

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：84407

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K15802

研究課題名（和文）マトリックスライブラリの構築と医薬品成分含有健康食品の前処理法標準化への応用

研究課題名（英文）Construction and Application of the Matrix Library for Standardization of Pretreatment Method for Health Food Products Containing Pharmaceutical Ingredients

研究代表者

武田 章弘（Takeda, Akihiro）

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・主任研究員

研究者番号：00622755

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：医薬品成分を違法に配合した健康食品が流通し、そのような健康食品を摂取したことによる健康被害が発生している。健康食品にはマトリックスが多く、配合されている医薬品成分を見落とす危険性がある。本研究では健康食品を分析する際に現れるマトリックスに関する情報を集約した「マトリックスライブラリ」を作成することを考えた。そこで期間内に81試料の健康食品を分析し、329種類のマトリックス成分を確認し、それぞれ4種類の前処理法での除去率をマトリックスライブラリにまとめた。また、添加回収試験によりマトリックスライブラリの有用性を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コーヒーや、ハチミツなど食品そのものに医薬品成分が配合される事例が近年増加している。そのため、過去に経験のないマトリックスによる分析の妨害を受けるため、日常分析の手法では対応できず、前処理法を適宜検討する必要があった。前処理法の情報とマトリックスの分析データをまとめたマトリックスライブラリにより、複雑な予備検討を必要とせず、最適な前処理法を開発することが可能となり、健康食品中の医薬品成分を誤りなく検出及び定量できることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：Health foods illegally containing pharmaceutical ingredients have been distributed, and health hazard have occurred as a result of ingesting such health foods. Health foods contain many matrices, and there is a risk of overlooking the pharmaceutical ingredients contained in them. In this study, we considered creating a “matrix library” that consolidates information on the matrices that appear when analyzing health foods. Therefore, we analyzed 81 samples of health foods, identified 329 matrices, and compiled the removal rates of each matrix by for different pretreatment methods into a matrix library. In addition, the usefulness of the matrix library was confirmed through addition-recovery test.

研究分野：分析化学

キーワード：いわゆる健康食品 医薬品成分 QuEChERS法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

健康食品には法律上の定義はなく、健康の維持・増進に役立つものとして販売・利用される食品として取り扱われる。そのため、健康食品に医薬品成分を配合して販売することは認められていない。しかしながら、効果を高めるために医薬品成分を違法に配合した健康食品が流通しており、このような健康食品は医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律上の無承認無許可医薬品として取り締まりの対象となる。このような無承認無許可医薬品による健康被害も発生しており、死亡例も報告されている<sup>1)</sup>。

健康食品に違法に配合される医薬品成分はシルデナフィルなどの強壮系の医薬品成分やシブトラミンなどの痩身系の医薬品成分など多岐にわたり、どのような医薬品成分が配合されているか分からない。また医薬品成分を配合した健康食品にはサプリメントのような錠剤やカプセル剤のような形態だけでなく、ハチミツや飴など嗜好品や加工食品のような形態をとる製品が報告されている<sup>2)</sup>。そのような形態をとった健康食品には医薬品成分を分析するうえで妨害となるマトリックスが多く、解析が困難になり、配合されている医薬品成分を見落とす危険性がある。さらに薬用ハーブなどの植物や動物由来の原料が含まれており、このような原料のマトリックスも分析の障害となっている。

### 2. 研究の目的

医薬品成分の含有が疑われる健康食品の分析時に医薬品成分を誤りなく検出できるようにするために、本研究では健康食品中に含まれているマトリックスに注目し、健康食品を分析する際に現れるマトリックスに関する情報を集約した「マトリックスライブラリ」を作成することを考えた。マトリックスライブラリには健康食品を液体クロマトグラフィー-フォトダイオードアレイ検出器(LC-PDA)で分析したときに検出されたマトリックスの保持時間と各種の前処理法による除去率の情報を集約することにした。医薬品成分の含有が疑われるが、医薬品成分と同じ保持時間にマトリックスに由来するピークによる妨害があった場合、このマトリックスライブラリから医薬品成分は除去されることなくマトリックスのみを除去できる前処理法を検索して適用することで、健康食品中の医薬品成分を誤りなく検出できることが期待できる。

### 3. 研究の方法

#### (1) 医薬品成分の分析条件の検討

医薬品成分シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィルを十分な保持時間で検出できる LC-PDA の分析条件の設定を試み、0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 mg/mL の範囲で直線性を確認した。

#### (2) 医薬品成分の熱分解の確認

近年では規制から逃れるためにカプセル剤皮に医薬品成分を混ぜ込んだ健康食品が確認されている<sup>3,4)</sup>。カプセル剤皮から医薬品成分を抽出するときにカプセル剤皮を 60 で加熱し溶解させる必要があることから、医薬品成分を 60 で加熱したときの熱分解を確認した。医薬品成分をアセトニトリルで溶解した標準原液の一部を分取し、風乾してアセトニトリルを留去したのちに水に溶かした。この水溶液を水浴で 60、5 分間加熱し、加熱前と加熱後の水溶液を LC-PDA で分析し、医薬品成分の回収率を算出した。

#### (3) 前処理法の設定

前処理法は QuEChERS 法を参考に設定した。分散固相抽出で用いる固相担体にはシリカゲルにオクタデシル基が結合した担体( )、グラファイトカーボンブラック( )、シリカゲルに第 1 級第 2 級アミンであるエチレンジアミン-N-プロピル基が結合した担体( )、シリカゲルにジルコニア及びオクタデシル基が結合した担体( ) の 4 種類を用いた。対象の医薬品成分をアセトニトリルで溶解した標準原液に対して前処理法として QuEChERS 法及びそれぞれの固相担体による分散固相抽出で処理し、前処理法を実施した場合と実施しなかった場合を比較して、前処理法による医薬品成分の回収率を算出した。

#### (4) マトリックスライブラリの作成

マトリックスライブラリの作成にはデータベース管理システム SQLite 3(version : 3.35.5)を用いた。健康食品 81 試料を設定した前処理法で処理した溶液を試料溶液として LC-PDA で分析した。出現したピークのうち保持時間が 5 分以降でピーク面積が 100000 以上のピークの成分をマトリックスとしてマトリックスライブラリに前処理法、分析条件、保持時間、ピーク面積と共に登録した。マトリックスの吸収スペクトルは LC のスペクトルライブラリに登録した。別の試料で新たに検出されたピークの吸収スペクトルをスペクトルライブラリから検索し、ヒットしなければ新たなマトリックスとして同様にマトリックスライブラリに登録、吸収スペクトルをスペクトルライブラリに登録した。

#### (5) 添加回収試験

錠剤状の健康食品に医薬品成分シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィルを添加し、添加回収試験を行った。前処理法を行ったときと行わなかったときの各医薬品成分のピーク面積から各医薬品成分の回収率を算出した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 医薬品成分の分析条件の検討

アダマンチル基を官能基とするカラムを用い、0.1%ギ酸水溶液、0.1%ギ酸含有アセトニトリルを移動相としてグラジエント溶離を設定した。設定した分析条件で分析したところシルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィルの保持時間はそれぞれ24、30、21分であり、0.005、0.01、0.02、0.04、0.08 mg/mLの範囲で直線性を確認したところ、全ての医薬品成分において相関係数は1.0000で良好な直線性が得られた。

##### (2) 医薬品成分の熱分解の確認

医薬品成分シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィルを60、5分間加熱したときの回収率はそれぞれ96.2、113.4、95.9%であり、3成分いずれも60での加熱による熱分解は確認されなかった。

##### (3) 前処理法の設定

分散固相抽出で用いた固相担体ごとの医薬品成分の回収率を算出したところ、分散固相抽出で用いた固相担体が、の場合、医薬品成分3成分全て除去されることはなかった。対して、固相担体がの場合、医薬品成分3成分全てが除去される結果となった。固相担体がの場合、シルデナフィル及びバルデナフィルは約50%が除去されたが、タダラフィルは除去されなかった。

##### (4) マトリックスライブラリの作成

81 試料の健康食品を前処理法で処理して得られた試料溶液を分析したところ、329種類のマトリックス成分を確認し、マトリックスライブラリに登録した。この329種類のマトリックス成分について、分散固相抽出を行わなかったときのピーク面積に対する分散固相抽出を行ったときのピーク面積の割合を固相担体によるマトリックスの残存率として算出した。結果、マトリックスの除去のみで評価すると及びの固相担体が200種類以上の健康食品中のマトリックス成分を100%除去でき、良好な固相担体であった。しかしながら、の固相担体は医薬品成分3種類全ても除去してしまったことから、医薬品成分の含有が疑われる健康食品の前処理には有用ではなかった。対しての固相担体は健康食品中のマトリックス成分を多く除去し、かつ医薬品成分を除去することはなかったことから、健康食品の前処理に有用な固相担体であることが分かった。

##### (5) 添加回収試験

分散固相抽出を行わなかったときの医薬品成分シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィルの回収率はそれぞれ、96.6、102.5、109.3%であった。マトリックスライブラリから試験に用いた健康食品のマトリックスを検索したところ、バルデナフィルの保持時間付近にピークが出現するマトリックスが含まれることが分かった。このマトリックスはの固相担体による分散固相抽出で除去できることもマトリックスライブラリから明らかとなったので、の固相担体による分散固相抽出を行った同様の添加回収試験を行った。結果、医薬品成分シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィルの回収率はそれぞれ94.9、100.0、96.9%となり、バルデナフィルを除去することなくピークの重なったマトリックスのみを除去できたことで正確に回収率を算出することができた。

#### <引用文献>

- 1)Moriyasu T. et al., Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P.H. 2003, 54, 69-73
- 2)Fukiwake T. et al., Food Hyg. Saf. Sci. 2021, 62 (2), 65-72
- 3)Bastiaan J. et al., Forensic Sci. Int. 2012, 214, e20-e22
- 4)Doi T. et al., J. Pharm. Biomed. Anal. 2018, 161, 61-65

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------