

# 学位論文

高齢者を対象とした医薬品の苦味マスキング法  
および易嚥下性ゲル製剤の調製に関する研究

The study of bitterness masking in medicines and  
preparation for gel formulation with ease of swallowing for geriatric

2020

小島 穂菜美

# 目次

緒言.....	1
第1章 ゾピクロン (ZOP) 錠およびエスゾピクロン (ESZ) 錠に対する各種飲料の苦味抑制効果.....	4
第1節 味覚センサによる ZOP 錠および ESZ 錠の苦味評価 .....	5
第1項 目的.....	5
第2項 実験方法.....	5
第3項 結果および考察.....	6
第2節 味覚センサおよびヒト官能試験による ZOP 錠および ESZ 錠の苦味に及ぼす各種飲料の影響 .....	7
第1項 目的.....	7
第2項 実験方法.....	7
第3項 結果および考察.....	9
第3節 <sup>1</sup> H-NMR を用いた ZOP-クエン酸の分子間相互作用解析 .....	12
第1項 目的.....	12
第2項 実験方法.....	12
第3項 結果および考察.....	12
第4節 小括 .....	15

## 第2章 アムロジピンベシル酸塩 (AML) の苦味に及ぼす他の配合降圧薬の影響 ... 16

第1節 味覚センサによる各種降圧薬の苦味評価および AML の苦味に及ぼす各種配合降圧薬の影響 .....	17
第1項 目的.....	17
第2項 実験方法.....	17
第3項 結果および考察.....	18
第2節 味覚センサおよびヒト官能試験による AML の苦味に及ぼすテルミサルタン (TEL) またはバルサルタン (VAL) の影響.....	20
第1項 目的.....	20
第2項 実験方法.....	20
第3項 結果および考察.....	21
第3節 <sup>1</sup> H-NMR を用いた AML-TEL および AML-VAL の分子間相互作用解析.....	24
第1項 目的.....	24
第2項 実験方法.....	24
第3項 結果および考察.....	24
第4節 分子間相互作用に及ぼす AML, TEL および VAL の溶液 pH の影響.....	27
第1項 目的.....	27
第2項 実験方法.....	27
第3項 結果および考察.....	27
第5節 小括.....	30

第 3 章 $\gamma$ -ポリグルタミン酸ハイドロゲル (PGA gel) の調製と物理化学的性質の評価および PGA gel による AML を含む各種薬物の苦味抑制効果 .....	32
第 1 節 PGA gel の物理化学的性質の評価ならびに膨潤挙動の評価 .....	34
第 1 項 目的 .....	34
第 2 項 実験方法 .....	34
第 3 項 結果および考察 .....	35
第 2 節 TPA 試験を用いた PGA gel を含む 5 種のゲルのテクスチャー評価 .....	38
第 1 項 目的 .....	38
第 2 項 実験方法 .....	38
第 3 項 結果および考察 .....	38
第 3 節 PGA gel および AML を混合した試料における AML の溶出性の評価 .....	40
第 1 項 目的 .....	40
第 2 項 実験方法 .....	40
第 3 項 結果および考察 .....	41
第 4 節 味覚センサによる PGA gel, AML の味評価および AML の苦味に及ぼす各種ゲル の影響 .....	42
第 1 項 目的 .....	42
第 2 項 実験方法 .....	42
第 3 項 結果および考察 .....	44

第5節 ヒト官能試験による AML の苦味に及ぼす各種ゲルの影響.....	47
第1項 目的.....	47
第2項 実験方法.....	47
第3項 結果および考察.....	48
第6節 味覚センサによる各種薬物の苦味に及ぼす 0.5%PGA gel と 1.0%寒天の影響..	49
第1項 目的.....	49
第2項 実験方法.....	49
第3項 結果および考察.....	51
第7節 <sup>1</sup> H-NMR を用いた各種薬物-PGA gel の分子間相互作用解析.....	55
第1項 目的.....	55
第2項 実験方法.....	55
第3項 結果および考察.....	55
第8節 小括 .....	59
第4章 総括.....	61
謝 辞.....	64
参考文献.....	65

## 緒 言

超高齢社会の日本において、薬剤費が医療費に占める割合は漸増している<sup>1)</sup>。限られた医療資源を有効に活用するため、多剤服用や残薬の問題を解決することが喫緊の課題となっている。循環器系疾患をはじめとする多くの疾患を抱えた高齢患者が多剤を併用している可能性は高く、特に5種類以上の薬剤を処方されている場合には、服用薬剤数の多さが服薬アドヒアランスを低下させる要因となることが報告されている<sup>2)</sup>。薬剤の大きさ・形状に加え、薬剤中の主薬の苦味も服薬アドヒアランスを低下させる要因となる。したがって、医薬品の苦味を抑制するための有益な情報を提供することや、徐放性製剤への切り替え、配合剤の導入などは服用薬剤数の減少につながり、服薬アドヒアランスの改善に有効<sup>3)</sup>であると考えられる。また、嚥下機能は加齢や疾患により低下する<sup>4, 5)</sup>。多くの製薬会社から上市されている口腔内崩壊 (OD) 錠は内服しやすい製剤となることをコンセプトとして考案・開発された剤形であり、高齢者など嚥下機能が低下した患者に対して有用であるという報告<sup>6)</sup>がある一方で、OD 錠が口腔内での崩壊時に苦味を呈することもあり<sup>7, 8)</sup>、服薬アドヒアランス低下が懸念される場合もある。したがって、嚥下機能が低下している高齢者が問題なく服用できる製剤の開発が急務である。

本研究において、学位申請者は高齢者の有病率が高い睡眠障害 (不眠症)<sup>9)</sup> や高血圧症<sup>10)</sup> の治療薬であり、かつ苦味を呈する薬物を対象とし、服薬アドヒアランスの向上を目的に苦味マスキング法の検討を行った。さらに、嚥下機能が低下している高齢者に対して苦味マスキング機能および易嚥下性を兼ね備えたゲル製剤の開発を目的に検討を行った。

第1章では、睡眠障害改善薬の苦味軽減に着目し、非ベンゾジアゼピン系の睡眠障害改善薬であるゾピクロン (ZOP) およびエスゾピクロン (ESZ) に対する各種飲料の苦味抑制効果を評価した。60歳以上の高齢者では約3割の人が何らかの睡眠障害を有するとされ<sup>11)</sup>、高齢者の不眠症患者において、非ベンゾジアゼピン系睡眠障害改善薬は筋弛緩作用やふらつきが比較的少なく、第一選択薬となりうる<sup>12)</sup>。ZOP および ZOP を光学分割して得られた S 体の ESZ は、フィルムコーティング錠<sup>13, 14)</sup> であるため、口腔内での崩壊を防ぐように設計されているが、いずれも経口投与直後に、口

腔内で苦味を呈する<sup>15-18)</sup>だけではなく、服用からしばらく経過した翌朝などにおいても薬物が血中から唾液中に移行すること<sup>19, 20)</sup>で再び苦味を呈することが知られている。これまでに医薬品の苦味について、水以外の飲料がその苦味を抑制したとの報告がある<sup>21)</sup>。そこで本章では、水以外の飲料を用いて、ZOP錠およびESZ錠の苦味に及ぼす飲料および飲料中の成分の影響について評価を行った。

第2章では、高齢者の高血圧治療において汎用されているアムロジピンベシル酸塩 (AML) に着目し、2剤配合剤中におけるAMLの苦味に及ぼす他方の配合薬の影響を評価した。カルシウム拮抗薬は、高齢者の高血圧治療において使用される各種降圧薬の中で降圧効果が最も強力であり、かつ副作用が少ないため、幅広い症例で第一選択薬として用いられている。また、血管拡張作用があることから高齢者にも適していると報告<sup>22)</sup>されている。降圧目標を達成するためには、基本的に単剤を少量から開始し、降圧効果が不十分であれば、増量するか、もしくは他の種類の降圧薬を少量併用投与する。また、この場合には、降圧薬の量を倍増するよりも、種類の異なった他の降圧薬を少量ずつ併用するほうが良好な降圧効果が得られると高血圧ガイドラインに記されている<sup>23)</sup>。副作用の発現を抑え、降圧効果を増強するためにAMLなどの降圧薬とアンギオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) 等の他の降圧薬との併用療法が推奨されており、すでにこれらの配合剤が上市されている<sup>24)</sup>。しかしAMLは、特に添付文書やインタビューフォーム上で苦味を呈すると記載されており<sup>25, 26)</sup>、2剤の同時服用時には苦味が増強する事例もあることから<sup>27)</sup>、AMLと配合される他方の降圧薬の物性によっては、AMLの口腔内濃度が上昇し、配合剤の服用感を大きく低下させる危険性もある。そこで本章では、AMLならびにAMLと配合される可能性があるアンギオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬のアラセプリル (ALA)、ベナゼプリル塩酸塩 (BEN)、利尿薬のヒドロクロロチアジド (HCT) およびARBのテルミサルタン (TEL)、バルサルタン (VAL) を選択し、AMLと配合される他方の薬物がAMLの苦味に及ぼす影響について評価することを目的に検討を行った。

第3章では、嚥下機能の低下が予見される高齢者に対して、嚥下補助を目的に、納豆菌が産生する天然の機能性アミノ酸高分子であり、生体適合性・生分解性を有する $\gamma$ -ポリグルタミン酸 (PGA)<sup>28)</sup>に着目し、PGAおよびL-リシン (L-Lys) を用いて生分解性のハイドロゲルであるPGA gelを

Murakami らの報告<sup>29)</sup>に基づいて合成し、その物理化学的性質を評価した。続いて、嚥下の指標となるゲルのテクスチャーを消費者庁による「えん下困難者用食品」の許可基準で用いられている TPA (Texture profile analysis) 試験<sup>30)</sup>により評価した。さらに、2章で検討した AML ならびに各種薬物を PGA gel に混合した試料における薬物の苦味抑制効果について評価することを目的に検討を行った。

第4章では、第1章から第3章の結果について総括した。



## 第1章 ゾピクロン (ZOP) 錠およびエスゾピクロン (ESZ) 錠に対する各種飲料の苦味抑制効果<sup>31)</sup>

ZOP および ESZ は、非ベンゾジアゼピン系の睡眠障害改善薬であり、ESZ は ZOP を光学分割して中枢作用を持つ S 体を単離した薬剤である。ZOP および ESZ は、ベンゾジアゼピン系薬物より GABA<sub>A</sub> 受容体への選択性が高く、副作用がほとんどない<sup>32, 33)</sup>。一方で、これら両錠剤はフィルムコーティング錠<sup>13, 14)</sup>であり、口腔内での崩壊を防ぐように設計されているが、ZOP については添付文書に主な副作用として「口中のいがみ」が挙げられている。また、ZOP の薬理活性を示す大部分の構造が S 体であり、ZOP の半量で同等の薬理効果が得られ、ZOP より苦味が抑えられた ESZ においても不快な味を理由に服薬を中止したケースが報告されている<sup>16)</sup>。そこで、本章では初めに、ZOP 錠および ESZ 錠の懸濁溶液における苦味強度を味覚センサにより予測した。さらに、これらの錠剤に各種飲料を混合し、懸濁した試料について、苦味抑制効果を味覚センサおよびヒト官能試験により評価し、酸性飲料が ZOP 錠および ESZ 錠の苦味を有意に抑制できる事実を見いだした。続いて、苦味抑制効果を示した酸性飲料に共通して含まれる酸味料のクエン酸を ZOP 原薬に混合し、クエン酸の濃度依存的な苦味抑制効果を評価した。さらに、クエン酸を ZOP に添加した試料の<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析を行った。

## 第1節 味覚センサによる ZOP 錠および ESZ 錠の苦味評価

### 第1項 目的

本節では、服用時の苦味が問題となっている ZOP 錠および ESZ 錠の苦味を確認するため、味覚センサを用いて ZOP 錠および ESZ 錠の懸濁溶液における苦味強度および濃度依存的な応答性を評価した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アモバン®錠 7.5 mg (サノフィ株式会社, 東京), ルネスタ®錠 2 mg (エーザイ株式会社, 東京), キニーネ塩酸塩 (Sigma Chemical Co., Ltd., セントルイス, アメリカ) を用いた。

#### 2. 味覚センサ測定

味覚センサ SA402B (インテリジェントセンサテクノロジー株式会社)<sup>34)</sup> を用いて ZOP 錠および ESZ 錠の苦味評価を行った。味覚センサの検出部分は、参照電極および作業電極から成り、作業電極は脂質/高分子膜により構成されている。測定は、初めに唾液に相当する参照液 (0.3 mM 酒石酸を含む 30 mM KCl) を測定し、得られた電位 (mV) を  $V_0$  とし、続いて試料溶液を測定し、得られた電位を  $V_s$  とした。センサ測定の相対値 (R) は  $V_s - V_0$  より求めた。電極を洗浄し、再び新たな参照液に浸したときの電位を  $V_{r1}$  とした。 $V_{r1} - V_0$  は吸着による膜電位変化であり、CPA (Changed membrane potential caused by adsorption) 値として苦味評価に用いた。

使用したセンサとその膜の化学組成は、Table 1 にまとめた。センサは ZOP 錠および ESZ 錠が良好な反応性を示した塩基性苦味に応答する AC0 膜を使用した。また、コントロールとして塩基性苦味の標準物質であるキニーネ塩酸塩を使用した。なお、0.03 mM キニーネ塩酸塩水溶液は味覚センサ測定およびヒト官能試験における塩基性苦味の閾値である。

**Table 1 Chemical component of taste sensor**

Taste sensor	Artificial lipid	Plasticizer
AC0 (for the bitterness of basic substances)	Hexadecanoic acid	Di- <i>n</i> -octyl phenyl-phosphonate

### 3. 試料の調製

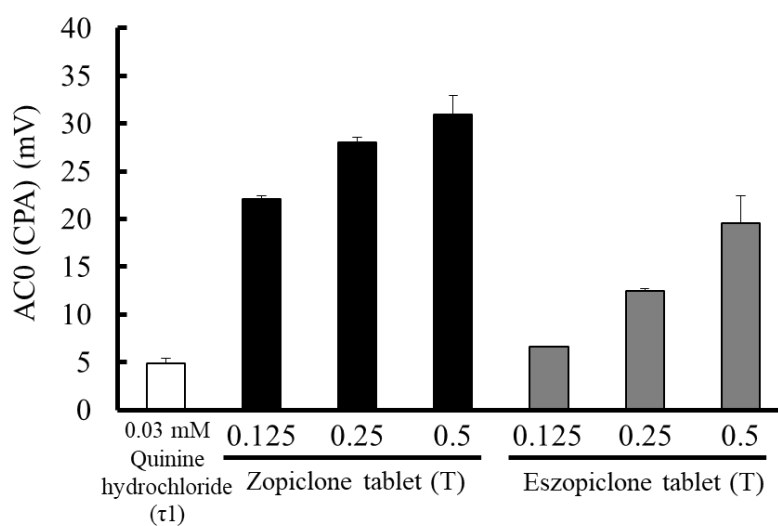
ZOP 錠の懸濁溶液は、高齢者における投与開始時の1回あたりの服用量である 3.75 mg を用いて、口腔内の最大容量を考慮した 20 mL の溶媒量に半錠 (3.75 mg) を懸濁させて調製した。

ESZ 錠の懸濁溶液は、ZOP 錠と同様に高齢者の1回あたりの服用量である 1 mg を考慮し、20 mL の溶媒量に半錠 (1 mg) を懸濁し、調製した。

いずれの薬物も設定した濃度を最高濃度とした。

### 第3項 結果および考察

AC0 膜に対する ZOP 錠および ESZ 錠のセンサ出力値は用量依存的に上昇し、その出力値は、コントロールである 0.03 mM キニーネ塩酸塩水溶液のセンサ出力値より高値を示した (Fig.1) . この結果から ZOP 錠および ESZ 錠は苦味を呈することが示唆された。



**Fig. 1 The dose-dependent increase in sensor outputs [AC0 (CPA)] of zopiclone and eszopiclone tablet solutions as measured by taste sensor. *n*=3, mean ± S.D.**

## 第2節 味覚センサおよびヒト官能試験による ZOP 錠および ESZ 錠の苦味 に及ぼす各種飲料の影響

### 第1項 目的

本節では、ZOP 錠および ESZ 錠に各種飲料を混合し、懸濁した試料を用いて、飲料による ZOP 錠および ESZ 錠の苦味抑制効果を味覚センサおよびヒト官能試験により評価した。また、苦味抑制効果が認められた飲料に共通する成分のクエン酸による ZOP の苦味抑制効果を味覚センサにて評価した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アモバン<sup>®</sup>錠 7.5 mg (サノフィ株式会社, 東京), ルネスタ<sup>®</sup>錠 2 mg (エーザイ株式会社, 東京), キニーネ塩酸塩 (Sigma Chemical Co., Ltd., セントルイス, アメリカ), 健康ミネラルむぎ茶 (株式会社伊藤園, 東京), アクエリアス (日本コカ・コーラ株式会社, 東京), カルピスウォーター (カルピス株式会社, 東京), トロピカーナ 100%オレンジ (キリンホールディングス株式会社, 東京), スクロース (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪), ゴピクロン (東京化成工業株式会社, 東京), くえん酸 (無水) (ナカライテスク株式会社, 京都) を用いた。

#### 2. 味覚センサ測定

本章 第1節と同様に味覚センサを用いて、5種の飲料による ZOP 錠および ESZ 錠の苦味抑制効果の予測ならびにクエン酸による ZOP の苦味抑制効果を評価した。5種の飲料は、健康ミネラルむぎ茶 (以下, 麦茶), アクエリアス (以下, スポーツ飲料), カルピスウォーター (以下, 乳酸菌飲料), トロピカーナ 100%オレンジ (以下, オレンジジュース), 8.5%スクロース溶液 (以下, 単シロップ)

を使用した。

### 3. ヒト官能試験

ヒト官能試験による苦味の評価は、健康な 5 名の女性 (30±9 歳) をパネルとし、Katsuragi らが報告している等価濃度試験法<sup>35)</sup> に従い実施した (武庫川女子大学倫理委員会承認 No. 16-43)。等価濃度試験法は各種濃度の教師用キニーネ溶液の苦味強度を薬物濃度の対数関数に比例するように正規化する方法であり、被験者それぞれの検量線をもとに試料の苦味強度をスコア化するため、個体差が生じ難いのが利点である。

苦味の標準液は、苦味強度  $\tau_0, \tau_1, \tau_2, \tau_3, \tau_4$  となるように調製したキニーネ塩酸塩水溶液 ( $\tau_0$ ; 0.01 mM,  $\tau_1$ ; 0.03 mM,  $\tau_2$ ; 0.1 mM,  $\tau_3$ ; 0.3 mM,  $\tau_4$ ; 1.0 mM) を用いた。試験試料は味覚センサ測定時の試料と同様にそれぞれ調製した。パネルは試験の前に苦味の標準液 2 mL を 5 秒間口腔内に含み、それぞれの苦味強度を記憶した。試験では、各試験試料 2 mL を 5 秒間口腔内に含み、5 秒後に直ちに試料を吐き出し、含嗽をした後、苦味強度を  $\tau_0$  から  $\tau_4$  の 5 段階で評価した。それぞれの試料を評価後、次の試料評価を行うまでに少なくとも 20 分以上間隔をあけた。

### 4. 試料の調製

5 種の飲料による ZOP 錠および ESZ 錠の苦味抑制効果の評価では、ZOP 錠および ESZ 錠を半錠/20 mL となるよう 5 種の飲料である麦茶、スポーツ飲料、乳酸菌飲料、オレンジジュース、単シロップとそれぞれ混合し、懸濁させた溶液を試料とした。

また、クエン酸による ZOP の苦味抑制効果の評価では、先の試験と同様に ZOP 原薬 3.75 mg を精製水 20 mL (0.48 mM) に溶解し、クエン酸が最終濃度としてそれぞれ 0.1, 0.5, 1.0 mM となるように調製した。

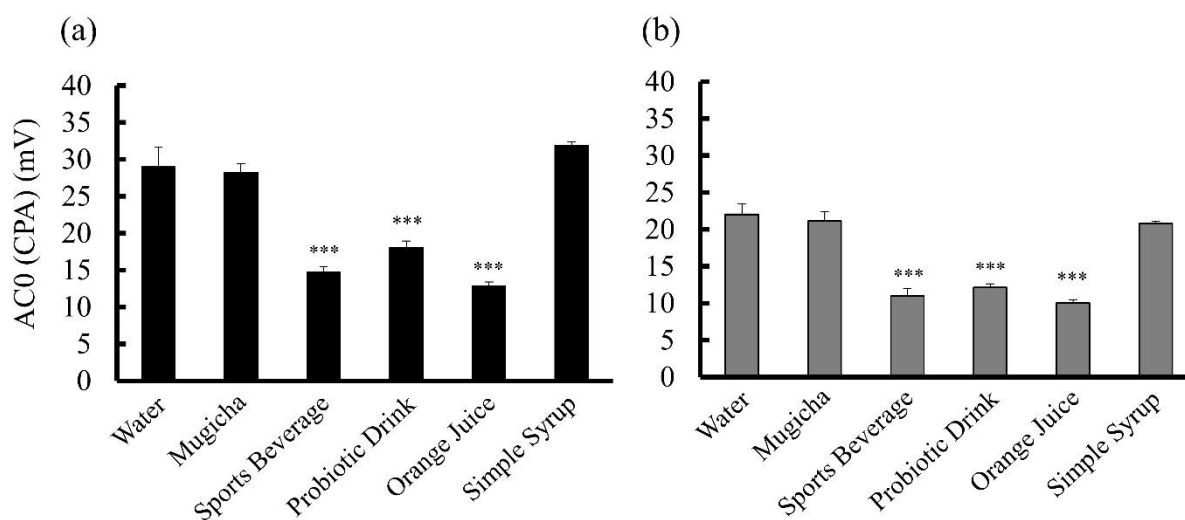
### 5. 統計処理

味覚センサ測定、ヒト官能試験の結果について、データは平均値±S.D.で表記し、エクセル統計

を用いて Tukey's test による多群間比較および Spearman's correlation test による相関分析を行った。有意水準 5%未満をもって有意差を判定した。

### 第3項 結果および考察

スポーツ飲料, 乳酸菌飲料, オレンジジュースで懸濁した ZOP 錠および ESZ 錠のセンサ出力値は, 精製水で懸濁した場合と比較して有意に低値を示した (Fig. 2)。一方, 麦茶および単シロップで懸濁した ZOP 錠および ESZ 錠のセンサ出力値は, 精製水で懸濁した場合と同等であることが示された。

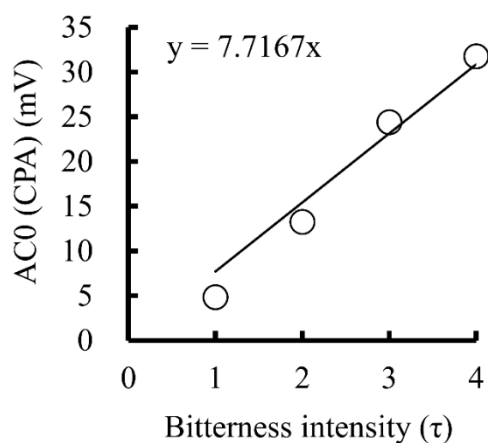


**Fig. 2 The influence of beverages (Water, Mugicha, Sports beverage, Probiotic drink, Orange juice and Simple syrup) on sensor outputs [AC0 (CPA)] of (a) zopiclone tablet and (b) eszopiclone tablet solutions as measured by taste sensor.**

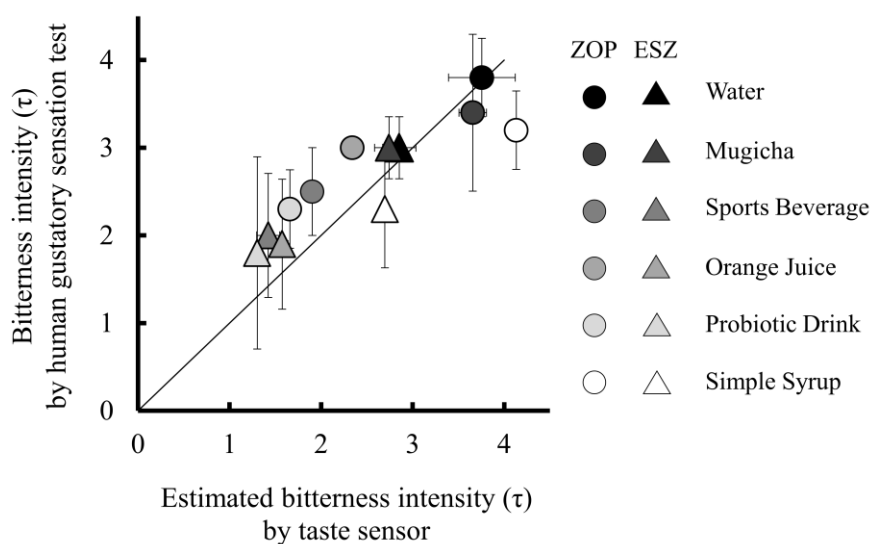
*n*=3, mean ± S.D., \*\*\**p*<0.001 vs Water (Tukey's test)

次に, ヒト官能試験を行った結果, コントロールである ZOP 錠および ESZ 錠を精製水で懸濁した試料の苦味強度は, それぞれ  $\tau 3.8 \pm 0.4$  および  $\tau 3.0 \pm 0.4$  であり非常に強い苦味を呈することが確認された。一方, ZOP 錠および ESZ 錠をスポーツ飲料, 乳酸菌飲料およびオレンジジュースで懸濁した試料の苦味強度は, 精製水で懸濁した試料の苦味強度と比較していずれも低下した。さらに, ZOP 錠および ESZ 錠を各種飲料で懸濁した試料の味覚センサ出力値 (CPA 値) から得た推定苦味強度と, ヒト官能試験により得た実測苦味強度の相関性を評価した。推定苦味強度は, 苦味の標準液であるキニーネ塩酸塩水溶液の各濃度のセンサ出力値 (CPA 値) とそれに対応する苦味強度の回

帰より、センサ出力値 (CPA 値) (mV) = 7.7167×キニーネ塩酸塩水溶液における苦味強度 ( $\tau$ ) と算出された (Fig. 3). ZOP 錠および ESZ 錠をスポーツ飲料, 乳酸菌飲料およびオレンジジュースで懸濁した試料の味覚センサ出力値は有意に低下し, センサ出力値により算出された推定苦味強度は, ヒト官能試験により得た実測苦味強度と有意な相関を示した ( $r=0.93$ , Spearman's correlation test,  $p<0.001$ ) (Fig. 4).



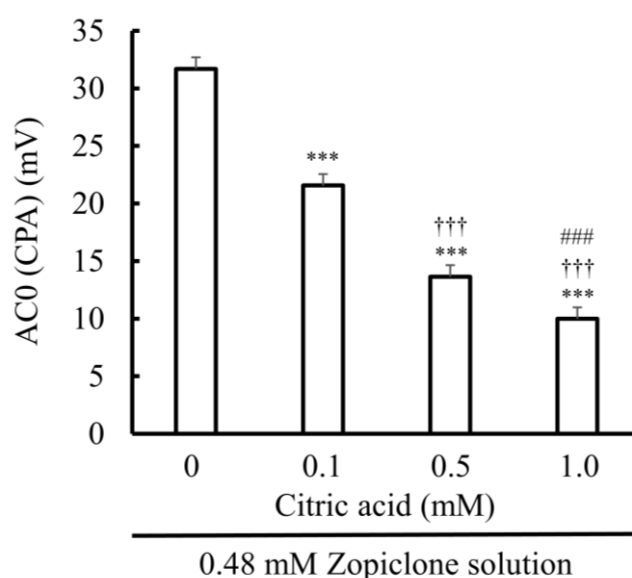
**Fig. 3 The relationship between bitterness intensities and taste sensor outputs [AC0 (CPA)] using quinine hydrochloride solutions of increasing concentrations.**



**Fig. 4 The correlation between estimated bitterness intensities measured by taste sensor and bitterness intensities measured by human gustatory sensation test of zopiclone or eszopiclone tablet solutions in various beverages (Water, Mugicha, Sports beverage, Orange juice, Probiotic drink and Simple syrup).**

$n=5$ , mean  $\pm$  S.D.,  $r=0.93$ ,  $p<0.001$  (Spearman's correlation test)

苦味抑制効果が認められたスポーツ飲料、乳酸菌飲料およびオレンジジュースには様々な成分が含まれているが、その中で共通して含まれる成分は、酸味料であるクエン酸であった。酸味物質が苦味を呈するアミノ酸の苦味を抑制するとの報告<sup>36)</sup>があることから、クエン酸が ZOP 錠および ESZ 錠の苦味抑制機序に影響している可能性があるかと推察した。そこで、クエン酸による ZOP の苦味抑制効果を味覚センサにて評価した結果、クエン酸を混合した ZOP のセンサ出力値は、クエン酸添加濃度依存的に低下した (Fig. 5)。この結果より、スポーツ飲料、乳酸菌飲料およびオレンジジュースに共通して含まれるクエン酸が ZOP の苦味抑制に影響していることが示唆された。



**Fig. 5 The dose-dependent effect of citric acid on sensor outputs [AC0 (CPA)] of zopiclone tablet solution as measured by taste sensor.**

$n=3$ , mean  $\pm$  S.D., \*\*\* $p<0.001$  vs 0 mM, ††† $p<0.001$  vs 0.1 mM, ### $p<0.001$  vs 0.5 mM, (Tukey's test)



## 第3節 <sup>1</sup>H-NMR を用いた ZOP-クエン酸の分子間相互作用解析

### 第1項 目的

本節では、クエン酸による ZOP の苦味抑制機序を推定するため、ZOP のイオン形分率の予測および <sup>1</sup>H-NMR 測定を行った。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

ゾピクロン (東京化成工業株式会社, 東京), くえん酸 (無水) (ナカライテスク株式会社, 京都) を用いた。

#### 2. イオン形分率の算出

ZOP に対してクエン酸を 1, 2, 8 倍のモル比率で添加した 3 種の試料の pH を測定し、それぞれの pH におけるイオン形分率を MarvinSketch を用いて予測した。試料は、ZOP 原薬 3.75 mg を精製水 20 mL (0.48 mM) に溶解し、クエン酸が最終濃度としてそれぞれ 0.48 mM (1:1), 0.96 mM (1:2), 3.84 mM (1:8) となるように調製した。

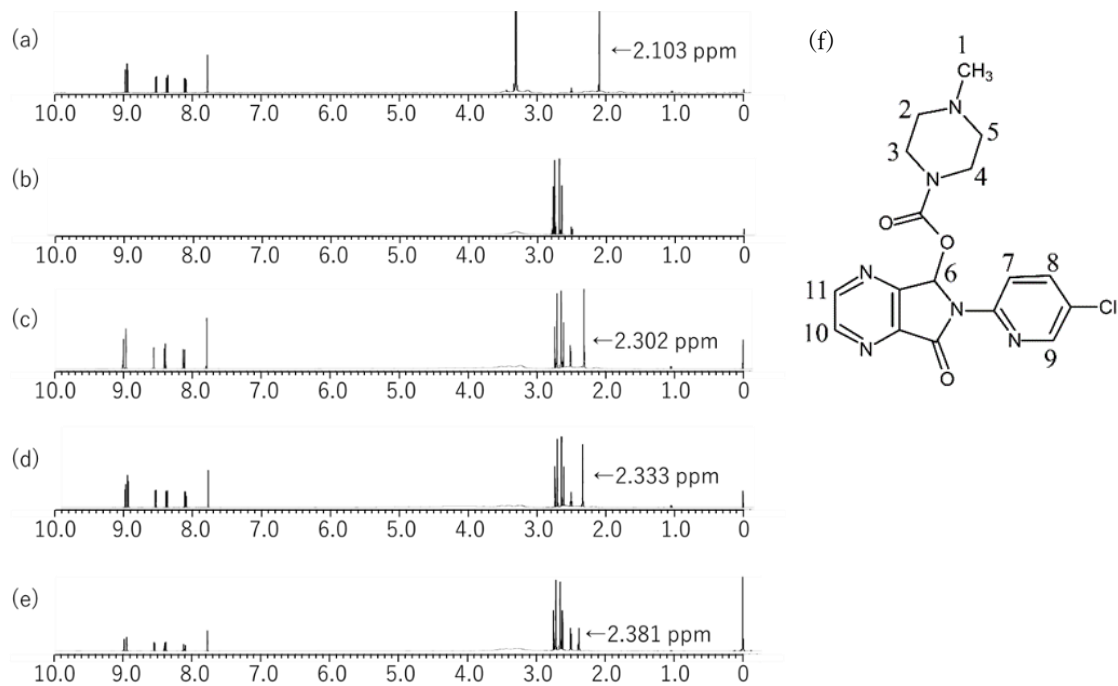
#### 3. <sup>1</sup>H-NMR 測定

<sup>1</sup>H-NMR 測定 (JEOL 500 MHz) では、溶媒として DMSO-*d*<sub>6</sub> を用い、テトラメチルシランを内標準物質とした。測定試料の濃度は濃度依存的なプロトンのシグナルシフトを確認するために、ZOP 原薬に対してクエン酸を 1, 2, 8 倍のモル比率で添加して測定した。

### 第3項 結果および考察

苦味を呈する塩基性薬物は、一般的に味覚センサ膜の負に荷電した部分と疎水性部分に吸着し、センサの電荷密度を変化させることで膜電位の変化を引き起こす。Ogataらは、塩基性薬物である遊離形のプロピペリンとサリチル酸塩との塩形成がプロピペリンの苦味を抑制し、この苦味抑制はプロピペリンの窒素とサリチル酸間の分子間相互作用によることを報告している<sup>37)</sup>。したがって、味覚センサで示されたクエン酸混合による ZOP の味覚センサ膜への吸着およびヒト官能試験で示された苦味強度の低下は、ZOP の窒素原子とクエン酸のカルボキシ基から電離したプロトンとの間の分子間相互作用によって生じたものであると仮定した。

初めに、クエン酸混合による ZOP 溶液の pH 変化を確認するため、各試料の pH を測定したところ、各試料の pH は、それぞれ 6.6 (1:1), 6.0 (1:2), 4.2 (1:8) であった。次に、ZOP のイオン形分率を MarvinSketch により算出したところ、ZOP の分子内に存在するメチル基に隣接する窒素原子は pH 6.6 (ZOP:クエン酸=1:1) において 67.66%がイオン形であることが予測された。同様に pH 6.0 (ZOP:クエン酸=1:2) では 89.29%, pH 4.2 (ZOP:クエン酸=1:8) では 99.81%がイオン形であることが予測された。さらに、ZOP の窒素原子とクエン酸のカルボキシ基間の分子間相互作用を明らかにするために、これらの試料の <sup>1</sup>H-NMR 測定を行い、苦味抑制機序を推定した。Fig. 6 に ZOP 単独試料、クエン酸単独試料および ZOP にクエン酸を添加した試料の <sup>1</sup>H-NMR スペクトルデータならびに ZOP の構造および proton No.を示した。



**Fig. 6**  $^1\text{H-NMR}$  spectra of (a) zopiclone, (b) citric acid, (c, d, e) zopiclone with citric acid (1:1, 1:2, 1:8 molar ratio) and (f) the structure and proton numbers of zopiclone.

Fig. 6 (a), (c), (d), (e) に示したように、ZOP の窒素原子に隣接しているメチルプロトン (proton 1) のシグナルは、クエン酸の添加濃度に依存して低磁場シフトした。ZOP 単独試料のスペクトルデータと比較して、ZOP にクエン酸を 8 倍量添加した試料では、ZOP の窒素原子に隣接するメチルプロトンのシグナルが 2.103 ppm から 2.381 ppm へと 0.278 ppm 低磁場側へシフトした。 $^1\text{H-NMR}$  スペクトルにおける低磁場側へのシグナルシフトは、プロトンの電子密度が減少し、非遮蔽化することによって起こる。この結果は、ZOP のプロトン化された窒素原子の近傍にクエン酸が存在していることが影響しているものと考えられた。

以上の結果より、ZOP にクエン酸を添加することで ZOP 分子内の窒素原子とクエン酸に含まれるカルボキシ基から電離したプロトンとの間において分子間相互作用が生じ、その結果、ZOP の味覚センサ膜への吸着や苦味受容体への結合を抑制し、センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるといふ苦味抑制機序が推定された。また、ESZ は ZOP を光学分割して得られた S 体であり、これらの構造が類似していることから、ESZ の酸性飲料による苦味抑制機序は、ZOP と同じであると考察した。

## 第4節 小括

本章では、ZOP 錠および ESZ 錠が苦味を呈することを味覚センサにより予測した。また、ZOP 錠および ESZ 錠に 5 種の飲料を混合し、懸濁した試料について味覚センサ測定とヒト官能試験を行い、スポーツ飲料、乳酸菌飲料およびオレンジジュースが両薬物の苦味を抑制することを明らかにした。さらに、味覚センサ測定とヒト官能試験の間には有意な相関が認められた。次に、ZOP 錠および ESZ 錠の苦味を抑制した飲料に共通して含まれる成分であるクエン酸を ZOP に混合した試料について味覚センサで測定した結果、クエン酸の添加濃度依存的に ZOP の苦味を抑制することを明らかにした。さらに、<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析では、ZOP にクエン酸を添加することで ZOP 分子内の窒素原子とクエン酸に含まれるカルボキシ基から電離したプロトンとの間において分子間相互作用を生じ、その結果、ZOP の苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し、センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された。また、ESZ は ZOP を光学分割して得られた S 体であり、これらの構造が類似していることから ESZ に及ぼすクエン酸の苦味抑制機序は ZOP と同じであると考察した。クエン酸添加による ZOP および ESZ の薬効への影響は、これらの溶液の pH が最も低い場合で pH 4 程度であることや、一般的に薬物が胃内を通過する場合に pH 1.2 の環境下に曝されることを考慮すると、クエン酸によって ZOP および ESZ が分解されることは考え難く、薬効への影響はほとんどないと考察した。

ZOP 錠および ESZ 錠は経口投与直後に、口腔内で苦味を呈するだけでなく、服用からしばらく経過した翌朝などにおいても薬物が血中から唾液中に移行することで再び苦味を呈することが報告<sup>19,20)</sup>されており、これらの苦味によるアドヒアランス低下が懸念されている。しかし、オレンジジュースのような酸性飲料に含まれるクエン酸が ZOP 錠および ESZ 錠の服用時に、効果的に苦味抑制できる可能性が明らかとなった。また、薬物が血中から唾液中に移行することで起こる翌朝などの苦味においては、臨床で一般的な対策として行われている歯磨きやうがいを行うことに加えて、クエン酸を含む飲食物など、クエン酸を口腔内に含むことで ZOP および ESZ の苦味抑制ができる可能性が考えられた。

## 第2章 アムロジピンベシル酸塩 (AML) の苦味に及ぼす他の配合 降圧薬の影響<sup>38)</sup>

高齢者の高血圧治療において汎用されている AML は、第3世代のジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬であり、苦味を呈することが知られている。高血圧ガイドラインでは降圧目標を達成するために、基本的に単剤を少量から開始し、降圧効果が不十分であれば、増量するか、もしくは他の種類の降圧薬を少量併用投与する。また、この場合には、降圧薬の量を倍増するよりも、種類の異なった他の降圧薬を少量ずつ併用するほうが良好な降圧効果が得られる<sup>23)</sup>と記されており、AML においても他の降圧薬との配合剤が上市されている<sup>24)</sup>。配合剤は服薬アドヒアランスの改善に有効な手段の一つであり、高血圧治療の効果を高める。しかしながら2剤の同時服用時には苦味が増強する事例もあることから<sup>27)</sup>、2剤の単独服用時と比較して2剤配合時に他方の配合薬が AML の苦味を増強させる可能性を否定できない。そこで本章では、初めに AML 単独および AML と配合される可能性のある5種の降圧薬単独の苦味評価および AML に5種降圧薬をそれぞれ混合した試料について、他方の配合薬が AML の苦味に及ぼす影響を味覚センサにより評価した。次に、苦味抑制効果を示さなかったテルミサルタン (TEL) を対照にバルサルタン (VAL) の濃度依存的な苦味抑制効果を味覚センサおよびヒト官能試験により評価した。さらに、AML に対して VAL または TEL を各濃度添加した試料の<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析を行った。

## 第1節 味覚センサによる各種降圧薬の苦味評価および AML の苦味に及ぼす各種配合降圧薬の影響

### 第1項 目的

本節では、味覚センサを用いて 6 種の降圧薬 (AML, TEL, VAL, アラセプリル (ALA), ベナゼプリル塩酸塩 (BEN) およびヒドロクロロチアジド (HCT)) の単独試料についてセンサ応答性を評価した。

また、AML と 5 種の降圧薬をそれぞれ 2 剤混合した試料の苦味強度を味覚センサにより予測し、AML の苦味に及ぼす他方の配合薬の影響を評価した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩, バルサルタン (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), アラセプリル, ヒドロクロロチアジド, テルミサルタン (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪), ベナゼプリル塩酸塩 (東京化成工業株式会社, 東京) を用いた。

#### 2. 味覚センサ測定

各種薬物の苦味強度および苦味抑制効果を評価するため、第1章で用いた味覚センサ SA402B を使用した。測定に使用したセンサとその膜の化学組成について Table 2 にまとめた。センサは塩基性苦味に応答する AN0 膜を使用した。

Table 2 Chemical component of taste sensor

Taste sensor	Artificial lipid	Plasticizer
AN0 (for the bitterness of basic substances)	Phosphoric acid di- <i>n</i> -decyl ester	Di- <i>n</i> -octyl phenyl-phosphonate

### 3. 試料の調製

AML を含む降圧薬 6 種の ANO 膜に対するそれぞれのセンサ応答性の評価では、薬物の臨床使用量を考慮し、AML が 0.1 mM, ALA が 0.5 mM, BEN が 0.1 mM, HCT が 0.5 mM, TEL が 0.8 mM, VAL が 1.6 mM となるよう調製した。

AML の苦味に及ぼす 5 種の降圧薬の影響の評価では、0.1 mM AML に他方の配合薬が最終濃度としてそれぞれ 0.5 mM ALA, 0.1 mM BEN, 0.5 mM HCT, 0.8 mM TEL または 1.6 mM VAL となるように調製した。

### 4. 統計処理

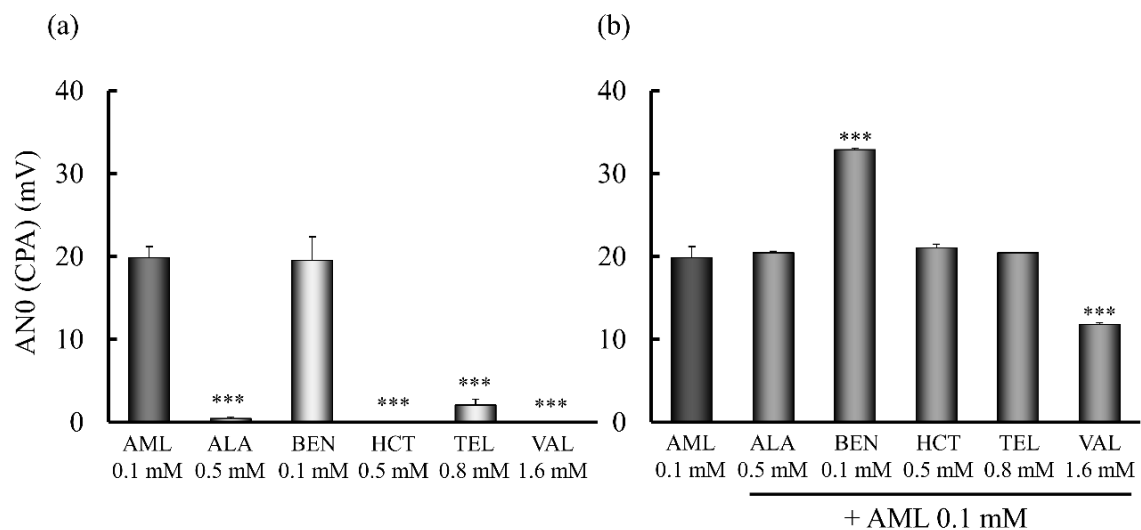
味覚センサ測定について、データは平均値±S.D.で表記し、エクセル統計を用いて Tukey's test による多群間比較を行った。有意水準 5%未満をもって有意差を判定した。

## 第 3 項 結果および考察

6 種の薬物のセンサ出力値は、AML および BEN において約 20 mV であることから AML および BEN は苦味を呈し、また、その苦味は同程度であることが予測された。一方、TEL は約 2 mV, ALA, HCT および VAL は、ほとんど応答しないことが確認されたため、TEL, ALA, HCT および VAL は、ほとんど苦味を呈さないことが予測された (Fig. 7 (a))。

次に、AML と配合される可能性のある 5 種の降圧薬 (ALA, BEN, HCT, TEL および VAL) をそれぞれ配合させた場合において、AML の苦味に及ぼす他方の薬物の影響について味覚センサを用いて評価した。AML と ALA, HCT, TEL をそれぞれ配合させた場合、それらのセンサ出力値は AML 単独のセンサ出力値と同程度であることが確認され、ALA, HCT および TEL が AML の苦味に影響を与えないことが予測された。また、AML と BEN を配合させた場合のセンサ出力値は AML 単独のセンサ出力値と比較して有意に上昇した。この結果より、AML に BEN を配合させた場合のセンサ出力値は相加的に上昇し、苦味を増強させることが予測された。一方、AML と VAL を配合させた場合の

センサ出力値は AML 単独のセンサ出力値と比較して有意に低下した。この結果は, VAL が AML の苦味を抑制する可能性を示唆するものであった。



**Fig. 7 Taste sensor outputs [AN0 (CPA)] of (a) six single drugs, and (b) combinations of AML with each of the other five drugs.**

*n*=6, mean ± S.D., \*\*\**p*<0.001 vs AML 0.1 mM (Tukey's test)



## 第2節 味覚センサおよびヒト官能試験による AML の苦味に及ぼす TEL または VAL の影響

### 第1項 目的

本節では、本章 第1節で AML のセンサ出力値を低下させた VAL に着目し、AML に対する VAL の濃度依存的な苦味抑制効果を味覚センサおよびヒト官能試験で評価した。また、VAL と同じ薬効分類に属す TEL は、前節で AML のセンサ出力値に影響しないことが確認されたため、以後の検討では TEL を VAL の比較対照として評価した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩、バルサルタン (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), テルミサルタン (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪) を用いた。

#### 2. 味覚センサ測定

本章 第1節と同様に味覚センサを用いて、TEL および VAL による AML の苦味抑制効果を評価した。

#### 3. ヒト官能試験

第1章 第2節と同様に Katsuragi らが報告している等価濃度試験法<sup>35)</sup>に従って、ヒト官能試験を行った (武庫川女子大学倫理委員会承認 No. 14-20)。この試験では、健康な 9 名の女性 (26 ± 6 歳) をパネルとした。

#### 4. 試料の調製

味覚センサ測定で用いた試料は、0.3 mM AML 溶液に最終濃度として TEL が 2, 4, 8 mM, VAL が 2.3, 4.6, 9.2 mM となるよう調製した。薬物濃度は臨床で使用されている AML と TEL, AML と VAL の配合剤の用量を考慮し、口腔内の最大容量を考慮した 20 mL の溶媒に溶解させたと仮定して算出された濃度範囲内に設定した。

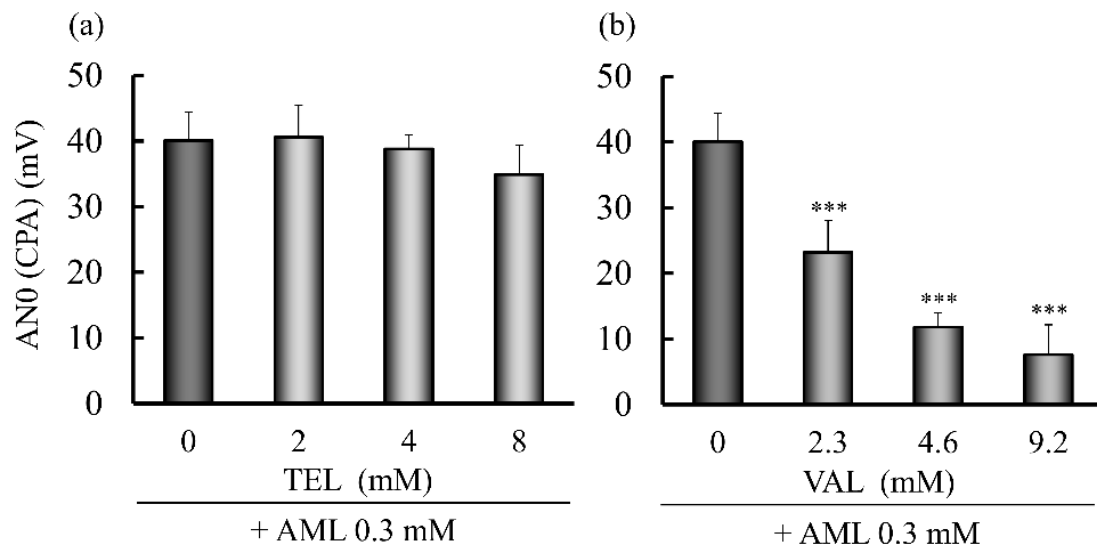
また、ヒト官能試験では味覚センサ測定で用いた試料および各種濃度の AML, TEL および VAL の単独溶液を試料とし、AML 単独溶液は、0.1, 0.3, 0.5 および 1.0 mM, TEL は 2, 4, 8 mM, VAL は 2.3, 4.6, 9.2 mM の濃度に調製した。

#### 5. 統計処理

味覚センサ測定、ヒト官能試験の結果について、データは平均値±S.D.で表記し、エクセル統計を用いて Tukey's test による多群間比較および Spearman's correlation test による相関分析を行った。有意水準 5%未満をもって有意差を判定した。

### 第3項 結果および考察

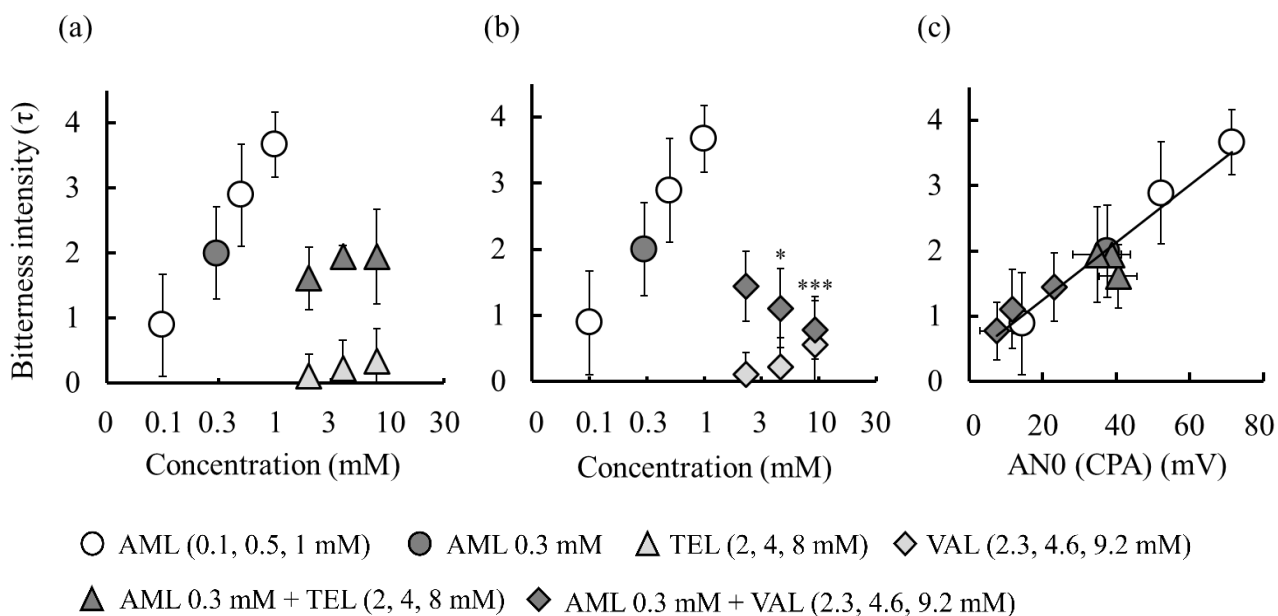
AML のセンサ出力値は約 40 mV であり、この値は TEL の混合により変化しなかった (Fig. 8 (a)). 一方, VAL を各種濃度で AML に混合したところ, AML のセンサ出力値は VAL の添加濃度依存的に低下した (Fig. 8 (b)).



**Fig. 8 Taste sensor outputs [AN0 (CPA)] of AML combined with (a) TEL or (b) VAL.**  
*n*=6, mean  $\pm$  S.D., \*\*\**p*<0.001 vs VAL 0 mM (Tukey's test)

次に、味覚センサ測定で用いた試料および各種濃度の AML, TEL および VAL の単独溶液を試料としてヒト官能試験を行った. AML (0.1, 0.3, 0.5 および 1.0 mM) の苦味強度はそれぞれ,  $\tau 0.89 \pm 0.78$ ,  $\tau 2.00 \pm 0.71$ ,  $\tau 2.89 \pm 0.78$  および  $\tau 3.67 \pm 0.50$  であり, 濃度依存的に上昇した. TEL および VAL の苦味強度は  $\tau 0$  に近く, 苦味を呈さないことが確認された. さらに, 0.3mM AML 溶液の苦味強度は各濃度の TEL の混合によって変化しなかったが, VAL の添加濃度依存的に有意に低下することが確認された (Fig. 9 (a), (b)).

AML と VAL の混合により, AML の味覚センサ出力値は低下し, その出力値は, ヒト官能試験により得た実測苦味強度と有意な相関を示した ( $r=0.96$ , Spearman's correlation test,  $p<0.001$ ) (Fig. 9 (c)). これらの結果より, AML に対する VAL の苦味抑制効果は, 味覚センサを用いて評価することが可能であることが示唆された.



**Fig. 9 Bitterness intensities of AML with (a) TEL or (b) VAL measured by human gustatory sensation test and (c) correlation between bitterness intensities measured by human gustatory sensation test and taste sensor outputs [AN0 (CPA)].**

$n=9$ , mean  $\pm$  S.D., (a), (b): \* $p<0.05$ , \*\*\* $p<0.001$  vs AML 0.3 mM (Tukey's test), (c):  $r=0.96$ ,  $p<0.001$  (Spearman's correlation test)

## 第3節 $^1\text{H-NMR}$ を用いた AML-TEL および AML-VAL の分子間相互作用解析

### 第1項 目的

本節では, VAL による AML の苦味抑制機序を推定するため  $^1\text{H-NMR}$  測定を行い, AML 分子内の電子密度状態の変化から AML と VAL 間の相互作用について解析した.

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩, バルサルタン (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), テルミサルタン (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪) を用いた.

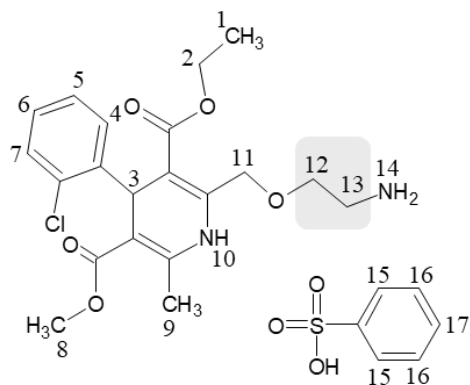
#### 2. $^1\text{H-NMR}$ 測定

$^1\text{H-NMR}$  測定は, 第1章 第3節と同様の方法で行った. 測定試料の濃度は濃度依存的なプロトンのシグナルシフトを確認するために, AML に対して VAL または TEL を 1, 2, 4 倍のモル比率で添加して測定した.

### 第3項 結果および考察

AML および VAL の構造ならびに proton No. を Fig. 10 に示し, AML 単独試料および AML に VAL または TEL を添加した試料における AML の化学シフトを Table 3 に示した.

(a) AML



(b) VAL

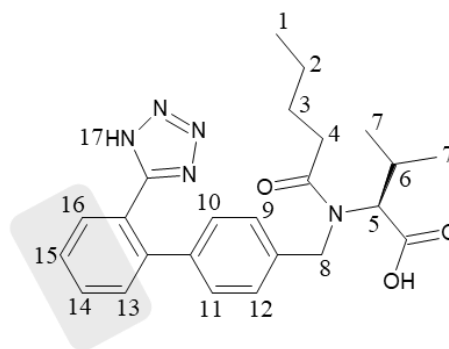


Fig. 10 The structures and proton numbers of (a) AML and (b) VAL.

Table 3 Chemical shifts of each proton for AML with or without (a) TEL, (b) VAL obtained using  $^1\text{H-NMR}$  in  $\text{DMSO-}d_6$ .

(a)					(b)				
proton	Chemical shift (ppm)				proton	Chemical shift (ppm)			
	AML	AML : TEL = 1 : 1	AML : TEL = 1 : 2	AML : TEL = 1 : 4		AML	AML : VAL = 1 : 1	AML : VAL = 1 : 2	AML : VAL = 1 : 4
1	1.103	1.104	1.104	1.104	1	1.103	1.104	1.107	1.109
2	3.978	3.978	3.979	3.979	2	3.979	3.981	3.984	3.988
3	5.309	5.311	5.313	5.313	3	5.312	5.317	5.326	5.335
4	7.294-7.339	7.292-7.340	7.295-7.341	7.293-7.340	4	7.304-7.347	7.305-7.346	7.310-7.354	7.311-7.362
5	7.220	7.219	7.220	7.220	5	7.220	7.221	7.223	7.225
6	7.128	7.128	7.128	7.128	6	7.126	7.126	7.127	7.126
7	7.272	7.274	7.274	7.273	7	7.271	7.273	7.275	7.276
8	3.505	3.505	3.505	3.505	8	3.505	3.507	3.510	3.513
9	2.296	2.294	2.297	2.298	9	2.296	2.300	2.306	2.314
10	—	—	—	—	10	—	—	—	—
11	4.565 4.699	4.564 4.697	4.567 4.700	4.567 4.700	11	4.565 4.697	4.571 4.702	4.579 4.709	4.589 4.717
12	3.654	3.653	3.658	3.658	<b>12</b>	<b>3.660</b>	<b>3.667</b>	<b>3.675</b>	<b>3.687</b>
13	3.074	3.072	3.078	3.079	<b>13</b>	<b>3.081</b>	<b>3.088</b>	<b>3.096</b>	<b>3.110</b>
14	8.368	8.376	8.369	8.364	14	8.375	8.371	8.377	8.380
15	7.614	7.615	7.619	7.616	15	7.631	7.635	7.645	7.651
16	7.294-7.339	7.292-7.340	7.295-7.341	7.293-7.340	16	7.304-7.347	7.305-7.346	7.310-7.354	7.311-7.362
17	7.294-7.339	7.292-7.340	7.295-7.341	7.293-7.340	17	7.304-7.347	7.305-7.346	7.310-7.354	7.311-7.362

AML に TEL を添加した場合の AML の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは、いずれのプロトンにおいても TEL の添加濃度依存的なシフト変化を確認できなかった。また、AML と同様に TEL の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルにおいても、シフト変化は確認できなかった。一方、AML に VAL を添加した場合の AML

の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは, proton 12 のシグナルにおいて 3.660 ppm (AML 単独) から 3.667 ppm (AML:VAL=1:1), 3.675 ppm (AML:VAL=1:2), 3.687 ppm (AML:VAL=1:4) とそれぞれ 0.007, 0.015, 0.027 ppm 低磁場側へシフトした. 同様に, proton 13 のシグナルは 3.081 ppm (AML 単独) から 3.088 ppm (AML:VAL=1:1), 3.096 ppm (AML:VAL=1:2), 3.110 ppm (AML:VAL=1:4) とそれぞれ 0.007, 0.015, 0.029 ppm 低磁場側へシフトした. シグナルシフト変化値は VAL の添加濃度依存的であることが明らかとなり, 低磁場側へのシグナルシフトは, AML の proton 12 および 13 の電子密度が減少し, 非遮蔽化によって起こる. これらの結果は, AML のプロトン化された窒素原子の近傍に VAL が存在していることが影響しているものと考えられた. Ikeda らは, リスペリドン分子内の窒素原子周辺の電子密度が, 分子間相互作用によって減少することを報告している<sup>39)</sup>. 本研究において AML は, 自身の proton 12 および 13 の近くに存在する窒素原子の近傍で VAL と分子間相互作用し, その結果, 窒素原子の電子密度が変化したと考えられた.

一方, AML に VAL を添加した場合の VAL の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは, いずれのプロトンにおいても AML の添加濃度依存的なシフト変化を確認できなかった. そこで, VAL にベシル酸塩としてではなく遊離形のアムロジピンを添加したところ, VAL の proton 13-16 のシグナルがアムロジピンの添加により, 0.101-0.242 ppm 高磁場側へシフトし, proton 13-16 以外の proton のシグナルはほとんど変化しなかった. この結果より, VAL の proton 13-16 付近にあるテトラゾリル基が AML との分子間相互作用に影響を与えている可能性が考えられた. 以上の結果より, AML に VAL を添加することで AML の窒素原子と VAL に含まれるテトラゾリル基から電離したプロトンとの間において分子間相互作用を生じ, その結果, AML の苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し, センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された. 一方で, AML と TEL 間の相互作用が確認されなかった理由の一つとして, AML-VAL 間の相互作用で重要な部位であると考えられているテトラゾリル基を TEL が分子内に有していないことが関与していると推測された.

## 第4節 分子間相互作用に及ぼす AML, TEL および VAL の溶液 pH の影響

### 第1項 目的

本節では、本章 第3節で推定された分子間相互作用による苦味抑制機序をさらに明確にするために、pH を変化させた場合の各薬物のイオン形分率を MarvinSketch より算出した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩、バルサルタン (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), テルミサルタン (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪) を用いた。

#### 2. イオン形分率の算出

本章 第2節で使用した試料の pH を測定し、それぞれの pH におけるイオン形分率を MarvinSketch を用いて予測した。

#### 3. 試料の調製

本章 第2節の味覚センサ測定で用いた試料と同様に調製した。

### 第3項 結果および考察

MarvinSketch を用いて算出した各薬物のイオン形分率を Fig. 11 に示した。AML のイオン形分子種は1種, TEL のイオン形分子種は7種, VAL のイオン形分子種は10種存在することが示された。

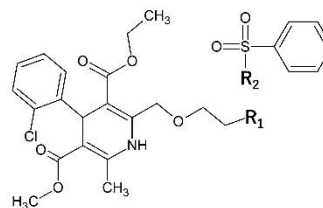
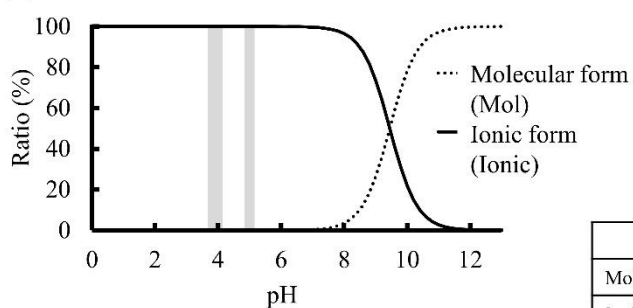
AML は、pH 9.4 以下においてイオン形の割合が多く、pH 9.6-14.0 において分子形の割合が多いことが示された (Fig. 11 (a)). 0.3mM AML 溶液に各濃度 (最終濃度として 2.0-8.0 mM) の TEL を混合



すると、その溶液の pH は 4.8-5.0 を示し、2.0 mM TEL 溶液 (pH 5.0) 混合時、TEL のイオン形 I が 4.39%、イオン形 II が 54.59%、イオン形 III が 1.56%、そしてイオン形 IV が 32.32%存在することが予測された。また、8.0 mM TEL 溶液 (pH 4.8) 混合時、TEL のイオン形 I が 2.28%、イオン形 II が 45.01%、イオン形 III が 3.22%、そしてイオン形 IV が 42.23%存在することが予測された (Fig. 11 (b)).

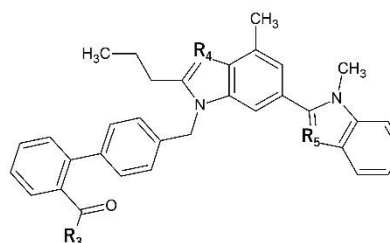
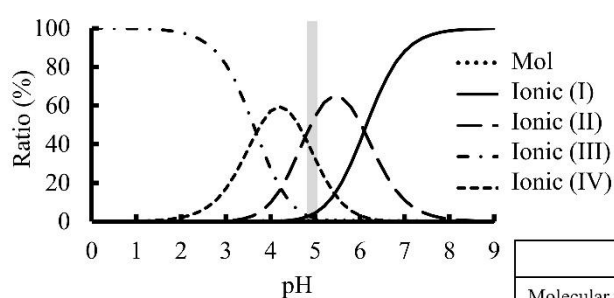
一方、0.3mM AML 溶液に各濃度 (最終濃度として 2.3-9.2 mM) の VAL を混合すると、その溶液の pH は 3.7-4.1 を示し、2.3 mM VAL 溶液 (pH 4.1) 混合時、VAL のイオン形 I が 11.03%、イオン形 II が 18.84%、そしてイオン形 III が 25.89%存在することが予測された。また、9.2 mM VAL 溶液 (pH 3.7) 混合時、VAL のイオン形 I が 5.71%、イオン形 II が 15.47%、そしてイオン形 III が 21.26%存在することが予測された (Fig. 11 (c)). これらのイオン形分率の結果より、pH 3.7 から 4.1 の範囲内では VAL のイオン形 III の割合が多く、イオン形 III である負電荷を有したテトラゾリル基のプロトンが AML の窒素原子に近づくことで AML と VAL が分子間相互作用することが推定された。

(a) AML



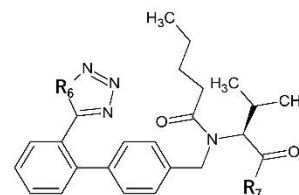
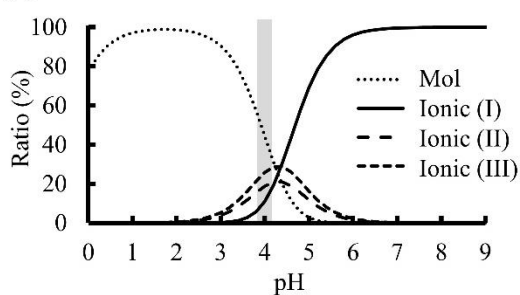
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	pH 3.7	pH 4.1
Molecular form	NH <sub>2</sub>	OH	0%	0%
Ionic form	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	O <sup>-</sup>	100%	100%

(b) TEL



	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	pH 4.8	pH 5.0
Molecular form	OH	N	N	0.17%	0.21%
Ionic form (I)	O <sup>-</sup>	N	N	2.28%	4.39%
Ionic form (II)	O <sup>-</sup>	NH <sup>+</sup>	N	45.01%	54.59%
Ionic form (III)	OH	NH <sup>+</sup>	NH <sup>+</sup>	3.22%	1.56%
Ionic form (IV)	O <sup>-</sup>	NH <sup>+</sup>	NH <sup>+</sup>	42.23%	32.32%

(c) VAL



	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	pH 3.7	pH 4.1
Molecular form	NH	OH	57.56%	44.23%
Ionic form (I)	N <sup>-</sup>	O <sup>-</sup>	5.71%	11.03%
Ionic form (II)	NH	O <sup>-</sup>	15.47%	18.84%
Ionic form (III)	N <sup>-</sup>	OH	21.26%	25.89%

Fig. 11 Microspecies distribution (%) of (a) AML, (b) TEL and (c) VAL.

## 第5節 小括

本章では、AML単独およびAMLと配合される可能性のある5種の降圧薬単独の苦味予測においてAMLとBENが苦味を呈することを明らかにした。また、AMLに5種の薬物をそれぞれ混合した場合において、他方の降圧薬がAMLの苦味に及ぼす影響を味覚センサで予測し、その結果、BENはAMLの苦味を増強し、VALはAMLの苦味を抑制することが示唆された。さらに、AMLにVALまたはTELを各種濃度で混合した試料について、味覚センサ測定とヒト官能試験により苦味抑制効果を評価したところ、VALがAMLの苦味を添加濃度依存的に抑制することが明らかとなった。さらに、<sup>1</sup>H-NMRスペクトル解析では、AMLにVALを添加することでAML分子内の窒素原子とVAL分子内のテトラゾリル基から電離したプロトンとの間において分子間相互作用を生じ、その結果、AMLの苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し、センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された。AMLとTEL間の相互作用が確認されなかった理由の一つとして、AML-VAL間の相互作用で重要な部位であると考えられているテトラゾリル基をTELが分子内に有していないことが関与していると推測された。また、AML-VAL混合溶液のpH範囲内におけるそれぞれの薬物のpHプロファイルより、AMLのイオン形の割合およびVAL分子内のテトラゾリル基が負電荷を有するイオン形の割合が多いことが示された。この結果は、AMLおよびVALの<sup>1</sup>H-NMRスペクトル解析より得たAMLのアミノ基とVALのテトラゾリル基との間の分子間相互作用を支持する結果であった。

AMLのようなカルシウム拮抗薬にARBやACE阻害薬を併用することは、カルシウム拮抗薬の副作用である末梢性浮腫の発生率を減らすため、有用であると報告されている<sup>40-42</sup>。さらに、AML-VAL配合剤は安全かつ効果的に降圧目標を達成するとの報告もある<sup>43, 44</sup>。また、VALはAMLの苦味を抑制するため、AML-VAL配合剤は高齢患者の間で問題となっているポリファーマシー改善に寄与するだけでなく、製剤の味マスキングの観点においても有用であると考えられる。AML-VALおよびAML-TELの配合剤は既に上市されているが、それぞれを単剤で投与する場合と比較して、配合剤の組み合わせにより原薬の苦味を軽減することが可能であれば、配合剤中における矯味剤など

の添加剤軽減に繋がり、今後の配合剤の開発に寄与することが期待される。

### 第3章 $\gamma$ -ポリグルタミン酸ハイドロゲル (PGA gel) の調製と物理化学的性質の評価および PGA gel による AML を含む各種薬物の苦味抑制効果<sup>45, 46)</sup>

嚥下機能の低下が予見される高齢者において、嚥下のし易さは服薬アドヒアランスに影響を与える重要な因子の一つである。また肺炎の一つである誤嚥性肺炎は、嚥下機能が低下し易い高齢者で死亡率が特に高い<sup>4)</sup>。そのため、高齢者に対して嚥下のし易い経口製剤を開発することは感染症予防の観点からも求められている。OD錠は内服しやすい製剤となることをコンセプトとして考案・開発された剤形である。摂食・嚥下障害を有した患者において、OD錠は内服に水を必要としないため、簡便で用いやすく、咽頭の残留も少ないとする報告が多いが、一方で、残留感がなくても OD錠が咽頭に残留している症例も少なからずあると考えられ、摂食・嚥下障害のある患者に必ずしも OD錠が有用とはいえないとの報告もある<sup>9)</sup>。OD錠以外にも経口ゼリー剤は、一般的に嚥下が容易であるが、加熱や冷却、成型等、製造方法が複雑であるという欠点がある。

Murakami らは、環境低負荷型ポリマーの創製を目的に納豆菌が産生する PGA および L-Lys を用いて生分解性ハイドロゲルを合成し、このゲルが他分野で応用できる可能性を報告している<sup>29)</sup>。PGA は、生体適合性・生分解性を有し、また PGA gel の架橋部がアミノ酸であることから PGA のみならず、PGA gel についても安全性が高いところが利点である。PGA gel の特性は、乾燥状態で高い吸湿性を有するため、乾燥状態の PGA gel に水を添加すると瞬時にゲル化を起こすことである。したがって、熱に弱い原薬に対して乾燥状態の PGA gel を添加した固形経口製剤は、水の添加のみで速やかにゲル化し、ゼリー製剤となりうる。PGA はすでに、ミネラルの吸収促進を補助する目的で食品添加物として使用されている安全な添加物である<sup>47, 48)</sup>。

本章では、嚥下補助を目的として Murakami らの報告に基づき、PGA gel を合成し、これを水で膨潤させたゲル製剤が AML を含む各種薬物の苦味抑制ならびに嚥下補助としての適用が可能であるか検証することを目的に検討を行った。まず、乾燥状態の PGA gel の物理化学的性質として融点測定や FT-IR スペクトル解析を行い、吸水性の評価として経時的な膨潤挙動を確認した。また、PGA

gel に加えて食品である寒天や、苦味マスキング効果を示すことが知られている医薬品の添加剤であるカラギーナンを比較対照とし、これらのテクスチャーを消費者庁による「えん下困難者用食品」の許可基準で用いられている TPA 試験によって評価した。さらに、2 章で検討した AML をモデル薬物とし、乾燥状態の PGA gel を水でゲル化させ、AML を混合した試料を用いて AML の溶出性を評価した。続いて PGA gel 自体に不快な味がないか味覚センサにて予測した。また、ゲルの形状になった PGA gel, 寒天, ι-カラギーナンと AML をそれぞれ混合した試料について、経時的な各種ゲルの苦味抑制効果を味覚センサおよびヒト官能試験にて評価した。さらに、味覚センサの結果を支持するために各種ゲルから溶出した AML 濃度を HPLC により測定した。PGA gel による苦味抑制が AML に特異的ではないことを確認するため、塩基性官能基を有する薬物のベナゼプリル塩酸塩 (BEN) およびアンブロキシソール塩酸塩 (AMB), 酸性官能基を有する薬物のジクロフェナクナトリウム (DIC) およびエトドラク (ETO) の各種薬物に対する苦味抑制効果についても味覚センサおよび溶出薬物濃度により評価した。最後に、PGA gel による AML を含む 5 種の苦味抑制機序を推定するため、PGA gel を各種薬物に添加した試料の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトル解析を行った。

## 第1節 PGA gel の物理化学的性質の評価ならびに膨潤挙動の評価

### 第1項 目的

本節では、調製した PGA gel の融点測定、FT-IR スペクトル解析および吸水率の測定を行い、PGA gel の物理化学的性質ならびに膨潤挙動を評価した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

ポリ- $\gamma$ -グルタミン酸 (平均分子量; 200,000~500,000), L-(+)-リシンー塩酸塩, 4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウム=クロリド  $n$  水和物 (DMT-MM), リン酸水素二ナトリウム, リン酸二水素ナトリウム (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪), 水酸化ナトリウム (ナカライテスク株式会社, 京都) を用いた。

#### 2. PGA gel の調製方法

既報<sup>29)</sup>に基づき、以下の手順で調製した。

PGA (グルタミン酸として 0.04 mol) をビーカーに取り、1.0 M 水酸化ナトリウム溶液を加えて PGA を溶解した。次に L-Lys (0.01 mol) を精製水で溶解し、1.0 M 水酸化ナトリウム溶液を用いて pH8.9 に調整した後、L-Lys 溶液を先の溶液が入ったビーカーに加えて攪拌した。攪拌後、この中に精製水で溶解した DMT-MM (0.048 mol) を加えて攪拌し、25°C で反応させた。反応後、反応液をメタノールで沈殿させ、デカンテーションにより分離した。続いて、生成物を pH7.0 の 0.1 M リン酸緩衝液に一晩浸漬し、その後 1.0 M 水酸化ナトリウム溶液を加えて、溶液の pH を 8 に調整した。膨潤した PGA gel をナイロンメッシュ (255 メッシュ、目開き 57  $\mu$ m) に乗せ、ろ過した。ナイロンメッシュで包んだ PGA gel を精製水に浸け、1 週間、1 日 1 回水を入れ替えて PGA gel を洗浄した。過剰な水を除いた後、吸水膨潤した PGA gel を凍結乾燥し、乾燥状態の PGA gel を得た。

### 3. 融点測定

乾燥状態における PGA gel の融点は、微量融点測定装置 (MP 500D) を用いて測定した。

### 4. FT-IR スペクトル解析

PGA および乾燥状態の PGA gel の赤外吸収スペクトルは、第十七改正日本薬局方の臭化カリウム錠剤法に準拠して<sup>49)</sup>、FT-IR (IRAffinity-1 spectrometer) にて測定した。固体試料 1~2 mg をめのう製乳鉢を用いて粉末とし、これに赤外吸収スペクトル用臭化カリウム 0.10~0.20 g を加え湿気を吸わないように注意し、速やかに混合後、錠剤成型器に入れて加圧製錠した。同様にして対照臭化カリウム錠剤を製した。

### 5. 吸水率の測定<sup>29)</sup>

乾燥状態の PGA gel をナイロンメッシュバッグに入れ、バッグごと 25°C の精製水 50 mL が入ったビーカーに浸した。浸してから 30 分、1 時間、3 時間、6 時間および 24 時間経過後、過剰な水を除くためにバッグを 10 分間吊り下げた後、重量を測定した。ブランクとして空のナイロンメッシュバッグについても同様の操作を行った。乾燥状態の PGA gel の各時間における吸水率は以下の式により算出し、各時間における吸水率から膨潤挙動を得た。

$$\text{吸水率 (g/g)} = (W_s - W_d) / W_d$$

$W_s$ : 膨潤した PGA gel の重量

$W_d$ : 乾燥状態の PGA gel の重量

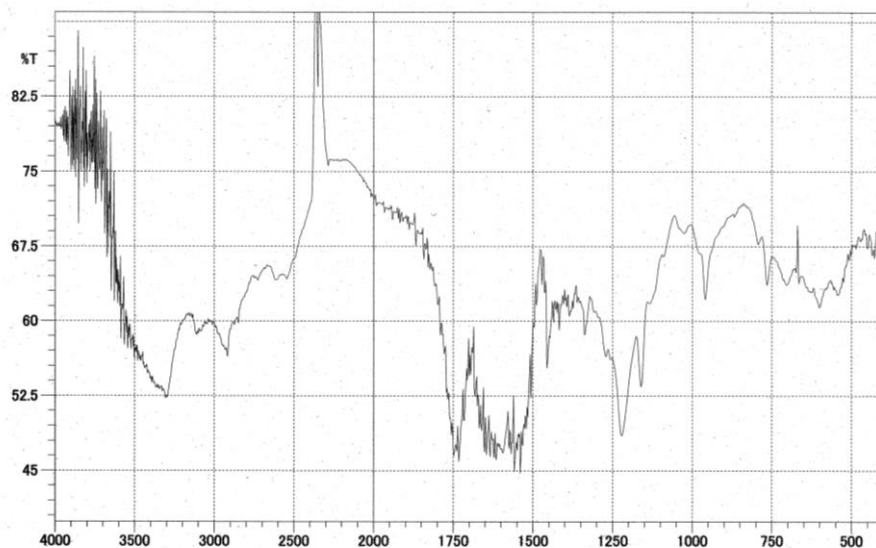
## 第 3 項 結果および考察

乾燥状態の PGA gel は白色粉末であり、300°C 付近で分解することを確認した。



次に, PGA および PGA gel の赤外吸収スペクトルを Fig. 12 に示した. PGA の赤外吸収スペクトルは  $1740\text{ cm}^{-1}$  付近に特徴的なピークを示した. これは, PGA の構造中に存在するカルボキシ基の C=O 伸縮振動に由来すると推測された. また, 乾燥状態の PGA gel の赤外吸収スペクトルにおいては  $1635\text{ cm}^{-1}$  付近に特徴的なピークを示し, これは PGA gel の構造中に存在するアミド基の C=O 伸縮振動に由来すると推測された. これらの結果より, PGA のカルボキシ基と L-Lys のアミノ基が架橋し, アミド結合が形成されていることが示唆された.

(a) PGA



(b) Dried PGA gel

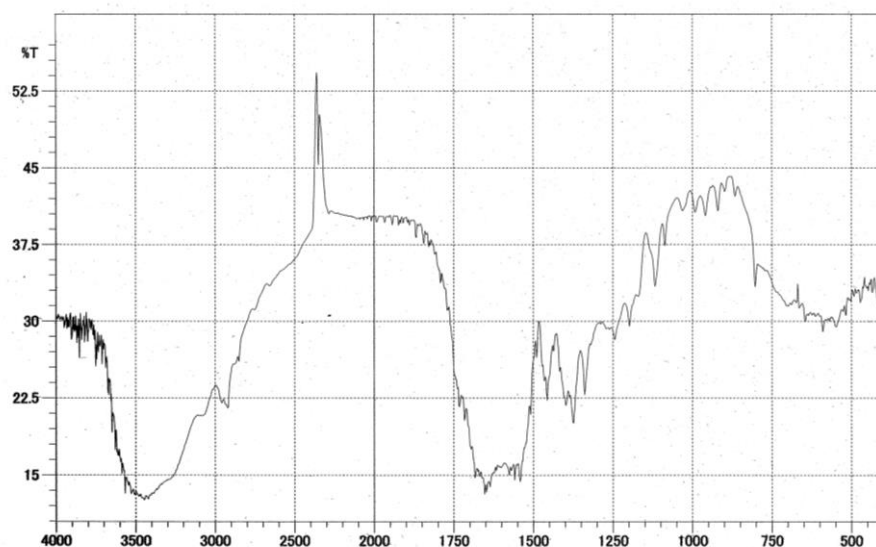
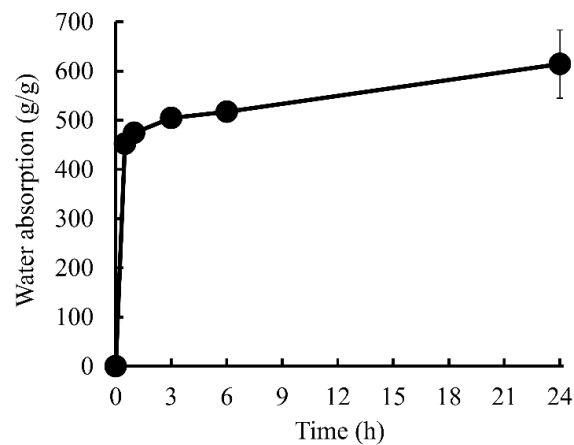


Fig. 12 FT-IR Spectra of (a) PGA and (b) dried PGA gel.

続いて, PGA gel の経時的な膨潤挙動を Fig. 13 に示した. 乾燥状態の PGA gel が入ったナイロンメッシュを水に浸してから 24 時間経過後の吸水率は,  $614 \pm 69$  g/g であった. Murakami らは, PGA gel の吸水率が 300-2100 g/g であることを報告しており, 本章で調製した PGA gel はその範囲内であることを確認した. また, 乾燥状態の PGA gel が入ったナイロンメッシュを浸してから 30 分経過後の吸水率は,  $452 \pm 14$  g/g であり, これは 24 時間経過後の吸水率の 74%であることから, 乾燥状態の PGA gel は短時間内に優れた吸水性を示すことが明らかとなった.



**Fig. 13 The swelling behavior of PGA gel.**  
 $n=3$ , mean  $\pm$  S.D.

## 第2節 TPA試験を用いたPGA gelを含む5種のゲルのテクスチャー評価

### 第1項 目的

本節では、0.5%および1.0%PGA gel, コントロールとして0.5%および1.0%寒天, 1.0% $\kappa$ -カラギーナンの5種のゲルの嚙下のし易さを評価するため、テクスチャーアナライザ (TA.XT *plus*C) を用いてテクスチャーを測定した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

精製寒天末 (ナカライテスク株式会社, 京都),  $\kappa$ -カラギーナン (東京化成工業株式会社, 東京) を用いた。

#### 2. TPA試験

消費者庁による「えん下困難者用食品」の許可基準で用いられている方法<sup>30)</sup>に従って行い、硬さ、付着性、凝集性を測定した。直径40 mmの容器に高さ15 mmまで充填した試料を、直径20 mm, 高さ100 mmの亚克力製円筒型プランジャーを用いて、変形率70%, 測定速度10 mm/秒で、試料の中心部を2回連続圧縮した。

#### 3. 試料の調製

0.5%, 1.0%PGA gel および1.0% $\kappa$ -カラギーナンは精製水19 mLに対して各試料を量りとり、精製水を添加・混合し調製した。0.5%および1.0%寒天は精製水19 mLに対して寒天を量りとり、精製水を添加・混合し、ホットスターラーにより加温溶解後、冷却し、調製した。

### 第3項 結果および考察

「えん下困難者用食品」の許可基準および5種のゲルのテクスチャー（硬さ、付着性、凝集性）は Table 4 に示した。「えん下困難者用食品」の許可基準は I, II, III の3段階に分かれており、Iは最も厳しい（高い）基準である。硬さ、付着性、凝集性のそれぞれの許可基準のうち最も低い基準が、その試料の総合的な許可基準となる。

5種のゲルのテクスチャーは、いずれも許可基準の範囲内であることが示された。総合的な許可基準は、1.0%PGA gel, 0.5%寒天および1.0% $\iota$ -カラギーナンで許可基準 III, 0.5% PGA gel および1.0%寒天で許可基準 II に相当することが示された。硬さおよび付着性は値が小さいほど試料の性質が液体に近く、0.5%寒天および1.0% $\iota$ -カラギーナンの硬さと付着性はいずれも値が小さいことから、液体に近い性質であることが示唆された。許可基準 I を満たすためには、ある程度の硬さを持ち、付着性が低いことが理想的である。寒天は加熱と冷却によってゲルへと変化し、 $\iota$ -カラギーナンのゲル化には水だけでなくカチオンも必要であるため、調製法やテクスチャーの観点から PGA gel は寒天や $\iota$ -カラギーナンより優れたゲルであることが示唆された。

**Table 4 (a) The permission criteria according to which foodstuffs may be considered suitable for persons with difficulties in swallowing, as published by the Japanese Consumers Affairs Agency. (b) The ease of swallowing (hardness, adhesiveness and cohesiveness) of the five gels.**

*n*=3, mean  $\pm$  S.D.

(a)

The permission criteria	Hardness (N/m <sup>2</sup> )	Adhesiveness (J/m <sup>2</sup> )	Cohesiveness
I	2,500 - 10,000	400 or less	0.2 - 0.6
II	1,000 - 15,000	1000 or less	0.2 - 0.9
III	300 - 20,000	1500 or less	-

(b)

	Hardness (N/m <sup>2</sup> )	Adhesiveness (J/m <sup>2</sup> )	Cohesiveness	Grade in the permission criteria
0.5% (w/v) PGA gel	2327.12 $\pm$ 111.19	973.10 $\pm$ 97.06	0.81 $\pm$ 0.01	II
1.0% (w/v) PGA gel	3087.38 $\pm$ 142.31	1266.45 $\pm$ 57.17	0.83 $\pm$ 0.01	III
0.5% (w/v) agar	853.08 $\pm$ 91.44	281.37 $\pm$ 71.72	0.62 $\pm$ 0.01	III
1.0% (w/v) agar	3568.88 $\pm$ 398.65	621.97 $\pm$ 130.06	0.61 $\pm$ 0.07	II
1.0% (w/v) $\iota$ -carrageenan	572.01 $\pm$ 46.10	44.11 $\pm$ 6.45	0.78 $\pm$ 0.01	III

### 第3節 PGA gel および AML を混合した試料における AML の溶出性の評価

#### 第1項 目的

本節では、消化管条件下において、PGA gel が AML の溶出性に及ぼす影響を確認するため、PGA gel と AML 混合時における AML の溶出性を評価した。

#### 第2項 実験方法

##### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩 (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ) を用いた。

##### 2. 溶出試験

第十七改正日本薬局方の溶出試験法第2法に準拠して行った<sup>50)</sup>。試験液 (37°C) は、溶出試験液第1液 (pH 1.2) および第2液 (pH 6.8) を用い、試験液量 900 mL、回転数 50 回転/分で行った。溶出試験液第1液 (pH 1.2) では、試験開始 10, 15, 30, 45, 60, 90 分後に、第2液 (pH 6.8) では、10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 分後にサンプリングを行い、フィルター濾過後、HPLC でアムロジピンベシル酸塩の溶出濃度を定量した。以下に HPLC 条件を示した<sup>7)</sup>。

〈HPLC 条件〉

測定波長 : UV-237 nm

カラム : SHISEIDO CAPCELLPAK C18 UG120 S5:4.6 mm i.d.×150 mm (株式会社資生堂, 東京)

カラム温度 : 25°C

流量 : 1.0 mL/min

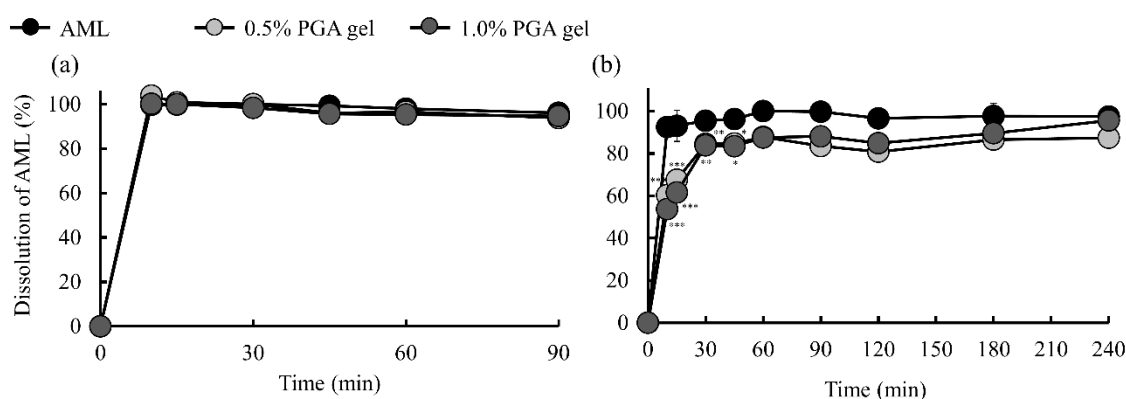
移動相 : メタノール/リン酸二水素カリウム (41→10000) 混液 (13:7)

### 3. 統計処理

溶出試験の結果について、データは平均値±S.D.で表記し、エクセル統計を用いて Tukey's test による多群間比較を行った。有意水準 5%未満をもって有意差を判定した。

### 第3項 結果および考察

0.5%および1.0%PGA gel から溶出した AML の溶出挙動を Fig. 14 に示した。第1液 (pH 1.2) (Fig. 14 (a)) では、試験開始 10 分後には全ての AML が溶出することが確認された。また、第1液 (pH 1.2) における PGA gel からの AML の溶出性は AML 単独の溶出性と差異がないことが示された。一方、第2液 (pH 6.8) (Fig. 14 (b)) における PGA gel からの AML の溶出性を AML 単独の溶出性と比較すると、試験開始 60 分以降においてこれらの溶出性に差異がないことが確認された。これらの結果は、PGA gel の中に存在する AML が消化管条件において1時間以内に完全に溶出し、PGA gel が AML のバイオアベイラビリティに影響しないことを示唆している。



**Fig. 14 The elution profiles of AML from PGA gel. (a) First fluid (pH 1.2); (b) Second fluid (pH 6.8)**

$n=3$ , mean  $\pm$  S.D., \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$  vs AML (Tukey's test)

## 第4節 味覚センサによる PGA gel, AML の味評価および AML の苦味に及ぼす各種ゲルの影響

### 第1項 目的

本節では、PGA gel および AML の味を味覚センサで予測し、さらに各種ゲルと AML の混合試料について各種ゲルによる AML の苦味抑制効果を評価した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩 (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), 精製寒天末 (ナカライテスク株式会社, 京都), *t*-カラギーナン (東京化成工業株式会社, 東京) を用いた。

#### 2. 各種ゲルの調製

各種ゲルである 0.5%, 1.0%PGA gel および 1.0%*t*-カラギーナンは精製水 5 mL に対して各試料を必要量とり、精製水を添加・混合し調製した。0.5%および 1.0%寒天は精製水 5 mL に対して寒天を必要量とり、精製水を添加・混合し、ホットスターラーにより加温溶解後、冷却し、調製した。

#### 3. 味覚センサ測定

味覚センサ SA501 (インテリジェントセンサテクノロジー株式会社) を用いて PGA gel と AML の味予測および各種ゲルによる薬物の苦味抑制効果を評価した。測定は、第1章 第1節と同様の方法で行った。測定に使用したセンサとその膜の化学組成について Table 5 にまとめた。センサは旨味に応答する AAE 膜, 酸味に応答する CA0 膜, 塩味に応答する CT0 膜, 塩基性苦味に応答する AN0 膜, 酸性苦味に応答する C00 膜, 収斂味に応答する AE1 膜を使用し, 苦味以外の味評価に関しては相対値を, 苦味の評価については CPA 値を用いた<sup>5)</sup>。

各味の指標および閾値として、旨味は 0.03% グルタミン酸ナトリウム溶液 (MSG), 酸味は 0.0012% 酒石酸溶液 (Tar), 塩味は 0.25% 塩化ナトリウム溶液 (NaCl), 塩基性苦味は 0.001% (0.03mM) キニーネ塩酸塩溶液 (Qui), 酸性苦味は 0.01% イソ  $\alpha$  酸溶液 (Iso), 収斂味は 0.075% タンニン酸溶液 (Tan) を使用した。

**Table 5 Chemical components of taste sensors**

Taste sensor	Artificial lipid	Plasticizer
AAE (for umami)	Trioctylmethylammonium chloride Phosphoric acid di (2-ethylhexyl) ester	Di- <i>n</i> -octyl phenyl-phosphonate
CA0 (for sourness)	Trioctylmethylammonium chloride Phosphoric acid di (2-ethylhexyl) ester Oleic acid	Di- <i>n</i> -octyl phenyl-phosphonate
CT0 (for saltiness)	Tetradodecylammonium bromide Cetyl alcohol	Di- <i>n</i> -octyl phenyl-phosphonate
AN0 (for the bitterness of basic substances)	Phosphoric acid di- <i>n</i> -decyl ester	Di- <i>n</i> -octyl phenyl-phosphonate
C00 (for the bitterness of acidic substances)	Tetradodecylammonium bromide	2-Nitrophenyl octyl ester
AE1 (for astringency)	Tetradodecylammonium bromide	Di- <i>n</i> -octyl phenyl-phosphonate

#### 4. 試料の調製

試料の調製方法については、口腔内に含む条件を想定して以下のように行った。各ゲル 5 mL に AML の 1 回あたりの服用量である 3.47 mg (アムロジピンとして 2.5 mg) を添加後、10 秒間混合し、ナイロンメッシュバッグの底に移したものを精製水 20 mL (37°C) にバッグ全体が水に浸るよう沈めた。溶液の容量は口腔内の最大容量を考慮した 20 mL に設定した。浸漬させてから 5 秒、15 秒、30 秒後にバッグを引き上げ、濾過後の溶液を味覚センサにより測定した。また同じ試料を用いて HPLC により AML の溶出濃度を定量した。HPLC 条件は本章 第 3 節に示している。

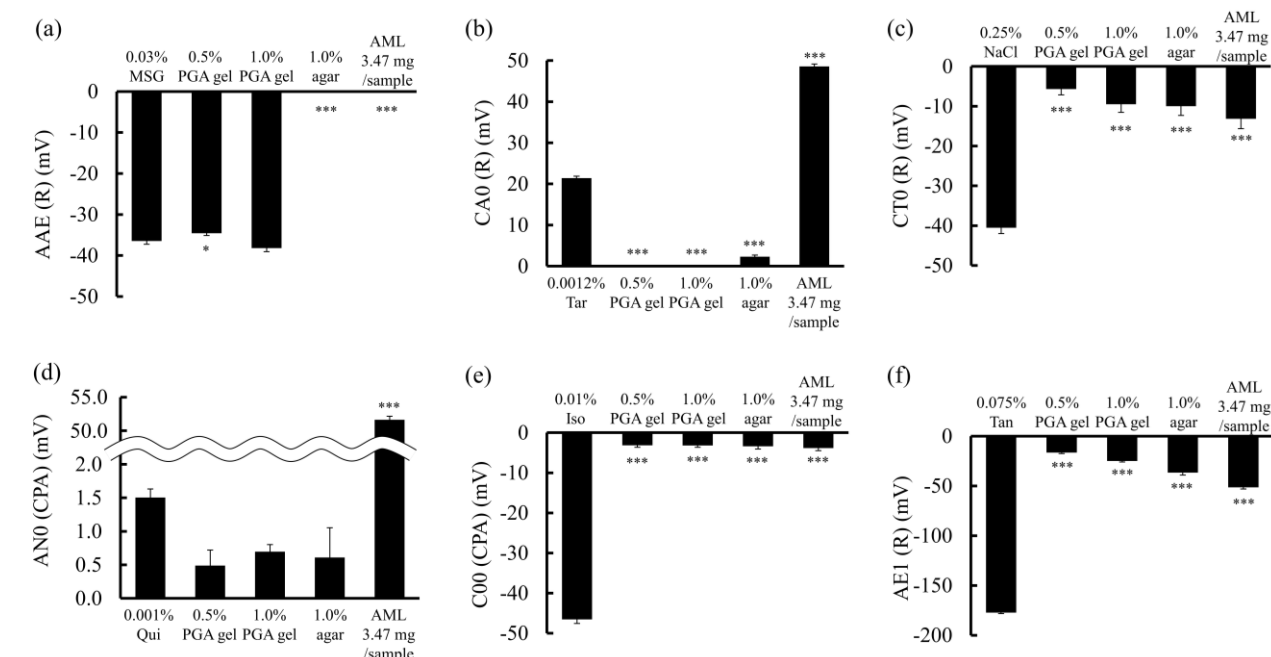


## 5. 統計処理

味覚センサ測定の結果について、データは平均値±S.D.で表記し、エクセル統計を用いて Tukey's test による多群間比較を行った。有意水準 5%未満をもって有意差を判定した。

### 第3項 結果および考察

PGA gel (0.5%および 1.0%), AML およびコントロールとして寒天 (1.0%) の味を味覚センサにより予測した。(Fig. 15)

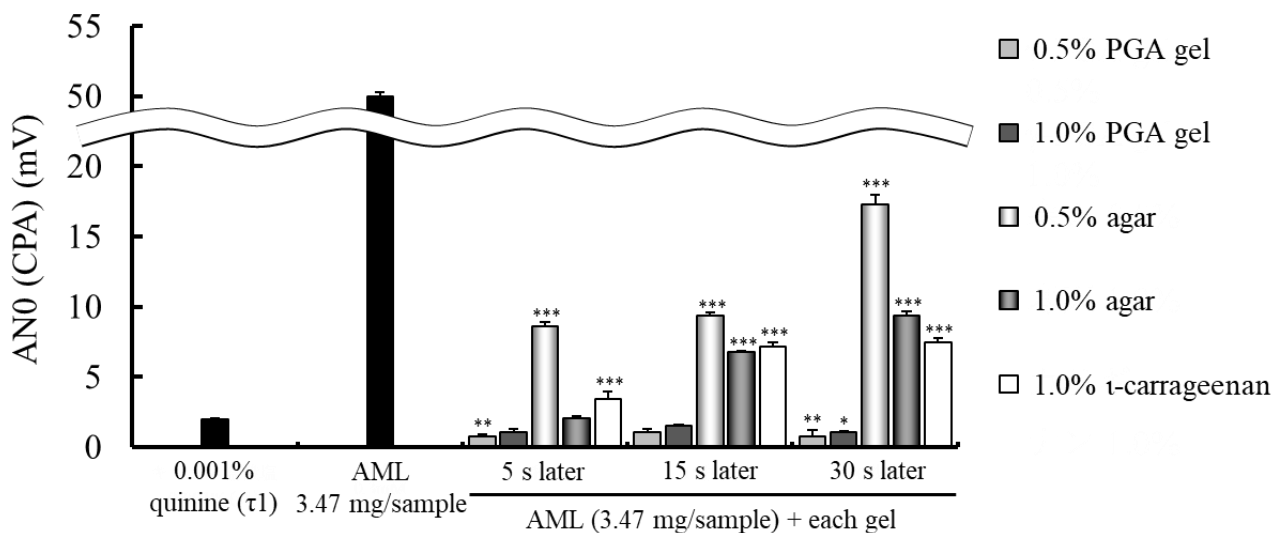


**Fig. 15 Taste sensor outputs in response to PGA gel, agar and AML. (a) AAE, (b) CA0, (c) CT0, (d) AN0, (e) C00 and (f) AE1**  
 $n=3$ , mean  $\pm$  S.D. \* $p<0.05$ , \*\*\* $p<0.001$  vs control substance of each taste (Tukey's test)

PGA gel が最も応答を示したのは、旨味に応答する AAE 膜であった (Fig. 15 (a)). その応答は、旨味の閾値とほぼ同等であり、AAE 膜を除いた他の CA0, CT0, AN0, C00 および AE1 センサ出力値は、閾値以下であった。この結果より、PGA gel は不快な味を呈さないため、経口製剤に適用可能であることが示唆された。一方、AML の味は、酸味および塩基性苦味に応答する CA0 膜および AN0 膜のセンサ出力値が閾値より高い値を示し、酸味はベシル酸に由来したと推測された。また、AML の苦

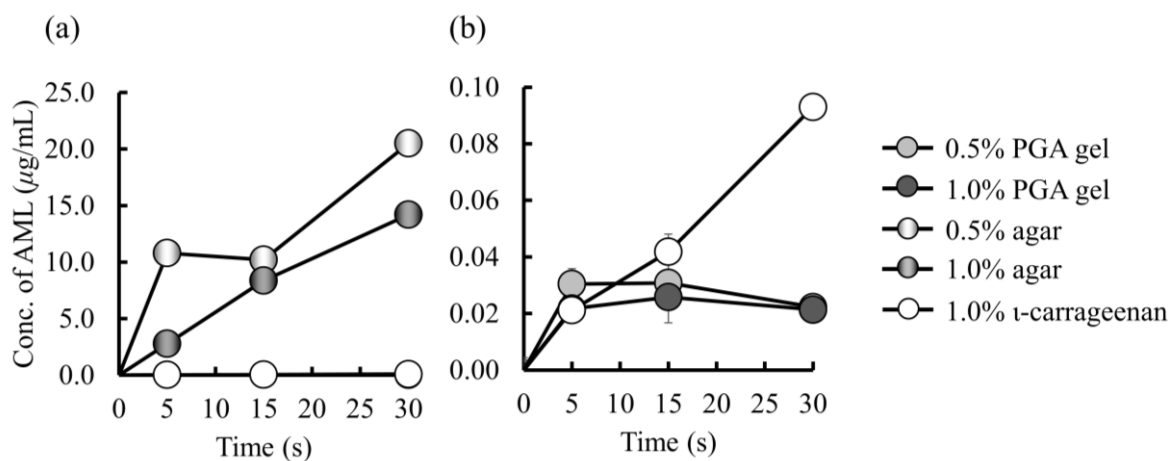
味が AN0 膜で評価可能であることが示された。

次に、0.5%および 1.0%PGA gel, 0.5%および 1.0%寒天, 1.0% $\iota$ -カラギーナンの各々のゲルと AML の混合試料について AML の苦味抑制効果を評価した (Fig. 16)。



**Fig. 16 Taste sensor outputs [ANO (CPA)] in response to AML mixed with five different gels.**  $n=3$ , mean  $\pm$  S.D. \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$  vs 0.001% quinine solution ( $\tau_1$ ) (Tukey's test)

AML のセンサ出力値はそれぞれのゲルとの混合により、有意に低下した。塩基性苦味の閾値である 0.001%キニーネ塩酸塩溶液の AN0 センサ出力値は、 $1.99 \pm 0.05$  mV であり、0.5%および 1.0%PGA gel と混合した AML のセンサ出力値は、いずれの時間においても閾値と同等もしくはそれ以下であることが示された。



**Fig. 17 Determination of concentrations of AML eluted from five different gels; (b) An expansion of (a) at low concentrations.**

$n=3$ , mean  $\pm$  S.D.

また、各ゲルから溶出した AML の濃度は、1.0%寒天および 1.0%t-カラギーナンとの混合において時間依存的に増加したことが確認された (Fig. 17). 0.5%寒天との混合においては、浸漬開始 5 秒後に  $10.8 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$  の AML が溶出し、15 秒後までは変化がなく、30 秒間で  $20.5 \pm 0.2 \mu\text{g/mL}$  の AML が溶出した。0.5%および 1.0%PGA gel との混合においては、5 秒後に約  $0.03 \mu\text{g/mL}$  の AML が溶出し、30 秒後まで溶出の変化は確認されなかった。AML のセンサ出力値が 0.5%および 1.0%PGA gel との混合により塩基性苦味の閾値程度まで低下したのは、PGA gel によって AML の溶出が抑制されたことに起因すると考えられた。

## 第5節 ヒト官能試験による AML の苦味に及ぼす各種ゲルの影響

### 第1項 目的

本節では、本章 第4節で得た味覚センサ測定の結果を検証するため、ヒト官能試験を行った。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩 (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), 精製寒天末 (ナカライテスク株式会社, 京都),  $\kappa$ -カラギーナン (東京化成工業株式会社, 東京) を用いた。

#### 2. ヒト官能試験

第1章 第2節と同様に Katsuragi らが報告している等価濃度試験法<sup>35)</sup>に従って、ヒト官能試験を行った (武庫川女子大学倫理委員会承認 No. 19-19)。この試験では、健康な6名の女性 (31±9歳) をパネルとした。また、試験試料は味覚センサ測定と同様に 5 mL とし、AML を含まない各ゲルの単独試料についても同様の試験を行った。

#### 3. 試料の調製

本章 第4節と同様に、各ゲル 5 mL に AML の1回あたりの服用量である 3.47 mg (アムロジピンとして 2.5 mg) を添加後、10秒間混合し調製した。また、AML を含まない各ゲルの単独試料についても 5 mL となるよう各々の濃度で調製した。

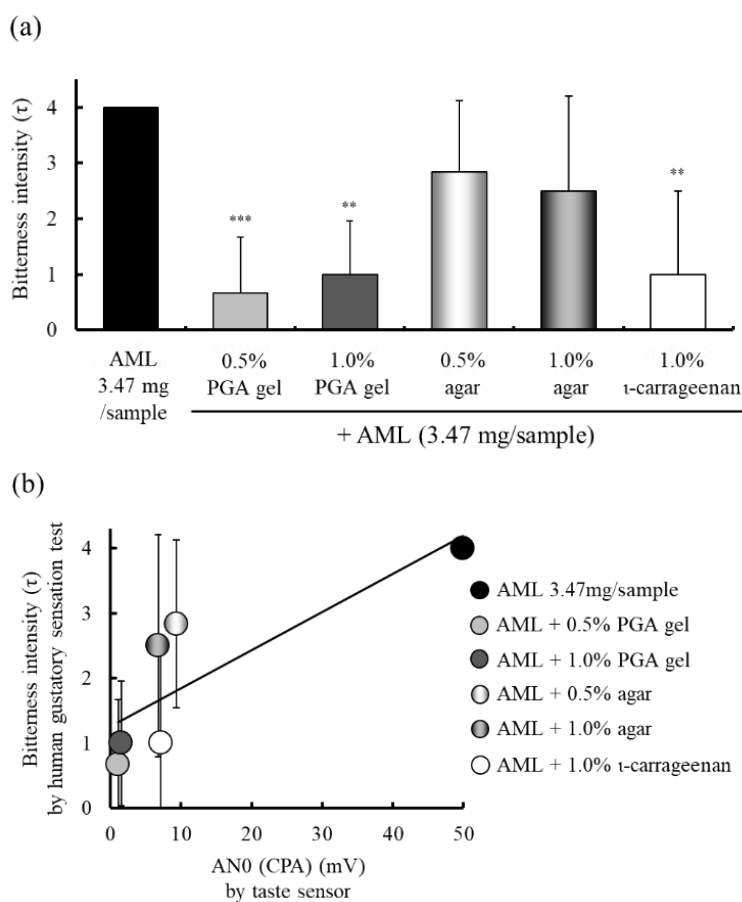
#### 4. 統計処理

ヒト官能試験の結果について、データは平均値±S.D.で表記し、エクセル統計を用いて Tukey's test による多群間比較および Pearson product-moment correlation coefficient による相関分析を行った。

有意水準 5%未満をもって有意差を判定した。

### 第3項 結果および考察

AML を含まない各ゲルは、いずれも苦味を呈さないことが確認された。一方, AML および各ゲルを混合した場合の AML の苦味強度は 0.5%および 1.0%PGA gel と 1.0% $\iota$ -カラギーナンとの混合によって低下し, その苦味強度は塩基性苦味の閾値と同等もしくはそれ以下であることが示された (Fig. 18 (a)). さらに, 本章 第4節の実験で得られたセンサ出力値と本節で行ったヒト官能試験の結果より得られた実測苦味強度は有意な相関を示した ( $r=0.82$ , Pearson product-moment correlation coefficient,  $p<0.05$ ) (Fig. 18 (b)).



**Fig. 18 (a) Bitterness intensity of AML mixed with five different gels measured by human gustatory sensation tests; (b) Correlation between bitterness intensities measured by human gustatory sensation tests and taste sensor outputs [AN0 (CPA)] in response to AML mixed with the five gels.  $n=6$ , mean  $\pm$  S.D. (a): \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$  vs AML 3.47 mg/sample (Tukey's test), (b):  $r=0.82$ ,  $p<0.05$  (Pearson product-moment correlation coefficient)**

## 第6節 味覚センサによる各種薬物の苦味に及ぼす 0.5%PGA gel と 1.0%寒天の影響

### 第1項 目的

本節では、AML の苦味が PGA gel によって抑制され、この苦味抑制が他の薬物においても同様な結果を示すか否かを確認するため、ゲルのテクスチャー評価 (本章 第2節) で許可基準 II を示した 0.5%PGA gel および 1.0%寒天を用いて塩基性官能基を有する薬物の BEN および AMB, 酸性官能基を有する薬物の DIC および ETO の苦味に及ぼす 2 種のゲルの影響を味覚センサにより評価した。

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

バナゼプリル塩酸塩,  $\iota$ -カラギーナン (東京化成工業株式会社, 東京), アンブロキシソール塩酸塩 (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), ジクロフェナクナトリウム, エトドラク (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪), 精製寒天末 (ナカライテスク株式会社, 京都) を用いた。

#### 2. 味覚センサ測定

2 種のゲルによる各種薬物の苦味抑制効果を評価するため、本章 第4節と同様に味覚センサを用いた。BEN および AMB の苦味は塩基性苦味に応答する AN0 膜, DIC および ETO の苦味は酸性苦味に応答する C00 膜を用いて測定し、使用したセンサとその膜の化学組成は、本章 第4節の Table 5 に示している。

#### 3. 試料の調製

本章 第4節と同様に各ゲル 5 mL に各薬物の 1 回あたりの服用量を添加後、10 秒間混合し調製し

た. 各薬物の 1 回あたりの服用量は, 5 mg (BEN), 15 mg (AMB), 25 mg (DIC) および 200 mg (ETO) である. また同じ試料を用いて HPLC により各薬物の溶出濃度を定量した. 以下に各薬物の HPLC 条件を示した<sup>52-55)</sup>. 測定に使用したカラムは, SHISEIDO CAPCELLPAK C18 UG120 S5:4.6 mm i.d.×150 mm (株式会社資生堂, 東京) である.

〈HPLC 条件 (BEN)〉

測定波長 : UV-242 nm

カラム温度 : 25°C

流量 : 1.0 mL/min

移動相 : 20 mM リン酸緩衝液 (pH 4.5) / アセトニトリル混液 (53:47)

〈HPLC 条件 (AMB)〉

測定波長 : UV-215 nm

カラム温度 : 40°C

流量 : 1.0 mL/min

移動相 : アセトニトリル/水混液 (40:60)

〈HPLC 条件 (DIC)〉

測定波長 : UV-276 nm

カラム温度 : 25°C

流量 : 1.0 mL/min

移動相 : アセトニトリル/メタノール混液 (80:20)

〈HPLC 条件 (ETO)〉

測定波長：UV-220 nm

カラム温度：27°C

流量：1.0 mL/min

移動相：メタノール/水混液 (20:80)

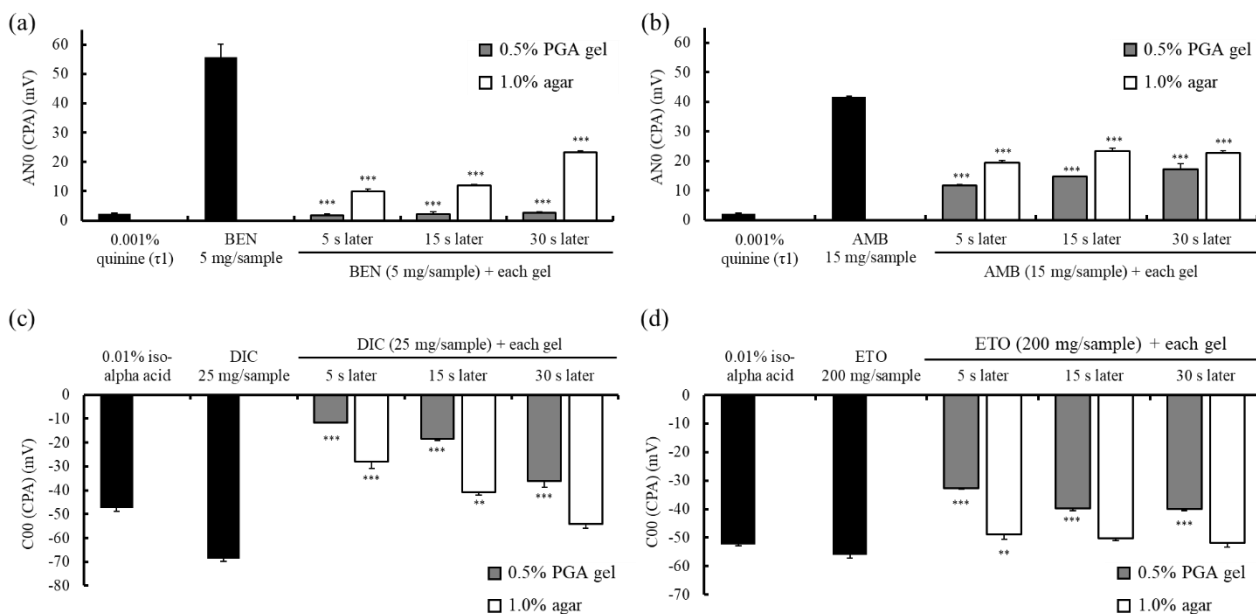
#### 4. 統計処理

味覚センサ測定の結果について、データは平均値±S.D.で表記し、エクセル統計を用いて Tukey's test による多群間比較を行った。有意水準 5%未満をもって有意差を判定した。

### 第3項 結果および考察

当研究室では既に BEN, AMB, DIC および ETO が苦味を呈することを報告している<sup>38, 53, 56</sup>。各種薬物の苦味に及ぼす 0.5%PGA gel および 1.0%寒天の苦味抑制効果を Fig. 19 に示した。





**Fig. 19** The time-dependent increase in sensor outputs [ANO (CPA)] of (a) BEN, (b) AMB and [C00 (CPA)] of (c) DIC, (d) ETO mixed with two different gels.

$n=3$ , mean  $\pm$  S.D., \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$  vs control substance of each taste (Tukey's test)

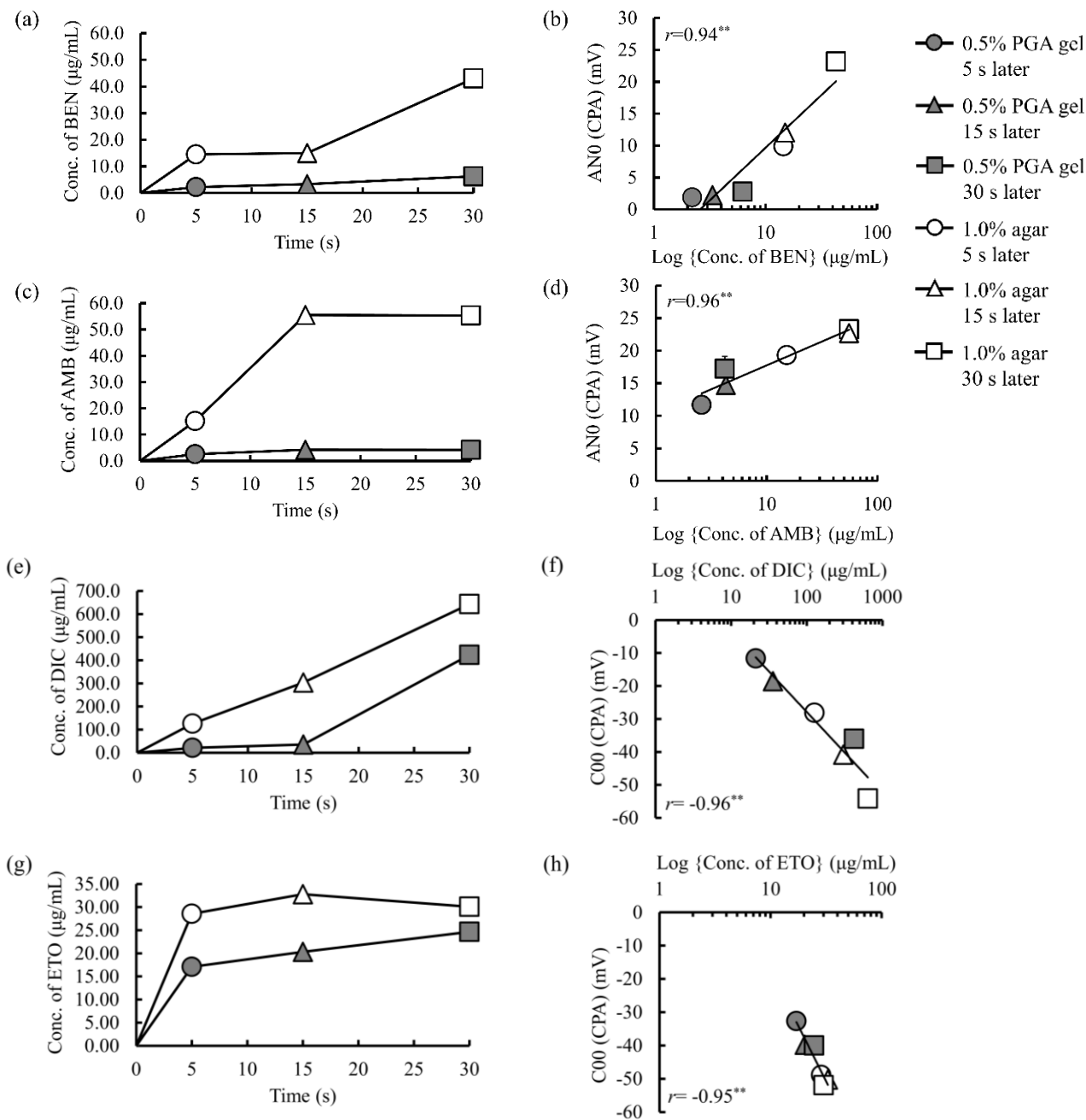
塩基性官能基を有する薬物の BEN および AMB のセンサ出力値は、各ゲルとの混合により有意に低下した。0.5%PGA gel は 1.0%寒天混合時と比較して、より高い抑制効果を示した。また、0.5%PGA gel と混合した BEN のセンサ出力値は閾値と同等もしくはそれ以下であることが示された。一方、酸性官能基を有する薬物の DIC および ETO においては、ETO と 1.0%寒天を混合した試料を除いて、ゲルとの混合が DIC および ETO のセンサ出力値を有意に低下させ、その値は閾値と同等もしくはそれ以下であることが示された。また、0.5%PGA gel は 1.0%寒天混合時と比較して、より高い苦味抑制効果を示した。これらの結果より、PGA gel による薬物の苦味抑制効果は AML 以外の薬物の苦味にも適用可能であることが示唆された。次に、HPLC により定量した各薬物の溶出濃度および先に示した味覚センサ測定結果と各薬物の溶出濃度の間における相関性を Fig. 20 に示した。

BEN は、0.5%PGA gel から時間依存的に溶出し、1.0%寒天との混合時は、浸漬開始 5 秒で  $14.5 \pm 0.0 \mu\text{g/mL}$ 、15 秒後までは変化がなく、30 秒間で  $43.0 \pm 0.0 \mu\text{g/mL}$  溶出した。AMB は、0.5%PGA gel との混合時、浸漬開始 5 秒で  $2.59 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$ 、15 秒後には  $4.28 \pm 0.07 \mu\text{g/mL}$  が溶出し、そこから 30 秒後まで変化は見られなかった。また、1.0%寒天との混合時は、5 秒で  $15.2 \pm 0.0 \mu\text{g/mL}$ 、15 秒後には  $55.5 \pm 0.0 \mu\text{g/mL}$  溶出し、そこから 30 秒後まで変化は見られなかった。DIC は、いず

れのゲルとの混合時も時間依存的に溶出した。ETO は、0.5%PGA gel から時間依存的に溶出し、1.0%寒天との混合時は、浸漬 5 秒で  $28.6 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$  溶出し、そこから 30 秒後まで変化は見られなかった。AMB および DIC 単独のセンサ出力値はそれぞれのゲルとの混合により低下したが、その低下の割合は AMB と DIC でほぼ同等であった。そこで、ゲルとの混合による AMB および DIC の苦味抑制効果の違いを HPLC により定量した各薬物の溶出濃度から考察した。

AMB および DIC が 20 mL の溶液中に全て溶解したと仮定した濃度はそれぞれ  $750 \mu\text{g/mL}$ 、 $1250 \mu\text{g/mL}$  であり、0.5%PGA gel から 30 秒間で溶出した AMB の濃度は、 $4.19 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$  であることから全体の約 1/180 しか溶出していないことが確認された。一方、1.0%寒天から 30 秒間で溶出した AMB の濃度は、 $55.3 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$  であり、これは全体の約 1/14 が溶出したことを示している。DIC の場合、0.5%PGA gel から 30 秒間で溶出した DIC の濃度は、 $423 \pm 0 \mu\text{g/mL}$  であることから全体の約 1/3 も溶出したことが確認された。一方、1.0%寒天から 30 秒間で溶出した DIC の濃度は、 $643 \pm 0 \mu\text{g/mL}$  であり、これは全体の約 1/2 が溶出したことを示した。DIC と 1.0%寒天混合時の 30 秒間での DIC の溶出濃度は、AMB の溶出濃度の約 7 倍であったが、DIC と 0.5%PGA gel 混合時の 30 秒間での DIC の溶出濃度は、AMB の溶出濃度の約 60 倍であることが確認された。この結果から、0.5%PGA gel 混合による苦味抑制効果は AMB 混合時の方が DIC 混合時と比較して大きいことが明らかとなり、塩基性官能基を有する薬物と酸性官能基を有する薬物の苦味抑制機序が異なることが推察された。

さらに、本節の実験で得られたセンサ出力値と HPLC により定量した薬物の溶出濃度は、有意な相関を示した (BEN;  $r=0.94$ , AMB;  $r=0.96$ , DIC;  $r=-0.96$ , ETO;  $r=-0.95$ , Pearson product-moment correlation coefficient,  $p<0.01$ ).



**Fig. 20 Determination of concentrations of drugs eluted from two different gels. (a) BEN, (c) AMB, (e) DIC and (g) ETO, and correlation between logarithm of concentrations of each drug eluted from two different gels and taste sensor outputs [AN0 (CPA)] or [C00 (CPA)] in response to drugs mixed with the two gels. (b) BEN, (d) AMB, (f) DIC and (h) ETO**  
 $n=3$ , mean  $\pm$  S.D., (b), (d), (f) and (h):  $p < 0.01$  (Pearson product-moment correlation coefficient)

## 第7節 $^1\text{H-NMR}$ を用いた各種薬物-PGA gel の分子間相互作用解析

### 第1項 目的

本節では,PGA gel による AML, BEN, AMB, DIC および ETO の苦味抑制機序を推定するため, $^1\text{H-NMR}$  測定を行い,各薬物の分子内の電子密度状態の変化から各薬物と PGA gel 間の相互作用について解析した.

### 第2項 実験方法

#### 1. 試薬

アムロジピンベシル酸塩,アンブロキシソール塩酸塩 (LKT Labs. Inc., ミネソタ, アメリカ), ベナゼプリル塩酸塩 (東京化成工業株式会社, 東京), ジクロフェナクナトリウム, エトドラク (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪) を用いた.

#### 2. $^1\text{H-NMR}$ 測定

$^1\text{H-NMR}$  測定は, 第1章 第3節と同様の方法で行った. 測定試料は味覚センサ測定時と同じ条件になるように,AML に対して PGA gel を 7, 14 倍,BEN に対して PGA gel を 5 倍,AMB に対して PGA gel を 1.67 倍, DIC に対して PGA gel を 1 倍, ETO に対して PGA gel を 0.125 倍の質量比率で添加して測定した.

### 第3項 結果および考察

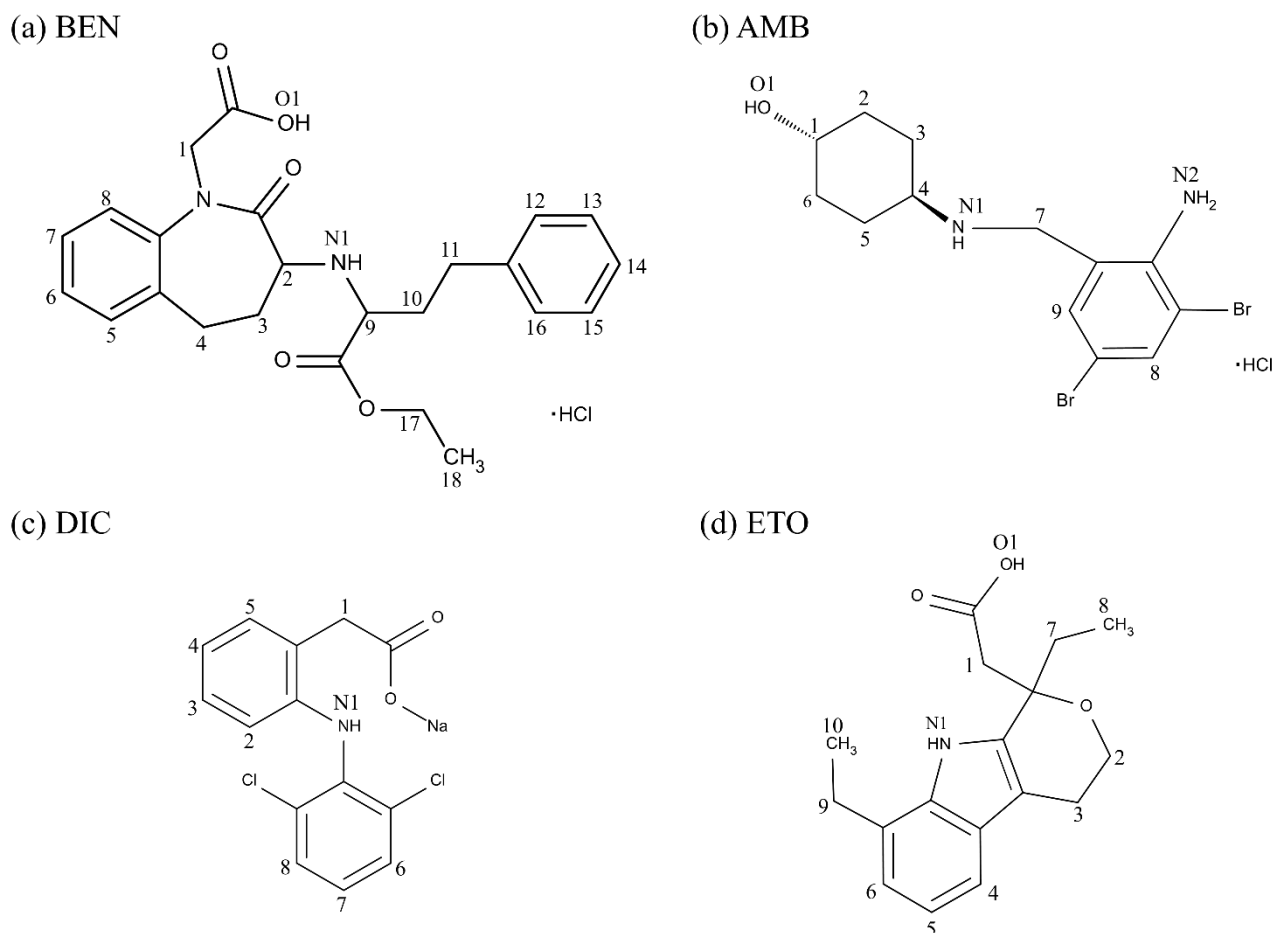
Table 6 に AML 単独試料および AML に PGA gel を添加した試料における AML の化学シフトを示した.AML の proton No. は, 第2章 第3節の Fig. 10 に示している.

**Table 6 Chemical shifts of each proton of AML, with or without PGA gel, obtained using  $^1\text{H-NMR}$  in  $\text{DMSO-}d_6$ .**

proton	Chemical shift (ppm)		
	AML	AML : PGA gel = 1 : 7	AML : PGA gel = 1 : 14
1	1.103	1.100	1.100
2	3.977	3.976	3.976
3	5.310	5.311	5.310
4	7.297-7.339	7.281-7.339	7.282-7.339
5	7.220	7.209	7.209
6	7.128	7.117	7.117
7	7.272	7.260	7.258
8	3.505	3.504	3.504
9	2.296	2.300	2.304
10	—	—	—
11	4.565	4.544	4.556
	4.697	4.683	4.681
<b>12</b>	<b>3.655</b>	<b>3.612</b>	<b>3.607</b>
<b>13</b>	<b>3.074</b>	<b>2.994</b>	<b>2.981</b>
14	—	—	—
15	7.619	7.610	7.608
16	7.297-7.339	7.281-7.339	7.282-7.339
17	7.297-7.339	7.281-7.339	7.282-7.339

AML に PGA gel を添加した場合の AML の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは, proton 12 のシグナルにおいて 3.655 ppm (AML 単独) から 3.612 ppm (AML:PGA gel=1:7), 3.607 ppm (AML:PGA gel=1:14) とそれぞれ 0.043, 0.048 ppm 高磁場側へシフトした. 同様に, proton 13 のシグナルは 3.074 ppm (AML 単独) から 2.994 ppm (AML:PGA gel =1:7), 2.981 ppm (AML:PGA gel=1:14) とそれぞれ 0.080, 0.093 ppm 高磁場側へシフトした. これらの結果から, シグナルシフトの変化は PGA gel の添加によることが明らかとなり, 高磁場側へのシグナルシフトは AML の proton 12 および 13 の電子密度が増大し, 遮蔽化によって起きたことが示唆された. Lan らは, リポタンパク質にイブプロフェンを添加したところ, リポタンパク質分子内の窒素原子付近のプロトンのシグナルが, イブプロフェンの添加濃度依存的に高磁場シフトし, これはリポタンパク質とイブプロフェンとの疎水的および静電的相互作用を示すことを報告している<sup>57)</sup>. また, 高磁場側へのシグナルシフトは, CH- $\pi$  相互作用や  $\pi$ - $\pi$  相互作用など環電流の影響を受けて起こる<sup>58)</sup> との報告もある. 以上より, PGA gel を AML に添加することで AML と PGA gel との間に分子間相互作用が生じている可能性が考えられ, その結果, PGA gel が AML の苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し, センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された.

さらに, BEN, AMB, DIC および ETO の構造ならびに proton No.を Fig. 21 に示し, BEN, AMB, DIC および ETO それぞれに PGA gel を添加した試料における各種薬物の化学シフトを Table 7 に示した.



**Fig. 21** The structures and proton numbers of (a) BEN, (b) AMB, (c) DIC and (d) ETO.

BEN に PGA gel を添加した  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは, BEN の分子内に存在する窒素原子付近の proton 2 および 9 のシグナルが 3.736-3.828 ppm (BEN 単独) から 3.567-3.628 ppm (BEN:PGA gel=1:5) と高磁場側へシフトした. 同様に, AMB に PGA gel を添加した  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは, AMB の分子内に存在する窒素原子付近の proton 4 のシグナルが 3.066 ppm (AMB 単独) から 2.776 ppm (AMB:PGA gel=1:1.67) へ, proton 7 のシグナルが 4.085 ppm (AMB 単独) から 3.927 ppm (AMB:PGA gel=1:1.67) へと高磁場側へシフトした. 一方, DIC および ETO それぞれに PGA gel を添加した場合の DIC および ETO の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは, いずれのプロトンにおいても明らかなシフト変化を確認できなかった.

**Table 7 Chemical shifts of each proton of (a) BEN, (b) AMB, (c) DIC and (d) ETO, with or without PGA gel, obtained using  $^1\text{H-NMR}$  in  $\text{DMSO-}d_6$ .**

(a)			(b)		
proton	Chemical shift (ppm)		proton	Chemical shift (ppm)	
	BEN	BEN : PGA gel = 1 : 5		AMB	AMB : PGA gel = 1 : 1.67
1	4.47, 4.63	4.39, 4.53	1	3.39	3.38
<b>2, 9</b>	<b>3.74-3.83</b>	<b>3.57-3.63</b>	2, 3, 5, 6	1.18, 1.46, 1.91, 2.11	1.16, 1.31, 1.87, 2.02
3, 4, 11	2.22-2.29, 2.42-2.49 2.58-2.64, 2.69-2.77	2.15-2.19, 2.33, 2.54-2.58	<b>4</b>	<b>3.07</b>	<b>2.78</b>
5-8, 12~16	7.18-7.37	7.14-7.31	<b>7</b>	<b>4.09</b>	<b>3.93</b>
10	2.08	2.19	8	7.62	7.55
17	4.06, 4.12	3.94	9	7.50	7.39
18	1.12	1.02	O1	4.57	4.50
			N1	5.64	5.61
			N2	8.88	-

(c)			(d)		
proton	Chemical shift (ppm)		proton	Chemical shift (ppm)	
	DIC	DIC : PGA gel = 1 : 1		ETO	ETO : PGA gel = 1 : 0.125
1	3.37	3.39	1	2.76, 2.90	2.76, 2.89
2	6.22	6.22	2	3.88-3.98	3.88-3.98
3	6.90	6.91	3	2.58-2.71	2.58-2.71
4	6.71	6.72	4	7.22	7.22
5	7.03	-	5	6.90	6.90
6, 8	7.42	7.42	6	7.87	7.87
7	3.37	3.39	7	2.05	2.05
			8, 10	0.65, 1.26	0.65, 1.26
			9	2.84	2.84
			N1	10.4	10.4

したがって、塩基性官能基を有する薬物の BEN および AMB は、AML と同様に PGA gel との間に分子間相互作用を生じている可能性が考えられた。これらは、PGA gel による AML の苦味抑制機序を支持する結果であった。

以上より、PGA gel による塩基性官能基を有する薬物 (AML, BEN, AMB) の苦味抑制には、分子間相互作用による化学的苦味マスキングが関与していることが推定された。また、PGA gel は市販の服薬補助ゼリー製剤と同様にゲルが薬物を包むことで苦味センサ膜への吸着や苦味受容体への結合を阻害する物理的苦味マスキング<sup>59, 60)</sup> 効果も認められ、その効果は本章で用いた塩基性・酸性官能基を有する全ての薬物において確認されたため、PGA gel による塩基性官能基を有する薬物 (AML, BEN, AMB) の苦味抑制には、物理的苦味マスキングに加えて分子間相互作用による化学的苦味マスキングが寄与していることが示唆された。

## 第8節 小括

本章では、合成した PGA gel が白色粉末であり、300°C 付近で分解することを確認した。また、FT-IR スペクトルによって PGA のカルボキシ基と L-Lys のアミノ基が架橋し、アミド結合が形成されていることや、乾燥状態の PGA gel の吸水率が既報に記されている範囲内であることを確認した。

TPA 試験によって 5 種のゲルのテクスチャーを評価したところ、0.5%PGA gel が「えん下困難者用食品」の許可基準 II に相当することが示された。また、PGA gel 中の AML が AML 単独の溶出性と差異がないことから PGA gel が AML のバイオアベイラビリティに影響しないことが示唆された。続いて、PGA gel の味評価では PGA gel が不快な味を示さなかったことから PGA gel が経口製剤に適用可能であることが示唆された。また、AML に 5 種のゲルを混合した試料について味覚センサ測定とヒト官能試験を行ったところ、AML の苦味は PGA gel によって有意に抑制されることが明らかとなった。この PGA gel による苦味抑制効果は、AML 特異的ではなく、AML と同じ塩基性官能基を有する薬物の BEN および AMB や酸性官能基を有する薬物の DIC および ETO でも生じることが確認され、酸性官能基を有する薬物より塩基性官能基を有する薬物において苦味をより効果的に抑制することが示された。さらに、これらの結果の違いを明らかにするために、<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析を行ったところ、塩基性官能基を有する薬物である AML、BEN および AMB においては、PGA gel との間に分子間相互作用を生じている可能性が考えられ、その結果、薬物の苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し、センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された。一方で、酸性官能基を有する薬物である DIC および ETO においては、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルによる分子間相互作用を確認することができなかった。

以上の結果より、塩基性官能基を有する薬物である AML、BEN および AMB の苦味抑制機序の一つは、分子間相互作用による化学的苦味マスキングであることが示唆された。さらに、ゲルが薬物を包むことで苦味センサ膜への吸着や苦味受容体への結合を阻害するという物理的な苦味マスキング効果については本章で用いた塩基性・酸性官能基を有する全ての薬物において確認され、塩基性官能基を有する薬物に関しては、物理的苦味マスキングと薬物-PGA gel の分子間相互作用による



化学的苦味マスキングの2つが苦味抑制機序に関わっていることが推察された。

アムロジピンベシル酸塩は、既に OD 錠が多く製の製薬会社から販売されているが、過去の当研究室の検討において、いくつかの後発医薬品が 30 秒以内の崩壊で苦味を呈することを示している<sup>7)</sup>。このことから、PGA gel は嚥下障害をもつ患者において、アムロジピンベシル酸塩の剤形の選択肢の一つとなりうると考えている。

PGA gel は、加熱やカチオンなどを必要とせず、短時間で吸水してゲル化が可能な新しいゲル化剤であり、製剤化した際に持ち運びや保存が簡便である。また、PGA gel は、嚥下補助だけでなく苦味抑制効果を有するため、高齢者の服薬アドヒアランス維持に寄与する経口製剤として有用な剤形となりうることが期待される。

## 第4章 総括

本博士論文は、臨床で問題となっており、高齢者にも頻用される塩基性薬物の ZOP, ESZ および AML の苦味に及ぼす様々な酸性物質の苦味抑制効果を味覚センサ測定およびヒト官能試験により評価し、<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析により薬物-酸性物質間の苦味抑制機序について検討した。また、嚥下補助と苦味抑制の2つの性質を有する PGA gel については、物理化学的性質の評価、テクスチャー測定による嚥下のし易さの評価、味覚センサ測定およびヒト官能試験により PGA gel による薬物の苦味抑制効果を評価し、以下の結論を得た。

第1章では、ZOP 錠および ESZ 錠の苦味強度を味覚センサにより明らかにした。次に、ZOP 錠および ESZ 錠に5種の飲料を混合し、懸濁した試料について味覚センサ測定とヒト官能試験を行ったところ、スポーツ飲料、乳酸菌飲料およびオレンジジュースが両薬物の苦味を抑制することが明らかとなった。それら飲料に共通している成分であるクエン酸を ZOP に混合した試料について味覚センサで測定したところ、クエン酸の添加濃度依存的に ZOP の苦味を抑制することが明らかとなった。さらに、<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析により、ZOP にクエン酸を添加することで ZOP 分子内の窒素原子とクエン酸に含まれるカルボキシ基から電離したプロトンとの間において分子間相互作用を生じ、その結果、ZOP の苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し、センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された。また、ESZ は ZOP を光学分割して得られた S 体であることから、ESZ の苦味抑制機序は ZOP と同様であると考察した。クエン酸添加による ZOP および ESZ の薬効への影響は、これらの溶液の pH が最も低い場合で pH 4 程度であることや、一般的に薬物が胃内を通過する場合に pH 1.2 の環境下に曝されることを考慮すると、クエン酸によって ZOP および ESZ が分解されることは考え難く、薬効への影響はほとんどないと考察した。

ZOP 錠および ESZ 錠は経口投与直後に、口腔内で苦味を呈するだけではなく、服用からしばらく経過した翌朝などにおいても薬物が血中から唾液中に移行すること<sup>19, 20)</sup>で再び苦味を呈することが報告されており、これらの苦味によるアドヒアランス低下が懸念されている。しかし、オレンジ

ジュースのような酸性飲料に含まれているクエン酸が ZOP 錠および ESZ 錠の服用時に、効果的に苦味抑制できる可能性が明らかとなった。また、薬物が血中から唾液中に移行することで起こる翌朝などの苦味においては、臨床で一般的な対策として行われている歯磨きやうがいに加えて、クエン酸を含む飲食物など、クエン酸を口腔内に含むことで ZOP および ESZ の苦味抑制ができる可能性が考えられた。

第 2 章では、AML 単独および AML と配合される可能性のある 5 種の降圧薬単独の苦味評価において AML と BEN が苦味を呈することを明らかにした。また、AML に 5 種の薬物をそれぞれ混合した場合において、他方の降圧薬が AML の苦味に及ぼす影響を味覚センサで予測したところ、BEN は AML の苦味を増強し、VAL は AML の苦味を抑制する可能性を示した。さらに、味覚センサ測定とヒト官能試験の結果より、VAL が AML の苦味を添加濃度依存的に抑制することが明らかとなった。<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析より、AML に VAL を添加することで AML 分子内の窒素原子と VAL 分子内のテトラゾリル基から電離したプロトンとの間において分子間相互作用を生じ、その結果、AML の苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し、センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された。また、AML-VAL 混合溶液の pH 範囲内におけるそれぞれの薬物の pH プロファイルより、AML のイオン形の割合および VAL 分子内のテトラゾリル基が負電荷を有するイオン形の割合が多いことが示され、AML および VAL の <sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析より得た AML のアミノ基と VAL のテトラゾリル基との間の分子間相互作用を支持する結果が得られた。

AML のようなカルシウム拮抗薬に ARB や ACE 阻害薬を併用することは、カルシウム拮抗薬の副作用である末梢性浮腫の発生率を減らすため、有用であると報告されている<sup>40-42)</sup>。さらに、AML-VAL 配合剤は安全かつ効果的に降圧目標を達成するとの報告もある<sup>43, 44)</sup>。また、VAL は AML の苦味を抑制するため、AML-VAL 配合剤は高齢患者の間で問題となっているポリファーマシー改善に寄与するだけでなく、製剤の味マスキングの観点においても有用であることが明らかとなった。

第 3 章では、Murakami らの報告<sup>29)</sup>に従って PGA gel を合成し、融点測定および FT-IR スペクトルより PGA gel の物理化学的性質を評価した。

TPA 試験によって 5 種のゲルのテクスチャーを評価したところ、0.5%PGA gel が「えん下困難者用食品」の許可基準 II に相当することが示された。また、PGA gel 中の AML が AML 単独の溶出性と差異がないことから PGA gel が AML のバイオアベイラビリティに影響しないことが示唆された。続いて、PGA gel の味評価では、不快な味を示さなかったことから PGA gel が経口製剤に適用可能であることが示唆された。また、AML に 5 種のゲルを混合した試料について味覚センサ測定とヒト官能試験を行ったところ、AML の苦味は PGA gel によって有意に抑制されることが明らかとなった。この PGA gel による苦味抑制効果は、AML 特異的ではなく、AML と同じ塩基性官能基を有する薬物の BEN および AMB や酸性官能基を有する薬物の DIC および ETO でも起こることが確認され、酸性官能基を有する薬物より塩基性官能基を有する薬物において苦味をより効果的に抑制することが示された。これらの結果の違いを明らかにするために、<sup>1</sup>H-NMR スペクトル解析を行ったところ、塩基性官能基を有する薬物の AML、BEN および AMB においては、PGA gel との間に分子間相互作用を生じている可能性が考えられ、その結果、薬物の苦味センサ膜への吸着もしくは苦味受容体への結合を抑制し、センサ出力値もしくは苦味強度の低下が生じるという苦味抑制機序が推定された。一方で、酸性官能基を有する薬物の DIC および ETO は、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルによる分子間相互作用を確認することができなかった。

以上の結果より、PGA gel による薬物の苦味抑制機序として、物性に関わらず薬物を PGA gel に内包することにより苦味センサ膜への吸着や苦味受容体への結合を阻害するという物理的な苦味マスキングに加え、特に塩基性官能基を有する薬物に対しては分子間相互作用による化学的苦味マスキングも関与することが示唆された。

学位申請者は、臨床で問題となっており、高齢者にも頻用される ZOP、ESZ および AML の苦味に対して飲料、配合薬、添加剤と様々な酸性物質が苦味抑制効果を示すことを明らかにした。また、その苦味抑制機序として、薬物-酸性物質間の分子間相互作用が寄与していることが推定された。さらに、PGA gel が苦味抑制と嚥下補助の 2 つの性質を有し、高齢者の服薬アドヒアランス維持に寄与する可能性が考えられ、苦味抑制と嚥下補助を併せ持った新しい剤形として、今後の製剤開発に貢献することが期待される。

## 謝 辞

研究を進め、本論文をまとめるにあたり、終始ご懇篤なるご指導、ご高配を賜りました  
武庫川女子大学 薬学部 臨床製剤学研究室 内田 享弘 教授に深甚なる感謝の意を表します。

また、本論文をまとめるにあたり、有益なご助言、ご指導を賜りました  
武庫川女子大学 薬学部 臨床薬学研究室 岡村 昇 教授、  
武庫川女子大学 薬学部 薬化学I研究室 川崎 郁勇 教授、  
武庫川女子大学 薬学部 薬理学I研究室 中村 一基 教授、  
武庫川女子大学 薬学部 臨床薬学教育センター 栞原 晶子 教授  
武庫川女子大学 薬学部 臨床薬学教育センター 濱 宏仁 教授  
に深甚なる感謝の意を表します。

また、本研究の  $^1\text{H-NMR}$ , FT-IR スペクトル解析にあたりご指導、ご協力を賜りました  
武庫川女子大学 薬学部 薬化学I研究室 川崎 郁勇 教授、小関 稔 准教授、分析センター 竹山 志  
朱代 助教、本田 千恵 助教、諏訪 紀代子 助手に深甚なる感謝の意を表します。

また、本研究に関して、終始ご協力を賜り、数々の有益なご助言、ご支援を賜りました  
武庫川女子大学 薬学部 臨床製剤学研究室 吉田 都 准教授、池上 咲枝里 助手補、原口 珠実 元  
助教、樫川 舞 元助教、兵庫県立工業技術センターの皆様方に深甚なる感謝の意を表します。

さらに、本研究に多大なご協力をいただきました  
武庫川女子大学 薬学部 臨床製剤学研究室の院生、学部生、卒業生の皆様に厚く御礼申し上げます。

最後に、物心両面でいつも支援してくれた家族ならびに友人に心より感謝いたします。

## 参考文献

- 1) 赤瀬 朋秀, *老年医学*, **56**, 505-509 (2018)
- 2) 大井 一弥, *老年医学*, **56**, 451-453 (2018)
- 3) “高齢者の医薬品適正使用の指針 総論編”, 厚生労働省, 2018年5月
- 4) Kakino Y., Hishikawa Y., Onodera R., Tahara K., Takeuchi H., *Chem Pharm Bull*, **65**, 1035-1044 (2017)
- 5) 谷口 裕重, 真柄 仁, 井上 誠, *静脈経腸栄養*, **28**, 1069-1074 (2013)
- 6) 馬木 良文, 野崎 園子, 杉下 周平, 椎本 久美子, 橋口 修二, 乾 俊夫, 足立 克仁, *臨床神経学*, **49**, 90-95 (2009)
- 7) Uchida T., Yoshida M., Hazekawa M., Haraguchi T., Furuno H., Teraoka M., Ikezaki H., *J Pharm Pharmacol*, **65**, 1312-1320 (2013)
- 8) Tokuyama E., Matsunaga C., Yoshida K., Mifsud JC., Irie T., Yoshida M., Uchida T., *Chem Pharm Bull*, **57**, 382-387 (2009)
- 9) 星野 智祥, *日本プライマリ・ケア連合学会誌*, **38**, 228-242 (2015)
- 10) 山本 浩一, *日本臨床*, **76**, 1320-1325 (2018)
- 11) 小曾根 基裕, 黒田 彩子, 伊藤 洋, *日本老年医学会雑誌*, **49**, 267-275 (2012)
- 12) 土生川 光成, 内村 直尚, *ねむりとマネージメント*, **6**, 21-24 (2019)
- 13) サノフィ株式会社, アモバン®錠 7.5 添付文書, 2019年6月
- 14) エーザイ株式会社, ルネスタ®錠 2 mg 添付文書, 2019年8月
- 15) Walsh J.K., Krystal A.D., Amato D.A., Rubens R., Caron J., Wessel T.C., Schaefer K., Roach J., Wallenstein G., Roth T. *Sleep*, **30**, 959-968 (2007)
- 16) Roth T., Price JM., Amato DA., Rubens RP., Roach JM., Schnitzer TJ., *Prim Care Companion J Clin*

- Psychiatry*, **11**, 292-301 (2009)
- 17) Kirkwood C., Breden E., *Nat Sci Sleep*, **2**, 151-158 (2010)
- 18) Ancoli-Israel S., Krystal AD., McCall WV., Schaefer K., Wilson A., Claus R., Rubens R., Roth T., *Sleep*, **33**, 225-234 (2010)
- 19) Caille G., du Souich P, Spenard J., Lacasse Y., Vezina M., *Biopharm Drug Dispos*, **5**, 117-125 (1984)
- 20) Doty R.L., Treem J., Tourbier I., Mirza N., *Pharmacol Biochem Behav*, **94**, 312-318 (2009)
- 21) 高木 彰紀, 久保 理絵, 地引 綾, 青森 達, 鈴木 小夜, 中村 智徳, *医療薬学*, **43**, 492-501 (2017)
- 22) 石光 俊彦, 本多 勇晴, 八木 博, *医学のあゆみ*, **260**, 463-469 (2017)
- 23) 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会, 高血圧治療ガイドライン 2019
- 24) 勝谷 友宏, *医学のあゆみ*, **260**, 471-476 (2017)
- 25) 沢井製薬株式会社, アムロジピン OD 錠「サワイ」添付文書, 2017 年 5 月
- 26) 第一三共エスファ株式会社, アムロジピン OD 錠「NS」医薬品インタビューフォーム, 2017 年 6 月
- 27) Ishizaka T., Okada S., Takemoto E., Tokuyama E., Tsuji E., Mukai J., Uchida T., *Chem Pharm Bull*, **55**, 1452-1457 (2007)
- 28) 岩本 美絵, 宇山 浩, 成 文喜, *生産と技術*, **65**, 68-70 (2013)
- 29) Murakami S., Aoki N., Matsumura S., *Polym J*, **43**, 414-420 (2011)
- 30) 山縣 誉志江, 酒井 美由季, 栢下 淳, *日本摂食・嚥下リハビリテーション学会雑誌*, **16**, 140-147 (2012)
- 31) Yoshida M., Kojima H., Uda A., Haraguchi T., Ozeki M., Kawasaki I., Yamamoto K., Yano I., Hirai M., Uchida T., *Chem Pharm Bull*, **67**, 404-409 (2019)

- 32) Buscemi N., Vandermeer B., Friesen C., Bialy L., Tubman M., Ospina M., Klassen T.P., Witmans M. *J. Gen Intern Med*, **22**, 1335-1350 (2007)
- 33) Huedo-Medina T.B., Kirsch I., Middlemass J., Klonizakis M., Siriwardena A.N., *BMJ*, **345**, e8343 (2012)
- 34) Lee HW., Kim YH., Kim YH., Lee GH., Lee MY., *Int J Clin Exp Med*, **7**, 2053-2059 (2014)
- 35) Katsuragi Y., Mitsui Y., Umeda T., Otsuji K., Yamasawa S., Kurihara K., *Pharm Res*, **14**, 720-724 (1997)
- 36) Haraguchi T., Yoshida M., Hazekawa M., Uchida T., *Chem Pharm Bull*, **59**, 536-540 (2011)
- 37) Ogata T., Tanaka D., Ozeki T., *Drug Dev Ind Pharm*, **40**, 1084-1091(2014)
- 38) Kojima H., Nakamura S., Haraguchi T., Yoshida M., Habara M., Ikezaki H., Uchida T., *J Pharm Pharmacol*, **71**, 1384-1392 (2019)
- 39) 池田 浩人, 森脇 英恵, 湯川 美穂, 岩瀬 由紀子, 安藝 初美, *YAKUGAKU ZASSHI*, **130**, 1589-1595 (2010)
- 40) Kang WY., Seong SJ., Ohk B., Gwon MR., Kim BK., La S., Kim HJ., Cho S., Yoon YR., Yang DH., Lee HW., *Drug Des Devel Ther*, **12**, 545-553 (2018)
- 41) Visco V., Finelli R., Pascale AV., Giannotti R., Fabbricatore D., Ragosa N., Ciccarelli M., Iaccarino G., *Transl Med UniSa*, **16**, 17-23 (2017)
- 42) Mancia G., Cha G., Gil-Extremera B., Harvey P., Lewin AJ., Villa G., Kjeldsen SE., *J Hum Hypertens*, **31**, 178-188 (2017)
- 43) Assaad-Khall SH., Nashaat N., *Drugs Real World Outcomes*, **3**, 307-315 (2016)
- 44) Karpov Y., Dongre N., Vigdorichik A., Sastravaha K., *Adv Ther*, **29**, 134-147 (2012)
- 45) Kojima H., Haraguchi T., Ikegami S., Nishikawa H., Yoshida M., Ozeki M., Kawasaki I., Uchida T.,



- Chem Pharm Bull*, **67**, 1284-1292 (2019)
- 46) Kojima H., Haraguchi T., Ikegami S., Nishikawa H., Yoshida M., Ozeki M., Kawasaki I., Uchida T.,  
*Pharmacology & Pharmacy*, **10**, 427-444 (2019)
- 47) Tanimoto H., Mori M., Motoki M., Torii K., Kadowaki M., Noguchi T., *Biosci Biotechnol Biochem*,  
**65**, 516-521 (2001)
- 48) Tanimoto H., Fox T., Eagles J., Satoh H., Nozawa H., Okiyama A., Morinaga Y., Fairweather-Tait S.  
J., *J Am Coll Nutr*, **26**, 645-649 (2007)
- 49) 第十七改正日本薬局方, 赤外吸収スペクトル測定法, 廣川書店, 東京, pp. 48
- 50) 第十七改正日本薬局方, 溶出試験法, 廣川書店, 東京, pp. 141-145
- 51) Kobayashi Y., Habara M., Ikezaki H., Chen R., Naito Y., Toko K., *Sensors*, **10**, 3411-3443 (2010)
- 52) Hemdan A., Michael AM., *JAOAC Int*, **101**, 1009-1013 (2018)
- 53) Uchida T., Sugino Y., Hazekawa M., Yoshida M., Haraguchi T., *Chem Pharm Bull*, **60**, 949-954 (2012)
- 54) Bhattacharya SS., Banerjee S., Ghosh AK., Chattopadhyay P., Verma A., Ghosh A., *Int J Biol  
Macromol*, **58**, 354-359 (2013)
- 55) Ali I., Suhail M., Allothman ZA., Alwarthan A., *Chirality*, **29**, 386-397 (2017)
- 56) Yoshida M., Haraguchi T., Uchida T., *Chem Pharm Bull*, **62**, 1252-1258 (2014)
- 57) Lan W., Zhu H., Zhou Z., Ye C., Liu M., *Chem Phys Lipids*, **148**, 105-111 (2007)
- 58) Haino T., Hirai Y., Ikeda T., Saito H., *Org Biomol Chem*, **25**, 4164-4170 (2013)
- 59) 都甲潔, 内田享弘, 食品・医薬品の味覚修飾技術, シーエムシー出版, 東京, 2007, pp. 190
- 60) Tsuji E., Uchida T., Fukui A., Fujii R., Sunada H., *Chem Pharm Bull*, **54**, 310-314 (2006)