

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-81237

(P2015-81237A)

(43) 公開日 平成27年4月27日(2015.4.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 8/33 (2006.01)	A 6 1 K 8/33	4 B O 2 4
A 6 1 K 8/35 (2006.01)	A 6 1 K 8/35	4 C O 8 3
A 6 1 K 8/49 (2006.01)	A 6 1 K 8/49	
A 6 1 Q 13/00 (2006.01)	A 6 1 Q 13/00 1 0 0	
A 6 1 Q 19/04 (2006.01)	A 6 1 Q 19/04	
審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 13 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-219338 (P2013-219338)	(71) 出願人	000000918 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番1 〇号
(22) 出願日	平成25年10月22日(2013.10.22)	(74) 代理人	110000084 特許業務法人アルガ特許事務所
		(74) 代理人	100077562 弁理士 高野 登志雄
		(74) 代理人	100096736 弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100117156 弁理士 村田 正樹
		(74) 代理人	100111028 弁理士 山本 博人
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 ソトロンによるにおいの抑制剤

(57) 【要約】

【課題】ソトロンによるにおいを抑制する物質の提供。

【解決手段】嗅覚受容体OR8D1のアンタゴニストを有効成分とする、ソトロンによるにおいの抑制剤。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記化合物からなる群より選択される少なくとも 1 種を有効成分とする、ソトロンによるにおいの抑制剤：

1 - (2 , 3 , 4 , 7 , 8 , 8 a - ヘキサヒドロ - 3 , 6 , 8 , 8 - テトラメチル - 1 H - 3 a , 7 - メタノアズレン - 5 - イル) - エタノン；

オキサシクロヘキサデセン - 2 - オン；

シトラール；

- 6 - ヘキサデセンラクトン；

2 - ベンジリデンヘプタナール；

3 - (4 - t e r t - プチルフェニル) プロパナール；

(5 E) - 3 - メチルシクロペンタデセ - 5 - エン - 1 - オン；

1 - (5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 3 , 5 , 5 , 6 , 8 , 8 - ヘキサメチル - 2 - ナフタレニル) - エタノン；

7 - アセチル - 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 , 8 - オクタヒドロ - 1 , 1 , 6 , 7 - テトラメチル - ナフタレン；

ムスコン。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ソトロンによるにおいの抑制剤に関する。

【背景技術】

【0002】

我々の生活環境には、極性や分子量が異なる多数の悪臭分子が存在する。多様な悪臭分子を消臭するために、これまで様々な消臭方法が開発されてきた。一般的に消臭方法は、生物的方法、化学的方法、物理的方法、感覚的方法に大別される。悪臭分子の中で、極性の高い短鎖脂肪酸やアミン類については、化学的方法、すなわち中和反応による消臭が可能である。またチオールなどの硫黄化合物に関しては、物理的方法、すなわち吸着処理による消臭が可能である。しかし、従来 of 消臭法では対応できない悪臭分子が数多く残されている。また、吸着処理による消臭方法では、悪臭の再放出が起きやすいといった問題もある。さらにこれらの従来 of 方法では、目的とする悪臭以外のおいも消されてしまう場合がある。これらの問題を克服できる消臭方法が求められている。

【0003】

芳香剤を使用して別のにおいをより強く認識させることにより悪臭を消臭する方法も知られている。しかし、この方法では、芳香剤のにおいに対する不快感が生じることがある。さらに、香水や芳香剤などの他のにおいで悪臭をマスキングするためには、目的の悪臭物質に対して有効な消臭作用を示すにおい物質を探索しなければならない。従来、においの評価は、専門家による官能試験によって行われてきた。しかし官能試験には、においを評価できる専門家の育成が必要なことや、スループット性が低いなどの問題がある。したがって従来、消臭作用を示すにおい物質の探索は容易なことではなかった。

【0004】

ヒト等の哺乳動物においては、嗅覚は、鼻腔上部の嗅上皮に存在する嗅神経細胞上の嗅覚受容体におい分子が結合し、それに対する受容体の応答が中枢神経系へと伝達されることにより認識されている。ヒトの場合、嗅覚受容体は約 400 個存在することが報告されており、これらをコードする遺伝子はヒトの全遺伝子の約 3% にあたる。一般的に、嗅覚受容体におい分子は複数対複数の組み合わせで対応付けられている。すなわち、個々の嗅覚受容体は、構造の類似した複数のにおい分子を異なる親和性で受容することができ、一方で、個々のにおい分子は、複数の嗅覚受容体によって受容され得る。さらに、ある嗅覚受容体を活性化するにおい分子が、別の嗅覚受容体の活性化を阻害するアンタゴニストとして働くことも報告されている。これら複数の嗅覚受容体の応答の組み合わせが、個

10

20

30

40

50

々のにおいの認識をもたらしている。

【0005】

したがって、同じにおい分子が存在する場合でも、同時に他のにおい分子が存在すると、当該他のにおい分子によって受容体応答が阻害され、最終的に認識されるにおいが全く異なることがある。このような仕組みを嗅覚受容体のアンタゴニズムと呼ぶ。この受容体アンタゴニズムによるにおいの変調は、香水や芳香剤等の別のにおいを付加することによる消臭方法と異なり、悪臭の認識を特異的に失くしてしまうことができ、また芳香剤のにおいによる不快感が生じることもないことから、好ましい消臭手段である。

【0006】

皮膚タンニング剤（セルフタンニング剤またはサンレストンニング剤とも称される）は、肌を着色する皮膚化粧料である。皮膚を褐色に変化させる成分としては、主にジヒドロキシアセトン（Dihydroxyacetone, DHA）が単独で、またはエリスルコース（Erythrulose）などとともに使用される。これらの成分は、皮膚の上層と反応し皮膚を褐色に着色する。この着色は、褐変反応によって進行すると考えられているが、その反応メカニズムの詳細についてはほとんど解明されていない。褐変反応は、食品化学の分野ではメイラード反応とも呼ばれ、アミノ酸やタンパク質等の含窒素化合物と還元糖とが重合することによって、メラノイジンと呼ばれる褐色の重合物を生成する反応を指す用語である。メイラード反応は、食品の加熱等によって起こる食品の着色や香気成分の生成に参与している。

【0007】

3 - ヒドロキシ - 4 , 5 - ジメチル - 2 (5 H) - フラノン (ソトロン) は、「カレー様フレーバー」、「カラメル香」、「焦げた砂糖」、「焦げ」、「スパイシー」などと表現されるにおいを有することが知られている物質である（非特許文献1～4）。ソトロンは、一般に高濃度では生薬的不快臭を有するオフフレーバーであるが、低濃度では糖蜜様芳香になる。ソトロンは、嗅覚受容体OR8D1の応答を惹起することが報告されている（非特許文献5）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】合成香料 化学と商品知識、2005年、化学工業日報社

【非特許文献2】ACS Symp Ser., 2002, 836:108-123

【非特許文献3】生物工学会誌, 2006, 84(10):417

【非特許文献4】J. Agric. Food Chem., 1999, 47(8):3288-3291

【非特許文献5】PLoS Genet, 2012, 8(7):e1002821

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

市販の皮膚タンニング剤（セルフタンニング剤またはサンレストンニング剤）を使用する際に、土臭い（Earthy）、砂糖の焦げたにおい（Burnt sugar）などと表現される独特の不快感が伴うという問題が報告され（D. M. Hindenlang and M. E. McDonnell, Cosmetics & Toiletries magazine, 2008, Vol. 123, No. 7, p 67 - 74）、改善が求められていた。当該不快感の原因について調べたところ、皮膚タンニング剤中に含まれるジヒドロキシアセトン（DHA）よりメチルグリオキサールを経由して生成する3 - ヒドロキシ - 4 , 5 - ジメチル - 2 (5 H) - フラノン (ソトロン) が原因物質のひとつであることが解明された。このようなソトロンに起因する不快感を抑えるために、ソトロンのおいを制御することが求められている。

【0010】

一方、ソトロンは、糖蜜様芳香を有し、飲食品用の香料などとして使用することができるが、においが強すぎると逆にオフフレーバーとして働く。ソトロンのおいを適正な強度に調整して飲食品等の香気をより好ましいものとするために、ソトロンのおいを制御

10

20

30

40

50

することが求められている。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者は、ソトロンに応答することが知られている嗅覚受容体OR8D1の応答を抑制する物質が、嗅覚受容体アンタゴニズムによるマスキングにより、ソトロンによるにおいの認識を抑制することができることを見出した。

【0012】

したがって、本発明は、下記表1記載の化合物からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分とする、ソトロンによるにおいの抑制剤を提供する。

【表1】

10

1-(2, 3, 4, 7, 8, 8a-ヘキサヒドロ-3, 6, 8, 8-テトラメチル-1H-3a, 7-メタノアズレン-5-イル)-エタノン;

オキサシクロヘキサデセン-2-オン;

シトラール;

ω -6-ヘキサデセンラクトン;

2-ベンジリデンヘプタナール;

3-(4-tert-ブチルフェニル)プロパナール;

20

(5E)-3-メチルシクロペンタデセ-5-エン-1-オン;

1-(5, 6, 7, 8-テトラヒドロ-3, 5, 5, 6, 8, 8-ヘキサメチル-2-ナフタレニル)-エタノン;

7-アセチル-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8-オクタヒドロ-1, 1, 6, 7-テトラメチル-ナフタレン;

ムスコン;

【発明の効果】

30

【0013】

本発明により提供されるソトロンによるにおいの抑制剤によれば、嗅覚受容体アンタゴニズムによるマスキングにより、ソトロンによるにおいを選択的に消臭することができる。したがって、本発明により提供されるソトロンによるにおいの抑制剤は、従来の消臭剤や芳香剤を用いる消臭方法において生じていた芳香剤のにおいに基づく不快感等の問題を生じることがなく、ソトロンによるにおい、例えば、従来のセルフタンニング剤(あるいはサンレストンニング剤とも称される)を使用した際に発生していた不快臭を消臭することができる。

【図面の簡単な説明】

【0014】

40

【図1】嗅覚受容体のソトロンに対する応答。横軸は個々の嗅覚受容体、縦軸は応答強度を示す。

【図2】種々の濃度のソトロンに対する嗅覚受容体OR8D1の応答。n = 3、エラーバー = \pm SE。

【図3】各種化合物のソトロン臭抑制効果の官能評価。n = 3, エラーバー = \pm SE。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本明細書において、においに関する用語「マスキング」とは、目的のにおいを認識させなくするかまたは認識を弱めるための手段全般を指す。「マスキング」は、化学的手段、物理的手段、生物的手段、および感覚的手段を含み得る。例えば、マスキングとしては、

50

目的のにおいの原因となるにおい分子を環境から除去するための任意の手段（例えば、におい分子の吸着および化学的分解）、目的のにおいが環境に放出されないようにするための手段（例えば、封じ込め）、香料や芳香剤などの別のにおいを添加して目的のにおいを認識しにくくする方法、などが挙げられる。

【0016】

本明細書における「嗅覚受容体アンタゴニズムによるマスキング」とは、上述の広義の「マスキング」の一形態であって、目的のにおいのにおい分子と他のにおい分子をともに適用することにより、当該他のにおい分子によって目的のにおい分子に対する受容体応答を阻害し、結果的に個体に認識されるにおいを变化させる手段である。嗅覚受容体アンタゴニズムによるマスキングは、同様に他のにおい分子を用いる手段であっても、芳香剤等の、目的のにおいを別の強いにおいによって打ち消す手段とは区別される。嗅覚受容体アンタゴニズムによるマスキングの一例は、アンタゴニスト（拮抗剤）等の嗅覚受容体の応答を阻害する物質を使用するケースである。特定のにおいをもたらすにおい分子の受容体にその応答を阻害する物質を適用すれば、当該受容体の当該におい分子に対する応答が抑制されるため、最終的に個体に知覚されるにおいを变化させることができる。

10

【0017】

本明細書において、「ソトロンによるにおい」とは、ソトロン（3 - ヒドロキシ - 4 , 5 - ジメチル - 5 (2 H) - フラノン）によりもたらされるにおいであり得る。本明細書における「ソトロンによるにおい」は、代表的には、カラメル香、焦げた砂糖のにおい、またはカレー様フレーバーなどとして表現され得る。また、本明細書における「ソトロンによるにおい」は、従来のセルフタニング剤を皮膚に適用した際に発生する不快臭、より具体的には、ジヒドロキシアセトン（DHA）を含有する皮膚タニング剤を皮膚に適用したときに発生する「砂糖の焦げたにおい（Burnt sugar）」などと表現される不快臭であり得る。

20

【0018】

図1に示すとおり、本発明者は、多くの嗅覚受容体の中から嗅覚受容体OR8D1を、ソトロンに対して応答性を有する唯一の受容体として同定した。嗅覚受容体OR8D1は、ヒト嗅細胞で発現している嗅覚受容体であり、GenBankにGI:50897281として登録されている。OR8D1は、配列番号1で示される塩基配列を有する遺伝子にコードされる、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質である。

30

【0019】

図2に示すとおり、OR8D1は、ソトロンに対して濃度依存的に応答する。したがって、OR8D1の応答を抑制する物質は、嗅覚受容体アンタゴニズムに基づくマスキングにより、個体の中枢におけるソトロンによるにおいの認識に変化を生じさせ、結果として、ソトロンによるにおいを選択的に抑制することができる。

【0020】

したがって、一態様において、本発明は、嗅覚受容体OR8D1の応答を抑制する物質を有効成分とする、ソトロンによるにおいの抑制剤を提供する。本発明のソトロンによるにおいの抑制剤は、OR8D1のアンタゴニスト（拮抗剤）として働く。言い換えれば、本発明のソトロンによるにおいの抑制剤は、OR8D1のアンタゴニストを有効成分とする。したがって、本発明のソトロンによるにおいの抑制剤は、嗅覚受容体アンタゴニズムに基づくマスキングにより、個体の中枢におけるソトロンによるにおいの認識に変化を生じさせ、結果として、ソトロンによるにおいを抑制することができる。

40

【0021】

本発明によるソトロンによるにおいの抑制剤の有効成分としては、下記化合物が挙げられる：

1 - (2 , 3 , 4 , 7 , 8 , 8 a - ヘキサヒドロ - 3 , 6 , 8 , 8 - テトラメチル - 1 H - 3 a , 7 - メタノアズレン - 5 - イル) - エタノン (アセチルセドレン) ;
オキサシクロヘキサデセン - 2 - オン (ハパノリデ (登録商標)) ;
シトラール ;

50

- 6 - ヘキサデセンラクトン (アンブレットリド) ;
- 2 - ベンジリデンヘプタナール (アミルシンナミックアルデヒド) ;
- 3 - (4 - t e r t - ブチルフェニル) プロパナール (ブルゲオナール) ;
- (5 E) - 3 - メチルシクロペンタデセ - 5 - エン - 1 - オン (ムスセノン (登録商標) デルタ) ;
- 1 - (5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 3 , 5 , 5 , 6 , 8 , 8 - ヘキサメチル - 2 - ナフタレニル) - エタノン (トナリド (登録商標)) ;
- 7 - アセチル - 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 , 8 - オクタヒドロ - 1 , 1 , 6 , 7 - テトラメチル - ナフタレン (イソ・イー・スーパー) ;
- ムスコン。

10

【0022】

上記化合物は、OR8D1アンタゴニストである。当該OR8D1アンタゴニストは、ソトロンに対する嗅覚受容体OR8D1の応答を、当該アンタゴニストが存在しない場合と比べて40%以上、好ましくは50%以上、より好ましくは75%以上阻害することができる。言い換えると、当該アンタゴニスト存在下におけるソトロンに対する嗅覚受容体OR8D1の応答は、当該アンタゴニスト非存在下での当該受容体の応答の60%以下、好ましくは50%以下、より好ましくは25%以下に低減する。

【0023】

上記OR8D1アンタゴニストのうち、ソトロンによるにおいの抑制剤の有効成分として好ましいものとしては、1 - (2 , 3 , 4 , 7 , 8 , 8a - ヘキサヒドロ - 3 , 6 , 8 , 8 - テトラメチル - 1H - 3a , 7 - メタノアズレン - 5 - イル) - エタノン (アセチルセドレン) が挙げられる。

20

【0024】

本発明のソトロンによるにおいの抑制剤は、上記に挙げたOR8D1アンタゴニストからなる群より選択される少なくとも1つの化合物を有効成分として含有する。例えば、本発明のソトロンによるにおいの抑制剤の有効成分は、上記に挙げたOR8D1アンタゴニストからなる群より選択される少なくとも1つ、例えばいずれか単独もしくはいずれか2つ以上の組み合わせであり得る。好ましくは、本発明のソトロンによるにおいの抑制剤は、上記OR8D1アンタゴニストからなる群より選択される少なくとも1つから本質的に構成される。

30

【0025】

表3に示すとおり、上記OR8D1アンタゴニストは、ソトロンに対する嗅覚受容体OR8D1の応答を抑制する。当該化合物は、これまで香料素材として知られていたが、ソトロンに対する嗅覚受容体の応答をアンタゴナイズし、ソトロンによるにおいを選択的に抑制する機能があることは知られていなかった。

【0026】

上記に挙げたOR8D1アンタゴニストは、いずれも市販のものを購入することができる (「合成香料 化学と商品知識」増補改訂版、印藤元一著、化学工業日報社、2005年3月発行を参照)。例えば、Firmenich S.A.、Givaudan S.A.、International Flavors & Fragrances Inc.、高砂香料工業株式会社、花王株式会社などから入手することが可能である。

40

【0027】

本発明の別の態様において、上記に挙げたOR8D1アンタゴニストは、ソトロンによるにおい、例えば、カラメル香、焦げた砂糖のにおい、もしくはカレー様フレーバー、またはセルフタンニング剤を皮膚に適用した際もしくはジヒドロキシアセトン (DHA) を含有する製品を使用した際に発生する不快臭 (例えば、砂糖の焦げたにおい) などを抑制するための有効成分として使用され得る。

【0028】

一実施形態において、上記に挙げたOR8D1アンタゴニストは、ソトロンによるにおいを抑制するための化合物または組成物に、ソトロンによるにおいを抑制するための有効

50

成分として含有され得る。あるいは、ソトロンによるにおいの抑制剤の製造のため、またはソトロンによるにおいを抑制するための化合物もしくは組成物の製造のために使用することができる。

【0029】

一実施形態において、上記に挙げたOR8D1アンタゴニストは、ソトロンによるにおいの抑制が所望されるあらゆる化合物もしくは組成物において、またはソトロンによるにおいの抑制が所望されるあらゆる環境下において、ソトロンによるにおいの抑制のための有効成分として使用され得る。あるいは、当該OR8D1アンタゴニストは、ソトロンによるにおいの抑制のための有効成分として、ソトロンによるにおいの抑制が所望される化合物または組成物の製造のために使用することができる。ソトロンによるにおいの抑制が所望される化合物または組成物の例としては、皮膚タンニング剤（セルフタンニング剤またはサンレスタンニング剤とも称される）、例えば、発色剤としてジヒドロキシアセトン（DHA）を含有する皮膚タンニング剤および褐色反応を利用するその他の皮膚タンニング剤、ならびにその他のDHAを含有する製品が挙げられる。また、ソトロンは飲食品中に含まれる香気成分であるが、その量が多くなると、逆にオフフレーバーとして働くことがある。したがって、ソトロンによるにおいの抑制が所望される化合物または組成物の別の例としては、高濃度のソトロンによるオフフレーバーを低減することが所望される飲食品やそれら含有する組成物が挙げられる。

10

【0030】

上記ソトロンによるにおいの抑制剤、およびソトロンによるにおいを抑制するための化合物または組成物は、上記に挙げたOR8D1アンタゴニストに加えて、他の消臭効果を有する成分を、その目的に応じて適宜含有していてもよい。当該消臭効果を有する他の成分としては、化学的または物理的な消臭効果を有する公知の消臭剤が何れも使用できるが、例えば、植物から抽出された消臭有効成分（例えば、緑茶抽出物）、有機酸、各種アミノ酸およびこれらの塩、グリオキサール、酸化剤、フラボノイド類、カテキン類、ポリフェノール類、活性炭やゼオライトなどの多孔性物質、シクロデキストリン類等の包接剤、光触媒、各種マスキング剤、などが挙げられる。さらに、上記抑制剤、およびソトロンによるにおいを抑制するための化合物または組成物は、消臭剤や防臭剤に一般的に添加される任意の成分を含んでいてもよい。

20

【0031】

さらなる態様として、本発明は、ソトロンによるおいと、上記に挙げたOR8D1のアンタゴニストとを共存させる工程を含む、ソトロンによるにおいの抑制方法を提供する。

30

【0032】

一実施形態において、当該方法は、ソトロンによるにおいの存在下で、当該においの認識の抑制を必要とする個体、好ましくは嗅覚受容体アンタゴニズムによるマスキングによるソトロンによるにおいの認識の抑制を必要とする個体に、上記に挙げたOR8D1アンタゴニストからなる群より選択される少なくとも1つを適用して、ソトロンによるおいと当該アンタゴニストとを共存させる。それによって、OR8D1と当該アンタゴニストが結合して、ソトロンに対するOR8D1の応答が抑制されるので、嗅覚受容体アンタゴニズムによるマスキングが生じ、ソトロンによるにおいが抑制される。当該方法において好ましいOR8D1アンタゴニストは、上述したソトロンによるにおいの抑制剤の場合と同様である。

40

【0033】

上記本発明の方法において、上記個体は哺乳類であれば特に限定されないが、好ましくはヒトである。より詳細には、本発明の方法における、ソトロンによるにおいの認識の抑制を必要とする個体の例としては、皮膚タンニング剤（あるいは、セルフタンニング剤またはサンレスタンニング剤）、より具体的には例えば、発色剤としてジヒドロキシアセトン（DHA）を含有する皮膚タンニング剤もしくは褐色反応を利用するその他の皮膚タンニング剤を使用するヒト、その他のDHAを含有する製品を使用するヒト、および飲食品

50

からのソトロンによるにおいの低減を所望するヒトが挙げられる。

【0034】

上記本発明の方法の一実施形態において、上記OR8D1アンタゴニストは、ソトロンを含有する化合物または組成物に配合される。これによって、当該化合物または組成物に含まれるソトロンに対する嗅覚受容体の応答を低下させ、個体におけるソトロンによるにおいの認識を抑制し、結果としてソトロンによるにおいを抑制する。また別の実施形態において、上記OR8D1アンタゴニストは、ソトロンを生成する可能性のある化合物または組成物に配合される。これによって、当該化合物または組成物から生成されたソトロンに対する嗅覚受容体の応答を低下させ、個体におけるソトロンによるにおいの認識を抑制し、結果としてソトロンによるにおいを抑制する。ソトロンを生成する可能性のある化合物または組成物の例としては、皮膚タンニング剤、例えば、発色剤としてジヒドロキシアセトン(DHA)を含有する皮膚タンニング剤、褐色反応を利用するその他の皮膚タンニング剤、およびその他のDHAを含む製品が挙げられる。

10

【0035】

本発明の例示的实施形態として、さらに以下の組成物、製造方法、用途あるいは方法を本明細書に開示する。但し、本発明はこれらの実施形態に限定されない。

【0036】

<1>上記表1記載の化合物からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分とする、ソトロンによるにおいの抑制剤。

【0037】

<2>ソトロンによるにおいの抑制のための、上記表1記載の化合物からなる群より選択される少なくとも1種の使用。

20

【0038】

<3>ソトロンによるにおいの抑制剤の製造のための、上記表1記載の化合物からなる群より選択される少なくとも1種の使用。

【0039】

<4>ソトロンによるにおいの抑制に使用するための、上記表1記載の化合物からなる群より選択される少なくとも1種の化合物。

【0040】

<5>ソトロンによるにおいと、上記表1記載の化合物からなる群より選択される少なくとも1種とを共存させることを含む、ソトロンによるにおいの抑制方法。

30

【0041】

<6>上記<1>~<5>において、好ましくは、上記表1記載の化合物からなる群より選択される少なくとも1種は、1-(2,3,4,7,8,8a-ヘキサヒドロ-3,6,8,8-テトラメチル-1H-3a,7-メタノアズレン-5-イル)-エタノンである。

【実施例】

【0042】

以下、実施例を示し、本発明をより具体的に説明する。

【0043】

実施例1 ソトロンに応答する嗅覚受容体の同定

40

1) ヒト嗅覚受容体遺伝子のクローニング

ヒト嗅覚受容体はGenBankに登録されている配列情報を基に、human genomic DNA female(G1521:Promega)を鋳型としたPCR法によりクローニングした。PCR法により増幅した各遺伝子をpENTRベクター(Invitrogen)にマニュアルに従って組込み、pENTRベクター上に存在するNotI、AscIサイトを利用して、pME18Sベクター上のFlag-Rhoタグ配列の下流に作成したNotI、AscIサイトへと組換えた。

【0044】

2) pME18S-ヒトRTP1Sベクターの作製

50

ヒト受容体輸送タンパク質、RTP1Sをコードする遺伝子(GenBank GI: 50234917)をpME18SベクターのEcoRI、XhoIサイトへ組込んだ。

【0045】

3) 嗅覚受容体発現細胞の作製

ヒト嗅覚受容体400種をそれぞれ発現させたHEK293細胞を作製した。表2に示す組成の反応液を調製しクリーンベンチ内で15分静置した後、96ウェルプレート(BD)の各ウェルに添加した。次いで、HEK293細胞(3×10^5 細胞/cm²)を100μLずつ各ウェルに播種し、37℃、5%CO₂を保持したインキュベータ内で24時間培養した。

【0046】

【表2】

OPTI-MEM (GIBCO)	50 μL
ヒト嗅覚受容体遺伝子 (N末端にFlag-Rho タグが付加された pME18S ベクターに組み込まれたもの)	0.075 μg
pGL4.29 (fluc2P-CRE-hygro, Promega)	0.03 μg
pGL4.75 (hRluc-CMV, Promega)	0.03 μg
pME18S-ヒトRTP1Sベクター	0.03 μg
lipofectamine 2000 (Invitrogen)	0.4 μL

【0047】

4) ルシフェラーゼアッセイ

HEK293細胞に発現させた嗅覚受容体は、細胞内在性のGsと共役シアデニル酸シクラーゼを活性化することで、細胞内cAMP量を増加させる。本研究でのソトロン応答測定には、細胞内cAMP量の増加をホタルルシフェラーゼ遺伝子(fluc2P-CRE-hygro)由来の発光値としてモニターするルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイを用いた。また、CMVプロモータ下流にウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子を融合させたもの(hRluc-CMV)を同時に遺伝子導入し、遺伝子導入効率や細胞数の誤差を補正する内部標準として用いた。

上記3)で作製した培養物から、培地を取り除き、CD293培地(Invitrogen)で調製したソトロン(1mM)を含む溶液を75μL添加した。細胞をCO₂インキュベータ内で2.5時間培養し、ルシフェラーゼ遺伝子を細胞内で十分に発現させた。ルシフェラーゼの活性測定には、Dual-GloTMLuciferase assay system(Promega)を用い、製品の操作マニュアルに従って測定を行った。ソトロンの刺激により誘導されたホタルルシフェラーゼ由来の発光値を、ソトロンの刺激を行わない細胞での発光値で割った値をfold increaseとして算出し、応答強度の指標とした。

【0048】

5) 結果

本実施例で400種類の嗅覚受容体についてソトロン(1mM)に対する応答を測定した結果、ソトロンに反応することが既に報告されている(非特許文献1)嗅覚受容体OR8D1が、ソトロンに対して反応を示した。一方、他の嗅覚受容体はソトロンに対して反応しなかった(図1)。

【0049】

実施例2 ソトロンに対するOR8D1の濃度依存的応答

実施例1と同様の手順で、嗅覚受容体OR8D1(GenBank GI: 50897281、配列番号2)をヒトRTP1SとともにHEK293細胞に発現させ、種々の濃度のソトロン(0、3、10、30、100、300、1000、および3000μM)

10

20

30

40

50

に対する応答の濃度依存性を調べた。その結果、OR8D1は、ソトロンに対して濃度依存的な応答を示した(図2)。

【0050】

実施例3 OR8D1アンタゴニストの同定

228種類の試験物質について、嗅覚受容体OR8D1のソトロン応答に対するアンタゴニスト活性を調べた。

実施例2と同様の手順で、嗅覚受容体OR8D1を発現させたHEK293細胞に、ソトロン(100μM)と試験物質(100μM)を添加して嗅覚受容体の応答を測定し、試験物質添加による受容体応答の変化を評価した。

試験物質による受容体応答の阻害率は、以下のとおり算出した。ソトロン単独での刺激により誘導されたホタルルシフェラーゼ由来の発光値(X)を、同じ受容体を導入しソトロン刺激を行わなかった細胞での発光値(Y)で引き算し、ソトロン単独刺激による受容体活性(X-Y)を求めた。同様に、ソトロンと試験物質の混合物での刺激による発光値(Z)を、ソトロン刺激を行わない細胞での発光値(Y)で引き算し、試験物質存在下での受容体活性(Z-Y)を求めた。以下の計算式により、ソトロン単独刺激による受容体活性(X-Y)に対する、試験物質存在下での受容体活性(Z-Y)の低下率を算出し、試験物質による受容体応答阻害率を求めた。測定では、独立した実験を二連で複数回を行い、各回の実験の平均値を得た。

阻害率(%) = { 1 - (Z - Y) / (X - Y) } × 100

その結果、10種類の試験物質では、OR8D1のソトロン応答に対する阻害率が40%以上になり(応答を60%以下に抑制)、OR8D1に対するアンタゴニスト活性を有することが示された(表3)。

【0051】

【表3】

阻害率 75%以上 (応答を 25%以下に抑制: 非常に強いアンタゴニスト)	1-(2,3,4,7,8,8a-ヘキサヒドロ-3,6,8,8-テトラメチル-1H-3a,7-メタノアズレン-5-イル)-エタン (アセチルセドレン)
阻害率 50%以上 (応答を 50%以下に抑制: 強いアンタゴニスト)	オキサシクロヘキサデセン-2-オン(ノバノリド(登録商標)) シトラール ω-6-ヘキサデセンラクトン(アンプレットリド) 2-ベンジリデンヘプタナール(アミルシンナミックアルデヒド) 3-(4-tert-ブチルフェニル)プロパナール(ブルゲオナール) (5E)-3-メチルシクロヘンタデセ-5-エン-1-オン(ムスセノン(登録商標)デルタ) 1-(5,6,7,8-テトラヒドロ-3,5,5,6,8,8-ヘキサメチル-2-ナフタレン)-エタン(トナリド(登録商標)) 7-アセチル-1,2,3,4,5,6,7,8-オクタヒドロ-1,1,6,7-テトラメチル-ナフタレン(イソ・イー・スーパー)
阻害率 40%以上 (応答を 60%以下に抑制: 弱いアンタゴニスト)	ムスコン

【0052】

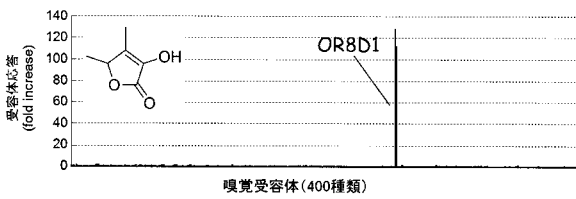
実施例4 OR8D1アンタゴニストのソトロン臭抑制能の評価

実施例3で同定したOR8D1に対するアンタゴニスト活性を有する試験物質のソトロン臭抑制能を、官能試験により確認した。

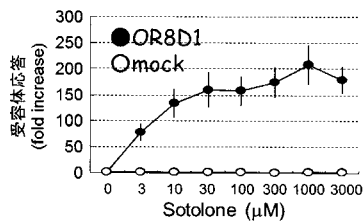
ソトロン(1%)を含む生地0.5gに香料0.5μLを添加したものを嗅ぎ、香料を賦香していない生地に対するソトロン臭の強さを評価した。官能評価試験はパネラー3名で行い、ソトロン臭を強く感じる場合を1、ソトロン臭を全く感じない場合を5とし、評価を行った。

その結果、実施例3でOR8D1のソトロン応答を抑制することが示された10種類の試験物質は、全てソトロン臭を抑制した(図3)。

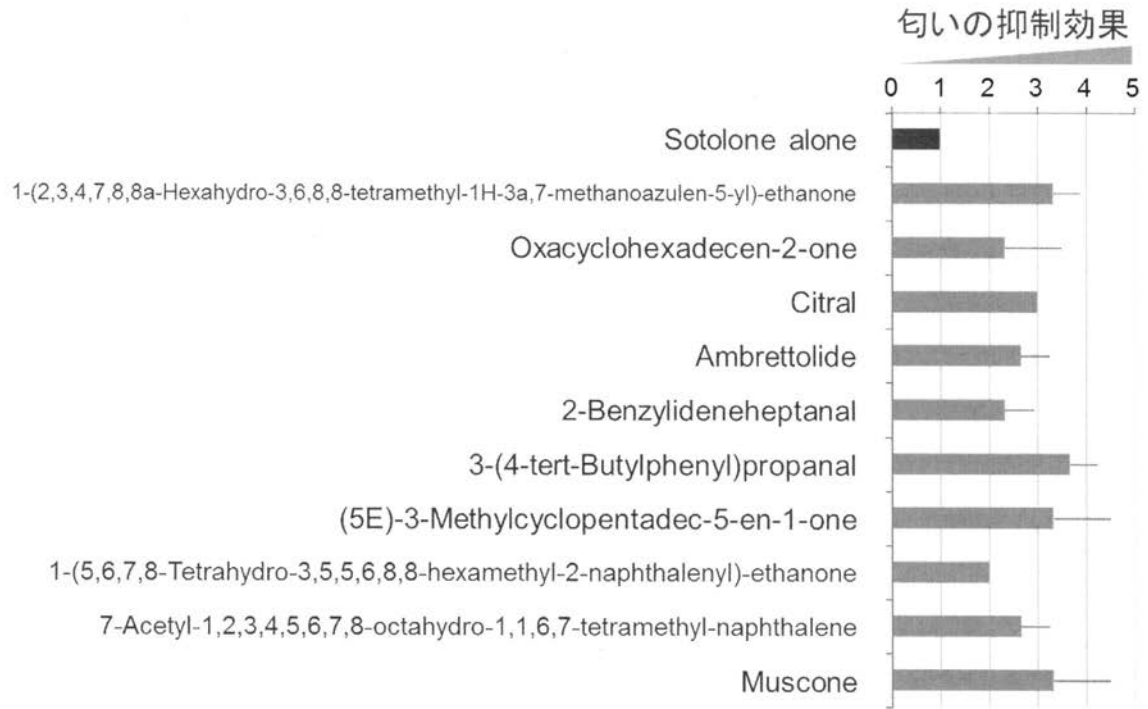
【図1】



【図2】



【 図 3 】



【 配列表 】

[2015081237000001.app](#)

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01) C 1 2 N 15/00 Z N A A

(72)発明者 難波 綾
栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内

(72)発明者 齋藤 菜穂子
栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内

(72)発明者 井上 道晶
アメリカ合衆国 4 5 2 1 4 オハイオ州 シンシナティ スプリング グローブ アベニュー
2 5 3 5 K A O U S A 内

(72)発明者 鳥谷部 剛
東京都墨田区文花 2 - 1 - 3 花王株式会社研究所内

F ターム(参考) 4B024 AA11 BA63 CA02 DA03 EA04
4C083 AC211 AC212 AC841 AC842 CC19 EE18 KK02