

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Văn Kết

**ỨNG DỤNG PHẢN ỨNG DOMINO VÀO TỔNG HỢP CÁC DẪN
XUẤT PODOPHYLLOTOXIN, PYRIMIDINE VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÁC CHẤT TỔNG HỢP ĐƯỢC**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hoá hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Hà Nội - 2025

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn 1: GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền - Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
2. Người hướng dẫn 2: TS. Vũ Ngọc Doãn - Học viện Kỹ thuật quân sự, Bộ Quốc phòng

Phản biện 1: PGS. TS. Phan Văn Kiệm

Phản biện 2: PGS. TS Mạc Đình Hùng

Phản biện 3: PGS. TS. Phạm Thị Thắm

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi 09 giờ 00, ngày 21 tháng 5 năm 2025

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Trong các phương pháp điều trị ung thư, hoá trị luôn là lựa chọn hiệu quả, do phương pháp này có khả năng giúp làm chậm sự phát triển của khối u, giảm nhẹ các triệu chứng của bệnh cũng như kiểm soát tốt tình trạng bệnh lý. Tuy nhiên phương pháp điều trị này cũng có những hạn chế, nhất là đối với những bệnh nhân ung thư giai đoạn cuối khi sức đề kháng của cơ thể giảm dẫn tới các tác động tiêu cực, ảnh hưởng trực tiếp tới chất lượng cuộc sống của bệnh nhân.

Các hợp chất 4-azapodophyllotoxin có khả năng ức chế sự phát triển của nhiều dòng tế bào ung thư thông qua các cơ chế như: gây ra quá trình apoptosis, ngừng chu kỳ tế bào ở pha G2/M, ức chế quá trình polymer hoá tubulin, đặc biệt có độc tính giảm và ít tác dụng phụ hơn so với podophyllotoxin ban đầu. Bên cạnh đó các dẫn xuất chứa khung pyrano[2,3-*d*]pyrimidine là các dị vòng của nitrogen được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học nổi trội như: khả năng chống ung thư, kháng lao, kháng khuẩn, kháng nấm và đặc biệt là khả năng chống oxi hoá mạnh, ức chế nhiều loại enzym khác nhau, bao gồm α -amylase, α -glucosidase, xanthine oxidase, AchE.

Xuất phát từ những lý do trên, tôi đã lựa chọn đề tài “***Ứng dụng phản ứng domino vào tổng hợp các dẫn xuất podophyllotoxin, pyrimidine và đánh giá hoạt tính sinh học của các chất tổng hợp được***” làm nội dung nghiên cứu trong thời gian học nghiên cứu sinh, nhằm mục đích nghiên cứu, tổng hợp, thử nghiệm tìm ra các dẫn xuất mới của podophyllotoxin, pyrimidine có tiềm năng về hoạt tính sinh học.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Ứng dụng phản ứng domino vào tổng hợp các dẫn xuất mới của podophyllotoxin và kết hợp với phản ứng click tổng hợp các dẫn xuất pyrimidine

- Đánh giá hoạt tính gây độc một số dòng tế bào ung thư, ức chế enzym α -glucosidase, AchE và mô phỏng docking phân tử của các hợp chất tổng hợp được.

3. Nội dung nghiên cứu của luận án

- Tổng hợp các dẫn xuất podophyllotoxin chứa các dị vòng
- Tổng hợp các hợp chất hybrid isatin-podophyllotoxin
- Tổng hợp các hợp chất hybrid podophyllotoxin-isatin-AZT và podophyllotoxin-isatin-Erlotinib
- Tổng hợp các dẫn xuất của indole-pyrano[2,3-d] pyrimidin
- Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư và khả năng ức chế enzym α -glucosidase, AchE của các chất tổng hợp được.
- Nghiên cứu docking phân tử nhằm xác nhận các cơ chế của dẫn xuất tổng hợp được đối với các tác nhân được thử nghiệm

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Chương 1 gồm 26 trang, trình bày tổng quan tài liệu về các hợp chất quinoline quinone, pyrano pyrimidine và isatin cùng với các hoạt tính sinh học của chúng; các phản ứng domino dùng để tổng hợp các dẫn chất mới giữa quinoline quinone, isatin, pyrimidine với các hợp phần khác có khả năng chống ung thư, ức chế enzym α -glucosidase và enzym AchE.

CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

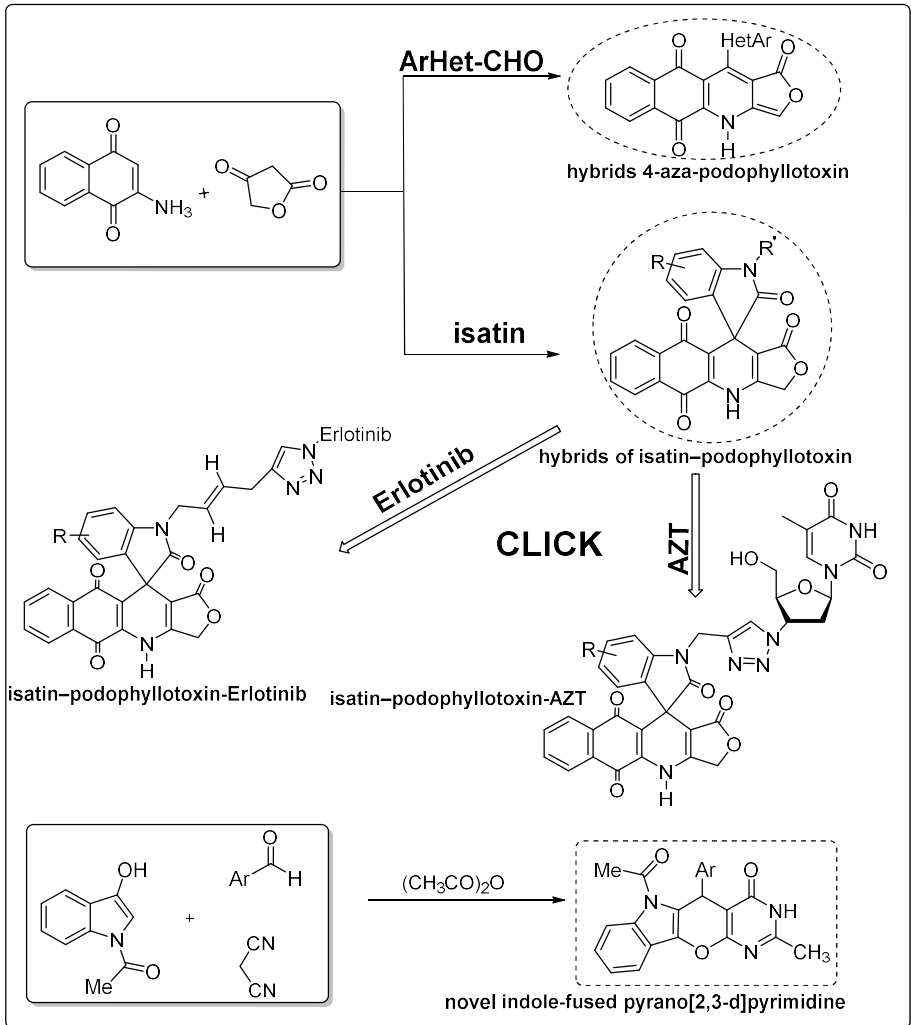
Chương 2 gồm 47 trang, trình bày chi tiết về các phương pháp nghiên cứu, quy trình tổng hợp, tinh chế, hiệu suất phản ứng, các tính chất vật lý của các hợp chất tổng hợp được như hình thái, màu sắc, nhiệt độ nóng chảy và dữ liệu chi tiết các phổ IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC, HMBC và HRMS của các dẫn chất thu được.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Mục tiêu của đề tài

Đề tài đặt mục tiêu thiết kế, tổng hợp các dẫn xuất mới của podophyllotoxin và pyrimidine bằng phản ứng domino, đi từ những nguyên liệu ban đầu có chứa nhóm hydro linh động (2-hydroxyl-1,4-

naphthoquinone, 2-amino-1,4-naphthoquinone, *N*-acetylindoxyl) và các hợp chất ketone (aldehyde thơm, dẫn xuất của isatin, acid tetronic) trong điều kiện vi sóng. Kết hợp với phản ứng Click hình thành cầu nối 1,2,3-triazole với các hợp phần như AZT và Erlotinib. Thử nghiệm, đánh giá hoạt tính sinh học và nghiên cứu docking phân tử của các chất tổng hợp được.



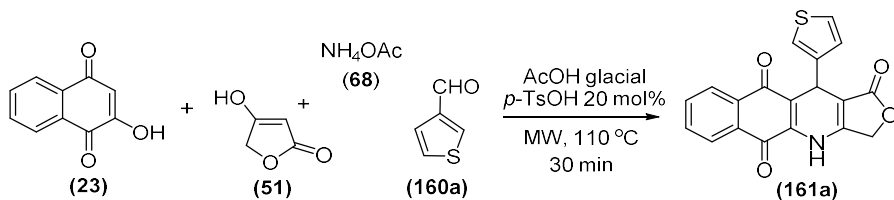
Sơ đồ 3.1. Mục tiêu, chiến lược tổng hợp của đề tài

3.2. Tổng hợp các dẫn xuất 4-aza podophyllotoxin chứa dị vòng

Như đã trình bày trong phần tổng quan, hợp chất 4-aza-podophyllotoxin, khi tiến hành thay thế vòng A, B và giữ nguyên vòng D các nghiên cứu thu được đều cho thấy hoạt tính chống ung thư đã được cải thiện, đặc biệt đối với trường hợp naphthoquinone. Tuy nhiên những biến đổi ở vòng E chưa được ghi nhận nhiều do các tương tác giữa vòng E với vòng C sẽ tác động trực tiếp tới hoạt tính gây độc tế bào. Khi thay thế vòng E của podophyllotoxin bằng các dị vòng chứa các dị tố O, S, N có độ âm điện lớn, hy vọng sẽ tạo ra các tương tác mạnh hơn giữa các dị vòng này với vòng C, qua đó làm tăng hoạt tính gây độc tế bào của lớp chất này.

a. Áp dụng phản ứng domino bốn thành phần

Từ các nguyên liệu ban đầu: 2-hydroxyl-1,4-naphthoquinone (**23**) (1 mmol), 3-thiophen aldehyde (**160**) (1 mmol), acid tetronic (**51**) (1 mmol), và ammonium acetate (**68**) (3,0 mmol) với sự hỗ trợ của thiết bị phản ứng vi sóng, luận án đã tổng hợp thành công hợp chất 11-(thiophen-3-yl)-4,11-dihydrobenzo[g]furo[3,4-*b*]quinolin- 1,5,10(3*H*)-trione (**161a**) theo sơ đồ sau:



Sơ đồ 3.2. Tổng hợp chất **161a** bằng phản ứng domino

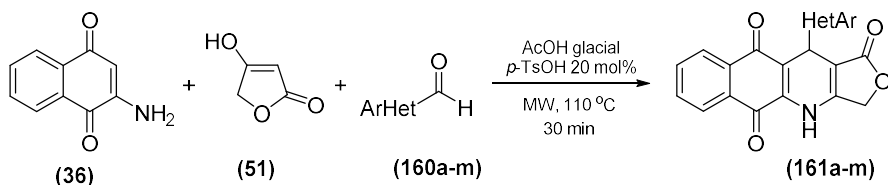
Cấu trúc hợp chất **161a** được xác định bằng phổ IR, NMR, HRMS. Trên cơ sở hợp chất **161a**, luận án đã tổng hợp được 13 dẫn xuất (Bảng 3.1)

Bảng 3.1. Các hợp chất 4-aza-podophyllotoxin chứa dị vòng **161a-m**

STT	Hợp chất	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Hiệu suất phản ứng domino (%)	
			Loại 4 thành phần	Loại 3 thành phần
1	161a	298 - 299	29	64

STT	Hợp chất	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Hiệu suất phản ứng domino (%)	
			Loại 4 thành phần	Loại 3 thành phần
2	161b	345 - 346	25	62
3	161c	304 – 305	20	60
4	161d	371 - 372	20	62
5	161e	295 - 296	33	70
6	161f	295 - 296	32	68
7	161g	302 - 303	33	69
8	161h	383 - 384	28	64
9	161i	262 - 263	27	63
10	161j	310 - 311	20	61
11	161k	245 - 246	34	74
12	161l	288 -289	32	72
13	161m	289 - 290	33	72

*b. Tổng hợp các dẫn xuất **161** bằng phản ứng domino ba thành phần*



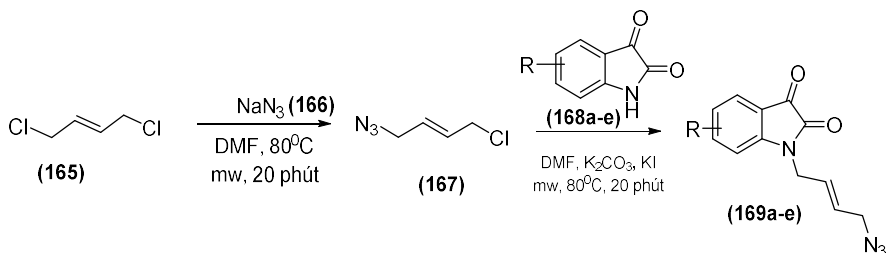
*Sơ đồ 3.3. Tổng hợp các dẫn xuất **161** bằng phản ứng ba thành phần*

Kết quả thực nghiệm được trình bày ở bảng 3.1 cho thấy việc sử dụng phản ứng domino ba thành phần để tổng hợp các hợp chất 4-azapodophyllotoxin chứa dị vòng (**161a-m**) cho hiệu suất cao hơn gấp 2 lần so với phương pháp sử dụng 4 tác nhân phản ứng, trong cùng điều kiện thực hiện.

3.3. Kết quả tổng hợp các dẫn xuất isatin-podophyllotoxin

3.3.1. Tổng hợp các dẫn xuất của isatin bằng phản ứng ankylation

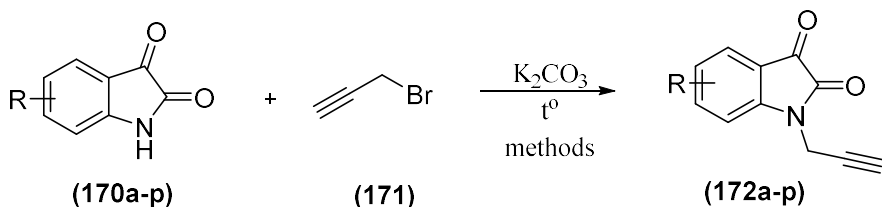
Dựa trên các tài liệu tham khảo luận án đã lựa chọn thực hiện tổng hợp các dẫn xuất (**169a-n**) với các điều kiện được chỉ ra trong Sơ đồ 3.4, lý do lựa chọn là vì mỗi phản ứng đều diễn ra tuần tự trong cùng điều kiện nhiệt độ và dung môi là DMF, phản ứng ở bước sau không cần phải phân lập tách chiết, chỉ cần bổ sung thêm xúc tác là các base K_2CO_3 và KI. Các sản phẩm sẽ được tinh chế, phân lập sẵn sàng cho các phản ứng tiếp theo



Sơ đồ 3.4. Tổng hợp các dẫn xuất N-azidobut-2-en-isatin

Để khẳng định sản phẩm đã tổng hợp thành công, luận án lựa chọn một dẫn xuất tiêu biểu của dãy là isatin làm nguyên liệu ban đầu, sau quá trình tinh chế, phân lập, sản phẩm được đưa đi kiểm tra sơ bộ bằng phổ IR và 1H -NMR.

Trên cơ sở tham khảo tài liệu luận án đã tiến hành, khảo sát các điều kiện khác nhau của quá trình alkyl hoá và lựa chọn phản ứng giữa isatin (**170a**) và propargyl (**171**) là đối tượng để nghiên cứu theo Sơ đồ 3.5.



Sơ đồ 3.5. Phản ứng alkyl hoá giữa isatin và bromide

Do K_2CO_3 có khả năng hoà tan tốt và là xúc tác base có tính êm dịu, vì vậy nhóm nghiên cứu đã lựa chọn xúc tác này làm đối tượng khảo sát trong

bình phản ứng có chứa 3 ml dung môi mỗi loại. Nhiệt độ tiến hành phản ứng được lựa chọn ở các mức là 25 °C, 50 °C và 75 °C và 100 °C để phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Các phương pháp tiến hành bao gồm: đun hồi lưu, siêu âm, vi sóng được nghiên cứu, khảo sát độc lập.

Bảng 3.2. Kết quả khảo sát điều kiện của phản ứng ankylation

Nhiệt độ phản ứng (°C)		Thời gian (phút)	Hiệu suất (%)	Màu sắc	Dung môi
Phương pháp tổng hợp vi sóng	25	60	14.3	Màu nhạt	Acetone
	50	40	62.8	Màu nhạt	Acetonitrile
	75	20	90.7	Màu đậm	DMF
	100	15	N/A	Màu đen	DMSO
Phương pháp đun hồi lưu	25	120	5.0	Rất nhạt	Acetone
	50	90	20.6	Màu nhạt	Acetonitrile
	75	45	67.9	Màu đậm	DMF
	100	20	N/A	Màu đen	DMSO
Phương pháp siêu âm	25	120	11.2	Màu nhạt	Acetone
	50	90	34.6	Màu nhạt	Acetonitrile
	75	45	78.4	Màu đậm	DMF
	100	20	26.2	Màu sẫm	DMSO

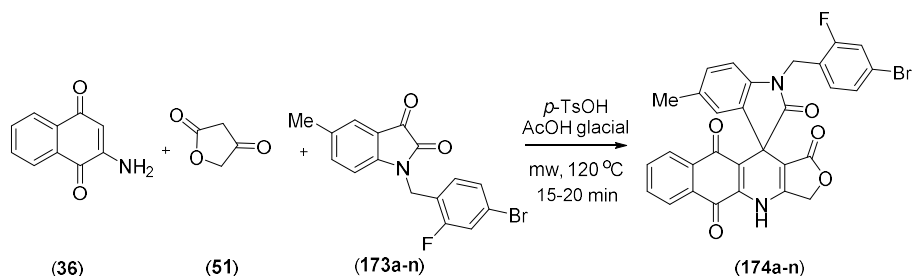
Thông qua bảng 3.2 luận án lựa chọn được điều kiện tối ưu nhất cho các phản ứng loại này đó là: nhiệt độ phù hợp để phản ứng cho hiệu quả tốt nhất trong khoảng 75 °C và dung môi DMF kết hợp với phương pháp vi sóng.

Các sản phẩm của quá trình ankylation thu được đều tồn tại ở dạng rắn, có màu vàng, đỏ hoặc cam, dễ dàng phân lập bằng sắc ký cột, không tan trong nước, tan tốt trong các dung môi hữu cơ như: methanol, ethanol, acetone, toluene, acid acetic, DMF hoặc DMSO... Do đây là những nguyên liệu cho thực hiện phản ứng ở bước sau, vì thế việc đánh giá, xác định cấu trúc của các dẫn xuất này sẽ được thực hiện cùng với các sản phẩm sau khi hoàn thành phản ứng domino.

3.3.2. Thực hiện phản ứng domino

Xu hướng kết hợp hai dược chất để tăng cường hiệu lực sinh học và dược lý, được các nhà khoa học tập trung, quan tâm nghiên cứu trong thời gian gần đây, nó hiện trở thành phương pháp phổ biến trong sàng lọc, tìm kiếm các hợp chất mới, trong đó có các hợp chất spiro.

Phản ứng domino đa thành phần là một phương pháp tổng hợp hiệu quả giúp tạo ra các hợp chất có cấu trúc phức tạp, đa dạng với nhiều trung tâm lập thể khác nhau từ các hợp phần có hoạt tính sinh học riêng rẽ.



Sơ đồ 3.6. Tổng hợp các dẫn xuất **174a-n** isatin-podophyllotoxin

Thông qua các số liệu phổ IR, ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất (**174m**) đã được qui kết, có thể khẳng định cấu trúc của hợp chất này hoàn toàn phù hợp với định hướng, dự kiến ban đầu. Trên cơ sở đó luận án đã tiến hành khảo sát các thông số cho quá trình tối ưu hoá phản ứng, nhằm lựa chọn được điều kiện tối ưu nhất để tiến hành phản ứng tổng hợp các dẫn xuất của lớp chất này.

Để lựa chọn điều kiện tối ưu cho thực hiện phản ứng domino 3 thành phần ở trên, luận án lựa chọn hợp chất (**174m**) để tiến hành khảo sát. Đầu tiên cho (1mmol) 2-amino-1,4-naphthoquinone (**36**) trộn với 1 mmol acid tetronic (**51**) và 1 mmol của hợp chất (**173m**), thời gian phản ứng là 30 phút trong thiết bị vi sóng, với 2 loại xúc tác là acid tosylic (p -TsOH) và acid L -proline; sử dụng các dung môi khác nhau như: CH_3CN , toluene, xylene, dioxane và CH_3COOH ở các mức nhiệt độ tương ứng như trong bảng 3.3

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của dung môi đến hiệu suất tổng hợp chất 174m

TT	Dung môi	Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất (%)	
			<i>p</i> -TsOH	<i>L</i> -proline
1	CH ₃ CN	80	45	50
2	Toluene	110	30	35
3	Xylen	120	40	35
4	Dioxan	100	35	30
5	CH ₃ COOH	110	85	80

Từ kết quả của bảng 3.3 có thể nhận thấy thực hiện phản ứng trong dung môi CH₃COOH khan với xúc tác là *p*-TsOH là phù hợp hơn cả, hơn nữa CH₃COOH tan tốt trong nước, vì vậy thuận lợi cho quá trình tách, chiết phân lập sản phẩm sau phản ứng. Hai loại xúc tác acid được khảo sát cho thấy không có sự khác biệt nhiều, trong khi *p*-TsOH xúc tác chọn lọc cho phản ứng ghép nối giữa các keton và aniline, còn *L*-proline là một chất xúc tác đa năng hỗ trợ cho nhiều loại phản ứng như: ngưng tụ Aldol, Mannich, cộng Michael, ngưng tụ Knoevenagel, phản ứng Hantzsch, Ullmann....

Bằng cách sử dụng dung môi là CH₃COOH khan và xúc tác là acid *p*-TsOH ở điều kiện nhiệt độ 110 °C, luận án đã tổng hợp được 14 dẫn xuất (174a-n) là các chất rắn dạng bột, có màu từ đỏ nhạt đến đỏ đậm, tan tốt trong CH₂Cl₂, MeOH theo Sơ đồ 3.6. Các thông số vật lý và thuộc tính của sản phẩm được trình bày trong bảng 3.4

Bảng 3.4. Các dẫn xuất hybrid isatin-podophyllotoxin-naphthoquinone

TT	Hợp chất	R	R'	Màu sắc	Nhiệt độ nc (°C)	Hiệu suất (%)
1	174a	H	H	Màu đỏ đậm	356 - 357	85
2	174b	5-Cl	H	Màu đỏ đậm	365 -366	70
3	174c	5-Me	H	Màu đỏ	361 - 362	83
4	174d	5-Br	H	Màu đỏ	310 - 311	82
5	174e	7-Me	H	Màu đỏ cam	367 - 368	74
6	174f	5,7-dibromo	H	Màu đỏ cam	364 - 365	73
7	174g	5,7-	H	Màu đỏ cam	372 - 373	75

TT	Hợp chất	R	R'	Màu sắc	Nhiệt độ nc (°C)	Hiệu suất (%)
		dimethyl				
8	174h	H	benzyl	Màu đỏ đậm	320 - 321	76
9	174i	H	4-CF ₃ -benzyl	Màu đỏ cam	335 - 336	87
10	174j	H	4-Cl-benzyl	Màu đỏ cam	292 - 293	78
11	174k	H	4-bromo-2-flo-benzyl	Màu cam	350 - 351	76
12	174l	5-Cl	4-CF ₃ -benzyl	Màu đỏ	354 - 355	85
13	174m	5-CH ₃	4-bromo-2-flo-benzyl	Màu đỏ	337 - 338	80
14	174n	5,6-dibromo	4-CF ₃ -benzyl	Màu đỏ cam	278 - 279	72

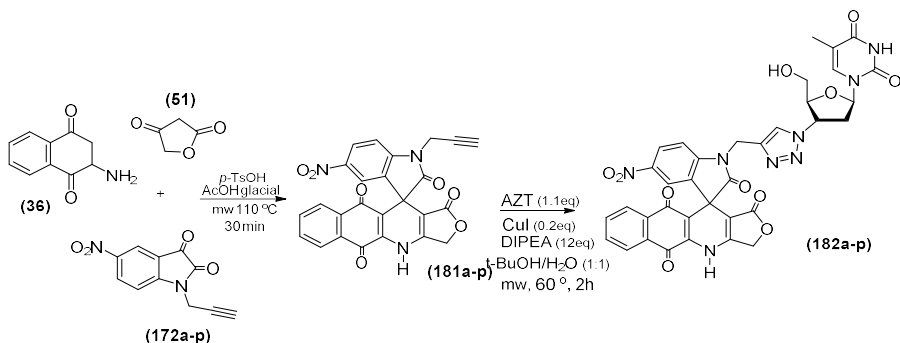
3.4. Tổng hợp các dẫn xuất podophylotoxin-isatin-AZT (182a-p)

AZT (3'-azido-2',3'- dideoxythymidine) là loại thuốc được biết đến rộng rãi trong điều trị cho các bệnh nhân mắc HIV. Trước khi được FDA chấp thuận cho điều trị hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải ở người (AIDS), nó đã được chứng minh là có tác dụng ức chế sự phát triển của nhiều loại tế bào ung thư ở người, đặc biệt khi kết hợp với các tác nhân hoá trị liệu khác cho thấy hiệu quả tích cực trong điều trị lâm sàng giai đoạn I và giai đoạn II đối với các bệnh nhân mắc bệnh ung thư đại tràng, bệnh bạch cầu, u lympho và các bệnh ác tính tiến triển khác.

Các nghiên cứu về sự kết hợp giữa hợp phần AZT với các tác nhân chống ung thư khác như quinoline, coumarin và sunfocoumarin qua cầu liên kết 1,2,3-triazole đều thu nhận được các kết quả tích cực (IC₅₀ từ 9-100 µM). Đặc biệt các kết quả nghiên cứu cho thấy các hợp chất lai này còn có khả năng kìm hãm sự phát triển của các khối u ác tính và ngăn chặn quá trình di căn bằng cách ức chế hoạt động của enzym telomerase (EC 2.7.7.49), là enzym có chức năng điều hòa phiên mã của con đường truyền tín hiệu Wnt/β-

catenin trong tế bào.

Trên cơ sở tổng hợp thành công các dẫn xuất giữa isatin và podophyllotoxin như đã trình bày trong mục 3.3.2, luận án tiếp tục thiết kế, tổng hợp các dẫn xuất của podophyllotoxin-isatin với AZT bằng cách kết hợp giữa phản ứng domino và phản ứng Click theo sơ đồ 3.7



Sơ đồ 3.7. Tổng hợp dẫn xuất podophyllotoxin-isatin -AZT

Quá trình được thực hiện qua 3 giai đoạn. Đầu tiên thực hiện phản ứng alkyl hoá giữa isatin và propargyl để thu được hợp chất (**172a-p**) (mục 3.3.1), sau đó tiến hành phản ứng domino ba thành phần giữa 2-amino-1,4-naphthoquinone (**36**), dẫn xuất (**172a-p**) của isatin với acid tetronic (**51**) trong acid acetic khan, sử dụng xúc tác là *p*-TsOH. Cuối cùng thực hiện phản ứng Click trong *tert*-BuOH/H₂O (1:1), sử dụng xúc tác Cu(I) ở nhiệt độ 60 °C với sự hỗ trợ của thiết bị vi sóng. Phản ứng xảy ra nhanh, cho hiệu suất tốt, sản phẩm được phân lập một cách dễ dàng bằng sắc kí cột, thời gian phản ứng được theo dõi bằng TLC với hệ dung môi *n*-hexane:EtOAc=1:1.

Hợp chất đầu dãy (**182a**) được lựa chọn để phân tích, xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ IR, NMR và HRMS.

Trên cơ sở kết quả tổng hợp dẫn xuất (**182a**), luận án đã tiến hành tổng hợp thành công 16 dẫn xuất (**182a-p**) của lớp chất này với hiệu suất từ 62 - 83% được đưa ra trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Tổng hợp các dẫn xuất hybrid podophylotoxin-isatin-AZT 182a-p

TT	Hợp chất	R	Màu sắc	Nhiệt độ nc (°C)	Hiệu suất (%)
1	182a	5-NO ₂	Màu cam	272 - 273	62
2	182b	H	Màu nâu đen	230 - 231	71
3	182c	7-Me	Màu nâu đỏ	282 - 283	74
4	182d	5-Cl	Màu đỏ cam	320 - 321	68
5	182e	5-F	Màu đỏ cam	276 - 277	77
6	182f	5-Br	Nâu đỏ	295 - 296	81
7	182g	5-OCH ₃	Màu nâu đỏ	285 - 286	78
8	182h	5,6-diflour	Màu nâu cam	246 - 247	66
9	182i	7-F	Màu đỏ cam	239 - 240	82
10	182j	5-OCF ₃	Màu nâu đen	131 - 132	65
11	182k	5,7-dibromo	Màu nâu đỏ	160 - 161	72
12	182l	4,6-dichloro	Màu nâu	280 - 281	83
13	182m	5-iodua	Màu cam hồng	206 - 207	67
14	182n	7-CF ₃	Màu nâu xám	250 - 251	74
15	182o	5-CH ₃	Màu đỏ nhạt	355 - 356	71
16	182p	5,7-dimethyl	Màu đỏ cam	268 - 269	69

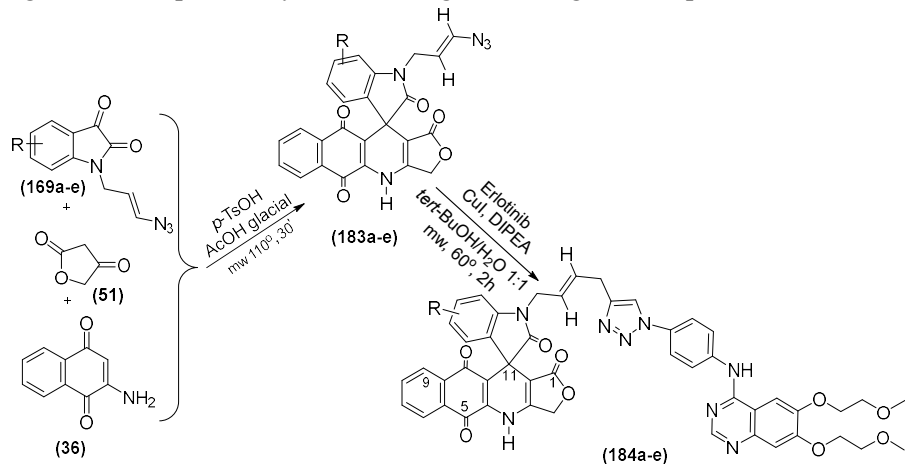
3.5. Tổng hợp các dẫn xuất podophylotoxin-isatin-Erlotinib (184a-e)

Erlotinib là chất ức chế protein tyrosine kinase phân tử nhỏ được FDA chấp thuận để điều trị ung thư phổi không phải tế bào nhỏ di căn (NSCLC), ung thư tuyến tụy và ung thư thực quản. Tuy nhiên tình trạng kháng thuốc và các phản ứng phụ khi dùng thuốc có chứa erlotinib ngày càng có xu hướng tăng và cần phải có các giải pháp hữu hiệu hơn

Khi đưa nhóm nhóm 1,2,3-triazole gắn vào erlotinib đã làm tăng đáng kể hiệu lực của thuốc chống khối u, do vòng 1,2,3-triazole có mô men lưỡng cực lớn, có thể tạo ra nhiều tương tác không cộng hoá trị với các nhóm thể khác nhau, từ đó làm giảm tình trạng kháng thuốc và hạn chế các tác dụng

phụ do erlotinib gây ra.

Xuất phát từ những cơ sở thực tiễn nêu trên, luận án tiến hành thiết kế, tổng hợp các dẫn xuất mới của podophyllotoxin-isatin với Erlotinib theo sơ đồ 3.13, nhằm mục đích tạo ra hợp chất vừa có khả năng ức chế tubulin vừa có khả năng ức chế protein tyrosine kinase thông qua các đánh giá, thử nghiệm của lớp chất này với các dòng tế bào ung thư ở cấp độ *in vitro*.



Sơ đồ 3.8. Tổng hợp các dẫn xuất hybrid của podophyllotoxin-isatin với Erlotinib

Cấu trúc của các sản phẩm (**184a-e**) được xác định bằng các phổ IR, NMR

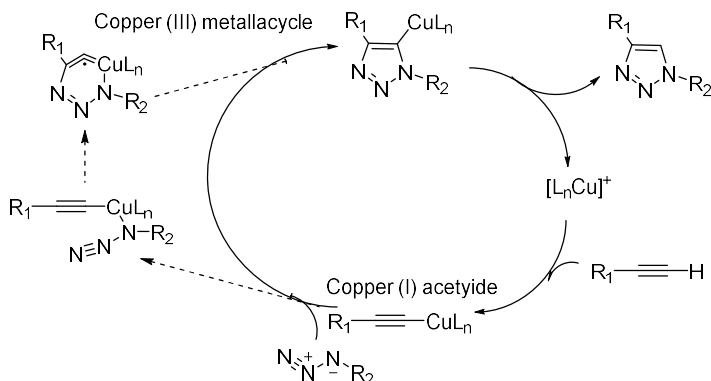
Với các tín hiệu phổ đã được ghi nhận, có thể khẳng định cấu trúc của sản phẩm thu được phù hợp với định hướng ghép nối ban đầu. Trên cơ sở đó luận án tiến hành tổng hợp được 05 (năm) dẫn xuất mới của podophyllotoxin-isatin-Erlotinib, kết quả được trình bày trong Bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả tổng hợp các hợp chất **184a-e**

TT	Hợp chất	R	Màu sắc	Nhiệt độ n.chảy ($^\circ\text{C}$)	Hiệu suất (%)
1	184a	5-Br	Màu vàng cam	261 - 262	41
2	184b	5,7-dibromo	Màu đỏ nâu	242 - 243	36

TT	Hợp chất	R	Màu sắc	Nhiệt độ n.chảy (°C)	Hiệu suất (%)
3	184c	7-F	Màu nâu xám	224 – 225	48
4	184d	5, 7-dimethyl	Màu xám	290 - 291	55
5	184e	4,6-difluor	Màu vàng nhạt	266 - 267	32

Cơ chế của phản ứng Click với xúc tác Cu (I) được chỉ ra trong sơ đồ 3. 9.



Sơ đồ 3.9. Cơ chế của phản ứng Click sử dụng xúc tác Cu(I)

Đầu tiên tạo ra các ion copper (I) acetylide, tiếp theo cộng hợp với tác nhân azide và sau đó đóng vòng tạo thành hợp chất trung gian copper (III) metallacycle, sau cùng là giai đoạn proton hoá và thu nhỏ vòng hình thành sản phẩm thế 1,4 của 1,2,3-triazole. Vai trò của ligan DIPEA hoạt động như một base, khử proton vòng triazole mới hình thành, giải phóng sản phẩm cuối cùng và tái tạo chất xúc tác đồng.

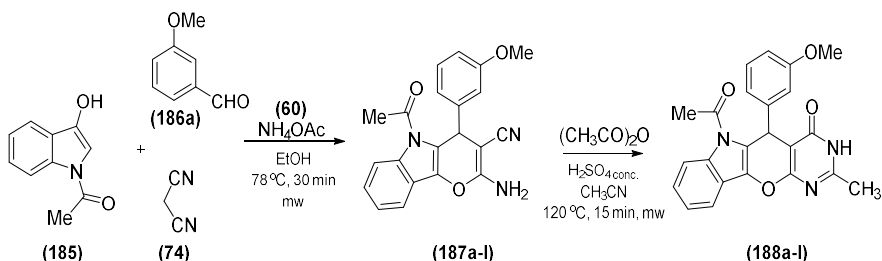
3.6. Kết quả tổng hợp các dẫn xuất indole-pyrano[2,3-d] pyrimidine

Với mục tiêu thiết kế, tổng hợp các dẫn xuất mới có khả năng ức chế chọn lọc các enzyme α -glucosidase và acetylcholinesterase (AChE), luận án đã tiến hành tích hợp indole vào vào khung pyrano[2,3-d]pyrimidine bằng phản ứng domino.

Bằng cách tinh chế, phân lập hợp chất trung gian (**187a**), nhóm

nghiên cứu đã tiến hành chụp phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ để xác định sơ bộ cấu trúc của hợp chất trung gian này, làm tiền đề cho nghiên cứu tiếp theo.

Sau khi tiến hành đánh giá sơ bộ cấu trúc của hợp chất trung gian (**187a**), thực hiện phản ứng cộng nucleophile trong môi trường acid, qua quá trình cộng đóng vòng nội phân tử, tách nước để tạo thành sản phẩm. Cấu trúc của hợp chất (**188a**) được xác định thông qua các tín hiệu phổ IR, NMR và HRMS.



Sơ đồ 3.10. Tổng hợp dẫn xuất Indole-pyrano[2,3-*d*] pyrimidine **188a-l**

Hợp chất (**188a**) được lựa chọn để phân tích, xác định cấu trúc bằng phổ IR, NMR và HRMS.

Luận án đã tiến hành nghiên cứu, khảo sát, xác lập điều kiện tối ưu để thực hiện phản ứng. Kết quả được trình bày trong bảng 3.7

Bảng 3.7. Khảo sát dung môi, xúc tác và nhiệt độ cho tổng hợp dẫn xuất **188a**

TT	Dung môi		Xúc tác (20% mol)		Nhiệt độ (°C)		Hiệu suất (%)	
	Bước 1	Bước 2	Bước 1	Bước 2	Bước 1	Bước 2	Hồi lưu	mw
1	EtOH	EtOH	DMAP	p-TsOH	70	100	N/A	
2	CH ₃ CN	EtOH	Et ₃ N	H ₂ SO ₄	80	110		30
3	EtOH	CH ₃ CN	NH ₄ OAc	H ₂ SO ₄	80	120		68
4	CH ₃ CN	<i>t</i> -BuOH	AcOH	H ₂ SO ₄	90	130		35
5	<i>t</i> -BuOH	Toluene	p-TsOH	H ₂ SO ₄	90	140		N/A
6	Toluene	Dioxane	NH ₄ OAc	p-TsOH	100	100	Nhiều vết	

TT	Dung môi		Xúc tác (20% mol)		Nhiệt độ (°C)		Hiệu suất (%)	
	Bước 1	Bước 2	Bước 1	Bước 2	Bước 1	Bước 2	Hồi lưu	mw
7	AcOH	CH ₃ CN	DMAP	Et ₃ N	110	110		N/A
8	Dioxane	AcOH	p-TsOH	NH ₄ OAc	120	120	N/A	

Kết quả từ bảng 3.7 cho thấy: hai dung môi phù hợp với nhiệt độ của bước 1 (80 °C) và bước 2 (120 °C) lần lượt là EtOH và CH₃CN; tương ứng với xúc tác NH₄OAc, xúc tác cho phản ứng ngưng tụ Knoevenagel ở bước 1 và H₂SO₄ tạo môi trường acid cho quá trình thủy phân, đóng vòng ở bước 2.

Căn cứ điều kiện phản ứng đã được xác lập ở trên, luận án tiến hành tổng hợp được 12 dẫn xuất hybrid của indole-pyrano[2,3-d]pyrimidone (**188a-l**). Kết quả tổng hợp và hiệu suất của các dẫn xuất được đưa ra trong Bảng 3.8

Bảng 3.8. Các hợp chất hybrid indole-pyrano[2,3-d]pyrimidine 188a-l

TT	Hợp chất	Màu sắc	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Hiệu suất (%)
1	188a	Màu trắng	370 - 371	68
2	188b	Màu trắng	374 - 375	72
3	188c	Màu trắng đục	372 - 373	75
4	188d	Màu vàng sáng	382 - 383	78
5	188e	Màu nâu	376 - 377	70
6	188f	Màu trắng	388 - 389	70
7	188g	Màu nâu	383 - 384	65
8	188h	Màu nâu xám	382 - 383	66
9	188i	Màu đen	385 - 386	68
10	188j	Màu nâu đen	386 - 387	65
11	188k	Màu nâu	384 - 385	68
12	188l	Màu trắng xám	381 - 382	75

Từ Bảng 3.8 có thể thấy, vai trò của các nhóm thế hút điện tử (-Hal, -NO₂, -CN) và các nhóm thế đẩy điện tử (-OCH₃, -CH₃) trên các aldehyde

thơm cũng không ảnh hưởng đến hiệu suất của phản ứng.

Như vậy, với việc khai thác triệt để lợi thế của phản ứng domino trong tổng hợp các hợp chất dị vòng, luận án đã tiến hành tổng hợp thành công 12 dẫn xuất mới của lớp chất hybrid indole-pyrano[2,3-d] pyrimidine thông qua hai bước từ các nguyên liệu đầu là *N*-acetylindoxyl (**185**), các aldehyde thơm (**186a-l**), malononitrile (**74**) và anhydride axetic ((CH₃CO)₂O); trong dung môi EtOH và CH₃CN với các chất xúc tác là NH₄OAc và H₂SO₄ tương ứng; hiệu suất phản ứng thu được từ 65 - 78%.

3.7. Đánh giá, thử nghiệm hoạt tính sinh học của các chất tổng hợp được

3.7.1. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất 161a-m

Qua số liệu thử nghiệm có thể thấy tất cả các dẫn xuất đều cho thấy hoạt tính gây độc tế bào cao và trung bình đối với tất cả các dòng tế bào ung thư được thử nghiệm với giá trị IC₅₀ từ: 0,16 - 14,22 μM. Trong đó hoạt tính gây độc tế bào của 3 hợp chất (**161a**, **h**, **k**) tốt hơn hoạt tính của ellipticine đối với cả 4 dòng tế bào ung thư đã thử nghiệm.

3.7.2. Hoạt tính gây độc tế bào của lớp chất 182a-p

Kết quả thử nghiệm cho thấy: 15/16 hợp chất của lớp chất này đều không ghi nhận được giá IC₅₀. Riêng hợp chất (**182n**) thể hiện hoạt tính gây độc yếu ở 2 dòng tế bào ung thư KB và MCF-7 với các giá trị IC₅₀ tương ứng: 15.82 ± 0.02 và 15.64 ± 0.11 μM. Chúng tôi lớp chất này được coi là các hợp chất có khả năng ức chế kém hoặc không có hoạt tính gây độc tế bào ung thư (theo Viện ung thư quốc gia Hoa Kỳ (NCI)).

3.7.3. Hoạt tính gây độc tế bào của lớp chất 184a-e

Số liệu thử nghiệm cho thấy chỉ có trường hợp dẫn xuất **184e** thể hiện giá trị ức chế mạnh đối với dòng tế bào KB và A549, HepG2. Giá trị này cao gấp 2 lần so với giá trị IC₅₀ của Ellipticine, trong khi đó khả năng gây độc đối với dòng tế bào lành tính Hek-293 có giá trị IC₅₀ = 3.32 μM, chỉ bằng ½ so với Ellipticine.

3.7.4. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào các dẫn xuất 174a-n

Kết quả thử nghiệm cho thấy tất cả các dẫn xuất của lớp chất (**174a-n**) đều thể hiện hoạt tính ức chế từ trung bình đến mạnh đối với bốn dòng tế

bào ung thư, với giá trị IC_{50} từ 0.90 đến 51.68 μM và khi đưa nhóm thế bromo vào các vị trí trong vòng thơm của isatin mà không thực hiện phản ứng alkyl hoá tại vị trí N-1, đã làm tăng khả năng ức chế đối với các dòng tế bào ung thư được thử nghiệm

3.7.5. Phân tích chu kỳ tế bào hợp chất (174f) đối với tế bào A549

Kết quả từ bảng 3.9 và có thể thấy, hợp chất (174f) gây ra sự gia tăng đáng kể quá trình tích tụ tế bào trong pha S, kèm theo quá trình giảm các tế bào trong pha G0/G1. Chứng tỏ hợp chất này có hoạt tính chống tăng sinh thông qua việc bắt giữ tế bào ở pha S dẫn tới làm ngừng chu kỳ tế bào thử nghiệm (A549).

Bảng 3.9. Tỷ lệ tế bào A549 theo pha khi thử nghiệm

Mẫu thử	Tỷ lệ tế bào theo pha (%)		
	% G0/G1	% S	% G2/M
DMSO (0.5%)	32.70	52.96	10.84
174f (0.45 μM)	36.01	47.96	13.49
174f (0.9 μM)	26.63	67.93	4.17
174f (1.8 μM)	20.81	63.88	13.61

3.7.6. Quá trình kích hoạt apoptosis của hợp chất 174f

Bảng 3.10. Tỷ lệ (%) tế bào apoptosis

Mẫu thử	% tế bào hoại tử	% tế bào Apoptosis sớm	% tế bào Apoptosis muộn	% tổng số tế bào apoptosis
Đối chứng	0.46	1.39	1.09	2.48
Camptothecin (2 μM)	1.99	30.71	11.05	41.76
174f (0.45 μM)	0.64	1.76	1.26	3.02
174f (0.9 μM)	0.94	3.13	1.83	8.09
174f (1.8 μM)	2.53	12.68	6.72	19.4

Kết quả trên bảng 3.10 cho thấy sự gia tăng tế bào chết theo chương trình khi tăng liều lượng từ 2,48% lên 3,02%, 8,09% và 19,4%. Chứng tỏ dẫn xuất (174f) ức chế sự phát triển của tế bào ung thư phổi A549 thông qua quá

trình apoptosis và quá trình này tăng dần khi thử nghiệm ở các nồng độ cao hơn, đặc biệt là ở giai đoạn đầu của quá trình apoptosis.

3.7.7. *Nghiên cứu docking phân tử hợp chất (174f)*

Luận án tiến hành nghiên cứu docking phân tử CDK2/cyclin A và CDK/p25 nhằm tìm hiểu cơ chế tương tác giữa hợp chất (174f) với phức hợp của các CDK này cùng với một tác nhân gây ra quá trình apoptosis là procaspase/caspase 6.

Kết quả: các dẫn xuất podophyllotoxin-isatin được phát hiện có liên quan đến nhiều tương tác xếp chồng với Ala31, Val64, Leu134 và đặc biệt là Phe80. Ngoài ra, liên kết H từ nhóm NH và CO, cũng như nhóm 5,7-dibromoisatin hướng tới xương sống O của Glu12, Leu83 và chuỗi bên O của Asp86, ổn định đáng kể khả năng thích ứng của (174f) tại vị trí liên kết ATP của CDK2/cyclin A và CDK5/p25. Điểm gắn kết là -27,35 kcal/mol được tính toán cho (174f), thấp hơn so với điểm của phối tử ATP tự nhiên (-35,84 kcal/mol).

Sau khi gắn hợp chất (174f) vào cùng vị trí và phát hiện ra rằng dẫn xuất này cũng tạo phức bidentate với ion Zn thông qua hai nhóm C=O của isatin và vòng lactone cùng các nhóm 5,7-dibromoisatin. Những kết quả này chỉ ra rằng hợp chất tổng hợp có thể hoạt hoá procaspase theo cùng cách mà PAC-1 đã thực hiện. Tuy nhiên, có một sự khác biệt giữa hình dạng phối trí của hợp chất (174f) và PAC-1 khi cùng tạo phức với ion Zn và hợp chất (174f) có mức năng lượng gắn kết thấp hơn (-19.10 kcal/mol) so với PAC-1 (-23.81 kcal/mol).

Dự đoán các tính chất dược động học của hợp chất 174f

Dựa trên một số quy tắc giống thuốc, hợp chất này đáp ứng các quy tắc Lipinski và Pfizer nhưng không tuân theo quy tắc GSK. Trong số các tính chất lý hóa được tính toán theo lý thuyết, tính ưa béo (LogP), độ hòa tan (LogS) và số vòng (nRig) nằm ngoài phạm vi giống thuốc. Ngoài ra, nó được phân loại tạm thời là BCS loại II, có thể cần một số sửa đổi để cải thiện độ hòa tan trong nước.

Bảng 3.11. Dự đoán độc tính của hợp chất **174f** sử dụng ADMETlab 2.0

TT	Độc tính	174f	Ghi chú
1	Độc tính AMES	Không	
2	Ức chế hERG	Không	
3	Độc tính với gan	Có	
4	Nhạy cảm với da	Không	
5	Độc tính cấp đường uống	0.832	độc tính thấp > 500 mg/kg

Các tính chất liên quan đến ADMET đã được đánh giá, cho thấy mối quan tâm chính sẽ là quá trình chuyển của cytochrome P450. Hợp chất (**174f**) được dự đoán là chất nền cho một số enzyme chuyển hóa lần đầu như: CYP3A4, CYP1A2, CYP2C9 và các enzyme khác. Do đó hợp chất này sẽ có sinh khả dụng đường uống thấp. Về mặt độc tính theo bảng 3.11 rõ ràng (**174f**) không cho thấy tương tác với gen liên quan đến hERG của con người, gen này là nguyên nhân chính gây độc tính cho tim. Ngoài ra, hợp chất này cho thấy độc tính thấp đối với da, hệ hô hấp nhưng lại gây ra độc tính cho gan. Độc tính cấp tính đường uống của nó ở chuột được xác định là thấp với liều gây chết > 500 mg/kg.

3.7.8. Kết quả nghiên cứu docking phân tử lớp chất (**161a-m**)

Podophyllotoxin từ lâu đã được coi là tác nhân làm mất ổn định vi ống liên kết với vị trí colchicine trong tubulin, qua đó ức chế quá trình trùng hợp tubulin và ngăn chặn việc sản xuất các vi ống. Do đó luận án đã sử dụng phương pháp ghép nối phân tử để đánh giá sự tương tác của các hợp chất (**161a-m**) với tubulin, sử dụng chất đối chứng dương là Colchicine.

Khi tiến hành docking 13 dẫn xuất của dãy (**161a-m**) vào CBS của tubulin cho thấy tất cả chúng đều có khả năng gắn vào vị trí hoạt động của colchicine trong tubulin. Hầu hết các hợp chất được tổng hợp đều bảo tồn các tương tác chính như liên kết hydro giữa nhóm carbonyl của vòng quinone và Val181, Ala180; các tương tác kỵ nước chủ yếu là chồng chất pi-alkyl với hầu hết các amino acid trong vùng 2 như Lys352, Ala317, Ala316, Leu255,

Ala250 và nhiều amino acid khác. Hơn nữa, tất cả các hợp chất đã tạo ra các liên kết hydro giữa nguyên tử N và Thr179, điều này không có trong colchicine, làm cho nó gắn kết mạnh hơn với vị trí hoạt động.

Hợp chất (**161h**) có năng lượng gắn kết cao nhất là $-17.86 \text{ kcal mol}^{-1}$ nhờ vào các liên kết hydro chính với các amino acid của vùng 1 và các tương tác kỵ nước tương tự như hợp chất (**161k**). Kết quả cũng cho thấy các giá trị cao nhất của năng lượng Hbond và Hphob ở các dẫn xuất (**161h**) và (**161k**) so với các dẫn xuất khác, điều này phù hợp với thứ tự xếp hạng của các hợp chất.

Các hợp chất được gắn kết với tubulin đều tạo ra khả năng kỵ nước và nhờ lực tương tác Van der Waal làm tăng khả năng liên kết với tubulin của các hợp chất thử nghiệm. Kết quả docking của lớp chất (**161a-m**) phù hợp với kết quả thử nghiệm gây độc tế bào đã được bàn luận ở mục 3.7.2

Khi dự báo các đặc tính liên quan đến hấp phụ, phân phối, chuyển hoá và bài tiết (ADMET), các kết quả cho thấy cả hai hợp chất đều có khả năng hấp thụ cao ở đường ruột của người và ít thẩm qua da, đồng thời có thời gian bán hủy ngắn.

Bảng 3.12.. Dự đoán độc tính của hợp chất 161h, k

TT	Độc tính	161h (xác suất)	161k (xác suất)
1	Khoá hERG	Không tác động (0.002)	Không tác động (0.009)
2	Độc tính với gan	Không có (0.425)	Không có (0.12)
3	Độc tính AMES	Không (0.324)	Không (0.273)
4	Độc tính cấp đường uống	Không (0.413)	Không (0.436)
5	Nhạy cảm với da	Không (0.497)	Có (0.747)
6	Độc tính hô hấp	Có (0.687)	Có (0.893)
7	K 161h ỉ mắt	Không (0.263)	161k ồng (0.135)

Kết quả mô phỏng từ bảng 3. 12 cho thấy: cả hai hợp chất đều không phải là thuốc khoá hERG, có tác dụng gây độc tim thấp, không xuất hiện độc tính với gan, không gây đột biến gene và ăn mòn mắt. Hợp chất (**161k**) có

thể gây phản ứng với da và đường hô hấp, còn hợp chất (**161h**) hầu như không có biểu hiện tương tác với các cơ quan của cơ thể, ngoại trừ hệ hô hấp.

3.7.9. *Đánh giá hoạt tính ức chế α -Glucosidase (188a-l)*

Hầu hết các sản phẩm đều thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase đáng kể với giá trị IC_{50} dao động từ 2.49 ± 0.02 đến $202.09 \pm 15.72 \mu M$, trừ hợp chất **188h** không có hoạt tính. Cá biệt có những hợp chất ứng, mạnh gấp 93 đến 27 lần so với chất đối chứng acarbose ($IC_{50} = 231.30 \pm 6.55 \mu M$).

3.7.10. *Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE) (188a-l)*

Kết quả thử cho thấy chỉ có 2 dẫn xuất là (**188a**) và (**188k**) thể hiện khả năng ức chế trung bình đối với AChE tương ứng với các giá trị IC_{50} lần lượt là 16.99 ± 1.12 và $5.39 \pm 0.51 \mu M$, còn lại các dẫn xuất đều thể hiện hoạt tính yếu hoặc không có hoạt tính. Rõ ràng khi đưa thêm các nhóm thế vào vòng phenyl đã góp phần làm giảm hoạt tính ức chế enzym AChE so với vòng phenyl ban đầu (**188k**).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Đã đề xuất 04 quy trình tổng hợp thành công 48 dẫn xuất mới của podophyllotoxin, các sản phẩm này được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại như: IR, NMR, HRMS. Cụ thể:
 - 27 hợp chất được tổng hợp bằng phản ứng domino gồm
 - + 13 dẫn xuất 4-aza-podophyllotoxin (**161a-m**), hiệu suất đạt 60 - 74%
 - + 14 dẫn xuất podophyllotoxin-isatin (**174a-n**), hiệu suất: 70 - 85%.
 - 21 hợp chất sử dụng kết hợp giữa phản ứng domino với phản ứng click:
 - + 16 dẫn xuất podophyllotoxin-isatin-AZT (**182a-p**), hiệu suất: 62 - 85%
 - + 05 dẫn xuất podophyllotoxin-isatin-Erlotinib (**184a-e**), hiệu suất: 32 - 55%
 - Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư người: KB, HepG2, A549, MCF-7 và tế bào Hek-293 cho thấy: 29/48 hợp chất thể hiện khả năng gây độc tế bào ung thư, tiêu biểu là 05 hợp chất:

(**161h**), (**161k**), (**174f**), (**174n**) và (**184e**) có các giá trị IC_{50} thấp hơn hoặc tương đương với chất đối chứng trong phép thử cùng điều kiện.

- Lựa chọn hợp chất (**174f**), thử nghiệm, đánh giá khả năng ức chế chu kỳ tế bào và kích hoạt quá trình apoptosis đối với tế bào ung thư phổi A549. Kết quả hợp chất này làm ngừng hoạt động chu kỳ tế bào ở pha S và gây ra quá trình apoptosis sớm ở tế bào được thử nghiệm.

2. Áp dụng phản ứng domino, đề xuất 01 quy trình và tổng hợp thành công 12 hợp chất mới của indole-pyrano[2,3-*d*]pyrimidine (**188a-l**) với hiệu suất đạt từ: 65 - 78%. Cấu trúc của các sản phẩm được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại (IR, NMR, HRMS). Kết quả thử nghiệm khả năng ức chế với 02 enzym α -glucosidase và Acetylcholinesterase (AChE) cho thấy: nhóm lớp chất này có khả năng ức chế tốt enzym α -glucosidase (11/12 hợp chất, tiêu biểu như các hợp chất **188i**; **188e**; **188d**, đồng thời thể hiện khả năng ức chế từ trung bình đến yếu đối với enzym AChE (2/12 dẫn xuất ức chế trung bình).
3. Tiến hành nghiên cứu mô phỏng ADMET, docking phân tử đối với hợp chất (**174f**) và lớp chất (**161a-m**), qua đó giúp hiểu rõ hơn cơ chế tác động của các hợp chất với enzym đích, cũng như giúp hỗ trợ thiết kế thuốc hiệu quả hơn. Kết quả cho thấy:

- Hợp chất (**174f**) gây ra quá trình apoptosis ở tế bào thử nghiệm (A549) bằng cách hoạt hoá procaspase/caspase và các phức hợp CDK2/cyclinA và CDK5/p25.

- Hai hợp chất (**161h**, **161k**) có khả năng ức chế quá trình trùng hợp tubulin và ngăn chặn việc sản xuất vi ống tương tự cơ chế của podophyllotoxin.

Kiến nghị

Hợp chất (**174f**) có khả năng ức chế chu kỳ tế bào ở pha S, kích hoạt quá trình apoptosis sớm, có độc tính thấp, phù hợp với các quy tắc của thuốc, do đó nó có tiềm năng phát triển thành thuốc điều trị ung thư. Vì vậy rất cần những nghiên cứu, thử nghiệm chuyên sâu tiếp theo.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã đề xuất 5 quy trình mới và các cơ chế hình thành, đề tổng hợp các hợp chất của podophyllotoxin, pyrimidine từ phản ứng domino; kết hợp giữa phản ứng domino với phản ứng Click
2. Tổng hợp thành công 60 dẫn xuất mới, chưa từng được công bố trong các tài liệu trước đó, bao gồm:
 - 13 hợp chất hybrid của podophyllotoxin **161a-m**.
 - 14 hợp chất podophyllotoxin - isatin **174a-n**.
 - 16 hợp chất của podophyllotoxin - isatin - AZT **182a-p**.
 - 05 hợp chất hybrid của podophyllotoxin - isatin - Erlotinib **184a-e**
 - 12 hợp chất indole pyrano[2,3-d] pyrimidine **188a-l**.
3. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào phát hiện 05 hợp chất gồm: **161h**, **161k**, **174f**, **174n**, **184e** có giá trị IC_{50} thấp hơn hoặc tương đương với chất đối chứng Ellipticine và 03 hợp chất: **188l**; **188e**; **188d** có giá trị IC_{50} cao hơn chất đối chứng Acarbose từ 27 đến 93 lần trong phép thử ức chế enzym α -glucosidase
4. Kết quả nghiên cứu docking phân tử và ức chế chu kỳ tế bào, apoptosis, phát hiện hợp chất (**174f**) có khả năng ức chế chu kỳ tế bào ở pha S, kích hoạt quá trình apoptosis sớm và có độc tính thấp, có tiềm năng phát triển thành thuốc điều trị. 02 hợp chất (**161h**) và (**161k**) có độc tính thấp và khả năng ức chế tubulin tương tự podophyllotoxin.

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Ha Thanh Nguyen, Anh Nguyen Tuan, Tuyet Anh Dang Thi, **Ket Tran Van**, Giang Le-Nhat-Thuy, Phuong Hoang Thi, Quynh Giang Nguyen Thi, Cham Ba Thi, Hung Tran Quang, Tuyen Van Nguyen, 2024, Synthesis, in vitro A-Glucosidase, and acetylcholinesterase inhibitory activities of novel Indol-Fused Pyrano[2,3-D]Pyrimidine compounds, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 98, p 129566.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2023.129566>
2. Ha Thanh Nguyen, **Ket Tran Van**, Hai Pham-The, Julien Braire, Phuong Hoang Thi, Tuan Anh Nguyen, Quynh Giang Nguyen Thi, Tuyet Anh Dang Thi, Giang Le-Nhat-Thuy, Tu Anh Le Thi, Doan Vu Ngoc, and Tuyen Nguyen Van, 2024, Synthesis, molecular docking analysis and in vitro evaluation of new heterocyclic hybrids of 4-azapodophyllotoxin as potent cytotoxic agents, *RSC Advances*, 14(3), pp 1838-1853.
<https://doi.org/10.1039/d3ra07396c>
3. Ha Thanh Nguyen, **Ket Tran Van**, Hai Pham-The, Quang-Bao Le, Giang Le-Nhat-Thuy, Tuyet Anh Dang Thi, Phuong Hoang Thi, Quynh Giang Nguyen Thi, Anh Nguyen Tuan, Doan Vu Ngoc, and Tuyen Van Nguyen, 2025, Synthesis, cytotoxicity, apoptosis-inducing activity and molecular docking studies of novel isatin-podophyllotoxin hybrids, *RSC Advances*, 15(4), pp.2825-2839
<https://doi.org/10.1039/d4ra08691k>