

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2017.3.1.25>

Gamma camera/MR dual imaging liposome labeled with radioisotope and paramagnetic ions

Youn Ji Kim,¹ Jonghee Kim,¹ Woonghee Lee,¹ and Jeongsoo Yoo^{1*}

¹Department of Molecular Medicine, BK21 Plus KNU Biomedical Convergence Program, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Korea;

ABSTRACT

Liposomes are defined as spherical, self-closed structures formed by lipid bilayers containing aqueous phase. Most liposomes are composed of various amphipathic lipids such as phospholipids and cholesterol. We used amphipathic lipids (DPPC, DPPG) as liposome components and prepared around 100 nm liposomes by standard extrusion method. Nuclear/MR dual imaging agents based on liposome platform were prepared by adding radioactive ¹³¹I-HIB (hexadecyl-4-tributylstannylbenzoate) and Gd-DTPA into liposome bilayer and inside liposome, respectively. Gamma camera and MR imaging both showed signal increases in liver.

J Radiopharm Mol Probes 3(1):25-31, 2017

Key Word: liposome, radioactive liposome, dual imaging, Gamma camera, MR imaging

Introduction

리포솜은 지질이 하나 또는 두 개 이상의 층을 형성하여 구의 모양을 이루고 있는 것을 말한다(1). 리포솜을 합성하기 위해서는 분자 내부에 물에 섞일 수 있는 친수성기와 물에 잘 용해되지 않는 친유성기를 동시에 가지고 있는 양친매성 물질이 필요하다(2). 일반적으로 리포솜을 제조할 때 사용하는 양친매성 지질은 머리와 꼬리로 나타내며, 머리부분이 친수성 부분이고 꼬리부분이 탄화수소의 사슬부분으로 친유성기에 해당한다. 수성인 용매에서 친유성 꼬리가 두 줄인 지질은 지질끼리 서로 엉키게 되므로 지질 이중층이 형성되며(21), 이 때 지질의 친수성기는 리포솜 표면과 리포솜 안쪽에 위치하게 되고 친유성기는 지질 이중층의 내부에 위치하게 된다. 약물 수송 및 영상 조영제의 역할로 생체내부에 적용을 하고자 할 때는 작은 단층 소포(Small, Unilamella

vesicle) 리포솜이 적당하다. 그 이유는 작은 단층 소포의 적당한 크기는 몸 속에서 역할을 다 한 후 몸 밖으로 배출도 용이하기 때문이다. 작은 단층 소포 리포솜을 만들기 위해서는 먼저 큰 다층 소포(Large, Multilamella vesicle) 리포솜을 만든 후, 압출하여 생성하고 그 크기는 일반적으로 50~150 nm 정도이다(28).

분자영상은 생체의학의 한 분야로서 세포나 분자수준으로 생명체의 내부의 대사과정 및 병리적 특성을 영상화하여 시각적으로 규명하여 주는 것을 말한다. 분자 영상의 종류로는 광학 생물발광, 광학 형광, 초음파, 자기공명영상(MRI), 감마카메라(Gamma camera) 영상 등이 있다(25). 감마카메라 영상은 방사성 동위원소를 이용한 핵의학 분자영상이다. 이것은 방사성 동위원소가 발산하는 감마선을 검출하여 이미지화 하는 원리로 작동된다. 감마카메라 영상은 미량의 방사성 동위원소에도 이미지를 얻을 수 있으며 의약품의 종류에 따

Received: December 09, 2016 / Revised: June 20, 2017 / Accepted: June 23, 2017

Corresponding Author : Jeongsoo Yoo, Department of Molecular Medicine, BK21 Plus KNU Biomedical Convergence Program, Kyungpook National University School of Medicine, 680 Gukchaebosang-ro, Joon-gu, Daegu, 702-422, Korea
Tel: 82-53-420-4947, Fax: 82-53-426-4944 / E-mail: yooj@knu.ac.kr

Copyright©2017 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

라 여러 가지 검사가 가능하므로 다양한 분야의 임상에 적용할 수 있다는 장점을 가지고 있다(27). MR이미지는 비침투적인 방법으로 질병을 진단하는 대표적인 분자영상 기술인데, 강한 자기장이 흐르는 공간에서 인체 내부에 강한 라디오파를 보내 공명하고 반사되는 전자기파를 측정하여 영상화하는 것을 말한다(18). 하지만 이것은 방사성 동위원소를 이용하는 핵의학 분자영상에 비교하여볼 때 감도가 약하여 다양한 조영제가 요구된다(19).

나노 입자에 관한 활발한 연구가 진행되면서 분자영상을 위한 다양한 조영제가 개발되어왔다(3,4,15,24,29,30). 하지만 이것은 골드 나노입자(23), 퀀텀닷(quantum dot, Q-dot)과 같이 금속에 기반한 나노 크리스털 입자에 관련된 것이 많은 부분을 차지하고 있다(25). 이것은 체내에 적용할 경우 천천히 배출되는 문제점을 가지고 있어 임상적 적용에는 더 많은 연구가 필요하다(5-7). 이런 문제와 대조적으로 나노 입자 중 하나인 리포솜은 커다란 이점을 가지고 있다. 그것은 바로 체내에 투입되었을 경우에 인체 독성이 없고 임상적용이 쉽다는 점이다. 또한 다양한 방법으로 약물을 전달할 수 있는데(14), 리포솜은 세포체의 형태이므로 세포의 내부에 약물을 담아 수송할 수도 있으며(12,17,26), 지질층에 약물을 끼워 넣어 수송할 수도 있다(9,16). 리포솜은 만드는 방법이 잘 정립되어 있고, 크기 조절이 용이하며, 표면 개질이 쉽고, 수송 용량이 크고, 체내에서 안정하므로 차세대 체내 물질 수송체로 각광받고 있으며(13,18,20), 이미 많은 리포솜 약물 수송체들이 미국 FDA의 승인을 받았다(10,11).

본 연구에서는 이렇게 많은 장점을 가진 리포솜에 상자성 물질과 방사성 물질을 모두 포함하는 두 가지 분자 영상에 활용하고자 한다. 특히 방사성 물질을 표지하는 방법은 리포솜 내부에 삽입하거나 캡슐화하는 방법이 아닌 방향족 탄화수소 고리를 가진 물질에 먼저 방사성 요오드를 표지하고, 그것을 지질과 함께 지질 이중층에 끼어들어가도록 하고, Gd를 리포솜의 중심에 캡슐화하여 체내에서 유리되지 않는 안정성이 높은 리포솜을 제조하고자 한다. 이렇게 만들어진 리포솜은 감마카메라/MR 이중 조영제 역할을 할 것으로 기대된다.

Materials and Methods

1. 리포솜(liposome)의 제조

리포솜을 제조하기 위한 이중층을 형성하는 지질로 본 연구에 사용된 물질은 두 가지이며 그 중 첫 번째 지질은 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC)이다. DPPC의 상전이 온도는 41 °C이며 불포화도가 0인 인지질이며 분자의 형태는 Figure 1a와 같다. 또 다른 지질은 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-rac-(1-glycerol) sodium salt (DPPG)이며 상전이 온도는 41 °C이며 불포화도가 0인 인지질이고 분자의 형태는 Figure 1b와 같다. 콜레스테롤(Figure 1c.)은 리포솜의 안정도를 높여주어 체내에 주입했을 때 온도의 변화에 크게 영향을 받지 않도록 해줄 목적으로 넣어 주었다. 또한 상자성 물질은 Gd-DTPA이며 Figure 1d와 같다. 리포솜을 만들기 위하여 지질 용액(lipid solution)을 제조하는데 사용된 지질의 비율은 DPPC:DPPG:콜레스테롤의 함량이 1:1:1(각 5 mg)이 되도록 하였으며 용매로 에탄올과 클로로포름을 각각 5mL씩 취하

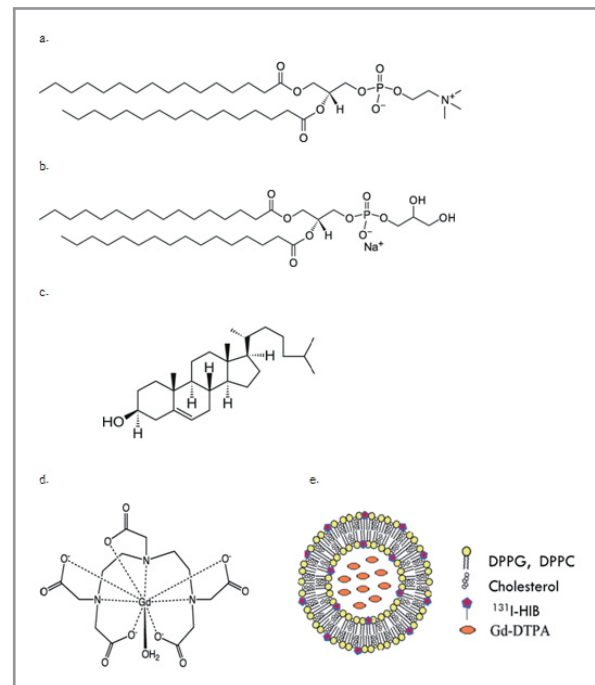


Figure 1. a. DPPC, b. DPPG, c. cholesterol, d. Gd-DTPA e. schematic diagram of encapsulated ¹³¹I-HIB-labeled liposome containing Gd-DTPA

여 세가지 물질을 함께 녹인 후 소량씩 사용하였다. 본 연구에서 제조한 모든 리포솜은 이 지질 용액 0.5 mL을 넣어 제조하였다. 지질 막은 지질 용액의 용매인 에탄올과 클로로포름을 증발시키면서 용액에 녹아있는 양친매성 지질을 플라스크 벽에 얇게 코팅하여 제조할 수 있다. 이때 지질 막을 균일하고 얇게 코팅하기 위해서 둥근 바닥 플라스크를 100 mL 용량을 사용하였다. 회전 증발기(rotary evaporator)의 수조의 온도는 상전이 온도보다 높은 60 °C 이상을 유지하면서 진공상태에서 30분 동안 건조하여 용매를 완전히 제거하였다. 큰 다층 소낭(Large, Multilamella vesicle) 형태의 리포솜을 제조하기 위해 지질 막이 코팅되어 있는 플라스크에 수용성인 식염수 500 µL를 넣고 60 °C 수조에서 연속적으로 회전시키면서 30분간 수화(hydration) 시켜주었다. 이때 지질 막이 용액 쪽으로 에멀전을 형성하면서 큰 덩어리 없이 잘 녹아 들어가는 것을 확인할 수 있었다. 리포솜의 크기 제어는 압출(extrusion)의 방법을 사용하였으며 이때 사용한 압출기(extruder)는 Mini Extruder (Avanti Polar Lipids, USA)를 사용하였다. 압출기의 막 필터는 100 nm 포어(pore) 크기를 이용하였고, 1 mL 용량 기밀 유리주사기(gas-tight glass syringe) 2개를 사용하였다. 가열 블록의 온도는 양친매성 지질의 상전이온도 이상인 45~50 °C로 유지시켰으며 압출하기 약 30분 전부터 압출기의 가열 블록을 온도제어장치의 가열판 위에 올려두어 예열시켜 사용하였다. 리포솜의 안정도를 높이기 위해 압출하기 전에 뿌옇게 수화된 큰 다층 소포 상태의 리포솜을 영하 4 °C의 냉동고에 넣었다가 60 °C 수조에 넣기를 3번 반복하였다. 이 용액을 기밀 유리주사기에 넣고 압출기의 한 쪽에 장착하고, 반대편에 피스톤의 공기를 완전히 빼 눈금이 0이 되도록 한 기밀 유리주사기를 꽂았다. 압출기에 장착된 두 개의 주사기를 가열 블록의 양쪽 고정장치에 고정시키고 수화된 큰 다층 소포 리포솜 용액의 온도가 가열 블록의 온도와 평형이 되도록 5분 정도 기다린 후 용액이 들어있는 주사기 막 필터 반대편으로 밀어내 빈 주사기로 리포솜을 압출시켰다. 피스톤 왕복횟수는 홀수로 하였으며, 처음에 수화된 용액을 넣어준 주사기의 반대편 주사기에서 압출 용액을 회수해야 크기가 작아진 상태의 리포솜만 회수할 수 있기 때문이다. 이렇게 만들어진 리포솜은 ELS-Z size 측정

장치(Zeta-potential & Particle size Analyzer)를 사용하여 빛 분산 방법으로 평균입자의 크기를 측정하였다. 상온에서 리포솜 제조과정에 형성된 다양한 크기의 리포솜 용액 20 µL를 채취하여 식염수 1 mL로 희석하여 측정하였다. 본 연구에서 크기를 측정하는 리포솜은 수화 직 후 형성된 큰 다층 소포 리포솜, 막 필터의 포어(pore) 크기가 100 nm, 50 nm로 압출한 작은 단층 소포 리포솜이다.

2. 방사성 리포솜 제조

방사성요오드(¹³¹I) 표지를 위해 hexadecyl-4-tributylstannylbenzoate (HIB) 전구체를 사용하였다(31). 1-헥사데카놀(1-hexadecanol)와 4-요오도벤조일 클로라이드(iodobenzoyl chloride) 1.32 g, 트리에틸아민(triethylamine) 1.15 mL와 디클로로메탄(dichloromethane) 30 mL를 섞은 용액을 상온에서 반응시켜 얻는 결정체가 HIB (hexadecyl-4-iodo-benzoate)이며, HIB 전구체는 Hexabutyliditin을 무수 톨루엔과 HIB를 넣은 용액을 반응시켜 얻을 수 있었다. ¹³¹I-HIB-리포솜을 만들기 위해 먼저 지질 용액 500 µL와 ¹³¹I-HIB을 클로로포름 500 µL에 녹인 용액을 함께 플라스크에 넣고 지질막을 제조하였다. 이 외의 조건(온도 및 시간)과 제조방법은 리포솜의 제조 방법과 모두 동일하다. 압출까지 모두 진행된 ¹³¹I-HIB-리포솜의 크기를 측정하고, 방사성 요오드가 없는 HIB를 이용하여 같은 방법으로 리포솜을 만든 후 크기를 측정하여 비교하였다. 지질 이중층에 ¹³¹I-HIB가 잘 끼어들어간 것도 있지만 그렇지 못한 것은 분리해주어야 감마카메라 이미지를 얻을 때 방사성 리포솜만의 영향을 알 수 있다. 따라서 자유 ¹³¹I-HIB와 ¹³¹I-HIB-리포솜을 분리하는 방법으로 PD-10 컬럼(particle size range 85-260 nm)을 사용하여 입자의 크기가 작으면 천천히 빠져 나오고, 입자의 크기가 크면 빠져 나오는 속도가 빠른 점을 이용하여 분리하였다. 이 때 흘러주는 이동상으로 식염수를 사용하였으며, 이유는 순수한 ¹³¹I-HIB-리포솜만 분리하여 얻은 용액을 바로 실험동물에서 영상을 얻기 위한 주사용액으로 사용할 때는 쇼크가 없이 주사할 수 있는 용액이 요구되기 때문이다. PD-10 컬럼 내부로 흘러주는 식염수의 양은 초기에

는 한번에 500 μ L로 많은 용량을 흘려주고 동위원소가 감지되면 ^{131}I -HIB-리포좀이 빠져 나오기 때문에 200 μ L씩 흘려주어 좀 더 많은 방사성 리포좀을 적은 부피에 얻을 수 있도록 하였다.

3. 감마카메라/MR 이중 영상 조영 리포좀 제조

감마카메라(Gamma camera)/자기공명(Magnetic Resonance, MR) 이중 영상을 얻기 위하여 감마카메라 영상을 얻을 수 있는 방사성동위원소가 있는 물질과 MR 조영효과를 얻을 수 있는 물질을 함께 함유한 리포좀을 합성하였다. 이 때 감마카메라 영상을 얻을 수 있는 방사성동위원소로는 ^{131}I 을 사용하고 이것을 HIB에 표지하여 리포좀의 지질 이중층에 끼어 들어가게 하였으며, MR 조영효과가 있는 물질로는 Gd-DTPA를 사용하고 이것은 리포좀의 중심부(core)에 감싸지도록 캡슐화(encapsulation) 하여 만들었다(Figure 1e). Gd-DTPA는 Omniscan™을 이용하였으며, 이것은 임상에서 널리 쓰이는 상자성 T1 조영제로 식염수 1 mL 당 Gd-DTPA가 278 mg 함유되어 있다. ^{131}I -HIB가 함유된 지질막을 수화 시켜줄 때 Omniscan™을 500 μ L(0.139 g Gd-DTPA, 0.242 mmol) 넣고 60 °C 수조에서 30분간 회전하며 반응시켰다. 수화 과정에서 들어간 Gd-DTPA는 리포좀 형성 시 중앙에 감싸지게 되어 캡슐화된다. Gd-DTPA이 캡슐화 된 ^{131}I -HIB-리포좀을 PD-10 컬럼을 이용하여 순수하게 분리하여 가장 방사능 양(radioactivity)이 높게 나타난 회수 용액을 950 μ L 주사(4.9 Mbq)하였고 영상은 1시간 이후에 얻었다. MR 조

영 효과 비교를 위해서 주사 하기 직전, 같은 쥐로 영상을 얻었으며 주사 전과 후 모두 엎드려 있는 자세로 획득하였다.

Results and Discussion

1. 리포좀의 크기 측정

압출기(extruder)에 들어가는 막 필터의 포어(pore) 크기를 다르게 하여 제조된 리포좀의 크기를 측정된 결과 포어 크기가 작을 수록 리포좀의 크기도 작아짐을 확인할 수 있었다. 수화 직후 생성된 리포좀의 크기와 막 필터의 포어 크기에 따른 리포좀의 크기는 Figure 2와 같다. 일반적으로 100 nm 정도 크기의 입자가 조영제로서 효과적으로 작용하고, 적당한 시간 후 몸 밖으로 효과적으로 빠져나올 수 있으므로 압출 시 막 필터의 pore 크기는 100 nm가 가장 적당하다.

2. 방사성 리포좀 크기 비교

^{131}I -HIB-리포좀의 크기비교를 위해 동일한 성질을 가지는 HIB를 넣어서 만든 HIB-리포좀의 입도크기 분석 결과 리포좀의 수화 직후 평균 입경이 1566 nm로 측정되었고, 압출 후 147.4 nm로 작아진 것을 확인하였다. HIB-리포좀의 수화 직후 평균 입경은 1341 nm로 측정되었고, 압출 후 126.3 nm로 HIB를 넣지 않은 리포좀의 크기보다 더 작았다(Figure 3). 이것은 HIB가 하나의 긴 꼬리를 가진 방향족 탄화수소이므로 지질 이중층 사이사이에 잘 위치하여 리포좀의

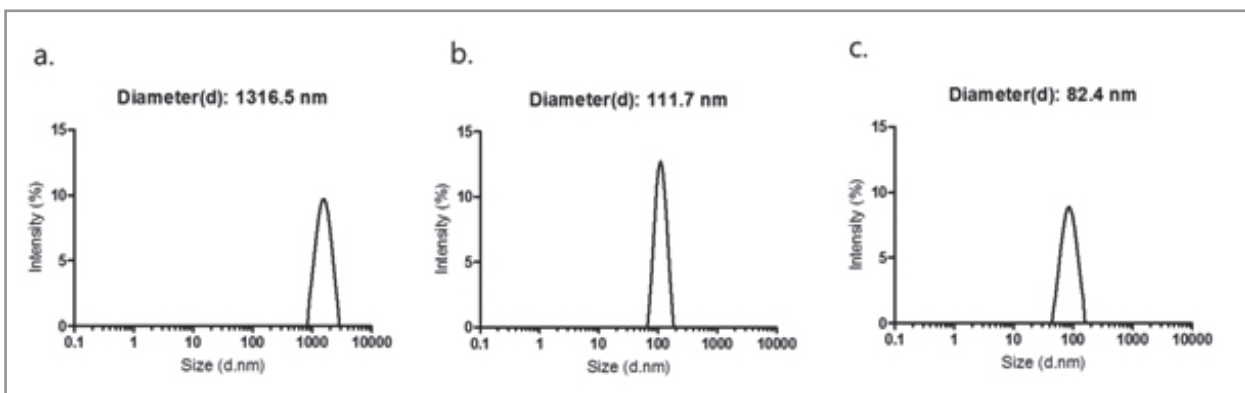


Figure 2. liposomes sizes depending on membrane pore size. a. before extrusion b. after extrusion using 100nm filter c. after extrusion using 50nm filter

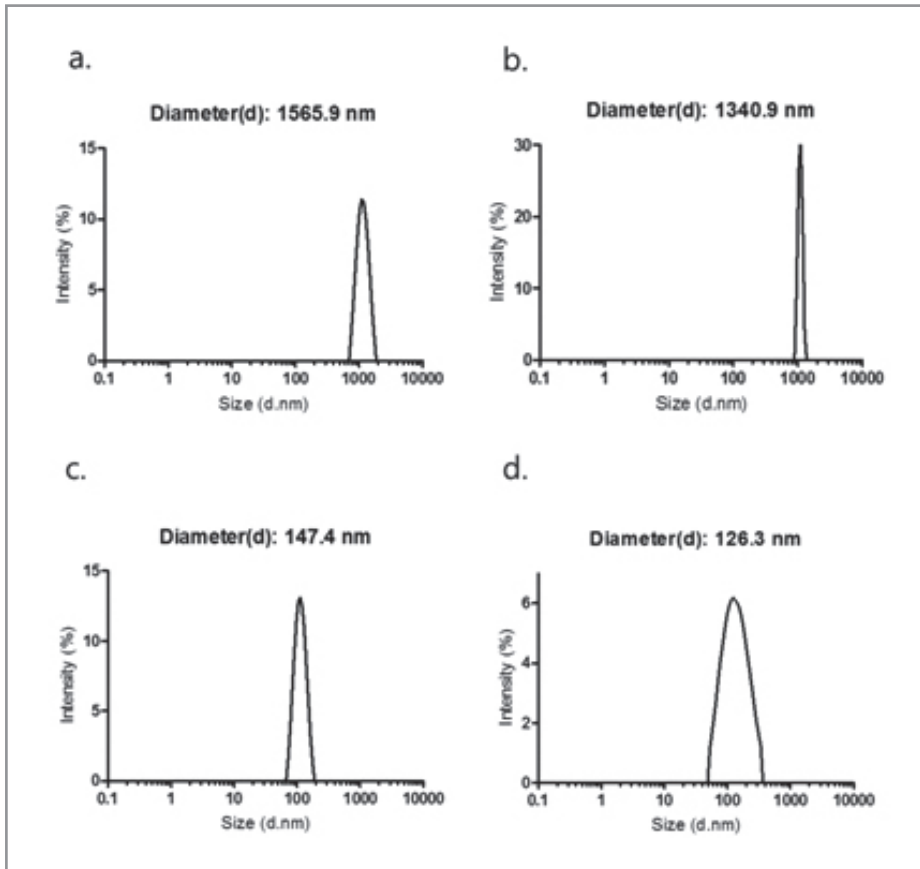


Figure 3. Different liposomes size. a. after hydration process, b. after hydration of ^{131}I -HIB liposome, c. after extrusion of liposome d. after extrusion of ^{131}I -HIB liposome

구조적 안정화에 기여한 것으로 보인다.

^{131}I -HIB-리포솜이 생성될 때 리포솜의 지질 이중층에 미쳐 끼어들어가지 못하고 유리된 ^{131}I -HIB를 PD-10 컬럼을 통하여 입자의 크기차이를 이용하여 분리하였다. 이동상으로 친수성인 식염수를 사용하였는데, 2.0 mL를 흘려줬을 때부터 방사능 수치를 보이기 시작하여 3.5 mL의 식염수를 흘려주었을 때 가장 높은 방사능 수치를 보였다. 그 후 급격히 그 수치가 감소하여 4.5 mL 지점부터 방사능 수치가 거의 측정되지 않았다. 크기가 작은 ^{131}I -HIB는 결국 컬럼을 빠져 나오지 못하고 내부에 흡착되어 있다고 생각할 수 있는데, 이것은 PD-10 컬럼에 많은 양의 식염수로 씻어낸 후에도 여전히 방사능 수치가 남아있음으로써 확인할 수 있다.

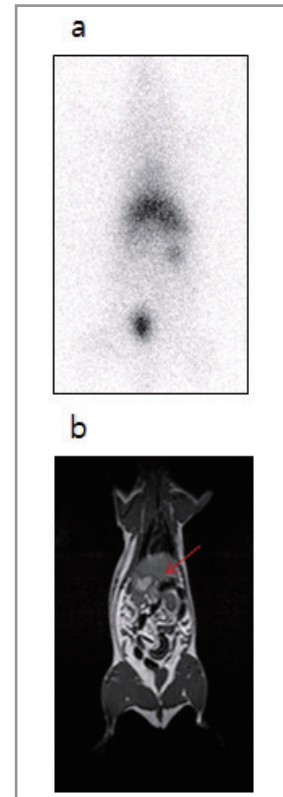


Figure 4. Images in mice after injection of encapsulated ^{131}I -HIB labeled liposome containing Gd-DTPA. a. gamma camera image b. MR image

3. 감마카메라/MR 이중 영상 결과

감마카메라 영상에서 보면 간(liver)과 비장(spleen)의 섭취가 확인되었으며, 가장 아래쪽에 검게 보이는 장기는 방광(bladder)이다. MR 영상에서는 Gd-DTPA 캡슐화된 ^{131}I -HIB-리포솜을 주사하기 전보다 주사한 이후에 전체적으로 이미지가 밝게 나타난 것을 확인할 수 있었다(Figure 4). 특히 화살표가 있는 부분은 확연하게 뚜렷해진 것을 볼 수 있으며, 근육과 지방도 더 밝게 나타났다. 이것은 확실하게 Gd-DTPA 캡슐화된 ^{131}I -HIB-리포솜의 MR 효과를 증명해 주는 것이다. 감마카메라 영상을 통해 Gd-DTPA 캡슐화된 ^{131}I -HIB-리포솜의 방사성 조영제의 기능을 확인하였고, MR 영상에서는 이중 조영 리포솜이 상자성 조영제로도

사용될 수 있음을 확인하였다. 이것은 방사성 및 상자성 이중 조영제로 적용 가능한 리포솜의 성공적인 제조를 말해주고 있다.

Conclusion

본 연구에서 양친매성 지질을 이용하여 수화하는 방법으로 리포솜을 에멀전화 하고 막 필터를 사용한 압출을 통하여 리포솜의 크기를 조절할 수 있었으며, 100 nm 정도의 이상적인 크기로 제조하여 생체연구에 적용할 수 있는 작은 단층 소포리포솜을 성공적으로 제조하였다. ^{131}I -HIB의 탄화수소 사슬이 지질 이중층 사이에 함께 배열 되면서 리포솜을 용이하게 방사성표지할 수 있었다. 리포솜의 제조과정 중 리포솜의 이중층에 ^{131}I -HIB가 100% 자리를 잡았다고 볼 수 없으므로 체내에서 오차 신호를 제공할 수 있는 자유 ^{131}I -HIB를 제거하는 것이 중요한데 PD-10 컬럼을 사용하여 분리에 성공할 수 있었다. 마지막으로 본 연구에서는 방사성 및 상자성 물질을 사용한 Gd-DTPA 캡슐화된 ^{131}I -HIB-리포솜의 이중 조영 기능을 감마카메라/MR 영상을 통해 확인하였다. 이렇게 성공적으로 제조한 감마카메라/MR 이중 조영 리포솜은 종양의 진단과 치료에 적용하기 위한 영상 연구에 응용할 수 있을 것이다.

Acknowledgments

이 연구는 한국연구재단중견연구지원사업(2016R1A2B4011546), 방사성동위원소 이용 신개념 치료기술개발 플랫폼추진사업(2016M2C2A1937986)과 한국보건산업진흥원의 보건의료 기술 연구개발사업(HI17C0221)의 지원을 받았으며, 다른 이해관계는 없음을 밝힙니다.

References

- Gregory G. Liposome Technology. 3rd ed. *Informa Healthcare USA*; 2006. p. 49-64.
- Weissig V. Liposomes: Methods and Protocols, Volume 2: Biological Membrane Models, Humn Press; 2009. p. 152-178.
- Louie A. Multimodality Imaging Probes: Design and Challenges. *Chemical Reviews (Washington, DC, United States) 2010*; 110: 3146-3195.
- Jarzyna PA, Gianella A. Multifunctional imaging nanopobes. *Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology 2010*; 2: 138-150.
- Krug HF, Wick P. *Angewandte Chemie, International Edition 2011*; 50: 126-200.
- Landsiedel R, Ma-Hock L. Testing metal-oxide nanomaterials for human safety. *Advanced Materials (Weinheim, Germany) 2010*; 22: 2601-2627.
- Longmire M, Choyke PL, Kobayashi H. Clearance properties of nano-sized particles and molecules as imaging agent: Considerations and caveats. *Nanomedicine (London, United Kingdom) 2008*; 3: 703-717.
- Mulder WJ, Strijkers GJ, van TGA, Cormode DP, Fayad ZA, Nicolay K. Nanoparticulate assemblies of amphiphiles and diagnostically active materials for multimodality imaging. *Acc. Chem. Res.* 2009; 42: 904-914.
- Goins BA. Radiolabeled lipid nanoparticles for diagnostic imaging. *Expert Opin. Med. Diagn.* 2008; 2: 853-873.
- Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nat. Rev. Drug Discovery 2005*; 4: 145-160.
- Samad A, Sultana Y, Aqil M. Liposomal drug delivery systems: An update review. *Curr. Drug Delivery 2007*; 4: 297-305.
- Zou J, Sood R, Ranjan S, Poe D, Ramadan UA, Kinnunen PKJ, Pykko I. Manufacturing and in vivo inner ear visualization of MRI traceable liposome nanoparticles encapsulating gadolinium. *Journal of Nanobiotechnology 2010*; 8: 32.
- Theresa M, Allen A. *Advanced Drug Delivery: Perspectives and Prospects 2013*; 65: 36-48.
- Cole JT, Holland NB. Multifunctional nanoparticles for use in theranostic applications. *Drug Deliv Transl Res 2015*; 5: 295-309.
- Nehoff H, Parayath NN. Nanomedicine for drug targeting: strategies beyond the enhanced permeability and retention effect. *Int J Nanomedicine.* 2014; 22: 2539-2555.
- Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Adv Drug Deliv Rev 2013*; 65: 36-48.
- Urbinati G, Marsaud V, Renoir J-M. Anticancer Drugs in Liposomal Nanodevices: A Target Delivery for a Targeted Therapy. *Current topics in medicinal chemistry 2012*; 12: 1693-1712.
- Yang L, Broom MF, Tucker IG. Characterization of a Nanoparticulate Drug Delivery System Using Scanning Ion Occlusion Sensing. *Pharmaceutical Research 2012*; 29: 2578-2586.
- Song G. Factors affecting the pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposomal drugs. *Journal of*

- Liposome Research* 2012; 22: 177-192.
20. Maghraby GEEI, Carry BW, Williams AC. Liposome and skin: From drug delivery to model membrane. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2008; 34: 203-222.
 21. Kim JH, Kim HM. Liposome. *Biochem. Chongseoljip* 1988;2 : 237-246
 22. Jang SK, An SK. The Moisturizing Effect and Formulation Test of the Cosmetics Composed by Horse Oil Liposomes. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol* 2014; 12: 813-820.-
 23. Wee TI, Teon YW, Cho YJ. Preparation of Gold Coated Liposomes for CT Contrast Medium. *Journal of the Korean Chemical Society* 2013; 57: 634-639.
 24. Krause W, Schonborn A, Rupp K. CT imaging with iopromide liposomes in a rabbit model. *J. Liposome Res* 2011; 21: 229-236.
 25. Kang EA, Kim KM. Properties and rapid consolidation of nanostructured WC and WC-10 J Korean Med Assoc 2009; 52: 125-130.
 26. Jonas RH, Anncatrine LP. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2015; 7: 2796-2810.
 27. Andrew WW, Eleanor O. A comparison of image contrast with ⁶⁴Cu-labeled long circulating liposomes and ¹⁸F-FDG in a murine model of mammary carcinoma. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 3: 32-43.
 28. Conner SD, Schmid SL. Regulated portals of entry into the cell. *Nature* 2003; 422: 37-44.
 29. Hwang HY, Kim IS. Tumor targetability and antitumor effect of docetaxel-loaded hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles. *J Control Release* 2008; 128: 23-31.
 30. Cho YW, Park SA. In vivo tumor targeting and radionuclide imaging with self-assembled nanoparticles: Mechanisms, key factors, and their implications. *Biomaterials* 2007; 28: 1236-1247.
 31. Kim J, Darpan NP, Lee W. Vivid Tumor Imaging Utilizing Liposome-Carried Bimodal Radiotracer. *ACS Med. Chem. Lett* 2014; 5: 390-394.