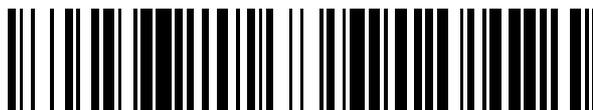


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 671**

51 Int. Cl.:

C07F 9/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2014 E 14172968 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.03.2018 EP 2957565**

54 Título: **Procedimientos de preparación de licopenos a partir de sales C-15 de Wittig y procedimientos para la purificación de sales C-15 de Wittig con contenido en todo-E y en 6Z elevado**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.05.2018

73 Titular/es:

**ALLIED BIOTECH CORPORATION (100.0%)
13 Fl., No. 71, Sec. 2 Tun Hwa S. Road
Taipei City, TW**

72 Inventor/es:

**CHIU, HAW-SHYI y
LIN, PO-WEI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 670 671 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

Procedimientos de preparación de licopenos a partir de sales C-15 de Wittig y procedimientos para la purificación de sales C-15 de Wittig con contenido en todo-E y en 6Z elevado

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a procedimientos para la preparación de licopenos, especialmente a licopeno con un alto contenido en todo-E o un alto contenido en 6Z a partir de mezclas de sales C-15 de Wittig. En la presente invención, también se desvelan procedimientos para la extracción y purificación de relaciones *E/Z* en sales C15 de Wittig.

Antecedentes de la invención

- 10 El licopeno (también denominado Ψ, Ψ -caroteno) es uno de los muchos carotenoides que existen en la naturaleza. El licopeno puede encontrarse fácilmente en frutas de tomate maduro, sandías y pomelos rosados, que les proporciona una característica pigmentación roja. El licopeno que se obtiene a partir de tomates crudos contiene aproximadamente un 5 % o más de *cis*-licopeno. De acuerdo con Schierle y col. 1997, el licopeno que se obtiene a partir de tomates crudos contiene un 94-96 % de licopeno todo-E, 3-5 % de licopeno 5Z y una menor cantidad de isómeros Z. Estudios epidemiológicos recientes muestran que el licopeno como antioxidante puede aliviar enfermedades cardíacas coronarias y cánceres de próstata, vejiga, piel, del tracto digestivo, de mama y de cuello uterino.

- El licopeno puede producirse de dos modos: extracción y síntesis. El licopeno biológico se extrae o bien a partir de frutas (tales como tomates o sandías) o bien a partir de biomasa fúngica (tal como *Blakeslea trispora*). El licopeno sintético se fabrica mediante síntesis química. El licopeno producido mediante el uso de procedimientos de síntesis tiene un contenido en todo-E inferior que el extraído a partir de *B. trispora*. El Comité mixto FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación)/OMS (Organización Mundial de la Salud) de expertos ha establecido especificaciones para tanto el licopeno sintético como el licopeno extraído a partir de *B. trispora* en la 67ª reunión del JECFA (2006). Para el licopeno sintético, el contenido de licopeno total debe ser superior al 96 %, en el cual al menos el 70 % debe ser licopeno todo-E y los restos son licopeno 5Z y una menor cantidad de isómeros Z. Para el licopeno extraído a partir de *B. trispora*, el contenido de licopeno total debe ser superior al 95%, en el cual al menos el 90% debe ser licopeno todo-E y los restos son otros carotenoides (β - y γ -caroteno) por no más del 5 %. Estas especificaciones indican que el licopeno extraído a partir de *B. trispora* consiste principalmente en la forma todo-E, que no se puede conseguir licopeno sintético preparado usando la tecnología actual.

- 30 La pseudoionona es uno de los materiales de partida para la síntesis de licopeno. Es una mezcla de isómeros *cis* y *trans* (también denominada como la mezcla *cis/trans*). En general, las mezclas *cis/trans* de pseudoionona que contienen aproximadamente de un 20 % a un 50 % de isómero todo-*trans* y los restos de otros isómeros *cis* están disponibles en el mercado. Una *cis*-pseudoionona dará como resultado un *cis*-licopeno y una *trans*-pseudoionona dará como resultado un licopeno todo-E, después de la síntesis. Con el fin de obtener un licopeno con alto contenido en todo-E superior, se deberá usar una pseudoionona con un contenido *all-trans* superior. Por lo tanto, el pseudoionona todo-*trans* debe separarse en primer lugar de la mezcla *cis/trans* antes de la síntesis. En la tecnología convencional, la pseudoionona todo-*trans* se aísla de la mezcla *cis/trans* mediante una operación de destilación fraccionada. Esta pseudoionona todo-*trans* obtenida de este modo se usa a continuación para sintetizar una sal de fosfonio C15 para producir licopeno.

- 40 Desafortunadamente, el procedimiento de síntesis convencional en la producción de sales de fosfonio C15 causará que una parte de la forma todo-*trans* se convierta en formas *cis* durante la reacción. Con la tecnología actual, se usa incluso el OH C15 con alto contenido en todo-E (del 90% al 95%) (también denominado como 3,7,11-trimetil-dodeca-1,4,6,10-tetraen-3-ol o vinil-pseudoionol), podría obtenerse un producto con solo del 65,2 % al 71,1% de sales C15 todo E de Wittig, así como del 9,8 % al 10,3 % de isómeros 6Z y del 8,2 % al 10,8 % de isómeros 2Z,. Claramente, los productos resultantes tienen relaciones de isómero *E/Z* inferiores, que son de aproximadamente 3,4:1 a 3,8:1. Debe hacerse referencia a, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 6.603.045, la patente de EE.UU. N.º 6.433.226, la Patente de EE.UU. N.º 6.187.959 y la Patente de EE.UU. N.º 2002/ 0.128.516. Tal pobre selectividad *E/Z* de sales de fosfonio C15 resulta un problema en la producción de un licopeno todo-E sintético, con un contenido todo-E competitivo al de los licopenos biológicos extraídos a partir de fuentes naturales tales como *B. trispora*.

- 50 El otro procedimiento para la producción de licopenos todo-E sintéticos usa el procedimiento de isomerización térmica que convierte los isómeros Z de los licopenos en licopeno todo-E. Debe hacerse referencia a la Patente de EE.UU. N.º 7.126.036 y la Patente de EE.UU. N.º 2004/ 0049082. Este procedimiento aumento el contenido todo-E del licopeno obtenido del 53 % al 73,4 % - 87,8 %.

- 55 Hengartner, U. y col. (Helvetica Chimica Acta, Vol. 75:1848-1865 (1992)) describe la preparación de sales C-15 de Wittig que tienen un alto contenido en 6E o 6Z mediante el tratamiento *cis/trans* de sales C15 de Wittig usando acetato de etilo.

Se ha encontrado que las sales C15 todo-E de Wittig pueden separar de la sal de fosfonio C15 obtenida a partir de

la reacción de la mezcla cis/trans, usando una serie de etapas de purificación en disolventes apróticos. De acuerdo con la presente invención, puede realizarse una alta selectividad de *E/Z* en las sales de fosfonio C15, con una relación de isómero *E/Z* superior a 15:1. Mediante la reacción de dialdehído C10 (también denominado como 2,7-dimetil-2,4,6-octatrieno-1,8-dial) con tal alto contenido todo-*E* de sales C15 de Wittig a través de una reacción de Wittig doble, puede producirse un licopeno sintético con un alto contenido todo-*E* de hasta el 95 %. El contenido todo-*E* obtenido puede incluso satisfacer la especificación de contenido todo-*E* para licopenos biológicos. Al convertir los reactivos a partir de sales C15 de Wittig con alto contenido en todo-*E* en sales de fosfonio C15 con alto contenido en 6Z, también se obtiene un licopeno sintético con un contenido 5Z de hasta el 97 %.

Sumario de la invención

De acuerdo con la presente invención, se desvelan nuevos procedimientos de preparación de licopenos todo-*E* y licopenos 5Z. Los procedimientos incluyen generalmente las etapas de purificación de las sales C15 todo-*E* de Wittig y la síntesis del licopeno todo-*E* y el licopeno 5Z usando las sales C15 todo *E* de Wittig purificadas. Según la presente invención, al cambiar la combinación de disolventes usados y la temperatura de reacción, pueden obtenerse las sales C15 de Wittig de una variedad de relación de isómero *E*/isómero *Z*. Los procedimientos de la invención pueden comprender adicionalmente la síntesis de OH C15, a usar como material para las sales C15 todo-*E* de Wittig.

En la purificación de las sales C15 todo-*E* de Wittig, se obtiene en primer lugar una mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig, preferentemente una mezcla cis/trans de sal de fosfonio C15, que contiene aproximadamente el 40 % del contenido todo-*E*. La mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig es preferentemente un producto de la síntesis de las sales C15 todo-*E* de Wittig, mediante la cual contiene tanto formas cis como trans de isómeros. La mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig se concentra al vacío para retirar metanos y H₂O contenido en la misma, mediante el cual se obtiene un precipitado de sal C15 de Wittig. Se agrega un disolvente aprótico al precipitado para una concentración adicional. El disolvente aprótico puede ser acetato de etilo, cloroformo, acetona, metiletilcetona o metil isobutil cetona o cualquier combinación de las mismas, y es preferentemente acetato de etilo. La concentración tiene lugar a aproximadamente 30 °C durante un período de tiempo relativamente largo, tal como 16 horas. Se obtiene un precipitado de sal C15 de Wittig cristalizado. A continuación se agrega al precipitado un disolvente aprótico que comprende acetona para la extracción de las sales C15 6Z de Wittig. El disolvente aprótico puede incluir también acetato de etilo, cloroformo, acetona, metiletilcetona o metil isobutil cetona o cualquier combinación de las mismas, y es preferentemente acetona. La operación de extracción tiene lugar a aproximadamente entre 0 °C a 55 °C, preferentemente de 40 °C a 50 °C, durante aproximadamente 2 horas. Después de la filtración, se obtiene una costra húmeda de sal C15 6Z de Wittig. La costra húmeda de sal C15 6Z de Wittig se retira y el filtrado se concentra de nuevo, para obtener sales C15 de Wittig con una relación de isómero *E/Z* superior a 3:1.

Para obtener sales C15 de Wittig con un alto contenido en todo-*E*, un disolvente aprótico bien en forma pura o una mezcla de disolvente se agrega a las sales C15 de Wittig, es decir, el filtrado después de la costra húmeda de sal C15 6Z de Wittig se retira después de la etapa de filtración, para su cristalización. El disolvente aprótico puede ser acetato de etilo, cloroformo, acetona, metiletilcetona o metil isobutil cetona o cualquier combinación de las mismas, y es preferentemente una mezcla de acetato de etilo/acetona. La operación de cristalización tiene lugar a entre 25 °C a -30 °C durante un tiempo relativamente largo, preferentemente de 0 °C a -20 °C durante aproximadamente 16 horas. Después de la filtración y secado, se obtienen sales C15 de Wittig con una relación de isómero *E*/ isómero *Z* superiores a 15:1.

Para obtener sales C15 de Wittig con un alto contenido en 6Z, la costra húmeda de sales C15 6Z de Wittig obtenida en la anterior etapa de filtración se aclara en un disolvente aprótico. El disolvente aprótico puede ser acetona, metiletilcetona o metil isobutil cetona o cualquier combinación AL7902-0073 de las mismas, y es preferentemente acetona. La operación de aclarado tiene lugar a aproximadamente entre 0 °C a 55 °C, preferentemente de 40 °C a 50 °C, durante aproximadamente 2 horas. Después de la filtración y secado, se obtienen sales C15 de Wittig con una relación de isómero *E*/ isómero *Z* inferiores a 1:30.

En la síntesis de licopenos, es decir, licopeno todo-*E* y licopeno 5Z, los productos obtenidos a partir de la etapa de purificación se hacen reaccionar con dialdehído C10 en una reacción de Wittig doble. Puede agregarse un reactivo de base para llevar a cabo la reacción. Después de la isomerización térmica y filtración, se recoge una costra húmeda de licopeno. El producto se lava, aclara, filtra y seca para obtener polvos de licopeno todo-*E* con un alto contenido de todo-*E* de hasta el 95 % o polvos de licopeno 5Z con un contenido de 5Z de hasta el 97 %.

En la etapa de síntesis opcional de OH C15, las mezclas cis/trans de sal de fosfonio C15 puede prepararse mediante la reacción de vinil-pseudoionol y trifetilfosfina con un ácido inorgánico u orgánico, preferentemente un ácido inorgánico y orgánico fuerte. El ácido fuerte puede ser un ácido halohídrico tal como ácido clorhídrico y ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido sulfónico y otro ácido inorgánico o cualquier ácido orgánico con un grado comparable de disociación.

Descripción detallada de la invención

La presente invención desvela nuevos procedimientos para la preparación de licopenos todo-*E* y licopenos 5Z. Los

procedimientos de la invención se caracterizan por su capacidad de producción de sales C15 de Wittig con relaciones de isómero *E*/isómero *Z* controlables y síntesis de licopenos todo-*E* y licopenos 5Z usando las sales C15 de Wittig particulares. Los licopenos todo-*E* con un contenido todo-*E* de hasta el 95 % o los licopenos 5Z con un contenido 5Z de hasta el 97 % se obtienen usando el procedimiento de la presente invención.

5 Los procedimientos de la invención incluyen generalmente las etapas de purificación de sales C15 todo-*E* de Wittig y la síntesis de licopenos todo-*E* y licopenos 5Z usando las sales C15 de Wittig purificadas. En la purificación de las sales C15 de Wittig, se obtiene en primer lugar una mezcla *cis/trans* de sal C15 de fosfonio. La mezcla es preferentemente un producto de la síntesis de las sales C15 de Wittig, usando los procedimientos de síntesis convencionales. La mezcla se concentra en primer lugar al vacío para retirar la mayor cantidad de metanol/H₂O
10 posible, si se produce en una etapa de síntesis anterior. Después de que se haya retirado una cantidad suficiente de metanol/H₂O, se sumerge un precipitado de sal C15 de Wittig. La concentración tiene lugar a aproximadamente 30 °C durante un período de tiempo relativamente largo, tal como 16 horas.

Según la presente invención, al cambiar la combinación de disolventes apróticos usados y la temperatura de reacción, pueden obtenerse las sales C15 de Wittig de la relación de isómero *E*/isómero *Z* deseada. Por ejemplo,
15 entre las sales de Wittig, tanto las sales C15 todo-*E* de Wittig y las sales C15 6Z de Wittig tienen una solubilidad más pobre que las sales C15 2Z de Wittig en acetato de etilo. Por otra parte, tanto las sales C15 2Z de Wittig y las sales C15 todo-*E* de Wittig tienen una mucha mejor solubilidad que las sales C15 6Z de Wittig en bien acetona, metil etil cetona o metil isobutil cetona. La solubilidad de las sales C15 6Z de Wittig en acetona, metil etil cetona o metil isobutil cetona también varía con la temperatura. Por lo tanto, es posible controlar las relaciones de isómero *E*/
20 isómero *Z* en las sales C15 de Wittig resultantes mediante el cambio de la combinación de los disolventes apróticos así como la temperatura de purificación.

A continuación se agrega al precipitado un disolvente aprótico que comprende acetona para la extracción de las sales C15 6Z de Wittig. El disolvente aprótico puede incluir también acetato de etilo, cloroformo, metiletilcetona o metil isobutil cetona o cualquier combinación de las mismas, y es preferentemente acetona. La operación de
25 extracción tiene lugar a aproximadamente entre 0 °C a 55 °C, preferentemente de 40 °C a 50 °C, durante aproximadamente 2 horas. Después de la filtración, se obtiene una costra húmeda de sal C15 6Z de Wittig. Se retira la costra húmeda de sal C15 6Z de Wittig. El filtrado se concentra de nuevo en un disolvente aprótico, preferentemente acetato de etilo, para obtener sales C15 de Wittig que tengan una relación de isómero *E*/isómero *Z* superior a 3:1. El contenido de isómero *E* en el producto es relativamente bajo pero el producto es útil en la reacción
30 directa con dialdehído C10 sin purificación adicional, para producir un licopeno sintético cualificado (alto en contenido todo-*E*).

Para obtener un contenido todo-*E* superior de sales C15 de Wittig, un disolvente aprótico bien en forma pura o una mezcla de disolvente se agrega a las sales C15 de Wittig obtenidas en la etapa de extracción anterior para la
35 cristalización. El disolvente aprótico es preferentemente acetato de etilo. La operación de cristalización puede tener lugar con la temperatura de entre 25 °C a -30 °C durante un período de tiempo predeterminado, preferentemente de 0 °C a -20 °C durante, por ejemplo, 16 horas. La costra húmeda producida puede purificarse adicionalmente en un disolvente de acetato de etilo/acetona. Los productos se filtran y secan para obtener sales C15 de Wittig con un alto contenido en todo-*E* con una relación de isómero *E*/isómero *Z* superior a 15:1.

Para obtener sales C15 de Wittig con un alto contenido en 6Z, la costra húmeda de sales C15 6Z de Wittig obtenida
40 en la anteriormente mencionada etapa de extracción se somete a una purificación adicional. Se agrega un disolvente aprótico a la costra húmeda. Entre los disolventes apróticos aplicables en esta etapa de purificación se incluyen acetona, metil etil cetona y metil isobutil cetona y cualquiera de sus combinaciones. La purificación se lleva a cabo a una temperatura de 0 °C a 55 °C, preferentemente de 40 °C a 50 °C, durante un periodo de tiempo tal como 2. Los productos se filtran y secan para obtener sales C15 de Wittig con un alto contenido en 6Z con una relación de
45 isómero *E*/isómero *Z* inferior a 1:30.

En la síntesis de licopeno, se hace reaccionar dialdehído C10 con productos de las etapas de purificación. El alto contenido en todo-*E* o alto contenido en 6Z de las sales C15 de Wittig obtenido en el procedimiento de purificación se hace reaccionar con dialdehído C10 en una reacción de Wittig doble. Puede agregarse un reactivo de base para llevar a cabo la reacción. A continuación el producto se procesa mediante isomerización térmica y filtración, para
50 obtener una costra húmeda de licopeno. Se agregan acetona y agua por separado para los tratamientos de lavado y aclarado. Después de la filtración y secado, se obtienen polvos de licopeno todo-*E* con un alto contenido de todo-*E* de hasta el 95 % o polvos de licopeno 5Z con un contenido de 5Z de hasta el 97 %.

Los procedimientos de la invención pueden incluir opcionalmente la síntesis de OH C15, a usar como las sales C15 de Wittig. En la síntesis de OH C15, una pseudoionona purificada (Fluka, *E/Z* = 2,7:1) se hace reaccionar con cloruro
55 de magnesio de vinilo. Puesto que el reactivo, pseudoionona, es una mezcla *cis/trans*, el OH C15 producido también es una mezcla *cis/trans* y tiene el mismo nivel de relación de isómero *E*/isómero *Z* que en la pseudoionona. A continuación, el OH C15 se hace reaccionar con una trifenilfosfina y un ácido fuerte, para producir las sales de fosfonio C15 deseadas. La sal de fosfonio C15 resultante también es una mezcla *cis/trans*, que contiene aproximadamente el 40 % del contenido todo-*E*.

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan procedimientos que producen sales C15 de Wittig con casi cualquier relación de isómero *E*/isómero *Z*. Como resultado, también pueden prepararse licopenos con casi cualquier relación de isómero *E*/isómero *Z* deseable de licopeno, usando las sales C15 de Wittig, purificadas según la presente invención, como material. La presente invención proporciona nuevos procedimientos de producción de licopeno sintético deseable.

A continuación, se ilustrarán las realizaciones en la purificación de las sales C15 de Wittig y en la síntesis de licopenos todo-*E* y licopenos 5*Z* usando las sales C15 de Wittig.

Preparación de sales TPP C15 con alto contenido en todo-*E* o alto contenido en 6*Z*

Ejemplo 1

250,0 g de una solución de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2,4,6,10-tetraen-1-il-trifenilfosfonio (pureza del 38,6 % en metanol) con un 40,9 % de contenido todo-*E*, 38,7 % de contenido de 6*Z* y 4,1 % de contenido de 2*Z* (relación de isómero *E*/isómero *Z* = 1:1) se concentraron mediante destilación al vacío a 30 °C, para retirar el disolvente de metanol. A continuación se agregaron 135 g de acetato de etilo. Después de la concentración mediante destilación al vacío, se agregaron además 60 g de acetato de etilo. La solución de sal se calentó a continuación a 30 °C durante 16 horas. A continuación, se agregaron 120 g de acetona en la mezcla. La temperatura se elevó a 50 °C y se mantuvo durante 2 horas, a continuación se disminuyó a 30 °C. Los productos se filtraron para obtener una costra húmeda de sal de cloruro (6*Z*-C15TPPC1) de 3,7,11-trimetildodeca-2*E*,4*E*,6*Z*,10*E*-tetraen-1-il-trifenilfosfonio de fase sólida en la cantidad de 48,5 g (ensayo 6*Z*- % = 73,3 %; ensayo todo *E* % = 12 %). La costra húmeda se retiró y el filtrado se concentró a 50 °C mediante destilación al vacío. A continuación, el filtrado concentrado se le agregó 197 g de acetato de etilo, se enfrió a -20°C y se agitó durante 16 horas. Se obtuvo una costra húmeda de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2*E*,4*E*,6*E*,10*E*-tetraen-1-il-trifenilfosfonio mediante filtración. 167 ml de acetato de etilo y 33 ml de acetona se agregaron a la costra húmeda obtenida. La mezcla se agitó a 25 °C durante 30 minutos y después se enfrió a 5 °C y se agitó durante 16 horas. Después de la filtración y secado, se obtuvieron 30 g de polvo de sal de cloruro (All *E*-C15TPPC1) de 3,7,11-trimetil-dodeca-2*E*,4*E*,6*E*,10*E*-tetraen-1-il-trifenil fosfonio. El análisis HPLC reveló que el polvo contiene un 94,8 % de isómero todo-*E*, 3,3 % de isómero 6*Z* y 1,9 % de isómero 2*Z*. La relación de isómero *E*/isómero *Z* es correspondientemente 18,2:1.

Ejemplo 2

1.534,0g de una solución de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2,4,6,10-tetraen-1-il-trifenilfosfonio (pureza del 38,6 % en metanol) con un 42,6% de isómero todo-*E*, 39,6 % de isómeros 6*Z* y 2*Z* (relación de isómero *E*/isómero *Z* = 1,1:1) se concentraron mediante destilación al vacío a 30 °C, seguido por la adición de 400 ml de acetato de etilo y agitación durante 16 horas. Se agregaron 400 ml de acetona y la mezcla se agitó durante 2 horas adicionales. Después de la filtración, los 230 g obtenidos de costra húmeda de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2*E*,4*E*,6*Z*,10*E*-tetraen-1-il-trifenilfosfonio se retiraron y se obtuvo un filtrado. A continuación el filtrado se concentró mediante destilación al vacío a 45 °C, para retirar el disolvente, mediante la cual se obtuvieron 640 g de resto (pureza de sales C15: 55,2 %). El análisis HPLC reveló que el resto contiene un 77,2% de isómero todo-*E*, 13,8% de isómero 6*Z* y 9,0% de isómero 2*Z*. Su relación de isómero *E*/isómero *Z* es correspondientemente 3,4:1.

Ejemplo 3

500,0 g de costra húmeda de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2*E*,4*E*,6*E*,10*E*-tetraen-1-il-trifenilfosfonio obtenida a partir del ejemplo 1, con 12,0 % de isómero todo-*E*, 73,3% de isómero 6*Z* y 0,3% de isómero 2*Z* (relación de isómero *E*/isómero *Z* = 1:6,1) se suspendió en 1.000 ml de acetona. La solución de sal se calentó a continuación a 40 °C y se agitó durante 1 hora. Después de la filtración y secado, se obtuvieron 362 g de polvo de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2*E*,4*E*,6*Z*,10*E*-tetraen-1-il-trifenilfosfonio. El análisis HPLC reveló que el polvo de sal de fosfonio C15 obtenido contenía un 2,9% de isómero todo-*E*, 96,8% de isómero 6*Z* y 0,3% de isómero 2*Z*. La relación de isómero *E*/isómero *Z* es correspondientemente 1:33,5.

45 Síntesis de licopeno todo-*E* o licopeno 5*Z*

Ejemplo 4

89,0 g de polvo de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2*E*,4*E*,6*E*,10*E*-tetraen-1-il-trifenilfosfonio (pureza del 95,2 %, relación de isómero *E*/isómero *Z* = 15,8:1) y 9,3 g de 2,7-dimetil-2,4,6-octatrieno-1,8-dial se agregaron en 90 g de metanol. La temperatura de la composición se elevó a 30 °C y se mantuvo durante 30 minutos. Después se agregaron 95 g de mezcla de disolvente de acetato de etilo/*n*-heptano (p/p = 1:1), la mezcla de solución se enfrió a temperatura ambiente. A continuación se agregaron 175,5 g de una solución de carbonato de potasio mediante la disolución de 63,5 g de polvo de carbonato de potasio en 112 g de agua gota a gota. La mezcla de solución se calentó después a 60°C y se mantuvo durante 3 horas. A continuación, La temperatura de la mezcla de solución se elevó a 100 °C para retirar la mayor cantidad de disolventes orgánicos posibles, a continuación se enfrió a 80 °C y se mantuvo durante 16 horas. Después de la filtración, se obtuvieron 94,3 g de costra húmeda de licopeno con alto contenido en todo-*E*. Se agregaron acetona y agua por separado a la costra húmeda para los tratamientos de lavado y aclarado. Después de la filtración y secado, se obtuvieron 24,5g de cristal de licopeno con alto contenido en todo

E. El análisis HPLC reveló que el cristal de licopeno contenía un 95,3 % de licopeno todo-E y un 3,3 % de licopeno 5Z. Ensayo UV del licopeno = 101,0 %.

Ejemplo 5

5 50,0g de polvo de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2E,4E,6Z,10E-tetraen-1-il-trifenilfosfonio (pureza del 89,8%, relación de isómero E/isómero Z = 1:33,1) y 5,4g de 2,7-dimetil-2,4,6-octatrieno-1,8-dial se agregaron en 60 g de metanol. La temperatura de la composición se elevó a 30 °C y se mantuvo durante 30 minutos. Después se agregaron 55g de mezcla de disolvente de acetato de etilo/n-heptano (p/p = 1:1), la mezcla de solución se enfrió a temperatura ambiente. A continuación se agregaron 103,5g de una solución de carbonato de potasio mediante la disolución de 37,5g de polvo de carbonato de potasio en 66g de agua gota a gota. La mezcla de solución se calentó a 60°C y se mantuvo durante 3 horas. A continuación, La temperatura de la mezcla de solución se elevó a 100 °C para retirar la mayor cantidad de disolventes orgánicos posibles, a continuación se enfrió a 80 °C y se mantuvo durante 16 horas. Después de la filtración se obtuvieron 62,0 g de costra húmeda de licopeno 5Z. Se agregaron acetona y agua por separado a la costra húmeda para los tratamientos de lavado y aclarado. Después de la filtración y secado, se obtuvieron 16,1g de cristal que contenía licopeno con alto contenido en 5Z. El análisis HPLC reveló que el cristal de licopeno contenía un 97,9% de licopeno 5Z y un 1,4% de otros isómeros Z. Ensayo UV del licopeno = 100,5 %.

Ejemplo 6

20 203,0g de solución de sal de cloruro de 3,7,11-trimetildodeca-2,4,6,10-tetraen-1-il-trifenilfosfonio (pureza del 58,4%, relación de isómero E/isómero Z = 3,4:1) y 14,4 g de 2,7-dimetil-2,4,6-octatrieno-1,8-dial se agregaron en 55 ml de metanol. Después se agregaron 316 ml de mezcla de disolvente de acetato de etilo/n-heptano (p/p = 1:1), la mezcla de solución se calentó a 30 °C. A continuación se agregaron 470,0 g de una solución de carbonato de potasio mediante la disolución de 170,0 g de polvo de carbonato de potasio en 300g de agua gota a gota. La mezcla de solución se calentó a 60°C y se agitó durante 3 horas. A continuación, La temperatura de la mezcla de solución se elevó a 100 °C para retirar la mayor cantidad de disolventes orgánicos posibles, a continuación se enfrió a 80 °C y se agitó durante 16 horas. Se obtuvieron 95,9 g de costra húmeda de licopeno mediante filtración. Se agregaron acetona y agua por separado a la costra húmeda para los tratamientos de lavado y aclarado. Después de la filtración y secado, se obtuvieron 24,6g de cristal de licopeno sintético. El análisis HPLC reveló que el cristal de licopeno contenía un 75,7% de licopeno todo-E, 19,2 % de licopeno 5Z y 3,1 % de otros isómeros Z. Ensayo UV del licopeno = 99,0%.

30 Efectos de la invención

El licopeno es uno de los muchos carotenoides que pueden aliviar enfermedades cardíacas coronarias y prevenir varios tipos de cánceres. Puede producirse mediante extracción o síntesis. Los procedimientos de síntesis actuales pueden producir licopenos sintéticos con un contenido de todo-E de solamente un 87 %, el cual es mucho menor que el licopeno biológico extraído a partir de *B. trispora* /fuente natural. La presente invención fabrica el licopeno sintético para cumplir los estándares de contenido todo-E para licopeno extraído a partir de *B. trispora* fuente natural, mediante la separación de todas las sales C15 todo-E de Wittig de la mezcla cis/trans de sales de fosfonio C15 mediante una serie de operaciones de purificación en disolventes apróticos tales como acetato de etilo, cloroformo, acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona, etc. Las sales C15 de Wittig obtenidas de este modo incluyen un contenido todo-E significativamente alto o un contenido significativamente alto de 6Z. Un dialdehído C10 se hace reaccionar a continuación con las sales de fosfonio C15 que contienen alto todo-E o alto 6Z en una reacción de Wittig doble, para obtener licopenos todo-E o licopenos 5Z sintetizados.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de purificación de sales C15 de Wittig útil en la síntesis de licopenos para obtener un contenido alto en todo-*E*, que comprende las etapas de:
- 5 obtener una mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig;
purificar la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig para retirar los disolventes;
agregar un disolvente aprótico a la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig a una temperatura de 0 °C a 55 °C para extraer las sales C15 6Z de Wittig de la mezcla;
retirar las sales C15 6Z de Wittig de la mezcla para obtener restos; y
purificar los restos obtenidos para obtener sales C15 de Wittig con un alto contenido en todo-*E*;
- 10 **caracterizado porque** el disolvente aprótico comprende acetona.
2. Un procedimiento para la purificación de sales C15 de Wittig útil en la síntesis de licopenos para obtener un contenido alto en 6Z, que comprende las etapas de:
- 15 obtener una mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig;
purificar la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig para retirar los disolventes;
agregar un disolvente aprótico a la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig a una temperatura de 0 °C a 55 °C para extraer las sales C15 6Z de Wittig de la mezcla; y
purificar las sales C16 6Z de Wittig para obtener sales C15 de Wittig con un alto contenido en 6Z;
caracterizado porque el disolvente aprótico comprende acetona.
- 20 3. El procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que la purificación de la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig incluye la agregación de un disolvente aprótico a la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig y la agitación de la composición a 30 °C durante más de 10 horas.
4. El procedimiento según la reivindicación 3, en el que el disolvente aprótico para la purificación de a mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig incluye al menos uno seleccionado del grupo que consiste en acetato de etilo, cloroformo, acetona, metil etil cetona y metil isobutil cetona.
- 25 5. El procedimiento según la reivindicación 4, en el que el disolvente aprótico para la purificación de a mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig incluye acetato de etilo.
6. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que la purificación del resto incluye la agregación de un disolvente aprótico a la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig y la agitación de la composición de 25 °C a -30 °C durante más de 10 horas.
- 30 7. El procedimiento según la reivindicación 6, en el que el disolvente aprótico para la purificación del resto incluye al menos uno seleccionado del grupo que consiste en acetato de etilo, cloroformo, acetona, metil etil cetona y metil isobutil cetona.
8. El procedimiento según la reivindicación 7, en el que el disolvente aprótico para la purificación del resto incluye acetato de etilo.
- 35 9. El procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig se obtiene mediante la reacción de vinil-pseudoionol y trifenilfosfina con un ácido inorgánico u orgánico.
10. El procedimiento según la reivindicación 9, en el que el ácido inorgánico u orgánico es al menos uno seleccionado entre el grupo que consiste en ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y ácido sulfónico.
- 40 11. El procedimiento según la reivindicación 2, en el que la purificación de las sales C15 6Z de Wittig incluye la agregación de un disolvente aprótico a la mezcla cis/trans de sal C15 de Wittig y la agitación de la composición de 0 °C a 55 °C, para obtener sales C15 6Z de Wittig cristalizadas.
12. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que el disolvente aprótico para la purificación de las sales C15 6Z de Wittig incluye acetona.
- 45 13. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, que comprende adicionalmente las etapas de hacer reaccionar las sales C15 de Wittig obtenidas con dialdehído C10 en una reacción de Wittig doble para la síntesis de licopenos.
14. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que la reacción de síntesis se lleva a cabo en un reactivo de base.