

# NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP MỚI TỔNG HỢP $\Delta(16)$ - ENIN STEROID TỪ CÁC DẪN XUẤT $17\beta$ -HYDROXY- $17\alpha$ -ETINYL STEROID TƯƠNG ỨNG

Lưu Đức Huy

*Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

## 1. Mở đầu

Từ lâu diosgenin và solasodin là nguyên liệu số một cho bán tổng hợp các loại thuốc steroid. Tuy nhiên, giá cả trên thị trường quốc tế của chúng ngày càng tăng do phải trồng nhiều năm (khoảng 5 năm) trên đất nông nghiệp. Do vậy người ta đã cố gắng tìm kiếm những nguồn nguyên liệu mới rẻ tiền hơn. Các sterol thực vật đã được chú ý đến nhiều nhất vì chúng có trữ lượng rất lớn và có thể thu hồi từ phế/phụ thải một số ngành công nghiệp chế biến nông lâm sản. Hợp chất này đã được sử dụng rộng rãi sau khi phát minh ra một số chủng vi sinh phân huỷ chọn lọc mạch nhánh các sterol thành 17-xêsteroïd [1,2].

Cho đến nay, Việt Nam phải nhập khẩu toàn bộ các loại thuốc steroid với những khoản ngoại tệ rất lớn do chưa có nguyên liệu đầu và công nghệ sản xuất. Gần đây, các nhà sản xuất dược phẩm Việt nam đã thừa nhận tiềm năng dồi dào, tương lai hiện thực của sterol dùng làm nguyên liệu bán tổng hợp các loại thuốc steroid thiết yếu.

Phòng thí nghiệm Hoá học Steroid, Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt nam, từ năm 2002 đã nghiên cứu thành công qui trình thu hồi sterol từ phế/ phụ thải công nghiệp. Qui trình hoàn toàn khả thi để triển khai ở qui mô lớn.

Từ 1988 đến nay chúng tôi và cộng sự đã nghiên cứu một số phương pháp mới chuyển hoá sterol thông qua 17-xêsteroïd và  $17\beta$ -hydroxy- $17\alpha$ -etinylsteroid trung gian đến các corticoid.

Gần đây, các dẫn xuất  $\Delta(16)$ - enin steroid ( $\Delta(16)$ - enin) là hợp chất trung gian rất có giá trị trong tổng hợp corticoid, tuy nhiên cho đến nay chưa có được phương pháp khả thi để tổng hợp chúng. Các phương pháp đã biết như đề hydrat hoá các  $17\beta$ -hydroxy-  $17\alpha$ -etinyl steroid không cho kết quả mong muốn. Chẳng hạn, đề hydrat hoá  $17\beta$ -hydroxy-  $17\alpha$ - etinyl steroid (VI) bằng  $\text{POCl}_3/\text{Py}$  theo phương pháp /3-5/ cho hiệu suất  $\Delta(16)$ - enin (XXIV) thấp, do quá trình bị phức tạp hoá bởi chuyển vị anionotrop và một phần tạo thành sản phẩm phụ cloallen (XXV). Phương pháp cải tiến ( $\text{POCl}_3/2,4$ -lutidin/toluen/ $100^\circ\text{C}$ ), theo bằng phát minh/6-8/ có thể nhận được  $\Delta(16)$ -enin (XIX) với hiệu suất 77%, tuy nhiên áp dụng phương pháp này chúng tôi chỉ nhận được  $\Delta(16)$ -enin (XIX) hiệu suất 50% và nhận được sản phẩm phụ cloallen (XXVI) 15% có  $R_f$  hoàn toàn trùng hợp với  $R_f$  của  $\Delta(16)$ - enin tương ứng.

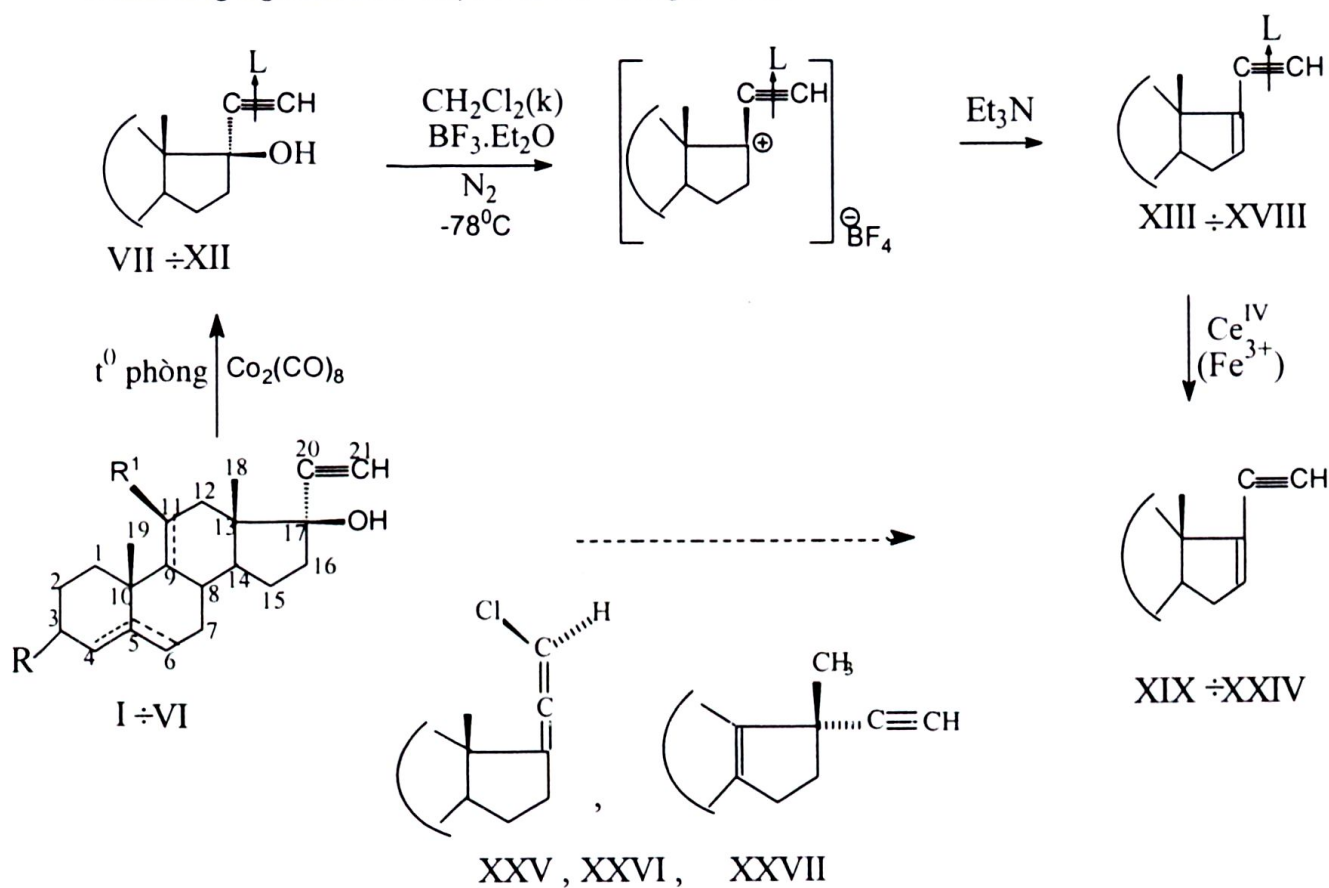
Theo phương pháp /9/, sử dụng tác nhân  $\text{HCO}_2\text{H}$ , dẫn đến quá trình homo- thơm hoá vòng D phân tử steroid, và không nhận được  $\Delta(16)$ - enin mong muốn.

Đề hydrát hoá 17 $\alpha$ -etinyltestosteron bằng SOCl<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Py chỉ cho este sulphit bis-(androsten-17 $\beta$ -in) /10/. Theo công bố /11/, sử dụng N,N- sulphuanylimidazon có thể nhận được sản phẩm chính  $\Delta$ (16)- enin với hiệu suất 71%, được xem như một giải pháp lựa chọn.

Với hy vọng tránh được các chuyển vị trong các phương pháp đã biết và nhận được  $\Delta$ (16)- enin với hiệu suất cao, chúng tôi nghiên cứu một phương pháp mới tổng hợp các  $\Delta$ (16)- enin bằng cách đề hydrát xúc tác axit Lewis phức chất DCHC 17 $\beta$ -hydroxy-17 $\alpha$ -etynyl steroid tương ứng ở nhiệt độ thấp. Phương pháp này đang được áp dụng rộng rãi trong tổng hợp các vinylaxetylen /12/ và lần đầu tiên được chúng tôi nghiên cứu ứng dụng trong lĩnh vực Hoá học steroid.

## 2. Kết quả và thảo luận

Phản ứng nghiên cứu được tóm tắt trong sơ đồ 1:



Sơ đồ 1

Trong đó:

L: Co<sub>2</sub>(CO)<sub>6</sub>

R= 3-CO- $\Delta$ (4) ; R<sup>1</sup>= H (I),(VII),(XIII),(XIX),(XXVI)

R= 3-CO- $\Delta$ (4) ; R<sup>1</sup>=11 $\beta$ -OH (II),(VIII),(XIV),(XX)

R= 3-CO- $\Delta$ (4) ; R<sup>1</sup>= 9,11 $\beta$ -O (III),(IX),(XV),(XXI)

R= 3-CO- $\Delta$ (4) ; R<sup>1</sup>=9,11 $\alpha$ -O (IV),(X),(XVI),(XXII)

R= 3-CO- $\Delta$ (4) ; R<sup>1</sup>= $\Delta$ (9/11) (V),(XI),(XVII),(XXIII)

R= 3 $\beta$ -OAc- $\Delta$ (5); R<sup>1</sup>= H (VI),(XII),(XVIII),(XXIV),(XXV),(XXVII)

Để tiện tra cứu và so sánh, các kết quả định lượng và các số liệu phổ được tóm tắt vào hai *Bảng 1 & 2*.

**Bảng 1.** Hiệu suất, phổ IR và <sup>1</sup>H-NMR của các phức DCHC Δ(16)- enin

Hợp chất	Thời gian(h)	IR (γ, cm <sup>-1</sup> , KBr)	<sup>1</sup> H-NMR (δ, CHCl <sub>3</sub> , J, Hz)	Hiệu suất(%)
XIII	0,5	1617, 1670, 1975, 2010, 2020, 2040, 2060, 2099	0,96s(18Me); 1,23s(19Me); 5,75(H <sup>4</sup> ); 6,17s(H <sup>21</sup> )	71
XIV	1,0	1616, 1653, 2020, 2052, 2094, 3460	1,23s(18Me); 1,51s(19Me); 4,46s(H <sup>11</sup> , Δw <sub>1/2</sub> =10,5); 5,7d(H <sup>4</sup> , j=1,6); 6,15m(H <sup>16</sup> ); 6,17s(H <sup>21</sup> )	66
XV	0,25	1614, 1665, 2016, 2025, 2050, 2090, 3070	1,09s(18Me); 1,48s(19Me); 3,42s, tù(H <sup>11</sup> , Δw <sub>1/2</sub> =6,5); 5,8s(H <sup>4</sup> ); 6,12s và 6,19s(H <sup>16</sup> và H <sup>21</sup> )	93
XVI	0,25		0,97s(18Me); 1,49s(19Me); 2,24d(H <sup>11</sup> , J <sub>11β,12β</sub> =5,3); 5,84s(H <sup>4</sup> ); 6,13s(H <sup>16</sup> , H <sup>21</sup> )	51
XVII	0,5	1618, 1678, 1998, 2013, 2020, 2027, 2063, 2092, 3055, 3100	0,9s(18Me); 1,38s(19Me); 5,57m(H <sup>11</sup> , Δw <sub>1/2</sub> =10,5); 5,77d(H <sup>4</sup> , J=1,3); 6,17s(H <sup>21</sup> ); 6,19t(H <sup>16</sup> , j=2,8)	96
XVIII	1,0	1035, 1250, 1372, 1726, 1970, 2006- 2092m, 3008	0,93s(18Me); 1,07s(19Me); 2,04s(3-OAc); 4,62m(H <sup>4</sup> ); 5,41m(H <sup>6</sup> ); 6,17s(H <sup>21</sup> )	98

**Bảng 2.** Hiệu suất, một số đặc trưng hoá- lý, phổ IR và <sup>1</sup>H-NMR của các Δ(16)- enin

Hợp chất	Điểm chảy(°C) (D/môi)	Phổ IR (γ, cm <sup>-1</sup> , KBr)	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (δ, CDCl <sub>3</sub> , J, Hz)	Phổ MS (m/z)	Hiệu suất (%)
XIX	170-172 (MeOH)				87 /13/
XX	183-188 (Me <sub>2</sub> CO/C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> )	1582, 1615, 1645, 1655, 2092, 3040, 3310, 3410	1,18s(18Me); 1,48(19Me); 3,09s(H <sup>21</sup> ); 4,44m(H <sup>11</sup> , Δw <sub>1/2</sub> =9,5); 5,67m(H <sup>4</sup> ); 6,09m(H <sup>16</sup> , Δw <sub>1/2</sub> =6,75)	310[M <sup>+</sup> ]; 292[M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 277[M-H <sub>2</sub> O-Me] <sup>+</sup>	70
XXI	58-63 (Et <sub>2</sub> O/C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> )	1617, 1668, 2096, 3250-3280	1,04s(18Me); 1,48s(19Me); 3,08s(H <sup>21</sup> ); 3,41t(j=2,5); 6,06q(H <sup>16</sup> , j <sub>1</sub> =1, j <sub>2</sub> =3,3)	308M <sup>+</sup> 293[M-Me] <sup>+</sup> 275[M-Me-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 265[M-H <sub>2</sub> O-C≡CH] <sup>+</sup>	77
XXII	175-182 (Me <sub>2</sub> CO/C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> )	1620, 1674, 2090, 3240, 3260, 3280	0,92s(18Me); 1,48s(19Me); 3,04s(H <sup>21</sup> ); 2,23d(H <sup>11</sup> , j=5, 5,84d(H <sup>4</sup> , j=1,5); 6,07q(H <sup>16</sup> , j <sub>1</sub> =2,1; j <sub>2</sub> =3,4)	308M <sup>+</sup> ; 293[M-Me] <sup>+</sup> 290[M-H <sub>2</sub> O] 275[M-Me-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 264[M-H <sub>2</sub> O-C≡CH] <sup>+</sup> 249[M-Me-H <sub>2</sub> O-C≡CH]	83

XXIII	160-169 (Me <sub>2</sub> CO/C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> )	1616, 1632, 1660, 3025, 3058, 3230, 3260, 3280	0,85s(18Me);1,37s(19Me) 3,07s(H <sup>21</sup> );5,56m(H <sup>11</sup> , Δw <sub>1/2</sub> =11);5,76d(H <sup>4</sup> ,j=1,3) 6,13t(H <sup>16</sup> ,j=2,5)	292M <sup>+</sup> ; 277[M-Me] <sup>+</sup>	67
XXIV	167-177 (MeOH/Et <sub>2</sub> O)				56 /13/

Từ các kết quả nhận được, nhận thấy rằng phương pháp đề hydrát hoá phức chất DCHC 17β-hydroxy- 17α-etinyl steroid đến Δ(16)- enin steroid tương ứng cho hiệu suất cao ngay cả trong các trường hợp có mặt các nhóm chức không bền với axit- bazơ (11β-OH; 9,11β-O; 9,11α-O...) trong bộ khung phân tử. Phương pháp tỏ ra có tính tổng quát và tránh được các chuyển vị như trong các phương pháp trước đây. Chúng tôi chỉ phát hiện thấy lượng vết sản phẩm chuyển vị Vacne- Mecvai duy nhất một lần khi đề hydrát hoá DCHC 3-axetat ediol (XII); quá trình chuyển vị xảy ra đồng thời với sự phân huỷ phức và tạo thành sản phẩm 17β-metyl-17α- etinylandrostan (XXVII).

Hiệu quả của phản ứng đề hydrát hoá DCHC 17β-hydroxy- 17α-etinyl steroid bằng axit Lewis ở nhiệt độ thấp, như vậy có phụ thuộc vào cấu trúc của cơ chất.

Quá trình tạo phức và giải phóng phức xảy ra rất dễ dàng và toàn lượng góp phần làm cho hiệu suất chung cao. Phức DCHC Δ(16)- enin thu được đủ tinh khiết để thực hiện chuyển hoá tiếp theo.

Các sản phẩm trung gian dưới dạng phức được đặc trưng bằng các dữ kiện phổ IR và H- NMR; chúng không bền nên người ta không đặc trưng bằng điểm chảy. Trên phổ IR của tất cả các phức chất DCHC etinylsteroid đều xuất hiện dải hấp thụ nhiều peak với cường độ rất mạnh từ 2000- 2100 cm<sup>-1</sup>, đồng thời với việc mất đi hai peak đặc trưng của nhóm C=C-H ở 2100 cm<sup>-1</sup> (cường độ thấp) và 3300 cm<sup>-1</sup>.

Các sản phẩm phụ XXV, XXVI và XXVII đã được chúng tôi mô tả và xác định cấu trúc trong các công bố trước đây/13,14/

### 3. Phần thực nghiệm

Điểm chảy (Đc.) đo trên máy Boetius (CHLB. Đức). Phổ hồng ngoại (IR) ghi trên máy UR- 20, Specor M-80 và FT-IR- IMPACT- 410 dạng viên nén trong KBr. Phổ khối lượng (MS) ghi trên máy Varian MATCH-6 và MS- 5989B, dung môi CHCl<sub>3</sub>. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được ghi trên các máy Bruker WM- 250 và Bruker AM- 300, dung môi CDCl<sub>3</sub>, chất chuẩn nội TMS.

Tất cả các loại dung môi, hoá chất và chất đầu đều nhập ngoại từ công ty Aldrich (Mỹ) và Merck Clevenot (Pháp)

Kiểm tra định tính dùng bản mỏng để nhôm tráng sẵn Merck 60F<sub>254</sub>.

Sắc ký bản mỏng điều chế dùng silicagel G. Merck 60F<sub>254</sub>.

Các loại dung môi đều được tinh chế lại trước khi sử dụng.

Các chất đầu II – IV được chúng tôi tự tổng hợp lấy từ Δ(9/11)- pregnin (V) /14/

Các đặc trưng hoá lý và phổ của các hợp chất trung gian I- VI, VII- XII đã được chúng tôi công bố trước đây /13,14/.

**1) Phương pháp chung tổng hợp các phức chất DCHC 17 $\beta$ -hydroxy-17 $\alpha$ -etinyl steroid (VII – XII) /13-15/.** Hoà tan 1 mol etinylsteroid (I – VI) trong một lượng tối thiểu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(k.) hoặc CHCl<sub>3</sub>(k.), khuấy đều ở nhiệt độ phòng và thêm dần 1,3- 1,5 mol Co<sub>2</sub>(CO)<sub>8</sub> trong khoảng thời gian 30- 45 ph. Khuấy đảo cho đến khi kết thúc phản ứng. Kiểm tra tiến trình phản ứng bằng SKBM ( SiO<sub>2</sub>, EtOAc/ Hexan 1: 4). Loại kiệt dung môi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ không quá 30°C. Thêm hexan vào cạn thu được, cạo nhẹ cho tủa rắn tách ra, lọc lấy sản phẩm dạng bột màu nâu. Rửa lại vài lần bằng hexan trên phễu lọc xốp. Sản phẩm phức etinylsteroid thu được khá bền, có thể để nhiều giờ ở nhiệt độ phòng, có thể bảo quản trong tủ lạnh nhiều tháng, nhưng rất dễ bị phân huỷ bởi axit, các chất oxy hoá.

**2) Phương pháp chung tổng hợp các phức chất DCHC  $\Delta$ (16)- enin steroid (XIII – XVIII) /12, 13/.** Hoà tan 1 mol phức chất DCHC 17 $\beta$ -hydroxy-17 $\alpha$ -etinyl steroid (VII – XII) vào trong một lượng tối thiểu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(k.), cho dòng khí trơ N<sub>2</sub>(k.) đi qua hệ phản ứng, hạ nhiệt độ xuống -78°C ( CO<sub>2</sub>rắn/ axêton), thêm vào 1,5 mol HBF<sub>4</sub>.Et<sub>2</sub>O, khuấy đảo nhẹ 15 ph. Trung hoà hỗn hợp phản ứng ở -78° ÷ 10°C bằng Et<sub>3</sub>N. Loại kiệt dung môi dưới áp suất giảm, thêm vào một lượng nước nhỏ, cạo nhẹ cho tủa rắn tách ra, lọc lấy sản phẩm. Rửa thêm vài lần trên phễu bằng những lượng nhỏ nước. Làm khô sản phẩm ở nhiệt độ phòng và có thể dùng ngay vào giai đoạn tiếp theo. Phức DCHC  $\Delta$ (16)- enin steroid có màu nâu đen đặc trưng, khá bền ở nhiệt độ phòng, không bền đối với các chất oxy hoá, axit và bazơ. Bảo quản lâu dài trong tủ lạnh. Hiệu suất, các đặc trưng hoá lý và phổ IR, <sup>1</sup>H- NMR của các phức chất DCHC  $\Delta$ (16)- enin steroid được tóm tắt trong *Bảng 1*.

**3) Phương pháp chung tổng hợp các hợp chất  $\Delta$ (16)- enin steroid (XIX – XXIV) /13, 15/.** (a) Hoà tan 1 mol phức DCHC  $\Delta$ (16)- enin steroid (XIII – XVIII) vừa nhận được ở trên vào một lượng tối thiểu Me<sub>2</sub>CO (k.), làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống -10°C, khuấy nhẹ và thêm dần vào 3 mol chất oxy hoá (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> cho đến khi hết màu nâu- đen. Loại kiệt dung môi dưới áp suất giảm, thêm một lượng nước nhỏ, chiết lấy sản phẩm bằng dung môi CHCl<sub>3</sub>. Làm khan dịch chiết bằng MgSO<sub>4</sub>. loại kiệt dung môi và tinh chế sản phẩm bằng SKBM hoặc kết tinh lại. (b) Hoà tan 1 mol phức DCHC  $\Delta$ (16)- enin steroid (XIII – XVIII) trong một lượng vừa đủ EtOH, làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 ÷ -10°C (đá/ muối). Thêm vào từng lượng nhỏ 37 mol Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O, khuấy đảo 4- 6h. Sau khi kết thúc phản ứng, rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch NaCl bão hoà, lọc lấy sản phẩm rắn tách ra. Tinh chế sản phẩm  $\Delta$ (16)- enin steroid (XIX – XXIV) bằng SKBM hoặc kết tinh lại. Hiệu suất, các đặc trưng hoá lý và phổ của các  $\Delta$ (16)- enin steroid được tóm tắt trong *Bảng 2*.

#### 4. Kết luận

Lần đầu tiên trong Hoá học steroid, đã xây dựng một phương pháp mới tổng quát để tổng hợp các  $\Delta$ (16)- enin steroid bằng phản ứng để hydrat hoá xúc tác axit Lewis phức chất dicobalthexacarbonyl 17 $\beta$ -hydroxy-17 $\alpha$ -etinylsteroid ở nhiệt độ thấp. Kết quả cho thấy hiệu suất phản ứng phụ thuộc vào cấu trúc của cơ chất. Các hợp chất trung gian và sản phẩm  $\Delta$ (16)- enin được đặc trưng bằng các phương pháp phổ hiện đại IR, <sup>1</sup>H- NMR.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fujimoto K., Chen Ch.-S., Szeleezky Z., Tullio D., Sih C.J., *J.Amer.Chem.Soc.*, V.104, No17, 1982, pp.4718.
2. Westmijze H., Kleijn H., Vermeer P., Van Dijck L.A., *Tetr.Lett.*, V. 21, No 27, 1980, pp.2665.
3. Germany Pat.2441647(1975), *C.A.*, 1975, V. 83, 28456r
4. US Pat.4022892.A(1977), *C.A.*, 1977, V. 87, 168266m
5. Ghera E., *J.Org.Chem.*, V.33, No3, 1968, pp.1042
6. French Pat.1536034.(1968), *C.A.*, 1969, V.71, 61659j
7. US Pat. 3682983.(1972), *C.A.*, 1972, V.77, 114672r
8. Germany Pat.2517770.(1976), *C.A.*, 1977, V.86, 90130v
9. Hardegger E., Scholz C., *Helv.Chim.Acta.*, V.28, 1945, pp.1355.
10. Hershberg E.B., Oliveto E.P., Gerold C., Johnson L., *J.Amer.Chem.Soc.*, V.73, No11, 1951, pp.5073.
11. Solyom S., Szilagyi K., Toldy L., *J.Prakt.Chem.*, V.30, No2, 1988, pp.309.
12. Tkorbonova E.S., Bobrov M.N., Denisov V.R. et al, *J.Org.Chem.*, USSR (Engl.Transf.), V.25, No2, 1989, pp.191.
13. Lưu Đức Huy, Luận án Tiến sỹ, Mat xcvva 1992, 150 tr.
14. Lưu Đức Huy, *Tap chí Hoá học* ( 2005, chờ đăng)
15. Nicholas K.M., *Accounts Chem.Res.*, V.20, No6, 1987, pp.207.

VNU. JOURNAL OF SCIENCE, Nat., Sci., & Tech., T.XXI, N<sub>o</sub>2, 2005

## STUDY ON NEW METHOD FOR THE SYNTHESIS OF $\Delta(16)$ - ENYNE STEROIDS FROM CORRESPONDING $17\beta$ -HYDROXY- $17\alpha$ -ETHYNYL STEROIDS

**Luu Duc Huy**

*Institute of Chemistry, Vietnamese Academy of Science & Technology*

For the first time in the field of steroidal chemistry, a new and general method for the synthesis of  $\Delta(16)$ - enyne from corresponding  $17\beta$ -hydroxy- $17\alpha$ -ethynyl steroids by using dicobalthexacarbonyl (DCHC) complexes of the acetylene group has been studied. The structure of intermediates and products has been determined by the data of IR and NMR spectroscopy.

**Acknowledgements.** This research was supported by the Asia research Center, Hanoi National University and by the International Foundation for Science, Stockholm, Sweden, and the organization Prohibition of Chemical Weapons, the Netherlands, through a grant F/ 2561 to Dr. Luu Duc Huy