

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

48 332

Patent Urzędowy
do patentu

Zgłoszono: 21. II. 1963 (P 100 817)

Pierwszeństwo

Opublikowano: 30. VII. 1964

Kl. 12 o 25/92

MKP C 07 c 167/38

UKD

Współtwórcy wynalazku: mgr inż. Romana Jaworska, mgr Henryk Salwa

Właściciel patentu: Instytut Farmaceutyczny, Warszawa (Polska)

Sposób wyodrębniania cholekalcyferolu z kompleksu cholekalcyferol-cholesterol

1

Wytwarzanie cholekalcyferolu czyli witaminy D₃ polega na naświetlaniu 7-dehydrocholesterolu promieniami nadfioletowymi i wydzielaniu powstałego cholekalcyferolu z mieszaniny poreakcyjnej. Do wydzielania wykorzystuje się tworzenie trwałego kompleksu z cholesterolem. W tym celu zadaje się mieszaninę poreakcyjną z cholesterolem, przy czym krystalizuje powstały kompleks, który oczyszcza się przez dalszą krystalizację. Kompleks cholekalcyferol-cholesterol ma cechy raczej związku chemicznego niż adduktu, gdyż zawiera ściśle równoważne ilości obu składników, wykazuje ostrą temperaturę topnienia 118 – 119°, skręcalność właściwą ($D = +25,5$ i aktywność biologiczną 20.10⁴ j.m./gram) oraz odznacza się znacznie większą trwałością niż wolny cholekalcyferol.

Kompleks bywa stosowany jako lek lub składnik leków, jednakże tylko w pewnych krajach, gdyż farmakopeje innych krajów wymagają, aby wszelkie formy leków witaminy D₃ były oparte na czystym krystalicznym cholekalcyferolu. Wymaga to rozkładania wydzielonego i oczyszczonego kompleksu w celu wyodrębnienia cholekalcyferolu. Znany jest sposób rozdzielania kompleksu na składniki, polegający na działaniu digitoniny lub tomatyny, które mając większe powinowactwo do cholesterolu niż cholekalcyferol tworzą z cholesterolem trwałe połączenie i wyzwalają wolny cholekalcyferol. Nowopowstałe połączenia wytrą-

2

cają się z roztworu, w którym obok cholekalcyferolu pozostają zanieczyszczenia. Otrzymanie czystego krystalicznego cholekalcyferolu z tego roztworu jest trudne i kłopotliwe oraz połączone z jego rozkładem, a użycie bardzo kosztownych odczynników jakimi są digitonina lub tomatyna wpływa niekorzystnie na koszt wytwarzania witaminy D₃. Inny sposób wyodrębniania czystego cholekalcyferolu polega na działaniu na mieszaninę poreakcyjną po fotochemicznej przemianie 7-dehydrosterolu kwasem dwunitrobenzoesowym w obecności środków katalizujących procesy estryfikacji. Wytwarza się ester dwunitrobenzoesowy cholekalcyferolu, który łatwo oczyszcza się przez krystalizację. Po zmydleniu tego estru i usunięciu kwasu dwunitrobenzoesowego otrzymuje się cholekalcyferol. Ten drugi sposób jest mniej użyteczny, gdyż daje mniejszą wydajność produktu.

Do rozdziału mieszanin, a zwłaszcza mieszanin pokrewnych związków chemicznych stosuje się metody chromatograficzne. Nie można było spodziewać się skuteczności tych metod w zastosowaniu do wyodrębniania cholekalcyferolu z kompleksu będącego trwałym związkiem chemicznym, a nie mieszaniną. Podczas prób mających na celu oczyszczanie surowego kompleksu cholekalcyferol-cholesterol polegających na traktowaniu różnych jego roztworów substancjami o rozwiniętej powierzchni, znanymi ze zdolności adsorpcyjnych,

rozpuszczono w minimalnej ilości benzenu osu-
szono sodem i wprowadzono na kolumnę chro-
matograficzną zawierającą 50 g tlenku glinowego.
Tłenek ten stanowi produkt handlowy, do którego
5 go dodano 8% wody, gdyż jak stwierdzono do-
datek ten obniża aktywność tlenku do III stopnia
według Brockmanna. Nastąpiło całkowite pochłonię-
cie rozpuszczonej substancji w absorbencie. Na-
stępnie przez kolumnę przeprowadzano czysty
10 benzen. Po otrzymaniu w kolumnie około 90 ml
czystego eluentu, stwierdzono pojawienie się cho-
lekalcyferoliu reakcją barwną za pomocą odczyn-
nika Nielda, a mianowicie próbka benzenu z tym
odczynnikiem dawała zabarwienie żółte. Frakcja
15 ta wyniosła około 120 ml. Po odpędzeniu benze-
nu, otrzymano z niej czysty cholekalcyferol w ilo-
ści wynoszącej 90% zawartości tego związku w
20 wierała minimalne ilości cholekalcyferolu oraz
cholesterolu. Następnie eluowano kolumnę mie-
szającą 80% benzenu i 20% acetonu, aż do całkow-
nego wymycia kolumny. Zużyto na to około 150
25 ml eluentu, który jak się okazało zawierał jedy-
nie czysty cholesterol w ilości 80% zawartości
jego w kompleksie, nadający się do zastosowania
w następnej szarzy.

Przykład II. Jako produkt wyjściowy zastoso-
wano surowy kompleks cholekalcyferol-choleste-
rol otrzymany przez wydzielenie z mieszaniny po-
30 reakcyjnej po fotochemicznym przemyśleniu 7-dehy-
sterolu i postępowano ściśle jak w przykładzie I.
Wyniki otrzymane, praktycznie nie różniły się od
wyników otrzymanych w przykładzie I. Cholekal-
35 cyferol otrzymano w ilości takiej samej jak w
przykładzie I, a jedyna istotna różnica polegała
na tym, że frakcja pośrednia, która w przykładzie
I zawierała jedynie minimalne ilości czystego
40 cholekalcyferolu i czystego cholesterolu, w tym
przypadku zawierała różne zanieczyszczenia.

Przykład III. I g czystego przekrystalizowa-
nego kompleksu cholekalcyferol-cholesterol roz-
puszczono w minimalnej ilości wrzącej mieszaniny
45 acetonu. Po ochłodzeniu do temperatury pokoj-
owej roztwór wprowadzono na kolumnę chromat-
graficzną zawierającą 50 g tlenku magnezowego.
Tłenek ten stanowi czysty odczynnik handlowy,
który najpierw przemycano wodą destylowaną,
50 następnie alkoholem, po czym wysuszono w tęż-
peraturze 110° do stałej wagi. Nastąpiła komplet-
na adsorpcja substancji rozpuszczonej. Jako elu-
ent zastosowano ten sam rozpuszczalnik. Wypływ
55 z kolumny regulowano stosując niewielkie nad-
ciśnienie azotu w górnej części kolumny. Pierw-
sza frakcja stanowiąca czysty eluent wyniosła o-
koło 250 ml. Następna frakcja wynosząca około
290 ml zawierała 85% cholekalcyferolu zawartego
60 w kompleksie. Dalsza frakcja około 210 ml zawie-
rała minimalne ilości cholekalcyferolu i choleste-
rolu, które wyodrębniono z niej w postaci kom-
pleksu cholekalcyferol-cholesterol po odparowa-
niu do małej objętości. Ostatnia frakcja około 150
65 ml uzyskana przy kompletnym wymyciu kolumny
zawierała czysty cholesterol.

Przykład IV. Postępując jak w przykładzie III, rozdzielono 1,2 surowego kompleksu cholekalcyferol-cholesterol otrzymując wyniki identyczne do wyników podanych w przykładzie III, z tą jedynie różnicą, że we frakcji drugiej, która w przykładzie III zawierała wyłącznie minimalne ilości czystego cholekalcyferolu i czystego cholesterolu, w danym przypadku odnaleziono zanieczyszczenia.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wyodrębniania cholekalcyferolu na drodze rozkładania kompleksu cholekalcyferol-cholesterol, znamienny tym, że rozkład kompleksu przeprowadza się na powierzchni ad-

5

10

15

sorpcyjnej ciał chłonnych takich jak tlenek glinowy lub magnezowy i uwolniony cholekalcyferol eluuje rozpuszczalnikiem.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że jako adsorbent stosuje się tlenek glinowy o aktywności zmniejszonej dodatkiem wody do aktywności III stopnia według Brockmana.
3. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że do zetknięcia z powierzchnią adsorpcyjną doprowadza się surowy kompleks cholekalcyferol-cholesterol wydzielony z mieszaniny po reakcyjnej po fotochemicznej przemianie 7-dehydrocholesterolu, do której to mieszaniny dodano cholesterolu.