

TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG NẤM VÀ ĐỘC TẾ BÀO CÁC DẪN CHẤT 2-METHYLMIDAZOL-4,5- DICARBOXAMID BẤT ĐỐI XỨNG

Huỳnh Nguyễn Hoài Phương*, Đỗ Viết Hoàng, Trương Phương, Vũ Thị Cẩm Vân

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: hoaiphuonghuynh@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 07/4/2023

Ngày phản biện: 05/5/2023

Ngày duyệt đăng: 07/7/2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Imidazol là khung cấu trúc dị vòng từ lâu đã nhận được nhiều sự quan tâm trong lĩnh vực hóa dược và xuất hiện trong nhiều hợp chất với hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, kháng ung thư và giảm đau, kháng viêm. Chúng tôi chọn nghiên cứu các dẫn xuất của 2-methylimidazol-4,5-dicarboxamid và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, độc tế bào trong nhóm cấu trúc này. **Mục tiêu nghiên cứu:** Tổng hợp các dẫn chất 2-methylimidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng và thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, độc tế bào. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đối tượng nghiên cứu là các dẫn chất 2-methylimidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng. Các dẫn chất imidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng được tổng hợp từ nguyên liệu đầu là 2-methylbenzimidazol thông qua 2 giai đoạn chính là tổng hợp acid imidazol dicarboxylic và tổng hợp diamid. Cấu trúc được xác định bằng các phương pháp phổ. Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn: Phương pháp khuếch tán trên thạch. Phương pháp thử độc tính tế bào: đánh giá tỉ lệ tế bào sống bằng phương pháp MTT. **Kết quả:** 4 dẫn chất 2-methylimidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng được tổng hợp thành công với hiệu suất trung bình (25–37% cho bước cuối). Cả 4 dẫn chất tổng hợp đều không thể hiện hoạt tính trên các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm, không thể hiện hoạt tính độc tế bào. **Kết luận:** 4 dẫn chất imidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng không thể hiện hoạt tính trên kháng khuẩn kháng nấm trên các chủng khảo sát.

Từ khóa: 2-methylimidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng, kháng khuẩn, kháng nấm, độc tế bào.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTIBACTERIAL, ANTIFUNGAL, CYTOTOXIC ACTIVITIES OF SOME ASYMMETRIC 2- METHYLLIMIDAZOLE-4,5-DICARBOXAMIDE DERIVATIVES

Phuong Nguyen Hoai Huynh*, Hoang Viet Do, Phuong Truong, Cam-Van Thi Vo

University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

Background: Imidazole is a heterocyclic structure that has been received much attention in pharmaceutical chemistry and has been appeared in many compounds with antibacterial, antifungal, antiviral, anticancer, analgesic, and anti-inflammatory activities. We chose to study 2-methylimidazole-4,5-dicarboxamide and evaluate the antibacterial, antifungal, cytotoxic activities of those derivatives. **Objectives:** Synthesis of asymmetric 2-methylimidazole-4,5-dicarboxamides and screening the antibacterial, antifungal, cytotoxic activities of these derivatives. **Materials and methods:** The asymmetric 2-methylimidazole-4,5-dicarboxamides were synthesized from 2-methylbenzimidazole through 2 steps: Synthesis of imidazole dicarboxylic acid and synthesis of diamid. The structures of all synthetic compounds were confirmed by melting point, IR spectrum, MS spectrum, ¹H-NMR spectrum. The antibacterial, antifungal activity was screened using well diffusion method on agar. The cytotoxic activity was screening using MTT method. **Results:** Four asymmetric 2-methylimidazole-4,5-dicarboxamides were synthesized with medium yields (25-37% for the last step). These compounds showed no antibacterial and antifungal activities on tested species. They also showed no cytotoxic activity. **Conclusion:** Four asymmetric 2-methylimidazole-4,5-dicarboxamides have no antibacterial and antifungal activities on tested species and no cytotoxic activities on tested cell lines.

Keywords: Asymmetric 2-methylimidazole-4,5-dicarboxamide, antibacterial, antifungal, cytotoxic.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Imidazol và dẫn chất từ lâu đã chiếm một vị trí quan trọng trong lĩnh vực hóa dược. Sự có mặt của nhân imidazol trong các hợp chất hữu cơ là một chiến lược quan trọng trong quá trình khám phá thuốc [1]. Tác dụng sinh học đa dạng của nhóm hợp chất này đã được làm rõ qua nhiều nghiên cứu có thể kể đến như tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm [2], [3], kháng virus [3], [4], kháng viêm và giảm đau [5], [6], kháng ung thư [7], [8], chống trầm cảm [9]...

Imidazol-4,5-dicarboxamid (I45DC) là tên gọi chung của các dẫn chất diamid hóa của acid imidazol-4,5-dicarboxylic. Nếu 2 nhóm amid khác nhau về cấu tạo, nhóm dẫn chất thu được là I45DC bát đối xứng. Trong số các loại hợp chất I45DC, nhóm hợp chất bát đối xứng có cấu trúc rất phong phú bởi vì chỉ cần thay đổi các cấu trúc của amid có thể tạo thành nhiều hợp chất khác nhau. Dẫn chất I45DC bát đối xứng được tổng hợp thông qua hợp chất trung gian pyrazindion diacid diclorid, tuỳ vào khả năng phản ứng khác nhau của các amin để chọn lựa thứ tự phản ứng phù hợp. I45DC là một khung cấu trúc đang được quan tâm nghiên cứu và có nhiều hoạt tính sinh học tiềm năng [1]. Các nghiên cứu cho thấy hợp chất I45DC có khả năng ức chế mạnh các tế bào ung thư [8], kháng HIV-1 [10], viêm gan C [11], virus sốt xuất huyết [12]. Nghiên cứu này nhằm mục tiêu tổng hợp những dẫn chất I45DC mới từ nguyên liệu đầu là 2-methylbenzimidazol đồng thời đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, độc tố bào của nhóm hợp chất này.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

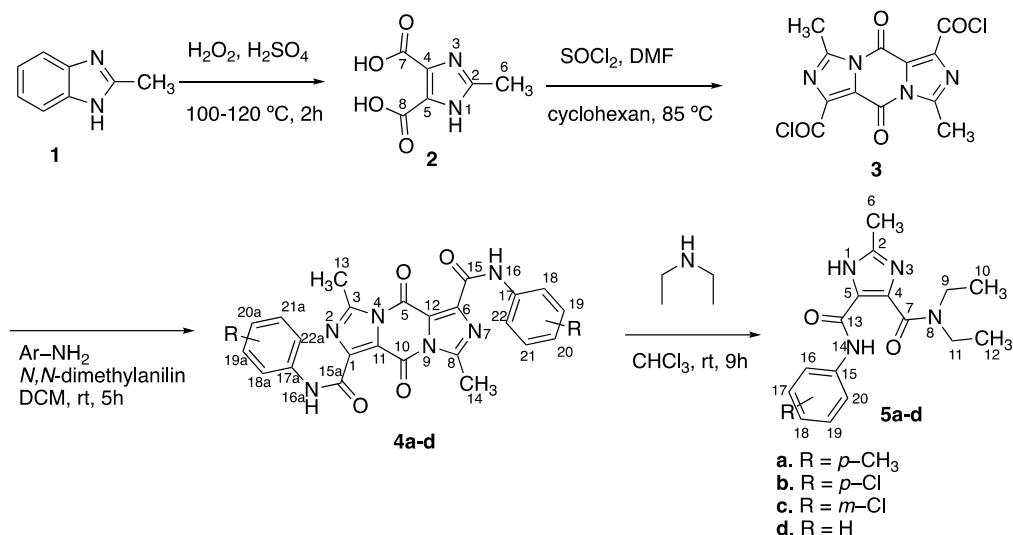
Bốn dẫn chất N^4,N^4 -diethyl- N^5 -phenyl-2-methyl-1H-imidazol-4,5-dicarboxamid và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, hoạt tính độc tế bào của các dẫn chất này.

2.2. Nguyên liệu

2-Methylbenzimidazol, acid sulfuric, hydro peroxid, thionyl clorid, N,N -dimethylanilin, anilin, 4-cloroanilin, 3-cloroanilin, *p*-toluidin, dung môi hữu cơ từ Trung Quốc và công ty Merck – Đức theo tiêu chuẩn tổng hợp; các môi trường nuôi cấy vi nấm và vi khuẩn: Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Mueller Hinton Agar (MHA); môi trường nuôi cấy và hóa chất trong thử nghiệm độc tính tế bào: môi trường MEM, môi trường DMEM, môi trường DMEM glutamax, huyết thanh bào thai bê (FBS), trypLE; L-glutamin, penicillin-streptomycin (Gibco, Mỹ), PBS, trypan blue, MTT (Invitrogen, Mỹ), isopropanol (Merck, Đức); chủng vi nấm *Candida albicans* ATCC 10231, các chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Streptococcus faecalis* ATCC 29212, chất chứng dương: ceftazidim (kháng khuẩn), vancomycin (MRSA) và fluconazol (kháng nấm); chất chứng âm DMSO 10%; các dòng tế bào: HepG2 (tế bào ung thư gan người), RD (tế bào ung thư cơ vân người), MDA-MB-231 (tế bào ung thư vú người), LLC-PK1 (tế bào thận heo – đây là dòng tế bào được sử dụng thường quy trong các nghiên cứu tác dụng của thuốc trên thận [13]). Phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lốp mỏng silica gel GF₂₅₄ (hãng Merck – Đức). Điểm chảy đo trên máy Stuart SMP10; phổ IR đo trên máy FTIR 8201 PC Shimadzu; phổ khói MS được đo trên máy MSQ Plus DAD; phổ ¹H-NMR được đo trên máy Bruker 400 MHz. Một số dụng cụ sử dụng trong phản thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm: nồi hấp tiệt trùng Himaraya, tủ ấm Shellab, máy vortex Labnet, tủ cấy vô khuẩn, máy đo quang Gene Quant 1300.

2.3. Phương pháp tổng hợp

Các dẫn chất N^4,N^4 -diethyl- N^5 -phenyl-2-methyl-1H-imidazol-4,5-dicarboxamid được tổng hợp từ nguyên liệu ban đầu là 2-methyl-benzimidazol thông qua 4 bước (sơ đồ 1): (bước 1) oxi hoá cắt mạch 2-methyl-benzimidazol (1) tạo dẫn chất acid 2-methylimidazol-4,5-dicarboxylic (2); (bước 2) dimer hoá hợp chất (2) thu được dẫn chất pyrazindion diacid dichlorid (3); (bước 3) amid hoá hợp chất (3) bằng các dẫn chất amin thơm khác nhau để tạo được các dẫn chất (4); (bước 4) dẫn chất (4) phản ứng với amin thứ 2 là diethylamin để tạo được các dẫn chất 2-methylimidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng (5).



mmol) dung dịch hydro peroxid 30% và duy trì nhiệt độ phản ứng ở 100-105°C. Tiếp tục lắp hệ thống sinh hàn và gia nhiệt phản ứng đến 110-120°C trong 2 giờ. Dung dịch sau phản ứng được làm nguội và đổ nhanh vào 500mL nước lạnh, tủa bông trắng xuất hiện được lọc và kết tinh lại trong nước. Lọc và sấy khô thu được sản phẩm tinh khiết.

Hiệu suất: 42,6% (3,62g). Tinh thể hình kim màu vàng đến vàng nâu, không tan trong nước, ethanol tuyệt đối, aceton, cloroform, tan ít trong DMF, tan tốt trong dung dịch NaOH 10%. Nhiệt độ nóng chảy: 255-256°C (phân hủy). IR (cm^{-1}): 3531,66 (v O-H acid); 1379,10 (v C-N). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) 2,49 (s, 3H, H6). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) 159,80 (C7 và C8); 146,28 (C2); 128,34 (C4 và C5); 11,68 (C6). $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4$ [M-H]⁻ m/z = 169,03 (dụ kiến), m/z = 168,75 (thực tế).

Tổng hợp 3,8-dimethyl-5,10-dioxo-5,10-dihydroimidazo[1,5-a:1',5'-d]pyrazin-1,6-dicarbonyl dichlorid (3):

Trong bình cầu đáy tròn 100mL, thêm 2,18g (12,8mmol) **2**, 20mL cyclohexan, khuấy mạnh để hỗn dịch phân tán đều. Thêm tiếp lần lượt 5,6mL (76,8mmol) thionyl clorid, 0,5mL DMF, lắp hệ thống sinh hàn và đun hồi lưu ở 85°C trong 16 giờ. Sau phản ứng, lọc thu lấy tủa, cho vào bình cầu 100mL và tiếp tục đun hồi lưu ở 85°C với 20mL cyclohexan trong 30 phút. Hỗn dịch được lọc dưới áp suất giảm, phần tủa được rửa với 10mL cyclohexan để loại hết thionyl clorid. Sấy khô sản phẩm và bảo quản trong lọ kín. Đây là một chất rất kèm bền bởi nhiệt và ẩm nên chúng tôi chỉ thực hiện đo các phô có sẵn tại cơ sở.

Hiệu suất thô: 83,3% (1,82g). Bột mịn màu nâu nhạt, không tan trong nước và dung môi hữu cơ thông dụng. Nhiệt độ nóng chảy >300°C. IR (cm^{-1}): 1757,15 (v C=O acid clorid); 1344,38 (v C-N); 758,02 (v C-Cl).

Tổng hợp các chất N^1,N^6 -diaryl-3,8-dimethyl-5,10-dioxo-5,10-dihydroimidazo[1,5-a:1',5'-d]pyrazin-1,6-dicarboxamid (4a-d):

Trong bình cầu đáy tròn 50mL, thêm 1,0mmol (0,34g) **3**, 6mL DCM, hỗn dịch được khuấy để phân tán đều và được làm lạnh về 0°C. Thêm vào bình cầu lần lượt 2,1mmol (0,26mL) *N,N*-dimethylanilin, 2,1mmol dẫn chất anilin. Sau 10 phút, hỗn hợp phản ứng được đưa về nhiệt độ phòng và tiếp tục khuấy trong 5 giờ. Sau phản ứng, hỗn hợp được lọc lấy tủa dưới áp suất giảm và tủa được rửa với lần lượt 10mL DCM, 20mL nước lạnh, 20mL aceton. Sản phẩm được sấy khô trong tủ sấy.

Áp dụng quy trình trên, chúng tôi đã tổng hợp được 4 hợp chất như sau.

N^1,N^6 -di-p-tolyl-3,8-dimethyl-5,10-dioxo-5,10-dihydroimidazo[1,5-a:1',5'-d]pyrazin-1,6-dicarboxamid (4a)

Hiệu suất: 79,2% (0,38g). Bột mịn màu đỏ cam, không tan trong nước, ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton, tan ít trong DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 257-259 °C (phân hủy). IR (cm^{-1}): 3103,46 (v N-H amid); 1678,07 (v C=O amid); 1294,24 (v C-N amid). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) 10,63 (s, 2H, H16 và H16a); 7,64 (d, 4H, J = 8,4 Hz, H18, H22, H18a và H22a); 7,20 (d, 4H, J = 8,4 Hz, H19, H21, H19a và H21a); 2,81 (s, 6H, H13 và H14); 2,30 (s, 6H, H (CH₃ vòng thơm)).

N^1,N^6 -bis(4-clorophenyl)-3,8-dimethyl-5,10-dioxo-5,10-dihydroimidazo[1,5-a:1',5'-d]pyrazin-1,6-dicarboxamid (4b)

Hiệu suất: 82,7% (0,43g). Bột mịn màu cam, không tan trong nước, ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton, tan ít trong DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 267-269 °C (phân hủy). IR (cm^{-1}): 3255,84 (v N-H amid); 1674,21 (v C=O amid); 1298,09 (v C-N amid). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) 10,86 (s, 2H, H16 và H16a); 7,81 (d, 4H, J = 8,8 Hz, H18, H22, H18a và H22a); 7,46 (d, 4H, J = 8,8 Hz, H19, H21, H19a và H21a); 2,81 (s, 6H, H13 và H14).

N¹,N⁶-bis(3-clorophenyl)-3,8-dimethyl-5,10-dioxo-5,10-dihydroimidazo[1,5-a:1',5'-d]pyrazin-1,6-dicarboxamid (4c)

Hiệu suất: 73,1% (0,38g). Bột mịn màu vàng, không tan trong nước, ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton, tan ít trong DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 254-257 °C (phân hủy). IR (cm⁻¹): 3261,63 (v N-H amid); 1687,71 (v C=O amid); 1267,23 (v C-N amid). ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) 10,90 (s, 2H, H16 và H16a); 7,97 (t, 2H, *J* = 2 Hz, H18 và H18a); 7,67 (ddd, 2H, ³*J* = 8,0 Hz, ⁴*J* = 1,6 Hz, ⁴*J* = 0,8 Hz, H22 và H22a); 7,43 (t, 2H, *J* = 8,0 Hz, H21 và H21a); 7,23 (ddd, 2H, ³*J* = 8,0 Hz, ⁴*J* = 2 Hz, ⁴*J* = 0,8 Hz, H20 và H20a); 2,82 (s, 6H, H13 và H14).

N¹,N⁶-diphenyl-3,8-dimethyl-5,10-dioxo-5,10-dihydroimidazo[1,5-a:1',5'-d]pyrazin-1,6-dicarboxamid (4d)

Hiệu suất: 88,1% (0,40 g). Bột mịn màu vàng, không tan trong nước, ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton, tan ít trong DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 250-251 °C (phân hủy). IR (cm⁻¹): 3199,91 (v N-H amid); 1681,93 (v C=O amid); 1255,66 (v C-N amid). ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) 10,72 (s, 2H, H16 và H16a); 7,76 (dd, 4H, ³*J* = 8,4 Hz, ⁴*J* = 0,8 Hz, H18, H22, H18a và H22a); 7,40 (t, 4H, *J* = 7,6 Hz, H19, H21, H19a và H21a); 7,16 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz, H20 và H20a); 2,82 (s, 6H, H13 và H14).

Tổng hợp các chất *N⁴,N⁴-diethyl-2-methyl-N⁵-aryl-1H-imidazol-4,5-dicarboxamid (5a-d)*:

Trong bình cầu đáy tròn 50mL, thêm 1,0mmol **4a-d** và 12mL cloroform, hỗn hợp được khuấy cho đến khi chất rắn được phân tán đều. Thêm tiếp vào hỗn dịch trên 0,62mL diethylamin (6,0mmol), lấp sinh hàn và đun hồi lưu trong 9 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được lọc bỏ phần rắn không tan, dịch lọc được rửa với 20mL (chia 2 lần) dung dịch acid hydrochloric 0,5% để loại diethylamin dư. Lớp hữu cơ sau khi được loại nước bằng natri sulfat khan, cô quay để loại dung môi và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột với hệ dung môi *n*-hexan-ethyl acetat (1:1). Các phân đoạn chứa sản phẩm được gộp lại và đem cô quay. Sấy khô phần cặn còn lại thu được sản phẩm tinh khiết tương ứng.

Áp dụng phương pháp trên, chúng tôi đã tổng hợp được 4 hợp chất như sau.

N⁴,N⁴-diethyl-N⁵-(*p*-tolyl)-2-methyl-1H-imidazol-4,5-dicarboxamid (5a)

Hiệu suất: 36,5% (0,23g). Bột mịn màu trắng hơi vàng, không tan trong nước, *n*-hexan, tan ít trong ethyl acetat, tan tốt trong ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton. Nhiệt độ nóng chảy: 178-180 °C. IR (cm⁻¹): 3192,19 (v N-H amid); 1608,63 (v C=O amid); 1296,16 (v C-N amid). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 12,50 (s, 1H, H1); 11,04 (s, 1H, H14); 7,62 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz, H16 và H20); 7,14 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz, H17 và H19); 3,89 (q, 2H, *J* = 6,8 Hz, H9); 3,57 (q, 2H, *J* = 7,2 Hz, H11); 2,44 (s, 3H, H6); 2,33 (s, 3H, H21); 1,27 (t, 6H, *J* = 6,4 Hz, H10 và H12). C₁₇H₂₂N₄O₂ [M-H]⁻ m/z = 313,37 (dự kiến), m/z = 313,19 (thực tế).

N⁴,N⁴-diethyl-N⁵-(4-clorophenyl)-2-methyl-1H-imidazol-4,5-dicarboxamid (5b)

Hiệu suất: 27% (0,18g). Bột mịn màu trắng hơi nâu, không tan trong nước, *n*-hexan, tan ít trong ethyl acetat, tan tốt trong ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton. Nhiệt độ nóng chảy: 209-212 °C. IR (cm⁻¹): 3219,19 (v N-H amid); 1664,57 (v C=O amid); 1255,66 (v C-N amid). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 12,82 (s, 1H, H1); 10,75 (s, 1H, H14); 7,69 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, H16 và H20); 7,30 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, H17 và H19); 3,92 (q, 2H, *J* = 6,8 Hz, H9); 3,57 (q, 2H, *J* = 6,8 Hz, H11); 2,44 (s, 3H, H6); 1,28 (t, 6H, *J* = 7,2 Hz, H10 và H12). C₁₆H₁₉ClN₄O₂ [M-H]⁻ m/z = 333,11 (dự kiến), m/z = 333,15 (thực tế).

N⁴,N⁴-diethyl-N⁵-(3-clorophenyl)-2-methyl-1H-imidazol-4,5-dicarboxamid (5c)

Hiệu suất: 31,5% (0,21g). Bột mịn màu trắng hơi vàng, không tan trong nước, *n*-hexan, tan ít trong ethyl acetat, tan tốt trong ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton. Nhiệt độ nóng chảy: 161-163 °C. IR (cm⁻¹): 3240,41 (v N-H amid); 1666,50 (v C=O amid); 1251,80 (v C-N amid). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 12,89 (s, 1H, H1); 10,98 (s, 1H, H14); 7,93 (t, 1H, J = 2Hz, H20); 7,52 (ddd, 1H, ³J = 8,0 Hz, ⁴J = 2,0 Hz, ⁴J = 0,8 Hz, H16); 7,26 (t, 1H, J = 7,2 Hz, H17); 7,09 (ddd, 1H, ³J = 8,0 Hz, ⁴J = 2,0 Hz, ⁴J = 0,8 Hz, H18); 3,92 (q, 2H, J = 7,2 Hz, H9); 3,57 (q, 2H, J = 7,2 Hz, H11); 2,47 (s, 3H, H6); 1,28 (t, 6H, J = 7,2 Hz, H10 và H12). C₁₆H₁₉ClN₄O₂ [M-H]⁻ m/z = 333,11 (dự kiến), m/z = 333,21 (thực tế).

N⁴,N⁴-diethyl-N⁵-phenyl-2-methyl-1H-imidazol-4,5-dicarboxamid (5d)

Hiệu suất: 25,2% (0,15g). Bột mịn màu trắng, không tan trong nước, *n*-hexan, tan ít trong ethyl acetat, tan tốt trong ethanol tuyệt đối, cloroform, aceton. Nhiệt độ nóng chảy: 187-188°C. IR (cm⁻¹): 3236,55 (v N-H amid); 1662,64 (v C=O amid); 1317,38 (v C-N amid). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 12,62 (s, 1H, H1); 11,03 (s, 1H, H14); 7,75 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H16 và H20); 7,35 (t, 2H, J = 7,2 Hz, H17 và H19); 7,12 (t, 1H, J = 6,4 Hz, H18); 3,90 (q, 2H, J = 7,2 Hz, H9); 3,57 (q, 2H, J = 7,2 Hz, H11); 2,44 (s, 3H, H6); 1,28 (t, 6H, J = 7,2 Hz, H10 và H12). C₁₆H₂₀N₄O₂ [M-H]⁻ m/z = 299,15 (dự kiến), m/z = 299,18 (thực tế).

- Kết quả hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Kết quả định tính kháng khuẩn, kháng nấm với nồng độ các chất thử nghiệm 0,5 mg/mL được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả định tính kháng khuẩn, kháng nấm

Mẫu	MSSA	MRSA	E. coli	P.aeruginosa	S. faecalis	C. albicans
5a	-	-	-	-	-	-
5b	-	-	-	-	-	-
5c	-	-	-	-	-	-
5d	-	-	-	-	-	-
Ceftazidim	+	NA	+	+	+	NA
Vancomycin	NA	+	NA	NA	NA	NA
Fluconazol	NA	NA	NA	NA	NA	+
Chứng DMSO 10%	-	-	-	-	-	-

Chú thích: “-” : không xuất hiện vòng kháng khuẩn, kháng nấm

“+” : có xuất hiện vòng kháng khuẩn, kháng nấm

NA : không thử nghiệm

Nhận xét: Như vậy, cả 4 dẫn chất tổng hợp đều không thể hiện hoạt tính trên các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm.

- Kết quả hoạt tính độc tế bào

Kết quả hoạt tính độc tế bào của 4 chất trên 4 dòng tế bào thử nghiệm được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả hoạt tính độc tế bào

Mẫu	HEPG2		MDA		RD		LLCPK1	
	IC50	SD	IC50	SD	IC50	SD	IC50	SD
5a	> 100 μM							
5b	> 100 μM							
5c	> 100 μM							
5d	> 100 μM							

Chú thích: HEPG2: tế bào ung thư gan người, RD: tế bào ung thư cơ vân người, MDA: tế bào ung thư vú người, LLCPK1: tế bào thận heo.

Nhận xét: Cá 4 dẫn chất tổng hợp đều không thể hiện hoạt tính độc tế bào trên các dòng tế bào thử nghiệm.

IV. BÀN LUẬN

Phản ứng oxy hóa cắt mạch 2-methylbenzimidazol với tác nhân oxy hóa là hydro peroxid 30% cho hiệu suất ở mức trung bình (42,6%). Khảo sát tỉ lệ mol giữa hydro peroxid và 2-methylbenzimidazol cho thấy hiệu suất tốt nhất thu được khi tỉ lệ này là 18:1.

Phản ứng tạo pyrazindion diacid diclorid được tiến hành trong benzen hoặc toluen theo như tài liệu tham khảo. Tuy nhiên trong thực nghiệm, khi sử dụng toluen, chúng tôi gặp phải vấn đề đó là hỗn hợp sau phản ứng ở dạng hồ nhão gây khó khăn cho việc thu hồi sản phẩm. Chúng tôi nhận thấy rằng dung môi được sử dụng đóng vai trò là môi trường nhằm phân tán đều nguyên liệu mà không ảnh hưởng đến bản chất của phản ứng và quyết định thay thế bằng một dung môi có nhiệt độ sôi tương đương nhưng an toàn hơn benzen là cyclohexan.

Phương pháp anilid hóa acid clorid bên cạnh những ưu điểm là tính chọn lọc, đơn giản và hiệu suất cao thì nhược điểm lớn của phương pháp này là tính kém tan của nguyên liệu cũng như sản phẩm gây trở ngại lớn trong quá trình theo dõi phản ứng bằng sắc ký lỏng mờ.

Phản ứng mở vòng pyrazindion sử dụng tác nhân diethylamin cho hiệu suất tương đối thấp (25,2-36,5%). Mặc dù chưa khảo sát trên nhiều alkylamin khác nhau nhưng dựa trên cơ chế đề nghị của phản ứng cùng kết quả thu được, chúng tôi cho rằng số lượng và bản chất nhóm thê trên nguyên tử nitơ là một trong những yếu tố quan trọng quyết định hiệu suất phản ứng. Cụ thể, amin bậc 2 với các nhóm thê đồng kềnh sẽ gặp bất lợi trong phản ứng này.

Trên các chủng vi khuẩn và vi nấm và các dòng tế bào thử nghiệm, cả 4 dẫn chất tổng hợp được đều không thể hiện hoạt tính. Tuy nhiên, xét trên phương diện hóa học, nghiên cứu mới chỉ dừng lại ở một số lượng rất hạn chế các dẫn chất imidazol-4,5-dicarboxamid trong khi trên thực tế, việc thay đổi các nhánh thê amin (alkylamin, anilin và dẫn chất, amin dị vòng, amino acid) tạo ra vô số các dẫn chất với cấu trúc và tính chất khác nhau, chưa kể đến các nhóm thê trên nguyên tử nitơ và vị trí số 2 trên nhân imidazol. Do đó, vẫn chưa đủ cơ sở để chúng tôi có thể kết luận về hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của nhóm cấu trúc này.

V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, 4 dẫn chất imidazol-4,5-dicarboxamid bất đối xứng đã được tổng hợp. Các hợp chất tổng hợp được kiểm tra độ tinh khiết và xác định cấu trúc thông qua các phương pháp như nhiệt độ nóng chảy, phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân và khối phổ. Tất cả các kết quả phân tích có thể khẳng định hợp chất tổng hợp được có cấu trúc đúng như dự kiến. Cá 4 dẫn chất này đều chưa cho hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, độc tế bào trên các dòng vi khuẩn, vi nấm và các dòng tế bào thử nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Shalini K., Sharma P., and Kumar N. Imidazole and its biological activities: review. *Der. Chem. Sin.* 2010. 1(3), 36-47.

2. Shingalapur R. V., Hosamani K. M., and Keri R. S. Synthesis and evaluation of in vitro anti-microbial and anti-tubercular activity of 2-styryl benzimidazoles. *European journal of medicinal chemistry*. 2009. 44(10), 4244-4248, doi: 10.1016/j.ejmech.2009.05.021
3. Sharma D., Narasimhan B., Kumar P., et al. Synthesis, antimicrobial and antiviral evaluation of substituted imidazole derivatives. *Eur J Med Chem.* 2009. 44(6), 2347-53, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.08.010>
4. Tonelli M., Simone M., Tasso B., et al. Antiviral activity of benzimidazole derivatives. II. Antiviral activity of 2-phenylbenzimidazole derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2010. 18(8), 2937-2953, doi: 10.1016/j.bmc.2010.02.037
5. Puratchikody A. and Doble M. Antinociceptive and antiinflammatory activities and QSAR studies on 2-substituted-4,5-diphenyl-1H-imidazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2007. 15(2), 1083-1090, doi: 10.1016/j.bmc.2006.10.025
6. Achar K. C. S., Hosamani K. M., and Seetharamareddy H. R. In-vivo analgesic and anti-inflammatory activities of newly synthesized benzimidazole derivatives. *European journal of medicinal chemistry*. 2010. 45(5), 2048-2054, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.01.029>
7. Ozkay Y., Işıkdağ I., Incesu Z., et al. Synthesis of 2-substituted-N-[4-(1-methyl-4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl)phenyl]acetamide derivatives and evaluation of their anticancer activity. *European journal of medicinal chemistry*. 2010. 45(8), 3320-3328, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.04.015>
8. Refaat H. M. Synthesis and anticancer activity of some novel 2-substituted benzimidazole derivatives. *European journal of medicinal chemistry*. 2010. 45(7), 2949-2956. Doi: 10.1016/j.ejmech.2010.03.022
9. Hadizadeh F., Hosseinzadeh H., Motamed-Shariaty V. S., et al. Synthesis and Antidepressant Activity of N-Substituted Imidazole-5-Carboxamides in Forced Swimming Test Model. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2010. 7(1), 29-33.
10. Baures P. W., Heterocyclics HIV-1 protease inhibitors. *Organic Letters*. 1999. 1(2), 249-252, <https://doi.org/10.1021/ol990586y>
11. VanCompernolle S. E., Wiznycia A. V., Rush J. R., et al. Small molecule inhibition of hepatitis C virus E2 binding to CD81. *Virology*. 2004. 314(1), 371-380, doi: 10.1016/s0042-6822(03)00406-9
12. Saudi M., Zmurko J., Kaptein S., et al. Synthesis and evaluation of imidazole-4,5-and pyrazine-2,3-dicarboxamide targeting dengue and yellow fever virus. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. 87, 529-539, doi: 10.1016/j.ejmech.2014.09.062
13. Gunness P., Aleksa K., Kosuge K., et al, Comparison of the novel HK-2 human renal proximal tubular cell line with the standard LLC-PK1 in studying drug-induced nephrotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol.* 2010. 88(4), 448-455, doi:10.1139/y10-023.
14. Howe R., Andrews J. BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 11), *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2012. 67(12), 2783-2784, <https://doi.org/10.1093/jac/dks391>
15. Meerloo J., Kaspers G. J., Cloos J., Cell Sénititivity Assays: The MTT Assay. *Cancer Cell Culture*. 2011, 237-245.