

### ベルガモットオイル中のベルガプテンの分取精製 Preparative Purification of Bergapten from Bergamot Oil

植物油には様々な有用成分の他、人体に有害な成分も含まれています。様々な成分が含まれた植物油から目的成分を分取精製するには、適切な前処理及びクロマトグラフィーを用いて夾雑物を取り除く必要があります。ベルガプテンはベルガモットオイル中に微量に含まれているフロクマリン類の一種で光毒性を有していることが報告されています。今回はベルガモットオイル中からベルガプテンの分取精製を実施しました。

Key words : ベルガプテン、クマリン、フロクマリン、分取精製、構造推定、Bergapten、Isopimpinellin  
Column : USP category: L1

#### ■ 前処理

オイル中の前処理方法としては液液分配、固相抽出などがありますが、目的成分が疎水性のため、単純な液液分配では油分が取り除けず回収率が低下します。また、固相抽出では前処理コストが高く、大容量実施には時間と労力を要します。今回はベルガプテンの持つラクトン環を強アルカリにより開環させ、極性を変えることでベルガプテンを水層へ、油分をエーテル層へ分配することでクリーンアップしました。これにより得た試料を分取LCで分画し得られたフラクションを精製しました。

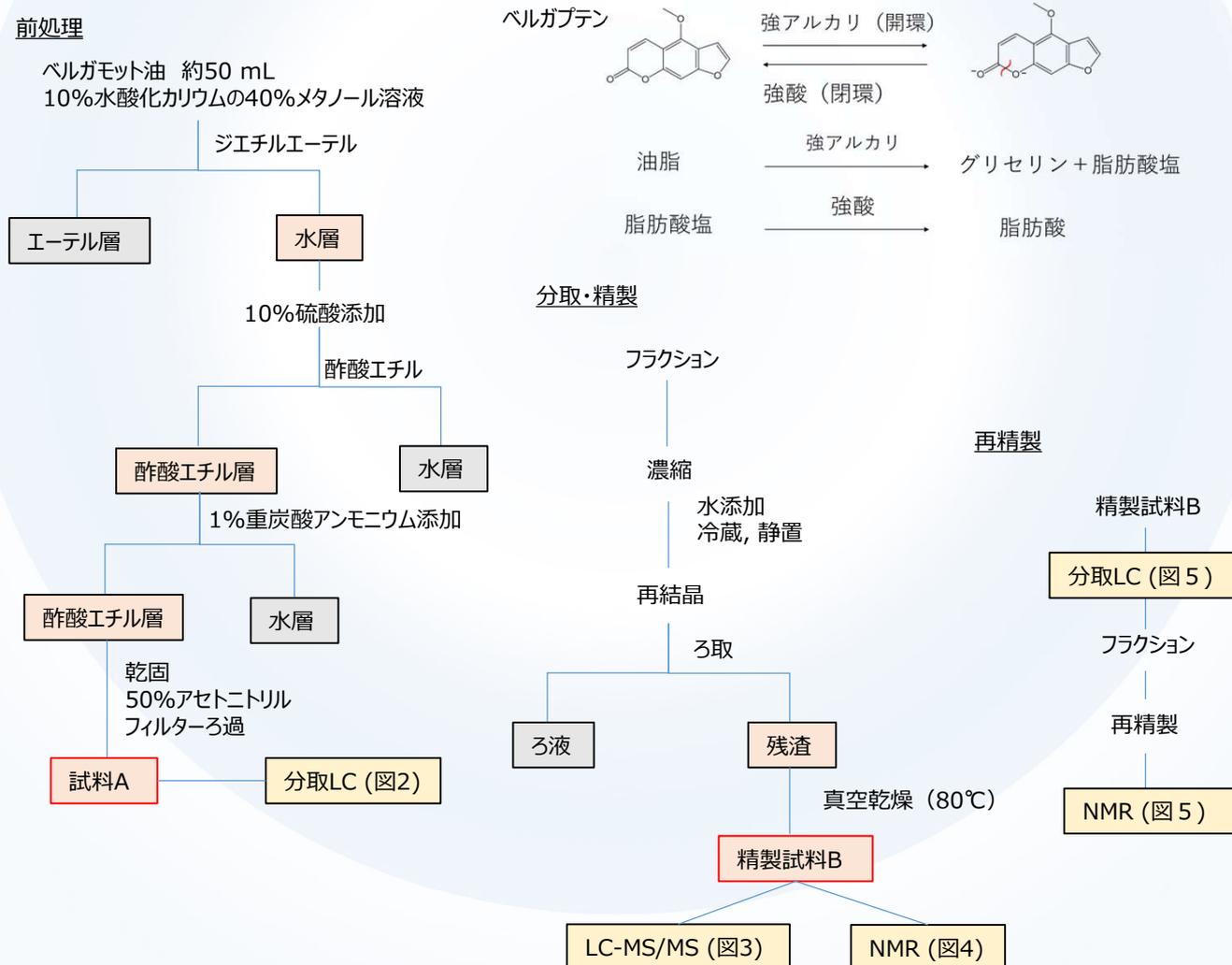


図1 前処理フロー

2026.02 OGT

### ■ 精製試料の確認

図1のフローに従い、試料Aを分取LCに供し、図2に示したピークを分取しました。フラクションを精製し、得られた精製試料BをLC-MS/MS分析で確認したところ、イソムピネリン及びベルガプテンと思われるスペクトルが検出されました。<sup>1</sup>H-NMRでもそれぞれのスペクトルが得られ、純度はそれぞれ26.8%、71.6%でした。1度の分取ではベルガプテンを単離することはできませんでした。

#### [ Analytical conditions ]

Column : L-column2 ODS (C18, 5 μm, 12 nm); 20 mm I.D. × 250 mm L.; Cat. No. 742120  
 Eluent : A: CH<sub>3</sub>CN; B: H<sub>2</sub>O  
 A/B: 30/70 – 30/70 – 51/49 – 90/10 – 90/10 (0 min – 16.6 min – 36.6 min – 47 min)  
 Flow rate : 18.9 mL/min  
 Detection : 315 nm  
 Injection volume : 2000 μL  
 System : Nexera Prep.  
 Sample : 試料A

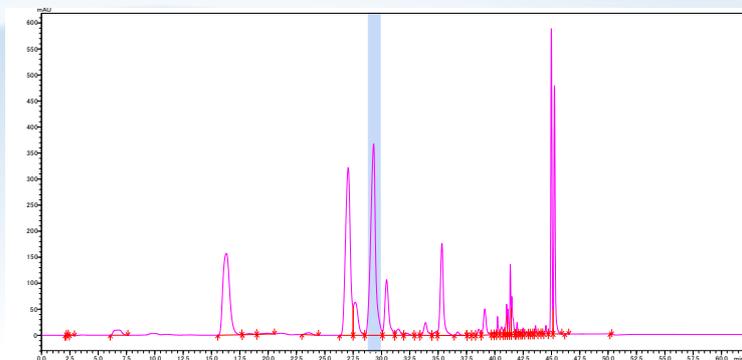


図2 試料Aの分取結果

#### [ Analytical conditions ]

Column : L-column2 ODS (C18, 3 μm, 12 nm); 2.1 mm I.D. × 150 mm L.; Cat. No. 711020  
 Eluent : A: CH<sub>3</sub>OH; B: H<sub>2</sub>O A/B: 55/45  
 Flow rate : 0.2 mL/min  
 Detection : MS/MS scan Precursor ion *m/z* 247.1, *m/z* 217.1 (APCI,+)  
 Injection volume : 2 μL  
 System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 Q TRAP (Sciex)  
 Sample : 精製試料B in CH<sub>3</sub>OH

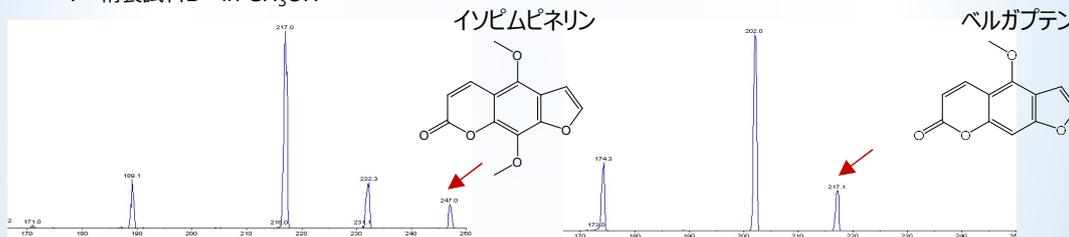


図3 精製試料BのLC-MS/MS測定結果

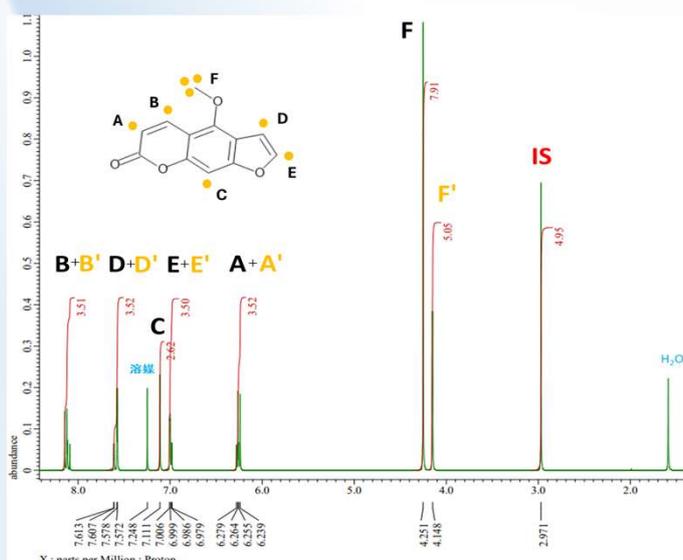


図4 精製試料Bの<sup>1</sup>H-NMR測定結果

溶媒: 重水素化クロロホルム  
 IS: ジメチルスルホン

イソムピネリンの純度 26.8% n=1, C, F'の平均から算出  
 ベルガプテンの純度 71.6% n=2, C, Fの平均から算出

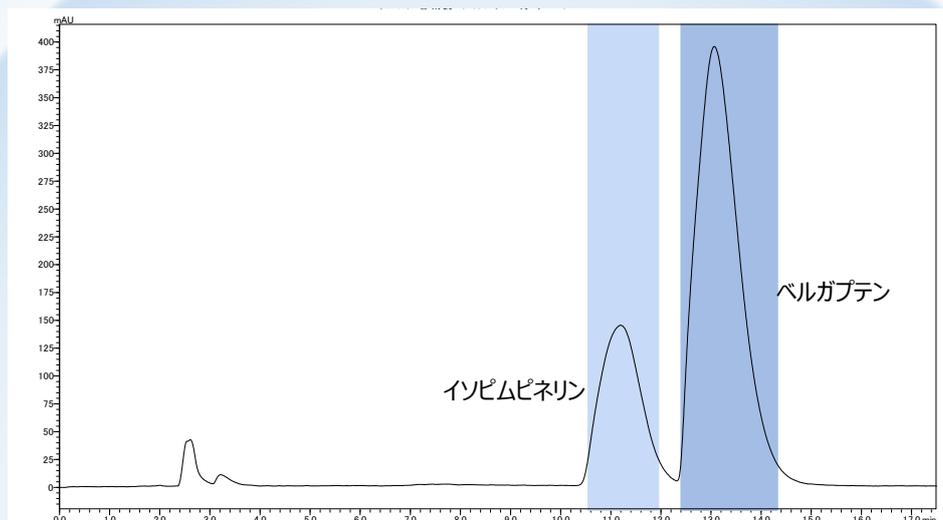
2026.02 OGT

### ■再精製

精製試料Bを再度分取LCで分画し、それぞれのフラクションを同様に精製した精製試料を<sup>1</sup>H-NMRで定量しました。ベルガプテンとイソピムピネリンはアセトニトリル溶離液では分離が難しく、メタノールを溶離液にすることで分離することができました。その結果、それぞれイソピムピネリンは純度93.0%、ベルガプテンは98.3%で精製することができました。今回はベルガモットオイル50 mL中から取得したため、精製量が数mgと微量であり純度に影響しました。しかし、定量NMRによる正確な値付けをすることで純度補正をすることも可能です。

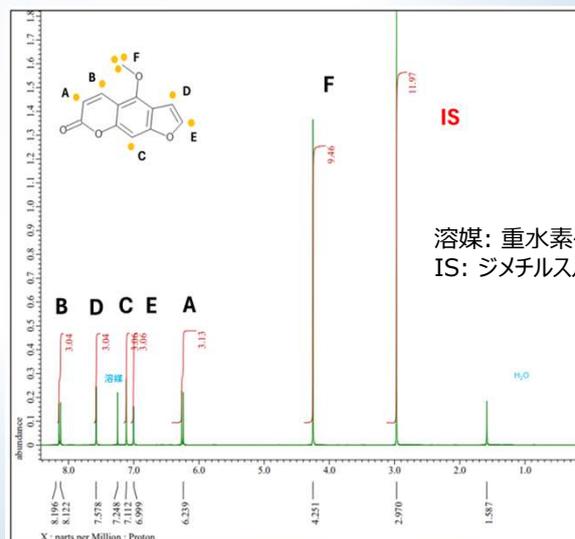
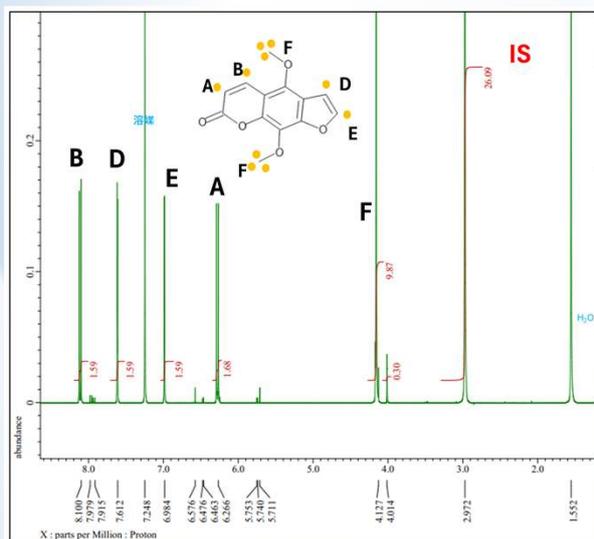
#### [ Analytical conditions ]

Column : L-column2 ODS (C18, 5 μm, 12 nm); 20 mm I.D. × 250 mm L.; Cat. No. 742120  
 Eluent : A: CH<sub>3</sub>OH; B: H<sub>2</sub>O  
 A/B: 55/45  
 Flow rate : 20 mL/min  
 Detection : 315 nm  
 Injection volume : 2000 μL  
 System : Nexera Prep.  
 Sample : 精製試料B (Bergapten, Isopimpinellin) in CH<sub>3</sub>OH



イソピムピネリン 純度 93.0%

ベルガプテン 純度 98.3%



溶媒: 重水酸化クロロホルム  
 IS: ジメチルスルホン

図5 再精製品の測定結果



- HPLC分析メソッド開発支援：長年の分析経験に基づいた高い技術で、HPLC分析メソッドを開発及び改善します。
  - HPLCによる分取・精製：高精度な分離条件に基づく分取・精製を行います。
- その他、精製品に対する構造推定(Q-ToF-MS、NMR、FT-IR)、推定構造による毒性評価、作成したHPLCメソッドによるGLP試験など、お気軽にご相談ください。

2026.02 OGT