

<平成22年度助成>

機能性食品成分の吸収性改善のための製剤学的検討

菅原 満

(北海道大学大学院薬学研究院)

1. 緒 言

近年、コエンザイム Q10 やイソフラボン、ポリフェノール、アミノ酸類などに代表される機能性食品成分の生理作用への関心が高まり、健康食品やサプリメントを使用する人が増えている。一方で、これら成分の生体に及ぼす作用や体内動態の実態を科学的に評価した報告は十分ではない。

医薬品開発が切れ味のよい効き目を求めるのに対し、機能性食品開発は長い時間をかけて進行する生活習慣病に対して長期的に摂取することで、疾病の進行を遅延させることが求められている。それぞれが疾病に対して「治療」と「予防」という役割を担い、人類の健康に貢献しうるため、どちらも「医療」に関して必要不可欠な研究であるといえる。また、医薬品が薬事法などの法律で厳しく規制されているのに対し、食品成分は取り締まる規定が整っておらず、サプリメントや特定保健用食品など機能性食品成分に関する情報は錯綜している。機能性食品成分はサプリメントなどで手軽に利用できるようになった半面、生活習慣病患者が摂取している多種類の医薬品と相互作用する可能性も考えられ、適正な使用が喚起されている。しかしながら、機能性食品成分の多くは「食品」であるがゆえに、詳細な体内動態に関する知見が不足しており、適正使用へ向けた情報は十分とは言いがたいのが現状である。また、体内動態、特に吸収機構が明らかとなれば、漫然と機能性食品成分を摂取するのではなく、より効率的な摂取法の提案、医薬品などとの注意すべき相互作用の可能

性も発信できると考えられる。

機能因子（成分）がその機能を発揮するには、吸収されて体内に入り、効果を発現する臓器に到達し、作用を及ぼすという段階を経るが、どのような効果を期待できるか（作用）を論じたものは多いものの、摂取後の消化管からの吸収や各臓器への分布などの体内動態を論じたものは非常に少ない。また、サプリメントとして摂取する場合は、溶解性や共存物質等の違いから食物として摂取した場合と吸収性が異なることもあり得る。したがって、安定した吸収性を実現するための製剤学的検討は、機能性食品成分の効果的利用において非常に重要である。

低吸収性や吸収のバラツキが問題となる難水溶性薬物に対し、吸収性改善の目的で「乳剤化」の手法が用いられることがある¹⁻³⁾。そこで本研究では、吸収性に問題の生じる機能性食品成分の物理化学的性質として難水溶性なことが多いことに着目し、乳剤化による吸収改善について検討した。

2. 実験方法

2-1. ラットを用いた経口投与実験

Wistar 系ラット（雄性、8-10 週齢）を、ケタミン（ケタラール[®]）6.25mg/100g 体重とミダゾラム（ドルミカム[®]）375 μg/100g 体重で麻酔し開腹して胆管を結紮し、腹部を縫合して 24 時間絶食させた。胃ゾンデ法により 0.5% methyl cellulose 水溶液で懸濁した被験物質原末、乳剤、レシチンを添加した水溶化粉末（CoQ10 のみ）として 25mg/kg 体重となるように 1mL/kg 体重、経

口投与した後、経時的に心臓から血液 0.3 mL を採取した。直ちに微量のヘパリンと混合し、750 × g で 10 分間遠心分離して 0.1 mL の血漿を得た。sham 群は開腹してそのまま縫合したものとした。

2-2. 乳剤の調製法

ガラス試験管に対象薬物 (コエンザイム Q10 原末 50 mg またはシクロスポリン A 原末 30 mg) を取り、oil として用いたイソプロピルミリスチン酸 (IPM) に溶解した。さらに、Tween 80 (surfactant) と propylene glycol (co-surfactant) を加えて攪拌した。そこへ pH 7.4、50 mM のリン酸緩衝液 (water) を加えて攪拌した。oil: surfactant + co-surfactant: water = 10.8 : 43.1 : 46.2 (wt%) の乳化した溶液 2 mL を調製した。ただし surfactant : cosurfactant = 50 : 50 (wt%) である。

アルベンダゾールの場合には、ガラス試験管に原末 30 mg を取り、acetic acid 0.264 mL に溶解した。そこへ 85% phosphoric acid 0.264 mL、sterilized water を 0.396 mL 加えて攪拌した。さらにそこへ IPM 0.254 mL を加えた。さらに、Tween 80 0.405 mL と propylene glycol 0.416 mL を混合した後、アルベンダゾール溶液に加えた。転倒混和し、IPM : Tween 80 + propylene glycol : acetic acid + phosphoric acid + sterilized water = 10.8 : 43.1 : 46.2 (wt%) の乳化した溶液 2 mL を調製した。ただし Tween 80 : propylene glycol = 50 : 50 (wt%) であり、acetic acid : phosphoric acid : sterilized water = 2 : 2 : 3 (v/v/v) である。

2-3. 体内動態パラメーターの算出

体内動態パラメーターの算出には Origin 8.1J[®] を用い、2-コンパートメントモデルによって血中各薬物濃度を解析し、 C_{max} 、 T_{max} および AUC の各パラメーターを得た。解析には以下の式を用いた。同様に台形法によって 1 サンプルずつ AUC を解析し、Origin 8.1J[®] で得られた値と比較した。

$$C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} + Ie^{-K_{el}t}$$

C = 血中各薬物濃度

2-4. 薬物の各種溶媒への溶解度測定

対象薬物それぞれ 1 g を水、ジエチルエーテル、クロロホルムに溶解するのに必要な溶媒量を測定した。

2-5. 定量法

薬物の定量はすべて HPLC 法を用いて行った。

3. 結果および考察

3-1. コエンザイム Q10 (CoQ10) の消化管吸収

最初に、代表的難水溶性物質である CoQ10 を用いて検討した。各種 CoQ10 製剤 (原末、乳剤および水溶化粉末) を投与した結果を Fig. 1、および 2 に、台形法により求めた AUC の値を Table 1 に示した。原末よりも乳剤や水溶化粉末において消

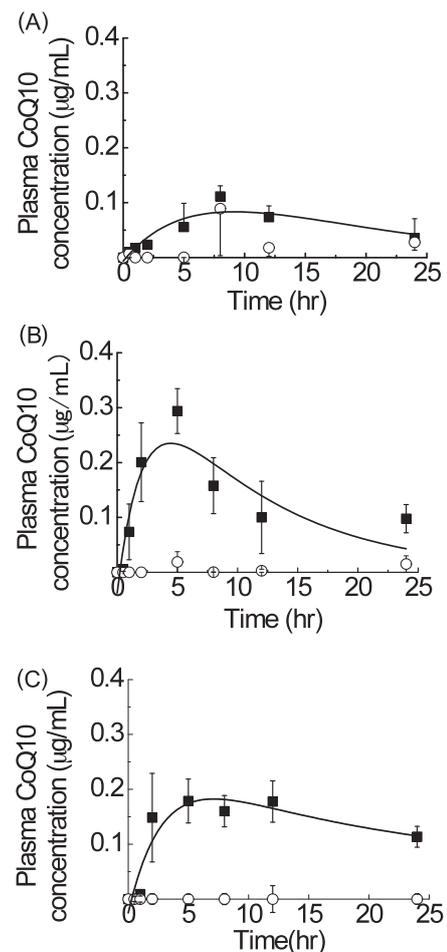


Fig. 1 Plasma CoQ10 concentration after oral administration of three types of CoQ10 preparation in bile duct-ligated rats. Each point represents the mean \pm S.E. of 3 measurements. (A) powder, (B) emulsion, (C) solubilized powder, ■; sham, ○; bile duct-ligated.

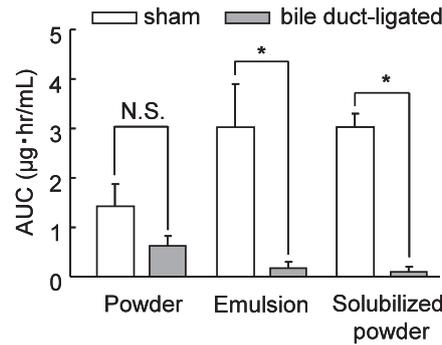


Fig. 2 Effect of bile on the absorption of CoQ10 after oral administration of CoQ10 preparation in bile duct-ligated rats.

Each column represents the mean with S.E. of 3 measurements by the trapezoidal method. *; significantly different from the group after administration of CoQ10 emulsion or solubilized powder in bile duct-ligated rats at $p < 0.05$. N.S.; not significant.

Table 1 AUC of CoQ10 after oral administration of CoQ10 preparation

Dosage form		AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)			Average AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	S.E.
Powder	sham	1.068	2.309	0.885	1.421	0.447
	bile duct-ligated	0.922	0.708	0.246		
Emulsion	sham	2.130	4.783	2.126	3.013	0.884
	bile duct-ligated	0	0.067	0.443		
Solubilized powder	sham	3.556	2.813	2.719	3.030	0.264
	bile duct-ligated	0.026	0	0.287		

化管吸収性が有意に高かった。また吸収の増大は特に乳剤で大きく認められた。一方、胆管結紮ラットでは sham に比べて消化管吸収性が劣っていたことから、CoQ10 が小腸から吸収されるには、乳化または可溶化した後に胆汁と混合する必要があることが示唆された。

CoQ10 の吸収には胆汁が必要であり、胆汁の分泌を止めることによって CoQ10 は可溶化された製剤であってもほとんど吸収されなくなることが明らかになった。また、Caco-2 細胞 (培養細胞)、ラット腸管膜あるいは透析膜を装着した拡散 chamber を用いた検討で CoQ10 の膜透過が認められず、CoQ10 が溶解していないためという可能性が考えられたが、胆汁を加えて可溶化して行った透過実験においても同様に透過が認められなかった (データは示さない)。したがって、胆汁を加えてもエマルジョンなどの製剤の状態から

CoQ10 の free 体が放出されず、CoQ10 製剤のエマルジョンは胆汁の作用により、胆汁ミセルの状態で存在すると考えられる。一般に薬物のミセルは非攪拌水層に到達し、ミセルのまま、もしくは薬物の free 体を放出し、吸収されると考えられている。胆汁を加えても、CoQ10 の free 体が放出されないことから、CoQ10 は free 体で吸収されるのではなく、胆汁ミセルの状態で吸収される可能性が考えられた。

3-2. シクロスポリン A (CsA) の消化管吸収

CoQ10 は水溶性が非常に低く、かつ経口吸収性の非常に低い化合物であり、薬物を物理化学的性質と膜透過性から分類する方法である BCS (Biopharmaceutics Classification System)^{4,5)} を用いるとクラス IV に分類される (Table 2)。そこで、医薬品としてすでに自己乳化製剤 (Neoral[®]) が市販されている CsA を用いて同様に検討した。

Table 2 Biopharmaceutics Classification System

	High Solubility	Low Solubility
High Permeability	class 1 (Absorption Limit : Collapse)	class 2 (Absorption Limit : dissolution)
	Diltiazem Enalapril	Diclofenac Ibuprofen
	Labetalol Propranolol	Phenytoin Naproxen
	Captopril Metoprolol	Itraconazole Indinavir
	Phenylalanine Atropine	Desipramine Digitoxin
Low Permeability	class 3 (Absorption limit : permeation)	class 4 (in vitro-iv vivo no correlation)
	Famotidine Ranitidine	Terfenadine Colistin
	Atenolol Valsartan	Furosemide Mebendazole
	Cimetidine Metformin	Ciclosporin Albendazole
	Aciclovir Pravastatin	Acetazolamide CoenzymeQ10

24時間絶食させたラットにCsAを経口投与した後の全血中CsA濃度をFig.3に示す。また、Fig.4にはCsA原末とNeoral水溶液をそれぞれ投与したsham群のAUCを示した。Neoralを投与した群は原末を投与した群と比較して消化管吸収性が有意に上昇していた。これらの結果よ

り、CsAは乳化することで消化管吸収性が上昇することが示唆された。またFig.5に示したように、各剤形において、胆汁の分泌を止めることでCoQ10の場合と同様に全血中濃度上昇が有意に減少した。CsAは疎水性が高いが、原末を使用した場合でもある程度の吸収が認められた。

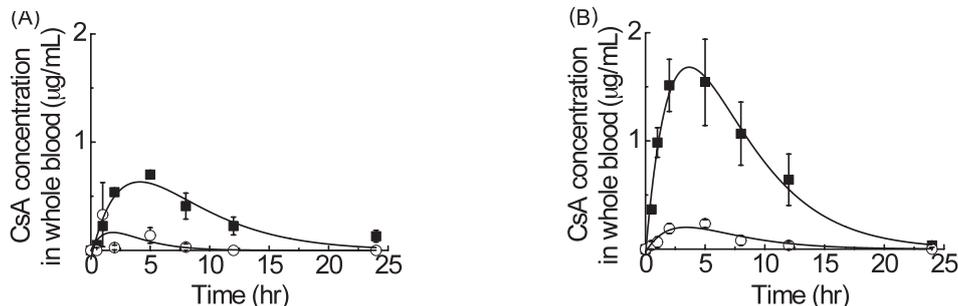


Fig. 3 Blood CsA concentration after oral administration of CsA powder (A) or emulsion (Neoral®, (B)) in bile duct-ligated rats. Each point represents the mean \pm S.E. of 3 measurements. ■; sham, ○; bile duct-ligated.

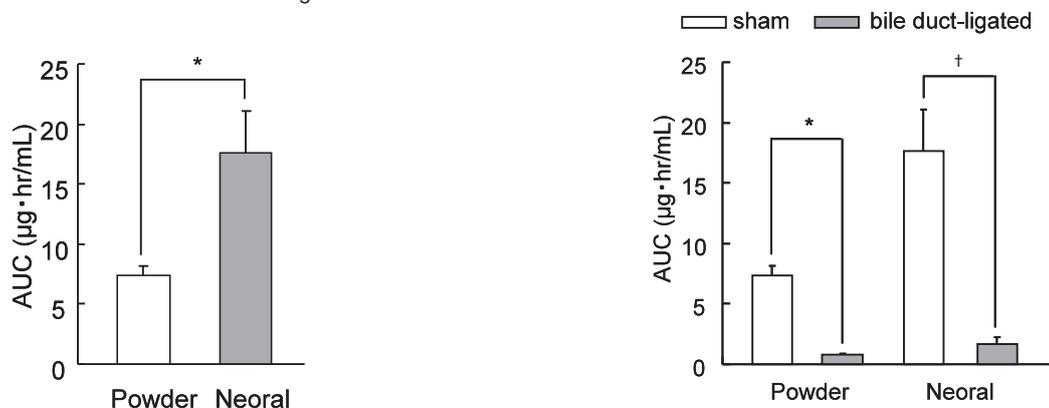


Fig. 4 Effect of emulsification on the absorption of CsA after oral administration of powder or Neoral. Each column represents the mean with S.E. of 3 measurements by the trapezoidal method. *: significantly different from the group after administration of CsA powder in rats at $p < 0.05$.

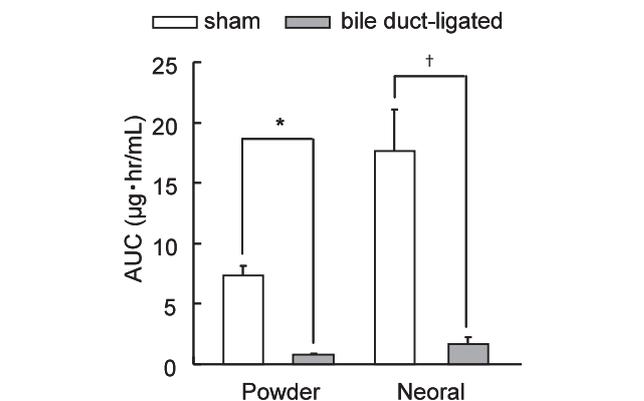


Fig. 5 Effect of bile on the absorption of CsA after oral administration of powder or Neoral. Each column represents the mean with S.E. of 3 measurements by the trapezoidal method. *: significantly different from the group after administration of CsA powder in bile duct-ligated rats at $p < 0.05$, †; significantly different from the group after administration of Neoral in bile duct-ligated rats at $p < 0.05$.

CsA の吸収においても、CoQ10 と同様に胆汁分泌が有用な役割を担っていることが示唆されたことから、吸収に及ぼす胆汁の影響を詳細に検討するために、CsA を胆汁に溶解して胆管結紮ラットに投与した。その結果、Fig.6 に示すように、Neoral 胆汁溶液を投与した胆管結紮ラットでは、Neoral 水溶液を投与した群と比較して消化管吸収が有意に増大した。血中濃度から算出した AUC

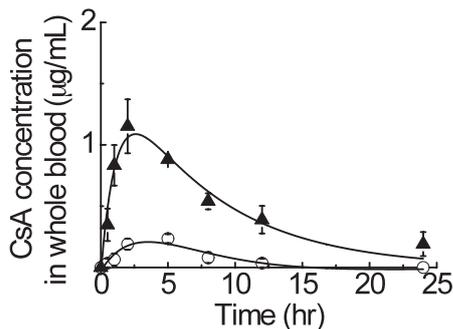


Fig. 6 Blood CsA concentration after oral administration of Neoral or Neoral with bile in bile duct-ligated rats. Each point represents the mean \pm S.E. of 3 measurements. \blacktriangle ; Neoral + bile, \circ ; Neoral.

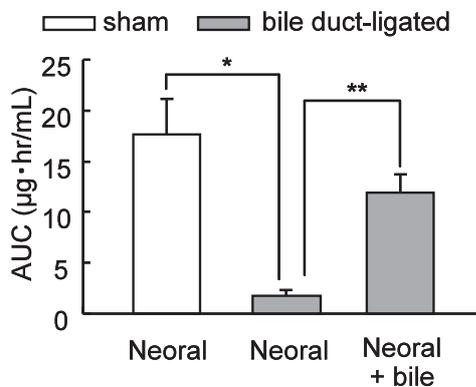


Fig. 7 Effect of bile on the absorption of CsA after oral administration of Neoral in rats. Each column represents the mean with S.E. of 3 measurements by the trapezoidal method. *; significantly different from the group after administration of Neoral in bile duct-ligated rats at $p < 0.05$. **; at $p < 0.01$.

を Fig. 7 に示した。モデルへのフィッティングによる解析結果を Table 3 に示した。

これらの結果より、CsA 乳剤においても消化管吸収に胆汁が関与していることが示唆された。CsA は原末で投与するよりも乳剤として投与した方の消化管吸収が大きかった。CsA 原末、Neoral 水溶液を投与した群では、いずれも胆管を結紮したラットの消化管吸収性が sham 群に比べて有意に低下した。したがって CsA の消化管吸収性には胆汁が関与していることが示唆された。これらの結果より乳化した製剤であっても、消化管から吸収されるには胆汁が必要であることが示唆された。

3-3. アルベンダゾール (ABZ) の消化管吸収

次に ABZ を用いて同様に検討した。ABZ は CoQ10 および CsA と同じく BCS クラス 4 に属する薬物であるが、他の二つの薬物とは物理化学的性質 (溶媒への溶解度) の点で異なっており、有機溶媒にも比較的溶け難い。

ABZ は吸収後速やかにスルホキシド体 (ABZ-SO) へと代謝されるため、吸収性の評価には血液中の ABZ-SO 濃度の測定値を用いた。24 時間絶食させたラットに ABZ の原末又は乳剤を投与した後、測定した血漿中 ABZ-SO 濃度を Fig. 8 に示した。また、モデルへのフィッティングによる解析結果を Table 4 に、台形法により解析した AUC を Fig. 9 に示した。AUC を比較すると、ABZ は乳化することで消化管吸収性は上昇するものの、胆管結紮群でも sham 群と同様の数値を示した。以上の結果より、ABZ の消化管吸収に及ぼす胆汁の影響は小さいことが示唆された。

Table 3 Pharmacokinetic parameter (Origin8.1J[®])

Dosage form		C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (hr)	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{mL}$)
Powder	sham	0.631	4.132	6.665
	bile duct-ligated	0.165	1.849	0.828
Neoral	sham	1.660	3.636	16.827
	bile duct-ligated	0.211	3.411	1.762
Neoral + bile	bile duct-ligated	1.133	2.618	11.602

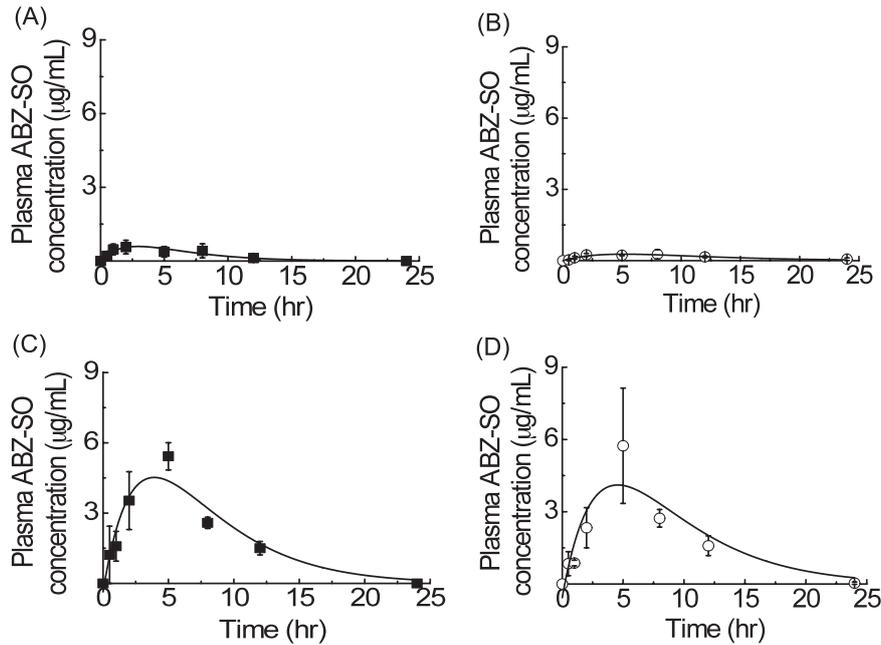


Fig. 8 Plasma concentration of profiles of ABZ-SO after oral administration of ABZ powder (A), (B) or emulsion (C), (D) in bile duct-ligated rats. Each point represents the mean \pm S.E. of 3 measurements. ■; sham, ○; bile duct-ligated.

Table 4 Pharmacokinetic parameter (Origin8.1J®)

Dosage form		C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{max} (hr)	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$)
Powder	sham	0.589	2.954	4.775
	bile duct-ligated	0.270	5.189	3.579
Emulsion	sham	4.519	3.915	46.095
	bile duct-ligated	4.109	4.564	47.197

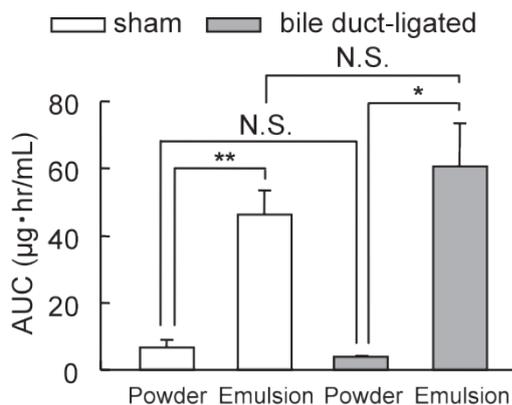


Fig. 9 Effect of bile or emulsification on the absorption of ABZ-SO after oral administration of ABZ powder or own making emulsion in bile duct-ligated rats. Each column represents the mean with S.E. of 3 measurements by the trapezoidal method. **, significantly different from the group after administration of ABZ powder in rats at $p < 0.01$, *, significantly different from the group after administration of ABZ powder in bile duct-ligated rats at $p < 0.05$, N.S.; not significant.

3-4. 薬物の溶解度測定

各薬物 1g の溶解に必要な溶媒量は Table 5 に示した通りであった。いずれの薬物も水への溶解度は非常に低く、10000mL 以上を必要とした。一方、有機溶媒への溶解度をみると、CoQ10 と CsA がジエチルエーテル、クロロホルムいずれにも溶けやすいのに対し、アルベンダゾールはこれらの有機溶媒にも溶け難いことが明らかとなった。

4. まとめ

水への溶解性が低い化合物である CoQ10、CsA、ABZ においては、乳剤化により消化管吸収が改

Table 5 Drug solubility (volume required to dissolve 1 g of each compound (mL))

	CoQ10	CsA	ABZ
Water	10000<	10000<	10000<
Diethyl ether	2	1.2	9400
Chloroform	<1	<1	600

善されることが示唆された。したがって、化合物の乳剤化による消化管吸収性への影響は水への溶解性と関連していることが考えられる。小腸管腔の膜表面近傍には非攪拌水層と呼ばれる水相が存在するため、難水溶性の化合物の消化管吸収における律速段階が脂溶性に富む細胞膜内の拡散よりも、非攪拌水層での拡散にあることが知られている⁶⁾。すなわち、乳化することで難溶性の物質は水溶性のミセルを形成するために非攪拌層を容易に通過できると考えられる。

また有機溶媒への溶解性が高い化合物であるCoQ10、CsAでは胆汁により消化管吸収が増大した。一方、有機溶媒への溶解性が低い物質であるABZでは消化管吸収に胆汁の影響はほとんど認められなかった。したがって、物質の消化管吸収に及ぼす胆汁の影響は有機溶媒への溶解性と関連していることが考えられる。今後、種々の化合物を用いた検討により、乳剤に適した物質の物理化学的性質の共通性を明らかにすることにより、各種機能性食品成分に適した製剤の選択が可能になると考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大なる研究助成を賜りました財団法人浦上食品・食文化振興財団並びに関係各位に心から感謝を申し上げます。

文 献

- 1) Tomsic M, Podlogar F, Gasperlin M, Bester-Rogac M, Jamnik A. Water-Tween 40/Imwitor 308-isopropyl myristate microemulsions as delivery systems for ketoprofen: small-angle X-ray scattering study. *Int J Pharm.* 327:170-7 (2006).
- 2) Tenjarla S. Microemulsions: an overview and pharmaceutical applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 16:461-521 (1999).
- 3) Bagwe RP, Kanicky JR, Palla BJ, Patanjali PK, Shah DO. Improved drug delivery using microemulsions: rationale, recent progress, and new horizons. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 18:77-140 (2001).
- 4) Yu LX, Amidon GL, Polli JE, Zhao H, Mehta MU, Conner DP, Shah VP, Lesko LJ, Chen ML, Lee VH, Hussain AS. Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. *Pharm. Res.* 19:921-925 (2005).
- 5) Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* 12:413-20 (1995).
- 6) 辻 彰. 新薬剤学 (南江堂) 14-15 (2002).

Pharmaceutical approach for improvement of oral absorption of functional food components

Mitsuru Sugawara

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Hokkaido University

The aim of this study is to develop the preparations that improve oral absorption of the functional food components those belong to BCS (Biopharmaceutics Classification System) class 4. We focused on emulsified preparations and the effect of bile secretion on their absorption.

Powders and emulsified preparations of coenzyme Q10, albendazole, and cyclosporine A were administered to rats orally. Blood was collected several times up to 24 hours after administration and drug concentrations in whole blood (cyclosporine A) or plasma (coenzyme Q10 and albendazole) were determined using HPLC. When the effect of bile secretion on the absorption was tested, bile duct was ligated before administration.

Oral absorption of emulsion of coenzyme Q10, cyclosporine A, albendazole increased compared with original powder. The enhancement of the absorption of coenzyme Q10 and cyclosporine A by emulsification was suppressed when bile duct was ligated. On the other hand, absorption of emulsified preparations of albendazole was not affected by bile duct ligation. Coenzyme Q10 and cyclosporine A are insoluble for water, but very soluble for organic solvent. On the other hand, albendazole is insoluble for both water and organic solvent. The difference in physicochemical property of the drugs might be one of indexes if intestinal absorption of the emulsified preparations is affected by bile secretion.

Emulsification is one of a good method to improve oral absorption of the functional food components belong to BCS class 4. Physicochemical property might be used as an index for the effect of bile secretion on the absorption.