

URZĄD PATENTOWY w WARSZAWIE OPIS PATENTOWY

Nr 31687

Kl. 12 o, 25/01

Schering A. G., Berlin

CoFo 169/20

**Sposób uwodorniania związków
szeregu cyklopentanowielohydrofenantrenowego, zawierających grupy ketonowe**

Zgłoszono 26 lutego 1938

Udzielono 16 kwietnia 1943

Pierwszeństwo: 27 lutego 1937 (Niemcy)

Wynalazek niniejszy dotyczy sposobu uwodorniania związków szeregu cyklopentanowielohydrofenantrenowego, zawierających grupy ketonowe, na drodze biochemicznej i otrzymywania związków tegoż szeregu zawierających grupy wodorotlenowe.

Uwodornianie za pomocą procesów biochemicznych wykonywa się metodami znanymi, na przykład w ten sposób, że materiał wyjściowy, przeznaczony do uwodornienia, wprowadza się stopniowo albo od razu do środowiska, w którym odbywa się fermentacja redukująca. Jako środki powodujące fermentację redukującą stosuje

się drobnoustroje względnie enzymy z nich otrzymywane, zwłaszcza korzystne jest np. stosowanie drożdży górnych.

Za pomocą biochemicznego procesu uwodorniania udaje się według wynalazku, zależnie od rodzaju użytego materiału wyjściowego, w sposób stosunkowo prosty i z dobrą wydajnością wytwarzać produkty cenne pod względem fizjologicznym, które na drodze czysto chemicznej można otrzymywać przeważnie z trudnością względnie z małą zaledwie wydajnością.

Tak więc np. za pomocą biochemicznego procesu uwodorniania można androsteron przeprowadzić łatwo w cis-androstan-

diol, dehydroandrosteron zaś — w androstendiol.

Sposób biochemicznego uwodorninania jest w myśl wynalazku szczególnie odpowiedni w zastosowaniu do wielooksozwiązków szeregu cyklopentanowielohydrofenantrenowego, zwłaszcza w zastosowaniu do związków, w których w położeniu sprzężonym względem jednej z grup ketonowych znajduje się podwójne wiązanie pomiędzy dwoma atomami węgla, jak to ma miejsce np. w $\Delta_{1,2}$ -androstendionie-3,17 oraz w $\Delta_{4,5}$ -androstendionie-3,17.

Z $\Delta_{4,5}$ -androstendionu-3,17 otrzymuje się za pomocą biochemicznego procesu uwodorniania według wynalazku szczególnie cenny produkt, a mianowicie $\Delta_{4,5}$ -androstenol-17-on-3, czyli tak zwany testosteron. A więc w tym przypadku nieoczekiwanie uwodorniona zostaje tylko grupa ketonowa, znajdująca się przy 17 atomie węgla, natomiast grupa ketonowa, znajdująca się przy 3 atomie węgla, oraz podwójne wiązanie między 4 i 5 atomami węgla zostają nieznaruszone.

Niżej podane przykłady służą do wyjaśnienia sposobu według wynalazku.

Przykład I. Do mieszaniny, składającej się z 50 g sacharozy, 25 g drożdży piekarskich oraz 300 g wody i znajdującej się w pełnym rozwoju fermentacji, mieszając wkrapla się roztwór 150 mg $\Delta_{4,5}$ -androstendionu-3,17 w 20 cm³ alkoholu etylowego. Fermentację przeprowadza się dalej w temperaturze pokojowej w ciągu 4 dni. Następnie oddestylowuje się alkohol i pozostałą część mieszaniny łąguje się eterem. Z wyciągu eterowego odparowuje się eter, a pozostałość destyluje się w próżni pod ciśnieniem 0,001 mm Hg w temperaturze 130° — 170° C i otrzymany destylat przekryształizowuje się następnie kilkakrotnie z rozcieńczonego acetonu. Otrzymuje się z bardzo dobrą wydajnością krystaliczny testosteron topniejący w temperaturze 150° — 151° C (bez poprawki).

Przykład II. Do mieszaniny, składającej się z 50 g cukru inwertowanego, 25 g drożdży górnych (Mailanda) oraz 300 cm³ wody, znajdującej się w pełnym rozwoju fermentacji, wkrapla się wstrząsając roztwór 180 mg dehydroandrosteronu w 20 cm³ alkoholu. Całą tę masę poddaje się fermentacji w ciągu 42 godzin w temperaturze około 20° C, a następnie dodaje się 10 g cukru inwertowanego, 10 g drożdży górnych i 600 cm³ wody. Skoro fermentacja zostanie zasadniczo skończona, i ciecz już tylko w słabym stopniu będzie redukowała roztwór Fehlinga, co zazwyczaj następuje mniej więcej po 90 godzinach, zlewa się ciecz sponad osadu drożdżowego. Następnie ciecz i osad łąguje się kilkakrotnie eterem, połączone wyciągi odparowuje się i otrzymaną pozostałość oleistą poddaje się cząstkowej destylacji w próżni pod ciśnieniem 0,001 mm Hg. Frakcję powstałą, destylującą w temperaturze 140 — 180° C, przemywa się eterem naftowym, a otrzymaną przy tym zestaloną pozostałość przekryształizowuje się następnie kilkakrotnie z rozcieńczonego acetonu. Otrzymuje się 32 mg krystalicznej substancji o punkcie topnienia 178 — 179° C, która jest związkiem takim samym jak $\Delta_{5,6}$ -androstendiol.

Przykład III. Do mieszaniny, znajdującej się w pełnym rozwoju fermentacji i składającej się z 40 g cukru trzcinowego, 20 g drożdży górnych oraz 300 cm³ wody wodociągowej, często wstrząsając wprowadza się roztwór 200 mg $\Delta_{5,6}$ -androstendionu-3,17 w 20 cm³ alkoholu i całą tę masę poddaje się w dalszym ciągu fermentacji w temperaturze pokojowej w ciągu 3 dni. Następnie zlewa się ciecz sponad drożdży i łąguje ciecz i osad eterem. Wyciągi eterowe łączy się i przemywa normalnym roztworem ługu sodowego, rozcieńczonym kwasem solnym i wreszcie wodą. Pozostałość, otrzymaną po odparowaniu roztworu eterowego, przekryształizowuje się z acetonu i eteru naftowego, a następnie z acetonu

i rozcieńczonego alkoholu; otrzymuje się substancję o punkcie topnienia 163—164° C (bez poprawki) oraz o skręcalności optycznej $[\alpha]_D^{25} = + 4,3^\circ$, która jest takim samym związkiem jak izo-androstandiol.

Z cieczy macierzystej, pozostałej po pierwszej krystalizacji otrzymanej substancji z acetonu i eteru naftowego po kilkudniowym stanie wykrystalizowuje niewielka ilość substancji, która po przekrystalizowaniu z rozcieńczonego acetonu okazuje się takim samym związkiem jak $\Delta_{4,5}$ -androstenol-17-on-3.

Przykład IV. Do mieszaniny, składającej się z 40 g cukru inwertowanego, 20 g drożdży górnych i 300 cm³ wody i znajdującej się w pełnym rozwoju fermentacji, często wstrząsając wprowadza się roztwór 200 mg androstandionu-3,17 w 20 cm³ alkoholu. Mieszaninę reakcyjną poddaje się fermentacji w ciągu 3 dni w temperaturze około 22° C, następnie całą masę łąguje się eterem i roztwór eterowy przemywa się kolejno normalnym roztworem ługu sodowego, rozcieńczonym kwasem solnym i wodą. Następnie roztwór eterowy odparowuje się, a pozostałość poddaje się destylacji cząstkowej w próżni pod ciśnieniem 0,001 mm Hg. Frakcję, przechodzącą w temperaturze 140—170° C, krystalizuje się z acetonu i rozcieńczonego alkoholu; otrzymuje się przy tym substancję krystaliczną o punkcie topnienia 163—164° C czyli izo-androstandiol.

Przykład V. Do mieszaniny fermentującej, składającej się ze 150 g cukru trzcinowego, 20 g drożdży piwnych, 40 g siarczynu sodowego i 1500 cm³ wody, dodaje się roztwór 10 g soli sodowej kwasu 3,12-dwuketocholanowego. Mieszaninę reakcyjną poddaje się fermentacji w ciągu 2 miesięcy w temperaturze 35° C; w ciągu tego czasu trzykrotnie odnawia się zawartość cukru. Następnie przefermentowaną mieszaninę reakcyjną zakwasza się rozcieńczonym kwasem solnym i łąguje eterem.

Roztwór eterowy odparowuje się do sucha, a pozostałość przekrystalizowuje z rozcieńczonego alkoholu. W ten sposób otrzymuje się około 6 g kwasu 3-oksy-12-ketocholanowego o punkcie topnienia 165° C.

Przykład VI. Roztwór 2 g cholestanonu w 100 cm³ alkoholu dodaje się do silnie fermentującej mieszaniny, składającej się z 150 g cukru trzcinowego, 20 g drożdży piwnych, 30 g siarczynu sodowego oraz 1500 cm³ wody. Mieszaninę reakcyjną poddaje się fermentacji w ciągu 2 miesięcy w temperaturze 35° C i w ciągu tego czasu trzykrotnie odnawia się zawartość cukru. Następnie mieszaninę reakcyjną łąguje się eterem, roztwór eterowy przemywa się normalnym roztworem ługu sodowego, rozcieńczonym kwasem solnym i wodą, a następnie zagęszcza przez odparowywanie; pozostałość przekrystalizowuje się z alkoholu; otrzymuje się około 1,3 g cholestanolu o punkcie topnienia 141—142° C.

Zamiast wyżej wyszczególnionych produktów wyjściowych można oczywiście stosować również inne związki zawierające grupy ketonowe, o ile tylko posiadają one cyklopentanowielohydrofenantrenowy układ pierścieniowy.

Przy przeprowadzaniu opisanych biochemicznych procesów redukcyjnych można rozmaicie zmieniać w sposób znany warunki reakcji, co jest oczywiste dla fachowca. Tak więc np. w celu przyspieszenia fermentacji można do mieszaniny fermentującej dodawać środków przyspieszających fermentację, jak np. soli w rodzaju pierwszo- lub drugorzędowego fosforanu sodowego, węglanu wapnia, albo związków zawierających azot, które powodują szybszy rozwój drobnoustrojów wywołujących fermentację; w niektórych przypadkach zaleca się również dodawanie siarczynów, jak np. siarczynu sodowego lub podobnego.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób uwodorniania związków szeregu cyklopentanowielohydrofenantrenowego, zawierających grupy ketonowe, znamienny tym, że uwodornianie to uskutecznia się na drodze biochemicznej.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że jako produkty wyjściowe stosuje się wielooksozwiązki szeregu cyklopentanowielohydrofenantrenowego.

3. Sposób według zastrz. 1 lub 2, znamienny tym, że jako produkty wyjściowe stosuje się takie wielooksozwiązki szeregu cyklopentanowielohydrofenantrenowe-

go, w których w położeniu sprzężonym względem grupy ketonowej znajduje się podwójne wiązanie pomiędzy dwoma atomami węgla.

4. Sposób według zastrz. 1 — 3, znamienny tym, że jako produkt wyjściowy stosuje się $\Delta_{4,5}$ -androstendion-3,17.

5. Sposób według zastrz. 1 — 4, znamienny tym, że uwodornianie biochemiczne przeprowadza się za pomocą drożdży górnych.

S c h e r i n g A. G.

Zastępca: M. Skrzykowski
rzecznik patentowy