

# Prednisolone のリポソーム製剤化による

## 体内動態制御に関する研究

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 手嶋 無限

**【目的】** 副腎皮質ホルモンは、強力な抗炎症作用や免疫抑制作用といった薬理効果があり、多様な疾患に使用されている。その中でも、prednisolone (PLS) は最も汎用されている薬物である。しかし全身投与された副腎皮質ホルモンの副作用が臨床上問題となっている。一般に、副作用を回避し有用性を高める手法として drug delivery system (DDS) が利用される。現在、副腎皮質ホルモンの化学修飾や製剤修飾が臨床で用いられているものの、その効果は十分であるとは言い難い。薬物の化学修飾の一つの手法として、脂溶性官能基パルミトイル基の導入により、生体成分や脂質分散型製剤との親和性を高めることが知られている。一方、薬物の製剤修飾で用いられるキャリアの一つとしてリポソームがある。リポソームは生体内の特定部位に薬物を選択的に送達させることができるため、確実な治療効果の発揮と投与量の低減が可能となり、副作用の減少が期待される。

そこで本研究では、PLS のリポソーム製剤化による体内動態制御を目的に、脂溶性誘導體 palmitoyl prednisolone (Pal-PLS) を新規に合成し、リポソームへ封入させることで、化学修飾と製剤修飾を合理的に組み合わせた DDS の開発を検討した。最初にリポソームの脂質組成、膜表面の polyethylene glycol (PEG) 修飾および封入薬物の化学修飾を系統的に組み合わせた各種リポソームを作製し、薬物の保持性と放出性を系統的に調べた。次に、薬物の安定保持が確認された各種 Pal-PLS 封入リポソームを用いて、その体内動態挙動の特性を評価した。

**【実験方法】** Pal-PLS の合成：PLS のアシル化反応により、Pal-PLS を合成した。脂溶性の測定：HPLC 法を用い lipophilic index を算出した。リポソームの調製：Egg yolk phosphatidylcholine (EggPC)、L- $\alpha$ -distearoyl-phosphatidylcholine (DSPC)、cholesterol (Chol)、L- $\alpha$ -distearoyl-phosphatidylethanolamine (DSPE)-PEG 2000 (DSPE-PEG 2000) および DSPE-PEG 5000 を用い超音波破碎法により調製した。限外濾過実験：限

外濾過膜 (Ultrafree<sup>®</sup>-MC) に薬物封入リポソームを加え遠心分離した。  
ゲル濾過実験：水溶性高分子蛍光色素 FITC-dextran (FD-4) をリポソーム内水相マーカーとして用い、Sephacryl S-400 を用いてゲル濾過を行った。溶出液には pH7.4 等張リン酸緩衝液を使用した。FD-4 は蛍光光度法により測定した。動物実験：各薬物をラットへ静脈内投与後、血液、胆汁、尿および各臓器 (肝臓、肺、脾臓、心臓、腎臓および小腸) を採取し、薬物を HPLC 法を用いて定量した。

**【結果・考察】**新規に合成した Pal-PLS は PLS に比べ、極めて高い脂溶性を示した。また、Pal-PLS はプロドラッグ型の薬物であることが示唆され、血液成分との相互作用実験の結果、血球や血漿蛋白との結合型薬物として存在し、遊離型の薬物は認められなかった。

次に、リポソームの脂質組成、膜表面の PEG 修飾および封入薬物の化学修飾を系統的に組み合わせた 12 種類の各種リポソーム製剤を作製し、それらの基礎的性質として、薬物の保持性と放出性をそれぞれ限外濾過法とゲル濾過法により調べた。限外濾過実験の結果、全てのリポソームは調製後、安定に薬物を保持していることが確認された。一方、ゲル濾過実験の結果、PLS 封入リポソームは、安定に薬物を封入できなかったのに対し、Pal-PLS 封入リポソームでは薬物を安定に封入できることが示された。このことより、リポソーム内の封入薬物の脂溶性が、薬物の安定保持に重要な因子であることを明らかにした。また、ラット血漿を加えたゲル濾過実験の結果、リポソーム膜の脂質組成および PEG 修飾の有無が封入薬物の保持能に影響することを明らかにした。以上、リポソームの薬物保持には、封入する薬物の脂溶性、リポソーム膜表面の PEG 修飾ならびにリポソームの脂質組成が重要な因子であることを証明した。

次に、Pal-PLS 封入リポソームをラットへ静脈内投与後の薬物体内動態を検討した。PLS の静脈内投与では、血中から速やかに消失したのに対し、Pal-PLS は腎排泄が抑制され、肝臓への移行が増大することが示された。さらに、Pal-PLS をリポソーム化することにより、Pal-PLS の高い血中濃度推移が確認され、薬物が肝臓・脾臓・肺などの細網内皮系へ顕著に移行することが示された。また、リポソーム膜表面への PEG 修飾により、Pal-PLS の血中濃度推移はさらに高くなり、臓器への移行は抑制された。その程度はリポソーム膜表面の PEG 修飾量の増加に伴い大きくなった。さらに、Pal-PLS 封入 10% PEG 修飾リポソームでは、

Pal-PLS と共に PLS も最も高い血中濃度を示し、PLS の血中有効濃度域の持続化が可能となった。

以上の結果より、PLS のリポソーム製剤化による体内動態制御には、リポソームの製剤修飾に加え封入する薬物の化学修飾が重要であることを明らかにした。

## [ 文献 ]

- 1) Teshima M. et al., *Journal of Controlled Release*, **97**, 211-218 (2004).
- 2) Teshima M. et al., *Journal of Controlled Release*, in press.
- 3) Teshima M. et al., *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, in press.

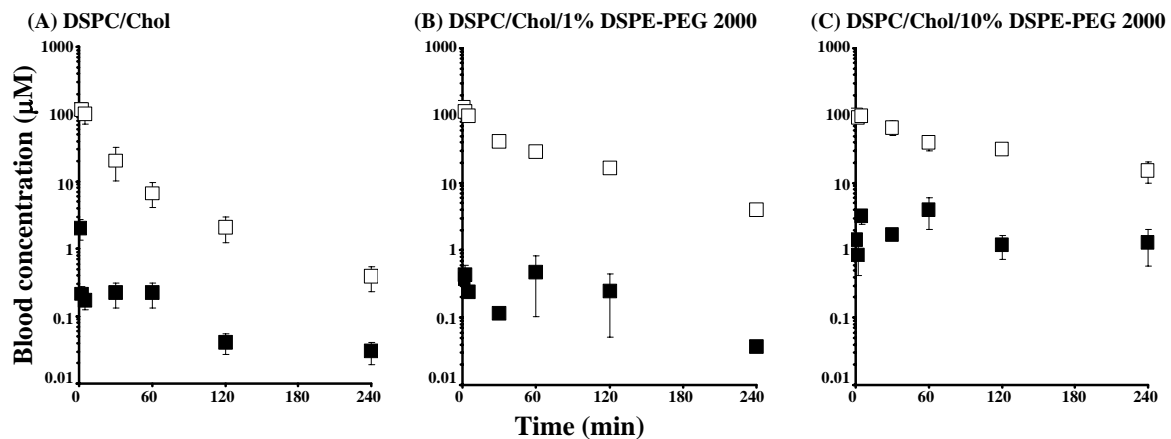


Fig. 1 Blood concentrations of Pal-PLS ( ) and PLS regenerated from Pal-PLS ( ) at 240 min after the intravenous administration of liposomal Pal-PLS constituted with DSPC/Chol (A), DSPC/Chol/1% DSPE-PEG 2000 (B), and DSPC/Chol/10% DSPE-PEG 2000 (C) in rats. Each point represents mean  $\pm$  S.E. of at least three experiments.

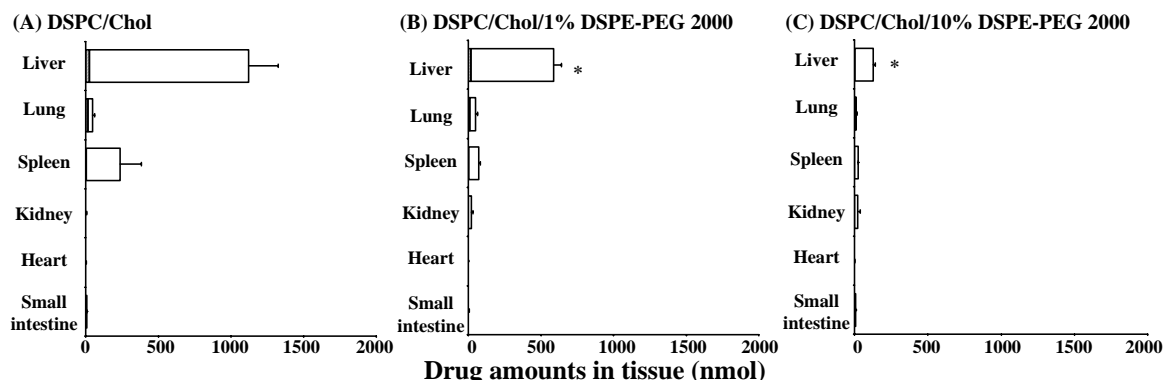


Fig. 2 Tissue concentrations of Pal-PLS (open bars) and PLS regenerated from Pal-PLS (hatched bars) at 240 min after the intravenous administration of liposomal Pal-PLS constituted with DSPC/Chol (A), DSPC/Chol/1% DSPE-PEG 2000 (B), and DSPC/Chol/10% DSPE-PEG 2000 (C) in rats. \* Significantly different from liposomal Pal-PLS constituted with DSPC/Chol ( $p < 0.05$ ). Each value represents mean  $\pm$  S.E. of at least three experiments.