



Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 05.VII.1965 (P 109 895)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 8.III.1968

Kl. 12 o, 25/04

Co7c 167/42

MKP C 07 f

UKD

Współtwórcy wynalazku: mgr Sabina Raczkowska, mgr inż. Zdzisław Zakrzewski, mgr inż. Wiesław Lewenstein
Właściciel patentu: Instytut Farmaceutyczny, Warszawa (Polska)

**Sposób rozdzielania mieszaniny, 17 α -metylotestosteronu
i 1-dehydro- 17 α -metylotestosteronu**

1 Przedmiotem wynalazku jest sposób rozdzielania mieszaniny 17 α -metylotestosteronu i 1-dehydro- 17 α -metylotestosteronu otrzymanej w wyniku odwodornienia 17 α -metylotestosteronu, prowadzonego w znany sposób metodami chemicznymi lub na drodze biokonwersji.

Surowy produkt reakcji odwodornienia zawiera produkty uboczne i substancje balastowe. Uwolnienie się od tych zanieczyszczeń chociaż uciążliwe, jest w zasadzie możliwe. Podstawowym problemem jest jednak oczyszczenie produktu od nieprzereagowanego substratu.

Ze względu na znaczne podobieństwo tak chemicznych jak i fizycznych właściwości obu tych związków, rozdzielenie ich jest bardzo trudne i 15 niekiedy tylko możliwe, na przykład sposobem podziału breczki pofermentacyjnej między fazy, bądź sposobem selektywnej hydrolizy semikarbazonów.

Znany z opisu patentowego nr 51535 sposób rozdzielania mieszaniny składającej się ze sterydu mającego ugrupowanie Δ^4 -3-ketonu oraz sterydu o ugrupowaniu $\Delta^{1,4}$ -3-ketonu, polega na przeprowadzeniu obu tych sterydów w semikarbazony, a następnie na selektywnej hydrolizie semikarbazonów za pomocą mocnych kwasów mineralnych. W wyniku tej hydrolizy powstaje mieszanina wolnego Δ^4 -3-ketonu, oraz semikarbazonu $\Delta^{1,4}$ -3-ketonu, którą rozdziela się chromatograficznie na 20 tlenku glinowym. Z otrzymanego semikarbazonu

2 uwalnia się $\Delta^{1,4}$ -3-keton za pomocą aldehydu mrówkowego.

Okazało się, że w przypadku rozdzielania mieszaniny 17 α -metylotestosteronu o ugrupowaniu Δ^4 -3-ketonu i 1-dehydro-17 α -metylotestosteronu o ugrupowaniu $\Delta^{1,4}$ -3-ketonu możliwe jest selektywne przeprowadzenie w semikarbazon tylko 17 α -metylotestosteronu, a następnie oddzielenie semikarbazonu od wolnego 1-dehydro-17 α -metylotestosteronu przez wykorzystanie różnic polarności obu związków. Sposób ten jest prosty i tani oraz zezwala na dokładne rozdzielenie mieszaniny tych sterydów z wysoką wydajnością.

Sposobem według wynalazku surowy produkt odwodornienia 17 α -metylotestosteronu bezpośrednio po wydzieleniu go ze środowiska reakcji, poddaje się reakcji semikarbazonowania. W tym celu najpierw rozpuszcza się go w niższym alkoholu alifatycznym, np. metylowym i dodaje wody.

W przypadku uzyskania mętnego roztworu ogrzewa się mieszaninę do temperatury 60° i utrzymuje w tej temperaturze aż do sklarowania. Do sklarowanego roztworu wkrapla się w ciągu 15 minut alkoholowy roztwór octanu semikarbazynu w nadmiarze nie większym niż 10% w stosunku do 17 α -metylotestosteronu, mieszając w czasie wkrapiania. Następnie utrzymuje się mieszaninę reakcyjną w temperaturze pokojowej przez kilkanaście godzin, względnie przez krótszy 25 okres czasu w wyższej temperaturze, np. w tem-

peraturze wrzenia mieszaniny reakcyjnej w ciągu 1 godziny. Po upływie tego czasu, który jak się okazało wystarcza do przereagowania w sposób wybiórczy Δ^4 -3-ketonu z semikarbazydem, oddestylowuje się rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Pod koniec destylacji korzystne jest dodawanie niewielkiej ilości bezwodnego alkoholu etylowego w celu dokładniejszego azeotropowego usunięcia resztek wody.

Suchą pozostałość rozpuszcza się w chloroformie i roztwór wprowadza na kolumnę wypełnioną tlenkiem glinowym, doprowadzając do całkowitego zaadsorbowania substancji sterydowych. Eluuje się je następnie selektywnie rozpuszczalnikami organicznymi. Eluacji ulega najpierw wolny keton, a następnie semikarbazon drugiego ketonu. Po oddestylowaniu rozpuszczalników z połączonych frakcji eluatów zawierających 1-dehydropochodną otrzymuje się chromatograficznie czysty 1-dehydro-17 α -metylotestosteron z wydajnością około 85% w stosunku do pierwotnej zawartości tego ketonu w rozdzielanej mieszaninie.

Natomiast z eluatów zawierających semikarbazon Δ^4 -3-ketosterydu oddestylowuje się rozpuszczalnik, a suchą pozostałość poddaje się np. reakcji hydrolizy za pomocą mocnego kwasu mineralnego, takiego jak kwas siarkowy, uzyskując w ten sposób wolny 17 α -metylotestosteron z wydajnością około 80%.

Przykład. 1 g substancji sterydowej, pochodzącej z reakcji odwodorniania 17 α -metylotestosteronu w pozycji 1—2, a stanowiącej mieszaninę tego sterydu z 1-dehydro-17 α -metylotestosteronem, rozpuszcza się w 8 ml metanolu i dodaje 2 ml wody. Do klarownego roztworu w ciągu 15 minut wkrapla się 0,098 g octanu semikarbazydu w postaci roztworu w bezwodnym etanolu przy równoczesnym mieszaniu. Mieszaninę reakcyjną utrzymuje się w temperaturze pokojowej przez 12 godzin, po czym oddestylowuje rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, a do pozostałości dodaje niewielką ilość etanolu bezwodnego

i oddestylowuje powtórnie, aby pozbyć się w ten sposób resztek wody. Suchą pozostałość rozpuszcza się w niewielkiej ilości chloroformu i nanosi roztwór na kolumnę wypełnioną tlenkiem glinowym o aktywności III. Produkty sterydowe eluuje się kolejno benzenem, a następnie mieszaninami benzen-chloroform, sporządzonymi w stosunkach 9:1, 8:2 i 7:3, po czym etanolem bezwodnym. Eluaty benzenowe i benzenowo-chloroformowe zawierają wolny 1-dehydro-17 α -metylotestosteron, natomiast eluat alkoholowy zawiera semikarbazon 17 α -metylotestosteronu. Z połączonych frakcji eluatów zawierających 1-dehydropochodną oddestylowuje się rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, uzyskując chromatograficznie czysty 1-dehydro-17 α -metylotestosteron z wydajnością 85% w stosunku do pierwotnej zawartości tego ketonu w rozdzielanej mieszaninie. Z eluatu etanolowego, zawierającego semikarbazon sterydu oddestylowuje się rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, a z suchej pozostałości regeneruje 17 α -metylotestosteron przez hydrolizę semikarbazonu kwasem siarkowym z wydajnością 77%.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób rozdzielania mieszaniny 17 α -metylotestosteronu i 1-dehydro-17 α -metylotestosteronu, otrzymanej w wyniku odwodornienia 17 α -metylotestosteronu w pozycji 1,2 metodami chemicznymi lub na drodze biokonwersji, **znamienny tym**, że mieszaninę rozpuszczoną w niższym alkoholu alifatycznym na przykład metanolu z dodatkiem wody, zadaje się octanem semikarbazydu w nadmiarze nie większym niż 10% w stosunku do 17 α -metylotestosteronu, rozpuszczalnik odparowuje się, po czym chromatograficznie oddziela wolny 1-dehydro-17 α -metylotestosteron od semikarbazonu 17 α -metylotestosteronu, z którego następnie regeneruje się wolny 17 α -metylotestosteron w znany sposób.