

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25850094

研究課題名(和文) 精密溶解度測定に基づく天然物中の難水溶性生体活性成分の助可溶化剤の探索

研究課題名(英文) Search of Co-solvents of Poorly Water-soluble Bioactive Compounds in Natural Products on the Basis of the Accurate Solubility Measurements

研究代表者

松田 弘幸 (MATSUDA, Hiroyuki)

日本大学・理工学部・准教授

研究者番号：50339256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：天然物中の難水溶性生体活性成分として、カレー粉に含まれるクルクミンに着目し、助可溶剤として種々の β -CD誘導体を組み合わせて包接化合物を作製した。作製した包接化合物の水中における溶解度を精密に測定し、溶解性向上の評価を行った。これらのデータは、生体活性成分の効率的かつ安全な体内吸収が可能な機能性食品の開発に寄与すると考えられる。

また、難水溶性生体活性成分 + 水 + 助可溶化剤3成分系混合物の溶解度を精度良く推算可能なモデルの目的を目指して、今回はその基礎データとなる難水溶性生体活性成分の種々の溶媒に対する溶解度の測定を行った。

研究成果の概要(英文)：We selected curcumin as poorly water-soluble bio-active compound which is contained in curry powder. We used several β -CD derivatives as co-solvent of curcumin, and enhancement of solubility in water was evaluated by measuring solubilities. These solubility data would be useful for a development of functional foods that efficient absorption of poorly water-soluble bio-active compound is available.

研究分野：化学工学熱力学

キーワード：生体活性成分 クルクミン 助可溶化剤 溶解性向上

1. 研究開始当初の背景

人間の健康の維持と増進を図るうえで天然物中の有効成分は機能性食品のみならず医薬品の開発において極めて重要な素材である。一例として、カレーのスパイスであるターメリックの黄色色素であるクルクミンには、がん抑制作用がある物質として注目を浴びている。しかし、これらの生体活性成分の化学構造は複雑であり、かつ分子量も大きい。したがって、これらの成分の水に対する溶解度が極めて小さく、例えば先に挙げたクルクミンの水に対する溶解度は約 11 ng/ml である。この極めて低い溶解性が機能性食品や医薬品への応用に向けての大きな障壁となっている。

これらの極めて水に溶けにくい生体活性成分の水に対する溶解度向上、ならびに生体吸収性増加にはおもに CD 類により対象成分を包接させる手法が行われている。また、分子が高度に枝分かれしている高分子であるハイパーブランチポリマー(HBP)も助可溶化剤として期待されている。

生体活性成分と CD・HBP 類との可溶化剤の溶解性向上評価においては、通常高速液体クロマトグラフィー(HPLC)などを用いた水中における溶解度測定により行われる。しかし、その測定は難水溶性成分・水・助可溶化剤の 3 成分系混合物であることから、正確な溶解度データの測定には精密な装置と高度の測定技術が要求され、溶解度データも測定者間でバラツキが見られる。一方で、生体活性成分を包接する最適物質の探索ならびにその最適量を包接化合物の水中における正確な溶解度データに基づいて行うことができれば、精密な溶解度データに裏付けられた生体活性成分 + 包接化合物の作製が可能になり、生体活性成分の効率的かつ安全な体内吸収が可能な機能性食品の開発に寄与すると考えられる。

2. 研究の目的

申請者はこれまで難水溶性医薬品化合物の溶解度の精密測定、ならびに助溶媒の添加による溶解度向上の検討を行っている。本研究は、これまで用いてきた溶解度の精密測定ならびに溶解性向上の手法を難水溶性生体活性成分に適用し、生体活性成分の効率的かつ安全な体内吸収が可能な機能性食品開発のための基礎データを得ることをねらいとする。具体的には、

(1) 天然物中の難水溶性生体活性成分に助可溶剤として種々のβ-CD 誘導体を組み合わせて包接化合物を作製する。β-CD 誘導体にはα-CD、2-HP-β-CD、M-β-CD、DM-β-CD、SBE-β-CD、G₂-β-CD の 6 種を用いる。

(2) (1)にて作製した包接化合物の水中における溶解度を精密に測定し、溶解性向上の評価を行う。その結果に基づき助可溶化剤の最適物質の探索・最適量を行う。

(3) 包接化合物の溶解度の推算モデルの構築

に必要な難水溶性生体活性成分の各種溶媒における溶解度データの測定もあわせて行う。

3. 研究の方法

(1)(2) クルクミン-CD 類包接化合物の溶解性向上評価

クルクミン-CD 類包接化合物の溶解性向上評価を、包接化合物の水中の溶解度精密測定を通して行う。測定には高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用い、温度 298.15 K にて行う。

(3) 包接化合物の溶解度の推算モデルの構築

本研究では、溶解度の推算モデルの構築までは至らなかったが、難水溶性生体活性成分および医薬品の各種溶媒における溶解度の測定を行った。溶解度測定には、本研究室にて開発した Synthetic 法による溶解度測定装置を用いた。

4. 研究成果

(1) クルクミン-CD 類包接化合物の溶解性向上評価

クルクミン-CD 類包接化合物の 298.15 K における水中の溶解度の実測値を図 1 から 3 に示す。助溶媒+水系混合溶媒中におけるクルクミンの溶解度は、図に示すように CD の組成の上昇に伴い増加する傾向を示した。α-CD については、水に溶解したのがα-CD 組成 4.0×10^{-3} モル分率までであった。今回の測定条件の最大溶解度は、DM-β-CD において組成が 9.0×10^{-3} モル分率のとき約 7.7×10^{-3} モル分率となり、CD 未添加の溶解度 3.2×10^{-8} モル分率と比較すると 2.4×10^5 倍となった。

当初の研究計画では、助可溶化剤として CD 類に加えて HBP 類でも検討する予定であったが、クルクミンの溶解度測定が予定通り進まなかったため、CD 類のみの溶解性向上評価にとどまった。しかし、今回の種々のβ-CD 誘導体による検討により、その溶解性向上の定量的な把握を行うことができた。これらのデータは、生体活性成分の効率的かつ安全な体内吸収が可能な機能性食品の開発に寄与すると考えられる。また、生体活性成分 + 水 + 助可溶化剤 3 成分系の溶解度データの測定例は非常に少ない。このことは食品科学・薬学のみならず物性研究における国内外の研究において極めて重要なものとなる。

(2) 難水溶性生体活性成分・医薬品の各種溶媒における溶解度測定

本測定では、難水溶性生体活性成分としてフラボノイド配合帯の一種であるルチンを、また、難水溶性医薬品として複数の結晶多形を持つシメチジンおよびファモチジンを選択し、その種々の溶媒に対する溶解度の測定を行った。その測定結果を図 4 から 7 に示す。今後は、これらの溶解度データを基礎として、難水溶性生体活性成分 + 水 + 助可溶化剤 3 成分系混合物の溶解度を精度良く推算可能な

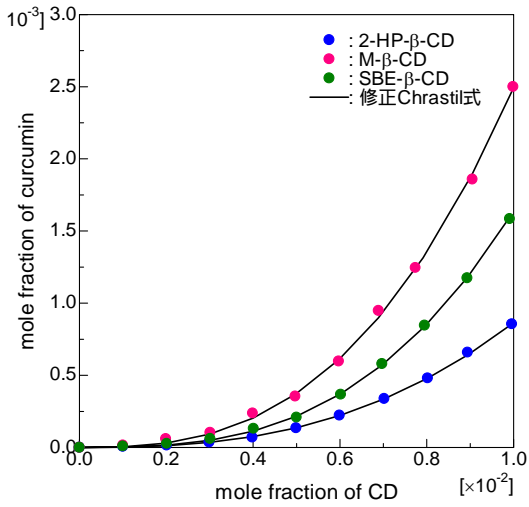


図 1 クルクミンの水 + β -CD 誘導体 (2-HP- β -CD, M- β -CD, SBE- β -CD) 混合溶媒に対する溶解度

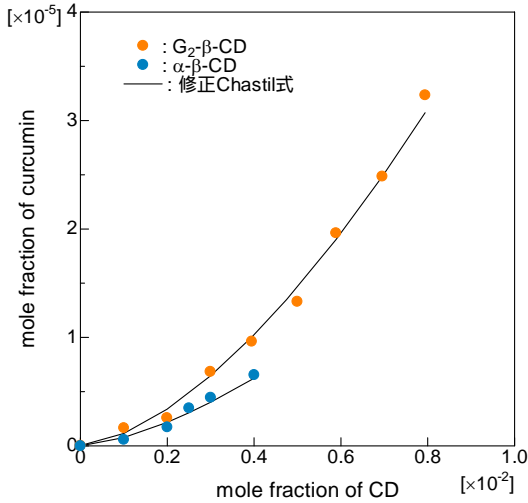


図 2 クルクミンの水 + β -CD (α -CD, G_2 - β -CD) 誘導体混合溶媒に対する溶解度

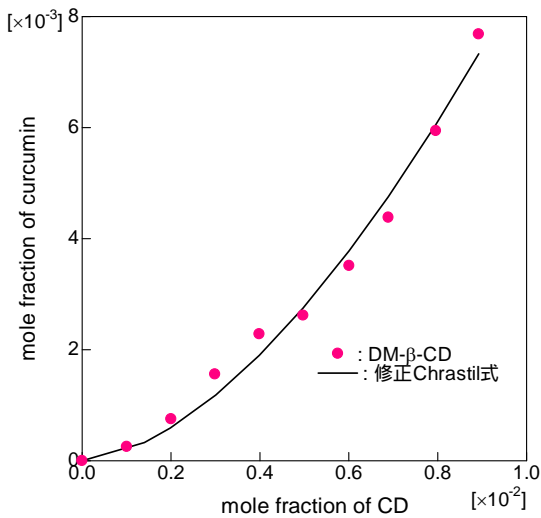


図 3 クルクミンの水 + β -CD 誘導体 (DM- β -CD) 混合溶媒に対する溶解度

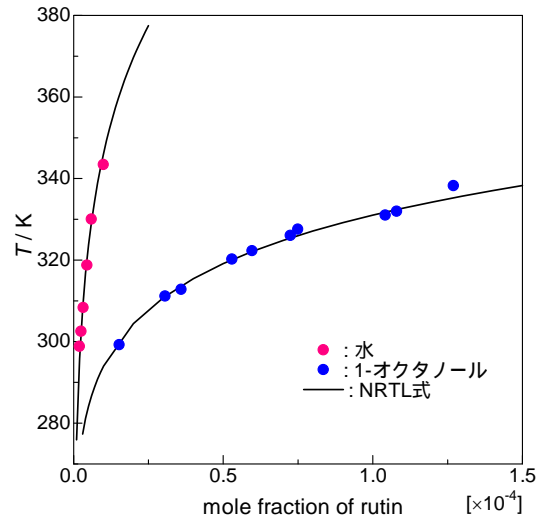


図 4 ルチンの水および 1-オクタノールに対する溶解度

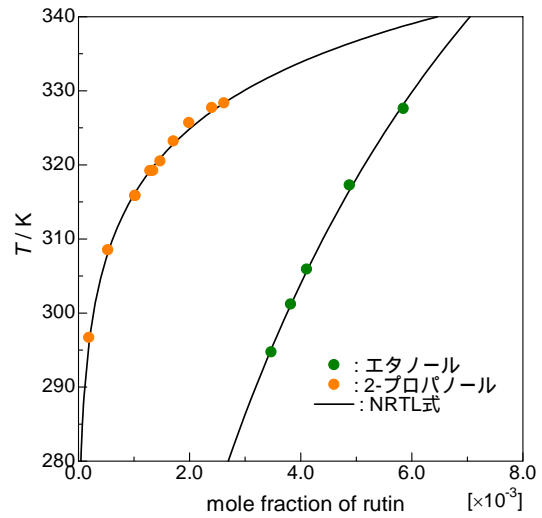


図 5 ルチンのエタノールおよび 2-プロパノールに対する溶解度

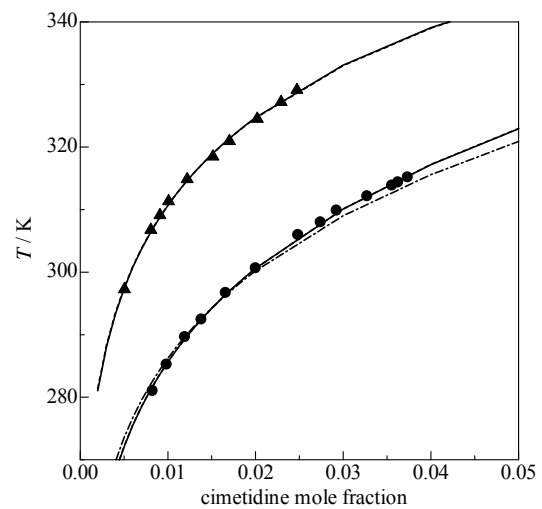


図 6 シメチジン (A, B, C 型の混合) のメタノールおよびエタノールに対する溶解度
 : メタノール, : エタノール, - : NRTL 式, - - - : UNIQUAC 式, - - - : 理想溶液

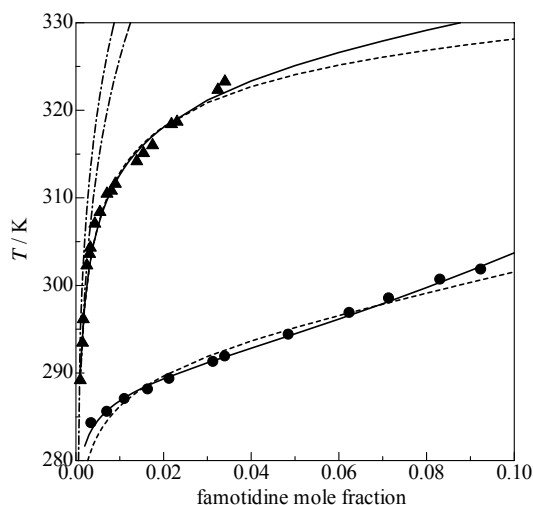


図7 ファモチジン(A型, B型)のPEG 400に対する溶解度 : A型, : B型, - : NRTL式, -----: UNIQUAC式, - · - : 理想溶液

モデルの構築を行う予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Hiroyuki Matsuda, Kanako Mori, Mariko Tomioka, Nozomi Kariyasu, Toshiro Fukami, Kiyofumi Kurihara, Katsumi Tochigi, and Kazuo Tomono, Determination and Prediction of Solubilities of Active Pharmaceutical Ingredients in Selected Organic Solvents, *Fluid Phase Equilibria*, **406**, 116-123 (2015)
DOI: 10.1016/j.fluid.2015.07.032

〔学会発表〕(計6件)

Hiroyuki Matsuda, Kiyofumi Kurihara, Katsumi Tochigi, and Kazuo Tomono, Search of Co-solvents of Poorly Water-soluble Bioactive Compounds in Natural Products on the Basis of the Solubility Measurements, 2nd International Conference and Expo on Biopharmaceutics and Biologic Drugs(アメリカ・サンアントニオ)(2016年9月14日)

松田弘幸, 医薬品製造プロセスにおける溶解度の重要性 - 溶解度 -, 分離技術会講習会「医薬品・粒子製造プロセスにおける操作の実践」, 日本大学工学部駿河台校舎(東京都・千代田区)(2015年10月13日)

松田弘幸, 山口祐美, 浮谷基彦, 栗原清文, 栃木勝己, Synthetic法を用いた医薬品の溶解度の測定ならびに1-オクタノール/水分配係数の決定, 分離技術会年会2015, 明治大学生田キャンパス(神奈川県・川崎

市)(2015年5月29日)

松田弘幸, 小澤麻実, 栗原清文, 栃木勝己, 伴野和夫, 溶解度測定に基づく天然中の難水溶性生体活性成分の助可溶化剤の探索, 第31回シクロデキストリンシンポジウム, 島根県民会館(島根県・松江市)(2014年9月11日)

Hiroyuki Matsuda, Mami Ozawa, Kiyofumi Kurihara, Katsumi Tochigi, and Kazuo Tomono, Search of Co-solvents of Poorly Water-Soluble Bioactive Compounds in Natural Products on the Basis of the Solubility Measurements, 16th International Symposium on Solubility Phenomena and Related Equilibrium Processes (ドイツ・カールスルーエ)(2014年7月23日)

松田弘幸, シクロデキストリン類添加による難水溶性医薬品の溶解性向上, 分離技術会第23回「化学工学物性定数の最近の動向」講演会 - 実用製造プロセスにおける最近の物性の進歩と課題 -, 日本大学工学部駿河台校舎(東京都・千代田区)(2013年7月19日)

〔その他〕

ホームページ等

日本大学工学部物質応用化学科化学工学研究室 <http://kakouken.jimdo.com>

6. 研究組織

(1)研究代表者

松田 弘幸 (MATSUDA, Hiroyuki)

日本大学・工学部・准教授

研究者番号: 50339256