

HPC를 이용한 나노리포좀 특성 및 막 안정성

오승룡, 이상봉, 조계민, 심진기[†]
한국생산기술연구원

Membrane Stability of Nano-Liposome using Hydrated Phosphatidyl Choline

Seng Ryong Oh, Sang Bong Lee, Kye-Min Cho*, Jin Kie Shim[†]
Korea Institute of Industrial Technology

1. 서론

활성물질의 안정성, 피부 투과율 증대 및 약리작용을 제어하기 위해서는 리포좀의 개발이 필요하다. 특히, 운반물질이 단백질 성분의 경우 변성방지를 통한 안정성의 확보를 위해 더욱 절실히 요구된다. 리포좀내에 수용성 또는 지용성 약물을 봉입시켜 생체에 적용할 수 있는 약물전달시스템을 개발하기 위한 노력은 그 동안 끊임없었으며, 특히 근래에는 효소, 항암제, 항염증스테로이드, 펩타이드 약물의 전달시스템으로서 리포좀을 응용한 예가 광범위하게 보고 되고 있다 [1, 2].

리포좀이 가지는 장점을 열거하면 인지질이라는. 생체 구성성분으로 이루어져 생체 내에서 분해가 가능하고 독성이 없고 수용성 또는 지용성 성분 모두를 리포좀 내로 포집할 수 있으며 리포좀의 제조방법, 표면전하, 지질 조성 등에 따라 크기 및 형태 특성 등을 조사하여 다양하게 만들 수 있고 포집물질과 리포좀 사이에 화학적 결합 없이 쉽게 제조가 가능하다. 포집물질이 약물일 경우 특정 조직에 표적이 가능하여 약물의 치료 효과를 높이고 약물을 거의 모든 경로(경구, 피하, 정맥, 근육 주사 또는 복강 주사)로 투여할 수 있는 등의 많은 장점이 있다 [3]. 또한, 리포좀을 화장품에 이용할 경우에는 생체막을 비롯하여 피부의 주요 구성성분인 인지질이 피부세포와 상호 작용하여 세포막의 유동성을 증가시키면서 피부의 신진대사를 보다 원활히 하여 생리활성 성분의 피부세포내의 흡수를 촉진시키는 작용을 한다 [4-7].

2. 이론

본 실험은 기존 리포솜에 비해 삼입효율이 획기적으로 향상된 새로운 형태의 수화 액정상(Hydrated liquid crystal)인 리포솜을 개발하여, 용매종류 및 제조방법 등 리포솜 막 형성에 영향을 주는 다양한 변수를 분석하였으며, 불안정한 활성물질의 유효성분 안정성을 위하여 hydrated phosphatidyl choline을 이용하여 나노리포솜을 제조하였다 [4, 6]. 제조된 리포솜의 입자크기 및 표면전하를 살펴보고 포집율 및 방출거동에 대해 조사하였다 [8, 12]. 리포솜 방출거동은 리포솜 내부에 활성물질을 포집시킨 후 온도, 저장시간에 따른 방출거동을 확인하였으며, 리포솜 막의 안정성을 증가시키기 위해 점증제로 화장품에 흔히 쓰이는 생체 친화적인 수용성 고분자poly(vinyl alcohol) (PVA) 및 gelatin 코팅을 시도하여 막 코팅이 리포솜의 안정성 향상에 얼마큼 기여할 수 있는지 실험하였다 [13-17].

3. 실험

3.1. 재료

보건복지부 허가 규격품(원료의약품 제조허가 대구 9호)으로 대한약전 및 생약 규격집에 준하는 양질의 황련(중국산 일황련)을 경동시장에서 구입하여 사용하였다. 레시틴 성분으로 Hydrogenated phosphatidyl choline (HPC)을 Lucas Meyer에서 구입하였고, 코팅제로는 Sigma에서 판매하는 PVA, gelatin을 사용하였다. 용매로 Ethanol, 1,3-Butylene Glycol, Poly(ethylene glycol) 그리고 계면활성제로 Triton-X를 Sigma에서 구입하여 사용하였고, Calcein 및 Bovine serum albumin (BSA)은 Pierce사에서 구매하여 사용하였다. 그 외의 일반시약은 특급 및 1급 시약을 정제 없이 그대로 사용하였다.

3.2. 나노리포솜 제조

레시틴 (1g)과 에탄올(1ml)를 플라스크에 넣고 70℃가 유지되는 항온조에 가져간다. 70℃에서 용융시켜 지질 용액을 만든 후 여기에 황련유래 추출물 1 mg을 넣어 3분 동안 교반시키면 수화 액정 (hydrated liquid crystal)이 형성된다. PBS용액 60 ml를 첨가한 수화 액정은 나노 크기의 리포솜 입자로 분산된다. 플라스크를 다시 얼음물에 넣고 약 30분 교반 시키면서 냉각시킨다. 리포솜 현탁액을 3,500×g로 20분 동안 원심 분리 후 상층액을 제거하면 최종적으로 나노리포솜 입자가 얻어졌다.

리포솜의 막안정성을 증대하기 위하여 PVA코팅을 시행하였다. 1(wt/wt)% PVA 수용액을 상기 제조한 리포솜과 동일 볼륨으로 섞은 후 상온에서 2시간 동안 교반시

킨다. 코팅된 리포솜 현탁액을 3,500×g로 20분 동안 원심 분리한 후 상층액을 제거하면 PVA 코팅된 리포솜이 얻어졌다.

4. 결과 및 토의

본 연구에서는 활성물질의 안정성을 높이기 위하여 리포솜을 제조하였다. 리포솜의 입자 크기는 70 ± 10 nm 였으며, 활성물질이 포집된 리포솜은 PVA 코팅에 따른 리포솜의 평균 입자 크기보다 10-30nm씩 증가하였다. 저분자 물질인 칼세인을 모델 약물로 사용하였을 경우 50~60%정도의 포집율을 나타내었으며, PVA 및 gelatin 코팅된 리포솜의 활성물질 방출율이, 코팅되지 않은 리포솜의 방출율보다는 현저하게 낮아진 것을 볼 수가 있다. 이는 PVA를 코팅함으로써 리포솜 막의 파괴를 막아줌으로써 리포솜의 안정성을 향상시켜주고, 최종 바깥의 새로운 barrier를 형성시켜 활성물질의 방출을 어렵게 만들어 주기 때문이다.

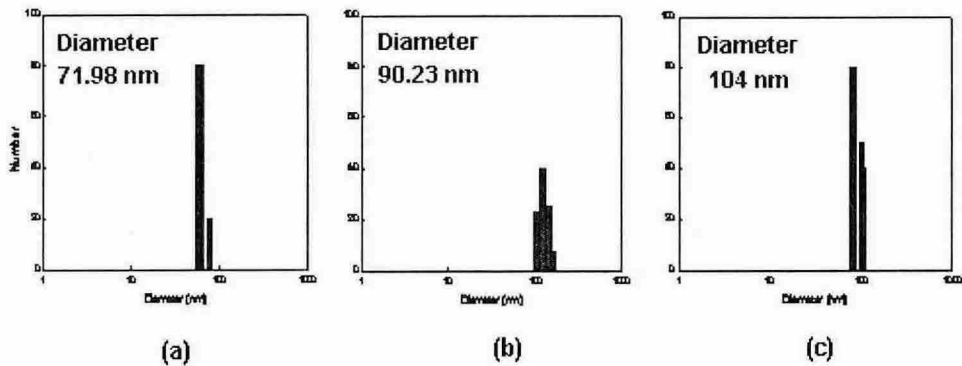


Fig. 1. Particle size and size distribution of liposomes using the laser scattering. (a) Liposome, (b) calcein-encapsulating liposome and (c) PVA-coated liposome containing calcein in the core.

5. 참고문헌

1. N.Miura, M. Yamamoto, T. Ueki, T. Kitani, K. Fukuda, and Y. Komatsu, *Biochem. Pharmacology*, **53**, 1315 (1997).
2. S. S. Feng, and G. F. Huang, *J. control. Rel.*, **71**, 53 (2001).
3. S. S. Feng, G. Ruan, and Q. T. Li, *Biomaterials*, **25**, 5181 (2004).

4. E. Touitou, N. Dayan, L. Bergelson, B. Godin, and M. Eliaz, *J. control. Rel.*, **65**, 403 (2000).
5. Godin, and E. Touitou, *J. control. Rel.*, **94**, 365 (2004).
6. W. Barry, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **14**, 101 (2001).
7. J. A. Bouwstra, and P. L. Honeywell-Nguyen, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, S41 (2002).
8. K. Iga, Y. Ogawa, and H. Toguchi, *Pharm. Res.*, **9**, 658 (1992).
9. A. Ono, M. Yamaguchi, I. Horikoshi, T. Shintani, and M. Ueno, *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 166 (1994).
10. K. Kono, H. Hayashi, and T. Takagishi, *J. control. Rel.*, **30**, 69 (1994).
11. K. Kono, A. Henmi, H. Yamashita, H. Hayashi, and T. Takagishi, *J. control. Rel.*, **59**, 63 (1999).
12. K. Kono, K. Yoshino, and T. Takagishi, *J. control. Rel.*, **80**, 32 (2002).
13. H. Takeuchi, H. Kijima, T. Toyoda, H. Yamamoto, T. Hino, and Y. Kawashima, *Eur. J. Pharma and Biopharm.*, **48**, 123 (1999).
14. H. Takeuchi, H. Kojima, H. Yamamoto, and Y. Kawashima, *J. Control. Rel.*, **68**, 195 (2000).
15. H. Takeuchi, H. Yamamoto, T. Toyoda, and H. Toyobuku, *Int. J. Pharm.*, **164**, 103 (1998).
16. J. Guo, Q. Ping, G. Jiang, L. Huang, and Y. Tong, *Int. J. Pharm.*, **260**, 167 (2003).
17. E. Ruel-Gariepy, G. Leclair, P. Hildgen, A. Gupta and J. C. Leroux, *J. Control. Rel.*, **82**, 373 (2002).