

TỔNG HỢP, NGHIÊN CỨU CẤU TRÚC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA DÂY HỢP CHẤT MÀU AZO GẮN VỚI DỊ VÒNG FUROXAN TỪ EUGENOL TRONG TINH DẦU HƯƠNG NHU

Đến tòa soạn 13-11-2018

Trịnh Thị Huân, Lê Thị Hoa

Trường Đại học Hồng Đức

Nguyễn Thị Thanh Hoài

Trường THCS Vạn Phúc quận Hà Đông

SUMMARY

SYNTHESIS, STRUCTURE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME COLOR AZO COMPOUNDS SERIES ATTACHED TO HETEROCYCLIC FUROXAN FROM EUGENOL, THE MAIN COMPONENT OF OCIMUM SANCTUM L. OIL

Từ 4,5-dimethoxy-2-(3-methylfuran-4-yl)phenylamine, đem diazoni hóa sau đó ghép với các amin và phenol thơm tạo thành 8 hợp chất azo. Cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC, HMBC. Đã thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của 3 hợp chất.

From 4,5-dimethoxy-2-(3-methylfuroxan-4-yl)phenylamine, diazonium and followed by pairing with aromatic amines and phenols to obtain 8 azo compounds. These compounds have been measured by IR, ^1H RRN, ^{13}C NMR, HSQC, HMBC to determine their structures and. The antimicrobial activity of 3 compounds was tested.

1. MỞ ĐẦU

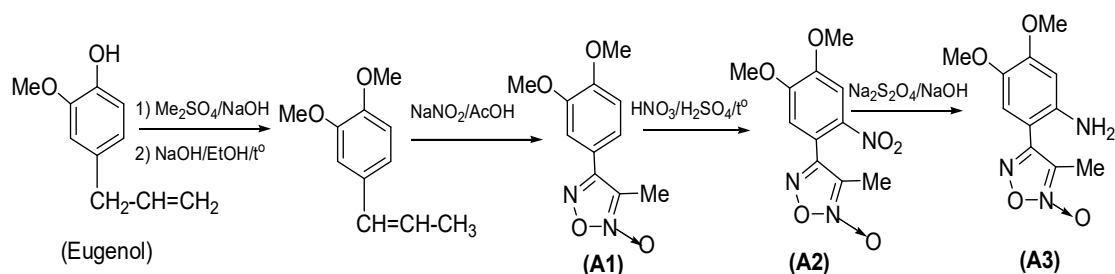
Dẫn xuất của furoxan từ lâu đã được nhiều nhà hoá học quan tâm vì chúng có hoạt tính sinh học rộng. Đặc biệt chúng được chú ý bởi khả năng giải phóng NO trong điều kiện sinh lý giống như glycerol trinitrat hay natri nitropruside đã được sử dụng trong điều trị bệnh tim mạch. Cơ chế của sự tiết NO của hợp chất loại furoxan đã được nghiên cứu. Tác giả công trình [1, 2]. Chúng còn thể hiện hoạt tính kháng tế bào ung thư đã được tổng hợp và nghiên cứu trong công trình [3], hoạt tính chống virus HIV công bố ở công trình [4]. Hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn, anti-parasitic, mutagenic, immunosuppressive của hợp chất loại furoxan cũng được ghi nhận trong các tài liệu [5].

Trong xã hội hiện đại nhu cầu sử dụng các chất màu rất đa dạng, các hợp chất màu được sử dụng nhiều trong công nghiệp như công nghiệp dệt,

công nghiệp thực phẩm, dược phẩm.... Hợp chất màu azo là một trong những hợp chất màu quan trọng trong các hợp chất màu được sử dụng trong công nghiệp. Hợp chất màu azo có nhiều hoạt tính sinh học như ở công trình [6, 7] đã công bố một số hợp chất muối azo-azometin chứa N-ankylpyridinium và một số hợp chất màu azo chưa bis-ankyl 1,3,4-oxadiazole có khả năng chống ôxi hóa và kháng khuẩn. Trong công trình trước [8] chúng tôi mới bước đầu công bố một vài hợp chất màu azo tổng hợp được, trong công trình này chúng tôi tiếp tục công bố thêm 8 chất màu azo mới và có thử hoạt tính sinh học kháng vi sinh kiểm định một số mẫu.

2. THỰC NGHIỆM

- **Tổng hợp:** 4,5-dimethoxy-2-(3-methylfuroxan-4-yl)phenylamine (**A3**) được tổng hợp từ eugenol trong tinh dầu hương nhu theo [9] thể hiện qua sơ đồ 1:



Sơ đồ 1: Tổng hợp hợp chất 4,5-dimethoxy-2-(3-methylfuroxan-4-yl)phenylamin

- Tổng hợp các hợp chất màu azo từ A3

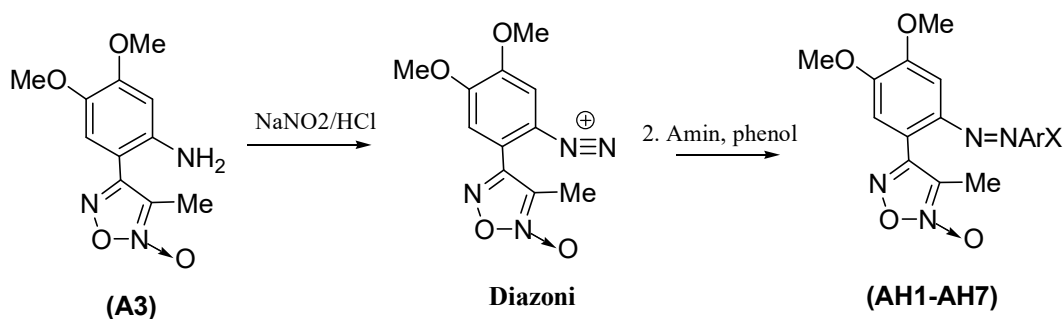
Giai đoạn 1 (điazoni hóa)

Cho 1mmol **A3** vào bình cầu dung tích 50ml, cho tiếp 3ml HCl 3M, khuấy mạnh đồng thời làm lạnh bằng hỗn hợp đá + muối (nhiệt độ < 5°C) để amin tan hết. Vừa khuấy vừa nhỏ từ từ 1ml dung dịch NaNO₂ 1M được dung dịch màu vàng tươi. Kiểm tra quá trình diazoni hóa bằng dung dịch KI + hồ tinh bột, nếu không xuất hiện màu xanh cần cho thêm NaNO₂ cho đến khi xuất hiện vết xanh thẫm. Trong quá trình khuấy luôn giữ nhiệt độ trong khoảng 0 – 5°C.

Giai đoạn 2 (phản ứng ghép)

Cho vào bình cầu khác 1,1 mmol phenol

(amin) thơm, cho tiếp vào 3ml NaOH (CH₃COOH) 1,5M khuấy mạnh rồi làm lạnh hỗn hợp nước đá và muối ăn thu được dung dịch 2. Vừa khuấy dung dịch 2 trong điều kiện làm lạnh vừa cho từ từ dung dịch 1 vào dung dịch 2. Trong quá trình phản ứng ghép cần duy trì môi trường của hỗn hợp phản ứng là bazơ pH = 8,5 ÷ 9 (axit yếu pH = 5 ÷ 7) khuấy hỗn hợp phản ứng thêm 30 phút. Đun nóng hỗn hợp phản ứng trên nồi cách thủy ở 60°C trong 10 phút. Để nguội hỗn hợp, lọc kết tủa, rửa nhiều lần bằng nước, làm khô, kết tinh lại trong dung môi thích hợp thu được **8** chất mới từ **A3**. Các mô tả bề ngoài và nhiệt độ nóng chảy thể hiện ở bảng 1.



-ArX: 2-HO-5-CH₃C₆H₃-, 2-HO-5-ClC₆H₃-, 2-NO₂-4-HOC₆H₃-, 4-HOC₁₀H₆-, 3-CHO-4-OHC₁₀H₅-, 3-COOH-4-HOC₁₀H₅-, 4-HOC₆H₅-

Nghiên cứu cấu trúc và tính chất

Nhiệt độ nóng chảy của các chất được đo trên máy Gallempkamp tại Bộ môn Hóa, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hồng Đức. Phổ IR đo trên máy IMPACT 410 Nicolet, ép viên với KBr, phổ NMR được đo trong d₆-DMSO, máy Bruker Avance 500 MHz, tại Viện Hóa học thuộc Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và

độc tính tế bào được thử tại Viện Hóa học hợp chất thiên nhiên Viện Khoa học và Công nghệ Việt nam.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Việc chuyển hóa từ eugenol theo sơ đồ 1 thành hợp chất 4,5-dimethoxy-2-(3-methylfuroxan-4-yl)phenylamin (**A3**) đã được chúng tôi tổng hợp và đã công bố ở công trình [9]. Từ amin **A3** chúng tôi đã diazoni hóa (ở 0-5°C) rồi ghép với các phenol thơm và amin thơm tạo ra các hợp chất màu azo, kết quả tổng hợp được thể hiện ở bảng 1. Từ bảng số liệu cho thấy các

hợp chất màu tổng hợp được có hiệu suất tương đối cao. Điều này là do phản ứng ghép là phản ứng thể electrophin (muối diazoni là tác

nhân E⁺) tấn công vào vòng thơm của các amin thơm và phenol thơm đều là hợp chất giàu electron.

Bảng 1. Một số tính chất vật lý của các hợp chất màu azo tổng hợp được

Ký hiệu	Dung môi kết tinh	Hình dạng, màu sắc	Tnc (°C)	Hiệu suất
HA1	Ancol : đioxan = 1:1	Tinh thể nhỏ, màu vàng nâu	175 - 176	54
HA2	Ancol	Tinh thể nhỏ, màu vàng nâu	195 - 196	45
HA3	Ancol	Tinh thể nhỏ, màu đỏ	210 - 211	87
HA4	Đioxan	Tinh thể nhỏ, màu đỏ đậm	254 - 155	71
HA5	Đioxan	Tinh thể nhỏ, màu đỏ	214-215	75
HA6	Etanol: nước = 1:1	Tinh thể nhỏ, màu vàng nâu	187 - 188	82
HA7	Etanol: nước = 1:1	Tinh thể nhỏ, màu vàng	174 - 175°C.	73
HA8	đioxan : nước =1:1	Tinh thể nhỏ, màu đỏ	188 - 189°C.	85

Phổ IR của các hợp chất azo cho thấy các vân dao động hóa trị H-O, H-N, H-C_{no}, H-C_{thơm}, C=C,

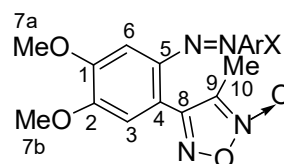
C=N....đều thể hiện rõ trên phổ. Các dao động cụ thể được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2 Một số vân hấp thụ chính trên phổ IR và pic ion giả phân tử [M + H]⁺ của azo

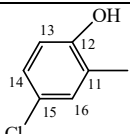
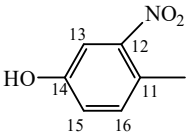
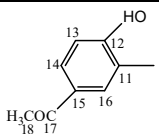
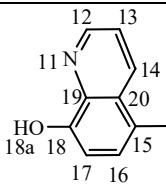
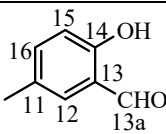
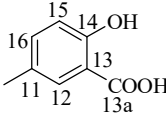
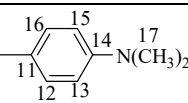
K/h	VOH	VC-H (thơm)	VC-H (no)	VC=N, VC=C	VONO
HA1	3200-3600	3010, 3050	2942	1601, 1489, 1451	1358, 1270
HA2	3200-3550	3010, 3070	2956	1602, 1528, 1494	1381, 1271
HA3	3247-3600	3010, 3050	2970	1622, 1599, 1488	1360, 1268
HA4	3200-3600	3010, 3000	2947	1681, 1599, 1499	1383, 1272
HA5	3301-3432	3010, 3070	2964	1643, 1597, 1494	1367, 1266
HA6	3241-3506	3030, 3070	2926	1608, 1597, 1478	1347, 1264
HA7	3200-3500	3050	2951	1608, 1573, 1482	1358, 1263
HA8	-	3100	2922	1663, 1596, 1441	1368, 1257

Các tín hiệu phổ H¹ NMR của 8 hợp chất màu azo được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Tín hiệu ¹H NMR của hợp phần amin các hợp chất azo; J, Hz



K/h	Ar	H3 H6	H7a H7b	H10 OH	H12 H13	H14 H15	H16 H17	H18 H19
A3	-	6,81 s 6,50 s	3,75 s 3,67 s	2,17 s 5,34 s	- -	- -	- -	- -
HA1		7,34 s 7,55 s	3,95 s 3,93 s	2,24 s 10,57 s	- 6,94 d J = 8,5	7,22 d J = 1,5; 8,0 -	7,30 d J = 1,5 2,02 s	- -

K/h	Ar	H3 H6	H7a H7b	H10 OH	H12 H13	H14 H15	H16 H17	H18 H19
HA2		7,35 s 7,78 s	3,95 s 3,94 s	2,01 s 10,74 s	- 7,1 d J = 9	7,42 d J = 2,5; 9,5 -	7,30 d J = 2,5 -	- -
HA3		7,33 s 7,5 s	3,93 s 3,92 s	1,99 s 3,34 s	- 8,29 J = 2,5	- 7,89 dd J = 2,5; 9,0	7,29 J = 9,0	- -
HA4		7,37 s 7,80 s	3,96 s 3,94 s	2,04 s 8,00 s	- 7,15 d J=7,0	7,98dd J=7,0; 2 -	- 8,01 s	2,50 -
HA5		7,21 s 7,62 s	3,97 s 3,81 s	1,98 s -	8,72 m 7,57 dd J=3,5; 8,0	9,14 d J=8,5 -	7,76 d J=8,5 -	- -
HA6		7,22 s 7,46 s	3,90 s 3,88 s	1,96 s 10,07 br.s	7,93 br.s -	- 6,48 br.s	7,53 br.s -	- -
HA7		7,26 s 7,49 s	3,92 s 3,90 s	1,98 s -	8,19 d; J=2,5 -	- 6,73 dd J=9,0; 2,5	7,57 đ J=9,0; 2,5. -	- -
HA8		7,25 s 7,47 s	3,91 s 3,90 s	1,96 s 3,04 s (NH ₂)	7,63 d; J=8,5 6,82 d J=8,5	- 6,82 d J=8,5	7,63 d J=8,5 -	- -

Từ tín hiệu phổ ^1H NMR của các hợp chất azo đã phân tích ở trên cho thấy: i) Ở amin **A3** ta thấy $\delta(\text{H3}) > \delta(\text{H6})$ nhưng ở các hợp chất azo từ nó thì $\delta\text{-oxit}$. Điều ($\text{H3}) < \delta(\text{H6})$. Đó là do hiệu ứng +C của nhóm: NH_2 ở **A3** lớn hơn của nhóm: $-\text{N}=\text{N}$ ở hợp chất azo. ii) Độ chuyển dịch hóa học của các proton H3, H6, H7a, H7b của các hợp chất azo đều tăng so với amin **A3** (khoảng 0,2-0,8 ppm). Điều này là do các gốc $\text{XAr}-\text{N}=\text{N}-$ (Ar là phenol, amin thơm) có hiệu

ứng hút electron $-\text{I}$ và $-\text{C}$.

Bảng 4 và bảng 5 là tín ^{13}C NMR của các chất mới tổng hợp được, các hợp chất này đều là những hợp chất có nhiều C (17C – 21C). Vì vậy chúng tôi phải dựa vào phổ hai chiều để phân tích. Để dễ theo dõi chúng tôi chia hợp chất azo thành hai hợp phần là hợp phần amin (khung của amin khi chưa diazoni hóa), hợp phần azo là khung của amin và phenol thơm ghép vào.

Bảng 4: Tín hiệu phổ ^{13}C NMR của hợp phần amin các hợp chất azo; δ (ppm)

KH	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7a	C7b	C8	C9	C10
A3	150,2	140,3	113,7	99,9	142,6	100,2	55,2	55,4	157,0	113,6	9,1
HA1	151,8	151,6	112,4	119,0	143,4	99,3	56,0	56,2	156,9	114,2	8,5
HA2	152,3	151,6	112,4	119,8	143,5	99,6	56,1	56,3	156,9	114,2	8,5
HA3	152,2	151,5	112,5	120,0	143,6	98,2	55,8	56,2	156,9	114,3	8,5
HA4	151,6	159,7	112,4	117,9	144,0	98,4	55,7	56,1	157,6	114,4	8,6
HA7	151,6	159,7	112,4	117,9	144,0	98,4	55,7	56,1	157,6	114,4	8,6
HA8	151,6	150,5	112,3	117,9	144,0	98,1	56,0	56,7	157,6	114,4	8,3

Nhìn vào bảng phổ ^{13}C NMR của hợp phần amin các hợp chất azo cho thấy độ chuyển dịch của C2, C4 ở các azo tổng hợp được cao hơn

so với độ chuyển dịch của C2, C4 ở amin **A3**, Điều này có thể giải thích là do nhóm NH_2 đẩy electron còn nhóm azo hút electron.

Bảng 5: Tín hiệu ^{13}C NMR của hợp phần azo các hợp chất azo; δ (ppm)

KH	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17
HA1	128,7	152,8	118,1	134,6	138,1	120,8	20,0
HA2	123,8	154,5	120,2	132,8	139,2	117,5	-
HA3	127,4	154,7	120,2	143,3	137,2	121,4	-
HA4	142,0	124,9	128,0	170,0	118,3	119,3	170,5
HA7	142,0	124,9	128,0	170,0	118,3	119,3	170,5
HA8	142,4	124,7	111,7	152,6	-	-	66,31

Phổ ESI MS của một số hợp chất điển hình đều xuất hiện pic ion giả phân tử cho thấy các hợp chất tổng hợp được có khối lượng phân tử đúng với khối lượng của công thức dự đoán (bảng 6).

Bảng 6. Kết quả phân tích phổ ESI MS của các azo

STT	Công thức phân tử	M tính	-MS $[\text{M}-\text{H}]^-$; m/s (cường độ %)	+MS $[\text{M}+\text{H}]^+$; m/s (cường độ %)
HA1	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{N}_4$	370	469 (100)	371 (100)
HA2	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{N}_4$	390	389 (100)	391 (100)
HA3	$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}_4\text{Cl}$	401	400 (100)	402 (100)

Trong 8 chất tổng hợp được, chúng tôi lấy 3 chất **HA1**, **HA2**, **HA3** đem làm mẫu thử

thí nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Bảng 7. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất azo

STT	K/h mẫu	Nồng độ đầu của mẫu (µg/ml)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/ml)								Nhận xét
			Vi khuẩn G(-)		Vi khuẩn G(+)		Nấm mốc		Nấm men		
			<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. Niger</i>	<i>Oxysporum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>	
1	HA1	50	-	-	-	-	50	-	-	-	Kháng 1 VSVKD
2	HA2	50	-	-	-	-	50	-	-	-	Kháng 1 VSVKD
3	HA3	50	-	-	50	-	-	-	-	-	Kháng 1 VSVKD

Kết quả cho thấy cả 3 mẫu thử đều có biểu hiện kháng vi sinh vật kiểm định, trong đó **mẫu HA1 và AH2 biểu hiện hoạt tính kháng nấm *A. niger* với giá trị MIC là 50 µg/ml. Mẫu AH3 biểu hiện hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* với giá trị MIC là 50 µg/ml.**

4. KẾT LUẬN

Từ thành phần chính trong tinh dầu hương nhu là eugenol chúng tôi đã chuyển hóa thành amin A3. Từ amin A3 được diazoni hóa thành muối diazoni rồi ghép với các amin thơm và các hợp chất phenol thì thu được 8 hợp chất màu azo. Cấu trúc của các chất màu azo **HA1-HA8** đã được xác định nhờ phân tích các phổ IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, MS. Trong 3 chất **HA1, HA2, HA3** đem thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, cả 3 mẫu đều biểu hiện kháng vi sinh vật kiểm định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Federica Buonsanti M., Massimo Bertinaria, Antonella Di Stilo, Clara Cena, Roberta Futtero and Alberto Gasco (2007), Nitric oxide donor β_2 -Agonists: Furoxan derivatives containing the fenoterol moiety and related furazan, *J. Med. Chem.*, 50, pp 5003-5011.
2. Polo Ascenzi, Alessio Bocedi, Marco Gentile, Paolo Visca, Luigi Gradoni (2004). Inactivation of parasite cysteine proteinases by the NO-donor 4-(phenylsulfonyl)-3-[(2-dimethylamino)ethyl]thio]furoxan oxalate, *Biochimica et Biophysica Acta*. 1703, pp. 69-77.
3. Dahong Li, Lei Wang, Hao Cai, Yihua Zhang and Jinyi Xu (2012). Synthesis and Biological Evaluation of Novel Furozan-Based Nitric Oxide-Releasing Derivatives of Oridonin as Potential Anti-Tumor Agents. *Molecular Structure*, 17, pp. 7556-7568.
4. Hiromitsu Takayama, Seiichiro Shirakawa, Mariko Kitajima, Norio Aimi, Kentaro Yamaguchi, Yasuaki Hanasaki, Teruhiko Ide, Kimio Katsuura, Masatoshi Fujiwara, Katsushi Ijichi, Kenji Konno, Shiro Sigeta, Tomoyuki Yokota and Masanori Baba (1996). "Utilization of Wieland furoxan synthesis for preparation of 4-aryl-1,2,5-oxadiazole-3-yl carbamate derivatives having potent anti-HIV activity", *Bioorg. Med. Chem. Letters*, 6(16), pp. 1993-1996.

5. Peter Ghosh, Bela Ternai and Michael Whitehouse (1981), "Benzofurazans and benzofuroxans: Biochemical and pharmacological properties", *Med. Research Reviews*, pp. 159-187.
6. Vida Khojasteh, Ali Kakanejadifard, Abedin Zabardasti, Farideh Azarbani, (2019). Spectral, structural, solvatochromism, biological and computational investigation of some new azoazomethines containing N-alkylpyridinium salts. *Journal of Molecular Structure*, Vol 1175, pp. 161-168.
7. A.H. Shridhar, J. Keshavayya, S.K. Peethambar, H. Joy Hoskeri (2006). Synthesis and biological activities of Bis alkyl 1,3,4-oxadiazole incorporated azo dye derivatives. *Arabian Journal of Chemistry*, Vol 9, pp. 1643-1648.
8. Trịnh Thị Huân, Lê Thị Hoa (2017). Tổng hợp và nghiên cứu cấu trúc dãy hợp chất màu azo gắn với dị vòng furoxan từ eugenol thành phần chính trong tinh dầu hương nhu. *Tạp chí Hóa học và ứng dụng*, số 2(24), trang 38 – 41.
9. Trịnh Thị Huân, Nguyễn Hữu Đình, (2011). Tổng hợp Arylhydrazin chứa vòng furoxan đi từ Eugenol trong tinh dầu hương nhu. *Tạp chí Khoa Học và Công Nghệ*, tập 49 số 3A, T225-231.