

NORGE



STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

Patent nr. 124071

Int. Cl. C 07 d 9/00 kl. 12q-24

Patentsøknad nr. 2281/70 Inngitt 11.6.1970
Løpedag 1.2.1966
Søknaden alment tilgjengelig fra 1.7.1968
Søknaden utlagt og utlegningsskrift utgitt 28.2.1972
Patent meddelt 8.6.1972
Prioritet begjært fra: 15.2.1965 USA, nr. 432826
Avdelt fra søknad nr. 161.513

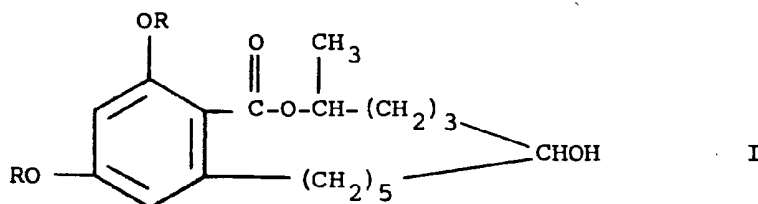
Commercial Solvents Corporation,
Terre Haute, Ind. 47808, USA.

Oppfinnere: Edward Butler Hodge, 2906 Oak Street,
Phil H. Hidy, 2340 Putnam Avenue og
Herbert Louis Wehrmeister, 2711 Deming Street,
alle: Terre Haute, Ind., USA.

Fullmektig: Dr. ing. K. O. Berg.

Fremgangsmåte til fremstilling av substituerte benzoesyre-
lactoner.

Foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte for å fremstil-
le substituerte benzoesyrelactoner med østrogen virkning og
egnet som hjelpemidler til å øke veksthastigheten hos kjøtt-
produserende dyr. Disse forbindelser har den generelle for-
mel I,

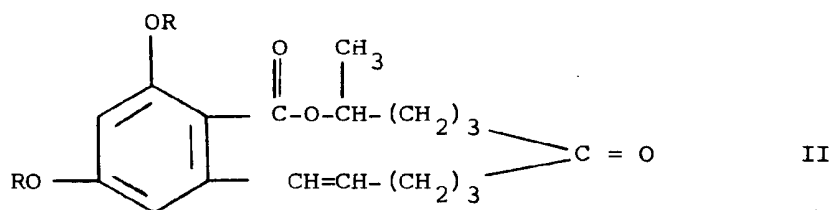


hvor R betegner hydrogen eller en alkylgruppe med
1 - 6 karbonatomer, og
R-gruppene er like eller forskjellige.

Disse hittil ukjente substituerte benzoesyrelactoner har vist seg å ha østrogen virkning, som gjør dem egnet som terapeutika og som midler til forøkelse av veksthastigheten hos kjøttproduserende dyr, slik som kveg, lam og svin.

De omhandlede forbindelser foreligger i diastereoisomere former, og når R betegner hydrogen, har den ene diastereoisomere en tre til fire ganger så kraftig østrogen virkning som den andre. De diastereoisomere kan skjernes fra hverandre ved deres smeltepunkt, og da den høyere smeltende er mindre oppløselig i eksempelvis blandinger av 2-propanol og vann, kan de diastereoisomere adskilles.

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen til fremstilling av de omhandlede forbindelser er karakterisert ved at en forbindelse med formel II,



hvor R har den ovenfor angitte betydning, utsettes for hydrogenering ved et hydrogentrykk på mellom 1 og 100 atmosfærer i nærvær av en Raney-nikkel-katalysator i en mengde på 0,1 til 5 gram katalysator pr. grambenzoesyrelacton.

Hydrogeneringen utføres i nærvær av den forbindelse som skal reduseres, suspendert eller oppløst i et egnet oppløsningsmiddel, slik som en alkohol som metanol eller etanol. Hydrogeneringen kan foretas ved omgivelsestemperatur. Hensiktsmessig er temperaturen fra 15 - 40°C.

Det som utgangsmateriale anvendte benzoesyrelacton der begge $R = H$, er kjent under betegnelsen F.E.S.-forbindelsen (Fermentation Estrogenic Substance), fordi en velegnet metode til forbindelsens fremstilling består i på et egnet næringsmedium å dyrke organismen *Gibberella zeae* (Gordon) deponert hos Northern Utilization Research and Development Division of the United States Department of Agriculture under nummer NRRL-2830. Denne fremstillingsmetode for utgangsmaterialet er omtalt nærmere i britisk patent nr. 951.349.

Ved fremstilling av de utgangsstoffer hvori ihvertfall en R-gruppe betegner en alkylgruppe, er det hensiktsmessig at det som alkyleringsmiddel anvendes et dialkylsulfat i flytende medium. Dette er en enkel alkyleringsmetode, med hvilken man etter ønske kan fremstille både de forbindelser hvor bare den ene gruppe R betegner en alkylgruppe, og de forbindelser hvor R-gruppene begge betegner alkylgrupper. Også andre almindelige alkyleringsmetoder er anvendelige.

Ved fremstilling av de forbindelser hvor bare den ene gruppe R betegner en alkylgruppe, oppnås der en utmerket selektiv alkylering når et diazoalkan anvendes som alkyleringsmiddel.

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen skal beskrives nærmere gjennom følgende eksempler.

EKSEMPEL 1

0,5 g av benzoesyrelactonet med forel II der begge R er H, ble oppløst i 200 ml etanol, og det ble hydrogenert med hydrogen i 3 timer ved 30°C og ca. 70 atmosfærer under anvendelse av 2 g Raney-nikkel som katalysator. Etter filtrering og konsentrering av reaksjonsblandingen ble inndampningsresten vasket med 2 - 3 ml 2-nitropropan og krystallisert. Det vundne produkt var det ved både olefinbindingen og ketogruppen reduserte benzoesyrelacton, smp. $143 - 160^{\circ}\text{C}$.

EKSEMPEL 2

Reduksjonen av benzoesyrelactonet med formel II der begge R er H, ble foretatt i metanol ved 30°C og ca. 70 atmosfærers hydro-

gentrykk i 5 timer under anvendelse av Raney-nikkel-katalysator, hvorved vantes et produkt som etter flere krystallisasjoner av 2-nitropropan og nitrometan ga det tetrahydrerte benzoesyrelacton med smp. 141-143°C og følgende analyse:

	Beregnet ($C_{18}H_{26}O_5$)	Funnet
% C	67,1	67,2
% H	8,14	8,28

EKSEMPEL 3

Reduksjonen av 1 g av benzoesyrelactonet med formel II der begge R er H, ble foretatt i 150 ml etanol ved romtemperatur og ca. 3,5 atmosfærer hydrogen i 4 timer i nærvær av en liten mengde Raney-nikkel (ca. 1 ml av en tykk suspensjon i vann). Produktet ble konsentrert, behandlet med 5 ml 2-propanol, avkjølt og filtrert. Filtratet ble blandet med 5 ml vann, henstillet natten over, avkjølt og filtrert, hvorved vantes 0,65 g produkt med smp. 147 - 157°C. Dette produkt ble omkrystallisert to ganger av blandinger av 2-propanol og vann, hvorved vantes 0,18 g av et produkt med smp. 178 - 180°C. Et produkt med smp. 146 - 148°C og veiende 0,22 g vantes fra filtratet etter den første omkrystallisasjon av produktet veiende 0,65 g. Reduksjonen av ketogruppen innfører et asymmetrisk karbonatom, og de to produkter var de to diastereoisomere av det tetrahydrerte benzoesyrelacton. Den spesifikke dreining hos de to produkter var (1) for produktet med smp. 178 - 180°C $[\alpha]_D^{25} = \text{ca. } +46^\circ$, f.eks. $+46,50^\circ$ (c = 1 % i metanol), og (2) for produktet med smp. 146 - 148°C $[\alpha]_D^{25} = \text{ca. } +39^\circ$, f.eks. $38,75^\circ$ (c = 1 % i metanol).

Eksemplene 4 og 5 illustrerer også fremstilling av de utgangsstoffer der den ene R er metyl.

EKSEMPEL 4

5 ml dimetylsulfat ble satt til en oppløsning av 2,24 g av benzoesyrelactonet med formel II der begge R er H, i 80 ml av en 10 %'s natriumhydroksydoopløsning og 20 ml vann. Blandingen ble omrørt i en 1/2 time ved 18 - 20°C (kjølebad), og der ble

tilsatt ytterligere 5 ml dimetylsulfat. Etter ytterligere 70 minutters omrøring ved 20 - 26°C ble det faste bunnfall frafiltrert, og filtratet ble syrnet med 25 ml 12-n svovelsyre, hvorved vantes et bunnfall som ble oppsamlet, vasket med vann og tørret. Produktet som veide 1,39 g og hadde smp. 152 - 162°C, ble omkrystallisert to ganger av en blanding av vann og alkohol, hvorved vantes 0,80 g av den ved R monometylsubstituerte benzoesyrelacton med smp. 169 - 174°C. Analyse av stoffet viste:

	Beregnet ($C_{19}H_{24}O_5$)	Funnet
% C	68,65	67,97
% H	7,28	7,16
% OCH_3	9,34	9,28

Olefinbindingen og ketogruppen av dette monometylsubstituerte benzoesyrelacton ble redusert ved fremgangsmåten ifølge eksempel 3, smp. 184 - 186°C.

EKSEMPEL 5

Nitrosometylurinstoff i en mengde på 1,2 g ble langsomt satt til en kald blanding av 3,6 ml 50 %'s kaliumhydroksydoppløsning og 17 ml eter. Etter noen få minutter ble det gule eterlag av blandingen dekantert, tørret over kaliumhydroksyd og deretter satt til en oppløsning av 0,30 g av benzoesyrelactonet med formel II der begge R = H, i 17 ml eter. Den resulterende gule blanding ble henstillet natten over i en løst tilproppet kolbe, og eter og diazometan ble deretter fordampet på dampbad. Den resterende gummiaktige inndampningsrest ble krystallisert ved tilsetning av 3 ml vann, oppvarming til 60°C og tilsetning av etanol til nesten oppløsning. Ved avkjøling dannet det seg krystaller, hvorved vantes 0,137 g av et produkt med smp. 111 - 116°C, som ble omkrystallisert på samme måte, hvorved vantes 0,082 g av det ved R monometylsubstituerte benzoesyrelacton med smp. 120 - 122°C og følgende analyse:

124071

6

	Beregnet ($C_{19}H_{24}O_5$)	Funnet
% C	68,7	68,3
% H	7,28	7,38
% OCH_3	9,34	9,17

Olefinbindingen og ketogruppen av dette monometylsubstituerte benzoesyrelacton ble redusert ved fremgangsmåten ifølge eksempel 3, smp. 89 - 91°C.

I det følgende illustreres virkningen av de omhandlede forbindelser ved musuterin-prøven. Ved musuterin-prøven blir en oppløsning av forsøksforbindelsen anbragt på en pulverisert standardrasjon for mus, og oppløsningsmidlet fjernes ved fordampning, hvorved det oppnås en tørr rasjon inneholdende en kjent vektmengde stoff pr. gram rasjon. Denne rasjon fores deretter på ovarieectomiserte mus med en vekt på ca. 20 g i en mengde på 3 g pr. mus pr. dag over en periode på 5 dager, hvorvetter musen veies, og uteri fjernes og veies. En forøkelse av vekten av uterus i forhold til vekten av uterus hos kontrolldyr viser tilstedeværelse av østrogen virkning hos forsøksforbindelsen. Størrelsen av forøkelsen er proporsjonal med vekten av konsumert østrogen forbindelse. Fremgangsmåten kan anvendes som kvantitativ prøve ved sammenligning med resultater oppnådd med en ren form av den østrogene forbindelse som undersøkes.

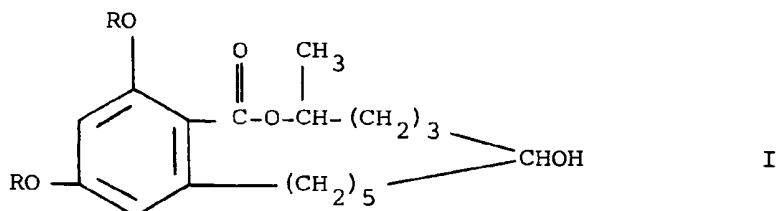
Ved en prøve omfattende 10 mus med kontrollmus med en gjennomsnittlig uterusvekt på 11,6 mg var, når produktet ifølge eksempel 3 med smp. 178 - 180°C ble tilsatt, i en mengde på 3,125 mikrogram pr. gram fôr, uterusvekten 21,4 mg i gjennomsnitt. Ved 6,25 mikrogram pr. gram fôr var den gjennomsnittlige uterusvekt 26,8 mg. Anvendes det i fôret i stedet for nevnte aktive forbindelse det tilsvarende ikke-reduerte benzoesyrelacton, var ved et vektinnhold i fôret på 6,25 mikrogram pr. gram fôr den gjennomsnittlige uterusvekt 16,54 mg. Den oppnådde forøkelse av uterusvekten uttrykt i prosent, idet den med det ikke-reduerte benzoesyrelacton oppnådde forøkelse settes til 100 %, var således 307,69 %. Ved 3,125 mikrogram pr. gram fôr

var resultatet uttrykt på nevnte prosentbasis 445,5 % (virkningen av det ikke-reduserte benzoesyrelacton beregnet ved ekstrapolasjon).

Ved en prøve igjen omfattende 10 mus med kontrollmus med en gjennomsnittlig uterusvekt på 11,6 mg var, når produktet ifølge eksempel 3 med smp. 146 - 148°C ble tilsatt i en mengde på 3,125 mikrogram pr. gram fôr, uterusvekten 15,0 mg i gjennomsnitt. Sammenlignet med virkningen av det ikke-reduserte benzoesyrelacton ved nivået på 6,25 mikrogram pr. gram fôr var resultatet 123,9 % uttrykt på ovennevnte prosentbasis og sammenlignet med den ved ekstrapolasjon beregnede virkning av det ikke-reduserte benzoesyrelacton anvendt i en mengde på 3,125 mikrogram pr. gram fôr var resultatet 154,5 %.

P a t e n t k r a v

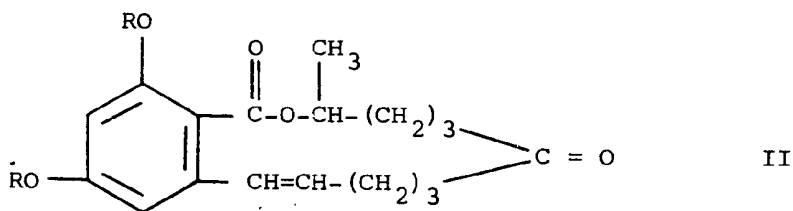
Fremgangsmåte for å fremstille substituerte benzoesyrelactoner med den generelle formel I,



hvor R betegner hydrogen eller en alkylgruppe med 1 - 6 karbonatomer, og

R-gruppene er like eller forskjellige,

k a r a k t e r i s e r t v e d a t e n f o r b i n d e l s e
med formel II,



124071

8

hvor R har den ovenfor angitte betydning,
utsettes for hydrogenering ved et hydrogentrykk på mellom 1 og
100 atmosfærer i nærvær av en Raney-nikkel-katalysator i en
mengde på 0,1 til 5 gram katalysator pr. gram benzoesyrelacton.

Anførte publikasjoner: -