

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4849865号
(P4849865)

(45) 発行日 平成24年1月11日(2012.1.11)

(24) 登録日 平成23年10月28日(2011.10.28)

(51) Int.Cl.

C O 7 D 311/62

(2006.01)

F 1

C O 7 D 311/62

請求項の数 5 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2005-302713 (P2005-302713)	(73) 特許権者	591014972
(22) 出願日	平成17年10月18日(2005.10.18)		株式会社 伊藤園
(65) 公開番号	特開2007-112717 (P2007-112717A)		東京都渋谷区本町 3-47-10
(43) 公開日	平成19年5月10日(2007.5.10)	(74) 代理人	100108833
審査請求日	平成19年7月11日(2007.7.11)		弁理士 早川 裕司
		(74) 代理人	100112830
			弁理士 鈴木 啓靖
		(72) 発明者	一谷 正己
			静岡県牧之原市女神21番地 株式会社伊藤園内
		(72) 発明者	瀧原 孝宣
			静岡県牧之原市女神21番地 株式会社伊藤園内
		(72) 発明者	国本 浩喜
			石川県金沢市太陽が丘二丁目131番地
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非エピ体カテキン類の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

β-シクロデキストリンが存在する溶媒中でエピ体カテキン類を加熱することにより、前記エピ体カテキン類を異性化して非エピ体カテキン類とすることを特徴とする非エピ体カテキン類の製造方法。

【請求項2】

前記溶媒には、前記シクロデキストリンが溶解していることを特徴とする請求項1に記載の非エピ体カテキン類の製造方法。

【請求項3】

前記溶媒が水であることを特徴とする請求項1または2に記載の非エピ体カテキン類の製造方法。

【請求項4】

前記溶媒中での加熱を、pH4.5～7の条件下で行うことを特徴とする請求項3に記載の非エピ体カテキン類の製造方法。

【請求項5】

前記エピ体カテキン類がエピガロカテキンガレートであり、前記非エピ体カテキン類がガロカテキンガレートであることを特徴とする請求項1～4のいずれかに記載の非エピ体カテキン類の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

【0001】

本発明は、エピ体カテキン類の異性化による非エピ体カテキン類の製造方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

茶葉中に多く含まれている非エピ体カテキン類、特にガロカテキンガレートには強いコレステロール吸収抑制作用の生理活性があることが報告されており、新たな機能性食品素材として注目されている。

【0003】

茶葉または茶抽出物からガロカテキンガレートを製造する方法としては、

(1) 水溶液中でpHまたは温度を調整して、エピガロカテキンガレートの熱異性化を促進する方法（非特許文献1）

(2) 茶飲料製造時の加熱殺菌工程において、エピガロカテキンガレートの熱異性化反応を促進する方法（非特許文献2、3）

(3) 茶葉または茶飲料をオートクレーブにより加熱、加圧処理することにより、エピガロカテキンガレートの熱異性化反応を促進する方法（非特許文献4）

等が知られている。

【非特許文献1】Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. Seto, -R.; Nakamura, -H.; Nanjo, -F.; Hara, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. Volume 61, Issue 9, September 1997, p.1434-1439.

【非特許文献2】Journal of Food Composition and Analysis, Volume 17, Issue 5, October 2004, p.675-685

【非特許文献3】末松伸一ほか、「緑茶飲料缶詰の嗜好性に及ぼす飲用温度と成分の影響」、日本食品化学学会誌、1994年、41巻、p.272-276

【非特許文献4】「オートクレーブ処理した茶葉および茶ドリンクのカテキン成分」、日本食品化学学会誌、2004年9月、11巻、2号、p.99-102

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、上記(1)～(3)の方法では、エピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率が最大で56%程度であり、異性化によって得られるガロカテキンガレートの収率および純度は高くなかった。

【0005】

本発明は、このような問題に鑑みてなされたものであり、エピ体カテキン類から非エピ体カテキン類を簡便に高収率・高純度で得ることのできる非エピ体カテキン類の製造方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

上記目的を達成するために、第1に本発明は、エピ体カテキン類を有機溶媒中で加熱することにより、前記エピ体カテキン類を異性化して非エピ体カテキン類とすることを特徴とする非エピ体カテキン類の製造方法を提供する。

【0007】

上記発明においては、熱異性化により生じた非エピ体カテキン類が有機溶媒中にて安定化し、非エピ体カテキン類の酸化重合、加水分解、逆異性化反応等の化学変化が抑制されることにより、非エピ体カテキン類の残存率が高くなり、結果的に非エピ体カテキン類が高収率・高純度で得られると考えられる。

【0008】

上記発明において、前記有機溶媒はアルコール類であることが好ましく、前記アルコール類はメタノール、エタノールおよび2-プロパノールからなる群から選ばれる少なくとも1種であることが好ましい。

【0009】

第2に本発明は、 β -シクロデキストリンが存在する溶媒中でエピ体カテキン類を加熱することにより、前記エピ体カテキン類を異性化して非エピ体カテキン類とすることを特徴とする非エピ体カテキン類の製造方法を提供する（発明1）。

【0010】

上記発明（発明1）においては、エピ体カテキン類の熱異性化によって生じた非エピ体カテキン類は、シクロデキストリン内部に包接され、エピ体カテキン類への逆異性化が防止されるため、異性化平衡は非エピ体カテキン類生成の方向へと移動し、その結果、非エピ体カテキン類が高収率・高純度で得られる。

【0011】

上記発明（発明1）において、前記溶媒には、前記シクロデキストリンが溶解していることが好ましい（発明2）。また、上記発明（発明1、2）において、前記溶媒は水であることが好ましく（発明3）、その場合、前記溶媒中での加熱を、pH 4.5～7の条件下で行うことが好ましい（発明4）。

【0012】

上記発明（発明1～4）においては、前記エピ体カテキン類がエピガロカテキンガラートであり、前記非エピ体カテキン類がガロカテキンガラートであることが好ましい（発明5）。本発明では、特にこの場合に熱異性化を効果的に行い、ガロカテキンガラートを高収率・高純度で得ることができる。

【発明の効果】

【0013】

本発明の非エピ体カテキン類の製造方法によれば、エピ体カテキン類から非エピ体カテキン類を簡便に高収率・高純度で得ることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

本発明は、エピ体カテキン類を熱異性化して非エピ体カテキン類とすることにより、非エピ体カテキン類を製造するものである。エピ体カテキン類としては、エピカテキン（EC）、エピガロカテキン（EGC）、エピカテキンガラート（ECg）およびエピガロカテキンガラート（EGCg）が挙げられ、非エピ体カテキン類としては、カテキン（C）、ガロカテキン（GC）、カテキンガラート（Cg）およびガロカテキンガラート（GCg）が挙げられるが、本発明では、特にエピガロカテキンガラート（EGCg）を熱異性化してガロカテキンガラート（GCg）とすることが好ましく、特にその熱異性化を効果的に行うことができる。

【0015】

以下、本発明の実施形態について詳細に説明する。

〔第1の実施形態〕

第1の実施形態では、エピ体カテキン類を有機溶媒中で加熱することにより、エピ体カテキン類を異性化して非エピ体カテキン類とする。

【0016】

非エピ体カテキン類は、有機溶媒中において、水溶液中と比較して安定であることから、上記のようにエピ体カテキン類を有機溶媒中で熱異性化すると、熱異性化により生じた非エピ体カテキン類が安定化し、非エピ体カテキン類の酸化重合、加水分解、逆異性化反応等の化学変化が抑制されて、非エピ体カテキン類の残存率が高くなり、結果として異性化率が高くなると考えられる。

【0017】

有機溶媒としては、アルコール類、ケトン類、エステル類、エーテル類等を使用することができるが、中でもアルコール類を使用することが好ましい。アルコール類としては、メタノール、エタノール、エチレングリコール、グリセロール、プロパノール、2-プロパノール、ブタノール、t-ブタノール等の炭素数1～4のものを使用することができ、それらの中でもメタノール、エタノールおよび2-プロパノールが好ましく、特にエタノ

10

20

30

40

50

ールが好ましい。有機溶媒としてエタノールを使用することにより、極めて高い異性化率を達成することができる。なお、上記アルコール類は、1種を単独で使用することもできるし、2種以上を混合して使用することもできる。

【0018】

有機溶媒中におけるエピ体カテキン類の初期濃度は、0.1～30質量%とすることが好ましく、特に0.1～2質量%とすることが好ましい。エピ体カテキン類をかかると濃度に設定することにより、エピ体カテキン類を効率良く異性化することができる。

【0019】

加熱温度は、80～180℃が好ましく、特に100～130℃が好ましい。加熱温度が上記範囲内にあることにより、エピ体カテキン類を効率良く異性化することができる。

10

【0020】

加熱は、常圧加熱および加圧加熱のいずれをも含むものである。すなわち、熱異性化は常圧下で行ってもよいし、加圧下で行ってもよい。その圧力は、 $1 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$ Paであることが好ましく、特に $1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$ Paであることが好ましい。

【0021】

加熱時間は、5～180分であることが好ましく、特に60～150分であることが好ましい。加熱時間が5分未満では、エピ体カテキン類を十分に異性化することができず、また、加熱時間が180分を超えると、エピ体カテキン類の異性化率が頭打ちになることが多い。

【0022】

20

以上のようにしてエピ体カテキン類を異性化して非エピ体カテキン類が生成した反応溶液を、冷却後に水で希釈し、高速液体クロマトグラフィー等にかけることにより、非エピ体カテキン類を得ることができる。エピ体カテキン類の非エピ体カテキン類への異性化率は、70%以上となり得る。このようにして、本実施形態によれば、エピ体カテキン類から非エピ体カテキン類を簡便に高収率・高純度で得ることができる。

【0023】

〔第2の実施形態〕

第2の実施形態では、シクロデキストリンが存在する溶媒中でエピ体カテキン類を加熱することにより、エピ体カテキン類を異性化して非エピ体カテキン類とする。

【0024】

30

シクロデキストリンとしては、 β -シクロデキストリン、分岐 β -シクロデキストリンおよび化学修飾 β -シクロデキストリンからなる群から選ばれる少なくとも1種のシクロデキストリンを使用する。化学修飾 β -シクロデキストリンとしては、例えば、メチル化、ヒドロキシプロピル化、アセチル化された β -シクロデキストリン等が挙げられる。

【0025】

上記シクロデキストリンは、非エピ体カテキン類を包接する性質を有するため、エピ体カテキン類の熱異性化によって生じた非エピ体カテキン類は、シクロデキストリン内部に包接され、エピ体カテキン類への逆異性化が防止される。そのため、この異性化平衡は、全体として非エピ体カテキン類生成の方向へと移動し、結果として非エピ体カテキン類を高い収率で得ることができる。

40

【0026】

上記シクロデキストリンによる非エピ体カテキン類の包接を効率良く行うためにも、シクロデキストリンは溶媒に溶解していることが好ましい。シクロデキストリンが溶解可能な溶媒としては、水、アセトン、ピリジン、テトラヒドロフラン、エチレングリコール、プロピレングリコール、ジメチルスルホキシド、ホルムアミド、ジメチルホルムアミド等が挙げられるが、特に、安全性や環境への負荷の点から水が好ましい。

【0027】

溶媒中におけるシクロデキストリンの量は、エピ体カテキン類の初期量に対して0.1倍モル～10倍モルであることが好ましく、特に等モル～5倍モルであることが好ましい。シクロデキストリンの量がエピ体カテキン類の0.1倍モル未満であると、十分な量の

50

非エピ体カテキン類を包接できないおそれがあり、また、シクロデキストリンの量がエピ体カテキン類の10倍モルを超えると、エピ体カテキン類の異性化率は頭打ちになることが多い。

【0028】

溶媒として水を使用する場合には、上記エピ体カテキン類の熱異性化をpH4.5～7の条件下で行うことが好ましく、特にpH5～6の条件下で行うことが好ましい。かかるpHの調整は、例えば、McIlvaine緩衝液、ホウ酸緩衝液、クエン酸緩衝液等を使用して行うことができる。ただし、純水にエピ体カテキン類を後述する濃度で溶解させると、pH4.8～5.5を示すため、溶媒として純水を使用することもできる。

【0029】

溶媒中におけるエピ体カテキン類の初期濃度は、0.1～20質量%とすることが好ましく、特に0.5～2質量%とすることが好ましい。エピ体カテキン類をかかると濃度に設定することにより、エピ体カテキン類を効率良く異性化することができる。

【0030】

加熱温度は、80～180℃が好ましく、特に100～130℃が好ましい。加熱温度が上記範囲内にあることにより、エピ体カテキン類を効率良く異性化することができる。

【0031】

加熱は、常圧加熱および加圧加熱のいずれをも含むものである。すなわち、熱異性化は常圧下で行ってもよいし、加圧下で行ってもよい。その圧力は、 $1 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$ Paであることが好ましく、特に $1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$ Paであることが好ましい。

【0032】

加熱時間は、5～120分であることが好ましく、特に30～90分であることが好ましい。加熱時間が5分未満では、エピ体カテキン類を十分に異性化することができず、また、加熱時間が120分を超えると、エピ体カテキン類の異性化率が頭打ちになることが多い。

【0033】

以上のようにしてエピ体カテキン類を異性化して非エピ体カテキン類が生成した反応液を、冷却後に水で希釈し、高速液体クロマトグラフィー等にかけることにより、非エピ体カテキン類を得ることができる。エピ体カテキン類の非エピ体カテキン類への異性化率は、70%以上となり得る。このようにして、本実施形態によれば、エピ体カテキン類から非エピ体カテキン類を簡便に高収率・高純度で得ることができる。

【実施例】

【0034】

以下、実施例等により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例等に限定されるものではない。

【0035】

〔実施例1〕

エピガロカテキンガレート5.0mgを含む水溶液5mLに、 β -シクロデキストリン61.95mgを添加した。得られた水溶液のpHは5.4であった。この水溶液を反応容器に供給して密封し、120℃で90分間加熱した。このとき、反応容器内の圧力は 1.2×10^5 Paであった。

【0036】

その後室温まで冷却し、水で希釈したものを試料とし、HPLC分析を行った。HPLC分析の条件および使用器具は以下の通りであった。

- ・カラム：YMC社製 J'sphere ODS-H80 $\phi 4.6 \times 250$ mm
- ・カラム温度：40℃
- ・移動相：

A相 アセトニトリル：水：リン酸＝5：94.9：0.1

B相 アセトニトリル：水：リン酸＝50：49.9：0.1によるグラジエント溶出法

10

20

30

40

50

- ・流速：1 mL/min
- ・注入量：10 μ L
- ・検出：UV 280 nm
- ・グラジエントプログラム：表 1 参照
- ・試料の定量：試料 5 mL を 50 mL 容メスフラスコに入れ、蒸留水で定容した後、0.45 μ m メンブレンフィルターで濾過した。その試料 10 μ L を高速液体クロマトグラフに注入し、標準試液（各カテキン標準品を蒸留水で 10～100 ppm に 3 段階で希釈したもの）を使用した 3 点検量線法により定量した。

【0037】

【表 1】

10

時間 (分)	流速 (mL/min)	A 相 (%)	B 相 (%)
0	1.0	95	5
5	1.0	95	5
10	1.0	90	10
15	1.0	90	10
25	1.0	80	20
40	1.0	80	20
45	1.0	20	80
55	1.0	20	80
60	1.0	95	5
74	1.0	95	5

20

30

【0038】

HPLC 分析の結果に基づいて、エピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率（反応後の総カテキン量に占めるガロカテキンガレートの比率）を算出した。結果を表 2 に示す。

【0039】

〔比較例 1〕

エピガロカテキンガレート 5.0 mg を含む水溶液 5 mL（pH 5.4）に対して実施例 1 と同様の処理を行い、エピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率を算出した。結果を表 2 に示す。

【0040】

40

〔比較例 2〕

エピガロカテキンガレート 5.0 mg を含む水溶液 5 mL に、 α -シクロデキストリン 61.95 mg を添加した。得られた水溶液の pH は 5.4 であった。この水溶液に対して実施例 1 と同様の処理を行い、エピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率を算出した。結果を表 2 に示す。

【0041】

〔比較例 3〕

エピガロカテキンガレート 5.0 mg を含む水溶液 5 mL に、 γ -シクロデキストリン 61.95 mg を添加した。得られた水溶液の pH は 5.4 であった。この水溶液に対して実施例 1 と同様の処理を行い、エピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへ

50

の異性化率を算出した。結果を表2に示す。

【0042】

【表2】

	実施例1	比較例1	比較例2	比較例3
シクロデキストリン	β -シクロデキストリン	無添加	α -シクロデキストリン	γ -シクロデキストリン
異性化率(%)	80.2	53.91	53.71	56.92

10

【0043】

表2から分かるように、 β -シクロデキストリンを添加した場合には、エピガロカテキンガラートからガロカテキンガラートへの異性化率は極めて高かった。

【0044】

〔実施例2〕

10mLスクリュウキャップ付き試験管にエピガロカテキンガラート0.01mmolおよび β -シクロデキストリン0.01~0.10mmolを投入し、McIlvaine緩衝液(pH5.4)5mLを加えて完全に溶解させ、得られた水溶液を120℃で30分間加熱した。このとき、試験管内の圧力は 1.2×10^5 Paであった。反応液を室温まで冷却し、純水で20倍に希釈した後、実施例1と同様にしてHPLC分析を行い、エ

20

【0045】

〔比較例4〕

β -シクロデキストリンを投入しない以外、実施例2と同様の処理を行い、エピガロカテキンガラートからガロカテキンガラートへの異性化率を算出した。結果を表3に示す。

【0046】

【表3】

	β -シクロデキストリン 添加量 (mmol)	異性化率 (%)
実施例2	0.01	60.00
	0.02	63.72
	0.03	66.54
	0.04	68.43
	0.05	70.10
	0.10	70.06
比較例4	0.00	54.20

30

40

【0047】

表3から分かるように、 β -シクロデキストリンの添加量が増加するに伴って、エピガロカテキンガラートからガロカテキンガラートへの異性化率が向上するが、 β -シクロデキストリンの添加量がエピガロカテキンガラートの5倍モル程度で頭打ちになったと考えられる。

【0048】

〔実施例3〕

50

エピガロカテキンガレート 5.0 mg を含むエタノール溶液 5 mL を反応容器に供給して密封し、120℃で30–180分間加熱した。このとき、反応容器内の圧力は 1.2×10^5 Pa であった。その後室温まで冷却し、水で希釈してから、実施例 1 と同様にして HPLC 分析を行った。

【0049】

HPLC 分析の結果に基づいて、各反応時間毎のエピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率を算出した。結果を表 4 に示す。

【0050】

〔実施例 4〕

エピガロカテキンガレート 5.0 mg を含むメタノール溶液 5 mL に対して実施例 2 と同様の処理を行い、各反応時間毎のエピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率を算出した。結果を表 4 に示す。

【0051】

〔実施例 5〕

エピガロカテキンガレート 5.0 mg を含む 2-プロパノール溶液 5 mL に対して実施例 2 と同様の処理を行い、各反応時間毎のエピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率を算出した。結果を表 4 に示す。

【0052】

〔比較例 5〕

エピガロカテキンガレート 5.0 mg を含む水溶液 5 mL に対して実施例 2 と同様の処理を行い、各反応時間毎のエピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率を算出した。結果を表 4 に示す。

【0053】

【表 4】

	異性化率 (%)					
反応時間 (min)	30	60	90	120	150	180
実施例 3 (溶媒: EtOH)	44.92	54.88	65.88	67.71	69.04	70.40
実施例 4 (溶媒: MeOH)	1.82	24.36	36.90	45.39	55.27	58.13
実施例 5 (溶媒: 2-PrOH)	1.58	29.45	44.50	48.42	64.53	65.11
比較例 5 (溶媒: 純水)	45.54	51.68	53.02	53.26	52.93	54.09

【0054】

表 4 から分かるように、溶媒としてエタノール、メタノールまたは 2-プロパノールを使用した場合には、溶媒として水を使用した場合と比較して、エピガロカテキンガレートからガロカテキンガレートへの異性化率が高かった。

【産業上の利用可能性】

【0055】

本発明は、非エピ体カテキン類、特にコレステロール吸収抑制作用を有するガロカテキンガレートを簡便に高収率で製造するのに有用である。

フロントページの続き

(72)発明者 奥村 寿子

愛知県海部郡弥富町佐古木新田蒲代通200-39

審査官 砂原 一公

(56)参考文献 特開2005-247747 (JP, A)

特開2004-262927 (JP, A)

Vonda K. Smith et al., Spectroscopic Study of the Interaction of Catechin with α -, β -, and γ -Cyclodextrins, J. Phys. Chem., 1994年, 98, p.8627-8631

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 311/00-311/96

MEDLINE/CAPLUS/EMBASE/BIOSIS (STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamII)