



Original Article

Structures and Acetylcholinesterase Inhibition Abilities of some Derivatives Bearing (pyridin-2-yl)tetrazole Scaffold

Bui Thi Hong Nhung¹, Le Thien Bao Long¹, Nguyen Viet Hung^{1,2},
Nguyen Khac Tiep¹, Dang Thai Hoang¹, Do Huy Hoang³, Tran Phuong Thao^{1,*}

¹Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

²Hanoi University of Mining and Geology, 18 Vien, Bac Tu Liem, Hanoi, Vietnam

³VNU University of Science, 19 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received 30 January 2024

Revised 23 April 2024; Accepted 04 May 2024

Abstract: Tetrazole derivatives are a prominent class of heterocycles that hold significant value in medicinal chemistry and drug design. Their importance stems from their bioisosteric resemblance to carboxylic acid and amide moieties and their favorable metabolic stability and other beneficial physicochemical properties. In this study, novel derivatives bearing the (pyridine-2-yl)tetrazole scaffold were synthesized with the presence of acid, ester, and amide moieties and evaluated for their novel inhibitory effects on the enzyme acetylcholinesterase (AChE). Through a three-step synthesis reaction initiated with 2-pyridine carbonitrile, compound **IV** was successfully obtained with **II** and **III** as the intermediates. All substances **II** - **III** - **IV** demonstrated inhibitory activity against the enzyme acetylcholinesterase. Notably, substance **IV** exhibited the highest percentage of inhibition, achieving 23,7% at a concentration of 75 μ M. Based on molecular docking simulations, compounds containing more binding exhibit more robust AChE enzyme inhibitory activity. This drug-likeness simulation and ADME prediction highlight the potential of tetrazole derivatives as a promising treatment for Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer, Acetylcholinesterase, Tetrazole.

* Corresponding author.

E-mail address: thaotp119@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5641>

Cấu trúc và khả năng ức chế Acetylcholinesterase của một số dẫn chất mang khung (pyridin-2-yl)tetrazol

Bùi Thị Hồng Nhung¹, Lê Thiên Bảo Long¹, Nguyễn Việt Hùng^{1,2},
Nguyễn Khắc Tiệp¹, Đặng Thái Hoàng¹, Đỗ Huy Hoàng³, Trần Phương Thảo^{1,*}

¹Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Mỏ - Địa chất, 18 Phố Viên, Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Hà Nội,
19 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 30 tháng 01 năm 2024

Chỉnh sửa ngày 24 tháng 4 năm 2024; Chấp nhận đăng ngày 04 tháng 5 năm 2024

Tóm tắt: Các dẫn chất tetrazol là một nhóm dị vòng đáng chú ý, có giá trị quan trọng trong hóa dược và thiết kế thuốc do sự đa dạng cấu trúc sinh học với acid carboxylic và amid, ít bị chuyển hóa bởi enzym. Do đó, ba dẫn chất mang khung (pyridin-2-yl)tetrazol chứa lần lượt các nhóm acid, ester và amid đã được tổng hợp và đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE). Với nguyên liệu ban đầu là 2-pyridin carbonitril thông qua ba bước, hợp chất **IV** đã được tổng hợp thành công thông qua các sản phẩm trung gian **II** và **III**. Kết quả đánh giá khả năng ức chế AChE lần đầu tiên được thử nghiệm đối với các chất tổng hợp được cho thấy tất cả các chất **II-III-IV** đều có hoạt tính ức chế AChE. Đáng chú ý, chất **IV** có tỷ lệ ức chế cao nhất, đạt 23,7% ở nồng độ 75 μ M. Đồng thời, dựa trên mô phỏng docking phân tử, chất **IV** có nhiều liên kết với enzym nhất, điều này phù hợp với kết quả thử hoạt tính ức chế AChE của chất **IV** là mạnh nhất. Nghiên cứu đặc tính giống thuốc và dự đoán ADME *in silico* cho thấy các dẫn chất tetrazol đã được tổng hợp cho thấy cả ba chất đều là tác nhân điều trị đầy hứa hẹn cho bệnh Alzheimer.

Từ khóa: Alzheimer, Acetylcholinesterase, Tetrazol

1. Mở đầu

Bệnh Alzheimer là căn bệnh thoái hóa thần kinh không hồi phục được Alois Alzheimer mô tả lần đầu tiên vào năm 1906 [1]. Bệnh Alzheimer chiếm khoảng 60% đến 80% trong những bệnh làm suy giảm trí nhớ, nhận thức và hành vi của con người [2]. Giả thuyết cholinergic đã chỉ ra rằng Alzheimer có liên quan đến sự thiếu hụt chất dẫn truyền thần kinh quan trọng là acetylcholin hoặc butyrylcholin. Hiện nay, các lựa chọn điều trị chính để điều trị Alzheimer là thuốc ức chế acetylcholinesterase (AChE) như donepezil, rivastigmin,

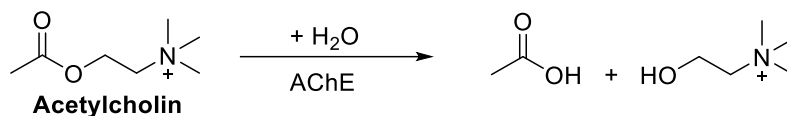
galantamin, tacrin [3]. Tuy nhiên cả bốn chất đều có các tác dụng phụ đáng kể [4]. Do vậy, nghiên cứu để tìm ra các chất ức chế AChE mới vẫn là một chiến lược đầy hứa hẹn.

AChE là enzym có vai trò thủy phân acetylcholin thành cholin và anion acetat (Hình 1). Nghiên cứu cấu trúc của AChE đã chỉ ra rằng trung tâm hoạt động của enzym rộng khoảng 5 Å và sâu 20 Å tính từ bề mặt của enzym [5]. Cấu trúc enzym này đã tạo ra hai vị trí gắn cơ chất riêng biệt trên AChE, đó là vùng trung tâm hoạt động (CAS) nằm ở “đáy” kênh enzym và vùng ngoại vi hay vùng trung tâm dị lập thể (PAS) nằm ở “miệng” kênh enzym [6]. 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 [7].

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: thaotp119@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5641>

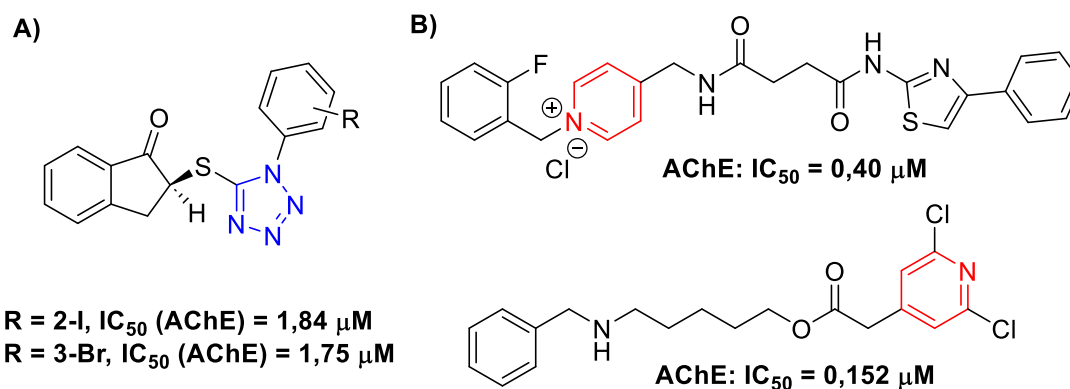


Hình 1. Phản ứng thủy phân acetylcholin xúc tác bởi AChE.

Tetrazol là hợp chất dị vòng thơm 5 cạnh chứa 4 dị tố nitơ. Các dẫn chất 1*H*-tetrazol với nhóm thế ở vị trí C-5 được coi như là đẳng cấu sinh học của ester carboxylat, thể hiện các đặc tính vật lý tương tự như ester carboxylat nhưng bền vững hơn với các enzym chuyển hóa thuốc. Nhiều hợp chất có chứa 1*H*- hoặc 2*H*-tetrazol được ứng dụng trong chẩn đoán, điều trị các

bệnh khác nhau như hạ huyết áp, kháng khuẩn, kháng virus, chống dị ứng [8], đồng thời có khả năng ức chế AChE (Hình 2A) [9].

Thêm vào đó, nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng dẫn chất pyridin thể hiện khả năng ức chế AChE mạnh thông qua tương tác của chính vòng pyridin với vùng PAS (hình 2B) [10].



Hình 2. Một số dẫn chất A) tetrazol (xanh), B) pyridin (đỏ) có khả năng ức chế AChE.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi dựa trên những phân tích xây dựng mối liên hệ giữa cấu trúc và khả năng tương tác của các nhóm chức với AChE, đề xuất cấu trúc của ba chất mang khung (pyridin-2-yl)tetrazol với nhóm thế có độ phân cực khác nhau thông qua cầu acetyl. Các chất đề xuất được tổng hợp, đánh giá khả năng ức chế AChE và xây dựng mối liên quan giữa cấu trúc phân tử và khả năng ức chế AChE của chúng.

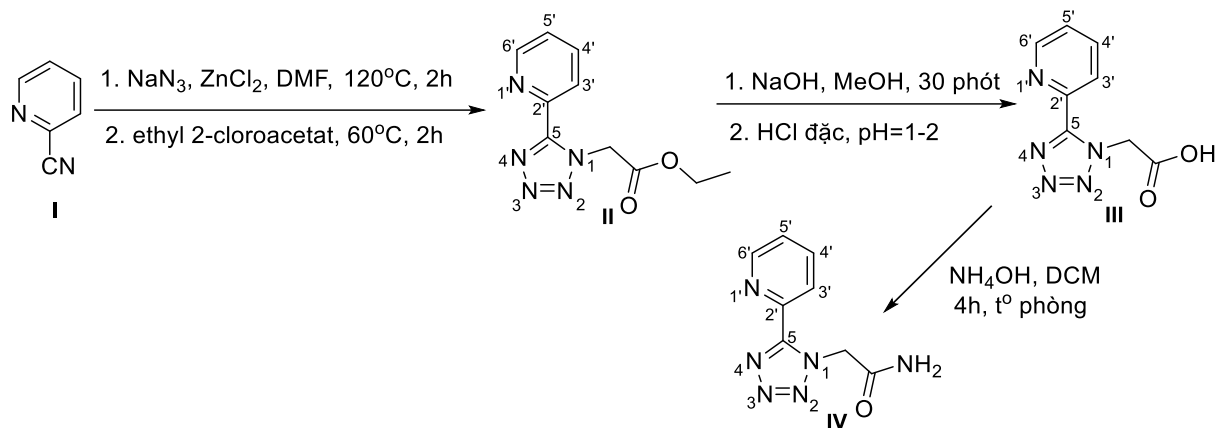
2. Thực nghiệm

2.1. Nguyên liệu và thiết bị

Hoá chất được mua từ các nhà cung cấp trong nước hoặc nước ngoài (Merck, Sigma-Aldrich) được sử dụng trực tiếp không qua tinh chế. Đĩa 96 giếng SPL (Hàn Quốc) tip 1000,

200 microlit của AHL (Đức), micropipette 1000, 200 microlit Nichiryo (Nhật). Enzym AChE (Sigma-Aldrich, Mỹ); acetylthiocholin iodid (ATCI, Sigma-Aldrich, Mỹ), acid 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic (DTNB, TCI, Nhật); galantamin (TCI, Nhật) được sử dụng trong thí nghiệm đánh giá khả năng ức chế AChE của các chất đã tổng hợp được. Dung môi được mua từ các nhà cung cấp của Merck (Đức), Sigma-Aldrich (Mỹ) và Trung Quốc. Phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng (SKLM) sử dụng bản mỏng Merck Kieselgel 60F₂₅₄ và quan sát dưới đèn UV. Phổ hồng ngoại được ghi trên máy FTIR Affinity-1S-Shimadzu (Nhật Bản) với kỹ thuật viên nén KBr trong vùng 4000-600 cm⁻¹. Phổ cộng hưởng từ được đo trên máy Bruker AC-500 MHz với chất chuẩn nội TMS. Phổ khối được ghi bằng máy Agilent 6530 Accurate-Mass

QTOF LC/MS (United States) theo phương pháp ion hóa phun mù điện tử (ESI). Khả năng ức chế AChE được đọc trên máy đọc đĩa 96 giếng VarioskanLux.



Sơ đồ 1. Sơ đồ tổng hợp các dẫn chất II-IV.

Chất đầu 2-pyridin carbonitril (I) (1,0 đương lượng), NaN_3 (1,5 đương lượng) và ZnCl_2 (0,1 đương lượng) được hòa vào dung môi *N,N*-dimethylformamid (DMF) khan trong bình cầu có khuấy từ. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng lên 120°C và khuấy đều trong 2 giờ. Sau khi I phản ứng hết, hạ nhiệt độ bình phản ứng xuống khoảng 60°C và thêm vào hỗn hợp phản ứng ethyl 2-chloroacetat (1,2 đương lượng), tiếp tục khuấy ở 60°C trong khoảng 2 giờ. Sau đó làm lạnh bình phản ứng về nhiệt độ thường. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với 25 mL Na_2CO_3 bão hòa và chiết bằng ethyl acetat (EA, 2 lần, mỗi lần 40 mL). Pha hữu cơ được chiết lại 2 lần với nước cất (mỗi lần 25 mL), sau đó được làm khan bằng Na_2SO_4 khan. Pha hữu cơ được cô dưới áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng pha động là EA: *n*-hexan (2:3) thu được II với đồng phân N1 và đồng phân N2. Sử dụng đồng phân N1 để tiếp tục thực hiện các phản ứng sau.

Dẫn chất acid III được tổng hợp theo Sơ đồ 1, bằng cách hòa tan chất II vào methanol sau đó thêm NaOH (2,5 đương lượng) đã được hòa tan hoàn toàn trong một lượng nước tối thiểu vào dung dịch dẫn chất II. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 30 phút ở nhiệt độ phòng.

2.2. Tổng hợp hóa học

Từ chất đầu 2-pyridin carbonitril (I), các dẫn chất (pyridin-2-yl)tetrazol II-IV được tổng hợp theo Sơ đồ 1 dưới đây.

Sau đó hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh về pH = 1-2 bằng acid HCl đặc, cô quay dưới áp suất giảm thu được hỗn hợp acid carboxylic III lẫn muối NaCl. Tiếp theo, thêm hỗn hợp methanol:diclometan (MeOH:DCM = 1:4) và lọc loại muối NaCl, rửa sạch muối nhiều lần bằng hỗn hợp dung môi MeOH:DCM để thu được tối đa lượng acid. Sau đó cô quay loại bỏ dung môi, làm khô trong tủ sấy chân không thu được acid III.

Dẫn chất amid IV được tổng hợp theo Sơ đồ 1 bằng cách hòa tan chất III trong lượng tối thiểu DCM, cho từ từ amoniac trong nước (37%; 3,0 đương lượng) vào trong bình phản ứng và tiến hành khuấy trộn ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với 25 mL NaHCO_3 bão hòa và chiết xuất bằng EA (3 lần, mỗi lần 40 mL). Lốp hữu cơ được làm khan bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc dưới áp suất giảm và tinh chế bằng cột silica gel sử dụng pha động là EA:*n*-hexan thu được amid IV.

2.3. Xác định cấu trúc

Sử dụng các phương pháp phổ để khẳng định cấu trúc của các dẫn chất mục tiêu, bao

gồm phổ hồng ngoại (IR), phổ khối (MS); phổ cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$).

2.4. Nghiên cứu đặc tính “giống thuốc” và dự đoán ADME

Tiến hành dự đoán các thông số ADME và đặc tính “giống thuốc” bằng công cụ pkCSM [11]. Kết quả đánh giá dựa trên các thông số về số trung tâm cho liên kết hydro, số trung tâm nhận liên kết hydro, khối lượng phân tử, giá trị logP theo Quy tắc 5 Lipinski [12] và các thông số dược động học đáng chú ý như: thể tích phân bố ở trạng thái ổn định (VDss), độ thanh thải toàn phần, độc tính cấp trên chuột.

2.5. Thử hoạt tính ức chế AChE

Đánh giá hoạt tính ức chế AChE của các chất tổng hợp được (**II-IV**) bằng phương pháp Ellman. Nguyên tắc của phương pháp: cơ chất acetylthiocholin iodid (ATCI) bị thủy phân nhờ xúc tác của AChE tạo thiocholin. Sau đó thiocholin phản ứng với thuốc thử acid 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic (thuốc thử Ellman, DTNB) tạo thành hợp chất acid 5-thio-2-nitrobenzoic có màu vàng. Chất tham chiếu được sử dụng là Galantamin được mua từ TCI. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm với máy đọc đĩa VarioskanLux.

Quy trình thực hiện: 20 μL ở các nồng độ khác nhau của các dung dịch thử nghiệm 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 μL dung dịch AChE 0,25 IU/ml, được thêm dung dịch đệm phosphat pH 8,0 đến khi tổng thể tích là 100 μL . Ủ hỗn hợp ở 25 $^{\circ}\text{C}$ trong 30 phút, sau đó đo độ hấp thụ của hỗn hợp ở bước sóng 412 nm. Mỗi chất được thử sàng lọc khả năng ức chế AChE ở nồng độ 75 μM , phép thử được tiến hành lặp lại ba lần. Phần trăm (%) ức chế AChE của các chất ở nồng độ thử nghiệm được tính theo công thức: % ức chế = (mẫu thử - blank)/(control - blank) x 100%.

Trong đó: Blank: ATCI, DNTB trong dung dịch đệm pH 8,0.

Control: ATCI, DNTB và enzym trong dung dịch đệm pH 8,0.

Mẫu thử: chất thử thử (hoặc chứng galantamin), ATCI, DNTB và enzym trong dung dịch đệm pH 8,0.

2.6. Mô phỏng docking phân tử

Mô phỏng docking phân tử được thực hiện trên phần mềm Molecular Operation Environment (MOE 2015.10). Cấu trúc tinh thể AChE của người (PDB ID: 4EY6) được trích xuất từ Protein Data Bank [13]. Kết quả docking được phân tích và biểu diễn bằng Discovery Studio 2021 và Pymol.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tổng hợp hóa học

Chúng tôi đã tổng hợp được 3 dẫn chất (pyridin-2-yl)tetrazol. Cấu trúc các chất mục tiêu được khẳng định thông qua các dữ liệu phân tích phổ IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$. Kết quả cụ thể như sau:

Ethyl 2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetat (II). Màu trắng, hiệu suất: 54%. IR (cm $^{-1}$): 1746, 1473, 1436, 1377, 1221, 1117, 1095, 1017, 808, 788, 751, 727, 704. $^1\text{H NMR}$ (CDCl $_3$, 500 MHz) δ : 8,65 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H, H6'), 8,43 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H, H3'), 8,10 (td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz, 1H, H4'), 7,44 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, H5'), 5,75 (s, 2H, -CH $_2$ CO), 4,19 (quart, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH $_2$ CH $_3$), 1,19 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH $_2$ CH $_3$). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl $_3$, 125 MHz) δ 166,0 (C=O), 152,2 (N=C-N), 149,2 (C2'), 144,6 (C6'), 137,5 (C4'), 125,5 (C3'), 124,2 (C5'), 62,12 (CH $_2$ CH $_3$), 51,0 (CH $_2$ CO), 14,0 (CH $_2$ CH $_3$). MS (ESI) m/z tính cho C $_{10}$ H $_{12}$ N $_5$ O $_2$ [M+H] $^+$ dự kiến 234,09; thực tế 234,10.

2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetic acid (III). Màu trắng, hiệu suất: 90%. IR (cm $^{-1}$): 3445, 3340, 1719, 1436, 1248, 1129, 1097, 993, 798, 747, 728, 655. $^1\text{H NMR}$ (DMSO-d $_6$, 500 MHz) δ : 8,75 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H, H6'), 8,33 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H3'), 8,10 (td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz, 1H, H4'), 7,63 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H, H5'), 5,75 (s, 2H, -CH $_2$ CO). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO-d $_6$, 125 MHz) δ 168,4 (C=O), 152,5 (N=C-N), 150,2 (C2'), 144,4 (C6'), 138,8 (C4'), 126,5 (C3'), 124,3 (C5'), 51,4 (CH $_2$ CO). MS (ESI) m/z tính cho C $_8$ H $_6$ N $_5$ NaO $_2$ [M+Na] $^+$ dự kiến 227,04; thực tế 227,06.

2-(5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)acetamid (IV). Màu trắng, hiệu suất: 78%.

IR (cm⁻¹): 3355, 3062, 3005, 2957, 1680, 1595, 1436, 1409, 1377, 1318, 1377, 1318, 1053, 1015, 825, 802, 748, 669. ¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 8,76 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, H6'), 8,15 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, H3'), 8,10 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, H4'), 7,91 (s, 1H, H5'), 7,57 (m, 2H, CO-NH₂), 5,52 (s, 2H, -CH₂CO). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 125 MHz) δ 166,5 (C=O), 164,6 (N=C-N), 150,7 (C2'), 146,7 (C6'), 138,1 (C4'), 125,8 (C3'), 122,9 (C5'), 55,2 (CH₂CO). MS (ESI) m/z tính cho C₈H₉N₆O [M+H]⁺ dự kiến 205,08; thực tế 205,10.

Các dẫn chất được tổng hợp theo cách từ một đến ba bước xuất phát từ 2-pyridin carbonitril (**I**). Phản ứng cộng đóng vòng [3+2] của **I** và azid vô cơ tạo vòng tetrazol trong dung môi DMF được tiến hành ở 120 °C, tiếp tục phản ứng với ethyl 2-cloroacetat thu được chất **II** có hai đồng phân là đồng phân N1 (phân cực hơn) và đồng phân N2 (kém phân cực hơn). Hai đồng phân được tách bằng sắc ký cột silica gel và khẳng định cấu trúc bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều. Sử dụng đồng phân N1 để thực hiện phản ứng thủy phân ester tạo acid carboxylic **III**. Cuối cùng, phản ứng của chất **III** với amoniac cho sản phẩm **IV**. Tất cả các chất **II-IV** tổng hợp được ở dạng chất

rắn màu trắng. Xác định cấu trúc của các sản phẩm thông qua phổ ¹H NMR cho thấy tất cả các chất đều có tín hiệu của proton ở vòng thơm trong vùng 7,44-8,76 ppm; hai proton của -CH₂CO là một pic đơn ở vùng 5,5-5,7 ppm. Ngoài ra, phổ ¹³C NMR cho thấy tất cả các chất đều có tín hiệu của N=C-N ở vùng $\delta = 152,5-164,6$ ppm, của carboxyl (-COO) ở vùng $\delta = 166,5-168,4$ ppm. Dữ liệu phổ khối đo được đều cho thấy các pic giả phân tử với số khối phù hợp với khối lượng phân tử dự kiến. Dữ liệu phổ của cả ba chất đã tổng hợp được là hoàn toàn phù hợp với tài liệu đã công bố trước đây [14].

3.2. Đặc tính “giống thuốc” và dự đoán ADME

Các đặc tính giống thuốc của ba chất **II-IV** được đánh giá dựa trên quy tắc 5 Lipinski thông qua công cụ pkCSM [11] bao gồm phân tử khối, số nhóm cho liên kết hydro, số nhóm nhận liên kết hydro, và giá trị LogP. Công cụ pkCSM đồng thời cũng được sử dụng để tính toán các thông số quan trọng như khả năng hấp thụ ở ruột, thể tích phân bố ở trạng thái ổn định (VD_{ss}), độ thanh thải toàn phần và độc tính cấp trên chuột.

Bảng 1. Các thông số đặc trưng phân tử

Hợp chất	Phân tử khối (Dalton)	Số nhóm cho liên kết hydro (HBD)	Số nhóm nhận liên kết hydro (HBA)	LogP
II	233,231	0	7	0,2982
III	205,177	1	6	-0,1803
IV	204,193	1	6	-0,7796
Tham số đối chiếu theo quy tắc 5 Lipinski	≤ 500	≤ 5	≤ 10	≤ 5

Bảng 2. Đánh giá một số thông số quan trọng trong dược động học và độc tính

Hợp chất	Hấp thu ở ruột (%)	VD _{ss} (L/kg)	Độ thanh thải toàn phần (mL/phút/kg)	Độc tính cấp trên chuột (g/kg)
II	93,365	6,412	2,037	727,2
III	58,416	11,066	1,706	574,9
IV	73,238	6,138	1,679	572,9

Kết quả đánh giá khả năng giống thuốc của các hợp chất **II-IV** cho thấy khi thay nhóm acid -COOH của hợp chất **III** thành ester **II** hay

amid **IV** thì mức độ hấp thu ở ruột được tăng lên. Acid **II** được dự đoán có thể hấp thu ở ruột tốt nhất lên tới 93%. Độ thanh thải toàn phần và

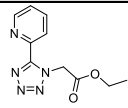
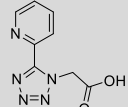
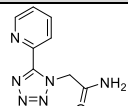
thể tích phân bố ở trạng thái ổn định đều có sự khi thay nhóm acid carboxylic bằng nhóm ester hoặc nhóm amid. Giá trị tính toán độc tính trên chuột cũng có sự thay đổi đáng kể từ 572,9 g/kg lên đến 727,2 g/kg. Các giá trị dự đoán về độ thanh thải, độc tính cấp trên chuột chứng tỏ quá trình chuyển nhóm acid thành nhóm ester hoặc amid có thể có giá trị lớn trong nghiên cứu thuốc như giảm độc tính, kéo dài tác dụng của ứng viên thuốc.

3.3. Hoạt tính sinh học

Kết quả thử hoạt tính ức chế AChE của các chất tổng hợp được **II-IV** ở nồng độ 75 μM được trình bày trong Bảng 3.

Kết quả cho thấy các dẫn chất **II-IV** đều có khả năng ức chế AChE tại nồng độ thử nghiệm. Chất **IV** cho thấy phần trăm ức chế AChE là cao nhất với 23,70% ở nồng độ 75 μM khi so sánh với các dẫn chất khác.

Bảng 3. Kết quả thử khả năng ức chế AChE của các dẫn chất **II-IV**

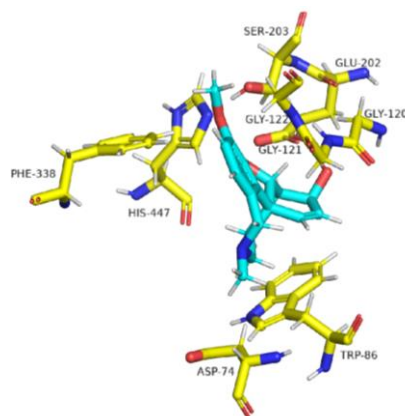
Chất	Cấu trúc	% ức chế AChE tại nồng độ 75 μM (%)
II		16,40
III		13,20
IV		23,70
Blank		0
Control		100

3.4. Mô phỏng docking phân tử

Cấu trúc của AChE được dự đoán chia thành các vùng hoạt động khác nhau: vùng CAS bao gồm Ser203, His447 và Glu334 và vùng PAS bao gồm Tyr72, Tyr124, Trp286, Tyr341 và Asp74. Các thuốc ức chế AChE như huperzin A, galantamin và donepezil cho thấy

thay đổi rõ rệt trên kết quả tính toán sàng lọc khả năng tương tác tốt với các amino acid ở hai vùng [13]. Kết quả redock cũng tái hiện lại khả năng tương tác của galantamin với AChE (Hình 3).

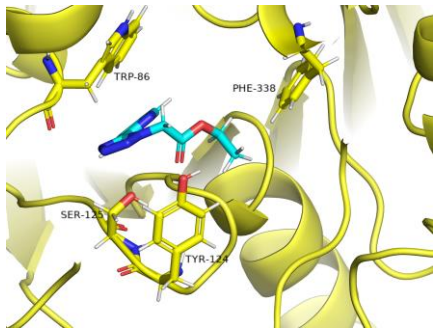
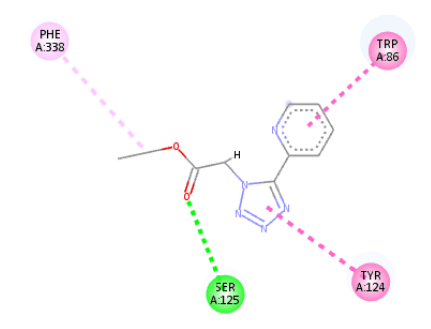
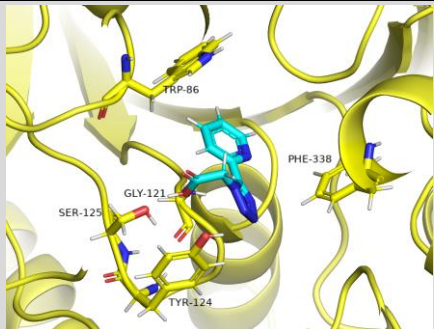
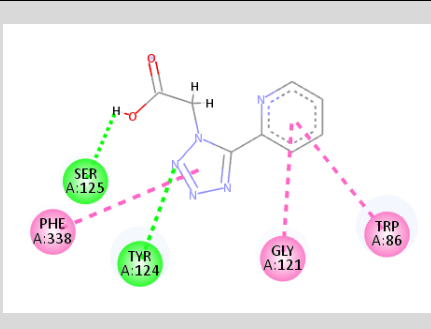
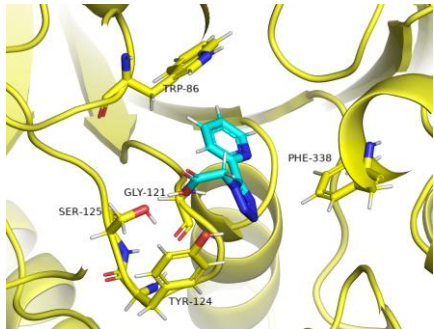
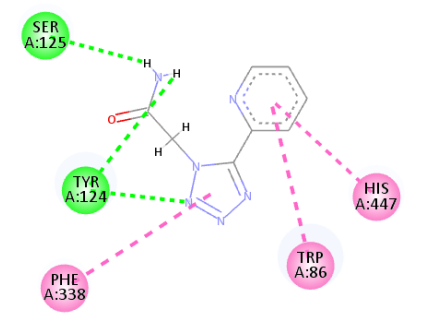
Kết quả redock còn cho thấy năng lượng liên kết là -7,18 kcal/mol và chỉ số RMSD = 0,7 Å < 1, điều này cho thấy quy trình phù hợp để áp dụng vào mô phỏng các hợp chất đã tổng hợp (Hình 4).



Hình 3. Hình ảnh docking của galantamin với AChE. Trong đó: galantamin có màu xanh ngọc, các acid amin tại các vùng hoạt động của AChE có màu vàng.

Dựa trên kết quả docking phân tử của các hợp chất **II**, **III** và **IV** được thể hiện trên Bảng 4, các phân tử đích đã có xu hướng tiến vào trong kênh hoạt động của enzyme AChE và có tương tác liên phân tử với các acid amin cấu thành nên enzyme. Cụ thể thể nhóm -CH₃, vòng pyridin và tetrazol trong cả ba hợp chất đều tạo tương tác xếp chồng pi - pi hoặc pi-alkyl với Trp86, Phe338. Chất **II** có thêm tương tác pi-pi với Tyr124 và liên kết hydro với Ser125. Chất **III** có thêm tương tác pi-pi với Gly121 và hai liên kết hydro với Ser125 và Tyr 124. Trong khi đó chất **IV** được chỉ ra có nhiều tương tác với acid amin của AChE nhất: ngoài tương tác xếp chồng pi-pi và liên kết hydro tương tự chất **II**, còn có thêm một liên kết hydro được tạo thành bởi hydro của nhóm amid với Tyr124. Số lượng tương tác lớn nhất với kết quả nghiên cứu hoạt tính ức chế enzyme AChE *in vitro* của hợp chất **IV** (nồng độ ức chế ở 75 μM là 23,7.

Bảng 4. Kết quả docking của các chất **II-IV** với AChE

Hợp chất	E (kcal/mol)	Tương tác biểu diễn dạng 3D	Tương tác biểu diễn dạng 2D
II	-5,25		
III	-5,07		
IV	-5,21		

Ghi chú: các chất **II, III, IV** có màu xanh ngọc, các acid amin và vùng hoạt động của AChE có màu vàng; nét đứt màu xanh: liên kết hydro, nét đứt màu hồng: tương tác xếp chồng pi - pi, pi - alkyl.

Cùng với sự tăng số liên kết giữa các hợp chất với enzym, kết quả docking cho thấy mức năng lượng liên kết tăng dần theo thứ tự **III, II** và **IV** ứng với nhóm thế acid, ester và amid nhưng đều kém hơn so với galantamin. Điều đó góp phần giải thích kết quả thử hoạt tính ức chế AChE của các hợp chất tổng hợp được yếu hơn so với galantamin.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tổng hợp thành công ba dẫn chất (pyridin-2-yl)tetrazol thông qua một đến ba bước phản ứng từ 2-pyridin carbonitril. Các chất được khẳng định công thức thông qua phổ IR, MS, NMR và đối chiếu với các dữ liệu phổ đã được công bố trước đó. Kết quả thử hoạt tính ức chế AChE

của các chất được thực hiện lần đầu tiên cho thấy ba chất đều có khả năng ức chế AChE tại nồng độ 75 μM , trong đó chất **IV** có phần trăm ức chế AChE là cao nhất với 23,70%. Ảnh hưởng của các nhóm thế đến khả năng ức chế enzym là rất đáng chú ý. Nhìn chung, nghiên cứu này đã cung cấp mối liên hệ giữa cấu trúc của hợp chất với khả năng ức chế enzym AChE thông qua mô phỏng docking phân tử. Các hợp chất cũng thể hiện tiềm năng ứng dụng làm thuốc thông qua đánh giá mức độ giống thuốc và dự đoán ADME.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF) trong Dự Án mã số VINIF.2022.DA00061.

Tài liệu tham khảo

- [1] H. Hippus, G. Neundörfer, The Discovery of Alzheimer's Disease, *Dialogues Clin Neurosci*, Vol. 5, No. 1, 2003, pp. 101-108, <https://doi.org/10.31887/DCNS.2003.5.1/hhippus>.
- [2] Alzheimer's Association, Alzheimer's Disease Facts and Figures, *Alzheimers Dement*, Vol. 19, No. 4, 2023, pp. 1598-1695, <https://doi.org/10.1002/alz.13016>.
- [3] 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, 2022, pp. 114464, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114464>.
- [4] L. Hoffman, J. Bloemer, Side Effects of Drugs Used in The Treatment of Alzheimer's Disease, *Side Effects of Drugs Annual*, Vol. 43, 2021, pp. 71-77, <https://doi.org/10.1016/bs.seda.2023.08.018>.
- [5] Y. Xu, S. Cheng, J. L. Sussman, I. Silman, H. Jiang, Computational Studies on Acetylcholinesterases, *Molecules*, Vol. 22, No. 8, 2017, pp. 1324, <https://doi.org/10.3390/molecules22081324>.
- [6] Y. Guo, H. Yang, Z. Huang, S. Tian, Q. Li, C. Du, et al., Design, Synthesis, and Evaluation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Dual-Target Inhibitors Against Alzheimer's Diseases, *Molecules*, Vol. 25, No. 3, 2020, pp. 489, <https://doi.org/10.3390/molecules25030489>.
- [7] M. Son, C. Park, S. Rampogu, A. Zeb, K. W. Lee, Discovery of Novel Acetylcholinesterase Inhibitors as Potential Candidates for the Treatment of Alzheimer's Disease, *Int J Mol Sci*, Vol. 20, No. 4, 2019, pp. 1000, <https://doi.org/10.3390/ijms20041000>.
- [8] C. G. Neochoritis, T. Zhao, A. Dömling, Tetrazoles via Multicomponent Reactions, *Chem Rev*, Vol. 119, No. 3, 2019, pp. 1970-2042, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00564>.
- [9] A. Dişli, M. Gümüş, K. Önal, N. Sarı, F. Arslan, New Multifunctional Agents and Their Inhibitory Effects on the Acetyl Cholinesterase Enzyme, *C. Engineering*, Vol. 37, No. 1, 2018, pp. 21-34, <https://doi.org/10.20450/mjce.2018.1334>.
- [10] F. Pandolfi, D. D. Vita, M. Bortolami, A. Coluccia, R. Di Santo, R. Costi et al., New Pyridine Derivatives as Inhibitors of Acetylcholinesterase and Amyloid Aggregation, *Eur J Med Chem*, Vol. 141, 2017, pp. 197-210, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.09.022>.
- [11] D. E. Pires, T. L. Blundell, D. B. Ascher, pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures, *J Med Chem*, Vol. 58, No. 9, 2015, pp. 4066-4072, <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- [12] M. P. Pollastri, Overview on the Rule of Five, *Current Protocols in Pharmacology*, Vol. 49, No. 1, 2010, pp. 9-12, <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0912s49>.
- [13] J. Cheung, M. J. Rudolph, F. Burshteyn, M. S. Cassidy, E. N. Gary, J. Love et al., Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands, *J Med Chem*, Vol. 55, No. 22, 2012, pp. 10282-10286, <https://doi.org/10.1021/jm300871x>.
- [14] S. R. K. Reddy, S. M. Surya, M. Shaik, P. R. Kanuparth, Copper Complexes of Pyridyl-Tetrazole Ligands With Pendant Amide and Hydrazide Arms: Synthesis, Characterization, DNA-binding and Antioxidant Properties, *Transition Metal Chemistry*, Vol. 41, 2016, pp. 517-523, <https://doi.org/10.1007/s11243-016-0047-2>.