

DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.093

TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA MỘT SỐ DẪN XUẤT NAPHTHALENE-1,3,4-OXADIAZOLE

Nguyễn Thị Cẩm Hồng¹, Nguyễn Thanh Trung¹, Nguyễn Thị Ngọc Yên¹, Ngô Thị Cẩm Tuyết¹, Võ Trung Hiếu¹, Nguyễn Tuấn Vũ², Trang Việt Cường³ và Bùi Thị Bửu Huệ^{4*}

¹Sinh viên ngành Hóa Dược, Khóa 40, Trường Đại học Cần Thơ

²Học viên cao học ngành Hóa Hữu cơ, Trường Đại học Cần Thơ

³Khoa Khoa học sức khỏe, Trường Đại học Cửu Long

⁴Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Bùi Thị Bửu Huệ (email: btbhue@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 12/12/2017

Ngày nhận bài sửa: 28/02/2018

Ngày duyệt đăng: 30/08/2018

Title:

Synthesis and antimicrobial activity of naphthalene-1,3,4-oxadiazole

Từ khóa:

Acyldiazone, hoạt tính kháng khuẩn, 1,3,4-oxadiazole

Keywords:

Acyldiazone, antimicrobial activity, 1,3,4-oxadiazole

ABSTRACT

1,3,4-Oxadiazole exhibits a wide range of biological activities including antibacterial, antifungal, antiinflammatory, analgesic, hypolipidemic, anticancer, anticonvulsant, anti-diabetic, antiviral and ulcerogenic activities. In this study, two derivatives of 2-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole (**6a**) and 2-(4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazole (**8b**) have been successfully synthesized in very good yields. The synthesis key step was cyclization of acylhydrazones into 1,3,4-oxadiazoles using stoichiometric amount of molecular iodine in potassium carbonate. The synthetic method also worked well with crude acylhydrazone substrates obtained from the condensation of aldehydes and hydrazides. Antimicrobial activity evaluation of two derivatives (**6a**) and (**8b**) showed that these two compounds possessed activity against three bacterial strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*.

TÓM TẮT

1,3,4-Oxadiazole có nhiều hoạt tính sinh học bao gồm kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, giảm đau, hạ lipid máu, kháng ung thư, chống co giật, chống đái tháo đường, kháng virus và chống loét. Trong nghiên cứu này, hai dẫn xuất 2-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole (**6a**) và 2-(4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazole (**8b**) đã được tổng hợp thành công với hiệu suất rất cao. Phương pháp tổng hợp được sử dụng là phản ứng ghép vòng dẫn xuất acylhydrazone tạo nhân 1,3,4-oxadiazole sử dụng iodine làm tác nhân oxy hóa dưới sự hiện diện của potassium carbonate. Các điều kiện của phản ứng này cũng áp dụng tốt với chất nền là acylhydrazone thô thu được từ sự ngưng tụ giữa aldehyde và hydrazide. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của hai dẫn xuất (**6a**) và (**8b**) cho thấy hai hợp chất này có khả năng kháng lại ba chủng vi khuẩn: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus*.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Cẩm Hồng, Nguyễn Thanh Trung, Nguyễn Thị Ngọc Yên, Ngô Thị Cẩm Tuyết, Võ Trung Hiếu, Nguyễn Tuấn Vũ, Trang Việt Cường và Bùi Thị Bửu Huệ, 2018. Tổng hợp và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của một số dẫn xuất naphthalene-1,3,4-oxadiazole. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(6A): 35-41.

1 GIỚI THIỆU

Nhân 1,3,4-oxadiazole là một khung sườn quan trọng cho việc phát triển các loại thuốc mới với nhiều hoạt tính dược lý hấp dẫn. Các công trình nghiên cứu về dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole cho thấy hợp chất này có tác dụng kháng viêm, kháng khuẩn (Kadi *et al.*, 2007), kháng nấm (Kumar, 2010), hạ huyết áp (Bankar *et al.*, 2009), chống co giật (Kashaw *et al.*, 2010), kháng ung thư (Liu *et al.*, 2012) và chống lao (Rajender and Sukhbir (2012)). Nhiều dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole có hoạt tính cao được tổng hợp và phát triển thành thuốc. Chính vì những tác dụng dược lý quý đó mà các dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole được nhiều nhà hóa học quan tâm nghiên cứu.

Có nhiều phương pháp khác nhau để tổng hợp nên cấu trúc nhân 1,3,4-oxadiazole như acyl hóa dẫn xuất carbonyl dưới sự có mặt của tác nhân POCl₃ (Zheng *et al.*, 2003), từ các carboxylic acid và benzohydrazide sử dụng tác nhân Deoxo-Fluor (Kangani *et al.*, 2006), đóng vòng diacylhydrazine sử dụng SOCl₂ (Martin *et al.*, 2007). Nhìn chung, các phương pháp này vẫn còn một số hạn chế về điều kiện phản ứng cũng như sử dụng các tác nhân phản ứng có tính độc hại. Do đó, đề tài hướng tới phương pháp tổng hợp 1,3,4-oxadiazole đơn giản và hiệu quả hơn. Tác nhân oxy hóa iodine có vai trò quan trọng trong tổng hợp hữu cơ, hứa hẹn sẽ mang lại lợi ích kinh tế cao với chi phí thấp và ít độc. Gần đây, I₂ đã được sử dụng thành công để tổng hợp các dẫn xuất indole và oxazole.

Trong nghiên cứu này, phương pháp chính được dùng là sử dụng iodine làm tác nhân oxy hóa tạo vòng 1,3,4-oxadiazole từ acylhydrazone dưới sự hiện diện của potassium carbonate trong dung môi dimethyl sulfoxide (DMSO). Các dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole tổng hợp được hứa hẹn là những ứng viên đầy tiềm năng trong việc nghiên cứu phát triển các loại thuốc kháng khuẩn.

2 THỰC NGHIỆM

2.1 Vật liệu và thiết bị

Các phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR và DEPT được đo bằng máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 500 NMR Spectrometer (độ dịch chuyển hóa học δ được tính theo ppm, hằng số tương tác *J* tính bằng Hz) tại Viện Hóa học - Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam. Phổ khối lượng MS được đo trên máy 1100 series LC/MS/MS Trap Agilent. Các hóa chất, sắc ký bản mỏng (bản nhôm silica gel 60 F₂₅₄ tráng sẵn độ dày 0.2 mm) và dung môi sử dụng có nguồn gốc từ Merck. Sắc ký cột sử dụng silica gel cỡ 0.040-0.063 mm (Merck).

Thí nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn được thực hiện tại phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự Nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Các chủng vi khuẩn được sử dụng trong thử nghiệm bao gồm *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. Môi trường được sử dụng là Luria – Bertani (LB). Kháng sinh thương mại được sử dụng như chất kháng sinh chuẩn là vancomycin hydrochloride (500 mg).

2.2 Tổng hợp

Tổng hợp dẫn xuất ethyl benzoate (2a): Thêm dung dịch H₂SO₄ đậm đặc (0,49 g, 5 mmol) vào bình cầu chứa hỗn hợp gồm benzoic acid (**1a**) (2,44 g, 20 mmol) và ethanol (4,6 g, 100 mmol). Hỗn hợp phản ứng được đun hoàn lưu ở 70°C, tốc độ khuấy 700 vòng/phút trong thời gian 4 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được trung hòa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa tới pH = 10. Sau đó chiết với EtOAc (3×30 mL). Lốp hữu cơ được rửa lần lượt với nước, nước muối bão hòa, làm khan bằng Na₂SO₄, lọc và cô đuổi dung môi. Sau khi cô đuổi dung môi thu được sản phẩm ethyl benzoate (**2a**) dưới dạng chất lỏng không màu (2,64 g, hiệu suất 88 %), sản phẩm tạo thành được dùng cho phản ứng bước tiếp theo mà không cần tinh chế. R_f = 0,48 (Hex:Et = 5:1).

Tổng hợp dẫn xuất benzohydrazide (3a): Thêm 1 mL ethanol vào bình cầu hai cổ chứa ethyl benzoate (**2a**) (1,2 g, 8 mmol) và hydrazine hydrate 80 % (0,384 g, 12 mmol). Đun hoàn lưu hỗn hợp trong 1 giờ. Cứ cách 1 giờ đun lại thêm 0,384 g hydrazine hydrate 80 %. Hỗn hợp phản ứng được đun hoàn lưu ở 70°C trong 4 giờ, tốc độ khuấy 700 vòng/phút. Hỗn hợp sau phản ứng được chiết với Hex (3×10 mL) để loại ester, chiết tiếp lớp dung dịch phía dưới với EtOAc (3×30 mL). Sau đó tiếp tục rửa dịch chiết với dung dịch NH₄Cl bão hòa, dung dịch NaCl bão hòa, làm khan với Na₂SO₄, lọc và cô đuổi dung môi. Sau khi đuổi dung môi thu được sản phẩm benzoylhydrazide (**3a**) dưới dạng chất rắn màu trắng (0,925 g, hiệu suất 85 %), sản phẩm tạo thành được dùng cho phản ứng bước tiếp theo mà không cần tinh chế. R_f = 0,45 (EtOAc).

Tổng hợp (E)-4-(4-methylphenyl)-3-(ethoxycarbonyl)but-3-enoic acid (2b): Hòa tan 4-methylbenzaldehyde (**1b**) (1,20 g, 10 mmol) và diethyl succinate (3,48 g, 20 mmol) trong 20 mL *t*-BuOH. Cho từ từ hỗn hợp trên vào bình cầu chứa dung dịch *t*-BuOK (1,40 g, 25 mmol) trong 20 mL *t*-BuOH. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 45°C, tốc độ khuấy 700 vòng/ phút, trong môi trường khí N₂, thời gian phản ứng 4 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được cô đuổi dung môi ở 45°C để đuổi hoàn toàn dung môi *t*-BuOH. Acid hóa hỗn hợp sau phản ứng bằng dung dịch NH₄Cl bão hòa đến pH = 5. Sau đó

chiết với EtOAc (3×30 mL), rửa nhiều lần bằng nước muối bão hòa, làm khan với Na₂SO₄, lọc và cô dưới dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, Hex:EtOAc = 3:1) thu được chất rắn kết tinh màu trắng (1,74 g, hiệu suất 70%). R_f = 0,39 (Hex:EtOAc = 1:1). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 7,72 (s, 1H, =CH-); 7,31 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, =CH-); 7,26 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, =CH); 4,19 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, -OCH₂-); 3,41 (s, 3H, -CH₃); 2,33 (s, 2H, -CH₂-); 1,25 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH₃).

Tổng hợp ethyl 4-acetoxy-6-methyl-2-naphthoate (3b): Đun hỗn hợp gồm (2b) (1,24 g, 5 mmol), NaOAc (0,41 g, 5 mmol) và Ac₂O (1,02 g, 10 mmol) trong môi trường khí N₂ ở 90 °C với tốc độ khuấy 700 vòng/phút, trong 4 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được trung hòa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa đến khi ngừng sủi bọt khí CO₂, chiết với EtOAc (3×30 mL), tiếp tục rửa dịch chiết với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan với Na₂SO₄, lọc và cô dưới dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, Hex:EtOAc = 5:1) thu được tinh thể màu trắng (1,22 g, hiệu suất 90%). R_f = 0,48 (Hex:EtOAc = 2:1). MS (ESI) *m/z* 273,0 [M+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 8,50 (s, 1H, =CH-); 8,10 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, =CH-); 7,75 (s, 1H, =CH-); 7,72 (s, 1H, =CH-); 7,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, =CH-); 4,37 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, -OCH₂-); 2,53 (s, 3H, -CH₃); 2,48 (s, 3H, -CH₃); 1,36 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, -CH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 169,4 (>C=); 165,2 (>C=); 146,1 (>C=); 139,4 (>C=); 131,6 (>C=); 129,8 (=CH-); 129,4 (=CH-); 128,8 (>C=); 128,1 (=CH-); 126,2 (>C=); 120,0 (=CH-); 117,3 (=CH-); 61,0 (-OCH₂-); 21,6 (-CH₃); 20,7 (-CH₃); 14,2 (-CH₃).

Tổng hợp 3-(hydroxymethyl)-7-methylnaphthalen-1-ol (4b): Dùng syringe hút 5 mL THF đã được chưng cất sẵn và cho từ từ vào bình cầu 100 mL đã được sấy khô và được đậy kín bằng septum có chứa sẵn LiAlH₄ (0,228 g, 6 mmol). Khuấy hỗn hợp trong môi trường khí N₂ ở nhiệt độ -10°C trong thời gian 15 phút với tốc độ khuấy 700 vòng/phút. Sau đó, dùng syringe thêm từ từ hỗn hợp chứa ethyl 4-acetoxy-6-methyl-2-naphthoate (3b) (0,272 g, 1 mmol) trong 5 mL THF vào hỗn hợp trên. Tiếp tục khuấy hỗn hợp trên ở nhiệt độ -10°C trong thời gian 4 giờ với môi trường khí N₂. Thêm từ từ nước lạnh vào hỗn hợp sau phản ứng đến khi hết sủi bọt khí. Acid hóa hỗn hợp này bằng dung dịch HCl 1M đến pH = 1. Tiến hành chiết với EtOAc (3×30 mL), rửa lại nhiều lần bằng nước cất đến khi dịch chiết trung tính pH = 7, tiếp tục rửa với nước muối bão hòa, làm khan với Na₂SO₄, lọc và cô dưới dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, Hex:EtOAc = 3:1) thu được tinh thể

màu trắng (0,145 g, hiệu suất 77%). R_f = 0,33 (Hex:EtOAc = 1:1). MS (ESI) *m/z* 187,0 [M+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 9,90 (s, 1H, -OH); 7,86 (d, *J* = 0,5 Hz, 1H, =CH-); 7,66 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, =CH-); 7,27 (dd, *J*₁ = 2,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz, 1H, =CH-); 7,20 (s, 1H, =CH-); 6,82 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H, =CH-); 5,16 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, -OH); 4,54 (d, *J* = 5,5 Hz, 2H, -CH₂-); 2,45 (s, 3H, -CH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 152,5 (>C=); 139,8 (>C=); 133,0 (>C=); 132,4 (>C=); 128,2 (=CH-); 127,1 (=CH-); 123,9 (>C=); 120,8 (=CH-); 115,0 (=CH-); 107,2 (=CH-); 63,2 (-CH₂-); 21,4 (-CH₃).

Tổng hợp (4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)methanol (5b): Cho 5 mL acetone tinh khiết vào bình cầu chứa sẵn hỗn hợp 3-(hydroxymethyl)-7-methylnaphthalen-1-ol (4b) (0,188 g, 1 mmol) và K₂CO₃ (0,69 g, 5 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút. Sau đó thêm tiếp dimethyl sulfate (0,504 g, 4 mmol) vào tiếp tục khuấy với tốc độ 700 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được cô dưới dung môi, thêm dung dịch NH₄Cl bão hòa đến pH = 5, chiết với EtOAc (3×30 mL), lớp hữu cơ được rửa nhiều lần với nước cất đến khi dịch chiết trung tính rồi rửa lại với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan nước bằng Na₂SO₄, lọc và cô dưới dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, Hex:EtOAc = 4:1), thu được tinh thể màu trắng (0,162 g, hiệu suất 80%). R_f = 0,57 (Hex:EtOAc = 1:1).

Tổng hợp 4-methoxy-6-methyl-2-naphthaldehyde (6b): Hỗn hợp gồm PCC (0,258 g, 1,2 mmol) với celite (0,260 g) trong một bình cầu dung tích 100 mL đã được sấy khô và 10 mL CH₂Cl₂ được khuấy trong môi trường khí N₂ ở nhiệt độ -5°C khoảng 15 phút với tốc độ khuấy 700 vòng/phút. Sau đó, dùng syringe thêm từ từ hỗn hợp chứa hợp chất (4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)methanol (5b) (0,202 g, 1 mmol) trong 5 mL CH₂Cl₂ vào hỗn hợp trên. Tiếp tục khuấy hỗn hợp trên ở -5°C, thời gian 40 phút trong môi trường khí N₂. Sau phản ứng, thêm vào một ít tinh thể Na₂S₂O₃ khan tuyệt đối. Tiếp tục khuấy hỗn hợp thêm 10 phút nữa. Lọc bỏ chất rắn và tiến hành chiết với EtOAc (3×30 mL). Dịch chiết hữu cơ được gom lại và rửa vài lần bằng nước muối bão hòa, làm khan với Na₂SO₄, lọc và cô dưới dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, Hex:EtOAc = 5:1) thu được tinh thể màu vàng nhạt (0,148 g, hiệu suất 74%). R_f = 0,65 (Hex:EtOAc = 2:1). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 10,01 (s, 1H, -CHO); 8,15 (s, 1H, -CH); 8,04 (s, 1H, -CH); 8,02 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H, =CH-); 7,90 (s, 1H, =CH-); 7,76 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, =CH-); 7,54-7,52 (d-d, *J* = 1,5 Hz, 1H, =CH-);

7,43 (s, 1H, =CH-); 7,37-7,35 (d-d, $J = 1,75$ Hz, 1H, =CH-); 7,23 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H, =CH-); 6,93 (s, 1H, =CH-); 4,03 (-OCH₃); 3,95 (-OCH₃); 2,47-2,53 (m, 6H, -2CH₃).

Tổng hợp (E)-N'-(3,4,5-trimethoxybenzylidene) benzohydrazide (5a): Thêm 1,5 mL ethanol vào bình cầu có chứa sẵn benzohydrazide (3a) (0,163 g, 1,2 mmol) và 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (4a) (0,196 g, 1 mmol). Hỗn hợp phản ứng được đun ở 70°C với tốc độ khuấy 700 vòng/phút trong vòng 6 giờ. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng đến khi hết tác chất. Hỗn hợp sau phản ứng được cô đuổi hết dung môi thu được sản phẩm (5a) dưới dạng chất rắn màu trắng (0,301 g, hiệu suất 96%), được dùng cho phản ứng bước tiếp theo mà không cần tinh chế. $R_f = 0,45$ (Hex:EtOAc = 1:1).

Tổng hợp 2-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole (6a): Cân lần lượt (E)-N'-(3,4,5-trimethoxybenzylidene) benzohydrazide (5a) (0,134 g, 1 mmol), I₂ (0,762 g, 3 mmol) và K₂CO₃ (0,690 g, 5 mmol) vào bình cầu. Thêm 2 mL DMSO vào hỗn hợp. Hỗn hợp phản ứng được đun ở 100°C với tốc độ khuấy 700 vòng/phút trong vòng 4 giờ. Sau phản ứng đưa hỗn hợp về nhiệt độ phòng, thêm dung dịch Na₂S₂O₃ bão hòa (20 mL). Tiến hành chiết với EtOAc (3×30 mL). Lọc hữu cơ được rửa nhiều lần với nước cất đến khi dịch chiết trung tính rồi rửa lại với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan nước bằng Na₂SO₄, lọc và cô đuổi dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, Hex:EtOAc = 5:1) thu được tinh thể màu trắng (0,293 g, hiệu suất 94%). $R_f = 0,4$ (Hex:EtOAc = 2:1). MS (ESI) m/z 312,9 [M+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 8,19 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, =CH-); 8,17 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, =CH-); 7,63-7,67 (m, 3H, =CH-); 7,41 (s, 2H, =CH-); 3,92 (s, 6H, -OCH₃-); 3,77 (s, 3H, OCH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 164,0 (>C=); 153,5 (>C=); 140,7 (>C=); 132,0 (=CH); 129,4 (=2CH-); 126,7 (=2CH-); 123,3 (>C=); 118,5 (>C=); 104,2 (=2CH-); 60,2 (OCH₃); 56,3 (2OCH₃).

Tổng hợp (E)-N'-(4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)methylene benzohydrazide (7b): Thêm 1,5 mL ethanol vào bình cầu có chứa sẵn benzohydrazide (3a) (0,190 g, 1,4 mmol) và 4-methoxy-6-methyl-2-naphthaldehyde (6b) (0,2 g, 1 mmol). Hỗn hợp phản ứng được đun ở 70°C với tốc độ khuấy 700 vòng/phút trong vòng 12 giờ. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng đến khi hết tác chất. Hỗn hợp sau phản ứng được cô đuổi hết dung môi thu được sản phẩm (7b) dưới dạng chất rắn màu trắng (0,283 g, hiệu suất 89%), được dùng cho phản ứng bước tiếp theo mà không cần tinh chế. $R_f = 0,65$ (Hex:EtOAc = 2:1).

Tổng hợp 2-(4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazole (8b): Cho lần lượt (E)-N'-(4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)methylene benzohydrazide (7b) (0,318 g, 1 mmol), I₂ (0,762 g, 3 mmol) và K₂CO₃ (0,69 g, 5 mmol) vào bình cầu rồi thêm 2 mL DMSO vào hỗn hợp. Hỗn hợp phản ứng được đun ở 100°C với tốc độ khuấy 700 vòng/phút trong vòng 5 giờ. Sau phản ứng đưa hỗn hợp về nhiệt độ phòng, thêm dung dịch Na₂S₂O₃ bão hòa (20 mL). Tiến hành chiết với EtOAc (3×30 mL), lọc hữu cơ được rửa nhiều lần với nước cất đến khi dịch chiết trung tính rồi rửa lại với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan nước bằng Na₂SO₄, lọc và cô đuổi dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, Hex:EtOAc = 6:1) thu được tinh thể màu trắng (0,297 g, hiệu suất 94%). $R_f = 0,6$ (Hex:EtOAc = 2:1). MS (ESI) m/z 348,9 [M+MeOH+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 8,28 (s, 1H, =CH-); 8,19 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, =CH-); 8,17 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, =CH-); 8,00 (s, 1H, =CH-); 7,99 (s, 1H, =CH-); 7,63-7,68 (m, 3H, =CH-); 7,50 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, =CH-); 7,49 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H, =CH-); 4,09 (s, 3H, -OCH₃-); 2,50 (s, 3H, -CH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 164,4 (>C=); 164,0 (>C=); 155,1 (>C=); 137,4 (>C=); 132,0 (=CH-); 131,7 (>C=); 129,8 (-2CH=); 129,4 (-CH=); 128,5 (-CH=); 126,7 (-2CH=); 126,5 (>C=); 123,3 (>C=); 120,7 (-CH=); 119,9 (>C=); 119,6 (-CH=); 100,9 (-CH=); 55,9 (-OCH₃); 21,6 (-CH₃).

2.3 Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Phương pháp sử dụng trong thử nghiệm là phương pháp đục lỗ thạch.

Chuẩn bị mẫu chất khảo sát: Hai chất (6a), (8b) và kháng sinh được pha với dung môi DMSO thành các nồng độ 8, 16, 32, 64, 128 $\mu\text{g/mL}$. Dịch nuôi vi khuẩn được pha loãng trong nước muối sinh lý tương đương độ đục $\geq 0,5$ Mc Farland. Mật số vi khuẩn là 10⁶ được trải đều trên môi trường LB đặc. Đĩa thạch để vừa khô, sau đó được đục lỗ với đường kính lỗ là 7 mm. Mỗi đĩa thạch được đục 1 hay 3 lỗ.

Tiến hành cho các mẫu chất đã chuẩn bị (6a), (8b) và kháng sinh ở các nồng độ khảo sát khác nhau (50 μL) vào các lỗ đã đục trên đĩa thạch. Các nồng độ 8, 16, 32, 64, 128 $\mu\text{g/mL}$ được sử dụng trong khảo sát, mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần. Các đĩa thạch được ủ ở 32°C trong 24 - 48 giờ. Đường kính vùng ức chế được đo bằng thước đo đơn vị mm.

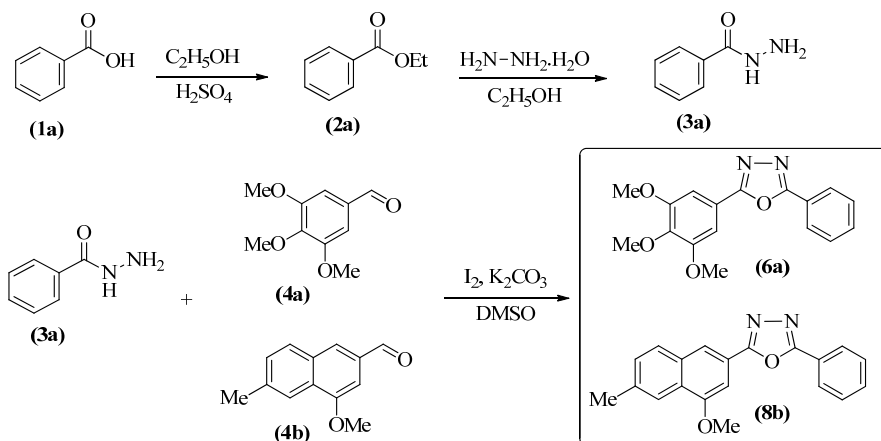
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tổng hợp dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole

Phương pháp tổng hợp khung 1,3,4-oxadiazole được áp dụng trong nghiên cứu này là sự ngưng tụ/oxy hóa giữa hydrazine và aldehyde. Hai dẫn xuất

1,3,4-oxadiazole được tổng hợp bao gồm 2-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole (**6a**) and 2-(4-methoxy-6-

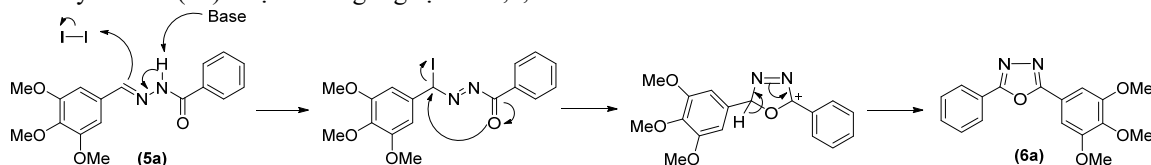
methylnaphthalen-2-yl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazole (**8b**). Quy trình tổng hợp được trình bày trong Sơ đồ 1.



Hình 1: Quy trình tổng hợp dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole

Benzohydrazide (**3a**) dễ dàng được tổng hợp từ tác chất ban đầu là benzoic acid (**1a**). Quá trình tổng hợp trải qua hai giai đoạn gồm ester hóa và tiếp theo là amide hóa với hiệu suất toàn bộ quá trình đạt 74,8%. Để tổng hợp dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole (**6a**), benzohydrazide (**3a**) được cho ngưng tụ với 3,4,5-

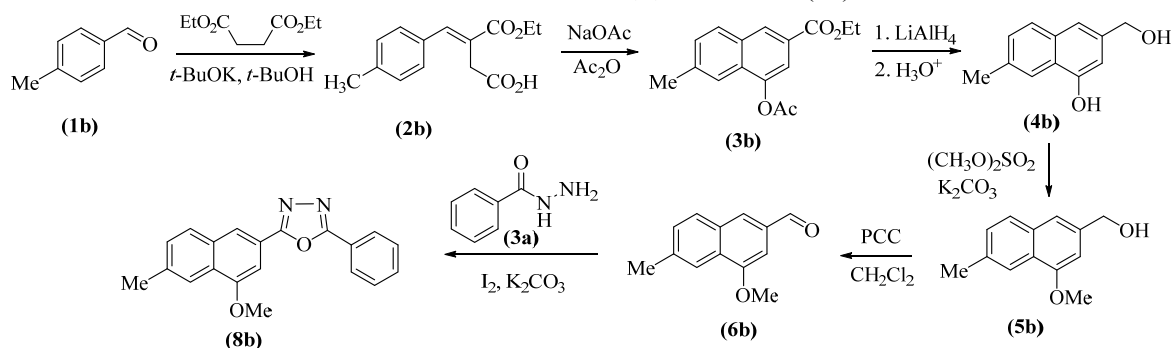
trimethoxybenzaldehyde (**4a**) tạo chất trung gian imine (**5a**). Chất trung gian (**5a**) tiếp tục phản ứng với I_2 tạo sản phẩm 2-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole (**6a**) với hiệu suất rất cao (94%). Cơ chế phản ứng được trình bày trong Hình 2.



Hình 2: Cơ chế phản ứng ngưng tụ/oxy hóa tạo khung 1,3,4-oxadiazole

Để tổng hợp dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole (**8b**), trước hết cần tổng hợp dẫn xuất naphthalenecarbaldehyde (**6b**) (Hình 3). Từ 4-methylbenzaldehyde (**1b**) qua hai bước ngưng tụ Stobbe/ghép vòng tạo khung naphthalene (**3b**). Nhóm chức ester trên khung naphthalene được khử bởi tác nhân khử $LiAlH_4$. Tiếp theo, nhóm OH trên

khung naphthalene được bảo vệ chọn lọc bởi nhóm methoxy. Sự oxy hóa nhóm alcol chỉ phương bởi tác nhân PCC tạo sản phẩm mong muốn 4-methoxy-6-methyl-2-naphthaldehyde (**6b**) với hiệu suất toàn bộ quá trình (5 bước) đạt 28,7%. Cuối cùng là sự ngưng tụ giữa aldehyde (**6b**) và hydrazine (**3a**) tạo dẫn xuất 2-(4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazole (**8b**) với hiệu suất đạt 94%.



Hình 3: Quy trình tổng hợp dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole (**8b**)

3.2 Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Hai hợp chất (6a) và (8b) được tiến hành đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của ba dòng vi khuẩn là *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus* bằng phương pháp đục lỗ. Kết quả được trình bày trong các Bảng 1, 2 và 3.

Dựa vào Bảng 1 có thể nhận thấy đường kính vòng vô khuẩn của (8b) là cao nhất, đường kính của (6a) nhỏ nhất. Khả năng ức chế vi khuẩn *Escherichia coli* của (8b) mạnh hơn kháng sinh vancomycin HCl và (6a) nên chất (8b) có tiềm năng để phát triển thành các thuốc chống *Escherichia coli*.

Bảng 1: Khả năng kháng khuẩn trên dòng vi khuẩn *E. coli*

Nồng độ (µg/mL)	<i>E. coli</i>		
	Vancomycin	(8b)	(6a)
8	13.67 ± 1.53 ^d	14.00 ± 0.00 ^e	12.00 ± 1.00 ^c
16	15.67 ± 0.58 ^c	15.33 ± 0.58 ^d	15.33 ± 0.58 ^b
32	17.00 ± 1.00 ^{bc}	17.00 ± 1.00 ^c	16.00 ± 0.00 ^b
64	18.00 ± 0.00 ^{ab}	18.67 ± 0.58 ^b	17.67 ± 0.58 ^a
128	19.00 ± 1.00 ^a	20.00 ± 0.00 ^a	18.33 ± 0.58 ^a
MIC	≤ 8 µg/mL	≤ 8 µg/mL	≤ 8 µg/mL

Ghi chú: Các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Do nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của kháng sinh >128 µg/mL nên khả năng ức chế khuẩn *Bacillus cereus* không cao. Giá trị MIC của (8b) ≤ 8 µg/mL trong khi giá trị MIC của (6a) là 16 µg/mL < MIC ≤ 32 µg/mL nên có thể kết luận khả năng ức chế khuẩn *Bacillus cereus* của (8b) có hiệu quả cao hơn.

Bảng 2: Khả năng kháng khuẩn trên dòng vi khuẩn *Bacillus cereus*

Nồng độ (µg/mL)	Đường kính vòng vô khuẩn d ± SE (mm)		
	Vancomycin	(8b)	(6a)
8	-	3.00 ± 0.00 ^d	-
16	-	4.00 ± 0.00 ^c	-
32	-	5.00 ± 0.00 ^b	13.00 ± 0.00 ^b
64	-	5.00 ± 0.00 ^b	14.00 ± 0.00 ^b
128	-	6.33 ± 0.58 ^a	16.33 ± 0.58 ^a
MIC	>128 µg/mL	≤ 8 µg/mL	32 µg/mL

Ghi chú: Các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Dựa vào Bảng 3, đường kính vòng vô khuẩn của (6a) là cao nhất, đường kính vòng vô khuẩn của (8b) nhỏ nhất. Khả năng ức chế vi khuẩn *Staphylococcus*

aureus của (6a) mạnh hơn kháng sinh vancomycin HCl và (8b). Ở 2 nồng độ đầu, khả năng kháng khuẩn của kháng sinh mạnh hơn (6a) nhưng đến nồng độ 32 µg/ml thì khả năng ức chế vi khuẩn của kháng sinh và (6a) là như nhau. Khi tăng nồng độ lên, khả năng kháng khuẩn của (6a) trội hơn so với kháng sinh.

Bảng 3: Khả năng kháng khuẩn trên dòng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*

Nồng độ (µg/ml)	Đường kính vòng vô khuẩn d ± SE (mm)		
	Vancomycin	(8b)	(6a)
8	11.33 ± 1.16 ^c	5.00 ± 0.00 ^d	10.67 ± 0.58 ^c
16	13.67 ± 0.58 ^b	6.00 ± 1.00 ^{cd}	12.00 ± 1.00 ^c
32	13.67 ± 0.58 ^b	6.67 ± 0.58 ^c	13.67 ± 0.58 ^b
64	15.00 ± 1.00 ^b	9.00 ± 1.00 ^b	17.67 ± 0.58 ^a
128	17.33 ± 1.53 ^a	10.33 ± 0.58 ^a	18.00 ± 1.00 ^a
MIC	≤ 8 µg/mL	≤ 8 µg/mL	≤ 8 µg/mL

Ghi chú: Các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

4 KẾT LUẬN

Hai dẫn xuất 1,3,4-oxadiazole là 2-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole (6a) và 2-(4-methoxy-6-methylnaphthalen-2-yl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazole (8b) đã được tổng hợp thành công với hiệu suất rất cao. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn cho thấy hai dẫn xuất (6a) và (8b) có khả năng kháng ba dòng vi khuẩn *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus*, trong đó hợp chất (8b) có khả năng kháng các dòng vi khuẩn *Escherichia coli* và *Bacillus cereus* hiệu quả hơn hợp chất (6a) và kháng sinh vancomycin HCl. Hợp chất (6a) có khả năng kháng dòng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* hiệu quả hơn hợp chất (8b) và kháng sinh vancomycin HCl. Kết quả nghiên cứu này tạo tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm phát triển các loại kháng sinh mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bankar, G.R., Nandakumar, K., Nayak, P.G., et al., 2009. Effect in rat aortic rings through calcium channel blockage: A preliminary in vitro assessment of a 1,3,4-oxadiazole derivative. *Chem. Biol. Interact.* 181: 377–382.

Kadi, A.A., El-frollosy, N.R., Al-deeb, O.A., Habib, E.E., Ibrahim, T.M., and El-emam, A.A., 2007. Synthesis, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of novel 2-(1-adamantyl)-5-substituted-1,3,4-oxadiazoles and 2-(1-adamantylamino)-5-substituted-1,3,4-thiadiazoles, *Eur. J. Med. Chem.* 42: 235–242.

Kangani, C.O., Kelley, D.E.; Day, B.W., 2006. One pot direct synthesis of oxazolines, benzoxazolones and oxadiazoles from carboxylic acids using the deoxy-fluor reagent. *Tetrahedron Lett.* 47, 6497–6499.

- Kashaw, S.K.; Gupta, V.; Kashaw, V.; Mishra, P.; Stables, J.P.; and Jain, N.K., 2010. Anticonvulsant and sedative-hypnotic activity of some novel 3-[5-(4-substituted) phenyl-1,3,4-oxadiazole-2yl]-2- styrylquinazoline-4(3H)-ones. *Med. Chem. Res*, 19, 250–261.
- Kumar, S. A., 2010. Synthesis, spectral characterization and antimicrobial activity of novel 2-amino-5-substituted-1,3,4-oxadiazoles. *J. Chil. Chem. Soc.*, 55, 126–129.
- Liu, K.; Lu, X.; Zhang, H.-J.; Sun, J.; and Zhu, H.-L., 2012. Synthesis, molecular modeling and biological evaluation of 2-(benzylthio)-5-aryloxadiazole derivatives as anti-tumor agents. *Eur. J. Med.Chem.*, 47, 473–478.
- Martin, P.J.; and Bruce, D.B., 2007. Hydrogen-bonded oxadiazole mesogens. *Liq. Crystals*, 34, 767–774.
- Rajender Kumar, Sukhbir L. Khokara. 2003. Chemistry and common synthetic route of 1,3,4-oxadiazole: an important heterocyclic moiety in medicinal chemistry. *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*, 2249-6807.
- Zheng, X.; Li, Z.; Wang, Y.; Chen, W.; Huang, Q.; Liu, C.; and Song, G., 2003. Synthesis and Insecticidal activities of novel 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles. *J. Fluorine Chem.*, 123, 163–169.