

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN VĂN HÀ

**TỔNG HỢP CÁC HỢP CHẤT DỊ VÒNG MỚI DỰA TRÊN PHẢN
ỨNG NGỪNG TỤ KNOEVENAGEL CỦA HỆ 1,3-DIKETONE VÀ
ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội – 2026

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

NGUYỄN VĂN HÀ

**TỔNG HỢP CÁC HỢP CHẤT DỊ VÒNG MỚI DỰA TRÊN PHẢN
ỨNG NGỪNG TỤ KNOEVENAGEL CỦA HỆ 1,3-DIKETONE VÀ
ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hoá hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

**Xác nhận của Học viện
Khoa học và Công nghệ**

Người hướng dẫn 1
(Ký, ghi rõ họ tên)

Người hướng dẫn 2
(Ký, ghi rõ họ tên)

GS. TS. Nguyễn Văn Tuyến TS. Lê Nhật Thùy Giang

Hà Nội – 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "**Tổng hợp các hợp chất dị vòng mới dựa trên phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của hệ 1,3-diketone và đánh giá hoạt tính sinh học**" là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể giáo viên hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày tháng 04 năm 2026

Tác giả luận án

NCS. Nguyễn Văn Hà

LỜI CẢM ƠN

Trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền - Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam – người hướng dẫn khoa học chính của tôi, TS Lê Nhật Thùy Giang – Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam người hướng dẫn khoa học thứ hai, vì sự tận tình hướng dẫn, định hướng chuyên môn quý báu cũng như sự động viên, hỗ trợ không ngừng trong suốt quá trình thực hiện luận án.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới Phòng Hóa dược – Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, nơi tôi đã thực hiện phần lớn các thực nghiệm trong luận án, đã tạo điều kiện thuận lợi về cơ sở vật chất, kỹ thuật, cũng như hỗ trợ tôi trong suốt quá trình nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện đào tạo, môi trường học thuật và các thủ tục hành chính cần thiết để tôi có thể hoàn thành chương trình Tiến sĩ.

Đặc biệt, tôi xin chân thành cảm ơn Viện Hóa học Môi trường Quân sự – Binh chủng Hóa học/BQP là nơi tôi đang công tác đã tin tưởng, tạo điều kiện và cử tôi tham gia chương trình đào tạo Tiến sĩ. Đây là động lực to lớn để tôi phấn đấu học tập, nghiên cứu và hoàn thành nhiệm vụ.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn tới gia đình, bạn bè và đồng nghiệp đã luôn ủng hộ, chia sẻ và đồng hành cùng tôi trong suốt chặng đường nghiên cứu đầy thử thách này.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày tháng 04 năm 2026

Tác giả luận án

NCS. Nguyễn Văn Hà

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	v
DANH MỤC SƠ ĐỒ	vii
DANH MỤC BẢNG	viii
DANH MỤC HÌNH	ix
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	3
1.1. Tổng quan về các hợp chất aza-anthraquinone	3
1.1.1. Tổng hợp và hoạt tính sinh học của các hợp chất 2-aza-anthraquinone	3
1.1.2. Tổng hợp và hoạt tính sinh học của các hợp chất 1-aza-anthraquinone	7
1.1.3. Tổng hợp các hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione	9
1.2. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone	10
1.3. Tổng quan các hợp chất pyrimidine	13
1.4. Tổng quan về các hợp chất chứa nguyên tố flo	16
1.5. Các phương pháp tổng hợp hữu cơ theo định hướng “hóa học xanh”	17
1.6. Các khoảng trống cần nghiên cứu	18
CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM	21
2.1. Hóa chất, thiết bị	21
2.2. Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone	21
2.2.1 Tổng hợp các dẫn xuất dihydrobenzo[g]furo[3,4-b]quinoline	21
2.2.2 Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone	22
2.3. Tổng hợp các hợp chất chromeno[2,3-d]pyrimidin-4-one (125a-1)	30
2.4. Tổng hợp các hợp chất pyrano[2,3-d]pyrimidine	38
2.5. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone	44
2.6. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học	47
2.6.1. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư <i>in vitro</i>	47
2.6.2. Đánh giá hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE)	49
2.6.3. Nghiên cứu Docking phân tử	50
2.6.4. Dự đoán đặc tính “giống thuốc” và ADMET	50
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	52
3.1. Mục tiêu của đề tài	52
3.2. Tổng hợp các dẫn xuất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone	52

3.2.1. Tổng hợp các dẫn xuất dihydrobenzo[<i>g</i>]furo[3,4- <i>b</i>]quinoline.....	53
3.2.2. Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone và nguyên tố flo.....	53
3.3. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3- <i>d</i>]pyrimidine-4-one	62
3.4. Tổng hợp các hợp chất pyrano[2,3- <i>d</i>]pyrimidine-4-one	72
3.4.1. Tổng hợp hợp chất trung gian 2-amino-4 <i>H</i> -pyran-3-carbonitrile	73
3.4.2. Tổng hợp hợp chất dị vòng pyrano[2,3- <i>d</i>]pyrimidine	78
3.5. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone chứa dị tố flo.....	85
3.6. Đánh giá hoạt tính sinh học của các chất tổng hợp được.....	92
3.6.1. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất 1-aza-anthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone (106a-m)	92
3.6.2. Hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất chromeno[2,3- <i>d</i>]pyrimidine chứa dị tố flo	95
3.6.3. Hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất pyrano[2,3- <i>d</i>]pyrimidine.....	97
3.6.4. Hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase của các hợp chất pyrano[2,3- <i>d</i>]pyrimidine.....	98
3.7. Nghiên cứu docking phân tử	99
3.7.1. Mục tiêu và ý nghĩa.....	99
3.7.2. Quy trình và kết quả mô phỏng docking	101
3.8. Dự đoán đặc tính lý – hóa và ADMET	106
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	109
TÀI LIỆU THAM KHẢO	113

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Diễn giải tiếng Việt
A549	Dòng tế bào ung thư phổi A549
AChE	Enzyme acetylcholinesterase
AcOH	Acid Acetic
AIDS	Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải do virus HIV
ADMET	Hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính
ATPase	Enzyme Adenosine 5'-TriPhosphatase
br s	Tín hiệu broad singlet
[bmim+][Br-]	Hợp chất 1-Butyl-3-methylimidazolium bromide
cAMP	Vòng Cyclic adenosine monophosphate-Adenosine monophosphate
CAN	Xúc tác Ceric ammonium nitrate
d	Tín hiệu doublet
DABCO	Hợp chất 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DBU	Hợp chất 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DCM	Dung môi Dichloromethane
dd	Tín hiệu doublet, doublet
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DMAP	4-Dimethylaminopyridine
DMF	Dung môi <i>N,N</i> -Dimethylformamide
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Acid Deoxyribonucleic - Phân tử mang thông tin di truyền
EDDA	Acid Ethylene diamine diacetic
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
Et3N	Hợp chất Triethylamine
EtOAc	Dung môi Ethyl acetate
HepG2	Dòng tế bào ung thư gan HepG2
Hek-293	Dòng tế bào lành
HetAr	Hợp chất Aldehyde chứa dị vòng
HL-60	Dòng tế bào ung thư máu HL-60
HMBC	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Phổ tương tác dị hạt nhân qua một liên kết
HRMS	Phổ khối lượng phân giải cao
HT-29	Tế bào ung thư biểu mô trực tràng

IC ₅₀	Nồng độ chất thử ức chế 50% sự phát triển của tế bào
IR	Phổ hồng ngoại
KB	Dòng tế bào ung thư biểu mô KB
LDA	Hợp chất Lithium diisopropylamide
LU-1	Dòng tế bào ung thư phổi LU-1
m	Tín hiệu multiplet
MCF-7	Dòng tế bào ung thư vú MCF-7
MCRs	Phản ứng domino đa thành phần (multi-component domino reactions, MCRs)
MDA-MB-231	Tế bào màng phổi của bệnh nhân ung thư vú
MeCN	Dung môi Acetonitrile
Mn(OAc) ₃	Hợp chất Manganese(III) acetate
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide
MW	Điều kiện vi sóng
N/A	Giá trị Không xác định được
P388	Dòng tế bào ung thư bạch cầu ở chuột
PBS	Hợp chất Phosphate-buffered saline
PC-3	Dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến tiền liệt
PC-3 Pd(OAc) ₂	Xúc tác Palladium (II) acetate
Ph ₃ P	Hợp chất Triphenylphosphine
p-TsOH	Acid <i>p</i> -Toluenesulfonic
q	Tín hiệu quartet
Rnase	Enzyme thủy phân liên kết của phân tử RNA (Ribonuclease)
rt	Nhiệt độ phòng
reflux	Đun hồi lưu
ROS	Sự hình thành các gốc oxy hoạt động (reactive oxygen species)
s	Tín hiệu singlet
SRB	Hợp chất sulforhodamine B
t	Tín hiệu triplet
td	Tín hiệu triplet, doublet
<i>t</i> -BuOH	Dung môi <i>tert</i> -Butanol
THF	Dung môi Tetrahydrofuran
TLC	Sắc ký lớp mỏng (Thin Layer Chromatography)
¹³ C NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon ¹³ C
¹ H NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton ¹ H

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1.1. Tổng hợp bostrycodin và 9-O-methylbostrycoidin	5
Sơ đồ 1.2. Tổng hợp hợp chất 4-hydroxy-1,3-dimethylbenzo[g]isoquinoline-5,10-dione	5
Sơ đồ 1.3. Phản ứng Diels-Alder giữa thiazolidine và 1,4-naphthoquinone	6
Sơ đồ 1.4. Tổng hợp hợp chất tolypocladin và iso-tolypocladin	6
Sơ đồ 1.5. Tổng hợp các hợp chất 2-aza-anthraquinone bằng phản ứng Heck	7
Sơ đồ 1.6. Tổng hợp các dẫn xuất benzo[g]pyrrolo[1,2-b]isoquinoline-6,11-dione ..	7
Sơ đồ 1.7. Tổng hợp các hợp chất 1-aza-anthraquinone 39	8
Sơ đồ 1.8. Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone 42	8
Sơ đồ 1.9. Tổng hợp hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione gắn khung 1,3-dioxolo[4,5-g]quinolone	9
Sơ đồ 1.10. Tổng hợp các hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione chứa vòng γ -butyrolactone	10
Sơ đồ 1.11. Tổng hợp các dẫn xuất của α -lapachone và β -lapachone	12
Sơ đồ 1.12. Tổng hợp các dẫn xuất 2H-pyranonaphthoquinone 70	12
Sơ đồ 1.13. Tổng hợp các dẫn xuất 2-amino-3-cyano-benzo[g]chromene-5,10-dione	12
Sơ đồ 1.14. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone 76	13
Sơ đồ 1.15. Tổng hợp các hợp chất benzoxanthenetrione 79	13
Sơ đồ 1.16. Tổng hợp các dẫn xuất pyrimido[4,5-b]quinoline	14
Sơ đồ 1.17. Tổng hợp các dẫn xuất pyrano[2,3-d]pyrimidine 89-90	15
Sơ đồ 3.1. Mục tiêu thiết kế tổng hợp của luận án	52
Sơ đồ 3.2. Phản ứng tổng hợp các dẫn xuất dihydrobenzo[g]furo[3,4-b]quinoline ..	53
Sơ đồ 3.3. Cơ chế đề xuất hình thành hợp chất 106	61
Sơ đồ 3.4. Tổng hợp hợp chất 5-(4-fluorophenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione (125a)	63
Sơ đồ 3.5. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidine 125	69
Sơ đồ 3.6. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidine 125a,b,e-k	70
Sơ đồ 3.7. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidin-5-yl)phenyl acetate 125c,d,l	71
Sơ đồ 3.8. Cơ chế đề xuất hình thành hợp chất 125	72
Sơ đồ 3.9. Phản ứng tổng hợp hợp chất 128a	73
Sơ đồ 3.10. Quy trình tổng hợp hợp chất 142a	78
Sơ đồ 3.11. Quy trình tổng hợp hợp chất 142b-k	84
Sơ đồ 3.12. Cơ chế đề xuất hình thành sản phẩm 142a-k	85
Sơ đồ 3.13. Tổng hợp các dẫn xuất pyranonaphthoquinone 151a	86
Sơ đồ 3.14. Tổng hợp các dẫn xuất pyranonaphthoquinone 115a-e	90
Sơ đồ 3.15. Cơ chế đề xuất hình thành hợp chất 151	92

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến hiệu suất 51d → 106d	54
Bảng 3.2. Tính chất vật lí và hiệu suất của dãy chất 106a-6m	56
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 106d	60
Bảng 3.4. Tối ưu hóa xúc tác và dung môi để tổng hợp hợp chất 125a	63
Bảng 3.5. Dữ liệu NMR của chất 125a	67
Bảng 3.6. Tính chất vật lí và hiệu suất của dãy chất 125a-l	70
Bảng 3.7. Tối ưu hóa chất xúc tác để tổng hợp hợp chất 128a	76
Bảng 3.8. Sàng lọc điều kiện dung môi và nhiệt độ phản ứng tối ưu cho.....	77
Bảng 3.9. Khảo sát điều kiện thời gian phản ứng tổng hợp hợp chất 128a	78
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của dung môi, xúc tác đến phản ứng tổng hợp 151a	86
Bảng 3.11. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 151a	90
Bảng 3.12. Tính chất vật lí và hiệu suất của dãy chất 151a-e	91
Bảng 3.13. Độ tính tế bào của các hợp chất 106a-106m	93
Bảng 3.14. Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của 125a-l	95
Bảng 3.15. Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của 142a-k	97
Bảng 3.16. Hoạt tính ức chế của các hợp chất 142a-k đối với enzyme AChE.....	98
Bảng 3.17. Năng lượng liên kết giữa các hợp chất 106a-m	103
Bảng 3.18. Giá trị ΔG và kiểu phối trí Zn^{2+} của PAC-1.....	105
Bảng 3.19. Đặc tính giống thuốc và thông số ADMET của 106d,e,i	107

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Một số hợp chất 2-azaanthraquinone tự nhiên	4
Hình 1.2. Một số hợp chất 2-aza-anthraquinone tổng hợp	4
Hình 1.3. Cấu trúc của một số hợp chất 1-aza-anthraquinone tự nhiên	8
Hình 1.4. Cấu trúc của các hợp chất pyranonaphthoquinone tự nhiên	11
Hình 1.5. Các hợp chất ventilanone L-P	11
Hình 1.6. Các hợp chất pyrimidine tiêu biểu	14
Hình 1.7. Cấu trúc các dẫn xuất pyrimidine 91-99	15
Hình 1.8. Cấu trúc của một số thuốc chứa flo	16
Hình 1.9. Một số hợp chất chứa flo có hoạt tính kháng viêm tiềm năng	17
Hình 3.1. Các hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone	55
Hình 3.2. Phổ IR của hợp chất 106d	57
Hình 3.3. Phổ ^1H - NMR của hợp chất 106d	57
Hình 3.4. Phổ giãn ^1H - NMR của hợp chất 106d	58
Hình 3.5. Phổ ^{13}C - NMR của hợp chất 106d	59
Hình 3.6. Phổ giãn ^{13}C -NMR của hợp chất 106d	59
Hình 3.7. Phổ IR của hợp chất 125a	64
Hình 3.8. Phổ ^1H -NMR của hợp chất 125a	65
Hình 3.9. Phổ giãn ^1H -NMR của hợp chất 125a	65
Hình 3.10. Phổ ^{13}C - NMR của hợp chất 125a	66
Hình 3.11. Phổ giãn ^{13}C - NMR của hợp chất 125a	66
Hình 3.12. Phổ IR của hợp chất 128a	74
Hình 3.13. Phổ ^1H - NMR của hợp chất 128a	74
Hình 3.14. Phổ ^{13}C - NMR của hợp chất 128a	75
Hình 3.15. Phổ IR của hợp chất 142a	79
Hình 3.16. Phổ ^1H -NMR của hợp chất 142a	80
Hình 3.17. Phổ giãn ^1H - NMR của hợp chất 142a	80
Hình 3.18. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất 142a	81
Hình 3.19. Phổ giãn ^{13}C - NMR của hợp chất 142a	81
Hình 3.20. Phổ HRMS của hợp chất 142a	83
Hình 3.21. Phổ IR của hợp chất 151a	87
Hình 3.22. Phổ ^1H - NMR của hợp chất 151a	88
Hình 3.23. Phổ giãn ^1H - NMR của hợp chất 151a	88
Hình 3.24. Phổ ^{13}C - NMR của hợp chất 151a	89
Hình 3.25. Phổ giãn ^{13}C - NMR của hợp chất 151a	89
Hình 3.26. Cấu trúc tubulin và kết quả mô phỏng docking	102
Hình 3.27. Các tương tác docking của các hợp chất đại diện	104
Hình 3.28. So sánh giữa PAC-1 và các dẫn xuất azaanthraquinone đại diện trong khả năng tạo phức với ion Zn^{2+}	105
Hình 3.29. Biểu đồ radar mô tả các đặc tính 106d , 106e và 106i	107

MỞ ĐẦU

Ung thư là một căn bệnh trong đó một số tế bào của cơ thể phát triển không kiểm soát được và lây lan sang các bộ phận khác của cơ thể. Ung thư có thể bắt đầu ở hầu hết mọi nơi trong cơ thể con người, được tạo thành từ hàng nghìn tỷ tế bào do nhiều nguyên nhân khác nhau (di truyền, miễn dịch, tác động của môi trường, lối sống...). Tại Việt Nam, số ca mắc và tử vong đang ở mức báo động. Theo số liệu GLOBOCAN 2022 của Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC), năm 2022 Việt Nam ghi nhận khoảng 182.600 ca ung thư mới và 122.700 ca tử vong do ung thư. Việt Nam ở vị trí thứ 20 về tỷ lệ mắc mới tại châu Á, và thứ 101 trên toàn cầu. Các loại ung thư phổ biến nhất tại Việt Nam hiện nay là ung thư gan, ung thư phổi và ung thư dạ dày ở nam giới; ung thư vú, ung thư phổi và ung thư đại trực tràng ở nữ giới. Đây là một gánh nặng lớn đối với cả gia đình bệnh nhân và hệ thống y tế quốc gia. Đặc biệt, một tỷ lệ đáng kể người bệnh chỉ được phát hiện khi bệnh đã tiến triển đến giai đoạn muộn, làm giảm hiệu quả điều trị và tăng chi phí điều trị. Do đó đòi hỏi các nhà khoa học cần tiếp tục nghiên cứu, thử nghiệm các loại thuốc mới có độc tính thấp, chọn lọc nhằm đáp ứng tốt nhất cho quá trình điều trị ung thư.

Bên cạnh ung thư, bệnh Alzheimer cũng là một thách thức y học nghiêm trọng trong bối cảnh già hóa dân số toàn cầu. Alzheimer là bệnh thoái hóa thần kinh mạn tính và tiến triển, chiếm khoảng 60–70% các trường hợp sa sút trí tuệ, đặc trưng bởi sự suy giảm dần trí nhớ và chức năng nhận thức do sự tích tụ bất thường của β -amyloid và protein tau, dẫn đến tổn thương và chết tế bào thần kinh. Cho đến nay, bệnh Alzheimer chưa có phương pháp điều trị khỏi hoàn toàn, các thuốc hiện hành chủ yếu mang tính chất làm chậm tiến triển bệnh, do đó việc tìm kiếm các hợp chất mới có tiềm năng chống Alzheimer an toàn và hiệu quả vẫn đang được đặc biệt quan tâm.

Hiện nay, các thuốc dùng trong điều trị ung thư hầu hết đều có thành phần là các hợp chất dị vòng chứa dị tố oxy, nitơ hoặc flo. Sự xuất hiện của các nguyên tử nitơ trong cấu trúc phân tử cho phép các hợp chất này tương tác tốt hơn với các đại phân tử như enzym, protein và DNA, điều này đóng vai trò quan trọng giúp cải thiện đáng kể các tính chất dược lý của chúng [1]. Trong khi đó, sự kết hợp của ít nhất một nguyên tử flo hoặc nhóm trifluoromethyl vào các hợp chất dị vòng có thể cải thiện tính ổn định trao đổi chất, tính thấm của màng, khả dụng sinh học và ái lực liên kết của hợp chất với protein mục tiêu [2, 3]. Các hợp chất dị vòng năm cạnh hoặc sáu cạnh chứa các dị tố nitơ, oxy hoặc flo được biết đến là các cấu trúc chìa khóa có mặt trong rất nhiều sản phẩm tự nhiên. Một số dị vòng tiêu biểu như pyrrole, pyrimidine, 1,4-naphthoquinone, quinazoline, 4-aza-podophyllotoxin, phenazine, pyridazine thể

hiện nhiều hoạt tính sinh học lý thú như kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, chống ung thư, chống Alzheimer và đóng vai trò quan trọng trong hoạt động sống của tế bào, trong quá trình carboxyl hóa glutamate, hay alkyl hóa protein và acid nucleic.

Có nhiều phương pháp tổng hợp các hợp chất dị vòng, đa vòng như phản ứng Friedel- Crafts, phản ứng Aldersley, phản ứng cộng quang hóa, phản ứng coupling,... Trong đó, phản ứng ngưng tụ Knoevenagel, phản ứng cộng Michael giữa các hệ 1,3-diketone thường được sử dụng để tổng hợp các hợp chất dị vòng có cấu trúc phức tạp. Chính vì vậy, tôi đã lựa chọn đề tài “**Tổng hợp các hợp chất dị vòng mới dựa trên phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của hệ 1,3-diketone và đánh giá hoạt tính sinh học**” làm đề tài nghiên cứu sinh của mình nhằm tìm kiếm các hợp chất dị vòng mới có hoạt tính sinh học cao. Đề tài có ý nghĩa khoa học, thực tiễn và rất cần thiết.

Mục tiêu luận án:

Luận án hướng tới ba mục tiêu chính sau:

1. Thiết kế định hướng cấu trúc các hợp chất dị vòng mới dựa trên phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của hệ 1,3-diketone, bằng chiến lược gắn các nhóm thế có tiềm năng tương tác sinh học mạnh, phù hợp với định hướng phát triển hợp chất khởi đầu tiềm năng kháng ung thư, ức chế enzym.

2. Xây dựng và tối ưu các phương pháp tổng hợp hữu hiệu dựa trên phản ứng domino đa thành phần theo định hướng hóa học xanh, sử dụng các điều kiện thân thiện (“*one-pot*”, xúc tác nhẹ, vi sóng, dung môi xanh) nhằm tạo ra các hợp chất đích với hiệu suất và độ chọn lọc cao.

3. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất tổng hợp được, tập trung vào:

- Hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng ung thư ở người.
- Hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE).
- Nghiên cứu docking phân tử, dự đoán tính chất dược động học của một số hợp chất tiêu biểu.

Từ đó xác định các hợp chất khởi đầu tiềm năng phục vụ định hướng nghiên cứu sâu hơn trong các giai đoạn tiếp theo.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

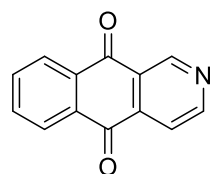
1.1. Tổng quan về các hợp chất aza-anthraquinone

Quinone chiếm một vị trí quan trọng trong các hợp chất hữu cơ. Quinone không có tính thơm nhưng trong cấu trúc chứa đầy đủ các hệ diketone liên hợp hoạt động như một chất nhận kiểu Michael (*Michael acceptor*). Đây là các phân tử có hoạt tính oxy hóa khử cao, do đó có thể thực hiện chu trình oxy hóa khử với các gốc bán quinone của chúng, dẫn đến sự hình thành các gốc oxy hoạt động (reactive oxygen species, ROS) cực kỳ độc hại [4]. Việc sản xuất ROS nội bào có thể gây ra stress oxy hóa nghiêm trọng, dẫn đến tổn thương tế bào và các con đường truyền tín hiệu tế bào có thể gây ra nhiều dạng chết tế bào khác nhau. Cấu trúc quinone phổ biến trong nhiều loại thuốc chống khối u theo cơ chế gây tổn thương tế bào và mô thông qua quá trình alkyl hóa protein và DNA [5]. Actinomycin D, doxorubicin, mitomycin, streptonigrin và pyridophenoxazinone là các thuốc chữa ung thư có cấu trúc quinone hiện đang được sử dụng trong lâm sàng [6].

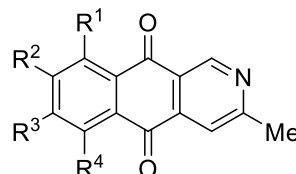
Naphthoquinone và anthraquinone là 2 trong số các lớp chất thuộc họ quinone được phát hiện nhiều trong tự nhiên như trong vi khuẩn, vi nấm, thực vật và có nhiều lợi ích sinh học. Các hợp chất này đóng vai trò quan trọng trong hoạt động sống của tế bào, trong quá trình carboxyl hóa glutamate, hay alkyl hóa protein và acid nucleic.

1.1.1. Tổng hợp và hoạt tính sinh học của các hợp chất 2-aza-anthraquinone

Trong tự nhiên, các chất 2-aza-anthraquinone ít gặp chủ yếu được phát hiện từ nấm. Cho đến nay, các hợp chất 2-aza-anthraquinone có nguồn gốc tự nhiên phân lập được bao gồm bostrycoidin, 9-*O*-methylbostrycoidin, tolypocladin, 6-deoxy-8-methylbostrycoidin, 6-deoxybostrycoidin, 7-*O*-demethyl-6-deoxybostrycoidin, scorpinone, benz[*g*]isoquinoline-5,10-dione. Benz[*g*]isoquinoline-5,10-dione (Hình 1.1), phân lập từ *Psychotricha camponutans* và *Mitracarpus scaber*, có khả năng ức chế sự tăng trưởng đối với các tác nhân gây bệnh *Staphylococcus aureus* và *Plasmodium falciparum* [7]. Benz[*g*]isoquinoline-5,10-dione (**1**) có thể ức chế quá trình hô hấp tế bào phụ thuộc glucose cũng như ức chế quá trình đồng hóa O₂ ty thể phụ thuộc glycerol-3-phosphate [8]. Bostrycoidin (**2**) và 9-*O*-methylbostrycoidin (**3**) cho thấy hoạt tính kháng sinh chống lại trực khuẩn lao và vi khuẩn Gram(+) tương ứng [9]. Tolypocladin (**4**) phân lập từ sợi nấm của *Tolypocladium inflatum* thể hiện tính chất tạo phức kim loại [10]. Tính chất tạo phức với kim loại của lớp chất này vẫn còn được tranh luận, nhưng có thể khẳng định các chất này hoạt động như những chất loại bỏ các kim loại nặng, nghĩa là làm giảm nồng độ của kim loại nặng trong cơ thể.

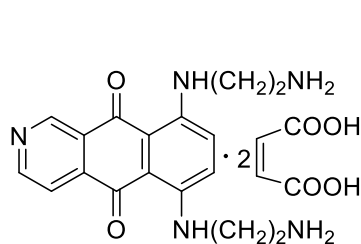


Benz[g]isoquinolin-5,10-dione (1)

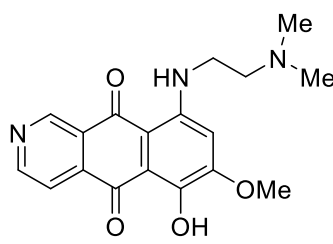
Bostrycoidin $R^1 = R^4 = \text{OH}$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{OMe}$ (2)9-O-methylbostrycoidin $R^1 = R^3 = \text{OMe}$, $R^2 = \text{H}$, $R^4 = \text{OH}$ (3)Topypocladin $R^1 = R^3 = R^4 = \text{OH}$, $R^2 = \text{H}$ (4)

Hình 1.1. Một số hợp chất 2-azaanthraquinone tự nhiên

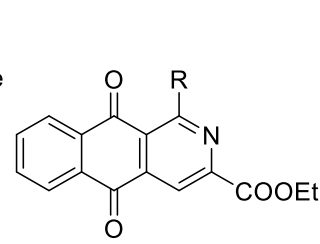
2-Azaanthraquinone còn được biết đến như một tác nhân xen kẽ DNA (DNA intercalator) có khả năng gây độc tế bào ung thư [11, 12]. Tác nhân xen kẽ DNA chèn vào giữa các cặp cơ sở trong cấu trúc DNA và tạo thành liên kết hydro, cộng hóa trị hoặc ion, dẫn đến thay đổi cấu trúc của các acid nucleic và ảnh hưởng đến cách thức biểu hiện gen. Pixantrone (BBR 2778 dimalate, **5**) là chất ức chế topoisomerase II gốc anthraquinone theo cơ chế xen kẽ DNA, trực tiếp alkyl hóa DNA, tạo thành các chất cộng DNA ổn định. Pixantrone được dùng để điều trị u lympho không Hodgkin (non-Hodgkin's lymphoma, NHL) ở bệnh nhân NHL tái phát/kháng thuốc. Pixantrone có cấu trúc tương tự như các anthracycline như mitoxantrone, nhưng ít gây độc hơn cho mô tim [13]. Ngoài ra, BFI (**6**) và một số dẫn xuất 1-aryl-2-aza-anthraquinone (**7**) là những dẫn chất của 2-aza-anthraquinone có khả năng diệt tế bào ung thư.



BBR 2778 dimaleate (5)



BFI (6)



1-Aryl-2-aza-anthraquinone (7)

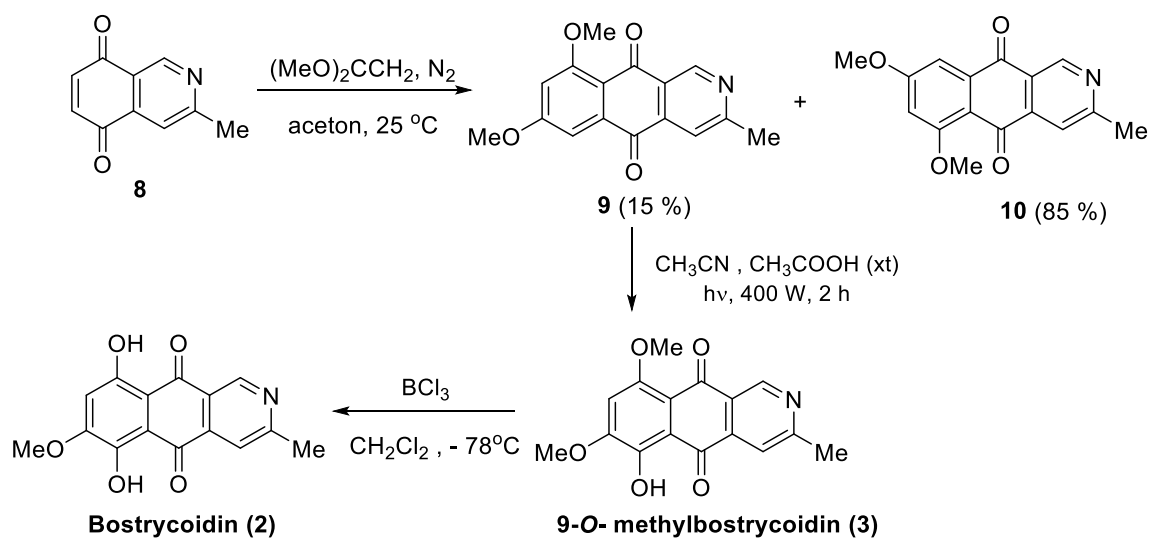
Hình 1.2. Một số hợp chất 2-aza-anthraquinone tổng hợp

Với những lợi ích sinh học kể trên, các nhà khoa học đã nghiên cứu phát triển nhiều phương pháp tổng hợp các lớp chất 2-aza-anthraquinone như phương pháp Diels-Alder, phương pháp Friedel-Crafts, phương pháp sử dụng phthalide, phương pháp ortho-lithium hóa vòng thơm, phản ứng ngưng tụ với ammonium hay phản ứng kiểu Heck.

Tổng hợp 2-aza-anthraquinone bằng phản ứng Diels-Alder

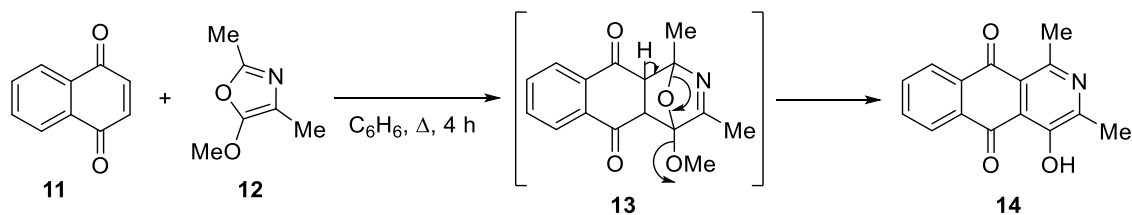
Phản ứng giữa isoquinolin-5,8-dione và 1,3-diene hoặc giữa 1,4-naphthoquinone với các 2-aza-1,3-diene (phương pháp Diels-Alder) đến nay vẫn là phương pháp phổ biến nhất để tổng hợp các hợp chất 2-aza-anthraquinone. Hợp chất kháng sinh tự nhiên bostrycoidin (**2**) và dẫn xuất 9-O-methylbostrycoidin (**3**) đã được tổng hợp từ 3-methylisoquinoline-5,8-dione (**8**) khi phản ứng với ketene dimethyl acetal để tạo ra hỗn hợp đồng phân 2-azaanthraquinone (**9-10**). Dưới tác dụng của chiếu xạ tia cực

tím, đồng phân 7,9-dimethoxy-3-methylbenzo[*g*]isoquinoline-5,10-dione (**9**) chuyển hóa thành 9-*O*-methylbostrycoidin (**3**), và tiếp tục thu được bostrycoidin (**2**) khi xử lý 9-*O*-methylbostrycoidin (**3**) bằng boron trichloride dư (Sơ đồ 1.1) [14, 15].



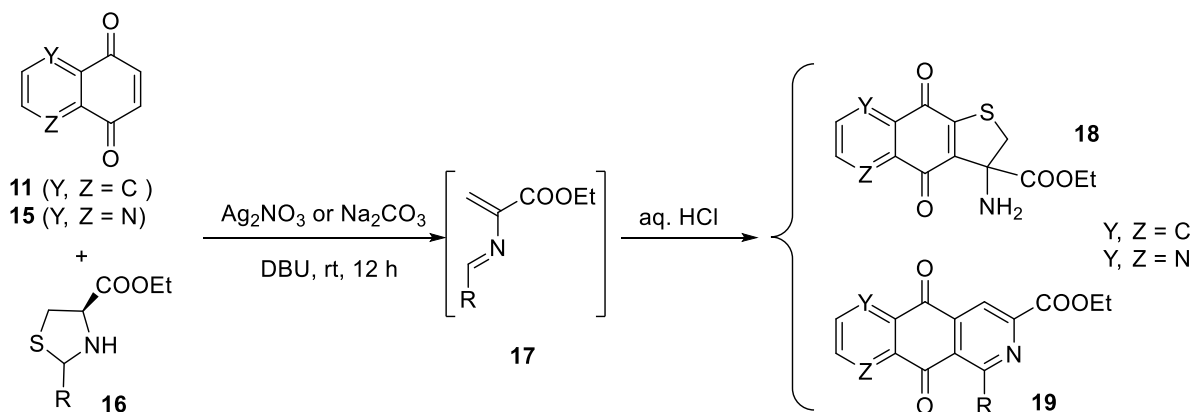
Sơ đồ 1.1. Tổng hợp bostrycoidin và 9-O-methylbostrycoidin

Phản ứng giữa 1,4-naphthoquinone (**11**) và 2,4-dimethyl-5-methoxyoxazole (**12**) trong dung môi benzene tạo thành hợp chất 4-hydroxy-1,3-dimethylbenzo[*g*]isoquinoline-5,10-dione (**14**) [16] theo Sơ đồ 1.2. Trong phản ứng này 1,4-naphthoquinone đóng vai trò là tác nhân dienophile vòng.



*Sơ đồ 1.2. Tổng hợp hợp chất 4-hydroxy-1,3-dimethylbenzo[*g*]isoquinoline-5,10-dione*

Nhóm tác giả Gomez-Monterrey đã tổng hợp các dẫn xuất dihydrothieno[2,3-*b*]naphtho-4,9-dione (DTNQ, **18**) và benzo[*g*]isoquinoline-5,10-dione **19** chứa nhóm amino acid ở vị trí C-3 bằng phản ứng Diels-Alder giữa các hợp chất thiazolidine **16** và 1,4-naphthoquinone **11** hoặc quinone **15** (Sơ đồ 1.3). Một vài hợp chất trong số các hợp chất tổng hợp được có khả năng kháng u mạnh [17-19].

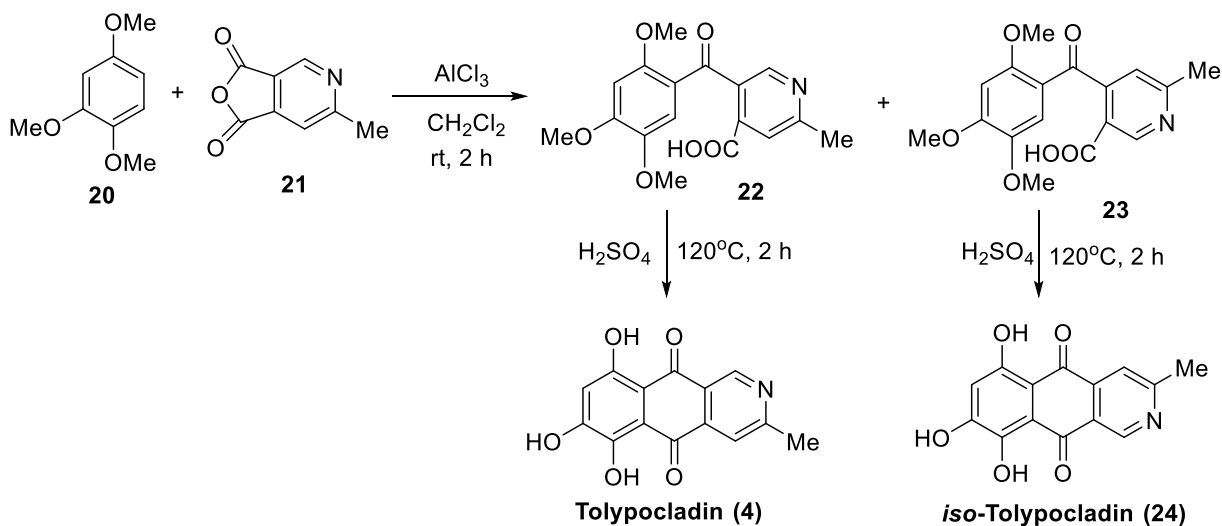


Sơ đồ 1.3. Phản ứng Diels-Alder giữa thiazolidine và 1,4-naphthoquinone

Tuy nhiên, đối với các hợp chất 1,4-naphthoquinone chứa các nhóm thế khác nhau, các phản ứng cộng đóng vòng Diels-Alder thường không đạt yêu cầu về hiệu suất và độ chọn lọc sản phẩm.

Tổng hợp 2-aza-anthraquinone bằng phản ứng Friedel-Crafts

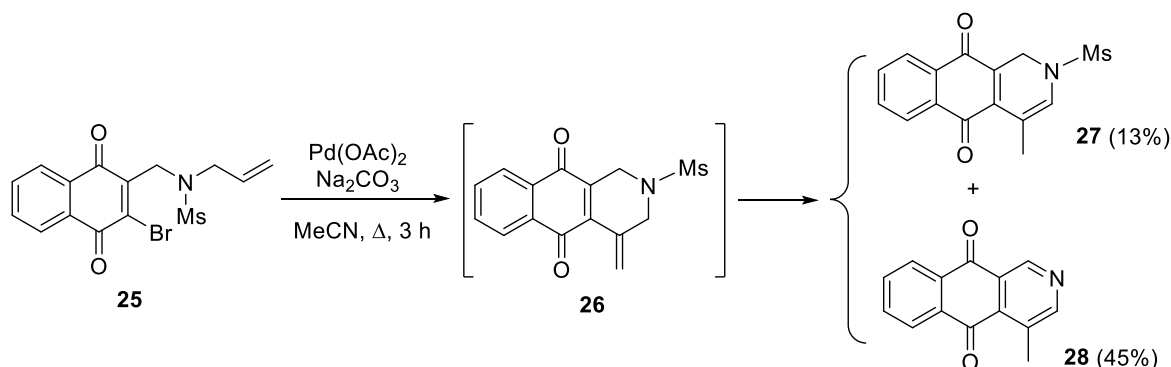
Các hợp chất 2-azaanthraquinone đơn giản đã được tổng hợp thành công dựa trên phản ứng Friedel-Crafts giữa chloride acid hoặc anhydride acid với các dẫn xuất thế của benzene [20]. Tuy nhiên, việc sử dụng benzene ba nhóm thế không đối xứng trong phản ứng với 3,4-pyridinedicarboxylic anhydride dẫn đến sự hình thành các đồng phân vùng khác nhau, điều này hạn chế việc sử dụng phản ứng Friedel-Crafts để tổng hợp 2-azaanthraquinone. Nhận định này được chứng minh qua quá trình tổng hợp hợp chất tự nhiên tolypocladin (**4**) bằng cách ngưng tụ 1,2,4-trimethoxybenzene (**20**) và 2-methylpyridine-4,5-dicarboxylic anhydride (**21**) nhận được hỗn hợp hai đồng phân (có thể được tách ra bằng quá trình kết tinh), tiếp theo là phản ứng Friedel-Crafts vòng hoá nội phân tử tạo thành tolypocladin (**4**) (Sơ đồ 1.4) [21].



Sơ đồ 1.4. Tổng hợp hợp chất tolypocladin và iso-tolypocladin

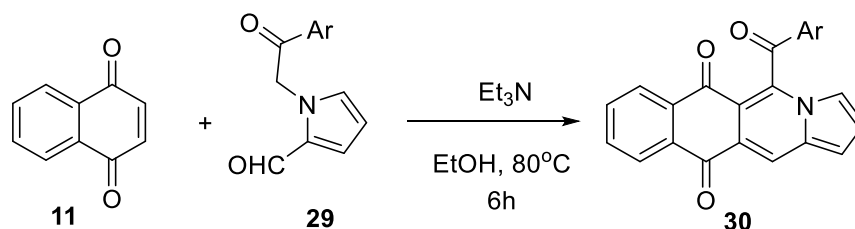
Tổng hợp 2-aza-anthraquinone bằng phản ứng kiểu Heck

Một số hợp chất 2-aza-anthraquinone cũng có thể được tổng hợp bằng phản ứng kiểu Heck. Ví dụ như hỗn hợp hai đồng phân 1,2-dihydro-benz[*g*]isoquinoline-5,10-dione **27-28** nhận được từ hợp chất ban đầu *N*-methanesulfonyl 2-((allylamino)methyl)-3-bromo-1,4-naphthoquinone (**25**) bằng phản ứng Heck thông qua quá trình vòng hóa nội phân tử với xúc tác Pd(II) (Sơ đồ 1.5). Đồng phân bền hơn 4-methylbenz[*g*]isoquinoline-5,10-dione (**28**) thể hiện hoạt tính kháng sinh trên nhiều chủng vi sinh vật như Gram(+), Gram(-), các chủng nấm men và nấm sợi [22].



Sơ đồ 1.5. Tổng hợp các hợp chất 2-aza-anthraquinone bằng phản ứng Heck

Bên cạnh các phương pháp truyền thống nêu trên, phản ứng domino đã được áp dụng rộng rãi trong tổng hợp các hợp chất dị vòng nói chung và các hợp chất quinone nói riêng. Một số dẫn xuất benzo[*g*]pyrrolo[1,2-*b*]isoquinoline-6,11-dione (**30**) có tác dụng chống ung thư đối với tế bào ung thư biểu mô tuyến tiền liệt (PC-3) và tế bào ung thư biểu mô tuyến vảy miệng (CAL-27). Các hợp chất này đã được Ikyon Kim và các cộng sự tổng hợp trên cơ sở phản ứng cộng Michael [4+2] giữa 1,4-naphthoquinone (**11**) và pyrrole-2-carboxaldehyde **29** theo Sơ đồ 1.6 [23]. Đáng chú ý, hợp chất 5-(4-chlorobenzoyl)pyrrolo[1,2-*b*]isoquinoline-6,9-dione (**30a**, Ar = 4-ClBn) cho thấy tác dụng ức chế khả năng sống của tế bào mạnh hơn khoảng 48 lần so với thuốc chống ung thư mitoxantrone [23].

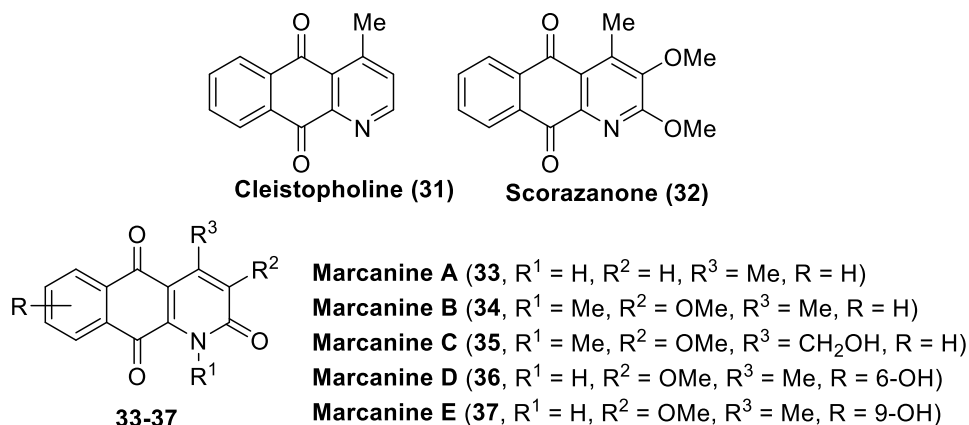


Sơ đồ 1.6. Tổng hợp các dẫn xuất benzo[gyrrolo[1,2-b]isoquinoline-6,11-dione

1.1.2. Tổng hợp và hoạt tính sinh học của các hợp chất 1-aza-anthraquinone

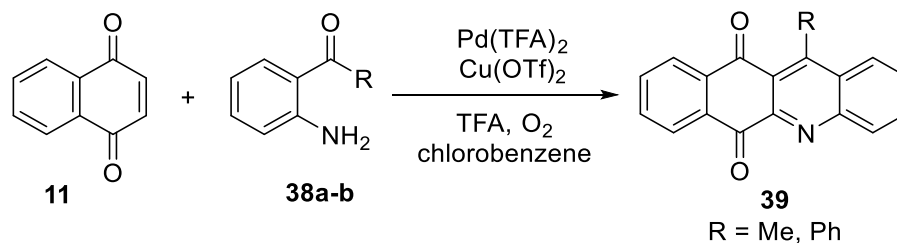
Một số hợp chất 1-aza-anthraquinone có nguồn gốc tự nhiên có thể kể đến như cleistopholine (**31**), scorazzone (**32**), maecanine A (**33**) (Hình 1.3) có đặc tính gây độc tế bào nổi bật. Marcanine A-E (**33-37**) (Hình 1.3), phân lập từ vỏ thân cây

Goniothalamus marcanii, có độc tính đáng kể đối với một số dòng tế bào ung thư của con người như dòng tế bào ung thư cổ tử cung HeLa và tế bào ung thư gan HepG2 [24]. Marcanine A (**33**) còn ức chế ký sinh trùng sốt rét chủng *Plasmodium falciparum* kháng K1 [25].



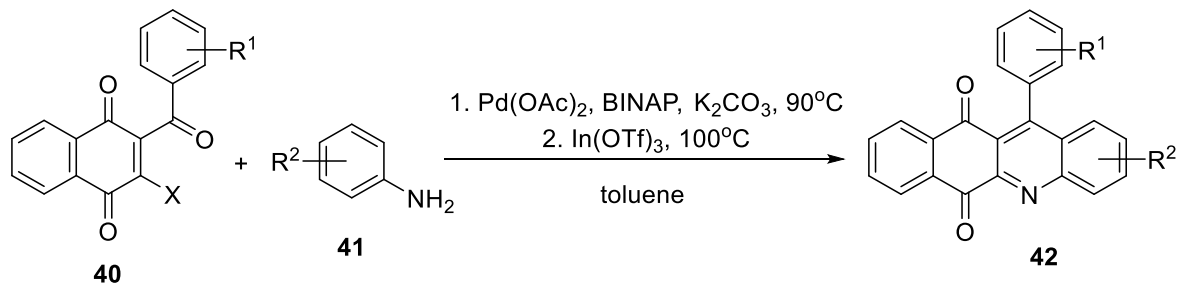
Hình 1.3. Cấu trúc của một số hợp chất 1-aza-anthraquinone tự nhiên

Ngoài các phương pháp tổng hợp aza-anthraquinone thông thường, gần đây, Wang Jeh-Jeng và cộng sự đã tổng hợp được các dẫn xuất 1-aza-anthraquinone **39** bằng phản ứng liên hoàn xúc tác palladium(II) giữa 1,4-naphthoquinone (**11**) và 2-aminobenzophenone (**38a**) hoặc 2-aminoacetophenone (**38b**) (Sơ đồ 1.7) [26].



Sơ đồ 1.7. Tổng hợp các hợp chất 1-aza-anthraquinone **39**

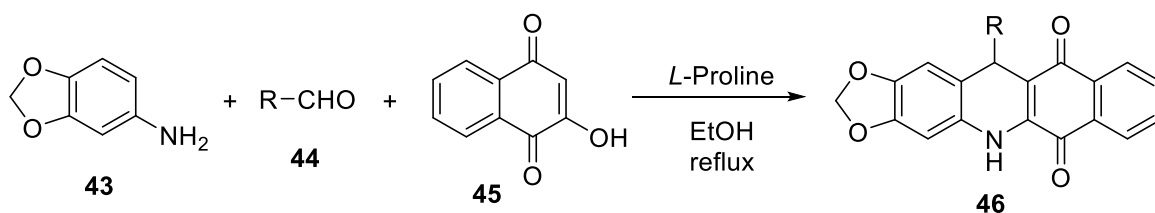
Năm 2017, Ashwini Borah và cộng sự đã đưa ra phương pháp tổng hợp để tổng hợp 1-azaanthraquinone **42** bằng phản ứng amin hóa 2-benzoyl-3-halonaphthalene-1,4-dione **40**. Phản ứng xảy ra qua quá trình tạo liên kết C-N dưới tác dụng của xúc tác Pd(II), sau đó là đóng vòng nội phân tử với sự có mặt của xúc tác Lewis acid (Sơ đồ 1.8) [27].



Sơ đồ 1.8. Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone **42**

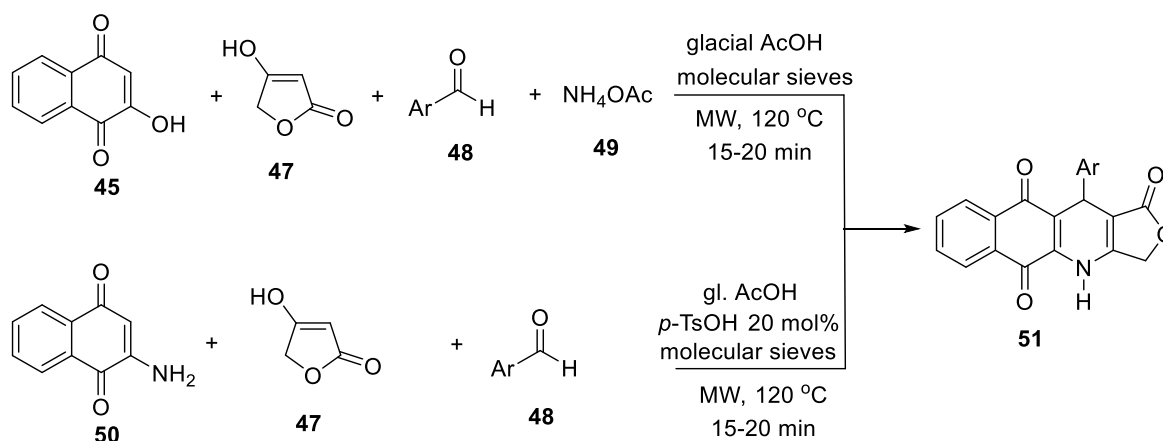
1.1.3. Tổng hợp các hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione

Cũng như các hợp chất quinone khác, các hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione thường được tổng hợp bằng phản ứng đa thành phần có hoặc không sử dụng xúc tác. Năm 2015, xúc tác *L*-proline được sử dụng để tổng hợp các hợp chất naphthoquinone **46** gắn khung 1,3-dioxolo[4,5-*g*]quinoline bằng phản ứng giữa 3,4-methylenedioxyaniline (**43**), các dẫn xuất aldehyde **44** và 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**) (Sơ đồ 1.9). Phản ứng xảy ra theo một chuỗi phản ứng bao gồm phản ứng tạo ion iminium trung gian từ aldehyde và *L*-proline, phản ứng ngưng tụ giữa ion iminium với 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**) tạo thành chất trung gian ene dione, quá trình cộng Michael với 3,4-methylenedioxyaniline, quá trình đóng vòng và cuối cùng là khử nước để tạo thành sản phẩm mong muốn. Các hợp chất tổng hợp được thể hiện khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư tương đối tốt ($IC_{50} = 20-200 \mu M$) [28].



Sơ đồ 1.9. Tổng hợp hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione gắn khung 1,3-dioxolo[4,5-*g*]quinolone

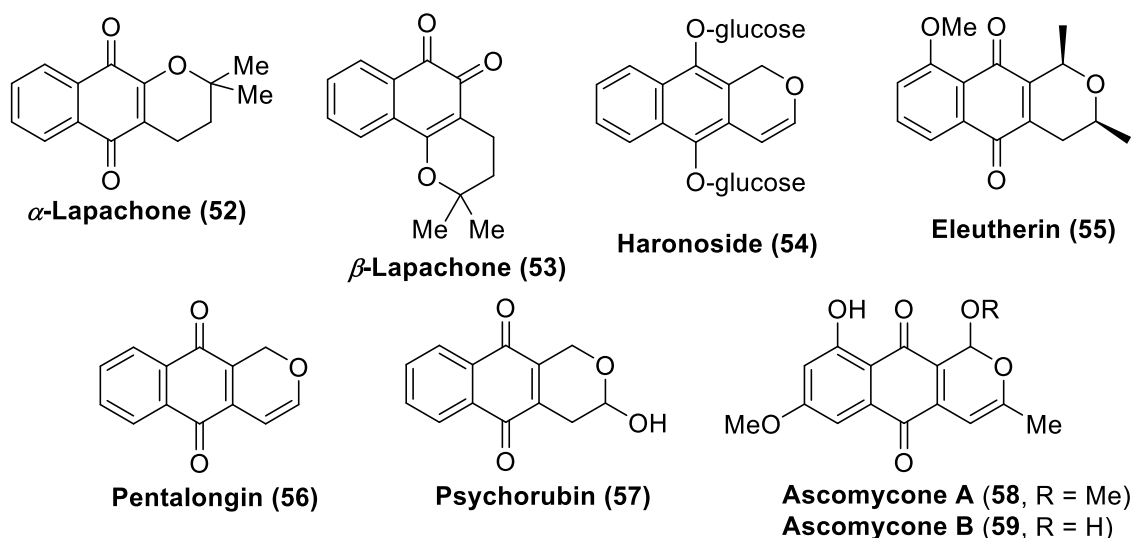
Năm 2022, nhóm nghiên cứu của GS. TS. Nguyễn Văn Tuyên đã phát triển hai phương pháp tổng hợp để tổng hợp bảy hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione **51a-g** chứa vòng γ -butyrolactone đi từ 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**) hoặc 2-amino-1,4-naphthoquinone (**50**) (Sơ đồ 1.10). Hiệu quả nhất là phương pháp sử dụng phản ứng ba thành phần giữa 2-amino-1,4-naphthoquinone (**50**), tetronic acid (**47**) và arylaldehyde **48** trong điều kiện vi sóng. Hầu hết, các sản phẩm đều thể hiện tác dụng ức chế bốn dòng tế bào ung thư (tế bào ung thư biểu mô người, gan, phổi, vú). Trong đó, có hai hợp chất tiềm năng với hoạt tính gây độc tế bào đáng kể đối với tế bào ung thư biểu bì mô người ($IC_{50} = 0,6 \pm 0,01$ và $1,11 \pm 0,01 \mu M$), tốt hơn so với ellipticine đối chứng dương ($IC_{50} = 1,53 \pm 0,01 \mu M$) [29].



Sơ đồ 1.10. Tổng hợp các hợp chất 1,4-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-dione chứa vòng γ -butyrolactone

1.2. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone

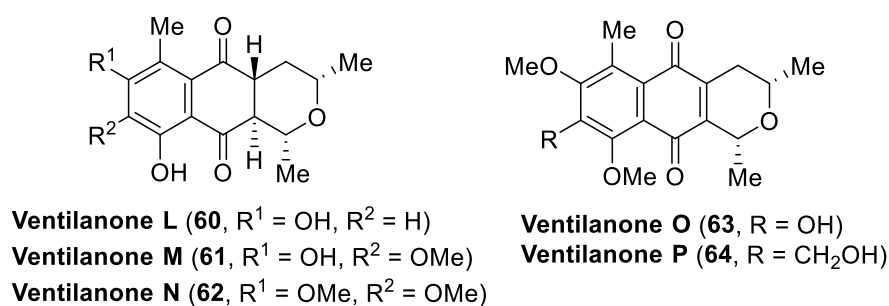
Pyranonaphthoquinone là lớp chất kháng sinh thiên nhiên khung naphtho[2,3-*c*]pyran-5,10-dione. Hầu hết các hợp chất pyranonaphthoquinone được tách chiết từ vi khuẩn và nấm. Điển hình cho lớp chất này là một số hợp chất như α -lapachone, β -lapachone, haronoside, psychorubrin, pentalongin, eleutherin, frenolicin và nanaomycin A (Hình 1.4). α -Lapachone (**52**) và β -lapachone (**53**) được phân lập từ vỏ cây *Tabebuia avellaneda* (Bignoniaceae) và các dẫn xuất của nó mang nhiều đặc tính sinh học như chống ung thư, chống thiếu máu, chống viêm, chống áp xe, chống loét, chống động kinh, kháng virus, kháng khuẩn, kháng nấm [30]. Haronoside (**54**) cho thấy hoạt tính kháng nấm mạnh đối với *Candida albicans* và *Trichophyllum soudanense* [31]. Pentalongin (**56**) và psychorubrin (**57**), được phân lập từ cây dược liệu vùng Đông Phi *Pentas longiflora*, hoạt động chống sốt rét đối với chủng *Plasmodium falciparum* kháng chloroquine W2 và chủng D6 của *P. falciparum* nhạy cảm với chloroquine [32]. Psychorubrin (**57**) còn có hoạt tính gây độc trên dòng tế bào bạch cầu (HL60 và Jurkat) và ung thư vú (MCF-7) bằng cách gây ra quá trình apoptosis thông qua phân mảnh DNA. Ngoài ra, psychorubrin (**57**) còn thể hiện hoạt động chống lại ký sinh trùng nguyên sinh thuộc chi *Leishmania* cũng như hoạt động kháng khuẩn [33]. Ngoài ra, eleutherin (**55**), ventiloquinone L, thysanone, nanaomycin A và các dẫn xuất bán tổng hợp của chúng có khả năng ức chế enzyme topoisomerase II [34].



Hình 1.4. Cấu trúc của các hợp chất pyranonaphthoquinone tự nhiên

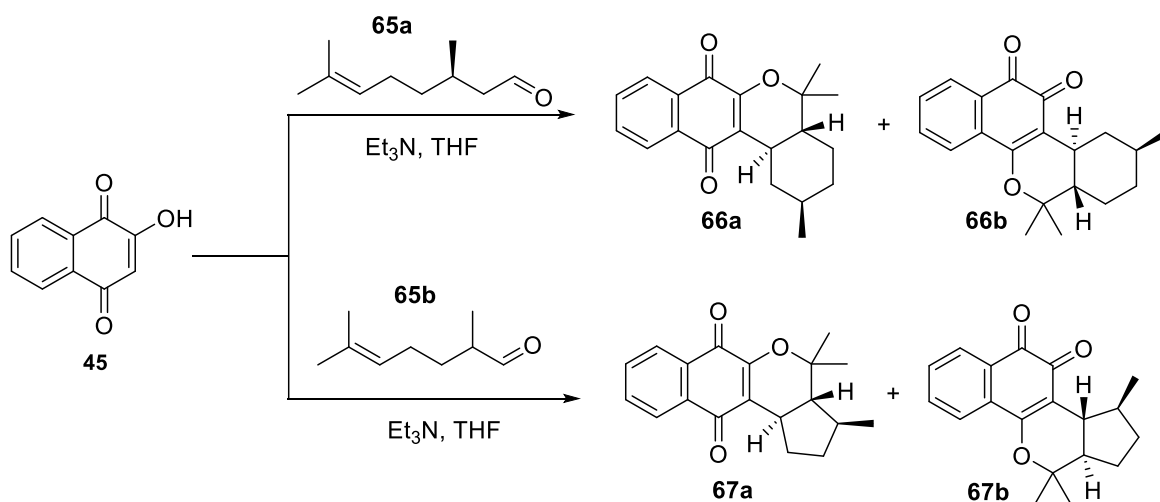
Hai hợp chất pyranonaphthoquinone chứa liên kết đôi tại C-3 và C-4 có tên là ascomycone A (58) và ascomycone B (59) đã được phân lập từ chiết xuất ethyl acetate của dịch nuôi cấy từ ascomycete [35]. Hợp chất ascomycone B (59) thể hiện hoạt động kháng nấm mạnh hơn trên nhiều chủng nấm so với ascomycone A (58). Cả hai hợp chất tự nhiên này đều thể hiện hoạt động vừa phải đối với các loài vi khuẩn Gram dương, nhưng không có hoạt tính ức chế các dòng vi khuẩn Gram âm.

Năm 2023, năm hợp chất ventilanone L-P (60-64) đã được phân lập từ vỏ thân cây *Ventilago harmandiana* (Rhamnacea), một loại cây đặc hữu của Thái Lan. Trong y học cổ truyền Thái Lan, thuốc sắc từ lõi gỗ và vỏ thân của *V. harmandiana* đã được sử dụng để điều trị bệnh tiểu đường, vết thương và tình trạng viêm mãn tính. Các hợp chất ventilanone L, M và P có tác dụng ức chế tế bào HIV-1 [36].



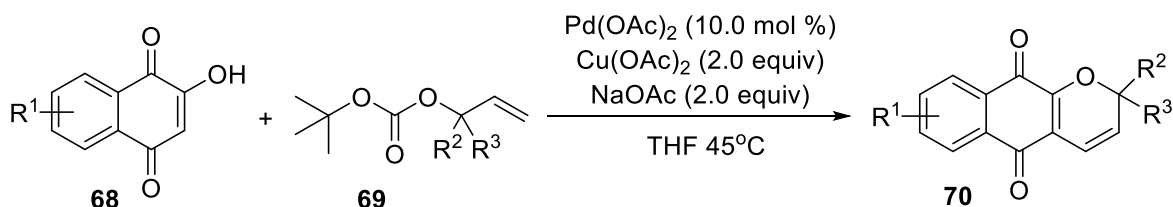
Hình 1.5. Các hợp chất ventilanone L-P

Bên cạnh việc đẩy mạnh chiết tách phân lập các hợp chất pyranonaphthoquinone từ tự nhiên, các nhà khoa học cũng rất quan tâm nghiên cứu, phát triển các phương pháp đơn giản hiệu quả để tổng hợp các hợp chất có cấu trúc khung này. Năm 2008, Estévez-Braun và cộng sự đã tổng hợp thành công dẫn xuất của α -lapachone và β -lapachone 66-67 bằng phản ứng giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (45) và các alkene andehyde 65 (Sơ đồ 1.11) [37]. Các hợp chất 66-67 có khả năng ức chế hoạt động của topoisomerase II.



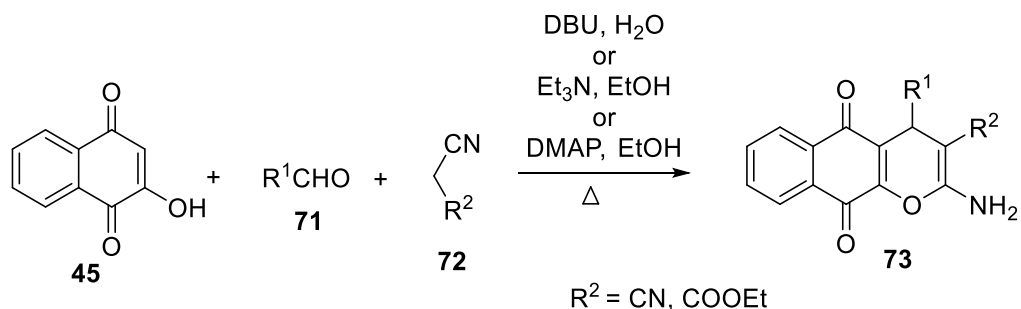
Sơ đồ 1.11. Tổng hợp các dẫn xuất của α -lapachone và β -lapachone

Một số dẫn xuất 2H-pyranonaphthoquinone **70** đã được Xiaojin Zhang và cộng sự tổng hợp bằng phản ứng liên hoàn dạng Tsuji-Trost giữa dẫn xuất của 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone **68** và olefinic alcohol **69** sử dụng xúc tác là hỗn hợp muối palladium acetate/copper acetate/sodium acetate trong dung môi tetrahydrofuran (*Sơ đồ 1.12*) [38].



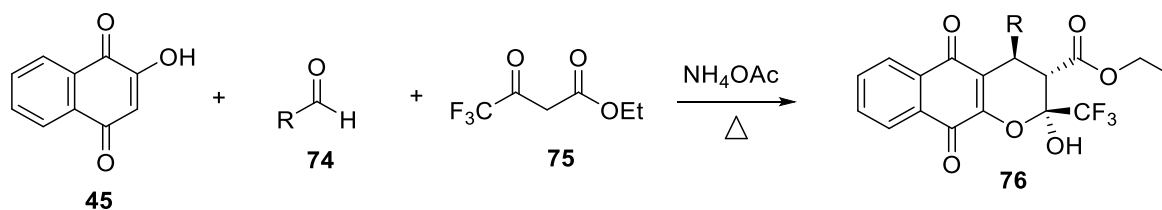
Sơ đồ 1.12. Tổng hợp các dẫn xuất 2H-pyranonaphthoquinone 70

Saluja và cộng sự đã tổng hợp thành công các chất 2-amino-3-cyano-benzo[g]chromene-5,10-dione **73** bằng phản ứng ngưng tụ giữa nguyên liệu đầu là 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**), aldehyde và malononitril (**72a**) hoặc ethyl cyanoacetate (**72b**) sử dụng xúc tác DBU trong dung môi nước [39]. Phản ứng này cũng có thể được thực hiện với xúc tác Et_3N [40] hoặc xúc tác DMAP [41] trong dung môi ethanol (*Sơ đồ 1.13*). Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học cho thấy, lớp chất này có khả năng gây độc tế bào ung thư cũng như ảnh hưởng đến quá trình ức chế apoptosis tương đương với α -lapachone [40].



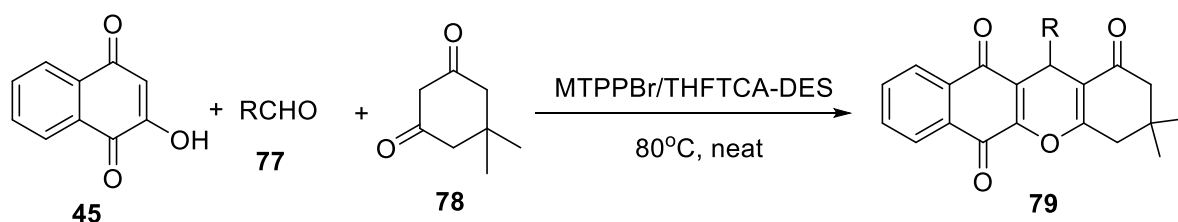
Sơ đồ 1.13. Tổng hợp các dẫn xuất 2-amino-3-cyano-benzo[g]chromene-5,10-dione

Năm 2015, bằng phản ứng domino ba thành phần giữa lawsone (**45**), aldehyde và ethyl 4,4,4-trifluoroacetoacetate (**75**), GS Nguyễn Văn Tuyền đã nghiên cứu tổng hợp thành công một số các chất pyranonaphthoquinone **76** có cấu trúc lập thể và hiệu suất tổng hợp cao (Sơ đồ 1.14) [42].



Sơ đồ 1.14. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone **76**

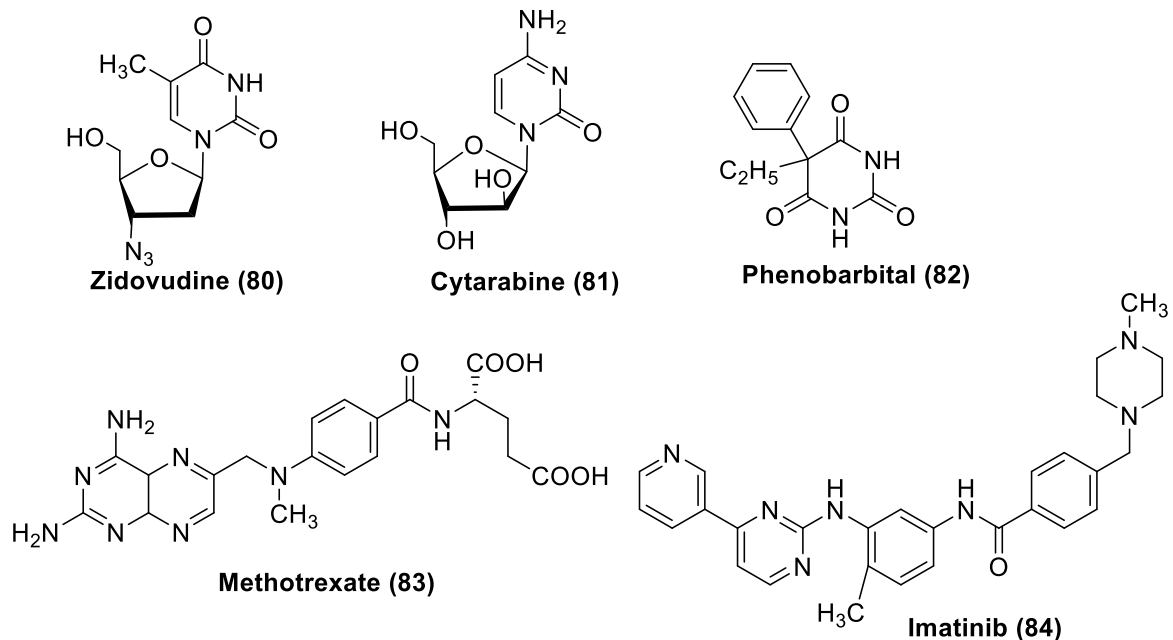
Mới đây nhất, Monem Arezo đã tổng hợp các hợp chất benzoxanthenetrione **79** bằng phản ứng giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**), aldehyde **77** và 5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione (**78**) với hỗn hợp xúc tác MTPPBr/THFTCA-DES là hệ xúc tác kết hợp, bao gồm một muối phosphonium và một dung môi eutectic sâu (deep eutectic solvent, DES) (Sơ đồ 1.15). Đây là phương pháp tổng hợp hiệu quả và thân thiện với môi trường, đồng thời có thể tái sử dụng xúc tác [43].



Sơ đồ 1.15. Tổng hợp các hợp chất benzoxanthenetrione **79**

1.3. Tổng quan các hợp chất pyrimidine

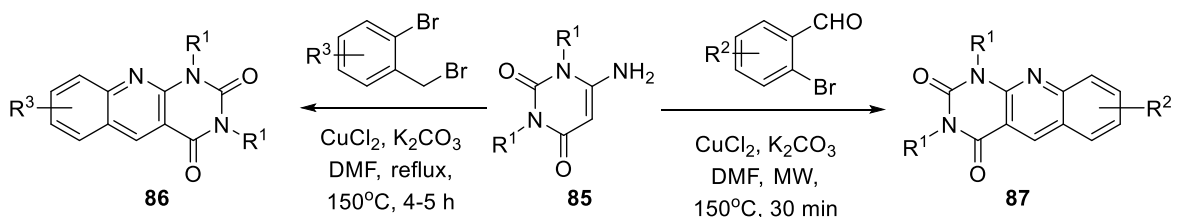
Dị vòng thơm pyrimidine với hai nguyên tử nitơ được tìm thấy nhiều trong các hợp chất tự nhiên như nucleotide, nucleic acid, vitamin, coenzyme, purine, protein và uric acid [44]. Các phân tử pyrimidine đóng vai trò quan trọng trong các quá trình sinh học khác nhau. Do sự giống nhau về cấu trúc với cặp base nucleotide của DNA và RNA, pyrimidine được xem là hợp chất có tiềm năng trong điều trị ung thư. Rất nhiều loại thuốc đang được sử dụng để điều trị các bệnh hiểm nghèo là dẫn xuất của pyrimidine như zidovudine, cytarabine, phenobarbital, methotrexate, imatinib... (Hình 1.6). Ngoài hoạt tính kháng ung thư, các dẫn xuất pyrimidine còn có hoạt tính kháng khuẩn, kháng virus, kháng viêm, chống HIV... [45].



Hình 1.6. Các hợp chất pyrimidine tiêu biểu

Có nhiều phương pháp để tổng hợp pyrimidine. Phản ứng ngưng tụ giữa amidine hoặc urê và dẫn xuất 1,3-dicarbonyl (phản ứng Pinner) cho phép điều chế các pyrimidine chứa các nhóm thế khác nhau [46]. Tuy nhiên, hạn chế của phương pháp này đó là điều kiện phản ứng khắc nghiệt. Các dẫn xuất 3,4-dihydropyrimidine-2(1*H*)-one được tổng hợp bằng phản ứng Biginelli từ ethyl acetoacetate, aldehyde thơm và urê [47]. Một số phương pháp tổng hợp pyrimidine mới đã được phát triển bao gồm phản ứng cộng đóng vòng Diels-Alder các hợp chất triazine với amidine hoặc enamine [48], phản ứng cộng đóng vòng [2+2+2] giữa nitrile và alkyne [49], phản ứng giữa enamine và enamide [50] hoặc β -enaminone [51].

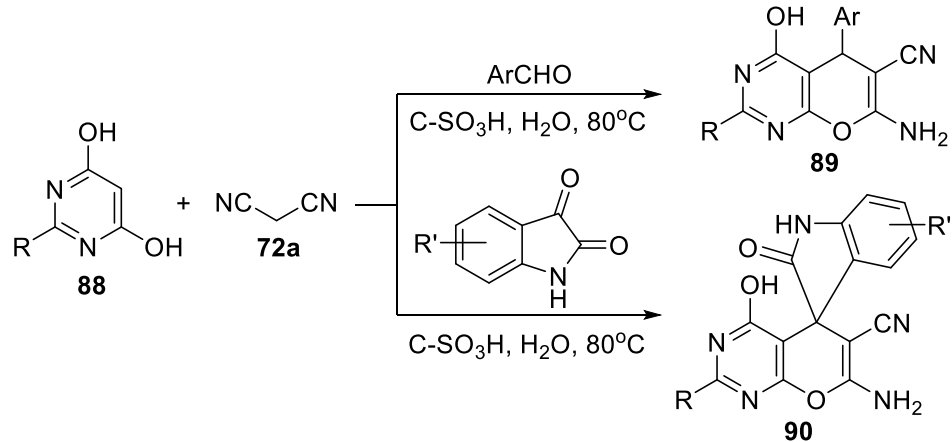
Năm 2018, Panday A. K. và cộng sự đã công bố hai phương pháp tổng hợp các dẫn xuất pyrimido[4,5-*b*]quinoline **86-87** bằng phản ứng giữa 6-aminouracil **85** với 2-bromobenzaldehyde hoặc 2-bromobenzyl bromide (Sơ đồ 1.16). Phản ứng domino này được thực hiện trong dung môi DMF ở điều kiện thường hoặc điều kiện vi sóng sử dụng xúc tác Cu(II) và base K_2CO_3 [52].



Sơ đồ 1.16. Tổng hợp các dẫn xuất pyrimido[4,5-*b*]quinoline

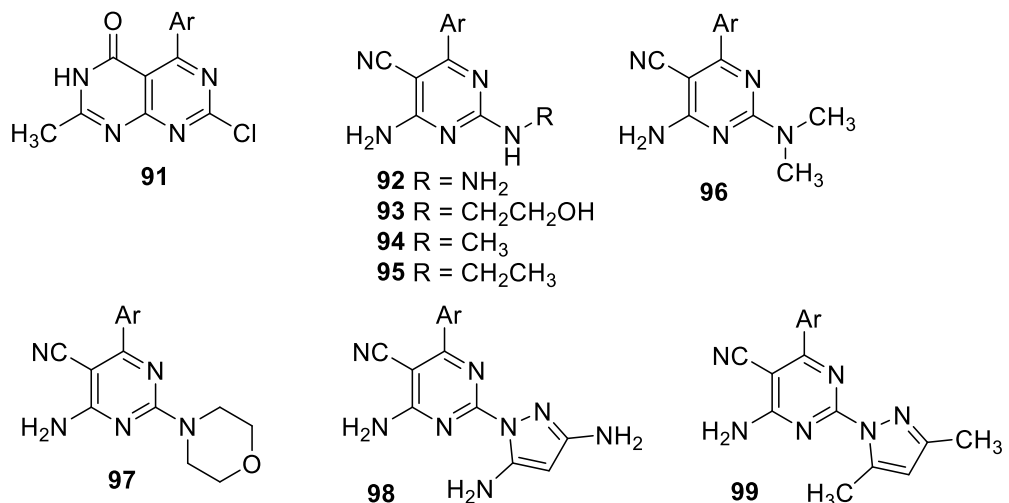
Phản ứng domino ba thành phần cũng đã được áp dụng để tổng hợp các dẫn xuất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine **89-90**. Theo đó, phản ứng giữa 2-aminopyrimidine-4,6-diol **88**, malononitrile (**72a**) và benzaldehyde hoặc dẫn xuất của isatin được tiến hành

trong dung môi nước ở 80°C với sự có mặt của xúc tác solid acid. Solid acid C-SO₃H thúc đẩy phản ứng ngưng tụ Knoevenagel giữa benzaldehyde hoặc isatin và malononitrile (**72a**) tạo thành alkene trung gian để phản ứng cộng electrophil với 2-aminopyrimidine-4,6-diol **88**. Tiếp theo là các giai đoạn loại xúc tác, đóng vòng nội phân tử tạo thành sản phẩm **89-90** [53].



Sơ đồ 1.17. Tổng hợp các dẫn xuất pyrano[2,3-d]pyrimidine **89-90**

Mới đây nhất, các dẫn xuất pyrimidine **91-99** đã được tổng hợp từ nguyên liệu đầu 6-amino-4-aryl-2-oxo-pyrimidine-5-carbonitrile qua 4 bước phản ứng. Trong số các hợp chất tổng hợp được, 3 hợp chất **91b** ($\text{Ar} = 4\text{-ClPh}$), **98b** ($\text{Ar} = 4\text{-ClPh}$) và **98c** ($\text{Ar} = 4\text{-MeOPh}$) (Hình 1.7) ức chế gây độc tế bào nhiều dòng tế bào ung thư (MCF7, HepG₂) tương đương thuốc doxorubicin, đồng thời an toàn đối với dòng tế bào nguyên bào thường W138. Ngoài ra, các dẫn xuất **91a** ($\text{Ar} = \text{Ph}$), **91b** ($\text{Ar} = 4\text{-ClPh}$), **91d** ($\text{Ar} = 4\text{-MePh}$), **92**, **97c** ($\text{Ar} = 4\text{-MeOPh}$) và **98b** ($\text{Ar} = 4\text{-ClPh}$) còn có khả năng kháng khuẩn mạnh trên các chủng vi khuẩn Gram(+), Gram(-) và chủng nấm (*Candida albicans*, *Aspergillus flavus*). Các hợp chất **92b** ($\text{Ar} = 4\text{-ClPh}$), **98c** ($\text{Ar} = 4\text{-MeOPh}$) và **99** thể hiện tác dụng chống tan máu và chống oxy hóa mạnh [54].

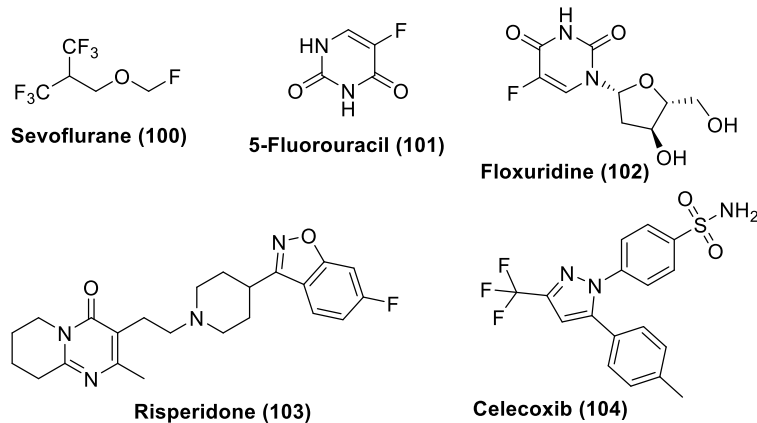


Hình 1.7. Cấu trúc các dẫn xuất pyrimidine **91-99**

1.4. Tổng quan về các hợp chất chứa nguyên tố flo

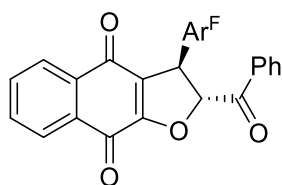
Các hợp chất chứa nguyên tố flo đã thu hút sự quan tâm lớn do tác động ngày càng tăng của chúng đối với sự phát triển của ngành công nghiệp thực phẩm và chăm sóc sức khỏe. Nguyên tố flo đóng vai trò quan trọng trong thiết kế các hợp chất có hoạt tính sinh học. Flo có độ âm điện cao nhất, có thể thay đổi sự cân bằng ưa dầu/ưa nước của cấu trúc gốc và giá trị pK_a bằng cách gây ra sự phân cực liên kết [55]. Ngoài ra, nguyên tử flo có thể điều chỉnh cấu hình phân tử và có thể tăng ái lực liên kết của hợp chất với protein mục tiêu thông qua tương tác trực tiếp hoặc gián tiếp bằng cách ảnh hưởng đến độ phân cực của các nhóm khác tương tác với protein [56, 57]. Sự kết hợp của ít nhất một nguyên tử flo hoặc nhóm trifluoromethyl vào các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể cải thiện tính ổn định trao đổi chất, tính thấm của màng, khả dụng sinh học và ái lực liên kết của hợp chất với protein mục tiêu, dẫn đến các hoạt động dược lý tiềm năng [2, 3].

Việc sử dụng thành công các thuốc corticosteroid có chứa flo trong lâm sàng vào những năm 1950 và các thuốc chứa dẫn xuất của fluoroquinolone vào những năm 1980 đã dẫn đến số lượng các hợp chất flo được chấp thuận ngày càng tăng trong 50 năm qua, khoảng một nửa số loại thuốc bán chạy nhất là dược phẩm có chứa flo [58]. Các hợp chất chứa flo thể hiện nhiều đặc tính sinh học khác nhau như hoạt động chống khối u, kháng khuẩn và chống viêm. Ví dụ như sevoflurane, một thuốc gây mê dạng hít có flo, được sử dụng để gây mê và duy trì gây mê toàn thân [59]. Risperidone (Hình 1.8) là thuốc chống loạn thần thế hệ thứ hai, có tác dụng trong não để điều trị bệnh tâm thần phân liệt và rối loạn lưỡng cực. 5-Fluorouracil (5-FU) và floxuridine (FdUrd) đã được chấp thuận để điều trị ung thư [60]. Hợp chất celecoxib với một nhóm thế difluoromethylether trên vòng pyrazole, là thuốc kháng viêm không steroid để điều trị viêm khớp dạng thấp và viêm xương khớp [61]. Các dẫn xuất fluoro-taxoid chứa nhóm trifluoromethyl có khả năng gây độc tế bào trên nhiều dòng tế bào ung thư ở người tốt hơn nhiều so với hợp chất ban đầu taxoid [62].



Hình 1.8. Cấu trúc của một số thuốc chứa flo

Đầu năm 2024, nhóm nghiên cứu của GS. Nguyễn Văn Tuyên đã bước đầu nghiên cứu đánh giá hoạt tính kháng viêm của hợp chất dihydrofurano-naphthoquinone (Hình 1.9) có chứa nguyên tố flo, kết quả chỉ ra rằng các hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế NO mạnh mẽ trên các tế bào macrophage RAW264.7 được kích thích bởi lipopolysaccharide (LPS) với giá trị IC_{50} dao động từ 1,54 đến 3,92 μM , cùng với khả năng ức chế sự sản sinh các cytokine IL-1 β và IL-6 [63]. Kết quả này bước đầu cho thấy tiềm năng của việc nghiên cứu tổng hợp các hợp chất naphthoquinone chứa nguyên tố flo trong việc tìm kiếm các hợp chất mới có khả năng làm tác nhân kháng viêm.



Dihydrofurano-naphthoquinone (105)

$\text{Ar}^{\text{F}} = 3\text{-F-4-MeO-C}_6\text{H}_3, 3,5\text{-F}_2\text{-4-MeO-C}_6\text{H}_2,$
 $2,5\text{-F}_2\text{-4-MeO-C}_6\text{H}_2$

Hình 1.9. Một số hợp chất chứa flo có hoạt tính kháng viêm tiềm năng

Từ những các kết quả nghiên cứu tổng quan cho thấy, các hợp chất dị vòng quinone có nhiều hoạt tính sinh học lý thú, có nhiều tiềm năng ứng dụng trong y, dược học. Việc tổng hợp các hợp chất này bằng phản ứng domino có thể làm gia tăng độ phức tạp của cấu trúc, tạo ra nhiều hợp chất cấu trúc mới, ngoài ra phản ứng không cần phân lập các hợp chất trung gian, thân thiện với môi trường do tránh sử dụng các tác nhân dung môi độc hại, quá trình phản ứng xảy ra êm dịu. Bên cạnh đó, với những đặc tính nổi bật của các hợp chất chứa flo, trong luận án này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tổng hợp các hợp chất dị vòng quinone và các hợp chất pyrimidine mới chứa dị tố nitơ bằng các phản ứng domino đa thành phần khác nhau. Các dẫn xuất tổng hợp được sẽ được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng ung thư ở người, hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase.

1.5. Các phương pháp tổng hợp hữu cơ theo định hướng “hóa học xanh”

Xu thế tổng hợp hóa học hữu cơ hiện đại ngày càng hướng đến việc giảm thiểu phát sinh chất thải độc hại, tối ưu hiệu quả sử dụng năng lượng và dung môi. Các kỹ thuật hiện đại như nghiền bi cơ học, chiếu xạ vi sóng, siêu âm, thủy nhiệt, quang xúc tác, từ trường hỗ trợ phản ứng hoặc tổng hợp trong điều kiện không dung môi đang được xem là những phương pháp tổng hợp thân thiện với môi trường. Các kỹ thuật này vừa giúp hạn chế sử dụng hoặc tạo ra các tác nhân nguy hại, vừa tạo điều kiện phản ứng trong “môi trường xanh”, đồng thời tiết kiệm đáng kể năng lượng cũng như lượng dung môi và hóa chất tiêu hao [64, 65].

Trong những năm gần đây, xu hướng phát triển các phương pháp tổng hợp thân thiện với môi trường ngày càng được quan tâm mạnh mẽ, đặc biệt trong lĩnh vực hóa dược và hoá học các hợp chất dị vòng [66, 67]. Một trong những hướng tiếp cận nổi bật là thực hiện phản ứng trong điều kiện không dung môi (solvent-free) hoặc dùng dung môi xanh như ethanol, glycerol, deep eutectic solvent (DES) hay hệ nước-ethanol, thay thế hoàn toàn cho các dung môi độc hại như DMF, CH_2Cl_2 hoặc toluene [68]. Các phản ứng diễn ra trong môi trường “không dung môi” không những giúp loại bỏ lượng lớn chất thải dung môi mà còn làm tăng tính chọn lọc và hiệu suất thu hồi sản phẩm [69].

Song song với đó, kỹ thuật chiếu vi sóng (microwave-assisted synthesis) và kích hoạt siêu âm (sonochemistry) cũng được khai thác nhằm gia tăng tốc độ phản ứng, rút ngắn thời gian từ vài giờ xuống chỉ vài phút, đồng thời hạn chế sự hình thành sản phẩm phụ [70]. Các phương pháp này thường thể hiện ưu thế vượt trội khi áp dụng vào phản ứng domino đa thành phần (multi-component domino reactions, MCRs) hoặc tổng hợp các hệ dị vòng hợp nhất, nhờ khả năng cung cấp năng lượng tức thời, đồng đều và định vị chính xác vào các liên kết phân cực [71, 72].

Ngoài ra, nhiều nghiên cứu hiện đại chú trọng đến việc sử dụng xúc tác thay vì lượng lớn tác nhân phản ứng, chẳng hạn như các xúc tác Lewis acid ($\text{Sc}(\text{OTf})_3$, ZnCl_2), xúc tác bazơ hữu cơ (DBU, TBD) hoặc organocatalyst kiểu amino acid/phức thiourea [73, 74]. Điều này cho phép giảm đáng kể lượng chất thải vô cơ, đồng thời đảm bảo hiệu quả kinh tế khi mở rộng quy mô phản ứng phục vụ sản xuất. Một số nghiên cứu tiên tiến còn khai thác điện hoá (electrochemical synthesis) và quang xúc tác (photoredox catalysis) sử dụng ánh sáng LED hoặc ánh sáng mặt trời như nguồn năng lượng sạch, thay thế cho các chất oxy hóa/khử độc hại kiểu $\text{Cr}(\text{VI})$, MnO_2 hoặc DDQ [75, 76].

Đặc biệt, phản ứng domino đa thành phần kiểu “one-pot” đang nổi lên như một chiến lược tổng hợp “xanh” đầy tiềm năng nhờ hiệu quả sử dụng nguyên tử, hạn chế tối đa việc tách, lọc trung gian và giảm tiêu thụ dung môi cũng như năng lượng [77]. Đây cũng là định hướng chính được chúng tôi lựa chọn trong luận án, nhằm hướng tới thiết kế và tổng hợp các hợp chất dị vòng mới vừa hiệu quả vừa phù hợp với mục tiêu phát triển bền vững trong tổng hợp hóa dược hiện đại [78].

1.6. Các khoảng trống cần nghiên cứu

Từ tổng quan các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước có thể nhận thấy rằng, các hợp chất dị vòng chứa nhân quinone, pyrimidine và các cấu trúc hợp nhất đa vòng đã và đang thu hút sự quan tâm rộng rãi trong lĩnh vực hóa dược, đặc biệt theo định hướng tìm kiếm các tác nhân chống ung thư và ức chế enzym. Nhiều kết quả có giá

trị đã được công bố, góp phần làm sáng tỏ mối liên hệ giữa cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, một số khía cạnh nghiên cứu vẫn còn nhiều tiềm năng để tiếp tục khai thác theo hướng hệ thống và chuyên sâu hơn.

Thứ nhất, phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của hệ 1,3-diketone đã được ứng dụng hiệu quả trong tổng hợp các hợp chất dị vòng, song việc khai thác phản ứng này như một bước khởi đầu trong chuỗi phản ứng domino đa thành phần nhằm xây dựng các khung dị vòng hợp nhất có độ phức tạp cao vẫn còn nhiều khả năng mở rộng. Trong nhiều công trình, phản ứng Knoevenagel thường được sử dụng độc lập, trong khi việc kết hợp liên tiếp với các quá trình cộng Michael và vòng hóa nội phân tử để tạo nhanh các hệ vòng hợp nhất đa dạng về cấu trúc vẫn là một hướng tiếp cận giàu tiềm năng.

Thứ hai, các hệ cấu trúc dị vòng hợp nhất giữa naphthoquinone và các dị vòng chứa nitơ như aza-anthraquinone, pyrimidine hoặc pyrano[2,3-d]pyrimidine đã được chứng minh sở hữu tiềm năng sinh học đáng chú ý. Tuy nhiên, các nghiên cứu hiện nay chủ yếu tập trung vào từng lớp cấu trúc riêng biệt. Việc thiết kế các dãy hợp chất dựa trên cùng một nền phản ứng, cho phép so sánh có định hướng ảnh hưởng của khung dị vòng và nhóm thế đến hoạt tính sinh học, là hướng nghiên cứu có ý nghĩa bổ sung.

Thứ ba, vai trò của nguyên tử flo trong việc điều chỉnh tính chất điện tử, độ bền trao đổi chất và ái lực liên kết với protein đích đã được khẳng định trong thiết kế thuốc hiện đại. Tuy nhiên, việc tích hợp nguyên tử flo vào các hệ dị vòng quinone hoặc pyrimidine được hình thành thông qua phản ứng domino đa thành phần vẫn còn chưa được khảo sát một cách hệ thống, đặc biệt đối với mối liên hệ giữa cấu trúc, đặc tính điện tử và tiềm năng sinh học của các sản phẩm thu được.

Thứ tư, cơ chế của các phản ứng domino kiểu Knoevenagel – Michael – cyclization trong tổng hợp các hệ dị vòng ngưng tụ thường được đề xuất dựa trên các bước phản ứng hợp lý về mặt hóa học, song việc luận giải chi tiết vai trò của từng tác chất, các trung gian phản ứng cũng như các yếu tố chi phối quá trình vòng hóa đối với từng hệ cấu trúc cụ thể vẫn còn nhiều khía cạnh có thể tiếp tục làm rõ.

Cuối cùng, xu hướng kết hợp giữa tổng hợp cấu trúc mới, đánh giá hoạt tính sinh học, nghiên cứu docking phân tử và dự đoán các thông số ADMET đang ngày càng được quan tâm. Tuy nhiên, việc triển khai đồng bộ và có hệ thống các nội dung này trong cùng một định hướng nghiên cứu, nhằm sàng lọc sớm và lựa chọn các hợp chất khởi đầu tiềm năng cho các nghiên cứu chuyên sâu tiếp theo, vẫn cần tiếp tục được đẩy mạnh và hoàn thiện.

Từ những phân tích trên có thể thấy rằng, việc phát triển các phương pháp tổng hợp dựa trên phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của hệ 1,3-diketone theo hướng domino đa thành phần, kết hợp thiết kế các hệ dị vòng quinone và pyrimidine có gắn nguyên tử flo, đồng thời đánh giá toàn diện về cấu trúc và hoạt tính sinh học là một hướng nghiên cứu mang tính kế thừa, mở rộng và có ý nghĩa khoa học rõ rệt.

CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

- Hoá chất sử dụng cho các phản ứng đều là hóa chất được đặt mua từ các nhà cung cấp hóa chất Merck, AKSci, Sigma Aldrich, ... với hàm lượng trên 98 %.

- Dung môi dùng trong sắc ký cột là loại dung môi có tinh khiết > 99 %, mua từ hãng Aldrich, được cất lại và làm khan trước khi sử dụng.

- Sử dụng bột silica gel dùng trong sắc ký cột là loại silica gel có kích cỡ hạt từ 240 - 400 mesh do hãng Merck cung cấp, sắc ký bản mỏng sử dụng loại Alufolien Kiesel 60 F₂₅₄ được mua từ nhà phân phối của Merck.

- Hệ phản ứng vi sóng

Các phản ứng được thực hiện bằng thiết bị microwave Monowave 400 được trang bị tại Phòng Hoá Dược, Viện Hoá học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam. Các phản ứng đun hồi lưu được thực hiện trong các ampul chịu nhiệt, sử dụng chất ổn nhiệt là silicone, thiết bị gia nhiệt và kiểm soát nhiệt độ của hãng Bruker

- Phổ hồng ngoại (IR)

Thiết bị dùng để đo quang phổ hồng ngoại (FT-IR), do hãng Perkin Elmer cung cấp, được trang bị tại Phòng Hoá Dược, Viện Hoá học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam .

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Thiết bị đo phổ NMR hoạt động trên dải tần 500 MHz và 600 MHz (¹H-NMR) và 125MHz và 150 MHz (¹³C-NMR) do hãng Bruker Avance III cung cấp, dung môi pha đo dùng DMSO-*d*₆ và tetramethylsilane làm chất nội chuẩn, các phép đo được thực hiện tại Trung tâm các phương pháp phổ ứng dụng, Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Đo phổ khối lượng phân giải cao (HRMS)

Phương pháp đo phổ khối được thực hiện trên thiết bị X500R QTOF, do hãng SCIEX cung cấp, ở chế độ ESI⁺ hoặc ESI⁻ tại Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm, Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Thiết bị đo nhiệt độ nóng chảy.

Kết quả đo nhiệt độ nóng chảy của các dẫn xuất, được tiến hành trên thiết bị Buchi B-545, trang bị tại Phòng Hoá dược, Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone

2.2.1 Tổng hợp các dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline

Hỗn hợp gồm 2-amino-1,4-naphthoquinone (**50**) (1 mmol, 173 mg), tetronic acid **47** (1 mmol, 100 mg), benzaldehyde **48** (1 mmol) và L-proline (0,02 mmol) trong

acetic acid băng (3 ml) được đun khuấy ở nhiệt độ 110°C trong lò vi sóng trong 30 phút. Hỗn hợp sau phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ phòng, thêm 20 ml nước, chiết bằng dichlormethane (20 ml x 3). Pha hữu cơ gộp lại, rửa với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng Na₂SO₄, lọc, cô quay loại bỏ dung môi bằng chân không thu được sản phẩm thô. Sau khi tinh chế bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải n-hexane/ethyl acetate (4:1, v/v) thu được các hợp chất dihydrobenzo[g]furo[3,4-*b*]quinoline **51a-m**.

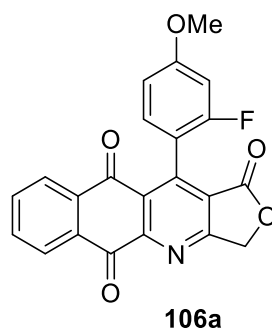
2.2.2 Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone

Quy trình tổng hợp chung: Sau khi tách cột, các hợp chất **51a-m** được cân để xác định lượng thực tế sử dụng cho bước tiếp theo. Tỷ lệ mol trong phản ứng tổng hợp **106a-m** được tính theo hợp chất **51** sau tinh chế. Hòa tan dần xuất dihydrobenzo[g]furo[3,4-*b*]quinoline **51a-m** trong 3 ml toluene, sau đó thêm 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ, 2 mmol) (**122**) và đun khuấy ở 110°C trong 2 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ phòng, thêm 20 ml nước, chiết bằng dichlormethane (20 ml x 3). Pha hữu cơ gộp lại, rửa với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng Na₂SO₄, lọc, cô quay loại bỏ dung môi bằng chân không thu được sản phẩm thô. Sau khi tinh chế bằng sắc ký cột silicagel với hệ dung môi rửa giải n-hexane/ethyl acetate (1:1, v/v) thu được các hợp chất **106a-m**.

Kết quả thu được các dẫn xuất có cấu trúc và các tín hiệu phổ IR, NMR và HRMS tương ứng như sau:

Hợp chất 106a: 11-(2-Fuoro-4-methoxyphenyl)benzo[g]furo[3,4-*b*]quinoline-1,5,10(3*H*)-trione.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 210 - 212 °C, hiệu suất phản ứng 43% (167,4 mg).



IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3426, 2925, 2855, 1776, 1680, 1624, 1589, 1448, 1337, 1288, 1114, 1023, 775, 724.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 8.25 (1H, dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz), 8.05 (1H, dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz), 7.98 – 7.92 (2H, m), 7.31 (1H, t, *J* = 8.4 Hz), 6.96 (1H, dd, *J* =

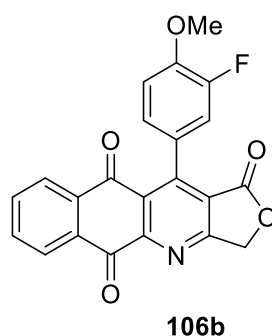
12.0, 2.4 Hz), 6.89 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 5.63 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 5.60 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 3.89 (3H, s, OCH₃).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ 182.3, 180.4, 170.0, 166.3, 161.3 (1C, d, $J = 10.5$ Hz), 159.3 (1C, d, $J = 241.5$ Hz), 153.4, 145.3, 134.9, 134.5, 133.7, 132.6, 131.0, 131.0, 128.9, 126.8, 126.7, 120.8, 109.8, 101.1 (1C, d, $J = 24.0$ Hz), 69.7, 55.7.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 390.0769 [M+H]⁺, Tính toán theo lý thuyết [C₂₂H₁₃FNO₅]⁺: 390.0773.

Hợp chất 106b: *11-(3-Fuoro-4-methoxyphenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione*.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 252 – 254 °C, hiệu suất phản ứng 48% (186,9 mg).



IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3494, 3227, 2939, 2846, 1785, 1687, 1581, 1519, 1442, 1336, 1288, 1123, 1022, 967, 870, 811, 759, 726.

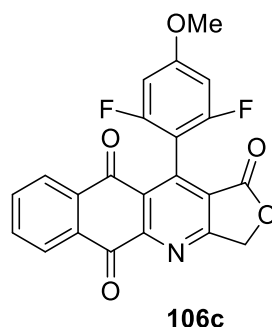
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 8.24 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 7.97 – 7.92 (2H, m), 7.30 (1H, dd, $J = 12.6, 2.4$ Hz), 7.25 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 7.15 (1H, dt, $J = 8.4, 1.2$ Hz), 5.59 (2H, s), 3.95 (3H, s, OCH₃).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ 182.3, 180.7, 169.8, 166.5, 153.2, 150.8 (1C, d, $J = 240.0$ Hz), 150.5, 147.3 (1C, d, $J = 9.0$ Hz), 135.0, 134.5, 134.1, 132.5, 129.0, 126.9, 126.7, 126.1 (1C, d, $J = 7.5$ Hz), 124.9, 120.5, 116.1 (1C, d, $J = 19.5$ Hz), 112.9, 69.6, 56.0.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 390.0768 [M+H]⁺, Tính toán theo lý thuyết [C₂₂H₁₃FNO₅]⁺: 390.0773.

Hợp chất 106c: *11-(2,6-Difluoro-4-methoxyphenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione*.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 190 – 192 °C, hiệu suất phản ứng 46% (187,4 mg).



IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3431, 3073, 2936, 2849, 1778, 1686, 1639, 1585, 1510, 1349, 1288, 1152, 1133, 1026, 954, 835, 724.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.26 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 8.09 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.97 (1H, td, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.95 (1H, td, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 6.91 (2H, d, $J = 10.2$ Hz), 5.67 (2H, s), 3.91 (3H, s, OCH₃).

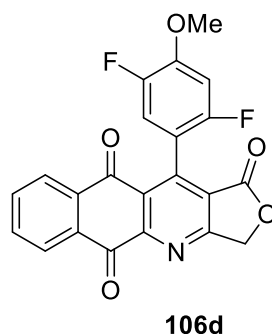
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.4, 180.1, 170.4, 166.3, 161.9 (1C, d, $J = 15.0$ Hz), 159.6 (1C, d, $J = 242.5$ Hz), 159.5 (1C, d, $J = 242.5$ Hz), 153.9, 138.3, 135.0, 134.9, 133.4, 132.9, 128.7, 126.9, 121.0, 102.6, 98.1 (2C, d, $J = 27.5$ Hz), 70.0, 56.3.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 408.0674 [M+H]⁺, Tính toán theo lý thuyết [C₂₂H₁₂F₂NO₅]⁺: 408.0679.

Hợp chất 106d: 11-(2,5-Difluoro-4-methoxyphenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 182 –184 °C. Hiệu suất phản ứng 47% (191,4 mg).

IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3069, 2941, 2848, 1779, 1684, 1636, 1593, 1521, 1447, 1358, 1287, 1189, 1160, 1115, 1092, 1024, 963, 724.



^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.25 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 8.07 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 7.96 (1H, td, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 7.94 (1H, td, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 7.35 (1H, dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz), 7.27 (1H, dd, $J = 11.4, 7.2$ Hz), 5.66 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 5.62 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 3.97 (3H, s, OCH₃).

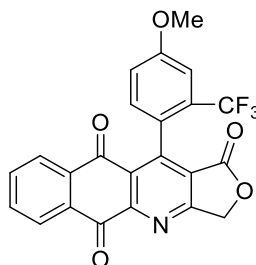
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.3, 180.4, 170.1, 166.4, 154.8 (1C, d, $J = 240.0$ Hz), 153.5, 148.6 (1C, t, $J = 12.0$ Hz), 147.5 (1C, d, $J = 240.0$ Hz), 143.7,

135.0, 134.7, 133.7, 132.7, 128.9, 126.9, 126.9, 121.0, 116.9 (1C, d, $J = 4.5$ Hz), 116.7 (1C, d, $J = 4.5$ Hz), 101.6 (1C, d, $J = 27.0$ Hz), 69.9, 56.7.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 408.0674 $[M+H]^+$, Tính toán theo lý thuyết $[C_{22}H_{12}F_2NO_5]^+$: 408.0679.

Hợp chất 106e: *11-(4-Methoxy-2-(trifluoromethyl)phenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione*.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 244 – 246 °C, hiệu suất phản ứng 45% (197,4 mg).



106e

IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} 3438, 2956, 2926, 2855, 1778, 1683, 1594, 1506, 1429, 1318, 1289, 1111, 1021, 1022, 725.

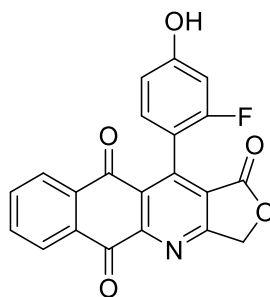
1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.30 (1H, dd, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 8.07 (1H, dd, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 8.01 (1H, dt, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 7.98 (1H, dt, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 7.41 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 7.38 (1H, d, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.29 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 5.77 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 5.69 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 4.00 (3H, s, OCH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 181.9, 180.3, 169.6, 166.2, 159.0, 153.3, 148.8, 135.0, 134.8, 133.3, 132.7, 130.1, 128.7, 127.0, 126.9, 126.8, 124.8, 123.7 (1C, q, $J = 273.0$ Hz, CF₃), 121.1, 117.5, 111.4, 70.1, 55.7.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 440.0736 $[M+H]^+$, Tính toán theo lý thuyết $[C_{23}H_{13}F_3NO_5]^+$: 440.0741.

Hợp chất 106f: *11-(2-Fluoro-4-hydroxyphenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione*.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 310 – 312 °C. Hiệu suất phản ứng 48% (180,1 mg).



106f

IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3373, 2926, 2926, 1775, 1684, 1625, 1589, 1515, 1438, 1334, 1286, 1185, 1096, 1022, 963, 844, 810, 727.

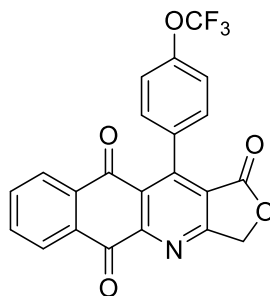
^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 10.25 (1H, s, OH), 8.25 – 8.23 (1H, m), 8.06 – 8.04 (1H, m), 7.97 – 7.93 (2H, m), 7.19 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 6.70 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 6.67 (1H, dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz), 5.61 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 5.58 (1H, d, $J = 16.8$ Hz).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.5, 180.6, 170.2, 166.5, 160.0 (1C, d, $J = 12.0$ Hz), 159.3 (1C, d, $J = 243.0$ Hz), 153.5, 145.9, 135.1, 134.6, 133.8, 132.7, 131.3, 131.2, 129.0, 126.9, 126.8, 120.8, 111.2, 102.3 (1C, d, $J = 24.0$ Hz), 69.7.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 376.0613 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Tính toán theo lý thuyết $[\text{C}_{21}\text{H}_{11}\text{FNO}_5]^+$: 376.0616.

Hợp chất 106g: 11-(4-(Trifluoromethoxy)phenyl)benzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline-1,5,10(3*H*)-trione.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 185–187 °C. Hiệu suất phản ứng 48% (204,2 mg).



106g

IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3514, 1780, 1688, 1591, 1509, 1287, 1211, 1161, 1108, 1021, 966, 727.

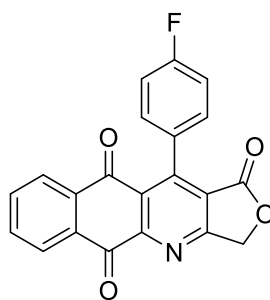
^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.25 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 8.04 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.95 (1H, dt, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.93 (1H, dt, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.51 – 7.45 (4H, m), 5.61 (2H, s).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.3, 180.6, 169.9, 166.5, 153.3, 150.4, 148.3, 135.0, 134.6, 133.8, 133.1, 132.6, 129.9, 128.8, 126.9 (2C), 126.8, 120.5, 120.2 (1C, q, $J = 255.0$ Hz, CF₃), 120.1 (2C), 69.8.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 426.0578 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Tính toán theo lý thuyết $[\text{C}_{22}\text{H}_{11}\text{F}_3\text{NO}_5]^+$: 426.0584.

Hợp chất 106h: 11-(4-Fluorophenyl)benzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline-1,5,10(3*H*)-trione.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 302 –304 °C. Hiệu suất phản ứng 49% (176,1 mg).

**106h**

IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3438, 2957, 2925, 2855, 1778, 1685, 1513, 1432, 1334, 1291, 1227, 1022, 843, 804, 725.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.25 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 8.02 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.95 (1H, dt, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.93 (1H, dt, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.41 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 7.40 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.31 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 7.30 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 5.60 (2H, s).

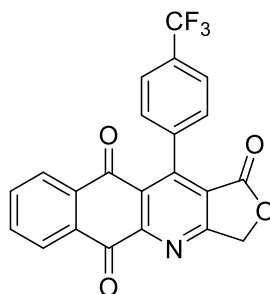
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.3, 180.6, 169.8, 166.5, 162.2 (1C, d, $J = 243.8$ Hz), 153.3, 151.1, 135.0, 134.5, 133.9, 132.6, 130.1 (2C, d, $J = 7.5$ Hz), 130.0 (1C, d, $J = 3.8$ Hz), 128.9, 126.9, 126.7, 120.5, 114.6 (2C, d, $J = 21.3$ Hz), 69.6.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 360.0663 $[\text{M} + \text{H}]^+$, Tính toán theo tỷ thuyết $[\text{C}_{21}\text{H}_{11}\text{FNO}_4]^+$: 360.0667.

Hợp chất 106i: 11-(4-(Trifluoromethyl)phenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 204 –206 °C. Hiệu suất phản ứng 45% (184,2 mg).

IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3441, 2957, 2925, 2855, 1777, 1693, 1591, 1445, 1409, 1327, 1290, 1225, 1162, 1111, 1065, 1020, 957, 837, 725, 607.

**106i**

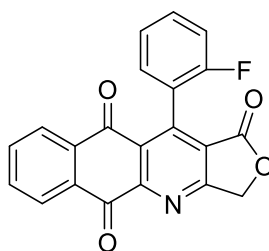
^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.26 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.95 (1H, dt, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.93 (1H, dt, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.85 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.58 (2H, d, $J = 87.8$ Hz), 5.63 (2H, s).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.2, 180.5, 169.9, 166.4, 153.2, 150.1, 138.6, 135.0, 134.6, 133.7, 132.6, 128.7, 128.6, 128.5, 128.3, 126.9, 126.8, 124.5, 124.5, 124.4 (1C, q, $J = 270.0$ Hz, CF₃), 120.4, 69.9.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 410.0631 [M + H]⁺, Tính toán theo lý thuyết [C₂₂H₁₁F₃NO₄]⁺: 410.0635.

Hợp chất 106j: *11-(2-Fluorophenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione*.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 251 – 253 °C. Hiệu suất phản ứng 43% (154,5 mg).



106j

IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3355, 3077, 2926, 2852, 1780, 1689, 1591, 1493, 1450, 1334, 1287, 1220, 1188, 1113, 1094, 1043, 1020, 765, 751, 725.

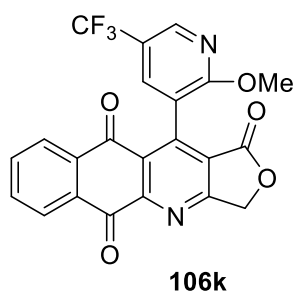
^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.25 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 8.04 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.96 (1H, dt, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.93 (1H, dt, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.58 – 7.53 (1H, m), 7.36 (1H, td, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.34 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.31 (1H, td, $J = 7.8, 1.2$ Hz), 5.67 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 5.63 (1H, d, $J = 16.2$ Hz).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.2, 180.4, 170.1, 166.3, 158.4 (1C, d, $J = 242.5$ Hz), 153.5, 145.3, 135.0, 134.7, 133.6, 132.7, 130.8 (1C, d, $J = 7.5$ Hz), 130.0 (1C, d, $J = 2.5$ Hz), 128.9, 126.9, 124.0 (1C, d, $J = 2.5$ Hz), 121.5 (1C, d, $J = 16.3$ Hz), 120.8, 114.8 (1C, d, $J = 21.3$ Hz), 69.9, 59.8.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 360.0663 [M + H]⁺, Tính toán theo lý thuyết [C₂₁H₁₁FNO₄]⁺: 360.0667.

Hợp chất 106k: *11-(2-Methoxy-5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione*

Chất rắn màu nâu đỏ, nhiệt độ nóng chảy 218-220°C. Hiệu suất phản ứng 40% (176,1 mg).



IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3142, 2954, 2926, 1779, 1682, 1615, 1583, 1485, 1447, 1410, 1310, 1290, 1272, 1159, 1124, 1092, 1023, 790, 726, 667.

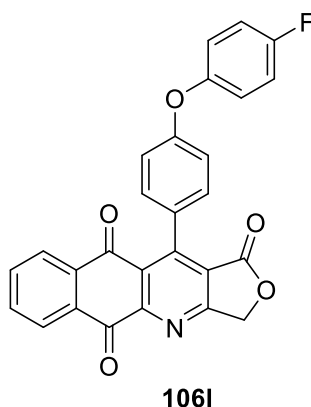
^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.75 (1H, dd, $J = 2.4, 1.2$ Hz), 8.27 (1H, dd, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 8.10 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 8.07 (1H, dd, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 7.97 (1H, dt, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 7.94 (1H, dt, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 5.69 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 5.64 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 3.84 (3H, s, OCH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.4, 180.2, 170.0, 166.5, 161.9, 153.2, 144.8, 144.6, 135.1, 135.0, 134.8, 133.4, 132.7, 128.9, 126.9, 126.9, 124.1 (1C, q, $J = 268.5$ Hz, CF₃), 120.8, 118.3, 70.1, 54.3.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 441.0691 [M + H]⁺, Tính toán theo lý thuyết [C₂₂H₁₂F₃N₂O₅]⁺: 411.0693.

Hợp chất 106l: 11-(4-(4-Fluorophenoxy)phenyl)benzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline-1,5,10(3*H*)-trione.

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 282 – 284 °C. Hiệu suất phản ứng 44% (198,6 mg).



IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 2955, 2925, 2855, 1761, 1684, 1497, 1449, 1284, 1210, 1022, 955, 836, 728, 695, 599, 505.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 8.24 (1H, dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz), 7.96 – 7.92 (2H, m), 7.37 (2H, dt, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.32 (2H, tt, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.23 – 7.20 (2H, m), 7.05 (2H, dt, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 5.59 (2H, s).

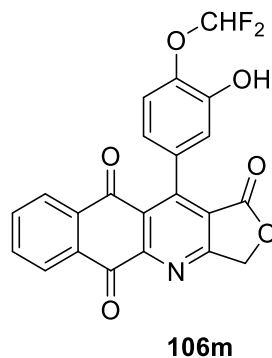
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.4, 180.7, 169.9, 166.5, 158.5 (1C, d, $J = 237.0$ Hz), 157.5, 153.3, 152.1, 151.6, 135.0, 134.4, 134.0, 132.5, 130.0 (2C),

129.0, 128.3, 126.9, 126.7, 121.3 (2C, d, $J = 9.0$ Hz), 120.4, 116.8 (2C, d, $J = 24.0$ Hz), 116.7 (2C), 69.6.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 452.0921 $[M + H]^+$, Tính toán theo lý thuyết $[C_{27}H_{15}FNO_5]^+$: 452.0929.

Hợp chất 106m: *11-(4-(Difluoromethoxy)-3-hydroxyphenyl)benzo[g]furo[3,4-b]quinoline-1,5,10(3H)-trione.*

Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 321 – 323 °C. Hiệu suất phản ứng 47% (199,0 mg).



IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} 3452, 2956, 2924, 2854, 1766, 1683, 1593, 1510, 1287, 1124, 1018, 808, 726.

1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 10.0 (1H, s, OH), 8.24 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 7.96 – 7.92 (2H, m), 7.19 (1H, t, $J = 75.0$ Hz), 7.18 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.91 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.75 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 5.59 (2H, s).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.2, 180.7, 169.9, 166.4, 153.3, 151.2, 147.8, 135.1, 134.6, 133.9, 132.6, 132.0, 131.7, 128.9, 128.7, 126.9, 126.8, 120.5, 119.1, 116.8, 116.7 (1C, t, $J = 255.0$ Hz), 69.7.

HRMS: Giá trị thực nghiệm m/z 424.0623 $[M + H]^+$, Tính toán theo lý thuyết $[C_{22}H_{12}F_2NO_6]^+$: 424.0628.

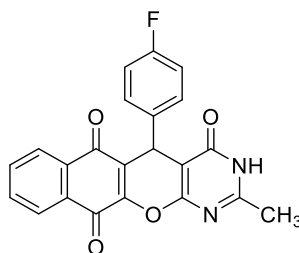
2.3. Tổng hợp các hợp chất chromeno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one (125a-l)

Hỗn hợp gồm 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**) (1 mmol, 174 mg), aldehyde **116a-l** (1 mmol), malononitrile (1 mmol) (**72a**) và DABCO (0,1 mmol) trong acetonitrile (10 ml) được đun hồi lưu ở nhiệt độ 82°C trong lò vi sóng trong 20 phút. Sau đó, thêm acetic anhydride (3 mmol) và sulfuric acid đậm đặc (0,4 mmol) vào bình phản ứng và tiếp tục đun khuấy ở 120°C trong 15 phút. Hỗn hợp sau phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ phòng, thêm nước, chiết bằng dichlormethane (50 ml x 3). Pha hữu cơ gộp lại, rửa với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng Na_2SO_4 , lọc, cô quay loại bỏ dung môi bằng chân không thu được sản phẩm thô. Sau khi tinh chế

bằng sắc ký cột silicagel với hệ dung môi rửa giải dichloromethane/ethyl acetate (4:1, v/v) thu được các hợp chất **125a-l** với hiệu suất phản ứng 60-80 %.

Kết quả phổ IR, NMR, HRMS của các dẫn xuất thu được cụ thể như sau:

Hợp chất 125a: 5-(4-Fluorophenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione.



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 294-296°C, hiệu suất phản ứng 70%.

$R_f = 0.54$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

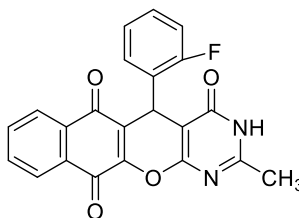
IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3443, 2745, 1683, 1672, 1636, 1593, 1504, 1384, 1360, 1327, 1295, 1234, 1197, 1149, 1074, 942, 927, 854, 837, 808, 790, 736, 715, 678, 603, 552.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz) δ_H 12.67 (1H, s, NH), 8.07 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.91 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.88 – 7.82 (2H, m), 7.40 (2H, dd, $J = 8.4, 5.4$ Hz), 7.06 (2H, t, $J = 9.0$ Hz), 5.07 (1H, s), 2.30 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 150 MHz) δ_C 182.7, 177.1, 161.9, 161.1 (1C, d, $J = 241.5$ Hz), 156.9, 159.4, 149.9, 138.6 (1C, d, $J = 3.0$ Hz), 134.6, 134.2, 131.1, 130.7, 130.5 (2C, d, $J = 7.5$ Hz), 126.1, 125.9, 122.7, 114.9 (2C, d, $J = 21.0$ Hz), 100.5, 33.2, 21.0.

HRMS: Tìm thấy m/z 389.0926 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{FN}_2\text{O}_4]^+$: 389.0932) và m/z 411.0729 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{NaO}_4]^+$: 411.0752).

Hợp chất 125b: 5-(2-Fluorophenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu nâu, nhiệt độ nóng chảy 233-238°C, hiệu suất phản ứng 68%.

$R_f = 0.52$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

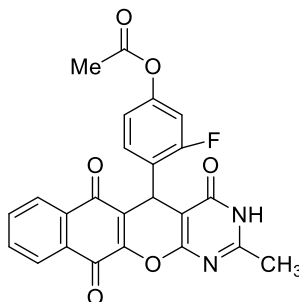
IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3465, 2787, 1674, 1638, 1599, 1492, 1453, 1381, 1364, 1329, 1301, 1238, 1217, 1198, 1147, 1024, 995, 937, 800, 776, 716, 595.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz) δ 12.64 (1H, s, NH), 8.06 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.89 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.87 – 7.81 (2H, m), 7.36 (1H, td, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.22 – 7.19 (1H, m), 7.09 – 7.04 (2H, m), 5.25 (1H, s), 2.30 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.6, 177.1, 161.7, 160.2 (1C, d, $J = 246.3$ Hz), 159.9, 159.4, 149.9, 134.7, 134.2, 131.4 (1C, d, $J = 3.8$ Hz), 130.9, 130.5, 129.4 (1C, d, $J = 12.5$ Hz), 129.0 (1C, d, $J = 7.5$ Hz), 126.1, 125.8, 124.2 (1C, d, $J = 3.8$ Hz), 122.0, 115.3 (1C, d, $J = 22.5$ Hz), 99.4, 28.6, 21.0.

HRMS: Tìm thấy m/z 389.0923 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{FN}_2\text{O}_4]^+$: 389.0932) và m/z 411.0737 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{NaO}_4]^+$: 411.0752).

Hợp chất 125c: *3-Fluoro-4-(2-methyl-4,6,11-trioxo-3,5,6,11-tetrahydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidin-5-yl)phenyl acetate*



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 244-246°C, hiệu suất phản ứng 60%.

$R_f = 0.48$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3423, 2769, 1754, 1688, 1671, 1637, 1591, 1500, 1427, 1368, 1329, 1300, 1241, 1211, 1197, 1152, 1017, 969, 933, 717, 608.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.66 (1H, s, NH), 8.06 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.91 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.86 – 7.83 (2H, m), 7.39 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 6.98 (1H, dd, $J = 10.8, 2.4$ Hz), 6.87 (1H, t, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 5.25 (1H, s), 2.31 (3H, s, CH_3), 2.23 (3H, s, CH_3).

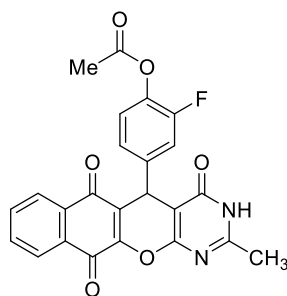
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.6, 177.1, 168.8, 161.7, 159.9, 159.8 (1C, d, $J = 248.8$ Hz), 159.5, 150.1, 150.0 (1C, d, $J = 5.0$ Hz), 134.6, 134.2, 131.6 (1C, d, $J = 5.0$ Hz), 131.0, 130.5, 127.0 (1C, d, $J = 12.5$ Hz), 126.1, 125.9, 121.7, 117.8, 109.5 (1C, d, $J = 25.0$ Hz), 99.3, 28.1, 21.0 (CH_3), 20.7 (CH_3).

HRMS: Tìm thấy m/z 447.0992 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{FN}_2\text{O}_6]^+$: 447.0987) và m/z 469.0782 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{NaO}_6]^+$: 469.0807).

Hợp chất 125d: *2-Fluoro-4-(2-methyl-4,6,11-trioxo-3,5,6,11-tetrahydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidin-5-yl)phenyl acetate*.

Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 304-306°C, hiệu suất phản ứng 65%.

$R_f = 0.48$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).



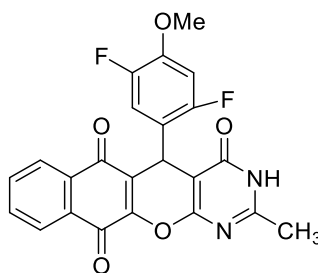
IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3423, 3066, 2771, 1766, 1690, 1670, 1638, 1592, 1505, 1431, 1390, 1366, 1328, 1298, 1268, 1238, 1191, 1158, 1109, 1012, 937, 813, 787, 748, 721, 633, 597.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.71 (1H, s, NH), 8.08 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.93 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.88 – 7.83 (2H, m), 7.38 (1H, dd, $J = 11.4, 1.8$ Hz), 7.27 (1H, dd, $J = 10.2, 1.8$ Hz), 7.16 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 5.08 (1H, s), 2.31 (3H, s, CH_3), 2.28 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.8, 177.0, 168.3, 162.0, 159.7, 159.6, 154.0 (1C, d, $J = 246.3$ Hz), 150.3, 142.0 (1C, d, $J = 6.3$ Hz), 136.3 (1C, d, $J = 12.5$ Hz), 134.5, 134.2, 131.0, 130.9, 126.1, 125.9, 125.2, 123.6, 121.8, 116.7 (1C, d, $J = 18.8$ Hz), 100.0, 33.4, 21.0 (CH_3), 20.2 (CH_3).

HRMS: Tìm thấy m/z 447.0980 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{FN}_2\text{O}_6]^+$: 447.0987) và m/z 469.0787 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{NaO}_6]^+$: 469.0807).

Hợp chất 125e: 5-(2,5-Difluoro-4-methoxyphenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 231-233°C, hiệu suất phản ứng 77%.

$R_f = 0.56$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

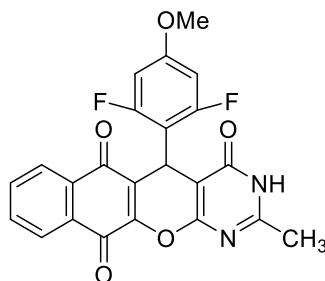
IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3457, 2937, 1684, 1665, 1636, 1596, 1514, 1442, 1389, 1362, 1332, 1297, 1235, 1197, 1156, 1085, 1005, 942, 878, 850, 786, 755, 715, 696, 618, 599.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.64 (1H, s, NH), 8.07 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 7.91 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 7.88 – 7.83 (2H, m), 7.19 (1H, dd, $J = 12.0, 7.2$ Hz), 6.98 (1H, dd, $J = 12.0, 7.2$ Hz), 5.15 (1H, s), 3.79 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.31 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.6, 177.1, 161.7, 159.7, 159.4, 156.1 (1C, d, $J = 243.8$ Hz), 149.9, 147.4 (1C, d, $J = 241.3$ Hz), 146.9, 134.6, 134.1, 131.0, 130.5, 126.1, 125.8, 121.3, 120.9 (1C, d, $J = 16.3$ Hz), 117.2 (1C, d, $J = 20.0$ Hz), 101.7 (1C, d, $J = 27.5$ Hz), 99.1, 56.4 (-OCH₃), 28.0, 21.0 (CH₃).

HRMS: Tìm thấy m/z 437.0930 [M+H]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₅FN₂O₅]⁺: 437.0944) và m/z 459.0739 [M+Na]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₄F₂N₂NaO₅]⁺: 459.0763).

Hợp chất 125f: 5-(2,6-Difluoro-4-methoxyphenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 299-301°C, hiệu suất phản ứng 74%.

$R_f = 0.52$ (CH₂Cl₂-EtOAc 4:1).

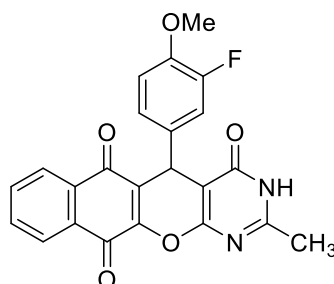
IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3136, 2815, 1670, 1638, 1597, 1500, 1443, 1393, 1360, 1299, 1238, 1197, 1143, 1016, 934, 825, 794, 716, 638.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.67 (1H, s, NH), 8.08 – 8.05 (1H, m), 7.94 – 7.91 (1H, m), 7.88 – 7.85 (2H, m), 6.61 (2H, d, $J = 10.8$ Hz), 5.33 (1H, s), 3.71 (3H, s, -OCH₃), 2.31 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.6, 177.2, 161.7, 161.1 (2C, d, $J = 232.5$ Hz), 160.2, 159.9, 159.5, 150.1, 134.8, 134.3, 131.0, 130.3, 126.2, 125.9, 121.0, 109.71 (C, t, $J = 17.5$ Hz), 98.2 (2C, d, $J = 27.5$ Hz), 98.1, 55.9 (-OCH₃), 23.5, 21.0 (CH₃).

HRMS: Tìm thấy m/z 437.0936 [M+H]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₅FN₂O₅]⁺: 437.0944) và m/z 459.0749 [M+Na]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₄F₂N₂NaO₅]⁺: 459.0763).

Hợp chất 125g: 5-(3-Fluoro-4-methoxyphenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 299-301°C, hiệu suất phản ứng 80%.

$R_f = 0.60$ (CH₂Cl₂-EtOAc 4:1).

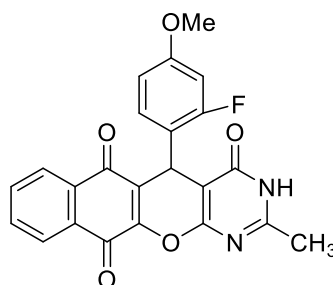
IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 2847, 1682, 1669, 1636, 1594, 1518, 1439, 1360, 1328, 1291, 1271, 1238, 1201, 1150, 1121, 1024, 945, 802, 760, 721, 633.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.67 (1H, s, NH), 8.07 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.92 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.88 – 7.83 (2H, m), 7.20 (1H, dd, $J = 12.6, 1.8$ Hz), 7.13 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 7.02 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 5.00 (1H, s), 3.76 (3H, s, -OCH₃), 2.31 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.8, 177.1, 161.9, 159.6, 159.3, 151.0 (1C, d, $J = 243.0$ Hz), 149.9, 146.0 (1C, d, $J = 10.5$ Hz), 135.7 (1C, d, $J = 4.5$ Hz), 134.5, 134.2, 131.1, 130.7, 126.1, 125.8, 124.7, 112.4, 116.2 (1C, d, $J = 18.0$ Hz), 113.5, 100.3, 56.0 (-OCH₃), 32.9, 21.0 (CH₃).

HRMS: Tìm thấy m/z 419.1052 [M+H]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₆FN₂O₅]⁺: 419.1038) và m/z 441.0861 [M+Na]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₅FN₂NaO₅]⁺: 441.0858).

Hợp chất 125h: 5-(2-Fluoro-4-methoxyphenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu nâu-đen, nhiệt độ nóng chảy 225-230°C, hiệu suất phản ứng 76%.

$R_f = 0.60$ (CH₂Cl₂-EtOAc 4:1).

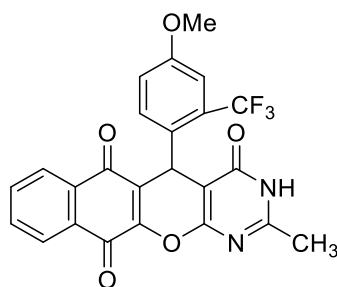
IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 1682, 1671, 1637, 1621, 1594, 1509, 1394, 1294, 1238, 1197, 1152, 1055, 1021, 983, 853, 818, 779, 739, 676, 622, 478.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.63 (1H, s, NH), 8.07 (1H, dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz), 7.90 (1H, dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz), 7.88 – 7.82 (2H, m), 7.24 (1H, t, $J = 9.0$ Hz), 6.69 (1H, dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz), 6.66 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 5.17 (1H, s), 3.70 (3H, s, -OCH₃), 2.31 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.6, 177.2, 161.7, 160.7 (1C, d, $J = 246.3$ Hz), 159.7, 156.6 (1C, d, $J = 11.3$ Hz), 159.2, 149.6, 134.6, 134.1, 131.7 (1C, d, $J = 5.0$ Hz), 131.0, 130.4, 126.1, 125.8, 122.0, 121.3 (1C, d, $J = 13.8$ Hz), 110.1, 101.3, 101.1, 55.5 (-OCH₃), 27.9, 20.9 (CH₃).

HRMS: Tìm thấy m/z 419.1025 [M+H]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₆FN₂O₅]⁺: 419.1038) và m/z 441.0836 [M+Na]⁺ (tính toán [C₂₃H₁₅FN₂NaO₅]⁺: 441.0858).

Hợp chất 125i: 5-(4-Methoxy-2-(trifluoromethyl)phenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu vàng-nâu, nhiệt độ nóng chảy 269-271°C, hiệu suất phản ứng 72%, $R_f = 0.61$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

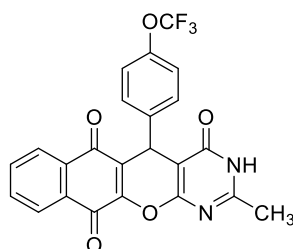
IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3420, 2770, 1685, 1670, 1636, 1594, 1505, 1423, 1393, 1312, 1242, 1202, 1157, 1113, 1035, 931, 873, 793, 721, 604.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.52 (1H, s, NH), 8.07 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.89 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.87 – 7.82 (2H, m), 7.32 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.06 – 7.04 (2H, m), 5.59 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 3.75 (3H, s, -OCH₃), 2.30 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.7, 177.2, 161.6, 159.4, 159.3, 157.7, 149.7, 134.6, 134.1, 133.1, 131.0, 130.5, 126.0, 125.9, 124.5 (1C, q, $J = 272.5$ Hz, CF₃), 122.9, 117.8, 111.8, 100.7, 55.4 (-OCH₃), 30.0, 21.0 (CH₃).

HRMS: Tìm thấy m/z 469.0990 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5]^+$: 469.1006) và m/z 491.0806 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán $[\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2\text{NaO}_5]^+$: 491.0826).

Hợp chất 125j: 2-Methyl-5-(4-(trifluoromethoxy)phenyl)-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu nâu-đỏ, nhiệt độ nóng chảy 229-231°C, hiệu suất phản ứng 79%.

$R_f = 0.62$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

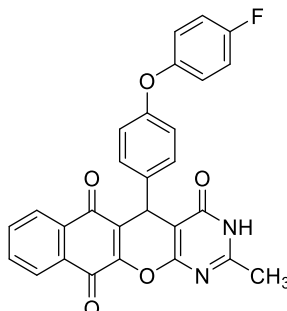
IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3423, 3056, 2915, 1681, 1637, 1611, 1560, 1519, 1500, 1463, 1433, 1345, 1322, 1263, 1158, 1056, 1026, 1006, 925, 851, 822, 772, 705, 595, 489.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.70 (1H, s, NH), 8.08 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.92 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.89 – 7.83 (2H, m), 7.51 (2H, dt, $J = 9.0, 2.4$ Hz), 7.24 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 5.11 (1H, s), 2.31 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 182.7, 177.0, 161.9, 159.7, 159.5, 150.1, 147.1, 141.7, 134.5, 134.2, 131.0, 130.7, 130.5 (2C), 126.1, 125.9, 122.3, 120.7 (2C), 120.0 (1C, q, $J = 255.0$ Hz, CF₃), 100.2, 33.4, 21.0 (CH₃).

HRMS: Tìm thấy m/z 455.0845 $[M+H]^+$ (tính toán $[C_{23}H_{14}F_3N_2O_5]^+$: 455.0850) và m/z 477.0668 $[M+Na]^+$ (tính toán $[C_{23}H_{13}F_3N_2NaO_5]^+$: 477.0669).

Hợp chất 125k: 5-(4-(4-Fluorophenoxy)phenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 309-311°C, hiệu suất phản ứng 77%.

$R_f = 0.48$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

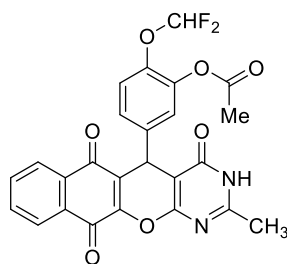
IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} 2771, 1686, 1666, 1638, 1594, 1490, 1389, 1362, 1328, 1296, 1240, 1196, 1148, 1073, 1017, 931, 865, 772, 718, 604, 483.

1H NMR ($DMSO-d_6$, 600 MHz) δ 12.67 (1H, s, NH), 8.07 (1H, dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz), 7.92 (1H, dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz), 7.89 – 7.83 (2H, m), 7.51 (2H, dt, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.18 (2H, t, $J = 9.0$ Hz), 7.02 – 6.99 (2H, m), 6.84 (2H, dt, $J = 9.0, 2.4$ Hz), 5.06 (1H, s), 2.31 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 150 MHz) δ 182.7, 177.1, 161.9, 159.7, 159.2, 158.2 (1C, d, $J = 238.5$ Hz), 156.1, 152.2 (1C, d, $J = 1.5$ Hz), 149.8, 137.3, 134.5, 134.2, 131.0, 130.7, 130.1 (2C), 126.1, 125.8, 122.9, 120.8 (2C, d, $J = 7.5$ Hz), 117.5 (2C), 116.5 (2C, d, $J = 24.0$ Hz), 100.6, 32.9, 21.0 (CH_3).

HRMS: Tìm thấy m/z 481.1208 $[M+H]^+$ (tính toán $[C_{28}H_{18}FN_2O_5]^+$: 481.1195) và m/z 503.0994 $[M+Na]^+$ (tính toán $[C_{28}H_{17}FN_2NaO_5]^+$: 503.1014).

Hợp chất 125l: 2-(Difluoromethoxy)-5-(2-methyl-4,6,11-trioxo-3,5,6,11-tetrahydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidin-5-yl)phenyl acetate



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 279-281°C, hiệu suất phản ứng 67%.

$R_f = 0.47$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1).

IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} 2748, 1774, 1682, 1671, 1637, 1594, 1505, 1394, 1331, 1296, 1265, 1235, 1200, 1157, 1074, 1032, 933, 827, 790, 718, 612.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ 12.71 (1H, s, NH), 8.08 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.92 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.88 – 7.83 (2H, m), 7.38 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.29 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 7.20 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.00 (1H, d, $J = 73.2$ Hz), 5.07 (1H, s), 2.31 (3H, s, CH₃), 2.24 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 182.7, 177.1, 168.3, 161.9, 159.7, 159.6, 150.2, 141.6, 141.1, 140.6, 134.6, 134.3, 131.0, 130.8, 127.4, 126.2, 125.9, 123.8, 122.0, 119.8, 116.5 (1C, t, $J = 257.5$ Hz), 100.1, 33.3, 21.04 (CH₃), 20.3 (CH₃).

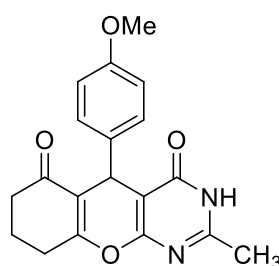
HRMS: Tìm thấy m/z 495.0979 [M+H]⁺ (tính toán [C₂₅H₁₇F₂N₂O₇]⁺: 495.0998) và m/z 517.0794 [M+Na]⁺ (tính toán [C₂₅H₁₆F₂N₂NaO₇]⁺: 517.0818).

2.4. Tổng hợp các hợp chất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine

Hỗn hợp gồm cyclohexan-1,3-dione (5,0 mmol) (**126**), aldehyde (5,0 mmol) (**127**), malononitrile (5,0 mmol) (**72a**), DABCO (1,0 mmol) trong acetonitrile (50 ml) đã được đun hồi lưu trong lò phản ứng vi sóng ở 82°C. Sau 20 phút, acetic anhydride (15,0 mmol) (**117**) và acid sulfuric đặc (2,0 mmol) được thêm vào phản ứng và khuấy ở 120°C trong 15 phút. Sau đó, làm nguội phản ứng đến nhiệt độ phòng, thêm nước, chiết bằng diclomethane. Lớp hữu cơ thu được được rửa bằng nước, và dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng Na₂SO₄, lọc, loại dung môi ở áp suất thấp và tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel sử dụng CH₂Cl₂–EtOAc (4:1), v/v, làm chất rửa giải thu được sản phẩm **142a-k** với hiệu suất từ 63% đến 81%.

Kết quả phổ IR, NMR, HRMS của các dẫn xuất thu được cụ thể như sau:

Hợp chất 142a: 5-(4-methoxyphenyl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno [2,3-*d*]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142a (78%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 268-269°C, hiệu suất phản ứng 78%.

$R_f = 0.48$ (EtOAc/Acetone 1:20).

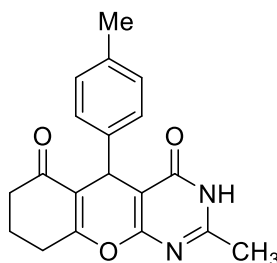
IR (KBr) 3496, 3265, 3102, 3010, 2943, 2785, 1662, 1602, 1510, 1456, 1366, 1302, 1258, 1243, 1202, 1179, 1150, 1125, 1029, 978, 809, 578 cm⁻¹.

^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 13.19 (1H, s, NH), 7.22 (2H, dd, $J = 7.2, 2.4$ Hz), 6.74 (2H, dd, $J = 7.2, 2.4$ Hz), 4.90 (1H, s), 3.72 (3H, s, OCH₃), 2.78 – 2.73 (2H, m), 2.42 – 2.32 (2H, m), 2.35 (3H, s, CH₃), 2.09 – 2.01 (2H, m).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ 196.5, 165.0, 164.7, 160.8, 158.4, 158.2, 135.7, 129.4 (2C), 116.1, 113.5 (2C), 103.0, 55.2, 36.9, 32.1, 27.3, 21.2, 20.3.

HRMS(ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ tính toán: $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_4$: 339.1339, tìm thấy: 339.1340, m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ tính toán: $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{NaO}_4$: 361.1159, tìm thấy: 361.1154.

Hợp chất 142b: 5-(4-methylphenyl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142b (80%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 268-269°C, hiệu suất phản ứng 80%.

R_f = 0.50 (EtOAc/Acetone 1:20).

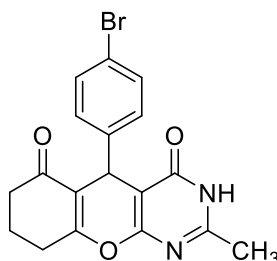
IR (KBr) 3440, 3101, 3038, 2950, 2781, 1656, 1605, 1573, 1479, 1429, 1362, 1304, 1239, 1205, 1179, 1149, 1125, 1064, 1027, 980, 864, 802, 709, 579 cm^{-1} .

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz): δ 12.49 (1H, s, NH), 7.09 (2H, d, J = 7.8 Hz), 7.01 (2H, d, J = 7.8 Hz), 4.67 (1H, s), 2.74 – 2.61 (2H, m), 2.35 – 2.23 (2H, m), 2.24 (3H, s, CH_3), 2.20 (3H, s, CH_3), 2.00 – 1.96 (1H, m), 1.91 – 1.86 (1H, m).

^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 150 MHz): δ 196.2, 165.6, 162.2, 159.9, 158.5, 141.1, 135.5, 128.6 (2C), 127.9 (2C), 115.0, 101.9, 36.5, 31.9, 26.7, 20.9, 20.6, 20.0.

HRMS (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$: 323.1390, tìm thấy: 323.1385, m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{NaO}_3$: 345.1210, tìm thấy: 345.1212.

Hợp chất 142c: 5-(4-bromophenyl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142c (81%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 299-301°C, hiệu suất phản ứng 81%.

R_f = 0.51 (EtOAc/Acetone 1:20).

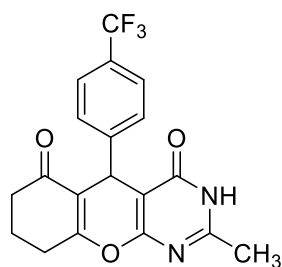
IR (KBr) 2920, 2867, 2785, 2650, 1912, 1795, 1679, 1650, 1598, 1501, 1424, 1366, 1327, 1240, 1205, 1186, 1152, 1106, 1065, 1020, 982, 934, 895 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.55 (1H, s, NH), 7.41 (2H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.18 (2H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 4.68 (1H, s), 2.75 – 2.62 (2H, m), 2.37 – 2.25 (2H, m), 2.26 (3H, s, CH₃), 2.20 (3H, s, CH₃), 2.01 – 1.96 (1H, m), 1.94 – 1.87 (1H, m).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz): δ 196.0, 165.8, 162.0, 159.9, 158.8, 143.2, 130.7 (2C), 130.3 (2C), 119.4, 114.2, 101.1, 36.3, 32.1, 26.6, 20.9, 19.8.

HRMS (ESI+) m/z [M+H]⁺ tính toán cho: C₁₈H₁₆BrN₂O₃: 387.0339 và 389.0319, tìm thấy: 387.0343 và 389.0326, m/z [M+Na]⁺ tính toán cho: C₁₈H₁₅BrN₂NaO₃: 409.0159 và 411.0138, tìm thấy: 409.0162 và 411.0136.

Hợp chất 142d: 2-methyl-5-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142d (78%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 290-291°C, hiệu suất phản ứng 78%.

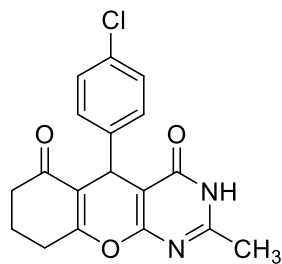
$R_f = 0.49$ (EtOAc/Acetone 1:20).

IR (KBr) 2920, 2867, 2785, 2650, 1912, 1795, 1679, 1650, 1598, 1501, 1424, 1366, 1327, 1240, 1205, 1186, 1152, 1106, 1065, 1020, 982, 934, 895 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.57 (1H, s, NH), 7.59 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.46 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 4.78 (1H, s), 2.77 – 2.65 (2H, m), 2.38 – 2.27 (2H, m), 2.26 (3H, s, CH₃), 2.02 – 1.98 (1H, m), 1.95 – 1.89 (1H, m).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz): δ 196.1, 166.0, 162.0, 160.0, 159.0, 148.4, 128.9, 127.0 (1C, q, $J = 31.5$ Hz), 124.8 (2C, d, $J = 4.5$ Hz), 124.2 (1C, q, $J = 270$ Hz, CF₃), 114.0, 100.8, 36.3, 32.7, 30.6, 26.7, 20.9, 19.8.

Hợp chất 142e: 5-(4-chlorophenyl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142e (79%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 293-295°C, hiệu suất phản ứng 79%.

$R_f = 0.53$ (EtOAc/Acetone 1:20).

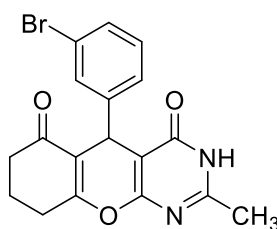
IR (KBr) 3444, 2935, 2842, 2778, 1668, 1638, 1487, 1405, 1369, 1324, 1249, 1237, 1195, 1176, 1144, 1125, 1083, 1009, 950, 857, 802, 743, 593, 578, 518 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.54 (1H, s, NH), 7.27 (2H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz), 7.24 (2H, dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz), 4.70 (1H, s), 2.75 – 2.63 (2H, m), 2.37 – 2.25 (2H, m), 2.26 (3H, s, CH_3), 2.02 – 1.96 (1H, m), 1.94 – 1.87 (1H, m).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz): δ 196.1, 165.8, 162.1, 160.0, 158.8, 142.9, 131.0, 129.9 (2C), 127.9 (2C), 114.4, 101.2, 36.4, 32.1, 26.7, 20.9, 19.9.

HRMS (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_3$: 343.0844, tìm thấy: 343.0842, m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{NaO}_3$: 365.0664, tìm thấy: 365.0651.

Hợp chất 142f: 5-(3-bromophenyl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142f (77%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 300-302°C, hiệu suất phản ứng 77%.

$R_f = 0.62$ (EtOAc/Acetone 1:20).

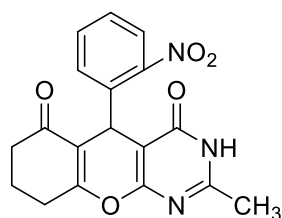
IR (KBr) 3437, 2937, 2837, 2758, 1667, 1638, 1604, 1564, 1493, 1469, 1417, 1370, 1329, 1240, 1196, 1147, 1127, 1069, 972, 825, 785, 696, 672, 608, 586 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.57 (1H, s, NH), 7.40 (1H, s), 7.34 – 7.31 (1H, m), 7.19 (2H, d, $J = 4.8$ Hz), 4.68 (1H, s), 2.76 – 2.71 (1H, m), 2.68 – 2.62 (1H, m), 2.34 – 2.25 (2H, m), 2.25 (3H, s, CH_3), 2.01 – 1.96 (1H, m), 1.93 – 1.87 (1H, m).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 196.1, 166.0, 162.0, 160.0, 158.9, 146.5, 130.9, 130.2, 129.3, 127.0, 121.1, 114.1, 100.9, 36.3, 32.4, 26.7, 20.9, 19.8.

HRMS (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BrN}_2\text{O}_3$: 387.0339 và 389.0319, tìm thấy: 387.0333 và 389.0320, m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{NaO}_3$: 409.0159 và 411.0138, tìm thấy: 409.0146 và 411.0127.

Hợp chất 142g: 2-methyl-5-(2-nitrophenyl)-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione

**142g** (73%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 273-275°C, hiệu suất phản ứng 73%.

$R_f = 0.60$ (EtOAc/Acetone 1:20).

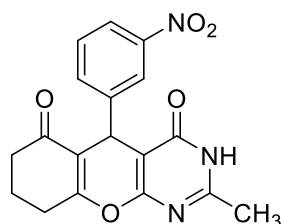
IR (KBr) 3444, 2937, 2872, 2781, 1674, 1646, 1607, 1532, 1424, 1364, 1327, 1243, 1190, 1154, 1067, 982, 861, 829, 786, 733, 702, 581 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.47 (1H, s, NH), 7.81 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.55 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.36 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 5.64 (1H, s), 2.70 – 2.65 (2H, m), 2.34 – 2.29 (1H, m), 2.25 (3H, s, CH_3), 2.25 – 2.20 (1H, m), 2.00 – 1.96 (1H, m), 1.92 – 1.86 (1H, m).

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 196.0, 166.1, 161.8, 159.8, 159.1, 149.1, 138.0, 132.9, 130.7, 127.3, 123.9, 113.6, 100.6, 36.3, 28.4, 26.7, 20.9, 19.8.

HRMS (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_5$: 354.1085, tìm thấy: 354.1083, m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ tính toán cho: $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{NaO}_5$: 376.0904, tìm thấy: 376.0893.

Hợp chất 142h: 2-methyl-5-(3-nitrophenyl)-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d] pyrimidine-4,6(3H)-dione

**142h** (75%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 291-293°C. hiệu suất phản ứng 73%.

$R_f = 0.58$ (EtOAc/Acetone 1:20).

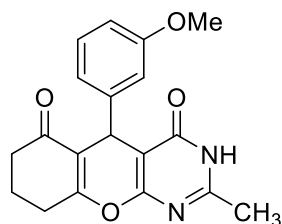
IR (KBr) 3478, 3373, 3094, 3015, 2938, 2877, 2794, 1677, 1663, 1600, 1525, 1429, 1350, 1324, 1241, 1203, 1186, 1154, 1123, 985, 917, 825, 772, 731, 683, 578 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.57 (1H, s, NH), 8.07 (1H, t, $J = 1.8$ Hz), 8.03 – 8.00 (1H, m), 7.69 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.54 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 4.83 (1H, s), 2.79 – 2.73 (1H, m), 2.72 – 2.66 (1H, m), 2.38 – 2.32 (1H, m), 2.31 – 2.26 (1H, m), 2.27 (3H, s, CH_3), 2.04 – 1.97 (1H, m), 1.96 – 1.89 (1H, m).

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 150 MHz): δ 196.1, 166.3, 162.0, 160.0, 159.2, 147.4, 145.9, 134.8, 129.5, 122.7, 121.5, 113.7, 100.5, 36.2, 32.8, 26.7, 20.9, 19.8.

HRMS (ESI+) m/z $[M+H]^+$ tính toán cho: $C_{18}H_{16}N_3O_5$: 354.1085, tìm thấy: 354.1073, m/z $[M+Na]^+$ tính toán cho: $C_{18}H_{15}N_3NaO_5$: 376.0904, tìm thấy: 376.0887.

Hợp chất 142i: 5-(3-methoxyphenyl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno [2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142i (76%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 282-283°C, hiệu suất phản ứng 76%.

R_f = 0.65 (EtOAc/Acetone 1:20).

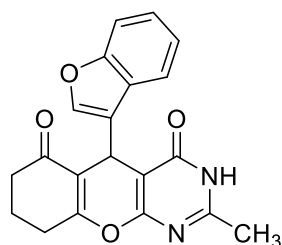
IR (KBr) 3429, 3000, 2936, 2869, 1770, 1664, 1635, 1596, 1487, 1460, 1363, 1325, 1314, 1243, 1188, 1160, 1036, 980, 823, 780, 693, 617, 572, 457 cm^{-1} .

1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.52 (1H, s, NH), 7.14 (1H, t, J = 7.8 Hz), 6.77 (1H, d, J = 1.6 Hz), 6.76 (1H, td, J = 7.8 Hz), 6.72 (1H, dd, J = 7.8, 2.4 Hz), 4.71 (1H, s), 3.70 (3H, s), 2.76 – 2.71 (1H, m), 2.68 – 2.63 (1H, m), 2.36 – 2.27 (2H, m), 2.25 (3H, s, CH_3), 2.02 – 1.97 (1H, m), 1.93 – 1.89 (1H, m).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz): δ 196.1, 165.7, 162.1, 160.0, 158.9, 158.5, 145.3, 129.0, 120.0, 114.6, 114.4, 11.2, 101.5, 54.8, 36.4, 32.1, 26.6, 20.9, 19.9.

HRMS (ESI+) m/z $[M+H]^+$ tính toán cho: $C_{19}H_{19}N_2O_4$: 339.1339, tìm thấy: 339.1333, m/z $[M+Na]^+$ tính toán cho: $C_{19}H_{18}N_2NaO_4$: 361.1159, tìm thấy: 361.1152.

Hợp chất 142j: 5-(benzofuran-3-yl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6(3H)-dione.



142j (67%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 325-326°C, hiệu suất phản ứng 67%.

R_f = 0.42 (EtOAc/Acetone 1:20).

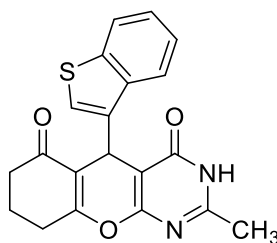
IR (KBr) 3428, 2859, 2781, 1673, 1638, 1607, 1449, 1364, 1328, 1239, 1190, 1153, 1127, 1099, 1080, 1028, 979, 950, 854, 802 cm^{-1} .

1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ 12.58 (1H, s, NH), 7.77 (1H, s), 7.59 (1H, dd, J = 7.2, 0.6 Hz), 7.49 (1H, dd, J = 7.2, 0.6 Hz), 7.25 (1H, td, J = 7.2, 1.2 Hz), 7.21

(1H, td, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 4.98 (1H, s), 2.79 – 2.73 (1H, m), 2.71 – 2.65 (1H, m), 2.35 – 2.25 (2H, m), 2.25 (3H, s, CH₃), 2.02 – 1.96 (1H, m), 1.92 – 1.86 (1H, m).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 196.1, 166.0, 162.1, 160.3, 158.7, 154.7, 143.6, 126.3, 123.9, 122.5, 122.1, 120.0, 113.2, 111.3, 100.0, 36.3, 26.6, 22.5, 20.9, 19.9.

Hợp chất 142k: 5-(benzo[*b*]thiophen-3-yl)-2-methyl-5,7,8,9-tetrahydro-4H-chromeno[2,3-*d*]pyrimidine-4,6(3H)-dione



142k (63%)

Chất rắn màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 323-324°C, hiệu suất phản ứng 63%.

$R_f = 0.48$ (EtOAc/Acetone 1:20).

IR (KBr) 3422, 3050, 3005, 2939, 2866, 2775, 1671, 1634, 1601, 1490, 1457, 1424, 1363, 1325, 1312, 1238, 1189, 1150, 1126, 1055, 1026, 979, 907, 890, 797, 767, 742, 575 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 12.48 (1H, s, NH), 8.14 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.88 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.40 (1H, td, $J = 7.8, 1.2$ Hz), 7.36 (1H, s), 7.32 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 5.18 (1H, s), 2.78 – 2.72 (1H, m), 2.71 – 2.65 (1H, m), 2.35 – 2.28 (1H, m), 2.27 – 2.22 (1H, m), 2.25 (3H, s, CH₃), 2.02 – 1.95 (1H, m), 1.92 – 1.84 (1H, m).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz): δ 196.5, 166.0, 162.6, 160.5, 158.9, 140.1, 139.9, 138.3, 125.7, 124.4, 124.2, 123.4, 123.0, 115.2, 101.9, 36.9, 27.2, 26.6, 21.4, 20.4.

HRMS (ESI+) m/z [M+Na]⁺ tính toán cho: C₂₀H₁₆N₂NaO₃S: 387.0774, tìm thấy: 387.0755.

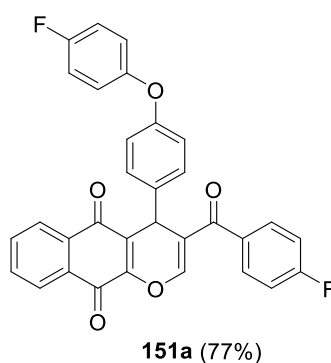
2.5. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone

Các dẫn xuất pyranonaphthoquinone mới đã được tổng hợp từ 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**), các benzaldehyde (**143**) và enaminone (**146**) trong môi trường acid axetic băng trong lò phản ứng vi sóng. Các sản phẩm của phản ứng được xác định bằng phổ IR, ¹H NMR, ¹³C NMR và phổ khối. Quá trình tổng hợp các pyranonaphthoquinone mới diễn ra thông qua các bước: ngưng tụ Knoevenagel, cộng Michael, vòng hóa nội phân tử, loại bỏ nhóm amin, chuyển vị proton và đồng phân hóa liên kết đôi.

Quy trình tổng hợp chung: Hỗn hợp gồm 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**) (0.5 mmol), benzaldehyde (**143**) (0.5 mmol), (*E*)-3-(dimethylamino)-1-(4-fluorophenyl)prop-2-en-1-one **7** (0.5 mmol) (**146**) trong 10 ml acetic acid băng được đun khuấy ở 110°C trong lò vi sóng trong khoảng 30-60 phút. Sau đó, làm nguội phản ứng đến nhiệt độ phòng, thêm 10 ml nước, chiết bằng diclometane (3 x 20 ml). Lớp hữu cơ thu được được gộp lại, làm khan bằng Na₂SO₄, lọc, loại dung môi ở áp suất thấp và tinh chế bằng sắc ký cột silicagel sử dụng hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/EtOAc (2:5) thu được sản phẩm **151a-e** với hiệu suất từ 71% đến 79%.

Kết quả phổ IR, NMR của các dẫn xuất thu được cụ thể như sau:

Hợp chất 151a: 3-(4-Fluorobenzoyl)-4-(4-(4-fluorophenoxy)phenyl)-4H-benzo[*g*]chromene-5,10-dione



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 270°C, hiệu suất phản ứng 77%.

IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3097, 2924, 2854, 1732, 1660, 1638, 1602, 1495, 1463, 1360, 1308, 1243, 1214, 1194, 973, 929, 849, 760.

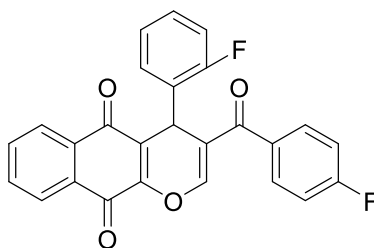
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 8.16 (1H, t, *J* = 4.8 Hz), 8.05 (1H, t, *J* = 4.8 Hz), 7.76 – 7.74 (2H, m), 7.64 (2H, dd, *J* = 8.4, 5.4 Hz), 7.47 (1H, s, H-2), 7.38 (2H, dt, *J* = 8.4, 1.8 Hz), 7.13 (2H, t, *J* = 8.4 Hz), 6.99 (2H, t, *J* = 9.0 Hz), 6.94 – 6.90 (2H, m), 6.86 (2H, dt, *J* = 9.0, 2.4 Hz) 5.40 (1H, s, H-4).

¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz), δ (ppm): 191.8, 183.0, 177.8, 165.3 (CF, d, *J* = 253.5 Hz), 159.0 (CF, d, *J* = 240.0 Hz), 157.2, 152.2, 149.8, 148.9, 136.7, 134.6, 133.9, 133.8, 131.8, 131.3 (2C, d, *J* = 7.5 Hz), 130.6, 130.1 (2C), 126.7, 126.6, 124.0, 121.0 (2C, d, *J* = 9.0 Hz), 120.7, 118.0 (2C), 116.3 (2C, d, *J* = 22.5 Hz), 115.8 (2C, d, *J* = 21.0 Hz), 33.9.

Hợp chất 151b: 3-(4-Fluorobenzoyl)-4-(2-fluorophenyl)-4H-benzo[*g*]chromene-5,10-dione

Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 279°C, hiệu suất phản ứng 74%.

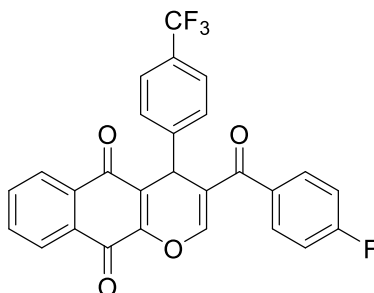
IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100, 1680, 1662, 1635, 1600, 1492, 1455, 1355, 1312, 1300, 1240, 1229, 1196, 1098, 971, 930, 950, 790, 755.

**151b** (74%)

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 8.16 – 8.14 (1H, m), 8.03 – 8.01 (1H, m), 7.75 – 7.71 (2H, m), 7.64 (2H, dd, $J = 8.4, 4.8$ Hz), 7.52 (1H, td, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.44 (1H, s, H-2), 7.21 – 7.16 (1H, m), 7.11 (2H, t, $J = 8.4$ Hz), 7.10 – 7.08 (1H, m), 6.99 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 5.55 (1H, d, $J = 0.6$ Hz, H-4).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz), δ (ppm): 191.8, 183.0, 177.7, 165.3 (CF, d, $J = 252.0$ Hz), 161.5 (CF, d, $J = 247.5$ Hz), 150.4, 149.6, 134.6, 133.8, 131.9 (1C, d, $J = 3.0$ Hz), 131.7, 131.4 (2C, d, $J = 9.0$ Hz), 130.6, 129.6 (1C, d, $J = 9.0$ Hz), 128.5 (1C, d, $J = 12.0$ Hz), 126.6, 126.6, 124.4, 124.4, 122.4, 118.8, 116.1 (1C, d, $J = 21.0$ Hz), 115.8 (2C, d, $J = 22.5$ Hz), 30.7.

Hợp chất 151c: *3-(4-Fluorobenzoyl)-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-4H-benzo[g]chromene-5,10-dione*

**151c** (73%)

Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 265°C , hiệu suất phản ứng 73%.

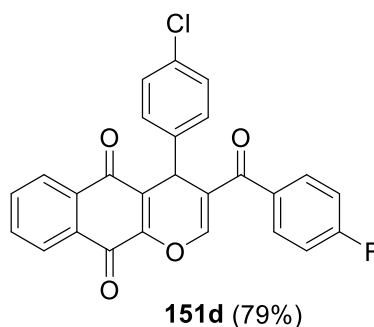
IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3101, 1680, 1659, 1643, 1600, 1506, 1360, 1307, 1274, 1198, 1158, 1058, 973, 928, 848, 787, 767, 721.

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 8.16 (1H, dd, $J = 5.4, 3.6$ Hz), 8.04 (1H, dd, $J = 5.4, 3.6$ Hz), 7.76 – 7.74 (2H, m), 7.63 (2H, dd, $J = 8.4, 5.4$ Hz), 7.51 (1H, s, H-2), 7.48 (2H, dt, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 7.13 (4H, d, $J = 8.4$ Hz), 5.44 (1H, s, H-4).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz), δ (ppm): 191.6, 182.9, 177.7, 165.4 (CF, d, $J = 246.0$ Hz), 150.2, 149.1, 148.5, 140.7, 134.7, 134.0, 133.7, 131.7, 131.3 (2C, d, $J = 9.0$ Hz), 130.6, 130.2 (2C), 126.8, 126.7, 123.7, 121.1 (2C), 120.4, 120.3 (CF_3 , q, $J = 260$ Hz), 116.0 (2C, d, $J = 21.0$ Hz), 34.1.

Hợp chất 151d: *4-(4-Chlorobenzoyl)-3-(4-fluorophenyl)-4H-benzo[g]chromene-5,10-dione*

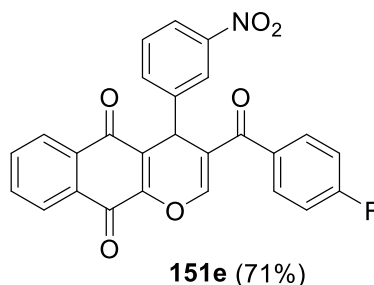
Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 275°C , hiệu suất phản ứng 79%.



IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100, 1659, 1643, 1602, 1506, 1360, 1306, 1274, 1199, 1159, 1058, 973, 728, 850, 720. ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 8.15 (1H, dd, $J = 3.0$ Hz, $J = 5.4$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 3.6$ Hz, $J = 6.0$ Hz), 7.74 (2H, dd, $J = 3.6$ Hz, $J = 5.4$ Hz), 7.62 (2H, dd, $J = 5.4$ Hz, $J = 9.0$ Hz), 7.48 (1H, s), 7.39 (2H, d, $J = 6.6$ Hz), 7.26 (2H, dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 6.0$ Hz), 7.12 (2H, t, $J = 8.4$ Hz), 5.34 (1H, s).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz), δ (ppm): 191.6, 182.9, 177.7, 166.2, 164.5, 149.9, 149.1, 140.6, 134.7, 134.0, 133.7, 133.5, 131.7, 131.4, 131.3, 130.6, 130.1, 129.0, 126.7, 126.6, 123.6, 120.3, 115.9, 115.8, 34.2.

Hợp chất 151e: 3-(4-Fluorobenzoyl)-4-(2-nitrophenyl)-4H-benzo[g]chromene-5,10-dione



Chất rắn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 264°C , hiệu suất phản ứng 71%.

IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3101, 1680, 1659, 1643, 1600, 1506, 1360, 1307, 1274, 1198, 1157, 1058, 973, 929, 849, 787, 767, 721. ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz): $\delta =$ 8.25 (1H, t, $J = 2.4$ Hz), 8.18-8.17 (1H, m), 8.08-8.06 (1H, m), 8.03-8.01 (1H, m), 7.91 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.77-7.75 (2H, m), 7.64-7.62 (2H, m), 7.59 (1H, s), 7.50 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.15-7.12 (2H, m), 5.53 (1H, s).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz): $\delta =$ 191.4, 182.8, 177.4, 166.3, 164.6, 150.8, 149.3, 148.7, 144.2, 135.4, 134.8, 134.2, 133.4, 133.4, 131.5, 131.3, 130.6, 129.5, 126.8, 126.7, 123.3, 122.8, 122.7, 119.6, 116.1, 115.9, 34.7.

2.6. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

2.6.1. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào *in vitro*

a) Nguyên tắc xác định

Hoạt tính gây độc tế bào được xác định bằng thuốc thử MTT, là phương pháp lần đầu tiên được Tim Mosman sử dụng để đánh giá hoạt tính gây độc tế bào dựa trên

khả năng tế bào sống khử muối tetrazolium MTT (màu vàng) thành tinh thể formazan (màu tím) nhờ enzym dehydrogenase ty thể [79]. Sản phẩm formazan được hòa tan bằng DMSO và đo mật độ quang tại bước sóng 540 nm, số lượng tế bào sống sót tỉ lệ thuận với cường độ màu của formazan. Hoạt tính gây độc được biểu thị bằng giá trị IC_{50} (nồng độ hợp chất ức chế 50% sự phát triển tế bào) [80].

b) Chuẩn bị tiến hành thí nghiệm

Các dòng tế bào thử nghiệm bao gồm: tế bào ung thư biểu mô KB (CCL - 17TM), tế bào ung thư gan HepG2 (HB - 8065TM), tế bào ung thư phổi A549 (CCL - 185TM), và tế bào ung thư vú MCF-7 (HTB - 22TM), cùng tế bào lành Hek-293 (ATCC® CRL - 1573TM), được đặt mua từ các nhà cung cấp có nguồn gốc từ Bảo tàng giống chuẩn Hoa kỳ (ATCC).

Các tế bào được bảo quản trong nitơ lỏng, nuôi cấy trong môi trường DMEM bổ sung 7–10% FBS, 1% kháng sinh và các yếu tố thiết yếu khác. Điều kiện nuôi cấy: 37°C, 5% CO₂, độ ẩm 98%, đảm bảo vô trùng tuyệt đối.

Dùng dung môi DMSO để hoà tan các mẫu thử ở nồng độ ban đầu là 20 mg/ml. Sau đó pha loãng thành 5 dãy có nồng độ theo thứ tự từ cao xuống thấp: 2560, 640, 160, 40 và 10 µg/ml, trên đĩa 96 giếng, tương ứng với nồng độ chất thử trong đĩa thử nghiệm là 128, 32, 8, 2 và 0.5 µg/ml. Sử dụng chất tham chiếu là Ellipticine được pha trong dung môi DMSO ở nồng độ 10 µM [81].

c) Quy trình thí nghiệm

Tế bào được trypsin hóa, đếm mật độ ($1-3 \times 10^4$ tế bào/ml) và phân bố vào giếng thí nghiệm. Sau 72 giờ ủ cùng mẫu thử, bổ sung MTT (5 mg/ml), tiếp tục ủ 4 giờ. Tinh thể formazan được hòa tan trong DMSO và đo quang tại 540 nm.

Thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần trong cùng điều kiện

d) Xử lý kết quả

Giá trị IC_{50} được xác định thông qua giá trị % ức chế tế bào phát triển và phần mềm máy tính chuyên dụng Rawdata.

$$\% \text{ức chế} = \frac{OD_{\text{đối chứng}(+)} - OD_{\text{mẫu}}}{OD_{\text{đối chứng}(+)} - OD_{\text{đối chứng}(-)}} \times 100\%$$

$$IC_{50} = High_{Conc} - \frac{(High_{Inh\%} - 50) \times (High_{Conc} - Low_{Conc})}{High_{Inh\%} - Low_{Inh\%}}$$

(Trong đó:

High_{Conc}/Low_{Conc}: chất thử ở nồng độ cao/chất thử thấp ở nồng độ thấp;

High_{Inh%}/Low_{Inh%}: % ức chế ở nồng độ cao /% ức chế ở nồng độ thấp).

e) *Kết quả đánh giá hoạt tính*

Giá trị IC_{50} được tính từ % ức chế tế bào phát triển. Thông thường giá $IC_{50} \leq 20$ $\mu\text{g/ml}$ (dịch chiết thô) hoặc $IC_{50} \leq 4$ $\mu\text{g/ml}$ (chất tinh khiết) được đánh giá là có hoạt tính gây độc yếu hoặc không có hoạt tính gây độc các tế bào ung thư.

2.6.2. Đánh giá hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE)

a) Nguyên lý

Hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE) được xác định dựa trên phương pháp Ellman, thông qua việc theo dõi sự giảm tốc độ thủy phân cơ chất acetylthiocholine iodide dưới xúc tác của AChE. Trong phản ứng này, thiocholine được tạo thành tiếp tục phản ứng với thuốc thử 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) tạo sản phẩm 5-thio-2-nitrobenzoate có màu vàng, hấp thụ đặc trưng tại bước sóng 412 nm.

Sự có mặt của hợp chất ức chế làm giảm lượng thiocholine sinh ra, dẫn đến giảm độ hấp thụ quang học của sản phẩm phản ứng. Mức độ giảm hấp thụ tỷ lệ thuận với khả năng ức chế AChE của hợp chất khảo sát. Phần trăm ức chế và giá trị IC_{50} được xác định từ đường cong liều – đáp ứng so với mẫu đối chứng, qua đó đánh giá tiềm năng của các hợp chất như những chất ức chế AChE trong định hướng nghiên cứu điều trị các bệnh thoái hóa thần kinh, đặc biệt là bệnh Alzheimer. Thử nghiệm được tiến hành tại Phòng Hóa sinh Ứng dụng, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.

b) Quy trình thực nghiệm

Hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE) của các hợp chất tổng hợp được đánh giá *in vitro* theo phương pháp Ellman cải tiến, sử dụng đĩa vi giếng 96 giếng [82]. Các dung dịch phản ứng bao gồm dung dịch đệm phosphate, dung dịch enzym AChE, thuốc thử Ellman 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) và cơ chất acetylthiocholine iodide (ATChI).

Các hợp chất thử nghiệm được hòa tan ban đầu trong DMSO để thu dung dịch gốc, sau đó pha loãng bằng dung dịch đệm nhằm tạo các nồng độ khảo sát khác nhau, đảm bảo hàm lượng DMSO cuối cùng trong hỗn hợp phản ứng không ảnh hưởng đến hoạt tính enzym. Thử nghiệm được tiến hành trên đĩa 96 giếng; mỗi giếng phản ứng được bổ sung lần lượt dung dịch đệm, DTNB và dung dịch mẫu thử. Sau đó, dung dịch AChE được thêm vào và hỗn hợp được tiến ủ ở 37 °C trong một khoảng thời gian xác định. Phản ứng được khởi động bằng cách bổ sung cơ chất ATChI và tiếp tục ủ ở 37 °C.

Sự hình thành sản phẩm màu vàng 5-thio-2-nitrobenzoate được theo dõi bằng cách đo mật độ quang tại bước sóng 412 nm trên máy đọc đĩa vi giếng [82]. Giếng

đối chứng âm được chuẩn bị tương tự nhưng thay dung dịch mẫu thử bằng dung dịch đệm phản ứng; giếng đối chứng dung môi chứa cùng hàm lượng DMSO như các giếng thử. Donepezil được sử dụng làm chất tham chiếu trong phép thử ức chế AChE.

Phần trăm ức chế hoạt tính enzym được tính theo công thức:

$$\% \text{ức chế} = \frac{A_{\text{đối chứng}} - A_{\text{mẫu}}}{A_{\text{đối chứng}}} \times 100\%$$

Giá trị IC_{50} (nồng độ gây ức chế 50 % hoạt tính enzym AChE) được xác định từ đường cong liều – đáp ứng bằng phương pháp hồi quy phi tuyến sử dụng phần mềm TableCurve [83].

2.6.3. Nghiên cứu Docking phân tử

Mục tiêu: Dự đoán cơ chế tương tác của các hợp chất với protein đích, bao gồm tubulin (vị trí gắn colchicine), procaspase-6 (vị trí ion Zn), và CDK2 (túi gắn ATP).

Phương pháp: Cấu trúc protein thu thập từ Protein Data Bank (PDB). Các phối tử được dựng hình 3D và tối ưu hình học bằng MOE hoặc ICM-Pro. Vị trí gắn được xác định dựa trên dữ liệu crystal structure và giả thuyết ba vùng Massaroti.

Chất chuẩn: Colchicine (chống tubulin), PAC-1 (kích hoạt procaspase), roscovitine (ức chế CDK2).

Đánh giá: Ái lực gắn kết (ΔG) được tính bằng scoring function GBVI/WSA hoặc ICM-Pro. Các thông số như liên kết hydro, tương tác kỵ nước, π - π stacking, và ion-metal coordination được phân tích. Kết quả docking cho phép dự đoán cơ chế tác động phân tử, làm cơ sở định hướng phát triển thuốc.

2.6.4. Dự đoán đặc tính “giống thuốc” và ADMET

Mục tiêu: Đánh giá khả năng phát triển thành thuốc của các hợp chất thông qua dự đoán đặc tính dược động học và độc tính.

Phương pháp: Sử dụng ADMETlab 3.0 (<https://admetlab3.scbdd.com/>) với dữ liệu SMILES [82].

Các thông số:

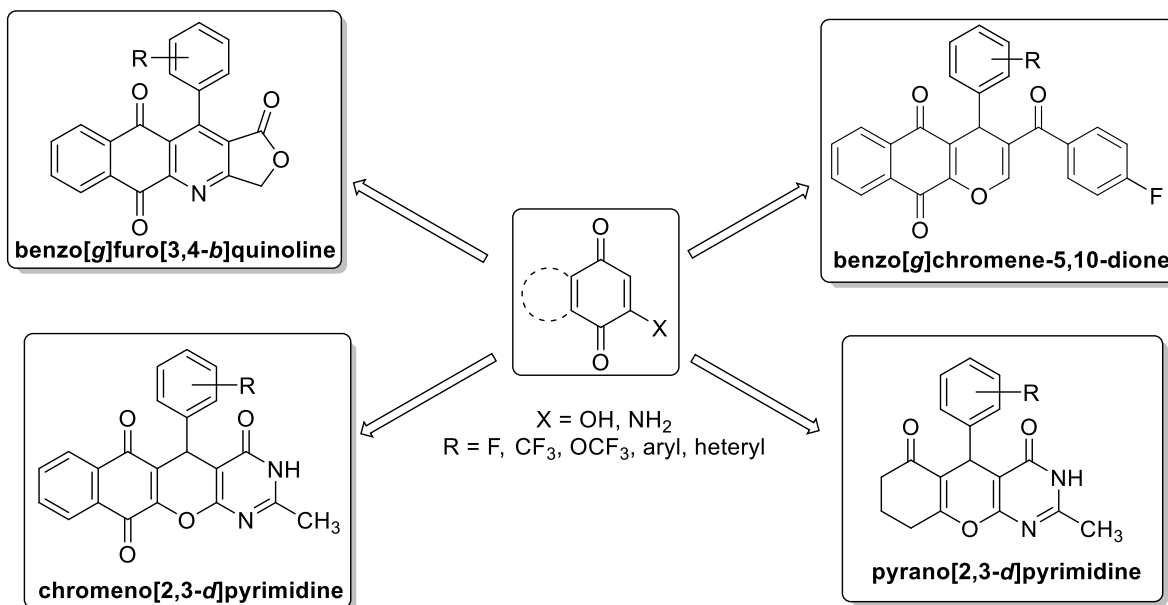
- Hấp thu: độ tan trong nước, hấp thu ruột non (HIA), thẩm Caco-2.
- Phân bố: gắn kết protein huyết tương (PPB), thể tích phân bố, khả năng vượt qua hàng rào máu não (BBB).
- Chuyển hóa: dự đoán tương tác với CYP450 (ức chế/cảm ứng các isoenzym chính).
- Thải trừ: độ thanh thải toàn phần, thời gian bán thải.
- Độc tính: dự đoán LD_{50} , độc tính trên gan (hepatotoxicity), độc gen (genotoxicity), và nguy cơ gây quái thai (teratogenicity).

Ngoài ra, các hợp chất được kiểm tra theo quy tắc Lipinski (rule of five) và các tiêu chí bổ sung (Veber, Ghose) để đánh giá tính chất “giống thuốc”. Những hợp chất vừa có ái lực gắn kết cao, vừa đạt tiêu chuẩn ADMET và “drug-likeness” được xem là ứng viên tiềm năng cho phát triển dược phẩm.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Mục tiêu của đề tài

Đề tài đặt mục tiêu thiết kế, tổng hợp các dẫn xuất 1-azaanthraquinone, pyranonaphthoquinone, pyrimidine mới bằng phản ứng ngưng tụ Knoevenagel và phản ứng domino đa thành phần của hệ 1,3-diketone (2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, 2-amino-1,4-naphthoquinone, cyclohexan-1,3-dione) và các hợp chất ketone khác (aldehyde thơm, tetronic acid, enamionone) trong điều kiện vi sóng. Luận án thử nghiệm, đánh giá hoạt tính sinh học của các chất tổng hợp được.



Sơ đồ 3.1. Mục tiêu thiết kế tổng hợp của luận án

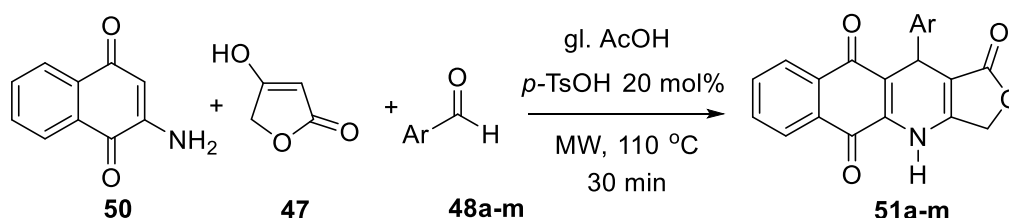
3.2. Tổng hợp các dẫn xuất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone

Như đã trình bày ở phần tổng quan, các hợp chất azaanthraquinone sở hữu nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý. Bên cạnh đó, vòng γ -butyrolactone là một cấu trúc quan trọng được tìm thấy trong nhiều hợp chất nguồn gốc tự nhiên [83, 84]. Các hợp chất γ -butyrolactone có khả năng gây độc tế bào [85, 86], kháng khuẩn [87], kháng viêm [88]. Vòng γ -butyrolactone của các dẫn xuất podophyllotoxin đóng vai trò quan trọng trong các hoạt động sinh học thông qua liên kết với tubulin [89], và các biến đổi của nó dẫn đến giảm hoạt động độc tế bào của các chất tương tự [89, 90]. Nhiều loại thuốc chứa γ -butyrolactone như drospirenone [91], eplerenone [92], và pilocarpine [93] đã được FDA chấp thuận và được sử dụng trong lâm sàng. Với những đặc tính nổi bật của lớp chất azaanthraquinone cùng vòng γ -butyrolactone, luận án tiến hành nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone thông qua hai bước: phản ứng ba thành phần có hỗ trợ vi sóng, sau đó là quá trình oxy hóa – thom hóa.

3.2.1. Tổng hợp các dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline

Dựa vào các công bố trước đây [29, 94] luận án đã tổng hợp lại các dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline **51a-m** bằng phản ứng ba thành phần giữa 2-amino-1,4-naphthoquinone (**50**), tetronic acid (**47**) và aromatic aldehyde **48**.

Phản ứng được thực hiện trong dung môi acetic acid băng với sự có mặt của 20 mol% xúc tác *p*-toluenesulfonic acid ở 110°C trong điều kiện bức xạ vi sóng trong thời gian 30 phút.



Sơ đồ 3.2. Phản ứng tổng hợp các dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline

Sản phẩm **51a-m** của các phản ứng này là nguyên liệu để tổng hợp hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone.

3.2.2. Tổng hợp các hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone và nguyên tố flo

Xét về tầm quan trọng dược lý của aza-anthraquinone và γ -butyrolactone, trong các nghiên cứu trước đây [29, 94], dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinolin **51** chứa dị tố flo là tác nhân chống ung thư mạnh đã được tổng hợp và đánh giá về độc tính tế bào của chúng. Đáng chú ý, dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinolin **51** với $\text{Ar}^1 = 4\text{-(difluoromethoxy)-3-hydroxyphenyl}$ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào nổi bật đối với bốn loại dòng tế bào ung thư ở người (KB, HepG2, A549 và MCF7). Ngoài ra, các mô phỏng phân tử chỉ ra rằng các tương tác kỵ nước với các chất còn lại tại giao diện giữa các tiểu đơn vị α - và β -tubulin góp phần vào sự liên kết mục tiêu. Do sự hiện diện của nhóm N-H, các tương tác xếp chồng π - π đã được quan sát giữa nhóm naphthoquinone và khoang liên kết, nhưng không phải với chất tương tự aza-anthraquinone [94]. Nhóm N-H cũng đóng vai trò là chất cho liên kết hydro, tương tác với các chất còn lại chính trong tiểu đơn vị α -tubulin, chẳng hạn như Thr179 và Val181. Tuy nhiên, vai trò của hydro này trong khung aza-anthraquinone vẫn chưa được làm sáng tỏ. Để khám phá điều này, chúng tôi tập trung vào việc sửa đổi nhóm N-H cho electron bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro nhằm thay đổi cấu hình liên kết hydro và tăng tính kỵ nước của hệ aza-anthraquinone. Tính kỵ nước được tăng cường dự kiến sẽ tăng cường các tương tác xếp chồng bên trong vị trí liên kết colchicine của tubulin, do đó cải thiện ái lực liên kết và có khả năng tăng cường hoạt động sinh học.

Do vậy, luận án đã nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone (**106a-m**) bằng phản ứng oxy hóa các dẫn xuất

dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline (**51a-m**) sử dụng xúc tác 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) - một quinone oxy hóa mạnh đã được công nhận là một tác nhân hiệu quả để thom hóa 1,4-dihydropyridine [95, 96, 97].

Để xác định điều kiện tối ưu cho phản ứng oxy hóa các dẫn xuất **51** → **106**, quá trình khảo sát được tiến hành trên hợp chất đại diện **51d** nhằm thu được sản phẩm **106d**. Hợp chất **51d** được hòa tan trong 3 mL dung môi hữu cơ toluene, sau đó thêm xúc tác DDQ. Phản ứng được thực hiện ở các mức nhiệt độ từ 90 °C đến 120 °C trong khoảng 1–3 giờ, nhằm đánh giá ảnh hưởng của từng yếu tố đến hiệu suất và độ sạch sản phẩm.

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến hiệu suất phản ứng thom hóa 51d → 106d (hệ DDQ/toluene)

TT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Hiệu suất (%)	Ghi chú
1	90	2	28	
2	100	2	39	
3	110	2	47	
4	110	1	35	
5	110	3	42	
6	115	2	45	
7	120	2	42	

Về ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng, các thí nghiệm được thực hiện trong hệ DDQ/toluene cho thấy: ở 90°C, quá trình chuyển hóa diễn ra chậm, còn nhiều nguyên liệu. Khi tăng nhiệt độ lên 100°C, phản ứng bắt đầu tiến triển rõ rệt, hiệu suất đạt khoảng 39%. Ở 110°C, phản ứng diễn ra hoàn toàn sau khoảng 2 giờ, hiệu suất đạt 47%, sản phẩm thu được có màu nâu, tinh khiết và ổn định nhất. Khi nâng lên 115–120 °C, hỗn hợp phản ứng dần biến màu đen, xuất hiện tín hiệu phụ trên TLC, cho thấy sự phân hủy một phần của khung anthraquinone. Tóm lại, khảo sát thời gian phản ứng cho thấy, trong 1 giờ đầu phản ứng chưa hoàn toàn (chỉ đạt 35 %), sau 2 giờ phản ứng kết thúc; kéo dài trên 3 giờ không làm tăng hiệu suất mà xuất hiện tạp nhe do oxy hóa thứ cấp.

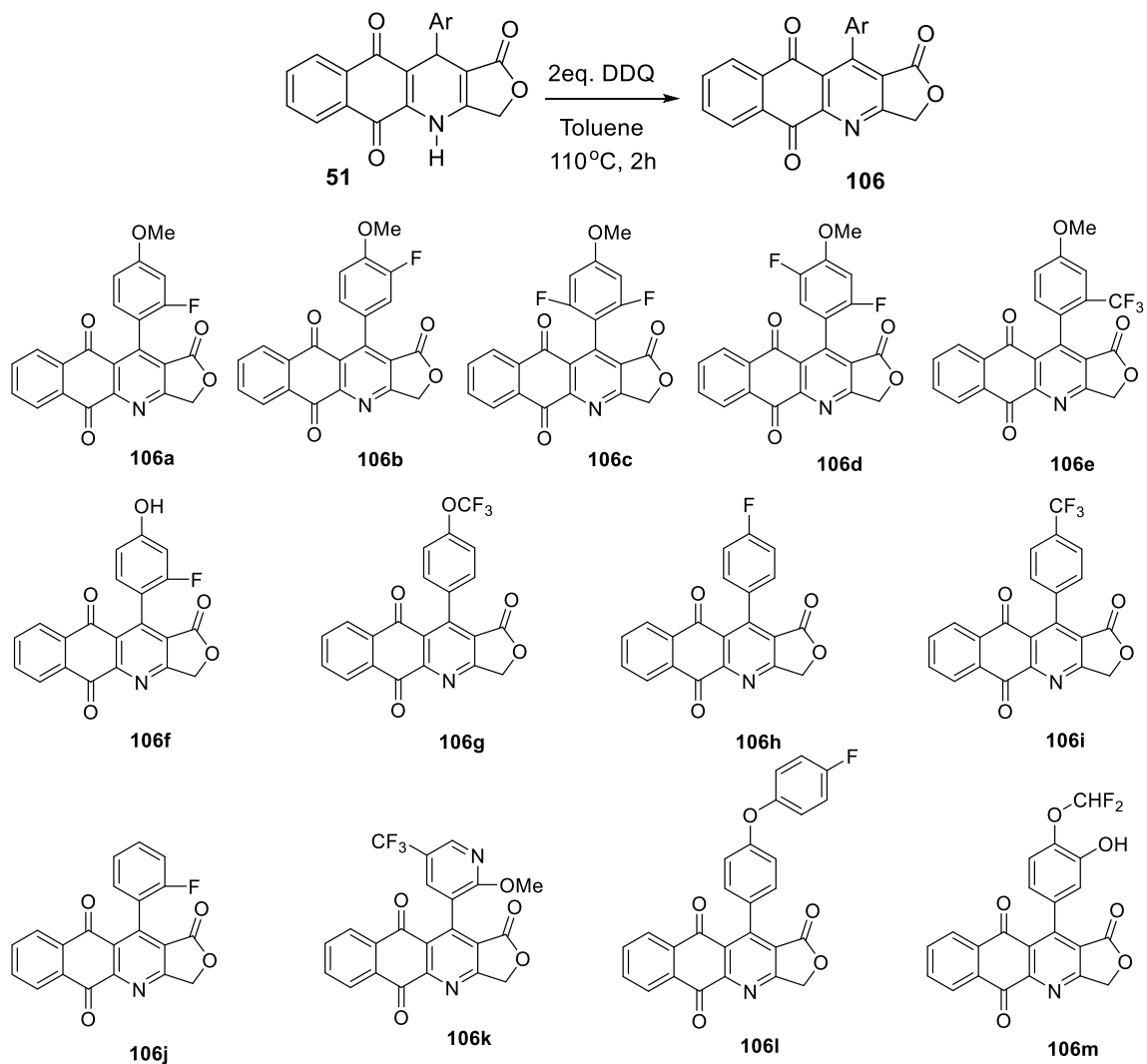
Từ các kết quả trên có thể nhận thấy, hiệu quả phản ứng phụ thuộc đáng kể vào điều kiện nhiệt độ và thời gian phản ứng. Ở nhiệt độ 110°C và thời gian phản ứng trong 2 giờ được xác định là phù hợp nhất, giúp phản ứng diễn ra hoàn toàn mà không gây phân hủy nền anthraquinone.

Quy trình thí nghiệm tối ưu cho hợp chất **106d** được xác định như sau: hợp chất **51d** (1 mmol) được hòa tan trong 3 mL toluene, thêm 2 mmol DDQ, khuấy ở 110 °C trong 2 giờ. Sau khi phản ứng hoàn tất (theo dõi TLC), hỗn hợp được làm nguội, thêm 20 mL nước, chiết bằng CH₂Cl₂ (3 × 20 mL), rửa dung dịch hữu cơ bằng nước muối bão hòa, Na₂SO₄ khan, cô quay dung môi và tinh chế bằng sắc ký cột n-heptan/ethyl

acetate (1:1 v/v) thu được hợp chất **106d** màu nâu, hiệu suất khoảng 47 %. Từ kết quả khảo sát, có thể kết luận rằng: quá trình oxy hóa bằng DDQ trong toluene ở 110°C trong 2 giờ là điều kiện thích hợp và có thể áp dụng chung cho toàn bộ dãy hợp chất **51** → **106a–m**. Sự có mặt của các nhóm hút điện tử như F, CF₃ trong nhân Ar giúp phản ứng diễn ra nhanh hơn và cho hiệu suất cao hơn so với các nhóm đẩy điện tử như OMe hay OH.

Dưới tác dụng của DDQ, các dẫn xuất 1,4-dihydropyridine mang nhóm alkyl, aryl hoặc heteroaryl ở vị trí C4 có thể bị oxy hóa trong điều kiện giản đơn mà không làm mất nhóm thế ở vị trí C4 [95].

Luận án đã tổng hợp được 13 dẫn xuất 1-aza-anthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone **106a–m** chứa nguyên tố flo. Hiệu suất tổng hợp đạt từ 40-49%.



Hình 3.1. Các hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone tổng hợp được

Bảng 3.2. Tính chất vật lý và hiệu suất của dãy chất **106a-m**

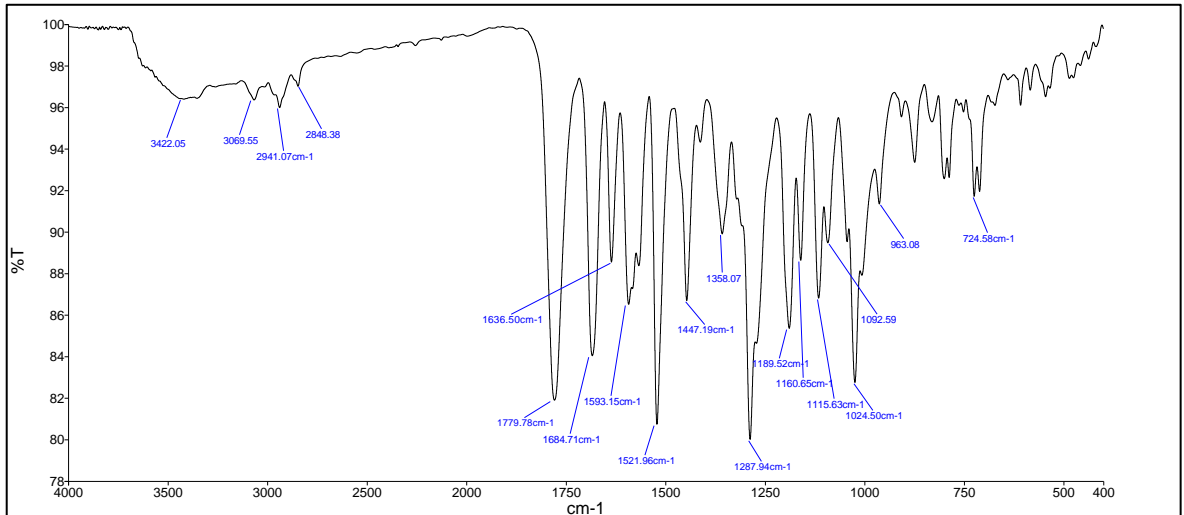
TT	Hợp chất	Ar	Màu sắc	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Hiệu suất (%)
1	106a	2-Fluoro-4-methoxyphenyl	Nâu	210 – 212	43
2	106b	3-Fluoro-4-methoxyphenyl	Nâu	252 – 254	48
3	106c	2,6-Difluoro-4-methoxyphenyl	Nâu	190 – 192	46
4	106d	2,5-Difluoro-4-methoxyphenyl	Nâu	182 – 184	47
5	106e	4-Methoxy-2-(trifluoromethyl)phenyl	Nâu	244 – 246	45
6	106f	2-Fluoro-4-hydroxyphenyl	Nâu	310 – 312	48
7	106g	4-(Trifluoromethoxy)phenyl	Nâu	185 – 187	48
8	106h	4-Fluorophenyl	Nâu	302 – 304	49
9	106i	4-(Trifluoromethyl)phenyl	Nâu	204 – 206	45
10	106j	2-Fluorophenyl	Nâu	251 – 253	43
11	106k	2-Methoxy-5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl	Đỏ nâu	-	40
12	106l	4-(4-Fluorophenoxy)phenyl	Nâu	282 – 284	44
13	106m	4-(Difluoromethoxy)-3-hydroxyphenyl	Nâu	321 – 323	47

Cấu trúc của các sản phẩm **106(a-m)** được xác định bằng các phổ IR, NMR.

Trong dãy **106(a-m)**, hợp chất **106d** (Ar = 2,5-Difluoro-4-methoxyphenyl) được lựa chọn làm mẫu đại diện để phân tích phổ chi tiết vì (i) cấu trúc bao hàm đầy đủ đặc trưng của hệ 1-azaanthraquinone- γ -butyrolactone có chứa flo, (ii) hai nguyên tử flo không tương đương trên nhân Ar và các hằng số ghép H-F/C-F đặc trưng, giúp tăng độ tin cậy khi định vị các vị trí thế và (iii) chất lượng mẫu tốt, độ tinh khiết cao, phù hợp cho đo IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR và HRMS. Bộ dữ liệu thu được từ **106d** được sử dụng làm khung tham chiếu để rút ngắn thời gian gán tín hiệu và chuẩn hóa tiêu chí nhận dạng cấu trúc cho các dẫn xuất còn lại trong dãy.

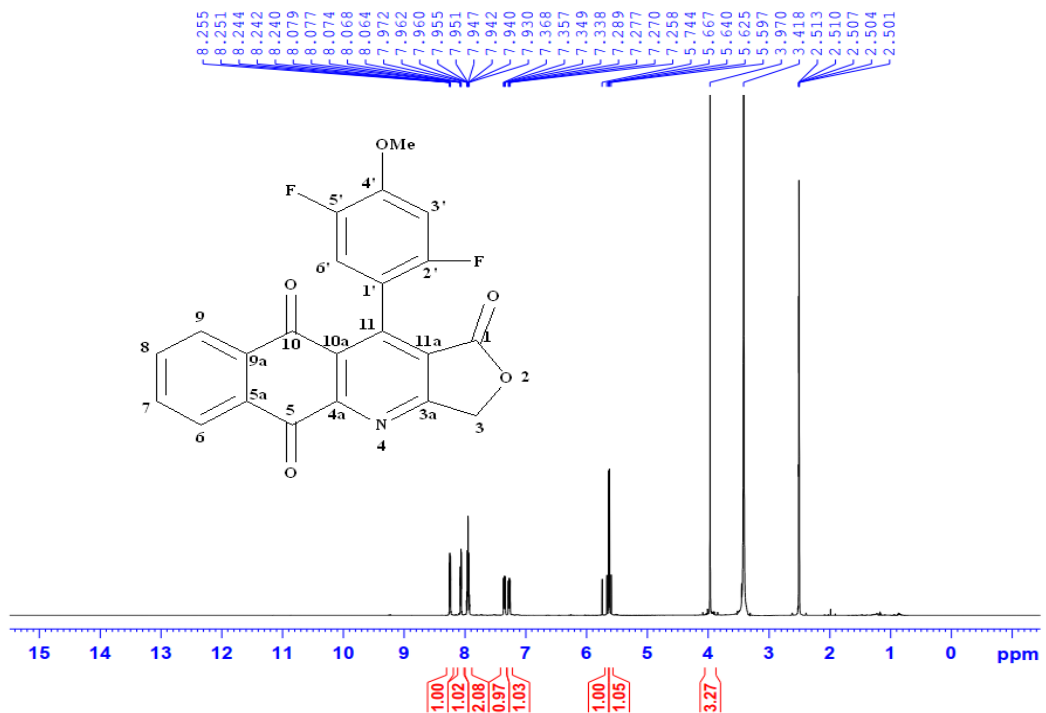
Phổ IR của hợp chất (**106d**) (Hình 3.2) xuất hiện dải C=O lactone sắc, cường độ rất mạnh tại 1779.8 cm^{-1} phù hợp với carbonyl của vòng γ -butyrolactone 5 nguyên tử trong hệ vòng hợp nhất trong khi hai dải C=O quinone liên hợp tại 1684.7 và 1636.5 cm^{-1} cùng các dải tại 1593.2 , 1522.0 và 1447.2 cm^{-1} phản ánh dao động kéo giãn C=C và C=N của khung 1-azaanthraquinone liên hợp. Cụm đỉnh dày trong vùng

1287.9–1092.6 cm^{-1} đặc trưng cho các dao động C–O của lactone đồng thời có mặt liên kết C–F trên nhân 2,5-difluorophenyl.

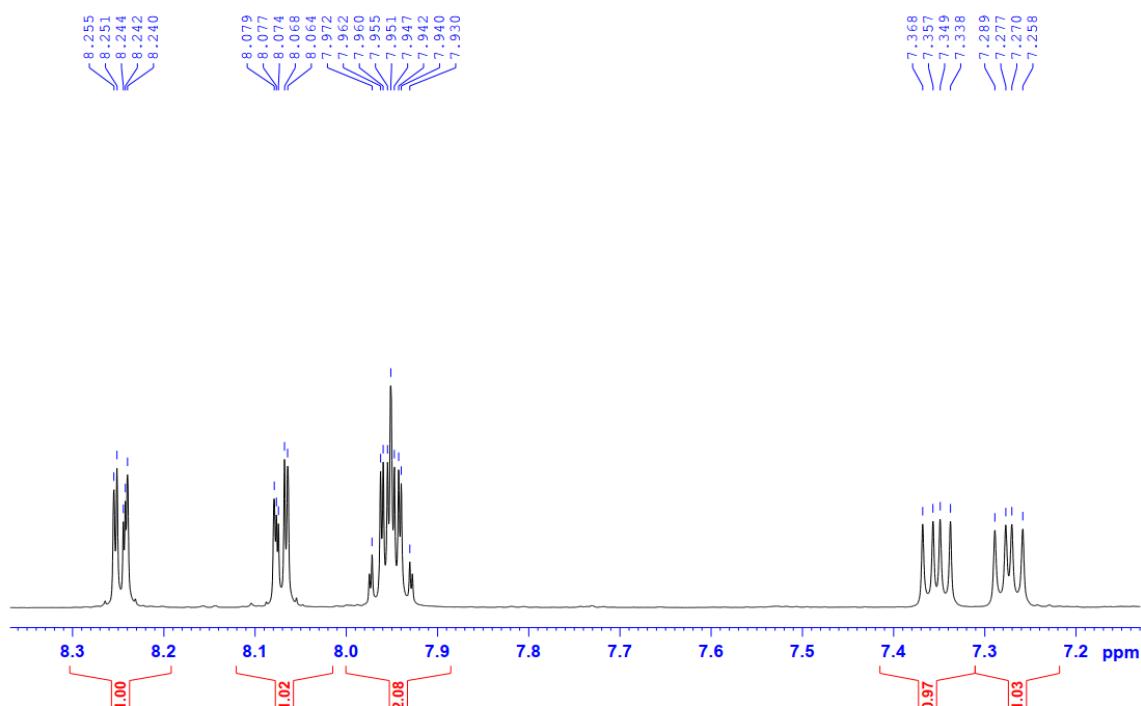


Hình 3.2. Phổ IR của hợp chất **106d**

Các dải tại 3069.5 cm^{-1} (C–H thơm), 2941 và 2848 cm^{-1} (C–H sp^3) cùng với dao động uốn ngoài mặt phẳng C–H thơm tại 724.6 cm^{-1} củng cố sự hiện diện của hệ vòng thơm đa thế trong cấu trúc. Dải rộng yếu tại 3422 cm^{-1} không mang ý nghĩa cấu trúc và nhiều khả năng liên quan đến độ ẩm hấp phụ của mẫu. Nhìn chung phổ IR thu được phù hợp chặt chẽ với cấu trúc 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone mang nhóm 2,5-difluorophenyl của hợp chất **106d**.



Hình 3.3. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **106d**



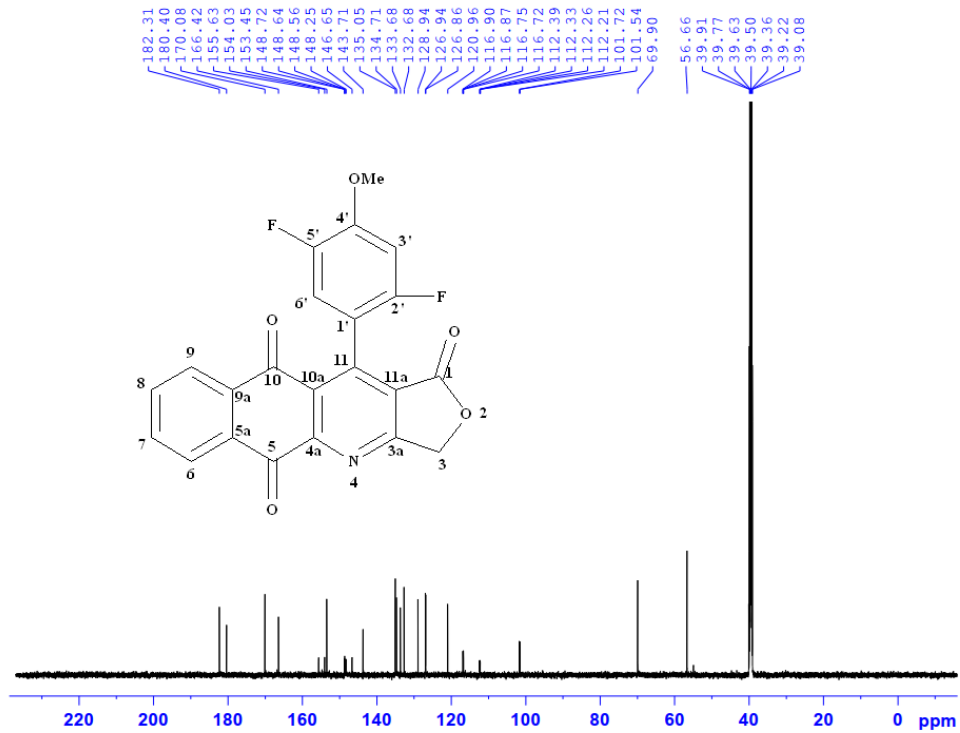
Hình 3.4. Phổ giãn $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **106d**

Trên phổ $^1\text{H NMR}$ của hợp chất **106d** ghi nhận đầy đủ các tín hiệu phù hợp với cấu trúc γ -butyrolactone hợp nhất với khung 1-azaanthraquinone mang vòng aryl có thể fluor và nhóm methoxy. Ở vùng thơm, sáu proton thơm xuất hiện rõ ràng. Trong đó, hai proton của nhân 1-azaanthraquinone được quan sát tại δ_H 8.25 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz, H-6) và 8.07 (1H, dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz, H-9), là các proton kề các tâm hút điện tử mạnh (nhóm C=O quinone và nguyên tử N) nên dịch xuống trường và cho kiểu tách đôi kép đặc trưng cho ghép ortho và meta. Hai proton còn lại của nhân này xuất hiện tại δ_H 7.96 (1H, td, $J = 7.2, 1.2$ Hz, H-8) và 7.94 (1H, td, $J = 7.2, 1.2$ Hz, H-7), phản ánh ghép ortho trội kết hợp với ghép yếu dài trong hệ vòng thơm ngưng tụ.

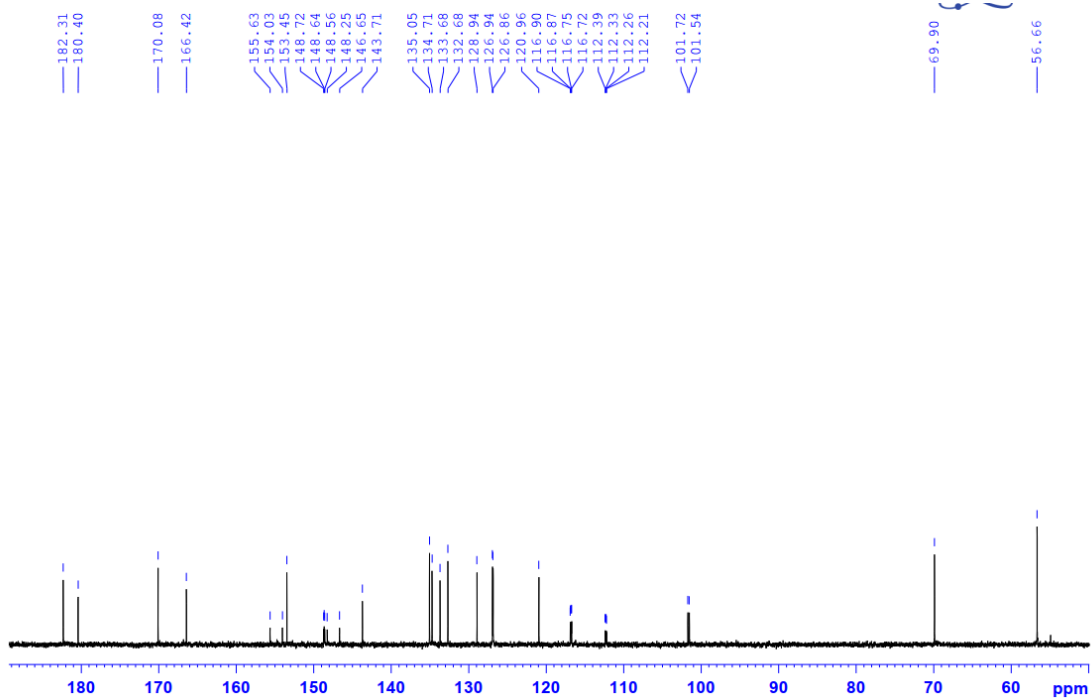
Hai proton thơm thuộc vòng aryl mang fluor cho hai tín hiệu tại δ_H 7.35 (1H, dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz) và 7.27 (1H, dd, $J = 11.4, 7.2$ Hz), trong đó hằng số ghép 11.4 Hz đặc trưng cho tương tác H–F, còn các giá trị 6.6 và 7.2 Hz tương ứng với ghép H–H ortho.

Ở vùng aliphatic, nhóm methoxy gắn trên vòng aryl xuất hiện dưới dạng singlet tại δ_H 3.41 với tích phân 3.27H, phù hợp với ba proton của nhóm OMe. Nhóm methylene tại vị trí C-3 của vòng γ -butyrolactone cho hai tín hiệu riêng biệt tại δ_H 5.74 (1H) và 5.60 (1H) với tích phân lần lượt 1.00H và 1.05H, chứng tỏ hai proton này là diastereotopic do nằm trong hệ vòng hợp nhất bất đối xứng. Ngoài ra, tín hiệu dung môi DMSO- d_6 được quan sát tại δ_H 2.50 ppm.

Tổng hợp các dữ kiện trên khẳng định phổ ^1H NMR thu được phù hợp hoàn toàn với cấu trúc hợp chất **106d**.



Hình 3.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **106d**



Hình 3.6. Phổ giãn ^{13}C -NMR của hợp chất **106d**

Trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất **106d**, các tín hiệu carbon quan sát được phù hợp với cấu trúc 1-azaanthraquinone hợp nhất vòng γ -butyrolactone mang vòng aryl thế 2F và nhóm OMe. Ở vùng trường thấp, xuất hiện hai tín hiệu tại δ_{C} (ppm) 182.3

và 180.4, đặc trưng cho hai carbonyl C=O quinone của nhân azaanthraquinone. Tín hiệu tại δ_C (ppm) 170.0 được gán cho carbonyl C=O lactone, phù hợp với vòng γ -butyrolactone hợp nhất. Vùng δ_C (ppm) 166.4–112.2 thể hiện hệ tín hiệu dày đặc của các carbon thơm và carbon liên hợp thuộc nhân azaanthraquinone và vòng aryl. Đáng chú ý, do phân tử có hai nguyên tử fluor, một số carbon trên vòng aryl và các carbon lân cận có thể xuất hiện dạng cặp tín hiệu rất sát nhau (thể hiện rõ trên phổ giãn), phù hợp với hiện tượng ghép ^{13}C – ^{19}F . Trong đó, các tín hiệu ở vùng 155.6, 154.0 và 153.4 ppm phù hợp với các carbon thơm chịu ảnh hưởng mạnh của nhóm thế (carbon gắn F hoặc carbon gắn O).

Ở vùng aliphatic, tín hiệu tại δ_C (ppm) 69.9 phù hợp với carbon O–CH₂ (C-3) của vòng lactone, còn tín hiệu tại δ_C (ppm) 56.6 đặc trưng cho carbon của nhóm OCH₃. Hai tín hiệu tại δ_C (ppm) 101.7 và 101.5 thuộc các carbon liên hợp bị che chắn mạnh trong hệ vòng hợp nhất; Ngoài ra, các tín hiệu dung môi DMSO-*d*₆ xuất hiện tại δ_C (ppm) 39.9, 39.7, 39.6, 39.5, 39.3, 39.2 và 39.0.

Các tín hiệu ^{13}C NMR thu được thể hiện đầy đủ các carbon đặc trưng của khung 1-azaanthraquinone hợp nhất vòng γ -butyrolactone mang vòng aryl thế fluor và nhóm methoxy, qua đó khẳng định cấu trúc đề xuất của hợp chất **106d**.

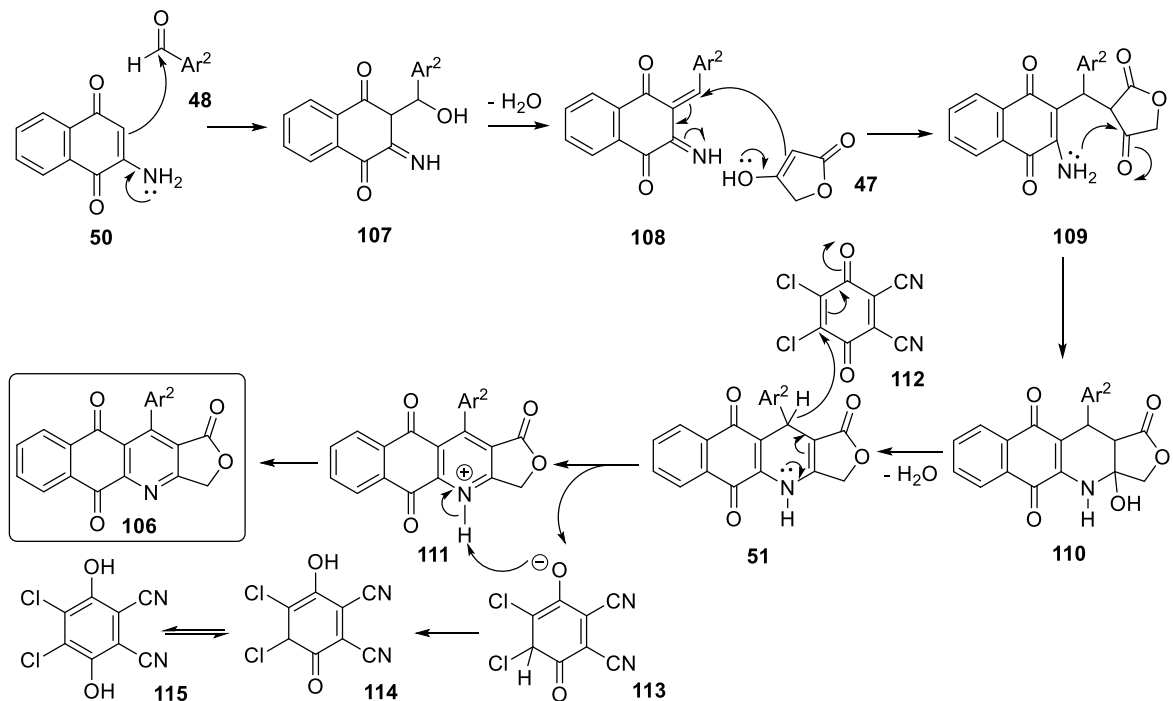
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 106d

C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm, m, J)
1	170.1	—
3	69.9	5.62 (d, $J = 16.2$ Hz)
3a	146.6	—
4a	148.2	—
5	182.3	—
5a	135	—
6	126.9	8.25 (dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz)
7	132.7	7.94 (td, $J = 7.2, 1.2$ Hz)
8	133.7	7.96 (td, $J = 7.2, 1.2$ Hz)
9	126.9	8.07 (dd, $J = 6.6, 2.4$ Hz)
9a	134.7	—
10	180.4	—
10a	143.7	—
11	121	—
11a	166.4	—
1'	101.6 (d, $^2J_{CF} = 24$ –28)	—
2'	155.6 (d, $^1J_{CF} = 235$ –245)	—
3'	116.9 (d, $^3J_{CF} = 4$ –6)	7.35 (dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz)
4'	153.45	—
5'	148.6 (d, $^1J_{CF} = 235$ –245)	—
6'	116.7 (d, $^3J_{CF} = 4$ –6)	7.27 (dd, $J = 11.4, 7.2$ Hz)
4''	56.6	3.97 (s, 3H)

Cơ chế đề xuất về quá trình tổng hợp hai giai đoạn này bắt đầu diễn ra thông qua chuỗi các bước phản ứng liên tiếp gồm: ngưng tụ Knoevenagel, cộng Michael, vòng hóa nội phân tử, khử nước và cuối cùng là oxy hóa bằng DDQ. Các bước cơ bản của cơ chế được mô tả như sau:

Bước đầu tiên, nhóm $-NH_2$ của 2-amino-1,4-naphthoquinone (**50**) tấn công nucleophilin vào nhóm carbonyl của aldehyde thơm (**48**), tạo thành trung gian Schiff base (**107**), sau đó loại một phân tử nước để hình thành imine (**108**). Đây là phản ứng ngưng tụ kiểu Knoevenagel điển hình, được xúc tác nhẹ bởi base như L-proline nhằm tăng tính acid của proton α và ổn định trung gian enamine.

Tiếp theo, tetronic acid (**47**) đóng vai trò nucleophile, nhóm methylen $\alpha-C=O$ hoạt động mạnh của nó tấn công vào liên kết $C=N$ của trung gian (**108**), tạo thành sản phẩm cộng Michael (**109**). Quá trình này giúp hình thành liên kết $C-C$ mới giữa nhân naphthoquinone và vòng lactone. Sau khi sắp xếp lại cấu trúc, trung gian (**110**) được tạo ra, có khả năng vòng hóa nội phân tử và loại nước để hình thành hệ dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline (**51**). Đây chính là sản phẩm trung gian ổn định của phản ứng ba cấu tử.



Sơ đồ 3.3. Cơ chế đề xuất hình thành hợp chất **106**

Ở bước cuối cùng, hợp chất **51** được thêm DDQ (**112**) trong dung môi toluene để thực hiện quá trình oxy hóa. Cơ chế diễn ra theo hướng cho nhận electron hai giai đoạn: DDQ (**112**) nhận electron từ hệ dihydropyridine của (**51**), tạo ra gốc cation trung gian (**113**), sau đó nhận thêm một electron nữa để hình thành dẫn xuất quinonoid (**111**). Sự loại H^+ cuối cùng khôi phục lại hệ π liên hợp tạo thành hợp chất thơm bền vững (**106**). Trong quá trình này, DDQ bị khử thành dạng hydroquinone (**115**). Hiệu

ứng hút điện tử của các nhóm thế Ar (như F, CF₃) giúp ổn định trung gian cation, từ đó phản ứng diễn ra nhanh và đạt hiệu suất cao hơn.

Như vậy, toàn bộ cơ chế có thể khái quát thành chuỗi chuyển hóa: **50 + 48 + 47** → **107** → **108** → **109** → **110** → **51** → **111** → **106**, trong đó bước ngưng tụ và cộng Michael tạo khung cơ bản, còn bước oxy hóa với DDQ là giai đoạn quyết định để hình thành hệ vòng γ -butyrolactone–1-azaanthraquinone thơm bền vững.

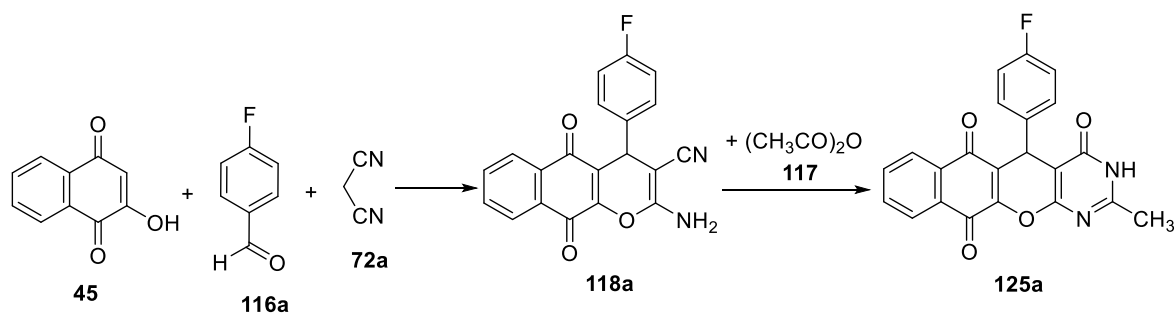
Cơ chế trên phù hợp với kết quả thực nghiệm, chứng minh vai trò của DDQ hiệu quả cao trong việc khử hydro và tái tạo hệ π thơm của các dẫn xuất dihydropyridine (**Error! Reference source not found.**).

3.3. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-*d*]pyrimidine-4-one

Các hợp chất chứa khung chromeno phân bố rộng rãi trong các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học và đóng vai trò thiết yếu trong quá trình tổng hợp nhiều loại vòng dị vòng mạnh với nhiều hoạt tính sinh học bao gồm chống ung thư [98], chống khối u [99], chống tăng sinh [100], chống HIV [101], kháng khuẩn [102], chống co giật [103], chống oxy hóa [104], chống sốt rét [105]. Hơn nữa, một số dẫn xuất chromene đã được sử dụng trong điều trị bệnh Alzheimer [106] và rối loạn tâm thần phân liệt [107].

Mặc khác, như đã nêu ở phần tổng quan, nguyên tố flo có độ âm điện cao, đóng vai trò quan trọng trong thiết kế các hợp chất có hoạt tính sinh học. Sự kết hợp của ít nhất một nguyên tử flo hoặc nhóm trifluoromethyl vào các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể cải thiện tính ổn định trao đổi chất, tính thấm của màng, khả dụng sinh học và ái lực liên kết của hợp chất với protein mục tiêu, dẫn đến các hoạt động dược lý tiềm năng. Với những đặc tính nổi bật của lớp chất chromene cũng như các hợp chất chứa flo, luận án nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-*d*]pyrimidine chứa dị tố flo.

Đầu tiên, chúng tôi đã nghiên cứu khảo sát điều kiện tối ưu cho phản ứng domino bốn thành phần giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**), 4-fluorobenzaldehyde (**116a**), malononitrile (**72a**) và acetic anhydride (**117**) bằng phản ứng “*one-pot*” qua hai bước để tổng hợp hợp chất 5-(4-fluorophenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4*H*-benzo[6,7]chromeno[2,3-*d*]pyrimidine-4,6,11-trione (**125a**) (Sơ đồ 3.4).



Sơ đồ 3.4. Tổng hợp hợp chất 5-(4-fluorophenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chromeno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione (125a)

Để đánh giá hiệu quả của chất xúc tác, một số chất xúc tác khác nhau bao gồm 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), DABCO, DMAP, pyridin, Et₃N, NH₄OAc đã được khảo sát trong phản ứng giữa 1,4-naphthoquinone (45), 4-fluorobenzaldehyde (48a) và malononitrile (72a) để tổng hợp 2-amino-4-(4-fluorophenyl)-5,10-dioxo-5,10-dihydro-4H-benzo[g]chromene-3-carbonitrile (118a) (Bảng 3.4, mục 1-9). Kết quả cho thấy phản ứng đạt hiệu suất cao nhất khi sử dụng xúc tác DABCO nồng độ 20 mol%. Tiếp theo, để đánh giá hiệu quả của dung môi, một số dung môi như acetonitrile, ethanol, toluene, t-butanol, *i*-propanol, 1,2-dichloroethane, chloroform đã được khảo sát (Bảng 3.4, mục 10-15). Phản ứng thực hiện trong dung môi acetonitrile cho hiệu suất cao nhất. Như vậy, phản ứng ba thành phần giữa 1,4-naphthoquinone (45), 4-fluorobenzaldehyde (116a) và malononitrile (72a) đạt hiệu suất cao nhất 80% khi thực hiện trong dung môi acetonitrile ở nhiệt độ sôi hồi lưu trong điều kiện vi sóng với sự có mặt của xúc tác DABCO (20 mol%).

Bảng 3.4. Tối ưu hóa xúc tác và dung môi để tổng hợp hợp chất 125a

TT	Xúc tác	Hàm lượng xúc tác (mol%)	Dung môi	Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất theo TLC (%)
1	DABCO	5	CH ₃ CN	82	Vết
2	DABCO	10	CH ₃ CN	82	42
3	DABCO	20	CH₃CN	82	80
4	DABCO	30	CH ₃ CN	82	75
5	NH ₄ OAc	20	CH ₃ CN	82	45
6	Pyridine	20	CH ₃ CN	82	Vết
7	DMAP	20	CH ₃ CN	82	62
8	DBU	20	CH ₃ CN	82	Vết
9	Et ₃ N	20	CH ₃ CN	82	Vết
10	DABCO	20	EtOH	78	75
11	DABCO	20	<i>t</i> -BuOH	82	71

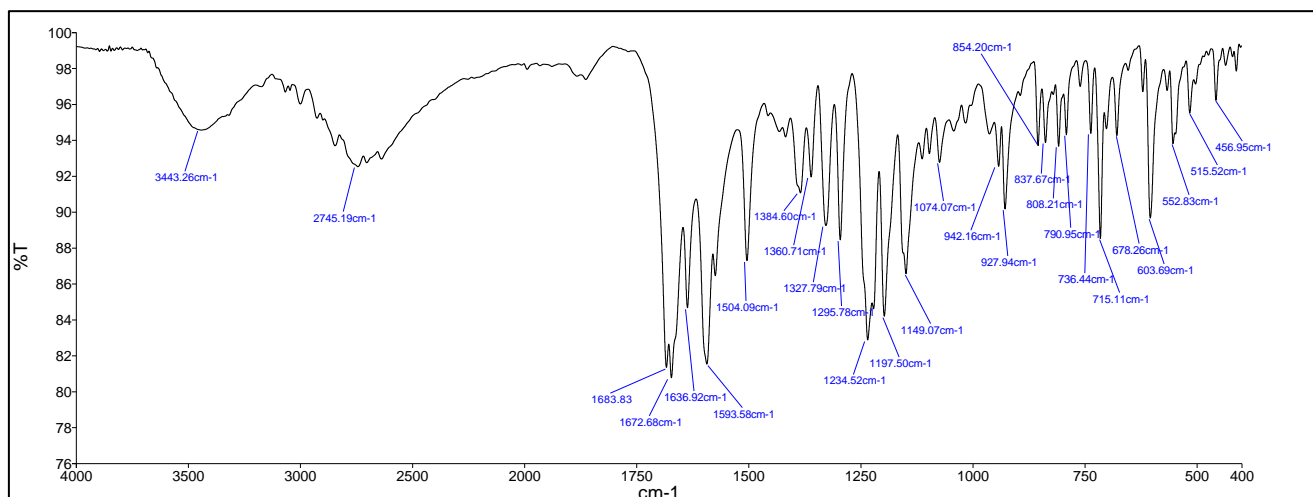
TT	Xúc tác	Hàm lượng xúc tác (mol%)	Dung môi	Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất theo TLC (%)
12	DABCO	20	<i>i</i> -PrOH	83	72
13	DABCO	20	Toluene	110	65
14	DABCO	20	EDC	83	62
15	DABCO	20	Chloroform	61	50

*Điều kiện phản ứng: tỷ lệ tác nhân 1/1/1, 20 phút

Hỗn hợp phản ứng sau bước 1 (không cần xử lý) được sử dụng trực tiếp để phản ứng với 3 đương lượng acetic anhydride (**117**) với sự có mặt của 0,4 đương lượng sulfuric acid đậm đặc ở 120 °C trong 15 phút dưới bức xạ vi sóng (150 W) tạo thành hợp chất 5-(4-fluorophenyl)-2-methyl-3,5-dihydro-4*H*-benzo[6,7]chromeno[2,3-*d*]pyrimidine-4,6,11-trione (**125a**). Hiệu suất phản ứng qua 2 bước đạt 70%.

Cấu trúc của hợp chất **125a** được xác định bằng phổ IR, NMR, HRMS.

Trên phổ IR (KBr) của hợp chất **125a** xuất hiện dải hấp thụ tại 3443 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động kéo giãn N–H của nhóm –NHCH₃. Đỉnh yếu tại 2745 cm⁻¹ nằm trong vùng dao động kéo giãn C–H aliphatic và các dải tổ hợp, phù hợp với sự hiện diện của nhóm N-methyl trong phân tử.

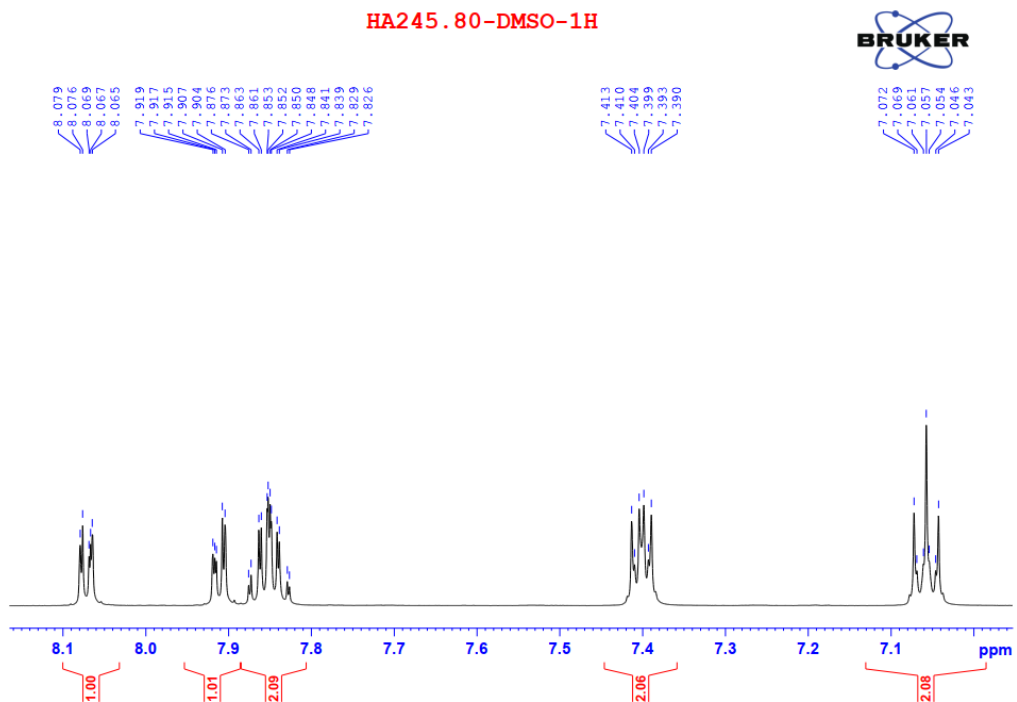
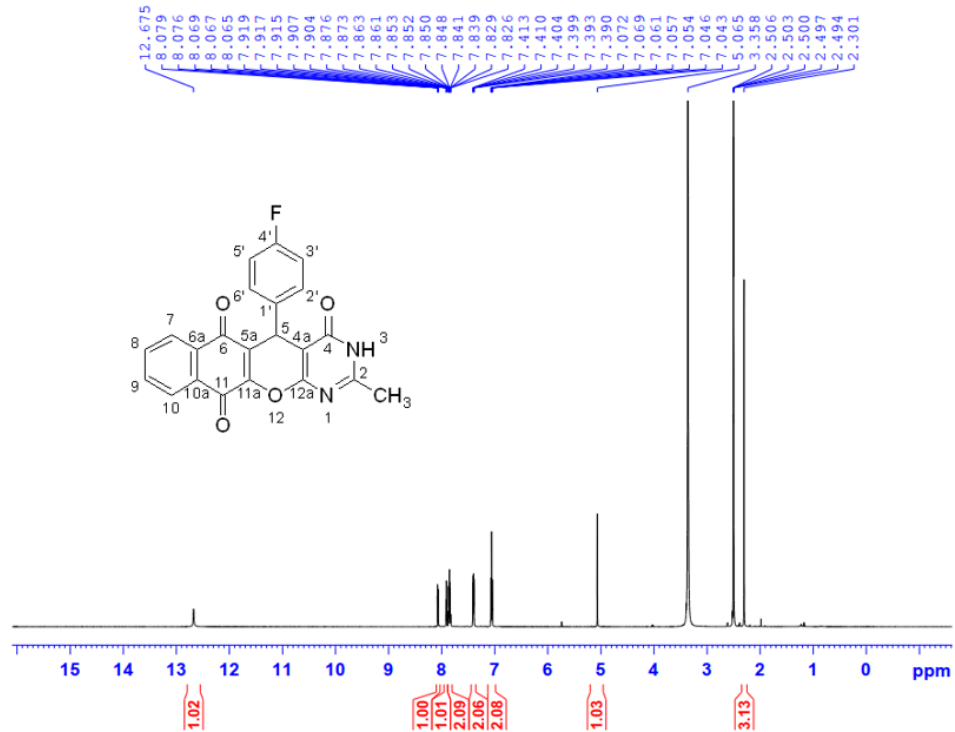


Hình 3.7. Phổ IR của hợp chất **125a**

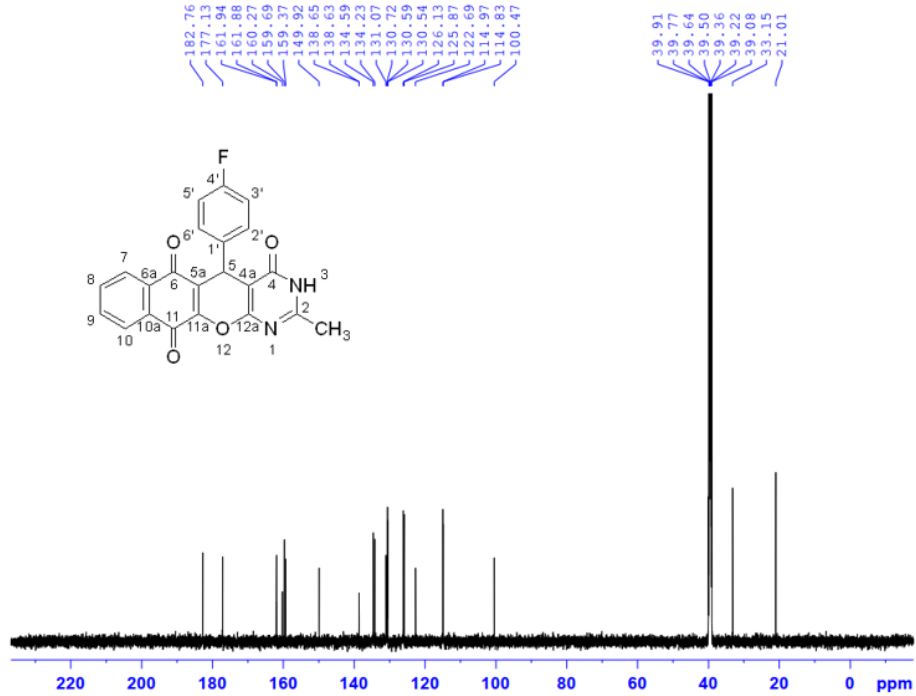
Ở vùng carbonyl liên hợp, phổ ghi nhận các đỉnh mạnh tại 1683, 1672 và 1636 cm⁻¹, quy cho dao động kéo giãn C=O liên hợp của nhân 1,4-naphthoquinone và nhóm C=O lactam (pyrimidin-4-one) trong hệ vòng ngưng tụ, đồng thời có thể chồng lấn một phần với các dao động C=C/C=N của hệ liên hợp. Các đỉnh tại 1593 và 1504 cm⁻¹ là đặc trưng cho dao động khung C=C thơm của các vòng thơm ngưng tụ và vòng aryl mang flo.

Trong vùng dao động đặc trưng của các liên kết đơn ($\approx 1400\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$), các đỉnh tại 1384, 1360, 1327, 1295, 1234, 1197, 1149 và 1074 cm⁻¹ phản ánh các dao

động của liên kết C–N và đặc biệt là dao động kéo giãn C–O của cầu nối ether aryl–O–aryl (C–O–C). Các đỉnh tại 942 và 927 cm^{-1} , cùng với các đỉnh 854 , 837 , 808 , 790 , 736 , 715 và 678 cm^{-1} , được gán cho dao động uốn ngoài mặt phẳng C–H thơm, cho thấy kiểu thế xác định trên các vòng aryl. Các đỉnh vùng số sóng thấp 603 và 552 cm^{-1} thuộc các dao động biến dạng của khung vòng ngưng tụ. Tổng thể các đặc điểm phổ IR thu được phù hợp với cấu trúc đề xuất của hợp chất **125a**.

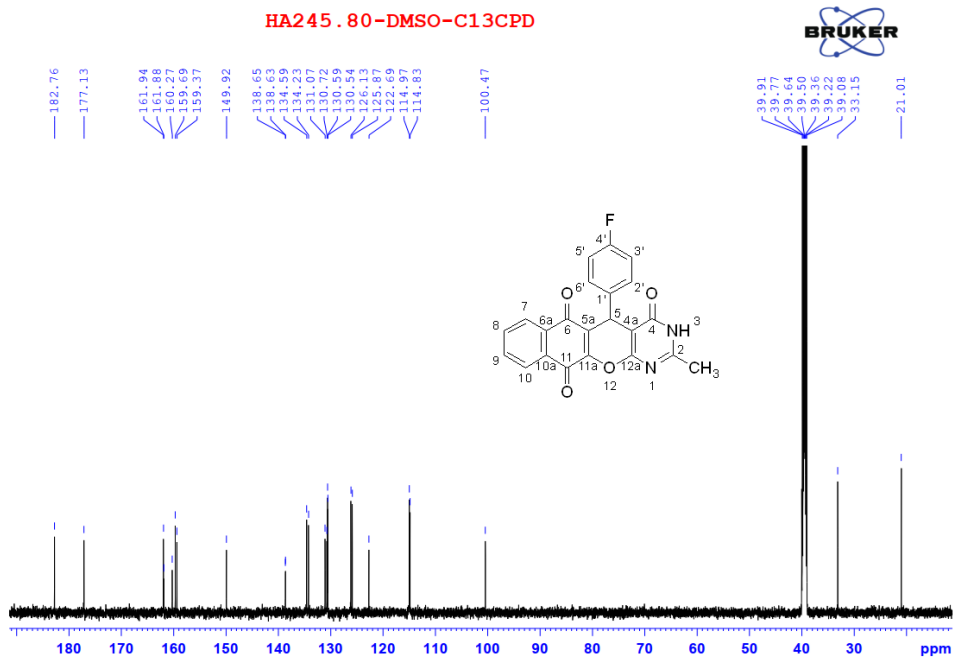


Trên phổ ^1H NMR của hợp chất **125a** xuất hiện tín hiệu singlet tại 12,68 của proton nhóm NH. Các tín hiệu multiplet tại δH 8.07 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.91 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz), 7.88 – 7.82 (2H, m) được gán cho các proton của nhân naphthoquinone trong hệ vòng ngưng tụ. Các tín hiệu proton thơm của vòng phenyl được quan sát thấy tại δH 7.40 (2H, dd, $J = 8.4, 5.4$ Hz), 7.06 (2H, t, $J = 9.0$ Hz). Các tín hiệu tại vùng trường thấp còn lại gồm có peak singlet của proton CH tại δH 5.07 (1H, s) và nhóm methyl CH_3 tại δH 2.30 (3H, s).



Hình 3.10. Phổ ^{13}C - NMR của hợp chất **125a**

HA245.80-DMSO-C13CPD



Hình 3.11. Phổ giãn ^{13}C - NMR của hợp chất **125a**

Trên phổ ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) của hợp chất **125a** xuất hiện đủ 22 tín hiệu cộng hưởng đặc trưng cho 22 cacbon của hợp chất. Hai tín hiệu carbonyl xuất hiện tại độ dịch chuyển hóa học δ_C (ppm): 182.7 và 177.1, phù hợp với hai carbon C=O liên hợp của nhân khung naphthoquinone và nhóm C=O lactam (pyrimidin-4-one) trong hệ vòng ngưng tụ. Trong vùng carbon thơm mang dị tố, các tín hiệu tại δ_C (ppm): 161.9, 159.4, 156.9 và 149.9 được gán cho các carbon thơm bậc bốn trong hệ liên hợp chịu ảnh hưởng của nguyên tử N và liên kết ether aryl-O-.

Sự có mặt của vòng aryl chứa nguyên tử flo trong phân tử được xác nhận rõ ràng thông qua các tín hiệu ghép ^{13}C - ^{19}F . Tín hiệu tại δ_C (ppm) 161.1 (1C, d, $J = 241.5$ Hz) đặc trưng cho carbon ipso liên kết trực tiếp với F (C-F). Hai tín hiệu tại δ_C (ppm) 114.9 (2C, d, $J = 21.0$ Hz) phù hợp với hai carbon ortho so với F trong khi tín hiệu tại δ_C (ppm) 130.5 (2C, d, $J = 7.5$ Hz) được quy cho hai carbon meta so với F. Tín hiệu δ_C (ppm) 138.6 (1C, d, $J = 3.0$ Hz) thể hiện ghép dài yếu ^{13}C - ^{19}F , phù hợp với carbon bậc bốn còn lại trên vòng aryl chịu ảnh hưởng cảm ứng/cộng hưởng của F.

Các tín hiệu còn lại trong vùng thơm tại δ_C (ppm): 134.6, 134.2, 131.1, 130.7, 126.1, 125.9 và 122.7 được gán cho các carbon thơm CH và carbon thơm bậc bốn của nhân naphthoquinone ngưng tụ với vòng dị hợp và phần vòng aryl liên kết qua nguyên tử oxy. Tín hiệu tại δ_C (ppm) 100.5 thuộc vùng carbon bị che chắn mạnh, phù hợp với một carbon sp^2 ở vị trí cầu nối trong hệ liên hợp chịu ảnh hưởng của dị tố. Ở vùng aliphatic, tín hiệu δ_C (ppm) 33.2 được gán cho carbon methylene (C-12) trong khung vòng bão hòa cục bộ và tín hiệu δ_C (ppm) 21.0 được gán cho carbon methyl của nhóm $-\text{NHCH}_3$. Tổng thể các tín hiệu ^{13}C thu được cùng các hằng số ghép ^{13}C - ^{19}F đặc trưng là hoàn toàn phù hợp với cấu trúc đề xuất của hợp chất **125a**.

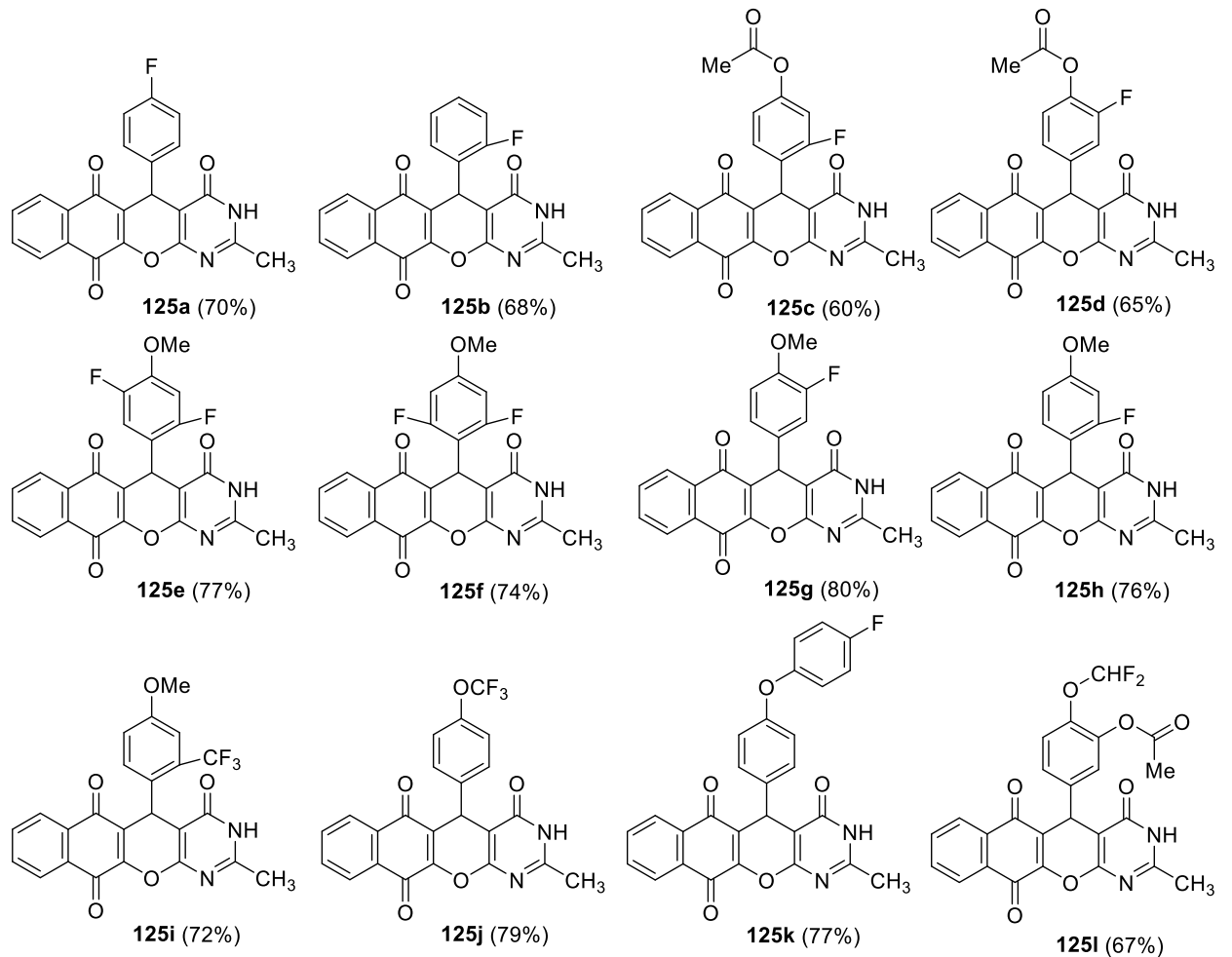
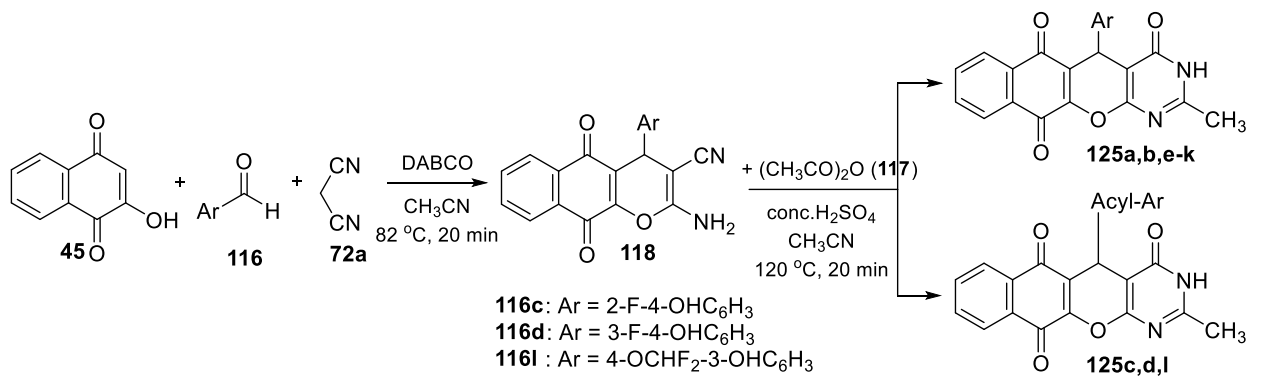
Bảng 3.5. Dữ liệu NMR của chất **125a**

C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
2	160.3	—
(-CH ₃)	33.2	2.30 (3H, s, CH ₃)
3	100.5	5.07 (1H, s)
4	161.9	—
5	131.1	7.88–7.82 (1H, m)
5a	149.9	—
6	161.9	—
6a	138.6	—
7	125.9	7.91 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz)
8	126.1	7.88–7.82 (1H, m)

C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
9	122.7	8.07 (1H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz)
10	177.1	—
10a	134.6	—
11	182.7	—
11a	138.6	—
12a	134.2	—
1' (ipso)	134.6	—
2'	130.7	7.40 (2H, dd, $J = 8.4, 5.4$ Hz)
3'	114.9	7.06 (2H, t, $J = 9.0$ Hz)
4'	159.4	—
5'	114.9	—
6'	130.5	—
— (N–H imide)	—	12.67, 1H s, NH

Trên phổ khối phân giải cao HRMS của hợp chất **125a** tìm thấy mảnh ion có m/z 389.0926 $[M+H]^+$ tương ứng với khối lượng tính toán theo lý thuyết cho công thức $[C_{22}H_{14}FN_2O_4]^+$: 389.0932 và mảnh ion có m/z 411.0729 $[M+Na]^+$ tương ứng với khối lượng tính toán theo lý thuyết cho công thức $[C_{22}H_{13}FN_2NaO_4]^+$: 411.0752. Kết quả này phù hợp với công thức phân tử dự kiến của hợp chất **125a** là $C_{22}H_{13}FN_2O_4$.

Áp dụng quy trình tối ưu như trên, chúng tôi đã tổng hợp được 12 hợp chất của các dẫn xuất chromeno[2,3-*d*]pyrimidine (**125**) theo Sơ đồ 3.5.

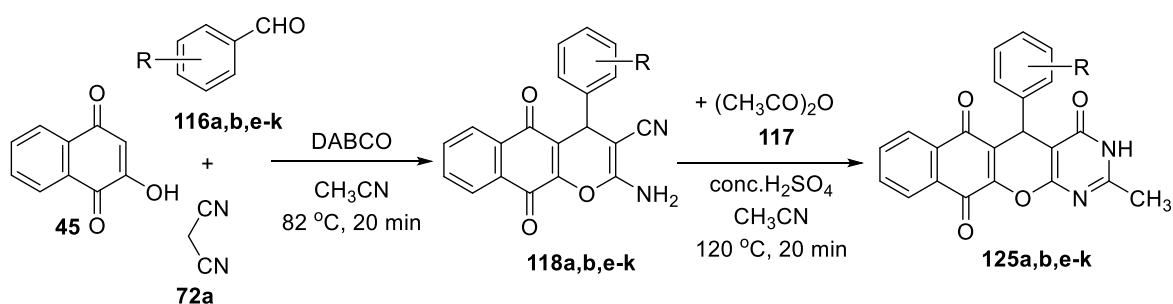


Sơ đồ 3.5. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidine 125

Bảng 3.6. Tính chất vật lý và hiệu suất của dãy chất **125a-l**

TT	Hợp chất	Ar	Màu sắc	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Hiệu suất (%)
1	125a	4-Fluorophenyl	Vàng	294–296	70
2	125b	2-Fluorophenyl	Nâu	233–238	68
3	125c	3-Fluoro-4-acetoxyphenyl	Vàng	244–246	60
4	125d	2-Fluoro-4-acetoxyphenyl	Vàng	304–306	65
5	125e	2,5-Difluoro-4-methoxyphenyl	Vàng	231–233	77
6	125f	2,6-Difluoro-4-methoxyphenyl	Vàng	299–301	74
7	125g	3-Fluoro-4-methoxyphenyl	Vàng	299–301	80
8	125h	2-Fluoro-4-methoxyphenyl	Nâu-đen	225–230	76
9	125i	4-Methoxy-2-(trifluoromethyl)phenyl	Vàng-nâu	269–271	72
10	125j	4-(Trifluoromethoxy)phenyl	Nâu-đỏ	229–231	79
11	125k	4-(4-Fluorophenoxy)phenyl	Vàng	309–311	77
12	125l	3-Acetoxy-4-(difluoromethoxy)phenyl	Vàng	279–281	67

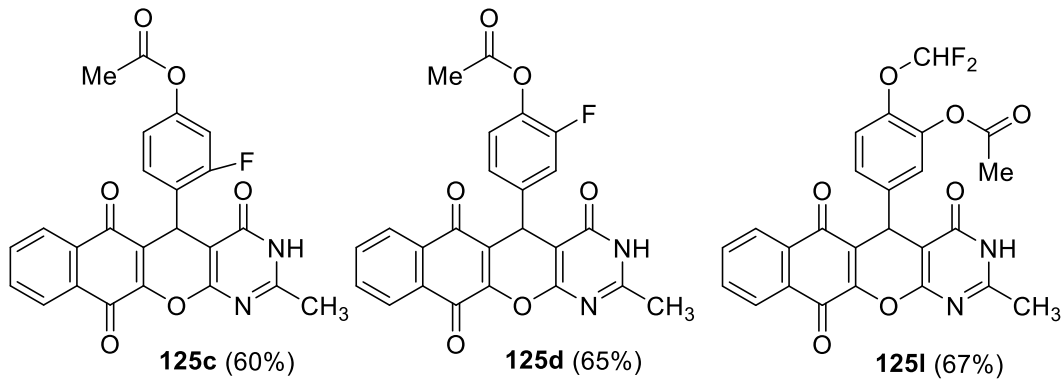
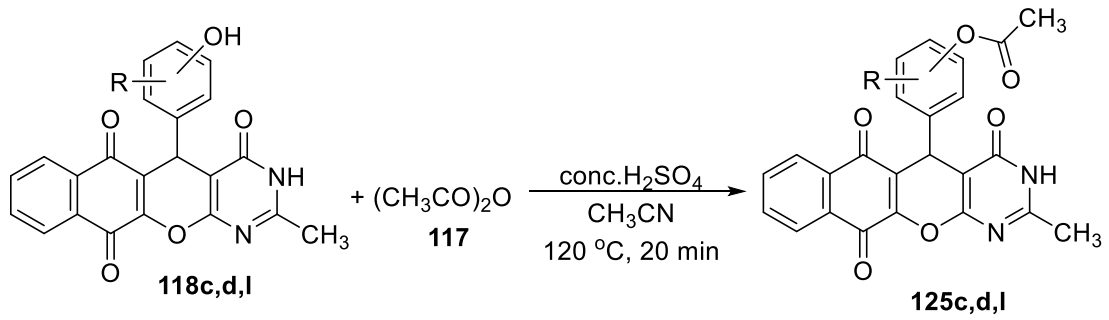
Trong đó, 09 hợp chất **125a,b,e-k** được tổng hợp bằng cách sử dụng các dẫn xuất benzaldehyde khác nhau theo Sơ đồ 3.6. Hiệu suất tổng hợp đạt 60-80%.



R = 4-F (a), 2-F (b), 2,5-(F)₂-4-OMe (e), 2,6-(F)₂-4-OMe (f), 3-F-4-OMe (g), 2-F-4-OMe (h), 2-CF₃-4-OMe (i), 4-OCF₃ (j), 4-O(4-FC₆H₄) (k)

Sơ đồ 3.6. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidine **125a,b,e-k**

Còn đối với các hợp chất trung gian **118c,d,l** có chứa nhóm hydroxy ở vòng benzene, khi tham gia phản ứng với acetic anhydride xảy ra đồng thời phản ứng acetyl hóa nhóm hydroxy cùng với phản ứng tạo vòng pyrimidine. Do đó, sản phẩm thu được là các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidin-5-yl)phenyl acetate **125c,d,l** với hiệu suất 60-67% (Sơ đồ 3.7).



Sơ đồ 3.7. Tổng hợp các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidin-5-yl)phenyl acetate 125c,d,l

Quá trình tổng hợp lớp chất **125** diễn ra theo cơ chế hai bước liên tiếp trong cùng một hệ phản ứng, cơ chế phản ứng được đề xuất như sau:

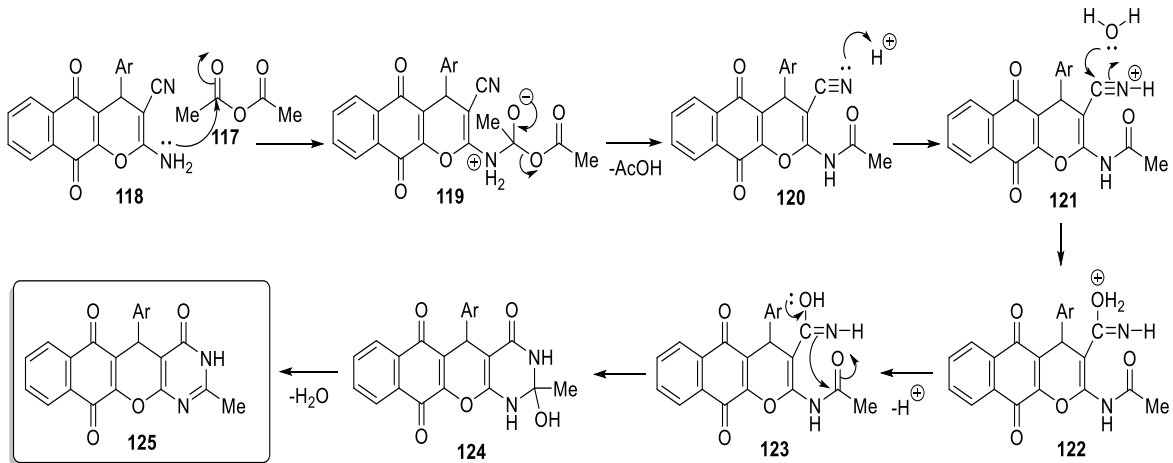
Ở giai đoạn đầu, dưới tác dụng của DABCO, phản ứng giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**), aldehyde thơm (Ar-CHO) (**116**) và malononitrile (CH₂(CN)₂) (**72a**) xảy ra theo trình tự gồm ngưng tụ Knoevenagel, cộng Michael, vòng hóa nội phân tử và chuyển vị hydride kiểu 1,3, tạo thành các dẫn xuất 2-amino-4H-benzo[g]chromene-5,10-dione-3-carbonitrile (**118**). Trong giai đoạn này, DABCO đóng vai trò xúc tác bazơ, giúp hoạt hóa nhóm methylen của malononitrile, tạo trung gian carbanion tấn công vào nhóm carbonyl của aldehyde để hình thành sản phẩm ngưng tụ, sau đó thực hiện phản ứng cộng Michael vào nhân naphthoquinone, khép vòng và chuyển vị proton để ổn định cấu trúc **118**.

Ở giai đoạn thứ hai, khi thêm anhydride axetic ((CH₃CO)₂O) trong môi trường H₂SO₄ đậm đặc, nhóm amino ở vị trí C-2 của hợp chất **118** tấn công hạt nhân vào nhóm carbonyl của anhydride, hình thành trung gian N-acetyl hóa (**119**) và giải phóng acid acetic. Sau đó, nhóm nitrile (-CN) ở vị trí C-3 bị proton hóa dưới môi trường acid, tạo điều kiện cho phân tử nước tấn công vào tâm C≡N, hình thành trung gian imidate (**121**), rồi chuyển hóa thành amid (**122**) thông qua sắp xếp proton nội phân tử.

Tiếp đến, trong môi trường acid và ở nhiệt độ cao, nhóm amid mới hình thành có thể tấn công nội phân tử vào carbonyl lân cận của nhân naphthoquinone, tạo trung

gian vòng hóa (**123–124**). Cuối cùng, quá trình khử nước nội phân tử diễn ra, tái lập hệ liên hợp mở rộng và tạo thành sản phẩm cuối cùng **125**.

Như vậy, toàn bộ quá trình có thể được xem là chuỗi phản ứng gồm N-acyl hóa → thủy phân nitrile → vòng hóa nội phân tử → khử nước, được xúc tác hiệu quả bởi hệ $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ trong môi trường acetonitrile, cho phép thu được sản phẩm **125** với hiệu suất cao và độ chọn lọc tốt.



Sơ đồ 3.8. Cơ chế đề xuất hình thành hợp chất **125**

3.4. Tổng hợp các hợp chất pyrano[2,3-d]pyrimidine-4-one

Trong những năm gần đây, các hợp chất dị vòng hợp nhất chứa đồng thời nhân pyrimidine và pyran, đặc biệt là hệ pyrano[2,3-d]pyrimidine-4-one, đã thu hút sự quan tâm mạnh mẽ của các nhà nghiên cứu do tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực hóa dược, đặc biệt là khả năng ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE) liên quan đến bệnh Alzheimer [108, 109, 110, 111]. Sự kết hợp giữa hai khung dị vòng giàu điện tử này tạo nên một khung cấu trúc linh hoạt, có khả năng tương tác mạnh với trung tâm hoạt động của enzym thông qua liên kết hydro, tương tác $\pi-\pi$ và tương tác tĩnh điện, giúp định hướng thiết kế các hợp chất có hoạt tính sinh học cao [100, 112, 113, 114, 115].

Trong khuôn khổ luận án, để tổng hợp các hợp chất dị vòng mới pyrano[2,3-d]pyrimidine-4-one, chúng tôi tiến hành theo phản ứng domino đa thành phần hai bước liên tiếp trong cùng hệ phản ứng. Quá trình tổng hợp gồm hai giai đoạn chính:

(i) Giai đoạn 1 – Tổng hợp hợp chất trung gian 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile:

Giai đoạn đầu là phản ứng đa thành phần ba tác chất giữa cyclohexane-1,3-dione, malononitrile và arylaldehyde, có sự xúc tác của DABCO trong môi trường acetonitrile dưới tác dụng của vi sóng. Quá trình này diễn ra thông qua chuỗi phản ứng Knoevenagel – cộng Michael – chu trình hóa nội phân tử – chuyển vị [1,3]-H,

tạo thành khung 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile (ký hiệu chung là **128a–k**) với hiệu suất cao và độ tinh khiết tốt.

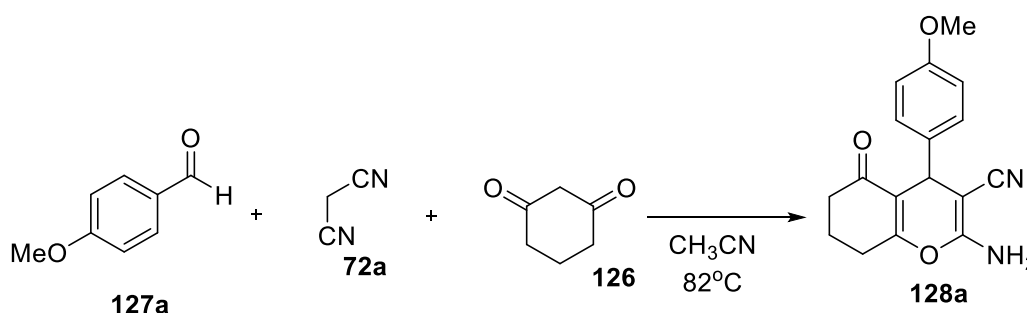
(ii) Giai đoạn 2 – *Từ hợp chất trung gian tổng hợp các dẫn xuất pyrano[2,3-d]pyrimidine-4-one*:

Các trung gian thu được được cho phản ứng với anhydride acetic trong môi trường H_2SO_4 đậm đặc ở nhiệt độ cao (120°C , có hỗ trợ vi sóng), nhằm tiến hành ngưng tụ – acetyl hóa – khử nước và đóng vòng nội phân tử, hình thành hệ dị vòng pyrano[2,3-d]pyrimidine-4-one (ký hiệu **142a–k**). Đây là phản ứng đa thành phần “one-pot” đặc trưng, thuận lợi cho việc mở rộng phạm vi tổng hợp các dẫn xuất mới có tiềm năng hoạt tính sinh học.

Như vậy, toàn bộ quá trình tổng hợp được thiết kế hợp lý, kế thừa hiệu quả của xúc tác bazơ hữu cơ DABCO ở bước đầu và sử dụng điều kiện acid mạnh ở bước hai để hình thành khung dị vòng mở rộng, đảm bảo hiệu suất tổng thể cao, thời gian phản ứng ngắn và tính thân thiện môi trường, phù hợp định hướng tổng hợp hữu cơ xanh hiện nay.

3.4.1. Tổng hợp hợp chất trung gian 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile

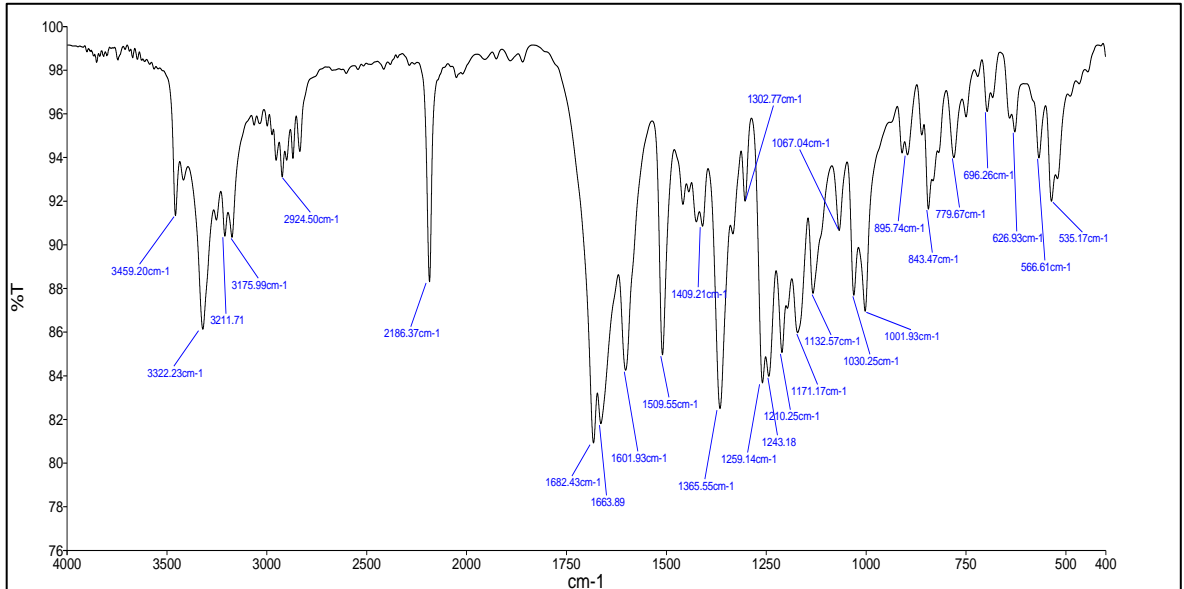
Chúng tôi đã tiến hành tổng hợp hợp chất 2-amino-4-methoxy-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4H-chromene-3-carbonitrile (**128a**) bằng phản ứng ba thành phần từ cyclohexan-1,3-dione (**126**), 4-methoxybenzaldehyde (**127a**) và malononitrile (**72a**). Phản ứng được thực hiện trong dung môi acetonitrile (CH_3CN) trong 20 phút tại nhiệt độ hồi lưu dưới điều kiện MW ở 150W với các chất phản ứng **127a**, **72a** và **126** ở cùng tỷ lệ mol.



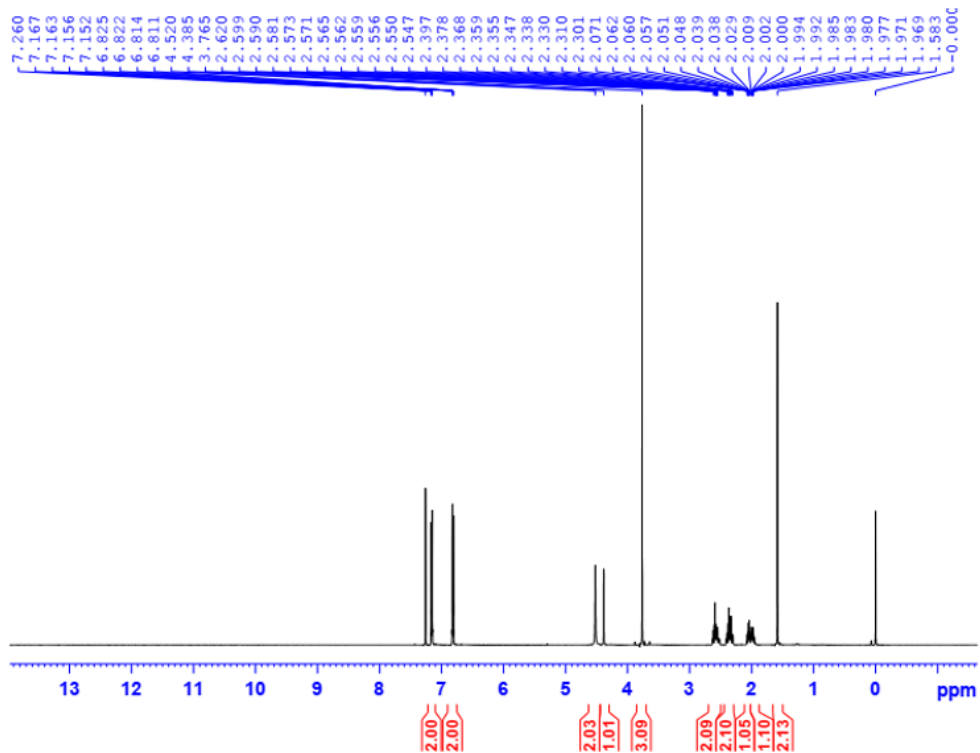
Sơ đồ 3.9. Phản ứng tổng hợp hợp chất **128a**

Hợp chất **128a** tạo thành được phân lập và xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại như IR, ^1H NMR ^{13}C NMR. Phổ IR của hợp chất này cho thấy các dải hấp thụ đặc trưng cho các nhóm chức chính trong phân tử như sau: dải rộng và mạnh tại 3459 , 3322 và 3211 cm^{-1} tương ứng với dao động hóa trị N–H của nhóm amino bậc I ($-\text{NH}_2$); dải hấp thụ mạnh ở 2186 cm^{-1} đặc trưng cho dao động $\text{C}\equiv\text{N}$ của nhóm nitrile.

Đặc biệt, dải hấp thụ ở 1601 cm^{-1} được gán cho dao động C=O liên hợp trong hệ chromenone, bị dịch xuống vùng tần số thấp do hiệu ứng liên hợp $\pi-\pi$ giữa nhóm carbonyl và liên kết đôi C=C trong vòng pyran, đồng thời chịu ảnh hưởng của hiệu ứng hút điện tử từ nhóm nitrile ($-\text{CN}$) và liên kết hydro nội phân tử giữa $-\text{NH}_2$ và O=C. Sự có mặt đồng thời của các dải $-\text{NH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{N}$, và C=O liên hợp chứng minh sự hình thành thành công của khung 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile, là trung gian quan trọng cho quá trình tổng hợp tiếp theo dẫn đến hệ dị vòng pyrano[2,3-d]pyrimidine-4-one. (Sơ đồ 3.9).

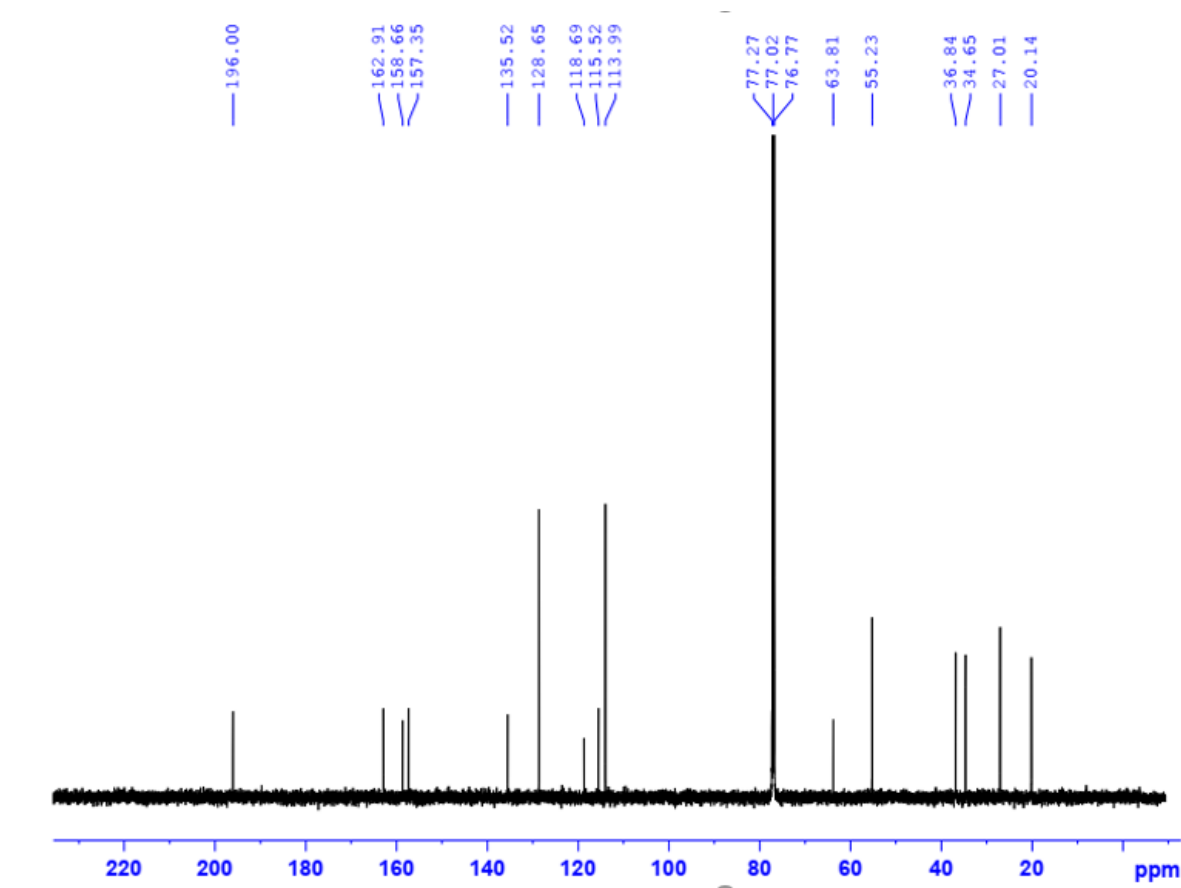


Hình 3.12. Phổ IR của hợp chất 128a



Hình 3.13. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 128a

Phổ ^1H NMR của chất trung gian **128a** (Hình 3.13) cho thấy hai doublet doublet lần lượt ở 7,16 và 6,82 ppm và một singlet ở 3,77 ppm, cho thấy sự có mặt của vòng 4-methoxyphenyl. Các tín hiệu singlet ở 4,52 và 4,39 ppm tương ứng với các proton NH_2 và proton CH trong nhóm dihydrofuran. Sáu proton trong vòng cyclohexanone được quan sát dưới dạng multiplet ở trường cao δ 2,63 – 1,95 ppm. Phổ ^{13}C NMR của chất trung gian **128a** xuất hiện đủ 17 tín hiệu carbon với độ dịch chuyển hóa học nằm trong khoảng từ 196,0 đến 20,0 ppm (Hình 3.14).



Hình 3.14. Phổ ^{13}C - NMR của hợp chất **128a**

❖ *Khảo sát về điều kiện xúc tác cho phản ứng tổng hợp hợp chất trung gian 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile*

Để đánh giá hiệu quả của chất xúc tác, một số chất xúc tác khác nhau bao gồm ammonium acetate (NH_4OAc), pyridin, 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), triethylamine (Et_3N), 4-dimethylaminopyridine (DMAP), đã được thử nghiệm trong quá trình tổng hợp 2-amino-4-methoxy-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4H-chromene-3-carbonitrile (**128a**) bằng phản ứng ba thành phần của cyclohexan-1,3-dione (**126**), 4-methoxybenzaldehyde (**127a**) và malononitrile (Bảng 3.7). Tất cả các phản ứng được thực hiện trong dung môi acetonitrile (CH_3CN) trong 20 phút tại nhiệt độ hồi lưu dưới

điều kiện MW ở 150W với các chất phản ứng **127a**, **72a** và **126** ở cùng tỷ lệ mol (So đò 3.9).

Bảng 3.7. Tối ưu hóa chất xúc tác để tổng hợp hợp chất **128a**

STT	Chất xúc tác	Xúc tác (mol%)	Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất, %	Ghi chú
1	DABCO	5	82	25	-
2	DABCO	10	82	65	-
3	DABCO	20	82	85	Xúc tác tốt cho hệ Knoevenagel–Michael–cyclization; phản ứng nhanh, cho hiệu suất cao
4	DABCO	30	82	85	Hiệu suất không thay đổi khi tăng xúc tác
5	NH ₄ OAc	20	82	46	Hiệu suất thấp
6	DMAP	20	82	67	Kém hơn DABCO do tính base yếu và cơ chế nucleophilic không phù hợp
7	DBU	20	82	69	Phản ứng nhanh nhưng sinh nhiều sản phẩm phụ
8	Et ₃ N	20	82	30	Hiệu suất kém, dễ tách nhưng phản ứng không hoàn toàn.

Trong khi đó, khi sử dụng 5 mol% DABCO như một chất xúc tác base, sản phẩm **128a** thu được với hiệu suất 25%. Khi tăng nồng độ xúc tác DMAP lên 10 mol% và 20 mol%, hiệu suất phản ứng cũng được tăng lên lần lượt là 65% và 85%. Khi tăng nồng độ xúc tác DABCO phản ứng từ 20 mol% lên 30 mol% hiệu suất phản ứng không thay đổi. Kết quả nghiên cứu cho thấy phản ứng “one-pot” ba thành phần sử dụng 20 mol% DMAP trong ethanol trong 20 phút cho kết quả tốt nhất về hiệu suất (Bảng 3.7, mục 3). Dựa trên số liệu nghiên cứu trong Bảng 3.7, phản ứng “one-pot” ba thành phần của 4-methoxybenzaldehyde (**127a**) với cyclohexan-1,3-dione và malononitrile đã được tiến hành với sự hỗ trợ của lò vi sóng ở 150W sử dụng 20 mol% DABCO như một xúc tác base tối ưu.

❖ **Khảo sát về điều kiện dung môi và nhiệt độ cho phản ứng tổng hợp hợp chất trung gian 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile**

Tiếp theo, phản ứng “one-pot” ba thành phần của 4-methoxybenzaldehyde (**127a**) với cyclohexan-1,3-dione và malononitrile đã được tiến hành với sự hỗ trợ của lò vi sóng ở 150W sử dụng 20 mol% DABCO trong các dung môi hữu cơ khác nhau (CH₃CN, MeOH, *t*-BuOH, *i*-PrOH, EtOAc, toluene, hoặc tetrahydrofuran) ở tại

nhệt độ sôi của chúng để sàng lọc dung môi phản ứng tối ưu (Bảng 3.8). Kết quả cho thấy phản ứng trong CH₃CN ở 82°C trong vòng 20 phút cho sản phẩm mục tiêu **128a** với hiệu suất cao nhất (85%).

Bảng 3.8. Sàng lọc điều kiện dung môi và nhiệt độ phản ứng tối ưu cho quy trình tổng hợp hợp chất **128a**

STT	Dung môi	Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất, %
1	<i>t</i> -BuOH	83	33
2	EtOH	80	28
3	MeOH	65	30
4	EtOAc	78	35
5	Toluene	110	24
6	THF	66	30
7	CH ₃ CN	60	47
8	CH ₃ CN	70	69
9	CH₃CN	82	85
10	CH ₃ CN	90	85
11	CH ₃ CN	100	85
12	CH ₃ CN	110	83
13	CH ₃ CN	120	82

Tiếp theo phản ứng tổng hợp được khảo sát điều kiện nhiệt độ phản ứng với điều kiện dung môi là CH₃CN, thời gian phản ứng 20 phút. Khi nhiệt độ phản ứng tăng từ 60 đến 82°C, hiệu suất phản ứng tạo hợp chất **128a** tăng dần. Trong khi đó, khi nhiệt độ được tăng từ 82 đến 100°C, hiệu suất tổng hợp của hợp chất **128a** không thay đổi. Khi tăng nhiệt độ phản ứng lên 120°C, hiệu suất phản ứng giảm từ 85% xuống còn 81%. Tóm lại, phản ứng tổng hợp 2-amino-4-methoxy-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4H-chromene-3-carbonitrile (**128a**) từ 4-methoxybenzaldehyde (**127a**), cyclohexan-1,3-dione và malononitrile dưới chiếu xạ MW được thực hiện ở 82°C trong dung môi CH₃CN để thu được hiệu suất cao nhất.

❖ **Khảo sát về điều kiện thời gian cho phản ứng tổng hợp các hợp chất trung gian 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile**

Cuối cùng, phản ứng “one-pot” ba thành phần của 4-methoxybenzaldehyde (**127a**) với cyclohexan-1,3-dione và malononitrile đã được tiến hành với sự hỗ trợ của lò vi sóng ở 150W sử dụng 20 mol% DABCO trong các dung môi CH₃CN, ở tại nhiệt độ 82°C được sử dụng để khảo sát thời gian phản ứng tối ưu (Bảng 3.9). Kết

quả cho thấy phản ứng trong CH₃CN ở 82°C trong vòng 15 phút là điều kiện thời gian tối ưu.

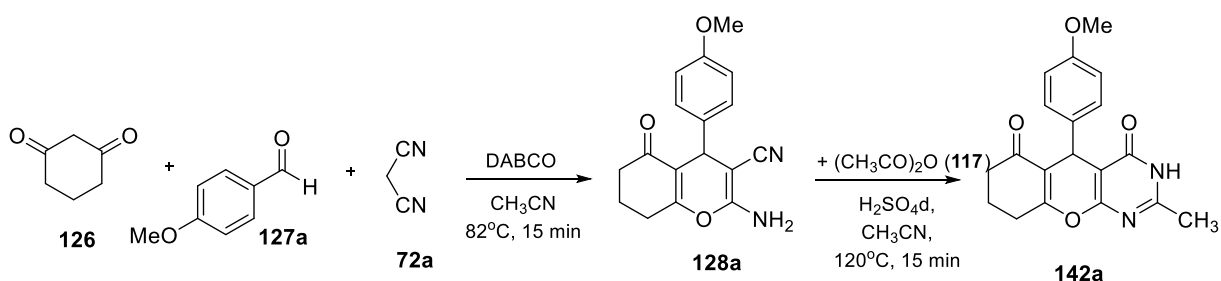
Bảng 3.9. Khảo sát điều kiện thời gian phản ứng tối ưu tổng hợp hợp chất **128a**

STT	Thời gian (phút)	Hiệu suất, %
1	5	20
2	10	69
3	15	85
4	20	85
5	30	85

3.4.2. Tổng hợp hợp chất dị vòng pyrano[2,3-d]pyrimidine

Tiếp theo, hợp chất pyrano[2,3-d]pyrimidine (**142a**) được tổng hợp thông qua phản ứng domino hai bước trong cùng hệ “one-pot” dưới bức xạ vi sóng, như trình bày trong Sơ đồ 3.10. Ở bước thứ nhất, 2 mol% DABCO được sử dụng làm xúc tác bazơ cho phản ứng ba thành phần giữa cyclohexane-1,3-dione (1,0 đương lượng), malononitrile (1,0 đương lượng) và aldehyde (1,0 đương lượng) trong dung môi acetonitrile. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 82 °C trong 15 phút dưới bức xạ vi sóng (MW), tạo thành các trung gian 2-amino-4H-pyran-3-carbonitrile (**128a**) thông qua trình tự ngưng tụ Knoevenagel – cộng Michael – đóng vòng nội phân tử.

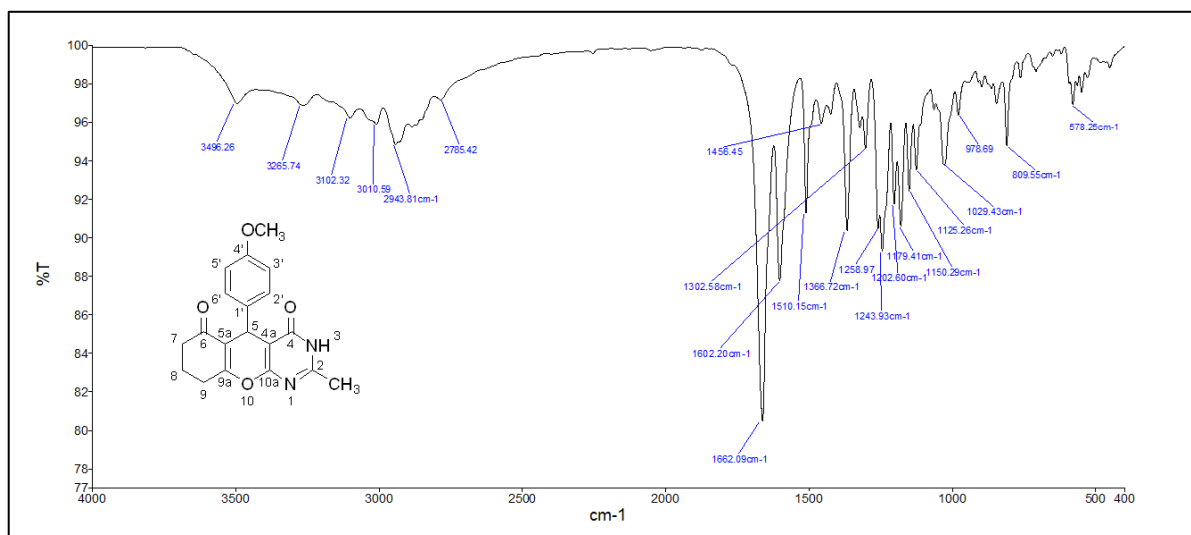
Ở giai đoạn thứ hai, trung gian **128a** được đóng vòng ngưng tụ với 3,0 đương lượng acetic anhydride (**117**), trong acetonitrile, với H₂SO₄ đậm đặc (0,4 đương lượng) làm xúc tác Brønsted để hoạt hóa tác nhân acyl hóa; phản ứng tiến hành ở 120 °C trong 15 phút dưới vi sóng và tạo thành pyrano[2,3-d]pyrimidine (**142a**). Sau khi kết thúc phản ứng và tinh chế, sản phẩm **142a** thu được với hiệu suất 78%.



Sơ đồ 3.10. Quy trình tổng hợp hợp chất **142a**

Phổ IR của **142a** (Hình 3.15) cho dải hấp thụ rộng tại 3496–3266 cm⁻¹ gán cho dao động kéo giãn N–H (liên kết hydro làm dải mở rộng). Các đỉnh tại 3102 và 3011 cm⁻¹ thuộc dao động kéo giãn C–H thơm; trong khi 2944 cm⁻¹ (kèm đỉnh yếu 2785 cm⁻¹) được quy cho dao động kéo giãn C–H của các nhóm CH₃ (OCH₃/N–CH₃, có thể chồng lấn dải tổ hợp). Hai đỉnh mạnh ở 1682 cm⁻¹ và 1602 cm⁻¹ đặc trưng lần lượt cho C=O lactam của nhân pyrimidinone (amide I liên hợp) và

dao động khung C=N/C=C liên hợp của hệ dị vòng-vùng thơm. Các đỉnh 1510 và 1455 cm^{-1} là dao động khung C=C thơm (và đóng góp amide II của N-H).



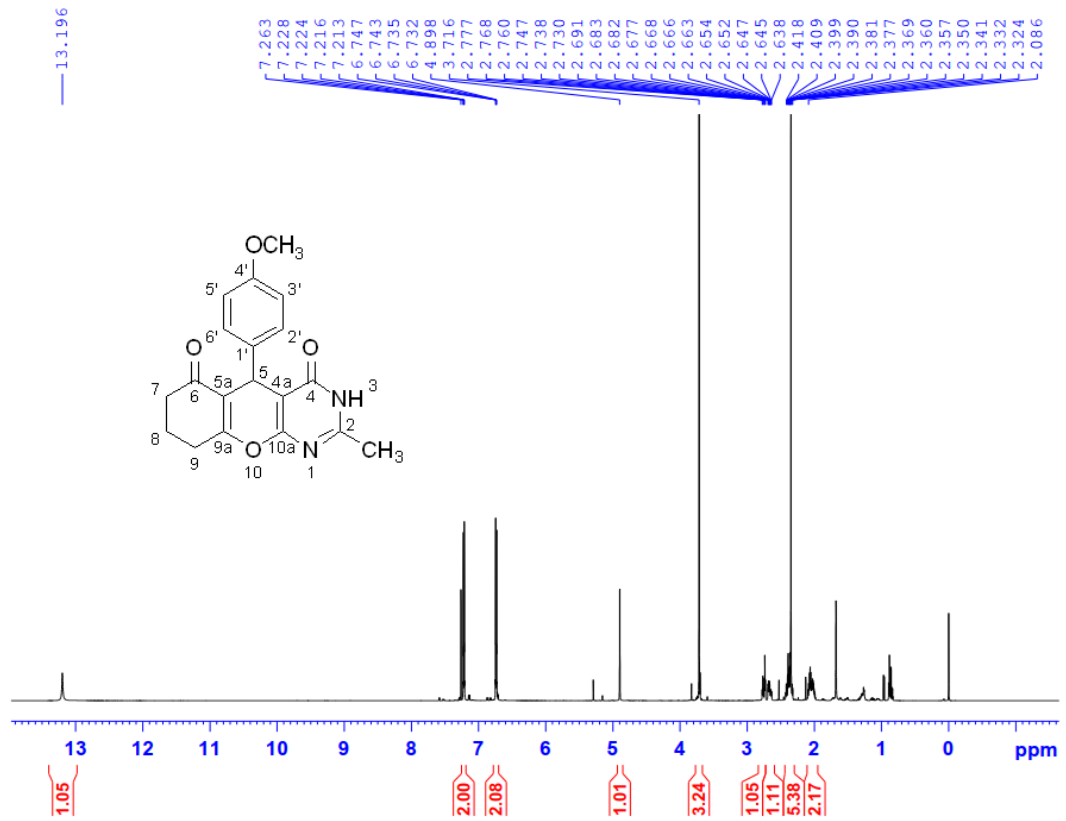
Hình 3.15. Phổ IR của hợp chất **142a**

Cụm tín hiệu đậm ở 1302–1125 cm^{-1} gồm: C–O–C/C–O mạnh của vòng pyrano và nhóm anisyl–OCH₃ (đặc biệt đỉnh 1243 cm^{-1} phù hợp với sự kéo giãn Ar–O–CH₃), kèm các dao động C–N của vòng pyrimidinone. Các đỉnh tại 1079 và 1029 cm^{-1} tiếp tục gợi ý sự hiện diện của liên kết C–O trong khung pyrano/methoxy. Ở vùng thấp, 978 cm^{-1} và 809 cm^{-1} là ở vùng tần số thấp, các đỉnh tại 978 cm^{-1} và 809 cm^{-1} là dao động biến dạng ngoài mặt phẳng của liên kết C–H thơm, đặc trưng cho vòng benzen có thể không đối xứng.

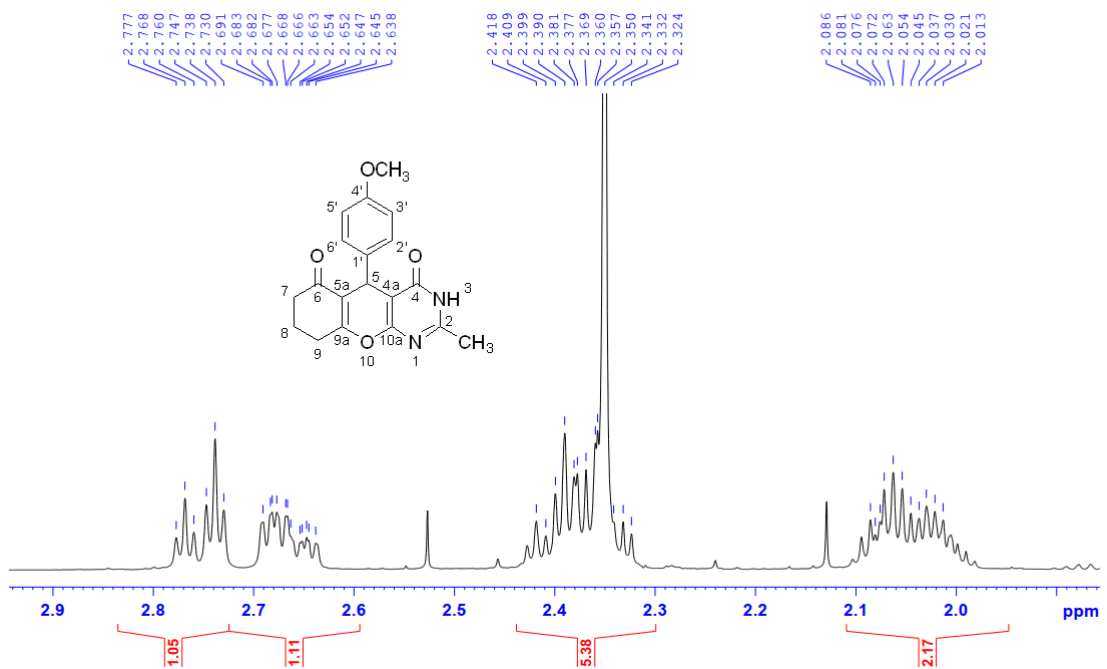
Tổng hợp các đặc trưng: N–H (3458–3266 cm^{-1}), C=O lactam mạnh (1682 cm^{-1}), hệ C=N/C=C liên hợp (1602–1510 cm^{-1}), cụm C–O–C/C–O (1302–1029 cm^{-1}) và tín hiệu C–H thơm ngoài mặt phẳng (809–980 cm^{-1}) đều tương thích chặt chẽ với cấu trúc pyrano[2,3-d]pyrimidin-4-one mang nhân anisyl của hợp chất **142a**.

Phổ ¹H NMR (Hình 3.16) của **142a** cho thấy một đỉnh xuất hiện tại δ_H (ppm) 13.2 (1H, s), gán cho proton NH trên khung pyrimidin—tín hiệu này đặc trưng cho NH liên hợp với hệ C=O/C=N. Vùng thơm thể hiện hai đỉnh đôi-đôi tại δ_H (ppm) 7.22 (2H, dd, $J = 7.2, 2.4$ Hz) và 6.74 (2H, dd, $J = 7.2, 2.4$ Hz). Mẫu ghép này phù hợp với nhân p-anisyl kiểu gần-AA'BB': hằng số ghép lớn (7.2 Hz) phản ánh ghép ortho, còn hằng số nhỏ (2.4 Hz) phản ánh ghép meta yếu; hai cặp 2H cân xứng củng cố mô hình vòng thơm para-thể có –OCH₃.

Ngoài ra, tại δ_H (ppm) 4.90 (1H, s) gán cho proton oxymethine (H-4) trên cầu pyran; việc không thấy ghép rõ ràng phù hợp với vị trí kề dị tố O/N và tâm bất đối làm mở rộng ghép. Nhóm methoxy của nhân anisyl xuất hiện tại δ_H (ppm) 3.7 (3H, s, –OCH₃), dạng singlet gọn đúng kỳ vọng.



Hình 3.16. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 142a

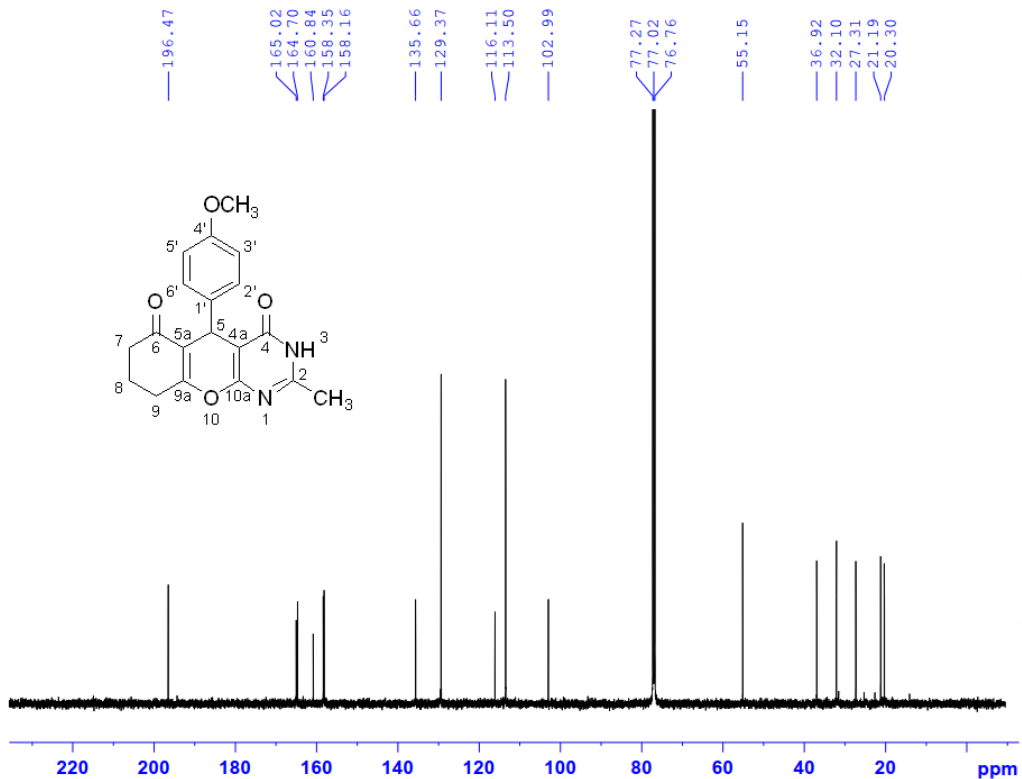


Hình 3.17. Phổ giãn $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 142a

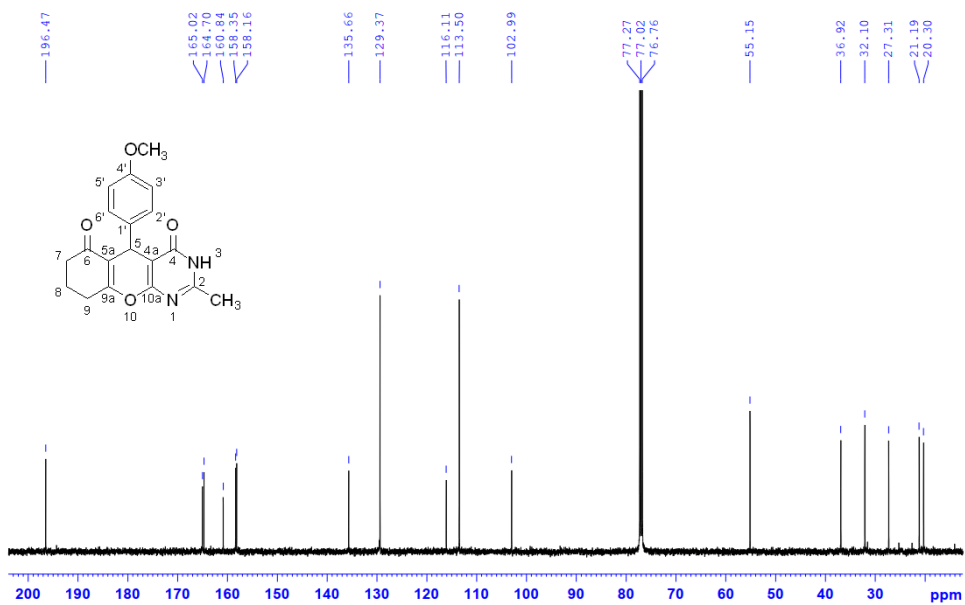
Vùng aliphatic thấp hơn cho ba cụm đa bội của các methylene thuộc phần vòng cyclohexane-1,3-dione đã ngưng tụ: δ_H (ppm) 2.77 (2H, m), 2.42–2.32 (2H, m) và 2.09–2.01 (2H, m). Các cụm này có biên độ và độ rộng khác nhau do ảnh hưởng của

“hiệu ứng hút điện tử” từ các nhóm C=O lân cận và sự hợp nhất vòng làm bất đối xứng môi trường. Ngoài ra, một đỉnh singlet tại δ_H (ppm) 2.35 (3H, s) được gán cho methyl của nhóm acetyl ($-\text{COCH}_3$) gắn trên nhân dị vòng.

Như vậy, tích phân các đỉnh phù hợp tổng cộng 18 proton (18H) trong phân tử **142a**, cụ thể với NH (1H), khung thơm p-anisyl (4H), oxymethine cầu (1H), methoxy (3H), methyl acetyl (3H) và ba cặp methylene aliphatic (6H).



Hình 3.18. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **142a**



Hình 3.19. Phổ giãn ^{13}C -NMR của hợp chất **142a**

Phổ ^{13}C NMR (Hình 3.18; Hình 3.19) của **142a** cho 18 tín hiệu quan sát được; trong đó hai cặp ở vùng thơm xuất hiện dạng “2C” (do tính đối xứng của nhân anisyl p-OCH₃: C-2'/C-6' và C-3'/C-5' trùng nhau). Với cấu trúc 19C, điều này là hợp lý vì thường có một cacbon bậc bốn sp² rất yếu/che khuất (ở vùng 158–161 ppm) nên không tách riêng được thành một đỉnh riêng biệt.

Xuất hiện đỉnh tại δ_{C} (ppm) 196.5 ppm đặc trưng đặc trưng cho carbonyl xeton aliphatic của phần vòng no ngưng tụ. Hai đỉnh δ_{C} (ppm) 165.0 và 164.7 thuộc hai C=O liên hợp còn lại (một của vòng lacton và một của nhóm carbamoyl gắn N–H). Cụm δ_{C} (ppm) 160.8, 158.4, 158.2 ppm là các cacbon sp² bậc bốn gắn dị tố (C–O/C=N), trong đó có C-4' mang –OCH₃ của nhân anisyl;

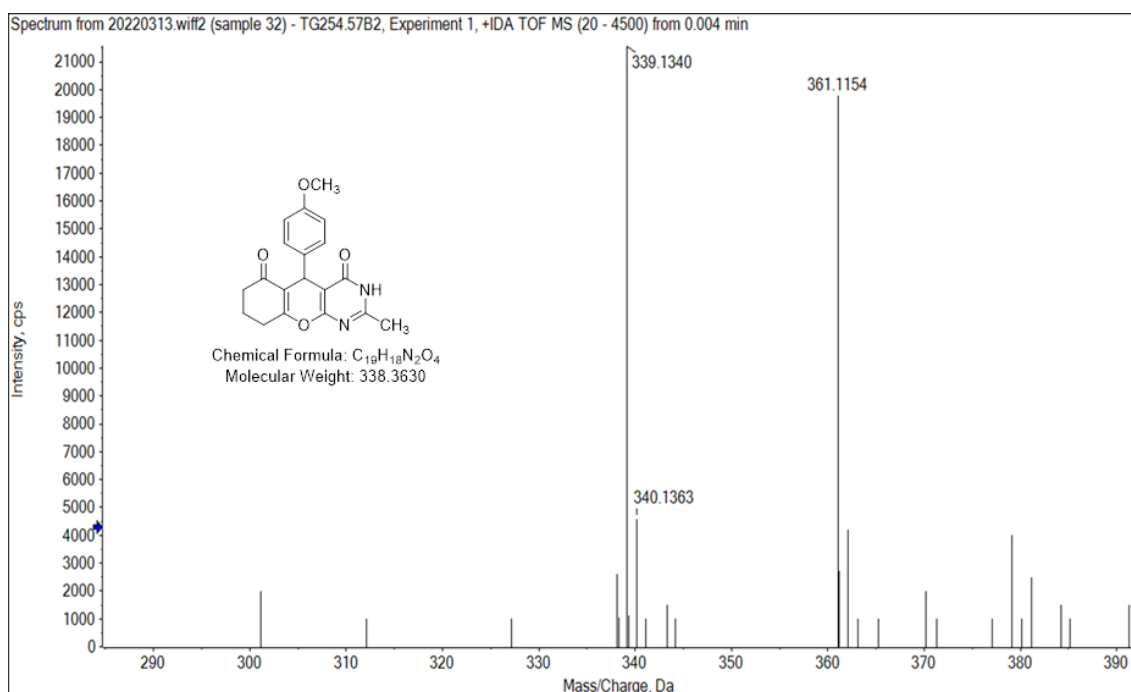
Vùng thơm cho C-1' (ipso) ở δ_{C} (ppm) 135.7 ppm do gắn trực tiếp vào hệ dị vòng liên hợp; hai cặp δ_{C} (ppm) 129.4 (2C) và 113.5 (2C) lần lượt là ortho và meta của nhân anisyl p-OCH₃. Tín hiệu δ_{C} (ppm) 116.1 ppm thuộc một cacbon sp² trong phần khung dị vòng liên hợp chịu ảnh hưởng của nhóm carbonyl (CH/Cq liên hợp cạnh C=O), phản ánh sự kéo dịch bởi liên hợp. Đỉnh δ_{C} (ppm) 103 ppm là cacbon O–CH–O trong cầu pyran (cacbon mang proton đơn ở δ_{H} (ppm) 4.9), điển hình cho “cacbon kiểu acetal”.

Nhóm thế aliphatic thể hiện rõ: δ_{C} (ppm) 55.2 là –OCH₃ thơm; δ_{C} (ppm) 21.2 là CH₃ của nhóm acyl (–COCH₃) trên mạch –NH–COCH₃. Ba đỉnh δ_{C} (ppm) 32.1, 27.3, 20.3 thuộc ba methylene của vòng cyclohexanone cầu hóa. Tín hiệu δ_{C} (ppm) 36.9 nằm trong dải methylene/methine aliphatic chịu ảnh hưởng của dị tố; với dữ kiện ^1H (singlet ở δ_{H} 4.90 ppm) đỉnh này nhiều khả năng là methine bão hòa nằm trong môi trường lân cận dị tố trong khung cầu.

Tổng thể, bộ tín hiệu trên khẳng định đầy đủ ba nhóm carbonyl liên hợp, nhân anisyl p-OCH₃ đối xứng (tạo hai cặp 2C), cacbon acetal O–CH–O và khung no 3 nhóm –CH₂ của vòng cầu. Do đó, phổ ^{13}C hoàn toàn tương thích với cấu trúc **142a**.

Trên phổ khối phân giải cao của hợp chất **142a** (Hình 3.20) tìm thấy mảnh ion có m/z 339.134 [M+H]⁺ tương ứng với khối lượng tính toán theo lý thuyết cho công thức C₁₉H₁₉N₂O₄, 339.134 và mảnh ion có m/z 361.115 [M+Na]⁺ tương ứng với khối lượng tính toán theo lý thuyết cho công thức C₁₉H₁₈N₂NaO₄, 361.116.

Kết quả này phù hợp với công thức phân tử dự kiến của hợp chất **142a** là C₁₉H₁₈N₂O₄.

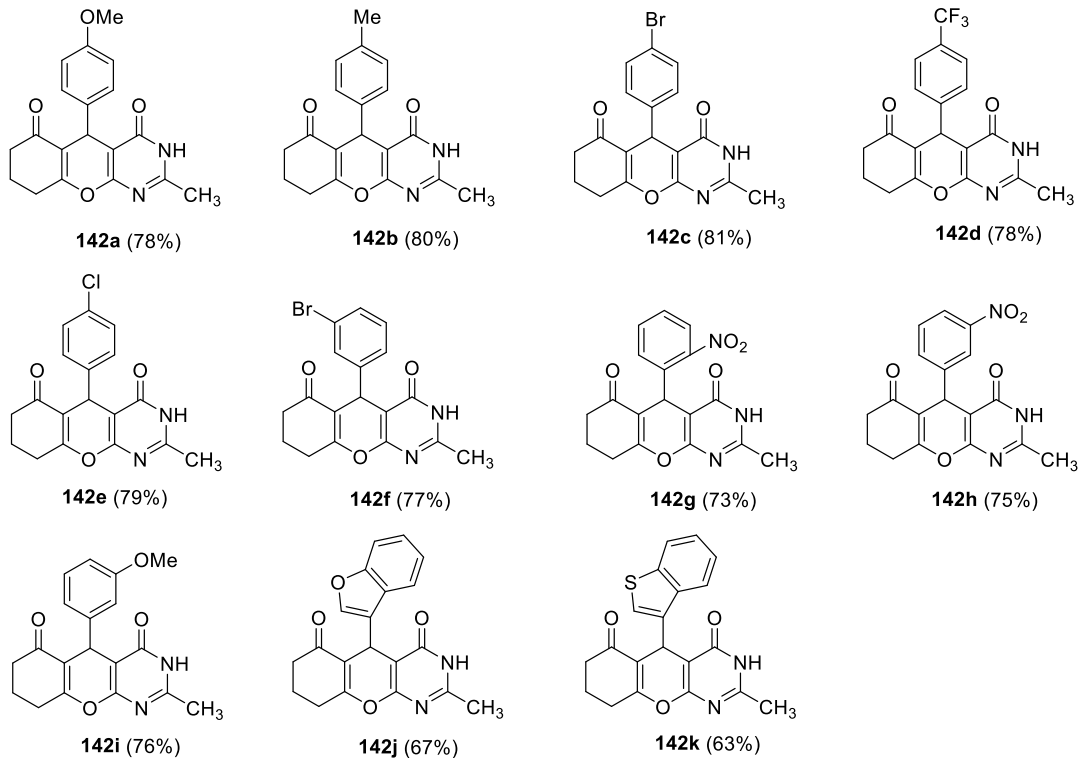
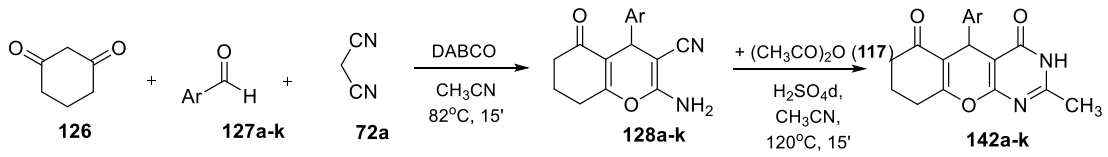


Hình 3.20. Phổ HRMS của hợp chất **142a**

Áp dụng quy trình tối ưu như trên, chúng tôi đã tổng hợp thêm được dãy các hợp chất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine **142b-k** mới với các nhóm thế khác nhau thông qua các phản ứng đa thành phần hai bước như *Sơ đồ 3.11*.

Nhìn chung, các aldehyde mang hoặc nhóm hút điện tử (nitro, halogen) hoặc nhóm đẩy điện tử (methyl, methoxy) ở các vị trí khác nhau mang cho hiệu suất phản ứng cao (73-81%). Ngược lại, với các aldehyde chứa dị vòng tạo thành các sản phẩm **142j, k** với hiệu suất thấp hơn (63-67%). Tất cả các sản phẩm **142b-k** thu được xác định đều được khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại như IR, ¹H NMR ¹³C NMR và HRMS.

Cơ chế hình thành sản phẩm **142** được đề xuất theo *Sơ đồ 3.12*. Phản ứng khởi đầu bằng sự ngưng tụ Knoevenagel giữa cyclohexane-1,3-dione (**126**) và aldehyde (**127**), tạo thành liên hợp α,β -không no hoạt hóa (**129**). Tại đây, nhóm carbonyl liên hợp với vòng Ar thể hiện hiệu ứng cảm ứng và cộng hưởng theo hướng hút electron, khiến **129** trở thành hệ nghèo mật độ electron, đóng vai trò electrophile ưu thế trong bước phản ứng kế tiếp. Trung gian (**129**) không tồn tại cố định ở một dạng, mà liên tục tautomer hóa nhằm hạ thấp năng lượng Gibbs, qua đó mở đường thuận lợi cho sự cộng Michael ngoại phân tử với malononitrile (**72a**), hình thành sản phẩm cộng Michael (**130**). Từ điểm này, bản chất phản ứng chuyển từ hướng động học sang bị điều khiển bởi yếu tố nhiệt động. Sự xuất hiện của acetic anhydride (**117**) cực kỳ quan trọng, là tác nhân acyl hóa – khử nước chiến lược, có khả năng kéo phản ứng về phía tạo cấu trúc có mức năng lượng tối ưu, đồng thời loại bỏ nước dưới trạng thái “ẩn” thông qua cơ chế acyl hóa trung gian.

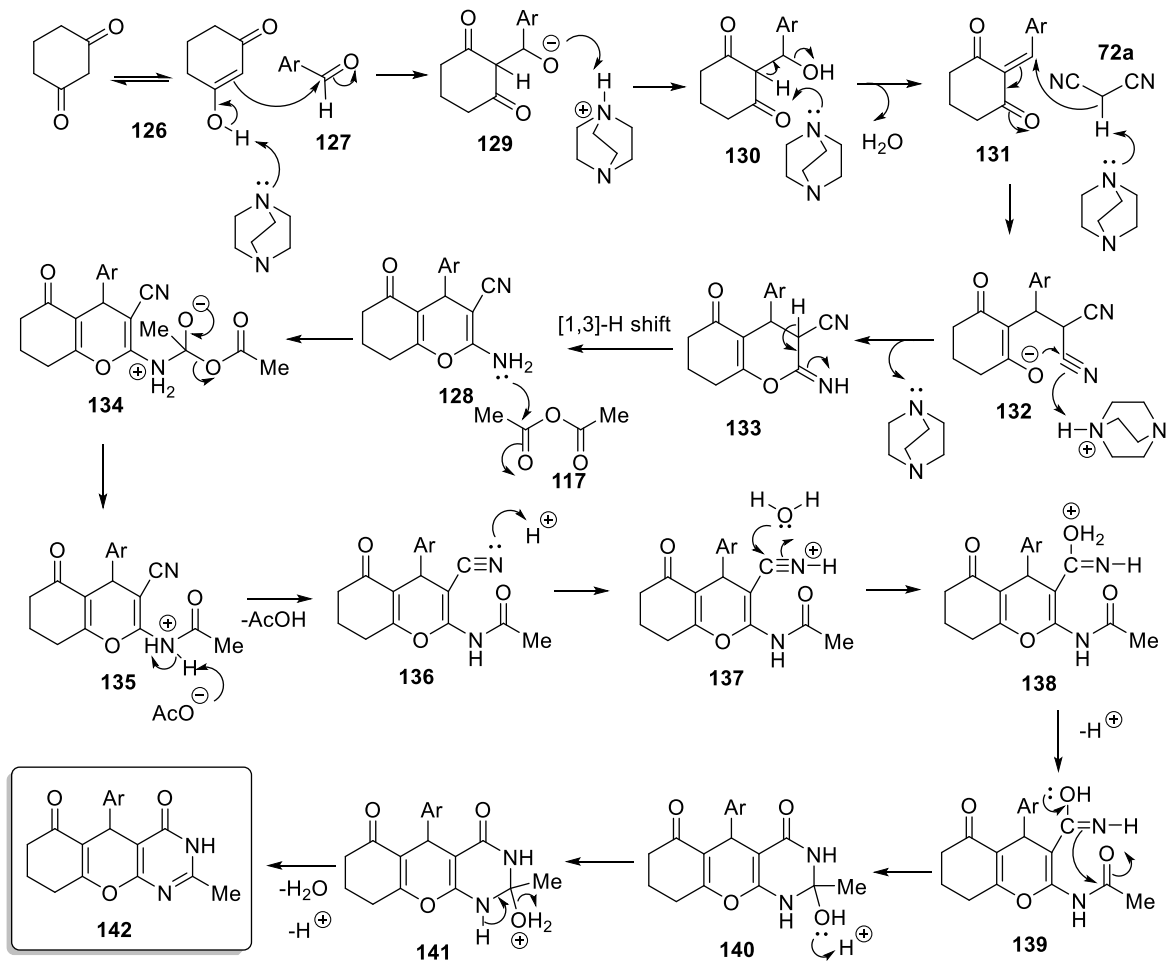


Sơ đồ 3.11. Quy trình tổng hợp hợp chất 142b-k

Nhờ đó, **130** được tái tổ chức điện tử từng bước một cách có định hướng để tạo trung gian hoạt hóa **131** và sau đó tiến tới đóng vòng nucleophilic vào nitrile, sinh ra amidine vòng **132**. Cấu trúc **132** tiếp tục ổn định thông qua chuyển vị hydride kiểu 1,3 nội phân tử, bước này đóng vai trò tái phân phối electron vào vị trí tối ưu năng lượng, tạo nên trung gian enaminone (**133**) — và đây mới là điểm phân nhánh quyết định toàn bộ hướng phản ứng, vì từ đây, hệ π được khóa dần theo hướng ưu tiên nhiệt động tuyệt đối. Trung gian **133** sau đó đóng vòng nội phân tử qua (**134** \rightarrow **135**), đồng thời acetic anhydride (**117**) đóng vai trò kéo cân bằng về phía khử nước, loại bỏ acid acetic (AcOH) để tạo dạng bán vòng (**136**). Hệ này tiếp tục trải qua chuỗi tautomer hóa – khử nước – proton hóa tuần tự (**137** \rightarrow **138** \rightarrow **139** \rightarrow **140** \rightarrow **141**), tiến tới tái thiết lập hệ liên hợp π mở rộng, cuối cùng đạt đến dạng quinonoid thơm hóa bền nhiệt động nhất – sản phẩm (**142**).

Như vậy, cơ chế phản ứng là một phản ứng domino đa thành phần dưới điều kiện « *one-pot* », vận hành theo chuỗi Knoevenagel – cộng Michael ngoại phân tử – acyl hóa hoạt hóa – đóng vòng nội phân tử – khử nước – thơm hóa, trong đó bước định hướng quyết định cơ chế là sự tái tổ chức điện tử dưới điều kiện khử nước do acetic anhydride (**117**) chi phối, chứng tỏ phản ứng hoàn toàn chịu sự điều khiển bởi

yếu tố nhiệt động thay vì động học tức thời, vì vậy đạt hiệu quả sử dụng nguyên tử (atom economy) tối ưu.

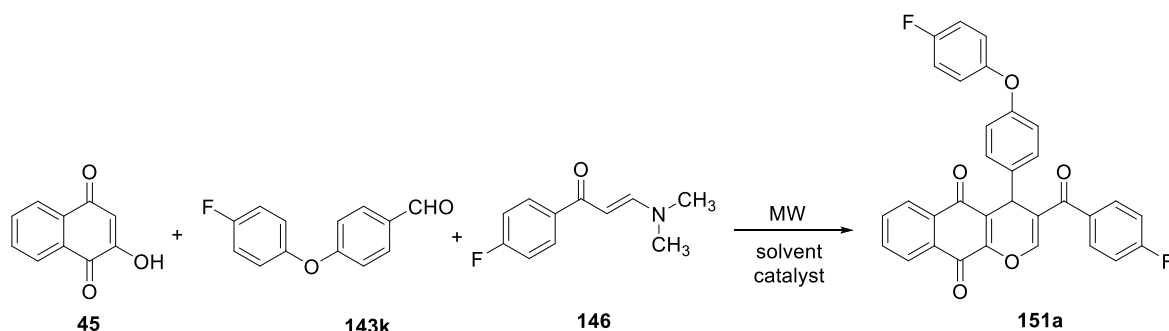


Sơ đồ 3.12. Cơ chế đề xuất hình thành sản phẩm 142a-k

3.5. Tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone chứa dị tố flo

Để tổng hợp các hợp chất pyranonaphthoquinone chứa dị tố flo, luận án đã nghiên cứu khảo sát điều kiện tối ưu cho phản ứng ba thành phần giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**), 4-(4-fluorophenoxy)benzaldehyde **143a** và enaminone (**146**) (Sơ đồ 3.13). Hợp chất enaminone **146** được tổng hợp từ *N,N*-dimethylformamide dimethyl acetal và acetophenone trong dung môi acetonitrile ở nhiệt độ sôi hồi lưu trong 1 giờ theo công bố trước đây [116]. Phản ứng được thực hiện trong các dung môi khác nhau (acetonitrile, ethanol, *tert*-butanol, propan-2-ol và toluene) ở nhiệt độ 80 đến 120°C khi có hoặc không có chất xúc tác. Kết quả chi tiết được trình bày ở Bảng 3.10. Kết quả thực nghiệm cho thấy phản ứng không diễn ra nếu không có chất xúc tác. Khi sử dụng acetic acid băng làm xúc tác với hàm lượng 20 mol% với các dung môi kể trên, chúng tôi thu được hợp chất 3-(4-fluorobenzoyl)-4-(4-(4-fluorophenoxy)phenyl)-4*H*-benzo[*g*]chromene-5,10-dione (**151a**) như mong muốn, tuy nhiên hiệu suất chỉ khoảng 15-32%. Do đó, chúng tôi tiếp tục tiến hành các phản ứng với dung môi acetic acid băng ở các nhiệt độ khác nhau. Hiệu suất tổng

hợp chất **151a** tăng vọt đến 77% khi sử dụng acetic acid băng làm dung môi và nhiệt độ phản ứng nâng lên 110°C. Việc nâng nhiệt độ phản ứng lên 120-140°C đã làm giảm hiệu suất có thể do tạo thành hỗn hợp nhiều sản phẩm. Như vậy, với việc sử dụng dung môi acetic acid làm dung môi đồng thời là xúc tác và nhiệt độ phản ứng 110°C là điều kiện tối ưu để tổng hợp hợp chất **151a**.



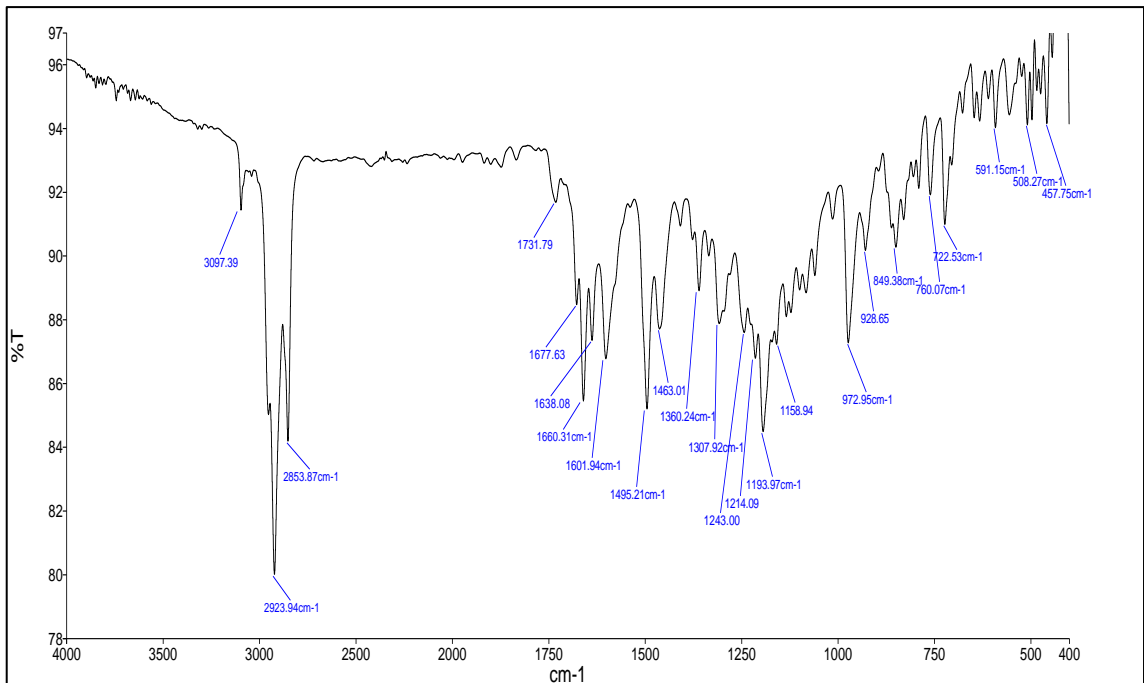
Sơ đồ 3.13. Tổng hợp các dẫn xuất pyranonaphthoquinone **151a**

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của dung môi, xúc tác và nhiệt độ đến phản ứng tổng hợp hợp chất **151a**

STT	Dung môi	Xúc tác	Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất (%)
1	CH ₃ CN	-	82	-
2	EtOH	-	80	-
3	<i>t</i> -BuOH	-	83	-
4	<i>i</i> -PrOH	-	83	-
5	Toluene	-	110	-
6	CH ₃ CN	gl. AcOH (20 mol%)	82	15
7	EtOH	gl. AcOH (20 mol%)	80	24
8	<i>t</i> -BuOH	gl. AcOH (20 mol%)	83	29
9	<i>i</i> -PrOH	gl. AcOH (20 mol%)	83	25
10	Toluene	gl. AcOH (20 mol%)	110	32
11	gl. AcOH	-	120	76
12	gl. AcOH	-	110	77
13	gl. AcOH	-	100	61
14	gl. AcOH	-	90	56

*tỷ lệ tác nhân 1/1/1, MW, thời gian 30 phút

Cấu trúc của hợp chất 3-(4-fluorobenzoyl)-4-(4-(4-fluorophenoxy)phenyl)-4H-benzo[g]chromene-5,10-dione (**151a**) được xác nhận bằng các phương pháp phổ IR, NMR và HRMS.



Hình 3.21. Phổ IR của hợp chất **151a**

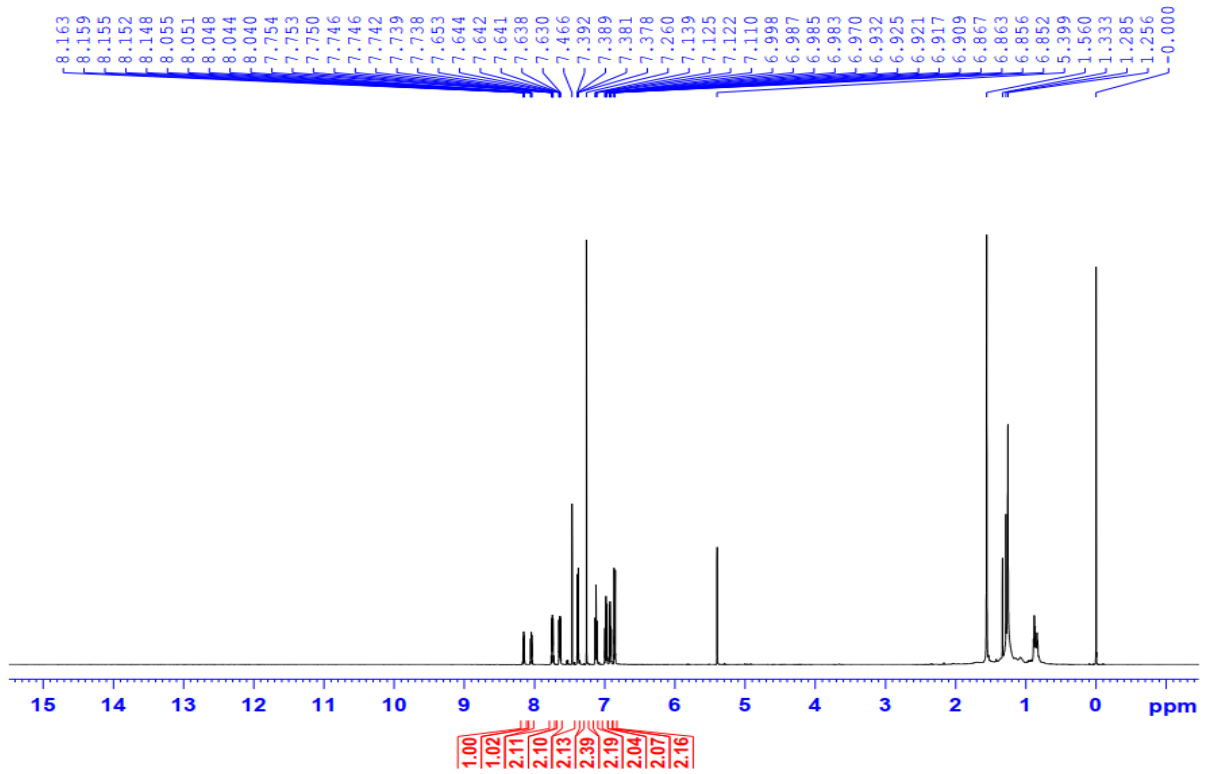
Phổ IR (KBr) (Hình 3.21) của hợp chất **151a** cho các đỉnh hấp thụ đặc trưng. Cụ thể, đỉnh tại 3097 cm^{-1} được gán cho dao động kéo giãn C–H thơm; các đỉnh 2924 và 2854 cm^{-1} thuộc dao động kéo giãn C–H aliphatic yếu, thường liên quan đến tín hiệu nền hoặc vết dung môi. Ở vùng carbonyl, phổ xuất hiện một đỉnh tại 1732 cm^{-1} , được gán cho dao động kéo giãn C=O của nhóm carbonyl. Đồng thời, các đỉnh tại 1660 và 1638 cm^{-1} đặc trưng cho các dao động C=O liên hợp kiểu quinone, có thể chồng lấn một phần với dao động C=C của hệ thơm liên hợp. Các đỉnh tại 1602 , 1495 và 1463 cm^{-1} được gán cho dao động khung C=C của các vòng thơm.

Các đỉnh tại 1360 và 1308 cm^{-1} liên quan đến dao động trong mặt phẳng của khung vòng thơm và sự xuất hiện của các dao động C–O. Các đỉnh mạnh tại 1243 , 1214 và 1194 cm^{-1} là đặc trưng cho dao động kéo giãn C–O–C của liên kết ether thơm aryl–O–aryl. Các đỉnh tại 973 và 929 cm^{-1} được gán cho dao động uốn ngoài mặt phẳng của C–H thơm, trong khi đỉnh tại 849 cm^{-1} phù hợp với kiểu thể trên vòng benzene, thường gặp ở các vòng thơm p-thế. Đỉnh tại 760 cm^{-1} tiếp tục đặc trưng cho dao động uốn ngoài mặt phẳng của C–H thơm trong hệ vòng aryl. Tổng hợp các tín hiệu trên cho thấy sự phù hợp của phổ IR thu được và cấu trúc hóa học đề xuất của hợp chất **151a**.

Trên phổ $^1\text{H NMR}$ của hợp chất **151a** xuất hiện tín hiệu singlet tại độ dịch chuyển $5,40\text{ ppm}$ được quy kết cho proton H-4 và tín hiệu singlet tại $7,47\text{ ppm}$ được quy kết cho hai proton H-2 thuộc vòng pyran. Các proton H-6, H-7, H-8 và H-9 thuộc khung naphthoquinone cộng hưởng ở trường thấp tại các độ dịch chuyển $8,16$ (1H, t,

$J = 4.8$ Hz), 8.05 (1H, t, $J = 4.8$ Hz), 7.76 – 7.74 (2H, m). Mười hai proton thơm còn lại cộng hưởng dưới dạng triplet hoặc doublet-triplet ở vùng 7.64-6.90 ppm.

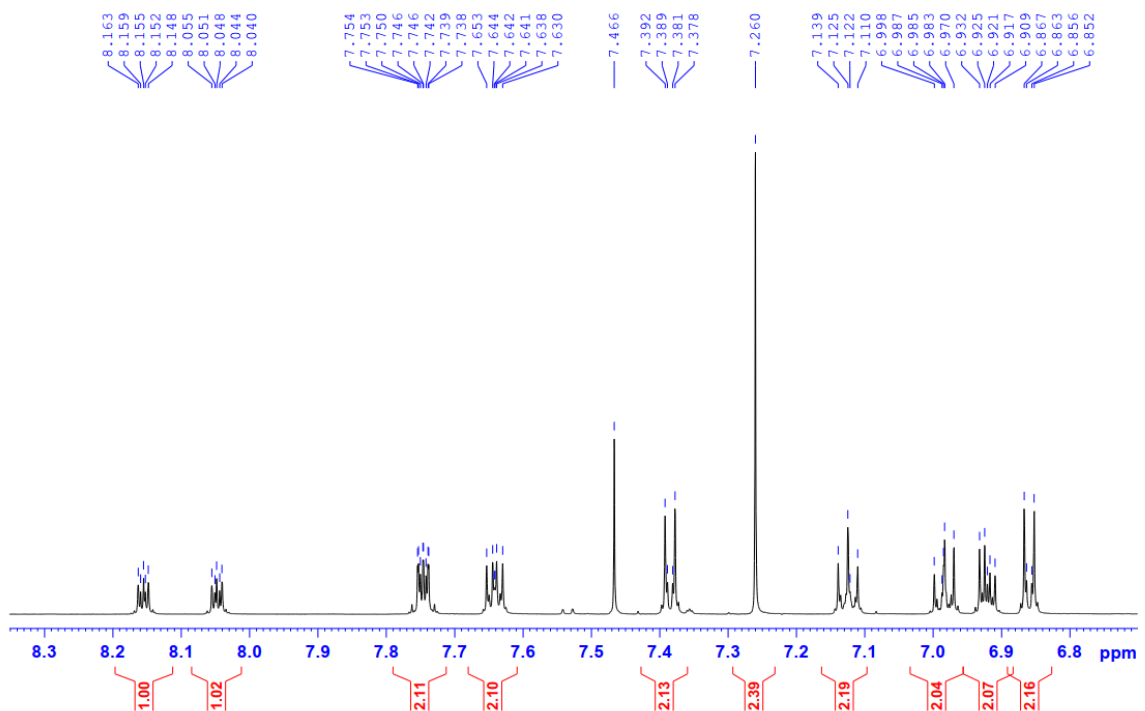
HA04.80-CDCl₃-1H



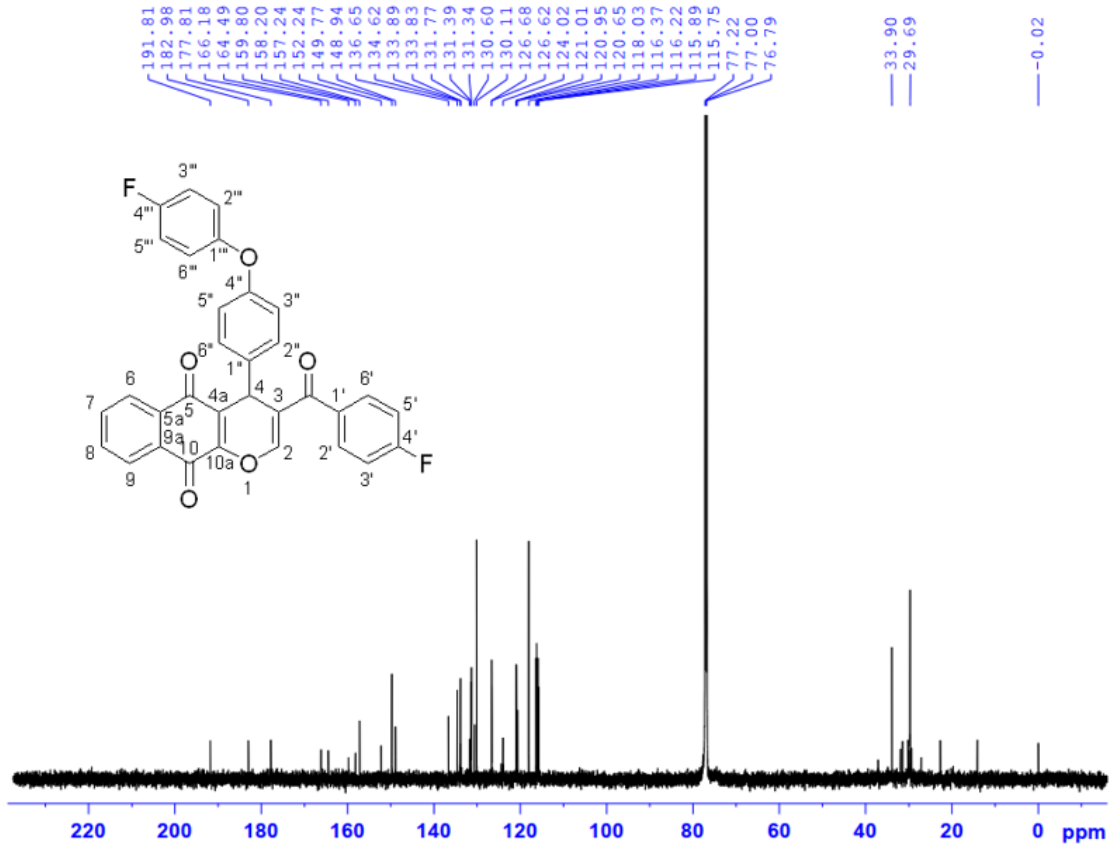
Hình 3.22. Phổ ¹H- NMR của hợp chất 151a

HA04.80-CDCl₃-1H

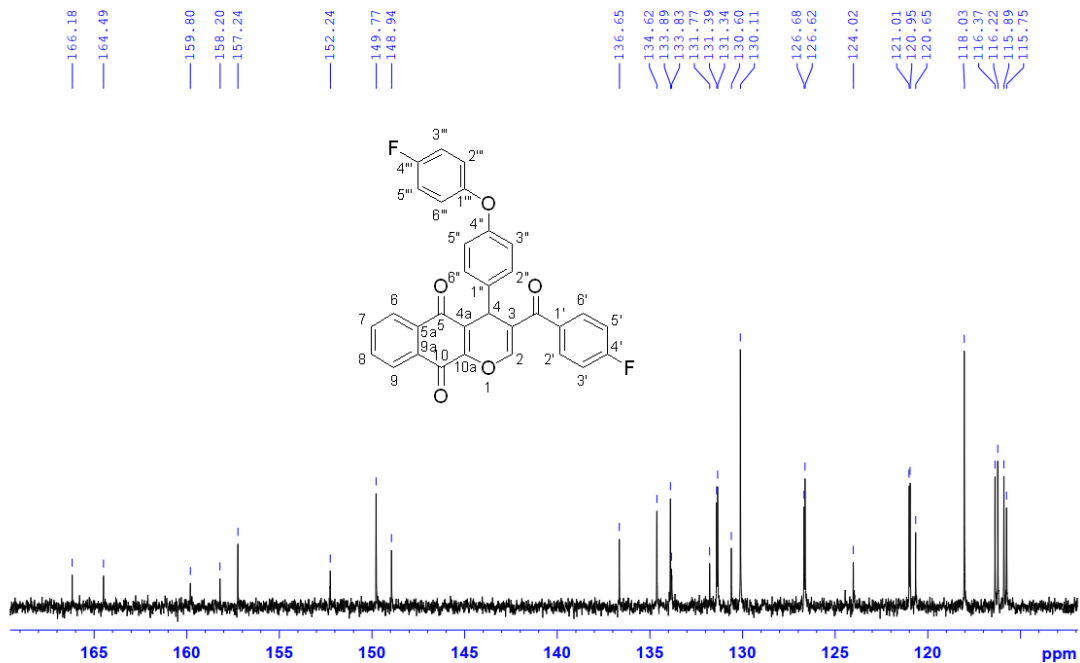
BRUKER



Hình 3.23. Phổ giãn ¹H- NMR của hợp chất 151a



Hình 3.24. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **151a**



Hình 3.25. Phổ giãn ^{13}C -NMR của hợp chất **151a**

Trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất **151a** xuất hiện đầy đủ tín hiệu của 32 nguyên tử carbon trong phân tử. Nhóm ketone liên kết với vòng pyran và hai nhóm ketone của vòng naphthoquinone được quan sát lần lượt ở δ_{C} 191.8, 183.0 và 177.8. Các tín

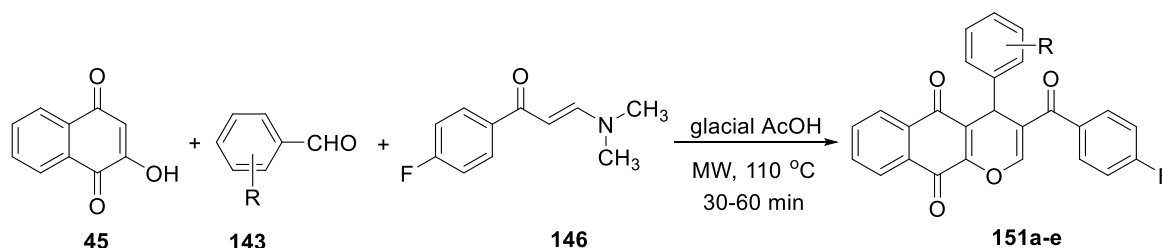
hiệu δ_C 165.3 (CF, d, $J = 253.5$ Hz), 159.0 (CF, d, $J = 240.0$ Hz) thuộc về các carbon liên kết trực tiếp với flo. Trong khi đó, các tín hiệu doublet tại δ_C 131.3 (2C, d, $J = 7.5$ Hz), 121.0 (2C, d, $J = 9.0$ Hz), 116.3 (2C, d, $J = 22.5$ Hz) và 115.8 (2C, d, $J = 21.0$ Hz) thuộc về các carbon bị ảnh hưởng bởi nhóm thế C-F. Tín hiệu tại δ_C 33.9 ppm được quy kết cho C-4 thuộc vòng pyran.

Bảng 3.11. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **151a**

C	δ_C	δ_H
C=O-benzoyl	191.9	–
5	183.8	–
10	177.9	–
4	33.9	5.40 (1H, s)
2	121.0	7.47 (1H, s)
6/9	128–134	7.94–8.16 (4H, m)
4a, 5a, 9a, 10a	148.6–157.2	–
1'	149.8	–
2'/6'	130.0	7.38 (2H, dt, $J=8.4,1.8$)
3'/5'	116–117	6.99 (2H, t, $J=9.0$)
1''	159.0 (d, $^1J_{CF} = 240$ Hz)	–
2''/6''	116.3, 115.8 (d, $^2J_{CF} = 21$ Hz)	6.86–6.90 (2H, m)
3''/5''	131.3, 121.0 (d, $^3J_{CF} = 7-9$ Hz)	6.99–7.38 (2H, m)
1'''	165.3 (d, $^1J_{CF} = 253$ Hz)	–
2'''/6'''	116–117 (d, $^2J_{CF} = 21$ Hz)	7.64 (2H, dd, $J = 8.4, 5.4$)
3'''/5'''	131/121 (d, $^3J_{CF} = 7-9$ Hz)	7.13 (2H, m)

Tín hiệu của các proton và carbon trong vùng quinon cùng sự hiện diện của ba carbonyl, hai nhân thơm chứa fluor và nhóm phenoxy được chứng minh rõ qua dữ kiện NMR và IR, cho phép khẳng định cấu trúc của hợp chất **151a** là 3-(4-fluorobenzoyl)-4-(4-(4-fluorophenoxy)phenyl)-4H-benzo[g]chromene-5,10-dione.

Trên cơ sở kết quả tổng hợp dẫn xuất **151a**, chúng tôi đã tiến hành tổng hợp thành công các dẫn xuất pyranonaphthoquinone **151a-e** với hiệu suất 71-79% được đưa ra trong Bảng 3.12.



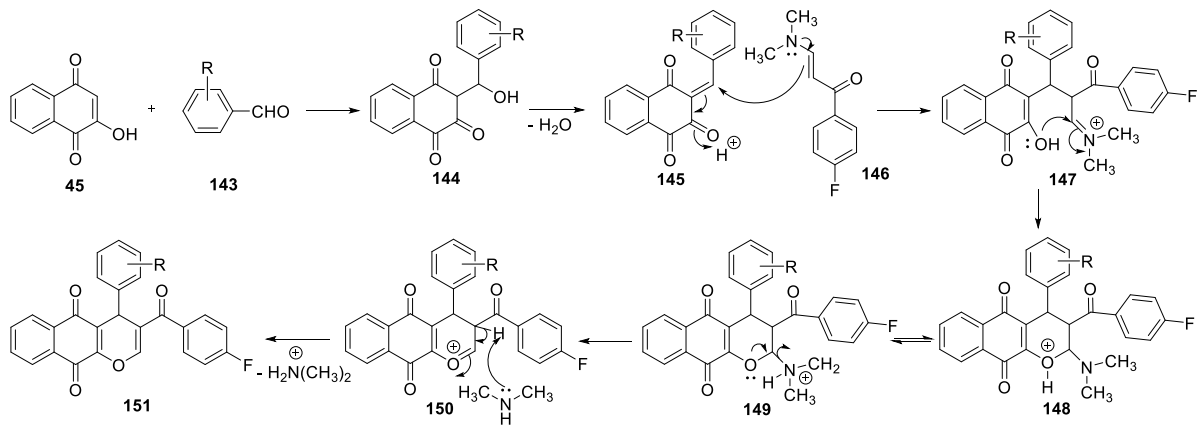
Sơ đồ 3.14. Tổng hợp các dẫn xuất pyranonaphthoquinone **151a-e**

Bảng 3.12. Tính chất vật lý và hiệu suất của dãy chất 151a-e

TT	Hợp chất	R	Màu sắc	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Hiệu suất (%)
1	151a	O(4-FC ₆ H ₄)	Màu vàng	270	77
2	151b	2-F	Màu vàng	279	74
3	151c	4-CF ₃	Màu vàng	265	73
4	151d	4-Cl	Màu vàng	275	79
5	151e	3-NO ₂	Màu vàng	264	71

Cơ chế hình thành sản phẩm **151a-e** được đề xuất theo Sơ đồ 3.15. Phản ứng ba thành phần này bắt đầu bằng phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**45**) với benzaldehyde **143**, tạo trung gian arylmethylenenaphthoquinone (**144**), sau đó khử nước để hình thành 1,2,4-naphthalenetrione (**145**) – một tác nhân rất mạnh do liên hợp sâu với ba nhóm carbonyl. Ở bước tiếp theo, enamionone (**146**) thực hiện cộng Michael tại vị trí carbon β của **145**, tạo trung gian **147**. Từ **147**, xảy ra vòng hóa kiểu oxa-Michael nội phân tử: nhóm phenolat hình thành trực tiếp từ 2-OH của **45** tấn công vào nhóm carbonyl lân cận, khép thành vòng chromene sáu cạnh, tạo trung gian **148** mang cấu trúc oxoni tạm thời. Dưới tác dụng của dung môi acid axetic băng, trung gian **148** dễ dàng loại bỏ nhóm dimethylamine, vì nhóm này đã được proton hóa và trở nên cực kỳ dễ tách ra khỏi phân tử, tạo thành trung gian **149**. Cuối cùng, các bước chuyển proton và sắp xếp lại liên kết π diễn ra, giúp khôi phục hoàn chỉnh hệ 1,4-naphthoquinone 5,10-dione, đi qua trung gian **150**, và được ổn định ở sản phẩm cuối cùng là pyranonaphthoquinone **115**.

Từ các kết quả thực nghiệm cho thấy nhóm thế đẩy hoặc hút điện tử trên benzaldehyde gần như không làm thay đổi đáng kể hiệu suất phản ứng. Điều này chỉ ra rằng bước quyết định tốc độ không nằm ở giai đoạn ngưng tụ ban đầu giữa **45** và **143**, mà chủ yếu được chi phối bởi quá trình hình thành và chuyển hóa của trung gian 1,2,4-naphthalenetrione (**145**). Cơ chế phản ứng mang tính kiểm soát nhiệt động học, trong đó vi sóng và môi trường acid (AcOH) đóng vai trò kích hoạt đồng thời nhiều bước domino liên tiếp, giúp tăng tốc độ phản ứng một cách tổng thể mà không làm ảnh hưởng đến độ chọn lọc cấu trúc. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với bản chất của một phản ứng domino ba thành phần trong vi sóng, trong đó năng lượng vi sóng kết hợp với môi trường acid băng giúp dẫn dắt phản ứng theo hướng tạo sản phẩm có độ ổn định nhiệt động học cao nhất.



Sơ đồ 3.15. Cơ chế đề xuất hình thành hợp chất 151

3.6. Đánh giá hoạt tính sinh học của các chất tổng hợp được

Xuất phát từ định hướng thiết kế các khung dị vòng hợp nhất mang nhân anthraquinone hoặc chromene – vốn là những cấu trúc hiện diện trong nhiều hợp chất có hoạt tính chống ung thư, kháng khuẩn và chống oxy hóa mạnh – luận án đã tiến hành tổng hợp một loạt dẫn xuất mới có cấu trúc đa dạng như benzo[*g*]chromene-5,10-dione, benzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline, chromeno[2,3-*d*]pyrimidine và pyrano[2,3-*d*]pyrimidine.

Các hệ vòng này đều được xây dựng dựa trên khung trung tâm 1-aza-anthraquinone hoặc naphthoquinone biến tính, cho phép mở rộng khả năng tương tác với đích sinh học nhờ các hệ π liên hợp mở rộng và sự hiện diện của các nhóm thế điều hướng điện tử như -F, -CF₃, -OCF₃, -OCH₃ hoặc các dị vòng thơm tại vị trí ngoại biên.

Mục tiêu của phần đánh giá hoạt tính sinh học nhằm xác định tiềm năng gây độc tế bào *in vitro* của các hợp chất tổng hợp được, đồng thời bước đầu phân tích mối quan hệ cấu trúc – hoạt tính (SAR) để làm rõ vai trò của từng khung dị vòng và vai trò của các nhóm thế trong việc làm thay đổi mức độ hoạt tính sinh học của hợp chất.

Việc lựa chọn các dòng tế bào ung thư đại diện (KB, HepG2, A549, MCF-7) giúp định hướng đánh giá phổ hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ung thư và chọn lọc mô đích. Kết quả thu được không chỉ cung cấp cơ sở thực nghiệm cho việc xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học lý thú mà còn đóng vai trò quan trọng trong việc xác thực định hướng thiết kế cấu trúc như sơ đồ định hướng tổng hợp ở Sơ đồ 3.1, góp phần định hình chiến lược phát triển các dẫn xuất dị vòng mới có triển vọng ứng dụng trong hóa dược

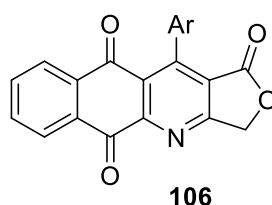
3.6.1. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất 1-aza-anthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone (106a-m)

Trong phần tiếp theo của nghiên cứu này, các dòng tế bào HepG2 (ung thư gan), KB (ung thư biểu mô), A549 (ung thư phổi) và MCF7 (ung thư vú) đã được sử

dụng để đánh giá độc tính tế bào của các hợp chất γ -butyrolactone liên hợp với azaanthraquinone mới (hợp chất **106**). Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào cho thấy hầu hết các hợp chất trong dãy **106a–106m** thể hiện khả năng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư ở các mức độ khác nhau như *Bảng 3.13*. Trong đó, 10/13 hợp chất có giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 5,77–34,93 μ M, cho thấy phổ tác dụng tương đối rộng trên cả bốn dòng tế bào thử nghiệm (KB, HepG2, A549 và MCF7) [79].

Đáng chú ý, ba hợp chất **106d** (Ar = 2,5-difluoro-4-methoxyphenyl), **106e** (Ar = 4-methoxy-2-(trifluoromethyl)phenyl) và **106i** (Ar = 4-(trifluoromethyl)phenyl) thể hiện tính chọn lọc rõ rệt đối với dòng tế bào ung thư phổi A549, với giá trị IC_{50} lần lượt là $5,77 \pm 0,17$; $6,58 \pm 0,25$; và $5,81 \pm 0,27$ μ M — mức hoạt tính được xem là đáng quan tâm đối với các hợp chất mới. Sự hiện diện của các nhóm fluoro và trifluoromethyl trong nhân aryl có thể làm tăng độ kỵ nước phân tử, từ đó tăng cường tương tác π - π và hydrophobic giữa khung azaanthraquinone với các đích sinh học như protein tubulin, góp phần cải thiện hoạt tính sinh học tổng thể [117].

Như vậy, các kết quả thử nghiệm đã khẳng định tiềm năng của hệ γ -butyrolactone gắn-1-azaanthraquinone trong việc phát triển các tác nhân chống ung thư mới. Đặc biệt, ba hợp chất **106d**, **106e** và **106i** được xem là các hợp chất tiềm năng định hướng phát triển thuốc và nên được lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu cơ chế tác dụng ở mức phân tử thông qua phân tích docking và đánh giá tương tác với tubulin, procaspase-6, cũng như khảo sát các đặc tính dược động học và độc tính dự đoán (ADMET).



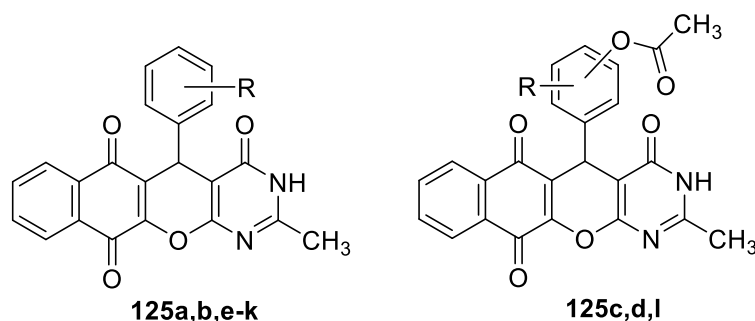
Bảng 3.13. Độc tính tế bào của các hợp chất 106a-m đã tổng hợp đối với các dòng tế bào KB, HepG2, MCF7 và A549

TT	Hợp chất	Giá trị IC_{50} (μ M)			
		KB	HepG2	A549	MCF7
1	106a	31.34 ± 1.05	26.53 ± 0.80	22.58 ± 1.08	17.13 ± 1.62
2	106b	> 41.10	> 41.10	> 41.10	34.93 ± 1.75
3	106c	26.88 ± 1.08	22.93 ± 0.56	17.53 ± 1.37	14.48 ± 0.34
4	106d	24.72 ± 0.69	20.97 ± 1.13	5.77 ± 0.17	14.95 ± 1.08
5	106e	22.42 ± 0.93	22.12 ± 0.91	6.58 ± 0.25	17.32 ± 0.59
6	106f	32.21 ± 1.04	28.54 ± 1.01	24.91 ± 1.47	18.68 ± 0.56
7	106g	25.86 ± 1.11	20.38 ± 1.11	14.27 ± 1.39	12.79 ± 0.19

TT	Hợp chất	Giá trị IC ₅₀ (μM)			
		KB	HepG2	A549	MCF7
8	106h	23.63 ± 1.48	28.05 ± 0.89	8.96 ± 0.39	19.84 ± 2.03
9	106i	21.91 ± 1.42	18.67 ± 1.25	5.81 ± 0.27	15.64 ± 1.66
10	106j	31.87 ± 0.81	31.37 ± 1.42	9.21 ± 0.31	16.20 ± 1.92
11	106k	> 36.34	> 36.34	23.26 ± 1.54	25.23 ± 1.43
12	106l	> 35.44	> 35.44	> 35.44	25.10 ± 0.40
13	106m	25.18 ± 1.20	21.66 ± 1.09	21.19 ± 1.44	14.39 ± 0.31
14	Ellipticine	1.75 ± 0.08	1.75 ± 0.08	1.79 ± 0.08	1.79 ± 0.08

Xét về tầm quan trọng dược lý của aza-anthraquinone và γ -butyrolactone, trong các nghiên cứu trước đây của chúng tôi [29] [94], dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinolin **51** chứa dị tố flo là tác nhân chống ung thư mạnh đã được tổng hợp và đánh giá về độc tính tế bào của chúng. Đáng chú ý, dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinolin **51** với Ar¹ = 4-(difluoromethoxy)-3-hydroxyphenyl thể hiện hoạt tính gây độc tế bào nổi bật đối với bốn loại dòng tế bào ung thư ở người (KB, HepG2, A549 và MCF7). Ngoài ra, các mô phỏng phân tử chỉ ra rằng các tương tác kỵ nước với các chất còn lại tại giao diện giữa các tiểu đơn vị α - và β -tubulin góp phần vào sự liên kết mục tiêu. Do sự hiện diện của nhóm N-H, các tương tác xếp chồng π - π đã được quan sát giữa nhóm naphthoquinone và khoang liên kết, nhưng không phải với chất tương tự aza-anthraquinone [94] Nhóm N-H cũng đóng vai trò là chất cho liên kết hydro, tương tác với các chất còn lại chính trong tiểu đơn vị α -tubulin, chẳng hạn như Thr179 và Val181. Tuy nhiên, vai trò của hydro này trong khung aza-anthraquinone vẫn chưa được làm sáng tỏ. Để khám phá điều này, chúng tôi tập trung vào việc sửa đổi nhóm N-H cho electron bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro nhằm thay đổi cấu hình liên kết hydro và tăng tính kỵ nước của hệ aza-anthraquinone. Tính kỵ nước được tăng cường dự kiến sẽ tăng cường các tương tác xếp chồng bên trong vị trí liên kết colchicine của tubulin, do đó cải thiện ái lực liên kết và có khả năng tăng cường hoạt động sinh học. Do vậy, chúng tôi đã nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone **106a-m** bằng phản ứng oxy hóa các dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline **51a-m** nhằm hướng đến phát triển thuốc chống ung thư đích.

3.6.2. Hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất chromeno[2,3-d]pyrimidine chứa dị tố flo



Như đã nghiên cứu trong phần tổng quan, các hợp chất dị vòng pyrimidine thường có có hoạt tính sinh học như kháng viêm, kháng khuẩn, kháng vi rút và đặc biệt là hoạt tính chống ung thư. Các phân tử pyrimidine đóng vai trò quan trọng trong các quá trình sinh học khác nhau. Do sự giống nhau về cấu trúc với cặp base nucleotide của DNA và RNA, pyrimide được xem là hợp chất có tiềm năng trong điều trị ung thư. Do đó, luận án đã tiến hành khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất chromeno[2,3-d]pyrimidine **125a-l** theo phương pháp MTT trên các dòng tế bào ung thư ở người (ung thư biểu mô KB, ung thư phổi A549, ung thư gan HepG2, ung thư vú MCF-7) và trên dòng tế bào lành Hek-293. Ellipticine, một tác nhân chống ung thư đang được sử dụng trong lâm sàng, được sử dụng làm chất tham khảo.

Bảng 3.14. Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất **125a-l**

TT	Mẫu thử	Giá trị IC ₅₀ , μM				
		KB	A549	HepG2	MCF7	Hek-293
1	125a	61.21 ± 4.87	20.60 ± 1.96	61.52 ± 5.59	56.91 ± 5.79	73.88 ± 7.18
2	125b	9.86 ± 0.71	7.72 ± 0.63	8.96 ± 1.03	7.80 ± 0.74	32.32 ± 3.22
3	125c	8.35 ± 0.76	2.02 ± 0.17	6.14 ± 0.52	2.69 ± 0.26	28.36 ± 2.60
4	125d	42.72 ± 4.85	8.67 ± 0.77	52.20 ± 6.26	53.76 ± 6.58	> 71.69
5	125e	55.00 ± 4.74	> 73.33	> 73.33	> 73.33	> 73.33
6	125f	> 73.33	57.29 ± 5.27	> 73.33	> 73.33	> 73.33
7	125g	9.69 ± 0.71	8.60 ± 0.81	9.81 ± 0.98	9.52 ± 0.84	> 76.49
8	125h	> 76.49	> 76.49	> 76.49	> 76.49	> 76.49
9	125i	> 68.32	37.45 ± 4.04	> 68.32	> 68.32	> 68.32

TT	Mẫu thử	Giá trị IC ₅₀ , μM				
		KB	A549	HepG2	MCF7	Hek-293
10	125j	> 70.43	> 70.43	> 70.43	> 70.43	> 70.43
11	125k	45.73 ± 4.56	50.33 ± 4.18	41.48 ± 3.31	47.00 ± 4.87	47.16 ± 5.14
12	125l	23.47 ± 2.58	1.76 ± 0.23	23.73 ± 2.02	24.57 ± 2.29	22.50 ± 2.25
13	Ellipticine	1.26 ± 0.12	1.66 ± 0.20	1.75 ± 0.16	1.46 ± 0.12	4.75 ± 0.65

Kết quả khảo sát được trình bày ở *Bảng 3.14*, các hợp chất **125b** (R = 2-F), **125c** (R = 2-F-4-OCOMe), **125d** (R = 3-F-4-OCOMe), **125g** (R = 3-F-4-OMe) và **125l** (R = 3-OCOMe-4-OCHF₂) thể hiện khả năng ức chế mạnh dòng tế bào ung thư phổi A549 với giá trị IC₅₀ lần lượt là 7.72 ± 0.63; 2.02 ± 0.17; 8.67 ± 0.77; 8.60 ± 0.81 và 1.76 ± 0.23 μM. Trong đó, hợp chất **125l** ức chế tế bào A549 gần tương đương với ellipticine (IC₅₀ = 1,66 μM). Các hợp chất **125b,c,g** ức chế tế bào ung thư vú MCF7 tương đối tốt với giá trị IC₅₀ tương ứng là 7.80 ± 0.74; 2.69 ± 0.26 và 9.52 ± 0.84 μM. Đối với các dòng tế bào ung thư Kb và HepG2, các hợp chất **125b,c,g** đạt giá trị IC₅₀ trong khoảng 6,14 đến 9,86 μM. Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt động ức chế cả 4 dòng tế bào ung thư không đáng kể (IC₅₀ > 9 μM). Bên cạnh đó, các hợp chất **125a-l** ức chế yếu hơn dòng tế bào lành với IC₅₀ > 22,5 μM. Có thể thấy, hợp chất **125c** và **125l** có thể xem là hai hợp chất tiềm năng nhất trên các dòng tế bào A549, MCF7 trong số các hợp chất đã thử nghiệm.

Nghiên cứu sơ bộ về mối quan hệ cấu trúc và hoạt tính của các hợp chất **125a-l** cho thấy hiệu ứng của các nhóm thế chứa flo có vai trò rõ rệt trong tăng hoạt tính:

➤ Nhóm fluoro (-F) hoặc difluoromethyl (-OCHF₂) góp phần tăng tính kỵ nước và khả năng thấm màng, từ đó nâng cao gắn kết với đích sinh học và tính bền chuyển hoá.

➤ Nhóm acetyloxy (-OCOCH₃) trên nhân aryl tạo hiệu ứng hút điện tử giúp ổn định điện tích phân bố trên vùng dị vòng, làm tăng dịch chuyển hóa học trong phổ NMR và đồng thời tăng hoạt tính sinh học.

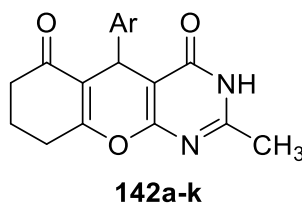
➤ So sánh các cặp có/không nhóm acetyloxy (ví dụ **125c** so với **125b**; **125l** so với **125g**) cho thấy mẫu có acetyloxy luôn có IC₅₀ thấp hơn đáng kể, chứng tỏ hiệu ứng cộng hưởng giữa nhóm flo và acetyloxy mang lại sự tối ưu hóa hoạt tính.

Đặc biệt, **125l** mang nhóm 3-OCOCH₃-4-OCHF₂-aryl đạt hiệu quả gần tương đương ellipticine trên A549 nhưng độc tính thấp hơn nhiều trên HEK-293, khẳng định vai trò của tổ hợp “difluoromethyl + acetyloxy” trong tăng tính chọn lọc.

So sánh với ellipticine (Chất tham khảo)

Ellipticine ($IC_{50} \approx 1,3 - 1,8 \mu M$) là chất chuẩn mạnh, nhưng gây độc tế bào lành khá cao (HEK-293 $\approx 4,75 \mu M$). Trong khi đó, **125c** và **125l** thể hiện hoạt tính gần tương đương, song có độ an toàn cao hơn nhiều lần (HEK-293 = $28.36 \pm 2.60 \mu M$ và $22.50 \pm 2.25 \mu M$), chứng tỏ hướng thiết kế gắn flo và acetyloxy trên khung chromeno[2,3-d]pyrimidine là hợp lý và có giá trị thực tiễn.

3.6.3. Hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất pyrano[2,3-d]pyrimidine



Nhằm làm rõ đặc tính hoạt tính sinh học của các hợp chất đã tổng hợp, nhóm các dẫn xuất pyrano[2,3-d]pyrimidine được lựa chọn để tiến hành đánh giá hoạt tính sinh học in vitro. Việc khảo sát tập trung vào hoạt tính gây độc tế bào trên một số dòng tế bào ung thư đại diện, đồng thời xem xét ảnh hưởng của sự biến đổi cấu trúc phân tử trong cùng một khung dị vòng đến hoạt tính sinh học của chúng.

Bảng 3.15. Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất **142a-k**

TT	Hợp chất	Nhóm thế	Giá trị IC_{50} (μM)		
			KB	HepG2	A549
1	142a	4- $CH_3OC_6H_4$	> 85	> 85	> 85
2	142b	4- $CH_3C_6H_4$	> 85	> 85	> 85
3	142c	4- BrC_6H_4	> 85	> 85	> 85
4	142d	4- $CF_3C_6H_4$	> 85	> 85	> 85
5	142e	4- ClC_6H_4	> 85	> 85	> 85
6	142f	3- BrC_6H_4	> 85	> 85	> 85
7	142g	2- $NO_2C_6H_4$	> 85	> 85	> 85
8	142h	3- $NO_2C_6H_4$	> 85	> 85	> 85
9	142i	3- $CH_3OC_6H_4$	> 85	> 85	> 85
10	142j	Benzofuran-3-yl	> 85	> 85	> 85
11	142k	Benzo[<i>b</i>]thiophene-3-yl	> 85	> 85	> 85
12	Ellipticine		1.26 ± 0.12	1.75 ± 0.16	1.66 ± 0.20

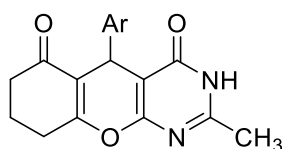
Các dẫn xuất pyrano[2,3-d]pyrimidine (**142a-k**) được đánh giá khả năng gây độc tế bào in vitro trên ba dòng tế bào ung thư người gồm: biểu mô KB (ung thư biểu

bì khoang miệng), gan HepG2 (ung thư gan) và phổi A549 (ung thư phổi không tế bào nhỏ) bằng phương pháp thử MTT, sử dụng ellipticine làm chất tham khảo.

Kết quả cho thấy toàn bộ các hợp chất tổng hợp đều không thể hiện độc tính đáng kể đối với các dòng tế bào thử nghiệm, với giá trị $IC_{50} > 85 \mu\text{M}$ trên cả ba dòng tế bào. Trong khi đó, ellipticine biểu hiện độc tính mạnh với $IC_{50} \approx 1,3 - 1,8 \mu\text{M}$. Như vậy, khung dị vòng hợp nhất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine trong các hợp chất khảo sát không gây ức chế tăng sinh tế bào, chứng tỏ tính an toàn sinh học cao và không có khả năng gây độc tế bào ở nồng độ thử nghiệm.

Điều này hàm ý rằng các dẫn xuất trên có thể được sử dụng như nền khung hóa học an toàn để phát triển các hoạt chất sinh học khác mà không gây độc tế bào. Mặt khác, việc không xuất hiện độc tính còn góp phần khẳng định rằng các nhóm thế aryl và dị vòng benzo[*b*]thiophene hoặc benzofuran không mang hoạt tính gây độc, giúp định hướng tối ưu hóa cấu trúc cho các mục tiêu dược lý khác như ức chế enzym thần kinh mà không gây tác dụng phụ trên tế bào.

3.6.4. Hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase của các hợp chất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine



142a-k

Trên cơ sở kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào cho thấy các dẫn xuất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine tổng hợp đều không thể hiện độc tính đáng kể đối với các dòng tế bào thử nghiệm, nhóm hợp chất này tiếp tục được định hướng khảo sát ở khía cạnh hoạt tính sinh học khác. Xuất phát từ những báo cáo trước đây cho thấy khung dị vòng pyrimidine và các hệ dị vòng hợp nhất có khả năng tương tác với enzym AChE, các hợp chất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine trong nghiên cứu này được lựa chọn để đánh giá hoạt tính ức chế enzym AChE in vitro.

Bảng 3.16. Hoạt tính ức chế của các hợp chất 142a-k đối với enzym AChE

STT	Hợp chất	Ar	IC_{50} (μM , AChE)
1	142a	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	40.8 ± 3.7
2	142b	4-CH ₃ C ₆ H ₄	21.9 ± 2.0
3	142c	4-BrC ₆ H ₄	8.94 ± 0.73
4	142d	4-CF ₃ C ₆ H ₄	8.13 ± 0.99
5	142e	4-ClC ₆ H ₄	23.4 ± 2.6
6	142f	3-BrC ₆ H ₄	8.32 ± 0.88
7	142g	2-NO ₂ C ₆ H ₄	>85

STT	Hợp chất	Ar	IC ₅₀ (μM, AChE)
8	142h	3-NO ₂ C ₆ H ₄	22.7 ± 2.4
9	142i	3-OCH ₃ C ₆ H ₄	6.51 ± 0.50
10	142j	Benzofuran-3-yl	35.6 ± 2.7
11	142k	Benzo[<i>b</i>]thiophen-3-yl	>85
12	Donepezil		0.074 ± 0.008

Khả năng ức chế enzym AChE của pyrano[2,3-*d*]pyrimidin được đánh giá bằng phương pháp của Ellman đã sửa đổi. Kết quả hoạt tính ức chế AChE được biểu thị bằng nồng độ ức chế 50% (IC₅₀, μg/mL) và donepezil được sử dụng làm chất tham khảo. Kết quả thử nghiệm chi tiết được trình bày trong *Bảng 3.16* cho thấy, trong khi các sản phẩm **142g** (Ar = 2-NO₂C₆H₄) và **142k** (Ar = benzo[*b*]thiophen-3-yl) không thể hiện hoạt tính ức chế AChE với IC₅₀ > 85 μM, thì các sản phẩm khác có hoạt tính ức chế AChE từ trung bình đến tốt với các giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng từ 6.51 ± 0.50 đến 40.8 ± 3.7 μM. Trong đó, sản phẩm **142i** (Ar = 3-OCH₃C₆H₄) thể hiện hoạt tính ức chế AChE mạnh nhất (IC₅₀ = 6.51 ± 0.50 μM) nhưng kém hơn so với donepezil (IC₅₀ = 0.074 ± 0.008 μM). Đánh giá sơ bộ về mối quan hệ cấu trúc – hoạt tính của các hợp chất được tổng hợp **142a-k** cho thấy, nhìn chung khả năng ức chế enzym AChE của chúng chủ yếu bị ảnh hưởng bởi nhóm thế trên vòng phenyl gắn với vòng pyran. Các sản phẩm có nhóm thế halogen (nhóm bromo, trifluoromethyl, chloro) trên vòng phenyl thể hiện sự ức chế tốt. Ví dụ: các sản phẩm **142c** có nhóm bromo ở vị trí *para* và **142f** có nhóm bromo ở vị trí *meta* thể hiện hoạt tính AChE với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 8.94 ± 0.73 và 8.32 ± 0.88 μM. Việc thay đổi nhóm bromo sang vị trí *meta* thay vì vị trí *para* dẫn đến sự gia tăng nhẹ hoạt tính sinh học. Điều này chứng tỏ rằng vị trí *meta* góp phần làm nâng cao hoạt động ức chế AChE. Tương tự, hoạt tính ức chế AChE được cải thiện trong trường hợp hợp chất **142i** và **142h**. Hợp chất **142i** (IC₅₀ = 6.51 ± 0.50 μM) chứa methoxy ở vị trí *meta* trong vòng phenyl có hoạt tính cao hơn so với các hợp chất **142a** chứa methoxy ở vị trí *para* (IC₅₀ = 40.8 ± 3.7 μM). Đặc biệt, việc đưa nhóm nitro vào vị trí *meta*, như trong hợp chất **142h** (IC₅₀ = 22.7 ± 2.4 μM), dẫn đến hoạt tính ức chế khá tốt, trong khi hợp chất **142g** cũng chứa nhóm nitro nhưng ở vị trí *ortho* thì không có hoạt tính. Ngoài ra, nhìn chung các hợp chất chứa nhóm aryl có hoạt tính cao hơn so với các hợp chất có chứa dị vòng.

3.7. Nghiên cứu docking phân tử

3.7.1. Mục tiêu và ý nghĩa

Để hiểu rõ cơ chế phân tử chi phối hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất tổng hợp được, luận án tiến hành mô phỏng docking phân tử đối với hai đích quan trọng liên quan đến cơ chế chống ung thư:

(i) Tubulin – đích phân tử của các thuốc gắn colchicine (colchicine-site inhibitors);

(ii) Procaspase-6 – enzym chứa ion Zn^{2+} tham gia quá trình phân cắt protein trong con đường apoptosis phụ thuộc caspase.

Hai hướng tiếp cận này giúp xác định mối tương quan cấu trúc – hoạt tính (SAR) giữa đặc điểm hóa học của các lớp chất và hiệu quả ức chế tăng sinh tế bào ung thư được ghi nhận qua phép thử MTT.

Trong khuôn khổ luận án, bốn lớp chất dị vòng đã được tổng hợp và 3 lớp chất khảo sát hoạt tính sinh học, bao gồm:

(i) các dẫn xuất chromeno[2,3-*d*]pyrimidine,

(ii) các dẫn xuất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine,

(iii) các dẫn xuất dihydrobenzo[*g*]furo[3,4-*b*]quinoline,

và (iv) các dẫn xuất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone (**106a–m**).

Trong đó, lớp chất **106a–m** được lựa chọn để thực hiện mô phỏng docking phân tử chuyên sâu, vì đây là nhóm thể hiện hoạt tính gây độc tế bào nổi bật nhất, với giá trị IC_{50} thấp (5–10 μ M) trên nhiều dòng tế bào ung thư, đặc biệt là A549 (ung thư phổi không tế bào nhỏ).

Ngoài ra, dãy này sở hữu đặc trưng cấu trúc lý tưởng cho nghiên cứu tương tác protein–ligand, bao gồm:

Khung phẳng liên hợp π -mạnh của hệ 1-azaanthraquinone, thuận lợi cho tương tác chồng lớp π - π với vị trí colchicine trên tubulin;

Vòng γ -butyrolactone có khả năng phối trí với ion kim loại (như Zn^{2+}), giúp ổn định phức hợp ligand–protein;

Và các nhóm thế âm điện (F, CF_3 , OCH_3) đóng vai trò quan trọng trong việc điều biến tính kỵ nước và định hướng liên kết hydro.

Tổ hợp cấu trúc này khiến các dẫn xuất **106a–m** trở thành ứng viên điển hình để khảo sát cơ chế gắn kết tubulin kiểu colchicine, từ đó làm sáng tỏ cơ sở phân tử cho hoạt tính gây độc tế bào mạnh quan sát được.

Để hiểu rõ hơn về cơ chế tác dụng ở mức phân tử của các hợp chất **106a–m**, luận án đã tiến hành mô phỏng docking phân tử nhằm khảo sát sự tương tác của các phối tử này với protein tubulin – một đích phân tử quan trọng trong hóa trị liệu ung thư [118].

Tubulin là thành phần cấu trúc chính của vi ống (microtubule), có vai trò thiết yếu trong quá trình phân bào, vận chuyển nội bào và duy trì hình thái tế bào. Do đó, ức chế sự trùng hợp của tubulin hoặc gắn vào vị trí hoạt động của colchicine có thể

gây ngừng chu kỳ tế bào ở pha G₂/M, dẫn tới chết tế bào theo chương trình (apoptosis) [118].

Các nghiên cứu trước đây cho thấy nhiều hợp chất dị vòng chứa nhân anthraquinone hoặc lactone có khả năng gắn vào vị trí colchicine của tubulin thông qua tương tác π - π chồng lớp và liên kết hydro, từ đó ức chế sự hình thành vi ống [119, 120, 121].

Vì vậy, việc mô phỏng docking cho loạt hợp chất **106a–m** nhằm xác định năng lượng liên kết, vị trí và kiểu tương tác với vùng colchicine-binding site sẽ giúp làm sáng tỏ mối liên hệ cấu trúc–hoạt tính (SAR), đồng thời định hướng cho thiết kế dẫn xuất mới có hoạt tính cao hơn.

Trong nghiên cứu này, cấu trúc tinh thể của tubulin gắn colchicine được lấy từ Protein Data Bank (PDB ID: 1SA0) [122]. Các phân tử phối tử **106a–m** được tối ưu hóa hình học, sau đó được docking vào vùng hoạt động của tubulin bằng thuật toán Lamarckian Genetic Algorithm tích hợp trong AutoDock 4.2 [123].

Kết quả thu được về năng lượng liên kết (ΔG), các tương tác đặc trưng (π - π stacking, liên kết hydro, phối trí Zn²⁺) và sự sắp xếp không gian của phối tử trong hốc gắn kết sẽ được luận án phân tích và thảo luận chi tiết.

3.7.2. Quy trình và kết quả mô phỏng docking

Các mô phỏng được thực hiện bằng phần mềm AutoDock 4.2 với thuật toán Lamarckian Genetic Algorithm, trong đó:

Cấu trúc protein tubulin–colchicine được lấy từ ngân hàng dữ liệu Protein (PDB ID: 4O2B) [124].

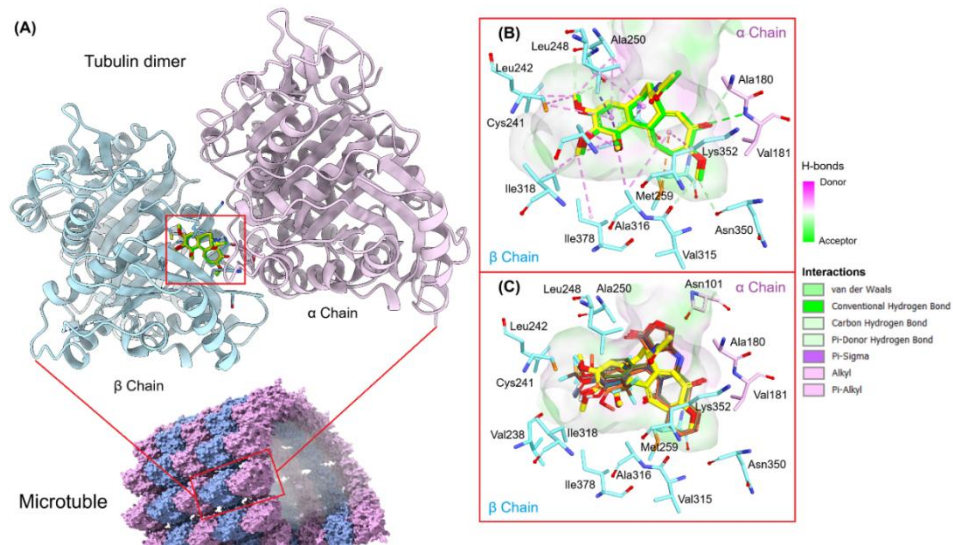
Phối tử colchicine được redocking lại để kiểm định quy trình; sai lệch RMSD chỉ 0,334 Å, chứng tỏ độ chính xác cao.

Các phối tử **106a–106m** được tối ưu hóa hình học bằng mô hình B3LYP/6-31G(d,p) (Gaussian 09).

Hộp lưới (grid box) bao phủ toàn bộ vị trí gắn colchicine giữa α - và β -tubulin, với kích thước 60 × 60 × 60 điểm, khoảng cách 0,375 Å.

Mỗi phối tử chạy 100 lần độc lập để chọn cấu hình năng lượng thấp nhất (ΔG thấp nhất).

Đối với procaspase-6, cấu trúc tinh thể Zn²⁺-bound procaspase-6 (PDB ID: 2WDP) được sử dụng [125]; vùng gắn quanh Zn²⁺ (His121, Cys163, Glu200) được định nghĩa làm vị trí đích cho các hợp chất có nhóm carbonyl liên hợp.



Hình 3.26. Cấu trúc tubulin và kết quả mô phỏng docking

(A) Sơ đồ cấu trúc vi ống, dị thể tubulin và vị trí gắn colchicine;

(B) Tư thế redocking (màu vàng) và tư thế trong phức đồng kết tinh (màu xanh lá) của colchicine trong tubulin;

(C) Tư thế gắn kết của 11 hợp chất tổng hợp được chồng khớp với colchicine.

Kết quả cho thấy đa số chiếm cùng hốc gắn với colchicine, tuy nhiên có sự khác biệt đáng kể về hướng liên kết và kiểu tương tác. Trong khi colchicine thường chèn sâu vào hốc kỵ nước của tiểu đơn vị β , thì các dẫn xuất tổng hợp lại có xu hướng tương tác nhiều hơn với tiểu đơn vị α , đặc biệt gần vùng gắn GTP nội dimer (N-site). Kết quả này cho thấy các hợp chất tổng hợp có thể tác động đến cấu trúc liên kết giữa hai tiểu đơn vị α/β , từ đó làm gián đoạn quá trình trùng hợp vi ống, phù hợp với cơ chế được mô tả cho các thuốc gắn colchicine [126, 127]. Các hợp chất **106d**, **106e** và **106i** thể hiện năng lượng liên kết âm mạnh nhất ($\Delta G = -15.39$ đến -16.51 kcal \cdot mol $^{-1}$), cho thấy ái lực gắn kết cao hơn rõ rệt so với các hợp chất khác trong loạt nghiên cứu. Những phối tử này hình thành đồng thời 7–10 tương tác π - π stacking với các gốc Phe200, Leu255 β , Tyr224, cùng liên kết hydro với Asn258 β và Lys352 β , góp phần ổn định cấu trúc ligand–protein. Ngoài ra, việc khử proton nhóm $-NH$ trên khung aza-anthraquinone đã tăng cường tính kỵ nước và khả năng chồng lớp π - π , từ đó nâng cao độ ổn định của phức hợp [128, 129, 130, 94].

Đáng chú ý, kết quả docking có mối tương quan chặt chẽ với dữ liệu hoạt tính gây độc tế bào. Ba hợp chất có năng lượng gắn kết mạnh nhất (**106d**, **106e**, **106i**) cũng chính là những chất thể hiện giá trị IC_{50} thấp nhất (5–7 μ M) trên dòng tế bào ung thư phổi A549. Mối tương quan này cho thấy rằng hiệu quả gây độc tế bào cao bắt nguồn từ khả năng gắn kết mạnh với tubulin, dẫn đến ngừng chu kỳ tế bào ở pha G₂/M và kích hoạt quá trình apoptosis. Điều này hoàn toàn phù hợp với cơ chế tác dụng của các thuốc ức chế tubulin như combretastatin và podophyllotoxin [126, 127].

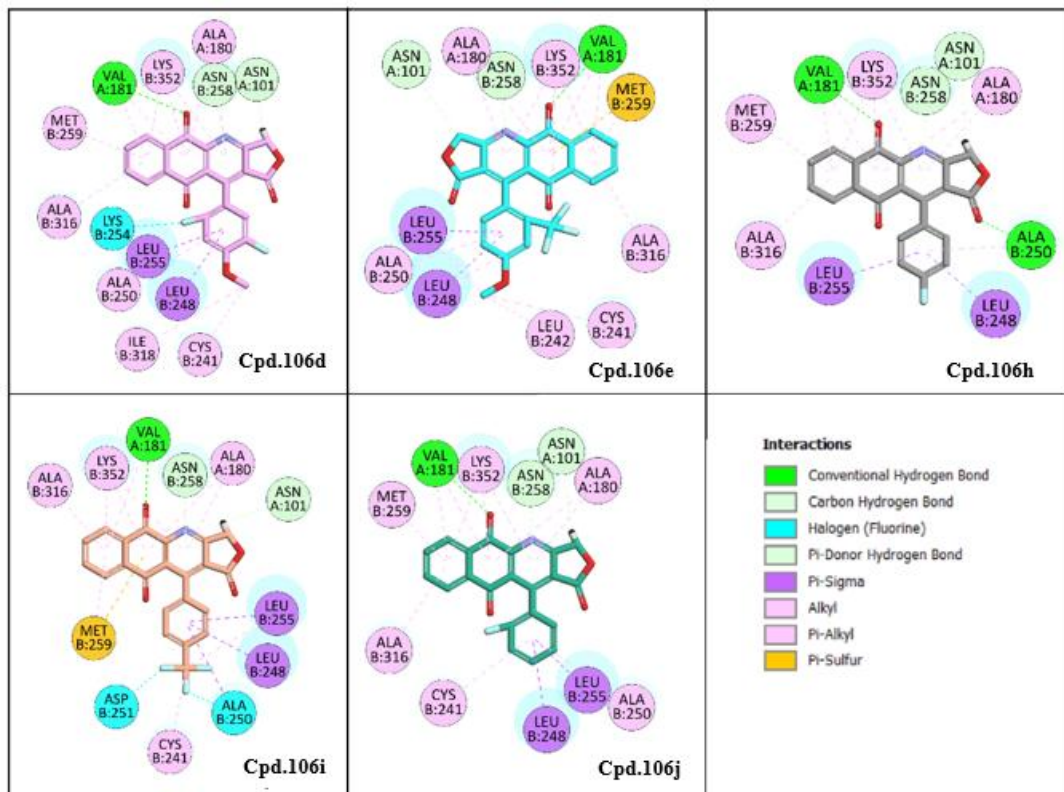
Bảng 3.17. Năng lượng liên kết giữa các hợp chất **106a–106m** và vị trí hoạt động của tubulin so với phối tử đồng kết tinh

Hợp chất	Năng lượng liên kết (kcal.mol ⁻¹)	Các gốc amino acid tạo liên kết hidro chính	Các gốc amino acid tạo tương tác kỵ nước chính	Tương tác π - π stacking	So sánh với loạt hợp chất trước (Tài liệu [6, 28, 38, 39])
106a	-11,76	Val181 α , Val238 β , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Cys241 β , Leu248 β , Leu255 β , Lys352 β	Trung bình (6–7)	Ái lực tương tự các dẫn xuất NH trước; vị trí gắn chuyển về phía tiểu đơn vị α
106c	-12,69	Asn101 α , Val181 α , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Ile318 β , Lys352 β	Trung bình (6–8)	Ái lực mạnh hơn nhẹ so với các dẫn xuất NH trước
106d	-15,39	Asn101 α , Val181 α , Val238 β , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Cys241 β , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Met259 β , Ala316 β , Ile318 β , Lys352 β	Cao (8–10)	Mạnh hơn đáng kể so với các loạt trước; tăng tương tác chồng π tại giao diện α/β
106e	-16,51	Asn101 α , Val181 α , Val238 β , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Cys241 β , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Met259 β , Ala316 β , Ile318 β , Lys352 β	Rất cao (9–10)	Một trong những hợp chất gắn tốt nhất; mật độ tương tác cao hơn loạt trước
106f	-9,75	Val181 α , Asn258 β	Val181 α , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Lys352 β	Thấp (5–6)	Yếu hơn các dẫn xuất đã công bố trước
106g	-12,14	Asn101 α , Val181 α , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Cys241 β , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Ile318 β , Lys352 β	Trung bình (6–7)	Tương đương với các loạt trước
106h	-13,42	Asn101 α , Val181 α , Val238 β , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Cys241 β , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Met259 β , Ala316 β , Ile318 β , Lys352 β	Cao (8–9)	Kỵ nước mạnh hơn các dẫn xuất trước
106i	-14,71	Asn101 α , Val181 α , Val238 β , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Cys241 β , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Met259 β , Ala316 β , Ile318 β , Lys352 β	Rất cao (9–10)	Một trong các hợp chất gắn mạnh nhất; mật độ tương tác cao hơn các loạt trước
106j	-13,63	Asn101 α , Val181 α , Asn258 β	Ala180 α , Val181 α , Cys241 β , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Met259 β , Ala316 β , Ile318 β , Lys352 β	Cao (8–9)	Cải thiện ái lực tương tự 6d
106m	-9,13	Val181 α , Asn258 β	Val181 α , Leu248 β , Ala250 β , Leu255 β , Lys352 β	Thấp (5–6)	Yếu hơn các dẫn xuất trước
Colchicine (đối chứng)	-19,18	Val181 α , Ala180 α , Ala250 β , Asp251 β , Val315 β , Asn350 β	Cys241 β , Leu242 β , Leu248 β , Leu255 β , Ala316 β , Ile318 β , Lys352 β , Ala354 β , Met359 β , Ile378 β	Rất cao (>10)	Phối tử chuẩn đồng kết tinh của tubulin

Ngoài ra, các hợp chất fluor hóa (**106d**, **106e**, **106i**) thể hiện xu hướng gắn sâu hơn vào hốc kỵ nước của tubulin, nhờ nhóm fluor và CF_3 làm tăng tính kỵ nước và hướng tương tác. Điều này không chỉ cải thiện độ ổn định của phức hợp mà còn góp phần tăng độ chọn lọc độc tính đối với tế bào ung thư so với tế bào bình thường.

Để đánh giá khả năng tương tác phối trí kim loại, luận án tiếp tục mô phỏng docking với procaspase-6 – một enzym cystein-protease chứa ion Zn^{2+} trong trung tâm hoạt động [125].

Kết quả cho thấy các hợp chất **106a–m** có năng lượng liên kết (ΔG) trong khoảng -7.85 đến $-6.27 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, phản ánh khả năng hình thành phức bền ở mức trung bình. Các hợp chất **106d**, **106e**, **106i** và **106j** thể hiện ái lực cao nhất, tương ứng với khả năng phối trí hai nguyên tử oxy carbonyl của vòng γ -butyrolactone và nhân naphthoquinone với ion Zn^{2+} , đồng thời tạo liên kết hydro với His121 và Glu200 trong vùng hoạt động của enzym. Sự phối trí này có thể ức chế hoạt động của procaspase-6, từ đó thúc đẩy quá trình hoạt hóa caspase-3/6 và kích thích con đường apoptosis.



Hình 3.27. Các tương tác docking của các hợp chất đại diện với các gốc amino acid trong vùng hoạt động của tubulin

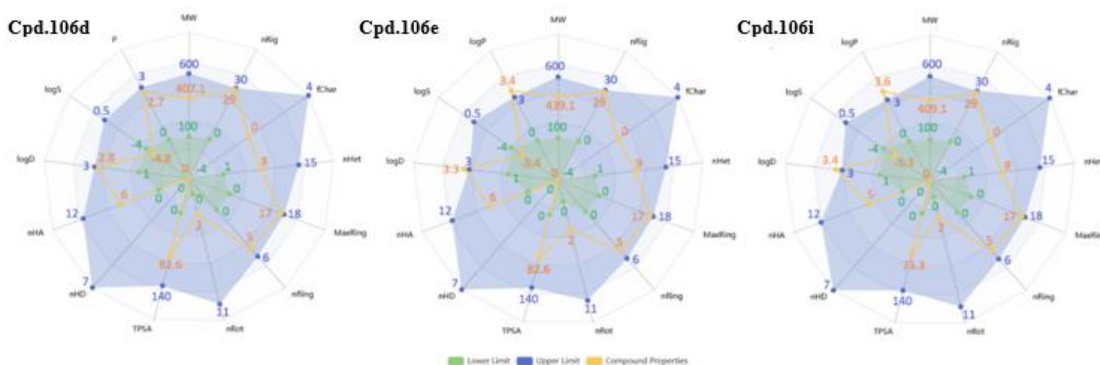
3.8. Dự đoán đặc tính lý – hóa và ADMET

Để đánh giá khả năng tiến xa hơn trong phát triển tiền lâm sàng, các hợp chất không chỉ cần thể hiện hoạt tính sinh học mạnh mà còn phải sở hữu đặc tính lý – hóa và dược động học phù hợp với yêu cầu của một thuốc tiềm năng. Trên cơ sở đó, ba hợp chất đại diện **106d**, **106e** và **106i** đã được lựa chọn để tiến hành dự đoán đặc tính ADMET và đặc tính giống thuốc bằng SwissADME và ADMETlab 3.0.

Để đánh giá một cách toàn diện mức độ giống thuốc (drug-likeness) của các hợp chất có hoạt tính sinh học được lựa chọn (**106d**, **106e** và **106i**), các thông số lý – hóa học và ADMET quan trọng đã được dự đoán bằng các công cụ SwissADME và ADMETlab 3.0 [131, 82]. Như thể hiện ở Hình 3.29, 13 thông số lý – hóa học cốt lõi đã được tính toán và so sánh với ngưỡng giá trị chuẩn của thuốc tiềm năng (drug-like boundaries, vùng được tô bóng). Cả ba hợp chất nhìn chung đều nằm trong khoảng chấp nhận được, chỉ xuất hiện một số sai lệch nhỏ về độ ưa lipid (logP, logD) và độ tan trong nước (logS). Mặc dù độ ưa lipid cao có thể làm giảm độ tan và khả năng thấm qua màng sinh học, các giá trị logP dự đoán vẫn nhỏ hơn 5.0 – đạt yêu cầu hấp thu đường uống theo quy tắc Lipinski (*Bảng 3.19*) [132]. Tuy nhiên, các hợp chất này không đáp ứng tiêu chí lead-likeness nghiêm ngặt do khối lượng phân tử và độ kỵ nước cao [133]. Đáng lưu ý, Cả ba hợp chất đều kích hoạt một cảnh báo PAINS – một dấu hiệu kỹ thuật cho thấy cần thận trọng khi diễn giải kết quả sinh học ban đầu, liên quan đến khung cấu trúc quinone A [134].

Về đặc tính ADMET, tất cả các hợp chất đều được dự đoán có khả năng hấp thu ruột người ở mức cao và không phải là cơ chất của P-glycoprotein (P-gp), cho thấy nguy cơ bị thải ngược qua cơ chế efflux là thấp [135]. Các mô hình dự đoán bổ sung, bao gồm 3PRule và Hệ phân loại sinh dược học dự phòng (Provisional Biopharmaceutics Classification System – PBCS) [136, 137], cho thấy các hợp chất này có độ thấm niêm mạc ruột ở mức trung bình (dựa trên mô hình Caco-2) và tỷ lệ hấp thu đường uống dự đoán lớn hơn 30%. Khả năng thấm qua da được dự đoán rất thấp ($\log K_p < -5,8$), cho thấy không phù hợp cho đường hấp thụ qua da [82]. Đáng chú ý, không có hợp chất nào được dự đoán vượt qua hàng rào máu–não (BBB), đây là yếu tố tích cực giúp giảm nguy cơ tác dụng không mong muốn trên hệ thần kinh trung ương (CNS) [138]. Các hợp chất đều có tỷ lệ gắn kết protein huyết tương rất cao (>97%), có thể làm giảm nồng độ thuốc tự do lưu hành trong máu; tuy nhiên, thể tích phân bố (Vd) vẫn nằm trong giới hạn mong muốn, phản ánh khả năng phân bố mô chấp nhận được [139]. Về chuyển hóa, **106d** và **106e** được dự đoán ức chế nhiều isoenzym CYP450, đặc biệt CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9 và CYP2C19, cho thấy cần lưu ý khả năng xảy ra tương tác thuốc–thuốc hoặc thuốc–thực phẩm [140, 141].

Cả ba hợp chất đều được dự đoán có độ thanh thải thấp và thời gian bán thải trung bình, hỗ trợ khả năng dùng đường uống [82].



Hình 3.29. Biểu đồ radar mô tả các đặc tính lý – hóa của các hợp chất 106d, 106e và 106i.

MW: khối lượng phân tử; nRig: số liên kết cứng; fChar: điện tích hình thức; nHet: số nguyên tử dị tố; MaxRing: số nguyên tử trong vòng lớn nhất; nRing: số lượng vòng; nRot: số liên kết có thể xoay; TPSA: diện tích bề mặt phân cực topo (\AA^2); nHD: số lượng nhóm cho liên kết hydro; nHA: số lượng nhóm nhận liên kết hydro; logD: log hệ số phân bố octanol tại pH sinh lý 7,4; logS: log độ tan trong nước ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); logP: log hệ số phân bố octanol.

Bảng 3.19. Đặc tính giống thuốc và các thông số ADMET của 106d, 106e và 106i

Thông số dự đoán	106d	106e	106i
Độ giống thuốc (Drug likeness)			
Lipinski	Chấp nhận (0 vi phạm)	Chấp nhận (0 vi phạm)	Chấp nhận (0 vi phạm)
Leadlikeness	Loại (1 vi phạm)	Loại (2 vi phạm)	Loại (2 vi phạm)
PAINS	1 cảnh báo (quinone A)	1 cảnh báo (quinone A)	1 cảnh báo (quinone A)
Hấp thu (Absorption)			
Khả dụng sinh học (Bioavailability)	$\geq 20\%$	$\geq 20\%$	$\geq 20\%$
Hấp thu qua đường tiêu hóa	$\geq 30\%$	$\geq 30\%$	$\geq 30\%$
Pgp-substrate	Không	Không	Không
LogKp (thấm qua da)	-6.38 cm s^{-1}	-6.09 cm s^{-1}	-5.89 cm s^{-1}
Phân bố (Distribution)			
Liên kết protein huyết tương	97.8%	98.6%	97.7%
Thể tích phân bố	0.27	0.36	0.55
Xuyên hàng rào máu-não (BBB)	Không	Không	Không
Chuyển hóa (Metabolism)			
Tương tác CYP	CYP1A2 ức chế (0.87) CYP2C8 ức chế (0.98)	CYP1A2 ức chế (0.82) CYP2C8 ức chế (0.94)	CYP2C8 ức chế (0.99) CYP2C9 ức chế (0.72)

Thông số dự đoán	106d	106e	106i
	CYP2C9 ức chế (0.75) CYP2C19 ức chế (0.67)	CYP2C9 ức chế (0.78) CYP2C19 ức chế (0.62)	
Thải trừ (Excretion)			
Độ thanh thải (CL)	3.07 mL min ⁻¹ kg ⁻¹ (thấp)	4.21 mL min ⁻¹ kg ⁻¹ (thấp)	3.85 mL min ⁻¹ kg ⁻¹ (thấp)
Thời gian bán hủy (T _{1/2})	1.4 giờ (trung bình)	1.1 giờ (trung bình)	1.2 giờ (trung bình)
Độc tính (Toxicity)			
Ức chế kênh hERG	Không hoạt động (0.33)	Không hoạt động (0.45)	Không hoạt động (0.38)
Đột biến Ames	Không (0.48)	Không (0.52)	Không (0.57)
Độc tính cấp đường uống trên chuột	Thấp (0.54)	Thấp (0.48)	Thấp (0.59)
Kích ứng mắt	Không (0.39)	Không (0.29)	Không (0.45)
Độc tính hô hấp	Không (0.30)	Không (0.49)	Không (0.38)

Đánh giá độc tính bằng ADMETlab 3.0 cho thấy các hợp chất có xu hướng an toàn ở mức chấp nhận được. Không hợp chất nào được dự đoán gây chặn kênh hERG, cho thấy nguy cơ độc tính tim mạch thấp. Đồng thời, cả ba hợp chất đều không được dự đoán gây đột biến (thử nghiệm Ames), không gây độc gan, kích ứng mắt hoặc độc tính hô hấp (*Bảng 3.19*) [82]. Tổng hợp các kết quả trên cho thấy **106d**, **106e** và **106i** sở hữu đặc tính giống thuốc đầy triển vọng cùng biên độ an toàn chấp nhận được, củng cố tiềm năng của chúng như các hợp chất khởi đầu tiềm năng cho tối ưu hóa thuốc chống ung thư trong tương lai.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận:

- Luận án đã đề xuất 04 quy trình tổng hợp thành công 41 hợp chất dị vòng mới dựa trên phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của hệ 1,3-diketone theo phương pháp phản ứng domino đa thành phần, cụ thể gồm:
 - 13 dẫn xuất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone (**106a-m**), hiệu suất: 40÷49%.
 - 12 dẫn xuất chromeno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one chứa flo (**125a-l**), hiệu suất: 60÷80%.
 - 11 dẫn xuất pyrano[2,3-*d*]pyrimidine (**142a-k**), hiệu suất: 63÷81%.
 - 05 dẫn xuất pyranonaphthoquinone chứa dị tố flo (**151a-e**), hiệu suất: 71÷79%.

Cấu trúc sản phẩm được xác định đầy đủ bằng phổ IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và HRMS.

- Đã đánh giá hoạt tính sinh học của các chất tổng hợp được:
 - Hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư người KB, HepG2, A549, MCF-7 và dòng tế bào bình thường HEK-293: có 16/36 hợp chất được thử nghiệm thể hiện khả năng gây độc tế bào ung thư. Đáng chú ý, 05 hợp chất tiêu biểu gồm **106d**, **106e**, **106i**, **125c** và **125l** có giá trị IC_{50} trong khoảng (1.76÷6.58) μM gần tương đương với chất tham khảo ellipticine ($\text{IC}_{50} = 1.8 \mu\text{M}$) trong cùng điều kiện thử nghiệm.
 - Đối với hoạt tính ức chế enzym AChE của dãy hợp chất **142a-k**, kết quả cho thấy 10/12 hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế, với các giá trị IC_{50} từ 6.51÷40.8 μM . Trong đó, hợp chất **142i** có hoạt tính mạnh nhất với $\text{IC}_{50} = 6.51 \pm 0.50 \mu\text{M}$.

- Đã nghiên cứu mô phỏng ADMET, docking phân tử đối với lớp chất (**106a-m**), qua đó giúp hiểu rõ hơn cơ chế tác động của các hợp chất với enzym đích, cũng như giúp hỗ trợ thiết kế thuốc hiệu quả hơn. Kết quả cho thấy: Lớp chất **106a-m** có thể tác động đồng thời lên hai đích phân tử – tubulin (gây ngừng chu kỳ tế bào) và procaspase-6 (hoạt hóa apoptosis), Trong đó, các hợp chất **106d**, **106e** và **106i** được xem là ứng viên triển vọng nhất, có thể được phát triển thành dẫn xuất đa đích trong các nghiên cứu tiếp theo.

Trên cơ sở các kết quả thu được, luận án đã hoàn thành đầy đủ các mục tiêu nghiên cứu đề ra theo một cách tiếp cận có hệ thống. Các kết quả này không chỉ có ý nghĩa khoa học mà còn cung cấp cơ sở thực nghiệm đáng tin cậy, làm nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo về cơ chế tác dụng, đặc tính dược động học và định hướng tối ưu hóa cấu trúc của các hợp chất nhằm phục vụ quá trình phát triển thuốc trong tương lai.

Kiến nghị

Trên cơ sở các dãy hợp chất đã tổng hợp và các kết quả nghiên cứu thu được, luận án kiến nghị tiếp tục lựa chọn và khai thác một số khung cấu trúc tiêu biểu nhằm nghiên cứu sâu hơn mối liên hệ cấu trúc – hoạt tính một cách có hệ thống. Cần kết hợp chặt chẽ giữa thực nghiệm tổng hợp, đánh giá hoạt tính sinh học và các công cụ mô phỏng phân tử để làm rõ vai trò của các yếu tố cấu trúc then chốt, qua đó định hướng hợp lý cho việc thiết kế và tối ưu hóa các dẫn xuất mới.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã đề xuất 04 quy trình tổng hợp và làm rõ cơ chế hình thành sản phẩm tổng hợp các hợp chất dị vòng mới dựa trên phản ứng ngưng tụ Knoevenagel của hệ 1,3-diketone theo phản ứng domino đa thành phần trong điều kiện có hỗ trợ vi sóng.
2. Lần đầu tiên tổng hợp và xác định cấu trúc của 41 dẫn xuất dị vòng mới trên nền các khung 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone, Chromeno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one, Pyrano[2,3-*d*]pyrimidine và Pyranonaphthoquinone, góp phần mở rộng thư viện các hợp chất dị vòng có giá trị trong lĩnh vực hóa dược.
3. Luận án đã đánh giá có hệ thống hoạt tính sinh học của các hợp chất tổng hợp được, bao gồm hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư người KB, HepG2, A549, MCF-7 và dòng tế bào bình thường HEK-293, cũng như hoạt tính ức chế enzym Acetylcholinesterase. Kết quả cho thấy 16/36 hợp chất thể hiện hoạt tính gây độc tế bào, trong đó các hợp chất **106d**, **106e**, **106i**, **125c** và **125l** có giá trị IC_{50} trong khoảng 1,76–6,58 μ M, xấp xỉ chất tham chiếu ellipticine; đồng thời, đối với dãy hợp chất Pyrano[2,3-*d*]pyrimidine có 10/12 hợp chất có khả năng ức chế AChE với IC_{50} trong khoảng 6,51÷40,8 μ M, trong đó hợp chất **142i** thể hiện hoạt tính mạnh nhất.
4. Trên cơ sở mô phỏng docking phân tử và dự đoán ADMET, luận án đã bước đầu làm rõ khả năng tương tác của lớp hợp chất 1-azaanthraquinone chứa vòng γ -butyrolactone với các đích phân tử liên quan, cho thấy tác động đồng thời lên tubulin và procaspase-6. Các hợp chất **106d**, **106e** và **106i** được xác định là những hợp chất tiềm năng, định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Ha Thanh Nguyen, **Ha Nguyen Van**, Phuong Hoang Thi, Tuyen Anh Dang Thi, Giang Le-Nhat-Thuy, Quynh Giang Nguyen Thi, Anh Nguyen Tuan, Cham Ba Thi, Hung Tran Quang, Tuyen Van Nguyen. Synthesis and Cytotoxic Evaluation of New Fluoro and Trifluoromethyl Substituents Containing Chromeno[2,3-*d*]pyrimidines. *ChemistrySelect*, 2023, 8, e202300227.
<https://doi.org/10.1002/slct.202300227>.
2. Ha Thanh Nguyen, Thi Quynh Giang Nguyen, **Van Ha Nguyen**, Thi Phuong Hoang, Nhat Thuy Giang Le, Tuan Anh Nguyen, Thi Cham Ba, Duc Huy Le, Thi Tuyen Anh Dang, Van Kiem Phan, Van Tuyen Nguyen. Synthesis and Evaluation of Acetylcholinesterase Inhibitory and Cytotoxic Activities of Pyrano[2,3-*d*]pyrimidines. *Natural Product Communications*, 2023, Vol. 18(9), 1–10.
<https://doi.org/10.1177/1934578X231201037>
3. Ha Thanh Nguyen, **Ha Nguyen Van***, Hai Pham-The, Ket Tran Van, Dao Long Vu, Tuyen Anh Dang Thi, Giang Le-Nhat-Thuy, Quynh Giang Nguyen Thi, Phuong Hoang Thi, Tuan Anh Nguyen, Mai Dang Thi, Julien Braire, Tuyen Nguyen Van. Synthesis, Molecular Docking Analysis, and In Vitro Cytotoxic Evaluation of New Fluorinated γ -Butyrolactone-Aza-Anthraquinone Compounds. *Chemistry & Biodiversity*, 2025; 0:e02030.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.202502030>
4. Nguyen Ha Thanh, Nguyen Tuan Anh, Le Nhat Thuy Giang, Nguyen Thi Quynh Giang, **Nguyen Van Ha**, Nguyen Thi Nga, Nguyen Thi Hien, Vu Duc Cuong, Dang Thi Tuyen Anh. Microwave-assisted three-component synthesis of new pyranonaphthoquinone derivatives. *Tạp chí Hóa học và Ứng dụng*, 2024, Số 3B (71), Trang 66–71.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Biswas, Tanya, Mittal, Ravi K, Sharma, Vikram, et al. 2024, Nitrogen-fused heterocycles: Empowering anticancer drug discovery, *Medicinal Chemistry*, 20(4), 369-384.
- [2] Abid O-R, Khalid M, Hussain MT, Hanif M, Qadeer G, Rama NH, Kornienko A, Khan KM. 2012, Synthesis and anti-cancer, anti-metastatic evaluation of some new fluorinated isocoumarins and 3,4-dihydroisocoumarins, *Journal of Fluorine Chemistry*, 135, 240–245.
- [3] Parker EN, Song J, Kishore Kumar GD, Odutola SO, Chavarria GE, Charlton-Sevcik AK, Strecker TE, Barnes AL, Sudhan DR, Wittenborn TR, Siemann DW, Horsman MR, Chaplin DJ, Trawick ML, Pinney KG. 2015, Synthesis and biochemical evaluation of benzoylbenzophenone thiosemicarbasene analogues as potent and selective inhibitors of cathepsin L, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 6974–6992.
- [4] Devi S.S., Mehendale H.M., 2014, Reference Module in Biomedical Sciences. *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, Elsevier, pp. 26–28.
- [5] Chabner B.A., Allegra C.J., Curt G.A., Calabresi P., 1996, Antineoplastic agents, in: Hardman J.G., Limbird L.E., Molinoff P.B., Ruddon R.W., Gilman A.G. (eds.), Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed., McGraw-Hill, New York, 1233–1287.
- [6] Bolognese A., Correale G., Manfra M., Lavecchia A., Mazzoni O., Novellino E., Barone V., La Colla P., Loddo R., Murgioni C., Pani A., Serra I., Setzu G. 2002, *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 5205–5216.
- [7] Cimanga R.K., Kambu K., Tona L., Totte J., Pieters L., Vlietinck A.J., 2008, *Recent Progress in Medicinal Plants*, 13, 337–349.
- [8] Nok A., 2002, Azaanthraquinone inhibits respiration and in vitro growth of long slender bloodstream forms of *Trypanosoma congolense*, *Cell Biochemistry and Function*, 20, 205–212.
- [9] Visconti A., Surico G., Iacobellis N.S., Bottalico A., 1983, *Phytopathologia Mediterranea*, 22, 122–156.
- [10] Gräfe U., Ihn W., Tresselt D., Miosga N., Kaden U., Schlegel B., Bormann E.-J., Sedmera P., Novak., 1990, Tolypocladin – a new metal-chelating 2-azaanthraquinone from *Tolypocladium inflatum*, *Journal of Biological Metals*, 3, 39–44.
- [11] S. P. Khanapure, E. R. Biehl, 1988, A convenient synthesis of azaanthraquinones via polar addition to hetaryne intermediates: use of carbanions derived from 3- cyano-1(3H)-isobenzofuranones, *Heterocycles (Sendai)*, 27(11), 2643-2650.
- [12] Burckhardt G., Walter A., Triebel H., Storl K., Simon H., Störl J., Opitz A., Roemer E., Zimmer C., 1998, Binding of 2-azaanthraquinone derivatives to DNA and their interference with the activity of DNA topoisomerases in vitro, *Biochemistry*, 37, 4703–4711.

- [13] Volpetti S., Zaja F., Fanin R., 2014, Pixantrone for the treatment of adult patients with relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin B-cell lymphomas, *OncoTargets and Therapy*, 7, 865–872.
- [14] Cameron D.W., Deutscher K.R., Feutrill G.I., 1980, Synthesis of bostrycoidin and 8-O-methylbostrycoidin, *Tetrahedron Letters*, 21, 5089–5090.
- [15] Cameron D.W., Deutscher K.R., Feutrill G.I., Hunt D.E., 1982, Synthesis of azaanthraquinones: homolytic substitution of pyridines, *Australian Journal of Chemistry*, 35, 1451–1468.
- [16] Bondock S., 2005, One-pot synthesis of pyridine derivatives via Diels–Alder reactions of 2,4-dimethyl-5-methoxyoxazole, *Heteroatom Chemistry*, 16(1), 49–55.
- [17] Gomez-Monterrey I., Campiglia P., Grieco P., Diurno M.V., Bolognese A., La Colla P., Novellino E., 2003, New benzo[g]isoquinoline-5,10-diones and dihydrothieno[2,3-b]naphtho-4,9-dione derivatives: Synthesis and biological evaluation as potential antitumoral agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11, 3769–3775.
- [18] Gomez-Monterrey I.M., Campiglia P., Mazzoni O., Novellino E., Diurno M.V., 2001, Cycloaddition reactions of thiazolidine derivatives. An approach to the synthesis of new functionalized heterocyclic systems, *Tetrahedron Letters*, 42(33), 5755–5757.
- [19] Campiglia P., Lama T., Aiello F., Gomez-Monterrey I.M., Diurno M.V., Novellino E., Grieco P., 2005, *Letters in Organic Chemistry*, 2, 340–342.
- [20] Krapcho A.P., Petry M.E., Getahun Z., Landi J.J., Stallman J., Polsenberg J.F., Gallagher C.E., Maresch M.J., Hacker M.P., 1994, *Journal of Medicinal Chemistry*, 37, 828–837.
- [21] Werner W., Gräfe U., Ihn W., 1997, *Tetrahedron*, 53, 109–118.
- [22] Koyama J., Morita I., Kobayashi N., Osakai T., Usuki Y., Taniguchi M., 2005, Structure–activity relations of azafluorenone and azaanthraquinone as antimicrobial compounds, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15, 1079–1082.
- [23] Joshi D.R., Seo Y., Heo Y., Park S., Lee Y., Namkung W., Kim I., 2020, Domino [4+2] annulation access to quinone–indolizine hybrids: anticancer N-fused polycycles, *The Journal of Organic Chemistry*, 85(16), 10994–11005.
- [24] Jacobs N., Lang S., Panisch R., Wittstock G., Groth U., Nasiri H.R., 2015, Investigation on the electrochemistry and cytotoxicity of the natural product marcanine A and its synthetic derivatives, *RSC Advances*, 5, 58561–58565.
- [25] C. Ichino, et al., 2006, Screening of Thai medicinal plant extracts and their active constituents for In Vitro antimalarial activity, *Phytotherapy Research*, 20, 307 – 309.
- [26] Senadi G.C., Hu W.-P., Garkhedkar A.M., Boominathan S.S.K., Wang J.-J., 2015, Palladium(II)-catalysed regioselective synthesis of 3,4-disubstituted quinolines and 2,3,5-trisubstituted pyrroles from alkenes via anti-Markovnikov selectivity, *Chemical Communications*, 51, 13795–13798.

- [27] Borah A., Sharma A., Hazarika H., Sharma K., Gogoi P., 2017, Synthesis of 1-azaanthraquinone: sequential C–N bond formation/Lewis acid catalyzed intramolecular cyclization strategy, *The Journal of Organic Chemistry*, 82, 8309–8316.
- [28] Yang X., Zhang C., Wu L., 2015, 1-Proline catalyzed three-component synthesis of para-naphthoquinone–4-aza-podophyllotoxin hybrids as potent antitumor agents, *RSC Advances*, 5(24), 18945–18951.
- [29] Thanh N.H., et al., 2022, Synthesis and cytotoxic evaluation of fluoro and trifluoromethyl substituents containing novel naphthoquinone-fused podophyllotoxins, *Natural Product Communications*, 17(10), 1–6.
- [30] Hussain H., Krohn K., Ahmad V.U., Miana G.A., Green I.R., 2007, Lapachol: an overview, *Arkivoc*, 2(1), 145–171.
- [31] Moulis C., Pelissier J., Bamba D., Fourasté L., 1992, Pentalongin, antifungal naphthoquinoid pigment from *Mitracarpus scaber*, *In Proceedings of the 2nd International Congress on Ethnopharmacology*, July.
- [32] Hayashi T., Smith F.T., Lee K.H., 1987, Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure–activity relationships, *Journal of Medicinal Chemistry*, 30(11), 2005–2008.
- [33] Mulay S.V., Gholap S.P., Fernandes R.A., 2015, Formal synthesis of the human rhinovirus 3C protease inhibitor (–)-thysanone, *Asian Journal of Organic Chemistry*, 4, 560–565.
- [34] Sperry J., Lorenzo-Castrillejo I., Brimble M.A., Machín F., 2009, Pyranonaphthoquinone derivatives of eleutherin, ventiloquinone L, thysanone and nanaomycin A possessing a diverse topoisomerase II inhibition and cytotoxicity spectrum, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(20), 7131–7137.
- [35] Sperry J., Bachu P., Brimble M.A., 2008, Pyranonaphthoquinones— isolation, biological activity and synthesis, *Natural Product Reports*, 25, 376–392.
- [36] Saisin S., Panthong K., Hongthong S., Kuhakarn C., Thanasansurapong S., Chairoungdua A., Suksen K., Akkarawongsapat R., Napaswad C., Prabpai S., Nuntasaeen N., Reutrakul V., 2023, Pyranonaphthoquinones and naphthoquinones from the stem bark of *Ventilago harmandiana* and their anti-HIV-1 activity, *Journal of Natural Products*, 86(3), 498–507.
- [37] Jiménez-Alonso S., Orellana H.C., Estevez-Braun A., Ravelo A.G., Perez-Sacau E., Machin F., 2008, Design and synthesis of a novel series of pyranonaphthoquinones as topoisomerase II catalytic inhibitors, *Journal of Medicinal Chemistry*, 51, 6761–6772.
- [38] Bian J., et al., 2015, Palladium(II)-catalyzed C–H bond activation/C–C coupling/intramolecular Tsuji–Trost reaction cascade: facile access to 2H-pyranonaphthoquinones, *Organic Letters*, 17(14), 3410–3413.
- [39] Khurana J.M., Nand B., Saluja P., 2010, DBU: a highly efficient catalyst for one-pot synthesis of substituted 3,4-dihydropyrano[3,2-c]chromenes, dihydropyrano[4,3-b]pyranes, 2-amino-4H-benzo[h]chromenes and 2-amino-4H-benzo[g]chromenes in aqueous medium, *Tetrahedron*, 66, 5637–5641.

- [40] Magedov I.V., Kireev A.S., Jenkins A.R., Evdokimov N.M., Lima D.T., Tongwa P., Altig J., Steelant W.F., Antipin M.Y., Kornienko A., 2012, Structural simplification of bioactive natural products with multicomponent synthesis. 4. 4H-pyrano[2,3-b]naphthoquinones with anticancer activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22, 5195–5198.
- [41] Giang L.N.T., Anh D.T.T., Phuong H.T., Thanh N.H., Giang N.T.Q., Anh N.T., Tuyen N.V., Kiem P.V., 2021, DMAP-catalyzed efficient and convenient approach for the synthesis of 3,3'-(arylmethylene)bis(2-hydroxynaphthalene-1,4-dione) derivatives, *Natural Product Communications*, 16(9), 1–7.
- [42] Dang Thi T.A., Depetter Y., Mollet K., Phuong H.T., Vu Ngoc D., Pham The C., Nguyen H.T., Nguyen Thi T.H., Nguyen H.H., D'hooghe M., Nguyen T.V., 2015, Expedient stereoselective synthesis of new dihydropyrano- and dihydrofuranonaphthoquinones, *Tetrahedron Letters*, 56, 2422–2425.
- [43] Monem A., Habibi D., Goudarzi H., 2024, A new DES-mediated synthesis of Henna-based benzopyranophenazines and benzoxanthenetriones, *Scientific Reports*, 14, 16273.
- [44] Mahapatra A., Prasad T., Sharma T., 2021, Pyrimidine: a review on anticancer activity with key emphasis on SAR, *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7, 123.
- [45] Patil S.B., 2023, Recent medicinal approaches of novel pyrimidine analogs: a review, *Heliyon*, 9(6), e16773.
- [46] Kompis I., Wick A., 1977, A review on pharmacological aspects of pyrimidine derivatives, *Helvetica Chimica Acta*, 60, 3025–3032.
- [47] Kappe C.O., Stadler A., 2004, The Biginelli dihydropyrimidine synthesis, *Organic Reactions*, 63, 1–116.
- [48] Anderson E.D., Boger D.L., 2011, Scope of the inverse electron demand Diels–Alder reactions of 1,2,3-triazine, *Organic Letters*, 13, 2492–2494.
- [49] Satoh Y., Yasuda K., Obora Y., 2012, Strategy for the synthesis of pyrimidine derivatives: NbCl₅-mediated cycloaddition of alkynes and nitriles, *Organometallics*, 31, 5235–5238.
- [50] Sasada T., Kobayashi F., Sakai N., Konakahara T., 2009, An unprecedented approach to 4,5-disubstituted pyrimidine derivatives by a ZnCl₂-catalyzed three-component coupling reaction, *Organic Letters*, 11, 2161–2164.
- [51] Lechel T., Reissig H.-U., 2010, Preparation of pyridine-3,4-diols, their crystal packing and their use as precursors for palladium-catalyzed cross-coupling reactions, *European Journal of Organic Chemistry*, 2010, 2555–2564.
- [52] Panday A.K., Mishra R., Jana A., Parvin T., Choudhury L.H., 2018, Synthesis of pyrimidine fused quinolines by ligand-free copper-catalyzed domino reactions, *The Journal of Organic Chemistry*, 83(7), 3624–3632.
- [53] Xia Q., Li C., Zhang Y., Qi C., Zhang F., 2018, Three-component domino reaction promoted by solid acid: an efficient strategy for synthesis of pyrano[2,3-d]pyrimidine derivatives, *ChemSelect*, 3(32), 9232–9235.

- [54] Keshk R.M., Salama Z.A., Elsaedany S.K., ElRehim E.M.A., Beltagy D.M., 2025, Synthesis, antimicrobial, antiinflammatory, antioxidant and cytotoxicity of new pyrimidine and pyrimidopyrimidine derivatives, *Scientific Reports*, 15, 9328.
- [55] Inoue M., Sumii Y., Shibata N., 2020, Contribution of organofluorine compounds to pharmaceuticals, *ACS Omega*, 5, 10633–10640.
- [56] Shah P., Westwell A.D., 2007, The role of fluorine in medicinal chemistry, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 22, 527–540.
- [57] Zhu Y., Yao X., Long J., Li R., Liu Y., Yang Z., Zheng X., 2019, Fluorine-containing chrysin derivatives: synthesis and biological activity, *Natural Product Communications*, 14, 1934578X19878921.
- [58] Sheikhi N., Bahraminejad M., Saeedi M., Mirfazli S.S., 2023, A review: FDA-approved fluorine-containing small molecules from 2015 to 2022, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 260, 115758.
- [59] Duffy C., Matta B., 2000, Sevoflurane and anesthesia for neurosurgery: a review, *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, 12, 128–140.
- [60] Isanbor C., O'Hagan D., 2006, Fluorine in medicinal chemistry: a review of anti-cancer agents, *Journal of Fluorine Chemistry*, 127, 303–319.
- [61] Goldenberg M.M., 1999, Celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis and osteoarthritis, *Clinical Therapeutics*, 21, 1497–1513.
- [62] Kuznetsova L.V., Pepe A., Ungureanu I.M., Pera P., Bernacki R.J., Ojima I., 2008, Syntheses and structure–activity relationships of novel 3'-difluoromethyl and 3'-trifluoromethyl-taxoids, *Journal of Fluorine Chemistry*, 129, 817–828.
- [63] Nguyen H.T., Pham-The H., Nguyen T.A., Nguyen T.T.H., Dang Thi T.A., Giang L.N.T., Hoang T.P., Nguyen T.Q.G., Nguyen T.V., 2024, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 104, 129714.
- [64] Zuin V.G., Eilks I., Elschami M., et al., 2021, Education in green chemistry and in sustainable chemistry: perspectives towards sustainability, *Green Chemistry*, 23(4), 1594–1608.
- [65] Kharissova O.V., Kharisov B.I., Oliva González C.M., et al., 2019, Greener synthesis of chemical compounds and materials, *Royal Society Open Science*, 6(11), 191378.
- [66] Anastas P.T., Warner J.C., 1998, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press, New York.
- [67] Trost B.M., 1991, The atom economy — a search for synthetic efficiency, *Science*, 254(5037), 1471–1477.
- [68] Sheldon R.A., 2005, Green solvents for sustainable organic synthesis: state of the art, *Green Chemistry*, 7, 267–278.
- [69] Kayan B., Gözmen B., 2012, Solvent-free organic synthesis, *Current Organic Chemistry*, 16(6), 682–713.
- [70] Kappe C.O., 2004, Controlled microwave heating in modern organic synthesis, *Angewandte Chemie International Edition*, 43(46), 6250–6284.

- [71] Dömling A., Wang W., Wang K., 2012, Chemistry and biology of multicomponent reactions, *Chemical Reviews*, 112(6), 3083–3135.
- [72] Zhu J., Wang Q., Wang M.-X., 2014, *Multicomponent Reactions in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim.
- [73] List B., Lerner R.A., Barbas C.F., 2000, Proline-catalyzed direct asymmetric aldol reactions, *Journal of the American Chemical Society*, 122(10), 2395–2396.
- [74] MacMillan D.W.C., 2008, The advent and development of organocatalysis, *Nature*, 455, 304–308.
- [75] an M., Kawamata Y., Baran P.S., 2017, Synthetic organic electrochemical methods since 2000: on the verge of a renaissance, *Chemical Reviews*, 117(21), 13230–13319.
- [76] Prier C.K., Rankic D.A., MacMillan D.W.C., 2013, Visible light photoredox catalysis with transition metal complexes: applications in organic synthesis, *Chemical Reviews*, 113(7), 5322–5363.
- [77] Tietze L.F., 1996, Domino reactions in organic synthesis, *Chemical Reviews*, 96(1), 115–136.
- [78] Ghosh S., Banerjee S., 2023, One-pot multi-component synthesis as greener counterpart for medicinally relevant heterocycles, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 252, 115–264.
- [79] Mosmann T., 1983, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63.
- [80] Scudiero D.A., Shoemaker R.H., Paull K.D., et al., 1988, Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines, *Cancer Research*, 48(17), 4827–4833.
- [81] Malacrida A., Cavalloro V., Martino E., et al., 2019, Anti-multiple myeloma potential of secondary metabolites from *Hibiscus sabdariffa*, *Molecules*, 24(13), 2500.
- [82] Fu L., Shi S., Yi J., et al., 2024, ADMETlab 3.0: an updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support, *Nucleic Acids Research*, 52(1), 422–431.
- [83] Choudhary M.I., Yousuf S., Samreen, Ahmed S., Atta-ur-Rahman, 2007, New leishmanicidal physalins from *Physalis minima*, *Natural Product Research*, 21, 877–883.
- [84] Watanabe I., Koike K., Katou K., Nikaido K., 1999, Nematocidal activity of picrodendrins against a species of diplogastridae, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22, 1310–1313.
- [85] Nguyen H.T., Le-Nhat-Thuy G., Thi P.H., Thi Q.G.N., Nguyen T.A., Thi T.H.N., Thi T.A.D., Nguyen T.V., 2022, Microwave-assisted three-component synthesis of novel N-arylated dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-

- diones and their potential cytotoxic activity, *Chemistry & Biodiversity*, 19, e202200359.
- [86] Q.G. Nguyen Thi, G. Le-Nhat-Thuy, T.A. Dang Thi, P. Hoang Thi, A. Nguyen Tuan, T.H. Nguyen Thi, T.T. Nguyen, T. Nguyen Ha, H. Hoang Mai and T.V. Nguyen., 2021, Synthesis of novel potent cytotoxicity podophyllotoxin-naphthoquinone compounds via microwave-assisted multicomponent domino reactions, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 37, 127841.
- [87] Bai Z.-Q., Lin X., Wang Y., Wang J., Zhou X., Yang B., Liu J., Yang X., Wang Y., Liu Y., 2014, New phenyl derivatives from endophytic fungus *Aspergillus flavipes* AIL8 derived from mangrove plant *Acanthus ilicifolius*, *Fitoterapia*, 95, 194–202.
- [88] Nguyen H.T., Nguyen Thi T.H., Braire J., Dang Thi T.A., Nguyen Van T., 2023, Microwave-assisted multicomponent synthesis of new 6-arylated 5-hydroxy-benzo[a]phenazine derivatives and their potential anti-inflammatory activity, *ChemistrySelect*, 8, e202204376.
- [89] Gupta S., Das L., Datta A.B., Poddar A., Janik M.E., Bhattacharyya B., 2006, Oxalone and lactone moieties of podophyllotoxin exhibit properties of both the B and C rings of colchicine in its binding with tubulin, *Biochemistry*, 45, 6467–6475.
- [90] Imperio D., Pirali T., Galli U., Pagliai F., Cafici L., Canonico P.L., Sorba G., Genazzani A.A., Tron G.C., 2007, Replacement of the lactone moiety on podophyllotoxin and steganacin analogues with a 1,5-disubstituted 1,2,3-triazole via ruthenium-catalyzed click chemistry, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15, 6748–6757.
- [91] Krattenmacher R., 2000, Drospirenone: pharmacology and pharmacokinetics of a unique progestogen, *Contraception*, 62, 29–38.
- [92] Kagawa C.M., Cella J.A., Van Arman C.G., 1957, Action of new steroids in blocking effects of aldosterone and deoxycorticosterone on salt, *Science*, 126, 1015–1016.
- [93] Vivino F.B., Al-Hashimi I., Khan Z., LeVeque F.G., Salisbury P.L. III, Tran-Johnson T.K., Muscoplat C.C., Trivedi M., Goldlust B., Gallagher S.C., P92-01 Study Group, 1999, Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjögren syndrome: a randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial, *Archives of Internal Medicine*, 159, 174–181.
- [94] Thanh N.H., Bao L.Q., Pham-The H., Anh D.T.T., Kiem P.V., 2023, Synthesis, molecular docking, and cytotoxic evaluation of fluorinated podophyllotoxin derivatives, *Natural Product Communications*, 18, 1934578X231153733.
- [95] Vanden Eynde J.J., Delfosse F., Mayence A., Van Haverbeke Y., 1995, Old reagents, new results: aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines with manganese dioxide and 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone, *Tetrahedron*, 51, 6511–6516.
- [96] Wang M., Cheng D., Pu Y., Xu X., 2021, Synthesis of azaxanthenes via DDQ-mediated tandem oxidative annulation, *Tetrahedron Letters*, 79, 153302.

- [97] Memarian H.R., Ghazaie M., Mehneh S.K., 2009, Electron transfer-induced aromatization of 1,4-dihydropyridines, *Zeitschrift für Naturforschung B*, 64, 1187–1192.
- [98] Thomas N., Zachariah S.M., Ramani P., 2016, 4-aryl-4H-chromene-3-carbonitrile derivatives: synthesis and preliminary anti-breast cancer studies, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 53, 1778–1782.
- [99] Ranganatha V.L., Zameer F., Meghashri S., Rekha N.D., Girish V., Gurupadaswamy H.D., Khanum S.A., 2013, Design, synthesis, and anticancer properties of novel benzophenone-conjugated coumarin analogs, *Archiv der Pharmazie*, 346, 901–907.
- [100] El-Agrody A. M., Halawa A. H., Fouda A. M., Al-Dies A. A. M., 2017, The anti-proliferative activity of novel 4H-benzo[h]chromenes, 7H-benzo[h]chromeno[2,3-d]pyrimidines and the structure–activity relationships of the 2-, 3-positions and fused rings at the 2, 3-positions, *Journal of the Saudi Chemical Society*, 21, 82–90. DOI:10.1016/j.jscs.2016.03.002.
- [101] M. Rueping, E. Sugiono, E. Merino, 2008, Asymmetric organocatalysis: an efficient enantioselective access to benzopyranes and chromenes, *Chemistry – A European Journal*, 14, 6329–6332.
- [102] I. Zghab, B. Trimeche, M. B. Mansour, M. Hassine, D. Touboul, H. B. Jannet, 2017, Regiospecific synthesis, antibacterial and anticoagulant activities of novel isoxazoline chromene derivatives, *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2651–S2660.
- [103] A. A. Farag, S. N. Abd-Alrahman, G. F. Ahmed, R. M. Ammar, Y. A. Ammar, S. Y. Abbas, 2012, Synthesis of some azoles incorporating a sulfonamide moiety as anticonvulsant agents, *Archiv der Pharmazie*, 345, 703–712.
- [104] N. Vukovic, S. Sukdolak, S. Solujic, N. Niciforovic, 2010, Substituted imino and amino derivatives of 4-hydroxycoumarins as novel antioxidant, antibacterial and antifungal agents: synthesis and in vitro assessments, *Food Chemistry*, 120, 1011–1018.
- [105] V. F. de Andrade-Neto, M. O. F. Goulart, J. F. da Silva Filho, M. J. da Silva, M. do C. F. R. Pinto, A. V. Pinto, M. G. Zalis, L. H. Carvalho, A. U. Krettli, 2004, Antimalarial activity of phenazines from lapachol, β -lapachone and their derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14, 1145–1149.
- [106] C. Brühlmann, F. Ooms, P.-A. Carrupt, B. Testa, M. Catto, F. Leonetti, C. Altomare, A. Carotti, 2001, Coumarin derivatives as dual inhibitors of acetylcholinesterase and monoamine oxidase, *Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 3195–3203.
- [107] S. R. Kesten, T. G. Heffner, S. J. Johnson, T. A. Pugsley, J. L. Wright, L. D. Wise, 1999, Design, synthesis, and evaluation of chromen-2-ones as potent and selective human dopamine D4 antagonists, *Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 3718–3725.
- [108] Mohamed T., Rao P.P.N., 2017, 2,4-disubstituted quinazolines as amyloid- β aggregation inhibitors with dual cholinesterase inhibition and antioxidant properties: development and structure–activity relationship (SAR) studies,

- European Journal of Medicinal Chemistry*, 126, 823–843. DOI:10.1016/j.ejmech.2016.12.005.
- [109] Rehman T.U., Khan I.U., Ashraf M., Tarazi H., Riaz S., Yar M., 2017, An efficient synthesis of bi-aryl pyrimidine heterocycles: potential new drug candidates to treat Alzheimer's disease, *Archives of Pharmacal Chemistry and Life Sciences*, 350(3–4), 1600304. DOI:10.1002/ardp.201600304.
- [110] Mohamed T., Mann M.K., Rao P.P.N., 2017, Application of quinazoline and pyrido[3,2-d]pyrimidine templates to design multi-targeting agents in Alzheimer's disease, *RSC Advances*, 7(36), 22360–22368. DOI:10.1039/C7RA02889J.
- [111] Le-Nhat-Thuy G., Nguyen T.N., Pham-The H., et al., 2020, Synthesis and biological evaluation of novel quinazoline–triazole hybrid compounds with potential use in Alzheimer's disease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(18), 127404. DOI:10.1016/j.bmcl.2020.127404.
- [112] Dang Thi T.A., Vu Thi T.H., Thi Phuong H., et al., 2015, Synthesis and anticancer properties of new (dihydro)pyranonaphthoquinones and their epoxy analogs, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(16), 3355–3358. DOI:10.1016/j.bmcl.2015.05.051.
- [113] Dang Thi T.A., Depetter Y., Mollet K., et al., 2015, Expedient stereoselective synthesis of new dihydropyrano- and dihydrofuranonaphthoquinones, *Tetrahedron Letters*, 56(19), 2422–2425. DOI:10.1016/j.tetlet.2015.03.071.
- [114] Le-Nhat-Thuy G., Dang Thi T.A., Hoang Thi P., et al., 2021, Multicomponent synthesis of novel 3-benzoyl-4H-benzo[g]chromene-5,10-dione derivatives, *Tetrahedron Letters*, 75, 153215. DOI:10.1016/j.tetlet.2021.153215.
- [115] Wang X.H., Zhang X.H., Tu S.J., et al., 2009, A facile route to the synthesis of 1,4-pyranonaphthoquinone derivatives under microwave irradiation without catalyst, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 46(5), 832–836.
- [116] N. T. Ha, D. T. T. Anh, H. T. Phuong, L. N. T. Giang, N. T. Q. Giang, N. A. Tuan, L. T. T. Anh, N. V. Tuyen, 2021, A new approach for the synthesis of novel naphthoquinone–chalcone hybrid compounds, *Tetrahedron Letters*, 81, 153337.
- [117] Li X., et al., 2019, Design and synthesis of novel di-carbonyl analogs of curcumin (DACs) acting as potent anti-inflammatory agents against LPS-induced acute lung injury (ALI), *European Journal of Medicinal Chemistry*, 167, 414–425.
- [118] Jordan M.A., Wilson L., 2004, Microtubules as a target for anticancer drugs, *Nature Reviews Cancer*, 4, 253–265. 135b. Dumontet C., Jordan M.A., 2010, Microtubule-binding agents: a dynamic field of cancer therapeutics, *Nature Reviews Drug Discovery*, 9, 790–803.
- [119] Rao K.V., et al., 2019, Design, synthesis, and biological evaluation of pyrido[3,2-d]pyrimidine derivatives as multitarget anti-Alzheimer's agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 183, 111683.
- [120] Nguyen H.T., Nguyen V.H., et al., 2025, Synthesis, molecular docking analysis, and in vitro cytotoxic evaluation of new fluorinated γ -butyrolactone–azaanthraquinone compounds, *Chemistry & Biodiversity*, 0, e02030.

- [121] Nguyen H.T., Nguyen T.Q.G., et al., 2023, Synthesis and evaluation of acetylcholinesterase inhibitory and cytotoxic activities of pyrano[2,3-d]pyrimidines, *Natural Product Communications*, 18(9), 1–10.
- [122] Ravelli R.B.G., et al., 2004, Structure of tubulin in complex with colchicine and the stathmin-like domain, *Nature*, 428, 198–202.
- [123] Morris G.M., et al., 2009, AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility, *Journal of Computational Chemistry*, 30, 2785–2791.
- [124] Prota A.E., Danel F., Bachmann F., et al., 2014, The novel microtubule-destabilizing drug BAL27862 binds to the colchicine site of tubulin with distinct effects on microtubule organization, *Journal of Molecular Biology*, 426, 1848–1860.
- [125] Velázquez-Delgado E.M., Hardy J.A., 2012, Zinc-mediated allosteric inhibition of caspase-6, *Journal of Biological Chemistry*, 287, 36000–36011.
- [126] Lu Y., Chen J., Xiao M., Li W., Miller D.D., 2012, An overview of tubulin inhibitors that interact with the colchicine binding site, *Pharmaceutical Research*, 29, 2943–2971.
- [127] Massarotti A., Coluccia A., Silvestri R., Sorba G., Brancale A., 2012, The tubulin colchicine domain: a molecular modeling perspective, *ChemMedChem*, 7, 33–42.
- [128] H. T. Nguyen, K. T. Van, H. Pham-The, et al., 2025, Synthesis, cytotoxicity, apoptosis-inducing activity and molecular docking studies of novel isatin-podophyllotoxin hybrids, *RSC Advances*, 15, 2825–2839.
- [129] H. T. Nguyen, Q. G. Nguyen Thi, T. Ha Nguyen Thi, et al., 2022, Synthesis and biological activity, and molecular modelling studies of potent cytotoxic podophyllotoxin-naphthoquinone compounds, *RSC Advances*, 12, 22004–22019.
- [130] N. H. Thanh, H. T. Phuong, L. T. Tu Anh, et al., 2022, Synthesis and cytotoxic evaluation of fluoro and trifluoromethyl substituents containing novel naphthoquinone-fused podophyllotoxins, *Natural Product Communications*, 17, 1–6.
- [131] A. Daina, O. Michielin, and V. Zoete, 2017, SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Scientific Reports*, 7, 42717.
- [132] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, 1997, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23, 3–25.
- [133] T. I. Oprea, A. M. Davis, S. J. Teague, and P. D. Leeson, 2001, Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 41, 1308–1315.
- [134] J. B. Baell and G. A. Holloway, 2010, New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays, *Journal of Medicinal Chemistry*, 53, 2719–2740.

- [135] M. A. Cabrera-Perez, H. Pham-The, M. Bermejo, I. G. Alvarez, M. G. Alvarez, and T. M. Garrigues, 2012, QSPR in oral bioavailability: specificity or integrality?, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 12, 534–550.
- [136] H. Pham-The, T. Garrigues, M. Bermejo, I. González-Álvarez, M. C. Monteagudo, and M. Á. Cabrera-Pérez, 2013, Provisional classification and in silico study of biopharmaceutical system based on Caco-2 cell permeability and dose number, *Molecular Pharmaceutics*, 10, 2445–2461.
- [137] H. Pham-The, I. González-Lvarez, M. Bermejo, T. Garrigues, H. LeThi-Thu, and M. Á. Cabrera-Pérez, 2013, The use of rule-based and QSPR approaches in ADME profiling: a case study on Caco-2 permeability, *Molecular Informatics*, 32, 459–479.
- [138] J. A. Castillo-Garit, G. M. Casanola-Martin, H. Le-Thi-Thu, H. Pham-The, and S. J. Barigye, 2017, A simple method to predict blood–brain barrier permeability of drug-like compounds using classification trees, *Medicinal Chemistry*, 13, 664–669.
- [139] F. Zhang, J. Xue, J. Shao, and L. Jia, 2012, Compilation of 222 drugs' plasma protein binding data and guidance for study designs, *Drug Discovery Today*, 17, 475–485.
- [140] H. T. Nguyen, K. T. Van, H. Pham-The, et al., 2024, Synthesis, molecular docking analysis and in vitro evaluation of new heterocyclic hybrids of 4-azapodophyllotoxin as potent cytotoxic agents, *RSC Advances*, 14, 1838–1853.
- [141] H. Pham-The, M. Á. Cabrera-Pérez, N.-H. Nam, et al., 2019, In silico assessment of ADME properties: advances in Caco-2 cell monolayer permeability modeling, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 18, 2209–2229.
- [142] Hakamata W., Kurihara M., Okuda H., et al., 2009, Design and screening strategies for α -glucosidase inhibitors based on enzymological information, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(1), 3–12.
- [143] Chen H., Yan X., Lin W., et al., 2004, A new method for screening α -glucosidase inhibitors and application to marine microorganisms, *Pharmaceutical Biology*, 42(6), 416–421.
- [144] Milovanovic J., Gündüz M.G., Zerva A., Petkovic M., Beskoski V., Thomaidis N.S., Topakas E., Nikodinovic-Runic J., 2021, Synthesis and laccase-mediated oxidation of new condensed 1,4-dihydropyridine derivatives, *Catalysts*, DOI:10.3390/catal11060727.
- [145] Khaledian D., Rostami A., Zarei S.A., Mohammadi B., 2019, Aerobic oxidative aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines via an anomeric-based oxidation in the presence of laccase enzyme/4-phenyl urazole as a cooperative catalytic oxidation system, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 16, 1871–1878.
- [146] Morales J.E., Villavicencio C.B., Cervantes X.L., Canchingre M.E., Pedroso M.T., 2023, Oxidative aromatization of some 1,4-dihydropyridine derivatives using pyritic ash in eco-sustainable conditions, *Chemistry Proceedings*, DOI:10.3390/ecsoc-27-16066.

- [147] Shariati M., Imanzadeh G., Rostami A., Ghoreishy N., Kheirjou S., 2019, Application of laccase/DDQ as a new bioinspired catalyst system for the aerobic oxidation of tetrahydroquinazolines and Hantzsch 1,4-dihydropyridines, *Comptes Rendus Chimie*, 22, 337–346.
- [148] Nikoorazm M., 2013, A new method for the oxidation of 1,4-dihydropyridine derivatives by guanidinium nitrate in the presence of silica sulfuric acid under mild, heterogeneous and metal-free conditions, *Scientia Iranica*, 20, 603–606.
- [149] Zafar A.M., Jabeen M., Aslam N., Anjum S., Ghafoor A., Khan M.U.A., 2021, Oxidation of some dihydropyridine derivatives via different methods, *Frontiers in Chemical Science*, 2, 117–131.
- [150] Sephrmansourie H., Zarei M., Zolfigol M.A., Babae S., Rostamnia S., 2021, Application of novel nanomagnetic metal–organic frameworks as a catalyst for the synthesis of new pyridines and 1,4-dihydropyridines via a cooperative vinylogous anomeric based oxidation, *Scientific Reports*, 11, 5279.