

TỔNG HỢP 5-IODOVANILIN VÀ DẪN CHẤT DỰ ĐOÁN CÓ TÁC DỤNG SINH HỌC

Phạm Thị Minh Thuý - Phan Thục Anh-Trịnh Ngọc Dự
Trường Đại học Dược - Hà Nội

Abstracts:

The author have performed the condensation of 5-iodovanillin with the following compounds: hydroxylamine, hydrazine semicarbazid, thiosemicarbazid, 2,4 - dinitrophenyl hydrazine and isonicotinoyl hydrazine. Seven compound derivatives have been synthesized. The structures of the obtained products characterized by spectral methods (IR, UV). The biological activities of the resulting products such as antibacterial and antifungal have been tested.

The results indicated that these compounds possessed considerably biological activities, especially antibacterial activity.

1. Mục tiêu.

Vanilin là một nguyên liệu dễ kiếm, rẻ tiền ở nước ta. Vanilin không có tác dụng dược lý và thường được dùng làm hương liệu trong dược phẩm, hoá mỹ phẩm và thực phẩm. Nhiều công trình nghiên cứu đã tổng hợp được nhiều sản phẩm đi từ vanilin và chúng có tác dụng dược lý rất đa dạng như kháng lao, kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm, kháng virus ... Trong các dẫn chất của vanilin thì các hydrazon, oxim và các dẫn chất tương tự đã chứng tỏ tác dụng sinh học đáng chú ý.

Dựa vào tác dụng sinh học của dẫn chất hydrazon, semicarbazon, thiosemicarbazon và iod đang được sử dụng làm thuốc. Chúng tôi đã từ vanilin, tổng hợp 5-iodovanilin. Sau đó làm phản ứng ngưng tụ giữa 5-iodo vanilin với các hợp chất hydrazin, hydroxylamin, semicarbazid, thiosemicarbazid, isonicotinoyl hydrazin và 2,4 - dinitro phenylhydrazin thu được các sản phẩm tương ứng. Đồng thời, chúng tôi sơ bộ thăm dò tác dụng sinh học của chúng với hy vọng việc nghiên cứu các dẫn chất của vanilin sẽ góp phần tìm ra một số chất mới có thể sử dụng trong lâm sàng.

2. Nguyên liệu và phương pháp.

2.1. Nguyên liệu.

- Các hoá chất sử dụng là loại thông thường P, PA được cung cấp.
- Sắc ký lớp mỏng (SKLM) trên bản mỏng Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck).
- Phổ tử ngoại ghi trên máy Cary 1E UV - Visible Spectrophotometre Varian.
- Phổ hồng ngoại ghi trên máy Perkin Elmer với kỹ thuật làm viên nén KBr ghi trong vùng 4000-500 cm⁻¹.

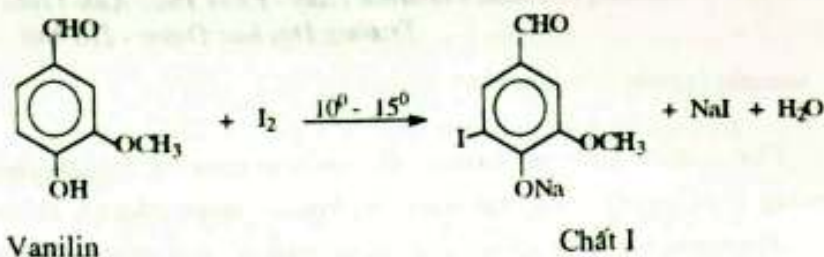
2.2. Phương pháp.

- Áp dụng các quá trình biến đổi hoá học để tổng hợp các sản phẩm đã dự kiến.
- Xác định độ tinh khiết của các sản phẩm tổng hợp bằng SKLM và đo nhiệt độ nóng chảy.
- Xác định cấu trúc của các chất tổng hợp được dựa trên kết quả phân tích phổ UV, IR.
- Thử tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm của các chất tổng hợp được theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch do ĐBVN II, tập 3 quy định.

3. Thực nghiệm và kết quả.

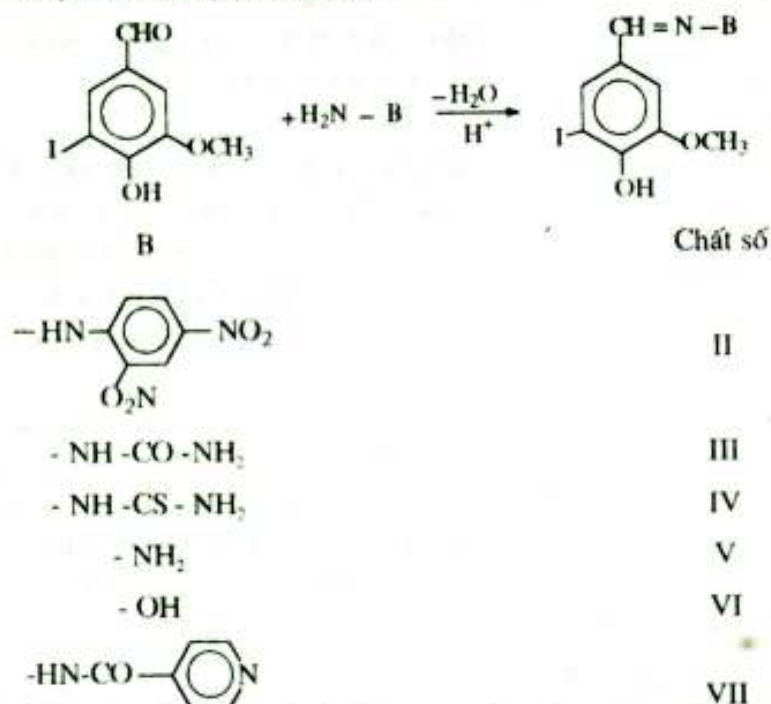
3.1. Tổng hợp 5 - iodo vanilin .

Chúng tôi tiến hành iod hoá vanilin ở nhiệt độ $10^0 - 15^0$ trong môi trường kiềm.
Sơ đồ phản ứng:



3.2. Tổng hợp dẫn chất của 5 - iodo vannilin.

Dựa vào tính chất của nhóm caribonyl, chúng tôi ngưng tụ 5-iodovanilin với hợp chất kiểu B-NH₂ theo sơ đồ phản ứng sau:



Các phản ứng này được tiến hành trong môi trường ethanol tuyệt đối, xúc tác là ion H⁺ và nhiệt độ phản ứng duy trì ở nhiệt độ sôi của dung môi bằng đun hồi lưu cách thủy. Theo dõi thời gian phản ứng bằng SKLM với hệ dung môi thích hợp.

Chúng tôi đã tổng hợp được 7 chất với hiệu suất từ 52,66 - 83,63% gồm 5-iodo vanilin và 6 dẫn chất hydrazon, oxim của 5-iodo vanilin. Các chất 2,4 - dinitro phenylhydrazon của 5 -iodo vanilin (VII) chưa tìm thấy trong các tài liệu mà chúng tôi tham khảo, các chất còn lại phù hợp với tài liệu tham khảo.

- Khảo sát thời gian phản ứng tối ưu bằng SKLM khi tổng hợp các chất II, III, IV, V, VI và VII.

- Khảo sát độ tan và tìm dung môi thích hợp để tinh chế sản phẩm.

- Kiểm tra độ tinh khiết của các chất tổng hợp bằng SKLM và đo nhiệt độ nóng chảy.

- Các chất tổng hợp được xác định cấu trúc bằng đo quang phổ hồng ngoại và quang phổ tử ngoại.

- Các kết quả thu được cho phép chúng tôi kết luận rằng các chất chúng tôi tổng hợp được đều đúng với công thức dự kiến.

Bảng 1: Hằng số vật lý các chất tổng hợp được

STT	CTPT	M	Hình thức	T ^o nc ^o C	Hiệu suất %	Phổ tử ngoại λ_{max} (n.m)	Phổ hồng ngoại $\sqrt{\text{cm}^{-1}}$
I	C ₆ H ₅ O ₂ I	278	Kết tinh bột màu trắng	179	54,85	361; 298	3189,9 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{O}-\text{H}}$ (phenol) 1666,5 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{O}}$ (aldehyd) 1577,0 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{C}}$ (aromatic) 572,2 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{I}}$
II	C ₁₄ H ₁₁ O ₆ N ₃ I	458	Hình kim đỏ gạch	167	52,66	354; 263	3511,4 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{O}-\text{H}}$ (phenol) 1620,5 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{N}}$ 1491,0 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{NO}_2}$ 592,6 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{I}}$
III	C ₇ H ₁₀ O ₃ N ₃ I	325	Vảy, màu trắng	202	56,71	361; 276	3501,0 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{O}-\text{H}}$ (phenol) 1680,8 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{O}}$ 1571,1 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{C}}$ (aromatic) 553,6 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{I}}$
IV	C ₆ H ₅ O ₂ N ₃ SI	351	Hình khối vàng nhạt	208	62,68	312; 297	3514,6 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{O}-\text{H}}$ (phenol) 3401,4 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{N}-\text{H}}$ 1686,9 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{N}}$ 1565,5 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{C}}$ (aromatic) 1272,6 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{S}}$ 572,7 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{I}}$
V	C ₆ H ₅ O ₂ I	292	Bột, màu vàng	219	54,79	342; 322	3354,0 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{O}-\text{H}}$ (phenol) 3166,3 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{N}-\text{H}}$ 1589,8 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{C}}$ (aromatic) 571,3 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{I}}$
VI	C ₆ H ₅ O ₂ NI	293	Bột, nâu nhạt	170	58,65	361; 297	3190,9 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{O}-\text{H}}$ (phenol) 1665,9 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{N}}$ 1574,1 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{C}}$ (aromatic) 1039,3 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{N}=\text{OH}}$ (oxim) 570,0 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{I}}$
VII	C ₁₄ H ₁₂ O ₃ N ₃ I	397	Hình kim, vàng chanh	231	83,63	332; 263	3484,7 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{O}-\text{H}}$ (phenol) 1660,9 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{O}}$ 1559,3 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}=\text{C}}$ (aromatic) 590,6 cm ⁻¹ : $\sqrt{\text{C}-\text{I}}$

3.3. Thăm dò tác dụng sinh học .

Các chất tổng hợp được thử tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm trên 5 chủng vi khuẩn Gram (-), 4 chủng vi khuẩn Gram (+) và 1 chủng vi nấm.

Các vi khuẩn và vi nấm là các chủng đạt tiêu chuẩn quốc tế được lấy từ Viện vệ sinh dịch tễ và Viện kiểm nghiệm - Bộ y tế.

Nhận xét.

- Từ vanilin không có tác dụng sinh học, chúng tôi tiến hành iodo hoá được 5-iodo vanilin (I). Chất này có tác dụng trên 5 chủng vi khuẩn và 1 chủng nấm đem thử ở nồng độ 4mg/ml, còn ở nồng độ 2 mg/ml chỉ tác dụng trên 2 chủng vi khuẩn trong số 9 chủng vi khuẩn đem thử, không có tác dụng trên nấm candida albican ở nồng độ này.

- Các sản phẩm ngưng tụ giữa 5-iodo vanilin (I) với 2,4 - dinitro phenyl hydrazin (II), semicarbazid (III), thiosemicarbazid (IV), hydrazin (V), hydroxylamin (VI) và isonicotinoyl hydrazin (VII) có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm rõ ở nồng độ 4 mg/ml còn ở nồng độ 2 mg/ml thì tác dụng kém hơn nhiều.

Từ kết quả thực nghiệm thu được, chúng tôi sơ bộ nhận xét mối liên quan giữa cấu trúc và tác dụng sinh học.

- Khi gắn nguyên tử Iod vào vị trí 5 của vanilin đã đem lại tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm đáng chú ý.

- Sự có mặt của vòng thơm (gốc phenyl) và nhóm thế nitro ($-NO_2$) ở chất II (2,4-dinitrophenyl hydrazon - 5- iodo vanilin) đã làm thay đổi đáng kể khả năng kháng khuẩn kháng nấm so với các chất (III, V, VI, VII) cả về phổ tác dụng và cường độ tác dụng. Điều này có thể có sự hiệp đồng tác dụng giữa gốc phenyl, nhóm nitro (NO_2) và cấu trúc hydrazon trong phân tử.

- Thiosemicarbazon -5-iodo vanilin (IV) có phổ tác dụng rộng hơn so với semicarbazon - 5 - iodo vanilin (III), có thể trong cấu trúc phân tử chứa nguyên tử lưu huỳnh ($-C=S$).

Bảng 2: Kết quả thử tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm

Chất thử		Đường kính vòng vô khuẩn (mm)														
Chủng vi sinh vật		I ₁	I ₂	II ₁	II ₂	III ₁	III ₂	IV ₁	IV ₂	V ₁	V ₂	VI ₁	VI ₂	VII ₁	VI	
Bacillus pumilus NCTC 8241		18,00	26,45	8,00	21,50	14,10	18,10	-	10,60	15,20	23,30	-	-	-	-	
Bacillus cereus ATCC 9946		-	10,25	-	10,50	9,30	13,75	8,45	12,15	-	8,30	-	-	-	-	
Sarcina lutea ATCC 9341		8,35	15,50	12,60	16,50	-	10,75	1270	19,15	11,00	14,20	-	-	-	-	
Staphylococcus aureus ATCC 12228		-	11,20	-	9,50	-	7,50	-	8,45	11,20	17,55	-	8,90	-	7,3	
Escherichiacoli DT 119B14		-	-	-	8,85	-	-	-	7,55	-	-	-	-	-	7,80	
Shigella flexneri DT 112		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Salmonella typhi DT 22		-	-	8,15	12,95	-	-	-	-	-	-	10,45	12,50	-	-	
Proteus mirabilis BV 108		-	11,70	-	11,15	-	11,25	7,65	12,25	-	10,75	-	8,80	-	12,15	
Pseudomonas aeruginosa VM 201		-	7,20	-	9,65	-	8,60	-	9,55	-	-	-	-	-	-	
Candida albican ATCC 10231		-	9,40	-	9,35	-	7,25	-	11,65	-	8,80	-	7,35	-	-	

Chất thử: I₁, II₁, III₁, IV₁, V₁, VI₁, VII₁ : Chất thử ở nồng độ 2 mg/ml.

I₂, II₂, III₂, IV₂, V₂, VI₂, VII₂ : Chất thử ở nồng độ 4 mg/ml.

(-): Âm tính.

4. Kết luận.

1. Từ vanilin, chúng tôi đã tổng hợp được 5-iodo vanilin làm chất trung gian để tổng hợp các dẫn chất hydrazon và oxim của nó.

2. Từ 5-iodo vanilin đã tiến hành ngưng tụ với các hợp chất: Hydrazin, Hydroxylamin, Semicarbazid, Thiosemicarbazid, isonicotinoyl hydrazin, 2,4 - dinitro phenyl hydrazin và đã thu được 6 chất tương ứng.

3. Đã nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng tới tốc độ và hiệu suất phản ứng như: dung môi; nhiệt độ, thời gian phản ứng và xúc tác. Đã tìm được các điều kiện thích hợp cho từng phản ứng để thu được hiệu suất cao.

4. Độ tinh khiết và cấu trúc hoá học của các chất tổng hợp được xác định bằng SKLM, nhiệt độ nóng chảy, phổ hồng ngoại, phổ tử ngoại. Các kết quả thu được cho phép chúng tôi kết luận rằng các chất chúng tôi tổng hợp được đều đúng với công thức dự kiến.

Trong số 7 chất tổng hợp được có 2 chất chưa thấy các tài liệu tham khảo nói đến là 2,4 - dinitro phenyl hydrazon - 5-iodo vanilin (II) và isonicotinoyl hydrazon -5- iodo vanilin (VII).

5. Đã sơ bộ thăm dò tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm của các chất. Kết quả cho thấy các chất chúng tôi tổng hợp có tác dụng tốt trên vi khuẩn Gram (-) và nấm candida albican. Đáng chú ý là thiosemicarbazon (IV) và 2,4-dinitro phenyl hydrazon của 5-iodo vanilin có tác dụng với hầu hết các chủng vi khuẩn và vi nấm đem thử.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt Nam II, tập 3 - NXB Y học 1994.
2. Vogel's textbook of practical organic chemistry, fourth edition 1978 London and New York.
3. The Merck Index.
Tenth edition, 1996
Rahway N.J. U.S.A