

Tổng hợp và đánh giá tác động ức chế lipase tụy của các dẫn chất aurone thế trên vòng benzylidene

Võ Thị Cẩm Vân^{1*}, Nguyễn Thanh Trang^{1,2}, Lê Thị Mỹ Chi¹, Đặng Ngọc Thiện¹

¹Bộ môn Hoá dược, Khoa Dược, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 41 Đinh Tiên Hoàng, phường Bến Nghé, quận 1, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y - Dược Đà Nẵng, 99 Hùng Vương, phường Hải Châu 1, quận Hải Châu, TP Đà Nẵng, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/6/2023; ngày chuyển phản biện 30/6/2023; ngày nhận phản biện 21/7/2023; ngày chấp nhận đăng 26/7/2023

Tóm tắt:

Ức chế enzyme lipase tụy là một trong những hướng nghiên cứu trong điều trị béo phì bằng thuốc. Đến nay, orlistat vẫn là thuốc duy nhất được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ (FDA) chấp thuận trong điều trị béo phì theo cơ chế này. Vì vậy, việc tìm kiếm các dẫn chất mới có khung cấu trúc tự nhiên cho tác dụng tương tự nhưng ít tác dụng phụ hơn đang nhận được sự quan tâm trong những năm gần đây. Nghiên cứu này trình bày kết quả tổng hợp và khảo sát tác động ức chế lipase tụy của 10 dẫn chất aurone mang nhóm thế khác nhau trên vòng benzylidene. Các dẫn chất aurone được tổng hợp bằng phản ứng ngưng tụ aldol của benzofuranone và dẫn chất benzaldehyde tương ứng với hiệu suất từ trung bình đến tốt (45-73%). Hoạt tính ức chế lipase tụy của các dẫn chất tổng hợp sau đó được xác định bằng phương pháp quang phổ tử ngoại khả kiến với chất đối chiếu là quercetin và orlistat. Kết quả cho thấy, 3 aurone có phần trăm ức chế tốt hơn quercetin ở cùng nồng độ (50 µg/ml). Dẫn chất 5c (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) cho hoạt tính tốt nhất (I%=60,95), tốt hơn quercetin (I%=27,20%) ở nồng độ 50 µg/ml.

Từ khóa: aurone, benzaldehyde, béo phì, lipase tụy, ngưng tụ aldol.

Chỉ số phân loại: 1.4, 3.4

Synthesis and pancreatic lipase inhibition activity evaluation of aurone derivatives with substituents on benzylidene ring

Thi Cam Van Vo^{1*}, Thanh Trang Nguyen^{1,2}, Thi My Chi Le¹, Ngoc Thien Dang¹

¹Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City,

41 Dinh Tien Hoang Street, Ben Nghe Ward, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Pharmacy, Da Nang University of Medical Technology and Pharmacy, 99 Hung Vuong Street, Hai Chau 1 Ward, Hai Chau District, Da Nang City, Vietnam

Received 28 June 2023; revised 21 July 2023; accepted 26 July 2023

Abstract:

Pancreatic lipase is an essential enzyme for the digestion and absorption of dietary fat. Inhibiting this enzyme is one of the strategies in tackling obesity. To date, orlistat is the only Food and Drug Administration (FDA)-approved drug for obesity treatment via this mechanism. Therefore, there has been a growing interest in exploring novel compounds with natural structural frameworks that can give similar activity with fewer side effects. In this study, we describe the synthesis and pancreatic lipase inhibitory activity evaluation of 10 aurone derivatives with different substituents on the benzylidene ring. Aurone derivatives were synthesised through aldol condensation of benzofuranone and corresponding benzaldehyde derivatives with medium to good yields (45-73%). Pancreatic lipase inhibitory activities of synthesized compounds were determined by UV-Vis spectroscopy with quercetin and orlistat as references. Three aurones were found to have higher I% than quercetin at the same concentration (50 µg/ml). Compound 5c (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) exhibited the greatest activity (I%=60.95%), better than quercetin (I%=27.20%) at the concentration of 50 µg/ml.

Keywords: aldol condensation, aurone, benzaldehyde, obesity, pancreatic lipase.

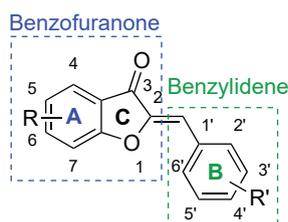
Classification numbers: 1.4, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: vocamvan@ump.edu.vn

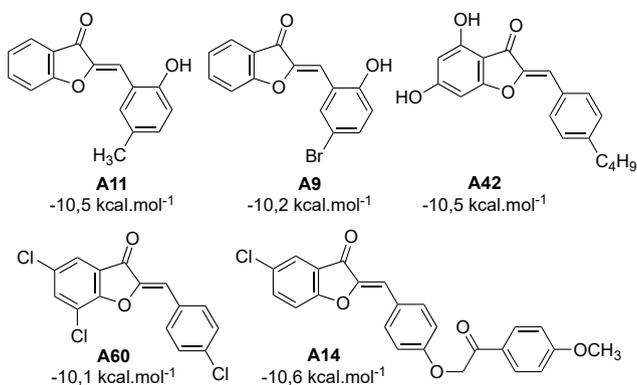
1. Đặt vấn đề

Tỷ lệ người thừa cân và béo phì tiếp tục tăng cao trên toàn thế giới trong nhiều thập kỷ qua, mang đến mối nguy hại cho sức khỏe cộng đồng [1]. Ngoài yếu tố hình thể, béo phì gia tăng nguy cơ các bệnh lý như cao huyết áp, đái tháo đường tuýp 2, ung thư và đột quỵ [2]. Thuốc hoá dược điều trị béo phì cho đến nay là mảng nghiên cứu liên tục với các kết quả trái chiều [3]. Một trong những hướng nghiên cứu tiềm năng là ức chế enzyme lipase tụy - enzyme chịu trách nhiệm trong quá trình hấp thu chất béo [4]. Cho đến nay, orlistat là thuốc điều trị béo phì duy nhất với cơ chế này được FDA chấp nhận [5]. Các nghiên cứu sàng lọc và phát hiện các hợp chất ức chế lipase tụy có nguồn gốc thiên nhiên và tổng hợp đã được tiến hành bởi nhiều nhóm nghiên cứu trên thế giới.

Aurone là nhóm dẫn chất thuộc họ flavonoid, đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành sắc tố của hoa, quả [6] (hình 1). Trong những năm gần đây, aurone thu hút sự chú ý của y học khi một số dẫn chất được báo cáo với nhiều hoạt tính sinh học tiềm năng như kháng virus, kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hoá, ức chế một số enzyme quan trọng trong chuyển hoá... [7]. Một nghiên cứu công bố năm 2020 tại Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh đã đánh giá khả năng gắn kết *in silico* của 82 dẫn chất aurone vào khoang xúc tác của enzyme lipase tụy người đã cho thấy các kết quả khả quan [8] (hình 2).



Hình 1. Cấu trúc khung dẫn chất aurone.



Hình 2. Cấu trúc một số aurone cho kết quả gắn kết phân tử tốt.

Đến nay, chưa có nghiên cứu thực nghiệm nào về tác động ức chế lipase tụy của nhóm dẫn chất này được báo cáo. Aurone tồn tại trong tự nhiên với số lượng và độ phổ biến không cao; do đó, tổng hợp hoá học sẽ tạo điều kiện

thuận lợi cho việc tiến hành sàng lọc và đánh giá khả năng ức chế lipase tụy của nhóm dẫn chất này. Dẫn chất aurone có thể được điều chế bằng phản ứng đóng vòng dẫn chất chalcone tương ứng với tác nhân $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ hay CuBr_2 [9, 10]. Phản ứng với tác nhân $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ ở nhiệt độ cao trong thời gian dài có thể dẫn đến việc tạo thủy ngân kim loại có độc tính cao. Phản ứng đóng vòng với CuBr_2 thực nghiệm cho hiệu suất không cao và nhiều tạp, không thích hợp với các dẫn chất aurone mang nhóm thế linh động như $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$. Ngoài phản ứng đóng vòng, aurone có thể được tổng hợp bằng phản ứng ngưng tụ aldol giữa chất trung gian benzofuranone với dẫn chất benzaldehyde. Đây cũng là phương pháp tổng hợp được lựa chọn để tổng hợp các dẫn chất aurone với các nhóm thế khác nhau trên vòng B trong nghiên cứu này. Dẫn chất aurone tổng hợp sau đó được khảo sát tác động ức chế lipase tụy bằng phương pháp quang phổ UV-Vis, so sánh với chất đối chiếu là quercetin - một flavonoid tự nhiên được báo cáo có hoạt tính ức chế lipase tụy [11] và orlistat - chất ức chế lipase tụy được FDA chấp thuận.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Hoá chất, dung môi hữu cơ dùng trong tổng hợp được mua từ ChemSol (Việt Nam), Merck (Đức), AK Scientific (Trung Quốc), Xilong (Trung Quốc) theo tiêu chuẩn tổng hợp và sử dụng trực tiếp. Phản ứng hoá học được tiến hành với dụng cụ thủy tinh (bình cầu, sinh hàn), bếp khuấy từ gia nhiệt. Phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng silica gel GF254; phát hiện vết dưới đèn UV 254 và 365 nm. Điểm chảy đo trên máy Stuart SMP10. Phổ IR đo trên máy Tensor 27 Bruker (Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh). Phổ khối MS được đo trên máy Shimadzu LCMS (Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP Hồ Chí Minh). Phổ ^1H NMR được đo trên máy Bruker BioSpin GmbH (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh).

Hoá chất, dung môi dùng trong thử nghiệm sinh học gồm lipase tụy lợn - Porcine pancreatic lipase type II (L-3126), *p*-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP), natri deoxycholat (SDC), muối vô cơ được mua từ Sigma-Aldrich (Mỹ), Acros (Bi) và Prolabo (Pháp). Orlistat 99,4% từ Công ty Kolli Indra (Ấn Độ). Nước cất hai lần được sử dụng trong toàn bộ thử nghiệm sinh học. Độ hấp thụ UV trong thử nghiệm hoạt tính ức chế lipase tụy được đo bằng máy đọc đĩa 96 giếng Imark Microplate Absorbance Reader (Biorad, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tổng hợp dẫn chất aurone với vòng benzylidene thế

Dẫn chất aurone được tổng hợp từ nguyên liệu đầu 2-hydroxyacetophenone và dẫn chất benzaldehyde thông qua 3 bước [12]. Chất tổng hợp được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ (^1H -NMR, MS và IR).

2.2.2. Đánh giá tác động ức chế lipase tụy của các dẫn chất aurone tổng hợp

Tác động ức chế lipase tụy *in vitro* của 5a-5j được xác định dựa trên khả năng thủy phân *p*-NPP tạo thành *p*-nitrophenol bằng phương pháp quang phổ UV-Vis ở bước sóng 415 nm. Hệ khảo sát gồm *p*-NPP 200 μ m, lipase 1 mg/ml, đệm phosphate 50 mM pH 8, natri deoxycholate 5 mM, calci chloride 1 mM, natri chloride 5 mM, mẫu thử ở nồng độ 50 μ g/ml trong dung môi hữu cơ DMSO [13]. Tác động ức chế lipase tụy được đánh giá bằng cách xác định và so sánh phần trăm ức chế lipase tụy (I%) của aurone với chất đối chiếu quercetin và orlistat ở cùng nồng độ 50 μ g/ml.

3. Thực nghiệm

3.1. Tổng hợp 2-bromo-2'-hydroxyacetophenone 2

2'-Hydroxyacetophenone **1** (2 g, 14,7 mmol) và CuBr₂ (6,6 g, 29,5 mmol) được phân tán trong 80 ml hỗn hợp dung môi EtOAc:CHCl₃ tỷ lệ 1:1 (tt/tt) và đun hồi lưu trong 24 giờ ở 80°C. Hỗn hợp sau phản ứng được lọc loại bỏ tủa. Dịch lọc được lắc phân bố lần lượt với EDTA 5% và natri thiosulfate 10%. Dịch chiết được cô quay dưới áp suất giảm thu sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại (2,58 g, hiệu suất 81,6%). Sản phẩm 2-bromo-2'-hydroxyacetophenone **2** là bột kết tinh trắng; tan trong methanol, ethanol và ít tan trong nước; R_f=0,6 (*n*-hexane:EtOAc là 6:1); IR ν (cm⁻¹): 3115,04 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1643,35 ($\nu_{\text{C=O}}$); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 11,65 (s, 1H, -OH), 7,67 (dd, 1H, $J_1 = 0,8$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, H6'), 7,45 (m, 1H, H5'), 6,94 (m, 1H, H3'), 6,86 (m, 1H, H4'), 4,37 (s, 2H, H2). Phổ ¹H NMR phù hợp với công bố trước đây [14].

3.2. Tổng hợp benzofuranone 3

Natri acetate (0,6 g, 7,32 mmol) được phân tán trong 10 ml ethanol và đun ở 60°C. Hỗn hợp gồm 2'-bromo-2-hydroxyacetophenone **2** (1,25 g, 5,81 mmol) và 5 ml ethanol được thêm từ từ vào bình phản ứng. Hỗn hợp được đun ở 60°C thêm 1 giờ. Phản ứng được dừng lại bằng cách thêm khoảng 40 ml nước cất và làm lạnh, sau đó lọc thu tủa thô. Sản phẩm benzofuranone **3** được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại trong hỗn hợp EtOH và *n*-hexane (0,47 g, hiệu suất 60,3%). Benzofuranone **3** là bột kết tinh màu vàng cam; tan trong ethanol, methanol và kém tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 101°C; R_f=0,5 (*n*-hexane:EtOAc là 6:1); IR ν (cm⁻¹): 1705,07 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1211,3 ($\nu_{\text{C-O}}$); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,61 (m, 1H, H6), 7,55 (m, 1H, H5), 7,08 (m, 1H, H4), 7,03 (m, 1H, H6), 4,56 (s, 2H, H2). Phổ ¹H NMR phù hợp với công bố trước đây [15].

3.3. Tổng hợp dẫn chất aurone 5a-5i

Quy trình sau đây áp dụng để tổng hợp các dẫn chất aurone **5a-5i** với các nhóm thế khác nhau trên vòng benzylidene: Dẫn chất benzaldehyde **4** (1,1 mmol, 1,1 đương lượng) được hòa tan trong 3 ml ethanol 50% và 2 ml dung dịch acid *p*-toluensulfonic (PTSA) 40% ở 50°C. Sau đó, benzofuranone **3** (1 mmol, 1 đương lượng) được thêm vào và phản ứng trong 6 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được làm lạnh, lọc thu tủa và sấy khô. Sản phẩm được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi CHCl₃:EtOH hoặc CHCl₃:*n*-hexane.

Chất **5a** (2-(4'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 4-hydroxybenzaldehyde, hiệu suất 59,2%. Sản phẩm thu được tan trong chloroform và ethyl acetate, ít tan trong ethanol và không tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 254°C; R_f=0,6 (*n*-hexane:EtOAc là 2:1); IR ν (cm⁻¹): 3116,97 ($\nu_{\text{C-OH}}$), 1685,79 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1226,73 ($\nu_{\text{C-O}}$); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 10,24 (s, 1H, -OH), 7,89 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H2', H6'), 7,81-7,77 (m, 2H, H5, H7), 7,56 (m, 1H, H4), 7,31 (m, 1H, H6), 6,92 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H3', H5'), 6,91 (s, 1H, =CH); MS (ESI): C₁₅H₁₀O₂ [M+H]⁺ dự kiến là 239,07 m/z, thực tế đo: 239,36 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [16].

Chất **5b** (2-(2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 2-hydroxybenzaldehyde, hiệu suất 72,9%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng nâu, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 225°C, R_f=0,7 (*n*-hexane:EtOAc là 2:1); IR ν (cm⁻¹): 3161,33 ($\nu_{\text{C-OH}}$), 1683,86 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1265,30 ($\nu_{\text{C-O}}$); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 10,45 (1H, s, -OH), 8,16 (1H, dd, $J_1 = 2$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, H4), 7,83-7,79 (2H, m, H6, H7), 7,59-7,56 (1H, m, H5), 7,35-7,28 (2H, m, H4', H6'), 7,25 (1H, s, =CH), 6,99-6,95 (2H, m, H3', H5'). MS (ESI): C₁₅H₁₀O₂ [M+H]⁺ dự kiến là 239,07 m/z, thực tế đo: 239,51 m/z.

Chất **5c** (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde, hiệu suất 44,8%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 248°C, R_f=0,5 (*n*-hexane:EtOAc là 2:1); IR: ν (cm⁻¹): 3082,25 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1691,57 ($\nu_{\text{C=O}}$); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 10,81 (1H, s, -OH), 8,21 (1H, d, $J = 2,8$ Hz, H6'), 7,84-7,79 (2H, m, H4, H6), 7,64-7,62 (1H, dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 0,8$ Hz, H7), 7,45 (1H, dd, $J_1 = 6,4$ Hz, $J_2 = 2,4$ Hz, H4'), 7,34 (1H, m, H5), 7,12 (1H, s, =CH), 6,94 (1H, d, $J = 8,8$ Hz, H3'); MS

(ESI): $C_{15}H_8BrO_3$ $[M-H]^-$ dự kiến 314,97, thực tế đo 314,94 và $[M-H+2]^-$ dự kiến 316,96 m/z, thực tế đo 317,01 m/z.

Chất **5d** (2-(4'-chlorobenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 4-chlorobenzaldehyde, hiệu suất 52,4%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng nhạt, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 166°C, $R_f=0,7$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR ν (cm^{-1}): 1707,00 ($\nu_{C=O}$); 1205,51 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,05 (2H, m, H2', H6'), 7,81 (2H, m, H4, H6), 7,58-7,49 (3H, m, H3', H5', H7), 7,35 (1H, m, H5), 6,86 (1H, s, =CH); MS (ESI): $C_{15}H_9ClO_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 257,04 m/z, thực tế đo 257,29 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [16].

Chất **5e** (2-(2'-chlorobenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 2-chlorobenzaldehyde, hiệu suất 70,9%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng nhạt, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 140°C, $R_f=0,7$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR ν (cm^{-1}): 1707,00 ($\nu_{C=O}$); 1182,36 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,43 (1H, dd, $J_1=7,7$ Hz, $J_2=1,8$ Hz, H4), 7,83 (m, 2H, H4, H5), 7,59 (dd, 1H, $J_1=7,7$ Hz, $J_2=1,7$ Hz, H6'), 7,56-7,44 (m, 3H, H3', H4', H6), 7,41-7,33 (m, 1H, H5'), 7,22 (s, 1H, =CH); MS (ESI): $C_{15}H_9ClO_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 257,04 m/z, thực tế đo 257,16 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [16].

Chất **5f** (2-benzylidenebenzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và benzaldehyde, hiệu suất 45,5%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng rất nhạt, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan một phần trong ethanol và ít tan trong nước, nhiệt độ nóng chảy đo được là 110°C, $R_f=0,7$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR: ν (cm^{-1}): 1710,86 ($\nu_{C=O}$); 1656,85 ($\nu_{C=C}$); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,05-8,03 (2H, m, H2', H6'), 7,84-7,79 (1H, m, H6), 7,80 (1H, dd, $J=0,8$ Hz, H4), 7,55-7,51 (3H, m, H3', H4', H5'), 7,49-7,44 (1H, m, H7), 7,37-7,33 (1H, m, H5), 6,87 (1H, s, =CH). MS (ESI): $C_{15}H_{10}O_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 223,08, thực tế đo 223,41. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [17].

Chất **5g** (2-(2'-methoxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 2-methoxybenzaldehyde, hiệu suất 66,9%. Sản phẩm tạo thành dạng tinh thể màu vàng tươi, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, kém tan trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 177°C, $R_f=0,5$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR: ν (cm^{-1}): 1697,36 ($\nu_{C=O}$); 1645,28 ($\nu_{C=C}$); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,31 (1H, dd, $J=7,8$, H4), 7,82-7,78 (2H, m, H6, H6'), 7,50 (1H, dd,

$J_1=8,8$ Hz, $J_2=0,7$ Hz, H7), 7,45 (1H, m, H4'), 7,36-7,32 (1H, m, H5), 7,34 (1H, s, =CH), 7,14-7,08 (2H, m, H3', H5'), 3,97 (3H, s, OCH_3). MS (ESI): $C_{16}H_{12}O_3$ $[M+H]^+$ dự kiến 253,09 m/z, thực tế đo 253,38 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [18].

Chất **5h** (2-(4'-nitrobenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ **3** và 4-nitrobenzaldehyde, hiệu suất 51,6%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng cam, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, kém tan trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 214°C, $R_f=0,6$ (*n*-hexane: EtOAc 5:1); IR ν (cm^{-1}): 1701,22 ($\nu_{C=O}$); 1296,16 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8,23 (2H, d, $J=8,9$ Hz, H3', H5'), 7,99 (2H, d, $J=8,8$ Hz, H2', H6'), 7,77 (1H, dd, $J_1=7,6$ Hz, $J_2=0,7$ Hz, H4), 7,69-7,61 (1H, m, H6), 7,31 (1H, d, $J=8,3$ Hz, H7), 7,22 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H5), 6,81 (1H, s, =CH); MS (ESI): $C_{15}H_9NO_4$ $[M+H]^+$ dự kiến 268,05 m/z, thực tế đo 268,40 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [18].

Chất **5i** (2-(4'-(dimethylamino)benzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 4-(dimethylamino)benzaldehyde, hiệu suất 63,8%. Sản phẩm thu được dạng bột tinh thể màu đỏ đậm, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan một phần trong ethanol và ít tan trong nước, nhiệt độ nóng chảy 174°C, $R_f=0,5$ (*n*-hexane: EtOAc 4:1); IR ν (cm^{-1}): 1674,21 ($\nu_{C=O}$); 1217,08 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7,84-7,76 (2H, m, H2', H6'), 7,74 (1H, m, H4), 7,54 (1H, m, H5), 7,25 (1H, dd, $J_1=8,3$ Hz, $J_2=0,5$ Hz, H7), 7,12 (1H, m, H6), 6,86 (1H, s, =CH), 6,68 (2H, dd, $J_1=8,8$ Hz, $J_2=2,8$ Hz, H3', H5'), 3,01 (6H, s, $N(CH_3)_2$); MS (ESI): $C_{17}H_{15}NO_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 266,12 m/z, thực tế đo 266,37 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [19].

3.4. Tổng hợp dẫn chất aurone 5j

2-(4'-Hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one **5a** (0,1 g, 0,42 mmol) và K_2CO_3 (0,1 g, 0,72 mmol) được hòa tan trong 5 ml acetone ở 50°C. 2-Bromo-4'-methoxyacetophenone (0,11 g, 0,48 mmol) sau đó được thêm vào bình cầu. Phản ứng được thực hiện trong 2 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh, lọc thu tủa và kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi $CHCl_3$:*n*-hexane thu sản phẩm tinh khiết (0,12 g, hiệu suất 74,2%). Sản phẩm **5j** là bột kết tinh màu vàng; tan trong chloroform và ethyl acetate, kém tan trong ethanol và methanol, không tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 181°C; $R_f=0,5$ (*n*-hexane: EtOAc 2:1); IR: ν (cm^{-1}): 1685,79, 1641,42 ($\nu_{C=O}$); 1591,27 ($\nu_{C=C}$); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8,06-7,98 (2H, m, H2'', H6''), 7,93-7,85 (2H, m, H2', H6'), 7,80 (1H, m, H4), 7,64 (1H, m, H6), 7,32 (1H, d, $J=8,3$ Hz), 7,21 (1H, m, H5), 7,02 (2H, m, H3'', H5''), 6,98 (2H, m, H3', H5'), 6,87 (1H, s, =CH),

5,30 (2H, s, CH₂), 3,90 (3H, s, OCH₃); MS (ESI): C₂₄H₁₈O₅ [M]⁺ dự kiến 386,12 m/z, thực tế đo 385,69 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [20].

3.5. Xác định phần trăm ức chế (I%) của mẫu thử ở nồng độ 50 µg/ml

3.5.1. Giếng chuẩn bị

Mẫu thử: Lần lượt thêm vào dung dịch calci chloride 10 mM (20 µl), chất ức chế 0,5 mg/ml (40 µl), dung dịch enzyme lipase 10 mg/ml (20 µl) và hỗn hợp dung dịch đệm phosphate 50 mM, pH 8, natri deoxycholate 10 mM, natri chloride 10 mM (100 µl), trộn đều.

Mẫu chứng: Thực hiện tương tự mẫu thử nhưng thay chất ức chế bằng 40 µl DMSO.

3.5.2. Giếng thử nghiệm

Trên đĩa 96 giếng lần lượt thêm dung dịch từ các giếng chuẩn bị (90 µl) vào giếng thử đã có sẵn dung dịch *p*-NPP 2 mM (10 µl). Kết quả được ghi nhận bằng máy Elisa ở chế độ đo động học (5 phút mỗi 30 giây) ở bước sóng 415 nm. Mỗi mẫu thực hiện 3 lần, xây dựng đường tuyến tính biểu thị sự tương quan giữa độ hấp thụ và thời gian, xác định vận tốc phản ứng hay hệ số góc (k) của mẫu thử và tính giá trị trung bình (K). %I được tính dựa trên giá trị K của mẫu chứng DMSO (K_C) và mẫu thử (K_T):

$$I\% = \frac{K_C - K_T}{K_C} \times 100\%$$

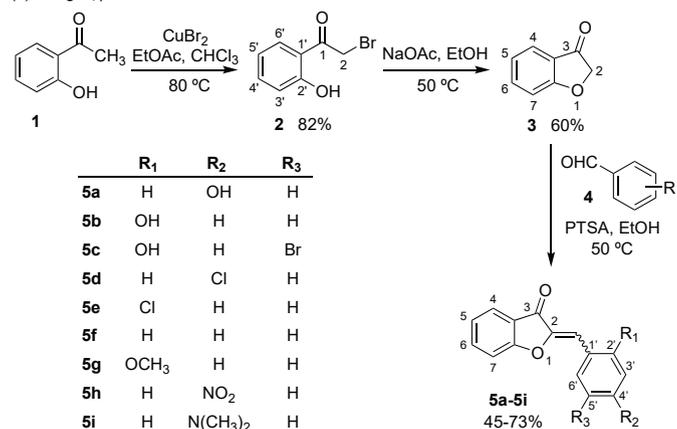
4. Kết quả và bàn luận

4.1. Tổng hợp dẫn chất aurone với nhóm thế trên vòng benzylidene

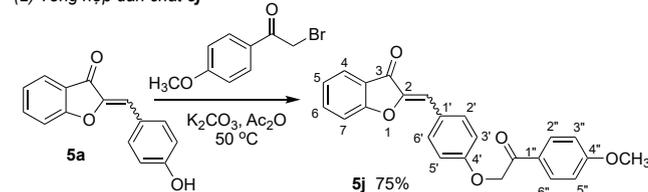
10 dẫn chất aurone mang các nhóm thế với bản chất điện tử và kích thước khác nhau được tổng hợp thông qua quy trình gồm 3 bước (hình 3). Brom hoá nguyên liệu 2-hydroxyacetophenone **1** bằng tác nhân CuBr₂ tạo hợp chất 2-bromo-2'-hydroxyacetophenone **2**. Hợp chất này sau đó đóng vòng với tác nhân natri acetate tạo chất trung gian benzofuranone **3**. Dẫn xuất aurone với các nhóm thế khác nhau là kết quả của phản ứng ngưng tụ giữa chất trung gian benzofuranone **3** và dẫn chất benzaldehyde **4** tương ứng. Quy trình tổng hợp này so với quy trình đóng vòng ôxy hóa chalcone mang nhiều ưu điểm. Nhiệt độ phản ứng ít khắc nghiệt hơn so với quy trình đi từ chalcone (nhiệt độ 50-80°C so với 189°C). Các phản ứng thành phần đều xảy ra với hiệu suất từ trung bình đến cao. Chất trung gian benzofuranone **3** là một chất có độ bền cao, có thể tổng hợp với lượng lớn và bảo quản ở nhiệt độ phòng. Phản ứng ngưng tụ tạo dẫn xuất

aurone xảy ra với các dẫn xuất benzaldehyde **4** mang nhiều loại nhóm thế khác nhau có bản chất điện tử và kích thước khác nhau như halogeno (**5c**, **5d**, **5e**), amino (**5i**), nitro (**5h**), ether (**5g**, **5j**) và nhóm hydroxy tự do (**5a-5c**) với hiệu suất khá đến tốt.

(1) Tổng hợp dẫn chất 5a-5i



(2) Tổng hợp dẫn chất 5j



Hình 3. Quy trình tổng hợp các dẫn chất aurone.

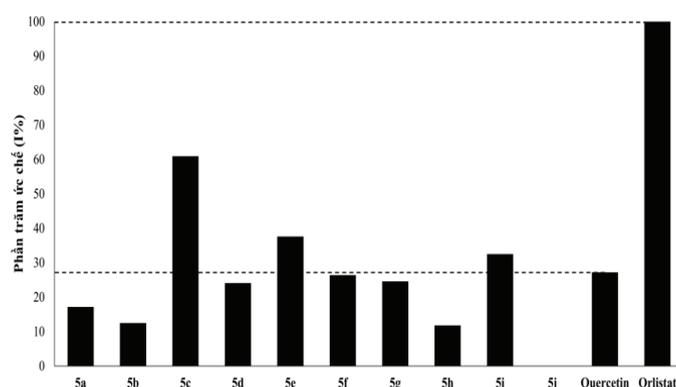
Cấu trúc 10 dẫn chất aurone được xác định bằng các phương pháp quang phổ (¹H-NMR, IR và MS). Phổ IR có đỉnh của các nhóm chức đặc trưng như C=O và C-OH, C-O. Khối phổ thực nghiệm phù hợp với dự kiến. ¹H-NMR của các dẫn chất cho các đỉnh tương ứng. Theo công bố trước đây, đồng phân (*E*) hay (*Z*) của dẫn chất aurone có thể được phân biệt qua độ dịch chuyển hóa học (-) của hydro tại CH=olefin. Trong đó, hydro tại CH=olefin của đồng phân (*Z*) có δ~6,70 ppm và khi δ>7 ppm có thể là đồng phân (*Z*) hoặc (*E*) [12, 21]. Dẫn chất **5a**, **5d**, **5f**, **5h**, **5i** và **5j** có độ dịch chuyển của -CH=δ trong khoảng 6,81-6,87 ppm, tương ứng đồng phân (*Z*). Dữ liệu phổ ¹H-NMR của các hợp chất này cũng phù hợp với dữ liệu phổ trong các công bố trước đây với cấu hình báo cáo là đồng phân (*Z*) [16-20]. Dẫn chất **5b**, **5c**, **5e**, **5g** có độ dịch chuyển của -CH=δ>7 ppm. Theo tài liệu thì đây có thể là đồng phân (*E*) hay (*Z*). **5e** và **5g** có dữ liệu phổ khớp với công bố trước đây cũng báo cáo -CH=δ>7 ppm và cấu hình (*Z*) [16, 18]. Do đó, **5e** và **5g** là đồng phân (*Z*). Riêng **5b**, **5c** có nhóm thế ở vị trí *ortho* dữ liệu -CH=δ không trùng với báo cáo trước đây nên khả năng đây là đồng phân (*E*) [16, 22].

4.2. Xác định tác động ức chế lipase tụy

Từ I% thực nghiệm thu được (bảng 1, hình 4) nhận thấy, 3 dẫn chất **5c**, **5e**, **5i** có khả năng ức chế lipase tụy cao hơn quercetin (I%=27,20%) và tất cả đều thấp hơn so với orlistat (I%=100%) ở cùng nồng độ 50 µg/ml. Trong đó, **5c** có hoạt tính ức chế lipase tụy cao nhất trong các aurone thử nghiệm và cao hơn 50%. Điều này phù hợp với kết quả điểm số gắn kết (-10,2 kcal/mol) đã được nghiên cứu trước đó [8]. Các kết quả thử sinh học hiện dừng lại ở I% mà chưa tiến hành xác định được IC₅₀ của từng dẫn chất tổng hợp. Một trong những nguyên nhân là độ tan của các dẫn chất aurone trong môi trường thân nước rất kém. Mặc dù thử nghiệm đã tăng nồng độ dung môi hữu cơ DMSO nhưng các aurone này vẫn rất khó tan, làm đục giếng đo dẫn đến giá trị độ hấp thụ ghi nhận không chính xác khi xác định I% ở các nồng độ cao hơn 50 µg/ml. Hướng cải tiến tiếp theo có thể là thêm nhiều nhóm OH trên các vòng A và B để tăng khả năng tan trong nước của aurone tạo điều kiện cho thử nghiệm hoạt tính sinh học.

Bảng 1. Phần trăm ức chế của các dẫn chất aurone tổng hợp ở nồng độ 50 µg/ml.

Chất thử	I%
5a	17,21
5b	12,51
5c	60,95
5d	24,13
5e	37,61
5f	26,42
5g	24,58
5h	11,83
5i	32,54
5j	0
Quercetin	27,20
Orlistat	100



Hình 4. Phần trăm ức chế của các dẫn chất aurone tổng hợp ở nồng độ 50 µg/ml.

5. Kết luận

Trong nghiên cứu này, 10 dẫn chất aurone với nhóm thế khác nhau trên vòng benzylidene đã được tổng hợp từ 2-hydroxyacetophenone và dẫn chất benzaldehyde với hiệu suất khá tốt. Các dẫn chất tổng hợp được kiểm tra độ tinh khiết, xác định cấu trúc bằng phương pháp phổ hoá và đánh giá tác động ức chế lipase tụy. Kết quả thử cho thấy, các dẫn chất aurone trên thực nghiệm có tiềm năng ức chế lipase tụy và có thể tốt hơn so với quercetin. Dẫn chất **5c** (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) cho hoạt tính tốt nhất (I%=60,95 ở nồng độ 50 µg/ml), tốt hơn quercetin (I%=27,20% ở nồng độ 50 µg/ml).

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn tài trợ của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF). Nguyễn Thanh Trang được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sỹ, tiến sỹ trong nước của VINIF, mã số VINIF.2022.ThS.093.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E.P. Williams, M. Mesidor, K. Winters, et al. (2015), "Overweight and obesity: Prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem", *Current Obesity Reports*, **4(3)**, pp.363-370, DOI: 10.1007/s13679-015-0169-4.
- [2] K.G. Alberti, P.Z. Zimmet (1998), "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation", *Diabetic Medicine*, **15(7)**, pp.539-553, DOI: 10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S.
- [3] V.M. Jackson, D.M. Breen, J.P. Fortin, et al. (2015), "Latest approaches for the treatment of obesity", *Expert Opinion on Drug Discovery*, **10(8)**, pp.825-839, DOI: 10.1517/17460441.2015.1044966.
- [4] F.K. Winkler, A. D'Arcy, W. Hunziker (1990), "Structure of human pancreatic lipase", *Nature*, **343(6260)**, pp.771-774, DOI: 10.1038/343771a0.
- [5] J.P. Chaput, S.S. Pierre, A. Tremblay (2007), "Currently available drugs for the treatment of obesity: Sibutramine and orlistat", *Mini Rev. Med. Chem.*, **7(1)**, pp.3-10, DOI: 10.2174/138955707779317849.
- [6] M. Ninomiya, M. Koketsu (2013), "Minor flavonoids (chalcones, flavanones, dihydrochalcones, and aurones)", *Natural Products*, pp.1867-1900, DOI: 10.1007/978-3-642-22144-6_62.
- [7] G. Sui, T. Li, B. Zhang, et al. (2021), "Recent advances on synthesis and biological activities of aurones", *Biorg. Med. Chem.*, **29**, DOI: 10.1016/j.bmc.2020.115895.

- [8] P.T.V. Nguyen, H.A. Huynh, D.V. Truong, et al. (2020), “Exploring aurone derivatives as potential human pancreatic lipase inhibitors through molecular docking and molecular dynamics simulations”, *Molecules*, **25(20)**, DOI: 10.3390/molecules25204657.
- [9] N.N. Agrawal, P.A. Soni (2006), “A new process for the synthesis of aurones by using mercury (II) acetate in pyridine and cupric bromide in dimethyl sulfoxide”, *ChemInform*, **37(39)**, DOI: 10.1002/chin.200639120.
- [10] A.A. Elhadi, H. Osman, M.A. Iqbal, et al. (2015), “Synthesis and structural elucidation of two new series of aurone derivatives as potent inhibitors against the proliferation of human cancer cells”, *Medicinal Chemistry Research*, **24**, pp.3504-3515, DOI: 10.1007/s00044-015-1400-2.
- [11] A.I.M. Gonzalez, E.A. Parrilla, A.G.D. Sánchez, et al. (2017), “*In vitro* inhibition of pancreatic lipase by polyphenols: A kinetic, fluorescence spectroscopy and molecular docking study”, *Food Technol. Biotechnol.*, **55(4)**, pp.519-530, DOI: 10.17113/ftb.55.04.17.5138.
- [12] C.Y. Lee, E.H. Chew, M.L. Go (2010), “Functionalised aurones as inducers of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 that activate AhR/XRE and Nrf2/ARE signaling pathways: Synthesis, evaluation and SAR”, *Eur. J. Med. Chem.*, **45(7)**, pp.2957-2971, DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.03.023.
- [13] D.R. Lewis, D.J. Liu (2012), “Direct measurement of lipase inhibition by orlistat using a dissolution linked *in vitro* assay”, *Clinical Pharmacology & Biopharmaceutics*, **1**, DOI: 10.4172/2167-065X.1000103.
- [14] L.C. King, G.K. Ostrum (1964), “Selective bromination with copper (II) bromide”, *The Journal of Organic Chemistry*, **29(12)**, pp.3459-3461, DOI: 10.1021/jo01035a003.
- [15] PubChem (2005), “Compound summary: Benzofuran-3(2H)-one”, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzofuran-3_2H_-one, accessed 9 April 2023.
- [16] T.M. Kadayat, S. Banskota, P. Gurung, et al. (2017), “Discovery and structure-activity relationship studies of 2-benzylidene-2,3-dihydro-1H-inden-1-one and benzofuran-3(2H)-one derivatives as a novel class of potential therapeutics for inflammatory bowel disease”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **137**, pp.575-597, DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.06.018.
- [17] H. Olleik, S. Yahiaoui, B. Roulier, et al. (2019), “Aurone derivatives as promising antibacterial agents against resistant gram-positive pathogens”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **165**, pp.133-141, DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.01.022.
- [18] A.S. Chintakrindi, D.J. Gohil, A.S. Chowdhary, et al. (2020), “Design, synthesis and biological evaluation of substituted flavones and aurones as potential anti-influenza agents”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **28(1)**, DOI: 10.1016/j.bmc.2019.115191.
- [19] M.P. Carrasco, A.S. Newton, L. Gonçalves, et al. (2014), “Probing the aurone scaffold against *Plasmodium falciparum*: Design, synthesis and antimalarial activity”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **80**, pp.523-534, DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.04.076.
- [20] S. Demirayak, L. Yurttas, N.G. Karaburun, et al. (2015), “Synthesis and anti-cancer activity evaluation of new aurone derivatives”, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **30(5)**, pp.816-825, DOI: 10.3109/14756366.2014.976568.
- [21] S. Venkateswarlu, G.K. Panchagnula, A.L. Gottumukkala, et al. (2007), “Synthesis, structural revision, and biological activities of 4'-chloroaurone, a metabolite of marine brown alga *Spatoglossum variabile*”, *Tetrahedron*, **63(29)**, pp.6909-6914, DOI: 10.1016/j.tet.2007.04.048.
- [22] K. Manjulatha, S. Srinivas, N. Mulakayala, et al. (2012), “Ethylenediamine diacetate (EDDA) mediated synthesis of aurones under ultrasound: Their evaluation as inhibitors of SIRT1”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **22(19)**, pp.6160-6165, DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.08.017.