

TỔNG HỢP VÀ THỬ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG NẤM CỦA MỘT SỐ HYDRAZON TỪ CHALCON

Nguyễn Hữu Đại*, Lý Nguyễn Hải Du**, Phan Cảnh Trinh*, Nguyễn Đức Tài**, Huỳnh Thị Ngọc Phương*

TÓM TẮT

Mở đầu: Việc kết hợp 2 nhóm cấu trúc chalcon và hydrazone trên cùng phân tử có thể tạo ra những cấu trúc mới có tác dụng sinh học tốt hơn. Trong đề tài này, một số hydrazone từ chalcon được tổng hợp và thử hoạt tính nhằm góp phần làm đa dạng các nhóm hợp chất có tiềm năng kháng khuẩn, kháng nấm.

Mục tiêu: Tổng hợp và thử hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn một số hợp chất hydrazone có được từ dẫn chất chalcon và semithiocarbazid.

Phương pháp nghiên cứu: Tổng hợp dẫn chất chalcon từ 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyd, salicylaldehyd và một số dẫn chất ethan-1-on thơm. Các chalcon sẽ được phản ứng với thiosemicarbazid để tạo các hydrazone tương ứng.

Kết quả: 8 dẫn chất được tổng hợp bao gồm 4 dẫn chất chalcon và 4 dẫn chất hydrazone. Kết quả thử hoạt tính cho thấy 2 dẫn chất hydrazone 2-((E)-3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(4-bromophenyl)allyliden)hydrazin carbothioamid [HC5] và 2-((E)-3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(p-tolyl)allyliden)hydrazin carbothioamid [HC6] kháng khuẩn tốt trên *Microsporum canis* với MIC \leq 32 μ g/mL. Hai chất này cũng có hoạt tính tốt trên 2 chủng vi khuẩn thử nghiệm, HC5: MSSA-MIC=0,25 μ g/mL; E.coli - MIC=0,5 μ g/mL; HC6: MSSA-MIC=0,25 μ g/mL; E.coli - MIC=1 μ g/mL. HC5 là chất mới, chưa được công bố (SciF. 17/7/2019).

Kết luận: Các hydrazone tổng hợp được có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm trên các chủng thử nghiệm tốt hơn hẳn các chalcon tương ứng. Điều này cho thấy tiềm năng kháng khuẩn của các dẫn chất hydrazone từ chalcon.

Từ khóa: chalcon, hydrazone, hydrazone kháng khuẩn

ABSTRACT

SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF SOME HYDRAZONE DERIVATIVES OF CHALCONES

Nguyen Huu Dai, Ly Nguyen Hai Du, Phan Canh Trinh, Nguyen Duc Tai, Huynh Thi Ngoc Phuong

* Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 24 - No. 2 - 2020: 207 - 211

Background: Combining two groups of structures of chalcone and hydrazone on the same molecule can create new structures with a better biological effect. In this topic, some hydrazones from chalcone have been synthesized and tested for activity to contribute to diversifying groups of potential antibacterial, antifungal compounds.

Objectives: Synthesis and testing of antifungal, antibacterial activity of some hydrazone compounds obtained from chalcone derivatives and semithiocarbazid.

Methods: Synthesis of chalcone derivatives from 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde, salicylaldehyde and some aromatic ethane-1-one derivatives. These chalcones will be reacted with thiosemicarbazide to create the corresponding hydrazones.

*Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

**Khoa Dược, Đại Học Quốc Tế Hồng Kông

Tác giả liên lạc: PGS.TS. Huỳnh Thị Ngọc Phương ĐT: 0908772118 Email: ngocphuonghuynhthi@gmail.com

Results: The 8 derivatives are synthesized including 4 chalcone derivatives and 4 hydrazone derivatives. The activity test results showed that 2 hydrazone derivatives 2 - ((E)-3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(4-bromophenyl)allylidene) hydrazine carbothioamide [HC5] and 2 - ((E)-3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(p-tolyl)allylidene) hydrazine carbothioamide [HC6] good antibacterial on *Microsporium canis* with MIC $\leq 32 \mu\text{g/mL}$. These two substances also have good activities on two strains of tested bacteria, HC5: MSSA-MIC = $0.25 \mu\text{g/mL}$; *E. coli* - MIC = $0.5 \mu\text{g/mL}$; HC6: MSSA-MIC = $0.25 \mu\text{g/mL}$; *E. coli* - MIC = $1 \mu\text{g/mL}$. HC5 is a new, unpublished substance (SciF. July 17, 2019).

Conclusion: The synthesized hydrazones have a better antibacterial and antifungal effect on test strains than their respective chalcones. This shows the antibacterial potential of hydrazone derivatives from chalcone.

Key words: chalcone, hydrazone, antibacterial hydrazones

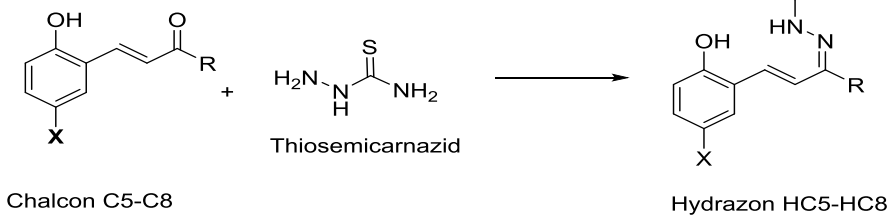
ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình trạng đề kháng thuốc kháng sinh, kháng nấm của các chủng vi khuẩn, vi nấm hiện nay gây ra nhiều khó khăn trong điều trị. Vì vậy, việc tìm kiếm các hoạt chất kháng sinh, kháng nấm mới và hiệu quả vẫn là một thách thức đối với các nhà nghiên cứu. Nhóm cấu trúc hydrazone và chalcon được cho thấy có nhiều tiềm năng trong việc giải quyết vấn đề nêu trên^(1,2,3). Với quan điểm: ‘Trong cùng một phân tử, sự kết hợp hai hay nhiều nhóm hoạt tính cho phép tạo ra nhóm cấu trúc mới có tác dụng sinh học tốt hơn’, một số tác giả đã tổng hợp và thử hoạt tính sinh học của các dẫn chất hydrazone của chalcon^(4,5). Nhằm góp phần làm đa dạng các hợp chất có tiềm năng kháng khuẩn, kháng nấm theo hướng này chúng tôi đã thực hiện đề tài: ‘Tổng hợp và thử hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn một số hydrazone từ chalcon’.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu và trang thiết bị

Nguyên liệu tổng hợp được mua từ công ty Acros organics, sử dụng trực tiếp không tinh chế lại. Xác định nhiệt độ nóng chảy trên máy Stuart SMP10 với nhiệt kế không hiệu chỉnh.

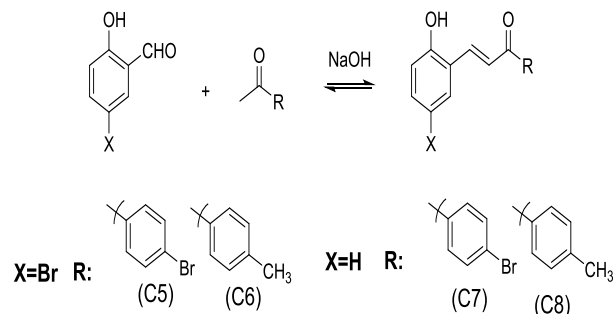


Hình 2. Sơ đồ phản ứng tổng hợp dẫn chất hydrazone từ chalcone

Phổ IR được đo trên máy FTIR 8101 (SHIMADZU). Phổ ¹H-NMR ghi bằng máy Bruker (500 MHz) ở 25°C với chuẩn nội là TMS (tetra methyl silan). Phổ MS được đo trên máy Shimadzu LCMS.

Phương pháp tổng hợp

Các chalcon (C5-C8) được tổng hợp bằng phương pháp ngưng tụ Claisen-Schmitt, hỗ trợ bằng sóng siêu âm. Phản ứng được tiến hành ở nhiệt độ phòng trong dung môi là ethanol (EtOH) với xúc tác natri hydroxid (NaOH).



Hình 1. Sơ đồ phản ứng tổng hợp chalcon

Chalcon thu được được phản ứng với thiosemicarbazid với xúc tác có thể là acid hydrochloric (HCl) loãng hoặc đệm acetat pH 4. Phản ứng được đun hồi lưu trong dung môi ethanol (EtOH) khan.

Cấu trúc và độ tinh khiết của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM), điểm chảy và các kỹ thuật phổ hồng ngoại (IR), phổ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối (MS).

Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Các chất tổng hợp được sẽ được định tính khả năng kháng khuẩn và kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và xác định MIC bằng phương pháp pha loãng.

Hoạt tính kháng nấm được thử trên 3 chủng vi nấm *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* (Bộ môn Vi-Ký sinh, Khoa dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh).

Hoạt tính kháng khuẩn được thử trên 2 chủng vi khuẩn MSSA- ATCC 25923 và *E.coli*-ATCC 25922.

KẾT QUẢ

Tổng hợp

Chalcon

C5.3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(4-bromophenyl) prop-2-en-1-on $C_{15}H_{10}Br_2O_2$. Ptl: 381,90.

Bột kết tinh màu vàng. Điểm chảy 183-185°C. UV-Vis (EtOH): λ_{max} nm: 364; 299. IR ν cm^{-1} : 1643 (C=O); 1593 (C=C). 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 10,60 (s, 1H, OH); 8,14 (d, 1H, H_{Ar} , J = 2 Hz); 7,09 (d, 2H, H_{Ar} , J = 8,5 Hz); 7,98 (d, 1H, H_{en} , J = 16 Hz); 7,92 (d, 1H, H_{en}); 7,77 (d, 2H, H_{Ar}); 7,42 (dd, 1H, H_{Ar} , J = 9 Hz, J = 2 Hz); 6,90 (d, 1H, H_{Ar}).

C6.3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(p-tolyl) prop-2-en-1-on $C_{16}H_{13}BrO_2$. Ptl: 316,01.

Tinh thể hình kim màu vàng. Điểm chảy 189-191°C. UV-Vis (EtOH): λ_{max} nm: 361; 298. IR ν cm^{-1} : 1643 (C=O); 1593 (C=C): 315,00 [M-H]. 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 10,55 (s, 1H, OH); 8,13 (d, 1H, H_{Ar} , J = 2 Hz); 8,06 (d, 2H, H_{Ar} , J = 9 Hz); 7,97-7,90 (m, 2H, H_{en}); 7,40 (dd, 1H, H_{Ar} , J = 9

Hz, J = 2 Hz); 7,37 (d, 2H, H_{Ar}); 6,89 (d, 1H, H_{Ar}); 2,40 (s, 3H, $-CH_3$).

C7.(E)-1-(4-bromophenyl)-3-(2-hydroxyphenyl) prop-2-en-1-on. $C_{15}H_{11}BrO_2$. Ptl: 303,15.

Bột kết tinh màu vàng. Điểm chảy 182-184°C. UV-Vis (EtOH): λ_{max} nm: 352; 289. IR ν cm^{-1} : 1633 (C=O); 1590 (C=C). 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 10,30 (s, 1H, OH), 8,07 – 8,03 (m, 3H, H_{en} , H_{Ar}), 7,87 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H_{Ar}), 7,83 (d, J = 16.0 Hz, 1H, H_{en}), 7,78 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,28 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H_{Ar}), 6,94 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H_{Ar}), 6,88 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H_{Ar}).

C8.(E)-3-(2-hydroxyphenyl)-1-(p-tolyl)prop-2-en-1-on. $C_{16}H_{14}O_2$. Ptl: 238,29.

Bột kết tinh, màu vàng. Điểm chảy 157-158°C. UV-Vis (EtOH): λ_{max} nm: 353; 299. IR ν cm^{-1} : 1640 (C=O); 1583 (C=C). 1H -NMR (500 MHz, aceton- D_6) δ ppm: 9,47 (1H, OH), 8,14 (d, J = 15.6 Hz, 1H, H_{en}), 8,05 (d, J = 9.3 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,85 (d, 1H, H_{en}), 7,67 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H_{Ar}), 7,34 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,24 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H_{Ar}), 6,84-6,99 (m, 2H, H_{Ar}), 2,4 (s, 3H, CH_3).

Hydrazon

HC5. 2-((E)-3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(4-bromophenyl)allyliden)hydrazin carbothioamid. $C_{16}H_{13}Br_2N_3OS$. Ptl: 452,91.

Tinh thể màu vàng. Điểm chảy 196-198°C. UV-Vis (EtOH): λ_{max} nm: 225; 347. IR ν cm^{-1} : 3136,25 (NH) ; 1593,2 (C=N). MS m/z : 453,92 [M+H] $^+$. 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 6,53 (d, 1H, H_{en} , J = 16,5 Hz), 6,80 (d, 1H, H_{Ar} , J = 8, 5 Hz), 7,28-7,22 (m, 4H, H_{Ar}), 7,60 (m, 1H, H_{en}), 7,80 (d, 2H, H_{Ar} , J = 8 Hz), 8,07 (s, 1H, H_{NH}), 8,49 (s, 1H, H_{SH}), 9,01 (s, 1H, H_{NH}), 10,16 (s, 1H, OH).

HC6. 2-((E)-3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-1-(p-tolyl)allyliden)hydrazin carbothioamid. $C_{17}H_{16}BrN_3OS$. Ptl: 389,02.

Tinh thể màu vàng. Điểm chảy 184-185 °C. UV-Vis (EtOH): λ_{max} nm: 354; 247. IR ν cm^{-1} : 3473,8 (NH) ; 3435,22 (NH $_2$); 1587,42 (C=N).

MS *m/z*: 390,00 [M+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 2,48 (s, 3H, CH₃), 6,61 (d, 1H, H_{en}, J = 16,5 Hz), 6,82 (d, 1H, H_{en}, J = 15,5 Hz), 7,28-7,21 (m, 4H, H_{Ar}), 7,46 (d, 2H, H_{Ar}, J = 8 Hz), 7,60 (d, 1H, H_{Ar}, J = 2,5 Hz), 8,07 (s, 1H, H_{NH}), 8,41 (s, 1H, H_{SH}), 8,57 (s, 1H, H_{NH}), 10,14 (s, 1H, OH).

HC7. (Z)-2-((E)-1-(4-bromophenyl)-3-(2-hydroxyphenyl)allyliden)hydrazin-1-carbothioamid. C₁₆H₁₄BrN₃OS. Ptl: 375,00.

Tinh thể màu vàng. Điểm chảy 117-118 °C. UV-Vis (MeOH): λ_{max} nm: 347; 242. IR ν cm⁻¹: 3404,36 (NH) ; 3255,84 (NH₂); 1587,42 (C=N). MS *m/z*: 374,00 [M-H]. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 10,99 (s, 1H, OH); 9,82 (s, 1H, H_{NH}); 8,27 (s, 1H, H-SH); 7,93-7,91 (dd, 1H, H_{Ar}, J = 7,5 Hz, J = 1 Hz); 7,92 (s, 1H, H_{NH}); 7,68-7,64 (d, 1H, H_{en}, J = 16,5 Hz); 7,64-7,62 (m, 2H, H_{Ar}); 7,59-7,57 (m, 2H, H_{Ar}); 7,21-7,17 (m, 1H, H_{Ar}); 7,11-7,08 (d, 1H, H_{en}, J = 16 Hz); 6,88-6,84 (m, 2H, H_{Ar}).

HC8. (Z)-2-((E)-3-(2-hydroxyphenyl)-1-(p-tolyl)allyliden)hydrazin-1-carbothioamid.

C₁₇H₁₇N₃OS. Ptl: 311,11.

Tinh thể màu vàng. Điểm chảy 109 -110°C. UV-Vis (MeOH): λ_{max} nm: 347; 242. IR ν cm⁻¹: 3331,07 (NH); 1585,49 (C=N). MS *m/z*: 310,22 [M-H]. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 10,91 (s, 1H, OH); 9,78 (s, 1H, H_{NH}); 8,20 (s, 1H, H_{SH}); 7,93-7,91 (dd, 1H, H_{Ar}, J = 7,5 Hz, J = 1 Hz); 7,70 (s, 1H, H_{NH}); 7,66-7,62 (d, 1H, H_{en}, J = 16,5 Hz); 7,51-7,49 (d, 2H, H_{Ar}, J = 8,5 Hz); 7,25-7,24 (d, 2H, H_{Ar}, J = 8 Hz); 7,19-7,16 (m, 1H, H_{Ar}); 7,14-7,11 (m, 1H, H_{en}); 6,88-6,84 (m, 2H, H_{Ar}); 2,36 (s, 3H, -CH₃).

Kết quả thử nghiệm hoạt tính sinh học

Hoạt tính kháng nấm

Bảng 1. MIC trên 3 chủng nấm

Hợp chất	MIC (µg/mL)		
	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Microsporum canis</i>
HC ₅	-	-	≤ 32
HC ₆	-	-	≤ 32
HC ₇	-	-	64

Hợp chất	MIC (µg/mL)		
	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Microsporum canis</i>
HC ₈	-	-	64
C ₅	-	-	-
C ₆	-	-	-
C ₇	-	-	-
C ₈	-	-	-
Chứng dương	≤ 32	≤ 32	≤ 32
Chứng âm	-	-	-

Chứng dương: Ketoconazol; Chứng âm: Dung dịch nước muối sinh lý; "-": không ức chế

Kết quả cho thấy các chalcon C5-C8 không có hoạt tính trên tất cả các chủng vi nấm thử nghiệm. Chỉ duy nhất các hợp chất HC, đặc biệt HC5 và HC6 có hoạt tính khá tốt trên *Microsporum canis* với MIC ≤ 32 µg/mL (Bảng 1).

Hoạt tính kháng khuẩn

Tương tự kết quả thử hoạt tính kháng nấm, chỉ các hydrazon HC5-HC8 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên MSSA và *E. coli* thử nghiệm. Hai hợp chất HC5 và HC6 có giá trị MIC đáng kể (Bảng 2).

Bảng 2. MIC trên 2 chủng vi khuẩn (MSSA- ATCC 25923 và *E. coli*-ATCC 25922)

Hợp chất	MIC (µg/mL)	
	MSSA	<i>E.coli</i>
HC ₅	0,25	0,5
HC ₆	0,25	1
HC ₇	16	>128
HC ₈	32	>128
C ₅	-	-
C ₆	-	-
C ₇	-	-
C ₈	-	-
Chứng dương	0,25	0,5
Chứng âm	-	-

Chứng dương: Tetracyclin; Chứng âm: Dung dịch nước muối sinh lý; "-": không ức chế

BÀN LUẬN

Kết quả tổng hợp

Phản ứng tạo chalcon diễn ra thuận lợi hiệu suất sản phẩm từ 60-70%, tinh chế dễ dàng bằng phương pháp kết tinh lại.

Phản ứng tổng hợp hydrazon từ chalcon

thực tế không đơn giản như dự kiến, có thể do:
 (i) Sự cộng kênh trong công thức chalcon gây cản trở không gian cho sự tiếp xúc của các phân tử.
 (ii) Các nguyên liệu aldehyd dùng tổng hợp chalcon phản ứng với thiosemicarbazid khá dễ dàng. Điều này tạo một cân bằng thuận cho phản ứng phân hủy chalcon. (iii) Có nhiều trung tâm hoạt động như OH, C=C trong cấu trúc của chalcon. Nhìn chung, phản ứng tạo hydrazon từ dẫn chất chalcon và thiosemicarbazid dường như thuận lợi nhất ở những chalcon được tạo thành từ ethan-1-on thơm. Các dẫn chất tương ứng từ ethan-1-on dị vòng đều không thu được sản phẩm.

Kết quả kháng khuẩn kháng nấm

Các hợp chất hydrazon HC5-HC8 không có tác dụng trên chủng *Trichophyton rubrum* (Rubrum), *Trichophyton mentagrophytes* (Menta), nhưng nhạy cảm với chủng *Microsporum canis* (Canis), đặc biệt HC5 và HC6 có MIC tương đương với chứng dương ketoconazol ($\leq 32 \mu\text{g/mL}$).

Trên 2 chủng vi khuẩn thử nghiệm, 2 hợp chất HC5 và HC6 thể hiện tác dụng khá mạnh. Đáng chú ý là HC5 có MIC tương đương tetracyclin trên cả MSSA ($0,25 \mu\text{g/mL}$) và *E. coli* ($0,5 \mu\text{g/mL}$).

Mối quan hệ cấu trúc tác động

Nhóm thế Br trong cấu trúc HC5-HC8, đặc biệt nguyên tử Br trong 5-bromo-2-hydroxy phenyl dường như rất quan trọng, cho tác dụng

mạnh trên chủng vi nấm *Microsporum canis* và vi khuẩn MSSA, *E. coli* thử nghiệm.

KẾT LUẬN

Các hợp chất hydrazon từ chalcon tổng hợp được đều có hoạt tính trên các chủng vi khuẩn thử nghiệm tốt hơn hẳn các chalcon tương ứng. Đặc biệt HC5 có tác dụng tốt nhất; chất này cũng được ghi nhận là một hợp chất mới (SciF. 17/7/2019). Kết quả này có thể làm tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra các hợp chất có tác dụng kháng khuẩn mạnh hơn thuộc nhóm cấu trúc hydrazon từ chalcon.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Reddy NP, Aparoy P, Reddy TC, et al (2010). Design, synthesis, and biological evaluation of prenylated chalcones as 5-LOX inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(16):5807-5815.
2. Lahtchev KL, Batovska DI, Sibirny AA, et al (2008). Antifungal activity of chalcones: a mechanistic study using various yeast strains. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43(10):2220-2228.
3. Singh N, Ranjana R, Kumari M, et al (2016). a review on biological activities of hydrazone derivatives. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(3):162-166.
4. Moreira Osório T, Delle Monache F, Domeneghini Chiaradia L, et al (2012). Antibacterial activity of chalcones, hydrazones and oxadiazoles against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(1):225-230.
5. Evranos-Aksöz B, Onurdağ FK, Özgen Özgacar S (2015). Antibacterial, antifungal and antimycobacterial activities of some pyrazoline, hydrazone and chalcone derivatives. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 70(7-8):1-7.

Ngày nhận bài: 21/12/2019

Ngày phản biện nhận xét bài báo: 23/12/2019

Ngày bài báo được đăng: 20/03/2020