

第7回 日本臨床薬理学会 1986年11月19日～20日 名古屋

静注可能な W/O/W エマルジョンの開発と
基礎的性質の検討

杉村久雄*¹ 山口貴司*¹ 吉田雅行*¹
閨谷洋*¹ 宇野武治*¹ 八田峰夫*¹
吉村敬三*¹ 高橋康之*² 渡辺隆夫*²

Drug Delivery System (以下 DDS) の概念が一般的となり、種々の drug carrier の研究開発が進められている。数多くの carrierの中から W/O/W エマルジョンを選び、その内水相に、水溶性薬剤を高い封入率で含有し、長期間の安定性を得る製造法を開発し、あまり研究の進んでいない静脈内投与を目標に、in vitro および in vivo で安定性、徐放性を示す結果を得たので報告する。

方法：W/O/W エマルジョンの製造には二段階乳化法を用いた。油相に大豆油を、内水相に 2% NaCl とマーカー物質（水溶性薬剤）としてのリボフラビン、塩酸ドーパミンを用い、超音波ホモナイザーで、5°C の条件下でゲル状の W/O とし、これを同じく 5°C の条件下で外水相（0.9% NaCl 水溶液）に徐々に添加、攪拌し、再び超音波ホモナイザーにて W/O/W エマルジョンを調製した。乳化剤は卵黄レシチンを親油性乳化剤として、対油 10% に、親水性乳化剤として対外水相 1% の濃度で使用した。更にこのエマルジョンを遠心分離装置により、必要とする粒径に精製した。

次に、保存中の安定性、他剤と希釈混合して使用するための配合変化、血中投与を前提とした in vitro での安定性の検定をするために、5°C、

37°C のもとで、精製したサンプルをイオン強度（NaCl 濃度として 0, 0.45, 0.90, 1.80, 3.60%）、浸透圧（glucose 濃度として 2.5, 5.0, 10, 20%）、pH（HCl と NaOH を用いた場合と、イオン強度を buffer を用いて 0.001, 0.15, 0.50 と一定にした場合の 2 種類）を変えた水溶液と、1:2 の割合で混合し、37°C では、0, 0.5, 1, 2, 3 hr 後まで、5°C では、0, 3.5, 7, 10.5 hr 後までの安定性を検定した。安定性は①顕微鏡観察による粒子の状態②マーカー物質による封入率の変化③B 型粘度計を用いた粘度測定値の変化④粒子の荷電状態を示すゼータ電位の変動を指標とした。

更に、雑種成犬を pentobarbital 麻酔下に人工呼吸器に接続し、塩酸ドーパミンを含有する W/O/W と、コントロールとして塩酸ドーパミン水溶液を、10 μg/kg の one shot 静注と、10 μg/kg/min の持続投与を行い、血圧、脈拍の変動を調べ、in vivo の実験とした。

結果：精製したサンプルの粒径は直径 1 μm 以下、平均粒径 0.51 μm で、マーカー物質（薬剤）の封入率は、75～90% に達した。5°C の温度で保存すると、4 日後では封入率の低下は見られず、粒子の凝集も認められなかった。1 カ月後では、封入率が 10～20% 低下した。イオン強度の影響は 1.8% 濃度より認められ、封入率は低下し、3.6% では凝集破壊を認めた。ゼータ電位上、0.9% 以上では、-10 mV～0 mV と不安定な値を示し、粘度も 3.6% では若干高かった。温度の影響は

*¹ 浜松医科大学第一外科
〒431-31 浜松市半田町 3600

*² 明治乳業株式会社

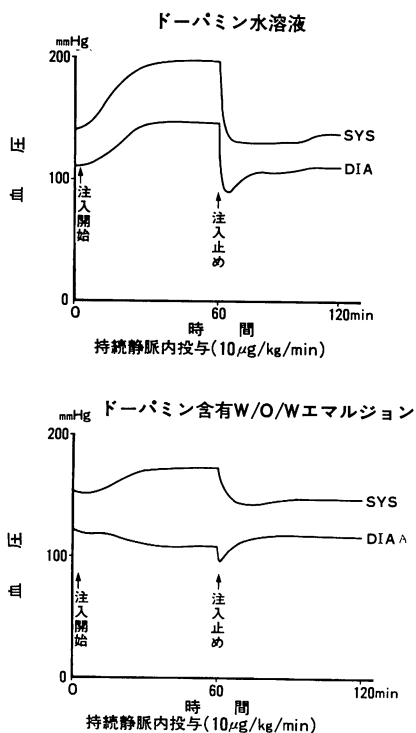


Fig. ドーパミン含有 W/O/W エマルジョンとドーパミン水溶液の持続静注(10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) 時の血圧の変動.

37°C でやや安定性の低下がみられた。Glucose 濃度は 20% 濃度を除くと、5°C、37°C とも安定な値を示した。pH の影響は、イオン強度を考慮すると、低 pH 高イオン強度および、高 pH 域で、封入率は低下し、前者では顕微鏡上、粒子の凝集が、後者では内水相を含まない微細な粒子に分解していた。粘度は、低 pH 高イオン強度域で高く、高 pH 域では若干低い傾向にあった。ゼータ電位上、低 pH 域では 0 mV に近く、高 pH 域では -50 mV 以上の値を示した。中性域では、イオン強度 0.50 を除くと、いずれの指標においても安定な値であった。

動物実験では、one shot 静注群においては W/O/W エマルジョンを注入したものは、コントロールと比べて、血圧、心拍数に殆ど変化を認めなかつ

た。また、持続投与群では、コントロールに比し、収縮期圧の緩徐な上昇と、拡張期圧の低下を認めた。注入停止から、元の血圧に復するまでの時間には殆ど差がなかった。このときの血中ドーパミンの濃度をみると、経時変化でコントロールに比べ、エマルジョンを注入した場合、若干、濃度が低いものの、注入停止後も含めて差がなかった。

考察：今回の実験は、主として、内水相に封入される水溶性薬剤の徐放性について検討したわけであるが、このサンプルの安定性、徐放性を得るためには、製造時の厳密な条件設定が必要であると思われる。5°C の低温下で、油相に徐々に内水相を転加し、ホモジナイザーにて、ゲル状の W/O を作り、すばやく、5°C の条件で二次乳化を行うことが重要であった。W/O の段階で温度が上昇するとレシチンが液晶化し、乳化破壊の方向へ進むものと思われる。このようにして得られた W/O/W エマルジョンは、通常の輸液剤との希釈混合では、分解凝集は殆どなく、生体に安全に投与し得ると考えた。従って生体内(血中)で、この安定性(徐放性)に影響を及ぼす因子としては、温度と酵素活性が考えられる。すなわち、リポプロテインリパーゼ等の酵素により油相が分解するか、または、温度の上昇により、レシチンが液晶化し、内水相の流出がみられるものと思われる。動物実験における血圧の変動は、外水相中のドーパミンと、血中で粒子より、上述の理由により流出したドーパミンとにより起こり、対照に比し、血中のフリーのドーパミンが低濃度のためと考えられる。血中濃度の測定では、HPLC の前処理等により、測定段階で脂肪球が破壊されている可能性が高く、脂肪球の外のフリーのドーパミン濃度を反映しているとは考えにくい。

まとめ：今回作製した W/O/W エマルジョンは、原料面、粒径の点からも安全に静脈内投与が可能であり、そのすぐれた徐放性を間接的ではあるが証明できた。しかし、検定法等に未だ問題が残り、今後、実験研究を進めてゆきたい。