



## NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP 16-DEHYDROREGNENOLONE ACETATE (16-DPA) TỪ DIOSGENIN

Nguyễn Hòa Bình<sup>1</sup>, Hà Kiều Oanh<sup>1</sup>, Phạm Thị Hiền<sup>1</sup>,  
Nguyễn Đình Luyện<sup>1</sup>, Đào Nguyệt Sương Huyền<sup>1</sup>,  
Nguyễn Văn Giang<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Hải<sup>1</sup>, Đào Duy  
Quý<sup>1</sup>, Đỗ Hồng Quảng<sup>1</sup>, Lê Thục Anh<sup>2</sup>, Mai Kim  
Ngân<sup>3</sup>, Trương Thị Hồng Hạnh<sup>4</sup>, Nguyễn Thị Ngọc<sup>4\*</sup>

1 Trường Đại học Dược Hà Nội

2 John Bapst Memorial High School, Bangor, Maine, USA

3 Trường Đại học Y - Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

4 Trường Đại học Y - Dược, Đại học Thái Nguyên

\* Tác giả liên hệ: ngoack3a@gmail.com

**Tổng Biên tập:**

TS. Nguyễn Phương Sinh

**Ngày nhận bài:**

16/04/2025

**Ngày chấp nhận đăng bài:**

18/09/2025

**Ngày xuất bản:**

30/09/2025

**DOI:** 10.66517/jstmp.2025.3.7

**Bản quyền:**

@ 2025 Thuộc Tạp chí Khoa học và Công nghệ Y Dược

**Xung đột quyền tác giả:**

Tác giả tuyên bố không có bất kỳ xung đột nào về quyền tác giả

**Địa chỉ liên hệ:**

Số 284, đường Lương Ngọc Quyến, phường Phan Đình Phùng, tỉnh Thái Nguyên

**Email:** tapchi@tnmc.edu.vn

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** 16-Dehydropregnenolone acetate (16-DPA) là một hợp chất trung gian có vai trò quan trọng trong quy trình sản xuất nhiều loại thuốc steroid bán tổng hợp như hormon sinh dục, corticosteroid, chất ức chế 5 $\alpha$ -reductase và một số nhóm steroid có hoạt tính sinh học khác. Do cấu trúc phức tạp, khó tổng hợp hóa học nên 16-DPA chủ yếu được sản xuất từ các sapogenin steroid có trong dược liệu như diosgenin, solasodine... **Mục tiêu:** Tổng hợp được 16-DPA từ diosgenin làm nguyên liệu cho quy trình điều chế các thuốc nhóm steroid. **Phương pháp:** 16-DPA được tổng hợp từ diosgenin thông qua 2 giai đoạn: *i*) acetyl hóa diosgenin trong anhydrid acetic để tạo diosgenin acetat (DA), sau đó là acetyl hóa mở vòng với AlCl<sub>3</sub>/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> để thu được pseudodiosgenin diacetate (PDA); *ii*) Oxy hóa PDA bằng KMnO<sub>4</sub> tạo dioson rồi thủy phân trong acid acetic để thu được 16-DPA. Cấu

trúc của các chất được khẳng định bằng các phương pháp phổ: IR, MS, <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR. **Kết quả:** Giai đoạn đầu, PDA đã được tổng hợp thành công ở 140°C, áp suất khí quyển, đạt hiệu suất 45% dưới dạng bột tinh thể màu trắng, R<sub>f</sub> 0,52 (*n*-hexan : ethyl acetat, 4 : 1), t<sub>nc</sub> 98,0 - 100,0°C. Giai đoạn hai, hiệu suất tạo 16-DPA đạt 92,3%, dưới dạng tinh thể màu trắng có t<sub>nc</sub> 172,0 - 173,0°C mà không cần tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột. Cấu trúc sản phẩm có kết quả phổ <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR hoàn toàn khớp với các dữ liệu nghiên cứu trên thế giới đã công bố trước đó. **Kết luận:** 16-DPA đã được tổng hợp thành công từ diosgenin với hiệu suất tổng đạt 41,5%. Quy trình cho thấy triển vọng mở rộng quy mô quy trình với tiềm năng ứng dụng trong tổng hợp thuốc steroid. **Từ khóa:** Diosgenin; Diosone; Steroids; 16-DPA; Pseudodiosgenin diacetate

## RESEARCH ON THE SYNTHESIS OF 16-DEHYDROREGNENOLONE ACETATE (16-DPA) FROM DIOSGENIN

Nguyen Hoa Binh<sup>1</sup>, Ha Kieu Oanh<sup>1</sup>, Pham Thi Hien<sup>1</sup>,  
Nguyen Dinh Luyen<sup>1</sup>, Dao Nguyet Suong Huyen<sup>1</sup>,  
Nguyen Van Giang<sup>1</sup>, Nguyen Van Hai<sup>1</sup>, Dao Duy  
Qui<sup>1</sup>, Do Hong Quang<sup>1</sup>, Le Thuc Anh<sup>2</sup>, Mai Kim  
Ngan<sup>3</sup>, Truong Thi Hong Hanh<sup>4</sup>, Nguyen Thi Ngoc<sup>4\*</sup>

1 Hanoi University of Pharmacy

2 John Bapst Memorial High School, Bangor, Maine, USA

3 University of Medicine and Pharmacy, Vietnam  
National University, Hanoi

4 TNU - University of Medicine and Pharmacy

\* Author contact: ngoock3a@gmail.com

## ABSTRACT

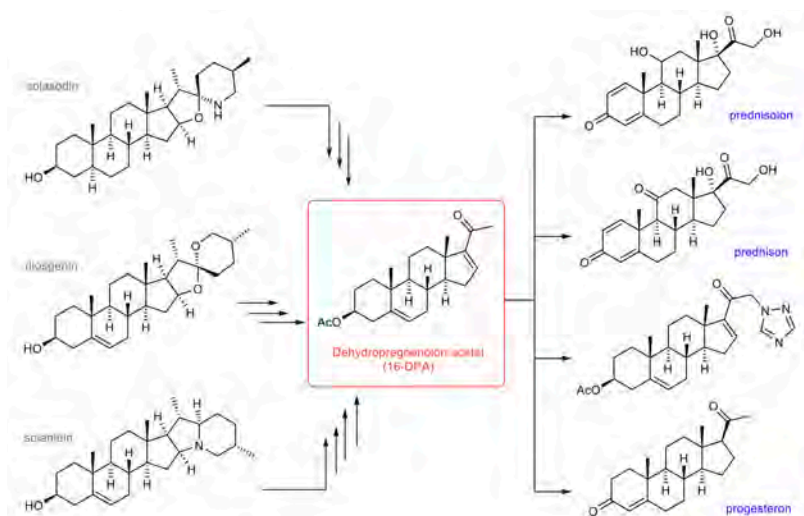
**Background:** 16-Dehydropregnenolone acetate (16-DPA) is a typical intermediate compound in the production of many semisynthetic steroid drugs such as sex hormones, corticosteroids,  $5\alpha$ -reductase inhibitors, and several other biologically active steroid groups. Due to its complex structure and difficulty in chemical synthesis, 16-DPA is mainly produced from steroid sapogenins found in medicinal herbs such as diosgenin, solasodine...

**Objectives:** Synthesize 16-DPA from diosgenin as raw material to prepare steroid drugs. **Methods:** 16-DPA was synthesized from diosgenin through 2 stages: *i*) acetylation of diosgenin in acetic anhydride to form intermediate diosgenin acetate (DA), then ring-opening acetylation by adding aluminum chloride and boric acid to obtain pseudodiosgenin diacetate (PDA); *ii*) Oxidation of PDA by potassium permanganate to create diosone, followed by hydrolysis in acetic acid to obtain 16-DPA. Structure of intermediate derivatives and final 16-DPA was confirmed by spectroscopic techniques: mass spectrometry (MS), infrared (IR), and nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR). **Results:** In the initial stage, PDA was successfully synthesized without requiring pressure at  $140^\circ\text{C}$  in 90 minutes in 45% yield as a white crystalline powder,  $R_f$  0.52 (*n*-hexane/ethyl acetate, 4/1), mp.  $98.0 - 100.0^\circ\text{C}$ . In the second stage, 16-DPA was obtained in 92.3% yield without the need for column chromatography, final product as a white crystal,  $R_f$  0.60 (*n*-hexane/ethyl acetate, 1/1), mp.  $172.0 - 173.0^\circ\text{C}$ . The  $^1\text{H}$ -NMR and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra perfectly match the previously published data. **Conclusions:** 16-DPA was successfully synthesized from diosgenin with

a total yield of 41.5%. The structures of intermediate an final product 16-DPA were proven by spectroscopic analysis. The synthesis procedure shows promise for scaling-ups the process with the potential to apply in the synthesis of steroid drugs.

**Keywords:** Diosgenin; Diosone; Steroids; 16-DPA; Pseudodiosgenin diacetate

## ĐẶT VẤN ĐỀ



Hình 1. Sơ đồ tổng hợp các hoạt chất nhóm steroid thông qua trung gian 16-DPA từ các hợp chất thiên nhiên

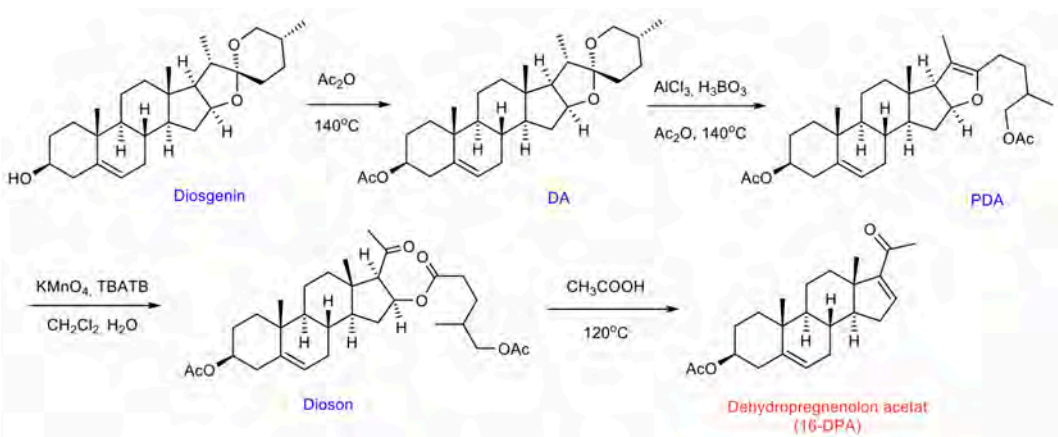
16-dehydropregnenolon acetat (16-DPA) là một hợp chất trung gian đóng vai trò quan trọng các quy trình tổng hợp hoạt chất trong nhóm steroid như: prednison, prednisolon [1]; các chất ức chế enzym  $5\alpha$ -reductase [2,3,4]; hormon progesteron; và các nhóm steroid có hoạt tính sinh học khác [5]. Các phân tử thuốc này có cấu trúc hóa học phức tạp nên gặp nhiều khó khăn khi tổng hợp hóa học toàn phần. Do vậy các phương pháp bán tổng hợp từ nguyên liệu là hợp chất thiên nhiên là giải pháp ưu tiên được lựa chọn. Cho đến

nay, 16-DPA có thể được tổng hợp theo nhiều con đường khác nhau từ nguyên liệu là các hợp chất thiên nhiên như: solasodin [6], solanidin [7]... và cho hiệu suất cao nhất là diosgenin [8-10], từ đó tổng hợp ra các hoạt chất nhóm steroid mong muốn (Hình 1).

Việc bán tổng hợp các thuốc steroid từ các nguồn dược liệu có sẵn qua trung gian 16-DPA là bước phát triển bền vững, quy trình sản xuất thân thiện với môi trường, đồng thời mang lại hiệu quả kinh tế cao [10]. Tại Việt Nam, các nghiên cứu về tổng hợp về các nhóm thuốc steroid, tổng hợp 16-DPA từ các nguyên liệu có nguồn gốc dược từ dược liệu còn ít. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: *“Tổng hợp được 16-dehydropregnenolon acetat từ diosgenin làm nguyên liệu cho quy trình điều chế các thuốc nhóm steroid”...*

### PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng các phản ứng cơ bản trong hóa học hữu cơ như quá trình acyl hóa, oxy hóa và thủy phân để tổng hợp các chất dự kiến. Quy trình tổng hợp gồm 02 giai đoạn như sau:



Hình 2. Quy trình tổng hợp 16-dehydropregnenolon acetat (16-DPA)

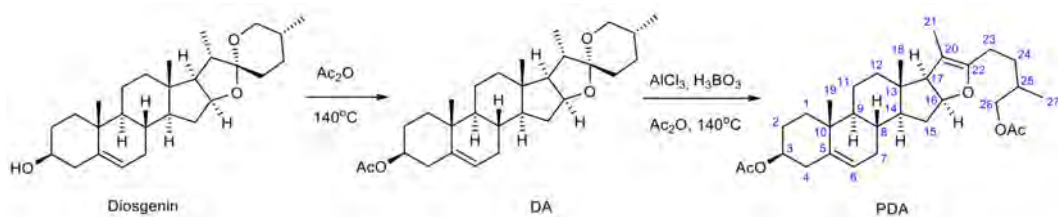
- Acetyl hóa diosgenin với anhydrid acetic tạo trung gian diosgenin acetat (DA), sau đó thêm nhôm clorid (khan) và acid boric để tạo pseudodiosgenin diacetat (PDA).

- Oxy hóa pseudodiosgenin diacetat tạo dioson, rồi thủy phân trong acid acetic bằng thu được dehydropregnenolon (16-DPA).

Các phản ứng được theo dõi bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM), thực hiện trên bản mỏng silicagel 60 F254 với các hệ dung môi khai triển thích hợp (*n*-hexan : ethylacetat (4 : 1) - hệ A; *n*-hexan : ethylacetat (1 : 1) - hệ B), hiện vết bằng thuốc thử H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% / ethanol. Đánh giá sơ bộ độ tinh khiết của sản phẩm bằng phương pháp SKLM và đo nhiệt độ nóng chảy trên máy đo EZ-Melt. Cấu trúc của các hợp chất trung gian và sản phẩm cuối xác định bằng các phương pháp phổ được đo tại Viện Hóa Học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam: Phổ khối lượng (MS - được ghi trên máy 920-MS TQ-FT, Agilent Technologies); phổ hồng ngoại (IR - ghi trên máy Perkin Elmer); phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (<sup>1</sup>H-NMR) và carbon-13 (<sup>13</sup>C-NMR) ghi trên máy Bruker 500 MHz Ascend với chất chuẩn nội là tetramethylsilan (TMS).

## KẾT QUẢ

### Tổng hợp pseudodiosgenin diacetat (PDA)



Hình 3. Sơ đồ phản ứng tổng hợp PDA từ diosgenin

*Cách tiến hành:* Lần lượt thêm 1,20 g diosgenin (2,90 mmol) và 15 mL Ac<sub>2</sub>O vào bình cầu 2 cổ dung tích 100 mL. Hỗn hợp sau đó được khuấy, đun hồi lưu ở 140°C trong 1 giờ. Theo dõi tiến độ bằng SKLM với hệ *n*-hexan : ethyl acetat (4 : 1) đến khi diosgenin phản ứng hoàn toàn tạo ra DA. Giai đoạn 2, tiến hành giảm nhiệt độ của hỗn hợp về 40°C rồi thêm lần lượt 0,10 g (0,75 mmol) AlCl<sub>3</sub> khan và 0,06 g (0,97 mmol) H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> vào bình phản ứng, duy trì trong 10 phút. Sau đó nâng nhiệt độ phản ứng lên 140°C và đun hồi lưu trong 1,5 giờ. Kết thúc phản ứng, làm nguội rồi đổ hỗn hợp vào 100 mL nước cất đá, khuấy mạnh. Chiết hỗn hợp thu được với dicloromethan (7,0 mL/lần, 3 lần), thu lấy pha hữu cơ. Làm khan pha hữu cơ bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> rồi cất thu hồi dung môi đến cạn. Chất rắn thu được hòa tan trong 5 mL methanol ở 50°C, sau đó để kết tinh ở 0 - 5°C. Lọc, rửa tinh thể bằng methanol, rồi sấy khô ở 40 - 45°C, thu được 0,65 g chất rắn kết tinh màu trắng (có R<sub>f</sub> 0,52 - hệ A; khoảng nóng chảy 98,0 - 100,0°C; 45,0%).

Cấu trúc phổ của sản phẩm PDA: **IR** (cm<sup>-1</sup>): 2942 (C-H no), 1731 (C = O ester), 1691 (C = C), 1036 (C-O ester). **MS-ESI**<sup>+</sup>: [M+H]<sup>+</sup> = 497,4 (C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>, 498,4). **<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0,69 (3H, s, H-18); 0,93-0,95 (3H, d, *J* = 7,20 Hz, H-27); 0, 0,93-0,99 (1H, m, H-9); 0,97-1,04 (2H, m, H-1a, 14a); 1,04 (3H, s, H-19); 1,13-1,16 (1H, m, H-12a, H-14b); 1,25-1,31 (2H, m, H-15a, H-24a); 1,41-1,48 (2H, m, H-2a, H-7a); 1,58 (3H, s, H- 21); 1,61-1,63 (2H, m, H-8, H-25); 1,79-1,82 (2H, m, H-11); 1,82-1,88 (3H, m, H-1b, H-2b, H-24b); 2,03-2,05 (6H, s, CH<sub>3</sub>COO); 2,03-2,05 (1H, m, H-7b); 2,05-2,18 (2H, m, H-23);

2,05-2,18 (2H, m, H-12b, H-17); 2,29-2,35 (2H, m, H-4a, H-15b); 2,48 (1H, d,  $J = 10,20$  Hz, H-4b); 3,86-3,96 (2H, m, H-26); 4,6 (2H, m, H-3, H-16); 5,37-5,38 (1H, d,  $J = 5,40$  Hz, H-6).  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 36,97 (C-1); 27,72 (C-2); 78,83 (C-3); 38,07 (C-4); 151,41 (C-5); 139,67 (C-6); 34,09 (C-7); 30,75 (C-8); 49,96 (C-9); 36,67 (C-10); 20,94 (C-11); 39,45 (C-12); 43,22 (C-13); 54,92 (C-14); 32,14 (C-15); 84,27 (C-16); 64,15 (C-17); 16,69 (C-18); 19,31 (C-19); 122,30 (C-20); 13,90 (C-21); 103,76 (C-22); 32,09 (C-23); 23,17 (C-24); 31,9 (C-25); 69,13 (C-26); 11,62 (C-27); 21,40 ( $\text{CH}_3\text{-COO-}$ ); 171,18 và 170,46 ( $\text{-OOC-CH}_3$ ).

#### **Khảo sát ảnh hưởng của chất xúc tác đến hiệu suất phản ứng tạo pseudodiosgenin diacetat**

Khi tiến hành riêng rẽ các xúc tác (không kết hợp với  $\text{AlCl}_3$ ), sắc ký đồ có vết sản phẩm nhạt và/hoặc nhiều sản phẩm phụ. Tương tự khi chỉ dùng  $\text{AlCl}_3$  cho sắc ký có vết DA và PDA đậm tương đương, gây khó khăn cho quá trình tinh chế (không kết tinh được PDA). Vì vậy ở các khảo sát sau đó, chúng tôi kết hợp  $\text{AlCl}_3$  và các xúc tác acid khác. Kết quả thu được khi sử dụng xúc tác acid mạnh như  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$ ,  $p\text{-TSA}$  ngay lập tức thấy xuất hiện sản phẩm phụ, gây khó khăn cho quá trình tách chiết và tinh chế. Với các acid dịu nhẹ hơn như  $\text{KHSO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{HSO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  dịch phản ứng ít sản phẩm phụ hơn, quá trình xử lý kết tinh được sản phẩm PDA. Trong đó khi kết hợp  $\text{AlCl}_3$  với  $\text{H}_3\text{BO}_3$  cho hiệu suất tốt nhất đạt 45%. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn tác nhân  $\text{AlCl}_3/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{Ac}_2\text{O}$  tiến hành thực hiện phản ứng acetyl hóa.

Bảng 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của chất xúc tác đến hiệu suất phản ứng tạo PDA

STT	Xúc tác hoặc chất hỗ trợ	Cảm quan sản phẩm	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)	$t^{\circ}_{nc}$ ( $^{\circ}\text{C}$ )
1	$\text{H}_3\text{BO}_3$	Chất rắn màu vàng nhạt	0,51	35,1	98,0 - 99,6
2	$\text{AlCl}_3$	Chất lỏng sệt màu vàng, SKLM còn vết DA	Siro lỏng, vàng nhạt	-	-
3	$\text{AlCl}_3$ , $p$ -TSA	Chất lỏng sệt màu vàng	Siro lỏng, vàng	-	-
4	$\text{AlCl}_3$ , $\text{KHSO}_4$	Chất rắn màu vàng	0,50	35,0	97,8 - 100,4
5	$\text{AlCl}_3$ , $\text{NH}_4\text{HSO}_4$	Chất rắn màu vàng	0,47	32,8	97,5 - 99,7
6	$\text{AlCl}_3$ , $\text{H}_3\text{BO}_3$	Vết sản phẩm PDA đậm, vết sản phẩm phụ nhạt	0,64	45,0	98,2 - 100,1
7	$\text{AlCl}_3$ , $\text{HClO}_4$				
8	$\text{AlCl}_3$ , $\text{H}_2\text{SO}_4$	Chất lỏng sệt màu vàng, SKLM còn nguyên liệu DA, nhiều vết tạp	Siro lỏng, vàng	-	-
9	$\text{AlCl}_3$ , $\text{NH}_4\text{Cl}$				

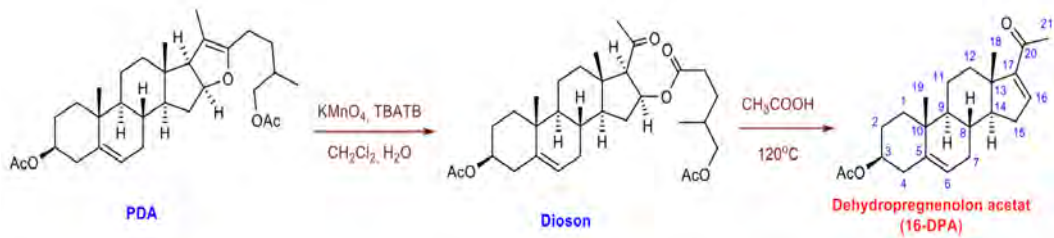
**Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ mol  $\text{H}_3\text{BO}_3$  : Diosgenin đến hiệu suất tạo PDA**

Bảng 2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ mol  $\text{H}_3\text{BO}_3$  : Diosgenin đến hiệu suất tạo PDA

STT	Tỷ lệ mol $\text{H}_3\text{BO}_3$ : Diosgenin	Cảm quan sản phẩm	Khối lượng sản phẩm (g)	Hiệu suất (%)
1	1 : 1	Chất rắn màu vàng	0,44	30,7
2	1 : 2	Kết tinh màu trắng ngà vàng	0,59	40,6
3	1 : 3	Kết tinh màu trắng	0,65	45,2
4	1 : 4	Chất lỏng siro màu vàng	0,72	-

Khi giảm lượng acid boric so với diosgenin (tức tỷ lệ mol tăng dần) hiệu suất phản ứng tăng dần và kết tinh được sản phẩm DPA. Hiệu suất cao nhất ở tỷ lệ 1:3 đạt 45,2%. Tiếp tục tăng lên tỷ lệ 1:4, phản ứng xảy ra không hoàn toàn, nguyên liệu DA còn dư và tạp chất nên không kết tinh được DPA. Do đó chúng tôi tiến hành phản ứng với tỷ lệ 1:3.

### Tổng hợp 16-dehydropregnenolon acetat (16-DPA)



Hình 4. Sơ đồ phản ứng tổng hợp 16-dehydropregnenolon acetat từ DPA

#### Giai đoạn 1: Tổng hợp Dioson

Hòa tan 0,50 g PDA (1,0 mmol) vào 5 mL dicloromethan trong bình 3 cổ dung tích 50 mL, làm lạnh xuống 0 - 5°C. Thêm lần lượt 5,0 mg (1%) xúc tác chuyển pha TBATB (tetrabutylammonium tribromid) và 3 mL  $\text{H}_2\text{O}$  vào bình phản ứng. Nhỏ từ từ dung dịch chứa 0,32 g (2,0 mmol)  $\text{KMnO}_4$  trong 4 mL  $\text{H}_2\text{O}$  vào hỗn hợp phản ứng trong vòng 30 phút. Sau đó duy trì phản ứng trong 1,5 giờ và luôn kiểm soát pH trong bình khoảng 3 bằng hệ đệm acid acetic/natri acetat. Chiết hỗn hợp phản ứng với dicloromethan (10 mL/lần, 3 lần). Pha hữu cơ sau đó được làm khan rồi cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến thể tích không đổi. Thu được hỗn hợp chứa sản phẩm có dạng siro đặc, dính, màu vàng nhạt. Vết sản phẩm dioson trên SKLM có giá trị  $R_f = 0,58$  (hệ B). Sản phẩm này được đem đi tiến hành phản ứng ở giai đoạn sau mà không tinh chế.

## ***Giai đoạn 2: Tổng hợp 16-dehydropregnenolon acetat (16-DPA)***

Hỗn hợp chất lỏng chứa dioson thu được ở trên được hòa tan trong 10 mL acid acetic băng. Sau đó được đun hồi lưu ở 140°C trong 4 giờ. Kết thúc phản ứng làm nguội hỗn hợp về nhiệt độ phòng, đổ vào nước đá và chiết bằng dung môi DCM. Pha DCM được rửa bằng dung dịch NaHCO<sub>3</sub> 5%, làm khan rồi cất thu hồi DCM đến cạn. Chất rắn còn lại được hòa tan trong 4 mL MeOH nóng và kết tinh ở 0 - 5°C. Lọc, rửa tinh thể bằng MeOH lạnh rồi sấy khô. Thu được 0,33 g sản phẩm 16-DPA thu được dạng tinh thể màu trắng (H: 92,3%). Sản phẩm có giá trị R<sub>f</sub> = 0,60 (hệ B) và nhiệt độ nóng chảy trong khoảng 172,0 - 173,0°C.

Kết quả phổ của 16-DPA: **IR** (cm<sup>-1</sup>): 2945 (C-H no), 1730 (C = O ester), 1662 (C = O ceton), 1584 (C = C). **MS-ESI<sup>+</sup>**: [M+H]<sup>+</sup> = 356,7 (C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>, 356,5). **<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0,92 (3H, s, H-18); 1,03-1,05 (2H, m, H-9, H-14); 1,06 (3H, s, H-19); 1,1-1,2 (2H, m, H-1a, H-14); 1,35 (1H, m, H-12a); 1,43 (1H, m, H-9); 1,64 (1H, m, H-7a); 1,59 (1H, m, H-2a); 1,57-1,60 (2H, m, H-11); 1,69 (1H, m, H-8); 1,86 (2H, m, H-1b, H-2b); 2,02 (1H, m, H-7b); 2,03 (3H, s, H<sub>3</sub>C-COO-); 2,04 (1H, m, H-15a); 2,26-2,28 (3H, s, H-21); 2,31 (1H, m, H-15b); 2,32-2,34 (2H, m, H-4); 2,40-2,42 (1H, m, H-12b); 4,57-4,63 (1H, m, H-3); 5,38-5,38 (1H, m, H-6); 6,69-6,71 (1H, m, H-16). **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 36,90 (C-1); 27,76 (C-2); 73,90 (C-3); 38,17 (C-4); 140,31 (C-5); 122,00 (C-6); 31,57 (C-7); 30,20 (C-8); 56,40 (C-9); 36,82 (C-10); 20,66 (C-11); 34,65 (C-12); 46,12 (C-13); 50,44 (C-14); 32,27 (C-15); 144,36

(C-16); 155,41 (C-17); 15,74 (C-18); 19,24 (C-19); 196,83 (C-20); 27,15 (C-21); 21,43 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-COO-}$ ); 170,54 ( $\text{-OOC-}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ).

## BÀN LUẬN

### Phản ứng tổng hợp PDA từ diosgenin

Phản ứng tổng hợp PDA từ diosgenin gồm 02 giai đoạn là acetyl hóa nhóm -OH rồi sau đó acetyl hóa kết hợp mở vòng để tạo sản phẩm. Phản ứng này trước đây đã được thực hiện với anhydrid acetic trong dung môi xylen với điều kiện nhiệt độ và áp suất cao 250°C/4-5 atm [9]. Để giảm điều kiện về nhiệt độ và áp suất của phản ứng, một số báo cáo đã sử dụng các acid Lewis như:  $\text{H}_3\text{BO}_3$ /anhydrid isobutyric ở 170°C; acetyl clorid/xylen ở 138°C trong 6 giờ [8]... Trong đó nổi bật nhất là phương pháp của Baruah và cộng sự khi tiến hành phản ứng với  $\text{AlCl}_3/\text{Ac}_2\text{O}$  ở 140°C trong 3 giờ, đạt hiệu suất 95 - 98%.

*Bảng 3. So sánh điều kiện phản ứng với phương pháp của Baruah và cộng sự*

Các điều kiện phản ứng	Phương pháp của Baruah và cộng sự	Kết quả nghiên cứu
Tác nhân	$\text{Ac}_2\text{O}$ , $\text{AlCl}_3$	$\text{Ac}_2\text{O}$ , $\text{AlCl}_3$ & $\text{H}_3\text{BO}_3$
Tỷ lệ Diosmin : $\text{AlCl}_3$	1 : 0,5	1 : 0,26
Tỷ lệ Diosmin : acid boric	-	1 : 0,33
Nhiệt độ	140°C	140°C
Áp suất	Áp suất thường	Áp suất thường
Thời gian phản ứng	3 giờ	2 giờ
Hiệu suất	95 - 98%	40 - 45%
Dung môi	$\text{Ac}_2\text{O}$	$\text{Ac}_2\text{O}$
Thiết bị	Bình cầu 3 cổ	Bình cầu 3 cổ

Thực tế khi chúng tôi tiến hành chỉ với  $\text{AlCl}_3$  theo quy trình của tác giả Baruah và cộng sự [10], vết PDA và DA trên SKLM đậm tương đương và không thay đổi dù cho dư  $\text{AlCl}_3$ , gây giảm hiệu suất và khó tinh chế thu PDA. Do đó chúng tôi kết hợp  $\text{AlCl}_3$  với một acid khác để làm tăng khả năng phản ứng mở vòng, kết quả thu được  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  /  $\text{Ac}_2\text{O}$  cho hiệu suất cao nhất (45%), phản ứng không sử dụng áp suất cao như các phương pháp khác được công bố trước đó [9,11]. Khi kết hợp hai chất xúc tác này, lượng  $\text{AlCl}_3$  sử dụng giảm xuống, thời gian phản ứng ngắn hơn, thuận lợi trong quá trình tách và tinh chế thu sản phẩm. Mặt khác  $\text{H}_3\text{BO}_3$  là xúc tác sẵn có, ít độc hại, thân thiện với môi trường và dễ thao tác hơn so với  $\text{AlCl}_3$  khan (dễ hút ẩm gây phân hủy, tạo hơi  $\text{HCl}$  gây nguy hiểm).

#### **Phản ứng tổng hợp 16-DPA**

Trong phản ứng này, chúng tôi đã thay thế tác nhân oxy hóa  $\text{CrO}_3$  [8] bằng  $\text{KMnO}_4$  là tác nhân oxy hóa phổ biến, an toàn và xanh hơn; phản ứng oxy hóa diễn ra êm dịu, quá trình tinh chế, xử lý phản ứng đơn giản hơn. Sau đó tiến hành thủy phân trong acid acetic băng và kết tinh trong  $\text{MeOH}$  để thu được 16-DPA tinh khiết. Kết quả phổ của sản phẩm đều cho các tín hiệu tương đồng với tài liệu đã công bố [12]. Cấu trúc 16-DPA càng được khẳng định trong kết quả phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ : Khác với PDA, 16-DPA chỉ xuất hiện 1 tín hiệu tương ứng với carbon trong  $\text{CH}_3\text{COO-}$  ở vị trí 170,54 ppm. Đồng thời còn có một carbon có độ dịch chuyển ở vị trí 196,83 ppm là carbon trong nhóm chức ceton ở C-20, cùng với các nguyên tử carbon với độ dịch chuyển hóa học cao khác như 140,31; 122,00; 144,36 và 155,41 tương ứng với C-anken.

## KẾT LUẬN

Chúng tôi đã tổng hợp và khẳng định được cấu trúc của 16-DPA từ nguyên liệu diosgenin với 02 giai đoạn, hiệu suất toàn quy trình đạt 41,5%. Trong đó đã khảo sát và lựa chọn được điều kiện phản ứng như sau:

- Giai đoạn acetyl hóa và mở vòng thực hiện với tác nhân  $\text{AlCl}_3/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{Ac}_2\text{O}$  cho hiệu suất đạt 45%. Phản ứng thực hiện dễ dàng ở áp suất thường, với tỷ lệ diosgenin :  $\text{AlCl}_3$  :  $\text{H}_3\text{BO}_3$  giảm còn 1:0,26:0,33, thời gian phản ứng ngắn (2 giờ).

- Sử dụng tác nhân oxi hóa thân thiện với môi trường, phổ biến là  $\text{KMnO}_4$  để tổng hợp dioson, rồi tiến hành phản ứng thủy phân trong acid acetic băng để thu được 16-DPA, hiệu suất của cả giai đoạn đạt 92,8%.

Quy trình cho thấy triển vọng nâng cấp quy mô tổng hợp, từ đó cung cấp 16-DPA làm nguyên liệu trong tổng hợp thuốc steroid.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bunte K, et al. Learning pharmacokinetic models for in vivo glucocorticoid activation. *J Theor Biol.* 2018;455:222-231. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.07.025>
2. Cabeza M, et al. Evaluation of new pregnane derivatives as  $5\alpha$ -reductase inhibitor. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2001;49(5):525-30. DOI: 10.1248/cpb.49.525.
3. Garrido M, et al. New steroidal lactones as  $5\alpha$ -reductase inhibitors and antagonists for the androgen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127(3-5):367-373. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2011.07.001

4. Silva-Ortiz AV, et al. Synthesis and activity of novel 16-dehydropregnenolon acetate derivatives as inhibitors of type 15 $\alpha$ -reductase and on cancer cell line SK-LU-1. *Bioorg Med Chem.* 2015;23(24):7535-7542. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.10.047
5. Fernández-Cabezón L, Galán B, García JL. New Insights on Steroid Biotechnology. *Frontiers in microbiology.* 2018;9:958-958. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00958>
6. Aranya, M., Jiradej, M., Duang B., Pattana S., Roland M. & Rolf W. *Synthesis of cyproterone acetate.* US20060211873A1 (2006).
7. Chen F, Zhao M, Ren B, Zhou C, Peng F. Solubility of diosgenin in different solvents. *The Journal of Chemical Thermodynamics.* 2012;47:341-346. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2011.11.009>
8. Goswami A, Kotoky R, Rastogi R, Ghosh AA. One-Pot Efficient Process for 16-Dehydropregnenolone Acetate. *Organic Process Research & Development.* 2003;7(3):306-308. <https://doi.org/10.1021/op0200625>
9. Chowdhury DP, et al. A simple efficient process for the synthesis of 16-Dehydropregnenolone Acetate (16-DPA) - A key steroid drug intermediate from diosgenin". *Journal of Chemical Engineering & Process Technology.* 2011;2(5):1000117. DOI: 10.4172/2157-7048.1000117
10. Baruah D, Das RN, Konwar D. Facile green synthesis of 16-dehydro-pregnenolone acetate (16-DPA) from diosgenin. *Synthetic Communications.* 2016;46(1):79-84. <https://doi.org/10.1080/00397911.2015.1121280>

11. Dauben WG, Fonken GJ. Isomerization of Isospirostans to Furostenols with Pyridine Hydrochloride as the Catalyst. *Journal of the American Chemical Society*. 1954;76(18):4618-4619. <https://doi.org/10.1021/ja01647a037>
12. Becerra-Martinez E, Ramírez-Gualito KE, Pérez-Hernández N, Joseph-Nathan P. Total <sup>1</sup>H-NMR assignment of 3 $\beta$ -acetoxypregna-5,16-dien-20-one. *Steroids*. 2015;104:208-213. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.10.005>.