

신규 합성 당지질 함유 리포솜의 In Vitro 안정성

송충길 · 정순화 · 성하수 · 조선행 · 신병철*
한국화학연구원 생체분자전달제어연구팀
(2006. 11. 13 접수)

In Vitro Stability of Liposomes Containing Newly Synthesized Glycolipid

Chung Kil Song, Soon Hwa Jung, Hasoo Seong, Sun Hang Cho, and Byung Cheol Shin*

Bioactive Molecules Delivery & Control Research Team, Korea Research Institute of Chemical Technology,

P.O. box 107, 100 Jang Dong, Yuseong, Daejeon 305-343, Korea

(Received November 13, 2006)

요 약. 리포솜은 수십~수백 나노미터 크기의 소포체(small vesicle)로서 약물전달에 유용한 구조체이나 체내 혈류 순환계(blood circulatory system)에서 구조적 불안정성에 의해 체내 순환시간이 짧고 세망내피계(reticuloendothelial system)에 의해 소실되어 이를 개선하기 위한 다양한 연구가 시도되고 있다. 본 연구에서는 이당류(disaccharide)로서 락토오스와 슈크로스가 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, DSPE)과 공유결합된 새로운 당-DSPE 유도체를 합성하고 이를 리포솜의 구성성분으로 하는 리포솜을 제조함으로써 리포솜의 표면이 이당으로 수식된 리포솜을 제조하였다. 제조된 리포솜의 입자크기는 대략 100 nm였으며, 표면전하 값은 당이 수식되지 않은 대조군 리포솜이 -10 mV를 나타내었으나 당-DSPE 유도체를 함유한 리포솜의 경우 리포솜 표면에 존재하는 당의 수산기기에 의하여 표면전하의 값은 -25 mV를 나타내었다. 리포솜 내부에 모델약물인 독소루비신(doxorubicin)의 로딩효율은 약 90%를 나타내었다. 당-DSPE 유도체 함유 리포솜의 in vitro 안정성은 혈청 내에서 단백질흡착량의 변화 및 리포솜의 입자크기를 관찰하여 평가하였다. 당-인지질 유도체를 함유한 리포솜은 당-인지질 유도체를 함유하지 않은 리포솜 또는 폴리에틸렌글리콜(PEG) 수식 리포솜에 비해 단백질흡착의 양과 혈청 내 입자크기의 변화가 적은 것으로 관찰되었다. 이당이 결합된 DSPE와 이를 함유한 리포솜은 혈액내 안정성이 향상되어 체순환계 내에서 장시간 순환이 가능한 약물전달체로서 유용할 것이라 사료된다.

주제어: 리포솜, 이당, 안정성

ABSTRACT. Liposomes having particle size from several tens to hundreds nanometers are efficient carriers for injectable drug delivery. Enhancement of liposome stability in bloodstream has been studied because of its relatively short circulation time and fast clearance from human body by reticuloendothelial system (RES) in blood vessel. In this study, new disaccharide-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (DSPE) derivatives in which lactose or sucrose as the disaccharide molecule was conjugated covalently to DSPE were synthesized. Liposomes of which surface had disaccharide molecules were prepared by incorporating the disaccharide-DSPE into liposomes as one of their lipid components. Particle size of the prepared liposomes was approximately 100 nm. The liposomes of which surface were modified with the disaccharide-DSPE showed -25 mV of zeta potential value due to the presence of hydroxyl groups on their surface, while the unmodified control liposomes showed -10 mV of zeta potential value. Loading efficiency of model drug, doxorubicin, into liposomes was about 90%. Stability of the disaccharide-modified liposomes in vitro was evaluated by monitoring the amount of protein adsorption and particle size of the liposomes in serum. Disaccharide-modified liposomes were more stable in serum than unmodified control liposomes or polyethyleneglycol (PEG)-modified

liposomes due to less adsorption of serum protein and hence less increase of their particle size. The liposomes of which surface was modified with disaccharide-DSPE conjugate can be used as long-circulating carriers for drugs having high toxicity or short half-life time due to their enhanced stability in blood circulatory system.

Keywords: Liposome, Disaccharide, Stability

서 론

리포솜은 인지질로 구성되어 이중막을 형성하는 소포체로서 사용되는 지질의 구성에 따라 표면전하, 이중막의 유동성 그리고 크기 등을 쉽게 조절할 수 있으며 리포솜 내부에 친수성 약물을 봉입하거나 이중막 사이에 소수성 약물을 봉입할 수 있는 장점을 가지고 있다. 또한 리포솜의 구조는 세포막의 구조와 비슷하여 독성이 적고 세포와의 융합이나 세포내이입(endocytosis)을 통한 약물전달이 손쉬운 약물전달체로 연구가 활발히 진행되고 있다.¹⁻³ 하지만 리포솜은 체내 두여시 간이나 비장의 세망내피계와 대식세포에 의하여 쉽게 흡수되어 혈류 내 반감기가 급격히 떨어지게 되는 단점을 가지고 있다. 또한 혈중 단백질의 흡착 및 리포솜간의 응집현상에 의하여 구조적으로 불안정하게 되어 봉입된 약물이 누출되어 정상 세포에 독성을 끼치는 문제를 가지고 있다.⁴⁻⁷ 이러한 짧은 체내순환시간을 극복하기 위하여 생체 적합성 고분자 및 당류를 리포솜의 표면에 결합시켜 리포솜의 구조를 안정화시키는 방법이 활발히 연구되고 있다.^{8,9} 예를 들어 생체적합성 고분자인 폴리에틸렌글리콜을 인지질과 결합하여 리포솜을 제조하거나 폴리에틸렌글리콜을 함유한 빗 모양 고분자를 리포솜의 표면에 수식하여 친수성 고분자에 의한 입체적인 장벽을 만들어 리포솜의 구조적인 안정성을 증가하는 방법이 사용되고 있다. 또한 세포표면에 존재하는 당질층에 과량으로 존재하는 당은 세포를 보호하고 세포간의 대사과정에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다.¹⁰ 이를 모델로 하여 당을 리포솜의 표면에 수식하여 리포솜 표면에 당에 의한 친수성 장벽을 만들어 혈류 내 존재하는 비 특이적인 단백질흡착을 방지하고 특정세포로 향하게 하는 목적으로 많은 연구가 되고 있다.¹¹⁻¹⁴ 예를 들어 단당인 갈락토오스와 만노오스, 이당인 말토오스 그리고 다당인 맥스트란, 풀루란 같이 당을 리포솜 표면에 수식하거나 모노시알로겐글리코사이드(GM₁) 같은 당지질을 사용하여 리포솜을

제조시 혈류 내 안정성이 증가되고 단백질의 흡착이 방지된다고 보고되고 있다.

본 연구에서는 리포솜의 안정성 향상 및 단백질흡착 방지 목적으로 올리고당이나 다당에 비해 구조적으로 간단하고 친수성이 좋은 이당인 락토오스와 슈크로스를 인지질과 공유결합하여 이당이 표면에 수식된 리포솜을 제조하여 리포솜의 구조적인 안정성 및 단백질흡착 등에 미치는 영향을 살펴보았다. 이당과 지질을 결합하기 위하여 락토오스와 슈크로스를 카르복시메틸화(carboxymethylation) 과정을 통해 이당에 카르복시기를 도입하였고 카르복시기가 도입된 이당을 인지질과 공유결합하여 제조한 이당-인지질 유도체를 리포솜에 사용하였다. 제조된 리포솜의 단백질흡착 방지 효과 및 안정성을 평가하기 위하여 혈청 단백질에서의 흡착량과 소 혈청 내에서 시간에 따른 리포솜 입자 크기 변화를 측정하였다.

실험 방법

시약 및 기기

시약. 이당인 락토오스와 슈크로스 그리고 이당의 카르복시메틸화를 위해 사용된 수산화나트륨과 chloroacetic acid를 Sigma Aldrich Inc.(Milwaukee, USA)에서 구입하여 사용하였다. 리포솜 제조에 사용된 지질인 L- α -Phosphatidylcholine(soy-hydrogenated)(HSPC), Cholesterol(CHOL), 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine(DSPE) 및 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-2000](DSPE-mPEG2000)는 Avanti Polar Lipids Inc.(Alabaster, AL, USA)에서 구입하여 사용하였다.

카르복시메틸화 이당과 DSPE를 공유결합하기 위하여 사용되는 N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride(EDC)와 N-Hydroxysuccinimide(NHS)는 Sigma Aldrich Inc.(Milwaukee, USA)에서 구입하여 사용하였다. 모델 약물로는 독소루비신(doxorubicin, DOX)을 보령제약(주)에서 구입하여 사

용하였고, 그 밖에 실험에 사용한 클로로포름과 메탄올 등은 일급 및 특급시약을 그대로 사용하였다.

기기. 락토오스가 결합된 DSPE(lactosyl-DSPE)와 슈크로스가 결합된 DSPE(sucrosyl-DSPE)의 구조는 ¹H-NMR(500 MHz, Auto Sampler-HRMAS-FT-NMR, Bruker, Switzerland)과 FT-IR(Bomen 102 FT-IR spectroscopy)을 이용하여 분석하였다. 리포솜 제조시 인지질 필름 형성을 위하여 회전증발기(Buchi Rotavapor R-200, Switzerland)를 사용하였고, 리포솜의 입자 크기 조절과 단일 이중막 제조를 위하여 가압압출기(Lipex extruders, Northern Lipid Ins, Canada)를 사용하였다. 리포솜의 크기 및 표면전하는 입도분석기(ELS-Z, Otuska, Japan)를 사용하여 측정하였다. 리포솜 내의 약물 봉입률은 자외선 분광기(UV mini 1240, Shimadzu, Japan)를 사용하여 측정하였다. 리포솜에 대한 단백질의 흡착량 측정은 ELISA reader(EL808, Bio-Tek Ins, USA)를 사용하여 측정하였다.

이당의 카르복시메틸화. 이당의 일차 알콜을 카르복시메틸화하기 위해 3 mmol의 락토오스와 슈크로스를 물에 용해시킨 후 수산화나트륨을 3.24 mol/anhydroglucose unit(AGU) 첨가하여 25 °C에서 1시간 반응하여 일차 알콜을 활성화시킨 후 2 mol/AGU의 chloroacetic acid를 첨가하여 50 °C에서 6시간동안 용액의 상태를 확인하면서 반응하였다.^{15,16}

카르복시메틸화 이당과 DSPE의 결합. DSPE에 카르복시메틸화 이당을 결합시키기 위하여 1 mmol의 카르복시메틸화 이당, 2 mmol의 EDC 그리고 NHS를 1 ml의 물에 넣고 상온에서 2시간 반응하여 카르복시기를 활성화시킨 후 50 μmol의 DSPE가 녹아 있는 20 ml 클로로포름과 메탄올 혼합용액을 첨가하여 20 시간 상온에서 반응하였다. 반응이 종결된 후 회전증발기를 사용하여 클로로포름과 메탄올 혼합용매를 제거한 후 미 반응 카르복시메틸화 이당, EDC 및 NHS를 제거하기 위하여 4에서 48시간 동안 막부식(MWCO 13,000, Viskase Co. Illinois, USA)을 실시하여 제거하였다. 카르복시메틸화 이당과 DSPE가 결합된 lactosyl-DSPE와 sucrosyl-DSPE는 ¹H-NMR과 FT-IR 분광분석을 통하여 확인하였다.

리포솜의 제조 및 약물봉입. 각 리포솜 제조에 사용된 지질의 종류와 몰비율은 대조군 리포솜의 경우 HSPC, CHOL, DSPE(12.6:8.2:1.1)를 사용하였고 스텔스 리포솜은 HSPC, CHOL, DSPE-mPEG2000(12.6:8.2:1.1)

를 사용하여 리포솜을 제조하였다. 그리고 이당이 결합된 DSPE 함유 리포솜은 HSPC, CHOL, lactosyl-DSPE 또는 sucrosyl-DSPE(12.6 : 8.2 : 1.1)를 사용하여 제조하였다 리포솜의 제조는 각각의 지질을 클로로포름과 메탄올 2 : 1(v/v)로 혼합한 용매에 용해시킨 후, 회전증발기를 사용하여 50에서 감압 증류하여 둥근 플라스크 벽에 얇은 지질막을 형성시켰다. 지질막이 형성된 둥근 플라스크는 12시간 진공하에서 잔류 용매를 완전히 제거시킨 후 형성된 지질막을 250 mM의 암모늄설페이트 용액으로 지질막이 완전히 분산될 때까지 수화하며 리포솜을 제조하였다. 리포솜 입자의 크기를 조절하기 위하여 가압압출기로 200 nm 그리고 100 nm의 공극을 갖는 폴리카보네이트 분리막(Whatman, USA)을 이용하여 각각 5번씩 가압압출하였다. 리포솜 내부에 봉입되지 않은 암모늄설페이트는 리포솜 용액을 4 °C에서 48시간 동안 막투석(MWCO 13,000)을 실시하여 제거하였다. 각 리포솜에 독소루비신의 봉입은 리포솜 내부와 외부의 암모늄설페이트의 농도편차를 이용한 리모트 모딩방법을 사용하였고 자외선 분광장치를 이용하여 490 nm에서 독소루비신의 봉입률을 측정하였다.¹⁷

리포솜의 안정성 평가. 제조된 리포솜의 단백질흡착 방지효과를 평가하기 위하여 리포솜의 단백질흡착의 양을 bradford 단백질 정량법을 사용하여 측정하였다.¹⁸ 1 mg/ml 소 혈청 단백질(Bovine Serum Albumin, BSA) 용액과 제조된 리포솜 용액을 1 : 1(v/v)로 혼합하여 37에서 48시간 동안 교반하면서 일정시간마다 샘플을 1 ml씩 채취하였다. 채취한 샘플은 13,200 rpm에서 10분 동안 원심분리 한 후 상등액을 제거하고 PBS 1 ml를 추가하여 리포솜에 흡착되지 않은 단백질을 원심분리하여 제거하는 과정을 2회 반복하여 단백질이 흡착된 리포솜만을 얻었다. 96 well plate에 단백질이 흡착된 리포솜, 0.1 ml PBS 그리고 단백질 측정 용액 0.1 ml를 가한 후 ELISA reader를 사용하여 590 nm에서 흡광도를 측정하여 리포솜에 흡착된 단백질의 양을 결정하였다. 단백질양의 검정곡선은 1 mg/ml BSA 용액을 사용하여 작성하였다. 또한 리포솜의 입자안정성을 평가하기 위하여 소 혈청 내에서의 입자 크기의 변화를 관찰하였다. 리포솜 용액과 소 혈청(Fetal Bovine Serum, FBS)을 1 : 1(v/v)로 혼합하여 37 °C에서 48시간 동안 교반하면서 입자의 크기변화를 광산란 장치를 이용하여 측정하였다. 리포솜의 단백질

착 방지효과와 입자안정성은 student's t-test를 통하여 $P < 0.05$ 에서 통계적 유의성이 있다고 확인하였다.

결과 및 고찰

이당과 인지질이 결합된 당지질의 합성, Fig. 1은

이당인 락토오스와 슈크로스를 카르복시메틸화한 후 인지질인 DSPE와 합성하는 경로를 나타내었다. 이당의 카르복시메틸화는 락토오스와 슈크로스의 일차 알콜을 수산화나트륨으로 1시간 동안 활성화한 후 chloroacetic acid를 통하여 Fig. 1에서 나타낸 R₁과 같이 수소 또는 아세트산으로 치환되었다. 카르복시메

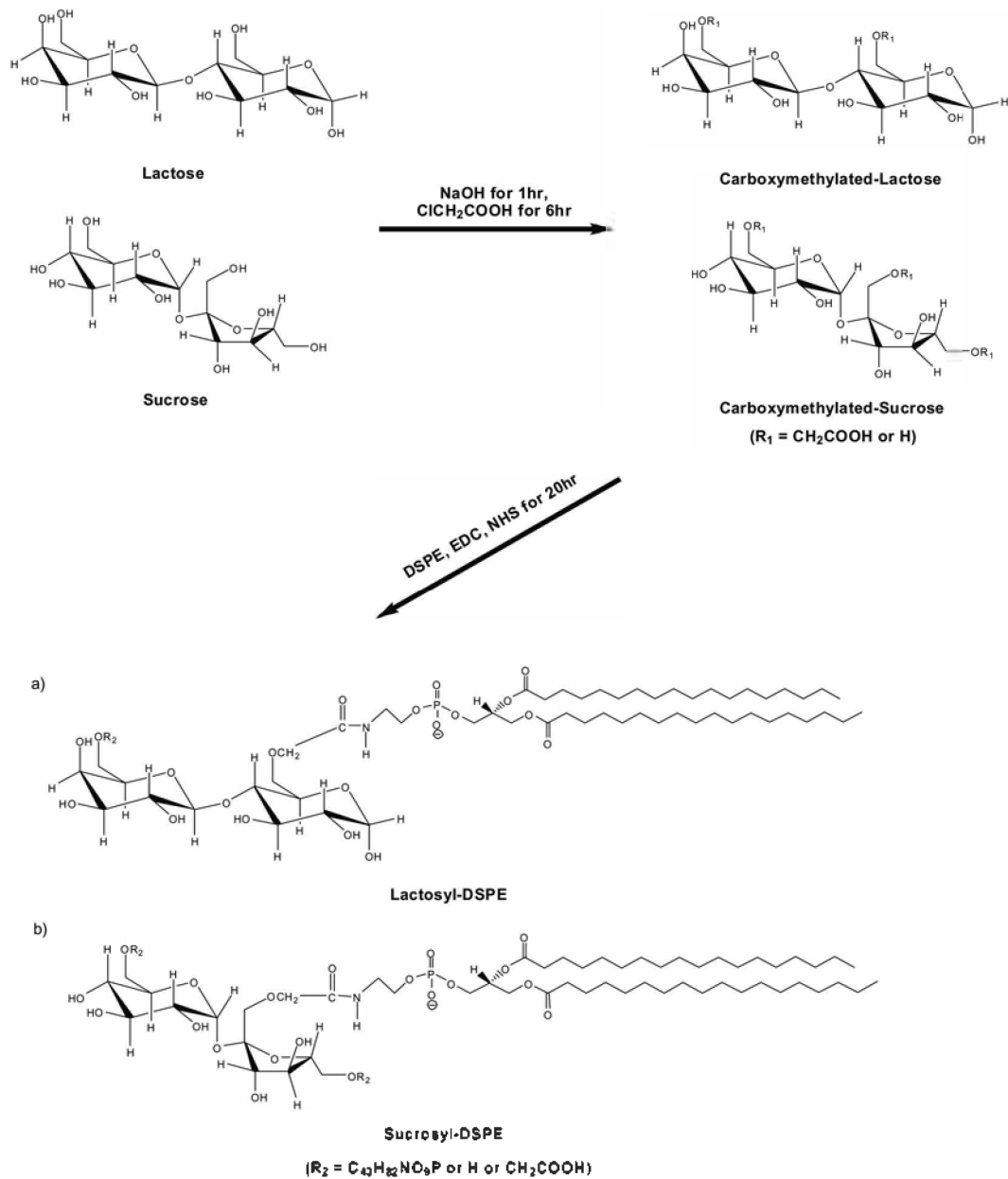


Fig. 1. Synthetic scheme of lactosyl-DSPE (a) and sucrosyl-DSPE (b).

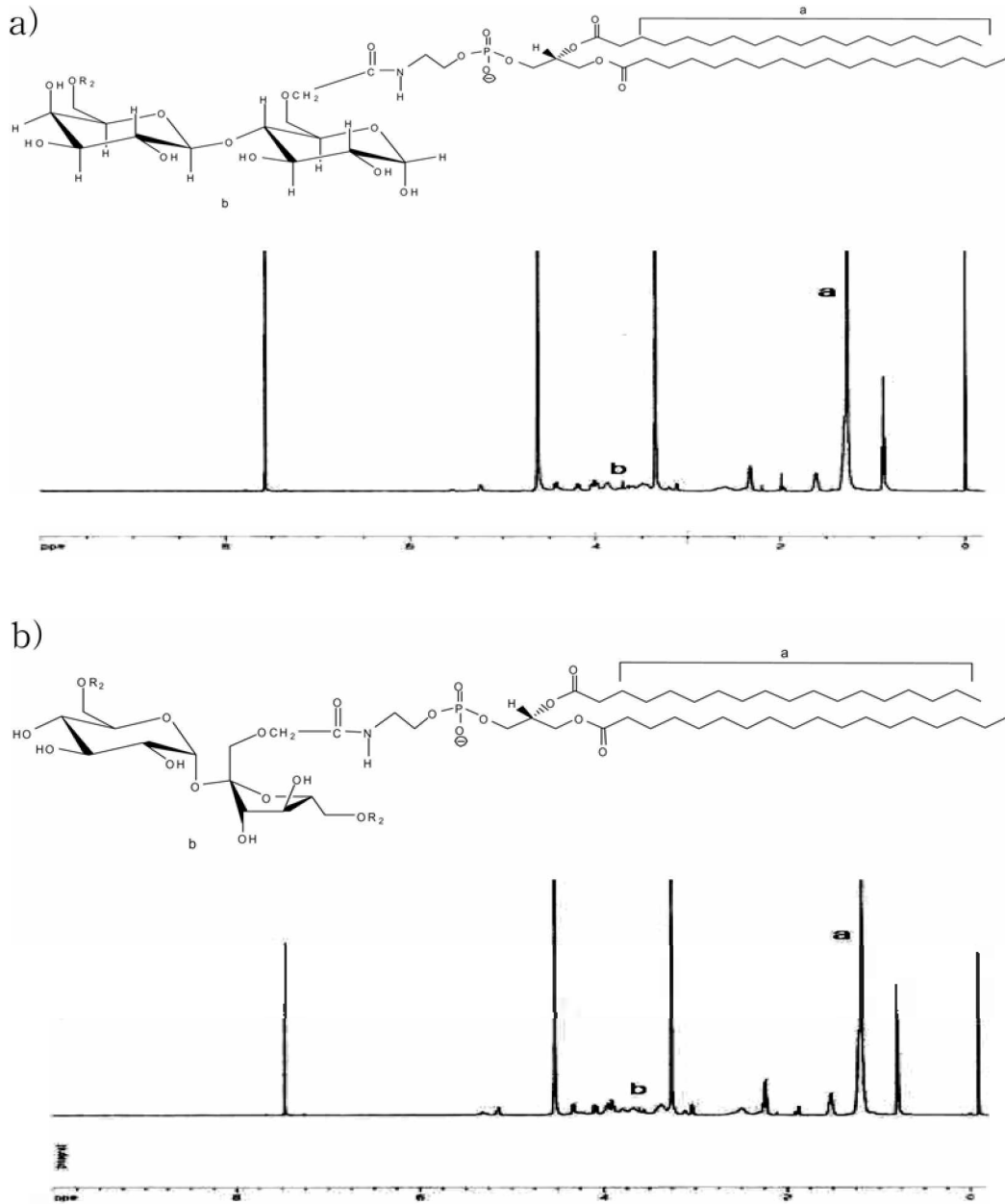


Fig. 2. ¹H-NMR spectra of lactosyl-DSPE (a) and sucrosyl-DSPE (b). Disaccharides (3.4-4.9 ppm) were found in the lactosyl-DSPE and sucrosyl-DSPE.

팅화된 이당이 결합된 인지질의 구조는 Fig. 2와 Fig. 3에서 ¹H-NMR과 FT-IR 분광분석을 통하여 확인하였다. Fig. 2의 (a)에 제시한 lactosyl-DSPE와 (b)에 제시한 sucrosyl-DSPE의 구조는 ¹H-NMR 스펙트럼으로부터 1.2 ppm에서 DSPE의 알킬체인의 수소의 피크,

3.4-4.9 ppm에서 락토오스와 슈크로스에 존재하는 알코올의 수소의 피크를 확인함으로써 DSPE의 말단에 이당의 결합된 인지질의 구조를 확인하였다. 이당과 DSPE의 결합이 공유결합으로 합성된 것은 FT-IR 분광분석을 통하여 확인하였고 그 결과를 Fig. 3에 나

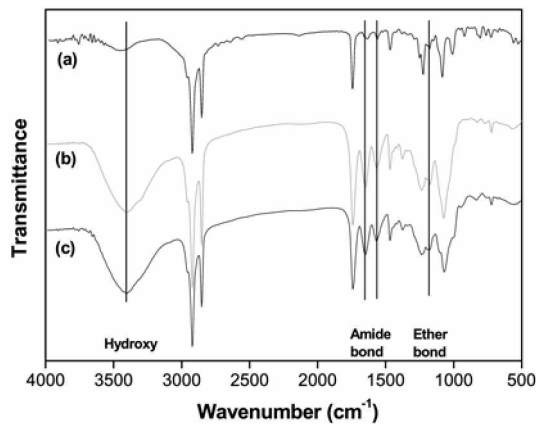


Fig. 3. FT-IR spectra of DSPE (a), lactosyl-DSPE (b) and sucrosyl-DSPE (c). Characteristic peaks from ether peak (1180 cm^{-1}) and amide peak ($1565, 1650\text{ cm}^{-1}$) was found in the disaccharide-modified DSPE spectra.

타내었다. Fig. 3의 (a)는 DSPE, (b)는 lactosyl-DSPE 그리고 (c)는 sucrosyl-DSPE의 스펙트럼을 나타내었다. Fig. 3의 (b)와 (c)에서 3400 cm^{-1} 에서 이당인 락토오스와 슈크로스의 수산화기 그룹의 특성피크, 1565 cm^{-1} 및 1650 cm^{-1} 에서 아미드 결합의 특성피크 그리고 1180 cm^{-1} 에서 에테르 결합의 특성피크를 확인하였다. Fig. 3의 (b)와 (c)에서 에테르 결합 특성피크가 나타난 것으로부터 카복시메틸화를 확인할 수 있었고, 아미드 결합 특성피크로부터 카복시메틸화 락토오스와 슈크로스가 DSPE와 공유결합됨을 확인하였다.

리포솜의 물리적 특성. 본 연구에 사용된 리포솜의 입자크기, 표면전하 그리고 약물의 봉입률을 Table 1.에 나타내었다. 대조군 리포솜, 스텔스 리포솜 그리고 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜의 크기는 $100\pm 15\text{ nm}$ 내외에서 관찰되었으며, 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜의 크기 증가는 관찰되지 않았다. 리포솜 표면전하를 측정한 결과, 대조군 리포솜은 -10 mV 정도의 값을 나타내었고, 스텔스 리포솜

은 -20 mV 그리고 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜의 경우는 -25 mV 정도의 값을 나타내었다. 대조군 리포솜에 비하여 스텔스 리포솜과 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜의 표면전하가 낮은 이유는 스텔스 리포솜의 경우 폴리에틸렌 옥사이드의 영향으로 표면전하가 대조군 리포솜에 비해 낮아졌으며, 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜의 경우 이당의 있는 수산기에 의하여 낮아진 것을 확인할 수 있었다. 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜은 리포트 로딩방법에 의한 모델 약물인 독소루비신의 봉입률을 측정한 결과 리포솜 내의 독소루비신의 봉입률은 90% 내외로 측정되었다. 이당이 결합됨으로 인하여 표면전하의 값은 낮아졌으나 리포솜의 크기나 봉입률의 영향은 보이지 않은 것으로 관찰되었다. 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜은 약물 전달체로 사용 시 크기나 봉입률에서의 문제를 보이지 않았다.

이당에 의한 리포솜의 혈청 안정성. 리포솜의 단백질 흡착 방지에 의한 혈류 내 안정성을 확인하기 위하여 소 혈청 알부민(BSA) 용액을 사용하여 각 리포솜들의 혈청 단백질 흡착의 양을 측정하였다. Fig. 4는 시간에 따른 리포솜의 단백질흡착량을 관찰한 결과로서 대조군 리포솜의 경우 단백질흡착량은 3시간 이내에 $10\text{ }\mu\text{g}$ 이상 크게 증가하였으며 이후 48시간 까지 큰 변화를 보이지 않았다. 스텔스 리포솜과 이당이 결합된 인지질을 함유하는 리포솜의 단백질흡착량은 3시간 이내에 $3\text{ }\mu\text{g}$ 이내이고 48시간까지 $6\text{ }\mu\text{g}$ 이내로 관찰 되었다. 리포솜 중 lactosyl-DSPE 함유 리포솜의 단백질흡착량은 $4\text{ }\mu\text{g}$ 이내로 가장 뛰어난 단백질흡착 방지 효과를 확인하였다($p < 0.04$). 이러한 단백질흡착 방지 효과는 리포솜 표면에 당에 의한 친수성 장벽을 통하여 비특이적인 단백질의 흡착을 방지한 것으로 보인다.

리포솜의 혈류 내 입자안정성을 평가하기 위하여 소 혈청 수용액에서 리포솜의 입자크기의 변화를 관찰하였다. Fig. 5는 시간에 따른 리포솜의 입자의 크

Table 1. Compositions and physical properties of liposomes

Name	Composition	Size (nm)	Zeta Potential (mV)	Dox loading efficiency (%)
Control liposome	HSPC:CHOL:DSPE	96.5 ± 1.4	-10.4 ± 1.5	93.1
Stealth liposome	HSPC:CHOL:DSPE-mPEG2000	112.7 ± 1.2	-19.9 ± 3.0	90.9
Lactose-modified liposome	HSPC:CHOL:lactosyl-DSPE	101.1 ± 0.1	-25.6 ± 6.5	88.3
Sucrose-modified liposome	HSPC:CHOL:sucrosyl-DSPE	98.7 ± 1.9	-24.1 ± 6.2	91.9

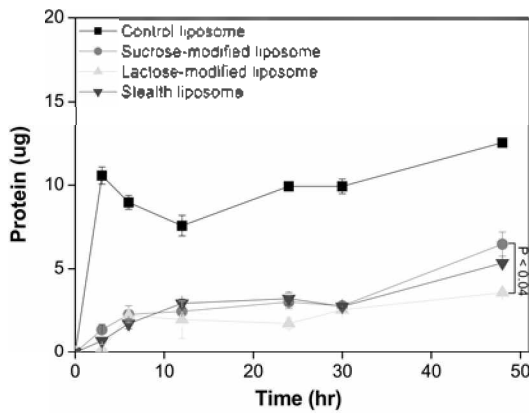


Fig. 4. Protein adsorption of various liposomes after incubation in bovine serum albumin solution at 37 °C. control liposome (■), sucrose-modified liposome (●), lactose-modified liposome (▲) and stealth liposome (▼).

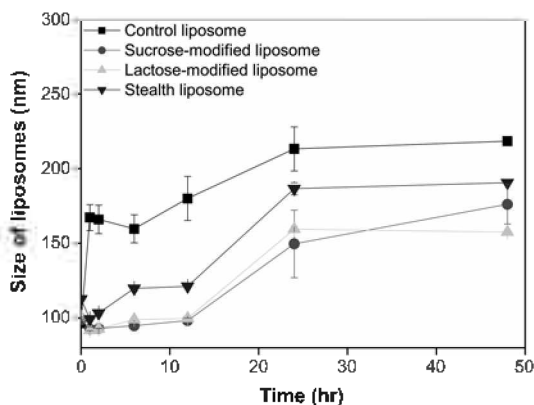


Fig. 5. Particle size of various liposomes after incubation in fetal bovine serum at 37 °C. control liposome (■), sucrose-modified liposome (●), lactose-modified liposome (▲) and stealth liposome (▼).

기를 측정된 결과로서 대조군 리포솜의 크기는 1시간째 초기에 비해 70 nm 이상 증가 하였으며 측정이 끝나는 48시간까지 120 nm 이상 증가를 관찰하였다. 스텔스 리포솜의 경우 폴리에틸렌 옥사이드의 영향으로 초기 증가는 적었으며 24시간 이후 70 nm 이상 증가를 관찰하였다. 이당이 결합된 인지질을 함유한 리포솜의 경우는 24시간 이후 50-60 nm의 입자크기의 증가가 관찰되었고 48시간까지 lactosyl-DSPE 함유 리포솜의 경우 60 nm내의 입자크기 변화를 보였고 sucrosyl-DSPE 함유 리포솜의 경우 80 nm내의 입자

크기 변화를 확인하였으나 통계적인 차이를 보이지는 않았다($p > 0.4$). 12시간 이후의 입자크기가 급격히 증가하는 현상은 리포솜 입자표면에 흡착된 단백질에 의한 입자크기 증가 외에도 리포솜의 구조적인 불안정에 의한 리포솜간의 응집현상과 시간경과에 따른 혈청의 오염에 의해 발생하는 단백질간의 응집현상에 의해서 입자크기가 급격히 증가한 것으로 사료된다. 결과와 같이 이당이 결합된 인지질을 함유한 리포솜의 혈청 내 입자크기 변화는 대조군 리포솜과 스텔스 리포솜의 경우보다 작은 것을 확인할 수 있었으며 리포솜 표면에 존재하는 락토오스와 슈크로스에 의하여 혈류 내 안정성이 증가 되는 것을 확인할 수 있었다.

혈류 내 리포솜의 입자 크기와 단백질흡착의 증가는 혈관을 막거나 간이나 비장의 세망내피계에 의한 소실을 유도한다. 그러므로 이당이 결합된 인지질을 함유한 리포솜의 경우 입자크기 증가와 단백질흡착을 방지하는 좋은 약물전달체로서 사용이 용이할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 혈류 내 안정성 증가를 위하여 이당인 락토오스와 슈크로스를 카르복시메틸화하여 지질인 DSPE와 공유결합을 통하여 합성한 후 이를 이용하여 리포솜을 제조하였고, 리포솜의 안정성은 혈청 단백질흡착의 양과 혈청 내 크기 변화를 측정하여 평가하였다. 이당이 결합된 인지질인 lactosyl-DSPE와 sucrosyl-DSPE의 결합은 ¹H-NMR을 통하여 DSPE에 결합된 이당을 확인하였고 FT-IR 분광분석을 통하여 카르복시메틸화에 의하여 생긴 에테르 결합과 공유 결합인 아마이드 결합을 확인할 수 있었다. 이당이 결합된 인지질이 함유된 리포솜의 혈류내 안정성을 확인한 결과 대조군 그리고 스텔스 리포솜에 비하여 혈청 단백질의 흡착량과 소 혈청 내 크기의 변화가 적은 것을 관찰할 수 있었다. 그중 lactosyl-DSPE 함유 리포솜의 경우 sucrosyl-DSPE 함유 리포솜의 경우보다도 단백질흡착량의 변화가 적은 것으로 관찰되었으나 혈청 내 입자크기의 변화는 통계적인 차이를 보이지 않았다. 이당이 결합함으로써 인하여 혈류 내 안정성의 증가하는 이유는 DSPE의 말단에 결합된 락토오스와 슈크로스가 리포솜의 표면에 남에 의한 친수

성 장벽을 구성함으로써 혈청 내 존재하는 단백질들의 흡착을 막아주어 리포솜의 안정성 증가에 사용되는 폴리에틸렌글리콜과 같은 역할을 하는 것으로 확인되었다. 따라서 이당이 결합된 인지질을 사용한 리포솜은 단백질흡착 방지 및 안정성을 증가시키는 물질로 혈류 내 순환시간을 증가시키는 약물전달체로서 유용할 것으로 보인다.

본 연구는 산업자원부 차세대 성장 동력 개발사업 중 방출조절형 약물전달체계 개발사업으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Bangham, A. D.; Standish, M. M.; Watkins, J. C. *J. Mol. Biol.* **1965**, *13*, 238.
2. Allen, T. M.; Moase E. H. *Adv. Drug Delivery: Rev.* **1996**, *21*, 117.
3. Sharma, A.; Sharma, U. S. *Int. J. Pharm. Biopharm.* **1997**, *154*, 123.
4. Van Slooten, M. L.; Boerman O.; Romeren, K.; Kedar, E.; Crommelin, D. J. A.; Storm, G. *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, *1530*, 134.
5. Torchilin, V. P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 145.
6. Moghimi, S. M.; Szebeni, J. *Prog. Lipid Res.* **2003**, *42*, 463.
7. Liu, D. *Adv. Drug Delivery: Rev.* **1997**, *24*, 201.
8. Vertut-Doi, A.; Ishiwata, H.; Miyajima, K. *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, *1278*, 19.
9. Song, C. K.; Hwang, T.; Seong, H.; Park, E. S.; Shin B. C. *J. Kor. Pharm. Sci.* **2006**, *50*, 216.
10. Albert, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. Walter, P. *Molecular Biology of the Cell, fourth ed., Garland Science, New York*, **2002**, p 612.
11. Medda, S.; Mukherjee, S.; Das, N.; Naskar, K.; Mahato, S. B.; Basu, M. K. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **1993**, *17*, 37.
12. Xu, Z.; Jayaseharan, J.; Marchant, R. E. *J. Colloid Interface Sci.* **1996**, *118*, 6101.
13. Cansell, M.; Parisel, C.; Jozefonvicz, J.; Letourneur, D. *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *44*, 140.
14. Allen, T. M.; Hansen, C.; Rutledge, J. *Biochim. Biophys. Acta* **1989**, *981*, 27.
15. Varshney, V. K.; Gupta, P. K.; Naithani, S.; Khullar, R.; Bhatt, A.; Soni, P. L. *Carbohydr. Polym.* **2006**, *63*, 40.
16. Heinze, T.; Pfeiffer, K. *Macromol. Mater. Eng.* **1999**, *266*, 37.
17. Haran, G.; Cohen, R.; Bar, L. K.; Barenholz, Y. *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1151*, 201.
18. Baumgarten, H. *J. Immunol. Methods* **1985**, *82(1)*, 25.