

TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG NẤM CỦA DẪN CHẤT HEXYLOXYPHENYL-1,3,4-OXADIAZOL

Ngô Thị Hồng Vân^{1*}, Hoàng Văn Hải², Lê Thị Thảo³,
Nguyễn Nguyên Hạnh², Nguyễn Ngọc Mai²

1. Trường Đại học Công nghệ Đông Á

2. Trường Đại học Phenikaa

3. Trường Đại học Đại Nam

*Email: vannth@eaut.edu.vn

Ngày nhận bài: 16/8/2024

Ngày phản biện: 14/10/2024

Ngày duyệt đăng: 25/10/2024

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Dựa trên các ưu điểm của các peptid kháng khuẩn tự nhiên, các cation lưỡng phân phân tử nhỏ hiện đã và đang được coi là một hướng nghiên cứu phát triển thuốc tiềm năng, giúp tìm ra các hoạt chất mới có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm. Dựa trên đặc điểm cấu trúc lõi của các chất cation kháng khuẩn lưỡng phân nhóm nghiên cứu đã lựa chọn khung cấu trúc 1,3,4-oxadiazol là bộ khung cấu trúc xuất hiện trong nhiều hợp chất có tính kháng khuẩn để thiết kế, tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm. **Mục tiêu nghiên cứu:** Tổng hợp các dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol và thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các chất đã tổng hợp được; **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol được tổng hợp từ nguyên liệu ban đầu là 4-hydroxybenzaldehyd thông qua bốn bước: O-alkyl hóa, phản ứng đóng vòng oxadiazol, phản ứng cộng hợp amid với các amino acid và cuối cùng là phản ứng loại nhóm bảo vệ Boc để thu được các chất lưỡng phân phân tử nhỏ. Cấu trúc được xác định bằng phương pháp ¹H NMR và ¹³C NMR. Thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm theo phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng sử dụng canh thang trên đĩa 96 giếng. **Kết quả:** Đã tổng hợp được ba dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol. Thử hoạt tính trên hai chủng vi khuẩn và một chủng nấm; ba chất tổng hợp được không thể hiện hoạt tính trên các chủng thử nghiệm ở nồng độ 128 µg/ml. **Kết luận:** Ba dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol tổng hợp được không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm trên chủng khảo sát ở nồng độ 128 µg/ml, cần tiếp tục nghiên cứu tổng hợp các dẫn chất mới và đánh giá tác dụng trên các chủng vi sinh vật mới.

Từ khóa: Hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol, lưỡng phân phân tử nhỏ, kháng khuẩn, kháng nấm.

ABSTRACT

SYNTHEZIZE AND EVALUATE THE ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF HEXYLOXYPHENYL-1,3,4-OXADIAZOLE DERIVATIVES

Ngo Thi Hong Van^{1*}, Hoang Van Hai², Le Thi Thao³,
Nguyen Nguyen Hanh², Nguyen Ngoc Mai²

1. East Asia University of Technology

2. Phenikaa University

3. Dai Nam University

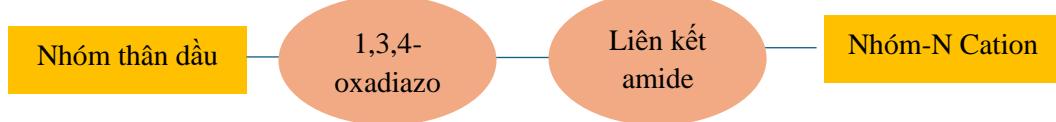
Background: Based on the outstanding properties of natural antibacterial peptides, small molecule cationic amphipathics have been considered as potential drug development research to find novel antibacterial and antifungal agents. Based on the core structural characteristics of amphiphilic cationic antibacterial agents, the 1,3,4-oxadiazole ring that appears in many

antibacterial agents was chosen to design, synthesize, and evaluate its antibacterial and antifungal activities. **Objectives:** To synthesize hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazole derivatives and study the antibacterial and antifungal activity. **Material and methods:** Hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazole derivatives were synthesized from the starting material 4-hydroxybenzaldehyde, then forms a 1,3,4-oxadiazole ring before attaching to amino acids to obtain cationic small amphiphiles. The structures were determined by ^1H NMR and ^{13}C NMR. For testing antibacterial and antifungal activities: Microdilution method in liquid medium using broth on a 96-well plate. **Result:** Three hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazole derivatives were synthesized. Tested activity on two bacterial strains and one fungal strain; The three synthesized substances did not show activity on the tested strains at a concentration of 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$. **Conclusion:** The three hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazole derivatives synthesized show non-antibacterial and non-antifungal activity on the investigated strain at a 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ concentration. It is necessary to continue researching the synthesis of the more novel derivatives and evaluate the effects on new strains of microorganisms.

Keywords: hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazole, small molecule amphiphilic, antibacterial, antifungal.

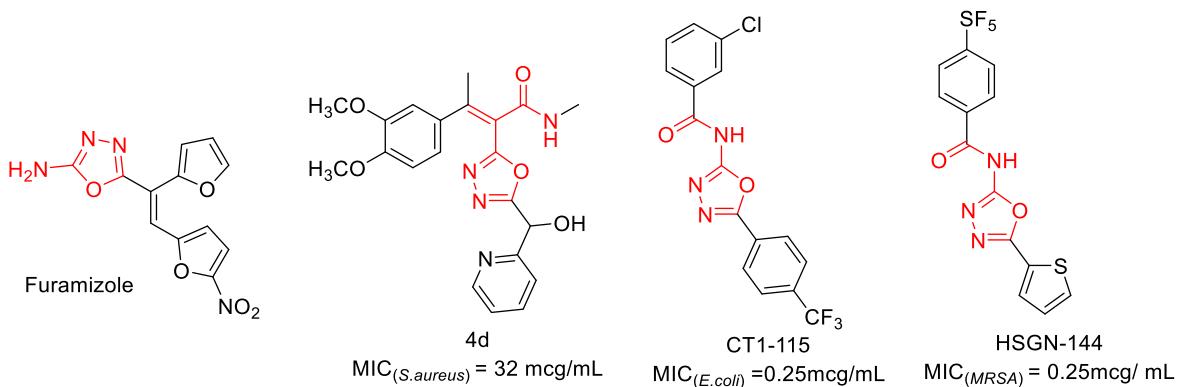
I. ĐẶT VĂN ĐỀ

Các peptid kháng khuẩn tự nhiên của cơ thể (antimicro peptips AMP) là những đoạn protein ngắn được tổng hợp trực tiếp từ bộ gen của hầu hết các sinh vật thông qua ribosome và đóng vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch của vật chủ [1]. Các AMP có phô tác dụng rộng trên cả vi khuẩn Gram âm và Gram dương, hay các chủng nấm theo cơ chế gây xáo trộn màng tế bào vi khuẩn hoặc ức chế các chức năng nội bào [2],[3]. Cấu trúc chung của các AMP gồm đầu mang điện tích dương và đầu thân dầu. Trong đó, đầu tích điện dương được cho là có tương tác chọn lọc với phần tích điện âm trên màng tế bào; phần thân dầu tương tác với lớp phospholipid kép của màng tế bào vi khuẩn [4],[5], tạo ra các lỗ hổng trên màng tế bào dẫn tới việc phá vỡ cấu trúc màng tế bào và tiêu diệt vi khuẩn. Tuy nhiên các AMP có nhiều nhược điểm: bị phân hủy đường tiêu hóa, khó sản xuất và chi phí sản phẩm cao, có thể gây dị ứng [6],[7]. Vì vậy, để khắc phục nhược điểm này, các hợp chất cation lưỡng phần phân tử nhỏ đã và đang được nghiên cứu và phát triển.



Hình 1. Khung cấu trúc hợp chất cation lưỡng phần phân tử nhỏ

Các hợp chất lưỡng phần phân tử nhỏ có cấu trúc mô phỏng cấu trúc AMP với cấu trúc có một đầu cation mang điện tích dương và một đầu cấu trúc thân dầu. Do cấu trúc đơn giản, kích thước nhỏ giúp các chất mới được tổng hợp dễ dàng hơn, hoạt tính sinh học cao hơn, có tính chọn lọc hơn và độc tính giảm bớt [8],[9]. Trong nghiên cứu năm 2017, Bakka và cộng sự đã tổng hợp được các hợp chất lưỡng phần dẫn chất của 1,2,3-triazol có tác dụng ức chế các chủng Gram dương *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, và Gram âm *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* với nồng độ ức chế tối thiểu từ 4-16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [10]. Năm 2018, Bai và các cộng sự đã tổng hợp được dẫn chất nhóm deacetyl linezolid có tác dụng ức chế mạnh chủng *Staphylococcus aureus* [11]. Các hợp chất cation lưỡng phần phân tử nhỏ đã mở ra một hướng tiếp cận mới cho việc nghiên cứu và phát triển các thuốc kháng sinh, kháng nấm mới.



Hình 2. Một số dẫn chất 1,3,4-oxadiazol có hoạt tính sinh học

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm mạnh của các dẫn chất 1,3,4-oxadiazol. Điển hình các chất furamizol, có vòng 1,3,4-oxadiazol gắn với nhóm amin có hoạt tính kháng khuẩn mạnh [12],[13]. Song song với đó, các nhà khoa học tiếp tục nghiên cứu, mở rộng khung cấu trúc này và tìm ra những hoạt chất mới có hoạt tính kháng khuẩn mạnh. Điển hình, chất **4D** có khả năng ức chế chủng *S. aureus* với MIC là 32 µg/mL; hay chất CT1-115 có tác dụng ức chế mạnh khuẩn *E.coli* với giá trị MIC là 0,25µg/mL [14]; chất HSGN-144, khi vòng oxadiazol được gắn với nguyên tử lưu huỳnh cho hoạt tính kháng khuẩn tốt trên chủng nghiên cứu MRSA (MIC = 0,25µg/mL) [15]. Mặc dù tiềm năng như vậy, nhưng tại Việt Nam hiện chưa có nhiều nghiên cứu tập trung vào nhóm cation lưỡng phân phân tử nhỏ này. Vì vậy nhóm nghiên cứu thực hiện đề tài với mục tiêu tổng hợp các hợp chất cation lưỡng phân phân tử nhỏ và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của chúng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của chúng.

2.2. Nguyên liệu, thiết bị nghiên cứu

Hoá chất, nguyên liệu

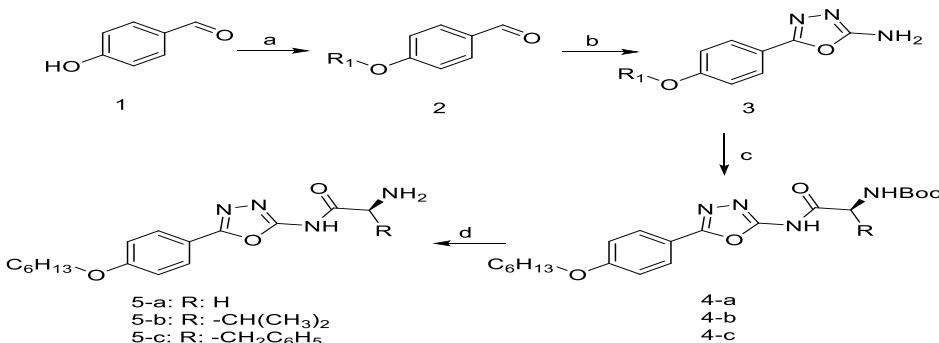
Các hoá chất, dung môi được sử dụng trực tiếp không qua tinh chế. Sắc ký lớp mỏng được theo dõi trên bản silica gel GF₂₅₄. Sắc ký cột sử dụng silica gel cỡ hạt 0,040-0,063 mm của nhà sản xuất Merk.

Chủng vi sinh vật được thử nghiệm bao gồm: *Candidas albicans* ATCC 10231, chủng *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922; chất chứng dương: cefoxitin, meropenem (kháng khuẩn); itraconazol (kháng nấm), chất chứng âm DMSO 10%. Môi trường nuôi cấy vi nấm và vi khuẩn: Sabouraud Dextrose (SDA), Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Mueller Hinton Agar (MHB-Ca), dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (PBS);

Trang thiết bị

Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR được đo bằng máy cộng hưởng từ hạt nhân Jeol JNM-ECZL G 400 MHz (độ dịch chuyển hóa học δ được tính bằng ppm, hằng số tương tác J được tính bằng Hz). Phổ HRMS được đo trên máy LC-HRMS (Thermo) theo chế độ ESI.

2.3. Phương pháp tổng hợp



(a) RBr (1,0 equiv.), K_2CO_3 (1,5 equiv.), DMF, $100^\circ\text{C}/30$ phút; (b) i> Semicarbazid hydrochlorid (1,0 equiv.), NaOAc (1,0 equiv.), $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$; ii> I_2 (1,2 equiv.), K_2CO_3 (3,0 equiv.), 1,4-dioxan; (c) HOBT (1,2 equiv.), EDC. HCl (1,2 equiv.), $N\text{-Boc Amino acid}$ (1,1 equiv.); (d) TFA, DCM, rt, 2h.

Hình 3. Sơ đồ phản ứng tổng hợp dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol

Các dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol được tổng hợp từ nguyên liệu ban đầu 4-hydroxybenzaldehyd trải qua 4 bước (hình 3). Bước 1 là O-alkyl hoá 4-hydroxybenzaldehyd bằng bromohexan tạo dẫn chất 4-(hexyloxy) benzaldehyd (2) trong dung môi DMF với K_2CO_3 là chất hoạt hóa. Tiếp theo nhóm aldehyd được đóng vòng tạo dẫn chất 2-amino-1,3,4-oxadiazol với tác nhân là iod phân tử.[16] Amin sinh ra được cộng hợp với đầu acid của các acid amin và cuối cùng nhóm bảo vệ Boc được loại bỏ bằng TFA để thu được sản phẩm cuối.

2.4. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

Nồng độ tối thiểu ức chế vi sinh vật (MIC) của mẫu được xác định bằng phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng sử dụng canh thang MHB-Ca cho vi khuẩn hoặc Sabouraud-dextrose cho *C. albicans* trên đĩa 96 giếng theo khuyến nghị của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm Hoa Kỳ [17]

Các mẫu được hòa tan trong DMSO, sau đó tiếp tục được pha loãng đến nồng độ làm việc trong MHB-Ca. Các mẫu được pha loãng (1:1) trên đĩa 96 giếng (bao gồm 8 hàng từ A đến G, 12 cột từ 1 đến 12), từ các giếng ở cột 1 lần lượt xuống đến các giếng ở cột 10, để thu được dãy nồng độ giảm dần theo cấp số nhân.

Hỗn dịch vi sinh vật có độ đục tương đương 0,5 McFarland được chuẩn bị trong PBS, với các khuân lắc trên đĩa thạch TSA hoặc SDA cho *C. albicans* được ủ 37°C , qua đêm. Hỗn dịch này được pha loãng 100 lần trong MHB-Ca hoặc Sabouraud-dextrose cho *C. albicans* để thu được hỗn dịch làm việc với nồng độ $1,5 \times 10^6$ vi khuẩn/ml và $1,5 \times 10^4$ vi nấm/ml. Hỗn dịch sử dụng được bổ sung vào các giếng trong đĩa (trừ các giếng ở cột 12, vai trò chứng âm). Các đĩa được đậy nắp kín, ủ ở 37°C trong 20 giờ. MIC được xác định là nồng độ thấp nhất không quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện 3 lần độc lập.[17]

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tổng hợp dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol

Tổng hợp 4-(hexyloxy) benzaldehyd (2)

Một hỗn hợp gồm 4-hydroxybenzaldehyd (1,0 equiv.), K_2CO_3 (1,5 equiv) và bromohexan (1,0 equiv.) trong dimethylformamid được đun nóng ở 100°C trong 30 phút.

Sau khi kết thúc phản ứng hỗn hợp được làm nguội đến nhiệt độ phòng. Tiến hành chiết tách với EtOAc (2 lần). Lớp hữu cơ lần lượt được rửa với dung dịch NaOH 1 M, nước cát (2 lần) và nước muối bão hòa. Sau đó dịch EtOAc được làm khan với Na₂SO₄ và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm. Sản phẩm được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế thêm. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,86 (s, 1H); 7,81 (d, J = 8,4 Hz, 2H); 6,97 (d, J = 8,4 Hz, 2H); 4,03 (t, J = 6,4 Hz, 2H); 1,86-1,76 (m, 2H); 1,49-1,42 (m, 2H); 1,39-1,28 (m, 4H); 0,90 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Tổng hợp 5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-amin

Dung dịch semicarbazid hydrochlorid (1,0 equiv.) và AcONa (1,0 equiv.) trong nước được thêm từ từ vào dung dịch hợp chất 2 (1.0 equiv.) trong MeOH. Khuấy trộn ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Sau đó hỗn hợp được cô quay dưới áp suất giảm để loại bỏ hoàn toàn dung môi phản ứng. Chất rắn thu được sau cô quay được phân tán trong 1,4-dioxan (5 ml) rồi thêm lần lượt K₂CO₃ (3 equiv.) và iodin (1,2 equiv.) vào hỗn hợp. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trộn 80°C cho tới khi phản ứng kết thúc phản ứng (xác định bằng sắc ký lốp mỏng). Sau đó hỗn hợp được thêm làm lạnh đến nhiệt độ phòng, thêm nước. Tủa hình thành được lọc, rửa với nước cát và MeOH. Tủa được phân tán vào hỗn hợp EtOAc/hexan (1/4) rồi được lọc thu lấy chất rắn là hợp chất 3. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,81 (d, J = 8,4 Hz, 2H); 6,94 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,95 (s, 2H); 3,99 (t, J = 6,4 Hz, 2H); 1,78 (quintet, J = 7,6 Hz, 2H); 1,47-1,44 (m, 2H); 1,35-1,33 (m, 4H); 0,90 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Tổng hợp cộng hợp amid

Hỗn hợp gồm 5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-amin (1,0 equiv.), HOBT (1,2 equiv.), EDC.HCl (1,2 equiv.) trong dichloromethan khan được thêm N-Boc amino acid tương ứng (1,0 equiv.). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút trước khi đun hồi lưu trong 24 giờ. Sau đó, hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ phòng và được tinh chế trực tiếp trên cột silica gel bằng cách sử dụng MeOH/DCM (1/99) hoặc EA/n-hexan (1/1) làm dung môi rửa giải để thu được amid tương ứng.

(4a) tert-butyl (2-((5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)amino)-2-oxoethyl)carbamat. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,93 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 6,96 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 5,43 (brs, 1H), 4,10 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 4,01 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,80 (quintet, J = 7,6 Hz, 2H), 1,45 (m, 11H), 1,36-1,27 (m, 4H), 0,90 (J = 6,8 Hz, 3H).

(4b) tert-butyl (S)-(1-((5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamat. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 11,74 (brs, 1H), 7,96 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,97 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,69 (brs, 1H), 4,24 (br, 1H), 4,01 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,32-2,30 (m, 1H), 1,80 (quintet, J = 6,8 Hz, 2H), 1,51-1,43 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,37-1,32 (m, 4H), 1,09 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,03 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,91 (6,8 Hz, 3H).

(4c) tert-butyl (S)-(1-((5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)carbamat ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,71 (br, 1H), 7,95 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,31-7,25 (m, 5H), 6,98 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,42 (brs, 1H), 4,61 (brs, 1H), 4,02 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,28 (dd, J = 14,0, 5,2 Hz, 1H), 3,12-3,07 (m, 1H), 1,81 (quintet, J = 6,4 Hz, 2H), 1,51-1,44 (m, 2H), 1,35 (s, 9H), 1,35-1,27 (m, 4H), 0,91 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Tổng hợp dẫn chất 5 (loại bỏ nhóm bảo vệ Boc)

Dung dịch hợp chất 4 trong 2 ml dichloromethan được thêm 0,2 ml TFA và khuấy trong 2 giờ. Sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp được cô quay dưới áp suất giảm và cặn được base hóa bằng dung dịch natri hydroxy loãng. Tiếp theo, hỗn hợp được thực hiện theo một trong hai cách: 1> Lọc, rửa bằng nước và sấy khô thu được chất rắn thô; 2> Chiết xuất bằng EtOAc (3 lần), kết hợp lớp EtOAc và rửa lớp EtOAc bằng nước. Sau đó, lớp EtOAc

được làm khan với Na₂SO₄, được cô dưới áp suất giảm để thu được cắn. Cắn thu được này được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng MeOH/DCM làm chất rửa giải để thu được chất cuối.

(5a) 2-Amino-N-(5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)acetamid. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10,15 (br, 2H), 7,92 (brs, 1H), 7,80 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 3,99 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,70 (s, 2H), 1,68 (quintet, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,41-1,34 (m, 2H), 1,31-1,22 (m, 4H), 0,84 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d6) δ 165,34, 161,87, 130,01, 125,38, 114,45, 68,21, 49,44, 31,51, 29,06, 25,67, 22,60, 14,46. HRMS (ESI) cho C₁₆H₂₂N₄O₃ [M+H]⁺ 319,1766, kết quả 319,1770.

(5b)(S)2-Amino-N-(5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-3-methylbutanamide ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10,09 (br, 2H), 7,87 (brs, 1H), 7,81 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 3,99 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 3,73 (s, 1H), 1,96-1,87 (m, 1H), 1,68 (quintet, *J* = 6,8 Hz, 2H), 1,39-1,34 (m, 2H), 1,29-1,19 (m, 4H), 0,89 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,84 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,76 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d6) δ 164,92, 161,76, 130,01, 125,73, 114,42, 68,22, 64,95, 31,35, 30,34, 29,06, 25,66, 22,59, 19,25, 16,53, 14,45. HRMS (ESI) cho C₁₉H₂₈N₄O₃ [M+H]⁺ 361,2236, kết quả 361,2242.

(5c)(S)-2-Amino-N-(5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-3-phenylpropanamide. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10,04 (br, 2H), 8,01 (br, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,24-7,11 (m, 5H), 6,96 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,15 (br, 1H), 3,98 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,97 (dd, *J* = 14,4, 4,0 Hz, 1H), 2,75 (dd, *J* = 14,4, 6,4 Hz, 1H), 1,68 (quintet, *J* = 6,8 Hz, 2H), 1,41-1,34 (m, 2H), 1,30-1,24 (m, 4H), 0,84 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d6) δ 164,85, 161,76, 137,33, 130,06, 129,98, 128,60, 126,86, 125,67, 114,43, 68,21, 60,70, 37,06, 31,51, 29,05, 25,67, 22,60, 14,46. HRMS (ESI) cho C₂₃H₂₈N₄O₃ [M+H]⁺ 409,2236, kết quả 409,2243.

3.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của ba chất đã tổng hợp được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Mẫu	MIC (μg/ml)		
	<i>MRSA</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albican</i>
5a	> 128	> 128	> 128
5b	> 128	> 128	> 128
5c	> 128	> 128	> 128
Cefoxitin	32	NA	NA
Meropenem	NA	16	NA
Itraconazol	0,25	NA	16

Ghi chú: NA: Không thử nghiệm

Như vậy cả 3 dẫn chất tổng hợp đều không thể hiện hoạt tính trên các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm ở nồng độ > 128 μg/ml.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Tổng hợp dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp tổng hợp các dẫn chất hợp chất cation lưỡng phần có cấu trúc hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol qua bốn bước. Các phản ứng

đều tiến hành với các thao tác đơn giản, trong thời gian ngắn, tinh chế đơn giản với hiệu suất cao. Ở bước alkyl hoá tạo mạch nhánh thân dầu, phản ứng diễn ra nhanh chóng và kết thúc trong 30 phút. Phản ứng sử dụng kali carbonat là chất hoạt hóa để chuyển nhóm OH thành anion để tăng khả năng ái nhân. Phản ứng diễn ra gần như hoàn toàn, sản phẩm sau khi chiết lỏng – lỏng chỉ có một vết trên sắc ký lớp mỏng và được sử dụng tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế. Ở phản ứng đóng vòng tạo dẫn chất vòng 1,3,4-oxadiazol bằng phản ứng ngưng tụ và oxy hoá với hiệu suất cao lên tới 85-99% tương tự như tài liệu tham khảo đã công bố. Ở bước này do đặc điểm kém tan của sản phẩm, các sản phẩm phụ có thể loại bỏ dễ dàng bằng việc phân tán hỗn hợp sản phẩm thô trong EtOAc/hexan (1/4), không cần tinh chế bằng sắc ký cột.

Bước tiếp theo là phản ứng cộng hợp amid giữa dẫn chất 2-amin-1,3,4-oxadiazol và N-Boc amino acid sử dụng chất hoạt hóa nhóm acid carboxylic là HBOt và ECD.HCl. Nhóm nghiên cứu đã sử dụng thêm triethylamin với mục đích làm tăng tốc độ phản ứng như các điều kiện phản ứng cộng hợp amid thông thường. Tuy nhiên phản ứng hầu như không xảy ra khi cho thêm triethylamin vào hỗn hợp phản ứng. Phản ứng diễn ra ở nhiệt độ phòng được tinh chế trực tiếp trên cột silica nên giúp giảm bớt công đoạn tinh chế và nâng cao hiệu suất. Cuối cùng, các amid được loại bỏ nhóm Boc bảo vệ để tạo dẫn chất hexyloxyphenyl-1,3,4-oxadiazol dạng amin tự do, với TFA, tinh chế trên cột silica gel với pha động là hỗn hợp gradient MeOH/MC. Sản phẩm cuối thu được là chất rắn, có màu trắng hoặc không màu. Các chất cuối đều được xác định cấu trúc thông qua phổ ¹H NMR và ¹³C NMR.

4.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Trên các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm, các chất 5a, 5b, và 5c đều cho kết quả MIC > 128 µg/mL. Như vậy hầu như các chất này chưa thể hiện được hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm ở mức độ chấp nhận được. Tuy nhiên, thực tế nghiên cứu mới dừng lại ở một số lượng rất hạn chế các dẫn chất vòng 2-amino-N-(5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)acetamide trong khi đó, khi thay đổi các nhánh thế ở khung thân dầu (alkyl amin, dẫn chất thơm, amin dị vòng), hay nhánh thế mang điện tích dương amino acid sẽ tạo ra nhiều dẫn chất mới với cấu trúc và tính chất khác nhau. Do vậy, cần tổng hợp thêm các dẫn chất trong khung này để có thể đưa ra bàn luận kỹ hơn về hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của nhóm cấu trúc nào.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tổng hợp được 3 dẫn chất nhóm 2-amino-N-(5-(4-(hexyloxy)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)acetamide. Các chất được khẳng định cấu trúc và độ tinh khiết thông qua các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân và phổ khối. Về kết quả thử hoạt tính sinh học kháng khuẩn và kháng nấm: chưa khẳng định được do số lượng các chất tổng hợp được chưa nhiều. Vì vậy, cần tiếp tục nghiên cứu, tổng hợp, mở rộng khung cấu trúc với các nhóm thế ở khung thân dẫn và khung thân nước để từ đó có kết quả tổng quát.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Håvard Jenssen, Pamela Hamill, Robert E. W. Hancock, Peptide Antimicrobial Agents, *ASM Journals, Clinical Microbiology Reviews*. 2006. Vol. 19, No. 3, DOI: 10.1128/CMR.00056-05.
2. Bahar AA, Ren D., Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals (Basel)* 2013. 6:1543–75, DOI: 10.3390/ph6121543.
3. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J Leukoc Biol.* 2004. (75), 39–48, DOI: 10.1189/jlb.0403147.3.

4. Hancock, R. E., G. Diamond, The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends Microbiol.* 2000 (8). 402–410, DOI: 10.1016/s0966-842x(00)01823-0.
5. Starr CG, Maderdrut JL, He J, Coy DH, Wimley WC. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is a potent broad-spectrum antimicrobial peptide: structure-activity relationships. *Peptides.* 2018. (104), 35–40, DOI: 10.1016/j.peptides.2018.04.006.
6. Charles H. Chen Timothy K. Lu, Development and Challenges of Antimicrobial Peptides for Therapeutic Applications, *Antibiotic.* 2020. 9(1), 24, DOI: 10.3390/antibiotics9010024.
7. Hamamoto, K., Kida, Y., Zhang, Y., Shimizu, T., Kuwano, K., Antimicrobial activity and stability to proteolysis of small linear cationic peptides with D-amino acid substitutions. *Microbiol. Immunol.* 2002. 46, 741–749, DOI: 10.1111/j.1348-0421.2002.tb02759.x.
8. Qiu Y. L., Fui M. Ng, Jin D. C., Yi Y. Y., Yoke Y. T., Discovery of an ultra-short linear antibacterial tetrapeptide with anti-MRSA activity from a structure–activity relationship study, *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2025. Vol. 105, 138-144, DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.10.015.
9. Sandeep L., Swaranjit S.C., Gopal S.B., Antibacterial evaluation of structurally amphipathic, membrane active small cationic peptidomimetics: Synthesized by incorporating 3-amino benzoic acid as peptidomimetic element, *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2014. Vol. 83, 102-115, DOI:10.1016/j.ejmech.2014.06.023.
10. Bakka, T. A., Strøm, M. B., Andersen, J. H., Gautun, O. R., Methyl propiolate and 3-butynone: Starting points for synthesis of amphiphilic 1,2,3-triazole peptidomimetics for antimicrobial evaluation, *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 2017. 25(20), 5380–5395, DOI: 10.1016/j.bmc.2017.07.060.
11. Bai P.Y., Qin S.S., Chu W.C., Yang Y., Cui D.Y., et al., Synthesis and antibacterial bioactivities of cationic deacetyl linezolid amphiphiles, *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2018. 155, 925–945, DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.06.054.
12. Cledualdo S.D.O., Bruno F.L., Jose M.B.F., Jorge G.F.L., Petronio F.D.F, Synthetic Approaches and Pharmacological Activity of 1,3,4-Oxadiazoles: A Review of the Literature from 2000–2012, *Molecules.* 2012. 17(9), 10192-10231, DOI: 10.3390/molecules170910192.
13. Juan S., Jigar A.M, Hai L.Z., 1,3,4-oxadiazole derivatives as potential biological agents, 2013, *Mini Rev Med Chem.* 2013. 13(12), 1725-43, DOI: 10.2174/13895575113139990071.
14. Cédric T., Richard R., Rafael G.V.B., Marion T., Hong H.L, et al., Synthesis and evaluation of 1,3,4-oxadiazole derivatives for development as broad-spectrum antibiotics, *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 2019. 27(21):115097, DOI: 10.1016/j.bmc.2019.115097.
15. George A. N., Nader S.A, Kenneth I.O., Mohamed N.S., Herman O.S., Potent trifluoromethoxy, trifluoromethylsulfonyl, trifluoromethylthio and pentafluorosulfanyl containing (1,3,4-oxadiazol-2-yl) benzamides against drug-resistant Gram-positive bacteria, *RSC Med. Chem.*,2020. 11, 102-110, DOI: 10.1039/c9md00391f.
16. Pengfei N., Jinfeng K., Xianhai T., Lina S., Hongxu L., et al., Synthesis of 2-Amino-1,3,4-oxadiazoles and 2-Amino-1,3,4- thiadiazoles via Sequential Condensation and I2-Mediated Oxidative C–O/C–S Bond Formation, *J. Org. Chem.* 2015. 80, 1018–1024, DOI:10.1021/jo502518c.
17. Melvin P.W., James S.L., April M.B., Shelley C., Sharon K.C., et al., Clinical and Laboratory Standards Institute, *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* 2020. 54-62, DOI: 10.1128/JCM.01864-19.