

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4266924号  
(P4266924)

(45) 発行日 平成21年5月27日(2009.5.27)

(24) 登録日 平成21年2月27日(2009.2.27)

(51) Int.Cl.		F I	
<b>A 2 3 L</b> 1/275 (2006.01)		A 2 3 L	1/275
<b>C 0 7 C</b> 403/24 (2006.01)		C 0 7 C	403/24
<b>C 0 9 B</b> 61/00 (2006.01)		C 0 9 B	61/00

請求項の数 13 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2004-511261 (P2004-511261)	(73) 特許権者	505273305
(86) (22) 出願日	平成14年11月13日(2002.11.13)		オムニアクティブ ヘルス テクノロジー ズ プライヴェート リミテッド
(65) 公表番号	特表2005-532048 (P2005-532048A)		インド、400025 ムンバイ、プラハ デヴィ、アッパサヘブ マラテ マーグ、 ラジャン ハウス
(43) 公表日	平成17年10月27日(2005.10.27)	(74) 代理人	110000040
(86) 国際出願番号	PCT/IN2002/000218		特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ
(87) 国際公開番号	W02003/104191	(72) 発明者	ザッタルパラムビル クリシュナ ダス、 スニル、クマール
(87) 国際公開日	平成15年12月18日(2003.12.18)		インド、ケララ 683 573、アンガ マリ、カナカンカダヴ ロード XV11 / 138、カンコール フレイヴァー ズ アンド エクストラクツ
審査請求日	平成17年10月4日(2005.10.4)		最終頁に続く
(31) 優先権主張番号	420 MAS 2002		
(32) 優先日	平成14年6月5日(2002.6.5)		
(33) 優先権主張国	インド (IN)		

(54) 【発明の名称】 新規 trans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物およびその調製方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

新規キサントフィルエステル濃縮物であって、  
ルテインおよびゼアキサントリン脂肪酸エステルを含有する組成物を主として含み、  
前記組成物が、90～95重量%の trans-ルテインエステル、0～5重量%の cis-  
ルテインエステルおよび3.5～6重量%のゼアキサントリンエステルを含む、新規キ  
サントフィルエステル濃縮物。

【請求項 2】

前記濃縮物における trans-ルテインエステルと cis-ルテインエステルとの比が  
、少なくとも18:1～475:1の範囲であり、  
キサントフィルエステル含有量が、60～80重量%の範囲である、請求項1に記載の新  
規キサントフィルエステル濃縮物。

【請求項 3】

キサントフィルエステル含有量が、70重量%である、請求項2に記載の新規キサントフ  
ィルエステル濃縮物。

【請求項 4】

前記ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物が、ビーズ (beadlets)、カ  
プセル、ペレット、軟こう、ソフトゼラチンカプセル錠剤、そしゃく錠およびローション  
/ 液状製品からなる群から選択される製品形態をとる、請求項1～3のいずれかに記載の  
新規キサントフィルエステル濃縮物。

## 【請求項5】

以下の工程を含む、請求項1～4のいずれかに記載されたキサントフィルエステル濃縮物の調製方法。

(a) 非キサントフィルエステル不純物とcis-ルテインエステルとその中に存在する脂質とを選択的に溶解させるために、ルテインおよびゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含むキサントフィルエステルを含む抽出物、またはオレオレジン、2-プロパノン、2-ブタノンおよび2-ペンタノンまたはそれらの混合物から選択される脂肪族ケトン性溶媒とともに、10 から30 の温度範囲で攪拌しながら混合させ、同時に生じた混合物における前記trans-ルテインエステル含有量を向上させる工程、

(b) 固体形態のtrans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物を得るために、得られた前記混合物を濾過する工程、

(c) 前記濃縮物を減圧下、室温で乾燥させる工程、

(d) 前記濃縮物の劣化を防ぐため、前記濃縮物を不活性雰囲気および気密の不透明な容器中に、20 以下の温度で保管する工程。

## 【請求項6】

使用される前記キサントフィルエステルの供給源が、マリーゴールド花抽出物である、請求項5に記載の方法。

## 【請求項7】

前記抽出物とケトン性溶媒との混合を行う温度が、15 ～30 の範囲であり、前記攪拌が、2～15時間行われる、請求項5または6に記載の方法。

## 【請求項8】

前記攪拌が、10時間行われる、請求項7に記載の方法。

## 【請求項9】

工程(a)における前記攪拌および混合が、2～15時間行われる、請求項5～7のいずれかに記載の方法。

## 【請求項10】

工程(a)における前記攪拌および混合が、10時間行われる、請求項5～7のいずれかに記載の方法。

## 【請求項11】

前記減圧乾燥の温度が、25 ～30 の温度範囲である、請求項5～10のいずれかに記載の方法。

## 【請求項12】

前記キサントフィルエステルの供給源を含むオレオレジンと(脂肪族)ケトン性溶媒とが、重量-体積比1:3～1:15の範囲で用いられる、請求項5～11のいずれかに記載の方法。

## 【請求項13】

前記得られたtrans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物が、一般的な方法により、ビーズ、カプセル、ペレット、軟こう、ソフトゼラチンカプセル、錠剤、そしやく錠、ローションおよび液状製品から選択される製品形態をとる、請求項5～12のいずれかに記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、新規trans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物およびその調製方法に関する。本発明は特に、前記キサントフィルエステルが、90-95%のtrans-ルテインエステル、0-5%のcis-ルテインエステルおよび3.5-6%のゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含む、新規trans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物を提供する。本発明の新規trans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物は、機能性食品、栄養サプリメント、食品添加物としてのヒトの食用に有用であり、飼料の染色にも有用である。機能性食品として、特に、本発明の濃縮物は、老化が原因の眼の疾患、白内障および黄斑部変性を防ぐため

10

20

30

40

50

の試薬、癌、心血管疾患等の特定疾患の発生リスクを減少する試薬として、および抗酸化剤として使用される。本発明の濃縮物は、また、優れた安定性および生物学的利用能を有する。

【0002】

本発明は、また、オレオレジン、特にマリーゴールドオレオレジンからの前記新規trans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物の調製方法を提供する。

【背景技術】

【0003】

カロチノイドは、植物に広く分布する最も豊富な種類の色素であり、ヒトの食用に非毒性であると考えられる。キサントフィルエステルは、これらカロチノイド群に属する。それらは、本来は、ジパルミチン酸塩、ジミリストート、ルテインのようなジステアリン酸塩およびゼアキサントフェンを含む、前記カロチノイドのジ-またはモノ-脂肪酸エステルである。ゼアキサントフェンエステルは、クコ(Lycium chinense)(中国スイカズラ(Chinese wolf berries))およびホオズキ(Physalis)属のようなベリ-類に含まれる色素である。ルテインエステルは、オレンジ、ピーチ、パパイヤ、マンゴー等のような果物に黄色/赤色を与える色素である。ルテインエステルは、また、多くの花の部分、特にマリーゴールド属のマリーゴールド花に存在する。キサントフィルエステルは、一般に、天然のtrans-キサントフィル異性体、および主に熱や光の悪条件が原因で形成される極微量のcis-異性体が発見されている。高純度および自然に維持されているtrans-異性体のルテインエステルは、優れた安定性および生物学的利用能であるため、ヒトの要求において使用することが好ましい。

【0004】

主に脂溶性の前記カロチノイドは、食品への応用に限界がある。ジヒドロキシ-カロチノイド(キサントフィル)、ルテインおよびゼアキサントフェンは、養鶏飼料用着色料および健康栄養サプリメントとして価値のある化合物である。キサントフィルエステルは、マリーゴールド花およびその抽出物の主な着色成分を形成している。

【0005】

マリーゴールド花は、自然界で発見されたtrans-ルテインエステルの最も豊富な供与源である。乾燥させたおよび地上に生えたマリーゴールド花は、養鶏や動物飼料の着色料として、また食品着色料として、30年以上の間、商業的に用いられている。長い間、商業的に重要な原料であるキサントフィルエステルを含むマリーゴールド抽出物を製造する出発原料として用いられてきた。この背景の参考文献は、米国特許第3,539,686号(特許文献1)、(1970)およびドイツ特許第1,224,597号(特許文献2)である。

【0006】

最近、モノ-およびジ-エステル形態である、これらや他のカロチノイドエステルは、様々な果物および野菜で自然に発生することが報告されている(D. E. Breithaupt and A. Bamedi; Journal of Agricultural Food Chemistry, Vol. 49, 2064-2070, (2001)(非特許文献1); F. Khachik, G. R. Beecher and W. R. Lusby, Journal of Argi. Food Chemistry, Vol 36, 938-946, 1988(非特許文献2))。高いtrans-ルテイン含有量であるキサントフィルエステルは、重要性が向上しており、優れた安定性および生物学的利用能で、食品において自然発生しているため好ましい(Bowen and Clark, 米国特許第6313169号、November 2001(特許文献3); Herbst et al. FASEB Journal abstract No.11, 2587, (1997)(非特許文献3); A. Subagio, H. Wakaki and N. Morita, Biosci. Biotechnol. Biochem., 63 (10), 1784-1786, (1999)(非特許文献4))。さらに、trans-ルテインの着色能力(474 nmの最大吸収)は、cis-ルテインより優れている(W.L.Hadden, R.H.Watkins, L.W.Levy, E.Regalado, D.M.Rivadeneira, R.B.van Breemen and S.J.Schwartz of J.Agricultural Food Chemistry, Vol.47, 4182-4194(1999)(非特許文献5))。

【0007】

米国特許第4,0482,03号(1997)(Phillip)(特許文献4)は、乾燥および地上に生えているマリーゴールドの花びら(1kg)を室温で石油エーテル処理することで調製したマリーゴー

10

20

30

40

50

ルド抽出物から出発する、ルテインエステルの抽出方法を記載している。前記抽出物は、減圧下、50 で溶媒を除去することによって得られた。この方法で得られたオレオレジン(65g)を、75 の熱イソプロパノールに溶解させ、不溶物質を除去するために、前記溶液を焼結ガラス漏斗を通して濾過した。前記濾液を15 まで冷却し、焼結ガラス漏斗を通した濾過により、ルテイン脂肪酸エステルの沈殿を回収した。前記エステルを、減圧下、30 で乾燥させ、ルテインエステル含有量51%である21gのルテイン脂肪酸エステルを得た。

**【0008】**

この特許において、trans-および/またはcis-異性体の含有量は、示されていない。アルカノール沈殿の高温度が原因で、かなりの量のtrans-ルテインが、ヒト栄養サプリメントとして好ましくないと考えられるcis-異性体へ変換されるとというのが我々の意見である。さらに、前記cis-異性体の着色の明暗/色調は、比較的劣っている。

10

**【0009】**

TycozkowskiおよびHamilton(Poultry Science, 70,651-654 (1991))(非特許文献6)は、遊離ルテイン(ケン化後のマリーゴールドオレオレジンから調製)とアシルクロリドとの反応による前記trans-ルテインジ-エステルの調製法を報告した。この方法では、14.70mg/gのルテインを含むマリーゴールド花びらのケン化抽出物が出発原料であった。1gの前記原料を、10mlの混合溶媒HAET(ヘキサン:アセトン:トルエン:無水アルコール=10:7:7:6)に加えた。前記混合物を十分に攪拌し、次に10mlのヘキサンを添加し、それから7mlの10%硫酸ナトリウム水溶液を添加した。1時間の静置後、上澄層を分離し、初めの量の3分の1になるまで窒素雰囲気下で凝縮し、4 で結晶が形成するまで静置した。前記結晶を濾過し、冷ヘキサンで洗浄し、再結晶を行うために温ヘキサン:アセトン(80:20v/v)の最小量に溶解させた。最終の結晶は、暗所で窒素ガス下で保管した。

20

**【0010】**

ルテインジ-エステルは、遊離ルテインとアシルクロリドとの反応によって調製された。実施例において、20 mgのルテインを15 mlピリジンに溶解させ、続いて1 mlのパルミトイルクロライド(99+)を加え、前記混合物を50 で2時間インキュベートした。反応混合物を、分液漏斗へ移し、30 mlのHAET溶液およびヘキサンを加えた。前記混合物を体積等量の10%硫酸ナトリウム水溶液( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )で2回、蒸留水で2回洗浄した。上層を無水硫酸ナトリウム( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )で乾燥させた後、前記溶媒を窒素ガス下でエバポレートし、ルテインジエステル残留物を-20 の暗所で窒素ガス下で保管した。

30

**【0011】**

この方法に基づいた合成は、会合不純物が存在し、自然発生するルテインジエステル(キサントフィルエステル)が入手不可能であるため好ましくない。したがって、前記方法から生じる生成物は、マリーゴールド花またはその抽出物のような自然の供給源からの生成されたまたは誘導された類似生成物とは等しくない。

**【0012】**

最近、Levyの米国特許第6,19,1293号(2001)(特許文献5)は、trans-キサントフィルエステル含有量が、cis-キサントフィルエステル含有量の少なくとも4倍、好ましくは、少なくとも9倍である、trans-キサントフィルエステル濃縮物の調製方法を開示している。前記特許は、キサントフィルエステルの全含有量が、少なくとも40重量%、好ましくは約55重量%以上である、キサントフィルエステル濃縮物が、そこに開示された方法によって得られることを報告している。

40

**【0013】**

前記調製方法は、植物原料からキサントフィルエステルを抽出するために、キサントフィルエステル含有植物原料を、炭化水素溶媒に十分な時間接触させる工程、前記炭化水素溶媒およびそれに溶解させた抽出物を残留植物原料から分離する工程、粗キサントフィルエステル濃縮物を得るために、溶解した抽出物から前記炭化水素溶媒をエバポレートする工程、精製trans-キサントフィルエステル濃縮物を得るために、前記粗キサントフィルエステル濃縮物をアルコール、好ましくはイソプロパノールとを、前記粗trans-キサントフ

50

イル濃縮物から非キサントフィル不純物およびcis-キサントフィルエステルを溶かすために、ほぼ外気温で混合させる工程を含む。前記米国特許で開示された発明の好ましい実施形態において、用いられた前記植物原料は、マリーゴールド花、好ましくは前記花の花冠である。

【0014】

前記特許において開示された方法は、1kgの乾燥マリーゴールド花冠(ルテインエステル含有量2.90重量%)からの8リットルのヘキサン抽出により、100 gのオレオレジンが得られる実施例が記載されている。前記オレオレジン、27.9重量%のルテインエステルおよび5:25のtrans-:cis-ルテイン異性体比(HPLCピークの高さによる)を示した。前記オレオレジン、200 gのイソプロパノールと20 で3時間攪拌し、濾過および溶媒の除去を行った後、ルテインエステル含有量が69%(吸光光度法による)およびtrans-:cis-ルテイン異性体比が90:10(HPLC法による)である、20 gのルテインエステル濃縮物を得た。

10

【0015】

前記方法において、室温での前記オレオレジン、イソプロパノールとの混合は、cis-異性体のイソプロパノールへの優先的な溶解を助け、それにより、trans-:cis-比が90:10である、trans-ルテインエステル含有量が豊富なルテインエステル濃縮物が得られる。前記方法では、室温での減圧によるイソプロパノール残留物の除去を行う。イソプロパノールが約82.5 の沸点を有するので、健康上必要性を満たすための除去は、長い時間を要し、前記方法を、時間を浪費させるものおよび困難なものとする。

【特許文献1】米国特許第3,539,686号

20

【特許文献2】ドイツ特許第1,224,597号

【特許文献3】米国特許第6,313,169号

【特許文献4】米国特許第4,0482,03号

【特許文献5】米国特許第6,191,293号

【非特許文献1】D. E. Breithaupt and A. Bamedi; Journal of Agricultural Food Chemistry, Vol. 49, 2064-2070, (2001)

【非特許文献2】F. Khachik, G. R. Beecher and W. R. Lusby, Journal of Agricultural Food Chemistry, Vol 36, 938-946, 1988

【非特許文献3】Herbst et al. FASEB Journal abstract No.11, 2587, (1997)

【非特許文献4】A. Subagio, H. Wakaki and N. Morita, Biosci. Biotechnol. Biochem., 63 (10), 1784-1786, (1999)

30

【非特許文献5】W.L.Hadden, R.H.Watkins, L.W.Levy, E.Regalado, D.M.Rivadeneira, R.B.van Breemen and S.J.Schwartz of J.Agricultural Food Chemistry, Vol.47, 4182-4194(1999)

【非特許文献6】Tycozkowski and Hamilton, Poultry Science, 70,651-654 (1991)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

高い含有量のtrans-ルテインを含むtrans-キサントフィルエステルは、優れた安定性および生物学的利用能を持つことが現在認識されている。さらに、それは、高い着色能力をも有する(474 nmでのtrans-ルテインエステルの最大吸収および468 nmでのcis-ルテインエステルの最大吸収)。したがって、現在、高い含有量のtrans-異性体を有するキサントフィルエステル濃縮物は、大きな需要があり、結果として、そのような生成物の商業的な重要性は世界的に増加している。したがって、我々は、高い含有量のtrans-異性体および極わずかなまたはわずかなcis-異性体を有するキサントフィルエステル濃縮物、および、そのような濃縮物の調製方法の開発に研究努力を向けた。

40

【課題を解決するための手段】

【0017】

したがって、本発明の主な目的は、優れた安定性および生物学的利用能を有し、機能性食品または栄養サプリメントとしてのヒトの食用、食品添加物および食品や飼料の着色に

50

も有用である、高い含有量のtrans-異性体および極わずかなまたはわずかなcis-異性体を有する新規キサントフィルエステル濃縮物を提供することである。

【0018】

本発明の他の目的は、主としてルテインおよびゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含有する組成物を含み、前記組成物が、90-95%のtrans-ルテインエステル、0-5%のcis-ルテインエステルおよび3.5-6%のゼアキサントフィルエステルを含み、機能性食品または栄養サプリメントとして、食品添加物として、ヒトの食用に有用であり、および食品や飼料の着色にも有用である、優れた安定性および生物学的利用能を有する新規trans-キサントフィルエステル濃縮物を提供することである。

【0019】

本発明のさらなる他の目的は、主としてルテインおよびゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含有する組成物を含み、前記組成物が、90-95%のtrans-ルテインエステル、0-5%のcis-ルテインエステルおよび3.5-6%のゼアキサントフィルエステルを含む、優れた安定性および生物学的利用能を有する新規trans-キサントフィルエステル濃縮物の調製方法を提供することである。

【0020】

本発明のさらなる他の目的は、主としてルテインおよびゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含有する組成物を含み、前記組成物が、90-95%のtrans-ルテインエステル、0-5%のcis-ルテインエステルおよび3.5-6%のゼアキサントフィルエステルを含み、優れた安定性および生物学的利用能を有する新規trans-キサントフィルエステル濃縮物を、マリーゴールドオレオレジンのようなオレオレジンから調製する方法を提供することである。

【0021】

本発明は、ルテインおよびゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含有する組成物を含み、キサントフィルエステル抽出物において、天然のtrans-異性体を維持することによって、また、前記cis-ルテインエステルおよび他の望ましくない不純物をそれらから選択的に除去することにより、主としてtrans-ルテインエステルを極わずかのみのcis-ルテインエステルとともに含み、望ましくない不純物を欠く、新規キサントフィルエステル濃縮物が得られたという、我々の発見に基づいて発展した。

【発明の効果】

【0022】

我々は、次に述べる方法により、90-95%のtrans-ルテインエステルを含有する、ルテインおよびゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含む、新規trans-キサントフィルエステル濃縮物が得られることを発見した。このような濃縮物は、trans-ルテインエステルの高い着色能および生物学的利用能を有する。結果として、新規濃縮物は、例えば、初めに記載されたような機能性食品として、ヒト栄養サプリメントとして、食品および動物飼料の着色料として非常に有用である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0023】

前記目的を考慮して、我々は、特定の溶媒に溶解している特定の溶質の効果を詳細に研究した。一般的に、特定の溶媒に溶解している特定の溶質の効果は、溶質の極性、溶媒の溶解パラメータ、温度、圧力、溶質と溶媒との比、混合時間等のパラメータにより左右される。我々は、2-プロパノン、2-ブタノンおよび2-ペンタノンのような脂肪族ケトン性溶媒またはそれらの混合物と、ルテインおよびゼアキサントフィル脂肪酸エステルを含有する組成物を含むキサントフィルエステルを有する抽出物とを混合した場合、cis-異性ルテインエステル、およびトリグリセリドやワックス等のような不純物が、前記溶媒に優先的に溶解し、trans-ルテインエステルが豊富な濃縮物となることを発見した。

【0024】

2-プロパノン、2-ブタノンおよび2-ペンタノンのような前記脂肪族ケトンやそれらの混合物は、非極性溶媒[ヘキサン等は約7]および極性溶媒[メタノール等は約14.5]の溶解パラメータ値の間である、約10の溶解パラメータ値を有することが文献からわかる(J A Rid

10

20

30

40

50

dick et al., Organic Solvents Tech Organic Chemistry, Voll 11,5 Edition, John Wiley and Sons,1986)。前記cis-異性体および前記不純物の前記ケトン性溶媒への唯一の優先的、選択的溶解性の理由は、前述のような溶媒の特性や、前記cis-異性体の非対称性のため、および/または、前述のような現象の相乗効果のためである。広範囲のケトン性溶媒の中からの前記ケトン性溶媒の選択は、安全性および衛生規則、処理の容易さ、商業的に考慮すべき低沸点、さらに重要な前記選択性の機能特性等のような決定的な因子に基づく。このようなケトン性溶媒は、従来、前記cis-異性体の選択的溶解に用いられていなかったことを、ここに記載する。

**【 0 0 2 5 】**

さらに、本発明は、機能性食品または食品添加物としてのヒトの食用に有用であり、食品および飼料の着色に有用である、優れた安定性および生物学的利用能を有し、主としてルテインおよびゼアキサントチン脂肪酸エステルを含有する組成物を含み、前記組成物が、90-95%のtrans-ルテインエステル、0-5%のcis-ルテインエステルおよび3.5-6%のゼアキサントチンエステルを含む、新規キサントフィルエステル濃縮物を提供する。

10

**【 0 0 2 6 】**

本発明の他の実施形態において、以下の工程を含む、前述したキサントフィルエステル濃縮物の調製方法を提供する。

(a)非キサントフィルエステル不純物とcis-ルテインエステルとその中に存在する脂質とを選択的に溶解させるために、ルテインおよびゼアキサントチン脂肪酸エステルを含有するキサントフィルエステルを含む抽出物、またはオレオレジン、2-プロパノン、2-ブタノンおよび2-ペンタノンまたはそれらの混合物から選択された脂肪族ケトン性溶媒とともに10 から30 の温度範囲で撹拌しながら混合させ、同時に生じた混合物における前記trans-ルテインエステル含有量を向上させる工程、

20

(b)固体形態のtrans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物を得るために、得られた前記混合物を濾過する工程、

(c)前記濃縮物を減圧下、室温で乾燥させる工程、

(e)前記濃縮物の劣化を防ぐため、前記濃縮物を不活性雰囲気および気密の不透明な容器中に、20 以下の温度で保管する工程。

**【 0 0 2 7 】**

本発明の好ましい実施形態において、植物原料由来のキサントフィルエステルを含む抽出物またはオレオレジンと前記ケトン性溶媒とを、重量-体積比1:3~1:15の範囲で使用した。使用する好ましいルテインおよびゼアキサントチン脂肪酸エステルを含有するキサントフィルエステルを含む、抽出物またはオレオレジンは、マリーゴールドオレオレジンである。

30

**【 0 0 2 8 】**

前記抽出物および前記ケトン性溶媒の混合を行う温度は、15 ~30 の範囲が好ましい。

**【 0 0 2 9 】**

工程(a)における撹拌の時間は、2~12時間の範囲でもよく、好ましくは約10時間である。

40

**【 0 0 3 0 】**

得られた濃縮物は、劣化を防ぐために、低温度すなわち20 以下で、不活性雰囲気および気密の不透明な容器中に適切に保存する。

**【 0 0 3 1 】**

本発明のtrans-ルテインに富むキサントフィルエステル濃縮物は、従来の方法によって、ビーズ(beadlets)、カプセル、ペレット、軟こう、ソフトゼラチンカプセル、錠剤、そしゃく錠、ローション/液状製品のような所望の製品へと変換できる。

**【 0 0 3 2 】**

本発明の詳細な説明

抽出用溶媒としてヘキサンをを用いる、商業的に生産される食品用マリーゴールドオレオ

50

レジン、本発明の方法の出発原料として使用できる。前述したマリーゴールド花(アフリカンマリーゴールド)は、キサントフィルエステルおよびその誘導体、特にtrans-ルテインエステルを得るための豊富な供給源として知られている。近年、マリーゴールド花の栽培は、主に高品質のマリーゴールド花の生産が南インドの多くの地域で増加している。約20-25%のキサントフィルエステルを含むマリーゴールドオレオレジン(oleoresin)を製造する多くの商業的な製造メーカーが存在する。

【0033】

trans-ルテインおよびcis-ルテイン含有量がそれぞれ66%および25%である、マリーゴールドオレオレジン(oleoresin)の商業的な入手/方法は、前記trans-ルテインエステル豊富なキサントフィルエステルを沈殿させるためだけでなく、不純物を除去するために、2-プロパノン、2-ブタノンまたはそれらの混合物、好ましくは2-プロパノンのようなケトン性溶媒と、15~30℃の範囲、好ましくは25℃の温度に制御して攪拌しながら混合し、続いて同じ溶媒で濾過および洗浄を行う。前記物質を、90-95%のtrans-ルテインエステル、0-5%のcis-ルテインエステルおよび3.5-6%のゼアキサントフィルエステルを含む濃縮物を得るために、外気温、減圧下で乾燥させる。

【0034】

我々は、また、得られたtrans-ルテインに富む濃縮物が、ハンター比色計(Hunter Colorimeter)で測定される高いL\*、a\*、b\*値によって確認される、目視外観が改善されたことを観測した。

【0035】

本発明の方法によると、我々は、報告された4:1~9:1および41~69重量%の値(Levy 米国特許第 6,191,293, (2001))と比較して、少なくともtrans-:cis-ルテイン異性体比が18:1であり、キサントフィルエステル含有量が60-80重量%である濃縮物を調製できた。我々はまた、cis-異性体が完全に除去されたtrans-キサントフィルエステル濃縮物を調製できた。

【0036】

本発明の新規キサントフィルエステル濃縮物は、劣化を防ぐために、不活性雰囲気および気密の不透明な容器中に20℃以下の温度で保存する。

【0037】

本発明の詳細は、本発明のみを例示するために単独で提供される以下の実施例で得られ、したがって、本発明の範囲を限定する構成にすべきでない。

【0038】

この文脈において、得られた試料におけるキサントフィルエステル全含有量およびそのtrans-およびcis-異性体のような異性体構成の直接的な分析について確立もしくは推奨された方法は、存在しないことが述べられている。この困難性は、エステル濃縮物がルテインおよびゼアキサントフィルエステルの様々な脂肪酸エステルの混合物であり、HPLCでは簡単に分離できないという事実のためである。さらに、これらエステルの純粋品または標準試料は、いわゆる化学製造業者から入手できない。

【0039】

したがって、最も広く用いられる方法論は、初めに、前記エステル濃縮物の加水分解、分光光度計を用いた溶液のアリコート(air coat)の色の474nmでの測定、およびキサントフィル含有量として同じように表わすことからなる。この値から、キサントフィルエステル含有量は、係数2をかけることによって算出される。

【0040】

前記試料溶液の后者のアリコートは、ルテインのtrans-およびcis-異性体とゼアキサントフィルエステルの割合を得るために、順相HPLCにより分析される。前記各異性体の割合は、前記濃縮物のエステル形態成分の割合と一致する。

【0041】

以下の実施例において、我々は、前述のキサントフィルエステル含有量、cis-およびtrans-ルテインエステル含有量の測定方法を用いた。我々は、また、本発明の新規濃縮物を

10

20

30

40

50



明らかにすると同時に、trans-とcis-ルテインとの比を計算する前述のHPLC法により、trans-およびcis-異性体の相対割合を評価した。

【実施例1】

【0042】

HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサントフィンの割合がそれぞれ64.24、23.46および4.16であり、キサントフィルエステル含有量が21.80重量%である、計量されたマリーゴールドオレオレジン(180g)を、三角フラスコ(1000ml)へ移し、続いて720 mlの2-プロパノンを加えた。これを温度調整攪拌器を用いて15 ~ 25 で5~10時間攪拌した。2時間ごとに試料を抜き出して、濾過し、乾燥させた沈殿物のエステル含有量およびtrans-:cis-比をHPLCによって分析した。最後に、所望の純度を達成する場合、プフナー漏斗を通して前記沈殿物を含む溶液の濾過を行い、前記沈殿物を外気温で減圧乾燥器で乾燥させた。

10

【0043】

得られた濃縮物の収量は18.19 g(収率10.10%)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析は、64.02重量%のキサントフィルエステル含有量を示した。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによりそれぞれtrans-ルテイン90.38、cis-ルテイン3.85およびゼアキサントフィン4.43の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

【実施例2】

【0044】

キサントフィルエステル含有量が21.38重量%であり、HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサントフィンの割合がそれぞれ65.59、24.61および5.08である、157 gの商業用グレードのマリーゴールドオレオレジン、三角フラスコ(1000ml)へ移し、540 mlの2-プロパノンと共に15 ~ 25 で10時間攪拌した。2時間ごとに試料を抜き出して、濾過し、乾燥させた沈殿物のエステル含有量およびtrans-:cis-比をHPLCによって分析した。最後に、所望の純度を達成する場合、プフナー漏斗を通して前記沈殿物を含む溶液の濾過を行い、前記沈殿物を外気温で減圧乾燥器で乾燥させた。

20

【0045】

得られた濃縮物の収量は17.2 g(収率10.95%)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析は、62.60重量%のキサントフィルエステル含有量を示した。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによりそれぞれtrans-ルテイン92.20、cis-ルテイン2.33およびゼアキサントフィン4.40の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

30

【実施例3】

【0046】

実験は、キサントフィルエステル含有量が22.12重量%であり、HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサントフィン含有量の割合がそれぞれ67.05、22.98および4.50である、180gの商業用グレードのマリーゴールドオレオレジンを用いて行われ、これを三角フラスコ(100ml)へ移した。これに720 mlの2-プロパノンを加え、前記混合物を15 で10時間攪拌した。沈殿ケーキを濾過し、再度350mlの2-プロパノンを加え、約25 の温度を保持しながら2~3時間攪拌することでさらに精製を行った。最後に、濾過および乾燥後に得られた濃縮物は、17.40g(収率9.67%)であった。前記キサントフィルエステル含有量は、474 nmで測定した吸光光度法での分析により70.58%であった。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLC分析によりそれぞれtrans-ルテイン92.47、cis-ルテイン2.32およびゼアキサントフィン4.31の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

40

【実施例4】

【0047】

キサントフィルエステル含有量が23.10重量%であり、HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサントフィンの割合がそれぞれ67.23、22.08および5.18である、商業規

50

模のスケールの製造バッチから得られた100 gのマリーゴールドオレオレジンを用いた。これをtrans-ルテインに富むキサントフィルエステルを沈殿するためだけでなく、不純物を除去するために、2-プロパノンと混合させ、15 ~ 28 の温度で三角フラスコ中で撹拌した。混合物を濾過し、洗浄した。濃縮物を減圧下、室温で乾燥させた。

【 0 0 4 8 】

前記濃縮物の収量は、14.10g(収率14.10 %)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析は、61.18重量%のキサントフィルエステル含有量を示した。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによりそれぞれtrans-ルテイン93.50、cis-ルテイン1.56およびゼアキサニン4.17の割合を示した。

【 0 0 4 9 】

得られた生成物は、150ml(2回)の同様のケトン性溶媒、すなわち2-プロパノンで処理し、15 ~ 25 の温度で5~10時間の撹拌を行うことでさらに精製した。得られた混合物を濾過し、洗浄した。収量は9.65g(9.65%)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析は、66.32重量%のキサントフィルエステル含有量であった。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによってそれぞれtrans-ルテイン94.57、cis-ルテイン 0.00およびゼアキサニン4.45の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

【実施例 5】

【 0 0 5 0 】

キサントフィルエステル含有量が23.06%であり、HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサニンの割合がそれぞれ68.14、20.77および5.18である、マリーゴールドオレオレジン(102 g)を計量した。このオレオレジンを三角フラスコ(1000ml)へ移し、続いて720 mlの2-プロパノンを加えた。これを、温度調整撹拌器を用いて15 ~ 25 で5~10時間撹拌した。2時間ごとに試料を抜き出して、濾過し、乾燥させた沈殿物のエステル含有量およびtrans-:cis-比をHPLCによって分析した。最後に、所望の純度を達成する場合、プフナー漏斗を通して前記沈殿物を含む溶液の濾過を行い、前記沈殿物を外気温で減圧乾燥器で乾燥させた。

【 0 0 5 1 】

得られた濃縮物の収量は14.77 g(14.48 %)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析は、61.60%のキサントフィルエステル含有量を示した。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによりそれぞれtrans-ルテイン92.03、cis-ルテイン1.95およびゼアキサニン5.34の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

【実施例 6】

【 0 0 5 2 】

キサントフィルエステル含有量が23.10%であり、HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサニンの割合がそれぞれ67.23、22.08および5.18である、計量されたマリーゴールドオレオレジン(150.3 g)を、三角フラスコ(1000 ml)へ移し、続いて750 mlの2-プロパノンを加えた。これを温度調整撹拌器を用いて15 ~ 25 で5~10時間撹拌した。2時間ごとに試料を抜き出して、濾過し、乾燥させた沈殿物のエステル含有量およびtrans-:cis-比をHPLCによって分析した。最後に、所望の純度を達成する場合、プフナー漏斗を通して前記沈殿物を含む溶液の濾過を行い、前記沈殿物を外気温で減圧乾燥器で乾燥させた。

【 0 0 5 3 】

得られた濃縮物の収量は20.10g(13.37 %)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析は、59.26%のキサントフィルエステル含有量を示した。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによりそれぞれtrans-ルテイン92.71、cis-ルテイン1.40およびゼアキサニン5.11の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

【実施例 7】

## 【0054】

キサントフィルエステル含有量が23.10%であり、HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサントフィンの割合がそれぞれ67.23、22.08および5.18である、計量されたマリーゴールドオレオレジン(30.80 g)を、三角フラスコ(500 ml)へ移し、続いて125 mlの2-ブタノンを加えた。この混合物を温度調整攪拌器を用いて15 ~ 25 で5~10時間攪拌した。2時間ごとに試料を抜き出して、濾過し、乾燥させた沈殿物のエステル含有量およびtrans-:cis-比をHPLCによって分析した。最後に、所望の純度を達成する場合、プフナー漏斗を通して前記沈殿物を含む溶液の濾過を行い、前記沈殿物を外気温で減圧乾燥器で乾燥させた。

## 【0055】

得られた濃縮物の収量は3.12 g(収率10.13%)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析は、46.98重量%のキサントフィルエステル含有量を示した。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによりそれぞれtrans-ルテイン92.33、cis-ルテイン3.09およびゼアキサントフィン3.72の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

## 【実施例8】

## 【0056】

キサントフィルエステル含有量が23.10%であり、HPLCによるtrans-ルテイン、cis-ルテインおよびゼアキサントフィンの割合がそれぞれ67.23、22.08および5.18である、計量されたマリーゴールドオレオレジン(30.28 g)を、三角フラスコ(500 ml)へ移し、続いて125 mlの等量の2-プロパノンおよび2-ブタノンを含む混合物を加えた。これを、温度調整攪拌器を用いて15 ~ 25 で5~10時間攪拌した。2時間ごとに試料を抜き出して、濾過し、乾燥させた沈殿物のエステル含有量およびtrans-:cis-比をHPLCによって分析した。最後に、所望の純度を達成する場合、プフナー漏斗を通して前記沈殿物を含む溶液の濾過を行い、前記沈殿物を外気温で減圧乾燥器で乾燥させた。

## 【0057】

得られた濃縮物の収量は4.34 g(収率14.35%)であり、474nmで測定する吸光光度法による分析、46.82重量%のキサントフィルエステル含有量を示した。このキサントフィルエステル濃縮物は、HPLCによりそれぞれtrans-ルテイン92.68、cis-ルテイン2.81およびゼアキサントフィン3.83の割合を示した。目視試験において、この濃縮物は、黒褐色であった出発原料と比較して朱色への改善が見られた。

## 【0058】

本発明で開示された広域スペクトルの範囲内に入る、全ての可能な論理的改変をカバーすることが、我々の目的であり、したがって、本発明はそのような改変をカバーする。

## 【産業上の利用可能性】

## 【0059】

本発明の有利な点

本発明の濃縮物は、その天然形態において向上した安定性および生物学的利用能を示す、90~95%のtrans-ルテインエステルを有する。本発明において請求された方法から得られる、本発明の濃縮物のtrans-ルテイン異性体とcis-ルテイン異性体との比が少なくとも18:1~475:1の範囲、または、前記cis-ルテイン異性体が存在しない生成物は、明らかに立証でき、先行技術における発明や商業における一般的なものよりもかなり改善されたものである。

## 【0060】

本発明の濃縮物は、機能的食品または食品添加物としてのヒトの食用に適しており、また、食品および飼料材料の着色に適している。

## 【0061】

本発明の濃縮物は、必要に応じて、従来の方法によってピーズ、カプセル、ペレット、軟こう、ソフトゼラチンカプセル、そしゃく錠、ローション/液状製品等の製品に転換できる。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

審査官 飯室 里美

(56)参考文献 特表2002-512256(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)

A23L 1/275

C07C 403/24

C09B 61/00

WPIDS(STN)