



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



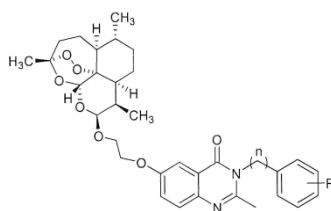
1-0039433

(51)^{2020.01} C07D 493/18; C07D 493/20; C07D 239/72 (13) B

(21) 1-2021-01525 (22) 23/03/2021
(45) 25/04/2024 433 (43) 26/07/2021 400
(73) Đại học Bách Khoa Hà Nội (VN)
Số 1, Đại Cồ Việt, Hai Bà Trưng, Hà Nội
(72) Trần Khắc Vũ (VN); Nguyễn Thanh Liêm (VN).

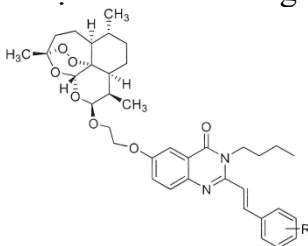
(54) CÁC HỢP CHẤT LAI HÓA ARTEMISININ VÀ QUINAZOLINON CÓ HOẠT TÍNH CHỐNG UNG THƯ

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất là các lai hóa của artemisinin với quinazolinon có công thức chung (I) và (II):



(I)

trong đó, R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm: H; CH₃; Cl; F; OCH₃ (n=0 hoặc 1)



(II)

trong đó, R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm: OCH₃; NO₂; F; Br; Cl; CH₃.
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 chất lai hóa artemisinin 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 trong những nguyên nhân chính gây tử vong trên phạm vi toàn cầu. Theo thống kê, ung thư chiếm hơn 18 triệu ca mắc mới và 9,6 triệu ca tử vong trong năm 2018 (F. Gao, et al.; Quinolone hybrids and their anti-cancer activities: an overview. Eur. J. Med. Chem. 2019, 165, 59-79; World Health Organization. Latest Global Cancer Data: Cancer Burden Rises to 18.1 Million New Cases and 9.6 Million Cancer Deaths in 2018). Ba loại gây tử vong cao nhất là ung thư phổi, gan và ung thư vú. Bất chấp những tiến bộ trong phòng ngừa và điều trị ung thư, việc điều trị thành công ung thư vẫn là một thách thức lớn trong tương lai. Điều này là do sự xuất hiện của tình trạng kháng thuốc và độ đặc hiệu thấp của các thuốc chống ung thư được sử dụng nhiều nhất hiện nay (Mellinghoff, I. K, et al.; The emergence of resistance to targeted cancer therapeutics. Pharmacogenomics. 2002, 3, 603-623; Z. Xu, et al.; 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: current developments, action mechanisms and structure-activity relationships. Eur. J. Med. Chem. 2019, 183, 111700). Để phát triển các chất chống ung thư hiệu quả và đáng tin cậy hơn, khắc phục được những hạn chế này, chiến lược phát triển các chất chống ung thư mới dựa trên các sản phẩm tự nhiên, hiện là một lĩnh vực được quan tâm và đầy hứa hẹn (Sharifi-Rad. J, et al.; Natural Products and Synthetic Analogs as a Source of Antitumor Drugs. Biomolecules. 2019, 9, 679).

Artemisinin (**1**) (Hình 1) là một endoperoxit sesquiterpen, được chiết xuất lần đầu tiên từ cây thanh hao hoa vàng (*Artemisia annua* L.) vào năm 1972 (Y. Tu. Artemisinin-A Gift from Traditional Chinese Medicine to the World (Nobel Lecture). Angew. Chem.Int. Ed. 2016, 55, 10210-10226). Nó nhanh chóng trở thành một hợp chất dẫn đường quan trọng để tổng hợp các dẫn xuất ưa dầu và ưa nước thông qua chất trung gian quan trọng là dihydroartemisinin (**2**) như artemete (**3**) và artesunat (**4**), là các chất chống sốt rét hiệu quả, đặc biệt là chống sốt rét với chủng đa kháng. Các dẫn xuất này có chung cầu nối endoperoxit, chịu trách nhiệm cho hoạt tính chống sốt rét của nó, và do đó được kỳ vọng sẽ giữ một phần các đặc tính dược lý của artemisinin (Klayman D L. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. Science.1985, 228, 1049–1055).

Gần đây, ngoài hoạt tính chống sốt rét, các dẫn xuất artemisinin khác nhau đã được báo cáo là có nhiều hoạt tính dược lý, bao gồm các hoạt tính kháng virus, ức chế miễn dịch và kháng nấm (Lee, S. Artemisinin, promising lead natural product for various drug development. Mini Rev. Med. Chem. 2007, 7, 411-422). Đặc biệt, một số chất là dẫn xuất của artemisinin cho thấy độc tính tế bào rất mạnh đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau in vitro (Galal, A. M, et al. Synthesis and evaluation of dihydroartemisinin

and dihydroartemisinin acetal dimers showing anticancer and antiprotozoal activity. *Bioorg. Med. Chem.* 2009, 17, 741-751; Yang, X. L., et al. Synthesis of a series of novel dihydroartemisinin derivatives containing a substituted chalcone with greater cytotoxic effects in leukemia cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 4385-4388; Kien, V. T., et al.; Novel Artemisinin-Derived Dimers: Synthesis and Evaluation of Anticancer Activities. *Let Drug Des Discov.* 2017, 14, 102-111; Binh, L.H., et al. Synthesis and in vitro cytotoxic evaluation of new triazole derivatives based on artemisinin via click chemistry. *Med. Chem. Res.* 2016, 25, 738-750; V.T. Ha, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel hydroxamic acids bearing artemisinin skeleton. *Bioorg. Chem.* 2016, 66, 63-71).

Liên quan đến lĩnh vực của sáng chế, năm 2018, Zuo Zhili và cộng sự đã công bố quy trình điều chế điều chế các chất lai hóa của artemisinin với dị vòng anilinoquinazolin. Qua thực nghiệm đánh giá, một số hợp chất theo sáng chế có tác dụng lên tế bào ung thư ruột kết ở người (HCT116) và các tế bào khối u ác tính (WM-266-4), có tiềm năng để nghiên cứu tiếp trong nghiên cứu phát triển thuốc chống ung thư (Zuo Zhili, et al. 青蒿素-苯胺基喹啉类衍生物及其制备方法和应用. CN108484632A).

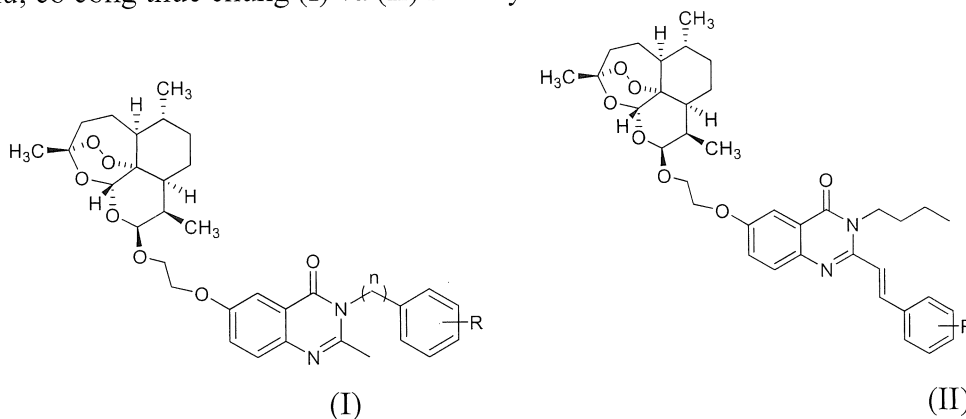
Quinazolinon là một nhóm hợp chất hữu cơ dị vòng có tiềm năng trong việc tạo liên kết hydro và các tương tác $\pi - \pi$ với gốc axit amin thơm của thụ thể. Nhờ vậy nó trở thành một nhóm dược chất quan trọng trong hóa dược (Yadav, M. R., et al. Design and synthesis of 6,7-dimethoxyquinazoline analogs as multi-targeted ligands for α_1 - and AII-receptors antagonism. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013, 23, 3959-3966). Do đó, quinazolinon được coi là bộ khung cơ bản của các hợp chất có hoạt tính sinh học và hay có mặt trong một số phân tử thuốc và các hợp chất có hoạt tính sinh học. Gần đây hơn, sự hợp nhất cấu trúc của artemisinin và quinazolin, cụ thể là các phân tử lai hóa đã được tổng hợp và cho thấy các hoạt tính mạnh kháng dòng tế bào HCT116, và cải thiện đáng kể hoạt tính kháng khối u của hợp chất mẹ, dihydroartemisinin (DHA) (**2**) và Gefitinib (**5**) (Hình 1) (Wang, L. L., et al. Design and synthesis of novel artemisinin derivatives with potent activities against colorectal cancer in vitro and in vivo. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 182, 111665. Lai hóa các phân tử có hoạt tính là một khái niệm, hiện đang được quan tâm mạnh trong lĩnh vực thiết kế thuốc (L. F. Tietze, et al. Natural product hybrids as new leads for drug discovery. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 3996-4028; B. Meunier. Hybrid molecules with a dual mode of action: dream or reality?. *Acc. Chem. Res.* 2008, 41, 69-77; S. B. Tsogoeva. Recent progress in the development of synthetic hybrids of natural or unnatural bioactive compounds for medicinal chemistry. *Mini Rev. Med. Chem.* 2010, 10, 773-793; T. Fröhlich, et al. Artemisinin-derived dimers: potent antimalarial and anticancer agents. *J. Med. Chem.* 2016, 59, 7360-7388). Mục đích là để tăng hoạt tính của các loại thuốc đã biết hoặc các thành phần hoạt tính sinh học của phân tử lai hóa, và có khả năng khắc phục tình trạng kháng thuốc (O. Dechy-Cabaret, et al. Preparation and Antimalarial Activities of "Trioxaquinines", New Modular Molecules with a Trioxane Skeleton Linked to a 4-Aminoquinoline. *Chem Bio Chem.* 2000, 1, 281-283; L. K. Basco, et al. In Vitro Activities of DU-1102, a New Trioxaquinone Derivative, against *Plasmodium falciparum* Isolates.

Antimicrob. Agents Chemother. 2001, 45, 1886-1888; F. E. Held, et al. Facile access to potent antiviral quinazoline heterocycles with fluorescence properties via merging metal-free domino reactions. Nature Commun. 2017, 8, 15071; T. Frohlich, et al. Synthesis of Artemisinin-Derived Dimers, Trimers and Dendrimers: Investigation of Their Antimalarial and Antiviral Activities Including Putative Mechanisms of Action. Chem. Eur. J. 2018, 8, 8103-8113; A. Ç. Karagöz, et al. Access to new highly potent antileukemia, antiviral and antimalarial agents via hybridization of natural products (homo) egonol, thymoquinone and artemisinin. Bioorg. Med. Chem., 2018, 26, 3610-3618). Các sản phẩm lai hóa vì vậy có thể ít nhạy cảm hơn với sự kháng thuốc.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

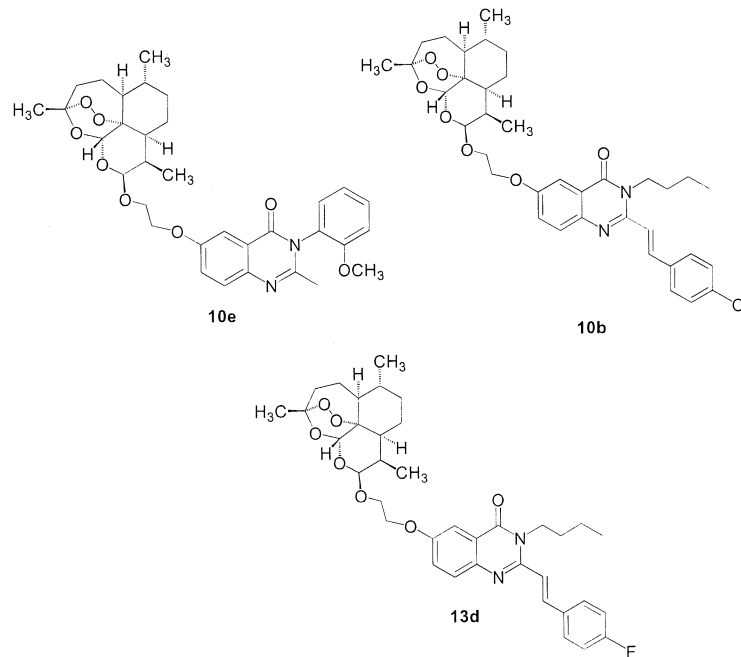
Mục đích của sáng chế là đề xuất các hợp chất mới lai hóa của artemisinin chứa khung quinazolinon có hoạt tính ức chế sự phát triển hoặc tiêu diệt các tế bào ung thư.

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



trong đó, R là phân tử thế được chọn từ nhóm bao gồm: H; CH₃; Cl; F; OCH₃; NO₂; F; Br; n = 0 hoặc 1.

Theo một phương án được ưu tiên, hợp chất theo sáng chế là các hợp chất 10e, 10b và 13d cụ thể sau đây, trong đó R lần lượt là các nhóm thế 4-OCH₃, 4-Cl và 4-F, 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 **10b** thể hiện hoạt tính với hai dòng tế bào trên lần lượt là 2,21 μM và 1,44 μM , hợp chất **10e** thể hiện hoạt tính với hai dòng tế bào trên lần lượt là 1,81 μM và 1,67 μM , **13d** thể hiện hoạt tính với hai dòng tế bào trên lần lượt là 1,62 μM và 0,77 μM , và hợp chất **13g** thể hiện hoạt tính với hai dòng tế bào trên lần lượt là 3,96 μM và 3,39 μM .

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

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1. là minh họa một số dẫn xuất của artemisinin

Hình 2. là hình vẽ thể hiện sơ đồ quy trình tổng hợp các các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế;

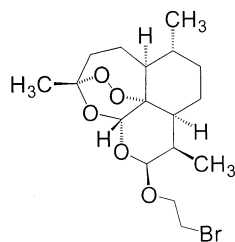
Hình 3. là hình vẽ thể hiện sơ đồ quy trình tổng hợp các các hợp chất có công thức (II) theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ mô tả chi tiết hơn thông qua các phương án cụ thể được ưu tiên về quy trình tổng hợp các hợp chất lai hóa có công thức (I) và (II) 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 2, theo một phương án của sáng chế, quy trình tổng hợp hợp chất **10e**, là hợp chất cụ thể được ưu tiên trong số các dãy chất lai hóa của artemisinin với quinazolinon có công thức chung (I), bao gồm các bước sau đây:

Bước 1: Tổng hợp hợp chất 6



6

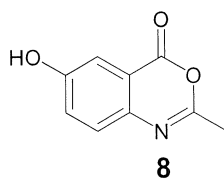
Nhỏ từ từ $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,6 mL) vào dung dịch của dihydroartemisinin (2g) và 2-brometanol (1,31 g) trong CH_2Cl_2 (10 mL); hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ $0-5^\circ\text{C}$ trong 4 giờ; hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với Na_2CO_3 tới pH = 7 và chiết với CH_2Cl_2 (3×20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 , cô quay dưới áp suất giảm. Cặn thu được kết tinh trong hỗn hợp dung môi n- hexan-etyl axetat thu được **6** (2,25 g, 82%);

Tính chất của hợp chất 6:

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5,46 (s, 1H); 4,82 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H); 4,13 (dt, $J = 10,8$ Hz, 5,4 Hz, 1H); 3,76 (dt, $J = 10,9$ Hz, 5,3 Hz, 1H); 3,53 (t, 2H); 2,66 (dt, $J = 7,7$ Hz, 5,7 Hz, 1H); 2,33 (tt, $J = 20,2$ Hz, 10,0 Hz, 1H); 2,04–1,97 (m, 1H); 1,91–1,80 (m, 2H); 1,73 (ddd, $J = 14,2$ Hz, 7,5 Hz, 3,6 Hz, 1H); 1,65–1,55 (m, 1H); 1,52–1,37 (m, 5H); 1,36–1,28 (m, 1H); 1,25–1,17 (m, 1H); 0,89 (m, 7H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 104,1; 102,0; 88,1; 81,0; 68,2; 52,6; 44,3; 37,4; 36,4; 34,6; 31,4; 30,8; 26,1; 24,6; 24,3; 20,3; 12,9.

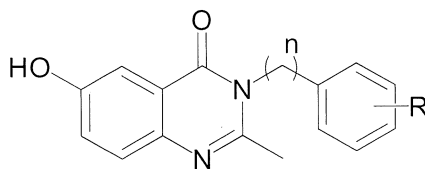
Bước 2: Tổng hợp hợp chất 8

Đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy anthranilic (hợp chất 7) 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 **8**, được sử dụng luôn cho các bước tiếp theo;



8

Bước 3: Tổng hợp hợp chất 9e



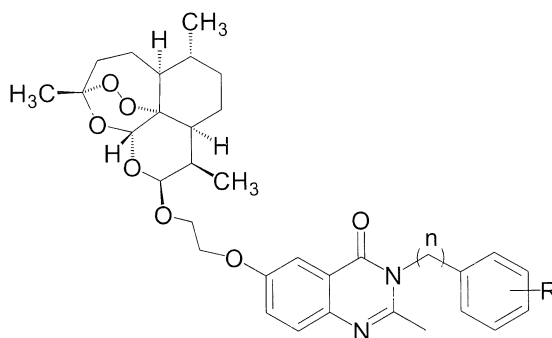
Hợp chất 9e

(trong đó R là 2-OCH₃, n=0)

Một hỗn hợp của **8** và 2-metoxi anilin trong axit axetic được đun hồi lưu ở 120 °C trong 14 giờ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc lý lớp mỏng với hệ dung môi triển khai (n- hexan - etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với NaHCO₃ 50% đến pH = 7 và chiết với CH₂Cl₂; pha hữu cơ được tách ra và làm khan với Na₂SO₄, cô quay loại dung môi ở áp suất giảm cho cạn; cạn sau đó được tiến hành chạy cột silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải n- hexan-etyl axetat cho chất **9e** (6-hydroxy-3-(2-metoxi phenyl)-2-metylquinazolin-4(3*H*)-on;

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)): 10,31 (brs, 1H); 7,59 (d, J = 8,5 Hz, 1H); 7,52-7,48 (m, 1H); 7,44-7,41 (m, 2H); 7,35 (dd, J = 2,5 Hz, 7,5 Hz, 1H); 7,26 (dd, J = 8,50 Hz, 1H); 7,11 (t, J = 7,5 Hz, 1H); 3,76 (s, 3H); 2,04 (s, 3H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)): 160,6; 155,8; 154,2; 151,3; 140,6; 130,6; 129,6; 128,2; 126,1; 123,9; 121,2; 112,4; 109,1; 55,7; 22,7.

Bước 4: Tổng hợp hợp chất **10e**



Hợp chất **10e**

(trong đó R là 2-OCH₃, n = 0)

Một hỗn hợp của **6**, K₂CO₃ và KI trong DMF được khuấy ở 60°C trong 30 phút; chất **9e** được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được tiếp tục khuấy trong 10 giờ; hỗn hợp phản ứng sau đó được chiết với CH₂Cl₂; pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄ và cô quay dưới áp suất giảm; cạn thu được được chạy sắc ký sử dụng cột silica gel, hệ dung môi rửa giải n- hexan-etyl axetat cho hợp chất **10e**;

Hợp chất **10e**: (3-(2-metoxi phenyl)-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxi)quinazolin-4(3*H*)-on):

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 7,64 (d, J = 3,0 Hz, 1H); 7,62 (d, J = 9,0 Hz, 1H); 7,49-7,46 (m, 1H); 7,36 (dd, J = 3,0 Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,21 (m, 1H); 7,13-7,11 (m, 1H); 7,10-7,08 (m, 1H); 5,30 (s, 1H); 4,89 (t, J = 3,0 Hz, 1H); 4,26-4,20 (m, 3H); 3,82-3,79 (m, 4H); 2,65-2,62 (m, 1H); 2,35 (dt, J = 4,0 Hz, 13,5 Hz, 1H); 2,19 (s, 3H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,89 -1,85 (m, 1H); 1,77-1,74 (m, 1H); 1,73-1,68 (m, 2H); 1,51-1,37 (m, 5H); 1,27-1,20 (m, 2H); 0,93-0,85 (m, 7H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 161,8; 157,3; 154,7; 152,7; 142,3; 130,8; 129,3; 128,3; 126,5; 124,8; 121,6; 121,4; 112,3; 107,6; 104,1; 102,2;

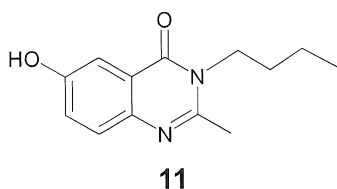
88,0; 81,2; 67,9; 66,4; 55,8; 52,6; 44,5; 37,5; 36,5; 34,6; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 23,3; 20,3; 13,0. ESI-HRMS thực nghiệm (tìm thấy): 593.28128; lý thuyết: $C_{33}H_{41}N_2O_8$ $[M + H]^+$: 593.28629.

Tương tự, các hợp chất **10a-f** được tổng hợp theo quy trình tương tự như là quy trình tổng hợp của các dẫn xuất **10e** nêu trên.

Theo một phương án khác của sáng chế, như được thể hiện trên hình 3, quy trình tổng hợp chất **13d**, là dẫn xuất được ưu tiên của các chất lai hóa có công thức (**II**) bao gồm các bước sau.

Bước 1: giống các bước trong quy trình tổng hợp chất **10e**.

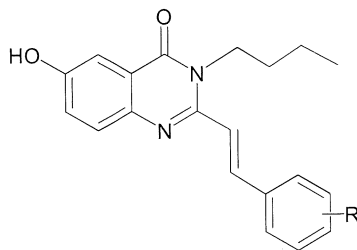
Bước 2: Tổng hợp hợp chất **11**: giống các bước trong quy trình tổng hợp chất **10e**



Hợp chất **11**: (3-butyl-6-hydroxy-2-methylquinazolin-4-(3*H*)-on):

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)): 7,85 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,54 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 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); 1,74-1,70 (m, 2H); 1,50-1,46 (m, 2H); 1,0 (t, $J = 2,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)): 162,2; 155,2; 152,4; 141,4; 128,3; 124,2; 121,2; 110,1; 44,7; 30,7; 22,8; 20,3; 13,7.

Bước 3: Tổng hợp hợp chất **12d**

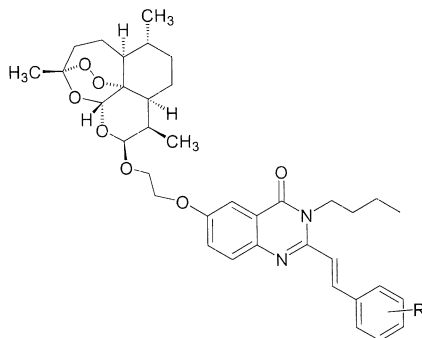


Hợp chất **12d**
(trong đó R là 4-F)

Một hỗn hợp của **11** trong axit axetic và 4-flobenzalđehit được đun và khuấy ở nhiệt độ 140 °C trong 16 giờ ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng sử dụng hệ dung môi n-hexan-etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng sau đó được làm lạnh xuống nhiệt độ phòng; tinh thể hình thành được lọc, rửa với nước cất cho sản phẩm thô, kết tinh lại trong n-hexan-etyl axetat thu được **12d** ((*E*)-3-butyl-6-hydroxy-2-(4-floestyryl) quinazolin-4(3*H*)-on):

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,83 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,64 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,53 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,34 (dd, $J = 2,5$ Hz, 9.0 Hz, 1H); 7,29 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,20 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 4,33 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,81-1,75 (m, 2H); 1,52-1,48 (m, 2H); 1,04 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 165,9; 163,5; 157,9; 151,5; 142,3; 140,1; 133,5; 130,9; 129,6; 125,5; 122,5; 120,3; 117,0; 110,3; 44,4; 32,2; 21,0; 14,1.

Bước 4: Tổng hợp hợp chất **13d**



Hợp chất **13d**
(trong đó R là 4-F)

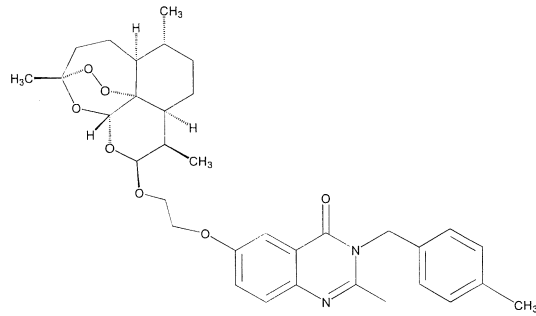
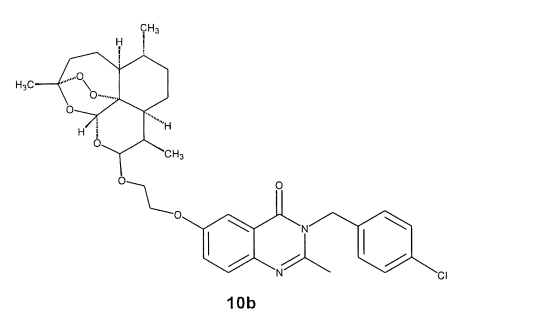
Một hỗn hợp của hợp chất **6**, K_2CO_3 và KI trong DMF được khuấy ở 60°C trong 30 phút; hợp chất **12d** điều chế ở trên được bổ sung vào và phản ứng được khuấy trong 12 giờ; hỗn hợp sau đó được chiết với CH_2Cl_2 (3×20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 , cô quay dưới áp suất giảm thu được cặn; sắc ký cột silicagel với hệ dung môi n-hexan-etyl axetat thu được chất **13d** (3-butyl-2-((E)-4-flostyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđecahydro-12H-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3H)-on):

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,92 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,65-7,64 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,59-7,56 (m, 2H); 7,34 (dd, $J = 2,5$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,11 (t, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,03 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); 4,31-4,20 (m, 5H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,38 (dt, $J = 4,0$ Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,82-1,76 (m, 1H); 1,73-1,64 (m, 1H); 1,56-1,44 (m, 7H); 1,28-1,21 (m, 4H); 1,02 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 0,93-0,85 (m, 7H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 164,6; 162,6; 161,8; 157,6; 138,5; 137,2; 131,8; 129,5; 128,8; 125,0; 121,3; 116,2; 116,0; 107,2; 104,1; 102,2; 88,0; 81,2; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,7; 31,3; 30,9; 26,2; 24,8; 24,5; 20,3; 20,2; 14,0; 13,0. ESI-HRMS tìm thấy (thực nghiệm): 648,32101; tính toán (lý thuyết) $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{FN}_2\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 648,32108.

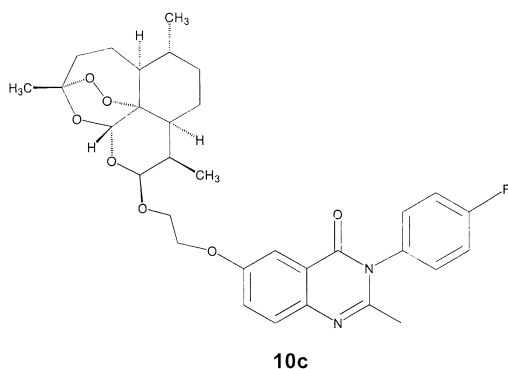
Tương tự, các hợp chất **13a-g** được tổng hợp theo quy trình tương tự như là quy trình tổng hợp của các dẫn xuất **13d** nêu trên.

Các hợp chất **12a-f** và **13a-g** 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 chất lai hóa của artemisinin với quinazolinon có công thức (I) và (II) theo sáng chế và các hợp chất trung gian của quy trình tổng hợp

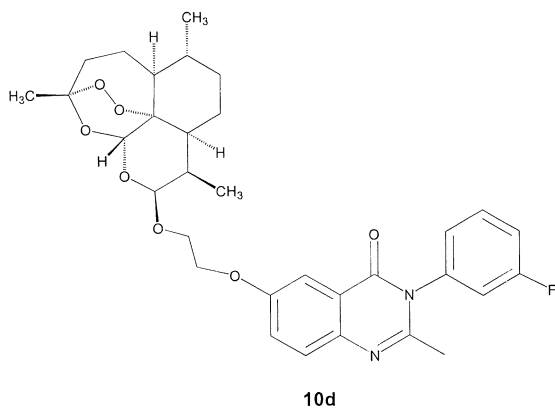
Hợp chất	Phổ NMR	MS
 <p style="text-align: center;">10a</p>	¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃ , δ (ppm)): 7,68 (d, J = 3,0 Hz, 1H); 7,57 (d, J = 9,0 Hz, 1H); 7,34 (dd, J = 3,0 Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 9,0 Hz, 2H); 6,85 (d, J = 9,0 Hz, 2H); 5,49 (s, 1H); 5,3 (s, 2H); 4,91 (d, J = 3,5 Hz); 4,26-4,20 (m, 3H); 3,85-3,81 (m, 1H); 3,78 (s, 3H); 2,65-2,63 (m, 1H); 2,55 (s, 3H); 2,37 (dt, J = 4,0 Hz, 10,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,88-1,85 (m, 2H); 1,79-1,73 (m, 1H); 1,72-1,65 (m, 1H); 1,57-1,53 (m, 2H); 1,45 (m, 3H); 1,29-1,21 (m, 2H); 0,93 (d, J = 6,0 Hz, 3H); 0,87 (m, 4H). ¹³ C NMR (125 MHz, CDCl ₃ , δ (ppm)): 162,3; 159,2; 157,4; 142,1; 136,3; 133,1; 128,4; 128,1; 128,0; 125,0; 121,2; 114,3; 104,1; 102,2; 88,0; 81,1; 67,9; 66,4; 52,6; 46,8; 44,5; 37,5; 36,5; 34,7; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 23,2; 20,3; 13,0.	ESI-HRMS tìm thấy: 591,30603; lý thuyết: C ₃₄ H ₄₃ N ₂ O ₇ [M + H] ⁺ : 591,30703.
 <p style="text-align: center;">10b</p>	¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃ , δ (ppm)): 7,68 (d, J = 3,0 Hz, 1H); 7,57 (d, J = 9,0 Hz, 1H); 7,34-7,32 (dd, J = 3,0 Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,13-7,09 (m, 4H); 5,48 (s, 1H, H-12); 5,35 (s, 2H); 4,91 (d, J = 3,5 Hz, 1H); 4,26-4,18 (m, 3H); 3,85-3,81	ESI-HRMS tìm thấy: 611,25144; lý thuyết: C ₃₃ H ₄₀ ClN ₂ O ₇ [M + H] ⁺ : 611,25240.

(m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,53 (s, 3H); 2,35 (tt, $J = 20,2$ Hz, 10,0 Hz, 1H); 2,05-2,02 (m, 1H); 1,88-1,85 (m, 1H); 1,79-1,68 (m, 2H); 1,57-1,45 (m, 1H); 1,45-1,37 (m, 5H); 1,29-1,21 (m, 2H); 0,92 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H); 0,89 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 162,3; 157,4; 152,4; 142,1; 137,4; 132,9; 129,6; 128,4; 126,6; 124,9; 121,1; 107,3; 104,1; 102,2; 87,9; 81,1; 67,9; 66,4; 52,6; 47,1; 44,5; 37,5; 34,6; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 23,2; 21,0; 12,9.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,37 (dd, $J = 3,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,36 (dd, $J = 3,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,27-7,24 (m, 4H); 5,48 (s, 1H); 4,90 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); 4,26-4,17 (m, 3H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,65-2,64 (m, 1H); 2,35 (dt, $J = 4,0$ Hz, 14,0 Hz, 1H); 2,22 (s, 3H); 2,05-2,02 (m, 1H); 1,87-1,86 (m, 1H); 1,79-1,67 (m, 1H); 1,56-1,53 (m, 1H); 1,51-1,43 (m, 5H); 1,35-1,29 (m, 1H); 1,28-1,21 (m, 1H); 0,94 (d, $J = 7,5$ Hz, 3H); 0,86 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 167,7; 163,7; 161,8; 151,7; 142,1; 133,8; 132,5; 128,8; 121,4; 117,2; 117,0; 107,5; 104,1; 102,2; 87,9; 81,1; 67,9; 66,3; 52,6; 44,5; 37,5; 36,5; 34,6; 26,2; 24,7; 24,4; 22,9; 20,3; 12,9.

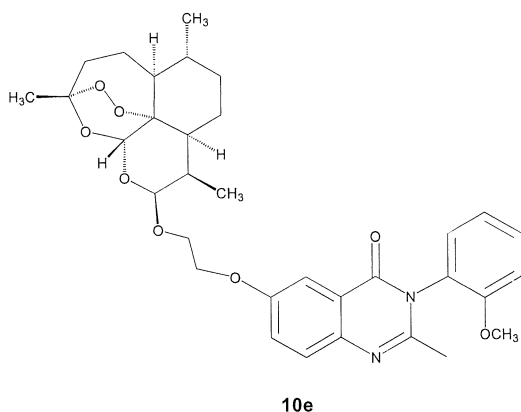
ESI-HRMS
 tìm thấy:
 581,26608;
 lý thuyết:
 $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{FN}_2\text{O}_7$
 $[\text{M} + \text{H}]^+$:
 581,26630.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 ,
 δ (ppm)): 7,63 (d, $J = 2,5$ Hz,
 1H); 7,63-7,61 (m, 2H);
 7,56-7,52 (m, 1H); 7,37 (dd,
 $J = 3,0$ Hz, $9,0$ Hz, 1H); 7,27-
 7,22 (m, 1H); 7,08-7,01 (m,
 1H); 7,03-7,01 (m, 1H); 5,48
 (s, 1H); 4,90 (d, $J = 3,5$ Hz,
 1H); 4,28-4,18 (m, 3H);
 3,85-3,81 (m, 1H); 2,65-2,63
 (m, 1H); 2,35 (dt, $J = 4,0$ Hz,
 $13,5$ Hz, 1H); 2,24 (s, 3H);
 2,06-2,02 (m, 1H); 1,89 -1,86
 (m, 1H); 1,78-1,75 (m, 1H);
 1,73-1,68 (m, 1H); 1,57-1,53
 (m, 1H); 1,51-1,46 (m, 5H);
 1,35-1,32 (m, 1H); 1,28-1,19
 (m, 1H); 0,97-0,89 (m, 7H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 ,
 δ (ppm)): 166,0; 164,3;
 162,0; 157,6; 142,1; 139,2;
 134,1; 129,6; 128,6; 124,1;
 121,4; 116,5; 115,9; 107,5;
 104,1; 102,2; 87,9; 81,1;
 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 37,5;
 36,5; 34,7; 30,9; 26,2; 24,7;
 24,4; 23,0; 20,3; 13,0.

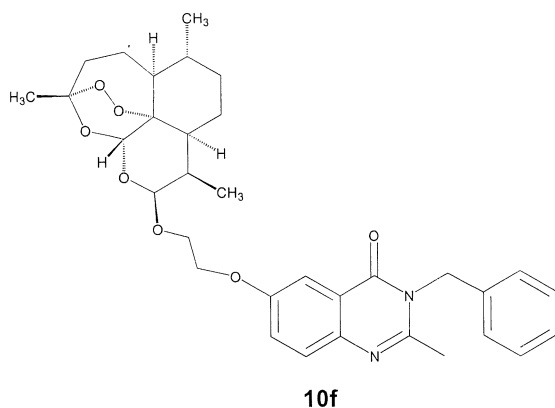
ESI-HRMS
 tìm thấy:
 581,26509;
 lý thuyết:
 $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{FN}_2\text{O}_7$
 $[\text{M} + \text{H}]^+$:
 581,26630.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 ,
 δ (ppm)): 7,64 (d, $J = 3,0$ Hz,
 1H); 7,62 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H);
 7,49-7,46 (m, 1H); 7,36 (dd,
 $J = 3,0$ Hz, $9,0$ Hz, 1H); 7,21
 (m, 1H); 7,13-7,11 (m, 1H);
 7,10-7,08 (m, 1H); 5,30 (s,
 1H); 4,89 (t, $J = 3,0$ Hz, 1H);
 4,26-4,20 (m, 3H); 3,82-3,79
 (m, 4H); 2,65-2,62 (m, 1H);
 2,35 (dt, $J = 4,0$ Hz, $13,5$ Hz,
 1H); 2,19 (s, 3H); 2,06-2,02
 (m, 1H); 1,89 -1,85 (m, 1H);

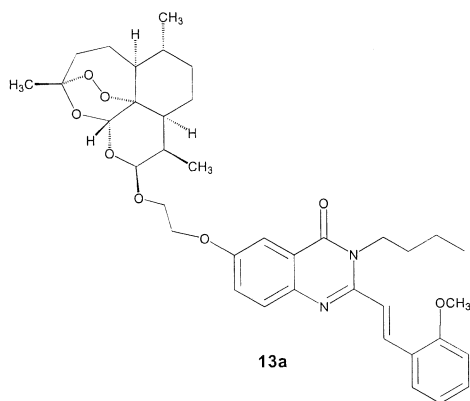
ESI-HRMS
 tìm thấy:
 593.28128;
 lý thuyết:
 $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_8$
 $[\text{M} + \text{H}]^+$:
 593.28629

1,77-1,74 (m, 1H); 1,73-1,68 (m, 2H); 1,51-1,37 (m, 5H); 1,27-1,20 (m, 2H); 0,93-0,85 (m, 7H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 161,8; 157,3; 154,7; 152,7; 142,3; 130,8; 129,3; 128,3; 126,5; 124,8; 121,6; 121,4; 112,3; 107,6; 104,1; 102,2; 88,0; 81,2; 67,9; 66,4; 55,8; 52,6; 44,5; 37,5; 36,5; 34,6; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 23,3; 20,3; 13,0.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,68 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,62 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,36-7,31 (m, 2H); 7,29 (d, $J = 9,5$ Hz, 2H); 7,20 (d, $J = 9,5$ Hz, 2H); 5,49 (s, 1H); 5,41 (s, 2H); 4,91 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); 4,27-4,20 (m, 3H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,64 (m, 1H); 2,55 (s, 3H); 2,34 (tt, $J = 20,2$ Hz, 10,0 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,79-1,76 (m, 2H); 1,74-1,68 (m, 2H); 1,57-1,45 (m, 5H); 1,27-1,22 (m, 2H); 0,93 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H); 0,89 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 162,6; 162,1; 157,6; 135,8; 128,9; 128,1; 127,7; 127,7; 126,5; 125,1; 121,0; 107,4; 104,1; 102,2; 87,9; 81,1; 67,9; 66,4; 52,6; 47,3; 44,5; 37,5; 36,5; 34,6; 30,9; 26,2; 24,7; 24,4; 22,0; 20,3; 12,9.

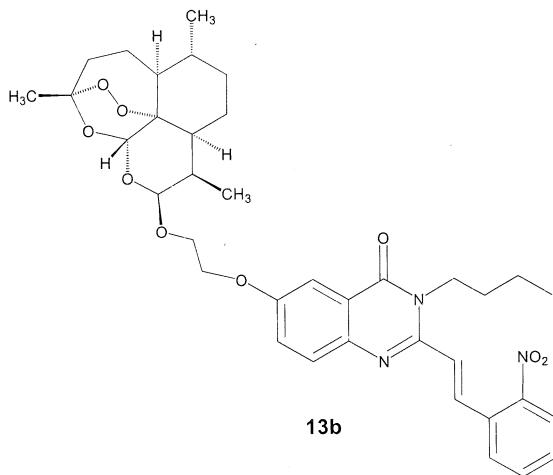
ESI-HRMS tìm thấy: 577,29101;
lý thuyết: $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 577,29138



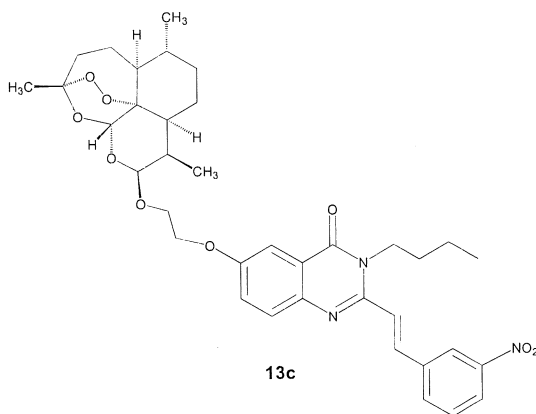
^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 8,16 (d, $J=15,5$ Hz, 1H); 7,70 (d, $J=9,0$ Hz, 1H); 7,65 (d, $J=3,0$ Hz, 1H); 7,56 (dd, $J=3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,36-7,32 (m, 3H); 7,02-7,0 (m, 1H); 6,97 (d, $J=8,0$ Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, $J=3,0$ Hz, 1H); 4,28-4,20 (m, 5H); 3,94 (s, 3H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,38 (dt, $J=4,0$ Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,89-1,86 (m, 2H); 1,74-1,69 (m, 2H); 1,57-1,42 (m, 7H); 1,3-1,21 (m, 4H, H-6); 1,02 (t, $J=7,5$ Hz, 3H); 0,93 (d, $J=6,0$ Hz, 3H); 0,90 (m, 4H).
 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 161,9; 158,4; 157,4; 150,8; 138,2; 137,2; 130,6; 129,7; 128,9; 124,8; 124,6; 121,1; 120,9; 113,9; 111,2; 107,0; 104,1; 102,2; 88,0; 81,2; 67,8; 66,4; 55,5; 52,6; 44,5; 43,6; 37,5; 36,5; 34,6; 31,2; 30,9; 26,2; 24,7; 24,4; 20,3; 20,2; 13,8; 12,9.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 8,32 (d, $J=15,0$ Hz, 1H); 8,07 (d, $J=9,0$ Hz, 1H); 7,72-7,65 (m, 4H); 7,55 (dt, $J=2,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,35 (dd, $J=3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,02 (d, $J=15,0$ Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, $J=3,0$ Hz, 1H); 4,29-4,20 (m, 5H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,38 (dt, $J=4,0$ Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,07-2,02 (m,

ESI-HRMS tìm thấy: 676,32244;
 lý thuyết: $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_9$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 676,32341.



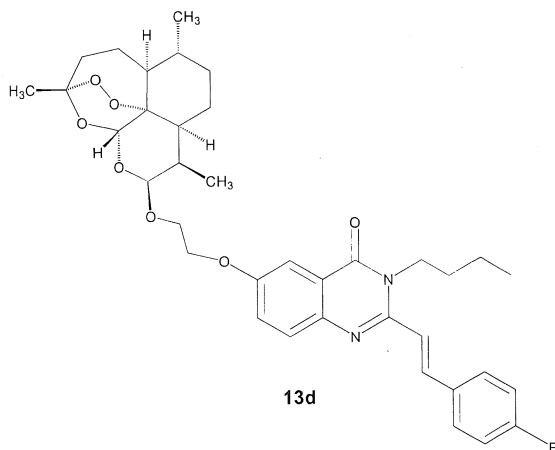
1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,81-1,75 (m, 1H); 1,58-1,54 (m, 1H); 1,52-1,44 (m, 7H); 1,3-1,21 (m, 4H); 0,99 (t, J = 7,5 Hz, 3H); 0,94-0,83 (m, 7H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 161,7; 158,0; 149,1; 148,5; 138,9; 137,3; 133,4; 131,7; 129,7; 129,2; 129,0; 125,0; 124,9; 123,9; 121,6; 107,1; 104,1; 102,2; 88,0; 81,1; 68,0; 66,4; 52,6; 44,5; 43,6; 37,5; 36,5; 34,6; 31,4; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 20,3; 20,2; 13,8; 13,0.



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 8,45 (d, J = 1,5 Hz, 1H); 8,24-8,22 (m, 1H); 8,03-7,98 (m, 1H); 7,89 (d, J = 8,5 Hz, 1H); 7,69-7,59 (m, 3H); 7,37 (d, J = 3,0 Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,23 (d, J = 15,5 Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, J = 3,0 Hz, 1H); 4,31-4,20 (m, 5H); 3,86-3,82 (m, 1H); 2,66-2,64 (m, 1H); 2,38 (dt, J = 4,0 Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,72 (m); 1,67 (m, 1H); 1,58-1,44 (m, 7H); 1,28-1,24 (m, 4H); 1,03 (t, J = 7,5 Hz, 3H); 0,94-0,90 (m, 7H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 160,7; 159,7; 158,0; 148,8; 138,3; 137,2; 137,1; 133,5; 130,0; 128,7; 125,1; 124,0; 121,9; 121,4; 114,8; 107,3; 104,1; 102,2; 87,9; 81,1; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,6; 31,4;

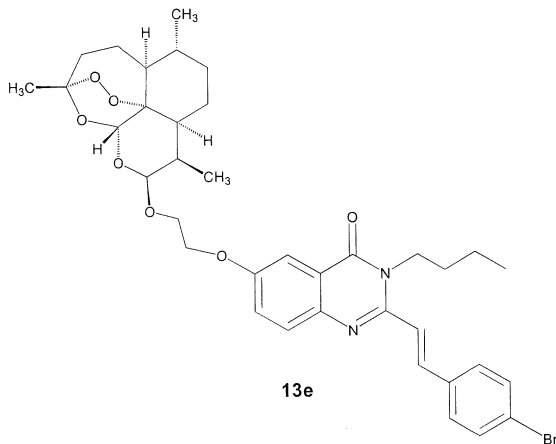
ESI-HRMS
tim thấy:
lý thuyết:
C₃₇H₄₆N₃O₉
[M + H]⁺:
676,32341.

31,0; 26,2; 24,7; 24,5; 20,3;
20,1; 13,7; 13,0.



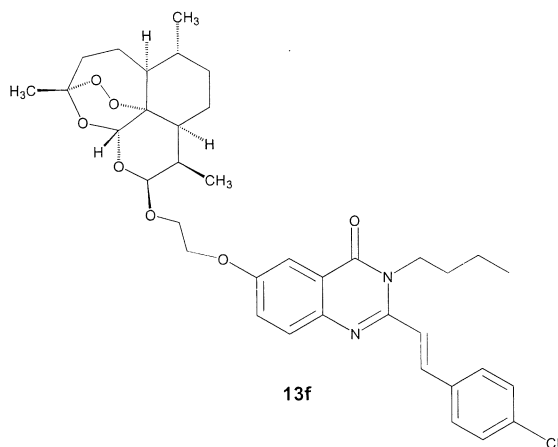
^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,92 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,65-7,64 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,59-7,56 (m, 2H); 7,34 (dd, $J = 2,5$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,11 (t, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,03 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); 4,31-4,20 (m, 5H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,38 (dt, $J = 4,0$ Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,82-1,76 (m, 1H); 1,73-1,64 (m, 1H); 1,56-1,44 (m, 7H); 1,28-1,21 (m, 4H); 1,02 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 0,93-0,85 (m, 7H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 164,6; 162,6; 161,8; 157,6; 138,5; 137,2; 131,8; 129,5; 128,8; 125,0; 121,3; 116,2; 116,0; 107,2; 104,1; 102,2; 88,0; 81,2; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,7; 31,3; 30,9; 26,2; 24,8; 24,5; 20,3; 20,2; 14,0; 13,0.

ESI-HRMS tìm thấy: 648,32101; lý thuyết: $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{FN}_2\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 648,32108



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,89 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,65 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,65 (m, 2H); 7,56 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,46 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,34 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,09 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); 4,31-4,20 (m, 5H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,38 (dt, $J = 4,0$ Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,73-1,64 (m, 1H); 1,56-1,44 (m, 8H); 1,28-1,21 (m, 4H); 1,02 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 0,93 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); 0,89-0,85 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 161,8; 157,7; 149,8; 138,5; 137,3; 134,5; 132,2; 129,1; 128,9; 125,0; 123,8; 121,3; 119,5; 107,2; 104,1; 102,2; 87,9; 81,1; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,7; 31,3; 30,2; 26,2; 24,8; 24,7; 20,3; 20,1; 13,8; 13,0.

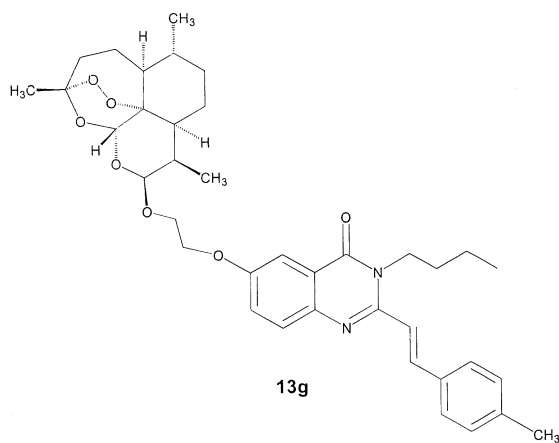
ESI-HRMS tìm thấy: 709,24554; lý thuyết: $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{BrN}_2\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 709,24884.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,91 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,65-7,63 (m, 2H); 7,53 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,40 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,35 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,08 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); 4,29-4,20 (m, 5H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,38 (dt, $J = 4,0$ Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,05-2,02 (m, 1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,73-1,64 (m, 1H); 1,59-1,43 (m, 8H); 1,28-1,21 (m, 4H); 1,02 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 0,93 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); 0,89-0,85 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 161,8; 157,7; 149,8; 138,5; 137,3; 134,5; 132,2; 129,1; 128,9; 125,0; 123,8; 121,3; 119,5; 107,2; 104,1; 102,2; 87,9; 81,1; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,7; 31,3; 30,2; 26,2; 24,8; 24,7; 20,3; 20,1; 13,8; 13,0.

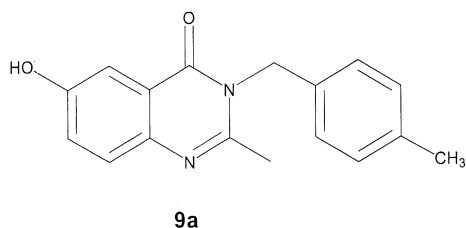
ESI-HRMS tìm thấy: 665,29707; lý thuyết: $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{ClN}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 665,29935.

= 7,5 Hz, 3H); 0,93-0,85 (m, 7H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 161,8; 157,6; 158,8; 138,2; 135,5; 134,1; 132,2; 129,5; 129,2; 128,9; 125,0; 121,3; 117,8; 107,2; 104,1; 102,2; 87,9; 81,1; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,7; 31,3; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 20,3; 20,2; 13,8; 12,9.

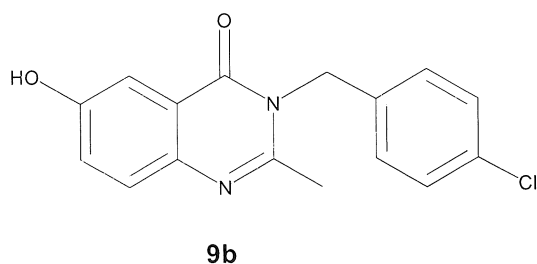


^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,94 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,66-7,64 (m, 2H); 7,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,33 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,23 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,08 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); 4,28-4,19 (m, 5H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,40 (s, 3H); 2,35 (dt, $J = 4,0$ Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,73-1,64 (m, 1H); 1,56-1,42 (m, 8H); 1,28-1,21 (m, 4H); 1,02 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 0,93 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); 0,89 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 161,9; 157,9; 150,3; 140,0; 138,2; 137,2; 132,9; 129,7; 128,9; 127,7; 124,9; 121,2; 117,8; 107,1; 104,1; 102,2; 87,9; 81,2; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,6; 31,2; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 21,5; 20,3; 20,2; 13,8; 12,9.

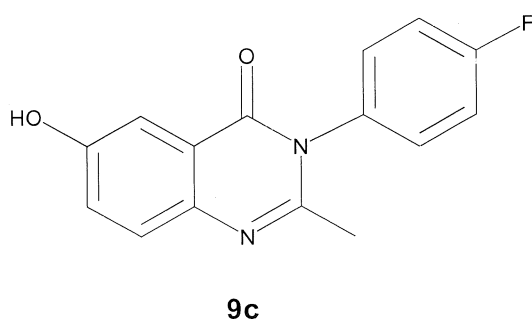
ESI-HRMS tìm thấy: 645,35608; lý thuyết: $\text{C}_{38}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 645,35398



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,05 (s, 1H); 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)): 161,2; 156,9; 152,8; 140,9; 138,5; 136,5; 133,4; 129,3; 128,0; 126,3; 120,5; 109,6; 46,2; 22,5; 20,6.

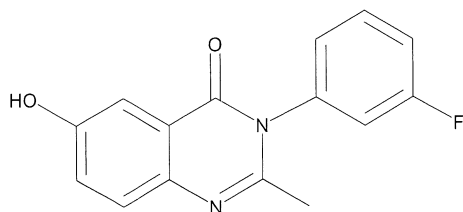


^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 10,07 (s, 1H); 7,49 (d, J = 9,0 Hz, 1H); 7,43 (d, J = 3,0 Hz, 1H); 7,39 (d, J = 8,50 Hz, 2H); 7,28 (dd, J = 3,0 Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,21 (d, J = 8,50 Hz, 2H); 5,33 (s, 2H); 2,42 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 161,3; 155,9; 151,4; 140,4; 135,7; 131,8; 128,7; 128,3; 128,0; 124,0; 122,2; 109,1; 45,8; 22,6.



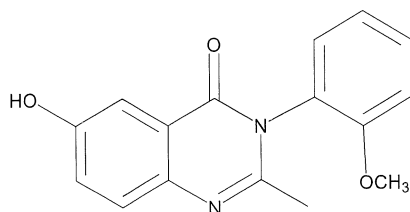
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,57 (d, J = 9,0 Hz, 1H); 7,50 (s, J = 3,0 Hz, 1H); 7,43 (d, J = 9,0 Hz, 2H); 7,36-7,32 (m, 3H); 2,21 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 163,8; 163,3; 157,9; 153,4; 141,9; 135,2; 131,7; 128,9; 125,6; 122,6; 117,9; 110,6; 23,7.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,65-7,61 (m, 1H);



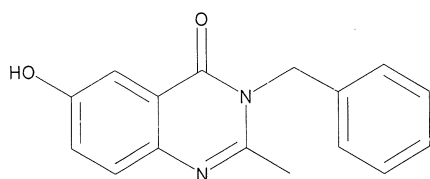
9d

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); 2,23 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 165,6; 163,7; 158,0; 152,9; 141,9; 140,7; 132,5; 128,9; 125,7; 122,6; 122,2; 117,5; 117,1; 110,6; 23,6.



9e

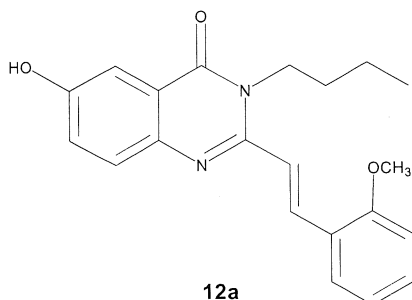
^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 10,31 (brs, 1H); 7,59 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,52-7,48 (m, 1H); 7,44-7,41 (m, 2H); 7,35 (dd, $J = 2,5$ Hz, 7,5 Hz, 1H); 7,26 (dd, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,11 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); 3,76 (s, 3H); 2,04 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 160,6; 155,8; 154,2; 151,3; 140,6; 130,6; 129,6; 128,2; 126,1; 123,9; 121,2; 112,4; 109,1; 55,7; 22,7.



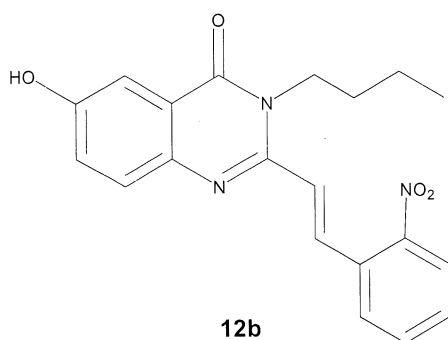
9f

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 8,31 (brs, 1H); 7,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,45 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,36-7,12 (m, 6H); 5,35 (s, 2H); 1,87 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 169,2; 155,9; 151,6; 140,4; 136,7; 128,8; 128,3; 127,2; 126,7; 126,2; 124,0; 120,8; 109,1; 46,3; 22,5.

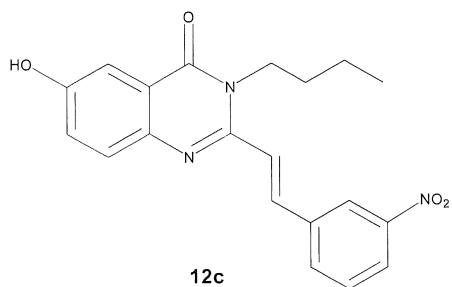
^1H NMR (500 MHz, DMSO-



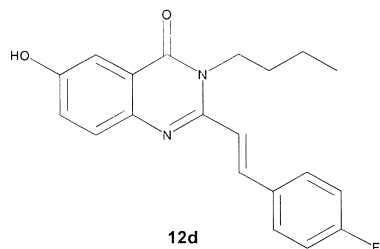
d6, δ (ppm): 10,09 (s, 1H); 7,81 (m, 3H); 7,57 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,49 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,42 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,39 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,28 (dd, $J = 3,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 4,27 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 3,38 (s, 3H); 1,62-1,59 (m, 2H); 1,38-1,36 (m, 2H); 0,91 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-*d6*, δ (ppm)): 160,8; 159,4; 156,1; 148,8; 140,4; 137,4; 134,4; 133,8; 129,5; 128,8; 128,7; 124,0; 121,0; 120,6; 113,6; 109,1; 55,2; 42,1; 30,9; 19,4; 13,6.



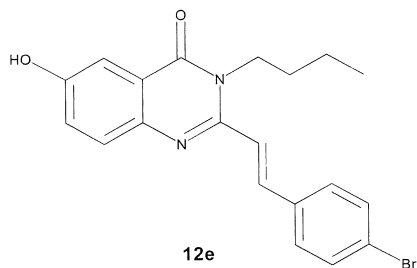
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 8,15 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 8,06 (dd, $J = 1,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,96 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,77 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,64-7,61 (m, 2H); 7,61 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H); 7,53 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,33 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,30 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 4,32 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H); 1,80-1,74 (m, 2H); 1,51-1,44 (m, 2H); 1,01 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 163,4; 159,5; 158,4; 150,4; 142,1; 138,1; 135,9; 131,1; 130,0; 125,9; 125,7; 125,6; 125,4; 122,7; 122,0; 110,4; 44,5; 32,3; 21,0; 14,1.



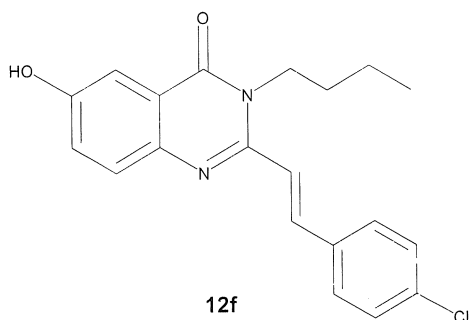
^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 10,12 (s, 1H); 8,60 (t, $J = 1,5$ Hz, 1H); 8,24 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 8,20 (dd, $J = 1,5$ Hz, 8,0 Hz, 1H); 7,93 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,72 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,58-7,56 (m, 2H); 7,43 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,28 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 4,31 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,64-1,61 (m, 2H); 1,39-1,34 (m, 2H); 0,92 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 160,7; 156,3; 148,5; 148,4; 140,3; 137,3; 136,4; 133,9; 130,2; 128,9; 124,0; 123,5; 122,9; 122,1; 121,1; 109,1; 42,0; 30,9; 19,4; 13,6.



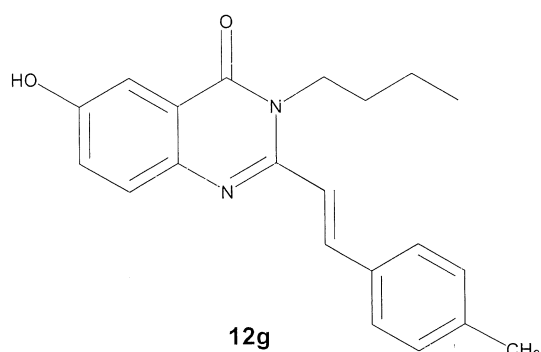
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,83 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,64 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,53 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,34 (dd, $J = 2,5$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,29 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,20 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 4,33 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,81-1,75 (m, 2H); 1,52-1,48 (m, 2H); 1,04 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 165,9; 163,5; 157,9; 151,5; 142,3; 140,1; 133,5; 130,9; 129,6; 125,5; 122,5; 120,3; 117,0; 110,3; 44,4; 32,2; 21,0; 14,1.



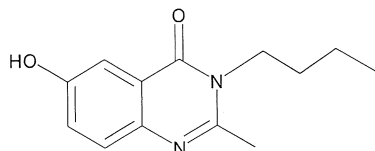
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,85 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,63-7,54 (m, 6H); 7,34-7,31 (m, 2H); 4,33 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H); 1,80-1,75 (m, 2H); 1,52-1,47 (m, 2H); 1,03 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 163,3; 157,9; 151,0; 142,4; 139,7; 136,3; 133,2; 130,5; 130,0; 125,4; 124,5; 122,6; 121,6; 110,6; 44,3; 32,3; 21,0; 14,1.



^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,85 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,64-7,55 (m, 6H); 7,34-7,31 (m, 2H); 4,33 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,82-1,76 (m, 2H); 1,52-1,48 (m, 2H); 1,03 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 163,3; 157,9; 151,1; 142,4; 139,7; 136,2; 133,2; 130,2; 129,9; 125,4; 124,4; 122,6; 121,5; 110,6; 44,3; 32,3; 21,0; 14,1.



^1H NMR (500 MHz, CD_3Cl_3 , δ (ppm)): 7,91 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H); 7,66 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,49 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H); 7,34 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,25-7,21 (m, 2H); 7,06 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 4,26 (m, 2H); 2,39 (s, 3H); 1,82-1,80 (m, 2H); 1,52-1,50 (m, 2H); 1,03 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 162,4; 154,4; 149,9; 142,2; 140,4; 139,9; 133,2; 129,7; 129,2; 127,7; 124,3; 121,4; 118,1; 110,6; 43,7; 31,3; 21,4; 20,3;



11

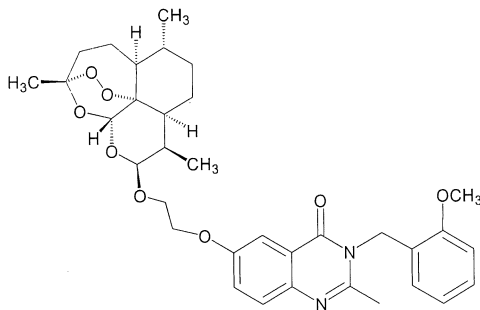
13,7.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,85 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,54 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 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); 1,74-1,70 (m, 2H); 1,50-1,46 (m, 2H); 1,0 (t, $J = 2,5$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 162,2; 155,2; 152,4; 141,4; 128,3; 124,2; 121,2; 110,1; 44,7; 30,7; 22,8; 20,3; 13,7.

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 **10e**



10e

Bước 1

Nhỏ từ từ $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,6 mL) vào dung dịch của dihydroartemisinin (2g, 7,04 mmol) và 2-brometanol (0,8 mL, 1,31 g) trong CH_2Cl_2 (10 mL); hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0-5°C trong 4 giờ; hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với Na_2CO_3 tới pH = 7 và chiết với CH_2Cl_2 (3 \times 20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 , cô quay dưới áp suất giảm. Cặn thu được kết tinh trong hỗn hợp dung môi n-hexan-etyl axetat thu được chất **6** (2,25 g, 82%);

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 5,46 (s, 1H); 4,82 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H); 4,13 (dt, $J = 10,8$ Hz, 5,4 Hz, 1H); 3,76 (dt, $J = 10,9$ Hz, 5,3 Hz, 1H); 3,53 (t, 2H); 2,66 (dt, $J = 7,7$ Hz, 5,7 Hz,

1H); 2,33 (tt, $J = 20,2$ Hz, 10,0 Hz, 1H); 2,04–1,97 (m, 1H); 1,91–1,80 (m, 2H); 1,73 (ddd, $J = 14,2$ Hz, 7,5 Hz, 3,6 Hz, 1H); 1,65–1,55 (m, 1H); 1,52–1,37 (m, 5H); 1,36–1,28 (m, 1H); 1,25–1,17 (m, 1H); 0,89 (m, 7H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 104,1; 102,0; 88,1; 81,0; 68,2; 52,6; 44,3; 37,4; 36,4; 34,6; 31,4; 30,8; 26,1; 24,6; 24,3; 20,3; 12,9.

Bước 2

Đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy anthranilic (hợp chất **7**) 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 **8**, được sử dụng luôn cho các bước tiếp theo;

Bước 3

Một hỗn hợp của **8** (1,0 g, 5,64 mmol) và 2-metoxy anilin (3 đương lượng) trong axit axetic (10 mL) được đun hồi lưu ở 120 °C trong 14 giờ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc lý lớp mỏng với hệ dung môi triển khai n- hexan-etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với NaHCO_3 50% đến pH = 7 và chiết với CH_2Cl_2 (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra và làm khan với Na_2SO_4 , cô quay loại dung môi ở áp suất giảm cho cạn; cặn sau đó được tiến hành chạy cột silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải n- hexan-etyl axetat cho chất **9e** (6-hydroxy-3-(2-metoxyphenyl)-2-metylquinazolin-4(3H)-on; chất rắn màu trắng, hiệu suất: 88%);

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 10,31 (brs, 1H); 7,59 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,52–7,48 (m, 1H); 7,44–7,41 (m, 2H); 7,35 (dd, $J = 2,5$ Hz, 7,5 Hz, 1H); 7,26 (dd, $J = 8,50$ Hz, 1H); 7,11 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); 3,76 (s, 3H); 2,04 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ (ppm)): 160,6; 155,8; 154,2; 151,3; 140,6; 130,6; 129,6; 128,2; 126,1; 123,9; 121,2; 112,4; 109,1; 55,7; 22,7.

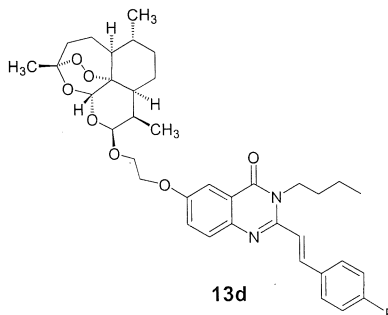
Bước 4

Một hỗn hợp của **6** (200 mg, 0,51 mmol), K_2CO_3 (76 mg, 0,56 mg) và KI (17 mg) trong DMF (10 mL) được khuấy ở 60°C trong 30 phút; chất **9e** (1,5 đương lượng) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được tiếp tục khuấy trong 10 giờ; hỗn hợp phản ứng sau đó được chiết với CH_2Cl_2 (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 và cô quay dưới áp suất giảm; cặn thu được được chạy sắc ký sử dụng cột silica gel, hệ dung môi rửa giải n- hexan-etyl axetat cho hợp chất **10e** (3-(2-metoxyphenyl)-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetyldecahydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]dioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on): Chất rắn màu trắng; hiệu suất: 57%.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7,64 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 7,62 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,49–7,46 (m, 1H); 7,36 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,21 (m, 1H); 7,13–7,11 (m, 1H); 7,10–7,08 (m, 1H); 5,30 (s, 1H); 4,89 (t, $J = 3,0$ Hz, 1H); 4,26–4,20 (m, 3H); 3,82–3,79 (m, 4H); 2,65–2,62 (m, 1H); 2,35 (dt, $J = 4,0$ Hz, 13,5 Hz, 1H); 2,19 (s, 3H); 2,06–2,02 (m, 1H); 1,89–1,85 (m, 1H); 1,77–1,74 (m, 1H); 1,73–1,68 (m, 2H); 1,51–1,37 (m, 5H); 1,27–1,20 (m, 2H); 0,93–0,85 (m, 7H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 161,8; 157,3; 154,7; 152,7; 142,3; 130,8; 129,3; 128,3; 126,5; 124,8; 121,6; 121,4; 112,3; 107,6; 104,1; 102,2;

88,0; 81,2; 67,9; 66,4; 55,8; 52,6; 44,5; 37,5; 36,5; 34,6; 30,9; 26,2; 24,7; 24,5; 23,3; 20,3; 13,0. ESI-HRMS tìm thấy: 593,28128; lý thuyết: $C_{33}H_{41}N_2O_8$ $[M + H]^+$: 593,28629.

Ví dụ 2: Quy trình tổng hợp chất **13d**



Bước 1: giống bước 2 trong quy trình tổng hợp chất 10e như đã được mô tả trong ví dụ 1.

Bước 2

Một hỗn hợp của **8** (1,0 g, 5,64 mmol) và n-butylamin (3 đương lượng) trong axit axetic (10 mL) được đun hồi lưu ở 120 °C trong 14 giờ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc lý lớp mỏng với hệ dung môi triển khai n-hexan-etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với $NaHCO_3$ 50% đến pH = 7 và chiết với CH_2Cl_2 (3×20 mL); pha hữu cơ được tách ra và làm khan với Na_2SO_4 , cô quay loại dung môi ở áp suất giảm cho cạn; cạn sau đó được tiến hành chạy cột silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải n-hexan-etyl axetat cho chất **11** (3-butyl-6-hydroxy-2-metylquinazolin-4-(3H)-on): chất rắn vàng sáng; hiệu suất: 92%.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)): 7,85 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, H-5); 7,54 (d, $J = 9,0$ Hz, H-8); 7,31 (dd, $J = 3,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H, H-7); 7,63 (brs, 1H); 4,09 (t, $J = 3,0$ Hz, 2H); 2,64 (s, 3H); 1,74-1,70 (m, 2H); 1,50-1,46 (m, 2H); 1,0 (t, $J = 2,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)): 162,2; 155,2; 152,4; 141,4; 128,3; 124,2; 121,2; 110,1; 44,7; 30,7; 22,8; 20,3; 13,7.

Bước 3

Một hỗn hợp của **11** (1,0 g, 4,34 mmol) trong axit axetic (10 mL) và 4-flobenzalđehit (2,5 đương lượng) được đun và khuấy ở nhiệt độ 140 °C trong 16 giờ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng sử dụng hệ dung môi n-hexan-etyl axetat = 1 : 1; hỗn hợp phản ứng sau đó được làm lạnh xuống nhiệt độ phòng; tinh thể hình thành được lọc, rửa với nước cất cho sản phẩm thô, kết tinh lại trong n-hexan : etyl axetat thu được **12d** ((E)-3-butyl-6-hydroxy-2-(4-fluorostyryl) quinazolin-4(3H)-on); chất rắn vàng sáng; hiệu suất 82%;

1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 7,83 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H, H- β); 7,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 7,64 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 7,53 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 7,34 (dd, $J = 2,5$ Hz, 9,0 Hz, 1H); 7,29 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,20 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H); 4,33 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,81-1,75 (m, 2H); 1,52-1,48 (m, 2H); 1,04 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ (ppm)): 165,9; 163,5; 157,9; 151,5; 142,3; 140,1; 133,5; 130,9; 129,6; 125,5; 122,5; 120,3; 117,0; 110,3; 44,4; 32,2; 21,0; 14,1.

Bước 4

Một hỗn hợp của hợp chất **6** (245 mg, 0,63 mmol), K₂CO₃ (129 mg, 0,95 mmol) và KI (21 mg, 0,13 mmol) trong DMF (10 mL) được khuấy ở 60°C trong 30 phút; hợp chất **12d** (1,5 đương lượng) điều chế ở trên được bổ sung vào và phản ứng được khuấy trong 12 giờ; hỗn hợp sau đó được chiết với CH₂Cl₂ (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄, cô quay dưới áp suất giảm thu được cặn; sắc ký cột silicagel với hệ dung môi n-hexan/etyl axetat thu được chất **13d** (3-butyl-2-((*E*)-4-florostyryl)-6-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđecahydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on); chất rắn màu trắng; hiệu suất: 43%;

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 7,92 (d, J = 15,0 Hz, 1H); 7,65-7,64 (d, J = 9,0 Hz, 2H); 7,59-7,56 (m, 2H); 7,34 (dd, J = 2,5 Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,11 (t, J = 9,0 Hz, 2H); 7,03 (d, J = 15,0 Hz, 1H); 5,49 (s, 1H); 4,91 (d, J = 3,5 Hz, 1H); 4,31-4,20 (m, 5H); 3,85-3,81 (m, 1H); 2,66-2,63 (m, 1H); 2,38 (dt, J = 4,0 Hz, 14,5 Hz, 1H); 2,06-2,02 (m, 1H); 1,90-1,86 (m, 2H); 1,82-1,76 (m, 1H); 1,73-1,64 (m, 1H); 1,56-1,44 (m, 7H); 1,28-1,21 (m, 4H); 1,02 (t, J = 7,5 Hz, 3H); 0,93-0,85 (m, 7H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 164,6; 162,6; 161,8; 157,6; 138,5; 137,2; 131,8; 129,5; 128,8; 125,0; 121,3; 116,2; 116,0; 107,2; 104,1; 102,2; 88,0; 81,2; 67,9; 66,4; 52,6; 44,5; 43,5; 37,5; 36,5; 34,7; 31,3; 30,9; 26,2; 24,8; 24,5; 20,3; 20,2; 14,0; 13,0. ESI-HRMS tìm thấy: 648,32101; lý thuyết: C₃₇H₄₆N₂O₇ [M + H]⁺: 648,32108.

Ví dụ 3: Thử nghiệm hoạt tính sinh học của các hợp chất thu được

Ví dụ 3a: Phương pháp nuôi cấy tế bào *in vitro*

Các dòng tế bào ung thư (TBUT) 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 ấm CO₂ ở điều kiện nhiệt độ 37°C, 5% CO₂.

Ví dụ 3b: 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 μ l) pha trong DMSO 10% được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ sàng lọc là 100 μ g/ml. Chất thử có hoạt tính được xác định IC_{50} nhờ dải nồng độ 100 μ g/ml, 20 μ g/ml, 4 μ g/ml và 0,8 μ g/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 μ l 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 μ l) 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 ấm CO_2 , tế bào được cố định vào đáy giếng bằng TCA trong 30 phút, được nhuộm bằng SRB trong 1 giờ ở $37^\circ C$. 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:

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

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

- DMSO 10% luôn được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính Table Curve. Chất thử nào có $IC_{50} < 20 \mu$ g/ml (với chất chiết thô hoặc với phân đoạn hóa học), hoặc $IC_{50} < 4 \mu$ g/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 lai hóa của artemisinin với quinazolinon có công thức (I) và (II) được thử tác dụng kháng với 2 dòng tế bào ung thư (TBUT) bao gồm SK-LU-1 (ung thư phổi) và MCF-7 (ung thư vú). Kết quả là hợp chất **10b** thể hiện hoạt tính kháng ung thư mạnh đối với cả 2 dòng tế bào ung thư phổi (SK-LU-1) và ung thư vú (MCF-7) ở IC_{50} lần lượt là 2,21 và 1,44 μM so với chất chuẩn Ellipticin (3,1 và 3,5 μM) dưới đây.

Hợp chất **10e** thể hiện hoạt tính kháng ung thư rất mạnh so với chất chuẩn Ellipticin đối với cả 2 dòng tế bào ung thư phổi (SK-LU-1) và ung thư vú (MCF-7) ở IC_{50} lần lượt là 1,81 và 1,67 μM .

Hợp chất **13d** thể hiện hoạt tính kháng ung thư rất mạnh nhất và mạnh hơn nhiều lần so với chất chuẩn Ellipticin đối với cả 2 dòng tế bào ung thư phổi (SK-LU-1) và ung thư vú (MCF-7) ở IC_{50} lần lượt là 1,62 và 0,77 μM . Kết quả cụ thể được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

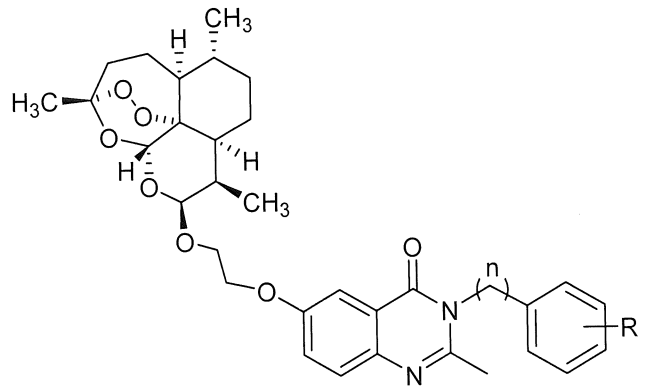
Bảng 2: Hoạt tính kháng ung thư *in vitro* của các hợp chất tổng hợp theo sáng chế.

STT	Chất	Hoạt tính độc tế bào (IC ₅₀ , μM)/dòng tế bào	
		SKLu-1	MCF-7
1	10a	5,75 ± 0,35	1,76 ± 0,05
2	10b	2,21 ± 0,12	1,44 ± 0,09
3	10c	8,20 ± 0,48	2,62 ± 0,07
4	10d	7,33 ± 0,33	2,81 ± 0,13
5	10e	1,81 ± 0,07	1,67 ± 0,07
6	10f	10,59 ± 0,31	4,17 ± 0,19
7	13a	2,24 ± 0,19	1,08 ± 0,09
8	13b	8,53 ± 0,92	1,39 ± 0,08
9	13c	11,30 ± 0,70	5,85 ± 0,46
10	13d	1,62 ± 0,09	0,77 ± 0,08
11	13e	18,32 ± 1,89	12,06 ± 0,59
12	13f	9,88 ± 0,34	10,17 ± 0,47
13	13g	3,96 ± 0,13	3,39 ± 0,23
Ellipticin		3,1 ± 0,04	3,5 ± 0,05

Chất chuẩn Ellipticin có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư phổi SK-LU-1 (ATCC-HTB-57) và ung thư vú MCF-7 (ATCC-HTB-22) với IC₅₀ lần lượt là 3,1 và 3,5 μM. Các giá trị là giá trị trung bình của 3 lần thử nghiệm.

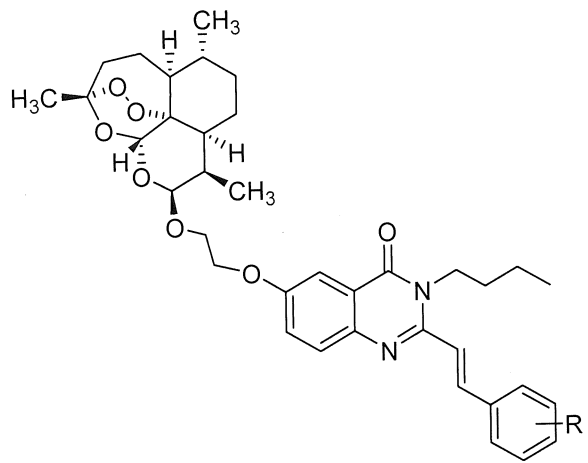
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất lai hóa của artemisinin với quinazolinon có công thức chung (I) và (II):



(I)

trong đó R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm: H; CH₃; Cl; F; OCH₃; n = 0 hoặc 1;



(II)

trong đó R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm: OCH₃; NO₂; F; Br; Cl; CH₃.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 2-metyl-3-(4-metylbenzyl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđecahydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **10a**).

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-(4-clobenzyl)-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđecahydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **10b**).

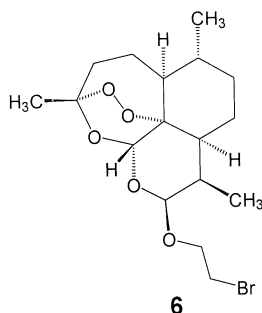
4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-(4-flophenyl)-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **10c**).
5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-(3-flophenyl)-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **10d**).
6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-(2-metoxyphephenyl)-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **10e**).
7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-benzyl-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **10f**).
8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-butyl-2-((*E*)-2-metoxystyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **13a**).
9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-butyl-2-((*E*)-2-nitrostyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)ethoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **13b**).
10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-butyl-2-((*E*)-3-nitrostyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **13c**).
11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-butyl-2-((*E*)-4-flostyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **13d**).
12. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-butyl-2-((*E*)-4-bromstyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **13e**).

13. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-butyl-2-((*E*)-4-clostyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetyldecahydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **13f**).

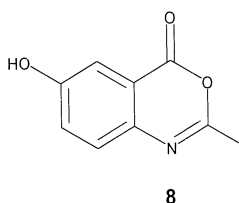
14. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 3-butyl-2-((*E*)-4-metylstyryl)-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetyldecahydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on (hợp chất **13g**).

15. Quy trình tổng hợp hợp chất **10e** theo điểm 6, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) nhỏ từ từ $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,6 mL) vào dung dịch của dihydroartemisinin (2g, 7,04 mmol) và 2-brometanol (0,8 mL, 1,31 g) trong CH_2Cl_2 (10 mL); hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0-5°C trong 4 giờ; hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với Na_2CO_3 tới pH = 7 và chiết với CH_2Cl_2 (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 , cô quay dưới áp suất giảm; cặn thu được kết tinh trong hỗn hợp dung môi n-hexan-etyl axetat thu được chất **6** (2,25 g, 82%);

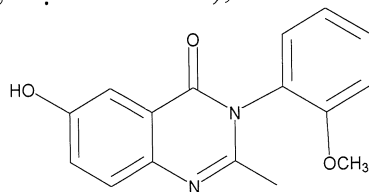


ii) đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy anthranilic (hợp chất **7**) trong anhydrit axetic ở 150 °C trong 2 giờ; hỗn hợp sau đó được đổ ra nước đá; tủa tạo thành được lọc, rửa bằng nước cất và làm khô trong chân không thu được chất **8**, được sử dụng luôn cho các bước tiếp theo;

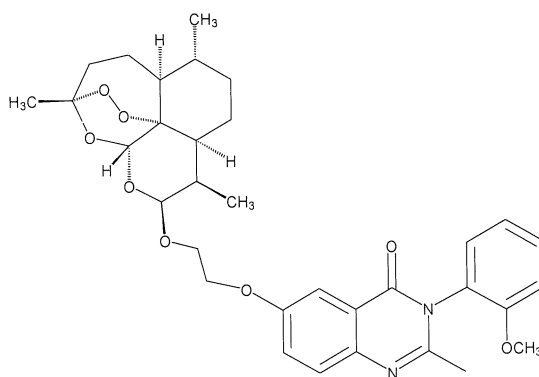


iii) đun hồi lưu hỗn hợp của hợp chất **8** (1,0 g, 5,64 mmol) và 2-metoxi anilin (3 đương lượng) trong axit axetic (10 mL) ở 120 °C trong 14 giờ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc lý lớp mỏng với hệ dung môi triển khai n-hexan-etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với NaHCO_3 50% đến pH = 7 và chiết với CH_2Cl_2 (3 ×

20 mL); pha hữu cơ được tách ra và làm khan với Na_2SO_4 , cô quay loại dung môi ở áp suất giảm cho cạn; cạn sau đó được tiến hành chạy cột silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải n- hexan-etyl axetat cho chất **9e** (6-hydroxy-3-(2-metoxyphe-nyl)-2-metylquinazolin-4(3H)-on; chất rắn màu trắng, hiệu suất: 88%);

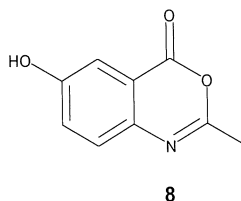
**9e**

iv) khuấy hỗn hợp của hợp chất **6** (200 mg, 0,51 mmol), K_2CO_3 (76 mg, 0,56 mg) và KI (17 mg) trong DMF (10 mL) được khuấy ở 60°C trong 30 phút; chất **9e** (1,5 đương lượng) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được tiếp tục khuấy trong 10 giờ; hỗn hợp phản ứng sau đó được chiết với CH_2Cl_2 (3×20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na_2SO_4 và cô quay dưới áp suất giảm; cạn thu được được chạy sắc ký sử dụng cột silica gel, hệ dung môi rửa giải n- hexan-etyl axetat cho hợp chất **10e** (3-(2-metoxyphe-nyl)-2-metyl-6-(2-(((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimetylđeca-hydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on): chất rắn màu trắng; hiệu suất: 57%.

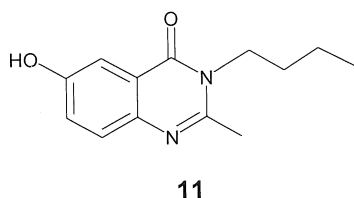
**10e**

16. Quy trình tổng hợp hợp chất **13d** theo điểm 11, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

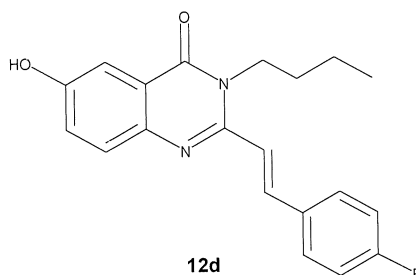
i) đun hồi lưu hỗn hợp của axit 5-hydroxy anthranilic (hợp chất **7**) trong anhydrit axetic ở 150°C trong 2 giờ; hỗn hợp sau đó được đổ ra nước đá; tủa tạo thành được lọc, rửa bằng nước cất và làm khô trong chân không thu được chất **8**, được sử dụng luôn cho các bước tiếp theo;



ii) đun hồi lưu hỗn hợp của **8** (1,0 g, 5,64 mmol) và n-butylamin (3 đương lượng) trong axit axetic (10 mL) ở 120 °C trong 14 giờ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc lý lớp mỏng với hệ dung môi triển khai n- hexan- etyl axetat (1 : 1); hỗn hợp phản ứng sau đó được trung hòa với NaHCO₃ 50% đến pH = 7 và chiết với CH₂Cl₂ (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra và làm khan với Na₂SO₄, cô quay loại dung môi ở áp suất giảm cho cạn; cạn sau đó được tiến hành chạy cột silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải n- hexan-etyl axetat cho chất **11** (3-butyl-6-hydroxy-2-metylquinazolin-4-(3H)-on): chất rắn vàng sáng; hiệu suất: 92%;

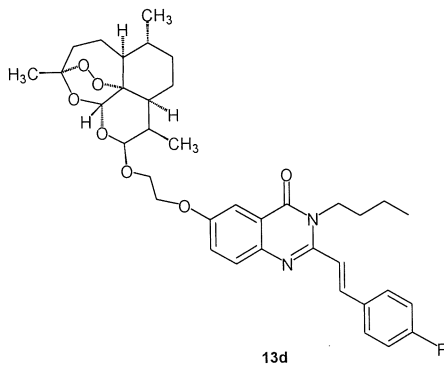


iii) đun hỗn hợp của **11** (1,0 g, 4,34 mmol) trong axit axetic (10 mL) và 4-flobenzalđehit (2,5 đương lượng) và khuấy ở nhiệt độ 140°C trong 16 giờ; phản ứng được kiểm tra bằng sắc ký bản mỏng sử dụng hệ dung môi n-hexan-etyl axetat = 1 : 1; hỗn hợp phản ứng sau đó được làm lạnh xuống nhiệt độ phòng; tinh thể hình thành được lọc, rửa với nước cất cho sản phẩm thô, kết tinh lại trong n-hexan : etyl axetat thu được **12d** ((E)-3-butyl-6-hydroxy-2-(4-fluorostyryl) quinazolin-4(3H)-on); chất rắn vàng sáng; hiệu suất 82%;

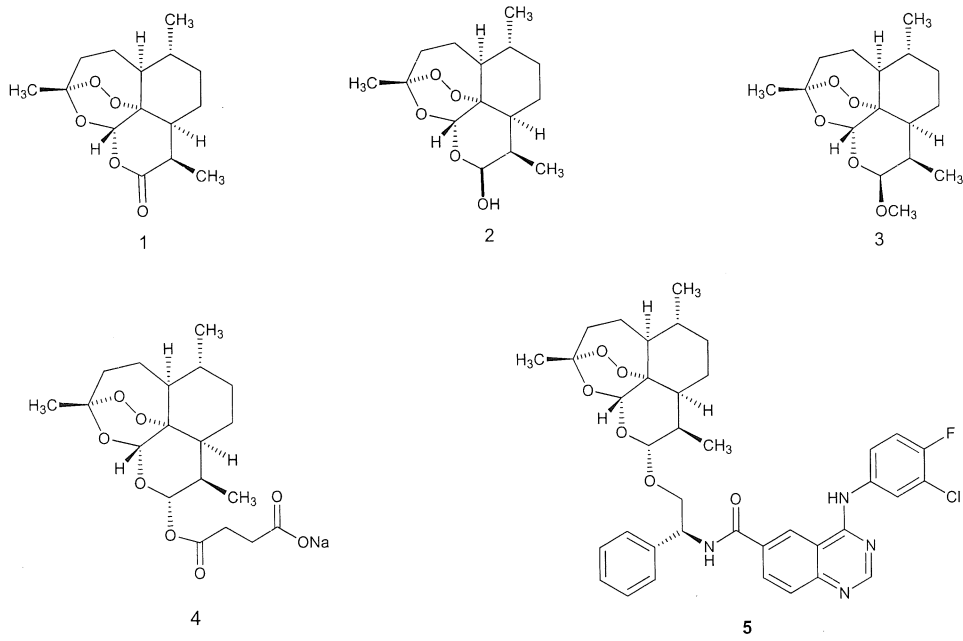


iv) khuấy hỗn hợp của hợp chất **6** (245 mg, 0,63 mmol), K₂CO₃ (129 mg, 0,95 mmol) và KI (21 mg, 0,13 mmol) trong DMF (10 mL) ở 60°C trong 30 phút; hợp chất **12d** (1,5 đương lượng) điều chế ở trên được bổ sung vào và phản ứng được khuấy trong 12 giờ; hỗn hợp sau đó được chiết với CH₂Cl₂ (3 × 20 mL); pha hữu cơ được tách ra, làm khan bằng Na₂SO₄, cô quay dưới áp suất giảm thu được cạn; sắc ký cột silicagel với hệ dung môi n-hexan/etyl axetat thu được chất **13d** (3-butyl-2-((E)-4-florostyryl)-6-(2-

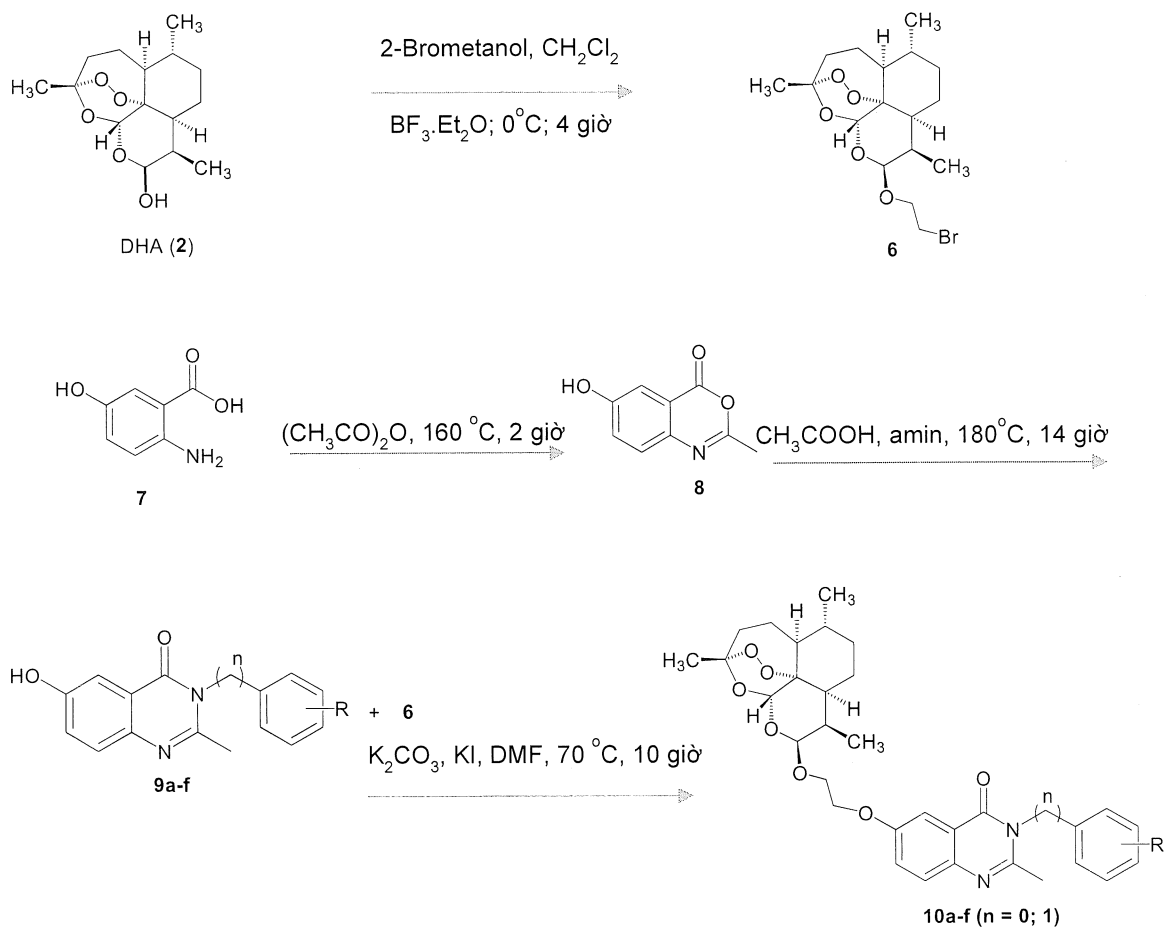
((((3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-3,6,9-trimethyldecahydro-12*H*-3,12-epoxy[1,2]đioxepino[4,3-*i*]isochromen-10-yl)oxy)etoxy)quinazolin-4(3*H*)-on); chất rắn màu trắng; hiệu suất: 43%.



Hình 1



Hình 2



Hình 3

