

DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-9-27-31
© Коллектив авторов, 2018

В. А. Андрюшина, Т. С. Стыценко, Н. В. Карпова, В. В. Ядерец,
В. В. Джавахия

ЭФФЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ 21-АЦЕТОКСИПРЕГНА-1,4,9(11),16-ТЕТРАЕН-3,20-ДИОНА — КЛЮЧЕВОГО ПРОМЕЖУТОЧНОГО ПРОДУКТА В СИНТЕЗЕ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ФТОРИРОВАННЫХ КОРТИКОСТЕРОИДОВ ИЗ 9 α -ГИДРОКСИАНДРОСТЕНДИОНА

ФГБУ ФИЦ "Фундаментальные основы биотехнологии" РАН, Россия, 117312, Москва;
e-mail: andryushina@rambler.ru

Разработан эффективный синтез 21-ацетоксипрегна-1,4,9(11),16-тетраен-3,20-диона — ключевого интермедиата в синтезе высокоактивных фторированных кортикостероидов из фитостеринов. Метод состоит из серии отличающихся оригинальной последовательностью химических и микробиологических процессов и может быть использован в синтезе бетаметазона, синафлана, триамцинолона и других фторированных кортикоидов.

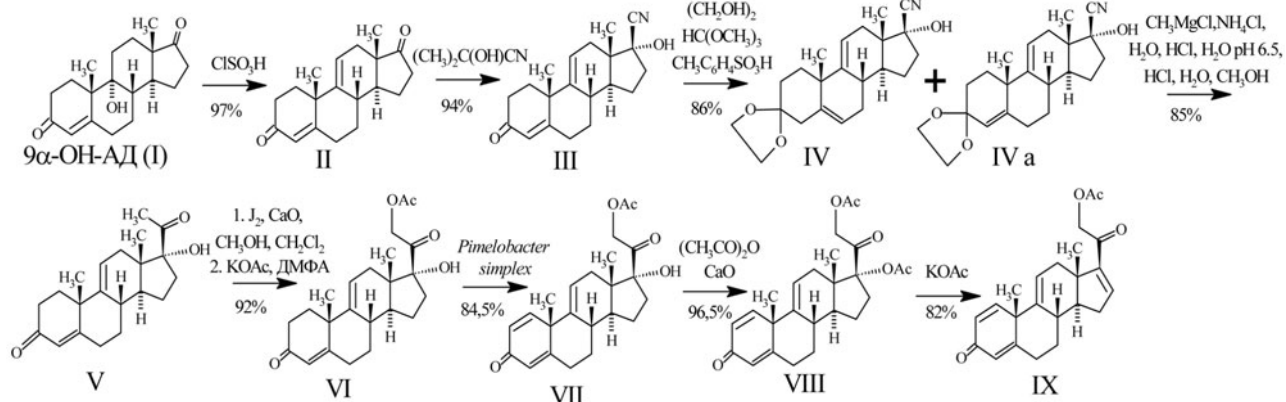
Ключевые слова: дексаметазон; фторированные кортикостероиды; 9 α -гидроксилирование; 1,2-дегидрирование; циангидриновый синтез.

Синтез новых стероидных соединений с высокой антиаллергической и противовоспалительной активностью, а также упрощение способов получения известных препаратов этого ряда является актуальной задачей и представляет перспективное направление в области, сочетающей микробиологические и химические трансформации стероидов. Целью нашей работы являлась разработка эффективного метода синтеза дексаметазона из фитостерина через ключевой полупродукт 9 α -гидроксиандростендион (9 α -ОН-АД, I), полученный нами ранее [1]. Использование I обеспечивает наиболее короткий и простой способ получения фторированных аналогов стероидов из стеринов, так как позволяет за счет легко осуществимой дегидратации 9 α -ОН-группы исключить из технологического процесса трудоемкую и неэкономичную стадию микробиологического 11-гидроксилирования. Синтез фторированных кортикоидов из I представляет собой серию химических и микробиологических превращений, позволяющих провести необходимую модификацию стероидной молекулы (схема). Как следует из литературных данных, очередность этих процессов может сильно различаться. Однако именно она и выбранные методы введения заданных функций определяют успех в создании экономически эффективной технологии производства. Мы выбрали последовательность реакций, используя ранее разработанные нами методы построения прегнановой и кортикоидной структуры из андростендиона (АД) [2, 3]. Предложенная нами последовательность функционализации стероидной молекулы представлена на схеме и включает в себя 5 этапов: 1) дегидратация 9 α -ОН-группы с об-

разованием двойной связи при C9-C11; 2) построение прегнановой боковой цепи с использованием ранее разработанного нами циангидриного варианта [2]; 3) введение диоксиацетонной цепи методом последовательного йодирования и ацетоксилирования [3] для построения кортикостероидной структуры; 4) введение двойной связи в кольцо А при C1-C2 с использованием оригинальной культуры *Pimelobacter simplex* ВКПМ Ас-1632 [4]; 5) введение 16,17-двойной связи в кольцо D дегидратацией 17 α -ОН-группы с получением заданной структуры тетраена.

Способы дегидратации 9 α -ОН-группы в литературе достаточно широко описаны [5–8]. В качестве дегидратирующего агента используют минеральные и органические кислоты, ангидриды и хлорангидриды минеральных и органических кислот, а в качестве растворителя — ароматические углеводороды или хлорсодержащие углеводороды, циклические эфиры и органические основания. В некоторых случаях для интенсификации процесса дегидратации используется удаление избыточной воды методом азеотропной отгонки с насадкой Дина-Старка [9]. Мы использовали вариацию метода [5]. Тщательный подбор реагентов и условий реакции в сочетании с простым способом выделения позволил нам достичь стабильного высокого выхода 9(11)-дегидропроизводного (II) не ниже 97% (от теоретического) и избежать образования нежелательного изомера андроста-4,8(9)-диен-3,17-диона, что было доказано с помощью ПМР-спектра. Проведение дегидратации на первой стадии синтеза позволяет избежать на следующих стадиях возможных нежелательных реакций с участием третичной гидроксиль-

Схема



ной группы при С9. Использованный нами метод построения прегнановой цепи с помощью циангидриного синтеза был тщательно отработан нами на реакциях с АД [2]. Сущность метода заключается во взаимодействии 17-кетостероидов с ацетонциангидрином (АЦГ) в присутствии основного катализатора в среде низших водных спиртов в интервале температур 35 – 38 °С. При всей привлекательности циангидриного варианта за счет избирательности реакции гидроцианирования по 17-кетогруппе [10] гидроцианирование 17-кетостероидов протекает не стереоселективно с образованием смеси эпимерных 17β-циан- и 17α-цианпроизводных, в то время как для дальнейшего наращивания цепи необходим 17β-циан-17α-ОН-изомер.

Количественное соотношение эпимеров определяется термодинамическими факторами — различиями в их устойчивости и растворимости и в значительной степени зависит от строения исходного кетостероида, рН среды и используемого растворителя. Однако в разработанных нами ранее условиях гидроцианирования АД [2] с небольшой корректировкой температурного режима и количеств используемых реагентов нам удалось осуществить этот процесс с достаточно высоким выходом и минимальным количеством примесей. Дальнейшее превращение в 20-кетопрегнаны, как правило, осуществляют взаимодействием соответствующих циангидринов, защищенных по 3-кето- и 17α-ОН, с метиллитием [11–14] или реактивом Гриньяра [12, 15], после проведения предварительной защиты присутствующих в молекуле реакционноспособных Δ4-3-кето- и 17α-ОН-групп [2]. Выбор реакции Гриньяра диктовался меньшей проблематичностью для промышленного использования по сравнению с алкилированием нитрильной группы метиллитием, требующим использования низких температур (– 30 °С). В качестве защиты третичной гидроксильной группы используют триметилсилиловый или тетрагидропираниловый эфиры, либо ацетальную защиту с алкилвиниловыми эфирами [10, 12, 14]. Защита Δ4-3-кетогруппы может быть осуществлена образованием енол-эфира, кетала или енамина [12]. Мы остановили свой выбор на этиленкетальной защите Δ4-3-кетогруппы, учитывая ранее разработанный нами метод катализации [2],

основанный на использовании триалкилортоформиата для химического связывания воды. Из ранее проведенных нами исследований [15, 16] известно, что реакция Гриньяра по нитрильной группе производных с замещенными по 3- и 17-положениям гидроксильными группами требует чрезвычайно жестких условий алкилирования. Поэтому мы решили попробовать вариант проведения реакции Гриньяра без защиты 17-положения. Это, кроме того, сократило бы и без того многостадийный синтез. Нам удалось разработать процесс алкилирования взаимодействием смеси изомерных Δ4- и Δ5-кеталей с MeMgCl в среде сухого толуола в токе инертного газа при температуре (0 ± 5) °С в течение 1,5 ч с последующим разложением хлормagneвиевого комплекса водным раствором NH₄Cl и дальнейшим последовательным кислотным гидролизом 20-имино- и 3,3-этиленкетальных группировок с образованием 3- и 20-карбонильных групп. Особенностью процесса получения V является проведение реакции Гриньяра в малополярном растворителе — толуоле — в присутствии небольшого количества тетрагидрофурана (ТГФ), связанного в виде комплекса с MeMgCl. Введение диоксиацетонной цепи проводили по методу [3]. В данном случае наличие Δ9(11)-двойной связи не влияло на результат реакции, несмотря на то, что 9,11-двойная связь является функциональной реакционноспособной группой, то есть дополнительным реакционным центром. Для введения в кольцо А Δ1-двойной связи мы использовали ранее разработанный нами метод [4]. Стадию микробиологического дегидрирования проводили с применением оригинальной культуры *P. simplex*, обладающей высокой 1,2-стероиддегидрогеназной активностью. Как правило, штамм проявляет высокую активность без использования солубилизатора. Однако в случае соединения VI наличие 9(11)-двойной связи и 21-ацетатной группы значительно осложняло биоконверсию субстрата, обуславливало низкую скорость трансформации и неполное превращение субстрата. Для решения этой проблемы реакцию 1,2-дегидрирования проводили в присутствии метил-β-циклодекстрина (МЦД) в массовом соотношении к субстрату 7,5:1, что обеспечивало повышение степени биоконверсии до 90–94 % за (8 ± 1) ч инкубации.

Дальнейшее построение заданной структуры тетраена IX, а именно введение 16,17-двойной связи в кольцо D, необходимой для функционализации 16 и 17 положений кортикостероидов, мы осуществляли ацетилированием 17 α -гидроксигруппы триена VII с последующим отщеплением уксусной кислоты от образовавшегося диацетата VII. Этерификацию стерически затрудненной гидроксильной группы проводили в среде уксусного ангидрида в присутствии СаО при температуре кипения по методу [17], позволяющему не затрагивать в этих условиях Δ^4 -3-кетогруппу. Эффективный метод элиминирования 17 α -ацетоксигруппы в соединениях прегнанового ряда, заключающийся в обработке безводным ацетатом калия (АсОК) в диметилсульфоксиде (ДМСО) при 80 – 85 °С в среде инертного газа [18], в применении к нашему производному позволил получить целевой продукт IX с высоким выходом и качеством, позволяющим без дополнительной очистки использовать его для синтеза высокоактивных фторированных кортикостероидов.

Температуру плавления измеряли капиллярным методом на приборе OptiMelt, МРА-100, США. $[\alpha]_D$ на приборе Atago AP-300, Россия при температуре (20 \pm 0,5) °С в хлороформе при концентрации 1 %. ИК-спектры сняты на спектрометре М-80 Specord.

Спектры ^1H ЯМР сняты на спектрометре Unity+400 (Varian) с рабочей частотой 400 МГц.

Экспериментальная часть

Андроста-4,9(11)-диен-3,17-дион (II). К раствору 40 г I в 300 мл безводного CH_2Cl_2 при (– 4) °С прибавляют раствор 14 мл ClSO_3H в 60 мл CH_2Cl_2 . Смесь перемешивают при 0...– 3 °С 1 ч 40 мин и прикапывают 500 мл воды при температуре не выше 15 °С. Органический слой отделяют, а водный экстрагируют CH_2Cl_2 . Объединенный экстракт промывают водой и насыщенным раствором NaCl до pH 7,0, CH_2Cl_2 упаривают в вакууме. К остатку прибавляют 70 мл гексана, охлаждают 2 ч при (6 \pm 2) °С. Осадок отфильтровывают, промывают гексаном, сушат. Получают 36,12 г (выход 96,95 % от теоретического) соединения II, содержащего сумму стероидных примесей около 2 %, включая 0,5 % исходного стероида (ТСХ). $T_{\text{пл}}$ 198 – 202 °С, $[\alpha]_D$ + 217° (с 1,0, хлф.). Лит. $T_{\text{пл}}$ 194 – 201 °С, $[\alpha]_D$ + 221° (хлф.) [5]. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; CDCl_3): 0,87 (с, 3H, 18- CH_3); 1,35 (с, 3H, 19- CH_3); 5,75 (д, H при C-4); 5,55 (м, H при C-11).

17 α -Гидрокси-17 β -цианоандроста-4,9(11)-диен-3-она (III). К смеси 20 г II, 60 мл метанола, 2,5 мл воды и 18 мл АЦЦГ при перемешивании прибавляют 9 мл 1 н. раствора NaOH в метаноле (pH 8,5 – 9,0). Суспензию нагревают до (35 \pm 2) °С, перемешивают 1,5 ч до полного растворения II. Через 10 – 20 мин начинается кристаллизация. К реакционной массе медленно прибавляют 12 мл воды, перемешивают 3 ч при этой температуре, затем оставляют при 18 – 20 °С на 21 ч. К суспензии медленно прибавляют в течение 1 ч 55 мл воды при перемешивании, перемешивают еще 2 ч и

охлаждают до (0 \pm 2) °С, выдерживают 2 ч при этой температуре. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают охлажденной смесью метанол – вода (1:1), затем водой до нейтральной реакции. Водно-метанольный маточный раствор вместе с промывкой оставляют на 1 сут при комнатной температуре (18 – 20 °С). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают смесью метанол – вода (1:1), затем водой. Объединенные кристаллические осадки сушат. Получают 20,6 г (выход 94 % от теоретического), $T_{\text{пл}}$ 218 – 220 °С, $[\alpha]_D$ + 115°, + 120° (с 1,0, хлф.). (Лит. $T_{\text{пл}}$ 211 – 220 °С, $[\alpha]_D$ + 118° (с 1,0, хлф.) [19]. Содержание примеси 17 β -ОН-17 α -циан-изомера менее 1%. $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ Молек. масса 311,42. Спектр ^1H ЯМР (δ , м.д.; CDCl_3): 0,94 (с, 3H, 18- CH_3), 1,35 (с, 3H, 19- CH_3), 3,35 (м), 5,75 (м, 1H, 4-H), 5,57 (м, 1H, 11-H).

17 α -Гидрокси-17 β -циано-3,3-этилендиоксиандроста-5,9(11)-диен (IV). К смеси 12 мл (13,38 г) $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ и 0,24 г безводной TsOH при перемешивании прибавляют 12 г III, 120 мл (159,12 г) CH_2Cl_2 и 6 мл (5,88 г) $\text{HC}(\text{OCH}_3)_3$. Раствор перемешивают 2 ч при (22 \pm 2) °С. Из реакционной массы при атмосферном давлении отгоняют CH_2Cl_2 до половины первоначального объема. Реакционную массу охлаждают до (20 \pm 2) °С и при перемешивании добавляют 0,3 мл $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$. Реакционный раствор промывают водой, растворитель упаривают досуха. К остатку прибавляют 12 мл метанола и после растирания суспензию охлаждают до (0 \pm 2) °С и выдерживают 6 ч. Осадок отфильтровывают, промывают охлажденным метанолом, сушат. Получают 12,32 г IV (90 % от теоретического), содержащего по данным ТСХ около 3 % посторонних стероидов, включая исходный кетон III. Вещество может содержать примесь Δ^5 -изомера. Смесь изомеров берется без очистки на следующую стадию, $T_{\text{пл}}$ 201 – 203 °С, лит. $T_{\text{пл}}$ 202 – 205 °С [14]. $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_3$ Молек. масса 355,47. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; CDCl_3): 0,91 (с, 3H, 18- CH_3), 1,20 (с, 3H, 19- CH_3), 3,95 (м, 4H, $\text{OCH}_2\text{-OCH}_2$); 5,40 (м, 1H, 6-CH); 5,54 (м, 1H, 11-CH).

17 α -Гидроксипрегна-4,9(11)диен-3,20-дион (V). Из раствора 44 мл раствора MeMgCl в ТГФ (с содержанием MeMgCl 22,45 %) в токе сухого аргона при перемешивании отгоняют 20 мл ТГФ при атмосферном давлении, при этом температура реакционной массы поднимается от 70 до 112 °С. Образовавшуюся суспензию охлаждают до температуры (70 \pm 5) °С и к ней прибавляют 200 мл сухого толуола и продолжают отгонку растворителей при атмосферном давлении до достижения температуры в парах 110 °С. К суспензии при перемешивании и температуре (– 5 \pm 2) °С прибавляют суспензию 10 г IV в 40 мл сухого толуола за 5 – 10 мин. Температура повышается до (0 \pm 5) °С и при этой температуре реакционную массу перемешивают 1,5 ч. К реакционной массе при перемешивании прибавляют раствор 5,0 г NH_4Cl в 40 мл воды (температура повышается от 0 до 45 – 50 °С) и по каплям добавляют 8 мл концентрированной HCl до слабокислой реакции pH = 6,5. Реакционная масса нагревается при перемешивании до (85 \pm 2) °С за 15 – 20 мин до пол-

ного растворения осадка. Органический слой отделяют, упаривают в вакууме досуха. К остатку прибавляют 100 мл метанола, нагревают до кипения и прибавляют 1 мл конц. HCl, перемешивают 10–12 мин при кипении, охлаждают до 20 °С. К реакционной массе прибавляют 2,5 г ацетата натрия в 20 мл воды и упаривают метанол в вакууме. Массу охлаждают и при перемешивании к ней прибавляют из капельной воронки 100 мл воды в течение 15–20 мин. Суспензию перемешивают 30 мин при 20 °С. Осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат. Получают 8,54 г кристаллического осадка, содержащего 82–84 % 17 α -гидроксипрегна-4,9(11)-диен-3,17-диона (V), около 3 % 17 β -гидрокси-17 α -метиландроста-4,9(11)-диен-3-она и 2–3 % неидентифицированных примесей (ТСХ и ПМР). Выход технического продукта V составляет 92,4 % от теоретического, считая на IV. После перекристаллизации из 90 мл метанола с 0,8 г активированного угля получают 7,85 г (85 % от теории) белого кристаллического осадка с содержанием стероидных примесей до 3 % (ТСХ). $T_{\text{пл}}$ 207–211 °С. Лит. $T_{\text{пл}}$ 206–211 °С [20]. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; CDCl_3): 0,68 (с, 3H, 18- CH_3); 1,33 (с, 3H, 19- CH_3); 2,27 (с, 3H, 21- CH_3); 2,78 (с, OH); 5,53 (м, 1H, 11-CH); 5,73 (д, 1H, 4-CH).

21-Ацетокси-17 α -гидроксипрегна-4,9(11)-диен-3,20-дион (VI).

Йодирование. К раствору 10,0 г V в 80 мл CH_2Cl_2 и 30 мл метанола при 20 °С порциями прибавляют 7,62 г CaO в 0,5 мл воды и затем раствор 10,0 г йода и 2,4 г CaCl_2 в 60 мл метанола. При этом происходит подъем температуры до 28 °С. Суспензию перемешивают 1 ч при самоохлаждении и приливают 100 мл воды. Выдерживают 10 мин. Осадок отфильтровывают, промывают смесью CH_2Cl_2 и метанола (4:1) и CH_2Cl_2 . Водный слой отделяют, экстрагируют CH_2Cl_2 . Объединенный экстракт упаривают в вакууме до прекращения погона. Остаток растирают с метанолом, отфильтровывают, сушат. Получают 13,80 г 17 α -гидрокси-21-йодпрегна-4,9(11)-диен-3,20-диона (Va) желтого осадка с количественным выходом. Продукт без очистки подвергают ацетоксилированию.

Ацетоксилирование. К раствору Va в 140 мл ацетона прибавляют 13,8 г безводного AcOK, смесь кипятят при перемешивании 3 ч в токе инертного газа, охлаждают до комнатной температуры, выливают в 1,4 л воды при перемешивании, перемешивают 30 мин. Кристаллы отфильтровывают, промывают водой, сушат. Полученный осадок сушат при 50–55 °С. Получают 10,82 г (выход 92 % от теоретического) 21-ацетокси-17 α -гидроксипрегна-4,9(11)-диен-3,20-диона (VI) светло-кремового цвета, $T_{\text{пл}}$ 207–209 °С, лит. $T_{\text{пл}}$ 230–232 °С [22]. Сумма посторонних стероидов 2,5 % (ТСХ). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; CDCl_3): 0,64 (с, 3H, 18- CH_3); 1,32 (с, 3H, 19- CH_3); 2,16 (с, 3H, 21- $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$); 2,18 (с, 3H, 17- $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$); 4,63 (д, 1H, 21-CH); 4,83 (д, 1H, 21-CH); 5,53 (м, 1H, 11-CH); 5,73 (с, 1H, 4-CH).

21-Диацетокси-17 α -гидроксипрегна-1,4,9(11)-триен-3,20-дион (VII). Процесс микробиологического дегидрирования 15,0 г 21-ацетокси-17 α -гидроксипрегна-4,9(11)-диен-3,20-диона (VI) проводят в присутствии метил- β -циклодекстрина (МЦД) в весовом соотношении к субстрату 7,5:1 в ферментере объемом 7 л в нестерильных условиях, в качестве трансформационной среды используют фосфатный буфер с pH = 7,6. Общий объем среды составил 3 л. Процесс трансформации ведут при температуре (28 \pm 1) °С, pO_2 – 80–95 %, обороты мешалки 400–600 об/мин. Отбор проб осуществляют через 2 ч по 0,001 л для контроля накопления 21-ацетокси-17 α -гидроксипрегна-1,4,9(11)-триен-3,20-диона методом ТСХ и ВЭЖХ. Субстрат количественно конвертируется в ацетилованный 1(2)-дегидроаналог за 8 ч. Культуральную жидкость после окончания процесса дегидрирования в количестве 3,0 л переносят в экстрактор и экстрагируют 6,0 л этилацетата (ЭА) при перемешивании в течение 15 мин. Отделяют водную фракцию и экстрагируют повторно 5 л ЭА в тех же условиях. Объединенные экстракты в количестве 11 л упаривают на роторном испарителе при температуре в бане (55 \pm 5) °С при остаточном давлении (35 \pm 5) кПа до начала кристаллизации. К остатку прибавляют 0,1 л ЭА и раствор обрабатывают 2 г активированного угля. Осветленный раствор стероида упаривают на роторном испарителе до прекращения погона. К полученному остатку прибавляют 20 мл смеси гексан — эфир (3:1) и оставляют в холодильнике на 5 ч. Выпавший осадок отфильтровывают и промывают охлажденной смесью гексан — эфир (3:1), сушат до постоянной массы. Получают 12,6 г 21-ацетокси-17 α -гидроксипрегна-1,4,9(11)-триен-3,20-диона VII (выход 84,5 % от теоретического), $T_{\text{пл}}$ 217–220 °С. λ_{max} 239 нм, ϵ = 14800. Сумма примесей — 2 % (ТСХ). M^+ 384. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; CDCl_3): 0,65 (с, 3H, 18- CH_3); 1,38 (с, 3H, 19- CH_3); 2,15(с, 3H, 21- $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$); 4,81 (д, 1H, 21-CH); 5,03(д, 1H, 21-CH); 5,55 (д, 1H, 11-CH); 6,05 (т, 1H, 4-CH); 6,26 (дд, 1H, 2-CH); 7,17 (д, 1H, 1-CH).

17 α ,21-Диацетоксипрегна-1,4,9(11)-триен-3,20-дион (VIII). Смесью 10,0 г VII, 150 мл уксусного ангидрида и 5,0 г CaO кипятят при перемешивании 8 ч. Реакционную массу охлаждают до 20 °С и выливают при перемешивании в 1000 мл 5 % водного раствора аммиака при температуре не выше + 10 °С. Перемешивают 1 ч, осадок отфильтровывают и промывают водой до нейтральной реакции, сушат. Получают 10,7 г соединения VIII (выход 96,5 % от теоретического). Сумма посторонних стероидов составляет 2 %. $T_{\text{пл}}$ 206–210 °С. Продукт используют без очистки на следующей стадии. После кристаллизации из смеси ацетон — гексан (1:1) образец имеет $T_{\text{пл}}$ 221–222 °С, лит. $T_{\text{пл}}$ 222–223 °С [21]. Молек. масса 426,51. $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_6$. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; CDCl_3): 0,72 (с, 3H, 18- CH_3); 1,38 (с, 3H, 19- CH_3); 2,04 (с, 3H, 21- $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$); 2,88 (с, 3H, 17- $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$); 5,53 (м, 1H, 11-CH); 6,01 (д, 1H, 4-CH); 6,2 (д, 1H, 2-CH); 7,1 (м, 1H, 1-CH).

21-Ацетоксипрегна-1,4,9(11),16-тетраен-3,20-дион (IX). К раствору 10,0 г VIII в 100 мл ДМСО в токе инертного газа при перемешивании прибавляют быстро 5,0 г безводного АсОК, смесь нагревают до 80–85 °С и перемешивают при этой температуре 2 ч. Затем реакционную смесь охлаждают до (20 ± 2) °С и выливают при перемешивании в 1000 мл воды, охлажденной до (0 ± 2) °С, при этой температуре продолжают перемешивание 1 ч. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат. Получают 8,46 г (выход 99,5 % от теоретического) технического 21-ацетоксипрегна-1,4,9(11),16-тетраена-3,20-диона (IX) в виде бежевого порошка, содержащего по данным ПМР до 5 % посторонних стероидных примесей, в том числе 3 % соединения VIII и 2 % неидентифицированных примесей. Раствор 8,46 г технического продукта в 125 мл толуола фильтруют через слой 26 г силикагеля (высота слоя приблизительно равна диаметру), смывают стероид 200 мл толуола. После отгонки толуола в вакууме получают 7,73 г IX (выход 90 % от теоретического) в виде почти белого кристаллического осадка, содержащего до 2 % VIII. $T_{пл}$ 171–172 °С, лит. $T_{пл}$ 172–174 °С [22]. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; CDCl_3): 0,91 (с, 3H, 18- CH_3); 1,42 (с, 3H, 19- CH_3); 2,17 (с, 3H, 21- $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$); 2,17(с, 3H, 21- OCOCCH_3); 4,89 д и 5,03 д, H_2 , C-21); 5,55 (м, 1H, 11- CH); 6,06 (т, $J = 1,8$ Гц, 1H, 4- CH); 6,28 (дд, 1H, 2- CH); 6,76 (м, 1H, 16- CH); 7,21 (д, 1H, 1- CH).

Практическая привлекательность и перспективность разработанного способа заключается в том, что предложенная оригинальная последовательность реакций может быть использована в синтезе бетаметазона, триамцинолона и других востребованных в медицине фторированных кортикоидов за счет возможности функционализации получаемого по схеме полупродукта — 1,4,9(11),16(17)-тетраена по тем положениям стероидной молекулы (6, 9, 16 и боковой цепи при C17), которые отвечают за противовоспалительную, антиаллергическую, противошоковую и другие свойственные кортикостероидам уникальные виды биологической активности.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН “Разработка новых биотех-

нологических методов получения высокоактивных фторированных кортикостероидов противовоспалительного и антиаллергического действия по совместной схеме из фитостероидов через 9 α -гидрокси-АД с использованием в процессе биотрансформации вновь созданных иммобилизованных биокатализаторов” (проект №1201371077).

ЛИТЕРАТУРА

1. Патент России 2351645, *Бюл. изобрет.*, № 10 (2009).
2. Патент России 2156255, *Бюл. изобрет.*, № 26 (2000).
3. Патент России 2156256, *Бюл. изобрет.*, № 26 (2000).
4. Патент России 2215038, *Бюл. изобрет.*, № 30 (2003).
5. Патент США 4127596 (1978).
6. S. Solyom, K. Szilágyi, L. Toldy, *J. Praktische Chemie*, **330**(2), 309–312 (1988).
7. Европейский патент 0253415 (1988).
8. Европейский патент 0294911 (1988).
9. Патент России 2532902, *Бюл. изобрет.*, № 32 (2014).
10. W. Nagata, M. Yoshioka, *Org. React.*, **25**, 255 (1977).
11. Европейский патент 263569, *Chem. Abstr.*, **109**, 129460 v (1988).
12. М. И. Ряховская, Г. С. Гриненко, *Хим.-фарм. журн.*, **25**(9–10), 97–106 (1992); *Pharm. Chem. J.*, **26**(9–10), (1992).
13. М. И. Ряховская, Е. В. Попова, Е. М. Долгинова, Г. С. Гриненко, *Хим.-фарм. журн.*, **21**(4), 478–481 (1987); М. И. Rяхovskaya, E. V. Popova, E. M. Dolginova, G. S. Grinenko, *Pharm. Chem. J.*, **21**(4), 297–300 (1987).
14. J. Nitta, S. Fujimori, T. Haruyama, *Bul. Chem. Soc. Jpn.*, **58**(3), 978–980 (1985).
15. Е. В. Попова, В. А. Андрюшина, Г. С. Гриненко, *Химия прир. соедин.*, **3**, 324–327 (1984).
16. G. S. Grinenko, V. A. Andryushina, E. V. Popova, *V Conference of chemistry and biotechnology of natural products*, Abstracts of papers, V. 3, Bulgaria (1989), pp. 197–208.
17. Патент Японии 53009755 (1978).
18. Н. Н. Гирева, Л. Ф. Михалева, Л. Г. Гаценко, Л. В. Стешина, А. с. SU 819119, *Бюл. изобрет.*, № 13 (1981).
19. Патент США 4500461 (1985).
20. Патент США 4041055 (1977).
21. J. Fried, K. Florey, E. F. Sabo, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4181 (1955).
22. Патент США 2864834 (1958).

Поступила 07.03.18

EFFICIENT SYNTHESIS OF 21-ACETOXYPHENYL-1,4,9(11),16-TETRAEN-3,20-DIONE – KEY INTERMEDIATE IN THE SYNTHESIS OF HIGHLY ACTIVE FLUORINATED CORTICOSTEROIDS FROM 9 α -HYDROXYANDROSTENEDIONES

V. A. Andryushina*, T. S. Stitsenko, V. V. Yaderets, N. V. Karpova, and V. V. Dzhavakhiya

Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology,” Russian Academy of Sciences, Moscow, 117312 Russia

* e-mail: andryushina@rambler.ru

We have developed an efficient synthesis of 21-acetoxyphenyl-1,4,9(11),16-tetraen-3,20-dione which is a key intermediate in the synthesis of highly fluorinated corticosteroids from phytosterols. The proposed method consists of an original sequence of chemical and microbiological processes, and it can be used in the synthesis of betamethasone, triamcinolone, and some other fluorinated corticoids.

Keywords: dexamethasone; fluorinated corticosteroids; phytosterols; 9 α -hydroxylation; 1,2-dehydrogenation; cyanohydrin synthesis.