

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 144377 B

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

- (21) Ansøgning nr. 2850/76 (51) Int.Cl.³ C 07 J 1/00
(22) Indleveringsdag 24. jun. 1976 C 07 J 9/00
(24) Løbedag 24. jun. 1976
(41) Alm. tilgængelig 31. dec. 1976
(44) Fremlagt 1. mar. 1982
(86) International ansøgning nr. -
(86) International indleveringsdag -
(85) Videreførelsesdag -
(62) Stamansøgning nr. -
(30) Prioritet 30. jun. 1975, 2529521, DE
- (71) Ansøger SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, Berlin und Bergkamen, 1 Berlin
65, DE.
(72) Opfinder Alfred Weber, DE: Rudolf Mueller, DE: Johannes Kur-
zidim, DE.
(74) Fuldmægtig Firmaet Chas. Hude.

- (54) Fremgangsmåde til isolering af
3-hydroxysteroider og 3-oxosteroider.
der.

Sådanne isoleringsmetoder kendes allerede. I tysk patentskrift 827.199 beskrives således en fremgangsmåde til isolering af steriner fra blandinger, idet man opløser blandingerne fortrinsvis i en hydrocarbon og opvarmer med et fire- til sekssdobbelts overskud af vandfrit zinkchlorid. Efter afkøling af opløsningen kan det udfældede zink-sterin-addukt skilles fra og spaltes i enkeltkomponenterne. I britisk patentskrift 1.164.769 beskrives på den anden side en fremgangsmåde til isolering af steriner fra blandinger, idet man opløser blandingerne fortrinsvis i en hydrocarbon, behandler opløsningen med en vandig opløsning af et til kompleksdannelse egnet metalsalt, fjerner vandet grundigt ved azeotropisk destillation, og efter afkøling af blandingen på sædvanlig måde isolerer og spalter det udfældede addukt.

De tidligere kendte fremgangsmåder har imidlertid den ulempe, at

DK 144377 B

de på grund af den høje reaktionstemperatur, for det meste over 100°C , er teknisk meget kostbare, og at man ved isoleringen af mange 3-hydroxysteroider og 3-oxosteroider lider betydelige udbyttetab, da disse steroider under de nævnte betingelser dekomponeres. Desuden har de kendte fremgangsmåder ofte den ulempe, at genvindingen af de til adduktdannelsen anvendte metalsalte, som ved en fremgangsmåde, der gennemføres i stor teknisk målestok, er nødvendig alene på grund af miljøbeskyttelsen, ofte er meget dyr. Den tekniske anvendelse af hydrocarboner som opløsningsmiddel er desuden ikke problemløs, da disse hurtigt oplader elektrostatisk, ofte har et lavt flammepunkt og ofte er ret giftige.

Formålet med den foreliggende opfindelse er at angive en fremgangsmåde til isolering af 3-hydroxysteroider og 3-oxosteroider fra blandinger indeholdende sådanne forbindelser, og som ikke har de kendte fremgangsmåders ulemper.

Dette opnås ved tilvejebringelsen af en fremgangsmåde, som er kendetegnet ved, at man opløser disse blandinger i methyilisobutylketon eller methyl-n-amylketon, behandler med calciumbromid eller en opløsning af calciumbromid i methyilisobutylketon eller methyl-n-amylketon og på i og for sig kendt måde isolerer og spalter det udfældede addukt. Anvendelsen af andre opløsningsmidler end methyilisobutylketon eller methyl-n-amylketon fører ifølge de foreliggende forsøgsresultater ikke til lige så gode resultater. Calciumbromid (i form af dets hydrat) er ganske vist relativt let opløselig i alkoholer (som methanol, ethanol, isopropanol, propan-1,3-diol eller hexan-1-ol); såfremt der til de således opnåede opløsninger imidlertid sættes en steroidopløsning i det samme opløsningsmiddel (anvendelsen af opløsningsmiddelblandinger er med henblik på genvindingen teknisk altid dyrere end anvendelsen af kun ét opløsningsmiddel), så fås ingen eller ingen tilnærmelsesvis kvantitativ fældning. I andre undersøgte ketoner (f.eks. acetone, methylethylketon, diethylketon, diisobutylketon eller methylisopropylketon) er calciumbromid så tungt opløselig, at disse ketoner ikke egner sig til at udfælde de nævnte steroider af en primær homogen fase. Upolære opløsningsmidler som f.eks. benzene egner sig på grund af calciumbromids ringe opløselighed i disse opløsningsmidler ligeledes ikke. Anvendelsen af andre til adduktdannelsen egnede metalsalte fører ifølge de foreliggende forsøg ligeledes ikke til så gode resultater som

fremgangsmåden ifølge opfindelsen, det være sig fordi disse metalsalte er for lidt opløselige i methyloisobutylketon eller methyl-n-amylketon (som f.eks. calciumchlorid) eller fordi de dannede addukter har en for stor opløselighed i disse ketoner.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan f.eks. gennemføres ved at man opløser blandingerne i methyloisobutylketon eller methyl-n-amylketon, således at der dannes en opløsning med ca. 0,5% til 50% eller fortrinsvis 5-50% steroidindhold og behandler denne ved en temperatur fra 0°C til 50°C fortrinsvis ved stuetemperatur med calciumbromid (fortrinsvis som hydrat) eller en ca. 5% eller fortrinsvis 10% til ca. 35% opløsning af calciumbromid (fortrinsvis i form af hydratat) i methyloisobutylketon eller methyl-n-amylketon. Det dannede addukt isoleres efter udfældning på sædvanlig måde (f.eks. ved filtrering) og spaltes (f.eks. ved indføring i vand og eventuelt i alkoholer som methanol eller ethanol). Ved reaktionen anvendes fortrinsvis 2-10 ækvivalenter calciumbromid pr. mol steroid, der skal fældes.

Af de steroidfri methyloisobutyl- eller methyl-n-amylketonopløsninger kan man ved ekstraktion med vand på simpel måde fjerne calciumbromidoverskuddet.

De vandige calciumbromidopløsninger kan efter inddampning og ekstraktion af resten igen overføres i opløsninger af calciumbromid i methyloisobutylketon eller methyl-n-amylketon.

Ved hjælp af fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan man på simpel måde udvinde phytosteriner (som f.eks. campesterin, stigmasterin, sitosterin, diosgenin, brassicasterin, ergosterin eller hecogenin) fra planteekstrakter, som indeholder disse forbindelser, deres rester og hydrolysater. Steroidalkaloider (som f.eks. solasodin) eller zoosterin (som kolesterol) kan ligeledes isoleres fra lipidfraktioner indeholdende disse forbindelser eller deres hydrolysater af animalsk oprindelse.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er desuden af betydning til isolering af 3-ketosteroider (som f.eks. 4-androsten-3,17-dion, 1,4-androstadien-3,17-dion, testosteron, hydrocortison, cortison, progesteron, 17 α -hydroxyprogesteron, prednisolon, 17 α -acetoxyprogesteron etc.) fra ekstrakter af mikrobiologiske steroiddannelse

eller af koncentrationer af sådanne ekstrakter.

De efterfølgende eksempler tjener til belysning af fremgangsmåden ifølge opfindelsen. De i eksemplerne anførte renhedsangivelser støtter sig på den gaschromatografiske eller tyndtlagschromatografiske analyse af de fremstillede produkter.

Eksempel 1

a) 53,5 g fedtsyredestillat-rest med et sterinindhold på 26,4% (bestående af campesterin, stigmasterin og sitosterin) opløses i 140 ml methyilisobutylketon og behandles under omrøring med 60 ml af en 30% methyilisobutylketonopløsning af calciumbromid-dihydrat.

Blandingen henstår i 16 timer ved stuetemperatur, bundfaldet suges fra, vaskes med diisopropylether og efter tørring i vacuum fås 20,0 g af sterinadduktet.

b) 20,0 g af det således opnåede addukt indføres i 200 ml vand, blandingen omrøres i en time, den udskilte sterinblanding filtreres fra, vaskes med vand, tørres ved 60°C i vacuum, og der fås 14,6 g af en blanding af campesterin, stigmasterin og sitosterin, som har en renhed på 87,5% (= 90,3% af det teoretiske udbytte).

Eksempel 2

a) Til en opløsning af 75,0 g sojaoliefraktion med et sterinindhold på 6,8% (bestående af campesterin, stigmasterin og sitosterin) i 60 ml methyilisobutylketon sættes 25 ml af en 30% methyilisobutylketon-opløsning af calciumbromiddihydrat.

Blandingen får lov til at henstå natten over, det udskilte addukt filtreres fra, vaskes med diisopropylether, tørres i vacuum og således fås 7,70 g af sterinadduktet.

b) 7,70 g af det således opnåede addukt spaltes under de i eksempel 1b beskrevne betingelser samt oparbejdes og således fås 4,67 g af en blanding af campesterin, stigmasterin, og sitosterin med en renhed på 95,0% (= 86,4% af det teoretiske

udbytte).

Eksempel 3

a) Til en opløsning af 89,5 g sojaoliefraktion med et sterinindhold på 6,8% (bestående af campesterin, stigmasterin og sitosterin) sættes 32 g calciumbromiddihydrat og blandingen omrøres i 16 timer ved stuetemperatur. Det udskilte sterin-addukt filtreres fra, vaskes med diisopropylether, tørres i vacuum og således fås 8,95 g sterinaddukt.

b) 8,95 g af det således opnåede sterinaddukt spaltes under de i eksempel 1b beskrevne betingelser, samt oparbejdes, og der fås 5,75 g af en blanding af campesterin, stigmasterin og sitosterin med en renhed på 89,2% (= 81,7% af det teoretiske udbytte).

Eksempel 4

50,0 g uldvoksalkoholer med et indhold af 30,2% cholesterin opløses i 150 ml methyilisobutylketon, behandles med 75 ml af en 30% methyilisobutylketon-opløsning af calciumbromiddihydrat og blandingen omrøres i 16 timer ved stuetemperatur. Det opnåede addukt isoleres og spaltes som beskrevet i eksempel 1, og således fås 15,7 g cholesterin med en renhed på 91,5% (= 94,5% af det teoretiske udbytte).

Eksempel 5

300 ml af en methyilisobutylketon-ekstrakt, som foruden gærindholdsstoffer og siliconeolie SH indeholder 14,2% testosteron, behandles under omrøring med 25 ml af en 30% methyilisobutylketon-opløsning af calciumbromiddihydrat og opbevares i 16 timer ved stuetemperatur. Det udskilte addukt isoleres under de i eksempel 1 beskrevne betingelser samt spaltes, og således fås 4,46 g testosteron med en renhed på 92,2% (= 96,4% af det teoretiske udbytte).

Eksempel 6

100 ml af en methyilisobutylketon-ekstrakt indeholdende 7,86 g 1,4-androstadien-3,17-dion behandles med 60 ml af en 30% calciumbromid-dihydrat-opløsning i methyilisobutylketon og omrøres

i 16 timer ved stuetemperatur.

Det udskilte addukt isoleres og spaltes som beskrevet i eksempel 1, og således fås 7,58 g 1,4-androstadien-3,17-dion med en renhed på 95,5% (= 91,6% af det teoretiske udbytte).

Eksempel 7

a) 16,7 g fedtsyredestillatrest med et sterinindhold på 26,4% (bestående af campesterin, stigmasterin og sitosterin) opløses i 75 ml methyl-n-amylketon og behandles under omrøring med 30 ml af en 15%ig methyl-n-amylketonopløsning af calciumbromiddihydrat.

Blandingen henstår natten over ved stuetemperatur, bundfaldet filtreres fra, vaskes med diisopropylether og efter tørring i vacuum fås 5,5 g sterinaddukt.

b) 5,5 g af det således fremstillede sterinaddukt anbringes i 50 ml vand, blandingen omrøres i 1 time, den udskilte sterinblanding filtreres fra, vaskes med vand og tørres ved 60°C i vacuum. Der fås 4,5 g af en blanding af campesterin, stigmasterin og sitosterin med en renhed på 88,1% (= 90,0% af det teoretiske udbytte).

Eksempel 8

100 ml af en methyl-n-amylketonekstrakt, som foruden gærindholdsstoffer og siliconeolie SH indeholder 6,8% testosteron, behandles under omrøring med 75 ml af en 15%ig methyl-n-amylketonopløsning af calciumbromiddihydrat. Efter 16 timers henstand ved stuetemperatur oparbejdes som i eksempel 1. Der fås 7,0 g testosteron med en renhed på 95,3% (= 98,5% af det teoretiske udbytte).

Eksempel 9

100 ml af en methyl-n-amylketonekstrakt indeholdende 6,1% 1,4-androstadien-3,17-dion behandles med 75 ml af en 15%ig methyl-n-amylketonopløsning af calciumbromiddihydrat og opbevares natten over ved stuetemperatur. Efter isolering og spaltning af adduktet som i eksempel 1 fås 6,25 g 1,4-androstadien-3,17-dion med en renhed på 93,6% (= 95,8% af det teoretiske udbytte).

P a t e n t k r a v

Fremgangsmåde til isolering af 3-hydroxysteroider og 3-oxosteroider fra blandinger indeholdende sådanne forbindelser, k e n d e t e g n e t ved, at man opløser disse blandinger i methylobutylketon eller methyl-n-amylketon, behandler med calciumbromid eller en opløsning af calciumbromid i methylobutylketon eller methyl-n-amylketon og på i og for sig kendt måde isolerer og spalter det udfældede addukt.

Fremdragne publikationer:
