CH 637 936 A5

(19) SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.³: C 07 D 211/40

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

ETH-BIBLIOTHEK ZÜRICH

(12) PATENTSCHRIFT A5

(11) 637 936

(21) Gesuchsnummer: 11610/78

(22) Anmeldungsdatum: 10.11.1978

(30) Priorität(en): 10.11.1977 JP 52-135505
10.11.1977 JP 52-135506

(24) Patent erteilt: 31.08.1983

(45) Patentschrift veröffentlicht: 31.08.1983

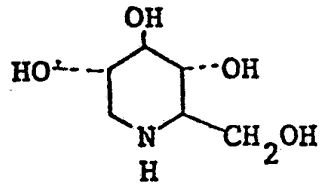
(73) Inhaber:
Nippon Shinyaku Co., Ltd., Minami-ku/Kyoto (JP)

(72) Erfinder:
Shingo Matsumura, Tsuzuki-gun/Kyoto-fu (JP)
Hiroshi Enomoto, Nagaokakyo-shi (JP)
Yoshiaki Aoyagi, Ogurusu Fushimi-ku/Kyoto (JP)
Yoji Ezure, Otsu-shi (JP)
Yoshiaki Yoshikuni, Kameoka-shi (JP)
Masahiro Yagi, Kusatsu-shi (JP)

(74) Vertreter:
E. Blum & Co., Zürich

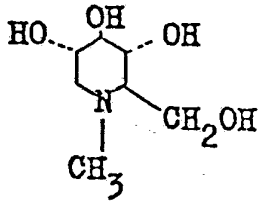
(54) Verfahren zur Herstellung von Moranolin und N-Methylmoranolin.

(57) Moranolin sowie N-Methylmoranolin der Formeln



(I)

und



(III)

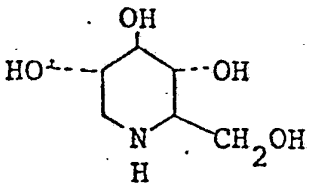
werden hergestellt. Moranolin wird erhalten, indem man eine Nojirimycin enthaltene Zuchtbrühe einer katalytischen Reduktion mit einem Metallkatalysator unterwirft und dann die erhaltene Lösung mit einem Ionenaustauscherharz behandelt.

N-Methylmoranolin wird hergestellt, indem man zur genannten Nojirimycin enthaltenden Zuchtbrühe Formaldehyd hinzufügt, reduziert und das gewünschte Produkt aus dem Reaktionsmedium isoliert. -Die Verbindungen der Formeln I und II können in Salze überführt werden.

Moranolin und N-Methylmoranolin verhindern das Ansteigen des Blutzuckerspiegels bei Tieren, denen hohe Zuckermengen verabreicht worden sind.

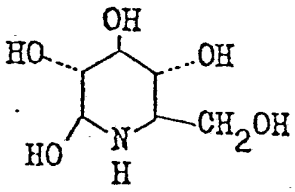
PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung von Moranolin der Formel



(I)

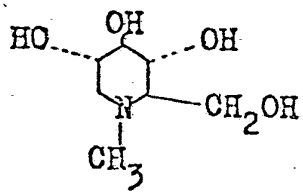
und dessen Salzen, dadurch gekennzeichnet, dass man eine katalytische Reduktion einer Zuchtbrühe eines Actinomyceten vornimmt, die Nojirimycin der Formel



(II)

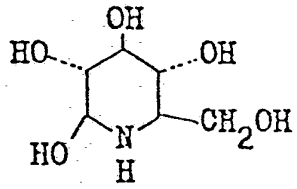
enthält, wobei man die katalytische Reduktion mit einem Metallkatalysator durchführt und dann die so erhaltene Lösung mit einem Ionenaustauscherharz behandelt und erhaltene Verbindungen gegebenenfalls in entsprechende Salze überführt.

2. Verfahren zur Herstellung von N-Methylmoranolin der Formel



(III)

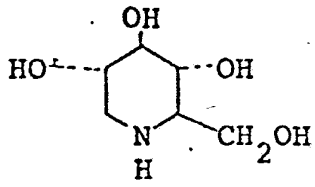
und dessen Salzen, dadurch gekennzeichnet, dass man zu einer Zuchtbrühe eines Actinomyceten, die Nojirimycin der Formel



(II)

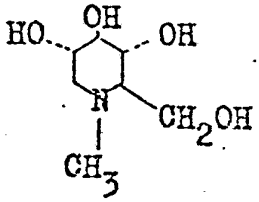
enthält, Formaldehyd hinzufügt, reduziert, aus der Reaktionslösung das gebildete N-Methylmoranolin isoliert und die erhaltene Verbindung gegebenenfalls in entsprechende Salze überführt.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Moranolin, der Formel



(I)

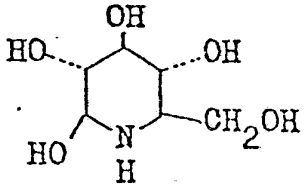
Ebenfalls bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zur Herstellung von N-Methylmoranolin der Formel



(III)

Die erfindungsgemäss hergestellten Verbindungen der Formeln II und III können in Salze überführt werden.

Das Verfahren zur Herstellung von Moranolin der Formel I ist dadurch gekennzeichnet, dass man eine katalytische Reduktion einer Zuchtbrühe eines Actinomyceten vornimmt, die Nojirimycin der Formel



(II)

enthält, wobei man die katalytische Reduktion mit einem Metallkatalysator durchführt und dann die so erhaltene Lösung mit einem Ionenaustauscherharz behandelt und erhaltene Verbindung gegebenenfalls in entsprechende Salze überführt.

Die Verbindungen der Formel III werden erfindungsgemäss erhalten, indem man zu einer Zuchtbrühe eines Actinomyceten, die Nojirimycin der Formel II enthält, Formaldehyd hinzufügt, anschliessend reduziert, aus der Reaktionslösung das gebildete N-Methylmoranolin isoliert und die erhaltene Verbindung gegebenenfalls in entsprechende Salze überführt.

Es wird nun zunächst auf die Herstellung von Moranolin, welches die oben angegebene Formel I aufweist, Bezug genommen.

Eine Substanz, welche die Formel I aufweist, könnte aus Maulbeerpflanzen (Morus-Pflanzen) und ferner aus einem chinesischen, von Pflanzen abstammenden Medikament, nämlich «Soh-hakuhi», was soviel heisst wie Wurzelrinde der Maulbeere, als in der Natur vorkommende Substanz erstmals isoliert werden. Diese Verbindung wurde als Moranolin bezeichnet, und es sei in diesem Zusammenhang auf die Veröffentlichung von Yagi et al., im «Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan», Band 50, Seite 571 (1976) hingewiesen. Im Zusammenhang mit diesen Arbeiten zeigte es sich ferner, dass Moranolin eine sehr gute Wirkung als medizinischer Wirkstoff aufweist, und zwar zur Hemmung eines Ansteigens des Blutzuckerspiegels von Tieren, an die hohe Zuckermengen verabreicht werden.

Anschliessend an diese Arbeiten wurden noch verschiedene Untersuchungen unternommen, um ein Verfahren zur wirtschaftlichen Herstellung des Moranolins zu entwikkeln. Im Zusammenhang damit wurde das vom wirtschaftlichen Gesichtspunkt her sehr vorteilhafte Verfahren zur Her-

stellung des Moranolins entwickelt, das hier beschrieben wird.

Zur Herstellung von Moranolin besteht die Möglichkeit, dieses aus Maulbeerpflanzen und anderen Pflanzen zu extrahieren. Das einzige andere bisher bekannte Verfahren zur Herstellung von Moranolin besteht darin, dass man Nojirimycin mit Hilfe eines Platinkatalysators oder mit Natriumborhydrid reduziert. Es sei in diesem Zusammenhang auf die Veröffentlichung von Inoue et al., in Tetrahedron, 23, 2125 (1968) verwiesen. Das bei diesem Reduktionsverfahren als Ausgangsmaterial verwendete Nojirimycin ist ein Antibiotikum, das von einer bestimmten Art von Actinomyceten gebildet wird.

Das Verfahren zur Herstellung von Nojirimycin durch Fermentation und die Methodik zur Reinigung dieses Produktes sind in den japanischen Patentveröffentlichungen Nr. 760/1968 und Nr. 5033/1970 beschrieben. Wie in diesen Patentveröffentlichungen erwähnt wird, ist es bekannt, dass Nojirimycin eine extrem unbeständige Substanz ist und dass eine Zersetzung dieses Produktes selbst unter neutralen Bedingungen auftritt, und dass ferner das Produkt sich leicht unter sauren Bedingungen zersetzt. Dementsprechend ist es sehr schwierig, aus dem Zuchtmedium das Nojirimycin zu isolieren, und in den oben erwähnten Patentveröffentlichungen werden auch viele mühsame Arbeitsvorgänge erläutert, die zur Durchführung der Isolierung nötig sind. Zu diesen Arbeitsvorgängen gehört zuerst einmal Chromatographie auf einer Ionenaustauschersäule, wobei man hier sehr vorsichtig vorgehen muss. Auch wenn die Reinigungmethodik über ein Verfahren eines Adduktes an schwefeliger Säure durchgeführt wird, welches als relativ vorteilhaft angesehen wird, tritt dennoch ein Verlust von 50% oder ein noch grösserer Produktverlust bei diesem Reinigungsvorgang auf.

Wenn man ausserdem das Moranolin der Formel I, ausgehend von dem gereinigten Nojirimycin, herstellen will, dann beträgt die Ausbeute nur 50% oder liegt noch tiefer, selbst dann, wenn ein teurer Platinkatalysator zur Durchführung dieses Verfahrens herangezogen wird. Dementsprechend sieht man, dass dann, wenn das Moranolin der Formel I aus dem Nojirimycin in der Zuchtbrühe hergestellt werden soll, ein derartiges Herstellungsverfahren viele mühsame Arbeitsschritte benötigt und dennoch die Gesamtausbeute an dem Moranolin nur 15 bis 20% der Theorie beträgt. Aus diesen Gründen konnte ein derartiges Verfahren nicht als wirtschaftlich anwendbares Herstellungsverfahren zur Herstellung von Moranolin entwickelt werden.

Im Verlaufe der Arbeiten, die zur Durchführung des erfindungsgemässen Verfahrens gemacht wurden, wurden verschiedene eingehende Untersuchungen unternommen, um ein in wirtschaftlicher Hinsicht vorteilhaftes Herstellungsverfahren für das Moranolin der Formel I zu entwickeln, weil diese Verbindung ein wichtiges, zur medizinischen Anwendung geeignetes Produkt ist. Als Ergebnis dieser Untersuchungen hat es sich herausgestellt, dass eine katalytische Reduktion der Kulturbrühe eines Actinomyceten durchgeführt werden muss, wobei diese Kulturbrühe Nojirimycin enthält. Diese katalytische Reduktion kann mit verschiedenen Katalysatoren durchgeführt werden, beispielsweise mit einem Raney-Nickel-Katalysator. Nach der Reduktion muss dann das so erhaltene reduzierte Kulturmedium mit einem Ionenaustauscherharz behandelt werden. Überraschenderweise hat es sich gezeigt, dass nach diesem erfindungsgemässen Verfahren das Moranolin der Formel I in einer nahezu quantitativen Ausbeute hergestellt werden kann. Ausserdem sind als Metallkatalysatoren zur Durchführung dieses Verfahrens Mangan-, Zink-, Kobalt-, Kupfer- und ähnliche Katalysatoren anwendbar, wobei von all diesen jedoch Raney-Nickel bevorzugt ist.

Das wesentliche Merkmal des erfindungsgemässen Verfahrens besteht darin, dass so die Gesamtausbeute an Moranolin der Formel I, ausgehend von dem in dem Zuchtmedium enthaltenen Nojirimycin, nicht nur verbessert, d.h. erhöht, wird, sondern dass sie in hervorstechender Weise auf das 5fache oder noch weiter erhöht werden kann im Vergleich zu bisher üblichen Herstellungsverfahren. Ein ganz wesentlicher Vorteil des erfindungsgemässen Verfahrens besteht ferner darin, dass eine grosse Anzahl an mühsamen Arbeitsschritten zur Extraktion und Isolation des als Zwischenprodukt benötigten Nojirimycins vollständig unnötig werden, und dass es dennoch ferner möglich ist, die Arbeitsverfahren für die Extraktion und Reinigung des erhaltenen Endproduktes in grossem Ausmass zu erleichtern.

Wenn nämlich das Nojirimycin aus der Zuchtbrühe extrahiert wird, wie dies bei den bisher üblichen Verfahren der Fall ist, dann behindern die in dem Zuchtmedium enthaltenen Nährstoffe, Abbauprodukte und Zersetzungsprodukte des Nojirimycins das Extraktionsverfahren, das zum Zwecke der Gewinnung von Nojirimycin angewandt wird. Durch die Anwesenheit von Substanzen, die in den Extrakt eingemischt sind, war es ferner schwierig, die Arbeitsschritte zur Isolierung und Reinigung von Nojirimycin durchzuführen, und dies in Kombination mit der bekannten Unbeständigkeit, die das Nojirimycin selbst aufweist.

Völlig überraschenderweise hat es sich nun gezeigt, dass diese hemmenden Substanzen während des erfindungsgemässen Reduktionsverfahrens denaturiert werden, und wenn dann beim erfindungsgemässen Verfahren nach der Durchführung der Reduktion Arbeitsschritte zur Isolierung des Moranolins der Formel I aus der reduzierten Zuchtbrühe durchgeführt werden, d.h. wenn diese reduzierte Zuchtbrühe mit dem Ionenaustauscherharz behandelt wird, dann treten die denaturierten Produkte kaum in den so erhaltenen Extrakt über.

Selbst wenn sehr geringe Mengen an unreinen hemmenden Substanzen in diesen Extrakt eintreten sollten, dass ist es möglich, dennoch die Reinigung durch Salzbildung mit einer üblichen Mineralsäure oder einer geeigneten organischen Säure in üblicher Weise durchzuführen.

Das erfindungsgemässe Verfahren ermöglicht es, in einfacher Weise zu arbeiten, und dies war in keiner Weise vorherzusehen, und zwar durch die Kombination der Tatsache, dass eine quantitative Ausbeute des angestrebten Moranolins der Formel I erreicht werden kann und dass dadurch die Herstellung des Moranolins nach dem erfindungsgemässen Verfahren in wirtschaftlich günstiger Weise durchgeführt werden kann.

Zu Vergleichszwecken wurde ein Dünnschichtchromatogramm von rohem Moranolin der Formel I durchgeführt, welches hergestellt wurde, indem man die Behandlung mit dem Ionenaustauscherharz nach dem Verfahren durchführte, das in dem nachfolgenden Beispiel beschrieben ist. Ferner wurde zu Vergleichszwecken ein Dünnschichtchromatogramm von rohem Nojirimycin der Formel II durchgeführt, welches erhalten werden konnte, indem man eine Extraktion aus der gleichen Zuchtbrühe vornahm, und zwar nach dem Verfahren, das in der japanischen Patentveröffentlichung Nr. 760/1968 beschrieben ist. Die bei diesem Dünnschichtchromatogramm erzielten Ergebnisse sind in den Figuren 1 und 2 veranschaulicht. Wie man aus Fg. 2 sieht, ist das Nojirimycin der Formel II der Vorläufer, der dann bei der Reduktion in das Moranolin der Formel I umgewandelt wird, und in der Zuchtbrühe liegt das Nojirimycin der Formel II gemischt mit einer Vielzahl und einer grossen Menge an Verunreinigungen vor, die die Arbeitsverfahren zur Extraktion des Nojirimycins behindern. Im Gegensatz dazu weist das Moranolin der Formel I, das durch die Reduktion

und Extraktion nach dem erfindungsgemässen Verfahren erhalten wurde, fast gar keine Verunreinigungen auf, wie dies aus dem in Fig. 1 veranschaulichten Dünnschichtchromatogramm zu sehen ist.

Als Nickel-Katalysator, der zur Durchführung des erfindungsgemässen Verfahrens mit Vorteil angewandt wird, können beliebige Arten an aktivierten Nickel-Katalysatoren eingesetzt werden. Im allgemeinen ist jedoch das im Handel erhältliche und zu industriellen Zwecken als Katalysator verwendete Raney-Nickel ausreichend.

Die Erfindung sei nun anhand von Beispielen näher erläutert, die spezielle Ausführungsarten des erfindungsgemässen Verfahrens beschreiben.

Beispiel 1

Nojirimycin produzierende Actinomyceten, die zur Gattung Streptomyces gehören, werden in 5 Liter eines Zuchtmediums eingeimpft. Das Zuchtmedium enthielt 2% Stärke, 1% Sojabohnenpulver, 0,05% KCl, 0,05% an $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5% NaCl und 0,35% $CaCO_3$. Unter Schütteln bebrütet man diese Kultur bei 27 °C während 3 Stunden, wobei bei diesem Vorgang belüftet wird. Sobald die Bebrütung vollständig ist, werden 500 g an «High-Flow Super-Cell» zugesetzt, und dann wird filtriert, wobei man 4,4 Liter eines Filtrates erhält. Der Gehalt an Nojirimycin in diesem Filtrat betrug 500 µg pro ml, und zwar gemäss einem biologischen Testverfahren, bei dem β-Glucosidase verwendet wird (bezüglich dieses Testverfahrens sei auf die Veröffentlichung von Niwa et al., in Agr. Biol. Chem., 34, 966 (1970) hingewiesen).

Zu 500 ml der so erhaltenen Kulturbrühe setzte man etwa 10 ml eines käuflich erhältlichen, für industrielle Zwekke hergestellten Raney-Nickels zu und rührte in einem Strom von Wasserstoffgas bei Zimmertemperatur und unter Atmosphärendruck. In einem Zeitraum von 6 Stunden wurden etwa 200 ml Wasserstoffgas aufgenommen, und zu diesem Zeitpunkt wurde die Hydrierung abgebrochen. Der Katalysator wurde abfiltriert und das erhaltene Filtrat durch eine Säule laufengelassen, die 300 ml Dowex 1 × 2 (OH) enthielt. Das erhaltene austretende Material wurde dann durch eine Säule laufengelassen, die 200 ml an Dowex 50W × 4(H) enthält. Die Säule wurde mit 2 Litern Wasser gewaschen. Anschliessend eluierte man die adsorbierten Substanzen, indem man als Elutionsmittel einen 0,5prozentigen wässrigen Ammoniak verwendete. Das dabei erhaltene Eluat wurde konzentriert und unter vermindertem Druck zur Trockene eingedampft, wobei man blassgeblich-braune Kristalle als Rückstand erhielt. Die Ausbeute betrug 280 mg.

Das Dünnschichtchromatogramm dieses Produktes ist in Fig. 1 veranschaulicht. Beim Umkristallisieren aus Methanol erhält man 218 mg an gereinigtem Moranolin der Formel I.

Dieses besitzt die folgenden Eigenschaften:

Schmelzpunkt = 302 bis 205 °C

Optische Drehung in Wasser: $[\alpha]^{24}_D = 44{,}6°$

Ausbeute = 87% der Theorie

In der Folge wird nun das erfindungsgemässe Herstellungsverfahren für N-Methylmoranolin näher erläutert.

Im Verlaufe der Arbeiten, die zur Entwicklung des erfindungsgemässen Verfahrens durchgeführt wurden, hat es sich schon früher herausgestellt, dass das N-Methylmoranolin der weiter oben angegebenen Formel III ein Ansteigen des Blutzuckers bei Tieren, die durch Verabreichung von Zucker belastet werden, hemmt. Aus diesem Grunde ist die fragliche Verbindung zur medizinischen Verwendung sehr gut geeignet. Es wurde nun ein wirtschaftlich vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung von N-Methylmoranolin der Formel III, ausgehend von Nojirimycin, entwickelt.

Zur Synthese von N-Methylmoranolin der Formel III bestand ein synthetisches Verfahren darin, dass man eine N-Methylierungsreaktion mit dem Moranolin der Formel I durchführte, d.h. dem Moranolin, das aus Pflanzen isoliert wurde und das in der Veröffentlichung von Yagi et al., im «Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan», Band 50, Seite 571 (1976) beschrieben wurde. Im Verlauf der Entwicklung des erfindungsgemässen Verfahrens wurden verschiedene Untersuchungen unternommen, um ein Verfahren zur Herstellung des N-Methylmoranolins direkt aus dem Nojirimycin der Formel II zu ermöglichen, wobei das Nojirimycin der Formel II durch ein Fermentationsverfahren hergestellt werden kann. Im Zusammenhang mit der Herstellung von Nojirimycin nach Gärverfahren sei auf die japanischen Patentveröffentlichungen Nr. 760/1968 und Nr. 5033/1970 hingewiesen.

Als Ergebnis dieser Untersuchungen wurde unerwarteterweise gefunden, dass man das erwünschte N-Methylmoranolin durch ein einfaches Arbeitsverfahren herstellen kann, indem man lediglich Formaldehyd zu einer Lösung zugibt, die Nojirimycin enthält, und anschliessend eine Reduktion durchführt. Nach diesem Verfahren ist es in völlig unerwarteter Weise möglich, das N-Methylmoranolin in praktisch quantitativer Ausbeute herzustellen.

Nach diesem erfindungsgemässen Verfahren ist es ferner möglich, als Lösung, welche das Nojirimycin der Formel II enthält, sogar die Zuchtbrühe zu verwenden, die bei der Züchtung von Nojirimycin erzeugenden Actinomyceten erhalten wird. Natürlich ist es auch möglich, eine Lösung von gereinigtem Nojirimycin zur Durchführung des erfindungsgemässen Verfahrens heranzuziehen. Aus den oben angegebenen Gründen ist das erfindungsgemässe Verfahren für eine technische Herstellung von N-Methylmoranolin sehr gut geeignet.

Wie in den japanischen Patentveröffentlichungen Nr. 760/1968 und Nr. 5033/1970 beschrieben ist, ist das Nojirimycin der Formel II eine besonders unbeständige Substanz, und die Ausbeute, die durch Extraktion und Reinigungsverfahren erhalten werden kann, indem man als Ausgangsmaterial ein Kulturmedium verwendet, und schliesslich als Endprodukt das gereinigte Nojirimycin der Formel II erhält, beträgt im allgemeinen nur etwa 40%. Dies ist sogar dann der Fall, wenn man das Verfahren durchführt, indem man als Zwischenprodukt das Addukt an schwefelige Säure herstellt, von dem gesagt wird, dass es mit Vorteil zur Isolierung von Nojirimycin der Formel II herangezogen wird.

Ausserdem kann das Moranolin der Formel I aus dem Nojirimycin der Formel II nach einem bekannten Verfahren hergestellt werden, und es sei in diesem Zusammenhang auf die Veröffentlichung von Inoue et al., in Tetrahedron 23, 2155 (1968) hingewiesen; aus dem so erhaltenen Moranolin der Formel I kann dann das angestrebte N-Methylmoranolin durch eine N-Methylierungsreaktion erhalten werden. Wenn man jedoch eine übliche Herstellung unter Anwendung dieser Verfahren durchführt, dann müssen zusätzlich zu den mühsamen Arbeitsvorgängen zur Extraktion und Reinigung des Nojirimycins noch zwei weitere Reaktionsschritte durchgeführt werden, und dann beträgt die Gesamtausbeute an dem N-Methylmoranolin der Formel III, ausgehend von der Kulturbrühe, die das Nojirimycin enthält, nur 10–15%.

Im Gegensatz dazu ist es nach dem erfindungsgemässen Verfahren möglich, die angestrebte Verbindung der Formel III nahezu in quantitativer Ausbeute herzustellen, indem man nur eine einfache einstufige Reaktion anwendet, ausgehend von der das Nojirimycin der Formel II enthaltenden Kulturbrühe, wobei ferner dann auch das Extraktionsverfahren und Reinigungsverfahren zur Isolierung des N-Me-

thylmoranolins der Formel III aus der reduzierten Kulturbrühe einfach ist.

Als Rohmaterial zur Herstellung des N-Methylmoranolins der Formel III nach dem erfindungsgemässen Verfahren kann man auch direkt eine Zuchtlösung verwenden, die bei der Züchtung von Nojirimycin produzierenden Actinomyceten erhalten wird, und ausserdem kann man auch ein Addukt an schwefelige Säure des Nojirimycins der Formel II verwenden, welches ein stabilisiertes Derivat des Nojirimycins ist, und natürlich auch gereinigtes Nojirimycin der Formel II. Als Reaktionslösungsmittel kann zur Durchführung des erfindungsgemässen Verfahrens im allgemeinen Wasser verwendet werden, jedoch können auch andere beliebige, nichtreagierende Lösungsmittel eingesetzt werden, die in der Lage sind, das Rohmaterial aufzulösen, wie zum Beispiel niedere Alkohole. Auch Wasser enthaltende Lösungsmittel sind verwendbar. Ausserdem ist es möglich, den Formaldehyd üblicherweise in Form seiner wässrigen Lösungen einzusetzen. Des weiteren kann als Formaldehyd auch Paraformaldehyd und ähnliches als Quelle für Formaldehyd herangezogen werden.

Bezüglich des Reduktionsverfahrens sei darauf hingewiesen, dass eine chemische Reduktionsmethodik anwendbar ist, beispielsweise die Verwendung von Natriumborhydrid, Salzen der Ameisensäure oder ähnlichem, und dass es auch möglich ist, ein katalytisches Reduktionsverfahren durchzuführen.

Zur Isolierung des N-Methylmoranolines der Formel III aus der Reaktionsmischung ist im allgemeinen eine Isolierung unter Verwendung eines Ionenaustauscherharzes besonders vorteilhaft und einfach. Die Isolierung kann jedoch auch nach verschiedenen anderen Arbeitsmethoden durchgeführt werden, bei denen kein Ionenaustauscherharz notwendig ist, und beliebige Verfahren, die zur Extraktion und Isolation von wasserlöslichen Substanzen allgemein anwendbar sind, können zu diesem Zweck eingesetzt werden. Als Beispiele für derartige Verfahren sei in erster Linie eine Adsorption an Aktivkohle erwähnt, eine Verteilungschromatographie, eine Gegenstromverteilung, eine Adsorptionschromatographie unter Anwendung von Polyamiden, von porösen Harzen oder ähnlichem, eine Chromatographie auf Sephadex, oder auch die Extraktion von Derivaten, die durch eine Veresterungsreakton von Hydroxylgruppen der Verbindungen der Formel III erhalten werden.

Die Erfindung sei nun anhand von Beispiele näher erläutert. Diese Beispiele stellen lediglich spezielle Ausführungsarten des erfindungsgemässen Verfahrens dar und sollen den Erfindungsgegenstand in keiner Weise einschränken.

Beispiel 2

179 mg an Nojirimycin wurden in 20 ml Wasser aufgelöst, und man gab dann einen Milliliter Formalin zu und anschliessend etwa 0,5 ml Raney-Nickel-Katalysator. Als Raney-Nickel-Katalysator wurde die im Handel befindliche Qualität zu industriellen Zwecken eingesetzt. Dann wurde unter Anwendung eines Wasserstoffstromes bei Zimmertemperatur und unter Atmosphärendruck während 3 Stunden gerührt. Sobald die Reaktion vollständig war, wurde der Katalysator durch Filtrieren abgetrennt und das erhaltene Filtrat durch eine Säule geleitet, die etwa 100 ml an Dowex 50W × 4 (H) enthielt. Dann wurde die Säule gewaschen, und die adsorbierten Substanzen wurden anschliessend von der Säule durch Elution mit einer 1%igen wässrigen Ammoniaklösung eluiert. Das so erhaltene Eluat wurde unter vermindertem Druck zur Trockene eingedampft, und man erhielt dabei farblose Kristalle, die aus Äthanol umkristallisiert wurden, wobei man das N-Methylmoranolin erhielt. Dieses Produkt besass einen Schmelzpunkt von 141 bis 142 °C. Die optische Drehung, aufgenommen in Wasser, betrug $[\alpha]^{24}_D = 15{,}5°$. Die Ausbeute betrug 161 mg, entsprechend 91% der theoretischen Ausbeute.

Beispiel 3

179 mg an Nojirimycin wurden in 20 ml einer Mischung aus Wasser und Äthanol mit einem Wassergehalt von 50% aufgelöst, und dann setzte man 1 ml Formalin zu und anschliessend 100 mg an Palladium-schwarz-Katalysator und führte die katalytische Reduktion bei Zimmertemperatur unter Atmosphärendruck durch. Die nachfolgenden Behandlungen wurden in der gleichen Weise ausgeführt, wie dies in Beispiel 2 beschrieben ist, und man erhielt dabei 144 mg, entsprechend 81% der theoretischen Ausbeute, an N-Methylmoranolin.

Beispiel 4

179 mg an Nojirimycin wurden in 20 ml Wasser gelöst, und man setzte dann 1 ml Formalin zu und anschliessend 100 ml an Palladium-schwarz-Katalysator. Die katalytische Reduktion wurde bei Zimmertemperatur unter Atmosphärendruck durchgeführt. Die nachfolgenden Behandlungen wurden in der gleichen Weise ausgeführt, wie dies in Beispiel 2 beschrieben ist, und man erhielt dabei 150 mg an N-Methylmoranolin, was einer Ausbeute von 85% der theoretischen Ausbeute entspricht.

Beispiel 5

261 mg des Adduktes aus Nojirimycin und schwefeliger Säure wurden in 30 ml an Wasser suspendiert, und dann setzte man 1 ml Formalin und etwa 2 ml Raney-Nickel-Katalysator zu und führte die katalytische Reduktion bei Zimmertemperatur unter Atmosphärendruck während eines Zeitraumes von 6 Stunden durch.

Die nachfolgenden Behandlungen wurden in der genau gleichen Weise durchgeführt, wie dies in Beispiel 2 beschrieben ist, und man erhielt dabei 138 mg (78% der Theorie) an dem N-Methylmoranolin.

Beispiel 6

20 ml Formalin wurden zu 500 ml einer Zuchtbrühe von Norjirimycin produzierenden Actinomyceten zugesetzt, wobei die Zuchtbrühe etwa 500 µg pro ml an Nojirimycin enthielt. Anschliessend setzte man etwa 20 ml eines käuflich erhältlichen Raney-Nickel-Katalysators für die industrielle Verwertung zu und führte eine katalytische Reduktion bei Zimmertemperatur und Atmosphärendruck durch. Etwa 3,1 Liter Wasserstoffgas wurden innerhalb von 6 Stunden absorbiert, und dann wurde die Zuführung des Wasserstoffgases unterbrochen. Der Katalysator wurde abfiltriert. Das so erhaltene Filtrat wurde durch eine Säule hindurchtretengelassen, die etwa 500 ml an Dowex 1 × 2 (OH) enthielt. Das aus der Säule austretende Material wurde dann durch eine Säule geleitet, die 200 ml an Dowex 50W × 4 (H) enthielt. Diese zuletzt genannte Säule wurde mit 2 Liter einer Mischung von Wasser + Methanol mit einem Wassergehalt von 50% gewaschen, und dann eluierte man die auf der Säule adsorbierten Substanzen unter Verwendung von 0,5% wässrigem Ammoniak. Die dabei erhaltenen Eluate wurden unter vermindertem Druck zur Trockene eingedampft. Es blieben 280 mg einer Substanz zurück, und zu dieser setzte man 250 mg an wasserfreier p-Toluolsulfonsäure zu, und anschliessend gab man 10 ml Isopropanol zu und erhitzte, wobei Kristalle ausfielen. Die Ausbeute an dem Produkt betrug 344 mg.

Die nach dem Abtrennen der Kristalle zurückbleibende Mutterlauge wurde unter verminderten Druck zur Trockene eingedampft, und dann wurden die zurückbleibenden Sub-

stanzen in Wasser aufgelöst und noch einmal einer Behandlung auf einer Säule unterworfen, und zwar mit Hilfe von Dowex 1 × 2 und Doweg 50W × 4. Zu dem so gewonnenen Extrakt setzte man 50 mg an wasserfreier Toluolsulfonsäure zu, wobei 83 mg einer zweiten Kristallausbeute ausfielen. Auf diese Weise erhielt man das p-Toluolsulfonatsalz des N-Methylmoranolins in einer Gesamtausbeute von 427 mg. Diese Ausbeute entspricht 87% der theoretischen Ausbeute.

Das so erhaltene Produkt besass einen Schmelzpunkt von 198 bis 199 °C. Die optische Drehung, aufgenommen in Methanol, betrug $[\alpha]^{24}_D = 12{,}2°$.

Kurze Erläuterung der Zeichnung:

In Fig. 1 wird das Dünnschichtchromatogramm von rohem Moranolin veranschaulicht, das nach dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren hergestellt wurde.

In Fig. 2 wird das Dünnschichtchromatogramm von rohem Nojirimycin beschrieben, das aus dem gleichen Medium erhalten wurde (d.h. also bevor die Reduktion unter Bildung von Moranolin stattgefunden hatte).

Sowohl bei dem Dünnschichtchromatogramm der Fig. 1 als auch demjenigen der Fig. 2 wurde als Absorptionsmittel Silicagel verwendet, und das Entwicklungs-Lösungsmittel war eine Mischung aus Äthanol + Wasser + Chloroform im Mischungsverhältnis von 4:2:1. Die Prüfung der beiden Dünnschichtchromatogramme erfolgte mit Hilfe eines Flammenionisations-Detektors. Zu diesem Zweck wurde das Gerät Synchrograph, das von der Yatoron (phonetic) hergestellt wurde, verwendet.

Sowohl in Fig. 1 als auch in Fig. 2 ist auf der Ordinate die Stärke der Anzeige, d.h. damit die Stärke des Fleckes an Substanz auf dem Chromatogramm, veranschaulicht. Auf der Abszisse ist in beiden Fällen die Laufrichtung des Entwicklungsmittels angegeben, und zwar in beiden Fällen erfolgt diese Entwicklung von rechts nach links.

Wie bereits weiter vorne angeführt wurde, sieht man ganz deutlich, dass das «rohe Moranolin» wesentlich reiner ist als das gewonnene rohe Nojirimycin.

Fig. 2

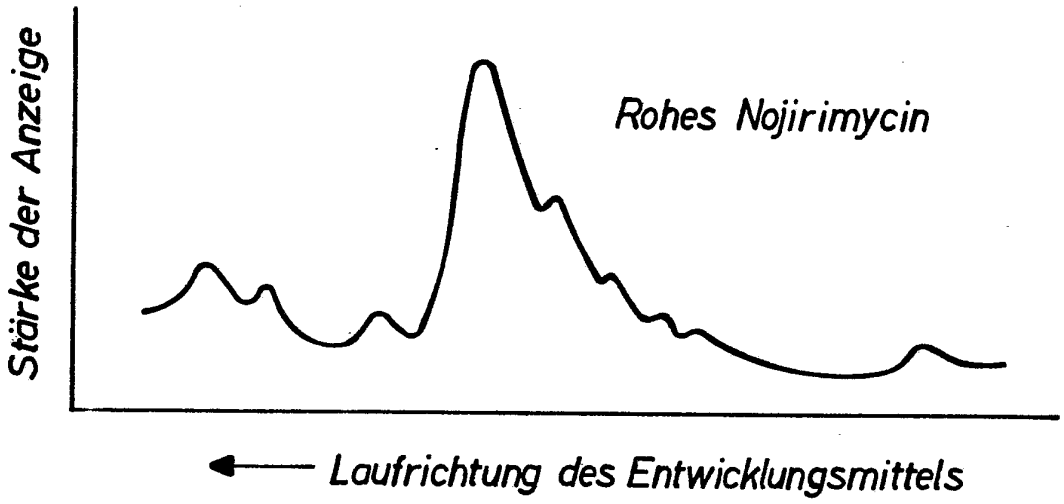
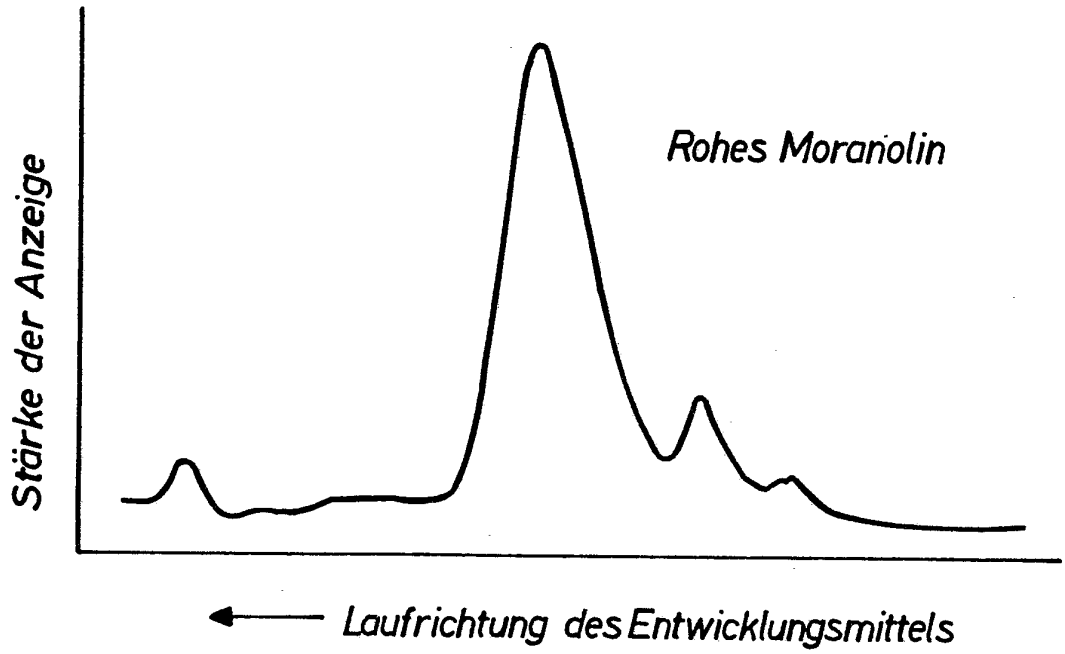

Stärke der Anzeige
Rohes Nojirimycin
Laufrichtung des Entwicklungsmittels

Fig. 1


Stärke der Anzeige
Rohes Moranolin
Laufrichtung des Entwicklungsmittels