



Original Article

## Synthesis of some *N*-hydroxycinnamamide and *N*-hydroxybenzamide Derivatives Bearing Amide Bonds Targeting HDAC

Nguyen Cuong Quoc<sup>1</sup>, Le Dang Quang<sup>2</sup>, Nguyen Duy Tuan<sup>3</sup>, Nguyen Thi Nhu Y<sup>4</sup>,  
Tran Thanh Men<sup>1</sup>, Nguyen Trong Tuan<sup>1</sup>, Bui Thi Buu Hue<sup>1</sup>, Nguyen Vu Linh<sup>3</sup>,  
Lam Thi Ngoc Huong<sup>5</sup>, Tran Quang De<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Natural Sciences, Can Tho University, Can Tho, Vietnam

<sup>2</sup>Institute for Tropical Technology (ITT), Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>Nam Can Tho University, Can Tho, Vietnam

<sup>4</sup>Can Tho University of Technology, Can Tho, Vietnam

<sup>5</sup>Nguyen Khuyen High School, Soc Trang, Vietnam

Received 09 November 2021

Revised 28 December 2022; Accepted 22 September 2023

**Abstract:** Recently, hydroxamic acid has attracted considerable interest because of its ability to inhibit a variety of metal-containing enzymes such as metalloproteases, lipoxygenases, histone deacetylases, and cancer cells. For example, the US FDA has approved hydroxamic acid derivatives (vorinostat, belinostat, givinostat, and panobinostat) for treating various cancers. Based on the *N*-hydroxycinnamamide and *N*-hydroxybenzamide framework, the study described and synthesized *N*-hydroxycinnamamide and *N*-hydroxybenzamide derivatives bearing amide bonds as histone deacetylases enzyme inhibitors. The structures of the compounds were determined through modern NMR spectroscopy. The compounds were then molecularly docked to the active site of the HDAC6 enzyme, and the results showed that the compounds strongly bound to the zinc ion and key amino acids. These results suggest that the synthesized *N*-hydroxycinnamamide and *N*-hydroxybenzamide derivatives are potential molecular targeted therapies for HDAC-positive cancer in the future.

**Keywords:** Cancer, histone deacetylase, *N*-hydroxybenzamide, *N*-hydroxycinnamamide, molecular docking.

\* Corresponding author.

E-mail address: tqde@ctu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5406>

# Tổng hợp một số dẫn xuất *N*-hydroxycinnamamide và *N*-hydroxybenzamide mang liên kết amide định hướng ức chế enzyme HDAC

Nguyễn Cường Quốc<sup>1</sup>, Lê Đăng Quang<sup>2</sup>, Nguyễn Duy Tuấn<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Như Ý<sup>4</sup>,  
Trần Thanh Mến<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Tuấn<sup>1</sup>, Bùi Thị Bửu Huệ<sup>1</sup>, Nguyễn Vũ Linh<sup>3</sup>,  
Lâm Thị Ngọc Hương<sup>5</sup>, Trần Quang Đệ<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Kỹ thuật Nhiệt đới (IIT), Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,  
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Nam Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

<sup>4</sup>Trường Đại học Kỹ thuật Công nghệ Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

<sup>6</sup>Trường Trung học Phổ thông Nguyễn Khuyến, Vĩnh Châu, Sóc Trăng, Việt Nam

Nhận ngày 09 tháng 11 năm 2021

Chỉnh sửa ngày 28 tháng 12 năm 2022; Chấp nhận đăng ngày 22 tháng 9 năm 2023

**Tóm tắt:** Gần đây, hydroxamic acid đã thu hút được sự quan tâm đáng kể vì khả năng ức chế nhiều loại enzyme chứa kim loại như metalloproteases, lipoxygenase, histone deacetylase và chống lại các loại tế bào ung thư. Chẳng hạn, như vorinostat, belinostat, givinostat, panobinostat là các dẫn xuất của hydroxamic acid đã được FDA Hoa Kỳ chấp thuận sử dụng điều trị các bệnh ung thư khác nhau. Dựa trên khung sườn là *N*-hydroxycinnamamide và *N*-hydroxybenzamide, nghiên cứu đã mô tả quá trình tổng hợp các dẫn xuất *N*-hydroxycinnamamide và *N*-hydroxybenzamide mang liên kết amide, các hợp chất này có khả năng định hướng ức chế enzyme histone deacetylase (HDAC). Cấu trúc của các hợp chất được xác định thông qua phổ nghiệm hiện đại NMR. Các hợp chất sau đó được docking phân tử định hướng ức chế enzyme HDAC6, kết quả ban đầu cho thấy các hợp chất liên kết chặt chẽ với ion kẽm và các amino acid quan trọng tại trung tâm hoạt động. Những kết quả này cho thấy các dẫn xuất *N*-hydroxycinnamamide và *N*-hydroxybenzamide đã tổng hợp là mục tiêu phân tử tiềm năng trong tương lai cho điều trị nhiều loại bệnh ung thư có biểu hiện bởi các enzyme HDAC.

**Từ khóa:** Docking phân tử, histone deacetylase, *N*-hydroxybenzamide, *N*-hydroxycinnamamide, ung thư.

## 1. Mở đầu

Hydroxamic acid là một nhóm chức dễ dàng tạo phức chelate với các ion kim loại (Hình 1A), có thể được sử dụng để thiết kế các hợp chất ức chế mạnh mẽ các loại metalloenzyme, góp phần điều trị các loại bệnh khác nhau [1]. Các hợp chất chứa nhóm chức hydroxamic acid đều cho thấy nhiều tiềm năng

về hoạt tính sinh học, đặc biệt các hợp chất mang cấu trúc *N*-hydroxycinnamamide (Hình 1B) và *N*-hydroxybenzamide (Hình 1C) có hiệu quả chống lại một số dòng tế bào ung thư và khả năng kháng một số dòng vi khuẩn [2-6]. Hiện nay, điều trị ung thư là sự phối hợp bởi nhiều phương pháp: phẫu thuật, hóa trị, xạ trị, chăm sóc giảm nhẹ triệu chứng, dinh dưỡng, tâm lý xã hội,... Có thể nói, những năm gần đây các phương pháp điều trị tân tiến, kỹ thuật và thuốc mới trong điều trị ung thư được nghiên cứu và tiến bộ vượt bậc. Hóa trị liệu chống lại ung thư theo truyền thống bao gồm việc sử

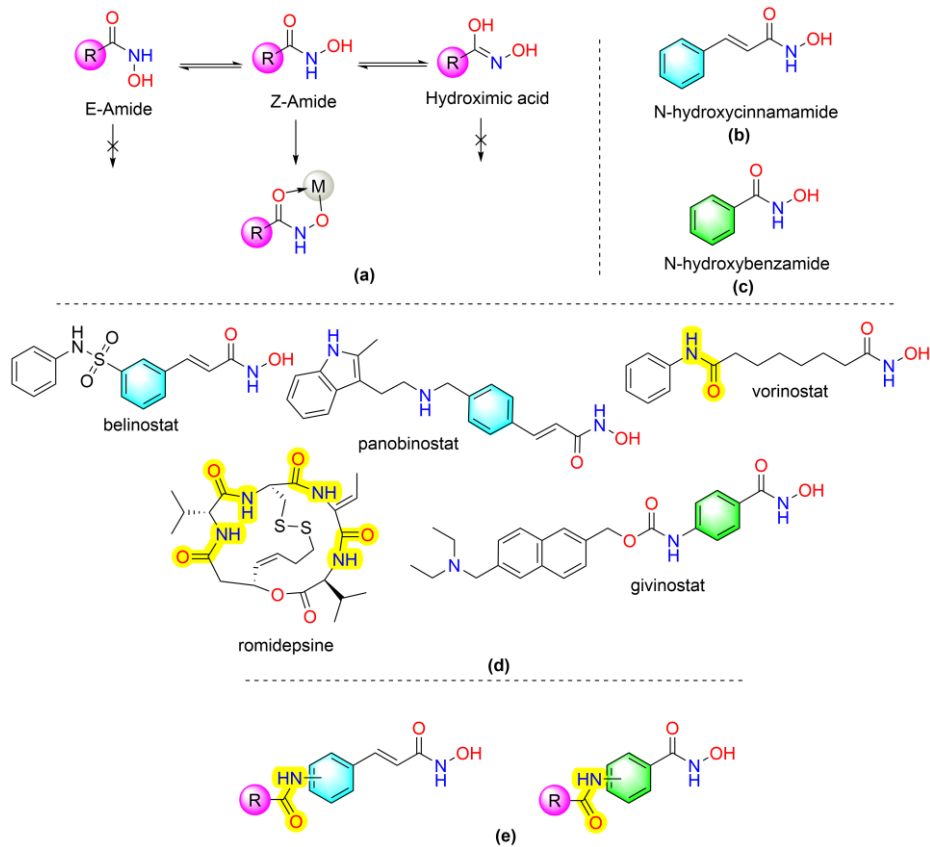
\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tqde@ctu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5406>

dụng các tác nhân gây độc tế bào như chất chống chuyển hóa hoặc thuốc nhắm mục tiêu DNA, tất cả đều bị giết chết một cách thiếu chọn lọc các tế bào bình thường cũng như các tế bào khối u. Do đó, những tác nhân này gây ra các tác dụng phụ nghiêm trọng nên thường giới hạn về liều lượng. Hầu hết các loại thuốc như vậy cũng không hiệu quả hoặc hiệu quả kém

đối với các khối u dạng rắn. Do đó, cần có các chất chống khối u mới dựa trên các cơ chế hoạt động thay thế để khắc phục những vấn đề này. Vì vậy, liệu pháp trị liệu hướng đích đã được ra đời bằng cách dùng các hoạt chất có khả năng ức chế một số mục tiêu gây ra các sự thay đổi dẫn đến ung thư đã cho thấy hiệu quả đáng kể trong việc chữa bệnh.



Hình 1. Hydroxamic acid: (a) Ba dạng đồng phân của hydroxamic acid và cấu trúc phối trí với kim loại của Z-hydroxamic acid; (b) Cấu trúc N-hydroxycinnamamide; (c) Cấu trúc N-hydroxybenzamide; (d) Các loại thuốc được FDA chấp thuận; (e) Dẫn xuất N-hydroxycinnamamide và N-hydroxybenzamide mang đơn vị amide.

Histone deacetylase (HDAC) là mục tiêu đầy hứa hẹn cho các can thiệp trị liệu, nhằm sửa đổi các trạng thái biểu sinh bất thường liên quan đến ung thư, tiểu đường và các bệnh khác ở người [7, 8]. Sự cân bằng của quá trình acetyl hóa histone được duy trì bởi hai loại enzyme, HAT (histone acetyltransferase) và HDAC [9]. Enzyme HAT xúc tác cho việc chuyển một nhóm acetyl từ acetyl-CoA sang nhóm  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> của dư lượng lysine trong protein [10], trong

khi đó HDAC có tác dụng đối lập với HAT. HDAC xúc tác cho quá trình deacetyl hoá nhóm  $\epsilon$ -N acetyl lysine amino acid ở phần đuôi của histone, làm đóng xoắn chromatin, do đó ức chế quá trình phiên mã [11]. Sự cân bằng giữa hoạt động của HAT và HDAC là điều kiện để các tế bào hoạt động bình thường [11]. Các chất ức chế HDAC ngăn chặn sự phát triển của tế bào và dẫn đến sự biệt hóa và quá trình chết rụng trong tế bào khối u. Thiết kế thuốc là một trong

những lĩnh vực mới nổi và quan trọng để khám phá thuốc. Các chất ức chế HDAC có thể được chia thành nhiều nhóm cấu trúc bao gồm hydroxamic acid, cyclic peptide, aliphatic carboxylic acid và benzamide. Trong đó, nhóm chất hydroxamic acid được nghiên cứu và quan tâm nhiều nhất. Cho đến nay, có năm chất ức chế HDAC nhóm hydroxamic acid tiêu biểu đã được các cơ quan FDA ở một số nước chấp thuận cho điều trị các bệnh liên quan đến ung thư như vorinostat, belinostat, givinostat, panobinostat và romidepsine (Hình 1D) [11-16].

Gần đây, các nghiên cứu về mối quan hệ giữa cấu trúc - hoạt động của các chất ức chế HDAC cho thấy rằng các hợp chất hydroxamic acid cụ thể là cấu trúc *N*-hydroxycinnamamide ổn định hơn các chất tương tự chuỗi mạch thẳng của hydroxamic acid cho hoạt tính phổ rộng hơn [17]. Đã có nhiều công bố về các hợp chất có cấu trúc *N*-hydroxycinnamamide và *N*-hydroxybenzamide cho khả năng ức chế hiệu quả enzyme HDAC, đặc biệt là khả năng ức chế chọn lọc HDAC. Cụ thể, nghiên cứu phát triển các chất ức chế pan-HDAC dựa trên *N*-hydroxycinnamamide chứa indole cho thấy tiềm năng vượt trội hơn so với vorinostat trên các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* [2]. Nghiên cứu các hợp chất *N*-hydroxybenzamide mang các nhóm thế kỵ nước phân nhánh cho thấy hoạt tính sinh học mạnh đối với một số dòng tế bào ung thư và hiệu quả ức chế chọn lọc giữa các loại HDAC nhóm I và II [3]. Gần đây, một số dẫn xuất *N*-hydroxybenzamide được tổng hợp bằng cách biến đổi từ cấu trúc của trichostatin A mang lại hiệu quả cao trong việc ức chế chọn lọc kép HDAC6/HDAC8 [4]. Ngoài ra, một loạt các hợp chất ức chế chọn lọc kép HDAC1/HDAC3 có cấu trúc *N*-hydroxycinnamamide cũng đã được công bố, hiệu quả đầy hứa hẹn của các hợp chất cũng đã được chứng minh bằng thử nghiệm kháng các khối u trong mô hình chuột xenograft [5]. Đặc biệt gần đây, một loạt các dẫn xuất của *N*-hydroxycinnamamide dựa trên cấu trúc của belinostat đã được chúng tôi tổng hợp cho thấy hiệu quả mạnh mẽ, khả năng hiệp đồng chống lại sự tăng sinh của dòng tế bào đa u tủy, và ức chế HDAC mạnh mẽ [18]. Trong một nghiên

cứu khác, chúng tôi cũng đã cố gắng thiết kế một loạt các dẫn xuất cho khả năng ức chế chọn lọc enzyme HDAC6 sử dụng 2-mercaptoquinazolinone làm nhóm nhận diện bề mặt [19]. Tiếp nối các kết quả nghiên cứu trên, trong nghiên cứu lần này chúng tôi đã thiết kế và tổng hợp một số các hợp chất dựa trên *N*-hydroxycinnamamide và mở rộng thêm một vài hợp chất *N*-hydroxybenzamide mang các đơn vị liên kết amide (Hình 1e) nhằm bổ sung vào kho dữ liệu các hợp chất có khả năng ức chế HDAC tiềm năng.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu và thiết bị

*Nguyên liệu:* Các hóa chất và dung môi sử dụng có nguồn gốc từ Merck, Nhật Bản, Ấn Độ, Trung Quốc và Việt Nam. Các dung môi ethyl acetate (EtOAc), *n*-hexane (Hex) có nguồn gốc từ Trung Quốc và Việt Nam được tinh chế bằng cách chưng cất phân đoạn tại nhiệt độ sôi của từng dung môi trước khi sử dụng. Các hoá chất có nguồn gốc từ Merck, Nhật Bản và Ấn Độ được sử dụng trực tiếp.

Sắc ký bản mỏng sử dụng bản nhôm silica gel 60 F<sub>254</sub> tráng sẵn độ dày 0,2 mm (Merck).

*Thiết bị:* phổ NMR được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 400 NMR Spetrometer (độ dịch chuyển hóa học  $\delta$  được tính theo ppm, hằng số tương tác *J* tính bằng Hz) tại Hàn Quốc. Ngoài ra, một số phổ NMR được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 300 NMR Spetrometer tại Đài Loan.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành tổng hợp các dẫn xuất *N*-hydroxycinnamamide và *N*-hydroxybenzamide theo hai quy trình được trình bày trong Hình 2 và Hình 3.

#### 2.2.1. Tổng hợp (*E*)-*m*-nitrocinnamic acid (2)

Cho malonic acid (1,04 g, 10 mmol) vào bình cầu 100 mL, thêm vào 3 mL pyridine và lắc đều. Sau đó, thêm tiếp 3-nitrobenzaldehyde (1,51 g, 10 mmol), đun hoàn lưu ở nhiệt độ 110 °C, trong vòng 2 giờ.

Sau khi phản ứng kết thúc, trung hòa acid dư bằng NaOH bão hòa, acid hóa lại bằng HCl

1N, có kết tủa trắng mịn xuất hiện. Làm lạnh và lọc lấy kết tủa, sấy khô. Thu được sản phẩm (**2**) dạng bột mịn có màu trắng (1,83 g, hiệu suất 95,0%). Hợp chất được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế bằng sắc ký cột silica gel. Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 12,56 (*s*, 1H,  $-\text{COOH}$ ), 8,46 (*s*, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 8,19 (*d*,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 8,12 (*d*,  $J = 7,6$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 7,68 (*d*,  $J = 16,4$  Hz, 1H,  $=\text{CH}-$ ), 7,66 (*t*,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 6,69 (*d*,  $J = 16,0$  Hz, 1H,  $=\text{CH}-$ ).

2.2.2. Tổng hợp methyl (*E*)-*m*-nitrocinnamate (**3**)

Sản phẩm **2** (10 mmol, 1,93 g) và 40 mL  $\text{CH}_3\text{OH}$  được thêm vào bình cầu 100 mL, sau đó thêm ba giọt  $\text{H}_2\text{SO}_4$  đậm đặc. Hỗn hợp được đun hoàn lưu ở nhiệt độ 80 °C. Sau 4 giờ hạ nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng và để yên phản ứng. Sau 24 giờ, thu được kết tủa trắng, cô quay đuôi bớt dung môi, trung hòa bằng  $\text{NaHCO}_3$  10%. Kết tủa trắng xuất hiện, tiến hành lọc kết tủa, rửa tủa với 100 mL  $\text{H}_2\text{O}$  thu được chất rắn **3** màu trắng (1,86 g, hiệu suất 90,0%). Hợp chất được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế bằng sắc ký cột silica gel. Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 8,37 (*d*,  $J = 1,8$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 8,24 (*dd*,  $J_1 = 2,1$  Hz,  $J_2 = 8,4$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 7,80 (*d*,  $J = 7,8$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 7,72 (*d*,  $J = 15,9$  Hz, 1H,  $=\text{CH}-$ ), 7,58 (*t*,  $J = 7,95$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 6,55 (*d*,  $J = 15,9$  Hz, 1H,  $=\text{CH}-$ ), 3,83 (*s*, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ).

2.2.3. Tổng hợp methyl (*E*)-*m*-aminocinnamate (**4**)

Hoà tan **3** (2,07 g, 10 mmol) và  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (7,90 g, 35 mmol) vào 300 mL  $\text{EtOH}$  khan trong bình cầu 500 mL. Đun hồi lưu hỗn hợp ở nhiệt độ 90 °C. Sau 3 giờ, theo dõi phản ứng bằng TLC đến khi không còn xuất hiện **3**, ngưng phản ứng, để nguội, trung hoà bằng  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bão hoà, hỗn hợp được chiết với  $\text{EtOAc}$ , cô đuôi dung môi thu được sản phẩm là dạng dầu màu vàng, để yên sản phẩm qua đêm thu được chất rắn màu vàng, kết tinh sản phẩm bằng ethanol lạnh thu được chất rắn màu vàng nhạt 1,66 g. Hợp chất được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế bằng sắc ký cột silica gel. Hiệu suất 93,5%. Dữ liệu

phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 7,60 (*d*,  $J = 15,9$  Hz, 1H,  $=\text{CH}-$ ), 7,17 (*t*,  $J = 7,65$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 6,92 (*d*,  $J = 7,8$  Hz, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 6,83-6,81 (*m*, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 6,68-6,72 (*m*, 1H,  $>\text{CH}-$ ), 6,37 (*d*,  $J = 15,9$  Hz, 1H,  $=\text{CH}-$ ), 3,79 (*s*, 1H,  $-\text{CH}_3$ ), 3,73 (*s*, 2H,  $-\text{NH}_2$ ).

2.2.4. Tổng hợp hợp chất có linker là cinnamoyl (**6c**, **6f**)

Hợp chất **4** (850 mg, 5 mmol) được khuấy trong hỗn hợp 3 mL DMF và  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1,38 g, 10 mmol), thêm từ từ **5** (5 mmol) vào hỗn hợp trên, phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Kết thúc phản ứng, thêm nước, trung hòa bằng HCl 1N thu được kết tủa, rửa tủa nhiều lần bằng nước và dung dịch  $\text{NaHCO}_3$  5% lạnh. Hoà tan chất rắn trong  $\text{EtOAc}$  và tiến hành kết tinh phân đoạn lại sản phẩm.

**Hợp chất 6c**: chất rắn màu vàng, 482 mg. Hiệu suất 31,1%.

**Hợp chất 6f**: chất rắn màu vàng, 428 mg. Hiệu suất 28,0%.

2.2.5. Tổng hợp hợp chất có linker là benzoyl (**9a-c**, **9f**)

Hợp chất **8** (1,65 mg, 10 mmol) được khuấy trong hỗn hợp 5 mL dung dịch  $\text{K}_2\text{CO}_3$  bão hoà, sau đó thêm từ từ **6** (10 mmol) vào hỗn hợp trên, phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 45 phút. Kết thúc phản ứng, thu được kết tủa trắng, rửa tủa nhiều lần bằng nước lạnh. Hoà tan chất rắn trong  $\text{EtOAc}$  và tiến hành kết tinh phân đoạn lại sản phẩm.

**Hợp chất 9a**: chất rắn màu trắng, 695 mg. Hiệu suất 26,0%.

**Hợp chất 9b**: chất rắn màu trắng, 840 mg. Hiệu suất 28,1%.

**Hợp chất 9c**: chất rắn màu trắng, 895 mg. Hiệu suất 30,0%.

**Hợp chất 9f**: chất rắn màu vàng nhạt, 746 mg. Hiệu suất 25,3%.

2.2.6. Tổng hợp các dẫn xuất hydroxamic acid **7c**, **7f**, **10a-c** và **10f**

Hoà tan (2,0 g, 35 mmol) KOH và (2,4 g, 35 mmol)  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  trong 15 mL  $\text{EtOH}$ . Hỗn hợp KOH (337 mg, 6 mmol) và amide (**6** và **9**) (0,2 mmol) trong 5 mL  $\text{EtOH}$  khan, được thêm vào tương ứng và khuấy ở nhiệt độ phòng. Sau 1 giờ, trung hoà hỗn hợp bằng dung

dịch HCl 2N. Để yên hỗn hợp ở nhiệt độ phòng, sau 24 giờ xuất hiện kết tủa, thu lấy kết tủa. Kết tinh lại sản phẩm trong EtOAc.

**Hợp chất 7c:** (*E*)-*N*-(3-(3-(hydroxyamino)-3-oxoprop-1-en-1-yl)phenyl)-3-methoxybenzamide: chất rắn màu trắng, 25 mg. Hiệu suất: 40,5%. Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 10,79 (*s*, 1H,  $-\text{OH}$ ), 10,27 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 9,03 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 8,08 (*s*, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,71 (*d*,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,71 (*d*,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,54-7,36 (*m*, 5H,  $5>\text{CH-}$ ), 7,27 (*d*,  $J = 7,2$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,15 (*d*,  $J = 8,0$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 6,45 (*d*,  $J = 16,0$  Hz, 1H,  $=\text{CH-}$ ), 3,83 (*s*, 3H,  $-\text{OMe}$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 165,9, 163,1, 159,7, 140,1, 138,8, 136,7, 135,7, 130,1, 129,7, 124,1, 122,0, 120,3, 119,7, 118,9, 117,9, 113,4, 55,8. HR-ESI-MS  $m/z$  282,1005  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , tính toán cho  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$  là 282,1004.

**Hợp chất 7f:** (*E*)-3-(3-cinnamidophenyl)-*N*-hydroxyacrylamide. Chất rắn màu trắng, 16 mg. Hiệu suất: 25,6%. Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 10,80 (*s*, 1H,  $-\text{OH}$ ), 10,32 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 9,04 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 7,99 (*s*, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,64-7,57 (*m*, 4H,  $4>\text{CH-}$ ), 7,46-7,35 (*m*, 5H,  $5>\text{CH-}$ ), 7,25 (*d*,  $J = 7,2$  Hz, 1H,  $>\text{CH}$ ), 6,86 (*d*,  $J = 15,6$  Hz, 1H,  $=\text{CH-}$ ), 6,45 (*d*,  $J = 15,6$  Hz, 1H,  $=\text{CH-}$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm): 164,2, 140,9, 140,3, 138,8, 138,7, 135,2, 135,2, 130,3, 129,9, 128,2, 122,6, 119,8 [20].

**Hợp chất 10a:** 4-benzamido-*N*-hydroxybenzamide. Chất rắn màu trắng, 20 mg. Hiệu suất: 40,5%. Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 11,10 (*s*, 1H,  $-\text{OH}$ ), 10,40 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 8,92 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 7,94 (*d*,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $2>\text{CH-}$ ), 7,83 (*d*,  $J = 8,4$  Hz, 2H,  $2>\text{CH-}$ ), 7,73 (*d*,  $J = 8,8$  Hz, 2H,  $>\text{CH-}$ ), 7,59 (*t*,  $J = 7,0$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,52 (*t*,  $J = 7,4$  Hz, 2H,  $2>\text{CH-}$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 166,3, 142,2, 135,2, 132,2, 128,9, 128,2, 128,1, 128,0, 120,0 [21].

**Hợp chất 10b:** *N*-(4-(hydroxycarbamoyl)phenyl)-2-methoxybenzamide. Chất rắn màu trắng, 24 mg. Hiệu suất: 42,3%.

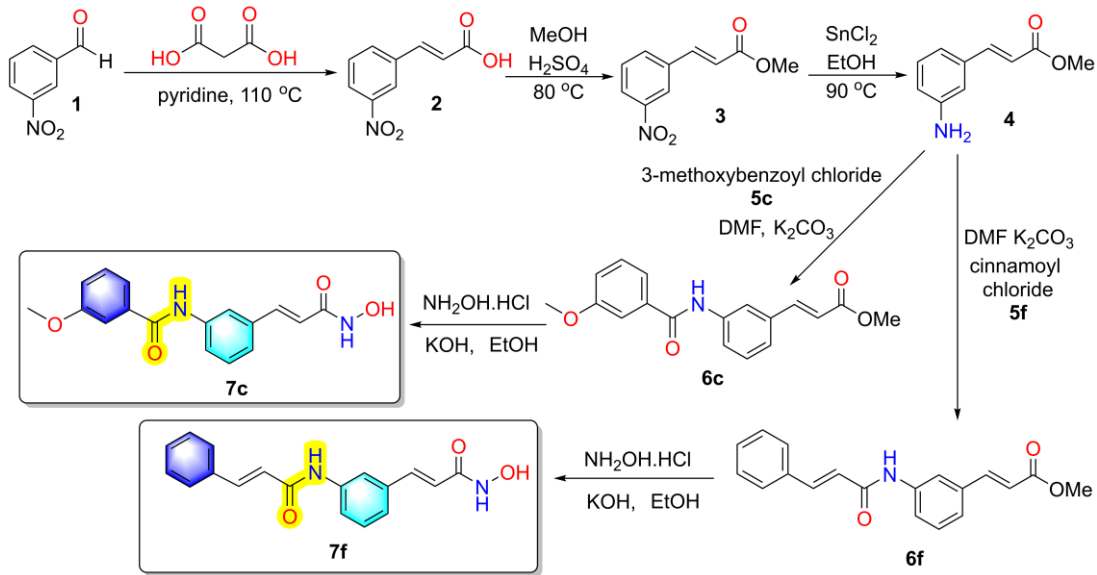
Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 11,10 (*s*, 1H,  $-\text{OH}$ ), 10,28 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 8,92 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 7,78 (*d*,  $J = 8,4$  Hz, 2H,  $2>\text{CH-}$ ), 7,72 (*d*,  $J = 8,4$  Hz, 2H,  $2>\text{CH-}$ ), 7,62 (*d*,  $J = 7,6$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,50 (*t*,  $J = 7,8$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,17 (*d*,  $J = 8,4$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,05 (*t*,  $J = 7,4$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 3,88 (*s*, 3H,  $-\text{OMe}$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 165,3, 164,4, 156,9, 142,0, 132,7, 130,1, 128,1, 127,9, 125,2, 120,9, 129,4, 112,5, 56,4. HR-ESI-MS  $m/z$  286,0958  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , tính toán cho  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$  là 286,0954.

**Hợp chất 10c:** *N*-(4-(hydroxycarbamoyl)phenyl)-3-methoxybenzamide. Chất rắn màu trắng, 18 mg. Hiệu suất: 30,6%. Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 11,11 (*s*, 1H,  $-\text{OH}$ ), 10,40 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 10,22 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 7,83 (*d*,  $J = 8,8$  Hz, 2H,  $2>\text{CH-}$ ), 7,74 (*d*,  $J = 8,4$  Hz, 2H,  $2>\text{CH-}$ ), 7,53 (*d*,  $J = 7,6$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,48 (*s*, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,44 (*t*,  $J = 7,8$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 7,15 (*dd*,  $J_1 = 2,4$  Hz,  $J_2 = 8,0$  Hz, 1H,  $>\text{CH-}$ ), 3,83 (*s*, 3H,  $-\text{OMe}$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 165,9, 159,6, 142,1, 136,5, 130,1, 127,9, 120,4, 120,1, 117,9, 113,4, 55,8. HR-ESI-MS  $m/z$  286,0954  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , tính toán cho  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$  là 286,0954.

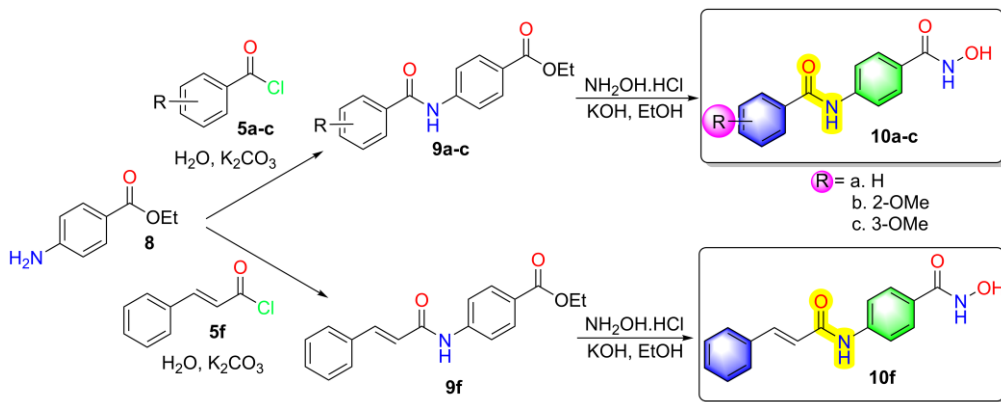
**Hợp chất 10f:** 4-cinnamido-*N*-hydroxybenzamide. Chất rắn màu vàng, 25 mg. Hiệu suất: 36,0%. Dữ liệu phổ:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, AcOH,  $\delta$  ppm): 11,10 (*s*, 1H,  $-\text{OH}$ ), 10,41 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 8,93 (*s*, 1H,  $>\text{NH}$ ), 7,77-7,75 (*m*, 4H,  $4>\text{CH-}$ ), 7,64-7,60 (*m*, 3H,  $3>\text{CH-}$ ), 7,47-7,39 (*m*, 3H,  $3>\text{CH-}$ ), 6,84 (*d*,  $J = 15,6$  Hz, 1H,  $=\text{CH-}$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 164,4, 164,2, 142,2, 141,1, 135,1, 130,4, 129,5, 128,3, 127,9, 122,5, 119,0. HR-ESI-MS  $m/z$  282,1005  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , tính toán cho  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$  là 282,1004. Nghiên cứu đã tổng hợp thành công sáu dẫn xuất hydroxamic acid dựa trên nền cấu trúc của *N*-hydroxycinnamide (Hình 2) và *N*-hydroxybenzamide (Hình 3). Hai quy trình tổng hợp các dẫn xuất lần lượt gồm 5 bước và 2 bước tương đối đơn giản, tác chất khởi đầu gần gũi, dễ tìm, phù hợp với quy mô phòng thí

thực nghiệm và nghiên cứu cơ bản tại Việt Nam. Sản phẩm được tinh chế và cấu trúc các sản phẩm được xác định bằng các phương pháp phổ

thực nghiệm hiện đại, kết quả được giải đoán cho thấy phù hợp với cấu trúc như đã được dự đoán ban đầu.



Hình 2. Quy trình tổng hợp các dẫn xuất dẫn xuất hydroxamic acid trên nền cấu trúc *N*-hydroxycinnamamide.

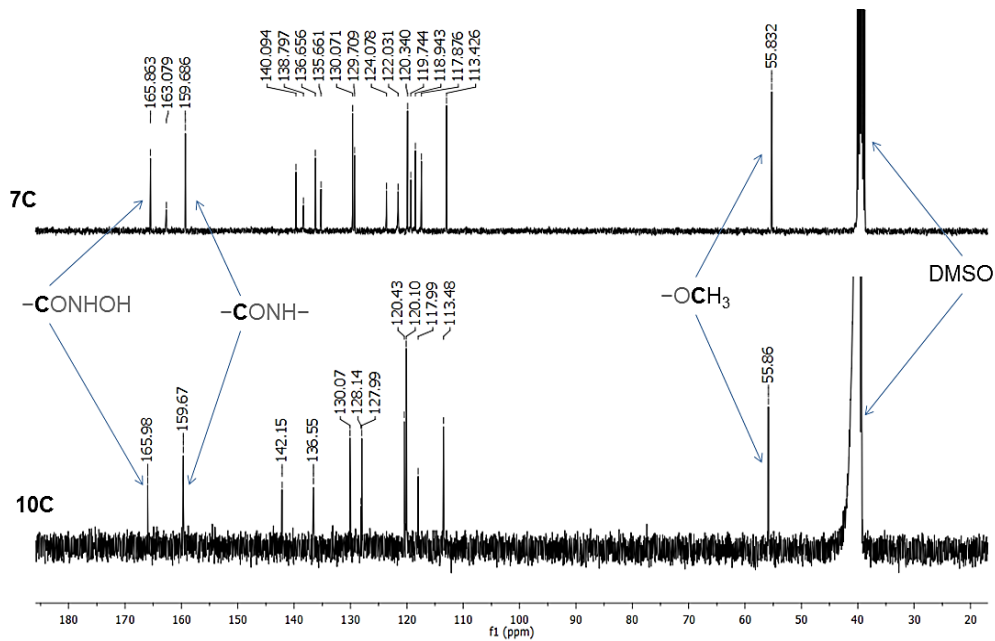


Hình 3. Quy trình tổng hợp dẫn xuất hydroxamic acid trên nền cấu trúc *N*-hydroxybenzamide.

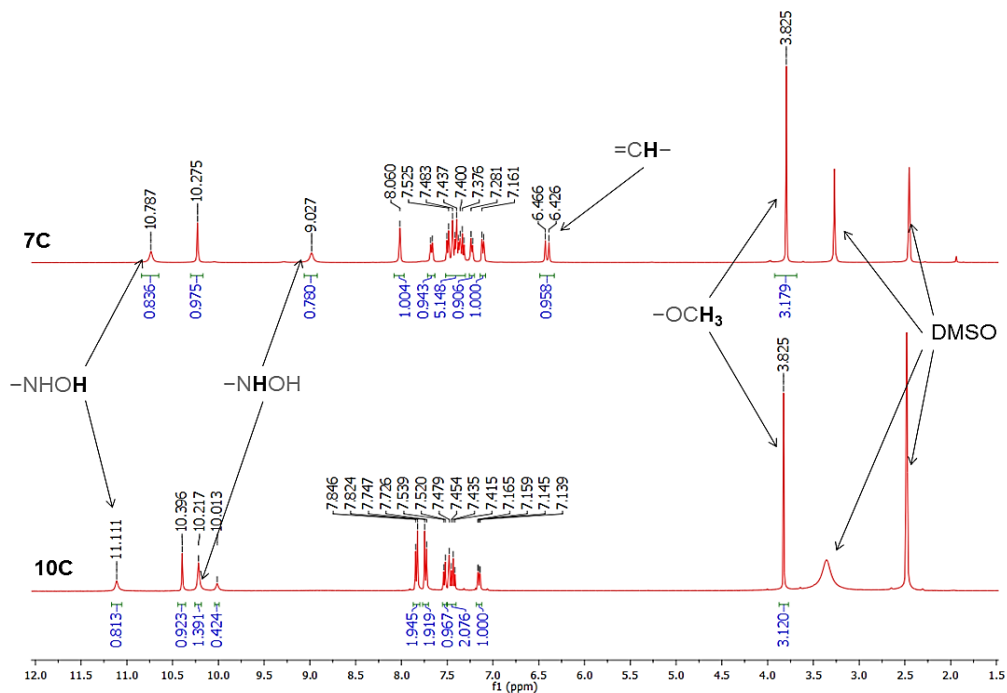
Cụ thể dữ liệu phổ tất cả các hợp chất đều cho thấy có sự hiện diện của hai peak tín hiệu *singlet* riêng lẻ với cường độ tích phân bằng 1 tại vùng từ trường thấp với độ dịch chuyển hoá học từ 10,80-11,10 ppm ( $-\text{OH}$ ) và 8,93-10,22 ppm ( $>\text{NH}$ ) đặc trưng cho các proton của nhóm chức hydroxamic acid. Ngoài ra, trên dữ liệu phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR còn cho thấy xuất hiện của một peak tín hiệu ứng với 1C tại vùng từ trường thấp có độ dịch chuyển hoá học khoảng 164,2-165,5 ppm

đặc trưng cho C của nhóm carbonyl ( $\text{C}=\text{O}$ ) trên nhóm hydroxamic acid. Từ đó khẳng định tất cả các hợp chất đều chứa một nhóm hydroxamic acid trong cấu trúc. Các dẫn xuất có chứa liên kết đôi của cinnamoyl trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR đều cho thấy có sự hiện diện của cộng hưởng từ tại vị trí khoảng 6,45-6,80 ppm với giá trị tích phân bằng 1 và hằng số ghép cặp bằng khoảng 16,0 Hz đặc trưng cho các proton dạng *E* trên liên kết đôi  $\text{C}=\text{C}$  của cấu trúc của cinnamoyl.





Hình 4. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz) của **7c** và **10c**.



Hình 5. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz) của **7c** và **10c**.

Các dẫn xuất mang nhóm thế methoxy ( $-\text{OMe}$ ) đều có sự xuất hiện của các cộng hưởng từ trên phổ NMR; tín hiệu *singlet* với giá

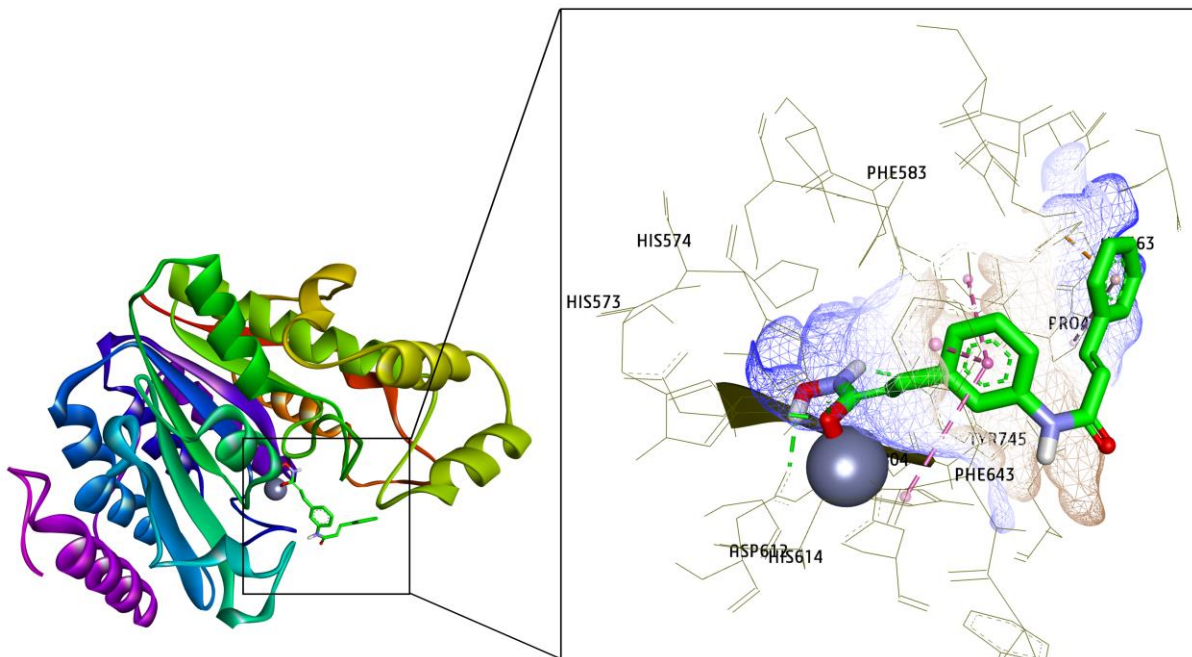
trị tích phân bằng 3, tại vùng từ trường cao có độ dịch chuyển hoá học từ 3,83-3,88 ppm được quy kết cho các proton trên nhóm methoxy



(phổ  $^1\text{H-NMR}$ ) và trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  tại vùng từ trường cao có sự hiện diện của tín hiệu cộng hưởng từ tại vị trí 55,8-56,4 ppm được quy kết cho carbon của nhóm methoxy. Các tín hiệu cộng hưởng trên hai vòng phenyl cũng được quan sát thấy trên phổ đồ có độ dịch chuyển khoảng 7,00 ppm đến khoảng 9,00 ppm. Hình 4 và Hình 5 mô tả các tín hiệu cộng hưởng từ đặc trưng của hai hợp chất đại diện **7c** và **10c**, các hợp chất còn lại đều có dữ liệu phổ tương tự. Từ đó giúp khẳng định các hợp chất đã được tổng hợp thành công và các cấu trúc phù hợp như định hướng cho các hợp chất hydroxamic ban đầu.

Các dẫn xuất được docking vào enzyme HDAC6 (5G0H) (cấu trúc được lấy từ cơ sở dữ liệu Protein data bank <https://www.rcsb.org/>), điều này giúp định hướng sàng lọc khả năng ức chế enzyme HDAC của các dẫn xuất. Kết quả cho thấy tất cả các hợp chất đều tham gia tương tác với một số amino acid quan trọng và tạo phức với ion  $\text{Zn}^{2+}$  tại tâm hoạt động của enzyme

(Bảng 1). Các kết quả này cho thấy có sự tương đồng với mô hình docking phân tử trên HDAC6 (5EEN) đã được chúng tôi công bố trước đây [18], trong công bố đó, các dẫn xuất tương tự belinostat đã được gắn vào trung tâm hoạt động HDAC6 và khả năng ức chế đã được kiểm chứng lại bằng các mô hình *in vitro*. Ngoài ra kết quả cũng cho thấy có sự tương đồng với mô hình gắn kết với HDAC6 (5EEI) khác của chúng tôi về các hợp chất ức chế chọn lọc HDAC6, các kết quả đã được kiểm chứng thông qua các mô hình lý thuyết và thực nghiệm [19]. Đặc biệt trong nghiên cứu này, dẫn xuất **7f** được dự đoán là có tiềm năng ức chế HDAC6 tốt nhất trong số các hợp chất tổng hợp được với mức năng lượng được dự đoán thấp nhất (-8,2 kcal/mol) (Hình 6). Tuy nhiên mức chênh lệch năng lượng giữa các dẫn xuất không đáng kể vì vậy cần có những đánh giá chi tiết hơn bằng thực nghiệm trên các mô hình *in vitro* và *in vivo* trong tương lai để đánh giá hoạt tính của các dẫn xuất một cách chính xác hơn.



Hình 6. Dẫn xuất **7f** tương tác với HDAC6 tại vị trí hoạt động (ion  $\text{Zn}^{2+}$  được biểu diễn bằng quả cầu màu xám).

Bảng 1. Kết quả docking các dẫn xuất tại trung tâm hoạt động của HDAC6

Ligand	Năng lượng dự đoán (kcal/mol)	Các amino acid tương tác tại trung tâm hoạt động
<b>7c</b>	-8,12	His573, His614, Phe643, Phe583, Ser531, Leu712, Pro464, Gly582
<b>7f</b>	-8,20	His573, His574, Asp612, Phe583, Phe643, Phe614, Pro464, His463
<b>10a</b>	-7,72	His573, His574, Asp612, Phe583, Phe642, Leu712, His614
<b>10b</b>	-7,49	His574, His614, Tyr745, Phe643, Phe583, Ser531, Pro464, Leu712
<b>10c</b>	-7,99	Asp612, Gly582, Phe583, Phe643, His614, Leu712, Phe642
<b>10f</b>	-7,78	Leu712, His614, Phe583, Phe643, Asp612, His573
Belinostat	-8,75	Tyr745, His574, Phe643, His614, Phe583, Leu712

*Ghi chú:* các tương tác có amino acid giống với sự tương tác của belinostat thì được in đậm.

### 3. Kết luận

Nghiên cứu đã tổng hợp sáu dẫn xuất hydroxamic acid dựa trên *N*-hydroxycinnamamide và *N*-hydroxybenzamide với đơn vị liên kết là amide, định hướng cho ức chế HDAC. Trong đó, 4 hợp chất (**7c**, **10b**, **10c** và **10f**) là các hợp chất mới, lần đầu tiên được tổng hợp và công bố dữ liệu. Nghiên cứu docking các dẫn xuất vào enzyme HDAC6 đã cho thấy các dẫn xuất đều có khả năng tương tác vào trung tâm hoạt động, tuy nhiên cần phải đánh giá thêm các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* để góp phần hỗ trợ cho kết quả đáng tin cậy hơn.

### Lời cảm ơn

Các tác giả chân thành cảm ơn Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ cơ sở vật chất cho các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

### Tài liệu tham khảo

- [1] E. M. Muri, M. J. Nieto, R. D. Sindelar, J. S. Williamson, Hydroxamic Acids as Pharmacological Agents, *Current Medicinal Chemistry*, Vol. 9, No. 17, 2002, pp. 1631-1653.
- [2] Y. Zhang, P. Yang, C. J. Chou, C. Liu, X. Wang, W. Xu, Development of *N*-Hydroxycinnamamide-Based Histone Deacetylase Inhibitors with An Indole-Containing Cap Group, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 4, No. 2, 2013, pp. 235-238.
- [3] H. Su, L. Yu, A. Nebbioso, V. Carafa, Y. Chen, L. Altucci, Q. You, Novel *N*-Hydroxybenzamide-Based HDAC Inhibitors with Branched CAP Group, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 19, No. 22, 2009, pp. 6284-6288.
- [4] D. A. Rodrigues, G. A. F. Silva, A. C. Ferreira, R. A. Fernandes et al., Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Novel *N*-Acylhydrazone Derivatives as Potent Histone Deacetylase 6/8 Dual Inhibitors, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 59, No. 2, 2016, pp. 655-670.
- [5] X. Li, E. S. Inks, X. Li, J. Hou, C. J. Chou, J. Zhang et al., Discovery of the First *N*-Hydroxycinnamamide-Based Histone Deacetylase 1/3 Dual Inhibitors with Potent Oral Antitumor Activity, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 57, No. 8, 2014, pp. 3324-3341.
- [6] Y. Zhou, Y. Dun, H. Fu, L. Wang, X. Pan, X. Yang, H. Fang, Design, Synthesis, and Preliminary Bioactivity Evaluation of *N*-Benzylpyrimidin-2-amine Derivatives as Novel Histone Deacetylase Inhibitor, *Chemical Biology and Drug Design*, Vol. 90, No. 5, 2017, pp. 936-942.
- [7] S. M. L. Gantt, C. Decroos, M. S. Lee et al., General Base-General Acid Catalysis in Human Histone Deacetylase 8, *Biochemistry*, Vol. 55, No. 5, 2016, pp. 820-832.
- [8] Y. X. Huang, J. Zhao, Q. H. Song et al., Virtual Screening and Experimental Validation of Novel Histone Deacetylase Inhibitors, *BMC Pharmacology and Toxicology*, Vol. 17, No. 1, 2016, pp. 1-14.
- [9] Y. Li, E. Seto, HDACs and HDAC Inhibitors in Cancer Development and Therapy, *Cold Spring*

- Harbor Perspectives in Medicine, Vol. 6, No. 10, 2016, pp. a026831.
- [10] J. E. Bolden, M. J. Peart, R. W. Johnstone, Anticancer Activities of Histone Deacetylase Inhibitors, *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 5, No. 9, 2006, pp. 769-784.
- [11] R. W. Johnstone, Histone-Deacetylase Inhibitors: Novel Drugs for Treatment of Cancer, *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 1, No. 4, 2002, pp. 287-299.
- [12] S. Grant, C. Easley, P. Kirkpatrick, Vorinostat, *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 6, No. 1, 2007, pp. 21-22.
- [13] R. M. Poole, Belinostat: First Global Approval, *Drugs*, Vol. 74, No. 13, 2014, pp. 1543-1554.
- [14] K. P. G. Jones, Panobinostat: First Global Approval, *Drugs*, Vol. 75, No. 6, 2015, pp. 695-704.
- [15] E. M. Bertino, G. A. Otterson, Romidepsin: A Novel Histone Deacetylase Inhibitor for Cancer, *Expert Opinion on Investigational Drugs*, Vol. 20, No. 8, 2011, pp. 1151-1158.
- [16] F. Angeletti, G. Fossati, A. Pattarozzi et al., Inhibition of Autophagy Pathway Synergistically Potentiates the Cytotoxic Activity of Givinostat (ITF2357) on Human Glioblastoma Cancer Stem Cells, *Frontiers in Molecular Neuroscience*, Vol. 9, 2016, pp. 107.
- [17] E. Pontiki, D. H. Litina, Histone Deacetylase Inhibitors (HDACIs), Structure-Activity Relationships: History and New QSAR Perspectives, *Medicinal Research Reviews*, Vol. 32, No. 1, 2012, pp. 1-165.
- [18] H. P. Nguyen, Q. D. Tran, C. Q. Nguyen et al., Anti-Multiple Myeloma Potential of Resynthesized Belinostat Derivatives: An Experimental Study on Cytotoxic Activity, Drug Combination, and Docking Studies, *RSC Advances*, Vol. 12, No. 34, 2022, pp. 22108-22118.
- [19] H. T. B. Bui, P. H. Nguyen, Q. M. Pham et al., Target Design of Novel Histone Deacetylase 6 Selective Inhibitors with 2-Mercaptoquinazolinone as the Cap Moiety, *Molecules*, Vol. 27, No. 7, 2022, pp. 2204.
- [20] A. Mai, S. Massa, R. Pezzi, S. Valente, P. Loidl, G. Brosch, Synthesis and Biological Evaluation of 2-, 3-, and 4-Acylaminocinnamyl-*N*-hydroxyamides as Novel Synthetic HDAC Inhibitors, *Medicinal Chemistry*, Vol. 1, No. 3, 2005, pp. 245-254.
- [21] Q. Lu, D. S. Wang, C. S. Chen, Y. D. Hu, C. S. Chen, Structure-Based Optimization of Phenylbutyrate-Derived Histone Deacetylase Inhibitors, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 48, No. 17, 2005, pp. 5530-5535.