

## Hoạt tính gây độc tế bào và kháng vi sinh vật kiểm định của một số dẫn xuất bengamide

Phí Thị Đào<sup>1,2</sup>, Đoàn Thị Mai Hương<sup>1</sup>, Vũ Văn Lợi<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Huệ<sup>1</sup>, Phạm Văn Cường<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Toà soạn 9-3-2017; Chấp nhận đăng 26-6-2017

### Abstract

The bengamides comprise a family of marine natural products first isolated by Crews et al. from *Jaspis sponges* indigenous to the coral reefs that surround the Fiji islands. These fused ketide-amino acid derivatives are potent antiproliferative agents against both transformed and nontransformed cells. These interesting biological activities have made bengamides popular targets for synthesis and biological studies. Several syntheses of bengamides A, B, and E have been previously published. In this study, we synthesized **9a-9d** from the commercial available D-ornithine (HCl) (**3**) and  $\alpha$ -D-glucoheptonic  $\gamma$ -lactone using microwave irradiation assistance. Cytotoxic evaluation of the compounds **9a-9d** against six cancer cell lines (KB, LU-1, HepG-2, MCF-7, HL60 and Hela) indicated that compounds **9d** was more sensitive toward Lu-1, HepG2 and KB. Compounds **9c-9d** were found to have antibacterial activity against *E. faecalis*, *S. aureus*, *B. cereus* and *C. albicans* with a MIC value of 4-256  $\mu$ g/ml.

**Keywords.** Bengamide, *Jaspis sponge*, cytotoxic activity, antimicrobial.

### 1. MỞ ĐẦU

Bengamide E là một hợp chất tự nhiên biển được phân lập từ loài hải miên *Jaspis* [1]. Hợp chất này thể hiện hoạt tính chống ung thư rất tốt đối với dòng tế bào ung thư vú MDA-MB-435 với giá trị IC<sub>50</sub> là 3,3 nM [2]. Trên thế giới, đã có một số công trình công bố về việc tổng hợp toàn phần của Bengamide E và các dẫn xuất, kết quả cho thấy một số dẫn xuất của hợp chất này có hoạt tính chống ung thư rất đáng quan tâm [3,4]. Trước đây, chúng tôi đã công bố quy trình tổng hợp của hợp chất trung gian ketid (b) và amino lactam (4) và một số analog của bengamide [5-7]. Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả tổng hợp 4 analog vòng 6 của bengamide E (**9a-9d**) và hoạt tính gây độc tế bào cũng như hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các analog tổng hợp được.

### 2. THỰC NGHIỆM

#### 2.1. Thiết bị và nguyên liệu

Điểm nóng chảy được đo trên máy MEL-TEM 3.0. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS là chất chuẩn nội. Phổ khối lượng (HR-ESI-MS) được đo trên máy Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF

LC/MS. Độ quay cực được đo trên máy Polax-21 của hãng Atago. Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merk 60 F<sub>254</sub>. Sắc ký cột được tiến hành với silica gel cỡ hạt 40-63  $\mu$ m và sephadex LH-20 (Aldrich).

Các dòng tế bào ung thư của người và các chủng vi sinh vật kiểm định được cung cấp bởi Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ (ATCC).

#### 2.2. Tổng hợp

Quy trình tổng hợp chất **2**, **4** và **5** đã được trình bày trong công trình công bố [5, 6].

Quy trình tổng hợp chất **6b-6d**: Cho chất **5** (0,8 g; 3,28 mmol) và 8 ml DMSO vào trong bình phản ứng. Hút chân không, rồi sục khí nitơ vào bình phản ứng và làm lạnh xuống 0 °C. Sau 5 phút, cho từ từ 0,905 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2eq) và 0,367 g KOH (2eq) vào bình phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 10 phút, sau đó cho từ từ 3eq tác nhân phản ứng (bromometyl)cyclohexane (1,37 ml), benzyl bromide (1,17 ml) hoặc cinnamyl bromide (1,46 ml). Sau 5 phút cho tiếp 0,544 g KI (1 eq) vào hỗn hợp phản ứng, nâng dần phản ứng lên nhiệt độ phòng trong 30 phút sau đó đun nóng ở nhiệt độ 50-60 °C. Quá trình phản ứng được theo dõi bằng sắc ký bản mỏng, sau 23 giờ dừng phản ứng, làm lạnh hỗn hợp

sản phẩm xuống 0 °C, trung hòa bằng axit HCl 1N đến pH 6. Hòa tan sản phẩm bằng nước cất và chiết với etyl axetat. Pha hữu cơ được làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> rồi loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn chất. Cặn chất được tinh chế trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi *n*-hexan/EtOAc gradient thu được 468 mg sản phẩm **6b** (hiệu suất phản ứng đạt 42 %), 438 mg sản phẩm **6c** (hiệu suất phản ứng đạt 40 %) và 531 mg sản phẩm **6d** (hiệu suất phản ứng đạt 45 %).

**(R)-2-(1-(cyclohexylmethyl)-2-oxopiperidin-3-yl)isoindoline-1,3-dione (6b):** Chất rắn màu trắng,  $t_{n/c}^o$  161-163 °C,  $[\alpha]_D^{25} +13,2$  (*c* 0,15 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS:  $m/z$  341,1 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  (ppm): 7,82-7,84 (2H, m); 7,70-7,71 (2H, m); 4,78 (1H, dd, *J* = 6,0; 11,5 Hz); 3,55 (1H, m); 3,20-3,33 (3H, m); 2,45 (1H, m); 2,08 (2H, m); 1,98 (1H, m); 1,14-1,27 (4H, m); 0,95 (2H, m). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  (ppm): 22,3 (CH<sub>2</sub>); 25,9 (CH<sub>2</sub>); 26,4 (CH<sub>2</sub>); 26,5 (CH<sub>2</sub>); 30,6 (CH<sub>2</sub>); 31,0 (CH<sub>2</sub>); 35,8 (CH); 48,8 (CH<sub>2</sub>); 49,9 (CH); 54,1 (CH<sub>2</sub>); 123,4 (2 x CH); 132,2 (2 x C); 133,9 (2 x CH); 166,1 (C=O); 167,9 (2 x C=O).

**(R)-2-(1-benzyl-2-oxopiperidin-3-yl)isoindoline-1,3-dione (6c):** Chất rắn màu trắng,  $t_{n/c}^o$  150-152 °C,  $[\alpha]_D^{25} +10,5$  (*c* 0,16 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS:  $m/z$  335,0 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  (ppm): 7,84-7,88 (2H, m); 7,70-7,72 (2H, m); 7,26-7,36 (5H, m); 4,84 (1H, dd, *J* = 6,5; 12,0 Hz); 4,72 (1H, d, *J* = 15,0 Hz); 4,56 (1H, d, *J* = 15,0 Hz); 3,42 (1H, dt, *J* = 4,5; 12,0 Hz); 3,26 (1H, m); 2,48 (1H, dq, *J* = 3,5; 12,0 Hz); 2,11 (1H, m); 1,92-2,05 (2H, m).

**(R,E)-2-(1-cinnamyl-2-oxopiperidin-3-yl)isoindoline-1,3-dione (6d):** Chất rắn màu trắng,  $t_{n/c}^o$  138-139 °C,  $[\alpha]_D^{25} +11,2$  (*c* 0,17 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS:  $m/z$  361,1 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  (ppm): 7,84 (2H, m); 7,71 (2H, m); 7,41 (2H, d, *J* = 7,5 Hz); 7,35 (2H, t, *J* = 7,0 Hz); 7,26 (1H, t, *J* = 8,0 Hz); 6,57 (1H, d, *J* = 15,5 Hz); 6,18 (1H, dt, *J* = 6,5; 16,0 Hz, 1H); 4,82 (1H, dd, *J* = 6,0; 11,5 Hz); 4,19 (2H, m); 3,55 (1H, dt, *J* = 4,5; 12,0 Hz); 3,37 (1H, m); 2,49 (1H, m); 2,13 (2H, m); 1,98 (1H, m). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz; CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  (ppm): 22,1 (CH<sub>2</sub>); 26,5 (CH<sub>2</sub>); 47,3 (CH<sub>2</sub>); 49,5 (CH<sub>2</sub>); 49,9 (CH); 123,4 (2 x CH); 123,9 (CH); 126,5 (2 x CH); 127,7 (CH); 128,6 (2 x CH); 132,2 (2 x C); 133,1 (CH); 134,0 (2 x CH); 136,6 (C); 166,1 (C=O); 167,9 (2 x C=O).

Quy trình tổng hợp hợp chất **7b-7d**: Cho chất **6b-6d** (500 mg) và 4 ml acetonitril vào trong bình phản

ứng sau đó cho thêm 10 eq dung dịch hydrazin 35 %. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trên máy khuấy từ ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp sản phẩm được hòa tan bằng nước cất và chiết với etyl axetat. Dịch etyl axetat được làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> rồi loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn chất. Cặn chất được tinh chế trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH tỷ lệ 97/3 thu được 241 mg sản phẩm **7b** (hiệu suất phản ứng đạt 78 %), 208 mg sản phẩm **7c** (hiệu suất phản ứng đạt 68 %), 214 mg sản phẩm **7d** (hiệu suất phản ứng đạt 67 %).

**(R)-3-amino-1-(cyclohexylmethyl)piperidin-2-one (7b):** Chất dầu màu vàng nhạt,  $[\alpha]_D^{25} +12,2$  (*c* 0,2 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS:  $m/z$  211,0 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  (ppm): 3,25-3,33 (4H, m); 3,06 (1H, dd, *J* = 7,5; 13,5 Hz); 2,19 (1H, m); 1,90 (1H, m); 1,84 (3H, m); 1,70 (2H, m); 1,65 (4H, m); 1,54-1,58 (1H, m); 1,12-1,21 (3H, m); 0,95 (2H, m).

**(R)-3-amino-1-benzylpiperidin-2-one (7c):** Chất dầu màu vàng nhạt;  $[\alpha]_D^{25} +15,2$  (*c* 0,15 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS:  $m/z$  205,0 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,23-7,33 (5H, m); 4,68 (1H, d, *J* = 14,5 Hz); 4,46 (1H, d, *J* = 14,5 Hz); 3,42 (1H, m); 3,22 (2H, m); 2,20 (1H, m); 1,85 (1H, m); 1,80 (1H, m); 1,62 (1H, m).

**(R)-3-amino-1-cinnamylpiperidin-2-one (7d):** Chất dầu màu vàng nhạt;  $[\alpha]_D^{25} +13,6$  (*c* 0,2 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS:  $m/z$  231,0 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  (ppm): 7,36 (2H, d, *J* = 7,0 Hz); 7,31 (2H, d, *J* = 7,0 Hz); 7,24 (1H, m); 6,50 (1H, d, *J* = 16,0 Hz); 6,15 (1H, dt, *J* = 6,5; 16,0 Hz); 4,20 (1H, m); 4,07 (1H, dd, *J* = 7,0; 15,0 Hz); 3,38 (1H, m); 3,30 (2H, m); 2,25 (1H, m); 1,80-1,95 (3H, m); 1,61 (1H, m); 1,31 (1H, m). <sup>13</sup>C-NMR (125MHz; CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  (ppm): 21,3 (CH<sub>2</sub>); 29,7 (CH<sub>2</sub>); 47,6 (CH<sub>2</sub>); 49,2 (CH<sub>2</sub>); 51,9 (CH); 124,1 (CH); 126,4 (2 x CH); 128,3 (CH); 128,4 (CH); 128,6 (2 x CH); 133,3 (CH); 136,5 (C); 172,5 (C=O).

Quy trình tổng hợp hợp chất **8a-8d**: Cho lần lượt 50 mg chất **2** (0,176 mmol) và 0,5 ml THF khan vào trong bình phản ứng sau đó cho thêm 44 mg tác nhân sodium-2 ethylhexanoat (0,264 mmol, 1,5eq), 5eq chất **(R)-3-aminopiperidin-2-one (4)** (100 mg) hoặc 5eq chất **7b-7d**. Hỗn hợp phản ứng được chiếu xạ trong lò vi sóng gia dụng ở công suất 100W trong 60 phút thì phản ứng kết thúc. Hỗn hợp sản phẩm được quay cất chân không dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi thu được cặn thô. Cặn thô được tinh chế trên cột silica gel với hệ dung môi

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9,5/0,5; v/v) thu được 57 mg sản phẩm **8a** (hiệu suất của phản ứng đạt 82 %), 65 mg sản phẩm **8b** (hiệu suất của phản ứng đạt 75 %), 70 mg sản phẩm **8c** (hiệu suất của phản ứng đạt 82 %), 70 mg sản phẩm **8d** (hiệu suất của phản ứng đạt 78 %).

**(2R)-2-((4R,6R)-6-((E)-3,3-dimethylbut-1-en-1-yl)-5-hydroxy-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4-yl)-2-methoxy-N-((R)-2-oxopiperidin-3-yl)acetamide**

**(8a)**: Tinh thể vô định hình màu trắng [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +22,4 (*c* 1,0 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS: *m/z* 421,31 [M+Na]<sup>+</sup> (C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Na). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>H</sub> (ppm): 7,12 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-14); 5,76 (1H, d, *J* = 16,0 Hz, H-7); 5,53 (1H, dd, *J* = 7,0; 16,0 Hz, H-6); 4,38 (1H, m, H-2''); 4,27 (1H, d, *J* = 7,0 Hz, H-5); 4,10 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-3); 3,88 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-2); 3,55 (1H, d, *J* = 9,0 Hz, H-4); 3,49 (3H, s, H-13); 3,36 (2H, m, H-5'); 2,55 (1H, m, H-3'a); 1,95 (2H, m, H-4'); 1,56 (1H, m, H-3'b); 1,48 (3H, s, H-11); 1,47 (3H, s, H-12); 1,02 (9H, s, H-9). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ <sub>C</sub> (ppm): 19,1 (C-12); 21,1 (C-4'); 27,2 (C-3'); 29,4 (C-9); 29,7 (C-11); 33,1 (C-8); 41,8 (C-5'); 50,2 (C-2'); 60,0 (C-13); 66,0 (C-4); 73,3 (C-3); 74,6 (C-5); 81,4 (C-2); 99,7 (C-10); 121,7 (C-6); 145,3 (C-7); 170,5 (C-1); 171,2 (C-1').

**(2R)-N-((R)-1-(cyclohexylmethyl)-2-oxopiperidin-3-yl)-2-((4R,6R)-6-((E)-3,3-dimethylbut-1-en-1-yl)-5-hydroxy-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4-yl)-2-methoxyacetamide**

**(8b)**: Chất rắn màu trắng, *t*<sub>m/c</sub>: 170-173 °C, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +23,1 (*c* 1,1 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS: *m/z* 517,42 [M+Na]<sup>+</sup> (C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Na), <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>H</sub> (ppm): 7,21 (1H, d, *J* = 6,0 Hz, NH-13); 5,76 (1H, d, *J* = 16,0 Hz, H-7); 5,53 (1H, dd, *J* = 7,0; 16,0 Hz, H-6); 4,32 (1H, m, H-2''); 4,25 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-5); 4,09 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-3); 3,86 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-2); 3,55 (1H, br. s, H-4); 3,47 (3H, s, OMe-12); 3,35 (2H, m, H<sub>a</sub>-1'', H<sub>a</sub>-5'); 3,26 (1H, m, H<sub>b</sub>-5'); 3,05 (1H, dd, *J* = 7,0; 13,5 Hz, H<sub>b</sub>-1''); 2,56 (1H, m, H<sub>a</sub>-3'); 1,91 (2H, m, CH<sub>2</sub>-4'); 1,72 (2H, m, H<sub>a</sub>-4'', H<sub>a</sub>-6''); 1,67 (2H, m, CH<sub>2</sub>-5''); 1,65 (3H, m, H-2'', H<sub>a</sub>-3'', H<sub>a</sub>-7''); 1,51 (1H, m, H<sub>b</sub>-3'); 1,47 (3H, s, Me-15), 1,46 (3H, s, Me-16); 1,19 (2H, m, H<sub>b</sub>-4'', H<sub>b</sub>-6''); 1,02 (9H, s, Me-9, 10, 11); 0,95 (2H, m, H<sub>b</sub>-3'', H<sub>b</sub>-7''). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub> (ppm): 19,1 (C-16); 20,1 (C-4'); 25,8 (C-4'', 6''); 26,4 (C-5''); 26,6 (C-3'); 29,4 (C-9, 10, 11); 29,6 (C-15); 30,8 (C-3'', 7''); 33,1 (C-8); 36,1 (C-2''); 47,4 (C-5'); 50,4 (C-2'); 53,7 (C-1''); 59,3 (C-12); 66,0 (C-4); 73,2 (C-3); 74,6 (C-5); 81,3 (C-2); 99,7 (C-14); 121,6 (C-6); 145,2 (C-7); 169,4 (C-1'); 170,2 (C-1).

**(2R)-N-((R)-1-benzyl-2-oxopiperidin-3-yl)-2-((4R,6R)-6-((E)-3,3-dimethylbut-1-en-1-yl)-5-hydroxy-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4-yl)-2-methoxyacetamide**

**(8c)**: Chất rắn màu trắng, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +15,4 (*c* 0,7 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS: *m/z* 489 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>), <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>H</sub> (ppm): 7,23-7,35 (5H, m, Ph); 5,78 (1H, d, *J* = 15,5 Hz, H-7); 5,54 (1H, dd, *J* = 7,0; 15,5 Hz, H-6); 4,64 (1H, d, *J* = 14,5 Hz, H<sub>a</sub>-1''); 4,55 (1H, d, *J* = 14,5 Hz, H<sub>b</sub>-1''); 4,40 (1H, m, H-2''); 4,27 (1H, br. d, *J* = 7,0 Hz, H-5); 4,12 (1H, br. d, *J* = 6,5 Hz, H-3); 3,89 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-2); 3,57 (1H, br. s, H-4); 3,50 (3H, s, OMe-12), 3,24 (2H, m, CH<sub>2</sub>-5'), 2,53 (1H, m, H<sub>a</sub>-3'), 1,89 (2H, m, CH<sub>2</sub>-4'), 1,58 (1H, m, H<sub>b</sub>-3'); 1,49 (3H, s, Me-15); 1,47 (3H, s, Me-16); 1,03 (9H, s, Me-9, 10, 11). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub> (ppm): 19,1 (C-12); 20,9 (C-5'); 27,1 (C-3'); 29,4 (C-9, 10, 11); 29,7 (C-15); 33,1 (C-8); 46,4 (C-5'); 50,6 (C-1''); 50,7 (C-2'); 59,3 (C-12); 66,1 (C-4); 73,2 (C-3); 74,6 (C-5); 81,4 (C-2); 99,7 (C-14); 121,7 (C-6); 127,6 (C-5''); 128,1 (C-3'', 7''); 128,7 (C-4'', 6''); 136,7 (C-2''); 145,3 (C-7); 169,3 (C-1'); 170,3 (C-1).

**(2R)-N-((R)-1-cinnamyl-2-oxopiperidin-3-yl)-2-((4R,6R)-6-((E)-3,3-dimethylbut-1-en-1-yl)-5-hydroxy-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4-yl)-2-methoxyacetamide**

**(8d)**: Chất rắn màu trắng *t*<sub>m/c</sub> 149-156 °C, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +15,2 (*c* 1,2 CHCl<sub>3</sub>), ESI-MS: *m/z* 515 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>), <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>H</sub> (ppm): 7,47 (1H, d, *J* = 6,0 Hz, NH-13); 7,36 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, H-5'', 9''); 7,31 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, H-6'', 8''); 7,20 (1H, m, H-7''); 6,52 (1H, d, *J* = 16,0 Hz, H-3''); 6,14 (1H, dd, *J* = 6,5; 16,0 Hz, H-2''); 5,76 (1H, d, *J* = 16,0 Hz, H-7); 5,54 (1H, dd, *J* = 7,0; 16,0 Hz, H-6); 4,38 (1H, m, H-2''); 4,27 (1H, br. d, *J* = 7,0 Hz, H-5); 4,19 (1H, dd, *J* = 6,5; 15,0 Hz, H<sub>a</sub>-1''); 4,12 (2H, m, H<sub>b</sub>-1'', H-3); 3,88 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-2); 3,56 (1H, br. s, H-4); 3,49 (3H, s, OMe-12); 3,34 (2H, m, CH<sub>2</sub>-5'); 2,54 (1H, m, H<sub>a</sub>-3'); 1,93 (2H, m, CH<sub>2</sub>-4'); 1,58 (1H, m, H<sub>b</sub>-3'); 1,48 (3H, s, Me-15); 1,47 (3H, s, Me-16); 1,03 (9H, s, Me-9, 10, 11). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub> (ppm): 19,1 (C-16); 20,9 (C-5'); 27,1 (C-4'); 29,4 (C-9, 10, 11); 29,7 (C-15); 33,1 (C-8); 46,5 (C-5'); 49,3 (C-1''); 50,7 (C-2'); 59,3 (C-12); 66,1 (C-4); 73,2 (C-3); 74,6 (C-5); 81,5 (C-2); 99,7 (C-14); 121,7 (C-6); 123,7 (C-2''); 126,4 (C-5'', 9''); 127,9 (C-7''); 128,6 (C-6'', 8''); 133,5 (C-3''); 136,3 (C-4''); 145,3 (C-7); 169,0 (C-1'); 170,3 (C-1).

Quy trình tổng hợp chất **9a-9d**: Cho 10 mg chất (**8a-8d**) hòa tan trong 0,15 ml dung môi THF vào bình phản ứng. Làm lạnh hỗn hợp xuống 0 °C sau đó nhỏ

từ từ 150  $\mu$ l axit trifluoroacetic (1,96 mmol) và 30  $\mu$ l nước cất vào bình phản ứng. Phản ứng được khuấy ở 0 °C trong 60 phút thì kết thúc. Hỗn hợp sản phẩm được tinh chế trên cột Sephadex LH-20 với dung môi MeOH sau đó lại tinh chế tiếp bằng bản mỏng silica gel điều chế với hệ dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  tỷ lệ 3-5 % MeOH thu được các analog của bengamide tương ứng (**9a-9d**). Hiệu suất phản ứng đạt từ 31-62 %.

**(2R,3R,5R,E)-N-((S)-1-(cyclohexylmethyl)-2-oxopiperidin-3-yl)-3,4,5-trihydroxy-2-methoxy-8,8-dimethylnon-6-enamit (9a):** Chất rắn màu trắng,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +40,4$  (*c* 0,24  $\text{CHCl}_3$ ); HR-ESIMS:  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  381,2009 (Tính toán lý thuyết cho công thức phân tử  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$   $m/z$  381,2002).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,71 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz, NH-13); 6,65 (1H, br. s, NH-6 $^\circ$ ); 5,80 (1H, d,  $J = 16,0$  Hz, H-7); 5,41 (1H, dd,  $J = 7,0; 16,0$  Hz, H-6); 4,42 (1H, m, H-2 $^\circ$ ); 4,21 (1H, t,  $J = 7,0$  Hz, H-5); 3,90 (1H, br. d,  $J = 5,5$  Hz, H-3); 3,80 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-2); 3,66 (1H, br. d,  $J = 5,5$  Hz, H-4); 3,45 (3H, s, OMe-12); 3,35 (2H, m,  $\text{CH}_2$ -5 $^\circ$ ); 2,31 (1H, m,  $\text{H}_a$ -3 $^\circ$ ); 1,97 (2H, m,  $\text{CH}_2$ -4 $^\circ$ ); 1,82 (1H, m,  $\text{H}_b$ -3 $^\circ$ ); 1,02 (9H, s, Me-9, 10, 11).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz): 21,3 (C-4 $^\circ$ ); 27,1 (C-3 $^\circ$ ); 29,4 (C-9, 10, 11); 33,0 (C-8); 41,9 (C-5 $^\circ$ ); 49,7 (C-2 $^\circ$ ); 59,1 (C-12); 72,2 (C-3); 72,8 (C-4); 74,3 (C-5); 82,5 (C-2); 123,4 (C-6); 145,7 (C-7); 171,5 (C-1 $^\circ$ ), 172,8 (C-1).

**(2R,3R,5R,E)-N-((R)-1-(cyclohexylmethyl)-2-oxopiperidin-3-yl)-3,4,5-trihydroxy-2-methoxy-8,8-dimethylnon-6-enamide (9b):** Chất rắn màu trắng  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +40,5$  (*c* 0,2  $\text{CHCl}_3$ ); HR-ESIMS:  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  477,2940 (Tính toán lý thuyết cho công thức phân tử  $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$   $m/z$  477,2941).  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,50 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz, NH-13); 5,83 (1H, d,  $J = 16,0$  Hz, H-7); 5,42 (1H, dd,  $J = 7,0, 16,0$  Hz, H-6); 4,33 (1H, m, H-2 $^\circ$ ); 4,24 (1H, dd,  $J = 5,5; 6,5$  Hz, H-5); 3,85 (1H, dd,  $J = 1,0; 7,0$  Hz, H-3); 3,80 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-2); 3,62 (1H, br. d,  $J = 4,0$  Hz, H-4); 3,50 (3H, s, OMe-12); 3,41 (1H, dd,  $J = 7,0; 13,5$  Hz,  $\text{H}_a$ -1 $^\circ$ ); 3,35 (1H, m,  $\text{H}_a$ -5 $^\circ$ ); 3,29 (1H, m,  $\text{H}_b$ -5 $^\circ$ ); 3,02 (1H, dd,  $J = 7,0; 13,5$  Hz,  $\text{H}_b$ -1 $^\circ$ ); 2,48 (1H, m,  $\text{H}_a$ -3 $^\circ$ ); 1,94 (2H, m,  $\text{CH}_2$ -4 $^\circ$ ); 1,72 (2H, m,  $\text{H}_a$ -4 $^\circ$ ,  $\text{H}_a$ -6 $^\circ$ ); 1,64 (6H, m,  $\text{H}_b$ -3 $^\circ$ ,  $\text{CH}_2$ -5 $^\circ$ ,  $\text{H}_a$ -3 $^\circ$ ,  $\text{H}_a$ -7 $^\circ$ , H-2 $^\circ$ ); 1,21 (2H, m,  $\text{H}_b$ -4 $^\circ$ ,  $\text{H}_b$ -6 $^\circ$ ); 1,03 (9H, s, Me-9, 10, 11); 0,95 (2H, m,  $\text{H}_b$ -3 $^\circ$ ,  $\text{H}_b$ -7 $^\circ$ ).  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,0 (C-4 $^\circ$ ); 25,8 (C-4 $^\circ$ , C-6 $^\circ$ ); 26,3 (C-5 $^\circ$ ); 26,6 (C-3 $^\circ$ ); 29,4 (C-9,10,11); 30,8 (C-3 $^\circ$ , C-7 $^\circ$ ); 33,0 (C-8); 36,0 (C-2 $^\circ$ ); 47,6 (C-5 $^\circ$ ); 50,2 (C-2 $^\circ$ ); 53,8 (C-1 $^\circ$ ); 59,7 (OMe-12); 72,5 (C-4); 72,8 (C-3); 74,4 (C-5); 81,3 (C-2); 123,3 (C-6); 145,6 (C-7); 169,1 (C-1 $^\circ$ ); 173,1 (C-1).

**(2R,3R,5R,E)-N-((R)-1-benzyl-2-oxopiperidin-3-yl)-3,4,5-trihydroxy-2-methoxy-8,8-dimethylnon-6-enamide (9c):** Chất rắn màu trắng  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +26,4$  (*c* 0,5  $\text{CHCl}_3$ ); HR-ESIMS:  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  471,2479 (Tính toán lý thuyết cho công thức phân tử  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$   $m/z$  471,2471).  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,52 (1H, d,  $J = 7,0$  Hz, NH-13); 7,23-7,35 (5H, m, Ph); 5,84 (1H, d,  $J = 16,0$  Hz, H-7); 5,43 (1H, dd,  $J = 7,0; 16,0$  Hz, H-6); 4,67 (1H, d,  $J = 14,5$  Hz,  $\text{H}_a$ -1 $^\circ$ ); 4,50 (1H, d,  $J = 14,5$  Hz,  $\text{H}_b$ -1 $^\circ$ ); 4,41 (1H, m, H-2 $^\circ$ ); 4,24 (1H, dd,  $J = 6,0; 6,5$  Hz, H-5); 3,88 (1H, dd,  $J = 1,5; 6,5$  Hz, H-3); 3,83 (1H, dd,  $J = 6,5, H-2$ ); 3,65 (1H, dd,  $J = 1,5; 6,0$  Hz, H-4); 3,52 (3H, s, OMe-12); 3,26 (2H, m,  $\text{CH}_2$ -5 $^\circ$ ); 2,44 (1H, m,  $\text{H}_a$ -3 $^\circ$ ); 1,90 (2H, m,  $\text{CH}_2$ -4 $^\circ$ ); 1,72 (1H, m,  $\text{H}_b$ -3 $^\circ$ ); 1,03 (9H, s, Me-9, 10, 11).  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,0 (C-4 $^\circ$ ); 27,0 (C-3 $^\circ$ ); 29,5 (C-9,10,11); 33,0 (C-8); 46,5 (C-5 $^\circ$ ); 50,6 (C-2 $^\circ$ ); 50,7 (C-1 $^\circ$ ); 59,6 (C-12); 72,6 (C-4); 72,7 (C-3); 74,4 (C-5); 81,6 (C-2); 123,3 (C-6); 127,7 (C-5 $^\circ$ ); 128,1 (C-3 $^\circ$ , C-7 $^\circ$ ); 128,8 (C-4 $^\circ$ , C-6 $^\circ$ ); 136,4 (C-2 $^\circ$ ); 145,6 (C-7); 169,1 (C-1 $^\circ$ ); 173,1 (C-1).

**(2R,3R,5R,E)-N-((R)-1-cinnamyl-2-oxopiperidin-3-yl)-3,4,5-trihydroxy-2-methoxy-8,8-dimethylnon-6-enamide (9d):** Chất rắn màu trắng  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +49,3$  (*c* 0,4  $\text{CHCl}_3$ ); HR-ESIMS:  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  497,2620 (Tính toán lý thuyết cho công thức phân tử  $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$   $m/z$  497,2628).  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,41 (1H, d,  $J = 7,0$  Hz, NH-13); 7,29 (2H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-5 $^\circ$ , H-9 $^\circ$ ); 7,25 (2H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-6 $^\circ$ , H-8 $^\circ$ ); 7,18 (1H, m, H-7 $^\circ$ ); 6,46 (1H, d,  $J = 16,0$  Hz, H-3 $^\circ$ ); 6,06 (1H, dt,  $J = 6,5; 16,0$  Hz, H-2 $^\circ$ ); 5,77 (1H, d,  $J = 15,5$  Hz, H-7); 5,36 (1H, dd,  $J = 7,0; 15,5$  Hz, H-6); 4,23 (1H, m, H-2 $^\circ$ ); 4,19 (1H, dd,  $J = 5,5; 6,5$  Hz, H-5); 4,14 (1H, dd,  $J = 6,5; 14,5$  Hz,  $\text{H}_a$ -1 $^\circ$ ); 4,03 (1H, dd,  $J = 6,5; 14,5$  Hz,  $\text{H}_b$ -1 $^\circ$ ); 3,81 (1H, dd,  $J = 1,0; 6,5$  Hz, H-3); 3,75 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-2); 3,57 (1H, br. d,  $J = 5,0$  Hz, H-4); 3,44 (3H, s, OMe-12); 3,29 (2H, m, H-5 $^\circ$ ); 2,39 (1H, m,  $\text{H}_a$ -3 $^\circ$ ); 1,90 (2H, m,  $\text{CH}_2$ -4 $^\circ$ ); 1,63 (1H, m,  $\text{H}_b$ -3 $^\circ$ ); 0,96 (9H, s, Me-9,10,11).  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,1 (C-4 $^\circ$ ); 27,1 (C-3 $^\circ$ ); 29,4 (C-9,10,11); 33,0 (C-8); 46,6 (C-5 $^\circ$ ); 49,5 (C-1 $^\circ$ ); 50,5 (C-2 $^\circ$ ); 59,6 (C-12); 72,6 (C-4); 72,7 (C-3); 74,4 (C-5); 81,6 (C-2); 123,3 (C-6); 123,4 (C-2 $^\circ$ ); 126,5 (C-5 $^\circ$ , 9 $^\circ$ ); 127,9 (C-7 $^\circ$ ); 128,6 (C-6 $^\circ$ , 8 $^\circ$ ); 133,8 (C-3 $^\circ$ ); 136,3 (C-4 $^\circ$ ); 145,6 (C-7); 168,8 (C-1 $^\circ$ ); 173,1 (C-1).

### 2.3. Phương pháp thử hoạt tính sinh học

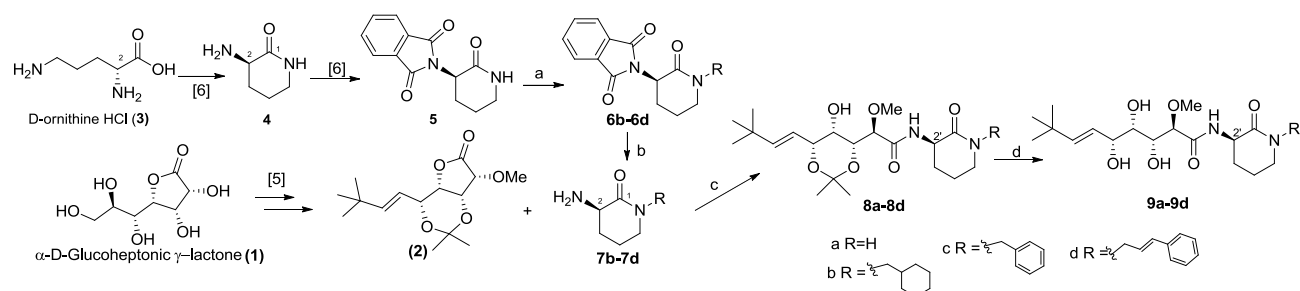
Hoạt tính gây độc tế bào được thực hiện dựa trên phương pháp MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5

- diphenyltetrazolium) được mô tả lần đầu tiên bởi tác giả Tim Mosman, 1983 [8].

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định dựa trên phương pháp hệ nồng độ trên môi trường lỏng [9].

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Dẫn xuất của bengamide E được tổng hợp qua 8



Hình 1: Sơ đồ tổng hợp các analog của bengamide

(a) bromomethylcyclohexane, benzyl bromide hoặc cinnamyl bromide,  $K_2CO_3$ , KOH, KI, DMSO, 0 - 60 °C, 23 h, 40-55 %; (b) hydrazine 35 %, acetonitrile, rt, 2 h, 67-92 %; (c) sodium 2-ethyl hexanoat, THF, MW 100 W (60 min), 64-95 %; (d) TFA,  $H_2O$ , THF, 0 °C, 1 h, 31-69 %

Đầu tiên là tổng hợp chuỗi ketit **2** từ hợp chất  $\alpha$ -D-Glucoheptonic  $\gamma$ -lacton(**1**) qua 5 phản ứng với hiệu suất tổng là 32,0 % [5]. Từ chất thương mại D-ornithine (HCl) (**3**), hợp chất aminopiperidin (**4**) được chúng tôi tổng hợp dưới sự chiếu xạ của vi sóng trong etylen glycol, rồi bảo vệ nhóm amin bằng tác nhân anhydrit phtalic cho chất **5** với với hiệu suất tổng của 2 phản ứng đạt 28 % [6]. Tiếp theo là phản ứng alkyl hoá hợp chất **5** để gắn các nhóm alkyl vào vòng lactam cho hợp chất **6b-6c**. Sau đó, loại nhóm bảo vệ bằng hydrazin thu được các dẫn xuất *N*-alkyl amino lactam tương ứng (**7b-7c**). Tiến hành gắn kết lần lượt chuỗi ketide (**2**) với các amino lactam (**4** và **7b-7c**) với tác nhân sodium 2-ethylhexanoate dưới sự chiếu xạ của vi sóng cho các hợp chất (**8a-8d**). Cuối cùng là loại nhóm bảo vệ trong môi trường axit TFA thu được các analog **9a-9d**.

Như vậy, sau khi nghiên cứu và thực hiện các phản ứng với các điều kiện và chất xúc tác khác nhau chúng tôi xây dựng được quy trình tổng hợp các analog **9a-9d** từ 2 hợp chất thương mại D-glycero-D-glucoheptono- $\gamma$ -lacton (**1**) và D-ornithine (HCl) (**3**) theo sơ đồ ở hình 1.

Các hợp chất thu được trong quá trình phản ứng được xác định cấu trúc bằng phương pháp phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 và 2 chiều (xem chi tiết trong phần thực nghiệm). Cấu hình của các hợp chất trung gian được xác định bằng các phương pháp phổ và so sánh  $[\alpha]_D$  với tài liệu tham khảo.

Phổ 1D-NMR và 2D-NMR của các analog **9a-9d**

bước chia thành 3 phần chính. Đầu tiên là tổng hợp chuỗi ketit (**2**) từ hợp chất thương mại  $\alpha$ -D-glucoheptonic  $\gamma$ -lactone (**1**), sau đó tổng hợp các *N*-alkyl amino lactam đi từ chất thương mại là D-ornithine (HCl) (**3**) và cuối cùng là việc gắn kết các *N*-alkyl amino lactam và chuỗi ketit (**2**) rồi loại nhóm bảo vệ để thu được dẫn xuất bengamide (**9a-9d**).

rất giống nhau chỉ khác tín hiệu của các nhóm alkyl trên vòng lactam. Phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR của hợp chất **9a** cho tín hiệu của 3 nhóm methyl, 2 nhóm methin olefin, 4 nhóm oximethin, 1 nhóm methin với nitơ, 1 nhóm metylen liên kết với nitơ và 2 nhóm methylen, 1 nhóm carbonyl và 1 carbon bậc 4. Khác với chất **9a**, trên phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR của **9b** có thêm tín hiệu của 6 nhóm metylen và 1 nhóm methin  $sp^3$ , phổ của **9c** có thêm tín hiệu của 1 nhóm methylen và 1 vòng benzen, phổ của **9d** có thêm tín hiệu của 1 nhóm metylen, 2 nhóm methin olefin và 1 vòng benzen.

Cả 4 hợp chất **9d-9d** được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào đối với 6 dòng tế bào ung thư (KB, LU-1, HepG-2, MCF-7, HL60, Hela). Kết quả cho thấy, hợp chất **9c** và **9d** thể hiện hoạt tính đối với cả 6 dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Hợp chất **9a** và **9b** không thể hiện hoạt tính đối với cả 2 dòng tế bào ung thư HL60 và Hela. Hợp chất **9d** thể hiện hoạt tính mạnh nhất đối với 3 dòng tế bào ung thư KB, Lu-1 và HepG<sub>2</sub> với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 1,7; 2,3 và 2,4 (bảng 1).

Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật và nấm kiểm định (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Candida albicans*) cho thấy 2 hợp chất **9c** và **9d** có hoạt tính trên cả 3 chủng Gram (+) thử nghiệm *E. faecalis*, *S. aureu* và *B. cereus* và chủng nấm *C. albicans*, trong đó hợp chất **9d** có hoạt tính mạnh nhất đối với chủng *B. cereus* với giá trị nồng độ ức

chế tối thiểu MIC = 4 µg/ml (bảng 2).

Bảng 1: Hoạt tính gây độc tế bào của 4 analog **9a-9d**

TT	Tên chất	IC <sub>50</sub> (µM)					
		KB	LU1	HepG2	MCF7	HL60	Hela
1	<b>9a</b>	11,1	2,6	22,0	>50	>50	>50
2	<b>9b</b>	2,4	2,6	6,6	8,8	>50	>50
3	<b>9c</b>	4,4	2,7	12,0	20,4	29,0	19,7
4	<b>9d</b>	1,7	2,3	2,4	15,1	21,5	16,1
	<b>Ellipticine</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,4</b>	<b>0,6</b>	<b>0,5</b>	<b>0,4</b>

Bảng 2: Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của 4 analog **9a-9d**

TT	Tên chất	Gram (+) MIC (µg/ml)			Gram (-) MIC (µg/ml)			Nấm men
		<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enterica</i>	
1	<b>9a</b>	-	-	-	-	-	-	-
2	<b>9b</b>	-	-	-	-	-	-	-
3	<b>9c</b>	128	256	32	-	-	-	256
4	<b>9d</b>	32	64	4	-	-	-	64
5	<b>S</b>	256	256	128	32	256	128	-
6	<b>T</b>	4	16	64	8	256	256	-
7	<b>K</b>	128	4	8	128	64	16	-
8	<b>C</b>	-	-	-	-	-	-	32

Chất đối chứng dương: S: Steptomycin, T: Tetramycin, K: Kanamycin, C: Cyclohexamide.

**Lời cảm ơn.** Công trình này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài Nghiên cứu cơ bản định hướng ứng dụng Mã số ĐT. NCCB-DHƯD.2012-G/05.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. E. Quinoa, M. Adamczeski, P. Crews. *Bengamides, heterocyclic anthelmintics from a Jaspidae marine sponge*, J. Org. Chem., **51**, 4497-4498 (1986).
2. Zia T., Frederick R. Kinder, Kenneth W. Bair, John Bontempo, Ania M. C., Richard W. V., Penny E. P., Miranda L. S., Sompong W., and Phillip C. *Bengamides Revisited: New Structures and Antitumor Studies*, J. Org. Chem., **66**, 1733-1741 (2001).
3. C. A. Broka and J. Ehrler. *Enantioselective total syntheses of bengamides B and E.*, Tetrahedron Lett., **32**, 5907-5910 (1991).
4. F. Sarabia and A. S. Ruiz. *Total synthesis of bengamide E and analogues by modification at C-2 and at terminal olefinic positions*, J. Org. Chem., **70**, 9514-9520 (2005).
5. P. T. Đào, Đ. T. M. Hương, V. V. Lợi, L. T. Phương C. V. Minh, P. V. Cường. *Synthesis of 8-methyl-2-O-methyl-3,5-O-(1-methyl ethylidene)-6,7,8,9-tetradecoxy-D-gulo-6-nonenonic acid (6E)-γ-lactone*, Vietnam Journal of Chemistry, **53(2e)**, 154-157 (2015).
6. P. T. Đào, Đ. T. M. Hương, V. V. Lợi, C. V. Minh, P. V. Cường. *Microwave-assisted synthesis of lactams from amino acids*, Vietnam Journal of Chemistry, **53(2e)**, 198-201 (2015).
7. P. T. Đào, Đ. T. M. Hương, V. V. Lợi, C. V. Minh, P. V. Cường. *Nghiên cứu quy trình tổng hợp và hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất (2R,3R,4S,5R,6E)-3,4,5-trihydroxy-2-methoxy-8,8-dimethyl-n-((S)-2-oxoazepan-3-yl)non-6-enamide*, Vietnam Journal of Chemistry., **54(6e2)**, 62-65 (2016).
8. T. Mosmann. *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. J. Immunol Methods, **65(1-2)**, 55-63 (1983).
9. D. A. Vanden Berghe, A. J. Vlietinck. *Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants*, in Hostettmann K. (ed), *Methods in plant biochemistry, Assays for bioactivity*, Academic Press, **6**, 47-69 (1991).

Liên hệ: **Phạm Văn Cường**

Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam  
 Nhà B1, Số 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội  
 E-mail: phamvc@imbc.vast.vn.