

DOI: 10.58490/ctump.2025i83.3303

TỔNG HỢP VÀ THỬ TÁC DỤNG KHÁNG TẾ BÀO UNG THƯ CỦA MỘT SỐ DẪN CHẤT ANTHRANILAMID

Nguyễn Nữ Huyền My, Nguyễn Công Trường*

Trường Đại học Dược Hà Nội

* Email: truongnc@hup.edu.vn

Ngày nhận bài: 04/11/2024

Ngày phản biện: 18/01/2025

Ngày duyệt đăng: 25/01/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Các nghiên cứu về dẫn chất mới kháng ung thư đang trở nên cần thiết trên toàn thế giới. Nhằm mục tiêu phát triển thuốc ung thư mới, chúng tôi lựa chọn tổng hợp các dẫn chất có khung anthranilamid chứa nhóm thế amino và amid thơm, và đánh giá tác dụng kháng tế bào ung thư của chúng. **Mục tiêu nghiên cứu:** Tổng hợp và đánh giá tác dụng kháng tế bào ung thư của một số dẫn chất anthranilamid mới. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Tổng hợp các dẫn chất anthranilamid bằng các phản ứng thế, phản ứng oxy hóa khử và phản ứng ghép cặp EDC tạo amid. Xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ IR, MS và NMR. Hoạt tính gây độc tế bào được đánh giá bằng phương pháp MTT trên dòng tế bào ung thư phổi A549 và ung thư vú MCF-7. **Kết quả:** Ba dẫn chất anthranilamid mới (**8a**, **8b**, **8c**) đã được tổng hợp và cấu trúc của các chất này được khẳng định bằng các phương pháp phổ. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào cho thấy chỉ có dẫn chất **8c** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư thử nghiệm với giá trị IC_{50} là $114,2 \pm 4,43$ và $117,86 \pm 0,75 \mu\text{g/mL}$ trên hai dòng tế bào ung thư phổi A549 và ung thư vú MCF-7. **Kết luận:** Đã tổng hợp và đánh giá được hoạt tính gây độc tế bào ung thư của ba dẫn chất anthranilamid.

Từ khóa: anthranilamid, tổng hợp, kháng ung thư, gây độc tế bào.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTICANCER ACTIVITY OF NOVEL ANTHRANILAMIDE DERIVATIVES

Nguyen Nu Huyen My, Nguyen Cong Truong*

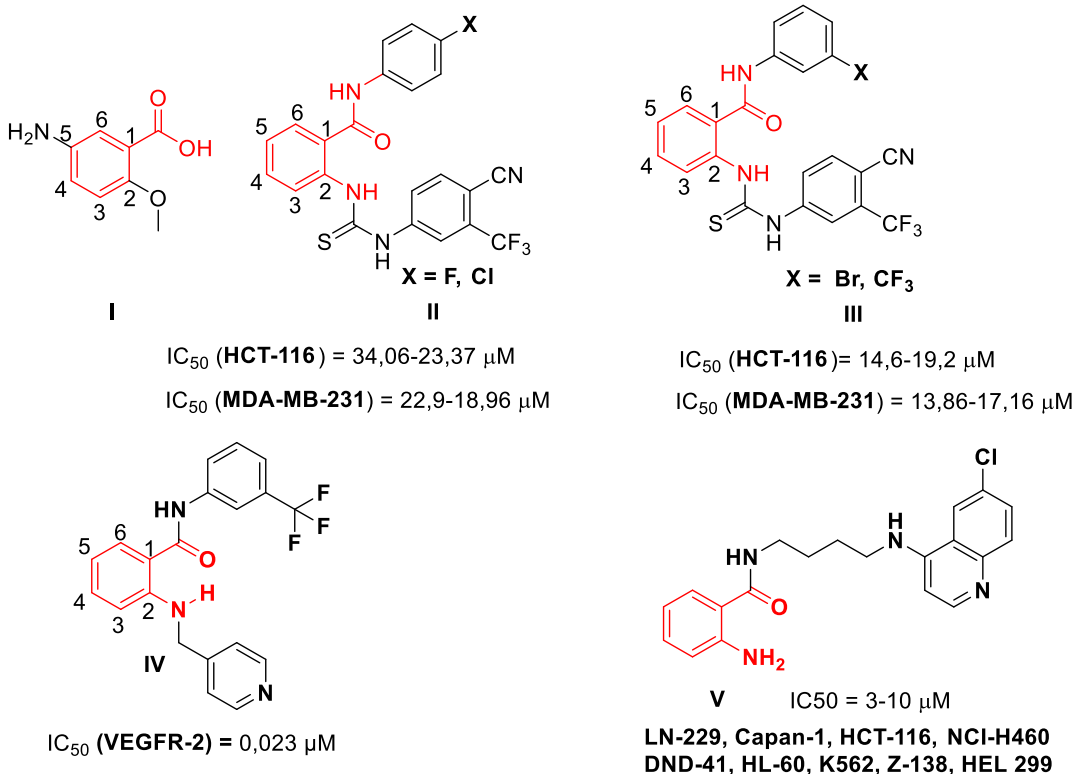
Hanoi University of Pharmacy

Background: Research on new anticancer derivatives is becoming necessary worldwide. Approach to developing new cancer drugs, The study of anthranilamide derivatives is focused on amino substituent and aromatic amide and evaluates their anticancer activities. **Objectives:** Synthesis and evaluation of anticancer activities of novel anthranilamide derivatives. **Materials and method:** Synthesize anthranilamide derivatives by substitution reactions, oxidation, reduction, and EDC coupling reactions. Determine the structures by IR, MS, and NMR spectroscopy. The cancer cell cytotoxic activity was evaluated by MTT assay on the A549 lung cancer cell line and MCF-7 breast cancer cell line. **Results:** Three novel anthranilamide derivatives (**8a**, **8b**, **8c**) were synthesized and spectroscopy methods confirmed their structures. The results of the cytotoxicity assay showed that only the derivative **8c** exhibited cytotoxic activity on these cancer cell lines with the IC_{50} value of $114,2 \pm 4,43$ and $117,86 \pm 0,75 \mu\text{g/mL}$ on lung cancer cell line A549 and breast cancer cell line MCF-7 respectively. **Conclusions:** Three anthranilamide derivatives were synthesized and evaluated for their anticancer activities.

Keywords: anthranilamide, synthesis, anticancer, cytotoxicity.

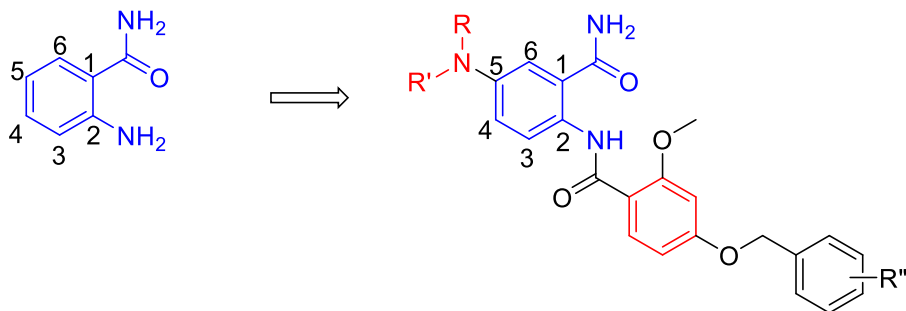
I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vẫn luôn là mối quan tâm và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Theo ước tính GLOBO CAN (2022) từ Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC), mỗi năm ghi nhận thêm khoảng 20 triệu ca mắc mới và 10 triệu ca tử vong do ung thư. Trước tình hình đó, việc nghiên cứu phát triển và tìm ra các thuốc điều trị ung thư mới, hiệu quả ngày càng trở nên cần thiết [1]. Các dẫn chất mang khung anthranilamid đã được báo cáo là có tác dụng sinh học đa dạng [2], trong đó có tác dụng chống tăng sinh tế bào ung thư [2, 3] và là khung kết nối có lợi cho sự ức chế các tế bào ung thư [4, 5]. Đầu tiên, Carmine Stolfi và các cộng sự đã phát triển một số dẫn chất của mesalamin - một chất đã được nghiên cứu thực nghiệm cho thấy có thể ức chế con đường duy trì sự phát triển của tế bào ung thư đại trực tràng (CRC) và đánh giá tác dụng của dẫn chất này (**I**) cho thấy khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư theo cơ chế phụ thuộc hoặc không phụ thuộc COX-2 [6]. Tiếp theo đó, nhiều nghiên cứu của các hợp chất mang khung anthranilamid được tiến hành khảo sát với hoạt tính chống ung thư. Nhóm tác giả Liu nghiên cứu một số dẫn chất anthranilamid (**II**, **III**) thể hiện tính kháng tế bào ung thư vú và ung thư ruột với giá trị IC_{50} trong khoảng 13.86 - 34.06 μM [7]. Ngoài ra, Pascal Furet và cộng sự đã tổng hợp hợp dẫn chất của anthranilamid (**IV**) được nghiên cứu là chất ức chế VEGFR-2 có tác dụng kháng ung thư [8]. Gần đây, năm 2022, Maja Beus và cộng sự đã tổng hợp được dẫn chất anthranilimid (**V**) có chứa khung quinolin. Hợp chất (**V**) cho thấy khả năng kháng ung thư trên nhiều dòng tế bào như ung thư đại tràng, ung thư phổi, ung thư biểu mô, ung thư bạch cầu, ung thư tụy với giá trị IC_{50} trong khoảng 3-10 μM [9]



Hình 1: Các dẫn chất anthranilamid có tác dụng chống ung thư [7-9].

Từ các nghiên cứu trên, có thể thấy việc đưa nhóm thế vào nhóm chức amin ở vị trí C2 của anthranilamid trong các nghiên cứu công bố trước đều thể hiện tác kháng tế bào ung thư tốt trên các dòng tế bào ung thư khác nhau. Trên cơ sở đó, chúng tôi tổng hợp và thử tác dụng kháng tế bào ung thư của một số dẫn chất anthranilamid mới mang nhóm thế amid thơm ở vị trí C2 và amin ở vị trí C5 và thử tác dụng kháng tế bào ung thư của các chất tổng hợp được trên 2 dòng tế bào ung thư phổi (A549) và ung thư vú (MCF-7).



Hình 2: Khung thiết kế các dẫn chất mục tiêu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hóa chất dùng trong nghiên cứu có nguồn gốc từ: Đức, Mỹ, Trung Quốc, Hàn Quốc và Việt Nam được sử dụng không qua tinh chế. Sắc ký lớp mỏng thực hiện trên bản mỏng silica gel 60 F254 (Merck) và quan sát dưới đèn UV, bước sóng 254 nm. Nhiệt độ nóng chảy được đo bằng máy EZ-Melt. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H -NMR trên máy Bruker Avance III HD 600 MHz với tetramethylsilane (TMS) làm chất chuẩn nội tại Viện Hàn Lâm Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam và phổ ^{13}C - NMR ghi trên máy Bruker Avance III HD 126 MHz tại Khoa Hóa, Đại học KHTN- ĐHQG. Phổ khối (MS) được ghi trên máy 1100 Series LC-MSD-Trap-SL với kỹ thuật ion hóa phun điện tử (ESI). Phổ hồng ngoại (IR) được ghi trên máy FT-IR Affinity-IS- Shimadzu tại Viện Hàn Lâm Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

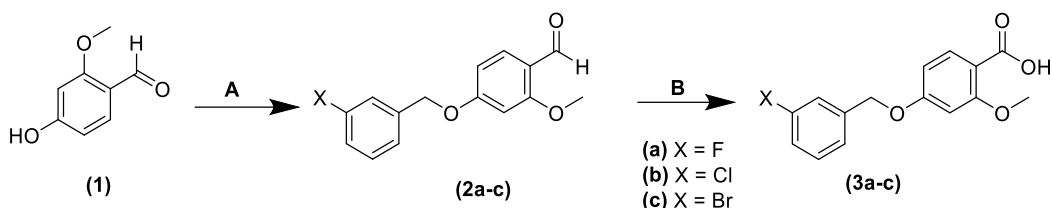
- **Tổng hợp hóa học:** Các dẫn chất mục tiêu được tổng hợp theo sơ đồ 1-3 bằng các phản ứng cơ bản. Các phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng trên bản mỏng silicagel 60 F₂₅₄ (Merck) với các hệ dung môi thích hợp và xác định bằng đèn tử ngoại bước sóng 254nm. Hỗn hợp phản ứng được tinh chế theo từng giai đoạn bằng các kỹ thuật phù hợp. Nhiệt độ nóng chảy được đo bằng máy EZ-Melt. Các chất tổng hợp được khẳng định độ tinh khiết bằng kết quả trên sắc ký lớp mỏng và nhiệt độ nóng chảy phù hợp.

- Xác định cấu trúc:

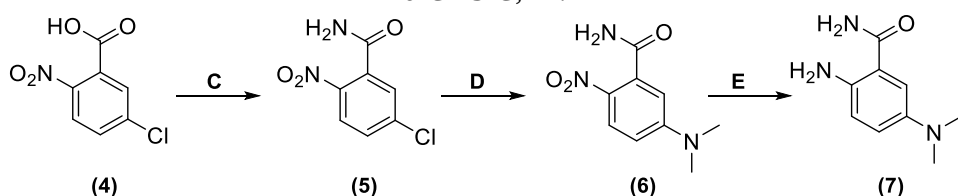
Các chất tổng hợp được khẳng định cấu trúc bằng các phương pháp phổ bao gồm: Phổ hồng ngoại (IR); phổ khối (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).

Thử tác dụng sinh học hoạt tính gây độc tế bào

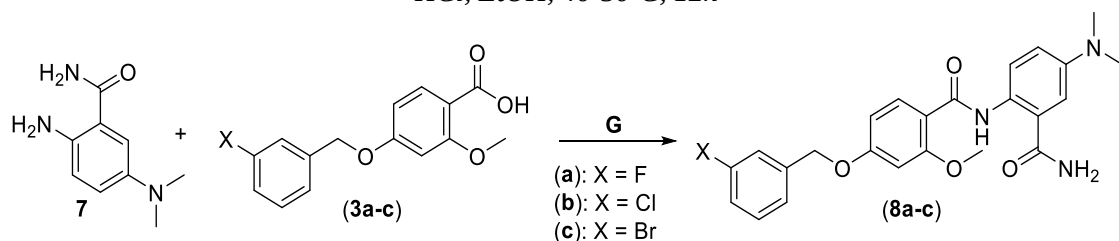
Các dẫn chất tổng hợp (**8a-c**) được thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên hai dòng tế bào: ung thư phổi A549 (adenocarcinomic human alveolar basal epithelial) và ung thư vú MCF-7 (human breast carcinoma) bằng phương pháp MTT [10] tại Phòng Hóa sinh ứng dụng-Viện Hóa học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Sơ đồ 1. Tổng hợp dẫn chất acid trung gian 4-((3-halogenobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic
(A) 1-(cloromethyl)-3-helogenobenzen, K_2CO_3 , DMF, $25^\circ C$, 12h; (B) $NaClO_2$, H_2PO_4 , H_2O_2 , ACN, $0^\circ C$ - $25^\circ C$, 4h.



Sơ đồ 2. Tổng hợp dẫn chất amin trung gian 2-amino-5-(dimethylamino) benzamid
(C) 1. $SOCl_2$, $50^\circ C$, DMF, 3h, 2. NH_4OH , rt; (D) dimethylamin, K_2CO_3 , DMF, $110^\circ C$; (E) $SnCl_2$, HCl, EtOH, 40 - $50^\circ C$, 12h



Sơ đồ 3. Tổng hợp dẫn chất mục tiêu (8a-c)
(G): EDC.HCl, HOBt, TEA, DMF, RT, 18h

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả tổng hợp hóa học

Tổng hợp các dẫn chất 4-((3-halogenobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyd (2a-c)

Hòa tan hỗn hợp 1-(cloromethyl)-3-halogenobenzen (khoảng 750-800 mg; 5,26 mmol; 1 eq), 4-hydroxy-2-methoxybenzaldehyd (1) (800 mg; 5,26 mmol; 1 eq) và K_2CO_3 (2,18 g; 15,78 mmol; 3 eq) trong DMF. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, 10 mL nước cất được thêm vào hỗn hợp phản ứng, tủa được tạo thành được lọc và rửa bằng nước cất lạnh. Kết quả thu được sản phẩm là chất rắn màu trắng ngà.

2a: 4-((3-Florobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyd, khối lượng 1,11g, hiệu suất 81%

2b: 4-((3-Clorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyd, khối lượng 1,14g, hiệu suất 78%

2c: 4-((3-Bromobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyd, khối lượng 1,44g, hiệu suất 85%

Tổng hợp acid 4-((3-halogenobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic (3a-c)

Hòa tan hỗn hợp 4-((3-halogenobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyd (2) (khoảng 1 g; 4,23 mmol; 5 eq) vào ACN ở $0^\circ C$, rồi cho thêm $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (0,13 g; 0,85 mmol; 1 eq), $NaClO_2$ (0,58 g; 6,46 mmol; 7.6 eq) and H_2O_2 30% (1,6 mL; 4,23 mmol; 5 eq). Hỗn hợp được lắc ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được làm lạnh và được cho thêm 10mL nước cất. Sản phẩm là tủa được lọc và rửa bằng nước cất lạnh. Kết quả thu được là chất rắn màu trắng.

3a: acid 4-((3-florobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic, khối lượng 1,08g, hiệu suất 92%, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO - d_6) δ 12,15 (s, 1H); 7,70 (d, $J = 8,66$ Hz, 1H); 7,47 – 7,43 (m, 1H); 7,31 – 7,29 (m, 2H); 7,19 (dt, $J = 8,66$ Hz, 2,35 Hz, 1H); 6,72 (d, $J = 2,36$ Hz, 1H); 6,66 (dd, $J = 8,62$ Hz, 2,27 Hz, 1H); 5,21 (s, 2H); 3,80 (s, 3H)

3b: acid 4-((3-clorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic, khối lượng 1,05g, hiệu suất 85%, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO - d_6) δ 12,15 (s, 1H, -COOH); 7,70 (d, $J = 8,66$ Hz, 1H); 7,54 (s, 1H); 7,46 – 7,43 (m, 3H); 6,73 (d, $J = 2,36$ Hz, 1H); 6,65 (dd, $J = 8,62$ Hz, 2,27 Hz, 1H); 5,20 (s, 2H); 3,81 (s, 3H)

3c: acid 4-((3-bromobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic, khối lượng 1,56g, hiệu suất 76%, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO - d_6) δ 12,16 (s, 1H, -COOH); 7,70 (d, $J = 8,66$ Hz, 1H); 7,68 (s, 1H); 7,55 (d, $J = 7,90$ Hz, 1H); 7,48 (d, $J = 7,81$ Hz, 1H); 7,37 (t, $J = 7,82$ Hz, 1H); 6,72 (d, $J = 2,35$ Hz, 1H); 6,65 (dd, $J = 8,68$, 2,33 Hz, 1H); 5,19 (s, 2H); 3,81 (s, 3H)

Tổng hợp 5-cloro-2-nitrobenzamid (5)

Hòa tan hỗn hợp 5-cloro-2-nitrobenzoic acid (5 g; 25 mmol) trong thionyl clorid (SOCl_2 , 10 ml) và 3 giọt DMF. Hỗn hợp được khuấy trộn ở 50°C trong 3 giờ. Sau đó, hỗn hợp được loại bỏ thionyl clorid dư bằng cách cất dưới áp suất giảm. Bình phản ứng được làm lạnh bằng nước đá ở 0°C , rồi cho nhanh dung dịch amoniac (20 ml) vào hỗn hợp phản ứng, phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng thêm 1 giờ. Tủa thu được được lọc và rửa bằng nước cất lạnh. Kết quả thu được là chất rắn màu trắng, khối lượng 4,5 g, hiệu suất 90%.

Tổng hợp 5-dimethylamino-2-nitrobenzamid (6)

Hòa tan hỗn hợp gồm 5-cloro-2-nitrobenzamid (5) (1 g; 5 mmol; 1 eq) và dimethylamin (1 ml; 15 mmol; 3 eq) trong DMF. Hỗn hợp được khuấy ở 110°C trong 12 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được làm lạnh và cho thêm nước cất. Sản phẩm thu được là tủa, được lọc và rửa bằng nước cất lạnh. Kết quả thu được là chất rắn màu vàng, khối lượng 650mg, hiệu suất 62,0%.

Tổng hợp 2-amino-5-dimethylaminobenzamid (7)

Hòa tan một hỗn hợp gồm 5-dimethylamino-2-nitrobenzamid (0,65 g; 3,1 mmol; 1 eq) bằng EtOH (10 mL) trong bình cầu đáy tròn, thêm $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2,10 g; 9,3 mmol; 3 eq) và 3 giọt HCl đặc vào hỗn hợp. Hỗn hợp được khuấy ở $40-50^\circ\text{C}$ trong 8 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được cho thêm 5 mL nước và trung hòa bằng dung dịch NaOH 20% đến pH = 12. Sau đó, toàn bộ hỗn hợp được chiết với ethylacetat 3 lần (15 mLx3) và thu lại phần dung dịch hữu cơ. Phần hữu cơ được cất quay dưới áp suất giảm để thu được hỗn hợp chất rắn sau phản ứng. Sản phẩm amin được tinh chế bằng sắc ký cột (MeOH:DCM = 1:20). Sản phẩm thu được là chất rắn màu xanh lá, khối lượng 350mg, hiệu suất 63%

Tổng hợp các dẫn chất mục tiêu: N-(2-carbamoyl-4-(dimethylamino)phenyl)-4-((3-halogenobenzyl)oxy)-2-methoxybenzamid (8a-c)

Hòa tan 2-amino-5-dimethylaminobenzamid (7, 50 mg; 0,27 mmol; 1 eq) trong DMF, sau đó hòa tan hoàn toàn EDC.HCl (80 mg; 0,40 mmol; 1,5 eq), HOBt (57 mg; 0,40 mmol; 1,5 eq), TEA (0,05 mL) vào dung dịch thành hỗn hợp trong suốt, cuối cùng acid 4-((3-halogenobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic (3) (khoảng 90-100 mg; 0,33 mmol; 1,2 eq) vào hỗn hợp và lắc đều để được dung dịch đồng nhất. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, hòa tan với 10mL nước cất. Sau đó, hỗn hợp được chiết bằng ethylacetat 3 lần (10 mLx3) và rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa. Dịch chiết được cất dưới áp suất giảm để loại dung môi hữu cơ và tinh chế bằng sắc ký cột sử dụng dung môi rửa giải là MeOH: DCM (1: 50).

Sản phẩm thu được là chất rắn và được xác định cấu trúc hóa học bằng các phương pháp phổ khác nhau.

8a: N-(2-carbamoyl-4-(dimethylamino)phenyl)-4-((3-florobenzyl)oxy)-2-methoxy benzamid

Chất rắn màu da cam. Khối lượng 95mg. Hiệu suất 75%. mp 229,1-230,3°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3384, 3347 (NH); 3194 (CH, aren); 2963 (CH, CH_2); 1667 (C=O); 1038 (C-O). $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ 11,58 (s; 1H; -CO-NH); 8,32 (d; $J = 9,20$ Hz; 1H); 8,01 (s; 1H; -CO-NH $_2$); 7,90 (d; $J = 8,70$ Hz; 1H); 7,46 (s; 1H; -CO-NH $_2$); 7,40 (td; $J = 8,2$; 6,01 Hz; 1H); 7,27 – 7,25 (m; 2H); 7,16 – 7,09 (m; 1H); 6,89 (d; $J = 3,00$ Hz; 1H); 6,81 (dd; $J = 9,20$; 3,00 Hz; 1H); 6,72 (d; $J = 2,30$ Hz; 1H); 6,69 (dd; $J = 8,70$; 2,30 Hz; 1H); 5,17 (s; 2H); 3,93 (s; 3H; -OCH $_3$); 2,85 (s; 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170,72; 162,16 (d; $J = 244,44$ Hz); 161,96; 161,88; 158,55; 145,94; 139,49 (d; $J = 7,56$ Hz); 132,90; 130,49 (d; $J = 8,82$ Hz); 128,05; 124,23; 123,66 (d; $J = 2,52$ Hz); 122,84; 115,21; 115,02; 114,70 (d; $J = 21,42$ Hz); 114,36 (d; $J = 21,42$ Hz); 111,67; 106,48; 99,16; 68,66; 55,75; 40,31. ESI-MS m/z : 438,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{FN}_3\text{O}_4$).

8b: N-(2-carbamoyl-4-(dimethylamino)phenyl)-4-((3-clorobenzyl)oxy)-2-methoxy benzamid

Chất rắn màu xanh lá. Khối lượng 99mg. Hiệu suất 77%. mp 232,5-234,0°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3373, 3305 (NH); 3191 (CH, aren); 2963 (CH, CH_2); 1657 (C=O); 1041 (C-O). $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ 11,64 (s; 1H; -CO-NH); 8,38 (d; $J = 9,2$ Hz; 1H); 8,07 (s; 1H; -CO-NH $_2$); 7,96 (d; $J = 8,7$ Hz; 1H); 7,58 – 7,54 (m; 1H); 7,53 (s; 1H; -CO-NH $_2$); 7,47 – 7,40 (m; 3H); 6,95 (d; $J = 3,0$ Hz; 1H); 6,87 (dd; $J = 9,2$; 3,0 Hz; 1H); 6,79 (d; $J = 2,3$ Hz; 1H); 6,75 (dd; $J = 8,7$; 2,3 Hz; 1H); 5,22 (s; 2H); 3,99 (s; 3H); 2,91 (s; 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170,72; 161,94; 161,88; 158,55; 145,95; 139,15; 133,11; 132,92; 130,38; 128,05; 127,88; 127,45; 126,33; 124,23; 122,84; 115,24; 115,02; 111,68; 106,45; 99,20; 68,59; 55,76; 40,32. ESI-MS m/z : 454,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_4$).

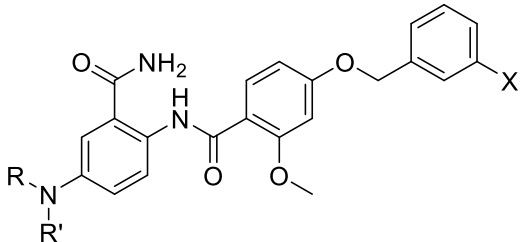
8c: N-(2-carbamoyl-4-(dimethylamino)phenyl)-4-((3-bromobenzyl)oxy)-2-methoxy benzamid

Chất rắn màu trắng. Khối lượng 102mg. Hiệu suất 72%. mp 235,1-236,1°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3372, 3301 (NH); 3190 (CH, aren); 2962 (CH, CH_2); 1671 (C=O); 1045 (C-O). $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ 11,70 (s; 1H; -CO-NH); 8,45 (d; $J = 9,2$ Hz; 1H); 8,14 (s; 1H; -CO-NH $_2$); 8,02 (d; $J = 8,7$ Hz; 1H); 7,76 (t; $J = 1,70$ Hz; 1H); 7,62-7,61 (m; 1H); 7,59 (s; 1H, -CO-NH $_2$); 7,56 (dt; $J = 7,8$; 1,2 Hz; 1H); 7,44 (t; $J = 7,78$ Hz; 1H); 7,01 (d; $J = 3,0$ Hz; 1H); 6,93 (dd; $J = 9,2$; 3,0 Hz; 1H); 6,85 (d; $J = 2,3$ Hz; 1H); 6,81 (dd; $J = 8,7$; 2,3 Hz; 1H); 5,28 (s; 2H); 4,05 (s; 3H); 2,97 (s; 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170,73; 161,94; 161,88; 158,55; 145,95; 139,39; 132,92; 130,79; 130,67; 130,36; 128,05; 126,73; 124,24; 122,85; 121,68; 115,24; 115,03; 111,68; 106,45; 99,21; 68,54; 55,77; 40,32. ESI-MS m/z : 499,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{BrN}_3\text{O}_4$).

3.2. Kết quả hoạt tính gây độc tế bào

Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào trên hai dòng tế bào ung thư phổi A549 và ung thư vú MCF-7 được thể hiện trên bảng 1 bằng phương pháp thử độc tính gây độc tế bào MTT.

Bảng 1. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của 3 dẫn chất mục tiêu

					
Thứ tự	Chất	Cấu tạo		^a IC ₅₀ µg/mL	
		-NR ₂	X	A549	MCF-7
1	8a		-F	>128	>128
2	8b		-Cl	>128	>128
3	8c		-Br	114,2±4,43	117,86±0,75
4	Ellipticine			0,44±0,02	0,43±0,02

^aIC₅₀: nồng độ ức chế khả năng sống sót của tế bào ở mức 50%

Dữ liệu được trình bày là trung bình ± độ lệch chuẩn (S.D.) của ba thí nghiệm độc lập.

IV. BÀN LUẬN

Ba dẫn chất thiết kế khung anthranilamid đã được tổng hợp theo quy trình ở sơ đồ 3, là sự kết hợp giữa dẫn chất amin trung gian (**7**) và các dẫn chất acid carboxylic trung gian (**3a-c**) khác nhau. Các acid trung gian được tiến hành tổng hợp từ 4-hydroxy-2-methoxybenzaldehyd (**1**) thông qua phản ứng alkyl hóa và phản ứng oxy hóa với hiệu suất cao (trên 70%) (sơ đồ 1). Dẫn chất trung gian 2-amino-5-dimethylaminobenzamid (**7**) được tổng hợp từ 5-chloro-2-nitrobenzoic acid (**4**) qua quy trình gồm 3 bước được trình bày trong sơ đồ 2. Bước đầu tiên là phản ứng amid hóa từ nhóm carboxyl bằng thionyl chlorid và dung dịch amoniac. Đây là phản ứng đơn giản, có hiệu suất cao (90%). Tại bước tiếp theo, phản ứng amin hóa được tiến hành theo cơ chế ái nhân vào vị trí halogen. Lúc này, nhóm thế nitro trên vòng benzen là nhóm hút điện tử mạnh nên tạo điều kiện thuận lợi cho phản ứng thế nguyên tử chlo ở vị trí para. Kết quả cho thấy hiệu suất phản ứng tương đối cao (trên 60%). Để tạo ra các dẫn chất amin trung gian, phản ứng khử nhóm nitro được tiến hành với thiếc (II) clorid là tác nhân khử. Đây là phương pháp khử nhóm nitro ở vòng thơm đơn giản và không ảnh hưởng đến các nhóm thế khác như nhóm amid.

Để tổng hợp được các dẫn chất mục tiêu, dẫn chất amin trung gian **7** và các acid carboxylic trung gian (**3a-c**) được kết hợp bằng phản ứng ghép cặp EDC trong môi trường base yếu để tạo liên kết amid. Tác nhân ghép nối carbodiimid là hỗn hợp 3-ethylcarbodiimid hydroclorid (EDC.HCl) và hydroxybenzotriazol (HOBt), thông qua cơ chế hoạt động của tác nhân carbodimiid và acid carboxylic tạo thành sản phẩm trung gian anhydrid, sản phẩm này tác dụng trực tiếp với amin để tạo ra sản phẩm amid phù hợp với công thức thiết kế. Phương pháp này không sử dụng nhiệt độ cao như trong phản ứng amid hóa trực tiếp từ acid và amin, do vậy ít tạo ra sản phẩm không mong muốn và hiệu suất phản ứng cao (trên 70%) của cả ba dẫn chất mục tiêu.

Ba dẫn chất đã được khẳng định độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng và đo nhiệt độ nóng chảy. Kết quả sắc ký lớp mỏng đều cho một vết tròn đẹp duy nhất trên nhiều hệ dung môi (EA:Hex, MeOH: DCM) với các tỷ lệ khác nhau. Khi đo nhiệt độ nóng chảy, kết quả dao động đều không quá 2°C sơ bộ kết luận hợp chất tinh khiết. Các dẫn chất được khẳng định cấu trúc hóa học bằng các phổ như phổ khối lượng (MS), phổ hồng ngoại (IR), phổ

cộng hưởng từ hạt nhân proton ($^1\text{H-NMR}$), phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon-13 ($^{13}\text{C-NMR}$) và đều khẳng định đúng cấu trúc phân tử. Ngoài ra, phổ $^1\text{H-NMR}$ của các dẫn chất anthranilamid này cho 2 tín hiệu proton singlet tương ứng với 2 nguyên tử H của nhóm $-\text{CONH}_2$ ở độ dịch chuyển hóa học khoảng 8,0 và 7,5. Thêm vào đó, ba dẫn chất đều được khẳng định cấu trúc amid với tín hiệu proton singlet ở khoảng 11,6 - 11,7, là tín hiệu đặc trưng của nhóm $-\text{CO-NH-}$ giúp khẳng định cấu trúc anthranilamid.

Với tác dụng thử hoạt tính gây độc tế bào, chỉ có dẫn chất **8c** cho kết quả tác dụng yếu trên các dòng tế bào thử nghiệm. Cụ thể, dẫn chất **8c** thể hiện tác gây độc yếu trên cả hai dòng tế bào A549 và MCF-7 với giá trị $\text{IC}_{50} = 114,2 \pm 4,43$ và $117,86 \pm 0,75 \mu\text{g/mL}$ tương ứng, yếu hơn nhiều so với chứng dương là Ellipticine với giá trị IC_{50} lần lượt là $0,44 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ và $0,43 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$. Khi so sánh cấu trúc anthranilamid cùng nhóm amino và khung oxybenzyl, khung oxybenzyl có nhóm Br cho hoạt tính gây độc tốt hơn các nhóm halogen khác như F hay Cl.

V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, ba dẫn chất khung anthranilamid (**8a**, **8b**, **8c**) đã được tổng hợp và cấu trúc của chúng được khẳng định bằng phương pháp phổ. Các chất được tổng hợp là chất mới, chưa được công bố trong các tài liệu tham khảo được. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư khác nhau chỉ có một dẫn chất duy nhất **8c** thể hiện tác dụng gây độc tế bào yếu trên cả hai dòng tế bào thử nghiệm với giá trị IC_{50} lần lượt là $114,2 \pm 4,43$ và $117,86 \pm 0,75 \mu\text{g/mL}$ trên hai dòng tế bào ung thư phổi A549 và ung thư vú MCF-7. Kết quả này chưa phải là các dẫn chất có tác dụng kháng ung thư mạnh, tuy nhiên chúng góp phần bổ sung vào nguồn nghiên cứu các chất kháng ung thư thiết yếu có thể tổng hợp được và sử dụng kết quả vào khung nghiên cứu liên quan để có khả năng tìm các dẫn chất có tác dụng kháng ung thư tốt hơn hoặc sàng lọc các dẫn chất này trong thử nghiệm hoạt tính sinh học khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2024. 74(3), 229–263, <https://doi.org/10.3322/caac.21834>.
2. Prasher, P.; Sharma, M. Medicinal chemistry of anthranilic acid derivatives: A mini review. *Drug Dev Res*. 2021. 82 (7), 945-958, <https://doi.org/10.1002/ddr.21842>.
3. Nasr, T. M.; Aboshanab, A. M.; Abouzid, K. A. M.; Zagahary, W. A. Hands-on Synthetic Approaches and Biological Activities of Anthranilic Acid Derivatives: A mini-review. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2023. 66 (7), 329-343, <https://doi.org/10.21608/ejchem.2022.148409.6426>.
4. Nakagawa, R., Tateishi, H., Radwan, M. O., Chinen, T., Ciftci, H., et al. A New 1, 2-Naphthoquinone Derivative with Anti-lung Cancer Activity. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2022. 70(7), 477-482, <https://doi.org/10.1248/cpb.c21-01087>.
5. Sun, C., Zhang, D., Luan, T., Wang, Y., Zhang, W., et al. Synthesis of 2-methoxybenzamide derivatives and evaluation of their hedgehog signaling pathway inhibition. *RSC advances*. 2021. 11(37), 22820-22825, <https://doi.org/10.1039/D1RA00732G>.
6. Stolfi, C., Franzè, E., Monteleone, I., Caruso, R., Franceschilli, et al. 2-Methoxy-5-amino-N-hydroxybenzamide, a derivative of mesalamine, inhibits colon cancer cell growth through

- cyclo-oxygenase-2-dependent and-independent mechanisms. *Clinical Science*. 2012. 123(5), 295-306, <https://doi.org/10.1042/CS20110556>.
7. Liu, J., Liang, W., Wang, Y., & Zhao, G. Synthesis and biological evaluation of novel anthranilamide derivatives as anticancer agents. *Drug Discov Ther*. 2013. 7(4), 144-152, <https://doi.org/10.5582/ddt.2013.v7.4.144>.
 8. Manley, P. W., Furet, P., Bold, G., Brüggén, J., Mestan, J., et al. Anthranilic acid amides: a novel class of antiangiogenic VEGF receptor kinase inhibitors. *J Med Chem*. 2002. 45 (26), 5687-93, <https://doi.org/10.1021/jm020899q>.
 9. Beus, M., Persoons, L., Daelemans, D., Schols, D., Savijoki, K., et al. Anthranilamides with quinoline and β -carboline scaffolds: design, synthesis, and biological activity. *Molecular Diversity*. 2022. 26 (5), 2595-2612, <https://doi.org/10.1007/s11030-021-10347-8>.
 10. Tim, M. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*. 1983. 65(1-2), 55-63, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
-