

にがりの主成分イオンがゼリー剤のテクスチャーおよび苦味に与える影響

門田 和紀, 戸塚 裕一

大阪薬科大学薬学部製剤設計学研究室

概要 現在,世界的に見てもほとんどの先進国では,高齢化が急速に進行している。実際,日本国内においても,60歳以上の人口割合が約25%にも達しており,超高齢化社会として非常に深刻な問題となっている。これにともない,日本国内の医療費も年々増大し,国民一人当たりの医療費に対する負担が大きくなっている。医療費削減の一つの解決策として,政府は国民に対して,病気にかかる前の健康を維持し,個人が積極的に健康増進,疾病予防を図る,いわゆるセルフメディケーションを促している。この流れから,2015年4月には機能性表示食品が制度化され,消費者に対して自主的かつ合理的な商品選択の機会を確保することで,積極的にセルフメディケーションを行わせ,医療費を削減する方針が打ち出された。しかしながら,セルフメディケーションで使用される健康食品やサプリメントは錠剤やカプセル剤が多く,高齢者には服用困難な剤形となっている。そこで,嚥下機能や咀嚼機能が低下した高齢者にも服用が容易な製剤であるゼリー剤が近年注目を集めている。

本研究では,ゲル化剤としてアルギン酸ナトリウム,カラギナン,ペクチンなどを使用し,抗酸化作用・抗炎症作用・抗がん作用など,多数の魅力的な薬理効果を示す可能性を秘めているクルクミンを含有する機能性ゼリー剤の開発を行い,にがり主成分である各種イオンがゲル化する際の粘度およびテクスチャーへの影響について検討した。まず,難水溶性化合物であるクルクミンの溶解性については,糖転移化合物である α -Glucosyl Stevia (Stevia-G),水溶性高分子(Polyvinylpyrrolidone K 30(PVP K-30))を添加によって大幅な改善に成功した。また,溶解性改善に成功したクルクミン溶液について,アルギン酸ナトリウムを使用することで,クルクミン溶解度および過飽和状態での安定性を維持したまま,ゼリー剤を作製することに成功した。さらに, κ -カラギナンを用いた場合においても,高い溶解性を維持したまま,易服用性,味や食感,匂いのマスキング効果などのメリットを付与したクルクミンゼリー剤の作製が可能であった。いずれのゲル化剤を添加した際にもゲル化させるためには,にがり主成分であるカリウムあるいはカルシウムイオンの添加が必須であり,このイオンの違いによりゼリー剤の硬さや離水状態が異なった。

以上の知見より,本研究で使用した難水溶性化合物であるクルクミンを用いたゼリー剤の作製にあたって,アルギン酸ナトリウムおよび κ -カラギナンのゲル化剤の有用性が示され,さらに溶液をゲル化させ,ゼリー剤を作製するためには陽イオンであるカリウムおよびカルシウムの種類および濃度が重要であった。今後は,苦みのある医薬品などを対象としてこれらにがり主成分の苦味マスキング効果について検討を実施する予定である。

1. 背景および目的

現在,多くの先進国では,高齢化が急速に進行している。日本国内においても,60歳以上の人口割合が約25%にも達しており,超高齢化社会として非常に深刻な問題となっている。これにともない,日本国内の医療費も年々増大し,国民一人当たりの医療費に対する負担が大きくなっ

ている。そこで,政府は医療費削減の一つの解決策として,国民に対して,病気にかかる前の健康を維持し,個人が積極的に健康増進,疾病予防を図る,いわゆるセルフメディケーションを促している。2015年4月には機能性表示食品が制度化され,消費者に対して自主的かつ合理的な商品選択の機会を確保することで,積極的にセルフメディ

ケーションを行わせ、医療費を削減する方針が打ち出された。しかしながら、セルフメディケーションで使用されている健康食品やサプリメントの多くは錠剤やカプセル剤であり、これらの消費の多くの割合を占める高齢者には服用困難な剤形となっている。そこで、加齢や疾病などによる咀嚼・嚥下機能の低下が認められる高齢者にも服用が容易な製剤であるゼリー剤の開発が近年注目を集めている(1-3)。

本研究では、ゲル化剤としてアルギン酸ナトリウム、カラギナン、ペクチンなどを使用し、抗酸化作用・抗炎症作用・抗がん作用など、多数の魅力的な薬理効果を示す可能性を秘めているクルクミン(4,6)を含有する機能性ゼリー剤の開発について検討した。一般的にゼリー剤に多く用いられるゲル化剤であるアルギン酸ナトリウムやカラギナンなどの多糖類については、にがり主成分のカリウムやカルシウムイオンを添加することで、ゲル化が促進されることがわかっている。そこで、これらのにがり主成分のカリウムやカルシウムイオンがゼリー剤作製時の粘度やテクスチャーを含めた硬さに対する影響について検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

これまでも抗酸化作用・抗炎症作用・抗がん作用など、多数の魅力的な薬理効果を示す可能性を秘めているクルクミンをモデル化合物として使用した(Fig. 1(a))。また、溶解補助剤として糖転移ステビア(東洋精糖株式会社)(以下, Stevia-G(Fig. 1(b)))及び Polyvinylpyrrolidone K-30 (BASF ジャパン株式会社)(以下, PVP)を使用した。さらに、ゲル化剤としてアルギン酸ナトリウム(和光純薬工業株式会社)、カラギナン(三晶株式会社)(Fig. 1(c))、ペクチン(三晶株式会社)を使用した。また、にがり主成分である陽イオンが粘度およびゼリー剤の硬さなどへの影響について調べるため、塩化カルシウム(ナカライテスク)、塩化カリウム(ナカライテスク)、塩化ナトリウム(ナカライテスク)を使用した。

2.2 調製方法

クルクミン 300 mg をエタノール 180 mL 中に溶解させ、Stevia-G 3,000 mg 及び PVP 1,500 mg を精製水 180 mL に溶解させた後、エタノール溶液と混合し、ロータリーエバポレーター (Rotavator R-3, BUCHI) を用いてエタノー

ルを留去し CUR 溶液を得た。その後、クルクミン量として 15 mg を含有するようクルクミン溶液を採取し、 κ -carrageenan を 1 % (w/v)、塩化カリウムあるいは塩化カルシウムを 10 あるいは 50 mM の濃度となるよう添加後、70 °C で 10 分間加熱し完全に溶解させ、4 °C で 24 時間保存しゼリー剤を調製した(Fig. 2)。

さらに、上記と同様のクルクミン溶液を利用して、HM-pectin 250 mg を加え、混合しゼリー剤を作製した。また、アルギン酸ナトリウムの濃度を変化させ、塩化カリウムあるいは塩化カルシウムを 10 あるいは 50 mM の濃度とな

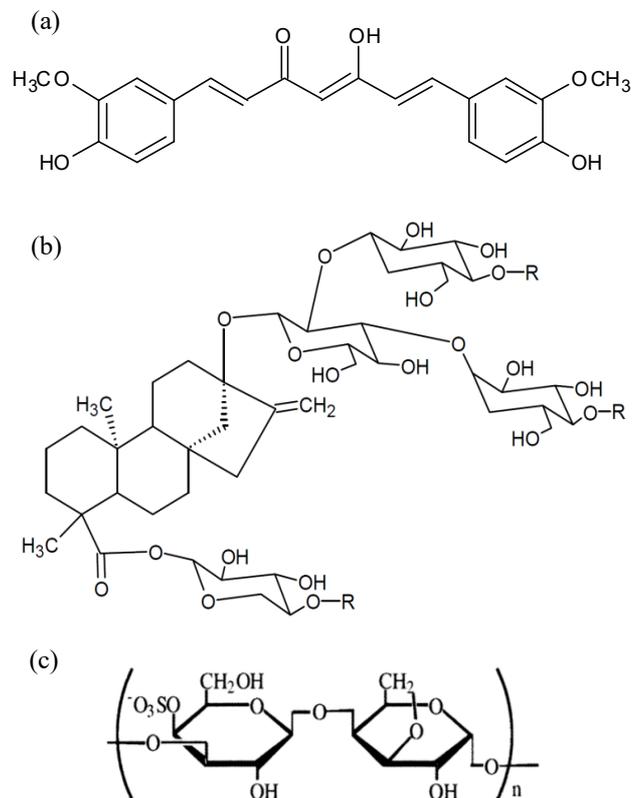


Fig. 1. Structure of (a) Curcumin, (b) transglycosylated stevia (Stevia-G) (c) κ -carrageenan

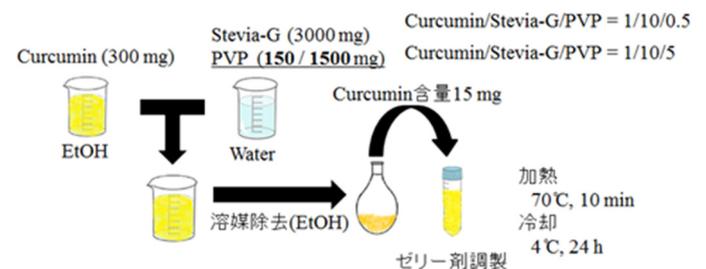


Fig. 2. Schematic representation of preparation for jelly formulation containing curcumin

るよう添加後、70℃で10分間加熱し完全に溶解させ、4℃で24時間保存しゼリー剤を調製した。

3. 評価方法

調製した各試料について、以下の方法により評価した。

(1) 粒子径分布

ゲル化させてゼリー剤にする前のクルクミン溶液 (CUR/Stevia-G/PVP) の粒子径分布について動的光散乱法 (MicrotracBEL Japan, Nanotrac-UPA) により測定した。

(2) 外観評価

ゲル化させてゼリー剤にする前のクルクミン溶液 (CUR/Stevia-G/PVP) の性状を観察した。また、調製したクルクミン溶液に対して塩の添加、希釈および温度に対する安定性は、目視及び濁度により評価した。さらに、ゲル化剤を加えて目視により離水の有無について評価した。

(3) 溶解度

クルクミン原末、物理的混合物 (PM) 及び調製した各製剤 (CUR 量 50 mg) に対して水 25 mL を加え、溶解直後及び 24 時間振とう後 (37℃, 遮光) における溶解度を HPLC (Shimadzu, LC-10AD) により定量した。

(4) 溶出試験

溶出試験器 (NTR-8000AC, Toyama) を用い、パドル法 (50 rpm), 水 (900 mL), 37±0.5℃, 薬物量: CUR 量 5 mg/ベッセルになるように各試料をベッセルに入れ、上記と同じように、HPLC により経時的にベッセル中での溶解したクルクミン濃度を測定した。

(5) 含量均一性評価

各クルクミン含有したゼリー剤の含量均一性は、調製したゼリー剤から無作為に 5 か所採取し、クルクミン含量を HPLC により測定した。さらに、ゼリー剤からの水分の分離 (離水) が認められる場合は離水中のクルクミン含量についても HPLC により定量した。

(6) 粘度測定

回転粘度計 (英弘精機株式会社) を用いて、回転数 10 rpm によるアルギン酸ナトリウム濃度を変化させたときの粘度を測定した。

(7) テクスチャー測定

クリープメータ (RE2-33005C, 株式会社山電) を用いて、各試料のテクスチャーを評価した。試料を直径 36 mm の

容器に高さ 15 mm に充てん後、直径 20 mm の円板状プランジャーを使用し、速度 10 mm/s で繰り返し圧縮試験を行い、硬さ、付着性、凝集性について評価した。

4. 結果と考察

4.1 Stevia-G および PVP によるクルクミン溶液の最適化

本検討で用いた Stevia-G を添加した製剤で難水溶性化合物であるクルクミンの大幅な溶解性の改善が認められた⁽⁷⁾。この時、添加量の増加に応じてクルクミンの見かけの溶解度の向上が認められ、クルクミンに対して質量比 10 倍の Stevia-G を添加することでクルクミン原薬の水に対する溶解度が 0.3 µg/mL から 1,500 倍以上の約 480.3 µg/mL にまで増加した。しかしながら、クルクミンと Stevia-G の 2 成分だけで形成される過飽和状態は非常に不安定ため、24 時間後にはクルクミンの溶解度は 50.9 µg/mL にまで減少した。すでに、クルクミンの溶解度改善に関する報告において、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知られている^(8,9)。我々は、3 成分目の添加物として、クルクミンとの相互作用の形成が報告されている高分子である PVP を添加することで、クルクミンの見かけ溶解度はクルクミン原末に対して、約 13,000 倍にまで達した。これは、24 時間経過後の溶解度はほとんど減少しなかった。

Fig. 3 にクルクミン溶液の粒子径分布およびその際の性状を示す。外観が澄明となっており、平均粒子径は 30 nm ほどであり、良好な分散状態であることが確認できた。また、高分子である PVP-K30 の比率による粒子径への影

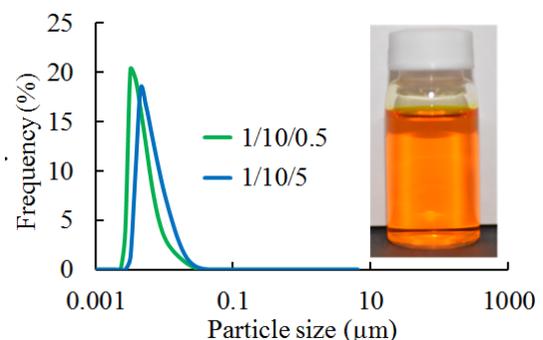


Fig. 3. The particle size of the aqueous solution after removing the ethanol

響もほとんどないことが分かった。これまでの検討において、Stevia-G については溶液中で数 nm の集合体を形成していることをすでに報告している^(10,11)。さらに、Stevia-G は難水溶性化合物もその数十 nm の集合体に分散させ、見かけの溶解度を上昇させていた。PVP によってこの集合体をより安定な構造としたことで、長期間も過飽和状態を維持していることが示唆される。

4.2 ゲル化剤がクルクミン溶液に及ぼす影響

ゲル化剤として、アルギン酸ナトリウム、カラギナン類およびペクチンを選択し、クルクミン溶液の外観や品質に及ぼす影響について検討した。Fig. 4 に3種類のゲル化剤による各温度でのクルクミンの定量値を示す。

ペクチンを用いたゼリー剤では、25°C で保存した場合にクルクミンの顕著な分解が確認された。それに比べ、アルギン酸ナトリウム及び κ-カラギナンを用いたゼリー剤では、クルクミンの分解はほとんど認められなかった。以上より、クルクミンゼリー剤のゲル化剤として、アルギン酸ナトリウムおよび κ-カラギナンを選択した。

4.3 アルギン酸ナトリウムによるクルクミンゼリー剤設計

Fig. 5 にアルギン酸ナトリウムと塩化カルシウムの濃度を变化させたときのクルクミンゼリー剤の性状を示す。アルギン酸ナトリウム 2%、塩化カルシウム 0.02 M の処方においては、離水が認められず容器からゼリー剤を取り出しても形状は維持していた。また、ゼリー剤に含まれるクルクミン濃度についても变化させた。クルクミンを 4 mg/mL とかなり高濃度にしてもクルクミンの懸濁および析出は認められなかった。

塩化カルシウムを添加する前のアルギン酸ナトリウム濃度を变化させたときの粘度を Fig. 6 に示す。アルギン酸ナトリウム濃度上昇に伴って粘度が上昇していた。さらに、最適処方としたアルギン酸ナトリウムにより作製したクルクミンゼリー剤の溶出試験結果を Fig. 7 に示す。クルクミン原末および単純に物理的混合によって作製したゼリー剤に比べて溶出速度が大幅に改善された。

4.4 κ-カラギナンによるクルクミンゼリー剤設計

κ-カラギナンをゲル化剤とし、にがり主成分のカリウムおよびカルシウムを添加し、調製した各クルクミンゼリー剤中および離水したゼリー剤中のクルクミン含量測定結果を Table. 1 に示す。ゼリー中のクルクミン含有率は、陽イオン

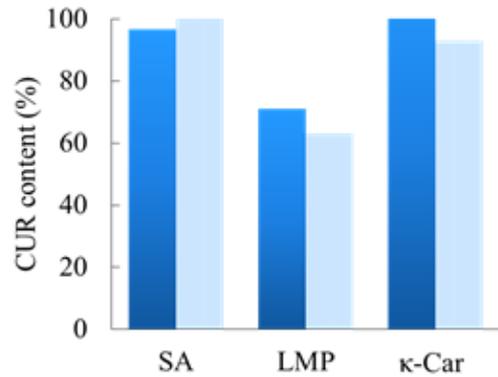
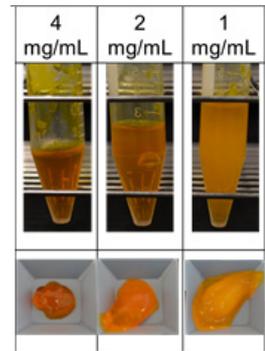
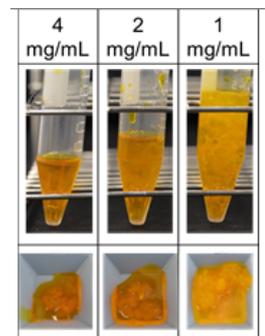


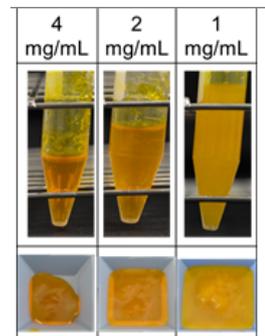
Fig. 4. Effect of gel agent on the curcumin content in formulations



(a) Sodium alginate:2%, CaCl₂: 0.02M



(b) Sodium alginate:2%, CaCl₂: 0.1M



(c) Sodium alginate:1%, CaCl₂: 0.02M

Fig. 5. Photographs of jelly formulation containing curcumin

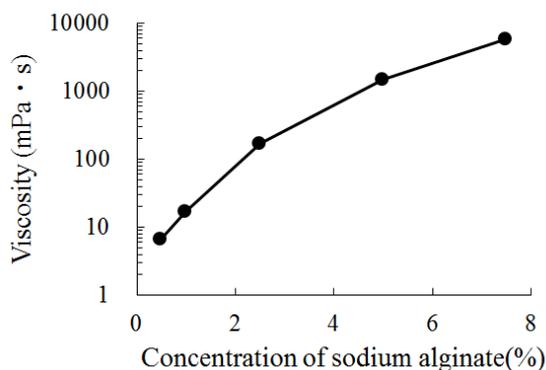


Fig. 6. Change in viscosity of curcumin solution against concentration of sodium alginate

Table 1. Curcumin content in jelly formulation and syneresis

Samples	Content in jelly formulation(%)	Content in syneresis (%)
-	97.0 ± 0.4	.*
K ⁺ 10 mM	96.0 ± 1.0	2.1 ± 1.5
K ⁺ 50 mM	91.2 ± 1.5	6.6 ± 0.8
Ca ²⁺ 10 mM	97.2 ± 1.1	.*
Ca ²⁺ 50 mM	97.5 ± 1.3	.*

* No syneresis

添加の有無に関わらず均一であることが確認された。一方、K⁺を添加したゼリー剤のみ離水が認められた。また、ここには示していないが、PVP濃度を変化させてもクルクミン含量は均一であることも確認できた。

そこで、これら各イオンを添加した際のゼリー剤のテクスチャーを評価した結果を **Table. 2** に示す。1%のκ-carrageenan 処方について、いずれの陽イオンを添加しても、硬度の上昇が認められ、一価のカリウムイオンよりも二価のカルシウムイオンのほうが少量で硬度は上昇した。また、カリウムイオンの添加濃度に硬度は比例的に上昇したが、カルシウムイオンによる硬度の影響はほとんどなかった。さらに、付着性を評価したところ、カリウムイオンについては添加濃度に対して上昇したのに対し、カルシウムは添加濃度に対して減少した。しかし、いずれのイオンを添加したゼリー剤についても嚥下困難者に対して許可基準として定められている要件には満たしておらず、今後、そ

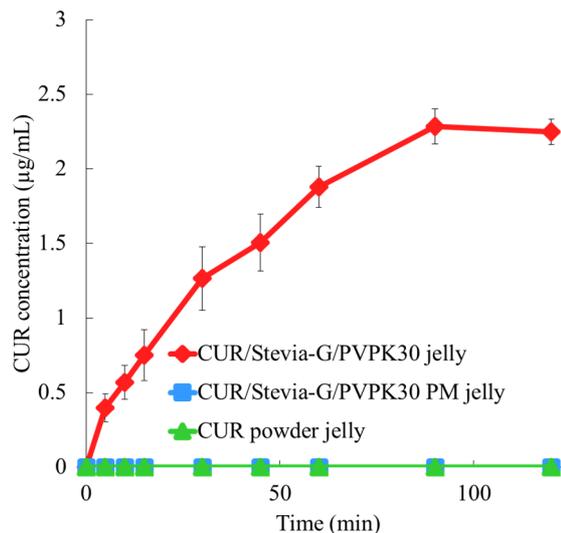


Fig. 7. Effect of gel agent on the curcumin assay

Table 2. Texture properties of curcumin jelly formulation

Samples	Hardness [N/m ²]	Adhesiveness [J/m ³]	Aggregation [-]
-	5,029	83.8	0.37
K ⁺ 10 mM	18,780	73.2	0.22
K ⁺ 50 mM	39,150	445.6	0.23
Ca ²⁺ 10 mM	52,520	3119.0	0.22
Ca ²⁺ 50 mM	64,620	2587.0	0.20

他のゲル化剤等を使用して、高齢者である嚥下困難に適したゼリー剤の設計を行う予定である。

4.5 各処方ゼリー剤の溶出試験結果

調製した各 CUR ゼリー剤の溶出試験の結果を **Fig. 8** に示す。K⁺、Ca²⁺を添加した CUR ゼリー剤は、添加濃度に従いCURの溶出速度に低下が認められた。これは陽イオン添加によりゼリー剤の硬度が上昇し、ゼリー剤の崩壊が遅延したことが要因であると考えられた。またゼリー剤からのCURの溶出率は、Ca²⁺を50 mM添加した場合のみ懸濁が認められ、100%に到達しなかった。

5. 結言

以上より、難水溶性化合物であるクルクミンの溶解性については、糖転移化合物であるα-Glucosyl Stevia (Stevia-G)、水溶性高分子 (Polyvinylpyrrolidone K 30 (PVP K-30))を添加によって大幅な改善に成功した。

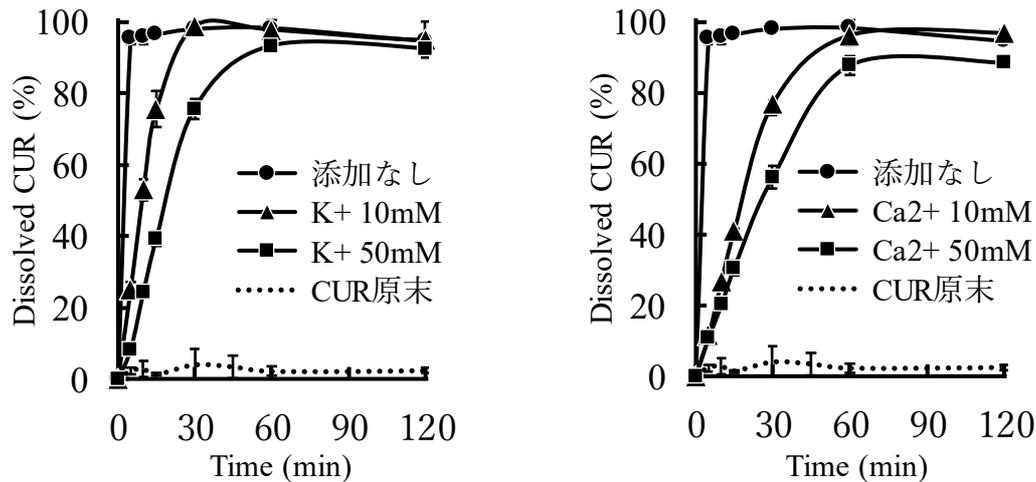


Fig. 8. Dissolution profile of jelly formulations containing curcumin

また、溶解度改善したクルクミンについて、アルギン酸ナトリウムおよび κ -カラギナンを使用することで、ある程度のクルクミン溶解度および安定性を維持したままのゼリー剤の開発に成功した。さらに、 κ -カラギナンを用いたクルクミン製剤においても、高い溶解性を維持したまま、易服用性、味や食感、匂いのマスキング効果などのメリットを付与したゼリー剤が可能であった。いずれのゲル化剤を添加した際にもゲル化させるためには、にがり主成分であるカリウムあるいはカルシウムイオンの添加が必須であり、このイオンの違いによりゼリー剤の硬さや離水状態が異なった。

今後はさらに、苦みのある医薬品などを対象としてこれらににがり主成分の苦味マスキング効果について検討を実施する予定である。

引用文献

- 1) Farah Naqash, F.A. Masoodi, Sajad Ahmad Rather, S.M. Wani, Adil Gani, Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin—A Review, *Carbohydrate Polymers*, 168 (2016) 227-239
- 2) Takahiro Fukami, *In vivo* and rheological approaches for characterizing food oral processing and usefulness of polysaccharides as texture modifiers- A review, *Food Hydrocolloids*, 68 (2017) 2-14.
- 3) Chao Yuan, Lei Du, Guangjie Zhang, Zhengyu Jin, Hui Liu, Influence of cyclodextrins on texture behavior and freeze-thaw stability of kappa-carrageenan gel, *Food Chemistry*, 210 (2016) 600-605.
- 4) Hermann P. T. Ammon, Martin A. Wahl, Pharmacology of Curcuma longa, *Planta Medica*, 57 (1991) 1-7.
- 5) Dong-Min Kim, Sang-Joon Ma, Eun-Gukang, Development of ready-mixed shotcrete for improvement of construction quality in Korea, *Int. J. Mod. Phys. Conf. Ser.*, 6 (2012) 221-226.
- 6) Gary D. Stoner, Hasan Mukhtar, Polyphenols as cancer chemopreventive agents, *J. Cellular Biochem.* 59 (1995) 169-180.
- 7) Kazunori Kadota, Daiki Okamoto, Hideyuki Sato, Satomi Onoue, Shigeyuki Otsu, Yuichi Tozuka, Hybridization of polyvinylpyrrolidone to a binary composite of curcumin/ α -glucosyl stevia improves both oral absorption and photochemical stability of curcumin, *Food Chemistry*, 213 (2016) 668-674.
- 8) Hisham Al-Obaidi, Peng Ke, Steve Brocchini, Graham Buckton, Characterization and stability of ternary solid dispersions with PVP and PHPMA, *Int. J. Pharm.*, 419 (2011) 20-27.
- 9) Saujanya Gosangari, Tatyana Dyakonov, Enhanced dissolution performance of curcumin with the use of supersaturatable formulations, *Pharmaceutical Development and Technology*, 18 (2013) 475-480.
- 10) Hiromasa Uchiyama, Yuichi Tozuka, Masaaki Imono, Hirofumi Takeuchi, Transglycosylated stevia and hesperidin as

pharmaceutical excipients: Dramatic improvement in drug dissolution and bioavailability, *Euro. J. Pharm. Biopharm.*, 76 (2010) 238-244.

11) Junying Zhang, Kenjiro Higashi, Keisuke Ueda, Kazunori

Kadota, Yuichi Tozuka, Waree Limwikranta, Keiji Yamamoto, Kunikazu Moribe, Drug solubilization mechanism of α -glucosyl stevia by NMR spectroscopy, *Int. J. Pharm.*, 465 (2014) 255-261.

Effect of Main Cation in Bittern on the Texture and Bitterness of Jelly Formulation

Kazunori Kadota, Yuichi Tozuka

Osaka University of Pharmaceutical Sciences

Summary

We investigated the effect of cation on the quality of jelly formulation containing the curcumin, which is poorly water soluble compound. We succeeded in improving the solubility and dissolution profile of curcumin using the transglycosylated stevia and polyvinylpyrrolidone K-30. Furthermore, PVP acted as keeping the supersaturated state of curcumin solution. We prepared jelly formulation of this supersaturated curcumin solution using gel agents of sodium alginate, pectin, and carrageenan. Both sodium alginate and carrageenan succeeded in jelly formulation, while pectin decreased the curcumin content in jelly formulation.

Furthermore, the dissolution profiles of curcumin jelly formulation using alginate and carrageenan were investigated. Both dissolution profiles were improved. Cations, which are necessary for the jelly formulation, were added in the jelly formulations to maintain the hardness and quality. Pottasium caused the syneresis from jelly formulation although the curcumin content was maintained. Up to these findings, cations would be acted as maintain of jelly quality. In the future, we need to the masking effect of cation to bitterness and improvement of taste for jelly formulations.