약학회지 제38권 제6호 637~645(1994)
Yakhak Hoeji Vol. 38, No. 6

수종 약물이 리포솜 지질막의 안정성에 미치는 영향

김 민# · 한석규 · 김종국*
부산대학교 약학대학, *서울대학교 약학대학

(Received August 9, 1994)

Effects of Drugs on the Stability of Phospholipid Liposomal Membranes

Min Kim#, Suk Kyu Han and Chong-Kook Kim*
College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea and
**College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*

Abstract—The effect of various drugs on the stability of the liposomal membrane of phosphatidylcholine and cholesterol was studied, employing the fluorescence self-quenching method. Calcein was entrapped into the phospholipid small unilamellar vesicles and the leakage of the fluorescence probe was monitored on adding the drug to the system. The results of the experiments showed that phenothiazine derivatives, some potent local anesthetics and surface active agents were very effective in inducing the leakage of calcein from the liposome. The leakage-inducing activity of these drug substances has been ascribed to their surface activity and the perturbation of the liposomal membrane by these substances. On the other hand drug substance with low surface activity or without amphiphilic moieties did not show any effect or only small effect on the leakage of calcein from the liposomes. The effect of lipid concentration on the stability of the liposomes was also investigated to show that the higher concentrations of lipid more drug was required to induce the leakage. The effect of surface charges of vesicles was also studied, and the results showed that the charge on the liposomes enhanced the stability of the liposomes against the leakage-inducing activity of these drug substances.

Keywords □ Stability of the liposomal membrane, calcein, fluorescence self-quenching method.

인지질로 만든 리포솜은 그 내부에 약물을 봉입하여 생체내 특정 장기나 위치에 약물을 높은 농도로 전달시키려는 약물 수송체(drug delivery system)로서 이의 개발연구가 활발히 이루어지고 있다. 이러한 리포솜을 약물 수송체로 개발하는 데에 있어서 해결해야 할 문제중의 하나는 제제 및 생체 내에서 이들 리포솜의 안정도가 낮다고 하는 점이다. 또한 리포솜 제제는 봉입한 약물에 의하여 안정성과 투과성의 변화를 일으키기 쉽고 응집이 비교적 쉽게 일어날 수 있기 때문에 저장기간이 짧으며 생체 내에서도 lysis를 잘 일으켜 표적 조직으로 이행하기 어렵다. 따라서 리포솜을 약물수송체로 개발하기 위하여서는 봉입하는 약물이 리포솜의 안정도에 미치는 영향을 검토하는 것은 필수적인 선행 조건이라 할 수 있으나 이에 관한 연구는 많지 않은 실정이다.

많은 약물이 생체막과 리포솜의 지질 이중층의 유동성과 같은 여러 가지 성질에 영향을 미치고 이러한 영향과 이들 약물의 약리작용 사이에는 상관관계가 있음이 보고되어 왔다.[1-5] 그러나 생체막과 리포솜의 안정성과 투과성에 대한 약물의 영향에 관한 연구는 그 약리학적 중요성에도 불구하고 몇몇 peptide나 toxin, 알코올, 일부 국소마취제를 제외하고는 거의 연구가 이루어지지 않은 실정이다.[6-9] 이러한 생체막의 투과성을 측정하는 방법에는 NMR 연구10), UV 분석법,[11] 투석법[12] 그리고 coupled enzyme method[13]와 같은 많은 방법들이 있으나 그 중에서 가장 널리 사용되어지는 방법이 fluorescence self-quenching method이다. 이 방법에서는 보통 수용성 형광 probe

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

인 carboxyfluorescene이나 calcein이 사용된다. 이들은 liposome내에 고농도로 봉입되어 있을 때는 자가 소광을 일으켜 거의 형광을 나타내지 않는데 반하여 이들이 liposome밖으로 새어 나와 용매 중으로 확산되어 농도가 묽어지면 자가 소광의 소멸로 형광을 발생하게 된다. 이때 빠져 나오는 이들 probe의 형광의 세기를 측정하여 리포솜막의 수용성 물질에 대한 투과성을 측정할 수 있게 된다. 이러한 방법은 Hagins 등[14]에 의해 개발되었으며 혈장, 단백질, 효소, 약물 그리고 lipoprotein과 같은 물질의 존재시 리포솜의 안정성과 투과성을 측정하는 데 널리 이용되어 왔다.

본 연구에서는 포화 acyl chain을 가진 phosphatidylcholine계 인지질의 안정화를 위하여 cholesterol을 일정량 가하여 sonication방법으로 만든 small unilamellar vesicle을 사용하여 이들의 리포솜 지질막의 안정성에 미치는 여러 유형의 약물의 영향을 fluorescence self-quenching method로 조사하였다. 대상 약물은 특히 생체막 구조의 perturbation을 잘 일으키고 이러한 작용이 그들의 약리작용과 깊은 관련이 있음이 알려지고 있는 국소마취제와 phenothiazine유도체를 사용하였으며 그 외에도 계면활성제, urea 유도체 및 기타 여러 가지 약물의 영향을 검토하였다. 이들의 실험 결과를 기초로 하여 리포솜의 안정도에 미치는 약물의 일반적인 영향을 추정하였다.

실험방법

시약－실험에 사용된 L-α-dipalmitoyl phosphatidylcholine(DPPC)은 Sigma Chemical Co.(미국)와 Avanti Polar Lipid사의 것을 사용하였다. 국소 마취제와 phenothiazine계의 약물, 요소 유도체, 콜레스테롤, gramicidin-S 그리고 형광 probe로 사용한 calcein은 Sigma Chemical Co.(미국)에서 구입하여 사용하였다. Thymol은 Mallinckrodt Chemical Works (미국)의 것을 사용하였으며 Triton X-100와 sodium cholate는 *Fluka*사(스위스)의 것을 사용하였다. 그외 사용한 의약품은 시중에서 구하여 사용하였다. pH 7.4의 10 mM tris buffer는 3차 증류수로 제조하였으며 기타의 모든 시약들은 특급 또는 일급을 사용하였다.

기기－형광 분석기로는 Perkin Elmer사의 LS-5 모델을 사용하였고 흡광 광도계는 Varian사의 DMS-90 모델을 사용하였으며, 초음파 분쇄기로는 Ultrasonic사의 4522 제품을, pH측정기는 Corning 150을, 리포솜 제조용 회전식 감압농축기는 Buchi RE-111 모델을 사용하였다.

Calcein이 봉입된 PC 리포솜의 제조－인지질과 콜레스테롤의 혼합 지질을 콜레스테롤과 메탄올의 혼합 용액에 녹인 용액을 20 m*l*의 환저 플라스크에 넣어 농축기에 장착하여 40℃를 유지하면서 감압증발시켜 플라스크의 하저부에 얇은 지질막을 만들었다. 이것을 진공 하에 하루 동안 방치하여 남아 있는 용매를 모두 날려보내고 여기에 pH 7.4인 50 mM의 calcein액을 가하여 batch형 sonicator상에서 지질막이 모두 떨어지게 한 후 이 현탁액을 titanium tip sonicator를 사용하여 20분간 지질의 상전이 온도 이상의 온도에서 초음파 분쇄시켰다. 이때 온도 상승을 막기 위해 ice bath를 사용하였고 현탁액 중에 떨어진 titanium 잔사는 원심 분리하여 제거하였다. 리포솜의 지질 농도는 30 μM가 되도록 하였다. 리포솜 내에 들어가지 않은 calcein은 초음파 분쇄가 끝난 현탁액을 sephadex G-50을 채운 1×35 cm의 칼럼에 통과시켜 제거하였으며 이때 이동상으로서는 tris buffer를 사용하였다. 분리가 끝나면 calcein이 봉입된 리포솜의 지질 농도를 phosphatidylcholine의 선택적인 정량법인 Stewart assay 방법[8]으로 측정하였고 인지질의 농도를 30 μM가 되도록 tris buffer로 조절하였다.

리포솜으로 부터 calcein의 누출시험 측정－20±0.5℃를 유지하면서 리포솜 액이 들어 있는 3 m*l*의 형광 cuvette에 일정 농도가 되도록 약물을 가하여, 이때 누출되어 나오는 calcein의 형광을 시간에 따라 측정하였다(여기파장은 482 nm, 형광파장은 512 nm). 일정 시간이 경과 후에는 10 v/v%의 Triton X-100을 60 μ*l* 가하여 liposome을 완전히 파괴시켜, 그때의 형광 세기를 100%로 하였다. 누출 되는 정도는 부피 보정후에 계산되었다. 리포솜으로부터의 calcein의 누출률(%)은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Leakage } \% = [(F - F_o)/(F_T - F_o)] \times 100$$

여기서 F는 일정 시간 경과시의 형광 세기이고, F_o는 초기 형광 세기이며, F_T는 Triton X-100을 가했을 때의 형광 세기이다.

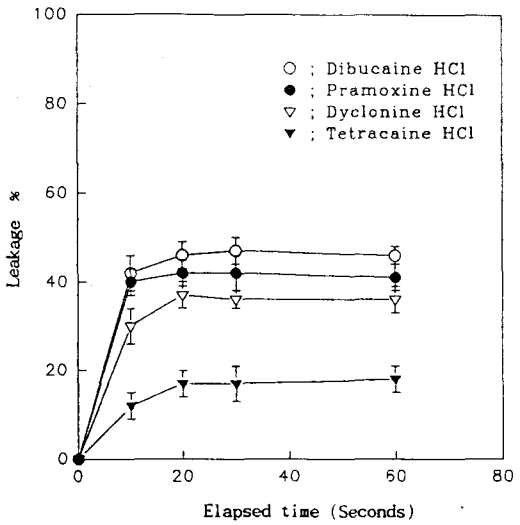

Fig. 1—Effects of local anesthetics on the leakage of calcein entrapped in DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at 20℃(n=4). The concentration of local anesthetics was 330 μM and the concentration of phospholipid was 30 μM.

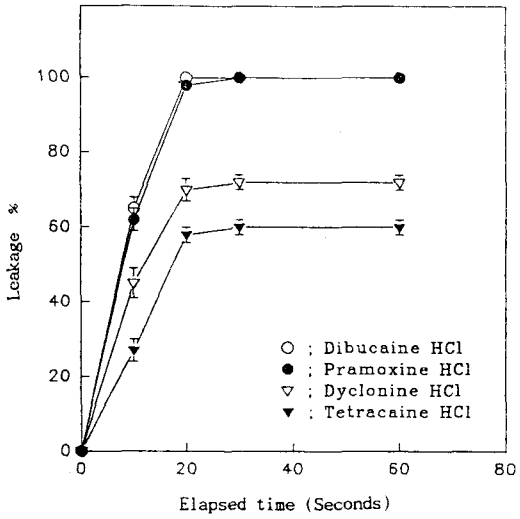

Fig. 2—Effects of local anesthetics on the leakage of calcein entrapped in DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at 20℃(n=4). The concentration of local anesthetics was 1 mM and the concentration of phospholipid was 30 μM.

결과 및 고찰

국소 마취제의 영향—30 mol%의 콜레스테롤을 함유한 30 μM의 DPPC로 만든 리포솜에 calcein을 봉입하여 겔 여과시킨 리포솜에 300 μM과 1 mM의 dibucaine HCl, pramoxine HCl, dyclonine HCl 그리고 tetracaine HCl을 각각 가하였을 때의 시간에 따른 calcein의 누출 정도를 측정하였고 그 결과를 Fig. 1과 2에 나타내었다. 국소마취제가 없었을 때에는 calcein의 누출이 전혀 관측되지 않았으나 국소 마취제를 첨가하였을 때에는 봉입된 calcein이 급격히 누출되었다. 누출속도는 국소 마취제 농도가 높을수록, 또한 지질의 농도가 낮을수록 증가하였다. 그러나 bupivacaine HCl, lidocaine HCl, procaine HCl, proparacine HCl과 butacaine HCl과 같은 다른 국소마취제들은 같은 조건 하에서 리포솜에 봉입된 calcein의 누출을 일으키지 않았으며 이들의 농도를 10배 정도 증가시켰을 때에도 calcein의 누출을 일으키지 않았다. 이러한 성질의 차이는 이 실험에서 calcein의 누출을 유발하는 결과를 얻은 국소마취제의 화학 구조의 특징이 소수성 부분이 비교적 큰 화합물이라는 데 기인하는 것이라 추정된다. 따라서 이들은 지질막층으로 침투가 잘 되어 지질막층의 perturbation을 효과적으로 일으킨다고 알려지고[15,16] 약리작용도 비교적 큰 것이다. 이에 반하여 누출을 유발시키지 않는 국소마취제는 이러한 작용이 비교적 약한 화합물로서 이들은 지질막 층으로의 침투가 효과적이지 못하고 침투하더라도 지질막층의 perturbation을 충분히 일으키지 못하여 지질막의 안정성에 큰 영향을 미치지 못한다고 생각된다. 또한 이들 국소 마취제중 dibucaine의 작용이 특히 크다. 이는 이 약물의 소수성 부분이 다른 것에 비하여 다환상 구조이므로 지질막 이중층에 끼어 들어갔을 때 더욱 효과적으로 지질막층의 perturbation을 일으키는 것으로 추정된다. 국소마취 작용을 가진 다른 유형의 화학 구조를 가진 thymol이 리포솜 지질막의 안정성에 미치는 영향을 1 mM의 농도에서 측정하였다. 그 결과를 보면 thymol은 이와 같은 조건 하에서 calcein의 누출 속도에 미치는 영향이 앞의 국소 마취제에 비하여 낮은 것으로 관찰되었다. Thymol은 소수성이 크고 국소 마취작용도 비교적 크다고 알려진 약물이다. 그럼에도 불구하고 이러한 작용이 약한 것은 단순한 소수성 화합물이고 친수성 부분을 잘 발달되지 않았기 때문에 일반 국소 마취제와는 그 작용 부위와 양상이 동일하지 않기 때문이라 추정된다.

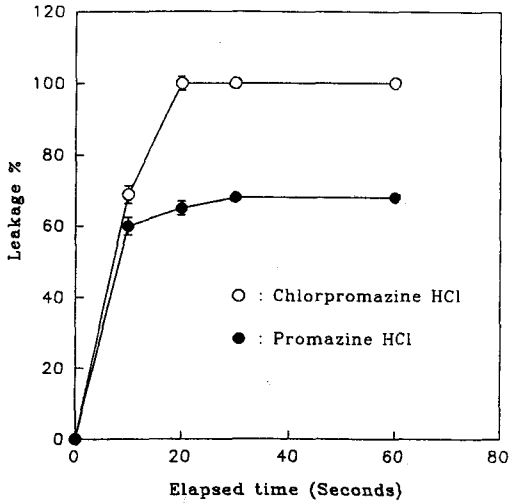

Fig. 3—Effects of phenothiazine derivatives on the leakage of calcein entrapped in DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at 20℃(n=4). The concentration of phenothiazine derivatives was 10 μM and the concentration of phospholipid was 30 μM.

이러한 결과를 살펴볼 때 한 분자내 소수성과 친수성 부분을 같이 가지고 있어 표면 활성이 크며, 소수성 부분이 발달되고, 또한 bulky한 다환상 구조를 가지는 약물들이 리포솜을 perturbation시켜 그 안정성을 낮추는 작용이 크다는 것을 알 수 있었다.

페노치아진 유도체의 영향—Promazine HCl과 chlorpromazine HCl 같은 페노치아진계 약물들이 리포솜에 봉입된 calcein의 leakage에 미치는 영향을 검토하였고 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 이에서 보면 이들 약물은 앞서 실험한 국소마취제 보다 훨씬 낮은 농도인 10 μM 정도에서 효과적으로 calcein의 누출을 일으켰으며, 이러한 작용의 크기는 chlorpromazine HCl이 promazine HCl 보다 강하였으며 이는 chlorpromazine HCl의 소수성 부분이 더 크고 bulky하기 때문이라 생각된다. Chlorpromazine HCl을 리포솜에 가하였을 때는 초기의 1분 동안에 calcein이 거의 완전한 누출되었다. 이들 결과에서 페노치아진계 약물은 지질막을 효과적으로 perturbation시켜 안정성을 크게 낮추는 것을 알 수 있었으며, 이는 이들 약물은 친수성 부분과 소수성 부분이 잘 발달되어 있어 표면활성이 매우 크고 지질막 이중층으로 효과적으로 침투할 것임이 예상된다. 또한 소수성 부분이

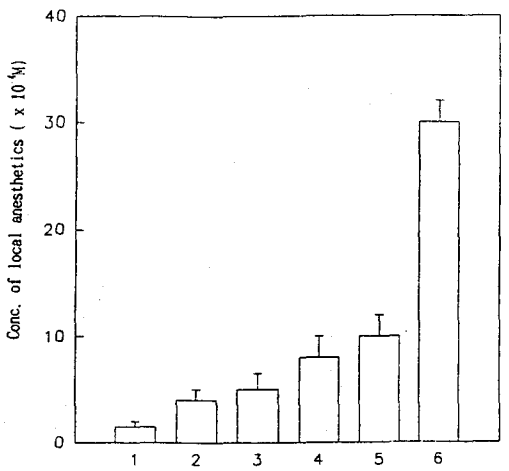

Fig. 4—The concentration of the local anesthetics necessary to induce 50% leakage of calcein entrapped in DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at 20℃.
The concentration of phospholipid was 30 μM.
1: Dibucaine HCl, 2: Dyclonine HCl, 3: Pramoxine HCl 4: Tetracaine HCl, 5: Benoxinate HCl, 6: Thymol

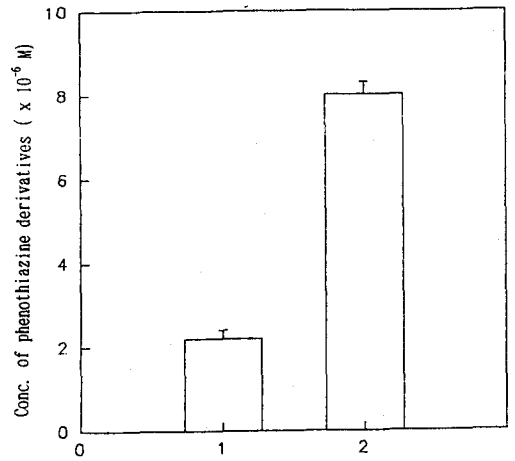

Fig. 5—The concentration of the phenothiazine derivatives necessary to induce 50% leakage of calcein entrapped in DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at 20℃.
The concentration of phospholipid was 30 μM.
1: Chlorpromazine HCl, 2: Promazine HCl

매우 bulky한 3환계 물질이어서 소수성이 매우 크고 침투되었을 때 acyl chain의 close packing을 방해하여 지질막층의 perturbation을 일으키는 효과가 매우 커

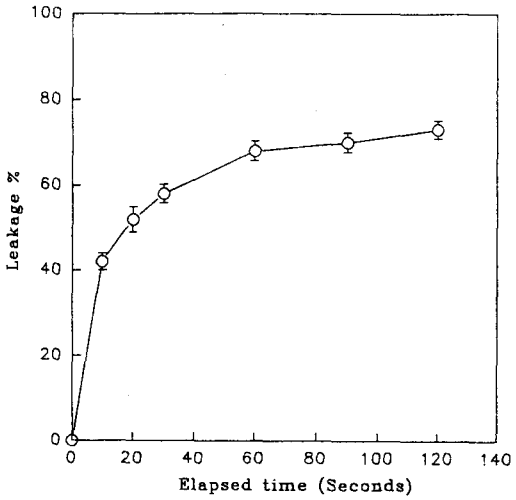

Fig. 6—Time curve for the leakage of calcein entrapped in DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes induced by 1 μM gramicidin-S at 20℃(n=4). The concentration of phospholipid was 30 μM.

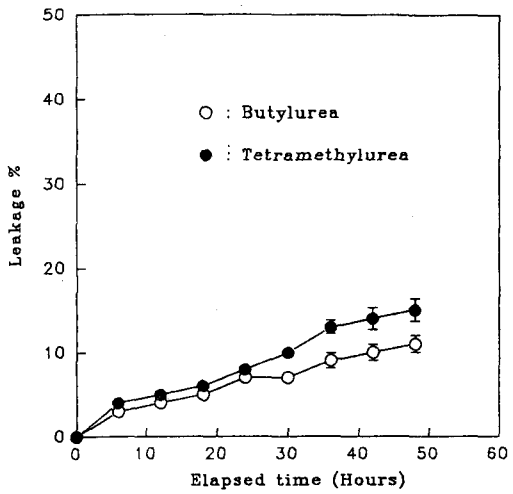

Fig. 7—Effects of urea derivatives on the leakage of calcein entrapped in DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at 20℃(n=4). The concentration of urea derivatives was 0.5M and the concentration of phospholipid was 30 μM.

서 그 작용이 현저하게 나타난다고 생각된다.

국소마취제와 phenothiazaine계 약물들이 리포솜 지질막의 안정성에 미치는 작용의 강도를 비교하기 위하여 약물들이 liposome내에 봉입된 calcein을 50% 누출시키는 데 필요한 농도를 측정하여 Fig. 4와 5에 나타내었다.

Gramicidin-S와 계면 활성제의 영향—이들 약물에 의한 리포솜 지질막의 투과성의 급격한 증가의 기전을 규명하기 위하여 생체막에 pore를 형성하여 내용물의 누출를 일으킨다고 알려진 항생제인[17] gramicidin-S를 본 실험과 동일한 조건 하에서 실험하였고 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. Gramicidin-S는 앞서 실험한 약물보다 훨씬 낮은 농도인 1 μM의 낮은 농도에서도 초기 1분 동안에 calcein을 대부분 누출시켰다. 그러나 앞선 약물들의 영향은 약물 첨가후 급격한 변화인 데 반하여 gramicidin-S의 영향은 다소 완만하였으며 시간이 경과한 후에도 지속적인 누출작용을 나타내었다. 이러한 결과로 볼때 국소마취제류나 페노치마진계 약물들은 지질막에 pore를 형성하여 내용물을 누출시키는 gramicidin-S와는 다른 기전으로 그 작용을 나타냄을 알 수 있었다.

한편 계면활성제인 Triton X-100과 sodium cholate를 지질 30 μM에 대하여 0.1 mM을 가하여 실험한 결과는 초기 1분 동안에 calcein이 완전히 누출되었으며 리포솜 지질막에 대한 영향은 국소 마취제와 페노치아진 유도체들과 비슷한 양상을 나타내었다. 이러한 결과를 종합하여 보면 앞선 약물들에 의하여 리포솜 안정성이 낮아지는 것은 gramicidin-S와 같이 약물과 지질막과의 특이적인 작용에 의한 것이 아니고 표면 활성과 같은 비특이적인 작용에 의한 안정성의 저해라고 생각된다.

기타 약물의 영향—한편 단백질 변성 작용이 크고 탄화 수소 사슬의 소수성 결합을 약화시키는 것으로 알려진[18] urea의 알킬 유도체를 동 실험에 적용한 결과 urea, methyl urea, 그리고 1,3-dimethyl urea 등은 3M 농도에 이르는 높은 농도에서도 별 영향이 관찰되지 않았다. 그러나 butyl urea와 tetramethyl urea는 calcein의 누출을 유발시키는 작용이 나타났으나 (Fig. 7) 30 μM의 인지질로 만든 리포솜내에 함유된 calcein을 누출시키기 위하여는 거의 0.5M 정도의 농도가 필요하였으며 그 누출현상도 매우 느리게 나타났다. 이러한 결과는 탄화수소사슬의 소수성 결합을 약화시키는 화합물은 리포솜 지질막의 안정성을 낮추나, 요소 유도체는 수용성이 커서 지질막층으로 분배되기 어렵고 지질막층을 perturbation시킬 수 있는 능력이 약하기 때문이라 생각된다.

또한 barbiturate계 약물로 phenobarbital sodium과 thiopental sodium을 30 μM의 인지질로 만든 리포솜에 10 mM 정도까지 가하여 실험하였으나 calcein을 누출시키지 못하였다. 또한 picrotoxin, stry-

chnine 등도 같은 농도에서 마찬가지 결과를 나타내었다. 이들 barbiturate계 약물은 소수성과 친수성을 갖추고 있으나 이들이 계면 활성을 나타낼 수 있을 만큼 발달되어 있지 않으며 따라서 이들은 지질막층으로 효과적으로 침투하지 못하거나 침투하더라도 지질막 층을 효과적으로 perturbation 시키지 못한다고 생각된다. 한편 picrotoxin과 strychnine은 소수성이 매우 크고 bulky한 화합물이어서 지질막층으로 효과적인 침투가 예상되나 지나친 소수성 때문에 콜레스테롤과 마찬가지로 지질막의 투과도를 증가시키지는 못하고 안정도를 저해하지 않는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 단순히 소수성이며 bulky한 구조의 화합물은 리포솜의 안정성에 큰 영향을 주지 못하며, 리포솜의 안정성에 영향을 미치려면 친수성과 소수성의 구조가 반드시 필요함을 나타내는 데 이는 이들 약물이 지질막 구조에 적절한 위치로 배열되었을 때 그 안정성에 영향을 미치는 것으로 추정된다.

또한 지질막의 유동성에 미치는 영향이 크다고 보고된[19] n-alkanol류와 계면 활성 작용이 보고된[20] xanthine 유도체인 caffeine, theophylline과 theobromine 등도 본 실험에서는 지질 30 μM에 대하여 10 mM까지의 농도에서도 calcein의 누출을 유발시키지 못하였다. 또한 지질막에 pore를 형성한다고 알려진 peptide 인 apamin[21]과 항생물질인 amphotericin-B[22]도 역시 본 실험 범위 내에서는 calcein의 누출을 유발하지 못하였다. 이 결과는 이들 peptide에 의하여 생성된 pore가 calcein을 누출시킬 만큼 충분히 크지 못하기 때문이라 추정된다.

지질 농도의 영향—약물에 의한 calcein의 leakage에 대한 지질의 농도의 영향에 대해서도 검토하였다. Chlorpromazine HCl이 calcein을 매우 효과적으로 누출시키는 것이 밝혀졌으므로 지질의 농도의 영향을 살펴보는 데 chlorpromazine HCl을 사용하였다. 인지질의 농도를 15 μM에서 90 μM까지 되도록 증가시키며 여기에 30 mol%의 cholesterol을 가하여 리포솜을 만들고 여기에 calcein을 봉입한 후 여러 농도의 chlorpromazine HCl을 가하고 초기 1분 동안의 누출을 관찰하여 그 결과를 Fig. 8과 9에 나타내었다. 그 결과는 지질의 농도가 증가함에 따라 chloropromazine HCl에 의한 calcein의 누출률이 감소되는 것이 확인되었는데 이러한 결과는 비이온성 계면활성제인 Triton X-100의 작용을 보고한 다른 문헌[23] 결과와도 일치하는 것이다. 즉 일정한 지질 농도에서 chlorpromazine HCl의 농도가 증가함에 따라 누출도 증가하였는데 이 관계는 일반적인 흡착 과정을 설명하는 Langmuir adsorption isotherm과 유사함을 보여 주는 것이다. 이러한 결과는 리포솜 표면에 대한 이들 약물의 흡착이 calcein을 누출시키는 데 중요한 과정이라는 것을 나타낸다. Fig. 10는 calcein의 50% 누출에 필요한 지질의 농도와 chlorprpmazine HCl의

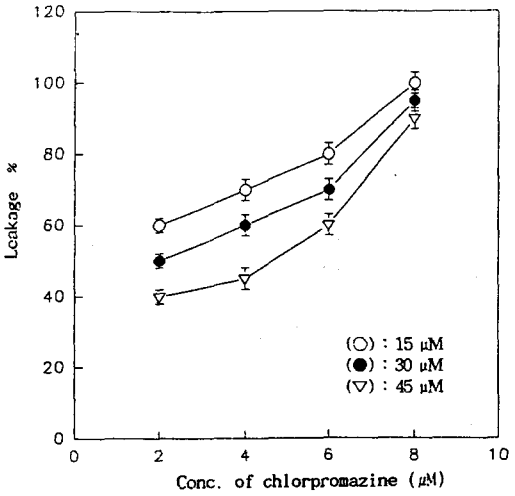

Fig. 8—Calcein leakage induced by chlorpromazine HCl for DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at different phospholipid concentrations at 20℃ (n=4)

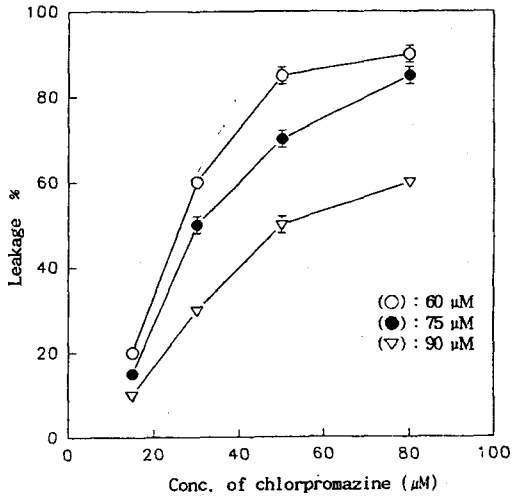

Fig. 9—Calcein leakage induced by chlorpromazine HCl for DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes at different phospholipid concentrations at 20℃ (n=4).

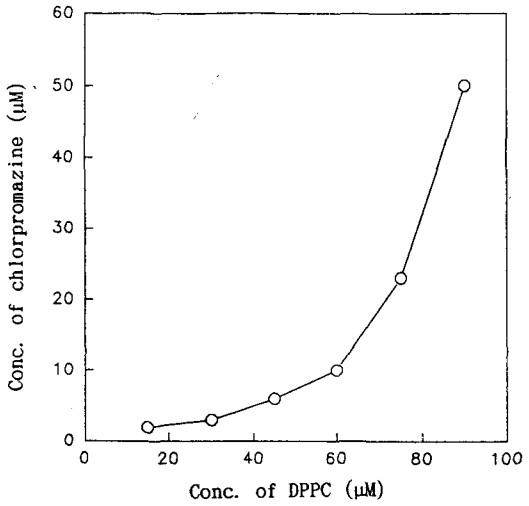

Fig. 10—The concentrations of chlorpromazine HCl necessary to induce 50% calcein leakage versus the concentrations of DPPC.
Liposomes ---DPPC: cholesterol(3 : 1) liposomes.

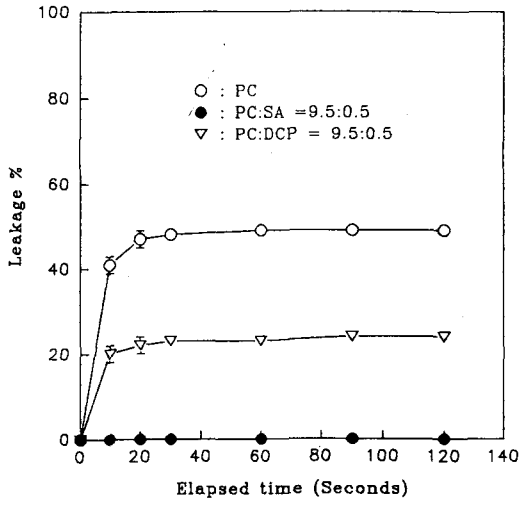

Fig. 11—Effects of lipid charge on the leakage of calcein out of sonicated vesicles induced by 3 30 μM dibucaine HCl. Leakage % is plotted as a function of time. The concentration of phospholipid was 30 μM.

농도와의 관계를 나타낸 것으로 일정한 정도의 누출를 나타내기 위해서는 지질의 농도가 높을수록 높은 농도의 약물이 필요함을 보여 주고 있다.

하전의 영향—약물의 존재시 리포솜의 안정성에 미치는 하전의 영향을 검토하였다. 즉 리포솜 표면에 (−)하전을 띠우기 위해서는 앞서 사용한 지질에 5 mol%의 dicetyl phosphate를 가하고, (+)하전을 띠우기 위해서는 5 mol% stearylamine을 가하여 리포솜을 만들었다. 이들 리포솜에 (+)하전을 띤 dibucaine HCl과 dyclonine HCl, 그리고 하전을 띠지 않는 gramicidin-S를 가하여 calcein의 누출정도를 시간에 따라 측정하여 그 결과를 Fig. 11~13에 각각 나타내었다.

Dibucaine HCl의 경우에는 (+)하전을 띤 리포솜에서 calcein의 누출정도가 거의 완전히 억제되는 것으로 나타났다. 이는 국소마취제인 양이온이 stearylamine이 첨가된 리포솜의 (+)하전과 상호 반발 작용을 일으켜서 지질막층의 표면으로의 약물의 접근이 어려워지기 때문에 나타나는 결과라 추정되며 또한 (−)하전을 띠었을 때에도 calcein의 누출이 억제되는데 이는 약물과 지질막 표면 사이의 전기적 친화력에 의하여 약물이 지질막 내부의 특정한 위치로 배열되기가 어려워지기 때문에 나타나는 결과라고

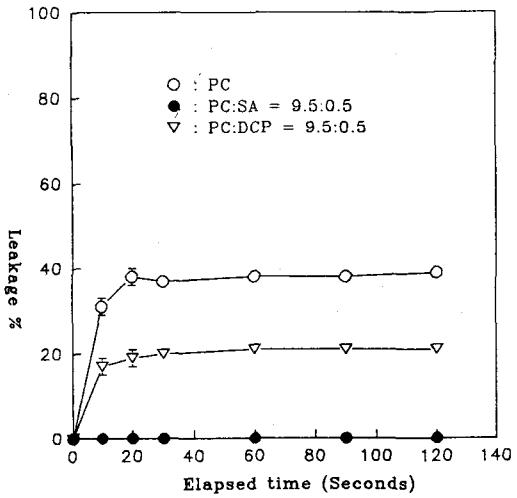

Fig. 12—Effects of lipid charge on the leakage of calcein out of sonicated vesicles induced by 3 30 μM dyclonine HCl. Leakage % is plotted as a function of time. The concentration of phospholipid was 30 μM.

추정된다. 또 stearylamine 자체가 지질막 층으로 들어가서 지질막의 강도를 높여줄 가능성도 배제할 수는 없다.

한편 gramicidin-S의 경우에도 (+), (−)의 구별

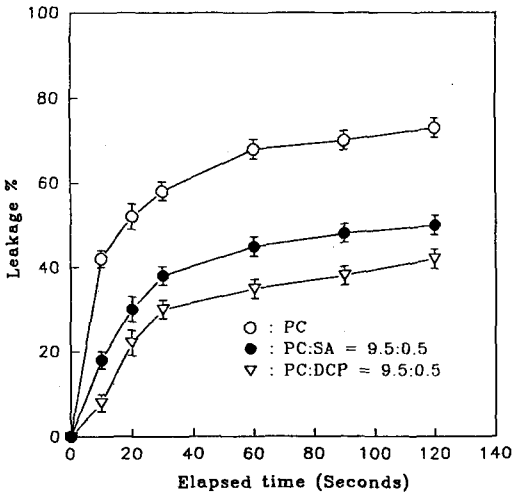

Fig. 13—Effects of lipid charge on the leakage of calcein out of sonicated vesicles induced by 1 μM gramicidin-S. Leakage % is plotted as a function of time. The concentration of phospholipid was 30 μM.

없이 전기적 하전이 다소 지질막의 투과도를 낮추기는 하나 dibucaine HCl에 비하여 그 안정화 작용이 약하였다. 이러한 결과는 gramicidin-S가 하전을 띠지 않고 따라서 그 작용에도 리포솜의 하전은 큰 영향이 없기 때문이라 생각된다.

결 론

인지질로 만든 리포솜의 안정성에 미치는 여러 가지 유형의 약물의 영향을 fluorescence self-quenching method를 이용하여 조사한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

많은 약물은 리포솜의 안정성을 크게 낮추었으며 따라서 이러한 약물을 리포솜에 봉입할 때는 안정성에 미치는 영향을 우선 고려하여야 한다는 것이다. 특히 한 분자내 친수성과 소수성이 발달되어 표면활성이 큰 구조의 약물인 페노치아진계 약물과 국소 마취제들이 이러한 작용이 강하였다. 이러한 약물이 리포솜의 안정성에 미치는 영향은 비특이적인 표면활성에 의한 것이라 생각되었다.

감사의 말씀

본 연구는 1990년 과학재단 목적기론 연구비로 이루워졌음에 감사드립니다.

문 헌

1) Pownall, S.: Viscosity of the hydrocarbon region of micelles, *J. Am. Chem. Soc. Vol.* **95**, 3137-3141 (1973).
2) Lee, A. G.: Model for action of local anesthetics, *Nature,* **262**, 545 (1976).
3) Rafik, O. L. and Bradley, A. A.: Effect of viscocity and temperature on torsional relaxation of molecular rotors, *J. Phys. Chem.* **86**, 4205-4211 (1982).
4) Seeman, P.: The membrane action of anesthetics and tranquilizers, *Pharmacological Review,* **24**, 583-655 (1972).
5) Bruce, J. F., Patrick, T. P. L., and Jairajh, M.: Interaction of phenothiazine tranquilizer with phosphatidyl choline and phosphatidyl choline/cholesterol membranes, *Biochemistry,* **23**, 2288 (1984).
6) Katsumi, M., Mitsunori, H., Tessurou, H., Susumu, F., Nobutaka. F., Haruaki, Y. and Koichiro. M: Maganin I-induced leakage of entrapped calcein out of negatively charged lipid vesicles, *Biochim. Biophys. Acta.,* **981**, 130 (1989).
7) Takashi, K., Chiaki, N., Masakazu, K., Hideki, K., Takashi, H. and Yuzaburo, F.: Action mechanism of amphiphathic peptides gramicidin-S and mellitin on erythrocyte membrane, *Biochim. Biophys. Acta.,* **939**, 57-63 (1988).
8) Lee, A. G.: Interaction between anesthetics and lipid mixtures, normal alcohols, *Biochemistry,* **15,** 2448 (1976).
9) Eizo, S., Shigeo, K., Masaaki, T., Hiroyuki, K., and Masahito, K.: Effects of surface charges and cholesterol content on amino acid permeabilities of small unilamellar vesicles, *J. Pharm. Sci.,* **79**. 232 (1990).
10) Sanda, C., Robert, B., Paul, W. D., Yisrael, A. I. and Arthur, F. R.: Permeability properties of sterol-containing liposomes from analogues of phoaphatidylcholine lacking acyl groups, *Biochemistry,* **18**, 2118 (1979).
11) Marie, T. P., Micheal, R. and Jean. L. R.: Mechanism

of membrane protein insertion into liposomes during reconstitution procedures involving the use of detergents, *Biochemistry,* **27**, 2668-2677 (1988).

12) De Gier, J., Mandersloot, J. G. and Van Deenen, L. L. M.: Lipid composition and permeability of liposomes, *Biochim. Biophys. Acta,* **150**, 166 (1968).

13) Jonathan, B. M.: Lipid permeability of the intestinal microvillus membrane may be modulated by membrane fluidity in the rat, *Biochim. Biophys. Acta,* **984**, 158-166 (1989).

14) Hagins, W. A. and Yoshikami, S.: Intracellular transmission of visual excitation in photoreceptors; *electrical effects of chelating agents introduced into rods by vesicle fusion, in vertebrate photoreceptors,* Fatt, P. and Barlow, H. B. Eds., Academic Press, N. Y., 97 (1978).

15) Jain, M. K., Wu, N. M. and Vary, L. V.: Drug-induced phase change in bilayer as possible mode of action of membrane expanding drugs, *Nature,* **255**, 494-496 (1975).

16) Butler, K. W., Schneider, H., and Smith, Ian C. P.; The effects of local anesthetics on lipid multilayers: A spin probe study, *Arch. Biochem. Biophys.,* **154**, 548 (1973).

17) Bach, D. and Miller, I. R.: Influence of basic polypeptides on the phase transition of phospholipid. *Biochim. Biophys. Acta.* **433**, 13 (1976).

18) Schick, M. J.: Effect of electrolyte and urea on micelle formation. *The Journal of Physical Chemistry.* **68**. 3585 (1964).

19) Han, S. K., Kim, J. S., Lee, Y. S., and Kim, M.: Effect of drug substance on the microviscosity of lipid bilayer of liposomal membrane. *Arch. Pharm. Res.* **13**(2), 192-197 (1990).

20) Attwood, D. and Florence, A. T.: *Surfactant systems.* P 157. Chapman and Hall Press. (1983).

21) Costa, M. Furness, J. B. and Humphreys, C. M. S.: Apamin distinguishes two types of relaxation mediated by enteric nerves in the guinea-pig gasrointestinal tract. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* **332**, 79-88 (1986).

22) Winston, C.: Selective toxicity of the polyene an tibiotics and their methyl ester derivatives. *Bio chemical and Biophysical Research Communications,* **74**, 2, 480-487 (1977).

23) De la Maza, A., Parra, J. L., Garcia M. T., Ribosa, I., and Sanchez, L. J.; Permeability changes in the phospholipid bilayer caused by nonionic surfactants., *Journal of Colloid and Interface Science,* **148** (2), 310-316, (1992).