

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
24 mai 2018 (24.05.2018)

(10) Numéro de publication internationale
WO 2018/091480 A1

(51) Classification internationale des brevets :
C07C 403/24 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2017/079234

(22) Date de dépôt international :
14 novembre 2017 (14.11.2017)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1661128 17 novembre 2016 (17.11.2016) FR

(71) Déposant : UNIVERSITE DE BORDEAUX [FR/FR] ;
35, place Pey Berland, 33000 BORDEAUX (FR).

(72) Inventeur; et

(71) Déposant : SAYOUS, Victor [FR/FR] ; 8 Rue Gambetta,
64000 Pau (FR).

(72) Inventeurs : WAFFO TEGUO, Pierre ; 12 Avenue Da-
nielle Mitterrand, 33130 BEGLES (FR). MERILLON,
Jean-Michel ; 21 Route Jean de Ramon, 33650 MARTIL-
LAC (FR).

(74) Mandataire : CABINET BECKER ET ASSOCIES ; 25,
rue Louis le Grand, 75002 PARIS (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR,
KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,

ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM),
européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES,
FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title: METHOD FOR EXTRACTING TERPENIC COMPOUNDS

(54) Titre : PROCÉDÉ D'EXTRACTION DE COMPOSÉS TERPÉNIQUES

(57) Abstract: The invention relates to a method for extracting terpenic compounds from a starting composition, comprising a step consisting in: (a) extracting the starting composition from a solvent comprising an alkyl lactate, (b) collecting the liquid fraction obtained, (c) diluting it with water, (d) optionally collecting a colloid containing the terpenic compounds, (e) freezing the mixture, and (f) optionally defrosting it in order to obtain the terpenic compounds that haven't been previously collected. Said method particularly allows the extraction of iridals from plants of the Iridaceae family.

(57) Abrégé: L'invention a pour objet un procédé d'extraction de composés terpéniques à partir d'une composition de départ, comprenant une étape consistant à : (a) extraire la composition de départ dans un solvant comprenant un lactate d'alkyle, (b) récupérer la fraction liquide obtenue, (c) la diluer avec de l'eau, (d) récupérer éventuellement un colloïde contenant les composés terpéniques, (e) congeler le mélange et (f) éventuellement le décongeler, pour obtenir les composés terpéniques qui n'auraient pas été récupérés précédemment. Ce procédé permet notamment d'extraire des iridals à partir de plantes de la famille des Iridacées.



WO 2018/091480 A1

PROCEDE D'EXTRACTION DE COMPOSES TERPENIQUES**OBJET DE L'INVENTION**

- 5 La présente invention concerne un procédé d'extraction de composés terpéniques à partir d'une composition de départ telle qu'une matière végétale, en particulier de parties de plantes de la famille des Iridacées, utilisant un solvant vert comprenant un lactate d'alkyle.

ARRIERE-PLAN DE L'INVENTION

10

Les terpénoïdes sont des composés d'origine végétale, recherchés pour leurs propriétés odoriférantes et pharmaceutiques, notamment anti-néoplasiques et anti-bactériennes. Ils sont généralement extraits des plantes à l'aide de solvants organiques tels que l'hexane, le dichlorométhane ou les éthers.

15

Les solvants organiques présentent toutefois des problèmes de toxicité et entraînent des coûts de retraitement importants pour limiter leur impact environnemental. Il serait donc utile de disposer d'un procédé d'extraction de terpénoïdes qui soit plus respectueux de l'environnement mais présente la même efficacité que les procédés utilisant des solvants organiques, notamment

20 un rendement d'extraction au moins aussi élevé.

25

Un exemple d'un procédé utilisant un solvant moins toxique pour l'extraction de triterpénoïdes de type iridals est décrit dans les documents FR 2 746 645 et WO 97/36604. Il comprend la mise en contact d'un broyat de parties végétales d'Iris avec de l'éthanol à 70% (v/v). Toutefois,

ce procédé ne permet pas d'extraire sélectivement les iridals et il doit nécessairement comprendre une étape ultérieure de dilution dans l'eau de la phase éthanolique éventuellement concentrée, puis de lavage de la phase aqueuse résultante avec un solvant tel que l'éther diéthylique, la phase éthérée étant ensuite récupérée, évaporée à sec, puis reprise dans l'éthanol, afin d'obtenir des iridals avec une pureté acceptable. Un procédé similaire d'extraction des

30 triterpènes d'Iris est décrit dans le document FR 2 620 702.

Le lactate d'éthyle est un solvant "vert" qui constitue une alternative intéressante aux solvants organiques tels que l'hexane, dans la mesure où il est biodégradable, renouvelable, non polluant et non cancérigène. Toutefois, son utilisation dans le domaine de la phytochimie se heurte à un

inconvenient de taille, dans la mesure où il n'est pas volatil. Il est donc généralement séparé par distillation des composés extraits. Or, un chauffage prolongé à haute température est susceptible de dégrader les composés sensibles à l'oxydation et affecte négativement l'économie du procédé d'extraction. L'utilisation du lactate d'éthyle comme solvant d'extraction a donc à ce jour été limitée à l'extraction de phytostérols (US-7,368,138) et/ou à des procédés impliquant un traitement de la matière végétale à l'aide d'un agent anti-oxydant, tel qu'un tocophérol, destiné à éviter la dégradation des composés sensibles tels que les caroténoïdes, qui sont des tétraterpénoïdes (US-7,572,468). L'application du lactate d'éthyle à l'extraction d'autres composés terpéniques, en particulier de triterpénoïdes, requiert par conséquent une adaptation des procédés d'extraction classiques.

Dans ce contexte, les Demandeurs ont mis au point un procédé simple, peu coûteux et efficace d'extraction de composés terpéniques à l'aide de lactate d'alkyle.

RESUME DE L'INVENTION

L'invention a pour objet un procédé d'extraction de composés terpéniques à partir d'une composition de départ, comprenant les étapes successives consistant à :

- a) extraire la composition de départ à l'aide d'un procédé physique, dans un solvant comprenant un lactate d'alkyle,
- b) traiter la suspension obtenue pour éliminer la fraction solide et récupérer la fraction liquide,
- c) diluer la fraction liquide avec de l'eau pour obtenir un mélange contenant de l'eau et le lactate d'alkyle et un colloïde contenant des composés terpéniques,
- d) éventuellement, récupérer le colloïde,
- e) congeler le mélange éventuellement dépourvu du colloïde pour obtenir une phase lourde contenant le lactate d'alkyle, une phase légère contenant de l'eau sous forme solide et éventuellement une phase intermédiaire contenant les composés terpéniques qui n'ont pas été récupérés à l'étape d),
- f) éventuellement, faire fondre ledit mélange congelé, et
- g) récupérer la phase lourde et, le cas échéant, ladite phase intermédiaire.

DESCRIPTION DETAILLEE

Le procédé selon l'invention vise à extraire des composés terpéniques contenus dans une composition de départ.

5

Par "composés terpéniques", on entend à la fois les terpènes, qui sont des hydrocarbures dérivant d'unités isopréniques à cinq atomes de carbone, assemblées pour former des structures linéaires ou cycliques, et les terpénoïdes (ou isoprénoïdes), qui sont des composés organiques lipophiles dérivant des terpènes cycliques par l'ajout d'un ou plusieurs groupements fonctionnels tels qu'un alcool ou un aldéhyde. Les terpènes et terpénoïdes sont des composés odoriférants. Des exemples de composés terpéniques incluent le bornane, le limonène, le pinène, le myrcène, l'eugénol, le bisabolane, les iridals, le citral, le menthol, l'eucalyptol, le camphre, le linalol et le bisabolol. Les composés terpéniques préférés selon l'invention sont les triterpénoïdes (C30) cycliques, avantageusement les iridals et plus préférentiellement les bicycloiridals.

15

La composition de départ, contenant ces composés terpéniques, peut être un mélange de composés obtenu par synthèse chimique ou de préférence une matière végétale. Dans ce dernier cas, elle se présente avantageusement sous forme solide ou sous forme de dispersion. Par "matière végétale", on entend une plante entière ou avantageusement une partie de plante, en particulier comprenant ou constituée de l'un au moins de ses organes aériens (bourgeons, tiges, feuilles, fleurs) et/ou souterrains (racines, rhizomes). La plante considérée peut être tout végétal produisant des composés terpéniques. Des exemples de telles plantes comprennent notamment celles appartenant aux familles des iridacées, des astéracées, des apiacées, des myrtacées (telles que l'eucalyptus et le giroflier), ainsi que la cannelle, le gingembre, le romarin, la menthe, la lavande, la camomille, le thym, la coriandre et le cannabis, sans que cette liste ne soit limitative.

20

25

On préfère selon l'invention utiliser une partie de plante de la famille des Iridacées, préférentiellement les rhizomes et/ou les feuilles des plantes de la famille des Iridacées, plus particulièrement celles du genre *Iris* et préférentiellement les espèces *Iris pallida*, *Iris germanica*, *Iris florentina*, *Iris versicolor*, *Iris sibirica* et *Iris pseudacorus*. Selon une forme d'exécution particulièrement préférée de l'invention, on utilise une partie de plante de l'espèce *Iris pallida*.

30

Dans un mode de réalisation, la matière végétale est lavée à l'eau, pelée, concassée, broyée et/ou séchée avant d'être mise en œuvre dans le procédé selon l'invention.

5 Dans la première étape du procédé selon l'invention, la composition de départ est mise en contact avec un solvant d'extraction comprenant un lactate d'alkyle, généralement un lactate d'alkyle en C1-C3 et préférentiellement le lactate de méthyle ou d'éthyle, mieux, le lactate d'éthyle. Dans un mode de réalisation, le solvant d'extraction comprend en outre de l'éthanol, dans un rapport volumique de l'éthanol au lactate d'alkyle compris entre 5 et 80% et de préférence entre 20 et 50%. Selon une forme d'exécution préférée de l'invention, le solvant
10 d'extraction ne renferme pas d'autre solvant que le lactate d'alkyle et éventuellement l'éthanol.

Cette étape de mise en contact peut être effectuée par tout procédé physique adéquat et notamment par macération, mélange aux ultrasons ou passage au micro-ondes du mélange de la composition de départ avec le lactate d'alkyle. Cette étape est généralement mise en œuvre
15 sous agitation, à une température de 0 à 40°C, de préférence de 20 à 25°C, pendant une durée allant par exemple de 20 à 72 heures, notamment de 40 à 60 heures. La quantité de solvant mise en œuvre doit être suffisante pour mouiller la composition de départ et peut par exemple être comprise entre 1 et 2 litres de solvant par kilogramme de composition de départ.

20 La suspension obtenue est ensuite traitée pour éliminer la fraction solide et récupérer la fraction liquide. Cette étape de traitement peut être effectuée par filtration, centrifugation ou à l'aide d'une membrane, de préférence par filtration. Dans le cas où de l'éthanol est utilisé comme co-solvant, le procédé comprend en outre une étape b') d'évaporation de l'éthanol, de préférence à une température inférieure à 40°C, plus préférentiellement à une température de 28 à 35°C,
25 après l'étape b) de filtration et avant l'étape c) décrite ci-dessous.

La fraction liquide renferme les composés terpéniques recherchés, solubilisés dans le lactate d'alkyle. Le lactate d'alkyle ne pouvant être évaporé, les inventeurs ont mis au point un procédé simple et peu coûteux permettant de rompre la solubilité du terpène dans le lactate d'alkyle,
30 consistant à diluer la fraction liquide avec de l'eau, de façon à augmenter la polarité de cette fraction et à obtenir ainsi un mélange homogène contenant de l'eau et du lactate d'alkyle et un colloïde contenant les composés terpéniques recherchés, qui ne sont pas solubles dans le mélange d'eau et de lactate d'alkyle. Dans cette étape, qui peut être réalisée à température

ambiante, le rapport volumique de l'eau à la fraction liquide est généralement compris entre 10:1 et 50:1, par exemple entre 10:1 et 20:1.

Le colloïde peut alors être récupéré par tout moyen approprié, notamment par filtration ou par utilisation d'agents flocculants ou encore par centrifugation. En variante, les composés terpéniques peuvent ne pas être récupérés à ce stade, mais après une étape de congélation / décongélation qui sera décrite ci-après. Selon encore une autre variante, une partie des composés terpéniques peut être récupérée dans cette étape et une autre partie dans la suite du procédé, comme décrit ci-après.

Ainsi, le procédé selon l'invention comprend les modes de réalisation suivants, qui sont mis en œuvre à l'issue de l'étape c) :

- un procédé comprenant les étapes successives consistant à : (d) récupérer le colloïde, (e) congeler le mélange dépourvu du colloïde pour obtenir une phase lourde contenant le lactate d'alkyle et une phase légère contenant de l'eau sous forme solide, (g) récupérer la phase lourde ;
- un procédé comprenant les étapes successives consistant à : (e) congeler le mélange contenant le colloïde pour obtenir une phase lourde contenant le lactate d'alkyle, une phase légère contenant de l'eau sous forme solide et une phase intermédiaire contenant les composés terpéniques, (f) faire fondre ledit mélange congelé, et (g) récupérer la phase lourde et ladite phase intermédiaire ;
- un procédé comprenant les étapes successives consistant à : (d) récupérer le colloïde, (e) congeler le mélange dépourvu du colloïde pour obtenir une phase lourde contenant le lactate d'alkyle, une phase légère contenant de l'eau sous forme solide et une phase intermédiaire contenant les composés terpéniques qui n'ont pas été récupérés à l'étape (d), (f) faire fondre ledit mélange congelé, et (g) récupérer la phase lourde et ladite phase intermédiaire.

Le procédé selon l'invention comprend ensuite une étape de congélation du mélange (dépourvu ou non du colloïde) pour obtenir une phase lourde contenant du lactate d'éthyle, une phase légère contenant de l'eau sous forme solide et éventuellement une phase intermédiaire contenant les composés terpéniques qui n'ont pas été récupérés à l'étape précédente. On comprend que l'étape de congélation permet de séparer le lactate d'alkyle de l'eau et/ou des composés recherchés, en s'affranchissant des problèmes liés à la faible volatilité du lactate d'alkyle. Cette étape est mise en œuvre à une température de -5 à -30°C, de préférence de -10 à -20°C, pendant une durée suffisante (par exemple de 1 à 10 jours) pour observer une séparation de phase entre

le lactate d'éthyle, qui constituera la phase lourde du mélange, et l'eau, moins dense que le lactate d'alkyle et qui constituera la phase légère du mélange.

Dans le cas où la phase intermédiaire est absente, il est possible, à l'issue de cette étape, de
5 récupérer directement le lactate d'alkyle pour pouvoir le recycler dans le procédé, par exemple à l'aide d'un robinet de fond de cuve. Dans le cas où une phase intermédiaire est présente, le procédé comprend une étape supplémentaire consistant à faire fondre le mélange, généralement en le ramenant à température ambiante, de manière à pouvoir récupérer le lactate d'alkyle, puis la phase intermédiaire contenant les composés terpéniques recherchés. Si nécessaire, un ou
10 plusieurs cycles de congélation / décongélation peuvent être mis en œuvre pour former la phase intermédiaire.

En outre, les étapes de congélation / décongélation / récupération du lactate d'alkyle (étapes e) à g) du procédé selon l'invention) peuvent ainsi être répétées pour obtenir une phase lourde
15 purifiée et éventuellement augmenter le taux de composés terpéniques récupérés.

Ce procédé peut en outre comprendre une étape consistant à mélanger le colloïde récupéré à l'étape d) avec la phase intermédiaire issue de l'étape g).

20 Le rendement du procédé d'extraction selon l'invention, ainsi que la nature chimique des composés terpéniques obtenus dépendront de la composition de départ, notamment de la matière végétale, mise en œuvre. Dans le cas des plantes du genre Iris, les iridals pourront par ailleurs se trouver sous forme réduite, ou le cas échéant sous forme oxydée, ou encore déshydratée, conduisant à des structures cycliques ou polymérisées. En particulier, la chaîne
25 latérale des iridals peut comporter des doubles liaisons résultant de déshydratations ou de déshydrogénations des iridals naturels, ou peut être hydroxylée. Ils peuvent également être obtenus sous forme hydroxylée ou estérifiée, par exemple avec des acides gras, ou éthérifiée.

Dans le cas où la matière végétale relève du genre Iris, il est ainsi possible d'obtenir
30 sélectivement un ou plusieurs iridals choisis parmi : les monocycloiridals, comprenant plus spécialement l'iridal (21-désoxy-iridogermanal), le 16-0- acétyl-isoiridogermanal, le 17-hydroxyiridal, le 26-hydroxyiridal, le 17,26-dihydroxyiridal, le 21-hydroxyiridal (iridogermanal), le 10-désoxy-21-hydroxyiridal (10-désoxy-iridogermanal), le 10-désoxy-17-hydroxyiridal, l'iriversical, le 16,17-didéhydro-26-acétoxy-iriversical, le 16,17-didéhydro-

iridal, le 16,17-didéhydro-26-hydroxy-iridal et le 17,29-didéhydroiridal ; les bicycloiridals comprenant notamment l'iriflorental, l'iripallidal, l' α -irigermanal, le γ -irigermanal et le désoxy-iripallidal ; et les dérivés spiraniques tels que le spiroiridal, le 29-hydroxy-spiroiridal, le 29-acétoxyspiroiridal, le bélamcandal et le 28-déacétyl-bélamcandal ; et leurs mélanges.

5

Le procédé selon l'invention permet plus particulièrement d'extraire des bicycloiridals, tels que l'iriflorental et l'iripallidal.

10

Les composés terpéniques peuvent ensuite être purifiés selon toute technique appropriée, notamment par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

15

Les iridals peuvent avantageusement être utilisés comme principes actifs pharmaceutiques, notamment dans le traitement de cancers ou de la malaria. Dans ces applications, ils sont généralement inclus en quantité efficace dans une composition comprenant un milieu pharmaceutiquement acceptable, adaptée en particulier à une administration par voie orale ou par injection intraveineuse, sous-cutanée ou intra-musculaire.

20

En variante, les iridals peuvent être convertis en irones selon tout procédé connu de l'homme de l'art, afin d'être utilisés comme constituants de parfums dans l'industrie cosmétique ou la parfumerie ou comme arômes alimentaires. Les irones présentent en effet une odeur caractéristique de violette qui est très recherchée.

25

La conversion des iridals en irones, en particulier en α -irone, β -irone et/ou γ -irone, peut notamment être effectuée par voie microbiologique, notamment par voie enzymatique, en présence d'un système peroxydant comprenant de l'eau oxygénée et une peroxydase ou de l'oxygène et une lipoxygénase, éventuellement en présence d'un substrat de l'enzyme (comme décrit notamment dans EP 0 443 926), ou en soumettant les iridals à l'action d'un micro-organisme du genre *Botryotinia* ou *Sclerotinia* ou encore par oxydation permanganique (comme décrit notamment dans FR 2 620 702). L'irone recherchée peut ensuite être obtenue par entraînement à la vapeur, hydrodistillation ou extraction à l'aide d'un fluide supercritique ou d'un solvant non miscible à l'eau.

30

BREVE DESCRIPTION DES FIGURES

La **Figure 1** représente le chromatogramme HPLC à 242 nm de l'extrait d'*Iris pallida* obtenu suivant l'Exemple 1, par extraction au lactate d'éthyle, ainsi que les spectres UV-visible a) à c) des composés à 14,996 min, 16,671 min et 16,244 min, respectivement.

EXEMPLES

L'invention sera mieux comprise à la lumière de l'exemple suivant, qui est donné à titre purement illustratif et n'a pas pour but de limiter la portée de l'invention, définie par les revendications annexées.

Exemple : Extraction d'iridals

On a préparé un extrait enrichi en iridals à partir de rhizomes d'*Iris pallida* conformément au procédé selon l'invention.

Pour ce faire, on a lavé à l'eau et broyé 1,5 kg de rhizomes d'*Iris pallida*. On a fait macérer ce broyat dans un mélange de 2 L de lactate d'éthyle et d'éthanol (60/40, v/v), sous agitation, pendant 48 h à température ambiante. Le mélange a ensuite été filtré et essoré pour éliminer la fraction solide et la fraction liquide a été récupérée. L'alcool a alors été évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. Après évaporation, il restait 1,2 L d'une phase organique à base de lactate d'éthyle renfermant les composés recherchés. Cette phase organique a été diluée et homogénéisée dans 15 L d'eau, au sein d'un contenant comprenant un robinet en fond de cuve.

On a observé la formation d'un précipité blanchâtre colloïdal, comprenant les composés recherchés. Le mélange d'eau et de lactate d'éthyle a ensuite été placé à -20°C pendant 2 jours, jusqu'à ce que l'eau se trouve congelée et que le lactate d'éthyle ait décanté en fond de cuve. Le mélange a ensuite été décongelé, puis recongelé à nouveau pendant 2 jours. Au total, 5 cycles de congélation / décongélation ont été effectués. Lors de la dernière décongélation, on observait un système triphasique, constitué d'une partie supérieure composée d'eau claire, d'une phase intermédiaire renfermant les iridals ayant précipité et d'une partie inférieure contenant le lactate d'éthyle.

Le lactate d'éthyle a été retiré au moyen du robinet de fond de cuve, puis les phases supérieure et intermédiaire ont été filtrées et centrifugées de façon à récupérer l'ensemble des agrégats

formés. La matière ainsi récupérée a été reprise avec un volume minimal d'éthanol, de façon à nettoyer les filtres et appareillages. Enfin, après ajout d'eau et évaporation de l'alcool, les composés recherchés ont été lyophilisés. On a ainsi obtenu 12g d'une poudre riche en iridals, soit un rendement de 0,8% à partir des rhizomes.

5

Caractérisation de l'extrait

L'extrait obtenu comme décrit ci-dessus a été analysé par HPLC.

L'analyse a été effectuée à l'aide d'une chaîne HPLC Agilent®1100 équipée d'un dégazeur, d'une pompe quaternaire basse pression, d'un passeur automatique, d'un détecteur UV-Visible-DAD (200 nm à 800 nm) et d'une colonne Prontosil® C₁₈ (250 x 4,0 mm ; 5µm, 120Å). La phase mobile était composée d'eau (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B). L'élution a été réalisée à 1 mL/min selon le gradient décrit dans le Tableau 1. 10 µL d'une solution méthanolique de l'extrait à 2 mg/mL ont été injectés. La détection a été effectuée à 242 nm et 280 nm.

15

T (min)	% B (acétonitrile)
0	60
5	60
8	68
13	68
16	69
21	69
24	71
29	71
32	100
37	100
40	60
45	60

Tableau 1

Sur la Figure 1, les pics des composés entre 14 et 17 min sont tous des composés de la famille des bicycloiridals. Ces bicycloiridals présentent un maximum d'absorption proche de 240 nm.

20

Le pic au temps de rétention de 14,996 min correspond à l'iriflorental et celui à 16,761 à l'iripallidal. Le 3^{ème} pic à 16,244 min pourrait correspondre à un isomère des bicycloiridals précédents. Le dosage sur l'extrait brut indique qu'il est composé de 15 % d'iriflorental et de 17,6 % d'iripallidal, soit un total pour les deux bicycloiridals de 33,6 %.

REVENDICATIONS

1. Procédé d'extraction de composés terpéniques à partir d'une composition de départ,
5 comprenant les étapes successives consistant à :
- a) extraire la composition de départ à l'aide d'un procédé physique, dans un solvant comprenant un lactate d'alkyle,
 - b) traiter la suspension obtenue pour éliminer la fraction solide et récupérer la fraction liquide,
 - c) diluer la fraction liquide avec de l'eau pour obtenir un mélange contenant de l'eau et le lactate
10 d'alkyle et un colloïde contenant des composés terpéniques,
 - d) éventuellement, récupérer le colloïde,
 - e) congeler le mélange éventuellement dépourvu du colloïde pour obtenir une phase lourde contenant le lactate d'alkyle, une phase légère contenant de l'eau sous forme solide et éventuellement une phase intermédiaire contenant les composés terpéniques qui n'ont pas été
15 récupérés à l'étape d),
 - f) éventuellement, faire fondre ledit mélange congelé, et
 - g) récupérer la phase lourde et, le cas échéant, ladite phase intermédiaire.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les étapes e) à g) sont répétées pour
20 obtenir une phase lourde purifiée.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que le solvant comprend en outre de l'éthanol, dans un rapport volumique de l'éthanol au lactate d'alkyle compris entre 5 et 80%, et en ce que le procédé comprend en outre une étape b') d'évaporation de l'éthanol, de préférence
25 à une température inférieure à 40°C, entre les étapes b) et c).
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape consistant à mélanger le colloïde récupéré à l'étape d) avec la phase intermédiaire issue de l'étape g).
- 30
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le lactate d'alkyle est choisi parmi les lactates d'alkyle en C1-C3, de préférence parmi le lactate de méthyle et le lactate d'éthyle, plus préférentiellement le lactate d'éthyle.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la composition de départ est constituée d'une matière végétale choisie parmi les parties de plantes, de préférence les rhizomes et/ou les feuilles, des plantes de la famille des Iridacées.
- 5 7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que les plantes sont choisies parmi celles du genre *Iris* et préférentiellement parmi les espèces *Iris pallida*, *Iris germanica*, *Iris florentina*, *Iris versicolor*, *Iris sibirica* et *Iris pseudacorus*, plus préférentiellement *Iris pallida*.
8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que les composés
10 terpéniques sont des triterpénoïdes cycliques.
9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 et 7, caractérisé en ce que les composés terpéniques sont des iridals, de préférence des bicycloiridals tels que l'iripallidal et l'iriflorental.

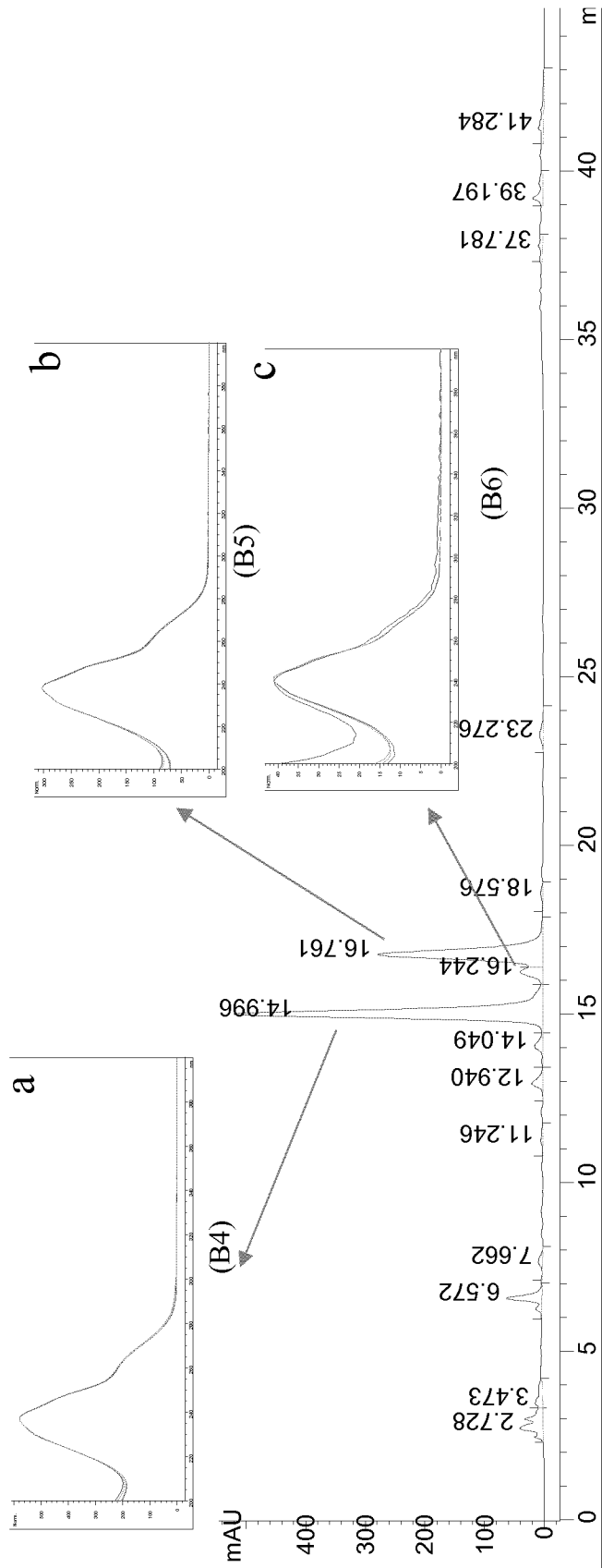


FIGURE 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/079234A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07C403/24
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	STRATI I F ET AL: "Recovery and Isomerization of Carotenoids from Tomato Processing By-products", WASTE AND BIOMASS VALORIZATION, SPRINGER NETHERLANDS, NL, vol. 7, no. 4, 24 March 2016 (2016-03-24), pages 843-850, XP036021385, ISSN: 1877-2641, DOI: 10.1007/S12649-016-9535-Z [retrieved on 2016-03-24] page 844, column 2, paragraph dernier - page 845, column 1, paragraph 1 page 845, column 2, paragraph 2 - page 846; figure 1; table 1 ----- -/--	1-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 November 2017

Date of mailing of the international search report

07/12/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Patteux, Claudine

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/079234

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ISHIDA B K ET AL: "Carotenoid Extraction from Plants Using a Novel, Environmentally Friendly Solvent", JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, BOOKS AND JOURNALS DIVISION, vol. 57, no. 3, 11 February 2009 (2009-02-11), pages 1051-1059, XP002623540, ISSN: 0021-8561, DOI: 10.1021/JF8026292 [retrieved on 2009-01-12] page 1052, column 2 - page 1053; figure 1 page 1057, column 2 - page 1058 -----	1-9
A	EMMANOUIL H. PAPAIOANNOU ET AL: "Natural Origin Lycopene and Its "Green" Downstream Processing", CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION, vol. 56, no. 4, 11 February 2015 (2015-02-11), pages 686-709, XP055388799, USA ISSN: 1040-8398, DOI: 10.1080/10408398.2013.817381 page 687; figure 1 page 696, paragraph 3.2 - page 697 -----	1-9
A	YIN LENG KUA ET AL: "Ethyl lactate as a potential green solvent to extract hydrophilic (polar) and lipophilic (non-polar) phytonutrients simultaneously from fruit and vegetable by-products", SUSTAINABLE CHEMISTRY AND PHARMACY, vol. 4, 10 August 2016 (2016-08-10), pages 21-31, XP055388803, ISSN: 2352-5541, DOI: 10.1016/j.scp.2016.07.003 page 22, paragraph 2 page 24, paragraph 5 - page 30, paragraph 9 -----	1-9
A	FR 2 746 645 A1 (UNIV MONTPELLIER II [FR]) 3 October 1997 (1997-10-03) cited in the application page 3, line 1 - page 4, line 12 page 8, line 8 - line 31 example 1 claims -----	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/079234

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
FR 2746645	A1	03-10-1997	FR 2746645 A1	03-10-1997
			WO 9736604 A1	09-10-1997

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2017/079234

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. C07C403/24 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) C07C		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	STRATI I F ET AL: "Recovery and Isomerization of Carotenoids from Tomato Processing By-products", WASTE AND BIOMASS VALORIZATION, SPRINGER NETHERLANDS, NL, vol. 7, no. 4, 24 mars 2016 (2016-03-24), pages 843-850, XP036021385, ISSN: 1877-2641, DOI: 10.1007/S12649-016-9535-Z [extrait le 2016-03-24] page 844, colonne 2, alinéa dernier - page 845, colonne 1, alinéa 1 page 845, colonne 2, alinéa 2 - page 846; figure 1; tableau 1 ----- -/--	1-9
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 28 novembre 2017		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 07/12/2017
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Patteux, Claudine

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	ISHIDA B K ET AL: "Carotenoid Extraction from Plants Using a Novel, Environmentally Friendly Solvent", JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, BOOKS AND JOURNALS DIVISION, vol. 57, no. 3, 11 février 2009 (2009-02-11), pages 1051-1059, XP002623540, ISSN: 0021-8561, DOI: 10.1021/JF8026292 [extrait le 2009-01-12] page 1052, colonne 2 - page 1053; figure 1 page 1057, colonne 2 - page 1058 -----	1-9
A	EMMANOUIL H. PAPAIOANNOU ET AL: "Natural Origin Lycopene and Its "Green" Downstream Processing", CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION, vol. 56, no. 4, 11 février 2015 (2015-02-11), pages 686-709, XP055388799, USA ISSN: 1040-8398, DOI: 10.1080/10408398.2013.817381 page 687; figure 1 page 696, alinéa 3.2 - page 697 -----	1-9
A	YIN LENG KUA ET AL: "Ethyl lactate as a potential green solvent to extract hydrophilic (polar) and lipophilic (non-polar) phytonutrients simultaneously from fruit and vegetable by-products", SUSTAINABLE CHEMISTRY AND PHARMACY, vol. 4, 10 août 2016 (2016-08-10), pages 21-31, XP055388803, ISSN: 2352-5541, DOI: 10.1016/j.sc.2016.07.003 page 22, alinéa 2 page 24, alinéa 5 - page 30, alinéa 9 -----	1-9
A	FR 2 746 645 A1 (UNIV MONTPELLIER II [FR]) 3 octobre 1997 (1997-10-03) cité dans la demande page 3, ligne 1 - page 4, ligne 12 page 8, ligne 8 - ligne 31 exemple 1 revendications -----	1-9

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

PCT/EP2017/079234

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (avril 2005)