

平成 30 年 6 月 16 日現在

機関番号：34517

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18970

研究課題名(和文) 表面プラズモン共鳴 (SPR) 法による医薬品と飲食物成分間の相互作用解析

研究課題名(英文) Interactive analysis of medicines with food constituent using surface plasmon resonance

研究代表者

原口 珠実 (HARAGUCHI, Tamami)

武庫川女子大学・薬学部・助教

研究者番号：10550741

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：クロロゲン酸(CGA)は、フルーツ、コーヒー等の成分であり、薬物の苦味マスキング物質として用いる場合の安全性の確保が容易であると考えられる。そこで、味覚センサを用いてCGAによる各種薬物の苦味抑制効果を評価し、SPRによりCGAと薬物間の相互作用を評価した。塩基性薬物は酸性薬物と比較してCGAとの結合速度定数 k_a が大きかった。CGAによる各薬物の味覚センサ応答の抑制率とCGAと薬物の k_a の間には有意な相関が認められた。以上より、CGAによる薬物の苦味抑制にはCGAと薬物の相互作用が関与することが示唆された。CGAはとくに塩基性薬物の苦味マスキング剤として有用であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to evaluate the interaction between bitter drugs and taste masking agents derived from food constituents. Chlorogenic acid (CGA) is known to be present in fruits, vegetables and coffee in high concentrations, and its safety is assured. We firstly measured the bitterness of six different bitter drugs. Taste sensor outputs were significantly inhibited by the addition of CGA to all drugs. The interaction between the bitter drugs and CGA was investigated by SPR analysis using SPR-Navi 200 (BioNavis). SPR kinetic analysis of the results was performed with TraceDrawer from BioNavis. The inhibition ratios (%) of the taste sensor output of bitter drugs caused by CGA and the association rate constant between the drugs and CGA were significantly correlated. It was suggested that the taste-masking effect of CGA are due to its direct association with the drugs. CGA may therefore be useful taste-masking agent for basic drugs.

研究分野：医療薬学

キーワード：SPR bitter taste

1. 研究開始当初の背景

日本の医療用医薬品の中で小児用製剤は経口剤が最も多いが、小児には錠剤の服用が困難であること、体重による用量調節が必要であることから、液剤や散剤または錠剤を粉碎した薬剤が用いられる。しかしこの場合、薬剤の味が原因で服薬拒否を起こすことがある。このため小児の服薬アドヒアランスを向上させるには、口腔内で医薬品の苦味を感じさせない適切な苦味マスキングが必要である。

医薬品の味評価の手法として、近年ではヒト官能試験に代替して味覚センサが頻用されている。これまでに、研究代表者は、味覚センサを用いた医薬品の苦味評価を行い、小児の夜尿症治療に粉碎して用いられるベシケア錠の主成分である塩基性医薬品ソリフェナシンコハク酸塩の苦味は、脂質膜 (Hexadecanoic acid) センサを用いて定量的に評価しうること¹⁾、酸性医薬品 NSAIDs のジクロフェナクナトリウム、エトドラクは脂質膜 (Tetradodecyl ammonium bromide) センサを用いて定量的に評価しうること²⁾を明らかにしている。このように塩基性医薬品と酸性医薬品は区別して評価され、各々の苦味マスキングについても特異性を有することが考えられる。

苦味マスキングの方法として、甘味剤、酸味剤による官能的マスキング、苦味受容体を覆い苦味物質の味受容体への作用を阻害する物理的マスキング、苦味物質に対する分子包接、複合体形成等による化学的マスキングがあり、医薬品の強い苦味には、これらの方法を組み合わせることにより総合的な苦味マスキングが可能となる。典型的な官能的マスキング方法として人工甘味料、酸味料等を含む添加剤がよく使用されるが、生体への安全性に配慮する必要がある。日常的に摂取する飲食物に含まれる物質であればその安全性の確保が容易であり、苦味抑制物質としての応用が期待できる。

2. 研究の目的

これまでに舌を模倣した脂質膜センサを用いて医薬品の苦味を抑制しうる飲食物としてコーヒー、ヨーグルト等の苦味抑制効果を評価してきた^{3,4)}。しかしその抑制効果が官能的、物理的、化学的マスキングのいずれに該当するか等、詳細なメカニズムについては明らかにしていない。本研究では医薬品の苦味抑制に有効な飲食物の苦味マスキングメカニズムを明らかにし、苦味マスキング剤として有効な成分を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 味覚センサと SPR を用いたクロロゲン酸 (CGA) による薬物の苦味抑制効果の評価
味覚センサを用いて薬物 (ドネペジル (DNP)、ジフェンヒドラミン (DPH)、アムロジピン (AMD)) の苦味を評価し、CGA 添加による

薬物の苦味抑制率を予測した。次に各薬物と CGA 間の分子間相互作用を SPR-Navi (Bio Navis) を用いて評価した。金薄膜に CGA を固定してリガンドとし、各薬物溶液をアナライトとし、薬物とクロロゲン酸との結合速度定数、解離速度定数を Trace Drawer (Bio Navis) を用いて算出した。

(2) 薬物の苦味とヒト苦味受容体応答の相関性評価

ヒト苦味受容体と薬物または苦味抑制物質の相互作用を評価することを目的とし、その前段階として、薬物の苦味と、25 種の存在が知られているヒト苦味受容体 (hTAS2Rs) 応答の相関性を評価した。対象薬物として、hTAS2Rs のリガンドとして知られており、臨床使用されている 22 種の薬物 (キニーネ、アセトアミノフェン、アザチオプリン、カフェイン、クロラムフェニコール、クロルフェニラミン、コルヒチン、デキストロメトルファン、ジフェンヒドラミン、ジフェニドール、エリスロマイシン、ファモチジン、フルフェナム酸、ハロペリドール、ヒドロコルチゾン、メチマゾール、ノスカピン、オフロキサシン、パパベリン、プロピルチオウラシル、ストリキニーネ) を用いた。各薬物 0.01、0.03、0.1 mM を味覚センサ AC0、AN0、BT0、C00、AE1 で測定し、主成分分析を行った。Fisher の正確確率検定により、各薬物の各センサ膜応答の有無と受容体サブタイプへの応答の有無との相関を評価した。

4. 研究成果

(1) 味覚センサと SPR を用いたクロロゲン酸による薬物の苦味抑制効果の評価

AMD、DPH、DNP は塩基性苦味膜 AN0 に濃度依存的に応答し、各薬物 0.5 mM の AN0 応答値は、CGA (0.1、0.5、1.0 mM) 添加濃度依存的に減少した。CGA 0.5 mM による AMD、DPH、DNP (各 0.5 mM) の AN0 応答値の減少率は、各々 $10.8 \pm 1.5\%$ 、 $46.0 \pm 3.6\%$ 、 $20.1 \pm 0.9\%$ であった (図 1)。

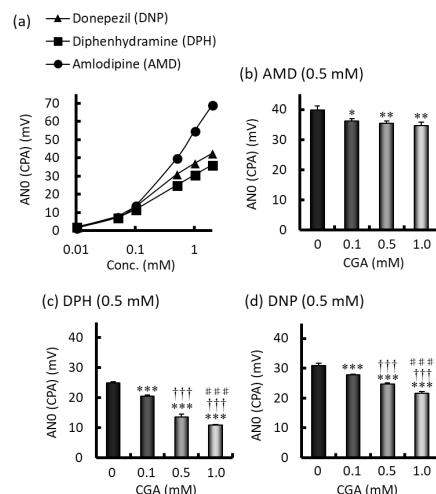


図 1. CGA を添加した AMD、DPH、DNP の AN0 応答値

一方、RBM、ETD、DCF は収斂味膜 AE1 に濃度依存的に応答し、各薬物 0.8 mM の AE1 応答値は、クロロゲン酸 (0.3、0.8、1.4 mM) 添加濃度依存的に減少した。クロロゲン酸 0.8 mM による RBM、ETD、DCF (各 0.8 mM) の AE1 応答値の減少率は、各々 $10.2 \pm 2.0\%$ 、 $9.6 \pm 0.6\%$ 、 $12.2 \pm 1.3\%$ であった (図 2)。

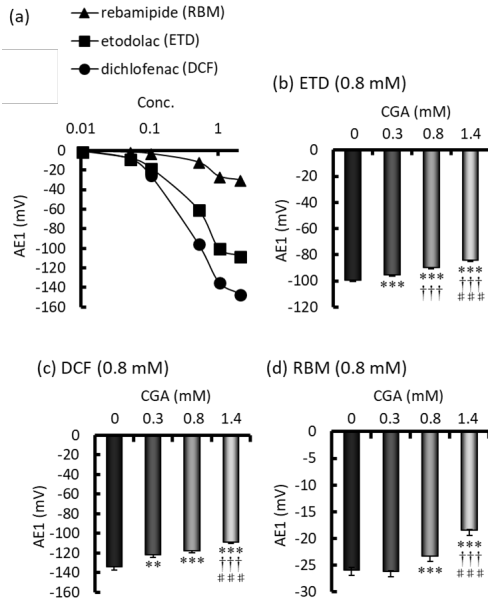


図 2 . CGA を添加した RBM、ETD、DCF の AE1 応答値

次に、SPR により各薬物とクロロゲン酸の相互作用を評価した。金薄膜に固定したクロロゲン酸に各薬物 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.0 mM をアナライトとして投与後のシグナルをリアルタイムに測定し、解析ソフト Trace Drawer を用いて結合速度定数、解離速度定数を算出した (図 3)。

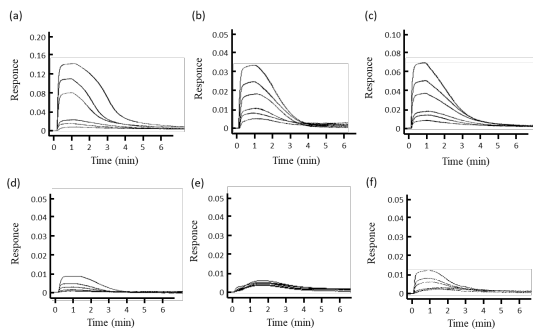


図 3 . クロロゲン酸に対する各薬物の SPR シグナル応答値

味覚センサから予測されたクロロゲン酸による各薬物の苦味抑制率が高いほど、クロロゲン酸と各薬物の結合速度定数 k_a が大きかった (図 4)。

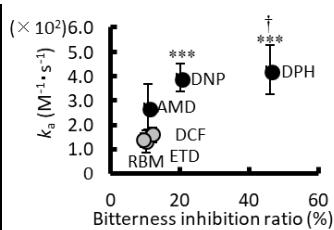


図 4 . クロロゲン酸による薬物の苦味抑制率と、クロロゲン酸-薬物間の結合速度定数の相関性評価 (***) $p < 0.001$ vs RBM, † $p < 0.05$ vs AMD, $r_s = 0.886$, $p < 0.05$, Spearman's correlation test)

以上より、クロロゲン酸による薬物の苦味抑制にはクロロゲン酸と薬物の結合が一部関与している可能性が示唆された。

(2) 薬物の苦味とヒト苦味受容体応答の相関性評価

各薬物の味覚センサ測定より、ジフェニドール、ジフェンヒドラミン、デキストロメトルフアン、パパベリン、ハロペリドールはキニーネと同等かそれ以上の苦味を呈することが予測された (図 5)。

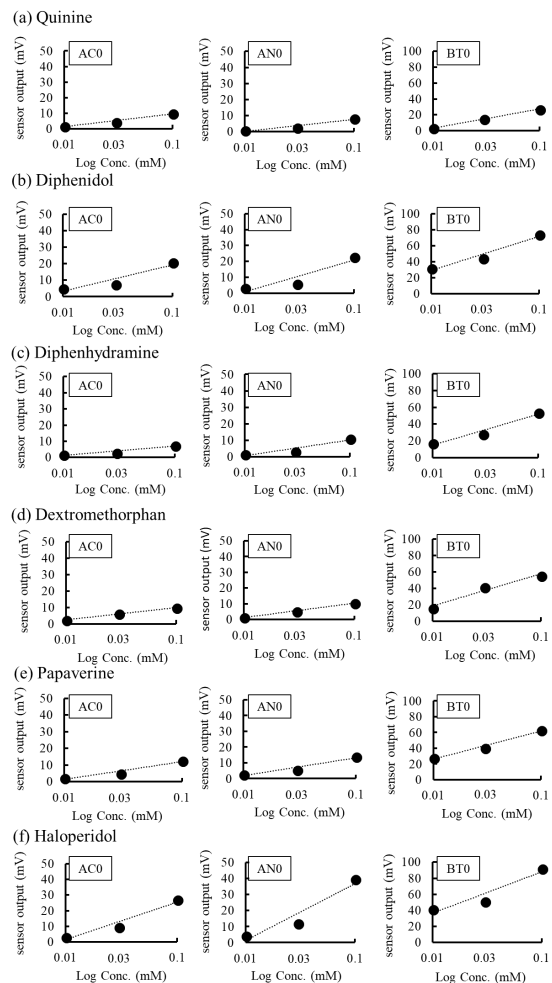


図 5 . 各薬物の塩基性苦味膜 AC0、AN0、BT0 膜応答値

Bitter DB⁵⁾ より各薬物の 25 種の hTAS2Rs 応答の有無を調査し、各薬物のセンサ膜応答の有無との相関性を Fisher の正確確率検定により

評価した。塩基性苦味膜である BT0 膜応答は、hTAS2R14 への応答と相関が認められた。また、AN0 膜応答は、hTAS2R10 への応答との相関傾向が認められた。さらに、logP が高いことと hTAS2R14 への応答に相関が認められた。以上より、幅広いリガンド応答を示すことが知られている hTAS2R14 は、logP が高い塩基性薬物を受容することが示唆された。

<引用文献>

- 1) Haraguchi T et al. Bitterness evaluation of intact and crushed vesicare orally disintegrating tablets using taste sensors. J Pharm Pharmacol, 65, 980-987 (2013).
- 2) Yoshida M, Haraguchi T et al. Bitterness evaluation of acidic pharmaceutical substances (NSAIDs) using a taste sensor. Chem Pharm Bull, 62(12), 1252-1258 (2014).
- 3) 原口珠実他, 味覚センサを用いたムコスタ[®]点眼液 UD2%に含有されるレバミピドの苦味評価と飲食物による苦味抑制評価, あたらしい眼科, 30(11), 1619-1622, (2013)
- 4) Haraguchi T et al, The ability of foods/drinks to reduce the bitterness intensity of topiramate as determined by taste sensor analysis. Chem Pharm Bull, 64, 14-20 (2016)
- 5) Wiener A et al. BitterDB: a database of bitter compounds. Nucleic Acids Res., 40, D413-D419 (2012)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

Haraguchi T, Uchida T, Yoshida M, Kojima H, Habara M, Ikezaki H., The utility of the artificial taste sensor in evaluating the bitterness of drugs: Correlation with responses of human TASTE2 receptors (hTAS2Rs), Chem Pharm Bull., 査読有, 66, 2018, 71-11
DOI: 10.1248/cpb.c17-00619

Shiraishi S., Haraguchi T., Nakamura S., Li D., Yoshida M., Uchida T. Taste-masking effect of Chlorogenic acid (CGA) on bitter drugs evaluated by taste sensor and surface plasmon resonance on the basis of CGA-drug interaction., Chem Pharm Bull., 査読有, 65, 2017, 127-133
DOI: 10.1248/cpb.c16-00621

[学会発表](計6件)

Uchida T., Haraguchi T., Kojima H., Yoshida M., Habara M., Ikezaki H., Correlation between response to artificial taste sensors and response to human TASTE2 receptors (hTAS2Rs) stimulated with bitter compounds., AAPS annual meeting 2017 (国際学会) 2017年11月12~15日、サンディエゴ(アメリカ)

Kojima H., Shiraishi S., Nakamura S., Haraguchi T., Yoshida M., Uchida T., Bitterness suppression on basic drug by chlorogenic acid evaluated by taste sensor and ¹H-NMR., CRS annual meeting 2017 (国際学会) 2017年7月16~19日、ボストン(アメリカ)

原口珠実、小島穂菜美、吉田都、内田享弘、薬物のヒト苦味受容体 hTAS2Rs 応答に関わる因子の探索、日本薬学会第132年会、2017年5月11~13日(埼玉県大宮市)

小島穂菜美、白石早祐子、中村早貴、原口珠実、吉田都、内田享弘、味覚センサと¹H-NMRを用いたクロロゲン酸によるジフェンヒドラミン塩酸塩の苦味抑制に関する評価および機序の解明、日本薬学会第137年会、2017年3月25~27日(宮城県仙台市)

白石早祐子、中村早貴、原口珠実、小島穂菜美、吉田都、内田享弘、医薬品の苦味抑制に及ぼす因子としてのクロロゲン酸 - 医薬品相互作用の解析とその関連物質の苦味抑制効果、第66回日本薬学会近畿支部大会・総会、2016年10月15日(大阪府高槻市)

Haraguchi T., Uchida T., Yoshida M., Kojima H., Habara M., Ikezaki H., Analysis the responses of human bitterness receptor agonists toward taste sensors, CRS annual meeting 2016 (国際学会) 2016年7月17~20日、シアトル(アメリカ)

6. 研究組織

(1)研究代表者

原口 珠実 (HARAGUCHI, Tamami)
武庫川女子大学・薬学部・助教
研究者番号: 10550741