

TỔNG HỢP VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA DẪN XUẤT QUANG HOẠT CIS-(+)-N-ALLYLHEXAHYDROPHthalAZINON

Nguyễn Thị Hương Giang¹, Mai Thị Ngọc Duyên¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đề tài tổng hợp dẫn xuất quang hoạt của cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon nhằm khảo sát khả năng tách đồng phân quang học của tác nhân bất đối (S)-(-)- α -methylbenzylamin, khả năng alkyl hóa của allyl bromid trên khung hexahydrophthalazinon, đồng thời khảo sát hoạt tính kháng viêm của sản phẩm tổng hợp được.

Đối tượng - phương pháp nghiên cứu: Tổng hợp dẫn xuất quang hoạt cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon từ nguyên liệu ban đầu là anhydrid cis-1,2-cyclohexanedicarboxylic với allyl bromid. Xác định cấu trúc bằng IR, MS, ¹H NMR, ¹³C NMR, xác định độ tinh khiết quang học bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với pha tĩnh bất đối và khảo sát tác động kháng viêm cấp in vivo trên mô hình gây viêm bàn chân chuột bằng carrageenan 1%.

Kết quả: Đã tổng hợp thành công dẫn chất cis-(+)-N-allyl-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-2H-phthalazin-1-on có tác dụng kháng viêm trên chuột được gây viêm bằng carrageenan 1% ở liều 60 μ mol/kg sau 5 giờ.

Kết luận: Quy trình tách đồng phân acid carboxylic dạng racemic sử dụng tác nhân bất đối (S)-(-)- α -methylbenzylamin thu được sản phẩm là acid carboxylic có tính quang hoạt với độ tinh khiết quang học cao. Từ đó, tiến hành tổng hợp, xác định cấu trúc dẫn chất N-allyl của cis-(+)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)hexahydrophthalazinon và tiến hành khảo sát tác dụng sinh học.

Từ khóa: cis-(+)-N-alkyl phthalazinon, cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon

ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF CHIRAL CIS-(+)-N-ALLYLHEXAHYDROPHthalAZINON DERIVATIVE

Nguyen Thi Huong Giang, Mai Thi Ngoc Duyen

* Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 25 - No. 4 - 2021: 37 - 43

Objectives: The study "Synthesis and biological evaluation of chiral cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon" was performed to investigate the ability of optical resolution by using chiral agent (S)-(-)- α -methylbenzylamin, the alkylated ability of allyl bromide on the hexahydrophthalazinon frame and evaluate anti-inflammatory activity of synthesized products.

Methods: The new chiral derivative cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon was synthesized from the initial materials cis-1,2-cyclohexanedicarboxylic anhydride and allyl bromide. The structure was determined by IR, MS, ¹H NMR, ¹³C NMR, the optical purity was determined by high performance liquid chromatography with chiral stationary phase and the in vivo anti-inflammatory activity was investigated by carrageenan induced mice paw edema model for acute inflammation.

Results: The new chiral derivative cis-(+)-N-allyl-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-2H-phthalazin-1-on was successfully synthesized which had anti-inflammatory activity in mice at dose of 60 μ mol/kg after 5 hours.

Conclusions: The process of optical resolution of racemic carboxylic acid using chiral agent (S)-(-)- α -

¹Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Tác giả liên lạc: ThS.DS. Nguyễn Thị Hương Giang

ĐT: 0909020887

Email: huonggiang@ump.edu.vn

methylbenzylamin obtained chiral carboxylic acid with high optical purity. Then the chiral derivative N-allyl of cis-(+)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)hexahydrophthalazinon was synthesized, determined the structure and evaluated of the biological activities.

Keywords: *cis-(+)-N-alkyl phthalazinon, cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Với sự phát triển của các phương pháp tách đối quang, ngày nay các dược phẩm quang hoạt trở thành mối quan tâm chính của ngành công nghiệp dược phẩm. Các dẫn xuất thể *cis-N-H* phthalazinon đã được nhiều nhóm tác giả trên thế giới và trong nước phát hiện hoạt tính ức chế chọn lọc enzym phosphodiesterase IV, có tác dụng kháng viêm dùng trong điều trị bệnh hen suyễn và viêm khớp dạng thấp⁽¹⁻³⁾.

Từ hiện trạng trên, đề tài “Tổng hợp và khảo sát hoạt tính sinh học của dẫn xuất quang hoạt *cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon*” được thực hiện với các nội dung cụ thể như sau:

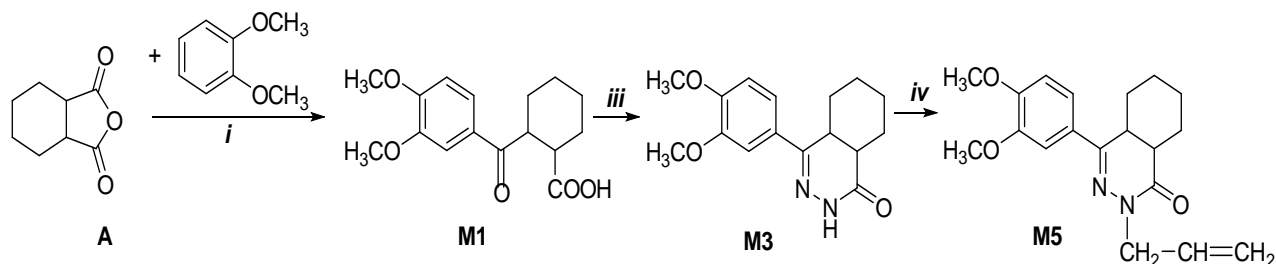
Tổng hợp ở quy mô phòng thí nghiệm dẫn xuất quang hoạt *N-allyl* của *cis-(+)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)hexahydrophthalazinon (M5b)*.

Xác định độ tinh khiết quang học của dẫn xuất quang hoạt **M5b** bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với pha tĩnh bất đối.

Khảo sát tác động kháng viêm cấp *in vivo* của dẫn xuất **M5b** trên mô hình gây viêm bàn chân chuột bằng carrageenan 1%.

Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp dẫn xuất *cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon*



Hình 1. Tổng hợp dẫn xuất *cis-N-allylhexahydrophthalazinon* dạng racemic (M5)

Điều kiện: (i): $CH_2Cl_2, AlCl_3, 55-65\text{ }^\circ C$; (iii): $NH_2-NH_2.H_2O, ethanol, 130-140\text{ }^\circ C$; (iv): $CH_2=CH-CH_2-Br, NaH, tetrahydrofura^{(4,5)}$

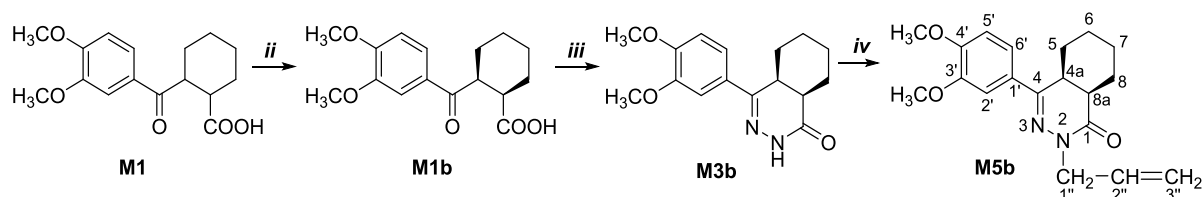
NGUYÊN LIỆU - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu và thiết bị

1,2-Dimethoxybenzen (Merck), anhydrid *cis*-1,2-cyclohexan dicarboxylic (Sigma Aldrich), nhôm clorid (Merck), (*S*)-(-)- α -methylbenzylamin (Merck), hydrazin monohydrat (Trung Quốc), natri hydrid 60% (Ấn Độ), allyl bromid (Sigma Aldrich); carrageenan (Sigma Aldrich), Tween 80 (Sigma Aldrich), natri carboxymethyl cellulose (Sigma Aldrich), dung dịch chống thấm Ormano imbident (Ugo Basile, Ý).

Các phổ 1H NMR và ^{13}C NMR được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 500 NMR Spectrometer tại Viện Hóa học – Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam. Phổ khối lượng MS được đo trên máy LC-MS Shimadzu của Viện Kiểm nghiệm TP.HCM. Phổ IR được đo trên máy Bruker Tensor 27 FTIR. Đo năng suất quay cực trên máy Horiba SEPA-300, Nhật. Xác định độ tinh khiết quang học của các dẫn xuất quang hoạt bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu LC-20A với pha tĩnh bất đối.

Thử hoạt tính kháng viêm trên chuột bằng phương pháp đo thể tích chân chuột với máy Plethysmometer model 7140 (Ugo Basile, Ý).



Hình 2. Tổng hợp dẫn xuất quang hoạt *cis*-(+)-*N*-allylhexahydrophthalazinon (**M5b**)

Điều kiện: (ii): tác nhân bất đối (S)-(-)- α -methylbenzylamin, ethanol; (iii): NH_2-NH_2 , ethanol, 130-140 °C; (iv): $CH_2=CH-CH_2-Br$, NaH, tetrahydrofuran)^(4,5)

Xác định độ tinh khiết quang học

Kiểm tra độ tinh khiết bằng các phương pháp như: sắc ký lớp mỏng (TLC), xác định góc quay cực riêng $[\alpha]_D^{20}$ (0,4%, CH₃OH), xác định nhiệt độ nóng chảy.

Xác định độ tinh khiết quang học bằng phương pháp HPLC với pha tĩnh bất đối^(1,2,6,7) với các điều kiện sắc ký: cột sắc ký Lux Cellulose-1 (250 x 4,6 mm, 5 μ m) chứa pha tĩnh bất đối là cellulose tris (3,5-dimethylphenyl carbamat) trong điều kiện sắc ký pha thuận; bước sóng phát hiện: 317 nm; dung môi pha động: *n*-hexan chứa triethylamin (TEA) 0,2% – isopropanol chứa triethylamin (TEA) 0,2% (90:10); tốc độ dòng: 1 ml/phút; nhiệt độ cột sắc ký: 30 °C; nồng độ mẫu đo: 100 μ g/ml; thể tích tiêm mẫu: 10 μ l; dung môi pha mẫu: *n*-hexan – isopropanol (90:10)^(1,2).

Xác định cấu trúc

Bằng phổ hồng ngoại IR; sắc ký lỏng ghép khối phổ LC-MS, sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS; phổ cộng hưởng từ ¹H NMR và ¹³C NMR.

Khảo sát tác động kháng viêm cấp in vivo của dẫn xuất M5b

Trên mô hình gây viêm bàn chân chuột bằng carrageenan 1%⁽⁸⁾.

Chuột được đo thể tích bàn chân trước thử nghiệm (V₀) trên máy Plethysmometer và chia vào 6 lô (6 chuột/lô) sao cho V₀ khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Lô sinh lý (1): không gây viêm, uống nước cất.

Lô chứng bệnh (2): gây viêm, uống nước cất.

Lô dung môi (3): gây viêm, uống hỗn hợp tá dược natri carboxymethyl cellulose 2% và tween 80 0,2%.

Lô đối chứng (4): gây viêm, uống hỗn dịch diclofenac 10 mg/kg.

Lô thử (5): gây viêm, uống hỗn dịch mẫu thử lần lượt ở liều 30 μ mol/kg và 60 μ mol/kg.

Chuột được cho uống nước cất, dung môi, diclofenac, mẫu thử với thể tích 0,1 ml/10 g, 1 lần/ngày vào buổi sáng (8 đến 11 giờ) trong 3 ngày liên tiếp.

Vào ngày thứ 3, sau khi cho uống nước cất, dung môi, diclofenac, mẫu thử sau 60 phút, chuột ở các lô 2, 3, 4, 5 được gây viêm bằng cách tiêm dưới da vào gan bàn chân phải sau 0,025 ml hỗn dịch carrageenan 1%; chuột ở lô 1 được tiêm tương tự với NaCl 0,9%. Chuột được cho vào lồng có giá đỡ để tránh tổn thương (do tiếp xúc với vật nhọn).

Đo thể tích chân chuột sau sau khi gây viêm 1 giờ, 3 giờ và 5 giờ (V_t).

Mức độ phù bàn chân chuột X (%) ở các thời điểm khảo sát được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{V_t - V_0}{V_n} \times 100$$

X: độ phù bàn chân chuột, tính theo %.

V₀: thể tích chân chuột tại thời điểm trước khi gây viêm (ml).

V_t: thể tích chân chuột tại thời điểm sau khi gây viêm (ml).

Xử lý kết quả và phân tích thống kê

Kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình \pm SEM (standard error of mean-sai số chuẩn của số trung bình). Sự khác biệt giữa các lô được phân tích bằng phép kiểm Kruskal-Wallis và Mann-Whitney với phần mềm SPSS 22.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

KẾT QUẢ**Tổng hợp các dẫn xuất cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon****Tổng hợp acid carboxylic dạng racemic bằng phản ứng Friedel – Crafts (M1)**

Cho lần lượt anhydrid *cis*-1,2-cyclohexandicarboxylic (0,06 mol), nhôm clorid (0,06 mol), 1,2-dimethoxybenzen (0,06 mol) vào bình cầu chứa sẵn dicloromethan (200 ml) đã được làm lạnh. Đun hồi lưu đến khi phản ứng hoàn toàn, theo dõi phản ứng bằng TLC.

Cho hỗn hợp sau phản ứng vào hỗn hợp nước – đá, khuấy kỹ, acid hóa bằng HCl 10%, chiết bằng dicloromethan. Rửa dịch chiết bằng HCl 10%, nước cất, dung dịch NaCl bão hòa. Làm khan dịch chiết bằng Na₂SO₄ khan, cô quay loại dung môi.

Tinh chế bằng kết tinh phân đoạn trong diethyl ether/ *n*-hexan và/ hoặc sắc ký cột.

M1

Hiệu suất sau khi tinh chế khoảng 63,5%. $t_{nc} = 139-140$ °C. **Rf** = 0,40 (*n*-hexan – aceton, 7:5). **IR (KBr)**, ν (cm⁻¹): 1693,18 (C=O), 3370,80 (OH acid), 1513,85 (C=C vòng thơm). **LC-MS (m/z)** [M+H]⁺ dự kiến: 293,1311; thực tế: 293,1385

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm)

1,38-1,52 (m, 3H, H3, H4, H5); 1,76-1,78 (m, 1H, H6); 1,81-1,88 (m, 1H, H4); 1,96-1,99 (m, 1H, H5); 2,03-2,08 (m, 1H, H3); 2,18-2,24 (m, 1H, H6); 2,72-2,76 (m, 1H, H1); 3,88 (s, 6H, OCH₃); 7,74 (d, $J = 2$ Hz, 1H, H2''); (6),01 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, H2); 7,03 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H5''); 7,61 (dd, $J = 2; 8,5$ Hz, 1H, H6'').

Tách đồng phân quang hoạt với (S)-(-)- α -methylbenzylamin (M1b)

Cho lần lượt acid carboxylic **M1** (10 mmol), dung môi ethanol (30 ml), (S)-(-)- α -methylbenzylamin (10 mmol) vào bình cầu, khuấy hỗn hợp trong 30 phút, thấy xuất hiện tủa. Để yên 48 giờ, lọc thu tủa. Rửa tủa 2 lần

bằng ethanol, kết tinh lại 2 lần trong ethanol nóng. Acid hóa tủa từ dạng muối trở về dạng acid, thu được acid có tính quang hoạt (đồng phân quay phải).

M1b: Hiệu suất tách đồng phân 33,1%, $[\alpha]_D^{20}$ (0,4%, CH₃OH): +20,9.

Đóng vòng acid carboxylic tạo phthalazinon (M3b)

Cho acid carboxylic **M1b** (3,5 mmol) và hydrazin (52,5 mmol) vào bình cầu chứa sẵn ethanol tuyệt đối (30 ml). Tiến hành đun hồi lưu ở nhiệt độ cao đến khi phản ứng kết thúc.

Hỗn hợp sau phản ứng để nguội, cô quay loại ethanol, hòa tan cần trong ethyl acetat, thêm nước, khuấy đều, chiết lấy lớp ethyl acetat. Rửa dịch chiết lần lượt bằng dung dịch NaHCO₃ 5%, dung dịch HCl 10%, dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng Na₂SO₄ khan. Cô quay dịch chiết loại dung môi, kết tinh lại sản phẩm trong ethanol nóng hoặc sắc ký cột.

M3b

Bột trắng mịn. Hiệu suất 77,1%, $t_{nc} = 154-156$ °C; **Rf** = 0,46 (*n*-hexan – aceton, 7:5); $[\alpha]_D^{20}$ (0,4%, CH₃OH): +28,67; 99,0% ee; **IR (KBr)**, ν (cm⁻¹): 1664,57 (C=O), 3201,83 (N–H), 1510,26 (C=C vòng thơm); **LC-MS (m/z)** [M+Na]⁺ dự kiến: 311,1474; tìm thấy: 311,3352

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm)

1,39-1,50 (m, 4H, H5, H6, H7, H8); 1,55-1,58 (m, 1H, H1); 1,66-1,68 (m, 1H, H6); 1,75-1,76 (m, 1H, H5); 2,42-2,46 (m, 1H, H8); 2,73 (s, 1H, H8a); 3,28-3,32 (m, 1H, H4a); 3,83 (s, 3H, OCH₃); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 6,97 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H5'); 7,33 (dd, $J = 2; 8$ Hz, 1H, H6'); 7,49 (d, $J = 2$ Hz, 1H, H2'); 9,97 (s, 1H, H2).

Phản ứng N-alkyl hóa với allyl bromid tạo cis-(+)-N-allyl-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-2H-phthalazin-1-on (M5b)

Hòa tan phthalazinon **M3b** (1 mmol) trong dung môi hữu cơ là THF (10 ml), sau đó cho NaH 60% (1,25 mmol) vào, khuấy 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó cho tác nhân alkyl hóa là allyl

bromid (1,5 mmol) vào, phản ứng ở nhiệt độ phòng, theo dõi phản ứng bằng TLC.

Sản phẩm sau phản ứng được hòa vào nước cất, chiết bằng ethyl acetat. Dịch chiết được rửa bằng nước, dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng Na₂SO₄. Loại dung môi thu sản phẩm. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột.

M5b

Bột trắng, mịn. Hiệu suất 54,9%, t^o_{nc} = 130-131 °C; R_f = 0,52 (n-hexan – EtOAc, 2:1); [α]_D²⁰ (0,4%, CH₃OH): +41,35; 98,5% ee; IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1653,00 (C=O), 1514,12 (C=C vòng thơm); LC-MS (m/z) [M+Na]⁺ dự kiến: 351,1787; thực tế: 351,1725.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm)

1,20-1,71 (m, 7H, H5, H6, H7, H8); 2,31 (d, J = 13 Hz, 1H, H8); 2,78 (s, 1H, H8a); 3,31 (s, 1H, H4a); 3,78-3,80 (s, 6H, OCH₃); 4,30 (dd, J = 4,5 Hz; 14,5 Hz, 1H, H3''); 4,44 (dd, J = 5 Hz; 15,5 Hz, 1H,

H3''); 5,12-5,19 (m, 2H, H1''); 5,86-5,94 (m, 1H, H2''); 6,99 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H5'); 7,34 (dd, J = 2,5 Hz; 8 Hz, 1H, H6'); 7,39 (d, J = 2,5 Hz, 1H, H2').

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm)

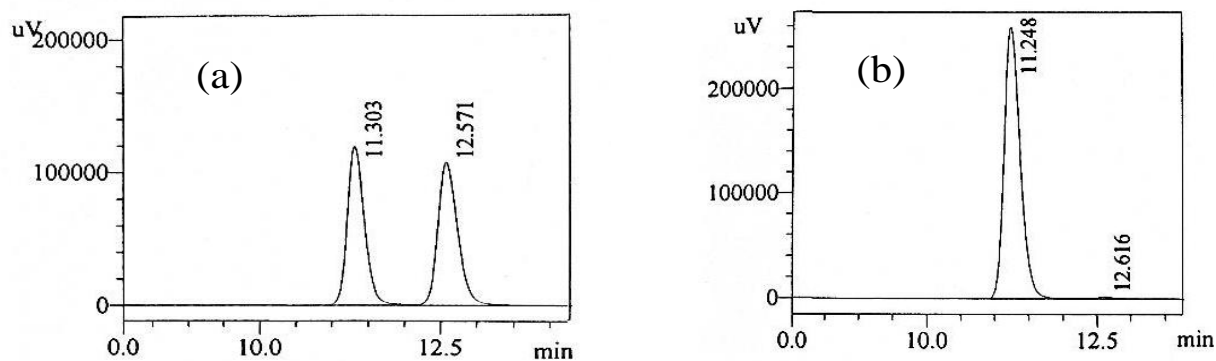
21,6 (C5); 23,2 (C6); 24,2 (C7); 24,8 (C8); 34,7 (C4a); 35,6 (C8a); 50,4 (C1''); 55,5 (C3'-OCH₃); 55,5 (C4'-OCH₃); 108,7 (C2''); 111,3 (C5'); 116,4 (C3''); 119,3 (C6'); 127,0 (C1'); 133,8 (C2''); 148,8 (C3'); 150,4 (C4'); 152,9 (C4); 166,8 (C1).

Xác định độ tinh khiết quang học bằng sắc ký lỏng cao với pha tĩnh bất đối

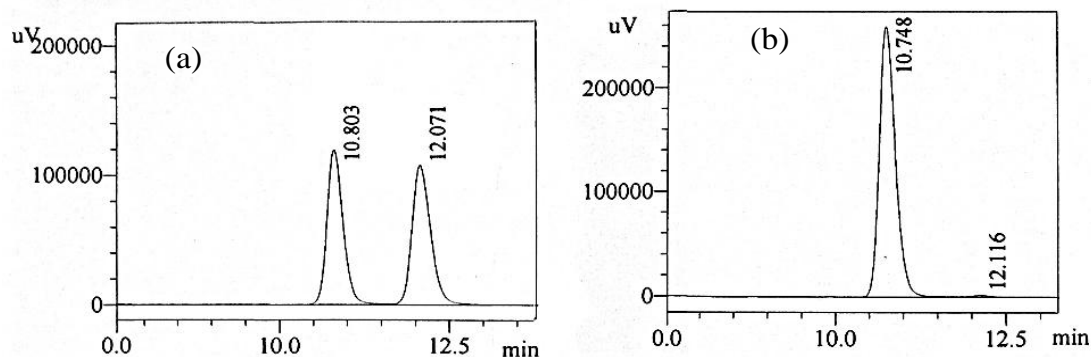
Dựa vào % diện tích đỉnh để xác định chính xác độ tinh khiết quang học của các đồng phân quang học).

Thử tác dụng kháng viêm in vivo

Kết quả thử nghiệm về sự thay đổi độ sưng phù chân chuột theo thời gian giữa các lô chuột được trình bày ở Bảng 1 và Hình 5.



Hình 3. Sắc ký đồ của *cis*-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-2H-phthalazin-1-on dạng racemic và quang hoạt; (a) M3 100 µg/ml; (b) M3b 100 µg/ml

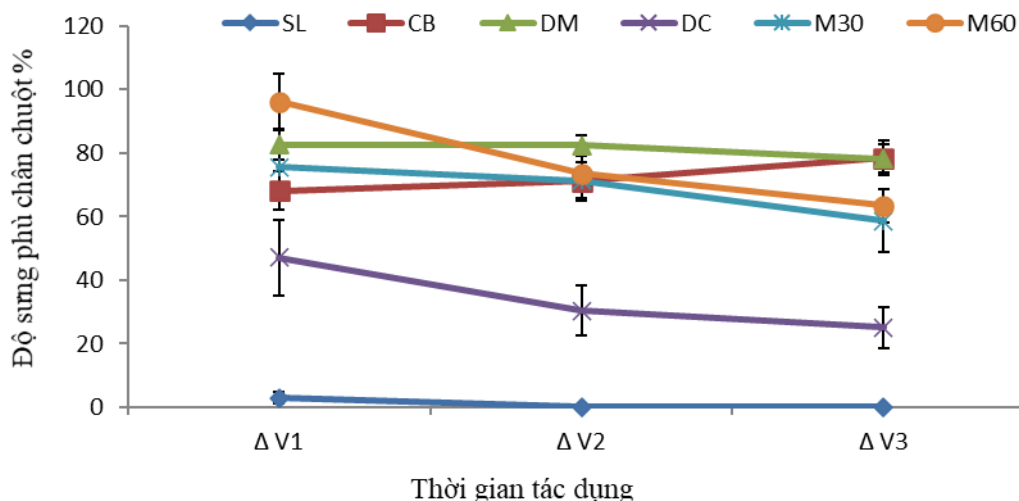


Hình 4. Sắc ký đồ của *cis*-N-allyl-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-2H-phthalazin-1-on dạng racemic và quang hoạt; (a) M5 100 µg/ml; (b) M5b 100 µg/ml

Bảng 1. Sự thay đổi độ sưng phù bàn chân chuột ở các lô theo thời gian (N = 6)

Lô	Độ sưng phù bàn chân chuột (Mean ± SEM)		
	1 giờ (ΔV_1)	3 giờ (ΔV_2)	5 giờ (ΔV_3)
Sinh lý (SL)	2,8±1,8	00±00	00±00
Chứng bệnh (CB)	68,1±6**	71,1±6,1**	78,5±5,5**
Dung môi (DM)	82,7±4,8	82,4±3,1	78,3±4,5
Diclofenac 10 mg/kg (DC)	47,1±12	30,4±7,9**	25±6,5**
M5b 30 μ mol/kg (M30)	75,6±5,0	71,3±5,8	58,7±10
M5b 60 μ mol/kg (M60)	96,1±8,7	73,5±7,8	63,4±5,1 [#]

*: p < 0,05 và **: p < 0,01 so với lô sinh lý; **: p < 0,01: so với lô chứng bệnh
#: p < 0,05: so với lô dung môi



Hình 5. Độ sưng phù bàn chân chuột ở các lô thử nghiệm (N = 6)

BÀN LUẬN

Tổng hợp acid carboxylic dạng racemic bằng phản ứng Friedel – Crafts (M1)

Nhiệt độ thích hợp của phản ứng là từ 55-65 °C, cao hơn nhiệt độ sôi của dung môi dicloromethan (40 °C) để giúp phản ứng xảy ra hoàn toàn hơn. Điều kiện phản ứng là khan nước, do đó cần thực hiện thao tác cân các nguyên liệu nhanh, tránh hiện tượng hút ẩm của AlCl₃ và anhydrid. Có 2 phương pháp tinh chế **M1** là sử dụng sắc ký cột và kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi n-hexan : ethyl acetat (1:1), kết quả nhận thấy chỉ cần sử dụng phương pháp kết tinh lại trong 36 giờ thu được sản phẩm tinh khiết, ít tổn dung môi, hiệu suất cao.

Tách đồng phân quang hoạt với (S)-(-)- α -methylbenzylamin (M1b)

Đây là giai đoạn duy nhất có thể tác động đến độ tinh khiết quang học, do đó tủa phải

được tinh chế kỹ trước khi acid hóa tủa lại thành acid carboxylic quang hoạt. Tủa càng được xử lý kỹ (rửa nhiều lần và kết tinh lại trong dung môi nóng) sẽ thu được phthalazinon có độ tinh khiết quang học càng cao. Tuy nhiên, khi tinh chế tủa bằng cách này làm cho hiệu suất sản phẩm thu được thấp.

Xác định độ tinh khiết quang học bằng sắc ký lỏng cao với pha tĩnh bất đối

Trên sắc ký đồ của các chất dạng racemic xuất hiện 2 đỉnh tách khỏi nhau hoàn toàn và có % diện tích đỉnh xấp xỉ nhau, chứng tỏ điều kiện sắc ký phù hợp có thể giúp xác định đúng các đồng phân quang học riêng lẻ.

Khi phân tích từng đồng phân quang học riêng lẻ được tổng hợp trong cùng điều kiện sắc ký thì trên sắc ký đồ có 2 đỉnh: đỉnh chính ứng với đồng phân mong muốn và 1 đỉnh phụ là tạp đồng phân; 2 đỉnh này trùng với thời gian lưu của 2 đỉnh của dẫn xuất dạng racemic.

Thử tác dụng kháng viêm *in vivo*

Khi tiêm carageenan 1%, độ sưng phù bàn chân chuột ở lô chứng bệnh được đo sau 1, 3, 5 giờ lần lượt là 68%, 71%, 78% cao hơn có ý nghĩa so với lô sinh lý ($p < 0,01$).

Ở lô chuột cho uống diclofenac 10 mg/kg, sau 1 giờ gây viêm thì sự giảm độ phù chân chuột không có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh ($p > 0,05$). Tuy nhiên, sau 3 và 5 giờ gây viêm thì diclofenac có thể hiện tác dụng, giảm độ sưng phù có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với lô chứng bệnh.

Trong khi đó, ở thời điểm 1 và 3 giờ, lô **M5b** liều 30 $\mu\text{mol/kg}$ và 60 $\mu\text{mol/kg}$ độ phù chân chuột có giảm nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với lô dung môi. Tuy nhiên, thời điểm 5 giờ, liều 60 $\mu\text{mol/kg}$ độ phù chân chuột giảm còn 63% có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô dung môi.

Như vậy, mẫu thử **M5b** có tác dụng kháng viêm cấp trên mô hình gây viêm bằng carageenan 1% ở liều uống 60 $\mu\text{mol/kg}$ sau 5 giờ.

KẾT LUẬN

Đã xây dựng được quy trình tổng hợp các dẫn xuất quang hoạt gồm 4 giai đoạn phản ứng (tổng hợp nguyên liệu dạng racemic, tách đối quang nguyên liệu dạng racemic, đóng vòng tạo phthalazinon có tính quang hoạt, alkyl hóa vào vị trí N-H của phthalazinon và tổng hợp thành công được dẫn xuất quang hoạt *cis-(+)-N-allylhexahydrophthalazinon (M5b)*. Sản phẩm thu được có độ tinh khiết quang học cao $ee > 98\%$. Hiệu suất tách đối quang $> 30\%$. Hiệu suất sản phẩm sau tinh chế $> 50\%$.

Khảo sát tác dụng kháng viêm cấp của dẫn xuất quang hoạt *cis-(+)-N-allyl-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-2H-*

phthalazin-1-on (M5b) trên chuột được gây viêm bằng carrageenan 1% với 2 liều 30 $\mu\text{mol/kg}$ và 60 $\mu\text{mol/kg}$, kết quả có tác dụng kháng viêm ở liều 60 $\mu\text{mol/kg}$ sau 5 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chương Ngọc Nãi, Nguyễn Ngọc Vinh, Đặng Văn Tịnh, Nguyễn Đức Tuấn (2011). Tổng hợp, xác định cấu trúc các dẫn chất quang hoạt *N*-heptyl và *N*-benzyl của *cis-(+)*- và *cis-(-)*-4-(3,4-dimethoxyphenyl)hexahydrophthalazinon có tác dụng sinh học. *Dược Học*, 15(1):359-364.
2. Trần Thị Nguyên Đăng, Chương Ngọc Nãi, Đặng Văn Tịnh, Nguyễn Đức Tuấn (2011). Xác định độ tinh khiết quang học của các dẫn xuất *cis-N*-benzyl và *cis-N*-heptyl phthalazinon bằng phương pháp HPLC sử dụng pha tĩnh bất đối. *Dược Học*, 51(420):32-37.
3. Boss H, Hatzelmann A, Ivonne J. Mey MVd, et al (2002). Novel selective PDE4 inhibitors. 3. *In vivo* antiinflammatory activity of a new series of *N*-substituted *cis*-tetra- and *cis*-hexahydrophthalazinones. *Journal of Medical Chemistry*, 45(12):2520-2525.
4. Hatzelmann A, Gerard P, Klink MV, et al (2001). Novel selective PDE4 inhibitors. 2. Synthesis, structure- activity relationships of 4-aryl-substituted *cis*-tetra- and *cis*-hexahydrophthalazinones. *Journal of Medical Chemistry*, 44(16):2523-2535.
5. Hatzelmann A, Ivonne J, Laan VD, et al (2001). Novel selective PDE4 inhibitors. 1. Synthesis, structure-activity relationships, and molecular modeling of 4-(3,4-dimethoxyphenyl)-2H-phthalazin-1-ones and analogues. *Journal of Medical Chemistry*, 44(16):2511-2522.
6. Tinh Van Dang, Ikee Y, Jin CK, Masuda T, et al (2006). Practical synthesis of new chiral *cis*-phthalazinones with potential for high phosphodiesterase (PDE4) inhibitory activity. *Heterocycles*, 68(10):2133-2144.
7. Tinh DV, Miyamoto M, Nagao Y, et al (2005). Practical synthesis of chiral *cis*-cyclohex-4-ene-1,2-dicarboxylic acid derivatives by utilizing (4*S*)-isopropyl-1,3-thiazolidine-2-thione. *Heterocycles*, 65(5):1139-1157.
8. Benoist JM, Fletcher D, Gautron M, Guillaud G (1997). Isobolographic analysis of interactions between intravenous morphine, propacetamol, and diclofenac in carrageenin-injected rats. *The Journal of The American Society of Anesthesiologists*, 87(2):317-326.

Ngày nhận bài báo:

10/03/2021

Ngày phản biện nhận xét bài báo:

08/05/2021

Ngày bài báo được đăng:

20/08/2021