

URZĄD PATENTOWY w WARSZAWIE OPIS PATENTOWY

Nr 30314

Kl. 12 o, 25 07

Schering Aktiengesellschaft, Berlin

CoFe 169/02

**Sposób wytwarzania transestradiolu (folikulosteronu) lub podobnych, lecz uboższych
w wodór związków, jak również ich pochodnych**

Patent dodatkowy do patentu nr 21271

Zgłoszono 15 lutego 1938

Udzielono 12 stycznia 1942

Pierwszeństwo: 16 lutego 1937 dla zastrz. 1, 2 (Niemcy)

Najdłuższy czas trwania patentu do 26 marca 1950

Wiadomo, że przy redukcji grupy ketonowej w estronie (hormonie pęcherzykowym) albo w podobnych, lecz uboższych w wodór związkach, jak w ekwilinie, ekwileninie lub w ich pochodnych, jak estrach lub eterach, za pomocą metod chemicznych, np. na drodze katalitycznej albo za pomocą wodoru in statu nascendi, powstaje mieszanina izomerycznych, fizjologicznie bardzo czynnych estradioli (hormonów pęcherzykowych) lub podobnych, lecz uboższych w wodór związków względnie ich pochodnych. Przy stosowaniu tych metod chemicznych tworzy się jednak nie tylko

mieszanina izomerów o różnym działaniu fizjologicznym, lecz przy nieodpowiednim doborze warunków reakcji może ulec uwodornieniu pierścieni aromatyczny w cząsteczce hormonu i wskutek tego zostanie zniweczone samo działanie estronu (hormonu pęcherzykowego).

Stwierdzono, że stosując biochemiczne metody redukcji, opisane np. w dziele Oppenheimera „Methoden der Fermente”, 1929, str. 1212 przez Neuberg’a i Gross’a, unika się nie tylko możliwości uwodornienia pierścienia aromatycznego, lecz również wskutek asymetrycznego przebiegu bioche-

micznego procesu redukcyjnego nadspodziewanie tworzy się ściśle określony fizjologicznie czynny izomer optyczny. Według wynalazku otrzymuje się mianowicie przez redukcję estronu zasadniczo bardzo czynną postać „trans” estradiolu, podczas gdy za pomocą dotychczas znanych metod redukcji otrzymywano w ogóle mieszaniny związków „cis” i „trans”.

Aczkolwiek zastosowanie biochemicznych procesów redukcyjnych do przeprowadzania ketonów w alkohole samo przez się nie jest rzeczą nową, to jednak w danym przypadku fakt stosowania tych procesów do wytwarzania fizjologicznie czynnych substancji o ściśle określonych właściwościach optycznych i o największym stopniu czystości stanowi bardzo cenną zdobycz chemiczną.

Przykład I. Zmieszano 100 g cukru inwertowanego, 600 cm³ wody i 50 g drożdży. Do mieszaniny, znajdującej się w pełnym rozwoju fermentacji, wkrapłano stopniowo wstrząsając roztwór 330 mg hormonu pęcherzykowego (estronu) o wzorze $C_{18}H_{22}O_2$ w 40 cm³ alkoholu. Po wprowadzeniu całej ilości roztworu hormonu pęcherzykowego mieszaninę poddano w dalszym ciągu fermentacji w temperaturze zwykłej (18—20°C) w ciągu około 40—45 godzin, po czym dodano ponownie 20 g cukru inwertowanego, 200 cm³ wody i 20 g drożdży.

Po upływie około 90 godzin fermentacja została zasadniczo zakończona i, gdy już roztwór reakcyjny w słabym stopniu redukował roztwór Fehlinga, ciecz zlano z drożdży, po czym ciecz i drożdże wyciągano kilkakrotnie eterem. Połączone roztwory eterowe odparowano, suchą pozostałość rozpuszczono w alkoholu i z roztworu alkoholowego wydzielono w sposób znany ewentualnie hormon pęcherzykowy (estron), który nie wszedł w reakcję, w postaci semikarbazonu. Pozostałość otrzymaną po odparowaniu ługu macierzystego

wydzielonego semikarbazonu oczyszczono przez przekrystalizowanie z alkoholu ewentualnie po destylacji w próżni pod bardzo zmniejszonym ciśnieniem i w ten sposób otrzymano bardzo czynny fizjologicznie hormon dwuhydropęcherzykowy jako transestradiol o wzorze $C_{18}H_{24}O_2$ o punkcie topnienia 174° C.

Przykład II. 200 mg octanu estronu rozpuszczono w 20 cm³ alkoholu i roztwór ten wprowadzono stopniowo do roztworu 40 g cukru trzcinowego w 300 cm³ wody wodociągowej, znajdującego się w stanie pełnej fermentacji pod działaniem 20 g drożdży piekarskich. Po dwudniowej fermentacji do masy fermentującej dodano jeszcze 40 g cukru trzcinowego, rozpuszczonego w 50 cm³ wody, a następnie pozostawiono całą tę masę do fermentowania w temperaturze pokojowej w ciągu 5 dni. Następnie przerwano fermentację i poddano masę fermentowaną wyczerpującemu wyciąganiu eterem. Roztwór eterowy przeemyto wodą, wysuszono ponad siarczanem sodowym i odparowano eter. Pozostałość, która stanowiła mieszaninę, poddano rozdzielaniu na składniki będące ketonami i składniki nie będące ketonami, czyli substancje uwodornione, za pomocą odczynnika Girarda T(5) na ketony. W tym celu rozpuszczono pozostałość w 30 cm³ absolutnego alkoholu, dodano 3 g lodowatego kwasu octowego oraz 1,5 g odczynnika T na ketony i gotowano mieszaninę w ciągu godziny. Następnie masę reakcyjną wylano do 200 cm³ wody, zawierającej tyle ługu sodowego, ażeby można było zobojętnić 2,7 g lodowatego kwasu octowego, po czym trzykrotnie wyciągano eterem. Roztwór eterowy, zawierający składniki nie będące ketonami, czyli uwodornione, przeemyto wodą, wysuszono ponad siarczanem sodu i odparowano eter. Po przekrystalizowaniu z alkoholu otrzymano 118 mg transestradiolu o punkcie topnienia 173 — 174° C (bez poprawki).

Wodny roztwór, pozostały po reakcji za pomocą odczynnika Girarda, zadano 10 g kwasu siarkowego i po 2 godzinach wyciągnięto eterem, przy czym można było odzyskać 30 mg estronu.

Przykład III. 200 mg propionianu estronu potraktowano i przerobiono dokładnie w taki sam sposób, jak w przykładzie II. Otrzymano 110 mg transestradiolu o punkcie topnienia $173 - 174^{\circ}$ i 28 mg estronu.

Przykład IV. 200 mg *n*-maślanu estronu potraktowano i przerobiono, jak wyżej, otrzymując 108 mg transestradiolu o punkcie topnienia $173 - 174^{\circ}$ i 28 mg estronu.

Wydzielanie produktu redukcji z mieszaniny fermentacyjnej można przeprowadzać w inny niż opisany powyżej sposób, jak to jest wiadomo chemikowi obeznanemu z procesem fermentacyjnym. Warunki redukcji, jak również stosowane drobnoustroje, można zmieniać bez wykraczania poza zakres wynalazku.

Można również pracę prowadzić w obecności substancji pobudzających fermentację, np. soli, jak pierwszorzędowego lub drugorzędowego fosforanu sodowego, węglanu wapniowego lub związków zawierających azot, które przyspieszają rozwój ustrojów fermentacyjnych.

Podobnie otrzymuje się przy stosowaniu ekwiliny lub ekwileniny, octanu, propionianu lub maślanu estronowego, eteru estronobenzyłowego i innych pochodnych estronu (hormonu pęcherzykowego) odpowiednie produkty redukcji, w których grupa karbonylowa została przeprowadzona w drugorzędową grupę alkoholową $>CH.OH$.

•Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób wytwarzania transestradiolu (folikulosteronu) lub podobnych, lecz uboższych w wodór związków, jak również ich pochodnych, według patentu nr 21271, znamienny tym, że estron (hormon pęcherzykowy) albo jego pochodne poddaje się biochemicznym procesom redukcyjnym.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że redukcję przeprowadza się za pomocą drożdży.

3. Sposób według zastrz. 1 — 2, znamienny tym, że do redukcji enzymatycznej jako materiał wyjściowy do fermentacji stosuje się drobnoustroje.

4. Sposób według zastrz. 1 — 3, znamienny tym, że do enzymatycznej redukcji stosuje się jako materiał wyjściowy do fermentacji roztwór cukru.

5. Sposób według zastrz. 1 — 4, znamienny tym, że wspomnianego materiału wyjściowego dodaje się do wodnej zawiesiny cukru i drożdży, mieszaninę reakcyjną poddaje fermentacji, roztwór reakcyjny po skończonej fermentacji wyciąga się rozpuszczalnikiem organicznym, np. eterem, w którym transestradiol jest rozpuszczalny, i wydziela się ten hormon z wyciągu.

6. Sposób według zastrz. 1 — 3, znamienny tym, że transestradiol oddziela się w wyciągu od nie weszłego do reakcji materiału wyjściowego za pomocą odczynnika na ketony i niezmieniony materiał wyjściowy odzyskuje się z powrotem.

Schering Aktiengesellschaft
Zastępca: M. Skrzypkowski
rzecznik patentowy