

TỔNG HỢP TOÀN PHẦN 6,8-PRENYLACACETIN, 8-PRENYLACACETIN VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ TĂNG SINH TRÊN DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ HELA Ở NGƯỜI

NGUYỄN VĂN SƠN, NGUYỄN VĂN CƯỜNG, NGUYỄN HỒNG AN, NGUYỄN THỊ HUỲNH
Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam
nguyenvanson@iuh.edu.vn

Tóm tắt. Tổng hợp toàn phần lần đầu tiên hai hợp chất thiên nhiên prenylflavonoids là 6,8-prenylacetin (**1**) và 8-prenylacetin (**2**) đã đạt được thông qua hai con đường khác nhau. Con đường thứ nhất đã được bắt đầu bằng phản ứng bảo vệ bằng tác nhân Benzyl bromide các nhóm hydroxyl tại các vị trí C-3 và C-5 của 2,4,6-trihydroxyacetophenone, tiếp theo là sử dụng phản ứng Baker-Venkataraman, bước cuối là khử bảo vệ và alkyl hóa gắn nhóm prenyl vào vị trí C-6 và C-8 của acetin. Con đường thứ hai đạt được thông qua các bước trung gian sau: bảo vệ bằng methoxymethyl các nhóm hydroxyl tại các vị trí C-3 và C-5 của 2,4,6-trihydroxyacetophenone, aldol hóa, vòng hóa, khử hóa nhóm bảo vệ trong acid, cuối cùng cũng alkyl hóa gắn nhóm prenyl vào C-6 và C-8 của acetin. Quá trình tổng hợp đã thu được hiệu suất tổng thể của **1** và **2** lần lượt là 25% và 27%. Tiềm năng gây độc tế bào của các hợp chất đã tổng hợp bằng thử nghiệm hoạt tính ức chế tăng sinh trên dòng tế bào ung thư Hela ở người được đánh giá bằng phương pháp MTT tiêu chuẩn. Kết quả cho thấy hầu hết các hợp chất tổng hợp đã thể hiện hoạt tính ức chế tế bào trung bình đến mạnh chống lại dòng tế bào ung thư này so với *cis*-platin một chất kiểm soát dương tính dùng làm đối chứng. Các hợp chất **1** và **2** cho thấy chúng đã ức chế rất tốt đối với các tế bào ung thư Hela ở người, vì vậy chúng có thể là những tác nhân chống ung thư tiềm năng và xứng đáng để nghiên cứu nhiều và sâu hơn nữa. Tất cả các hợp chất tổng hợp được xác nhận bằng các phổ: ¹H-NMR, ¹³C-NMR và MS. Con đường tổng hợp của các hợp chất **1** và **2** đã thông qua quá trình alkyl hóa gắn nhóm prenyl vào C-6 và C-8 của acetin như là một bước quan trọng.

Từ khóa. 6,8-prenylacetin, 8-prenylacetin, flavonoid, acetin, tổng hợp toàn phần, hoạt tính ức chế tăng sinh, alkyl hóa

TOTAL SYNTHESIS OF 6,8-PRENYLACACETIN AND 8-PRENYLACACETIN AND CYTOTOXIC ACTIVITIES ON HELA CANCER CELL LINES IN HUMANS

Abstract. The first total synthesis of natural prenylated flavonoids of 6,8-prenylacetin (**1**) and 8-prenylacetin (**2**) were achieved through two different paths. The first road has passed the reaction: Chemoselective benzyl bromide at positions C-3 và C-5 of 2,4,6-trihydroxyacetophenone, Baker-Venkataraman reaction, deprotection, the last step alkylation. The second road through: methoxymethyl protection, aldol condensation, cyclization, deprotection and alkylation. The overall yields of **1** và **2** were 25% and 27%, respectively. Their cytotoxic potential against Hela human cancer cell line was evaluated by the standard MTT assay. The results showed that most of the target compounds exhibited moderate to potent cytotoxicity against cancer cells comparable with the positive control *cis*-Platin. Compounds **1** and **2** showed selective cytotoxicity against Hela cells respectively, they are potential and selective anticancer agent and worthy of further development. All the synthesized compounds were confirmed by ¹H-NMR, ¹³C-NMR và MS techniques. The synthesis process of **1** and **2** were *via* alkylation as a key step.

Keywords. 6,8-prenylacetin, 8-prenylacetin, flavonoids, total synthesis, cytotoxic activities, alkylation

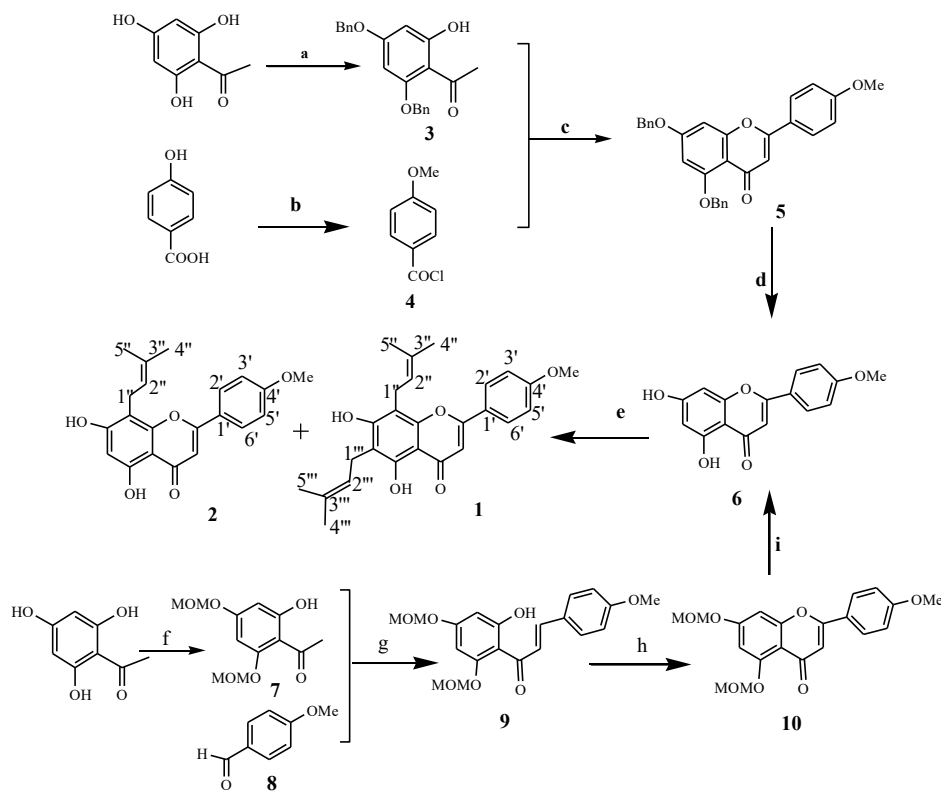
1. TỔNG QUAN

Các hợp chất có cấu trúc prenylflavonoid là một lớp độc đáo được phân bố rộng rãi trong thực vật. [1] Prenylflavonoids đã được phát hiện trên hầu hết các flavonoids, bao gồm chalcones, flavanones, flavon, flavonol và isoflavone [2] và đã thu hút được sự chú ý đáng kể về lợi ích tiềm năng của chúng đối với sức khỏe con người. Loại prenylflavonoid đặc biệt này làm tăng hoạt tính sinh học của bộ khung flavonoid với việc có thêm nhóm prenyl, do đó flavonoid sau khi gắn thêm nhóm prenyl vào khung flavonoid có nhiều tiềm năng được phát triển và sử dụng trong y dược. Trong những năm gần đây, người ta đã chú ý

đến các chức năng sinh học của prenylflavonoid. Nó có nhiều hoạt tính sinh học tốt và rất phong phú như: hoạt động ức chế estrogen, hoạt động chống oxy hóa, hoạt động điều hòa miễn dịch và ức chế chống lại các tế bào ung thư.[3-11]

Ngoài ra, các tính chất dược lý mới lạ khác của acetin, bao gồm chống viêm [12] và chống ung thư [13-15] cũng đã được phát hiện gần đây. 6,8-prenylacetin (1) và 8-prenylacetin (2) là các hợp chất tự nhiên. Mặt khác, 1 và 2 trong tự nhiên có chứa hàm lượng thấp. Do đó, ảnh hưởng đến việc sử dụng chúng để nghiên cứu nhiều hoạt tính sinh học khác nhau và sử dụng chúng làm nguồn dược phẩm cho tương lai. Vì vậy, tổng hợp hóa học hợp chất 1 và hợp chất 2 sẽ là một phương pháp thay thế rất quan trọng để giải quyết vấn đề về tính sẵn có của chúng. Việc nghiên cứu sâu hơn các hoạt tính sinh học là cần thiết nhằm khám phá các hoạt tính dược lý của chúng và tiềm năng có lợi cho sức khỏe con người.

Trong báo cáo này, chúng tôi đã tổng hợp 1 và 2 từ 2,4,6-trihydroxyacetophenone, đã vượt qua bốn bước hoặc năm bước trung gian thông qua hai con đường khác nhau như thể hiện trong sơ đồ 1: bảo vệ có chọn lọc của benzyl hoặc methoxymethyl các nhóm hydroxyl tại các vị trí C-3 và C-5 của 2,4,6-trihydroxyacetophenone, phản ứng Baker-Venkataraman hoặc ngưng tụ aldol, vòng hóa, khử hóa nhóm bảo vệ và alkyl hóa. Tiếp tục nghiên cứu về hóa học và sinh học của chúng tôi về các hợp chất flavonoids trong những nghiên cứu đã được công bố [16-19]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo tổng hợp toàn phần lần đầu tiên về hợp chất 1 và 2, đặc biệt là bước quan trọng đã sử dụng quá trình alkyl hóa nhằm gắn nhóm prenyl vào vị trí C-6 và C-8 của acetin.



Sơ đồ 1. Tổng hợp toàn phần 6,8-prenylacetin và 8-prenylacetin

Hóa chất và điều kiện: (a) BrBn, K₂CO₃/acetone, reflux, 12 h; (b) (Me)₂SO₄/NaOH sau đó SOCl₂/CH₂Cl₂; (c) K₂CO₃/acetone, reflux, 24 h; (d) 5% Pd/C, 24 h, r.t; (e) NaOCH₃; CH₃OH, 3,3-dimethylallylbromide, 50 °C, reflux, 4 h. (f) MOMOCl, K₂CO₃/acetone, reflux, 4 h (g) KOH, EtOH, reflux; (h) I₂, DMSO, reflux, 10 h; (i) HCl(aq), EtOH, r.t.

2. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nguyên liệu ban đầu 2,4,6-trihydroxyacetophenone có sẵn trên thị trường. 2,4,6-trihydroxyacetophenone được điều chế từ phloroglucin khan và 4-methoxybenzoylchlorua từ axit 4-hydroxybenzoic thông qua

quá trình methyl hóa và axit hóa [20]. Thực hiện phản ứng acyl hóa ghép hợp chất **3** với **4** đã tạo ra hợp chất **5** với hiệu suất tốt. Sau đó, sử dụng 5% Pd/C làm xúc tác quá trình khử bảo vệ benzyl ether **5** sẽ thu được acetin (**6**), trong đó dữ liệu phổ giống hệt như báo cáo trước đó [21].

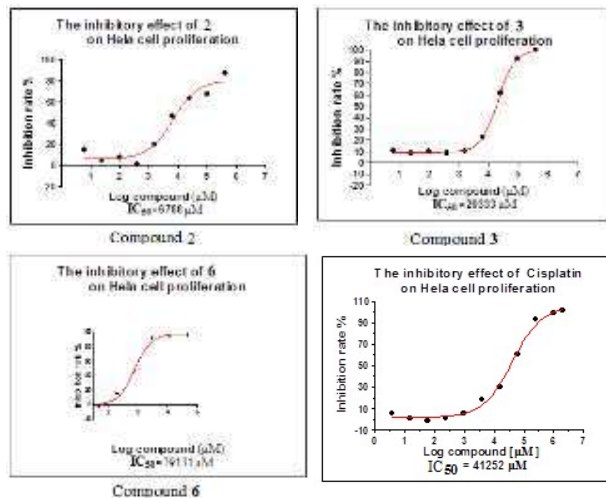
Quá trình tổng hợp acetin đã được thực hiện theo hai con đường khác như trong sơ đồ 1. Nó đã được bắt đầu từ 2,4,6-trihydroxyacetophenone một hợp chất rẽ tiền dễ tìm kiếm. Bước 1, quá trình methoxyl hóa được thực hiện ở nhiệt độ phòng trong acetone và kali carbonate để thu được hợp chất **7** năng suất tốt (86%). Bước thứ hai của quá trình tổng hợp là aldol hóa hợp chất **7** và **8** trong dung dịch KOH 15 % và ethanol thu được hợp chất **9** với hiệu suất 85%. Sự vòng hóa hợp chất **9** đã được thực hiện trong xúc tác iốt và dung môi DMSO tạo ra flavonoid (**10**). Bước tiếp theo là khử nhóm bảo vệ ete methoxy được thực hiện trong methanol và HCl 3N thu được hợp chất **6** với hiệu suất 95%.

Bước cuối cùng là quá trình alkyl hóa bằng 3,3-dimethylallylbromide với chất xúc tác CH_3ONa ở vị trí C-8 và C-6 của vòng A thu được hợp chất **1** với hiệu suất 56% hoặc **2** trên 76%, đây là bước quan trọng để tạo thành hợp chất **1** và **2**. Hai sản phẩm cho thấy sự khác biệt của tín hiệu $^1\text{H-NMR}$ đối với nguyên tử hydro nhóm $-\text{CH}_2$ của $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}_2$ trên **1** ở δ 5.28 ppm (1H, t) còn đối với nguyên tử hydro nhóm $-\text{CH}_2$ của $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}_2$ trên **2** ở δ 5.22 ppm (1H, t) và đối với nguyên tử hydro nhóm $=\text{CH}$ của $=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ trên **1** tại δ 3,46 ppm (1H, d) còn đối với nguyên tử hydro nhóm $=\text{CH}$ của $=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ trên **2** tại 3.40 ppm để cho phép xác định hai hợp chất **1** và **2**. Hiệu suất tổng thể cho toàn bộ bốn bước hoặc năm bước từ 2,4,6-trihydroxyacetophenone là 25% -27%.

Bảng 1. Nồng độ ức chế một nửa [IC_{50} ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)] của các hợp chất **1**, **2** và **6** trên dòng tế bào ung thư Hela.

Hợp chất	IC_{50} ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
6	79.13
2	6.78
1	20.33
<i>cis</i> -Platin (DDP) ^a	41.25

^a *cis*-Platin (DDP) được sử dụng như chất đối chứng dương.



Hình 1. Đường cong phản ứng với liều cho xét nghiệm bằng phương pháp tiêu chuẩn MTT của các hợp chất **1**, **2**, **6** và *cis*-platin trên ức chế tăng sinh của dòng tế bào Hela.

Các hoạt tính ức chế tăng sinh của ung thư biểu mô cổ tử cung ở người trên dòng tế bào Hela của hợp chất **1**, **2** và acetin (**6**), được đánh giá bằng phương pháp MTT tiêu chuẩn {MTT: [2H-tetrazolium-5-(2,4-disulfophen)-3-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-2-(4-nitrophenyl)- muối trong, muối natri (1: 1)]}. Các kết quả được liệt kê trong bảng 1. Đường cong phản ứng liều đối với xét nghiệm MTT của các hợp chất **1**, **2** và **6** trên ức chế tăng sinh dòng tế bào ung thư cổ tử cung ở người (Hela) được thể hiện trong Hình 1. Khi sử dụng *cis*-Platin như là loại thuốc chống ung thư được sử dụng làm chất đối chứng dương. Kết quả cho thấy hầu hết các hợp chất mục tiêu thể hiện các hoạt tính ức chế tăng sinh trung bình đến mạnh trên

dòng tế bào ung thư Hela ở người. Các hợp chất **1**, **2** và **6** cho thấy khả năng ức chế tăng sinh tốt đối với dòng tế bào Hela lần lượt là 6.78 μ M, 20.33 μ M và 79.13 μ M tương ứng.

Phân tích mối quan hệ hoạt động cấu trúc cho thấy vị trí của nhóm prenyl của prenylflavonoid và số nhóm prenyl có thể liên kết chặt chẽ với hoạt tính ức chế tăng sinh của chúng đối với dòng tế bào ung thư Hela ở người, các kết quả thực nghiệm cho thấy hiệu quả sinh học tốt có thể do các chức năng của nhóm prenyl khi gắn vào các vị trí 8-prenyl hoặc 6,8 prenyl đã làm tăng hoạt tính sinh học, trong khi so với cấu trúc của hợp chất **6** không có nhóm prenyl. Điều này có thể giải thích là do khi có thêm nhóm prenyl nó giúp quá trình thẩm thấu dễ qua màng tế bào hoặc do tính tương tích của cấu trúc hợp chất và cấu trúc tế bào Hela có sự liên kết tốt hơn, nhưng nếu có quá nhiều nhóm prenyl cấu trúc lại cồng kềnh nên hoạt tính thẩm thấu sẽ giảm đi.

3. THỰC NGHIỆM

3.1. Thiết bị

Điểm nóng chảy được xác định bởi một bộ máy XRC-1. Phổ ^1H và ^{13}C -NMR đã được ghi lại trên thiết bị Bruker AM-400, sử dụng tetramethylsilane làm chất chuẩn nội, dịch chuyển hóa học (δ) tính bằng ppm, hằng số ghép (J) tính bằng Hz. MS và HRMS được xác định bằng máy quang phổ VG Autospec-3000 bằng phương pháp EI. Sắc ký cột được thực hiện trên silica gel có kích thước hạt 200-300 μ m. Hóa chất được sử dụng có độ tinh khiết phân tích cung cấp bởi Sigma-Aldrich.

3.1.1. Tổng hợp 2-hydroxy-4,6-bis(benzyloxy)acetophenone (**3**)

Từ hợp chất 2,4,6-trihydroxyacetophenone (5.0 g, 29.76 mmol) và K_2CO_3 khan (15 g, 108.6 mmol) trong 100 mL acetone khan được hồi lưu ở 65 $^\circ\text{C}$ trong 1 giờ, sau đó dung dịch BnBr (7.5 mL, 63.05 mmol) được thêm vào từng giọt. Sau khi khuấy trong 6 giờ, pha hữu cơ được tách ra. Dung môi được loại bỏ và cặn được tinh chế bằng phép sắc ký cột trên silica gel (ether dầu hòa-EtOAc, v/v, 30: 1) thu được hợp chất **2** (8.8 g, 85%) dưới dạng chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy: 95-96 $^\circ\text{C}$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 14.04 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, 2-OH), 7.39–7.31 (m, 10H, ArH), 6.16 (s, 1H, 5-H), 6.07 (d, $J = 13.5$ Hz, 1H, 3-H), 5.05 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H, 2OCH₂), 2.54 (s, 3H, CH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 203.2, 167.6, 165.1, 162.0, 135.9, 135.6, 128.8, 128.7, 128.5, 128.0, 127.7, 106.4, 94.8, 92.4, 71.1, 70.3, 33.7; MS (EI): m/z 348 (M)⁺.

3.1.2. Tổng hợp 4-methoxybenzoylchloride (**4**)

Dung dịch axit 4-hydroxybenzoic (10 g, 74.07 mmol) trong 100 mL NaOH 20% (aq) được khuấy mạnh ở 40 $^\circ\text{C}$ và sau đó $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ (17 mL, 63.05 mmol) được thêm vào từng giọt. Hỗn hợp được khuấy trong 4 giờ, làm nguội đến nhiệt độ phòng, sau đó được axit hóa và lọc. Phần cặn thu được rửa bằng H_2O và sấy khô. Chất rắn màu trắng thu được, tiếp tục đổ vào 30 mL diclometan và được hồi lưu. Sau đó, thionylclorua (SOCl_2) (8.8 mL, 121 mmol) được đưa vào hệ thống phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy dưới hồi lưu trong 4 giờ. Dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm thu được **3** (10.6 g, 86%) dưới dạng chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy: 20-22 $^\circ\text{C}$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.0 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2-H và 6-H), 6.88 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3-H và 5-H), 3.81 (s, 3H, OCH₃); MS (EI): m/z 170 (M)⁺.

3.1.3. Tổng hợp 5,7-bis(benzyloxy)-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one (**5**)

Cho hợp chất **3** (5.0 g, 29.24 mmol) và K_2CO_3 khan (15 g, 0.1 mol) trong 70 mL acetone khan được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó 4-methoxybenzoylchloride (**4**) (7.5 mL, 63.07 mmol) đã được thêm vào từng giọt. Nhiệt độ được tăng lên tới 65 $^\circ\text{C}$, sau khi hồi lưu trong 14 giờ, pha hữu cơ được tách ra. Dung môi được loại bỏ và cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ether dầu hòa-EtOAc, v/v, 7: 1) để thu được **5** (5.42 g, 70%) dưới dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 150-152 $^\circ\text{C}$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.83 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 2'-H và 4'-H), 7.62 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.02-7.44 (m, 10H, ArH), 6.65 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 6-H), 6.59 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, 3-H), 6.50 (s, 1H, 8-H), 5.24 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 5-OCH₂), 5.12 (s, 7-OCH₂), 3.88 (s, 3H, 4'-OMe); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 177.4, 163.6, 162.8, 162.0, 160.7, 159.7, 136.4, 135.8, 128.8, 128.6, 127.7, 126.6, 123.8, 114.4, 107.7, 104.6, 98.4, 94.4, 70.8, 70.5, 55.5; MS (EI): m/z 464 (M)⁺.

3.1.4. Tổng hợp 1-(2-hydroxy-4,6-bis(methoxymethoxy)phenyl)ethanone (**7**)

Hợp chất 2,4,6-trihydroxyacetophenone (5.0 g, 29.76 mmol) và K_2CO_3 khan (15 g, 72.4 mmol) trong 100 mL acetone khan được hồi lưu ở 40 $^\circ\text{C}$ trong 1 giờ. Sau đó, methoxymethyl hypochlorite (MOMOCI) (**5**

mL, 65.83 mmol) được thêm vào từng giọt. Sau khi khuấy trong 3 giờ, lọc thu pha hữu cơ được tách ra. Dung môi được loại bỏ và cặn được tinh chế bằng phép sắc ký cột trên silica gel (ete dầu hòa-EtOAc, v/v, 30: 1) để tạo ra **7** (6.5 g, 86%) dưới dạng chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy: 65-67 °C; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 13.76 (s, 1H, 2-OH), 6.26 (dd, *J* = 9.7, 2.3 Hz, 2H, H-Ar), 5.26 (s, 3 H, CH₃), 5.18 (s, 2H, CH₂), 3.52(s, 2H, CH₂), 3.48 (s, CH₃), 2.66 (s, 3H, CH₃).

3.1.5 Tổng hợp (*E*)-1-(2-hydroxy-4,6-bis(methoxymethoxy)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (**9**)

Kali hydroxit (20% aq.; 20 mL) đã được thêm vào dung dịch khuấy với 2-hydroxy-4,6-bis(methoxymethoxy)acetophenone (4,0 g, 15,62 mmol) và 4-methoxymethoxybenzaldehyd (2.5 g, 15,62 mmol) ethanol (30 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0 °C (dung dịch nước đá) và axit hóa bằng HCl (10% aq.). Một kết tủa màu vàng hình thành, được thu bằng cách lọc và rửa bằng HCl (10% aq.). Chất rắn màu vàng được kết tinh lại trong ether dầu hòa / EtOAc để tạo ra chalcone **9** (5.36 g, 85%), nhiệt độ nóng chảy: 83-85 °C. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 13.85 (s, 1H, 2-OH), 7.83 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H, β-CH=), 7.71 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H, α-CH=), 7.46 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2'-H và 6'-H), 6.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 2 H, 3'-H và 5'-H), 6.31 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 3-H), 6.26 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 5-H), 5.28, 5.18 (2s, each 2H, -OCH₂O), 3.52, 3.48, 3.42 (3s, each 3H, -OCH₃). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 192.2, 165.2, 163.5, 161.2, 159.7, 142.2, 129.3, 125.5, 124.8, 115.4, 107.7, 97.2, 95.6, 94.7, 94.2, 56.8, 56.5, 56.2; MS (EI): *m/z* 373 [M]⁺.

3.1.4. Tổng hợp 5,7-dimethoxymethyl-4'-methoxyflavone (**10**)

Hợp chất **9** (5.0 g, 12,37 mmol) và I₂ (1.9 g) trong 60 mL DMSO được khuấy trong hồi lưu trong 24 giờ. Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, sau đó đổ vào nước lạnh, rửa bằng dung dịch nước Na₂S₂O₃ bão hòa và chiết bằng diclometan. Lốp hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄ khan. Sau đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Chất rắn thô được kết tinh lại trong diclometan /ete dầu hòa thu được hợp chất **10** (3.48 g, hiệu suất: 70%) dưới dạng tinh thể màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 128-130 °C; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 7.74 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H và 6'-H), 7.05 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H và 5'-H), 6.78 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 8-H), 6.67 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 3-H), 6.50 (s, 1H, 6-H), 5.26, 5.18 (each, s, each 2H, -OCH₂O-), 3.49, 3.44, 3.42 (each, s, each 3H, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 177.4, 161.2, 160.8, 159.7, 159.3, 158.1, 127.6, 124.8, 116.4, 110.6, 107.7, 101.1, 97.2, 95.6, 94.2, 56.6, 56.3; HRMS (EI) *m/z*: 372.1109 [M]⁺ (calcd for C₂₀H₂₀O₇ 372.11015).

3.1.5. Tổng hợp acacetin (từ **5** tới **6**)

Hợp chất **5** (1.0 g, 2.15 mmol) và 650 mg 5% Pd / C trong 30 mL dung môi (CH₃OH: EtOAc: 1: 1) được đặt trong môi trường khí H₂ ở nhiệt độ phòng. Sau khi khuấy trong 14 giờ, pha hữu cơ được tách ra. Dung môi được loại bỏ và cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ether dầu hòa-EtOAc, v/v, 2: 1) thu được hợp chất **6** (465 mg, 76%) dưới dạng bột màu vàng.

3.1.6. Tổng hợp acacetin (từ **10** tới **6**)

Từ hợp chất **10** (1.0 g, 2,15 mmol) được hòa tan trong 30 ml EtOH và 3 mL 3M HCl (aq), hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đổ vào nước đá và được chiết bằng EtOAc (20 mL x3), các pha hữu cơ được kết hợp, làm khô trên Na₂SO₄ khan và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Chất rắn thô được kết tinh lại từ EtOAc/ether dầu hòa thu được **6** (772 mg, 95%) dưới dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 224-226 °C; (lit. [22]: 225-227 °C); ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ(ppm) 12.98 (s, 1H, 5-OH), 10.92 (s, 1H, 7-OH), 8.08 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, 2'-H và 6'-H), 7.15 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, 3'-H và 5'-H), 6.91 (s, 1H, 3-H), 6.55 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 8-H), 6.25 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, 6-H), 3.91 (s, 3H, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ(ppm) 182.2, 164.6, 163.7, 162.7, 161.9, 157.79, 128.7, 123.2, 115.0, 104.2, 103.9, 99.3, 94.4, 56.0; MS (EI) *m/z*: 284 (M)⁺.

3.1.7. Tổng hợp 6,8-prenylacacetin (**1**)

Một hỗn hợp của hợp chất **6** (500 mg, 1,76 mmol) và NaOCH₃ (5g, 0.09 mmol) trong CH₃OH (30 mL), sau đó 3,3-dimethylallylbromide (0.2 mL, 2.79 mmol) được khuấy ở 50 °C trong 4 giờ. Sau thời gian này, hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và dùng dung dịch CH₂Cl₂ (3x10 mL) chiết ra. Sau đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Chất rắn màu vàng được kết tinh lại trong ether dầu hòa / EtOAc (v/v, 15: 1) thu được hợp chất **1** (561 mg, 76%) dưới dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 180-181 °C; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 13.13 (s, 1H, 5-OH), 7.84 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2'-H và 6'-H), 7.02 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 3'-H và 5'-H), 6.58 (s, 1H, 3-H), 5.28 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H, 2''-H và 2'''-H), 3.89 (s, 3H,

4'-OCH₃), 3.58 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, 1''-H), 3.46 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, 1'''-H), 1.85 (s, 6H, 4''-CH₃ và 4'''-CH₃), 1.77 (s, 3H, 5''-CH₃), 1.75 (s, 3H, 5'''-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 181.9, 163.7, 160.4, 161.7, 155.9, 155.6, 132.8, 128.5, 122.6, 114.4, 111.8, 111.6, 104.2, 103.7, 55.4, 21.8; HRIEMS: m/z 420.1938, (calcd for C₂₆H₂₈O₅, 420.1931).

3.1.8. Tổng hợp 8-prenylacetin (2)

Lấy hợp chất **6** (500 mg, 1.76 mmol) và NaOCH₃ (5g, 0.09 mmol) trong CH₃OH (30 mL), sau đó 3,3-dimethylallylbromide (0.4 mL, 5.58 mmol) được khuấy ở 50 °C trong 4 giờ. Sau thời gian này, hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và được chiết xuất với CH₂Cl₂ (3x10 mL). Sau đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm trong thiết bị cô quay. Chất rắn màu vàng được kết tinh lại trong ether dầu hòa / EtOAc (v / v, 8: 1) thu được hợp chất **2** (347 mg, 56%) có dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 138-139 °C; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 13.09 (s, 1H, 5-OH), 7.76 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, 2'-H và 6'-H), 6.94 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, 3'-H và 5'-H), 6.50 (s, 1H, 3-H), 6.41 (s, 1H, 6-H), 5.22 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H, 2''-H), 3.82 (s, 3H, 4'-OCH₃), 3.40 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H, 1''-H), 1.78 (s, 3H, 4''-CH₃), 1.71 (s, 3H, 5''-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 182.5, 163.7, 163.1, 160.5, 160.4, 154.6, 132.7, 128.6, 122.5, 114.5, 107.6, 104.2, 103.5, 98.7, 55.4, 22.3, 21.8; HRIEMS: m/z 352.1315, (calcd for C₂₁H₂₀O₅, 352.1311).

3.8. Thử nghiệm hoạt tính ức chế tăng sinh trên dòng tế bào ung thư Hela

Hoạt tính ức chế tăng sinh của các hợp chất **1**, **2** và **6** đối với dòng tế bào ung thư cổ tử cung (Hela) ở người, được đánh giá bằng phương pháp MTT tiêu chuẩn [23]. Các tế bào có mật độ 5x10⁵ tế bào/giếng được gieo vào 96 giếng trong môi trường nuôi cấy [với 100 mL bumin huyết thanh bò (tối thiểu 98% nguyên chất, chủ yếu không có axit béo), bổ sung axit béo và than hoạt tính và dung dịch muối đệm phosphate (không có magiê clorua và canxi clorua)] và sau đó được ủ ở 37 °C trong môi trường 5% CO₂. Sau 24 giờ, môi trường được loại bỏ và sau đó được xử lý với các nồng độ hợp chất khác nhau (100, 25, 6.25, 1.56, 0.39, 0.0976, 0.0244, 0.0061 μ M) ủ trong 48 giờ. Sau đó, 5% chất MTT [2H-tetrazolium-5-(2,4-disulfophenyl)-3-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-,inner salt, sodium salt (1:1)] được thêm vào từng giếng và được ủ với độ ẩm 90% và 5% CO₂ trong 1-3 giờ nữa. Chất nổi trên bề mặt đã bị loại bỏ và 0,1 mL DMSO đã được thêm vào để hòa tan. Hỗn hợp được lắc trên máy vi độ trong 5 phút và độ hấp thụ được đo ở bước sóng 570 nm bằng máy quang phổ tự động EL \times 800 (Bio-Rad 680) để xác định nồng độ giết chết 50% tế bào (IC₅₀) [24]. Đường cong liều đáp ứng đã được thiết lập, các phép đo kiểm soát dương tính được thực hiện với *cis*-platin. Giá trị IC₅₀ được định nghĩa là nồng độ gây ức chế 50% sự tăng sinh tế bào.

(1 - Độ hấp thụ trung bình của nhóm được điều trị/Độ hấp thụ trung bình của nhóm đối chứng) \times 100%

KẾT LUẬN

Tổng hợp toàn phần lần đầu tiên hai hợp chất 6,8-prenylacetin (**1**) và 8-prenylacetin (**2**) được tổng hợp từ 2,4,6-trihydroxyacetophenone đã đạt được thông qua hai con đường khác nhau 4 bước hoặc 5 bước. Năng suất tổng thể của **1** và **2** lần lượt là 25% và 27%. Bước quan trọng của con đường tổng hợp là phản ứng ankylation gắn thêm nhóm prenyl vào vị trí C6 và C8 của acetin. Hơn nữa, các hợp chất tổng hợp đã được kiểm tra hoạt tính ức chế tăng sinh trên dòng tế bào ung thư của người Hela bằng phương pháp MTT tiêu chuẩn. Kết quả cho thấy hầu hết các hợp chất mục tiêu biểu hiện độc tính tế bào trung bình đến mạnh chống lại dòng tế bào ung thư Hela so với *cis*-platin chất làm đối chứng có sự kiểm soát dương tính. Các hợp chất **1** và **2** cho thấy khả năng ức chế tăng sinh tốt đối với dòng tế bào Hela lần lượt là: 6.78 μ M và 20.33 μ M. Chúng là tác nhân chống ung thư tiềm năng và xứng đáng để nghiên cứu hơn nữa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Basabe, M. de Román, S. I. Marcos, D. Diez, A. Blanco, O. Boder, F. Mollinedo, G. B. Sierra, G. J. G. J. Urones, Prenylflavonoids and prenyl/alkyl-phloroacetophenones: Synthesis and antitumour biological evaluation, Eur. J. Med. Chemistry, vol. 45, no. 9, pp. 4258-4269, 2010.
- [2] D. Barron, R. K. Ibrahim, Isoprenylated flavonoids e a survey, Phytochemistry, vol. 43, no. 5, pp. 921-982, 1996.
- [3] P. Tiziana, F. Silvia, G. Fravcesca, M. Alberto, G. Giovanni, L. Grazia, Anti-inflammatory and vascularprotective properties of 8-prenyla pigenin, Eur. J. Pharmacology, vol. 620, no. 1-3, pp. 120-130, 2009.

- [4] M. Mizuno, M. Iinuma, T. Tanaka, N. Sakakibara, M. Nishi, A. Inada & T. Nakanishi, A flavonol glycoside from *Epimedium diphyllum*, *Phytochemistry*, vol. 28, no.9, pp. 2527–2529, 1989.
- [5] J. Ahn, Y.-M. Kim, H.-S. Chae, Y. H. Choi, H.-C. Ahn, H. Yoo, Y.-W. Chin, Prenylated Flavonoids from the Roots và Rhizomes of *Sophora tonkinensis* và Their Effects on the Expression of Inflammatory Mediators và Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9, *Journal of Natural Products*, vol. 82 no. 2 pp. 309-317, 2019.
- [6] X. Yang, Y. Jiang, J. Yang, J. He, J. Sun, F. Chen, B. Yang, Prenylated flavonoids, promising nutraceuticals with impressive biological activities, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 44, no.1, pp. 93–104, 2015.
- [7] M. Boozari, S. Soltani, M. Iranshahi, Biologically active prenylated flavonoids from the genus *Sophora* và their structure-activity relationship-A review, *Phytotherapy Research*, vol. 33, no. 3, pp. 546-560, 2019.
- [8] F. Cerqueira, A. Cordeiro-Da-Silva, N. Araujo, H. Cidade, A. Kijjoa, M. S. J. Nascimento, Inhibition of lymphocyte proliferation by prenylated flavones: Artelastin as a potent inhibitor, *Life Sciences*, vol. 73, no. 18, pp. 2321-2334, 2003.
- [9] F. C. Meotti, F. C. Missau, J. Ferreira, M. G. Pizzolatti, C. Mizuzaki, C. W. Nogueira, A. R. Santos, Anti-allodynic property of flavonoid myricitrin in models of persistent inflammatory và neuropathic pain in mice, *Biochemical Pharmacology*, vol. 72, no. 12, pp. 1707-1713, 2006.
- [10] M. C. Alley, D. A. Scudiero, A. Monks, M. L. Hursey, M. J. Czerwinski, D. L. Fine, B. J. Abbott, J. G. Mayo, R. H. Shoemaker, M. R. Boyd, Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay, *Cancer Research*, vol. 48 no. 3, pp. 589-601, 1988.
- [11] A. I. Carballo-Villalobos, M. E. González-Trujano, F. J. López-Muñoz, Evidence of mechanism of action of anti-inflammatory/antinociceptive activities of acacetin, *European Journal of Pain*, vol. 18, no.3, pp. 396–405, 2014.
- [12] Y. L. Hsu, P. L. Kuo, C. C. Lin, Acacetin inhibits the proliferation of HepG2 by blocking cell cycle progression và inducing apoptosis, *Biochem Pharmacol*, vol. 67, no. 5, pp. 823–829, 2004.
- [13] R. P. Singh, P. Agrawal, D. Yim, C. Agarwal, R. Agarwal, acacetin inhibits cell growth và cell cycle progression, và induces apoptosis in human prostate cancer cells: structure–activity relationship with linarin and linarin acetate, *Carcinogenesis*, vol. 26, no. 4, pp. 845–854, 2005.
- [14] H. Y. Shim, J. H. Park, H. D. Paik, S. Y. Nah, D. S. Kim, Y. S. Han, Acacetin-induced apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells involves caspase cascade, mitochondria-mediated death signaling và SAPK/JNK1/2-c-Jun activation, *Mol Cells*, vol. 24, no.1, pp. 95–104, 2007.
- [15] M. H. Pan, C. S. Lai, P. C. Hsu, Y. J. Wang, Acacetin induces apoptosis in human gastric carcinoma cells accompanied by activation of caspase cascades và production of reactive oxygen species, *J. Agric Food Chemistry*, vol. 53, no.4, pp. 620–630, 2005.
- [16] N. Van-Son, L. Chong Yang, W. Sheng-Chun, W. Qiu-An, Synthesis of Icaritin và β -anhydroicaritin Mannich Base Derivatives và Their Cytotoxic Activities on Hela Cells, *Anti-Cancer Agents in Medicinal*, vol 17, no. 1, pp. 137-142, 2017.
- [17] N. Van-Son, D. Lin-Pei, W. Sheng-Chun, W. Qiu-An, The First Total Synthesis of Sophoflavescenol, Flavenochromane C và Citrusinol, *European Journal of Organic Chemistry*, vol. 2015, no.10, pp. 2297-2302, 2015.
- [18] N. Van-Son, S. Ling, L. Yue, W. Qiu-An, Total Synthesis of Icaritin via Microwave-assistance Claisen Rearrangement, *Letters in Organic Chemistry*, vol. 11, no. 9, pp. 667-681, 2014.
- [19] N. Van-Son, C. Shuang-Lian, F. Tang, W. Qiu-An, Promoting Hydrolysis of Flavonoid Glycosides by Microwave Irradiation, *J. Indian Chem. Soc.*, vol. 11, no. 6, pp. 234-238, 2015.
- [20] S. Li, Y. Li, H. Zheng, Studies on the Mechanism of the Hoesch Reaction và its Modified Reaction with Low-Temperature Mass Spectrometry, *European Journal of Mass Spectrometry*, vol. 11, no. 4, pp. 389–392, 2005.
- [21] G. R. Nagarajan, T. R. Seshadri, Flavonoid components of the heartwood of *Prunus domestica* linn, *Phytochemistry*, vol. 3, no.4, pp. 477-484, 1964.
- [22] R. C. Sharma, A. Zaman, A. R. Kidwai, Chemical examination of *Buddleia asiatica*, *Indian J. Chemistry*, vol. 1, no. 8, pp. 366-367, 1963.
- [23] Z. Cao, R. Tong, A. Mishra, W. Xu, G. C. Wong, J. Cheng, Y. Lu, Reversible cell-specific drug delivery with aptamer-functionalized liposomes, *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 48, no.35, pp. 6494 –6498 2009.
- [24] P. R. Twentyman, M. Luscombe, A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth và chemosensitivity, *British Journal of Cancer*, vol. 56, no.3, pp. 279-285, 1987.

Ngày nhận bài: 01/11/2019
Ngày chấp nhận đăng: 25/03/2020