



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0037111

(51)^{2020.01} C07C 49/607

(13) B

(21) 1-2021-05449

(22) 06/09/2021

(45) 25/10/2023 427

(43) 25/11/2021 404

(76) 1. Lưu Văn Chính (VN)

Phòng 1307, CT2B, Khu đô thị Cổ Nhuế, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội

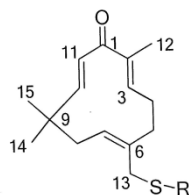
2. Vũ Quang Lợi (VN)

P.206, Tập thể Vật tư thiết bị du lịch, số 2 Hoàng Ngọc Phách, Phường Láng Hạ, quận Đống Đa, Hà Nội

(74) Công ty Luật TNHH ADVACAS (ADVACAS LAW FIRM)

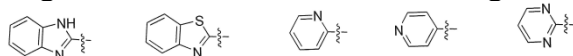
(54) DẪN XUẤT ZERUMBON CHỨA DỊ VÒNG CÓ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO VÀ PHƯƠNG PHÁP TỔNG HỢP DẪN XUẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến dẫn xuất khung zerumbon (zerumbone) - hợp chất được phân lập từ củ cây gừng gió (tên khoa học là *Zingiber zerumbet*) và phương pháp tổng hợp các dẫn xuất này. Cụ thể, sáng chế đề xuất dẫn xuất zerumbon có công thức (I):



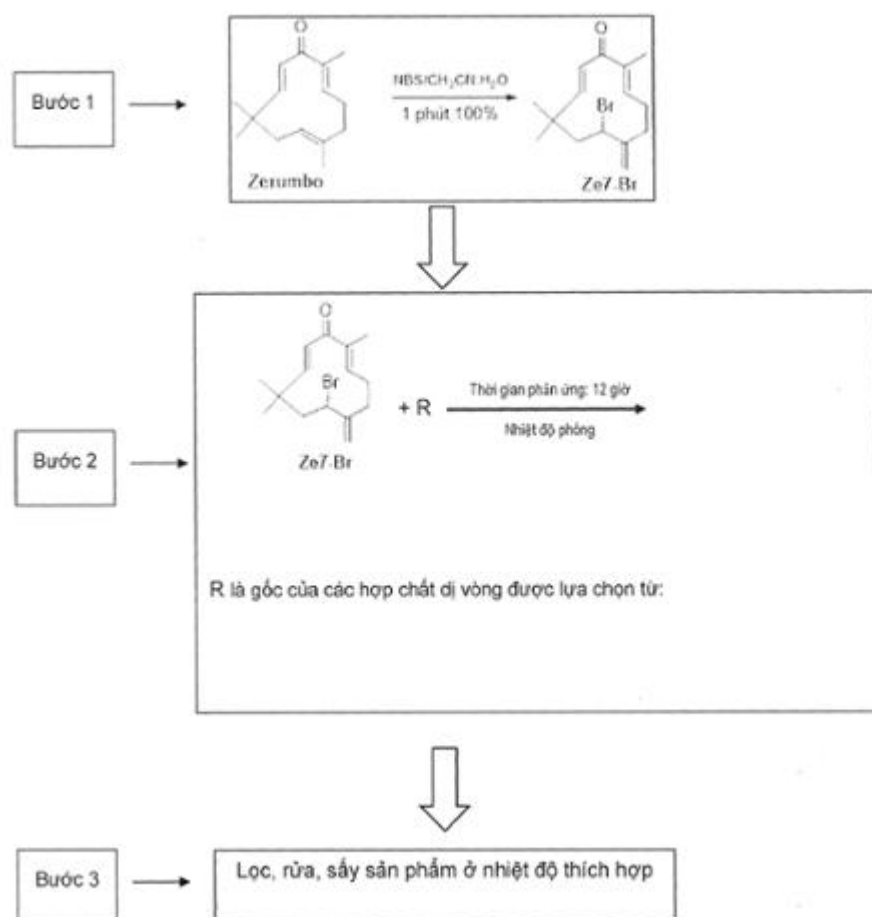
(I)

trong đó, R được chọn từ nhóm bao gồm:



và phương pháp tổng hợp các hợp chất này.

Các hợp chất theo sáng chế có hoạt tính gây độc tế bào đối với ba dòng tế bào ung thư như ung thư gan (Human hepatocellular carcinoma, HepG2), ung thư phổi ở người (Human lung carcinoma, A549) và ung thư cổ tử cung (HeLa cervical cancer cells, HeLa).



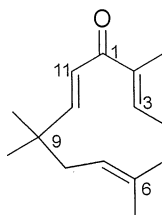
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan đến lĩnh vực tổng hợp hữu cơ và tìm kiếm các hợp chất có phổ hoạt tính rộng có nguồn gốc từ thiên nhiên. Cụ thể hơn sáng chế đề xuất các dẫn xuất của zerumbon (zerumbone), một sesquiterpen được phân lập lượng lớn từ củ của cây gừng gió (có tên khoa học là *Zingiber zerumbet*), có hoạt tính gây độc tế bào và phương pháp tổng hợp các dẫn xuất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các hợp chất sesquiterpen là lớp chất lớn được cấu thành từ 3 đơn vị isopren, có nhiều hoạt tính nổi bật trong các terpen. Các sesquiterpen luôn thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học nhờ hoạt tính sinh học mạnh mẽ, cơ chế tác dụng rõ ràng rất thích hợp cho nghiên cứu phát triển thuốc hoặc các sản phẩm chức năng hỗ trợ điều trị các bệnh có liên quan.

Cây gừng gió (*Zingiber zerumbet*) là một trong những cây thuốc quý, nổi tiếng của nước ta, loài thực vật này được sử dụng phổ biến làm gia vị truyền thống trong nhiều món ăn và đồ uống ở Châu Á, tinh dầu của nó thường được sử dụng làm nước hoa và sản phẩm vệ sinh. Bên cạnh việc sử dụng làm gia vị thì riêng phần củ được sử dụng trong nhiều bài thuốc dân tộc truyền thống để chữa trị buồn nôn, chóng mặt, hen suyễn, say tàu xe, chán ăn, khó tiêu, tiêu chảy, đau bụng, chuột rút, bong gân, ho, cảm lạnh, viêm họng, viêm xoang, đau nửa đầu, đau răng, tiểu đường, viêm khớp, thấp khớp [Review Article: *Biomedical Properties of a Natural Dietary Plant Metabolite, Zerumbone, in Cancer Therapy and Chemoprevention Trials*”, *BioMed Research International*, Vol. 2014, Article ID 920742, 20 pages]. Trong thực vật này có chứa một số các lớp chất khác nhau nhưng nhiều nhất là zerumbon, một sesquiterpen vòng 11 cạnh với trung tâm hoạt tính pentadienon và một nối đôi biệt lập có công thức như sau:



Zerumbon

Zerumbon có nhiều hoạt tính quý như chống ung thư, kháng viêm, kháng nấm, kháng khuẩn [K. Kalantari, M. Moniri, A.B. Moghaddam, R.A. Rahim, A.B. Ariff, Z. Izadiyan, R. Mohamad. *A Review of the Biomedical Application of Zerumbone and the Techniques for Its Extraction from Ginger Rhizomes*, *Molecules* 2017, 22(10), 1645, 24 pages] nhưng nổi bật nhất là hoạt tính chống ung thư. Các kết quả nghiên cứu cả *in vitro* và *in vivo* đều khẳng định zerumbon là chất chống ung thư mạnh. Sesquiterpen này ức chế có hiệu quả sự phát triển nhiều dòng tế bào ung thư người như ung thư gan, ung thư cổ tử cung, ung thư vú, ung thư máu, ung thư tuyến tụy. So sánh hoạt tính chống ung thư đại tràng *in vitro* của zerumbon với curcumin, người ta thấy hoạt tính của zerumbon (IC_{50} : 1,27 $\mu\text{g/ml}$) mạnh hơn của curcumin (IC_{50} : 9,4 $\mu\text{g/ml}$) khá nhiều. Đối với dòng tế bào ung thư cổ tử cung người Hela, Abdul A.B.H và cộng sự [Adbul A. B. H, Al-Zubairi A. S, Tailan N. D, Wahab S.I.A, Zain Z.N.M, Ruslay S, Syam M.M (2008), “Anticancer activity of natural compound (Zerumbone) extracted from *Zingiber zerumbet* in human HeLa cervical cancer cells”, *International Journal of Pharmacology*, 4(3), pp.160–168] nhận thấy zerumbon có khả năng gây độc dòng tế bào này với $IC_{50} = 2,5 \mu\text{g/ml}$ trong khi IC_{50} của *cis*-platin là 1,6 $\mu\text{g/ml}$. Tuy vậy, zerumbon gây độc chọn lọc tế bào ung thư, chống sự phát triển đột biến, còn *cis*-platin không có tính chất chọn lọc, gây độc với cả tế bào ung thư (cancerous cells) lẫn tế bào thường (non-cancerous cells). Các số liệu nghiên cứu của họ cũng khẳng định *cis*-platin gây độc tế bào ung thư gan HepG2 ($IC_{50} = 7,08 \mu\text{g/ml}$) yếu hơn so với độ độc của zerumbon đối với HepG2 ($IC_{50} = 3,15 \mu\text{g/ml}$). Điều này cho thấy zerumbon rất có triển vọng trong việc nghiên cứu thuốc điều trị ung thư gan. Năm 2005, Huang.G.C và cộng sự nghiên cứu cả *in vitro* và *in vivo* tác dụng ức chế khối u của zerumbon trên tế bào P-388D1 ở chuột đã khẳng định ở nồng độ 5 mg/kg thể trọng chuột thì kéo dài sự sống của chuột một cách rõ rệt [Huang G. C, Chien T. Y, Chen L. G, Wang C. C (2005), “Antitumor effects of zerumbone from *Zingiber zerumbet* in P-388D1 cells *in vitro* and *in vivo*”, *Planta Medica*, 71(3), pp.219–224].

Zerumbon chống ung thư theo các cơ chế khác nhau như kìm hãm hay loại trừ yếu tố NF- κ B hoạt động - là tác nhân gây ung thư [Takada Y, Murakami A, Aggarwal B.B (2005), “Zerumbone abolishes NF- κ B and IkappaB α kinase activation leading to suppression of antiapoptotic and metastatic gene expression, upregulation of apoptosis, and downregulation of invasion”, *Oncogene*, 24, pp. 6957–6969], cơ chế oxy hóa khử và thúc đẩy quá trình chết theo lập trình (apoptosis) của tế bào ung thư [Hoffman A, Spetner L. M, Burke M (2002), “Redox-regulated mechanism may account for zerumbone's ability to suppress cancer-cell proliferation”, *Carcinogenesis*, 23 (11), pp. 1961-1972.; Abdul A. B., Abdullah M. N. H., Lajis M. N., Tailan N. D., Zain Z. N. M., Wahab S. I. A., Al-Zubairi A. S. (2009), *Use of an anti-cancer compound*, US Pat. 0239953 A1.]. Trong phân tử zerumbon, nhóm α,β -xeton không no (dienone) có vai trò quan trọng đến hoạt tính của chất này, nhóm này chính là một trung tâm tiếp nhận các tác nhân của phản ứng Micheal, chẳng hạn như nhóm SH trong một số protein [Xia, Y.; Yang, Z.Y.; Xia, P.; Bastow, K.F.; Nakanishi, Y.; Lee, K.H. (2000). *Antitumor agent, Part 202: Novel 2'-aminochalcone: Design, synthesis and biological evaluation. Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10, 699-701]. Kết luận này cũng được Murakami và Nakamura đề cập đến trong các nghiên cứu hoạt tính kháng viêm và chống ung thư của zerumbon và các dẫn xuất [Murakami A., Tanaka T., Lee J. Y., Surh Y. J., Kim H. W., Kawabata K., Nakamura Y., Jiwajinda S., Ohigashi H. (2004). *Zerumbone, a sesquiterpene in subtropical ginger, suppresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice*, *Int. J. Cancer*, 110(4), 481–490; Murakami A, Takahashi D, Kinoshita T, Koshimizu K, Kim HW, Yoshihiro A, Nakamura Y, Jiwajinda S, Terao J, Ohigashi H (2002). *Zerumbone, a Southeast Asian ginger sesquiterpene, markedly suppresses free radical generation, proinflammatory protein production, and cancer cell proliferation accompanied by apoptosis: the α,β -unsaturated carbonyl group is a prerequisite*, *Carcinogenesis*, 23, pp. 795–802].

Zerumbon là một chất ít phân cực. Điều này dẫn đến khả năng ứng dụng hoạt chất này bị giới hạn đáng kể. Bởi vậy, tổng hợp các dẫn xuất từ zerumbon có khả năng tan tốt hơn, hoạt tính gây độc tế bào ung thư mạnh hơn được xem như là một giải pháp tốt để cải thiện nhược điểm này. Hiện nay, nhiều dẫn xuất của zerumbon đã được tổng hợp nhưng đa số là những can thiệp hóa học vào trung tâm hoạt tính petadienon dẫn đến làm giảm hoặc mất đi hoạt tính sinh học của chúng. Vì vậy, hướng chuyển hóa giữ

nguyên cấu trúc khung zerumbon là cách tiếp cận đúng đắn nhất nhằm giữ hoạt tính chống ung thư của các dẫn xuất tạo thành để khai thác tiềm năng ứng dụng của sesquiterpen này. Năm 2013, nghiên cứu của Kitayama là công trình đầu tiên chuyển hóa zerumbon theo hướng này [T. Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). “Novel synthesis of zerumbone-pendant derivatives and biological activity, *Tetrahedron*, 69(47): 10152-10160)], một vài dẫn xuất của zerumbon với các amin đã được tạo thành nhờ biến đổi nhóm 6-CH₃, kết quả cho hoạt tính chống ung thư của các dẫn xuất thu được được cải thiện đáng kể so với zerumbon. Tiếp theo, năm 2019 Kitayama công bố thêm một số dẫn xuất mới khác trong đó nhóm 6-CH₃ được chuyển thành nhóm este của các axit khác nhau, kết quả cho thấy hoạt tính của các chất này mạnh hơn khá nhiều so với zerumbon [Y. Utaka, G. Kashiwazaki, S. Tajima, Y. Fujiwara, K. Sumi, T. Itoh, T. Kitayama (2019). *Antiproliferative effects of zerumbone-pendant derivatives on human T-cell lymphoid cell line Jurkat cells*, *Tetrahedron*, 75, 1343-1350]. Để tiếp tục theo đuổi hướng nghiên cứu này, sáng chế sẽ giới thiệu các dẫn xuất mới khung zerumbon chứa các hợp chất dị vòng, có hoạt tính gây độc với các dòng tế bào ung thư gan HepG2, ung thư phổi A549, ung thư cổ tử cung Hela và phương pháp tổng hợp các dẫn xuất này.

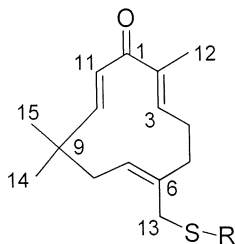
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp tổng hợp một số dẫn xuất từ zerumbon, một sesquiterpen được phân lập từ loài thực vật gừng gió *Zingiber zerumbet* ở Việt Nam, các dẫn xuất tổng hợp được có cấu trúc bộ khung zerumbon nhưng hoạt tính gây độc tế bào mạnh mẽ hơn chất đầu zerumbon.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất phương pháp tổng hợp các dẫn xuất này sao cho dễ thực hiện, có hiệu suất ổn định, tiết kiệm hóa chất, có thể mở rộng qui mô và thực hiện được ở điều kiện êm dịu thân thiện với môi trường.

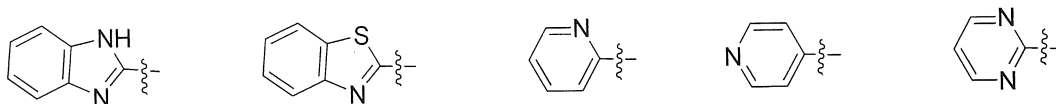
Để đạt được mục đích nêu trên, sáng chế đề xuất dẫn xuất zerumbon có công thức

(I):



(I)

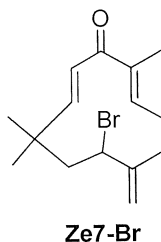
khác biệt ở chỗ R được chọn từ nhóm bao gồm:



trong đó, dẫn xuất zerumbon này có cấu trúc khung zerumbon ban đầu nhưng có hoạt tính gây độc tế bào mạnh hơn chất đầu zerumbon.

Ngoài ra, theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp dẫn xuất zerumbon có công thức (I), phương pháp này bao gồm các bước:

bước 1: cho hợp chất zerumbon phản ứng với *N*-bromosuxinimit theo cơ chế gốc hệ dung môi $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1 để tạo thành hợp chất dẫn xuất $\text{C}_7\text{-Br}$ của zerumbon (Quy trình của Kitayama và các cộng sự [T. Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). “Novel synthesis of zerumbone-pendant derivatives and biological activity, *Tetrahedron*, 69(47): 10152-10160])), trong sáng chế này hợp chất trung gian này là Ze7-Br có công thức



bước 2: chuyển hóa dẫn xuất Ze7-Br của zerumbon thành các dẫn xuất có công thức (I) bằng cách cho Ze7-Br phản ứng với các hợp chất mercapto (2-mercaptobenzimidazol hoặc 2-mercaptobenzothiazol hoặc 2-mercaptopyridin hoặc 4-mercaptopyridin hoặc 2-mercaptopyrimidin) trong DMF khan trong 12 giờ, ở khoảng nhiệt độ phòng với sự có mặt của chất xúc tác kiềm được chọn từ nhóm trietylamin, K_2CO_3 , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 , KOH hoặc NaOH;

bước 3: lọc, rửa, sấy sản phẩm tổng hợp được ở nhiệt độ thích hợp thu được hợp chất là dẫn xuất zerumbon chứa dị vòng tương ứng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là hình vẽ mô tả phương pháp tổng hợp dẫn xuất zerumbon theo sáng chế.

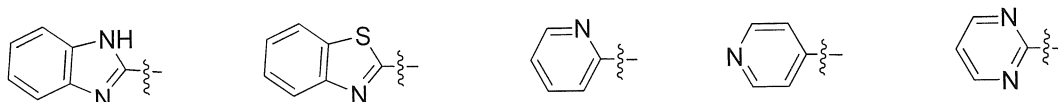
Hình 2 là hình vẽ mô tả các phương án ưu tiên của phản ứng chuyển hóa Ze7-Br thành các dẫn xuất của zerumbon theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn nữa thông qua các phương án ưu tiên, chỉ với mục đích minh họa cho sáng chế. Do đó, sáng chế không bị giới hạn chỉ ở các phương án ưu tiên cụ thể này.

Từ chất đầu zerumbon, được chiết xuất từ cây gừng gió, tổng hợp hợp chất Ze7-Br với sự có mặt của NBS/CH₃CN:H₂O, thời gian 1 phút toàn lượng (100%).

Từ hợp chất Ze7-Br tổng hợp 5 dẫn xuất chứa lưu huỳnh gắn với các gốc dị vòng ở khoảng nhiệt độ phòng trong thời gian khoảng 12 giờ:



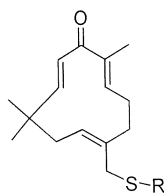
Ngoài ra, rõ ràng là, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, trên cơ sở nội dung bộc lộ trong bản mô tả này, có thể biến đổi sáng chế theo các cách tương đương khác nhau như thay đổi các thành phần/nguyên liệu với đặc tính/chức năng tương đương với thành phần/nguyên liệu, v.v., được mô tả trong bản mô tả này.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “khoảng” trước các giá trị số được dùng để chỉ chính giá trị số đó cũng như các giá trị số nằm trong khoảng $\pm 10\%$, tốt hơn là $\pm 5\%$, và tốt nhất là chỉ chính giá trị số đó.

Hợp chất theo sáng chế

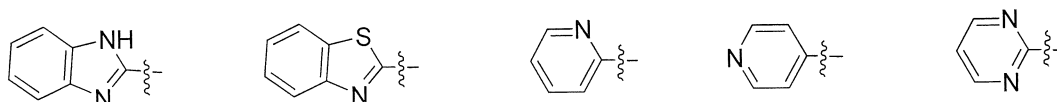
Sáng chế sử dụng hợp chất zerumbon để tổng hợp các dẫn xuất mới có hoạt tính gây độc tế bào.

Cụ thể hơn, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dẫn xuất zerumbon có công thức (I):

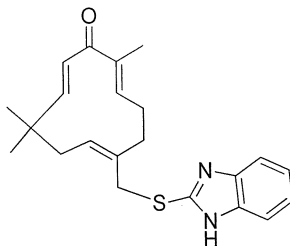


(I)

trong đó R được chọn từ nhóm bao gồm:

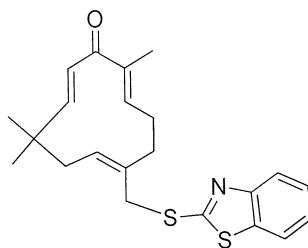


Theo một phương án được ưu tiên khác, dẫn xuất zerumbon có công thức (I) là hợp chất có công thức cấu tạo như sau:



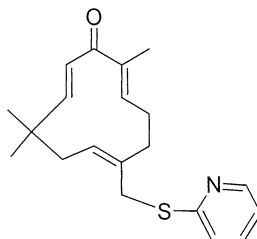
(sau đây được gọi là **TH1**).

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, dẫn xuất zerumbon có công thức (I) là hợp chất có công thức cấu tạo như sau:



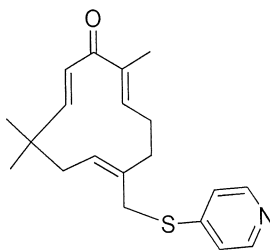
(sau đây được gọi là **TH2**).

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, dẫn xuất zerumbon có công thức (I) là hợp chất có công thức cấu tạo như sau:



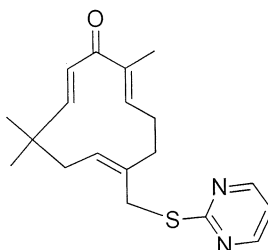
(sau đây được gọi là **TH3**).

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, dẫn xuất zerumbon có công thức (I) là hợp chất có công thức cấu tạo như sau:



(sau đây được gọi là **TH4**).

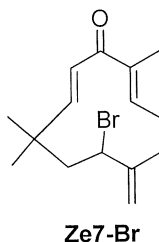
Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, dẫn xuất zerumbon có công thức (I) là hợp chất có công thức cấu tạo như sau:



(sau đây được gọi là **TH5**).

Theo một khía cạnh khác, như thể hiện trên Hình 1, sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp dẫn xuất zerumbon có công thức (I) gồm các bước:

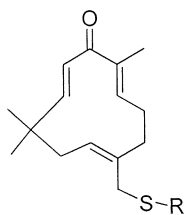
bước 1: cho hợp chất zerumbon phản ứng với *N*-bromosuccinimide theo cơ chế gốc hệ dung môi $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1 để tạo thành hợp chất dẫn xuất C7-Br của zerumbon (Quy trình của Kitayama và các cộng sự [*T. Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). "Novel synthesis of zerumbone-pendant derivatives and biological activity, Tetrahedron, 69(47): 10152-10160*)]), trong sáng chế này hợp chất trung gian này là Ze7-Br có công thức



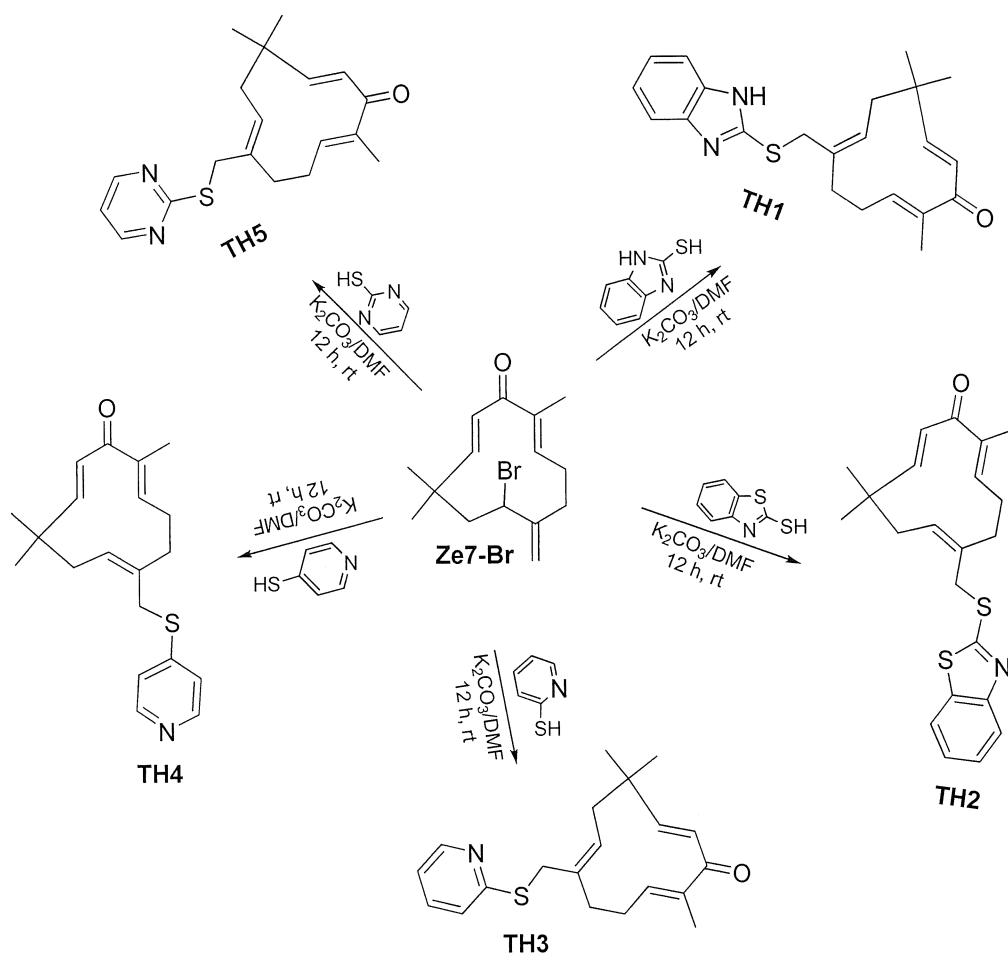
bước 2: chuyển hóa dẫn xuất Ze7-Br của zerumbon thành các dẫn xuất dạng (I) bằng cách cho Ze7-Br phản ứng với các hợp chất mercapto (2-mercaptobenzimidazol hoặc 2-mercaptobenzothiazol hoặc 2-mercaptopyridin hoặc 4-mercaptopyridin hoặc 2-mercaptopyrimidin) trong DMF khan trong 12 giờ với sự có mặt của chất xúc tác kiềm được chọn từ nhóm triethylamin, K_2CO_3 , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 , KOH hoặc NaOH để tạo thành các dẫn xuất là hợp chất zerumbon chứa dị vòng tương ứng được đặt tên là TH1, TH2, TH3, TH4, TH5;

bước 3: lọc, rửa, sấy sản phẩm ở nhiệt độ thích hợp thu được hợp chất zerumbon chứa dị vòng, đặt tên lần lượt là TH1, TH2, TH3, TH4, TH5.

Theo một phương án cụ thể được ưu tiên, như thể hiện trên Hình 2, và như được mô tả dưới đây, phương pháp tổng hợp các dẫn xuất mới trên đây chứa các nhóm thế khác nhau của zerumbon ở vị trí 6-CH₃ theo sáng chế bằng các phản ứng *S*-alkyl hóa ở khoảng nhiệt độ phòng sử dụng xúc tác kiềm mà tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm triethylamin, K₂CO₃, Na₂CO₃, Cs₂CO₃, KOH, NaOH trong DMF, THF, DMSO để tạo các dẫn xuất có công thức (I)



(I)



Theo một phương án cụ thể hơn, sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp các dẫn xuất zerumbon, đặc trưng ở chỗ:

chất xúc tác được sử dụng bao gồm chất xúc tác bazơ được chọn từ nhóm bao gồm, triethylamin, kali cacbonat, natri cacbonat, xeri cacbonat, kali hydroxit, natri hydroxit,

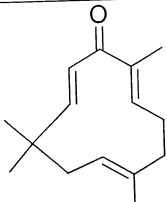
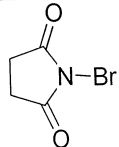
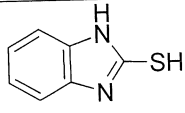
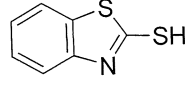
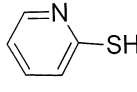
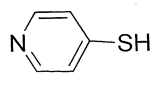
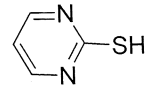
dung môi: DMF, THF và DMSO,

thời gian phản ứng: 12 giờ (viết tắt là 12 h),

nhiệt độ phản ứng: ở nhiệt độ phòng (viết tắt là rt).

Theo một phương án cụ thể đặc biệt được ưu tiên, hợp chất ban đầu và các chất dùng để tổng hợp các dẫn xuất của indirubin theo sáng chế được mô tả trong bảng 1 sau đây.

Bảng 1 - Hợp chất ban đầu để tổng hợp các hợp chất theo sáng chế

STT	Hợp chất ban đầu	Công thức tổng quát	Ghi chú
1	Zerumbon		Phân lập từ cây gừng gió <i>Zingiber zerumbet</i>
2	N-Bromosuccinimide		Sản phẩm thương mại từ công ty Sigma
3	2-mercaptobenzimidazol		Sản phẩm thương mại từ công ty Sigma
4	2-mercaptobenzothiazol		Sản phẩm thương mại từ công ty Sigma
5	2-mercaptopyridin		Sản phẩm thương mại từ công ty Sigma
6	4-mercaptopyridin		Sản phẩm thương mại từ công ty Sigma
7	2-mercaptopyrimidin		Sản phẩm thương mại từ công ty Sigma

8	DMF, THF, DMSO	$(\text{CH}_3)_2\text{N-CHO}$, 	Sản phẩm thương mại từ công ty Sigma
9	Triethylamin, Kali cacbonat, Natri cacbonat, Xeri cacbonat, Kalihydroxit, Natrihydroxit	$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$, K_2CO_3 , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 , KOH , NaOH	Sản phẩm thương mại từ Trung Quốc

Sau đó, các hợp chất thu được được xác định đặc trưng đầy đủ bởi các hằng số vật lý, các dữ kiện phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR và phổ khối MS.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn thông qua các ví dụ chỉ với mục đích minh họa hơn nữa cho sáng chế.

Quy trình *S*-alkyl hóa các hợp chất mercapto bằng dẫn xuất Ze7-Br của zerumbon

Ví dụ 1: Tổng hợp chất **TH1**

Hòa tan 150 mg (1 mmol) 2-mercaptobenzimidazol trong 5 mL DMF, thêm vào 207 mg (1,5 mmol) K_2CO_3 , vừa khuấy hỗn hợp vừa thêm vào hỗn hợp 445,5 (1,5 mmol) Ze7-Br (hợp chất được tổng hợp theo phương pháp tổng hợp được mô tả trong tài liệu [T.Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). “Novel synthesis of -pendant derivatives and biological activity, *Tetrahedron*, 69(47): 10152-10160] và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được đổ vào nước đá, khuấy đều hỗn hợp 15 phút, chiết 3 lần với EtOAc. Hóa hợp dịch chiết EtOAc, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được hợp chất **TH1** thô. Chất **TH1** được tinh chế bằng cách kết tinh lại trong n-hexan:ethylacetate, hiệu suất 67%

Ví dụ 2: Tổng hợp chất **TH2**

Hòa tan 167 mg (1 mmol) 2-mercaptobenzothiazol trong 5 mL DMF, thêm vào 207 mg (1,5 mmol) K_2CO_3 , vừa khuấy hỗn hợp vừa thêm vào hỗn hợp 445,5 (1,5 mmol) Ze7-Br (hợp chất được tổng hợp theo phương pháp tổng hợp được mô tả trong tài liệu [T. Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). “Novel synthesis of zerumbone-pendant derivatives and biological activity, *Tetrahedron*, 69(47): 10152-10160] và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được đổ vào nước đá, khuấy đều hỗn hợp 15 phút, chiết 3 lần với EtOAc. Hóa hợp dịch chiết EtOAc, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được hợp

chất **TH2** thô. Chất **TH2** được tinh chế bằng cách kết tinh lại trong n-hexan:ethylacetate, hiệu suất 72%

Ví dụ 3: Tổng hợp chất **TH3**

Hòa tan 111 mg (1 mmol) 2-mercaptopyridin trong 5 mL DMF, thêm vào 207 mg (1,5 mmol) K_2CO_3 , vừa khuấy hỗn hợp vừa thêm vào hỗn hợp 445,5 (1,5 mmol) Ze7-Br (hợp chất được tổng hợp theo phương pháp tổng hợp được mô tả trong tài liệu [T.Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). “Novel synthesis of -pendant derivatives and biological activity, *Tetrahedron*, 69(47): 10152-10160] và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được đổ vào nước đá, khuấy đều hỗn hợp 15 phút, chiết 3 lần với EtOAc. Hòa hợp dịch chiết EtOAc, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được hợp chất **TH3** thô. Chất **TH3** được tinh chế bằng cách kết tinh lại trong n-hexan:ethylacetate, hiệu suất 57%

Ví dụ 4: Tổng hợp chất **TH4**

Hòa tan 111 mg (1 mmol) 4-mercaptopyridin trong 5 mL DMF, thêm vào 207 mg (1,5 mmol) K_2CO_3 , vừa khuấy hỗn hợp vừa thêm vào hỗn hợp 445,5 (1,5 mmol) Ze7-Br (hợp chất được tổng hợp theo phương pháp tổng hợp được mô tả trong tài liệu [T.Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). “Novel synthesis of zerumbone-pendant derivatives and biological activity, *Tetrahedron*, 69(47): 10152-10160] và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được đổ vào nước đá, khuấy đều hỗn hợp 15 phút, chiết 3 lần với EtOAc. Hòa hợp dịch chiết EtOAc, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được hợp chất **TH4** thô. Chất **TH4** được tinh chế bằng cách kết tinh lại trong n-hexan:ethylacetate, hiệu suất 59%

Ví dụ 5: Tổng hợp chất **TH5**

Hòa tan 112 mg (1 mmol) 2-mercaptopyrimidin trong 5 mL DMF, thêm vào 207 mg (1,5 mmol) K_2CO_3 , vừa khuấy hỗn hợp vừa thêm vào hỗn hợp 445,5 (1,5 mmol) Ze7-Br (hợp chất được tổng hợp theo phương pháp tổng hợp được mô tả trong tài liệu T. Kitayama, M. Nakahira, K. Ymasaki, H. Inoue (2013). “Novel synthesis of zerumbone-pendant derivatives and biological activity, *Tetrahedron*, 69(47): 10152-10160) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được đổ vào nước đá, khuấy đều hỗn hợp 15 phút, chiết 3 lần với EtOAc. Hòa hợp dịch chiết EtOAc, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được hợp

chất **TH5** thô. Chất **TH5** được tinh chế bằng cách kết tinh lại trong n-hexan:ethylacetate, hiệu suất 70%.

Các đặc tính hóa lý và dữ liệu phổ khối

Các hợp chất thu được sau quá trình tổng hợp được xác định các đặc trưng bởi các hằng số vật lý, các dữ kiện phổ NMR và MS. Kết quả được tổng hợp trong Bảng 2 sau đây.

Bảng 2 - Đặc tính hóa lý và dữ liệu phổ khối của các hợp chất thu được

Kí hiệu chất (màu)	Công thức phân tử	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	R _f	Hiệu suất	Dữ liệu phổ khối [M+H] ⁺
TH1 (Trắng)	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ OS	166-167	0,38*	67%***	367,1829
TH2 (Trắng)	C ₂₂ H ₂₅ NOS ₂	130-131	0,45**	72%***	384,1428
TH3 (Trắng)	C ₂₀ H ₂₅ NOS	80-81	0,40**	68%***	328,1719
TH4 (Trắng)	C ₂₀ H ₂₅ NOS	78-79	0,34*	59%***	328,1722
TH5 (Trắng)	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ OS	114-115	0,34**	70%***	329,1673

* Hệ dung môi n-hexan:etyl axetat 1,5:1;

** Hệ dung môi n-hexan:etyl axetat 4:1

*** hiệu suất tổng

Các đặc trưng phổ NMR của các hợp chất

Chất TH1

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ (ppm): 12,52 (s, 1H, N-H); 7,43 (m, 2H); 7,21 (m, 2H); 6,00 (t, *J* = 4,75 Hz, 1H); 5,95 (d, *J* = 16,5 Hz, 1H); 5,91 (d, *J* = 16,5 Hz,

1H); 5,43 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,20 (s, 1H); 3,80 (s, 1H); 2,57 (m, 3H); 2,22 (m, 2H); 1,86 (s, 1H); 1,72 (s, 3H); 1,18 (s, 3H); 1,05 (s, 3H). **^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ (ppm):** 202,6; 159,5; 149,8; 148,7; 143,5; 137,7; 135,5; 134,6; 130,0; 127,0; 121,4; 117,3; 110,3; 41,7; 37,1; 35,6; 30,3; 28,9; 24,2; 23,7; 11,9.

Chất TH2

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), δ (ppm): 8,00 (d, $J_1 = 0,6$ Hz, $J_2 = 7,8$ Hz, 1H); 7,84 (dd, $J_1 = 0,6$ Hz, $J_2 = 7,8$ Hz, 1H); 7,47 (m, 1H); 7,36 (m, 1H); 5,99 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H); 5,96 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,89 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,50 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H); 4,37 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 3,77 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 2,61 (m, 3H); 2,23 (m, 2H); 1,95 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H); 1,73 (s, 3H); 1,19 (s, 3H); 1,07 (s, 3H). **^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz), δ (ppm):** 202,6; 166,2; 159,4; 152,4; 148,6; 137,8; 134,8; 134,0; 130,7; 127,0; 126,4; 124,5; 121,8; 121,0; 41,9; 37,2; 35,3; 31,5; 28,9; 24,2; 23,7; 11,9.

Chất TH3

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ (ppm): 8,45 (m, 1H); 7,65 (m, 1H); 7,30 (m, 1H); 7,13 (m, 1H); 6,01 (t, $J = 5,25$ Hz, 1H); 5,97 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,93 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,43 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,07 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H); 3,66 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H); 2,55 (m, 3H); 2,21 (m, 2H); 1,92 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 1,73 (s, 3H); 1,20 (s, 3H); 1,06 (s, 3H). **^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ (ppm):** 203,2; 160,2; 158,6; 149,7; 149,2; 138,2; 137,2; 135,6; 129,7; 127,5; 122,5; 120,4; 42,2; 37,6; 36,2; 29,4; 28,3; 24,8; 24,2; 12,4.

Chất TH4

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ (ppm): 8,38 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, 2H); 7,30 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz, 2H); 6,02 (s, 1H); 5,98 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,93 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,52 (t, $J = 8,25$ Hz, 1H); 4,13 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 3,37 (s, 1H); 2,58 (m, 3H); 2,23 (m, 2H); 1,95 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H); 1,73 (s, 3H); 1,21 (s, 3H); 1,08 (s, 3H). **^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ (ppm):** 203,2; 160,0; 149,5; 149,2; 149,1; 138,4; 134,2; 130,9; 127,5; 121,6; 42,2; 37,7; 36,0; 29,7; 29,4; 24,6; 24,2; 12,4.

Chất TH5

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ (ppm): 8,65 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz, 2H); 7,23 (t, $J = 5,0$ Hz, 1H); 6,02 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H); 5,97 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,93 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H); 5,45 (t, $J = 8,25$ Hz, 1H); 4,07 (d, $J = 12,75$ Hz, 1H); 3,65 (d, $J = 12,75$ Hz, 1H); 2,56 (m, 3H); 2,23 (m, 2H); 1,97 (s, 1H); 1,72 (s, 3H); 1,21 (s, 3H); 1,06

(s, 3H). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ (ppm): 203,2; 171,3; 160,2; 158,2; 149,2; 138,2; 135,2; 130,1; 127,5; 117,8; 42,3; 37,6; 36,2; 29,5; 29,2; 24,8; 24,3; 12,4.

Ví dụ 6: Thử nghiệm hoạt tính sinh học

Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào

Phương pháp thử độ độc tế bào ung thư *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute – NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc diệt TBUT ở điều kiện *in vitro*.

Phép thử này được thực hiện theo phương pháp được mô tả trong tài liệu [Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR (1990) New colorimetric cytotoxic assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute* 82(13):1107-1112].

Kết quả hoạt tính gây độc tế bào

Các dẫn xuất mới theo sáng chế được thử khả năng gây độc trên các tế bào ung thư người bao gồm:

HepG2: Ung thư gan ở người (Human hepatocellular carcinoma, ATCC-HB-8065)

A549: Ung thư phổi ở người (Human lung carcinoma, ATCC-CCL-185)

HeLa: Ung thư cổ tử cung ở người (Human cervix carcinoma, ATCC-CCL-2)

Kết quả về hoạt tính gây độc tế bào trên đây được tổng hợp trong bảng 3 dưới đây.

Bảng 3 - Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

STT	Hợp chất	IC ₅₀ (μg/mL)		
		HepG2	A549	HeLa
1	TH1	1,39	0,56	1,02
3	TH2	2,98	0,91	0,99
3	TH3	1,96	0,99	1,48
4	TH4	2,03	0,64	0,86
5	TH5	4,24	0,79	1,39
6	Zerumbon	16,28	1,48	6,24
7	Ellipticin	0,25	0,22	0,21

Kết quả ở bảng 3 cho thấy các dẫn xuất mới của zerumbon (TH1, TH2, TH3, TH4, TH5) đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh đối với cả ba dòng tế bào thử

nghiệm (HepG2, A549 và HeLa) và mạnh hơn khá nhiều so với hoạt tính của chất đầu zerumbon và chất chuẩn dương ellipticin.

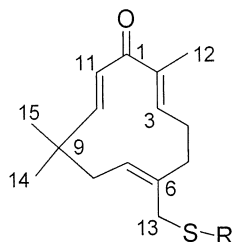
Hiệu quả có lợi của sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp các dẫn xuất mới của zerumbon phân lập từ cây gừng gió. Ưu điểm nổi bật của các hợp chất này là chúng có nguồn gốc từ thực vật, nguồn nguyên liệu dồi dào với hàm lượng zerumbon khá lớn, có thể qui hoạch trồng để phát triển vùng nguyên liệu bền vững, ổn định phục vụ cả cho mục đích xóa đói giảm nghèo. Quá trình phân lập chất đầu zerumbon rất đơn giản và hoạt chất này lại có sẵn hoạt tính chống ung thư khá mạnh theo cơ chế đã biết rõ ràng. Hợp chất này rất thích hợp cho các nghiên cứu tiếp theo để phát triển thuốc và sản phẩm hỗ trợ điều trị ung thư. Các phương pháp tổng hợp các chất này lại đơn giản, điều kiện phản ứng êm dịu, hiệu suất tốt, dễ tinh chế và có thể mở rộng qui mô.

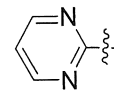
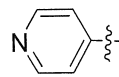
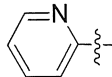
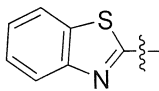
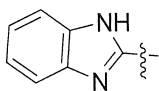
Hơn nữa, phương pháp theo sáng chế được cho là không những hoàn toàn khác biệt với các phương pháp đã biết xét về các bước thực hiện, điều kiện thực hiện, thành phần tham gia phản ứng và lượng chất tương ứng, mà còn có thể dùng làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực tổng hợp hóa học. Nói cách khác, sáng chế giải quyết được vấn đề cả về tính thực tiễn và học thuật. Cụ thể là, quy trình theo sáng chế phù hợp với điều kiện và ứng dụng tại Việt Nam và còn được sử dụng làm cơ sở tham khảo cho các nghiên cứu tiếp theo liên quan trong lĩnh vực kỹ thuật này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

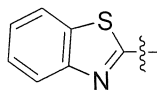
1. Dẫn xuất zerumbon có công thức sau:



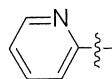
trong đó, R được chọn từ nhóm bao gồm:



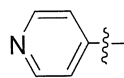
2. Dẫn xuất zerumbon theo điểm 1, trong đó R là:



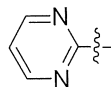
3. Dẫn xuất zerumbon theo điểm 1, trong đó R là:



4. Dẫn xuất zerumbon theo điểm 1, trong đó R là:

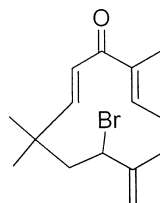


5. Dẫn xuất zerumbon theo điểm 1, trong đó R là:



6. Phương pháp tổng hợp dẫn xuất zerumbon theo điểm 1, bao gồm các bước sau:

bước 1: cho hợp chất zerumbon phản ứng với *N*-bromosuxinimit theo cơ chế gốc
hệ dung môi $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1 để tạo thành hợp chất Ze7-Br:



Ze7-Br

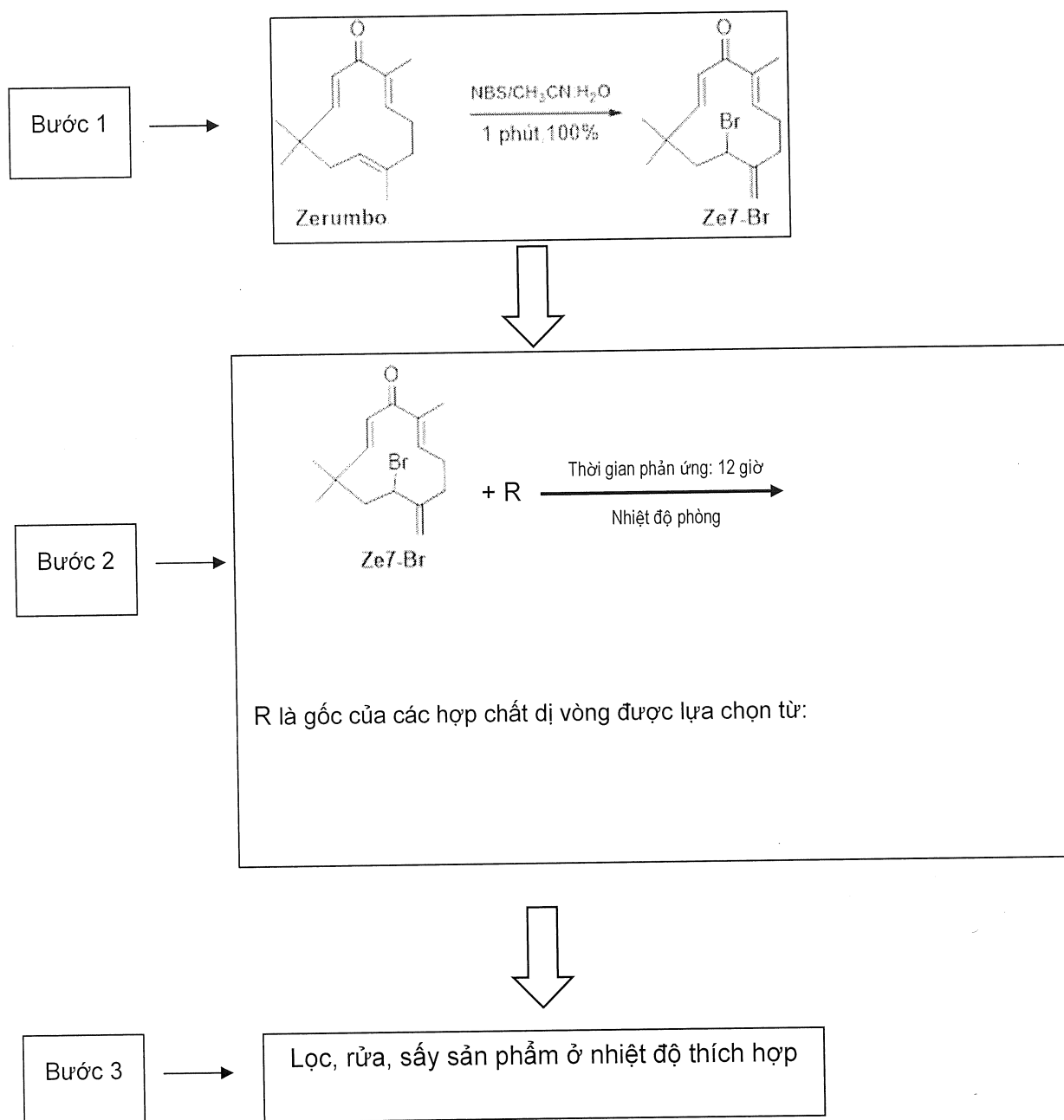
;

bước 2: cho chất trung gian Ze7-Br phản ứng với các hợp chất mercapto được
chọn từ nhóm bao gồm 2-mercaptobenzimidazol, 2-mercaptobenzothiazol, 2-

mercaptopyridin, 4-mercaptopyridin và 2-mercaptopyrimidin, trong DMF khan trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng với sự có mặt của chất xúc tác kiềm được chọn từ nhóm bao gồm triethylamin, K_2CO_3 , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 , KOH và NaOH để tạo thành các dẫn xuất zerumbon theo điểm bất kỳ từ 1 đến 5;

bước 3: lọc, rửa, sấy sản phẩm ở nhiệt độ thích hợp để thu được dẫn xuất zerumbon.

Hình 1



Hình 2

