

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC MỎ - ĐỊA CHẤT

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP CƠ SỞ

TỔNG HỢP MỘT SỐ DẪN CHẤT AMID THƠM MỚI
MANG KHUNG 2-(5-(NAPHTALEN-2-YL)-2H-
TETRAZOL-2-YL) VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG ỨC
CHẾ ACETYLCHOLINESTERASE ĐỊNH HƯỚNG
ĐIỀU TRỊ BỆNH ALZHEIMER

Mã số: T25-16

Chủ nhiệm đề tài: ThS. Nguyễn Viết Hùng

Hà Nội, Tháng 11/2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC MỎ - ĐỊA CHẤT

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP CƠ SỞ

TỔNG HỢP MỘT SỐ DẪN CHẤT AMID THƠM MỚI
MANG KHUNG 2-(5-(NAPHTALEN-2-YL)-2H-
TETRAZOL-2-YL) VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG ỨC
CHẾ ACETYLCHOLINESTERASE ĐỊNH HƯỚNG
ĐIỀU TRỊ BỆNH ALZHEIMER

Mã số: T25-16

Xác nhận của
Trường Đại học Mỏ -Địa chất

Chủ nhiệm đề tài

Hà Nội, Tháng 11/2025

DANH SÁCH THÀNH VIÊN THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

TT	Họ và tên	Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn	Nội dung nghiên cứu cụ thể được giao
1	ThS. Nguyễn Viết Hùng	Bộ môn Hóa học, Khoa KHCB, Trường Đại học Mở - Địa chất	Thực hiện các nội dung 1, 2, 3, 4.
2	PGS.TS. Trần Phương Thảo	Bộ môn Hoá dược, Khoa Công nghệ Hoá dược, Trường Đại học Dược Hà Nội	Thực hiện các nội dung 1, 2, 3, 4.
3	TS. Hoàng Văn Hải	Khoa Dược, Trường Đại học Phenikaa	Thực hiện các nội dung 2, 3, 4.
4	TS. Lê Thị Phương Thảo	Bộ môn Hóa học, Khoa KHCB, Trường Đại học Mở - Địa chất	Thực hiện các nội dung 1, 2.
5	TS. Lê Thị Vinh	Bộ môn Hóa học, Khoa KHCB, Trường Đại học Mở - Địa chất	Thực hiện các nội dung 1, 4.

MỤC LỤC

	Trang
DANH SÁCH THÀNH VIÊN THỰC HIỆN ĐỀ TÀI	i
MỤC LỤC	1
MỤC LỤC BẢNG	3
MỤC LỤC SƠ ĐỒ	3
MỤC LỤC HÌNH	4
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	5
THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	7
MỞ ĐẦU	9
PHẦN 1. TỔNG QUAN	11
1.1. Tổng quan về bệnh Alzheimer và các giả thuyết	11
1.1.1. Alzheimer và lịch sử phát hiện bệnh	11
1.1.2. Các giai đoạn của bệnh Alzheimer	12
1.1.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh	13
1.2. Enzym acetylcholinesterase	22
1.2.1. Cấu trúc của acetylcholinestera	23
1.2.2. Cơ chế thủy phân acetylcholin của acetylcholinestera	25
1.2.3. Chất ức chế acetylcholinestera	25
1.3. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa vòng tertrazol, vòng naphthalen và nhóm chức amid	29
1.3.1. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa vòng tetrazol	29
1.3.2. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa vòng naphtalen	31
1.3.3. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa nhóm chức amid	32
PHẦN 2. THỰC NGHIỆM	33
2.1. Nguyên liệu và thiết bị nghiên cứu	33
2.1.1. Nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu	33
2.1.2. Thiết bị nghiên cứu	34
2.2. Nội dung nghiên cứu	34
2.2.1. Hóa học	34

2.2.2. Hoạt tính ức chế AChE	34
2.2.3. Đặc tính giống thuốc	34
2.3. Phương pháp nghiên cứu	34
2.3.1. Hóa học	34
2.3.2. Hoạt tính ức chế AChE	35
2.3.4. Đặc tính giống thuốc của các hợp chất mục tiêu	36
2.3. Tổng hợp hóa học	37
2.3.1. Tổng hợp chất trung gian II	37
2.3.2. Tổng hợp chất trung gian III	38
2.3.3. Tổng hợp các chất mục tiêu IVa-j	38
PHẦN 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN	40
3.1. Kết quả thử độ tinh khiết và một số chỉ số hóa lý của các chất IVa-j	40
3.2. Khẳng định cấu trúc	40
3.2.1. Phổ khối lượng HRMS	41
3.2.2. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton ($^1\text{H-NMR}$)	42
3.2.3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13 ($^{13}\text{C-NMR}$)	45
3.2.4. Đặc tính “giống thuốc” của các chất IVa-j	47
3.3. Hoạt tính ức chế AChE	48
KẾT LUẬN	50
TÀI LIỆU THAM KHẢO	I
PHỤ LỤC	VIII

MỤC LỤC BẢNG

	Trang
Bảng 1. Vị trí, chức năng và thành phần các acid amin quan trọng tại các vùng gắn kết của AChE.....	24
Bảng 2. Một số chất ức chế AChE.....	26
Bảng 3. Các nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu.....	33
Bảng 4. Nguyên liệu điều chế các dẫn chất IVb-j	39
Bảng 5. Hiệu suất tổng hợp và một số chỉ số hóa lý xác định độ tinh khiết các chất IVb-j	40
Bảng 6. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất IVa-j	41
Bảng 7. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất IVa-j	43
Bảng 8. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất IVa-j	45
Bảng 9. Kết quả phân tích đặc tính “giống thuốc” của các chất IVa-j	47
Bảng 10. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất IVa-j	49

MỤC LỤC SƠ ĐỒ

	Trang
Sơ đồ 1. Quy trình tổng hợp các hợp chất IVa-j	37
Sơ đồ 2. Quy trình tổng hợp chất IVa	39

MỤC LỤC HÌNH

	Trang
Hình 1. Cấu tạo vỏ não của người bình thường và người bị bệnh Alzheimer [40].....	12
Hình 2. Nguyên nhân gây bệnh Alzheimer [43].....	13
Hình 3. Con đường chuyển hóa APP [47].....	14
Hình 4. Sự hình thành đám rối tau.....	17
Hình 5. Tác động của kim loại thiết yếu trong AD.....	18
Hình 6. Quá trình tự thực thông qua hệ thống lysosome [73].....	20
Hình 7. Quá trình hình thành bệnh Alzheimer theo giải thuyết stress oxy hóa [75].....	21
Hình 8. Cấu trúc 3D của AChE.....	22
Hình 9. Minh họa cấu trúc của AChE (I) và trung tâm hoạt động CAS (II).....	23
Hình 10. Cơ chế phản ứng thủy phân ACh xúc tác AChE [90].....	25
Hình 11. Cấu trúc của bốn dẫn chất KL1 , KL2 , KL3 và KL4	27
Hình 12. Mô phỏng docking phân tử giữa KL4 và AChE.....	28
Hình 13. Cấu trúc và IC ₅₀ của các hợp chất KL5-10	28
Hình 14. Đồng phân cấu trúc của vòng tetrazol.....	29
Hình 15. Cấu trúc của các dẫn chất DC3a-b	30
Hình 16. Cấu trúc của các dẫn chất DC4a-b , DC5 , DC	31
Hình 17. Một số dẫn chất ức chế AChE mang khung naphthalen.....	32
Hình 18. Cấu trúc và IC ₅₀ của hợp chất KL14 và KL15	32
Hình 19. Biểu đồ BOILED-Egg.....	37
Hình 20. Phổ HR-MS của chất IVd	42
Hình 21. Phổ ¹ H-NMR của chất IVa	44
Hình 22. Phổ ¹³ C-NMR của chất IVc	46
Hình 23. Sơ đồ BOILED-Egg các chất IVa-e	48
Hình 24. Sơ đồ BOILED-Egg các chất IVf-j	48

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

A β	Amyloid beta
ACh	Acetylcholine
AChE	Acetylcholinesterase
AD	Bệnh Alzheimer
AICD	Miền nội bào APP
Ala	Alanin
APOE	apolipoprotein E
APP	Protein tiền chất amyloid
Asp	Aspartat
ARN	Acid ribonucleic
BrdU	Bromodeoxyuridine
ACE	Angiotensin-Converting Enzyme
cAMP	Adenosine monophosphate vòng
CAS	Vùng trung tâm hoạt động
ChAT	enzym choline acetyltransferase
CYP	Enzyme cytochrome P450
DNA	Deoxyribonucleic acid
DTNB	5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic
IC ₅₀	Nồng độ ức chế 50%
FDA	Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ (U.S. Food and Drug Administration)
GABA	γ -aminobutyric acid
Glu	Glutamat
Gly	Glycin
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
GSK	Glycogen synthase kinase
GSK-3 β	Glycogen synthase kinase-3 β
hAChE	AChE người
His	Histidin
NCS	Hệ thần kinh trung ương (Central Nervous System)
NFTs	Đám rối sợi thần kinh

MMSE	Bài kiểm tra trạng thái tâm thần thu nhỏ
PAS	Vùng ngoại biên
PEA	Phenylethylamin
PM	Người chuyển hóa kém
Phe	Phenylalanin
PHF	Sợi xoắn kép
sAPP α	APP α hòa tan
sAPP β	APP β hòa tan
Ser	Serin
<i>Tc</i> AChE	AChE của cá đuối điện
TMT	trimethyltin
TNB	5-thio-2-nitrobenzoic
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosine
WHO	Tổ chức Y tế Thế giới

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
Đơn vị: Trường Đại học Mở - Địa chất

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Tổng hợp một số dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl) và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase định hướng điều trị bệnh Alzheimer
- Mã số: T25-16
- Chủ nhiệm: ThS Nguyễn Viết Hùng
- Cơ quan chủ trì: Trường Đại học Mở - Địa chất
- Thời gian thực hiện: **12 tháng** (từ tháng 1/2025 – 12/2025)

2. Mục tiêu: Tổng hợp được 5 đến 7 dẫn chất thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl) có khả năng ức chế enzym acetylcholinesterase.

3. Tính mới và sáng tạo: Các dẫn chất được tổng hợp là những chất hoàn toàn mới, có khả năng ức chế enzym acetylcholinesterase định hướng điều trị bệnh Alzheimer.

4. Kết quả nghiên cứu:

- Đã tổng hợp 10 dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl), vượt chỉ tiêu so với thuyết minh.
- Đã khẳng định cấu trúc của 10 dẫn chất bằng các phương pháp phổ: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR, ¹³C-NMR) và phổ khối hiệu năng cao (HR-MS)
- Đã đánh giá tính chất “giống thuốc” và thử tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase.

5. Sản phẩm:

Đề tài đã hoàn thành đầy đủ và vượt mức sản phẩm theo thuyết minh bao gồm: tổng hợp 10 dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl), các dẫn chất được khẳng định cấu trúc thông qua các phương pháp phổ, sau đó đánh giá tính chất “giống thuốc” và thử tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase; 02 bài báo trên Tạp chí trong nước (01 bài đăng trên Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc 07/2025, 01 bài chấp nhận đăng trên Tạp chí Khoa học, Công nghệ và Kỹ thuật Việt Nam tháng 8/2025; 01 quy trình điều chế và 01 báo cáo tổng kết.

- 02 cử nhân dược bảo vệ thành công Khóa luận Tốt nghiệp (vượt chỉ tiêu 01)
- 01 quy trình tổng hợp 10 dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)

6. Hiệu quả, phương thức chuyển giao kết quả nghiên cứu và khả năng áp dụng:

- Nghiên cứu của đề tài góp phần hướng dẫn 02 sinh viên hoàn thành Khóa luận tốt nghiệp.
- Kết quả nghiên cứu của đề tài được giao nộp trực tiếp cho cơ quan chủ trì đề tài (Trường

Đại học Mở - Địa chất)

- Kết quả của đề tài có thể được sử dụng làm tài liệu tham khảo cho các nghiên cứu chuyên sâu về Hoá hữu cơ, Hoá dược, phân tích, kiểm nghiệm, ...

Ngày 11 tháng 11 năm 2025

Cơ quan chủ trì

Chủ nhiệm đề tài

ThS. Nguyễn Viết Hùng

MỞ ĐẦU

Alzheimer là bệnh thoái hóa thần kinh liên quan đến sự suy giảm dần dần và không thể phục hồi về trí nhớ, khả năng suy nghĩ và cuối cùng là khả năng thực hiện các hoạt động hàng ngày [1, 2]. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 2022, chứng sa sút trí tuệ là một trong những thách thức lớn về sức khỏe với 55,2 triệu người đã bị ảnh hưởng trên toàn cầu và con số này được dự báo sẽ tăng mạnh đến 78 triệu người vào năm 2030 [3]. Tỷ lệ người mắc chứng sa sút trí tuệ liên quan tới Alzheimer tăng đáng kể theo độ tuổi, với tỷ lệ là 5% ở nhóm từ 65 đến 74 tuổi, 13,2% ở nhóm từ 75 đến 84 tuổi và lên tới 33,4% ở những người từ 85 tuổi trở lên [4]. Cùng với đó, gánh nặng về tài chính trên toàn thế giới liên quan đến dịch vụ xã hội và chi phí chăm sóc y tế cho những người mắc chứng sa sút trí tuệ dự kiến sẽ vượt quá 2,8 nghìn tỷ đô vào năm 2030, tăng gấp đôi chi phí năm 2019 [5]. Theo báo cáo tại Hội nghị Quốc gia về Sa sút trí tuệ năm 2018, Việt Nam đã ghi nhận khoảng 660,000 người mắc sa sút trí tuệ vào năm 2015, và con số này dự báo sẽ tăng lên 1,2 triệu người vào năm 2030, đặt ra những thách thức lớn đối với hệ thống y tế và xã hội trong việc cung cấp các dịch vụ chăm sóc, điều trị và hỗ trợ cho người bệnh [6, 7].

Hiện nay, mặc dù nhiều giả thuyết đã được đề xuất nhằm lý giải cơ chế bệnh sinh của AD, nhưng cơ chế bệnh học cụ thể vẫn chưa được giải thích một cách đầy đủ và chưa có liệu pháp điều trị nào được chứng minh có hiệu quả trong việc làm chậm hoặc ngăn chặn quá trình tiến triển của bệnh [4, 8]. Tính đến tháng 7 năm 2024, Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã phê duyệt hai liệu pháp kháng thể đơn dòng định hướng amyloid-beta là donanemab và lecanemab, ba thuốc điều trị triệu chứng ức chế acetylcholinesterase bao gồm: donepezil (Aricept®), galantamine (Razadyne®), rivastigmine (Exelon®) và một thuốc đối kháng thụ thể N-methyl-D-aspartate (NMDA): memantin [8-10]. Tuy nhiên, các thuốc hiện có chưa cho thấy hiệu quả cao trong điều trị, chủ yếu giúp làm giảm triệu chứng và đi kèm với nhiều tác dụng không mong muốn [9]. Do đó, nhiệm vụ tìm kiếm các loại thuốc an toàn và hiệu quả hơn trong điều trị AD vẫn là vấn đề cấp bách hơn bao giờ hết [3, 4].

Tetrazol thuộc nhóm dị vòng thơm 5 cạnh chứa 4 nguyên tử nitơ và 1 nguyên tử carbon. Các dẫn chất của tetrazol cho thấy nhiều hoạt tính sinh học tiềm năng như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, kháng ung thư, chống đái tháo đường và chống đông máu [11]. Nhiều nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, các dẫn chất mang khung tetrazol có khả năng tương tác với một số đích phân tử tiềm năng trong điều trị Alzheimer, trong đó hướng ức chế enzym acetylcholinesterase đã và đang nhận được nhiều sự quan tâm [12-14].

Naphthalen là một cấu trúc hai vòng thơm đơn giản, đã chứng minh được tính ứng dụng vượt trội trong nghiên cứu và phát triển các thuốc mới [15]. Nhiều nghiên cứu

trước đây đã chỉ ra rằng khung naphthalen được sử dụng rộng rãi trong thiết kế các thuốc với tác dụng chống ung thư, kháng khuẩn, kháng virus, chống viêm và đặc biệt là trong lĩnh vực dược lý thần kinh [16-19]. Các hợp chất mang khung naphthalen cho thấy tiềm năng tích cực trong việc làm giảm triệu chứng và hạn chế sự tiến triển của AD trong các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* [20, 21]. Vì vậy, việc tiếp tục nghiên cứu và phát triển các hợp chất mang khung naphthalen có thể mang lại những kết quả hứa hẹn, trong đó hướng ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE) đã và đang nhận được nhiều sự quan tâm, mở ra triển vọng mới trong việc tìm kiếm các liệu pháp điều trị hiệu quả AD [15].

Trên cơ sở đó, với mục đích tìm kiếm và sàng lọc những hợp chất có khả năng ức chế AChE tốt, đồng thời làm giàu cơ sở dữ liệu về những hợp chất ức chế AChE mang khung naphthalen-tetrazol, nhóm nghiên cứu tiến hành thực hiện đề tài **“Tổng hợp một số dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl) và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase định hướng điều trị bệnh Alzheimer”** với hai mục tiêu chính:

1. Tổng hợp được khoảng 5-7 dẫn chất amid thơm mới mang **khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)**.
2. Bước đầu đánh giá tác dụng ức chế AChE của các dẫn chất tổng hợp được.

PHẦN 1. TỔNG QUAN

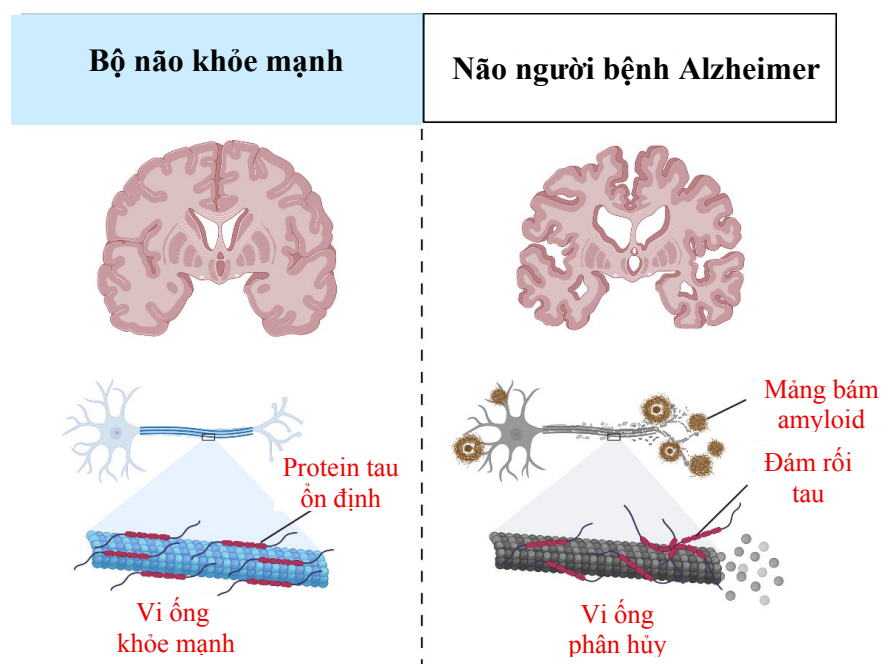
1.1. Tổng quan về bệnh Alzheimer và các giả thuyết

1.1.1. Alzheimer và lịch sử phát hiện bệnh

Bệnh Alzheimer là nguyên nhân hàng đầu gây ra hội chứng chứng sa sút trí tuệ (chiếm khoảng 60-80% tổng số ca bệnh) [22] là tình trạng thoái hóa thần kinh mãn tính và không hồi phục, đặc trưng bởi các triệu chứng như mất trí nhớ, rối loạn nhận thức và hành vi cùng với những tổn thương về tâm lý và thể chất của bệnh nhân [23, 24].

Bệnh Alzheimer được Alois Alzheimer mô tả lần đầu tiên vào năm 1906, về trường hợp của Auguste Deter, một phụ nữ 51 tuổi bị rối loạn nhận thức, mất phương hướng, ảo tưởng và các thay đổi hành vi khác mà ông gặp lần đầu tiên vào năm 1901. Bà Deter qua đời 4,5 năm sau đó vào năm 1906. Đánh giá bệnh lý thần kinh của Alzheimer cho thấy hiện tượng teo não và "những thay đổi đặc biệt ở các cụm tế bào vỏ não". Ông đã báo cáo những phát hiện của mình trong một bài giảng "về quá trình bệnh lý đặc biệt của vỏ não" [25]. Mặc dù được mô tả về mặt định tính bởi Alzheimer vào năm 1906, danh tính của hai phân tử tham gia vào cơ chế bệnh sinh của AD, peptide beta amyloid được tìm thấy trong các mảng bám và protein tau tăng phosphoryl hóa được tìm thấy trong các đám rối sợi thần kinh (NFT) không được xác định cho đến giữa những năm 1980 [26-31]. Với những khám phá ban đầu này, đánh giá bệnh lý thần kinh của AD đã phát triển hơn nữa để nhận ra nhiều bệnh lý thần kinh đi kèm, góp phần gây ra chứng mất trí nhớ lâm sàng [32-36]. Sau Đạo luật Dự án Alzheimer Quốc gia (NAPA) được Tổng thống Obama ký thành luật năm 2011, kế hoạch quốc gia của Hoa Kỳ nhằm giải quyết bệnh Alzheimer đã được xây dựng vào năm 2012, đặt ra năm mục tiêu đầy tham vọng: phòng ngừa và điều trị hiệu quả bệnh Alzheimer vào năm 2025, tối ưu hóa chất lượng và hiệu quả chăm sóc, mở rộng hỗ trợ cho bệnh nhân và người chăm sóc, nâng cao nhận thức cộng đồng, và cuối cùng là theo dõi tiến độ và thúc đẩy cải thiện [37].

Các nghiên cứu về sau đã chỉ ra rằng, AD với những biểu hiện là suy giảm nhận thức, mất trí nhớ, thiếu khả năng thực hiện nhiệm vụ và có những hành vi khác biệt thì kèm theo đó là chứng teo não đặc trưng, lắng đọng các mảng bám amyloid và hình thành đám rối sợi thần kinh [1, 38, 39] (Hình 5). Tuy nhiên, cho đến hiện nay vẫn chưa có phương pháp phát hiện sớm cũng như chưa có liệu pháp trị liệu nào đủ hiệu quả có thể làm chậm hoặc ngừng quá trình tiến triển của bệnh. Điều này đã tác động tiêu cực đến sức khỏe thể chất và tinh thần của không chỉ người bệnh mà còn của gia đình và người chăm sóc [4].



Hình 1. Cấu tạo vỏ não của người bình thường và người bị bệnh Alzheimer [39]

1.1.2. Các giai đoạn của bệnh Alzheimer

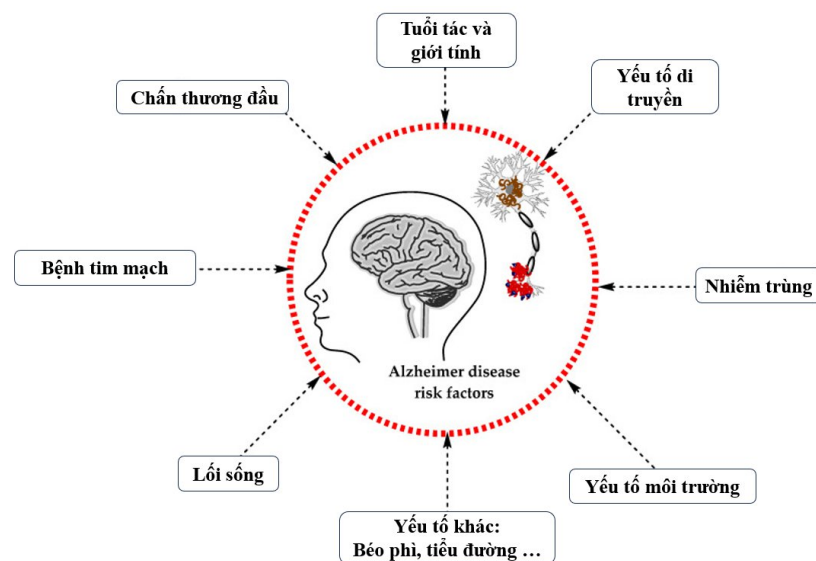
Các triệu chứng của bệnh Alzheimer trở nên tồi tệ hơn theo thời gian, mặc dù tốc độ tiến triển của bệnh khác nhau. Trung bình, một người mắc bệnh Alzheimer sống được bốn đến tám năm sau khi được chẩn đoán, cũng có thể sống tới 20 năm, tùy thuộc vào các yếu tố khác. Những thay đổi trong não liên quan đến bệnh Alzheimer bắt đầu nhiều năm trước khi có bất kỳ dấu hiệu nào của bệnh. Khoảng thời gian này, có thể kéo dài trong nhiều năm, được gọi là bệnh Alzheimer tiền lâm sàng. Các giai đoạn dưới đây cung cấp một ý tưởng tổng thể về cách các khả năng thay đổi khi các triệu chứng xuất hiện và chỉ nên được sử dụng như một hướng dẫn chung. Cần lưu ý rằng có thể khó xếp một người mắc bệnh Alzheimer vào một giai đoạn cụ thể vì các giai đoạn có thể chồng chéo lên nhau. [40, 41].

Bệnh Alzheimer giai đoạn đầu (nhẹ): trong giai đoạn đầu của bệnh Alzheimer, người bệnh có thể hoạt động độc lập. Họ vẫn có thể lái xe, làm việc và tham gia các hoạt động xã hội. Tuy nhiên, người bệnh có thể cảm thấy trí nhớ bị suy giảm, chẳng hạn như quên các từ ngữ quen thuộc hoặc vị trí của các vật dụng hàng ngày. Các triệu chứng có thể không rõ ràng ở giai đoạn này, nhưng gia đình và bạn bè thân thiết có thể nhận thấy và bác sĩ có thể xác định các triệu chứng bằng một số công cụ chẩn đoán nhất định. [40, 41]; *Bệnh Alzheimer giai đoạn giữa (trung bình):* giai đoạn giữa của bệnh Alzheimer thường là giai đoạn dài nhất và có thể kéo dài nhiều năm. Trong giai đoạn này, các triệu chứng sa sút trí tuệ trở nên rõ rệt hơn. Người bệnh có thể nhầm lẫn từ ngữ, dễ cáu gắt hoặc tức giận, và hành động bất ngờ, chẳng hạn như từ chối tắm rửa. Tồn thương tế bào

thần kinh não cũng có thể khiến người bệnh khó diễn đạt suy nghĩ và thực hiện các công việc thường ngày mà không có sự trợ giúp [40, 41]. Ở giai đoạn giữa, người bệnh Alzheimer vẫn có thể tham gia các hoạt động hàng ngày với sự hỗ trợ. Điều quan trọng là tìm hiểu xem người bệnh vẫn có thể làm gì hoặc tìm cách đơn giản hóa các công việc. Khi nhu cầu chăm sóc chuyên sâu tăng lên, người chăm sóc có thể cân nhắc sử dụng dịch vụ chăm sóc tạm thời hoặc trung tâm chăm sóc ban ngày dành cho người lớn để họ có thể tạm thời nghỉ ngơi trong khi người bệnh Alzheimer vẫn được chăm sóc trong một môi trường an toàn. *Bệnh Alzheimer giai đoạn cuối (nặng)*: ở giai đoạn cuối của bệnh, các triệu chứng sa sút trí tuệ trở nên nghiêm trọng. Người bệnh mất khả năng giao tiếp, khả năng phản ứng với môi trường và cuối cùng là mất kiểm soát vận động. Họ vẫn có thể nói được từ hoặc cụm từ, nhưng việc truyền đạt trở nên khó khăn. Khi trí nhớ và kỹ năng nhận thức tiếp tục suy giảm, những thay đổi đáng kể về tính cách có thể xảy ra và người bệnh cần được chăm sóc đặc biệt [40, 41]. Trong giai đoạn này, người chăm sóc có thể muốn sử dụng các dịch vụ hỗ trợ, chẳng hạn như chăm sóc tinh thần, tập trung vào việc mang lại sự thoải mái và phẩm giá cho người bệnh vào giai đoạn cuối đời. Chăm sóc tinh thần có thể mang lại lợi ích to lớn cho những người mắc bệnh Alzheimer và các chứng mất trí nhớ khác, cũng như gia đình của họ.

1.1.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

Alzheimer được coi là một bệnh đa yếu tố liên quan đến một số yếu tố nguy cơ dẫn đến AD như tuổi tác ngày càng tăng, yếu tố di truyền, chấn thương đầu, bệnh mạch máu, nhiễm trùng và các yếu tố môi trường (kim loại nặng, kim loại vết và các yếu tố khác) (Hình 2) [42].



Hình 2. Nguyên nhân gây bệnh Alzheimer [42]

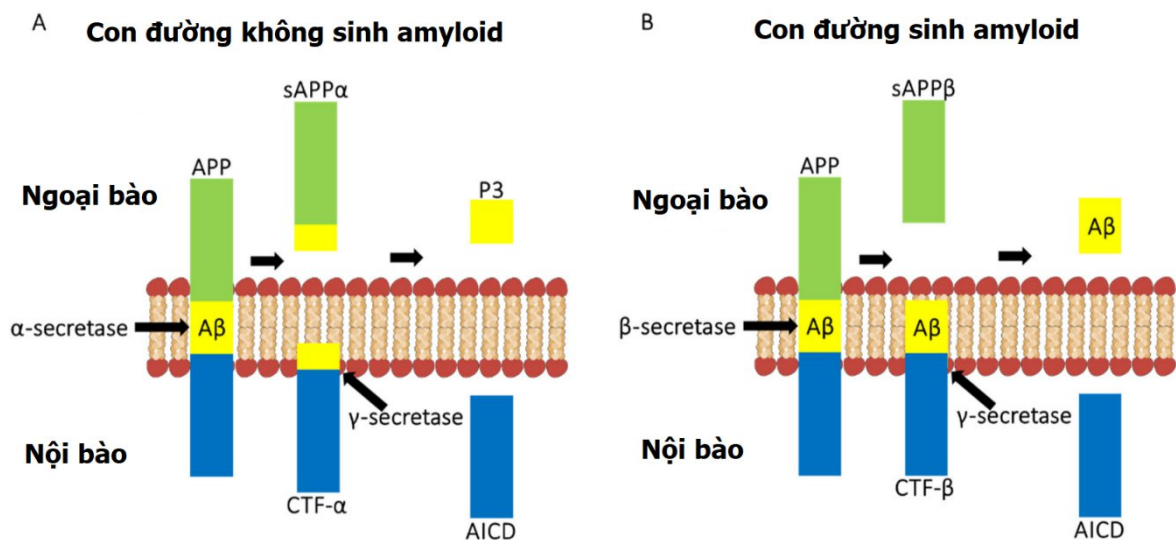
Tính đến nay, nhiều giả thuyết về cơ chế bệnh sinh của Alzheimer đã được đề xuất và nghiên cứu, nhằm tìm kiếm các phương pháp can thiệp và điều trị hiệu quả. Các giả

thuyết nổi bật bao gồm: giả thuyết cholinergic (liên quan đến acetylcholin), giả thuyết mảng bám amyloid (tích tụ amyloid beta), giả thuyết ion kim loại, giả thuyết tau (sự thay đổi của protein tau), và giả thuyết lysosome (rối loạn chức năng lysosome) [43]. Mặc dù chưa có giả thuyết nào giải thích đầy đủ cơ chế bệnh sinh của bệnh Alzheimer, nhưng các giả thuyết hiện tại đã tạo nền tảng vững chắc cho việc nghiên cứu và phát triển các phương pháp điều trị tiềm năng [8, 43].

Giả thuyết mảng bám amyloid

Giả thuyết mảng bám amyloid hiện nay vẫn được coi là giả thuyết trung tâm trong cơ chế gây bệnh Alzheimer. Theo thuyết này, sự thoái hóa thần kinh trong AD gây ra bởi sự tích tụ bất thường các mảng amyloid β ($A\beta$) trong các khu vực của não. Sự tích tụ của các mảng $A\beta$ hoạt động như một yếu tố kích hoạt bệnh lý cho một chuỗi tổn thương dây thần kinh, hình thành các đám rối sợi thần kinh thông qua protein tau dẫn đến rối loạn chức năng tế bào thần kinh và chết tế bào trong AD [44].

Các mảng $A\beta$ hình thành do sự phân cắt protein tiền chất amyloid (APP) qua con đường sinh amyloid [45]. Quá trình phân cắt APP phụ thuộc vào các enzym secretase và chia thành hai con đường là: Con đường sinh amyloid (amyloidogenic pathway) và con đường không sinh amyloid (non-amyloidogenic pathway) (Hình 3) [46].



Hình 3. Con đường chuyển hóa APP [46]

Con đường không sinh amyloid bắt đầu bằng sự phân cắt APP bởi α -secretase giải phóng APP α hòa tan (sAPP α) ở ngoại bào và một đoạn 83 acid amin (CTF83) đầu C (C83) vẫn được gắn vào màng sinh chất. Sự phân cắt đoạn CTF83 bởi γ -secretase kế tiếp sẽ giải phóng một đoạn p3 nhỏ vào ngoại bào và để lại miền nội bào APP (AICD) vào tế bào chất. sAPP α được báo cáo là góp phần vào sự phát triển của neuron thần kinh và kích hoạt con

đường protein kinase hoạt hóa bằng mitogen (MAPK), con đường điều hòa tín hiệu ngoại bào (ERK) [47].

Trong khi đó, con đường sinh amyloid bắt đầu bằng sự phân cắt APP bởi enzym β -secretase (BACE) tạo APP hòa tan ($sAPP\beta$) giải phóng vào ngoại bào và một đoạn đầu tận C của APP lớn hơn có chiều dài 99 acid amin (CTF99). Sự phân cắt đoạn CTF99 bởi γ -secretase kế tiếp sẽ giải phóng $A\beta$ vào ngoại bào và AICD vào tế bào chất [46]. Sự lắng đọng và tích tụ $A\beta$ dẫn đến thoái hóa thần kinh thông qua hình thành các đám rối sợi thần kinh và gây tổn thương hoặc chết tế bào thần kinh, từ đó ảnh hưởng đến trí nhớ và nhận thức của bệnh nhân. Mảnh $A\beta$ không tan có chiều dài từ 37 đến 42 acid amin, trong đó đáng chú ý là mảnh $A\beta_{40}$ và $A\beta_{42}$. Mảnh $A\beta_{42}$ kỵ nước hơn và dễ hình thành sợi hơn trong khi chỉ chiếm khoảng 10 % tổng lượng $A\beta$ peptid được tạo ra [45, 48, 49]. Các nghiên cứu *in vivo* và *in vitro* đã chỉ ra rằng $A\beta_{42}$ gây độc thần kinh nhiều hơn và có nhiều khả năng tổng hợp thành các oligomer không hòa tan [50]. Các oligomer độc hại được tạo ra bởi sự tích lũy $A\beta$ kích hoạt một loạt các con đường gây bệnh khác của Alzheimer bao gồm tổn thương do stress oxy hóa, viêm thần kinh và tăng phosphoryl hóa protein tau,... [49].

Giả thuyết cholinergic

Giả thuyết cholinergic là một trong những giả thuyết lâu đời nhất trong quá trình nghiên cứu về AD [51]. Những nghiên cứu đầu tiên đặt nền tảng cho giả thuyết cholinergic trong AD bắt đầu từ giữa những năm 1970. Những nghiên cứu này cho thấy bệnh nhân Alzheimer có tình trạng giảm sút đáng kể enzym cholin acetyltransferase (ChAT) - enzym tổng hợp acetylcholin (ACh) ở vùng vỏ não [44, 52, 53]. Hai dấu ấn quan trọng khác của bệnh Alzheimer theo giả thuyết cholinergic là sự giảm khử cực dẫn đến giảm giải phóng ACh vào khe synap và giảm thu hồi cholin ở khe synap cần thiết cho quá trình tổng hợp ACh [54]. Từ đó dẫn tới suy giảm của chất dẫn truyền thần kinh quan trọng trong quá trình bệnh sinh của Alzheimer là ACh. Những hệ quả này cho thấy sự thoái hóa của các tế bào thần kinh và sự mất dẫn truyền thần kinh cholinergic liên quan ở vỏ não và thần kinh trung ương đã góp phần gây ra bệnh, làm suy giảm đáng kể chức năng nhận thức ở bệnh nhân Alzheimer [51].

Acetylcholin là chất dẫn truyền thần kinh đóng vai trò rất quan trọng trong hệ thần kinh trung ương và ngoại biên. Trong hệ thần kinh trung ương, các tế bào thần kinh cholinergic cùng chất dẫn truyền thần kinh ACh chịu trách nhiệm chủ chốt trong việc điều hòa các chức năng và hoạt động sinh lý của hệ thống thần kinh bao gồm: sự tập

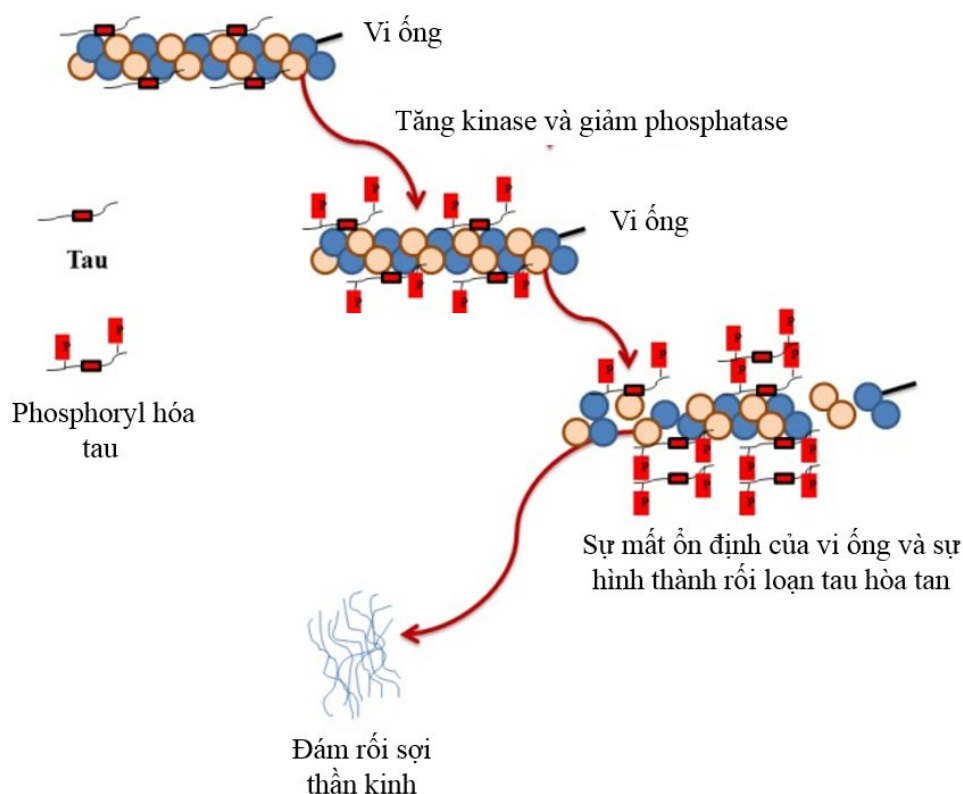
trung, ghi nhớ, đáp ứng với stress, chu kỳ giấc ngủ và tiếp nhận thông tin từ các giác quan [55, 56]. ACh được tổng hợp ở trong các noron tiền synap từ cholin và acetyl-coenzyme A (acetyl-CoA) bởi enzym (ChAT), sau đó ACh được chuyển vào trong bọc synap qua kênh vận chuyển ACh. Quá trình khử cực ở tiền synap thúc đẩy quá trình giải phóng ACh từ bọc synap vào khe synap. Tại đây, ACh có thể gắn với các thụ thể nicotinic hoặc muscarinic dẫn đến phản ứng kích thích hay ức chế dẫn truyền thần kinh. Bên cạnh đó, ACh có thể nhanh chóng bị thủy phân và bất hoạt bởi enzym acetylcholinesterase (AChE) tạo acetat và cholin. Cuối cùng, choline được thu hồi trở lại tiền synap thông qua kênh vận chuyển cholin (CHT1) và tiếp tục quay lại quá trình tổng hợp ACh (Hình 2) [54, 56].

Việc thiếu hụt ACh cũng làm giảm hoạt hóa của thụ thể muscarinic M1 dẫn tới bất hoạt protein kinase C và enzym α -secretase, từ đó dẫn tới hoạt hóa enzym glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) và enzym BACE-1 trong não bệnh nhân Alzheimer [57]. Việc giảm hoạt động α -secretase và tăng hoạt tính của BACE-1 làm thay đổi con đường chuyển hóa amyloid beta (A β) protein dẫn tới hình thành mảng bám amyloid beta. Hơn nữa, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc hoạt hóa quá mức enzym glycogen synthase kinase (GSK) có nhiệm vụ phosphoryl hoá protein tau dẫn tới hình thành đám rối sợi thần kinh và nồng độ cao các oligome A β gây độc [57, 58]. Đối với thụ thể nicotinic, tiểu đơn vị $\alpha 7$ của thụ thể nicotinic sẽ bị giảm sút đáng kể gây rối loạn chức năng các tế bào thần kinh đệm – các tế bào có chức năng quan trọng trong việc điều hòa sự dẫn truyền thần kinh, tạo môi trường đủ chất dinh dưỡng và oxy cho noron và dọn sạch các noron chết [59]. Từ đó, các tế bào thần kinh đệm giải phóng một số cytokin như TNF- α , IL-1 β , IL-6... gây viêm lan rộng và tổn thương các khớp nối thần kinh, Các phản ứng viêm quá mức dẫn đến việc hoạt hóa thụ thể NMDA, làm mở các kênh canxi (Ca²⁺) ở tế bào thần kinh, gây khử cực tế bào thần kinh và độc tế bào. Từ đó tế bào thần kinh đệm khi bị tổn thương cũng không thể dọn dẹp các tế bào thần kinh chết và các chất độc như A β [60, 61]. Như vậy, từ những nghiên cứu trên đã cho thấy mối quan hệ phức tạp giữa giả thuyết cholinergic và các giả thuyết liên quan cũng như các đặc điểm bệnh lý đa dạng trong bệnh Alzheimer [58]. Chính vì vậy, giả thuyết cholinergic đã tạo ra một cuộc cách mạng, thay đổi căn bản nghiên cứu về AD bằng cách chuyển từ những mô tả về bệnh lý thần kinh học sang khái niệm hiện đại về quá trình truyền tín hiệu tại synap [62]. Mặc dù bệnh Alzheimer thường gắn liền với giả thuyết về lắng đọng A β hay giả

thuyết protein tau đã được nghiên cứu trong nhiều năm, cùng với các cơ chế bệnh lý khác đang được khám phá gần đây, nhưng các phương pháp điều trị nhằm cải thiện chức năng cholinergic vẫn giữ vai trò quan trọng trong việc quản lý điều trị AD [8].

Giả thuyết đám rối tau

Về mặt bệnh học thần kinh, AD được định nghĩa là sự hiện diện của các tổn thương sợi thần kinh trong tế bào thần kinh được tạo thành do protein tau. Giả thuyết tau cho rằng sự phosphoryl hóa quá mức hoặc bất thường của tau dẫn đến sự biến đổi tau trưởng thành bình thường thành PHF-tau (sợi xoắn kép) và NFT (đám rối sợi thần kinh) (Hình 5) [63, 64]. Đặc điểm nổi bật nhất của protein tau là sự hiện diện của một miền liên kết vi ống bao gồm ba hoặc bốn lần lặp lại của 18 acid amin nằm ở nửa đầu tận C của protein. Miền liên kết vi ống này tham gia vào quá trình trùng hợp và ổn định vi ống. Phần đầu tận N của tau bao gồm các acid amin có tính acid cao. Tiếp theo là vùng giàu prolin có thể tương tác với khung tế bào và màng sinh chất hoạt động như một miếng đệm để giữ cho các vi ống sợi trục cách xa nhau và cũng có thể hoạt động như một chất liên kết với các thành phần màng [44, 65].



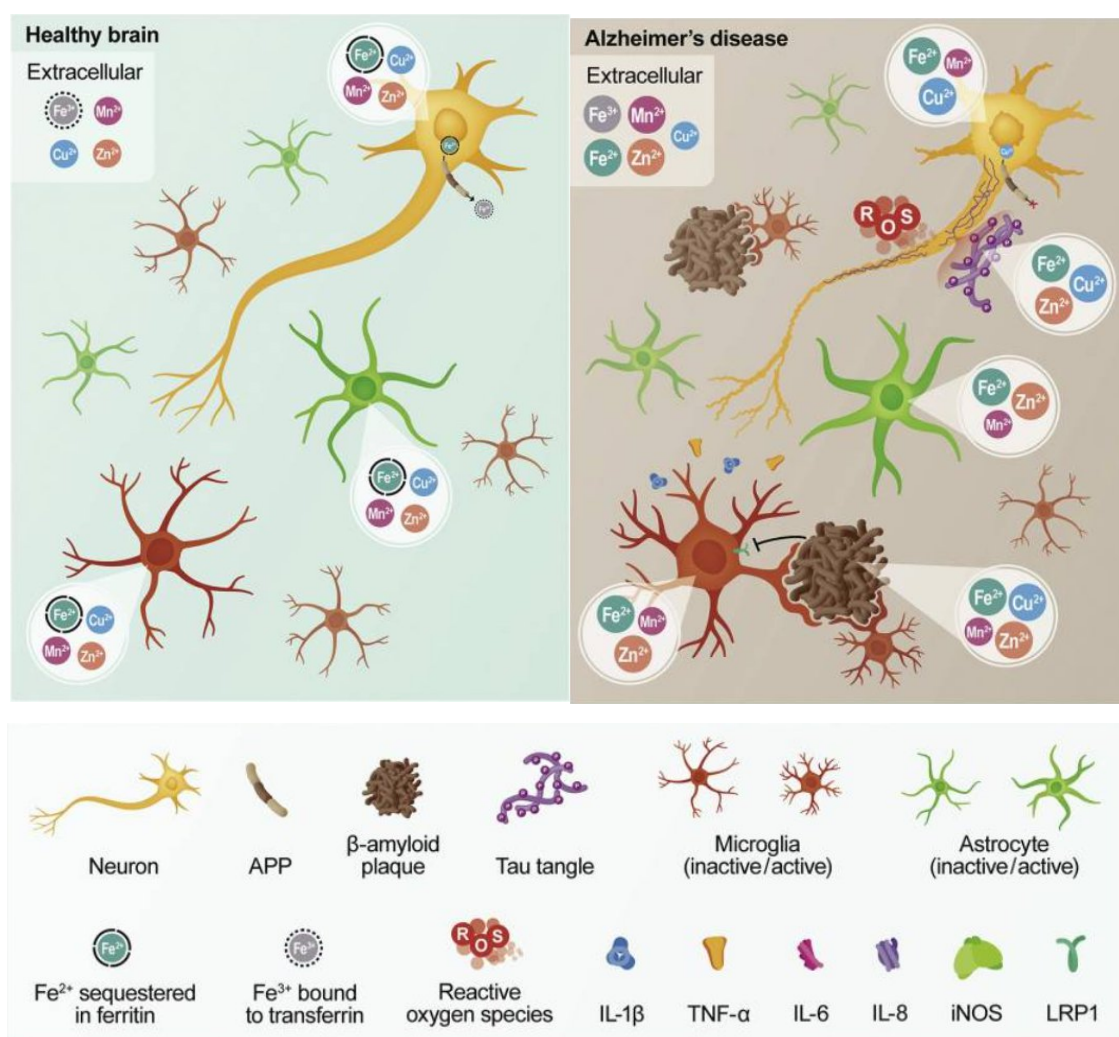
Hình 4. Sự hình thành đám rối tau

Quá trình phosphoryl hóa protein tau được điều hòa phát triển từ bào thai đến giai đoạn trưởng thành. Một số kinase tau có khả năng phosphoryl hóa quá mức tau như glycogen synthase kinase 3 β (GSK-3 β), protein kinase 5 (cdk5), protein phụ thuộc

cAMP (PKA), protein kinase kích hoạt stress. Do đó ức chế các kinase là một phương pháp để ngăn chặn sự lắng đọng của tau. Không giống với các kinase protein, các phosphatase tau thúc đẩy quá trình khử phosphoryl hóa của tau. Việc điều chỉnh các phosphatase tau là một cách tiếp cận khác để thúc đẩy quá trình khử phosphoryl hóa tau [44]. Phosphoryl hóa tau cũng có thể làm trầm trọng thêm quá trình sản xuất A β trong sợi trục thông qua sự phá vỡ các vi ống, làm tăng sự tích lũy APP và BACE [66].

Giả thuyết ion kim loại

Giả thuyết ion kim loại trong cơ chế bệnh sinh của AD cũng đang được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Các ion kim loại có nhiều vai trò quan trọng bao gồm vai trò là chất dẫn truyền thần kinh thứ hai trong tín hiệu tế bào, ổn định cấu trúc protein, xúc tác phản ứng enzym và vận chuyển oxy khắp cơ thể. Tuy nhiên nồng độ cao các ion kim loại (Cu, Fe, Al, Zn) được báo cáo có trong các mô não sau khi chết của bệnh nhân Alzheimer [67].



Hình 5. Tác động của kim loại thiết yếu trong AD

Trong não bệnh AD, tình trạng mất cân bằng kim loại thiết yếu dường như có liên quan đến cơ chế sinh bệnh của AD. Suy giảm chức năng APP, có trong AD, có thể gây ra tình trạng tăng nồng độ Fe^{2+} và Cu^{2+} nội bào và ngoại bào, đồng thời làm giảm Cu^+ ngoại bào, do đó thúc đẩy sự tích tụ của chúng. Lượng Fe^{2+} và Cu^{2+} quá mức làm tăng stress oxy hóa thông qua sản xuất ROS. Ngoài ra, sắt, đồng và kẽm có ái lực liên kết cao hơn với $\text{A}\beta$ và có thể thúc đẩy sự kết tụ của nó. Sắt, đồng và kẽm tăng cao ở tế bào thần kinh cũng liên kết với protein tau và tạo điều kiện cho sự hình thành NFT. Do đó, lượng kim loại nặng dư thừa được tìm thấy trong các mảng bám và NFT. Sự mất cân bằng nội môi của các kim loại thiết yếu trong không gian ngoại bào gây ra hoạt hóa tế bào vi giao và tế bào hình sao, tiếp theo là sản xuất quá mức các cytokine tiền viêm như $\text{IL-1}\beta$ và $\text{TNF-}\alpha$ (Hình 6) [68].

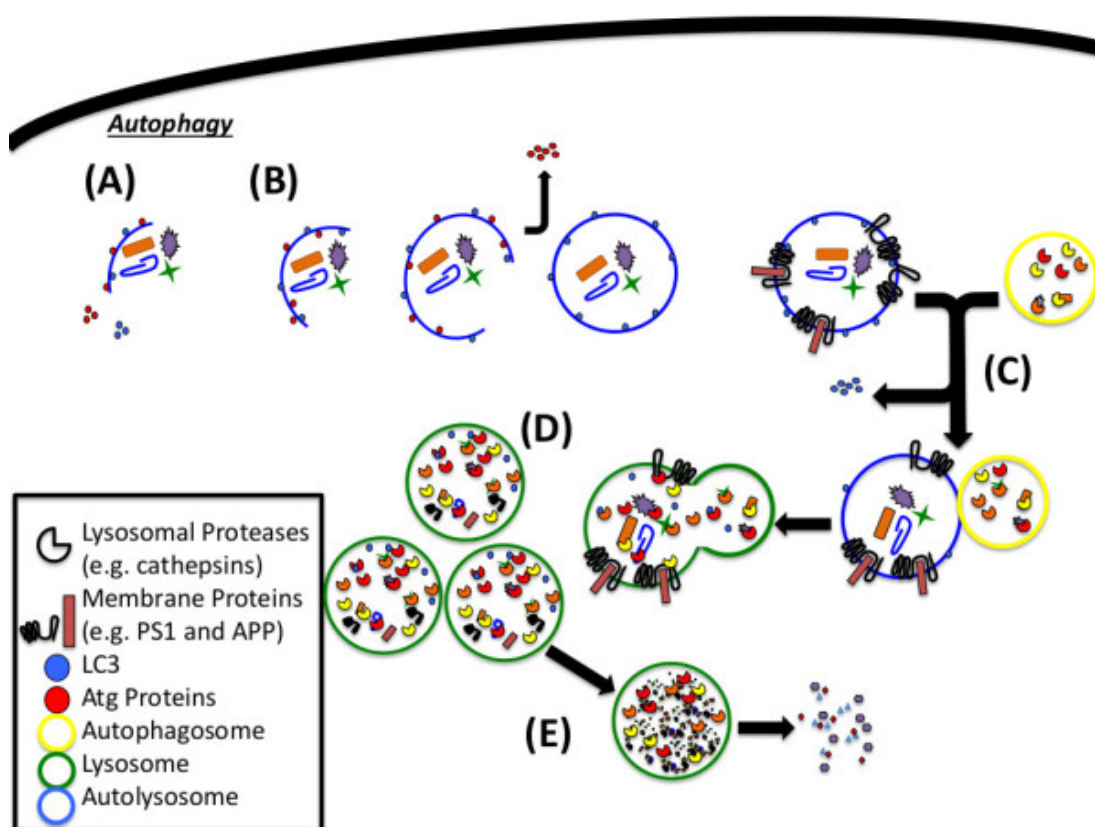
Sự hiện diện của các kim loại không thiết yếu như chì, nhôm và cadmium có tác dụng gây độc thần kinh lên não, làm trầm trọng thêm bệnh AD. Tiếp xúc với chì làm tăng biểu hiện APP và BACE1 và phá vỡ chức năng của tế bào vi giao, cùng với đó làm tăng sản xuất $\text{A}\beta$ và hình thành mảng bám. Nhôm nội bào tăng sẽ cạnh tranh vị trí liên kết sắt trong yếu tố đáp ứng với sắt; kết quả là, Fe^{2+} tích tụ và làm tăng sản xuất ROS. Nhôm cũng tích tụ trong các tế bào thần kinh mang NFT. Ngoài ra, nhôm có thể liên kết với $\text{A}\beta$ và gây ra sự kết tụ của nó. Cadmium cũng liên kết với $\text{A}\beta$ và tham gia vào sự hình thành mảng bám. Tiếp xúc với kim loại nặng gây ra hoạt hóa tế bào vi giao và tế bào hình sao và sau đó làm tăng sản xuất các protein tiền viêm, bao gồm $\text{IL-1}\beta$, IL-8 , $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 và iNOS .

Ngoài ra, các nghiên cứu đã chứng minh rằng cân bằng nội môi calci tế bào đóng vai trò then chốt trong việc điều chỉnh nhiều chức năng của tế bào thần kinh bao gồm sự phát triển và biệt hóa tế bào thần kinh, độ dẻo của khớp thần kinh, học tập và ghi nhớ. Trong các mô hình thí nghiệm Alzheimer, lượng calci trong tế bào thần kinh tăng cao và từ đó kích hoạt các quá trình bệnh lý tiếp theo của Alzheimer [69]. Do đó, giảm nồng độ kim loại dư thừa trong não bằng các tác nhân thải sắt là một trong những phương pháp điều trị hợp lý để điều trị AD [67].

Giả thuyết lysosome và tự thực

Tự thực là quá trình tế bào sử dụng để loại bỏ các thành phần bị hư hỏng hoặc không cần thiết, bao gồm các protein bị sai lệch cấu trúc như tau và $\text{A}\beta$. Quá trình này bao gồm việc hình thành các autophagosome, sau đó hợp nhất với lysosome để phân

hủy các chất bên trong [43, 70, 71]. Quá trình tự thực phân hủy và tái chế các thành phần tế bào thông qua hệ thống lysosome được mô tả ở Hình 6.



Hình 6. Quá trình tự thực thông qua hệ thống lysosome [71]

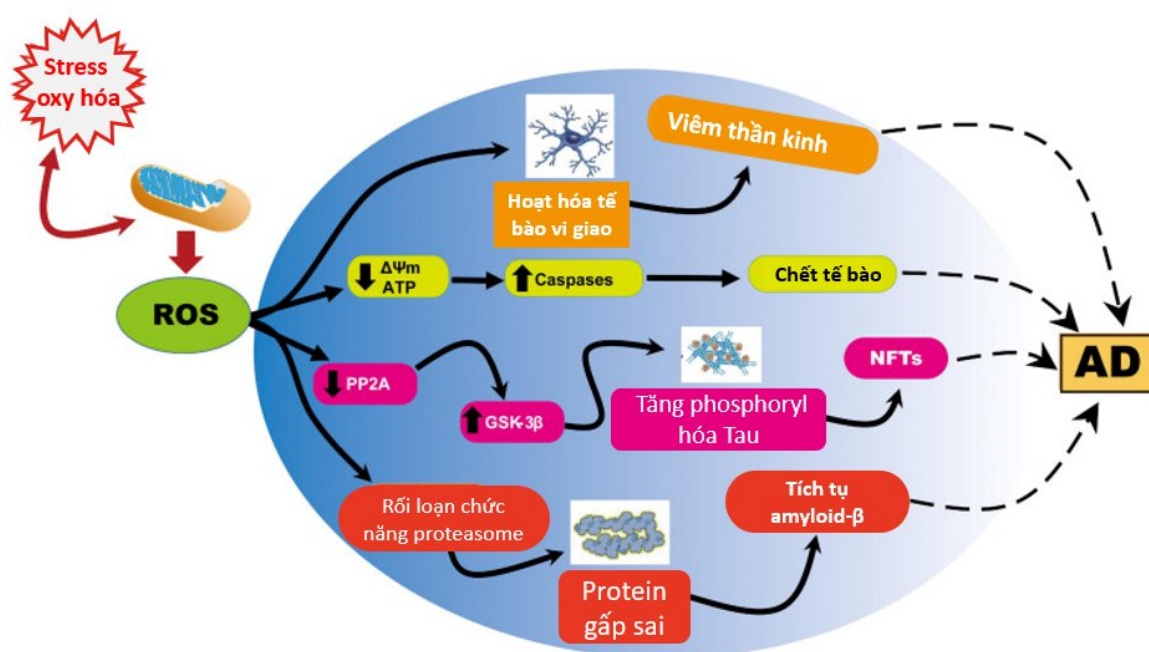
Quá trình này gồm 5 giai đoạn. **Khởi đầu tự thực** (Hình 6-A): (nhận diện tế bào bị tổn thương: ty thể, protein sai cấu trúc LC3, Atg). Quá trình tự thực bắt đầu với sự hình thành phagophore (màng tiền thân của autophagosome). **Hình thành autophagosome** (Hình 6-B): Phagophore mở rộng và thu nhận các thành phần cần loại bỏ như LC3 và Atg protein, tạo thành autophagosome. **Hợp nhất và tách** (Hình 6-C): Autophagosome hợp nhất với lysosome và các protein LC3 tách ra khỏi màng. **Phân hủy** (Hình 6-D): Autolysosome thu được chứa các hydrolase axit hoạt động phân hủy thành phần tế bào chất được bao bọc. **Phân giải** (Hình 6-E): Quá trình hoàn thành autophagy được đánh dấu bằng quá trình tiêu hóa autophagosome và thành phần autophagosome đồng thời giải phóng các axit amin và các sản phẩm chuyển hóa khác (APP, protein tiền chất amyloid, LC3, chuỗi nhẹ protein liên kết với phosphatidylethanolamine gắn với autophagosome; PS1, presenilin 1).

Giả thuyết lysosome và tự thực cho rằng sự suy giảm chức năng của hệ thống tự thực và lysosome đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của bệnh Alzheimer (AD) [70-72]. Thực bào đóng vai trò là cơ chế dị hóa duy nhất để phân hủy các bào quan

và các tập hợp protein. Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy rối loạn chức năng tự thực trong bệnh Alzheimer (AD) và các bệnh thoái hóa thần kinh khác liên quan đến quá trình xử lý và tích tụ protein sai. Trong điều kiện sinh lý, hệ thống tự thực/lysosome tái chế hiệu quả các bào quan và protein nên. Tuy nhiên, chức năng tự thực giảm dẫn đến tích tụ protein và các túi tự thực và lysosome. Các túi này chứa các hydrolase lysosome độc hại cũng như bộ máy tế bào thích hợp để tạo ra A β , thành phần chính của mảng bám của AD [71].

Việc khôi phục chức năng của hệ thống tự thực và lysosome được xem là một chiến lược điều trị tiềm năng cho AD. Một số nghiên cứu đang tập trung vào việc kích hoạt các yếu tố như TFEB, một yếu tố phiên mã điều hòa quá trình tự thực và sinh lysosome, để tăng cường khả năng phân hủy protein tau và A β [72].

Ngoài các giả thuyết trên, ngoại trừ giả thuyết di truyền, giả thuyết rối loạn chức năng ty thể và stress oxy hóa, giả thuyết viêm thần kinh đều có nguyên nhân dẫn đến sự hình thành mảng bám và đám rối sợi thần kinh, đặc trưng của bệnh Alzheimer [73, 74].



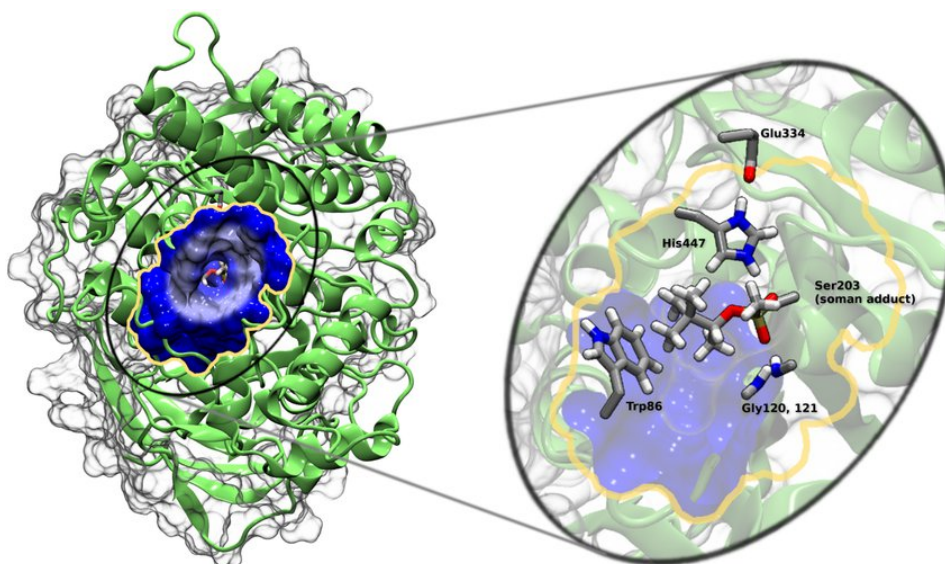
Hình 7. Quá trình hình thành bệnh Alzheimer theo giả thuyết stress oxy hóa [73]

Trong số giả thuyết của bệnh Alzheimer, giả thuyết cholinergic, giả thuyết mảng bám amyloid và giả thuyết tau là ba hướng được nghiên cứu nhiều nhất và giữ vai trò trung tâm trong phát triển thuốc. Phần lớn các thuốc được FDA phê duyệt hoặc cấp phép sử dụng trong điều trị Alzheimer như donepezil, rivastigmin, galantamin (ức chế acetylcholinesterase) và aducanumab, lecanemab (kháng thể chống amyloid-beta) đều dựa trên giả thuyết cholinergic và amyloid. Tuy nhiên, do cơ chế bệnh lý Alzheimer rất

phức tạp và có tính đa yếu tố, việc kết hợp nhiều hướng tiếp cận dựa trên các giả thuyết khác nhau đang là xu hướng phát triển thuốc hiện đại và cá thể hóa điều trị.

1.2. Enzym acetylcholinesterase

Acetylcholinesterase (AChE) là một esterase thuộc họ enzym carboxylesterase chủ yếu được tìm thấy ở trong các tế bào hồng cầu và đặc biệt là trong hệ thần kinh trung ương tại các môi nối thần kinh cơ và synap cholinergic. Theo danh pháp quốc tế AChE mang mã số EC 3.1.1.7, có cấu trúc 3D ở Hình 8 [75].



Hình 8. Cấu trúc 3D của AChE

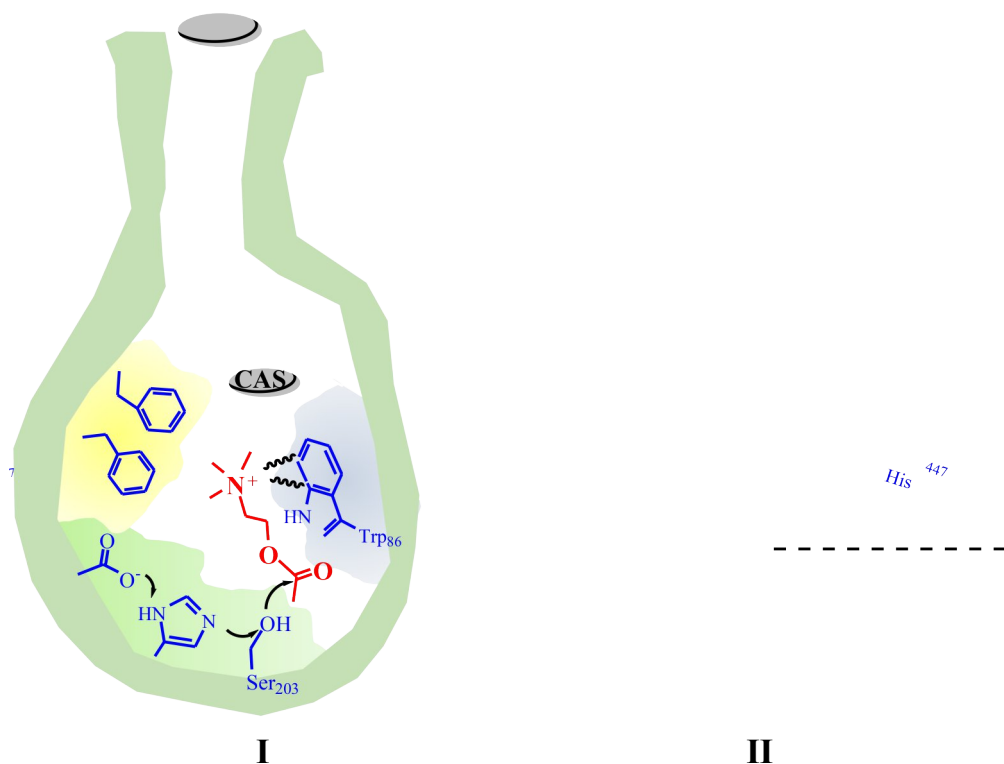
Trong cơ thể AChE được tổng hợp chủ yếu tại thân tế bào thần kinh, đặc biệt ở các neuron cholinergic thuộc cả hệ thần kinh trung ương (não, tủy sống) và ngoại biên (hạch thần kinh, synap thần kinh cơ). Sau đó được glycosyl hóa và đóng gói trong bộ máy Golgi và được vận chuyển đến các vị trí hoạt động, đặc biệt là màng sau synap (postsynaptic membrane) của synap thần kinh cholinergic [76].

AChE có khả năng phân hủy hoặc thủy phân acetylcholine (ACh), một chất dẫn truyền thần kinh tự nhiên, thành acid axetic và choline làm chấm dứt quá trình truyền tín hiệu và truyền dẫn thần kinh giữa các synap để ngăn chặn sự phân tán ACh và kích hoạt các thụ thể gần đó. (Hình 4) [54, 56]. Việc suy giảm nhận thức trong AD chủ yếu là do sự thiếu hụt ACh dẫn tới giảm dẫn truyền thần kinh [77]. Ngoài ra, AChE còn đóng vai trò là yếu tố gieo mầm hoặc nhân hấp thụ vào quá trình kết tụ A β tạo ra và kéo dài các sợi amyloid, AChE liên kết chặt chẽ với amyloid có khả năng gây tổn thương não cao hơn so với các sợi A β riêng lẻ [78, 79]. Do đó, nhiều chiến lược nhằm làm tăng nồng độ ACh trong khe synap để tăng dẫn truyền thần kinh đã nhắm tới mục tiêu ức chế hoạt

động của AChE [80]. Từ đó, AChE đã trở thành một đích tác dụng tiềm năng, thu hút việc nghiên cứu và tạo ra thuốc mới ức chế enzym này trong điều trị AD [80].

1.2.1. Cấu trúc của acetylcholinesterase

Cấu trúc AChE đầu tiên được tinh chế từ loài cá đuối điện *Torpedo californica* vào năm 1991 và được mô tả bởi Joel Sussman và các cộng sự. Cấu trúc của AChE trong các cơ quan của *Torpedo californica* (TcAChE) tương tự như trong dây thần kinh và các cơ quan trong cơ thể người và có kích thước khoảng 45x60x65 Å [81, 82]. Trong cấu trúc có một lòng kênh dài, hẹp, rộng khoảng 5 Å và sâu 20 Å kéo dài từ bề mặt của enzym đến phần đáy của nó, lòng kênh có chứa 14 acid amin thơm chiếm khoảng 40% diện tích bề mặt, bao gồm Trp84, Trp233, Trp279, Trp432, Tyr70, Tyr121, Tyr130, Tyr334, Tyr442, Phe120, Phe288, Phe290, Phe330 và Phe331 (TcAChE) [83, 84]. Vùng lòng kênh này nằm giữa vùng ngoại biên (PAS) ở miệng kênh và vùng trung tâm hoạt động (CAS) ở phía đáy của enzym (Hình 9) [83, 84]. Vùng CAS của AChE được chia ra thành 4 phân vùng nhỏ là phân vùng “esteratic”, phân vùng “anionic”, túi acyl và lỗ oxyanion. Phản ứng thủy phân ACh được diễn ra tại phân vùng “esteratic”, chứa 3 acid amin là Ser200, His440 và Glu327 (TcAChE), hoặc Ser203, His447 và Glu334 đối với AChE ở người (hAChE) tham gia vào quá trình chuyển nhóm acetyl từ acetylcholin sang Ser200 [81].



Hình 9. Minh họa cấu trúc của AChE (I) và trung tâm hoạt động CAS (II)

Bên cạnh đó, vùng CAS còn có phân vùng “anionic” chứa các acid amin như Trp84, Tyr130, Phe330 và Phe331 (*TcAChE*) hoặc Trp86, Tyr133, Tyr337 và Phe338 (*hAChE*) có vai trò liên kết nhóm amoni bậc bốn của chất nền bằng các tương tác cation- π và cho phép liên kết với các chất ức chế [85]. Túi acyl có chứa các acid amin Phe288, Phe290 (*TcAChE*) hay Phe295, Phe297 (*hAChE*), phần này chịu trách nhiệm chọn lọc cơ chất gắn vào trung tâm hoạt động bằng cách ngăn chặn sự tiếp cận của các cholin este có kích thước lớn hơn [86]. Ngoài ra, AChE còn chứa lỗ oxyanion có các acid amin như Gly118, Gly119, Ala201 (*TcAChE*) hay Gly121, Gly122 và Ala204 (*hAChE*), vị trí này đóng vai trò tạo liên kết hydro bền vững giúp ổn định trạng thái chuyển tiếp dạng tứ diện của phức hợp giữa enzym và cơ chất [87].

Vùng ngoại biên (PAS) của AChE bao gồm năm acid amin thơm Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279 và Tyr334 (*TcAChE*) hoặc Tyr72, Asp74, Tyr124, Trp286 và Tyr341 (*hAChE*) nằm tập trung ở lối vào lòng kênh chứa trung tâm hoạt động, vì vậy vùng PAS có khả năng hình thành nhiều loại tương tác như tương tác cation- π , tương tác xếp chồng π - π . Đặc biệt là tương tác cation- π có vai trò quan trọng trong quá trình xúc tác phản ứng thủy phân ACh, các acid amin tương tác cation- π với phần cholin của ACh bắt giữ tạm thời ACh trên bề mặt của enzym.

Chức năng và thành phần các acid amin quan trọng tại các vùng gắn kết của AChE được tóm tắt ở Bảng 1 [75].

Bảng 1. Vị trí, chức năng và thành phần các acid amin quan trọng tại các vùng gắn kết của AChE.

Vùng	Khu vực/ acid amin	Vai trò
Xúc tác (Catalytic Active Site - CAS) Nằm ở đáy của một khoang tác động hẹp (khoảng 5 Å) và sâu (khoảng 20 Å)	Esteratic: Ser203, His447, Glu334	Phân hủy ACh
	Lỗ oxyanion: Gly121, Gly122, Ala204	Ổn định phức trung gian được hình thành bằng cách tiếp nhận oxy trên nhóm carbonyl của acetylcholin
	Túi acyl: Trp236, Phe295, Phe297	Ổn định nhóm methyl của cấu tử acetat trong quá trình xúc tác và đóng vai trò quan trọng trong tính chọn lọc cơ chất cho enzym
	Anionic: Trp86, Glu202, Phe338	Ổn định điện tích dương của phối tử bằng tương tác tĩnh điện với Glu202 và đặc biệt các tương tác với electron π của nhân thơm Trp86 và Phe338
Vùng ngoại biên (Peripheral Anionic Site –	Tyr72, Asp74, Tyr124, Glu285, Trp286, Tyr341	Thúc đẩy sự kết tập các mảng β -amyloid đồng thời biến đổi chức năng synap của các tế bào thần kinh hải mã

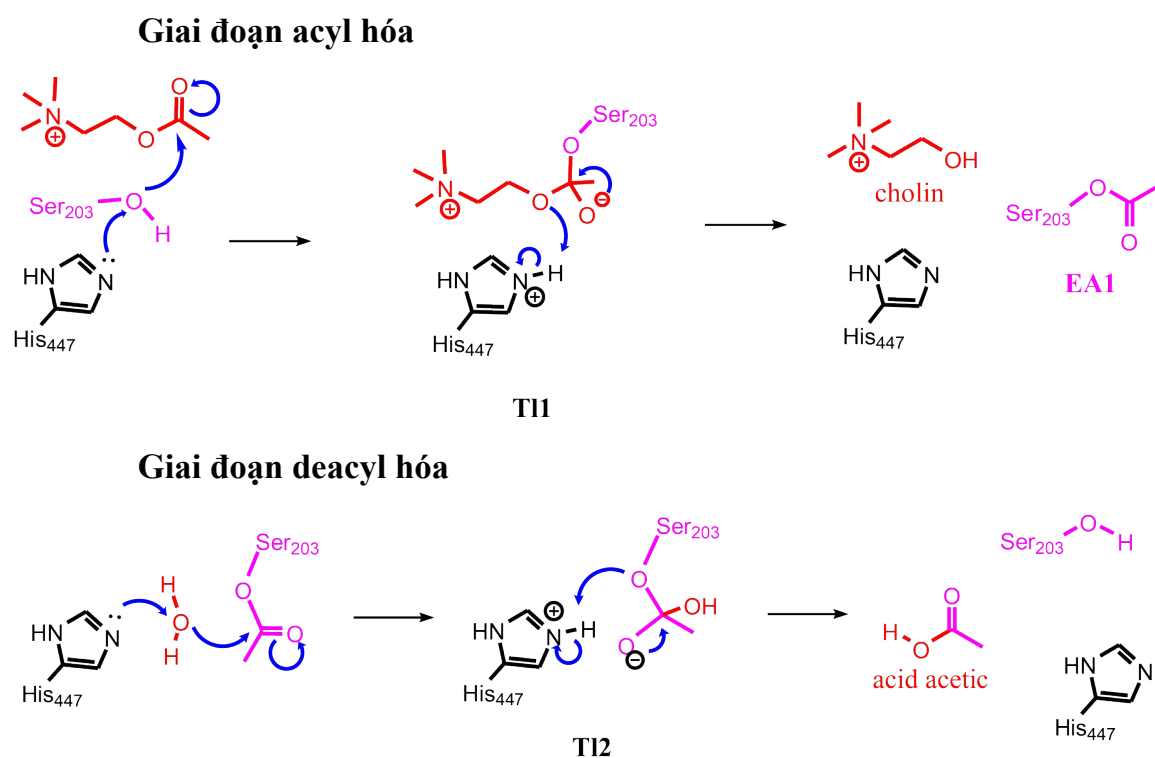
PAS)

Nằm ở lõi vào của
khoảng tác động

Ala: alanin, Asp: aspartat, Ser: serin, His: histidin, Glu: glutamat, Gly: glycin, Ala: alanin, Trp: tryptophan, Phe: phenylalanin, Tyr: tyrosin.

1.2.2. Cơ chế thủy phân acetylcholin của acetylcholinesterase

Dựa vào kết quả thông qua nghiên cứu mô phỏng động lực học phân tử thu được quá trình xúc tác phản ứng thủy phân ACh ở vùng CAS trải qua 2 giai đoạn là acyl hóa và deacyl hóa. Trong giai đoạn acyl hóa, nguyên tử N trong His447 lấy H của Ser203 tạo tác nhân ái nhân O⁻ ở Ser203, sau đó tác nhân này tấn công vào C=O trong chức este của ACh tạo thành sản phẩm trung gian dạng tứ diện (TI1) cuối cùng tạo ra sản phẩm este giữa Ser203 với acid acetic (EA1) và giải phóng cholin. Ở giai đoạn deacyl hóa, nguyên tử O trong phân tử nước tấn công vào C=O của EA1 và trao đổi proton với His447 tạo sản phẩm trung gian tứ diện (TI2). Sau cùng, sự trao đổi proton giữa -OSer203 và His447-H và phân bố lại điện tích tạo ra acid acetic và trả lại enzym AChE ban đầu (Hình 10) [88].



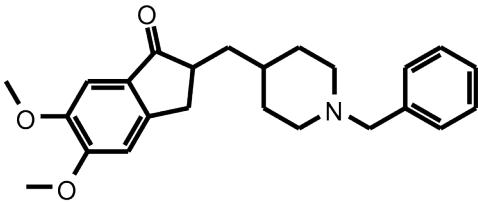
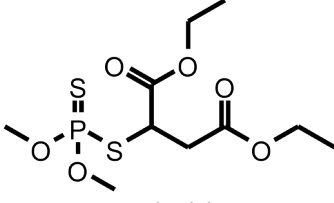
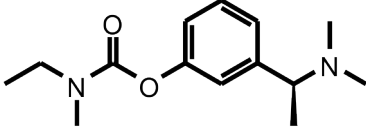
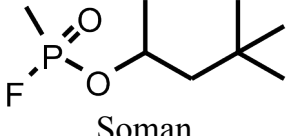
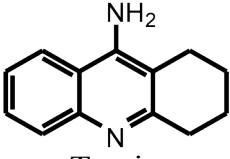
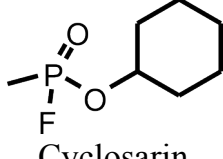
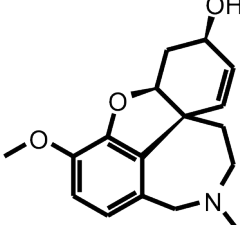
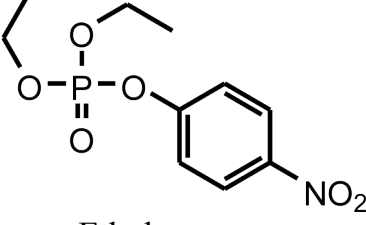
Hình 10. Cơ chế phản ứng thủy phân ACh xúc tác AChE [88]

1.2.3. Chất ức chế acetylcholinesterase

Các chất ức chế acetylcholinesterase (AChEI) có vai trò trong việc làm giảm thủy phân ACh, khiến tăng nồng độ của ACh trong khe synap, giúp tăng khả năng dẫn truyền thần kinh. Từ đó, AChEI có thể cải thiện một số chức năng về nhận thức và hành vi của

bệnh nhân mắc AD [89]. Theo cơ chế tác động, AChEI có thể được chia làm hai nhóm: ức chế thuận nghịch và ức chế không thuận nghịch (Bảng 2). Các chất ức chế không thuận nghịch thường là các hợp chất organophosphorus (OP), các OP phát huy tác dụng bằng cách phosphoryl hóa không hồi phục AChE, dẫn tới sự kích thích quá mức các thụ thể nicotinic và muscarinic gây ra ngộ độc cấp tính và ảnh hưởng nghiêm trọng đến hệ thần kinh trung ương. Các chất ức chế không thuận nghịch thường được sử dụng trong nông nghiệp với tác dụng làm thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt cỏ. Trong khi các chất ức chế thuận nghịch tạo các tương tác hoặc liên kết yếu với AChE và dễ dàng bị phá vỡ, trả lại chức năng bình thường của enzym. Do đó, AChEI thuận nghịch được sử dụng trong AD để điều trị các triệu chứng liên quan đến trí nhớ, tư duy và các quá trình tư duy khác [89].

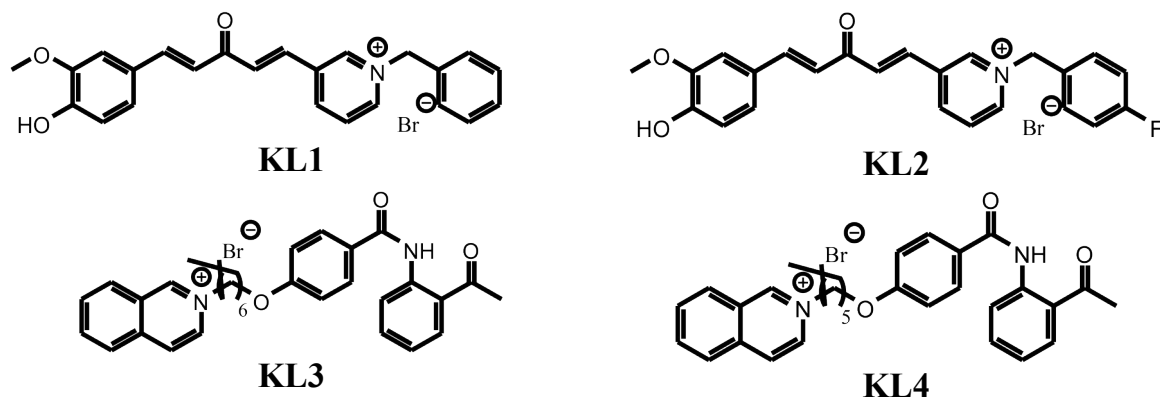
Bảng 2. Một số chất ức chế AChE

Chất ức chế AChE thuận nghịch	Chất ức chế AChE không thuận nghịch
 Donepezil	 Malathion
 Rivastigmin	 Soman
 Tacrin	 Cyclosarin
 Galatamin	 Ethyl paraoxon

Để thiết kế các hợp chất ức chế AChE hiệu quả cần xem xét sự tương tác của các hợp chất tiềm năng với ba phần cấu trúc quan trọng trong AChE, bao gồm: vùng trung

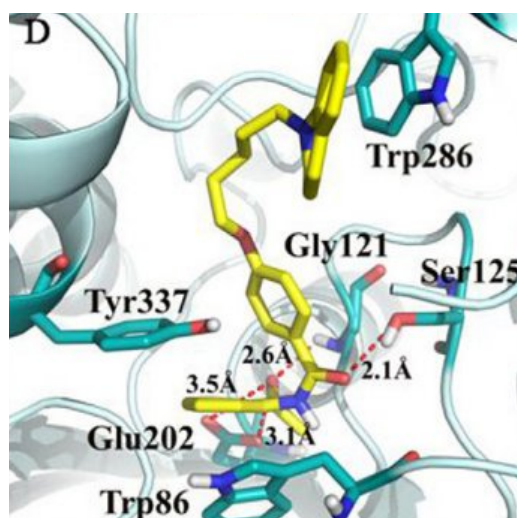
tâm hoạt động (CAS), vùng ngoại biên (PAS) và vùng lòng kênh hẹp. Nhiều nghiên cứu tìm ra các hợp chất tiềm năng ức chế AChE dựa trên ba phần cấu trúc này [90, 91].

Năm 2023, Nafisah M. Al-Rifai và các cộng sự đã công bố 20 hợp chất mới ức chế AChE sử dụng donepezil và curcumin làm chất dẫn đường. Phần benzyl piperidin của donepezil có thể được proton hóa ở pH sinh lý và tương tác với vùng CAS của AChE, trong khi curcumin được cho là có tương tác với vùng PAS của AChE. Từ đó, một khung cấu trúc mới được thiết kế ra và được tổng hợp với sự thay đổi các nhóm thế trên hai vòng benzyl tạo ra 20 hợp chất mới. Kết quả thử hoạt tính ức chế AChE với chứng dương donepezil ($IC_{50} = 14 \pm 0,12$ nM) thu được hai dẫn chất **KL1** và **KL2** (Hình 11) có khả năng ức chế tốt AChE với IC_{50} lần lượt là $17 \pm 0,17$ nM và $16 \pm 0,24$ nM. Qua kết quả mô phỏng docking phân tử, **KL1** và **KL2** tương tác với AChE thông qua phần cấu trúc benzyl piperidin tương tác xếp chồng $\pi-\pi$ với Tyr84 và tương tác cation- π với Phe330 ở vùng CAS, phần vanillin tương tác xếp chồng $\pi-\pi$ với Trp279 ở vùng PAS. Kết quả này cho thấy các hợp chất **KL1** và **KL2** tương tác với AChE cả ở vùng CAS và vùng PAS giống với donepezil [92]. Một nghiên cứu khác của Da-Yong Peng và cộng sự đã thiết kế và tổng hợp các hợp chất ức chế AChE dựa trên khung indol cho thấy hợp chất **KL3** và **KL4** (Hình 1) có hoạt tính ức chế tốt với IC_{50} lần lượt là $9,40 \pm 0,80$ nM và $6,50 \pm 0,90$ nM với chứng dương là tacrin ($IC_{50} = 32,12 \pm 2,12$ nM).



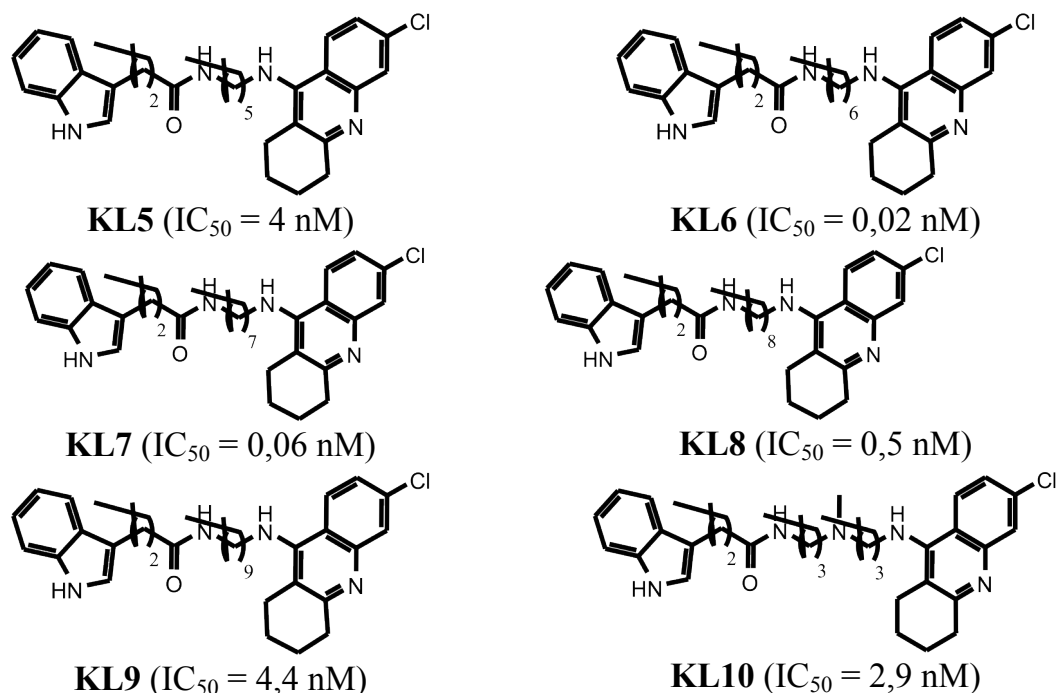
Hình 11. Cấu trúc của bốn dẫn chất **KL1**, **KL2**, **KL3** và **KL4**

Các hợp chất tương tác tốt với AChE không chỉ thông qua tương tác xếp chồng $\pi-\pi$ với Trp286 ở PAS và Trp86 ở CAS mà còn có 4 liên kết hydro, bao gồm: nguyên tử oxy trong nhóm chức amid với Ser125, oxy trong nhóm cacbonyl tạo hai liên kết hydro với Glu202 và một liên kết với Gly121 (Hình 12) [93].



Hình 12. Mô phỏng docking phân tử giữa **KL4** và AChE

Một nghiên cứu khác của Pilar Muñoz-Ruiz và cộng sự công bố 24 dẫn chất mang khung tacrin và indol mới có tiềm năng trong ức chế AChE. Phần vòng tacrin trên các dẫn chất này tương tác với AChE ở vùng CAS thông qua tương tác xếp chồng π - π với các vòng thơm của Trp84 và Tyr330, vòng indol tương tác với vùng PAS qua tương tác xếp chồng π - π với Trp279. Trong đó, kết quả thử hoạt tính của 6 hợp chất (Hình 13) cho thấy ảnh hưởng độ dài và cấu trúc của cầu nối ảnh hưởng đến khả năng ức chế AChE, các hợp chất **KL5** đến **KL9** có độ dài của cầu nối giữa 2 vòng thơm tăng dần, hợp chất **KL6** có hoạt tính cao gấp 200 lần so với **KL5**.



Hình 13. Cấu trúc và IC_{50} của các hợp chất **KL5-10**

Tuy nhiên, từ hợp chất **KL6** đến hợp chất **KL9** lại cho hoạt tính ức chế AChE giảm dần, điều này cho thấy lòng kênh hẹp của enzym acetylcholinesterase có độ dài

nhất định và các cầu nối có độ dài phù hợp để 2 vòng thơm gắn tốt nhất với vị trí CAS và PAS của enzym sẽ cho hoạt tính tốt nhất. Ngoài ra, giữa hai hợp chất **KL7** và **KL10**, khi thay nhóm CH₂ bằng nhóm NCH₃ cộng kênh hơn thì khả năng ức chế AChE giảm, điều này cho thấy cầu nối cộng kênh sẽ giảm khả năng chất ức chế vào trung tâm hoạt động [94].

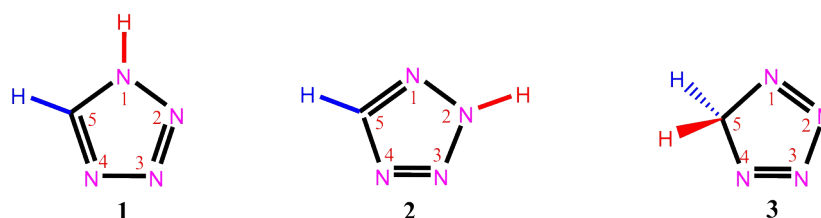
Như vậy, từ các nghiên cứu nêu trên có thể thấy đặc điểm quan trọng trong cấu trúc của một chất ức chế AChE hiệu quả, bao gồm:

- Phần liên kết với vùng CAS và PAS: thường là các vòng thơm hay các nguyên tử có khả năng tạo liên kết như tương tác xếp chồng π - π , liên kết hydro, ...
- Cầu nối liên kết giữa hai phần cấu trúc gắn với vùng CAS và PAS có độ dài và cấu trúc phù hợp với lòng kênh hẹp của AChE.

1.3. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa vòng tetrazol, vòng naphthalen và nhóm chức amid

1.3.1. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa vòng tetrazol

Tetrazol là một hợp chất dị vòng năm cạnh chứa một nguyên tử cacbon và bốn nguyên tử nitơ với đặc điểm cấu trúc phẳng giàu electron polynitrogen. Cấu trúc đặc biệt này giúp các dẫn xuất tetrazol ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực y học, nông nghiệp, khoa học vật liệu, ... [95].



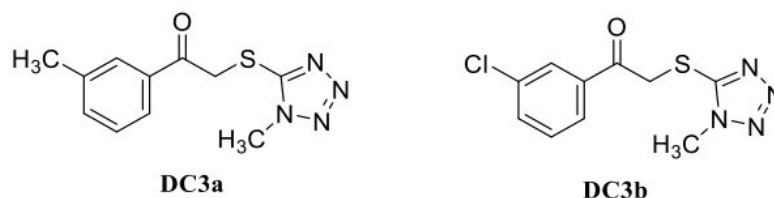
Hình 14. Đồng phân cấu trúc của vòng tetrazol

Về mặt lý thuyết, có ba đồng phân tetrazol: *1H* - tetrazol (**1**), *2H* - tetrazol (**2**) và *5H* - tetrazol (**3**) (Hình 14). Các tetrazol thể tồn tại dưới dạng đồng phân phân *1H*- và *2H*- gần như theo tỷ lệ 1:1 và có thể phân biệt bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân [95].

Nhóm chức tetrazol thường được coi là đồng phân sinh học (biosomer) của acid carboxylic [11], cấu trúc độc đáo này đã thu hút được nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học về các ứng dụng tiềm năng của chúng trong lĩnh vực sinh dược học như thuốc chống tăng huyết áp, chống dị ứng, kháng sinh và chống co giật Vì vậy, số lượng ấn phẩm về các loại thuốc mới và các hợp chất hoạt tính sinh học đầy hứa hẹn có chứa vòng tetrazol đã tăng đáng kể trong bảy năm qua, 1990–2023 (6511 ấn phẩm được

Scopus phân tích) trong đó tập trung chủ yếu ở lĩnh vực hóa học, hóa sinh, hóa dược, dược lý [96]. Tính đến năm 2019 đã có hơn 20 loại thuốc được FDA cấp phép có chứa nhóm tetrazol [97].

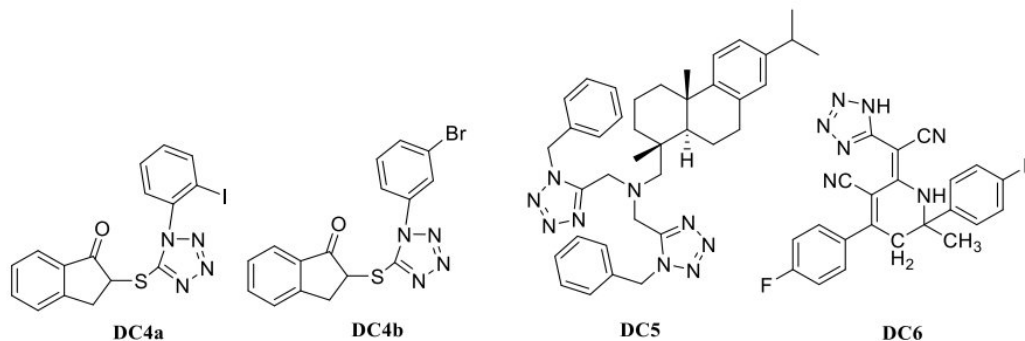
Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành với mục đích tổng hợp các dẫn chất và đồng phân sinh học của tetrazol, đồng thời đánh giá hoạt tính ức chế AChE. Các nghiên cứu đã góp phần khẳng định hoạt tính sinh học của các dẫn chất tetrazol và khả năng ứng dụng của các dẫn chất này trong điều trị Alzheimer. Một nghiên cứu vào năm 2014 đã tổng hợp và sàng lọc hoạt tính kháng AChE của 14 dẫn chất của 2-((1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl) thio)-1-(*R*-phenyl) etan-1-on. Trong số 14 dẫn chất này, chất **DC3a** và **DC3b** (Hình 15) thể hiện khả năng ức chế AChE tốt nhất với phần trăm ức chế ở nồng độ 1 mM và 0,1 mM lần lượt là 29,56 %; 14,53 % và 24,38 %; 12,96 % so sánh với khả năng ức chế AChE tương ứng của chứng dương donepezil là 99,01 % và 95,52 % ở nồng độ 1 mM và 0,1 mM [60].



Hình 15. Cấu trúc của các dẫn chất **DC3a-b**

Năm 2017, Yurttaş, Leyla và cộng sự đã tổng hợp các dẫn chất *N'*-arylidene-2-[(tetrazol-5-yl)thio] butanohydrazid mới và thử hoạt tính ức chế AChE. Chất *N'*-(2-nitrobenzylidene)-4-[(1-phenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)thio] butanoylhydrazid thể hiện khả năng ức chế AChE tốt nhất với giá trị IC₅₀ là 54,67 ± 0,58 μM so với chứng dương là galantamin với IC₅₀ = 0,56 ± 0,04 μM [9]. Một nghiên cứu khác về tổng hợp các dẫn chất tetrazol vào năm 2018, đã thu được hai dẫn chất **DC4a**, **DC4b** (Hình 16) có khả năng ức chế AChE tốt với giá trị IC₅₀ lần lượt là 1,75 μM và 1,84 μM so với chứng là donepezil.HCl có IC₅₀ = 7,78 nM [61]. Năm 2024, Niels V. Heise cùng cộng sự công bố kết quả tổng hợp và thử hoạt tính ức chế AChE của 5 dẫn chất mang khung tetrazol mới, kết quả thử hoạt tính sinh học cho thấy cả 5 dẫn chất tổng hợp được đều cho hoạt tính ức chế AChE ở nồng độ 10 μM. Trong đó, dẫn chất **DC5** (Hình 16) có khả năng ức chế AChE tốt nhất là 96,8 %, cao hơn chất chứng dương là galantamin (88,9 % ở nồng độ 10 μM). Ngoài ra, các nghiên cứu khác bao gồm: nghiên cứu của Kushwaha tổng hợp các dẫn chất có khung benzofuran-tetrazol mới [8], nghiên cứu của Hameed và cộng sự tổng hợp các dẫn chất của tetrazol mang khung 1,2,5,6-tetrahydronicotinonitril [62] đều thu được các dẫn chất tetrazol có hoạt tính ức chế enzym AChE. Nghiên cứu của Hameed, chỉ ra dẫn chất **DC6** (Hình 16) có khả năng ức chế AChE tốt nhất ở với IC₅₀ = 2,01 ± 0,027 μM so với đối chứng dương là donepezil có IC₅₀ = 0,019 ± 0,002 μM

[62]. Bên cạnh đó, các dẫn chất tetrazol còn có hoạt tính ức chế enzym cholinesterase khác là pseudocholinesterase [62, 63] và khả năng tương tác với các mục tiêu sinh học. Với các đặc điểm trên, nghiên cứu thiết kế và tổng hợp các dẫn chất tetrazol mới đa chức năng hướng tác động lên nhiều cơ chế gây bệnh Alzheimer và nâng cao hiệu quả điều trị bệnh đang ngày được các nhà khoa học quan tâm [8, 9, 60-62, 64].

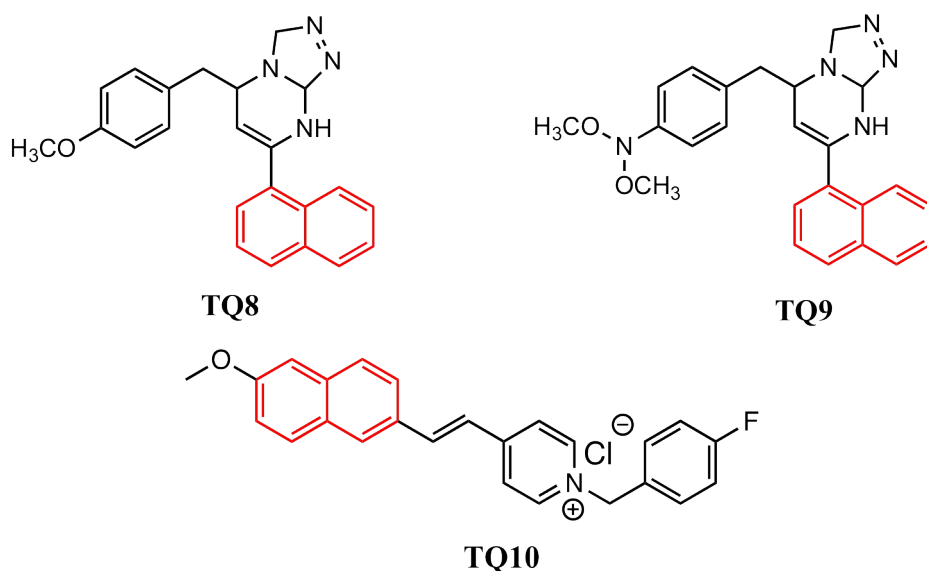


Hình 16. Cấu trúc của các dẫn chất **DC4a-b**, **DC5**, **DC6**

1.3.2. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa vòng naphthalen

Naphthalen là hệ vòng thơm có 10 carbon được phát hiện lần đầu tiên bởi nhà hoá học người Scotland, Alexzander Garden vào năm 1819 và đến năm 1826, công thức phân tử của nó ($C_{10}H_{18}$) đã được công bố bởi Michael Faraday [15]. Trong nhiều thập kỷ qua, cấu trúc naphthalen được chứng minh là nền tảng hiệu quả để tổng hợp các hợp chất mới có thể có nhiều ứng dụng sinh học và lâm sàng. Nhiều hợp chất mang cấu trúc naphthalen đã được công nhận có tác dụng chống ung thư, kháng khuẩn, chống viêm, kháng virus, hạ huyết áp, điều trị đái tháo đường và chống thoái hóa thần kinh [20]. Bên cạnh đó, nhiều dẫn chất có nguồn gốc từ naphthalen như podophyllotoxin (Etoposid), rifampicin và naproxen đã được sử dụng rộng rãi trong điều trị [98]. Nhờ cấu trúc linh hoạt và hoạt tính sinh học phong phú, naphthalen đã trở thành yếu tố quan trọng trong nghiên cứu và phát triển thuốc, mở ra nhiều tiềm năng trong thiết kế các ứng cử viên mới mạnh mẽ hơn, hiệu quả hơn và ít tác dụng phụ hơn [15].

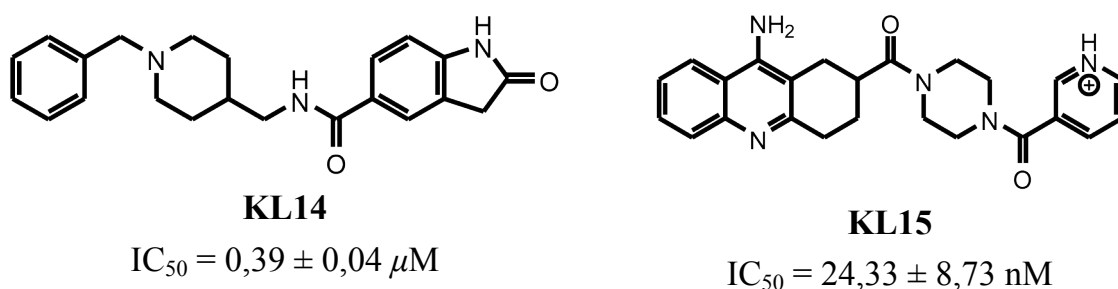
Năm 2019, nhóm nghiên cứu của Tarana Umar đã tổng hợp các dẫn chất mang khung naphthalen hướng ức chế AChE (Hình 17) và thu được hai hợp chất có khả năng ức chế ở nồng độ micromol là **TQ8** ($IC_{50} = 0,014 \pm 0,01 \mu M$) và **TQ9** ($IC_{50} = 0,0086 \pm 0,02 \mu M$) [21]. Vào năm 2023, M. Abdullaha đã công bố 7 hợp chất mang khung naphthalen mới, trong đó dẫn chất có hoạt tính cao nhất đó là **TQ10** với phần trăm ức chế AChE là $93,21 \pm 1,42 \%$, cao gần bằng hoạt tính ức chế của chứng dương donepezil ($98,36 \pm 1,52 \%$) ở cùng nồng độ $1 \mu M$. Kết quả mô phỏng docking với hAChE cho thấy vòng naphthalen của **TQ10** có khả năng làm tăng tương tác với enzym thông qua liên kết π - π với hợp phần thơm của Trp286 tại vùng PAS [99].



Hình 17. Một số dẫn chất ức chế AChE mang khung naphthalen

1.3.3. Hoạt tính ức chế AChE của các dẫn chất chứa nhóm chức amid

Nhóm chức amid xuất hiện trong một số hợp chất có tác dụng sinh học do nhóm chức này giúp tăng khả năng tương tác của các hợp chất đó với mục tiêu sinh học do khả năng tạo liên kết hydro của nhóm chức này [100-102]. Năm 2020, Yan Guo và cộng sự công bố 22 hợp chất chứa nhóm chức amid ở cầu nối 2 vòng thơm, trong đó có hợp chất **KL14** ($IC_{50} = 0,39 \pm 0,04 \mu M$) (Hình 18) thể hiện hoạt tính ức chế AChE tốt nhất. Dựa vào kết quả mô hình docking phân tử, nhóm chức amid cho thấy khả năng tạo liên kết hydro với Phe295, trong khi vòng 2-oxoindoline có tương tác gần với vùng CAS [103]. Hợp chất **KL15** ($IC_{50} = 24,33 \pm 8,73 \text{ nM}$) (Hình 18) có hoạt tính ức chế AChE tốt được công bố năm 2022 cũng cho thấy khả năng tạo liên kết hydro tốt của nhóm chức amid cạnh vòng pyridin với Phe295 [104].



Hình 18. Cấu trúc và IC_{50} của hợp chất **KL14** và **KL15**

Như vậy, thông qua các thông tin về cấu trúc của AChE, phân cấu trúc cần thiết của một chất ức chế enzyme này, tiềm năng ức chế AChE của các dẫn chất mang khung cấu trúc chứa vòng tetrazol, vòng naphthalen và nhóm amid, nhóm nghiên cứu tiến hành đề tài “**Tổng hợp một số dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl) và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase định hướng điều trị bệnh Alzheimer**”.

PHẦN 2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu và thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu

Các dung môi, hóa chất dùng trong nghiên cứu chủ yếu có nguồn gốc từ một số quốc gia như Đức, Ấn Độ, Mỹ, Nhật Bản và Trung Quốc. Các hóa chất này được sử dụng trực tiếp mà không cần qua tinh chế thêm và được trình bày trong bảng sau:

Bảng 3. Các nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên nguyên liệu	Nguồn gốc
1	Naphthalen-2-carbonitril	Trung Quốc
2	Methyl 5-cloropentanoat	Trung Quốc
3	Anilin	Đức
4	2-cloroanilin	Đức
5	3-cloroanilin	Đức
6	4-cloroanilin	Đức
7	4-bromoanilin	Đức
8	Na_2CO_3	Trung Quốc
9	NaOH	Trung Quốc
10	HCl	Trung Quốc
11	Methanol	Trung Quốc
12	<i>N,N</i> -dimethylformamid (DMF)	Trung Quốc
13	Dicloromethan (DCM)	Trung Quốc
14	Ethyl acetat (EA)	Trung Quốc
15	<i>n</i> -hexan	Trung Quốc
16	Bản mỏng silica gel 60 F ₂₅₄	Đức
17	Silica gel	Đức
18	1-(3-Dimethylaminopropyl)-3 ethylcarbodiimid hydroclorid (EDC.HCl)	Trung Quốc
19	Hydroxybenzotriazol (HOBt)	Trung Quốc
20	Natri azid (NaN_3)	Ấn Độ
21	Kẽm clorid (ZnCl_2)	Đức
22	Natri sulfat khan (Na_2SO_4)	Trung Quốc
23	Natri bicarbonat (NaHCO_3)	Trung Quốc
24	<i>ee</i> AChE (acetylcholinesterase từ loài lươn điện)	Mỹ
25	5,5-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB)	Nhật Bản
26	Acetylthiocholin iodid (ATCI)	Mỹ
27	Galantamin hydrobromid	Nhật Bản

2.1.2. Thiết bị nghiên cứu

- Các dụng cụ thủy tinh: bình cầu đáy tròn dung tích 50 - 100 ml, bình chiết, sinh hàn hồi lưu, ống đông, ống nghiệm, pipet, phễu thủy tinh, phễu lọc Buchner, cốc có mỏ, lọ thủy tinh penicillin.
- Bình sắc ký Camag, đèn tử ngoại Camag bước sóng 254 nm và 365 nm, bản mỏng silica gel 60 F₂₅₄.
- Cân phân tích Shimadzu, cân kỹ thuật Shimadzu.
- Tủ lạnh Memmert, tủ sấy Memmert.
- Máy cắt quay dung môi Buchi R-210, máy khuấy từ gia nhiệt IKA-RCT, máy đo nhiệt độ nóng chảy nhiệt điện Electrothermal digital.
- Máy đo phổ khối: Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS (United States)
- Viện Hóa Sinh Biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- Máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân Bruker AC-500 MHz - Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên Hà Nội, Đại học Quốc gia Hà Nội.
- Tủ giữ mẫu -18°C (DIOS).
- Máy đọc đĩa đa chức năng VarioskanLux, khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Dược Hà Nội.

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Hóa học

- Nghiên cứu khung cấu trúc (5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)alkylamid
- Nghiên cứu các phương pháp kiểm tra độ tinh khiết bằng nhiệt độ nóng chảy và sắc ký lớp mỏng.
- Nghiên cứu các phương pháp phổ để khẳng định cấu trúc: phổ khối phân giải cao (HRMS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR, ¹³C-NMR).

2.2.2. Hoạt tính ức chế AChE

Nghiên cứu phương pháp Ellman ức chế AChE *in vitro*.

2.2.3. Đặc tính giống thuốc

Nghiên cứu phần mềm ứng dụng swissadme trên website: <http://www.swissadme.ch/>.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Hóa học

2.3.1.1. Tổng hợp hóa học

Các phản ứng và điều kiện đã được tìm hiểu và khảo sát để tổng hợp các dẫn chất có cấu trúc dự kiến. Các phản ứng được sử dụng trong nghiên cứu:

- Phản ứng cộng đóng vòng [3+2] từ aryl nitril và azid vô cơ tạo vòng tetrazol.
- Phản ứng *N*-alkyl hóa giữa muối của tetrazol và alkyl halid.
- Phản ứng thủy phân este tạo acid carboxylic.

- Phản ứng giữa acid carboxylic và các amin thơm tạo amid.

Các phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng với pha tĩnh là bản mỏng silica gel 60 F₂₅₄ dưới đèn tử ngoại 254 nm.

Hỗn hợp sau phản ứng được tinh chế bằng các phương pháp phù hợp với mỗi giai đoạn như chiết phân bố lỏng – lỏng hoặc sắc ký cột.

2.3.1.2. Kiểm tra độ tinh khiết

Các sản phẩm thu được sau khi được tinh chế sẽ được kiểm tra độ tinh khiết bằng hai phương pháp:

- Sắc ký lớp mỏng [105]:

+ Pha tĩnh: bản mỏng silica gel 60 F₂₅₄ được hoạt hóa ở 110°C trong 30 phút.

+ Pha động: hệ dung môi EA:*n*-Hexan (1:1 và 1:2) và DCM:MeOH (24:1 và 15:1).

+ Quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại bước sóng 254 nm.

- Nhiệt độ nóng chảy [106]: xác định bằng máy đo nhiệt độ nóng chảy nhiệt điện Electrothermal digital.

2.3.1.3. Khẳng định cấu trúc

Các hợp chất sau khi được tổng hợp, tinh chế và đánh giá là tinh khiết sẽ được khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại, bao gồm: phổ khối phân giải cao (HRMS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton và carbon (¹H-NMR và ¹³C-NMR):

- Máy đo phổ khối lượng Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS (United States) - Viện Hóa Sinh Biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam sử dụng phương pháp ion hóa phun mù điện tử ESI (+), dung môi hòa tan là MeOH hoặc MeCN.

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR và ¹³C-NMR): được ghi bằng máy Bruker AC-500 MHz tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên Hà Nội, Đại học Quốc gia Hà Nội, phổ ¹H-NMR đo ở tần số 500 MHz, phổ ¹³C-NMR đo ở tần số 125 MHz với dung môi là CDCl₃. Độ dịch chuyển hóa học (δ) được biểu thị bằng đơn vị phần triệu (ppm), mốc là pic của chất chuẩn nội tetramethylsilan (TMS), nhiệt độ ghi khoảng 300 K.

2.3.2. Hoạt tính ức chế AChE

Nguyên tắc: hoạt tính của 5 hợp chất tổng hợp được bằng phương pháp Ellman. Phương pháp Ellman sử dụng cơ chất acetylthiocholin iodid (ATCI) bị thủy phân nhờ xúc tác của AChE tạo ra thiocholin. Sau đó thiocholin phản ứng với acid 5-thio-2-nitrobenzoic có màu vàng. Galantamin hydrobromid mua từ TCI (Nhật Bản) được sử dụng làm chất tham chiếu. Đo độ hấp thụ của sản phẩm màu vàng thu được ở bước sóng 412 nm với máy đọc đĩa VarioskanLux.

Quy trình thực hiện: 20 μL ở các nồng độ khác nhau của các chất thử trong dung dịch đệm phosphat pH 8,0, 20 μL dung dịch DTNB 19,2 mM, 20 μL dung dịch ATCI

19,2 mM và 20 μ L dung dịch AChE 0,25 IU/ml, thêm dung dịch đệm phosphat pH 8,0 đến khi tổng thể tích đủ 200 μ L. Ủ hỗn hợp thu được ở 25°C trong 30 phút, sau đó tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm. Các chất thử được thử khả năng ức chế AChE ở 5 nồng độ 256 μ M, 128 μ M, 64 μ M, 32 μ M, 16 μ M và được lặp lại ba lần. Phần trăm (%) ức chế AChE của các chất ở nồng độ thử nghiệm được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = 1 - \frac{\text{mẫu thử} - \text{mẫu trắng}}{\text{chứng âm} - \text{mẫu trắng}} \times 100\%$$

Trong đó: - Mẫu trắng: độ hấp thụ quang của hỗn hợp chứa ATCI, DTNB trong dung dịch đệm phosphat.

- Chứng âm: độ hấp thụ quang của hỗn hợp chứa ATCI, DTNB và enzym trong dung dịch đệm pH 8,0.

- Mẫu thử: độ hấp thụ quang của hỗn hợp chứa chất thử (hoặc chứng galantamin hydrobromid), ATCI, DTNB và enzym trong pH đệm 8,0.

Các phân tích được thực hiện bằng Microsoft Excel, các giá trị được thể hiện dưới dạng trung bình SD. Hoạt tính ức chế AChE của các chất được thể hiện bằng giá trị IC₅₀, được tính toán bằng phần mềm TableCurve 2Dv4.

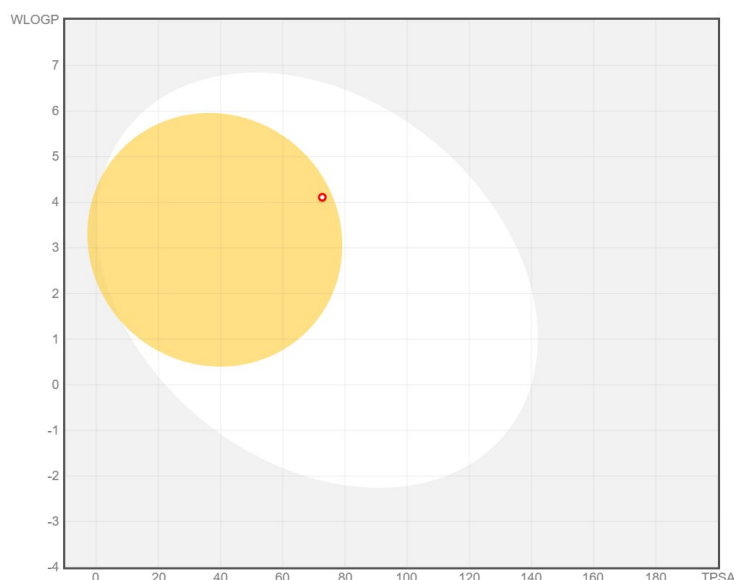
2.3.4. Đặc tính giống thuốc của các hợp chất mục tiêu

Các hợp chất tổng hợp được sẽ được phân tích các thông số lý hóa, được động học, đặc tính giống thuốc của các dẫn chất thông qua website: <http://www.swissadme.ch/>. Sử dụng “Quy tắc năm” của Lipinski và cộng sự để xác định các hợp chất có đặc tính giống thuốc dựa vào các tính chất lý hóa của các phân tử [107]. Các tiêu chí trong “Quy tắc năm”, bao gồm:

- + Khối lượng phân tử (M/Z) $\leq$ 500 Da
- + Hệ số phân bố dầu nước (MlogP) $\leq$ 5
- + Số lượng nguyên tử nhận hydro $\leq$ 10
- + Số lượng nhóm cho hydro $\leq$ 5

Các hợp chất không vi phạm 4 tiêu chí nêu trên cho khả năng cao trở thành thuốc dùng theo đường uống (đặc tính giống thuốc).

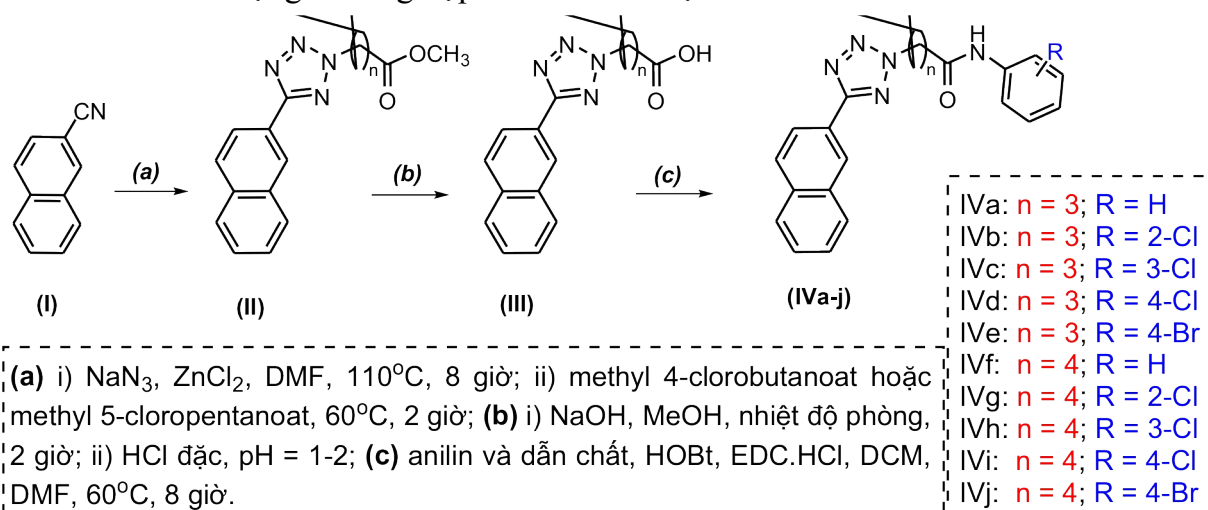
Bên cạnh đó, swissadme còn cho phép xem xét khả năng qua hàng rào máu não của các hợp chất theo mô hình ước lượng sự thẩm thấu qua não hoặc ruột (BOILED-Egg) thông qua đánh giá hệ số phân bố dầu nước (WlogP) và diện tích bề mặt phân cực topo (TPSA) [108]. Cụ thể, các hợp chất có thông số TPSA và WlogP nằm trong vùng màu vàng (Hình 19) có khả năng hấp thụ được qua hàng rào máu não.



Hình 19. Biểu đồ BOILED-Egg

2.3. Tổng hợp hóa học

Sơ đồ sử dụng để tổng hợp 10 dẫn chất mục tiêu:



Sơ đồ 1. Quy trình tổng hợp các hợp chất **IVa-j**

2.3.1. Tổng hợp chất trung gian II

Hợp chất trung gian **II** được tổng hợp theo Sơ đồ 1a qua hai phản ứng liên tiếp trong cùng một bình phản ứng. Đầu tiên là phản ứng cộng đóng vòng [3+2] từ 2-naphthalen carbonitril và NaN_3 tạo muối của vòng tetrazol, sau đó muối của vòng tetrazol phản ứng *N*-alkyl hóa với tác nhân là methyl 4-cloropentanoat hoặc 5-cloropentanoat.

Tiến hành phản ứng: Hòa tan 765 mg 2-naphthalen carbonitril (**I**) (5 mmol, tương ứng với 1,0 đương lượng) trong bình cầu có nút mài 100 ml với 5 ml dung môi DMF. Thêm NaN_3 (1,5 đương lượng) và ZnCl_2 (0,1 đương lượng) vào bình phản ứng trên, gia nhiệt cho dung môi hồi lưu trong 8 giờ. Theo dõi phản ứng bằng TLC với hệ pha động EA:*n*-hexan (1:1), khi bình phản ứng hết 2-naphthalen carbonitril để nguội phản ứng về nhiệt độ phòng, thêm methyl 4-cloropentanoat hoặc methyl 5-

cloropentanoat (1,5 đương lượng), gia nhiệt phản ứng duy trì ở 60°C trong 2 giờ. Theo dõi bằng TLC với hệ pha động EA:*n*-hexan (1:2).

Xử lý sản phẩm: Hỗn hợp sau khi phản ứng xong được làm nguội đến nhiệt độ phòng, thêm 25 ml dung dịch Na₂CO₃ bão hòa cho kết tủa hoàn toàn, sau đó lọc hỗn hợp qua phễu lọc Buchner để thu lấy dịch. Chiết dịch lọc với EA, thu pha EA. Rửa dịch chiết bằng nước cất lạnh sau đó làm khan bằng Na₂SO₄, cô quay để loại dung môi. Tách chất **II** (đồng phân N₂) bằng sắc ký cột silica gel với pha động là EA:*n*-hexan (30% EA).

- *n* = 3 chất **II** là methyl 4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanoat
- *n* = 4 chất **II** là methyl 5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanoat

2.3.2. Tổng hợp chất trung gian **III**

Hợp chất trung gian **III** được tổng hợp theo Sơ đồ 1b từ este **II** tương ứng qua hai giai đoạn: thủy phân este **II** bằng NaOH trong dung môi MeOH, sau đó acid hóa hỗn hợp sau phản ứng bằng HCl đặc.

Tiến hành phản ứng: Hòa tan hoàn toàn 1,0 g chất rắn **II** (tương ứng 1,0 đương lượng) trong 30 ml methanol (MeOH) trong bình cầu có nút nhám dung tích 100 ml. Thêm NaOH (2,0 đương lượng), khuấy trộn hỗn hợp khoảng 1,5 giờ ở nhiệt độ phòng, theo dõi phản ứng bằng TLC với hệ pha động EA:*n*-hexan (1:1).

Xử lý sản phẩm: Sau khi thấy trên TLC không còn vết của chất **II**, thêm từ từ HCl đặc vào bình phản ứng, lắc đều đến pH = 1-2. Cô quay loại MeOH thu được chất rắn màu trắng bao gồm NaCl và acid **III**. Thêm hỗn hợp MeOH:DCM (20% DCM) vào khối chất rắn, lọc trên phễu lọc Buchner để loại NaCl, thu lấy dịch. Cô quay dịch lọc loại dung môi, sấy chất rắn thu được trong tủ sấy chân không thu được acid **III**.

- *n* = 3 chất **III** là methyl 4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanoic
- *n* = 4 chất **II** là methyl 5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanoic

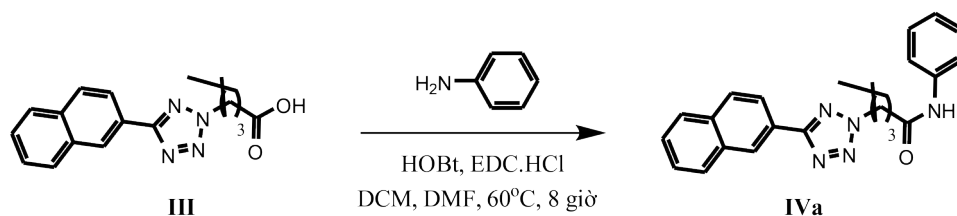
2.3.3. Tổng hợp các chất mục tiêu **IVa-j**

Các hợp chất mục tiêu **IVa-j** được tổng hợp theo Sơ đồ 1c từ acid **III** bằng phản ứng amid hóa với các amin khác nhau trong cùng điều kiện nhiệt độ, xúc tác là HOBt, EDC.HCl và dung môi là DCM có mặt DMF, phản ứng diễn ra theo sơ đồ sau:

Tổng hợp 4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)-*N*-phenylbutanamid (IVa**)**

Chất **IVa** được tổng hợp thông qua phản ứng amid hóa giữa acid **III** (*n* = 3) và anilin với xúc tác HOBt, EDC.HCl trong dung môi DCM có mặt DMF theo sơ đồ 2.

Tiến hành phản ứng: Cân 150 mg (1,0 đương lượng) acid **III** vào bình cầu có nút mài dung tích 50 ml, hòa tan bằng lượng DMF tối thiểu. Thêm vào bình phản ứng HOBt (1,2 đương lượng), EDC.HCl (1,2 đương lượng), 56 mg anilin (1,2 đương lượng), sau đó thêm 15 ml DCM vào hỗn hợp phản ứng, khuấy trộn hỗn hợp trên bếp từ trong 8 giờ ở 60°C. Phản ứng được theo dõi bằng TLC với hệ pha động EA:*n*-hexan (1:1).



Sơ đồ 2. Quy trình tổng hợp chất **IVa**

Xử lý sản phẩm: Phản ứng kết thúc được cô quay loại dung môi. Thêm dung dịch NaHCO_3 10% vào bình phản ứng đến pH = 10, chiết với dung môi EA, thu lấy pha EA. Rửa dịch chiết và làm khan bằng Na_2SO_4 . Cô quay loại EA thu lấy cặn. Tinh chế hỗn hợp bằng sắc ký cột với pha động là EA:*n*-hexan (1:9), thu dung dịch chứa sản phẩm, cô quay loại dung môi, sấy chất rắn trong tủ sấy chân không thu được **IVa**.

Các chất **IVb-j** được tổng hợp thông qua phản ứng amid hóa từ acid **III** theo các bước tương tự như đối với chất **IVa** nhưng thay anilin bằng các dẫn chất anilin theo bảng sau:

Bảng 4. Nguyên liệu điều chế các dẫn chất **IVb-j**

Chất	Acid III	Dẫn chất anilin
IVb	n = 3	2 – Cloroanilin
IVc	n = 3	3 – Cloroanilin
IVd	n = 3	4 – Cloroanilin
IVe	n = 3	4 – Bromoanilin
IVf	n = 4	Anilin
IVg	n = 4	2 – Cloroanilin
IVh	n = 4	3 – Cloroanilin
IVi	n = 4	4 – Cloroanilin
IVj	n = 4	4 – Bromoanilin

Tên gọi của 10 dẫn chất mục tiêu:

- + 4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)-*N*-phenylbutanamid (**IVa**)
- + *N*-(2-chlorophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVb**)
- + *N*-(3-chlorophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVc**)
- + *N*-(4-chlorophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVd**)
- + *N*-(4-bromophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVe**)
- + 5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)-*N*-phenylpentanamid (**IVf**)
- + *N*-(2-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVg**)
- + *N*-(3-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVh**)
- + *N*-(4-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVi**)
- + *N*-(4-bromophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVj**)

PHẦN 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả thử độ tinh khiết và một số chỉ số hóa lý của các chất IVa-j

Các hợp chất sau khi được tổng hợp và tinh chế được kiểm tra độ tinh khiết bằng hai phương pháp là sử dụng sắc ký lớp mỏng TLC và đo nhiệt độ nóng chảy. Kết quả hệ số lưu giữ R_f và nhiệt độ nóng chảy (T_{nc}°) của các hợp chất **IVa-j** được ghi lại trong

Bảng 5

Bảng 5. Hiệu suất tổng hợp và một số chỉ số hóa lý xác định độ tinh khiết các chất **IVb-j**

Dẫn chất	Màu sắc	Hiệu suất %	T_{nc}° (°C)	R_f (EA: <i>n</i> -Hexan V/V = 1:1)
IVa	Trắng	38	185,3 - 187,7	0,55
IVb	Trắng	41	193,4 - 196,4	0,50
IVc	Trắng	36	192,4 - 194,5	0,46
IVd	Trắng	44	196,7 - 198,3	0,52
IVe	Trắng	37	202,4 - 204,7	0,44
IVf	Trắng	50	210,7 - 211,9	0,45
IVg	Trắng	53	212,1 - 212,9	0,42
IVh	Trắng	45	211,8 - 213,3	0,47
IVi	Trắng	59	214,7 - 215,9	0,40
IVj	Trắng	55	219,1 - 220,5	0,38

Kết quả cho thấy, các chất đều có màu trắng đặc trưng, đồng nhất, nhiệt độ nóng chảy dao động trong khoảng dao động hẹp (1 – 2 °C).

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện với bản nhôm tráng silica gel 60 F₂₅₄, sử dụng các hệ dung môi EA:*n*-hexan tỷ lệ 1:1, tiến hành chạy trong bình khai triển sắc ký và quan sát kết quả dưới ánh sáng tử ngoại có bước sóng 254 nm. Kết quả sắc ký lớp mỏng TLC của các hợp chất cho một vết tròn, gọn, không có vết phụ.

Dựa trên kết quả R_f và T_{nc}° có thể khẳng định sơ bộ 10 hợp chất đều tinh khiết, đủ điều kiện để thực hiện khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ.

3.2. Khẳng định cấu trúc

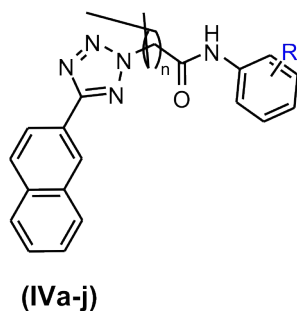
Các phương pháp phổ phổ khối (HRMS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (¹H-NMR) và carbon (¹³C-NMR) được sử dụng để khẳng định cấu trúc các hợp chất

IVa-j. Kết quả ghi phổ và phân tích phổ được trình bày trong bảng dưới đây và phần phụ lục.

3.2.1. Phổ khối lượng HRMS

Kết quả phân tích phổ khối lượng (HRMS) của các hợp chất **IVa-j** được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất **IVa-j**

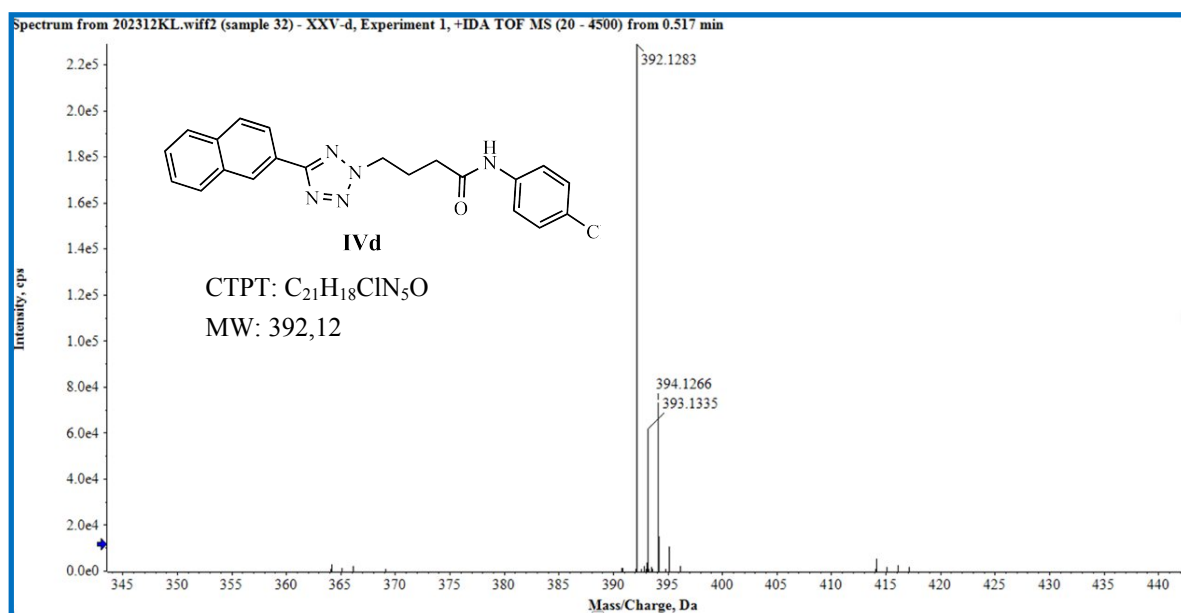


IVa: $n = 3$; $R = H$
IVb: $n = 3$; $R = 2-Cl$
IVc: $n = 3$; $R = 3-Cl$
IVd: $n = 3$; $R = 4-Cl$
IVe: $n = 3$; $R = 4-Br$
IVf: $n = 4$; $R = H$
IVg: $n = 4$; $R = 2-Cl$
IVh: $n = 4$; $R = 3-Cl$
IVi: $n = 4$; $R = 4-Cl$
IVj: $n = 4$; $R = 4-Br$

Chất	CTPT	KLPT (g/mol)	$m/z [M+H]^+$ ([$M+Na$] $^+$ với IVb, IVg) dự kiến	$m/z [M+H]^+$ ([$M+Na$] $^+$ với IVb, IVg) thực tế
IVa	$C_{21}H_{19}N_5O$	357,16	358,1662	358,1652
IVb	$C_{21}H_{18}ClN_5O$	391,12	414,1092/ 416,1063	414,0870/ 416,0882
IVc	$C_{21}H_{18}ClN_5O$	391,12	392,1273/ 394,1243	392,1274/ 394,1261
IVd	$C_{21}H_{18}ClN_5O$	391,12	392,1273/ 394,1243	392,1283/ 394,1266
IVe	$C_{21}H_{18}BrN_5O$	435,07	436,0767/ 438,0747	436,0770/ 438,0752
IVf	$C_{22}H_{21}N_5O$	371,44	372,1819	372,1807
IVg	$C_{22}H_{20}ClN_5O$	405,89	428,1249/ 430,1219	428,1069/ 430,0992
IVh	$C_{22}H_{20}ClN_5O$	405,89	406,1429/ 408,1400	406,1417/ 408,1404
IVi	$C_{22}H_{20}ClN_5O$	405,89	406,1429/ 408,1400	406,1426/ 408,1422
IVj	$C_{22}H_{20}BrN_5O$	450,34	450,0924/ 452,0904	450,0929/ 452,0908

Kết quả phổ đồ của các chất **IVa-j** cho thấy đều xuất hiện các pic ion có giá trị bằng $[M+H]^+$ ($[M+Na]^+$ đối với **IVb** và **IVg**) với cường độ mạnh. Từ đó, sơ bộ ta có thể khẳng định các chất **IVa-j** đã được tổng hợp có số khối như dự kiến. Trong đó, phổ khối của các hợp chất chứa nguyên tử halogen, đặc biệt là clo (Cl) và brom (Br) với sự xuất

hiện của các pic đồng vị là một đặc điểm đặc trưng giúp xác nhận sự hiện diện của các nguyên tố này trong cấu trúc phân tử. Cụ thể, các hợp chất **IVb–j** mang nhóm thế Cl hoặc Br, đã thể hiện rõ hai pic ion phân tử $[M+H]^+$ hay $[M+Na]^+$ cách nhau 2 đơn vị khối (m/z). Điều này là kết quả của sự tồn tại tự nhiên của hai đồng vị bền của Cl (^{35}Cl và ^{37}Cl) với tỷ lệ xấp xỉ 3:1, và của Br (^{79}Br và ^{81}Br) với tỷ lệ gần bằng 1:1. Sự xuất hiện của hai đỉnh ion với cường độ đặc trưng không chỉ phù hợp với phân bố đồng vị tự nhiên mà còn đóng vai trò như bằng chứng trực tiếp xác nhận sự hiện diện của nguyên tử clo hoặc brom trong các hợp chất tổng hợp. Như vậy, dữ liệu phổ khối đã góp phần củng cố độ tin cậy của quá trình xác định cấu trúc, đồng thời hỗ trợ xác minh chính xác công thức phân tử của các dẫn xuất mục tiêu. Từ đó có thể khẳng định sơ bộ được cấu trúc của các chất đã tổng hợp được.



Hình 20. Phổ HR-MS của chất **IVd**

Chất **IVd** có CTPT dự kiến là $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{ClN}_5\text{O}$ có pic ion phân tử m/z $[M+H]^+$ dự kiến là 392,1273/394,1243 ứng với hai đồng vị của clo trong tự nhiên. Trên phổ đồ xuất hiện pic ion $[M+H]^+$ cường độ mạnh nhất là 392,1283/394,1266. Từ đó sơ bộ cho thấy dẫn chất **IVd** có số khối đúng như số khối dự kiến.

3.2.2. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton ($^1\text{H-NMR}$)

Kết quả phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$) của các hợp chất **IVa–j** được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất IVa-j

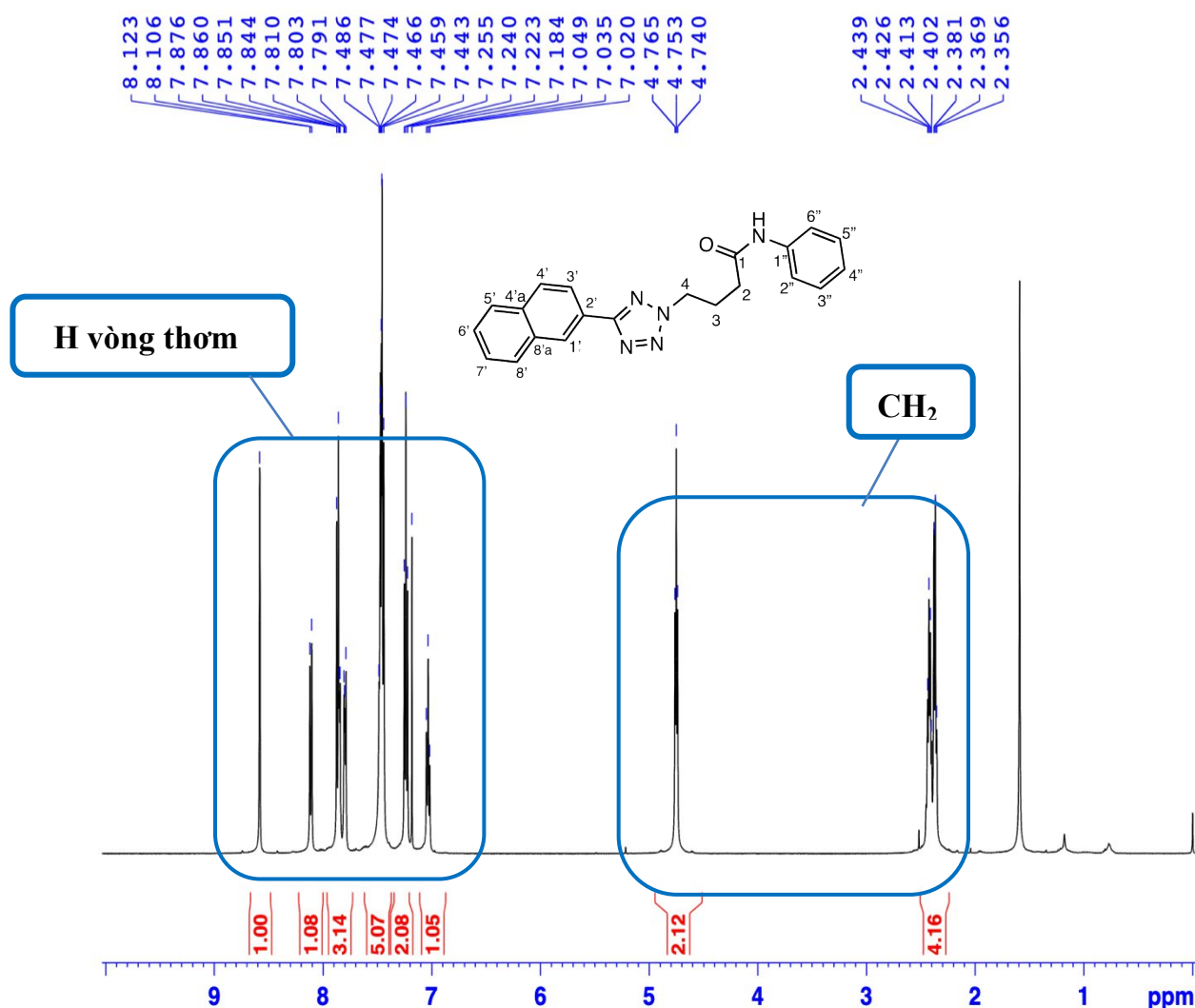


IVa: $n = 3$; $R = H$
 IVb: $n = 3$; $R = 2-Cl$
 IVc: $n = 3$; $R = 3-Cl$
 IVd: $n = 3$; $R = 4-Cl$
 IVe: $n = 3$; $R = 4-Br$
 IVf: $n = 4$; $R = H$
 IVg: $n = 4$; $R = 2-Cl$
 IVh: $n = 4$; $R = 3-Cl$
 IVi: $n = 4$; $R = 4-Cl$
 IVj: $n = 4$; $R = 4-Br$

Chất	Số liệu phân tích ¹ H-NMR (CDCl ₃ , 500MHz, ppm)
IVa	δ 8,58 (s, 1H, H1'), 8,11 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,83 (dd, <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H, H4', H8'), 7,80 (d, <i>J</i> = 7,7 Hz, 1H, H5'), 7,49-7,44 (m, 4H, H6', H7', H2'', H6''), 7,24 (t, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H, H3'', H5''), 7,03 (t, <i>J</i> = 7,5, 1H, H4''), 4,75 (t, <i>J</i> = 6,2 Hz, 2H, H4), 2,43 (quint, <i>J</i> = 6,6 Hz, 2H, H3), 2,37 (t, <i>J</i> = 6,8 Hz, 2H, H2).
IVb	δ 8,72 (s, 1H, H1'), 8,40 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H, H3''), 8,25 (dd, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,98 (dd, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H, H4', H8'), 7,91 (t, <i>J</i> = 9,5 Hz, 1H, H5''), 7,76 (s, 1H, NH-CO), 7,58 (m, 2H, H6', H7'), 7,39 (dd, <i>J</i> = 8,0 Hz, H6''), 7,31 (t, <i>J</i> = 8,3 Hz, 1H, H5''), 7,08 (td, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H, H4''), 4,89 (t, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H, H2), 2,62-2,53 (m, 4H, H3, H4).
IVc	δ 8,65 (s, 1H, H1'), 8,18 (dd, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,94 (dd, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H, H4', H8'), 7,88 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H, H5'), 7,67 (s, 1H, NH-CO), 7,57-7,52 (m, 3H, H6', H7', H2''), 7,35 (d, <i>J</i> = 10,0 Hz, 1H, H6''), 7,22 (t, <i>J</i> = 8,0 Hz 1H, H5''), 7,08 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 1H, H4''), 4,83 (t, <i>J</i> = 6,0 Hz, 2H, H4), 2,50 (quint, <i>J</i> = 6,4 Hz, 2H, H3), 2,44 (t, <i>J</i> = 6,8 Hz, 2H, H2).
IVd	δ 8,65 (s, 1H, H1'), 8,18 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,94 (dd, <i>J</i> = 11,5 Hz, 2H, H4', H8'), 7,88 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H, H5'), 7,57-7,52 (m, 2H, H6', H7'), 7,49-7,47 (m, 3H, NH-CO, H2'', H6''), 7,27 (d, <i>J</i> = 9,3 Hz, 2H, H3'', H5''), 4,83 (t, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H, H4), 2,50 (quint, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H, H3), 2,44 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H, H2).
IVe	δ 8,66 (s, 1H, H1'), 8,19 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H, H3'), 7,96 (dd, <i>J</i> = 9,0 Hz, 2H, H4', H8'), 7,89 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H, H5'), 7,55 (t, <i>J</i> = 10,2 Hz, 2H, H6', H7'), 7,45-7,41 (m, 4H, H2'', H3'', H5'', H6''), 4,84 (t, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H, H4), 2,51 (quint, <i>J</i> = 6,5 Hz, 2H, H3), 2,44 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H, H2).
IVf	δ 8,68 (s, 1H, H1'), 8,21 (dd, <i>J</i> = 9,5 Hz, 1H, H3'), 7,95 (d, <i>J</i> = 6,8 Hz, 2H, H4', H8'), 7,88 (d, <i>J</i> = 6,5 Hz, 1H, H5'), 7,55 (m, 2H, H6', H7'), 7,50 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H, H2'', H6''), 7,30 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H, H3'', H5''), 7,10 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 1H, H4''), 4,74 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H, H5), 2,44 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H2), 2,21-1,85 (m, 4H, H3, H4).
IVg	δ 8,71 (s, 1H, H1'), 8,38 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3''), 8,24 (dd, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,98 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H, H4', H8'), 7,91 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz, 1H, H5'), 7,63 (s, 1H, CO-NH), 7,56 (m, 2H, H6', H7'), 7,38 (dd, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H, H6''), 7,30 (d, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H, H5''), 7,06 (d, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H, H4''), 4,78 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H5), 2,55 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H2), 2,26 (quint, <i>J</i> = 7,4 Hz, 2H, H4), 1,91 (quint, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H, H3).
IVh	δ 8,70 (s, 1H, H1'), 8,23 (dd, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,98 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H, H4', H8'), 7,91 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H, H5'), 7,67 (s, 1H, CO-NH), 7,58 (m, 4H, H6', H7'), 7,35 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H, H6''), 7,23 (m, 2H, H2'', H5''), 7,09 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H, H4''), 4,78 (t, <i>J</i> = 6,8 Hz, 2H, H5), 2,46 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H2), 2,24 (quint, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H4), 1,88 (quint, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H, H3).
IVi	δ 8,59 (s, 1H, H1'), 8,12 (dd, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,87 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H, H4', H8'), 7,81 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz, 1H, H5'), 7,48 (m, 2H, H6', H7'), 7,37 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 2H, H2'', H6''), 7,16 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H, H3'', H5''), 4,67 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H, H5), 2,36 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H2), 2,14 (quint, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H4), 1,77 (quint, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H, H3).
IVj	δ 8,67 (s, 1H, H1'), 8,20 (dd, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H, H3'), 7,95 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H, H4', H8'), 7,89 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz, 1H, H5'), 7,55 (m, 2H, H6', H7'), 7,40 (m, 4H, H2'', H3'', H5'', H6''), 7,13 (s, 1H, CO-NH), 4,75 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H, H5), 2,43 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H2), 2,22 (quint, <i>J</i> = 7,3 Hz, 2H, H4), 1,85 (quint, <i>J</i> = 7,4 Hz, 2H, H3).

Dựa trên phổ ^1H -NMR của 5 chất đã tổng hợp được trình bày ở phụ lục và **Bảng 7** ta có thể nhận thấy: Các proton trong vòng thơm có độ dịch chuyển nằm trong khoảng từ 7,08-8,65 ppm; Các proton nhóm CH_2 có độ dịch chuyển nằm trong khoảng từ 2,37-4,83 ppm.

Phổ ^1H -NMR của các hợp chất cho thấy độ dịch chuyển hóa học hoàn toàn phù hợp với cấu trúc dự đoán, trong đó tín hiệu H4 xuất hiện ở $\delta = 4.89\text{-}4.75$ ppm (triplet) và các proton methylen còn lại ở $\delta = 2.62\text{-}2.37$ ppm (multiplet), đều nằm trong khoảng tham chiếu hợp lý cho các nhóm gần nguyên tử nitơ hoặc nhóm hút điện tử. Tín hiệu proton N-H yếu và rộng, đặc trưng cho proton linh động dễ trao đổi, thường gặp trong dung môi như CDCl_3 . Độ bội của các tín hiệu proton phản ánh chính xác số lượng proton lân cận có tương tác, đồng thời cho thấy hằng số tương tác spin-spin (J) đặc trưng trong khoảng 6–8 Hz, phù hợp với kiểu liên kết $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ điển hình. Tất cả các đặc điểm phổ đều khớp với cấu trúc hóa học dự kiến, xác nhận sơ bộ tính chính xác của cấu trúc các hợp chất đã tổng hợp.

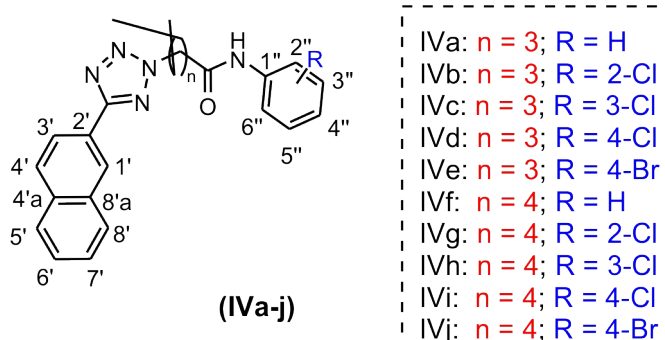


Hình 21. Phổ ^1H -NMR của chất **IVa**

3.2.3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13 (¹³C-NMR)

Kết quả phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹³C-NMR) của các hợp chất **IVa-j** được trình bày trong Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất **IVa-j**

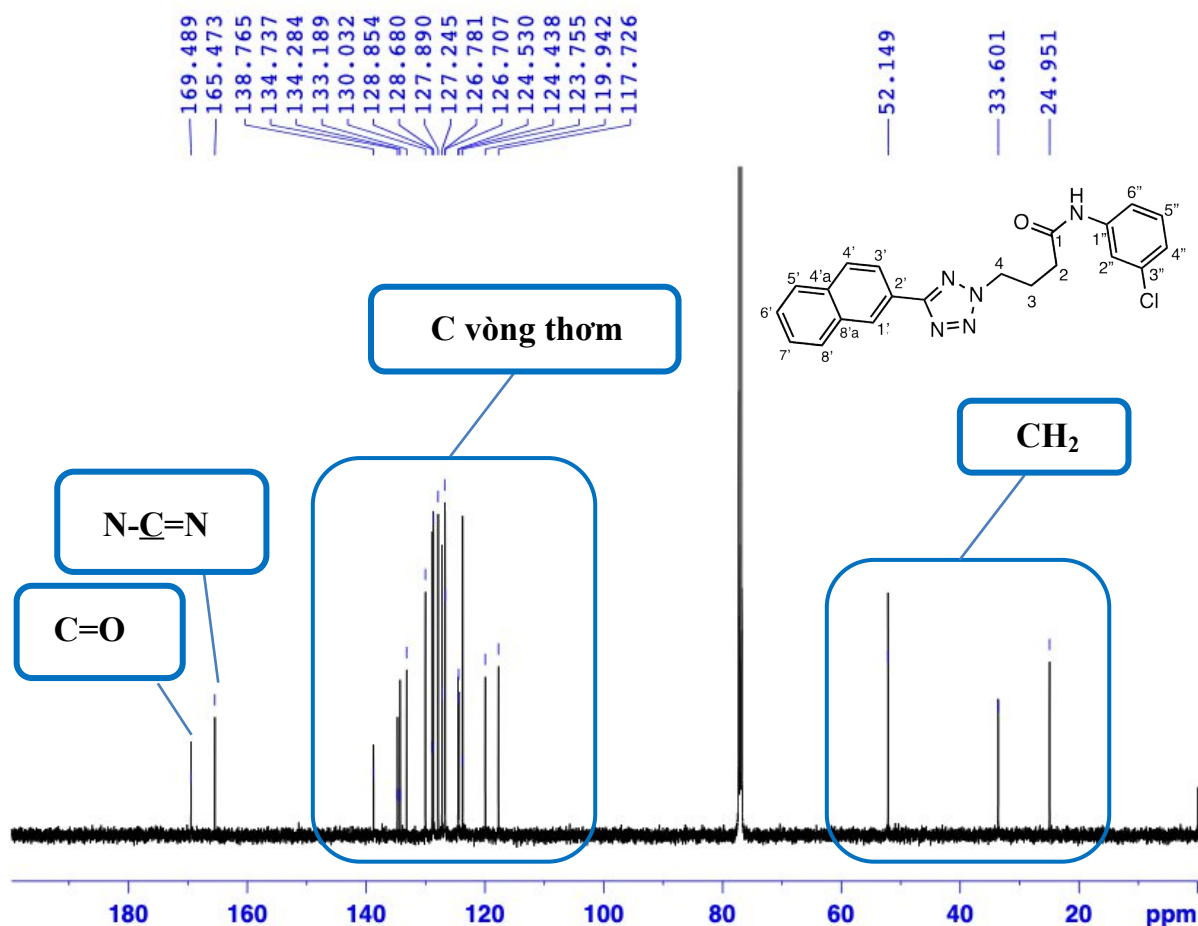


Chất	Số liệu phân tích ¹³ C-NMR (CDCl ₃ , 125 MHz, ppm)
IVa	δ 169,4 (C=O), 165,4 (N=C-N), 137,7 (C1''), 134,3 (C4a'), 133,2 (C8a'), 129,1 (C2'), 128,8 (C4'), 128,7 (C8''), 127,9 (C3'', C5''), 127,2 (C5'), 126,8 (C7'), 126,7 (C6'), 124,5 (C1', C3'), 123,8 (C4''), 119,9 (C2'', C6''), 52,2 (C4), 33,6 (C2), 25,1 (C3).
IVb	δ 169,4 (C=O), 165,5 (N=C-N), 138,8 (C1''), 134,3 (C4a'), 134,2 (C8a'), 133,2 (C3''), 129,1 (C2'), 128,8 (C4'), 128,7 (C8''), 127,9 (C5''), 127,8 (C2''), 127,2 (C5'), 126,7 (C6', C7'), 124,9 (C3'), 124,6 (C1'), 123,9 (C4''), 121,8 (C6''), 52,1 (C4), 33,9 (C2), 25,0 (C3).
IVc	δ 169,5 (C=O), 165,5 (N=C-N), 138,8 (C1''), 134,8 (C4a'), 134,3 (C8a'), 133,2 (C3''), 130,0 (C2'), 128,9 (C5''), 128,7 (C4'), 127,9 (C8'), 127,3 (C5'), 126,8 (C7'), 126,7 (C6'), 124,5 (C3'), 124,4 (C1'), 123,8 (C4''), 119,9 (C2''), 117,7 (C6''), 52,1 (C4), 33,6 (C2), 25,0 (C3).
IVd	δ 169,4 (C=O), 165,5 (N=C-N), 136,2 (C1''), 134,3 (C4a'), 133,2 (C8a'), 129,5 (C3'', C5''), 129,1 (C2'), 128,9 (C4'), 128,7 (C8'), 127,9 (C4''), 127,3 (C5'), 126,8 (C7'), 126,7 (C6'), 124,5 (C3'), 123,8 (C1'), 121,1 (C2'', C6''), 52,2 (C4), 33,6 (C2), 25,0 (C3).
IVe	δ 169,4 (C=O), 165,5 (N=C-N), 136,7 (C1''), 134,3 (C4a'), 133,2 (C8a'), 132,0 (C3'', C5''), 128,9 (C2'), 128,7 (C4'), 127,9 (C8'), 127,3 (C5'), 126,8 (C7'), 126,7 (C6'), 124,5 (C3'), 123,8 (C1'), 121,4 (C2'', C6''), 117,1 (C4''), 52,2 (C4), 33,7 (C2), 25,0 (C3).
IVf	δ 170,1 (C=O), 165,3 (N=C-N), 137,7 (C1''), 134,2 (C4a'), 133,2 (C8a'), 129,0 (C4'), 128,8 (C8'), 127,9 (C3'', C5''), 127,1 (C2', C5'), 126,7 (C6', C7'), 124,7 (C1'), 124,4 (C3'), 123,9 (C4''), 119,8 (C2'', C6''), 52,8 (C5), 36,5 (C2), 28,7 (C4), 22,3 (C3).
IVg	δ 170,2 (C=O), 165,4 (N=C-N), 134,4 (C1''), 134,2 (C4a'), 133,2 (C8a'), 129,0 (C4'), 128,8 (C8', C3''), 127,9 (C5''), 127,8 (C2''), 127,1 (C2', C5'), 126,7 (C6', C7'), 124,7 (C4'', C1'), 123,9 (C3'), 121,7 (C6''), 52,8 (C5), 36,7 (C2), 28,7 (C4), 22,2 (C3).
IVh	δ 170,2 (C=O), 165,4 (N=C-N), 138,8 (C1''), 134,7 (C3''), 134,3 (C4a'), 133,2 (C8a'), 130,0 (C2''), 128,8 (C4'), 128,70 (C8'), 127,9 (C5''), 127,2 (C2', C5'), 126,7 (C6', C7'), 124,5 (C1', C4''), 123,9 (C3'), 119,9 (C6''), 52,8 (C5), 36,4 (C2), 28,6 (C4), 22,1 (C3).
IVi	δ 170,2 (C=O), 165,4 (N=C-N), 136,3 (C1''), 134,3 (C4a'), 133,2 (C8a'), 129,0 (C4'), 128,8 (C8'), 128,7 (C4''), 127,9 (C3'', C5''), 127,2 (C2', C5'), 126,7 (C6', C7'), 124,6 (C1'), 123,8 (C3'), 121,0 (C2'', C6''), 52,8 (C5), 36,4 (C2), 28,6 (C4), 22,2 (C3).
IVj	δ 170,1 (C=O), 165,4 (N=C-N), 136,8 (C1''), 134,3 (C4a'), 133,2 (C8a'), 132,0 (C4'), 128,8 (C8'), 128,7 (C4''), 127,9 (C3'', C5''), 127,2 (C2', C5'), 126,72 (C6'), 126,67 (C7'), 124,7 (C1'), 123,9 (C3'), 121,3 (C2'', C6''), 52,8 (C5), 36,4 (C2), 28,6 (C4), 22,2 (C3).

Dựa trên phổ ¹³H-NMR của 5 chất đã tổng hợp được trình bày ở phụ lục và **Bảng 8** ta có thể nhận thấy: Các carbon C=O có độ dịch chuyển cao nhất và đều có giá trị khoảng 169,3-169,4; các carbon N=C-N có độ dịch chuyển nằm trong khoảng 154,9-165,5; các carbon vòng thơm có độ dịch chuyển nằm trong khoảng 111,9-138,8; các carbon nhóm CH₂ có độ dịch chuyển nằm trong khoảng 25,0-52,2.

Các đỉnh trong phổ ^{13}C -NMR của các hợp chất tổng hợp đều có độ dịch chuyển hóa học phù hợp với cấu trúc dự kiến và phản ánh chính xác môi trường hóa học của các nguyên tử carbon. Cụ thể, tín hiệu của C4 (carbon liên kết trực tiếp với nguyên tử nitơ) xuất hiện ở $\delta = 52.8$ ppm, thấp hơn so với các carbon no khác trong phân tử. Điều này có thể giải thích bởi sự ảnh hưởng của nguyên tử nitơ, một nguyên tử có tính hút electron mạnh, làm thay đổi môi trường của carbon này, kéo độ dịch chuyển hóa học của nó về phía trường thấp hơn. Các tín hiệu của các carbon no khác, chẳng hạn như carbon trong nhóm alkyl và các carbon bão hòa, đều nằm trong vùng dịch chuyển khoảng $\delta = 10\text{--}40$ ppm, phù hợp với cấu trúc phân tử của các hợp chất aliphatic. Mặc dù cường độ tín hiệu trong phổ ^{13}C -NMR không hoàn toàn phản ánh tỷ lệ số lượng carbon giữa các đỉnh, có thể do ảnh hưởng của thời gian hồi phục hoặc các yếu tố kỹ thuật khác, nhưng sự xuất hiện và vị trí của các đỉnh vẫn cung cấp thông tin rõ ràng về cấu trúc phân tử. Các đỉnh của nhóm carbonyl ($\delta \approx 169.0$ ppm) và nhóm imin ($\delta \approx 165.0$ ppm) cũng đã được quan sát, xác nhận sự hiện diện của các nhóm chức quan trọng trong phân tử.

Dưới đây là phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon của chất **IVa**.



Hình 22. Phổ ^{13}C -NMR của chất **IVc**.

3.2.4. Đặc tính “giống thuốc” của các chất IVa-j

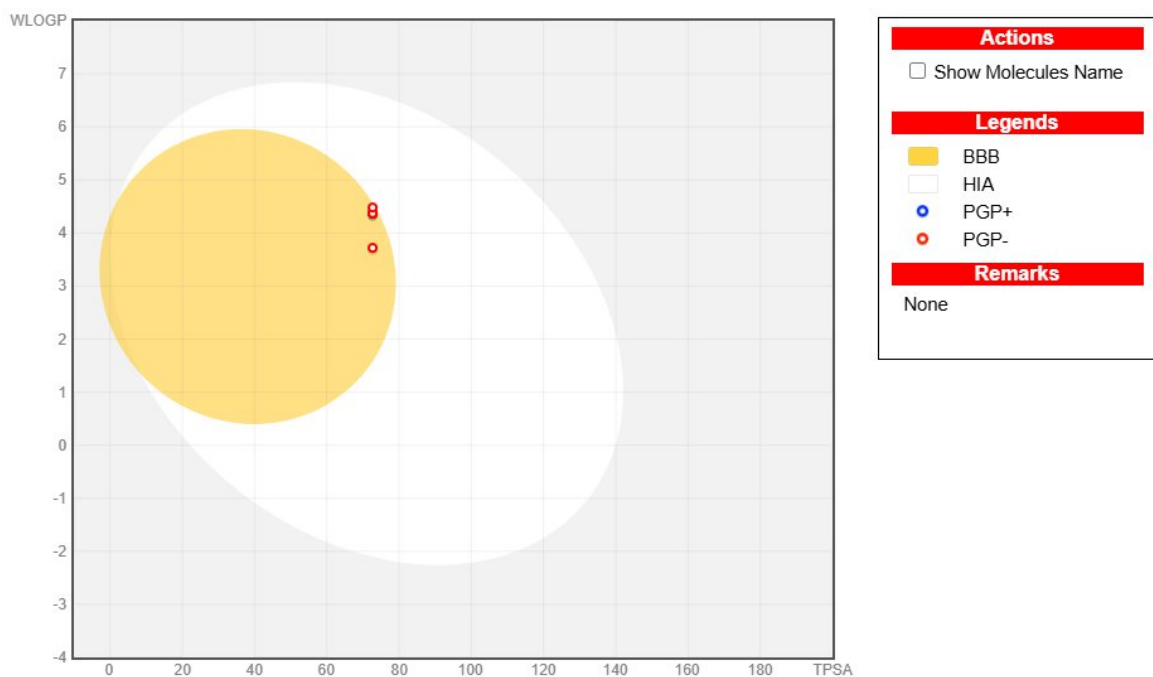
Tiến hành đánh giá đặc tính “giống thuốc” qua website Swissadme và thu được kết quả theo Bảng 9 ghi nhận thông số của các hợp chất tiềm năng đều thỏa mãn “Quy tắc năm” của Lipinski và không phạm Quy tắc Veber. Từ sơ đồ BOILED-Egg (Hình 23, 24) cho thấy các chất **IVa-f** có khả năng qua hàng rào máu não do có TPSA và WlogP nằm trong vùng vàng. Các chất IVg-h cũng có khả năng qua hàng rào máu não tuy nhiên độ thân dầu cao hơn. Nhìn chung, các hợp chất này có tiềm năng phát triển thành thuốc dùng theo đường uống.

Bảng 9. Kết quả phân tích đặc tính “giống thuốc” của các chất **IVa-j**

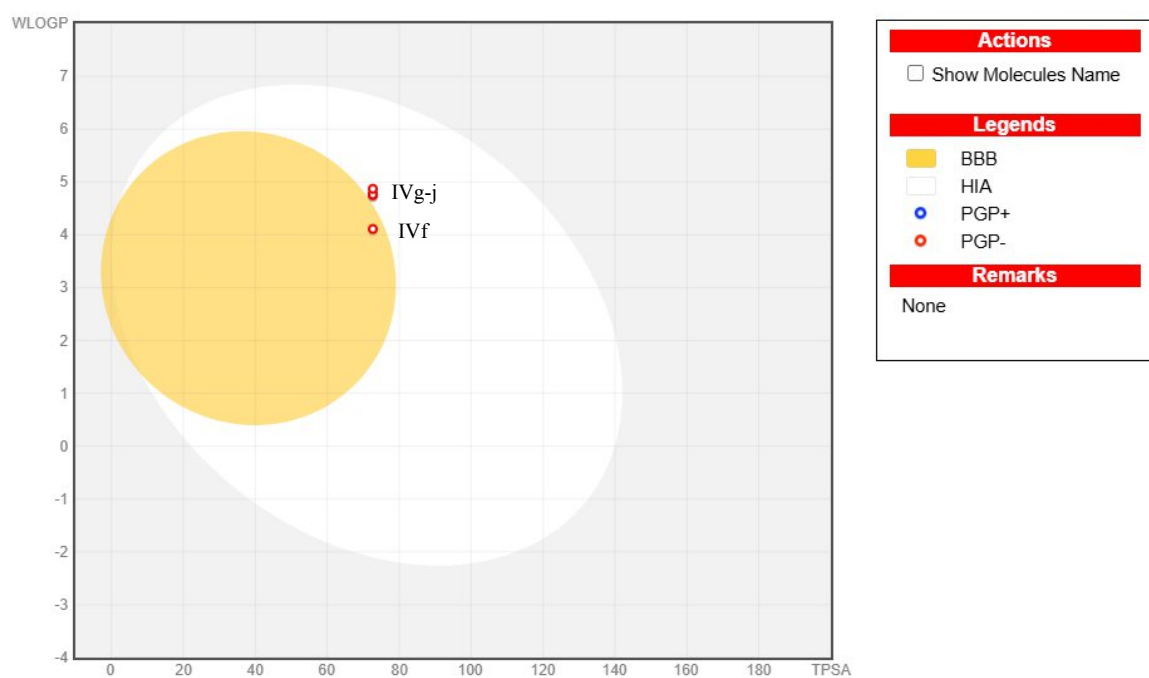
Hợp chất	CTPT	KLPT (g/mol)	MlogP	HBA*	HBD*	TPSA* (Å²)	WlogP
IVa	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O	371.44	2,84	4	1	72,70	3,72
IVb	C ₂₁ H ₁₈ ClN ₅ O	405.88	3,32	4	1	72,70	4,37
IVc	C ₂₁ H ₁₈ ClN ₅ O	405.88	3,32	4	1	72,70	4,37
IVd	C ₂₁ H ₁₈ BrN ₅ O	405.88	3,32	4	1	72,70	4,37
IVe	C ₂₁ H ₁₈ ClN ₅ O	450.33	3,43	4	1	72,70	4,48
IVf	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O	371,44	3,06	6	1	72,70	4,11
IVg	C ₂₂ H ₂₀ ClN ₅ O	405,89	3,54	6	1	72,70	4,76
IVh	C ₂₂ H ₂₀ ClN ₅ O	405,89	3,54	6	1	72,70	4,76
IVi	C ₂₂ H ₂₀ ClN ₅ O	405,89	3,54	6	1	72,70	4,76
IVj	C ₂₂ H ₂₀ BrN ₅ O	450,34	3,65	6	1	72,70	4,87
RO5**		≤ 500	≤ 5	≤ 10	≤ 5		
Veber's rule				Total H-bond ≤ 12		≤ 140	

IVb-e

IVa



Hình 23. Sơ đồ BOILED-Egg các chất IVa-e



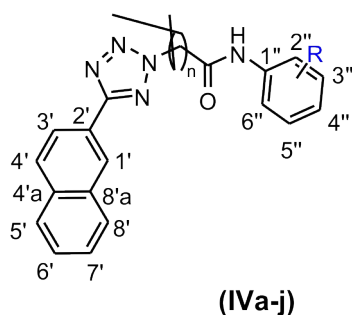
Hình 24. Sơ đồ BOILED-Egg các chất IVf-j

3.3. Hoạt tính ức chế AChE

Sau khi khẳng định cấu trúc của các hợp chất tiềm năng đúng như dự kiến, các chất này sẽ được thử hoạt tính ức chế AChE.

Các chất **IVa-j** được đánh giá tác dụng ức chế AChE ở các nồng độ 256 μM , 128 μM , 64 μM , 32 μM , 16 μM với chất chứng dương là galantamin hydrobromid. Kết quả nồng độ IC_{50} của các hợp chất **IVa-j** đối với AChE ghi lại ở **Bảng 10**.

Bảng 10. Kết quả phân tích phổ HRMS của các chất **IVa-j**



IVa: $n = 3$; $R = H$
IVb: $n = 3$; $R = 2-Cl$
IVc: $n = 3$; $R = 3-Cl$
IVd: $n = 3$; $R = 4-Cl$
IVe: $n = 3$; $R = 4-Br$
IVf: $n = 4$; $R = H$
IVg: $n = 4$; $R = 2-Cl$
IVh: $n = 4$; $R = 3-Cl$
IVi: $n = 4$; $R = 4-Cl$
IVj: $n = 4$; $R = 4-Br$

Chất	IC ₅₀ (μM)	Chất	IC ₅₀ (μM)
IVa	467,82 ± 10,77	IVf	354,88 ± 8,17
IVb	> 1000	IVg	> 1000
IVc	> 1000	IVh	236,80 ± 20,09
IVd	707,95 ± 59,34	IVi	243,83 ± 14,77
IVe	530,96 ± 12,74	IVj	> 1000
Chứng âm (dung môi)	0		
Chứng dương (galantamin hydrobromid): IC ₅₀ = 2,5 ± 0,2 μM			

Từ kết quả hoạt tính cho thấy 2 hợp chất **IVb**, **IVc**, **IVg** và **IVj** chưa thể hiện khả năng ức chế AChE với IC₅₀ > 1000 μM, trong khi các hợp chất **IVf**, **IVh** và **IVi** thể hiện hoạt tính tốt hơn với IC₅₀ lần lượt là 354,88 ± 8,17; 236,80 ± 20,09; 243,83 ± 14,77 μM.

Từ kết quả hoạt tính thu được, có thể nhận thấy cầu nối 4C có khả năng ức chế kém hơn cầu nối 5C, chứng tỏ độ dài cầu nối 5C thuận lợi cho việc hình thành liên kết với vùng PAS/CAS của AChE. Ngoài ra các nhóm thế khác nhau trên vòng benzen với khung liên kết có cầu nối 5C cho hoạt tính ức chế AChE khác nhau. Cụ thể, trong kết quả nghiên cứu, nhóm thế 4-Cl (**IVj**) cho hoạt tính tốt hơn so với nhóm thế 4-Br (**IVe**). Bên cạnh đó, khi so sánh các hợp chất **IVh-d**, hoạt tính hợp chất có nhóm thế 3-Cl (**IVc**) cao nhất, hợp chất có nhóm thế 2-Cl (**IVg**) cho hoạt tính kém nhất. Ngoài ra, việc gắn các nhóm thế 3-Cl và 4-Cl vào vòng benzen làm cho hoạt tính của các chất tốt hơn so với khi không có nhóm thế (**IVa**), trong khi nhóm thế 2-Cl và 4-Br làm giảm hoạt tính của các hợp chất.

Với cầu nối 4C, khi có nhóm thế halogen ở vòng benzen thì khả năng ức chế lại giảm so với không có nhóm thế. Điều này có thể là do các nhóm thế hút điện tử ảnh hưởng đến phân bố electron trên vòng benzen làm giảm sự ổn định các tương tác giữa phân tử và mục tiêu, dẫn đến giảm khả năng ức chế enzym.

Đáng chú ý nhất là kết quả ức chế enzym của chất **IVi** tốt nhất trong nhóm, từ đó nhận thấy có thể sử dụng khung cấu trúc để phát triển các chất mục tiêu tiềm năng khác trong tương lai.

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu có thể đưa ra một số kết luận như sau:

1. Đã tổng hợp được 10 dẫn chất amid thơm mang khung (naphthalen-2-yl)tetrazol như dự kiến bao gồm:

- + 4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)-*N*-phenylbutanamid (**IVa**)
- + *N*-(2-chlorophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVb**)
- + *N*-(3-chlorophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVc**)
- + *N*-(4-chlorophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVd**)
- + *N*-(4-bromophenyl)-4-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)butanamid (**IVe**)
- + 5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)-*N*-phenylpentanamid (**IVf**)
- + *N*-(2-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVg**)
- + *N*-(3-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVh**)
- + *N*-(4-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVi**)
- + *N*-(4-bromophenyl)-5-(5-(naphthalen-2-yl)-2*H*-tetrazol-2-yl)pentanamid (**IVj**)

2. Đã khẳng định cấu trúc các chất tổng hợp được thông qua phân tích dữ liệu phổ khối (HR-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton và carbon (^1H -NMR và ^{13}C -NMR).

3. Đã đánh giá đặc tính giống thuốc 10 dẫn chất, được ghi nhận thỏa mãn “Quy tắc năm” và có tiềm năng phát triển thành thuốc dùng theo đường uống. Bên cạnh đó, các chất được tổng hợp được dự đoán có khả năng hấp thu qua hàng rào máu não theo phương thức thẩm thấu trong mô hình BOILED-Egg.

4. Đã được thử tác dụng ức chế acetylcholinesterase tại các nồng độ khác nhau thu được kết quả IC_{50} được so sánh với chất chứng dương là galantamin hydrobromid. Kết quả thử hoạt tính cho thấy sáu trên 10 chất có khả năng ức chế AChE và có chất **IVi** ức chế tốt nhất với IC_{50} lần lượt là $467,82 \pm 10,77 \mu\text{M}$

Các chất **IVa** và **IVe** có kết quả IC_{50} lần lượt là $467,82 \pm 10,77 \mu\text{M}$ và $530,96 \pm 12,74 \mu\text{M}$, cho thấy hiệu quả ức chế trung bình đối với mục tiêu, cao hơn khả năng ức chế của **IVd** với IC_{50} là $243,83 \pm 14,77$. Kết quả này là định hướng cho việc tiếp tục phát triển chất tiềm năng trong tương lai dựa trên khung cấu trúc này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J. A. Soria Lopez, et al. (2019), "Alzheimer's disease", *Handb Clin Neurol* 167:231-55. doi: 10.1016/b978-0-12-804766-8.00013-3.
2. Y. G. Chen (2018), "Research Progress in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease", *Chin Med J (Engl)* 131 (13):1618-24. doi: 10.4103/0366-6999.235112.
3. R. Cataldi, et al. (2023), "A WHO blueprint for action to reshape dementia research", *Nat Aging* 3 (5):469-71. doi: 10.1038/s43587-023-00381-6.
4. B. J. Joseph Gaugler., Tricia Johnson., et al., (2024), "2024 Alzheimer's disease facts and figures", *Alzheimers Dement* 20(5):3708-821.
5. E. A. Dr Sara Evans-Lacko, Dr Sanna Read, Adelina Comas-Herrera, Dr Nicolas Farina (2024), "Global changes in attitudes to dementia", *World Alzheimer Report 2024*.
6. T. A. Nguyen, et al. (2020), "Towards the development of Vietnam's national dementia plan-the first step of action", *Australas J Ageing* 39 (2):137-41. doi: 10.1111/ajag.12755.
7. E. Nichols and T. Vos (2021), "The estimation of the global prevalence of dementia from 1990-2019 and forecasted prevalence through 2050: An analysis for the Global Burden of Disease (GBD) study 2019", *Alzheimer's & Dementia* 17 (S10). doi: 10.1002/alz.051496.
8. J. Zhang, et al. (2024), "Recent advances in Alzheimer's disease: Mechanisms, clinical trials and new drug development strategies", *Signal Transduct Target Ther* 9 (1):211. doi: 10.1038/s41392-024-01911-3.
9. L. K. Huang, et al. (2023), "Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease: a 2020-2023 update", *J Biomed Sci* 30 (1):83. doi: 10.1186/s12929-023-00976-6.
10. S. L. Motebennur, et al. (2023), "Drug Candidates for the Treatment of Alzheimer's Disease: New Findings from 2021 and 2022", *Drugs and Drug Candidates* 2 (3):571-90. doi: 10.3390/ddc2030030.
11. N. Kaushik, et al. (2018), "Tetrazoles: Synthesis and biological activity", 18 (1):3-21.
12. P. Gupta and A. Sharma (2022), "Pharmacological Significance of Triazoles and Tetrazoles in Neurodegenerative Disease: An Overview", *N-Heterocycles: Synthesis Biological Evaluation*:355-93.
13. Y. Zou, et al. (2020), "Bioisosteres in drug discovery: focus on tetrazole". In, *Future Science*, pp. 91-93.
14. P. Kushwaha, et al. (2019), "Synthesis, biological evaluation and molecular dynamic simulations of novel Benzofuran-tetrazole derivatives as potential agents against Alzheimer's disease", 29 (1):66-72.
15. S. Makar, et al. (2019), "Naphthalene, a versatile platform in medicinal chemistry: Sky-high perspective", *Eur J Med Chem* 161:252-76. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.10.018.
16. S. Valente, et al. (2014), "1,3,4-Oxadiazole-containing histone deacetylase inhibitors: anticancer activities in cancer cells", *J Med Chem* 57 (14):6259-65. doi: 10.1021/jm500303u.
17. G. Laverty, et al. (2014), "Ultrashort cationic naphthalene-derived self-assembled peptides as antimicrobial nanomaterials", *Biomacromolecules* 15 (9):3429-39. doi: 10.1021/bm500981y.

18. M. Jelen, et al. (2015), "Synthesis of quinoline/naphthalene-containing azaphenothiazines and their potent in vitro antioxidant properties", *Med Chem Res* 24 (4):1725-32. doi: 10.1007/s00044-014-1247-y.
19. W. Ang, et al. (2014), "Synthesis and biological evaluation of novel naphthalene compounds as potential antidepressant agents", *Eur J Med Chem* 82:263-73. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.05.061.
20. F. Anwar, et al. (2020), "New naphthalene derivative for cost-effective AChE inhibitors for Alzheimer's treatment: In silico identification, in vitro and in vivo validation", *Computational Biology and Chemistry* 89. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2020.107378.
21. T. Umar, et al. (2019), "Naphthalene-triazolopyrimidine hybrid compounds as potential multifunctional anti-Alzheimer's agents", *Bioorg Med Chem* 27 (14):3156-66. doi: 10.1016/j.bmc.2019.06.004.
22. M. Pires and A. C. Rego (2023), "ApoE4 and Alzheimer's disease pathogenesis—mitochondrial deregulation and targeted therapeutic strategies", *International Journal of Molecular Sciences* 24 (1):778.
23. Y.-G. Chen (2018), "Research progress in the pathogenesis of Alzheimer's disease", *Chinese medicinal journal* 131 (13):1618-24.
24. K. Sharma, et al. (2021), "Role of receptors in relation to plaques and tangles in Alzheimer's disease pathology", 22 (23):12987.
25. H. J. Möller and M. B. Graeber (1998), "The case described by Alois Alzheimer in 1911", *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 248 (3):111-22. doi: 10.1007/s004060050027.
26. G. G. Glenner and C. W. Wong (1984), "Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein", *Biochemical and biophysical research communications* 120 (3):885-90. doi: [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(84\)80190-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(84)80190-4).
27. G. G. Glenner and C. W. Wong (1984), "Alzheimer's disease and Down's syndrome: Sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein", *Biochemical and biophysical research communications* 122 (3):1131-35. doi: [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(84\)91209-9](https://doi.org/10.1016/0006-291X(84)91209-9).
28. J. P. Brion, et al. (1985), "Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study", *J Submicrosc Cytol* 17 (1):89-96.
29. I. Grundke-Iqbal, et al. (1986), "Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83 (13):4913-17. doi: 10.1073/pnas.83.13.4913.
30. K. S. Kosik, et al. (1986), "Microtubule-associated protein tau (tau) is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83 (11):4044-48. doi: 10.1073/pnas.83.11.4044.
31. J. G. Wood, et al. (1986), "Neurofibrillary tangles of Alzheimer disease share antigenic determinants with the axonal microtubule-associated protein tau (tau)", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83 (11):4040-43. doi: 10.1073/pnas.83.11.4040.
32. Z. S. Khachaturian (1985), "Diagnosis of Alzheimer's Disease", *Archives of Neurology* 42 (11):1097-105. doi: 10.1001/archneur.1985.04060100083029.

33. S. S. Mirra, et al. (1991), "The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD)", *Neurology* 41 (4):479-79. doi: 10.1212/WNL.41.4.479.
34. K. L. Newell, et al. (1999), "Application of the National Institute on Aging (NIA)-Reagan Institute Criteria for the Neuropathological Diagnosis of Alzheimer Disease", *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 58 (11):1147-55. doi: 10.1097/00005072-199911000-00004.
35. B. T. Hyman, et al. (2012), "National Institute on Aging–Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease", *Alzheimer's & Dementia* 8 (1):1-13. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.10.007>.
36. T. J. Montine, et al. (2012), "National Institute on Aging–Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach", *Acta Neuropathologica* 123 (1):1-11. doi: 10.1007/s00401-011-0910-3.
37. M. Kelley, et al. (2018), "Reducing the Risk of Alzheimer's Disease and Maintaining Brain Health in an Aging Society", *Public Health Reports®* 133 (3):225-29. doi: 10.1177/0033354918763599.
38. R. J. Castellani, et al. (2010), "Alzheimer disease", *Dis Mon* 56 (9):484-546. doi: 10.1016/j.disamonth.2010.06.001.
39. C. Findley (2024), "How Does Alzheimer's Disease Affect the Brain?", Available at: <https://www.brightfocus.org/resource/how-does-alzheimers-disease-affect-the-brain/>, Last update: Jun 10.
40. A. s. Association (2024), "Stages of Alzheimer's Disease", Available at: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/stages>, Last update.
41. P. T. Francis, et al. (1999), "The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress", *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 66 (2):137-47. doi: 10.1136/jnnp.66.2.137.
42. Z. Breijyeh and R. Karaman (2020), "Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment", *Molecules* 25 (24). doi: 10.3390/molecules25245789.
43. S. C. Peitzika and E. Pontiki (2023), "A Review on Recent Approaches on Molecular Docking Studies of Novel Compounds Targeting Acetylcholinesterase in Alzheimer Disease", *Molecules* 28 (3). doi: 10.3390/molecules28031084.
44. S. H. Barage and K. D. Sonawane (2015), "Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease", *Neuropeptides* 52:1-18.
45. C. Ma, et al. (2022), "Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions", *Molecules* 27 (4). doi: 10.3390/molecules27041210.
46. A. Shah, et al. (2021), "Complement System in Alzheimer's Disease", *International Journal of Molecular Sciences* 22 (24):13647.
47. N. J. Dar and G. W. Glazner (2020), "Deciphering the neuroprotective and neurogenic potential of soluble amyloid precursor protein alpha (sAPP α)", *Cell Mol Life Sci* 77 (12):2315-30. doi: 10.1007/s00018-019-03404-x.
48. Y.-w. Zhang, et al. (2011), "APP processing in Alzheimer's disease", *Molecular Brain* 4 (1):3. doi: 10.1186/1756-6606-4-3.
49. H. Yu and J. Wu (2021), "Amyloid- β : A double agent in Alzheimer's disease?", *Biomed Pharmacother* 139:111575. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111575.

50. Y. Yu, et al. (2018), "Neuronal A β 42 is enriched in small vesicles at the presynaptic side of synapses", *Life Sci Alliance* 1 (3):e201800028. doi: 10.26508/lsa.201800028.
51. S. H. Barage and K. D. J. N. Sonawane (2015), "Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease", 52:1-18.
52. D. M. Bowen, et al. (1976), "Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies", 99 (3):459-96.
53. P. Davies and A. Maloney (1976), "Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease", *The Lancet* 308 (8000):1403.
54. G. D. Stanciu, et al. (2019), "Alzheimer's disease pharmacotherapy in relation to cholinergic system involvement", 10 (1):40.
55. A. L. Decker and K. Duncan (2020), "Acetylcholine and the complex interdependence of memory and attention", *Current Opinion in Behavioral Sciences* 32:21-28.
56. T. H Ferreira-Vieira, et al. (2016), "Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system", 14 (1):101-15.
57. A. Fisher (2007), "M1 muscarinic agonists target major hallmarks of Alzheimer's disease-an update", *Current Alzheimer Research* 4 (5):577-80.
58. H. Hampel, et al. (2018), "The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease", 141 (7):1917-33.
59. K.-G. Ma and Y.-H. Qian (2019), "Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor and its effects on Alzheimer's disease", *Neuropeptides* 73:96-106.
60. K. Takata, et al. (2022), "Nicotinic Acetylcholine Receptors and Microglia as Therapeutic and Imaging Targets in Alzheimer's Disease", *Molecules* 27 (9). doi: 10.3390/molecules27092780.
61. K. Sharma, et al. (2021), "Role of Receptors in Relation to Plaques and Tangles in Alzheimer's Disease Pathology", *Int J Mol Sci* 22 (23). doi: 10.3390/ijms222312987.
62. H. Hampel, et al. (2018), "The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease", *Brain* 141 (7):1917-33. doi: 10.1093/brain/awy132.
63. E. Mohandas, et al. (2009), "Neurobiology of Alzheimer's disease", *Indian J Psychiatry* 51 (1):55-61. doi: 10.4103/0019-5545.44908.
64. K. Kumar, et al. (2018), "Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer's disease", *Biomedicine & Pharmacotherapy* 98:297-307. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.12.053>.
65. L. Bakota and R. Brandt (2016), "Tau Biology and Tau-Directed Therapies for Alzheimer's Disease", *Drugs* 76 (3):301-13. doi: 10.1007/s40265-015-0529-0.
66. A. F. T. Arnsten, et al. (2021), "Hypothesis: Tau pathology is an initiating factor in sporadic Alzheimer's disease", *Alzheimers Dement* 17 (1):115-24. doi: 10.1002/alz.12192.
67. J. F. González, et al. (2019), "Developments with multi-target drugs for Alzheimer's disease: an overview of the current discovery approaches", *Expert Opin Drug Discov* 14 (9):879-91. doi: 10.1080/17460441.2019.1623201.
68. T. J. Huat, et al. (2019), "Metal Toxicity Links to Alzheimer's Disease and Neuroinflammation", *J Mol Biol* 431 (9):1843-68. doi: 10.1016/j.jmb.2019.01.018.

69. L. Wang, et al. (2020), "Current understanding of metal ions in the pathogenesis of Alzheimer's disease", *Transl Neurodegener* 9:10. doi: 10.1186/s40035-020-00189-z.
70. Z. Zhang, et al. (2021), "Autophagy in Alzheimer's disease pathogenesis: Therapeutic potential and future perspectives", *Ageing Research Reviews* 72:101464. doi: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101464>.
71. M. E. Orr and S. Oddo (2013), "Autophagic/lysosomal dysfunction in Alzheimer's disease", *Alzheimers Res Ther* 5 (5):53. doi: 10.1186/alzrt217.
72. W. Zhang, et al. (2022), "Impairment of the autophagy-lysosomal pathway in Alzheimer's diseases: Pathogenic mechanisms and therapeutic potential", *Acta Pharm Sin B* 12 (3):1019-40. doi: 10.1016/j.apsb.2022.01.008.
73. A. Misrani, et al. (2021), "Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Alzheimer's Disease", *Front Aging Neurosci* 13:617588. doi: 10.3389/fnagi.2021.617588.
74. M. T. Heneka, et al. (2015), "Neuroinflammation in Alzheimer's disease", *Lancet Neurol* 14 (4):388-405. doi: 10.1016/s1474-4422(15)70016-5.
75. B. Bennion, et al. (2015), "A Wrench in the Works of Human Acetylcholinesterase: Soman Induced Conformational Changes Revealed by Molecular Dynamics Simulations", *PLOS ONE* 10:e0121092. doi: 10.1371/journal.pone.0121092.
76. H. Soreq and S. Seidman (2001), "Acetylcholinesterase — new roles for an old actor", *Nature Reviews Neuroscience* 2 (4):294-302. doi: 10.1038/35067589.
77. V. N. Talesa (2001), "Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease", *Mechanisms of Ageing and Development* 122 (16):1961-69. doi: [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(01\)00309-8](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(01)00309-8).
78. Z. Breijyeh and R. Karaman (2020), "Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment", 25 (24):5789.
79. N. C. Inestrosa, et al. (1996), "Acetylcholinesterase Accelerates Assembly of Amyloid- β -Peptides into Alzheimer's Fibrils: Possible Role of the Peripheral Site of the Enzyme", *Neuron* 16 (4):881-91. doi: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80108-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80108-7).
80. K. Sharma (2019), "Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review)", *Mol Med Rep* 20 (2):1479-87. doi: 10.3892/mmr.2019.10374.
81. J. L. Sussman, et al. (1991), "Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein", *Science* 253 (5022):872-9. doi: 10.1126/science.1678899.
82. D. L. Ollis, et al. (1992), "The alpha/beta hydrolase fold", *Protein Eng* 5 (3):197-211. doi: 10.1093/protein/5.3.197.
83. I. Silman and J. L. Sussman (2008), "Acetylcholinesterase: how is structure related to function?", *Chem Biol Interact* 175 (1-3):3-10. doi: 10.1016/j.cbi.2008.05.035.
84. Y. Maulet, et al. (1990), "Single gene encodes glycopospholipid-anchored and asymmetric acetylcholinesterase forms: alternative coding exons contain inverted repeat sequences", *Neuron* 4 (2):289-301. doi: 10.1016/0896-6273(90)90103-m.
85. M. Harel, et al. (1993), "Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase", *Proc Natl Acad Sci U S A* 90 (19):9031-5. doi: 10.1073/pnas.90.19.9031.

86. L. Pezzementi, et al. (2003), "Amino acids defining the acyl pocket of an invertebrate cholinesterase", *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 136 (4):813-32. doi: 10.1016/s1096-4959(03)00259-8.
87. A. Ordentlich, et al. (1998), "Functional Characteristics of the Oxyanion Hole in Human Acetylcholinesterase*", *Journal of Biological Chemistry* 273 (31):19509-17. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.273.31.19509>.
88. Y. Zhou, et al. (2010), "Catalytic reaction mechanism of acetylcholinesterase determined by Born-Oppenheimer ab initio QM/MM molecular dynamics simulations", *J Phys Chem B* 114 (26):8817-25. doi: 10.1021/jp104258d.
89. M. B. Colovic, et al. (2013), "Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology", *Curr Neuropsychopharmacol* 11 (3):315-35. doi: 10.2174/1570159X11311030006.
90. K. R. Valasani, et al. (2013), "Acetylcholinesterase inhibitors: structure based design, synthesis, pharmacophore modeling, and virtual screening", *J Chem Inf Model* 53 (8):2033-46. doi: 10.1021/ci400196z.
91. P. Suwanhom, et al. (2021), "Synthesis, Biological Evaluation, and In Silico Studies of New Acetylcholinesterase Inhibitors Based on Quinoxaline Scaffold", *Molecules* 26 (16). doi: 10.3390/molecules26164895.
92. N. M. Al-Rifai, et al. (2023), "Synthesis, biological evaluation, and computational studies of N-benzyl pyridinium–curcumin derivatives as potent AChE inhibitors with antioxidant activity", *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 38 (1):2281264. doi: 10.1080/14756366.2023.2281264.
93. D.-Y. Peng, et al. (2012), "Design, synthesis, and bioevaluation of benzamides: Novel acetylcholinesterase inhibitors with multi-functions on butylcholinesterase, A β aggregation, and β -secretase", *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 20:6739-50. doi: 10.1016/j.bmc.2012.09.016.
94. P. Muñoz-Ruiz, et al. (2005), "Design, synthesis, and biological evaluation of dual binding site acetylcholinesterase inhibitors: new disease-modifying agents for Alzheimer's disease", *J Med Chem* 48 (23):7223-33. doi: 10.1021/jm0503289.
95. H. B. Jonassen, et al. (1970), "Platinum-and palladium-tetrazole complexes", *Inorganic Chemistry* 9 (12):2678-81.
96. Y. Yuan, et al. (2024), "Tetrazoles: A multi-potent motif in drug design", *European Journal of Medicinal Chemistry* 279:116870. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116870>.
97. C. G. Neochoritis, et al. (2019), "Tetrazoles via Multicomponent Reactions", *Chem Rev* 119 (3):1970-2042. doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00564.
98. S. Rivera-Marrero, et al. (2020), "A new naphthalene derivative with anti-amyloidogenic activity as potential therapeutic agent for Alzheimer's disease", *Bioorg Med Chem* 28 (20):115700. doi: 10.1016/j.bmc.2020.115700.
99. M. Abdullaha, et al. (2023), "Methoxy-naphthyl-Linked N-Benzyl Pyridinium Styryls as Dual Cholinesterase Inhibitors: Design, Synthesis, Biological Evaluation, and Structure-Activity Relationship", *ACS Omega* 8 (20):17591-608. doi: 10.1021/acsomega.2c08167.
100. K. B. Alapati, et al. (2024), "Synthesis and biological evaluation of amide derivatives of isoxazole-imidazo[2,1-b]thiazole as anticancer agents", *Results in Chemistry* 10:101700. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101700>.

101. T. Zhou, et al. (2010), "Design, synthesis and biological evaluation of L-dopa amide derivatives as potential prodrugs for the treatment of Parkinson's disease", *Eur J Med Chem* 45 (9):4035-42. doi: 10.1016/j.ejmech.2010.05.062.
102. P. Chen, et al. (2023), "Design, synthesis, and bioactivity evaluation of novel amide/sulfonamide derivatives as potential anti-inflammatory agents against acute lung injury and ulcerative colitis", *European Journal of Medicinal Chemistry* 259:115706. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115706>.
103. Y. Guo, et al. (2020), "Design, Synthesis, and Evaluation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Dual-Target Inhibitors against Alzheimer's Diseases", *Molecules* 25 (3). doi: 10.3390/molecules25030489.
104. B. Dogga, et al. (2022), "Design, synthesis and SAR studies of novel tacrine derivatives as potent cholinesterase inhibitors", *European Journal of Medicinal Chemistry Reports* 6:100094. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100094>.
105. J. Silver (2020), "Let Us Teach Proper Thin Layer Chromatography Technique!", *Journal of Chemical Education* 97 (12):4217-19. doi: 10.1021/acs.jchemed.0c00437.
106. B. Y. Tể (2017), "Dược điển Việt Nam", Hà Nội: Nhà xuất bản Y học.
107. M. V. S. Varma, et al. (2006), "Functional role of P-glycoprotein in limiting peroral drug absorption: optimizing drug delivery", *Current Opinion in Chemical Biology* 10 (4):367-73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.06.015>.
108. A. Daina and V. Zoete (2016), "A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules", *ChemMedChem* 11 (11):1117-21. doi: <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>.

PHỤ LỤC

1. Sản phẩm đào tạo

Hướng dẫn 02 SV hoàn thành Khóa luận tốt nghiệp ngành Dược (Có QĐ kèm theo)

2. Sản phẩm khoa học (02 bài báo Tạp chí):

2.1. Nguyen Viet Hung, Vu Minh Huy, Pham Thi Minh Ngoc, Tiep K. Nguyen, Phan Thi Phuong Dung, Son Tung Ngo, Le Minh Dong, & Phuong-Thao Tran. (2025). Synthesis and evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory effects of some new pentanamide derivatives bearing a Naphthalen-2-yl Scaffold. *Tạp Chí Nghiên cứu Dược Và Thông Tin Thuốc*, 24. <https://doi.org/10.59882/1859-364X/289>.

2.2. Nguyen Viet Hung, Nguyen Anh Chi, Hoang Tran, Tiep K. Nguyen, Van-Hai Hoang, Tran Thi Thu Hien, Phuong-Thao Tran. Novel Naphthalene-2-yl Butanamide Derivatives: Synthesis and Evaluation of Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. *Tạp chí Khoa học, Công nghệ và Kỹ thuật Việt Nam*, Chấp nhận đăng tháng 8/2025.

25-Aug-2025

Dear Dr. Tran:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Novel Naphthalene-2-yl Butanamide Derivatives: Synthesis and Evaluation of Acetylcholinesterase Inhibitory Activity" in its current form for publication in the Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Nguyen Thi Huong Giang
Editor-in-Chief, Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering
giangbtv@mst.gov.vn

THUYẾT MINH ĐỀ TÀI/NHIỆM VỤ
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP CƠ SỞ NĂM 2025

1. TÊN ĐỀ TÀI/NHIỆM VỤ: “Tổng hợp một số dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl) và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase định hướng điều trị bệnh Alzheimer”		2. MÃ SỐ: T25-16		
3. LĨNH VỰC NGHIÊN CỨU Khoa học Tự nhiên ☐ Khoa học Kỹ thuật và Công nghệ ☐ Khoa học Y, dược ☒ Khoa học Nông nghiệp ☐ Khoa học Xã hội ☐ Khoa học Nhân văn ☐		4. LOẠI HÌNH NGHIÊN CỨU Cơ bản ☒ Ứng dụng ☐ Triển khai ☐		
5. THỜI GIAN THỰC HIỆN: 12 tháng (Từ tháng 01 năm 2025 đến tháng 12 năm 2025)				
6. CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI Họ và tên: Nguyễn Viết Hùng Học vị: Thạc sĩ Chức danh khoa học: Thạc sĩ, Giảng viên chính Năm sinh: 1982 Địa chỉ cơ quan: Trường ĐH Mỏ - Địa chất, 18 Phố Viên, Đức Thắng, Bắc Từ Liêm, Hà Nội Điện thoại di động: 0983022037 Điện thoại cơ quan: 024.8383600 Fax: E-mail: nguyenviethung@humg.edu.vn				
7. NHỮNG THÀNH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU ĐỀ TÀI				
TT	Họ và tên	Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn	Nội dung nghiên cứu cụ thể được giao	Chữ ký
1	ThS. Nguyễn Viết Hùng	Bộ môn Hóa học, Khoa KHCB, Trường Đại học Mỏ - Địa chất	Thực hiện các nội dung 1, 2, 3, 4.	
2	PGS.TS. Trần Phương Thảo	Bộ môn Hoá dược, Khoa Công nghệ Hoá dược, Trường Đại học Dược Hà Nội	Thực hiện các nội dung 1, 2, 3, 4.	
3	TS. Hoàng Văn Hải	Khoa Dược, Trường Đại học Phenikaa	Thực hiện các nội dung 2, 3, 4.	
4	TS. Lê Thị Phương Thảo	Bộ môn Hóa học, Khoa KHCB, Trường Đại học Mỏ - Địa chất	Thực hiện các nội dung 1, 2.	
5	TS. Lê Thị Vinh	Bộ môn Hóa học, Khoa KHCB, Trường Đại học Mỏ - Địa chất	Thực hiện các nội dung 1, 4.	
8. ĐƠN VỊ PHỐI HỢP CHÍNH				
Tên đơn vị trong và ngoài nước		Nội dung phối hợp nghiên cứu		Họ và tên người đại diện đơn vị
Bộ môn Hoá Dược, Khoa Công nghệ Hoá dược, Trường Đại học Dược Hà Nội.		Tổng hợp, khẳng định cấu trúc và đánh giá tác dụng.		PGS.TS. Trần Phương Thảo
9. TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU THUỘC LĨNH VỰC CỦA ĐỀ TÀI Ở TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC				
9.1. Trong nước Acetylcholinesterase (AChE) là một enzym có chức năng thủy phân chất dẫn truyền thần kinh acetylcholin (ACh) dẫn đến sự thiếu hụt ACh và là một trong những nguyên nhân gây ra bệnh Alzheimer (AD). Vì vậy, AChE trở thành mục tiêu phân tử quan trọng và tiềm năng trong việc nghiên cứu và phát triển thuốc mới định hướng điều trị AD. AChE đã và đang dành được sự quan tâm của các nhà khoa học trong nước.				

Các nghiên cứu dựa trên mục tiêu phân tử AChE của các nhà khoa học ở Việt Nam chủ yếu tập trung vào bào chế cao chiết hoặc phân lập và tinh chế hoạt chất từ thực vật. Mặc dù có thể tìm được chất tiềm năng xong quá trình này gặp nhiều thách thức như: khó khăn trong việc sản xuất thuốc do nguồn dược liệu ít phổ biến cũng như quy trình tách, phân lập khá phức tạp [1-5], hiệu suất tách chiết cũng như độ tinh khiết của sản phẩm không cao. Chỉ một số ít các nghiên cứu theo hướng tổng hợp hoặc bán tổng hợp [6, 7] hoặc các tiếp cận khác như mô phỏng docking phân tử mới chỉ đề so sánh tương tác thuốc với enzym AChE [8]. Đặc biệt việc tổng hợp các dẫn chất có cấu trúc thơm mang khung tetrazolacetamid có khả năng tác động ức chế AChE lần đầu tiên được tiếp cận ở Việt Nam bởi chính nhóm nghiên cứu của chúng tôi.

Chủ nhiệm đề tài cùng nhóm nghiên cứu cũng đã đạt được những kết quả nhất định trong việc nghiên cứu, tổng hợp các dẫn chất ức chế AChE từ nguồn nguyên liệu sẵn có cũng như tiếp tục tìm kiếm những chất tiềm năng phát triển thành thuốc điều trị AD.

9.2. Ngoài nước

AD được Alois mô tả đầu tiên năm 1906 [9], những nghiên cứu bệnh lý thần kinh của AD và phát hiện triệu chứng lâm sàng của AD cũng như các chứng bệnh sa sút trí tuệ khác được tiếp tục phát triển [10, 11]. Hiện nay, các lựa chọn chính để điều trị Alzheimer là thuốc ức chế acetylcholinesterase (AChE) như donepezil, rivastigmin, galantamin, tacrin [12]. Tuy nhiên cả bốn chất đều có tác dụng phụ đáng kể [13]. Nghiên cứu để tìm ra các chất ức chế AChE mới vẫn là một chiến lược có tính cấp thiết. Do vậy, nghiên cứu và phát triển thuốc điều trị AD vẫn được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm, đặc biệt là mục tiêu phân tử AChE.

Năm 2022, Xinnan Li cùng cộng sự công bố 35 dẫn chất mới tổng hợp theo hướng ức chế AChE với cấu trúc đi từ chất dẫn đường donepezil. Nhóm nghiên cứu đã tiến hành thay thế dị vòng idanon của donepezil thành dị vòng isochromanon, đồng thời thay thế vòng piperidin thành dị vòng thơm pyridin có gắn thêm nhóm acetyl hoặc aminocarbonyl với mục đích làm tăng khả năng tương tác của chất ức chế với AChE. Kết quả thu được 14 dẫn chất có khả năng ức chế AChE tốt hơn chất chứng dương là donepezil ($IC_{50} = 12,06 \pm 0,01 \mu M$), trong đó dẫn chất có khả năng ức chế AChE tốt nhất với $IC_{50} = 1,61 \pm 0,02 \mu M$ [14].

Một nghiên cứu khác vào năm 2020 của Yao Guo và cộng sự cho thấy dẫn chất có hoạt tính ức chế AChE tốt nhất ($IC_{50} = 0,39 \pm 0,04 \mu M$) [15].

Nhóm tác giả Ralph C Gomes [16] và cộng sự đã tổng hợp 11 dẫn chất qua ba bước, các chất sau khi tổng hợp được thử hoạt tính sinh học *in vitro*, kết quả có 8 dẫn chất có khả năng ức chế AChE với giá trị IC_{50} 0,12 đến 12,67 μM .

Không những tổng hợp hay bán tổng hợp mà việc phân lập, tinh chế các chất có khả năng ức chế AChE từ thực vật cũng vẫn được các nhà khoa học chú trọng tới. Yan-Jun Sun và nhóm cộng sự [17] đã phân lập được năm loại biflavonoid mới từ rễ và thân rễ của *Diphylllea sinensis*. Cấu trúc của chúng được khẳng định qua các phổ UV, IR, HR-ESI-MS và 2D NMR. Cấu hình tuyệt đối của chúng được xác định bằng phổ ECD. Kết quả có 4 hợp chất ức chế AChE mạnh với giá trị IC_{50} trong khoảng 1,62 - 5,15 μM .

Mười một alkaloid mới cùng 15 loại alkaloid đã biết được nhóm của Guanqun Zhan và cộng sự phân lập từ cây *Zephyranthes carinata* [18]. Cấu trúc của các alkaloid mới được khẳng định qua dữ liệu phổ mở rộng (^{13}C -NMR, ^1H -NMR, IR, DEPT 135, HSQC, HMBC, ^1H - ^1H -COSY, NOESY, (+)-HR-ESI-MS, UV, CD, IR). Kết quả thử hoạt tính sinh học có 9/11 mới chất thể hiện khả năng ức chế AChE với giá trị IC_{50} khoảng từ 1,21 – 184,05 μM .

Bốn loại flavonoid được phân lập từ rễ của *Pinus Krempfii* Lecomte trong một nghiên cứu mới [19] được công bố. Qua đánh giá khả năng ức chế AChE *in vitro* và *in silico*, hợp chất Tectochrysin được phát hiện có tác dụng ức chế AChE với giá trị IC_{50} là $33,69 \pm 2,80 \mu M$.

Tetrazol là hợp chất dị vòng 5 cạnh chứa 4 dị tố nitrogen được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học khác nhau như hạ huyết áp, kháng khuẩn, kháng virus, chống dị ứng [20]. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã tổng hợp các dẫn chất và đồng phân sinh học của tetrazol, đồng thời đánh giá hoạt tính ức chế AChE góp phần khẳng định khả năng ứng dụng các dẫn chất này trong điều trị AD [21, 22].

Trên cơ sở phân tích kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học trong nước và trên thế giới, chúng tôi nhận thấy AChE là một mục tiêu phân tử đầy hứa hẹn trong việc tìm kiếm chất tiềm năng điều trị bệnh Alzheimer. Việc thiết

kế, tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế AChE của các dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl) là một hướng nghiên cứu mang tính mới và có ý nghĩa khoa học cũng như ý nghĩa thực tiễn.

Tài liệu tham khảo

1. Đặng Kim Thu, Hoàng Thị Thúy, Bùi Thị Thanh Duyên, Lục Thị Thanh Hằng, *et al*, *Nghiên cứu tác dụng ức chế Enzym Acetylcholinesterase và quét gốc tự do DPPH của cây Bơ (Persea Americana Mill.)*, VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, Vol. 35, No.1, 2019, 19-30.
2. Phạm Thị Tuyết Lan, Phạm Quốc Tuấn, Nguyễn Quốc Tuấn, Hà Quang Lợi, *et al*, *Tác dụng ức chế Acetylcholinesterase của Alkaloid phân lập từ củ cây bình vôi (Stephania sinica Diels)*, Tạp chí Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Hùng Vương, 14, 1, 2019. 60–67.
3. Nguyen Thi Thu Hoai, Nguyen Thuy Duong, Bui Thanh Tung, *et al*, *Comparing Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibition Effect of Total Extract and Fractions with Alcaloid-Rich Extract of Huperzia Serrata (Thunb.) Trevis*, VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, 2020, 36.1. doi: <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4214>.
4. Bùi Thanh Tùng, Phan Kế Sơn, Đặng Kim Thu, Nguyễn Thanh Hải, *et al*, *Đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase in vitro của các phân đoạn dịch chiết Hoàng liên ô rô*, Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa Y Dược, Vol 33, No.2, 2017, 21-27.
5. Nguyễn Thảo Nhi, Trần Như Ngô, Phan Nguyễn Thành Tâm, Dương Phan Nguyên Đức, *et al*, *Khảo sát tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase của một số loài dương xỉ và bài thuốc y học cổ truyền*, Tạp chí Y học Việt Nam, 2024, 539.2.
6. Trần Thế Huân, Trần Thành Đạo, *Bán tổng hợp và đánh giá ức chế enzym Acetylcholinesterase của một số dẫn chất hesperetin*, Tạp chí Y Dược học – Trường Đại học Y Dược Huế, Vol 8, No.4, 2018, 7-12.
7. Trần Thế Huân, Đoàn Đình Ngọc, Trần Thái Sơn, *Bán tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase của một số dẫn chất của baicalein*, Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học, Vol 29, No.1C, 2020, 43-49.
8. Nguyễn Hữu Toàn, Nguyễn Thanh Si, Huỳnh Như Thảo, Huỳnh Duy Thiện, *et al*, *Ứng dụng mô hình mô phỏng docking để so sánh tương tác giữa các thuốc kháng cholinergic với enzyme acetylcholinesterase*, Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 56 (CĐ Tự nhiên), 2020, 26-32. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.108>
9. H. Hippus, G. Neundörfer. The discovery of Alzheimer's disease. Dialogues Clin Neurosci, Vol. 5, No. 1, 2003, pp. 101-108. <https://10.31887/DCNS.2003.5.1/hhippus>.
10. Lopez, Jose A Soria, González, Hector M, and Léger, Gabriel C, *Alzheimer's disease*, Handbook of clinical neurology. 167, 2019, pp. 231-255.
11. Martins, M Margarida, Branco, Paula S, and Ferreira, Luísa M, *Enhancing the Therapeutic Effect in Alzheimer's Disease Drugs: The role of Polypharmacology and Cholinesterase inhibitors*, ChemistrySelect. 8(10), 2023, p. e202300461.
12. Z. Sang, K. Wang, J. Dong, L. Tang, *Alzheimer's disease: Updated multi-targets therapeutics are in clinical and in progress*. Eur J Med Chem, Vol. 238, No., 2022, pp. 114464. <https://10.1016/j.ejmech.2022.114464>.
13. L. Hoffman, J. Bloemer, *Side effects of drugs used in the treatment of Alzheimer's disease*, Side effects of drugs annual. 43: Elsevier; 2021. p. 71-77.
14. Li, Xinnan, *et al*, *Novel and Potent Acetylcholinesterase Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease from Natural (±)-7, 8-Dihydroxy-3-methyl-isochroman-4-one*. 27(10), 2022, p. 3090.
15. Guo, Y.; Yang, H.; Huang, Z.; Tian, S.; Li, Q.; Du, C.; Chen, T.; Liu, Y.; Sun, H.; Liu, Z, *Design, synthesis, and evaluation of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase dual-target inhibitors against Alzheimer's Diseases*, Molecules 2020. 25(3), p. 489. <https://doi.org/10.3390/molecules25030489>
16. Gomes RC, Sakata RP, Almeida WP, Coelho F. Spirocyclohexadienones as an Uncommon Scaffold for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. Med Chem. 2019;15(4):373-382. doi: 10.2174/1573406414666181109114214. PMID: 30411689.
17. Sun YJ, Zhao C, Wang HJ, Li M, Chen H, Feng WS, *Five new biflavonoids with acetylcholinesterase inhibitory activity from Diphyllia sinensis*, Fitoterapia, 2024 Jan;172:105721. doi: 10.1016/j.fitote.2023.105721. Epub 2023 Nov 4. PMID: 37931718.

18. Zhan G, Zhou J, Liu J, Huang J, Zhang H, Liu R, Yao G, *Acetylcholinesterase Inhibitory Alkaloids from the Whole Plants of Zephyranthes carinata*, J Nat Prod, 2017, Sep 22;80(9):2462-2471. doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00301. Epub 2017 Sep 12. PMID: 28898076.
19. Cuong NM, Khanh PN, Nhung LTH, Ha NX, Huong TT, Bauerova K, Kim YH, Tung DD, Thuy TT, Anh NTH, *Acetylcholinesterase inhibitory activities of some flavonoids from the root bark of Pinus krempfii Lecomte: in vitro and in silico study*, J Biomol Struct Dyn. 2024 Jun;42(9):4888-4901. doi: 10.1080/07391102.2023.2223664. Epub 2023 Jun 16. PMID: 37325850.
20. Neochoritis C.G., Zhao T., Dömling A., *Tetrazoles via Multicomponent Reactions*, Chemical reviews, 2019, 119(3), pp. 1970-2042.
21. Yurttaş L., Kaplancıklı Z.A., Temel H.E., Çiftçi G.A., *Novel tetrazole derivatives: synthesis, anticholinesterase activity and cytotoxicity evaluation*, Turkish Journal of Biochemistry, 2017, 42(2), pp. 169-180.
22. Abu Mohsen U., Yurttaş L., Özdemir A., Turan-Zitouni G., et al., *Biological evaluation of some tetrazole derivatives as cholinesterase inhibitors*, Clinical and Experimental Health Sciences, 2014, 4(1), pp. 1-4.

9.3. Danh mục các công trình đã công bố thuộc lĩnh vực của đề tài của chủ nhiệm và những thành viên tham gia nghiên cứu

a) Của chủ nhiệm đề tài

1. Nhung, B., Long, L., **Hung, N.**, Tiep, N., Hoang, D., Hoang, D., & Thao, T., *Structures and Acetylcholinesterase Inhibition Abilities of some Derivatives Bearing (Pyridin-2-yl)tetrazole Scaffold*, VNU Journal Of Science: Natural Sciences And Technology, 2024, 40(2). doi:10.25073/2588-1140/vnunst.5641
2. **Nguyen Viet Hung**, Le, T. B. L., Dang, M. D., Vu Ngoc Hai, L., Nguyen, T. K., Hoang, V.-H., Do, Q., Do Thi Mai, D., Ngo, S. T., & Tran, P.-T, *Synthesis and evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory effect of novel heteroaromatic derivatives bearing a 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamide scaffold*, Journal of Pharmaceutical Research and Drug Information, (2024). <https://doi.org/10.59882/1859-364X/200>.
3. **Nguyễn Viết Hùng**, Trần Phương Thảo, Hoàng Văn Hải, Trần Đình Hoàng, et al, *Tổng hợp đánh giá đặc tính giống thuốc của một số dẫn chất mang khung 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamid*, Hội nghị toàn quốc Khoa học trái đất và Tài nguyên với phát triển bền vững (ERSD 2024). Chấp nhận đăng ngày 25/9.

b) Của các thành viên tham gia nghiên cứu

4. **Tran PT**, Kim HS, Ann J, Kim SE, Kim C, Hong M, **Hoang VH**, Ngo VT, Hong S, Cui M, Choi S, Blumberg PM, Frank-Foltyn R, Bahrenberg G, Stockhausen H, Christoph T, Lee J, *α -Substituted 2-(3-fluoro-4-methylsulfonamidophenyl)acetamides as potent TRPV1 antagonists*, Bioorg Med Chem Lett. 2015 Jun 1;25(11):2326-30. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.04.024. Epub 2015 Apr 12. PMID: 25937016; PMCID: PMC6957262.
5. Thai QM, Pham TNH, Hiep DM, Pham MQ, **Tran PT**, Nguyen TH, Ngo ST, *Searching for AChE inhibitors from natural compounds by using machine learning and atomistic simulations*, J Mol Graph Model. 2022 Sep;115:108230. doi: 10.1016/j.jmgm.2022.108230. Epub 2022 May 27. PMID: 35661591.
6. Thuy Lu Vo T, **Hoang VH**, Thi Phuong Dung P, Anh Chi N, Minh Huy V, Tung Ngo S, Thi Kim Nguyen Y, Thi Thu Hien T, Hoang TH, Thi Do Y, Hae Seo J, **Tran PT**, *Design, synthesis and biological evaluation of novel quinazoline derivatives as immune checkpoint inhibitors*, Bioorg Med Chem Lett. 2024 Aug 1;108:129796. doi: 10.1016/j.bmcl.2024.129796. Epub 2024 May 15. PMID: 38754563.
7. Ngo VTH, **Hoang VH**, **Tran PT**, Ann J, Cui M, Park G, Choi S, Lee J, Kim H, Ha HJ, Choi K, Kim YH, Lee J, *Potent human glutaminyl cyclase inhibitors as potential anti-Alzheimer's agents: Structure-activity relationship study of Arg-mimetic region*, Bioorg Med Chem. 2018 Mar 1;26(5):1035-1049. doi: 10.1016/j.bmc.2018.01.015. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29398442.
8. **Hoang VH**, Ngo VTH, Cui M, Manh NV, **Tran PT**, Ann J, Ha HJ, Kim H, Choi K, Kim YH, Chang H, Macalino SJY, Lee J, Choi S, Lee J, *Discovery of Conformationally Restricted Human Glutaminyl Cyclase*

Inhibitors as Potent Anti-Alzheimer's Agents by Structure-Based Design, J Med Chem. 2019 Sep 12;62(17):8011-8027. doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b00751. Epub 2019 Aug 27. PMID: 31411468.

9. Vo, Tam & **Hoang, Van-Hai** & Dung, Phan & Chi, Nguyen & Huy, Vu & Ngo, Tung & Hien, Tran & Hoang, Tham & Do, Yen & Seo, Ji & **Phuong-Thao, Tran**, *Design, synthesis and biological evaluation of novel quinazoline derivatives as immune checkpoint inhibitors*, Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2024, 108. 129796. 10.1016/j.bmcl.2024.129796.
10. Hoang, Ngo & Vo, Tam & **Hoang, Van-Hai** & Nguyen, Tiep & Seo, Ji & **Phuong-Thao, Tran**, *Design, synthesis, and evaluation of indoleamin-2,3-dioxygenase 1 inhibition activity of novel 5/6-amino indazole derivatives with amide template*. Pharmaceutical Sciences Asia, 2023, 50. 147-156. 10.29090/psa.2023.02.22.309.
11. Thu Huong T, Thi Phuong H, **Thi Vinh L**, Thi Khuyen H, Thi Thao D, Dac Tuyen L, Kim Anh T, Quoc Minh L, *Upconversion NaYF₄:Yb³⁺/Er³⁺@silica-TPGS Bio-Nano Complexes: Synthesis, Characterization, and In Vitro Tests for Labeling Cancer Cells*, J Phys Chem B, 202, Sep 2;125(34):9768-9775. doi: 10.1021/acs.jpcc.1c05472. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34415749.
12. Huong TT, **Vinh LT**, Khuyen HT, Tuyen LD, Van ND, Thao DT, Phuong HT, *Synthesis and In Vitro Testing of YVO₄:Eu³⁺@silica-NH-GDA-IgG Bio-Nano Complexes for Labelling MCF-7 Breast Cancer Cells*, Molecules. 2022 Dec 29;28(1):280. doi: 10.3390/molecules28010280. PMID: 36615474; PMCID: PMC9822125.

10. TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Alzheimer (AD) là căn bệnh thoái hoá thần kinh không hồi phục gây mất trí nhớ, một trong 10 nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn cầu tuy nhiên cho đến nay chưa có phương pháp phát hiện sớm điều trị hiệu quả. Trong khi đó tỉ lệ già hoá dân số ngày một tăng, AD trở thành thảm hoạ không chỉ do tỉ lệ mắc bệnh ở nhóm tuổi này mà còn do bệnh gây ảnh hưởng lớn và lâu dài về mọi mặt cho bệnh nhân, gia đình, người chăm sóc và xã hội.

Có nhiều giả thuyết về bệnh được đưa ra như giả thuyết mảng bám amyloid, giả thuyết cholinergic, giả thuyết tau, Giả thuyết kênh kim loại, giả thuyết lysosome Trong đó giả thuyết cholinergic là một trong những giả thuyết lâu đời nhất và các thuốc được FDA Hoa Kỳ cấp phép điều trị AD như donepezil, rivastigmin, galantamin đều dựa trên giả thuyết này. Theo giả thuyết cholinergic, một trong những nguyên nhân của bệnh có liên quan đến sự thiếu hụt chất dẫn truyền thần kinh acetylcholin (ACh), do chất này bị thủy phân và bất hoạt bởi AChE, một enzym được tìm thấy trong các khớp dây thần kinh.

ACh được tổng hợp ở trong các noron tiền synap từ cholin và acetyl-coenzym A (acetyl-CoA) bởi enzym cholin acetyltransferase (ChAT), sau đó ACh được chuyển vào trong bọc synap qua kênh vận chuyển ACh. Quá trình khử cực ở tiền synap thúc đẩy quá trình giải phóng ACh từ bọc synap vào khe synap. Tại đây, ACh có thể gắn với các thụ thể nicotinic hoặc muscarinic dẫn đến phản ứng kích thích hay ức chế dẫn truyền thần kinh. Bên cạnh đó, ACh có thể nhanh chóng bị thủy phân và bất hoạt bởi enzym AChE tạo acetat và cholin. Cuối cùng, choline được thu hồi trở lại tiền synap thông qua kênh vận chuyển cholin và tiếp tục tái tổng hợp ACh.

Trung tâm hoạt động của enzym AChE rộng khoảng 5 Å và sâu 20 Å tính từ bề mặt của enzym. Cấu trúc này chia làm ba thành phần quan trọng: vùng trung tâm hoạt động (CAS) nằm ở “đáy” kênh enzym, vùng lòng kênh và vùng ngoại vi hay vùng trung tâm dị lập thể (PAS) nằm ở “miệng” kênh enzym. Như vậy, cấu trúc quan trọng của một chất ức chế AChE cần có điều kiện hoặc có khả năng liên kết với vùng CAS hoặc vùng PAS hoặc là cầu nối liên kết với độ dài và cấu trúc thích hợp nối giữa hai phần cấu trúc tương tác lần lượt với vùng CAS và vùng PAS. Các chất ức chế AChE được FDA phê duyệt đều có các liên kết với các amino acid tại vùng PAS và/hoặc CAS của AChE.

Trên cơ sở phân tích tình hình nghiên cứu trong nước và thế giới, nhóm nghiên cứu nhận thấy rằng bệnh AD mặc dù là một căn bệnh ngày càng phổ biến tuy nhiên hiện nay vẫn chưa có phương pháp phát hiện sớm cũng như chưa có loại thuốc nào điều trị hiệu quả. Các loại thuốc được phê duyệt điều trị AD vẫn chưa triệt để cũng như có tác dụng phụ đáng kể. Cơ chế bệnh có liên quan mật thiết đến sự thủy phân chất dẫn truyền thần kinh ACh của AChE. Sự dư thừa AChE gây ra thiếu hụt ACh. Nghiên cứu để tìm ra các chất ức chế AChE mới vẫn là một chiến lược có

tính cấp thiết. Do vậy, AChE trở thành mục tiêu phân tử quan trọng và tiềm năng trong nghiên cứu và phát triển thuốc mới định hướng điều trị bệnh AD. Trong những năm gần đây, chúng tôi luôn có công bố trên những tạp chí uy tín trong nước và quốc tế về những vấn đề liên quan đến việc tổng hợp các dẫn chất có tác dụng ức chế AChE hướng điều trị bệnh Alzheimer. Vì vậy, chúng tôi tin tưởng đề tài sẽ đạt được những kết quả có ý nghĩa khoa học cao và sẽ được công bố trên những tạp chí uy tín.

Trên cơ sở đó, chúng tôi đề xuất đề tài: “Tổng hợp một số dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl) và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase định hướng điều trị bệnh Alzheimer”

11. MỤC TIÊU ĐỀ TÀI

Tổng hợp được 5 đến 7 dẫn chất thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)acetamid có khả năng ức chế enzym acetylcholinesterase.

12. ĐỐI TƯỢNG, PHẠM VI NGHIÊN CỨU

12.1. Đối tượng nghiên cứu

- Khung chất dẫn thơm 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)amid.
- Enzym acetylcholinesterase.

12.2. Phạm vi nghiên cứu

- Nghiên cứu cấu trúc và khả năng ức chế enzym acetylcholinesterase.
- Phương pháp tổng hợp dẫn chất amid thơm mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl) trong phòng thí nghiệm.
- Đánh giá khả năng ức chế *in vitro* enzym AChE.

13. CÁCH TIẾP CẬN, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

13.1. Cách tiếp cận

- Về mặt lý thuyết:

Thông qua tìm hiểu tài liệu về các khung cấu trúc có khả năng ức chế AChE các dẫn chất chứa vòng naphtalen, vòng tetrazol, từ đó đề xuất cụ thể khung cấu trúc thơm 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)amid mới.

- Về mặt thực nghiệm:

Dựa trên những kinh nghiệm về phản ứng tổng hợp các khung cấu trúc tetrazol-2-ylamid và khả năng ức chế AChE của các khung cấu trúc này.

13.2. Phương pháp nghiên cứu

Sử dụng phương pháp tổng hợp hoá học, các phương pháp dự đoán tính chất “giống thuốc”, phương pháp dự đoán thông số dược động học và các phương pháp phổ (IR, MS, NMR).

14. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU VÀ TIẾN ĐỘ THỰC HIỆN

14.1. Nội dung nghiên cứu

- Nội dung 1: Thu thập tài liệu nghiên cứu nội dung lý thuyết liên quan đến đề tài.
 - + Tổng quan tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước về lĩnh vực nghiên cứu.
 - + Đề xuất cấu trúc các dẫn chất mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)amid. Sử dụng các phương pháp dự đoán tính chất “giống thuốc”, phương pháp dự đoán thông số dược động học và độc tính để đánh giá khả năng giống thuốc của các dẫn chất.
 - Nội dung 2: Tổng hợp hoá học hoá học
 - + Tổng hợp 5 đến 7 dẫn chất thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)amid.
 - Nội dung 3: Đánh giá cấu trúc các chất bằng các phương pháp phổ và khả năng ức chế AChE
- Kết quả của nội dung này có thể đăng 02 bài báo trên tạp chí chuyên ngành trong nước.
- Nội dung 4: Tổng hợp kết quả và viết báo cáo tổng kết.

14.2. Tiến độ thực hiện

STT	Các nội dung, công việc thực hiện	Sản phẩm	Thời gian (bắt đầu-kết thúc)	Người thực hiện
1	Thu thập tài liệu nghiên cứu nội dung lý thuyết liên quan đến đề tài.	- Báo cáo tổng quan. - Cấu trúc, đặc tính giống thuốc và các thông số	01/2025-02/2025	Nguyễn Viết Hùng Trần Phương Thảo Lê Thị Phương Thảo

		được động học của các dẫn chất.		Lê Thị Vinh
2	Tổng hợp hoá học hoá học	- Báo cáo kết quả tổng hợp. - Kết quả về độ tinh khiết.	02/2025- 04/2025	Nguyễn Viết Hùng Trần Phương Thảo Hoàng Văn Hải Lê Thị Phương Thảo
3	Đánh giá cấu trúc các chất bằng các phương pháp phổ và khả năng ức chế AChE	- Kết quả đo phổ và biện giải phổ của các dẫn chất đã tổng hợp. - Kết quả dự đoán tính chất “giống thuốc” và kết quả ức chế AChE của các chất đã tổng hợp được. - 02 bài báo. - 01 SV bảo vệ Khoa luận tốt nghiệp.	04/2025- 11/2025	Nguyễn Viết Hùng Trần Phương Thảo Hoàng Văn Hải
4	Tổng hợp kết quả và viết báo cáo tổng kết.	- 01 báo cáo tổng kết. - 01 quy trình tổng hợp. - Báo cáo Hội đồng khoa học.	11/2025-12/2025	Nguyễn Viết Hùng Trần Phương Thảo Hoàng Văn Hải Lê Thị Vinh

15. SẢN PHẨM

Stt	Tên sản phẩm	Số lượng	Yêu cầu chất lượng sản phẩm
I	Sản phẩm khoa học (Các công trình khoa học sẽ được công bố: sách, bài báo khoa học...)		
1.1	Bài báo trên Tạp chí trong nước	02	Đăng trên tạp chí chuyên ngành trong nước được tính điểm của HĐGSNN (được chấp nhận đăng)
II	Sản phẩm đào tạo (Cử nhân, Thạc sỹ, Tiến sỹ,...)		
2.1	Đào tạo cử nhân dược hoặc hoá dược	01	Bảo vệ thành công Khoa luận tốt nghiệp
III	Sản phẩm ứng dụng		
3.1	Quy trình tổng hợp các dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphtalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl).	01	Quy trình đầy đủ, chi tiết các bước tiến hành, thông số điều kiện phản ứng, các bước chiết tách chất.

16. PHƯƠNG THỨC CHUYÊN GIAO KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ ĐỊA CHỈ ỨNG DỤNG

16.1. Phương thức chuyên giao

- Kết quả nghiên cứu của đề tài được giao nộp trực tiếp cho cơ quan chủ trì đề tài (Trường Đại học Mở - Địa chất)

16.2. Địa chỉ ứng dụng

- Bộ môn Hoá, Khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Mở - Địa chất sử dụng kết quả của đề tài làm tài liệu tham khảo cho các nghiên cứu chuyên sâu về Hoá hữu cơ, Hoá dược, phân tích, kiểm nghiệm, ...

- Bộ môn Hoá dược, Khoa Công nghệ Hoá dược, Trường Đại học Dược Hà Nội sử dụng kết quả của đề tài làm tài liệu tham khảo cho các nghiên cứu chuyên sâu về Hoá hữu cơ, Hoá dược.

17. TÁC ĐỘNG VÀ LỢI ÍCH MANG LẠI CỦA KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

17.1. Đối với lĩnh vực giáo dục và đào tạo

Kết quả nghiên cứu của đề tài có thể được dùng làm tài liệu tham khảo phục vụ giảng dạy và nghiên cứu chuyên sâu về các lĩnh vực Hoá hữu cơ, Hoá dược nói chung và Hoá hữu cơ, Hoá dược tại Trường Đại học Mở - Địa chất, trường Đại học Dược Hà Nội và trường Đại học Phenikaa.

17.2. Đối với lĩnh vực khoa học và công nghệ có liên quan

Kết quả nghiên cứu định hướng tổng hợp các dẫn chất tiềm năng ứng dụng nghiên cứu phát triển thuốc mới.

17.3. Đối với phát triển kinh tế-xã hội

Kết quả nghiên cứu hướng tới kỳ vọng tìm kiếm chất tiềm năng trong điều trị bệnh Alzheimer.

17.4. Đối với tổ chức chủ trì và các cơ sở ứng dụng kết quả nghiên cứu

- Bổ sung nguồn dữ liệu cho các giáo trình, bài giảng về Hóa hữu cơ, Hoá phân tích, Hoá dược, Hoá môi trường ...
- Là cơ sở dữ liệu cho việc xây dựng quy trình, tổng hợp thuốc.
- Góp phần nâng cao năng lực và kinh nghiệm nghiên cứu cho đội ngũ các nhà khoa học và các thành viên tham gia đề tài của trường Đại học Mở - Địa chất, trường Đại học Dược Hà Nội, trường Đại học Phenikaa.

18. ĐỊNH HƯỚNG PHÁT TRIỂN TIẾP THEO CỦA ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU

18.1. Đề xuất phát triển thành đề tài cấp cao hơn

Nội dung nghiên cứu của đề tài nằm trong định hướng của nhóm nghiên cứu nhằm triển khai đề tài cấp cao hơn (cấp Bộ năm 2026-2028) với tên dự kiến: Tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase hướng điều trị bệnh Alzheimer của một số dẫn chất mang khung tetrazolamid mới.

Kinh phí dự kiến: 800 triệu đồng.

18.2. Khả năng thương mại hóa sản phẩm

18.3. Khả năng đăng ký bản quyền sở hữu trí tuệ

19. KINH PHÍ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI VÀ NGUỒN KINH PHÍ

Kinh phí thực hiện đề tài: 30.000.000 đồng

Trong đó:

Từ nguồn thu của Nhà trường: 30.000.000 đồng

Các nguồn khác: 0 đồng

Stt	Khoản chi, nội dung chi	Thời gian thực hiện	Tổng kinh phí	Nguồn kinh phí		Ghi chú
				Kinh phí từ nguồn thu của Nhà trường	Các nguồn khác	
1	Chi tiền công lao động trực tiếp		26.352.000	26.352.000		
2	Chi mua vật tư, nguyên, nhiên, vật liệu					
3	Chi sửa chữa, mua sắm tài sản thiết bị nghiên cứu					
4	Chi hội thảo khoa học, công tác phí					
5	Chi điều tra, khảo sát thu thập số liệu					
6	Chi văn phòng phẩm, thông tin liên lạc, in ấn		148.000	148.000		
7	Chi họp hội đồng đánh giá, nghiệm thu cấp cơ sở		2.000.000	2.000.000		
8	Chi quản lí chung		1.500.000	1.500.000		
9	Chi khác					
	Tổng cộng		30.000.000	30.000.000		

Ngày ... tháng ... năm ...

Đơn vị chủ trì

Ngày 2 tháng 01 năm 2025

Chủ nhiệm đề tài

ThS Nguyễn Việt Hùng

Ngày ... tháng ... năm ...

HIỆU TRƯỞNG

Bảng kê khai sản phẩm thuộc đề tài NCKH cấp cơ sở

Tên đề tài: Tổng hợp một số dẫn chất amid thơm mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl) và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase định hướng điều trị bệnh Alzheimer
Chủ nhiệm: Nguyễn Viết Hùng
Mã số: T25-16

STT	Loại sản phẩm	Sản phẩm Đăng ký theo thuyết minh được duyệt	Số lượng sản phẩm thực tế	Số lượng sản phẩm vượt trội so với thuyết minh được duyệt	Ghi chú
I	Sản phẩm khoa học				
	Bài báo: Synthesis and evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory effects of some new pentanamide derivatives bearing a Naphthalen-2-yl Scaffold Nguyen Viet Hung, Vu Minh Huy, Pham Thi Minh Ngoc, Tiep K. Nguyen, Phan Thi Phuong Dung, Son Tung Ngo, Le Minh Dong, & Phuong-Thao Tran, (2025). Tạp Chí Nghiên cứu Dược Và Thông Tin Thuốc, 24. https://doi.org/10.59882/1859-364X/289 .	01 bài báo đăng tạp chí chuyên ngành trong nước	01 bài báo đăng tạp chí chuyên ngành trong nước		
	Bài báo: Novel Naphthalene-2-yl Butanamide Derivatives: Synthesis and Evaluation of Acetylcholinesterase Inhibitory Activity Nguyen Viet Hung, Nguyen Anh Chi, Hoang Tran, Tiep K.Nguyen, Van-Hai Hoang, Tran Thi Thu Hien, Phuong-Thao Tran, (2025). Tạp chí Khoa học, Công nghệ và Kỹ thuật Việt Nam, Chấp nhận đăng tháng 8/2025.	01 bài báo đăng tạp chí chuyên ngành trong nước	01 bài báo đăng tạp chí chuyên ngành trong nước		
II	Sản phẩm đào tạo				
	Đại học: Vũ Minh Huy K75 - Ngành Dược học QĐ 297/QĐ-DHN, 2025 Khóa luận tốt nghiệp: SYNTHESIS AND EVALUATION OF ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORY ACTIVITY OF NOVEL PENTANAMIDE DERIVATIVES BEARING A NAPHTHALENE-2-YL SCAFFOLD Người hướng dẫn 1: PGS. TS. Trần Phương Thảo, Bộ môn Hóa Dược Trường Đại học Dược Hà Nội Người hướng dẫn 2: NCS. Nguyễn Viết Hùng, Bộ môn Hóa , Khoa Khoa học cơ bản, trường Đại học Mỏ - Địa chất	01 sinh viên bảo vệ khóa luận tốt nghiệp	01 sinh viên bảo vệ khóa luận tốt nghiệp		

	Đại học: Nguyễn Anh Chi K75 - Ngành Dược học QĐ 297/QĐ-DHN, 2025 Khóa luận tốt nghiệp: SYNTHESIS AND EVALUATION OF ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORY ACTIVITY OF NOVEL BUTANAMIDE DERIVATIVES BEARING A NAPHTHALENE-2-YL SCAFFOLD Người hướng dẫn 1: PGS. TS. Trần Phương Thảo, Bộ môn Hóa Dược Trường Đại học Dược Hà Nội Người hướng dẫn 2: NCS. Nguyễn Viết Hùng, Bộ môn Hóa , Khoa Khoa học cơ bản, trường Đại học Mở - Địa chất	01 sinh viên bảo vệ khóa luận tốt nghiệp	01 sinh viên bảo vệ khóa luận tốt nghiệp	01 sinh viên bảo vệ khóa luận tốt nghiệp	
III	Sản phẩm ứng dụng				
	Mẫu, mô hình	5-7 dẫn chất amid mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)	10 dẫn chất amid mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)	3 dẫn chất amid mới mang khung 2-(5-(naphthalen-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)	
	Dây chuyền công nghệ	01 quy trình tổng hợp	01 quy trình tổng hợp		

Chủ nhiệm đề tài

ThS. Nguyễn Viết Hùng



Research article

Synthesis and evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory effects of some new pentanamide derivatives bearing a Naphthalen-2-yl Scaffold

Nguyen Viet Hung^{a,b,#}, Vu Minh Huy^{a,#}, Pham Thi Minh Ngoc^a, Tiep K. Nguyen^a, Phan Thi Phuong Dung^a, Son Tung Ngo^{c,d}, Le Minh Dong^e, Phuong-Thao Tran^{a*}

^a Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Chemistry and Technology, Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Cua Nam, Hanoi 11021, Vietnam

^b Hanoi University of Mining and Geology, 18 Vien, Bac Tu Liem, Hanoi 11910, Vietnam

^c Laboratory of Biophysics, Institute for Advanced Study in Technology, Ton Duc Thang University, Ho Chi Minh City 72915, Vietnam

^d Faculty of Pharmacy, Ton Duc Thang University, Ho Chi Minh City 72915, Vietnam

^e Military Technical Academy, 234 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi 122300, Vietnam

[#] Nguyen Viet Hung, Vu Minh Huy contributed equally to this study

* Corresponding author: thaotp@hup.edu.vn.

ARTICLE INFO

Article history

Received 11 March 2025

Revised 13 June 2025

Accepted 02 July 2025

Keywords

Alzheimer

Naphthalene

Acetylcholinesterase

Inhibitors

ABSTRACT

Acetylcholinesterase (AChE) is an important enzyme in the synaptic cleft of the cholinergic nervous system, many studies have shown that a deficiency in this enzyme can lead to cognitive decline in Alzheimer's disease. Therefore, it is a crucial target in the development of new drugs for the treatment of this disease. Five potential new compounds (**IVa**, **IVb**, **IVc**, **IVd**, **IVe**) were synthesized through a sequence of five reactions: [3+2] cycloaddition, N-alkylation, ester hydrolysis, acidification, and amidation, with the starting material being 2-naphthalene carbonitrile. Thin layer chromatography (TLC) and melting point determination are two methods used to assess the purity of the synthesized compounds. The structures of the compounds were confirmed through three spectroscopic methods, including high-resolution mass spectrometry (HRMS), proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectroscopy, and carbon nuclear magnetic resonance (¹³C-NMR) spectroscopy. After that, the five synthesized compounds were evaluated for the biological activity based on their ability to inhibit the AChE enzyme and their drug-like properties. Among the five synthesized compounds, three demonstrated the ability to inhibit AChE with IC₅₀ values ranging from 236.80 ± 8.17 μM to 354.88 ± 8.17 μM. All five compounds met the criteria of Lipinski's Rule of Five, and one compound was found to be within the range capable of crossing the blood-brain barrier according to Veber's rules. This research suggested the potential structural frameworks in synthesizing AChE inhibitor derivatives for treating Alzheimer's disease.

*Corresponding author: thaotp@hup.edu.vn

<http://doi.org/10.59882/1859-364X/289>

INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD) is a common condition that leads to memory loss and a progressive decline in cognitive functions. It was first reported at a psychiatric conference in Germany in 1906 by Alois Alzheimer, after he was introduced to a 51-year-old female patient named Auguste Deter [1-3]. The cholinergic hypothesis suggests that a deficiency in the crucial neurotransmitter acetylcholine (ACh) contributes to cognitive decline in AD, with one of the causes of this deficiency being the hydrolysis of ACh by acetylcholinesterase (AChE) [4, 5]. Consequently, AChE has become a potential therapeutic target, prompting research and the development of new drugs aimed at inhibiting this enzyme for the treatment of AD [6].

The structure of acetylcholinesterase (AChE) consists of three important regions: the catalytic active site (CAS), the peripheral

site (PAS), and the narrow channel connecting the CAS and PAS [7]. Compounds capable of effectively inhibiting AChE need to possess components that bind to either the CAS or PAS, or have the ability to bind to both regions, with an appropriate linker that interacts with the narrow channel region [8].

Naphthalene is a bicyclic aromatic system containing 10 carbon atoms and 8 hydrogen atoms. Naphthalene-based derivatives exhibit a wide range of potential biological activities, including anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, antiviral, neuroprotective, and antipsychotic effects [9]. Moreover, some studies have shown that naphthalene-based derivatives exhibit strong activity against certain molecular targets in the treatment of Alzheimer's disease, with the inhibition of acetylcholinesterase (AChE) enzyme gaining significant attention [10, 11]. In 2020, Fareeha Anwar and her colleagues synthesized

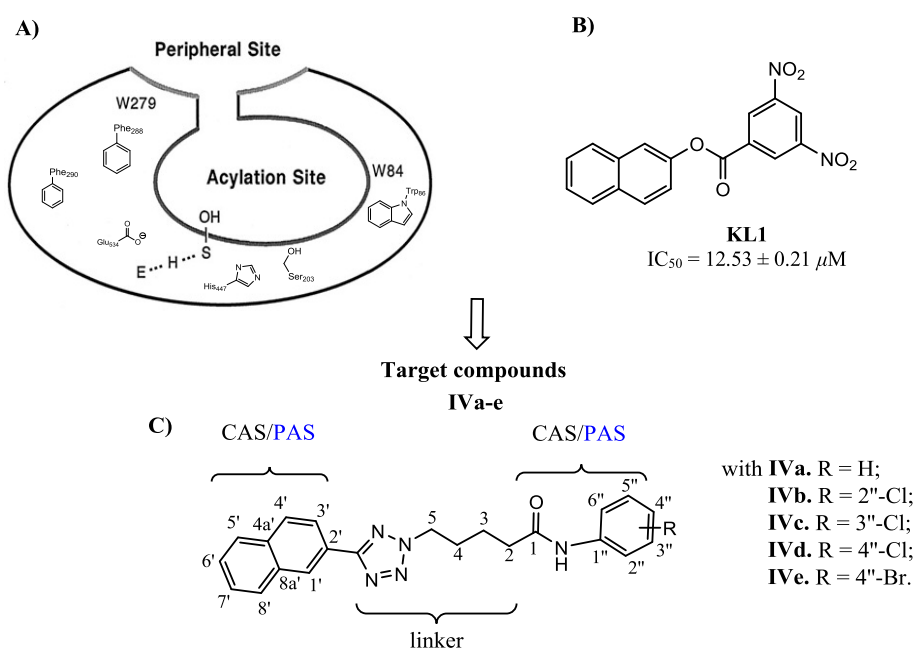


Figure 1. A) Illustration of the structure of AChE including: active center region (CAS), border barrier region (PAS) and channel lumen region. B) Structures of naphthalene derivatives. C) Structures of target compounds.

compounds **KL1**, which exhibited IC_{50} values of $12.53 \pm 0.21 \mu M$ against AChE (**Figure 1B**) [10]. In addition, derivatives containing an amide group demonstrate several potential effects, such as anticancer, Parkinson's disease treatment, protection against acute lung injury, and ulcerative colitis, among others [12]. Furthermore, numerous studies indicate that compounds with an amide group exhibit strong inhibition of AChE, making these compounds a focus of research for AD treatment [3].

In this study, based on the known structure of AChE, previously published AChE inhibitors, and the potential of the naphthalene scaffold and amide group, we synthesized and evaluated the acetylcholinesterase inhibitory activity and drug-like properties of five novel compounds with the structure 5-(5-(naphthalene-2-yl)-2H-tetrazole-2-yl)-*N*-phenylpentanamide (**Figure 1C**).

MATERIALS AND METHODS

Chemistry

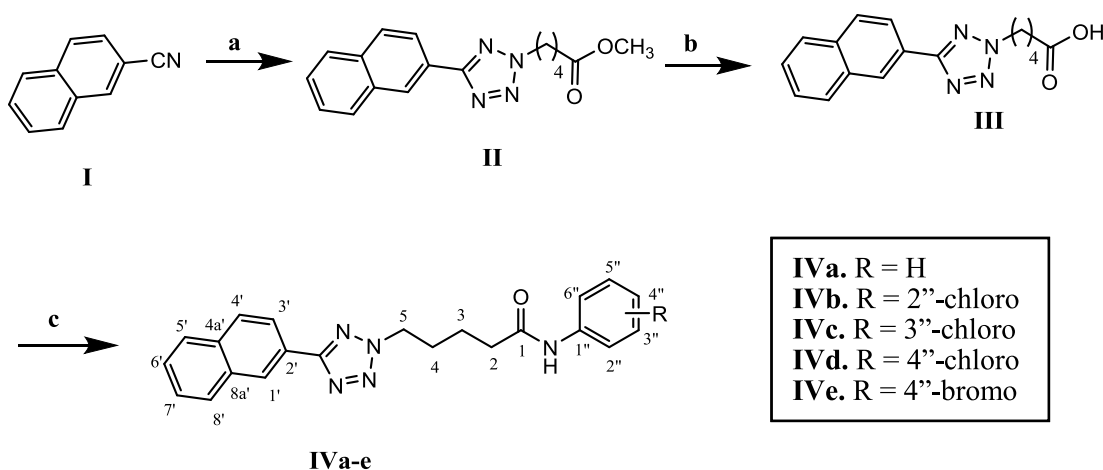
Reagents were purchased from domestic or foreign suppliers (Merck, Sigma-Aldrich) are

used directly without purification. Solvents were purchased from Merck (Germany), Sigma-Aldrich, Fisher (USA), South Korea and China suppliers. The progression of reactions was monitored by thin layer chromatography (TLC) using Merck Kieselgel 60F₂₅₄ thin plates and visualized under UV light at 254 nm.

The potential compounds **IVa**, **IVb**, **IVc**, **IVd**, **IVe** bearing the 5-(5-(naphthalene-2-yl)-2H-tetrazole-2-yl)-*N*-phenylpentanamide scaffold were synthesized from 2-naphthalene carbonitrile (**I**) according to **Scheme 1** below.

Scheme 1. Synthesis of naphthalene derivatives (**IVa-e**). Reagents and conditions: (a) i) NaN₃, ZnCl₂, DMF, 110°C, 8h; ii) methyl-5-chloropentanoate, 60°C, 2h; (b) i) NaOH, MeOH, room temperature, 1.5h; ii) HCl đặc, pH = 1-2; (c) aniline derivatives, HOBt, EDC.HCl, Et₃N, DCM, DMF, room temperature, 60°C, 8h.

2-pyridin carbonitrile (1.0 eq, 10 mmol) was dissolved in *N,N*-dimethylformamide (DMF), and then NaN₃ (1.5 eq, 15 mmol) and ZnCl₂ (0.1 eq, 1 mmol) was added. The mixture was stirred at 110°C for 8 hours. The



Scheme 1: Synthesis scheme of five **IVa-e** derivatives

reaction progress was monitored by TLC. Upon completion of the reaction, the temperature was lowered to room temperature, and methyl-5-chloropentanoate (1.5 eq, 15 mmol) was added. The reaction was heated and maintained at 60°C for 2 hours. The mixture was cooled, and a saturated solution of Na₂CO₃ (25 mL) was added to precipitate Zn²⁺. The mixture was extracted with ethyl acetate (EA) (30 mL x 3 times), the organic layer phase was collected, dried with anhydrous Na₂SO₄, and organic solvent was removed under reduced pressure. The resulting mixture was purified by silica gel column chromatography with mobile phase of EA:n-hexane (30% EA) to yield compound **II**. Compound **II** was used as the starting material for subsequent reactions.

Compound **III** was synthesized from ester **II** in two stages: first, hydrolysis of ester **II** was carried out using NaOH in methanol solvent, and then the resulting mixture was acidified with concentrated HCl to yield compound **III**. The intermediate **II** was dissolved in MeOH followed hydrolysis with NaOH (2 eq). The reaction mixture was stirred for about 1.5h at room temperature. Then concentrated HCl was added to the mixture until the pH reached 1-2. The mixture was then evaporated to remove methanol, obtaining a mixture of compound **III** and NaCl salt. Next, a solvent mixture of methanol: dichloromethane (MeOH:DCM = 4:1) was added to the solid mixture, and the NaCl salt was filtered off, obtaining the filtrate containing acid **III**.

Next, compound **III** was dissolved in a minimal amount of DMF, then hydroxybenzotriol (HOBt, 1.2 eq), *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC.HCl, 1.2 eq), aniline derivatives were added into the reaction vessel

(1.2 eq). A sufficient amount of DCM solvent was added. The reaction was stirred for 8h at 60°C. When the reaction completed, the solvent was removed by evaporating. Then 10% NaHCO₃ was added to the mixture, extracted the mixture with EA to collect the EA layer. The EA layer was dried with anhydrous Na₂SO₄ then evaporated under reduce pressure. The mixture was purified by silica gel column chromatography with mobile phase EA:n-hexane (10% EA), and the final product **IVa-e** was dried in a freeze dryer.

Melting points of synthesized compounds were measured using a Stuart Scientific melting point apparatus SMP3 (made in the UK). Chemical shifts are reported in parts per million (ppm) relative to TMS. Mass spectra were obtained using an Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS (United States) with electron spray ionization (ESI).

AChE inhibitory activity

SPL 96-well plate (Korea), tip 1000, 200 microliter from AHL (Germany), micropipette 1000, 200 microliter Nichiryo (Japan); AChE enzyme (Sigma-Aldrich, USA), acetylthiocholine iodide (ATCI, Sigma-Aldrich, USA), 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid (DTNB, TCI, Japan), galantamine hydrobromide (TCI, Japan) were used in the experiment to evaluate the ability to inhibit AChE of the synthesized compounds by the spectrophotometric method of Ellman [13] with slight modification [14]. AChE inhibitory effect was evaluated on a Varioskan Lux 96-well plate reader. 20 µL of different concentrations of test solutions in phosphate buffer pH 8.0, 20 µL 19.2 mM DTNB solution, 20 µL 19.2 mM ATCI solution and 20 µL of 0.25 IU/ml AChE solution, was added with phosphate buffer pH 8.0 until the total volume was 200 µL. Incubate the mixture at 25°C for 30 minutes, then measure the absorbance of the mixture at 412 nm

wavelength. Each substance was tested for its ability to inhibit AChE at five concentrations of 256 μ M, 128 μ M, 64 μ M, 32 μ M, 16 μ M, the test was repeated three times independently. The percentage (%) of AChE inhibition of the substances at the tested concentrations is calculated according to the formula:

$$\% \text{ inhibition} = \left(1 - \frac{\text{control} - \text{test sample}}{\text{control} - \text{blank}}\right) \times 100\%$$

In which: Blank: ATCI, DNTB in pH 8.0 buffer solution

Control: ATCI, DTNB and enzyme in pH 8.0 buffer

Test sample: test substance (or galantamine hydrobromide control), ATCI, DTNB and enzyme in pH 8.0 buffer solution

The analyses were performed using Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) and the values are expressed as mean $\pm$ SD. The AChE inhibitory activity of each sample was expressed in terms of the IC₅₀ value (μ M required to inhibit the hydrolysis of the substrate, ACTI by 50%), as calculated using TableCurve 2Dv4 software.

Molecular docking simulations

Five synthesized compounds were docked into AChE by AutoDock Vina to characterize the binding pose and binding affinity of ligands to AChE. In particular, the structure of human AChE was downloaded from the Protein Data Bank (PDB) with an ID of 4EY6 [14]. AutoDock Tools was employed to topologies both the receptor and ligands. The docking grid center was selected as the native ligand center of mass. The grid size was selected as 30 $\times$ 30 $\times$ 30 Å, the center coordinates of the grid box were set to X = -12.053, Y = -42.677, Z = 28.902. The largest energy difference between docking modes was 7.0 kcal mol⁻¹. Molecular docking simulations were performed using AutoDock Vina (version

1.2.5) with the exhaustiveness parameter reaching 20. The docking poses of free binding energy conformations were visualized using BIOVIA Discovery Studio 2025 Client.

Physicochemical properties studies

Some physicochemical properties and drug-likeness predictions of three-synthesized compounds were predicted by using the SwissADME platform [15] and the BOILED-Egg permeation method [16]. A potential AChE inhibitor should observe the criteria of Lipinski's rule of five [17] and Veber's rule [18].

RESULTS AND DISCUSSIONS

RESULTS

The designed compounds **IVa-e** were synthesized following **Scheme 1**. Then their purity was confirmed by measuring the melting point and using TLC; their structures were determined by HR-MS and NMR spectra. The detailed information of their spectra is given below.

5-(5-(naphthalene-2-yl)-2H-tetrazole-2-yl)-N-phenylpentanamide (IVa). Off-white solid, yield: 50 %. Mp: 210.7-211.9°C, R_f = 0.45 (EA:n-hexane = 1:1). ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.68 (s, 1H, H1'), 8.21 (dd, *J* = 9.5 Hz, 1H, H3'), 7.95 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, H4', H8'), 7.88 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H, H5'), 7.55 (m, 2H, H6', H7'), 7.50 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H2'', H6''), 7.30 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, H3'', H5''), 7.10 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H4''), 4.74 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H, H5), 2.44 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H2), 2.21-1.85 (m, 4H, H3, H4). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ 170.1 (C=O), 165.3 (N=C-N), 137.7 (C1''), 134.2 (C4a'), 133.2 (C8a'), 129.0 (C4'), 128.8 (C8'), 127.9 (C3'', C5''), 127.1 (C2', C5'), 126.7 (C6', C7'), 124.7 (C1'), 124.4 (C3'), 123.9 (C4''), 119.8 (C2'', C6''), 52.8 (C5), 36.5 (C2), 28.7 (C4), 22.3 (C3). HR-MS (ESI) *m/z* calculated for C₂₂H₂₂N₅O⁺ ([M+H]⁺) = 372.1819, found HR-MS *m/z* for [M+H]⁺ = 372.1807.

***N*-(2-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalene-2-yl)-2H-tetrazole-2-yl)pentanamide (IVb).** Off-white solid, yield: 53 %. Mp: 212.1-212.9°C, R_f = 0.42 (EA:n-hexane = 1:1). ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.71 (s, 1H, H1'), 8.38 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H3''), 8.24 (dd, J = 8.5 Hz, 1H, H3'), 7.98 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H4', H8'), 7.91 (d, J = 7.0 Hz, 1H, H5'), 7.63 (s, 1H, CO-NH), 7.56 (m, 2H, H6', H7'), 7.38 (dd, J = 8.0 Hz, 1H, H6''), 7.30 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H5''), 7.06 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H4''), 4.78 (t, J = 7.3 Hz, 2H, H5), 2.55 (t, J = 7.3 Hz, 2H, H2), 2.26 (quint, J = 7.4 Hz, 2H, H4), 1.91 (quint, J = 7.5 Hz, 2H, H3). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 170.2 (C=O), 165.4 (N=C-N), 134.4 (C1''), 134.2 (C4a'), 133.2 (C8a'), 129.0 (C4'), 128.8 (C8', C3''), 127.9 (C5''), 127.8 (C2''), 127.1 (C2', C5'), 126.7 (C6', C7'), 124.7 (C4'', C1'), 123.9 (C3'), 121.7 (C6''), 52.8 (C5), 36.7 (C2), 28.7 (C4), 22.2 (C3). HR-MS (ESI) m/z calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{ONa}^+$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) = 428.1249/430.1219, found HR-MS m/z for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ = 428.1069/430.0992.

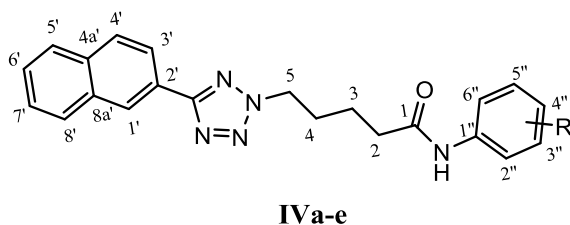
***N*-(3-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalene-2-yl)-2H-tetrazole-2-yl)pentanamide (IVc).** Off-white solid, yield: 45 %. Mp: 211.8-213.3°C, R_f = 0.47 (EA:n-hexane = 1:1). ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.70 (s, 1H, H1'), 8.23 (dd, J = 8.5 Hz, 1H, H3'), 7.98 (dd, J = 8.5 Hz, 2H, H4', H8'), 7.91 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H5'), 7.67 (s, 1H, CO-NH), 7.58 (m, 4H, H6', H7'), 7.35 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H6''), 7.23 (m, 2H, H2'', H5''), 7.09 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H4''), 4.78 (t, J = 6.8 Hz, 2H, H5), 2.46 (t, J = 7.3 Hz, 2H, H2), 2.24 (quint, J = 7.3 Hz, 2H, H4), 1.88 (quint, J = 7.5 Hz, 2H, H3). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 170.2 (C=O), 165.4 (N=C-N), 138.8 (C1''), 134.7 (C3''), 134.3 (C4a'), 133.2 (C8a'), 130.0 (C2''), 128.8 (C4'), 128.70 (C8'), 127.9 (C5''), 127.2 (C2', C5'), 126.7 (C6', C7'), 124.5 (C1', C4''), 123.9 (C3'),

119.9 (C6''), 52.8 (C5), 36.4 (C2), 28.6 (C4), 22.1 (C3). HR-MS (ESI) m/z calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_5\text{O}^+$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) = 406.1429/408.1400, found HR-MS m/z for $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 406.1417/408.1404.

***N*-(4-chlorophenyl)-5-(5-(naphthalene-2-yl)-2H-tetrazole-2-yl)pentanamide (IVd).** Off-white solid, yield: 59 %. Mp: 214.7-215.9°C, R_f = 0.40 (EA:n-hexane = 1:1). ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.59 (s, 1H, H1'), 8.12 (dd, J = 8.5 Hz, 1H, H3'), 7.87 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H4', H8'), 7.81 (d, J = 7.0 Hz, 1H, H5'), 7.48 (m, 2H, H6', H7'), 7.37 (d, J = 9.0 Hz, 2H, H2'', H6''), 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 2H, H3'', H5''), 4.67 (t, J = 7.0 Hz, 2H, H5), 2.36 (t, J = 7.3 Hz, 2H, H2), 2.14 (quint, J = 7.3 Hz, 2H, H4), 1.77 (quint, J = 7.5 Hz, 2H, H3). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 170.2 (C=O), 165.4 (N=C-N), 136.3 (C1''), 134.3 (C4a'), 133.2 (C8a'), 129.0 (C4'), 128.8 (C8'), 128.7 (C4''), 127.9 (C3'', C5''), 127.2 (C2', C5'), 126.7 (C6', C7'), 124.6 (C1'), 123.8 (C3'), 121.0 (C2'', C6''), 52.8 (C5), 36.4 (C2), 28.6 (C4), 22.2 (C3). HR-MS (ESI) m/z calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_5\text{O}^+$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) = 406.1429/408.1400, found HR-MS m/z for $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 406.1417/408.1404.

***N*-(4-bromophenyl)-5-(5-(naphthalene-2-yl)-2H-tetrazole-2-yl)pentanamide (IVe).** Off-white solid, yield: 55 %. Mp: 219.1-220.5°C, R_f = 0.38 (EA:n-hexane = 1:1). ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.67 (s, 1H, H1'), 8.20 (dd, J = 8.5 Hz, 1H, H3''), 7.95 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H4', H8'), 7.89 (d, J = 7.0 Hz, 1H, H5'), 7.55 (m, 2H, H6', H7'), 7.40 (m, 4H, H2'', H3'', H5'', H6''), 7.13 (s, 1H, CO-NH), 4.75 (t, J = 7.0 Hz, 2H, H5), 2.43 (t, J = 7.3 Hz, 2H, H2), 2.22 (quint, J = 7.3 Hz, 2H, H4), 1.85 (quint, J = 7.4 Hz, 2H, H3). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 170.1 (C=O), 165.4 (N=C-N), 136.8 (C1''), 134.3 (C4a'), 133.2 (C8a'), 132.0 (C4'), 128.8 (C8'), 128.7 (C4''),

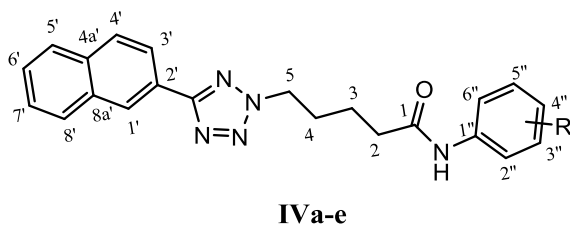
Table 1. IC₅₀ value of compounds **IVa**, **IVb**, **IVc**, **IVd** and **IVe**



IVa. R = H
IVb. R = 2''-Cl
IVc. R = 3''-Cl
IVd. R = 4''-Cl
IVe. R = 4''-Br

Compounds	IC ₅₀ (μM)
IVa	354.88 ± 8.17
IVb	> 1000
IVc	236.80 ± 20.09
IVd	243.83 ± 14.77
IVe	> 1000
Negative control	0
Galantamine hydrobromide	2.51 ± 0.20 μM

Table 2. The binding energy of compounds **IVa-e**



IVa. R = H
IVb. R = 2''-Cl
IVc. R = 3''-Cl
IVd. R = 4''-Cl
IVe. R = 4''-Br

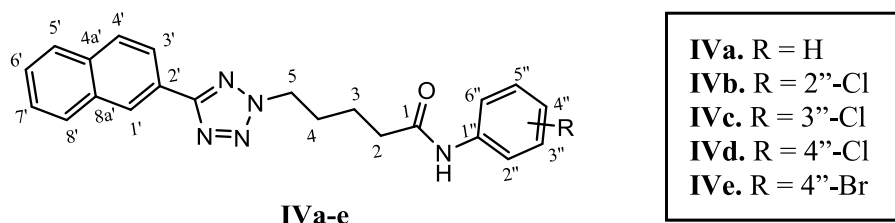
Compounds	Binding energy (kcal.mol ⁻¹)
IVa	-8.7
IVb	-8.0
IVc	-10.0
IVd	-8.1
IVe	-7.8
Galantamine	-10.3

127.9 (C3'', C5''), 127.2 (C2', C5'), 126.72 (C6'), 126.67 (C7'), 124.7 (C1'), 123.9 (C3'), 121.3 (C2'', C6''), 52.8 (C5), 36.4 (C2), 28.6 (C4), 22.2 (C3). HR-MS (ESI) m/z calculated for C₂₂H₂₁BrN₅O⁺ ([M+H]⁺) = 406.1429/408.1400, found HR-MS m/z for [M+H]⁺ = 406.1417/408.1404.

After that, five compounds **IVa**, **IVb**, **IVc**, **IVd** and **IVe** were evaluated by IC₅₀ and compared with galantamine hydrobromide as the positive control. Results expressed as IC₅₀ value are presented in **Table 1**.

We conduct further research on the interaction of the 5 synthesized compounds

Table 3. Calculated physicochemical properties data for compounds **IVa-e**



Compounds	Molecular weight (Da)	MlogP	HBA*	HBD*	TPSA* (Å²)	NORT*	WlogP
IVa	371.44	3.06	6	1	72.70	8	4.11
IVb	405.88	3.54	6	1	72.70	8	4.76
IVc	405.88	3.54	6	1	72.70	8	4.76
IVd	405.88	3.54	6	1	72.70	8	4.76
IVe	450.33	3.65	6	1	72.70	8	4.87
RO5**	≤ 500	≤ 5	≤ 10	≤ 5			
Veber's rule			Total H-bond ≤ 12		≤ 140	≤ 10	

*HBA: Hydrogen Bonding Acceptor; HBD: Hydrogen Bonding Donnor; TPSA: Topological Polar Surface Area (Å²); NORT: Number of Rotatable Bond. **RO5: Lipinski's rule of five

with AChE by performing molecular docking simulations using AutoDock Vina. Galantamine is predicted to bind with AChE at the binding site with energy of -10.3 kcal/mol (**Table 2**).

In addition, the calculation of the physicochemical properties of synthesized compounds **IVa**, **IVb**, **IVc**, **IVd** and **IVe** are shown in **Table 3**.

DISCUSSION

The above spectral analysis confirmed the structures of the synthesized derivatives as initially designated. The ¹H-NMR spectra of all compounds exhibited peaks between 1.77 and 8.71 ppm. The protons of the methylene and ethylene groups were clearly visible in the ¹H-NMR spectra. However, the amine proton (NH) was weak and difficult to detect due to

its exchange with the solvent. The ¹H-NMR spectrum of all compounds showed a single peak with a chemical shift of about 8.59 to 8.71 ppm (in CDCl₃) corresponding to the proton of C1'. Moreover, the peak of H3' shows splitting due to interaction with H4' and its proximity to the tetrazole ring. The ¹³C-NMR data showed all expected carbon peaks, ranging from 22.1 to 170.2 ppm. The mass spectra displayed the ion molecular peak ([M+H]⁺ or [M+Na]⁺), which corresponded to the expected molecular weight of the target compounds. For the four compounds **IVb-d** with a chloro group, and compound **IVe** with a bromo group, these four compounds have two isotopes. Therefore, we need to determine two m/z values of these compounds and confirm them with the obtained mass spectrum. The m/z isotopic values of

compounds **IVb-e** are also displayed as corresponding molecular ion peaks in the mass spectrum. The spectral structure confirmation results showed agreement with the expected structures.

In **Table 1**, There are three compounds with IC_{50} values from $236.80 \pm 8.17 \mu M$ to $354.88 \pm 8.17 \mu M$. Compound **IVc** showing the best activity among them, having the smallest IC_{50} . Two compounds **IVb** and **IVe** exhibit poor AChE inhibitory activity with $IC_{50} > 1000 \mu M$. Compounds **IVc** and **IVd** exhibit better activity than **IVa**, while compounds **IVb** and **IVe** show lower activity compared to **IVa**. Therefore, there is no clear pattern regarding the introduction of different halogen substituents at different positions on the phenyl ring in relation to AChE inhibitory activity.

The results of molecular docking simulations (**Table 2**) show that in the structure of the synthesized compounds, the naphthalene ring is attached to the CAS region of AChE, through Trp86. Trp86 is a critical amino acid residue in the structure of AChE, as it serves as the initial binding site for the acetylcholine molecule, thereby initiating the catalytic hydrolysis reaction, thus this results indicate that these compounds possess potential as AChE inhibitors. Our molecular docking simulations also revealed binding energies for the five compounds ranging from -10.0 to -7.8 kcal/mol (**Table 2**), showing a strong affinity for AChE. The correlation between the IC_{50} values and the binding energy of the compounds with AChE is not yet clear, and further studies are needed to establish the structure-activity relationship of the compounds with a naphthalene scaffold.

To assess the drug-likeness and oral bioavailability of the synthesized compounds, we applied Lipinski's rule and Veber's rule. All five compounds satisfied both of these rules.

Moreover, the BOILED-Egg diagram of the compounds presented in supporting information shows that **IVa** is in the region with the potential for blood-brain barrier (BBB) penetration, thus compound **IVa** demonstrates strong potential as a promising AChE inhibitor for drug development. These findings highlight the potential of naphthalene and amide derivatives as AChE inhibitors for Alzheimer's patients.

CONCLUSION

In this study, we synthesized five compound bearing the naphthalene-2-yl scaffold **IVa-e** starting from 2-naphthalene carbonitrile. Three reaction used was [3+2] cycloaddition to form tetrazole ring, followed by an *N*-alkylation reaction with methyl-5-chloropentanoate reagent. Next is the ester hydrolysis reaction to form a salt, followed by acidifying the salt to obtain the acid carboxylic. Finally reaction was amide coupling, which used acid carboxylic and aniline derivatives to form final compounds **IVa-e**. HRMS and NMR spectroscopy were used to confirm that the structures of the synthesized compounds were as expected. **IVa**, **IVc** and **IVd** have the ability to inhibit AChE, with compound **IVc** showing the best inhibitory activity. Additionally, all five compounds demonstrated drug-like properties and good oral bioavailability according to Lipinski's and Veber's rules. Compound **IVa** is predicted to be able to cross the blood-brain barrier according to the permeability method in the BOILED-EGG model, thus compound **IVa** demonstrates strong potential as a promising AChE inhibitor for drug development.

ADDITIONAL INFORMATION

Supplementary Information: The online version contains supplementary material

available at <https://doi.org/10.59882/1859-364X289>

and Ho Chi Minh City Department of Science and Technology under project code 115/QD-SKHCN.

ACKNOWLEDGMENTS

This research is funded by: Hanoi University of Mining and Geology, Vietnam;

CONFLICTS OF INTEREST

None.

REFERENCES

- Gajendra K, Pratap GK, Poornima DV, Shantaram M, Ranjita G. Natural acetylcholinesterase inhibitors: A multi-targeted therapeutic potential in Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. 2024;11:100154.
- Hyun DY, Kim DH, Lee SB, Young LD. History of Alzheimer's Disease. *Dementia and Neurocognitive Disorders*. 2016;15(4):115–121.
- Silva J, Tatiane FB, Samuel MGL, Heise N, Hoenke S, Csuk R, et al. New amides derived from sclareolide as anticholinesterase agents. *Bioorganic Chemistry*. 2023;130:106249.
- Barage S, Sonawane KD. Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides*. 2015;52:1-18.
- Francis P, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 1999;66(2):137-47.
- Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2019;20(2):1479-87.
- Dilee K, Kentaro I, Chiemi MT, Mutsuko KN, Mayumi Y, Kazuharu H, et al. Crystal structure of human acetylcholinesterase in complex with tacrine: Implications for drug discovery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022;210:172-81. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.05.009
- Valasani K, Chaney MO, Day VW, Yan SS. Acetylcholinesterase inhibitors: structure based design, synthesis, pharmacophore modeling, and virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2013;53(8):2033-46.
- Makar S, Saha T, Singh SK. Naphthalene, a versatile platform in medicinal chemistry: Sky-high perspective. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019;161:252-76.
- Anwar F, Saleem U, Ahmad B, Ashraf M, Rehman AU, Froeyen M, et al. New naphthalene derivative for cost-effective AChE inhibitors for Alzheimer's treatment: In silico identification, in vitro and in vivo validation. *Computational Biology and Chemistry*. 2020;89:107378.
- Rivera-Marrero S, Martinez AB, Salazar EO, Sablon-Carranza M, Garcia-pupo L, Zoppolo F, et al. A new naphthalene derivative with anti-amyloidogenic activity as potential therapeutic agent for Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2020;28(20):115700.
- Alapati KB, Sravani D, Sailaja BBV, Saritha B, Nalla S. Synthesis and biological evaluation of amide derivatives of isoxazole-imidazo[2,1-b]thiazole as anticancer agents. *Results in Chemistry*. 2024;10:101700.
- Ellman G, Courtney KD, Andres V, Feather-stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 1961;7:88-95.
- Nhung BTH, Long LTB, Hung NV, Tiep NK, Hoang DT, Hoang DH, et al. Structures and Acetylcholinesterase Inhibition Abilities of some Derivatives Bearing (Pyridin-2-yl)tetrazole Scaffold. *VNU Journal of Science*. 2024;40(2).
- Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 2017;7:42717.
- Daina A, Zoete V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*. 2016;11(11):1117-21.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997;23(1):3-25.
- Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2002;45(12):2615-23.

Số: 566 /QĐ-DHN

Hà Nội, ngày 28 tháng 5 năm 2025

QUYẾT ĐỊNH
Phân ban chấm khóa luận tốt nghiệp đại học chính quy
khóa 75, ngành Dược học
HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI

Căn cứ Quyết định số 828/BYT/QĐ ngày 29/9/1961 của Bộ trưởng Bộ Y tế: tách Trường Đại học Y dược thành 2 trường Đại học Y khoa và Đại học Dược khoa trực thuộc Bộ Y tế;

Căn cứ Quyết định số 632/QĐ-DHN ngày 30/6/2023 của Hiệu trưởng Trường Đại học Dược Hà Nội ban hành Quy chế đào tạo trình độ đại học của Trường Đại học Dược Hà Nội;

Căn cứ Quyết định số 297/QĐ-DHN ngày 03/04/2025 của Hiệu trưởng Trường Đại học Dược Hà Nội về giao đề tài khóa luận tốt nghiệp đại học chính quy khóa 75, ngành Dược học và phân công cán bộ hướng dẫn;

Căn cứ Quyết định số 564/QĐ-DHN ngày 28/5/2025 của Hiệu trưởng Trường Đại học Dược Hà Nội về việc thành lập các Ban chấm thi khóa luận tốt nghiệp ngành Dược học năm 2025;

Xét đề nghị của Trưởng phòng Quản lý đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Phân ban chấm khóa luận tốt nghiệp cho 263 sinh viên đại học chính quy khóa 75 ngành Dược học trong danh sách kèm theo quyết định này.

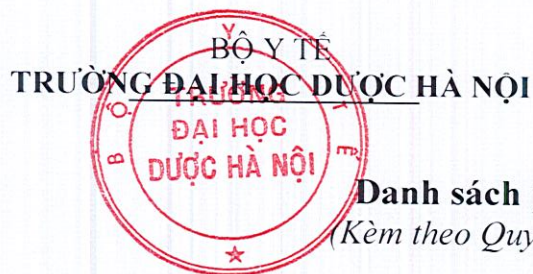
Điều 2. Việc thi khóa luận tốt nghiệp và đánh giá kết quả khóa luận tốt nghiệp thực hiện theo các quy định hiện hành của Nhà trường.

Điều 3. Trưởng các phòng Quản lý đào tạo, Tổ chức – Hành chính, Tài chính kế toán, đơn vị có liên quan, các sinh viên và cán bộ hướng dẫn có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành quyết định này.

Nơi nhận:

- Hiệu trưởng (để báo cáo);
- Các Khoa, đơn vị;
- Các lớp K75;
- Lưu: VT, QLĐT.

KT. HIỆU TRƯỞNG
PHÓ HIỆU TRƯỞNG
TRƯỜNG
ĐẠI HỌC
DƯỢC HÀ NỘI
Đinh Thị Thanh Hải



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Danh sách phân ban chấm khóa luận tốt nghiệp năm 2025
(Kèm theo Quyết định số .5.66/QĐ-DHN ngày 22 tháng 5 năm 2025)

TT	Mã SV	Họ và tên SV	Tên đề tài	Họ và tên CBHD	Nơi công tác CBHD	Bảo vệ bằng TA
1. Công nghệ Hóa dược 1						
1	2001302	Võ Thị Minh Huyền	Tổng hợp và đánh giá tác dụng kháng ung thư của một số dẫn chất <i>N</i> -hydroxycinnamamid mới mang khung 4-oxoquinazolin hướng ức chế histon deacetylase	CBHD1: PGSTS. Phan Thị Phương Dung CBHD2: NCS. Nguyễn Phương Dung	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN CBHD2: Nghiên cứu sinh	x
2	2001305	Nguyễn Thịnh Khang	Nghiên cứu quy trình tạo muối thioctat trometamol quy mô 200 g/mẻ	CBHD1: PGS.TS. Nguyễn Văn Hải Hỗ trợ HDTN: HVCH. Lê Phương Thanh	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN Hỗ trợ HDTN: HVCH 29	
3	2001345	Nguyễn Hải Linh	Nghiên cứu tổng hợp eserethol từ nguyên liệu metol	CBHD1: TS. Nguyễn Văn Giang CBHD2: ThS. Nguyễn Hòa Bình	CBHD1: Khoa CNHD - Phòng QLĐT, Trường ĐH Dược HN CBHD2: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN	
4	2001416	Đặng Hoàng Ngân	Tổng hợp và đánh giá tác dụng gây độc tế bào của một số dẫn chất 5-methoxy-2,2-dimethyl-2 <i>H</i> -chromen mới mang khung benzimidazol-5-carboxamid.	CBHD1: TS. Nguyễn Công Trường CBHD2: ThS Nguyễn Nữ Huyền My	CBHD1: Khoa CNHD, Trường Đại học Dược Hà Nội CBHD2: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN	x

TT	Mã SV	Họ và tên SV	Tên đề tài	Họ và tên CBHD	Nơi công tác CBHD	Bảo vệ bằng TA
5	2001425	Nguyễn Phương Ngân	Tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế tế bào ung thư của một số dẫn chất <i>N</i> -hydroxybutanamid mới mang dị vòng triazol	CBHD1: PGSTS. Phan Thị Phương Dung CBHD2: NCS. Nguyễn Phương Dung	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN CBHD2: Nghiên cứu sinh	x
6	2001433	Hoàng Kim Ngọc	Tổng hợp và đánh giá tác dụng sinh học của một số dẫn chất acid hydroxamic mới mang khung 2-mercaptoquinazolin hướng ức chế enzym HDAC	CBHD1: TS. Dương Tiến Anh CBHD2: NCS. Lê Thị Thảo	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN CBHD2: Nghiên cứu sinh	x
7	2001537	Thái Chính Tâm	Nghiên cứu cơ chế hỗ trợ điều trị ung thư của colossolacton khi dùng kết hợp với gefitinib bằng mô phỏng động lực học phân tử	CBHD1: TS. Đỗ Thị Mai Dung	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN	x
8	2001561	Vũ Tuấn Thành	Nghiên cứu tổng hợp tạp C của mebendazol	CBHD1: PGS.TS. Nguyễn Văn Hải; Hỗ trợ HDTN: HVCH. Ngô Đức Huy	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN Hỗ trợ HDTN: HVCH 28	x
9	2001655	Nguyễn Thu Trang	Nghiên cứu tạo một số muối của acid ascorbic	CBHD1: PGS.TS. Nguyễn Văn Hải	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN	
2. Công nghệ Hóa dược 2						
1	2001076	Nguyễn Anh Chi	Tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase của một số dẫn chất butanamid mới mang khung naphthalen-2-yl	CBHD1: PGS.TS Trần Phương Thảo CBHD2: NCS. Nguyễn Việt Hùng	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN CBHD2: NCS; Trường Đại học Mở - Địa chất	x

TT	Mã SV	Họ và tên SV	Tên đề tài	Họ và tên CBHD	Nơi công tác CBHD	Bảo vệ bằng TA
2	2001135	Đặng Mạnh Dũng	Tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase và β -secretase 1 của một số dẫn chất butanamid mới mang khung quinazolin-4(3 <i>H</i>)-on	CBHD1: PGS.TS Trần Phương Thảo CBHD2: NCS. Nguyễn Viết Hùng	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN CBHD2: NCS; Trường Đại học Mỏ - Địa chất	
3	2001290	Vũ Minh Huy	Tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế acetylcholinesterase của một số dẫn chất pentanamid mới mang khung naphthalen-2-yl	CBHD1: PGS.TS Trần Phương Thảo CBHD2: NCS. Nguyễn Viết Hùng	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN CBHD2: NCS; Trường Đại học Mỏ - Địa chất	x
4	2001370	Ngô Ngọc Long	Nghiên cứu tổng hợp epolamin bằng phản ứng alkyl hóa với tác nhân 2-hydroxyethylsulfonat	CBHD1: TS. Đào Nguyệt Sương Huyền Hỗ trợ HDTN: HVCH. Phạm Mạnh Hùng	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN Hỗ trợ HDTN: HVCH 28	x
5	2001532	Hồ Tuệ Tâm	Nghiên cứu cơ chế đa đích kháng ung thư phối không tế bào nhỏ của một số hydroxamat mang hệ dị vòng indazol và pyrimidin hướng ức chế HDAC I và IIb	CBHD1: NCS. Trần Thị Lan Hương CBHD2: PGS.TS. Phạm Thế Hải	CBHD1: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN CBHD2: Trường ĐH KH và Công nghệ HN	x
6	2001538	Trần Đức Tâm	Nghiên cứu tổng hợp và tinh chế omeprazol sulfon, omeprazol sulfid	CBHD1: TS. Nguyễn Văn Giang CBHD2: ThS. Nguyễn Hòa Bình	CBHD1: Khoa CNHD - Phòng QLĐT, Trường ĐH Dược HN CBHD2: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN	
7	2001567	Hoàng Thị Thảo	Nghiên cứu tổng hợp và tinh chế lansoprazol sulfon và lansoprazol sulfid	CBHD1: TS. Nguyễn Văn Giang CBHD2: ThS. Nguyễn Hòa Bình	CBHD1: Khoa CNHD - Phòng QLĐT, Trường ĐH Dược HN CBHD2: Khoa CNHD, Trường ĐH Dược HN	