

関西学院大学 研究成果報告

2024年 9月 30日

関西学院大学 学長殿

所属：理工学研究科
職名：博士研究員
氏名：浦上 千藍紗

以下のとおり、報告いたします。

研究制度	☐ 特別研究期間 ☐ 自由研究期間 ☐ 大学共同研究 ☐ 個人特別研究費 ☒ 博士研究員 ※国際共同研究交通費補助については別様式にて作成してください。
研究課題	高機能シス型アスタキサンチンエステル製剤の実用化研究
研究実施場所	関西学院大学 神戸三田キャンパス 7号館3階 橋本秀樹研究室
研究期間	2024年 4月 1日 ~ 2024年 9月 30日 (6 ヶ月)

◆ 研究成果概要 (2,500字程度)

上記研究課題に即して実施したことを具体的に記述してください。

アスタキサンチンは、『抗酸化（抗炎症）活性』、『ミトコンドリア調整作用』といった2つの作用を有し、加齢性疾患予防や免疫機能調整作用が動物レベルで、高齢者の筋力改善や認知機能改善作用が臨床レベルで報告されている。一方、現在市場に流通しているアスタキサンチン製剤は、体内吸収性が極めて低い *trans* 型であるため、その効果が十分に発揮されておらず、その物性から加工効率も悪いことが課題である。この問題の解決には『高吸収化』『加工効率の向上』をすることが最も合理的である。これまでに、アスタキサンチンの『*cis* 型』への異性化による高吸収化が達成されている。しかし、これまで検討してきたのはフリー体のアスタキサンチン（アスタキサンチンの水酸基に脂肪酸が結合していない）であり、その食経験の乏しさから食品用途として市場にはほとんど流通していない。また、*cis* 型アスタキサンチンは稀有で工業的生産がなされていない。よって、長い食経験があり安全性の高いアスタキサンチンエステルから異性化と製剤化を行う必要がある。従って、本研究の目的は『高吸収性の、安価で、安全な *cis* 型アスタキサンチンエステル製剤を供給することにより、上記社会的課題を解決する』ことである。

フリー体のアスタキサンチンにおいて異性化反応が進行することが確認されている処理方法（熱、光、触媒添加）が、エステル体アスタキサンチンに適用可能か検証し、異性化の基本特性を明らかにする必要がある。得られた知見を活用して、*cis* 型リッチなアスタキサンチンエステルを調製し、加えて、異性化に伴うアスタキサンチンエステルの物性（溶解度、結晶）

変化の基本特性を把握する。

現在、国際的なアスタキサンチンの分析方法では、HPLC法が採用されている。しかし、*cis*型の吸光係数は暫定的に設定されており、正確でない。アスタキサンチンは異性体同士で検出感度（極大吸収波長）が異なることから、単一波長での既存の分析では正確に定量することが出来ない。また、熱や触媒処理により多くの異性体種が生じるが、同定されているのは主要な異性体のみであり、未同定の異性体が多く存在する。さらに、異性体同士の構造は非常に似ているため、HPLC法においてピークの分離が不十分である。この問題点に対しまず、各異性体を厳密に分離できるHPLC分析条件を見出す。その条件を基に、分取HPLCを用いて各異性体を単離・精製し、定量NMRを用いて、各異性体の厳密な感度係数の設定と分析法バリデーションを実施する。これらの目標に対して、本期間では、定量NMR法を用いたアスタキサンチンの主要異性体（13-*cis*体、9-*cis*体、all-*trans*体）の定量方法について検討し、従来の手法よりも簡便な定量方法を見出した。従来の方法で定量する場合、大量の試料が必要になり、さらに複数回測定する必要がある。アスタキサンチンに限らず、カロテノイドの異性体は不安定なものが多く、大量に高純度の試料を収集することは容易ではない。そこで、我々は定量測定がすでになされており、安定して大量に入手できる、all-*trans*体を*cis*異性体と混合させた溶液を用いて測定することを考えた。All-*trans*体という基準物質を同時に測定することで、NMRのピーク強度を比較することは容易になり、各異性体の混合比がわかっていれば、定量化が可能な方法を見出した。現在、熱異性化によるアスタキサンチンの*cis*異性体の生成法の確立とシリカゲルカラムを用いた順相HPLCでのアスタキサンチンの*cis*異性体の単離方法の確立し、*cis*異性体の大量調製を行っている。また、¹H-NMR測定が可能となったので、各異性体の¹H-NMRスペクトルの測定を開始している。異性体の新規分析方法として、市販のHPLCポンプ、HPLCカラムと現有の光ファイバースコープラマン分光計測システムとを組み合わせ、インラインHPLCラマン分光計測装置を試作した。この装置を用いて、アスタキサンチンの*cis*・*trans*異性体をHPLC分析しながらリアルタイムで共鳴ラマンスペクトルの取得を行った。このようにHPLC分析装置とラマン分光測定装置を直接接続させることで、各異性体の「分取」という行程が必要なくなり、より簡便に多くの情報を取得することが可能になった。さらに、HPLCラマン分光計測システムに関する特許申請を行った。また、各異性体の物性を評価するために、時間分解吸収分光計測に供する予定にしていた。そのため、アスタキサンチン主要異性体の単離と安定性の評価を行った。具体的には、熱異性化により生成したアスタキサンチンの*cis*・*trans*異性体の順相シリカゲルカラムを用いたHPLCにより分離する方法を開拓した。ダイードアレイ型光検出器を用いてHPLCの各ピークの吸収スペクトルを測定することで、アスタキサンチンの主要異性体のピークを同定した。さらに、生成した*cis*異性体の安定性に関して評価した。9-*cis*型に関しては十分な安定性が確認されたが、13-*cis*型は不安定であることが分かったので、低温での測定等を用いて測定による試料の劣化を防ぐ手段を講じる必要があることがわかった。

【特許申請】

出願整理番号：2024-06、特許出願日：2024年9月13日（金）、特許出願番号：特願2024-158939

【学会発表】

1. 「ラマンプローブの軽量・小型化による、ラマン分光測定の汎用性の拡大」（チュートリアル講演）、浦上千藍紗、長田陸、橋本秀樹、2024年度カロテノイド若手の会、2024年9月13日、弘前大学
2. アポ-リコペンアル類の生成とその同定、永谷玲温、浦上千藍紗、橋本秀樹、第36回カロテノイド研究談話会、2024年9月14～15日、弘前大学
3. インラインHPLC-ラマン分光測定装置によるカロテノイド異性体の調査、長田陸、浦上千藍紗、金宣姫、本田真己、西田康弘、橋本秀樹、第36回カロテノイド研究談話会、2024年9月14～15日、弘前大学
4. In-line HPLC-Raman Spectroscopy of Astaxanthin Isomers, Riku Nagata, Seonjoen Kim, Chiasa Urugami, Ruohan Tao, Yasuhiro Nishida, Masaki Honda and Hideki Hashimoto, 2nd-AOICP, 18th -21st Sept. 2024, Kobe

以上

提出期限：研究期間終了後2ヶ月以内

※個人特別研究費：研究費支給年度終了後2ヶ月以内 博士研究員：期間終了まで

提出先：研究推進社会連携機構（NUC）

※特別研究期間、自由研究期間の報告は所属長、博士研究員は研究科委員長を経て提出してください。

◆研究成果概要は、大学ホームページにて公開します。研究遂行上大学ホームページでの公開に支障がある場合は研究推進社会連携機構までご連絡ください。