

(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2015-166326

(P2015-166326A)

(43) 公開日 平成27年9月24日(2015.9.24)

(51) Int.Cl.		F 1	テーマコード (参考)	
A61K	36/18 (2006.01)	A 61 K	35/78	C 4C086
A61K	36/00 (2006.01)	A 61 K	35/78	X 4C088
A61P	37/08 (2006.01)	A 61 K	35/78	Y
A61P	1/00 (2006.01)	A 61 P	37/08	
A61P	1/14 (2006.01)	A 61 P	1/00	

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-41533 (P2014-41533)	(71) 出願人	504300066 株式会社 ハリマ漢方製薬 大阪府大阪市淀川区宮原4丁目1番45号
(22) 出願日	平成26年3月4日 (2014.3.4)	(71) 出願人	591045471 アピ株式会社 岐阜県岐阜市加納桜田町1丁目1番地
		(74) 代理人	100077012 弁理士 岩谷 龍
		(72) 発明者	国仙谷 良男 奈良県奈良市大宮町4丁目303-1-6 O 4
		(72) 発明者	播磨 章一 大阪府大阪市淀川区宮原4丁目1番45号 F ターム (参考) 4C086 AA04 EA10 NA20 ZA66 ZA70 ZB13 ZC33
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】ティーサポニン類および／またはフロラティアサポニン類の製造方法

(57) 【要約】

【課題】茶花からティーサポニン類および／またはフロラティアサポニン類を高含量かつ高収率で抽出する工業的有利な方法を提供する。

【解決手段】茶花をエタノール濃度が35容量%以上、60容量%未満であるエタノール含有水溶液で抽出し、抽出液からティーサポニン類および／またはフロラティアサポニン類を採取することを特徴とする、ティーサポニン類および／またはフロラティアサポニン類の製造方法。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

茶花をエタノールの濃度が35容量%以上、60容量%未満であるエタノール含有水溶液で抽出し、抽出液からティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類を採取することを特徴とする、ティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類の製造方法。

【請求項 2】

エタノール含有水溶液におけるエタノールの10容量%以下がn-プロパノールで置き換えられている請求項1記載の製造方法。

【請求項 3】

エタノール含有水溶液におけるエタノールの10容量%以下がアセトンで置き換えられている請求項1または2記載の製造方法。

【請求項 4】

抽出が炭酸ガスを用いるバブリング条件下に行なわれることを特徴とする、請求項1～3のいずれかに記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、茶花をエタノール含有水溶液で抽出し、抽出液からティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類を採取することを特徴とする、ティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類の製造方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

ツバキ科 (Theaceae) 植物ツバキ属 (Camellia L.) に属するチャ (Camellia sinensis、別名Thea sinensis) は、本来、熱帯および亜熱帯性の植物であるが、インド、スリランカ、インドネシア、中国および日本などアジアにおいて広く自生または栽培されている常緑樹である (特許文献1)。

【0003】

上記チャを基源植物とする通常チャまたはアッサムチャと称される植物の花部 (以下、茶花と略称する) の抽出物が抗アレルギー活性、腸運動亢進作用、腸閉塞又は便秘の予防もしくは改善作用、膵リパーゼ活性阻害作用、遊離脂肪酸産生抑制作用および抗肥満又は高脂血症予防作用 (特許文献2～4) を有するため、健康食品、サプリメント、医薬等製造原料として、有用であることが知られている。

【先行技術文献】**【特許文献】****【0004】**

【特許文献1】特開2006-70018号公報

【特許文献2】特開2009-57365号公報

【特許文献3】特開2006-70018号公報

【特許文献4】特開2008-24654号公報

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0005】**

茶花からティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類の工業的に有利な抽出方法について、種々の提案があるが、未だに工業的な製造方法として満足できるものはない。

【0006】

すなわち、特許文献4には、茶花の抽出溶媒について水あるいは低級脂肪族アルコールまたはそれらの混液が挙げられており、抽出効率の観点から、水と低級アルコールの混液については含水率が30容量%までの含水アルコールが推奨されている。

10

20

30

40

50

【0007】

しかしながら、60容量%以上のアルコール類、即ち、含水率が30容量%までの含水アルコールを含む含水率が40容量%までの含水アルコールは引火しやすく、危険であるという重大な欠陥を有する（危険物の規制に関する規則第1条の3第4項2号参照）。

【0008】

本発明者らは、上記課題を解決するために、鋭意検討を重ねた結果、意外にもエタノール濃度が35容量%以上、60容量%未満であるエタノール含有水溶液は、80容量%エタノール含有水溶液とは異なり、消防法上の危険性が存在しないにも拘わらず、抽出効率は80容量%エタノールと同等またはそれ以上の抽出効率を示すという、当業者にとって全く予想外の新知見を得た。

10

【0009】

さらに、本発明者らは、上記新知見において、エタノール含有水溶液におけるエタノールの一部をn-プロパノールおよび/またはアセトンと置き換えることにより、抽出効率がさらに上昇するという顕著な効果を見出した。この場合における、n-プロパノールおよびアセトンの含有量は、通常10容量%以下である。

【0010】

また、上記本発明特有のエタノール含有水溶液による、ティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類の抽出を炭酸ガスを用いたバブリング条件下で行なうことにより、さらに抽出効率が上昇するという予期できない効果を奏するという新知見を得た。

20

【0011】

本発明者らは、これら驚くべき新知見を得た後、さらに研究を続けることによって、本発明を完成させた。

【課題を解決するための手段】**【0012】**

すなわち、本発明は、

[1] 茶花をエタノール濃度が35容量%以上、60容量%未満であるエタノール含有水溶液で抽出し、抽出液からティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類を採取することを特徴とする、ティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類の製造方法、

[2] エタノール含有水溶液におけるエタノールの10容量%以下がn-プロパノールで置き換えられている[1]記載の製造方法、

[3] エタノール含有水溶液におけるエタノールの10容量%以下がアセトンで置き換えられている[1]または[2]記載の製造方法、および

[4] 抽出が炭酸ガスを用いるバブリング条件下に行なわれることを特徴とする、[1]～[3]のいずれかに記載の製造方法に関する。

30

【発明の効果】**【0013】**

本発明によれば、ティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類を含有する抽出物が高含量、高収率かつ安全で工業的有利に製造できる。

40

【発明を実施するための形態】**【0014】**

本発明において、用いられるチャ花とは、ツバキ科(Theaceae)植物ツバキ属(Camellia L.)に属するチャ(Camellia sinensis、別名Thea sinensis)の花部、すなわち、雌しべ、雄しべ、花弁、萼、苞葉、花軸、花柄等を含むいわゆる花、花芽および蕾などを意味する。

【0015】

本発明において、通常チャまたはアッサムチャと称される植物の花部は、採取したものそのまま、または乾燥して用いることができる。これらの花部を、さらに粉碎、破碎、切断またはすり潰し等の処理に付して用いることができる。抽出効率の観点からは、これらの花部を抽出処理前に上記の処理に付すのが好ましい。所望により、これらの乾燥、冷

50

凍、発酵させたものでも良い。

【0016】

なお、通常、上記のチャは、主として2変種、すなわち、いわゆる緑茶製造に適する中国種var. sinensisおよび紅茶製造に適するアッサム種var. assamica (Mast.) Kitamに、またはこれらの雑種に分類されるが、本発明におけるチャ花の原料としては、ツバキ科ツバキ属に属するものであれば、どのようなものでもよく、上記のいずれかに限定されるものではない。

【0017】

本発明の抽出溶媒に関して、ティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類の抽出効率の観点から、抽出溶媒であるエタノール含有水溶液のエタノール濃度の下限値については、35容量%以上含有するものであれば良く、好ましくは40容量%以上含有するものであり、より好ましくは45容量%以上含有するものである。

10

【0018】

また、抽出溶媒のエタノール濃度の上限値は60容量%未満であることが好ましく、55容量%以下であることがより好ましい。エタノール濃度が60容量%以上であれば、引火しやすく、危険であり、さらに消防法2条7項で定められる危険物として取り扱わなければならず(危険物の規制に関する規則第1条の3第4項2号)、防爆装置および防爆施設等が必要となるため、生産工場の設備に多大なコストが要求され、工業生産上、不適格である。

20

【0019】

さらに、上記抽出溶媒中のエタノールの一部をn-プロパノールおよび/またはアセトンで置換することが好ましく、こうすることにより、ティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類を高収率で高純度、かつ、より選択的に抽出することができる。

【0020】

抽出溶媒中のn-プロパノールおよび/またはアセトンとして、それらのそれが上記エタノールの0.5~10容量%以下を置換することが好ましく、1~8容量%以下であることがより好ましく、2~5容量%以下であることがさらにより好ましい。

【0021】

また、抽出が炭酸ガスを用いるバブリング条件下に行なわれることによって、フロラティアサポニン類、特にフロラティアサポニンAおよびDを、より選択的に抽出することができる。炭酸ガスのバブリングによって、抽出溶媒における炭酸ガス濃度を常に飽和状態に保つのが良い。

30

【0022】

本発明における、抽出溶媒として使用されるエタノール含有水溶液は、水、エタノール、アセトン、n-プロパノール以外に例えばジオキサン、ジエチルエーテル、酢酸エチルなど適宜の抽出媒体を含んでいても良い。

【0023】

なお、抽出は、熱時または室温で行うことができ、抽出温度は、室温と溶媒の沸点の間で任意に設定できる。熱時抽出の場合、例えば、50~抽出溶媒の沸点の温度で、振盪(または攪拌)下もしくは非振盪下または還流下に、チャ花の花部を上記の抽出溶媒に浸漬することによって行うのが適当である。抽出材料を振盪下に浸漬する場合には、30分間~5時間程度行うのが適当であり、非振盪下に浸漬する場合には、1時間~20日間程度行うのが適当である。また、抽出溶媒の還流下に抽出するときは、30分~数時間加熱還流するのが好ましい。

40

【0024】

また、50より低い温度で浸漬して抽出することも可能であるが、その場合には、上記の時間よりも長時間浸漬するのが好ましい。抽出操作は、同一材料について1回だけ行っても良いが、複数回、例えば、2~5回程度繰り返すのが抽出効率の点から好ましい。

【0025】

炭酸ガスを用いるバブリング条件下とは、特に限定されるものではないが、例えば、抽

50

出溶媒を攪拌しながら、注入管により炭酸ガスをゆっくり注入し、炭酸ガスが抽出溶媒中に飽和し、抽出溶媒より、余剰の炭酸ガスが見えるまで注入する方法が好ましい。このときのpHは約4.0～5.0程度が好ましい。

【0026】

上記炭酸ガスを注入することにより、pHが注入前の5.5程度から4.0～5.0程度に低下することにより、フロラティアサポニン類のカルボン酸の乖離が抑えられ、有機溶媒層に取りこまれ易くなるため、特にフロラティアサポニンAおよびDの収率が向上すると考えられる。

【0027】

固体物を、抽出後にろ別して得られる抽出液は、常法により濃縮して抽出エキスとしても良い。濃縮は、減圧下で行うのが好ましい。濃縮は抽出液が乾固するまで行っても良い。抽出物は、粉末状または凍結乾燥品等としても良い。これらの固体物とする方法は、既に充分確立されているので、本発明において当該分野で公知の方法を採用することができる。

【0028】

したがって、本発明における抽出物とは、本発明によって製造される製造される抽出液、抽出エキス、濃縮乾固物または凍結乾燥物のいずれも意味するが、本発明による抽出物は、精製せずに医薬品等の原料としてそのまま用いることもでき、いずれの場合にも本発明の一部を構成している。

【0029】

しかしながら、本発明では、抽出液を濃縮した抽出物を、溶媒による分配抽出、すなわち、水と非水和性有機溶媒とを用いる分配抽出に単回または複数回付し、有機溶媒可溶画分と水溶性画分として分離することができる。

【0030】

非水和性有機溶媒としては、酢酸エチル、n-ブタノール、ヘキサン、クロロホルムなどが挙げられるが、中でも酢酸エチルが好ましい。すなわち、茶花の水または含水低級アルコール抽出物を濃縮して得られた抽出物を、所望により、例えば、酢酸エチルと水を用いて分配し、酢酸エチル可溶画分と水溶性画分として得ることができる。

【0031】

また、上記で得られる水溶性画分を、さらに水と非水和性有機溶媒を用いる分配抽出に付し、有機溶媒可溶画分と水溶性画分として分離することができる。

この場合の非水和性有機溶媒としては、例えば、n-ブタノール、ヘキサン、クロロホルムなどが挙げられるが、中でもn-ブタノールが好ましい。

すなわち、上記の酢酸エチルと水との分配後の水溶性画分をそのままn-ブタノールとの分配に付すか、または該水溶性画分を濃縮して得られる残渣をさらに水とn-ブタノールとの分配に付し、n-ブタノール画分と水溶性画分を得ることができる。目的物質であるティーサポニン類および/またはフロラティアサポニン類は水溶性画分に含まれる。

【0032】

分配抽出は、当該分野で通常行われる攪拌もしくは振盪分配法または液滴向流分配法などの常法に従って行うことができる。例えば、室温下、振盪下または非振盪下に、抽出エキスなどに対して、非水和性有機溶媒と水とを0.1～10倍(容量)程度(1:10～10:1(容量比))加えて行うのが適当である。

【0033】

なお、上記のアルコール抽出物および各分配抽出物は、上記のいずれの段階においても、濃縮する前後に精製処理に付すことができる。精製処理には、上記の溶媒による分配抽出以外に、当業者に公知の転溶、濃縮、凍結乾燥、結晶化、再結晶、クロマトグラフ法、イオン交換クロマトグラフ法等を単独で、または組み合わせて採用することができる。例えば、クロマトグラフ法としては、順相もしくは逆相担体またはイオン交換樹脂を用いるカラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは遠心液体クロマトグラフィー等のいずれか、またはそれらを組み合わせて行う方法が挙

10

20

30

40

50

げられる。この際の担体、溶出溶媒等の精製条件は、各種クロマトグラフィーに対応して適宜選択することができ、上記の精製処理、ティーサポニン類の化学構造、フロラティアサポニン類の化学構造は既に公知の技術水準に属する（例えば、特許第4771713、5341382、5275678、5149494号、特開2009-57365、2009-249374等参照）。具体的には、ティーサポニン類としては、例えば、ティーサポニンA、B、C等が挙げられ、フロラティアサポニン類としては、例えば、フロラティアサポニンA、B、C、D、E、F、G、I等が挙げられる。

【実施例】

【0034】

以下、本発明の茶花抽出物の製造方法を具体的に説明するが、以下の実施例は、本発明を説明するためのものであり、本発明をなんら制限するものではない。 10

【0035】

なお、実施例では、特に記載がない限り、以下の各種溶媒、クロマトグラフィー用担体およびHPLC用カラムならびに各種分析器機を用いた：

茶花：京都グレイン製、茶花

珪藻土：昭和化学工業社製 硅藻土

エタノール：ナカライトスク社製、一級

n-プロパノール：ナカライトスク社製、一級

n-ブタノール：ナカライトスク社製、一級

アセトン：ナカライトスク社製、一級

アセトニトリル：ナカライトスク社製、一級

【0036】

実施例1

茶花100gに、600mLの水および400mLのエタノールを加えて、常温で16時間攪拌した後、珪藻土10gを加えて濾過し、濾過液を得た。この液を360gになるまで60で濃縮してエタノールを除去した後、常套の凍結乾燥法により茶花抽出物の粉末を得た。 20

【0037】

実施例2

茶花100gに対し、500mLの水および500mLのエタノールを加えることとした以外は、実施例1と同様の方法で茶花抽出物の粉末を得た。 30

【0038】

実施例3

茶花100gに対し、500mLの水、450mLのエタノールおよび50mLのn-プロパノールを加えることとした以外は、実施例1と同様の方法で茶花抽出物の粉末を得た。

【0039】

実施例4

茶花100gに対し、500mLの水、450mLのエタノールおよび50mLのアセトンを加えることとした以外は、実施例1と同様の方法で茶花抽出物の粉末を得た。 40

【0040】

実施例5

茶花100gに対し、500mLの水および500mLのエタノールを加えて、二酸化炭素をバーリングさせながら、常温で16時間攪拌した以外は実験例1と同様の方法で茶花抽出物の粉末を得た。なお、上記バーリング条件下とは、上記抽出溶媒を攪拌しながら、炭酸ガスを注入管によりゆっくりと20分間注入し、炭酸ガスが抽出溶媒中に飽和し、抽出溶媒より、余剰の炭酸ガスが見えるまで注入した。なお、このときのpHは4.8であった。

【0041】

比較例1

10

20

30

40

50

茶花 100gに対し、95℃の熱水1000mLを添加し、95℃で16時間攪拌した後、珪藻土10gを加えて濾過し、濾過液を得た。この液を常套の凍結乾燥法により茶花抽出物の粉末を得た。

【0042】

比較例2

茶花100gに対し、200mLの水および800mLのエタノールを加えること以外は実施例1と同様の方法で茶花抽出物の粉末を得た。

【0043】

サポニン類含量の測定方法

上記実施例1～5および比較例1～2で得られた茶花抽出物の粉末100mgを、それぞれ5.0%含水エタノール10mLに加えて15分間超音波処理を行いながら溶解させる。これらの液を2500rpmで10分間遠心分離を行い、上澄み液を試料溶液とする。別途、ティーサポニンB標準品（神戸天然物研究所製）約2mgを精密に量り、5.0%含水エタノール20mLに溶かして標準溶液とした。試料溶液および標準溶液100μLにつき、以下の条件でHPLC分析し、標準溶液のティーサポニンBのピーク面積(As)および試料溶液のトータルサポニン（ティーサポニン類とフロラティアサポニン類の総和）のピーク面積(TalI)、フロラティアサポニン類のピーク面積(FalI)、ティーサポニン類のピーク面積(CalI)を求め、次式によりそれぞれの含量を計算する。

$$\text{トータルサポニン含量 (\%)} = (\text{TalI}/\text{As}) \times (\text{Ws}/\text{Wt}) \times 50$$

$$\text{フロラティアサポニン類含量 (\%)} = (\text{FalI}/\text{As}) \times (\text{Ws}/\text{Wt}) \times 50$$

$$\text{ティーサポニン類含量 (\%)} = (\text{CalI}/\text{As}) \times (\text{Ws}/\text{Wt}) \times 50$$

Ws : ティーサポニンB標準品の採取量(mg)

Wt : 茶花抽出物の採取量(mg)

なお、トータルサポニンのピーク面積は試料溶液の保持時間10～65分間に検出されたピークの合計面積、フロラティアサポニン類のピーク面積は試料溶液の保持時間10～25分間に検出されたピークの合計面積、ティーサポニン類のピーク面積は試料溶液の保持時間25～65分間に検出されたピークの合計面積である。

【0044】

HPLC条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：230nm）

カラム：COSMOSIL 5C18-MS-II, 4.6mmID×250mm（ナカライトック）

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相：リン酸二水素カリウム1.36gに水を加えて1000mLとし、リン酸を加えてpH2.3に調整する。この液350mLにメタノール650mLを加える。

流速：1.0mL/分

【0045】

上記試料溶液の各ピーク面積から、得られたそれぞれのサポニン類の含有量を計算して収率を以下の表1に示した。

【0046】

【表1】

	トータルサポニン	フロラティアサポニン	ティーサポニン類
実施例1	18.5%	6.8%	11.7%
実施例2	18.6%	6.6%	12.2%
実施例3	19.0%	7.3%	11.7%
実施例4	18.7%	7.0%	11.7%
実施例5	19.5%	7.8%	11.7%
比較例1	9.6%	2.9%	6.7%
比較例2	18.0%	6.9%	11.1%

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 1/10 (2006.01)	A 6 1 P	1/14
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P	1/10
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/18
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/04
A 6 1 K 31/704 (2006.01)	A 6 1 P	3/06
	A 6 1 K	31/704

F ターム(参考) 4C088 AB45 AC03 BA13 BA40 CA08 CA30 NA20 ZA66 ZA70 ZB13
ZC33