

<平成24年度助成>

機能性食品成分クルクミンの生体内有用性向上を 目的とした吸収改善理論の確立

佐藤 夕紀

(北海道大学大学院薬学研究院)

1. 序 論

近年、我が国は、生活様式の多様化や食の欧米化に起因する糖尿病や脂質異常症をはじめとする生活習慣病の増加、高度高齢社会の進行などにより国民医療費が年々高騰している。これらの社会的背景から国民の健康の保持・増進のための様々な政策が提起されるとともに、「予防医療」の重要性が喚起されている。この予防医療の高まりを受け、体調調節作用、疾病予防を目的とした食品成分に関する研究が広く行われており、その成果を反映した多様な機能性食品が開発、利用されている。しかしながらこのような機能性食品成分は、元来、食品であるがゆえに詳細な体内動態解析が行われていないものが多く、適正な使用法、効率的な摂取法などの科学的根拠は十分とは言い難い。

経口摂取された機能性食品成分がその作用を発揮するには、機能分子が標的部位に適切な濃度で存在する必要がある。消化管からの吸収は、それらの成分が体内に入る第一段階であり、製剤からの溶出、溶解、および消化管膜透過の過程から成る。また、消化管吸収は、その成分の水相や有機相への溶解性や解離度、極性などの物理学的特性の影響や、取り込み系、あるいは排出系トランスポータをはじめ、生体の有する様々な動態関連因子により制御されている。

1995年に、薬物の溶解性と膜透過性の大小によって、薬物を4つのクラスに分類する「Biopharmaceutics classification system (BCS)」という概念が提唱され¹⁾、消化管吸収過程におけ

る律速段階の推定が可能となり、医薬品をはじめとする製剤開発に大きく貢献した^{2,3)}。このうち、BCSクラス4に属する物質は、水への溶解性、膜透過性がともに低く、一般的に経口吸収率が低いこと、投与量を増やしても十分な血漿中濃度が得られないことなどが知られている。このような低い経口吸収率を改善するために、何らかの製剤学的工夫が求められており、乳剤や可溶化製剤など様々な製剤化に関する検討が広く行われている。乳剤化は、薬物の吸収改善のための手段として用いられ、当研究室でもこれまでに、BCSクラス4に相当するルテインや、コエンザイムQ10のバイオアベイラビリティはそれぞれ10%未満と非常に低いが、その吸収率を乳剤化によって改善できることを明らかにしている^{4,5)}。他の物質においてもこのような物性を示す成分は、乳剤化により吸収改善できる可能性がある。クルクミンは、主にウコンに含まれる機能性食品成分であり、溶解性が低く、経口吸収率も1%程度と非常に低いことが報告されており、効率的な利用のためには、吸収改善が課題となる⁶⁾。クルクミンの吸収改善については、いくつか報告があるものの、製剤学的な観点から理論的に系統立てて検討している例は少なく、これらのことが明らかになれば、他の物質の乳剤化の際の「処方設計」として応用できる可能性があると考えた。

そこで本研究では、低吸収性を示す機能性食品成分クルクミンに着目し、根拠に基づく吸収改善理論を構築することを目的とした。

2. 実験方法

2-1. 製剤の調製

これまでに当研究室により難水溶性物質の経口吸収性が改善することが示されている乳剤組成⁷⁾ (oil/surfactant/co-surfactant/water = 10.8/21.5/21.5/46.2 (wt%)) を standard emulsion として調製した。

Standard emulsion は、オイル成分にイソプロピルミリスチン酸 (IPM) を、界面活性剤成分に Tween 80 (Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monooleate, Polysorbate 80) を、補助界面活性剤成分にプロピレングリコール (PG) を用い、水として 50 mM phosphate buffer (pH 6.0) を用いた。まず、クルクミン 10 mg をオイルに加え、界面活性剤、補助界面活性剤を加えて強く攪拌した後、30分間超音波処理により溶解させた。その後、ヒートブロックを用い、完全に溶解するまで加熱した。その後、水を加えて強く攪拌し乳剤とした。

さらに、standard emulsion から一部組成を変更して検討した。各乳剤のオイル成分には IPM を、界面活性剤成分には Tween 80 のほか、Tween 20 (Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monolaurate, Polysorbate 20)、Tween 85 (Polyoxyethylene (20) Sorbitan Trioleate, Polysorbate 85)、Cremophor EL、また補助界面活性成分として PG のほか、Transcutol P (2-(2-Ethoxyethoxy) ethanol)、PEG (polyethylene glycol)-400、イソプロパノール、

グリセリンを用い、それぞれの成分比は standard emulsion と同様とした。各乳剤の組成一覧は、Table 1 に示す通りである。

また、比較のために懸濁液を調製することとし、懸濁化剤として 0.5% METOLOSE[®] (ヒプロメロースとメチルセルロースの混合物) を用いた。80°C 程度に加熱した蒸留水に METOLOSE[®] を 0.5% となるよう攪拌しながら加え、均一に分散させた。メチルセルロースは低温の方が水への溶解性が高いため、この段階で加熱をやめ、攪拌し続け、おおよそ室温になったところで、さらに氷冷下において一晩攪拌を続けた。これを用いて、クルクミン原末 100 mg を分散させて調製し、懸濁剤とした。

2-2. ラットへの投与方法

雄性 Wistar ラット (7-9 週齢) を一晩 (14-16 時間) 絶食後、ジエチルエーテルで予備麻酔し、ケタミン 6.25 mg/100 g weight、ミダゾラム 375 µg/100 g weight を腹腔内投与して麻酔した後、頸部を一部切開して頸静脈を露出させた。静脈内投与の場合は、standard emulsion を成分量として、10 mg/kg weight となるように 1 mL/kg weight とした製剤を頸静脈より投与した。経口投与は、各製剤を成分量として懸濁剤は 100 mg/kg weight、standard emulsion は 10 mg/kg weight となるように、1 mL/kg weight とした製剤を胃ゾンデ法により強制的に投与した。

Table 1. 各乳剤の組成一覧

Formulation	Oil	Surfactant	Co-Surfactant	Water
Standard	IPM	Tween 80	PG	50 mM Phosphate buffer (pH 6.0)
Tw20		Tween 20		
Tw85		Tween 85		
CrEL		Cremophor EL		
TcP		Tween 80	Transcutol P	
PEG			PEG-400	
Isp			Isopropanol	
Gly			Glycerin	
Volume ratio (wt %)	10.8	21.5	21.5	46.2

2.3. 血漿サンプルの採取法

麻酔後、解剖台に固定したラットの頸部を一部切開し、頸静脈を露出させ、経時的に頸静脈より血液を約500 μ Lずつ採取した。なお、静脈内投与の場合は、投与した血管と逆側の血管から採血した。採取した血液は直ちに微量のヘパリンナトリウムと混和し、750 \times g、10分間、4 $^{\circ}$ Cにて遠心分離し、上清を200 μ L分取し、これを血漿としてサンプルを得た。なお、血漿サンプルは1%ギ酸を25 μ L加えて、測定まで-20 $^{\circ}$ Cにて保存した。

2.4. クルクミンの濃度測定法

クルクミンの測定は、scheme 1 に示す通り抽出操作を行い、Table 2 に示す条件でHPLCにより定量した。

2.5. 動態学的パラメータの算出

Origin[®] 9.0を用い、1-コンパートメントモデルによって血中薬物濃度を解析して、 C_{max} 、 T_{max} 、 k_a のパラメータを得た。解析に用いた式をEq. 1に示した。また、台形法によりAUC_{0-12h}を算出した。算出したAUC_{0-12h}と投与量からEq. 2の式を用いて、懸濁剤、standard emulsionそれぞれの絶対的バイオアベイラビリティを算出した。

$$\text{Eq. 1: } C = \frac{k_a FD}{V_d(k_a - k_e)} (e^{-k_e t} - e^{-k_a t})$$

$$\text{Eq. 2: Absolute bioavailability} = \frac{AUC_{po}/D_{po}}{AUC_{iv}/D_{iv}}$$

Scheme 1. クルクミンのHPLCサンプル調製手順

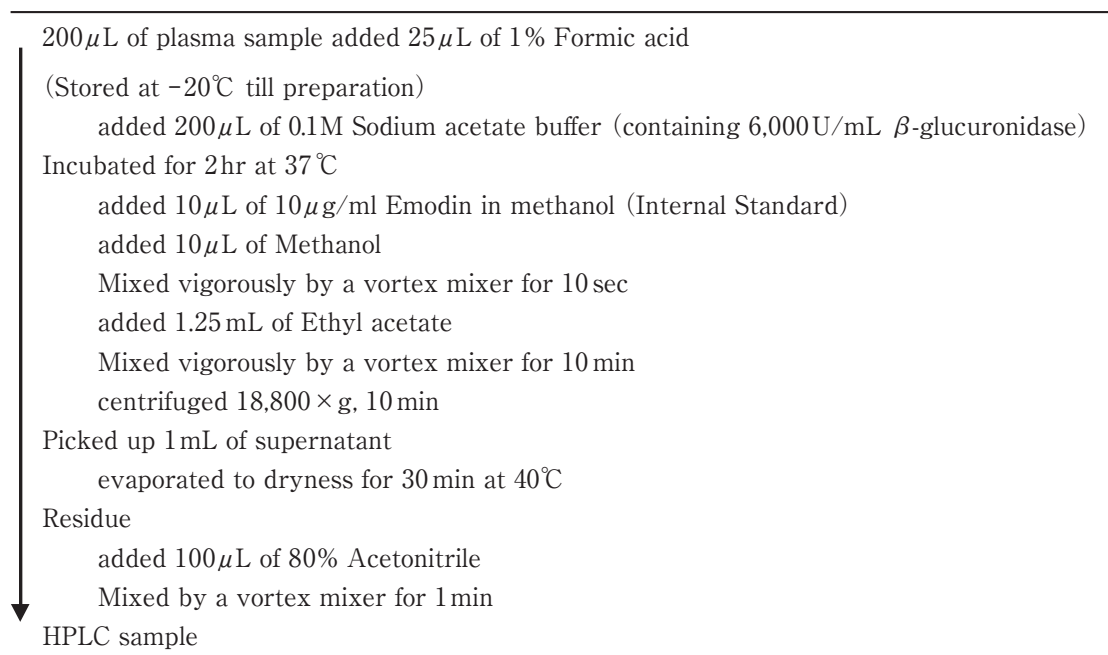


Table 2. クルクミンのHPLC条件

Column	ERC-ODS-1161 (3 μ m, ϕ 6.0 \times 100 mm)
Eluent	Acetonitrile:Tetrahydrofuran:Distilled Water = 35:20:45 (0.1% Formic acid)
Wavelength	425 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Column Temperature	40 $^{\circ}$ C
Injection Volume	20 μ L

2-6. 乳剤の胃内モデルにおける物理化学的安定性の評価 (粒子径の変動)

2-1.にて調製した各種乳剤をしばらく静置した後、日本薬局方16改正の溶出試験第1液 (模擬胃液) で5倍に希釈したものを胃内モデルとして物理化学的安定性の評価に用いた。2-2. 各種乳剤の粒子径測定は Zetasizer Nano ZS (Malvern Inc.) により動的光散乱法を用いて、測定プログラムは “size-small-vol-cell × 1.SOP” にて行った。サンプル量は 100 μ L とし、乳剤調製直後と静置して1時間後に測定し、乳剤の経時的な粒子径変化を評価した。なお、溶出試験第1液の組成は、Table 3 に示す通りである。

Table 3. 溶出試験第1液の組成

NaCl	2.0 g
HCl	7 mL

diluted to 1L

The pH was adjusted to 1.2 using 1M HCl

2-7. 各種乳剤の腸内消化モデルにおける薬物溶解性の評価

消化モデルにおける検討は、Cuinéらの方法⁸⁾に若干の改良を加えて行った。Table 4の組成に従い、digestion bufferを調製した。Digestion buffer 35 mLを攪拌しながら 37°C に維持し、4 mLの Pancreatin extract (3,000 TBU/mL) を加えた。Pancreatin extract は Pancreatin powder 1g を 5 mLの Digestion bufferに加えて振盪機で15分間振盪した後、1,600 \times g、15分間、5°Cにて遠心分離して得られた上清を用いた。

Pancreatin extract 添加後、0.2M NaOHを用いてpH7.5、37°Cに維持したものを腸内消化モデルとし、各種乳剤1mLを加え、消化を開始した。酵素消化中はpHの低下が見られるため、0.2M NaOHを用いてpH7.5に維持した。5, 10, 15, 30, 45, 60分間で1mLのサンプルを回収し、代わりにdigestion buffer 1mLを補充した。回収したサンプルは直ちに脂肪分解阻害剤として0.5M

4-Bromophenylboronic acid in methanolを9 μ L 加え、転倒混和した。サンプルを 21,500 \times g、30分間 37°Cにて遠心分離後、水層から50 μ Lを分取し、アセトニトリル 400 μ L、内標準物質のアセトニトリル溶液 (50 μ g/mL Emodin) を50 μ L 加えて強く攪拌した。これを 18,800 \times g、10分間、4°Cにて遠心分離し、上清を測定サンプルとして Table 2に示す条件でHPLCにより測定を行い、水層における薬物溶解率を算出し、各種乳剤の腸内消化モデルにおける溶解性を評価した。なお、digestion bufferの組成は、Table 4に示す通りである。

Table 4. Digestion Bufferの組成

Tris-maleate	50 mM
NaCl	150 mM
CaCl ₂ ·2H ₂ O	5 mM
Sodium Taurocholate	5 mM
Phosphatidylcholine	1.25 mM

The pH was adjusted to 7.5

3. 結果および考察

3-1. クルクミンの乳剤化による経口吸収性改善の評価

懸濁剤投与の場合と比較して、standard emulsionの投与後のクルクミン血漿中濃度は大幅に増大した (Fig. 1)。定量的な限界もあり、懸濁剤の場合の投与量は 100 mg/kg weightとして検討したが、standard emulsionの投与量が 10 mg/kg weightであることを踏まえると、劇的に吸収性が改善していると考えられる。また、得られた血漿中濃度推移から動態学的パラメータを算出した (Table 5)。Fig. 1から示されるようにAUC_{0-12h}、C_{max}が共に増大した。乳剤化することによりT_{max}が減少したが、懸濁剤投与の場合は、クルクミンが消化管等で溶解するのに時間を要する一方で、standard emulsionは既に可溶化しており素早く吸収されたことで、T_{max}が減少したと考えられる。

また、standard emulsionの静脈内投与を行い、算出された AUC_{0-12h} から懸濁剤とstandard emulsionの絶対的バイオアベイラビリティを算出した (Table 6)。懸濁剤投与群のバイオアベイラビリティは0.99%で、過去のデータとほぼ一致しており、妥当性が示された⁶⁾。しかしばらつきが大きいことなどから、ラットにおいて経口吸収されたクルクミンは小腸上皮や肝臓で抱合を受け、その多くがグルクロン酸抱合体として血漿中

に存在するため、抱合体とアグリコンの分布速度の差の影響により、絶対的バイオアベイラビリティを正確には評価できていない可能性も考えられる。また、相対的バイオアベイラビリティとして、standard emulsion投与群は、懸濁剤投与群の63.4倍のバイオアベイラビリティを示した。これらのことから、クルクミンを乳剤化することでバイオアベイラビリティが改善することが示唆された。

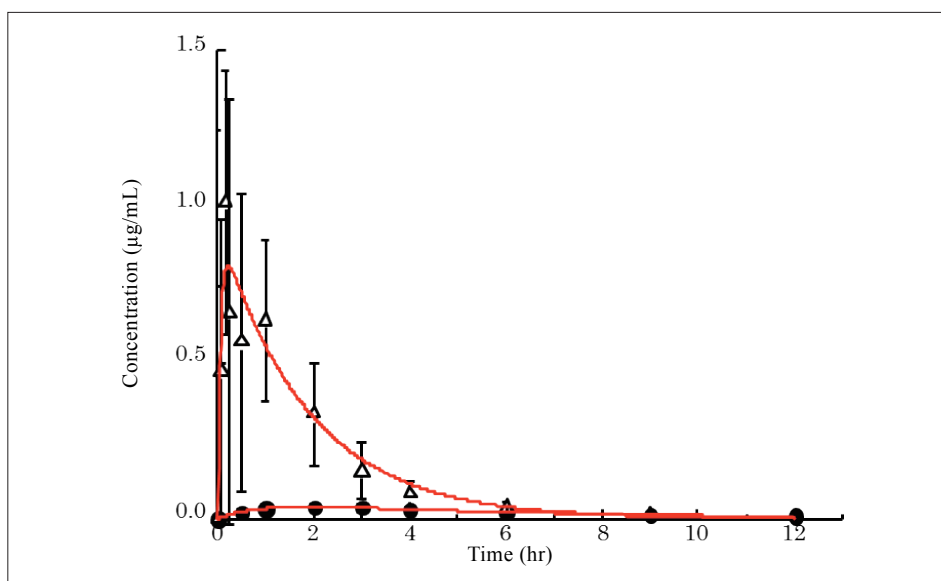


Fig. 1. Plasma concentration of curcumin after oral administration of suspension and standard emulsion to rats

Closed symbols (circles) show the suspension group (100 mg/kg weight). Open symbols (triangles) show the standard emulsion group (10 mg/kg weight). All rats were fasted for 14-16 hr before the experiments. Each point represents the mean with S.D. of 3-5 measurements.

Table 5. クルクミン懸濁剤と乳剤経口投与時の動態学的パラメータ

Formulation	AUC_{0-12h}^* ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	C_{\max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{\max} (hr)	k_a^{**} (/hr)
Suspension	0.26 ± 0.026	0.04	1.9	1.10 ± 0.11
Standard emulsion	1.65 ± 0.80	0.81	0.2	16.5 ± 8.9

Dose of suspension group was 100 mg/kg weight and that of standard emulsion was 10 mg/kg weight. The parameter of AUC_{0-12h} represents the mean with S.D. of 3-5 measurements. Parameters of C_{\max} and T_{\max} were showed as the average calculated by Origin[®] 9.0J. The parameter of K_a represents the mean with S.E. of 3-5 measurements.

Table 6. クルクミン製剤のバイオアベイラビリティ

Formulation	Dose (mg/kg weight)	AUC_{0-12h} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	Bioavailability (%)
Suspension	100	0.26 ± 0.03	0.99
Standard emulsion	10	1.65 ± 0.80	62.8
i.v.	10	2.62 ± 1.19	100

3.2. クルクミン乳剤の構成成分の変化による経口吸収性への影響

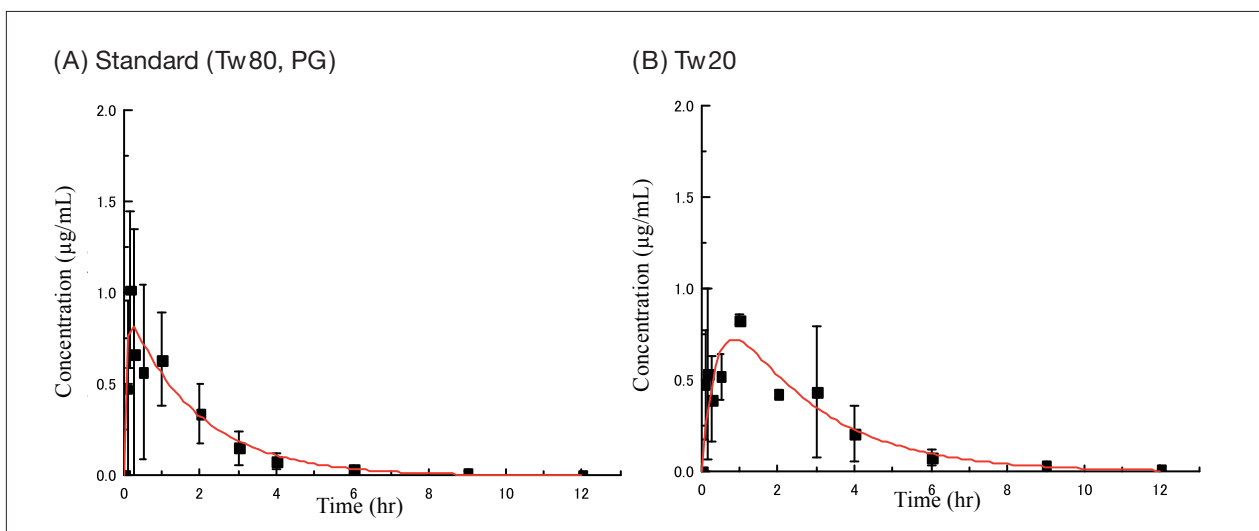
乳剤化によりクルクミンの経口吸収が改善することが示されたため、続いて乳剤の構成成分に着目し、どのような成分が効率よく吸収を改善するのかについて検討を行うこととした。なお、今回は standard emulsion とオイル、界面活性剤、補助界面活性剤および水の組成比は同一とし、そこから一部分を変更した場合の血漿中濃度に与える影響を検討した。

その結果、全ての乳剤組成で、standard emulsion (Standard) と同様にクルクミンのバイオアベイラビリティが改善した。改善の程度に差はあるものの、Standard と比較して AUC_{0-12hr} が有意に変化したものは見られなかった。しかし、Tw20 と CrEL はばらつきが大きいものの静脈内投与後の AUC_{0-12hr} に対して 90% 以上を示しており、静脈内投与時の AUC_{0-12hr} もかなり大きくばらついているため 90% 以上という値は正確ではないと思われるが、バイオアベイラビリティの改善としては十分達成できたと考えられる。

さらに界面活性剤の親水性を表す HLB (hydrophile lipophile balance) 値に着目した。Tween 系の界面活性剤を用いた乳剤中の Tween 80 (Standard)、Tw20、Tw85 の HLB 値は、それぞれ、15.0、16.7、11.0 である。これを比較する

と、HLB 値が大きい界面活性剤ほど AUC_{0-12hr} が増大する傾向が見られた (Fig. 2 (A-C), Fig. 3 (A))。HLB 値が高い界面活性剤ほど親水性が高いため、乳剤が吸収の際に小腸上皮の非攪拌水層への移行性が向上することで AUC_{0-12hr} が増大した可能性が考えられる。しかし、非 Tween 系界面活性剤である CrEL の HLB 値は 14.0 であり、Tween 系界面活性剤を用いた場合の傾向に当てはまらないため、バイオアベイラビリティを界面活性剤の HLB 値単独で予測するのは難しいと思われる。また、Fig. 3 (A) に示されるように、Standard と比較し AUC_{0-12hr} の増大が見られた Tw20・CrEL・PEG に関して、CrEL は C_{max} の増大が、Tw20・PEG は T_{max} の遅延が見られたことが AUC_{0-12hr} の増大に関与していることが考えられる (Fig. 3 (C, D))。

続いて、補助界面活性剤に着目して、StdE (PG)・TcP・PEG・Isp・Gly で比較した場合、Standard に用いている PG、また Gly に用いているグリセリンは化学構造的に水素結合供与性が高い溶媒であるため、水素結合受容性を示すクルクミンの補助界面活性剤に対する親和性が動態学的パラメータに影響を及ぼしている可能性が考えられたが、水素結合受容性・供与性の順列と各パラメータの順列は一致せず、水素結合性と動態学的パラメータの直接的な相関性は見られなかった。



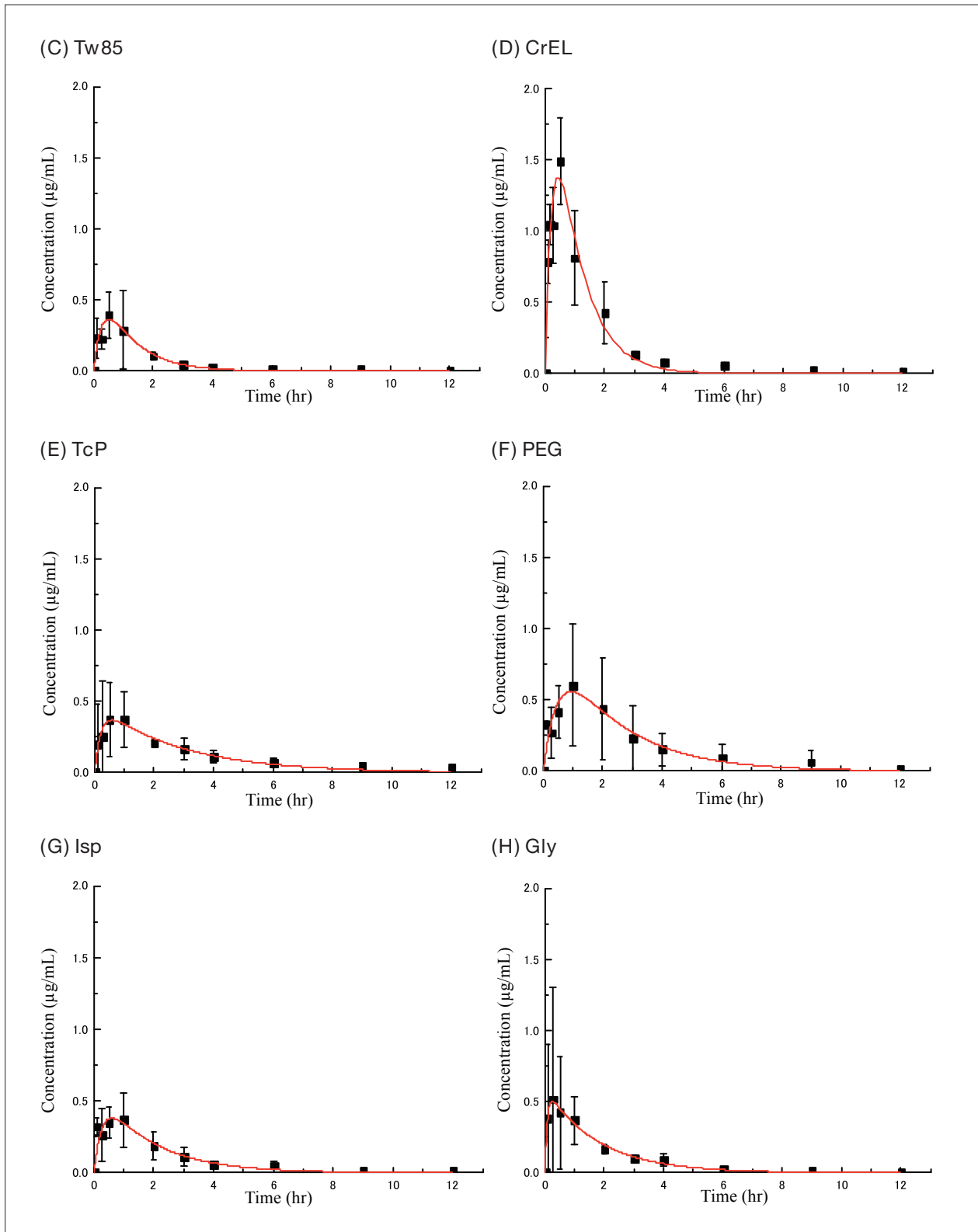


Fig. 2. Plasma concentration of curcumin after oral administration of various emulsions to rats. All rats were fasted for 14-16 hr before the experiments. Curcumin (10 mg/kg weight) as an emulsion was administered orally to rats. Each component ratio of various emulsions was oil/surfactant/co-surfactant/water = 10.8/21.5/21.5/46.2 (wt%). Detailed composition of each emulsion was shown in Table 1. Each point represents the mean with S.D. of 3-5 measurements.

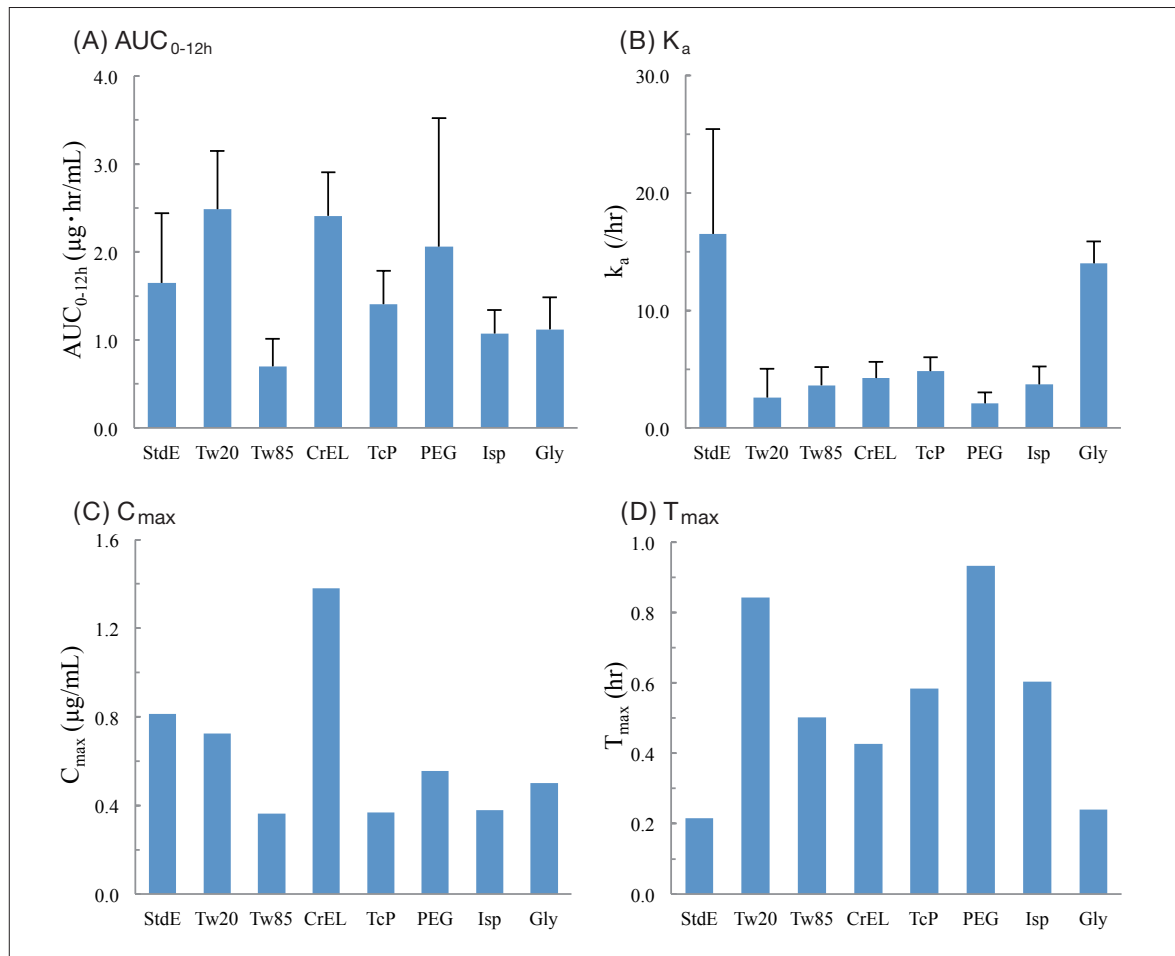


Fig. 3. Pharmacokinetic parameters of orally administered various curcumin emulsion. Each parameter (AUC , K_a , C_{max} and T_{max}) was calculated from plasma concentrations' curve (Fig. 2). Detailed composition of each emulsion was shown in Table 1. Each column of A (AUC_{0-12h}) represents the mean with S.D. of 3-5 measurements. Each column of B (K_a) represents the mean with S.E. of 3-5 measurements. Parameters of C and D (C_{max} and T_{max}) were showed as the average calculated by Origin®9.0J.

3.3. 各種乳剤の胃内モデルにおける粒子径による物理学的安定性の評価

これまでに乳剤を用いて、クルクミンの吸収が増大することが示されたため、乳剤自体の物理化学的性質や *in vitro* における乳剤の挙動を評価することで、*in vivo* における吸収性の結果に相関性が見られるか否かを検討することとした。

模擬胃液によって希釈した乳剤の粒子径の比較グラフを Fig. 4 に示した。その結果、いずれの乳剤も数百 nm 以下の粒子径を示し、Tw85・CrEL・PEG・Gly など、マイクロエマルション (粒子径 100 nm 以下) の形態を示す乳剤も見られた。希釈前の乳剤の粒子径の大小と希釈後の乳剤の粒

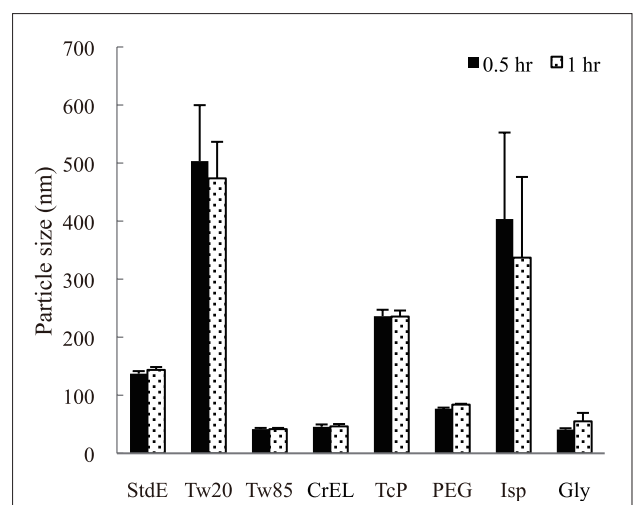


Fig. 4. Particle size of curcumin emulsion in intragastric model. Simulated gastric fluid (pH 1.2) was put to each emulsion to dilute by 5 times. Particle sizes were measured by Marvern Nano ZS 30 min and 1 hr after preparation. Detailed composition of each emulsion was shown in Table 1. Each column represents the mean with S.D. of 3 measurements.

子径の大小は一致している。強酸である模擬胃液を用いた胃内モデルにおける粒子径は、乳剤自体の粒子径同様、乳剤同士の比較に明らかな相関性が見られないことが示された。

3.4. 各種乳剤の腸内消化モデルにおける薬物溶解性の評価

続いて、Cuinéらの方法⁸⁾に若干の改良を加え、腸内における乳剤自体の物理化学的性質を把握することとした。その結果、界面活性剤・補助界面活性剤の違いにより、クルクミンの溶解挙動に大きな差が見られた (Fig. 5)。Tw20やTw85は60分の時点で腸液中に溶解しているクルクミンが投与量の50%まで減少していることが示された。この結果のみでは、消化管内での溶解性が減少したことで吸収性が低下することが考えられるが、経口投与時の結果とは一致しなかった。また、乳剤のクルクミン溶解性と今回の結果に相関性が見られるかどうかを検討したが、60分間で溶解率が明らかに低下しているTw20・Tw85・Isp・Glyの内、Tw20・Tw85・IspはStandardと比較して乳剤のクルクミン溶解性が低いという傾向は見られたものの、相関性は確認されなかった。また、界面活性剤・補助界面活性剤の物理化学的性質とも明らかな相関性は見られなかった。

4. まとめ

本研究では、BCSクラス4に相当する機能性食品成分クルクミンの根拠に基づく吸収改善理論を構築することを目的として、乳剤化に焦点を当て種々検討を行った。IPM (oil) / Tween 80 (surfactant) / PG (co-surfactant) / 50mM Phosphate buffer (pH6.0) (water) = 10.8/21.5/21.5/46.2 (wt%) という組成により乳剤化した結果、原末製剤である懸濁剤と比較して、クルクミンは63.4倍のバイオアベイラビリティを示した。更に、クルクミンは界面活性剤に Tween 20やCremophor ELを用いた乳剤では静脈内投与後に対して良好なAUC_{0-12hr}を示し、十分にバイオアベイラビリティが改善されたと考えられる。これらの結果から、乳剤化によりクルクミンをはじめとするBCSクラス4に属する物質のバイオアベイラビリティを改善できることが示唆された。しかし、界面活性剤のHLB値や補助界面活性剤の水素結合受容性・供与性、あるいは乳剤成分の物理化学的性質とAUC_{0-12hr}などの動態学的パラメータの間に相関性は見られず、乳剤成分から直接、バイオアベイラビリティの改善の程度を予測することは難しいことが示唆された。

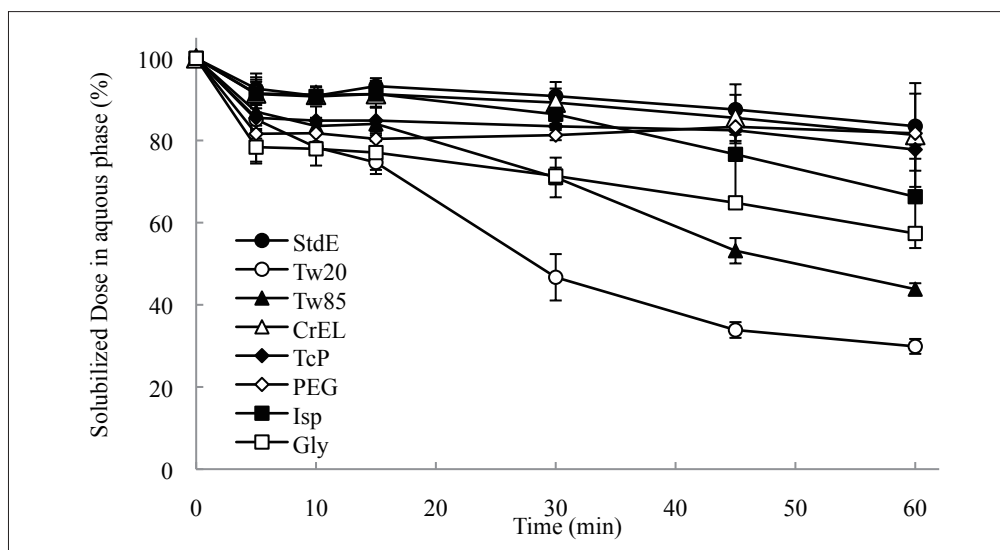


Fig. 5. Solubilisation profile of curcumin in aqueous phase during *in vitro* digestion of various emulsions. Solubility of curcumin in aqueous phase was measured by an HPLC method every 10min. The initial dose of curcumin was set to be 100%. Detailed composition of each emulsion was shown in Table 1. Each point represents the mean with S.D. of 3 measurements.

さらに、検討した乳剤に関して、粒子径や薬物可溶性などの乳剤物性や、消化管内モデルを用いて *in vitro* における胃内粒子径や腸内薬物溶解性を評価した。しかし、いずれにおいても *in vivo* における AUC_{0-12hr} などの動態学的パラメータとの明らかな相関性は見られなかった。このことから、異なる乳剤成分を用いた組成間の比較において、乳剤成分の物理化学的性質、乳剤物性、消化管モデルにおける乳剤挙動から、それぞれの乳剤成分がバイオアベイラビリティに与える影響を予測することは難しいことが示唆された。今後、既存の乳剤と比較した場合、吸収性はどの程度なのか、また、構成成分の安全性なども考慮に入れて更なる検討を続ける予定である。

謝 辞

本研究にあたり、多大なる研究助成、ご支援を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団、ならびに関係の皆様から心から感謝申し上げます。また、粒子径の測定に際して、測定機器に関する御指導、御協力を賜りました北海道大学大学院薬学研究院 原島秀吉先生、山田勇磨先生に厚く御礼申し上げます。本研究の遂行には、北海道大学薬学部 星山博俊氏のご努力に負うところが大きく、この場を借りてそのご尽力に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Amidon G. L., Lennemas H., Shah V. P., Crison J. R., A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm. Res.*, 12, 413-420 (1995).
- 2) Yu L. X., Amidon G. L., Polli J. E., Zhao H., Mehta M. U., Conner D. P., Shah V. P., Lesko L. J., Chen M. L., Lee V. H., Hussain A. S., Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. *Pharm. Res.*, 19, 921-925 (2002).
- 3) Wu C. Y., Benet L. Z., Predicting drug disposition via application of BCS: transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. *Pharm. Res.*, 22, 11-23 (2005).
- 4) Sato Y., Kobayashi M., Itagaki S., Hirano T., Noda T., Mizuno S., Sugawara M., Iseki K., Pharmacokinetic properties of lutein emulsion after oral administration to rats and effect of food intake on plasma concentration of lutein. *Biopharm. Drug Dispos.*, 32, 151-158 (2011).
- 5) Ochiai A., Itagaki S., Kurokawa T., Kobayashi M., Hirano T., Iseki K., Improvement in intestinal coenzyme Q10 absorption by food intake. *Yakugaku Zasshi*, 127, 1251-1254 (2007).
- 6) Yang K. Y., Lin L. C., Tseng T. Y., Wang S. C., Tsai T. H., Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *Curcuma longa* by LC-MS/MS. *J. Chromatogr. B*, 853, 183-189 (2007).
- 7) Sato Y., Mutoh H., Suzuki M., Takekuma Y., Iseki K., Sugawara M., Emulsification using highly hydrophilic surfactants improves the absorption of orally administered coenzyme Q10. *Biol. Pharm. Bull.*, 36, 2012-2017 (2013).
- 8) Cuin  J. F., Charman W. N., Pouton C. W., Edwards G. A., Porter C. J., Increasing the proportional content of surfactant (Cremophor EL) relative to lipid in self-emulsifying lipid-based formulations of danazol reduces oral bioavailability in beagle dogs. *Pharm. Res.*, 24, 748-758 (2007).

Pharmaceutical study for improvement of intestinal absorption of curcumin, a functional food component

Yuki Sato

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University

Preventive medicine and anti-aging medicine have received much attention recently due to increases in the proportion of elderly people in the population and patients with lifestyle diseases. Oxidative stress is involved in the onset of lifestyle diseases, and various antioxidant supplements and antioxidant-fortified functional foods have recently become available. We previously reported that the bioavailability of functional food components lutein and Coenzyme Q10 which belong to BCS (biopharmaceutics classification system) 4 was less than 10% and their bioavailability was improved by administration of emulsion. We focused on curcumin with property similar to them and studied effective preparation of emulsion formulation to improve oral absorption.

Suspension and various emulsions of curcumin were prepared and orally administered. Final composition ratio of the emulsion was oil/surfactant/co-surfactant/water = 10.8/21.5/21.5/46.2 (wt%). Blood was collected several times up to 12 hours after administration and plasma concentration of curcumin was determined by an HPLC. To analyze pharmacokinetic parameters of curcumin, data sets were fitted by a one-compartment model by Origin 9.0J[®]. To confirm the physical properties of each emulsion, simulated gastric fluid (pH 1.2) in intragastric model was put to each emulsion to dilute by 5 times and particle sizes were measured by Marvern Nano ZS 30 min and 1 hr after preparation. The solubility of curcumin in aqueous phase in digestion model was measured by an HPLC method every 10 min.

Absorption of curcumin was significantly improved by emulsification compared with suspension. An emulsion is composed chiefly of water, oil and surfactants, and solubilizing agents and co-surfactants are also used. We next focused on components of the emulsion formulation and investigated the mechanism of improvement in intestinal absorption by emulsification in order to obtain new insights for pharmaceutical design. The clear correlation between physical properties of the emulsion and pharmacokinetic parameters such as AUC, C_{\max} , T_{\max} and K_a was not shown in this study.

We also evaluated the physical properties (particle size and the solubility in aqueous phase) of curcumin emulsion using *in vitro* intragastric model and digestion model. However, the correlation between *in vivo* pharmacokinetic parameter and physical properties, *in vitro* digestion model was not confirmed. These results suggested that it is difficult to predict the absorption of emulsion formulation using one physical parameter in comparison with various emulsions composed of different kinds of surfactant or co-surfactant. Further investigations are needed to establish of the evidence of more efficient emulsion formulation of curcumin including the safety of each component.