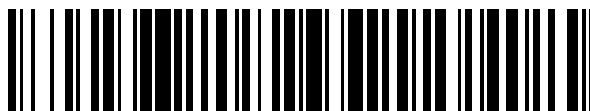


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 544 956**

51 Int. Cl.:

C11C 1/08 (2006.01)

C11B 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2007** **E 07863194 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2015** **EP 2126031**

54 Título: **Procedimiento de recuperación de esteroides a partir de una fuente en bruto que contiene ésteres de esteroide**

30 Prioridad:

29.12.2006 US 882611 P

20.12.2007 US 961463

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

07.09.2015

73 Titular/es:

COGNIS IP MANAGEMENT GMBH (100.0%)

HENKELSTR. 67

40589 DÜSSELDORF, DE

72 Inventor/es:

KANG, SANG I.;

FALATEK, JOSEPH J.;

THIESEN, BRIAN P. y

BICKNELL, KENNETH R.

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 544 956 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de recuperación de esteroides a partir de una fuente en bruto que contiene ésteres de esteroles.

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad a tenor de 35 USC § 119 de la Solicitud provisional de Estados Unidos No. 60/882.611 presentada el 29 de diciembre 2006, y a tenor de 35 USC § 120 de la Solicitud de Estados Unidos No. 11/961.463, presentada el 20 de diciembre 2007.

Antecedentes de la invención

Los fitosteroides de origen natural han generado un gran interés en la industria alimentaria funcional puesto que los esteroides vegetales han demostrado reducir los niveles de lipoproteína de baja densidad (LDL) sérica, el denominado colesterol malo, en seres humanos. Los fitosteroides son compuestos vegetales con estructuras químicas similares a la del colesterol. Esta similitud estructural y funcional de los fitosteroides de hecho puede bloquear la absorción del colesterol de origen alimentario hacia el torrente sanguíneo. El resultado es que tanto los fitosteroides como el colesterol de la dieta terminan excretados en forma de materia residual.

El alquitrán de talloil (TOP) es un residuo sin destilar de la destilación del talloil crudo (CTO), que es una mezcla parda oscura de ácidos grasos, colofonia, y compuestos neutros que incluyen fitosteroides, liberados mediante la acidulación de espumas de jabón procedentes del procedimiento alcalino (sulfato), derivado de los procedimientos de reducción a pasta de la madera, que se usan principalmente en la fabricación de papel. Se sabe que el TOP típico tiene el 15 % aproximadamente de esteroides libres y unidos, el 40 % aproximadamente de ácidos grasos y de colofonia libres y unidos, el 10 % aproximadamente de alcoholes de cera (alcoholes C₁₆₋₃₀) unidos, el 25 % aproximadamente de moléculas pesadas, y el 10 % aproximadamente de otros compuestos de terpenoides, esteroides, y compuestos desconocidos. Un componente importante de la fracción neutra, concentrada en el TOP del CTO, es una clase de compuestos conocidos como fitosteroides, que incluyen el β -sitosterol como componente de esteroles principal.

Ha habido un gran interés y esfuerzo en la recuperación de los fitosteroides y de sus derivados de ácidos grasos y otras moléculas biológicamente importantes, que son útiles en particular como suplementos dietéticos y como aditivos alimentarios, para reducir los niveles de colesterol en seres humanos, reduciendo así el riesgo de enfermedad cardíaca, según los estudios clínicos actuales.

Por tanto, el interés y el valor de recuperar fitosteroides a partir de fuentes de TOP se ha incrementado, y la resolución de todos los problemas asociados a la recuperación de fitosterol a partir de TOP ha adquirido un gran interés. Lo más deseable es un procedimiento comercial viable que consiga un alto porcentaje de recuperación de esteroides (es preferible una recuperación superior al 70 %), al tiempo que de forma deseable consiga una pureza de los esteroides de al menos el 98 %.

Durante la recuperación de fitosteroides de alta pureza, se ha comprobado que una clase de moléculas naturales de alcoholes grasos, también conocidos como alcoholes de cera y policosanol, presentes en el TOP, cristalizan simultáneamente con los fitosteroides. El policosanol es una mezcla natural de alcoholes grasos ubicuos en ceras vegetales. La alimentación de TOP que procesamos contiene alcoholes alifáticos habituales en los que hay presentes tres policosanoles importantes, en concreto, 1-dodecosanol, 1-tetracosanol, y 1-hexacosanol.

Como se describe más adelante, la invención aborda este problema y consigue el rendimiento y la pureza deseados de los fitosteroides a partir de TOP que prevalecen sobre alcoholes grasos y otras impurezas no deseadas, y describe la fabricación de los ésteres de fitosterol correspondientes usando diferentes reactivos de acilación.

La patente de Estados Unidos número 6.465.665 desvela un procedimiento de obtención, entre otros, de esteroides a partir de TOP en el que el procedimiento consigue purezas de esteroles del 95-96 %. Véanse Ejemplos 3 y 4. Esta patente describe un procedimiento continuo para la recuperación de esteroides a partir de mezclas de materia neutra obtenida a partir de espumas de jabón de licor negro de talloil crudo (CTO) o alquitrán de talloil, que comprende como etapas una serie de destilaciones usando una columna de rectificación, un condensador y un calderín de película delgada para así formar una primera a cuarta fracciones que comprenden alcoholes alifáticos de cadena larga, concentrado de esteroides y ésteres, concentrado de esteroides, y ésteres de esteroles dependiendo de las fases de destilación. A continuación, se recristalizó la tercera fracción a partir de una mezcla de un disolvente hidrocarbonado, un alcohol alifático de cadena corta, y agua. El residuo del licor madre se recicló como mezcla de materia neutra de la primera alimentación.

El documento EP 1.250.350 B1 describe una estructura cristalina compuesta que comprende un fitosterol o uno de sus derivados y un fitostanol o uno de sus derivados preparados disolviendo un fitosterol o uno de sus derivados esterificados purificados a partir de su fuente y un fitostanol o uno de sus derivados esterificados purificados a partir de su fuente en un disolvente a temperatura ambiente o a una temperatura por encima de temperatura ambiente pero inferior al punto de ebullición del disolvente, enfriando el disolvente para permitir la formación del cristal; y el filtrado y lavado de los cristales formados de esta manera; en el que la estructura tiene una única endotermia

compuesta como se determina usando calorimetría de barrido diferencial.

Sigue siendo deseable proporcionar un procedimiento que consiga niveles de pureza incluso superiores de esteroides recuperados a partir de TOP. Como se describe más adelante, el procedimiento de la presente invención proporciona dichos niveles de pureza superiores deseables de esteroides.

5 **Breve resumen de la invención**

La invención proporciona un procedimiento para la recuperación de esteroides a partir de una fuente en bruto que contiene esteroides libres y sus ésteres, procedimiento que comprende:

- (a) la saponificación de la fuente en bruto que contiene ésteres de esteroide para formar esteroides libres;
- 10 (b) la extracción de los esteroides libres de (a) con un disolvente orgánico para dar un extracto de un concentrado de esteroide crudo que contiene entre el 70 y el 80 % en peso aproximadamente de esteroides y ácidos grasos;
- (c) la eliminación de los alcoholes grasos presentes en el extracto hasta que quede una cantidad de alcoholes grasos del 7 % o inferior en el extracto;
- (d) la cristalización del extracto de (c) con una mezcla disolvente de un disolvente hidrocarbonado C₁-C₁₀ presente en una cantidad del 60 al 99 % en peso aproximadamente de la mezcla, un alcohol inferior C₁-C₁₀ presente en una cantidad del 0,1 al 20 % en peso aproximadamente de la mezcla, y agua presente en una cantidad del 0,1 al 20 % en peso aproximadamente de la mezcla, para formar esteroides cristalizados; y
- 15 (e) la recuperación de los esteroides cristalizados de (d) a una pureza de al menos o superior al 98 %.

20 Otra realización de la invención se refiere a la esterificación de los esteroides cristalizados obtenidos mediante el procedimiento de la invención en ésteres de esteroide con un agente de acilación para producir ésteres de esteroide con una pureza superior al 98 % aproximadamente.

Otro aspecto de la invención es que el concentrado de esteroide crudo obtenido mediante la etapa de extracción de la presente invención se puede tratar posteriormente mediante cristalización o destilación y cristalización.

En una realización de la invención, la fuente en bruto que contiene ésteres de esteroide, a partir de la cual se obtienen los esteroides deseados, es TOP, que es el residuo sin destilar obtenido del procedimiento de destilación de CTO.

25 Por medio de la invención, se obtienen esteroides, en particular β -sitosterol, con rendimientos de o superiores al 70 % y de una pureza de al menos el 98 %, preferentemente una pureza superior al 98,5 % en forma cristalina. Los esteroides obtenidos por medio de la presente invención se pueden esterificar en ésteres de esteroide para su uso como suplementos de la dieta y como aditivos en productos alimentarios y bebidas.

Descripción detallada de la invención

30 El término "alta pureza" como se usa en este documento se debe entender que engloba una pureza de esteroide conseguida por medio del procedimiento de la presente invención de al menos el 98 % y preferentemente superior al 98,5 %.

35 La fracción de TOP que contiene los ésteres de esteroide se somete a saponificación, saponificación que hidroliza los ésteres de esteroide y otros derivados de esteroide a esteroides y sales de sodio de ácidos grasos y de ácidos de colofonia. La fracción saponificada a continuación se puede extraer con un disolvente orgánico para así formar las fases acuosas y orgánicas. La extracción del disolvente se puede realizar una o más veces, como se desee, para maximizar la recuperación de esteroide. La extracción se puede realizar a una temperatura de entre 50 °C y 80 °C aproximadamente.

40 Un disolvente adecuado para la extracción se puede seleccionar entre disolventes orgánicos inmiscibles con el agua tales como hexano, heptano, acetato de etilo, dicloruro de etileno (EDC), y sus mezclas. El disolvente preferido es EDC.

Las fases orgánicas resultantes, que contienen los esteroides, a continuación se pueden combinar y concentrar, para así obtener un concentrado de esteroide crudo (TOP-SC) del 25 al 40 % en peso aproximadamente de concentración de esteroide, normalmente el 35 % aproximadamente, con AV de 3,6 y SV de 17,7.

45 En una realización de la invención, el TOP-SC se puede someter a dos etapas de cristalización por separado.

El TOP-SC se puede someter a una primera cristalización con un disolvente, preferentemente dicloruro de etileno, para conseguir una fracción de esteroide con una pureza de esteroide del 70 al 80 % aproximadamente.

50 Los esteroides cristalizados obtenidos a partir del TOP-SC contienen el 5-15 % de alcoholes grasos aproximadamente, normalmente el 10 % aproximadamente, que a continuación se pueden tratar adicionalmente mediante destilación simple o fraccionada para eliminar la mezcla de alcoholes grasos en forma de destilados ligeros, dando lugar a un residuo de esteroide crudo con una concentración de esteroide del 85-95 %. Preferentemente, los alcoholes grasos se eliminan hasta que quede una cantidad del 7 % o inferior en el residuo de esteroide.

- Para conseguir una pureza de al menos o superior al 98 %, los esteroides residuales se pueden cristalizar con una mezcla disolvente de un disolvente hidrocarbonado C₁-C₁₀, un alcohol inferior C₁-C₁₀, y agua a una temperatura de entre 50 °C y 70 °C aproximadamente. Relaciones ponderales adecuadas de los componentes de la mezcla disolvente para la cristalización de los esteroides pueden oscilar entre el 60 y el 99,8 % en peso aproximadamente del hidrocarburo, del 0,1 al 20 % en peso aproximadamente del alcohol inferior, y del 0,1 al 20 % en peso aproximadamente de agua.
- Relaciones ponderales de la mezcla disolvente adecuadas en particular pueden ser, por ejemplo, del 80 al 98 % aproximadamente de disolvente hidrocarbonado, del 1 al 10 % aproximadamente de alcohol C₁ a C₆, y del 1 al 10 % aproximadamente de agua.
- El disolvente hidrocarbonado puede ser un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada de entre 1 y 10 átomos de carbono. Para su uso en la invención es adecuado en particular el heptano, incluyendo una mezcla de heptanos C₇H₁₆ lineales y ramificados.
- El alcohol inferior de la mezcla disolvente puede ser un alcohol C₁-C₁₀, preferentemente metanol.
- Así, los disolventes adecuados en particular y sus relaciones ponderales de la mezcla disolvente para su uso en la invención para la cristalización de los esteroides hasta una pureza de al menos el 98 % pueden estar comprendidos del 80 al 99 % aproximadamente de heptano, del 0,5 al 10 % aproximadamente de metanol, y del 0,5 al 10 % aproximadamente de agua.
- Otros ejemplos no limitantes de disolventes adecuados para su uso en la invención pueden incluir n-propanol, isopropanol, acetona, MEK, acetato de etilo, ciclohexano, etanol, y sus mezclas con agua.
- Los esteroides residuales después de la reducción de los destilados ligeros se disuelven en heptanos a temperatura elevada (55-75 °C). Después de la formación de una solución de esteroide homogénea, se añade el metanol acuoso (0,1-10 % en peso) con agitación para precipitar los esteroides en los disolventes mixtos. La solución caliente se enfría hasta una temperatura de 20 °C a 25 °C aproximadamente con agitación, para promover la cristalización de los esteroides.
- La cantidad de disolvente a esteroides puede oscilar entre el 400 y el 1200 % en peso aproximadamente de la cantidad de esteroides, preferentemente del 500 al 700 % en peso aproximadamente.
- Los cristales de esteroide se pueden aislar filtrando y lavando, por ejemplo, con heptanos. El lavado de los cristales de esteroide también se puede realizar con una mezcla de heptanos/metanol/agua.
- Otra realización de la invención se refiere a la destilación de la fracción TOP-SC para obtener un concentrado de esteroide intermedio (TOP-SCD) del 40 al 70 % en peso aproximadamente de esteroides, cuya destilación elimina los destilados pesados, que se considera que son ácidos grasos y/o ácidos de colofonia oligomerizados y compuestos de cera.
- Los esteroides crudos se pueden destilar en un procedimiento en dos fases. En la primera etapa, se puede utilizar una columna de fraccionamiento y un evaporador de película continua como calderín. La fracción inferior en ebullición (hasta el 20 % de la alimentación) se puede eliminar mediante fraccionamiento al vacío. En una segunda etapa, el residuo de la primera etapa se puede destilar en un evaporador de camino corto al vacío de < 100 Pa para formar una fracción de esteroide purificada para su cristalización. La fracción destilada es > 90 % de la alimentación.
- La fracción destilada de TOP-SCD obtenida como se ha descrito anteriormente a continuación se puede tratar para cristalizar los esteroides a fin de recuperar con un alto rendimiento y una alta pureza mediante una mezcla disolvente de hidrocarburo, alcohol inferior, y agua, como se ha descrito anteriormente.
- Por medio de la presente invención se pueden obtener esteroides, en particular β-sitosterol, con rendimientos de al menos el 70 % y una pureza de al menos el 98 %, preferentemente superior al 98,5 % a partir de una fuente en bruto que contiene ésteres de esteroide. En particular, los esteroides con el rendimiento y la pureza descritos anteriormente se pueden obtener a partir de la fracción de TOP de CTO obtenida de los procedimientos de reducción a pasta de la madera.
- Los esteroides obtenidos por medio de la presente invención a partir de TOP a continuación se pueden convertir en los ésteres de fitosterol correspondientes usando reactivos de acilación tales como ácidos grasos, anhídridos de ácidos grasos, y haluros de ácidos grasos, agentes de acilación que son muy conocidos en la técnica y que se pueden seleccionar de acuerdo con el éster de esteroide deseado. Los ésteres de esteroide correspondiente son adecuados para su uso en suplementos dietéticos y como aditivos de productos alimentarios y bebidas.

Realización preferida del procedimiento de la invención

La presente invención prevé la recuperación de fitosteroides de TOP, normalmente a partir de fuentes en las que los esteroides están mayoritariamente unidos a una mezcla de compuestos grasos y de colofonia. Los ésteres de esteroide y otros derivados funcionales pueden estar saponificados en un metanol acuoso muy alcalino, que produce un pH de

> 12 al final de la saponificación. A continuación se pueden extraer los compuestos neutros con EDC, incluyendo los esteroides presentes en la solución de jabón resultante, y su concentrado se cristaliza para proporcionar esteroides crudos con una pureza de los esteroides del 70-80 %. A continuación los esteroides crudos se pueden destilar en un procedimiento en dos fases para obtener una fracción intermedia. En la primera etapa, que comprende una columna de fraccionamiento y un evaporador de película continua como calderín, se puede eliminar una fracción inferior en ebullición (hasta el 20 % de la alimentación) mediante fraccionamiento al vacío. En una segunda etapa, el residuo de la primera etapa se puede destilar en un evaporador de camino corto al vacío de < 100 Pa para formar una fracción de esteroide purificada para su cristalización. La fracción destilada es > 90 % de la alimentación. El destilado (o G100) a continuación se puede disolver a 60-70 °C en un alcano, preferentemente una mezcla de hexanos y heptanos, y se mezcla con metanol acuoso en el que la cantidad de metanol y agua oscila entre el 0-3 % de la cantidad del alcano, preferentemente el 1,5 % de metanol y el 1,5 % de agua. A continuación la mezcla se puede enfriar a 20-30 °C aproximadamente. Para mejorar su pureza y color, la pasta del filtro se puede lavar con una cantidad adecuada de mezcla de alcano/metanol/agua, seguido del secado de las pastas de esteroide. Las pastas de esteroide tienen una pureza de esteroide > 98,5 % como producto final.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la presente invención y no se deben interpretar de ninguna forma como una limitación del ámbito de la presente invención.

Ejemplo 1: Recuperación de esteroide de TOP

A. Concentrado de esteroide de TOP (TOP-SC): Se saponificó alquitrán de talloil (326,7 g; 94,7 SV, 34,8 AV y 14,27 % de esteroides en % en peso) con un 50 % de sosa cáustica (67,9 g) en metanol acuoso al 50 % a 85 °C durante 1,5 h con agitación en un reactor con camisa de 2 l. A la mezcla se le añadió agua blanda (330 g), y la mezcla resultante se extrajo con dicloruro de etileno (EDC, 900 ml x 4) a 60-65 °C. Las capas de EDC combinadas se transfirieron a un matraz de fondo redondo y se concentraron al vacío para obtener esteroides crudos (116,8 g). El análisis por GC mostró que el concentrado de esteroide crudo tenía el 33,9 % con el siguiente perfil de esteroide: brasicasterol, 0,27; campesterol, 2,59; ergosterol, 0,52; estigmasterol, 0,38; β -sitosterol, 26,43; estigmastanol, 3,70 (%). Los alcoholes de cera principales como impurezas son el 0,97 % de C₂₂-OH, el 6,27 % de C₂₄-OH, y el 1,80 % de C₂₆-OH.

B. Cristalización de concentrado de esteroide: Se disolvió concentrado de esteroide (114,8 g) en EDC (201,8 g) y se calentó a 80 °C para su disolución completa. A continuación, la mezcla se trató con metanol acuoso (4,84 g). La solución resultante se mantuvo en un refrigerador durante unas pocas horas a toda la noche. Los sólidos de esteroide se filtraron en un embudo Büchner, y se lavaron cuidadosamente con EDC frío a 0-5 °C. La pasta de esteroide húmeda se puso en un horno de vacío y se secó para dar 41,87 g de esteroides de TOP crudos (Generol® 400), que tienen una pureza de esteroide que oscila entre el 70-80 % con AV de 1,3 y SV de 3,3. Había presente alcoholes de cera de alcoholes C₂₂, C₂₄ y C₂₆ a unos niveles del 0,77 %, 6,18 % y 2,43 %, respectivamente.

C. Cristalización de G400: Se cargaron heptanos (100,0 g) en un cristizador de laboratorio de doble camisa. Se añadieron esteroides de TOP crudos con una pureza del 70 al 90 %, para preparar una solución del 10-20 %, preferentemente del 12 %. La temperatura se incrementó hasta 60-65 °C con agitación. Una vez que los esteroides se disolvieron, la solución se mantuvo a la misma temperatura durante 10 minutos para asegurar la homogeneidad de la solución de esteroide en heptanos. A continuación, se añadió una mezcla de MeOH y agua (1/1, p/p) en el intervalo del 0,1-5,0 % de los disolventes totales de heptanos/MeOH/agua a 60-65 °C. Una relación preferida de heptanos/metanol/agua es (92-99)/(0,5-4,0)/(0,5-4,0) en % en peso. La mezcla resultante se enfrió a 25 °C a una velocidad de 2 °C/min, y la suspensión de esteroides se mantuvo durante 5 minutos a la misma temperatura. La suspensión de esteroide se filtró al vacío (500-700 mm de Hg), y la pasta se aclaró con heptanos. La pasta se transfirió a un plato de cristal para secar a 60-70 °C (200-400 Pa) durante 5-10 horas. El análisis por GC de los esteroides secos mostraba una pureza del 86,7 % (6,3 %, campesterol; 1,0 %, ergosterol; 1,0 %, estigmasterol; 69,5 %, β -sitosterol; 9,0 %, estigmastanol) con cerca del 10 % de alcoholes de cera como la principal clase de impurezas.

D. Destilación de G400: Para reducir los alcoholes de cera, se destiló Generol® 400 para obtener una fracción intermedia eliminando una fracción anterior y una fracción residual.

La Tabla 1 muestra cuatro fracciones intermedias de G400 (2ª columna) con las diferentes fracción anterior y fracciones residuales y los resultados (última columna) de su cristalización en el sistema de heptanos/metanol/agua mencionado anteriormente. La fracción residual de Destilado IV dio la pureza de esteroide más alta, lo que sugiere que la fracción anterior profunda (23,5 %) redujo el nivel de alcoholes de cera.

Tabla 1: Fracciones residuales de destilaciones de Generol® 400

	g/100 g de alimentación			% de esteroides		
	Fracción anterior	Fracción intermedia	Fracción residuales	Fracción anterior	Fracción intermedia	Fracción residuales
Destilado I	11,36	78,9	9,75	58,72 %	87,31 %	32,13 %
Destilado II	12,6	76,83	10,57	59,64 %	89,07 %	43,26 %
Destilado III	15,01	74,65	10,33	61,16 %	85,77 %	33,05 %
Destilado IV	23,49	69,34	7,16	73,11 %	88,86 %	34,94 %

(continuación)

	g de esteroides/100 g de alimentación				Pureza
	Fracción anterior	Fracción intermedia	Fracción residual	Total	Procedimiento de GC
Destilado I	6,67	68,89	3,13	78,69	97,71 %
Destilado II	7,51	68,43	4,57	80,52	97,65 %
Destilado III	9,18	64,03	3,41	76,62	98,68 %
Destilado IV	17,17	61,62	2,50	81,29	99,32 %

E. Efecto de la concentración de alcohol de cera sobre la pureza del esteroide final: 1-docosanol $n\text{-C}_{22}\text{H}_{45}\text{OH}$ (Aldrich), seleccionado como compuesto modelo para los alcoholes de cera totales de $\text{C}_{18-30}\text{-OH}$, se enriqueció con un producto de esteroide puro (> 99 %) en una cantidad que varía entre el 6-10 % como se muestra en la Tabla 2. El efecto de la concentración de 1-docosanol presente en la alimentación sobre la pureza de los esteroides cristalizados se resume en la Tabla 2, lo que demuestra que una cantidad inferior o igual al 7 % del alcohol graso proporciona resultados satisfactorios con esteroides de alta pureza (> 98,5 %) y menos del 0,2 % de alcoholes grasos. La última columna de la Tabla 2 indica la temperatura final de la cristalización tal como se describe en el Ejemplo 1C, lo que sugiere que la temperatura de cristalización final influyó en la pureza de esteroide del producto final. Se encontró que el mantenimiento de la solución de cristalización durante un período prolongado o a una temperatura inferior provocaba que los alcoholes grasos precipitaran, reduciendo la pureza global de esteroide.

Tabla 2. El efecto de la concentración del alcohol de cera sobre la pureza del esteroide

% de 1-Docosanol	Producto cristalizado		Temperatura Final °C
	Purezas de esteroide	1-Docosanol	
10,0	94,81	4,16	27
8,0	98,05	0,96	27
7,0	98,99	0,19	30
6,0	98,99	0,1	27

En base en los resultados de la Tabla 2, el sistema disolvente de cristalización actual de heptanos/metanol/agua, sería adecuada una alimentación con < 7 % de alcoholes grasos para la cristalización para conseguir esteroides de alta pureza.

La composición típica de los esteroides cristalinos producidos mediante el procedimiento actual tiene el siguiente perfil de esteroide:

Producto cristalizado final (Generol [®] 867F)		
Esteroides totales	% de área	min 99,0
Colesterol	% de área	0,0-1,0
Brassicasterol	% de área	0,0-2,0
Campesterol	% de área	0,0-15,0
Campestanol	% de área	0,0-5,0
Estigmasterol	% de área	0,0-2,0
β -Sitosterol	% de área	60,0-85,0
β -Sitostanol	% de área	0,0-15,0
Δ -Avenasterol	% de área	0,0-2,0
Otros esteroides	% de área	0,0-5,0

"Otros esteroides" son la suma de colestanol, 24-metilcolesterol, Δ^7 -campesterol, $\Delta^5,23$ -estigmastadienol, clerosterol y $\Delta^4,24$ -estigmasatdienol.

E. Ésteres de esteroide: En la esterificación de esteroides se deben utilizar tres agentes de acilación **a-c**;

a: ácido oleico (o ácidos grasos)

b: anhídrido oleico (o anhídridos de ácidos grasos)

c: cloruro de oleilo (o cloruros de acilo grasos)

F.a. Esterificación con ácido oleico (o ácidos grasos C₂₋₃₀): Esteroles cristalinos con > 98,5 % de pureza se tratan con 1,0-1,5 moles de ácido oleico (o ácidos grasos C₂₋₃₀) a 120-300 °C, preferentemente 180-250 °C, mientras se elimina el agua como subproducto al vacío, preferentemente a 1,333-1333 Pa, para preparar oleato de esteroles de alta pureza o ésteres grasos (> 98,5 %).

F.b. Esterificación con anhídrido oleico (o anhídridos de ácido graso C₂₋₃₀): Esteroles cristalinos con > 98,5 % de pureza se tratan con 0,5-0,75 moles de anhídrido oleico (o anhídridos de ácido graso C₂₋₃₀) a 100-300 °C, preferentemente a 150-180 °C, mientras se forma ácido oleico (o ácidos grasos) como subproducto, que se hace reaccionar adicionalmente para completar la esterificación a temperaturas elevadas tales como 180 a 250 °C a 1,333-1333 Pa, para proporcionar un oleato de esteroles de alta pureza o ésteres grasos (> 98,5 %).

F.c. Esterificación con anhídrido oleico (o anhídridos de ácidos grasos C₂₋₃₀): Esteroles cristalinos con > 98,5 % de pureza se tratan con 1,0-1,5 moles de cloruro de oleilo (o cloruros de ácidos grasos C₂₋₃₀) a 100-300 °C, preferentemente a 120-180 °C, mientras se elimina el HCl como subproducto al vacío, preferentemente a 1,333-1333 Pa, para proporcionar un oleato de esteroles de alta pureza o ésteres grasos (> 98,5 %).

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de recuperación de esteroides a partir de una fuente en bruto que contiene esteroides libres y sus ésteres, procedimiento que comprende:
 - (a) la saponificación de la fuente en bruto que contiene ésteres de esteroles para formar esteroides libres;
 - (b) la extracción de los esteroides libres de (a) con un disolvente orgánico para dar un extracto de un concentrado de esteroles en bruto que contiene entre el 70 y el 80 % en peso aproximadamente de esteroides y ácidos grasos;
 - (c) la eliminación de los alcoholes grasos presentes en el extracto hasta que quede una cantidad de alcoholes grasos del 7 % o inferior en el extracto;
 - (d) la cristalización del extracto de (c) con una mezcla disolvente de un disolvente hidrocarbonado C₁-C₁₀ presente en una cantidad del 60 al 99 % en peso aproximadamente de la mezcla, un alcohol C₁-C₁₀ presente en una cantidad del 0,1 al 20 % en peso aproximadamente de la mezcla, y agua presente en una cantidad del 0,1 al 20 % en peso aproximadamente de la mezcla, para formar esteroides cristalizados; y
 - (e) la recuperación de los esteroides cristalizados de (d) a una pureza de al menos o superior al 98 %.
2. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que los alcoholes grasos se eliminan por destilación.
3. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que la mezcla disolvente de (d) es del 80 al 98 % aproximadamente del disolvente hidrocarbonado, del 1 al 10 % en peso aproximadamente del alcohol C₁ a C₁₀, y del 1 al 10 % en peso aproximadamente de agua.
4. El procedimiento de la reivindicación 3 en el que el disolvente hidrocarbonado está comprendido de una mezcla de hexanos y heptanos.
5. El procedimiento de la reivindicación 3 en el que el alcohol C₁ a C₁₀ es metanol.
6. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que el disolvente orgánico de (b) es dicloruro de etileno.
7. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que la cristalización se realiza a una temperatura de entre 50 y 70 °C aproximadamente.
8. El procedimiento de la reivindicación 1 que además comprende la esterificación de los esteroides cristalizados de (e) con un agente de acilación para formar ésteres de esteroles.
9. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que los esteroides cristalizados se recuperan con un rendimiento de al menos el 70 % aproximadamente y una pureza de al menos el 98 % aproximadamente.
10. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que los esteroides cristalizados se recuperan con una pureza superior al 98,5 %.
11. El procedimiento de la reivindicación 9 en el que los esteroides cristalizados se esterifican con un agente de acilación para formar ésteres de esteroles.