.7	4.4	14.0
HSPC : CHOL : DDAB	86.6	82.4	91.0
DPPC : CHOL	404.0	5.1	-14.8
DPPC : CHOL : DDAB	109.5	71.4	92.3
DMPC : CHOL	332.6	8.1	-21.1
DMPC : CHOL : DDAB	113.7	65.7	99.5

†Molar ratio of phospholipid:CHOL was set to 7:3 and molar ratio of phospholipid : CHOL:DDAB was set to 7:3:5.

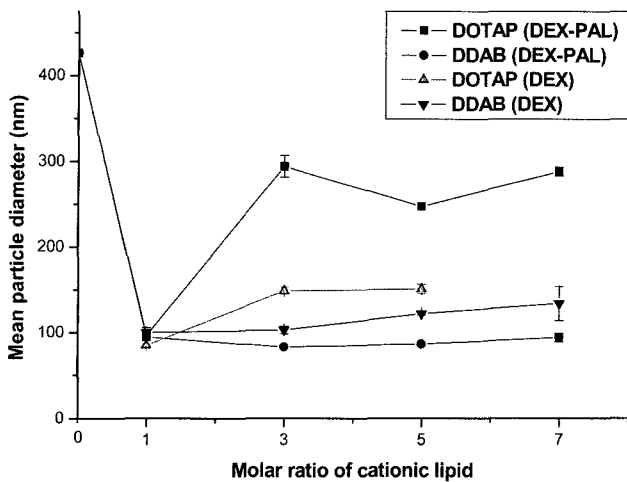


**Figure 3—Loading efficiency of dexamethasone (DEX) or dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL) into lipid nanospheres according to molar ratio of cationic lipid, DDAB or DOTAP, in total lipid composition. Lipid nanospheres were composed of HSPC, CHOL and cationic lipid. Molar ratio of HSPC:CHOL was set to 7 : 3. At 0 or 7 molar ratio of cationic lipid, some data of loading efficiency could not be measured due to formation of lipid aggregates (n=3).**

각되었다.

한편, 양이온성 지질의 이온강도와 함량에 따른 지질나노입자의 물리적 특성변화를 조사하기 위하여 인지질로서 HSPC를 선정하고 HSPC와 콜레스테롤의 비율을 일정하게 고정한 뒤 양이온성지질로서 이온강도가 높은 DDAB와 이온강도가 낮은 DOTAP의 함량을 1, 3, 5 및 7 몰 비율로 변화시켜 제조한 지질나노입자의 입자크기, 표면전하 및 약물 봉입효율의 변화를 분석하였다.

Figure 3에 제시한 바와 같이 덱사메타손 또는 DEX-PAL은 양이온성 지질이 포함되지 않는 조건에서는 지질나노입자가 형성되지 않거나 형성된 지질나노입자에 약물의 봉입효율이 매우 낮음을 알 수 있었다. 이와 대조적으로 양이온성 지질이 함유된 지질나노입자는 약물 봉입효율이 급격히 증가하여 DEX-PAL의 경우 양이온성 지질을 사용하였을 때 봉입효율이 70~95%였으며, 덱사메타손의 경우 45~81%의 봉입효율을 나타내었다. 양이온성 지질의 함량 변화에 따른 봉입효율은 본 연구의 제조 조건에서 DEX-PAL이 덱사메타손 보다 높은 값을 나타내었는데 이는 DEX-PAL의 지방쇄와 지질과의 소수성 인력의 증가에 의한 결과로 사료되었다. 한편, DEX-PAL은 양이온성 지질의 함량 증가에 따라 봉입효율이 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 지질나노입자에 DEX-PAL의 봉입이 인지질의 지방쇄와 DEX-PAL의 지방쇄 간의 소수성 인력에 의존하며 양이온성 지질은 일정 농도 이상에서 형성된 지질나노입자의 응집을 억제하는 성분



**Figure 4**—Mean particle diameter of lipid nanospheres containing dexamethasone (DEX) or dexamethasone-21-palmitate (DEX-PAL) according to molar ratio of cationic lipid, DDAB or DOTAP, in total lipid composition. Lipid nanospheres were composed of HSPC, CHOL and cationic lipid. Molar ratio of HSPC:CHOL was set to 7:3. At 0 or 7 molar ratio of cationic lipid, some data of mean particle diameter of lipid nanospheres could not be measured due to formation of lipid aggregates (n=3).

으로 작용하기 때문인 것으로 생각되었다. 이와는 대조적으로 텍사메타손은 이온성 지질의 이온강도와 함량에 따라 봉입효율이 크게 영향을 받는 것을 알 수 있었다. 이는 지질나노입자에 텍사메타손의 봉입이 인지질 이외에 콜레스테롤과의 소수성 인력이나 이온성 지질과의 정전기적 인력에 의해 이루어지기 때문인 것으로 생각되었다. 다만 이온강도가 상대적으로 낮은 DOTAP은 특정 몰 비율에서 가장 높은 봉입효율을 나타내어 최적의 지질 비율이 존재함을 알 수 있었다.

한편, 양이온성 지질의 함량 변화에 따른 지질나노입자의 크기변화를 Figure 4에 나타내었다. 양이온성 지질이 사용되지 않은 경우 입자의 크기는 400 nm 이상 이거나 지질나노입자의 형성이 이루어지지 않았다. 양이온성 지질을 사용하였을 경우 지질나노입자의 크기는 큰 폭으로 감소하였으며 DDAB는 100 nm 이하의 크기를 갖는 지질나노입자가 형성되었고 DOTAP에 비해 입자크기가 작은 나노입자가 형성됨을 알 수 있었다. 한편, 양이온성 지질로 DOTAP을 사용하여 제조한 나노입자에 DEX-PAL을 봉입하는 경우 DOTAP의 비율이 증가함에 따라 나노입자의 크기가 증가함을 알 수 있다. 이는 DOTAP이 가지고 있는 2개의 에스테르기의 비공유전자쌍 때문에 입자 형성 시 DOTAP 간의 반발력이 작용하여 입자가 크게 형성되는 것으로 사료되었다. 이상의 결과로부터 DEX-PAL 및 텍사메타손을 봉입시킨 지질나노입자의 제조에서 양이온성 지질은 약물의 봉입효율과 100 nm 이하의 입자를 형성하는데 결정적인 역할을 하는 구성성분

임을 알 수 있었으며 DEX-PAL은 양이온성 지질로서 이온강도가 높은 DDAB를 전체 지질 중 1 몰 비로 사용하여 제조하였을 때 봉입효율이 높고 입자크기가 100 nm 이하인 지질나노입자의 제조가 가능하였다. 한편, 텍사메타손은 DDAB의 함량 변화에 따라 봉입효율과 입자크기의 변화가 커서 최적의 몰 비를 설정하는 것이 중요함을 알 수 있었다.

## 결론

본 연구에서는 텍사메타손의 지용성 유도체로서 팔미틴산 텍사메타손(DEX-PAL)을 합성하고 이를 효과적으로 봉입시킬 수 있는 약물전달체로서 지질나노입자를 제조하였다. 인지질, 양이온성 지질 및 콜레스테롤로 구성된 지질나노입자는 자발적 유화-용매 확산법으로 제조하였으며 인지질과 이온성 지질의 종류와 함량이 지질나노입자의 특성과 약물 봉입효율에 미치는 영향을 살펴보고 이를 텍사메타손을 봉입한 지질나노입자의 결과와 비교하였다. DEX-PAL은 염화팔미토일과 텍사메타손의 에스테르화 반응을 통해 약 75%의 수율로 제조되었고, <sup>1</sup>H-NMR, 질량분석 및 HPLC 분석을 통해 구조, 분자량 및 순도를 확인하였다.

소수성이 증가된 DEX-PAL은 텍사메타손에 비해 지질나노입자에 더 높은 봉입효율을 나타내었고 인지질의 지방쇄의 탄소수가 증가할수록 DEX-PAL의 봉입효율은 증가하는 경향을 나타내었다. 입자크기가 100 nm 정도이고 약물의 봉입효율이 높은 지질나노입자를 제조함에 있어서 이온성 지질은 필수적인 구성성분이며 이온강도가 높은 양이온성 지질인 DDAB는 상대적으로 이온강도가 낮은 DOTAP에 비해 DEX-PAL의 봉입효율을 효율적으로 증진시키고 지질나노입자의 크기를 100 nm 이하로 감소시켰다. 최적의 조성에서 DEX-PAL의 최대 봉입효율이 95% 이상, 지질나노입자의 크기가 약 90 nm인 지질나노입자를 제조하였다.

이상의 결과로부터 텍사메타손의 지용성 유도체인 DEX-PAL은 그 구조 내에 지방쇄를 함유하여 지질과의 소수성 인력이 강화됨으로써 지질나노입자의 크기를 감소시키고 텍사메타손에 비해 봉입효율이 우수함을 알 수 있었다. DEX-PAL이 봉입된 지질나노입자는 항염증 작용이 유구되는 병소 부위에서 지속적으로 약물을 방출시킬 뿐만 아니라 방출된 DEX-PAL이 체내 효소에 의해 분해되어 약효를 발현함으로써 지속성 항염증제로의 응용이 기대된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 과학기술부 기능성 화합물질 개발사업과 정보

통신연구진흥원 IMT-2000 출연금 기술개발지원사업(01-PJ11-PG9-01NT00-0003)으로 이루어진 것이므로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 1) S.A. Wissing and O. Kayser, R.H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery Muller, *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, **56**, 1257-1272 (2004).
- 2) A. Z. Mühlen, C. Schwarz and W. Mehnert, Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery-Drug release and release mechanism, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **45**, 149-155 (1998).
- 3) M. H. Bonanomi, M. Velvart, M. Stimpel, K. M. Roos, K. Fehr and H. G. Weder, Studies of pharmacokinetics and therapeutic effects of glucocorticoids entrapped in liposomes after intraarticular application in healthy rabbits and in rabbits with antigen-induced arthritis, *Rheumatol Int.*, **7**, 203-212 (1987).
- 4) Y. Tauchi, M. Takase, I. Zushida, S. Chono, J. Sato, K. Ito and K. Morimoto, Preparation of a complex of dexamethasone palmitate-low density lipoprotein and its effect on foam cell formation of murine peritoneal macrophages, *J. Pharm. Sci.*, **88**, 709-714 (1999).
- 5) O. F. Turkoglu, H. Eroglu, O. Okutan, E. Burul, M. F. Sargon, N. Ozer, L. Oner and E. Beskonakli, The efficiency of dexamethasone sodium phosphate-encapsulated chitosan microspheres after cold injury, *Surg. Neurol.*, **64**, S2:11-S2:16 (2005).
- 6) B. McCormack and G. Gregoriadis, Comparative studies of the fate of free and liposome-entrapped hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin/drug complexes after intravenous injection into rats: implications in drug delivery, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1291**, 237-244 (1996).
- 7) G. Hochhaus, H. Derendorf, H. Möllmann and J. Barth, A selective LC/RIA for dexamethasone and its prodrug dexamethasone-21-isonicotinate in biological fluids, *J. Pharmaceut. Biomed.*, **9**, 761-767 (1991).
- 8) H. Murakami, M. Kobayashi, H. Takeuchi and Y. Kawashima, Preparation of poly(-lactide-co-glycolide) nanoparticles by modified spontaneous emulsification solvent diffusion method, *Int. J. Pharm.*, **187**, 143-152 (1999).
- 9) C. X. Song, V. Labhassetwar, H. Murphy, X. Qu, W. R. Humphrey, R. J. Shebuski and R. J. Levy, Formulation and characterization of biodegradable nanoparticles for intravascular local drug delivery, *J. Control. Release.*, **43**, 197-212 (1997).
- 10) Ministry of Health and Welfare, The Korea Pharmacopoeia, seventh edition 71-72.
- 11) H. Fukui, T. Koike, A. Saheki, S. Sonoke and J. Seki, A novel delivery system for amphotericin B with lipid nanosphere (LNS<sup>®</sup>), *Int. J. Pharm.*, **265**, 37-45 (2003).
- 12) G. Cevc and G. Blume, Hydrocortisone and dexamethasone in very deformable drug carriers have increased biological potency, prolonged effect and reduced therapeutic dosage, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1663**, 61-73 (2004).
- 13) T. Niwa, H. Takeuchi, T. Hino, N. Kunou and Y. Kawashima, Preparations of biodegradable nanospheres of water-soluble and insoluble drugs with D, L-lactide/glycolide copolymer by a novel spontaneous emulsification solvent diffusion method and the drug release behavior, *J. Control. Rel.*, **25**, 89-98 (1993).
- 14) A. R. Mohammed, N. Weston, A. G. A. Coombes, M. Fitzgerald and Y. Perrie, Liposome formulation of poorly water soluble drugs: optimisation of drug loading and ESEM analysis of stability, *Int. J. Pharm.*, **285**, 23-34 (2004).
- 15) A. Sanchez, J. L. Vila-Jato and M. J. Alonso, Development of biodegradable microspheres and nanospheres for the controlled release of cyclosporin A, *Int. J. Pharm.*, **99**, 263-273 (1993).