



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2004 063 006 A1** 2006.07.13

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2004 063 006.2**

(22) Anmeldetag: **22.12.2004**

(43) Offenlegungstag: **13.07.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C07C 50/28** (2006.01)
C07C 46/10 (2006.01)

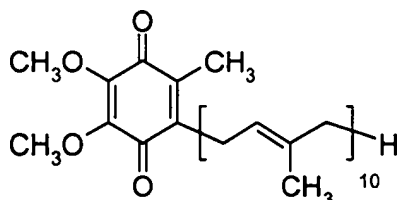
(71) Anmelder:
BASF AG, 67063 Ludwigshafen, DE

(72) Erfinder:
**Berl, Volker, Dr., 77694 Kehl, DE; Schein, Karin,
Dr., 67065 Ludwigshafen, DE; Wetterich, Frank,
Dr., 67157 Wachenheim, DE**

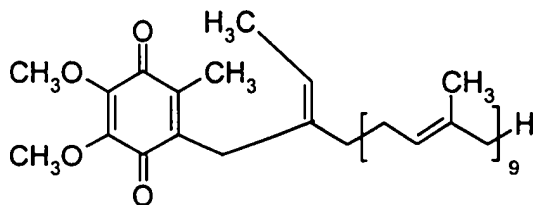
Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Isolierung von Coenzym Q10**

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Isolierung von Coenzym Q₁₀ der Formel (I)



durch Trennung von Stoffgemischen, enthaltend Coenzym Q₁₀, und die Verbindung der Formel (II)

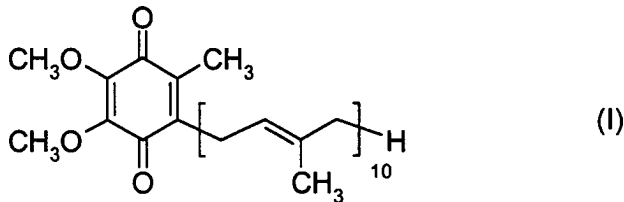


Beschreibung

Technisches Gebiet der Erfindung:

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Isolierung von Coenzym Q₁₀ durch Trennung von Stoffgemischen enthaltend Coenzym Q₁₀ und ein Konstitutionsisomeres des Coenzym Q₁₀.

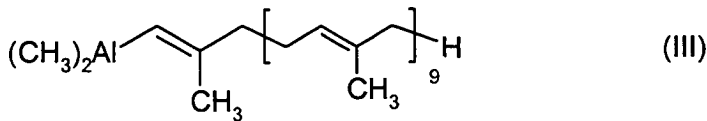
[0002] Coenzym Q₁₀ (Ubichinon) der Formel (I)



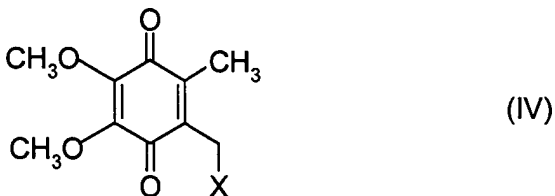
ist ein wichtiger Bestandteil der menschlichen Atmungskette und hat in jüngerer Zeit zunehmende Bedeutung als Nahrungsergänzungsmittel bzw. Therapeutikum erlangt. Totalsynthetische Zugänge zum Coenzym Q₁₀ verfolgen aufgrund der Größe des Moleküls oft eine konvergente Strategie. Demnach werden üblicherweise der aromatische bzw. chinoider Kern des Moleküls und die polyisoprenoide Seitenkette zunächst separat voneinander aufgebaut und auf einer späten Stufe der Synthese miteinander gekoppelt.

Stand der Technik

[0003] Die Kupplungsreaktion kann nach einem von Negishi et al. in Organic Letters, 2002, Vol. 4, No. 2, 261–264 bzw. für die Synthese von Coenzym Q₆ oder Q₇ von Lipshutz et al. in J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 11664–11673 beschriebenen Verfahren durch Nickel-katalysierte Kupplung eines Vinylalans der Formel (III)

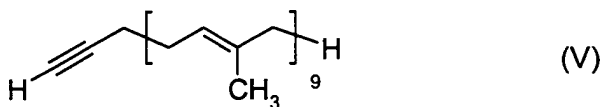


mit einem geeigneten, Chinon, beispielsweise einem solchen der Formel (IV)



wobei X eine Abgangsgruppe wie z.B. Halogen, speziell Chlor darstellt, vorgenommen werden.

[0004] Das dabei einzusetzende Vinylalan der Formel (III) ist seinerseits zugänglich durch Carboaluminierung des terminalen Alkyls der Formel (V)

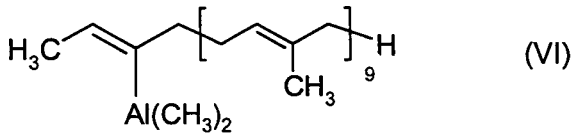


mit Trimethylaluminium in Gegenwart eines geeigneten Katalysators, beispielsweise eines Zirkon- oder Titan-katalysators.

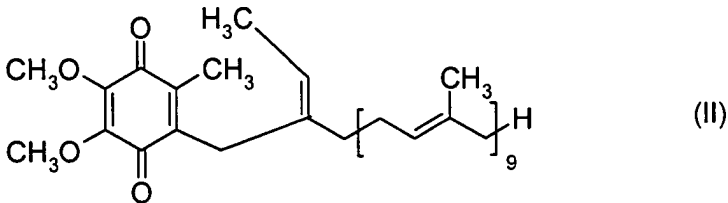
Aufgabenstellung

Aufgabe der Erfindung:

[0005] Es hat sich nun gezeigt, dass die so durchgeführte Carboaluminierung nicht ausschließlich zum gewünschten Carboaluminierungsprodukt der Formel (III) führt, sondern außerdem zu einem regioisomeren Vinylalan der Formel (VI)



[0006] Aus den Gemischen der regioisomeren Vinylalane der Formeln (V) bzw. (VI) werden durch die oben genannte Ni-katalysierte Kupplung Gemische von Coenzym Q₁₀ der Formel (I) und der Verbindung der Formel (II)

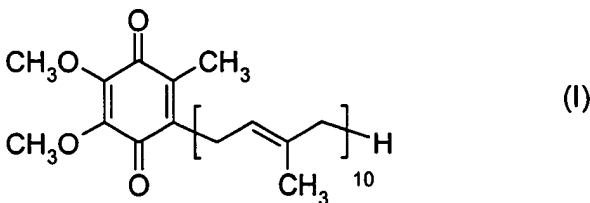


erhalten.

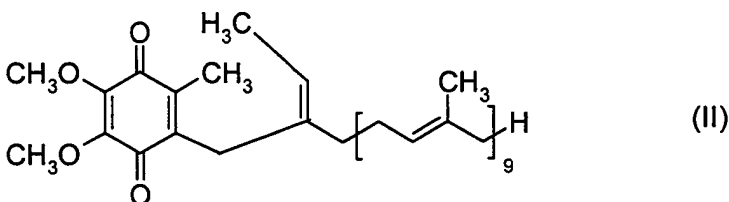
[0007] Der vorliegenden Erfindung lag die Aufgabe zu Grunde ein Verfahren zu entwickeln, dass es erlaubt, Gemische von Verbindungen der Formel (I) und (II) so zu behandeln, dass sie sich für weitere Anwendungen, insbesondere für eine Anwendung als Nahrungsergänzungsmittel bzw. Therapeutikum am Menschen eignen.

Beschreibung der Erfindung sowie deren bevorzugter Ausführungsformen:

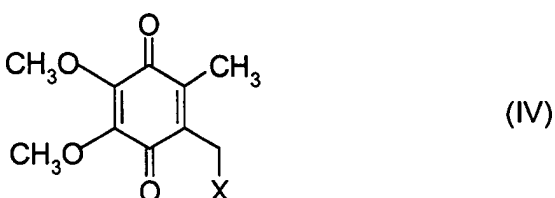
[0008] Die Aufgabe wurde erfindungsgemäß gelöst durch die Bereitstellung eines Verfahrens zur Isolierung von Coenzym Q₁₀ der Formel (I)



durch Trennung von Stoffgemischen enthaltend Coenzym Q₁₀ und die Verbindung der Formel (II)



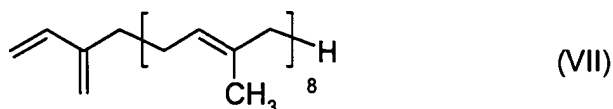
[0009] Die genannten Gemische sind, wie Eingangs erwähnt, durch Ni-katalysierte Kupplung eines Gemisches der isomeren Vinylalane der Formeln (III) und (VI) mit einem geeigneten Kupplungspartner, wie beispielsweise einem Chinon der Formel (IV)



wobei X für eine Abgangsgruppe wie beispielsweise Halogen, bevorzugt Chlor oder Brom, insbesondere Chlor oder einen Rest -OR steht, wobei R beispielsweise Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten Alkylrest mit 1 bis etwa 6 Kohlenstoffatomen, wie z.B. Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, Hexyl, Cyclohexyl, oder gemeinsam mit dem Sauerstoffatom des Restes OR Sulfonyl wie Methylsulfonyl, Trifluormethylsulfonyl, p-Toluolsulfonyl und dergleichen mehr bedeuten können.

[0010] Die genannten Gemische können weitere Nebenprodukte, z.B. aus vorangegangenen Synthesestufen

der Ausgangsverbindungen enthalten. Insbesondere können sie Nebenprodukte oder Verunreinigungen enthalten, die bei der Herstellung des Alkins der Formel (V) beispielsweise durch Propargylierung von Solanesol-derivaten entstehen, wie beispielsweise Eliminierungsprodukte wie z.B. die Verbindung der Formel (VII)



[0011] Daneben können die erfindungsgemäß zu trennenden Stoffgemische beispielsweise auch Reagenzien bzw. Katalysatoren enthalten, die bei der Carboaluminierung der Verbindung der Formel (V) bzw. der Kuppelung der daraus erhaltenen Vinylalane der Formeln (III) und (VI) eingesetzt werden wie beispielsweise Zr-, Ti- oder Ni-Salze oder auch Phosphine.

[0012] Als Ausgangsstoffe zur Isolierung von Coenzym Q₁₀ nach dem erfindungsgemäßen Verfahren bevorzugte Gemische sind solche, in denen Coenzym Q₁₀, neben der Verbindung der Formel (II) bzw. etwaigen Verunreinigungen als gewichtmäßige Hauptkomponente, bevorzugt zu mehr als 30 Gew.-%, insbesondere zu mehr als 40 Gew.-% vorliegt. Als Ausgangsstoff wiederum bevorzugte Gemische sind solche, die zu mindestens etwa 50 Gew.-%, bevorzugt zu mehr als etwa 80 Gew.-% und insbesondere zu etwa 90 bis etwa 99 Gew.-% aus Coenzym Q₁₀ und der isomeren Verbindung der Formel (II) bestehen.

[0013] In den genannten, als Ausgangsstoffe zur Isolierung von Coenzym Q₁₀ geeigneten Gemischen beträgt das molare Verhältnis von Coenzym Q₁₀ zum Isomeren der Formel (II) vorteilhaft mindestens etwa 80 zu 20, bevorzugt etwa 85 zu 15 bis etwa 99 zu 1, insbesondere bevorzugt etwa 90 zu 10 bis etwa 99 zu 1.

[0014] Die erfindungsgemäße Trennung kann bevorzugt durch selektive Kristallisation von Coenzym Q₁₀ aus Lösungen, die Coenzym Q₁₀ und die Verbindung der Formel (II) enthalten durchgeführt werden. Unter dem Begriff selektiv ist dabei zu verstehen, dass eine der beiden Verbindungen der Formeln (I) bzw. (II) in dem erhaltenen Kristallisat in, im Vergleich zum eingesetzten Gemisch, angereicherter Form vorliegt, d.h. dass das molare Verhältnis der genannten Verbindungen im Rohprodukt zu Gunsten einer der beiden Verbindungen im Kristallisat verschoben wird. Bevorzugt ist dabei die selektive Kristallisation bzw. Anreicherung von Coenzym Q₁₀ der Formel (I) im Kristallisat.

[0015] Bevorzugte Lösungsmittel zur Durchführung der genannten selektiven Kristallisation sind Alkohole, insbesondere solche mit 1 bis etwa 10 Kohlenstoffatomen wie beispielsweise Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol, n-Butanol, Isobutanol, tert.-Butanol, Hexanol Ethylenglycol, Propandiol, Butandiol und dergleichen mehr.

[0016] Weitere bevorzugte Lösungsmittel sind Carbonylverbindungen, wie beispielsweise Aceton, Diethylketon, Methylethylketon, Essigsäureethylester oder Cyclohexanon.

[0017] Als weitere bevorzugte Lösungsmittel seien die cyclischen oder acyclischen Ether wie beispielsweise Diethylether, Tetrahydrofuran, Dioxan, Methyl-tert.-butylether oder Diglyme genannt.

[0018] Als weitere geeignete Lösungsmittel zur Durchführung der erfindungsgemäßen Trennung seien auch halogenierte Lösungsmittel wie beispielsweise Dichlormethan oder Dichlorethan sowie aromatische Lösungsmittel wie etwa Toluol oder Xylol genannt.

[0019] Darüber hinaus seien als geeignete Lösungsmittel auch Kohlenwasserstoffe wie beispielsweise Petrolether, Pentan, Hexan, Heptan, Cyclohexan und dergleichen mehr genannt.

[0020] Weitere im Rahmen der vorliegenden Erfindung bevorzugte Lösungsmittel sind Acetonitril und Wasser.

[0021] Die genannten Lösungsmittel können auch in Form von Gemischen eingesetzt werden, insbesondere in Form von binären oder ternären Gemischen der genannten Lösungsmittel. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung als Lösungsmittel bevorzugt ist Ethanol oder Lösemittelgemische die Ethanol enthalten. Unter den genannten Lösemittelgemischen sind solche bevorzugt, die als gewichtmäßige Hauptkomponente Ethanol enthalten, insbesondere solche die zu mehr als etwa 70 Vol.-%, bevorzugt zu etwa 80 bis etwa 100 Vol.-% aus Ethanol bestehen. Ein im Rahmen der vorliegenden Erfindung besonders bevorzugtes Lösungsmittel ist reines, d.h. mindestens etwa 95 Vol.-%iges Ethanol.

[0022] Daneben sind erfindungsgemäß bevorzugt insbesondere solche Lösungsmittelgemische, die Ethanol und/oder Aceton und Wasser enthalten.

[0023] In Abhängigkeit vom gewählten Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch kann die Konzentration des eingesetzten Stoffgemisches im Lösungsmittel in breiten Grenzen variiert werden. Vorteilhaft setzt man zur Isolierung von Coenzym Q₁₀ nach dem erfindungsgemäß bevorzugten Trennverfahren durch Kristallisation solche Lösungen ein, die, bezogen auf die gesamte Lösung, zu etwa 1 bis etwa 50 Gew.-%, bevorzugt von etwa 1 bis etwa 25 Gew.-%, insbesondere bevorzugt von etwa 1 bis etwa 10 Gew.-% aus den genannten, Coenzym Q₁₀ und die Verbindung der Formel (II) enthaltenden Stoffgemischen bestehen.

[0024] Das erfindungsgemäß bevorzugte Trennverfahren durch Kristallisation kann bei Temperaturen im Bereich von etwa -20°C bis etwa 80°C bevorzugt bei etwa 0°C bis etwa 60°C, insbesondere bei etwa 10°C bis etwa 50°C durchgeführt werden.

[0025] Je nach Wahl der Kristallisationsbedingungen kann es vorteilhaft sein, die Kristallisationslösung mit einem geeigneten Kristallisationskeim, z.B. einem Kristall der bevorzugt zu kristallisierenden Verbindung anzupfen.

[0026] Vorteilhaft geht man zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens so vor, dass man eine Lösung des zur trennenden Stoffgemisches in dem gewählten Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch gegebenenfalls unter Rühren erwärmt, beispielsweise, in Abhängigkeit vom gewählten Lösungsmittel- bzw. Lösungsmittelgemisch, auf Temperaturen von etwa 40°C bis etwa 60°C, und dann langsam, d.h. über einen Zeitraum von etwa 0,5 bis etwa 20 h auf eine Temperatur abkühlt, bei der die selektive Kristallisation des Coenzym Q₁₀ einsetzt. Gewünschtenfalls kann die Kristallisation durch weiteres Absenken der Temperatur vervollständigt werden.

[0027] Alternativ oder in Ergänzung dazu ist es auch möglich, eine wie vorstehend beschriebene Lösung des zur trennenden Stoffgemisches in einem geeigneten Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch vorzulegen und die erfindungsgemäß bevorzugte selektive Kristallisation durch Zugabe eines weiteren Lösungsmittels bzw. Lösungsmittelgemisches auszulösen. Dabei können u.a. sowohl die Kristallisationstemperatur als auch die Zugabeweise variiert werden.

[0028] Durch das erfindungsgemäße Verfahren gelingt es, Coenzym Q₁₀ in reiner bzw. angereicherter Form, d.h. mit einem Gehalt von mindestens etwa 75 Gew.-%, bevorzugt von etwa 80 bis etwa 100 Gew.-%, insbesondere von etwa 90 bis etwa 99,5 Gew.-%, besonders bevorzugt von etwa 95 bis etwa 99,5 und am meisten bevorzugt von etwa 98 bis etwa 99,5 Gew.-% bereitzustellen.

[0029] Die Analyse der als Ausgangsstoffe bzw. als Produkte des erfindungsgemäßen Verfahrens genannten Gemische von Verbindungen der Formeln (I) und (II) ist aufgrund der großen chemischen und physikalischen Ähnlichkeit der Moleküle, die sich nur durch die Anordnung von wenigen der 50 Kohlenstoffatome der Seitenkette unterscheiden, nur mit großem apparativem Aufwand möglich. Geeignete Verfahren zur Analyse ähnlicher, Coenzym Q₁₀ enthaltender Stoffgemische sind beschrieben in USP 27, Official Monographs, Seite 2039 sowie in European Pharmacopeia 5.0, Seite 2657.

[0030] Eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens betrifft die Isolierung, d.h. Trennung in präparativem Maßstab, von Coenzym Q₁₀ durch Trennung von Stoffgemischen enthaltend Coenzym Q₁₀ und die Verbindung der Formel (II) mittels chromatographischer Methoden, wobei insbesondere Verfahren der Normalphasen- sowie der Umkehrphasenchromatographie in Betracht kommen.

[0031] Darüber hinaus lassen sich die genannten Gemische auch in erfindungsgemäßer Weise dadurch trennen, dass man sie mit einem Medium in Kontakt bringt, das Gruppen, Strukturen bzw. Funktionalitäten aufweist, die in der Lage sind, eine selektive Wechselwirkung mit bevorzugt einem der beiden Verbindungen der Formeln (I) und (II) auszubilden, wie sie etwa in der Affinitätschromatographie eingesetzt werden.

[0032] Zur Erzielung des gewünschten Ergebnisses kann es vorteilhaft sein, die genannten bevorzugten Trennverfahren wiederholt hintereinander, in der Regel 2 bis etwa 5 mal, bevorzugt 2 bis 3 mal hintereinander durchzuführen. Auch Kombination von verschiedenen der genannten Trennverfahren, beispielsweise eine Kristallisation mit anschließender Chromatographie kann vorteilhaft sein. Darüber hinaus kann es auch vorteilhaft sein, die Trennbedingungen wie beispielsweise die Wahl des Lösungsmittels oder die Kristallisationsbedingungen bzw. die Wahl der stationären bzw. mobilen Phase bei einer eventuellen Chromatographie in den Wie-

derholungsschritten zu variieren.

Ausführungsbeispiel

[0033] Die folgenden Beispiele dienen der Erläuterung der Erfindung, ohne sie in irgend einer Weise zu beschränken. Zur Analyse wurden die vorstehend genannten Methoden herangezogen:

Beispiel 1:

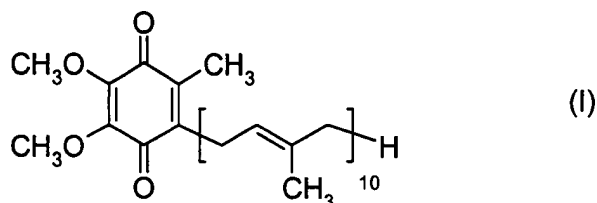
[0034] 2,43 g eines säulenchromatographisch gereinigten Gemisches, das zu 91,28 Gew-% aus Coenzym Q₁₀ und dessen Isomeren der Formel (II) im relativen Verhältnis 91,3 zu 8,7 bestand wurden in 50 ml Ethanol gelöst, die Lösung unter Rühren auf 50°C erwärmt und anschließend innerhalb von 2 h auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurde die Lösung auf 0°C abgekühlt und die entstandenen Kristalle abfiltriert, mit gekühltem Ethanol nachgewaschen und im Vakuumtrockenschrank bei 40°C getrocknet. Man erhielt 2,01 g eines gelben Feststoffes, der zu 98,86 Gew.-% aus Coenzym Q₁₀ und dem Isomeren der Formel (II) im relativen Verhältnis von 96,7 zu 3,0 bestand.

Beispiel 2:

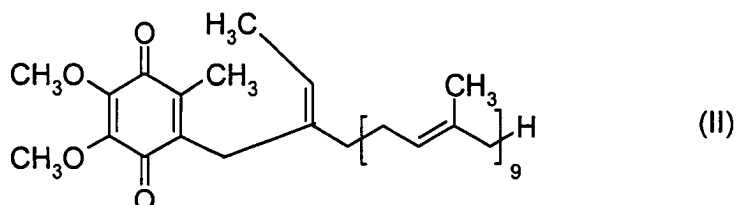
[0035] 1,32 g des in Beispiel 1 erhaltenen Produktes wurden in 25 ml Ethanol gelöst, die Lösung unter Rühren auf 50°C erwärmt und anschließend innerhalb von 2 h auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurde die Lösung auf 0°C abgekühlt und die entstandenen Kristalle abfiltriert, mit gekühltem Ethanol nachgewaschen und im Vakuumtrockenschrank bei 40°C getrocknet. Man erhielt 1,28 g eines gelben Feststoffes, der zu 96,9 Gew.-% aus Coenzym Q₁₀ und dem Isomeren der Formel (II) im relativen Verhältnis von 98,7 zu 1,2 bestand.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Isolierung von Coenzym Q₁₀ der Formel (I)



durch Trennung von Stoffgemischen enthaltend Coenzym Q₁₀ und die Verbindung der Formel (II)



2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Trennung eine selektive Kristallisation von Coenzym Q₁₀ aus einer Lösung von Coenzym Q₁₀ und die Verbindung der Formel (II) enthaltenden Stoffgemischen durchführt.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man die Kristallisation aus Ethanol und/oder Aceton als Lösungsmittel enthaltenden Lösungen der genannten Stoffgemische durchführt.

4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass man die Kristallisation aus einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch vornimmt, das zu 70 bis 100 Vol.-% aus Ethanol besteht.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass man die Kristallisation bei Temperaturen im Bereich von -20°C bis 80°C vornimmt.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass man Lösungen einsetzt, die, bezogen auf die gesamte Lösung, 1 bis 25 Gew-% des genannten Stoffgemisches enthalten.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass man Stoffgemische einsetzt, die als gewichtsmäßige Hauptkomponente Coenzym Q₁₀ enthalten.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass man Stoffgemische einsetzt, die zu 90 bis 99 Gew.-% aus den Verbindungen der Formeln (I) und (II) bestehen.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass man Stoffgemische einsetzt, in denen Coenzym Q₁₀ der Formel (I) und die Verbindung der Formel (II) im molaren Verhältnis von 85:15 bis 99:1 vorliegen.

10. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Trennung eine Chromatographie durchführt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen