膜乳化法を用いて水溶性抗癌剤を封入した新しいリピオドールエマルジョンの開発

東 秀史^{*1)}, 清水正高^{*2)}, 瀬戸口敏明^{*1)}

Drug Delivery System rapid communication

Preparation of new lipiodol-emulsion containing water soluble anticancer agent by membrane emulsification technique

We prepared new water-in-oil-in-water emulsions (W/O/W), containing water-soluble anti-cancer drugs, epirubicin and carboplatin, in the lipiodol droplets (oil), by the membrane emulsification technique with controlled pore glass membrane. Epirubicin (10 mg) or carboplatin (150 mg) was dissolved in 5 ml of 0.58% glucose solution or 15 ml of 0.75% saline, respectively. Each solution was mixed with lipiodol containing 5 wt% of tetraglycerol esters of interesterified ricinoleic acid. The mixture was sonicated to form a submicron particle sized water-in-oil-emulsion (W/O) containing one of the anti-cancer agent. W/O was permeated through the membrane at a pressure of 54 kPa into glucose solution forming new W/O/Ws. Mean particle size of the oil droplet was about 25 μm and 8 μm when prepared with 4.2 μm pore sized membrane and 1.4 μm , respectively. Stability of oil droplets was maintained over 40 days after preparations. This was confirmed by microscopic observations and by measurements of droplet size with laser reflection particle analyser. Dissolution rate of epirubicin from the droplet into outer water is measured by dialysis in the constant flow of 5% glucose solution, which was, after 9 days, calculated to be 15%. The W/O/W will be used in the field of chemoembolization for hepatocellular carcinoma, or in general, targeting chemotherapy.

Shushi Higashi^{*1)}, Masataka Shimizu^{*2)},
Toshiaki Setoguchi^{*1)}

key words : controlled pore glass,
membrane emulsification, lipiodol emulsion

図1 Preparation of water-in-oil-in-water emulsion (W/O/W) from water-in-oil emulsion (W/O) with control pore glass (CPG) membrane

a: A newly designed emulsifying apparatus equipped with CPG membrane. b: W/O was permeated through the CPG membrane into the emulsifying chamber to form W/O/W continuously.

リピオドールはけし油の脂肪酸エステルにヨードを 37% 含む造影剤であり、肝細胞癌に特異的な親和性を有するため DDS の carrier となりうる可能性が指摘されていた。リピオドールを carrier とした報告は Konno らによる SMANCS が最初であり、きわめて高い腫瘍集積性がみられた¹⁾。

SMANCS は油性の薬剤であるためリピオドールと混合することが容易である。しかし、現在使用されている多くの抗癌剤は水溶性であるためリピオドール中に包含されにくい^{2,3)}。筆者らは、水溶性抗癌剤である塩酸エピルビシンあるいはカルボプラチンとリピオドールを混合したのちに、細孔径の均一な多孔質ガラス膜を通すことにより、きわめて安定なエマルジョンを調製しえたので報告する。

^{*1)} First Department of Surgery, Miyazaki Medical College 宮崎医科大学外科学第一講座

^{*2)} Department of Chemistry, Industrial Research Institute of Miyazaki 宮崎県工業試験場化学部

図2 Microphotograph of water-in-oil-in-water emulsion (W/O/W) containing epirubicin hydrochloride solution in the lipiodol droplets

Microscopic examination of W/O/W reveals spherical lipiodol microdroplets suspended in glucose solution. The mean particle size of microdroplets was $25\mu\text{m}$ and that of vesicles of epirubicin solution scattered in the microdroplets was $0.6\mu\text{m}$.

材料と方法

水溶性抗癌剤は塩酸エピルビシン(協和醸酵工業)およびカルボプラチン(プリストルマイヤーズスクイブ)を、エマルジョンの油相にはリピオドル(児玉製薬)を用いた。親油性界面活性剤にはテトラグリセリン縮合リシノレイン酸エステル(TGCR)(阪本薬品)、親水性界面活性剤にはポロキサマー188(ミドリ十字)を使用した。親水性多孔質ガラス膜は伊勢化学製の平均細孔径 1.4 および $4.2\mu\text{m}$ のものを使用した。使用した多孔質ガラス膜はプレート状であるため、膜乳化装置を新たに作成した(図1a)。

まず塩酸エピルビシン 10mg を 5.8% ブドウ糖水溶液 5ml に溶解した。つぎにカルボプラチン 150mg を 0.75% 食塩水 15ml に溶解した。この2種類の抗癌剤の水溶液をそれぞれ 10ml のリピオドル(TGCR $5\text{wt}\%$ 含有)と混和したのち超音波乳化法により2種類の water-in-oil (W/O) エマルジョンを作成した。この W/O エマルジョンを膜乳化装置に充填したのち、高圧窒素ガスから 54kPa の圧を加えることにより多孔質ガラス膜

図3 Particle size distribution of lipiodol microdroplets at day 0 and day 40 after preparation

The particle size distribution of lipiodol microdroplets in W/O/W was determined with SALD-2000 (Shimadzu Seisakusho Co., Kyoto) at day 0 and day 40 after preparation. There are little changes between these graphs, which shows the stability of W/O/W.

の細孔を透過せしめ(図1b)、 5.8% ブドウ糖水溶液(ポロキサマー188を $1\text{wt}\%$ 含む)中に分散させることにより W/O/W エマルジョンを調製した。調製後の粒径分布測定はレーザー回折式粒度分布測定装置(島津製作所製 SALD-2000)を用いて行った。

結果

平均細孔径 $1.4\mu\text{m}$ の多孔質ガラス膜を使用した場合、塩酸エピルビシン-リピオドルエマルジョン(ELE)とカルボプラチン-リピオドルエマルジョン(CLE)の平均粒子径はそれぞれ 9.0 および $6.7\mu\text{m}$ であった。平均細孔径 $4.2\mu\text{m}$ の多孔質ガラス膜を使用した場合、ELE と CLE の平均粒子径はそれぞれ 25.3 および $24.0\mu\text{m}$ であっ

た。光学顕微鏡下に観察すると、いずれの場合でもリピオドール油滴が球形を保ちながら5.8%ブドウ糖液中に分散していた。リピオドール油滴中には、水溶性抗癌剤が内水相粒子として分散しているのが確認できた(図2)。リピオドール油滴の安定性をみるために1カ月間室温で放置したがいずれの場合にも水相と油相の分離は発生しなかった。

また、調製直後と調製後40日目の粒子径分布を比較すると、リピオドール油滴の粒径は調製直後のまま良好に保たれていた(図3)。細孔径 $1\mu\text{m}$ のSPG製試験管に平均粒径 $25.3\mu\text{m}$ のELE 5 mlを封入後、灌流液(5%ブドウ糖液)中に浸しエマルジョンからの抗癌剤の溶出量を調製後9日まで測定した。調製直後では約10%の塩酸エピルビンがリピオドール油滴外に存在し、その後の溶出速度は9日間で15%であった。

考 察

肝細胞癌に対するリピオドールを用いた塞栓療法は、Konno¹⁾やKanematsu²⁾により開発され、肝細胞癌の重要な治療法として臨床応用されている。今回膜乳化法により調製したW/O/Wエ

マルションは、リピオドール内に水溶性の抗癌剤を確実に包含せしめた点に特徴がある。今後、*in vivo*の検討を追加して臨床的な有効性を確認する必要がある。

また、100 nm前後の細孔を有する controlled pore glass membraneを使用することにより、静注可能な1ミクロン以下の脂肪球体内に水溶性の薬剤を封入することも可能と思われ、今後、抗癌剤や抗生物質などを封入することで、新しい応用面が開けるものと考ええる。

文 献

- 1) Konno, T., Maeda, H., Yokoyama, I., Iwai, K., Ogata, K. et al.: Use of a lipid lymphographic agent, lipiodol, as a carrier of high molecular weight antitumor agent, SMANCS, for hepatocellular carcinoma. Jpn. J. Cancer Chemother. 9: 2005-2015, 1982 (English Abstract).
- 2) Kanematsu, T., Inokuchi, K., Sugimachi, K., Furuta, T., Sonoda, T. et al.: Selective effects of lipiodolized antitumor agents. J. Surg. Oncol. 25: 218-226, 1984.
- 3) Nakamura, H., Hashimoto, T., Taguchi, T., Oi, H.: Stability of adriamycin in oil emulsion in hepatic artery chemoembolization. Jpn. J. Cancer Chemother. 13: 3276-3279, 1986 (Japanese).