

【綜 說】

膽體를 利用한 藥物의 標的組織集中技法

—리포솜을 中心으로—

沈 昌 求 · 李 俊 鎬

서울大學校 藥學大學

Targeting of Drugs Especially by Liposomes

Chang-Koo Shim and Jun-Ho Lee

(Received October 27, 1983)

The use of carrier systems for the delivery of drugs to areas in the body in need of pharmacological intervention is now the subject of intense research in many laboratories. Because of its obvious advantages (e.g. protection of drugs from hostile environments, facilitated target penetration and avoidance of side effects), drug delivery is expected to ease the pressure and expense of new drug development by making better use of drugs in existence.

Generally, carrier-mediated delivery has been envisaged either as direct transport of drugs to a biological target by a carrier that will associate with it selectively, or as release of drugs from a carrier circulating in the blood or immobilized in tissues, at rates compatible with optimal action. One system that has attracted considerable attention is the use of liposomes as carriers of pharmacologically active agents. 154 references were reviewed with special emphasis on the targeting of drugs by use of liposomes in this respect. Recent advances in the other carrier systems and in methods for the preparation of liposomes were also reviewed briefly.

## I. 序 論

체내에 투여된 藥物이 그 효력을 제대로 나타내기 위해서는 藥物의 표적이 되는 標的部位(疾患部位)에 선택적으로 도달할 필요가 있다. 그러나 從來의 대부분의 製劑는 투여된 후에 표적부위뿐만 아니라 표적이 아닌 부위 즉, 正常組織에도 도달하기 때문에 전혀 불필요한 副作用이 생기곤 하였다. 예컨대 actinomycin D<sup>1-4)</sup> 나 doxorubicin<sup>136)</sup>과 같은 경우 정상세포에도 세포독성을 나타내기 때문에 그 사용에 어려움이 있는 것이다.(문헌 1-4 및 136은 liposome으로 독성을 경감시킨 연구예임).

한편 藥物이 표적부위에 잘 도달되지 않는 경우도 문제가 된다. 예컨대 耐性이 생겨 항암제가 암세포 속으로 통과하지 못한다든지, 항생제가 미생물이 잠복되어 있는 세포내에 침투하지 못한다면 本來 기대했던 그 藥物의 작용은 나타나지 않을 것이다. 藥物이 표적부위에 도달하지 못하는 또 다른 경우로는 인슈린의 경우투여시 장내에서 藥物이 분해되어 버리는 것과 같이 투여후 표적부위 도달전에 藥物이 분해되어 버리는 경우와 혈액-뇌관문(blood brain barrier, B.B.B)과 같은 해부학적인 barrier에 의해 뇌와 같은 표적부위에 도달하지 못하는 경우가 있다. 후자와 같은 경우에는 효소를 이용한 B.B.B. 통과전략이 연구되고 있다.<sup>5)</sup>

## II. Targeting을 目的으로 한 담체(carrier)의 개발동향

이와같이 藥物을 종래의 제형으로 투여하는 데에 대한 문제점이 부각됨에 따라 藥物을 표적부위에 효과적으로 운반(targeting)시킬 수 있는 담체의 개발이 많이 연구되고 있다. 이들을 분류하여 표로 나타낸 것이 Table I<sup>6)</sup>이다.

두말할 것도 없이 담체란 투여된 藥物을 適用部位로부터 作用部位까지 효율적으로 운반할 수 있어야 하며 작용부위에 도달해서는 藥物을 유리하여 藥物 고유의 작용이 나타나도록 해주는 것이어야 한다. 또한 담체 그 자체는 독성이 없어야 하며 생체내에서 파괴되는 것이어야 한다. 그리고 다양한 藥物을 운반할 수 있도록 적당한 크기와 모양을 가지고 있어야 하며 표적부위에 쉽게 접근할 수 있도록 표적부위 친화력이 있어야 한다.

그럼 Table I의 담체들 중에서 특히 흥미를 끌고 있는 것들에 대해서 간략히 설명해 나가기로 한다. Fig. 1에 담체를 통한 targeting의 개념도를 소개한다.

### 1) 거대분자를 이용한 targeting

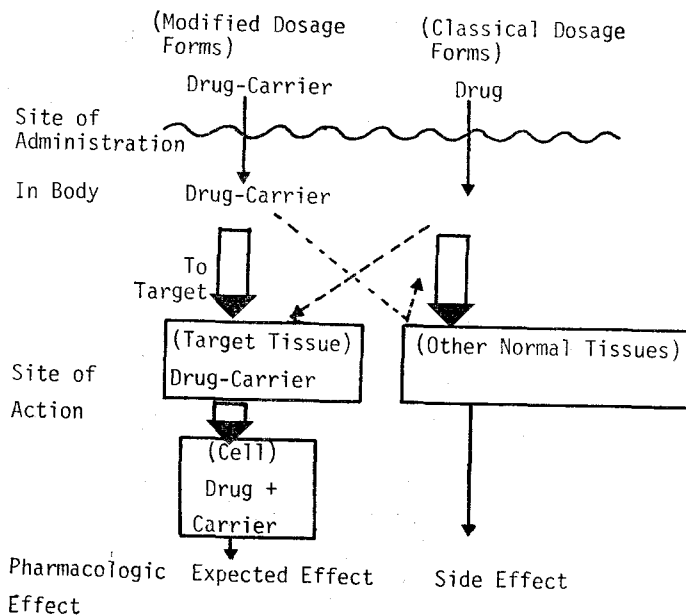
우선 巨大分子(macromolecule)를 이용한 담체중 항체담체에 대해 설명한다.

암세포의 항원에 대응한 immunoglobulin 항체와 결합된 항암제는 암세포막의 변역결정인

**Table I**—Drug Carriers in Biology and Medicine.

Macromolecules	Immunoglobulins Desialylated Glycoproteins Albumin Fibrinogen Deoxyribonucleic Acid Dextran
Cells	Erythrocytes Leucocytes Hepatocytes
Synthetic Systems Non-Biodegradable	Nylon Semi-Permeable Microcapsules Polyacrylamide Gel Liquid Surfactant Membranes Glass Beads
Synthetic Systems Biodegradable	Albumin Microspheres Multiple Oil Emulsions Lactic Acid Polymers Ufasomes (Unsaturated Fatty Acid Spheres) Liposomes

For more detail, see text and bibliographies cited in reference 6.



**Figure 1**—Concept of Targeting.<sup>28)</sup>

자와 특이적으로 결합하여 endocytosis를 통해 세포내에 들어가 lysosome을 指向하게 되어 결국 암세포를 보다 강력히 공격하게 된다.<sup>7-9)</sup> 모노클로날 抗體(monoclonal antibody)에 약물을 결합<sup>10)</sup>시킨다면 표적부위에의 targeting은 더욱 표적특이성을 띄게 될 것이다. 그러나 항체를 이용한 담체에는 몇가지 문제점이 있다. 즉, 표적부위특이성의 항원분리와 그 항원에 특이적인 면역 globulin의 精製가 어려운 점, 또 결합된 약물에 의해 항체의 항원감지부위가 은폐되어 버리는 일<sup>11)</sup>이 있다는 점, 그리고 약물이 항체단백의 3차구조를 바꿔 細網內皮系(reticuloendothelial system; R. E. S.)에서 신속히 제거되어 버릴 수가 있다는 점, 표적부위에서 약물과 항체와의 다양한 ester 결합을 깨기 위한 여러 종류의 esterase가 있어야 한다는 점, 항체 자신의 allergy 유발 가능성을 고려해야만 한다는 점 등이 항체를 carrier로 쓰는데 어려움이 될 것이다.

거대분자 담체로 또한 흥미있는 것은 asialoglycoprotein이다. 이 물질은 肝실질세포에 특이적인 친화력<sup>12)</sup>을 갖고 있어서 약물을 lysosome<sup>13)</sup>內로 운반시켜 준다. asialofetuin,<sup>14)</sup> 그리고 肝臟 및 腎臟에 各各 특이한 친화성을 갖는 agalactoglycoprotein, ahexasamine-glycoprotein도 비슷한 targeting 기전을 갖고 있는 거대분자담체들이다. Table I에는 들어 있지 않으나 tropic hormone, lectin,<sup>15,16)</sup> 수종의 enzyme<sup>17)</sup> 등과 같은 거대분자들도 담체로 이용되고 있다. 이들은 항체담체와는 달리 그 취급이 쉬우며 표적부위의 감지기전이 덜 복잡한 대신 표적부위에 대한 특이적인 선택성이 좁은 것이 단점이 된다.

거대분자중 표적부위 특이성으로 관심을 끄는 것으로 DNA<sup>18)</sup>가 있다. DNA와 daunomycin 또는 adriamycin을 결합시킨 약물을 투여한 결과 이들 약물의 생체독성이 감소<sup>19)</sup>되었으며 종양치료효과도 증진된 사실이 사람<sup>20)</sup>과 동물<sup>18,21)</sup>에 대해 보고되어 있다.

또다른 표적부위특이성 거대분자로는 albumin이 있다. 알부민에 결합된  $\beta$ -amanitin을 투여했을 때 간장의 sinusoidal세포 및 신장의 근위세뇨관세포(이 세포들은 단백질을 잘 endocytic uptake함)에 선택적인 장애를 일으킴<sup>22)</sup>이 보고되었다.

## 2) 세포를 이용한 targeting

두번째로는 담체로서 세포를 이용하는 방법<sup>23)</sup>이 있다.

예컨대 적혈구는 세망내피계에 약물을 전달하는 데 유효하다.<sup>24)</sup> 더우기 약물을 적혈구내에 집어 넣는 과정(entrapment) 중에 적혈구의 수명 등이 변화되지 않는다면 적혈구 안에 들어 있는 약물은 체내순환 중 서서히 유리되는 장점도 있다. 적혈구는 그 안에 담을 수 있는 약물의 종류와 표적부위친화성 면에서 제약을 받고 있지만 다른 세포담체(백혈구나 간세포)들 보다는 덜한 편이다.

## 3) 體內非分解性 合成物質을 이용한 targeting

세번째로는 체내에서 분해되지 않는 합성물질을 담체로 이용하는 방법이다.

좋은 예로는 반투과성의 nylon微球體<sup>25)</sup>가 있는데 생체내에서 파괴되지 않으므로 非경구용 또는 만성치료용으로는 적당하지 못하다는 단점이 있다.

4) 體內分解性 합성물질을 이용한 targeting




네번째로는 생체내에서 분해되는 합성물질 또는 생체물질을 담체로 이용하는 방법이다.

알부민微球體,<sup>26,27)</sup> 多重油 emulsion 및 liposome 등이 이에 해당한다. 이중 특히 리포솜은 적용가능한 약물의 범위가 가장 넓으며 그 안에 약물을 집어넣기(entrainment)도 가장 쉽다는 점, 그리고 그 구조가 다양하며 표면수식에 의한 약물작용의 수식이 가능하다는 점 등의 장점이 있어서 다른 담체들보다 큰 각광을 받고 있다. 본 綜說에서는 이 리포솜담체를 통한 약물의 targeting에 視角을 맞추고자 한다.

Ⅲ. 리 포 솜

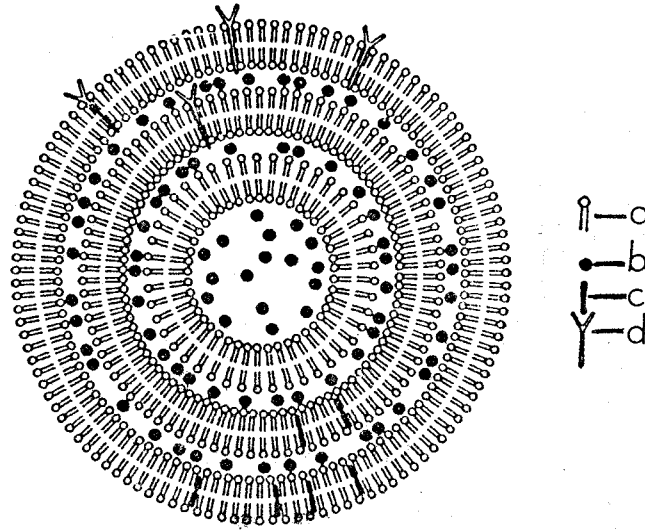
인지질을 수용액에 현탁시키면 지질이중막으로부터 liposome이라 불리는 小胞體가 형성된다. (Fig.2)

Table II—Characteristics of Liposomes.<sup>27)</sup>

	Size(nm)	封入용적(μl/mg)	봉입효율(%)	특 정
SUV 	20—50	0.5	0.5—1.0	Size 분포가 균일 봉입효율이 낮다. 지질膜內外의 脂質分佈가 不均一
LUV(REV) 	200—1,000	13.7	35—65	봉입용적·효율이 크다. 조제법이 복잡
MLV 	400—3,500	4.1	5—15	조제가 용이 안정성 양호 多重層 구조

천연의 생체막도 지질의 二重層구조를 갖고 있는 사실로부터 이 리포솜은 생체막의 모델막으로서 그 물리화학적 연구에 널리 이용되어 왔다.

한편 리포솜은 內部的 水層에 여러 종류의 물질을 집어넣을(封入) 수가 있으며(마이크로캡셀과 비슷한 성질) 세포와 융합(fusion) 한다든지 세포에 잡혀들어간다든지(endocytosis) 하기 때문에 생체내에 물질을 실어보내는 담체(carrier)로서 이용된다. 이 리포솜에 약물을 실어 체내에 보낼 때 약물의 체내거동을 리포솜의 특성에 의해 조절한다는 것은 약제학적 입장에서 매우 흥미있는 일이다. 리포솜 자체는 생체내 분해를 받으며(biodegradable), 비교적 면역原性이 적고 독성도 낮다. 또 비교적 안정성이 높은 동시에 막면적이 크기 때문에 다양한 약물의 봉입에 이용할 수 있으며 더우기 실험조건만 조절해주면 재현성높은 리포솜을 간



**Figure 2**—Illustration of liposome structure. MLV liposome containing drug molecules is shown as an example.<sup>28)</sup>

Key: a) phospholipid; b) water soluble drug molecule; c) lipid soluble drug molecule; d) drug molecule that penetrates into lipid phase.

단히 조절할 수 있는 등 많은 장점을 지니고 있다.<sup>29)</sup> 리포솜을 이용한 연구는 그 양이 방대하여 일일이 여기서 소개할 수 없을 정도이다. 여기서는 약제학적 분야에서의 연구, 그중에서도 특히 targeting을 중심으로 한 연구상황 및 장래전망에 대해 언급하고자 한다.

### 1) 리포솜의 제법<sup>30)</sup>

리포솜은 그 形狀上 多重膜리포솜(multilamellar vesicles, MLV), 작은 一枚膜리포솜(sm-

**Table III**—Preparation of Liposomes.<sup>71)</sup>

	Method	References
MLV	Vortexing	31-38, 129, 132
SUV	Sonication	32-33, 34, 39-42
	Pre-Vesicle	43
	Ethanol Injection	44-45
	French Press Extrusion	30, 73-74
	Surfactant	46-50, 51-52, 72
LUV	Ca <sup>+2</sup> -Induced Fusion	53-57
	Ether Injection	58-60
	Annealing	61
	Freeze Fusion	62
	w/o/w Emulsion	63-65
	Micelle	26, 66
REV	Reverse Phase Extraction	67-68, 133

For the vesicles of single-chain amphiphile, see ref. 69-70.

For LUV preparation, see also recent ref. 144.

all unilamellar vesicles, SUV), 큰 一枚膜리포솜(large unilamellar vesicles, LUV)의 3가지로 분류된다.

이 3 리포솜의 특징을 (Table II)에 보였다. 여기서 封入용적이란 인지질 일정량당 封入할 수 있는 수층의 용적을 말하며 封入효율이란 최초로 집어넣은 용질(약물)량중 리포솜내에 封入된 양의 %를 말한다. 이들 리포솜의 제법에는 여러가지가 있으나 여기서는 제법이 주체가 아니므로 각 제법을 열거하는 정도(Table III)로 끝내고자 한다.

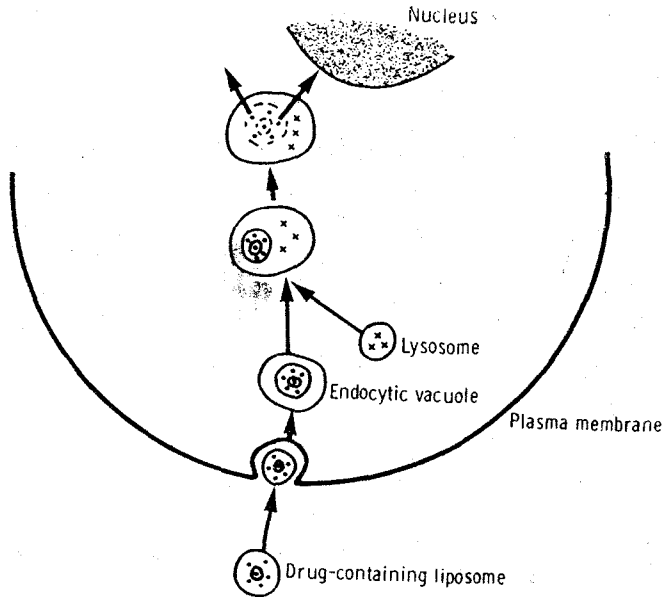
## 2) 리포솜의 체내동태

다른 약제와 마찬가지로 리포솜의 생체내 동태는 리포솜이 체내에서 만나는 여러가지 특수한 환경에 따라 변화하게 된다. 리포솜을 注射했을 때 처음 단계인 혈액과의 접촉이나 마지막 단계인 담체로부터의 약물방출과 약효발현사이의 경로는 복잡하며 주로 리포솜을 어떻게 만들었는가에 따라 달라질 것이다. 이 경로에서 리포솜-약물복합체의 동태에 영향을 미치는 인자들을 Table IV에 정리하였다.

**Table IV**—Variants of the Liposome-Drug Unit and its Interaction with the Environment.<sup>23)</sup>

Liposomes	Size (minimum about 20nm) Composition Membrane Fluidity Surface Charge Permeability Stability Surface (Targeting) Groups
Associated Drug	Molecular Weight Solubility Charge Shape Multiple Drug Accomodation Multiple Liposomal Drug Populations
Interaction with the Environment	Toxicity Immunogenicity Biodegradability Transport (e.g., through membrane) Mode of Association with Target Mode of Targeting Mode of Drug Action

여기서 투여된 리포솜의 경로를 간단히 살펴보기로 한다. 정맥주사로 투여된 리포솜은 곧바로 혈장중의 HDL(high density lipoprotein)에 의해 공격을 받아 膜의 연속성이 다소 붕괴되어 결국 내용물이 혈액중으로 새어 나오게 된다.<sup>75)</sup> 동시에 손상을 받은 리포솜은 간장이나 비장에 있는 固定 macrophage에 의해서 제거<sup>76)</sup>되는 한편, 일부는 다른 조직의 食細胞와 상호작용하게 된다. 혈중의 monocyte와 상호작용하는 리포솜은 극히 일부에 불과하다.



**Figure 3**—Cellular uptake and lysosomotropic action of liposome-entrapped drugs. A liposome containing drug molecules(○) is taken up into a cell by endocytosis. The endocytic vacuole fuses with a lysosome, the hydrolases(X) of which disrupt the lipid bilayers releasing the entrapped drug. This can then act locally or diffuse out and act in other cellular regions.<sup>77)</sup>

소형의 리포솜은 肝실질세포에 도달할 수 있다는 강력한 증거가 있다고 한다.

식세포에 endocytosis에 의해 잡혀 들어간 리포솜은 lysosome으로 운반되어 거기서 소화된 다음 들어있던 약물을 유리하게 된다. 유리된 약물이 만약 lysosome 내에서 안정하다면 lysosome 내에서 약효를 나타내거나 lysosome막으로 확산되어 세포내의 他부위에까지 도달하게 된다.<sup>77)</sup> (이상 Fig.3 참조).

종래에는 lysosome에 도달하지 못하던 약물을 도달시켜주는 이와같은 lysosome지향적인 거동이 리포솜의 임상적인 응용가치를 높게 해주고 있는 것이다.

최근의 연구<sup>81)</sup>에 의하면 리포솜에 대한 HDL의 前述한 作用을 오히려 유익하게 쓸 수 있다고 한다. 즉 리포솜 2중층을 구성하는 인지질성분과 cholesterol의 첨가량을 조절함으로써 약물이 리포솜에서 새어나오는 속도 등을 임의로 조절할 수 있게 될 것이다. 필요에 따라서는 전혀 새어나오지 않게 할 수도 있으며 특정부위에서만 새어나오게 할 수도 있다. 후자의 예로는 체내의 낮은 pH 부위, 또는 염증에 의해 온도가 높아진 조직을 리포솜이 통과할 때 곧바로 약물이 새어나오게 리포솜을 만들 수 있다는 것이다.<sup>15)</sup>

리포솜으로부터의 약물유리 및 수송에 대한 또하나의 조절인자는 血流中에서의 리포솜의 순환시간(또는 반감기)이다. 리포솜의 혈류내 반감기를 늘리려면 리포솜의 크기를 줄인다는 리포솜표면을 陽으로 荷電시킨다든지 하면 되는데 아주 극적으로 줄이기 위해서는 RES의



리포솜 uptake 능력이 포화되고도 남은 만큼의 多量<sup>112,152)</sup>의 리포솜을 注射하여 세망내피계를 차단해 버리면 된다.<sup>15)</sup> 그러나 세망내피계를 자주 차단하는 것은 독성을 유발하고 식세포의 정상기능을 저해할 것이다. 최근의 연구<sup>113)</sup>에 의하면 리포솜의 인지질 조성을 조절하면 리포솜의 클리어런스(clearance)가 조절된다고 한다. 이상을 요약하면 리포솜의 체내반감기는 리포솜의 size, 表面荷電, 투여량 및 인지질조성으로 조절될 수 있는 것 같다.

### 3) 리포솜의 targeting에 영향을 미치는 인자

리포솜의 targeting에 영향을 미치는 것은 비단 구성인지질의 종류와 cholesterol 첨가량만은 아니다. 여러가지 인자들을 정리해서 Table V에 보였다.

**Table V**—Parameters Influencing Interaction of the Liposome-Drug Unit with Target.<sup>23)</sup>

Inherent Liposomal Characteristics	Size Lipid Composition Fluidity Charge Permeability
Acquired Liposomal Characteristics	Associated-Drug Properties Surface Probes (Antibodies, Lectins, etc.)
Nontarget Environment	Blood Elements Anatomic Barriers.
Modified Nontarget Environment	Circulating (formed) Antibodies Changes in Vascular Membrane Permeability (e.g., edema) Competitors (e.g., Blockade of the Reticuloendothelial Systems)
Target (Molecules, Cells) Characteristics	Molecular Weight, Tertiary Structure, Membrane Composition Membrane Fluidity Membrane Receptors Membrane Function (Endocytosis, Fusion) Adsorption
Acquired Target Characteristics	Modified Membrane Composition Modified Membrane Function (e.g., Induction of Endocytosis, Fusion)

이들 중에서 특히 관심을 끌고 있는 주요인자들에 대해서 이하에 설명하고자 한다.

#### ① liposome의 size<sup>83~85, 139)</sup>

리포솜의 크기를 작게 해주면 간장과 비장의 약물 uptake는 줄어들고 암조직과 신장의 uptake는 증가한다고 한다.<sup>83~85)</sup>

#### ② 투여경로<sup>15, 79~80, 86~91, 128, 148~149, 153)</sup>

투여경로에 따른 targeting의 차이를 조사하기 위하여 inulin을 封入한 MLV를 정맥 및 근

육으로 투여해 본 결과 근육주사한 편이 간장, 비장 및 폐에의 inulin 축적을 감소시켰다.<sup>86)</sup> 근육이나 피하, 복강으로 투여된 리포솜은 투여부위와 연결되어 있는 임파절을 통해 임파관을 순환하며 일부만이 혈류로 들어가 간장과 비장에 축적되기 때문인 듯하다.<sup>79,80)</sup> 여기에서 리포솜의 동태를 관찰하기 위하여 marker로서 inulin을 사용하는 것은 이것이 소화되지 않는 다당류로서 리포솜에서 좀처럼 새어나오지 않으며 리포솜의 외부표면과 반응하지 않으며 유리된 상태로는 간장, 비장이나 폐와 같은 조직에 침투해 들어가지 않기 때문이다.<sup>91)</sup> 따라서 여기에서 간장과 비장에 inulin이 uptake되었다고 하는 것은 리포솜에 封入된 상태로 uptake되었음을 나타낸다.

특수한 투여경로(intratracheal, intraarticular, 피부나 눈<sup>149)</sup>을 통한 투여)로 항암제나 corticosteroid, 항생제 등의 리포솜을 투여한 결과 보통의 방법으로 투여한 경우보다 약물과 리포솜이 표적부위에 집중되었다.<sup>15,79~80,37)</sup> 經口로 투여된 리포솜은 腸內 phospholipase나 담즙산<sup>88)</sup>에 의해 파괴되기 쉽다.<sup>128)</sup> 그러나 경구투여시 腸內에서 不活性化되는 insulin을 리포솜에 넣어 경구투여<sup>90,123,148,153)</sup>해 보았더니 血糖値가 낮아진 事實에서 리포솜內에 들은 인슐린은 腸內에서 적어도 一部分은 活性을 유지한 채로 흡수된다고 생각된다. 이것은 리포솜이 장관점막을 통과함을 뜻하는 것이 아니라 리포솜이 위장관내의 단백질분해효소로부터 인슐린을 순간적으로 보호하기 때문인 것 같다.<sup>78,89,90)</sup>

### ③ RES 차단에 의한 targeting의 효율화<sup>83,92~94,97~107)</sup>

앞에서 언급한 바와 같이 정맥으로 투여한 리포솜은 간장과 비장 등의 RES에 의해 대부분 uptake되어 버리므로 표적부위가 RES가 아닌 약물을 리포솜에 넣어 투여할 때 문제가 된다.

RES는 항체생산, 음으로 하전된 colloid의 食作用, 등등의 생명현상에 중요한 역할을 한다.<sup>92)</sup> 방사선의 全身조사, cortisone의 투여는 RES의 기능을 억제<sup>93~94)</sup>하고 choline은 그 기능을 항진시킨다고 한다. 만약 간장과 비장의 RES를 어떤 방법으로 차단할 수 있다면 他조직으로 좀 더 많은 리포솜을 분포시킬 수 있을 것이다. 따라서 적당한 물질 즉 황산dextran, carbon, methyl palmitate, latex beads 나 약물을 안 넣은 리포솜 등으로 RES를 차단시켜서 리포솜에 封入된 약물을 他조직에 분포시키려는 연구<sup>83,97~101)</sup>가 있다. 이러한 차단제는 독성이 없어야 하는데 약물이 들지 않은 리포솜은 독성이 없으므로 일시적인 차단제로서는 매우 효과적일 것이다.

다음으로 리포솜의 荷電에 따른 RES 차단효과를 살펴보겠다. RES를 dextran sulfate (Mw. 500,000, Pharmacia G.B.)로 차단한 후 陰으로 하전된 리포솜을 투여하면 초기의 혈액으로부터의 소실속도가 감소하고 간장, 비장에의 약물 uptake는 줄어든 대신 신장과 폐에의 uptake는 증가되었다. (Table VI) 그러나 陽으로 하전된 리포솜은 dextran sulfate로 RES를 차단한 후에 투여해도 혈액으로부터의 소실속도 및 조직에의 uptake에 변화가 없었는데 이는 아마도 dextran sulfate의 높은 陰性과 liposome의 陽性이 상호작용하는 때문인 것 같다. 그래서 이런 陽으로 荷電된 리포솜의 경우에는 RES 차단제로 carbon을 사용한다.<sup>102)</sup> 이와

**Table V**—Tissue Distribution of Negatively Charged Small Unilamellar Liposomes in Normal (Unblocked) and Reticuloendothelial-Blockade Mice.<sup>100)</sup>

Tissue	Radioactivity (% of the injected dose)			
	<sup>14</sup> C-Inulin		<sup>3</sup> H-Cholesterol	
	Unblocked	Blocked	Unblocked	Blocked
Liver	52.4 ± 1.7	21.2 ± 3.7	37.7 ± 6.0	26.1 ± 1.5
Spleen	4.2 ± 0.56	2.8 ± 0.51	1.64 ± 0.05	1.78 ± 0.4
Kidney	0.79 ± 0.05	0.88 ± 0.4	1.8 ± 0.11	2.07 ± 0.33
Lung	1.37 ± 0.19	3.63 ± 0.5	0.98 ± 0.1	2.63 ± 1.0

1 mg of small unilamellar liposomes with <sup>3</sup>H-cholesterol containing <sup>14</sup>C-inulin was injected intravenously into blocked and unblocked mice, and the tissue distribution of <sup>3</sup>H and <sup>14</sup>C radioactivity was examined after 1 hr.

관련된 연구들<sup>103~107)</sup>에 대해서는 설명을 생략하고자 한다.

④ 표면수식을 통한 targeting의 효율화.<sup>108~120, 130~131, 134~135, 137~138, 145~147)</sup>

리포솜의 표면을 cholesterol의 6-aminomannose 또는 aminogalactose 유도체로 수정하여 암세포에 리포솜을 targeting하는 방법<sup>108)</sup>이 연구되고 있다. 이는 aminosugar 유도체의 C-6位 아미노기의 입체화학적 위치에 기인된다고 생각된다.<sup>109)</sup> 이와 비슷한 연구<sup>110~111)</sup>는 몇 가지가 더 있으나 생략한다.

한편 특정 암세포에 대한 입파구의 공격력을 증대시키는 작용이 있는 면역 RNA를 리포솜에 붙여 투여하였더니 면역 RNA 단독투여의 경우보다 입파구의 공격력이 훨씬 증대되었

**Table VI**—Studies of Liposome Targeting.<sup>121)</sup>

Type of Study	Vesicle Receptor	Ligand	Cell Receptor	Cell Type	Result
MLV in vitro	None*	Heat-aggregated IgM	Fc receptor	Dogfish phagocyte	Phagocytosis
MLV in vitro	None*	Heat-aggregated IgG	Fc receptor	Human polymorph	Phagocytosis
MLV in vitro	None*	IgG antibody	Surface antigen	Tissue culture	Phagocytosis
MLV in vivo	None*	Desialylated glycoprotein	Recognition site for desialylated glycoprotein	Mouse hepatic cells	Slight enhanced accumulation in liver
MLV in vivo	None*	IgG antibody	Surface antigen	Mouse tumor cells	Accumulation in tumor
SUV in vitro	Glycoprotein	Plant lectins	Glycoprotein	Human erythrocyte	Cell association
SUV in vitro	Trinitrophenyl hapten	IgG anti-TNP antibody	Dinitrophenyl hapten	Human lymphocyte	SUV bound to cell, but contents not internalized.

\*Ligand bound to liposome by nonspecific forces. For more recent details, see also ref. 108-120, 130-131, 134-135, 137-138 and 145-146.

다. <sup>114~116)</sup>

표적부위에의 targeting에 가장 흥미있는 것은 리포솜에 표적을 감지할 수 있는 高分子를 붙이는 방법이다. 이 방면에 대한 연구들을 정리한 것이 Table VIII이다.

즉 항체 <sup>117, 119, 130~131, 134, 137~138, 146)</sup>라든지, 식물 lectin <sup>135)</sup>, 脫 sial 당단백 <sup>146)</sup>과 같은 ligand를 리포솜에 붙인 연구 <sup>117~120, 130~131, 135)</sup>가 보고되고 있다. bleomycin이 들어있는 리포솜 표면에 HeLa세포에 대한 항체를 붙인 다음 HeLa세포와 섬유아세포(fibroblast)를 동시에 작용시켰더니 bleomycin은 HeLa세포에 섬유아세포보다 25배나 고농도로 축적되었다고 한다 <sup>118)</sup>. 또 마우스의 L-929 세포항원인 H-2<sup>K</sup>의 monoclonal 항체를 洗劑투석법을 써서 리포솜 표면에 고농도(70%)로 집어넣었더니 L-929 세포에만 선택적으로 리포솜이 집중되었다고 한다. <sup>130)</sup> 이러한 연구들로부터 표적부위 感知性 sensor (ligand)를 리포솜에 붙임으로 해서 표적부위에 선택적으로 약물을 targeting할 수 있으며 따라서 약물 고유의 치료효과를 높이는 反面에 부작용이나 독성은 輕減 <sup>1~4, 136)</sup>시킬 수 있음을 알았다.

#### IV. 展 望

이상에서 리포솜을 中心으로 藥物의 targeting用 담체에 관하여 概觀하였다. 표적부위를 선택적으로 認知하는 sensor의 개발로 리포솜을 통한 targeting은 더욱 발전해 나갈 것으로 예상된다. 그러나 실제로 리포솜을 담체로 응용하고자 할 때의 또다른 문제는 약물을 어떻게 고농도로 리포솜내에 封入하느냐 하는 것과 제제로서의 안정성 <sup>75, 126, 140, 154)</sup>을 어떻게 높일 것인가 하는 것이다.

보통 리포솜내로 封入되는 약물의 封入효율은 MLV가 10% 前後, REV가 최고 65%이나 (Fig. 2), 4급 암모늄鹽과 같이 극도로 극성이 큰 약물은 아주 극소량밖에 封入되지 않는다. <sup>127)</sup> 이런 약물에 대해서는 ion-pair 反應을 이용하여 脂溶性을 증대시켜서 封入효율을 높이는 따위의 연구 <sup>124~125)</sup>가 필요하다고 생각된다.

한편 리포솜의 안정성에 관한 연구도 최근 활발하다. 예컨대 Ringsdorf <sup>126)</sup>는 리포솜의 疎水性 chain에  $-C\equiv C-C\equiv C-$  결합을 갖고 있는 脂質을 넣어 리포솜을 조제하면 리포솜의 안정성이 매우 향상되어 凍結乾燥해서 보존하였다가 사용시에 물을 加해 다시 리포솜으로 만들어 투여할 수 있다고 하였다.

앞으로 이런 방면의 연구와 함께 targeting用 藥物膽體 수단으로서의 리포솜의 역할이 더욱 커지리라 생각된다. 이 分野에 대한 수많은 綜說들 <sup>10, 15, 27~28, 77, 80, 82, 121~123, 141~143, 150~151)</sup>이 계속 쏟아져 나오고 있는 사실이 리포솜 담체에 대한 이와 같은 기대와 가능성을 시사하는 것이라고 思料된다.

## 文 獻

- 1) G. Gregoriadis and E.D. Neerunjun, Treatment of tumor-bearing mice with liposome-entrapped Actinomycin D prolongs their survival. *Res. Commun. Chem. Path. Pharmacol.*, **10**, 351 (1975).
- 2) Y.E. Rahman, E.A. Cerny, S.L. Tollaksen, B.J. Wright, S.L. Nance and J.F. Thomson, Liposome-encapsulated actinomycin D: Potential in cancer chemotherapy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **146**, 1173 (1974).
- 3) D. Papagadjopoulos, G. Poste, W.J. Vail and J.L. Biedler, Use of lipid vesicles as carriers to introduce actinomycin D into resistant tumor cells. *Cancer Res.*, **36**, 2988 (1976).
- 4) C.D.V. Black and G. Gregoriadis, Intracellular fate and effect of liposome-entrapped actinomycin D injected into rats. *Biochem. Soc. Trans.*, **2**, 869 (1974).
- 5) R.O. Brady, Inherited metabolic disease of the nervous system. *Science*, **193**, 733 (1976).
- 6) G. Gregoriadis, Targeting of drugs. *Nature*, **265**, 407 (1977).
- 7) R.D. Rubens, *Cancer Treat. Rev.*, **1**, 305 (1974).
- 8) Z.A. Cohn and E. Parks, The regulation of pinocytosis, in mouse macrophages IV. The immunological induction of pinocytic vesicles, secondary lysosomes and hydrolytic enzymes. *J. Exp. Med.*, **125**, 1091 (1971).
- 9) R.B. Taylor, P.M. Duffus, M.C. Raff and S. de Petris, *Nature New Biol.*, **233**, 225 (1971).
- 10) D.O. Breimer and P. Speiser (eds), *Topics in pharmaceutical sciences*, (Elsevier/North Holland, 1981).
- 11) G.F. Rowland, G.J. O'Neill and D.A.L. Davies, Suppression of tumor growth in mice by a drug-antibody conjugate using a novel approach to linkage. *Nature*, **255**, 487 (1975).
- 12) G. Gregoriadis, in J.T. Dingle and R.T. Dean (eds), *Lysosomes in biology and pathology*, pp. 265-294 (Elsevier/North Holland. Amsterdam 1975).
- 13) G. Gregoriadis, A.G. Morell, I. Sternlieb and I.H. Scheinberg, Catabolism of desialylated ceruloplasmin in the liver, *J. Biol. Chem.*, **245**, 5833 (1970).
- 14) J.C. Rogers, and S. Kornfeld, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **45**, 622 (1971).
- 15) G. Gregoriadis, J. Senior and A. Trouet (eds), *Targeting of drugs*, (Plenum Press, New York, 1982).
- 16) C. de Duve, T. de Barsey, B. Poole, A. Trouet, P. Tulkens and F. van Hoof, Lysosomotropic agents. *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 2495 (1974).
- 17) S. Hickman and E.F. Neufeld, A hypothesis for I-cell disease: defective hydrolases that do not enter lysosomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **49**, 992 (1972).
- 18) A. Trouet et al., *Nature New Biol.*, **239**, 110 (1972).
- 19) A. Langstet, I. Oye and S.O. Lie, *Acta. Pharmac. Toxic.*, **35**, 379 (1974).
- 20) G. Cornu, J.L. Michaux, G. Sokal and A. Trouet, *Eur. J. Cancer*, **10**, 695 (1974).
- 21) A. Trouet, G. Atassi et al., *Eur. J. Cancer*, **10**, 405 (1974).
- 22) B.G. Barbauti and L. Fiume, Palaeomagnetic evidence for rotation of Sardinia during the early miocene. *Nature*, **243**, 281 (1973).

- 23) G. Gregoriadis, Liposomes in therapeutic and preventive medicine: The development of the drug-carrier concept. *Annals. N.Y. Acad. Sciences*, **308**, 343 (1978).
- 24) P. Debey, C. Balny and P. Douzou, Enzyme assay in microsomes below zero degrees. *Proc. Nat. Acad. Sci. US.*, **70**, 2633 (1973).
- 25) P.A. Kramer and T. Burnstein, Phagocytosis of microspheres containing an anticancer agent by tumor cells in vitro. *Life Sciences*, **19**, 515. (1976).
- 26) P.A. Kramer, Albumin microspheres as vehicles for achieving specificity in drug delivery. *J. Pharm. Sci.*, **63**, 1646 (1974).
- 27) 芳賀信, リポソームの薬劑學における應用. 化學の領域 **36**, 248 (1982).
- 28) 村西昌三, 薬物の targeting. 日本薬劑師雜誌 **34**(4), 5 (1982).
- 29) 具永順, Liposome과 그 製劑에의 應用. 약제학회지, **11**, 1 (1981).
- 30) F. Szoka, Jr. and D. Papahadjopoulos, Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (Liposomes). *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **9**, 467 (1980).
- 31) D. Papahadjopoulos and N. Miller, Phospholipid model membranes. I. Structural characteristics of hydrated liquid crystals. *Biochim. Biophys. Acta*, **135**, 624 (1967).
- 32) D. Papahadjopoulos and J.C. Watkins, Phospholipid model membranes. II. Permeability properties of hydrated liquid crystals. *Biochim. Biophys. Acta*, **135**, 639 (1967).
- 33) K. Inoue, Permeability properties of liposomes prepared from dipalmitoyllecithin, dimyristoyllecithin, egg lecithin, rat liver lecithin and beef brain sphingomyelin. *Biochim. Biophys. Acta*, **339**, 390 (1974).
- 34) D. Papahadjopoulos, K. Jacobson, S. Nir and T. Isac, Phase transition in phospholipid vesicles. Fluorescence polarization and permeability measurements concerning the effect of temperature and cholesterol. *Biochim. Biophys. Acta*, **311**, 330 (1973).
- 35) F. Olson, C.A. Hunt, F.C. Szoka, W.J. Vail and D. Papahadjopoulos, Preparation of liposomes of defined size distribution by extrusion through polycarbonate membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **557**, 9 (1979).
- 36) M.C. Finkelstein, J. Maniscalco and G. Weissmann, Entrapment of soy bean trypsin inhibitor and  $\alpha_1$ -Antitrypsin by multilamellar liposomes. *Anal. Biochem.*, **89**, 400 (1978).
- 37) Y. Kurosaki, T. Kimura, S. Muranishi and H. Sezaki, The use of liposomes as enzyme carriers. I. Dependence of enzyme stability on the method of preparation. *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1175 (1981).
- 38) 井上圭三, 奥直人, 野島庄七, 研究實驗講座(その2). 生體膜研究法 1) 人工膜によるモデル實驗—リポソームを用いて—. 代謝, **18**, 81 (1981).
- 39) M.B. Abramson, R. Katzman and H.P. Gregor, Aqueous dispersions of phosphatidylserine: ionic properties. *J. Biol. Chem.*, **239**, 70 (1964).
- 40) C. Huang, Studies on phosphatidylcholine vesicles. Formation and physical characteristics. *Biochemistry*, **8**, 344 (1969).
- 41) H.O. Hauser, The effect of ultrasonic irradiation on the chemical structure of egg lecithin. *Biochem. Biophys Res. Commun.*, **45**, 1049 (1971).
- 42) S.M. Johnson, A.D. Bangham, M.W. Hill and E.D. Korn, Single bilayer liposomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **233**, 820 (1971).
- 43) H. Träuble and E. Grell, The formation of asymmetrical spherical lecithin vesicles. *Neurosci. Res. Program Bull.*, **9**, 373 (1971).

- 44) S. Batzri and E.D. Korn, Single bilayer liposomes prepared without sonication. *Biochim. Biophys. Acta*, **298**, 1015 (1973).
- 45) J.M.H. Kremer, M.W.J.v.d. Esker, C. Pathmanoharan and P.H. Wiersema, Vesicles of variable diameter prepared by a modified injection method. *Biochemistry*, **16**, 3932 (1977).
- 46) Y. Kagawa and E. Racker, Partial resolution of the enzymes catalyzing oxidative phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, **246**, 5477 (1971).
- 47) J.R. Slack, B.H. Anderton and W.A. Day, A new method for making phospholipid vesicles and the partial reconstitution of the (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-activated ATPase. *Biochim. Biophys. Acta*, **323**, 547 (1973).
- 48) J. Brunner, P. Skrabal and H. Hauser, Single bilayer vesicles prepared without sonication physico-chemical properties. *Biochim. Biophys. Acta*, **455**, 322 (1976).
- 49) M. H.W. Milsmann, R.A. Schwendener and H.G. Weder, The preparation of large single bilayer liposomes by a fast and controlled dialysis. *Biochim. Biophys. Acta*, **512**, 147 (1978).
- 50) H.G. Enock & P. Strittmatter, Formation and properties of 1,000-Å-diameter, single-bilayer phospholipid vesicles. *Proc. Nat. Acad. Sci. US.*, **76**, 145 (1979).
- 51) W.J. Gerritsen, A.J. Verkley, R.F.A. Zwaal and L.L.M. Van Deenen, Freeze-fracture appearance and disposition of band 3 protein from the human erythrocyte membrane in lipid vesicles. *Eur. J. Biochem.*, **85**, 255 (1978).
- 52) P.W. Holloway, A simple procedure for removal of triton X-100 from protein samples. *Anal. Biochim.*, **53**, 304 (1973).
- 53) D. Papahadjopoulos, W.J. Vail, K. Jacobson and G. Poste, Cochleate lipid cylinders: Formation by fusion of unilamellar lipid vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, **394**, 483 (1975).
- 54) D. Papahadjopoulos, W.J. Vail, W.A. Pangborn and G. Poste, Studies on membrane fusion. II. Induction of fusion in pure phospholipid membranes by calcium ions and other divalent metals. *Biochim. Biophys. Acta*, **448**, 265 (1976).
- 55) D. Papahadjopoulos, W.J. Vail, C. Newton, S. Nir, K. Jacobson, G. Poste and R. Lazo, Studies on membrane fusion. III. The role of calcium-induced phase changes. *Biochim. Biophys. Acta*, **465**, 579 (1977).
- 56) T. Wilson, D. Papahadjopoulos and R. Taber, Biological properties of poliovirus encapsulated in lipid vesicles: antibody resistance and infectivity in virus-resistant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74** 3471 (1977).
- 57) W.J. Vail and J. G. Stollery, Phase changes of cardiolipin vesicles mediated by divalent cations. *Biochim. Biophys. Acta*, **551**, 74 (1979).
- 58) D. Deamer and A.D. Bangham, Large volume liposomes by an ether vaporization method. *Biochim. Biophys. Acta*, **443**, 629 (1976).
- 59) M.J. Ostro, D. Giacomoni and S. Dray, Incorporation of high molecular weight RNA into large artificial lipid vesicles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **76**, 836 (1977).
- 60) H. Schieren, S. Rudolph, M. Finkelstein, P. Coleman and G. Weissmann, Comparison of large unilamellar vesicles prepared by a petroleum ether vaporization method with multilamellar vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, **542**, 137 (1978).
- 61) R. Lawaczeck, M. Kainosho and S.I. Chan, The formation and annealing of structural

- defects in lipid bilayer vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, **443**, 313 (1976).
- 62) M. Kasahara and P.C. Hinkle, Reconstitution and purification of the D-glucose transporter from human erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, **252**, 7384 (1977).
  - 63) S. Matsumoto, M. Kohda and S. Murata, Preparation of lipid vesicles on the basis of a technique for providing W/O/W emulsions. *J. Colloid Interface Sci.*, **62**, 149 (1977).
  - 64) W.J. Herbert, Multiple emulsions: a new form of mineral oil antigen adjuvant. *The Lancet*, **16**, 771 (1965).
  - 65) M. Hashida, S. Muranishi and H. Sezaki, Evaluation of water in oil and microsphere in oil emulsions as a specific delivery system of 5-fluorouracil into lymphatics. *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2410 (1977).
  - 66) T.F. Chien, J. Antanavage, Y.C. Ching, L. Dunlap, P. Mueller & B. Rudy, Formation and properties of cell-sized single bilayer vesicles. *Fed. Proc.*, **37**, 1818 (1978).
  - 67) F. Szoka, Jr. and D. Papahadjopoulos, Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. *Proc. Nat. Acad. Sci. US.*, **75**, 4194 (1978).
  - 68) F. Szoka, F. Olson, T. Heath, W. Vail, E. Mayhew and D. Papahadjopoulos, Preparation of unilamellar liposomes of intermediate size (0.1~0.2 $\mu$ m) by a combination of reverse phase evaporation and extrusion through polycarbonate membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **601**, 559 (1980).
  - 69) W.R. Hargreaves and D.W. Deamer, Liposomes from ionic, single-chain amphiphiles. *Biochemistry*, **17**, 3759 (1978).
  - 70) J.M. Gebicki and M. Hicks, Ufasomes are stable particles surrounded by unsaturated fatty acid membranes. *Nature*, **243**, 232 (1978).
  - 71) 菊池寛, liposomeの調製方法とその特性, 東京大学薬学部製剤学教室 open seminar 資料 1981.
  - 72) G.B. Warren, P.A. Toon, N.J.M. Birdsall, A.G. Lee and J.C. Metcalfe, Reversible lipid titrations of the activity of pure adenosine triphosphatase-lipid complexes. *Biochemistry*, **13**, 5501 (1974).
  - 73) Y. Barenholz, S. Amselem and D. Lichtenberg, A new method for preparation of phospholipid vesicles (liposomes). *FEBS Lett.*, **99**, 210 (1979).
  - 74) R.L. Hamilton, J. Goerke, L.S.S. Guo, M.C. Williams and R.J. Havel, Unilamellar liposomes made with the French pressure cell: a simple preparative and semiquantitative technique. *J. Lipid Res.*, **21**, 981 (1980).
  - 75) J. Damen, J. Regtz and G. Scherphof, Transfer and exchange of phospholipid between small unilamellar liposomes and rat plasma high density lipoproteins: Dependence on cholesterol content and phospholipid composition. *Biochim. Biophys. Acta.*, **665**, 538 (1981).
  - 76) G. Gregoriadis, The carrier potential of liposomes in biology and medicine. *New Engl. J. Med.*, **295**, 704 and 765 (1976).
  - 77) G. Gregoriadis, Liposomes as drug carriers. *Pharmacy Int.*, **4**(2), 33 (1983).
  - 78) G. Gregoriadis, Targeting of drugs: Implications in medicine. *The Lancet*, **2**, 241 (1981).
  - 79) B.E. Ryman and D.A. Tyrrel, *Essays Biochem.*, **16**, 49 (1980).
  - 80) G. Gregoriadis and A.C. Allison (eds.), *Liposome in Biological Systems*, (John Wiley,



- Chichester, New York 1980).
- 81) G. Gregoriadis, *Drugs*, **24**, 261 (1982).
  - 82) S.B. Kaye, Liposomes-Problems and promise as selective drug carriers. *Cancer Treat. Rev.*, **8**, 27 (1981).
  - 83) G. Gregoriadis, E.D. Neerunjun and R. Hunt, Fate of a liposome-associated agent induced into normal and tumor-bearing rodents. Attempts to improve localization in tumor tissues. *Life Sciences*, **21**, 357 (1977).
  - 84) C.D.V. Black and G. Gregoriadis, Interaction of liposomes with blood plasma proteins, *Biochem. Soc. Trans.*, **4**, 253 (1976).
  - 85) G. Dapergolas, E.D. Neerunjun and G. Gregoriadis, Penetration of target areas in the rat by liposome-associated bleomycin, glucose oxidase and insulin. *FEBS Lett.*, **63**, 235 (1976).
  - 86) A.J. Jackson, The effect of route of administration on the disposition of inulin encapsulated in multilamellar vesicles of defined particle size. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **27**, 293 (1980).
  - 87) D. Papahadjopoulos (eds), *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, pp.308 (1978).
  - 88) P.J. Lowe and R. Coleman, Membrane fluidity and bile salt damage. *Biochem. Biophys. Acta.*, **640**, 55 (1981).
  - 89) H.M. Patel and B.E. Ryman, Entrapment of proteins in liposomes prevents allergic reactions in pre-immuned mice. *FEBS Lett.*, **45**, 71 (1974).
  - 90) G. Dapergolas and G. Gregoriadis, Hypoglycemic effect of liposome-entrapped insulin administered intragastrically into rats. *The Lancet*, **16**, 824 (1976).
  - 91) G. Weissman, H. Korchak, M. Finkelstein, J. Smolen and S. Hoffstein, Uptake of enzyme-laden liposomes by animal cells in vitro and in vivo. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **308**, 235 (1978).
  - 92) J.H. Heller, Stimulation of the RES with choline. *Science*, **118**, 353 (1953).
  - 93) E.R. Gabrieli, *Yale J. Biol. and Med.*, in press.
  - 94) J.H. Heller, Effect of cortisone on the function, capacity and activity of the reticuloendothelial system. *Federation Proc.*, **12**, 65 (1953).
  - 95) M. Chebremont, *Arch. Biol.*, **54**, 377 (1953).
  - 96) D. Goulian, Radioautographic studies on the reticuloendothelial system. *Federation Proc.*, **12**, 211 (1953).
  - 97) G. Gregoriadis and E.D. Neerunjun, Control of the rate of hepatic uptake and catabolism of liposome-entrapped proteins injected into rats: possible therapeutic applications. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 179 (1974).
  - 98) T. Tanaka, T. Taneda, H. Kobayashi, K. Okumura, S. Muranishi and H. Sezaki, Application of liposomes to the pharmaceutical modification of the distribution characteristics of drugs in rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3069 (1975).
  - 99) V.J. Caride, W. Taylor, J.A. Cramer and A. Gottschalk, Evaluation of liposome-entrapped radioactive tracers as scanning agents, Part I: organic distribution of liposome <sup>99m</sup>Tc-DTPA in mice. *J. Nucl. Med.*, **17**, 1067 (1976).
  - 100) R.L. Souhami, H.M. Patel and B.E. Ryman, The effect of reticuloendothelial blockade on the blood clearance and tissue distribution of liposomes. *Biochem. Biophys. Acta.*, **674**, 354 (1981).

- 101) Y. J. Kao and R. L. Juliano, Interactions of liposomes with the reticuloendothelial system. Effects of reticuloendothelial blockade on the clearance of large unilamellar vesicles. *Biochem. Biophys. Acta.*, **667**, 453 (1981).
- 102) R. L. Souhami, The effect of colloidal carbon on the organ distribution of sheep red cells and the immune response. *Immunology*, **22**, 685 (1972).
- 103) G. Biozzi, B. Benacerraf, B. N. Halpern and C. Stiffel. *R. E. S. Bull.*, **3**, 3 (1957).
- 104) B. Benacerraf, B. N. Halpern, G. Biozzi and S. A. Benos, Quantitative study of the granulopetic activity of the reticuloendothelial system. *Br. J. Exp. Path.*, **35**, 97 (1954).
- 105) T. M. Saba, N. R. DiLuzio, Comparative evaluation of the influence of opsonins on hepatic splenic and pulmonary phagocytosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **125**, 630 (1967).
- 106) F. S. Jeunet and R. A. Good, *J. Reticuloendothelial Soc.*, **4**, 351 (1967).
- 107) R. L. Juliano and D. Stamp, The effect of particle size and charge on the clearance rates of liposomes and liposome encapsulated drugs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **63**, 651 (1975).
- 108) R. T. Proffitt, L. E. Williams, C. A. Presant, G. W. Tin, J. A. Uliana, R. L. Gamble and J. D. Baldeschwieler, Liposomal blockade of the RES: improved tumor imaging with SUV. *Science*, **220**, 502 (1983).
- 109) H. J. P. Ryser and W. C. Shen, Conjugation of methotrexate to poly (L-lysine) increases drug transport and overcomes drug resistance in cultured cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. US.*, **75**, 3867 (1978).
- 110) M. R. Mauk, R. C. Ganble and Baldeschwieler, Targeting of lipid vesicles: Specificity of carbohydrate receptor analogues for leukocytes in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.*, **77**, 4430 (1980).
- 111) I. J. Fidler, Therapy of spontaneous metastases by intravenous injection of liposomes containing lymphokines. *Science*, **208**, 1469 (1980).
- 112) H. Ellens, H. W. M. Morselt, B. H. J. Dontje, D. Kalicharan, C. E. Hulstaert and G. L. Scherphof, Effect of liposome dose and the presence of lymphosarcoma cells on blood clearance and tissue distribution of large unilamellar liposome in mice. *Cancer Res.*, **43**, 2927 (1983).
- 113) J. Senior and G. Gregoriadis, *FEBS Letter*, **145**, 109 (1982).
- 114) W. E. Magee, J. H. Cronenberger and D. E. Thor, Marked stimulation of lymphocyte-mediated attack on tumor cells by target directed liposomes containing immune RNA. *Cancer Res.*, **38**, 1173 (1978).
- 115) Y. H. Pilch, D. Fritze, K. P. Ramming, J. B. deKernion and D. H. Kern, The mediation of immune responses by I-RNA to animal and human tumor antigens in M. Fink (eds), *Immune RNA in neoplasia*, pp. 149-175 (N. Y. Academic Press Inc., 1976).
- 116) Y. H. Pilch, L. L. Veltman and D. H. Kern, Immune cytotoxicity of human tumor cells mediated by xenogenic immune RNA: implications to immunotherapy. *Surgery*, **76**, 23 (1974).
- 117) C. M. Cohen, G. Weissmann, S. Hoffstein, Y. C. Awasthi and S. K. Srivastava, Introduction of purified hexoaminidase A into Tay-Sachs Leukocytes by means of immunoglobulin-coated liposomes. *Biochemistry*, **15**, 452 (1976).

- 118) G. Gregoriadis and E.D. Neerunjun, Homing of liposomes to target cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **65**, 537 (1975).
- 119) G. Weissmann, D. Bloomgarden, R. Kaplan, C. Cohen, S. Hoffstein, T. Collins, A. Co and D. Nagle, A general method for the introduction of enzymes by means of immunoglobulin-coated liposomes into lysosomes of deficient cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. US.*, **72**, 88 (1975).
- 120) G. Neissmann, C. Cohen and S. Hoffstein, *Trans. Assoc. Am. Phys.*, **89**, 171 (1976).
- 121) R.E. Pagano, Interactions of liposomes with mammalian cells. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **7**, 435 (1978).
- 122) J.H. Fendler and A. Romero, Liposomes as drug carriers. *Life Sci.*, **20**, 1109 (1977).
- 123) H.K. Kimelberg and E.G. Maghew, Properties and biological effects of liposomes and their uses in pharmacology and toxicology. *Crit. Rev. Toxicol.*, **6**, 25 (1978).
- 124) M. Jay and G.A. Digenis, Enhanced entrapment of a quaternary ammonium compound in liposomes by ion-pairing. *J. Pharm. Sci.*, **71**, 958 (1982).
- 125) K. Tsujii, J. Sunamoto and J.H. Fendler, Improved entrapment of drugs in modified liposomes. *Life Sci.*, **19**, 1743 (1976).
- 126) Ringsdorf, in *Pharmacy International*, **4**, 38 (1983) by J.K. Kennerly, Recent developments in sustained delivery of drugs.
- 127) D. Stamp and R.J. Juliano, Factors affecting the encapsulation of drugs within liposomes. *Can. J. Pharmacol.*, **57**, 535 (1979).
- 128) C. Weingarten, A. Moufti, J.F. Desjeux, T.T. Luong, G. Durand, J.F. Devissaguet and F. Puisieux, Oral ingestion of insulin liposomes: effects of the administration route. *Life Sci.*, **28**, 2747 (1981).
- 129) A.D. Bangham, M.M. Standish and J.C. Watkins, Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J. Mol. Biol.*, **13**, 238 (1965).
- 130) A. Huang, L. Huang and S.J. Kennel, Monoclonal antibody covalently coupled with fatty acid. A reagent for in vitro liposome targeting. *J. Biol. Chem.*, **255**, 8015 (1980).
- 131) J.R. Piper and D. Papahadjopoulos, Antibody-targeted liposomes. Increase in specific toxicity of methotrexate-gamma-aspartate. *Proc. Nat. Acad. Sci. US-Biol. Sci.*, **80**, 1377 (1983).
- 132) S. Kim, M.S. Turker, E.Y. Chi, S. Sela and G.M. Martin, Preparation of multivesicular liposomes. *Biochim. Biophys. Acta.*, **728**, 339 (1983).
- 133) J.L. Rigaud, A. Bluzat and S. Buschlen, Incorporation of bacteriorhodopsin into large unilamellar liposomes by reverse phase evaporation. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **111**, 373 (1983).
- 134) A.J. Schroit and M.E. Key, Induction of syngeneic tumor-specific immunity by liposomes reconstituted with L2C tumor-cell antigens. *Immunology*, **49**, 431 (1983)
- 135) R.E. Sheehy and P.F. Lurquin, Targeting of large liposomes with lectins increase their binding to plant protoplast. *Plant Physiology*, **72**, 386 (1983).
- 136) E.A. Forssen and Z.A. Tokes, Attenuation of dermal toxicity of doxorubicin by liposome encapsulation. *Cancer Treat. Rep.*, **67**, 481 (1983).
- 137) S. Ansel, In vitro induction of tumor-specific immunity by high purified VSV grown in SV 40-transformed cells and tumor glycolipids incorporated into liposomes. *Int. J. Cancer*, **31**, 785 (1983).

- 138) K.S. Bragman, T.D. Health and D. Papahadjopoulos, Simultaneous interaction of monoclonal antibody-targeted liposomes with two receptors on K562 cells. *Biochim. Biophys. Acta.*, **730**, 187 (1983).
- 139) P. Machy and L.D. Leserman, Small liposomes are better than large liposomes for specific drug delivery in vitro. *Biochim. Biophys. Acta.*, **730**, 313 (1983).
- 140) A. Bali, S. Dhawan and C.M. Gupta, Stability of liposomes in circulation is markedly enhanced by structural modification of their phospholipid component. *FEBS Lett.* **154**, 373 (1983).
- 141) A.D. Bangham, Liposomes in nature. *Bio. Cell.*, **47**, 1 (1983).
- 142) G. Gregoriadis, C. Kirby and J. Senior, Optimization of liposome behavior in vivo. *Bio. Cell.*, **47**, 11 (1983).
- 143) G. Poste, Liposome targeting in vivo: problems and opportunities. *Bio. Cell.*, **47**, 19 (1983).
- 144) N. Oku, J.F. Scheerer and R.C. MacDonald, Preparation of giant liposomes, *Biochim. Biophys. Acta.*, **719**, 384 (1982).
- 145) M. Monsigny, C. Kieda and A.C. Roche, Membrane glycoproteins, glycolipids and membrane lectins as recognition signal in normal and malignant cells. *Bio. Cell.*, **47**, 95 (1983).
- 146) L.D. Leserman, P. Machy, C. Devaux and J. Barbet, Antibody-bearing liposomes: targeting in vivo. *Bio. Cell.*, **47**, 111 (1983).
- 147) P.F. Lurquin and F. Rolls, Intracellular distribution of donor DNA following interaction between plant protoplast and DNA-loaded liposomes. *Bio. Cell.*, **47**, 117 (1983).
- 148) V. Dobre, D. Georgescu, L. Simionescu, E. Aman, V. Stroescu and C. Motas, The entrapment of biologically active substances into liposomes. 1. Effects of the oral administration of liposomally entrapped insulin in normal rats-Preliminary study. *Biochimie*, **20**, 15 (1983).
- 149) R.E. Stratford, Jr., D.C. Yang, M.A. Redell and V.H.L. Lee, Effects of topically applied liposomes on disposition of epinephrine and inulin in the albino rabbit eye. *Int. J. Pharmaceut.*, **13**, 263 (1983).
- 150) J.N. Weinstein, Target-direction of liposomes-4 Strategies for attacking tumor cells, in B.A. Chabner (eds), UCLA symposia on molecular and cellular biology-New series, vol.4. (Alan R Liss Inc/New York, 1983). pp.441.
- 151) G. Gregoriadis and J. Senior, Control of fate and behavior of liposomes in vivo, in G. Akoyunoglou et al. (eds), Progress in clinical and biological research. vol. 102. Pt. A. Cell function and differentiation, Pt. A. (Alan R Liss Inc/New York, 1982), pp. 263.
- 152) P.L. Beaumier, K.J. Hwang and J.T. Slattery, Effect of liposome dose on the elimination of small unilamellar sphingomyelin/cholesterol vesicles from the circulation. *Res. Commun. Pathol. Pharm.*, **39**, 277 (1983).
- 153) A.N. Rossels, A.A. Bukhman, L.L. Vakhrusheva, N.S. Kovaleva, V.F. Antonov, Y.A. Knyazew, Y.S. Moshkovsky, L.A. Piruzyan and A.I. Tentsova, The possibility to use liposomes for oral insulin introduction in diabetes mellitus. *Khim-Farm. Zh. SSSR.*, **17**, 52 (1983).
- 154) C. Hunt, Liposome disposition in vivo. V. Liposome stability in plasma and implications for drug carrier function. *Biochim. Biophys. Acta.*, **719**, 450 (1982).