

# Tổng hợp và tác dụng kháng tế bào ung thư của một số dẫn chất *N*-hydroxyacetamid

Mai Xuân Bách, Đỗ Thị Mai Dung\*  
Trường Đại học Dược Hà Nội

## Summary

In the process of discovering novel small molecules targeting deacetylase histone, we have designed and synthesized a series of novel *N*-hydroxyacetamid incorporating 5-arylidenthiazolidin-2,4-dion (**4a-e**). Biological evaluation showed that these hydroxamic acids were generally cytotoxic against two human cancer cell lines (SW620, colon; PC-3, prostate cancer). All compounds displayed significant cytotoxicity against with  $IC_{50}$  values from 2.12-4.97  $\mu\text{g/ml}$ .

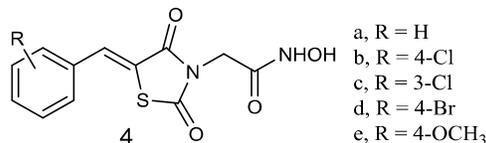
**Keywords:** Histone deacetylase inhibition, thiazolidine-2,4-dion, *N*-hydroxyacetamid, acid hydroxamic.

## Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, các dẫn chất của thiazolidindion đã và đang thu hút sự chú ý của các nhà nghiên cứu phát triển thuốc trên thế giới nhờ các tác dụng chống đái tháo đường do hoạt hóa thụ thể peroxisom proliferator activated gamma (PPAR- $\gamma$ ) và ức chế protein tyrosin phosphat 1B (PTP1B), giúp cơ thể tăng tính nhạy cảm với insulin nội sinh, tăng tiêu thụ glucose và giảm đường huyết<sup>[1-4]</sup>. Một số thuốc điều trị đái tháo đường type 2 dựa trên khung thiazolidindion vẫn đang được sử dụng trên thị trường như rosiglitazon, pioglitazon. Bên cạnh tác dụng hạ đường huyết, hiện nay các dẫn chất của thiazolidindion còn được thử tác dụng kháng tế bào ung thư. Nhiều nghiên cứu của các nhà khoa học đã khẳng định các dẫn chất mang khung thiazolidindion này có tác dụng ức chế sự phát triển của nhiều dòng tế bào ung thư<sup>[5-6]</sup>. Ngoài ra các thiazolidindion còn thể hiện các tác dụng sinh học khác như: Kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, chống độc thần kinh<sup>[7-9]</sup>.

Các chất *N*-hydroxycarboxamid hay còn gọi là các acid hydroxamic là một trong các nhóm chất kháng ung thư theo cơ chế ức chế histone deacetylase điển hình<sup>[10]</sup>. Từ những cơ sở trên chúng tôi đã thiết kế và tổng hợp một số dẫn chất *N*-hydroxyacetamid mang khung 5-arylidenthiazolidin-2,4-dion (**4a-e**) và thử

tác dụng gây độc tế bào của các dẫn chất tổng hợp được (hình 1). Các dẫn chất này được kỳ vọng như các chất lai hóa của *N*-hydroxycarboxamid và thiazolidin-2,4-dion và sẽ tạo nên hoạt tính sinh học hấp dẫn.



Hình 1. Cấu trúc của các dẫn chất *N*-hydroxyacetamid mang khung 5-arylidenthiazolidin-2,4-dion (**4a-e**)

## Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

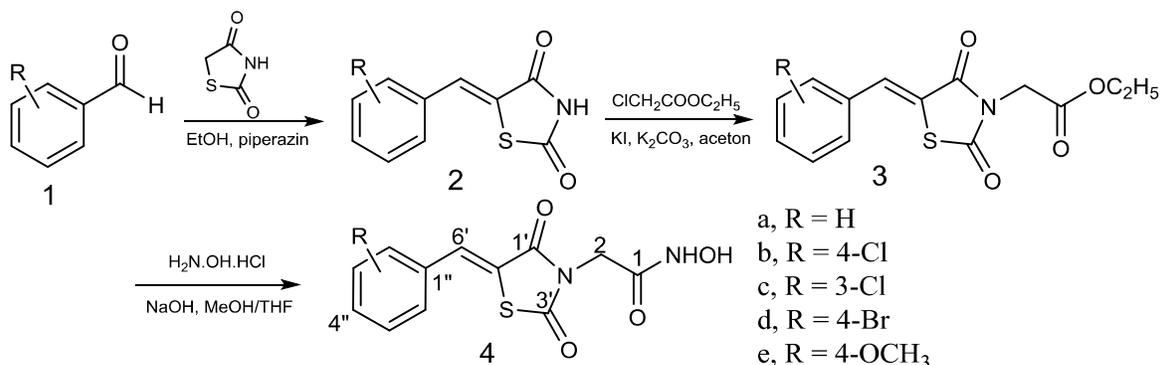
Các hóa chất, dung môi thông thường được nhập từ Công ty Merck hoặc Sigma-Aldrich và được sử dụng trực tiếp không tinh chế thêm. Nhiệt độ nóng chảy được đo bằng máy đo điểm chảy nhiệt điện. Sắc ký lớp mỏng sử dụng bản mỏng nhôm tráng sẵn silicagel GF<sub>254</sub>. Phổ hồng ngoại được ghi bằng máy GX-Perkin-Elmer. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (<sup>1</sup>H-NMR) được ghi bằng máy Bruker AV-500 dùng DMSO-*d*<sub>6</sub> làm dung môi. Độ chuyển dịch hóa học ( $\delta$ ) được biểu thị bằng đơn vị phần triệu (ppm), lấy mốc là pic của chất chuẩn nội tetramethylsilan (TMS). Phổ khối lượng được ghi bằng máy khối phổ HP-5989-MS, LC-MSD-Trap-SL.

### Phương pháp nghiên cứu

#### Tổng hợp các dẫn chất

Các dẫn chất *N*-hydroxyacetamid mang khung thiazolidin-2,4-dion (**4a-e**) được tổng hợp theo sơ đồ chung sau đây:

Chịu trách nhiệm: Đỗ Thị Mai Dung  
Email: maidung.dtmd233@gmail.com  
Ngày nhận: 21/4/2021  
Ngày phân biên: 01/6/2021  
Ngày duyệt bài: 24/8/2021



### Quy trình tổng hợp chung

Hòa tan benzaldehyd **1** (1 mmol), thiazolidin-2,4-dion (3 mmol) vào 15 ml ethanol khan trong bình cầu đáy tròn thể tích 50 ml. Thêm piperazin (3 mmol) vào khối phản ứng và khuấy ở nhiệt độ hồi lưu trong 6 giờ. Cô bớt dung môi ethanol sau đó thêm từ từ dung dịch HCl 5% (~ 15 ml) thu được tủa trắng hoặc vàng nhạt. Sấy khô tủa sau đó hòa tan toàn bộ trong 15 ml acetone. Thêm K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 mmol) và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Tiếp theo thêm 1,3 mmol ethyl chloroacetat và một lượng nhỏ xúc tác KI vào hỗn hợp phản ứng. Khuấy ở nhiệt độ khoảng 50 °C trong khoảng 6 giờ sau đó cô bớt acetone và thêm từ từ vào cân còn lại khoảng 15 ml dung dịch HCl 5% thu được tủa. Hòa tan tủa trong khoảng 15 ml hỗn hợp methanol - tetrahydrofuran (1/1). Thêm một lượng dư hydroxylamin hydroclorid (8 mmol) và làm lạnh khối phản ứng đến -5 - 0 °C bằng hỗn hợp đá - muối. Tiếp theo thêm từ từ dung dịch NaOH (8 mmol trong lượng tối thiểu nước, ~ 2 ml) vào hỗn hợp phản ứng. Khuấy tiếp ở nhiệt độ -5 - 0 °C trong khoảng 60 phút cho phản ứng hoàn toàn. Acid hóa hỗn hợp sau phản ứng bằng dung dịch HCl 5% thu được tủa mịn màu trắng. Kết tinh trong ethanol/nước thu được sản phẩm dạng bột kết tinh màu vàng nhạt.

### Thử độc tính tế bào

Thử độc tính tế bào *in vitro* được thực hiện tại Khoa Dược, Trường Đại học Chungbuk, Cheongju, Hàn Quốc theo phương pháp SRB và giá trị IC<sub>50</sub> được tính trên phần mềm GraphPad Prism<sup>[10]</sup> trên dòng tế bào SW620 (ung thư đại tràng người) và PC-3 (tế bào ung thư tiền liệt tuyến người).

### Kết quả

#### Tổng hợp các dẫn chất

#### (Z)-2-(5-Benzyliden-2,4-dioxothiazolidin-3-yl)-N-hydroxyacetamid (4a)

Chất rắn màu vàng nhạt; hiệu suất: 55%, nhiệt độ nóng chảy (t<sub>nc</sub><sup>o</sup>): 142-144 °C; R<sub>f</sub> = 0,52 (DCM : MeOH = 8 : 1). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3445 (OH), 3197 (NH), 3041 (C-H, aren), 2859 (CH, CH<sub>2</sub>), 1715, 1650 (C=O), 1611 (C=C), 1467 (C-N). ESI-MS (m/z): 277,04 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): δ 13,51 (1H, s, N-OH); 11,08 (1H, s, NH); 7,85 (1H, s, H-6'), 7,61 (2H, d, J = 7,8 Hz, H-2'',6''), 7,43-7,37 (3H, m, H-3'',4'',5''), 4,91 (2H, s, H-2). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): δ 171,11; 169,20; 165,91; 143,23; 137,26; 129,61; 127,37; 126,03; 111,97; 43,28.

#### (Z) - 2 - (5 - (4 - Clorobenzyliden) - 2, 4 - dioxothiazolidin - 3 - yl) - N - hydroxyacetamid (4b)

Chất rắn màu vàng nhạt; hiệu suất: 59%, nhiệt độ nóng chảy (t<sub>nc</sub><sup>o</sup>): 145-147 °C; R<sub>f</sub> = 0,56 (DCM : MeOH = 8 : 1). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3437 (OH), 3198 (NH), 3051 (C-H, aren), 2875 (CH, CH<sub>2</sub>), 1710, 1675 (C=O), 1615 (C=C), 1448 (C-N). ESI-MS (m/z): 311,01 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): δ 13,47 (1H, s, N-OH); 11,03 (1H, s, NH); 7,88 (1H, s, H-6'), 7,67 (2H, d, J = 8,5 Hz, H-2'',6''), 7,55 (2H, d, J = 8,5 Hz, H-3'',5''), 4,95 (2H, s, H-2). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): δ 170,15; 168,36; 166,85; 144,72; 139,41; 131,58; 129,45; 128,21; 115,81; 45,31.

#### (Z) - 2 - (5 - (3 - Clorobenzylidene) - 2, 4 - dioxothiazolidin - 3 - yl) - N - hydroxyacetamid (4c)

Chất rắn màu vàng nhạt; hiệu suất: 47%, nhiệt độ nóng chảy ( $t_{nc}^{\circ}$ ): 151 - 153 °C;  $R_f = 0,57$  (DCM : MeOH = 8 : 1). **IR** (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3430 (OH), 3185 (NH), 3025 (C-H, aren), 2845 (CH,  $CH_2$ ), 1710, 1680 (C=O), 1612 (C=C), 1465 (C-N). **ESI-MS** ( $m/z$ ): 311,03 [M-H]<sup>-</sup>. **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm):  $\delta$  13,38 (1H, s, N-OH); 10,97 (1H, s, NH); 7,80 (1H, s, H-6'), 7,55 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-2''), 7,35-7,21 (3H, m, H-4'', 5'', 6''), 4,97 (2H, s, H-2). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm):  $\delta$  170,02; 166,17; 163,45; 141,53; 139,32; 135,71; 131,05; 129,53; 125,05; 121,65; 113,54; 44,34.

**(Z) - 2 - (5 - (4 - Bromobenzylidene) - 2, 4 - dioxothiazolidin - 3 - yl) - N - hydroxyacetamid (4d)**

Chất rắn màu vàng nhạt; hiệu suất: 53%, nhiệt độ nóng chảy ( $t_{nc}^{\circ}$ ): 159 - 161 °C;  $R_f = 0,61$  (DCM : MeOH = 8 : 1). **IR** (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3435 (NH), 3185 (OH), 3020 (C-H, aren), 2840 (CH,  $CH_2$ ), 1715, 1670 (C=O), 1620 (C=C), 1470 (C-N). **ESI-MS** ( $m/z$ ): 354,91 [M-H]<sup>-</sup> (<sup>79</sup>Br), 356,01 [M-H]<sup>-</sup> (<sup>81</sup>Br). **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm):  $\delta$  13,17 (1H, s, N-OH); 11,07 (1H, s, NH); 7,91 (1H, s, H-6'), 7,65 (2H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-2'', 6''), 7,56 (2H,  $J = 8,0$  Hz, H-3'', 5''), 4,81 (2H, s, H-2). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm):  $\delta$  170,91; 168,46; 163,72; 141,51; 133,91; 130,41; 126,37; 124,61; 114,91; 42,54.

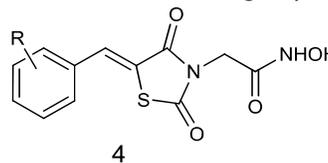
**(Z)-N-Hydroxy-2-(5-(4-methoxybenzyliden)-2,4-dioxothiazolidin-3-yl)acetamid (4e)**

Chất rắn màu vàng nhạt; hiệu suất: 55%, nhiệt độ nóng chảy ( $t_{nc}^{\circ}$ ): 163 - 165 °C;  $R_f = 0,54$  (DCM : MeOH = 8 : 1). **IR** (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3395 (OH), 3205 (NH), 3021 (C-H, aren), 2845 (CH,  $CH_2$ ), 1705, 1640 (C=O), 1608 (C=C), 1463 (C-N). **ESI-MS** ( $m/z$ ): 307,02 [M-H]<sup>-</sup>. **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm):  $\delta$  13,05 (1H, s, N-OH); 10,89 (1H, s, NH); 7,81 (1H, s, H-6'), 7,58 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2'', 6''), 7,11 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3'', 5''), 4,90 (2H, s, H-2). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm):  $\delta$  170,11; 168,53; 163,79; 159,60; 131,51; 130,14; 128,57; 117,45; 116,22; 56,75; 42,79.

**Độc tính tế bào**

Kết quả thử độc tính tế bào được trình bày trên bảng 1.

**Bảng 1. Kết quả hoạt tính gây độc tế bào của dẫn chất tổng hợp được**



STT	Chất	R	Độc tính tế bào ( $IC_{50}$ , $\mu g/ml$ )	
			SW620	PC-3
1	<b>4a</b>	H	4,12	3,78
2	<b>4b</b>	4-Cl	2,12	2,45
3	<b>4c</b>	3-Cl	3,34	3,23
4	<b>4d</b>	4-Br	3,01	3,17
5	<b>4e</b>	4-OCH <sub>3</sub>	4,97	5,10
	SAHA		1,06	0,87

Ghi chú: SW620, tế bào ung thư đại tràng người; PC-3, tế bào ung thư tiền liệt tuyến của người; SAHA: N-hydroxysuberoylanilid, chất đối chứng dương.

**Bàn luận**

Năm dẫn chất N-hydroxyacetamid mang khung 5-arylidenthiazolidin-2,4-dion (**4a-e**) được tổng hợp dựa trên quy trình 3 bước. Bước thứ nhất là phản ứng ngưng tụ giữa thiazolidin-2,4-dion với các benzaldehyd trong dung môi ethanol có mặt piperazin. Sản phẩm thu được dạng tủa trắng hoặc hanh vàng sau xử lý phản ứng được sấy khô và dùng ngay cho bước tiếp theo là phản ứng thế với ethyl cloroacetat trong dung môi aceton xúc tác KI. Bước 3 là phản ứng tạo acid hydroxamic. Trong bước này, một lượng dư hydroxylamin.HCl được sử dụng. Phản ứng xảy ra tốt trong môi trường kiềm. Để tránh sử dụng thủy phân của nhóm ester trong nguyên liệu ban đầu, nhiệt độ phản ứng được hạ xuống -5 - 0 °C bằng hỗn hợp đá - muối. Hiệu suất toàn quá trình dao động trong khoảng 47 - 59%.

Cấu trúc của các sản phẩm cuối cùng được khẳng định bằng các phương pháp phổ **IR**, **MS** và **NMR**. Theo kết quả phổ đồ, thu được phổ **IR**, **MS**, **<sup>1</sup>H-NMR** và **<sup>13</sup>C-NMR** đều phù hợp với cấu trúc dự kiến của các chất. Trên phổ **<sup>1</sup>H-NMR** xuất hiện các pic điển hình của nhóm methylen và H của nhóm olefin. Cấu hình Z của sản phẩm ngưng tụ đã được chứng minh [5-9].

Sau khi tổng hợp và khẳng định cấu trúc, 5 chất **4a-e** được tiến hành thử độc tính trên hai dòng tế bào ung thư người là SW620 (ung thư đại tràng) và PC-3 (ung thư tiền liệt tuyến).

Kết quả thu được trên bảng 1 cho thấy tất cả các chất đều thể hiện độc tính tốt trên hai dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Sự có mặt của nhóm thế halogen trên nhân benzen của hợp phần 5-arylthiazolidin-2,4-dion dường như làm tăng độc tính tế bào, trong khi nhóm methoxy có xu hướng làm giảm nhẹ độc tính của chất **4e** so với **4a** trên hai dòng tế bào ung thư SW620 và PC-3. Nếu so sánh với các dẫn chất 5 - arylthiazolidin - 2, 4 - dion ( $IC_{50} > 10 \mu\text{g/ml}$  trên 2 dòng SW620 và PC-3) thì việc đưa thêm nhóm *N*-hydroxyacetamid đã làm tăng độc tính đáng kể của các dẫn chất tạo thành **4a-e**. Mặc dù các chất này độc tính còn thấp hơn SAHA, một hợp chất đối chứng dương có cấu trúc *N*-hydroxy-suberonylanilid. Kết quả này mở ra triển vọng phát triển thêm nhóm dẫn chất tương tự thành những tác nhân chống ung thư tiềm năng.

#### Kết luận

Chúng tôi đã tổng hợp được 5 dẫn chất *N* - hydroxyacetamid mang khung 5-arylthiazolidin-2,4-dion. Các dẫn chất này đã thể hiện độc tính tế bào ở các mức độ khác nhau trên một số dòng tế bào ung thư người với  $IC_{50}$  từ 2,12 - 4,97  $\mu\text{g/ml}$ . Mặc dù các chất có độc tính tế bào chưa mạnh bằng SAHA song đây là cơ sở cho các thiết kế tiếp theo nhằm thu được các ứng viên tiềm năng cho nghiên cứu phát triển thuốc điều trị ung thư.

*Đề tài được hoàn thành nhờ một phần kinh phí từ Chương trình nghiên cứu cơ bản, Bộ Khoa học và Công nghệ (NAFOSTED). Khoa Dược, ĐH Chungbuk, Hàn Quốc đã giúp thử độc tính tế bào của các chất trong bài báo.*

#### Tài liệu tham khảo

1. Raj B. B. et al. (2009), "Thiazolidinedione derivatives as PTP1B inhibitors with antihyperglycemic and antiobesity effects", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19, pp. 6161-6165.
2. Saraf N. et al (2011), "Role of PPAR $\gamma$ 2 transcription factor in thiazolidinedione-induced insulin sensitization", *J. Pharm. Pharmacol.*, 64,

pp. 161-171.

3. Kristina S., Bart S., Johan A. (1996), "Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression", *J. Lipid Res.* 37 (5), pp. 907-925.

4. Lynn S. B. et al. (1996), "Protein tyrosine phosphatase 1B interacts with the activated insulin receptor", *Diabetes*, 45 (10), pp. 1379-1385.

5. Shankar A. G., Kallanagouda A. R. (2012), "New thiazolidine-2,4-diones as antimicrobial and cytotoxic agent", *Med. Chem. Res.*, 21 (10), pp. 3214-3223

6. Vijay P. et al. (2010), "Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of new 5-benzylidene-2,4-thiazolidinedione derivatives", *Eur. J. Med. Chem.*, 45 (10), pp. 4539-4544.

7. Aneja D. K. et al (2011), "Synthesis of new pyrazolyl-2, 4-thiazolidinediones as antibacterial and antifungal agents", *Org. Med. Chem. Lett.*, pp.1-15.

8. Unlusoy M. C. et al. (2006), "Synthesis and antimicrobial activity of some new 3-substituted benzyl-5-(4-chloro-2-piperidin-1-yl-thiazole-5-yl-methylene)thiazolidine-2,4dione derivatives", *Turk. J. Chem.*, 30, pp. 355-360.

9. Santos L. C. et al. (2011), "Synthesis and anti-inflammatory activity of new thiazolidine-2,4-diones, 4-thioxothiazolidinones and 2-thioxoimidazolidinones", *Heterocyclic Commun.*, 11, pp. 256-259.

10. Skehan P. et al (1990), *J. Natl Cancer Inst.*, 82, pp. 1107-1112.

11. Bruno G. et al. (2002), "Synthesis and aldose reductase inhibitory activity of 5-arylidene-2, 4-thiazolidinediones", *Bioorg. Med. Chem.*, 10, pp. 1077-1084.

12. LaPlant S. R. et al. (2013), "N- versus O-alkylation: Utilizing NMR methods to establish reliable primary structure determinations for drug discovery", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 23, pp. 4663-4668.