

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 10 日現在

機関番号：34413

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25504018

研究課題名(和文)機能性ナノコンポジット形成に基づく次世代型特定保健食品の開発

研究課題名(英文)The use of functional nanocomposite structure for the development of novel functional food for specified health uses

研究代表者

戸塚 裕一 (TOZUKA, YUICHI)

大阪薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：50312963

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：酵素処理技術の発展により、難水溶性食品中有効成分に糖を付加させ、可溶化して吸収性が向上された機能性添加剤が特定保健用食品として販売されている。これらの機能性添加剤の可溶化現象が添加剤自身のナノ集合体形成によるものであることを解明した。また、水中で形成されるナノ集合体の疎水的ユニットと難水溶性の食品中有効成分を相互作用させ、数ナノメートルの有機ナノコンポジットを構築させることに成功した。有機ナノコンポジット形成により、難水溶性有効成分の見かけの溶解度を顕著に向上させ、吸収性向上にも成功した。また、難水溶性有効成分の光安定性向上も示唆された。

研究成果の概要(英文)：Poor water solubility of food constituent may lead to a crucial absorption problem. To overcome this problem, the feasibility of recently developed transglycosylated additives, e.g., -glucosyl hesperidin, -glucosyl stevia, and -glucosyl rutin, to improve the dissolution and bioavailability of food ingredient was investigated. We found that trans-glycosylated materials formed self-associated aggregated-nanostructures in aqueous media, and their structure was different among three. The poorly water soluble food compounds could intercorporate the nanostructure, creating nanocomposite structure of hydrophobic food compounds/transglycosylated additives. Moreover, we found that the nanocomposite formation may also protect hydrophobic food compounds from hydrolytic degradation.

研究分野：製剤学、物理薬剤学

キーワード：ナノコンポジット 糖転移ヘスペリジン 糖転移ルチン 糖転移ステビア 糖転移ナリンジン 溶解性
改善 吸収性改善 光安定性向上

1. 研究開始当初の背景

糖転移させた機能性食品添加剤が数ナノメートルのナノ集合体を水中で形成することを発見し、このナノ構造中に難水溶性化合物を組み込んだ「有機ナノコンポジット」を形成させれば、難水溶性の食品有効成分や医薬品の溶解性及び吸収性を大幅に改善できることを報告してきた。しかし、その発見は限定的であり、どのような機能性食品添加剤を用いた場合に、どのような難水溶性有効成分の溶解性及び吸収性を改善できるかの組み合わせ、及びその学術的な考察はなされていなかった。

2. 研究の目的

機能性食品添加剤を利用した有機ナノコンポジット形成を戦略的に活用すれば、難水溶性の食品有効成分を少量摂取するだけで、体内で高効率に活用可能な、次世代型特定保健用食品の開発が期待される。本研究の目的は、機能性食品添加剤を最大限に有効活用するための網羅的探索から、データベース作成を試み、難水溶性の食品有効成分を効率的に摂取するための実践的かつ有効的な情報を精査することにある。

3. 研究の方法

有機ナノコンポジットの生成には、難水溶性有効成分と機能性添加剤間で特異的な分子間相互作用を形成することが不可欠である。研究者が近年発展させた成果は、主に糖転移ヘスペリジンに焦点を当てたものであり、他の糖転移化合物ではナノコンポジット形成現象が起こるのか、またどのような分子と複合体形成現象を起こすのかを把握できていない。そこで、複数の糖転移化合物及び多数の難水溶性化合物を対照として、溶解度の上昇現象の有無などから、ナノ構造体形成現象の有無に関して、データベースを構築し、有機ナノコンポジット形成のための要因解析を行った。その後、溶液状態から機能性粒子を作成する最適処方を選び出し、ナノコンポジットを安定に調製可能な手法について検討した。

4. 研究成果

糖転移ヘスペリジン、糖転移ステビア、糖転移ステビア、糖転移ナリンジンを水中でナノ集合体が形成可能な機能性食品添加剤として選択し、種々の難水溶性医薬品、難水溶性食品有効成分を対象として、噴霧乾燥処理、溶媒留去法、湿式粉碎法、凍結乾燥法等の種々の手法で試料調製した。また調製した試料について平衡溶解度を測定し、溶解度の上昇割合を基本データとして、有機ナノコンポジット形成の要因解析のためのデータベ

ースを作成した。その中から、興味深い実験系について精査し、新規に得られた代表的な2つの知見について以下に示す。

(1) 糖転移ルチン (Rutin-G) による難溶性薬物 Tranilast の高吸収性製剤の開発

難溶性化合物として Biopharmaceutics Classification System (BCS) の Class II に分類される薬物である Tranilast (TL) を使用し、界面活性性を有しないRutin-Gに注目し、噴霧乾燥粒子の製剤化による溶解性及び経口吸収性の改善を試みた。TL/Rutin-Gの噴霧乾燥粒子は5.0 µmの球形粒子であり、粉末X線回折及び示差走査熱量測定により、アモルファス固体分散体の形成が示唆された。また、固体分散体化により、TLの溶解度は原末と比較して5.5倍まで向上した。これは、Rutin-Gによって形成された有機ナノコンポジット構造にTLが組み込まれたことによって見かけの溶解度が上昇したことに起因すると推察された。更に、ラット経口投与時におけるバイオアベイラビリティは原末摂取時の36.8倍を示し、大幅な経口吸収性の改善が認められた。

(2) 難水溶性有効成分/糖転移ヘスペリジン/水溶性高分子の3成分混合系での成果

医療費の削減はもとより、老後のQOL向上を目指すためにも「健康寿命をいかに伸ばすか」は国家の重要な命題となっている。このような背景の下、病院や薬局にかかることなく、健康食品やサプリメントを使用したセルフメディケーションによる健康管理が注目を集めている。そこで、溶解性が低く、光安定性も低いクルクミン (CUR) を対象として溶解性及び吸収性の改善に関する実験を行った。

CURは糖転移ステビア (Stevia-G) と重量比1:10で噴霧乾燥処理することにより、溶解度は約1,600倍にまで増加した。しかしながら、CURと添加剤の2成分で形成される過飽和状態は非常に不安定であり、24時間後にはほとんどのCURが析出した。過飽和系に対して水溶性高分子を添加することで、相互作用や複合体形成により過飽和状態を安定化することが報告されていることから、CURとの相互作用の形成が報告されている高分子であるポリビニルピロリドン (PVP) を添加し、CURの過飽和状態安定化を試みた。その結果、見かけの溶解度の向上はCUR原末の約10,000倍にまで増加し、24時間インキュベーション後における溶解度は溶解度試験開始直後の値と比較し、ほとんど減少しなかった。また、CUR/Stevia-G/PVPの3成分系の複合体構造により、CURの安定性が向上することも見出すことができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

1. J. Zhang, K. Higashi, K. Ueda, K. Kadota, Y. Tozuka, W. Limwikrant, K. Yamamoto, K. Moribe, Drug Solubilization Mechanism of -Glucosyl Stevia by NMR Spectroscopy, *Int. J. Pharm.*, **465**, 255-261(2014)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.01.035>
2. M. Fujimori, K. Kadota, K. Shimono, Y. Shirakawa, H. Sato, Y. Tozuka, Enhanced dissolution of quercetin by forming composite particles, *J. Food Eng.*, **149**, 248-254 (2015)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.10.010>
3. H. Sato, M. Fujimori, H. Suzuki, K. Kadota, Y. Shirakawa, S. Onoue, Y. Tozuka, Absorption improvement of tranilast by forming highly soluble nano-size composite structures associated with -glucosyl rutin, *Euro. J. Pharm. Biopharm.*, **92**, 49-55 (2015)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.02.021>
4. M. Fujimori, K. Kadota, K. Kato, Y. Seto, S. Onoue, H. Sato, H. Ueda, Y. Tozuka, Low hygroscopic spray-dried powders with trans-glycosylated food additives for enhanced solubility and oral bioavailability of a ipriflavone, *Food. Chem.*, **190**, 1050-1055 (2016)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.081>
5. K. Kadota, S. Otsu, M. Fujimori, H. Sato, Y. Tozuka, Soluble hydrolysis-resistant composite formulation of curcumin containing -glucosyl hesperidin and polyvinylpyrrolidone, *Adv. Powder Tech.*, **27**, 442-447 (2016)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apt.2016.01.012>
6. K. Kadota, K. Semba, R. Shakudo, H. Sato, Y. Deki, Y. Shirakawa, Y. Tozuka, Inhibited photodegradation of highly-dispersed folic acid

nanoparticles by antioxidant effect of transglycosylated rutin, *J. Agr. Food. Chem.*, **64**, 3062-3069 (2016)
DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00334

〔学会発表〕(計17件)

1. Y. Tozuka, K. Higashi, K. Moribe, H. Takeuchi, K. Yamamoto, Dissolution and absorption enhancement of flurbiprofen induced by non-surface-active nanostructure of transglycosylated rutin, 5th Asian Arden Conference, August 5-6, Nagoya, Japan, P41 (2013)
2. 戸塚裕一、東頭二郎、森部久仁一、竹内洋文、山本恵司: 界面張力変化を伴わないナノコンポジット形成による難水溶性化合物の可溶化と吸収性改善. 日本薬剤学会第28年会講演要旨集, 5月23~25日, 名古屋, P-089 (2013)
3. 中代里美、相澤恭、門田和紀、戸塚裕一: 糖転移化合物が難水溶性薬物 Ipriflavone の溶解性に与える影響. 日本薬学会 134 年会講演要旨集. 29pml-018, 3月28~30日, 熊本(2014)
4. 藤森美季、中代里美、相澤恭、門田和紀、戸塚裕一: Quercetin の抗酸化作用向上のための固体分散体の調製. 日本薬学会 134 年会講演要旨集. 28Q-am09, 3月28~30日, 熊本(2014)
5. Y. Tozuka, M. Fujimori, K. Shimono, Y. Shirakawa, K. Kadota, Enhanced dissolution of quercetin by forming composite particles via spray-drying, 19th International Symposium on Industrial Crystallization (ISIC 19), Toulouse, France, 320-322 (2014) September 16-19.
6. Y. Tozuka, M. Fujimori, S. Nakashiro, H. Sato, K. Kadota, Solubility enhancement of hydrophobic flavones by forming a nano-structured complex with transglycosylated food additives, 28th the European Federation of Food Science and Technology (EFFoST International Conference) and 7th

- International Food Factory for the Future Conference, Uppsala, Sweden, P2.104 (2014) 25-28 November
7. 門田和紀、藤森美季、戸塚裕一：機能性食品添加剤の分子間相互作用を利用した機能性複合粒子の調製。粉体工学会 2014 年度春期研究発表会講演要旨集，S2-4，5月29～30日，京都(2014)
 8. 竹内喜大、東頭二郎、森田 剛、門田和紀、戸塚裕一、山本恵司、森部久仁一：小角 X線散乱及び NMR 測定による α -Glucosyl hesperidin 会合構造の評価。第 58 回日本薬学会関東支部大会講演要旨集，P-196、10月4日，京都(2014)
 9. 佐藤秀行、藤森美季、鈴木寛貴、門田和紀、尾上誠良、戸塚裕一：糖転移ルチン (Rutin-G) による難溶性薬物 Tranilast の高吸収性製剤の開発。第 31 回製剤と粒子設計シンポジウム，150-151、10月23～24日，福岡(2014)
 10. Y. Tozuka, S. Otsu, K. Okuma, H. Sato, K. Kadota, Stabilizing effect of cyclodextrins on the water-soluble nanocomposite formulation of curcumin and transglycosylated additives, Joint conference of 8th Asian Cyclodextrin Conference and 32nd Cyclodextrin Symposium, Kumamoto, Japan, PA51(2015), 14-16 May.
 11. Y. Tozuka, Nanocomposite formation of drug/trans-glycosylated additive for creating functional powders, The 5th International Conference on the Characterization and Control of Interfaces for High Quality Advanced Materials and the 51st Summer Symposium on Powder Technology, AI-07 (2015) Kurashiki, Okayama, Japan, 7-10 July.
 12. Y. Tozuka, S. Otsu, M. Fujimori, H. Sato, K. Kadota, Highly-soluble and hydrolytic degradation-preventing formulation of curcumin using α -transglycosylated hesperidin and polyvinylpyrrolidone, Food structures, Digestion and Health, 3rd International Conference, P54 (2015) Wellington, New Zealand 28-30 October.
 13. K. Kadota, K. Semba, R. Shakudo, H. Sato, Y. Tozuka, Folic acid nanoparticle production with highly dispersion and photostability using α -glycosyl rutin, P50 (2015) Wellington, New Zealand 28-30 October
 14. 大津誠行、大熊加奈子、佐藤秀行、門田和紀、戸塚裕一：Curcumin の溶解度及び化学的安定性向上を指向した複合粒子の開発。粉体工学会 2015 年度春期研究発表会講演要旨集，BP-3、5月19～20日 (2015)
 15. 桑元俊輔、藤森美季、佐藤秀行、門田和紀、戸塚裕一： α -Glycosyl Stevia と界面活性剤の複合体形成による pH 非依存性製剤の設計。日本薬学会第 30 年会講演要旨集。21D1-2，5月21～23日 (2015)
 16. 藤江美加、赤土了介、森岡俊光、橋爪宏太、門田和紀、戸塚裕一：高圧湿式微粒化装置による酵素処理ルチンを粉碎媒体としたイトラコナゾールの溶解性改善。第 40 回製剤・創剤セミナー要旨集，59，8月20～21日 (2015)
 17. 仙波久実、赤土了介、藤森美季、門田和紀、戸塚裕一：酵素処理ルチンによる光安定性改善を指向した葉酸ナノ粒子の作製。第 40 回製剤・創剤セミナー要旨集，58，8月20～21日 (2015)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 2 件)

名称： α -グルコシルルチン含有プテリジン誘導体ナノ粒子の製造方法および α -グルコシルルチン含有プテリジン誘導体ナノ粒子

発明者：門田和紀，戸塚裕一，長井敦史，相澤恭

権利者：東洋精糖株式会社

種類：特許

番号：特願 2015-152068

出願年月日：2015 年 7 月 31 日

国内外の別：国内

名称：水溶性組成物、その製造方法および難

水溶性物質の溶解性改善方法
発明者：戸塚裕一，門田和紀，長井敦史，相澤恭
権利者：東洋精糖株式会社
種類：特許
番号：特願 2015-170659
出願年月日：2015年8月31日
国内外の別：国内

6．研究組織

(1)研究代表者

戸塚 裕一 (TOZUKA YUICHI)
大阪薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：50312963