

識別番号 L2

2012 年度完了学内共同研究

研究課題 環境調和型溶媒が可能にする植物系天然有機化合物抽出法の革新

研究代表者 藤田正博（理工学部物質生命理工学科）

共同研究者 臼杵豊展（理工学部物質生命理工学科）

Summary We have developed the extraction method of plant natural products utilizing eco-friendly solvent such as an ionic liquid, which dissolves cellulose.

1. 研究の目的及び背景

イオン液体(Ionic liquids, ILs)は 100℃以下の温度域で熔融した塩の総称であり、数多くの特徴を有する。例えば、イオンのみからなる液体であるため静電的な相互作用が強く、真空下でも揮発しない。揮発しないため難燃性であり、環境中への飛散や拡散も最小限にとどめることが可能である。また耐熱性に優れ、容易に再利用できることも利点である。これらの特徴は、環境負荷低減に直接つながるため、環境に優しい溶媒“グリーンソルベント”として世界中で活発に研究されている。

一方、イチョウ葉の成分は古くから漢方薬の原料等として利用されてきており、さらにはイチョウ葉抽出物がアルツハイマー型認知症の治療候補薬として近年注目されている。イチョウ葉成分の薬理作用発現機構解明に必要な有効成分の迅速かつ大量の供給が不可欠であるが、効率的な抽出方法が確立されていない。大量の有機溶媒を使用して抽出操作を繰り返すのみであるが、抽出量もわずかであり効率的とは言えないため、より安価かつ環境調和型の方法が求められている。

我々はセルロースを溶解するイオン液体を用いて、植物葉から未だ誰も成し得ていない不揮発成分の天然有機化合物を効率的に抽出・単離する方法論を検討してきた。その一例として、生命力が強く入手が容易なイチョウの葉から、インフルエンザの特効薬「タミフル®」の原料物質であるシキミ酸を効率的に獲得する方法の開発を検討した。

シキミ酸(図 1)は 1885 年、Eijkman によってシキミの果実から初めて単離された天然有機化合物である。シキミ酸は、多くの植物由来天然物の生合成過程における重要な中間体である。現在、スイスの製薬企業ロシュ社が、スターアニスまたは発酵法で得られる高価なシキミ酸 (1g 25,000 円) を原料として、12 段階でインフルエンザの治療薬 oseltamivir (オセルタミビル, 通称タミフル) の工業的合成法を確立している。しかし、スターアニスからの供給不足や、発酵法による生産量の限界、また突発的かつ潜在的なインフルエンザの世界的流行を踏まえると、現在の供給量では十分とは言えない。このように、オセルタミビル原料物質シキミ酸の安定かつ安価な量的供給が強く望まれている。そこで本研究では、セルロースを溶解するイオン液体 (ILs) を用いてイチョウ葉からシキミ酸の革新的抽出法の確立を目的として、研究を開始した。

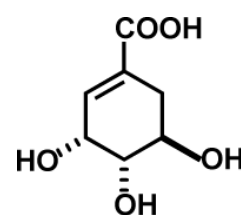
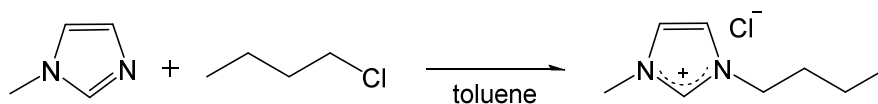


Fig.1 (-)-shikimic acid

2. 研究の方法・内容と成果

まずイオン液体[bmim]Cl の合成を開始した。1-Methylimidazole と chlorobutane をトルエン中で反応させることにより、1-butyl-3-methylimidazolium chloride ([C₄mim]Cl)を合成した

(式 1)。得られた[C₄mim]Cl をトルエンで繰り返し洗浄し、精製した。



Scheme 1 Synthesis of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride.

次に試料として、茎の部分を取り除いたメスのイチョウの緑葉（上智大学内のイチョウの木から採取）を用いた。MeOH で抽出した方法(MeOH method)と[bmim]Cl で抽出した方法(ILs method)の 2 つの方法で得られた抽出物を HPLC で分析した。その際、HPLC カラムは 5C₁₈-Ar-II Waters (2.0×150 mm)、移動相溶媒は 20 mM KH₂PO₄ 水溶液(pH 2.5)、流速 0.15 mL/min、カラム温度 40°C の条件下、UV 検出 210 nm で測定した。また、シキミ酸の既知濃度とピーク面積の尺で構成し、R² の値が 0.999 となった検量線を用いて収率を計算し比較した。

2 つの方法によってイチョウ葉から得られたシキミ酸の抽出できた収率を表 1 に示す。MeOH method (3 回試行) と ILs method (3 回試行) でのシキミ酸の収率を比較した結果、再現性よく ILs method の方が約 2.5 倍も多く抽出できていることが分かった。これは、既存の方法よりも効率よくシキミ酸を抽出できたことになる。しかも、ILs は再利用可能であり、環境調和型の方法でもある。また MeOH 以外にも、DMF, EtOH, H₂O で試みた場合でも、ILs method が最適であることがわかった。

Table 1. Extraction yields of shikimic acid

MeOH method	yield %
1	1.3
2	1.4
3	1.2
ILs method	yield %
1	3.0
2	3.4
3	3.1

本法は工業的にも応用可能であるため、より大量のシキミ酸を、しかも世界で広く分布しているイチョウの葉から抽出できることから、汎用性は高いと期待される。そして本研究成果は、学術論文に発表できたばかりでなく (*Chem. Commun.*, **47**, 10560-10562 (2011)), 特許出願することができた。本研究は、世界的な不足が予測されるタミフルの供給に寄与できるだけでなく、コスト面においても期待できる。

3. まとめと今後の展望

われわれ人類は、様々な植物が創製する天然有機化合物を医薬品として利用してきた。天然物をそのまま利用するだけでなく、化学合成品としても利用している。また天然有機化合物に関する知見は、それらの構造活性相関に基づくドラッグデザインや医薬品シーズの探索の重要な手段でもある。本申請研究は、薬用植物由来天然有機化合物の効率的抽出と薬理活性の解明を通じて上記のような社会的要請に応えるものである。本研究で開発する技術はあらゆる薬用植物に適用可能であることが期待でき、関連研究分野の進展に大きく寄与することに疑いの余地はない。