



Original Article

Design and Synthesis of New Combretastatin A-4 Derivatives Containing Naphthothiophene Based on the Structural Rigidification Strategy

Hoang Thi Phuong^{1,2}, Nguyen Ha Thanh^{1,2,*}, Nguyen Thi Nga^{3,*}, Dang Thi Tuyet Anh^{2,4}, Le Nhat Thuy Giang¹, Nguyen Thi Quynh Giang¹, Dang Thi Mai¹, Cao Thi Hue⁵, Nguyen Tuan Anh^{1,2}, Nguyen Thanh Tra¹, Nguyen Van Tuyen^{1,2,*}

¹*Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Hanoi, Vietnam*

²*Graduate University of Science and Technology, Institute of Chemistry,
Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Hanoi, Vietnam*

³*Hanoi Medicinal College, 35 Doan Thi Diem, O Cho Dua, Hanoi, Vietnam*

⁴*University of Transport Technology, 54 Trieu Khuc, Thanh Liet, Hanoi, Vietnam*

⁵*Thanh Do University, Km15, National Highway 32, Hoai Duc, Hanoi, Vietnam*

Received 11th June 2026

Revised 19th October 2026; Accepted 28th October 2026

Abstract: Six new combretastatin A-4 derivatives containing a naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione core were successfully synthesized via a two-step procedure. This approach involved a multi-component reaction to generate dihydrofuranonaphthoquinone intermediates, followed by a sulfur-mediated oxidative transformation of the dihydrofuran scaffold into the corresponding thiophene derivatives. The structures of all synthesized compounds were characterized using IR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR spectroscopy. In vitro cytotoxicity assays against the A549 lung cancer cell line revealed that five out of the six derivatives exhibited moderate to strong growth inhibitory activity, with IC₅₀ values ranging from 3.40 ± 0.24 to 46.46 ± 1.63 μM. The fluorinated derivatives **4b**, **4c**, and **4e** exhibited the strongest cytotoxicity against A549 cells, with IC₅₀ values of 3.40 ± 0.24, 3.69 ± 0.35, and 3.99 ± 0.17 μM, respectively, and were evaluated via molecular docking into the colchicine binding site (CBS) of tubulin. The results demonstrated that all three compounds formed interactions within the CBS of tubulin, displaying binding energies of -9.2, -9.0, and -8.7 kcal·mol⁻¹, respectively. The molecular docking results correlated well with the experimental cytotoxic activity. ADMET predictions revealed that **4e** possessed a more favorable pharmacokinetic profile regarding gastrointestinal absorption and acute toxicity, whereas **4c** better satisfied drug-likeness criteria. Overall, these combretastatin A-4 derivatives represent a novel class of bioactive scaffolds with promising potential for further structural optimization in anticancer drug development.

Keywords: Combretastatin A-4 derivatives; Naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione; Structural rigidification; A549 cytotoxicity; Colchicine-binding site; Molecular docking; ADME profiling.

* Corresponding author.

E-mail address: ngvtuyen@hotmail.com, hathanhnguyen1512@gmail.com, nguyenngapdt@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.6022>

Thiết kế và tổng hợp các dẫn chất combretastatin A-4 mới chứa hệ vòng naphthothiophene dựa trên chiến lược cứng nhắc hóa cấu trúc

Hoàng Thị Phương^{1,2}, Nguyễn Hà Thanh^{1,2,*}, Nguyễn Thị Nga^{3,*}, Đặng Thị Tuyết Anh^{2,4}, Lê Nhật Thùy Giang¹, Nguyễn Thị Quỳnh Giang¹, Đặng Thị Mai¹, Cao Thị Huệ⁵, Nguyễn Tuấn Anh^{1,2}, Nguyễn Thanh Trà¹, Nguyễn Văn Tuyền^{1,2,*}

¹*Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18 Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam*

²*Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18 Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam*

³*Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội, 35 Đoàn Thị Điểm, Ô Chợ Dừa, Hà Nội, Việt Nam*

⁴*Trường Đại học Công nghệ giao thông vận tải, 54 Triều Khúc, Thanh Liệt, Hà Nội, Việt Nam*

⁵*Trường Đại học Thành Đô, Km 15 QL32, Hoài Đức, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 11 tháng 6 năm 2026

Chỉnh sửa ngày 19 tháng 10 năm 2026; Chấp nhận đăng ngày 28 tháng 10 năm 2026

Tóm tắt: Sáu dẫn xuất combretastatin A-4 mới chứa hệ vòng naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione đã được tổng hợp thành công thông qua quy trình hai bước bao gồm phản ứng đa thành phần để tạo ra các chất trung gian dihydrofuranonaphthoquinone, sau đó chuyển hóa chất trung gian này thành dẫn chất thiophene tương ứng bằng cách sử dụng lưu huỳnh nguyên tố. Cấu trúc của tất cả các hợp chất tổng hợp được xác định bằng phổ IR, ¹H-NMR và ¹³C-NMR. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư phổi A549 cho thấy năm trong sáu dẫn xuất **4** thể hiện hoạt tính ức chế tăng trưởng từ trung bình đến mạnh, với giá trị IC₅₀ dao động từ 3,40 ± 0,24 đến 46,46 ± 1,63 μM. Các dẫn chất chứa fluor **4b**, **4c** và **4e** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh nhất trên dòng tế bào ung thư phổi A549, với giá trị IC₅₀ lần lượt là 3,40 ± 0,24; 3,69 ± 0,35 và 3,99 ± 0,17 μM đã được nghiên cứu docking phân tử với vùng liên kết colchicine (CBS) của tubulin. Kết quả cho thấy cả ba hợp chất đều tạo liên kết với CBS của tubulin, với năng lượng liên kết lần lượt là -9,2; -9,0 và -8,7 kcal·mol⁻¹. Kết quả nghiên cứu docking phù hợp với kết quả hoạt tính gây độc tế bào thực nghiệm. Dự đoán ADMET cho thấy **4e** có hồ sơ được động học thuận lợi hơn về khả năng hấp thu đường tiêu hóa và độc tính cấp, trong khi **4c** đáp ứng tốt hơn các tiêu chí về tính chất giống thuốc. Nhìn chung, các dẫn xuất combretastatin A-4 thiết kế trong nghiên cứu này đại diện cho những bộ khung cấu trúc mới tiềm năng trong định hướng tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học kháng ung thư.

Từ khóa: Dẫn xuất combretastatin A-4; Naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione; Chiến lược cứng nhắc hóa cấu trúc; Gây độc tế bào trên dòng A549; Vùng liên kết colchicine; Molecular docking; Đánh giá ADME.

1. Mở đầu

Microtubule được tạo ra thông qua quá trình polyme hóa các dị nhị hợp (heterodimer) của

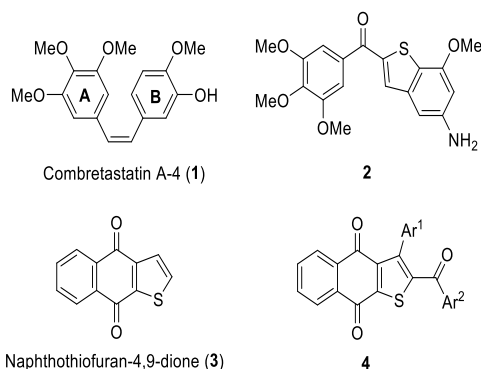
α,β-tubulin, là một mục tiêu hấp dẫn trong việc phát triển các loại thuốc chống ung thư mới nhờ vai trò thiết yếu của chúng trong quá trình nguyên phân và phân chia tế bào [1]. Hiện nay, một số loại thuốc chống ung thư như vincristine, colchicine và taxane gây ức chế quá trình tăng sinh tế bào bằng cách ức chế quá trình polyme hóa tubulin và ngăn chặn sự hình

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: ngvtuyen@hotmail.com,
hathanhnguyen1512@gmail.com, nguyenngapdt@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.6022>

thành microtubule [2]. Combretastatin A-4 (CA-4, **1**), một phân tử tự nhiên với cấu trúc *cis*-stilbene (Hình 1), đã được chứng minh sở hữu khả năng ức chế sự polyme hóa tubulin và đánh phá hệ mạch máu nuôi khối u cực kỳ mạnh mẽ [3]. Tuy nhiên, rào cản lớn nhất của CA-4 chính là sự kém bền về mặt hóa học; liên kết đôi *cis* dễ dàng chuyển sang dạng *trans* dưới tác động của các yếu tố môi trường (như ánh sáng, nhiệt độ), làm giảm đáng kể hoạt tính chống ung thư vốn có [4]. Để khắc phục nhược điểm này, nhiều nghiên cứu tạo ra các dẫn xuất bền vững của CA-4 bằng cách thay thế liên kết đôi bằng cầu nối carbonyl. Chẳng hạn như hợp chất 2-(3',4',5'-trimethoxybenzoyl)-5-aminobenzo[*b*]thiophene **2**, dẫn chất của combretastatin A-4 với vòng thiophene và nhóm carbonyl, là một minh chứng điển hình về việc đưa nhóm carbonyl không chỉ giúp tăng độ bền về mặt hóa học, mà còn giúp tăng cường khả năng ức chế sự polyme hóa tubulin mạnh hơn cả combretastatin A-4 và có ái lực liên kết mạnh với vị trí colchicine. Hợp chất **2** cũng thể hiện hoạt tính kháng tăng sinh đáng kể, với giá trị IC_{50} dao động từ 2,6 đến 12 nM trên nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau, cũng như ức chế đáng kể sự phát triển của khối u di ghép xương MNNG/HOS người trên chuột nhắt trần [5].



Hình 1. Cấu trúc dẫn chất combretastatin A-4 và dẫn xuất naphthothiophene-4,9-dione.

Bên cạnh đó, các dẫn xuất naphthothiophene-4,9-dione đang được nghiên cứu trong hóa dược như những sản phẩm tổng hợp có hoạt tính sinh học, sở hữu các hoạt tính chống ung thư [6], kháng động vật nguyên sinh

[7, 8] và chống bệnh vẩy nến [9, 10]. Naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione với khung quinone đóng vai trò như một tác nhân ái điện tử tiềm năng. Trong môi trường nội bào, dưới tác động của các enzyme khử, hệ vòng này có khả năng chuyển hóa thành trung gian O-quinone methide, một trung gian hóa học cực kỳ hoạt động, có khả năng tấn công vào các nhóm nucleophile trên tubulin để tạo thành liên kết cộng hóa trị bền vững [11].

Với mục tiêu nghiên cứu các dẫn xuất combretastatin A-4 mới tiềm năng kháng ung thư mạnh và cơ chế tác động độc đáo, cũng như dựa trên nghiên cứu tổng hợp thành công hợp chất chống ung thư tiềm năng khung naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione trước đây của nhóm nghiên cứu [12], trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết kế hợp chất **4** bằng cách thay thế lần lượt vòng B truyền thống và liên kết đôi bằng hệ vòng naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione và cầu nối carbonyl. Các hợp chất **4** sau đó sẽ được nghiên cứu đánh giá khả năng gây độc tế bào *in vitro* trên tế bào ung thư phổi A549, cùng với nghiên cứu docking phân tử trên protein mục tiêu là tubulin.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và phương pháp chung

Các hóa chất và dung môi phản ứng mua của hãng Merck và Aldrich. Tiến trình phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng (TLC) sử dụng bản mỏng tráng sẵn để nhôm pha thường silica gel 60 F254 (Merck), hiện màu bằng đèn tử ngoại bước sóng 254 nm hay thuốc thử $Ce(SO_4)_2$. Sắc ký cột sử dụng Merck silica gel 60 (240–400 mesh).

Phổ IR của các chất nghiên cứu được ghi trên máy Spectrum Two hãng PerkinElmer, tại phòng Hóa Dược, Viện Hoá học - Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đo ở dạng ép viên với KBr rắn. Phổ ^1H -NMR (600 MHz hoặc 500 MHz) và ^{13}C -NMR (150 MHz hoặc 125 MHz) của các chất nghiên cứu được đo trên máy Bruker XL-500 hoặc Bruker Avance III với dung môi $CDCl_3$, độ chuyển dịch hóa học (δ) tính bằng ppm so với chất

chuẩn TMS, tại Trung tâm Phổ ứng dụng- Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam.

2.2. Quy trình tổng hợp

Quy trình tổng hợp các hợp chất trung gian dihydrofuranonaphthoquinone 8a-f: Một hỗn hợp phản ứng gồm 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (1 mmol), aldehyde thơm (1.2 mmol), pyridinium bromide (1.2 mmol) và ammonium acetate (0.2 mmol) trong acetonitrile (2 mL) đã được đun khuấy từ ở nhiệt độ 80 °C trong 60 phút. Sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp phản ứng được làm nguội và chiết với dichloromethane. Phân lớp hữu cơ được rửa với nước muối, làm khô bằng MgSO_4 khan và loại dung môi bằng chân không. Sản phẩm thô được làm sạch bằng cột sắc ký silica gel, thu được hợp chất **8a-f** với hiệu suất 70-79%.

Quy trình tổng hợp các dẫn xuất combretastatin A-4 4a-f: Một hỗn hợp phản ứng gồm hợp chất **8a-f** (1mmol), lưu huỳnh nguyên tố (S_8 , 1 mmol) và morpholine (0.2 mmol) trong DMSO (2 mL) đã được đun khuấy từ ở nhiệt độ 90 °C trong 40 phút. Sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp phản ứng được làm nguội và chiết với dichloromethane. Phân lớp hữu cơ được rửa với nước muối, làm khô bằng MgSO_4 khan và loại dung môi bằng chân không. Sản phẩm thô được làm sạch bằng cột sắc ký silica gel (n-hexane/EtOAc, 4:1), thu được hợp chất **4a-f** với hiệu suất 84-89%.

Hợp chất 2-benzoyl-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione **4a** là chất rắn màu cam. Hiệu suất tổng hợp từ hợp chất **8a** là 85%, hiệu suất tổng qua hai bước phản ứng 63%. R_f (hexane/EtOAc = 0.52), điểm chảy 254-255 °C. IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 2964, 2937, 1674, 1652, 1582, 1520, 1500, 1448, 1415, 1391, 1331, 1305, 1275, 1258, 1235, 1177, 1120, 1055, 1021, 956, 898, 880, 841, 801, 782, 737, 708, 697. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.27 – 8.25 (m, 1H), 8.19 - 8.16 (m, 1H), 7.80 – 7.77 (m, 2H), 7.57 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.40 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.23 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.48 (s, 2H), 3.73 (s, 9H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 190.3, 178.9, 178.4, 152.4, 148.3, 146.2, 144.7, 138.3, 138.2, 136.4,

134.5, 134.3, 133.7, 133.2, 132.7, 129.2 (2C), 128.2, 128.1 (2C), 127.6, 126.8, 108.2 (2C), 60.6, 56.1 (3C).

Hợp chất 2-(4-fluorobenzoyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione **4b** là chất rắn màu cam. Hiệu suất tổng hợp từ hợp chất **8b** là 88%, hiệu suất tổng qua hai bước phản ứng 64%. R_f (hexane/EtOAc = 0.56), điểm chảy 230-231 °C. IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 2964, 2936, 1674, 1654, 1595, 1501, 1453, 1415, 1332, 1257, 1257, 1239, 1156, 1121, 1054, 1004, 897, 847, 790, 735, 689, 595. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.28 – 8.25 (m, 1H), 8.20 - 8.17 (m, 1H), 7.81 – 7.78 (m, 2H), 7.63 – 7.59 (m, 2H), 6.91 (td, J = 8.5, 2.0 Hz, 2H), 6.49 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.74 (s, 6H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 188.8, 178.9, 178.4, 165.6 (d, J = 243.0 Hz, 1C), 152.5, 148.4, 145.8, 144.6, 138.5, 138.1, 134.5, 134.3, 133.7, 132.6 (2C), 131.9 (d, J = 9.0 Hz, 2C), 128.1, 127.7, 126.8, 115.4 (d, J = 22.5 Hz, 2C), 108.3 (2C), 60.8, 56.2 (3C).

Hợp chất 2-(4-fluorobenzoyl)-3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione **4c** là chất rắn màu vàng. Hiệu suất tổng hợp từ hợp chất **8c** là 86%, hiệu suất tổng qua hai bước phản ứng 60%, R_f (hexane/EtOAc = 0.50), điểm chảy 224-225 °C. IR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3438, 2926, 2844, 1674, 1653, 1593, 1526, 1504, 1458, 1439, 1407, 1321, 1293, 1261 1241, 1213, 1173, 1147, 1024, 953, 900, 870, 842, 753, 724, 698. 598. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.27 – 8.25 (m, 1H), 8.18 – 8.16 (m, 1H), 7.80 – 7.77 (m, 2H), 7.67 – 7.63 (m, 2H), 6.93 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 6.85 (s, 1H), 6.72 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.66 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.51 (s, 1H), 3.83 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 188.5, 178.9, 178.5, 165.1 (d, J = 212.5 Hz, 2C), 160.0, 148.1, 146.8, 145.2, 144.9, 144.7, 138.4, 134.5, 134.3, 133.6, 132.7, 132.3 (d, J = 10.0 Hz, 2C), 127.7, 126.8, 126.1, 122.4, 116.5, 115.4 (d, J = 21.3 Hz, 2C), 109.8, 55.8.

Hợp chất 2-benzoyl-3-(3-methoxyphenyl)naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione **4d** là chất rắn màu vàng. Hiệu suất tổng hợp từ hợp chất **8d** là 89%, hiệu suất tổng qua hai bước phản ứng 65%. R_f (hexane/EtOAc = 0.58), điểm chảy

198-200 °C. IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3005, 2833, 1670, 1649, 1588, 1510, 1490, 1454, 1382, 1319, 1288, 1259, 1234, 1176, 1074, 1037, 1015, 957, 902, 791, 768, 735, 715, 697. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.31 - 8.27 (m, 1H), 8.19 - 8.16 (m, 1H), 7.82 - 7.78 (m, 2H), 7.66 - 7.63 (m, 2H), 7.44 (tt, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H), 7.30 - 7.26 (m, 3H), 7.15 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.90 - 6.87 (m, 1H), 6.80 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.78 - 6.75 (m, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 189.9, 178.8, 178.5, 158.8, 148.0, 145.7, 144.9, 138.5, 136.4, 134.4, 134.3, 134.3, 133.6, 133.3, 132.7, 129.5 (2C), 128.7, 128.1 (2C), 127.7, 126.8, 122.5, 115.7, 114.2, 55.2.

Hợp chất 2-benzoyl-3-(4-bromophenyl)naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione **4e** là chất rắn màu vàng. Hiệu suất tổng hợp từ hợp chất **8e** là 88%, hiệu suất tổng qua hai bước phản ứng 68%. R_f (hexane/EtOAc = 0.60), điểm chảy 197-199 °C. IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3066, 1656, 1639, 1591, 1518, 1488, 1439, 1407, 1384, 1319, 1260, 1232, 1100, 1072, 1042, 1012, 935, 902, 881, 786, 730, 692, 649, 630, 612, 527. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.27 - 8.25 (m, 1H), 8.15 - 8.13 (m, 1H), 7.80 - 7.77 (m, 2H), 7.63 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.48 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.3 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 189.4, 179.0, 178.4, 148.1, 145.6, 144.0, 138.3, 136.4, 134.5, 134.1, 133.8, 133.6, 132.7, 132, 131.5 (2C), 130.9 (2C), 129.6 (2C), 128.4 (2C), 127.6, 126.9, 122.9.

Hợp chất 2-benzoyl-3-(naphthalen-2-yl)naphtho[2,3-*b*]thiophene-4,9-dione **4f** là chất rắn màu vàng. Hiệu suất tổng hợp từ hợp chất **8f** là 84%, hiệu suất tổng qua hai bước phản ứng 66%. R_f (hexane/EtOAc = 0.62), điểm chảy 248-249 °C. IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3060, 1671, 1652, 1585, 1520, 1500, 1476, 1433, 1400, 1318, 1258, 1226, 1176, 1149, 1105, 1045, 1017, 910, 871, 817, 751, 731, 694, 638. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.27 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 7.78 - 7.75 (m, 2H), 7.73 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.64 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.47 - 7.37 (m, 3H), 7.21 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 189.9, 178.9, 178.5, 148.1, 146.0, 145.2, 138.7, 136.4,

134.4, 134.2, 133.7, 133.1, 132.9, 132.8, 132.6, 130.7, 129.7, 129.3 (2C), 128.0 (2C), 128, 127.7, 127.6, 127.4, 127.1, 126.8, 126.5, 126.1.

2.3. Quy trình đánh giá hoạt tính gây độc tế bào A549

Dòng tế bào ung thư phổi A549 được thu thập từ bộ sưu tập mẫu vi sinh vật ATCC (Hoa Kỳ) và được nuôi cấy trong môi trường DMEM, có bổ sung 10% huyết thanh bò thai (FBS), 100 U/mL penicillin và 100 $\mu\text{g/mL}$ streptomycin trong môi trường khí ẩm chứa 5% CO_2 ở 37 °C. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) được sử dụng để đánh giá độc tính tế bào của các sản phẩm **4a-f**. Tế bào (3×10^4 tế bào/mL) được xử lý bằng các dung dịch của sản phẩm 4 trong DMSO và ủ trong 3 ngày. Sau đó, 10 μL dung dịch MTT 5 mg/mL trong đệm natri phosphat (PBS, 0.1 M, pH 7.4) được thêm vào mỗi giếng và các tế bào được ủ ở 37 °C thêm 4 giờ nữa. Môi trường được loại bỏ và DMSO (150 μL) được thêm vào mỗi giếng để hòa tan các tinh thể formazan thu được. Độ hấp thụ quang học được đo trên máy đọc đĩa vi thể Biotek Epoch 2 ở bước sóng 540 nm, và giá trị IC_{50} được xác định.

2.4. Mô phỏng docking phân tử

Docking phân tử được thực hiện bằng phần mềm MOE 2022.02 (Chemical Computing Group, Montreal, Canada) [13]. Cấu trúc tinh thể của tubulin đồng kết tinh với colchicine (PDB ID: 4O2B) được tải từ Protein Data Bank. Protein được chuẩn bị bằng mô-đun QuickPrep, bao gồm loại bỏ các phân tử nước và phối tử không cần thiết, bổ sung nguyên tử hydro, gán điện tích từng phần và tối ưu hóa cấu trúc ở pH 7.4.

Quy trình docking được thẩm định bằng phương pháp redocking phối tử đồng kết tinh colchicine (LOC) vào hốc gắn colchicine của tubulin. Giá trị RMSD giữa cấu dạng dự đoán và cấu dạng tinh thể được sử dụng để đánh giá độ tin cậy của quy trình docking.

Các hợp chất **4b**, **4c** và **4e** được xây dựng và tối ưu hóa năng lượng bằng lực trường MMFF94x, sau đó được docking vào hốc gắn colchicine bằng thuật toán Triangle Matcher. Các cấu dạng docking được tinh chỉnh bằng phương

pháp Induced Fit và được xếp hạng theo hàm điểm London dG. Cấu dạng có năng lượng liên kết thấp nhất được lựa chọn để phân tích các tương tác giữa phối tử và protein. Mô hình tương tác hai chiều và ba chiều được trực quan hóa bằng MOE và Discovery Studio Visualizer.

2.5. Dự đoán đặc tính dược động học

Các đặc tính lý hóa, dược động học (ADME) và độ giống thuốc (drug-likeness) của hợp chất **4b**, **4c** và **4e** được dự đoán trực tuyến qua công cụ SwissADME [14]. Các thông số khảo sát cốt lõi bao gồm khối lượng phân tử, hệ số phân bố dầu-nước (logP, XLOGP3), diện tích bề mặt phân cực topo (TPSA), số liên kết quay tự do và độ tan (ESOL Log S). Khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa (GI absorption), khả năng thâm qua hàng rào máu não (BBB permeation), cùng mức độ đáp ứng các quy tắc sàng lọc kinh điển Lipinski và Veber cũng được ghi nhận nhằm đánh giá sơ bộ tiềm năng phát triển thuốc của hợp chất ở mức độ *in silico*.

2.6. Dự đoán độc tính cấp tính

Độc tính dự đoán của hợp chất **4b**, **4c** và **4e** được đánh giá trực tuyến bằng công cụ ProTox-3.0 [15]. Các thông số ghi nhận cốt lõi bao gồm giá trị LD₅₀ dự kiến (mg/kg), phân loại nhóm độc tính cấp đường uống (Toxicity Class) và độ tương đồng cấu trúc với tập dữ liệu huấn luyện. Kết quả phân tích từ mô hình sinh học ảo này đóng vai trò định hướng ban đầu nhằm đánh giá nguy cơ an toàn sinh học, tạo cơ sở phối hợp cùng dữ liệu docking phân tử và SwissADME để nhận định toàn diện tiềm năng phát triển dược phẩm của hợp chất.

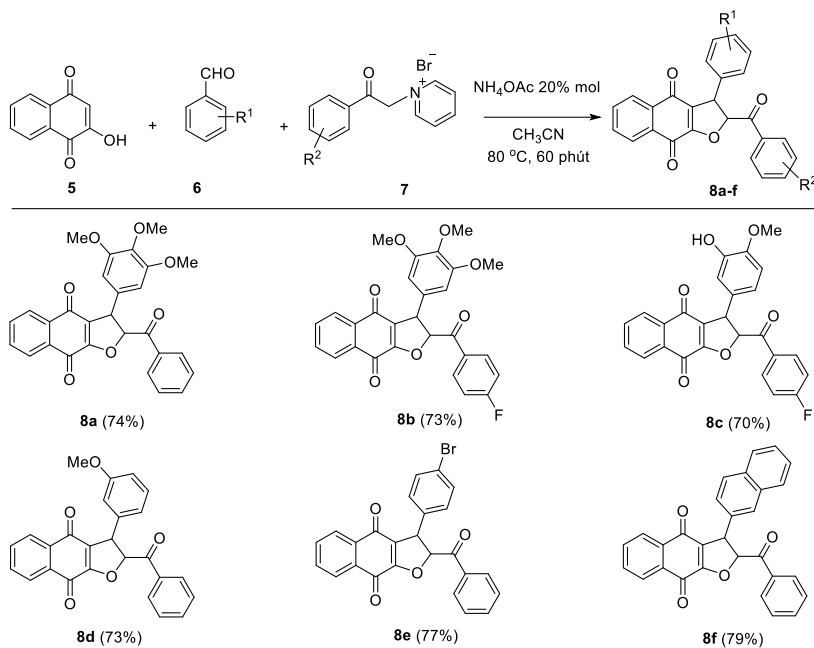
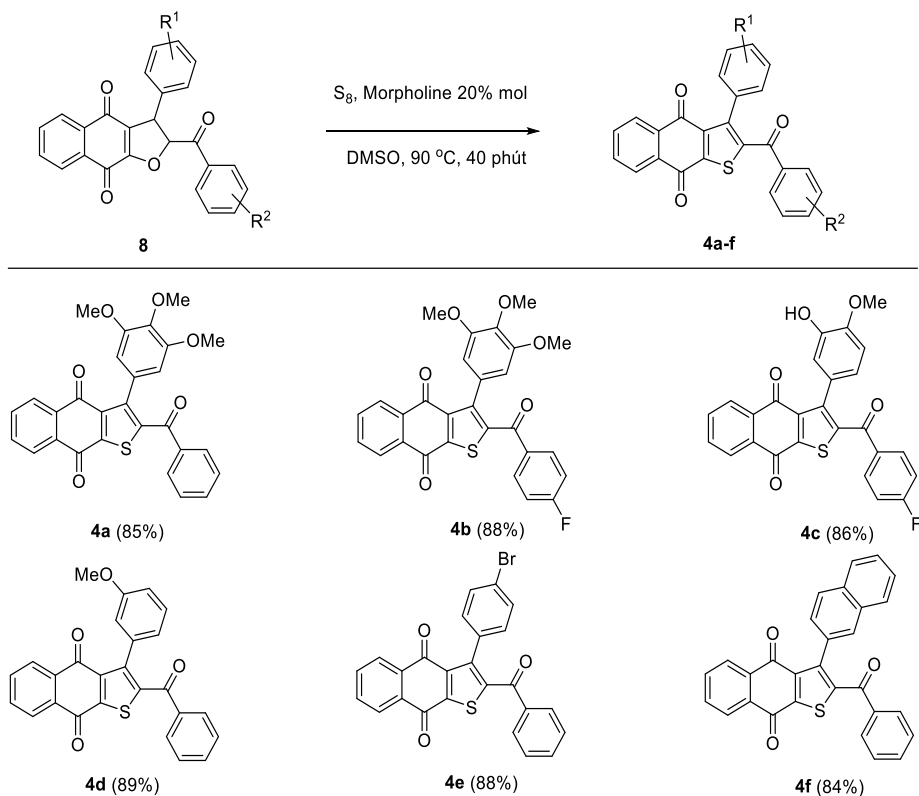
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tổng hợp các dẫn xuất combretastatin A-4

Các hợp chất combretastatin A-4 chứa vòng naphthothiophene-4,9-dione và cầu nối carbonyl đã được nghiên cứu tổng hợp thông qua hai bước phản ứng bao gồm phản ứng ba thành phần tổng hợp hợp chất trung gian dihydrofuranonaphthoquinone và phản ứng

chuyển hóa dihydrofuranonaphthoquinone thành naphthothiophene-4,9-dione. Trong các nghiên cứu đã được công bố trước đây, các hợp chất dihydrofuranonaphthoquinone có thể được tổng hợp bằng phản ứng đa thành phần giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, aldehyde thơm và pyridinium bromide trong điều kiện sử dụng xúc tác bazơ như triethyl amine (Et₃N, 1.2 đương lượng) [16,17] hoặc ammonium acetate (NH₄OAc, 20 mol%) [12]. So với Et₃N, NH₄OAc với tính bazơ yếu hơn giúp kiểm soát pH phản ứng, giảm thiểu quá trình tautomer hóa và oxy hóa không mong muốn, dẫn đến quá trình chuyển hóa hiệu quả và nâng cao độ chọn lọc đối với các hợp chất trung gian **8a-f** mong muốn. Dưới cùng điều kiện đun hồi lưu, việc sử dụng xúc tác NH₄OAc giúp tăng hiệu suất và giảm thời gian phản ứng so với sử dụng xúc tác Et₃N [12]. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, các hợp chất trung gian dihydrofuranonaphthoquinone **8a-f** đã được tổng hợp thành công với hiệu suất 70-79% bằng phản ứng ba thành phần giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**5**) với aldehyde thơm (**6**) và pyridinium bromide (**7**) trong dung môi acetonitrile với sự có mặt của xúc tác NH₄OAc, đun trong 60 phút tại 80 °C (Sơ đồ 1).

Kế thừa kết quả nghiên cứu chuyển hóa vòng dihydrofuran thành vòng thiophene bằng cách sử dụng lưu huỳnh nguyên tố [12], tiếp theo, hợp chất trung gian dihydrofuranonaphthoquinone **8** đã tham gia phản ứng với 1 đương lượng của lưu huỳnh nguyên tố, với sự có mặt 20 mol% của xúc tác morpholine trong dung môi dimethyl sulfoxide (DMSO) tại 90 °C (Sơ đồ 2). Sau khoảng thời gian 40 phút, hợp chất combretastatin A-4 chứa khung naphthothiophene-4,9-dione **4** đã được tổng hợp thành công với hiệu suất cao 84-89%. Hiệu suất tổng hợp hợp chất **4** sau hai bước phản ứng dao động trong khoảng 63-68% (Bảng 1). Từ kết quả nhận được, có thể nhận thấy, các nhóm thế R¹ và R² trên vòng phenyl và benzoyl không gây ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất phản ứng.

Sơ đồ 1. Tổng hợp hợp chất trung gian chứa khung dihyrofuranonaphthoquinone **8a-f**.Sơ đồ 2. Tổng hợp các dẫn xuất combretastatin A-4 **4a-f**.

Bảng 1. Hiệu suất, hằng số vật lý và hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư phổi A549 (IC₅₀) của các dẫn chất combretastatin A-4

STT	Hợp chất	Hiệu suất tổng ^a (%)	R _f ^b	Màu sắc	Điểm chảy (°C)	IC ₅₀ (μM)
1	4a	63	0.52	cam	254-255	46.46 ± 1.63
2	4b	64	0.56	cam	230-231	3.40 ± 0.24
3	4c	60	0.50	vàng	224-225	3.69 ± 0.35
4	4d	65	0.58	vàng	198-200	> 75
5	4e	68	0.6	vàng	197-199	3.99 ± 0.17
6	4f	66	0.62	vàng	248-249	40.04 ± 1.55
7	Ellipticine					2.56 ± 0.16

^aHiệu suất tổng tính thông qua hai bước phản ứng bao gồm phản ứng tạo chất trung gian **8** (Sơ đồ 1) và phản ứng tổng hợp combretastatin A-4 **4** (Sơ đồ 2).

^bGiá trị R_f được xác định bằng sắc ký bản mỏng sử dụng hỗn hợp n-Hexane/Ethyl acetate tỉ lệ 4/1.

Cấu trúc của các hợp chất tổng hợp được đặc trưng hoàn toàn bằng IR, ¹H NMR và ¹³C NMR. Trong phần báo cáo cấu trúc, cấu trúc của hợp chất combretastatin A-4 **4a** vẫn giữ nguyên vòng A 3,4,5-trimethoxyphenyl sẽ được tập trung phân tích. Trên phổ ¹H-NMR của hợp chất **4a** xuất hiện đầy đủ các tín hiệu đặc trưng cho độ chuyển dịch hóa học của các proton có mặt trong phân tử. Các tín hiệu tại δ_H 8.27 – 8.25 (m, 1H), 8.19 – 8.16 (m, 1H) và 7.80 – 7.77 (m, 2H) được gán cho 4 proton thơm của vòng naphthoquinone [18]. Hai tín hiệu proton thơm và 9 tín hiệu proton của 3 nhóm methoxy của vòng 3,4,5-trimethoxyphenyl được quan sát lần lượt tại δ_H 6.48 (s, 2H), 3.73 (s, 9H). Các proton thơm còn lại tại δ_H 7.57 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.40 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H) và 7.23 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H) được gán cho các proton thơm của vòng phenyl.

Bên cạnh đó, trong phổ ¹³C-NMR của hợp chất **4a** xuất hiện đầy đủ các tín hiệu của 28 cacbon. Đặc trưng nhất là nhóm ketone liên kết phenyl và vòng thiophene và hai nhóm ketone của vòng naphthoquinone được quan sát lần lượt ở δ_C 190.3, 178.9 và 178.4. Từ dữ liệu phổ trên cho phép khẳng định cấu trúc của hợp chất **4a**.

3.2. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi A549 của các hợp chất tổng hợp được

Bằng cách sử dụng phương pháp phân tích MTT [19], hoạt tính gây độc tế bào của các hợp

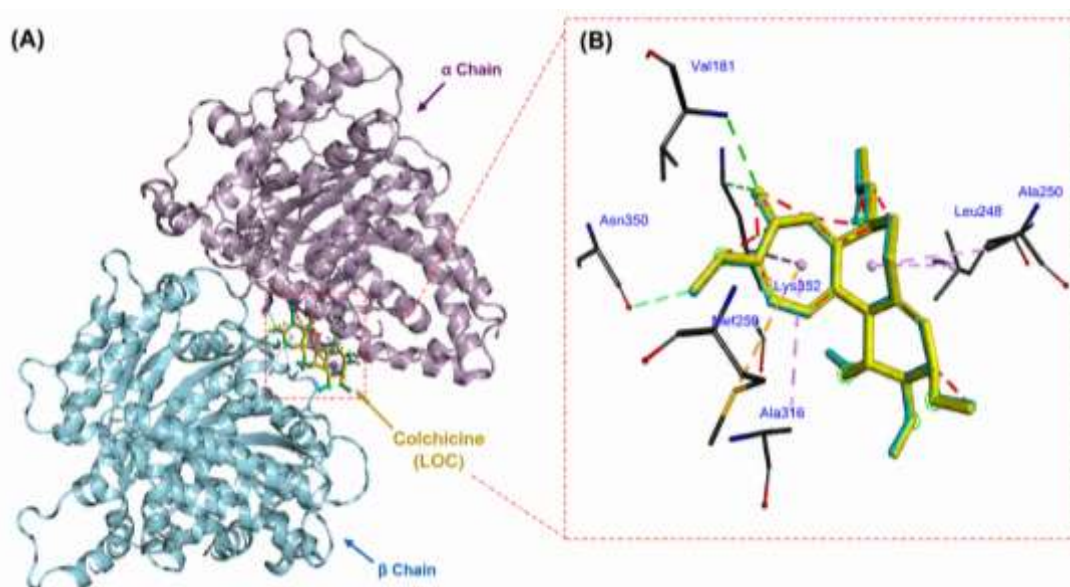
chất combretastatin A-4 **4a-f** đã được đánh giá trên dòng tế bào ung thư phổi A549. Như chỉ ra trong Bảng 1, 6 hợp chất **4a-f** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trung bình đến mạnh trên dòng tế bào A549 với giá trị IC₅₀ dao động từ 3.40 ± 0.24 đến 46.46 ± 1.63 μM. Các hợp chất thử nghiệm **4a-f** có sự phân hóa rõ rệt về khả năng gây độc tế bào, với thứ tự hoạt tính giảm dần được xác định là **4b**, **4c**, **4e**, **4f**, **4a** và **4d**. Trong đó, ba dẫn xuất **4b**, **4c**, và **4e** thể hiện hoạt tính ức chế mạnh ở giá trị IC₅₀ thấp, tiềm năng tiềm cận sát với chất đối chứng dương ellipticine (IC₅₀ = 2.56 ± 0.16 μM). Ngược lại, hai hợp chất **4a** và **4f** chỉ cho thấy hoạt tính ở mức trung bình đến yếu, trong khi dẫn xuất **4d** hầu như không thể hiện khả năng ức chế trong phạm vi nồng độ khảo sát. Nghiên cứu mối quan hệ giữa cấu trúc và hoạt tính cho thấy việc gắn nhóm thế flo trên vòng benzoyl giúp làm tăng hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất, như quan sát thấy hoạt tính gây độc tế bào thể hiện mạnh nhất ở hai hợp chất **4b**, **c** có vòng 4-fluorophenyl.

3.3. Đánh giá ái lực liên kết và mô hình tương tác in silico của hợp chất **4b**, **4c** và **4e** trong 4O2B

Dựa trên kết quả thử hoạt tính độc tế bào (Bảng 1), hợp chất **4b**, **4c**, **4e** được lựa chọn để sàng lọc ảo (docking phân tử) nhằm làm sáng tỏ cơ chế tương tác ở cấp độ phân tử. Vị trí gắn

kết colchicine (Colchicine-binding site - CBS) là một trong những đích tác động quan trọng nhất của tubulin trong nghiên cứu phát triển thuốc chống ung thư; các chất liên kết tại vị trí này có khả năng ức chế quá trình trùng hợp vi ống, gây rối loạn động học vi ống và dẫn đến ức chế sự phân bào của tế bào ung thư [20, 21]. Gần đây 4O2B là mô hình đích được áp dụng

trong các nghiên cứu đánh giá các hợp chất tiềm năng ức chế tubulin thông qua đích CBS [22, 23]. Vì vậy, cấu trúc tinh thể protein 4O2B được chọn làm mô hình đích vừa đảm bảo cơ sở sinh học rõ ràng, vừa tạo tính đồng nhất khi biện giải kết quả docking trong cùng bối cảnh cơ chế tác dụng hướng đích tubulin.



Hình 2. Kết quả xác thực quy trình docking bằng phương pháp redocking phối tử đồng kết tinh colchicine (LOC) trong tubulin (PDB ID: 4O2B). (A) Vị trí hốc gắn colchicine tại giao diện giữa chuỗi α (màu tím) và chuỗi β (màu xanh lam) của tubulin. (B) Sự chồng khít giữa cấu dạng colchicine sau redocking (màu vàng) và cấu dạng trong tinh thể (màu xanh ngọc), cùng các tương tác chính với các acid amin tại hốc gắn.

Quy trình docking được thẩm định bằng phương pháp redocking phối tử đồng kết tinh colchicine trong cấu trúc tubulin (PDB ID: 4O2B). Cấu dạng có năng lượng liên kết thấp nhất tái lập tốt cấu dạng liên kết của phối tử trong cấu trúc tinh thể, với năng lượng liên kết dự đoán $-10,1183 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ và giá trị RMSD $0,2605 \text{ \AA}$, thấp hơn đáng kể so với ngưỡng chấp nhận $2,0 \text{ \AA}$ (Hình 2). Kết quả này cho thấy quy trình docking có khả năng tái tạo chính xác tư thế liên kết thực nghiệm và đủ độ tin cậy để áp dụng cho các hợp chất nghiên cứu.

Kết quả docking cho thấy các hợp chất **4b**, **4c** và **4e** đều gắn vào hốc colchicine của tubulin (Hình 3). Năng lượng liên kết dự đoán của ba hợp chất lần lượt là $-9,2$; $-9,0$ và $-8,7$

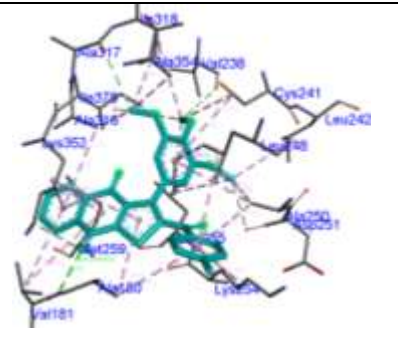
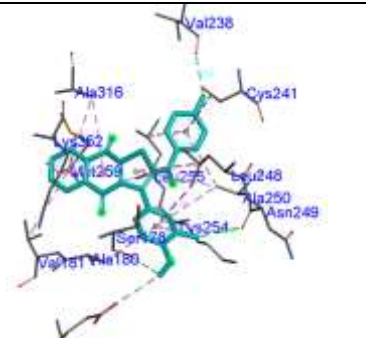
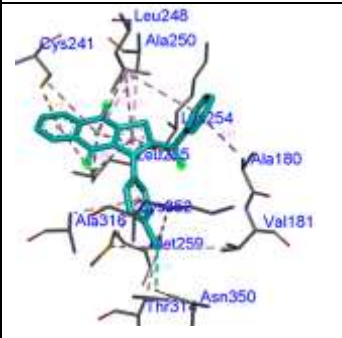
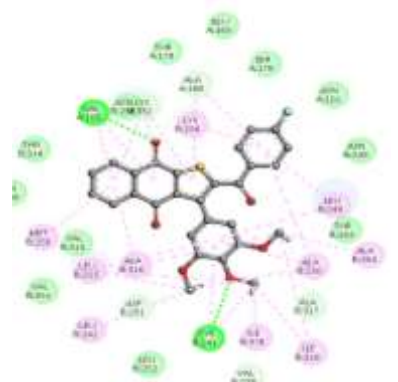
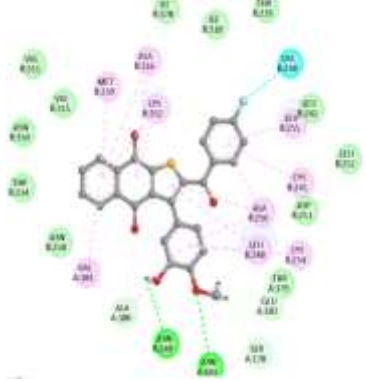
$\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Các hợp chất có tư thế gắn tương đối giống nhau và cùng tương tác với nhiều acid amin đặc trưng của hốc colchicine. Điều này cho thấy khung cấu trúc chung của loạt dẫn chất phù hợp với vị trí gắn trên tubulin.

Trong ba hợp chất, **4b** có năng lượng liên kết thuận lợi nhất. Hợp chất này tạo một liên kết hydro thông thường với Val181, bốn liên kết hydro $\text{C-H}\cdots\text{O}$ với Lys352, Asp251, Val238 và Ala317, cùng nhiều tương tác kỵ nước với các acid amin xung quanh hốc gắn. Mạng lưới tương tác rộng, đặc biệt là các tương tác alkyl, π -alkyl và π - σ , có thể giúp **4b** được giữ ổn định hơn trong hốc colchicine.

Hợp chất **4c** có kiểu gắn tương tự **4b**, nhưng phạm vi tương tác kỵ nước hẹp hơn. Hợp chất

này hình thành các liên kết hydro với Asn101, Asn249, Ala180, Ser178 và Glu183, đồng thời tạo một tương tác halogen với Val238. Mặc dù **4c** có nhiều tương tác phân cực, năng lượng liên

kết của hợp chất vẫn kém thuận lợi hơn nhẹ so với **4b**. Kết quả này cho thấy các tương tác hydro và halogen riêng lẻ chưa đủ để bù lại sự giảm mức độ tiếp xúc kỵ nước.

	4b	4c	4e
3D			
2D			
Liên kết	Năng lượng liên kết: $-9,2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ Liên kết hydro: một liên kết hydro thông thường với VAL181 (2,75 Å) và các liên kết hydro C-H...O với LYS352 (3,58 Å), ASP251 (3,14 Å), VAL238 (3,62 Å) và ALA317 (3,49 Å). Tương tác kỵ nước: tương tác π-σ với LEU248; các tương tác alkyl và π-alkyl với VAL181, ALA180, ALA250, ALA316, ALA354, LEU242, LEU248, LEU255, CYS241, ILE318, ILE378, LYS254, LYS352 và MET259	Năng lượng liên kết: $-9,0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ Liên kết hydro: một liên kết hydro thông thường với ASN249 (3,03 Å) và các liên kết hydro C-H...O với SER178 (3,22 Å) và GLU183 (3,52 Å). Tương tác giữa nguyên tử fluor VAL238 (3,02Å). Tương tác kỵ nước: tương tác π-σ với LEU248 và các tương tác kỵ nước với VAL181, ALA180, ALA250, ALA316, LEU248, LEU255, CYS241, LYS254, LYS352 và MET259.	Năng lượng liên kết: $-8,7 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ Liên kết hydro/tương tác phân cực: liên kết C-H...Br với THR314 (2,69 Å); tương tác halogen với ASN350 (3,12 Å); tương tác π-sulfur với CYS241 (3,94 Å). Tương tác kỵ nước: tương tác amide-π với LYS254 và LEU255; tương tác alkyl/π-alkyl với VAL181, ALA180, ALA250, ALA316, CYS241, LEU248, LEU255, LYS352 và MET259.

Hình 3. Kết quả docking của các hợp chất **4b**, **4c** và **4e** tại vị trí gắn colchicine của tubulin (PDB ID: 4O2B). (3D) Tư thế gắn kết 3D của hợp chất **4b**, **4c**, **4e** trong hốc gắn colchicine. (2D) Sơ đồ tương tác 2D của hợp chất **4b**, **4c**, **4e**.

Hợp chất **4e** có kiểu tương tác khác rõ hơn. Hợp chất này không tạo liên kết hydro thông thường mà được ổn định bởi một liên kết C-H...Br với Thr314, một tương tác halogen với Asn350, một tương tác π -sulfur với Cys241,

hai tương tác amide- π với Lys254 và Leu255, cùng nhiều tương tác alkyl và π -alkyl. Như vậy, sự gắn kết của **4e** chủ yếu dựa vào các tương tác kỵ nước và tương tác π . Tuy nhiên, mức độ ổn định tổng thể vẫn thấp hơn so với **4b**

và **4c**, phù hợp với năng lượng docking kém thuận lợi hơn.

Thứ tự năng lượng liên kết dự đoán là **4b** > **4c** > **4e**, tương ứng với thứ tự hoạt tính thực nghiệm. Cụ thể, **4b** có hoạt tính mạnh nhất với IC_{50} bằng $3,40 \pm 0,24 \mu M$, tiếp theo là **4c** với $3,69 \pm 0,35 \mu M$ và **4e** với $3,99 \pm 0,17 \mu M$. Sự phù hợp giữa kết quả docking và hoạt tính thực nghiệm cho thấy mức độ ổn định của phức hợp phối tử-tubulin có thể góp phần giải thích sự khác biệt hoạt tính giữa ba hợp chất.

Từ góc độ mối liên hệ cấu trúc – hoạt tính, kết quả cho thấy khả năng gắn kết không chỉ phụ thuộc vào số lượng liên kết hydro mà còn phụ thuộc nhiều vào mức độ tiếp xúc kỵ nước và sự phân bố của các tương tác π trong hốc colchicine. Mạng lưới tương tác rộng hơn của **4b** có thể là yếu tố giúp hợp chất này có ái lực liên kết và hoạt tính tốt hơn. Trong khi đó, mặc dù **4e** có các tương tác π -sulfur, amide- π và halogen, sự thiếu vắng liên kết hydro thông thường và mức độ bổ sung tổng thể thấp hơn có thể làm giảm độ ổn định của phức hợp.

Nhìn chung, kết quả docking gợi ý rằng việc tối ưu đồng thời khả năng lấp đầy hốc gắn, mức độ tiếp xúc kỵ nước và hướng sắp xếp của các nhóm chức phân cực có thể giúp cải thiện hoạt tính của loạt dẫn chất này.

3.5. Đánh giá sơ bộ đặc tính dược động học và độc tính bằng công cụ ProTox và SwissADME

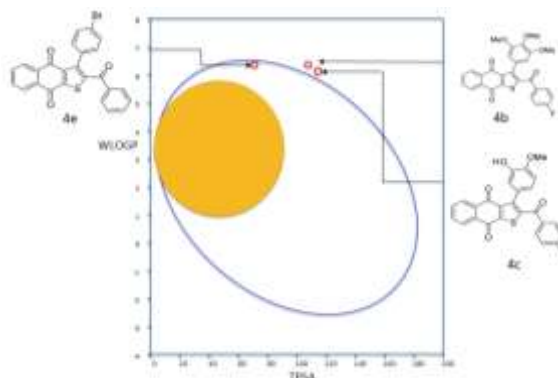
Đặc tính lý hóa, ADME và độc tính của các hợp chất **4b**, **4c** và **4e** được dự đoán bằng

SwissADME và ProTox-3.0 (Bảng 2, Hình 4). Nhìn chung, cả ba hợp chất đều có độ tan trong nước thấp, không được dự đoán thấm qua hàng rào máu-não, không phải là cơ chất của P-glycoprotein và có điểm khả dụng sinh học bằng 0,55 [24].

Sự khác biệt rõ nhất được ghi nhận ở khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa. Hợp chất **4e** có diện tích bề mặt phân cực tô pô thấp nhất (TPSA = $79,45 \text{ \AA}^2$) và là hợp chất duy nhất được dự đoán có khả năng hấp thu đường tiêu hóa cao. Ngược lại, **4b** và **4c** có TPSA lớn hơn, lần lượt là 107,14 và $108,91 \text{ \AA}^2$, nên đều được dự đoán có khả năng hấp thu đường tiêu hóa thấp. Kết quả này phù hợp với biểu đồ BOILED-Egg (Hình 4).

Về tính chất giống thuốc, **4c** và **4e** không vi phạm quy tắc Lipinski, trong khi **4b** vi phạm một tiêu chí do khối lượng phân tử vượt nhẹ ngưỡng 500 Da [25]. Cả ba hợp chất đều không vi phạm quy tắc Veber. Chỉ số khả năng tổng hợp dao động từ 3,47 đến 3,85, cho thấy các hợp chất có mức độ thuận lợi trung bình về mặt tổng hợp hóa học.

Kết quả ProTox-3.0 cho thấy cả ba hợp chất đều thuộc nhóm độc tính cấp 4. Giá trị LD_{50} dự đoán của **4b** và **4c** là 1000 mg/kg, trong khi **4e** đạt 1200 mg/kg, gợi ý độc tính cấp đường uống của **4e** thấp hơn nhẹ. Nhìn chung, **4e** có hồ sơ ADME dự đoán thuận lợi hơn về khả năng hấp thu và độc tính cấp, trong khi **4b** và **4c** vẫn có các đặc tính giống thuốc chấp nhận được nhưng còn hạn chế về độ tan và hấp thu đường tiêu hóa.



Hình 4. Biểu đồ BOILED-Egg dự đoán khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa và thấm qua hàng rào máu-não của các hợp chất **4b**, **4c** và **4e**.

Bảng 2. Đặc tính giống thuốc, ADMET và độc tính dự đoán của các hợp chất **4b**, **4c** và **4e**

Thông số dự đoán	4b	4c	4e
Tính chất giống thuốc			
Quy tắc Lipinski	Đạt (vi phạm khối lượng phân tử > 500 Da)	Đạt	Đạt
PAINS	1 cảnh báo (quinone A)	1 cảnh báo (quinone A)	1 cảnh báo (quinone A)
Điểm khả dụng sinh học	0,55	0,55	0,55
Hấp thu			
Hấp thu đường tiêu hóa	Thấp	Thấp	Cao
Phân bố			
Khả năng qua hàng rào máu não	Không	Không	Không
Độc tính			
LD ₅₀ dự đoán (mg/kg)	1000	1000	1200
Nhóm độc tính	Class 4	Class 4	Class 4

4. Kết luận

Sáu dẫn xuất combretastatin A-4 mới chứa mang khung naphthothiophene-4,9-dione **4a-f** đã được tổng hợp thành công bằng quy trình phản ứng qua hai bước với hiệu suất tổng trung bình đạt 60–68%. Đầu tiên là phản ứng ba thành phần giữa 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, các aldehyde thơm và các pyridinium bromide để tạo ra hợp chất trung gian dihydrofurano-naphthoquinone **8a-f**, sau đó phản ứng với lưu huỳnh nguyên tố để tạo thành các hợp chất **4a-f**. Cấu trúc của các hợp chất **4a-f** đã được xác định bằng phổ hồng ngoại (IR), phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR và ¹³C-NMR. Các hợp chất **4a-c,e,f** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi A549 từ trung bình đến mạnh. Trong đó, các hợp chất **4b** và **4c** chứa nhóm thế 4-fluorophenyl thể hiện hoạt tính gây độc mạnh nhất với giá trị IC₅₀ lần lượt là 3,40 ± 0,24 và 3,69 ± 0,35 μM. Nghiên cứu docking phân tử cho thấy các hợp chất **4b**, **4c** và **4e** đều gắn thuận lợi vào hốc colchicine của tubulin, với xu hướng năng lượng liên kết phù hợp với hoạt tính thực nghiệm. Phân tích ADME cho thấy **4e** có hồ sơ dự đoán thuận lợi nhất nhờ khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa cao, trong khi **4c** và **4e** đáp ứng đầy đủ quy tắc Lipinski. Tuy nhiên, tính thân lipid cao và độ tan trong nước thấp vẫn là những hạn chế chung của cả ba hợp chất. Những kết quả này cung cấp cơ sở cho việc tiếp

tục tối ưu hóa cấu trúc nhằm phát triển các dẫn chất combretastatin A-4 mới như các ứng viên chống ung thư tiềm năng.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia NAFOSTED (Mã số 104.01-2023.19).

Tài liệu tham khảo

- [1] R. A. Stanton, K. M. Gernert, J. H. Nettles, R. Aneja, Drugs that Target Dynamic Microtubules: A New Molecular Perspective, Med. Res. Rev, Vol. 31, 2011, pp. 443-481, <https://doi.org/10.1002/med.20242>.
- [2] F. Pellegrini, D. R. Budman, Review: Tubulin Function, Action of Antitubulin Drugs, and New Drug Development, Cancer Invest., Vol. 23, 2005, pp. 264-273, <https://doi.org/10.1081/cnv-200055970>.
- [3] C. M. Lin, H. H. Ho, G. R. Pettit, E. Hamel, Antimitotic Natural Products Combretastatin A-4 and Combretastatin A-2: Studies on the Mechanism of Their Inhibition of the Binding of Colchicine to Tubulin, Biochemistry, Vol. 28, 1989, pp. 6984-6991, <https://doi.org/10.1021/bi00443a031>.
- [4] A. Hamze, M. Alami, O. Provot, Developments of isoCombretastatin A-4 Derivatives as Highly Cytotoxic Agents, Eur. J. Med. Chem, Vol. 190, 2020, pp. 112110, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112110>.

- [5] R. Romagnoli, P. G. Baraldi, C. L. Cara et al., Concise Synthesis and Biological Evaluation of 2-Aroyl-5-Amino Benzo[b]thiophene Derivatives As a Novel Class of Potent Antimitotic Agents, *J. Med. Chem.*, Vol. 56, 2013, pp. 9296-9309, <https://doi.org/10.1021/jm4013938>.
- [6] S. K. Manik, S. Haldar, A. Bhattacharya et al., Design, Synthesis, and *in Vitro* and *in vivo* Biological Evaluation of 2-amino-naphtho[2,3-b]thiophene-4,9-dione Derivatives as Potent Anticancer Agents, *Eur. J. Med. Chem.*, Vol. 296, 2025, pp. 117728, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117728>.
- [7] J. A. Valderrama, C. Astudillo, R. A. Tapia, E. Prina, E. Estrabaud, R. Mahieux, A. Fournet, Studies on Quinones, Part 37, Synthesis and Biological Activity of O-aminoester Functionalised Benzo- and Naphtho[2,3-b]thiophenequinones, *Chem. Pharm. Bull.*, Vol. 50, 2002, pp. 1215-1218, <https://doi.org/10.1248/cpb.50.1215>.
- [8] C. L. Zani, E. Chiari, A. U. Krettli, S. M. F. Murta, M. L. Cunningham, A. H. Fairlamb, A. J. Romanha, Anti-plasmodial and Antitrypanosomal Activity of Synthetic Naphtho[2,3-b]thiopen-4,9-quinones, *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 5, 1997, pp. 2185-2192, [https://doi.org/10.1016/s0968-0896\(97\)00155-7](https://doi.org/10.1016/s0968-0896(97)00155-7).
- [9] A. Basoglu, S. Dirkmann, N. Z. Golpayegani, S. Vortherms, J. Tentrop, D. Nowotnik, H. Prinz, R. Fröhlich, K. Müller, Oxadiazole-substituted Naphtho[2,3-b]thiophene-4,9-diones as Potent Inhibitors of Keratinocyte Hyperproliferation, Structure-activity Relationships of the Tricyclic Quinone Skeleton and the Oxadiazole Substituent, *Eur. J. Med. Chem.*, Vol. 134, 2017, pp. 119-132, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.084>.
- [10] C. Lindenschmidt, D. Krane, S. Vortherms, L. Hilbig, H. Prinz, K. Müller, 8-Halo-substituted Naphtho[2,3-b]thiophene-4,9-diones as Redox-active Inhibitors of Keratinocyte Hyperproliferation with Reduced Membrane-Damaging Properties, *Eur. J. Med. Chem.*, Vol. 110, 2016, pp. 280-290, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.01.040>.
- [11] J. L. Bolton, Quinone Methide Bioactivation Pathway: Contribution to Toxicity and/or Cytoprotection?, *Curr. Org. Chem.*, Vol. 18, 2014, pp. 61-69, <https://doi.org/10.2174/138527281801140121123046>.
- [12] N. H. Thanh, H. T. Phuong, D. T. T. Anh, B. Julien, L. N. T. Giang, N. T. Q. Giang, N. T. Anh, D. T. Mai, N. T. Tra, R. Pascal, N. X. Nhiem, N. V. Tuyen, N. T. Binh, Design, Synthesis, Molecular Modeling and Anticancer Activity of Novel Fluorinated Naphtho[2,3-b]thiophene-4,9-dione Derivatives, *RSC Adv.*, Vol. 16, 2026, pp. 35271, <https://doi.org/10.1039/d6ra02927b>.
- [13] Chemical Computing Group ULC, Molecular Operating Environment (MOE), version 2022.02, Montreal (QC): Chemical Computing Group ULC, 2022.
- [14] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules, *Sci. Rep.*, Vol. 7, 2017, pp. 42717, <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- [15] P. Banerjee, E. Kemmler, M. Dunkel, R. Preissner, ProTox 3.0: A Webserver for the Prediction of Toxicity of Chemicals, *Nucleic Acids Res.*, Vol. 52, 2024, pp. W513-W520, <https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>.
- [16] T. A. D. Thi, Y. Depetter, K. Mollet, P. H. Thi, D. V. Ngoc, C. P. The, H. T. Nguyen, H. N. T. Thu, H. H. Nguyen, M. D'hooghe, T. V. Nguyen, Expedient Stereoselective Synthesis of New Dihydropyrano- and dihydrofuranonaphthoquinones, *Tetrahedron Lett.*, Vol. 56, 2015, pp. 2422, <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.03.071>.
- [17] H. T. Nguyen, H. P. The, A. N. Tuan, H. N. T. Thu, T. A. D. Thi, G. L. N. Thuy, P. H. Thi, Q. G. N. Thi, T. V. Nguyen, Improved Synthesis, Molecular Modeling and Anti-inflammatory Activity of New Fluorinated Dihydrofurano-naphthoquinone Compounds, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Vol. 104, 2024, pp. 129714, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2024.129714>.
- [18] H. T. Nguyen, G. L. N. Thuy, P. Hoang Thi, Q. G. N. Thi, T. A. Nguyen, T. H. Nguyen Thi, T. A. D. Thi, T. V. Nguyen, Microwave-assisted Three-component Synthesis of Novel N-arylated-dihydrobenzo[g]quinoline-5,10-diones and Their Potential Cytotoxic Activity, *Chem. Biodivers.*, Vol. 19, 2024, pp. e202200359, <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200359>.
- [19] H. T. Nguyen, Q. G. N. Thi, T. H. N. Thi et al., Synthesis and Biological Activity, and Molecular Modelling Studies of Potent Cytotoxic Podophyllotoxin-naphthoquinone Compounds, *RSC Adv.*, Vol. 12, 2022, pp. 22004-22019, <https://doi.org/10.1039/D2RA03312G>.
- [20] A. E. Prota, F. Danel, F. Bachmann F et al., The Novel Microtubule-destabilizing Drug BAL27862 Binds to the Colchicine Site of Tubulin with

- Distinct Effects on Microtubule Organization, *J. Mol. Biol.*, Vol. 426, 2014, pp. 1848-1860, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.02.005>.
- [21] M. Hawash, Recent Advances of Tubulin Inhibitors Targeting the Colchicine Binding Site for Cancer Therapy, *Biomolecules*, Vol. 12, 2022, pp. 1843, <https://doi.org/10.3390/biom12121843>.
- [22] H. T. Nguyen, H. N. Van, H. P. The et al., Synthesis, Molecular Docking Analysis, and in Vitro Cytotoxic Evaluation of New Fluorinated γ -butyrolactone-aza-anthraquinone Compounds, *Chem, Biodivers*, Vol. 22, 2025, pp. e02030, <https://doi.org/10.1002/cbdv.202502030>.
- [23] T. A. Nguyen, H. T. Nguyen, N. Nguyen Thi et al., Design, Microwave-Assisted Domino Synthesis, and Biological Evaluation Of Novel Naphtho[2,3-*b*]furan-4,9-diones as Rigidified Combretastatin A-4 Analogs Inducing G0/G1 Cell Cycle Arrest and Apoptosis, *RSC Adv.*, 2026, <https://doi.org/10.1039/D6RA08348J>.
- [24] D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple, Molecular Properties that Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates, *J. Med. Chem*, Vol. 45, 2002, pp. 2615-2623, <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.
- [25] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. U. Dominy, P. J. Feeney, Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings, *Adv. Drug. Deliv. Rev*, Vol. 23, 1997, pp. 3-25, [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).