

**TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG ỨC CHẾ
ACETYLCHOLINESTERASE CỦA MỘT SỐ DẪN CHẤT
FLUORO THƠM MỚI MANG KHUNG
2-(5-(PYRIDIN-2-YL)-1H-TETRAZOL-1-YL)ACETAMID**

**Nguyễn Viết Hùng^{1,2*}, Trần Phương Thảo¹, Hoàng Văn Hải³,
Lê Thiên Bảo Long¹, Ngô Sơn Tùng⁴, Lê Quốc Tiến¹,
Bùi Thị Hồng Nhung¹, Trần Đình Hoàng¹, Vũ Ngọc Hải Linh¹**

1. Trường Đại học Dược Hà Nội

2. Trường Đại học Mở - Địa chất

3. Trường Đại học Phenikaa

4. Trường Đại học Tôn Đức Thắng

*Email: nguyenviethung@humg.edu.vn

Ngày nhận bài: 18/11/2024

Ngày phản biện: 08/01/2025

Ngày duyệt đăng: 25/01/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Bệnh Alzheimer (AD) có liên quan đến sự thiếu hụt chất dẫn truyền thần kinh acetylcholin (ACh), do chất này bị thủy phân và bất hoạt bởi enzym acetylcholinesterase (AChE), một enzym được tìm thấy trong các khớp dây thần kinh. Vì vậy, AChE trở thành mục tiêu quan trọng và tiềm năng trong nghiên cứu và phát triển thuốc mới định hướng điều trị bệnh AD. **Mục tiêu nghiên cứu:** Tổng hợp được năm dẫn chất fluoro thơm mới IVa-e mang khung 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamid, đánh giá tác dụng ức chế AChE và nghiên cứu đặc tính “giống thuốc” của năm dẫn chất. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Từ nguyên liệu ban đầu 2-pyridin carbonitril, các dẫn chất sau khi tổng hợp được khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hồng ngoại (IR), phổ khối (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), nghiên cứu đặc tính giống thuốc và thử tác dụng ức chế AChE. **Kết quả:** Các chất đều có dạng tinh “giống thuốc”, kết quả khẳng định cấu trúc phù hợp với công thức dự kiến. Các dẫn chất IVa-e đều có khả năng ức chế AChE nhất định ở các nồng độ 75 μ M và 125 μ M. Đặc biệt, chất IV-b ức chế AChE cao nhất ở cả hai nồng độ. **Kết luận:** Đã tổng hợp được 5 dẫn chất phù hợp với công thức dự kiến. Các chất không vi phạm các quy tắc Lipinski và quy tắc Veber và đều có khả năng ức chế AChE.

Từ khóa: Alzheimer, Acetylcholinesterase inhibitors, Tetrazole, Aromatic fluoro.

ABSTRACT

**SYNTHESIS AND EVALUATION
OF THE ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORY EFFECT OF SOME
NEW FLUOROAROMATIC DERIVATIVES BEARING
2-(5-(PYRIDIN-2-YL)-1H-TETRAZOL-1-YL)ACETAMID SCAFFOLD**

**Nguyen Viet Hung^{1,2*}, Tran Phuong Thao¹, Hoang Van Hai³,
Le Thien Bao Long¹, Ngo Son Tung⁴, Le Quoc Tien¹,
Bui Thi Hong Nhung¹, Tran Dinh Hoang¹, Vu Ngoc Hai Linh¹**

1. Hanoi University of Pharmacy; 2. Hanoi University of Mining and Geology;

3. PHENIKAA University; 4. Ton Duc Thang University

Background: Alzheimer's disease (AD) is associated with a deficiency of the neurotransmitter acetylcholine (ACh) due to its hydrolysis and inactivation by the enzyme acetylcholinesterase (AChE).

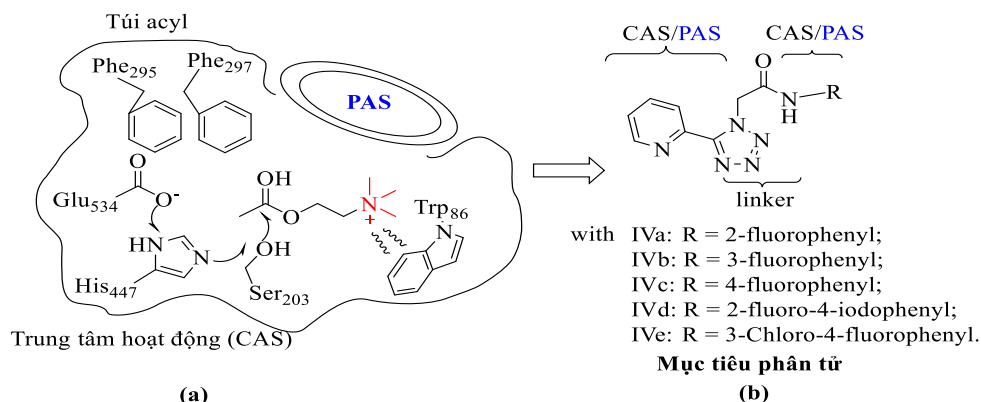
Therefore, AChE is an important and potential target in the discovery and development of new drugs for the treatment of AD. **Objectives:** Synthesizing five new fluoroaromatic derivatives IVa-e bearing the 2-(5-(pyridine-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamid scaffold, evaluate the AChE inhibitory effect and study the "drug-like" properties. **Materials and methods:** Synthesized from the starting material 2-pyridine carbonitrile. Five derivatives were structurally confirmed by infrared spectroscopy (IR), mass spectrometry (MS), nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Accordingly, drug-like properties and AChE inhibitory activity studies were conducted. **Results:** All compounds have "drug-like" properties. The spectral structure confirmation results showed good agreement with the expected structures. The IVa-e derivatives all had certain AChE inhibitory abilities at concentrations of 75 μ M and 125 μ M. In particular, IV-b inhibited AChE the most at both concentrations. **Conclusion:** Five derivatives were synthesized that fit the intended structures, they didn't violate Lipinski's 5 rules and Veber's rule, and they all capable of inhibiting AChE.

Keywords: Alzheimer, Acetylcholinesterase inhibitors, Tetrazole, Fluoroaromatic.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Alzheimer (AD) chiếm khoảng 60% đến 80% trong nhóm bệnh sa sút trí tuệ [1]. Theo giả thuyết cholinergic, AD có liên quan đến sự thiếu hụt chất dẫn truyền thần kinh quan trọng là acetylcholin hoặc butyrylcholin do chúng bị thủy phân bởi AChE. Các thuốc được lựa chọn để điều trị AD theo hướng ức chế AChE được FDA phê duyệt như donepezil, rivastigmin, galantamin, tacrin [2], tuy nhiên chúng đều có các tác dụng phụ đáng kể [3]. Do vậy, nghiên cứu để tìm ra các chất ức chế AChE mới vẫn là một chiến lược đầy hứa hẹn.

Trung tâm hoạt động của AChE gồm ba thành phần quan trọng (Hình 1a): vùng trung tâm hoạt động (CAS) ở "đáy" kênh enzym, vùng lòng kênh và vùng ngoại vi hay vùng trung tâm dị lập thể (PAS) ở "miệng" kênh enzym [4].



Hình 1. (a) Minh họa cấu trúc của AChE [5]; (b) Cấu trúc của các dẫn chất mục tiêu

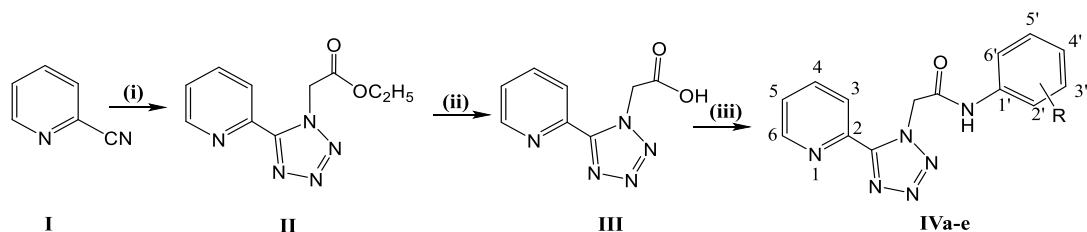
Nhiều nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, các dẫn chất chứa vòng tetrazol có tính acid [6] và có khả năng tương tác với một số đích phân tử tiềm năng trong điều trị Alzheimer theo hướng ức chế AChE [7-9], đặc biệt là với vùng CAS của vòng tetrazol dạng tương tác sếp chồng pi-pi, pi-alkyl hoặc liên kết hydro [10]. Thêm vào đó, dẫn chất pyridin cũng thể hiện khả năng ức chế AChE thông qua tương tác của vòng pyridin với vùng PAS [11]. Tuy nhiên, sự ảnh hưởng của vòng fluoro aryl gắn với khung cấu trúc tetrazol acetamid tới AChE chưa được quan tâm.

Dựa trên phân tích mối liên hệ giữa cấu trúc và khả năng tương tác với AChE, bài báo được thực hiện với mục tiêu: tổng hợp năm dẫn chất fluoro thơm mới mang khung 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamid IVa-e (Hình 1b) và thử tác dụng ức chế AChE nhằm tìm ra chất ức chế AChE tiềm năng trong việc điều trị AD.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Khung dẫn chất thơm 2-(5-(pyridin-2-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl)acetamid và enzym acetylcholinesterase, phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC) và các phương pháp phổ (IR, NMR, MS).

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Tổng hợp năm dẫn chất IVa-e mang khung 2-(5-(pyridin-2-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl)acetamid được tổng hợp từ chất đầu 2-pyridin carbonitril (I) theo sơ đồ 1:



IVa. R = 2-fluoro; IVb. R = 3-fluoro; IVc. R = 4-fluoro; IVd. R = 2-fluoro-4-iodo; IVe. R = 3-chloro-4-fluoro

Sơ đồ 1. Quy trình tổng quát tổng hợp các dẫn chất IVa-e. Thuốc thử và điều kiện:
(i) 1. NaN_3 , ZnCl_2 , DMF, 120°C , 2h; 2. etyl 2-chloroacetat, 60°C , 2h; (ii) 1. NaOH, MeOH, nhiệt độ phòng, 30 phút; 2. HCl đậm đặc, pH=1-2; (iii) dẫn xuất amin, HOBT, EDC.HCl, TEA, DCM, DMF, nhiệt độ phòng, 4h.

Hóa chất, thuốc thử, dung môi mua từ các nhà cung cấp uy tín, sử dụng trực tiếp. Sự tiến triển của các phản ứng được theo dõi bằng TLC ở bước sóng 254 nm. Cấu trúc các chất tổng hợp được khẳng định thông qua các loại phổ: phổ IR ghi trên máy FTIR Affinity-1S-Shimadzu (Nhật Bản); phổ NMR được đo trên máy Bruker AC-500 MHz; phổ khối được ghi bằng máy Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS (United States).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tổng hợp hóa học

Hợp chất trung gian II được tổng hợp như sau: hòa tan I (1,0 đương lượng (eq)) trong *N,N*-dimethylformamid (DMF), thêm tiếp NaN_3 (1,5 eq) và ZnCl_2 (0,1 eq) vào bình phản ứng, đun hồi lưu ở 120°C . Sau 3 giờ, hạ nhiệt độ của phản ứng xuống 60°C , thêm etyl 2-chloroacetat (1,5 eq), duy trì phản ứng ở 60°C trong 3 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng, điều chỉnh hệ đến pH = 8 bằng Na_2CO_3 bão hòa, lọc và chiết dịch lọc bằng ethylacetat (EA). Tinh chế bằng sắc ký cột với pha động EA:*n*-hexan (2:3) thu được hai đồng phân N1 và N2. Sử dụng đồng phân N1 (II) làm nguyên liệu cho phản ứng tiếp theo.

Hợp chất trung gian III được tổng hợp bằng cách: hòa tan chất II (1 eq) trong methanol (MeOH), thêm tiếp NaOH (2,0 eq). Khuấy hỗn hợp khoảng 30 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó chỉnh về pH = 1-2 bằng acid HCl đặc. Cô quay để thu được cặn, hòa tan cặn trong hệ methanol:dichlormethan (MeOH:DCM, 2:1) và lọc loại NaCl, thu được chất III.

Hợp chất *N*-(2-fluorophenyl)-2-(5-(pyridin-2-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl)acetamid (IVa) tổng hợp bằng cách hòa tan III trong DCM, thêm lần lượt hydroxybenzotriazol (HOBt) (1,0 eq), *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid hydrochlorid (EDC.HCl) (1,0 eq), 2-fluoroanilin (1,2 eq), triethylamin (TEA) (2,0 eq). Khuấy trộn trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Cô quay loại dung môi, sau đó thêm NaHCO_3 10% đến pH = 8 và chiết hệ với EA thu lớp hữu cơ. Làm khan và tinh chế bằng sắc ký cột với pha động EA:*n*-hexan thu được chất IVa.

Quá trình tổng hợp các chất IVb-e thực hiện tương tự như chất IVa nhưng thay 2-fluoroanilin bằng nguyên liệu khác, cụ thể như sau:

Tổng hợp *N*-(3-fluorophenyl)-2-(5-(pyridin-2-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl)acetamid (IVb) từ chất trung gian III với nguyên liệu 3-fluoroanilin (1,2 eq).

Tổng hợp *N*-(4-fluorophenyl)-2-(5-(pyridin-2-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl)acetamid (IVc) từ chất trung gian III với nguyên liệu 4-fluoroanilin (1,2 eq).

Tổng hợp *N*-(2-fluoro-4-iodophenyl)-2-(5-(pyridin-2-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl)acetamid (IVd) từ chất trung gian III với nguyên liệu 2-fluoro-4-iodoanilin (1,2 eq).

Tổng hợp *N*-(3-chloro-4-fluorophenyl)-2-(5-(pyridin-2-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl)acetamid (IVe) từ chất trung gian III với nguyên liệu 3-chloro-4-fluoroanilin (1,2 eq).

Kết quả chỉ tiêu hóa lý, độ tinh khiết, các loại phổ của các dẫn chất IVa-e như sau:

Dẫn chất IVa. Màu sắc: trắng, hiệu suất tổng hợp (*H*%): 63%, nhiệt độ nóng chảy (*T*_{nc}): 188,3-189,5°C. *R*_f = 0,65 (EA:*n*-Hexan = 2:1), IR (KBr, cm⁻¹): 3279 (NH amid); 3063 (CH aromatic); 1672 (C=O); 1598 (C=N); 1542, 1549 (C=C aromatic); 737 (C-F). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 10,50 (s, 1H, NH); 8,76 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₆); 8,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H₃); 8,03 (td, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H, H₄); 7,92-7,89 (m, 1H, H_{6'}); 7,59-7,56 (m, 1H, H₅); 7,34-7,20 (m, 3H, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}); 5,90 (s, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 164,7 (C=O); 164,0 (N=C-N); 155,0 (C_{2'}); 153,0 (C₅); 150,7 (C₂); 146,6 (C₆); 138,2 (C₄); 126,5-126,4 (⁴*J*_{C-F} = 7,5 Hz, C_{4'}); 125,8 (³*J*_{C-F} = 8,63 Hz, C_{5'}); 125,1-125,0 (⁴*J*_{C-F} = 3,34 Hz, C_{6'}); 124,3 (C₃); 122,9 (C_{1'}); 116,2-116,1 (³*J*_{C-F} = 19,13 Hz, C_{3'}); 55,7 (CH₂). HR-MS (ESI) *m/z* C₁₄H₁₁FN₆O: [M+H]⁺ dự kiến = 299,1051, kết quả đo = 299,1053.

Dẫn chất IVb. Màu sắc: trắng, *H*%: 63%, *T*_{nc}: 188,5-189,2°C. *R*_f = 0,60 (EA:*n*-Hexan = 2:1), IR (KBr, cm⁻¹): 3338 (NH amid); 3066 (CH aromatic); 1686 (C=O); 1618 (C=N); 1557, 1446 (C=C aromatic); 744 (C-F). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 10,88 (s, 1H, NH); 8,76 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₆); 8,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H₃); 8,03 (td, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H, H₄); 7,59-7,54 (m, 2H, H₅, H_{2'}); 7,43-7,38 (m, 1H, H_{5'}); 7,32 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H_{6'}); 6,96 (td, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 2 Hz, 1H, H_{4'}); 5,83 (s, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 164,7 (C=O); 163,8 (N=C-N); 161,6 (C_{3'}); 150,7 (C₂); 146,6 (C₆); 140,4-140,3 (⁴*J*_{C-F} = 11,00 Hz, C_{5'}); 138,2 (C₄); 131,2 (C_{6'}); 125,8 (C₃); 122,9 (C₅); 115,6 (⁴*J*_{C-F} = 2,63 Hz, C_{1'}); 111,1-111,0 (³*J*_{C-F} = 21,00 Hz, C_{2'}); 106,8-106,6 (³*J*_{C-F} = 26,13 Hz, C_{4'}); 56,0 (CH₂). HR-MS (ESI) *m/z* C₁₄H₁₁FN₆O: [M+H]⁺ dự kiến = 299,1051, kết quả đo = 299,1056.

Dẫn chất IVc. Màu sắc: trắng, *H*%: 65%, *T*_{nc}: 188,2-189,8°C. *R*_f = 0,56 (EA:*n*-Hexan = 2:1), IR (KBr, cm⁻¹): 3338 (NH amid); 3064 (CH aromatic); 1709 (C=O); 1615 (C=N); 1553, 1437 (C=C aromatic); 745 (C-F). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 10,72 (s, 1H, NH); 8,76 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₆); 8,18 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H₃); 8,03 (td, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H, H₄); 7,63-7,56 (m, 3H, H₅, H_{2'}, H_{6'}); 7,20 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H, H_{3'}, H_{5'}); 5,80 (s, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 164,7 (C=O); 163,3 (N=C-N); 159,8-157,9 (²*J*_{C-F} = 251,75 Hz, C_{4'}); 150,7 (C₂); 146,6 (C₆); 138,2 (C₄); 135,0 (C_{1'}); 125,8 (C₃); 122,9 (C₅); 121,7-121,7 (⁴*J*_{C-F} = 7,88 Hz, C_{2'}, C_{6'}); 116,2-116,0 (³*J*_{C-F} = 22,25 Hz, C_{3'}, C_{5'}); 55,9 (CH₂). HR-MS (ESI) *m/z* C₁₄H₁₁FN₆O: [M+H]⁺ dự kiến = 299,1051, kết quả đo = 299,1057.

Dẫn chất IVd. Màu sắc: trắng, *H*%: 60%, *T*_{nc}: 206,8-208,2°C. *R*_f = 0,61 (EA:*n*-Hexan = 2:1), IR (KBr, cm⁻¹): 3264 (NH amid); 3051 (CH aromatic); 1685 (C=O); 1592 (C=N); 1538, 1417 (C=C aromatic); 735, 734 (C-F). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 10,58 (s, 1H, NH); 8,76 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₆); 8,17 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H₃); 8,03 (td, *J*₁ = 7,5 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H, H₄); 7,76-7,72 (m, 2H, H₅, H_{3'}); 7,59-7,54 (m, 2H, H_{5'}, H_{6'}); 5,89 (s, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ: 164,7 (C=O); 164,1 (N=C-N); 154,6-152,6 (²*J*_{C-F} =

250,13 Hz, C2'); 150,7 (C2); 146,5 (C6); 138,2 (C4); 134,1-134,0 ($^4J_{C-F}$ = 3,5 Hz, C6'); 125,9-125,8 ($^3J_{C-F}$ = 10,25 Hz, C3'); 125,6 (C3); 124,9 (C5'); 124,7 (C1'); 122,9 (C5); 88,8-88,7 ($^4J_{C-F}$ = 7,38 Hz, C4'); 55,7 ($\underline{\text{CH}_2}$). HR-MS (ESI) m/z $C_{14}H_{10}FIN_6O$: $[M+H]^+$ dự kiến = 425,0018, kết quả đo = 425,0021.

Dẫn chất IVe. Màu sắc: trắng, $H\%$: 62%, T_{nc} : 225,4-227,2°C. R_f = 0,63 (EA:n-Hexan = 2:1), 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , ppm): δ : 10,88 (s, 1H, CO-NH); 8,76 (d, J = 4,5 Hz, 1H, H6); 8,18 (d, J = 7,5 Hz, 1H, H3); 8,03 (td, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 1,5 Hz, 1H, H4); 7,89 (dd, J_1 = 7,0 Hz, J_2 = 3,0 Hz, 1H, H6'); 7,58 (t, J = 6,5 Hz, 1H, H5); 7,51-7,48 (m, 1H, H2'); 7,43 (t, J = 9,0 Hz, 1H, H5'); 5,82 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$). ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , ppm): δ : 164,8 (C=O); 163,7 (N=C-N); 155,0-153,1 ($^2J_{C-F}$ = 242 Hz, C4'); 150,7 (C2); 146,5 (C6); 138,2 (C4); 135,9-135,8 ($^4J_{C-F}$ = 3,13 Hz, C2'); 125,9 (C3); 122,9 (C5); 121,4 (C1'); 120,3-120,2 ($^4J_{C-F}$ = 7 Hz, C6'); 119,9-119,8 ($^3J_{C-F}$ = 18,25 Hz, C3'); 117,8-117,7 ($^3J_{C-F}$ = 21,75 Hz, C5'); 55,9 ($\underline{\text{CH}_2}$). HR-MS (ESI) m/z $C_{14}H_{10}ClFN_6O$: $[M+H]^+$ dự kiến = 333,0662 (^{35}Cl); 335,0632 (^{37}Cl), kết quả đo = 333,0668 (^{35}Cl); 335,0632 (^{37}Cl).

3.2. Nghiên cứu các tính chất lý hóa học

Một số đặc tính hóa lý và dự đoán tính chất “giống thuốc” của năm hợp chất được dự đoán bằng cách sử dụng nền tảng SwissADME [12]. Các thông số dược động học và độc tính của các hợp chất được dự đoán bằng công cụ pkCSM [13]. Một số thông số lý hóa, dược động học của các hợp chất đã được tính toán và trình bày ở bảng 1. Bảng 1. Các thông số dự đoán dược động học đặc trưng của các hợp chất IVa-e

Hợp chất	logP	TPSA* ($\text{\AA}^2$)	MW* (Dalton)	HBA*	HBD*	NROT*	Hấp thu ở ruột (%)	Độ thanh thải toàn phần (mL/phút/kg)
IVa	1,56	85,59	298,28	6	1	5	95,966	1,096
IVb	1,59	85,59	298,28	6	1	5	96,552	1,282
IVc	1,45	85,59	298,28	6	1	5	95,995	1,265
IVd	2,24	85,59	424,17	6	1	5	95,747	0,345
IVe	2,01	85,59	332,72	6	1	5	94,334	0,682

*TPSA: Diện tích bề mặt phân cực Topo; MW: Khối lượng phân tử; HBA: Số nhóm cho liên kết hydro; HBD: Số nhóm nhận liên kết hydro; NROT: Số lượng liên kết xoay.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy không có hợp chất nào trong năm hợp chất đã tổng hợp vi phạm quy tắc năm Lipinski [14] và quy tắc Veber [15]. Kết quả này là cơ sở để tiếp tục thử nghiệm khả năng ức chế AChE.

3.3. Khả năng ức chế AChE

Phương pháp Ellman [16] được dùng để đánh giá khả năng ức chế AChE của các chất với chất tham chiếu là Galantamin hydrobromid. Phần trăm (%) ức chế AChE của các chất ở nồng độ thử nghiệm được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế AChE} = \frac{\text{Chứng âm} - \text{Mẫu thử}}{\text{Chứng âm} - \text{Mẫu trắng}} \cdot 100$$

Trong đó: Mẫu trắng: ATCI, DNTB trong dung dịch đệm pH 8,0

Chứng âm: ATCI, DTNB và enzym AChE trong dung dịch đệm pH 8,0

Mẫu thử: Chất thử (hoặc chứng galatamin hydrobromid), ATCI, DTNB và enzym AChE trong dung dịch đệm pH 8,0.

Kết quả thử tác dụng ức chế AChE của các dẫn chất được tổng kết trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thử khả năng ức chế AChE của các dẫn chất IVa-e ở nồng độ 75 μM và 125 μM

Dẫn chất	% ức chế AChE	
	75 μM	125 μM
IVa	9,46	2,70
IVb	19,86	28,4
IVc	16,94	15,6
IVd	15,20	22,2
IVe	0,00	10,07
Chứng âm (dung môi)	0	
Chứng dương (Galantamin hydrobromid): $\text{IC}_{50} = 2,5 \pm 0,2 \mu\text{M}$	89,35	

Có thể thấy, cả năm chất đều có khả năng ức chế AChE nhất định ở nồng độ thử nghiệm, tuy nhiên khả năng ức chế của chất IVa và chất IVc giảm so với nồng độ 75 μM trong khi khả năng ức chế của ba chất các chất còn lại tăng. Đặc biệt, chất IVb có khả năng ức chế cao nhất ở cả hai nồng độ.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Khẳng định cấu trúc và đặc tính dược động học

Năm dẫn chất fluoro thơm mới mang khung 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamid được tổng hợp từ nguyên liệu ban đầu là 2-pyridin carbonitril thông qua ba bước. Các kết quả thực nghiệm về phổ, TLC, độ dịch chuyển R_f , T_{nc} cho thấy các dẫn chất đều tinh khiết, cấu trúc, khối lượng phù hợp với công thức dự kiến. Không có chất nào vi phạm quy tắc năm Lipinski và quy tắc Veber. Ngoài ra, sự giống nhau của các chỉ số HBA, HBD, NROT và TPSA của năm hợp chất phản ánh sự tương đồng về cấu trúc hóa học của các hợp chất. Mức độ hấp thu ở ruột của các hợp chất IVa-c cao hơn so với các hợp chất IVd và IVe (mang những nhóm thế cồng kềnh hơn). Hợp chất IVb được dự đoán có thể hấp thu ở ruột tốt nhất lên tới 96,5%. Đồng thời độ thanh thải toàn phần, thể tích phân bố và giá trị độc tính trên chuột ở trạng thái ổn định đều có sự thay đổi rõ rệt trên kết quả tính toán sàng lọc với các hợp chất chỉ chứa một nhóm thế trên vòng benzen.

4.2. Khả năng ức chế AChE

Kết quả ức chế AChE ở bảng 2 cho thấy cả năm chất đều có khả năng ức chế AChE nhất định, tuy nhiên khả năng ức chế vẫn chưa cao. Riêng chất IVb có khả năng ức chế cao nhất ở cả hai nồng độ cũng sẽ là một điểm sáng để khai thác khung cấu trúc này trong công cuộc tìm kiếm chất tiềm năng. Có thể thấy, khi fluoro ở vị trí meta của vòng benzen trong khung cấu trúc này, ngoài khả năng hút điện tử còn có sự phù hợp về vị trí không gian trong việc tương tác với vùng PAS/CAS của enzym acetylcholinesterase.

V. KẾT LUẬN

Nhóm nghiên cứu đã tổng hợp thành công năm dẫn chất fluoro thơm mới mang khung 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamid có đặc tính “giống thuốc” và đều có khả năng ức chế AChE nhất định ở các nồng độ 75 μM và 125 μM . Riêng chất IVb có khả năng ức chế AChE cao nhất ở cả hai nồng độ tương ứng là 19,86%, và 28,4%. Kết quả nghiên cứu cung cấp mối tương quan giữa cấu trúc của hợp chất trên cơ sở dự đoán đặc tính “giống thuốc”, được động học đặc trưng với khả năng ức chế enzym AChE. Qua đó cho thấy tiềm năng trong việc định hướng phát triển những nghiên cứu cao hơn cho những khung cấu trúc này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF) trong Dự Án mã số VINIF.2022.DA00061 và Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh theo mã số 115/QĐ-SKHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Son, M., Park, C., Rampogu, S., Zeb, A., and Lee, K. W. Discovery of Novel Acetylcholinesterase Inhibitors as Potential Candidates for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2019. 20 (4), doi: 10.3390/ijms20041000.
2. Sang, Z., Wang, K., Dong, J., and Tang, L. Alzheimer's disease: Updated multi-targets therapeutics are in clinical and in progress. *Eur J Med Chem.* 2022. 238:114464, doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114464.
3. Marucci, G., Buccioni, M., Ben, D. D., Lambertucci, C., Volpini, R., et al. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease, *Neuropharmacology.* 2021. 190:108352, doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108352.
4. Guo, Y., Yang, H., Huang, Z., Tian, S., Li, Q., et al. Design, Synthesis, and Evaluation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Dual-Target Inhibitors against Alzheimer's Diseases. *Molecules.* 2020. 25 (3), doi: 10.3390/molecules25030489.
5. Nguyen, V. H., Le, T. B. L., Dang, M. D., Vu Ngoc Hai, L., Nguyen, T. K., et al. Synthesis and evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory effect of novel heteroaromatic derivatives bearing a 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamide scaffold, *Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin Thuốc.* 2024, doi: 10.59882/1859-364X/200. doi: 10.59882/1859-364X/200.
6. Kaushik, N., Kumar, N., Kumar, A., Singh, U. K. J. I., Endocrine, and Chemistry, M. A. i. M. Tetrazoles: Synthesis and biological activity. 2018. 18 (1):3-21.
7. Gupta, P., and Sharma, A. Pharmacological Significance of Triazoles and Tetrazoles in Neurodegenerative Disease: An Overview. *N-Heterocycles: Synthesis Biological Evaluation.* 2022. 355-93.
8. Zou, Y., Liu, L., Liu, J., and Liu, G. J. F. M. C. Bioisosteres in drug discovery: focus on tetrazole. In, Future Science, pp. 2020. 91-93.
9. Kushwaha, P., Fatima, S., Upadhyay, A., Gupta, S., Bhagwati, S., et al. Synthesis, biological evaluation and molecular dynamic simulations of novel Benzofuran-tetrazole derivatives as potential agents against Alzheimer's disease. 2019. 29 (1):66-72.
10. Bui Thi Hong Nhung, L. T. B. L., Nguyen Viet Hung,, and Nguyen Khac Tiep, D. T. H., Do Huy Hoang, Tran Phuong Thao. Structures and Acetylcholinesterase Inhibition Abilities of some Derivatives Bearing (pyridin-2-yl)tetrazole Scaffold, *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology.* 2024. 40 (2):55-63, doi: <https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5641>.
11. Pandolfi, F., De Vita, D., Bortolami, M., Coluccia, A., Di Santo, R., et al. New pyridine derivatives as inhibitors of acetylcholinesterase and amyloid aggregation, *Eur J Med Chem.* 2017. 141:197-210, doi: 10.1016/j.ejmech.2017.09.022.
12. Daina, A., Michielin, O., and Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Scientific reports* 7. 2017. (1):42717.
13. Pires, D. E., Blundell, T. L., and Ascher, D. B. (2015), pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures, *Journal of medicinal chemistry* 58 (9):4066-72.
14. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., and Feeney, P. J. (1997), Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Advanced drug delivery reviews* 23 (1-3):3-25.
15. Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., et al. (2002), Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates, *Journal of medicinal chemistry* 45 (12):2615-23.
16. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., and Featherstone, R. M. (1961), A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical pharmacology* 7 (2):88-95.