Journal of the Korean Chemical Society
2006, *Vol. 50, No. 3*
Printed in the Republic of Korea

혈류 내 안정성 향상을 위한 빗 모양 고분자로 개질된 리포솜

송충길[†] · 황태원 · 성하수 · 박은석[†] · 신병철*
한국화학연구원 생체분자전달제어연구팀
[†]성균관대학교 약학대학
(2006. 2. 13 접수)

Surface Modification of Liposomes Using Comblike Copolymer for Enhancing Stability in Blood Circulation

Chung Kil Song[†], Taewon Hwang, Hasoo Seong, Eun Suk Park[†], and Byung Cheol Shin*
Bioactive Molecules Delivery & Control Research Team, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-343, Korea
[†]College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea
(Received February 13, 2006)

요 약. 혈류 내에서 리포솜의 안정성을 향상시키기 위해 지질-고분자 유도체를 지질 이중층에 도입하거나 친수성 고분자를 리포솜에 결합시켜 리포솜의 표면을 개질하는 방법이 개발되어왔다. 본 연구에서는 비닐 단량체로서 히드록시에틸메타크릴레이트(HEMA)와 히드록시폴리옥시에틸렌메타크릴레이트(HPOEM)를 자유 라디칼 중합하여 측쇄에 다수의 폴리에틸렌옥사이드를 갖는 빗(Comb) 모양 공중합체인 poly(HEMA-co-HPOEM)를 제조하였다. Poly(HEMA-co-HPOEM)를 리포솜의 표면에 결합시키고 혈장 용액 내에서 개질된 리포솜의 특성을 살펴보았다. Poly(HEMA-co-HPOEM)으로 개질된 리포솜의 입자크기는 대조군 리포솜에 비해 약 30 nm 증가하였고 리포솜 표면의 음전하를 차폐하여 제타 포텐셜의 절대값은 감소하였다. 리포솜 내부에 모델약물인 독소루비신(Doxorubicin)의 로딩효율은 ~ 90%로서 리포솜 표면에 결합된 poly(HEMA-co-HPOEM)는 약물의 로딩효율에 영향을 주지 않았다. 혈장 내에서 리포솜의 안정성을 평가한 결과, 빗 모양 고분자로 수식한 리포솜의 입자크기는 증가하지 않았고 단백질 흡착은 대조군 리포솜 또는 폴리에틸렌옥사이드-지질 유도체가 도입된 리포솜(PEG-리포솜)에 비해 감소되어 빗 모양 고분자인 poly(HEMA-co-HPOEM)이 혈류 내 리포솜의 안정성 향상에 효과적임을 확인하였다.

주제어: 리포솜, poly(HEMA-co-HPOEM), 안정성, 단백흡착

ABSTRACT. To increase the stability of liposomes in blood circulation, surface modification of liposomes by incorporating a lipid-polymer derivative in the lipid bilayer or conjugating a hydrophilic polymer to the liposomal surface has been developed. In this study, the comblike copolymer, poly(HEMA-co-HPOEM), having multiple polyethyleneoxide side chains was prepared by free radical polymerization of hydroxyethylmethacrylate (HEMA) and hydroxypolyoxyethylenemethacrylate (HPOEM) as vinyl monomers. Poly(HEMA-co-HPOEM) was conjugated to the liposomal surface and the characteristics of the modified liposomes in serum were investigated. Conjugation of poly(HEMA-co-HPOEM) to liposomes increased the particle size of the liposomes by 30 nm and decreased the absolute value of zeta potential of the liposomes by shielding the negative charge of liposomal surface. Loading efficiency of model drug, doxorubicin, in liposomes was about 90% and the efficiency was not affected by conjugation of poly(HEMA-co-HPOEM) to liposomes. The particle size of poly(HEMA-co-HPOEM)-conjugated liposomes in serum did not changed and the protein adsorption was lower than that of control liposomes or liposomes containing polyethyleneoxide-lipid derivative (PEG-liposomes). These results suggest that poly(HEMA-co-HPOEM) is efficient for the stabilization of liposomes in blood circulation.

Keywords: Liposome, poly(HEMA-co-HPOEM), Stability, Protein Adsorption

서 론

리포솜은 양친매성 지질이 이중 막을 형성하는 소포체로서 리포솜의 내부에 약물을 봉입하여 전달할 수 있는 약물전달체로 연구되고 있다.[1-4] 그러나 리포솜은 정맥투여시 체내에서 혈장 단백질의 흡착에 의해 입자크기가 증가하고 비장이나 간의 세망내피계에 의하여 체외소실이 빨리 일어나는 문제점을 가지고 있다. 따라서 생체 적합성, 물리적 강도 그리고 유동성을 갖는 친수성 고분자를 이용하여 리포솜의 단백질 흡착과 세망내피계에 의한 소실을 억제함으로써 궁극적으로 리포솜의 혈류 내 순환시간을 증가시키는 방법이 연구 중에 있다. 예를 들어 생체 적합성 고분자인 폴리에틸렌글리콜과 지질의 복합체를 리포솜의 이중층에 도입하거나 폴리에틸렌옥사이드가 그라프트된 고분자로 리포솜의 표면을 코팅하여 리포솜의 표면에 혈장 단백질의 흡착을 방지함으로써 안정성을 향상시키는 연구 등이 보고되었다.[5-10] 한편, 측쇄에 다수의 폴리에틸렌옥사이드를 가진 빗 모양 고분자는 단백질 흡착방지와 안정성을 증가시키는 특성을 가지고 있어서 약물 전달체 뿐만 아니라 바이오센서와 바이오칩 등에서도 단백질 흡착 방지 물질로서 응용 가능성이 제시되고 있다.[11-13] 그러나 단백질 흡착 방지를 통한 안정성 향상을 목적으로 리포솜의 표면에 빗 모양 고분자를 도입하는 연구는 미흡한 실정이다.

리포솜에 단백질 흡착 방지용 고분자를 도입하는 방법으로는 지질과 고분자를 공유결합한 후 리포솜을 제조하는 과정에서 지질 이중층에 도입하는 방법, 리포솜을 제조한 후 지질과 고분자의 소수성 인력을 이용하여 리포솜의 표면을 코팅하는 방법 그리고 제조된 리포솜에 직접 공유결합하여 리포솜의 표면을 수식하는 방법이 있다. 예를 들어, 아민기를 갖는 인지질과 폴리에틸렌글리콜을 공유결합하여 지질-폴리에틸렌글리콜 복합체를 제조한 후 리포솜을 수식하거나 소수성 주쇄에 폴리에틸렌옥사이드가 빗 모양으로 결합되어 있는 가지공중합체로 리포솜을 코팅하는 방법 등이 단백질 흡착 방지의 목적으로 연구되고 있다.[14-16]

본 연구에서는 리포솜의 안정성 확보와 단백질 흡착방지의 목적으로 측쇄에 폴리에틸렌옥사이드를 갖는 빗 모양 고분자를 합성하고 이를 리포솜에 공유결합시켜 폴리에틸렌옥사이드가 표면에 수식된 리포솜을 제조하여 빗 모양 고분자가 리포솜의 특성과 단백질 흡착 등에 미치는 영향을 살펴보았다. 기존에 알려진 빗 모양 고분자 골격에 사용된 메틸메타크릴레이트(MMA)에 비해 친수성을 증가시키기 위해 말단에 히드록시기가 존재하는 히드록시에틸메타크릴레이트(HEMA)를 사용하였으며 폴리에틸렌옥사이드 측쇄를 갖는 히드록시폴리옥시에틸렌메타크릴레이트(HPOEM) 그리고 특히 카르복실기를 도입하기 위하여 사슬이동제인 머캅토프로피오닉산(MPA)을 자유 라디칼 중합에 의해 빗 모양의 poly(HEMA-co-HPOEM)를 합성한 후, 아민기를 가진 지질을 구성성분으로 하여 제조한 리포솜과 공유결합하였다.[11,17] Poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜의 혈장 단백질 흡착특성과 안정성을 평가하기 위하여 폴리에틸렌옥사이드가 도입되지 않은 대조군 리포솜, 선형 폴리에틸렌옥사이드가 도입된 스텔스 리포솜 그리고 poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜의 소 혈청 내에서 시간에 따른 입자크기 변화와 단백질 흡착량을 조사하였다.

실험 방법

시약 및 기기

시약. 빗 모양 고분자의 합성에 사용된 단량체인 2-hydroxyethyl methacrylate(HEMA)와 hydroxy poly(oxyethylene) methacrylate(HPOEM), 사슬이동제인 3-mercaptopropionic acid(MPA) 및 개시제인 a,a'-azoisobutyronitrile(AIBN)은 Sigma Aldrich Inc.(Milwaukee, USA)에서 구입하여 사용하였다. HEMA와 HPOEM에 함유된 중합금지제인 monomethyl ether of hydroquinone (MEHQ)을 중합금지제 제거 컬럼을 통하여 정제하

여 사용하였다. 리포솜 제조에 사용된 지질인 L-a-phosphatidylcholine(soy-hydrogenated)(HSPC), cholesterol (CHOL), 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine(DSPE) 및 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-[phospho-rac-(1-glycerol)](DSPG)는 Avanti Polar Lipids Inc. (Alabaster, AL, USA)에서 구입하여 사용하였다. 리포솜과 poly(HEMA-co-HPOEM)의 공유결합에 사용된 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 사용하였고, 그 밖에 실험에 사용한 클로로포름과 메탄올 등은 일급 및 특급시약을 그대로 사용하였다.

기기. 말단에 카르복실기를 갖는 poly(HEMA-co-HPOEM)의 구조는 ^{1}H-NMR(300MHz, Bruker DRX-300 FT-NMR spectrometer)과 FT-IR(Bomen 102 FT-IR spectroscopy)을 이용하여 분석하였다. Poly(HEMA-co-HPOEM)의 분자량은 겔 투과 크로마토그래피(GPC, KF 804 column, intelligent refractive index detector (RI930), intelligent HPLC pump (PU980), Jasco)를 이용하여 측정하였다. 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 및 제타전위 측정기(ELS-8000, 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.

Poly(HEMA-co-HPOEM)의 합성. 기존의 빗 모양 고분자의 합성방법을 참고하여 말단의 카르복실기를 가지며 친수성을 증가시킨 poly(HEMA-co-HPOEM)는 HEMA와 HPOEM의 랜덤 공중합체로서 AIBN에 의한 라디칼 중합 반응으로 다음과 같이 제조되었다.[11] 40 mmol의 HEMA와 20 mmol의 HPOEM를 100 ml의 메탄올에 녹인 후 개시제로 6 mmol의 AIBN과 사슬이동제로 6 mmol MPA를 사용하여 80 °C에서 3시간 30분동안 반응시켰다. 반응 종료 후, 반응용액을 디에틸 에테르에 가하여 합성된 빗 모양 고분자를 침전하여 정제하였고 이 과정을 3회 반복하였다. 생성된 고분자를 분자량별로 분획하기 위하여 분별 침전법을 사용하여 5회 분별하였으며 각각의 침전 생성물은 진공오븐을 사용하여 완전히 건조시킨 후 겔 투과 크로마토그래피를 사용하여 분자량을 확인하였고, ^{1}H-NMR를 통하여 구조를 확인하였다.

리포솜의 제조. 대조군 리포솜은 HSPC, CHOL, DSPG, DSPE를 8 : 10 : 1 : 1 몰 비율로 제조하였으며 최종 지질 농도는 11.5 mg/ml가 되도록 하였다. 스텔스 리포솜은 HSPC, CHOL, DSPE-mPEG2000을 12.6 : 8.2 : 1.1 몰 비율로 제조하였으며 최종 지질 농도는 15.9 mg/ml가 되도록 하였다. 리포솜의 제조는 각각의 지질을 클로로포름과 메탄올 2 : 1(v/v)로 혼합한 용매에 용해시킨 후, 회전증발기를 사용하여 50 °C에서 감압 증류하여 둥근 플라스크 벽에 얇은 지질막을 형성시켰다. 형성된 지질막을 250 mM의 암모늄설페이트 용액으로 지질막이 완전히 분산될 때까지 수화하며 리포솜을 제조하였다. 리포솜 입자의 크기를 조절하기 위하여 가압압출기로 100 nm의 공극을 갖는 폴리카보네이트 분리막(Whatman, USA)을 이용하여 가압압출 하였다. 리포솜 내부에 봉입되지 않은 암모늄설페이트는 리포솜 용액을 4 °C에서 48시간 동안 막투석(MWCO 13,000, Viskase Co. Illinois, USA)을 실시하여 제거하였다.

리포솜과 poly(HEMA-co-HPOEM)의 결합 및 약물봉입. Poly(HEMA-co-HPOEM)을 리포솜에 결합시키기 위하여 30 mg의 poly(HEMA-co-HPOEM), 15 mg의 EDC 그리고 15 mg의 NHS를 3 ml의 Phosphate Buffered Saline(PBS) 용액에 넣고 상온에서 2시간 반응하여 고분자의 말단을 활성화시킨 후 3 ml의 리포솜 용액을 첨가하여 12시간 상온에서 반응하였다. 반응이 종결된 후 미 반응 poly(HEMA-co-HPOEM), EDC 및 NHS를 제거하기 위하여 겔투과 필터로 정제하였고 리포솜과 poly(HEMA-co-HPOEM)의 결합은 FT-IR를 통하여 확인하였다. Poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜에 독소루비신의 봉입은 리포솜 내부와 외부의 암모늄설페이트의 농도편차를 이용한 리모트 로딩 방법을 사용하였고 자외선 분광장치를 이용하여 490 nm에서 독소루비신의 봉입률을 측정하였다.[18]

리포솜의 안정성 평가. 제조된 리포솜의 안정성을 평가하기 위하여 소 혈청 내에서의 입자크기의 변화

를 관찰하였다. 제조된 리포솜 용액과 소 혈청을 1 : 1(v/v)로 혼합하여 37 ℃에서 48시간 동안 교반하면서 입자의 크기 변화를 광산란 장치를 이용하여 측정하였다.[3] 또한 리포솜의 단백질 흡착정도를 평가하기 위하여 1 mg/ml 소 혈청 단백질(BSA) 용액과 제조된 리포솜 용액을 1 : 1(v/v)로 혼합하여 37 ℃에서 48시간 동안 교반하면서 일정시간마다 샘플을 1 ml 씩 채취하였다. 채취한 샘플은 13,000 rpm에서 5분 동안 원심분리 하여 상등액을 제거하였다. 침전된 리포솜들의 세척을 위하여 PBS 1 ml을 추가한 후 원심분리하여 상등액을 제거하는 과정을 2회 반복하여 단백질이 흡착된 리포솜만을 얻었다. 96 well plate에 단백질이 흡착된 리포솜, PBS 0.1 ml 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.[19]

결과 및 고찰

Poly(HEMA-co-HPOEM)의 합성. 말단에 카르복시기가 도입된 poly(HEMA-co-HPOEM) 공중합체는

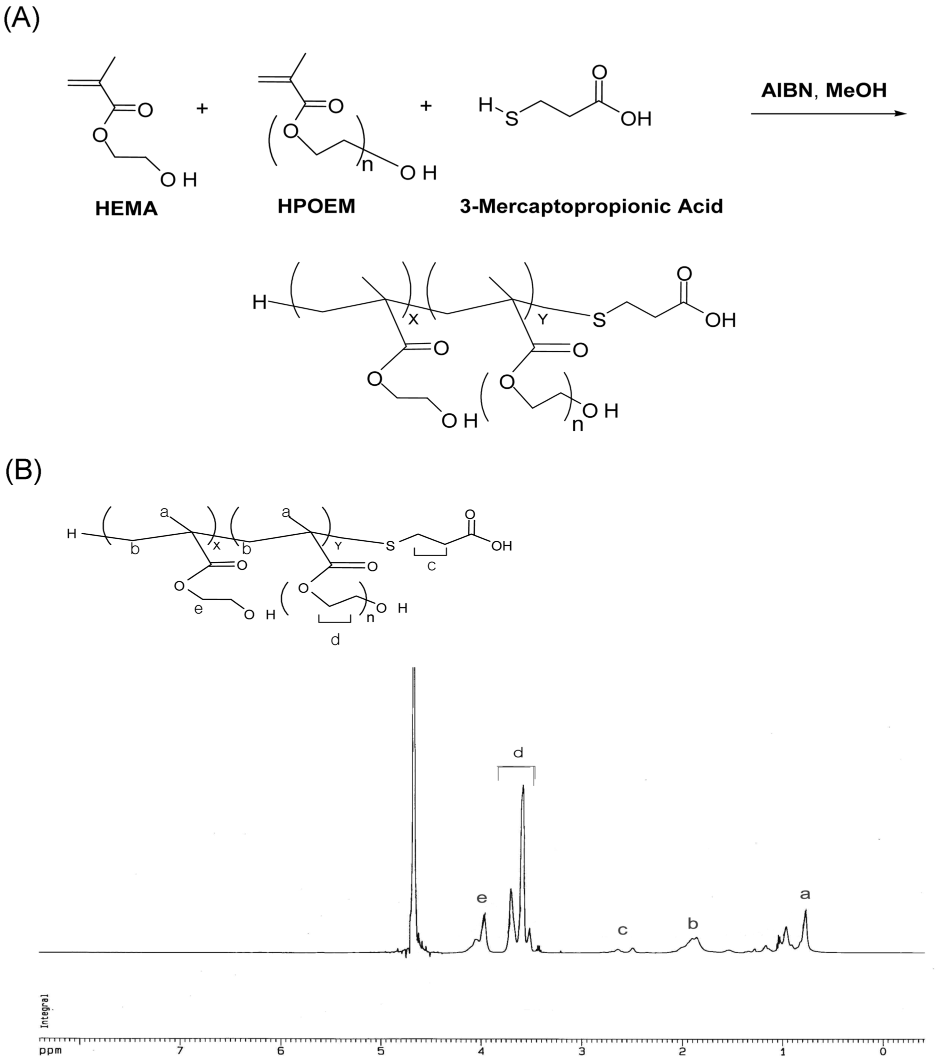

Fig. 1. Synthetic scheme (A) and ^{1}H-NMR spectra (B) of carboxy terminated poly(HEMA-co-HPOEM). The poly(HEMA-co-HPOEM) is random copolymer and repeating units(n) of ethylene oxide in HPOEM are ~6.

Table 1. GPC analysis results of poly(HEMA-co-HPOEM)

Number of fractionatioin	Mn	Mw	Polydispersity
1	7566	11936	1.58
2	6138	9023	1.47
3	6060	7968	1.31
4	5126	6339	1.24
5	3390	4118	1.21

Fig. 1의 (A)에 제시한 방법으로 중합하였고 중합체의 구조는 ^{1}H-NMR 분광분석을 통하여 확인하였다. *Fig.* 1의 (B)에 제시한 ^{1}H-NMR 스펙트럼으로부터 3.6 ppm에서 측쇄 폴리에틸렌옥사이드의 에틸렌에 존재하는 수소의 피크 (d), 0.5~2 ppm에서 주쇄의 메틸렌기에 존재하는 수소의 피크 (a)를 확인하였고 2.5 ppm과 2.6 ppm에서 MPA에 존재하는 에틸렌기의 수소 피크 (c)를 확인함으로써 말단에 카르복시기를 가지는 공중합체의 구조를 확인하였다. 한편, 원소분석을 통하여 MPA에 의해 도입된 황 원소가 공중합체 내에 0.4±0.03%의 비율로 존재함을 확인하였다. 생성된 공중합체는 분별 침전법을 이용하여 분자량별로 분획하였으며 분획된 공중합체의 분자량을 겔 투과 크로마토그래피로 측정한 결과를 *Table* 1에 제시하였다. 리포솜의 표면 수식을 위해서 측쇄 폴리에틸렌옥사이드의 분자량이 2,000정도이고 분산도가 가장 낮은 중량 평균 분자량 4,118인 poly(HEMA-co-HPOEM)을 사용하였다.

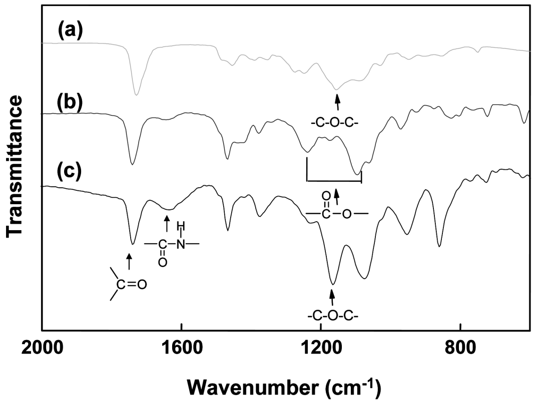

Fig. 3. FT-IR spectra of poly(HEMA-co-HPOEM) (a), control liposome (b) and poly(HEMA-co-HPOEM)-conjugated liposome (c).

Poly(HEMA-co-HPOEM) 수식 리포솜. *Fig.* 2와 같이 poly(HEMA-co-HPOEM)와 리포솜의 결합은 poly(HEMA-co-HPOEM) 말단의 카르복실기를 EDC/NHS로 활성화시키고 이를 리포솜의 아민기와 반응시켜 아미드 결합을 유도하였다. Poly(HEMA-co-HPOEM)로 수식된 리포솜의 결합은 FT-IR 분광분석을 통하여 확인하였고 그 결과를 *Fig.* 3에 나타내었다. *Fig.* 3의 (a)는 poly(HEMA-co-HPOEM)의 스펙트럼으로서 1700 cm^{-1}에서 카르보닐 그룹의 특성피크, 1150 cm^{-1} 에서 에테르 결합의 특성피크를 관찰하였다. *Fig.* 3의 (b)는 대조군 리포솜 입자의 스펙트

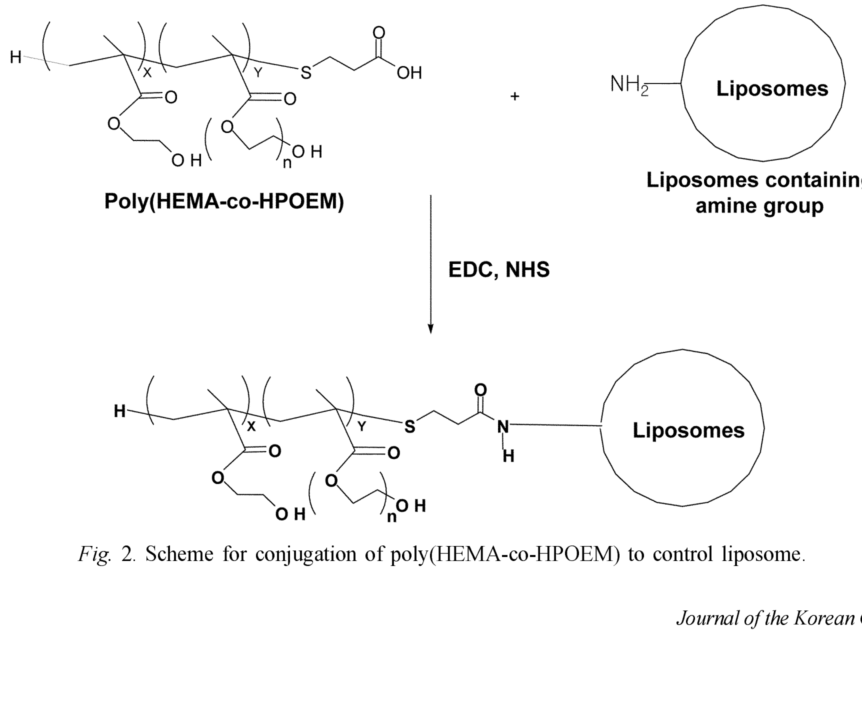

Fig. 2. Scheme for conjugation of poly(HEMA-co-HPOEM) to control liposome.

Table 2. Compositions and physical properties of various types of liposomes

Name	Composition	Diameter (nm)	Zeta potential(mV)	Dox loading efficiency(%)
Control liposome	DSPG:DSPE:HSPC:CHOL	110.7±3.7	-59.4	89.8
Stealth liposome	DSPE-mPEG2000:HSPC:CHOL	109.6±2.1	-16.2	93.1
Comb polymer conjugated liposome	DSPG:DSPE:HSPC:CHOL + comb polymer	138.9±1.8	-35.0	90.9

럼으로서 1700 cm^{-1} 에서 카르보닐 그룹의 특성 피크, 1000 cm^{-1} 및 1250 cm^{-1} 에서 에스터 결합의 특성피크를 확인하였다. *Fig.* 3의 (c)는 poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜의 스펙트럼으로서 에스터 및 에테르 결합의 특성피크와 1640 cm^{-1}에서 아미드 결합의 특성피크를 관찰하였다. 공중합체가 결합된 리포솜에서 에테르 결합 특성피크와 아미드 결합의 특성피크가 나타난 것으로부터 리포솜의 입자 표면에 poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합됨을 확인하였다.

리포솜의 물리적 특성. 본 연구에서 제조된 다양한 리포솜의 입자크기, 표면전하 그리고 약물의 봉입률을 *Table* 2에 나타내었다. 대조군 리포솜과 스텔스 리포솜의 크기는 110 nm 부근에서 동일하게 관찰되었다. 리포솜에 결합된 PEG는 polymer 형태에 따라 15~50 Å정도의 크기를 나타내어 크기에 영향을 주지 않았다.[6] poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜의 입자크기는 대조군 리포솜에 비해 약 30 nm 정도 증가한 이유는 리포솜의 표면에 poly(HEMA-co-HPOEM)의 코팅층이 존재한다고 생각된다.[20] 리포솜 표면전하를 측정한 결과, 대조군 리포솜의 제타 포텐셜은 DSPG 지질의 영향으로 -59 mV 정도의 값을 나타내었고 poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜은 -35 mV 정도의 값을 나타내었다. 이러한 결과는 공중합체가 리포솜의 표면에 결합하여 리포솜 표면의 음전하를 감소시켰기 때문인 것으로 생각된다.[21] Poly(HEMA-co-HPOEM)이 리포솜의 독소루비신의 봉입에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 독소루비신의 봉입률을 측정한 결과 봉입률은 90% 내외로 측정되었다. poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜은 독소루비신의 봉입에 영향이 없는 것으로 판단되었고 200 nm이하의 입자크기를 나타내어 약물전달체로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

리포솜의 안정성. 리포솜의 안정성을 평가하기 위하여 소 혈청 수용액에서 리포솜의 입자크기의 변화를 관찰하였다.[22] *Fig.* 4는 제조된 리포솜을 소 혈청 수용액과 혼합한 후 37 ℃ 배양기에 숙성하면서 시간에 따른 입자의 크기를 측정한 결과이다. 모든 리포솜들은 초기 24시간 이내에는 입자크기의 변화가 적었고, 24시간 이후에 대조군 리포솜의 입자 크기는 증가하였으나 스텔스 리포솜 또는 poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜의 경우에는 48시간까지 입자크기가 변화되지 않았다. 대조군 리포솜의 경우 24시간 이후 단백질이 흡착된 리포솜간의 응집에 의하여 커진 것으로 생각된다.

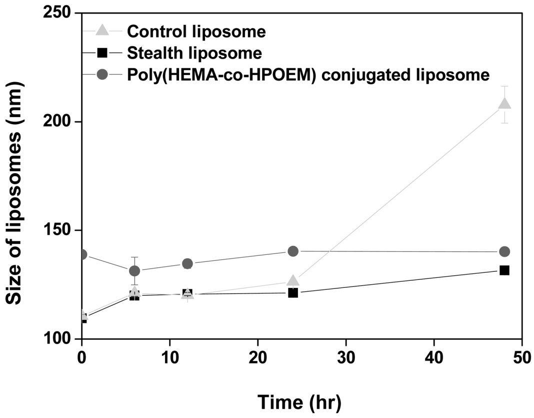

Fig. 4. Particle size of control(▲), stealth(■) and poly(HEMA-co-HPOEM)-conjugated liposomes(●) after incubation in fetal bovine serum at 37℃.

리포솜의 혈장 단백질 흡착특성을 관찰하기 위하여 소 혈청 알부민(BSA) 용액을 사용하여 각 리포솜들의 단백질 흡착량을 측정하였다. *Fig.* 5는 37 ℃ 배양기에서 리포솜 수용액을 BSA용액에서 숙성하면서 시간에 따른 단백질 흡착량을 관찰한 결과이다. 리포솜의 표면에 흡착된 단백질의 양은 6시간 이후 모두 증가하였다. 대조군 리포솜의 경우 단백질의 흡착량은 초기 2 μg에서 48시간 경과 후 40 μg으로 크게 증가하였고, 스텔스 리포솜의 단백질 흡착량은

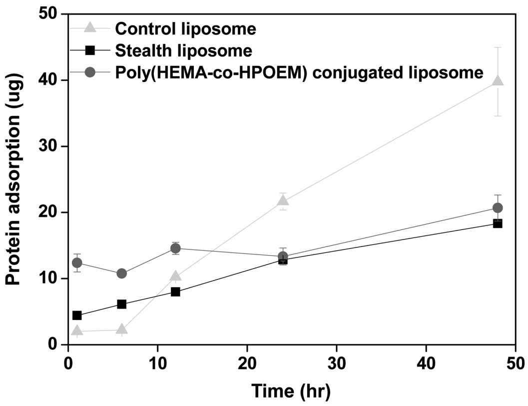

Fig. 5. Protein adsorption of control(▲), stealth(■) and poly (HEMA-co-HPOEM)-conjugated liposomes after incubation in bovine serum albumin solution at 37°C.

5 μg에서 19 μg으로 14 μg증가하였으며 그리고 poly (HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜은 12 μg에서 20 μg으로 8 μg 증가하여 poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜은 대조군 리포솜 또는 스텔스 리포솜에 비해 소 혈청 단백질 흡착이 억제되었다. 리포솜의 입자크기 증가와 혈장 단백질의 흡착은 정맥투여 후 리포솜이 간이나 비장의 세망내피계에 존재하는 대식세포에 의한 소실을 증가시키는 원인으로 알려져 있어 혈장 내에서 리포솜 입자의 크기 변화가 적고 단백질 흡착을 억제할 수 있는 poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜은 혈류 내에서 장기 순환할 수 있는 안정한 약물전달체로서 응용할 수 있을 것으로 사료된다.[23,24]

결 론

본 연구에서는 말단에 카르복실기를 갖는 poly(HEMA-co-HPOEM)을 합성하고 아민기를 가진 지질로 구성된 리포솜과 공유결합을 통해 친수성 고분자가 표면수식된 리포솜을 제조하였고, 제조된 리포솜의 단백질 흡착에 대한 poly(HEMA-co-HPOEM)의 영향을 평가하기 위하여 소 혈청 내에서의 입자 크기 변화와 소 혈청 단백질의 흡착량을 관찰하였다. Poly(HEMA-co-HPOEM)과 리포솜의 결합은 FT-IR을 통하여 확인을 하였고, poly(HEMA-co-HPOEM)은 음전하를 갖는 리포솜의 표면전하의 절대값을 감소시켰다. Poly(HEMA-co-HPOEM)가 결합된 리포솜의 안정성과 단백질 흡착특성을 평가한 결과 소 혈청 내에서 시간에 따른 입자 크기의 변화는 없었으며, 소 혈청 단백질 흡착은 대조군 리포솜 또는 스텔스 리포솜에 비해 억제되었다. 이러한 결과는 리포솜에 결합된 poly(HEMA-co-HPOEM)의 측쇄에 존재하는 폴리에틸렌옥사이드가 리포솜의 표면에 분포되어 나타나는 효과로 생각된다. 따라서 poly(HEMA-co-HPOEM)은 리포솜의 단백흡착을 억제하고 안정성을 향상시킬 수 있는 물질로서 유용하며 poly(HEMA-co-HPOEM)이 도입된 리포솜은 혈류 내 체류시간을 증가시킬 수 있는 약물전달체로서 제시될 수 있다.

본 연구는 산업자원부 차세대 성장 동력 개발 사업으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

1. Bangham, A. D.; Standish, M. M.; Watkis, J. C. *J. Mol. Biol.* **1965**, *13*, 238.
2. Gregoriadis, G.; Florence, A. T. *Drugs* **1993**, *45*, 15.
3. Han, H. D.; Shin, B. C.; Choi, H. S. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2006**, *62*, 110.
4. Torchilin, V. P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 145.
5. Gabizon, A.; Papahadjopoulos, D. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1988**, *85*, 6949.
6. Che, B.; Winterhalter, M.; Frederick, P. M.; Vallner, J. J; Lasic, D. D. *Adv. Drug Delivery. Rev.* **1997**, *24*, 65.
7. Moghimi, S. M.; Szebeni, *J. Prog. Lipid Res.* **2003**, *42*, 463.
8. Klibanov, A. L.; Maruyama, K.; Torchilin, V. P.; Huang, L. *FEBS Lett.* **1990**, *268*(1), 235.
9. Patel, H. M. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **1992**, *9*(1), 39.
10. Moghimi, S. M.; Patel, H. M. *Adv. Drug Delivery. Rev.* **1998**, *32*, 45.
11. Darrell, J. I.; Anne, M. M. *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 85.
12. Larsson, C. F.; Nylander, T.; Jannasch, P.; Wesslen, B. *Biomaterials* **1996**, *17*, 2199.
13. Nath, N.; Hyun, J.; Ma, H.; Chilkoti, A. *Surface Sci.* **2004**, *570*, 98.
14. Lawrence, M. J.; Lawrence, S. M.; Chauhan, S.; Barlow, D. J. *Chem. Phys. Lipids* **1996**, *82*, 89.
15. Auguste, D. T.; Prud'homme, R. K.; Ahl, P. L.; Meers, P.; Kohn, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1616*, 184.
16. Heitz, C.; Pendharker, S.; Prud'homme, R. K.; Kohn, J. *Macromolecules* **1999**, *32*, 6652.

17. Teodorescu, M. *Eur. Polym. J.* **2002**, *38*, 841.
18. Haran, G.; Cohen, R.; Bar, L. K.; Barenholz, Y. *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1151*, 201.
19. Baumgarten, H. *J. Immunol. Methods* **1985**, *82*(1), 25.
20. Takeuchi, H.; Kojima, H.; Toyoda, T.; Yamamoto, H.; Hino, T.; Kawashima, Y. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1999**, *48*, 123.
21. Yoshida, A.; Hashizaki, K.; Yamauchi, H.; Sakai, H.; Yokoyama, S.; Abe, M. *Langmuir* **1999**, *15*, 2333.
22. Lin, W.; Garnet, M. C; Davies, M. C; Bignotti, F.; Ferruti, P.; Davis, S. S.; Illum, L. *Biomaterials* **1997**, *18*, 559.
23. Harashima, H.; Kiwada, H. *Adv. Drug Delivery. Rev.* **1996**, *19*, 425.
24. Nagayasu, A.; Uchiyama, K.; Kiwada, H. *Adv. Drug Delivery. Rev.* **1999**, *40*, 75.