

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6776326号
(P6776326)

(45) 発行日 令和2年10月28日(2020.10.28)

(24) 登録日 令和2年10月9日(2020.10.9)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 67/58	(2006.01)	C07C 67/58
C07C 69/618	(2006.01)	C07C 69/618
C07C 69/92	(2006.01)	C07C 69/92
C07C 67/14	(2006.01)	C07C 67/14
C07C 67/52	(2006.01)	C07C 67/52

請求項の数 15 (全 24 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-502262 (P2018-502262)
(86) (22) 出願日	平成28年7月29日 (2016.7.29)
(65) 公表番号	特表2018-522890 (P2018-522890A)
(43) 公表日	平成30年8月16日 (2018.8.16)
(86) 國際出願番号	PCT/IB2016/054578
(87) 國際公開番号	W02017/021852
(87) 國際公開日	平成29年2月9日 (2017.2.9)
審査請求日	平成31年3月27日 (2019.3.27)
(31) 優先権主張番号	102015000040937
(32) 優先日	平成27年7月31日 (2015.7.31)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	イタリア (IT)

(73) 特許権者	512115977 ヴェルサリス ソシエタ ベル アチオニ イタリア イ-20097 ミラノ サン ドナート ミラネーゼ ピアッツア ボ ルドリニ 1
(74) 代理人	100094569 弁理士 田中 伸一郎
(74) 代理人	100088694 弁理士 弟子丸 健
(74) 代理人	100103610 弁理士 ▲吉▼田 和彦
(74) 代理人	100084663 弁理士 稲田 篤
(74) 代理人	100093300 弁理士 浅井 賢治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グアユール由來のイソプレン系成分を分離する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

グアユールおよび/またはグアユール系植物の樹脂から、少なくとも1種のイソプレン系成分を分離するための方法であって、以下の工程：

a) グアユールおよび/またはグアユール系の脱脂された樹脂を準備する工程であって、前記脱脂された樹脂が、グアユールおよび/またはグアユール系植物の粗抽出液を脱蠅脱脂する工程により得られ、前記脱蠅脱脂する工程が、30～50の温度での溶媒を用いた粗抽出液の処理と、その後の約0の温度での冷却を含み、このようにして脱脂された樹脂を含む極性成分からの非極性成分の分離を達成し、前記溶媒が、メタノール、水、エタノール、アセトンおよびこれらの組み合わせから選択される、工程、

10

b) 前記脱脂された樹脂を、相互に不混和性の溶媒を用いる液-液型の分配処理に掛け、このようにしてイソプレン系成分のグアユリンA、グアユリンBおよびアルゲンタチンBを含有する非極性抽出液と、イソプレン系成分のアルゲンタチンA、アルゲンタチンCおよびアルゲンタチンDを含有する極性抽出液とを得る工程であって、前記相互に不混和性の溶媒が、極性溶媒および非極性溶媒を含み、前記極性溶媒が、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノール、酢酸エチルおよびこれらの組合せから選択され、前記非極性溶媒が、石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せから選択される、工程、および

c) このようにして得られた前記極性抽出液からおよび/または前記非極性抽出液から、少なくとも1種のイソプレン系成分を分離する工程、

20

を含み、

工程c)が、前記極性抽出液を、相互に不混和性の溶媒を用いる液-液型の分配処理に掛ける工程、および/または前記非極性抽出液を、固-液型の分配処理に掛ける工程を含み、

前記液-液型の分配処理が、工程b)において得られた前記極性抽出液を、極性溶媒と非極性溶媒との組合せ中の分離処理に掛け、このようにしてアルゲンタチンAを含む有機相と、アルゲンタチンCおよびアルゲンタチンDの混合物を含む水性相とを得る工程を含み、前記非極性溶媒が、シクロヘキサン、n-ヘキサン、石油エーテル、およびこれらの組合せから選択され、前記極性溶媒が、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノール、およびこれらの組合せから選択され、

前記固-液型の分配処理が、以下の工程、

極性溶媒と非極性溶媒との組合せ中に溶解させた、工程b)で得られた前記非極性抽出液を、固体マトリックスに対して吸着に付す工程であって、前記極性溶媒が、エタノール、メタノール、アセトン、酢酸、酢酸エチル、アセトニトリル、ジクロロメタン、およびこれらの組合せから選択され、前記非極性溶媒が、石油エーテルおよびn-ヘキサン並びにこれらの組合せから選択される、工程、および

このようにして得た前記固体マトリックスを、極性溶媒と非極性溶媒との組合せを用いる処理に掛け、このようにしてグアユリンAおよびグアユリンBの混合物を含む溶液と、アルゲンタチンBを含む固体マトリックスとを得る工程であって、前記極性溶媒が、エタノール、メタノール、アセトン、酢酸、酢酸エチル、アセトニトリル、ジクロロメタン、およびこれらの組合せから選択され、前記非極性溶媒が、石油エーテルおよびn-ヘキサン並びにこれらの組合せから選択される、工程、

を含む、前記方法。

【請求項2】

前記少なくとも1種のイソブレン系成分が、グアユリンA、グアユリンB、アルゲンタチンA、アルゲンタチンB、アルゲンタチンC、アルゲンタチンD、およびこれらの混合物を含む群の中で選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記アルゲンタチンBを含む固体マトリックスを、極性溶媒を用いる更なる処理に掛け、このようにしてアルゲンタチンBの溶液を得る、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

工程c)の後に、少なくとも1種の前記イソブレン系成分を精製する少なくとも一つの工程d)が続く、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項5】

精製工程d)が、少なくとも一つのイソブレン系成分を結晶化させ、このようにして前記樹脂の少なくとも一つのイソブレン系成分を実質的に純粋な結晶形態で得る工程を含む、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

工程d)が、工程c)において得られた前記グアユリンAとグアユリンBとの混合物を、冷却しつつ、非極性溶媒を用いる処理により、グアユリンAの沈殿処理に掛け、このようにして精製されたグアユリンAの沈殿と、グアユリンAおよびグアユリンBの混合物を含む上澄みと得る工程d1)を含む、請求項4または5に記載の方法。

【請求項7】

前記工程d)が、工程c)において得られた前記アルゲンタチンBを、冷却しつつ、非極性溶媒を用いる沈殿処理に掛け、このようにして精製されたアルゲンタチンBの沈殿を得る工程d2)を含む、請求項4～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】

前記工程d)が、工程c)において得られた前記アルゲンタチンAを、冷却しつつ、非極性溶媒を用いる沈殿処理に掛け、このようにして精製されたアルゲンタチンAの沈殿を得る工程d3)を含む、請求項4～7のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 9】

前記工程d)が、工程c)において得られたアルゲンタチンCとアルゲンタチンDとの前記混合物を、冷却しつつ、非極性溶媒を用いる、アルゲンタチンDの沈殿処理に掛け、このようにして精製されたアルゲンタチンDの沈殿と、アルゲンタチンCを含む上澄みとを得る工程d4)を含む、請求項4 ~ 8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 10】

前記工程d4)の後に、前記アルゲンタチンCを含む上澄みを、前記溶媒の蒸発処理に掛け、残渣を、冷却しつつ、非極性溶媒中に溶解し、このようにして精製されたアルゲンタチンCの沈殿を得る工程d5)が続く、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

前記工程c)が、工程d1)において得られた前記グアユリンAおよび/または工程c)において得られたグアユリンAとグアユリンBとの前記混合物を塩基性加水分解反応に掛け、このようにしてパルテニオールを含む溶液を得ることを含む工程e1)を伴う、請求項1 ~ 10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 12】

前記工程e1)が、このようにして得られた前記パルテニオールをエステル化し、このようにしてグアユリンBを含む溶液を得る工程e2)を伴う、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

このようにして工程e2)において得られたグアユリンBを含む前記溶液を蒸発処理に掛け、残渣を非極性溶媒に溶解させ、このようにして精製されたグアユリンBの沈殿を得る、請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

前記工程c)が、工程c)および/または工程d2)において得られた前記アルゲンタチンBの還元反応を含む工程e3)を伴い、このようにしてアルゲンタチンDを含む溶液を得る、請求項1 ~ 13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 15】

前記還元反応の後で、このようにして得られたアルゲンタチンDを含む前記溶液を蒸発処理に掛け、残渣を非極性溶媒中に溶解し、このようにして精製されたアルゲンタチンDの沈殿を得る、請求項14に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】**【0001】**

本発明は、一般的に抽出に係る工業部門およびゴム、とりわけグアユール(guayule)および/またはグアユール系(guayule type)植物由来のゴムの製造、より具体的にはそれらの廃棄物の回収に関連する分野に係る。

特に、本発明は、グアユール樹脂からのまたはグアユール系樹脂からのイソプレン系成分、その内でもグアユリンAおよびB、およびアルゲンタチンA、B、CおよびDを分離するための方法に係りしている。

【背景技術】**【0002】**

40

上記グアユール(グアユールゴムの木(*Partenium argentatum*))は、北部メキシコおよびテキサスの半乾燥地帯で産する多年生灌木である。

それは、幾つかのファクタに依存して、またその乾燥植物に基いて約5~20%の間の、cis-1,4-ポリイソプレンゴムの様々な含有率を持つ。他の天然源、例えばパラゴムの木(*Hevea brasiliensis*)等から抽出されたゴムの輸入コストが高いことから、グアユールは、米国およびイタリア両国において、第二次世界大戦前に既に、天然ゴムの代替源として検討されていた。

グアユールゴムは、幾つかの本質的な面に関してパラゴムの木由来のものとは異なっており、その最も重要なものは、天然ゴムに比して低いアレルギー誘発性を与える、実質的に低いタンパク質含有量にあると言われている。実際に、パラゴムの木属植物(*Hevea*)ラ

50

テックスアレルギーは、プロヘベイン(pro-hevein)と呼ばれるタンパク質によって引起され、該タンパク質は、該植物におけるラテックス凝集の役割を有しており、免疫応答を誘発するIgEsヘベインエピトープを結合し、これは一連の皮膚および呼吸性のアレルギー反応を決定付ける。

【 0 0 0 3 】

グアユールから抽出されたものと同様なゴムを抽出するための他の適切な植物は、例えばホルトソウ(*Euphorbia lathyris*)、マリオーラ(*Parthenium incanum*)、ラビットプラッシュュ(*Chrysanthemum nauseosus*)、ペディランサスマクロカルпус(*Pedilanthus macrocarpus*)、ゴムブドウ(*Cryptostegia grandiflora*)、オオトウワタ(*Asclepias syriaca*)、アスクレピアススペシオサ(*Asclepias speciosa*)、アスクレピアスプラータ(*Asclepias s. subulata*)、セイタカアワダチソウ(*Solidago altissima*)、イトバアワダチソウ(*Solidago graminifolia*)、ソリダゴリジダ(*Solidago rigida*)、ペールインディアンプランタン(*Cacalia atriplicifolia*)、ロシアタンポポ(*Taraxacum koksaghyz*)、マウンテンミント(*Pycnanthemum incanum*)、アメリカニガグサ(*Teucrium canadense*)、カンパニュラアメリカーナ(*Campanula americana*)を含む。更に、その他の植物は、キク科(Asteraceae (Compositae))、トウダイグサ科(Euphorbiaceae)、キキヨウ科(Campanulaceae)、シソ科(Labiatae)およびクワ科(Moraceae)に属する。10

目下のところ、グアユールは、低アレルギー誘発性天然ゴムの一つの可能な源であると考えられているばかりでなく、また特に最近の数年間に、全ての植物成分、その中でも樹脂の完全な有効利用を可能とするような方法および技術の開発を目標とする数例の研究が行われた。20

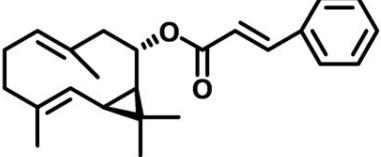
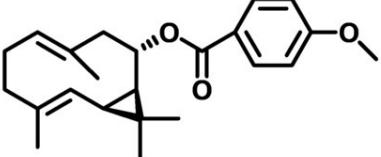
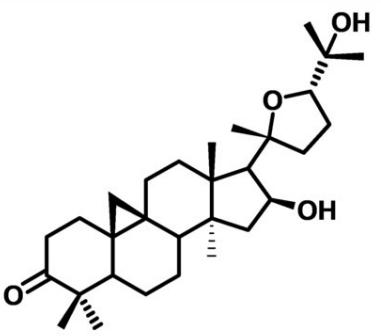
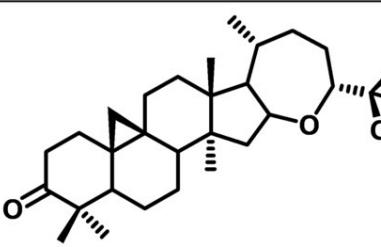
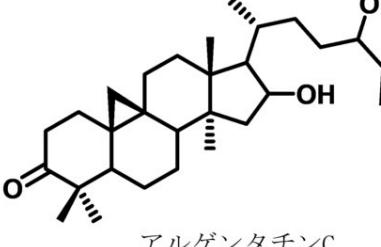
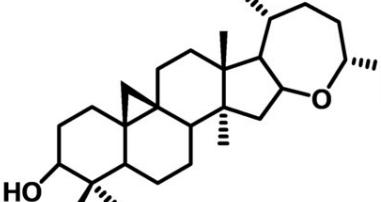
【 0 0 0 4 】

事実、ゴムの量と同等なまたはより多くの量で製造されるグアユール樹脂は、数種の用途、その中でも例えば接着剤の製造および寄生生物による害に対して抵抗性の木質パネルの製造に対して利用できるが、該天然ゴムおよび/または樹脂の抽出後、残留するグアユールバイオマスは、燃焼性ペレットおよびブリケットの製造において、および後にバイオ-メタノールおよび/またはバイオ燃料へと発酵させ得る、所謂「第二世代の糖」(該残留バイオマスのセルロースおよびヘミセルロース画分から)の源として使用し得る。

上記グアユール植物並びにグアユール由来のものと同様なガムおよび樹脂が得られるその他の植物、中でも上に列挙したものにより製造される樹脂は、二次代謝物、中でもテルペソ群に属するイソブレン系成分(以下の表1を参照のこと)に富むものである。グアユリンは、香料工業および昆虫フェロモンの製造にとって、潜在的に興味深いセスキテルペソ化合物であり、一方アルゲンタチンは、潜在的な酸化防止および抗腫瘍活性を持つトリテルペソ化合物である。これまでに開発されたグアユール処理技術は、主としてそのcis-1,4-ポリイソブレン天然ゴムおよびその粗製樹脂の抽出法、それらの処理およびバイオマス保存処理に注目している。30

【 0 0 0 5 】

【表1】

表1：興味深いイソプレン系成分		
成分	分類	分子構造
グアユリンA	セスキテルペン	 グアユリンA
グアユリンB	セスキテルペン	 グアユリンB
アルゲンタチンA	トリテルペン	 アルゲンタチンA
アルゲンタチンB	トリテルペン	 アルゲンタチンB
アルゲンタチンC	トリテルペン	 アルゲンタチンC
アルゲンタチンD	トリテルペン	 アルゲンタチンD

上記グアユール樹脂(またはその他)およびより一層詳しくはその成分に係る特定の問題に関して、天然ゴムの処理に由来する廃物と考えられるバイオマスの性質と、しかしその純粹な形態にあるその成分の、単純かつ安価なシステムを用いての入手の困難さとの両者のために、詳細な研究は、これまでのところ全くなされていない。

事実、当分野において公知の方法は、クロマトグラフィー(カラム)精製法を使用しており、該精製法は、経費を要し並びにその後の工業的応用を考慮すると、スケールアップが困難である。この分離および精製における困難さは、上記樹脂が様々な性質を持つ化合物の複雑な混合物によって構成されているという事実にあり、該混合物は、脂質、ワックスおよび低分子量ゴム等といった代謝物質に加えて、多数の二次的なイソプレン系代謝物質をも含んでいる。

Schloman等(1983)は、グアユール植物(グアユールゴムの木(*Parthenium argentatum*))の樹脂から出発する、グアユリンおよびアルゲンタチンの定量化を記載している。該グアユリンは、「短工程(short path)」蒸留処理と共に鹹化し、その後結晶化することにより回収された。その定量化は、クロマトグラフィー法(HPLC)によって行われた(Schloman, W.W. Jr., Hively, R.A., Krishen, A., Andrews, A.M., 「生成物の評価によるグアユール：抽出によるキャラクタリゼーション(Guayule by product evaluation : extract characterization)」, *J. Agric. Food Chem.*, 1983, 31, 873-876)。

【0007】

グアユリンAおよびBの製造方法は、Zoeller (1994)により説明されており、またクロマトグラフィー技術を利用している(Zoeller, Jr.J.H., Wagner, J.P., Sulikowski, G.A.,

「グアユールゴムの木からのグアユリンAの簡潔な多量採取精製法(Concise multigram purification of guayulin A from guayule)」, *J. Agric. Food Chem.*, 1994, 42, 1647-1649)。この方法は、数段階からなっている：1時間に及ぶ還流下での、アセトンを用いた適当な反応器内での2工程の抽出によるグアユール樹脂の抽出段階；該粗抽出液の、その溶媒の完全な蒸発による濃縮段階；その低分子量ゴムの分離段階、そこでは該粗抽出液は酢酸エチルに溶解され、またブラインによる液-液分配処理に掛けられ、次いで該有機相を無水化しあり、またシリカゲル上での重量クロマトグラフィー(gravimetric chromatography)による該樹脂のクロマトグラフィーによる分別段階；更なるシリカゲル上での重量クロマトグラフィー法を用いた、該グアユリンAのクロマトグラフィーによる精製段階。該集められた画分を濃縮した後に、該粗抽出液に基く1%という収率での純粹な白色固体としてのグアユリンAの沈殿、およびグアユリンAおよびBの混合物が得られる。該アルゲンタチンの分離または単離は、この方法によってもたらされることはない。

Zoeller等, 1994により説明された上述の方法は、幾つかの欠点を有し、その中でも得られる純粹なグアユリンの低収率がある。実際に、純粹なグアユリンAは、該粗抽出液に基いて1%の収率で得られ、一方でグアユリンBは、グアユリンAとの混合物の状態で得られ、またその精製は困難である。

【0008】

上記方法に係るもう一つの欠点は、その成分の一方、即ちグアユリンAのみが精製されることにより構成される。

逆に、グアユリンBは、ファイヤーストーンタイヤ & ラバー社(Firestone Tire and Rubber Co.)により、クロマトグラフィー技術によって純粹な形態で、僅かに0.4%という該樹脂からの収率にて得られた(Singh, M. Bagwa, 「グアユール樹脂の分離および精製(Guayule resin separation and purification)」, M.S. Thesis, テキサスA&Mユニバーシティー(Texas A&M University), 原子力工学部(Department of Nuclear Engineering), 1992年12月)。

従って、本発明によって扱われる技術的問題点は、グアユール植物の樹脂由来のイソプレン系成分、特にグアユリンA、グアユリンB、アルゲンタチンA、アルゲンタチンB、アルゲンタチンCおよび/またはアルゲンタチンDを分離するための、実用的で、費用が掛からず、融通の利く、規模拡大可能かつ高い収率を伴う方法を提供することである。

【発明の概要】

【0009】

上記の問題は、本発明に従って、グアユールおよび/またはグアユール系植物の樹脂を由来とする少なくとも一つのイソプレン系成分を分離する方法によって解決され、該方法は、以下の段階：

- a) グアユールおよび/またはグアユール系由来の脱脂された樹脂を準備する段階；
- b) 該脱脂された樹脂を、相互に不混和性の溶媒を用いる液-液型の分配処理に掛け、このようにして該イソプレン系成分のグアユリンA、グアユリンBおよびアルゲンタチンBを含有する非極性抽出液および該イソプレン系成分のアルゲンタチンA、アルゲンタチンCおよびアルゲンタチンDを含有する極性抽出液を得る段階；および
- c) このようにして得られた該極性抽出液からおよび/または該非極性抽出液から、少なくとも1種のイソプレン系成分を分離する段階を含み、

そこにおいて、該段階c)は、該極性抽出液を、相互に不混和性の溶媒を用いる液-液型の分配処理に掛ける段階、および/または該非極性抽出液を、固-液型の分配処理に掛ける段階を含む。

【0010】

ここで、上記用語「脱脂された樹脂」とは、ワックス、脂質および低分子量ゴムを実質上含まない、グアユール植物の樹脂状抽出物を意味する。

ここで、上記用語「液-液型の分配処理」および「液-液分配処理」とは、複雑な混合物中に存在する1種またはそれ以上の化合物の分離方法を意味し、該分離法は、相互に不混和性の2種の溶媒に対する分離すべき該化合物の溶解度の違いを利用して行われる。

ここで、上記用語「液-固型の分配処理」および「液-固分配処理」とは、複雑な混合物中に存在する1種またはそれ以上の成分に対する固相のアフィニティーに基いた抽出操作を意味する。

実際に、液-固型の分配処理(または抽出)(英語名の固相抽出を基にして、一般に頭字語SPEで示される)においては、液相と、接触状態に置かれる該溶液に対して不溶性の固相との間での、該成分の分配を利用する。適当な期間に渡る接触の後に、該液相を取り出し、また該固相に吸収された化合物を、抽出溶媒を使用して回収することができる。

好ましくは、上記少なくとも一つのイソプレン系成分(非-ポリマー系イソプレノイドとしても表示される)はグアユリンA、グアユリンB、アルゲンタチンA、アルゲンタチンB、アルゲンタチンC、アルゲンタチンDおよびこれらの混合物を含む群から選択される。

【0011】

好ましくは、段階a)において、上記脱脂された樹脂はグアユールまたはグアユール系の植物、より好ましくはグアユールゴムの木(*Parthenium argentatum*)、ホルトソウ(*Euphorbia lathyris*)、マリオーラ(*Parthenium incanum*)、ラビットブラッシュ(*Chrysanthemus nauseosus*)、ペディランサスマクロカルпус(*Pedilanthus macrocarpus*)、ゴムブドウ(*Cryptostegia grandiflora*)、オオトウワタ(*Asclepias syriaca*)、アスクレピアススペシオサ(*Asclepias speciosa*)、アスクレピアスブルータ(*Asclepias subulata*)、セイタカアワダチソウ(*Solidago altissima*)、イトバアワダチソウ(*Solidago graminifolia*)、ソリダゴリジダ(*Solidago rigida*)、ペールインディアンプランタイン(*Cacalia atriplicifolia*)、ロシアタンポポ(*Taraxacum koksaghyz*)、マウンテンミント(*Pycnanthemum incanum*)、アメリカニガグサ(*Teucrium canadense*)、アメリカベルフラワー(*Campanula americana*)を含む群の中で選択される1種またはそれ以上の植物から得られ、該植物は、好ましくはグアユールゴムの木である。

上記段階a)の脱脂された樹脂は、天然またはインビトロで栽培された、新鮮なまたは乾燥された植物から得ることができる。

一態様によれば、上記段階a)の脱脂された樹脂は、上記の全植物体の粗抽出液から得られる。

別の態様によれば、上記段階a)の脱脂された樹脂は、上記植物の枝、茎、および葉の内の1種またはそれ以上の粗抽出液から得られる。

10

20

30

40

50

更に別の態様によれば、上記段階a)の脱脂された樹脂は、上記バガスの粗抽出液から得られる。

【0012】

ここで、上記用語「粗抽出液」とは、ゲアユールまたはゲアユール系植物の樹脂を含む該植物の、通常は溶媒を使用する処理後に得られる画分を表し、該処理は、該樹脂を含有する該植物の所定の画分を、そのリグノセルロース成分から分離するためのものである。

上記用語「バガス」とは、上記ゲアユール天然ゴムの抽出工程を由来とする残留バイオマスを言う。

好ましくは、上記段階a)の脱脂された樹脂は、ゲアユールまたはゲアユール系の植物に係る粗抽出液の脱脂段階、より好ましくは分別結晶化段階(「脱蠅(winterization)」とも呼ばれる)により得られる。

有利には、上記脱脂段階後の、上記粗抽出液の乾燥質量に関する脱脂された樹脂の、樹脂乾燥質量に係る百分率で表された該樹脂の収率は50~70%の間、より好ましくは約60%である。好ましくは、上記分別結晶化段階(または「脱蠅」)は、該粗抽出液の、30~50の間、より好ましくは40 という温度における溶媒を用いた処理であって、好ましくは該粗抽出液の実質上完全な溶解に至るまでの攪拌下での処理；およびその後の、好ましくは約0 という温度での冷却を含み、かくしてワックス、脂質および低分子量のゴムを含む非極性成分の、該脱脂された樹脂を含有する極性成分(「母液」とも呼ばれる)からの分離を達成する。

好ましくは、上記分別結晶化段階において、上記溶媒はメタノール、水、エタノール、メタノール、アセトンおよびこれらの組合せ、好ましくはメタノールから選択される。

【0013】

好ましくは、上記分別結晶化段階において、上記粗抽出液は、上記溶媒中に、該溶媒の体積(L)に関する該粗抽出液の乾燥質量(g)として表された、50~150g/Lの間、より好ましくは100g/Lという比率にて懸濁される。

好ましくは、上記段階b)は、これに先行する、上記脱脂された樹脂の所定体積までの濃縮段階を含み、その体積は、濃縮前の該樹脂のv/v百分率として表され、5~20% (v/v)の間、より好ましくは5~10% (v/v)の間にある。

好ましくは、上記段階b)において、上記液-液型の分配処理は、15~26 の間、より好ましくは20 という温度にて行われる。

好ましくは、上記段階b)において、上記の相互に不混和性の溶媒は、極性溶媒および非極性溶媒を含む。

好ましくは、段階b)において、上記極性溶媒は水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノール、酢酸エチル、およびこれらの組合せ、より好ましくはメタノールと水との溶液、より好ましくは2:1~6:1の間、より好ましくは3:1~5:1の間、より一層好ましくは約4:1というメタノールと水との間の体積比にある該溶液を含む群から選択され、また上記非極性溶媒は、石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より好ましくは石油エーテルの間で選択される。

【0014】

好ましくは、上記極性溶媒は、上記非極性溶媒に関して、2:1~8:1の間、より好ましくは4:1~5:1の間の体積比にある。

好ましくは、上記脱脂された樹脂を分配処理にかけるという上記段階b)は、1回または2回以上繰り返される。

好ましくは、上記段階b)は、このようにして得られた上記非極性抽出液の乾燥段階、より好ましくは約0.15kPa(1.5mbar)~約0.20kPa(2.0mbar)の間の圧力および25 ~ 35 の間の温度における乾燥段階を含む。

好ましくは、段階a)を由来とする上記脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された、段階b)において得られた上記非極性抽出液内のゲアユリンA、ゲアユリンBおよびアルゲンタチンBの全てに係る収率は、少なくとも10.0%、より好ましくは少なくとも12.0%である。

10

20

30

40

50

好ましくは、段階a)を由来とする該脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された、段階b)において得られた上記極性抽出液内のアルゲンタチンA、アルゲンタチンCおよびアルゲンタチンDの全てに係る収率は、少なくとも6.0%、より好ましくは少なくとも11.0%である。

好ましくは、上記段階c)において、上記少なくとも1種のイソプレン系成分は、グアユリンA、グアユリンB、アルゲンタチンBまたはこれらの混合物から選択され、また段階c)は、上記段階b)において得られた非極性抽出液を、上記固-液型の分配処理に掛ける段階を含んでいる。

【0015】

好ましくは、上記段階c)において、上記固-液型の分配処理は、2種の相互に混和性の溶媒の組合せに溶解された、段階b)において得られた上記非極性抽出液を、固体マトリックスへの吸着、より好ましくは選択的な捕捉による吸着処理に掛ける段階、およびこのようにして得られた該固体マトリックスの、2種の相互に混和性の溶媒の組合せによる処理、より好ましくは濯ぎに掛ける段階を含んでおり、かくしてグアユリンAおよびグアユリンBの混合物を含有する溶液およびアルゲンタチンBを含有する固体マトリックスを得る。

好ましくは、このようにして得た上記固体マトリックスの処理は、固体マトリックスに対する吸着段階の溶媒の組合せと同一である、溶媒の組合せを用いて行われる。

好ましくは、上記固体マトリックスに対する吸着段階は、上記溶媒の組合せの蒸発を伴う。

好ましくは、上記固体マトリックスに対する吸着は、反応フラスコ内でまたは濾過用支持材上で、より好ましくは反応フラスコ内で行われる。

好ましくは、上記固体マトリックスに対する吸着は、約0.10kPa(1.0mbar)～約0.25kPa(2.5mbar)の間、より好ましくは約0.15kPa(1.5mbar)～約0.20kPa(2.0mbar)の間の圧力および25～35の間、より好ましくは28～32の間の温度にて行われる。

【0016】

好ましくは、上記固体マトリックスは塩基性シリカゲル、C₈-C₁₈アルキル基を持つ炭化水素に結合したシリカゲル(即ち、逆相)、シアニド基または等価な基に結合したシリカゲル、フェニルアルキル基または等価な基に結合したシリカゲル、およびこれらの組合せ、より好ましくは塩基性シリカゲルを含む群から選択される。

好ましくは、上記段階c)に係る固-液型の分配処理において、上記溶媒の組合せは、極性溶媒と非極性溶媒との組合せ、より好ましくは該非極性溶媒および該極性溶媒に関する体積比で、4:1～49:1の間、より好ましくは5.5:1～19:1の間、より一層好ましくは約9:1という体積比にある該組合せである。

好ましくは、上記固体マトリックスは、70～230の間のメッシュサイズを持つ。

好ましくは、上記溶媒の組合せと上記固体マトリックスとの間の、体積/体積百分率として表された比は、1:5～1:2の間、より好ましくは1:4～1:3の間にある。

好ましくは、上記段階c)に係る固-液型の分配処理において、上記溶媒の組合せにおける該溶媒は、上記段階b)において得られた非極性抽出液と、該非極性抽出液の乾燥質量に関する溶媒の併合体積として表して、5～9mL/gの間、より好ましくは7mL/gという比で混合される。

好ましくは、上記段階c)に係る固-液型の分配処理において、上記極性溶媒はエタノール、メタノール、アセトン、酢酸、酢酸エチル、アセトニトリル、ジクロロメタン、およびこれらの組合せを含む群から選択され；かつ上記非極性溶媒は石油エーテルおよびn-ヘキサンおよびこれらの組合せを含む群から選択される。

【0017】

好ましくは、段階c)で得たグアユリンAおよびグアユリンBの混合物を含有する上記溶液中のグアユリンAとグアユリンBとの混合物の、上記段階a)の脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された収率は、少なくとも5.0%、より好ましくは少なくとも8.0%である。

好ましくは、上記段階c)において得られた固体マトリックス中のアルゲンタチンBの、

10

20

30

40

50

上記段階a)の脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された収率は、少なくとも2.0%、より好ましくは少なくとも3.2%である。

好ましくは、上記アルゲンタチンBを含む固体マトリックスを更なる処理、好ましくは極性溶媒による洗浄処理に付し、かくしてアルゲンタチンBの溶液を得る。

好ましくは、上記固体マトリックスの更なる処理において、上記極性溶媒は、エタノール、メタノール、アセトン、酢酸、酢酸エチル、アセトニトリル、ジクロロメタン、およびこれらの組合せ、好ましくは酢酸エチルを含む群から選択される。

好ましくは、上記固体マトリックスの更なる処理は、15 ~ 30 の間、より好ましくは20 ~ 25 の間の温度にて行われる。

好ましくは、上記固体マトリックスの更なる処理は、かくして分離された上記アルゲンタチンBの溶液を濾過しおよび乾燥する段階を伴う。 10

【0018】

好ましくは、段階c)において、上記少なくとも1種のイソブレン系成分は、アルゲンタチンA、アルゲンタチンC、アルゲンタチンDまたはこれらの混合物から選択され、また該段階c)は、上記段階b)において得られた極性抽出液を、上記液-液型の分配処理に付す段階を含む。

好ましくは、段階c)において、上記液-液型の分配処理は、上記段階b)において得られた極性抽出液を、極性溶媒と非極性溶媒との組合せ中での分離処理に掛け、かくしてアルゲンタチンAを含む有機相およびアルゲンタチンCとアルゲンタチンDとの混合物を含有する水性相を得る段階を含む。 20

好ましくは、上記段階c)の液-液型の分配処理において、上記非極性溶媒および上記極性溶媒は、1:2 ~ 1:8の間、より好ましくは1:5 ~ 1:7の間、より一層好ましくは約1:6で構成される、該極性溶媒に関する該非極性溶媒の体積比にある。

好ましくは、段階c)において、上記液-液型の分配処理段階は、1回または2回以上繰り返される。

好ましくは、上記段階c)の液-液型の分配処理段階において、その非極性溶媒は、シクロヘキサン、n-ヘキサン、石油エーテルおよびこれらの組合せ、より好ましくはシクロヘキサンを含む群から選択される。

好ましくは、上記段階c)に係る液-液型の分配処理段階において、その極性溶媒は水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノールおよびこれらの組合せ、好ましくはメタノールおよび水を含む群から選択される。 30

【0019】

好ましくは、上記段階c)の液-液型分配処理段階において、その極性溶媒は、上記段階b)において得られた極性抽出液の懸濁溶媒を含む。

好ましくは、上記段階c)に係る液-液型の分配処理段階において、該液-液型の分配処理に先立って、上記段階b)において得られた極性抽出液の濃縮段階がある。

好ましくは、このようにして得られた上記アルゲンタチンBを含有する上記有機相は、乾燥される。

好ましくは、アルゲンタチンCとアルゲンタチンDとの混合物を含む上記水性相は、更に極性溶媒で処理され、またより好ましくは、これは乾燥される。 40

好ましくは、上記段階c)において得られた有機相中のアルゲンタチンAの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された収率は、少なくとも3.0%、より好ましくは少なくとも8.0%である。

好ましくは、上記段階c)において得られた水性相中のアルゲンタチンCとアルゲンタチンDとの混合物の、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された収率は、少なくとも0.5%、より好ましくは少なくとも3.0%である。

好ましくは、段階c)は、少なくとも1種の上記イソブレン系成分を精製する段階d)を少なくとも伴う。

【0020】

好ましくは、上記精製段階d)は、少なくとも1種のイソブレン系成分の結晶化段階を含 50

んでおり、かくして実質的に純粋な結晶形状で、上記樹脂の少なくとも1種のイソプレン系成分を得る。

好ましくは、段階d)において、その結晶化段階は、非極性溶媒、より好ましくは石油エーテルおよび/またはn-ヘキサンによる、低温、より好ましくは0 ~ -23 の間の温度における直接的結晶化である。

好ましくは、上記グアユリンA、アルゲンタチンA、CおよびDの結晶化段階において、その結晶化温度は、約-23 である。

好ましくは、上記段階d)は、段階d1)を含み、該段階においては、上記段階c)において得たグアユリンAとグアユリンBとの混合物を、好ましくは石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より一層好ましくはn-ヘキサンを含む群から選択される非極性溶媒を使用して、冷却しつつ、より好ましくは0 ~ -23 の間、より一層好ましくは-23 という温度にて処理することによる、グアユリンAの沈殿処理に掛け、かくして精製されたグアユリンAの沈殿およびグアユリンAとグアユリンBとの混合物を含む上澄みを得る。
10

好ましくは、上記精製されたグアユリンAの沈殿を結晶化処理、より好ましくはn-ヘキサンを用いた直接的結晶化による結晶化処理に掛け、かくして純粋なグアユリンAの結晶を得る。

【0021】

好ましくは、純粋なグアユリンAの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された収率は、少なくとも2.0%、より好ましくは少なくとも5.0%である。
20

好ましくは、上記段階d1)において得られるグアユリンAとグアユリンBとの混合物の、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された収率は、少なくとも0.5%、より好ましくは少なくとも2.8%である。

好ましくは、上記段階d)は段階d2)を含み、そこでは上記段階c)において得られるアルゲンタチンBを、好ましくは石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組み合わせ、より一層好ましくは石油エーテルを含む群から選択される非極性溶媒を用い、冷却しつつ、より好ましくは0 ~ -23 の間、より一層好ましくは0 という温度における沈殿処理に掛け、かくして精製されたアルゲンタチンBの沈殿を得る。

好ましくは、上記の精製されたアルゲンタチンBの沈殿を結晶化処理、より好ましくは石油エーテルを用いた直接的結晶化による結晶化処理に付し、かくして純粋なアルゲンタチンBの結晶を得る。
30

好ましくは、上記純粋なアルゲンタチンBの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表された収率は、少なくとも1.5%、より好ましくは少なくとも3.4%である。

【0022】

好ましくは、上記段階d)は段階d3)を含み、そこにおいては、上記段階c)において得られたアルゲンタチンAを、好ましくはシクロヘキサン、n-ヘキサン、エチルエーテル、石油エーテル、およびこれらの組合せ、より一層好ましくはエチルエーテルおよびn-ヘキサンを含む群から選択される非極性溶媒を用いて、冷却しつつ、より好ましくは0 ~ -23 の間、より一層好ましくは-23 という温度における沈殿処理に掛け、かくして精製されたアルゲンタチンAの沈殿を得る。
40

好ましくは、上記精製されたアルゲンタチンAの沈殿を、結晶化処理、より好ましくはn-ヘキサンおよびエチルエーテルを用いた直接的結晶化による結晶化処理に掛け、かくして純粋なアルゲンタチンAの結晶を得る。

好ましくは、上記精製されたアルゲンタチンAの沈殿に係る上記結晶化は、0 ~ -78 の間の温度にて行われる。

好ましくは、上記段階d)は、段階d4)を含み、そこでは上記段階c)で得たアルゲンタチンCとアルゲンタチンDとの混合物を、好ましくは石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組み合わせ、より一層好ましくは石油エーテルを含む群から選択される非極性溶媒を使用して、冷却しつつ、より好ましくは0 ~ -23 の間、より一層好ましくは-23 という
50

温度にて、アルゲンタチンDの沈殿処理に付し、かくして精製されたアルゲンタチンDの沈殿およびアルゲンタチンCを含む上澄みを得る。

【0023】

好ましくは、上記精製されたアルゲンタチンDの沈殿を、結晶化処理、より好ましくは石油エーテルを用いた直接的結晶化による結晶化処理に掛け、かくして純粋なアルゲンタチンDの結晶を得る。

好ましくは、上記純粋なアルゲンタチンDの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表される収率は、少なくとも0.3%、より好ましくは少なくとも0.8%である。

好ましくは、段階d4)は、段階d5)を伴い、そこではそのアルゲンタチンCを含む上澄みが、その溶媒の蒸発処理に付され、またその残渣は非極性溶媒、好ましくはシクロヘキサン、石油エーテル、エチルエーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より一層好ましくはエチルエーテルを含む群から選択される非極性溶媒中に、冷却しつつ、より好ましくは0 ~ -23 の間、より好ましくは-23 の温度にて溶解され、かくして精製されたアルゲンタチンCの沈殿が得られる。

好ましくは、上記精製されたアルゲンタチンCの沈殿は、結晶化処理、より好ましくはn-ヘキサンを用いた直接的な結晶化による結晶化処理に掛けられ、かくして純粋なアルゲンタチンCの結晶が得られる。

好ましくは、上記純粋なアルゲンタチンCの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表される収率は、少なくとも0.1%、より好ましくは少なくとも0.3%である。

好ましくは、上記段階d4)に先だって、上記段階c)において得られた水性相の濃縮段階がある。

【0024】

好ましくは、上記段階c)は、段階e1)を含み、この段階は、上記段階d1)において得たグアユリンAおよび/または該段階c)で得たグアユリンAとグアユリンBとの混合物の、塩基性加水分解反応を含み、かくしてパルテニオールを含有する溶液が得られる。

好ましくは、上記塩基性加水分解反応は、より好ましくは攪拌下での、上記グアユリンAおよび/または上記のグアユリンAおよびグアユリンBおよび塩基性溶液の混合物を含む反応混合物内で行われ、そこで該塩基性溶液は、より好ましくは水酸化カリウム、水酸化ナトリウムおよびこれらの組合せ、より好ましくは水酸化カリウムを含む群から選択され、そこで該グアユリンAおよび/または該グアユリンAとグアユリンBと該塩基性溶液との混合物は、1:2~1:10の間、より好ましくは1:1.5~1:10の間、より一層好ましくは約1:5という、該塩基性溶液に関する該グアユリンAおよび/または該グアユリンAとグアユリンBとの混合物に係る質量(g)/体積(mL)の比にあり、かくしてパルテニオールを含有する有機相が得られる。

好ましくは、上記反応混合物は、更にメタノールおよび水を含み、そこで該水とメタノールとの間の体積/体積比は、1:20~1:100の間およびより好ましくは1:50の間にある。

好ましくは、上記パルテニオールを含有する溶液を、冷却しつつ、より好ましくは0において結晶化処理、より好ましくは石油エーテルを用いた直接的な結晶化による結晶化処理に付し、かくして純粋なパルテニオールを得る。

【0025】

好ましくは、上記段階d1)のグアユリンAとグアユリンBとの混合物の加水分解によって得られる上記純粋なパルテニオールの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表される収率は少なくとも0.5%、より好ましくは1.5%である。

好ましくは、上記段階e1)は、このようにして得られた上記パルテニオールのエステル化に係る段階e2)を伴い、かくしてグアユリンBを含む溶液が得られる。

好ましくは、上記パルテニオールのエステル化は、アニス酸または塩化アニソイルを用いて行われる。

好ましくは、上記パルテニオールのエステル化段階において、そのアニス酸または塩化

10

20

30

40

50

アニソイルは、該パルテニオールに関して1当量という量で使用される。

好ましくは、このようにして上記段階e2)において得られたグアユリンBを含有する溶液は、蒸発処理に掛けられ、またその残渣は、非極性溶媒、好ましくはシクロヘキサン、n-ヘキサン、エチルエーテル、石油エーテルおよびこれらの組合せ、より一層好ましくは石油エーテルを含む群から選択される該溶媒に溶解され、かくして精製されたグアユリンBの沈殿が得られる。

好ましくは、上記精製されたグアユリンBの沈殿は、冷却しつつ、より好ましくは0 ~ -23 の間、より好ましくは0 という温度における結晶化処理に掛けられ、かくして純粋なグアユリンBの結晶が得られる。

【0026】

10

好ましくは、上記純粋なグアユリンBの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表される収率は、少なくとも0.55%(該反応に係る反応収率38モル%)である。

好ましくは、上記段階c)は、段階e3)を伴い、該段階は、段階c)および/または段階d2)において得た上記アルゲンタチンBの還元反応を含み、かくしてアルゲンタチンDを含む溶液が得られる。

好ましくは、上記還元反応は、より好ましくは攪拌下にて、上記アルゲンタチンBおよび水素化アルミニウムリチウムLiAlH₄または水素化ホウ素ナトリウム、より好ましくは水素化ホウ素ナトリウムNaBH₄を含む反応混合物中で行われ、そこで好ましくは、該反応混合物は、該混合物の体積に関するアルゲンタチンBの乾燥質量として表される、2.5 ~ 1.5g /100mLの間で構成され、より好ましくは2.0g/100mLという濃度を有し、かくしてアルゲンタチンDを含有する溶液が得られる。

20

好ましくは、上記還元反応において、その水素化アルミニウムリチウムLiAlH₄または水素化ホウ素ナトリウムは、上記アルゲンタチンBに関して3当量に等しい量で存在する。

好ましくは、上記反応混合物は、更にメタノールを含み、そこで該メタノールは、70 ~ 90%の間、より好ましくは80%で構成される、体積(mL)基準の質量(g)百分率として表される濃度で存在する。

【0027】

30

好ましくは、上記還元反応の後に、このようにして得た上記アルゲンタチンDを含む溶液を蒸発処理に掛け、またその残渣を、非極性溶媒、好ましくはシクロヘキサン、エチルエーテル、n-ヘキサン、石油エーテルおよびこれらの組合せ、より一層好ましくは石油エーテルを含む群から選択される該溶媒中に溶解し、かくして精製されたアルゲンタチンDの沈殿を得る。

好ましくは、該精製されたアルゲンタチンDの沈殿を、冷却しつつ、より好ましくは0 ~ -23 の間で構成される温度、より好ましくは0 における結晶化処理に掛け、かくして純粋なアルゲンタチンDの結晶を得る。

好ましくは、上記純粋なアルゲンタチンDの、上記段階a)に係る脱脂された樹脂の乾燥質量に関する乾燥質量百分率として表される収率は、少なくとも0.50%、より好ましくはすくなくとも0.8%である。

本発明に従って得られる上記精製された化合物の構造は、当分野において公知の方法に従う分析、および分光学的特徴付けにより決定される。

40

実際に、上記グアユール(または上記グアユール系の)樹脂および樹脂抽出生成物を、適当な溶媒を用いた分離、特に上記液-液型および/または液-固型の分配処理に掛けることにより、興味深い全ての上記イソプレン系成分であるグアユリンA、グアユリンB、アルゲンタチンA、アルゲンタチンB、アルゲンタチンCおよびアルゲンタチンDを、公知技術に関してより高い収率で、分離かつ精製することが可能であることが見出された。

実際に、上記公知技術は、カラムクロマトグラフィー法に基いており、該方法は経費を要し、また工業的な規模にまでスケールアップすることは不可能である。

【0028】

その上、従来技術は、薬学分野における応用にとって、かなり興味深いものもあるア

50

ルゲンタチンの分離または単離を説明していない。

従って、本出願人は、興味深い上記分子の極性に係る特徴を利用し、かつ段階の正確な順序および各段階に対する溶媒の選択に基いて、迅速で、簡単な、用途の広い、およびさほど経費の掛からない方法で、該興味深い分子全ての分離および精製を可能とする方法を確認することができた。

例えば、本発明の方法は、1kgの粗製樹脂を2日間で処理し、かくして約30gのグアユリンA、20gのアルゲンタチンBおよび3gのアルゲンタチンAを、純粋な状態で得ることを可能とする。

更に、本発明の方法は、体積の限界を持たず、従って工業的な規模の体積に対しても応用することが可能である。

従って、第一に、上記成分のグアユリンA、グアユリンB、アルゲンタチンA、アルゲンタチンB、アルゲンタチンC、およびアルゲンタチンDを、その特徴付けおよび大規模でその工業的な用途の研究を可能とする、所定純度および体積で提供することができた。

上述の分子は、様々な分野、中でも香水の分野、農業分野、化粧品分野および医薬分野における興味深い用途を持つことができる。

【0029】

更に、本発明の方法は、半合成反応を通して、上記樹脂から得ることの困難な少量のイソブレノイド、例えばグアユリンBおよびアルゲンタチンDを得ることを可能とし、該イソブレノイドは、さもなくば満足な量で分離できないであろう。

これらの半合成製品は、本発明の方法のおかげで分離および精製された生成物から、工業的利用可能性に関して高い潜在力を持つ天然および合成製品を得るために、合理的な方法の典型であり、本発明の方法は、従来技術において既に記載されている手間を要しかつ経費の掛かる方法に関して、より用途が広くかつ環境維持性である。

本発明の方法全体の特有の特徴は、カラムクロマトグラフィー技術を使用しないことにより代表され、その上同時に、好ましい態様によれば、低温度にて非極性溶媒を用いた直接的な結晶化処理によって更に精製された結晶性生成物を得ることをも可能とする。本発明を通して達成されるこの万能かつ効率的な分離は、従来技術において一般的に受容られ、また説明されている理論とは対照的に、見掛けの上では予想外であり、該理論によれば、逆に本発明の方法に従って達成されるものに匹敵する結果を得るためにには、クロマトグラフィー精製という経費の掛かる段階が必要となるであろう。

しかし、所望ならば、本発明の精製段階は、同様に、前もってクロマトグラフィーに掛けられた、完全に分離または精製されていない生成物に対して適用するためにも適している。

【0030】

本発明の方法は、当分野において知られている方法に関して、上記成分を分離および精製するための段階数を減じることを可能とし、それ故に該方法を単純化かつ万能化し、かつ同時に純粋な生成物の獲得に係る収率、並びに消費されるコストおよび時間をも最適化する。その上、本発明の方法は、危険な溶媒の使用を必要としない。

本発明の方法は、如何なる特定の備えも無しに、上記植物のあらゆる部分から得られた樹脂に対して適用可能である。実際のところ、該方法は、植物体全体から得られる樹脂ばかりでなく、葉、枝または茎(まとめてまたは単独で扱われる)、同様に更にはこれらの細胞培養物からの樹脂にも適用し得る。

本発明の方法のおかげで、収量における有意な増加が達成される(Zoeller等(1994)の方法に係る1%に関して、本発明の方法に従えば5%という純粋なグアユリンA)。

本発明の方法により、得られる上記生成物の潜在力を利用しましたこれを活用し、それ故に天然ゴムを得るためのグアユール植物処理由来の伝統的に廃物と考えられた物質を回収することができる。

本発明の方法は、更にグアユール由来の非ポリマー型イソブレノイド化合物の獲得および利用可能性に係る問題の興味深い解決策を与えて、利用可能な純粋生成物を製造し、該純粋な生成物は、様々な応用分野において潜在的に興味深い構造類似体を与えるために、

10

20

30

40

50

化学的に変性し得る。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】図1は、グアユールゴムの木(*Parthenium argentatum*)由来のバガスから得た粗抽出液から出発する、本発明の方法に係る一態様の完全なブロック図を表す。括弧内の数字は、グラム単位で表された生成物の量を表している。

【図2】図2は、グアユールゴムの木の枝および茎から得た粗抽出液から出発する、本発明の方法に係る一態様のブロック図を表し、これは、グアユリンA、およびアルゲンタチンAおよびBの取得を明らかにしている。括弧内の数字は、グラム単位で表された生成物の量を表している。

10

【図3】図3は、グアユールゴムの木の葉から得た粗抽出液から出発する、本発明の方法に係る一態様のブロック図を表し、これは、グアユリンA、およびアルゲンタチンAおよびBの取得を明らかにしている。括弧内の数字は、グラム単位で表された生成物の量を表している。

【図4】図4は、本発明の方法の一態様に係る部分ブロック図であり、これは、本発明の方法により分離かつ精製された非ポリマー系高級イソプレン系成分(グアユリンAおよびアルゲンタチンB)から出発する低級天然グアユリンおよびアルゲンタチンの半合成を明らかにしている。括弧内の数字は、半合成により得られ、描写された生成物に係る質量基準の収率を表している。

【発明を実施するための形態】

20

【0032】

今から、本発明を、単なる実施例としての幾つかの態様を参照しつつ更に詳細に説明するが、該態様は、本発明を限定するものではない。

特段の指示がない限り、表示された全ての百分率は、質量%として表されており、また溶媒の混合物に係る比率全ては、体積基準の比率として表されている。

【実施例】

【0033】

実施例1：グアユールゴムの木(*Parthenium argentatum*)由来の粗抽出液の脱脂(図1)

グアユールゴムの木由来のバガスから得た粗抽出液108gを、1.0L/粗抽出液100gという溶媒体積を用いて、メタノール(800mL)中に、40°にて連続的に攪拌しつつ、徐々に溶解させた。

30

完全に溶解させた後に、上記混合物を、室温にて1時間および次に0°にて24時間冷却した。緻密な沈殿が形成され、また次にこれを約0.15kPa(1.5mbar)の下での濾過により回収した。

次いで、ガム状のコンステンシーを持つその残渣を、メタノールで洗浄し、0°に冷却し、かつ室温にて風乾させて、44gの低分子量の脂質およびゴムを得た。

上記脱脂された樹脂を含有する極性液体画分(母液)を、後の段階のために回収した。

【0034】

実施例2：上記樹脂の液-液型分配処理(図1)

上記粗製樹脂の親油性成分を分離するために、上記脱脂段階から得たメタノール溶液800mLを、200mLの水で希釈して最終体積を1Lとし、4:1のメタノール/水混合物を得た。

40

上記の得られた混合物を、石油エーテル(200mL)を用いて分配処理工程に付した。これら相間での平衡に達した後に、その有機相をその水性相から分離した。

後者を、再度200mLの石油エーテルで3回抽出した。次に、得られたその有機相を、200mLのメタノール/水(4:1)混合物で洗浄し、回収し、無水化しつつ完全に乾燥するまで低圧下で濃縮し、かくして7.7gの生成物を得た。

上記分配処理工程を、TLC(薄層クロマトグラフィー)により監視した。

【0035】

実施例3：上記非極性抽出液の固-液分配処理(図1)

108gの粗製樹脂に係る上記液-液分配処理工程により得た7.7gの非極性抽出液を、石油

50

エーテルと酢酸エチルとの9:1混合物60mL(約7mL/g)中に溶解させ、また200mLのシリカゲル(70-230メッシュ、25mL/g)の床に吸着させた。

上記溶媒を、減圧下での蒸発または真空濾過により上記懸濁液から除去し、また得られた該固体マトリックスを、上記吸収のために使用した溶媒混合物100mLで3回洗浄した。

この操作を、当業者には公知の方法に従って、反応フラスコ内で行った。該脱吸収溶液を蒸発させ、かくしてグアユリン混合物(5.0g)を得た。次に、該固体マトリックスを、200mLの酢酸エチルで洗浄し、かくしてアルゲンタチンB(2.3g)を回収した。

【0036】

実施例4：上記極性画分の液-液分配処理(図1)

実施例2において記載された液-液型分配処理に係る第一工程から得た、メタノール/水の4:1溶液1.2Lを、シクロヘキサン(200mL)を用いる更なる分配処理工程に掛けた。

上記相間での平衡に達した後に、その有機相を、その水性相から分離した。後者を、再度200mLのシクロヘキサンで3回抽出した。

次に、得られたその有機相を、200mLのメタノール/水(4:1)混合物で洗浄し、回収し、無水化し、かつその完全な乾燥にまで低圧にて濃縮し、かくして5.25gの抽出液を得た。

上記分配処理に係る、アルゲンタチンCおよびDを含むメタノール相を、200mLの酢酸エチルで3回に渡り抽出し、無水化し、かつ完全乾燥にまで低圧下で濃縮し、かくして1.77gの抽出液を得た。

上記分配処理工程を、TLC(薄層クロマトグラフィー)により監視した。

【0037】

実施例5：グアユリンおよびアルゲンタチンの直接的結晶化(図1)

a. グアユリンA：実施例3において記載された固-液型の分配処理によって得た5.0gのグアユリン混合物を、10mLのn-ヘキサンに溶解した。該溶液を-23°Cにて冷却(アセトンおよびドライアイス-浴)することにより多量の沈殿を得、次にこれを濾過により回収した。

この残渣を、-23°Cにて、グアユリンA(3.2g)として同定される白色結晶性生成物が得られるまで、n-ヘキサンで洗浄した。IR ν_{max} (KBr) : 3081, 2977, 2925, 2860, 1709, 1640, 1496, 1310, 1180, 927, 766, 708, 662, 563, 486 cm^{-1} ; ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3)

ppm : 1.08 (s, 1H)、1.13 (s, 1H)、1.55 (d, $J = 1.2 \text{ Hz}$, 3H)、1.67 (d, $J = 1.4 \text{ Hz}$, 3H)、2.79 (dd, $J = 12.3, 5.3 \text{ Hz}$, 2H)、4.52 (d, $J = 11.6 \text{ Hz}$, 1H)、4.92 (td, $J = 11.1, 5.3 \text{ Hz}$, 2H)、5.12 (m)、6.43 (d, $J = 16 \text{ Hz}$, 1H)、7.40 (m, 3H)、7.50 (m, 2H) ; ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) 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。

上記の上澄みを回収し、また上記溶媒を減圧下で蒸発させ、かくして1.3gのグアユリンAとBとの混合物を得た。

【0038】

b. アルゲンタチンB：実施例3において記載された固-液型の分配処理により得た2.3gのアルゲンタチン画分を、10mLの石油エーテルに溶解した。この溶液を0°C(氷浴)にて冷却することにより多量の沈殿を得、次いでこれを濾過により回収した。

上記の残渣を、アルゲンタチンBとして同定される白色結晶性生成物(2.2g)が得られるまで、0°Cにて石油エーテルで洗浄した。IR ν_{max} (KBr) : 3523, 3048, 2967, 2871, 2723, 1704, 1448, 1372, 1336, 1244, 1171, 1112, 1059, 910, 578 cm^{-1} ; ^1H -NMR (250 MHz, CDCl_3) 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)および0.31 (d, 5, 1H) ; ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) 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。

【0039】

c. アルゲンタチンA：実施例4において記載された液-液型の分配処理工程により得られ

10

20

30

40

50

た有機相由来の5.25gの抽出液を、30mLのエチルエーテルに溶解した。この溶液を-23まで冷却し(アセトンおよびドライアイス-浴)、また結果としてアルゲンタチンAの沈殿を伴う、該溶液の濁りが観測される限りずっと、n-ヘキサンを徐々に添加した。

上記沈殿を濾過により回収し、また次にこれを、白色結晶性生成物が得られるまで、エチルエーテルおよびn-ヘキサンによる洗浄に掛けた。

アルゲンタチンAとして同定される生成物0.3gを得た。IR \max (KBr) : 3386、2966、2870、1705、1462、1380、1249、1175、1051、954、890、837 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl₃)， 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) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl₃)， 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。 10

【0040】

d. アルゲンタチンCおよびD：実施例4において記載された液-液型の分配処理工程から得た水性相由来の抽出液1.77gを、10mLの石油エーテルに溶解させた。

上記溶液を-23に冷却(アセトンおよびドライアイス-浴)することにより白色沈殿が得られ、これを次に濾過により回収した。この残渣を、アルゲンタチンD(0.54g)として同定される白色結晶性生成物が得られるまで、-23にて石油エーテルで洗浄した。IR \max (KBr) : 3499、3036、2972、2922、2862、1710、1440、1337、1162、1111、1055、913、779、564 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl₃)， 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) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz; CDCl₃)， 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。 20

【0041】

上記アルゲンタチンDの精製工程由来の上澄みを回収し、またその溶媒を減圧下で完全に蒸発させた。その残渣を10mLのエチルエーテルに溶解させた。

上記溶液を-23にて冷却(アセトンおよびドライアイス-浴)し、また該溶液の濁りおよびその結果としてのアルゲンタチンCの沈殿が観測される限りずっと、n-ヘキサンを徐々に添加した。 30

上記沈殿を濾過により回収し、また次にこれを、白色結晶性生成物を得るまで、エチルエーテルおよびn-ヘキサンによる洗浄処理に掛けた。その上澄みを回収し、かつ更なる生成物を回収するために再結晶させた。

アルゲンタチンCとして同定される生成物0.2gを得た。IR \max (KBr) : 3346、2936、2870、1714、1455、1373、1288、1167、1098、1064、917、732、669, cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl₃)， 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)。 40

【0042】

実施例6：上記抽出液からの少量のイソブレン系成分の合成(図4)

実施例3において記載したようにして得られたグアユリン混合物、または実施例5において記載したようにして得られた純粋なグアユリンA、またはその母液から、半合成によって上記樹脂中に含まれる天然生成物を得ることができたが、そこにおいてこれらは、その低い濃度の故に、非クロマトグラフィー法によって得ることは殆ど不可能である。

【0043】

a. パルテニオール：純粋なパルテニオールは、上記固-液型分配処理工程を由来とする9:1石油エーテル/酢酸エチル中の抽出液から得られたグアユリン混合物または純粋なグアユリンAから、塩基性加水分解により得られた。水酸化カリウムおよびメタノール(5%w/v ; 425.4mM ; 60eq.)の塩基性溶液23.8mLおよび510 μL の水を、5.00gのグアユリン混合物に 50

添加した。この反応を、その進行をTLC(薄層クロマトグラフィー)により監視しつつ、40にて24時間に渡り攪拌下に維持した。該反応を、水および塩化ナトリウムの飽和溶液で希釈することにより停止させ、また石油エーテルで抽出した。その有機相を無水化し、濾過し、かつその溶媒を減圧下で蒸発させた。次いで、その残渣(5.0g)を、0(氷浴内で)における石油エーテル内での結晶化により精製した。白色結晶性生成物が得られ(2.6g)、パルテニオールまたは脱アシル型グアユリンとして同定された。IR ν_{max} (KBr) : 3294、3014、2976、2924、2854、2730、1654、1454、1204、1004、851、655、534 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) , 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) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz; CDCl_3) , ppm: 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。 10

【0044】

b. グアユリンB : 100mgのアニス酸(分子量 : 152.15 ; 0.657mM)を2mLのジクロロメタンに溶解した溶液に、380 μL の98%塩化オキサリルジクロロメタン溶液(分子量126.93 ; 密度 : 1.335g/mL ; 2.63mM ; 4eq.)および66 μL のDMF(酸に対して100 $\mu\text{L}/\text{mM}$)を、0にてかつ攪拌下で1時間に渡って添加した。この反応を、更に2.5時間に渡り、室温にて攪拌下に維持し、このようにしてTLC(薄層クロマトグラフィー)によりその進展を監視した。該反応を、減圧下での溶媒の蒸発により停止させ、かくして100mgの塩化アニソイルを得た。その後、77mgの塩化アニソイル(分子量 : 170.15 ; 0.454mM ; 1eq.)を、100mgのパルテニオール(分子量 : 220.35 ; 0.454mM)を6mLのピリジンに溶解した溶液に添加した。この反応を、室温にて4時間に渡り攪拌下に維持し、このようにしてTLC(薄層クロマトグラフィー)によりその進展を監視した。該反応を、水および塩化ナトリウムの飽和溶液で希釈することにより停止させ、また石油エーテルで抽出した。その有機相を無水化し、濾過しかつその溶媒を減圧下で蒸発させた。その残渣を、次に0における(氷浴内で)石油エーテル中での結晶化により精製した。グアユリンBとして同定された白色結晶性生成物(0.15g)が得られた。IR ν_{max} (KBr) : 3504、2932、2854、2790、2657、2123、1707、1606、1449、1359、1166、1045、890、770、645、539 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) , 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)。 20

【0045】

c. 半合成アルゲンタチンD : 100mgの、実施例4において記載された固-液型の分配処理により得た、または実施例5において記載された結晶化工程から誘導された母液由来のアルゲンタチンB(分子量456.70 ; 0.218mM)を4mLのメタノールに溶解した溶液に、25mgの水素化ホウ素ナトリウム NaBH_4 (分子量 : 37.83 ; 0.661mM ; 3.0eq.)を、0にて氷浴中で徐々に添加した。この反応を、5分間に渡り室温にて攪拌下に維持し、TLC(薄層クロマトグラフィー)によりその進展を監視した。該反応を、水および塩化ナトリウムの飽和溶液で希釈することにより停止させ、水および5%硫酸溶液を中性pHまで添加し、またその水性相を酢酸エチルで抽出した。その有機相を無水化し、濾過し、かつその溶媒を減圧下で蒸発させた。次いで、その残渣を、0(氷浴内で)における石油エーテル中での結晶化により精製した。アルゲンタチンDとして同定された白色結晶性生成物(0.070g)を得た。IR ν_{max} (KBr) : 3499、3036、2972、2922、2862、1710、1440、1337、1162、1111、1055、913、779、564 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) , 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) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz; CDCl_3) , 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。 40

【0046】

実施例7：植物材料：グアユールゴムの木の枝および茎由来の粗抽出液(図2)

3.89gの、グアユールゴムの木の枝および茎から得た粗抽出液を、グアユリンAおよびアルゲンタチンAおよびBを分離するために、本発明に従って処理した。上記脱蛻法により脂質および低分子量ゴムを含有する親油性成分を分離した後に、実施例2~6において、また使用される上記粗抽出液の量との関連で説明されたものと同一の手順を用いた、分離および直接的結晶化工程を実施した。1.7gの、脂質および低分子量および高分子量(HMW)ゴムからなる親油性混合物、0.15gの結晶性グアユリンA、0.08gのアルゲンタチンA、0.18gのアルゲンタチンBを得た。

【0047】

実施例8：植物材料：グアユールゴムの木の葉由来の粗抽出液(図3)

バジリカータ州(Basilicata)由来のイタリア産グアユールゴムの木(Ionian *Parthenium argentatum*)の葉から得た粗抽出液4.6gを、そのグアユリン成分およびアルゲンタチンAおよびBを分離するために、本発明に従って処理した。上記脱蛻法による、脂質および低分子量ゴムを含有するその親油性成分の分離処理後に、実施例2~6において、また使用される粗抽出液の量との関連で説明されたものと同一の手順で、分配処理および直接的結晶化工程を実施した。0.30gのグアユリン混合物が得られ、これから-23(アセトンおよびドライアイス-浴)にてn-ヘキサンを用いた直接的結晶化によって、0.06gの結晶性グアユリンA、0.06gのアルゲンタチンAおよび0.17gのアルゲンタチンBを得た。

【0048】

実施例9(比較例)：グアユールゴムの木由来の脱蛻処理されていない粗抽出液の液-液分配処理

グアユールゴムの木由来のバガスから得た5.0gの粗抽出液を、1.0L/粗抽出液100gという溶媒体積を用いて、メタノール(400mL)中に、40にて連続的な攪拌下で、徐々に溶解させた。完全に溶解させた後、該混合物を室温に冷却し、かつ100mLの水で最終体積500mLまで希釈し、メタノール/水(4:1)混合物を得た。

この得られた混合物を、石油エーテル(100mL)を用いた分配処理工程に掛けた。250mLのメタノール/水(4:1)混合物を、更に該混合物に添加した。また、最終的に該相間の平衡の確立が達成され、その後、その有機相をその水性相から分離した。

後者を、再度6回に及ぶ100mLの石油エーテルによる抽出処理に掛けた。その後、得られたその有機相を、200mLのメタノール/水(4:1)混合物で洗浄し、回収し、無水化しつつ減圧下で完全に乾燥するまで濃縮し、2.5gの生成物を得た。該分配処理工程を、TLC(薄層クロマトグラフィー)を通して監視した。

【0049】

実施例10(比較例)：グアユールゴムの木の脱蛻されていない粗抽出液から誘導された非極性抽出液の固-液分配処理

比較例9において記載のようにして得た5.0gの粗抽出液の液-液分配処理工程から得た2.5gの非極性抽出液を、20mLの石油エーテルと酢酸エチルとの混合物(9:1)中に溶解させ、かつ70mLのシリカゲル(70-230メッシュ、25mL/g)の床に吸着させた。該溶媒を減圧下で蒸発させ、または真空下で濾過することによりこの懸濁液から除去し、またこの得られた固体マトリックスを、100mLの吸着のために使用した該溶媒混合物で3回洗浄した。

この方法は、結果として困難でありかつ非効率的であった。というのは、該固-液分配処理工程に負の影響を与える、脂質および低分子量ゴムからなる成分が存在するために、該出発非極性粗抽出液の成分の如何なる効果的な分離も観測し得なかったことにある。

【0050】

実施例11(比較例)：グアユールゴムの木の脱蛻されていない粗抽出液から誘導された極性画分の液-液分配処理

比較例9において記載された第一の液-液分配処理工程から得られた950mLのメタノール/水(4:1)溶液を、100mLのシクロヘキサンを用いた更なる分配処理工程に掛けた。これら相間の平衡が確立された後、その有機相を、その水性相から分離した。後者を、再度、100mLのシクロヘキサンで3回に渡る抽出処理に付した。その後、得られた該有機相を、100mLのメタノール/水(4:1)混合物で洗浄し、回収し、無水化し、かつ低圧下で完全乾燥まで

10

20

30

40

50

濃縮して、300mgの抽出液を得た。アルゲンタチンCおよびDを含有する、該分配処理からのメタノール相を、100mLの酢酸エチルで3回抽出し、無水化し、かつ低圧下で完全乾燥まで濃縮し、100mgの抽出液を得た。

【0051】

実施例12(比較例)：グアユールゴムの木由来の脱蛹処理されていない抽出液から誘導されたグアユリンおよびアルゲンタチンの結晶化

a. グアユリンAおよびアルゲンタチンB：比較例9において記載された液-液分配処理により得られた2.5gの非極性抽出液を、10mLのn-ヘキサンに溶解させた。この溶液を-23に冷却(ドライアイス/アセトン浴内)することによっては、期待されるグアユリンAおよび/またはアルゲンタチンB何れの沈殿の形成も観測できなかった。 10

b. アルゲンタチンA：比較例11において記載された液-液分配処理工程から得た有機相を由来とする300mgの抽出液を、5mLのエチルエーテルに溶解させた。この溶液を-23に冷却(ドライアイス/アセトン浴内)し、また結果として非効率的なアルゲンタチンAの沈殿をもたらす、該溶液のかすかな濁りが観測されるまでずっと、n-ヘキサンを徐々に添加した。

c. アルゲンタチンCおよびD：比較例11において記載された液-液分配処理工程から得られた水性相由来の100mgの抽出液を、2mLの石油エーテルに溶解させた。該溶液を-23に冷却(ドライアイス/アセトン浴内で)した後に、沈殿の形成は全く観測されなかった。

これら比較例は、本発明の分離法から必要不可欠の脱蛹段階を省くことが、結果として精製された形状にあるグアユリンまたはグアユリン-様の樹脂に係るイソブレン系成分を得る際に、該方法の有効性を徹底的に減じてしまうことを明らかに立証している。 20

本発明の好ましい態様は、下記の通りである。

[1] グアユールおよび/またはグアユール系植物の樹脂から、少なくとも1種のイソブレン系成分を分離するための方法であって、以下の工程：

a) グアユールおよび/またはグアユール系の脱脂された樹脂を準備する工程、
 b) 前記脱脂された樹脂を、相互に不混和性の溶媒を用いる液-液型の分配処理に掛け、
このようにしてイソブレン系成分のグアユリンA、グアユリンBおよびアルゲンタチンBを
含有する非極性抽出液と、イソブレン系成分のアルゲンタチンA、アルゲンタチンCおよび
アルゲンタチンDを含有する極性抽出液とを得る工程、および 30

c) このようにして得られた前記極性抽出液からおよび/または前記非極性抽出液から、
少なくとも1種のイソブレン系成分を分離する工程、
を含み、工程c)が、前記極性抽出液を、相互に不混和性の溶媒を用いる液-液型の分配処理に掛ける工程、および/または前記非極性抽出液を、固-液型の分配処理に掛ける工程を
含む、前記方法。

[2] 前記少なくとも1種のイソブレン系成分が、グアユリンA、グアユリンB、アルゲンタチンA、アルゲンタチンB、アルゲンタチンC、アルゲンタチンD、およびこれらの混合物を含む群の中で選択される、前記[1]に記載の方法。

[3] 工程a)の前記脱脂された樹脂が、グアユールまたはグアユール系植物の粗抽出液を脱脂する工程、より好ましくは分別結晶化工程によって得られる、前記[1]または[2]に記載の方法。 40

[4] 工程b)において、前記相互に不混和性の溶媒が、極性溶媒および非極性溶媒を含み、好ましくは、前記極性溶媒が、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノール、酢酸エチルおよびこれらの組合せ、より好ましくはメタノールと水との溶液を含む群の中で選択され、前記非極性溶媒が、石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より好ましくは石油エーテルの間で選択される、前記[1]～[3]のいずれか1項に記載の方法。

[5] 工程c)において、前記固-液型の分配処理は、相互に混和性の2種の溶媒の組合せ中に溶解させた、工程b)で得られた前記非極性抽出液を、固体マトリックスに対して、好ましくは選択的捕捉による吸着に付す工程、およびこのようにして得た前記固体マトリックスを、相互に混和性の2種の溶媒の組合せを用いる処理、好ましくは濯ぎに掛け、このよ 50

うにしてグアユリンAおよびグアユリンBの混合物を含む溶液と、アルゲンタチンBを含む固体マトリックスとを得る工程を含む、前記〔1〕～〔4〕のいずれか1項に記載の方法。

〔6〕前記アルゲンタチンBを含む固体マトリックスを、極性溶媒を用いる更なる処理、好ましくは濯ぎに掛け、このようにしてアルゲンタチンBの溶液を得る、前記〔5〕に記載の方法。

〔7〕工程c)において、前記液-液型の分配処理が、工程b)において得られた前記極性抽出液を、極性溶媒と非極性溶媒との組合せ中の分離処理に掛け、このようにしてアルゲンタチンAを含む有機相と、アルゲンタチンCおよびアルゲンタチンDの混合物を含む水性相とを得る工程を含む、前記〔1〕～〔6〕のいずれか1項に記載の方法。

〔8〕工程c)の前記液-液型の分配工程において、前記非極性溶媒が、シクロヘキサン、n-ヘキサン、石油エーテル、およびこれらの組合せ、より好ましくはシクロヘキサンを含む群の中で選択され、前記極性溶媒が、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノール、およびこれらの組合せ、好ましくはメタノールおよび水を含む群の中で選択される、前記〔7〕に記載の方法。

〔9〕工程c)の後に、少なくとも1種の前記イソプレン系成分を精製する少なくとも一つの工程d)が続く、前記〔1〕～〔8〕のいずれか1項に記載の方法。

〔10〕精製工程d)が、少なくとも一つのイソプレン系成分を結晶化させ、このようにして前記樹脂の少なくとも一つのイソプレン系成分を実質的に純粋な結晶形態で得る工程を含む、前記〔9〕に記載の方法。

〔11〕工程d)が、工程c)において得られた前記グアユリンAとグアユリンBとの混合物を、冷却しつつ、好ましくは石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より好ましくはn-ヘキサンを含む群の中で選択される非極性溶媒を用いる処理により、グアユリンAの沈殿処理に掛け、このようにして精製されたグアユリンAの沈殿と、グアユリンAおよびグアユリンBの混合物を含む上澄みとを得る工程d1)を含み、好ましくは前記精製されたグアユリンAの沈殿を結晶化処理に掛け、このようにして純粋なグアユリンAの結晶を得る、前記〔9〕または〔10〕に記載の方法。

〔12〕前記工程d)が、工程c)において得られた前記アルゲンタチンBを、冷却しつつ、好ましくは石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より好ましくは石油エーテルを含む群の中で選択される非極性溶媒を用いる沈殿処理に掛け、このようにして精製されたアルゲンタチンBの沈殿を得る工程d2)を含み、好ましくは前記精製されたアルゲンタチンBの沈殿を結晶化処理に掛け、このようにして純粋なアルゲンタチンBの結晶を得る、前記〔9〕～〔11〕のいずれか1項に記載の方法。

〔13〕前記工程d)が、工程c)において得られた前記アルゲンタチンAを、冷却しつつ、好ましくはシクロヘキサン、n-ヘキサン、エチルエーテル、石油エーテル、およびこれらの組合せ、より好ましくはエチルエーテルおよびn-ヘキサンを含む群の中で選択される非極性溶媒を用いる沈殿処理に掛け、このようにして精製されたアルゲンタチンAの沈殿を得る工程d3)を含み、好ましくは前記精製されたアルゲンタチンAの沈殿を結晶化処理に掛け、このようにして純粋なアルゲンタチンAの結晶を得る、前記〔9〕～〔12〕のいずれか1項に記載の方法。

〔14〕前記工程d)が、工程c)において得られたアルゲンタチンCとアルゲンタチンDとの前記混合物を、冷却しつつ、好ましくは石油エーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より好ましくは石油エーテルを含む群の中で選択される非極性溶媒を用いる、アルゲンタチンDの沈殿処理に掛け、このようにして精製されたアルゲンタチンDの沈殿およびと、アルゲンタチンCを含む上澄みとを得る工程d4)を含み、好ましくは前記精製されたアルゲンタチンDの沈殿を結晶化処理に掛け、このようにして純粋なアルゲンタチンDの結晶を得る、前記〔9〕～〔13〕のいずれか1項に記載の方法。

〔15〕前記工程d4)の後に、前記アルゲンタチンCを含む上澄みを、前記溶媒の蒸発処理に掛け、残渣を、冷却しつつ、好ましくはシクロヘキサン、石油エーテル、エチルエーテル、n-ヘキサンおよびこれらの組合せ、より好ましくはエチルエーテルを含む群の中で選

10

20

30

40

50

択される非極性溶媒中に溶解し、このようにして精製されたアルゲンタチンCの沈殿を得る工程d5)が続き、好ましくは前記精製されたアルゲンタチンCの沈殿を結晶化処理に掛け、このようにして純粋なアルゲンタチンCの結晶を得る、前記〔14〕に記載の方法。

〔16〕前記工程c)が、工程d1)において得られた前記グアユリンAおよび/または工程c)において得られたグアユリンAとグアユリンBとの前記混合物を塩基性加水分解反応に掛け、このようにしてパルテニオールを含む溶液を得ることを含む工程e1)を伴い、好ましくは前記塩基性加水分解反応を、前記グアユリンAおよび/またはグアユリンAとグアユリンBとの前記混合物ならびに塩基性溶液を含む反応混合物中で行い、好ましくは前記パルテニオールを含む溶液を、冷却しつつ、結晶化処理に掛け、このようにして純粋なパルテニオールを得る、前記〔5〕～〔15〕のいずれか1項に記載の方法。

10

〔17〕前記工程e1)が、このようにして得られた前記パルテニオールを、好ましくはアニス酸または塩化アニソイルでエステル化し、このようにしてグアユリンBを含む溶液を得る工程e2)を伴う、前記〔16〕に記載の方法。

〔18〕このようにして工程e2)において得られたグアユリンBを含む前記溶液を蒸発処理に掛け、残渣を、好ましくはシクロヘキサン、n-ヘキサン、エチルエーテル、石油エーテルおよびこれらの組合せ、より好ましくは石油エーテルを含む群の中で選択される非極性溶媒に溶解させ、このようにして精製されたグアユリンBの沈殿を得、好ましくは前記精製されたグアユリンBの沈殿を、冷却しつつ、結晶化処理に掛け、このようにして純粋なグアユリンBの結晶を得る、前記〔17〕に記載の方法。

〔19〕前記工程c)が、工程c)および/または工程d2)において得られた前記アルゲンタチンBの還元反応を含む工程e3)を伴い、好ましくは前記還元反応が、前記アルゲンタチンBと、水素化アルミニウムリチウムLiAlH₄または水素化ホウ素ナトリウム、より好ましくは水素化ホウ素ナトリウムNaBH₄とを含む反応混合物中で行われ、このようにしてアルゲンタチンDを含む溶液を得る、前記〔5〕～〔18〕のいずれか1項に記載の方法。

20

〔20〕前記還元反応の後で、このようにして得られたアルゲンタチンDを含む前記溶液を蒸発処理に掛け、残渣を、好ましくはシクロヘキサン、エチルエーテル、n-ヘキサン、石油エーテルおよびこれらの組合せ、より好ましくは石油エーテルを含む群の中で選択される非極性溶媒中に溶解し、このようにして精製されたアルゲンタチンDの沈殿を得、好ましくは前記精製されたアルゲンタチンDの沈殿を、冷却しつつ、結晶化処理に掛け、このようにして純粋なアルゲンタチンDの結晶を得る、前記〔19〕に記載の方法。

30

【図1】

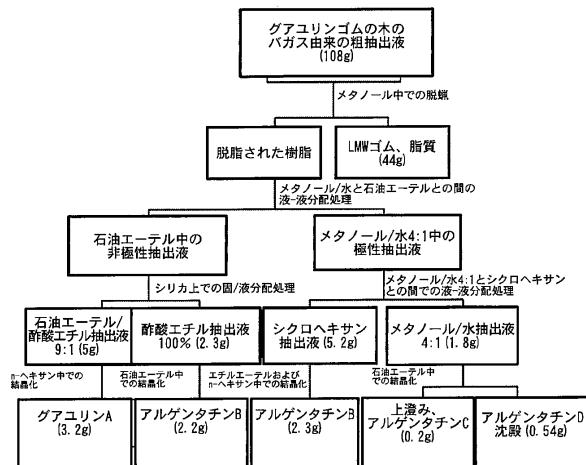


Fig. 1

【図2】

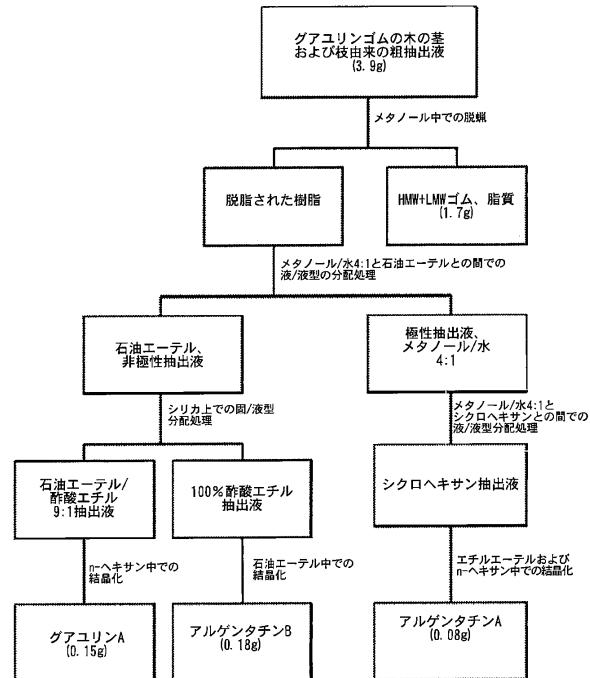


Fig. 2

【図3】

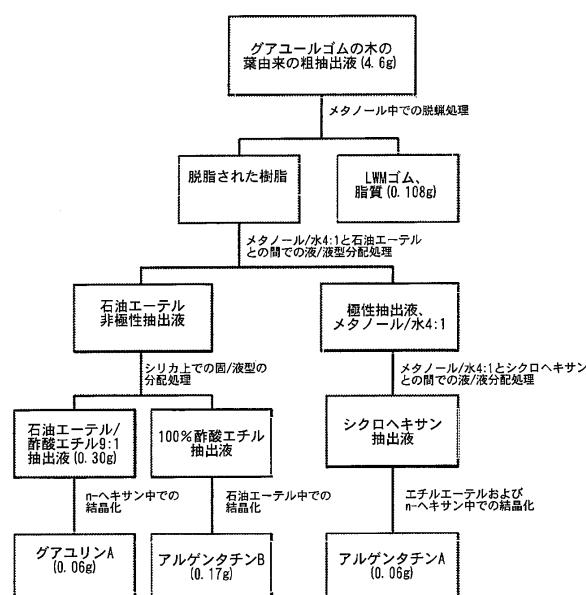


Fig. 3

【図4】

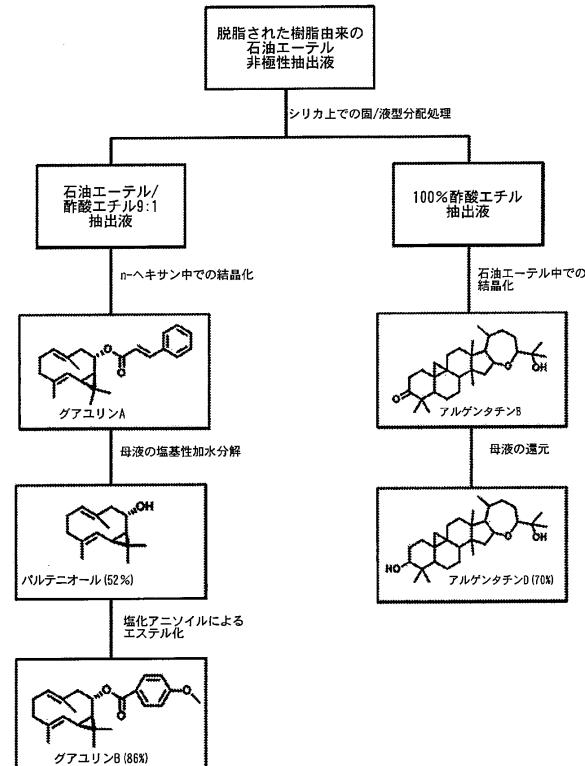


Fig. 4

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C 0 7 J 53/00 (2006.01) C 0 7 J 53/00

(74)代理人 100119013
弁理士 山崎 一夫
(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき
(74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信
(74)代理人 100183379
弁理士 藤代 昌彦
(72)発明者 クエルチ チェチリア
イタリア ノヴァーラ 28100 ノヴァーラ ヴィア ドニツェッティ 41
(72)発明者 デル プレテ ダニーロ
イタリア ノヴァーラ 28047 オレッジヨ ヴィア モーモ 130/ジ
(72)発明者 カルダラーロ マリア
イタリア ノヴァーラ 28069 トレカーテ ヴィア ヴェーラ 21
(72)発明者 ジロッティ ジャンニ
イタリア ミラノ 20098 サン ジュリアーノ ミラネーゼ ヴィア カヴール 66

審査官 阿久津 江梨子

(56)参考文献 米国特許第4739038 (U.S., A)
特表2011-500918 (JP, A)
ZEITSCHRIFT FUER NATURFORSCHUNG. C, A JOURNAL OF BIOSCIENCES, ドイツ, 2001年, Vol. 56, No. 1-2, pp. 95-105, U R L, <http://dx.doi.org/10.1515/znc-2001-1-216>
JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, 米国, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 1994年 8月, Vol. 42, No. 8, pp. 1647-1649, U R L, <http://dx.doi.org/10.1021/jf00044a012>
JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, 米国, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 1983年 7月, Vol. 31, No. 4, pp. 873-876, U R L, <http://dx.doi.org/10.1021/jf00118a050>
Phytochemistry, 1990年, Vol. 29, No. 3, pp. 915-918

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 C 6 7 / 5 8
C 0 7 C 6 7 / 1 4
C 0 7 C 6 7 / 5 2
C 0 7 C 6 9 / 6 1 8
C 0 7 C 6 9 / 9 2
C 0 7 J 5 3 / 0 0