

解 説

薬物と茶葉抽出飲料との相互作用解析

池田 浩人

福岡大学 薬学部

(受取日：2018年4月25日，受理日：2018年6月4日)

Analysis on Interaction between Drug and Tea Beverage

Hirohito Ikeda

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University

(Received Apr. 25, 2018; Accepted June 4, 2018)

Tea beverages such as green, oolong and black teas are very popular in the world. Recently, green tea extract-based dietary supplements including a large amount of green tea polyphenol (GTP) have been widely consumed to expect beneficial health as anti-aging, weight reduction and etc. Although tea beverages are considered to be innocuous, the large ingestion of GTP from dietary supplements and the administration of a drug with GTP often produce some serious effects. The GTP with high physiological activity can interact with some drugs to affect the absorption, bioavailability and efficacy of the drug. Therefore, it is very important on medicinal treatment to analyze the compatibility and the mechanism for drug interaction with GTP using isothermal titration microcalorimetry (ITC) and molecular modeling calculation (MMC). It is concluded that ITC is the most suitable and powerful measurement method to analyze interaction between drugs and bioactive substances in tea beverage, supplement and health food. ITC can bring some useful information in medical treatment and elucidate the drug interaction at the molecular level by combination with MMC.

Keywords: tea beverage, green tea polyphenol, isothermal titration microcalorimetry, molecular modeling calculation.

1. はじめに

近年，国民の健康志向の高まりと共に，特定保健用食品として許可された飲食物の上市が続いている。さらに，2013年6月に政府が発表した成長戦略において，食品表示の規制緩和が打ち出された。今までは，「血糖値の気になる方へ」や「体脂肪を消費しやすくする」などの機能性表示ができるのは特定保健用食品とサプリメントなどの栄養機能食品のみであった。しかし，上記規制緩和によって，国の審査なしで一般食品や飲料においても機能性表示が可能になる。そのため，機能性表示がなされた様々な食品や飲料が市場にあふれ出している。一方，機能性表示が可能ということは，生理活性物質を含有する事を意味している。今後，飲食物に含まれる生理活性物質と同時服用された薬物との相互作用はますますクローズアップされてくるであろう。特に薬効を減弱させる相互作用は，疾病の薬物治療において非常に大きな問題となる。本研究では，飲食物に含まれる生理活性物質と薬物との相互作用のメカニズムを分子レベルで詳細に解析することで，いわゆる「飲食物と薬のみ合わせ」に関する正しい理解を得ることを目的としている。

学会員の皆様は，「薬をお茶で飲んではいけません」と注意された経験はあるだろうか？このフレーズは，1980年代まで医療現場などで長い間使われていた。これは，緑茶に含まれるタンニンと鉄欠乏性貧血で使用される鉄剤中の鉄が不溶性物質を形成するため，鉄の消化管吸収が抑制されることによるとされていた。しかし，1980年代に緑茶で鉄剤を服用しても血清中の鉄濃度は十分高い状態にある¹⁾ことが判明し，冒頭のフレーズは使われなくなった。事実，

薬局で薬剤師が患者へ薬を渡すときにも冒頭のフレーズで服薬指導することは皆無であり，薬剤師から渡された薬の袋の裏側に記載されている服薬時の注意事項にも冒頭のフレーズは記載されていない。

2. 茶葉抽出飲料による薬物の含量低下

前述のように，茶葉抽出飲料で薬を服用することは問題視されなくなった。その一方で，添付文章に茶葉抽出飲料との相互作用を記載する薬物も存在する。例えば，統合失調症治療薬であるリスペリドン (RISP; Fig.1) の内用液の添付文書には，「茶葉抽出飲料 (紅茶，ウーロン茶，日本茶等) 及びコーラは混合すると含量が低下することがあるので，希釈して使用することは避ける」と記されている。この相互作用を確認するために，安藝らは，各種市販飲料 100 mL と 1 mg mL⁻¹ RISP 内用液 3 mL を混合後ろ過し，ろ液

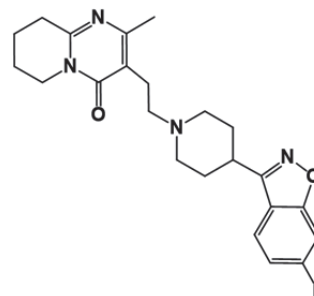


Fig.1 Chemical structure of RISP.

Table 1 Content and content drop of RISP in the filtrate of mixture between RISP oral solution and beverage.

Beverage	Content of RISP / %	Content Drop of RISP / %
Oolong tea	22	78
Black tea	38	62
Green tea A	78	22
Green tea B	88	12
Orange juice	100	0

中の RISP を定量した。²⁾ ろ液中の RISP 含有率および含量低下率を **Table 1** に示す。RISP 内用液を茶葉抽出飲料と混合した場合、混合溶液は直ちに混濁し、ろ液中の RISP 残存率 (%) は低下することが確認された。特に、ウーロン茶や紅茶と混合した場合、およそ 60~80 % の RISP 含量が低下した。一方、オレンジジュースと混合した場合、RISP 含有率は全く低下しなかった。さらに、純品の RISP を pH 3.0 酒石酸緩衝液に溶解させ、1 mg mL⁻¹ RISP 溶液を調製して titrant とし、各種市販飲料 3 mL を titrand として等温滴定型熱量測定 (ITC) による熱量測定 (**Fig.2**) を行った。茶葉抽出飲料が titrand である場合、比較的大きな反応熱量が観測され、緑茶よりもウーロン茶や紅茶の場合の反応熱量が大きい傾向にあった。Titrand にオレンジジュースを用いた場合の反応熱量は殆ど観測されなかった。**Table 1** で示す RISP 含量低下率は、ウーロン茶>紅茶>緑茶>オレンジジュースの順であり、**Fig.2** で示す反応熱量の大きさも同様の傾向を示すことより、茶葉抽出飲料による RISP の含量低下は ITC で評価可能であることが判明した。

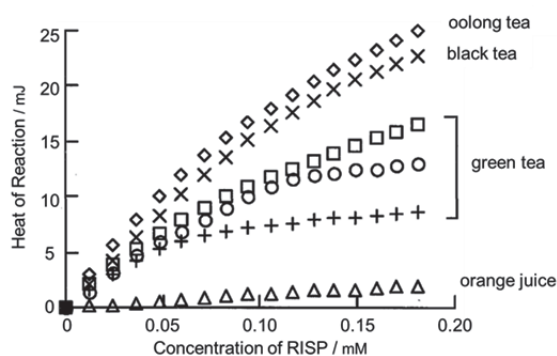


Fig.2 Heat of reaction between RISP solution and beverages at 298.15 K.

平成 27 年の日本における各種茶葉抽出飲料の消費量と消費率³⁾より、日本人が最も消費している茶葉抽出飲料は緑茶であり、ウーロン茶や紅茶の約 6 倍消費している。従って、日本人が RISP 内用液を服用する際に、RISP の含量低下を引き起こす可能性が高い飲料は緑茶と考えられる。また、茶葉中の生理活性成分の含有率⁴⁾を比較すると、最も多く含有されているのは、緑茶ポリフェノール (GTP) である。ゆえに、**Table 1** に示すような RISP との相互作用は、緑茶中の GTP によるものと推測される。また、**Table 1** で示した緑茶 A および B の包装に表示された GTP 含有濃度はそれぞれ 0.80 mg mL⁻¹、0.32 mg mL⁻¹であり、GTP 含有濃度が高い緑茶 A の RISP 含有率は緑茶 B より低下したことは上記推測を支持している。

3. RISP と GTP との相互作用

緑茶に含まれる代表的な GTP として、構造中にガロイル基を有するガレート型 GTP である(-)-epigallocatechin gallate (EGCg) と(-)-epicatechin gallate (ECg)、非ガレート型 GTP である(-)-epigallocatechin (EGC) と(-)-epicatechin (EC) が知られている。それらの化学構造および茶葉中の含有率⁴⁾をそれぞれ、**Fig.3** および **Table 2** に示す。

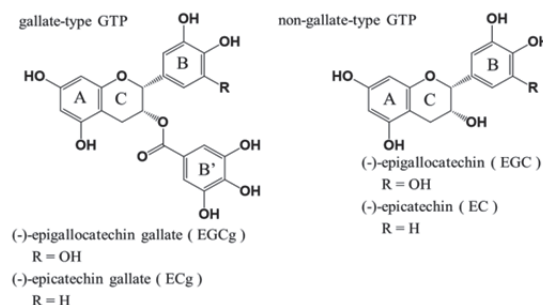


Fig.3 Chemical structures of GTP.

Table 2 Content of GTP in tea leaves.

GTP	Content / %
EGCg	54
EGC	22
ECg	11
EC	10

pH 3.5 の酒石酸緩衝液を用い、RISP および上記の 4 種の GTP の 1.0 mg mL⁻¹ 溶液を調製した。各 GTP 溶液 1 mL と RISP 溶液 1 mL を室温で混合して攪拌後、混合溶液をろ過し、ろ液中の RISP を定量した。RISP 溶液とガレート型 GTP である EGCg または ECg 溶液を混合した場合、混合溶液は直ちに白濁し、ろ液中の RISP 含有率はそれぞれ 64 % および 53 % まで低下した。一方、非ガレート型 GTP 溶液を混合した場合、混合溶液は透明のままであり、RISP 含有率は全く低下しなかった。これらの結果より、GTP のうち、主にガレート型 GTP が RISP と相互作用し、RISP 含量を低下させることが判明した。

さらに、RISP と GTP の相互作用を熱力学的に解析するため、pH 3.5 酒石酸緩衝液で調製した RISP 溶液を titrant、同緩衝液で調製した GTP 溶液を titrand とし、ITC による熱量測定 (**Fig.4**) を行った。各反応熱量曲線を解析して得られた熱力学諸量を **Table 3** に示す。RISP とガレート型 GTP の反応熱量は、対応する非ガレート型 GTP より大きいことが確認された。また、RISP とガレート型 GTP の結合定数は、対応する非ガレート型 GTP より大きく、RISP と GTP の相互作用は主にエンタルピー駆動で進行することが分かった。

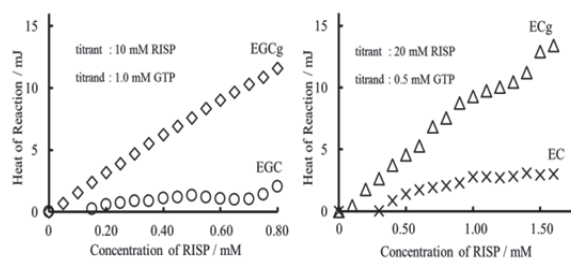


Fig.4 Heat of reaction between RISP solution and GTP solutions at 298.15 K.

Table 2 および **Table 3** で示したように、茶葉中に含有される GTP の半分以上は EGCg であり RISP と最も強く相互作用する。そこで、RISP と EGCg を混合して生じた不溶性複合体 (RISP-EGCg) を分取し、凍結乾燥後、FAB-MS 法による質量分析を行ったところ、RISP と EGCg がモル比 1:1 で形成した複合体に対応する親イオンピークが観察された。²⁾ さらに、RISP、RISP-EGCg および EGCg の $^1\text{H-NMR}$ をそれぞれ $\text{DMSO-}d_6$ 中で測定した。⁵⁾ RISP-EGCg を形成することによって、RISP あるいは EGCg におけるケミカルシフトの変化を検討したところ、RISP のピペリジン環およびその近傍のプロトンのケミカルシフトが低磁場へ移動することが判明した。ゆえに、RISP のピペリジン環は EGCg との相互作用に大きく関連することが示唆された。

Table 3 Binding constant K , gibbs free energy change ΔG , enthalpy change ΔH , and entropy change ΔS of the interaction between RISP and GTP.

GTP	K / L mol^{-1}	ΔG / kJ mol^{-1}	ΔH / kJ mol^{-1}	ΔS / $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$
EGCg	8.5×10^2	-16.7	-14.8	6.4
EGC	1.9×10^2	-13.0	-29.3	-54.7
ECg	3.1×10^2	-14.2	-60.0	-153.7
EC	1.2×10^2	-11.9	-39.1	-91.3

上記実験によって得られた知見を理論的に確認するために、密度汎関数法による分子モデリング計算 (MMC) を行った。GTP は、茶葉中に多く含まれる EGCg と EGC (**Table 2**) を MMC の対象とした。まず RISP、EGCg および EGC の配座解析を行った後、各分子の水中における最安定構造を算出した。得られた各分子の最安定構造を用い、RISP-EGCg および RISP と EGC の複合体 (RISP-EGC) の水中における最安定構造 (**Fig. 5-6**) を B3PW91/cc-pVDZ レベルで求めた。⁶⁾ RISP-EGCg および RISP-EGC は共に、3 種の水素結合で安定化することが分かった。RISP-EGCg では、RISP のピペリジン環窒素とガロイル基の尿酸基との間で水素結合が形成されるが、RISP-EGC では RISP のピペリジン環窒素は EGC との分子間水素結合に関与しない。さらに、複合体形成安定化エネルギー (ΔE) を $\Delta E = (\text{水中における複合体の最安定構造の全エネルギー}) - (\text{水中における RISP の最安定構造の全エネルギー} + \text{水中における GTP の最安定構造の全エネルギー})$ から算出した結果、ならびに COSMO-RS 法⁷⁾によって得られた水中における各複合体の最安定構造の水に対する溶解度 ($S/\text{mol L}^{-1}$) の対数値を **Table 4** に示す。RISP-EGCg および RISP-EGC は、共に 3 種の水素結合を形成している (**Fig. 5-6**) が、 ΔE を比較すると RISP-EGCg の方が RISP-EGC よりも安定に生成すると考えられる。また、RISP-EGCg の水に対する溶解度は RISP-EGC のおよそ 25 分の 1 である。ゆえに、RISP は EGC よりも EGCg と複合体を形成しやすく、生成した複合体 RISP-EGCg は水中で析出することが理解できる。

4. RISP と EGCg による不溶性複合体形成に対するシクロデキストリンの添加効果

前述のように、緑茶による RISP の含量低下は、主に EGCg に代表されるガレート型 GTP によって引き起こされることが明らかとなった。現在、日本では体脂肪や血中コレステロール低下を目的として、高濃度の GTP を含有する飲料水が多数市販されている。このような飲料水で RISP 内用液を希釈すると、RISP の含量低下がさらに促進されること

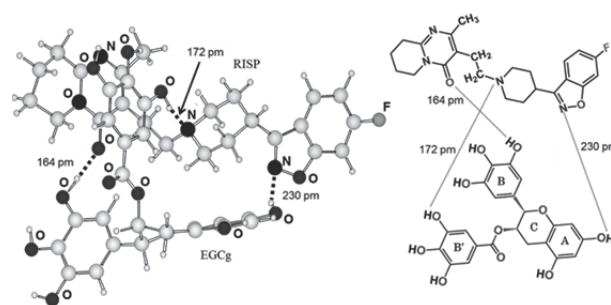


Fig. 5 Most stable conformation of RISP-EGCg in H_2O .

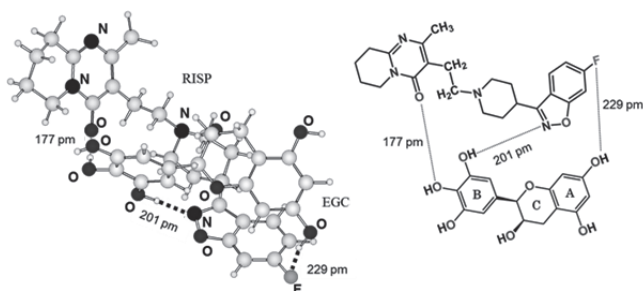


Fig. 6 Most stable conformation of RISP-EGC in H_2O .

Table 4 Stabilization energy of complexation ΔE and logarithm of water-solubility S of RISP-EGCg and RISP-EGC.

Complex	ΔE / kJ mol^{-1}	$\log S$
RISP-EGCg	-108.6	-6.68
RISP-EGC	-49.6	-5.26

が予想されたため、**Table 1** で示す実験と同様の検討を行った。用いた飲料水の成分表示によると、GTP は 1.08 mg mL^{-1} 含有されており、緑茶 A (**Table 1**) よりも GTP 濃度は高い。しかし、この飲料水による希釈によって RISP の含量低下は全く生じなかった。この理由として、高濃度の GTP を含有する飲料水には、大量の GTP を溶解させる目的と GTP の有する苦味を抑制するために環状オリゴ糖、即ちシクロデキストリン (CD) を添加している事が考えられた。つまり、緑茶による RISP の含量低下は、CD によって抑制可能であることが示唆された。CD はグルコースが α -1,4 グルコシド結合で環状に連結した化合物であり、グルコース 6 分子、7 分子および 8 分子からなる CD をそれぞれ、 α -CD、 β -CD および γ -CD と呼ぶ。このうち、 β -CD は水溶性が低いため、その性質を改良するために構成グルコース単位の 2, 3, 6 位の水酸基がランダムにヒドロキシプロピル基で修飾された HP- β -CD が医薬品分野等で用いられている。

pH 3.5 の酒石酸緩衝液を使用して等モル濃度の RISP 溶液と EGCg 溶液を調製し、両溶液を同体積で混合した。さらに、この混合溶液に RISP に対して 4 倍の物質質量となるように CD を添加し、室温で混合して攪拌後、混合溶液をろ過し、ろ液中の RISP を定量した。⁸⁾ β -CD、HP- β -CD および γ -CD の添加によって混合溶液は白濁せず、ろ液中の RISP 含有率は 93~99% となり、RISP の含量低下はほぼ抑制された。一方、 α -CD の添加では、混合溶液は白濁したままであり、ろ液中の RISP 含有率は CD 無添加の場合と同様の値 (65%) となった。 α -CD を除く CD の添加によって、RISP の含量低下が抑制された要因として、CD が RISP または EGCg、あるいは両者と包接複合体を形成するため、

RISP-EGCg の形成を抑制していることが推測された。

CD と RISP または EGCg の相互作用を熱力学的に解析するため、pH 3.5 酒石酸緩衝液で調製した CD 溶液を titrant、同緩衝液で調製した RISP または EGCg 溶液を titrand とし、ITC による熱量測定を行った。CD と RISP の系は反応熱量が全く観察されなかったため、CD と EGCg の系における反応熱量曲線 (Fig.7) と各曲線を解析して得られた熱力学諸量を Table 5 に示す。反応熱量曲線ならびに結合定数から、特に β -CD および HP- β -CD は EGCg と相互作用しやすいと判断できる。また、Table 3 に示した RISP と EGCg の系の結合定数より β -CD と EGCg の系の結合対数の方がおよそ 25 倍大きいので、RISP-EGCg の形成に対する β -CD の添加効果は、主に β -CD と EGCg との相互作用によるものであることが確認された。 γ -CD と EGCg との系の結合定数が β -CD と EGCg の系より小さい理由は、 γ -CD の分子内空洞の内径が β -CD より大きいいため、 γ -CD の空洞内に EGCg がゆるく包接されているため⁹⁾であると推測された。また、 α -CD を除く CD と EGCg の相互作用は、主にエンタルピー駆動で進行することが判明した。一方、 α -CD と EGCg の系では、反応熱量が殆ど測定されず、熱力学諸量は解析不能であった。 α -CD は他の CD に比べて、分子内空洞の内径が小さいため、EGCg を包接できないと考えられる。さらに、RISP の共存によって、 β -CD による EGCg の包接が影響を受けるか否かについて検討した。10.0 mM β -CD 溶液を titrant、1.0 mM EGCg 溶液あるいは EGCg と RISP を 1.0 mM になるように混合した溶液を titrand として測定を行った。RISP の有無に関わらず反応熱量曲線はほぼ同一となり、溶液中における β -CD と RISP との相互作用は無視できるほど小さく、専ら β -CD は EGCg と相互作用することが分かった。

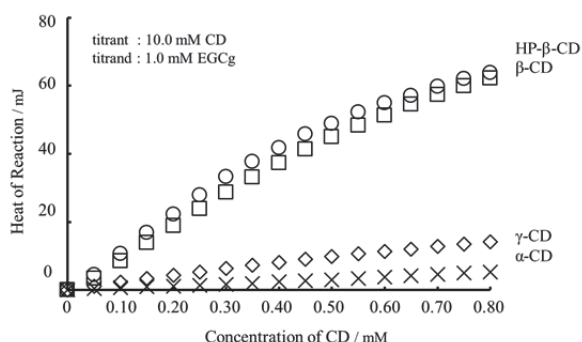


Fig.7 Heat of reaction between CD solution and EGCg solution at 298.15 K.

Table 5 Binding constant K , gibbs free energy change ΔG , enthalpy change ΔH , and entropy change ΔS of the interaction between CD and EGCg.

CD	K / L mol ⁻¹	ΔG / kJ mol ⁻¹	ΔH / kJ mol ⁻¹	ΔS / J mol ⁻¹ K ⁻¹
α -CD	—	—	—	—
β -CD	2.1×10^4	-24.7	-29.6	-16.4
HP- β -CD	1.0×10^4	-22.7	-38.8	-54.0
γ -CD	1.3×10^3	-17.8	-15.2	8.7

茶葉抽出飲料による RISP の含量低下の鍵となるのは、RISP のピペリジン環窒素とガラート型 GTP の水酸基が関与する分子間水素結合であることが判明した。この考察が普遍的であることを確認するため、ピペリジン環を有する他の薬物の一部について RISP と同様の検討を行ったところ、RISP 以外にもドンペリドンやフラボキサート塩酸塩な

どにおいてガラート型 GTP による含量低下 (含量低下率: ドンペリドンは 54 %, フラボキサート塩酸塩は 23 %) が確認された。

5. 茶葉抽出飲料がアリピプラゾールの薬物動態に与える影響

ピペリジン環と類似の環構造であるピペラジン環を有する薬物であるアリピプラゾール (ARIP; Fig.8) の内用液の添付文書にも RISP と同様、茶葉抽出飲料による希釈で ARIP 含量が低下することが記載されている。この ARIP の含量低下についても、ARIP と茶葉抽出飲料中のガラート型 GTP との相互作用が主要因であり、その相互作用を CD で抑制可能であることを ITC ならびに MMC による解析で明らかにしているが、その詳細については割愛する。ここでは、ARIP と EGCg あるいは茶葉抽出飲料による不溶性複合体形成が、ARIP の腸管膜透過ならびに血中濃度に与える影響について簡潔に述べる。

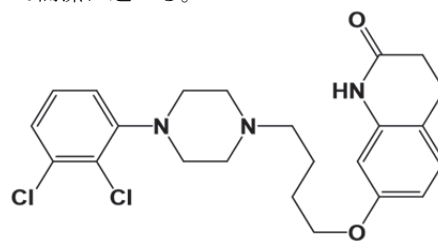


Fig.8 Chemical structure of ARIP.

ARIP の腸管膜透過は、wistar ラットを使用した *in situ* 腸管灌流法 (Fig.9) で検討した。リザーバーに入れた灌流溶液中の ARIP 濃度を経時的に測定することで、ARIP の腸管膜透過性を評価した。ARIP 溶液を EGCg 溶液または精製水で 50 倍に希釈した試料溶液をそれぞれ調製し、EGCg が ARIP の腸管膜透過性に与える影響を検討した結果を Fig.10 に示す。EGCg 非共存下では、ARIP の腸管膜透過は一次速度過程で進行することが判明し、グラフの直線の傾きは ARIP の腸管膜透過速度定数 (k) を示すと考えられる。一方、EGCg の共存下、ARIP の腸管膜透過性は二相性を示した。また、EGCg によって、実験開始から 30 分間における k は、EGCg 非共存下における k のおよそ 1/5 に低下した。次に GTP の含有濃度が異なる 2 種の市販緑茶飲料を使用し、緑茶が ARIP の腸管膜透過性に与える影響を検討したところ、緑茶に含有される GTP の主成分である EGCg 共存下の場合 (Fig.10) と同様、緑茶で希釈した ARIP の腸管膜透過性は二相性を示した。GTP 濃度が高い緑茶ほど、 k の低下する時間は長くなった。さらに、2 種の市販ウーロン茶飲料 (A および B) が ARIP の腸管膜透過性に与える影響を検討した結果を Fig.11 に示す。ウーロン茶共存下では、実験開始から 120 分後まで k は低下したままであった。また、市販紅茶飲料を使用した検討も行ったが、Fig.11 と同様の結果が得られた。ウーロン茶や紅茶は、ARIP の腸管膜透過に大きく影響することが確認された。これは、Table 1 で示したウーロン茶や紅茶が RISP 含有率を特に大きく低下させる傾向と一致している。

上記実験に使用した茶葉抽出飲料のうち、ウーロン茶は ARIP の腸管膜透過性に著しく影響し、ARIP の血中濃度変化に影響を与える可能性が大きいと考えられる。そこで、ARIP 内用液をウーロン茶で希釈した溶液を wistar ラットに経口投与し、ARIP の血中濃度の経時変化を測定した。その結果を Fig.12 に示す。ARIP 内用液をウーロン茶と共にラットへ経口投与した場合、ARIP の血中濃度上昇は抑制された。

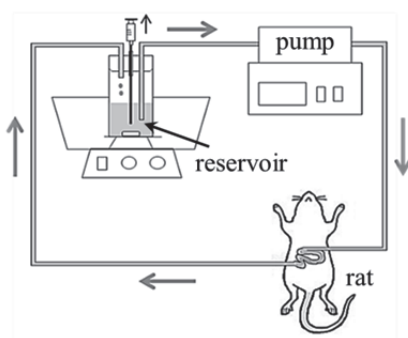


Fig.9 Schematic of *in situ* intestinal perfusion method.

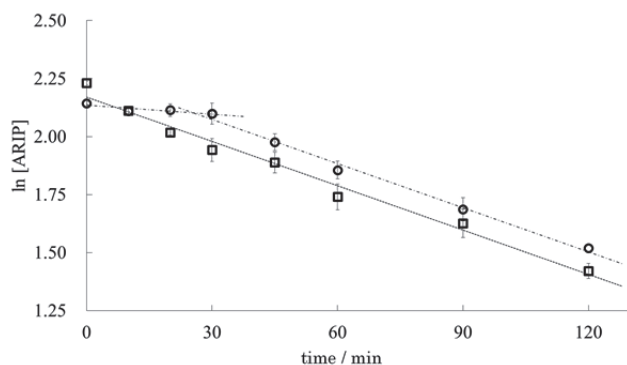


Fig.10 Time course of ARIP concentration in reservoir under coexistence of EGCG. □ : mixture of ARIP and purified water, ○ : mixture of ARIP and EGCG.

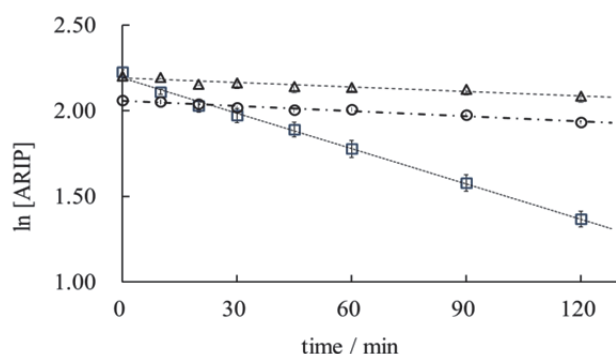


Fig.11 Time course of ARIP concentration in reservoir under coexistence of oolong tea. □ : mixture of ARIP and purified water, ○ : mixture of ARIP and oolong tea A, △ : mixture of ARIP and oolong tea B.

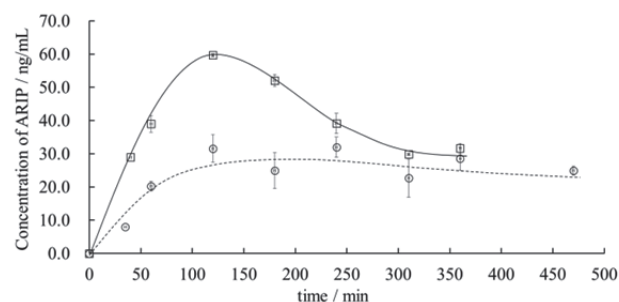


Fig.12 Time course of ARIP blood concentration after oral administration with oolong tea. □ : ARIP and purified water, ○ : ARIP and oolong tea.

6. おわりに

RISP のような ピペリジン環を有する薬物および ARIP のようなピペラジン環を有する薬物は、茶葉抽出飲料に含有されるガレート型 GTP と相互作用し、薬効減弱等の有害事象を引き起こす可能性がある。ゆえに、薬物を茶葉抽出飲料で服用する際には十分な注意を要する。

ITC は、薬物と飲食物中の生理活性物質の間の相互作用を熱力学的に解析するために最適かつ強力な測定法であり、薬物治療において有用な情報をもたらすと共に、ITC と分子モデリング計算とのコンビネーションは、薬物相互作用を分子レベルで予測可能とする。

謝 辞

本研究の遂行に対し、多大なる御支援と御助言を賜った安藝初美教授（福岡大学薬学部）に感謝申し上げます。また、MMC には九州大学情報基盤研究開発センターならびに自然科学研究機構 岡崎共通研究施設 計算科学研究センターの計算機を利用致しました。

文 献

- 1) K. Kubota, T. Sakurai, K. Nakazato, T. Morita, and T. Shirakura, *Jpn. J. Geriatr.* **27**, 555-558 (1990).
- 2) H. Aki, M. Ohta, K. Fukusumi, and Y. Okamoto, *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.* **32**(3), 190-198 (2006).
- 3) 平成 28 年度茶関係資料, 公益社団法人日本茶業中央会
- 4) 伊勢村 護 監修, 「茶の効能と応用開発」, シーエムシー出版 (2006).
- 5) H. Ikeda, H. Moriwaki, M. Yukawa, Y. Iwase, and H. Aki, *YAKUGAKU ZASSHI* **130**(11), 1589-1595 (2010).
- 6) H. Ikeda, H. Moriwaki, T. Matsubara, M. Yukawa, Y. Iwase, E. Yukawa, and H. Aki, *YAKUGAKU ZASSHI* **132**(1), 145-153 (2012).
- 7) A. Klamt, and F. Eckert, *Fluid Phase Equilibria* **172**, 43-72 (2000).
- 8) H. Ikeda, T. Matsubara, H. Moriwaki, M. Yukawa, E. Yukawa, and H. Aki, *Netsu Sokutei*, **W39**, 6-8 (2012).
- 9) J. Xu, T. Tan, J-C. Janson, L. Kenne, and C. Sandström, *Carbohydrate RESEARCH*, **342**, 843-850 (2007).



池田 浩人
Hirohito Ikeda
E-mail: ikeda@fukuoka-u.ac.jp

