



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 15.12.75 (P. 185611)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 04.07.77

Opis patentowy opublikowano: 15.03.1979

Int. Cl.² C07J 1/00
A61K 37/24

CZYTELNIJA

Urząd Patentowy
ul. ... 100-000

Twórcy wynalazku: Władysław Rapicki, Janusz Bołtrukiewicz, Ryszard
Cacha, Piotr Bednarek

Uprawniony z patentu: Gdańskie Zakłady Chemii Gospodarczej „Polle-
na”, Gdańsk (Polska)

Sposób wyodrębniania steroli zwłaszcza z tłuszczopotów

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wyodrębniania steroli tłuszczopotowych w postaci związków addycyjnych. Tłuszczopoty stanowią mieszaninę estrów steroli, glicerydów, kwasów tłuszczowych, oraz alkoholi lanolinowych.

Znane są sposoby wyodrębniania steroli z tłuszczopotów po uprzedniej hydrolizie ich estrów. Wyodrębnienie i rozdział steroli prowadzi się na drodze frakcyjnej krystalizacji z mieszaniny rozpuszczalników lub poprzez wykorzystanie zjawiska tworzenia produktów przyłączenia steroli z takimi substancjami jak: aminy, kwasy organiczne lub bezwodne i uwodnione sole.

Produkty przyłączenia cholesterolu do wyżej wymienionych związków powstają przez stapianie w temperaturze około 90°C alkoholi tłuszczopotowych z takimi substancjami jak: kwas adipinowy, szczawowy, mocznik, hydroksyloamina lub jej sole, bezwodny i uwodniony chlorek wapnia, bezwodny chlorek cynku, chlorek glinu itp. sole, po czym otrzymany schłodzony stop rozpuszcza się w rozpuszczalniku a następnie odsąca się utworzony kompleks, który rozkłada się przez kilkugodzinne gotowanie z wodą. Po oddzieleniu cholesterolu od roztworu wodnego poddaje się go krystalizacji z mieszaniny rozpuszczalników lub alkoholu etylowego.

Znane sposoby wyodrębniania steroli na drodze wytwarzania nierozpuszczalnych w rozpuszczalni-

2

kach organicznych produktów przyłączania wykazują szereg wad natury technologicznej.

Proces krystalizacji produktów addycji na skutek stapiania surowca zawierającego sterole z oddziaływaniem tworzącym związek addycyjny jest wysoce niekorzystny, ponieważ nie pozwala na wykształcenie się kryształów produktów addycji co wiąże się z dużymi trudnościami sączenia otrzymanego adduktu, który z reguły jest silnie zanieczyszczony. Proces kompleksowania steroli zachodzi zwykle w 50 do 70% co obniża ekonomikę stosowanych sposobów. Proces wymaga odrębnej uciążliwej operacji rozkładu produktu addycji do wolnego sterolu a następnie jego wydzielania z wodnego środowiska. Wyodrębniony cholesterol wymaga dodatkowo długotrwałego i wielokrotnego oczyszczania na drodze krystalizacji.

Celem wynalazku jest poprawienie stanu techniki dotychczasowych metod poprzez zwiększenie efektywności wyodrębniania steroli, zmniejszenie uciążliwości i zwiększenie wydajności procesu wyodrębniania.

Nieoczekiwanie stwierdzono, że pod wpływem kwasu solnego o stężeniu od 10 do 36% lub gazowego chlorowodoru z roztworów steroli w rozpuszczalnikach nie zawierających hydroksylowych grup funkcyjnych tracąca się prawie ilościowo natychmiast lub po krótkim okresie czasu krystaliczne połączenia addycyjne steroli w temperaturze 20°C jak również w temperaturach podwyższonych

ných. Ilościowe strącanie tych połączeń można osiągnąć przez oziębienie mieszaniny krystalizującej. Strącenie połączenia addycyjnego uzyskuje się przy zastosowaniu stechiometrycznej ilości chlorowodoru lub niewielkiego jego nadmiaru w stosunku do ilości steroli zawartych w roztworze. W wypadku gdy w rozpuszczalniku roztworzone są alkohole tłuszczopotowe związek addycyjny cholesterolu wytrąca się łącznie ze sterolami izocholesterolu to jest lenosterolem i agnosterolem, natomiast pozostałe alkohole tłuszczopotowe zostają w roztworze.

Rozdzielenie cholesterolu od izocholesterolu dokonuje się przez krystalizację z mieszaniny rozpuszczalników benzen-metanol 1:1 lub innego układu. Rozkład kompleksu steroli do wolnych steroli nie wymaga dodatkowej operacji, gdyż pod wpływem alkoholu z których krystalizowane są sterole lub podwyższonej temperatury i próżni następuje rozpad związku do wolnego sterolu i jedynie regeneracja rozpuszczalnika przez destylację wymaga uprzedniej neutralizacji chlorowodoru znanymi środkami.

Stwierdzono również w trakcie dalszych badań, że trudnorozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych połączenia addycyjne ze sterolami tworzą również wodne roztwory innych chlorowodorów jak: kwas bromowodorowy i jodowodorowy a także odpowiadające im chlorowowodory gazowe.

Stwierdzono również, że analogiczne trudnorozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych związki addycyjne tworzy rozcieńczony kwas siarkowy w zakresie stężeń 25 do 70%. Również stężony 85%-owy kwas fosforowy tworzy produkty addycji nierozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych takich jak: benzyna, eter etylowy, naftowy itp., jednakże kompleks ten jest hydrofilny i przechodzi do fazy wodnej w której również nie ulega rozpuszczeniu.

Sposób według wynalazku pozwala również na wyodrębnienie cholesterolu z odpadów pokrzystalizacyjnych powstających podczas wyodrębniania cholesterolu z rdzenia kręgowego, oraz mózgu zwierząt, które według znanych metod jest skomplikowane lub wręcz niemożliwe, według rozwiązania natomiast nie przedstawia najmniejszych trudności. Sposób postępowania przy wyodrębnianiu i rozdzielaniu steroli zwłaszcza z alkoholi tłuszczopotowych według wynalazku przedstawia się następująco.

W rozpuszczalniku organicznym nie zawierającym grup hydroksylowych, korzystnie w acetonie roztwarza się w temperaturze normalnej lub podwyższonej alkohole tłuszczopotowe lub inny surowiec zawierający sterole, w takiej ilości ażeby nie nastąpiło wykrystalizowanie substancji rozpuszczonej w temperaturze otoczenia, po czym przy mieszaniu roztworu wkrapla się w temperaturze korzystnie podwyższonej czynnik strącający to jest: kwas solny, bromowodorowy lub jodowodorowy o stężeniu wyjściowym 10 do 36% wagowych, roztworzony w rozpuszczalniku organicznym nie zawierającym grup hydroksylowych, lub roztwór zawierający roztworzony surowiec poddaje się wy-

sycaniu gazowym chlorowowodorem odpowiadającym wyszczególnionym kwasom. Do strącania kompleksu steroli użyć można również wodnego roztworu kwasu siarkowego o stężeniu 25 do 70% — wagowych korzystnie 50%-owego. Ilość czynnika strącającego potrzebna do strącenia steroli jest nieco większa niż stechiometryczna, po uwzględnieniu zawartości mydeł i innych substancji neutralizujących — wiążących czynnik strącający. W trakcie dodawania czynnika strącającego następuje krystalizacja nierozpuszczalnego związku addycyjnego. Po schłodzeniu zawiesiny kryształów do temperatury 5 do 10°C odsąca się masę krystaliczną a osad przemywa rozpuszczalnikiem z dodatkiem 1 do 2% wagowych czynnika strącającego.

Otrzymany produkt addycyjny roztwarza się w temperaturze wrzenia w rozpuszczalniku organicznym zawierającym grupę hydroksylową lub mieszaninie rozpuszczalników korzystnie metanol-benzen 1:1, roztwór schładza się do temperatury 10°C a następnie zawieszinę sączy się a osad przemywa niewielką ilością wychłodzonej do 10°C mieszaniny metanol-benzen. Otrzymany osad stanowi izocholesterol o czystości 95%, który można dodatkowo oczyścić przez krystalizację z tej samej mieszaniny rozpuszczalników uzyskując produkt o czystości 99 %.

Przesącz po neutralizacji czynnika strącającego i przesączeniu odparowuje się do sucha a otrzymany osad rozpuszcza się na gorąco w alkoholu etylowym i po przesączeniu krystalizuje się cholesterol oziębiając przesącz do temperatury 25 do 30°C a następnie wytrącony cholesterol oddziela się od ługów i przemywa alkoholem etylowym. Otrzymany produkt wykazuje temperaturę topnienia 148°C przy wydajności całkowitej wyodrębniania 80 do 85% w przeliczeniu na cholesterol zawarty w surowcu.

W wypadku wyodrębniania cholesterolu z odpadów pokrzystalizacyjnych otrzymywania cholesterolu z rdzenia kręgowego i mózgu, odpady rozcieńcza się rozpuszczalnikiem w stosunku 1:3 do 1:5 a następnie do roztworu korzystnie w podwyższonej temperaturze dodaje się czynnik strącający i po schłodzeniu do 10°C zawieszinę kryształów sączy się a osad przemywa się rozpuszczalnikiem z dodatkiem czynnika strącającego. Przemity osad roztwarza się w temperaturze wrzenia w alkoholu etylowym i po przesączeniu krystalizuje, obniżając temperaturę od 15 do 20°C a następnie sączy i przemywa alkoholem etylowym. Otrzymany cholesterol wykazuje temperaturę topnienia 148°C. Przed regeneracją rozpuszczalnika z ługów należy w znany sposób zneutralizować je.

Roztwór kompleksu w alkoholu etylowym przed krystalizacją można neutralizować, jednakże otrzymany cholesterol jest nieco gorszej jakości. Poniższe przykłady ilustrują rozwiązanie według wynalazku.

Przykład I. W 300 l. acetonu rozpuszcza się 40 kg alkoholi tłuszczopotowych podnosząc temperaturę roztworu do około 50°C po czym do uzyskanego roztworu dodaje się 6 l. stężonego kwasu solnego roztworzonego w 20 l. acetonu. Całość przy

mieszaniu schładza się do temperatury 5°C i utrzymuje tę temperaturę w ciągu 2 godzin. Otrzymana zawieszina sącza się a osad addycyjnego połączenia steroli przemywa się 30 l. acetonu z dodatkiem 0,3 l. stężonego kwasu solnego. Otrzymuje się 24 kg addycyjnego połączenia, które rozpuszcza się w 200 l. wrzącej mieszaniny metanol — benzen 1:1 a następnie roztwór schładza się przy mieszaniu do temperatury 10°C i utrzymuje tę temperaturę w ciągu 6 godzin po czym wykrystalizowany izocholesterol odsącza się i przemywa oziębioną do temperatury 10°C mieszaniną metanol — benzen 1:1 w ilości 10 l.

Uzyskuje się 9,5 kg izocholesterolu. Przesącz, neutralizuje się nasyconym roztworem wodorotlenku sodu w metanolu i odparowuje do sucha. Pozostały osad rozpuszcza się w temperaturze 75°C w 150 l. alkoholu etylowego a po przesączeniu roztworu i jego schłodzeniu do temperatury 30°C i utrzymaniu tej temperatury w ciągu 2 godzin krystalizuje cholesterol, który przemywa się alkoholem etylowym w ilości 20 l. Po osuszeniu w suszarce próżniowej w 90°C i próżni 0,2 ata otrzymuje się 13,9 kg cholesterolu o temperaturze topnienia 148°C co stanowi 82% wydajności w przeliczeniu na cholesterol zawarty w alkoholach tłuszczopotowych. Z zawrotu ługów otrzymuje się dodatkowe ilości steroli włączając je do etapu strącania związku addycyjnego.

Przykład II. 100 kg odpadów pokrystalizacyjnych uzyskanych z ługów pokrystalizacyjnych cholesterolu z rdzenia kręgowego zwierząt o zawartości 15% cholesterolu rozpuszcza się w 300 l. acetonu ogrzanego do temperatury 50°C po czym do roztworu dodaje się 6 l. stężonego kwasu solnego rozpuszczonego w 15 l. acetonu. Na gorąco wytrącają się kryształy addycyjnego połączenia. Zawieszinę schładza się do temperatury 10°C i utrzymuje ją temperaturę przez 4 godziny po czym sącza zawieszinę kryształów i przemywa 25 l. acetonu z dodatkiem 0,25 l. stężonego kwasu solnego. Przemyty osad rozpuszcza się w 150 l. wrzącego alkoholu etylowego roztwór sącza a przesącz schładza się do 20°C i po trzech godzinach odsącza się wykrystalizowany cholesterol, który przemywa się 20 l. alkoholu etylowego.

Otrzymany przemyty osad suszy się, w wyniku czego otrzymuje się 12,5 kg cholesterolu o temperaturze topnienia 148°C.

Przykład III. 1000 l. ekstraktu acetonowego z ekstrakcji suszonego rdzenia kręgowego odparowuje się do sucha a następnie osad rozpuszcza się w 200 l. benzyny o temperaturze wrzenia 60—80°C a do gorącego roztworu dodaje się 10 l. stężonego kwasu bromowodorowego. Całość schładza się do temperatury 10°C po czym zawieszinę sącza się

i przemywa 40 l. benzyny z dodatkiem 0,4 l. kwasu solnego. Otrzymany osad załadowuje się do kwasoodpornej suszarni próżniowej ogrzewa do temperatury 50°C pod próżnią 20 mm Hg w wyniku czego następuje rozkład związku addycyjnego i otrzymuje się 18 kg cholesterolu o temperaturze topnienia 146°C.

Przykład IV. Do 1 l. eterowego roztworu surowego cholesterolu otrzymanego z ekstrakcji acetonem suszonego rdzenia kręgowego zwierząt o zawartości 8% wagowych cholesterolu dodaje się 25 ml. wodnego roztworu kwasu siarkowego o stężeniu 50% wagowych. Wytrącony osad adduktu sącza się i przemywa 100 ml acetonu zakwaszonego 1 ml. kwasu siarkowego o stężeniu 50% wagowych. Otrzymuje się 60 g związku addycyjnego, który rozpuszcza się w 600 ml. wrzącego alkoholu etylowego. Otrzymany roztwór w celu usunięcia zanieczyszczeń mechanicznych sącza się na gorąco. Przesącz schładza się do temperatury 20°C, w trakcie czego krystalizuje cholesterol, który sącza się od ługów i przemywa 100 ml. alkoholu etylowego po czym suszy. Otrzymuje się 51 g. cholesterolu o temperaturze topnienia 149°C.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wyodrębniania steroli zwłaszcza z tłuszczopotów na drodze wytrącania związków addycyjnych, **znamienny tym**, że surowiec zawierający sterole rozpuszcza się w organicznym rozpuszczalniku nie zawierającym grup wodorotlenowych korzystnie eter etylowy, aceton, benzyna, benzen itp., a następnie do roztworu dodaje się odczynnik strącający związki addycyjne steroli takie jak: wodny roztwór kwasu solnego lub bromowodorowego o stężeniu od 10 do 36% lub roztwór wysycy się gazowym chlorowcowodorem lub działa się roztworem wodnym kwasu siarkowego o stężeniu 25 do 70%, korzystnie 50%-owym w temperaturze podwyższonej, przy czym ilość dodawanego czynnika niezbędnego do strącania jest nieco większa od molowego równoważnika steroli w roztworze a otrzymany przez wykrystalizowanie związków addycyjnych steroli i czynnika strącającego oddziela się od ługów w znany sposób osad przemywa się rozpuszczalnikiem z dodatkiem 1 do 2% wagowych czynnika strącającego następnie związek addycyjny steroli rozkłada się przez rozpuszczenie w rozpuszczalnikach zawierających grupy wodorotlenowe korzystnie alkohol etylowy, z którego prowadzi się równocześnie krystalizację, a związki addycyjne chlorowcowodorów rozkłada się również przez ogrzewanie w temperaturach do 120°C pod próżnią, korzystnie w temperaturze do 50°C.