

Tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của một số dẫn chất benzimidazol

Trương Phương*, Nguyễn Ngọc Đan Thùy, Đặng Hoàng Minh
Lê Hoàng Phượng Linh, Phạm Đức Huy
Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Summary

Benzimidazole derivatives are present in many groups of drugs such as antidiabetic drugs, cancer, viral, malaria, cardiovascular, neurological, endocrine, ophthalmic disease and especially antimicrobial activity. In this research, benzimidazole derivatives with substituents at position five and alkyl derivatives were investigated the antibacterial and antifungal activity of synthetic substances.

Key words: Benzimidazol, benzimidazol derivatives, alkyl derivatives.

Đặt vấn đề

Benzimidazol được coi là một nhóm thuốc đầy hứa hẹn của các hợp chất dị vòng được tạo thành bởi imidazol và vòng benzen, thể hiện một loạt hoạt tính sinh học [1]. Các dẫn chất benzimidazol có mặt trong nhiều nhóm thuốc như thuốc trị đái tháo đường, ung thư, virus, sốt rét, các bệnh tim mạch, thần kinh, nội tiết, nhãn khoa [2], và đặc biệt là tác dụng kháng nấm kháng khuẩn [3-5]. Vì vậy mục tiêu của nghiên cứu này là tổng hợp các dẫn chất benzimidazol với các nhóm thế ở vị trí số 5 và các dẫn chất alkyl và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các chất tổng hợp.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Nguyên liệu dùng trong tổng hợp

3,4-diaminotoluen, 1,2-phenylendiamin, 4-nitro-o-phenylendiamin, acid formic, benzyl bromid, 2-clorobenzyl-clorid, dicloromethan, aceton, ethyl acetat, cloroform.

Nguyên liệu dùng trong kiểm nghiệm

Bản mỏng silica gel GF254 của Hãng Merck.

Các hệ dung môi: Hệ (A): aceton - hexan (45:55); hệ (B): ethyl acetat - hexan (7:3); hệ (C): cloroform - aceton (6:4); hệ (D): cloroform - ethanol (65:35) và hệ (E): dicloromethan - ethanol (6:4).

Nguyên liệu thử vi sinh

Các chủng vi khuẩn dùng trong thử nghiệm: *Staphylococcus aureus*: MSSA (ATCC 26213), MRSA (ATCC 33591), *Streptococcus faecalis* ATCC 29212; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Escherichia coli* ATCC 35218.

Các chủng nấm dùng trong thử nghiệm: *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*.

Môi trường thử nghiệm: Tryptic Soy Agar, Tryptic Soy Broth, RPMI 1640.

Dụng cụ và trang thiết bị

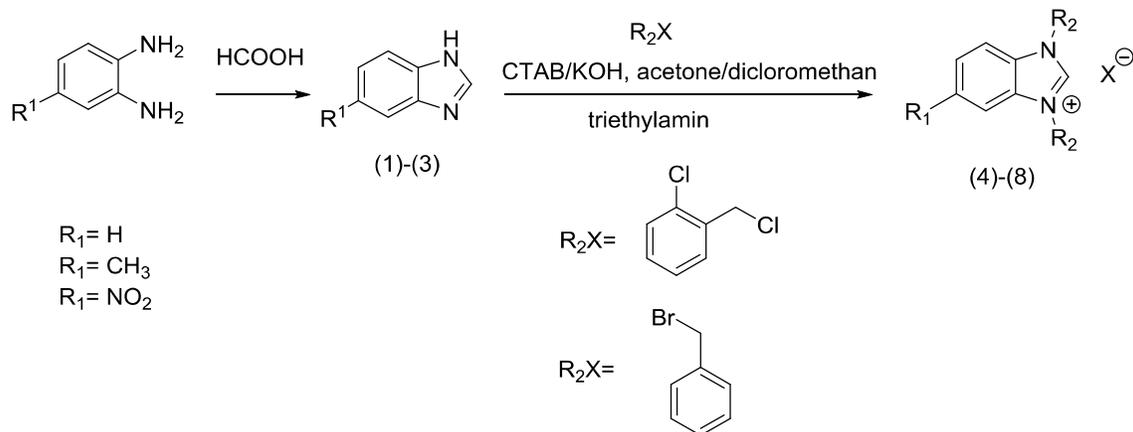
Dụng cụ, trang thiết bị tổng hợp và tinh chế sản phẩm: Cân Kern ABS-220-4, tủ hút LV-FH12A, máy khuấy từ gia nhiệt, cá từ, bếp điện, máy hút chân không, phễu Buchner, máy cô quay Stuart, tủ sấy Memmert xuất xứ Đức.

Kiểm nghiệm sản phẩm: Máy đo MS Shimadzu LCMS, máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker 500 MHz, máy UVD-2960 của Hãng Labomed, máy quang phổ hồng ngoại (Infrared Spectroscopy- IR) FTIR 8201 PC (SHIMADZU), sắc ký bản mỏng GF₂₅₄, bình sắc kí, buồng soi UV ViberLourmart.

Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp các chất theo sơ đồ sau:

Chịu trách nhiệm: Trương Phương
Email: nguyetphuong1234@gmail.com
Ngày nhận: 11/9/2020
Ngày phản biện: 26/02/2021
Ngày duyệt bài: 20/4/2021



Sơ đồ 1. Sơ đồ tổng hợp các dẫn chất benzimidazol

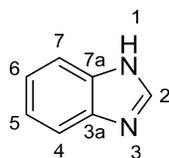
Kết quả và bàn luận

Tổng hợp 1H-benzo[d]imidazol (1)

Trong bình cầu 250 mL, cho 27 g o-phenyldiamin (0,23 mol), 16 mL acid formic (0,34 mol), đun cách thủy trong vòng 2 giờ. Sau phản ứng, để sản phẩm nguội. Thêm từ từ NaOH 10%, lắc nhẹ bình cho đến khi quỳ tím hóa xanh. Lọc lấy tủa bằng phễu Buchner, rửa tủa với 25 mL nước lạnh. Sản phẩm thô được kết tinh lại trong 400 mL nước sôi, sau đó để nguội dịch lọc đến 10 °C. Lọc lấy sản phẩm kết tinh, rửa bằng 25 mL nước lạnh và sấy khô ở nhiệt độ 55 - 60 °C. Thu được 25 g sản phẩm (1) tinh khiết (0,21 mol). Hiệu suất đạt 85%.

1H-benzo[d]imidazol (1)

$\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_2$. P.t.l: 118,14. Bột kết tinh màu trắng, tan trong ethanol, methanol, aceton, cloroform, có nhiệt độ nóng chảy 172-173 °C; **SKLM:** R_f (hệ dung môi): A (0,5), B (0,2), C (0,4); **IR** (cm^{-1}): 3113 (ν N-H amin); 3061 (ν C-H nhân thơm) 1456 (ν C=C nhân thơm); **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 8,13 (s, 1H, H2), 7,68 (dd, 2H, $J = 6,0; 3,5$; H4 và H7), 7,41 (s, 1H, H1), 7,30 (dd, 2H, $J = 6,0; 3,0$ Hz, H5 và H6). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 140,5 (C2); 130,8 (C3a, C7a); 123,1 (C5, C6); 115,5 (C4, C7). **MS:** m/z 119 (M+H)⁺; 117 (M-H)⁻.

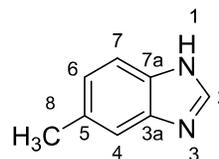


Tổng hợp 5-methyl-1H-benzo[d]imidazol (2)

Tiến hành tương tự chất (1). Nhỏ từng giọt NaOH 30%, cho đến khi có tủa màu nâu sáng. Lọc lấy tủa bằng phễu Buchner, rửa tủa bằng nước lạnh. Sản phẩm thô được kết tinh lại trong 36 mL hỗn hợp nước : cồn tỉ lệ 5:4, sau đó để nguội dịch lọc đến 10 °C. Lọc lấy sản phẩm kết tinh, rửa bằng 25 mL nước lạnh và sấy khô ở nhiệt độ 55-60 °C. Thu được 0,37g sản phẩm tinh khiết. Hiệu suất đạt 37%.

5-methyl-1H-benzo[d]imidazol (2)

$\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2$. P.t.l: 132,07. Bột kết tinh màu trắng, nâu, tan trong ethanol, methanol, cloroform, aceton có nhiệt độ nóng chảy 112-113 °C; **SKLM:** A (0,33); B (0,3); C(0,38). **IR** (cm^{-1}): 3071 (ν N-H amin), 3016 (ν C-H nhân thơm), 1444 (ν C-H nhân thơm). **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 12,28 (s, 1H, H1), 8,12 (s, 1H, H2), 7,47 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H6), 7,37 (s, 1H, H4); 7,00 (dd, 1H, $J = 8,0; 0,5$ Hz, H7); 2,41 (s, 3H, H8). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 141,5 (C2); 130,8 (C3a, C5, C7a); 123,11 (C4, C6, C7); 21,18 (C8); **MS:** m/z 133 (M+H)⁺.



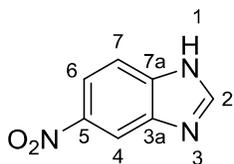
Tổng hợp 5-nitro-1H-benzo[d]imidazol (3)

Trong bình cầu 100 mL, cho 0,03 mol nitro-o-phenyldiamin, 0,04 mol acid formic, đun cách thủy ở 100 °C trong vòng 2 giờ. Sau phản ứng,

để sản phẩm nguội. Lọc lấy tủa bằng phễu Buchner, rửa tủa với 25 mL nước lạnh. Sản phẩm thô được kết tinh lại trong 400 mL nước : cồn tỉ lệ 2:1, sau đó để nguội dịch lọc đến 10 °C. Lọc lấy sản phẩm kết tinh, rửa bằng 25 mL nước lạnh và sấy khô ở nhiệt độ 55 - 60 °C. Thu được 4,17 g sản phẩm tinh khiết (0,026 mol). Hiệu suất đạt 85%.

5-nitro-1H-benzo[d]imidazol (3)

C₇H₆N₂. P.t.l: 163,04. Bột kết tinh màu vàng, nâu, tan trong ethanol, methanol, aceton, cloroform, có nhiệt độ nóng chảy 208-209 °C; **SKLM**: R_f (hệ dung môi): A (0,5), B (0,2), C (0,4); **IR** (cm⁻¹): 3113 (ν N-H amin); 3061 (ν C-H nhân thơm); 1460 (ν C=C nhân thơm) ; **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO- d₆, δ ppm) : 13,08 (s,1H, H1); 8,54 (s,1H, H2); 8,51(d, 1H, J = 1,5Hz, H4); 8,12 (dd, 1H, J = 9,0 Hz, 2,5Hz, H7); 7,77(d,1H, J = 9,0 Hz; H6); **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO - d₆, δ ppm): 146,68 (C5); 142,60 (C2, C3a, C7a); 117,51 (C6,C7); 114,09 (C4); **MS**: m/z 162 (M-H).



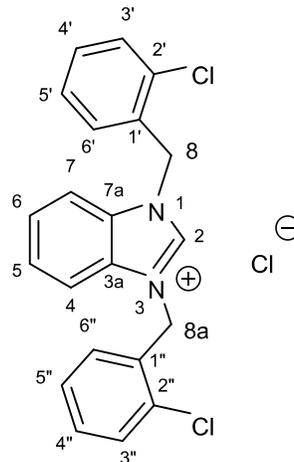
Tổng hợp 1,3-bis(2-clorobenzyl)-1H-benzo[d]imidazol-3-ium clorid (4)

Cho 1 g benzimidazol vào trong bình cầu, sau đó thêm 2,26 mL (tỉ lệ mol 1:2) và 10 mL TEA đun hồi lưu 18 giờ thu được sản phẩm. Đuổi TEA bằng cách đun trên bếp khuấy từ cho đến khi quỳ tím không hóa xanh, thu được cặn, sau đó thêm 20 mL aceton vào bình cầu. Lọc lấy tủa trên phễu Buchner, rửa tủa bằng 40 mL aceton lạnh. Sản phẩm thô kết tinh trong 20 mL cồn tuyệt đối. Thu được 1,44 g sản phẩm tinh khiết (4 mmol). Hiệu suất 46,28%.

1,3-bis (2-chlorobenzyl) -1H-benzo [d] imidazol-3- iumclorid (4)

C₂₁H₁₇Cl₃N₂. P.t.l: 403,73. Bột kết tinh màu trắng, tan trong cloroform, ethanol, methanol, tan ít trong nước, không tan trong aceton, tạo kết tủa trắng đến vàng với AgNO₃, có nhiệt độ

nóng chảy 203-204 °C; **SKLM**: R_f = 0,25 (C); 0,95 (D); 0,8 (E) **IR** (cm⁻¹) 1175 (ν C-N amin), 1555 (ν C-H nhân thơm), 3051 (ν C-H nhân thơm); **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 10,17 (s,1H, H2), 7,95 (dd, J = 6,5 Hz, 3,0 Hz, H4 và H7); 7,66 (dd, 2H, J = 6,0 Hz, 3,0 Hz, H5 và H6); 7,58 (dd, 2H, J = 8,0; 1,0 Hz, H3 và H3''); 7,53 (dd, 2H, J = 7,5; 1,5 Hz H6' và H6''); 7,46 (dt, 2H, J = 7,0; 2,0 Hz, H5' và H5''); 7,42 (dt, 2H, J = 7,5; 1,0 Hz, H4 và H4''); 5,96 (s, 4H, H8 và H8a); **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 144,0 (C2); 132,9 (C1' và C1''); 131,1 (C2' và C2''); 131,0 (C3a và C7a); 130,9 (C6' và C6''); 130,8 (C3' và C3''); 130,0 (C4' và C4''); 127,9 (C5' và C5''); 127,0 (C5 và C6); 114,0 (C4 và C7); 48,4 (C8 và C8a). Khối phổ phân giải thấp: **MS**: m/z 439 (M+Cl₂⁻); phù hợp với m/z dự kiến 403.



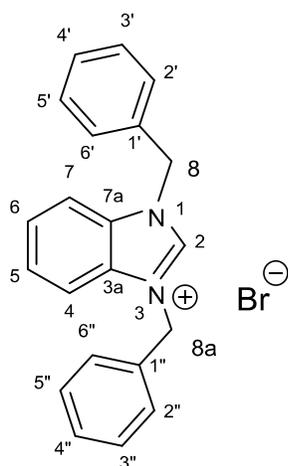
Tổng hợp 1,3-dibenzyl-1H-benzo[d]imidazol-3-ium bromid (5)

Cho 0,5 g benzimidazol (4 mmol) vào trong bình cầu chứa 10 mL aceton, thêm 1,5 mL benzylbromid (12 mmol) (tỉ lệ mol 1:3), thêm từ từ 0,7 g KOH. Khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng, sau đó lọc lấy tủa. Rửa tủa bằng 20 mL aceton. Lấy tủa khuấy trong NaHCO₃ bão hòa. Lọc lấy tủa, rửa tủa trên phễu lọc bằng 30 mL nước cất. Thu được 0,97 g sản phẩm tinh khiết (3 mmol). Hiệu suất 77%.

1,3-dibenzyl-1H-benzo [d] imidazol-3-ium bromid (5)

C₂₁H₁₉BrN₂. P.t.l: 379,30. Bột màu trắng, tan trong ethanol, methanol, không tan trong aceton, cloroform, tạo tủa với AgNO₃, có nhiệt độ nóng

chảy 206 - 207 °C; **SKLM**: R_f 0,13 (C), 0,75 (D), 0,74 (F) **IR** (cm⁻¹): 1190 (ν C-N amin); 1558 (ν C=C nhân thơm); 3034 (ν C-H nhân thơm); **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 10,08 (s, 1H, H2), 7,97 (dd, 2H, J = 6,5; 3,5 Hz H4 và H7); 7,64 (dd, 2H, J = 6,5; 3,0 Hz, H5 và H6); 7,54 - 7,52 (m, 4H, H2', H6', H2'', H6''); 7,45 - 7,39 (m, 6H, H3', H4', H5', H3'', H4'', H5''); 5,80 (s, 4H, H8 và H8a). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 144,2 (C2); 143,5 (C1' và C1''); 136,9 (C7a); 133,63 (C3a); 128,6 (C3' và C5'); 128,3 (C3'' và C5''); 127,7 (C2' và C6'); 127,3 (C4' và C4''); 122,3 (C5); 121,5 (C6); 119,4 (C7); 110,6 (C4) và 47,6 (C8 và C8a).
 Khối phổ phân giải thấp: **MS**: m/z 299 (M⁺).

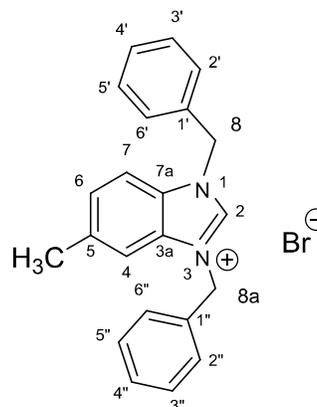


Tổng hợp 1,3-dibenzyl-5-methyl-1H-benzo[d]imidazol-3-ium bromid (6)

Cho 0,01 mol 5-methylbenzimidazol vào trong bình cầu chứa 20 mL dicloromethan, sau đó thêm 0,03 mol benzylbromid (tỉ lệ mol 1:3), thêm từ từ 1,72 g KOH. Khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng, sau phản ứng lọc lấy dịch. Cô đuổi hết dicloromethan trên bếp khuấy từ, để nguội còn lại cặn. Thêm 20 mL aceton lạnh, thấy tủa trắng xuất hiện. Lọc lấy tủa trên phễu Buchner, rửa tủa bằng 20 mL aceton. Lấy tủa khuấy trong NaHCO₃ bão hòa, sau đó rửa lại bằng nước. Kết tinh lại trong 24 mL hỗn hợp cồn : aceton (1:5). Lọc lấy sản phẩm kết tinh trên phễu lọc Buchner, rửa tủa bằng 30 mL aceton lạnh. Thu được 1,09 g sản phẩm tinh khiết (3,5 mmol). Hiệu suất 34,8%.

1,3 - dibenzyl - 5 - methyl - 1H - benzo [d]imidazol-3-ium bromid (6)

C₂₂H₂₁BrN₂. P.t.l: 393,32. Bột kết tinh màu trắng hồng, tan trong ethanol, methanol, cloroform không tan trong aceton, có nhiệt độ nóng chảy 208 - 209 °C; **SKLM**: R_f 0,25 (C); 0,95 (D); 0,84 (E); **IR** (cm-1): 1174,65 (ν C-N amin); 1552,70 (ν C=C nhân thơm); 3138,18 (ν C-H nhân thơm); **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆, δ ppm) 10,15 (s, 1H, H2); 7,85 (d, 1H, J = 8,5; H7); 7,83 (s, 1H, H4); 7,55 - 7,36 (m, 11H, H2', H3', H4', H5', H6', H2'', H3'', H4'', H5'', H6'', H6); 5,80 (s, 2H, H8a); 5,78 (s, 2H, H8); 2,45 (s, 3H, H9). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 142,2 (C2); 137,1 (C5); 134,0 (C1'); 134,0 (C1''); 131,3 (C2' và C2''); 129,1 (C3a); 128,9 (C7a); 128,9 (C6' và C6''); 128,4 (C3' và C3''); 128,2 (C5', C5'', C4, C4''); 113,6 (C4); 113,3 (C7); 49,9 (C8a); 49,8 (C8). **MS**: m/z 313 (M⁺)



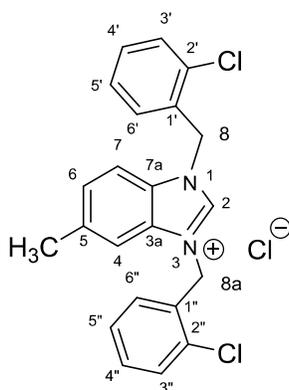
Tổng hợp 1,3-bis(2-chlorobenzyl)-5-methyl-1H-benzo[d]imidazol-3-ium clorid (7)

Làm tương tự chất (6). Kết tinh lại trong 24 mL hỗn hợp cồn: aceton (1:5). Lọc lấy sản phẩm kết tinh trên phễu lọc Buchner, rửa tủa bằng 30 mL aceton lạnh. Thu được 1,91 g sản phẩm tinh khiết (5 mmol). Hiệu suất 50,12%.

1,3-bis(2-chlorobenzyl)-5-methyl-1H-benzo [d]imidazol-3-ium clorid (7)

C₂₂H₁₉Cl₃N₂. P.t.l: 417,76. Bột kết tinh màu trắng hồng, tan trong ethanol, methanol, không tan trong aceton, ethyl acetat, tạo kết tủa với AgNO₃ có nhiệt độ nóng chảy 217 - 218°C; **SKLM**: R_f 0,25 (C); 0,75 (D); 0,72 (E); **IR** (cm⁻¹): 1174,65 (ν C-N amin); 1552,70 (ν C=C nhân thơm); 3138,18 (ν C-H nhân thơm);

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 9,97 (s, 1H, H2); 7,82 (d, 1H, J = 9,0 Hz, H7); 7,79 (s, 1H, H4); 7,60 - 7,57 (m, 2H, H6 và H3'); 7,50 - 7,42 (m, 7H, H4', H5', H6', H3'', H4'', H5'', H6''); 5,91 (s, 4H, H8 và H8a); 2,47 (s, 3H, H9); **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 143,4 (C2); 137,4 (C5); 132,9 (C1'); 132,8 (C1''); 131,4 (C2'); 131,1 (C2''); 131,1 (C3a); 130,9 (C7a); 130,8 (C6'); 130,9 (C7a); 130,8 (C6''); 130,7 (C6''); 130,5 (C3'); 130,0 (C3'' và C4'); 129,2 (C4''); 128,5 (C5'); 129,2 (C5''); 127,9 (C6); 113,6 (C4); 113,3 (C7); 48,4 (C8); 48,2 (C8a); 21,2 (C9); **MS**: m/z 381 (M⁺).

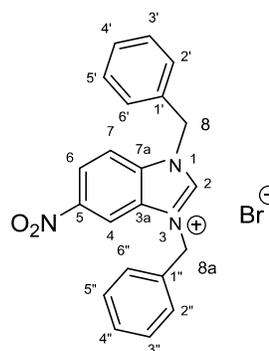


Tổng hợp 1,3-dibenzyl-5-nitro-1H-benzo[d]imidazol-3-ium bromid (8)

Cho 3 mmol 5-nitrobenzimidazol vào trong bình cầu chứa 20 mL dicloromethan, sau đó thêm 9 mmol benzylbromid, 0,3 g CTAB, thêm từ từ 1,72 g KOH. Khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng, sau phản ứng lọc lấy dịch. Cô đuổi hết dicloromethan trên bếp khuấy từ, để nguội còn lại cần. Thêm 20 mL aceton lạnh, thấy tủa trắng xuất hiện. Lọc lấy tủa trên phễu Buchner, rửa tủa bằng 20 mL aceton. Lấy tủa khuấy trong NaHCO₃ bão hòa, sau đó rửa lại bằng nước. Kết tinh lại trong 24 mL hỗn hợp cồn : aceton (1:5). Lọc lấy sản phẩm kết tinh trên phễu lọc Buchner, rửa bằng 30 mL aceton lạnh. Thu được 0,3 g sản phẩm tinh khiết (5 mmol). Hiệu suất 29,07%.

1,3-dibenzyl-5-nitro-1H-benzo [d] imidazol-3-ium bromid (8): C₂₁H₁₈BrN₃O₂ P.t.l: 424,30. Bột kết tinh màu vàng, tan trong ethanol, methanol, không tan trong aceton, ethyl acetat; **SKLM**: R_f 0,25 (C), 0,72 (D), 0,74 (E); **IR** (cm⁻¹):

1153,43 (ν C-N amin); 1591,27 (ν C=C nhân thơm); 3228,84 (ν C-H nhân thơm); **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 10,27 (s, 1H, H2), 9,03 (d, 1H, J = 2 Hz, H4), 8,49 (dd, 1H, J = 9,0; 2,0 Hz, H6); 8,21 (d, 1H, J = 9,0; 2,0 Hz H7); 7,58 - 7,57 (m, 2H, H2'' và H6''); 7,55 - 7,53 (m, 2H, H2 và H6); 7,48 - 7,41 (m, 6H, H3', H4', H5', H3'', H4'' và H6''); 5,92 (s, 2H, H8a,); 5,86 (s, 2H, H8). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆, δ ppm): 146,9 (C5); 145,8 (C2); 134,7 (C1'); 133,5 (C1''); 133,4 (C2' và C2''); 131,0 (C3a); 129,1 (C7a); 129,0 (C6' và C6''); 128,9 (C3' và C3''); 128,9 (C4' và C4''); 128,5 (C5' và C5''); 128,4 (C6); 115,0 (C7); 111,0 (C4); 50,6 (C8); 50,4 (C8a). **MS**: m/z 344 (M⁺).



Nhận xét: Các dẫn chất alkyl của benzimidazol gắn vào vị trí N1 và N3 tạo muối amoni bậc 4 ở vị trí N3, muối clorid, bromid tạo tủa trắng đến vàng khi định tính với AgNO₃, kết quả **MS** phù hợp với kết quả dự kiến, kết quả **NMR** phù hợp với kết quả dự kiến.

Bảng 1. Biện luận cho cấu trúc sản phẩm alkyl của benzimidazol

Vị trí	Nhóm thế gắn vào N	C, H vị trí số 2
H2		~ 10,08
C2		~ 144,18
H8 và H8a	~ 5,8	
C8 và C8a	~ 48	

Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn kháng nấm

Thử vi sinh bằng phương pháp khuếch tán trong thạch, thu được kết quả được trình bày trong bảng sau.

Bảng 2. Kết quả định tính hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của 8 dẫn chất benzimidazol

Chất	MRSA	MSSA	E. coli	S. faecalis	P. aeruginosa	C. albicans	T. mentagrophytes	T. rubrum
01	-	-	-	-	-	-	-	-
02	-	-	-	-	-	-	-	-
03	-	-	-	-	-	-	-	-
04	-	-	-	-	-	-	-	-
05	-	-	-	-	-	-	+	+
06	16	19	-	-	-	-	+	-
07	24	14	-	-	-	-	-	-
08	-	-	-	-	-	-	-	-
Vanco mycin	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	NA
Ceftaz idim	NA	+	+	+	+	NA	NA	NA
Flucon azol	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA	NA
DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú:

“-”: Không có hoạt tính kháng khuẩn, đường kính vòng tròn kháng khuẩn bao gồm đường kính lỗ 8 mm;

NA: Không thử nghiệm.

Nhận xét: Trong 8 dẫn chất benzimidazol thử nghiệm trên các loài vi khuẩn và nấm, có 2 dẫn chất benzimidazol có tác động trên MRSA, MSSA. Trong đó dẫn chất **07** cho thấy kết quả kháng MRSA sơ bộ tốt nhất thông qua kết quả đường kính vòng kháng khuẩn (24 mm), chất **06**

cho thấy khả năng kháng MSSA tốt nhất (19 mm).

Đối với thử trên 2 loại nấm sợi *Trichophyton rubrum* và *Trichophyton mentagrophytes* chất **05, 06** có hoạt tính trên cả 2 loại.

Bảng 3. MIC các chất tổng hợp ($\mu\text{g/ml}$)

Chất	MSSA	MRSA	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
5			256	512
6	64	64	512	512
7	128	256		

Ghi chú: “-“ không thực hiện vì âm tính trong thử nghiệm định tính.

Phản ứng alkyl hóa với tác nhân alkyl halogen sẽ thay thế H ở N1 bằng benzyl hay 2-chlorobenzyl và đồng thời cũng tạo muối amin bậc 4 ở N3 (muối clorid hoặc bromid). Cấu trúc dự đoán phù hợp với phổ **NMR** và **MS**. Định tính ion Cl^- , Br^- bằng AgNO_3 cho thấy sản phẩm hòa tan trong nước có tạo tủa từ trắng đến vàng.

Tổng hợp các dẫn chất benzimidazol qua phản ứng đóng vòng với nguyên liệu ban đầu

là 1,2-phenylendiamin, 3,4-diaminotoluen, 4-nitro-o-phenylendiamin cho hiệu suất khá cao 85% ở cả 3 dẫn chất benzimidazol, 5-methylbenzimidazol, 5-nitrobenzimidazol. Riêng đối với phản ứng đóng vòng 5-methoxy benzimidazol từ nguyên liệu 4-methoxy-2-nitroanilin qua 2 phản ứng khử và đóng vòng vẫn chưa tinh khiết, còn lẫn tạp.

Phương pháp alkyl hóa benzimidazol,

5-methylbenzimidazol, 5-nitrobenzimidazol với 2 tác nhân alkyl hóa được thử nghiệm trong các điều kiện phản ứng khác nhau cho hiệu suất không ổn định.

- Trong đó phản ứng giữa benzimidazol và benzylobromid trong dung môi aceton, với tác nhân kiềm hóa là KOH cho hiệu suất khá cao.

- Phản ứng trong dung môi DCM, tác nhân kiềm hóa là KOH hoặc phản ứng chỉ sử dụng tác nhân kiềm hóa là triethylamin cho hiệu suất trung bình từ 30 - 50%.

- Tuy nhiên khi thử nghiệm với tác nhân kiềm là triethylamin, thời gian phản ứng diễn ra khá dài: 18 giờ. Bên cạnh đó, thay dung môi là DCM hay aceton với tác nhân kiềm là KOH phản ứng sẽ xảy ra trong thời gian ngắn hơn là 3 giờ.

Trong đó, phản ứng alkyl hóa với tỉ lệ mol 1:1 hay 1:3 đều cho sản phẩm là muối amoni bậc 4.

Hiệu suất phản ứng thế alkyl halogen không ổn định, có thể do trong quá trình phản ứng, KOH, triethylamin đã phản ứng với nguyên liệu alkylhalogen tạo thành alcol, điều này có thể gây ra nhầm lẫn trong quá trình lấy sản phẩm và khó khăn trong tinh chế sản phẩm. Vì vậy cần phải kiểm soát pH bằng cách cho KOH từ từ trong quá trình phản ứng. Nếu nghiên cứu thêm, chúng ta nên khảo sát trên nhiều hệ dung môi khác nhau và nhiều tác nhân trung hòa acid sinh ra trong phản ứng khác nhau, để tránh khỏi sự phá hủy nguyên liệu, và giảm hiệu suất phản ứng hoặc phản ứng không thể xảy ra do mất nguyên liệu.

Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm được khảo sát trên 8 dẫn chất, trong đó có 2 dẫn chất được ghi nhận sơ bộ cho thấy có hoạt tính kháng khuẩn trên MRSA và MSSA, 2 chất có hoạt tính kháng nấm sợi *Trichophyton rubrum* và *Trichophyton mentagrophytes*. Từ đó có thể thấy, việc gắn các nhóm thế lên khung cấu trúc benzimidazol giúp làm tăng hoạt tính kháng khuẩn đặc biệt là với nhóm thế benzyl và 2-clorobenzyl trên 5-methylbenzimidazol.

Kết luận

Đã tổng hợp được 8 dẫn chất của benzimidazol. Đã thử sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm với kết quả là có 2 dẫn chất **06, 07** cho thấy có hoạt tính kháng MRSA và MSSA, dẫn chất **05, 06** có hoạt tính kháng nấm sợi *Trichophyton rubrum* và *Trichophyton mentagrophytes*. Có thể kết luận khi gắn thêm nhóm thế trên khung cấu trúc benzimidazol cho thấy khả năng kháng khuẩn tốt hơn.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Việt Hùng (2019), "Phân tích thực trạng tiêu thụ kháng sinh và việc sử dụng kháng sinh trong điều trị viêm phổi bệnh viện tại Bệnh viện đa khoa tỉnh Điện Biên", *Luận văn Thạc sĩ Dược học chuyên ngành dược lý - dược lâm sàng, Trường Đại học Dược Hà Nội*, tr. 61.

2. Tahlan S., Kumar S., Narasimhan B. (2019), "Antimicrobial potential of 1 *H*-benzo [d] imidazole scaffold: A review", *BMC Chemistry*, 13 (1), pp. 1 - 27.

3. Ngô Duy Túy Hà, Lê Thọ Tiến, Trương Phương (2019), "Tổng hợp và thử hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn của các dẫn xuất acyl benzimidazol-2-thion", *Tạp chí Dược học*, 513 (tháng 1), tr. 66 - 70.

4. Ngô Duy Túy Hà, Ngô Quang Trường, Trương Phương, Đặng Thị Loan, "Tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng nấm kháng khuẩn của một số dẫn chất 5-nitrobenzimidazol-2-thion", *Tạp chí Dược học*, 529 (tháng 5), tr. 38-44.

5. Ngô Duy Túy Hà, Trần Quang Phương Nam, Trương Phương, Nguyễn Ngọc Đan Thùy (2020), "Tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của một số dẫn chất 5-methylbenzimidazol-2-thion", *Tạp chí Dược học*, 528 (tháng 04), tr. 57-64.

Tối ưu hóa tổng hợp với hỗ trợ vi sóng và nghiên cứu docking một số dẫn chất 1,3,5-triazin trong ứng chế DHFR

Phạm Cảnh Em^{1,2}, Lê Thị Tường Vi³, Nguyễn Thị Thanh Vân¹
Lê Thị Bích Ngọc¹, Nguyễn Thị Kim Ngân¹, Trương Ngọc Tuyền^{1*}

¹Khoa Dược - Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Dược - Đại học Quốc tế Hồng Bàng

³Khoa Dược - Bệnh viện Nhi đồng Thành phố

Summary

Replacement of chloride ions in cyanuric chloride give several variants of 1,3,5-triazine derivatives which were investigated as biologically active small molecules. Response surface methodology (RSM) approach was used for optimization of the process parameters and identifying the optimal conditions for microwave-assisted synthesis of 1,3,5-triazine derivatives bearing substituted aniline moiety. The structures were confirmed by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS spectra. Molecular docking studies (in silico) were conducted on compounds to recognize the hypothetical binding motif of the title compounds within the active site of DHFR enzyme.

Keywords: 1,3,5-triazine, anticancer, molecular docking.

Đặt vấn đề

Ức chế dihydrofolat reductase (DHFR) từ lâu đã được xác định là mục tiêu quan trọng để phát triển các tác nhân hóa trị liệu kháng khuẩn, kháng ký sinh trùng cũng như kháng ung thư. Sự ức chế enzym DHFR dẫn đến sự giảm folat nội bào cần thiết cho phản ứng chuyển một carbon, do đó rất quan trọng cho quá trình sinh tổng hợp thymidylat, nucleotid purin, methionin và nhiều hợp chất khác cần thiết cho RNA, DNA và sinh tổng hợp protein. Ngoài ra, enzym này có ái lực liên kết cao và có tính chọn lọc đối với các đồng cơ chất do đó khó bị thay thế bởi chất nền tự nhiên. Chính vì thế, DHFR là mục tiêu lý tưởng cho thiết kế thuốc hợp lý và hiệu quả [1, 2].

Nhân triazin đã thu hút sự chú ý của nhiều nhà nghiên cứu về tiềm năng điều trị cũng như hoạt tính sinh học đa dạng. Ví dụ, các dẫn chất 1,3,5-triazin (s-triazin) có tác dụng kháng độc mạnh, kháng sốt rét, kháng virus, kháng ung thư, kháng khuẩn kháng nấm và kháng lao [3, 6].

Hexamethylmelamin (Altretamin) là dẫn xuất 1,3,5-triazin được sử dụng trong lâm sàng với mục đích trị liệu là kháng ung thư phổi, buồng trứng và ung thư vú. Dẫn chất 1,3,5-triazin có chứa nhóm amin khác nhau tại vị trí 2, 4 hoặc 6 được biết đến như là thuốc kháng ung thư (hình 1). Các quy trình khác nhau sẽ được sử dụng để tổng hợp các dẫn chất mono-, di- hoặc tri- thế của 1,3,5-triazin. Hợp chất quan trọng nhất để tổng hợp các dẫn chất 1,3,5-triazin là cyanuric clorid. Khả năng phản ứng của các nguyên tử Cl với tác nhân ái nhân (nucleophile) được kiểm soát bởi nhiệt độ [7, 8].

Chịu trách nhiệm: Trương Ngọc Tuyền

Email: truongtuyen@ump.edu.vn

Ngày nhận: 27/01/2021

Ngày phản biện: 10/3/2021

Ngày duyệt bài: 23/4/2021