

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO TẬP ĐOÀN HÓA CHẤT VIỆT NAM
VIỆN HÓA HỌC CÔNG NGHIỆP VIỆT NAM**

BÙI THỊ THỜI

**TỔNG HỢP VÀ NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA
MỘT SỐ DẪN XUẤT SULFONYLUREA**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

HÀ NỘI - 2021

Công trình được hoàn thành tại:

Viện Hoá học công nghiệp Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Ngô Đại Quang
Tập đoàn Hóa chất Việt Nam
2. PGS.TS. Trần Văn Lộc
Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 1: PGS.TS Đoàn Thị Mai Hương

Viện Hóa sinh biển - Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam

Phản biện 2: PGS.TS Trần Thị Thu Thủy

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam

Phản biện 3: PGS.TS Trần Thu Hương

Viện Kỹ thuật hóa học - Đại học Bách khoa Hà Nội

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ tại: Viện Hóa học công nghiệp Việt Nam - Số 2 – Phạm Ngũ Lão- Hoàn Kiếm - Hà Nội.

Vào hồi..... giờ, ngày..... tháng..... năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại:

- Thư viện Viện Hóa học công nghiệp Việt Nam
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

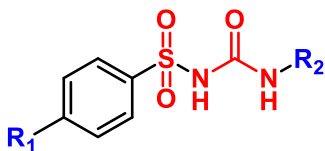
I. MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Đái tháo đường là bệnh thường gặp nhất trong số các bệnh nội tiết và là một trong ba bệnh có tốc độ phát triển nhanh nhất trên thế giới (ung thư, tim mạch, đái tháo đường). Số người bị bệnh đái tháo đường ngày càng tăng, theo số liệu ước tính năm 2019 khoảng 463 triệu người trên toàn thế giới mắc bệnh đái tháo đường, dự đoán sẽ tăng lên 700 triệu người vào năm 2045. Việt Nam cũng nằm trong bối cảnh chung của thế giới với hơn 5 triệu bệnh nhân đái tháo đường. Bệnh đái tháo đường nếu không được theo dõi và điều trị có thể gây rất nhiều biến chứng nguy hiểm: tổn hại đến các mạch máu nhỏ của tim, não, thận, mắt... biến chứng đột quỵ, suy thận, biến chứng bàn chân, nó làm tăng ít nhất là gấp đôi nguy cơ tử vong sớm của người bệnh tiểu đường.

Sulfonylurea là một nhóm thuốc hạ đường huyết kinh tế, hiệu quả được sử dụng và phát triển rộng rãi nhất hiện nay. Ngoài ra, một số lượng lớn các hợp chất này cũng thể hiện một loạt các hoạt tính sinh học khác trong y học như: chống loạn nhịp, lợi tiểu, chất đối kháng thụ thể histamine H3, chất đối kháng thụ thể thromboxan A2, kháng khuẩn, chống sốt rét, chống nghẹt (hen), chống ung thư hay gây độc tế bào và hoạt tính chống viêm.

Về mặt cấu trúc, các hợp chất sulfonylurea chứa nhóm phenylsulfonylurea trung tâm với một nhóm thế tại vị trí para trên vòng phenyl (R_1) và các nhóm khác nhau (R_2) ở đầu N.



Hình 1. 1: Công thức tổng quát của hợp chất sulfonylurea.

Tại Việt Nam, cho đến nay chỉ mới thấy các công trình nghiên cứu về tính năng, tác dụng và phương pháp sử dụng thuốc sulfonylurea để điều trị bệnh đái tháo đường và một vài công trình nghiên cứu quy trình tổng hợp thuốc generic: Glibenclamide, Gliclazide mà chưa có công trình nào nghiên cứu, phát triển thuốc mới thuộc nhóm sulfonylurea.

Việc nghiên cứu tổng hợp các hợp chất sulfonylurea mới đáp ứng nhu cầu điều trị đa cơ chế của bệnh đái tháo đường type 2, vừa giảm tác dụng phụ của thuốc,

vừa có nhiều ứng dụng tích cực hơn trong y học là một hướng nghiên cứu rất có tính thời sự, cấp thiết, có giá trị khoa học và thực tiễn cao. Vì vậy, trên cơ sở ý tưởng đó, chúng tôi đã lựa chọn hướng nghiên cứu: “**Tổng hợp và nghiên cứu hoạt tính sinh học của một số dẫn xuất sulfonylurea**”.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Luận án tiến hành tổng hợp và xác định cấu trúc của một số dẫn xuất sulfonylurea mới với sự thay đổi các nhóm thế vào hai đầu vị trí N của cấu trúc glipizide bằng các vòng phenyl và dị vòng chứa các nhóm chức khác nhau như: OH, NO₂, Cl, F, I, OCH₃ ... trong khi nhóm N-phenyl-ethylsulfamoyl của cấu trúc glipizide được giữ nguyên, nhằm tạo ra nhiều hợp chất sulfonylurea mới có nhiều hoạt tính ứng dụng trong y học, đặc biệt là hoạt tính trong điều trị bệnh đái tháo đường.

- Đánh giá hoạt tính hạ đường huyết và một vài hoạt tính khác của các sản phẩm tổng hợp được, nhằm tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, làm cơ sở khoa học cho những nghiên cứu phát triển thuốc tiếp theo, góp phần chăm sóc sức khỏe cho cộng đồng.

3. Nội dung nghiên cứu của luận án

- Tổng hợp glipizide và một số dẫn xuất sulfonamide trung gian.
- Tổng hợp và xác định cấu trúc các dẫn xuất sulfonylurea mới
- Đánh giá hoạt tính sinh học của các dẫn xuất tổng hợp được và phân tích mối tương quan cấu trúc - hoạt tính của chúng.

4. Những đóng góp mới của luận án

4.1. Đã tổng hợp và khẳng định cấu trúc hóa học **30** dẫn xuất sulfonylurea, trong số đó có **22** hợp chất mới (**92(a-e)**, **92h**, **92(m-n)**, **92(p-q)**, **94(a-i)** và **96(d, e, g)**).

4.2. Đã đánh giá *in vitro* hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các dẫn xuất sulfonylurea. Kết quả cho thấy có 7 hợp chất (**92d**, **92h**, **92k**, **92 m**, **92n**, **94e** và **94g**) thể hiện hoạt tính mạnh tương đương và hơn glipizide. Trong đó 4 dẫn xuất (**92h**, **92k**, **92n** và **94e**) thể hiện hoạt tính mạnh hơn thuốc tiêu chuẩn acarbose. Đặc biệt hợp chất **92h** có hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC₅₀ là 5,58 μ M, tốt hơn gấp 48 lần so với thuốc acarbose (IC₅₀ = 268.29 μ M), trong khi hợp chất **92n** thể hiện hoạt tính tốt với IC₅₀ = 79,85 μ M, mạnh gấp 3,4 lần thuốc acarbose.

4.3. Đã đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của 10 hợp chất sulfonylurea (**92c**, **92d**, **92l**, **92m**, **92n**, **92h**, **92k**, **94e**, **96h** và **glipizide**), hợp chất **92c** thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO với giá trị IC_{50} là 73,83 μ M tốt hơn gấp 2,27 lần thuốc glipizide ($IC_{50} = 168,07 \mu$ M).

4.4. Đã sơ bộ kết luận về mối tương quan hoạt tính cấu trúc của các hợp chất sulfonylurea tổng hợp được: Những hợp chất có nhóm thế OH, đặc biệt ở vị trí para của vòng phenyl và các hợp chất có chứa vòng pyrazin đóng vai trò quan trọng, làm tăng hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase. Bên cạnh đó, việc đưa nhóm NO_2 vào vòng thơm cũng làm tăng hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.

5. Bố cục của luận án

Luận án gồm 141 trang gồm: Mở đầu (2 trang), Chương 1: Tổng quan tài liệu (28 trang), Chương 2: Phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm (33 trang), Chương 4: Kết quả và thảo luận (74 trang), Kết luận và kiến nghị (2 trang), Những đóng góp mới (1 trang), Danh mục các công trình đã công bố (1 trang).

Phần tài liệu tham khảo có 116 tài liệu về lĩnh vực liên quan đến luận án, được cập nhật đến năm 2018. Phần phụ lục gồm 235 trang gồm các loại phở của các dẫn xuất tổng hợp được, các phiếu phân tích, kết quả thử hoạt tính của các dẫn xuất sulfonylurea.

II. NỘI DUNG LUẬN ÁN

MỞ ĐẦU: đề cập đến ý nghĩa khoa học, tính cấp thiết và thực tiễn, mục tiêu nghiên cứu của luận án.

Chương 1. TỔNG QUAN

- 1.1. Sơ lược về bệnh đái tháo đường
- 1.2. Các loại thuốc điều trị đái tháo đường
- 1.3. Sự phát triển của thuốc sulfonylurea trong điều trị đái tháo đường
- 1.4. Một số công trình nghiên cứu tổng hợp và đánh giá hoạt tính hạ đường huyết của các dẫn xuất sulfonylurea
- 1.5. Một số công trình nghiên cứu tác dụng điều trị khác của dẫn xuất sulfonylurea. Tác dụng chống ung thư, làm thuốc lợi tiểu, thuốc chống co giật, chống thần kinh, chất kháng vi sinh vật, kháng khuẩn, chống sốt rét, chống lao...

Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Phương pháp nghiên cứu

2.1.1 Tổng hợp hữu cơ: Sử dụng các phương pháp tổng hợp hữu cơ bao gồm: chlorosulfonyl hoá, amin hóa, phản ứng thủy phân, acyl hóa, ngưng tụ.

2.1.2 Tách, tinh chế sản phẩm: Sử dụng các phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC), sắc ký cột (CC) trên các loại pha tĩnh khác nhau như silicagel pha thường, sephadex LH-20... Sử dụng các kỹ thuật kết tinh, chiết bỏ loại tạp chất nhiều lần...

2.1.3 Xác định tính chất vật lý, cấu trúc sản phẩm: Cấu trúc hóa học của các hợp chất được khẳng định dựa trên các số liệu phân tích quang phổ: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D-, 2D-NMR) được ghi trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer chất nội chuẩn là TMS cho $^1\text{H-NMR}$ và tín hiệu dung môi cho $^{13}\text{C-NMR}$, Phổ khối ESI-MS được ghi trên máy Sắc ký lỏng- khối phổ (LC-MS) 1100 LCMSD Trap- SL của Hãng Agilent Technologies (Mỹ) Nhiệt độ nóng chảy trên thiết bị Thermo Mel-temp 3.0 (Mỹ). phổ hồng ngoại (FTIR) đo dưới dạng viên nén với KBr trên máy quang phổ IMPACT 410 của Hãng Nicolet, Hoa Kỳ, Nhiệt độ nóng chảy của các sản phẩm được đo trên thiết bị Thermo Mel-temp 3.0 (Mỹ)

2.1.4 Đánh giá hoạt tính sinh học

- Đánh giá hoạt tính ức chế enzym α - Glucosidase *in vitro* tại Viện Hoá học -Viện hàn lâm KH&CNVN.

- Đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO *in vitro* tại Viện Công nghệ sinh học-Viện hàn lâm KH&CNVN.

- Độ ổn định của sản phẩm glipizide được đánh giá ở điều kiện lão hóa cấp tốc tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung Ương theo Dược điển Mỹ USP 40.

- Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của sản phẩm được đánh giá trên chuột nhắt trắng tại Viện Công nghệ sinh học-Viện hàn lâm KH&CNVN.

2.2. Thực nghiệm

2.2.1. Hóa chất, dung môi

Các hóa chất dùng trong quá trình tổng hợp được mua từ các hãng: Sigma Aldrich (Mỹ), Merck (Đức). Các dung môi sử dụng trong tổng hợp được cất lại hoặc làm khan trước khi sử dụng.

2.2.2. Nghiên cứu tổng hợp glipizide

2.2.2.1 Tổng hợp chất 5-methyl-N-phenethylpyrazin-2-carboxamide (**24**)

2.2.2.2 Tổng hợp hợp chất 5-methyl-N-(4-sulfamoylphenethyl)pyrazine-2-carboxamide (**25**)

2.2.2.3 Tổng hợp chất glipizide (26)

2.2.3. Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 92(a-q)

2.2.3.1. Phương pháp 1: Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 92(a-e)

2.2.3.2. Phương pháp 2: Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 92(a-q)

2.2.4. Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 94(a-i)

2.2.4.1. Tổng hợp chất trung gian 93

2.2.4.2. Tổng hợp các chất sulfonylurea 94(a-i)

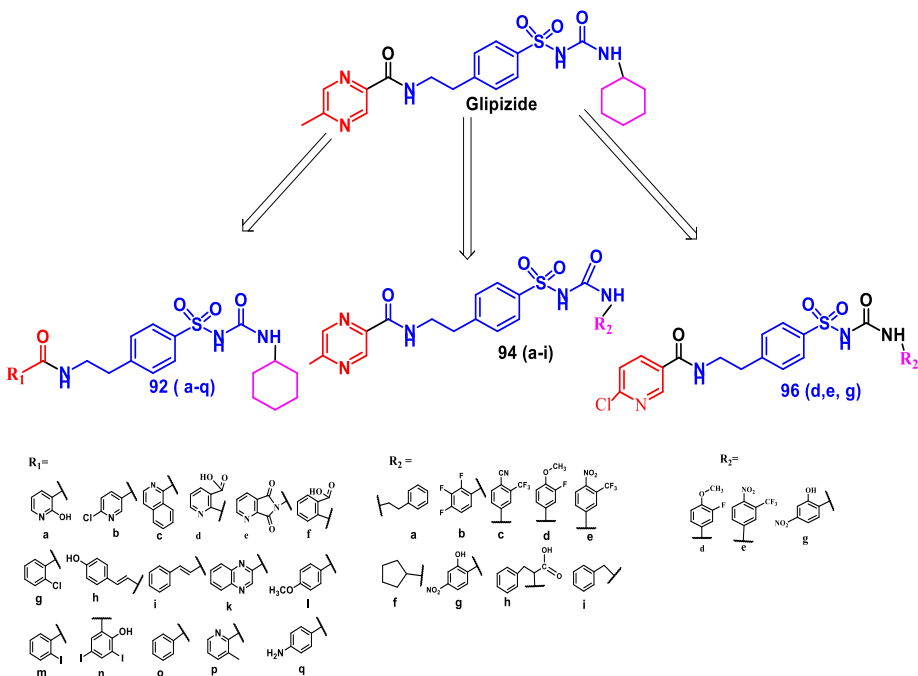
2.2.5. Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 96(d, e, g)

2.2.5.1. Tổng hợp chất trung gian ethyl ((4-(2-(6-chloronicotinamido) ethyl) phenyl) sulfonyl) carbamate 95

2.2.5.2. Tổng hợp các chất sulfonylurea 96(d, e, g)

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Định hướng nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea

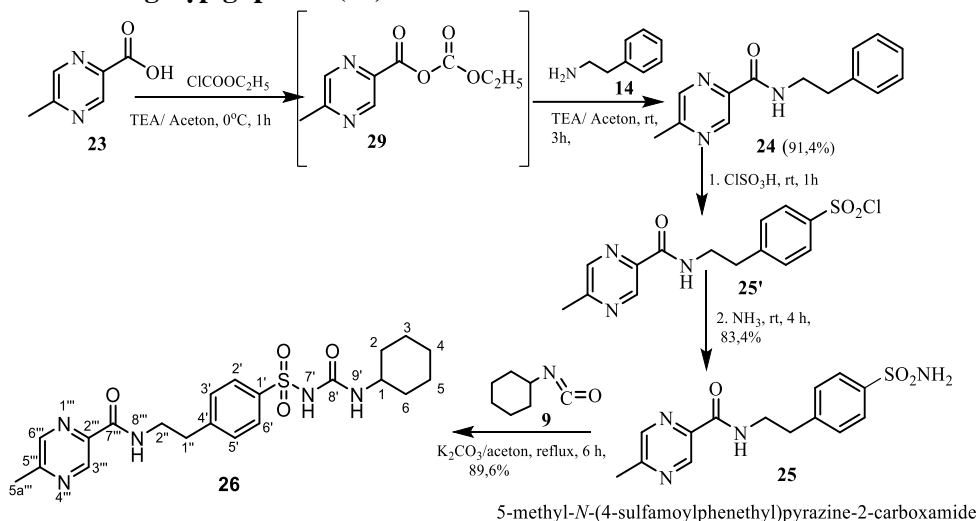


Sơ đồ 3. 1: Định hướng nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea
Bước đầu nghiên cứu tổng hợp hoạt chất glipizide và các chất trung gian để tìm

ra các tác nhân, điều kiện phản ứng phù hợp, tối ưu.

Bước tiếp theo, trên cơ sở khung cấu trúc chung của dẫn xuất sulfonylurea và hoạt chất glipizide, tiến hành tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea mới (hình 3.1)

3.2. Tổng hợp glipizide (26)



Sơ đồ 3.2: Phản ứng tổng hợp gipizide.

3.2.1 Tổng hợp chất 24: Hợp chất 5 methyl pyrazine carboxylic (**23**) được sử lý với ethyl chloroformate và triethylamine (TEA) trong dung môi acetone khan sau đó được phản ứng với 4-(2-aminoethyl)-benzenesulfonamide (**14**) tạo sản phẩm 5-methyl-N-phenethylpyrazin-2-carboxamide (**24**). Quá trình phản ứng được thực hiện theo sơ đồ 3.2. Khuấy hỗn hợp của chất **23** với ethyl chloroformate trong môi trường kiềm yếu triethylamin (TEA) ở 0 °C khoảng 1 giờ, rồi thêm nhỏ giọt chất **14** và duy trì phản ứng thêm 3 giờ ở nhiệt độ thường. Kết thúc phản ứng, dung môi acetone được cất loại dưới áp suất giảm, chất rắn thu được được hòa trong 20 ml nước cất và acid hóa bằng acid HCl 1% đến pH ≈ 4 - 5. Lọc, rửa kết tủa bằng nước cất tới hết acid và kết tinh lại trong 40 ml ethanol 90% thu được sản phẩm amide **24**, hiệu suất 91,4 % [8]. Phổ ¹H-NMR của amide **24** xuất hiện tín hiệu 2 proton của vòng thế pyrazin ở δ (ppm) 9,26 (s, 1H), 7, 83 (s, 1H), tín hiệu hai nhóm metylen ở δ (ppm) 3,73 (q, J = 6,5 Hz, 2H) và 2,94 (t, J = 6,5 Hz, 2H), tín hiệu nhóm methyl ở 2,63 ppm. Tín hiệu các proton doublet của nhóm phenyl ở δ (ppm)= 7,31 và 7,23, tín hiệu H-1' ở δ (ppm): 7,27, đặc biệt có tín hiệu nhóm NH-amide ở

δ (ppm) 8,33 (1H, t, $J = 6,0$ Hz, H-8’’’). Phổ ^{13}C NMR có đủ tín hiệu 14 nguyên tử carbon, đặc biệt tín hiệu cộng hưởng tại δ_{C} 163,29 của C=O amide. Phổ IR xuất hiện các đỉnh hấp thụ mạnh đặc trưng cho dao động hóa trị của các nhóm chức ở $3315,73\text{ cm}^{-1}$ (NH), $1651,81\text{ cm}^{-1}$ (C=O amide), ($1532,9\text{ cm}^{-1}$ (C=C-aromatic)). Phổ ESI-MS m/z cho pic giả ion phân tử $[\text{M}+\text{H}]^+ = 242,0$ (100%) ứng với công thức phân tử $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$.

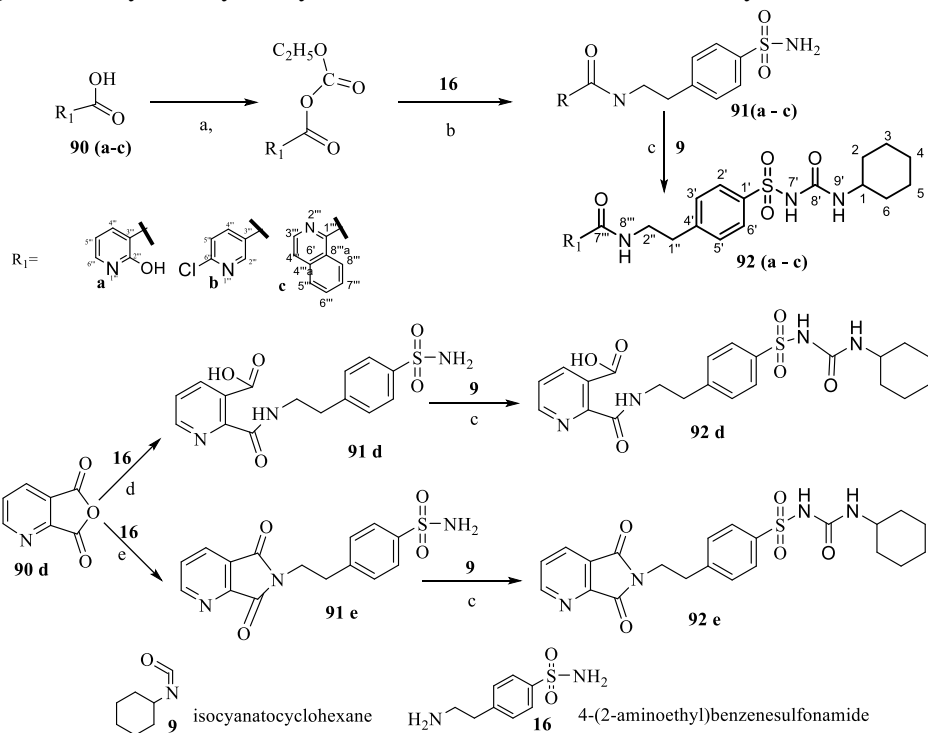
3.2.2. Tổng hợp chất 25: Chất **24** được đun hồi lưu với ClSO_3H trong dung môi DCM thu được hợp chất trung gian **25’**. Chất **25’** được phản ứng tiếp với dung dịch amoniac 30% ở nhiệt độ phòng trong thời gian 4 giờ, sau khi xử lý tinh chế thu được sản phẩm **25** với hiệu suất 83,4 %. So với chất **24**, phổ ^1H NMR của chất **25** đã mất tín hiệu H-1’ ở δ (ppm): 7,27, xuất hiện mới tín hiệu singlet của của hai proton của nhóm SO_2NH_2 ở δ (ppm): 7,27 (2H, s, H-7’) khẳng định cho sự có mặt của nhóm SO_2NH_2 trong sản phẩm.

3.2.3. Tổng hợp glipizide (26): Thực hiện phản ứng của chất **25** với K_2CO_3 trong acetone khan trong 2 giờ, sau đó tiếp tục phản ứng với hợp chất cyclohexyl isocyanat **9** trong 6 giờ. Kết thúc phản ứng, dung môi được cất loại dưới áp suất giảm, chất rắn thu được được hòa tan trong nước, lọc loại bỏ chất rắn không tan trên phễu lọc, dịch lọc được acid hóa với acid HCl 1% đến pH= 4 - 5. Lọc, rửa kết tủa với nước, chất rắn thu được được kết tinh lại trong ethanol 90% thu được sản phẩm sạch glipizide **26** với hiệu suất 89,6 %. Phổ ^1H NMR của chất **26** so với chất **25** đã mất đi tín hiệu của NH_2 ở 7,27 ppm và xuất hiện tín hiệu singlet NH ở trường thấp 10,3 ppm (1H, br s, H-7’), tín hiệu douplet của nhóm NH ở 6,31 ppm (H-9’), các tín hiệu multiplet của vòng cyclohexyl ở δ (ppm): 3,25 (m, H-1), 1,63-1,08 (m, 10H). Phổ ^{13}C -NMR có đủ 21 tín hiệu carbon của phân tử glipizide. Trên phổ IR xuất hiện thêm các đỉnh hấp thụ mạnh đặc trưng cho dao động hóa trị của các nhóm chức ở: $\nu = 3335,34\text{ cm}^{-1}$ và $3253,87\text{ cm}^{-1}$ (NH), 1688,1; $1650,8\text{ cm}^{-1}$ (C=O amide). Phổ khối ESI-MS quan sát thấy pic giả ion phân tử negative m/z (%): 444,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100), phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$.

3.3. Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 92(a-q): Các dẫn xuất **92(a-q)** đã được nghiên cứu tổng hợp bằng 2 phương pháp theo sơ đồ 3.3: Cấu trúc của glipizide đã được biến đổi tại đầu R_1 của nhóm N-phenylethylsulfamoyl trong khi vòng cyclohexyl tại vị trí N cuối được duy trì.

3.3.1. Phương pháp 1: Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 92(a-e)

Thực hiện phản ứng acyl hóa trực tiếp các hợp chất carboxylic acid và anhydride acid với hợp chất **16** để thu được các hợp chất trung gian **91(a-c)**, sau đó cho phản ứng với chất cyclohexyl isocyanate **9** thu được các dẫn xuất sulfonurea **92(a-e)**.



Các tác nhân và điều kiện phản ứng: a) $ClCOOC_2H_5$, TEA, acetone, 0°C. b); TEA, acetone, **16**, nhiệt độ phòng, 3 h, 70,1-72,0 %. c) K_2CO_3 , acetone, **9** (cyclohexyl isocyanate), hồi lưu, 7 h, 72,0- 75,4 %. d) Acetic acid, **16**, nhiệt độ phòng, 1 h, 82,1 %, e) Acetic acid, **16**, hồi lưu, 7 h, 76,2 %

Sơ đồ 3.3: Phản ứng tổng hợp các chất **92(a-e)** theo phương pháp 1

3.3.1.1. Tổng hợp các chất trung gian **91(a-c)**

Các acid **90(a-c)** được chuyển hóa thành anhydric acid trung gian bằng phản ứng với $ClCOOC_2H_5$ trong TEA và acetone khan ở 0- 5°C trong 1 giờ, rồi được phản ứng trực tiếp với hợp chất thương mại sẵn có **16** ở nhiệt độ phòng trong thời gian 3 giờ. Kết thúc phản ứng, cất loại dung môi acetone, chất rắn thu được hòa vào nước cất và axit hóa bằng acid HCl 1% đến pH \approx 4-5, lọc, rửa kết tủa bằng nước, tinh chế lại thu được các sản phẩm sạch tương ứng **91(a-c)**.

Phổ ^1H NMR của các chất **91(a-c)** xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng của các proton của chất 4-(2-amino) benzensulfonamide **16** bao gồm: hai cặp tín hiệu proton doublet của vòng phenyl thế ở độ chuyển dịch δ (ppm): 7,75-7,76 và 7,43-7,49. Các tín hiệu proton quartet và triplet của 2 nhóm CH_2 tại δ (ppm): 3,54-3,57 và 2,93-2,99, tín hiệu 2 proton singlet của nhóm SO_2NH_2 ở δ (ppm) = 7,28-7,29, tín hiệu proton của nhóm CONH ở δ (ppm): 8,84-9,83. Các tín hiệu proton của vòng 2- hydroxypyridine trong hợp chất **91a** xuất hiện ở δ (ppm): 8,32 (1H, d, J = 7,0 Hz, H-4'''), 7,69 (1H, d, J = 5,5 Hz, H-6'''), 6,46 (1H, t, J =6,5 Hz, H-5'''), tín hiệu của nhóm OH ở δ (ppm): 12,41. Tín hiệu của các proton của vòng 6-chloropyridine của hợp chất **91b** xuất hiện ở δ (ppm): 8.78 (1H, s, H-2'''), 8.19 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-4'''), 7.64 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'''). Tín hiệu các proton của vòng thế isoquinoline của chất **91c** xuất hiện ở δ (ppm): 8.75 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-8a'''), 8.51 (1H, d, J = 5.5 Hz, H-3'''), 8.03 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'''), 7.99 (1H, d, J = 5.5 Hz, H-4'''), 7.80 (1H, m, H-7a'''), 7.69 (1H, m, H-6'''). Phổ - ^{13}C NMR của các chất **91(a-c)** xuất hiện tín hiệu 2 cặp carbon bậc 3 của vòng phenyl thế ở δ_c (ppm): 125,72-126,98 và 128,26-129,49, tín hiệu của hai carbon bậc 4 tại δ_c (ppm): 130,58-143,9. Tín hiệu carbon của nhóm CH_2 ở δ (ppm): 40,00-40,84 và 34,70-34,96, tín hiệu của nhóm amide (CONH) ở δ_c : 162,22, 164,42 và 166,05 ppm. Vòng pyridin của chất **91a** xuất hiện 5 tín hiệu carbon ở δ_c (ppm): 163,28, 143,62,120,24, 106,23 và 142,09, tín hiệu của vòng 6- chloropyridine của chất **91b** ở δ_c (ppm): 152,47, 148.98, 124,48, 129,59 và 142,21. Vòng isoquinoline của chất **91c** xuất hiện các tín hiệu carbon tại δ_c (ppm): 140,76, 129,14, 126,5, 125,64, 125.60 và 123,14.

3.3.1.2. Tổng hợp các dẫn xuất **92(a-c)**

Các sulfonylurea **92(a-c)** được tổng hợp bằng phản ứng của **91(a-c)** với cyclohexyl isocyanate trong sự có mặt của K_2CO_3 dưới điều kiện đun hồi lưu trong 6 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, cất loại dung môi, chất rắn thu được sau đó được hòa vào nước, loại bỏ chất rắn trên phễu lọc, nước lọc sau khi xử lý với acid HCl 1% về môi trường pH = 4–5, lọc rửa với nước và kết tinh loại thu được chất **92(a-c)**.

Trên phổ ^1H NMR của chất **92(a-c)** xuất hiện đủ các tín hiệu cộng hưởng proton của các chất **91(a-c)**, trong đó đã mất đi tín hiệu cộng hưởng singlet của 2 proton của nhóm sulfonamide - SO_2NH_2 ở δ (ppm) = 7,28-7,29 và xuất hiện tín hiệu singlet

của proton của nhóm amide - NH ở δ (ppm) = 10,27 (H-7'). Xuất hiện mới tín hiệu doublet của proton của nhóm amide - NH ở δ (ppm): 6,30 - 6,32. Xuất hiện các tín hiệu proton multiplet của vòng cyclohexyl ở δ (ppm): 3,54-3,58 (1H) và 1,65 -1,06 (10H, m). Phổ ^{13}C - NMR của chất **92(a-c)** so với chất **91(a-c)** có xuất hiện mới tín hiệu cộng hưởng của nhóm amide (C-8') tại δ_c (ppm) =150,53, 150,61 và 151,38. Xuất hiện các tín hiệu của carbon vòng cyclohexyl ở δ_c (ppm) = 48,02, 48,11 và 48,06 (C-1), 32,22, 32,30 và 32,33 (C-2, C-6), 24,94 và 25 (C-4), 24,12 và 24,19 (C-3, C-5). Phổ IR xuất hiện các tín hiệu dao động hóa trị đặc trưng của các nhóm chức ở: 3351,37-32647,47- cm^{-1} (nhóm NH), đỉnh ở 3114,91 cm^{-1} (OH), đỉnh ở 1632,84-1669,01 cm^{-1} của nhóm C=O amide, đỉnh ở 1526,62-1543,65 cm^{-1} của (C=C-aromatic). Các đỉnh ở 1308,33- 1341,38 và 1147,79-1157,25 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm (O=S=O). Phổ ESI-MS m/z (%) đã nhận được pic ion giả phân tử $[\text{M}+\text{H}]^+ = 447$ (60%), $[\text{M}-\text{H}]^- = 463$ (70%) và $[\text{M}-\text{H}]^- = 479$ (100) phù hợp với công thức phân tử của các chất tương ứng.

3.3.1.3. Tổng hợp chất **91(d-e)**

Hợp chất **91d** được điều chế bằng phản ứng của 2,3-pyridine dicarboxylic anhydride **90d** với chất **16** trong acetic acid băng ở nhiệt độ thường trong thời gian 1 giờ, hiệu suất đạt 82,1%. Hợp chất **91e** được điều chế bằng phản ứng của **90d** với chất **16** đun hồi lưu trong acetic acid trong 7 giờ, hiệu suất đạt 76,2%.

Trên phổ ^1H NMR chất **91d** bên cạnh các tín hiệu tương tự của chất **16** còn xuất hiện đủ các tín hiệu proton của vòng pyridin ở $\delta_{\text{H}} = 8.13, 8.02$ và 7.28 ppm, tín hiệu proton của nhóm amide (NH) tại δ (ppm): 8,36 (1H, brs, H-8''').

Trên phổ ^1H NMR của chất **91e** xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng proton của chất **16** và xuất hiện tín hiệu 3 proton của vòng pyridine tại δ (ppm): 8,96, 8,27 và 7,77. Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của đủ 15 nguyên tử carbon trong phân tử, xuất hiện mới tín hiệu 3 carbon bậc 3 của vòng pyridine tại δ_c (ppm): 131,26 127,07 và 154,83, tín hiệu 2 carbon bậc 4 tại δ_c (ppm): 151,29 và 127,86, tín hiệu carbon của 2 nhóm carbonyl tại δ_c (ppm): 166,04, 165,93.

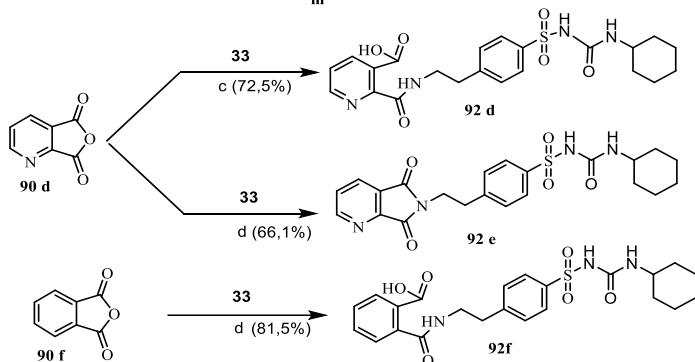
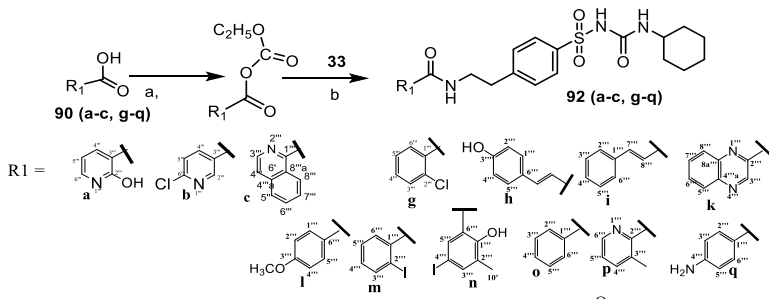
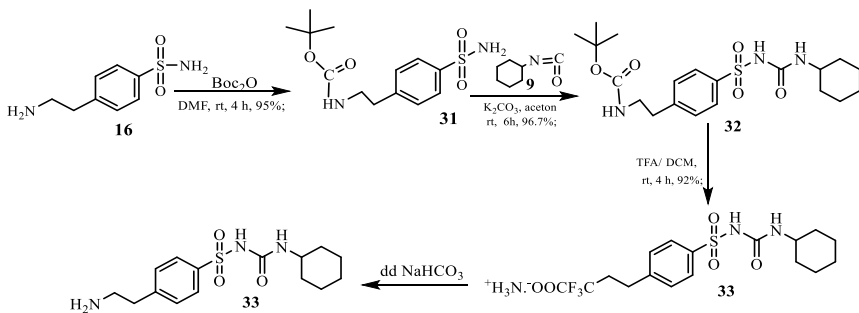
3.3.1.5. Tổng hợp hợp chất **92(d-e)**

Các hợp chất **91(d-e)** và K_2CO_3 được hồi lưu trong dung môi acetone khan trong thời gian 2 giờ, sau đó chất **9** được nhỏ giọt vào tiếp tục đun hồi lưu trong 6 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, cất loại dung môi, chất rắn thu được sau đó được hòa vào nước, loại bỏ chất rắn trên phễu lọc, nước lọc sau khi xử lý với acid HCl 1%

về môi trường pH = 4–5, lọc rửa với nước và kết tinh loại thu được các hợp chất **92(d-e)**. Trên phổ ^1H NMR của chất **92(d-e)** xuất hiện đủ các tín hiệu cộng hưởng proton của các chất **91(d-e)**, trong đó đã mất đi tín hiệu cộng hưởng singlet của 2 proton của nhóm SO_2NH_2 ở δ (ppm) = 7,28 và xuất hiện tín hiệu singlet của proton của nhóm amide $-\text{NH}$ ở δ (ppm) = 10,27 (chất **92e**), tín hiệu proton doublet của nhóm NH amide ở δ (ppm): 6,36 và 6,28, các tín hiệu proton multiplet của vòng cyclohexyl ở δ (ppm): 3,54 và 3,03 (1H) và 1,8 -1,06 (10H, m). Phổ ^{13}C NMR bên cạnh các tín hiệu carbon của chất **91(d-e)**, xuất hiện mới tín hiệu cộng hưởng của nhóm amide (C-8') tại $\delta_{\text{Cppm}} = 150,42$ và 154,08, các tín hiệu của carbon của vòng cyclohexyl ở δ_c (ppm) = 48,02 và 48,03 (C-1), 32,20 và 32,21 (C-2, C-6), 24,92 và 24,94 (C-4), 24,08 và 24,12 (C-3, C-5). Phổ IR xuất hiện các tín hiệu dao động hóa trị đặc trưng của các nhóm chức ở các đỉnh: $\nu = 3320,30\text{-}3240,63\text{ cm}^{-1}$ (nhóm NH), $3742,52\text{ cm}^{-1}$ (OH), $1653,53\text{-}1680,00\text{ cm}^{-1}$ của nhóm C=O amide, $1540,62$ và $1531,26\text{ cm}^{-1}$ của (C=C-aromatic), $1319,47\text{-}1341,06$ và $1168,99\text{-}1163,47\text{ cm}^{-1}$ nhóm (O=S=O). Phổ ESI-MS m/z (%) đã nhận được pic ion giả phân tử $[\text{M-H}]^- = 473$ (20%) và $[\text{M-H}]^- = 455$ (100) phù hợp với công thức phân tử của các chất tương ứng.

Cấu trúc của chất **92d** được minh chứng thêm qua phổ 2D - NMR (HSQC, HMBC). Trên phổ HMBC xuất hiện các tương tác của proton H-8''' tại $\delta_H = 8,76$ (1H, t, $J = 5,5$ Hz) với $\delta_c = 165,06$ ppm, do đó $\delta_c = 165,06$ ppm được gán là tín hiệu của C-7'''. Xuất hiện tương tác giữa carbon của nhóm cacboxyl (COOH) tại $\delta_c = 167,90$ ppm với tín hiệu tại δ_H (ppm) = 8,05 ppm mà không thấy tương tác với các proton tại δ_H (ppm) = 8,66 và 7,60, nên δ_H (ppm): 8,05 (1H, dd, $J = 1,5$ Hz, $J = 8,0$) được gán cho proton H-4''' (tương tác qua 2 liên kết). Xuất hiện tín hiệu tương tác ở độ cộng hưởng δ_H (ppm) = 8,66 với $\delta_c = 136,77$ (C-4'''), 150,42, 150,17 nên tín hiệu δ_H (ppm) = 8,66 (1H, dd, $J = 1,5$ Hz, $J = 5,0$ Hz) được gán cho proton H-6''' và 7,60 (1H, dd, $J = 4,5$ Hz, $J = 7,5$) là tín hiệu của proton H-5''', và điều này minh chứng cho nguyên tố N ở tại vị trí 1''' trên vòng pyridine là phù hợp. Tín hiệu của δ_c (ppm): 150,17 tương tác với hai proton δ_H (ppm) = 8,66 (H-6''') và 8,05 (H-4''') nên được gán cho C-2''', tín hiệu của carbon C-3''' ở độ chuyển dịch δ_c (ppm): 150,42 (C-3''').

3.3.2 Phương pháp 2: Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea **92(a-q)**



Các tác nhân và điều kiện phản ứng: a) $\text{ClCOOC}_2\text{H}_5$, TEA, acetone, 0°C . b) TEA, acetone, **33**, nhiệt độ phòng, 3 h. c) Acetic acid, **33**, nhiệt độ phòng, 1 h, 72,5 %. d) Acetic acid, **33**, hồi lưu, 7 h, 66,1% (**92e**), 81,5% (**92f**).

Sơ đồ 3.4: Phản ứng tổng hợp các chất **92(a-q)** theo phương pháp 2.

Các sulfonylurea **92(a-q)** đã được tổng hợp thông qua việc điều chế chất trung gian 4-(2-aminoethyl)-N-(cyclohexyl carbamoyl) benzenesulfonamide **33**, sau đó các loại carboxylic acid hoặc anhydride acid khác nhau được phản ứng với chất **33** để thu được các dẫn xuất sulfonylurea mong muốn (sơ đồ 3.4).

3.3.2.1 Tổng hợp chất trung gian **33**

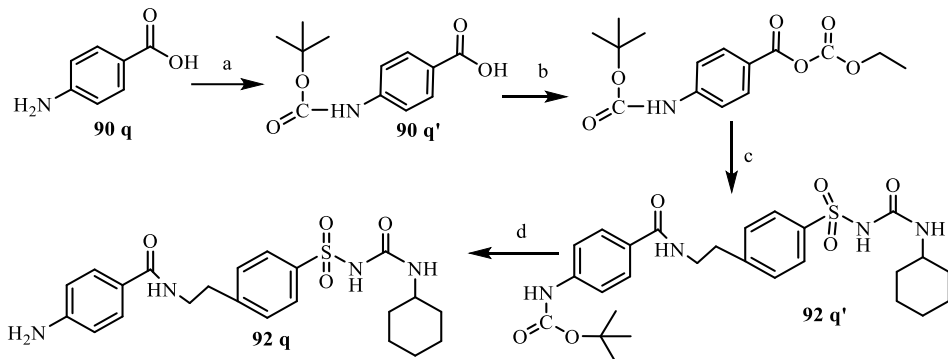
Amine **16** được bảo vệ bằng phản ứng với Boc₂O trong dung môi DMF ở nhiệt độ thường trong thời gian 4 giờ thu được chất **31** (95,0%). Chất **31** sau đó được đun hồi lưu với K₂CO₃ trong dung môi acetone 2 giờ và tiếp tục phản ứng hồi lưu với chất **9** thêm 6 giờ thu được **32** (96,7%). Chất **32** được xử lý với TFA trong DCM để loại bỏ nhóm bảo vệ Boc, tạo thành chất trung gian **33** (92,0 %). Hiệu suất chung cả quy trình tổng hợp chất **33** đạt 84,56%. Trên phổ ¹H, ¹³C- NMR của chất **31** bên cạnh các tín hiệu proton tương tự như chất **16** xuất hiện thêm tín hiệu tại δ_H (ppm) = 6,89 (1H, br s, H-6'''), δ_C ppm = 155,45 (C-5''') của nhóm amide – CONH. Nhóm *tert*-butyl xuất hiện tín hiệu ở δ_H (ppm): 1,36(9H, CH₃)₃, δ_C (ppm) = 77,51 (C-1'''), 3 carbon của nhóm methyl tại δ (ppm) = 28,16 (CH₃). Phổ ¹H, ¹³C- NMR và DEPT của chất **32** so với chất **31** đã mất đi tín hiệu nhóm SO₂NH₂ tại δ (ppm): 7,26 mà xuất hiện tín hiệu singlet của proton của nhóm amide (SO₂NH) ở trường thấp hơn δ_H (ppm) = 10,25 (H-7'). Xuất hiện tín hiệu của nhóm CONH ở δ_H (ppm): 6,30 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-9'), δ_C (ppm): 150,35. Các tín hiệu vòng cyclohexyl δ_H (ppm): 1,65-1,04 (11H, m), δ_C (ppm) = 48,01 (C-1), 32,21 (C-2, C-6), 28,16 (3CH₃), 24,92 (C-4), 24,10 (C-3, C-5). Phổ IR chất **32** xuất hiện đỉnh hấp thụ mạnh đặc trưng cho dao động hóa trị của các nhóm chức ở: ν = 3336,61 và 3268,31 cm⁻¹ (NH), đỉnh ở 1691 và 1657,35 cm⁻¹ (C=O amide), đỉnh ở 1351,01 và 1168,68 (O=S=O), đỉnh ở 1296,52 cm⁻¹ (C-O) thể hiện sự có mặt của nhóm *tert*-butoxycarbonyl. Phổ ESI-MS *m/z* (%) của chất **32** có pic ion giả phân tử [M-H]⁻ = 424.0 (100%) phù hợp với công thức phân tử C₂₀H₃₁N₃O₅S.

Trên phổ ¹H, ¹³C- NMR của chất **33** so với chất **32** đã mất đi tín hiệu của nhóm amide- CONH tại δ_H (ppm) = 6,88 (1H, H-6'''), δ_C (ppm)=155,46(C-5''') và tín hiệu của nhóm *tert*-butyl tại δ_H (ppm): 1,34 (9H, CH₃)₃, δ_C (ppm) = 77,52 (C-1'''), δ_C (ppm) = 28,16 (CH₃), đã xuất hiện thêm tín hiệu 2 proton của nhóm amin tại δ_H (ppm) = 7,93 (2H, brs, NH₂). Cấu trúc của chất **33** đã được minh chứng thêm qua phổ 2D - NMR (HSQC, HMBC): sự tạo thành của nhóm amide (CONH-C₆H₁₁) trong chất **33** được khẳng định thêm qua sự tương quan giữa H-9' (δ_H = 6,62 ppm)/C-8' (δ_C = 150,49 ppm), C-1 (δ_C = 48,06 ppm) and C-2, C-6 (δ_C = 32,24 ppm) trong phổ HMBC.

3.3.2.2. Tổng hợp các dẫn xuất sulfonyleurea **92(a-q)**

Quá trình tổng hợp các chất **92(a-q)** được trình bày trên sơ đồ 3.4. Sự kết hợp của chất **33** với các hợp chất carboxylic acid **90(a-c, g-q)** trong sự có mặt của ethyl

chloroformate và triethylamine (TEA) trong dung môi acetone khan tại nhiệt độ phòng cho sản phẩm cuối là các dẫn xuất **92(a-c, g-q)**, hiệu suất (66–82%). Sự kết hợp của chất **33** với 2,3-pyridine dicarboxylic anhydride **90d** hoặc phthalic anhydride **90f** trong acetic acid băng ở nhiệt độ phòng hoặc hồi lưu thu được các dẫn xuất **92(d-e)** hoặc **92f**, hiệu suất tương ứng là 72,5% (**92d**), 66,1% (**92e**) và 81,5 % (**92f**).



Tác nhân và điều kiện phản ứng: a) Boc_2O , DMF, 4 h, 95,5%; b) $\text{ClCOOC}_2\text{H}_5$, acetone, TEA, 0°C , 1 h; c) **33**, acetone, TEA, rt, 3 h, 85,4%; d) TFA, DCM, rt, 4 h, 93,5 %.

Sơ đồ 3.5: Phản ứng tổng hợp chất **92q**

Riêng chất **92q**, do trong cấu trúc có nhóm NH_2 có thể phản ứng đồng thời với tác nhân $\text{ClCOOC}_2\text{H}_5$ nên nhóm NH_2 này được bảo vệ bằng nhóm Boc để tạo thành chất **90q'** (95.5%), sau đó chất **90q'** phản ứng với chất **33** trong sự có mặt của $\text{ClCOOC}_2\text{H}_5$ và TEA trong dung môi acetone khan tại nhiệt độ phòng để thu được chất **92q'** (85.4%). Sau đó, thủy phân bỏ nhóm bảo vệ của chất **92q'** bằng trifluoroacetic acid (TFA) trong DCM để thu được sản phẩm mong muốn là **92q** (hiệu suất 93.5%), hiệu suất tổng 76.3%

Chúng tôi đã tiến hành tổng hợp lại các chất **92(a-c)** bằng phương pháp 2 để so sánh hiệu suất tổng hợp với phương pháp 1. Kết quả cho thấy tổng hợp các chất **92(a-c)** theo phương pháp 2 có hiệu suất cao hơn phương pháp 1 từ 5,8 đến 18,9%, quy trình được rút gọn chỉ bằng một phản ứng duy nhất, điều kiện phản ứng êm dịu hơn. Vì vậy chúng tôi đã tiếp tục tổng hợp các chất **92(g-q)** theo phương pháp 2.

Cấu trúc của các sản phẩm **92(g-q)** đã được khẳng định bằng các phương pháp phổ ESI-MS, IR, 1D-NMR (^1H , ^{13}C). Trên phổ ^{13}C , ^1H NMR của các chất **92(g-q)** bao gồm các tín hiệu của chất **33** đồng thời xuất hiện tạo thành nhóm CONH- amide

được khẳng định qua sự xuất hiện các tín hiệu ở δ_H (ppm) = 8,07 - 9,27 (H-8'''), δ_C (ppm): 162,25-168,79 (C-7'''). Các tín hiệu cộng hưởng proton và ^{13}C của các gốc acid **90(g-q)** trong các hợp chất **92(g-q)** được thể hiện trong bảng 3.1:

Bảng 3.1: Bảng một số tín hiệu phân tích phổ NMR của các gốc acid **90(g-q)** của các chất **92(g-q)**.

Chất	1H -NMR (δ (ppm))	^{13}C -NMR δ (ppm)
92g	7,46-7,45 (1H), 7,44-7,39 (1H), 7,35 (1H), 7,30 (1H)	130,60, 129,49,128,70, 126,99, 137,00, 129,78
92h	7,38 (2H), 6,79 (2H), 9,80 (OH), 7,32 (1H), 6,37 (1H).	129,14, 115,68, 158,78, 125,84
92i	7, 7,56 - 7,55 (3H), 7,42-7,37(3H), 7,41 (1H), 6,57 (1H).	129,36, 129,13, 128,85, 134,84
92k	9,44 (1H), 8,18 (2H), 7,98 (2H)	129,07, 127,20, 131,26, 143,63, 142,94, 139,77
92l	7,81 (2H), 6,98 (2H), 3,81(OCH3).	129,20, 113,44, 161,48, 126,71
92m	7,13-7,50 (H-bz).	129,08, 127,79, 130,54, 127,83, 143,03, 93,24
92n	8,17 (1H), 8,15 (H), 13,95 (OH).	135,11, 149,31, 150,33, 159,87, 88,82, 81,12
92o	7,82-7,78 (4H), 7,53 -7,42(5H).	131,07, 129,2, 127,26, 134,5
92p	8,41 (1H), 7,70 (1H), 7,42 (1H), 2,46 (CH ₃).	140,03, 133,05, 125,28,149,24, 145,69
92q	7,53 (2H), 6,52 (2H), 5,56 (2H).	129,12, 112,48, 121,19

Cấu trúc của các chất **92(g-q)** được khẳng định thêm qua phổ IR, ESI-MS. Phổ IR của hợp các chất xuất hiện các tín hiệu dao động hóa trị đặc trưng của các nhóm chức: đỉnh ở 3301,20-3249,87 cm^{-1} (nhóm NH), đỉnh ở 1654,59-1688,00 cm^{-1} (C=O amide,) đỉnh ở 1529,91-1540,50 cm^{-1} (C=C-aromatic). Băng sóng ở 1329,93-1354,04 và 1158,79-1164,67 cm^{-1} (O=S=O). Phổ ESI-MS m/z (%) đã nhận được pic ion giả phân tử phù hợp với công thức phân tử của các chất tương ứng.

Tổng hợp các dẫn xuất 92(d-e): Cũng tương tự như các chất 92(a-c), mặc dù chất 92(d-e) đã được điều chế bằng phương pháp 1, nhưng chúng tôi vẫn tiếp

tục tổng hợp theo phương pháp 2 để so sánh hiệu suất phản ứng của 2 phương pháp

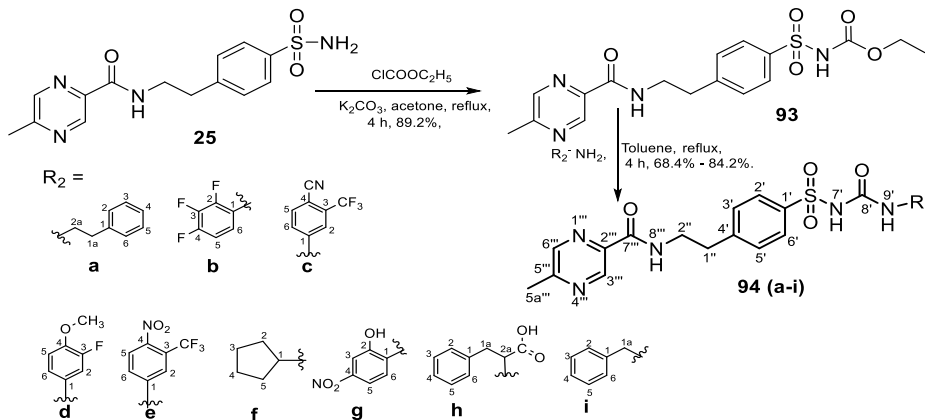
Hợp chất 92d đã được tổng hợp bằng cách cho 2,3-pyridinedicarboxylic anhydride **90d** tác dụng với chất **33** trong dung môi acetic acid băng ở nhiệt độ thường trong thời gian 1 h, hiệu suất đạt 72,5%, trong khi hợp chất **92e** được tổng hợp bằng cách đun hồi lưu chất 2,3-pyridinedicarboxylic anhydride **90d** với chất **33** trong dung môi acetic acid băng trong thời gian 7 h, hiệu suất đạt 66,1%. Kết quả cho thấy tổng hợp các chất **92(d-e)** từ anhydride acid đầu **90d** theo phương pháp 2 có hiệu suất cao hơn phương pháp 1. Hiệu suất chung toàn quy trình tổng hợp các chất **92(d-e)** theo phương pháp 2 cao hơn phương pháp 1 là 9,5 % và 3,9 % tương ứng.

Tổng hợp chất 92f: Đun hồi lưu anhydride phthalic **90f** với chất **33** trong dung môi acetic acid băng trong thời gian 7 giờ, tinh chế chất rắn thu được trong nước đã và kết tinh lại trong ethanol thu được sản phẩm **92f**, hiệu suất phản ứng cao đạt 81,5%.

So với phổ $^1\text{H NMR}$ của chất **33**, phổ $^1\text{H NMR}$ của chất **92f** xuất hiện thêm tín hiệu proton multiplet vòng phthalic tại δ_{H} (ppm): $\delta = 7,85-7,81$ (4H). Phổ $^{13}\text{C NMR}$ và DEPT xuất hiện thêm tín hiệu carbon của nhóm CONH tại δ_{C} (ppm): 168,55 (C-7^{'''}), tín hiệu 6 tín hiệu carbon của vòng phthalic xuất hiện tại δ_{C} (ppm): 123,01, 134,40, 131,43, tín hiệu tại δ_{C} (ppm): 167,60 của nhóm COOH. Phổ IR xuất hiện các dao động hóa trị đặc trưng cho các nhóm chức ở $\nu = 3071,34$ (OH), 3349,87 (NH), 1718,0 (C=O, acid), 1655,12 (C=O, amide), 1536,88 (C=C Aro), 1342,05 và 1122,79 (O=S=O) cm^{-1} . Phổ ESI-MS m/z (%) đã nhận được pic ion giả phân tử $[\text{M-H}]^- = 471,9$ (100) phù hợp với công thức phân tử.

3.4. Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 94(a-i)

Các hợp chất **94(a-i)** đã được tổng hợp bằng cách thay thế nhóm R_2 (cyclohexyl) tại đầu cuối của nhóm *N*-phenyl-ethylsulfamoyl trong cấu trúc của hợp chất glipizide bằng các vòng thơm có chứa các nhóm chức NO_2 , Cl, F, OH, OCH_3 , CN, CF_3 hoặc các nhóm polymethylen phenyl, trong khi nhóm thế R_1 (vòng pyrazine) được giữ nguyên. Sơ đồ phản ứng tổng hợp các chất **94(a-i)** được trình bày trong sơ đồ 3.5.



Sơ đồ 3.6: Phản ứng tổng hợp chất **94 (a-i)**

Tổng hợp chất 93: Thực hiện phản ứng acyl hóa chất **25** với ClCOOC₂H₅ trong sự có mặt của K₂CO₃ hồi lưu trong dung môi aceton khan trong thời gian 6 giờ thu được dẫn xuất carbamate trung gian **93**. Hiệu suất đạt 89,2%. Trên phổ ¹H - NMR của chất **93** so với phổ của chất **25** đã mất đi tín hiệu của nhóm amin tại δ (ppm): 7,27 (SO₂NH₂) mà xuất hiện tín hiệu của nhóm amide (NH) ở trường thấp tại δ_H (ppm): 11,88 (H-7'), xuất hiện tín hiệu mới ở δ_H (ppm): 3,99 (2H) và 1,07 (3H) của nhóm carbamate (-CH₂-CH₃). Phổ ¹³C NMR của chất **93** xuất hiện mới tín hiệu của nhóm C = O amide ở δ_C (ppm) = 151,01 (C-8'), tín hiệu của nhóm carbamate tại δ (ppm): 61,83 và 13,88. Cấu trúc của chất **93** được minh chứng rõ ràng thêm qua phổ 2D- NMR (HSQC, HMBC).

Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea 94(a-i): Chất **93** phản ứng với các amin thơm khác nhau (**a-i**) hồi lưu trong dung môi toluene, sau khi tinh chế thu được các dẫn xuất sulfonylurea **94 (a-i)** hiệu suất 68,4-84,2%.

Trên phổ ¹H-NMR, ¹³C NMR của chất **94(a-i)** xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng của tương tự của chất **93** nhưng đã mất tín hiệu của nhóm carbamate tại δ_H (ppm) = 3,99 (2H), 1,07 (3H) và δ_C(ppm) = 61,83, 13,88. Xuất hiện mới tín hiệu của nhóm NH-amide (H-9'), tín hiệu nhóm C=O amide thay vì ở δ_C (ppm) = 151,01 đã dịch chuyển về trường thấp hơn trong vùng δ_C(ppm = 156,05-156,86 (C-8')). Các tín hiệu cộng hưởng proton và carbon của các vòng amin (**a-i**) trong chất **94 (a-i)** được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.2: Bảng một số tín hiệu phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của các vòng amin (**a-i**) trong chất **94(a-i)**

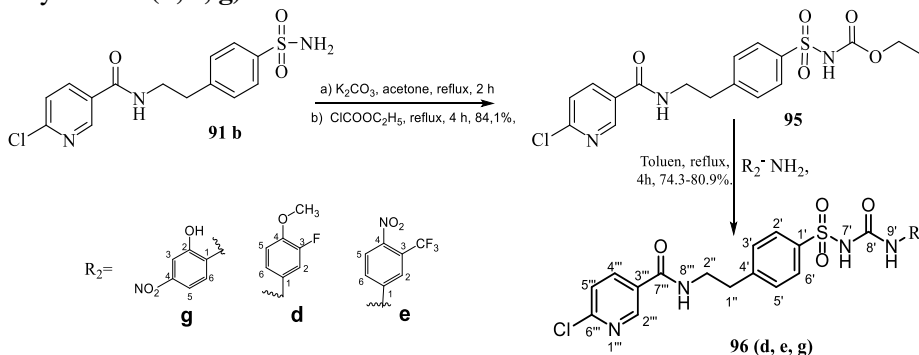
Chất	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$
94a	7,26- 7,10 (5H), 3,58 (2H) và 2,63 (2H).	137,27, 126,98, 126,7, 126,0, 125,67, 35,33, 33,12.
94b	7,53 (1H), 7,24 (1H).	134,62, 143,54, 139,89, 140,25, 111,47, 111,6
94c	7,84 (1H), 7,50 (1H) 7,96 (1H)	121,94, 128,49, 111,6, 128,67, 139,89, 127,7
94d	7,28 (1H), 7,05 (1H), 7,01 (1H), 3,77 (OCH ₃)	109,34, 111,85, 114,15, 127,47, 156,85, 116,11, 57,01 (OCH ₃)
94e	8,12 (1H), 8,02 (1H), 7,80 (1H).	133,77, 127,55, 129,64, 124,92, 125,17, 114,48
94f	3,77-3,70 (1H), 1,75-1,68 (2H), 1,58-1,52 (2H), 1,49-1,42 (2H), 1,29-1,23 (2H).	32,29, 23,05, 51,00
94g	7,70 (1H), 7,62 (1H), 8,08 (1H)	118,26, 111,14, 108,62, 143,51, 142,80, 135,51
94h	7,19 (1H), 7,02 (1H), 7,28 (1H), 4,24 (1H), 3,00 - 2,94 (2H)	129,42, 128,39, 128,15, 126,68, 126,48, 136,79, 54,81, 34,74, 172,53 (COOH).
94i	7,25 (2H), 7,13 (2H), 7,19 (1H)	128,25, 127,00, 126,85, 138,18, 42,74

Cấu trúc của chất **94(a-i)** được khẳng định thêm trong phổ IR, ESI-MS: Phổ IR xuất hiện các đỉnh hấp thụ đặc trưng cho dao động hóa trị của các nhóm chức ở $\nu = 3234,69 - 3421,78$ (NH), 1635,43-1683,30 (C=O, amide), 1521,10 - 1547,06 (C = C-aromatic), 1327,51-1348,19 và 1149,02-1167,87 (O=S=O) cm^{-1} . Phổ ESI-MS m/z (%) đã nhận được pic giả ion phân tử phù hợp công thức phân tử của các chất. Dựa vào các kết quả phổ MS, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ đã minh chứng cho cấu trúc của chất **94(a-i)** đúng theo sơ đồ phản ứng.

3.5. Tổng hợp các dẫn xuất sulfonylurea **96(d, e, g)**

Các chất **96(d, e, g)** đã được tổng hợp bằng cách thay thế R₁ và R₂ của hai đầu nhóm N-phenyl- ethylsulfamoyl trong cấu trúc của glipizide: thay thế R₁ bằng dẫn

xuất của 6-chloropyridine. Thay thế R₂ bằng các vòng phenyl có các nhóm chức F, NO₂, CF₃, OCH₃ và OH. Quá trình tổng hợp được thực hiện bằng phản ứng của chất **91b** với ethylchlorofomate thu được hợp chất carbamate trung gian **95**, sau đó cho chất **95** phản ứng acyl hóa với các hợp chất amin để tạo thành các dẫn xuất sulfonylurea **96(d, e, g)**.



Sơ đồ 3.7: Phản ứng tổng hợp chất **96(d, e, g)**.

Chất 95: Trên phổ ¹H-NMR chất **95** xuất hiện các tín hiệu của chất **91b** nhưng đã mất đi các tín hiệu của 2 proton nhóm amin (NH₂) tại δ (ppm): 7,28 (SO₂NH₂) của chất **91b** mà xuất hiện tín hiệu của nhóm amide (NH) ở δ (ppm): 11,90 (1H, s, H-7'). Xuất hiện mới tín hiệu cộng hưởng của proton nhóm carbamate tại δ (ppm): 4,00 (2H, q, J = 7,0 Hz, CH₂-carbamate), 1,08 (3H, t, J = 7,0 Hz, CH₃). Phổ ¹³C - NMR xuất hiện mới tín hiệu của nhóm C=O amide tại δ (ppm) = 152,46 (C-8'), tín hiệu nhóm carbamate tại δ (ppm): 56,00 (CH₂ carbamate), 18,51 (CH₃).

Chất 96(d, e, g): Trên phổ ¹H - NMR, ¹³C NMR của chất **96(d, e, g)** chứa các tín hiệu tương tự chất **95** nhưng đã mất đi tín hiệu proton của nhóm carbamate tại δ_H (ppm): 4,00 (2H), 1,08 (3H), δ_C (ppm): 56,00 và 18,51. Xuất hiện mới các tín hiệu của nhóm amide ở δ_H (ppm): 7,01-8,25. Các tín hiệu cộng hưởng ¹H - NMR, ¹³C NMR của vòng amin (**d, e, g**) của các chất **96(d, e, g)** xuất hiện tại các độ chuyển dịch δ (ppm) sau:

Phổ ¹H - NMR, δ_H (ppm): Chất **96d**: 7,59 (1H), 7,27 (1H), 7,07 - 7,01 (1H), 3,77 (3H, s, OCH₃). Chất **96 e**: 8,12 (1H), 8,01 (1H), 7,81 (1H). Chất **96 g**: 7,59 (1H), 7,49 (1H), 7,75-7,71

Phổ ^{13}C -NMR, δ_{C} (ppm): Chất **96d**: 116,14, 115,15, 114,15, 124,05, 143,50, 142,09, 56,18 (OCH₃). Chất **96e**: 114,43, 124,15, 123,54, 133,74, 124,06, 138,42 và 111,67 (CF₃). Chất **96g**: 110,13, 117,15, 115,55, 129,40,138,44.

Phổ IR (KBr) xuất hiện các đỉnh hấp thụ đặc trưng tại: $\nu = 3409,84, 3421,78$ (NH), 1673,36, 1635,43 (C=O, amide), 1539,10, 1569 (C=C-aro), 1246,76 (C-O), 1355,60, 1348 và 1170,52, 1153,93 (O=S=O) cm^{-1} . Phổ ESI-MS m/z (%) đã nhận được pic ion giả phân tử phù hợp với công thức phân tử của các chất.

3.6. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học

3.6.1. Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Sulfonylurea được sử dụng rộng rãi trong y học để điều trị bệnh tiểu đường. Sulfonylurea làm thay đổi màng plasma của các tế bào để tăng khả năng đáp ứng với hoạt động của insulin và tăng số lượng thụ thể insulin. Tuy nhiên, tác dụng phụ của những thuốc thử này liên quan đến hạ đường huyết, tăng cân và nguy cơ tim mạch. Sự kết hợp của sulfonylurea với các chất ức chế enzyme α -glucosidase như một liệu pháp bổ sung đã được báo cáo để cải thiện sự gia tăng lipid, giảm trọng lượng cơ thể, giảm hemoglobin A1c và kiểm soát mức độ đường huyết ở bệnh nhân tiểu đường loại 2. Hiện nay ở trong nước chưa có đủ điều kiện để đánh giá hoạt tính hạ đường huyết bằng phương pháp đánh giá theo cơ chế tiết insulin của tế bào beta theo mô hình *in vitro*. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase các dẫn xuất sulfonylurea đã tổng hợp được, nhằm tìm kiếm chất mới có hoạt tính ức chế α -glucosidase có tác dụng hạ đường huyết sau ăn đồng thời lại kết hợp với tính năng kích thích tiết insulin của sulfonylurea sẽ tìm được các chất vừa có hoạt tính hạ đường huyết và lại có tác dụng làm giảm tác dụng phụ trong điều trị đái tháo đường. Ba mươi hợp chất sulfonylurea đã được đánh giá về khả năng ức chế enzyme α -glucosidase *in vitro*. Acarbose được sử dụng làm hợp chất tiêu chuẩn và glipizide cũng đã được thử nghiệm để so sánh với các dẫn xuất sulfonylurea tổng hợp. Có 13 hợp chất trong số đó thể hiện sự ức chế enzyme α -glucosidase tốt, cụ thể: hợp chất **92h** ($\text{R}_1 = 4\text{-OH} - \text{C}_6\text{H}_4. \text{CH}_2=\text{CH}_2$ -) là hợp chất hoạt động mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 5,58 μM , tốt hơn gấp 48,08 lần so với thuốc tiêu chuẩn acarbose (IC_{50} : 268,29 μM ,). Nhóm OH thay thế tại vị trí para của cinnamic acid đóng vai trò quan trọng của hoạt tính. Điều này được xác nhận khi hợp chất **92i** không có nhóm OH ($\text{R}_1 = -\text{C}_6\text{H}_5$ -) không cho thấy sự ức chế enzyme α -glucosidase. Các nghiên cứu sơ bộ tương quan hoạt tính-cấu trúc (SAR) cho rằng

các dẫn xuất *trans*-cinnamoyl là chất ức chế yếu men α -glucosidase ở ruột. Tuy nhiên, sự hiện diện của một nhóm hydroxyl ở vị trí para đã tăng cường đáng kể sự ức chế, có thể là do chúng có thể hình thành liên kết hydro với các nhóm phân cực (nhóm amide, guanidine, peptide, amino và carboxyl) của các gốc axit amin trong vị trí hoạt động của ruột enzym α -glucosidase. Hợp chất **92n** ($R_1 = 2\text{-OH-3,5-di I-C}_6\text{H}_2$) thể hiện hoạt tính tốt với giá trị IC_{50} là 79,85 μM . So sánh hoạt tính của **92n** với **92m** ($R_1 = 2\text{-I-C}_6\text{H}_4$, $IC_{50} = 278,88 \mu\text{M}$) cho thấy việc có thêm nhóm OH trong phân tử đường như giúp tăng cường hoạt tính. Hợp chất **92k**, **92c** và **92d** với sự có mặt của các dị vòng (quinoxaline, isoquinoline và picolinic, tương ứng) cho thấy hoạt tính vừa phải với các giá trị IC_{50} lần lượt là 226,03, 322,49 và 312,12 μM .

- Hợp chất **94e** (có $R_2 = 3\text{-CF}_3\text{-4-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_3$) thể hiện hoạt tính tốt với IC_{50} là 213,36 μM . Hợp chất **94g** ($R_2 = 2\text{-OH-4-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_3$) có $IC_{50} = 269,44 \mu\text{M}$. Hoạt tính của hai chất này tốt hơn cả chất tiêu chuẩn acarbose (IC_{50} : 268,29 μM). Hai hợp chất này đồng thời có nhóm NO_2 tại vị trí para trên vòng phenyl có thể cũng là nguyên nhân làm tăng hoạt tính. Hợp chất **96e** có cùng dẫn xuất thay thế R_2 giống chất **94e** ($R_2 = 3\text{-CF}_3\text{-4-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_3$), nhưng R_1 là 6-chloropyridine đã cho thấy hoạt tính kém hơn (IC_{50} là 329,62 μM). Điều đó có nghĩa là hợp chất 5-methyl-pyrazin tại R_1 có thể đóng một vai trò quan trọng trong hoạt động ức chế enzyme α -glucosidase. Vai trò của 5-methyl-pyrazin tại R_1 được khẳng định thêm khi hợp chất **96g** có $R_2 = 2\text{-OH-4-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_3$ giống R_2 của chất **94g** nhưng IC_{50} là 492,39 μM không có hoạt tính và hợp chất **96d** có $R_2 = 3\text{-F-4-OCH}_3\text{-C}_6\text{H}_3$ cho thấy hoạt tính vừa phải với giá trị IC_{50} là 329,62 μM .

Bảng 3. 3: Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α - glucosidase

Compound	IC_{50} (μM)	Compound	IC_{50}	Compound	IC_{50} (μM)
Acabose	268.29	92k	226.03	94c	480.75
Glipizide	300.47	92l	500	94d	>500
92a	>500	92m	278.88	94e	213.36
92b	>500	92n	79.85	94f	>500
92c	322.49	92o	>500	94g	269.44
92d	312.12	92p	>500	94h	>500
92e	>500	92q	>500	94i	>500
92f	>500	32	>500	96g	492.39
92g	>500	94a	>500	96d	329.62
92h	5.58	94b	>500	96e	447.62
92i	>500				

3.6.2. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO

Như ta đã được biết rằng có một mối liên quan của bệnh nhân tiểu đường với bệnh viêm mãn tính. Việc điều trị bệnh nhân tiểu đường và biến chứng của nó có thể làm giảm viêm. Do đó, chúng tôi đã đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của 10 hợp chất hoạt động ức chế enzyme α -glucosidase **94e**, **92h**, **92(l-n)**, **92(c-d)**, **92k**. **L-NMA (N-Methyl-L-Arginine)** đã được sử dụng làm hợp chất tiêu chuẩn với IC_{50} là 40,59 μ M trong thử nghiệm này. Glipizide cũng đã được thử nghiệm để so sánh với các dẫn xuất tổng hợp. Hợp chất **92c** (R = isoquinoline) thể hiện hoạt động ức chế sản sinh NO vừa phải với giá trị IC_{50} là 73,82 μ M. Các hợp chất glipizide, **92h** và **92q** cho thấy hoạt động yếu (IC_{50} 155,7, 167,39 và 168,07 μ M). (Bảng 3.4).

Bảng 3. 4: Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO

Hợp chất	IC50		Hợp chất	IC50	
	(μ g/ml)	(μ M)		(μ g/ml)	(μ M)
Glipizide	69,36 \pm 2,27	155,7	92n	NA	NA
94e	NA	NA	92c	35,48\pm3,75	73,82
96d	>100	>197,65	92k	80,94\pm3,45	168,07
92h	78,94\pm2,70	167,39	92d	>100	>210,73
92l	NA	NA	L-NMMA	7,64\pm0,47	40,59
92m	>100	>180,04			

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

1. Đã tổng hợp được hoạt chất glipizide (**26**) dùng làm thuốc điều trị bệnh đái tháo đường type 2 đạt hiệu suất cao 68,0%. Sản phẩm glipizide đã được đánh giá chất lượng đạt các tiêu chuẩn theo Dược điển Mỹ USP 40.

2. Đã tổng hợp được 30 dẫn xuất sulfonylurea, trong số đó có 22 hợp chất mới: **92(a-e), 92h, 92(m-n), 92(p-q), 94(a-i), 96(d, e, g)**.

3. Cấu trúc hóa học của các hợp chất tổng hợp được đã được khẳng định thông qua các phương pháp phân tích quang phổ: $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, 2D-NMR (HMBC, HSQC), ESI-MS, IR.

4. Đã đánh giá *in vitro* hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các dẫn xuất sulfonylurea. Kết quả cho thấy có 7 hợp chất (**92d, 92h, 92k, 92 m, 92n, 94e và 94g**) thể hiện hoạt tính mạnh tương đương và hơn glipizide. Trong đó 4 dẫn xuất (**92h, 92k, 92n, 94e**) thể hiện hoạt tính mạnh hơn thuốc tiêu chuẩn acarbose. Đặc biệt hợp chất **92h** có hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 5,58 μM , tốt hơn gấp 48 lần so với thuốc acarbose ($\text{IC}_{50} = 268.29 \mu\text{M}$), trong khi hợp chất **92n** thể hiện hoạt tính tốt với $\text{IC}_{50} = 79,85 \mu\text{M}$, mạnh gấp 3,4 lần thuốc acarbose.

5. Đã đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của 10 hợp chất sulfonylurea (**92c, 92d, 92l, 92m, 92n, 92h, 92k, 94e, 96h và glipizide**), hợp chất **92c** thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO với giá trị IC_{50} là 73,83 μM tốt hơn gấp 2,27 lần thuốc glipizide ($\text{IC}_{50} = 168,07 \mu\text{M}$).

6. Đã sơ bộ kết luận về mối tương quan hoạt tính cấu trúc của các hợp chất sulfonylurea tổng hợp được: Những hợp chất có nhóm thế OH, đặc biệt ở vị trí para của vòng phenyl và các hợp chất có chứa vòng pyrazin đóng vai trò quan trọng, làm tăng hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase. Bên cạnh đó, việc đưa nhóm NO_2 vào vòng thiom cũng làm tăng hoạt tính ức chế enzyme α - glucosidase.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Thi Thoi Bui**, Van Loc Tran, Dai Quang Ngo, Van Chien Tran, Van Sung Tran and Thi Phuong Thao Tran*. *Synthesis and evaluation of α -glucosidase inhibitory activity of Sulfonylurea derivatives*. Zeitschrift für Naturforschung B, <https://doi.org/10.1515/znb-2020-0134>; accepted October 12, 2020; published online March 4, 2021; 76 (3-4)b: 163-171.

2. **Bùi Thị Thời**, Ngô Đại Quang, Trần Văn Chiển, Trần Thị Phương Thảo, Trần Văn Lộc*. *Tổng hợp glipizide làm thuốc điều trị bệnh tiểu đường Typ 2*. Tạp chí Hóa học, 54 (6e2), 2016, 233-236.

3. **Thi Thoi Bui***, Van Loc Tran, Dai Quang Ngo, Van Chien Tran, Thị Nga Nguyen, Thi Thao Do. *Acute and subacute toxic study on mice of Glipizide synthesized in VietNam*. Vietnam journal of science and technology, 2019, Vol 57, No 1, 15-21.

4. **Thi Thoi Bui***, Van Loc Tran, Dai Quang Ngo. *Synthesis of Sulfonylurea derivatives and their α -glucosidase inhibitory activity*. Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering, 6.2020, Vol 62, No 2, 34-37.

5. **Bùi Thị Thời***, Ngô Đại Quang, Trần Văn Lộc. *Tổng hợp một số dẫn xuất Sulfonylurea thế hệ hai và đánh giá hoạt tính ức chế enzyme alpha glucosida*. Tạp chí Hóa học ứng dụng, số 03.2020, 5-8.

6. **Bùi Thị Thời**, Phạm Thị Kiều Dung, Hà Thị Thu Thủy, Trần Thị Bích Vân*. *Đánh giá chất lượng và nghiên cứu độ ổn định của Glipizide tổng hợp tại Việt Nam*. Tạp chí kiểm Nghiệm Thuốc (Journal of drug quality control), số 3.2018, tập 16 - số 61, 28-30.