TẠP CHÍ HÓA HỌC T. 52(4) 443-446 THÁNG 8 NĂM 2014
DOI: 10.15625/0866-7144.2014-0009

TỔNG HỢP 21-ACETAT PREGN-4,9(11)-DIEN-17α,21-DIOL-3,20-DION

Lưu Đức Huy*, Nguyễn Thị Điệp, Phạm Thanh Thảo, Lưu Đức Hùng

Phòng thí nghiệm Hóa học Steroid và Alkaloid, Viện Hóa học,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Tòa soạn 13-01-2014

Abstract

In this paper, we present the synthesis of the 21-acetate pregna-4,9(11)-diene-17α,21-diol-3,20-dione from 9α-hydroxy androstenedione, an important intermediate for synthesis of corticoids such as hydrocortisone and prednisolone. The structure of the product and its intermediates was examined by physical methods such as: IR, MS, ^{1}H and ^{13}C NMR.

Keywords: 21-acetate pregna-4,9(11)-diene-17α,21-diol-3,20-dione, 9α-hydroxy androstenedione.

1. MỞ ĐẦU

Nghiên cứu chuyển hóa vi sinh hỗn hợp sterol đến các hợp chất 17-ceto steroid trung gian như androstendion (AD), androstadiendion (ADD), 9α-hydroxy androstendion (9α-OH AD) đang phát triển mạnh mẽ [1, 2]. Chúng tôi cũng đã công bố phương pháp hiệu quả chiết xuất tinh chế phytosterol từ phụ thải công nghiệp tinh luyện dầu đậu tương [3, 4] và chuyển hóa vi sinh chúng đến AD, ADD và 9α-OH AD [5-9]. Đã có nhiều công trình nghiên cứu tổng hợp cocticoid từ 17-cetosteroid từ 17-ceto steroid [10-16]. Chúng tôi đã công bố kết quả nghiên cứu một số phương pháp tổng hợp cocticoid từ 17-ceto steroid [17-27]. Tiếp tục hướng nghiên cứu này, trong bài báo này chúng tôi trình bày một phương án tổng hợp 21-acetat pregn-4,9(11)-dien-17α,21-diol-3,20-dion từ 9α-hydroxy androstendion, một hợp chất trung gian quan trọng để tổng hợp cocticoid như là hydrococtison và prednisolon.

2. THỰC NGHIỆM

Phần chung Điểm chảy được đo trên máy Boetius (CHDC Đức). Phổ hồng ngoại (IR) ghi trên máy FT-IR-IMPACT-410 dạng viên nén trong KBr. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy Bruker 500 MHz, chất chuẩn TMS, dung môi $CDCl_3$. Dung môi hóa chất mua của Cty Merck và Aldrich. Kiểm tra định tính dùng bản mỏng đế nhôm tráng sẵn Merck $60F_{254}$. Phổ khối lượng (MS) được ghi trên máy Agilent 6310 Ion Trap, dung môi $CHCl_3$.

Androst-4,9(11)-dien-3,17-dion II. Hợp chất **II** được tổng hợp theo phương pháp riêng của chúng tôi đã được mô tả trong [28]. Đc. (^{o}C): 201-203^{o}. Hiệu suất 95 %. Phổ IR (γ, cm^{-1}, KBr): 1732 và 1659 (C=O ở các vị trí 17 và 3) C=C ở 1616 và 1449 (C=C). Phổ ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, ppm, 500 MHz): 5,76 (br s, 1H, H-4); 5,57 (t, 1H, H-11); 1,36 (s, 3H, CH_3-19); 0,88 (s, 3H, CH_3-18).

17α-hydroxy-17β-cyanoandrost-4,9(11)-dien-3-on III. Thêm 100 ml axeton cyanhidrin và 10 ml dung dịch NaOH 3,3 M (pH = 8) vào hỗn hợp gồm 100 g hợp chất **II** trong 250 ml MeOH. Khuấy đảo hỗn hợp phản ứng trong 1 giờ ở 35 ^{o}C. Nhỏ giọt 60 ml H_2O cất vào hỗn hợp phản ứng. Để yên qua đêm, sau đó thêm tiếp 200 ml H_2O cất và khuấy đảo 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Lọc, rửa hỗn hợp phản ứng bằng bằng H_2O đến pH = 7. Đổ bỏ dịch lọc, tủa trên phễu đem sấy khô trong tủ sấy chân không ở 45 ^{o}C, nhận được 87,2 g sản phẩm **III** (Hiệu suất 80,0 %). Đc. (^{o}C): 182-183 (EtOAc). Phổ IR (γ, cm^{-1}, KBr): 3236 (O-H); 1645 (C=O ở vị trí 3); 1528 và 1452 (C=C). Phổ MS: 311 [M^+]; 284 [M-HCN]$^+$. Phổ ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, ppm, 500MHz): 5,76 (br s, 1H, H-4), 5,57 (d, 1H, H-11); 2,97 (s, 1H, OH-17); 1,34 (s, 3H, CH_3-19); 0,93 ppm (s, 3H, CH_3-18).

17α-hydroxy-3,3 (2,2-dimetylpropylendioxy)-androst-5,9(11)-dien-17β-cacbonitril IV. Hòa tan 84 g hợp chất **III** trong 300 ml CH_2Cl_2. Thêm vào dung dịch 120 g neo-pentyl glycol, 8,0 g p-TSA và 80 ml trietyl octofocmat. Cho N_2 khan qua hệ phản ứng. Khuấy đảo hỗn hợp phản ứng ở 0÷+5 ^{o}C. Sau 8 giờ dừng phản ứng, trung hòa bằng 8,0 ml trietyl amin. Thêm vào 700 ml H_2O, để yên qua đêm. Tủa được tách ra, lọc và rửa chất rắn nhận được bằng H_2O đến pH = 7. Sấy khô chất rắn là sản phẩm, nhận được 105,1 g **IV** (hiệu suất 98 %). Đc.(^{o}C): 228-231

(axeton). Phổ IR (γ, cm^{-1}, KBr): 3423 (O-H), 1673 và 1641 (C=C); 1105 (ketal). Phổ ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, ppm, 500 MHz): 5,54 (d, 1H, H-11); 5,42 (d, 1H, H-6); 3,55-3,45 (m, 4H, H-ketal); 1,19 (s, 3H, CH_3-19); 0,99 (s, 3H, CH_3-18); 0,93 (s, 6H, 2 nhóm CH_3-ketal).

Pregn-4,9(11)-dien-17α-ol-3,20-dion VI. Hòa tan 80 g sản phẩm **IV** trong 700 ml dietyl ete trong dòng N_2 khan đồng thời khuấy đảo ở nhiệt độ phòng. Thêm vào 80 ml vinyl etyl ete. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống -5÷+5 ^oC và thêm vào 8,0 g p-TSA, đồng thời khuấy đảo trong dòng N_2 khan. Sau 4 giờ thêm vào hệ phản ứng 8,0 ml Et_3N. Hạ nhiệt độ phản ứng xuống -20 ^oC để thêm vào 350 ml CH_3Li 1,6 M trong Et_2O. Nhỏ giọt CH_3Li xong thì đưa hệ phản ứng ra ngoài nhiệt độ phòng cho đến khi phản ứng đạt nhiệt độ phòng thì thêm vào hỗn hợp MeOH: H_2O:HCl (đ) = 40 ml:2 ml:2 ml. Tiếp tục nhỏ giọt hỗn hợp H_2O : HCl (đ) = 80 ml:80 ml. Chưng cất lấy Et_2O trên máy khuấy từ gia nhiệt sao cho nhiệt độ trong bình phản ứng ≤ 60 ^oC. Khi trong hệ phản ứng xuất hiện nhũ tương thì nhỏ giọt vào hệ phản ứng 1200 ml H_2O. Để ở ngăn dưới tủ lạnh. Lọc, rửa hỗn hợp phản ứng bằng H_2O (140 ml x 5) đến pH = 7. Dịch lọc đổ bỏ, tủa đem sấy khô trong máy sấy chân không. Nhận được 74,0 g sản phẩm thô. Hòa tan sản phẩm thô trong 1500 ml CH_2Cl_2, thêm vào 15 g than hoạt tính, khuấy đảo ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Lọc, rửa bằng CH_2Cl_2 (150 ml x 2). Chưng cất dịch lọc đồng thời khuấy đảo trên máy khuấy từ gia nhiệt đến thể tích 150 ml, thêm vào 220 ml axeton, cất tiếp đến còn ~ 140 ml. Để ngăn dưới tủ lạnh qua đêm. Lọc, rửa bằng axeton (40 ml x 3), Et_2O (40 ml x 2). Cặn đem sấy khô. Cất quay kiệt dịch lọc rồi thêm vào 60 ml Et_2O, khuấy ở nhiệt độ phòng 45 phút, để ngăn dưới tủ lạnh qua đêm, lọc rửa bằng Et_2O (20 ml x 3). Đổ bỏ dịch lọc, cặn sấy khô trong tủ sấy chân không. Nhận được 61,8 g (hiệu suất 93 %). Đc. (^oC): 215-217 (axeton). Phổ IR (γ, cm^{-1}, KBr): 3475 (O-H), 1707 và 1660 (C=O ở vị trí 20 và 3), 1621 và 1443 (C=C). Phổ ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, ppm, 500 MHz): 5,74 (s, 1H, H-4); 5,54 (t, 1H, H-11); 2,75 (s, 3H, CH_3-21); 1,34 (s, 3H, CH_3-19); 0,69 (s, 3H, CH_3-18).

21-axetat pregn-4(9,11)-dien-17α,21-diol-3,20-dion VIII. Hòa tan 67 g **VI** trong 500 ml CH_2Cl_2 và 150 ml MeOH. Thêm vào 50 g CaO, 3,4 ml H_2O; khuấy đảo ở nhiệt độ phòng trong dòng N_2 khan. Nhỏ giọt dung dịch 10,4 g $CaCl_2$ và 68 g I_2 trong 155 ml MeOH. Sau 1,5 giờ dừng phản ứng, thêm vào 500 ml CH_2Cl_2. Đổ hỗn hợp phản ứng vào dung dịch 300 g $NaHCO_3$ trong 3500 ml H_2O. Khuấy đều, lọc, rửa hỗn hợp phản ứng bằng CH_2Cl_2 (100 ml x 3). Bỏ cặn trên phễu. Chiết lấy lớp CH_2Cl_2 ở dưới, chiết lớp H_2O ở trên bằng CH_2Cl_2 (400 ml x 2). Dịch chiết CH_2Cl_2 đem cất quay đến khô. Nhận được 100,2 g sản phẩm thô 21-iod steroid. Hòa tan toàn bộ sản phẩm thô 21-iod steroid vừa nhận được ở trên trong 800 ml dimetyl focmamit, thêm vào 100 g KOAc, khuấy đảo ở 60÷65 ^oC trong khoảng thời gian 2 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng rồi đổ vào 1500 ml nước, đồng thời khuấy đảo. Lọc rửa bằng H_2O (200 ml x 5) đến pH = 7. Dịch lọc đổ bỏ, tủa đem sấy khô trong tủ sấy chân không ở 62 ^oC nhận được 80,802 g sản phẩm thô. Hòa tan sản phẩm thô trong 1500 ml CH_2Cl_2, thêm vào 20 g C hoạt tính, khuấy ở nhiệt độ phòng 1 giờ. Lọc, rửa bằng CH_2Cl_2 (150 ml x 2). Dịch lọc cất bớt dung môi đến thể tích 140 ml. Thêm 250 ml axeton, cất tiếp đến thể tích 150 ml. Để ở ngăn dưới tủ lạnh qua đêm. Lọc, rửa bằng aceton (40 ml x 2), bằng Et_2O (20 ml x 3). Cặn thu được đem sấy khô trong tủ sấy chân không nhận được 66,8 g sản phẩm (hiệu suất 85 %). Đc. (^oC): 226-228 (axeton/CH_2Cl_2). Phổ IR (γ, cm^{-1}, KBr): 3311 (tù, O-H), 1732 và 1665 (2xC=O). Phổ MS: 286 [M^+]; 772 2x[M^+]; 368 [M-H_2O]$^+$; 327 [M-CH_3COO]$^+$. Phổ ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, ppm, 500 MHz): 5,73 (s, 1H, H-4); 5,54 (d, 1H, H-11); 4,89 và 5,05 (2 d, 2H, CH_2-21, J = 16 Hz); 2,15 (s, 3H, CH_3-Ac); 1,32 (s, 3H, CH_3-19); 0,63 (s, 3H, CH_3-18). Phổ ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, ppm, 500 MHz) xuất hiện 23 tín hiệu cộng hưởng tương ứng với 23 nguyên tử C trong phân tử, có độ chuyển dịch hóa học phù hợp như sau: 205,2 (C=O ở vị trí 20); 199,5 (C=O ở vị trí 3); 170,6 (C=O của nhóm axetyl); 169,9 (C olefinic vị trí 5); 144 (C olefinic vị trí 9); 123,9 (C olefinic ở vị trí 4); 118,9 (C olefinic ở vị trí 11); 89,6 (C-17); 67,9 (CH_2-21); 47,9; 46,7; 40,9; 37,6; 34,6; 34,2; 33,8; 32,9; 32,2; 31,9; 26,2; 24,4; 20,5 và 14,3 ppm (tín hiệu của các nguyên tử C trong hệ thống vòng no).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

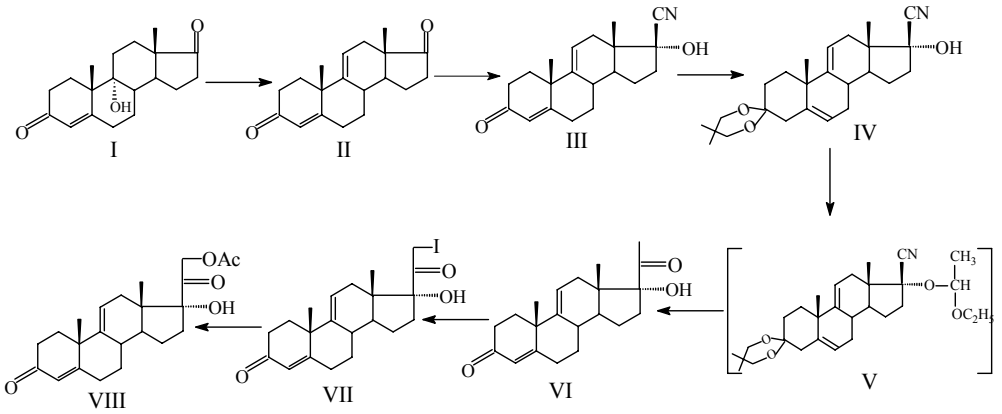
Các phản ứng nghiên cứu được tóm tắt trong sơ đồ 1.

Điều kiện phản ứng: (I)→(II): H^+/Ref.; (II)→(III): axeton cyanhydrin; (III)→(IV): neopentyl glicol; (IV)→(VI): Vinyl etyl ete, metyl liti; (VI)→(VIII): I_2/CaO/$CaCl_2$/MeOH; KOAc.

Từ 9α-OH AD **I** chúng tôi đã tổng hợp được hợp chất Δ^9-AD **II** theo phương pháp riêng đã được mô tả trong [28] với hiệu suất rất tốt, sản phẩm đủ sạch để có thể dùng ngay vào phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế. Phổ ^{1}H-NMR của **II**: xuất hiện 1 triplet tù ở 5,57 ppm được gán cho proton **olefinic** ở vị trí 11.

Đã sử dụng hợp chất Δ^9-AD **II** là sản phẩm trung gian để thực hiện phản ứng hai giai đoạn tạo mạch

nhánh pregnan. Đầu tiên là phản ứng cộng hợp nucleophil nhóm nitril chọn lựa lập thể và vùng vào nhóm cacbonyl ở vị trí C-17 sử dụng tác nhân axeton cyanhydrin trong dung môi CH_3OH ở 35 ^oC trong môi trường kiềm để nhận được dẫn xuất hydroxynitril **III** với hiệu suất tốt. Phổ MS của **III** với pic ion phân tử $[M^+]$ lẻ có m/z = 311 và pic ion mảnh đặc trưng $[M\text{-}HCN]^+$ có m/z = 284. Giai đoạn thứ 2 tiếp theo là metyl hóa nhóm nitril, trước đó cần bảo vệ nhóm 3-cacbonyl và 17-hydroxyl. Nhóm cacbonyl được ketal hóa với tác nhân neopentyl glycol trong sự có mặt của trietyl ete octofocmat và p-toluen sunfonic axit. Dẫn xuất 3-ketal **IV** nhận được với hiệu suất tốt và được khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ. Bảo vệ nhóm 17-hydroxy bằng cách ete hóa với vinyl etyl ete trong dietyl ete xúc tác p-toluen sunfonic axit ở 0-5 ^oC trong dòng khí trơ. Dẫn xuất nitril sau khi đã bảo vệ nhóm cacbonyl và hydroxy **V**, chúng tôi thực hiện phản ứng metyl hóa bằng CH_3Li, sau đó giải phóng các nhóm bảo vệ bằng dung dịch axit HCl. Phản ứng metyl hóa xảy ra rất mãnh liệt, cần rất thận trọng khi thực hiện. Sản phẩm Δ^9-hydroxyprogesteron VI nhận được với hiệu suất 93 % (tính từ chất IV), được giám định cấu trúc bằng các phương pháp phổ, đặc biệt trên phổ ^{1}H-NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của nhóm metyl-acetyl ở 2,75 ppm (s, 3H, CH_3-21).



Sơ đồ 1: Chuyển hóa 9α-OH AD đến 21-acetat pregna-4,9(11)-dien-17α,21-diol-3,20-dion

Trong sơ đồ tổng hợp cocticoid, giai đoạn tạo mạch nhánh cocticoit từ pregnan là một trong những giai đoạn quan trọng đã được chúng tôi lựa chọn thực hiện đi qua giai đoạn tạo dẫn xuất 21-mono iốt, sau đó 21-axetyl hóa bằng tác nhân CH_3COOK. Hiệu suất của cả giai đoạn này là 85 %. Cấu trúc sản phẩm 21-axetat pregna-4,9(11)-dien-17α,21-diol-3,20-dion đã được khẳng định dựa trên các dữ liệu phổ. Đặc biệt trên phổ ^{1}H-NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng nhóm metylen ở 4,89 và 5,05 ppm (2 d, 2H, CH_2-21, J = 16 Hz).

Tất cả các phản ứng chúng tôi đã thực hiện đều đạt hiệu suất tốt, tinh chế khá đơn giản, điều này rất có ý nghĩa thực tiễn.

4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp 21-acetat pregna-4,9(11)-diene-17α,21-diol-3,20-dione từ 9α-OH AD với hiệu suất tốt đối với từng giai đoạn. Cấu trúc của chất đầu, các sản phẩm trung gian và sản phẩm cuối đã được xác định bằng các phương pháp phổ: IR, MS, ^{1}H- và ^{13}C-NMR.

Lời cảm ơn: *Nghiên cứu này nhận được tài trợ của Bộ Khoa học và Công nghệ: Đề tài độc lập cấp Nhà nước (ĐTĐL.2011-G/49) và Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) (đề tài mã số 104.01-2012.20).*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M. Nagasawa, H. Hashiba, N. Watababe et al. Agric. Biol. Chem., **34**, 801 (1970).
2. C. J. Sih, F. L. Wesenborn. US. Pat., 3065146, (1962); Chem. Abstr., **58**, 11668g (1963).
3. Luu Duc Huy, Nguyen T. Diep, T. S. Savinova, N. V. Lukashev, I. P. Beletskaya, J. Chem., **48(2)**, 203-210 (2010).
4. T. S. Savinova, Nguyen T. Diep, N. E. Voishvillo, V. A. Andryushina, N. V. Karpova, I. P. Beletskaya and Luu D. Huy. J. Pharmaceutical Chemistry (RU), **46(3)**, 183-186 (2012).
5. N. V. Karpov - Rodina, V. A. Andryushina, V. V. Iaderez, A.V. Druzhinina, T. S. Stytsenko, B. L. Sacskovsky, V. I. Lozinsky, Luu Duc Huy, N. E. Voyshvillo. Journal of Applied Biochemistry and Microbiology (RU), **47(4)**, 1-7 (2011).

6. V. A. Andryushina, N. V. Rodina, T. S. Stytsenko, Luu Duc H., N. E. Voyshvillo. 3rd Annual World Congress of Industrial Biotechnology (IbiO-2010), Da lian, China.
7. V. A. Andryushina, N. V. Rodina, T. S. Stytsenko, Luu Duc Huy, A.V. Druzhinina, V. V. Yaderetz and N. E. Voishvillo. Journal of Applied Biochemistry and Microbiology (RU), **47(3)**, 270-273 (2011).
8. V. A. Andryushina, Luu Duc Huy, et al, Inter S.c Conference on "Chemistry for Developmernt and Integration", Hanoi, Full Sc. report, 191-194 (2008).
9. C. Perez, A. Falero, H. Luu Duc, Y. Balcinde and B. R. Hung. J. Inl Microbiol and Biotechnol., **148**, 719-723 (2006).
10. M. G. Woicha, F. J. Antosz, J. C. Knight, L. A. Kominek and T. R. Pyke, Biochim. Biophys. Acta, **531**, 308 (1978).
11. J. M. Beaton, A. G. Padilla, J. E. Huber and M. E. Breuer, Ger. Offen. 2.814.747 (1978); Chem. Abstr., 91,74781f (1979).
12. V. Van Rheeneh and K.P. Shephand. J. Org. Chem., **44**, 1582 (1979).
13. J. C. Kapur, A. F. Marx and J. Verweij. Steroids, **52**, 181 (1989).
14. J. N. M. Batist, A. F. M. Slobbe and A. F. Marx. Steroids, **54**, 321 (1989).
15. J. M. Batist, M. C. M. E. Barendse and A. F. Marx. Steroids, **55**, 109 (1990).
16. I. Nitta, S. Fujimori and H. Ueno. Bull. Chem. Soc., Jpn., **58**, 978 (1985).
17. T. M. Fadeeva, A. M. Turuta, A. V. Kamernitsky, Luu Duc Huy, A. A. Korobov. 5th Soviet Union Symp. on Org. Synth. Moscow, 110 (1988).
18. A. M. Turuta, T. M. Fadeeva, A. V. Kamernitsky, Luu Duc Huy. Izv. Acad. Nauk. SSSR. Ser. Khim., 2810-2815 (1989).
19. A. M. Turuta, T. M. Fadeeva, A. V. Kamernitsky, Luu Duc Huy. 9th Soviet Union-Indian Symp. on the Chem. of Nat. Comp. Riga, 27 (1989).
20. A. M. Turuta, T. M. Fadeeva, A. V. Kamernitsky, A. A. Korobov, E. G. Trerepanova, Luu Duc Huy. Izv. Acad. Nauk SSSR. Ser. Khim., 675-681 (1990).
21. Turuta A. M., Fadeeva T. M., Kamernitsky A. V., Luu Duc Huy. Izv. Acad. Nauk SSSR. Ser. Khim., 724-729 (1991).
22. Turuta A. M., Kamernitsky A.V., Luu Duc Huy, Fadeeva T. M. Ibid., 1180-1184 (1991).
23. Turuta A. M., Kamernitsky A. V., Luu Duc Huy, Bogdanov V. S. Ibid., **11**, 2661-2666 (1992).
24. Mendeleev Comm. (in Engl.), **4**, 47-48 (1992).
25. L. D. Huy, N. T. Diep. Pharmaceurtical Chemistry Journal, **45(9)**, 552-555 (2011).
26. L. D. Huy, N. T. Diep, L. T. K. Nhung. Pharmaceutical Chemistry Journal, **46(6)**, 356-359 (2012). ISSN: 0091-150X.
27. T. S. Savinova, N. V. Lukashev, L. D. Huy, and I. P. Beletskaya. Russian Journal of Organic Chemistry, **47(1)**, 54-61 (2011).
28. VN Pat. Registration No-1-2012-00315 (Date: 07/02/2012).

Liên hệ: **Lưu Đức Huy**
Phòng thí nghiệm Hóa học Steroid và Alkaloid, Viện Hóa học,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Số 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
Email: ldhuy@ich.vast.vn.