

令和元年6月21日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00842

研究課題名(和文) 抗酸化作用を持つ低吸収性機能性食品成分の吸収改善と効果改善に向けた製剤開発

研究課題名(英文) Study of formulation development based on the properties of functional food components

研究代表者

佐藤 夕紀 (Sato, Yuki)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：00564981

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、抗酸化作用を持つ低吸収性の機能性食品成分に焦点を当て、それらの消化管における吸収機構の解明、さらに乳化剤などの製剤開発、ならびにトランスポーターを利用した吸収改善のための検討を行うことで、その成分の吸収動態特性を考慮した吸収改善理論を構築することを目的として種々検討を進めた。今回は、製剤化に関する検討を中心に進め、とくに乳剤(自己乳化製剤含む)や固体分散体により、ルテインやコエンザイムQ10、クルクミン等の脂溶性成分の吸収を大きく改善することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、有用な抗酸化作用を持つ低吸収性を示す機能性食品成分の吸収改善のための方策の一端を明らかにした。低吸収性を示す要因は、いくつか考えられるものの、何らかの要因で経口投与後安定した濃度を得られない場合が多い。そのため、本研究により明らかにした製剤化等の吸収改善法を用いることで、これまで製剤化しづらかった成分の開発等に応用することが可能であると考えられる。本研究により、より適切な、効率的な成分の摂取に関する情報などに貢献し、ひいては予防医療の発展に寄与できることを期待している。

研究成果の概要(英文)：We have focused on the absorption mechanism of antioxidative food components that show low bioavailability and we have made efforts to improve their poor absorption based on their pharmacokinetic properties. In this study, we performed the enhancement of absorption of coenzyme Q10 (CoQ10), curcumin and lutein to prepare some formulations. We focused on the component of emulsion to improve the absorption. We found that the higher plasma concentrations of CoQ10 and curcumin were obtained by an emulsion containing a surfactant ova acids, new materials of surfactants. We also prepared a solid dispersion and a self-emulsifying drug delivery system for improvement of lutein absorption. The absorption of lutein was evaluated by its cumulative amount in lymph. Our data showed that lutein is transferred into the lymph stream from the small intestine rather than into the blood stream. Further investigations to improve the absorption of these components are in progress.

研究分野：薬剤学、薬物動態学

キーワード：吸収 製剤化 乳剤 機能性食品成分 脂溶性 トランスポーター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小腸からの吸収過程は、成分が生体へ入る第一段階であり、トランスポータをはじめ様々な動態関連因子により制御されている。従来、コレステロール(chol)のような脂溶性の高い物質は、胆汁などの生体成分により乳化され、吸収されると考えられてきたが、小腸 chol トランスポータとして NPC1L1 (Niemann-Pick C1 Like 1) が 2004 年に発表されて以来、SR-B1 (Scavenger receptor class B type 1) 等を含めた特殊な機構により吸収されていることが明らかになってきた [Altmann SW et al., *Science*, (2004); Cai SF et al., *J Lipid Res*, (2001)]。NPC1L1 や SR-B1 は、消化管管腔側に発現するタンパク質であり、chol をはじめとする様々な脂溶性成分の細胞内取り込みに関与していることが報告されている [Reboul E et al., *Mol Nutr Food Res*, (2011); Takada T et al., *Sci Transl Med*, (2015)]。このような成分の中でも、脂溶性食品成分に関しては、その構造上これらのトランスポータ等を介した特殊な輸送機構により吸収されることが予想されるが、詳細な体内動態の検討や具体的な効果と濃度の関連性に関する検討は十分とはいえない。

2. 研究の目的

本研究では、抗酸化作用を持つ脂溶性成分の吸収機構を明らかにすること、まずは製剤学的なアプローチにより吸収改善できるかどうか、その製剤がどのような組成であればより吸収改善されるかどうかについて明らかにすることを目的とした。先述したモデル成分として、乳剤等で吸収改善できることが知られているコエンザイム Q10、クルクミン、ルテインを選択し、製剤の組成に着目して検討することとした。

3. 研究の方法

・製剤の調製

乳剤の構成成分として界面活性剤は、新規素材として期待されているオキサ酸 (Oleyl polyethyleneoxy acetic acid: エチレンオキシド鎖の長さのみが異なる 3 種: エチレンオキシド鎖平均炭素鎖 $n=1.5, 4.5, 9.0$) を用いた。組成を、水/オイル (大豆油) / オキサ酸 = 74/20/6 (v/v%) として、乳剤を調製し、Zeta Nano ZS (Malvern Inc.,) を用いて動的光散乱法により、乳剤中の平均粒子径を求めた。ルテインは、乳剤の検討に加えて、個体分散体、自己乳化製剤を調製した。

・製剤の投与

Wistar 系雄性ラットを用いて、乳剤を経口投与し、24 時間まで経時的に頸静脈より採血後、血漿として分取し、測定まで -20 で保存した。ルテインに関しては、血漿中濃度の評価が難しいと判断されたため、ラット胸管リンパにカニューレーション処置を施し、そこから断続的に出てくるリンパ液を採取し、同様に -20 で保存した。サンプル中の濃度は HPLC にて定量した。

4. 研究成果

はじめに、エチレンオキシド鎖 (平均炭素鎖 1.5、4.5、9.0) の異なる三種類のオキサ酸を用いて、乳剤を調製した。種々の検討の結果、オキサ酸を 6% 含む均一な乳剤を得たため、平均粒子径を測定した。その結果、オキサ酸乳剤の平均炭素鎖は、 $n=1.5, 4.5, 9.0$ それぞれ、 $114.2 \pm 1.2, 280.1 \pm 19.3, 208.2 \pm 21.6$ nm と、エチレンオキシド鎖の長さとの間に相関関係は認められなかった (他の組成でも同様の傾向を確認した)。また、これらの乳剤はいずれも

均一であったため、それらをラットへ経口投与して血漿中 CoQ10 濃度推移を検討したところ、原末、あるいは天然界面活性剤として知られるレシチンを用いた乳剤投与群と比較して、いずれのオキサ酸乳剤投与群においても、CoQ10 のバイオアベイラビリティは大きく改善した(Fig. 1)。このことから、オキサ酸は CoQ10 の経口吸収改善においてレシチンよりも大きく寄与することが示唆された。続いて、同様にクルクミンについても検討した。その結果、クルクミンに関して、原末投与群と比較して、大きく吸収が改善された(Fig. 2)。これらの結果からオキサ酸は、脂溶性成分の吸収を改善しうる新規合成界面活性剤であることが示された。一方、当初、このオキサ酸群は、比較的単一の性質を持つことから、吸収性との間に何らかの相関が認められると予想していたが、今回の結果からはそのような関連性は認められなかった。今回検討した範囲においては、エチレンオキシド鎖平均分子量 $n=9.0$ のものが比較的大きな吸収を示す傾向が認められた。

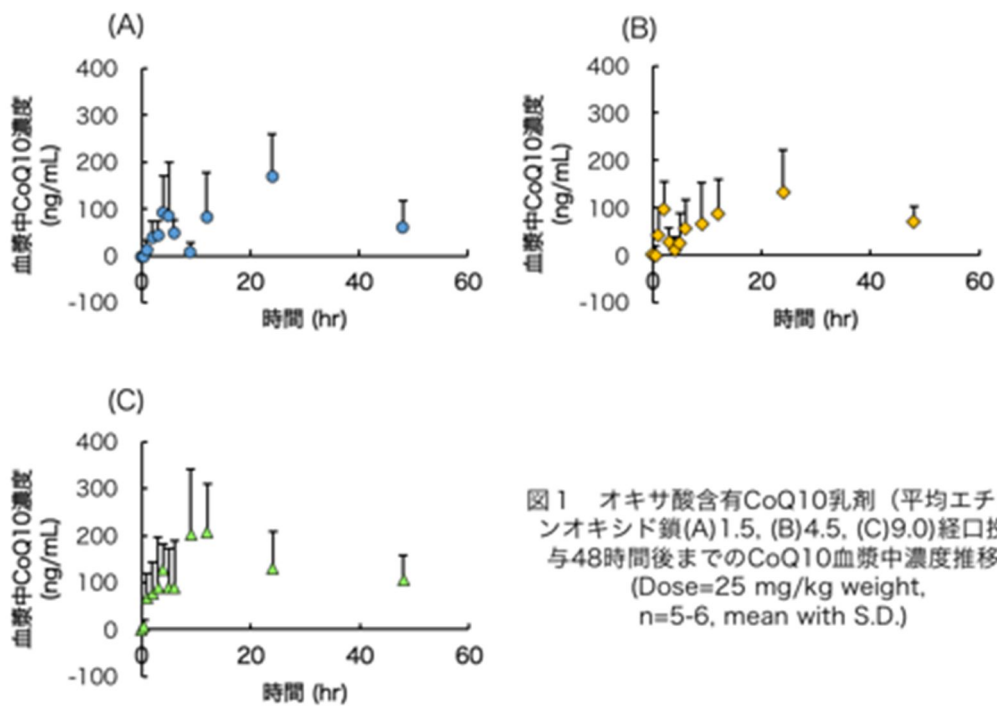


図1 オキサ酸含有CoQ10乳剤 (平均エチレンオキシド鎖(A)1.5, (B)4.5, (C)9.0)経口投与48時間後までのCoQ10血漿中濃度推移 (Dose=25 mg/kg weight, n=5-6, mean with S.D.)

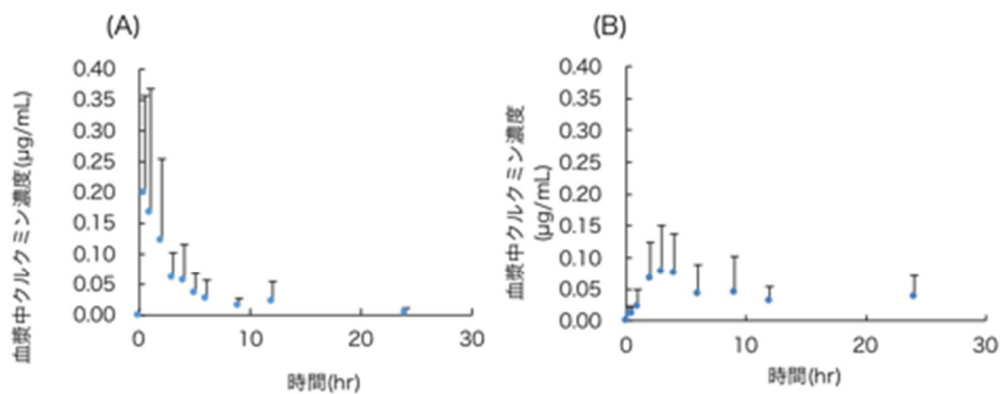


図2 原末(A)およびオキサ酸含有クルクミン乳剤 (平均エチレンオキシド鎖9.0)(B) 経口投与24時間後までのクルクミン血漿中濃度推移 (Dose=100 mg/kg weight(A) (測定感度の点より), 10 mg/weight (B) n=5-6, mean with S.D.)

また、ルテインに関しては、同様にオキサ酸乳剤を調製し、血漿中ルテイン濃度推移を求めようとしたところ、個体間のばらつきが大きいこと、一個体内の濃度の増大が間欠的であり、血漿中濃度では、製剤による差を評価しづらいことが示された(データは示さない)。一方で、経口投与後、あるいは24時間後の肝臓などの組織中濃度を求めると、一定の濃度増大が認められ、

なんらかのルートで体内へ吸収されていることが示唆された。そこで、ルテインの消化管での吸収にリンパ系の関与を考え、ラットの胸管リンパにカニキュレーション処置を施し、そこから断続的に出てくるリンパ液を採取後、同様にルテイン濃度を定量した。その結果、原末投与群と比較して、固体分散体、自己乳化製剤のいずれの群においても、吸収増大が確認された (Fig. 3)。

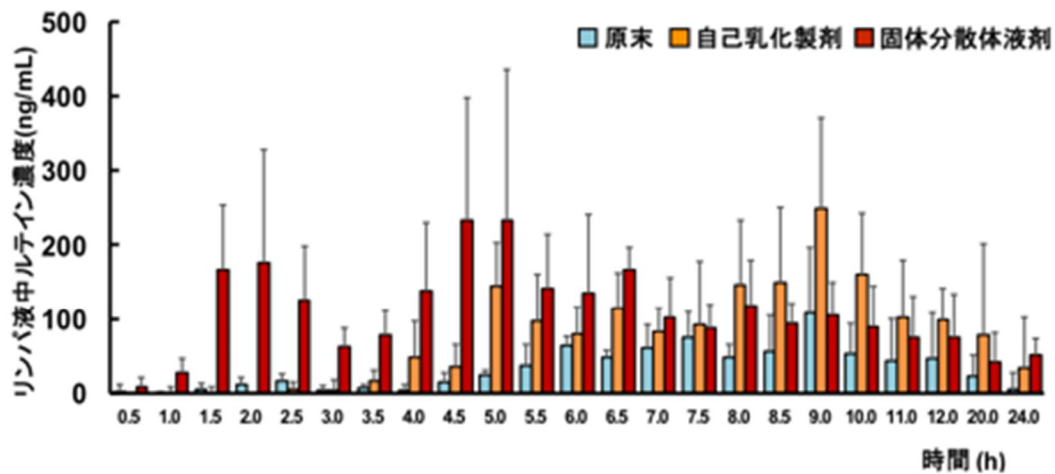


図3 ルテイン（原末、自己乳化製剤、個体分散体）の経口投与後のリンパ液中濃度推移 (Dose=2.5 mg/kg weight, n=3, mean with S.D.)

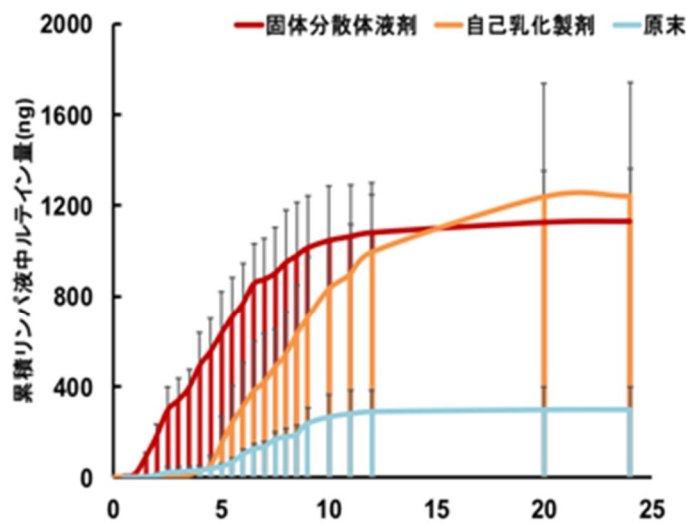


図4 ルテイン（原末、自己乳化製剤、個体分散体）の経口投与後のリンパ液への累積移行量 (Dose=2.5 mg/kg weight, n=3, mean with S.D.)

リンパ系は血液系とは、流速が大きく異なる。そのため、濃度に得られたサンプル量を乗じて、24時間後までの累積量を算出したところ、原末投与群(297.0 ± 100.4 ng)と比較して、固体分散体、自己乳化製剤ともに(1132.2 ± 230.6, 1240.5 ± 503.9 ng)と有意に吸収が改善していることが示された(Fig. 4)。また、ルテインの原末投与群においても、その濃度は最大で約100 ng/mLであることが示され、ルテインは消化管上皮細胞を透過後、血液系よりもリンパ系に大きく検出されることが示され、ルテインの吸収を評価するには、リンパ液を採取、濃度測定することが有用であることが示された。ここで、今回得られたリンパ液中濃度と血漿中濃度を用いて、血液系とリンパ液への移行性に関しては、末梢静脈から採血していることもあり、直接比較することは難しい(代謝されて血漿中濃度としては低い可能性もある)。そこで、空腸ループ内へルテインの製剤を投与し、2時間後までに門脈血を採血して、検討したが、門脈血においても

ほとんど濃度の増大は認められなかった（データは示さない）。

以上の結果より、今回のような脂溶性の高い成分の吸収を評価する際には、リンパ系への移行性も考慮することで、詳細に評価できることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

1. Takekawa Y., **Sato Y.**, Yamaki Y., Imai M., Noto K., Sumi M., Takekuma Y., Iseki K., Sugawara M. An approach to improve intestinal absorption of poorly absorbed water-insoluble components via Niemann-Pick C1-Like 1. *Biol. Pharm. Bull.*, **39** (3), 301-307 (2016).
2. Takekuma Y., Ishizaka H., Sumi M., **Sato Y.**, Sugawara M. Difference in the dissolution behaviors of tablets containing polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) depending on pharmaceutical formulation after storage under high temperature and humid conditions. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **19** (4), 511-519 (2016).
3. Nashimoto S., **Sato Y.**, Takekuma Y., Sugawara M. Inhibitory effect of ezetimibe can be prevented by an administration interval of 4 h between α -tocopherol and ezetimibe. *Biopharm. Drug Dispos.*, **38**, 280-289 (2017).
4. **Sato Y.**, Joumura T., Nashimoto S., Yokoyama S., Takekuma Y., Yoshida H., Sugawara M. Enhancement of lymphatic transport of lutein by oral administration of a solid dispersion and a self-microemulsifying drug delivery system. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **127**, 171-176 (2018).
5. **佐藤夕紀**. 低吸収性を示す機能性食品成分の消化管吸収機構の解明と吸収特性を考慮した製剤開発. *Yakugaku Zasshi*, **139**, 341-347 (2019).

〔学会発表〕(計17件)

1. **佐藤夕紀**, 八巻義朗, 竹川悠人, 武隈洋, 菅原満. コレステロールを含有する乳剤による Coenzyme Q10 の吸収改善. 日本薬剤学会第31年会. 岐阜, 2016.5.
2. **佐藤夕紀**, 菅原満. 食品成分の吸収評価と改善. ライフサイエンスセミナー シーズ公開会. 札幌, 2016.7. **招聘講演**
3. **佐藤夕紀**. 機能性食品 Coenzyme Q10 とルテインの消化管吸収改善. 日本薬剤学会 第7回経口吸収フォーカスグループ合宿討論会. 熊本, 2016.12.
4. 横山さや香, 宮下真美, **佐藤夕紀**, 武隈洋, 丸山真吾, 菅原満. オキサ酸を乳化剤として用いた Coenzyme Q10 の乳剤化と消化管吸収改善. 日本薬学会第137年会. 仙台, 2017.3.
5. 宮下真美, 横山さや香, **佐藤夕紀**, 武隈洋, 吉田英人, 菅原満. 卵黄レシチンを用いた自己乳化製剤によるクルクミンの消化管吸収改善. 日本薬学会第137年会. 仙台, 2017.3.
6. 山口和奎, **佐藤夕紀**, 武隈洋, 櫻田剛史, 中川公太, 本城政稔, 菅原満. テアニン錠剤(速放錠・徐放錠)の溶出性および吸収性の変動要因. 日本薬学会第137年会. 仙台, 2017.3.
7. **佐藤夕紀**. 低吸収性を示す機能性食品成分の消化管吸収機構の解明と吸収特性を考慮した製剤開発. 日本薬学会北海道支部第144回例会, 札幌, 2017.5. **招聘講演**
8. 八巻義朗, 西村悠汰, 横山さや香, **佐藤夕紀**, 武隈洋, 丸山真吾, 菅原満. オキサ酸を乳化剤として用いた Coenzyme Q10 乳剤の性質とその消化管吸収性. 日本薬学会第138年会. 金沢, 2018.3.

9. 西村悠汰, 八巻義朗, **佐藤夕紀**, 武隈洋, 丸山真吾, 菅原満. オキサ酸を用いた乳化化によるクルクミンの吸収改善と消化管への影響の評価. 日本薬学会北海道支部第 145 回例会, 札幌, 2018.5.
10. **佐藤夕紀**, 山口和奎, 小川美香子, 武隈洋, 足立知基, 櫻田剛史, 中川公太, 本城政稔, 菅原満. テアニンの製剤に含有される成分によるテアニンの消化管吸収機構の解明. 日本薬剤学会第 33 年会. 静岡, 2018.5.
11. **佐藤夕紀**, 定村樹, 八巻義朗, 横山さや香, 梨本俊亮, 武隈洋, 菅原満. 機能性食品成分ルテインとコエンザイム Q10 の製剤学的工夫による消化管吸収改善. 第 12 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム. 札幌, 2018.9.
12. 定村樹, **佐藤夕紀**, 武隈洋, 菅原満. 門脈およびリンパ管への薬物移行を考慮した消化管吸収の評価. 日本薬学会第 139 年会. 千葉, 2019.3.

〔図書〕(計 2 件)

1. **佐藤夕紀**. 低吸収性機能性食品成分の吸収特性を考慮した消化管吸収改善のための製剤開発. アグリバイオ, 1 (4), 495-498 (2017).
2. **佐藤夕紀**. 機能性食品成分ルテインの製剤化による吸収改善. アグリバイオ, 2 (4), 411-413 (2018).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 吸収促進剤およびその利用

発明者: 菅原満, 佐藤夕紀, 武隈洋, 丸山真吾

権利者: 株式会社 MORESCO

番号: 特願 2017-40896

出願年: 2017

国内外の別: 国内

取得状況 (計 1 件)

名称: テアニンの吸収性が改善された組成物

発明者: 佐藤 夕紀, 武隈洋, 菅原満, 櫻田剛史, 中川公太, 本城政稔

権利者: 株式会社ファンケル

種類: 公開公報

番号: 特開 2018-118928

取得年: 2018

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

https://jglobal.jst.go.jp/detail?JGLOBAL_ID=201301019597444455&rel=0

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/search/?qm=00564981>

6. 研究組織

研究代表者氏名: 佐藤 夕紀

ローマ字氏名: SATO, Yuki

所属研究機関名: 京都大学

部局名: 医学研究科

職名: 特定助教

研究者番号 (8 桁): 0 0 5 6 4 9 8 1

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。