

<平成26年度助成>

## 高吸収性クルクミン食品開発のための 新規水溶性ナノ複合体の設計および安定化に関する研究

戸塚 裕一

(大阪薬科大学薬学部製剤設計学研究室)

### 背景・目的

ポリフェノール的一种である Curcumin (CUR) は、抗酸化作用や抗炎症作用など多数の魅力的な薬理作用を有する化合物であり、サプリメントのみならず医薬品としての応用も期待されている<sup>1)</sup>。しかし、CURは水への溶解度が1 $\mu$ g/mL未満と極めて低く、経口摂取後の生体内への吸収は非常に限られている。更に、CURは中性以上のpH領域において速やかに加水分解を受けるため、小腸のpH環境下においての化学的安定性が低いことも知られている<sup>2)</sup>。このようにCURをはじめとしたポリフェノール類の中には非常に魅力的な薬理作用を有し、セルフメディケーションの中核を担う可能性のある化合物が存在するため、機能性向上を目指した基礎研究での新たなチャレンジが急務と考えられる。我々はこれまでの研究で、HesperidinやRutinを酵素処理することで、糖を付加した糖転移化合物( $\alpha$ -glucosyl hesperidin (Hesperidin-G)及び $\alpha$ -glucosyl rutin (Rutin-G))が難溶性化合物とナノコンポジット構造を形成し、溶解性及び経口吸収性を飛躍的に改善することを報告してきた<sup>3,4,5)</sup>。本研究では、これら糖転移化合物を利用しCURの溶解性および化学的安定性を改善し、さらに過飽和状態における安定化を維持した製剤設計を試みた。

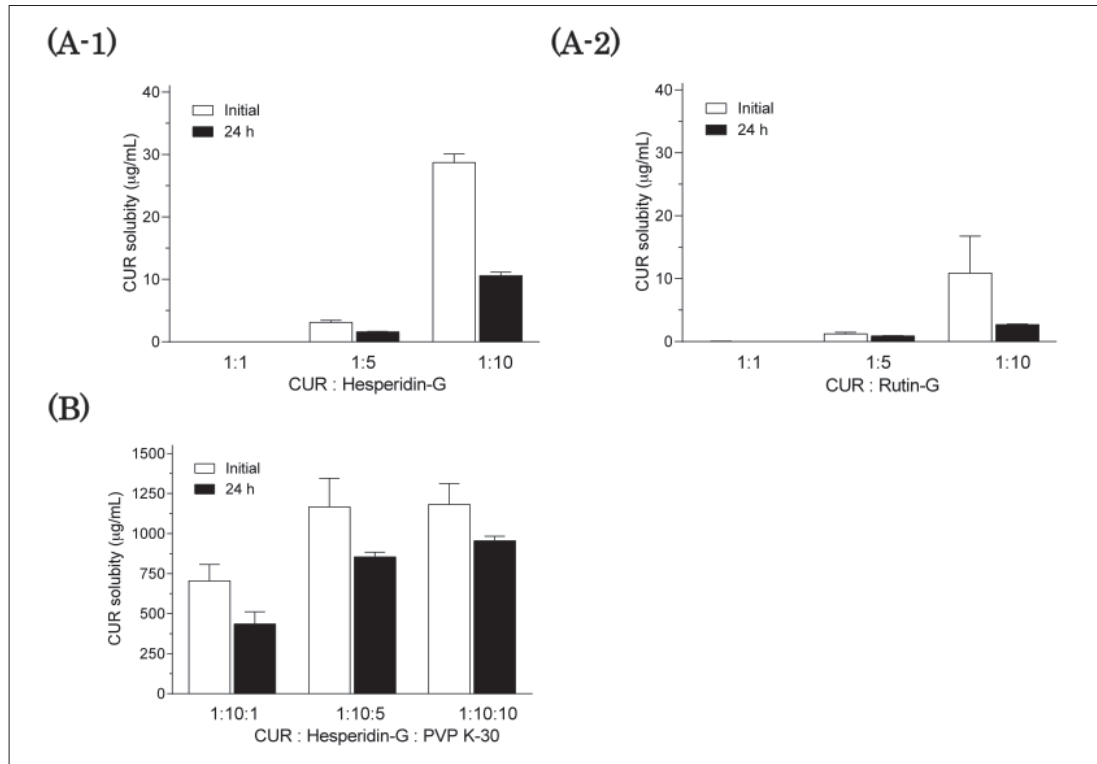
### 方 法

CUR50mgをエタノール30mL、糖転移化合物(Hesperidin-G又はRutin-G)、Polyvinylpyrrolidone

(PVP) K-30または糖転移化合物/PVP K-30を一定の割合で水30mLに溶解させた後に混合し、混合溶液をロータリーエバポレーターにより溶媒留去することで製剤を調製した。調製した製剤は、CURの溶解度、溶出性及び結晶性(粉末X線回折(PXRD)・示差走査熱分析(DSC))に関して評価を行った。製剤化によるCURの加水分解保護作用の評価は、中性条件として溶出試験第2液(pH6.8)及びアルカリ条件としてMcIlvaine緩衝液(pH8.0)を用い、これらの液にCUR原末又は調製試料を溶解後、室温条件下でインキュベーション中におけるCUR含量を経時的に定量した。

### 結果・考察

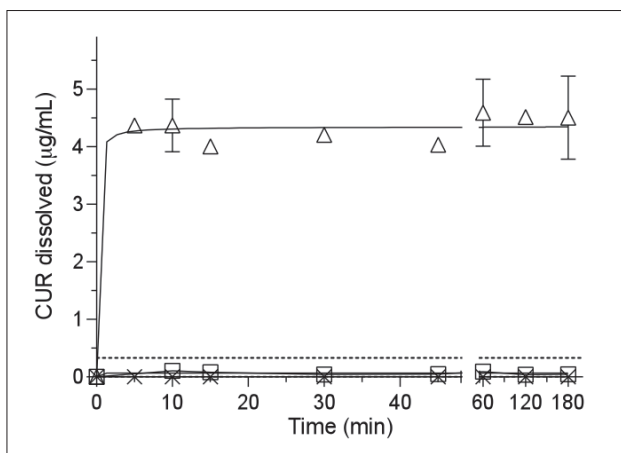
Fig. 1AにCUR/Hesperidin-G及びCUR/Rutin-G製剤の溶解度測定結果を示す。いずれの製剤も、特に糖転移化合物の添加量1:10(CUR:糖転移化合物(w/w))の際にCURの溶解度が向上した。Hesperidin-Gを添加した際に原末に対して約90倍の溶解度を示し、顕著な溶解性改善効果を認めしたが、24時間(37 $^{\circ}$ C)のインキュベーションで溶解度が急激に減少した。そこで、Hesperidin-Gで形成されるナノコンポジットに対し、PVPを添加し、CURの相乗的な溶解度の改善及び過飽和状態の安定化を試みた(Fig. 1B)。その結果、CUR:Hesperidin-G:PVPの重量比が1:10:5及び1:10:10の製剤については、それぞれ原末の溶解度に対して約2,000倍以上もの溶解度を示した。これらの製剤は24時間インキュベーション後も過



**Fig. 1** Apparent solubility of CUR samples. Evaporated formulation of CUR with Hesperidin-G (A-1), Rutin-G (A-2) and Hesperidin-G/PVP K-30 (B) at determined ratio. (n=3)

飽和状態を安定に維持していた。

次に、CUR/Hesperidin-G/PVP K-30 (1:10:5) 製剤の溶出性を評価した (Fig. 2)。CUR 原末及び物理的混合物 (Physical Mixtures:PM) ではCURの溶出はほとんど認められなかったが、3成分による製剤では非常に早い溶出及び安定な過飽和状態の維持を確認した。溶解度試験及び溶出試験で確認された溶出特性の改善には、Hesperidin-Gが



**Fig. 2** Dissolution profiles of untreated CUR, PM, and evaporated formulation (CUR/Hesperidin-G/PVP K-30=1/10/5) in distilled water at 37°C. Δ, evaporated formulation of CUR/Hesperidin-G/PVP K-30; □, PM; and X, untreated CUR. (n=3)

形成するナノコンポジット構造の寄与が大きいと考えられる。3成分目としてPVPの様な高分子を添加することで安定な複合体が形成され、溶液中においてCURの析出及び結晶化を抑制していることが推察される。

続いて、各試料についてPXRDによる結晶性評価を行った結果、PM及びEvaporated CURにおいてはCUR原末と同様の回折パターンを確認し、結晶CURの含有が示唆された (Fig. 3)。一方、3成分系の製剤では回折ピークは認められず製剤中CURは非晶質として存在していることを確認した。CUR単体での溶媒除去では非晶質化しなかったことから、3成分系の製剤ではHesperidin-GやPVPの添加により再結晶化が抑制され、非晶質状態が安定化されていることが示唆された。更に、DSCを使用して詳細な熱運動性を分析した (Fig. 4)。CUR原末は188°C付近に融点に由来する吸熱ピークが認められ、PM及びEvaporated CURでも同様のピークを確認した。また、PVP K-30及びHesperidin-Gではそれぞれ168°C及び

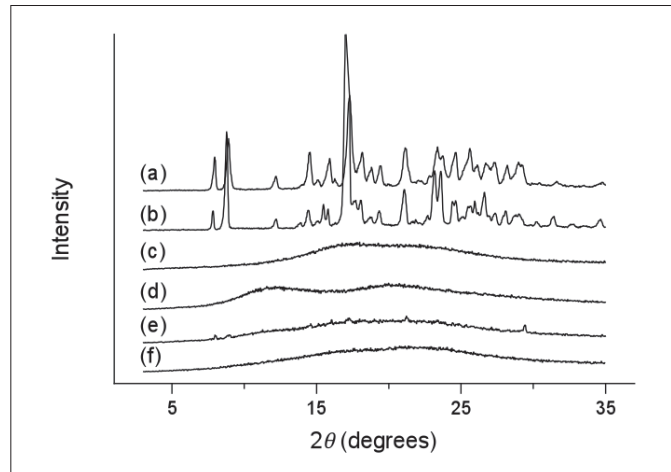


Fig. 3 PXRD patterns of CUR samples. (a) Untreated CUR, (b) Evaporated CUR, (c) PVP K-30, (d) Hesperidin-G, (e) PM (CUR/Hesperidin-G/PVP K-30=1/10/5) and (f) the ternary system (CUR/Hesperidin-G/PVP K-30=1/10/5)

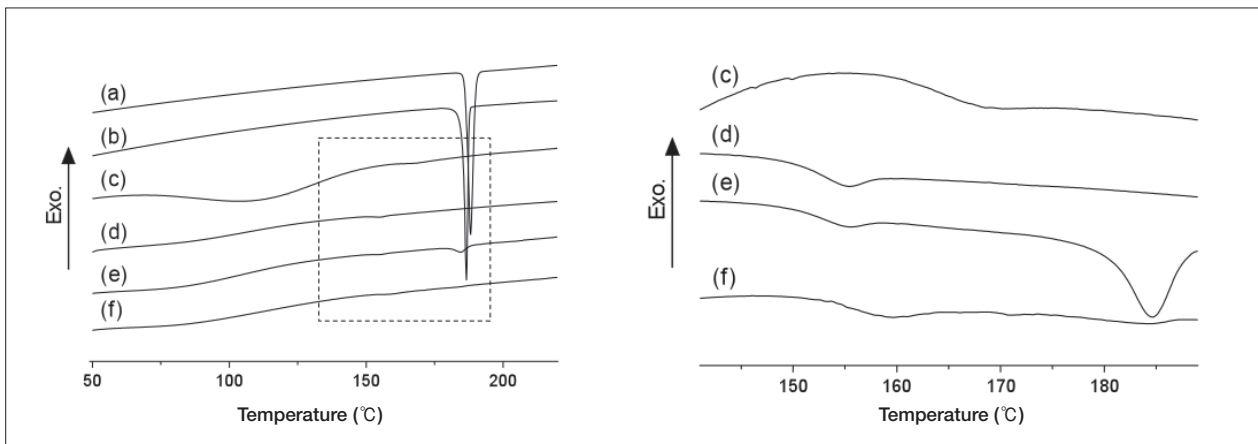
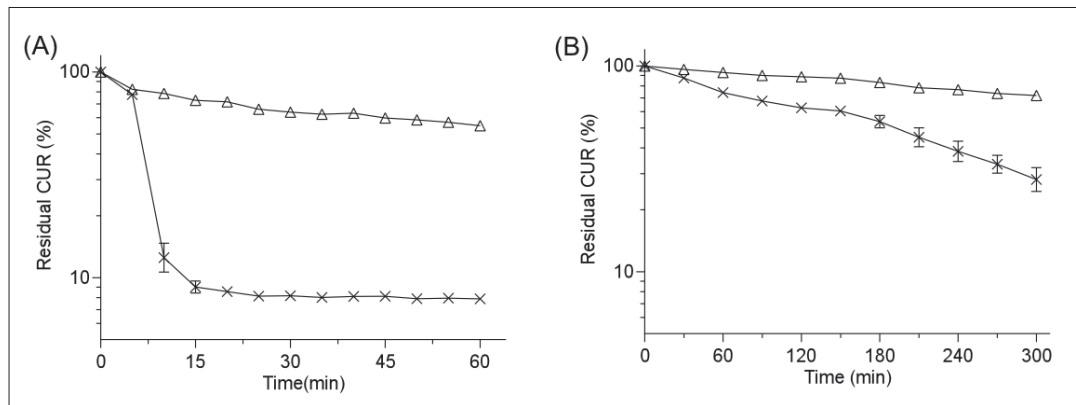


Fig. 4 DCS plots of the CUR samples. (a) Untreated CUR, (b) Evaporated CUR, (c) PVP K-30, (d) Hesperidin-G, (e) PM (CUR/Hesperidin-G/PVP K-30=1/10/5) and (f) the ternary system (CUR/Hesperidin-G/PVP K-30=1/10/5)

155°Cにガラス転移点が認められた。一方、3成分製剤では161°Cに1つのガラス転移点を有するのみで、CUR融点ピークは消失していた。これらの熱挙動は、非晶質固体分散体形成に由来するものであり、CURに対してHesperidin-G及びPVPを添加して製剤化することで、均一な非晶質固体分散体の形成を確認した。

CURは酸性～中性領域において溶解度が非常に低く、アルカリ性になるほど溶解度が高くなる。しかし、中性以上の条件下では速やかに加水分解を受けるため、薬物の主な吸収部位である小腸周辺の環境のpH条件下においてさえ分解が危惧され、十分な消化管吸収が起こらない可能性がある<sup>2)</sup>。そこで、製剤化によるCURの化学的

安定性向上を期待し、中性及びアルカリ性条件下における加水分解評価を行った。Fig.5にpH 6.8及びpH8.0緩衝液中におけるCUR原末及びCUR:Hesperidin-G:PVP K-30 (1:10:5 (w/w))製剤の経時的なCUR残存率を示した。CUR原末では溶液中CURが急速に分解され、中性条件下であっても300分後では初期濃度に対して28%まで含量の低下を認めた。一方、CUR:Hesperidin-G:PVP K-30の3成分複合粒子はインキュベーション開始後300分後において初期濃度の約70%以上のCURが残存していた。また、この加水分解保護作用はアルカリ条件下(pH8.0)でも確認され、原末及び本製剤の60分インキュベーション後のCUR残存率はそれぞれ8%及び55%で



**Fig. 5** The hydrolytic degradation profiles of untreated CUR (X) and the ternary system (CUR/Hesperidin-G/PVP K-30=1/10/5) (Δ) in intestinal (A: pH6.8) and alkali conditions (B: pH8.0). Each bar represents the mean±SE of three experiments

あった (Fig. 5B)。これらの加水分解抑制作用は Hesperidin-G 及び PVP K-30 で形成される複合体構造中への CUR 封入が寄与していると考えられる。

以上の検討によって、CUR の溶解性及び化学的安定性を改善するための処方として、Hesperidin-G 及び PVP K-30 の3成分系が有効であることが明らかとなった。特に、Hesperidin-G を始めとする糖転移化合物は可溶化作用に加えて高い抗酸化作用を有するなど非常にユニークな特徴を持つため、機能性食品や医薬品開発において新たな添加剤としての実用性が高いと思われる。今後、これらの処方をスケールアップ可能な実用化に近い製法に対して応用が期待される。

#### 謝 辞

本研究に支援を頂きました公益財団法人浦上食品・食文化振興財団に深く感謝いたします。また、当研究に従事して頂いた大阪薬科大学製剤設計学

研究室 門田和紀講師、佐藤秀行助手に感謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) Kumar A, Ahuja A, Ali J, Baboota S 2010. Conundrum and therapeutic potential of curcumin in drug delivery. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 27(4):279-312.
- 2) Wang YJ, Pan MH, Cheng AL, Lin LI, Ho YS, Hsieh CY, Lin JK 1997. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal* 15(12):1867-1876.
- 3) Fujimori M, Kadota K, Shimono K, Shirakawa Y, Sato H, Tozuka Y 2015. Enhanced solubility of quercetin by forming composite particles with transglycosylated materials. *J Food Eng* 149: 248-254.
- 4) Tozuka Y, Higashi K, Morita T, Nishikawa M, Uchiyama H, Zhang J, Moribe K, Nishikawa K, Takeuchi H, Yamamoto K 2012. Transglycosylated rutin-specific non-surface-active nanostructure affects absorption enhancement of flurbiprofen. *Eur J Pharm Biopharm* 82(1):120-126.
- 5) Sato H, Fujimori M, Suzuki H, Kadota K, Shirakawa Y, Onoue S, Tozuka Y 2015. Absorption improvement of tranilast by forming highly soluble nano-size composite structures associated with alpha-glucosyl rutin via spray drying. *Eur J Pharm Biopharm* 92:49-55.

## Development of highly soluble/chemically stable curcumin formulation with combination use of a functional food additive and hydrophilic polymer

Yuichi Tozuka

*Osaka University of Pharmaceutical Sciences*

### Abstract

In recent years, curcumin (CUR) has gained considerable attention due to its wide range of health-promoting properties. Despite the attractive pharmacological effects of CUR and its ability to be prescribed safely at a high dose, it has been challenging to use CUR for clinical purposes due to the extremely low solubility in water and poor chemical stability even under intestinal pH condition (pH 6.8). This study aimed to provide a unique formulation for the solubility enhancement of CUR. The new formulation was also able to protect CUR from hydrolytic degradation. A ternary system of CUR/ $\alpha$ -glucosyl hesperidin (Hesperidin-G)/polyvinylpyrrolidone (PVP) K-30 was prepared using the solvent evaporation method. Although the binary sample of CUR/Hesperidin-G showed solubility enhancement, this phenomenon easily collapsed within a few hours of storage in aqueous media. On the other hand, the ternary system of CUR/Hesperidin-G/PVP K-30 (1:10:5, weight ratio) exhibited long-lasting solubility enhancement. This stable supersaturated state of CUR was maintained even after 24h, as evidenced by a 2,600-fold increase in solubility compared to the solubility of untreated CUR. With respect to hydrolytic degradation under alkaline conditions, the hydrolytic stability of CUR was strongly improved by the addition of Hesperidin-G and PVP K-30, whereas untreated CUR completely decomposed after a few minutes of incubation. The mechanism of the solubilizing effect may be not only the formation of amorphous solid dispersion, including CUR, but also a complex formation between CUR, Hesperidin-G and PVP K-30 in aqueous media. The complex formation may protect CUR from hydrolytic degradation.