



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0031917

(51)⁷ C07D 239/88; A61K 31/517; A61K
35/00

(13) B

(21) 1-2019-02438

(22) 13/05/2019

(45) 25/05/2022 410

(43) 26/08/2019 377A

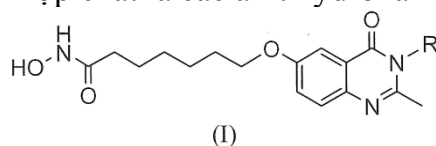
(73) Trường Đại học Bách khoa Hà Nội (VN)

Số 1, Đại Cồ Việt, quận Hai Bà Trưng, thành phố Hà Nội

(72) Trần Khắc Vũ (VN).

(54) HỢP CHẤT AXIT HYDROXAMIC CHỨA KHUNG QUINAZOLINON CÓ HOẠT
TÍNH CHỐNG UNG THƯ VÀ QUY TRÌNH TỔNG HỢP CÁC HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất là các axit hydroxamic có công thức chung (I):



trong đó, R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm: C₂H₅; C₃H₇; n-C₄H₉; C₆H₅CH₂; 4-F-C₆H₅CH₂; 4-Cl-C₆H₅CH₂; 4-CH₃-C₆H₅CH₂; 4-OCH₃-C₆H₅CH₂; 4-OCH₃-C₆H₅; 3-OCH₃-C₆H₅; 2-OCH₃-C₆H₅; 4-F-C₆H₅; 3-F-C₆H₅.

Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính kháng với một số dòng tế bào ung thư *in vitro*

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực bào chế dược phẩm, cụ thể hơn sáng chế đề cập đến các hợp chất là các axit hydroxamic chứa khung quinazolinon dùng làm chất chống ung thư và quy trình tổng hợp các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Ung thư là một nhóm các bệnh liên quan đến việc phân chia tế bào một cách vô tổ chức và các tế bào này có khả năng xâm lấn các mô khác bằng cách phát triển trực tiếp vào mô lân cận hoặc di chuyển đến nơi xa, hay còn gọi là di căn. Hiện có khoảng 200 loại ung thư khác nhau và nếu không được chữa trị sớm, hầu hết các loại ung thư có thể gây tử vong, đây là một trong những nguyên nhân gây tử vong chính ở những nước phát triển. Hầu hết các bệnh ung thư có thể chữa trị và nhiều bệnh có thể chữa lành, nếu được phát hiện và điều trị sớm. Các loại bệnh ung thư thường gặp nhất ở Việt Nam bao gồm 15 loại phổ biến là ung thư phổi, ung thư vú, ung thư đại trực tràng, ung thư dạ dày, ung thư gan, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư tử cung hoặc cổ tử cung, ung thư thực quản, ung thư bàng quang, u lympho không Hodgkin, ung thư khoang miệng, bệnh bạch cầu, ung thư tụy, ung thư buồng trứng và ung thư thận, trong đó thường gặp nhất ở nam giới là ung thư phổi và ở nữ giới là ung thư vú, tiếp đó là ung thư đại trực tràng, ung thư dạ dày, ung thư tiền liệt tuyến ở nam giới và ung thư tử cung hoặc cổ tử cung ở nữ giới.

Ung thư có tỷ lệ gây tử vong rất cao, chỉ đứng sau các bệnh về tim mạch, số tử vong do ung thư hằng năm lên đến 82.000 trường hợp, tỷ lệ tử vong hoặc người mắc bệnh lên đến 73,5% và vào loại cao hàng đầu thế giới. Tỷ lệ này ở bệnh nhân ung thư chung toàn thế giới là 59,7%. Ở các nước phát triển, tỷ lệ này thấp hơn xuống khoảng 49,4% và các nước đang phát triển là 67,8%, đều thấp hơn tỷ lệ tử vong ở Việt Nam (73,5%).

Các hợp chất kháng ung thư đã được sử dụng nhiều năm trong việc chữa trị các bệnh gây ra bởi ung thư có thể kể đến, ví dụ; paclitaxel, 5-flouraxil (5-FU), xyclophosphamit, tamoxifen, v.v. Mỗi loại thuốc này đặc trị cho các loại ung thư riêng. Tuy nhiên, sự kháng lại các thuốc ung thư theo thời gian đã được ghi nhận. Vì vậy, việc tìm kiếm các hợp chất mới với cơ chế tác dụng mới luôn là vấn đề cấp thiết.

Phương pháp tiếp cận dựa trên mục tiêu phân tử để khám phá thuốc hiện đang thu hút rất nhiều sự quan tâm của các nhà hóa học và dược học trong việc phát hiện và phát triển thuốc chống ung thư trên toàn thế giới (Nam, et al.; Current Targets for Anticancer Drug Discovery. Drug Targets 4 (2003) 159–179). Trong số nhiều mục tiêu protein hiện đang được sử dụng để thiết kế các tác nhân chống ung thư mới, histon deaxetylaza (HDACs) nổi lên như những mục tiêu rất hấp dẫn và hiện được coi là mục tiêu đầy hứa hẹn cho thiết kế thuốc chống ung thư (Mark, et al.; Histone deaxetylases and cancer: causes and therapies. Nature Reviews Cancer 1 (2001) 194–202; Witt, et al.; HDAC family: What are the cancer relevant targets?. Cancer Lett. 277 (2009) 8–21).

HDAC là các enzym xúc tác loại bỏ nhóm N-axetyl khỏi lysin đã axetyl hóa nằm trên đuôi của histon nucleosom, và điều này dẫn đến ngưng tụ chromatin và ức chế sự phiên mã (Mark, et al.; Histone deaxetylases and cancer: causes and therapies. Nature Reviews

Cancer. 1 (2001) 194–202; Witt, et al.; HDAC family: What are the cancer relevant targets?. Cancer Lett. 277 (2009), 8–21). Cùng với các transferaza axeton histon (HAT), các HDAC điều chỉnh mức độ axetyl hóa và khử axetyl của histon và mức độ biểu hiện của một số gen nhất định. Do đó, chúng đã được công nhận có vai trò quan trọng trong tiến trình chu kỳ tế bào và quá trình gây ung thư (Mark, et al.; Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. Nature Reviews Cancer 1, (2001) 194–202; Heba et al.; Design, synthesis, molecular docking study, and biological evaluation of salicylaldehyde derivatives as potential histone deacetylases inhibitors (HDACi) and anticancer agents. Med Res Rev. (2018) 1–52).

Các nghiên cứu cả *in vitro* và *in vivo* trên các mô hình tiền lâm sàng cho thấy sự ức chế HDACs dẫn đến sự biệt hóa tế bào, chết tế bào theo chương trình với một số dòng tế bào ung thư (Roper, et al.; The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer. Mol. Oncol. 1 (2007) 19–25; Ververis, et al.; Histone deacetylase inhibitors (HDACIs): multitargeted anticancer agents. Biologics 7 (2013) 47–60; Qiu, et al.; Effects of treatment with histone deacetylase inhibitors in solid tumors: a review based on 30 clinical trials. Oncol. 9 (2013) 255–269; West, et al.; New and emerging HDAC inhibitors for cancer treatment. J. Clin. Invest. 124 (2014) 30–39; Bolden, et al.; Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nat. Rev. Drug Discov. 5 (2006) 769–784; Dokmanovic, et al.; Histone deacetylase inhibitors: discovery and development as anticancer agents. Expert Opin. Invest. Drugs 14 (2005) 1497–1511; Johnstone, et al.; Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. Nat. Rev. Drug Discov. 1 (2002) 287–299; Glaser, et al.; HDAC inhibitors: clinical update and mechanism-based potential. Biochem. Pharmacol. 74 (2007) 659–871; Dallavalle, et al.; Design, synthesis, and evaluation of biphenyl-4-yl-acrylohydroxamic acid derivatives as histone deacetylase (HDAC) inhibitors. Eur. J. Med. Chem. 44 (2009) 1900–1912). Do đó, các chất ức chế HDAC đã được coi là một nhóm các tác nhân trị liệu đầy hứa hẹn, do gây nên sự chết tế bào khối u, biệt hóa và chết tế bào theo chương trình trong các khối u ác tính và huyết học khác nhau (West, et al.; New and emerging HDAC inhibitors for cancer treatment. J. Clin. Invest. 124 (2014) 30–39; Bolden, et al.; Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nat. Rev. Drug Discov. 5 (2006) 769–784; Dokmanovic, et al.; Histone deacetylase inhibitors: discovery and development as anticancer agents. Expert Opin. Invest. Drugs 14 (2005) 1497–1511; Johnstone, et al.; Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. Nat. Rev. Drug Discov. 1 (2002) 287–299; Mercurio, et al.; Histone deacetylases and epigenetic therapies of hematological malignancies. Pharmacol. Res. 1 (2010) 18–34; Stimson, et al.; HDAC inhibitor-based therapies and haematological malignancy. Ann. Oncol. 8 (2009) 1293–1302); Xiong cai, et al.; Discovery of 7-(4-(3-Ethynylphenylamino)-7-methoxyquinazolin-6-yl)-N-hydroxyheptanamide (CUDC-101) as a Potent Multi-Acting HDAC, EGFR, and HER2 Inhibitor for the Treatment of Cancer. J. Med. Chem. 53 (2010) 2000–2009; Chao-Wu Yu, et al.; Quinazolin-4-one Derivatives as Selective Histone Deacetylase-6 Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease. J. Med. Chem. 56 (2013) 6775–6791.

Gần đây, chúng tôi đã điều chế một loạt các axit hydroxamic và sàng lọc hoạt tính ức chế HDAC và hoạt tính gây độc tế bào. Một số hợp chất thể hiện hoạt tính gây độc với một số dòng tế bào ung thư như: SW620, PC-3 và AsPC-1 với giá trị IC_{50} từ 0,05–0,07 μ M, mạnh hơn 70 lần so với chất đối chứng suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) (Huong et al.;

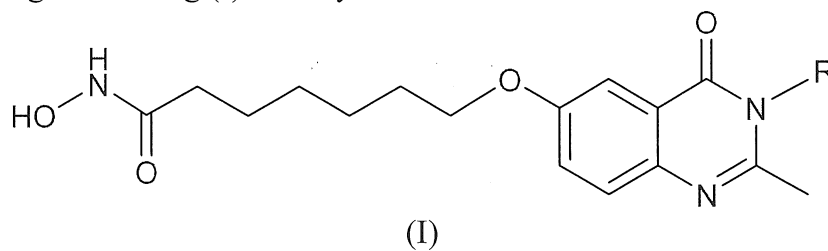
Novel 2-oxoindoline-based hydroxamic acids: synthesis, cytotoxicity, and inhibition of histone deacetylation. *Tetrahedron Lett.* 56 (2015) 6425–6429). Ngoài ra, một số axit hydroxamic chứa khung artemisinin được tổng hợp gần đây thể hiện hoạt tính gây độc với các dòng tế bào: HepG2, MCF-7 và HL-60 với giá trị IC_{50} tương ứng là 2,50; 2,62 và 1,28 $\mu\text{g/mL}$ (Ha, et al.; Design, synthesis and biological evaluation of novel hydroxamic acids bearing artemisinin skeleton. *Bioorg. Chem.* 66 (2016) 63-71) và gần đây các *N*-hydroxypropenamide và *N*-hydroxybenzamide chứa khung quinazolin-4(3*H*)-one thể hiện hoạt tính gây độc tế bào gấp 4 lần chất đối chứng SAHA (Hieu, et al.; Design, synthesis and evaluation of novel *N*-hydroxybenzamides/*N*-hydroxypropenamides incorporating quinazolin-4(3*H*)-ones as histone deacetylase inhibitors and antitumor agents. *Bioorg. Chem.* 76 (2018) 258–267).

Gần đây nhất, chúng tôi đã công bố công trình khoa học trong đó có axit hydroxamic chứa khung quinazolinon (Nguyen V Minh, et al.; Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel *N*-hydroxyheptanamides Incorporating 6-hydroxy-2-methylquinazolin-4(3*H*)-ones as Histone Deacetylase Inhibitors and Cytotoxic Agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*.19 (2019) 1543-1557) có hoạt tính kháng một số dòng tế bào ung thư mạnh hơn 70 lần chất đối chứng SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid, vorinostat).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

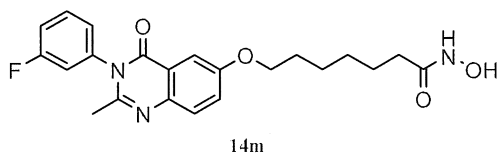
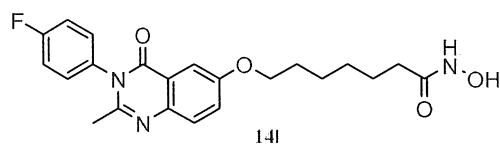
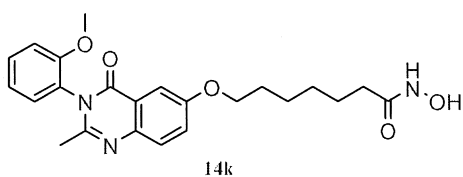
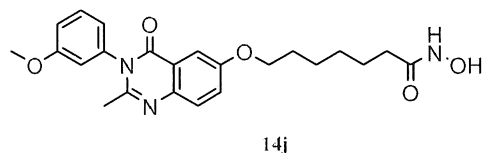
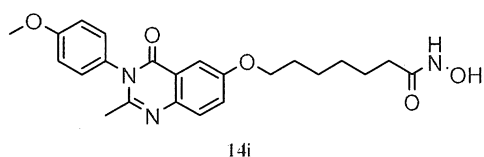
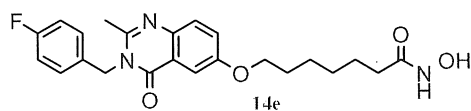
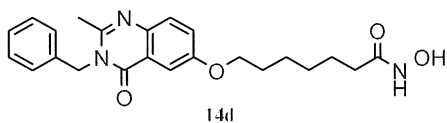
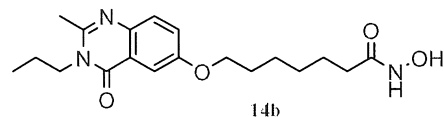
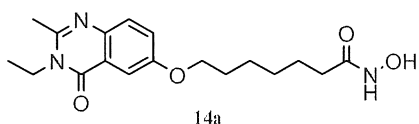
Mục đích của sáng chế là đề xuất các hợp chất axit hydroxamic chứa mạch quinazolinon có hoạt tính ức chế sự phát triển hoặc tiêu diệt các tế bào ung thư.

Cụ thể hơn, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất các hợp chất, là các axit hydroxamic chứa mạch quinazolinon, có hoạt tính ức chế sự phát triển hoặc tiêu diệt các tế bào ung thư, có công thức chung (I) sau đây:



trong đó, R là phần tử thể được chọn từ nhóm bao gồm: C_2H_5 ; C_3H_7 ; $n-C_4H_9$; $C_6H_5CH_2$; 4-F- $C_6H_5CH_2$; 4-Cl- $C_6H_5CH_2$; 4- CH_3 - $C_6H_5CH_2$; 4-O CH_3 - $C_6H_5CH_2$; 4-O CH_3 - C_6H_5 ; 3-O CH_3 - C_6H_5 ; 2-O CH_3 - C_6H_5 ; 4-F- C_6H_5 ; 3-F- C_6H_5 .

Theo một phương án được ưu tiên, hợp chất theo sáng chế là các hợp chất 14a, 14b, 14d, 14e, 14i, 14j, 14k, 14l và 14m cụ thể sau đây, trong đó R lần lượt là các nhóm thế: C_2H_5 ; C_3H_7 ; $C_6H_5CH_2$; 4-F- $C_6H_5CH_2$; 4-O CH_3 - C_6H_5 ; 3-O CH_3 - C_6H_5 ; 2-O CH_3 - C_6H_5 ; 4-F- C_6H_5 ; 3-F- C_6H_5 , với công thức cấu tạo cụ thể dưới đây:



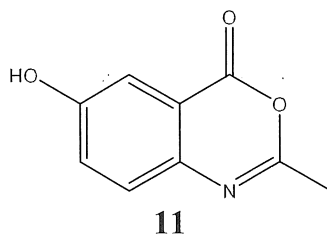
Các hợp chất được ưu tiên trên đây là các chất đã được thử nghiệm và chọn lọc, có hoạt tính kháng ung thư mạnh với các dòng tế bào được thử nghiệm. Cụ thể hơn, hợp chất 14a thể hiện hoạt tính với dòng tế bào HepG-2 (tế bào ung thư gan), MCF-7 (ung thư vú) và SKLu-1 (ung thư phổi) với IC_{50} lần lượt là 0,22; 0,20 và 0,28 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất 14b thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 0,82; 0,54 và 1,27 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất 14d thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 1,47; 1,32 và 1,67 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất 14e thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 1,91; 0,99 và 1,06 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất 14i thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 0,21; 0,14 và 0,37 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất 14j thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 0,047; 0,043 và 0,062 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất 14k thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 0,47; 0,66 và 0,48 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất 14l thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 0,77; 0,58 và 0,82 $\mu\text{g/mL}$, và hợp chất 14m thể hiện hoạt tính với ba dòng tế bào trên lần lượt là 0,17; 0,18 và 0,38 $\mu\text{g/mL}$.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế còn đề xuất quy trình tổng hợp các hợp chất axit hydroxamic nêu trên.

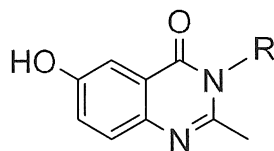
Theo khía cạnh cụ thể, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hợp chất 14j, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy antranilic (5,0 g; 32,67 mmol) và anhydrit axetic ở 150 °C trong 2 giờ; hỗn hợp sau đó được đổ ra nước đá; tủa tạo thành được lọc, rửa bằng nước cất và làm khô trong chân không thu được chất **11** (5,03 g; 87%), được sử dụng

luôn cho các bước tiếp theo;



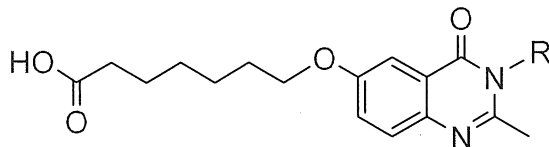
ii) hỗn hợp của hợp chất **11** và 3-metoxyanilin trong axit axetic (10 mL) được đun hồi lưu ở nhiệt độ 120 °C trong 14 giờ; tiến trình phản ứng được kiểm tra bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ khai triển *n*-hexan-etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng NaHCO₃ 50% đến pH = 7 và chiết với CH₂Cl₂ (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂CO₃, bốc hơi dưới áp suất giảm; cặn sau bốc hơi được tiến hành sắc ký cột silica gel sử dụng hệ triển khai *n*-hexan-etyl axetat (1 : 1) cho sản phẩm **12j**: (6-hydroxy-3-(3-metoxyphenyl)-2-methylquinazolin-4(3H)-on);



Hợp chất **12j**

(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅)

iii) hỗn hợp **12j** và KOH (1,2 đương lượng) trong axetonitril (15 mL) đã được nhỏ từ từ etyl-7-bromoheptanoat (1,2 đương lượng); hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 60 °C trong 24 giờ; phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ dung môi triển khai *n*-hexan: etyl axetat (1 : 1). Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng với CH₂Cl₂ (15 mL) và được chiết bằng nước (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan và cô bốc hơi đến cạn; phần cặn sau đó được thủy phân trong hỗn hợp CH₂Cl₂-MeOH (9: 1) trong điều kiện kiềm (NaOH 0,2 N trong EtOH) trong 24 giờ; hỗn hợp cuối cùng được pha loãng với CH₂Cl₂ (20 mL) và được chiết với H₂O (2 × 15 mL). Pha nước được gom lại, axit hóa đến pH = 3 bằng HCl 0,2N và được chiết bằng CH₂Cl₂ (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan trên Na₂SO₄ khan và cô bay hơi đến cạn. Hợp chất **13j** thu được bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên silica gel sử dụng CH₂Cl₂-MeOH làm hệ dung môi rửa giải;

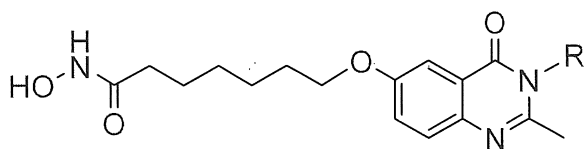


Hợp chất **13j**

(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅)

iv) một hỗn hợp NH₂OTHP (120 mg; 1,02 mmol; 1 đương lượng) và **13j** (1,0 đương

lượng) và EDC.HCl (194 mg; 1,02 mmol; 1 đương lượng), DMAP (61 mg; 0,5 mmol; 0,5 đương lượng) trong CH₂Cl₂ (15 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ; phản ứng được theo dõi bởi TLC sử dụng hệ dung môi triển khai CH₂Cl₂-MeOH (30: 1); hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng với CH₂Cl₂ (15 mL) và được chiết liên tiếp với 5% NaHCO₃, 5% HCl và H₂O; pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan và cô bay hơi đến cạn; phần cặn sau đó được hòa tan trong etanol (5 mL), làm mát bằng nước đá; benzoyl clorua (2 giọt) được thêm vào và hỗn hợp này và hỗn hợp được khuấy thêm 6 giờ; tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với H₂O (10 mL) và được chiết với CH₂Cl₂ (2 × 15 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan; hợp chất **14j** thu được bằng sắc ký cột trên silica gel sử dụng CH₂Cl₂- MeOH (20: 1) làm hệ dung môi rửa giải;

Hợp chất **14j**

(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅).

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

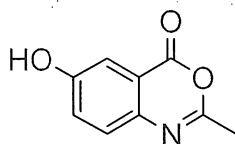
Hình 1 là hình vẽ thể hiện sơ đồ quy trình tổng hợp các hợp chất axit hydroxamic có công thức (I) theo sáng chế;

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ mô tả một cách chi tiết hơn thông qua các phương án cụ thể được ưu tiên về quy trình tổng hợp các hợp chất có công thức (I) bao gồm các bước thực hiện và điều kiện kỹ thuật của từng bước thực hiện của quy trình này.

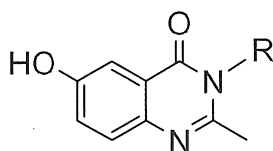
Như được thể hiện trên Hình 1 (sơ đồ phản ứng), theo một phương án của sáng chế, quy trình tổng hợp hợp chất **14j**, là hợp chất cụ thể được ưu tiên trong số các dây chất axit hydroxamic có công thức chung (I), bao gồm các bước sau đây:

Bước 1: Tổng hợp hợp chất **11**

Hợp chất **11**

Đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy antranilic (hợp chất **10**) trong anhydrit axetic ở 150 °C trong 2 giờ. Hỗn hợp sau đó được đổ ra nước đá. Tủa tạo thành được lọc, rửa bằng nước cất và làm khô trong chân không thu được chất **11**, được sử dụng luôn cho các bước tiếp theo.

Bước 2: Tổng hợp hợp chất **12j**

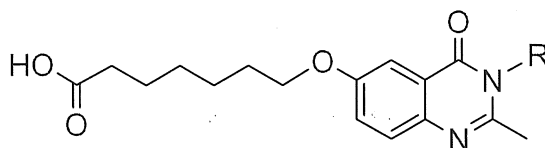


Hợp chất 12j

(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅)

Hỗn hợp của hợp chất **11** (1,0 g; 5,64 mmol) và 3-metoxyanilin (3 đương lượng) trong axit axetic (10 mL) được đun hồi lưu ở nhiệt độ 120 °C trong 14 giờ. Tiến trình phản ứng được kiểm tra bởi sắc ký lớp mỏng với hệ khai triển *n*-hexan-etylaxetat (1 : 1). Hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng NaHCO₃ 50% đến pH = 7 và chiết với CH₂Cl₂ (3 × 20 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂CO₃, bốc hơi dưới áp suất giảm. Cặn sau bốc hơi được tiến hành sắc ký cột silica gel sử dụng hệ khai triển *n*-hexan-etylaxetat (1 : 1) cho sản phẩm **12j**: (6-hydroxy-3-(3-metoxyphenyl)-2-methylquinazolin-4(3H)-on).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ (ppm)): 7,59 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 7,52-7,49 (m, 2H); 7,35 (dd, *J* = 3,0 Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,13 (dd, *J* = 6,0 Hz, 8,5 Hz, 1H); 6,98 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H); 6,94 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 2,25 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ (ppm)): 162,73; 162,47; 157,96; 153,47; 141,99; 140,18; 131,71; 128,90; 125,59; 122,68; 121,35; 116,31; 115,04; 110,57; 56,11; 23,50.

Bước 3: Tổng hợp hợp chất 13j

Hợp chất 13j

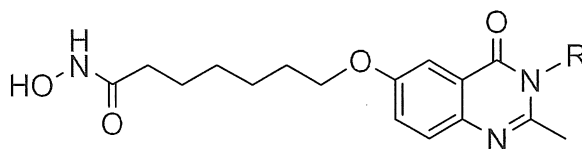
(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅)

Hỗn hợp **12j** và KOH (1,2 đương lượng) trong axetonitril (15 mL) đã được nhỏ từ từ etyl-7-bromoheptanoat (1,2 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 60 °C trong 24 giờ. Phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ khai triển *n*-hexan-etylaxetat (1 : 1). Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng với CH₂Cl₂ (15 mL) và được chiết bằng nước (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khô trên Na₂SO₄ khan và cô bốc hơi đến cạn. Phần cặn sau đó được thủy phân trong hỗn hợp CH₂Cl₂-MeOH (9 : 1) trong điều kiện kiềm (NaOH 0,2 N trong EtOH) trong 24 giờ. Hỗn hợp cuối cùng được pha loãng với CH₂Cl₂ (20 mL) và được chiết với H₂O (2 × 15 mL). Pha nước được gom lại, axit hóa đến pH = 3 bằng HCl 0,2N và được chiết bằng CH₂Cl₂ (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan trên Na₂SO₄ khan và cô bay hơi đến cạn. Hợp chất **13j** thu được bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên silica gel sử dụng CH₂Cl₂-MeOH làm hệ dung môi rửa giải.

Hợp chất **13j**: Axit 7-((3-(3-metoxyphenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanoic.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 11,97 (s, 1H, OH); 7,60 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 7,48-7,41 (m, 3H); 7,09-7,05 (m, 2H); 6,97 (m, 1H); 4,06 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 2,21 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 2,13 (s, 3H, CH₃); 1,78 (m, 2H, CH₂); 1,53 (m, 2H, CH₂); 1,44 (m, 2H, CH₂); 1,34 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 174,36; 160,94; 160,08; 156,87; 151,83; 141,64; 139,05; 130,19; 128,25; 124,21; 121,15; 120,38; 114,62; 114,11; 106,94; 67,96; 55,37; 33,54; 28,33; 28,20; 25,12; 24,35; 23,45. ESI-HRMS tìm thấy: 411,19111; lý thuyết: C₂₃H₂₇N₂O₅ [M + H]⁺: 411,19200.

Bước 4: Tổng hợp chất 14j



Hợp chất **14j**
(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅)

Hỗn hợp của NH₂OTHP, **13j**, EDC.HCl và DMAP trong CH₂Cl₂ (15 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ khai triển CH₂Cl₂-MeOH (30:1). Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng với CH₂Cl₂ (15 mL) và được chiết liên tiếp với 5% NaHCO₃, 5% HCl và H₂O. Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan và cô bay hơi đến cạn. Phần cặn sau đó được hòa tan trong etanol (5 mL), làm mát bằng nước đá. Benzoyl clorua (2 giọt) được thêm vào và hỗn hợp này và hỗn hợp được khuấy thêm 6 giờ. Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với H₂O (10 mL) và được chiết với CH₂Cl₂ (2 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan. Hợp chất **14j** thu được bằng sắc ký cột trên silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂- MeOH (20: 1).

Hợp chất **14j**: *N*-hydroxy-7-((3-(3-methoxyphenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit.

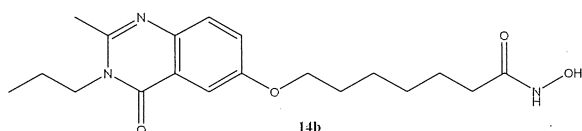
¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,32 (s, 1H, OH); 8,64 (s, 1H, NH); 7,60 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 7,48-7,45 (m, 2H); 7,43 (dd, *J* = 3,0 Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,09-7,05 (m, 2H); 6,98 (m, 1H); 4,05 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 2,13 (s, 3H, CH₃); 1,97 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,75 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,42 (m, 2H, CH₂); 1,29 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,09; 160,98; 160,09; 156,88; 151,85; 141,67; 139,07; 130,22; 128,29; 124,24; 121,16; 120,40; 114,63; 114,12; 106,93; 67,99; 55,38; 32,17; 28,38; 28,28; 25,15; 25,00; 23,49. ESI-HRMS tìm thấy: 426,20275; lý thuyết: C₂₃H₂₈N₃O₅ [M + H]⁺: 426,20290.

Tương tự, các hợp chất **14a-m** được tổng hợp theo quy trình tương tự như là quy trình tổng hợp của dẫn xuất **14j** nêu trên. Các hợp chất này được điều chế và dữ liệu về cấu trúc của các chất này và chất trung gian được mô tả trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1: Công thức cấu tạo và tính chất của các hợp chất là các axit hydroxamic theo sáng chế và các hợp chất trung gian của quy trình tổng hợp

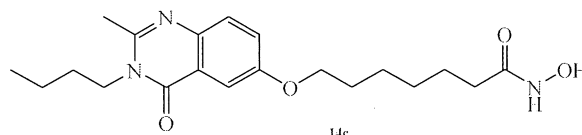
Hợp chất	Phổ NMR	MS
14a	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ (ppm)): 10,31 (s, 1H, OH); 8,63 (s, 1H, NH); 7,51 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 1H); 7,44 (d, <i>J</i> = 3,0 Hz, 1H); 7,36 (dd, <i>J</i> = 3,0 Hz, 9,0 Hz, 1H); 4,10-4,03 (m, 4H); 2,58 (s, 3H, CH ₃); 1,96 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H); 1,73 (m, 2H,	ESI-HRMS: lý thuyết C ₁₈ H ₂₆ N ₃ O ₄ : 348,19201; Tìm thấy: 348,19233; [M + H] ⁺

CH₂); 1,51 (m, 2H, CH₂); 1,41 (m, 2H, CH₂); 1,32 (m, 2H, CH₂); 1,24 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,05; 160,62; 156,66; 152,22; 141,51; 128,11; 124,06; 120,65; 106,44; 67,89; 32,15; 28,39; 28,26; 25,15; 24,99; 22,26; 13,35.



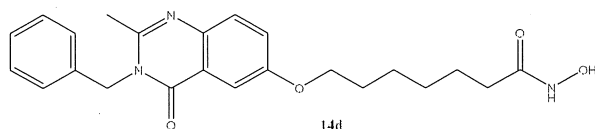
¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,31 (s, 1H, OH); 8,62 (s, 1H, NH); 7,51 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 7,44 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H); 7,37 (dd, *J* = 3,0 Hz, 8,5 Hz, 1H); 4,05 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,99 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 2,57 (s, 3H, CH₃); 1,95 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,73 (m, 2H, CH₂); 1,66 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,42 (m, 2H, CH₂); 1,31 (m, 2H, CH₂); 0,93 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,04; 160,81; 156,68; 152,35; 141,46; 128,11; 124,07; 120,61; 106,51; 67,89; 45,31; 32,15; 28,39; 28,26; 25,15; 25,00; 22,41; 21,23; 11,10.

ESI-HRMS:
Lý thuyết:
C₁₉H₂₈N₃O₄;
362,20798
Tìm thấy:
362,20791;
[M + H]⁺



¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,32 (s, 1H, OH); 8,66 (s, 1H, NH); 7,51 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 7,44 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); 7,36 (dd, *J* = 2,5 Hz, 9,0 Hz, 1H); 4,05-4,0 (m, 4H, 2CH₂); 2,57 (s, 3H, CH₃); 1,95 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,73 (m, 2H, CH₂); 1,61 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,42 (m, 2H, CH₂); 1,37 (m, 2H, CH₂);

ESI-HRMS
lý thuyết:
C₂₀H₃₀N₃O₄;
376,22363;
Tìm thấy:
376,22304;
[M + H]⁺



1,32 (m, 2H, CH₂); 0,93 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,03; 160,76; 156,66; 152,27; 141,46; 128,09; 124,01; 120,60; 106,52; 67,88; 43,55; 32,14; 29,96; 28,37; 28,24; 25,13; 24,97; 22,34; 19,59; 13,48.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,32 (s, 1H, OH); 8,64 (s, 1H, NH); 7,56 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 7,50 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H); 7,40 (dd, *J* = 3,0 Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,35-7,32 (m, 2H); 7,28-7,26 (m, 1H); 7,18 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H); 5,37 (s, 2H); 4,06 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H); 2,45 (s, 3H, CH₃); 1,96 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH₂); 1,74 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,43 (m, 2H, CH₂); 1,32 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,07; 161,26; 156,91; 152,51; 141,52; 136,53; 128,73; 128,30; 127,24; 126,22; 124,38; 120,55; 106,79; 67,95; 46,35; 32,17; 28,40; 28,27; 25,16; 25,01; 22,60.

ESI-HRMS

lý thuyết:

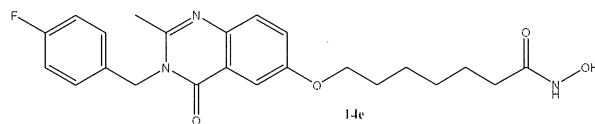
C₂₃H₂₈N₃O₄:

410,20798;

Tìm thấy:

410,20711;

[M + H]⁺



¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,40 (s, 1H, OH); 7,56 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 7,54-7,52 (m, 2H); 7,35 (m, 2H); 7,20-7,16 (m, 2H); 5,37 (s, 2H); 4,09 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 2,58 (s, 3H, CH₃); 1,96 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH₂); 1,75 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,43 (m, 2H, CH₂); 1,31 (m, 2H, CH₂).

ESI-HRMS

Lý thuyết:

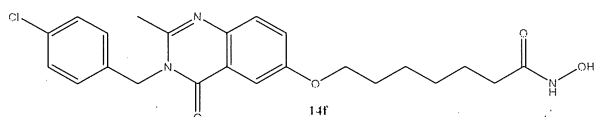
C₂₃H₂₇FN₃O₄:

428,19856;

Tìm thấy:

428,19856

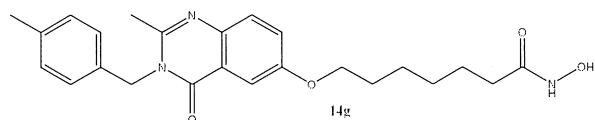
[M + H]⁺



^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 169,58; 162,95; 161,02; 160,68; 158,24; 132,12; 129,42; 129,35; 129,35; 125,69; 120,64; 116,0; 107,97; 67,71; 46,96; 32,66; 28,82; 28,76; 25,64; 25,52; 21,54.

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,31 (s, 1H, OH); 8,64 (s, 1H, NH); 7,56 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,50 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,42-7,40 (m, 3H); 7,30 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 5,35 (s, 2H, CH_2); 4,07 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,45 (s, 3H, CH_3); 1,96 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2); 1,74 (m, 2H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2); 1,43 (m, 2H, CH_2); 1,32 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 169,04; 161,23; 156,93; 152,37; 141,50; 135,58; 131,85; 128,69; 128,32; 128,28; 124,43; 120,52; 106,78; 67,95; 45,86; 32,16; 28,38; 28,26; 25,15; 25,00; 22,61.

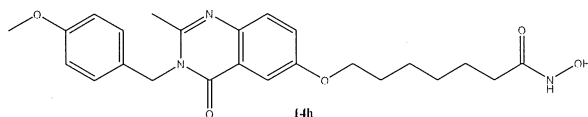
ESI-HRMS
lý thuyết:
 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{ClN}_3$; 424,22061;
Tìm thấy:
444,16901;
[M + H] $^+$



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,32 (s, 1H, OH); 8,63 (s, 1H, NH); 7,53 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,50 (s, 1H); 7,14 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 6,89 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 5,29 (s, 2H, CH_2); 4,07 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, CH_2); 2,50 (s, 3H, CH_3); 2,20 (s, 3H, CH_3); 1,95 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2); 1,74 (m, 2H, CH_2); 1,51 (m, 2H, CH_2); 1,42 (m, 2H, CH_2); 1,32 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 169,05; 161,27;

ESI-HRMS
lý thuyết:
 $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_4$; 424,22061;
Tìm thấy:
424,22363;
[M + H] $^+$

158,45; 156,87; 141,50;
134,1; 128,40; 128,26;
127,81; 124,33; 120,59;
114,13; 106,78; 67,94;
45,81; 32,16; 28,39; 28,26;
25,15; 25,00; 22,61; 21,31.



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,33 (s, 1H, OH); 8,65 (s, 1H, NH); 7,54 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,50 (s, 1H); 7,41 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,14 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 6,90 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 5,29 (s, 2H, CH_2); 4,06 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 3,71 (s, 3H, OCH_3); 2,46 (s, 3H, CH_3); 1,96 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2); 1,74 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2); 1,42 (m, 2H, CH_2); 1,31 (m, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 169,14; 161,33; 158,49; 156,92; 152,58; 141,53; 128,43; 128,30; 127,86; 124,39; 120,62; 114,17; 106,81; 67,98; 55,07; 45,86; 32,21; 28,43; 28,30; 25,20; 25,05; 22,65.

ESI-HRMS

lý thuyết:

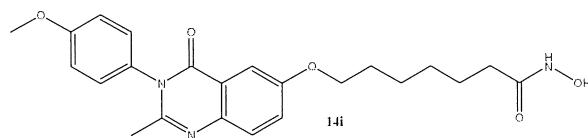
$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_5$;

440,21833;

Tìm thấy:

440,21855;

$[\text{M} + \text{H}]^+$



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,31 (s, 1H, OH); 8,62 (s, 1H, NH); 7,59 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,45 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,42 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,33 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,09 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 4,05 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, CH_2); 3,83 (s, 3H, OCH_3); 2,10 (s, 3H, CH_3); 1,95 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2); 1,74 (m, 2H, CH_2); 1,53 (m, 2H, CH_2); 1,46 (m, 2H, CH_2); 1,41 (m, 2H, CH_2); 1,32 (m, 2H, CH_2).

^{13}C NMR

ESI-HRMS

lý thuyết:

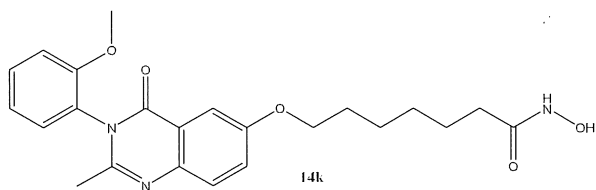
$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_5$;

426,20281;

Tìm thấy:

426,20290;

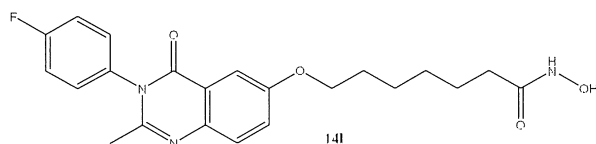
$[\text{M} + \text{H}]^+$



(125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,07; 161,28; 159,21; 156,83; 152,40; 141,67; 130,46; 129,41; 128,28; 124,19; 121,16; 114,65; 106,94; 67,97; 55,36; 32,16; 28,38; 28,27; 25,14; 24,99; 23,73.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,32 (s, 1H, OH); 8,65 (s, 1H, NH); 7,60 (d, J = 8,5 Hz, 1H); 7,51 (t, J = 9,0 Hz, 1H); 7,45-7,42 (m, 2H); 7,37 (dd, J = 1,5 Hz, 7,5 Hz, 1H); 7,26 (d, J = 8,5 Hz, 1H); 7,12 (t, J = 8,0 Hz, 1H); 4,05 (t, J = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,75 (s, 3H, OCH₃); 2,06 (s, 3H, CH₃); 1,95 (t, J = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,74 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,43 (m, 2H, CH₂); 1,31 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,12; 160,65; 156,93; 154,22; 152,32; 141,72; 130,71; 129,55; 128,33; 126,05; 124,34; 121,05; 121,03; 112,52; 106,97; 68,00; 55,77; 32,18; 28,40; 28,28; 25,17; 25,02; 22,83.

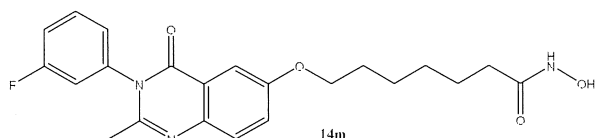
ESI-HRMS
lý thuyết:
C₂₃H₂₈N₃O₅:
426,20281;
Tìm thấy:
426,20290;
[M + H]⁺



¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,30 (s, 1H, OH); 8,62 (s, 1H, NH); 7,61 (d, J = 8,5 Hz, 1H); 7,51 (d, J = 8,5 Hz, 2H); 7,45-7,41 (m, 2H); 7,40 (d, J = 8,5 Hz, 2H); 4,06 (t, J = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 2,1 (s, 3H, CH₃); 1,95 (t, J = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,74 (m, 2H, CH₂); 1,50 (m, 2H, CH₂); 1,43 (m, 2H, CH₂); 1,31 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ

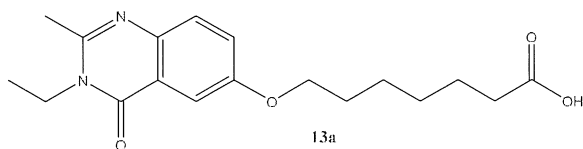
ESI-HRMS
lý thuyết:
C₂₂H₂₅FN₃O:
414,18295;
Tìm thấy:
414,18291;
[M + H]⁺

(ppm)): 169,04; 162,84;
 161,16; 156,88; 151,87;
 141,66; 134,20; 130,69;
 128,32; 124,27; 121,11;
 116,46; 106,93; 67,98;
 32,15; 28,38; 28,28; 25,15;
 25,00; 23,72.



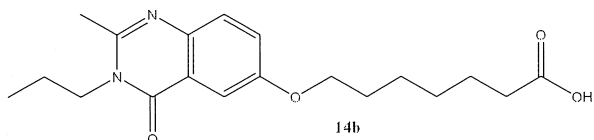
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,31 (s, 1H, OH); 8,65 (s, 1H, NH); 7,64 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,61 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,45-7,42 (m, 3H); 7,38 (dt, $J = 2,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,32 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,06 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,12 (s, 3H, CH_3); 1,95 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2); 1,74 (m, 2H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2); 1,43 (m, 2H, CH_2); 1,32 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 169,05; 163,27; 161,32; 160,97; 156,94; 151,48; 141,63; 139,49; 131,12; 128,35; 124,91; 124,33; 121,09; 116,20; 106,95; 68,00; 32,15; 28,38; 28,28; 25,15; 25,00; 23,55.

ESI-HRMS
 Lý thuyết:
 $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{FN}_3\text{O}$;
 414,18295;
 Tìm thấy:
 414,18291;
 $[\text{M} + \text{H}]^+$



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,95 (s, 1H, OH); 7,51 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,45 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,36 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 4,07 (t, $J = 6,5$ Hz, 4H, 2CH_2); 3,51 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,59 (s, 3H, CH_3); 2,19 (m, 2H, CH_2); 1,77 (m, 2H, CH_2); 1,51 (m, 2H, CH_2); 1,41 (m, 2H, CH_2); 1,32 (m, 2H, CH_2); 1,22 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,39; 159,42; 157,60; 151,21; 141,32;

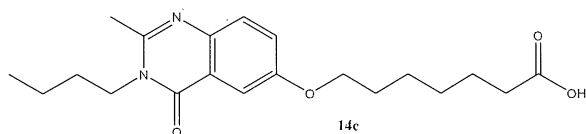
ESI-HRMS
 Lý thuyết:
 $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$;
 333,18113;
 Tìm thấy:
 333,18143;
 $[\text{M} + \text{H}]^+$



125,03; 124,01; 120,06;
107,30; 68,19; 34,98; 33,54;
28,40; 28,20; 25,11; 24,36;
24,23; 12,85.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 11,94 (s, 1H, OH); 7,51 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 7,44 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); 7,37 (dd, *J* = 2,5 Hz, 8,5 Hz, 1H); 4,05 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,99 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H, CH₂); 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,21 (m, 2H, CH₂); 1,78 (m, 2H, CH₂); 1,67 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,43 (m, 2H, CH₂); 1,32 (m, 2H, CH₂); 0,93 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 174,38; 160,60; 156,85; 153,36; 139,40; 127,46; 124,23; 120,51; 106,67; 67,93; 45,43; 32,02; 28,35; 28,21; 25,15; 24,37; 22,15; 21,16; 11,09.

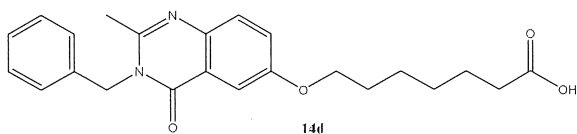
ESI-HRMS
lý thuyết:
C₁₉H₂₇N₂O₄:
347,19701;
Tìm thấy:
347,19708;
[M + H]⁺



¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 11,95 (s, 1H, OH); 7,51 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 7,44 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); 7,34 (dd, *J* = 2,5 Hz, 8,5 Hz, 1H); 4,04 (m, 4H, 2CH₂); 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,19 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,79 (m, 2H, CH₂); 1,61 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,42 (m, 2H, CH₂); 1,37 (m, 2H, CH₂); 1,31 (m, 2H, CH₂); 0,93 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 174,40; 169,00; 159,54; 157,73; 153,75; 141,21; 125,16; 120,00; 107,43; 68,24; 44,36; 35,04; 33,59; 32,37;

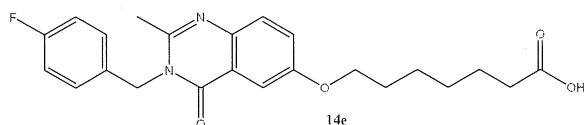
ESI-HRMS
lý thuyết:
C₂₀H₂₉N₂O₄:
361,21177;
Tìm thấy:
361,21273;
[M + H]⁺

29,45; 32,07; 24,28; 22,57;
19,58; 13,55.



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,95 (s, 1H, OH); 7,56 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,51 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,42 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,36-7,33 (m, 2H); 7,31-7,27 (m, 1H); 7,18 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H); 5,37 (s, 2H, CH_2); 4,06 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, CH_2); 2,46 (s, 3H, CH_3); 2,19 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H); 1,76 (m, 2H, CH_2); 1,54-1,42 (m, 2H, CH_2); 1,36 (m, 2H, CH_2); 1,31-1,26 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,46; 161,18; 157,05; 152,91; 141,02; 136,44; 128,77; 128,23; 127,24; 126,30; 124,51; 120,53; 106,93; 68,01; 46,47; 32,06; 28,86; 28,25; 25,36; 25,20; 22,49.

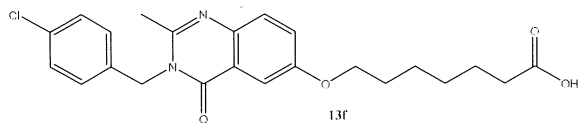
ESI-HRMS
Lý thuyết:
 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4$;
395,19702;
Tìm thấy:
395,19708;
[M + H] $^+$



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,95 (s, 1H, OH); 7,56 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,51 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,42 (dd, $J = 2,5$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,27-7,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,17 (t, $J = 8,5$ Hz, 2H); 5,35 (s, 2H, CH_2); 4,07 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,46 (s, 3H, CH_3); 2,21 (m, 2H, CH_2); 1,77 (m, 2H, CH_2); 1,56-1,47 (m, 2H, CH_2); 1,37 (m, 2H, CH_2); 1,28 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,46; 162,33; 161,13; 160,40; 157,07; 132,59; 128,63; 127,83; 124,58; 120,52; 115,63; 115,46; 106,89; 67,99; 45,9; 32,06; 28,32; 28,25; 25,36;

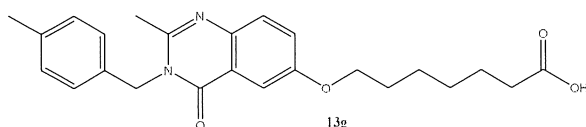
ESI-HRMS
lý thuyết:
 $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{FN}_2\text{O}_4$;
413,18661;
Tìm thấy:
413,18766;
[M + H] $^+$

25,19; 22,47.



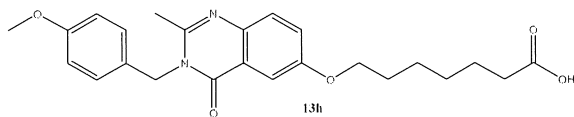
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,96 (s, 1H, OH); 7,56 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,50 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,42-7,35 (m, 3H); 7,25 (dd, $J = 8,5$ Hz, 2H); 5,35 (s, 2H, CH_2); 4,07 (t, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,45 (s, 3H, CH_3); 2,20 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2); 1,80 (m, 2H, CH_2); 1,49 (m, 2H, CH_2); 1,37 (m, 2H, CH_2); 1,30 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,6; 161,25; 155,93; 151,41; 140,39; 135,73; 131,84; 128,70; 128,52; 128,27; 124,04; 120,75; 109,09; 67,91; 45,74; 32,09; 28,47; 28,39; 25,39; 25,24; 24,30.

ESI-HRMS
Lý thuyết:
 $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{ClN}_2\text{O}$
;
429,15828;
Tìm thấy:
429,15811;
[M + H] $^+$



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,91 (s, 1H, OH); 7,55 (d, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,51 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,41 (dd, $J = 3,0$ Hz, 8,50 Hz, 1H); 7,15 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 7,07 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 5,32 (s, 2H, CH_2); 4,07 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,46 (s, 3H, CH_3); 2,26 (s, 3H, CH_3); 2,21 (t, $J = 8,50$ Hz, 2H, CH_2); 1,77 (m, 2H, CH_2); 1,51 (m, 2H, CH_2); 1,39 (m, 2H, CH_2); 1,28 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,40; 161,19; 156,98; 152,77; 138,48; 133,43; 129,27; 128,05; 127,21; 124,42; 120,54; 114,76; 106,88; 69,59; 46,16; 32,04; 28,33; 28,23; 24,39; 24,25; 22,49; 20,56.

ESI-HRMS
Lý thuyết:
 $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4$
409,21223;
Tìm thấy:
409,21273;
[M + H] $^+$



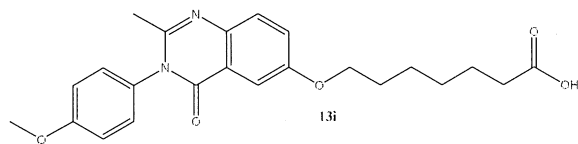
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,81 (s, 1H, OH); 7,54 (d, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,51 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,40 (dd, $J = 3,0$ Hz, 8,50 Hz, 1H); 7,15 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 6,90 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 5,29 (s, 2H, CH_2); 4,06 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 3,71 (s, 3H, OCH_3); 2,46 (s, 3H, CH_3); 2,19 (t, $J = 7,50$ Hz, 2H, CH_2); 1,79 (m, 2H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2); 1,37 (m, 2H, CH_2); 1,28 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,48; 161,23; 158,54; 157,02; 152,88; 141,07; 128,33; 127,98; 127,91; 124,46; 120,60; 114,17; 106,90; 68,01; 55,08; 45,94; 32,08; 28,88; 28,38; 25,38; 25,22; 22,53.

ESI-HRMS

Lý thuyết:

 $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_5$;
425,20719;

Tìm thấy:

425,20765;
[$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,81 (s, 1H, OH); 7,59 (d, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,45 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,42 (dd, $J = 2,5$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,32 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,09 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 4,05 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, CH_2); 3,83 (s, 3H, OCH_3); 2,21 (t, $J = 7,50$ Hz, 2H, CH_2); 2,10 (s, 3H, CH_3); 1,74 (m, 2H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2); 1,43 (m, 2H, CH_2); 1,35 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,38; 161,26; 159,21; 156,83; 152,39; 141,64; 130,46; 129,40; 128,24; 124,16; 121,15; 114,64; 106,94; 67,95; 55,35; 33,54; 28,35; 28,22; 25,14; 24,26; 23,71.

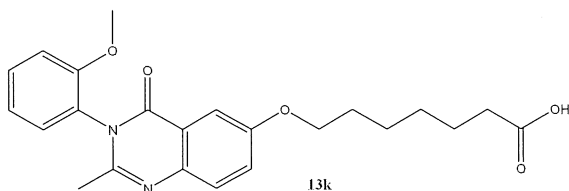
ESI-HRMS

Lý thuyết:

 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_5$;
411,19111;

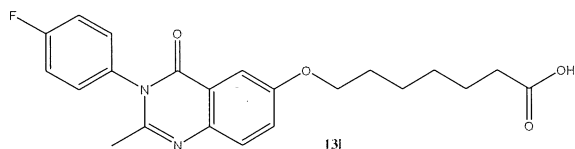
Tìm thấy:

411,19200;
[$\text{M} + \text{H}$] $^+$



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,97 (s, 1H, OH); 7,60 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,52-7,49 (m, 1H); 7,45-7,41 (m, 2H); 7,37 (dd, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H); 7,26 (dd, $J = 1,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,12 (dt, $J = 1,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H); 4,05 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 3,76 (s, 3H, OCH_3); 2,20 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,06 (s, 3H, CH_3); 1,72 (m, 2H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2); 1,42 (m, 2H, CH_2); 1,36 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,37; 160,40; 157,04; 154,16; 152,77; 141,24; 130,77; 129,49; 127,80; 125,79; 124,42; 121,04; 120,94; 112,52; 107,06; 67,99; 55,76; 32,02; 28,31; 28,20; 25,13; 24,40; 22,60.

ESI-HRMS
Lý thuyết:
 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_5$;
411,19111;
Tìm thấy:
411,19200;
 $[\text{M} + \text{H}]^+$

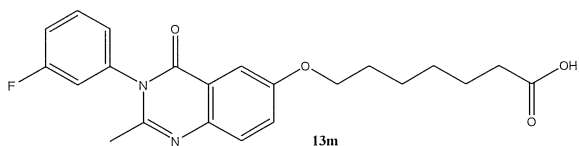


^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 7,80 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H); 7,55 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,48-7,46 (m, 2H); 7,44-7,39 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 4,06 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,21 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2); 2,16 (s, 3H, CH_3); 1,75 (m, 2H, CH_2); 1,52 (m, 2H, CH_2); 1,43 (m, 2H, CH_2); 1,36 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 174,37; 162,95; 160,99; 157,15; 151,51; 140,10; 133,70; 130,64; 127,21; 124,49; 120,97; 116,55; 107,71; 68,04; 33,54; 28,32; 28,21; 25,13; 24,36; 23,17.

ESI-HRMS
Lý thuyết:
 $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{FN}_2\text{O}$;
399,17105;
Tìm thấy:
399,17201;
 $[\text{M} + \text{H}]^+$

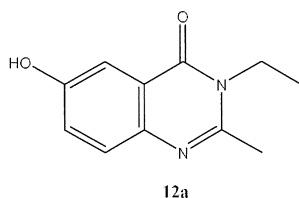
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 11,94 (s, 1H, OH); 7,64 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H);

ESI-HRMS
Lý thuyết:
 $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{FN}_2\text{O}$;

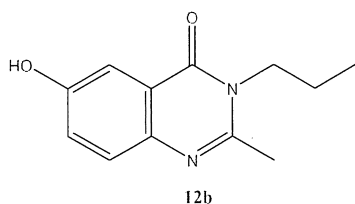


^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,61 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,46-7,42 (m, 3H); 7,38 (dt, $J = 2,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,32 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,06 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2); 2,21 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2); 2,12 (s, 3H, CH_3); 1,75 (m, 2H, CH_2); 1,53 (m, 2H, CH_2); 1,43 (m, 2H, CH_2); 1,35 (m, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 174,37; 163,25; 161,30; 160,94; 156,92; 151,45; 141,60; 139,47; 131,08; 128,31; 124,89; 124,30; 121,07; 116,19; 106,94; 67,96; 33,53; 28,33; 28,21; 25,13; 24,35; 23,53.

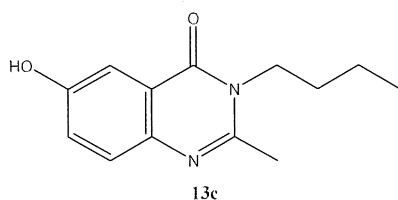
399,17105;
Tìm thấy:
399,17201;
[M + H]⁺



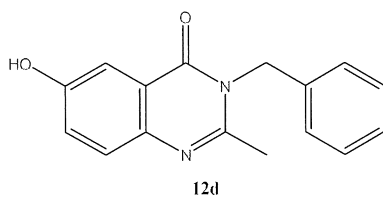
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,50-7,48 (trùng cập, 2H); 7,29 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz); 2,66 (s, 3H); 4,22 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,36 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 163,26; 157,70; 153,60; 141,79; 128,60; 125,32; 122,39; 110,15; 40,80; 13,81.



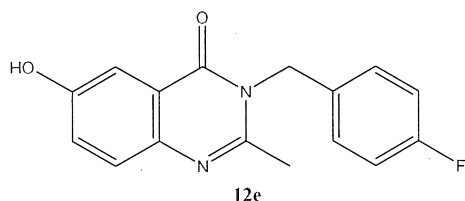
^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 9,96 (s, 1H, OH); 7,44 (d, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,38 (d, $J = 2,50$ Hz, 1H); 7,22 (dd, $J = 2,50$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 3,95 (t, $J = 6,50$ Hz, 2H); 2,54 (s, 3H); 1,64 (m, 2H); 0,92 (t, $J = 7,50$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 160,86; 155,64; 151,42; 140,4; 128,08; 123,73; 120,89; 108,82; 45,27; 22,36; 21,32; 11,14.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,85 (d, $J = 3,0$ Hz); 7,54 (d, $J = 9,0$ Hz); 7,31 (dd, $J = 3,0$ Hz, $9,0$ Hz, 1H); 7,63 (brs, 1H); 4,09 (t, $J = 3,0$ Hz, 2H); 2,64 (s, 3H); 1,72 (m, 2H, H); 1,48 (m, 2H); 1,0 (t, $J = 2,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 162,15; 155,23; 152,40; 141,43; 128,34; 124,22; 121,23; 110,11; 44,65; 30,73; 22,76; 20,31; 13,71.

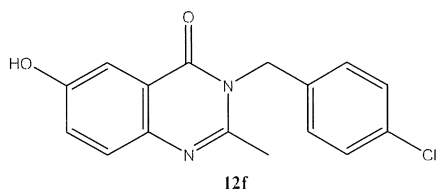


^1H NMR (500 MHz, DMSO, δ (ppm)): 8,31 (brs, 1H, OH); 7,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,45 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,36-7,28 (m, 3H); 7,26-7,21 (m, 2H); 7,17 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 5,35 (s, 2H); 1,87 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 169,16; 161,28; 155,90; 139,57; 136,68; 128,76; 128,27; 127,23; 126,69; 126,21; 124,04; 109,12; 46,27; 22,53.

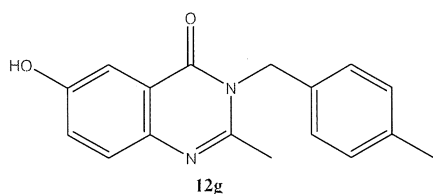


^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,04 (s, 1H, OH); 7,49 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,43 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,28-7,25 (dd, $J = 3,0$ Hz, $9,0$ Hz, 1H); 7,24-7,22 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 7,18-7,16 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 5,32 (s, 2H).

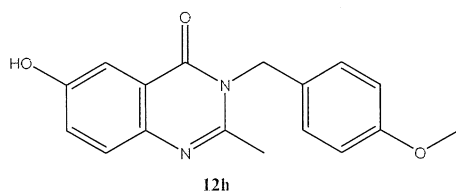
^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 162,27; 161,27; 160,33; 155,89; 140,39; 132,88; 128,50; 128,26; 128,44; 124,9; 120,79; 115,61; 115,44; 109,08; 45,68; 22,56.



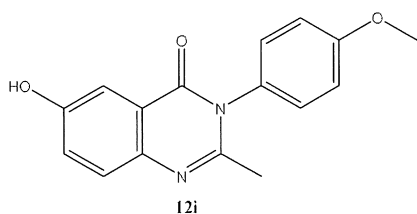
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,07 (s, 1H, OH); 7,49 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,43 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H); 7,04-7,38 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 7,28 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,21 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 5,33 (s, 2H); 2,42 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 161,25; 155,93; 151,41; 140,39; 135,73; 131,84; 128,70; 128,27; 124,04; 120,75; 109,09; 45,78; 22,55.



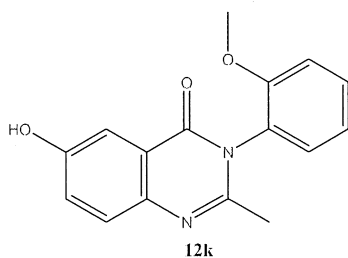
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,05 (s, 1H, OH); 7,49 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H); 7,43 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H); 7,28 (dd, $J = 3,2$ Hz, 8,8 Hz, 1H); 7,15 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 7,04 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 5,30 (s, 2H); 2,42 (s, 3H); 2,08 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 169,51; 161,76; 156,38; 152,11; 140,91; 134,1; 129,80; 128,76; 128,2; 124,6; 121,30; 109,58; 46,50; 23,06; 21,15.



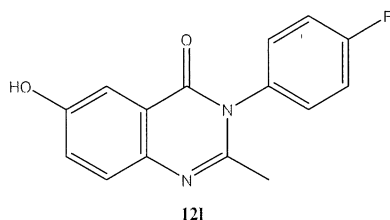
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,03 (s, 1H, OH); 7,48 (d, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,44 (d, $J = 1,50$ Hz, 1H); 7,26 (dd, $J = 2,50$ Hz, 8,50 Hz, 1H); 7,13 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 6,90 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 5,27 (s, 2H); 3,71 (s, 3H); 2,44 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 161,28; 155,84; 151,58; 148,43; 140,38; 128,55; 128,22; 127,79; 123,94; 120,82; 114,13; 109,07; 55,04; 45,70; 22,56.



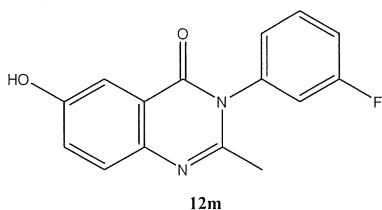
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,58 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,51 (d, $J = 2,50$ Hz, 1H); 7,35 (dd, $J = 2,50$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,28 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 7,14 (d, $J = 8,50$ Hz, 2H); 3,90 (s, 3H); 2,22 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 164,07; 161,73; 157,93; 154,08; 141,97; 131,57; 130,42; 128,86; 125,55; 122,67; 116,13; 110,58; 56,09; 23,74.



^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 10,31 (brs, 1H, OH); 7,52-7,48 (m, 2H); 7,38 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,35 (dd, $J = 1,5$ Hz, 7,5 Hz, 1H); 7,29 (dd, $J = 2,5$ Hz, 8,50 Hz, 1H); 7,25 (d, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,11 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); 3,76 (s, 3H); 2,04 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 160,62; 155,83; 154,22; 151,28; 140,55; 130,58; 129,59; 128,22; 126,13; 123,89; 121,22; 120,95; 112,44; 109,13; 55,71; 22,72.



^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,57 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,43 (s, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,42-7,41 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 2H); 7,36-7,32 (m, 3H); 4,83 (s, 2H); 2,21 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 165,29; 163,84; 163,32; 157,99; 141,93; 135,24; 131,67; 128,95; 125,60; 122,59; 117,87; 117,68; 110,58; 23,74.

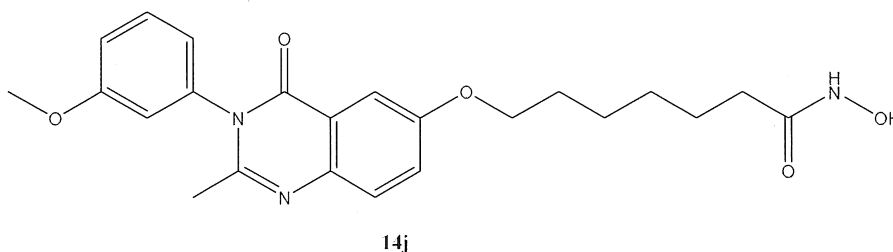


^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,65-7,61 (m, 1H); 7,57 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,50 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,35-7,32 (m, 2H); 7,28-7,25 (m, 1H); 7,24-7,22 (m, 1H); 3,25 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 165,64; 163,68; 158,00; 152,96; 141,91; 140,65; 132,47; 128,98; 125,70; 125,63; 122,58; 117,53; 117,08; 110,59; 23,58.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn thông qua các ví dụ minh họa cho sáng chế.

Ví dụ 1: Quy trình tổng hợp chất **14j**



Bước 1

Đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy antranilic (5,0 g; 32,67 mmol) và anhydrit axetic ở 150 °C trong 2 giờ. Hỗn hợp sau đó được đổ ra nước đá. Tủa tạo thành được lọc, rửa bằng nước cất và làm khô trong chân không thu được chất **11** (5,03 g; 87%), được sử dụng luôn cho các bước tiếp theo.

Bước 2

Hỗn hợp của hợp chất **11** (1,0 g; 5,64 mmol) và 3-metoxyanilin (3 đương lượng) trong axit axetic (10 mL) được đun hồi lưu ở nhiệt độ 120 °C trong 14 giờ. Tiến trình phản ứng được kiểm tra bởi sắc ký lớp mỏng (*n*-hexan-etyl axetat (1 : 1)). Hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng NaHCO_3 50% đến pH = 7 và chiết với CH_2Cl_2 (3×20 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2CO_3 , bốc hơi dưới áp suất giảm. Cặn sau bốc hơi được tiến hành sắc ký cột silica gel sử dụng hệ triển khai *n*-hexan-etyl axetat (1 : 1) cho sản phẩm **12j** (1,46 g, 92%): (6-hydroxy-3-(3-metoxyphenyl)-2-methylquinazolin-4(3H)-on).

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,59 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,52-7,49 (m, 2H); 7,35 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,13 (dd, $J = 6,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 6,98 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H); 6,94 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 3,87 (s, 3H, OCH_3); 2,25 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 162,73; 162,47; 157,96; 153,47; 141,99; 140,18; 131,71; 128,90; 125,59; 122,68; 121,35; 116,31; 115,04; 110,57; 56,11; 23,50.

Bước 3

Hỗn hợp của **12j** (524 mg; 1,96 mmol) và KOH (1,2 đương lượng) trong axetonitril (15 mL) được nhỏ từ từ etyl-7-bromoheptanoat (1,2 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 60 °C trong 24 giờ. Phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ dung môi triển khai *n*-hexan- etyl axetat (1: 1). Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng với CH₂Cl₂ (15 mL) và được chiết bằng nước (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan và cô bốc hơi đến cạn. Phần cặn sau đó được thủy phân trong hỗn hợp CH₂Cl₂- MeOH (9: 1) trong điều kiện kiềm (NaOH 0,2 N trong EtOH) trong 24 giờ. Hỗn hợp cuối cùng được pha loãng với CH₂Cl₂ (20 mL) và được chiết với H₂O (2 × 15 mL). Pha nước được gom lại, axit hóa đến pH = 3 bằng HCl 0,2N và được chiết bằng CH₂Cl₂ (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan trên Na₂SO₄ khan và cô bay hơi đến cạn. Hợp chất **13j** thu được bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên silica gel sử dụng CH₂Cl₂-MeOH làm hệ dung môi rửa giải.

Hợp chất **13j** (803 mg; 91%): Axit 7-((3-(3-Metoxyphenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanoic.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 11,97 (s, 1H, OH); 7,60 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 7,48-7,41 (m, 3H); 7,09-7,05 (m, 2H); 6,97 (m, 1H); 4,06 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 2,21 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 2,13 (s, 3H, CH₃); 1,78 (m, 2H, CH₂); 1,53 (m, 2H, CH₂); 1,44 (m, 2H, CH₂); 1,34 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 174,36; 160,94; 160,08; 156,87; 151,83; 141,64; 139,05; 130,19; 128,25; 124,21; 121,15; 120,38; 114,62; 114,11; 106,94; 67,96; 55,37; 33,54; 28,33; 28,20; 25,12; 24,35; 23,45. ESI-HRMS tìm thấy: 411,19111; lý thuyết: C₂₃H₂₇N₂O₅ [M + H]⁺: 411,19200.

Bước 4

Hỗn hợp của NH₂OTHP (120 mg; 1,02 mmol, 1 đương lượng) và **13j** (1,0 đương lượng) và EDC.HCl (194 mg; 1,02 mmol, 1 đương lượng); DMAP (61 mg; 0,5 mmol; 0,5 đương lượng) trong CH₂Cl₂ (15 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ dung môi triển khai CH₂Cl₂-MeOH (30: 1). Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng với CH₂Cl₂ (15 mL) và được chiết liên tiếp với 5% NaHCO₃, 5% HCl và H₂O. Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan và cô bay hơi đến cạn. Phần cặn sau đó được hòa tan trong ethanol (5 mL), làm mát bằng nước đá. Benzoyl clorua (2 giọt) được thêm vào và hỗn hợp này và hỗn hợp được khuấy thêm 6 giờ. Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với H₂O (10 mL) và được chiết với CH₂Cl₂ (2 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan. Hợp chất **14j** thu được bằng sắc ký cột trên silica gel sử dụng CH₂Cl₂-MeOH (20: 1) làm hệ dung môi rửa giải.

Hợp chất **14j** (273 mg, 63%): *N*-hydroxy-7-((3-(3-metoxyphenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 10,32 (s, 1H, OH); 8,64 (s, 1H, NH); 7,60 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 7,48-7,45 (m, 2H); 7,43 (dd, *J* = 3,0 Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,09-7,05 (m, 2H); 6,98 (m, 1H); 4,05 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 2,13 (s, 3H, CH₃); 1,97 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,75 (m, 2H, CH₂); 1,52 (m, 2H, CH₂); 1,42 (m, 2H, CH₂); 1,29 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 169,09; 160,98; 160,09; 156,88; 151,85; 141,67; 139,07; 130,22; 128,29; 124,24; 121,16; 120,40; 114,63; 114,12; 106,93; 67,99; 55,38; 32,17; 28,38; 28,28; 25,15; 25,00; 23,49. ESI-HRMS tìm thấy: 426,20275; lý

thuyết: $C_{23}H_{28}N_3O_5 [M + H]^+$: 426,20290.

Ví dụ 2: Thử nghiệm hoạt tính sinh học của các hợp chất thu được

Ví dụ 2a: Phương pháp nuôi cấy tế bào *in vitro*

Các dòng tế bào ung thư (TBU^T) được nuôi cấy dưới dạng đơn lớp trong môi trường nuôi cấy DMEM với thành phần kèm theo bao gồm 2 mM L-glutamin, 10 mM HEPES, và 1,0 mM natri pyruvat. Ngoài ra, 10% huyết thanh phôi bò (fetal bovine serum - FBS (GIBCO)) còn được bổ sung thêm.

Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỷ lệ 1:3 và nuôi trong tủ ẩm CO₂ ở điều kiện nhiệt độ 37°C, 5% CO₂.

Ví dụ 2b: Phép thử sinh học xác định độ độc tế bào (cytotoxic assay)

Phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute - NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc tiêu diệt TBUT ở điều kiện *in vitro*. Phép thử này được thực hiện theo phương pháp được đề cập trong các tài liệu sau đây:

A. Monks, D.; et al. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines; Journal of National Cancer Institute. 83 (11), 757-766 (1991);

D. A. Scudiero, et al. 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, 4827-4833(1988);

L. B. S. Kardono, et al. Cytotoxic and antimalarial constituents of the roots of *Eurycoma longifolia*; J. Nat. Prod., 54 (5) 1360-1367(1991);

M. C. Alley, et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. Cancer Research. 48, 589-601 (1988);

R. H. Shoemaker, et al. Application of high-throughput, molecular-targeted screening to anticancer drug discovery. Curr. Top. Med. Chem.; 3(2), 229-246 (2002).

Phép thử tiến hành xác định hàm lượng tổng protein tế bào dựa vào mật độ quang học (OD - Optical Density) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamin B (SRB). Giá trị OD của máy đo tỷ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein, do đó lượng tế bào càng nhiều (lượng protein càng nhiều) thì giá trị OD càng lớn. Phép thử được thực hiện trong điều kiện cụ thể như sau:

- Chất thử (20 µl) pha trong DMSO 10% được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ sàng lọc là 100 µg/ml. Chất thử có hoạt tính được xác định IC₅₀ nhờ dải nồng độ 100 µg/ml, 20 µg/ml, 4 µg/ml và 0,8 µg/ml;

- Trypsin hóa tế bào thí nghiệm để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm để điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm;

- Thêm vào các giếng thí nghiệm lượng tế bào phù hợp (trong 180 µl môi trường) và để chúng phát triển trong vòng từ 3-5 ngày;

- Một khay 96 giếng khác không có chất thử nhưng có TBUT (180 µl) sẽ được sử dụng làm đối chứng ngày 0. Sau 1 giờ, đĩa đối chứng ngày 0 sẽ được cố định tế bào bằng axit tricloaxetic (TCA);

- Sau giai đoạn phát triển trong tủ ẩm CO₂, tế bào được cố định vào đáy giếng bằng

TCA trong 30 phút, được nhuộm bằng SRB trong 1 giờ ở 37°C. Loại bỏ SRB và các giếng thí nghiệm được rửa 3 lần bằng 5% axit axetic rồi để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng;

- Cuối cùng, sử dụng 10 mM Tris Base không được đệm để hòa tan lượng SRB đã bám và nhuộm các phân tử protein, đưa lên máy lắc đĩa lắc nhẹ trong 10 phút và sử dụng máy ELISA Plate Reader (Bio-Rad) để đọc kết quả về hàm lượng màu của chất nhuộm SRB qua phổ hấp phụ ở bước sóng 515 nm. Khả năng sống sót của tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định bằng công thức sau:

$$\% \text{ sống sót} = [(OD_{(\text{chất thử})} - OD_{(\text{ngày 0})}) \times 100] / [OD_{(\text{đối chứng âm})} - OD_{(\text{ngày 0})}]$$

$$\% \text{ ức chế} = 100\% - \% \text{ sống sót}$$

- Các phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. SAHA (Sigma) luôn được sử dụng như là chất đối chứng dương và được thử nghiệm ở các nồng độ 10 µg/ml; 2 µg/ml; 0,4 µg/ml và 0,08 µg/ml;

- DMSO 10% luôn được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính Table Curve. Chất thử nào có IC₅₀ < 20 µg/ml (với chất chiết thô hoặc với phân đoạn hóa học), hoặc IC₅₀ < 4 µg/ml (với hoạt chất tinh khiết) sẽ được xem là có hoạt tính gây độc tế bào và có khả năng ức chế sự phát triển hoặc tiêu diệt TBUT.

Các hợp chất là các axit hydroxamic chứa nhân quinazolinon được thử tác dụng kháng với 3 dòng tế bào ung thư (TBUT) bao gồm MCF-7, SK-LU-1 và HepG2. Kết quả là hợp chất N-hydroxy-7-((3-(3-metoxyphe-nyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit (**14j**) thể hiện hoạt tính kháng ung thư mạnh đối với cả 3 dòng tế bào ung thư gan (HepG-2), vú (MCF-7) và phổi (SK-LU-1) ở IC₅₀ lần lượt là 0,046; 0,043 và 0,062 µg/mL so với chất chuẩn SAHA (0,3; 1,9 và 0,039 µg/mL).

Hợp chất N-hydroxy-7-((3-(3-flo-phenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit (**14m**) thể hiện hoạt tính kháng ung thư mạnh đối với cả 3 dòng tế bào ung thư gan (HepG-2), vú (MCF-7) và phổi (SK-LU-1) ở IC₅₀ lần lượt là 0,17; 0,18 và 0,038 µg/mL.

Hợp chất 7-((3-etyl-2-metyl-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-6-yl)oxy)-N-hydroxyheptanamit (**14a**) thể hiện hoạt tính kháng ung thư mạnh đối với cả 3 dòng tế bào ung thư gan (HepG-2), vú (MCF-7) và phổi (SK-LU-1) ở IC₅₀ lần lượt là 0,22; 0,20 và 0,28 µg/mL.

Kết quả cụ thể được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây

Bảng 2: Hoạt tính kháng ung thư *in vitro* của các hợp chất tổng hợp theo sáng chế

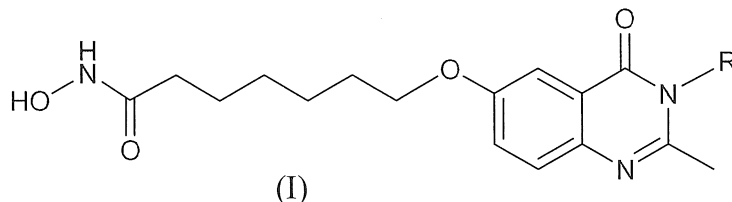
TT	Nhóm thế (R)	Hoạt tính độc tế bào (IC ₅₀ , µg/mL)/dòng tế bào		
		HepG-2	MCF-7	SKLu-1
14a	Etyl	0,22 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,28 ± 0,03
14b	Propyl	0,82 ± 0,08	0,54 ± 0,04	1,27 ± 0,14
14c	Butyl	9,77 ± 1,01	7,10 ± 0,70	7,14 ± 0,52
14d	Benzyl	1,47 ± 0,22	1,32 ± 0,10	1,67 ± 0,21
14e	4-Flobenzyl	1,91 ± 0,15	0,99 ± 0,11	1,06 ± 0,13
14f	4-Clobenzyl	3,93 ± 0,41	1,81 ± 0,21	4,06 ± 0,41
14g	4-Metylbenzyl	11,22 ± 1,37	8,82 ± 0,54	10,94 ± 1,12

TT	Nhóm thế (R)	Hoạt tính độc tế bào (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)/dòng tế bào		
		HepG-2	MCF-7	SKLu-1
14h	4-Metoxybenzyl	$6,73 \pm 0,52$	$5,32 \pm 0,68$	$6,76 \pm 0,75$
14i	4-Metoxyphenyl	$0,21 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,02$
14j	3-Metoxyphenyl	$0,047 \pm 0,004$	$0,043 \pm 0,005$	$0,062 \pm 0,005$
14k	2-Metoxyphenyl	$0,47 \pm 0,05$	$0,66 \pm 0,08$	$0,48 \pm 0,03$
14l	4-Flophenyl	$0,77 \pm 0,08$	$0,58 \pm 0,03$	$0,82 \pm 0,09$
14m	3-Flophenyl	$0,17 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,03$
SAHA		$0,30 \pm 0,01$	$1,9 \pm 0,02$	$0,039 \pm 0,04$

Chất chuẩn SAHA có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư gan HepG2 (ATCC-HB-8065), ung thư vú MCF-7 (ATCC-HTB-22) và ung thư phổi SK-LU-1 (ATCC-HTB-57) với IC_{50} lần lượt là 0,30; 1,90 và 0,039 $\mu\text{g/mL}$. Các giá trị là giá trị trung bình của 3 lần thử nghiệm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất axit hydroxamic có công thức chung (I):



trong đó, R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm: C₂H₅; C₃H₇; n-C₄H₉; C₆H₅CH₂; 4-F-C₆H₅CH₂; 4-Cl-C₆H₅CH₂; 4-CH₃-C₆H₅CH₂; 4-OCH₃-C₆H₅CH₂; 4-OCH₃-C₆H₅; 3-OCH₃-C₆H₅; 2-OCH₃-C₆H₅; 4-F-C₆H₅; 3-F-C₆H₅.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-((3-Etyl-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)-N-hydroxyheptanamit.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-((3-Propyl-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)-N-hydroxyheptanamit.

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-((3-Benzyl-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)-N-hydroxyheptanamit.

5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-((3-(4-Flobenzyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)-N-hydroxyheptanamit.

6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là N-Hydroxy-7-((3-(4-metoxyphephenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit.

7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là N-Hydroxy-7-((3-(3-metoxyphephenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit.

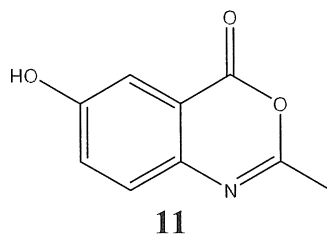
8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là N-Hydroxy-7-((3-(2-metoxyphephenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit.

9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là N-Hydroxy-7-((3-(4-flophenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit.

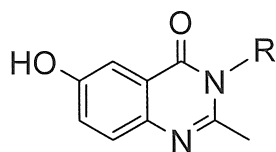
10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là N-Hydroxy-7-((3-(3-flophenyl)-2-metyl-4-oxo-3,4-đihydroquinazolin-6-yl)oxy)heptanamit.

11. Quy trình tổng hợp hợp chất (I) theo điểm 7, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy antranilic (5,0 g; 32,67 mmol) và anhydrit axetic ở 150 °C trong 2 giờ; hỗn hợp sau đó được đổ ra nước đá; tủa tạo thành được lọc, rửa bằng nước cất và làm khô trong chân không thu được chất **11** (5,03 g; 87%), được sử dụng luôn cho các bước tiếp theo;



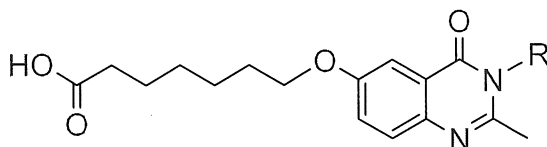
ii) hỗn hợp của hợp chất **11** và 3-metoxyanilin trong axit axetic (10 mL) được đun hồi lưu ở nhiệt độ 120 °C trong 14 giờ; tiến trình phản ứng được kiểm tra bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ khai triển *n*-hexan-etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng NaHCO₃ 50% đến pH = 7 và chiết với CH₂Cl₂ (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂CO₃, bốc hơi dưới áp suất giảm; cặn sau bốc hơi được tiến hành sắc ký cột silica gel sử dụng hệ triển khai *n*-hexan-etyl axetat (1 : 1) cho sản phẩm **12j**: (6-hydroxy-3-(3-metoxyphenyl)-2-methylquinazolin-4(3H)-on);



Hợp chất **12j**

(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅)

iii) hỗn hợp **12j** và KOH (1,2 đương lượng) trong axetonitril (15 mL) đã được nhỏ từ từ etyl-7-bromoheptanoat (1,2 đương lượng); hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 60 °C trong 24 giờ; phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ dung môi triển khai *n*-hexan: etyl axetat (1: 1). Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng với CH₂Cl₂ (15 mL) và được chiết bằng nước (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ khan và cô bốc hơi đến cạn; phần cặn sau đó được thủy phân trong hỗn hợp CH₂Cl₂- MeOH (9: 1) trong điều kiện kiềm (NaOH 0,2 N trong EtOH) trong 24 giờ; hỗn hợp cuối cùng được pha loãng với CH₂Cl₂ (20 mL) và được chiết với H₂O (2 × 15 mL). Pha nước được gom lại, axit hóa đến pH = 3 bằng HCl 0,2N và được chiết bằng CH₂Cl₂ (3 × 15 mL). Pha hữu cơ được tách ra, làm khan trên Na₂SO₄ khan và cô bay hơi đến cạn. Hợp chất **13j** thu được bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên silica gel sử dụng CH₂Cl₂-MeOH làm hệ dung môi rửa giải;

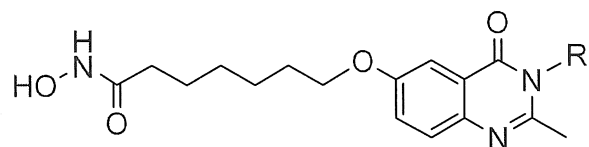


Hợp chất **13j**

(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅)

iv) một hỗn hợp NH₂OTHP (120 mg; 1,02 mmol; 1 đương lượng) và **13j** (1,0 đương lượng) và EDC.HCl (194 mg; 1,02 mmol; 1 đương lượng), DMAP (61 mg; 0,5 mmol; 0,5 đương lượng) trong CH₂Cl₂ (15 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ; phản ứng được theo dõi bởi TLC sử dụng hệ dung môi triển khai CH₂Cl₂-MeOH (30: 1); hỗn hợp

phản ứng sau đó được pha loãng với CH_2Cl_2 (15 mL) và được chiết liên tiếp với 5% NaHCO_3 , 5% HCl và H_2O ; pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 khan và cô bay hơi đến cạn; phần cặn sau đó được hòa tan trong etanol (5 mL), làm mát bằng nước đá; benzoyl clorua (2 giọt) được thêm vào và hỗn hợp này và hỗn hợp được khuấy thêm 6 giờ; tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với H_2O (10 mL) và được chiết với CH_2Cl_2 (2×15 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 khan; hợp chất **14j** thu được bằng sắc ký cột trên silica gel sử dụng CH_2Cl_2 - MeOH (20: 1) làm hệ dung môi rửa giải;



Hợp chất **14j**

(trong đó R là 3-OCH₃-C₆H₅).

Hình. 1

