

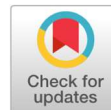


ISSN : 1859-1779

Nghiên cứu Dược học

Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh - Dược học;29(2):52-60

<https://doi.org/10.32895/hcjm.p.2026.02.06>



Tổng hợp và đánh giá hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase một số dẫn chất của acid usnic

Châu Phương Vi¹, Nguyễn Việt Cường^{1,2}, Mai Thành Tấn¹, Tường Lâm Trường^{1,*}

¹Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Dược, Đại học Lạc Hồng, Đồng Nai, Việt Nam

Tóm tắt

Mở đầu: Acid (+)-usnic từ địa y *Usnea* là hợp chất tự nhiên có nhiều hoạt tính sinh học nhưng hiệu lực ức chế α -glucosidase còn hạn chế. α -glucosidase là đích tác dụng quan trọng trong kiểm soát đường huyết sau ăn, do đó việc tìm kiếm các chất ức chế mới từ nguồn tự nhiên là hết sức cần thiết. Nghiên cứu này tổng hợp các dẫn xuất enamin mạch thẳng của acid usnic và đánh giá khả năng ức chế α -glucosidase nhằm xác định các biến đổi cấu trúc giúp cải thiện hoạt tính so với hợp chất ban đầu.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Acid (+)-usnic là nguyên liệu được phân lập từ loài địa y *Usnea aciculifera* thu hái tại Đà Lạt (Lâm Đồng, Việt Nam) để tổng hợp các dẫn xuất enamin mạch thẳng bằng phản ứng với các amin tương ứng trong ethanol, theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng và tinh chế bằng sắc ký cột. Việc xác định cấu trúc sản phẩm được thực hiện bằng phổ NMR và khối phổ MS. Hoạt tính ức chế α -glucosidase được đánh giá in vitro sử dụng enzym từ *Saccharomyces cerevisiae* với acarbose làm chứng dương.

Kết quả: Tổng hợp được bốn dẫn xuất enamin mạch thẳng của acid usnic với hiệu suất tốt (> 65%). Dữ liệu phổ nghiệm xác nhận cấu trúc các hợp chất phù hợp với dự kiến. Kết quả thử nghiệm cho thấy các dẫn xuất đều có hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase, trong đó hợp chất số 3 và số 4 thể hiện tác dụng mạnh với giá trị IC_{50} lần lượt là $73,47 \pm 2,45 \mu M$ và $74,00 \pm 1,81 \mu M$, tốt hơn so với chất chứng dương acarbose ($IC_{50} = 100,40 \pm 3,85 \mu M$).

Kết luận: Đã tổng hợp được bốn dẫn xuất enamin mạch thẳng của acid usnic, trong đó có 2 dẫn xuất chưa được báo cáo trước đây theo tra cứu trên SciFinder (truy cập ngày 18/12/2025). Hợp chất 3 và 4 cho hoạt tính ức chế mạnh nhất, trong khi chất 1 cho kết quả trung bình. Kết quả này cho thấy việc biến đổi cấu trúc acid usnic là hướng tiếp cận tiềm năng nhằm phát triển các chất ức chế α -glucosidase mới từ nguồn dược liệu địa y.

Từ khoá: acid usnic; dẫn xuất enamin; địa y; *Usnea aciculifera*; α -glucosidase.

Abstract

SYNTHESIS AND EVALUATION OF α -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY OF USNIC ACID DERIVATIVES

Chau Phuong Vi, Nguyen Viet Cuong, Mai Thanh Tan, Tuong Lam Truong

Introduction: (+)-Usnic acid, a natural compound isolated from *Usnea* lichens, exhibits a wide range of biological activities; however, its α -glucosidase

Ngày nhận bài: 09-12-2025 / Ngày chấp nhận đăng bài: 11-02-2026 / Ngày đăng bài: 28-02-2026

*Tác giả liên hệ: Tường Lâm Trường. Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

E-mail: tuonglamtruong@ump.edu.vn

© 2026 Bản quyền thuộc về Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh.

inhibitory potency remains limited. α -glucosidase is an important therapeutic target for controlling postprandial blood glucose levels; therefore, the discovery of new inhibitors from natural sources is of considerable interest. This study aimed to synthesize a series of linear-chain enamine derivatives of usnic acid and evaluate their α -glucosidase inhibitory activity, thereby identifying structural modifications that enhance biological activity compared with the parent compound.

Materials and methods: (+)-Usnic acid was isolated from *Usnea aciculifera* collected in Da Lat (Lam Dong, Vietnam) and used as the starting material for the synthesis of linear-chain enamine derivatives via reaction with corresponding amines in ethanol. The reaction progress was monitored by thin-layer chromatography, and the products were purified by column chromatography. The structures of the compounds were elucidated using NMR spectroscopy and mass spectrometry. The α -glucosidase inhibitory activity was evaluated in vitro using the enzyme from *Saccharomyces cerevisiae*, with acarbose as the positive control.

Results: Four linear-chain enamine derivatives of usnic acid were successfully synthesized with good yields (>65%). Spectroscopic data confirmed that the structures of the compounds were consistent with the proposed structures. The biological evaluation showed that all derivatives exhibited α -glucosidase inhibitory activity, among which compounds **3** and **4** demonstrated the most potent effects, with IC_{50} values of $73.47 \pm 2.45 \mu M$ and $74.00 \pm 1.81 \mu M$, respectively, which were superior to the positive control acarbose ($IC_{50} = 100.40 \pm 3.85 \mu M$).

Conclusion: Four linear-chain enamine derivatives of usnic acid were synthesized, among which two compounds have not been previously reported based on a SciFinder database search (accessed December 18, 2025). Compounds **3** and **4** exhibited the strongest α -glucosidase inhibitory activity, while compound **1** showed moderate activity. These findings suggest that structural modification of usnic acid represents a promising strategy for the development of novel α -glucosidase inhibitors derived from lichen-based natural products.

Keywords: usnic acid; enamine derivatives; lichen; *Usnea aciculifera*; α -glucosidase

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Địa y (*Lichen*) là nguồn dược liệu tự nhiên quý, chứa nhiều hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học đa dạng như depsid, depsidon, dibenzofuran, và xanthon. Trong đó, acid usnic là một dẫn xuất dibenzofuran đặc trưng, được tìm thấy phổ biến trong các chi *Usnea*, *Cladonia*, *Lecanora* và *Ramalina*[1-3]. Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh acid usnic có các tác dụng sinh học nổi bật như kháng khuẩn, kháng virus, chống viêm, chống oxy hóa, chống khối u và kháng nấm[4-5]. Tuy nhiên, hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase - một đích tác dụng quan trọng trong điều trị bệnh đái tháo đường type 2 - của hợp chất này và các dẫn xuất liên quan vẫn chưa được nghiên cứu một cách đầy đủ và hệ thống [6-7].

Đà Lạt (tỉnh Lâm Đồng) là khu vực có khí hậu ôn hòa, độ ẩm cao, là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của nhiều loài địa y, trong đó có *Usnea aciculifera*, một loài giàu acid usnic [8]. Việc phân lập acid usnic từ loài địa y này không chỉ góp phần khai thác và phát huy hợp lý nguồn tài nguyên sinh học địa phương mà còn mở ra hướng phát triển các dẫn xuất có hoạt tính sinh học cao phục vụ cho nghiên cứu dược lý [9]. Nhiều dẫn xuất của acid usnic đã được tổng hợp với mục tiêu tối ưu hóa các đặc tính sinh học của hợp chất này. Trong đó, các dẫn xuất kiểu enamin được ghi nhận là nhóm phổ biến

nhất. Các hợp chất enamin được hình thành thông qua phản ứng giữa nhóm carbonyl của acid usnic và các amin bậc một, dẫn đến sự hình thành enamin ổn định đồng thời làm giảm độc tính nội tại của acid usnic. So với hợp chất mẹ, các dẫn xuất enamin thể hiện độ tan cao, hoạt tính sinh học và khả năng tương tác phân tử tốt hơn [5,10-11]. Các nghiên cứu gần đây ghi nhận một số enamin của usnic acid cho thấy hoạt tính ức chế α -glucosidase đáng chú ý, gợi mở tiềm năng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị đái tháo đường type 2 [6-7]. Do đó, việc đưa các nhóm amin vào cấu trúc acid usnic được xem là một chiến lược hiệu quả nhằm cải thiện hiệu lực tương tác với enzym. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tổng hợp các dẫn xuất enamin mạch thẳng của acid usnic và đánh giá hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase. Kết quả của nghiên cứu góp phần làm rõ hơn mối quan hệ cấu trúc - tác dụng (SAR) của các dẫn xuất enamin của acid usnic và đóng góp định hướng cho việc phát triển các chất ức chế α -glucosidase có nguồn gốc từ địa y.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và thiết bị nghiên cứu

Acid (+)-usnic được phân lập từ địa y *Usnea aciculifera*

phân bố trên vỏ cây thông ở thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, với độ tinh khiết > 95 % dựa trên phổ NMR.

Ethylamin, propylamin, 4-amino-1-butanol, acid γ -aminobutyric, công ty Merck Đúc theo tiêu chuẩn tổng hợp và dung môi hữu cơ từ công ty Alfa Chemical - Trung Quốc; α -Glucosidase từ men nấm *Saccharomyces cerevisiae*, Na_2CO_3 , Na_2HPO_4 và NaH_2PO_4 4-nitrophenyl α -D-glucopyranosid (NP-G) từ công ty Sigma-Aldrich - Hoa kỳ. Máy quang phổ Allsheng microplate reader, AMR-100. Máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker 500 MHz tại phòng NMR, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công Nghệ Việt Nam. Máy đo phổ khối phân giải cao (Electron Spray Ionization mass spectra) HR-ESI-MS (Bruker MicroOTOF-Q 10187) của Phòng Thí nghiệm Phân tích Trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tổng hợp và xác định cấu trúc

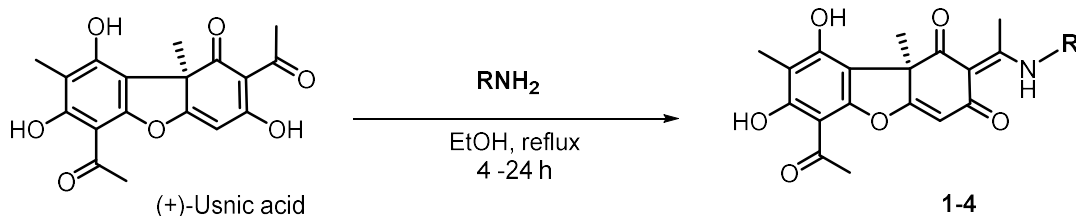
Các phản ứng được thực hiện bằng phương pháp đun hồi lưu, khuấy từ có gia nhiệt [12-13].

Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng sắc kí lớp mỏng.

Tinh chế sản phẩm bằng sắc kí cột silicagel hoặc cột sephadex.

- Cấu trúc sản phẩm được xác định bằng phương pháp phổ khối phân giải cao HRMS và phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H -NMR, ^{13}C -NMR.

Quá trình tổng hợp được tiến hành theo sơ đồ Hình 1: phản ứng được tiến hành bằng cách cho nguyên liệu: 1,5 mmol acid usnic (516 mg) cùng với 2,25 mmol amin thích hợp trong 10 ml dung môi ethanol tuyệt đối khuấy đều. Hỗn hợp phản ứng được đun hồi lưu trong nồi dầu ở nhiệt độ 75 - 85°C tùy từng phản ứng. Theo dõi phản ứng bằng sắc kí lớp mỏng với hệ dung môi tương ứng đến khi vết nguyên liệu không nhạt đi theo thời gian.



Hình 1. Quy trình tổng hợp các dẫn xuất enamin của acid usnic

2.2.2. Phương pháp đánh giá ức chế enzym α -glucosidase

Enzym α -glucosidase từ *Saccharomyces cerevisiae* (0,1 U/ml) và cơ chất *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosid (1 mM) được hòa tan riêng biệt trong dung dịch đệm natri phosphat 0,1 mM pH 6,9 tạo dãy nồng độ thử nghiệm 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63 và 7,81 μM . 10 μl mẫu thử được thêm vào 40 μl enzym α -glucosidase, ủ ở 37 °C trong 10 phút. Sau đó, 50 μl cơ chất *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosid được thêm vào hỗn hợp, ủ tiếp ở 37 °C và sau 20 phút, dừng phản ứng bằng cách thêm 100 μl Na_2CO_3 1 M. Đo độ hấp thụ ở 405 nm. Acarbose được sử dụng làm chứng dương. IC_{50} được xác định bằng GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Hoa kỳ) [14].

2.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng gắn kết in silico trên enzym α -glucosidase

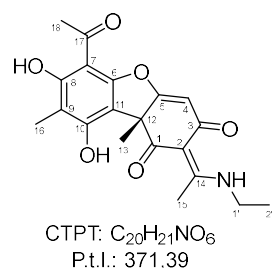
Thực hiện docking phân tử các dẫn xuất và enzym α -glucosidase bằng phần mềm AutoDock Vina phiên bản 1.1.2. Quá trình thực hiện bao gồm: chuẩn bị cấu trúc protein, chuẩn bị cấu trúc ligand, gắn kết phân tử và đánh giá kết quả. Cấu trúc tinh thể của α -glucosidase tải về từ Ngân hàng dữ liệu protein (mã PDB: 3A4A) có độ phân giải 1,6 Å dưới dạng tệp .pdb (<http://www.rcsb.org>) [15-16]. Bốn hợp chất tổng hợp và chất chứng dương acarbose được xây dựng cấu trúc 3D bằng phần mềm Avogadro phiên bản 1.99.0. Cấu trúc của protein và ligand sẽ được thêm hydro ở pH sinh lý và chuyển sang dạng tệp .pdbqt thích hợp cho gắn kết phân tử bằng AutoDock Vina bằng phần mềm AutoDock Tools phiên bản 1.5.7 [17]. Thông số chi tiết của hộp lưới cho mô phỏng gắn kết bao gồm tọa độ x (center-x): 18,068; tọa độ y (center-y): -7,323; tọa độ z (center-z): 19,029 và kích thước x, y, z là 40 Å. Thông số num_modes cài đặt bằng 10 và độ sâu tìm kiếm (exhaustiveness) cài đặt bằng 40. Sau quá trình gắn kết, tiến hành phân tích dựa vào ái lực gắn kết (kcal/mol) và phân tích tương tác giữa ligand và các acid amin quan trọng trong vùng gắn kết.

3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả tổng hợp

Bốn dẫn xuất enamin của acid usnic được tổng hợp có cấu trúc như sau:

Dẫn xuất **01** được thực hiện theo quy trình chung, trong đó amin được sử dụng là ethylamin. Bột kết tinh màu vàng nhạt, không mùi, kém tan trong nước, tan trong chloroform, acetone; nhiệt độ nóng chảy: 123-125 °C; R_f : 0,61 (*n*-hexan:ethyl acetat 6:4); Thời gian thực hiện phản ứng là 3-4 giờ. Đạt hiệu suất 76% (420 mg) (Hình 2).



Hình 2. Cấu trúc hợp chất 01

3.1.1. (R,E)-6-acetyl-2-(1-(ethylamino)ethyliden)-7,9-dihydroxy-8,9b-dimethyldibenzo[b,d]furan-1,3(2H,9bH)-dion (01)

Phổ HRMS cho tín hiệu m/z $[M+H]^+ = 372,1448$ theo tính toán cho $[C_{20}H_{21}NO_6+H]^+$ là 372,1447 tương ứng với công thức phân tử $C_{20}H_{21}NO_6$ của **01**.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm)

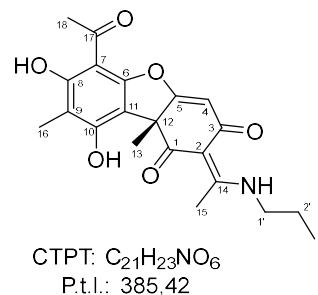
1,32 (*t*, 3H, $J=9,0$ Hz, H_2'), 1,59 (*s*, 3H, H_{13}), 1,97 (*s*, 3H, H_{16}), 2,54 (*s*, 3H, H_{15}), 2,56 (*s*, 3H, H_{18}), 3,47 (*m*, 2H, H_{11}'), 5,66 (*s*, 1H, H_4), 11,88 (*s*, 1H, 10-OH), 13,13 (*s*, 1H, NH), 13,25 (*s*, 1H, 8-OH).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C (ppm)

7,4 (C_{16}), 14,1 (C_2'), 18,1 (15), 31,1 (C_{18}), 31,9 (C_{13}), 38,7 (C_{11}'), 56,9 (C_{12}), 101,2 (C_7), 102,0 (C_4), 102,4 (C_2), 105,0 (C_{11}), 107,6 (C_9), 155,8 (C_6), 158,2 (C_{10}), 163,3 (C_8), 173,7 (C_5), 174,6 (C_{14}), 189,9 (C_3), 198,0 (C_1), 200,5 (C_{17}).

Dẫn chất **02** được thực hiện theo quy trình chung, trong đó amin được sử dụng là propylamin. Bột kết tinh màu vàng nhạt, không mùi, kém tan trong nước, tan trong chloroform, acetone; nhiệt độ nóng chảy: 143-145 °C; R_f : 0,66

(*n*-hexan:ethyl acetat 6:4). Thời gian thực hiện phản ứng là 4-5 giờ. Đạt hiệu suất 77% (444 mg) (Hình 3).



Hình 3. Cấu trúc hợp chất 02

3.1.2. (R,E)-6-acetyl-7,9-dihydroxy-8,9b-dimethyl-2-(1-(propylamino)ethyliden)dibenzo[b,d]furan-1,3(2H,9bH)-dion (02)

Phổ HRMS cho tín hiệu m/z $[M+H]^+ = 386,1598$ theo tính toán cho $[C_{21}H_{23}NO_6+H]^+$ là 386,1598 tương ứng với công thức phân tử $C_{21}H_{23}NO_6$ của **02**.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm)

0,95 (*dd*, 3H, $J=2,5$; 5,0 Hz, H_3'), 1,52 (*s*, 3H, H_{13}), 1,65 (*m*, 2H, H_2'), 1,88 (*s*, 3H, H_{16}), 2,47 (*s*, 3H, H_{15}), 2,48 (*s*, 3H, H_{18}), 3,32 (*m*, 2H, H_{11}'), 5,58 (*s*, 1H, H_4), 11,83 (*s*, 1H, 10-OH), 13,18 (*s*, 1H, 8-OH).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C (ppm)

7,2 (C_{16}), 11,1 (C_3'), 17,9 (C_{15}), 22,1 (C_2'), 30,8 (C_{18}), 31,8 (C_{13}), 45,4 (C_{11}'), 56,7 (C_{12}), 101,0 (C_7), 101,8 (C_2), 102,1 (C_4), 104,9 (C_{11}), 107,4 (C_9), 155,6 (C_6), 158,0 (C_{10}), 163,2 (C_8), 173,4 (C_5), 174,6 (C_{14}), 189,7 (C_3), 197,8 (C_1), 200,3 (C_{17}).

Dẫn chất **03** được thực hiện theo quy trình chung, trong đó amin được sử dụng là 4-aminobutan-1-ol. Bột kết tinh màu vàng, không mùi, kém tan trong nước, tan trong chloroform, acetone; nhiệt độ nóng chảy: 76-78 °C; R_f : 0,71 (*n*-hexan:ethyl acetat 5:5). Thời gian thực hiện phản ứng là 5-6 giờ. Đạt hiệu suất 69% (430 mg).

3.1.3. (R,E)-6-acetyl-7,9-dihydroxy-2-(1-((4-hydroxybutyl)amino)ethyliden)-8,9b-dimethyldibenzo[b,d]furan-1,3(2H,9bH)dion (03)

Phổ HRMS cho tín hiệu m/z $[M+Na]^+ = 438,1531$ theo tính toán cho $[C_{22}H_{25}NO_7+Na]^+$ là 438,1523 tương ứng với công thức phân tử $C_{22}H_{25}NO_7$ của **03** (Hình 3).

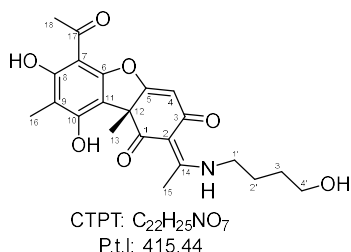
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H (ppm)AS

1,60 (s, 3H, H₁₃), 1,67 (m, 2H, H₂'), 1,80 (m, 2H, H₃'), 1,96 (s, 3H, H₁₆), 2,55 (s, 3H, H₁₅), 2,56 (s, 3H, H₁₈), 3,49 (t, 2H, J = 8,0 Hz, H₁'), 3,67 (t, 2H, J = 7,5 Hz, H₄'), 5,66 (s, 1H, H₄), 11,86 (s, 1H, 10-OH), 13,18 (s, 1H, NH), 13,24 (s, 1H, 8-OH).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C (ppm)

7,4 (C₁₆), 18,2 (C₁₅), 25,6 (C₂'), 29,6 (C₃'), 31,1 (C₁₈), 32,0 (C₁₃), 43,8 (C₁'), 57,0 (C₁₂), 61,7 (C₄'), 101,2 (C₇), 102,1 (C₂), 102,3 (C₄), 105,0 (C₁₁), 107,7 (C₉), 155,8 (C₆), 158,2 (C₁₀), 163,3 (C₈), 173,9 (C₅), 174,8 (C₁₄), 190,0 (C₃), 198,1 (C₁), 200,6 (C₁₇).

Dẫn chất **04** được thực hiện theo quy trình chung, trong đó amin được sử dụng là 4-aminobutyric acid. Bột kết tinh màu vàng, không mùi, kém tan trong nước, tan trong chloroform, acetone; nhiệt độ nóng chảy: 136-138 °C; R_f: 0,61 (*n*-hexan:ethyl acetat 6:4). Thời gian thực hiện phản ứng là 24 giờ. Đạt hiệu suất 77 % (495 mg).



Hình 4. Cấu trúc hợp chất 03

3.1.4. Acid (R,E)-4-((1-(6-acetyl-7,9-dihydroxy-8,9b-dimethyl-1,3-dioxo-3,9b-dihydrodibenzo [b,d] furan-2(1H)-yliden)ethyl)amino)butanoic (04)

Phổ HRMS cho tín hiệu *m/z* [M+H]⁺ = 430,1501 theo tính toán cho [C₂₂H₂₃NO₈+H]⁺ là 430,1496 tương ứng với công thức phân tử C₂₂H₂₅NO₇ của **04** (Hình 5).

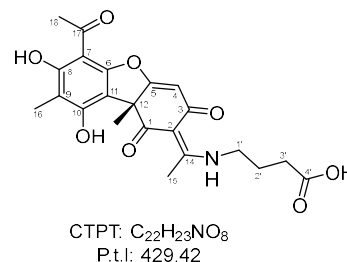
¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ_H (ppm)

1,58 (s, 3H, H₁₃), 1,81 (m, 2H, H₂'), 1,90 (s, 3H, H₁₆), 2,30 (m, 2H, H₃'), 2,46 (m, 2H, H₁'), 2,54 (s, 3H, H₁₈), 2,56 (s, 3H, H₁₅), 2,78 (s, 1H, H₄).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO) δ_C (ppm)

7,5 (C₁₆), 18,1 (C₁₅), 24,1 (C₂'), 30,9 (C₁₈), 31,0 (C₁₃), 31,8 (C₃'), 42,9 (C₁'), 56,3 (C₁₂), 100,8 (C₄), 101,6 (C₇), 102,3 (C₁₁), 105,1 (C₂), 106,3 (C₉), 155,7 (C₁₄), 157,7

(C₆), 162,6 (C₁₀), 173,0 (C₈), 173,9 (C₄'), 175,0 (C₅), 189,0 (C₃), 197,3 (C₁), 200,9 (C₁₇).



Hình 5. Cấu trúc hợp chất 04

3.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym α-glucosidase

IC₅₀ được tính toán từ đồ thị tương quan phi tuyến tính bởi phần mềm GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Hoa Kỳ). Tất cả giá trị IC₅₀ được thể hiện dưới dạng trung bình ± sai số chuẩn (n = 3) trình bày ở Hình 6.

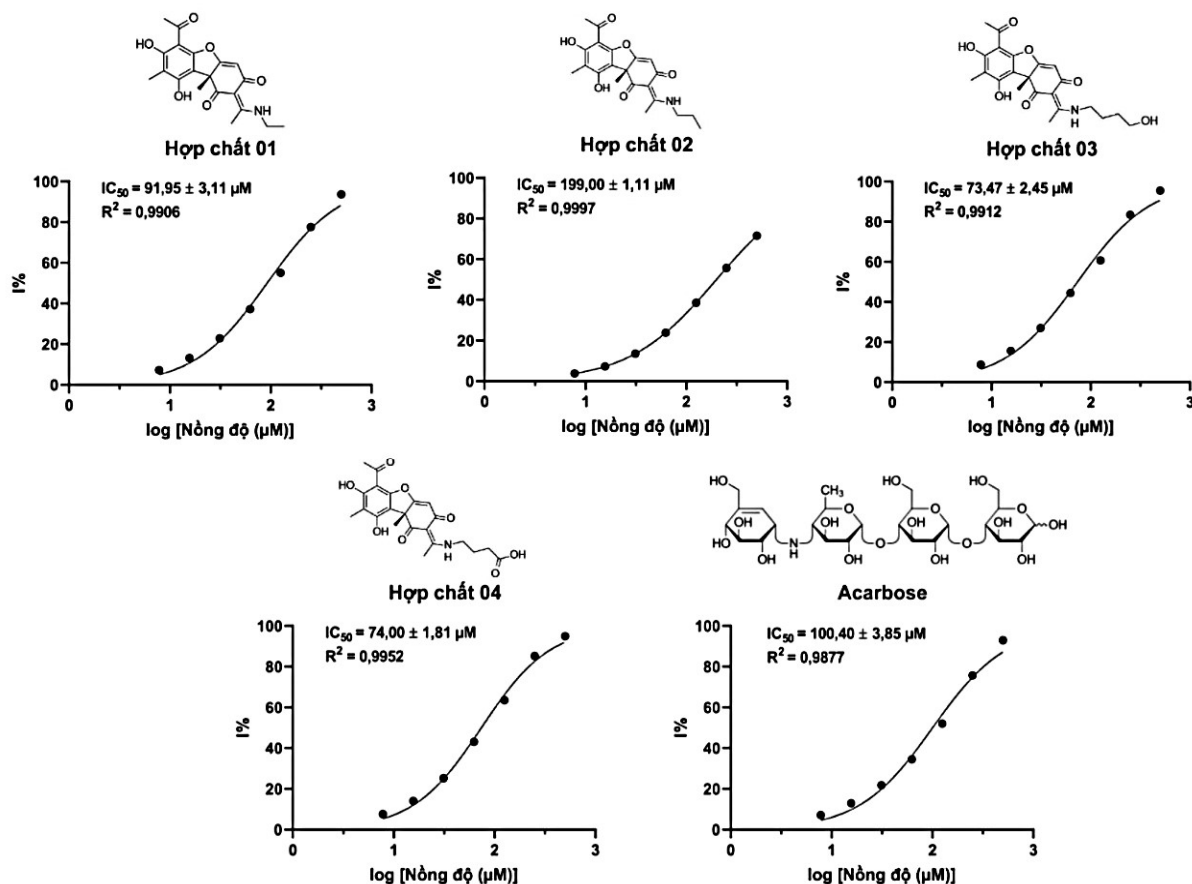
Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym α-glucosidase các hợp chất tổng hợp trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả IC₅₀ của các hợp chất tổng hợp được so với acarbose.

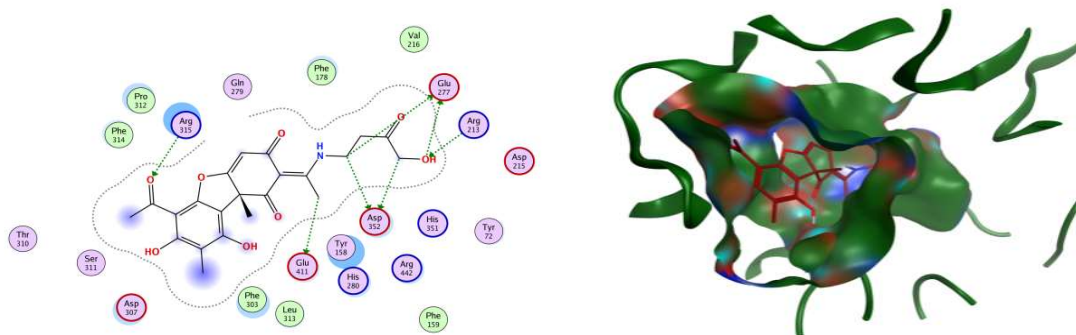
STT	Hợp chất	IC ₅₀ (μM)
1	Acid usnic	> 200
2	1	91,95 ± 3,11
3	2	199,00 ± 1,11
4	3	73,47 ± 2,45
5	4	74,00 ± 1,81
6	Acarbose	100,40 ± 3,85

3.3. Kết quả đánh giá khả năng gắn kết *in silico* trên enzym α-glucosidase

Kết quả docking phân tử cho thấy ái lực gắn kết của acarbose trên enzym α-glucosidase đạt -8,50 kcal/mol. Cả bốn dẫn xuất từ acid usnic đều có kết quả ái lực gắn kết tốt hơn khi so sánh với acarbose. Cụ thể, hợp chất **04** có ái lực tốt nhất, thể hiện giá trị ái lực là -10,50 kcal/mol. Các hợp chất **01**, **02** và **03** có giá trị ái lực liên kết lần lượt là -9,90; -9,90 và -10,20 kcal/mol. Tiến hành phân tích tương tác giữa các dẫn chất và các acid amin trong vùng gắn kết cho thấy một số tương tác quan trọng như liên kết tĩnh điện hoặc liên kết hydro với Asp215, liên kết hydro với Glu277 và tương tác với một số acid khác làm ổn định thêm liên kết như Asp352, His351, Arg442, Arg213, Phe303, Thr306, Gln279, Gln353, Asn350. Các kết quả trên cho thấy khả năng ức chế tốt của các dẫn chất đối với enzym α-glucosidase so với acarbose trên docking phân tử (Hình 7).



Hình 6. Đồ thị sigmoid biểu diễn sự phụ thuộc của logarit nồng độ chất ức chế (μM) và phần trăm ức chế



Hình 7. Tương tác phân tử của hợp chất 04 và vị trí trong khoang gắn kết của enzym α -glucosidase

4. BÀN LUẬN

Phản ứng tổng hợp thành công bốn dẫn xuất enamin mạch thẳng của acid (+)-usnic bằng phản ứng ngưng tụ với các amin mạch thẳng trong điều kiện đun hồi lưu với ethanol, trong đó hợp chất **01** và **02** là hai chất mới được tra cứu trên Scifinder. Các dẫn xuất thu được có độ tinh sạch cao và được xác nhận cấu trúc bằng phổ NMR và HRMS.

Đánh giá hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase cho thấy acid usnic không thể hiện khả năng ức chế ($\text{IC}_{50} > 200 \mu\text{M}$), phù hợp với các báo cáo rằng cấu trúc dibenzofuran cứng ít phù hợp với vị trí hoạt động của enzym. Tuy nhiên, cả bốn dẫn xuất enamin đều có hoạt tính tốt hơn đáng kể so với acid usnic, cho thấy việc mở rộng mạch enamin giúp tăng độ linh động phân tử, cải thiện khả năng tương tác trong vùng xúc tác của enzym. Trong số các

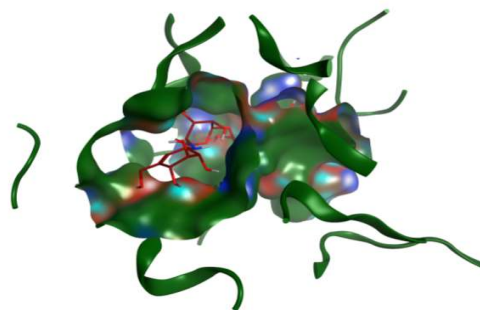
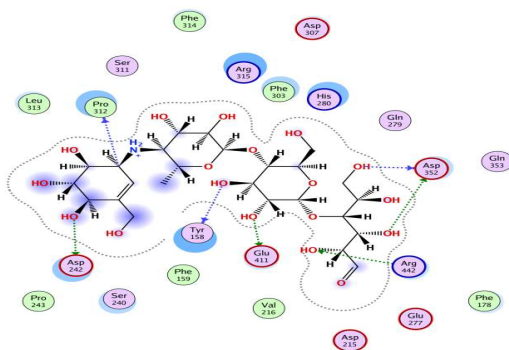
dẫn xuất khảo sát, hợp chất **03** ($IC_{50} = 73,47 \pm 2,45 \mu M$) và hợp chất **04** ($IC_{50} = 74,00 \pm 1,81 \mu M$) thể hiện hoạt tính mạnh nhất. Hai hợp chất này có IC_{50} thấp hơn cả chất chứng dương acarbose ($IC_{50} = 100,40 \pm 3,85 \mu M$). Sự cải thiện này có thể liên quan đến sự tăng cường tương tác kỵ nước và sự phù hợp không gian tốt hơn giữa mạch enamin mở rộng và góc hoạt động của enzym. Hợp chất **01** ($IC_{50} = 91,95 \pm 3,11 \mu M$) cũng thể hiện hoạt tính khá tốt, dù thấp hơn hợp chất **03** và **04**. Điều này cho thấy bản chất nhóm amin tham gia phản ứng có ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính sinh học, thông qua việc điều chỉnh độ phân cực và độ dài mạch carbon.

Những kết quả này khẳng định tiềm năng của hướng biến đổi enamin trong tối ưu hóa cấu trúc acid usnic để tạo ra các chất ức chế α -glucosidase mới. Nghiên cứu mở ra cơ hội tiếp tục khảo sát sâu hơn về quan hệ cấu trúc - tác dụng (SAR), mở rộng thư viện dẫn xuất, cũng như đánh giá độc tính và tính chọn lọc để định hướng phát triển các tác chất điều hòa đường huyết có nguồn gốc tự nhiên.

Trong nghiên cứu này, quá trình docking phân tử đã được thực hiện để đánh giá khả năng gắn kết với chất đối chứng được chọn là acarbose. Kết quả cho thấy acarbose thể hiện ái lực liên kết mạnh với năng lượng tự do Gibbs (ΔG) là -8,5 kcal/mol. Giá trị này thể hiện sự tương đồng cao với các dữ liệu đã công bố trước đây sử dụng cùng cấu trúc mục tiêu (PDB: 3A4A). Cụ thể, nghiên cứu của Dela Rosa và cộng sự [18] đã báo cáo ái lực liên kết của acarbose là -9,16 kcal/mol hay trong một nghiên cứu khác như của Shulgau và cộng sự [19] ghi nhận giá trị khoảng -8,40 kcal/mol. Sự dao động nhẹ kết quả ái lực liên kết có thể được giải thích do sự khác biệt nhỏ trong việc thiết lập kích thước hộp lưới (grid box) hoặc bước xử lý protein (proton hóa). Tuy nhiên, tất cả đều thống nhất rằng acarbose tạo ra phức hợp bền vững. Phân tích trực

quan hóa cho thấy acarbose chiếm lĩnh sâu vào túi liên kết (binding pocket) và thiết lập các tương tác quan trọng. Acarbose còn được neo giữ bởi một mạng lưới liên kết hydro phức tạp với các acid amin xung quanh như Asp352, Arg442 và Asp242. Đồng thời, các nhóm hydroxyl của acarbose hình thành liên kết hydro định hướng với Glu277 giúp cố định cấu trúc phối tử.

Kết quả mô phỏng docking trên enzym α -glucosidase cho thấy cả bốn dẫn chất enamin của acid usnic đều thể hiện ái lực gắn kết vượt trội so với chất đối chứng dương acarbose. Cấu trúc lõi dibenzo[b,d]furan của acid usnic có các đặc điểm rất thuận lợi cho túi gắn của α -glucosidase. Trung tâm hoạt động của enzym có lối vào khá rộng và chứa nhiều acid amin thơm. Khung dibenzofuran phẳng sẽ tạo ra các tương tác xếp chồng π - π hoặc tương tác kỵ nước mạnh với các acid amin này, giúp neo phân tử tại cửa vào của enzym. Trong khi đó acarbose với cấu trúc carbohydrat linh động, phụ thuộc nhiều vào mạng lưới liên kết hydro phức tạp để ổn định. Sự khác biệt nằm nhánh thế gắn vào nitơ ở bốn dẫn chất là yếu tố quyết định độ mạnh yếu của ái lực liên kết. Các hợp chất **01** và **02** là các dẫn chất alkyl lần lượt là gốc ethyl và propyl. Các dẫn chất này sẽ thiên về tương tác kỵ nước. Nhóm ethyl/propyl ngắn sẽ hướng vào các hốc kỵ nước nhỏ trong túi enzym. Chúng thiếu các nhóm phân cực ở đầu mạch để tạo liên kết đặc hiệu ở sâu bên trong. Hợp chất **03** có nhóm hydroxyl đầu mạch cùng với chiều dài nhóm butyl khoảng 4-5 Å nên có khả năng đi sâu vào bên trong để tạo liên kết hydro. Đặc biệt, hợp chất **04** tận dụng bằng nhóm acid carboxylic có khả năng tạo tương tác ion hay liên kết hydro với với các acid amin quan trọng trong túi liên kết. Điều này lý giải cho ái lực liên kết tốt nhất của hợp chất **04** (-10,5 kcal/mol) so với acarbose và các dẫn chất còn lại.



Hình 8. Tương tác phân tử của acarbose và vị trí trong khoang gắn kết của enzym α -glucosidase

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tổng hợp thành công bốn dẫn xuất enamin mạch thẳng của acid (+)-usnic bằng phương pháp ngưng tụ với các amin thích hợp và xác định cấu trúc bằng phương pháp phổ NMR và HRMS. Kết quả đánh giá hoạt tính cho thấy việc biến đổi acid usnic thành các dẫn xuất enamin giúp cải thiện đáng kể khả năng ức chế enzym α -glucosidase so với chất mẹ ($IC_{50} > 200 \mu M$). Trong số các dẫn xuất khảo sát, hợp chất **03** ($IC_{50} = 73,47 \pm 2,45 \mu M$) và hợp chất **04** ($IC_{50} = 74,00 \pm 1,81 \mu M$) thể hiện hoạt tính mạnh nhất, cao hơn cả chứng dương acarbose ($IC_{50} = 100,40 \pm 3,85 \mu M$). Hợp chất **01** cho hoạt tính trung bình, trong khi hợp chất **02** thể hiện hiệu lực thấp nhất. Những kết quả này khẳng định tiềm năng của hướng biến đổi enamin trong tối ưu hóa cấu trúc acid usnic và gợi mở triển vọng phát triển các chất ức chế α -glucosidase mới có nguồn gốc từ địa y.

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu xin được cảm ơn quỹ đầu tư phát triển nghiên cứu khoa học của Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh dưới mã số 174/2023/HĐ-ĐHYD.

Nguồn tài trợ

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh theo hợp đồng số 174/2023/HĐ-ĐHYD ngày 15 tháng 09 năm 2023.

Xung đột lợi ích

Không có xung đột lợi ích nào liên quan đến nghiên cứu này.

ORCID

Tường Lâm Trường

<https://orcid.org/0009-0009-7285-4252>

Nguyễn Việt Cường

<https://orcid.org/0000-0001-8000-165X>

Mai Thành Tấn

<https://orcid.org/0000-0001-7313-9853>

Đóng góp của các tác giả

Góp ý bản thảo và đồng ý cho đăng bài: Tường Lâm Trường, Châu Phương Vi, Nguyễn Việt Cường, Mai Thành Tấn.

Ý tưởng nghiên cứu: Tường Lâm Trường.

Đề cương và phương pháp nghiên cứu: Tường Lâm Trường, Châu Phương Vi.

Thu thập dữ liệu: Tường Lâm Trường, Châu Phương Vi, Nguyễn Việt Cường.

Giám sát nghiên cứu: Tường Lâm Trường.

Nhập dữ liệu: Châu Phương Vi, Nguyễn Việt Cường.

Quản lý dữ liệu: Tường Lâm Trường.

Phân tích dữ liệu: Tường Lâm Trường, Nguyễn Việt Cường, Mai Thành Tấn.

Viết bản thảo đầu tiên: Tường Lâm Trường, Châu Phương Vi, Nguyễn Việt Cường.

Cung cấp dữ liệu và thông tin nghiên cứu

Tác giả liên hệ sẽ cung cấp dữ liệu nếu có yêu cầu từ Ban biên tập.

Chấp thuận của Hội đồng Đạo đức

Nghiên cứu này miễn trừ Hội đồng Đạo đức.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Gu L, Shi Q, Fang JL, Mei N, Ali AA, Lewis SM, et al. Review of usnic acid and usnea barbata toxicity. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2008;26(4):317-338.
- Araújo AAS, De Melo MGD, Rabelo TK, Nunes PS, Santos SL, Serafini MR, et al. Review of the biological properties and toxicity of usnic acid. Nat Prod Res. 2015;29(23):2167-2180.
- Ingolfssdottir K. Usnic acid. Phytochemistry. 2002;61(7):729-736.
- Molnár K, Farkas E. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. Z Naturforsch C J Biosci. 2010;65(3-4):157-173.
- Guzow K, Herman AA. Usnic acid derivatives as cytotoxic agents against cancer cells and the mechanisms of their activity. Curr Pharmacol Rep. 2019;5(6):429-439.
- Nguyen HT, Devi AP, Nguyen TVA, Chavasiri W, Pham DD, Sichaem J, et al. α -glucosidase inhibition by

- usnic acid derivatives. Chem Biodivers. 2021;18(4):e2000906.
7. Dung PD, Huy DT, Van Kieu N. Synthesis and evaluation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitory activities of ester derivatives of usnic acid. J Sci Technol Dev. 2020;23(3):590-597.
8. Vo TN, Tuong LT, Nguyen KPP. The depsidones from *Usnea aciculifera*. J Tech Educ Sci. 2016;11(S2):28-33.
9. Shukla AK, Kumar M, Sharma M, Dev SK, Maurya R. Usnic acid: a promising bioactive agent for wound healing. Asian J Pharm Pharmacol. 2022;8(6):188-193.
10. Mallavadhan UV, Vanga NR, Rao KB, Jain N. Synthesis and antiproliferative activity of novel (+)-usnic acid analogues. J Asian Nat Prod Res. 2019;22(6):562-577.
11. Nikolin VP, Popova NA, Kaledin VI, Luzina OA, Zakharenko AL, Salakhutdinov NF, Lavrik OI. The influence of an enamine usnic acid derivative (a tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitor) on the therapeutic effect of topotecan against transplanted tumors *in vivo*. Clin Exp Metastasis. 2021;38(5):431-440.
12. Vanga NR, Kota A, Sistla R, Uppuluri M. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel triazole hybrids of (+)-usnic acid, the major dibenzofuran metabolite of the lichen *Usnea longissima*. Mol Divers. 2017;21(2):273-282.
13. Alexandra Z, Olga L, Olga K, Nilov D, Gushchina I, Dyrkheeva N, et al. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors: usnic acid enamines enhance the cytotoxic effect of camptothecin. J Nat Prod. 2016;79(11):2961-2967.
14. Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. Phytochemistry. 2008;69(16):2820-2825.
15. Yamamoto K, Miyake H, Kusunoki M, Osaki S. Crystal structures of isomaltase from *Saccharomyces cerevisiae* and in complex with its competitive inhibitor maltose. FEBS J. 2010;277(20):4205-4214.
16. Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2.0: new docking methods, expanded force field, and Python bindings. J Chem Inf Model. 2021;61(8):3891-3898.
17. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. J Comput Chem. 2009;30(16):2785-2791.
18. Rosa D, Elya B, Hanafi M, Khatib A, Budiarto E, Nur S, et al. Investigation of alpha-glucosidase inhibition activity of *Artabotrys sumatranus* leaf extract using metabolomics, machine learning and molecular docking analysis. PLoS One. 2025;20(1):e0313592.
19. Shulgau Z, Palamarchuk I, Sergazy S, Urazbayeva A, Gulyayev, Ramankulov Y, et al. Synthesis, computational study, and *in vitro* α -glucosidase inhibitory action of thiourea derivatives based on 3-aminopyridin-2(1H)-ones. Molecules. 2024;29(15):3627.