

氏名（本籍）	大西 直角（兵庫県）
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	甲 第1号
学位授与年月日	平成27年3月18日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文の題名	リポソーム製剤中の封入薬物と未封入薬物の分離定量法の開発とその応用に関する研究
論文審査委員	主査 近藤 伸一 副査 北市 清幸 副査 江坂 幸宏

## 論文内容の要旨

有効性と安全性を兼ね備えた医薬品の開発の確実性を高め、さらに、その価値を最大化するには、迅速かつ最適な製剤開発および安定供給が極めて重要である。薬物キャリアを用いる DDS 製剤は、有効性、安全性を両立するための有効な手段として認識されているが、その開発には多くの課題もある。DDS 製剤のキャリアとして注目されているリポソームの場合、薬物の封入率を詳細かつ簡便に評価する分析技術は未だ確立されていない。本研究では、カラムスイッチング HPLC システムを基本手法として、リポソーム製剤を詳細かつ簡便に評価する分析技術の開発と応用研究を行い、その有用性を明らかにした。

### 1. リポソーム製剤中の封入薬物と未封入薬物の分離定量法の開発

ドキシソルビシン (DXR)、サルブタモール (SBM)、および、E7107 封入リポソームをモデルとし、2つの6方バルブを備えたカラムスイッチング HPLC システムを用いて、固相抽出 (SPE)カラムとの疎水的相互作用を利用したリポソーム製剤中の封入薬物と未封入薬物の分離定量法を開発した。分析法バリデーションの結果は、本法が、精度、正確性、および、感度に優れ、薬物封入率測定法として適切であることを示した。また、開発したカラムスイッチング HPLC 法は、大量の試料や煩雑な操作を必要とせず、試料溶液を注入するだけの完全に自動化された薬物封入率評価法であるという特長もある。

### 2. リポソーム製剤の *in vitro* 薬物放出試験法の開発

DXR および SBM 封入リポソームからの薬物放出プロファイルを、カラムスイッチング HPLC 法によって評価した。従来から用いられている透析法による薬物放出プロファイルと比較・考察したところ、透析法によって得た薬物放出プロファイルは、リポソームからの薬物放出に続く、薬物の透析膜透過律速で形成される可能性があることが示唆された。一方、カラムスイッチング HPLC 法には、リポソームからの薬物放出以外に律速

となる過程が存在しないことから、リポソーム製剤本来の薬物放出特性をより詳細かつ正確に評価する手段となり得ることが示された。

### 3. インスリン封入リポソーム製剤の特性評価

開発したカラムスイッチング HPLC 法は、リポソーム製剤中の薬物を分離するために薬物と SPE カラムの疎水的相互作用を利用しており、密度差を利用する遠心分離や分子サイズの差を利用する透析とは異なった分離機構を有する。遠心分離法および開発したカラムスイッチング HPLC 法を用いて、インスリン (INS)封入リポソーム製剤中の INS を分離評価し、その封入状態について考察した。遠心分離法では、リポソーム表面に吸着した INS をリポソーム内部に封入された INS と分離することができなかったが、カラムスイッチング HPLC 法は、リポソーム表面に吸着した INS を封入 INS と分離することができた。このことから、開発したカラムスイッチング HPLC 法は、リポソーム製剤中の存在状態の異なる薬物を分離評価するための有用な手段となることも明らかとなった。

以上、開発したカラムスイッチング HPLC システムによるリポソーム製剤中の封入薬物と未封入薬物の分離定量法は、精度、正確性、感度のほか、迅速性、さらには、省力性に優れ、リポソーム製剤の特性評価および最適化研究に広く活用されるものと考えられる。

#### 略語表

DDS: 薬物送達システム (drug delivery system)

DXR: ドキソルビシン (doxorubicin)

HPLC: 高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography)

INS: インスリン (insulin)

SBM: サルブタモール (salbutamol)

SPE: 固相抽出 (solid phase extraction)

## 論文審査の結果の要旨

DDS 製剤のキャリアとして注目されているリポソームでは、薬物の封入率を詳細かつ簡便に評価する分析技術が未だ確立されておらず、有効性および安全性の観点からもその開発が望まれている。本研究では、カラムスイッチング HPLC システムを基本手法として、リポソーム製剤を詳細かつ簡便に評価する分析技術の開発とその応用研究について検討を行った。2つの6方バルブを備えたカラムスイッチング HPLC システムを用いて、固相抽出カラムとの疎水的相互作用を利用したリポソーム製剤中の封入薬物と未封入薬物との分離定量法を開発した。分析法バリデーションの結果、本方法が精度、正確度および感度に優れ、薬物封入率測定法として適切であることが明らかとなった。また、薬物放出プロファイルについて本方法と従来法である透析法と比較したところ、本方法がリポソーム製剤本来の薬物放出特性をより正確に評価する手段となり得ること

が明らかとなった。

以上の結果より、本研究で開発したカラムスイッチングHPLCシステムによるリポソーム製剤中の封入薬物と未封入薬物の分離定量法は、精度、正確度、感度のほか、迅速性さらには省力性に優れ、リポソーム製剤の特性評価及び最適化研究に広く活用されることが期待され、博士（薬科学）の論文として価値あるものと認める。