

TỔNG HỢP CÁC PYRAZOLINE TỪ CÁC CETON α,β - KHÔNG NO ĐI TỪ HỢP CHẤT 3- ACETYL- 4- HYDROXY- N – METHYL QUINOLIN - 2- ONE VÀ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN

TÓM TẮT

Mục tiêu: Tổng hợp và xác định hoạt tính kháng khuẩn của một số pyrazoline từ các ceton α,β - không no đi từ hợp chất 3-acetyl-4- hydroxy-N-methyl quinolin-2-one.

Phương pháp: Phản ứng tổng hợp các pyrazoline từ ceton α,β - không no với p-nitro phenylhydrazine trong dung môi ethanol, chất xúc tác acid acetic. Cấu tạo của các hợp chất pyrazoline thu được được xác định bằng phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân và phổ khối lượng. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của một số pyrazoline bằng phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC).

Kết quả: Tổng hợp được 3 pyrazoline đi từ các ceton α,β - không no với p-nitro phenylhydrazine. Cấu tạo của các pyrazoline được chứng minh bằng phương pháp phổ hồng ngoại, phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Một trong số ba pyrazoline (pyrazoline 2) có khả năng ức chế trực khuẩn Gram âm Klebsiella pneumonia và cầu khuẩn Gram dương Staphylococcus epidermidis và nấm men Candida albican.

Từ khoá: Pyrazoline, hoạt tính kháng khuẩn, phổ hồng ngoại, phổ khối lượng

ABSTRACT

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF PYRAZOLINE FROM α,β - UNSATURATED KETONES PREPARED FROM 3-ACETYL -4-HYDROXY- N – METHYL QUINOLINE - 2- ONE

Objective: Synthesis and investigation of antimicrobial activities of the pyrazolines from α,β - unsaturated ketones prepared from 3-acetyl-4-hydroxy-N-methyl quinolin -2-one.

Method: Carried out the reaction of α,β -unsaturated ketones with p-nitro phenylhydrazine

Vũ Thị Minh Thư^{1*}, Nguyễn Tiến An¹

in ethanol solvent and catalyzed by acetic acid to obtain pyrazoline compounds. The structures of the obtained pyrazoline compounds were determined by infrared spectroscopy (IR), proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR) and mass spectrometry (MS). Test for antibacterial activities of pyrazoline by the method of determining the minimum inhibitory concentration

Results: Three pyrazolines were successfully synthesized via the reaction of α,β -unsaturated ketones with p-nitro phenylhydrazine. The structures of three pyrazolines were determined by infrared spectroscopy (IR), proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR) and mass spectrometry (MS). One in three pyrazolines (pyrazoline 2) was tested for its antibacterial activities and the results showed that the pyrazoline 2 exhibited antibacterial activity against Gram negative bacilli Klebsiella pneumonia and Gram positive cocci Staphylococcus epidermidis and yeast Candida albican.

Keywords: Pyrazoline, antimicrobial activity, infrared spectroscopy, mass spectrometry

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pyrazoline được biết đến nhiều và quan trọng nhất là các dẫn chất dị vòng năm cạnh có chứa hai nguyên tử nito (dẫn chất của 4,5-dihydro-1H-pyrazole). Các hợp chất có chứa khung pyrazoline có hoạt tính sinh học cao. Chúng có một số tác dụng nổi bật như chống viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, giảm đau, chống tiểu đường, chống oxy hoá và chống ung thư. Nhiều loại thuốc có chứa pyrazoline đã được phê duyệt lâm sàng và được sử dụng cho các bệnh lý khác nhau. Ví dụ, Antipyrine chứa gốc pyrazoline được chỉ định như một loại thuốc chống viêm; Famprofazone, Dipyrone, Morazone, Aminopyrine, Ramifenazone, Phenylbutazone và celecoxib là những loại thuốc giảm đau, hạ sốt và chống viêm mạnh. Các hợp chất vòng pyrazoline cũng thể hiện hoạt tính chống ung thư hiệu quả cao. Một trong những ví dụ là Ibrutinib, chứa một vòng pyrazoline, là một chất ức chế tyrosine kinase được sử dụng để điều trị bệnh bạch cầu lymphocytic mãn tính và u lympho tế bào Mantle. Một loại thuốc chống ung thư khác có chứa

1. Trường Đại học Y Dược Thái Bình

*Tác giả liên hệ: Vũ Thị Minh Thư

Email: vuminhthuvt@gmail.com

Ngày nhận bài: 24/04/2024

Ngày phản biện: 29/05/2024

Ngày duyệt bài: 06/06/2024

pyrazoline được phổ biến nhất là Axidinib, một chất ức chế tyrosine kinase được sử dụng để điều trị bệnh thiếu máu nghiêm trọng. Pyrazoline là một trong những hợp chất vòng cơ bản và phổ biến để phát triển các chất chống ung thư mới. Nhiều loại thuốc mang vòng pyrazoline được sử dụng trên lâm sàng để điều trị ung thư. Một số ít đang trong giai đoạn cuối của thử nghiệm lâm sàng để điều trị các bệnh ung thư khác nhau, ví dụ như Indibulin và AT9283 [1], [2].

Pyrazoline được tổng hợp bằng nhiều cách khác nhau như từ ethylene và diazomethane hoặc bằng phản ứng giữa acrolein và hydrazine. Các dẫn xuất của pyrazoline có thể điều chế tương tự bằng phản ứng ngưng tụ đóng vòng của các ceton α, β - không no với các dẫn xuất của hydrazin và chất xúc tác là acid acetic (phản ứng Knoevenagel và Fisher) [3], [4]. Một trong những ceton α, β - không no hay được sử dụng trong tổng hợp pyrazoline là các ceton α, β - không no chứa vòng quinoline bởi chúng có nhiều trung tâm phản ứng như chứa hệ liên hợp giữa nối đôi vinyl với nhóm cacbonyl ceton nên có thể coi chúng là những sản phẩm trung gian trong quá trình tổng hợp các hợp chất khác như sự ngưng tụ đóng vòng với các dẫn xuất phenylhydrazine để tạo thành các hệ vòng pyrazoline hay với guanidin để tạo vòng pyrimidine, cộng hợp đóng vòng với tác nhân oxy hóa để tạo thành các hợp chất dạng flavonoid. Những hợp chất này đều có hoạt tính sinh học đáng quý. Đặc biệt trong một công trình đã công bố trước đây đã tìm thấy hợp chất ceton α, β - không no - sản phẩm ngưng tụ của 3-acetyl-4-hydroxy-N-phenylquinolin-2-one với p-nitrobenzaldehyde có hoạt tính chống ung thư gan và ung thư phổi [5], [6]. Xuất phát từ những nhận định trên, tiến hành ngưng tụ các ceton α, β - không no từ hợp chất 3-acetyl-4-hydroxy-N-methyl quinolin-2-one với p-nitro phenylhydrazine thành các hợp chất vòng pyrazoline, để khảo sát và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của pyrazoline tổng hợp được.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hoá chất và trang thiết bị

Các hóa chất chính ở dạng tinh khiết phân tích hoặc tinh khiết của hãng Merck – Đức được sử dụng trong quá trình nghiên cứu gồm: ethanol (C_2H_5OH); acid acetic (CH_3COOH); p-nitro phenylhydrazine ($p-NH_2NHC_6H_4NO_2$); dimethylformamide (DMF), 3-acetyl-4-hydroxy-N-methyl quinolin-2-one, ... vv.

Các thiết bị phân tích chính được sử dụng trong quá trình nghiên cứu gồm: Phổ hồng ngoại (IR) được ghi trên máy Impact 410-Nicolet (tại Trường Khoa học Tự Nhiên–ĐHQGHN). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (1H -NMR) được ghi trên máy DRX 500 Brucker (tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam). Phổ khối lượng (MS) được ghi trên máy LC-MSD-Trap-SL (tại Khoa Hóa học, Trường Khoa học Tự Nhiên, ĐHQGHN).

Các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu gồm: trực khuẩn Gram âm *K. pneumoniae* và cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis* và nấm men *C. albican* tại phòng Vi sinh, Bệnh viện 19.8, Bộ Công an.

2.2. Phương pháp thực nghiệm

Tổng hợp các hợp chất pyrazoline từ các ceton α, β - không no

Đun sôi hồi lưu ceton α, β - không no đi từ hợp chất 3-acetyl-4-hydroxy-N-methyl quinolin-2-one với p-nitro phenylhydrazine trong dung môi ethanol sử dụng chất xúc tác acid acetic trong khoảng thời gian 4 – 8 giờ, kết tủa nóng thu được các pyrazoline. Lọc và kết tinh lại bằng ethanol ta thu được các pyrazoline.

2.2.2. Xác định cấu tạo của các hợp chất pyrazoline

Cấu tạo của các hợp chất pyrazoline thu được được xác định bằng phổ hồng ngoại, (ép viên các pyrazoline với KBr rắn, quét ở vùng bước sóng từ 900 – 3500 cm^{-1}), phổ cộng hưởng từ proton (hoà tan các pyrazoline trong dung môi DMSO – d_6 và ghi phổ proton) và phổ khối lượng.

2.2.3. Hoạt tính kháng khuẩn của các pyrazoline

Tìm nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của pyrazoline với các vi khuẩn, nấm men: Pyrazoline có nồng độ 5mg/ml trong dung môi DMF được pha loãng trong thạch để đạt được các nồng độ 125; 250; 500; 750 μg /ml. Đổ thạch vào hộp, độ dày thạch là 4mm, để mặt thạch khô. Dùng que cấy, cấy các chủng khuẩn lên mặt thạch. Ủ ấm 37°C trong 24 giờ đối với vi khuẩn và ủ ấm 37°C trong 48 giờ đối với nấm men rồi đánh giá kết quả. Nếu vi khuẩn hoặc nấm men không phát triển trên đĩa thạch với nồng độ pyrazoline nào thì chứng tỏ pyrazoline ở nồng độ đó có khả năng ức chế vi khuẩn hoặc nấm men.

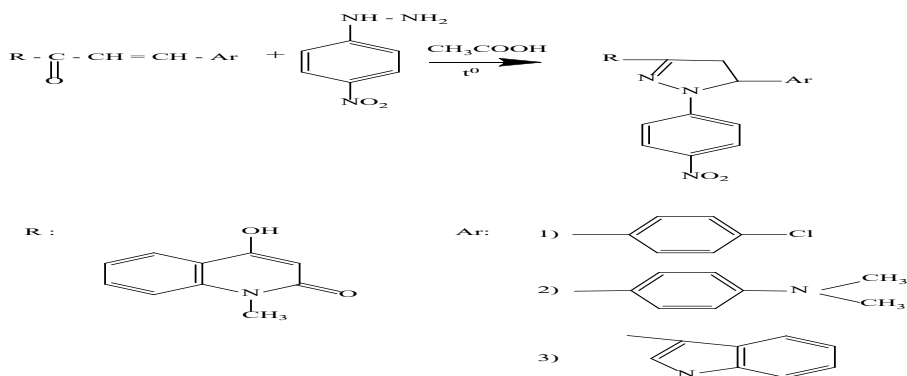
2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ đúng theo Quyết định số 56/QĐ – YDTB ngày 10/01/2023 của HĐKH về việc thành lập Hội đồng đạo đức trường Đại học Y Dược Thái Bình.

III. KẾT QUẢ

3.1. Tổng hợp các hợp chất pyrazoline từ các ceton α, β - không no

Dựa vào phản ứng giữa ceton α, β - không no đi từ hợp chất 3- acetyl- 4- hydroxy- N – methyl quinolin-2- one với p-nitro phenylhydrazine thu được 3 pyrazoline theo sơ đồ sau:



Hình 1. Sơ đồ tổng hợp các hợp chất pyrazoline từ các ceton α, β -không no

Ba hợp chất pyrazoline thu được có màu sắc từ da cam đến đỏ nâu, nhiệt độ nóng chảy (T_{nc}^0) và hiệu suất phản ứng tổng hợp được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1: Kết quả tổng hợp pyrazoline từ các ceton α, β -không no

Pyrazoline	Ar	Màu sắc	T_{nc}^0	Hiệu suất
1	<i>p</i> -Clophenyl	Da cam	220-221	34
2	<i>p</i> -Dimethyl - aminophenyl	Da cam	245-246	36
3	Indolyl-3	Đỏ nâu	310-311	53

3.2. Xác định cấu tạo của các pyrazoline bằng các phương pháp phổ

Cấu tạo của các hợp chất pyrazoline thu được ở trên được xác định bằng phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ proton và phổ khối lượng.

* **Phổ hồng ngoại:** Phổ hồng ngoại của các pyrazoline thu được xuất hiện vạch dao động hóa trị của nhóm CO–lactam ở 1600 - 1650 cm^{-1} với cường độ trung bình. Nhóm OH phenol có sự chuyển dịch về phía số sóng lớn hơn 3200 - 3400 cm^{-1} . Dao động của nhóm C-N nằm trong vùng 1200 - 1400 cm^{-1} , dao động của liên kết C=N nằm trong vùng 1500 - 1600 cm^{-1} lẫn với liên kết C=C của nhân thơm nên khó phát hiện. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

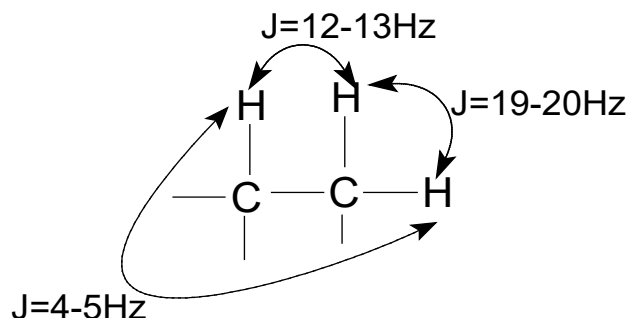
Bảng 2. Kết quả phổ hồng ngoại IR và phổ khối MS của các pyrazoline

Pyrazoline	Ar	Phổ IR (cm^{-1})				Phổ MS (m/z)		
		ν_{OH}	ν_{CO}	ν_{NO_2}	Nhóm khác	M^+	CTPT	M
1	<i>p</i> -Clophenyl	3311	1646	1555 1313	757 (Cl)	472 473 474	$C_{25}H_{19}N_4O_4Cl$	473
2	<i>p</i> -Dimethyl - aminophenyl	3350	1635	1590 1301	-	483 (100%)	$C_{27}H_{25}N_5O_4$	483
3	Indolyl-3	3202	1606	1589 1302	-	479 (100%)	$C_{27}H_{21}N_5O_4$	479

Ghi chú: ν : Dao động hoá trị; M^+ : Ion phân tử; CTPT: Công thức phân tử; M: Khối lượng phân tử

* **Phổ khối lượng:** Phổ khối lượng của các pyrazoline đều có peak ion phân tử có số khối trùng hợp với khối lượng phân tử. Như vậy có thể kết luận sơ bộ các pyrazoline điều chế được có công thức phân tử như dự kiến (xem bảng 2)

* **Phổ cộng hưởng từ proton $^1\text{H-NMR}$:** Kết quả phân tích cho thấy trên phổ xuất hiện tín hiệu đặc trưng của nhóm $\text{CH}_2 - \text{CH}$ của vòng pyrazoline ở dạng quarter ở khoảng 2-6 ppm với hằng số tương tác spin-spin của 2 proton cạnh nhau:



Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ cũng cho thấy xuất hiện tín hiệu doublet ở 7,3-7,5 ppm của H-5 và 1 doublet ở 8,0-8,3 ppm của H-8 cũng như tín hiệu đặc trưng cho chuyển dịch hoá học của các proton khác có mặt trong phân tử (xem bảng 3).

Bảng 3. Phổ cộng hưởng từ proton $^1\text{H-NMR}$ của một số pyrazoline

STT	Công thức	$\delta - \text{CH}_2 - \text{CH} -$	δ_{H} (J): ppm
1		2,93(1H,q,C' _{4a} -H, J= 12 và J=16,5); 3,50(1H,q,C' _{4b} -H, J= 3,5 và J=16,5); 5,60(1H,q,C' ₅ -H, J=3,5 và J=12);	3,65(3H,s,NCH ₃); 7,28 (1H,t,C ₆ -H,J=7,5); 7,41 (2H,m,C ₉ -H và C ₁₃ -H); 7,53(1H,d,C ₅ -H,J=8); 7,57 (2H,d,C ₁₀ -H và C ₁₂ -H,J=8,5); 7,67 (3H,m,C ₇ -H,C ₁₄ -H,C ₁₇ -H); 7,92 (1H,t,C ₈ -H,J=8); 8,14 (2H,d,C ₁₅ -H và C ₁₆ -H); 10,32 (1H,s,OH).
2		3,65(1H,q,C' _{4a} -H, J=4,5 và J=19); 4,25(1H,q,C' _{4b} -H, J=12 và J=19); 5,55(1H,q,C' ₅ -H, J=12 và J=4,5).	2,80(6H,s,CH ₃ NCH ₃); 3,62(3H,s,NCH ₃); 6,68 (2H,d,C ₉ -H;C ₁₃ -H,J=9); 7,05 (2H,d,C ₁₀ -H,C ₁₂ -H,J=9); 7,09 (2H,d,C ₁₄ -H,C ₁₇ -H,J=9); 7,37 (1H,t,C ₆ -H,J=7 và J=15); 7,55 (1H,d,C ₅ -H,J=7); 7,74 (1H,m,C ₇ -H); 8,07 (3H,t,C ₁₅ -H,C ₁₆ -H,C ₈ -H); 13,03(1H,s,OH).
		3,80(1H,q,C' _{4a} -H, J=5 và J=19); 4,27(1H,q,C' _{4b} -H, J=12 và J=19); 5,95(1H,q,C' ₅ -H, J=5 và J=12).	3,57 (3H,s,NCH ₃); 6,92(1H,m,C ₁₀ -H); 7,06 (1H,m,C ₁₁ -H); 7,14 (2H,d,C ₁₄ -H và C ₁₇ -H ,J=3,5); 7,28 (1H,d,C ₉ -H,J=8); 7,37 (2H,m,C ₆ -H và C ₁₂ -H); 7,46 (1H,d,C ₁₃ -H,J=2,5); 7,55 (1H,d,C ₅ -H,J=8,5); 7,73 (1H,m,C ₇ -H); 8,05 (2H,d,C ₁₅ -H và C ₁₆ -H, J=9,5); 8,15 (1H,d,C ₈ -H, J=8 và J=1,5); 11,1(1H,s,NH); 13,17(1H,s,OH).

Từ dữ liệu phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ proton, phổ khối lượng khẳng định được cấu tạo của các hợp chất pyrazoline thu được đúng như dự kiến.

3.3. Thử nghiệm hoạt tính sinh học của các pyrazoline

Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của hợp chất pyrazoline 2 được trình bày trong bảng 4.

thành các hợp chất pyrazoline và cấu tạo của các pyrazoline thu được đúng như dự kiến.

4.3. Hoạt tính kháng khuẩn của các pyrazoline

Do các pyrazoline hoà tan kém trong dung môi DMF nên không thể tiến hành thử hoạt tính sinh học của tất cả các pyrazoline thu được mà chỉ có thể thử được 1 trong số 3 pyrazoline (số 2) đã tổng hợp được (pyrazoline này có thể tan được trong DMF ở điều kiện thường). Kết quả nghiên cứu cho thấy pyrazoline 2 có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm. Nồng độ ức chế tối thiểu của pyrazoline 2 với vi khuẩn Gram âm *K. pneumonia* là 250 µg/ml; với vi khuẩn Gram dương *S. epidermidis* là 250 µg/ml và với nấm men *C. albican* là 500 µg/ml.

Pyrazoline thể hiện khả năng kháng khuẩn, kháng nấm men hiệu quả cao. Kết quả này bước đầu cho thấy có thể sử dụng các pyrazoline này trong thử nghiệm lâm sàng để điều chế các thuốc chống viêm, kháng khuẩn, kháng nấm là có cơ sở.

V. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp được 3 pyrazoline đi từ các α, β - ceton không no với p-nitro phenylhydrazine. Cấu tạo của các pyrazoline được xác định bằng các phương pháp phổ hồng ngoại, phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Pyrazoline 2 có khả năng ức chế trực khuẩn Gram âm *K. pneumonia* với giá trị MIC là 250 µg/ml; ức chế cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis* với giá trị MIC là 250 µg/ml và kháng nấm men *C. albican* với giá trị MIC là 500 µg/ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Suresh Kumar, Sandhya Bawa, Sushma Drabu, Rajiv Kumar, Himanshu Gupta (2009), Biological activities of pyrazoline derivatives-a recent development, Recent Pat Antiinfect Drug Discov 4(3), p.154-163.
2. Kashif Haider, Mohd Shafeeqe, Shaikh Yahya, M. Shahar Yar (2022), A comprehensive review on pyrazoline based heterocyclic hybrids as potent anticancer agents, European Journal of Medicinal Chemistry Reports, 5, p.100-108.
3. Nguyễn Minh Thảo (2007), "Nghiên cứu tổng hợp, hoạt tính sinh học (kháng khuẩn, chống viêm, chống ung thư) của các ceton α, β - không no", Báo cáo nghiệm thu đề tài NCKH Trọng điểm cấp ĐHQG HN, mã số QGTĐ-05-03, Hà Nội, tr 41-42.
4. Nguyễn Minh Thảo, Vũ Thị Minh Thư, Trần Văn Sơn (2010), "Tổng hợp các ceton α, β - không no đi từ 3-axetyl-4-hydroxy-N-metyl quino-lin-2-on", Tạp chí Hóa học, T 48(2), Tr.157-162.
5. Nguyễn Minh Thảo, Bùi Thị Thúy Vân, Nguyễn Văn Vinh (2008), "Nghiên cứu chuyển hoá một số ceton α, β - không no đi từ 2-hydroxy-4-metoxaxetophenon", Tạp chí Hóa học, T.46 (5), Tr. 577- 582.
6. Dương Ngọc Toàn, Nguyễn Minh Thảo, Nguyễn Thị Minh Thư (2013), "Tổng hợp một số 2-aryl-4-(2'-hydroxyphenyl)-1,5-benzothiazepin" Tạp chí Hóa học, T. 51 (1), Tr.91-95.