

シクロデキストリンを用いた苦味マスクング法の検討と評価

Study on Bitter Masking of Drugs by Cyclodextrins

富山県薬事研究会製剤部会

Division of Drug Formulation Toyama Pharmaceutical Research Association

| | | | |
|----------------------------|--|-----------------------------|--|
| 向 勝臣 Katsuomi MUKAI | 株式会社パナケイア製薬 PANAKEIA SEIYAKU Co., Ltd. | 森下 佳典 Keisuke MORISHITA | キョーリンリメディオ株式会社 KYORIN Rimedio Co., Ltd. |
| 杉窪 克哉 Katsuya SUGIKUBO | 小太郎漢方製薬株式会社 Kotaro Pharmaceutical Co., Ltd. | 牧島 央和 Hirokazu MAKISHIMA | 小林化工株式会社 Kobayashi Kako Co., Ltd. |
| 上西 篤志 Atsushi KAMINISHI | テイカ製薬株式会社 Teika Pharmaceutical Co., Ltd. | 霜鳥 武司 Takeshi SHIMOTORI | 日本曹達株式会社 Nippon Soda Co., Ltd. |
| 梶原 隆介 Ryusuke KAJIHARA | 日医工株式会社 Nichi-Iko Pharmaceutical Co., Ltd. | 栗山 武大 Takehiro KURIYAMA | バイホロン株式会社 BIHOLON Co., Ltd. |
| 朝野 裕貴 Yuki ASANO | 株式会社富士薬品 Fujiyakuhin Co., Ltd. | 八木 清 Kiyoshi YAGI | 明治製薬株式会社 Meiji Pharmaceutical Co., Ltd. |
| 安住 新吾 Shingo AZUMI | 株式会社陽進堂 Yoshindo Inc. | 明官 勇雄 Isao MYOKAN | 富山県薬事研究所 Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research. |
| 永井 秀昌 Hidemasa NAGAI | 富山県薬事研究所 Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research. | | |

緒 言

口腔内崩壊錠の製剤設計に活用できる効果的な苦味マスクング法の確立を目的として、マスクング法の一種である化学的マスクング法について、最適なマスクング剤や配合量を検討し、味を数値化できる味認識装置を用いて評価を行った。苦味マスクング効果の評価は、ヒトによる官能試験に頼る場合が多いが、今回は味認識装置による苦味の定量化によって、客観的な苦味評価を試みた。

苦味薬物としてクロルフェニラミンマレイン酸塩及びアセトアミノフェン、マスクング剤として、包接化により苦味を軽減させるシクロデキストリン (CyD) を用い、CyDの種類 (α , β , γ 等) や配合量を変化させた場合の苦味強度を味覚センサで測定し評価したので、その結果を報告する。

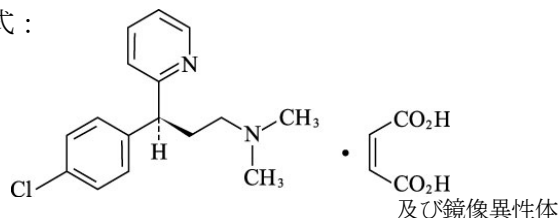
実験方法

1. 試薬

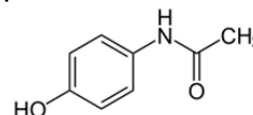
1) 苦味薬物

d,l-クロルフェニラミンマレイン酸塩（金剛薬品㈱）、アセトアミノフェン（山本化学工業㈱）

構造式：



構造式：



2) 包接剤

| | |
|--|-------------|
| α -シクロデキストリン (α -CyD, 和光純薬工業㈱) | MW: 972.84 |
| β -シクロデキストリン (β -CyD, 和光純薬工業㈱) | MW: 1134.98 |
| γ -シクロデキストリン (γ -CyD, 和光純薬工業㈱) | MW: 1297.12 |
| 2-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン (HP- β -CyD 和光純薬工業㈱) | MW: 1541.54 |

2. 装置

味認識装置：TS-5000Z（㈱インテリジェントセンサーテクノロジー）

センサ：医薬品評価用苦味センサ 4 種（BT0, AN0, C00, AE1）

Table 1 センサ特性表

| センサ | 荷電 | 先味 | 後味 | 特性 |
|-----|------|-----------------|-------------|--|
| BT0 | マイナス | 苦味 | 医薬品系（塩酸塩）苦味 | 塩酸塩苦味に特異的に応答する |
| AN0 | マイナス | 塩味、酸味、苦味（アミノ酸系） | ミネラル系苦味 | 塩基性苦味、陽イオン（Ca ²⁺ , Mg ²⁺ 等）に応答する |
| C00 | プラス | 雑味、苦味 | 酸性苦味 | ビール、コーヒー等の苦味に応答する |
| AE1 | プラス | 雑味、渋味 | 渋味 | お茶、ワイン等の渋味に応答する |

3. 実験方法

検体を希釈する希釈液には 10 mM KCl を用い、5 mM クロルフェニラミンマレイン酸溶液を調製した。また、50 mM アセトアミノフェン溶液を同様に調製した。これらの溶液をメスシリンダーで 70 mL 量り、100 mL ビーカーに入れ、各種 CyD を添加し、スターラーを用いて 60 分間攪拌・混合し、包接化した。攪拌混合後の溶液は測定用カップ 2 個に約 35 mL ずつ分注した。味覚測定終了後、pH を測定するとともに（実験開始より約 1 日後）、実験者数名による官能試験によって苦味強度の確認を行った。

4. 解析方法

各検体につき味認識装置のプログラムに従って4回測定し、最初の1回目のデータを除いた計3回のデータを以下の解析に使用した。

1) 電圧値での評価

得られた3回の測定データについて、専用の解析アプリケーションを用いて補完加算処理^{*1}し、平均して得られた値を各センサの電圧値として評価した。味認識装置では最初に検体溶液中で測定する先味に加え、各センサを3回の洗浄後に基準液中で測定する後味（CPA 値）の測定も行った。なお、人工脂質膜がプラス荷電であるC00とAE1は、マイナス側に出力するセンサであるため、結果のグラフは絶対値に変換して比較した。その際、正の値については、0とみなして表示した。

※1 味認識装置では、測定を重ねるたびにセンサ出力が減少するため、ブランクとして用いた検体（10 mM KCl）を用いてベースラインの補正を行う必要がある。

2) 推定値での評価

推定値はセンサの電圧値に固有の係数を乗じることによって計算される値であり、味覚項目として表される。推定値では、1以上の差で味の差を識別することができる。推定値は、得られた3回の測定データを専用の解析アプリケーションを用いて補完加算処理し、各センサ値に下記の係数を乗じることによって算出した。

| | |
|-----------|-------------------|
| 酸性苦味（先味） | = -0.140×C00 |
| 渋味（先味） | = -0.1575×AE1 |
| 塩基性苦味（先味） | = 1.117×AN0 |
| 塩酸塩苦味（後味） | = 0.3×CPA(BT0) |
| 酸性苦味（後味） | = -0.210×CPA(C00) |
| 渋味（後味） | = -0.252×CPA(AE1) |

実験結果

1. 各種 CyD によるクロルフェニラミンマレイン酸塩（CM）のマスキング効果

各種 CyD と CM を溶液中で攪拌して包接し、包接後の溶液を味認識装置を用いて評価した。包接化に用いた CyD 濃度は CM と等モル濃度（5 mM）又は4倍濃度（20 mM）として実験を行った。その結果、CM の苦味は BT0 センサに顕著に応答し、後味を示す CPA の値も高いことから、塩酸塩の苦味が強く、脂質膜に吸着して脱離しにくい苦味であることが確認された（Table 2, Fig. 1）。

また、解析アプリケーションを用いて電圧値を推定値に変換し、各味覚項目にて評価した。その結果、BT0 センサ値は塩酸塩苦味として表され、すべての CyD に塩基性苦味の抑制作用が認められた（Table 3, Fig. 2）。特に、 α と β -CyD の抑制効果が高く、 α -CyD の 20mM において顕著な BT0 センサ電圧値の抑制効果が認められており、コントロールと比較して塩酸塩苦味（後味）が約 1/5 に抑制されていた。また、この結果は官能試験による結果とも相関していた（Table 3, Fig. 2）。

Table 2 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の電圧値

| 電圧値 | BT0 | AN0 | C00 | AE1 | CPA (BT0) | CPA (AN0) | CPA (C00) | CPA (AE1) |
|------------------------|--------|--------|--------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control | 214.88 | 118.37 | -80.86 | -114.51 | 74.74 | 24.02 | 2.66 | -7.90 |
| α -CyD 5 mM | 179.81 | 103.51 | -85.03 | -112.35 | 59.06 | 23.23 | 1.39 | -7.72 |
| β -CyD 5 mM | 172.75 | 101.42 | -86.80 | -114.07 | 55.68 | 19.32 | 1.16 | -8.02 |
| γ -CyD 5 mM | 188.38 | 115.65 | -83.74 | -113.32 | 60.00 | 29.02 | 1.45 | -8.01 |
| HP- β -CyD 5 mM | 183.19 | 111.27 | -84.29 | -113.21 | 59.25 | 26.90 | 1.56 | -8.11 |
| α -CyD 20 mM | 131.93 | 82.46 | -83.04 | -103.13 | 16.40 | 5.89 | 0.54 | -6.75 |
| β -CyD 20 mM | 143.21 | 73.49 | -89.29 | -110.37 | 45.17 | 3.49 | 0.66 | -7.54 |
| γ -CyD 20 mM | 183.07 | 103.02 | -84.80 | -111.25 | 62.44 | 13.49 | 0.88 | -7.68 |
| HP- β -CyD 20 mM | 161.81 | 89.76 | -85.96 | -109.30 | 54.09 | 10.55 | 0.66 | -7.51 |

(各測定値は3回測定した平均値を示す)

Table 3 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の推定値

| 推定値 | 酸性苦味 (先味) | 渋味 (先味) | 塩基性苦味 (先味) | 塩酸塩苦味 (後味) | 酸性苦味 (後味) | 渋味 (後味) |
|------------------------|-----------|---------|------------|------------|-----------|---------|
| Control | 11.32 | 18.04 | 43.24 | 22.42 | -0.56 | 1.99 |
| α -CyD 5 mM | 11.91 | 17.69 | 41.81 | 17.72 | -0.29 | 1.94 |
| β -CyD 5 mM | 12.15 | 17.96 | 34.78 | 16.70 | -0.25 | 2.02 |
| γ -CyD 5 mM | 11.72 | 17.85 | 52.23 | 18.00 | -0.31 | 2.02 |
| HP- β -CyD 5 mM | 11.80 | 17.83 | 48.41 | 17.77 | -0.33 | 2.05 |
| α -CyD 20 mM | 11.63 | 16.24 | 10.60 | 4.92 | -0.11 | 1.70 |
| β -CyD 20 mM | 12.50 | 17.38 | 6.28 | 13.55 | -0.14 | 1.90 |
| γ -CyD 20 mM | 11.87 | 17.52 | 24.29 | 18.73 | -0.18 | 1.94 |
| HP- β -CyD 20 mM | 12.03 | 17.21 | 18.98 | 16.22 | -0.14 | 1.90 |

(各測定値は3回測定した平均値を示す)

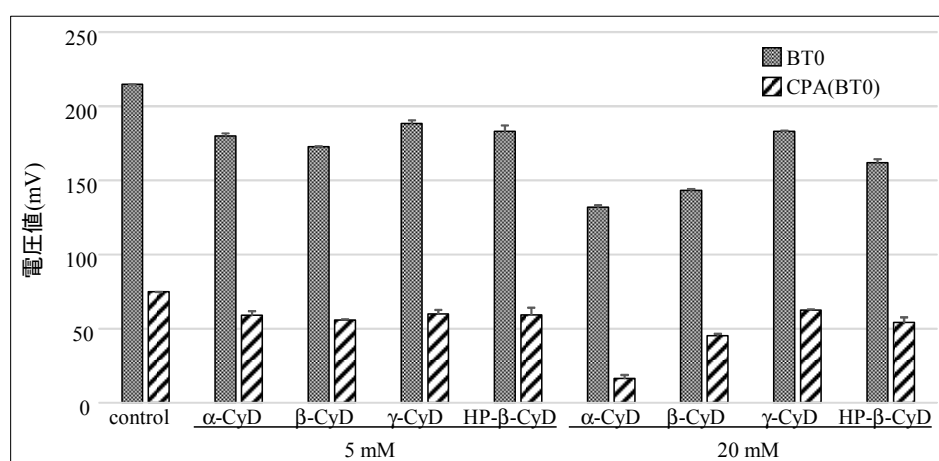


Fig. 1 CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の BT0 電圧値

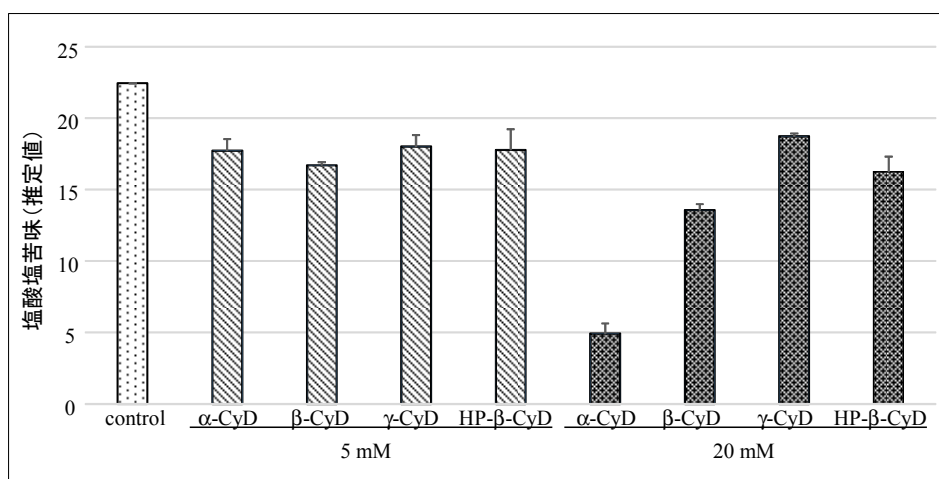


Fig. 2 CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の塩酸塩苦味

2. α 及び β -CyD によるクロルフェニラミンマレイン酸塩のマスクング効果

次に、 α 及び β -CyD の濃度依存性を検討するため、CyD の濃度を 5, 20, 40, 50 mM として薬物水溶液中で包接し、味認識装置で苦味の測定を行った。なお、 β -CyD の水への溶解度は低く、40 mM 以上では溶解度以上となり、懸濁状態となっていた。その結果、 α -CyD の 20 mM の電圧値はコントロールと比較して最も低く、マスクング効果が高いことが明らかとなった。しかしながら、40, 50 mM とさらに CyD 濃度を増加させても電圧値と濃度に相関性は認められなかった (Table 4, 5, Fig. 3, 4)。

Table 4 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の味覚評価 (電圧値)

| 電圧値 | BT0 | AN0 | C00 | AE1 | CPA (BT0) | CPA (AN0) | CPA (C00) | CPA (AE1) |
|---------------------|--------|--------|--------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control | 223.77 | 109.44 | -65.50 | -114.00 | 89.06 | 11.78 | 2.55 | -6.36 |
| α -CyD 5 mM | 181.92 | 93.84 | -70.39 | -112.05 | 67.49 | 11.99 | 1.06 | -6.06 |
| α -CyD 20 mM | 136.01 | 73.44 | -70.22 | -101.38 | 22.96 | 8.12 | -0.46 | -5.70 |
| α -CyD 40 mM | 131.30 | 59.74 | -64.70 | -90.54 | 55.67 | 7.79 | -0.83 | -5.51 |
| α -CyD 50 mM | 123.23 | 58.83 | -62.16 | -86.34 | 52.38 | 8.38 | -0.94 | -5.50 |
| β -CyD 5 mM | 188.61 | 92.79 | -71.10 | -113.87 | 76.97 | 6.30 | 1.76 | -6.19 |
| β -CyD 20 mM | 143.80 | 68.10 | -76.27 | -109.96 | 50.45 | 4.28 | -0.17 | -5.96 |
| β -CyD 40 mM | 142.28 | 64.84 | -75.34 | -108.64 | 47.98 | 3.62 | -0.12 | -5.94 |
| β -CyD 50 mM | 142.61 | 64.10 | -74.78 | -108.27 | 48.51 | 3.26 | -0.02 | -6.03 |

(各測定値は 3 回測定した平均値を示す)

Table 5 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の味覚評価 (推定値)

| 推定値 | 酸性苦味 (先味) | 渋味 (先味) | 塩基性苦味 (先味) | 塩酸塩苦味 (後味) | 酸性苦味 (後味) | 渋味 (後味) |
|---------------------|--------------|------------|---------------|---------------|--------------|------------|
| Control | 9.17 | 17.96 | 21.20 | 26.72 | -0.54 | 1.60 |
| α -CyD 5 mM | 9.85 | 17.65 | 21.58 | 20.25 | -0.22 | 1.53 |
| α -CyD 20 mM | 9.83 | 15.97 | 14.62 | 6.89 | 0.10 | 1.44 |
| α -CyD 40 mM | 9.06 | 14.26 | 14.02 | 16.70 | 0.17 | 1.39 |
| α -CyD 50 mM | 8.70 | 13.60 | 15.08 | 15.71 | 0.20 | 1.39 |
| β -CyD 5 mM | 9.95 | 17.93 | 11.34 | 23.09 | -0.37 | 1.56 |
| β -CyD 20 mM | 10.68 | 17.32 | 7.71 | 15.13 | 0.03 | 1.50 |
| β -CyD 40 mM | 10.55 | 17.11 | 6.51 | 14.39 | 0.02 | 1.50 |
| β -CyD 50 mM | 10.47 | 17.05 | 5.86 | 14.55 | 0.01 | 1.52 |

(各測定値は3回測定した平均値を示す)

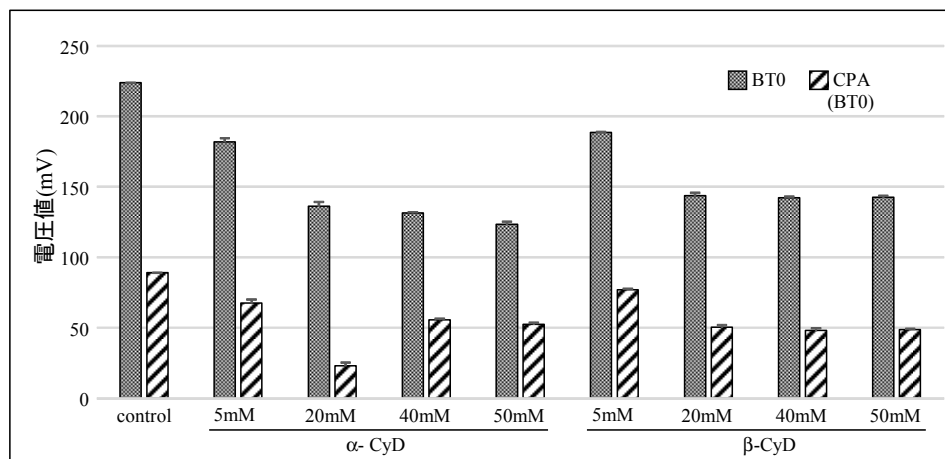


Fig.3 α 及び β -CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の BT0 電圧値

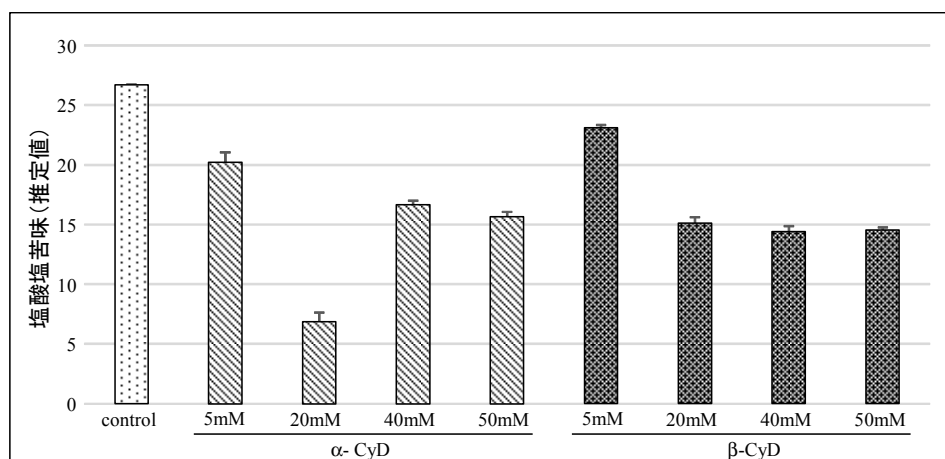


Fig. 4 CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の塩酸塩苦味

3. 各種 CyD によるアセトアミノフェン (AA) のマスキング効果

各種 CyD と AA を溶液中で攪拌して包接し、1 と同様に包接後の溶液を味認識装置で評価した。結果には示していないが、CM と同じ 5 mM 濃度では AA の苦味は弱く、センサへの応答性が低かったため、50 mM 濃度での検討を行った。包接化に用いた CyD 濃度は AA 溶液と等モル濃度 (50 mM) 又は 2 倍濃度 (100 mM) とした。その結果、AA の苦味は BT0 センサにはほとんど応答せず、酸性苦味である C00 及び AE1 センサに反応する酸性苦味であることが確認された。C00 及び AE1 センサは推定値に換算すると酸性苦味及び渋味として表され、値は小さいものの後味も検出された (Table 6, 7)。

測定の結果、いずれの CyD との包接化においても、AE1 センサの電圧値は抑制されていたが、C00 センサは β -CyD のみ抑制が認められた (Table 6, Fig. 5)。AE1 センサの電圧値及び渋味推定値は、 β 及び HP- β -CyD の抑制効果が大きく、50 mM 濃度において、ともにコントロールの約 1/2 に抑制していた。2 倍量の 100 mM においても同様の抑制効果が認められたものの、50 mM 濃度と比較して顕著な抑制は見られなかった (Fig. 5, 6)。

Table 6 アセトアミノフェン (50 mM) の味覚評価 (電圧値)

| 電圧値 | BT0 | AN0 | C00 | AE1 | CPA (BT0) | CPA (AN0) | CPA (C00) | CPA (AE1) |
|------------------------|-------|-------|--------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control | 2.46 | -1.97 | -12.40 | -34.50 | 0.22 | -1.49 | -0.64 | -1.19 |
| α CyD 50 mM | 2.01 | 49.08 | -14.96 | -29.95 | 0.17 | 3.95 | -2.15 | -1.28 |
| β CyD 50 mM | 1.62 | 14.79 | -0.56 | -15.95 | -0.22 | 0.83 | -0.74 | -0.43 |
| γ -CyD 50 mM | 1.33 | 5.83 | -15.05 | -25.65 | -0.13 | 0.84 | -0.31 | -0.69 |
| HP- β CyD 50 mM | 5.36 | 3.06 | -13.99 | -18.49 | 0.46 | 0.97 | -0.08 | -0.31 |
| α CyD 100 mM | 1.52 | 57.8 | -11.05 | -27.38 | 0.12 | 11.76 | -2.08 | -1.78 |
| β CyD 100 mM | 1.05 | 16.49 | 1.22 | -13.76 | 0.02 | 0.91 | -0.74 | -0.35 |
| γ -CyD 100 mM | 1.74 | 14.75 | -14.66 | -21.92 | 0.33 | 3.44 | -0.29 | -0.51 |
| HP- β CyD 100 mM | 12.20 | 11.92 | -13.85 | -12.22 | 0.45 | 2.66 | -0.27 | -0.04 |

(各測定値は 3 回測定した平均値を示す)

Table 7 アセトアミノフェン (50 mM) の味覚評価 (推定値)

| 推定値 | 酸性苦味 (先味) | 渋味 (先味) | 塩基性苦味 (先味) | 塩酸塩苦味 (後味) | 酸性苦味 (後味) | 渋味 (後味) |
|-----------------------|-----------|---------|------------|------------|-----------|---------|
| Control | 1.74 | 5.43 | -2.68 | 0.07 | 0.13 | 0.30 |
| α CyD 50mM | 2.10 | 4.72 | 7.10 | 0.05 | 0.45 | 0.32 |
| β CyD 50mM | 0.08 | 2.51 | 1.49 | -0.07 | 0.16 | 0.11 |
| γ -CyD 50mM | 2.11 | 4.04 | 1.52 | -0.04 | 0.07 | 0.17 |
| HP- β CyD 50mM | 1.96 | 2.91 | 1.75 | 0.14 | 0.01 | 0.08 |
| α CyD 100mM | 1.55 | 4.31 | 21.17 | 0.04 | 0.44 | 0.45 |
| β CyD 100mM | -0.17 | 2.17 | 1.65 | 0.01 | 0.16 | 0.09 |
| γ -CyD 100mM | 2.05 | 3.45 | 6.18 | 0.10 | 0.06 | 0.13 |
| HP- β CyD 100mM | 1.94 | 1.92 | 4.78 | 0.13 | 0.06 | 0.01 |

(各測定値は 3 回測定した平均値を示す)

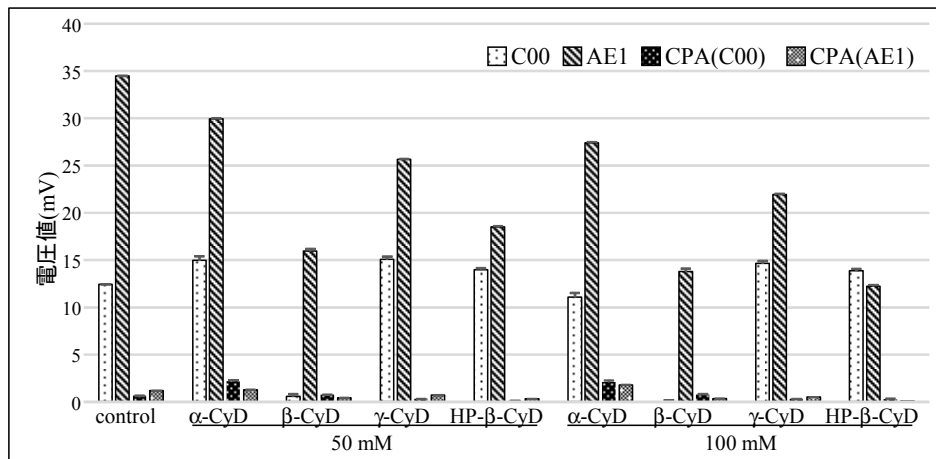


Fig. 5 AE1, CPA(AE1)電圧値 (絶対値に変換)

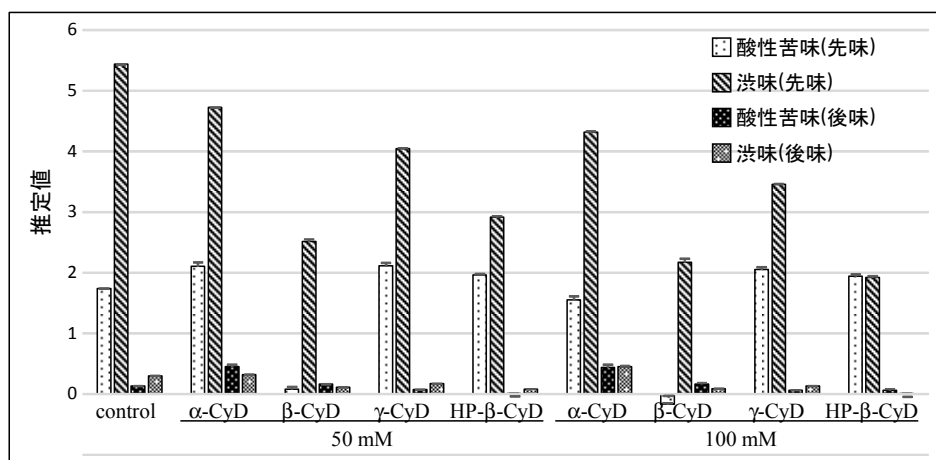


Fig. 6 CyD 包接化によるアセトアミノフェンの推定値

4. 各種 CyD と薬物との安定度定数及び pH の測定

各種 CyD と薬物との複合体の安定度定数を算出するため、T. Higuchi ら¹⁾により確立された溶解度法による測定を試みた。CM と各種 CyD との安定度定数は報告されているため²⁾、CyD と AA との安定度定数について、1:1 の複合体を形成すると仮定し測定した (Fig. 7)。

その結果、 α -CyD については 7.53 M^{-1} と比較的小さい安定度定数が得られたものの、 β , γ 及び HP- β -CyD については CyD のポケットに 1 分子以上の AA が入ったと推定される結果となり、安定度定数の計算はできなかった。また、CM 及び AA と各種 CyD との包接化溶液の pH を測定した結果、CyD の種類及び添加量を変化させても、pH に大きな違いは認められなかった (Table 8)。

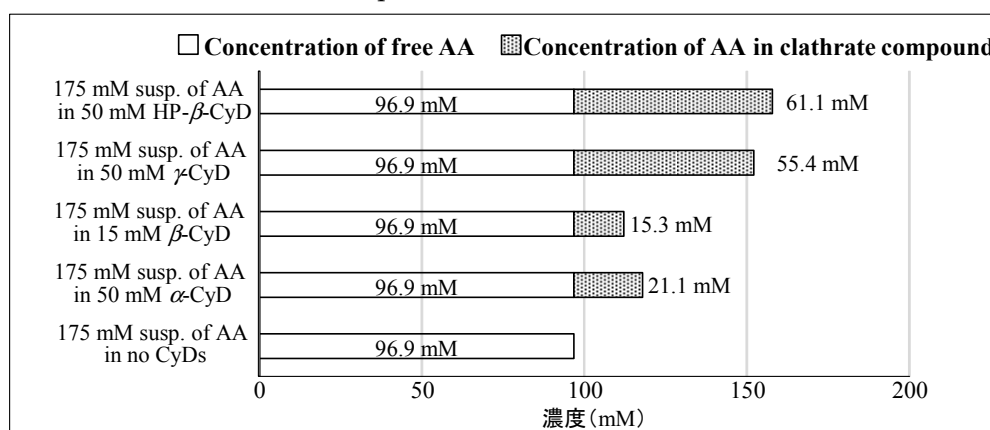


Fig. 7 アセトアミノフェン溶液中での各種 CyD の溶解度の比較

Table 8 薬物と CyD 包接化溶液の pH

| | control | α | β | γ | HP- β | α | β | γ | HP- β |
|---------|---------|----------|---------|----------|-------------|----------|---------|----------|-------------|
| CyD 濃度 | — | 5 mM | | | | 20 mM | | | |
| CM 5 mM | 4.90 | 4.92 | 4.79 | 4.74 | 4.75 | 4.93 | 4.67 | 4.65 | 4.67 |
| AA 5 mM | 5.89 | 5.9 | 5.89 | 5.89 | 5.89 | 5.92 | 5.91 | 5.41 | 5.56 |

考 察

今回、我々は口腔内崩壊錠の製剤開発へ応用することを目的として、CyD を用いた医薬品の苦味マスキング効果を味認識装置で評価した。CyD として汎用されている α 、 β 、 γ -CyD に加え、 β -CyD の誘導体で高い水溶性を持つ HP- β -CyD の 4 種類を用い、それらの濃度を変更して実験を行った。また、人工脂質膜を使用したセンサで、味覚を数値化できる味認識装置を用いて苦味の定量を行った。

クロルフェニラミンマレイン酸塩 (CM) の苦味を測定した結果、塩酸塩の苦味が非常に強く、後味も強い苦味であることが確認された。この苦味マスキングには、CyD のうち α 及び β -CyD に強い抑制作用が認められ、特に α に顕著なマスキング効果が認められた。このため、CM の苦味マスキングには薬物の 4 倍モル濃度の α -CyD での包接化が有効であると考えられる。CM と α -CyD との安定度定数 (K) は他の CyD よりも比較的小さいことが報告されている²⁾が、マスキング効果は最も強い結果となった。 α 、 β 、 γ 、HP- β -CyD いずれも単独では BT0 センサに応答しないことを確認していることから、これらのマスキング効果は包接化によってもたらされたものと考えられる。また、CyD 濃度と後味の苦味強度に相関が認められなかった原因の詳細は不明だが、先味は濃度依存的に苦味を抑制していることから、20 mM 以上では何らかの形で人工脂質膜への吸着に影響を与えたと考えられる。

アセトアミノフェン (AA) の苦味を測定した結果、通常投与量に近い濃度において、C00 及び AE1 センサに反応する酸性苦味 (渋味) が認められた。後味に関してはそれほど強い電圧値は示さず、マスキングは比較的容易であると考えられる。この苦味マスキングには β 及び HP- β -CyD に強い抑制作用が認められており、100 mM の包接化でともに AE1 センサ値をコントロールの約 1/2 に抑制していた。今回、AA と全ての CyD との安定度定数は計算できなかったものの、CyD と AA は複合体を形成することは明らかである。また、CyD 濃度として、AA と等モル濃度の 50 mM と 2 倍濃度の 100 mM を検討したが、両者の苦味抑制効果に大きな差は認められなかった。AA については、1 回当たりの服用量が多く、等モル量の CyD で包接するには添加量が多くなることから、CyD の種類としては水溶性の高い HP- β -CyD が有効であると考えられる。なお、CyD は薬物の安定性や溶出性に影響を与える場合もあることから、製剤開発の際には薬物との相互作用について確認しておく必要がある。

今回の実験により、苦味薬物を CyD によって包接化させた際のマスキング効果を、味認識装置を用いて定量的に評価できることを確認した。苦味薬物の種類によって反応するセンサは異なるものの、各種 CyD によるマスキング効果を評価することができ、その最適濃度についても評価が可能であった。このため今後、新たな口腔内崩壊錠を設計する上で、マスキング効果を評価する際に有用な手段であると考えられる。

文 献

1. T. Higuchi, K. A. Connors, "Phase Solubility Techniques," *Advanced Analytical Chemistry of Instrumentation*, Vol. 4, 117-212 (1965)
2. 宮本祐司、シクロデキストリン包接による抗ヒスタミン薬およびアルンド酸の苦味マスキングに関する研究、熊本大学学位論文 (2010)