



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

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

(11)



1-0048724

(51)^{2020.01} C07D 311/00; A61K 31/352

(13) B

(21) 1-2022-00165

(22) 11/01/2022

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/08/2022 413A

(73) Trường Đại học Sư phạm thành phố Hồ Chí Minh (VN)

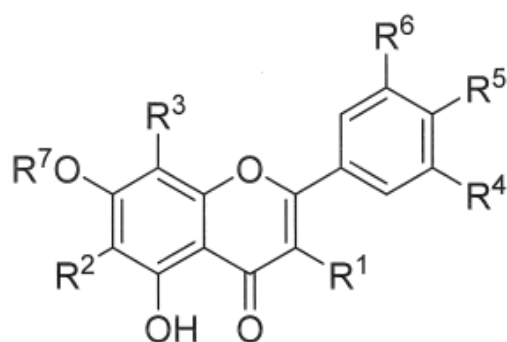
280 An Dương Vương, Phường 4, Quận 5, Thành phố Hồ Chí Minh

(72) Dương Thúc Huy (VN); Trần Thị Minh Định (VN); Nguyễn Hữu Hùng (VN); Trần Công Luận (VN); Đào Thị Bích Ngọc (VN); Jirapast Sichaem (TH); Nguyễn Trương Minh Trí (VN); Nguyễn Văn Quý (VN); Trần Nguyễn Minh Ân (VN); Nguyễn Hoàng Chương (VN); Nguyễn Thị Hoài Thu (VN).

(54) HỢP CHẤT DẪN XUẤT THỂ BROM CỦA KAMATAKENIN VÀ AYANIN CÓ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYM ALPHA-GLUCOSIDAZA VÀ PHƯƠNG PHÁP TỔNG HỢP CÁC HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2022-00165

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin được phân lập từ cây Trâm bầu (*Combretum quadrangulare* Kurz) có hoạt tính ức chế enzym alpha-glucosidaza và phương pháp tổng hợp các hợp chất này, trong đó hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin bao gồm 6,8,5'-tribromoayanin, 8-bromokamatakenin, 6-bromokamatakenin, 6,8,3',5' tetrabromokamatakenin.



Hợp chất	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷
6,8,5'-Tribromoayanin	OMe	Br	Br	OH	OMe	Br	Me
8-Bromokamatakenin	OMe	H	Br	H	OH	H	Me
6-Bromokamatakenin	OMe	Br	H	H	OH	H	Me
6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin	OMe	Br	Br	Br	OH	Br	Me

FIG.1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất dẫn xuất thể brom của kamatakenin và ayanin có hoạt tính ức chế enzym alpha-glucosidaza và phương pháp tổng hợp các hợp chất này, cụ thể hơn hợp chất kamatakenin và ayanin được phân lập từ cây Trâm bầu (*Combretum quadrangulare* Kurz).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cây trâm bầu thuộc ngành Magnoliophyta; lớp Magnoliopsida; bộ Myrtales; họ Combretaceae (họ Bàng); chi *Combretum*; loài *Combretum quadrangulare* Kurz. Cây trâm bầu được sử dụng rộng rãi trong y học dân gian ở Đông Á. Các công dụng truyền thống đã được chứng thực bởi dữ liệu về các đặc tính bảo vệ gan, hạ sốt, giảm đau, chống nôn và tẩy giun sán (Adnyana IK et al., Hepatoprotective Constituents of the Seeds of *Combretum quadrangulare*. *Biol. Pharm. Bull.* 2000, 23, 1328–1332; Banskota A et al., Chemical Constituents and Biological Activities of Vietnamese Medicinal Plants. *Curr. Top. Med. Chem.* 2003, 3, 227–248). Ở Việt Nam, cây này được dùng làm thuốc tẩy giun sán và chống viêm da. Mặc dù các nghiên cứu hóa học trước đây về *C. quadrangulare* báo cáo sự hiện diện của rất nhiều triterpene (cycloartane, ursane, lupane và oleanane), đã có hơn 10 flavonoid đã được tìm thấy từ nguồn sinh học này (Ganzera M et al., Cycloartane triterpenes from *Combretum quadrangulare*. *Phytochemistry* 1998, 49, 835–838; Banskota AH et al., Cytotoxic cycloartane-type triterpenes from *Combretum quadrangulare*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998, 8, 3519–3524; Banskota AH et al., Thirteen novel cycloartane-type triterpenes from *Combretum quadrangulare*. *J. Nat. Prod.* 1999, 63, 57–64; Banskota AH et al., Methyl Quadrangularates A-D and Related Triterpenes from *Combretum quadrangulare*. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48, 496–504; Adnyana IK et al., Quadransides VI-XI, Six New Triterpene Glucosides from the Seeds of *Combretum quadrangulare*. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48, 1114–1120; Adnyana IK et al., Three new triterpenes from the seeds of *Combretum quadrangulare* and their hepatoprotective activity. *J. Nat. Prod.* 2001, 64, 360–363).

Trong số các cơ quan khác nhau, lá của cây trâm bầu thu hút các nhà hóa học nghiên cứu. Các chiết xuất MeOH thô của lá và hạt trâm bầu cho thấy có tác dụng bảo vệ gan một cách đáng kể, ức chế men xanthine oxidase và gây độc tế bào chống lại một số dòng tế bào ung thư (Banskota AH et al., Methyl Quadrangularates A-D and Related Triterpenes from *Combretum quadrangulare*. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48, 496–504; Adnyana IK et al., Quadransides VI-XI, Six New Triterpene Glucosides from the Seeds of *Combretum quadrangulare*. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48, 1114–1120; Banskota AH et al., Hepatoprotective Effect of *Combretum quadrangulare* and Its Constituents. *Biol. Pharm. Bull.* 2000, 23, 456–460; Toume K et al., Cycloartane triterpenes isolated from *Combretum quadrangulare* in a screening program for death-receptor expression enhancing activity. *J. Nat. Prod.* 2011, 74, 249–255). Cho đến nay, mười flavone gồm combretol (từ hạt và hoa), ayanin, 5-hydroxy-2-(4'-hydroxy-3',5'-dimethoxyphenyl)-3,7-dimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one (từ hoa), kamatakenin, isokaempferide, 5,7,4'-trihydroxy-3,3'-dimethoxyflavone, 5,4'-dihydroxy-3,7,3'-

trimethoxyflavone; isoorientin; isovitexin 4'-methyl ether (từ lá); và vitexin (từ lá và hạt) được phân lập từ cây bản địa Việt Nam. Các hợp chất này cho thấy tác dụng ức chế mạnh mẽ sự chết của tế bào do TNF- α gây ra và gây độc tế bào từ nhẹ đến mạnh đối với một số dòng tế bào ung thư gồm 26-L5, HT-1080, HeLa, và A549 (Banskota A et al., Chemical Constituents and Biological Activities of Vietnamese Medicinal Plants. *Curr. Top. Med. Chem.* 2003, 3, 227–248).

Ayanin và kamatakenin là hai hợp chất flavone được phân lập từ nhiều bộ phận khác nhau của cây Trâm bầu *Combretum quadrangulare* (Adnyana IK et al., Hepatoprotective Constituents of the Seeds of *Combretum quadrangulare*. *Biol. Pharm. Bull.* 2000, 23, 1328–1332; Banskota A et al., Chemical Constituents and Biological Activities of Vietnamese Medicinal Plants. *Curr. Top. Med. Chem.* 2003, 3, 227–248). Tuy nhiên, cho đến nay chưa tìm thấy các dẫn xuất tổng hợp của hai hợp chất này.

Năm 1996, nghiên cứu của Marder và cộng sự mô tả phản ứng thế brom của các hợp chất flavon sử dụng tác nhân là Br₂ trong môi trường pyridine/CCl₄. Đây là phương pháp thế cổ điển với lượng lớn tác nhân Br₂ độc hại được sử dụng. Ngoài ra, hầu hết các hợp chất được điều chế là các flavon, xét về mặt cấu trúc hóa học khác hoàn toàn với các flavonol có mang nhóm metoxy tại C-3 của ayanin và kamatakenin (Marder, M.; Viola, H.; Wasowski, C.; Wolfman, C.; Waterman, P. G.; Cassels, B. K.; Medina, J. H.; Paladini, A. C. 6-Bromoflavone, a High Affinity Ligand for the Central Benzodiazepine Receptors Is a Member of a Family of Active Flavonoids. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1996, 223 (2), 384–389).

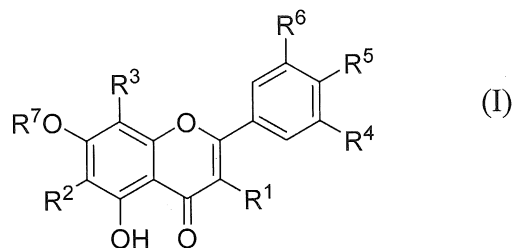
Năm 2008, tác giả Guo Wei và Biao Yu đã bộc lộ phương pháp phản ứng tổng hợp một số isoflavon glicosid trong đó có sử dụng phản ứng thế brom trên một liên kết đôi. Điều kiện phản ứng được sử dụng là hai tác nhân PhI(OAc)₂ và TMSBr trong CH₂Cl₂/Pyridin. Tuy nhiên bản chất hóa học của phương pháp thế brom được mô tả bởi Guo Wei và Biao Yu khác hoàn toàn với điều kiện phản ứng thế của sáng chế. (Wei, G.; Yu, B. Isoflavone Glycosides: Synthesis and Evaluation as α -Glucosidase Inhibitors. *Eur J Org Chem* 2008, 2008 (18), 3156–3163. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200800239>.)

Việc tìm kiếm và tổng hợp các hợp chất mới có hoạt tính sinh học luôn là nhu cầu cấp thiết hiện nay. Do đó, vẫn cần phương pháp tổng hợp hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin có hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidaza và phương pháp tổng hợp các hợp chất này, trong đó hợp chất kamatakenin và ayanin được phân lập từ Cây trâm bầu. Các hợp chất này có thể được ứng dụng làm thuốc hoặc thực phẩm chức năng.

Bản chất của kỹ thuật sáng chế

Mục đích của sáng chế đề xuất hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin phân lập từ cây Trâm bầu (*Combretum quadrangulare* Kurz) có hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidaza và phương pháp tổng hợp hợp chất này.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin phân lập từ cây Trâm bầu (*Combretum quadrangulare* Kurz) có hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidaza; trong đó bao gồm: 6,8,5'-tribromoayanin, 8-bromokamatakenin, 6-bromokamatakenin, 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin thể hiện theo công thức (I) sau:



trong đó nhóm thế R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , và R^7 tương ứng với các chất được thể hiện như sau:

Hợp chất	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7
6,8,5'-Tribromoayanin	OMe	Br	Br	OH	OMe	Br	Me
8-Bromokamatakenin	OMe	H	Br	H	OH	H	Me
6-Bromokamatakenin	OMe	Br	H	H	OH	H	Me
6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin	OMe	Br	Br	Br	OH	Br	Me

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến phương pháp tổng hợp hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin được phân lập từ cây Trâm bầu (*Combretum quadrangulare Kurz*) có hoạt tính ức chế enzym alpha-glucosidaza bao gồm các bước sau:

i) phối trộn hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong thời gian từ 30 phút đến 60 phút, và lần lượt bổ sung các chất theo thứ tự bao gồm: hợp chất ayanin hoặc kamatakenin, natri bromit, axit axetic, và hydrogen peroxid nồng độ 30%; và thu được hỗn hợp phản ứng của hợp chất ayanin và hỗn hợp phản ứng của hợp chất kamatakenin;

ii) tiến hành trung hòa hỗn hợp phản ứng ở bước i) bằng natri hidro cacbonat (NaHCO_3) dư; chiết với hỗn hợp etyl axetat và nước (tỷ lệ giữa hỗn hợp phản ứng sau trung hòa và hỗn hợp etyl axetat và nước là 1:1), và thu được lớp hữu cơ (dạng dịch lỏng nổi trên mặt); và rửa và làm khan lớp hữu cơ với nước muối bão hòa natrisulfat (Na_2SO_4); và thu được lớp hữu cơ đã xử lý;

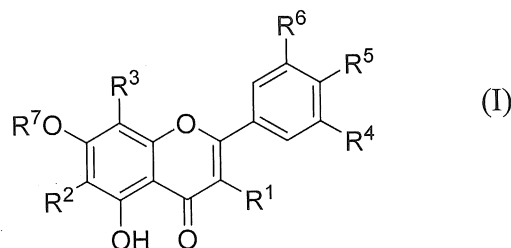
iii) tiến hành nạp và chiết lớp hữu cơ đã xử lý lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa hỗn hợp bao gồm n-hexan: cloroform; trong đó tỷ lệ thể tích giữa n-hexan: cloroform là 1:4; trong đó thu được hợp chất 6,8,5'-Tribromoayanin khi chiết lớp hữu cơ đã xử lý của hợp chất ayanin; và thu được hợp chất và 8-Bromokamatakenin, 6-Bromokamatakenin và 6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin khi chiết lớp hữu cơ đã xử lý của hợp chất kamatakenin.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

FIG.1 là hình vẽ thể hiện cấu trúc cấu trúc hóa học của sáu hợp chất gồm 6,8,5'-tribromoayanin (1), 8-bromokamatakenin (2), 6-bromokamatakenin (3), 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin (4), ayanin (5) và kamatakenin (6).

Mô tả chi tiết sáng chế

FIG.1 thể hiện cấu trúc cấu trúc hóa học của sáu hợp chất gồm 6,8,5'-tribromoayanin (1), 8-bromokamatakenin (2), 6-bromokamatakenin (3), 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin (4), ayanin (5) và kamatakenin (6) theo công thức (I) như sau:



trong đó nhóm thế R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , và R^7 tương ứng với các chất được thể hiện như sau:

Hợp chất	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7
6,8,5'-Tribromoayanin	OMe	Br	Br	OH	OMe	Br	Me
8-Bromokamatakenin	OMe	H	Br	H	OH	H	Me
6-Bromokamatakenin	OMe	Br	H	H	OH	H	Me
6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin	OMe	Br	Br	Br	OH	Br	Me

Theo một phương án, bốn dẫn xuất brom hóa gồm 6,8,5'-tribromoayanin (1), 8-bromokamatakenin (2), 6-bromokamatakenin (3), 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin (4) và hai hợp chất gốc ban đầu gồm ayanin (5) và kamatakenin (6) được dùng thử nghiệm tính ức chế hoạt động của enzym α -glucosidaza.

Thử nghiệm ức chế α -glucosidaza thực hiện như sau: enzym α -glucosidaza (nồng độ 0,2 U/ml) và cơ chất *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosit (nồng độ 5,0 mM) được hòa trong đệm natriphosphat (nồng độ 100 mM, pH 6,9). 50 μ l chất ức chế (các hợp chất và acarboza – chất đối chứng) ở các nồng độ pha loãng khác nhau được ủ với α -glucosidaza ở 37 °C trong 20 phút và sau đó 40 μ l cơ chất *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosit được thêm vào trong hỗn hợp phản ứng. Phản ứng enzym được thực hiện ở 37°C trong 20 phút và được ngừng bằng cách thêm 130 μ l Na_2CO_3 (nồng độ 0,2 M). Hoạt tính của enzym được định lượng bằng cách đo sự hấp phụ quang học ở bước sóng 405 nm. Tất cả mẫu được phân tích lặp lại 3 lần ở 5 nồng độ khác nhau xung quanh giá trị IC_{50} và giá trị trung bình được tính toán. Phần trăm (%) ức chế được tính toán theo công thức sau:

$$\text{Ức chế (\%)} = [1 - (A_{\text{mẫu}}/A_{\text{đối chứng}})] \times 100$$

Kết quả thử nghiệm cho thấy hai hợp chất gốc ban đầu (5) và (6) có khả năng ức chế yếu enzym α -glucosidaza. Sau khi được brom hóa tạo bốn dẫn xuất (1), (2), (3) và (4) thì hoạt tính ức chế enzym α -glucosidaza được cải tiến đáng kể, trong đó các dẫn xuất 1 và 4 ức chế tốt enzym α -glucosidaza so với chất đối chứng acarboza (Bảng 1).

Bảng 1. Giá trị nồng độ ức chế tối đa 50% IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) của bốn hợp chất theo sáng chế đối với hoạt động ức chế enzym alpha-glucosidaza. Số liệu thể hiện giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn của thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần.

Hợp chất	IC_{50} μM
1	$87,1 \pm 2,3$
2	$275,0 \pm 4,5$
3	>300
4	$30,5 \pm 1,9$

5	245,3 ± 3,7
6	>300
Acarboza (Acarbose)	332,5
(đối chứng dương)	

Theo một phương án cụ thể, bốn dẫn xuất brom hóa gồm 6,8,5'-tribromoayanin (1), 8-bromokamatakenin (2), 6-bromokamatakenin (3), 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin (4) được phân tích đặc điểm vật lý và phân tích phổ. Theo đó, hợp chất 6,8,5'-Tribromoayanin (1) là chất bột màu vàng vô định hình; và có dữ liệu phổ như sau: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 217 (4,59), 257 (4,42), 360 (4,34) nm; IR cm^{-1} (KBr): 3389, 1670, 1626, 1575, 1405, 1372. ^1H NMR (500 MHz, *Acetone - d*₆) δ_{H} 15,72 (*s*, 1H, 5-OH), 8,18 (*d*, 1H, *J*=2,0 Hz, H-6'), 7,87 (*d*, 1H, *J*= 1,5 Hz, H-2'), 3,99 (*s*, 3H, 7-OCH₃), 3,97 (*s*, 3H, 4'-OCH₃), 3,79 (*s*, 3H, 3-OCH₃). ^{13}C NMR (125 MHz, *Acetone - d*₆) δ_{C} 178,8 (C-4), 172,6 (C-7), 161,4 (C-5), 160,6 (C-9), 156,6 (C-2), 152,3 (C-4'), 149,5 (C-3'), 139,7 (C-3), 127,3 (C-6), 122,1 (C-1'), 110,9 (C-2'), 109,8 (C-10), 97,0 (C-5'), 94,0 (C-6), 88,7 (C-8), 61,6 (7-CH₃), 60,2 (3-CH₃), 56,6 (4'-CH₃). HR-ESI-MS *m/z* 576,8133 (calcd. for C₁₈H₁₂O₇Br₃, 576,8133)

Theo đó, hợp chất 8-Bromokamatakenin (2) là chất bột màu vàng vô định hình, và có dữ liệu phổ như sau: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 206 (4,32), 258 (4,29), 360 (4,16) nm; IR cm^{-1} (KBr): 3389, 1670, 1626, 1575, 1405, 1372. ^1H NMR (DMSO - *d*₆) δ_{H} 12,85 (*s*, 1H, 5-OH), 10,39 (*s*, 1H, 4'-OH), 8,07 (*d*, 2H, H-2',6'), 6,98 (*d*, *J*= 9,0Hz, H-3',5'), 3,97 (*s*, 3H, 7-OCH₃), 3,82 (*s*, 3H, 3-OCH₃). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- *d*₆) δ_{C} 178,0 (C-4), 161,3 (C-7), 160,7 (C-5), 160,6 (C-4'), 155,8 (C-2), 151,7 (C-9), 137,6 (C-3), 130,3 (C-2',6'), 120,4 (C-1'), 115,7 (C-3',5'), 105,5 (C-10), 96,1 (C-6), 87,0 (C-8), 59,7 (3-OCH₃), 57,3 (7-OCH₃). HR-ESI-MS *m/z* 390,9831 (calcd. for C₁₇H₁₂O₆Br, 390,9817).

Theo đó, hợp chất 6-Bromokamatakenin (3) là chất bột màu vàng vô định hình, và có dữ liệu phổ như sau: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 208 (4,19), 271 (4,02), 343 (3,99) nm; IR cm^{-1} (KBr): 3389, 1670, 1626, 1575, 1405, 1372. ^1H NMR (DMSO - *d*₆) δ_{H} 13,47 (*s*, 1H, 5-OH), 10,34 (*s*, 1H, 4'-OH), 8,02 (*d*, 2H, H-2',6'), 7,03 (*s*, H-8), 6,96 (*d*, *J*= 9,0Hz, H-3',5'), 3,98 (*s*, 3H, 7-OCH₃), 3,82 (*s*, 3H, 3-OCH₃). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- *d*₆) δ_{C} 177,6 (C-4), 161,5 (C-5), 160,8 (C-7), 160,5 (C-4'), 156,3 (C-9), 155,3 (C-2), 138,9 (C-3), 130,3 (C-2',6'), 120,3 (C-1'), 115,7 (C-3',5'), 105,6 (C-10), 99,7 (C-6), 95,0 (C-8), 59,7 (3-OCH₃), 57,3 (7-OCH₃). HR-ESI-MS *m/z* 390,9843 (calcd. for C₁₇H₁₂O₆Br, 390,9817)

Theo đó, hợp chất 6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin (4) là chất bột màu vàng vô định hình, và có dữ liệu phổ như sau: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 211 (4,46), 254 (4,11), 416 (4,18) nm; IR cm^{-1} (KBr): 3389, 1670, 1626, 1575, 1405, 1372. ^1H NMR (DMSO - *d*₆) δ_{H} 13,41 (*s*, 1H, 5-OH), 8,28 (*s*, 2H, H-2',6'), 3,92 (*s*, 3H, 7-OCH₃), 3,87 (*s*, 3H, 3-OCH₃). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆) δ_{C} 177,7 (C-4), 166,2 (C-7), 161,7 (C-5), 161,2 (C-4'), 159,2 (C-9), 156,9 (C-2), 138,5 (C-3), 132,2 (C-2',6'), 121,2 (C-1'), 112,2 (C-3',5'), 108,7 (C-10), 99,3 (C-6), 94,7 (C-8), 60,7 (3-OCH₃), 59,5 (7-OCH₃). HR-ESI-MS *m/z* 624,7127 (calcd. for C₁₇H₉O₆Br₄, 624,7133).

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp hợp chất 6,8,5'-tribromoayanin (1) từ ayanin (5) phân lập từ lá cây trà bầu bao gồm các bước sau:

(i) Ayanin (5) và natri bromit được hòa tan trong axit axetic. Hỗn hợp trên được khuấy trộn của nhiệt độ phòng trong 5 phút. Hỗn hợp trên được cho thêm hydrogen peroxit (H₂O₂) nồng độ 30%. Hỗn hợp được khuấy trộn trong 30 phút và được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

(ii) Sau 30 phút, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng natri hidro cacbonat (NaHCO_3) dư. Sau đó, hỗn hợp sau trung hòa được chiết với hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước, trong đó tỷ lệ giữa hỗn hợp sau trung hòa và hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước là 1:1, và thu được lớp hữu cơ dạng dịch lỏng nổi trên bề mặt, và tách lớp với phần nước phía dưới (phương pháp chiết lỏng-lỏng). Lớp hữu cơ tiếp tục được rửa với nước muối bão hòa natri sulfat (Na_2SO_4). Lớp hữu cơ sau rửa được làm khan bằng natri sulfat (Na_2SO_4).

(iii) Lớp hữu cơ được nạp lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa *n*-hexan: cloroform (1:4) để chiết và thu được hợp chất (1).

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp hợp chất 8-bromokamatakenin (2) từ kamatakenin (6) phân lập từ lá cây trầm bầu bao gồm các bước:

(i) Kamatakenin (6) và natri bromit được hòa tan trong axit axetic. Hỗn hợp trên được khuấy trộn của nhiệt độ phòng trong 5 phút. Hỗn hợp trên được cho thêm hydrogen peroxit (H_2O_2) nồng độ 30%. Hỗn hợp được khuấy trộn trong 30 phút và được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

(ii) Sau 30 phút, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng natri hidro cacbonat (NaHCO_3) dư. Sau đó, hỗn hợp sau trung hòa được chiết với hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước, trong đó tỷ lệ giữa hỗn hợp sau trung hòa và hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước là 1:1, và thu được lớp hữu cơ dạng dịch lỏng nổi trên bề mặt, và tách lớp với phần nước phía dưới (phương pháp chiết lỏng-lỏng). Lớp hữu cơ tiếp tục được rửa với nước muối bão hòa natri sulfat (Na_2SO_4). Lớp hữu cơ sau rửa được làm khan bằng natri sulfat (Na_2SO_4).

(iii) Lớp hữu cơ được nạp lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa *n*-hexan: cloroform (1:4) để chiết và thu được hợp chất (2).

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp hợp chất 6-bromokamatakenin (3), và 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin (4) từ kamatakenin (6) phân lập từ lá cây trầm bầu bao gồm các bước:

(i) Kamatakenin (6) và natri bromit được hòa tan trong axit axetic; trong đó tỷ lệ khối lượng giữa hợp chất kamatakenin và natri bromit là 1:1. Hỗn hợp trên được khuấy trộn của nhiệt độ phòng trong 5 phút. Hỗn hợp trên được cho thêm hydrogen peroxit (H_2O_2) nồng độ 30%. Hỗn hợp được khuấy trộn trong 60 phút và được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

(ii) Sau 60 phút, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng natri hidro cacbonat (NaHCO_3) dư. Sau đó, hỗn hợp sau trung hòa được chiết với hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước, trong đó tỷ lệ giữa hỗn hợp sau trung hòa và hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước là 1:1, và thu được lớp hữu cơ dạng dịch lỏng nổi trên bề mặt, và tách lớp với phần nước phía dưới (phương pháp chiết lỏng-lỏng). Lớp hữu cơ tiếp tục được rửa với nước muối bão hòa natri sulfat (Na_2SO_4). Lớp hữu cơ sau rửa được làm khan bằng natri sulfat (Na_2SO_4).

(iii) Lớp hữu cơ được nạp lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa *n*-hexan: cloroform (1:4) thu được hai hợp chất (3) và (4).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Phương pháp tổng hợp 4 hợp chất gồm 6,8,5'-tribromoayanin (1) từ ayanin (5) phân lập từ lá cây Trầm bầu.

Đầu tiên, 10 mg (0,029 mmol) hợp chất ayanin (5) và 14,9 mg (0,145 mmol) natri bromit được hòa tan trong 4 ml axit axetic. Hỗn hợp trên được khuấy trộn của nhiệt độ phòng trong 5

phút. Hỗn hợp trên được cho thêm 0,02 ml (0,196 mmol) H_2O_2 nồng độ 30%. Hỗn hợp được khuấy trộn trong 30 phút và được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng natri hidro cacbonat (NaHCO_3) dư. Sau đó, hỗn hợp sau trung hòa được chiết với hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước, trong đó tỷ lệ giữa hỗn hợp sau trung hòa và hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước là 1:1, và thu được lớp hữu cơ dạng dịch lỏng nổi trên bề mặt, và tách lớp với phần nước phía dưới (phương pháp chiết lỏng-lỏng). Lớp hữu cơ tiếp tục được rửa với nước muối bão hòa natri sulfat (Na_2SO_4), và làm khan bằng Na_2SO_4 sau khi rửa sạch.

Cuối cùng, lớp hữu cơ được nạp lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa *n*-hexan: cloroform để chiết; trong đó tỷ lệ thể tích giữa *n*-hexan: cloroform là 1:4, và thu được 14,9 mg hợp chất (1).

Ví dụ 2: Phương pháp tổng hợp hợp chất 8-bromokamatakenin (2) từ kamatakenin (6) phân lập từ lá cây trầm bầu.

Đầu tiên, 10 mg (0,032 mmol) hợp chất kamatakenin (6) và 16,4 mg (0,160 mmol) natri bromit được hòa tan trong 4 ml axit axetic. Hỗn hợp trên được khuấy trộn ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Hỗn hợp trên được cho thêm 0,02 ml (0,196 mmol) H_2O_2 nồng độ 30%. Hỗn hợp được khuấy trộn trong 30 phút và được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng NaHCO_3 dư. Sau đó, hỗn hợp sau trung hòa được chiết với hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước, trong đó tỷ lệ giữa hỗn hợp sau trung hòa và hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước là 1:1, và thu được lớp hữu cơ dạng dịch lỏng nổi trên bề mặt, và tách lớp với phần nước phía dưới (phương pháp chiết lỏng-lỏng). Lớp hữu cơ tiếp tục được rửa với nước muối bão hòa Na_2SO_4 , và làm khan bằng Na_2SO_4 sau khi rửa sạch.

Cuối cùng, lớp hữu cơ được nạp lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa hỗn hợp bao gồm *n*-hexan: cloroform để chiết, trong đó tỷ lệ thể tích giữa *n*-hexan: cloroform là 1:4, và thu được 18,6 mg hợp chất (2).

Ví dụ 3: Phương pháp tổng hợp hợp chất 6-bromokamatakenin (3), 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin (4) từ kamatakenin (6) phân lập từ lá cây Trầm bầu.

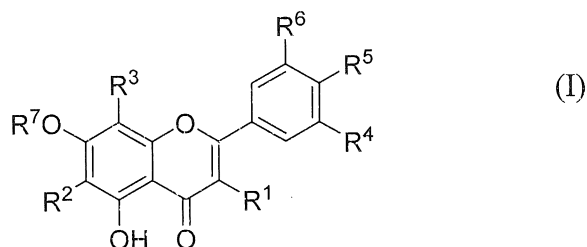
Đầu tiên, 10 mg (0,032 mmol) hợp chất kamatakenin (6) và 3,28 mg (0,032 mmol) natri bromit được hòa tan trong 4 ml axit axetic. Sau đó, hỗn hợp trên được khuấy trộn ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Tiếp theo, hỗn hợp trên được cho thêm 0,02 ml (0,196 mmol) H_2O_2 nồng độ 30%, khuấy trộn trong 60 phút và được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

Tiếp theo, sau 60 phút, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng NaHCO_3 dư. Sau đó, hỗn hợp sau trung hòa được chiết với hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước, trong đó tỷ lệ giữa hỗn hợp sau trung hòa và hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước là 1:1, và thu được lớp hữu cơ dạng dịch lỏng nổi trên bề mặt, và tách lớp với phần nước phía dưới (phương pháp chiết lỏng-lỏng). Lớp hữu cơ tiếp tục được rửa với nước muối bão hòa Na_2SO_4 , và làm khan bằng Na_2SO_4 sau khi rửa sạch.

Cuối cùng, lớp hữu cơ được nạp lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa hỗn hợp bao gồm *n*-hexan: cloroform để chiết, trong đó tỷ lệ thể tích giữa *n*-hexan: cloroform là 1:4, và thu được 4,4 mg hợp chất (3) và 6 mg hợp chất (4).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin có hoạt tính ức chế enzym α -glucosidaza bao gồm: 6,8,5'-tribromoayanin, 8-bromokamatakenin, 6-bromokamatakenin, 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin được thể hiện theo công thức (I):



trong đó nhóm thế R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , và R^7 tương ứng với các chất được thể hiện như sau:

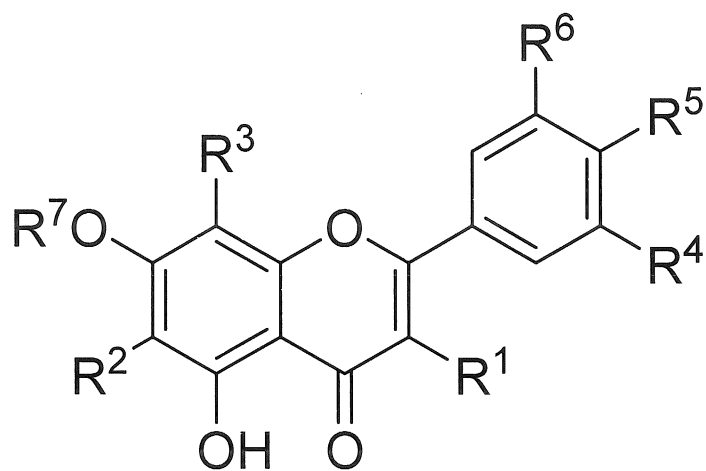
Hợp chất	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7
6,8,5'-Tribromoayanin	OMe	Br	Br	OH	OMe	Br	Me
8-Bromokamatakenin	OMe	H	Br	H	OH	H	Me
6-Bromokamatakenin	OMe	Br	H	H	OH	H	Me
6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin	OMe	Br	Br	Br	OH	Br	Me

2. Phương pháp tổng hợp hợp chất dẫn xuất thế brom của kamatakenin và ayanin phân lập từ lá cây Trâm bầu có hoạt tính ức chế enzym α -glucosidaza bao gồm: 6,8,5'-tribromoayanin, 8-bromokamatakenin, 6-bromokamatakenin, và 6,8,3',5'-tetrabromokamatakenin, trong đó bao gồm các bước:

i) phối trộn hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong thời gian từ 30 phút đến 60 phút, và lần lượt bổ sung các chất theo thứ tự bao gồm: hợp chất ayanin hoặc kamatakenin, natri bromit, axit axetic, và hydrogen peroxit nồng độ 30%; và thu được hỗn hợp phản ứng của hợp chất ayanin và hỗn hợp phản ứng của hợp chất kamatakenin;

ii) tiến hành trung hòa hỗn hợp phản ứng ở bước i) bằng natri hidro cacbonat (NaHCO_3) dư; chiết hỗn hợp sau trung hòa với hỗn hợp etyl axetat và nước, và thu được lớp hữu cơ; trong đó tỷ lệ giữa hỗn hợp sau trung hòa và hỗn hợp bao gồm etyl axetat và nước là 1:1; và rửa và làm khan lớp hữu cơ với nước muối bão hòa natri sulfat (Na_2SO_4); và thu được lớp hữu cơ đã xử lý;

iii) tiến hành nạp và chiết lớp hữu cơ đã xử lý lên sắc ký cột silica gel sử dụng pha động chứa hỗn hợp bao gồm n-hexan: cloroform; trong đó tỷ lệ thể tích giữa n-hexan: cloroform là 1:4; trong đó thu được hợp chất 6,8,5'-Tribromoayanin khi chiết lớp hữu cơ đã xử lý của hợp chất ayanin; và thu được hợp chất và 8-Bromokamatakenin, 6-Bromokamatakenin và 6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin khi chiết lớp hữu cơ đã xử lý của hợp chất kamatakenin.



Hợp chất	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷
6,8,5'-Tribromoayenin	OMe	Br	Br	OH	OMe	Br	Me
8-Bromokamatakenin	OMe	H	Br	H	OH	H	Me
6-Bromokamatakenin	OMe	Br	H	H	OH	H	Me
6,8,3',5'-Tetrabromokamatakenin	OMe	Br	Br	Br	OH	Br	Me

FIG.1