



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112017026757-8 B1



(22) Data do Depósito: 29/07/2016

(45) Data de Concessão: 28/09/2021

(54) Título: MÉTODO PARA A SEPARAÇÃO DE PELO MENOS UM CONSTITUINTE ISOPRÊNICO DA RESINA DE UM GUAIÚLE E/OU PLANTA DO TIPO GUAIÚLE

(51) Int.Cl.: C07J 53/00; C07J 71/00; C07C 67/56; C07C 67/58; C07C 69/618; (...).

(30) Prioridade Unionista: 31/07/2015 IT 102015000040937.

(73) Titular(es): VERSALIS S.P.A..

(72) Inventor(es): CECILIA QUERCI; DANILO DEL PRETE; MARIA CALDARARO; GIANNI GIROTTI.

(86) Pedido PCT: PCT IB2016054578 de 29/07/2016

(87) Publicação PCT: WO 2017/021852 de 09/02/2017

(85) Data do Início da Fase Nacional: 12/12/2017

(57) Resumo: MÉTODO PARA A SEPARAÇÃO DOS CONSTITUINTES ISOPRÊNICOS DE GUAIÚLE. Método para a separação de pelo menos um constituinte isoprênico da resina de uma planta de guaiúle e/ou do tipo guaiúle compreendendo as etapas de: a) fornecer uma resina de guaiúle e/ou do tipo guaiúle desengordurada; b) submeter a resina desengordurada ao particionamento do tipo líquido-líquido com solventes que são imiscíveis entre si obtendo deste modo um extrato apolar contendo os constituintes isoprênicos guaiulina A, guaiulina B e argentatina B; e um extrato polar contendo os constituintes de isopreno, argentatina A, argentatina C e argentatina D; e c) separar pelo menos um constituinte isoprênico do dito extrato polar e/ou do extrato apolar deste modo obtido, em que a etapa c) compreende uma etapa em que o extrato polar é submetido ao particionamento do tipo líquido-líquido com solventes imiscíveis entre si e/ou uma etapa em que o extrato apolar é submetido ao particionamento do tipo sólido-líquido.

“MÉTODO PARA A SEPARAÇÃO DE PELO MENOS UM CONSTITUINTE ISOPRÊNICO DA RESINA DE UM GUAÍÚLE E/OU PLANTA DO TIPO GUAÍÚLE”

CAMPO DE APLICAÇÃO

[0001] A presente invenção geralmente diz respeito ao setor industrial da extração e processamento da borracha, em particular, da borracha de guaiúle e/ou das plantas do tipo guaiúle, mais particularmente no campo da recuperação de seus produtos residuais.

[0002] Em particular, a invenção diz respeito a um método para a separação dos constituintes isoprênicos da resina de guaiúle ou das resinas tipo guaiúle, entre as quais guaiulina A e B, e argentatina A, B, C e D.

TÉCNICA ANTERIOR

[0003] O guaiúle (*Parthenium argentatum*) é um arbusto perene nativo das regiões semiáridas do norte do México e Texas.

[0004] Este tem um teor variável de borracha de cis-1,4-poliisopreno dependendo de vários fatores e entre cerca de 5 e 20% na planta seca. Devido aos altos custos de importação da borracha extraída de outras fontes naturais tais como *Hevea brasiliensis*, o guaiúle foi levado em consideração antes da Segunda Guerra Mundial, tanto nos Estados Unidos quanto na Itália, como uma fonte alternativa de borracha natural.

[0005] A borracha de guaiúle se difere daquela da *Hevea brasiliensis* por alguns aspectos essenciais, o mais relevante é indicado como um teor protéico significativamente menor que fornece características hipoalergênicas à borracha natural. De fato, a alergia ao látex de *Hevea* é causada por uma proteína chamada proheveína, que tem um papel na coagulação do látex na planta; este liga o epítipo da heveína IgEs desencadeando a resposta imune, que determina uma série de reações alérgicas na pele e respiratória.

[0006] Outros vegetais adequados para a extração da borracha similares àquela extraída do guaiúle compreendem, por exemplo, *Euphorbia lathyris*, *Parthenium incanum*, *Chrysothamnus nauseosus*, *Pedilanthus macrocarpus*, *Cryptostegia grandiflora*, *Asclepias syriaca*, *Asclepias speciosa*, *Asclepias subulata*, *Solidago*

altissima, *Solidago graminifolia*, *Solidago rigida*, *Cacalia atriplicifolia*, *Taraxacum kokosaghyz*, *Pycnanthemum incanum*, *Teucreum canadense*, *Campanula americana*. Além de outros vegetais que pertencem a Asteraceae (Compositae), Euphorbiaceae, Campanulaceae, Labiatae e Moraceae genera.

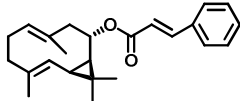
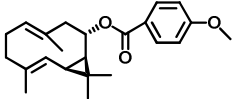
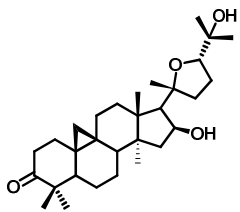
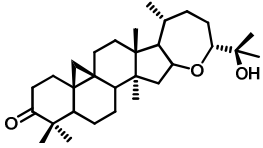
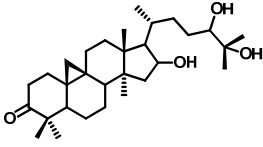
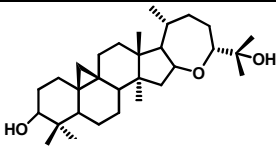
[0007] No presente, o guaiúle é considerado não somente uma fonte possível de borracha natural hipoalergênica, e particularmente nos últimos anos, vários estudos que ajudaram a desenvolver métodos e tecnologias que permitem uma exploração completa de todos os componentes da planta, como a resina, foram realizados.

[0008] De fato, a resina de guaiúle, produzida em uma quantidade comparável ou maior do que aquela da borracha pode ser usada para várias aplicações, dentre as quais, por exemplo, a fabricação de adesivos e a produção de painéis de madeira resistentes ao dano por parasitas, enquanto, depois da extração da borracha natural e/ou resina, a biomassa de guaiúle residual pode ser usada na fabricação de grânulos e briquetes combustíveis e como fonte dos então chamados “açúcares de segunda geração” (das frações de celulose e hemicelulose da dita biomassa residual) e depois fermentáveis a bioetanol e/ou biocombustíveis.

[0009] A resina produzida pela planta de guaiúle, bem como a partir de outros vegetais a partir dos quais uma goma e uma resina similares àquela de guaiúle são obtidas, entre aquelas listadas acima, é rica em metabólitos secundários entre os quais, os constituintes isoprênicos que pertencem à família do terpeno (ver a tabela 1). As guaiulinas são compostos de sesquiterpeno de interesse potencial para a indústria de fragrâncias e para a produção de feromônios de insetos, considerando que as argentatinas são compostos de triterpeno com um potencial antioxidante e atividade antitumoral. As técnicas de processamento de guaiúle desenvolvidas até o momento são principalmente focadas nos processos de extração da borracha natural de cis-1,4-poliisopreno e da resina bruta, no seu tratamento e nos processos de conservação de biomassa.

Tabela 1: Constituintes isoprênicos de interesse

Constituinte	Classificação	Estrutura molecular
--------------	---------------	---------------------

Guaiulina A	Sesquiterpeno	 Guaiulina A
Guaiulina B	Sesquiterpeno	 Guaiulina B
Argentatina A	Triterpeno	 Argentatina A
Argentatina B	Triterpeno	 Argentatina B
Argentatina C	Triterpeno	 Argentatina C
Argentatina D	Triterpeno	 Argentatina D

[0010] Neste assunto específico da resina de guaiúle (ou semelhantes) e ainda mais em particular, de seus constituintes, nenhum estudo detalhado foi realizado até agora, tanto devido à natureza da biomassa, considerado o resíduo do processamento da borracha natural, mas acima de tudo devido à dificuldade de se ter acesso aos

seus constituintes na forma pura e com sistemas simples e não expensivos.

[0011] De fato, os métodos conhecidos na técnica fornecem o uso de processos de purificação cromatográficos (coluna) que são caros, bem como difíceis de escalonar em vista da subsequente aplicação industrial. A dificuldade na separação e purificação reside no fato de que a resina é constituída por uma mistura complexa de compostos de diferentes naturezas que incluem, além dos metabólitos tais como gorduras, ceras e borrachas de baixo peso molecular, também vários metabólitos isoprênicos secundários.

[0012] Schloman et al. (1983) descreveram a quantificação das guaiulinas e argentatinas partindo da resina da planta de guaiúle (*Parthenium argentatum*). As guaiulinas foram recuperadas através da saponificação com a destilação de “caminho curto” seguido pela cristalização. A quantificação foi realizada por intermédio de métodos cromatográficos (HPLC) (Schloman, W. W., Jr.; Hively, R. A.; Krishen, A.; Andrews, A.M. Guayule by product evaluation: extract characterization J. Agric. Food Chem. 1983, 31, 873-876).

[0013] Um método de produção de guaiulina A e B foi descrito por Zoeller (1994) e faz uso de técnicas cromatográficas (Zoeller, Jr. J.H., Wagner, J.P., Sulikowski, G.A. Concise multigram purification of guayulin A from guayule. J. Agric. Food Chem. 1994, 42, 1647-1649). Este método consiste de várias etapas: extração da resina de guaiúle por intermédio de dois processos de extração em um reator adequado com acetona sob refluxo por uma hora; concentração do extrato bruto através da evaporação completa do solvente; separação das borrachas de baixo peso molecular, em que o extrato bruto é dissolvido em acetato de etila e submetido a um particionamento líquido/líquido com salmoura, seguido pela anidrificação da fase orgânica e remoção do solvente através da evaporação sob vácuo para obter um composto verde oleoso; fracionamento cromatográfico da resina através da cromatografia gravimétrica em gel de sílica; purificação cromatográfica da guaiulina A com um outro processo de cromatografia gravimétrica em gel de sílica. Depois da concentração das frações coletadas, um precipitado de guaiulina A como um sólido branco puro com um rendimento de 1% no extrato bruto e uma mistura de Guaiulinas A e B são obtidos. A

separação ou o isolamento das argentatinas não é fornecido por este método.

[0014] Os métodos descritos acima por Zoeller et al., 1994, possui algumas desvantagens, entre estas, baixos rendimentos de guaiulina pura obtidos. De fato, a guaiulina A pura é obtida com um rendimento de 1% no extrato bruto, considerando que a guaiulina B é obtida na mistura com guaiulina A e sua purificação é difícil.

[0015] Outra desvantagem do método é constituída pela purificação de somente um dos seus componentes, a saber, guaiulina A.

[0016] Ao contrário, a guaiulina B foi obtida em uma forma pura pela Firestone Tire and Rubber Co., mas com um rendimento de apenas 0,4% da resina, por intermédio de técnicas cromatográficas (Singh, M. Bagwa Guayule Resin Separation and Purification M.S. Thesis, Texas A&M University, Department of Nuclear Engineering, dezembro de 1992).

[0017] Portanto, o problema técnico tratado pela presente invenção é fornecer um método que seja prático, não dispendioso, versátil, escalonável e com alto rendimento para a separação de componentes isoprênicos da resina de planta de guaiúle, em particular guaiulina A, guaiulina B, argentatina A, argentatina B, argentatina C e/ou argentatina D.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0018] O dito problema foi resolvido de acordo com a invenção através de um método para a separação de pelo menos um constituinte isoprênico da resina de um guaiúle e/ou da planta do tipo guaiúle compreendendo as etapas de:

- a. fornecer uma resina de guaiúle e/ou do tipo guaiúle desengordurada;
- b. submeter à resina desengordurada ao particionamento do tipo líquido-líquido com solventes que são imiscíveis uns com os outros, obtendo deste modo um extrato apolar contendo os constituintes isoprênicos guaiulina A, guaiulina B e argentatina B; e um extrato polar contendo os constituintes isoprênicos argentatina A, argentatina C e argentatina D;
- e
- c. separar pelo menos um constituinte isoprênico do dito extrato polar e/ou do dito extrato apolar deste modo obtido, em que a etapa c) compreende

uma etapa em que o extrato polar é submetido ao particionamento do tipo líquido-líquido com solventes imiscíveis entre si e/ou uma etapa na qual o dito extrato apolar é submetido ao particionamento do tipo sólido-líquido.

[0019] Neste ponto, o termo “resina desengordurada” significa um extrato resinoso de planta de guaiúle substancialmente isento de ceras, gorduras e borrachas de baixo peso molecular.

[0020] Neste ponto, os termos “particionamento do tipo líquido-líquido” e “particionamento líquido-líquido” significam um processo de separação de um ou mais compostos presentes em uma mistura complexa que tem a vantagem da solubilidade diferente dos compostos a serem separados nos dois solventes imiscíveis entre si.

[0021] Neste ponto, os termos “particionamento do tipo líquido-sólido” e “particionamento líquido-sólido” significam a operação de extração com base na afinidade de uma fase sólida para um ou mais constituintes presentes em uma mistura complexa.

[0022] De fato, no particionamento (ou extração) do tipo líquido-sólido (como apenas indicado com o acrônimo SPE, da denominação inglesa solid phase extraction (extração de fase sólida)), a distribuição dos constituintes entre uma fase líquida e uma fase sólida insolúvel na solução com a qual esta é colocada em contato, é usada. Depois do contato por um período de tempo adequado, a fase líquida é removida e os compostos absorvidos na fase sólida podem ser recuperados usando-se uma solução de extração.

[0023] Preferivelmente, o dito pelo menos um constituinte isoprênico (também indicado como isoprenóide não-polimérico) é selecionado do grupo que compreende guaiulina A, guaiulina B, argentatina A, argentatina B, argentatina C, argentatina D, e misturas destes.

[0024] Preferivelmente, na etapa a) a resina desengordurada é obtida a partir de uma planta de guaiúle ou do tipo guaiúle, mais preferivelmente de uma ou mais plantas escolhidas do grupo que compreende *Parthenium argentatum*, *Euphorbia lathyris*, *Parthenium incanum*, *Chrysothamnus nauseosus*, *Pedilanthus macrocarpus*,

Cryptostegia grandiflora, *Asclepias syriaca*, *Asclepias speciosa*, *Asclepias subulata*, *Solidago altissima*, *Solidago graminifolia*, *Solidago rigida*, *Cacalia atriplicifolia*, *Taraxacum koksaghyz*, *Pycnanthemum incanum*, *Teucreum canadense* e *Campanula americana*, preferivelmente *Parthenium argentatum*.

[0025] A resina desengordurada da etapa a) pode ser obtida partindo de uma planta viçosa ou seca, natural ou cultivada in vitro.

[0026] De acordo com uma forma de realização, a resina desengordurada da etapa a) é obtida partindo de um extrato bruto da planta inteira.

[0027] De acordo com uma forma de realização alternativa, a resina desengordurada da etapa a) é obtida partindo de um extrato bruto de um ou mais entre galhos, caule, e folhas da planta.

[0028] De acordo com outra forma de realização alternativa, a resina desengordurada da etapa a) é obtida partindo de um extrato bruto do bagaço.

[0029] Neste ponto, o termo “extrato bruto” diz respeito à fração da planta de guaiúle ou do tipo guaiúle contendo a resina que é obtida depois do tratamento da planta, geralmente com solventes, de modo a separar os componentes lignocelulósicos da fração desejada da planta contendo a resina.

[0030] O termo “bagaço” diz respeito à biomassa residual derivada dos processos de extração da borracha de guaiúle natural.

[0031] Preferivelmente, a resina desengordurada da etapa a) é obtida através de uma etapa de desengorduramento, mais preferivelmente uma etapa de cristalização fracionada (também chamada de “winterização”) de um extrato bruto de uma planta de guaiúle ou do tipo guaiúle.

[0032] Vantajosamente, depois da etapa de desengorduramento, o rendimento de resina desengordurada, expresso como porcentagem do peso seco de resina da resina com relação ao peso seco do extrato bruto, está entre 50 e 70%, mais preferivelmente cerca de 60%. Preferivelmente, a etapa de cristalização fracionada (ou “winterização”) compreende um tratamento em uma temperatura entre 30 e 50°C, mais preferivelmente 40°C, do extrato bruto com um solvente, preferivelmente sob agitação até a dissolução substancialmente completa do extrato bruto; e subsequente

resfriamento, preferivelmente em uma temperatura de cerca de 0°C, obtendo deste modo a separação de um componente apolar, compreendendo ceras, gorduras e borrachas de baixo peso molecular, de um componente polar (também chamados “líquidos mões”) compreendendo a resina desengordurada .

[0033] Preferivelmente, na etapa de cristalização fracionada, o solvente é selecionado de metanol, água, etanol, metanol, acetona e combinações destes, preferivelmente metanol.

[0034] Preferivelmente, na etapa de cristalização fracionada, o extrato bruto é colocado em suspensão no solvente em uma razão, expressa como peso seco (g) do extrato bruto com relação ao volume (l) do solvente, entre 50 e 150 g/l, mais preferivelmente de 100 g/l.

[0035] Preferivelmente a etapa b) é precedida por uma etapa de concentração da resina desengordurada a um volume, expresso como porcentagem em volume/volume da resina antes da concentração, entre 5 e 20% (v/v), mais preferivelmente entre 5 e 10% (v/v).

[0036] Preferivelmente, na dita etapa b), o particionamento do tipo líquido-líquido é realizado em uma temperatura entre 15°C e 26°C, mais preferivelmente a 20°C.

[0037] Preferivelmente, na dita etapa b), os solventes imiscíveis entre si compreendem um solvente polar e um solvente apolar.

[0038] Preferivelmente, na etapa b) o solvente polar é selecionado do grupo compreendendo água, metanol, etanol, isopropanol, terc-butanol, acetato de etila, e combinações destes, mais preferivelmente uma solução de metanol e água; mais preferivelmente em uma razão em volume entre metanol e água entre 2:1 e 6:1, mais preferivelmente entre 3:1 e 5:1, ainda mais preferivelmente cerca de 4:1; e o solvente apolar é escolhido entre éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, mais preferivelmente éter de petróleo.

[0039] Preferivelmente, o solvente polar está em uma razão em volume com relação ao solvente apolar entre 2:1 e 8:1, mais preferivelmente entre 4:1 e 5:1.

[0040] Preferivelmente, a etapa b) de submeter a resina desengordurada ao particionamento é repetida uma ou mais vezes.

[0041] Preferivelmente, a etapa b) compreende um etapa de secagem do extrato apolar deste modo obtido, mais preferivelmente em uma pressão entre 1,5 mbar e 2,0 mbar e em uma temperatura entre 25°C e 35°C.

[0042] Preferivelmente, o rendimento do total da guaiulina A, guaiulina B e argentatina B no extrato apolar obtido na etapa b), expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a) é pelo menos de 10,0%, mais preferivelmente de pelo menos 12,0%.

[0043] Preferivelmente, o rendimento do total de argentatina A, argentatina C e argentatina D no extrato polar obtido na etapa b), expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a) é pelo menos de 6,0%, mais preferivelmente, pelo menos de 11,0%.

[0044] Preferivelmente, na etapa c), o pelo menos um constituinte isoprênico é selecionado de guaiulina A, guaiulina B, argentatina B ou misturas destes e a etapa c) compreende uma etapa de submeter o extrato apolar obtido na etapa b) ao particionamento do tipo sólido-líquido.

[0045] Preferivelmente, na etapa c), o particionamento do tipo sólido-líquido compreende as etapas de submeter o extrato apolar obtido na etapa b), dissolvido em uma combinação de dois solventes miscíveis entre si à absorção em uma matriz sólida, mais preferivelmente pela captura seletiva; e de tratamento, mais preferivelmente lavagem da matriz sólida deste modo obtida com uma combinação de dois solventes miscíveis entre si, obtendo deste modo uma solução contendo uma mistura de guaiulina A e guaiulina B, e uma matriz sólida contendo argentatina B.

[0046] Preferivelmente, o tratamento da matriz sólida deste modo obtida é realizado com uma combinação de solventes que é a mesma da combinação de solventes de absorção da etapa na matriz sólida.

[0047] Preferivelmente, a etapa de absorção na matriz sólida é seguida pela evaporação da combinação de solventes.

[0048] Preferivelmente, a absorção na matriz sólida é realizada em um frasco de reação ou em um suporte de filtração, mais preferivelmente, em um frasco de reação.

[0049] Preferivelmente, a absorção na matriz sólida é realizada em uma pressão

entre 1,0 mbar e 2,5 mbar, mais preferivelmente entre 1,5 mbar e 2,0 mbar e na temperatura entre 25°C e 35°C, mais preferivelmente entre 28°C e 32°C.

[0050] Preferivelmente, a matriz sólida é selecionada do grupo compreendendo: géis de sílica básicos, géis de sílica ligados a hidrocarbonetos tendo grupos alquila C₈-C₁₈ (isto é. de fase reversa), géis de sílica ligados a grupos cianeto ou equivalente, géis de sílica ligados a grupos fenil alquila ou equivalente, e combinações destes, mais preferivelmente gel de sílica básico.

[0051] Preferivelmente, no particionamento do tipo sólido-líquido da etapa c), a combinação de solventes é uma combinação de um solvente polar e um solvente apolar, mais preferivelmente em uma razão em volume com relação ao solvente apolar e o solvente polar entre 4:1 e 49:1, mais preferivelmente entre 5,5:1 e 19:1, ainda mais preferivelmente de cerca de 9:1.

[0052] Preferivelmente, a matriz sólida tem um tamanho de malha entre 70 e 230.

[0053] Preferivelmente, a razão, expressa como porcentagem em volume/volume, entre a combinação de solventes e a matriz sólida está entre 1:5 e 1:2, mais preferivelmente entre 1:4 e 1:3.

[0054] Preferivelmente, no particionamento do tipo sólido-líquido da etapa c), na combinação de solventes, os solventes são misturados com o extrato apolar obtido na etapa b) em uma razão, expressa como volume de combinação de solventes com relação ao peso seco do extrato apolar, entre 5 e 9 ml/g, mais preferivelmente 7 ml/g.

[0055] Preferivelmente, no particionamento do tipo sólido-líquido da etapa c), o solvente polar é selecionado do grupo compreendendo: etanol, metanol, acetona, ácido acético, acetato de etila, acetonitrila, diclorometano, e combinações destes; e o solvente apolar é selecionado do grupo compreendendo: éter de petróleo e n-hexano e combinações destes.

[0056] Preferivelmente, o rendimento da mistura de guaiulina A e guaiulina B na solução contendo a mistura de guaiulina A e guaiulina B obtida na etapa c), expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a) é de pelo menos 5,0%, mais de preferivelmente pelo menos 8,0%.

[0057] Preferivelmente, o rendimento de argentatina B na matriz sólida obtida na etapa c), expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a) é de pelo menos 2,0%, mais preferivelmente de pelo menos 3,2%.

[0058] Preferivelmente, a matriz sólida contendo argentatina B é submetida a outro tratamento, preferivelmente lavagem com um solvente polar, obtendo deste modo uma solução de argentatina B.

[0059] Preferivelmente, no outro tratamento da matriz sólida, o solvente polar é selecionado do grupo compreendendo etanol, metanol, acetona, ácido acético, acetato de etila, acetonitrila, diclorometano, e combinações destes, preferivelmente acetato de etila.

[0060] Preferivelmente, o outro tratamento da matriz sólida é realizado em uma temperatura entre 15°C e 30°C, mais preferivelmente entre 20°C e 25°C.

[0061] Preferivelmente, o outro tratamento da matriz sólida é seguido por uma etapa de filtração e secagem da solução de argentatina B deste modo separada.

[0062] Preferivelmente, na etapa c), o pelo menos um constituinte isoprênico é escolhido de argentatina A, argentatina C, argentatina D ou misturas destes e a etapa c) compreende uma etapa de submeter o extrato polar obtido na etapa b) ao particionamento do tipo líquido-líquido.

[0063] Preferivelmente, na etapa c), o particionamento do tipo líquido-líquido compreende a etapa de submeter o extrato polar obtido na etapa b) à separação em uma combinação de um solvente polar e um solvente apolar obtendo deste modo uma fase orgânica contendo argentatina A e uma fase aquosa contendo uma mistura de argentatina C e argentatina D.

[0064] Preferivelmente, no particionamento do tipo líquido-líquido da etapa c), o solvente apolar e o solvente polar estão em uma razão em volume do solvente apolar com relação ao solvente polar compreendida entre 1:2 e 1:8, mais preferivelmente entre 1:5 e 1:7, ainda mais preferivelmente de cerca de 1:6.

[0065] Preferivelmente, na etapa c), a etapa de particionamento do tipo líquido-líquido é repetido uma ou mais vezes.

[0066] Preferivelmente, na etapa de particionamento do tipo líquido-líquido da etapa c), o solvente apolar é selecionado do grupo compreendendo ciclohexano, n-hexano, éter de petróleo e combinações destes, mais preferivelmente ciclohexano.

[0067] Preferivelmente, na etapa de particionamento do tipo líquido-líquido da etapa c), o solvente polar é selecionado do grupo compreendendo água, metanol, etanol, isopropanol, terc-butanol, e combinações destes, preferivelmente metanol e água.

[0068] Preferivelmente, no particionamento do tipo líquido-líquido da etapa c), o solvente polar compreende o solvente de suspensão do extrato polar obtido na etapa b).

[0069] Preferivelmente, na etapa de particionamento do tipo líquido-líquido da etapa c), o particionamento do tipo líquido-líquido é precedido por uma etapa de concentração do extrato polar obtido na etapa b).

[0070] Preferivelmente, a fase orgânica contendo a argentatina A deste modo obtida é secada.

[0071] Preferivelmente, a fase aquosa contendo uma mistura de argentatina C e argentatina D é novamente tratada com um solvente polar e mais preferivelmente esta é secada.

[0072] Preferivelmente, o rendimento de argentatina A na fase orgânica obtida na etapa c), expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a) é de pelo menos 3,0%, mais preferivelmente de pelo menos 8,0%.

[0073] Preferivelmente, o rendimento da mistura de argentatina C e argentatina D na fase aquosa obtida na etapa c), expresso como uma porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a) é de pelo menos 0,5%, mais preferivelmente pelo menos 3,0%.

[0074] Preferivelmente, a etapa c) é seguida por pelo menos uma etapa d) de purificação de pelo menos um dito constituinte isoprênico.

[0075] Preferivelmente, a etapa de purificação d) compreende uma etapa de cristalização de pelo menos um constituinte isoprênico, obtendo deste modo pelo

menos um constituinte isoprênico da resina em uma forma cristalina substancialmente pura.

[0076] Preferivelmente, na etapa d), a etapa de cristalização é uma cristalização direta com solvente apolares, mais preferivelmente éter de petróleo e/ou n-hexano, em baixas temperaturas, mais preferivelmente em uma temperatura igual a ou mais baixa do que 0°C.

[0077] Preferivelmente, na etapa de cristalização da guaiulina A, argentatina A, C e D, a temperatura de cristalização é de cerca de -23°C.

[0078] Preferivelmente, a etapa d) compreende uma etapa d1) em que a mistura de guaiulina A e guaiulina B obtida na etapa c) é submetida à precipitação da guaiulina A pelo tratamento com um solvente apolar, preferivelmente selecionado do grupo que compreende éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, ainda mais preferivelmente n-hexano, com resfriamento, mais preferivelmente em uma temperatura entre 0 e -23°C, ainda mais preferivelmente -23°C, obtendo deste modo um precipitado de guaiulina A purificada e um sobrenadante contendo uma mistura de guaiulina A e guaiulina B.

[0079] Preferivelmente, o precipitado de guaiulina A purificada é submetido à cristalização, mais preferivelmente através da cristalização direta com n-hexano, obtendo deste modo cristais de guaiulina A pura.

[0080] Preferivelmente, o rendimento de guaiulina A pura, expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a), é de pelo menos 2,0%, mais preferivelmente de pelo menos 5,0%.

[0081] Preferivelmente, o rendimento da mistura de guaiulina A e guaiulina B obtida na etapa d1), expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a), é de pelo menos 0,5%, mais preferivelmente de pelo menos 2,8%.

[0082] Preferivelmente, a etapa d) compreende uma etapa d2) em que a argentatina B obtida na etapa c) é submetida à precipitação com um solvente apolar, preferivelmente selecionado do grupo que compreende éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, ainda mais preferivelmente éter de petróleo, com resfriamento,

mais preferivelmente em uma temperatura entre 0 e -23°C, ainda mais preferivelmente 0°C, obtendo deste modo um precipitado de argentatina B purificada.

[0083] Preferivelmente, o precipitado de argentatina B purificada é submetido à cristalização, mais preferivelmente pela cristalização direta com éter de petróleo, obtendo deste modo cristais de argentatina B pura.

[0084] Preferivelmente, o rendimento da argentatina B pura, expresso como uma porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a), é de pelo menos 1,5%, mais preferivelmente de pelo menos 3,4%.

[0085] Preferivelmente, a etapa d) compreende uma etapa d3) em que a argentatina A obtida na etapa c) é submetida à precipitação com um solvente apolar, preferivelmente selecionado do grupo que compreende ciclohexano, n-hexano, éter etílico, éter de petróleo, e combinações destes, ainda mais preferivelmente éter etílico e n-hexano, com resfriamento, mais preferivelmente em uma temperatura entre 0 e -23°C, ainda mais preferivelmente -23°C, obtendo deste modo um precipitado de argentatina A purificada.

[0086] Preferivelmente, o precipitado de argentatina A purificada é submetido à cristalização, mais preferivelmente pela cristalização direta com n-hexano e éter etílico, obtendo deste modo cristais de argentatina A pura.

[0087] Preferivelmente, a cristalização do precipitado de argentatina A purificada é realizada em uma temperatura entre 0 e -78°C.

[0088] Preferivelmente, a etapa d) compreende uma etapa d4) em que a mistura de argentatina C e argentatina D obtida na etapa c) é submetida à precipitação de argentatina D com um solvente apolar preferivelmente selecionado do grupo que compreende éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, ainda mais preferivelmente éter de petróleo, com resfriamento, mais preferivelmente em uma temperatura entre 0 e -23°C, ainda mais preferivelmente -23°C, obtendo deste modo um precipitado de argentatina D purificada e um sobrenadante contendo argentatina C.

[0089] Preferivelmente, o precipitado de argentatina D purificada é submetido à cristalização, mais preferivelmente pela cristalização direta com éter de petróleo,

obtendo deste modo cristais de argentatina D pura.

[0090] Preferivelmente, o rendimento da argentatina D pura, expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a), é de pelo menos 0,3%, mais preferivelmente de pelo menos 0,8%.

[0091] Preferivelmente, a etapa d4) é seguida por uma etapa d5) em que o sobrenadante contendo argentatina C é submetido à evaporação do solvente e o resíduo é dissolvido em um solvente apolar preferivelmente selecionado do grupo que compreende ciclohexano, éter de petróleo, éter etílico, n-hexano e combinações destes, ainda mais preferivelmente éter etílico, com resfriamento, mais preferivelmente em uma temperatura entre 0 e -23°C, mais preferivelmente -23°C, obtendo deste modo um precipitado de argentatina C purificada.

[0092] Preferivelmente, o precipitado de argentatina C purificada é submetido à cristalização, mais preferivelmente pela cristalização direta com n-hexano, obtendo deste modo cristais de argentatina C pura.

[0093] Preferivelmente, o rendimento da argentatina C pura, expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a), é de pelo menos 0,1%, mais preferivelmente de pelo menos 0,3%.

[0094] Preferivelmente, a etapa d4) é precedida por uma etapa de concentração da fase aquosa obtida na etapa c).

[0095] Preferivelmente, a etapa c) é seguida por uma etapa e1) compreendendo uma reação de hidrólise básica da guaiulina A obtida na etapa d1) e/ou da mistura de guaiulina A e guaiulina B obtida na etapa c) obtendo deste modo uma solução contendo parteniol.

[0096] Preferivelmente, a reação de hidrólise básica é realizada em uma mistura de reação compreendendo a guaiulina A e/ou a mistura de guaiulina A e guaiulina B e uma solução básica; em que a solução básica é mais preferivelmente selecionada do grupo compreendendo hidróxido de potássio, hidróxido de sódio e combinações destes, mais preferivelmente hidróxido de potássio, em que a guaiulina A e/ou a mistura de guaiulina A e guaiulina B e a solução básica estão em uma razão em peso (g) em volume (ml) da guaiulina A e/ou a mistura de guaiulina A e guaiulina B com

relação à solução básica entre 1:2 e 1:10, mais preferivelmente entre 1:1,5 e 1:10, ainda mais preferivelmente de cerca de 1:5, mais preferivelmente sob agitação, obtendo deste modo uma fase orgânica contendo parteniol.

[0097] Preferivelmente, a mistura de reação também compreende metanol e água, em que a razão volume/volume entre água e metanol é entre 1:20 e 1:100 e mais preferivelmente entre 1:50.

[0098] Preferivelmente, a solução contendo parteniol é submetida à cristalização, mais preferivelmente pela cristalização direta com éter de petróleo, com resfriamento, mais preferivelmente a 0°C, obtendo deste modo parteniol puro.

[0099] Preferivelmente, o rendimento do parteniol puro obtido através da hidrólise da mistura de guaiulina A e guaiulina B da etapa d1), expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a), é de pelo menos 0,5%, mais preferivelmente de 1,5%.

[0100] Preferivelmente, a etapa e1) é seguida por uma etapa e2) de esterificação do parteniol deste modo obtido, obtendo deste modo uma solução contendo guaiulina B.

[0101] Preferivelmente, a esterificação do parteniol é realizada com ácido anísico ou cloreto de anisol.

[0102] Preferivelmente, na etapa de esterificação do parteniol, o ácido anísico ou o cloreto de anisol são usados em uma quantidade de 1 equivalente com relação ao parteniol.

[0103] Preferivelmente, a solução contendo a guaiulina B deste modo obtida na etapa e2) é submetida à evaporação e o resíduo é dissolvido em um solvente apolar, preferivelmente selecionado do grupo que compreende ciclohexano, n-hexano, éter etílico, éter de petróleo e combinações destes, ainda mais preferivelmente éter de petróleo, obtendo deste modo um precipitado de guaiulina B purificada.

[0104] Preferivelmente, o precipitado de guaiulina B purificada é submetido à cristalização, com resfriamento, mais preferivelmente em uma temperatura entre 0 e -23°C, mais preferivelmente 0°C, obtendo deste modo cristais de guaiulina B pura.

[0105] Preferivelmente, o rendimento da guaiulina B pura, expresso como

porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da etapa a), é de pelo menos 0,55% (rendimento de reação de 38% molar da reação).

[0106] Preferivelmente, a etapa c) é seguida por uma etapa e3) que compreende uma reação de redução da argentatina B obtida na etapa c) e/ou na etapa d2), obtendo deste modo uma solução contendo argentatina D.

[0107] Preferivelmente, a reação de redução é realizada em uma mistura de reação compreendendo a argentatina B e alumínio hidreto de lítio LiAlH_4 ou boroidreto de sódio, mais preferivelmente boroidreto de sódio NaBH_4 , em que preferivelmente, a mistura de reação tem uma concentração, expressa como peso seco da argentatina B com relação ao volume da mistura, compreendida entre 2,5 e 1,5 g/100 ml, mais preferivelmente 2,0 g/100 ml, mais preferivelmente sob agitação, obtendo deste modo uma solução contendo argentatina D.

[0108] Preferivelmente, na reação de redução, o alumínio hidreto de lítio LiAlH_4 ou boroidreto de sódio estão em uma quantidade igual a 3 equivalentes com relação à argentatina B.

[0109] Preferivelmente, a mistura de reação também compreende metanol, em que o metanol está em uma concentração expressa como porcentagem em peso (g) em volume (ml) compreendida entre 70 e 90%, mais preferivelmente 80%.

[0110] Preferivelmente, após a reação de redução, a solução contendo argentatina D deste modo obtida é submetida à evaporação e o resíduo é dissolvido em um solvente apolar, preferivelmente selecionado do grupo que compreende ciclohexano, éter etílico, n-hexano, éter de petróleo e combinações destes, ainda mais preferivelmente éter de petróleo, obtendo deste modo um precipitado de argentatina D purificada.

[0111] Preferivelmente, o precipitado de argentatina D purificada é submetido à cristalização, com resfriamento, mais preferivelmente em uma temperatura compreendida entre 0 e -23°C , mais preferivelmente 0°C , obtendo deste modo cristais de argentatina D pura.

[0112] Preferivelmente, o rendimento da argentatina D pura, expresso como porcentagem em peso seco com relação ao peso seco da resina desengordurada da

etapa a), é de pelo menos 0,50%, mais preferivelmente de pelo menos 0,8%.

[0113] As estruturas dos compostos purificados obtidos de acordo com a presente invenção são determinadas pela análise e caracterização espectroscópica de acordo com os métodos conhecidos na técnica.

[0114] De fato, foi descoberto que, submetendo-se a resina de guaiúle (ou do tipo de guaiúle) e os produtos de extração às separações apropriadas com solventes, em particular particionamentos do tipo líquido-líquido e/ou líquido-sólido, é possível separar e purificar todos os constituintes isoprênicos de interesse, guaiulina A, guaiulina B, argentatina A, argentatina B, argentatina C e argentatina D, com alto rendimento com relação às técnicas conhecidas.

[0115] As técnicas conhecidas, de fato, tem base nos métodos de coluna cromatográfica, que são caros e que não podem ser escalonados até uma escala industrial.

[0116] Além disso, a técnica anterior não descreve a separação ou o isolamento das argentatinas, também de interesse considerável, para as aplicações no campo farmacêutico.

[0117] Ao contrário, o Requerente foi capaz de identificar um método que, usando as características de polaridade das moléculas de interesse, e com base em uma sequência precisa das etapas e seleção de solventes para cada etapa, permite separar e purificar de uma maneira rápida, simples, versátil e não dispendiosa, todas as moléculas de interesse.

[0118] Por exemplo, o método da presente invenção permite o processamento de 1 Kg de resina bruta em dois dias, obtendo deste modo cerca de 30 g de guaiulina A, 20 g de argentatina B e 3 g de argentatina A em uma forma pura.

[0119] Além disso, o método da presente invenção não tem limite de volume, sendo, deste modo, capaz de ser aplicado também em volumes de escala industrial.

[0120] Portanto, pela primeira vez, foi possível fornecer constituintes de guaiulina A, guaiulina B, argentatina A, argentatina B, argentatina C, e argentatina D, em um grau de pureza e volumes de modo que permitisse estudar suas características e suas aplicações industriais em grande escala.

[0121] As moléculas acima mencionadas podem ter aplicações interessantes em vários campos, entre os quais, o campo das essências, campo agrícola, campo cosmético e campo farmacêutico.

[0122] Além disso, o método da presente invenção, através das reações de semissíntese, permite obter isoprenóides secundários que são difíceis de serem obtidos da resina, tais como guaiulina B e argentatina D, que de outro modo não seriam separáveis em quantidades satisfatórias.

[0123] Estes produtos semissintéticos representam uma via racional de modo a obter produtos naturais e sintéticos tendo um alto potencial como para a aplicabilidade industrial, partindo de produtos separados e purificados graças ao método da presente invenção, que é mais versátil e eco-sustentável com relação aos métodos laboriosos e dispendiosos já descritos na técnica anterior.

[0124] Uma característica peculiar do método geral da presente invenção é representada pela ausência de técnicas de colunas cromatográficas, ainda permitindo ao mesmo tempo, de acordo com as formas de realização preferidas, obter produtos cristalinos adicionalmente purificados pela cristalização direta com solvente apolares em baixa temperatura. A separação versátil e eficiente obtida através da presente invenção é inesperada como evidentemente em contraste com as teorias comumente aceitas e descritas na técnica anterior, de acordo com a qual, ao invés disso, etapas dispendiosas de purificação cromatográfica de coluna, de modo a obter resultados comparáveis àqueles obtidos de acordo com o método da presente invenção, seriam necessárias.

[0125] Contudo, se desejado, as etapas de purificação da presente invenção são adequadas para serem aplicadas também aos produtos não completamente separados ou purificados, previamente submetidos à cromatografia.

[0126] O método da presente invenção permite reduzir o número de etapas para a separação e purificação dos constituintes com relação aos métodos conhecidos na técnica, deste modo tornando o método mais simples e versátil e ao mesmo tempo, otimizando os rendimentos dos produtos puros obtidos, bem como o tempo e custos gastos. Além disso, o método da presente invenção não requer o uso de solventes

perigosos.

[0127] O método da presente invenção é aplicável à resina obtida partindo de todas as partes da planta sem qualquer precaução específica. De fato, o método pode ser aplicado não apenas à resina obtida partindo da planta inteira, mas também partindo das folhas, galhos ou caules (considerado juntos ou sozinhos), bem como ainda de culturas celulares destes.

[0128] Graças ao método da presente invenção, um aumento significativo em termos de rendimento é obtido (5% de guaiulina A pura de acordo com o método da presente invenção com relação a 1% do método da Zoeller et al, 1994).

[0129] Através do método da presente invenção é possível usar e levar vantagem da potencialidade dos produtos obtidos, recuperando deste modo um material tradicionalmente considerado um material residual do processamento da planta de guaiúle de modo a obter a borracha natural.

[0130] O método da presente invenção também fornece uma solução interessante aos problemas de obtenção e acessibilidade dos compostos de guaiúle de isoprenóide não-polimérico tornando disponível os produtos puros que podem ser quimicamente modificados de modo a fornecer um análogo estrutural de interesse potencial em vários campos de aplicação.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0131] A Figura 1 representa um diagrama de bloco completo de uma forma de realização do método da presente invenção, partindo de um extrato bruto obtido a partir do bagaço de *Parthenium argentatum*. Os números nos colchetes representam a quantidade de produto expresso em gramas.

[0132] A Figura 2 representa um diagrama de bloco de uma forma de realização do método da presente invenção, partindo de um extrato bruto obtido a partir dos galhos e caules de *Parthenium argentatum*, que mostra a obtenção da guaiulina A, e argentatina A e B. Os números em parênteses representam a quantidade do produto expresso em gramas.

[0133] A Figura 3 representa um diagrama de bloco de uma forma de realização do método da presente invenção, partindo de um extrato bruto obtido a partir das

folhas de *Parthenium argentatum*, que mostra a obtenção da guaiulina A e da argentatina A e B. Os números em parênteses representam a quantidade de produto expresso em gramas.

[0134] A Figura 4 representa um diagrama de bloco parcial de uma forma de realização do método da presente invenção, que mostra a semissíntese de guaiulinas e argentatinas naturais inferiores partindo dos constituintes isoprênicos superiores não poliméricos (guaiulina A e argentatina B) separados e purificados pelo método da presente invenção. Os números em parênteses representam o rendimento em peso dos produtos descritos obtidos pela semissíntese.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0135] A invenção será agora novamente descrita com referência a algumas formas de realização apenas por via de exemplo, e não são limitantes da presente invenção.

[0136] Todas as porcentagens indicadas são expressas como porcentagens em peso e todas as proporções das misturas de solventes são expressas como proporções em volume, a menos que de outro modo indicado.

EXEMPLO 1

Winterização do extrato bruto de *Parthenium argentatum* (Figura 1)

[0137] 108 g de extrato bruto obtidos do bagaço de *Parthenium argentatum* foram lentamente dissolvidos sob agitação contínua a 40°C em metanol (800 ml) usando-se um volume de solvente de 1,0l/100 g de extrato bruto.

[0138] Depois da dissolução completa, a mistura foi resfriada até a temperatura ambiente por 1 hora e depois a 0°C por 24 horas. Um precipitado compacto foi formado e depois recuperado através da filtração sob 1,5 mbar.

[0139] O resíduo tendo uma consistência gomosa foi depois lavado com metanol, resfriado até 0°C e secado no ar na temperatura ambiente obtendo 44 g de gorduras e borrachas com um baixo peso molecular.

[0140] A fração polar líquida (líquidos mães) contendo a resina desengordurada, foi recuperada para as etapas subsequentes.

EXEMPLO 2

Particionamento do tipo líquido-líquido da resina (Figura 1)

[0141] 800 ml de solução de metanol obtidos do processo de winterização, para separar o componente lipofílico da resina bruta, foram diluídos a um volume final de 1 L com 200 ml de água obtendo uma mistura de metanol/água 4:1.

[0142] A mistura obtida foi submetida a um processo de particionamento com éter de petróleo (200 ml). Depois de atingir o equilíbrio entre as fases, a fase orgânica foi separada da fase aquosa.

[0143] A última foi novamente extraída com 200 ml de éter de petróleo por 3 vezes. A fase orgânica resultante foi depois lavada com 200 ml de uma mistura de metanol/água (4:1), recuperada, anidrificada e concentrada sob baixas pressões até a secagem completa, obtendo deste modo 7,7 g de produto.

[0144] O processo de particionamento foi monitorado por TLC (Cromatografia de camada fina).

EXEMPLO 3

Particionamento sólido-líquido do extrato apolar (Figura 1)

[0145] 7,7 g de extrato apolar obtido pelo processo de particionamento líquido-líquido de 108 g de resina bruta foram dissolvidos em 60 ml (~7 ml/g) de uma mistura de éter de petróleo e acetato de etila 9 : 1 e absorvidos em um leito de 200 ml de gel de sílica (malha de 70 a 230, 25 ml/g).

[0146] O solvente foi removido da suspensão por evaporação sob pressão reduzida ou filtração no vácuo, e as matriz sólida resultante foi lavada três vezes com 100 ml da mistura solvente usada para a absorção.

[0147] Esta operação foi realizada em um frasco de reação de acordo com um método conhecido àquele habilitado na técnica. A solução de desabsorção foi evaporada, obtendo deste modo uma mistura de guaiulinas (5,0 g). A matriz sólida foi depois lavada com 200 ml de acetato de etila, deste modo recuperando a argentatina B (2,3 g).

EXEMPLO 4

Particionamento líquido-líquido da fração polar (Figura 1)

[0148] 1,2 l de uma solução 4:1 de metanol/água obtida do primeiro processo de

particionamento do tipo líquido-líquido descrito no exemplo 2, foi submetido a um outro processo de particionamento com ciclohexano (200 ml).

[0149] Depois de ter atingido o equilíbrio entre as fases, a fase orgânica foi separada da fase aquosa. A última foi novamente extraída com 200 ml de ciclohexano por 3 vezes.

[0150] A fase orgânica resultante foi depois lavada com 200 ml de uma mistura de metanol/água (4:1), recuperada, anidrificada e concentrada em baixas pressões até a secagem completa, obtendo deste modo 5,25 g de extrato.

[0151] A fase de metanol do particionamento, compreendendo argentatinas C e D, foi extraída com 200 ml de acetato de etila por 3 vezes, anidrificada e concentrada sob baixas pressões até a secagem completa, obtendo deste modo 1,77 g de extrato.

[0152] O processo de particionamento foi monitorado por TLC (Cromatografia de camada fina).

EXEMPLO 5

Cristalização direta das guaiulinas e argentatinas (Figura 1)

- a. Guaiulina A: 5,0 g de mistura de guaiulina obtidos pelo particionamento do tipo sólido-líquido descrito no exemplo 3, foram dissolvidos em 10 ml de n-hexano. Um precipitado abundante foi obtido pelo resfriamento da solução a -23°C (acetona e banho de gelo seco), que foi depois recuperada por filtração.

[0153] O resíduo foi lavado com n-hexano a -23°C até obter um produto cristalino branco identificado como guaiulina A (3,2 g). IR v max (KBr): 3081, 2977, 2925, 2860, 1709, 1640, 1496, 1310, 1180, 927, 766, 708, 662, 563, 486 cm⁻¹. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1,08 (s, 1H), 1,13 (s, 1H), 1,55 (d, J = 1,2 Hz, 3H), 1,67 (d, J = 1,4 Hz, 3H), 2,79 (dd, J = 12,3, 5,3 Hz, 2H), 4,52 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,92 (td, J = 11,1, 5,3 Hz, 2H), 5,12 (m), 6,43 (d, J = 16Hz, 1H), 7,40 (m, 3H), 7,50 (m, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 166,2; 144,3; 135,8; 134,5; 130,1; 130,0; 128,8; 128,1; 128,0; 125,0; 118,7; 75,4; 42,9; 40,3; 32,9; 28,8; 28,5; 25,2; 21,4; 20,4; 16,5; 15,4.

[0154] O sobrenadante foi recuperado e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida obtendo deste modo 1,3 g de uma mistura de guaiulinas A e B.

b. Argentatina B: 2,3 g de uma fração de argentatina obtidos pelo particionamento do tipo sólido-líquido descrito no exemplo 3, foram dissolvidos em 10 ml de éter de petróleo. Um precipitado abundante foi obtido pelo resfriamento da solução até 0°C (banho de gelo), que foi depois recuperada por filtração.

[0155] O resíduo foi lavado com éter de petróleo a 0°C até a obtenção de um produto cristalino branco identificado como argentatina B (2,2 g). IR v max (KBr): 3523, 3048, 2967, 2871, 2723, 1704, 1448, 1372, 1336, 1244, 1171, 1112, 1059, 910, 578 cm⁻¹. ¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃); δ ppm: 4,55 (m, 1H), 3,56 (dd, 5, 5, 1H), 1,11 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,87 (d, 7, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,51 (d, 5, 1H) e 0,31 (d, 5, 1H). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃); δ ppm: 18,83, 19,51, 20,8, 21,03, 21,12, 21,65, 22,24, 23,68, 24,06, 25,15, 26,25, 26,32, 26,42, 29,27, 29,78, 32,93, 33,62, 35,79, 37,66, 45,07, 46,06, 47,73, 48,67, 50,35, 57,61, 75,14, 80,14, 92,93, 217,00.

c. Argentatina A: 5,25 g de extrato derivado da fase orgânica obtida pelo processo de particionamento do tipo líquido-líquido descrito no exemplo 4, foram dissolvidos em 30 ml de éter etílico. A solução foi resfriada até -23°C (acetona e banho de gelo seco) e n-hexano foi lentamente adicionado enquanto uma turbidez da solução com a consequente precipitação da argentatina A foi observada.

[0156] O precipitado foi recuperado pela filtração e depois foi submetido a lavagens com éter etílico e n-hexano até obter um produto cristalino branco.

[0157] 0,3 g de um produto identificado como argentatina A foi obtido. IR vmax (KBr): 3386, 2966, 2870, 1705, 1462, 1380, 1249, 1175, 1051, 954, 890, 837 cm⁻¹. ¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃); δ ppm: 3,83 (dd, 11,1H), 3,58 (m, 1H), 1,67 (s, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,23 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,77 (d, 7, 1H), 0,43 (d, 7, 1H). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃); δ ppm: 20,4, 20,9, 21,1, 21,5, 23,9, 25,6, 26,0, 26,2, 26,4, 26,7, 27,4, 30,2, 33,4, 37,4, 37,6, 46,6, 46,7, 47,8, 48,7, 50,3, 56,1, 70,9, 73,4, 87,2, 84,7, 216,1.

d. Argentatinas C e D: 1,77 g de extrato derivado da fase aquosa obtida do

processo de particionamento do tipo líquido-líquido descrito no exemplo 4, foi dissolvido em 10 ml de éter de petróleo.

[0158] Um precipitado branco foi obtido pelo resfriamento da solução a -23°C (acetona e banho de gelo seco), que foi depois recuperada por filtração. O resíduo foi lavado com éter de petróleo a -23°C até a obtenção de um produto cristalino branco identificado como argentatina D (0,54 g). IR v max (KBr): 3499, 3036, 2972, 2922, 2862, 1710, 1440, 1337, 1162, 1111, 1055, 913, 779, 564 cm^{-1} . ^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3); δ ppm: 4,55 (m, 1H), 3,56 (dd, 5, 5, 1H), 3,44 (br t, 1H), 1,11 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,87 (d, 7, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,51 (d, 5, 1H), 0,31 (d, 5, 1H). ^{13}C -RMN (75 MHz; CDCl_3); δ ppm: 18,83, 19,51, 20,85, 21,03, 21,12, 21,65, 22,24, 23,68, 24,06, 25,15, 26,25, 26,32, 26,42, 29,27, 29,78, 32,93, 33,62, 35,79, 37,66, 45,07, 46,06, 47,73, 48,67, 50,35, 57,61, 75,14, 78,9, 80,14, 92,93.

[0159] O sobrenadante derivado do processo de purificação da argentatina D foi recuperado e o solvente foi completamente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em 10 ml de éter etílico.

[0160] A solução foi resfriada até -23°C (acetona e banho de gelo seco) e n-hexano foi lentamente adicionado enquanto uma turbidez da solução e a consequente precipitação da argentatina C foram observadas.

[0161] O precipitado foi recuperado por filtração e depois foi submetido a lavagens com éter etílico e n-hexano até obter um produto cristalino branco. O sobrenadante foi recuperado e recristalizado de modo a recuperar mais produto.

[0162] 0,2 g de produto identificado como argentatina C foi obtido. IR v max (KBr): 3346, 2936, 2870, 1714, 1455, 1373, 1288, 1167, 1098, 1064, 917, 732, 669, cm^{-1} . ^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3); δ ppm: 4,55 (m, 1H), 3,58 (s, 2H), 3,56 (dd, 5, 5, 1H), 1,11 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,87 (d, 7, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,51 (d, 5, 1H) 0,31 (d, 5, 1H).

EXEMPLO 6

Síntese dos constituintes isoprênicos secundários partindo dos extratos (Figura 4)

[0163] Partindo da mistura de guaiulina obtida como descrito no exemplo 3 ou da

guaiulina A pura obtida como descrito no exemplo 5 ou de seus líquidos mães, foi possível obter produtos naturais contidos na resina através da semissíntese, na qual são dificilmente obteníveis através de métodos não cromatográficos, por causa de suas baixas concentrações.

- a. Parteniol: Parteniol puro foi obtido através da reação de hidrólise básica partindo da mistura de guaiulina obtida do extrato em éter de petróleo/acetato de etila 9:1 do processo de particionamento do tipo sólido/líquido ou da guaiulina A pura. 23,8 ml de uma solução básica de hidróxido de potássio e metanol (5% p/v; 425,4 mmol; 60 equiv.) e 510 µl de água foram adicionados a 5,00 g de mistura de guaiulina. A reação foi mantida sob agitação a 40°C por 24 horas, monitorando seu progresso por TLC (Cromatografia de camada fina). A reação foi interrompida pela diluição com uma solução saturada de água e cloreto de sódio e extraída com éter de petróleo. A fase orgânica foi anidrificada, filtrada e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo (5,0 g) foi então purificado pela cristalização em éter de petróleo a 0°C (em um banho de gelo). Um produto cristalino branco foi obtido (2,6 g) identificado como parteniol ou desacilguaiulina. IR ν_{max} (KBr): 3294, 3014, 2976, 2924, 2854, 2730, 1654, 1454, 1204, 1004, 851, 655, 534 cm^{-1} . ^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3): δ ppm: 0,73 (dd), 1,15 (s), 1,16 (s), 1,19 (s), 1,42 (dd), 1,44 (s), 1,63 (s), 3,6 (ddd), 4,36 (d), 4,91 (dd). ^{13}C -RMN (75 MHz; CDCl_3): δ 15,5, 16,5, 20,5, 20,8, 25,3, 28,8, 29,2, 36,0, 40,5, 46,3, 72,6, 125,3, 126,9, 129,2, 136,9.
- b. Guaiulina B: a uma solução de 100 mg de ácido anísico (massa molecular de 152,15; 0,657 mmol) dissolvidos em 2 ml de diclorometano, 380 µl de uma solução a 98% de cloreto de oxalila em diclorometano (massa molecular 126,93; densidade de 1,335 g/ml; 2,63 mmol; 4 equivalentes) e 66 µl de DMF (100 µl/mmol de ácido) foram adicionados a 0°C e sob agitação por 1 hora. A reação foi mantida sob agitação na temperatura ambiente por mais 2,5 horas, monitorando

deste modo o desenvolvimento por TLC (Cromatografia de camada fina). A reação foi interrompida pela evaporação do solvente sob pressão reduzida obtendo deste modo 100 mg de cloreto de anisol. Mais tarde, 77 mg de cloreto de anisol (massa molecular de 170,15; 0,454 mmol; 1 equivalente) foram adicionados a uma solução de 100 mg de parteniol (massa molecular 220,35; 0,454 mmol) dissolvido em 6 ml de piridina. A reação foi mantida sob agitação na temperatura ambiente por 4 horas, monitorando deste modo o desenvolvimento por TLC (Cromatografia de camada fina). A reação foi interrompida pela diluição com uma solução saturada de água e cloreto de sódio e extraída com éter de petróleo. A fase orgânica foi anidrificada, filtrada e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi depois purificado pela cristalização em éter de petróleo a 0°C (em um banho de gelo). Um produto cristalino branco (0,15 g), identificado como guaiulina B, foi obtido. IR ν_{max} (KBr): 3504, 2932, 2854, 2790, 2657, 2123, 1707, 1606, 1449, 1359, 1166, 1045, 890, 770, 645, 539 cm^{-1} . ^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3); δ ppm: 1,08 (s), 1,13 (s), 1,55 (d, $J = 1,2$ Hz, 3H), 1,67 (d, $J = 1,41$ Hz, 3H), 2,79 (dd, $J = 12,3, 5,3$ Hz, 2H), 3,85 (s), 4,52 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,92 (td, $J = 11,1, 5,3$ Hz, 2H), 5,12 (m), 6,82 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 9$ Hz, 2H).

- c. Argentatina D semissintética: A uma solução de 100 mg de argentatina B (massa molecular de 456,70; 0,218 mmol) obtida pelo particionamento do tipo sólido-líquido descrito no exemplo 4 ou das líquidos mães derivadas do processo de cristalização descrito no exemplo 5, dissolvida em 4 ml de metanol, 25 mg de boroidreto de sódio NaBH_4 (massa molecular de 37,83; 0,661 mmol; 3,0 equivalentes) foram lentamente adicionados, em um banho de gelo a 0°C. A reação foi mantida sob agitação na temperatura ambiente por 5 minutos, monitorando o desenvolvimento por TLC (Cromatografia de camada fina). A reação foi interrompida pela diluição com uma solução saturada de água e cloreto de sódio, adição de uma solução de água e 5% de

ácido sulfúrico até um pH neutro e extração da fase aquosa com acetato de etila. A fase orgânica foi anidrificada, filtrada e o solvente foi evaporado sob pressão reduzidas. O resíduo foi depois purificado pela cristalização em éter de petróleo a 0°C (em um banho de gelo). Um produto cristalino branco (0,070 g) identificado como argentatina D, foi obtido. IR v max (KBr): 3499, 3036, 2972, 2922, 2862, 1710, 1440, 1337, 1162, 1111, 1055, 913, 779, 564 cm⁻¹. ¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃); δ ppm: 4,55 (m, 1H), 3,56 (dd, 5, 5, 1H), 3,44 (br t, 1H), 1,11 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,87 (d, 7, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,51 (d, 5, 1H), 0,31 (d, 5, 1H). ¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃); δ ppm: 18,83, 19,51, 20,85, 21,03, 21,12, 21,65, 22,24, 23,68, 24,06, 25,15, 26,25, 26,32, 26,42, 29,27, 29,78, 32,93, 33,62, 35,79, 37,66, 45,07, 46,06, 47,73, 48,67, 50,35, 57,61, 75,14, 78,9, 80,14, 92,93.

EXEMPLO 7

Material vegetal: extrato bruto de galhos e caules de *Parthenium argentatum* (Figura 2)

[0164] 3,89 g de extrato bruto, obtidos de galhos e caules de *Parthenium argentatum* foram processados de acordo com esta invenção para separar a guaiulina A e argentatinas A e B. Após o processo de separação do componente lipofílico compreendendo gorduras e borrachas de baixo peso molecular, através do método de winterização, os processos de separação e cristalização direta com os mesmos procedimentos descritos nos Exemplos de 2 a 6 e em relação à quantidade do extrato bruto usado, foram realizados. 1,7 g de mistura lipofílica de gorduras de baixo peso molecular e borrachas de alto peso molecular (HMW), 0,15 g de guaiulina A cristalina, 0,08 g de argentatina A, 0,18 g de argentatina B, foram obtidos.

EXEMPLO 8

Material vegetal: extrato bruto das folhas de *Parthenium argentatum* (Figura 3)

[0165] 4,6 g de extrato bruto, obtido das folhas de *Parthenium argentatum* italiano de Basilicata, foram processados de acordo com esta invenção para separar os componentes de guaiulinas e argentatinas A e B. Após o processo de separação do

componente lipofílico compreendendo gorduras e borrachas de baixo peso molecular através do método de winterização, os processos de particionamento e cristalização direta com os mesmos procedimentos descritos nos Exemplos de 2 a 6 e em relação à quantidade do extrato bruto usado, foram realizados. 0,30 g de mistura de guaiulina foi obtido, a partir do qual, pela cristalização direta com n-hexano a -23°C (acetona e banho de gelo seco) 0,06 g de guaiulina A cristalina, 0,06 g de argentatina A e 0,17 g de argentatina B, foram obtidos.

EXEMPLO 9 (COMPARATIVO)

Particionamento líquido-líquido de um extrato bruto não winterizado de *Parthenium argentatum*

[0166] 5,0 g de extrato bruto obtidos do bagaço de *Parthenium argentatum* foram lentamente dissolvidos sob agitação contínua a 40°C em metanol (400 ml) usando um volume de solvente de 1,0 l/100 g de extrato bruto. Depois da dissolução completa, a mistura foi resfriada até a temperatura ambiente e diluída até um volume final de 500 ml com 100 ml de água, obtendo uma mistura metanol/água (4:1).

[0167] A mistura obtida foi submetida a um processo de particionamento com éter de petróleo (100 ml). 250 ml de mistura de metanol/água (4:1) também foram adicionados à mistura, e finalmente, o estabelecimento de um equilíbrio entre as fases foi obtida; em seguida, a fase orgânica foi separada da fase aquosa.

[0168] A última foi novamente submetida à extração com 100 ml de éter de petróleo por seis vezes. A fase orgânica resultante foi subsequentemente lavada com 200 ml de uma mistura de metanol/água (4:1), recuperada, anidrificada e concentrada sob pressão reduzida até a secagem completa, obtendo 2,5 g de produto. O processo de particionamento foi monitorado através de TLC (Cromatografia de camada fina).

EXEMPLO 10 (COMPARATIVO)

Particionamento sólido-líquido do extrato apolar derivado de um extrato bruto não winterizado de *Parthenium argentatum*

[0169] 2,5 g de extrato apolar obtidos do processo de particionamento líquido-líquido de 5,0 g de extrato bruto obtido como descrito no Exemplo comparativo 9 foram dissolvidos em 20 ml de uma mistura de éter de petróleo e acetato de etila (9:1) e

absorvidos em um leito de 70 ml de gel de sílica (malha de 70 a 230, 25 ml/g). O solvente foi removido da suspensão por evaporação sob pressão reduzida ou por filtração sob vácuo, e a matriz sólida resultante foi lavada três vezes com 100 ml da mistura de solventes usada para a absorção.

[0170] O processo resultou difícil e ineficaz, considerando que qualquer separação eficaz dos componentes do extrato apolar bruto de partida não pôde ser observada devido à presença de um componente consistindo de gorduras e borrachas de baixo peso molecular, que afetaram negativamente o processo de particionamento sólido-líquido.

EXEMPLO 11 (COMPARATIVO)

Particionamento líquido-líquido da fração polar derivada de um extrato bruto não-winterizado de *Parthenium argentatum*

[0171] 950 ml de uma solução de metanol/água (4:1) obtida do primeiro processo de particionamento líquido-líquido descrito no Exemplo comparativo 9 foram submetidos a um outro processo de particionamento com 100 ml de ciclohexano. Depois do estabelecimento de um equilíbrio entre as fases, a fase orgânica foi separada da fase aquosa. A última foi novamente submetida à extração com 100 ml de ciclohexano, por três vezes. A fase orgânica resultante foi subsequentemente lavada com 100 ml de uma mistura de metanol/água (4:1), recuperada, anidrificada e concentrada sob baixa pressão até a secagem completa, obtendo 300 mg de extrato. A fase de metanol do particionamento compreendendo argentatinas C e D, foi extraída com 100 ml de acetato de etila por três vezes, anidrificada e concentrada sob baixa pressão até a secagem completa, obtendo 100 mg de extrato.

EXEMPLO 12 (COMPARATIVO)

Cristalização das guaiulinas e argentatinas dos extratos derivados de um extrato não winterizado bruto de *Parthenium argentatum*

- a. Guaiulina A e argentatina B: 2,5 g de extrato apolar obtido do particionamento líquido-líquido descrito no Exemplo comparativo 9, foram dissolvidos em 10 ml de n-hexano. Esfriando-se a solução a -23°C (em um banho de gelo seco/acetona) a formação esperada de

qualquer precipitado de guaiulina A e/ou argentatina B não pôde ser observada.

- b. Argentatina A: 300 mg de extrato derivado da fase orgânica obtida do processo de particionamento líquido-líquido descrito no Exemplo comparativo 11, foram dissolvidos em 5 ml de éter etílico. A solução foi esfriada até -23°C (em um banho de gelo seco/acetona) e n-hexano foi lentamente adicionado até que uma leve turbidez da solução, resultando em uma precipitação ineficaz da argentatina A foi observada.
- c. Argentatinas C e D: 100 mg de extrato derivado da fase aquosa obtida do processo de partição líquido-líquido descrito no Exemplo comparativo 11, foram dissolvidos em 2 ml de éter de petróleo. Depois de esfriar a solução até -23°C (em um banho de gelo seco/acetona) nenhuma formação de precipitado foi observada.

[0172] Estes exemplos comparativos demonstram claramente que omitir a etapa de winterização crucial do método de separação da presente invenção resulta em uma redução drástica de sua eficácia na obtenção dos constituintes isoprênicos de guaiúle ou resina semelhante a guaiúle na forma purificada.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para a separação de pelo menos um constituinte isoprênico da resina de um guaiúle e/ou planta do tipo guaiúle, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

- a) fornecer uma resina de guaiúle e/ou do tipo guaiúle desengordurada;
- b) submeter a dita resina desengordurada ao particionamento do tipo líquido-líquido com solventes que são imiscíveis entre si obtendo deste modo um extrato apolar contendo os constituintes isoprênicos guaiulina A, guaiulina B e argentatina B; e um extrato polar contendo os constituintes isoprênicos argentatina A, argentatina C e argentatina D; e
- c) separar pelo menos um constituinte isoprênico do dito extrato polar e/ou do dito extrato apolar deste modo obtidos, em que a etapa c) compreende uma etapa na qual o dito extrato polar é submetido ao particionamento do tipo líquido-líquido com solventes imiscíveis entre si e/ou uma etapa na qual o dito extrato apolar é submetido ao particionamento do tipo sólido-líquido.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dito pelo menos um constituinte isoprênico é escolhido no grupo que compreende guaiulina A, guaiulina B, argentatina A, argentatina B, argentatina C, argentatina D, e misturas destes.

3. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que a dita resina desengordurada da etapa a) é obtida através de uma etapa de desengorduramento, mais preferivelmente uma etapa de cristalização fracionada de um extrato bruto de uma planta de guaiúle ou do tipo guaiúle.

4. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que na etapa b), os solventes imiscíveis entre si compreendem um solvente polar e um solvente apolar, em que preferivelmente o solvente polar é escolhido do grupo que compreende água, metanol, etanol, isopropanol, terc-butanol, acetato de etila, e combinações destes, mais preferivelmente uma solução de metanol e água; e o solvente apolar é escolhido entre éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, mais preferivelmente éter de

petróleo.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que, na etapa c), o particionamento do tipo sólido-líquido compreende a etapas de submeter o extrato apolar obtido na etapa b), dissolvido em uma combinação de dois solventes miscíveis entre si, para a absorção em uma matriz sólida, preferivelmente pela captura seletiva; e de tratamento, preferivelmente lavagem, da dita matriz sólida deste modo obtida com uma combinação de dois solventes miscíveis entre si, obtendo deste modo uma solução contendo uma mistura de guaiulina A e guaiulina B, e uma matriz sólida contendo argentatina B.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a dita matriz sólida contendo argentatina B é submetida a outro tratamento, preferivelmente lavagem com um solvente polar, obtendo deste modo uma solução de argentatina B.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que na etapa c), o particionamento do tipo líquido-líquido compreende a etapa de submeter o extrato polar obtido na etapa b) à separação em uma combinação de um solvente polar e um solvente apolar, obtendo deste modo uma fase orgânica contendo argentatina A e uma fase aquosa contendo uma mistura de argentatina C e argentatina D.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que na etapa de particionamento do tipo líquido-líquido da etapa c), o solvente apolar é escolhido no grupo que compreende ciclohexano, n-hexano, éter de petróleo, e combinações destes, mais preferivelmente ciclohexano; e o solvente polar é escolhido no grupo que compreende água, metanol, etanol, isopropanol, terc-butanol, e combinações destes, preferivelmente metanol e água.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a etapa c) é seguida por pelo menos uma etapa d) de purificação de pelo menos um dito constituinte isoprênico.

10. Método, de acordo com a reivindicação 9 caracterizado pelo fato de que a etapa d) de purificação compreende uma etapa de cristalização de pelo

menos um constituinte isoprênico, obtendo deste modo pelo menos um constituinte isoprênico da resina na forma cristalina substancialmente pura.

11. Método, de acordo com as reivindicações 9 ou 10, caracterizado pelo fato de que a etapa d) compreende uma etapa d1) em que a dita mistura de guaiulina A e guaiulina B obtida na etapa c) é submetida à precipitação da guaiulina A através do tratamento com um solvente apolar, preferivelmente escolhido no grupo que compreende éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, mais preferivelmente n-hexano, com resfriamento, obtendo deste modo um precipitado de guaiulina A purificada e um sobrenadante contendo uma mistura de guaiulina A e guaiulina B; e em que, preferivelmente, o dito precipitado de guaiulina A purificada é submetido à cristalização obtendo deste modo cristais de guaiulina A pura.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 9 a 11, caracterizado pelo fato de que a dita etapa d) compreende uma etapa d2) em que a dita argentatina B obtida na etapa c) é submetida à precipitação com um solvente apolar, preferivelmente escolhido no grupo que compreende éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, mais preferivelmente éter de petróleo, com resfriamento, obtendo deste modo um precipitado de argentatina B purificada; e em que preferivelmente o dito precipitado de argentatina B purificada é submetido à cristalização obtendo deste modo cristais de argentatina B pura.

13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 9 a 12, caracterizado pelo fato de que a dita etapa d) compreende uma etapa d3) em que a dita argentatina A obtida na etapa c) é submetida à precipitação com um solvente apolar, preferivelmente escolhido no grupo que compreende ciclohexano, n-hexano, éter etílico, éter de petróleo, e combinações destes, mais preferivelmente éter etílico e n-hexano, com resfriamento, obtendo deste modo um precipitado de argentatina A purificada; e em que preferivelmente, dito precipitado de argentatina A purificada é submetido à cristalização obtendo deste modo cristais de argentatina A pura.

14. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 9 a 13, caracterizado pelo fato de que a dita etapa d) compreende uma etapa d4) em que a dita mistura de argentatina C e argentatina D obtida na etapa c) é submetida à

precipitação da argentatina D com um solvente apolar, preferivelmente escolhido no grupo que compreende éter de petróleo, n-hexano e combinações destes, mais preferivelmente éter de petróleo, com resfriamento, obtendo deste modo um precipitado de argentatina D purificada e um sobrenadante contendo argentatina C; e em que preferivelmente, o dito precipitado de argentatina D purificada é submetido à cristalização obtendo deste modo cristais de argentatina D pura.

15. Método, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que a dita etapa d4) é seguida por uma etapa d5) em que o dito sobrenadante contendo argentatina C é submetido à evaporação do solvente, e o resíduo é dissolvido em um solvente apolar, preferivelmente escolhido no grupo que compreende ciclohexano, éter de petróleo, éter etílico, n-hexano e combinações destes, mais preferivelmente éter etílico, com resfriamento, obtendo deste modo um precipitado de argentatina C purificada; e em que preferivelmente, o dito precipitado de argentatina C purificada é submetido à cristalização, obtendo deste modo cristais de argentatina C pura.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 15, caracterizado pelo fato de que a dita etapa c) é seguida por uma etapa e1) compreendendo uma reação de hidrólise básica da guaiulina A obtida na etapa d1) e/ou da mistura de guaiulina A e guaiulina B obtida na etapa c) obtendo deste modo uma solução contendo parteniol; em que preferivelmente a dita reação de hidrólise básica é realizada em uma mistura de reação compreendendo a dita guaiulina A e/ou a dita mistura de guaiulina A e guaiulina B e uma solução básica; e em que preferivelmente, a dita solução contendo parteniol é submetida à cristalização, com resfriamento, obtendo deste modo parteniol puro.

17. Método, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a dita etapa e1) é seguida por uma etapa e2) de esterificação do parteniol deste modo obtido, preferivelmente com ácido anísico ou cloreto de anisol obtendo deste modo uma solução contendo guaiulina B.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que a dita solução contendo guaiulina B deste modo obtida na etapa e2) é

submetida à evaporação e o resíduo é dissolvido em um solvente apolar, preferivelmente escolhido no grupo que compreende ciclohexano, n-hexano, éter etílico, éter de petróleo e combinações destes, mais preferivelmente, éter de petróleo, obtendo deste modo um precipitado de guaiulina B purificada; e em que preferivelmente, o dito precipitado de guaiulina B purificada é submetido à cristalização, com resfriamento, obtendo deste modo cristais de guaiulina B pura.

19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 18 caracterizado pelo fato de que a dita etapa c) é seguida por uma etapa e3) que compreende uma reação de redução da argentatina B obtida na etapa c) e/ou na etapa d2), preferivelmente em que a reação de redução é realizada em uma mistura de reação compreendendo a dita argentatina B e alumino hidreto de lítio LiAlH_4 ou boroidreto de sódio, mais preferivelmente, boroidreto de sódio NaBH_4 , obtendo deste modo uma solução contendo argentatina D.

20. Método, de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que após a dita reação de redução, a dita solução contendo argentatina D deste modo obtida é submetida à evaporação e o resíduo é dissolvido em um solvente apolar preferivelmente escolhido no grupo que compreende ciclohexano, éter etílico, n-hexano, éter de petróleo e combinações destes, mais preferivelmente éter de petróleo, obtendo deste modo um precipitado de argentatina D purificada; e em que preferivelmente, o dito precipitado de argentatina D purificada é submetido à cristalização, com resfriamento, obtendo deste modo cristais de argentatina D pura.

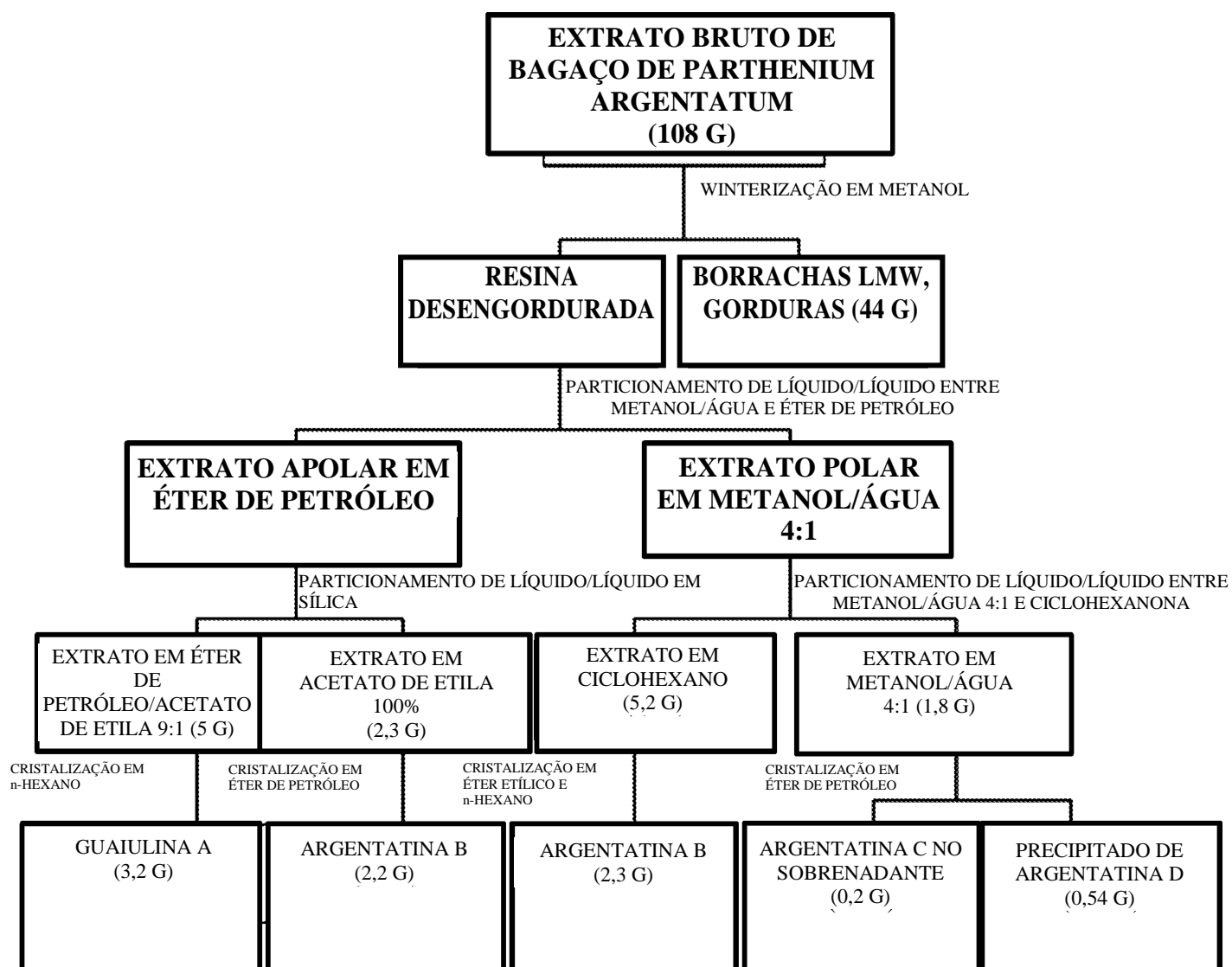


Fig. 1

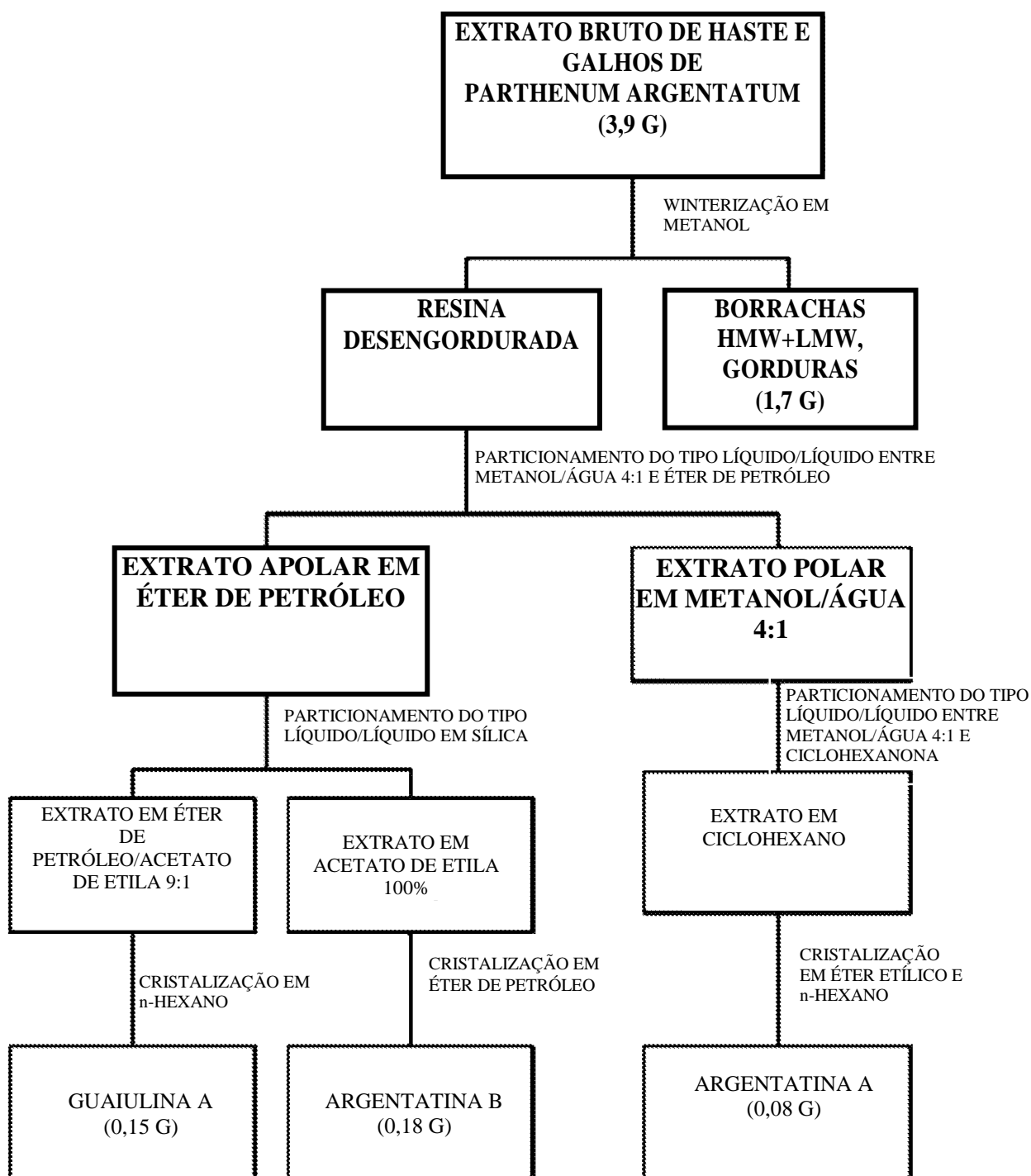


Fig. 2

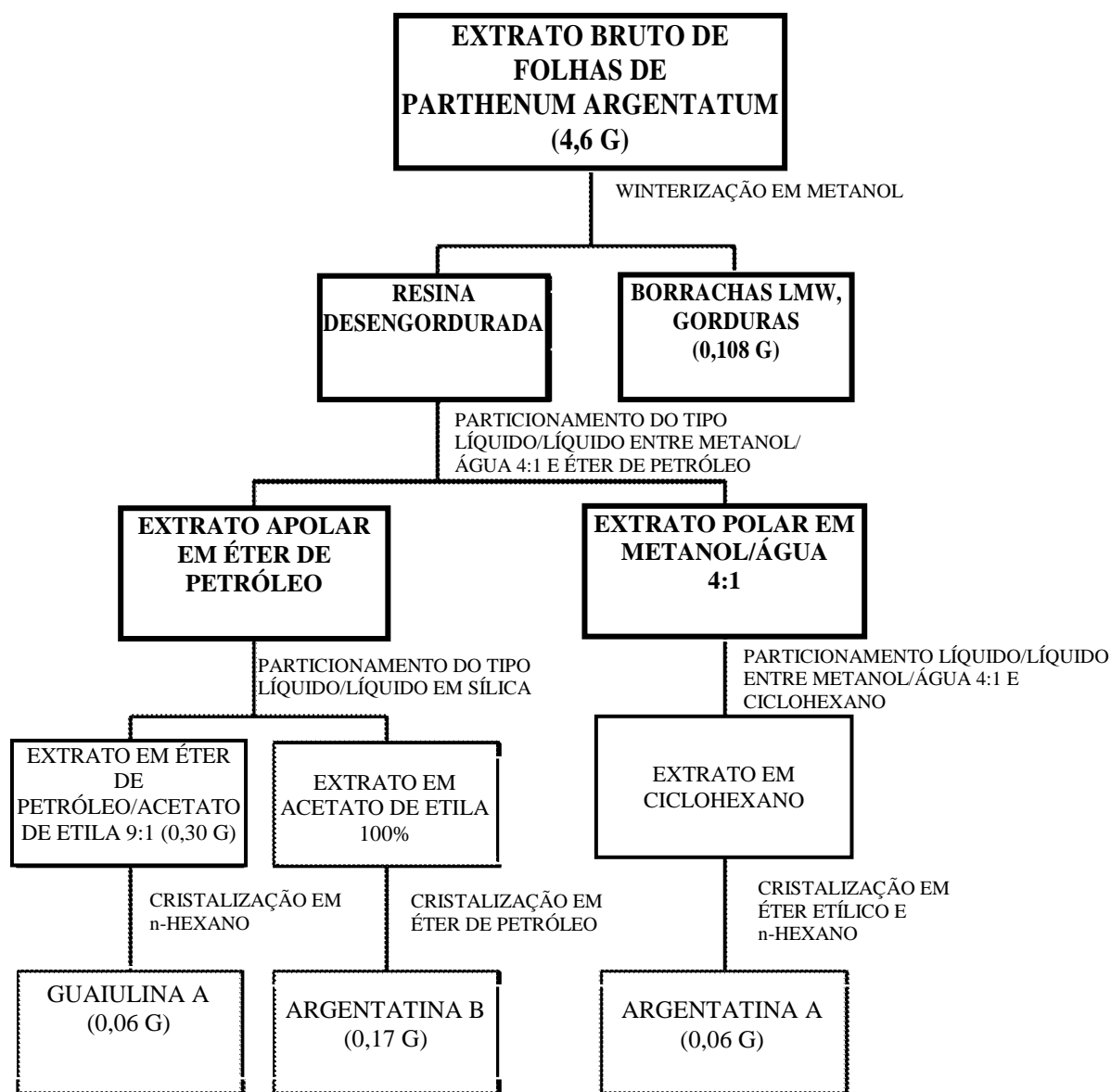


Fig. 3

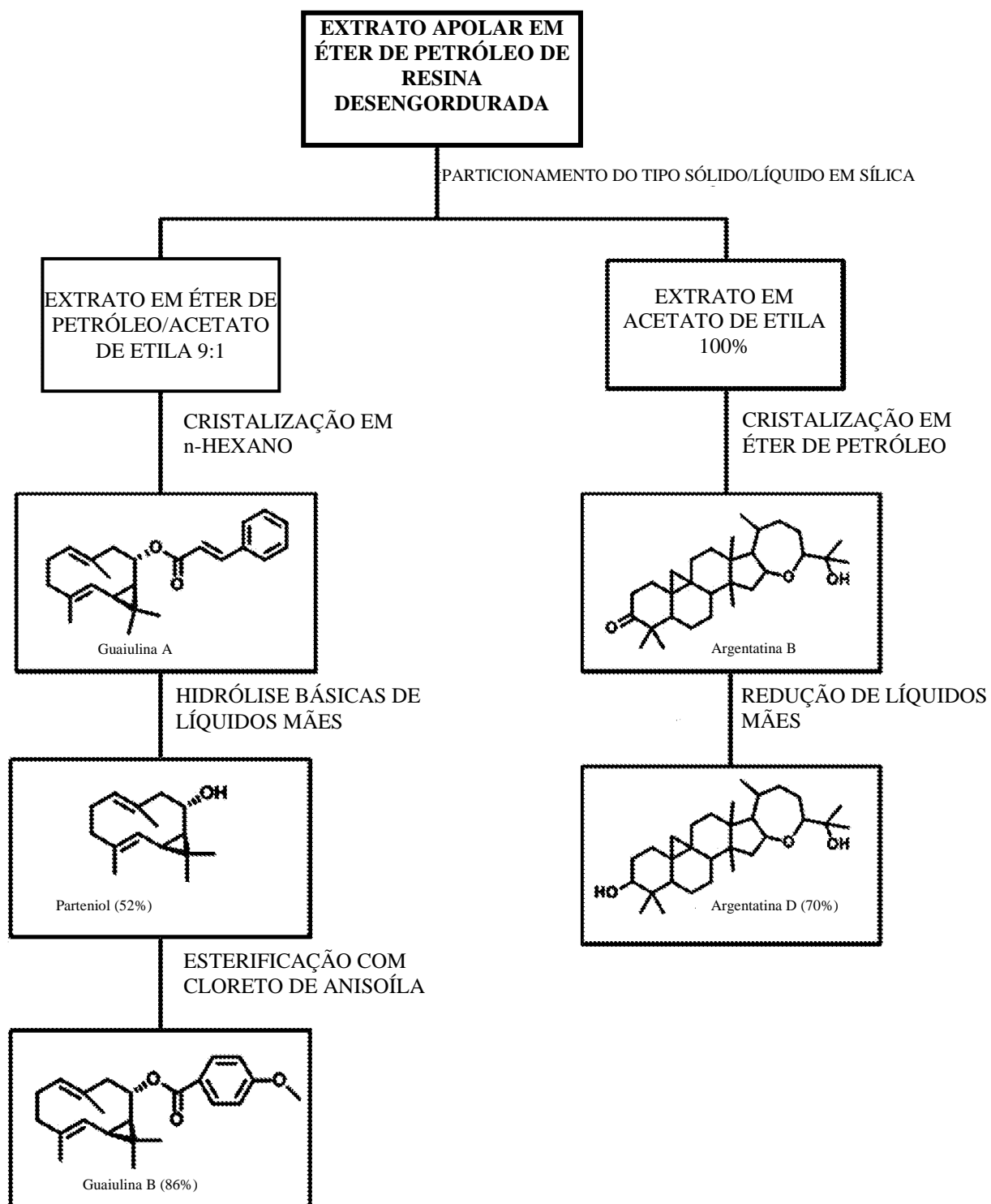


Fig. 4