ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Tiến Đạt

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP, CẤU TẠO VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC DẪN XUẤT AZA-14-CROWN-4 ETHER VÀ AZA-14-THIACROWN-4 ETHER

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ
Mã số: 9440112.02

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Hà Nội - 2026

Công trình được hoàn thành tại: Khoa Hóa học – Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Lê Tuấn Anh

PGS.TS. Trần Thị Thanh Vân

Phản biện: PGS.TS. Dương Quốc Hoàn

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

Phản biện: PGS.TS. Trần Thu Hương

Trường Hóa và Khoa học sự sống, ĐHBKHN

Phản biện: PGS.TS. Trần Thị Thu Thủy

Viện Hóa học, Viện HLKH&CNVN

Luận án đã được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ họp tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQGHN

vào hồi 9 giờ 00 ngày 22 tháng 08 năm 2026

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam;
- Trung tâm Thư viện và Tri thức số, Đại học Quốc gia Hà Nội

MỞ ĐẦU

1. Lý do lựa chọn đề tài

Các hợp chất vòng lớn (macrocycles), điển hình là crown ether và các dẫn xuất chứa sulfur là thiacrown ether, đã chứng minh vai trò đặc biệt của mình trong hóa học phối trí và xúc tác. Gần đây, các nghiên cứu đã mở rộng ứng dụng của chúng sang lĩnh vực sinh học, nơi các phân tử này thể hiện tiềm năng trong việc vận chuyển thuốc, kháng khuẩn và đặc biệt là gây độc các dòng tế bào ung thư. Cấu trúc vòng lớn độc đáo cho phép chúng tương tác với các mục tiêu sinh học theo cơ chế mới, khác biệt với các loại thuốc truyền thống. Song hành với đó, các dị vòng chứa nitrogen như piperidone và tetrahydropyridine (THP) là những khung cấu trúc cơ bản và quan trọng bậc nhất trong thiết kế dược chất. Hàng loạt các loại thuốc thương mại đã được phát triển dựa trên bộ khung này nhờ khả năng điều chỉnh đặc tính sinh khả dụng và tương tác mục tiêu thông qua nguyên tử nitrogen.

Mặc dù vai trò của crown ether, thiacrown ether và các dị vòng nitrogen trong lĩnh vực hóa học và y dược đã được khẳng định riêng rẽ, nhưng hướng nghiên cứu tập trung vào việc thiết kế, tổng hợp các phân tử lai bằng cách kết hợp khung crown ether, thiacrown ether với dị vòng nitrogen lại là một khía cạnh được ít sự quan tâm. Việc ghép nối hai bộ khung chức năng này không chỉ tạo ra các hợp chất mới về mặt cấu trúc mà còn có thể tạo ra các hiệu ứng hiệp đồng, làm thay đổi hoặc tăng cường đáng kể hoạt tính sinh học của chúng. Cụ thể, các nghiên cứu về việc tổng hợp và khảo sát hoạt tính sinh học của các dẫn xuất crown ether, thiacrown ether chứa dị vòng nitrogen còn rất hạn chế. Điều này tạo nên một khoảng trống cần được lấp đầy trong dữ liệu khoa học, đặc biệt khi các hợp chất này sở hữu tiềm năng phát triển thành các tác nhân điều trị mới nhờ những cơ chế tác động độc đáo. Việc thiếu hụt dữ liệu về mối quan hệ giữa cấu trúc và hoạt tính đối với loại hợp chất lai này đang cản trở việc phát triển các ứng dụng y dược tiềm năng.

Từ những phân tích trên, đề tài "***nghiên cứu tổng hợp, cấu tạo và khảo sát hoạt tính sinh học dẫn xuất aza-14-crown-4 ether và aza-14-thiacrown-4 ether*** " mang tính cấp thiết cao, được thể hiện ở các điểm sau:

- Đáp ứng nhu cầu về dược chất mới: Đề tài góp phần mở rộng thư viện các hợp chất có hoạt tính sinh học tiềm năng, giải quyết yêu cầu bức thiết của cộng đồng khoa học và y học về các ứng viên thuốc điều trị mới hiệu quả hơn, đặc biệt là các hợp chất có khả năng vượt qua tình trạng kháng thuốc.

- Đóng góp về phương pháp tổng hợp: Việc tổng hợp thành công các dẫn xuất mới thông qua phương pháp ngưng tụ Petrenko-Kritschenko sẽ cung cấp một quy trình tổng hợp ổn định, góp phần làm phong phú thêm kho tàng phương pháp tổng hợp hữu cơ các hợp chất dị vòng lớn.

- Xây dựng cơ sở dữ liệu khoa học: Kết quả khảo sát hoạt tính sẽ cung cấp cơ sở dữ liệu về mối liên hệ cấu trúc - hoạt tính của loại hợp chất lai crown-4 ether, thiacrown-4 ether với dị vòng nitrogen, từ đó định hướng cho việc thiết kế và tinh chỉnh các phân tử cho các nghiên cứu tiếp theo.

Vì những lý do trên, việc tiến hành nghiên cứu tổng hợp và khảo sát hoạt tính sinh học của các dẫn xuất crown-4 ether, thiacrown-4 ether chứa dị vòng nitrogen là hoàn toàn cần thiết và có ý nghĩa khoa học sâu sắc, làm tiền đề cho các ứng dụng tiềm năng trong lĩnh vực Hóa học và Hóa dược.

2. Mục tiêu nghiên cứu của đề tài

Mục tiêu chung của luận án là tổng hợp các hợp chất crown-4 ether, thiacrown-4 ether mới chứa dị vòng nitrogen (piperidone và tetrahydropyridine) và khảo sát các hoạt tính sinh học tiềm năng (hoạt tính gây độc tế bào và hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase), nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc phát triển các hợp chất có tiềm năng, định hướng ứng dụng trong lĩnh vực Hóa dược.

Để đạt được mục tiêu chung, luận án tập trung vào các mục tiêu cụ thể sau:

Tổng hợp và xác định cấu trúc:

- Tổng hợp các tiền chất dialdehyde podand cần thiết, là tiền đề tổng hợp nên các dẫn xuất crown-4 ether và thiacrown-4 ether mong muốn.
- Thực hiện các phản ứng ngưng tụ để tổng hợp các dẫn xuất aza-14-trioxacrown-4 ether và aza-14-trithiacrown-4 ether chứa nhân dị vòng.

- Xác định cấu trúc hóa học của tất cả các hợp chất tổng hợp được bằng các phương pháp phổ hiện đại (IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR và HRMS).
- Tiến hành khảo sát hoạt tính gây độc tế bào (cytotoxicity) của một số hợp chất mới trên một số dòng tế bào ung thư người.
- Tiến hành khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase của một số hợp chất tổng hợp được.

Tóm lại, luận án đặt mục tiêu tạo ra những dẫn xuất hóa học mới có đầy đủ cơ sở dữ liệu về cấu trúc và đánh giá đồng thời hai hoạt tính sinh học quan trọng (chống ung thư và chống tiểu đường) làm nền tảng cho các nghiên cứu chuyên sâu hơn.

3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Nghiên cứu tập trung vào việc tổng hợp một loạt các dẫn xuất aza-14-crown-4 ether và aza-14-thiacrown-4 ether mới, cụ thể là:

Bước đầu tiên, tổng hợp các tiền chất: Thực hiện tổng hợp các podand dialdehyde (dẫn xuất từ diethylene glycol và diethylene disulfide) thông qua các phản ứng thế nucleophile, làm nền tảng cho việc đóng vòng.

Bước tiếp theo, tổng hợp dẫn xuất crown-4 ether và thiacrown-4 ether chứa dị vòng piperidone: Sử dụng phản ứng ngưng tụ Petrenko-Kritschenko ba thành phần giữa podand dialdehyde, alkyl ketone và ammonium acetate để tổng hợp thành công các dẫn xuất crown-4 ether **(7a-d)** và thiacrown-4 ether **(9a-d)** chứa nhân piperidone. Tổng hợp dẫn xuất thiacrown-4 ether chứa dị vòng tetrahydropyridine (THP) bằng cách thay thế các alkyl thông thường với các acetone dicarboxylic ester khác nhau.Thực hiện chuyển hóa hóa học các hợp chất tổng hợp được từ trên (nhóm **9a-d**) thông qua quá trình khử nước (dehydration) để tạo ra các dẫn xuất thiacrown-4 ether chứa nhân dị vòng tetrahydropyridine **(10a-e)**, làm tăng tính đa dạng cấu trúc của sản phẩm. Xác định cấu trúc: Tiến hành phân tích và xác định cấu trúc của tất cả các hợp chất trung gian và sản phẩm cuối cùng bằng các phương pháp phổ hiện đại, bao gồm phổ Hồng ngoại (IR), Cộng hưởng từ hạt nhân (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR), Khối phổ (HRMS). Tổng hợp đơn tinh thể một số dẫn xuất thiacrown ether

đại diện và xác định cấu trúc và các yếu tố lập thể bằng phương pháp nhiễu xạ tia X đơn phân tử.

Bước cuối cùng, khảo sát hoạt tính sinh học của các hợp chất tổng hợp được. Các hợp chất mới sau khi xác định cấu trúc sẽ được đưa vào khảo sát các hoạt tính sinh học tiềm năng quan trọng, bao gồm:

Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào (cytotoxicity): Tiến hành thử nghiệm hoạt tính *in vitro* bằng phương pháp SRB trên các dòng tế bào ung thư người (ví dụ: tế bào ung thư gan HepG2, ung thư tuyến vú MCF-7, ung thư phổi A549, v.v.).Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase: Thử nghiệm khả năng ức chế enzyme α-glucosidase – một mục tiêu quan trọng trong điều trị bệnh tiểu đường type 2. Kết quả thu được từ hai nội dung nghiên cứu trên sẽ làm cơ sở để phân tích mối quan hệ giữa cấu trúc và hoạt tính, từ đó đánh giá tiềm năng ứng dụng của các dẫn xuất crown-4 ether và thiacrown-4 ether chứa dị vòng nitrogen trong phát triển dược chất.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Đề tài về *"nghiên cứu tổng hợp, cấu tạo và khảo sát hoạt tính sinh học dẫn xuất aza-14-crown-4 ether và aza-14-thiacrown-4 ether"* mang lại những đóng góp đáng kể cho lĩnh vực hóa học hợp chất vòng lớn và hóa dược hiện đại.

Ý nghĩa khoa học

Luận án đã đạt được những đóng góp quan trọng về mặt khoa học cơ bản:

Về hóa học tổng hợp, đề tài đã tổng hợp thành công và xác định cấu trúc của một loạt các dẫn xuất aza-14-crown-4 ether và aza-14-thiacrown-4 ether mới- hai họ hợp chất có cấu trúc độc đáo, ít được khai thác trong các nghiên cứu trước đây. Việc này không chỉ làm phong phú thêm thư viện các hợp chất hữu cơ chức năng mà còn củng cố tính ứng dụng của phương pháp ngưng tụ Petrenko-Kritschenko trong việc tạo ra các hợp chất vòng lớn phức tạp.

Về hóa dược, nghiên cứu cung cấp dữ liệu khoa học nền tảng, có hệ thống về hoạt tính gây độc tế bào và ức chế enzyme α-glucosidase của lớp hợp chất lai

này. Đây là một hướng tiếp cận có giá trị bởi các hệ vòng lớn có chứa dị nguyên tố thường thể hiện khả năng tương tác đặc hiệu với enzym và protein sinh học. Đây là cơ sở để thiết lập mối quan hệ cấu trúc - hoạt tính, định hướng cho việc thiết kế phân tử và tối ưu hóa hoạt tính cho các nghiên cứu tiếp theo.

Ý nghĩa thực tiễn

Về mặt ứng dụng, đề tài có ý nghĩa thiết thực trong định hướng phát triển các hợp chất tiềm năng trong hóa dược. Các dẫn xuất aza-14-crown-4 ether và aza-14-thiacrown-4 ether được khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư và khả năng ức chế α-glucosidase, hai hướng nghiên cứu quan trọng trong phát triển thuốc điều trị ung thư và tiểu đường type 2. Cấu trúc kết hợp giữa khung vòng lớn và các dị nguyên tố nitrogen- sulfur mang lại tính linh hoạt không gian và khả năng tạo liên kết đa dạng, có thể dẫn đến cơ chế tác dụng mới hoặc tăng tính chọn lọc đối với mục tiêu sinh học. Điều này đặc biệt quan trọng khi nhiều thuốc hiện hành đang gặp phải vấn đề giảm hiệu lực hoặc kháng thuốc.

5. Những đóng góp mới của luận án

Tổng hợp thành công 18 hợp chất, trong đó có 16 hợp chất mới, cụ thể:

- 04 dẫn xuất crown ether có chứa nhân dị vòng piperidone **(7a-d)**
- 04 dẫn xuất trithiacrown ether có chứa nhân dị vòng piperidone **(9a-d)**
- 05 dẫn xuất trithiacrown ether có chứa nhân dị vòng tetrahydropiridine **(10a-d)**
- 03 dẫn xuất chuyển hóa **(11-13)**

Các sản phẩm được phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc bằng các phương pháp hóa lý hiện đại như: phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, IR, HRMS. Phương pháp nhiễu xạ tia X đơn phân tử đã xác định chính xác cấu trúc cho 02 đơn tinh thể các hợp chất **(7c, 9d).**

Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của 16 hợp chất trên các dòng tế bào FL (HeLa, Human cervix carcinoma): Ung thư tử cung, MCF7 (Human breast adenocarcinoma): Ung thư biểu mô vú, RD (Human rhabdomyosarcoma): Ung thư

mô liên kết, HepG2 (Hepatocellular carcinoma): Ung thư gan người, Lu1 (Human lung adenocarcinoma): Ung thư phổi người. khảo sát đánh giá khả năng ức chế enzyme α-glucosidase của 09 hợp chất, có 05 hợp chất thể hiện khả năng hoạt tính tốt (**9b**, **9c**, **9d**, **10a**, **10d**)

6. Bố cục của luận án

Luận án gồm 131 trang chưa kể phụ lục, trong đó có 14 bảng số liệu, 42 sơ đồ và 43 hình vẽ, 84 tài liệu tham khảo. Bố cục của luận án: Mở đầu (5 trang); Chương 1: Tổng quan (52 trang); Chương 2: Phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm (27 trang); Chương 3: Kết quả và Thảo luận (45 trang); Kết luận (1 trang); Tài liệu tham khảo (10 trang). Ngoài ra còn có Phụ lục (93) trang và danh mục 03 công trình đã công bố (1 trang).

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1 Khái quát chung crown ether

Crown ether là các hợp chất đại phân tử tuần hoàn, đã trở thành nền tảng của hóa học siêu phân tử. Sự phát hiện này bắt nguồn từ công trình của nhà hóa học Charles Pedersen vào những năm 1960. Ban đầu, hợp chất dibenzo-18-crown-6 chỉ là một sản phẩm phụ (hiệu suất 0.4%) không mong muốn trong thí nghiệm tổng hợp các phức cation hóa trị II. Tuy nhiên, Pedersen đã nhanh chóng nhận ra tiềm năng của polyether vòng lớn này trong việc tạo phức chọn lọc với các cation kim loại kiềm, đặc biệt là ion Kali, do hình dạng giống như một "vương miện" (crown) bao bọc ion kim loại.

Cùng với công trình của Jean-Marie Lehn và Donald Cram về cryptand, lĩnh vực hóa học vật chủ - khách (host-guest chemistry) ra đời, giúp bộ ba nhà khoa học giành giải Nobel Hóa học năm 1987.

1.2. Phân loại các hợp chất crown ether

Crown ether được phân loại dựa trên dị tố có mặt trong vòng:

- Crown Ether: Chỉ chứa nguyên tử Oxy (O) làm nguyên tử cho electron.
- Azacrown Ether: Một phần Oxy được thay thế bằng Nitơ (N).

- Thiacrown Ether: Một phần Oxy được thay thế bằng Lưu huỳnh (S).
- Azathiacrown Ether: Chứa cả N và S làm nguyên tử nhường electron.

Trong hệ thống phân loại cấu trúc liên kết của Vogtle, crown ether thuộc nhóm coronand (polyether tuần hoàn). Các dẫn xuất mạch hở được gọi là podand (polyether chuỗi mở) và các hợp chất đa vòng kiểu lồng (hai hoặc nhiều vòng) được gọi là cryptand.

1.3. Tổng hợp crown ether cơ bản

Các phương pháp tổng hợp crown ether chủ yếu tập trung vào việc tạo ra vòng lớn thông qua quá trình đóng vòng (cyclization). Ba cách phổ biến nhất là:

1. Chu trình đơn giản (Simple cycle).
2. Chu trình kết hợp (Combined cycle/Đóng vòng có khuôn mẫu - Template-driven cyclization).
3. Ngưng tụ (Condensation) hai hoặc nhiều thành phần.

1.4. Một số ứng dụng của crown ether

Ứng dụng của crown ether rất đa dạng, bao gồm:

- Hoạt tính Kháng khuẩn: Nhiều dẫn xuất bis-benzo-crown ether và phức chelate của chúng với ion Natri đã được chứng minh có hoạt tính mạnh chống lại các chủng vi khuẩn Gram dương và Gram âm phổ biến.
- Hoạt tính Chống ung thư (Gây độc tế bào): Các dẫn xuất aza-crown ether cho thấy khả năng gây độc tế bào trên nhiều dòng ung thư người (như phổi, vú, và gan).
- Vận chuyển thuốc (Drug Delivery): Nhờ khả năng tạo phức ổn định với các ion sinh học, các dẫn xuất Crown Ether được nghiên cứu để ứng dụng trong các hệ thống vận chuyển thuốc nhạy cảm với ion hoặc nhiệt độ (ví dụ: gắn vào hydrogel).

1.5. Một số nghiên cứu về một số hợp chất dị vòng đặc trưng

1.5.1. Khái quát về dị vòng

Dị vòng là các hợp chất vòng trong đó một hoặc nhiều nguyên tử carbon được thay thế bằng các dị tố (heteroatom) như Nitơ (N), Oxy (O), và Lưu huỳnh (S). Các dị vòng đóng vai trò cốt lõi trong cả tự nhiên và hóa dược. Chúng là khung cấu trúc cơ bản của vô số phân tử quan trọng

1.5.2. Piperidone (4-Piperidone)

Piperidone là dị vòng nitơ chứa nhóm keto (C=O), có cấu trúc tương tự Piperidine. Khung cấu trúc 4-piperidone là nền tảng của nhiều alkaloid tự nhiên và các dược phẩm quan trọng.

- Ứng dụng Dược phẩm: Đây là cấu trúc cốt lõi của nhiều loại thuốc giảm đau opioid tổng hợp nổi tiếng (như Fentanyl) và là chất trung gian quan trọng để tổng hợp các hợp chất dược lý phức tạp.
- Tiềm năng mới: Các dẫn xuất piperidone đang được nghiên cứu về khả năng điều trị bệnh Alzheimer thông qua việc ức chế sự tự tổ hợp của peptit Aβ (một nguyên nhân gây bệnh Alzheimer).
- **1.5.3. Tetrahydropyridine (THP)**

Tetrahydropyridine (THP) là dị vòng Nitơ không no, tồn tại ở nhiều dạng đồng phân và có mặt trong các alkaloid tự nhiên (như arecoline và betanine).

Ứng dụng: Một dẫn xuất THP nổi tiếng (MPTP) là chất độc thần kinh được sử dụng rộng rãi để tạo mô hình nghiên cứu bệnh Parkinson do khả năng gây ra các triệu chứng tương tự bệnh. Các dẫn xuất THP khác cũng đang được khảo sát để điều trị hội chứng Alzheimer và tâm thần phân liệt.

Hoạt tính Sinh học khác: Các dẫn xuất của THP đã được chứng minh có khả năng kháng khuẩn cao (chống lại các chủng như E. faecium và S. aureus), kháng nấm, và hoạt động như chất ức chế HIV tiềm năng.

1.6. Mô phỏng lắp ghép phân tử (Molecular Docking)

Mô phỏng lắp ghép phân tử là kỹ thuật tin sinh học cấu trúc then chốt trong thiết kế thuốc có sự hỗ trợ của máy tính (CADD). Mục tiêu cốt lõi là dự đoán trạng thái liên kết tối ưu (binding modes) của một phối tử (ligand) vào phân tử đích (protein) dựa trên cấu trúc không gian 3D. Quá trình này được thực hiện thông qua việc khám phá không gian cấu hình đa chiều và định lượng bằng hàm tính điểm (scoring function) để xác định ái lực liên kết.

Quy trình mô phỏng được chuẩn hóa qua 4 bước chính:

1. Chuẩn bị Protein: Quy trình chuẩn bị bao gồm: hiệu chỉnh đơn vị sinh học, thêm nguyên tử Hydro theo pH sinh lý, loại bỏ các phân tử nước không thiết yếu và tách bỏ phối tử kết tinh có sẵn để giải phóng hốc hoạt tính.
2. Chuẩn bị Phối tử: Các ligand được tối ưu hóa cấu trúc từ 2D sang 3D, kiểm soát chặt chẽ các dạng proton hóa, chất hỗ biến và đồng phân lập thể.
3. Thực hiện Lắp ghép (Docking): Xác định không gian tìm kiếm (search space). Tùy thuộc vào dữ liệu thực nghiệm, thuật toán sẽ thực hiện quét toàn bộ bề mặt protein (blind docking) hoặc tập trung vào hốc liên kết mục tiêu (targeted docking) để tối ưu hóa hiệu suất tính toán.
4. Phân tích và Đánh giá: Kết quả được thẩm định qua ba tiêu chí:

- Khả năng tái lắp ghép (Redocking): Đánh giá độ chính xác của mô hình thông qua chỉ số RMSD (Root Mean Square Deviation). Giá trị RMSD < 2Å giữa cấu hình dự đoán và thực nghiệm được coi là ngưỡng thành công.
- Ái lực liên kết: Sử dụng hàm tính điểm để ước tính năng lượng tự do Gibbs

Việc ứng dụng mô phỏng lắp ghép phân tử vào nghiên cứu các dẫn xuất crown ether lai cấu trúc với dị vòng nitrogen (piperidone, tetrahydropyridine) đóng vai trò là công cụ sàng lọc ảo hiệu quả. Phương pháp này không chỉ giúp dự đoán hoạt tính sinh học của các hợp chất mới mà còn cung cấp cơ sở lý thuyết quan trọng để định hướng thiết kế các phân tử chức năng, tối ưu hóa thời gian và chi phí thực nghiệm.

Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

Chương thực nghiệm trình bày một cách hệ thống về thiết bị, hóa chất, phương pháp nghiên cứu và quy trình thực nghiệm được sử dụng để tổng hợp và xác định cấu trúc các dẫn xuất trioxacrown ether và thiacrown ether mới chứa nhân dị vòng Piperidone và Tetrahydropyridine. Cùng với đó là khảo sát hoạt tính sinh học các hợp chất đã tổng hợp thành công.

1. Thiết bị và phương pháp phân tích cấu trúc

Nghiên cứu sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại để đảm bảo độ chính xác trong việc xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất.

- **Phổ Cộng hưởng từ hạt nhân (NMR}:** Phổ ^{1}H-NMR và ^{13}C-NMR được ghi trên máy Bruker (500 MHz và 600 MHz). Dung môi chụp phổ phổ biến là $CDCl_3$ và DMSO-d_6, với chất chuẩn nội (internal standard) là TMS.
- **Phổ Hồng ngoại (IR):** Phổ IR được ghi bằng phương pháp ép viên KBr. Phổ IR cung cấp dữ liệu quan trọng về các nhóm chức năng đặc trưng như C=O, C-O và N-H.
- **Phổ Khối lượng Phân giải cao (HRMS):** HRMS (sử dụng máy LC-HRMS Orbitrap) được dùng để xác định chính xác khối lượng ứng với công thức phân tử dự kiến.
- **Phân tích khác:** Điểm nóng chảy (T_{nc}) được đo bằng máy STUART SMP3. Quá trình phản ứng được theo dõi liên tục bằng sắc ký lớp mỏng (TLC).

2. Tổng hợp các tiền chất podand dialdehyde

Các tiền chất podand (hợp chất mạch hở) chứa hai nhóm thế aldehyde ở đầu mạch là tiền chất, bước nền tảng để tạo điều kiện đóng vòng.

- **Cấu tạo:** Các podand được tổng hợp có công thức tổng quát với hai nhóm formylphenoxyl hoặc formylphenthio được nối với nhau qua một mạch ether (dị tố Oxy) hoặc sulfua (dị tố Lưu huỳnh).

- **Quy trình:** Phản ứng tiến hành bằng cách khuấy đều hỗn hợp 2-fluorobenzaldehyde và diol dithiol trong dung môi DMSO dưới sự có mặt của K_2CO_3 làm xúc tác, ở nhiệt độ 70– 80 ^oC trong khoảng 15-17 giờ.
- **Sản phẩm chính:** Hai podand chính đã được tổng hợp thành công: 1,5-bis(2-formylphenoxy)-3-oxapentane (chứa Oxy) và 1,5-bis(2-formylphenthio)-3-thiapentane (chứa Lưu huỳnh). Hiệu suất tổng hợp đạt 70-75%.

3. Tổng hợp crown ether chứa nhân piperidone

Các hợp chất Crown ether mới chứa nhân piperidone được tạo ra từ phản ứng ngưng tụ Petrenko-Kritschenko ba thành phần.

3.1. Tổng hợp các aza-14-crown-4 ether (7a-d)

- **Tiền chất:** Sử dụng podand chứa Oxy (1,5-bis(2-formylphenoxy)-3-oxapentane) làm tiền chất dialdehyde.
- **Thành phần phản ứng:** Podand **(3)**, các dẫn xuất của 3-oxobutanoate **(6a-d)** và amonium acetate được sử dụng với tỷ lệ mol 1:1:1.
- **Quy trình:** Các thành phần được khuấy trong dung môi ethanol có bổ sung xúc tác acid acetic. Phản ứng kéo dài khoảng 15 giờ. Sau khi phản ứng hoàn tất (kiểm tra bằng TLC), hỗn hợp được trung hòa bằng dung dịch K_2CO_3, chiết bằng dichloromethane và tinh chế bằng sắc ký cột kết hợp kết tinh lại từ ethanol để thu được sản phẩm aza-14-crown-4 ether chứa piperidone **(7a-d)**.

3.2. Tổng hợp các aza-14-thiacrown-4 ether (9a-d)

- **Tiền chất:** Sử dụng podand chứa Lưu huỳnh (1,5-bis(2-formylphenthio)-3-thiapentane).
- **Thành phần phản ứng:** Podand **(5)**, các dẫn xuất của 3-oxobutanoate **(8a-d)** và amonium acetate được sử dụng.

- **Điểm khác biệt:** Do dị tố Lưu huỳnh phần nào làm giảm khả năng phản ứng, thời gian phản ứng đóng vòng kéo dài hơn, lên đến 48 giờ.
- **Sản phẩm:** Thu được các dẫn xuất aza-14-thiacrown-4 ether chứa nhân piperidone **(9a-d)**.

3.3. Tổng hợp crown ether chứa nhân tetrahydropyridine (10a-e)

- **Tiền chất:** Sử dụng podand chứa Lưu huỳnh (1,5-bis(2-formylphenthio)-3-thiapentane).
- **Thành phần phản ứng:** Podand (5), các dẫn xuất của 3-oxobutanoate (8a-d) và amonium acetate được sử dụng với tỷ lệ mol có chút khác biệt là 1:1:2.
- **Quy trình:** Phản ứng được thực hiện bằng cách khuấy đều hỗn hợp 3 thành phần là trithiapodand dialdehyde, beta-kote ester và lượng dư amonium acetate trong dung môi ethanol tại nhiệt độ 60^{o}C và kết thúc sau 18h. Cùng với đó, chúng tôi sử dụng xúc tác là acid acetic.
- **Sản phẩm:** Thu được các dẫn xuất trithiacrown ether chứa nhân piperidone **(10a-e)** với hiệu suất dao động 35-37%.

3.4. Chuyển hóa crown ether

Trên cơ sở tổng quan và tài liệu tham khảo, nhận thấy rằng piperidone-4-one có hai trung tâm hoạt động (C=O và NH), điều này cho phép gắn thêm các nhóm thế để tạo dẫn xuất có hoạt tính sinh học. Các phản ứng biến đổi thông thường bao gồm: cộng nhân nucleophile, alkyl hóa, acyl hóa, tạo oxime, hydrazone, v.v. Trong luận án này, chúng tôi khảo sát phản ứng giữa hợp chất azacrown **(7a)** và hydroxylamin/hydrazin. Kết quả đã tạo ra một loạt sản phẩm hóa học thú vị.

- **Sản phẩm:** Thu được các dẫn xuất trioxacrown ether được chuyển hóa **(11), (12), (13).**

4. Khảo sát hoạt tính sinh học

Sau khi xác định cấu trúc, các hợp chất mới được đánh giá tiềm năng dược lý thông qua hai hoạt tính sinh học chính.

- **Hoạt tính gây độc tế bào (Cytotoxicity):**
    - **Mục tiêu:** Đánh giá khả năng chống ung thư của các hợp chất.
    - **Phương pháp:** Thử nghiệm *in vitro* bằng phương pháp SRB trên các dòng tế bào ung thư người đại diện (như ung thư gan HepG2, ung thư vú MCF-7, ung thư phổi A549, v.v.).
    - **Chỉ số đánh giá:** Xác định giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh tế bào).
- **Hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase:**
    - **Mục tiêu:** Đánh giá tiềm năng điều trị bệnh tiểu đường type 2.
    - **Chỉ số đánh giá:** Xác định giá trị IC_{50} ức chế enzyme, so sánh với chất đối chứng dương (Acarbose).
- **Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase bằng phương pháp mô phỏng phân tử (Molecular docking)**

Trong nghiên cứu này, kỹ thuật mô phỏng lắp ghép phân tử (Molecular Docking) được thực hiện bằng phần mềm MOE 2019.0102 nhằm khám phá cơ chế tương tác và ái lực liên kết của các dẫn xuất crown ether mới đối với enzyme đích α-glucosidase.

Xây dựng mô hình và Chuẩn bị dữ liệu:

- Protein đích: Do cấu trúc 3D của α-glucosidase chưa được xác định hoàn chỉnh, mô hình được xây dựng bằng phương pháp mô hình hóa đồng dạng dựa trên cấu trúc tinh thể của isomaltase từ *Saccharomyces cerevisiae* (PDB ID: 3A4A). Mô hình đảm bảo độ tin cậy cao với điểm tương đồng (similarity) đạt 85% và điểm giống hoàn toàn (identity) đạt 72% so với trình tự mục tiêu.

- Phối tử (Ligand): Cấu trúc 3D của các dẫn xuất crown ether được tối ưu hóa hình học trực tiếp trên nền tảng MOE để đạt trạng thái năng lượng bền vững trước khi lắp ghép.

Phương pháp và Thẩm định mô hình:

- Quy trình thẩm định (Redocking): Độ chính xác của thông số mô phỏng được xác nhận thông qua việc tái lắp ghép phối tử đồng kết tinh vào cấu trúc 3D của 3A4A. Kết quả cho giá trị RMSD < 2Å, khẳng định mô hình có độ tin cậy và tính lặp lại cao, đủ điều kiện để sàng lọc các hợp chất mới.

Sàng lọc và Phân tích tương tác:

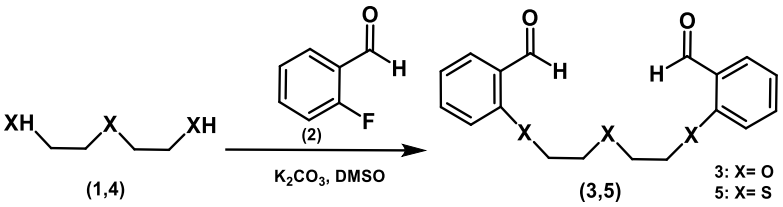
- Các hợp chất crown ether mục tiêu được lắp ghép vào trung tâm hoạt động (active site) của enzyme.
- Cấu hình có giá trị ΔG âm nhất được lựa chọn làm trạng thái liên kết tối ưu, thể hiện ái lực mạnh và độ bền vững của phức hợp protein-phối tử. Các tương tác hóa học chi tiết (liên kết hydro, tương tác kỵ nước, lực Van der Waals) được phân tích và trực quan hóa bằng phần mềm Discovery Studio 2025.

Kết nối thực nghiệm:

Sự tương quan chặt chẽ giữa dữ liệu mô phỏng và kết quả khảo sát hoạt tính sinh học (ức chế enzyme α-glucosidase và gây độc tế bào ung thư) cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho việc định hướng thiết kế các dẫn xuất mới có hoạt tính cao hơn trong tương lai.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tổng hợp các tiền chất podand



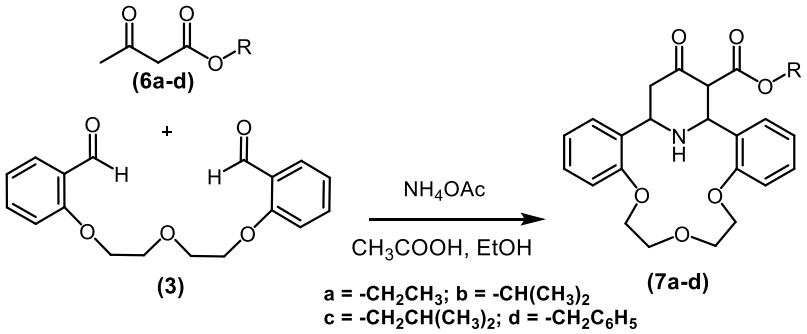
Sơ đồ 3.1. Tổng hợp các tiền chất podand dialdehyde

Các tiền chất podand có chứa các dị tố O và S **(3,5)** đều có đặc điểm chung là cấu tạo đối xứng trục thẳng giữa, 2 bên nhánh cuối mạch là các nhóm chức arylaldehyde. Các nhóm chất này được tổng với cùng một phương pháp theo sơ đồ. Phản ứng được thực hiện khi cho hỗn hợp 1 trong 2 chất **(1,4)** cùng 2-fluorobenzaldehyde khuấy trong dung môi DMSO với nhiệt độ khoảng 110-120^{o}C. Các sản phẩm là các tiền chất podand được tổng hợp có hiệu suất cao 70- 75%.

Hợp chất **(5)** được tổng hợp từ hợp chất 2,2'-thiodiethanethiol **(4)** và 2-fluorobenzaldehyde. Dung môi phân cực DMSO được chọn và phản ứng được tiến hành trong môi trường kiềm (K_2CO_3) để tăng hiệu suất phản ứng và đẩy nhanh phản ứng thế. Công thức cấu tạo của hợp chất **(5)** được khẳng định bằng các phương pháp phổ hiện đại ^{1}H-NMR và MS. Các tín hiệu cộng hưởng đặc chưng cho nhóm aldehyde, (-CH_2-S-) và (-CH_2-S-CH_2-), nhân thơm lần lượt xuất hiện tại δ = 10,41 ppm, δ_H = 2,8 - 2,83 ppm và δ_H = 3,12 - 3,16 ppm, khoảng 7,31 đến 7,85 ppm. Trên phổ MS, pic ion phân tử $[M]^+$ = 362,7, Khối lượng chính xác là m/z = 362,53.

3.2. Tổng hợp các crown ether mới chứa nhân piperidone từ các tiền chất podand trên cơ sở phản ứng ngưng tụ Petrenko-Kritschenko

3.2.1. Tổng hợp crown ether từ tiền chất podand 1,5-bis(2-formylphenoxy)-3-oxapentane (3)



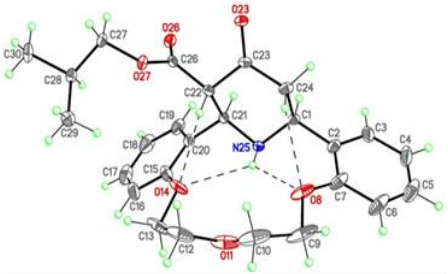
Sơ đồ 3.2. Tổng hợp các crown ether **(7a-d)**

Phản ứng được bắt đầu từ tiền chất podand 1,5-bis(2-formylphenoxy)-3-oxapentane **(3)** và các dẫn xuất của 3-oxobutanoate **(6a-d)** cùng sự có mặt của amonium acetate trong điều kiện dung môi ethanol và xúc tác acid acetic. Nhóm chất crown ether **(7a-d)** đã được tổng hợp thành công với hiệu suất 34-50%.

Trên phổ hồng ngoại của các hợp chất **(7b-d)** chúng ta có thể dễ dàng nhận thấy được sự xuất hiện tín hiệu đặ trưng của nhóm –NH tại vùng 3314- 3326 cm^{-1}, đồng thời các tín hiệu của nhóm -C=O ester cũng được nhìn thấy tại 1694 – 1697 cm^{-1} hay tại 1246 cm^{-1} với cường độ mạnh là tín hiệu của nhóm –C-O-.

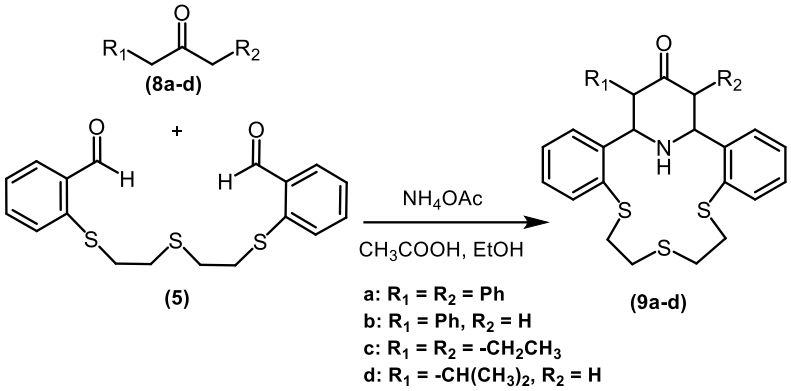
Trên phổ ^{1}H-NMR, các dẫn xuất **(7b–d)** đều thể hiện tín hiệu đặc trưng của 8 proton thơm trong vùng 6,785–7,260 ppm và các proton thuộc nhóm ether, piperidone trong vùng 2,5–4,5 ppm. Sự khác biệt chủ yếu thể hiện ở nhóm alkyl của chức ester: **(7b)** có tín hiệu hai nhóm CH_3 tương đương tại 1,112 ppm và proton $–CH(CH_3)_2$ tại 4,918 ppm; **(7c)** có hai tín hiệu CH_3 tại 0,759 và 0,775 ppm cùng tín hiệu $–CH(CH_3)_2$ tại 1,739 ppm; trong khi **(7d)** xuất hiện tín hiệu $–CH_2C_6H_5$ tại 4,988–5,064 ppm.Trên phổ cộng hưởng từ ^{13}C-NMR, có thể dễ dàng phát hiện sự có mặt của 2 nhóm C=O ketone và C=O ester tại 204 ppm và 169 ppm.

Cấu trúc phân tử của hợp chất **(7c)** cũng được khẳng định chắc chắn bằng phương pháp nhiễu xạ đơn phân tử.



Hình 3.1. XRay của hợp chất **(7c)**

Tương tự như các crown ether **(7a-d)**, các hợp chất **(9a-d)** được tổng hợp dựa trên cở sở phản ứng Petrenko–Krischenko. Hiệu suất chúng tôi thu được của các hợp chất **(9a-d)** là 30-36%.



Sơ đồ 3.3. Tổng hợp các crown ether **(9a-d)**

Cấu trúc của dãy hợp chất **(9a-d)** cũng được chứng minh bằng các phương pháp phổ hiện đại IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR và HPLC-MS. Cùng với đó, công thức cấu tạo của hợp chất **(9d)** cũng được khẳng định chính xác bằng phương pháp nhiễu xạ tia X đơn phân tử (*single crystal X-ray diffraction*).

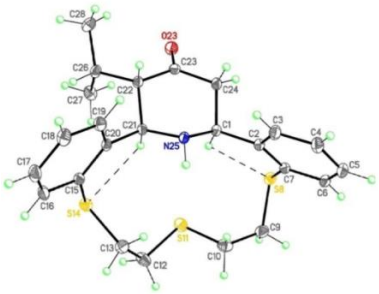
Trên phổ IR của dãy các hợp chất, có thể dễ dàng nhận thấy 2 pic đặc chưng cho nhóm NH và nhóm –C=O ketone tại 2 vùng trên 3200 cm^{-1} và vùng 17xx cm^{-1}

Trên phổ ^{1}H-NMR của dãy hợp chất, các tín hiệu đặc trưng gồm: proton thơm tại 7,0–8,0 ppm; proton ở vùng ether và piperidone, với tín hiệu CHNH khoảng 5 ppm và CHCO khoảng 3–4 ppm; cùng các proton aliphatic tại 0,5–2,5 ppm, là vùng giúp phân biệt rõ các hợp chất nhờ sự khác nhau của các nhóm CH_3 và CH_2.

Phổ ^{13}C-NMR của dãy hợp chất này cũng thể hiện ra sự khác biệt giữa chúng và tiền chất podand khi xuất hiện sự có mặt của pic cộng hưởng đặc trưng cho nhóm C=O ketone tại các độ chuyển dịch lần lượt tại 206,20 ppm **(9a)**, 207,35 ppm **(9b)**, 210,22 ppm **(9c)**, 209,31 ppm **(9d)**.

Công thức của nhóm hợp chất **(9a-9d)** còn được minh chứng rõ ràng hơn bởi phổ khối lượng phân giải cao với giá trị chính xác khối lượng và độ lệch khối <10 ppm.

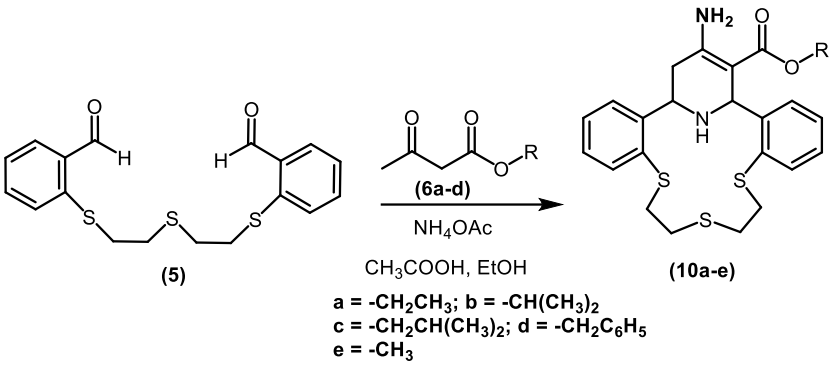
Đặc biệt, cấu tạo của hợp chất **(9d)** được khẳng định bằng phương pháp nhiễu xạ đơn phân tử.



Hình 3.2. XRay của hợp chất **(9d)**

3.3. Tổng hợp các crown ether mới chứa nhân tetrahydropyridine từ các tiền chất podand trên cơ sở phản ứng ngưng tụ Petrenko-Kritschenko

Phản ứng được thực hiện bằng cách khuấy đều hỗn hợp 3 thành phần là trithiapodand dialdehyde, beta-kote ester và lượng du amonium acetate trong dung môi ethanol tại nhiệt độ 60^{o}C và kết thúc sau 18h. Kết quả đạt được là dãy sản phẩm các hợp chất **(10a-e)** với hiệu suất dao động 35-37%.



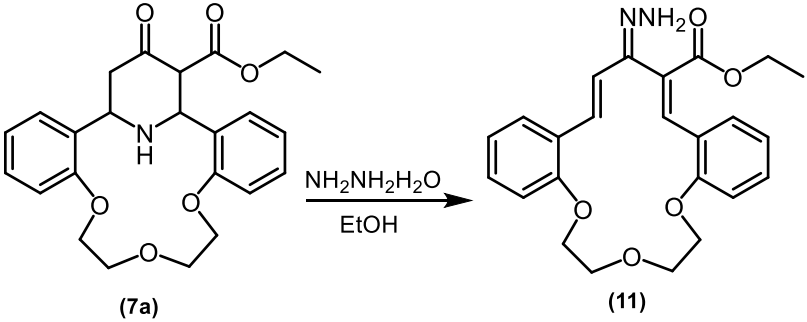
Sơ đồ 3.4. Tổng hợp các crown ether **(10a-e)**

Cấu trúc của dãy hợp chất này được khẳng định bằng các phương pháp phổ hiện đại IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR và HPLC-MS

Trên phổ hồng ngoại IR, các hợp chất **(10a–10e)** đều thể hiện các dải hấp thụ đặc trưng trong phổ, đặc trưng cho các nhóm chức chính trong cấu trúc, tín hiệu N–H dao động trong khoảng 3300–3400 cm^{-1}, tín hiệu dao động C=O mạnh trong vùng 1633–1671 cm^{-1}, Nhóm ether và este đều có dải hấp thụ C–O trải từ 1050–1250 cm^{-1}.

Trên phổ ^{1}H-NMR, các hợp chất **10a–e** có sự khác biệt chủ yếu ở tín hiệu nhóm ester tương ứng với các nhóm alkyl khác nhau; đồng thời đều xuất hiện tín hiệu NH tại 4,575–4,656 ppm, NH_2 tại 5,888–5,990 ppm và các proton của vòng tetrahydropyridine, nhóm **–SCH_2–CH_2–** trong vùng 2,1–3,7 ppm. Trên phổ **^{13}C-NMR**, tín hiệu carbonyl ester nằm trong khoảng 166,51–167,58 ppm, trong đó các dẫn xuất alkyl có giá trị xấp xỉ nhau, còn dẫn xuất benzyl **(10d)** có độ dịch chuyển thấp hơn do ảnh hưởng của vòng phenyl.Sau cùng, công thức của nhóm hợp chất **(10a-d)** được xác nhận khối lượng đúng với từng công thức trên phổ khối lượng phân giải cao HRMS.

3.4. Chuyển hóa crown ether



Sơ đồ 3.5. Chuyển hóa crown ether **(7a)** với hydraxin hydrat

Phản ứng là sự chuyển hóa của hợp chất crown ether (**7a)** (chứa nhóm piperidone-4-one) với hydrazin hydrat ($NH_2NH_2 \cdot H_2O$) trong dung môi ethanol (EtOH) tạo thành sản phẩm (**11)**, có chứa vòng pyrazolone kết hợp với hệ crown ether. Hợp chất **(11)** được thu nhận dưới dạng tinh thể trắng với hiệu suất 40%, nhiệt độ nóng chảy 218–220 °C, và giá trị R_f = 0,48 trong hệ dung môi ethanol.

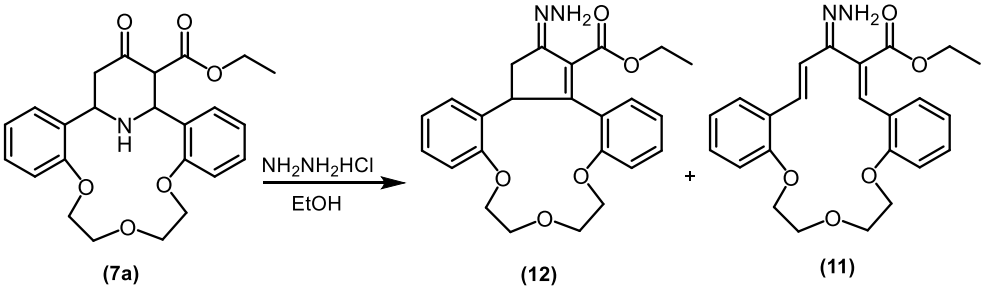
Phân tích phổ IR xác minh cho sự hiện diện của các nhóm chức chính đặc trưng. Dải hấp thụ rộng ở 3326 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo giãn của nhóm $–NH_2$ tự do, trong khi dải hấp thụ mạnh tại 1743 cm^{-1} đặc trưng cho liên kết C=O của nhóm ester ethyl không bị biến đổi trong phản ứng. Đáng chú ý, dải tại 1696 cm^{-1} tương ứng với dao động của liên kết C=N.

Trên phổ phổ ^1H NMR, nhóm ethyl ester cộng hưởng với độ bội triplet tại 1.096 ppm (3H, J = 6 Hz, $–CH_3$) và qaurtet tại 4.07–4.19 ppm (2H, CH_2). Các tín hiệu rộng trong vùng 3.92–4.24 ppm (tổng cộng 8H) tương ứng với các proton methylene, Proton của nhóm NH_2 hiển thị rõ tại 2.58 ppm, Tín hiệu cộng hưởng proton trong vùng 6.78–7.34 ppm bao gồm các proton thơm từ hai vòng phenyl đối xứng.

Trên phổ ^{13}C NMR ($CDCl_3$) cũng thể hiện cấu trúc rõ ràng. Tín hiệu carbonyl ester xuất hiện tại 167.35 ppm, trong khi ba tín hiệu từ 155.4–157.2 ppm được gán cho carbon liên hợp với nhóm C=N và vòng thơm.

Phổ khối lượng cao HRMS $[M+H]^+$ cho giá trị 423.1910, gần trùng với giá trị lý thuyết 423.1920 của công thức phân tử $[C_{24}H_{30}N_3O_5]^+$.

Tương tự như phản ứng tạo ra hợp chất (**11)**, phản ứng này sử dụng hydrazine hydrochloride với đương lượng là 2:1 theo tỉ lệ mol so crown ether (**7a)** với và kết quả nhận được là sản phẩm gồm 2 chất, hợp chất (**11)** và hợp chất (**12).**



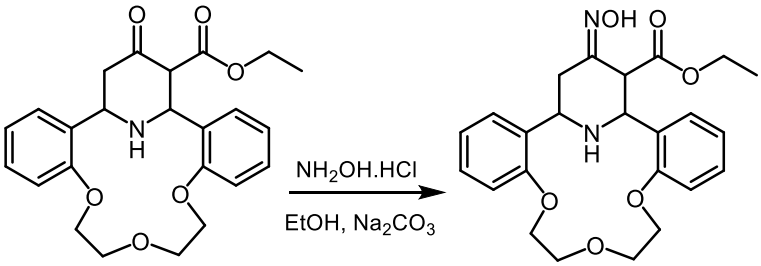
Sơ đồ 3.6. Chuyển hóa crown ether **(7a)** với hydrazine hydrochloride

Phổ IR (KBr) cho thấy các vạch hấp thụ đặc trưng tại 3251 cm^{-1} ứng với dao động kéo dài của nhóm $–NH_2$, và tín hiệu hấp thụ tại 1577 cm^{-1} tương ứng với dao động của nối đôi C=N trong nhóm hydrazone.

Trên phổ ^1H NMR, tín hiệu ở δ 1,30 ppm (3H, t, J = 6,5 Hz) đặc trưng cho nhóm methyl của gốc ethyl ester. Dải tín hiệu từ δ 3,83–4,12 ppm (11H, m) được gán cho các proton của ba nhóm $–OCH_2CH_2O–$ trong hệ crown ether và nhóm CH_2 của gốc ethyl ester. Các tín hiệu trong vùng δ 6,76–7,31 ppm (8H) phản ánh sự hiện diện của 8 proton thơm thuộc hai vòng benzen.

Phổ ^{13}C NMR cho thấy tín hiệu tại δ 170,16 ppm đặc trưng cho carbonyl của nhóm ester. Tín hiệu tại δ 159,78 ppm được gán cho C-21, liên kết trực tiếp với nhóm $C=N–NH_2$. Tín hiệu tại δ 156,95 ppm đặc trưng cho carbon trong nhóm hydrazone.

Phổ khối lượng phân giải cao HRMS hiển thị pic ion giả phân tử $[M+H]^+$ tại m/z = 423,2100, phù hợp với khối lượng phân tử lý thuyết của hợp chất có công thức phân tử $C_{24}H_{27}N_2O_5$ (M = 422,1897 g/mol).



(7a) **(13)**

Sơ đồ 3.7. Chuyển hóa crown ether **(7a)** với hydroxylamine hydrochloride

Phản ứng được thực hiện bằng cách khuấy hồi lưu cách thủy hỗn hợp crown ether **7a** và hydroxylamine hydrochloride trong dung môi ethanol. Sau khi trung hòa bằng Na_2CO_3 và sử dụng các phương pháp tinh chế thu được sản phẩm **(13)** với hiệu suất là 51%.

Phổ IR của hợp chất **(13)** thể hiện các tín hiệu hấp thụ đặc trưng cho các nhóm chức có trong cấu trúc phân tử. Dải hấp thụ mạnh tại 3325 cm^{-1} tương ứng với dao động kéo giãn của liên kết O–H trong nhóm oxime (–C=NOH), trong khi tín hiệu tại 3069 và 2925–2875 cm^{-1} là đặc trưng cho dao động C–H của vòng thơm và nhóm alkyl. Các dao động kéo giãn của nhóm carbonyl được ghi nhận với hai tín hiệu mạnh tại 1723 và 1726 cm^{-1}, phù hợp với nhóm C=O của este và nhóm oxime. Dao động của liên kết C=N trong oxime xuất hiện ở vùng 1602–1609 cm^{-1}.

Trên phổ phổ ^{1}H NMR, tín hiệu cộng hưởng của nhóm ethyl ester với một tín hiệu với độ bội triplet ở δ = 1,01 ppm (3H, t, *J* = 6 Hz) và quartet tại δ = 3,98 ppm (2H, q, *J* = 6 Hz). Tín hiệu broad singlet của các proton NH nằm tại δ = 2,68 và 2,70 ppm, phù hợp với hệ cấu trúc vòng có liên kết hydro nội phân tử. Tín hiệu proton –OH tự do của oxime xuất hiện dưới dạng một singlet tại δ = 7,75 ppm. Tín hiệu cộng hưởng của các proton thơm (H3, H4, H5, H6, H16–H19) xuất hiện trong khoảng δ = 6,67–7,20 ppm với tổng cộng 8 proton.

Phổ ^{13}C NMR (600 MHz, $CDCl_3$) cho thấy tín hiệu của carbon carbonyl este ở δ = 170,67 ppm và carbon oxime –C=NOH tại δ = 163,25 ppm.

Phổ khối lượng phân giải cao HRMS cho thấy ion giả phân tử $[M+H]^+$ tại m/z = 441,2025 phù hợp với công thức phân tử $C_{24}H_{29}N_2O_6$ (khối lượng tính toán: 441,2024).

3.5. Khảo sát hoạt tính sinh học các hợp chất tổng hợp được

Các dòng tế bào được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào:

- FL (HeLa, *Human cervix carcinoma*): Ung thư cổ tử cung
- MCF7 (*Human breast adenocarcinoma*): Ung thư biểu mô vú
- RD (*Human rhabdomyosarcoma*): Ung thư mô liên kết
- HepG2 (*Hepatocellular carcinoma*): Ung thư gan người
- Lu1 (*Human lung adenocarcinoma*): Ung thư phổi người
- *Vero cell line*: tế bào thường từ thận của khỉ xanh trưởng thành châu Phi.

Các dãy chất **(7a-d), (9a-d), (10a-e)** và **(11-13)** không biểu hiện hoạt tính gây độc trên dòng tế bào.

Khảo sát hoạt tính ức chế *α*-glucosidase và Mô phỏng liên kết phân tử

Kết quả thử nghiệm hoạt tính *in vitro*: Khả năng ức chế enzyme *α*-glucosidase được xác định dựa trên sự suy giảm tín hiệu hấp thụ của *p*-nitrophenol tại bước sóng 410 nm. Các hợp chất **9a, 9b, 9d, 10a** và **10d** thể hiện hoạt tính vượt trội so với chất đối chứng **Acarbose** với các giá trị IC_{50} là 2.72±0.13 µg/ml, 171.90±13.34 µg/ml, 37.6±3.39 µg/ml, 2.42±0.26 µg/ml và 27.37±1.78 µg/ml.

Mô phỏng lắp ghép phân tử (Molecular Docking):

Để giải thích cơ chế ở cấp độ phân tử, các hợp chất được lắp ghép vào cấu trúc enzyme mục tiêu (PDB: 3A4A) bằng phần mềm MOE 2019.0102.

- **Thẩm định mô hình:** Quá trình redocking phối tử *α*-glucose cho giá trị RMSD = 1,3 Å (< 2 Å) và ΔG = -5,9 kcal/mol, khẳng định độ tin cậy của mô hình tính toán.
- **Ái lực liên kết**: Tất cả các hợp chất khảo sát đều có năng lượng liên kết ΔG dao động từ -6,8 đến -8,9 kcal/mol, tốt hơn đáng kể so với *α*-glucose. Trong đó, **(10d)** đạt mức năng lượng thấp nhất (-8,9 kcal/mol), phù hợp với độ ổn định cấu trúc cao (RMSD = 1,6 Å).
- **Cơ chế tương tác:** Phân tích cho thấy sự ổn định của phức hợp protein-phối tử được quyết định bởi sự cộng hưởng của hai vùng tương tác chính:
  - Vùng nhân thơm: Hình thành các tương tác π-cation mạnh với Arg315/Arg442 và π–π với Phe303.
  - Vùng crown ether chứa lưu huỳnh: Tạo các tương tác π–sulfur và tiếp xúc kỵ nước bền vững với Phe178, Val216 và His280.

Kết quả docking thể hiện sự đồng nhất cao với thực nghiệm *in vitro*. Các hợp chất có IC_{50} thấp (hoạt tính mạnh) đều sở hữu năng lượng liên kết thấp và giá trị RMSD nhỏ. Sự thống nhất này khẳng định rằng việc kết hợp vòng phenyl linh

động và khung crown ether chứa dị tố lưu huỳnh là yếu tố then chốt giúp tăng cường ái lực và khả năng ức chế enzyme.

KẾT LUẬN

Trên cơ sở phản ứng ngưng tụ đa tác nhân Petrenko–Kritschenko cùng các phản ứng hữu cơ cơ bản, luận án đã tổng hợp thành công 18 hợp chất (trong đó có 16 hợp chất mới), bao gồm 02 tiền chất podand, 16 hợp chất crown ether thuộc nhiều nhóm cấu trúc khác nhau:

04 dẫn xuất crown ether có chứa nhân dị vòng piperidone (7a-d).

04 dẫn xuất trithiacrown ether có chứa nhân dị vòng piperidone (9a-d).

05 dẫn xuất trithiacrown ether có chứa nhân dị vòng tetrahydropyridine (10a-d).

03 dẫn xuất chuyển hóa (11-13)

Cấu trúc của toàn bộ các hợp chất được xác lập rõ ràng bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H-NMR, 13C-NMR, phổ hồng ngoại IR và phổ khối lượng phân giải cao HRMS. Ngoài ra, cấu trúc tinh thể của hai hợp chất đại diện (7c) và (9d) đã được minh chứng trực tiếp bằng phương pháp nhiễu xạ tia X đơn tinh thể, góp phần khẳng định tính chính xác của quá trình tổng hợp và mô hình cấu trúc.

Về phương diện khảo sát hoạt tính sinh học, 16 hợp chất không thể hiện độc tính đáng kể trên các dòng tế bào ung thư HeLa, MCF7, RD, HepG2 và Lu1. Tuy nhiên, 05 hợp chất thuộc hai nhóm (9) và (10) gồm (9a), (9b), (9d), (10a) và (10d) cho hoạt tính ức chế α-glucosidase đáng chú ý với mức phần trăm ức chế cao 80-90% ở nồng độ thử và giá trị IC_{50} thấp hơn đáng kể so với các hợp chất khác.

Kết quả mô phỏng lắp ghép phân tử cho thấy các hợp chất có hoạt tính mạnh cũng có năng lượng liên kết thấp và RMSD phù hợp. Các tương tác π–cation, π–π và kỵ nước, với sự tham gia quan trọng của vòng phenyl và các dị tố trong vòng crown ether, góp phần ổn định phức hợp với enzym. Kết quả này cho thấy cấu trúc và sự thay đổi dị tố trong vòng crown ether có ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính ức chế α-glucosidase.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

Bài báo quốc tế: 03

1) **Dat T. Nguyen**, Hieu H. Truong, Nhung T. Dao, Van T. T. Tran,a Olga S. Gorchakovac and Anh T. Le (2023), "Unexpected hydrazine- and hydroxylamine-induced transformations of aza-14-crown-4 incorporating 4-oxopiperidine-3-carboxylate moiety", Mendeleev Commun., 2023, 33, 708–710

2) **Nguyen Tien Dat**,Tran Thi Thanh Van, Dao Thi Nhung, Cao Quoc Anh,Tran Thanh Hang, Vu Thi Thao, Victor Khrustalev, and Le Tuan Anh (2023), "Trithiazacrown Ethers Containing Piperidine Heterocycle: Synthesis, Structural Characterization and Evaluation Of α-Glucosidase Inhibitory Activity", ChemistrySelect 2024, 9, e202303741 (1 of 7)

3) **Nguyen Tien Dat**, Dao Thi Nhung, Tran Thi Thanh Van, Le Quang Tien, Nguyen Manh Linh, and Le Tuan An (2024), "Trithiacrown ethers containing tetrahydropyridine subunit: Synthesis, Structural Characterization, *In vitro* and *In silico* studies of their inhibitory activity against α-glucosidase", Mendeleev Commun., 2024