

HOẠT TÍNH CHỐNG ĐÁI THÁO ĐƯỜNG VÀ CHỐNG UNG THƯ CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT LAI COUMARIN-PYRIMIDINE

Đến tòa soạn 06-02-2023

Dương Ngọc Toàn¹, Đinh Thúy Vân¹, Nguyễn Đình Thành²

1. Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái Nguyên

2. Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội

*Email: toandn@tnue.edu.vn

SUMMARY

ANTIDIABETIC AND ANTICANCER ACTIVITIES OF SOME COUMARIN-PYRIMIDINE HYBRID COMPOUNDS

A series coumarin-pyrimidine hybrid compounds were synthesized by condensation reaction of α,β -unsaturated ketone of 6-acetyl-5-hydroxy-4-methylcoumarin with guanidine. The yields of obtained hybrid compounds were about 42-62%. Their antidiabetic and anticancer activities were scanned by the standard methods. These compounds exhibited low toxicity to two cancer cell lines KB and HepG2, but have remarkably inhibitory activity against diabetes enzymes. All synthesized hybrid compounds were examined for in vitro α -amylase (with IC_{50} values in the range of $102.32 \pm 1.15 \mu M$ to $249.52 \pm 1.14 \mu M$) and α -glucosidase (with IC_{50} values in the range of $52.16 \pm 1.12 \mu M$ to $184.52 \pm 1.15 \mu M$) inhibitory activity.

Keywords: Coumarin, pyrimidine, guanidine, cancer, diabetes.

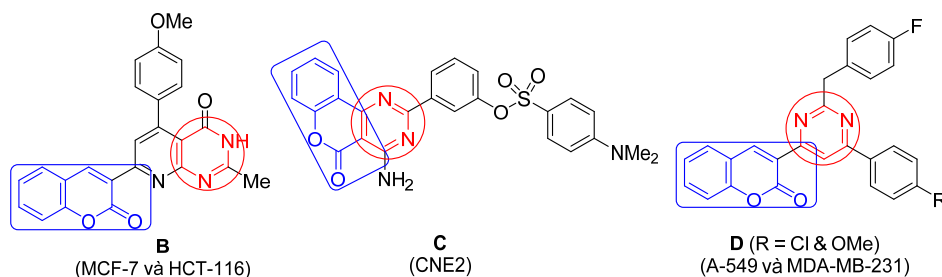
1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vào năm 2021, hơn 19 triệu ca ung thư mới đã xuất hiện, với hơn 10 triệu ca tử vong liên quan đến ung thư [1]. Cùng với SARS-CoV-2, ngày nay ung thư được coi là nguy cơ đối với sức khỏe toàn cầu [2]. Các phương pháp điều trị ung thư hiện nay bao gồm phẫu thuật, hóa trị, xạ trị, liệu pháp hormone, liệu pháp miễn dịch, cấy ghép tế bào gốc...[3]. Đáng chú ý nhất trong số các phương pháp điều trị này là hóa trị liệu, hoạt động bằng cách ngăn chặn hoặc làm chậm sự phát triển của các tế bào ung thư thường phát triển và phân chia nhanh chóng [3]. Mặt khác, bệnh tiểu đường cũng là rối loạn chuyển hóa phổ biến nhất ở cả các nước đang phát triển và là một vấn đề sức khỏe toàn cầu được công nhận. Tổ chức Y tế Thế giới dự đoán rằng số ca mắc bệnh này sẽ tăng từ 171 triệu năm 2000 lên 366 triệu vào năm 2030 [4]. Cả số trường hợp và tỷ lệ mắc bệnh tiểu đường

đều tăng đều đặn trong vài thập kỷ qua. Hai enzyme α -amylase và α -glucosidase thủy phân các liên kết 1,4- α -glucoside [5]. Nỗ lực tìm ra các biện pháp phòng ngừa và cung cấp dịch vụ chăm sóc và điều trị liên quan đến bệnh ung thư cũng như bệnh tiểu đường ở các nước phát triển là rất quan trọng đối với việc kiểm soát toàn cầu đối với các bệnh này [1,6]. Tuy nhiên, các hợp chất dị vòng, chẳng hạn như coumarin và pyrimidine cũng như các hợp chất lai dựa trên chúng, đã nhận được sự quan tâm gần đây liên quan đến các phương pháp tổng hợp và thử hoạt tính chống ung thư của chúng. Sự kết nối của hai hoặc nhiều khung có hoạt tính sinh học vào cùng một phân tử để tạo ra các phân tử lai, là một khái niệm mới trong thiết kế thuốc [7], có thể cải thiện hoạt tính và hiệu quả so với các loại thuốc gốc [8]. Trong số các dị vòng chứa coumarin, các hợp chất lai coumarin-pyrimidine đã thu hút được nhiều sự

chú ý, việc lắp ráp chúng trở thành một nhiệm vụ quan trọng trong tổng hợp hữu cơ [9]. Nhiều nhà nghiên cứu đã tổng hợp các tác nhân trị liệu mới dựa trên khung coumarin thông qua kỹ thuật lai phân tử, mang đến cơ hội để phát triển các hợp chất mới có hoạt tính sinh học được cải thiện bằng cách kết hợp hai hoặc nhiều dược điển. Ví dụ, hợp chất **B** thể hiện hoạt tính ức chế chống lại các dòng tế bào ung thư ở người MCF-7 và HCT-116 với các

giá trị IC_{50} lần lượt là $2,42 \pm 0,75$ và $6,11 \pm 0,82 \mu M$ [10]. Hợp chất **C** có thể ức chế sự tăng sinh CNE2 với giá trị IC_{50} là $0,82 \mu M$ [11]. Các hợp chất **D** thể hiện hoạt tính mạnh đối với dòng tế bào A-549 MDA-MB-231 với giá trị IC_{50} là $2,15 \mu M$ (A-549) và $16,53 \mu M$ (MDA-MB-231) đối với R = Cl; $16,11 \mu M$ (A-549) và $2,23 \mu M$ (MDA-MB-231) đối với R = OMe, so với thuốc tiêu chuẩn Cisplatin ($IC_{50} = 1,89 \pm 0,09$ và $3,5 \pm 0,21 \mu M$), tương ứng [12].



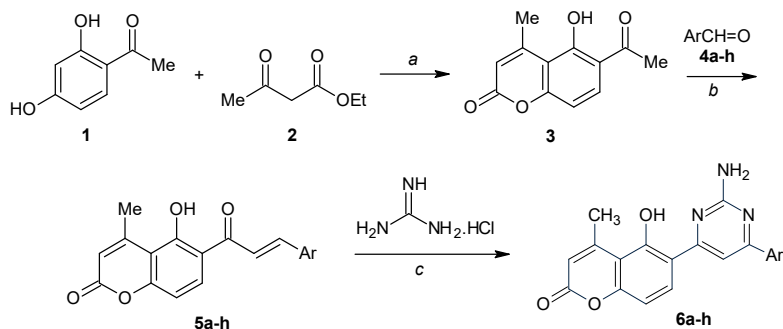
Hình 1. Một số hợp chất lai coumarin-pyrimidine có hoạt tính sinh học

Sự kết hợp của hai thành phần, bao gồm coumarin và pyrimidine, vào phân tử lai có thể tạo ra phân tử mới có hoạt tính kháng α -amylase và kháng α -glucosidase thú vị và đáng chú ý [13]. Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết kế khung phân tử mới có chứa cả vòng coumarin và pyrimidine. Khung này được xây dựng bằng phản ứng đóng vòng của ketone α,β -không no với guanidine. Chúng tôi cũng đã thực hiện thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào của chúng đối với hai dòng tế bào ung thư, bao gồm ung thư biểu mô KB và ung thư gan HepG2, cũng như hoạt tính kháng α -amylase và kháng α -glucosidase.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Tổng hợp các hợp chất

Các hợp chất lai coumarin-pyrimidine được tổng hợp đi từ 2,4-dihydroxyacetophenone qua 3 giai đoạn theo Hình 2, hiệu suất của giai đoạn cuối đạt từ 42-62%. Cấu trúc của các hợp chất tổng hợp đã được khẳng định bằng các phương pháp phổ IR, NMR và MS. Kết quả tổng hợp các hợp chất lai coumarin-pyrimidine đã được chúng tôi công bố trước đây [14]. Hoạt tính sinh học và các tín hiệu phổ đặc trưng của vòng pyrimidine được chúng tôi trình bày tại tài liệu tham khảo [15].



4a-h, 5a-h, 6a-h:

Ar = C₆H₅ (a), 3-NO₂C₆H₄ (b), 3-ClC₆H₄ (c), 4-ClC₆H₄ (d), 4-BrC₆H₄ (e), 4-MeC₆H₄ (f), 4-MeOC₆H₄ (g), 2-thienyl (h)

Hình 2. Tổng hợp các hợp chất 3-(2-amino-6-arylpyrimidin-4-yl)-4-hydroxy-1-methylquinolin-2(1H)-one 6a-h đi từ 2,4-dihydroxyacetophenone

2.2. Thử nghiệm hoạt tính

2.2.1. Hoạt tính độc tế bào

Hoạt tính độc tế bào của các hợp chất được chúng tôi thử nghiệm tại phòng Hóa sinh ứng dụng – Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phương pháp thử hoạt tính độc tế bào được tiến hành theo tài liệu [16,17]. Phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa kỳ (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 tế bào ung thư ở điều kiện *in vitro*.

Các dòng tế bào ung thư nghiên cứu được nuôi cấy trong các môi trường nuôi cấy phù hợp có bổ sung thêm 10% huyết thanh phôi bò (FBS) và các thành phần cần thiết khác ở điều kiện tiêu chuẩn (5% CO₂; 37°C; độ ẩm 98%; vô trùng tuyệt đối). Tùy thuộc vào đặc tính của từng dòng tế bào khác nhau, thời gian cấy chuyển cũng khác nhau. Tế bào phát triển ở pha log sẽ được sử dụng để thử độc tính.

Thử độc tế bào: 200 μ L dung dịch tế bào ở pha log nồng độ 3.10^4 tế bào/ml vào mỗi giếng (đĩa 96 giếng) trong môi trường RPMI 1640 cho các dòng tế bào HepG2, KB. Mẫu thử được xử lý với tế bào ở các nồng độ pha loãng khác nhau sao cho đạt đến nồng độ cuối cùng là 128 μ g/mL; 32 μ g/mL; 8 μ g/mL; 2 μ g/mL; 0,5 μ g/mL. Ủ 37°C, 5% CO₂ 3 ngày.

Giếng điều khiển gồm 200 μ L dung dịch tế bào 3.10^4 tế bào/mL, ủ 37°C, 5% CO₂ 3 ngày; thêm 50 μ L MTT (1 mg/ml pha trong môi trường nuôi cấy không huyết thanh) và ủ tiếp ở 37°C/4 giờ; loại bỏ môi trường, thêm 100 μ L DMSO lắc đều đọc kết quả ở bước sóng 540 nm trên máy spectrophotometer Genios TECAN.

Phần trăm kìm hãm sự phát triển của tế bào được tính toán dựa trên số liệu đo mật độ quang học OD trên máy quang phổ TECAN theo công thức sau:

$$IC = 100\% - \frac{OD \text{ mẫu thử} - OD \text{ control } (-)}{OD \text{ control } (+) - OD \text{ control } (-)} \cdot 100$$

2.2.2. Thử nghiệm hoạt tính chống đại tháo đường

Hoạt tính ức chế α -glucosidase của các hợp chất được chúng tôi thử nghiệm tại phòng Hóa sinh ứng dụng – Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phương pháp thử hoạt tính ức chế α -glucosidase được tiến hành theo tài liệu [18,19,20,21].

Phương pháp xác định hoạt tính ức chế α -glucosidase được thực hiện trên đĩa 96 giếng với tổng thể tích phản ứng là 200 μ L/giếng.

Mẫu thử được pha loãng bằng DMSO 100% hoặc nước cất vô trùng đến nồng độ cuối cùng trong phản ứng là 1024, 256; 64; 16; 4; 1 μ g/mL. Acarbose được sử dụng làm chất tham khảo.

Các thành phần phản ứng bao gồm:

Phosphate buffer 100 mM pH 6,8: 40 μ L

α -glucosidase 0,4 U/ml : 25 μ L

Mẫu thử : 10 μ L

p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside 2,5 mM: 25 μ L.

Ở mẫu đối chứng, mẫu thử được thay bằng đệm phản ứng. Thí nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37° C. Sau 30 phút, phản ứng được dừng bằng 100 μ L Na₂CO₃. Độ hấp thụ của phản ứng được xác định trên máy quang phổ với bước sóng 405 nm (A).

Khả năng ức chế α -glucosidase của mẫu thử được xác định bằng công thức:

$$\% \text{ ức chế enzyme} = \frac{(OD_{\text{chứng } (+)} - OD_{\text{mẫu thử}})}{(OD_{\text{chứng } (+)} - OD_{\text{chứng } (-)})} \times 100\%$$

IC₅₀ là nồng độ chất thử ức chế 50% hoạt động của α -glucosidase, được tính bằng phần mềm Tablecurve.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thử nghiệm hoạt tính độc tế bào

Các hợp chất của 3-(2-amino-6-arylpyrimidin-4-yl)-4-hydroxy-1-methylquinolin-2(1H)-one

6a-h đã được sàng lọc về hoạt tính chống ung thư *in vitro* bao gồm các dòng tế bào ung thư biểu mô (KB) và tế bào ung thư gan (HepG2). Ellipticine được sử dụng làm chất đối sánh. Kết quả đánh giá được đưa ra trong Bảng 1 và Bảng 2. Kết quả trong các bảng này cho thấy hầu hết các hợp chất tổng hợp được thể hiện hoạt tính chống ung thư thấp đối với các dòng tế bào KB và HepG2 được thử nghiệm so với chất đối sánh ellipticine. Chỉ các hợp chất **6b**

(IC₅₀ = 63,65 μ M) và **6d** (IC₅₀ = 25,60 μ M) thể hiện tác dụng ức chế không đáng kể trên dòng tế bào ung thư biểu mô (KB). Trong số các hợp

chất được thử nghiệm, chỉ có hợp chất **6d** (IC₅₀ = 25,60 μ M) thể hiện hoạt tính ức chế dòng tế bào HepG2.

Bảng 1. Hoạt tính ức chế in vitro đối với dòng tế bào ung thư KB của các hợp chất 6a-h

Hợp chất	Ar	Nồng độ thử nghiệm (μ g/mL)				IC ₅₀ (μ M)
		128	32	8	2	
6a	C ₆ H ₅	47	9	0	0	>128
6b	3-NO ₂ C ₆ H ₄	95	28	20.5	12	63.65
6c	3-ClC ₆ H ₄	26	16	5	0	>128
6d	4-ClC ₆ H ₄	60	54	39	37	25.60
6e	4-BrC ₆ H ₄	23	13	2	0	>128
6f	4-MeC ₆ H ₄	25	0	0	0	>128
6g	4-MeOC ₆ H ₄	28	11	0	0	>128
6h	2-Thienyl	17	0	0	0	>128
Ellipticine	—	—	—	—	—	0.22

Bảng 2. Hoạt tính ức chế in vitro đối với dòng tế bào ung thư HepG2 của các hợp chất 6a-h

Hợp chất	Ar	Nồng độ thử nghiệm (μ g/mL)				IC ₅₀ (μ M)
		128	32	8	2	
6a	C ₆ H ₅	20	5	0	0	>128
6c	3-ClC ₆ H ₄	31	19	0	0	>128
6d	4-ClC ₆ H ₄	87	65	39	16	18.15
6e	4-BrC ₆ H ₄	20	8	0	0	>128
6f	4-MeC ₆ H ₄	27	0	0	0	>128
6g	4-MeOC ₆ H ₄	40	15	0	0	>128
6h	2-Thienyl	36	14	0	0	>128
Ellipticine	—	—	—	—	—	0.45

3.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống đái tháo đường

Thuốc điều trị đái tháo đường tiêu chuẩn được sử dụng là Acarbose, được sử dụng làm chất ức chế tiêu chuẩn lâm sàng đối với cả α -amylase và α -glucosidase [22]. Hoạt tính ức chế của chúng đối với các enzym này được xác định với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 107,61 $\pm$ 1,12 μ M

và 720,52 $\pm$ 11,13 μ M. Thử nghiệm được lặp lại ba lần cho mỗi hợp chất và thu được phần trăm ức chế trung bình, và giá trị IC₅₀ của chúng so với giá trị của Acarbose. Kết quả thu được được trình bày trong Bảng 3. Chúng tôi nhận thấy hầu hết các hợp chất tổng hợp được đều có khả năng ức chế hoạt động của α -glucosidase cao hơn so với α -amylase.

Trong chuỗi này, hợp chất **6c** với Ar là 3-chlorophenyl cho thấy hoạt tính ức chế tốt nhất trong chuỗi này đối với α -amylase với IC_{50} thấp nhất ($102,32 \pm 1,15 \mu M$) khi so sánh với chất chuẩn, Acarbose có IC_{50} là $107,61 \pm 1,12 \mu M$. Hợp chất **6d** với nhóm clo ở vị trí 4 của vòng benzen có giá trị IC_{50} tốt là $115,82 \pm 1,12 \mu M$. Một số hợp chất thể hiện hoạt tính trung bình với nồng độ ức chế nằm trong khoảng từ $122,22 \pm 1,12 \mu M$ (**6f**) đến $125,25 \pm 1,13 \mu M$ (**6e**). Hợp chất **6b** và **6g** thể hiện hoạt tính ức chế yếu hơn với các giá trị IC_{50} lần lượt là $141,05 \pm 1,13 \mu M$ và $139,74 \pm 1,17 \mu M$. Việc thay thế vòng thơm benzen (hợp chất **6a**) bằng dị vòng thiophene (hợp chất **6h**) cũng làm tăng đáng kể hoạt tính ức chế enzyme này, tuy nhiên, hợp chất **6h** vẫn thể hiện hoạt tính ức chế tương đối thấp ($IC_{50} = 196,71 \pm 1,15 \mu M$). Đối với sự ức chế α -glucosidase, nồng độ ức chế của các hợp chất **6a-h** cũng được xác định bằng cách so sánh IC_{50} với Acarbose chuẩn có giá trị IC_{50} là $720,52 \pm 11,13 \mu M$. Từ Bảng 3, rõ ràng hơn là hầu hết tất cả các hợp chất này đều cho thấy hoạt tính đầy hứa hẹn so với Acarbose, bao gồm cả các hợp chất mạnh nhất là **6b**, **6c**, **6f**, **6g**. Hợp chất **6f** có nhóm methyl ở vị trí 4 của vòng benzen có hoạt tính cao nhất trong dãy này với giá trị IC_{50} là $52,16 \pm 1,12 \mu M$. Hợp chất có hoạt tính ức chế mạnh tiếp theo là **6g** với nhóm methoxy ở vị trí 4. Hợp chất này có hoạt tính kháng α -glucosidase tốt với giá trị IC_{50} là $82,6 \pm 1,15 \mu M$. Hai hợp

chất, **6b** (với Ar = 3-nitrophenyl) và **6c** (Ar = 3-chlorophenyl) cho thấy nồng độ ức chế trung bình lần lượt là $98,53 \pm 1,17 \mu M$ và $96,64 \pm 1,15 \mu M$.

Hai hợp chất khác thể hiện hoạt tính yếu hơn với $IC_{50} < 115 \mu M$, gồm **6a** (Ar = C_6H_5) và **6e** (Ar = 4- ClC_6H_4). Giá trị IC_{50} của chúng lần lượt là $112,35 \pm 1,18 M$ và $114,45 \pm 1,14 M$. Các hợp chất còn lại ít hoạt động nhất với $IC_{50} > 150 \mu M$. Trái ngược với hoạt tính ức chế α -amylase, sự thay thế dị vòng (vòng thiophene) làm giảm đáng kể hoạt tính ức chế so với vòng benzen không được thay thế, với giá trị IC_{50} là $112,35 \pm 1,18 \mu M$ so với $156,56 \pm 1,12 \mu M$.

Sau đây là nghiên cứu về mối quan hệ cấu trúc-hoạt động (SAR) đối với hoạt tính kháng α -amylase và α -glucosidase. Sự thay đổi hoạt tính được thể hiện bởi các hợp chất **6a-h** có thể được gán cho các kiểu thay thế thơm/dị vòng thơm trên vị trí số 6 của vòng pyrimidine mặc dù khung lõi giống nhau đối với tất cả các hợp chất. Sự thay thế nhóm chloro hút điện tử có ảnh hưởng tương tự đến hoạt động ức chế đối với α -amylase và α -glucosidase. Tuy nhiên, nhóm này vẫn tạo điều kiện cho hoạt tính của α -amylase tăng lên, khi nhóm thế bromo làm giảm cả hai hoạt tính. Các nhóm methyl và methoxy trong các hợp chất **6f** và **6g**, các nhóm nhường điện tử mạnh, đã đóng góp nhiều hơn vào việc tăng hoạt tính ức chế chống lại α -glucosidase, đồng thời làm giảm khả năng ức chế α -amylase của các hợp chất này.

Bảng 3. Hoạt tính ức chế α -amylase và α -glucosidase in vitro của hợp chất 6a-h

Hợp chất	Ar	α -Amylase		α -Glucosidase	
		% ức chế	IC_{50} (μM)	% ức chế	IC_{50} (μM)
6a	C_6H_5	60.35 ± 1.21	249.52 ± 1.14	65.15 ± 1.23	112.35 ± 1.18
6b	3- $NO_2C_6H_4$	70.68 ± 1.24	141.05 ± 1.13	70.47 ± 1.23	98.53 ± 1.17
6c	3- ClC_6H_4	87.47 ± 1.23	102.32 ± 1.15	71.15 ± 1.23	96.64 ± 1.15
6d	4- ClC_6H_4	81.57 ± 1.23	115.82 ± 1.12	63.72 ± 1.21	114.45 ± 1.14
6e	4- BrC_6H_4	75.47 ± 1.21	125.25 ± 1.13	60.15 ± 1.22	184.52 ± 1.15
6f	4- MeC_6H_4	77.64 ± 1.22	122.22 ± 1.12	87.53 ± 1.24	52.16 ± 1.12
6g	4- $MeOC_6H_4$	73.92 ± 1.24	139.74 ± 1.17	75.76 ± 1.24	82.6 ± 1.15
6h	2-Thienyl	64.31 ± 1.24	196.71 ± 1.15	61.34 ± 1.21	156.56 ± 1.12
Acarbose		98.56 ± 1.23	107.61 ± 1.12	98.16 ± 1.24	720.52 ± 11.13

4. KẾT LUẬN

Các hợp chất của 3-(2-amino-6-arylpyrimidin-4-yl)-4-hydroxy-1-methylquinolin-2(1H)-one **6a-h** đã được sàng lọc về hoạt tính ức chế *in vitro* đối với một số dòng tế bào ung thư cũng như α -amylase và α -glucosidase. Kết quả cho thấy hầu hết các hợp chất tổng hợp được thể hiện hoạt tính chống ung thư thấp đối với các dòng tế bào KB và HepG2 so với chất đối sánh ellipticine. Hầu hết các hợp chất tổng hợp được đều có khả năng ức chế hoạt động của α -glucosidase cao hơn so với α -amylase. Trong dãy này, hợp chất **6c** thể hiện hoạt tính ức chế α -amylase tốt nhất với IC_{50} là 3,432 mM và hợp chất **6f** thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase cao nhất với IC_{50} là 3,253 mM.

LỜI CẢM ƠN: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên thông qua Đề tài khoa học và công nghệ cấp cơ sở, mã số “TNUE-2022-04”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] WHO (2020). WHO report on cancer: Setting priorities, investing wisely and providing care for all. Available at <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330745/9789240001299-eng.pdf>.
- [2] WHO (2021). Available at <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---10-august-2021>. (Edition 52, published 10 August 2021)
- [3] N. C. I. (N.I.H.), (2021). Types of Cancer Treatment. Available at <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>.
- [4] WHO (2021). Diabetes, Geneva (Switzerland). Available at <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- [5] R. Viner, B. White, D. Christie, (2017). Type 2 diabetes in adolescents: a severe phenotype posing major clinical challenges and public health burden. *The Lancet*, **389**, 2252-2260.
- [6] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray, (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249.
- [7] A. Müller-Schiffmann, H. Sticht, C. Korth, (2012). Hybrid compounds: from simple combinations to nanomachines. *BioDrugs*, **26**, 21-31.
- [8] M. Oliveira Pedrosa, M. R. Duarte da Cruz, d. J. Oliveira Viana, O. R. de Moura, M. H. Ishiki, M. J. Barbosa Filho, F. F. M. M. Diniz, T. M. Scotti, L. Scotti, J. F. Bezerra Mendonca, (2017). Hybrid Compounds as Direct Multitarget Ligands: A Review. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **17**, 1044-1079.
- [9] D. S. Reddy, M. Kongot, V. Singh, M. A. Siddiquee, R. Patel, N. K. Singhal, F. Avecilla, A. Kumar, (2021). Biscoumarin-pyrimidine conjugates as potent anticancer agents and binding mechanism of hit candidate with human serum albumin. *Archiv der Pharmazie*, **354**, 2000181.
- [10] E. A. Fayed, R. Sabour, M. F. Harras, A. B. M. Mehany, (2019). Design, synthesis, biological evaluation and molecular modeling of new coumarin derivatives as potent anticancer agents. *Medicinal Chemistry Research*, **28**, 1284-1297.
- [11] N. Lv, M. Sun, C. Liu, J. Li, (2017). Design and synthesis of 2-phenylpyrimidine coumarin derivatives as anticancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **27**, 4578-4581.
- [12] K. M. Hosamani, D. S. Reddy, H. C. Devarajegowda, (2015). Microwave-assisted synthesis of new fluorinated coumarin-pyrimidine hybrids as potent anticancer agents,

their DNA cleavage and X-ray crystal studies. *RSC Advances* 2015, **5**, 11261-11271.

[13] N. Asemanipoor, M. Mohammadi-Khanaposhtani, S. Moradi, M. Vahidi, M. Asadi, M. A. Faramarzi, M. Mahdavi, M. Biglar, B. Larijani, H. Hamedifar, M. H. Hajimiri, (2020). Synthesis and biological evaluation of new benzimidazole-1,2,3-triazole hybrids as potential α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, **95**, 103482.

[14] Dương Ngọc Toàn, Nguyễn Minh Thảo, (2012). Tổng hợp một số 2-amino-6-aryl-4-(5-hydroxi-4-methylcumarin-6-yl)pyrimidin. *Tạp chí Hóa học*, **Tập 50(4A)**, 105-109.

[15] Dương Ngọc Toàn, Nguyễn Đình Thành, (2021). Phân tích phổ NMR của một số hợp chất lai giữa các dị vòng pyrimidine và quinoline. *Tạp chí Phân tích Lý Hóa và Sinh học*, **Tập 26**, số 02, tr. 147-151.

[16] Fresney R.I, (1993). *Culture of animal Cells. A manual of basis techniques* (3rd Edition). John Wiley & Sons Inc., New York

[17] Scudiero D. A., Shoemaker R. H., Kenneth D. PP., Monks A., Tierney S., Nofziger T. H., Currens M. J., Seniff D., Boyd M. R, (1988). Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and

drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Research*, **48**, 4827-4833.

[18] Kim Y. M., Wang M. H., Rhee H. I., (2004). A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydr. Res.*, **339**, 715-717.

[19] Li T., Zhang X. D., Song Y. W., Liu J. W., (2005). A Microplate-Based Screening Method for α -Glucosidase Inhibitors. *Nat. Prod. Res. Dev.*, **10**, 1128-1134.

[20] Haimin Chen, Xiaojun Yan, Wei Lin, Li Zheng, Weiwei Zhang, (2004). A New Method for Screening α -Glucosidase Inhibitors and Application to Marine Microorganisms. *Pharmaceutical Biology*, **42(6)**, 416-421.

[21] Hakamata W, Kurihara M, Okuda H, Nishio T, Oku T., (2009). Design and screening strategies for α -glucosidase inhibitors based on enzymological information. *Curr. Top. Med. Chem.*, **9(1)**, 3-12.

[22] R. Yousefi, M.-M. Alavian-Mehr, F. Mokhtari, F. Panahi, M. H. Mehraban, A. Khalafi-Nezhad, (2013). Pyrimidine-fused heterocycle derivatives as a novel class of inhibitors for α -glucosidase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **28**, 1228-1235.