

DOI: 10.58490/ctump.2025i83.3294

CẢI TIẾN QUY TRÌNH TỔNG HỢP 7-CLORO-6-NITROQUINAZOLIN-4(3H)-ON LÀM TRUNG GIAN TRONG ĐIỀU CHẾ CÁC THUỐC ỨC CHẾ EGFR TYROSINE KINASE THỂ HỆ 2

Lương Thị Thanh^{1,2}, Vũ Thị Ngọc Trang², Nguyễn Hoàng Anh Vượng¹,
Nguyễn Hòa Bình², Nguyễn Văn Giang², Đào Nguyệt Sương Huyền², Nguyễn Văn Hải²,
Trương Thị Hồng Hạnh³, Bùi Thị Thanh Châm^{2,3}, Nguyễn Thị Ngọc^{3*}

1. Đại học Công nghiệp Hà Nội,

2. Trường Đại học Dược Hà Nội

3. Trường đại học Y - Dược, Đại học Thái Nguyên

*Email: ngoack3a@gmail.com

Ngày nhận bài: 04/12/2024

Ngày phản biện: 10/01/2025

Ngày duyệt đăng: 25/01/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: 7-Cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on có vai trò quan trọng trong tổng hợp các thuốc kháng ung thư tại đích EGFR TKIs như afatinib, dacomitinib, poziotinib. Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu tổng hợp trung gian này nhưng quy mô nhỏ (vài mg đến dưới 30 g), hiệu suất chỉ đạt 70-85%. Vì vậy cần tiếp tục cải tiến điều kiện và thiết bị phản ứng nhằm nâng cao hiệu suất tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on, làm tiền đề cho các bước tiếp theo trong quy trình tổng hợp các thuốc nhóm này. **Mục tiêu nghiên cứu:** Cải tiến được thiết bị, tác nhân, tỷ lệ các chất phản ứng, phương pháp tinh chế sản phẩm trong tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on từ acid 2-amino-4-clorobenzoic đạt hiệu suất cao và độ tinh khiết trên 99%. Từ đó nâng cấp được quy trình phản ứng lên quy mô 20g/mẻ.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Từ acid 2-amino-4-clorobenzoic tiến hành ngưng tụ tạo vòng quinazolin-4(3H)-on rồi nitro hóa, trong đó: Khảo sát và cải tiến về thiết bị, tác nhân, tỷ lệ mol, dung môi tinh chế cho hiệu suất tốt nhất. Xác định cấu trúc và độ tinh khiết các chất bằng phương pháp phổ: IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR; HPLC. **Kết quả:** Đã tổng hợp, khẳng định được cấu trúc của 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on. Giai đoạn đóng vòng quinazolin sử dụng lò phản ứng chịu áp, tỷ lệ mol acid 2-amino-4-clorobenzoic: formamid giảm còn 1:8, đã cho hiệu suất >90% và độ tinh khiết đạt 99,9% mà không cần tinh chế lại. Phản ứng nitro hóa sử dụng NaNO₃ thay cho HNO₃ bốc khói, kết tinh sản phẩm bằng acetone cho hiệu suất đạt 80,8% và độ tinh khiết > 99,7%. Từ đó đã nâng cấp được quy mô các phản ứng tổng hợp lên 20 g/mẻ, hiệu suất toàn quy trình đạt 75,7%. **Kết luận:** 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on đã được tổng hợp với quy trình cải tiến gồm hai giai đoạn: cho hiệu suất tốt, độ tinh khiết >99,7%; thiết bị đơn giản, dễ thao tác (lò phản ứng chịu áp); tác nhân sẵn có, an toàn.

Từ khóa: 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on; 7-cloroquinazolin-4(3H)-on; acid 2-amino-4-clorobenzoic; natri nitrat / H₂SO₄ đặc.

ABSTRACT

IMPROVE THE SYNTHESIS PROCESS OF 7-CHLORO-6-NITROQUINAZOLIN-4(3H)-ONE AS A RAW MATERIAL INTERMEDIATES IN THE PREPARATION OF SECOND-GENERATION EGFR TYROSINE KINASE INHIBITORS

**Luong Thi Thanh^{1,2}, Vu Thi Ngoc Trang², Nguyen Hoang Anh Vuong¹,
Nguyen Hoa Binh², Nguyen Van Giang², Dao Nguyet Suong Huyen², Nguyen Van Hai²,
Truong Thi Hong Hanh³, Bui Thi Thanh Cham^{2,3}, Nguyen Thi Ngoc^{3*}**

1. Ha Noi University of Industry,

2. Ha Noi University of Pharmacy

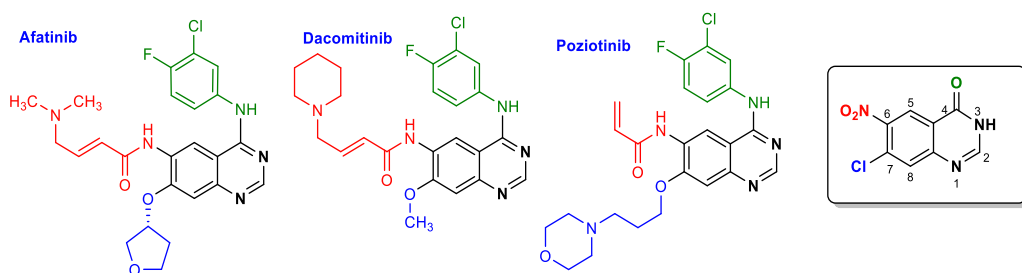
3. Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy

Background: 7-Chloro-6-nitro-quinazolin-4(3H)-one plays a significant role in the synthesis of targeted anticancer agents such as afatinib, dacomitinib, and poziotinib. In Vietnam, some studies have been conducted on the reactions involved in the synthesis of this intermediate, but they were limited in scale (ranging from a few mg to under 30 g), achieving reaction efficiencies of only 70-85%. Therefore, further research is needed to improve reaction conditions and equipment to enhance the synthesis efficiency of 7-chloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-one, laying the groundwork for subsequent steps in the synthesis of drugs in this class. **Objectives:** To improve the equipment, reagents, molar ratios of reactants, and product purification methods in the synthesis of 7-chloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-one from 2-amino-4-chlorobenzoic acid, achieving high efficiency and purity above 99%. After that, the reaction process can be advanced to a 20 g/batch scale. **Materials and methods:** From 2-amino-4-chlorobenzoic acid, condensation reactions were carried out to form quinazolin-4(3H)-one and nitration. The conditions for equipment, reagents, molar ratios of the substances, and purification solvents were examined to obtain the highest efficiency. The product structure was determined using spectroscopic methods: IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HPLC. **Results:** 7-chloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-one was synthesized and its structures confirmed. A hydrothermal autoclave reactor was used to enhance the quinazolin ring closure step, reducing the molar ratio of 2-amino-4-chlorobenzoic acid : formamide to 1:8. This produced a product yield of over 90% and a purity of 99.9% without the need for additional purification. In the nitration reaction, NaNO₃ was used instead of fuming HNO₃, and the product was crystallized using acetone, achieving a yield of 80.8% and purity exceeding 99.7%. This enabled the scale-up of the synthesis of 6-nitro-7-chloroquinazolin-4(3H)-one to 20 g/batch, with an overall process yield of 75.7%. **Conclusion:** An enhanced method has been used to synthesis and purify 7-chloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-one, producing a product with good efficiency and high purity. The equipment, a hydrothermal autoclave reactor, is straightforward and easy to use, and the reagents are safer and more widely available.

Keywords: 7-chloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-one; 7-chloroquinazolin-4(3H)-on; 2-amino-4-chlorobenzoic acid; sodium nitrate / H₂SO₄.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các chất mang cấu trúc quinazolin-4(3H)-on chứa nhóm chức tại vị trí C-4,6,7 có tác dụng kháng ung thư tại đích tốt, nhiều hoạt chất đã được cấp phép lưu hành trên thế giới như afatinib, dacomitinib, poziotinib (thế hệ II, ức chế thụ thể EGFR tyrosine-kinase) 1, 2, 3. Trong quy trình tổng hợp các thuốc này, trung gian 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on có vai trò rất quan trọng, là khung cấu trúc trung tâm để gắn các nhóm chức phù hợp tại các vị trí C-4, C-6, C-7 4, 5, 6. Do đó xây dựng quy trình tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on với hiệu suất cao và ổn định là rất cần thiết, cung cấp nguyên liệu cho các giai đoạn tiếp theo trong tổng hợp các hoạt chất này.



Hình 1. Cấu trúc các thuốc afatinib, dacomitinib, pozotinib đã được cấp phép lưu hành

Đã có nhiều phương pháp tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on được công bố như: Ngưng tụ acid 2-amino-4-clorobenzoic (hoặc dẫn chất của acid này) với formamid hoặc formamidin acetat/2-methoxyethanol; rồi nitro hóa bằng acid nitric/acid sulfuric đặc 1, 4, 5, 6, 7. Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu nhưng ở quy mô nhỏ và mang tính khảo sát (từ vài mg 1 đến 30 g 8), hiệu suất phản ứng chỉ đạt từ 70-88%. Tác nhân nitro hóa trong các nghiên cứu này sử dụng acid nitric bốc khói/H₂SO₄ đặc, khó bảo quản và thao tác khi tiến hành ở quy mô lớn 8, 8. Vì vậy nghiên cứu này tập trung khắc phục các nhược điểm trên bằng cách cải tiến thiết bị và tác nhân phản ứng phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm ở nước ta. Từ đó nâng cấp được quy mô các giai đoạn tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on từ acid 2-amino-4-clorobenzoic.

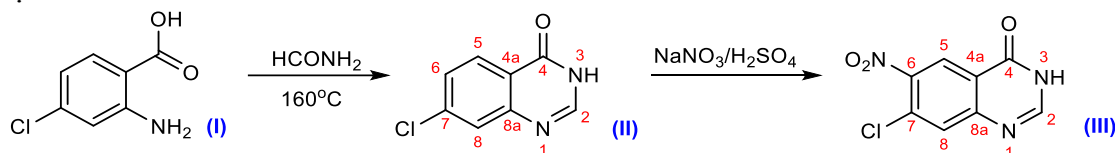
II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Hóa chất: Acid 2-amino-4-clorobenzoic 98%, acid hydrocloric 36-38%, acid sulfuric 98%, acid nitric 65%, aceton 99,5%, acetonitril 99,9%, dicloromethan 99,5%, ethyl acetat 99,5%, formamid, *n*-hexan 99%, kali nitrat 99%, natri nitrat 99%; methanol 99,5% (Trung quốc). Ethanol 96%, nước RO, nước cất hai lần (Việt Nam). Thiết bị: Lò phản ứng chịu áp (Hydrothermal Autoclave Reactor: vỏ thép không gỉ, lõi nhựa PTFE/teflon có thể tích 100 mL, Trung Quốc), các dụng cụ thủy tinh và thiết bị tiến hành thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

7-Chloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-on (**III**) được tổng hợp qua hai giai đoạn từ nguyên liệu acid 2-amino-4-clorobenzoic (Hình 2). Khảo sát và lựa chọn các điều kiện của phản ứng: thiết bị, tỷ lệ mol các chất tham gia, thời gian phản ứng, tác nhân nitro hóa, dung môi kết tinh cho hiệu suất thu sản phẩm là cao nhất, từ đó nâng cấp quy mô của các giai đoạn.



Hình 2. Sơ đồ tổng hợp **III** từ acid 2-amino-4-clorobenzoic

Đánh giá sơ bộ độ tinh khiết của các sản phẩm bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM) và đo nhiệt độ nóng chảy. Độ tinh khiết của sản phẩm được đánh giá bằng phương pháp HPLC: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent HP1100; cột RP C18 (150 mm x 4,6 mm; 5μm); detector UV (238,4 nm); thể tích tiêm mẫu là 20 μL; pha động là hỗn hợp acetonitril : nước (35:65) với tốc độ dòng 1,0 mL/phút; dung môi hòa tan mẫu là acetonitril.

Xác định cấu trúc các chất bằng các phương pháp phổ: Phổ hồng ngoại (IR, máy đo

Shimadzu, kỹ thuật viên nén KBr trong vùng 4000-400 cm^{-1}); phổ khối lượng (MS, máy LC-MSD-Trap SL của hãng Agilent Technologies, phương pháp ion hóa phun điện tử ESI); phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (^1H -NMR, DMSO- d_6 , 600 MHz) và carbon-13 (^{13}C -NMR, DMSO- d_6 , 125 MHz) được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Cải tiến phản ứng tổng hợp 7-cloroquinazolin-4-(3H)-on (II)

Tiến hành phản ứng đóng vòng quinazolin theo tài liệu 8, nhưng sử dụng thiết bị lò phản ứng chịu áp: Trộn đều 2,00 g acid 2-amino-4-clorobenzoic (11,7 mmol; 1,0 eq) với 11,4 mL formamid (285,6 mmol; 14,0 eq). Sục khí N_2 , đóng kín thiết bị và đun nóng tới 160 $^\circ\text{C}$ trên bếp hồng ngoại. Kết thúc phản ứng, làm nguội lò về nhiệt độ phòng, thêm 30 mL nước cất lạnh để kết tủa sản phẩm. Lọc, rửa tinh thể bằng nước cất lạnh rồi sấy khô ở 60 $^\circ\text{C}$, thu được 1,79 g tinh thể **II** màu trắng, hình kim ($\text{H} = 85,2\%$).

Bảng 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ mol **I** : formamid đến hiệu suất phản ứng

Stt	Tỷ lệ mol I : formamid	Thời gian (giờ)	m II (g)	H (%)	t°_{nc} ($^\circ\text{C}$)
1	1 : 6	3	1,35	64,3	-
2	1 : 8	2	1,88	89,4	251,1-252,8
3	1 : 10	2	1,87	88,9	250,9-253,4
4	1 : 12	1,5	1,81	85,8	250,8-253,4

Nhận xét: Tỷ lệ **I** : formamid là 1:8 cho hiệu suất phản ứng là cao nhất, tăng lên gần 90%. Tỷ lệ này đã giảm so với tài liệu ban đầu (1:14), sản phẩm là tinh thể hình kim màu trắng, $\Delta t^\circ_{\text{nc}} = 1,7$ $^\circ\text{C}$. Độ tinh khiết của sản phẩm **II** đạt 99,95% (được xác định bằng HPLC).

Cấu trúc **II**: $R_f = 0,68$ (DCM : MeOH = 5:1). **IR** ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3154 (N-H tự do); 3030 (C-H thơm); 2965, 2857 (N-H liên kết hydro); 1711 (C=O); 1688, 1653 (C=N); 1601, 1554 (C=C). **MS** (ESI $^+$): $m/z = 181,3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z lý thuyết = 180,6). ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 12,37 (1H, brs, H-3, NH); 8,15 (1H, s, H-2); 8,12-8,11 (1H, d, $^3J_{\text{H-H}} = 8,4$ Hz, H-5); 7,72-7,71 (1H, d, $^4J_{\text{H-H}} = 1,8$ Hz, H-8); 7,56-7,54 (1H, dd, $^3J_{\text{H-H}} = 9$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 2,4$ Hz, H-6). ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 160,13 (C-4); 149,83 (C-2); 146,87 (C-8a); 138,87 (C-7); 127,90 (C-5); 126,96 (C-6); 126,33 (C-8); 121,42 (C-4a).

3.2. Cải tiến phản ứng tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4-(3H)-on (III)

Tiến hành khảo sát tác nhân nitro hóa: Trong bình cầu 2 cổ dung tích 100 mL thêm 12,0 mL H_2SO_4 98%, làm lạnh xuống 0-5 $^\circ\text{C}$ rồi hòa tan hoàn toàn 1,80 g **II** (10,0 mmol; 1 eq). Thêm từ từ hoặc nhỏ giọt các tác nhân nitro hóa: NaNO_3 (2 eq; 1,7 g), KNO_3 (2 eq; 2,02 g), HNO_3 bốc khói (47 eq; 19,4 mL). Sau đó nâng nhiệt độ phản ứng về nhiệt độ phòng và khuấy qua đêm (12 giờ). Kết thúc phản ứng, trung hòa hỗn hợp trong bình cầu bằng dung dịch NaOH 10% đến pH = 7 ($V_{\text{NaOH } 10\%}$ cần dùng lần lượt là 176 mL đối với NaNO_3 hoặc KNO_3 ; 360 mL đối với HNO_3 bốc khói). Lọc, rửa tủa bằng nước cất lạnh, sấy khô ở 60 $^\circ\text{C}$, thu được **III** có màu vàng với kết quả như sau:

Bảng 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tác nhân nitro hóa đến hiệu suất phản ứng tạo **III**

Stt	Tác nhân nitro hóa	m II (g)	Lượng tác nhân nitro	m III (g)	H (%)	t°_{nc} ($^\circ\text{C}$)
1	NaNO_3 / H_2SO_4 98%	1,81	1,7 g	2,09	92,4	307,1-310,0
2	KNO_3 / H_2SO_4 98%	1,80	2,02 g	1,92	85,6	306,1-309,8
3	HNO_3 99% / H_2SO_4 98%	1,80	19,4 mL	2,09	92,8	306,6-309,5

Nhận xét: Kết quả khảo sát cho thấy, phản ứng nitro hóa sử dụng tác nhân NaNO_3

và HNO_3 99% đều có hiệu suất tốt hơn so với KNO_3 . Tuy nhiên HNO_3 99% không có sẵn, nhóm nghiên cứu đã phải điều chế tại chỗ từ phản ứng giữa NaNO_3 và H_2SO_4 đặc. Ngoài ra cần bảo quản lạnh, tránh ánh sáng để HNO_3 không bị phân hủy. Khi tiến hành phản ứng, acid HNO_3 bốc hơi nên gây khó khăn và nguy hiểm hơn so với NaNO_3 [10]. Do đó đánh giá về hiệu suất phản ứng; tác nhân sẵn có, dễ sử dụng và thao tác, chúng tôi đã lựa chọn tác nhân $\text{NaNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ để tiến hành phản ứng nitro hóa.

Bảng 3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ mol **II** : NaNO_3 đến hiệu suất phản ứng

Stt	Tỷ lệ mol II : NaNO_3	m II (g)	Cảm quan sản phẩm	m III (g)	H (%)	t_{nc}° ($^{\circ}\text{C}$)
1	1 : 1,2	1,80	Bột mịn màu trắng vàng. SKLM vẫn còn II	1,73	76,9	-
2	1 : 1,3		Bột mịn màu trắng vàng. SKLM vẫn còn II	1,87	83,1	-
3	1 : 1,4		Bột mịn màu vàng nhạt. SKLM có 01 vết tạp, không còn II	2,05	91,2	307,4-310,0
4	1 : 1,5		Bột mịn màu vàng. SKLM có 01 vết tạp, không còn II	2,06	91,5	306,7-309,8
5	1 : 1,6		Bột mịn màu vàng. SKLM có 01 vết tạp, không còn II	2,07	91,7	307,0-309,9

Nhận xét: Tỷ lệ mol **II** : NaNO_3 = 1:1,4 là tối thiểu để cho hiệu suất phản ứng tốt nhất.

Tinh chế 7-cloro-6-nitroquinazolin-4-(3H)-on (**III**)

Đánh giá sơ bộ độ tinh khiết sản phẩm **III** bằng phương pháp SKLM với hệ *n*-hexan: ethyl acetat (1:2) cho kết quả: R_{fIII} = 0,53 và một vết tạp có R_f = 0,56. Sản phẩm **III** rất khó tan trong các dung môi như: aceton, ethanol 96°, ethylacetat, hay cả dung dịch nước acid (theo như tài liệu 8), nhưng tạp chất lại tan tốt. Do đó **III** được tinh chế bằng cách phân tán 2,00 g **III** thô vào 40 mL dung môi, đun cách thủy ở 50-55 $^{\circ}\text{C}$ và khuấy đều trong 2 giờ. Để kết tinh ở 0-5 $^{\circ}\text{C}$ rồi lọc thu sản phẩm **III** tinh chế.

Bảng 4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của dung môi tinh chế **III**

Stt	m III thô (g)	Dung môi	$V_{\text{dung môi}}$ (mL)	m III tinh chế (g)	H (%)	t_{nc}° ($^{\circ}\text{C}$)
1	2,01	Aceton	40	1,78	88,64	307,5-309,8
2	2,02	Ethyl acetat	40	1,79	88,51	307,1-310,0
3	1,98	Ethanol 96°	40	0,91	45,72	307,3-309,4

Nhận xét: **III** tinh chế bằng dung môi aceton cho hiệu suất kết tinh > 88%, độ tinh khiết sản phẩm đánh giá bằng phương pháp HPLC đạt 99,7%.

Cấu trúc **III**: R_f = 0,53 (*n*-Hexan : EA = 1:2). ESI-MS (m/z): 226,2 ($[\text{M}-\text{H}]^+$). IR (KBr), $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3194 (N-H tự do); 3092, 3011 (C-H thơm); 2905 (N-H); 1694 (C=O); 1663, 1605 (C=N); 1509 (C=C); 1556, 1332 (NO_2). $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm): 12,77 (1H, *br.s*, H-3, NH); 8,64 (1H, *s*, H-5); 8,30 (1H, *s*, H-2); 7,96 (1H, *s*, H-8). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm): 159,29 (C-4); 151,55 (C-2); 149,62 (C-8a); 144,67 (C-7); 130,42 (C-6); 129,99 (C-5); 124,24 (C-8); 121,68 (C-4a).

3.3. Nâng cấp quy trình tổng hợp quy mô 20 g/mẻ

Tổng hợp 7-cloroquinazolin-4-(3H)-on (**II**) quy mô 20 g/mẻ

Tiến hành phản ứng với các mẻ > 20,00 g acid 2-amino-4-clorobenzoic và formamid (tỷ lệ 1:8 theo số mol), các yếu tố về thời gian và quy mô tiếp tục được khảo sát.

Bảng 5. Kết quả khảo sát thời gian phản ứng đến hiệu suất phản ứng ở quy mô 20 g/mẻ

Stt	m I (g)	V _{formamid} (mL)	t _{ph} (giờ)	Cảm quan sản phẩm	m II (g)	H (%)	t _{nc} (°C)
1	20,00	37,0	2	Chất rắn màu xám, còn vết I	16,23	77,3	-
2			2,5	Chất rắn màu xám, còn vết I	17,94	85,3	-
3			3	Tinh thể trắng, hình kim	19,55	92,9	251,1-252,7
4			4	Tinh thể trắng, hình kim	19,59	93,0	250,0-252,8

Nhận xét: Ở quy mô này phản ứng cần 3 giờ để hết nguyên liệu **I**, hiệu suất tăng lên 93% so với ở quy mô nhỏ (89%), kéo dài thêm thời gian phản ứng không làm tăng hiệu suất.

Bảng 6. Kết quả khảo sát tỷ lệ thể tích của hệ phản ứng/thiết bị đến hiệu suất phản ứng

Stt	m I (g)	V _{formamid} (mL)	Tỷ lệ V _{ph} /V _{tb}	t _{ph} (giờ)	m II (g)	H (%)	t _{nc} (°C)
1	20,01	37,0	50%	3	19,55	92,9	251,1-252,7
2	25,02	46,3	60%	3	22,37	-	-
3	30,01	55,5	75%	3	23,69	-	-
4	30,01	55,5	75%	5	23,87	-	-

Nhận xét: Khi nâng quy mô phản ứng, tỷ lệ thể tích khối phản ứng/thiết bị $\geq 60\%$ dù kéo dài thời gian thì phản ứng vẫn không xảy ra hoàn toàn. Do đó chúng tôi lựa chọn thực hiện quy trình ổn định ở quy mô 20 g/mẻ với thiết bị dung tích 100 mL.

Bảng 7. Kết quả của quy trình tổng hợp **II** ở quy mô 20 g/mẻ

Mê	m I (g)	V _{formamid} (mL)	m II (g)	H (%)	t ^o _{nc} (°C)	Δt (°C)
1	20,01	37,0	19,62	93,1	251,1-252,7	1,6
2	20,04		19,66	93,2	251,0-252,7	1,6
3	19,98		19,56	93,0	251,1-252,9	1,8
Trung bình			19,61	93,1	251,0-252,9	

Từ các kết quả khảo sát trên chúng tôi tiến hành phản ứng đóng vòng với thông số như sau: Phân tán đều 20,0 g acid 2-amino-4-clorobenzoic (116,6 mmol; 1,0 eq **I**) với 37,0 mL formamid (930,8 mmol; 8,0 eq) trong thiết bị phản ứng chịu áp. Sục khí N₂, đóng kín lò và đun nóng tới 160 °C trong 3,0 giờ. Kết thúc phản ứng, làm nguội lò về nhiệt độ phòng, đổ hỗn hợp vào 300 mL nước cất lạnh để kết tủa sản phẩm. Lọc, rửa tinh thể bằng nước cất lạnh rồi sấy khô ở 60 °C, thu được sản phẩm **II** (Bảng 7).

Tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4-(3H)-on (**III**) quy mô 20 g/mẻ

Trong bình cầu 2 cổ dung tích 500 mL, thêm 120,0 mL H₂SO₄ 98% rồi làm lạnh xuống 0-5 °C. Thêm 19,6 g **II** (108,6 mmol; 1 eq) vào bình và khuấy tới khi tan hết. Thêm từ từ 12,9 g NaNO₃ (152,1 mmol; 1,4 eq), luôn duy trì nhiệt độ ổn định ở 0-5 °C. Sau khi NaNO₃ hòa tan hoàn toàn, nâng nhiệt phản ứng về nhiệt độ phòng và khuấy 12 giờ. Kết thúc phản ứng, trung hòa hỗn hợp phản ứng bằng 1750 mL dung dịch NaOH 10% đến pH = 7. Lọc, rửa tủa bằng nước cất lạnh, thu được sản phẩm thô **III**. Phân tán sản phẩm thô thu được vào 250 mL acetone, đun cách thủy và khuấy đều hỗn dịch ở 50 °C trong 2 giờ. Làm lạnh hỗn hợp 0-5 °C, lọc thu sản phẩm kết tinh rồi sấy khô ở 60 °C, thu được kết quả 3 mẻ:

Bảng 8. Kết quả của quy trình tổng hợp **III** ở quy mô 20 g/mẻ

Mẻ	m I (g)	m NaNO ₃ (g)	m III (g)	H (%)	t _{nc} (°C)	Δt (°C)
1	19,60	12,90	19,88	81,2	307,3-310,1	2,8
2	19,61		19,92	81,7	306,9-309,6	2,7
3	19,52		19,87	81,4	307,2-309,7	2,5
Trung bình			19,86	81,4	307,0-310,0	

IV. BÀN LUẬN

Bảng 9. So sánh kết quả phản ứng đóng vòng quinazolin tạo **II**

So sánh	Quy trình nhóm nghiên cứu	Quy trình tài liệu 8	Quy trình tài liệu [11]	Quy trình tài liệu khác 5
Tác nhân	Formamid	Formamid	Formamid	Formamidin acetat
Tỷ lệ mol	1:8	1:14	1:5	-
Thiết bị phản ứng	Lò phản ứng chịu áp	Bình cầu và hệ thống sinh hàn	Bình cầu và hệ thống sinh hàn	-
Nhiệt độ (°C)	160	160	190	-
Thời gian (giờ)	3	1,5-2	4	-
Hiệu suất (%)	93	82	87	90
Quy mô	20 g/mẻ	30 g/mẻ	15 g/mẻ	-
Hàm lượng (%)	99,95	-	-	-
Nóng chảy (°C)	251,0-252,9	251,0-253,0	-	-

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tập trung cải tiến được các nhược điểm còn tồn tại ở trên bằng cách sử dụng thiết bị lò phản ứng chịu áp, cách tiến hành đơn giản, an toàn. Lượng formamid đã được tối ưu hóa với tỷ lệ mol **I** : formamid giảm còn 1:8, quá trình xử lý không cần cất loại formamid dư. Thực tế cho kết quả tốt khi hiệu suất phản ứng đạt đến 93% trong 3 giờ (quy mô 20 g/mẻ), sản phẩm tinh khiết đạt hàm lượng 99,9%.

Trong phản ứng nitro hóa, chúng tôi đã sử dụng tác nhân $\text{NaNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ thay cho HNO_3 bốc khói/ H_2SO_4 , cho hiệu suất tạo sản phẩm **II** thô đạt >91%. Muối natri nitrat có ưu điểm sẵn có, dễ dàng thao tác và an toàn hơn so với acid nitric đặc (cần điều chế tại chỗ và khó bảo quản). Ngoài ra, tỷ lệ mol **II** : NaNO_3 giảm còn 1 : 1,4 so với tác nhân HNO_3 bốc khói (tỷ lệ 1 : 47 theo 8) nên quá trình xử lý phản ứng đơn giản và an toàn hơn do giảm được lượng acid dư. Nhược điểm khi sử dụng hỗn hợp muối nitrat/ H_2SO_4 đặc là tạo sản phẩm polynitro. Để loại tạp này, chúng tôi tinh chế lại sản phẩm **III** thô với dung môi acetone cho hiệu suất kết tinh lại đạt 88,6% (hay hiệu suất tổng phản ứng nitro hóa đạt 80,8%). Sản phẩm nitro sau khi tinh chế cho hàm lượng đạt 99,7%, khoảng nóng chảy 307,0-310,0 °C.

V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã cải tiến và khắc phục được các nhược điểm trong quy trình tổng hợp trung gian 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-on từ acid 2-amino-4-clorobenzoic (**I**). Ở quy mô nhỏ 2 g/mẻ, hiệu suất phản ứng đóng vòng quinazolin đạt 90% bằng cách sử dụng lò phản ứng chịu áp; tỷ lệ mol **I** : formamid giảm còn 1 : 8; thao tác tiến hành đơn giản, an toàn. Giai đoạn nitro hóa sử dụng tác nhân natri nitrat thay cho acid nitric bốc khói, sản phẩm được kết tinh lại với acetone cho hiệu suất đạt 80,8%, độ tinh khiết 99,7%. Cấu trúc sản phẩm đã được khẳng định chính xác bằng các kết quả phổ MS, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$. Từ đó đã nâng cấp quy mô tổng hợp 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-on lên 20 g/mẻ đạt hiệu suất tổng 76% gồm hai giai đoạn (lần lượt là 93,1% và 81,4%). Các thông số của quy trình bao gồm: tỷ lệ mol **I** : formamid là 1 : 8, tỷ lệ thể tích giữa khối phản ứng/thiết bị ≤ 50%, thời gian phản ứng 3 giờ ở 160 °C. Giai đoạn nitro hóa **II** với $\text{NaNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ đặc (tỷ lệ mol là 1 : 1,4), kết tinh sản phẩm bằng acetone ở 50 °C. Các kết quả thu được đã tạo trung gian 7-cloro-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-on với hiệu suất tốt, làm nguyên liệu cho các giai đoạn sau trong quy trình tổng hợp ra các phân tử thuốc đích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Hồng Búp, Danh La Đức Thành, Mai Văn Hiếu, Lê Thị Thảo Nguyên, Bùi Thị Bửu Huê. Tổng hợp dẫn xuất quinazolin-4-one. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 2019. 55(5), 43-49, doi: 10.22144/ctu.jvn.2019.127.
2. Boddapati S.N.M., Bollikolla H.B., Bhavani K.G., Saini H.S., Ramesh N., et al. Advances in synthesis and biological activities of quinazoline scaffold analogues: A review. *Arabian Journal of Chemistry*. 2023. 16(10), 105190, doi: 10.1016/j.arabjc.2023.105190.
3. Sandor A., Ionut I., Marc G., Oniga I., Eniu D., et al. Structure-Activity Relationship Studies Based on Quinazoline Derivatives as EGFR Kinase Inhibitors (2017-Present). *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023. 16(4), 534, doi:10.3390/ph16040534.
4. Wu J., Chen W., Xia G., Zhang J., Yu Y., et al. (2013). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Conformationally Constrained Inhibitors Targeting EGFR. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2013. 4(10), 974–978, doi: 10.1021/ml4002437.
5. Smaill J.B., Gonzales A.J., Julie A.S., Helen L., et al. Tyrosine Kinase Inhibitors. 20. Optimization of Substituted Quinazoline and Pyrido[3,4-d]pyrimidine Derivatives as Orally Active, Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor Family. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. 59, 8103-8124, doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00883.
6. Wu X., Yijie C. A preparation method of high-purity afatinib intermediate. *CN patent*. 2018. CN109694357A.
7. Ali A., Mahboobeh Z. Synthesis of Quinazolin-4(3H)-ones via a novel approach. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2023. 27(2), 101597, doi: 10.1016/j.jscs.2023.101597.
8. Nguyen T.N., Tran T.H., Dao N.S.H., Nguyen V.G., Nguyen D.L., et al. Synthesis and Spectral Characterization of 4,7-Dichloro-6-nitroquinazoline. *Molbank*. 2020. 2020(2), M1134, doi: 10.3390/M1134.
9. Nguyễn Thị Ngọc, Vũ Thị Hoàng Mai, Hà Thị Thu Quỳnh, Chữ Thị Hương Thảo, Ngô Văn Duy, và cộng sự. Nghiên cứu tổng hợp N-(3-cloro-4-fluorophenyl)-7-fluoro-6-nitro-quinazolin-4-amin. *Nghiên cứu Dược & Thông tin thuốc*. 2020. 11 (5), 40-47.
10. Nguyễn Đình Luyện. Kỹ thuật Hóa dược. Nhà xuất bản Y học. 2014. 39-40. Tập 1.
11. Qian C., Cai X., Gould S. Quinazoline based EGFR inhibitors containing a zinc binding moiety. *Patent*. 2007. WO2008033748A3.