



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN  
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



**2-0002984**

(51) **C07J 75/00**  
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2022-00136

(22) 09/10/2017

(62) 1-2017-03985

(45) 25/09/2022 414

(43)

(73) Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)  
18 Hoàng Quốc Việt, Quận Cầu Giấy, Thành Phố Hà Nội

(72) Lưu Đức Huy (VN).

(54) **QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ DEXAMETHASON AXETAT TỪ 9-ALPHA-HYDROXY  
ANDROSTENDION**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập quy trình điều chế dexamethason axetat từ 9 $\alpha$ -hydroxy androstendion (9 $\alpha$ -OH AD) bao gồm các công đoạn chính sau: xử lý 9 $\alpha$ -OH AD bằng axit vô cơ trong dung môi không proton tạo thành liên kết đôi  $\Delta$ 9(11); tạo lập mạch nhánh pregnan áp dụng phương pháp xyanhydrin; tạo lập mạch nhánh corticoit áp dụng phương pháp iot hóa trực tiếp C(21); axetyl hóa nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy và tách loại nhóm 17 $\alpha$ -axetoxy, tạo thành  $\Delta$ 16(17); áp dụng phương pháp hóa học xử dụng selen dioxit, tạo lập liên kết  $\Delta$ 1(2); cộng hợp 1,4 xúc tác CuCl (I) vào hệ thống  $\Delta$ 16-20-keto pregnan xử dụng tác nhân MeMgBr; cộng hợp HOBr vào  $\Delta$ 9(11), tách loại HBr tạo thành 9(11)-epoxit bằng dung dịch 5% kiềm, mở vòng epoxit bằng dung dịch 70% HF và axetyl hóa nhóm 21-hydroxy bằng Ac<sub>2</sub>O/Py. Quy trình cho phép nhận được dexamethason axetat với hiệu suất 25%.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực hóa - dược. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hợp chất steroid 21-axetat pregn-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-trihydroxy-16 $\alpha$ -metyl-9 $\alpha$ -flo-1,4-dien-3,20-dion (dexamethason axetat) từ 9 $\alpha$ -hydroxy androstendion (9 $\alpha$ - OH AD).

### **Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Các chế phẩm steroid có thể được xếp vào loại dược phẩm được tiêu thụ rộng rãi nhất và ngày càng tăng trong ngành công nghiệp dược thế giới, được sử dụng làm thuốc chữa rất nhiều bệnh khác nhau vì chúng có phổ hoạt tính rất rộng, nhiều trường hợp là liệu pháp không thể thay thế: thuốc kháng viêm, tăng cường miễn dịch, sử dụng trong sinh đẻ có kế hoạch tránh thụ thai và chữa vô sinh, thuốc lợi tiểu, chống lão hoá, tác nhân đồng hoá. Chúng cũng được ứng dụng thành công trong điều trị ung thư vú, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tủy xương, ung thư máu, điều trị loãng xương cũng như tác nhân thay thế trong điều trị chứng thiếu hormone tuyến thượng thận, trong việc ngăn chặn bệnh nhồi máu cơ tim, tác nhân kháng nấm, là thành phần có hoạt tính chống béo phì, ngăn chặn và xử lý lây nhiễm HIV, phối chế thuốc điều trị bệnh AID.

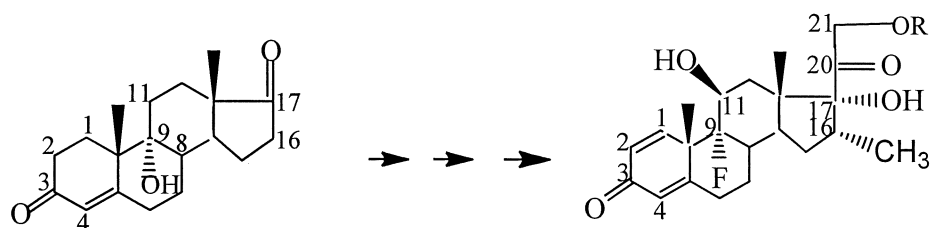
Dexamethason và các dẫn xuất của nó, trong đó có dexamethason axetat là thuốc có các tác dụng chính của glucocorticoid : chống viêm, chống dị ứng và ức chế miễn dịch. Về hoạt lực chống viêm, dexamethason mạnh hơn hydrocortison 30 lần, mạnh hơn prednisolon 7 lần.

Dexamethason và dexamethason axetat được dùng để điều trị các bệnh mà corticosteroid được chỉ định (trừ suy tuyến thượng thận) như sốc do chảy máu, do chấn thương, do phẫu thuật, hoặc do nhiễm khuẩn, phù não do u não, các bệnh viêm khớp và mô mềm như viêm khớp dạng thấp, điều trị ngăn ngừa dị ứng cấp tính tự khỏi, như phù thần kinh mạch, hoặc các giai đoạn cấp, nặng lên của các bệnh dị ứng mạn tính, như hen phế quản hoặc bệnh huyết thanh. Dùng dexamethason phải kết hợp với điều trị kháng sinh toàn thân và các biện pháp hỗ trợ, khi cần. Dexamethason cũng được dùng tại chỗ để bôi vào kết mạc, ống tai ngoài hoặc niêm mạc mũi để điều trị triệu chứng viêm hay dị ứng ở ống tai ngoài hoặc mắt. Các bệnh nhân ung thư đang trải qua đợt hóa trị liệu sử dụng dexamethason để chống lại tác dụng phụ của việc điều trị khối u. Dexamethason có thể làm tăng thêm hiệu quả chống nôn ói của cơ quan thụ cảm 5-HT<sub>3</sub>; với bệnh u não dexamethason được sử dụng để chống lại sự phát triển của quá trình giữ nước trong tế bào (gây phù thũng), nó cũng có thể nén ép và thu nhỏ một

cách ngẫu nhiên cấu trúc não. Dexamethason cũng được sử dụng như một tác nhân hóa trị liệu trong điều trị các bệnh ác tính liên quan đến máu đặc biệt là trong điều trị ung thư bạch cầu, trong đó dexamethason được sử dụng riêng lẻ hoặc phối hợp với các thuốc hóa trị liệu khác như thalidomid, lenalidomit hoặc một hỗn hợp của adriamycin và vincristin...

Trên thế giới đang có xu hướng mới sử dụng phytosterol được thu hồi từ phế phụ phẩm công nghiệp giấy, công nghiệp mía đường và công nghiệp tinh luyện dầu đậu tương với giá thành rất rẻ thay thế cho nguyên liệu truyền thống diosgenin và solasodin giá thành cao vì phải trồng trên đất nông nghiệp nhiều năm mới có thể thu hoạch.

Phytosterol được chuyển hóa vi sinh thành androstendion (AD) và  $9\alpha$ -OH AD. Hiện nay, AD và  $9\alpha$ -OH AD là nguyên liệu đầu để tổng hợp các loại thuốc gốc steroid, trong đó có dexamethason, dexamethason axetat, prednisolon, betamethason, v.v. (US Pat. 5 792 859 (1998), US Pat. 5 596 108 (1997), CN Pat. 189 609 0 A (2006), P. Fernandes, A. Cruz, B. Angelova, H.M. Pinheiro, J.M.S. Cabral, *Enzyme and Microbial Technology* 32, 688-705 (2003), M. Nagasawa, H. Hashiba, N. Watanabe, M. B. Tamura, and K. Arima. *Agric. Chem.*, 34, 801 (1970), Fujimoto K., Chen Ch. -S., Szeleesky Z., Tullio D., Sih C. J. J. *Amer. Chem. Soc.*, 104(17), 4718 (1982), Westmijze H., Kleijn H., Vemer P., Van Dijck L. A. *Tetrahedron Letters*, 21(27), 2665 (1980)).



$9\alpha$ -OH AD (1)

R=H: Dexamethason

R=Ac: Dexamethason axetat (8)

### Nghiên cứu các tài liệu liên quan

Tổng hợp dexamethason và dexamethason axetat từ  $9\alpha$ -OH AD là quá trình nhiều giai đoạn, thông thường bao gồm các giai đoạn chính sau:

- Dehydrat hóa nhóm  $9\alpha$ -OH để nhận được  $\Delta^9(11)$ -AD (1\*)
- Tạo lập nhóm  $17\alpha$ -hydroxy- $17\beta$ -pregnan
- Đưa nhóm hydroxy vào vị trí C(21) của hợp chất  $17\alpha$ -hydroxy-20-keto-pregnan, tạo thành mạch bên corticoit
- Dehydrat hóa  $17\alpha$ -axetoxy-3,20-diketo pregnan

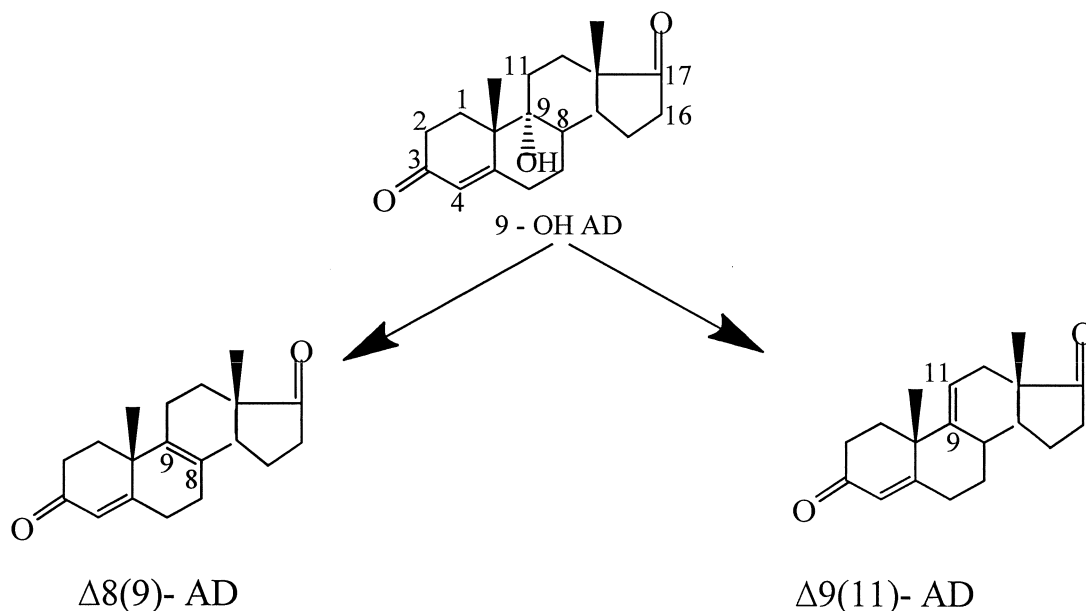
- Tạo lập liên kết  $\Delta 1(2)$ - bằng phương pháp hóa học hoặc vi sinh
- Đưa mảnh  $16\alpha$ -metyl- $17\alpha$ -hydroxy vào liên kết  $\Delta 16$ -
- Tạo lập chức  $9\alpha$ -flo- $11\beta$ -hydroxy vào liên kết  $\Delta 9(11)$ -
- 21- Axetyl hóa chức 21-hydroxy pregnan ( trong trường hợp tổng hợp dexamethason axetat)

Các giai đoạn này có thể được thực hiện theo các thứ tự khác nhau, có thể gộp vài giai đoạn làm một trong quy trình kỹ thuật. Việc lựa chọn thứ tự các giai đoạn và các phương pháp tổng hợp là nhiệm vụ phức tạp mà giải quyết việc đó là quyết định sự thành công hiệu quả kinh tế của công nghệ sản xuất.

#### Dehydrat hóa nhóm $9\alpha$ - OH để nhận được $\Delta 9(11)$ - AD

Trong tổng hợp mạch bên pregnan trên cơ sở  $9\alpha$ - OH AD, người ta thường tách loại nhóm  $9\alpha$ -OH ngay ở giai đoạn đầu tiên, bởi vì  $\Delta 9(11)$ - AD bền vững hơn như đã được biết trong các tổng hợp trước đây , ví dụ trong tổng hợp axetat hydrocortison từ sterol [Tetrahedron Lett.,1990,31 (26),3669-3672]. Điều này cho phép tránh được các phản ứng phụ không mong muốn trong các giai đoạn tiếp theo do khả năng tham gia của nhóm hydroxy bậc 3 ở C(9). Ngoài ra, có mặt liên kết đôi ở vị trí 9(11) là điều kiện cần thiết để đưa các nhóm halogen vào C(9), hydroxy vào C(11) trong hàng loạt các phân tử corticoit, trong đó có dexamethason axetat.

Các phương pháp điều chế  $\Delta 9(11)$ -AD bằng cách dehydrat hóa  $9\alpha$ - OH AD đã được biết. Cần lưu ý là khi đó có khả năng tạo ra sản phẩm đồng phân không mong muốn androsta-4,8(9)-dien-3,17-dion ( $\Delta 8(9)$ -AD).



Khi đó, các đồng phân  $\Delta 9(11)$ - và  $\Delta 8(9)$ -AD có Rf trùng nhau trên sắc ký bản mỏng và không thể phân tách chúng bằng các phương pháp thông thường

như kết tinh lại. Xác định tạp chất đồng phân  $\Delta 8(9)$ - AD có thể bằng các phương pháp phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$  -NMR (EP 0253415, 1988; EP 0294911, 1988) hay là sắc ký khí, sắc ký khí lỏng (EP 0253415, 1988; EP 0294811, 1988, US 4102907, 1978). Tác nhân dehydrat hóa có thể là các axit vô cơ hay hữu cơ, các anhydrit, cloanhydrit của chúng và các tác nhân khác.

Phản ứng dehydrat hóa  $9\alpha$ - OH AD tạo thành  $\Delta 9(11)$ - AD có thể thực hiện trong môi trường dung môi hữu cơ, hydrocacbon thơm ( ví dụ, benzen, toluen), hydrocacbon chứa clo ( ví dụ, diclometan, dicloetan, clorofomc) hoặc nước ( ví dụ, axit phosphoric, sulfuric,...)

Đã biết các phương pháp dehydrat hóa  $9\alpha$ - OH AD tạo thành  $\Delta 9(11)$ - AD thực hiện trong môi trường dung môi hữu cơ như ete vòng, bazơ hữu cơ. Tuy nhiên khi đó, tác nhân dehydrat hóa sử dụng N,N1-tionylthionyl-diimidason được tạo thành từ tionylthionylclorit và imidazol trong THF (Journal fur Praktische Chemie, 1988, 330 (2), 309-312) hay là p-TSA trong benzen (Chem. And Ind., 1961, 1530), hay là hấp phụ sulfoaxit thơm lên silica gel trong môi trường hydrocacbon thơm (EP 0253415, 1988), cũng như axit Liuyt- sắt clorit, bo triflorit và các phức chất của chúng, antimon pentaclorit, titan tetraclorit, hỗn hợp của các chất này với silica gel trong môi trường dung môi hữu cơ trơ (EP 0294911, 1988), hoặc là sử dụng closulfonic axit trong metylen cloric (US 4127596, 1978).

Đã được biết phương pháp tổng hợp  $\Delta 9(11)$ - steroid sử dụng axit chứa oxy không thơm với  $\text{pka} \leq 1,0$  (US 4127596, 1978). Khi đó axit được lựa chọn trong nhóm: closulfonic axit, các axit sulfuric, phosphoric, metansulfonic, percloric và trifloaxetic.

Cũng được biết phương pháp điều chế  $\Delta 9(11)$ - AD từ  $9\alpha$ -OH AD sử dụng axit polyphosphoric (HUT 36138, 1985).

Nhược điểm chung của các phương pháp này là sử dụng lượng dư lớn tác nhân, tốn nhiều thời gian và trong đa số các trường hợp phải sử dụng phương pháp sắc ký cột để tinh chế sản phẩm hay là hiệu suất thấp, độ tinh khiết không đạt yêu cầu.

Phân tích các phương pháp được biết trong tài liệu tham khảo chỉ ra rằng khi triển khai phản ứng trong môi trường dung môi hữu cơ, nói riêng trong dung môi hữu cơ thơm độc hại. Các phản ứng trong nước dùng axit hữu cơ chưa được mô tả. Đã mô tả việc tiến hành phản ứng bằng các axit hữu cơ hay các dẫn xuất của chúng như anhydrit, chloanhydrit của axit vô cơ, trong môi trường không nước là điều kiện tiến hành phản ứng để đảm bảo cho kết quả dương tính. Về mặt kỹ thuật, việc ứng dụng các axit vô cơ, trong số đó có chứa nước để điều chế  $\Delta 9(11)$ - AD là có thể được và đã được biết trong các quá trình dehydrat hóa  $9\alpha$ - OH AD mà không cần sử dụng dung môi hữu cơ, tuy nhiên các phương pháp này

có nhược điểm quan trọng và các kết quả nhận được không thể xem là thỏa đáng.

Theo tài liệu tham khảo có được, vắng mặt thông tin về phương pháp dehydrat hóa  $9\alpha$ -OH AD sử dụng axit vô cơ chứa nước trong môi trường dung môi hữu cơ không có proton.

Ngoài ra còn không có thông tin làm tăng cường quá trình dehydrat hóa bằng cách tách loại nước dư trong tiến trình phản ứng, chẳng hạn bằng phương pháp cất loại đẳng phí.

### Tổng hợp $17\alpha$ -hydroxy- $17\beta$ -pregnan theo phương pháp xyanhydrin

#### Hydroxylan hóa

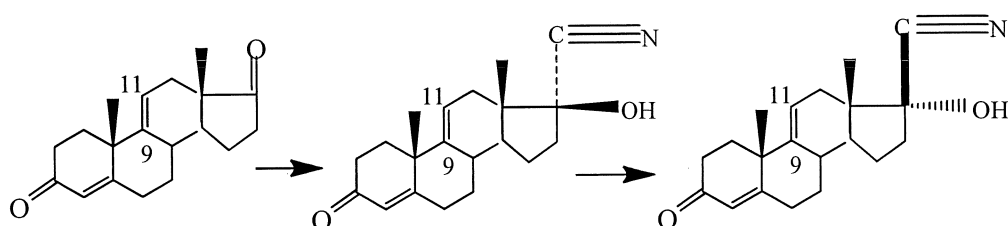
Một trong số các phương pháp rất hiệu quả đã được biết tổng hợp  $17\alpha$ -hydroxy- $17\beta$ -axetyl steroid là phương pháp xyanhydrin bao gồm tương tác 17-ketosteroid với hydroxycyanic và alkyl hóa tiếp theo hợp chất  $17\alpha$ -hydroxy- $17\beta$ -nitril tạo thành. Tổng hợp pregnan từ 17-ketoandrostane ứng dụng tổng hợp xyanhydrin đã được biết trong công trình (Pharmaceutical Chemistry Journal, 1987, 21 (4), 225-300). Tác nhân xyan hóa có thể là muối của axit xyanhydric (DD 281394, 1990), axetonxyanhydrin (J. Am. Chem. Soc., 1953, 75 (3), 650-653; RU 2156255, 2000), cũng như hỗn hợp của chúng (US 4500461, 1985; US 3043833, 1962; US 4548748, 1985) và các hợp chất hữu cơ chứa nhóm xyano khác như diethylaluminum xyanua (US 3496169, 1970). Người ta tiến hành phản ứng với các hợp chất chứa xyano trong môi trường kiềm, với tính chất là tác nhân kiềm, ngoài các hydroxit kim loại kiềm, có thể sử dụng triethylamin (GB 1109626, 1968).

Phương pháp xyanhydrin xây dựng mạch bên corticoid từ AD,  $9\alpha$ -OH AD có rất nhiều ưu việt: Tính chọn lọc của phản ứng hydroxylan hóa vào nhóm 17-keto (Organic Reactions, 1977, 25, p.255). Tuy nhiên, hydroxylan hóa các hợp chất 17-keto steroid xảy ra và tạo thành hỗn hợp các đồng phân epime chuyển hóa qua lại nhau  $17\alpha$ - và  $17\beta$ -carbonitril. Tùy thuộc vào điều kiện tiến hành phản ứng, trong hỗn hợp sản phẩm có thể tạo thành đồng phân chiếm ưu thế hơn.

Cần nhấn mạnh rằng, sự phát triển và ứng dụng lớn nhất của phương pháp này được biết trong tổng hợp các hợp chất 17-xyanhydrin AD (DD 147669, 1979).

Ứng dụng axetonxyanhydrin làm tác nhân để hydroxylan hóa  $\Delta^9(11)$ -AD, mặc dù đã được biết trong patent (RU 2156255, 2000; US 4500461, 1985), tuy nhiên chưa được khẳng định bằng các ví dụ minh họa.

Đã biết phương pháp xyanhydrin xây dựng mạch bên pregnan từ AD được mô tả bởi các nhà khoa học Nhật (Bull. Chem.. Soc.Jpn.,1985,58(3),978-980), tuy nhiên hydroxylan hóa  $\Delta 9(11)$ - AD với axetoncyanhydrin trong các điều kiện đã được mô tả bởi các tác giả xảy ra với sự tạo thành chỉ đồng phân không mong muốn là  $17\alpha$ -xan- $17\beta$ -hydroxy, trong khi phản ứng trong sự có mặt của nhóm  $9\alpha$ -hydroxy trong các điều kiện này chỉ cho đồng phân epime mong muốn  $17\beta$ -xan- $17\alpha$ -hydroxy (Bull. Chem.. Soc.Jpn.,1985,58(3),978-980). Đồng phân  $17\beta$ -xan- $17\alpha$ -hydroxy- $\Delta 9(11)$  có thể được điều chế bằng cách đồng phân hóa tiếp theo đồng phân tạo thành ban đầu  $17\alpha$ -xan- $17\beta$ -hydroxy, chẳng hạn bằng tác dụng xyanua natri hay trietyl amoni hydroxylanit trong dung môi rượu bậc thấp (JPS 5762298, 1982; JPS 5762299, 1982).



Như vậy, có thể kết luận rằng về mặt kết quả kỹ thuật đã nhận được ở ví dụ AD trong các patent (RU 2156255, 2000; RU 2156256, 2000), không thể là ví dụ đủ rõ ràng khi áp dụng vào  $\Delta 9(11)$ - AD trong tổng hợp các dẫn xuất  $17\beta$ -xan- $17\alpha$ -hydroxy pregnan.

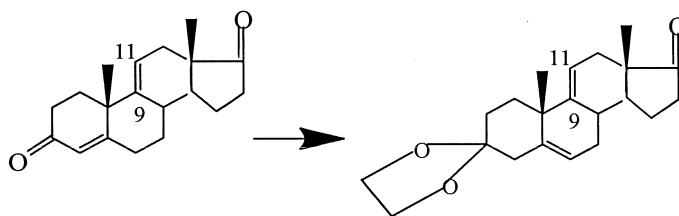
Các tác giả của patent (DD 281394, 1990) đã thành công trong việc điều chế đồng phân epime  $17\beta$ -xan- $17\alpha$ -hydroxy với hiệu suất 93% xuất phát từ  $\Delta 9(11)$ -AD trong môi trường rượu- nước có chứa axeton bằng cách sử dụng xyanua natri làm tác nhân và phương pháp epime hóa tiếp theo, mà bản chất là kết tủa dần dần đồng phân  $17\beta$ -xano bằng cách thay đổi nồng độ nước. Phương pháp tương tự điều chế xyanhydrin  $\Delta 9(11)$ - AD với việc ứng dụng xyanua natri đã được mô tả trong patent (US 4548748,1985) sử dụng hỗn hợp axetoncyanhydrin và xyanua kali- trong patent (US 4500461,1985).

Như vậy, về việc ứng dụng các phương pháp axetoncyanhydrin để hydroxylan hóa chọn lọc lập thể  $\Delta 9(11)$ - AD, còn chưa có trong tài liệu tham khảo

#### Bảo vệ nhóm chức 3-keto

Để tránh khả năng bị alkyl hóa nhóm 3-keto, người ta tiến hành bảo vệ nó bằng cách tạo thành enol ete (metyl hay etyl ete) (J.Am.Chem.Soc., 1953, 75(3), 650-653; J.Org.Chem, 1961, 26 (10), 3925-3928; US 3516991, 1970; US 4500461, 1985; EP 263569, 1988; US 4921638, 1990], tạo ketal vòng [US 3516991, 1970; US4500461, 1985; ; JPS 5762296, 1982; JPS 5762298, 1982; JPS 5762299, 1982; JPS 57622300, 1982; Tetrahedron Letters, 1990, 31(26),

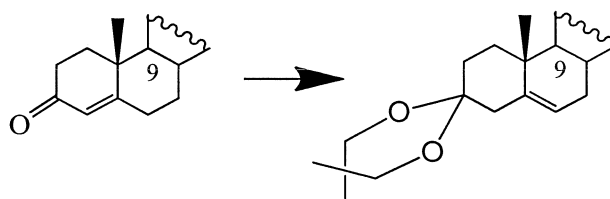
3669-3672) hay enamin (US 3629298, 1971). Bảo vệ etylen ketal có ứng dụng lớn nhất và thường được nhắc đến trong tài liệu tham khảo, ví dụ trong (US 4500461, 1985; JPS 5762296, 1982;-1987, 21(4), 225-300; EP 263569, 1988), đã ứng dụng phương pháp bảo vệ nhóm 3-keto bằng cách tạo vòng 5 vòng 1,3-dioxolan bằng tác dụng với etylenglycol. Tuy nhiên, trong tổng hợp 3,3-etylendioxy-17 $\alpha$ -hydroxy-17 $\beta$ -xyanoandrost-5,9(11)-dien đã mô tả quy trình bảo vệ etylen ketal trước giai đoạn hydroxylan hóa (JPS 5762296, 1982) mà không phải sau giai đoạn hydroxylan hóa như được giả thiết trong phương pháp đã được thông báo.



Phương pháp hydroxylan hóa nhóm 17- keto sau khi bảo vệ nhóm 3-keto của  $\Delta$ 9(11)- AD bằng cách tạo ete 3-metylic trong tổng hợp hydrocortison từ 9 $\alpha$ -OH AD đã được mô tả trong công trình (Tetrahedron Letters, 1990, 31(26), 3669-3672).

Như vậy, chưa thấy mô tả trong tài liệu tham khảo phương pháp bảo vệ nhóm carbonyl ở vị trí C(3) bằng cách tạo etylen ketal sau khi điều chế dẫn xuất 17 $\alpha$ -hydroxy-17 $\beta$ -xyan từ  $\Delta$ 9(11)- AD.

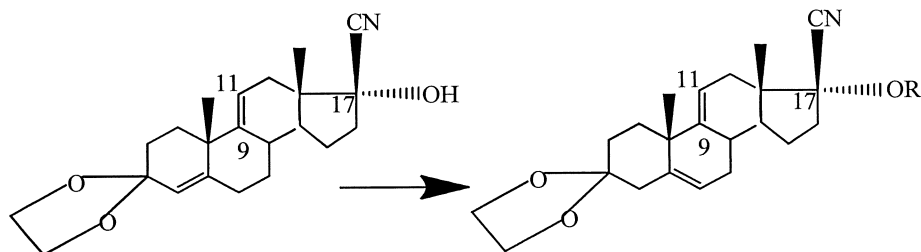
Về ứng dụng 2,2-dimetyl-1,3-propandioli (neopentylglycol ) để bảo vệ nhóm 3-keto của phân tử AD với sự tạo thành vòng 1,3-dioxan, lần đầu tiên được thông báo trong patent (RU 2156255, 2000; RU 2156256, 2000). Tuy nhiên, khả năng ứng dụng của phương pháp bảo vệ này khi alkyl hóa xyanhydrin  $\Delta$ 9(11)-AD, các ví dụ điều chế và ứng dụng 1,3-dioxanoic ketal của xyanhydrin  $\Delta$ 9(11)- AD còn vắng mặt.



Trong trường hợp tiến hành bảo vệ dioxanoic, cũng như khi tạo thành dioxolanoic người ta ứng dụng trialkyloctoformiat (trietyl và trimetyl octoformiat ) (RU 2156256, 2000), hay là diethylaxetal dimetyl formamit. Điều này cho phép dịch chuyển cân bằng trong phản ứng ketal hóa do liên kết hóa học của nước được tạo ra trong quá trình phản ứng. Với tính chất làm xúc tác người

ta sử dụng p-TSA hay là axit sulfosalisilic. Để ketal hóa 17 $\alpha$ -hydroxy-17 $\beta$ -xanandrost-4-en-3-on có thể ứng dụng phương pháp kinh điển đun sôi với etylen glycol trong benzen, xúc tác p-TSA với việc chưng cất đẳng phí nước tạo ra (Chemistry of Natural Compounds, 1984, 20(3), 302-304). Tuy nhiên, phương pháp này tỏ ra kém hiệu quả hơn phương pháp được mô tả ở trên.

#### Bảo vệ nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy

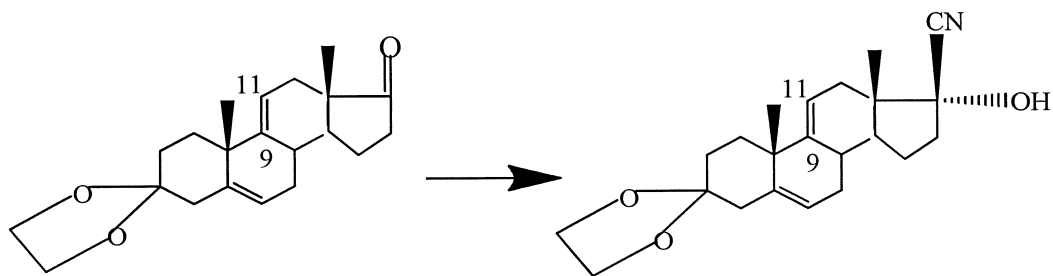


Đã biết, trong các điều kiện alkyl hóa nhóm xanhydrin có thể bị tách loại và tái tạo lại nhóm cacbonyl, tạo thành các sản phẩm alkyl hóa của nó. Các sản phẩm này có thể tạo ra với lượng đáng kể dẫn đến làm giảm hiệu suất và làm bản sản phẩm mong muốn. Để tránh điều này, người ta tiến hành bảo vệ nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy bằng cách tạo ete. Với tính chất là tác nhân ete hóa người ta sử dụng các alkylvinyl ete (etylvinyl (US 4500461, 1985; US 4548748, 1985) hay là butylvinyl (JP 57062296, 1982)). Cũng đã được biết các phương pháp bảo vệ bằng cách tạo thành 17-tetrahydropiranyl ete (J. Am. Chem. Soc., 1959, 81 (21), 5725-5727; EP 263569, 1988) bằng phản ứng với 2,3-dihydropiran trong điều kiện xúc tác axit (p-TSA hay là phospho oxycloxit) hay là trimethylcylinic ete bằng phản ứng với trimethylclocilan (Tetrahedron Letters, 1971, 2005-2008). Tuy nhiên, trong quá trình tạo thành 17-tetrahydropiranylic ete đã phát hiện thấy quá trình đồng phân hóa một phần hợp chất 17 $\beta$ -xan, tăng hàm lượng tạp chất không mong muốn là đồng phân 17 $\alpha$ -xan-17 $\beta$ -tetrahydropiranyloxy. Nhóm bảo vệ trimethylxylol cũng không mong muốn bởi vì chúng cồng kềnh và gây cản trở cho giai đoạn alkyl hóa nhóm nitril trong giai đoạn tiếp theo. Điều này dẫn đến cần thiết áp dụng điều kiện alkyl hóa khắc nghiệt hơn như đun sôi lâu trong THF hay là sử dụng dung môi có nhiệt độ sôi cao, ví dụ anisol) đồng thời kéo theo các phản ứng phụ vào vòng 1,3-dioxolan, tạo ra sản phẩm phân hủy liên kết C-O-3-metyl-3-(oxyetoxy)-pregnan với hiệu suất cao (trong anisol, với hiệu suất định lượng) (Chemistry of Natural Products, 1984, 20(3), 302-304; J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1993 (7), 783-793). Bởi vậy, tốt hơn cả là bảo vệ nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy của các dẫn xuất 17 $\beta$ -carbonitril bằng cách tạo thành 17 $\alpha$ -(1-alkoxy) etyl ete.

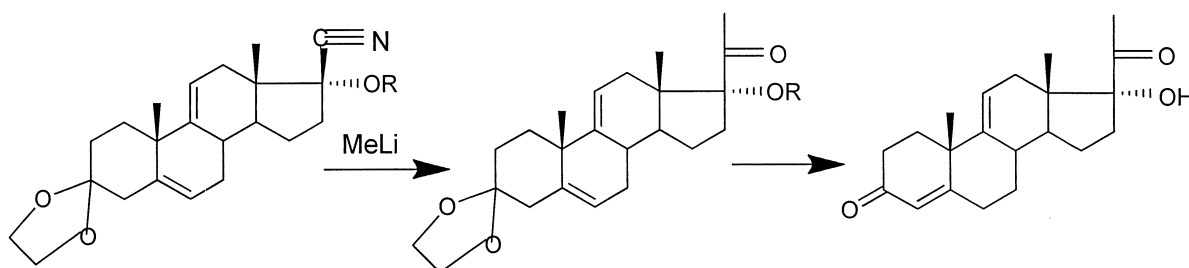
#### Tạo lập 20-ketopregnan bằng cách alkyl hóa nhóm carbonitril

Chuyển hóa tiếp tục các hợp chất 17 $\beta$ -xan-17 $\alpha$ -hydroxy đến 20-keto pregnan được thực hiện bằng cách tương tác các xanhydrin tương ứng với nhóm 3-keto- và 17 $\alpha$ -hydroxy đã được bảo vệ với MeLi (EP 263569, 1988;

Pharmaceutical Chemistry Journal, 1987, 21(4), 297-300; Bull Chem. Soc. Jpn., 1985, 58(3), 978-980) hay là MeMgBr (Chemistry of Natural Compounds, 1984, 20(3), 302-304), (RU 2156255, 2000).



Tuy nhiên, sáng chế (RU 2156255, 2000) được mô tả dưới dạng chung trên cơ sở các ví dụ để điều chế  $17\alpha$ -hydroxy progesteron từ AD. Sử dụng chất đầu là  $\Delta^9(11)$ - AD chưa được khẳng định dưới dạng các ví dụ. Khác với AD, trong  $\Delta^9(11)$ - AD có nối đôi là nhóm có khả năng phản ứng, do vậy các phản ứng triển khai lên hợp chất AD không thể áp dụng hoàn toàn lên hợp chất này.



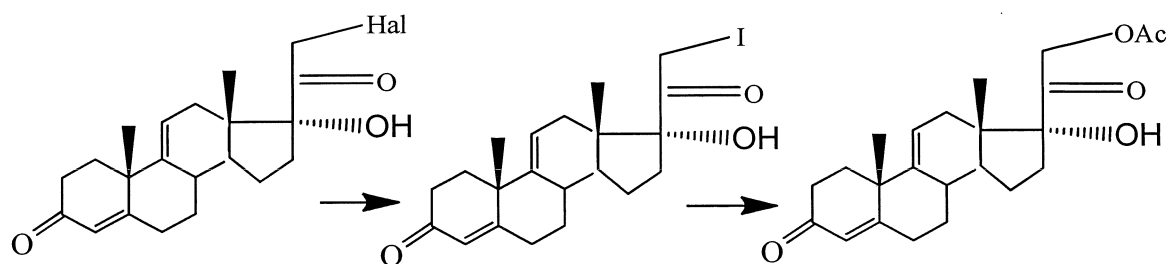
Quy trình tổng hợp  $17\alpha$ -hydroxy pregna- 4,9 (11)-dien-3,20-dion từ  $\Delta^9(11)$ - AD được mô tả trong sáng chế này không thấy trong tài liệu tham khảo.

Đưa nhóm hydroxy vào vị trí C(21) của  $17\alpha$ -hydroxy-20-ketopregnan với sự tạo thành mạch bên corticoit.

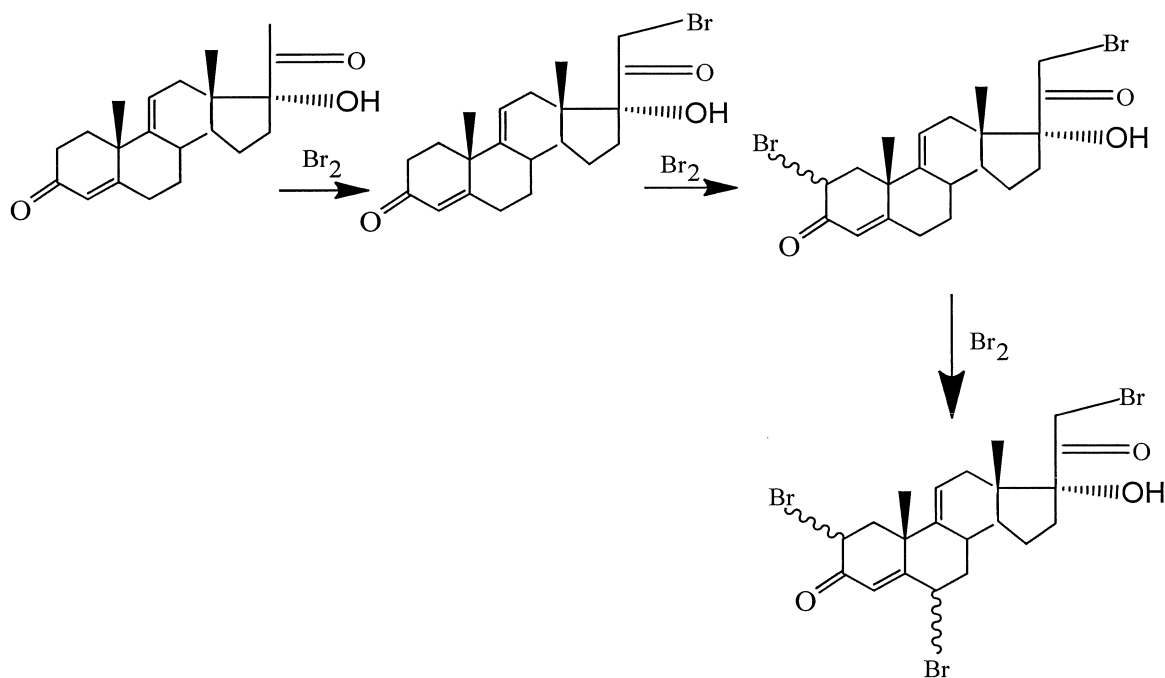
Đã được biết, trong tổng hợp corticosteroid từ  $17\alpha$ -hydroxy pregnan, giai đoạn đầu là halogen hóa vị trí C(21) tạo thành 21-hal- $17\alpha$ - hydroxy pregnan trung gian, sau đó được thế bằng axetoxy bằng cách xử lý với AcOK.

Đã được biết phương pháp điều chế 21- axetat chất “S” Reichstein từ  $17\alpha$ -hydroxy progesteron: nhóm 3-keto được bảo vệ bằng dẫn xuất N-morfolinyl, hợp chất này được chuyển hóa thành 20- ketopregnan theo phương pháp brom hóa vào vị trí C(21) có mặt HCl, sau đó người ta xử lý hỗn hợp các dẫn xuất 21-brom và 21-clo nhận được bằng KOAc có mặt lượng nhỏ NaI trong môi trường axeton (Pharmaceutical Chemistry Journal, 1990, 24 (11), 55-57).

Tổng hợp 21-axetoxi-17 $\alpha$ -hydroxypregna-4,9(11)-dien-3,20-dion cũng có thể được thực hiện từ dẫn xuất 21-brom-17 $\alpha$ -hydroxypregna-4,9(11)-dien-3,20-dion (US 4041055, 1977) hay là dẫn xuất 21-clo (US 4342702, 1982: US 4357279, 1982) bằng cách thực hiện dãy phản ứng thế lần lượt nguyên tử brom hay clo bằng iot nhờ phản ứng với KI, sau đó tạo ra nhóm axetoxi bằng tương tác của dẫn xuất 21- iot steroid với AcOK trong axeton (US 4041055, 1977) hay là hỗn hợp axeton/diclometan (US 4342702, 1982).



Tuy nhiên, khi tổng hợp dẫn xuất 21-brom hay 21-clo pregnan cần thiết bảo vệ nhóm  $\Delta^4$ -3-keto. Để làm điều này cần áp dụng phản ứng tạo ra các dẫn xuất metylic hay etylic 3,5-dienol ete pirolidinoic hay mocfolinic enamin hay là bảo vệ ketal. Trong trường hợp ngược lại, phát hiện thấy sự tạo thành sản phẩm phụ  $\alpha$ -halogen hóa (ví dụ, brom hóa) vào nguyên tử C(2) và khi dư lượng lớn brom- tạo thành sản phẩm halogen hóa vào C(6).



Phản ứng thế nguyên tử iot bằng nhóm axetoxi có thể thực hiện bằng cách xử lý với AcONa hay AcOK. Ngoài ra, có thể sử dụng axetat trietylamin trong

axeton (CN 101125877,2008), hiệu suất chung ở các giai đoạn iot hóa và axetoxy hóa đạt đến 88% (Bull. Chem.Soc.Jpn., 1985,58, 1081-1082).

Cũng đã biết rõ phương pháp 21-axetoxy hóa các pregnan với việc ứng dụng phương pháp iot hóa trực tiếp mà không cần bảo vệ nhóm  $\Delta 4$ -3-keto. Lần đầu tiên phương pháp này đã được đề xuất bởi Khogg và cộng sự vào năm 1955 (J.Am.Chem.Soc.Jpn.,1955,77(16),4436-4438) để điều chế 21-axetat coctesolon và axetat hydrocortison từ 17-hydroxy progesteron, theo đó nhóm Me(21) của phân tử steroid phản ứng với iot trong sự có mặt bazơ và dẫn xuất 21-mono iot được tạo ra trong khi xử lý axylat kim loại kiềm, chuyển hóa thành 21-axyloxy steroid tương ứng.

Ứng dụng lớn nhất của phương pháp iot hóa trực tiếp là trong sản xuất axetat coctesolon từ 17 $\alpha$ -hydroxy progesteron (J.Am.Chem.Soc., 1958,80 (1), 250; SU 151331, 1966; RU 2156256, 2000). Trong patent (GB 882388, 1961) đã mô tả quá trình này đối với 6-metyl 17 $\alpha$ -hydroxy progesteron, còn trong patent (US 5565588, 1996)- đối với 9,17 $\alpha$ -dihydroxy progesteron.

Gần gũi nhất đối với giải pháp hữu ích này, nói riêng đối với trình tự xây dựng mạch bên dioxyaxetonic trên cơ sở các 17-ketoandrostan, đó chính là việc ứng dụng phương pháp xyanhydrin, bảo vệ ketal vòng nhóm 3-keto, bảo vệ nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy bằng phương pháp tạo ra 17 $\alpha$ -(1-alkoxy) etylic ete, alkyl hóa nhóm nitril và 21-axetoxy hóa với việc áp dụng phương pháp iot hóa trực tiếp, đó chính là phương pháp đã được mô tả trong patent (RU 2156256,2000).

Trong patent (RU 2156256,2000), thông báo việc ứng dụng phương pháp iot hóa trực tiếp trong tổng hợp corticosteroid, tạo thành dẫn xuất 21-mono iot và axetoxy hóa tiếp theo trong các điều kiện Gashenko L.G. và Petrov V.N. (Pharmaceutical Chemistry Journal,1972,10,p.27). Tuy nhiên, trong patent (RU 2156256, 2000), tác giả chỉ mô tả phương pháp ở dạng chung, trong đó có mô tả các ví dụ điều chế 21-axetoxy-17-hydroxy progesteron từ AD. Tuy nhiên, vắng mặt các ví dụ điều chế 21- iot- $\Delta 9(11)$ -HPG và 21-axetoxy- $\Delta 9(11)$ -HPG.

Trong tài liệu tham khảo vắng mặt các thông tin điều chế hợp chất 21- iot- $\Delta 9(11)$ - HPG bằng phương pháp iot hóa trực tiếp  $\Delta 9(11)$ -HPG.

Quy trình tổng hợp 21-axetoxy- $\Delta 9(11)$ -HPG từ hợp chất  $\Delta 9(11)$ -AD qua giai đoạn tạo thành 21- iot-  $\Delta 9(11)$ -HPG theo bản mô tả hiện tại vắng mặt trong tài liệu tham khảo

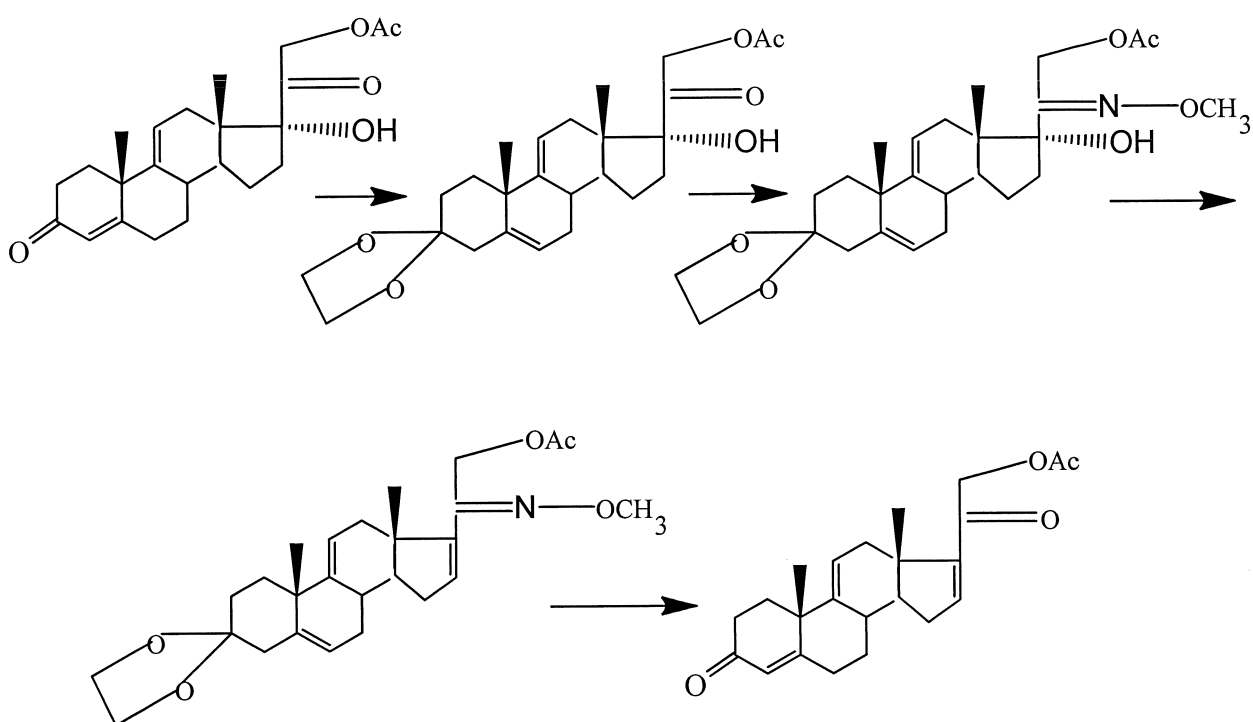
#### Dehydrat hóa nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy để tạo ra $\Delta 16$ -3,20-diketo pregnan

Để chuyển hóa 17 $\alpha$ -hydroxy-20-keto pregnan đến hợp chất  $\Delta 16$ - pregnan tương ứng, cần thiết để tạo lập mảnh phân tử 16 $\alpha$ -metyl-17 $\alpha$ -hydroxy, người ta tiến hành dehydrat hóa nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy.

Dehydrat hóa nhóm  $17\alpha$ -hydroxy trong trường hợp này là một nhiệm vụ khó khăn. Con đường thuận lợi hơn, trước hết cần chuyển hóa nhóm hydroxy đến dẫn xuất  $17\alpha$ -axetyl tương ứng.

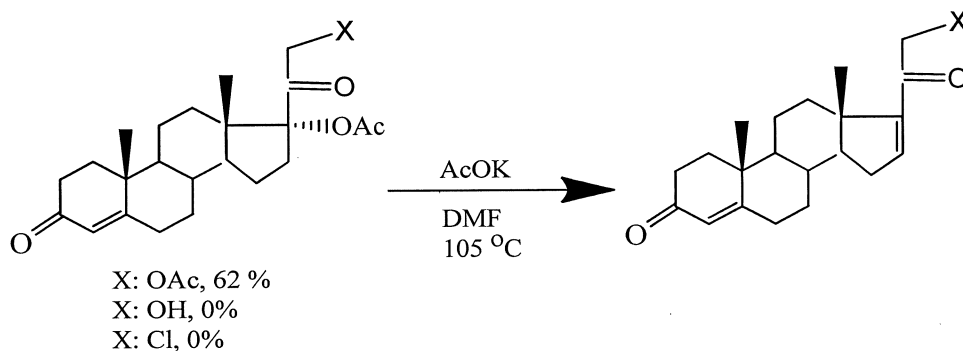
Cũng được biết, về nguyên tắc lý thuyết, dehydrat hóa nhóm  $17\alpha$ -hydroxy trong  $17\alpha$ -hydroxy-20-ketopregnan có thể thực hiện được, chẳng hạn bằng hỗn hợp oxycloxit phospho và pyridin.

Được biết phương pháp tạo lập liên kết  $\Delta^{16}$ -pregnan đối với phân tử 21-axetoxi- $\Delta^9(11)$ -HPG [US 3493563, 1970]. Phương pháp bao gồm ở việc xử lý hợp chất  $17\alpha$ -hydroxy- pregnan tương ứng bằng tionylthionylclorit trong pyridin và bảo vệ nhóm 3-keto trước đó bằng ketal hóa, bảo vệ nhóm 20-keto bằng cách tạo thành dẫn xuất metoxyimin.



Tuy nhiên, hiệu suất từng giai đoạn không cao.

Năm 1970, Salse Hazen và Schoenevaldt đã thông báo rằng khi đun nóng các hợp chất  $17\alpha$ -axyloxy-20-oxosteroid ở nhiệt độ  $100-105^\circ\text{C}$  trong AcOK/dimetylformamit, 7 giờ dẫn đến tách loại chức axyloxy với sự tạo thành 16-dehydro-20-oxosteroid (J.Org.Chem.,1970,35,p.1681: US 3631076,1971). Điều kiện quan trọng để xảy ra phản ứng này là có mặt nhóm este ở C(21). Điều này đã được khẳng định trong kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của bản chất nhóm thế ở C(21) lên sự tách loại nhóm  $17\alpha$ -axyloxy ở các hợp chất  $17\alpha$ -axyloxy-20-oxosteroid đã được triển khai bởi các nhà khoa học Solo và Suto vào năm 1980 (J.Org.Chem.,1980,45, 2012).



Kết quả chỉ ra là hiệu suất sản phẩm khi có mặt nhóm 21-axetoxi không vượt quá 62%, trong khi sự có mặt nhóm 21-hydroxy đã xảy ra quá trình dịch chuyển axyl nhóm axetoxi từ vị trí C(17) đến C(21), còn trong trường hợp dẫn xuất 21-clo phản ứng tách loại hoàn toàn không xảy ra.

Este hóa nhóm  $17\alpha$ -hydroxy bậc ba rất khó chuyển hóa bằng cách axyl hóa ưu tiên 21-axetat 20-oxopregnan bằng hỗn hợp axit cacboxylic và anhydrit của chúng trong sự có mặt các xúc tác axit ở nhiệt độ  $18-35^{\circ}\text{C}$ . Với tính chất là xúc tác có thể sử dụng p-TSA, 55-70% axit clohydric, axit sulfuric, v.v. [SU 668288, 1994; GB 1375770, 1974]. Phản ứng phụ của quá trình 17-axyl hóa  $\Delta 4$ -3-ketosteroid là enol hóa vào C(3), quá trình xảy ra trong chính các điều kiện xúc tác axit. Hợp chất C(3)-axylat sau đó có thể bị thủy phân với sự tái tạo lại cấu trúc  $\Delta 4$ -3-keto. Tuy nhiên, trong tổng hợp các corticoid, các hợp chất với mạch bên dioxyaxetonoic ở C(17). Khi thủy phân 3-axylat xuất hiện vấn đề mới: Thủy phân 21-axetoxi, dịch chuyển axyl của nhóm este từ vị trí C(17) đến C(21), và thủy phân tiếp theo tạo thành  $17\alpha, 21$ -dihydroxy steroid.

Ngoài ra, phản ứng 17-axetyl hóa có thể được thực hiện trong các điều kiện xúc tác bazơ (US 3678082, 1972) bằng dimetylaminopyridin trong hệ  $\text{Ac}_2\text{O}$ /trietylamin

Tuy nhiên, các ví dụ sử dụng phương pháp này đối với 17-axetyl hóa các corticoid là vắng mặt.

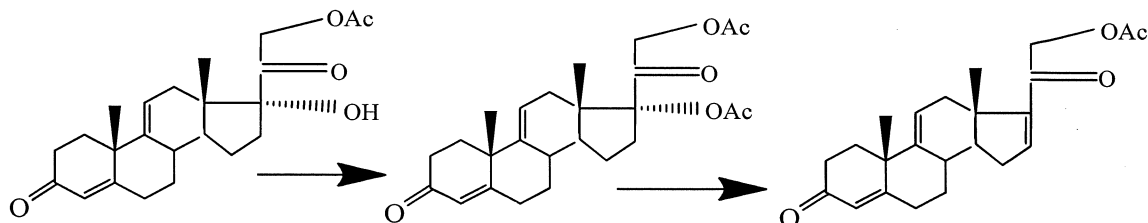
Este hóa các nhóm hydroxy cản trở không gian mà không đụng chạm đến nhóm  $\Delta 4$ -3-keto là có thể được khi triển khai phản ứng trong môi trường  $\text{Ac}_2\text{O}$  có mặt CaO ở nhiệt độ sôi (JP 53009755, 1978). Ngoài CaO các tác giả đã sử dụng  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , ZnO, cũng như axetat magie, canxi, mangan, kẽm hay bari. Tuy nhiên, việc điều chế  $17\alpha, 21$ -diacetoxi pregna-4,9(11)-dien-3,20-dion bằng phương pháp này về cơ bản chưa thấy trong tài liệu tham khảo.

Trong patent (DE 2055221, 1972), đã mô tả quá trình axyl hóa  $17\alpha$ -hydroxy pregnan đạt hiệu suất cao khi sử dụng anhydrit hay là axylclorit trong hỗn hợp với  $\text{SnCl}_4$  khan và môi trường nitrometan. Cũng có thể sử dụng các halogenua hay anhydrit axit cacboxylic, có mặt xúc tác phosphat:  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , este mono- hay dialkyl của nó như  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_3\text{PO}_4$ . Tuy nhiên không mô tả quá trình

điều chế hợp chất 17 $\alpha$ , 21-diaxetoxy pregna-4,9(11)-dien-3,20-dion trong patent này.

Đã được biết phương pháp axetyl hóa nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy của phân tử 21-axetoxy- $\Delta$ 9(11)-HPG (US 4154748, 1979) tạo thành 17 $\alpha$ , 21-axetoxy pregna-4,9(11)-dien-3,20-dion bằng tác dụng Ac<sub>2</sub>O trong điều kiện xúc tác là dẫn xuất axit phosphoric.

Cần nhấn mạnh rằng ở điều kiện xúc tác 85% axit phosphoric (Ac<sub>2</sub>O/AcOH), sản phẩm nhận được với hiệu suất 97,5% và chứa tạp chất là chất đầu và 3-enolat chỉ lượng vết.



Gần nhất về bản chất phương pháp axyl hóa được áp dụng trong giải pháp hữu ích này là phương pháp của patent (GB 1097164, 1967). Axyl hóa nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy trong sự có mặt nhóm 21-axetoxy được thực hiện bằng phương pháp sử dụng hỗn hợp các anhydrit bao gồm ở việc xử lý steroid ban đầu bằng hỗn hợp anhydrit trifloaxetic và axit, nhận được este của nó ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 1 giờ. Tuy nhiên, việc điều chế hợp chất 17 $\alpha$ ,21-diaxetoxy pregna-4,9(11)-dien-3,20-dion bằng phương pháp này là chưa thấy trong tài liệu tham khảo. Hơn nữa, ứng dụng các anhydrit hỗn hợp để axetyl hóa nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy ở hợp chất 21-axetoxy-17 $\alpha$ -hydroxy pregna-4,9 (11)-dien-3,20-dion chưa tìm thấy trong tài liệu tham khảo.

Đã được biết patent (US 3631076,1971): Hợp chất 17, 21-diaxetat có thể được chuyển hóa đến dẫn xuất  $\Delta$ 16- bằng cách xử lý với AcOK ở nhiệt độ 100°C trong khoảng thời gian 7 giờ, dung môi DMF. Tuy nhiên, điều chế hợp chất 21-axetoxy pregna-4,9(11),16-trien-3,20-dion trong patent này không được mô tả và hiệu suất các sản phẩm không được chỉ ra.

Một phương pháp hiệu quả tách loại nhóm 17-axetoxy được mô tả trong patent (SU 819119,1981) bao gồm ở việc xử lý steroid ban đầu bằng AcOK trong dimetylsulfoxit, nhiệt độ 80-85°C. Tuy nhiên, điều chế 21-axetoxy pregna-4,9(11),16-trien-3,20-dion bằng phương pháp này là chưa được biết.

#### Tạo lập liên kết đôi $\Delta$ 1(2)- pregnan

Có thể tạo lập liên kết đôi  $\Delta$ 1(2)- pregnan bằng phương pháp vi sinh và hóa học.

Tạo lập liên kết đôi  $\Delta 1(2)$ - bằng phương pháp vi sinh:

Đã được biết các phương pháp vi sinh thực hiện quá trình 1,2-dehydrogen hóa các steroid, bao gồm dãy pregnan.

Với tính chất là xúc tác sinh học của quá trình 1,2-dehydrogen hóa người ta sử dụng các chủng vi sinh 3-ketosteroid- $\Delta 1$ -dehydrogenaza: *Arthrobacter*, *Alternaria*, *Alcaligenes*, *Calonectria*, *Ophiobolus*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, *Fusarium*, *Cylindrocarpus*, *Pseudomonas*, *Protaninobacter*, *Septomyxa*, *Diemlla*, *Rhodococcus*, v.v. (Charney W., Herzog H. Microbial transformation of Steroids. Academic Press. Inc. New York, 1967, p. 236-261; J. Basic. Microbiol, 1990, 30(6), 415-423; J.Biochem., 1999, 126, 662-667). Thông thường nhất để tiến hành quá trình 1,2-dehydro hóa các hợp chất steroid dãy pregnan và androstan người ta sử dụng các chủng *Arthrobacter simplex*.

Đặc tính của quá trình 1,2-dehydro hóa các dẫn xuất axetyl hóa 21-hydroxy- $\Delta 4$ -3-ketosteroid bằng vi sinh vật là kéo theo quá trình 1,2-dehydrogen hóa là deaxetyl hóa (thủy phân nhóm este) (Steroids, 2003, 68(5), 415-421). Đây là nhược điểm của các phương pháp đã biết, bởi vì phát sinh thêm việc axetyl hóa trở lại nhóm hydroxyl ở C(21).

Patent (US 4524134, 1985) đã mô tả sử dụng chủng *Arthrobacter simplex* để 1,2-dehydrogen hóa 21-axetoxypregn-4,9(11),16-trien-3,20-dion quy mô 8 g/l trong môi trường đệm phosphat (PH 7,5) có mặt menadion. Cơ chất steroid được đưa vào môi trường để chuyển hóa trong dung dịch DMF, mà nồng độ của nó trong môi trường đạt 2%. Tuy nhiên sản phẩm 1,2-dehydrogen hóa chỉ nhận được với hiệu suất 18,1%; khi đó hàm lượng chất chính chỉ đạt 59,1%. Trong sản phẩm cũng chứa 40,9 % cơ chất không chuyển hóa và một lượng đáng kể các hợp chất steroid khác không mong muốn. Các tác giả nhấn mạnh rằng nhược điểm chứa có liên quan đến việc sử dụng chủng vi sinh và có thể tránh được nếu sử dụng các tế bào đã được sấy khô trong chính các điều kiện chuyển hóa đó. Phương pháp điều chế hợp chất 1,2-dehydro- $\Delta 4$ -3-ketosteroid bao gồm ở việc xử lý hợp chất  $\Delta 4$ -3-ketosteroid-1-bão hòa bằng các tế bào đã được sấy khô *Arthrobacter simplex* có chứa từ 1 đến 10% chất ẩm, thêm vào nữa các tế bào được sấy khô vắng mặt dung môi hữu cơ đã được mô tả trong chính ví dụ này (US 4524134, 1985). Khi đó hợp chất 1,2-dehydro- $\Delta 4$ -3-ketosteroid hay là 21-mono este được lựa chọn từ nhóm bao gồm 21-axetoxypregna-1,4,9(11),16-trien-3,20-dion được triển khai trong dung dịch đệm phosphat (PH 7,5) bằng tế bào sấy khô (10 g/l) với quy mô 8 g/l steroid, có mặt DMF trong môi trường 2%, duy trì 24 giờ ở 31°C. Tuy nhiên, như đã nhấn mạnh trong ví dụ 3, trong kết quả sinh chuyển hóa các hợp chất 21-axetyl steroid người ta nhận được hỗn hợp bao gồm các hợp chất 21-axetoxypregna- $\Delta 1,4$ - và các hợp chất tương tự 21-hydroxy của chúng. Như thế, hiệu suất hỗn hợp các sản phẩm 21-axetoxypregna-

1,4,9(11),16-tetraen-3,20-dion (21-axetat tetraen) và 21-hydroxy pregna-1,4,9(11),16-tetraen-3,20-dion (tetraen) với việc ứng dụng các tế bào sấy khô đã đạt 79,6% hoạt chất chính (có cấu trúc  $\Delta^{1,4}$ - 97,8% ), cơ chất còn lại 2,1%.

Như vậy, nhược điểm cơ bản của phương pháp là cần thiết tiến hành sấy khô sơ bộ các tế bào đến hàm lượng ẩm từ 1-10% trong điều kiện vắng mặt dung môi hữu cơ. Như đã được mô tả trong patent (US 4524134,1985), người ta xử lý chủng tế bào sau khi ủ bằng ly tâm, và sau đó sấy khô trong chân không ở nhiệt độ 55°C trong khoảng thời gian 24 giờ. Sau đó khuấy đảo vật liệu tế bào đã được sấy khô trong container bịt kín, và bảo quản ở 50°C để chờ sử dụng vào chuyển hóa sinh học. Quá trình sấy khô tế bào là phức tạp và tiêu hao năng lượng. Ngoài ra, sử dụng các tế bào sấy khô (1,25 g tế bào đối với 1,0 g cơ chất steroid), nó chứa tạp chất hỗn hợp của 21-axetat tetraen và hợp chất tương tự 21-deaxetyl hóa của nó. Như vậy, phân tích các dữ liệu trình bày trong patent chứng minh một điều là quá trình 1,2-dehydrogen hóa các dẫn xuất 21-axetyl hóa các steroid  $\Delta^4$ -3-ketopregnan, khi sử dụng các tế bào sấy khô, cũng như khi sử dụng chủng vi sinh đang phát triển là không có tính chọn lọc. Quá trình 1,2-dehydrogen hóa kèm theo deaxetyl hóa. Từ nguồn thông tin nhận được và phân tích vắng mặt các số liệu về hiệu suất, định lượng sản phẩm hữu ích dehydrogen axetyl hóa. Không chỉ ra mức độ thủy phân và tỷ lệ các sản phẩm dehydrogen hóa 21-axetyl và 21-deaxetyl hóa, đó là thiếu sót quan trọng của phương pháp này.

Đã biết phương pháp vi sinh 1,2-dehydrogen hóa 3-ketosteroid bằng chủng *A. simplex* hay là bacterium các cyclxyclooxydan, có mặt chất mang electron ngoại sinh và dung môi không trộn với nước bao gồm các hydrocacbon thơm (GB 2131811,1984). Theo phương pháp này, quá trình chuyển hóa 21-axetoxypregna-4,9(11),16-trien-3,20-dion quy mô 8 g/l được triển khai bằng các tế bào *A. simplex* trong sự có mặt 1% trọng lượng menadion trong dung dịch đệm phosphat (PH 7,5) chứa 10% toluen, thời gian 25 giờ ở  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ . Phân lớp toluen chứa 94,3% hợp chất 21-axetat tetraen và 4,2% tetraen với 1,5% chất dầu 21-axetoxypregna-4,9(11),16-trien-3,20-dion. Tuy nhiên, trong bản mô tả vắng mặt thông tin về kết quả phân tách sản phẩm, hiệu suất và chất lượng của nó.

Cũng được biết phương pháp sinh chuyển hóa hợp chất 1,2-bão hòa-3-ketosteroid thành dẫn xuất 1,2-dehydro sử dụng chủng *A. simplex* trong sự có mặt chất mang electron ngoại sinh (US 4749649, 1988). Khi đó 3-ketopregnan được lựa chọn trong số : 21-axetoxypregna- 4,9(11),16-trien-3,20-dion. Theo phương pháp này người ta tiến hành quá trình trong hệ nước đệm có nồng độ mol từ 0,01 M đến 2,0 M và có chứa dung môi không trộn với nước (toluen, kcilol hay benzen) và chế phẩm có hoạt tính steroid-1-dehydrogen hóa mà có thể là chất lỏng nuôi cấy dạng bột nhão ẩm các tế bào với độ ẩm 60-85% hay là khối tế bào chứa chất ẩm từ 1-30%.

Phương pháp của patent (US 4749649,1988) đề xuất ứng dụng men ngoại sinh. Tuy nhiên, phương pháp được minh họa bằng một ví dụ duy nhất chuyển hóa hợp chất dãy pregnan- hydrocortisonhydrocortison trong môi trường đệm phosphat (50 mMol), ứng dụng các tế bào khô quy mô 0,5 g/l cơ chất. Khi đó sau khi ủ, có mặt xúc tác chuyển hóa hydrocortisonhydrocortison đến prednisolon đạt 69%, còn khi không có men ngoại sinh đạt thấp hơn 27%. Việc bổ sung men ngoại sinh chất siêu oxyt phân hóa nhằm loại bỏ sự ảnh hưởng ức chế của oxy singlet lên hoạt tính dehydrogenaza làm cho phương pháp trở nên đắt đỏ và là nhược điểm lớn của phương pháp này.

Như vậy, các nhược điểm chung của các phương pháp điều chế 21-axetat tetraen bằng 1,2-dehydrogen hóa vi sinh với tiền chất 3-keto- $\Delta^4$  trong môi trường hai pha với việc ứng dụng các dung môi hữu cơ không trộn với nước là:

- Nồng độ cơ chất thấp (dưới 8g/l), thời gian dài (trên 24 giờ), vắng mặt thông tin về phương pháp tách loại, hiệu suất và đánh giá chất lượng sản phẩm.
- Sử dụng lượng lớn dung môi hữu cơ dễ cháy ở giai đoạn chuyển hóa đòi hỏi thiết bị lên men đặc biệt và tuân thủ các quy tắc đặc biệt an toàn cháy nổ.
- Sự phức tạp của việc triển khai quá trình công nghệ trong các điều kiện nạp vào hỗn hợp khí, khi đó cần tạo lập và duy trì nghiêm ngặt nồng độ tối thiểu cho phép để tránh sự bốc cháy của hỗn hợp khí và hơi, đồng thời đảm bảo cho quá trình oxy hóa cơ chất xảy ra tốt nhất.

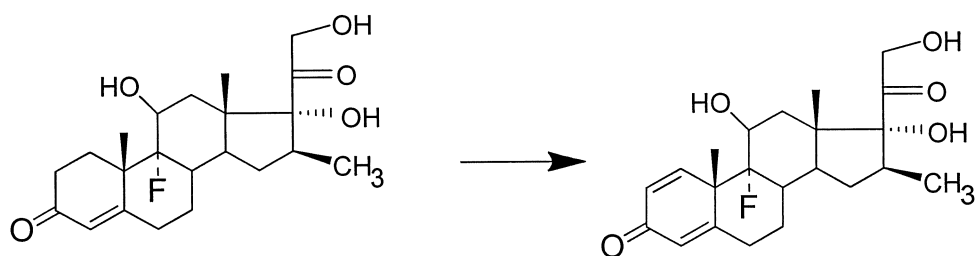
Đã biết phương pháp tạo lập liên kết đôi  $\Delta^1(2)$ - steroid qua ví dụ 1,2-dehydrogen hóa 21-axetoxypregna-4,9(11),16-trien-3,20-dion(J. Steroid Biochem. Mol.Biol., 2003,87(4-5),pp.434-439). Người ta triển khai sinh chuyển hóa mà không thêm methyl- $\beta$ -cyclxyclodestrin (MCD), môi trường 0,01 M dung dịch đệm natri phosphat (PH 7,4-8,1) ở nhiệt độ 30°C. Cơ chất ban đầu (1,0 g/l) được thêm vào dưới dạng bột mịn micromet. Khi chuyển hóa cơ chất bằng các tế bào nativở hàm lượng sinh khối 330 g/l phát hiện thấy quá trình deaxetyl hóa, kéo theo quá trình 1,2-dehydrogen hóa tiếp theo. Qua 20 giờ chuyển hóa xảy ra tích lũy 70% sản phẩm tetraen deaxetyl hóa 1,2-dehydrogen hóa, còn lại 30% cơ chất deaxetyl hóa khi chuyển hóa toàn bộ cơ chất được đưa vào.

Ứng dụng methyl- $\beta$ -cyclxyclodestrin (MCD) cho phép tăng đáng kể hiệu quả quá trình này (J. Steroid Biochem. Mol.Biol., 2003, 87 (4-5), 434-439). Khi chuyển hóa cơ chất (1,0 g/l) bằng các tế bào nativ với sinh khối 330 g/l và tỷ lệ mol steroid:MCD bằng 1:2, có mặt FMS (0,4 mg/ml) tích lũy cực đại hợp chất 21-axetat tetraen sau 1 giờ ủ đạt 75%. Tiếp tục giảm hàm lượng của nó đến 0 tương ứng tích lũy sản phẩm tetraen 1,2-dehydrogen hóa deaxetyl đạt 90% sau 5 giờ. Khi đó hàm lượng cơ chất bị deaxetyl hóa-21-hydroxy pregna-4,9(11),16-

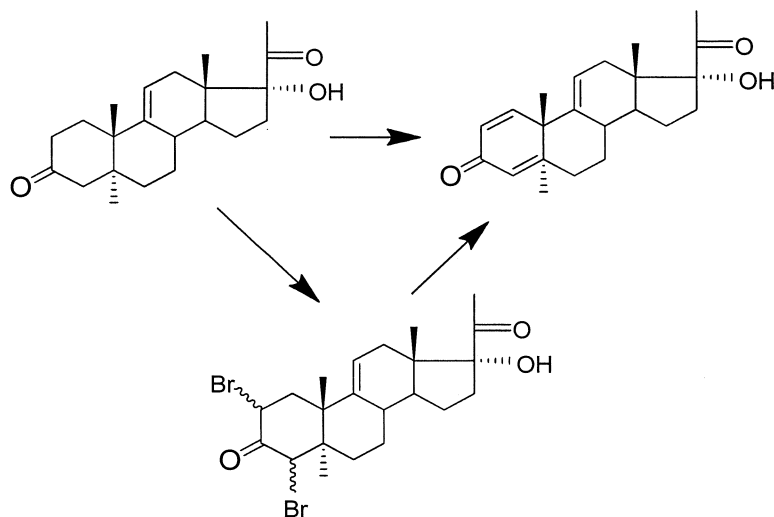
trien-3,20-dion không vượt quá 10% (cơ chất được chuyển hóa hoàn toàn sau 5 giờ ủ). Để giảm quá trình deacetyl hóa, vào những giờ đầu tiên chuyển hóa, người ta sử dụng sinh khối thấp bằng 33 mg/ml. Khi đó chuyển hóa cơ chất (1,0 g/l) ở tỷ lệ mol steroid : MCD = 1:2 với sự có mặt FMS (0,4 mg/ml) tích lũy cực đại 21-axetat tetraen sau 1 giờ ủ đạt 75%. Tiếp theo, giảm giá trị hàm lượng của nó đến 0 tương ứng với sự tích lũy sản phẩm tetraen 1,2-dehydrogen deacetyl hóa đạt 90% sau 5 giờ. Khi đó hàm lượng cơ chất deacetyl hóa hợp chất 21-hydroxy pregna-4,9(11),16-trien-3,20-dion không vượt quá 10% (cơ chất hoàn toàn chuyển hóa sau 5 giờ ủ). Để giảm quá trình deacetyl hóa, vào những giờ đầu tiên của quá trình, người ta sử dụng sinh khối thấp bằng 33 mg/ml. Khi đó chuyển hóa cơ chất (1,0 g/l) theo tỷ lệ mol steroid : MCD bằng 1:2 trong sự có mặt FMS (0,4 mg/ml) sau 5,5 giờ kết thúc phản ứng với hàm lượng 92% 21-axetat tetraen và dưới 5-7% dẫn xuất deacetyl hóa. Nồng độ thấp cơ chất ban đầu (1 g/l) là nhược điểm cơ bản của phương pháp này.

#### Tạo lập liên kết đôi $\Delta 1(2)$ -pregnan bằng phương pháp hóa học

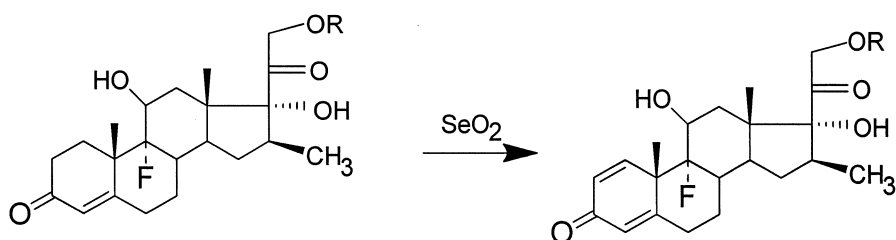
Tạo lập liên kết  $\Delta 1(2)$ -pregnan có thể thực hiện một cách hiệu quả bằng các phương pháp hoá học. Các phương pháp này từ lâu và đã được biết và áp dụng rất tốt để tạo lập đồng thời các liên kết 1,2 và 3,4 - olefin trong vòng A các hợp chất steroid dãy  $\Delta 5$ -. Ví dụ bằng phản ứng của tác nhân dehydrogen hóa là quinon như 2,3-dicloro-5,6-dixyano-benzoquinon trong sự có mặt một axit hữu cơ mạnh chẳng hạn như tricloaxetic axit hoặc p-nitrophenol (US 3715376, 1973).



Phương pháp 1,2- dehydrogen hoá vòng A ở trên cũng có thể được áp dụng hiệu quả để điều chế các hợp chất 2,4-dibrom tương ứng, debrom hoá tiếp theo ta nhận được hợp chất 1,4,9-trien mong muốn (GB 1303638, 1970).



Có thể 1,2-dehydrogen hóa bằng phương pháp hoá học sử dụng  $\text{SeO}_2$  (GB1364193, 1974) hoặc với 2,3-dicloro-5,6-dixyano-1,4-benzoquinon trong các dung môi hữu cơ thích hợp như dioxan hoặc benzen (US 3780177, 1973). Dehydrogen hóa bằng phương pháp hoá học có thể được thực hiện đối với 21-axylat hoặc là 21-ancol steroid. Các axylat steroid nói chung được ưa dùng như là các nguyên liệu đầu trong phản ứng dehydrogen hoá bằng  $\text{SeO}_2$  cho ta tương ứng  $\Delta^{1,4}$ -21-axylat steroid.

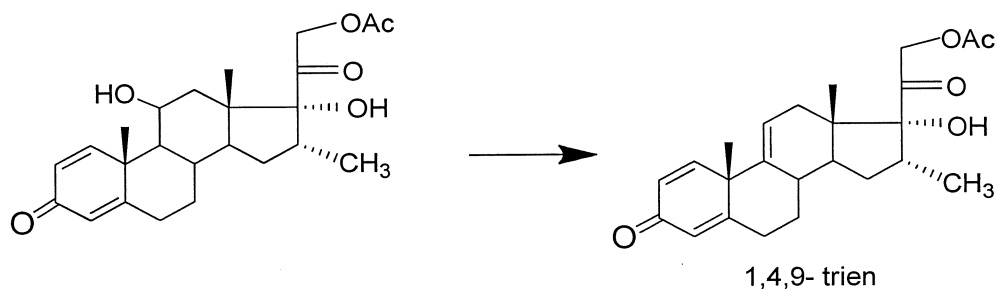


Trong công nghiệp, phương pháp 1,2-dehydrogen hóa học dùng  $\text{SeO}_2$  vẫn đang được áp dụng vì chỉ cần thiết bị thông dụng rẻ tiền, dễ triển khai. Nhược điểm của phương pháp hóa học chủ yếu là hiệu suất sản phẩm chính chỉ đạt 55-65%. Các tài liệu áp dụng phương pháp  $\text{SeO}_2$  này trong tài liệu tham khảo là chưa được biết đối với trường hợp nguyên liệu đầu là  $9\alpha$ -OH AD. Trong các ví dụ trên, giai đoạn 1,2-dehydrogen hóa đều triển khai vào giai đoạn cuối cùng, làm giảm hiệu suất chung. Trong giải pháp hữu ích được mô tả của chúng tôi, quá trình này triển khai sớm trước cả giai đoạn chia khóa đưa nhóm methyl vào vị trí C(16).

#### Đưa mảnh phân tử $16\alpha$ -methyl- $17\alpha$ -hydroxy vào $\Delta^{16}$ -pregnan

Cho đến nay, theo tài liệu tham khảo có rất ít thông tin về tổng hợp 21-axetoxi- $17\alpha$ -hydroxy- $16\alpha$ -methyl pregnan-1,4,9(11)-trien-3,20-dion (1,4,9-trien) từ 21-axetat tetraen. Chỉ có tài liệu tham khảo về chức hóa các vị trí C(16) và C(17) trong các hợp chất 21-axetoxi với hệ thống vòng A liên hợp. Khi đó tạo lập liên kết  $\Delta^{9(11)}$ - thường được thực hiện vào giai đoạn cuối cùng.

Chẳng hạn, được biết phương pháp điều chế 1,4,9-trien (US 3284477, 1966). Tuy nhiên người ta thực hiện quá trình tổng hợp từ 21-axetat 16 $\alpha$ -metyl prednisolon bằng cách dehydrat hóa nhóm 11 $\beta$ -hydroxy bằng tác dụng metylsulfonylclorit trong pyridin.

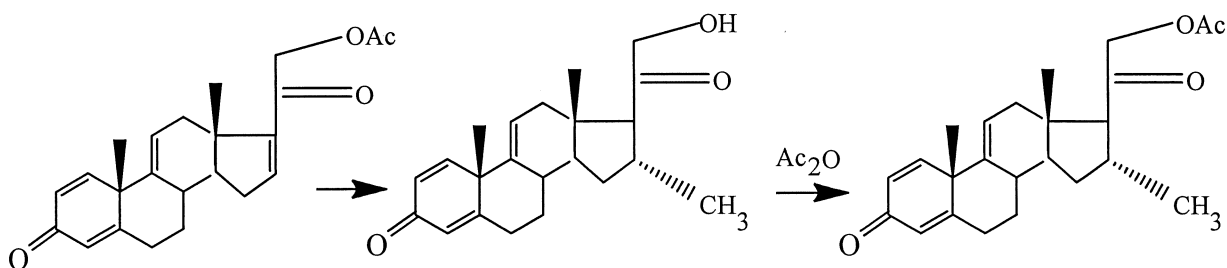


Hợp chất 1,4,9-trien là hợp chất trung gian chìa khóa trong tổng hợp các corticoit từ 9 $\alpha$ -OH AD có nhóm methyl cấu hình  $\alpha$  ở C(16) và hydroxy ở C(17).

#### Đưa nhóm 16 $\alpha$ -metyl và 17 $\alpha$ -hydroxy vào $\Delta$ 16-20-ketopregnan

Thông thường, người ta thực hiện bởi quá trình 2 giai đoạn, ban đầu 16 $\alpha$ -metyl hóa. Đưa nhóm 16 $\alpha$ -metyl vào  $\Delta$ 16-20-ketopregnan thường được thực hiện bằng phản ứng cộng hợp-1,4 tác nhân MeMgHal có mặt xúc tác đồng (I).

Đã biết quá trình 16 $\alpha$ -metyl hóa 21-axetat tetraen với sự tạo thành 21-hydroxy-16 $\alpha$ -metylpregna-1,4,9(11)-trien-3,20-dion, tiếp theo đó 21-axetyl hóa (CA 1029659, 1978).



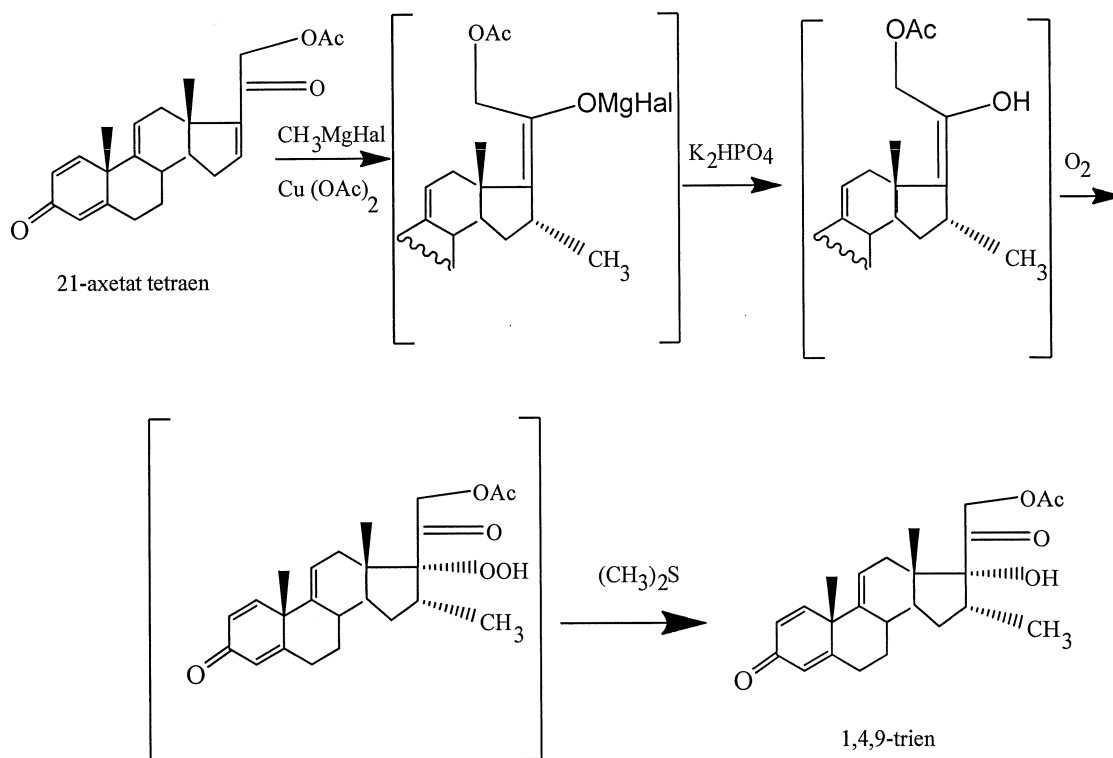
Tuy nhiên, từ 100g 21-axetat tetraen, các tác giả nhận được với việc sử dụng phương pháp tinh chế sắc ký và kết tinh lại từ EtOAc, nhận được toàn bộ chỉ 22,7g hợp chất 16 $\alpha$ -metylpregnan.

Nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy trong hợp chất 17 $\alpha$ -hydroxy-  $\Delta$ 4-3,20-diketopregnan có thể được chuyển hóa thành 16 $\alpha$ -metyl- $\Delta$ 4-3,20-diketosteroid bằng phương pháp sinh học với chủng *Dactylium dendroides* (GB 891594, 1962). Tuy nhiên theo tài liệu tham khảo, vắng mặt các thông tin về khả năng 17-hydroxyl hóa vì sinh các hợp chất 16 $\alpha$ -metyl- $\Delta$ 1,4,9(11)-3,20-diketosteroid.

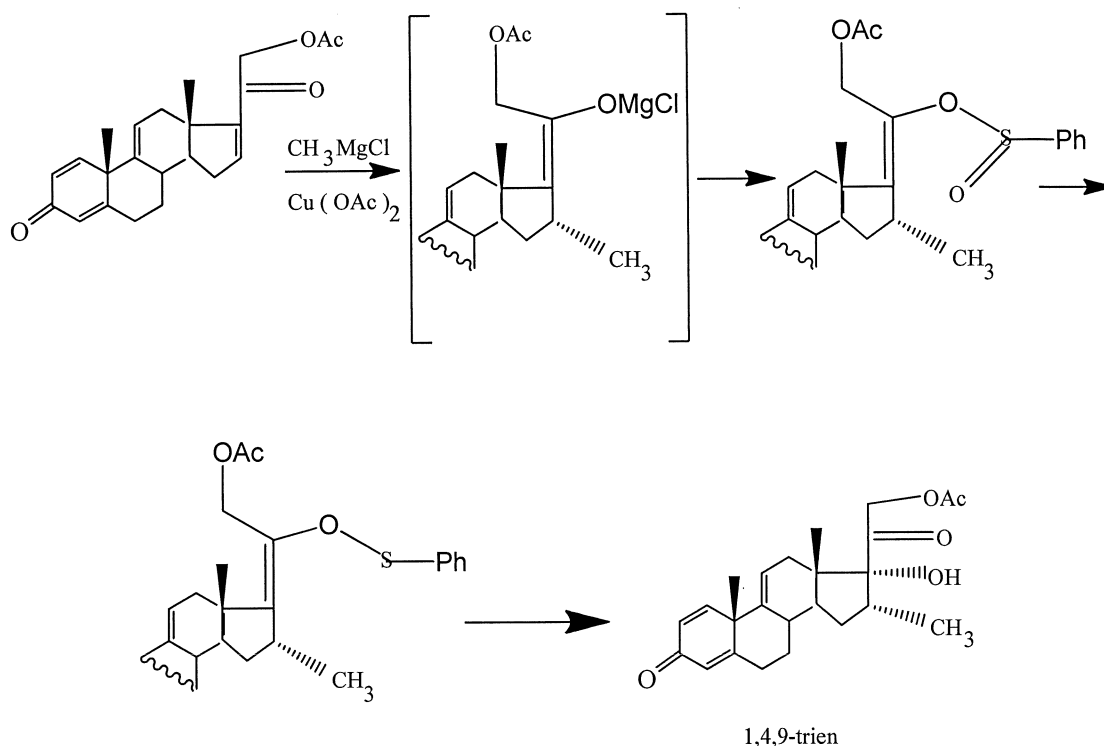
Đã được biết quá trình 17 $\alpha$ -hydroxyl hóa các hợp chất 20-keto pregnan có thể được triển khai, chẳng hạn bằng phương pháp oxy hóa trực tiếp theo Bacton (GB 963287, 1964) hay là phương pháp Gallakher và Kritev (US 2562030, 1951). Trên cơ sở các phương pháp này, có ý tưởng oxy hóa  $\Delta$ 17(20)-20-

hydroxy steroid nhận được bằng cách enol hóa sơ bộ nhóm chức cacbonyl ở C(20). Trong trường hợp đầu tiên, người ta tiến hành oxy hóa bằng oxy trong sự có mặt tec-butylat kali, trong trường hợp thứ 2- bằng tác dụng của per- axit. Tuy nhiên, enolaxetyl hóa nhóm 20-keto ở các hợp chất 16 $\alpha$ -metyl steroid là khó khăn. Phản ứng xảy ra chậm và hiệu suất thấp.

Cũng được biết các phương pháp điều chế 1,4,9-trien từ 21-axetat tetraen với việc ứng dụng phương pháp mô hình hóa Gallakher và Kritev, bao gồm ở việc xử lý 16 $\alpha$ -metyl- $\Delta^{17(20)}$ -20-enolat bằng tác nhân axyl hóa [EP 0165037, 1985; US 4929395, 1990]. Tuy nhiên, hiệu suất 1,4,9-trien trong cả hai patent không được chỉ ra và không thể đánh giá hiệu quả của phương pháp.

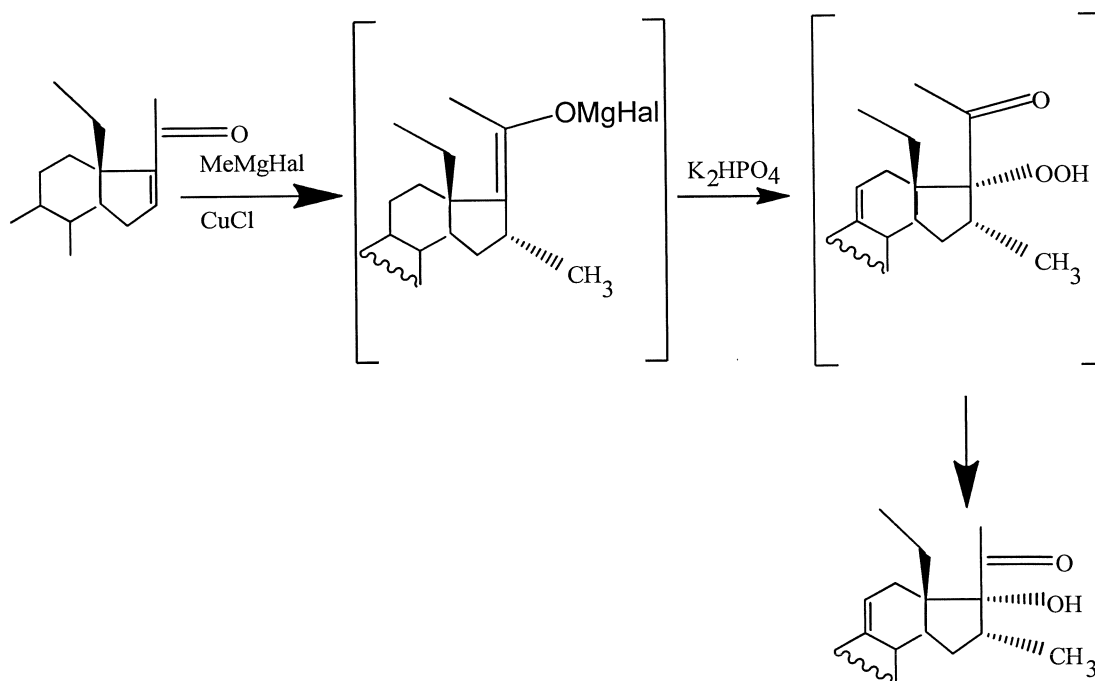


Cũng đã được biết phương pháp điều chế 1,4,9-trien từ 21-axetat tetraen (US 4530795, 1985), bao gồm ở sự tạo thành fenolsulfinat có khả năng bị chuyển vị sulfenat- sulfoxit. Cuối cùng là quá trình tự xảy ra ở nhiệt độ phòng, tạo thành este sulfenat mà phân hủy nó bằng lượng dư không lớn tiofil (metylsaltat hay là xyanat natri) dẫn đến hợp chất 17 $\alpha$ -hydroxy-16 $\alpha$ -metyl steroid (nói riêng, dẫn đến hợp chất 1,4,9-trien).



Phương pháp này cho phép khắc phục được khó khăn trong quá trình enolaxetyl hóa các hợp chất 16 $\alpha$ -metyl-20-ketopregnan xuất hiện khi 17 $\alpha$ -hydroxy hóa bằng phương pháp Gallakher và Kritev, do vậy làm tăng hiệu suất hợp chất 17 $\alpha$ -hydroxy-16 $\alpha$ -metyl steroid từ 3,66 g 21-axetat tetraen, nhận được 2,35 g 1,4,9- trien tương ứng với hiệu suất mol 59%. Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm quan trọng: nhiều giai đoạn, tác nhân đắt tiền và nguy hiểm, tinh chế sản phẩm phải dùng phương pháp sắc ký.

Đã biết phương pháp đưa mảnh 16 $\alpha$ -metyl-17 $\alpha$ -hydroxy vào  $\Delta$ 16-20-keto steroid bằng cách khử hóa các hợp chất 17 $\alpha$ -hydroxy peroxit nhận được bằng cách tự oxy hóa nhờ oxy phân tử các hợp chất trung gian 16 $\alpha$ -metyl- $\Delta$ 17(20)-20-halogenua magie (Lieb. Ann. Chem. 1971. B. 752 (1). pp. 78-85; DE 1921396, 1970; GB 20011990, 1979). Đã được biết các hợp chất 16 $\alpha$ -metyl- $\Delta$ 17(20)-enolat magie rất có khả năng phản ứng và dễ dàng bị oxy hóa bằng oxy không khí với sự tạo thành các hợp chất 17 $\alpha$ -hydroperoxy-20-oxo steroid. Chẳng hạn, Kerb và Vikhert (Lieb. Ann. Chem. 1971. B. 752 (10). S. 78-85; DE 1921396, 1970) chỉ ra rằng nhóm chức 17 $\alpha$ -hydroperoxit có thể sẽ dễ dàng và đồng thời với nhóm 16 $\alpha$ -metyl chuyển hóa thành 18-metyl-  $\Delta$ 16-20-ketosteroid dãy  $\Delta$ 5- hay là dãy estran. Khi đó hiệu suất hợp chất 17 $\alpha$ -hydroperoxy-16 $\alpha$ -metyl đạt từ 40-65%.

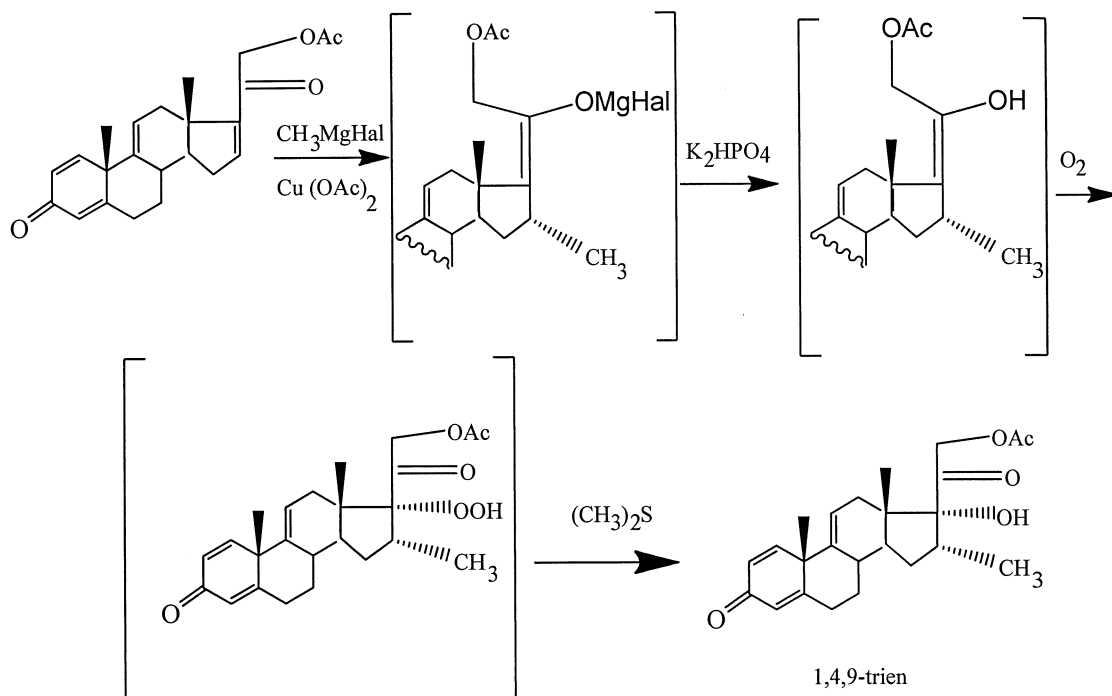


Nhóm  $17\alpha$ -hydroperoxit có thể được chuyển hóa đến  $17\alpha$ -hydroxy bằng các phương pháp đã biết, ví dụ, bằng tác dụng của Zn bột trong AcOH (DE 1921396, 1970; DE 2407967, 1974; gB 1377975, 1974; GB 2001990, 1979), hay là hydro hóa xúc tác  $H_2/pd/C$  (DE 1921396; 1970; US 2562030, 1951; GB 898093, 1962; GB 20011990, 1979), bằng trimetyl phosphit (GB 1196984, 1970), hoặc trietyl phosphit (Comptes Rendus, 1964, 258 (23), 5669-5671; Tetrahedron, 1971, 27(10), 1909-1915). Liên quan với tính chất không bền của các hợp chất  $17\alpha$ -hydroperoxy người ta thường tiến hành khử hóa chúng thành  $17\alpha$ -hydroxy mà không tách loại chúng ra khỏi khối phản ứng.

Đã được biết phương pháp điều chế các dẫn xuất  $16\alpha$ -metyl prednisolon bao gồm cả dexamethason (GB 2001990, 1979) ứng dụng phương pháp tự oxy hóa  $16\alpha$ -metyl- $\Delta^{17(20)}$ -enolat và khử hóa nhóm  $17\alpha$ -hydroperoxy thành  $17\alpha$ -hydroxy. Tuy nhiên, hiệu suất dexamethason nhận được bởi các tác giả này không vượt quá 26% trọng lượng, một cách gián tiếp chứng minh về hàm lượng thấp của hợp chất  $17\alpha$ -hydroperoxy trong sản phẩm kỹ thuật. Ngoài ra, việc mô tả quy trình điều chế 1,4,9-trien từ 21-axetat tetraen bởi phương pháp đã biết là vắng mặt.

Đã biết phương pháp điều chế  $16\alpha$ -metyl steroid (RU 2125575, 1999; RU 2127278, 1999). Ở đây nhóm chức xeto ở C(3) có thể được bảo vệ dưới dạng xetal, tioxetal, semitioxetal hay là ete enolat. Điều chế 1,4,9-trien từ 21-axetat tetraen đã được mô tả trong patent (RU 2125575, 1999). Phương pháp này bao gồm quá trình metyl hóa steroid 16-không no trong sự có mặt xúc tác đồng mà khi thủy phân enolat-kim loại nhận được với sự tạo thành tương ứng  $16\alpha$ -metyl- $\Delta^{17(20)}$ -enol, oxy hóa nó bằng oxy trong sự có mặt chất khử và tác nhân tạo thành hợp chất cơ nguyên tố phức nội của đồng và nhận được hợp chất mong

muốn. Với tính chất là xúc tác, người ta sử dụng monohydrat đồng axetat  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  (2,73% trọng lượng/5% mol), tiến hành phản ứng cộng hợp -1,4 trong dung môi THF, tác nhân là dung dịch 3M  $\text{MeMgCl}/\text{Et}_2\text{O}$  ở nhiệt độ  $-20^\circ\text{C}$ , thời gian 1 giờ. Để kết thúc phản ứng ankylation hóa, người ta thêm vào khối phản ứng ở nhiệt độ  $0^\circ\text{C}$  và 13,6% dung dịch nước kali hydrophosphat, sau đó ở  $15^\circ\text{C}$  người ta thêm dimetylsulphit, có mặt không khí. Xúc không khí vào hỗn hợp nhận được trong khoảng thời gian 18 giờ, đồng thời làm cho đậm đặc lại bằng cách cất loại dimetylsulphit.



Chiết lấy sản phẩm bằng  $\text{EtOAc}$ . Tinh chế sản phẩm bằng phương pháp sắc ký trên silica gel. Tuy nhiên, hiệu suất 1,4,9-trien rất thấp. Từ 0,733g hợp chất 21-axetat tetraen, các tác giả đã nhận được toàn bộ chỉ 0,16g 1,4,9-trien (hiệu suất mol 20%).

Chính các tác giả này đã thông báo phương pháp tương tự điều chế 1,4,9-trien từ 21-axetat tetraen (RU 2127278, 1999), trong đó thủy phân enolat- kim loại và quá trình tự oxy hóa được tiến hành bởi hỗn hợp axit phosphoric và kiềm natri, có mặt  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Thay cho dimetylsulphit với tính chất là chất khử người ta sử dụng huyền phù per-axit trong THF được chuẩn bị từ axit fitalic và  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Khi đó từ 0,733 g 21- axetat tetraen nhận được 0,4 g hợp chất 1,4,9-trien (hiệu suất mol 50%).

Như vậy, hiệu suất thấp của sản phẩm chính là nhược điểm chung của các phương pháp đã biết đưa mảnh  $16\alpha$ -metyl- $17\alpha$ -hydroxy vào hợp chất  $\Delta 16$ -steroit.

Đưa mảnh phân tử  $9\alpha$ -flo- $11\beta$ -hydroxy vào vị trí  $\Delta 9(11)$ -

Phương pháp đưa nhóm  $9\alpha$ -flo- $11\beta$ -hydroxy vào  $\Delta 9(11)$ - steroid, gồm 3 giai đoạn: Hypohalogen hóa  $\Delta 9(11)$ -, dehydrohalogen hóa tạo ra  $9,11\beta$ -epoxit và sau đó mở vòng epoxit bằng axit HF.

Trong phản ứng hypohalogen hóa, người ta sử dụng tác nhân dibromantin, N-bromsuxinimit hay N-bromaxetamit (US 3211758, 1965).

Đóng vòng epoxit có thể thực hiện bằng cách xử lý dẫn xuất  $9\alpha$ -brom bằng axetat kali trong axeton (US 3211758, 1965).

Mở vòng epoxit dùng HF trong điều kiện khan hay nước chuyển thành  $9\alpha$ -flo- $11\beta$ -hydroxy- steroid. Cũng có thể sử dụng phức của axit uric và HF (US 3211758, 965), dung dịch khan HF trong THF (US 3700702, 1972; US 3780177, 1973).

Ngoài ra, tổng hợp flohydrin có thể được thực hiện trực tiếp từ hợp chất  $\Delta 9(11)$ - bỏ qua giai đoạn hypobrom hóa và epoxit hóa. Tuy nhiên, trong trường hợp này, tạo thành lượng đáng kể các sản phẩm phụ gây khó khăn cho quá trình tinh chế sản phẩm dexamethason.

#### 21-Axetyl hóa

Đã biết phương pháp hiệu quả và phổ biến nhất được áp dụng là sử dụng hỗn hợp axetyl hóa  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$  hoặc  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{AcOH}/\text{Py}$  (SU 668288 A1).

#### **Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình công nghệ sản xuất dexamethason axetat hiệu quả, khả thi, giá thành rẻ nhất có thể được từ  $9\alpha$ -OH AD, hợp chất được sản xuất từ nguyên liệu mới dồi dào và rẻ tiền phytosterol bằng chuyển hóa vi sinh, một xu hướng mới đối với thế giới.

Để đạt được mục đích đó, sau khi đã phân tích rất kỹ các nguồn tài liệu tham khảo có được ở trên, tác giả của giải pháp hữu ích đã lựa chọn các phương pháp hiệu quả khả thi nhất, tiến hành đơn giản hóa, giảm thiểu các giai đoạn, nâng cao hiệu suất từng giai đoạn, đồng thời phối hợp tối ưu các giai đoạn tổng hợp.

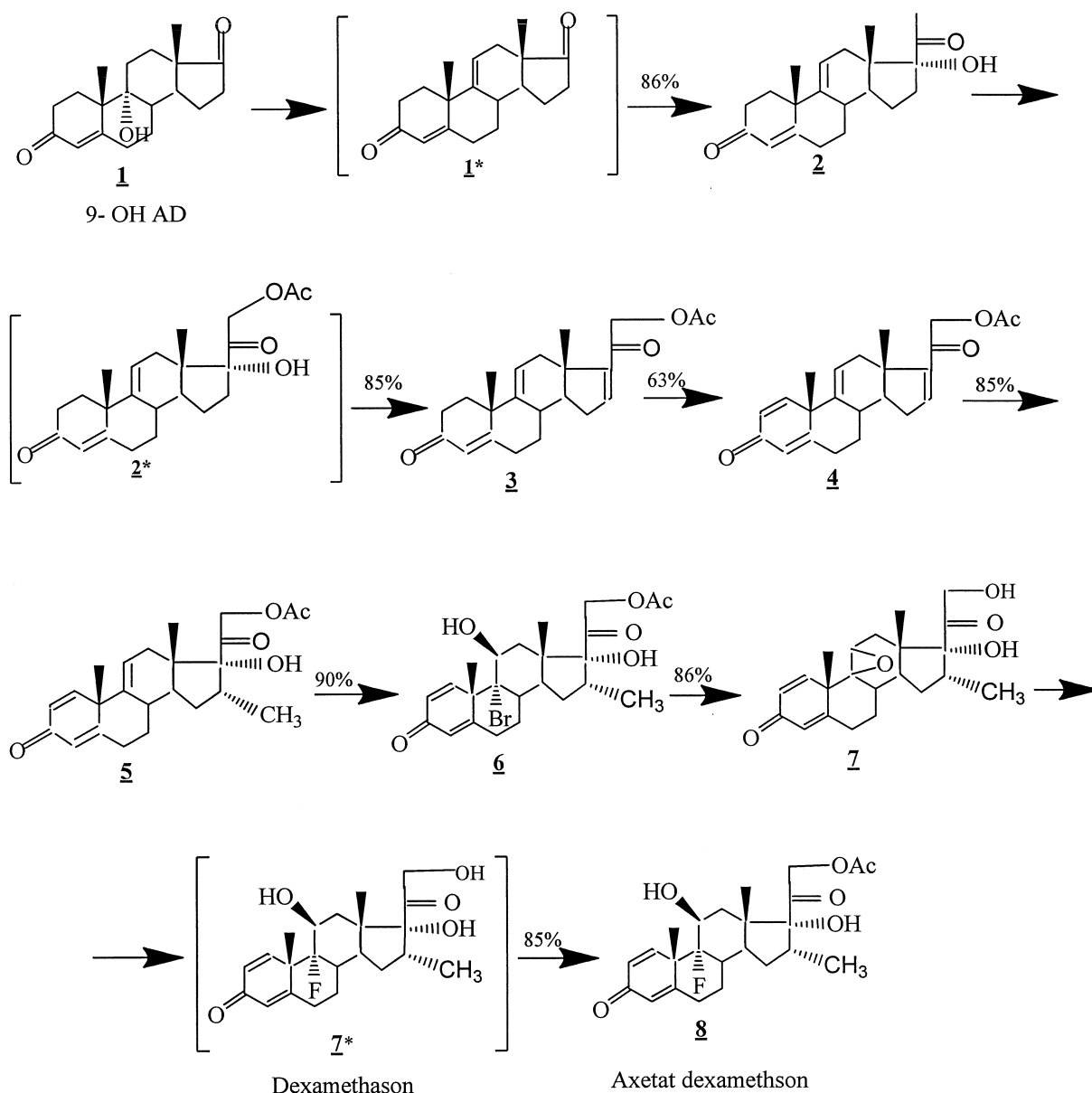
Quy trình tổng hợp dexamethason axetat từ  $9\alpha$ -OH AD gồm các giai đoạn sau:

- Dehydrat hóa nhóm  $9\alpha$ -OH AD bằng axit vô cơ  $\text{H}_3\text{PO}_4$  dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , tạo lập mảnh  $17\alpha$ -hydroxy- $17\beta$ -pregnan bằng phương pháp xyanhydrin.
- Tạo lập chức  $21$ -hydroxy, xây dựng mạch bên corticoit bằng phương pháp  $21$ -iot hóa trực tiếp, axetyl hóa nhóm  $17\alpha$ -hydroxy dùng hỗn hợp axetyl hóa  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{AcOH}/\text{Py}$ , tách loại nhóm  $17\alpha$ -axetoxi, tạo thành  $\Delta 16-3,20$ -diketo pregnan dùng KOAc.

- Tạo lập liên kết đôi  $\Delta^{1,2}$ -pregnan bằng phương pháp hóa học sử dụng  $\text{SeO}_2$ .
- Đưa mảnh  $16\alpha$ -metyl- $17\alpha$ -hydroxy vào  $\Delta^{16}$ -pregnan sử dụng xúc tác tự oxy hóa  $\text{CuCl}$  (I).
- Hypohalogen hóa  $\Delta^9(11)$ - $16\alpha$ -metyl- $17\alpha$ -hydroxy-pregnan dùng dibromantin.
- Epoxit hóa thành  $9\beta,11$ -epoxy- $16\alpha$ -metyl- $17\alpha$ -hydroxy-pregnan. Và
- Mở vòng  $9\beta,11$ -epoxy- $16\alpha$ -metyl- $17\alpha$ -hydroxy-pregnan bằng dung dịch HF 70%, axetyl hóa nhóm OH ở C(21) của dexamethason dùng hỗn hợp  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ .

### Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình được tóm tắt trong sơ đồ 1 dưới đây :



Sơ đồ 1

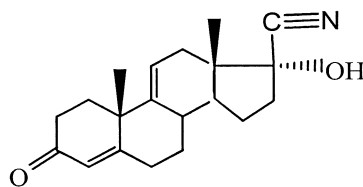
*Tổng hợp dexamethason axetat từ 9 $\alpha$ -hydroxy androstendion*

Các hợp chất (1<sup>\*</sup>), (2<sup>\*</sup>): Có thể không cần tinh chế, dùng ở dạng thô vào giai đoạn chuyển hóa tiếp theo. Đi vào sản xuất, chất đầu sẽ là  $\Delta^9(11)$ -AD (1<sup>\*</sup>). Để rút ngắn số giai đoạn, nhằm nâng cao hiệu suất tổng, các hợp chất trung gian (9)-(16) không cần tách ra và tinh chế, được sử dụng dưới dạng thô vào chuyển hóa giai đoạn tiếp theo.

Quy trình, như vậy chỉ bao gồm 7 giai đoạn chính:

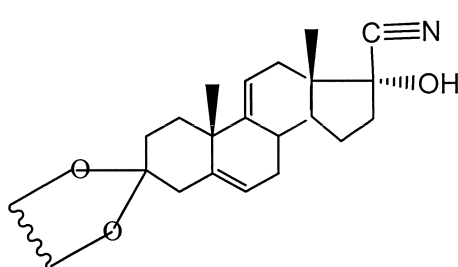
Tiến trình dehydrat hóa 9 $\alpha$ -OH AD (1) để điều chế  $\Delta^9(11)$ -AD (1<sup>\*</sup>) được thực hiện bằng axit vô cơ trong dung môi hữu cơ trơ ( $H_3PO_4$  trong  $CH_2Cl_2$  hoặc  $CHCl_3$ ) (Tỷ lệ mol chất 1 :  $H_3PO_4$  = 1 : 15,65). Độ chọn lọc và mức độ phân lập dạng tinh thể đạt định lượng. Tuy nhiên, sản phẩm thô không cần tinh chế, có thể dùng ngay vào chuyển hóa tiếp theo. Để tăng cường cho phản ứng, cần áp dụng kỹ thuật cất đẳng phí loại nước tạo ra.

Tạo lập mạch bên pregnan nhờ ứng dụng phương pháp xyanhydrin với 1<sup>\*</sup>, sử dụng tác nhân axetonxanhydrin, có mặt kiềm natri trong metanol-nước (Tỷ lệ mol chất 1<sup>\*</sup> : axetonxanhydrin = 1 : 6,94). Nhận được sản phẩm hydroxynitril (9)

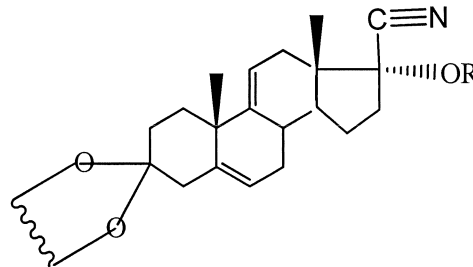


(9)

Bảo vệ nhóm 3-keto bằng cách tạo ketal vòng (5 hay 6 cạnh) bằng tương tác với ethylenglycol hay neopentylglycol xúc tác axit và tác nhân triethyloctoformiat.) (Tỷ lệ mol chất 1<sup>\*</sup> : triethyloctophocmiat: neopentylglycol : p-TSA = 1 : 1,88 : 3,0 : 1,182). Sau đó bảo vệ nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy để tạo ra 17 $\alpha$ -(1-alkoxy) ethylic ete. Không cần tinh chế các sản phẩm trung gian (9), (10) và (11).



(10)

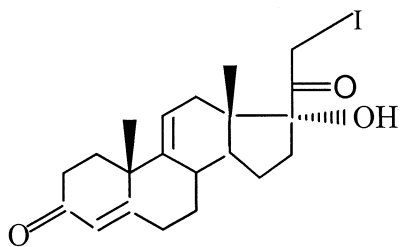


(11)

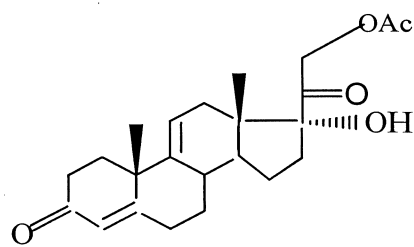
R:  $CH(CH_3)OC_2H_5$  hay  $CH(CH_3)OC_4H_9$

Tiếp theo, alkyl hóa nhóm nitril của hợp chất (11) bằng MeLi (Tỷ lệ mol chất 1<sup>\*</sup> : vinyl ethyl ete: p-TSA:  $CH_3Li$  = 1 : 41,3 : 0,23 : 2,16). Thủy phân axit, giải

phóng nhóm bảo vệ nhận được  $\Delta^9(11)$ - hydroprogesteron (2) ( $\Delta^9(11)$ -HPG) với hiệu suất đạt cao và có phụ thuộc vào bản chất các nhóm bảo vệ. Chuyển hóa hợp chất  $\Delta^9(11)$ -HPG (2) tạo ra hợp chất 21-*i* ôtiot-  $\Delta^9(11)$ -HPG (12), bằng phương pháp C(21)- iot hóa trực tiếp với tác nhân  $\text{CaO}/\text{CaCl}_2/\text{I}_2$  (Tỷ lệ mol chất  $2^*$  :  $\text{CaO}:\text{CaCl}_2:\text{I}_2 = 1: 4,52 : 0,51: 1,31$ ), sau đó thế nguyên tử *i*- ôt bằng nhóm axetyl bằng cách xử lý với KOAc (Tỷ lệ mol chất  $2^*$  : KOAc = 1:5,06) , tạo thành 21-axetoxy (13). Phản ứng thế có thể thực hiện mà không cần tách ra khỏi phản ứng 21-*i*ot- $\Delta^9(11)$ -HPG (12).

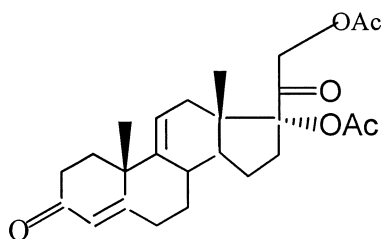


(12)



(13)

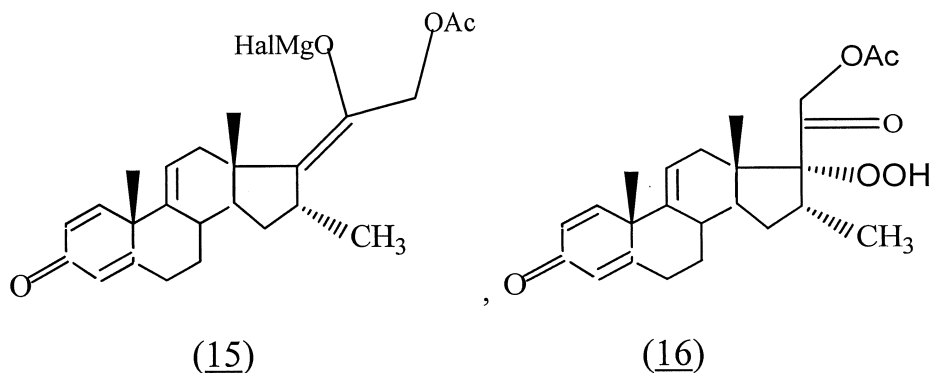
Axetyl hóa nhóm  $17\alpha$ -hydroxy -21-axetoxy- $\Delta^9(11)$ -HPG (13) bằng cách xử lý với hỗn hợp  $\text{Ac}_2\text{O}$ , trong  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , hỗn hợp axetyl hóa HOAc, triflo axetic anhydrit và một lượng nhỏ xúc tác p-TSA ( Tỷ lệ mol chất  $2^*$  : p-TSA= 1: 0,99),, một lượng tối thiểu cần thiết triflo axetic anhydrit cho phép hoàn toàn loại trừ khả năng tạo ra sản phẩm không mong muốn enol axetyl hóa nhóm cacbonyl ở C(3). Sản phẩm (14) nhận được với hiệu suất cao. Sau đó, xử lý trong môi trường dimetyl sulfoxit bằng KOAc, thực hiện quá trình tách loại nhóm  $17\alpha$ -axetyl và tạo thành 21-axetoxy pregn-4,9(11),16-trien-3,20-dion (3).



(14)

Hợp chất trien (3) được 1,2-dehydrogen hóa bằng phương pháp hóa học sử dụng tác nhân  $\text{SeO}_2$  ( Tỷ lệ mol chất 3 :  $\text{SeO}_2 = 1: 2,59$ ) để nhận được tetraen (4 ).

Tiếp theo, tiến hành phản ứng cộng hợp-1,4 xúc tác đồng của tác nhân alkyl hóa  $\text{MeMgBr}$  trong dung môi không proton vào  $\Delta^{16-20}$ -xetoketo-21-axetat tetraen (4) (Tỷ lệ mol chất 4 :  $\text{CuCl}:\text{CH}_3\text{MgBr} = 1: 85,6 : 3,52$  ), tạo ra dẫn xuất magiehalogenua 21-axetoxy-20-hydroxy- $16\alpha$ -metyl pregna-1,4,9(11),17(20)-tetraen-3-on (15), sau đó thủy phân bằng dung dịch nước clorua amoni có mặt không khí.



Xử lý nhóm 17 $\alpha$ -hydroperoxy của hợp chất 21-axetoxy-17 $\alpha$ -hypoperoxy-16 $\alpha$ -methylpregna-1,4,9(11)-trien-3,20-dion (16) do tự oxy hóa bằng cách khử hóa đến nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy tương ứng, tạo thành 1,4,9-trien (5); tác dụng với KI trong môi trường hỗn hợp hydrocacbon thơm và axeton. Thêm vào đó, thứ tự các xử lý đã được chỉ ra có thể thực hiện mà không cần tách loại 21-axetoxy-17 $\alpha$ -hydroperoxy-16 $\alpha$ -methylpregna-1,4,9(11)-trien-3,20-dion (16). Sau đó, xử lý với dibromantin ( Tỷ lệ mol chất 5 : dibromantin = 1:0,72) với 1,4,9-trien (5) trong dung môi phân cực không có proton (THF, dialkylketon) có chứa nước. Tiến hành 9,11 $\beta$ -epoxit hóa hợp chất 21-axetoxy-9 $\alpha$ -brom-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihydroxy-16 $\alpha$ -methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (6) và tách loại các nhóm bảo vệ ở C(21) được tiến hành đồng thời trong môi trường nước chứa hỗn hợp dung môi phân cực không có proton ( THF, dialkylketon ) và dung môi proton ( vdví dụ, rượu no) bằng tác dụng của tác nhân kiềm (ví dụ, hydroxy hay cacbonat kim loại). Khi đó, dãy các phản ứng bromhydroxyl hóa- 9(11)-epoxit hóa, đồng thời tách nhóm bảo vệ ở C(21) có thể thực hiện mà không cần tách loại sản phẩm (6) ra khỏi hỗn hợp phản ứng. Phản ứng mở vòng 9(11)-epoxit của 17 $\alpha$ ,21-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-9 $\beta$ (11)-epoxy pregna-1,4-dien-3,20-dion (7) bằng dung dịch nước HF 70%. ( Tỷ lệ mol chất 7 : HF = 1: 80,37 ) . Nhận được dexamethason (7\*) với hiệu suất tốt. Tinh chế sơ bộ, dexamethason thô được đưa ngay vào giai đoạn axetyl hóa bằng hỗn hợp axetyl Ac<sub>2</sub>O/ Py (Tỷ lệ mol chất 7\* : Py : Ac<sub>2</sub>O =1: 57,44 : 39,04). Dexamethason axetat (8) nhận được với hiệu suất định lượng. Kết tinh lại từ axeton.

Hiệu suất chung đạt được 25,7 % tính theo chất đầu 9 $\alpha$ -OH AD, độ tinh khiết trên 98% (HPLC), đạt tiêu chuẩn USP36.

### Các ví dụ minh họa thực hiện giải pháp hữu ích

#### Ví dụ 1. Giai đoạn 1

##### i) i) Tổng hợp (1\*)

Thêm 532,5 ml (7,78 mol) H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (nồng độ  $\geq 85\%$ , d=1,69) vào hỗn hợp 150 g (0,497 mol) hợp chất 9 $\alpha$ -OH AD (1) ( Tỷ lệ mol chất 1 : H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> = 1: 15,65

) trong 1815 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Hồi lưu 1,5 giờ dùng thiết bị cất loại nước đẳng phí. Sau khi kết thúc phản ứng, để nguội đến nhiệt độ phòng và rửa hỗn hợp phản ứng bằng  $\text{H}_2\text{O}$  đến trung tính. Loại kiệt dung môi, thu được sản phẩm thô. Sấy khô trong tủ sấy chân không ở  $45^\circ\text{C}$  trong khoảng thời gian 3 giờ, nhận được 140 g sản phẩm  $\Delta^9(11)\text{-AD}$  ( $1^*$ ) sạch sắc ký. Để có mẫu tinh khiết giám định cấu trúc, cần kết tinh lại từ EtOAc, Đc. $(^\circ\text{C})$ :  $201\text{-}203^\circ$  (EtOAc). Sản phẩm thô không cần tinh chế thêm sử dụng ngay vào giai đoạn tiếp theo.

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 5,76 (H-4); 5,57 (H-11); 1,3 ( $\text{CH}_3\text{-19}$ ); 0,88 ( $\text{CH}_3\text{-18}$ ). Trong sản phẩm thu được không phát hiện thấy đồng phân 8(9)-dehydro steroid tương ứng khi kiểm tra bằng phổ  $^1\text{H-NMR}$  400 MHz.

## ii) Tổng hợp (2)

Thêm 156 ml (1,71 mol) axetonxanhidrin và 14,1 ml dung dịch NaOH 3,3 M (pH=8) vào hỗn hợp 140 g (0,493 mol)  $\Delta^9(11)\text{-AD}$  ( $1^*$ ) thu được ở trên trong 400 ml MeOH. Thêm tiếp 156 ml (1,71 mol) axetonxanhidrin (Tỷ lệ mol chất  $1^*$ : axetonxanhidrin = 1: 6,94) và 14,1 ml dung dịch NaOH 3,3 M. Khuấy đảo hỗn hợp phản ứng trong 1,5 giờ ở  $35\text{-}36^\circ\text{C}$ . Nhỏ giọt 84 ml nước cất vào hỗn hợp phản ứng. Để hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng qua đêm, sau đó thêm tiếp 337,5 ml nước cất và khuấy đảo 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Lọc, rửa hỗn hợp phản ứng bằng hỗn hợp MeOH :  $\text{H}_2\text{O}$  = 1 : 2 (141 ml x 2); sau đó bằng  $\text{H}_2\text{O}$  (141 ml x 4) đến pH = 7. Đổ bỏ dịch lọc, rửa trên phễu đem sấy khô trong tủ sấy chân không ở  $45^\circ\text{C}$ , nhận được 154 g. Để có mẫu tinh khiết giám định cấu trúc, cần kết tinh lại từ EtOAc; Đc. $(^\circ\text{C})$ :  $214\text{-}219^\circ$  (EtOAc)

Làm lạnh huyền phù 154 g sản phẩm vừa nhận được ở trên trong 306 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  đến nhiệt độ  $0 \div -5^\circ\text{C}$  và trong dòng  $\text{N}_2$ , thêm lần lượt 154 ml (0,927 mol) trietyloctophocmiat, 154 g (1,481 mol) neopentylglycol và 15,45 g (0,0898 mol) p-TSA (k.) (Tỷ lệ mol chất  $1^*$ : trietyloctophocmiat: neopentylglycol : p-TSA = 1: 1,88: 3,0 : 1,182). Khuấy đảo khối phản ứng trong khoảng thời gian 8 giờ. Để kết thúc phản ứng thêm vào 15,45 ml trietylamin và 1200 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Khuấy đảo huyền phù trong khoảng thời gian 30 phút. Để yên 30 phút. Lọc kết tủa, rửa bằng nước đến pH=7. Sấy khô đến trọng lượng không đổi. Nhận được 195 g sản phẩm. Để có mẫu tinh khiết giám định cấu trúc, cần kết tinh lại từ axeton; Đnc. $(^\circ\text{C})$ :  $252\text{-}254$ .

Lấy 195 g sản phẩm vừa nhận được ở trên hòa tan trong 610,5 ml  $\text{Et}_2\text{O}$  trong dòng  $\text{N}_2$  (k.) đồng thời khuấy đảo ở nhiệt độ phòng. Thêm vào 1950 ml (20,394 mol) vinyletyl ete. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống  $-5 \div +5^\circ\text{C}$  và thêm vào 19,5 g (0,1134 mol) p-TSA, đồng thời khuấy đảo trong dòng  $\text{N}_2$ . Sau 4 giờ thêm vào hệ phản ứng 19,5 ml  $\text{Et}_3\text{N}$ . Hạ nhiệt độ phản ứng xuống  $-25^\circ\text{C}$  để

thêm vào 666 ml  $\text{CH}_3\text{Li}$  1,6 M / $\text{Et}_2\text{O}$  (1,066 mol) ( Tỷ lệ mol chất **1**<sup>\*</sup> : vinyl etyl ete: p-TSA:  $\text{CH}_3\text{Li}$  = 1: 41,3 : 0,23 : 2,16 ). Nhỏ giọt  $\text{CH}_3\text{Li}$  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  $\text{MeOH} : \text{H}_2\text{O} : \text{HCl}$  (đ.) = 109,5 ml : 6,0 ml : 6,0 ml. Tiếp tục nhỏ giọt hỗn hợp  $\text{H}_2\text{O} : \text{HCl}$  (đ.) = 195 ml : 195 ml.

Chung cất thu lại  $\text{Et}_2\text{O}$  sao cho nhiệt độ trong bình phản ứng  $\leq 60^\circ\text{C}$ . Khi trong hệ phản ứng xuất hiện nhũ tương thì nhỏ giọt 202,5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Để ở ngăn dưới tủ lạnh qua đêm.

Lọc, rửa hỗn hợp phản ứng bằng  $\text{H}_2\text{O}$  (310,5 ml x 5 ) đến pH = 7. Dịch lọc đổ bỏ, rửa đem sấy khô trong máy sấy chân không ở  $45^\circ\text{C}$ . Nhận được 165 g sản phẩm thô.

Hòa tan toàn bộ 165 g sản phẩm thô trong 1597 ml  $\text{CHCl}_3$ ; thêm vào 34,5 g C hoạt tính, khuấy đảo nhẹ ở nhiệt độ phòng trong khoảng thời gian 1 giờ. Lọc, rửa bằng  $\text{CHCl}_3$  (435 ml x 2). Chung cất dịch lọc đồng thời khuấy đảo đến thể tích 330 ml, thêm vào 525 ml axeton, cất tiếp đến 525 ml thì dừng. Để ở ngăn dưới tủ lạnh qua đêm. Lọc rửa bằng axeton (85,5 ml x 3), bằng  $\text{Et}_2\text{O}$  (85,5 ml x 2). Cặn đem sấy khô. Đổ bỏ dịch lọc, cặn sấy khô trong tủ sấy chân không 3 giờ ở  $45^\circ\text{C}$ , kết tinh từ axeton, nhận được 140 g (**2**) . Đc.( $^\circ\text{C}$ ):207-211. Hiệu suất 86 % tính từ (**1**).

Phổ IR (KBr,  $\gamma$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): Cho dải hấp thụ ở vùng  $3475\text{ cm}^{-1}$  (O-H),  $2937\text{ cm}^{-1}$  (C-H),  $1707$  và  $1660\text{ cm}^{-1}$  (C=O ở vị trí 20 và 3),  $1621$  và  $1443\text{ cm}^{-1}$  (C=C).

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 5,74 ppm (s, 1H, H-4); 5,54 ppm (m, 1H, H-11); 2,75 ppm (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -21); 1,34 ppm (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 0,69 ppm (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -18).

Ví dụ 2. Giai đoạn 2

i) Tổng hợp chất (**2**<sup>\*</sup>)

Hòa 100 g ( 0,30 mol) (**2**) trong 745 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  và 250 ml MeOH. Thêm vào 76 g (1,357 mol) CaO; 5 ml nước cất; khuấy đảo ở nhiệt độ phòng trong dòng  $\text{N}_2$  khan. Nhỏ giọt dung dịch 17 g  $\text{CaCl}_2$  (0,153 mol) và 100 g (0,394 mol)  $\text{I}_2$  (Tỷ lệ mol chất **2**<sup>\*</sup> : CaO:  $\text{CaCl}_2$ :  $\text{I}_2$  = 1: 4,52 : 0,51: 1,31) trong 25 ml MeOH. Sau 1,5 giờ dừng phản ứng, thêm vào 746 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Đổ hỗn hợp phản ứng vào dung dịch 450 g  $\text{NaHCO}_3$  trong 5400 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Khuấy đều. Lọc, rửa hỗn hợp phản ứng bằng  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (148 ml x 3). Bỏ cặn trên phễu. Chiết lấy lớp  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ở dưới, chiết tiếp lớp  $\text{H}_2\text{O}$  ở trên bằng  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (890 ml x 2). Bỏ lớp  $\text{H}_2\text{O}$ . Dịch chiết  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  đem cất quay đến khô. Nhận được 148,7 g sản phẩm thô.

Hòa tan 148,7 g sản phẩm thô nhận được ở trên trong 1430 ml DMF, thêm vào 149 g (1,5204 mol) KOAc ( Tỷ lệ mol chất **2**<sup>\*</sup> : KOAc = 1:5,06), khuấy đảo ở 60

÷ 65°C trong khoảng thời gian 2 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng rồi đổ vào 2960 ml nước, đồng thời khuấy đảo. Lọc rửa bằng H<sub>2</sub>O (296 ml x 5) đến pH = 7. Dịch lọc đổ bỏ, tựa đem sấy khô trong tủ sấy chân không ở 50°C nhận được 124 g sản phẩm thô.

Hòa toàn bộ 124 g sản phẩm thô nhận được trong 3000 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, thêm vào 30 g C hoạt tính, khuấy ở nhiệt độ phòng 1 giờ. Lọc, rửa bằng CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (296 ml x 2). Dịch lọc cất loại bớt dung môi đến thể tích 25 ml. Thêm 444 ml axeton, cất tiếp đến thể tích 250 ml. Để ở ngăn dưới tủ lạnh qua đêm. Lọc, rửa bằng axeton (60 ml x 2); bằng Et<sub>2</sub>O (74 ml x 3). Cặn thu được đem sấy khô trong tủ sấy chân không ở 45-50°C trong khoảng thời gian 3 giờ, nhận được 108,3 g sản phẩm (2<sup>\*</sup>). Đnc.(°C): 232-234 (axeton/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

Phổ IR:  $\nu=3311\text{ cm}^{-1}$  (tù, O-H),  $2927\text{ cm}^{-1}$  (C-H), 1732 và 1665 (C=O).

Phổ MS: cho peak  $[M^+] = 386$ ;  $2x[M^+] = 772$ , các peak ion mảnh  $[M-H_2O]^+ = 368$ ,  $[M-CH_3COO]^+ = 327$ .

Phổ <sup>1</sup>H-NMR : 5,73 ppm (s, 1H, 4-CH); 5,54 ppm (d, 1H, 11-CH, j= 4 Hz); 4,95 ppm (dd, 2H, 21-CH<sub>2</sub>, j=16 và 88 Hz); 2,15 ppm (s, 3H, OAc); 1,32 ppm (s, 3H, 19-CH<sub>3</sub>); 0,63 ppm (s, 3H, 18-CH<sub>3</sub>).

## ii) Tổng hợp chất (3)

Thêm 108,3 g (0,28 mol) hợp chất 21- axetoxy-17 $\alpha$ -hydroxy pregn-4,9(11)-dien-3,20-dion (2<sup>\*</sup>) vào hỗn hợp axetyl hóa gồm 48 g (0,279 mol) p-TSA (k.) ( Tỷ lệ mol chất 2<sup>\*</sup> : p-TSA= 1: 0,99), 550 ml HOAc (bằng) và 202 ml anhydric triflo axetic trong 2160 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Khuấy đảo khối phản ứng ở nhiệt độ phòng 2,5 giờ, sau đó rót vào 5225 ml dung dịch amoniac/ H<sub>2</sub>O. Duy trì 15 phút ở 10-15°C. Sau đó tách bỏ lớp hữu cơ, chiết dịch H<sub>2</sub>O bằng CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Gộp các dịch chiết và rửa bằng H<sub>2</sub>O đến PH= 7. Loại dung môi ở áp suất khí quyển. Phần còn lại thêm nước vào lượng tối thiểu, cạo để tạo chất rắn tách ra, nhận được huyền phù . Lọc kết tựa, rửa bằng H<sub>2</sub>O, sấy khô trong tủ sấy chân không ở 45-50°C trong khoảng thời gian 3 giờ . Nhận được 112 g hợp chất 17 $\alpha$ , 21-di axetoxy pregn-4,9(11)-dien-3,20-dion. Để nhận được mẫu tinh sạch cho phân tích cần kết tinh lại từ axeton; Đc.(°C): 220 ( phân hủy).

Huyền phù gồm 112 g(0,263 mol) hợp chất 17 $\alpha$ , 21-di axetoxy pregn-4,9(11)-dien-3,20-dion vừa nhận được ở trên, 55 g (0,561 mol) KOAc (k.) và 1100 ml DMF (k.) được đun nóng trong dòng khí trơ N<sub>2</sub> ở 80°C và duy trì 2 giờ. Sau đó làm lạnh hỗn hợp phản ứng và từ từ rót vào 11130 ml H<sub>2</sub>O. Khuấy đảo 30 phút. Lọc kết tựa, rửa bằng H<sub>2</sub>O và sấy khô. Nhận được 96 g hợp chất (3). Để có mẫu tinh khiết cho phân tích cần kết tinh lại từ axeton; Đc.(°C): 128-130. Hiệu suất đạt 85% từ (2).

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (  $\text{CDCl}_3$ ): 6,76 (m, 1H, 16-CH); 5,73 (s,tù, 1H,4-CH); 5,53 (m, 1H, 11-CH); 5,02 ( d, jobs= 16,1 Hz ( AB-system, 1H, 21-OAc); 4,90 (d, jobs= 16,1 Hz ( AB-ICI ), 1H, 21-OAc); 2,16 ( s, 3H, 21-OCOCH<sub>3</sub>); 1,33 (s, 3H, 19-CH<sub>3</sub>); 0,86 (s, 3H, 18-CH<sub>3</sub>).

### Ví dụ 3. Giai đoạn 3

Hỗn hợp gồm 10 g ( 0,027 mol) chất (3) , 7,8 g (0,07 mol) selen dioxid ( Tỷ lệ mol chất 3 :  $\text{SeO}_2$  = 1: 2,59), 323,7 ml t-BuOH ( k.) và 2,57 ml Py (k.) được hồi lưu 24 giờ dưới khí quyển  $\text{N}_2$ . Để nguội đến nhiệt độ phòng. Lọc qua Celite và rửa phần lọc bằng EtOAc. Loại dung môi dưới áp suất giảm, nhận được cặn rắn. Tinh chế sơ bộ nhờ lọc rửa qua  $\text{SiO}_2$ / axeton, sau đó  $\text{Et}_2\text{O}$ . Loại dung môi nhận được 6,31 g chất (4) chất rắn sạch sắc ký. Hiệu suất đạt 63 %. Sản phẩm thô nhưng đủ sạch,có thể dùng ngay vào giai đoạn tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Để nhận được mẫu tinh sạch cho phân tích cần kết tinh lại từ hỗn hợp benzen/metanol (1:10), sau đó từ metanol, và cuối cùng từ axeton. Đc.(°C): 171-174 (axeton )

Phổ IR ( KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): Không có peak đặc trưng cho nhóm OH , tồn tại các peak đặc trưng cho hai nhóm CO (1667, 1744), peak được ghép cho dao động hóa trị của chức olefin có cường độ cao ở 1623 ( được quy cho 4 nối đôi ở các vị trí 1,4,9,16 ).

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (  $\text{CDCl}_3$ ): 7,21 (d,  $J=10,1$  Hz, 1H, 1-CH); 6,76 (m, 1H, 16-H); 6,28 (dd,  $J=10,1$  Hz,  $J=1,8$ Hz, 1H, 2-CH); 6,06 (t,  $J= 1,8$  Hz, 1H, 4-CH); ; 5,55 (m, 1H, 11-CH); 5,03 (d, Jobs=16,1 Hz ( AB-system), 1H, 21-OAc); 4,89 (d, Jobs=16,1 Hz (AB-system), 1H, 21-OAc); 2,17 (s, 3H, 21-OCOCH<sub>3</sub>); 1,42 (s, 3H, 19-CH<sub>3</sub>); 0,91 (s, 3H, 18-CH<sub>3</sub>)

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (CPD): 190,1 (C-20); 185,9 (C-3); 170,0 (C=O, Acetyl-); 166,3 (C-5); 154,4 (C-1); 149,8 (C-16); 143,4 (C-17); 143,3 (C-9); 126,9 (C-2); 123,5 (C-4);120,8 (C-11); 65,4 (C-21); 52,1; 45,8; 44,9; 37,2; 34,1; 34,0; 33,2; 31,7; 26,5; 20,3 (C-19); 15,2 (C-18).

### Ví dụ 4. Giai đoạn 4

Thêm 10 g (0,027 mol) hợp chất 21-axetoxypregn-1,4,9(11),16-tetraen-3,20-dion (4), 40 ml THF và 153 ml toluen vào dung dịch của 0,23 g (2,312 mmol) CuCl trong 140 ml axetonitril. Làm lạnh khối phản ứng đến -40°C và thêm vào 67,5 ml (0,095 mol) dung dịch 1,4 M  $\text{CH}_3\text{MgBr}$  (Tỷ lệ mol chất 4 : CuCl :  $\text{CH}_3\text{MgBr}$  = 1: 85,6 : 3,52 ) trong hỗn hợp toluen và THF ( 3:1 v/v). Sau đó giữ khối phản ứng ở -40°C trong khoảng thời gian 15 phút. Để kết thúc phản ứng, rót từ từ khối phản ứng vào 0,5 lít dung dịch 20%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ /  $\text{H}_2\text{O}$  ở nhiệt độ không cao hơn 5°C trong khi khuấy đảo mạnh. Sau khi duy trì bổ sung 30 phút ở

0-5°C khối phản ứng chứa sản phẩm 21-axetoxy-17 $\alpha$ -hydroperoxy-16 $\alpha$ -methylpregn-1,4,9(11)-trien-3,20-dion, chuyển khối phản ứng vào phễu trích ly. Tách loại lớp hữu cơ, rửa bằng dung dịch nước 20% NH<sub>4</sub>Cl và H<sub>2</sub>O.

Thêm 120 ml axeton và 3,5 g (0,021mol) KI ( Tỷ lệ mol chất **4** : KI = 1: 0,78 ) vào dung dịch nhận được hợp chất trên trong toluen và trong dòng khí trơ N<sub>2</sub>. Khuấy đảo huyền phù ở nhiệt độ phòng 1 giờ. Sau đó thêm dung dịch 10% sulfít natri đến mất màu khối phản ứng và 4,5 ml H<sub>2</sub>O. Bay hơi dung môi trong chân không. Phần còn lại của toluen được loại bỏ đi bằng MeOH. Rót dung dịch chứa sản phẩm trong MeOH vào một lượng H<sub>2</sub>O gấp 10 lần. Lọc kết tủa. Rửa tủa bằng H<sub>2</sub>O. Sấy khô, nhận được 9,35 g hợp chất mong muốn . Hiệu suất đạt 85 %

Phổ <sup>1</sup>H-NMR ( $\delta$ ,ppm, DMSO-D<sub>6</sub>): 7,39 (d, J=10,1 Hz, 1H, 1-CH ); 6,14 (dd, J=10,1 Hz, J=1,8 Hz, 1H, 2-CH); 5,98 (t, J=1,8 Hz, 1H, 4-CH); 5,53 (m, 1H, 11-CH); 4,96 (d, jobs= 17,5 Hz (AB- system), 1H, 21-CH<sub>2</sub>O); 4,78 (d, jobs= 17,5 Hz (AB- system), 1H, 21-CH<sub>2</sub>O); 2,07 (s, 3H, 21-OAc); 1,36 (s, 3H, 19-CH<sub>3</sub>); 0,80 (d, J= 7,1 Hz, 3H, 16-CH<sub>3</sub>); 0,59 (s, 3H, 18-CH<sub>3</sub>).

#### Ví dụ 5. Giai đoạn 5

Thêm 20 ml H<sub>2</sub>O cất và 11 ml dung dịch 6,5 % HClO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub> O vào dung dịch 10 g ( 0,025 mol) hợp chất 21- axetoxy-17 $\alpha$ -hydroxy-16 $\alpha$ -methyl pregn-1,4,9(110)-trien-3,20-dion (**5**) trong 70 ml axeton đã được làm lạnh đến 10°C. Thêm 5,1 g (0,018 mol) dibromantin ( Tỷ lệ mol chất **5** : dibromantin= 1:0,72) từng lượng nhỏ vào hỗn hợp phản ứng trong khoảng thời gian 25-30 phút. Duy trì hỗn hợp phản ứng 45 phút. Thêm vào dần dung dịch 10% sulfít natri/ H<sub>2</sub>O đến mất màu. Sau đó, thêm vào 100 ml H<sub>2</sub>O. Lọc kết tủa , rửa tủa bằng H<sub>2</sub>O, nhận được 15,5 g hợp chất (**6**) dạng bột nhão ẩm được sử dụng ngay để tổng hợp chất (**7**) ở giai đoạn tiếp theo mà không cần sấy khô hoặc tinh chế. Để tính sơ bộ hiệu suất giai đoạn này, cần sấy khô 3 giờ ở 45°C trong tủ sấy chân không. Hiệu suất thô trung bình đạt 96%. Sau khi tinh chế bằng kết tinh lại từ axeton, nhận được (**6**) dạng bột rắn với hiệu suất 90,1%

Phổ <sup>1</sup>H-NMR ( $\delta$ ,ppm, DMSO-D<sub>6</sub>): 7,33 (d, J=10,1 Hz, 1H, 1-CH ); 6,22 (d, J=10,1 Hz, 1H, 2-CH); 5,96 (s, 1H, 4-CH); 5,57 (m, 1H, 11-OH); 5,22 (s, 1H, 17-OH); 4,76 (d, jobs= 17,6 Hz (AB- system), 1H, 21-CH<sub>2</sub>O); 5,03 (d, jobs= 17,6 Hz (AB- system), 1H, 21-CH<sub>2</sub>O); 4,57 (s, 1H, 11-H); 2,08 (s, 3H, 21-OAc); 1,63 (s, 3H, 19-CH<sub>3</sub>); 0,88 (s, 3H, 18-CH<sub>3</sub>); 0,79 (d, j=7,3 Hz, 3H, 16-CH<sub>3</sub>)

#### Ví dụ 6. Giai đoạn 6

Thêm 60 ml MeOH vào khối phản ứng nhận được trong giai đoạn trước sau khi làm mất màu bằng dung dịch 10% natri sulfít ( toàn bộ lượng sản phẩm thô 15,5 g chất (**6**) nhận được ở giai đoạn trước tổng hợp từ 10 gam chất (**5**) mà

không cần tinh chế (~ 10 gam (0,02 mol) chất (6) sau tinh chế). Làm lạnh khối phản ứng xuống 0°C, thêm 40 ml dung dịch 7,5% NaOH/H<sub>2</sub>O và giữ ở nhiệt độ này 40-45 phút. Sau đó trung hòa bằng AcOH. Bay hơi bớt dung môi, thêm vào phần còn lại 100 ml H<sub>2</sub>O. Kết tủa tách ra được lọc và rửa bằng H<sub>2</sub>O. Sấy khô. Nhận được 8,52 g hợp chất (7). Hiệu suất thô 91,0 %. Kết tinh lại từ axeton/MeOH nhận được 8,06 g (hiệu suất 86%) tính theo (6). Sản phẩm có thể dùng ngay vào giai đoạn tiếp theo. Một lượng nhỏ mẫu dùng cho phân tích được kết tinh lại từ axeton/MeOH (1:1). Đc.(°C): 255-258

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (δ,ppm, CDCl<sub>3</sub>): 6,58 (d, J=10,1 Hz, 1H, 1-OH); 6,18 (dd, J=10,1 Hz, J= 1,8 Hz, 1H, 2-CH); 6,14 (s, tù, 1H, 4-CH); 4,60 (đ, J=20,0 Hz (AB-system), J=4,5 Hz, 1H, 21-CH<sub>2</sub>O); 4,22 (dd, J= 20,04 (AB-system), J=4,5 Hz, 1H-21-CH<sub>2</sub>O); 3,21 (s, tù, 1H, 11-CH); 3,06 (t, J=4,5 Hz, 21-OH), 1,42 (s, 3H, 19-Me); 0,92 (s, 3H, 18-Me); 0,89 (d, J=7,2 Hz, 3H, 16-Me).

#### Ví dụ 7. Giai đoạn 7

i) Thêm từng phần nhỏ một 10 g (0,027 mol) hợp chất 17α,21-dihydroxy-16α-methyl-9β(11)-epoxy- pregn-1,4-dien-3 ,20-dion (7) vào 50,5 ml (2,174 mol) dung dịch HF 70% ( Tỷ lệ mol chất 7 : HF = 1: 80,37 ) ở nhiệt độ không cao hơn -20°C. Khuấy đảo khối phản ứng 1,5 giờ ở nhiệt độ này. Để kết thúc phản ứng, rót khối phản ứng vào 0,4 lít dung dịch 2% amoniac/ H<sub>2</sub>O ở nhiệt độ dưới 10°C. Duy trì hỗn hợp ở nhiệt độ 0-20°C trong khoảng thời gian 2 giờ. Lọc tủa tách ra, rửa bằng H<sub>2</sub>O. Sấy khô, nhận được 9,6 g hợp chất (7\*) ( dexamethason). Hiệu suất 90%. Đc.(°C) : 264-265 ( axeton).

ii) Hòa tan toàn bộ 9,6 g (0,025 mol) sản phẩm vừa nhận được trong 92 ml ( 1,436 mol) Py và 92 ml (0,976 mol) Ac<sub>2</sub>O (k.) ( Tỷ lệ mol chất 7\* : Py : Ac<sub>2</sub>O =1: 57,44 : 39,04) . Khuấy nhẹ ở nhiệt độ phòng 18 giờ. Đổ hỗn hợp vào nước đá . Tủa tách ra được lọc, rửa bằng dung dịch 2N HCl/ H<sub>2</sub>O sau đó bằng dung dịch 5% NaHCO<sub>3</sub>/ H<sub>2</sub>O, cuối cùng bằng H<sub>2</sub>O. Kết tinh lại lần thứ nhất từ axeton, thu được : 10,55g chất (8) (dexamethason axetat ) ( hiệu suất thô 90,2%).

Kết tinh lại lần nữa từ axeton, nhận được 9,92 g tinh thể ( hiệu suất 85,0%).Đc.(°C): 225-230, độ tinh khiết trên 98 % (HPLC), đạt tiêu chuẩn được điển USP36

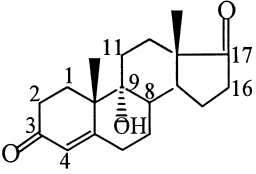
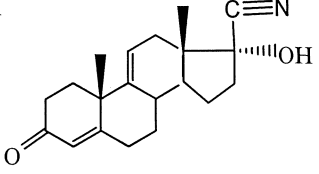
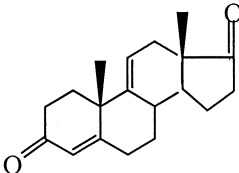
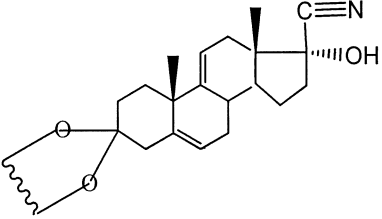
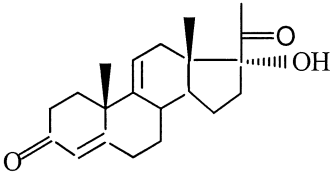
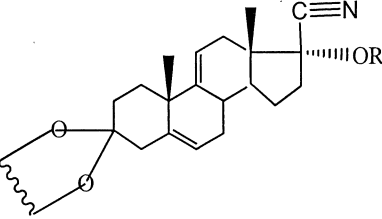
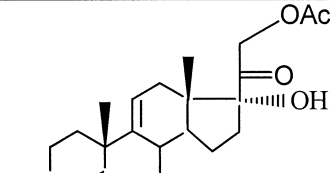
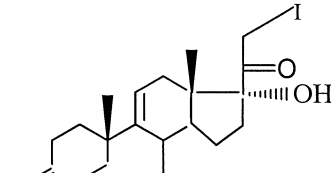
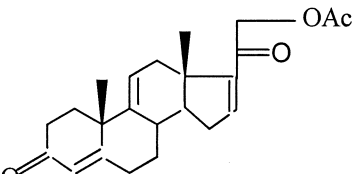
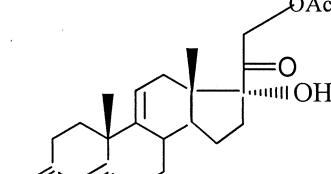
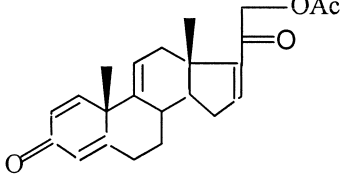
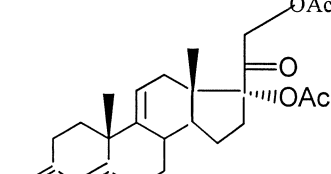
Hiệu suất chung : 25,7% tính từ 9α-OH AD

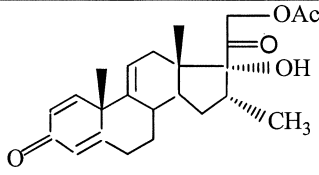
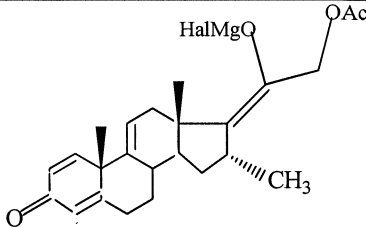
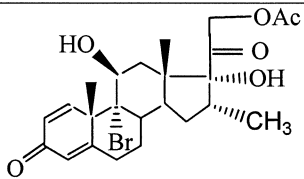
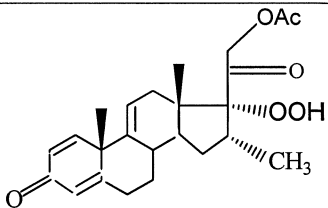
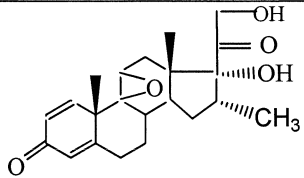
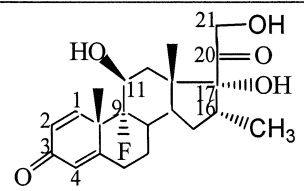
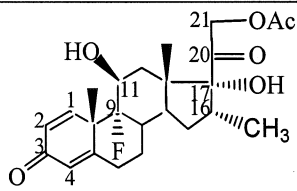
Phổ <sup>1</sup>H- NMR(δ,ppm, DMSO): 7,30 (d, J=10,1 Hz, 1H, 1-H); 6,22 (dd, J=10,1 Hz, J= 1,8Hz, 1H, 2-CH); 6,00 (s, tù, 1H, 4-CH); 5,00 (dd, J=20,0Hz (AB-system), J=4,5 Hz, 1H, 21-CH<sub>2</sub>O); 4,77 (dd, J= 20,04 (AB-system), J=4,5 Hz, 1H-21-CH<sub>2</sub>O); 4,14 (s, tù, 1H, 11-CH); 2,09 (s, 3H, 21-OAc), 1,49 (s, 3H, 19-Me); 0,88 (s, 3H, 18-Me); 0,79 (d, J=7,3 Hz, 3H, 16-Me)

Phổ  $^{13}\text{C}$ - NMR ( $\delta$ ,ppm, DMSO):

| N <sup>o</sup> -<br>Nguyên<br>tử C | Dexamethason axetat<br>[Journal of Magnetic<br>Resonance 38, 501-506<br>(1980)] | 21-axetat dexamethason<br>(chất 8) |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| C(1)                               | 152.0                                                                           | 152.6                              |
| C(2)                               | 130.2                                                                           | 128.9                              |
| C(3)                               | 185.6                                                                           | 185.2                              |
| C(4)                               | 125.4                                                                           | 124.0                              |
| C(5)                               | 165.9                                                                           | 166.9                              |
| C(6)                               | 31.1                                                                            | 31.8                               |
| C(7)                               | 28.0                                                                            | 27.2                               |
| C(8)                               | 34.8 (18.0)                                                                     | 33.6                               |
| C(9)                               | 101.1 (176.2)                                                                   | 101.9                              |
| C(10)                              | 48.5(19.4)                                                                      | 47.9                               |
| C(11)                              | 72.3 (37.5)                                                                     | 70.6                               |
| C(12)                              | 36.6                                                                            | 35.3                               |
| C(13)                              | 48.9                                                                            | 47.99                              |
| C(14)                              | 44.5                                                                            | 43.2                               |
| C(15)                              | 32.6                                                                            | 31.8                               |
| C(16)                              | 36.9                                                                            | 35.6                               |
| C(17)                              | 91.7                                                                            | 90.4                               |
| C(18)                              | 16.7                                                                            | 16.1                               |
| C(19)                              | 23.4                                                                            | 22.9                               |
| C(20)                              | 204.6(2.8)                                                                      | 204.7                              |
| C(21)                              | f                                                                               | 33.4                               |
| C(22)                              | 170.6/ axetyl                                                                   | 169.6                              |
| C(23)                              | 20.1                                                                            | 20.3                               |
| C(24)                              | 14.8/ Me-16                                                                     | 15.0                               |

## CÔNG THỨC CÁC CHẤT DẪN RA TRONG GIẢI PHÁP HỮU ÍCH

|                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>(1)<br/>9<math>\alpha</math> - OH AD</p> |  <p>(9)</p>                                                                                                         |
|  <p>(1*)<br/><math>\Delta</math>9(11)-AD</p> |  <p>(10)</p>                                                                                                         |
|  <p>(2)</p>                                 |  <p>(11)<br/>R: CH(CH<sub>3</sub>)OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> hay CH(CH<sub>3</sub>)OC<sub>4</sub>H<sub>9</sub></p> |
|  <p>(2*)</p>                               |  <p>(12)</p>                                                                                                      |
|  <p>(3)</p>                                |  <p>(13)</p>                                                                                                      |
|  <p>(4)</p>                                |  <p>(14)</p>                                                                                                      |

|                                                                                                                 |                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>(5)</p>                    |  <p>(15)</p>                          |
|  <p>(6)</p>                    |  <p>(16)</p>                          |
|  <p>(7)</p>                    |                                                                                                                         |
|  <p>(7)*<br/>Dexamethason</p> |  <p>(8)<br/>Dexamethason axetat</p> |

### Những lợi ích (hiệu quả) có thể đạt được

- Quy trình điều chế dexamethason axetat từ 9 $\alpha$ -hydroxy androstendion, một nguyên liệu đầu dôi dào rẻ tiền được sản xuất từ phytosterol thu hồi từ phế phụ thải các ngành công nghiệp bột giấy, chế biến dầu đậu tương và mía đường - xu hướng mới trên thế giới thay cho nguyên liệu cũ đắt tiền diosgenin và solasodin vì phải trồng nhiều năm trên đất nông nghiệp.
- Hiệu suất cao, số giai đoạn được giảm nhiều, sản phẩm tinh khiết đạt tiêu chuẩn dược dụng; công nghệ không đòi hỏi thiết bị phức tạp. Do vậy, quy trình hiệu quả kinh tế cao, khả thi để triển khai vào sản xuất.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình điều chế dexamethason axetat từ 9 $\alpha$ -hydroxy androstendion bao gồm các bước sau:

i) dehydrat hóa 9 $\alpha$ -OH AD bằng axit vô cơ H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> trong dung môi không proton CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, tạo lập mảnh 17 $\alpha$ -hydroxy-17 $\beta$ -pregnan bằng phương pháp xyanhydrin;

ii) tạo lập mạch bên corticoit bằng phương pháp 21-iot hóa trực tiếp, axetyl hóa nhóm 17 $\alpha$ -hydroxy dùng hỗn hợp axetyl hóa Ac<sub>2</sub>O/AcOH/Py, tách loại nhóm 17 $\alpha$ -axetoxy, tạo thành  $\Delta$ 16-pregnan dùng KOAc;

iii) tạo lập liên kết đôi  $\Delta$ 1(2)-pregnan bằng phương pháp hóa học sử dụng SeO<sub>2</sub>;

iv) đưa mảnh 16 $\alpha$ -metyl-17 $\alpha$ -hydroxy vào  $\Delta$ 16(17)-pregnan sử dụng xúc tác tự oxy hóa CuCl (I), tác nhân MeMgBr;

v) hypohalogen hóa  $\Delta$ 9(11)-16 $\alpha$ -metyl-17 $\alpha$ -hydroxy-pregnan dùng dibromantin;

vi) epoxy hóa  $\Delta$ 9(11)-16 $\alpha$ -metyl-17 $\alpha$ -hydroxy pregnan thành 9(11)-epoxy-16 $\alpha$ -metyl-17 $\alpha$ -hydroxy pregnan; và

vii) mở vòng 9(11)-epoxy-16 $\alpha$ -metyl-17 $\alpha$ -hydroxy-pregnan bằng dung dịch HF 70%, axetyl hóa nhóm hydroxy ở C(21) của dexamethason dùng hỗn hợp Ac<sub>2</sub>O/Py.