

TỔNG HỢP VÀ THỬ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ DẪN CHẤT ARYLOXY-S-TRIAZIN

Đinh Thị Thanh Hải, Hoàng Thu Trang

Bộ môn Hoá Hữu cơ, Đại học Dược Hà Nội

Đến Tòa soạn 17-7-2010

Abstract

By the reaction of cyanuric chloride with various phenols in the presence of NaOH as a catalyst compound **1 - 6** was obtained. The structures of synthesized compounds were confirmed by IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and mass spectroscopy. The obtained compounds had been investigated on biological activity such as antifungal activity, antibacterial activity and cytotoxic activity.

Keywords: Aryloxy-s-triazin, cyanuric chloride, biological activity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Triazin là dị vòng 6 cạnh chứa 3 dị tố nitơ, các dẫn xuất của nó từ lâu được sử dụng rộng rãi làm thuốc trong y học, đặc biệt là trong lĩnh vực điều trị ung thư như hexametylmelamin, trietylenmelamin... [1 - 3, 5]. Trong những năm qua, có nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới tiếp tục nghiên cứu tổng hợp và sàng lọc tác dụng sinh học của các dẫn chất 1,3,5-triazin để tìm kiếm thuốc mới ...[4, 6, 8].

Tiếp tục và phát triển hướng nghiên cứu về các dẫn chất của triazin, chúng tôi đã thực hiện đề tài nghiên cứu “*Tổng hợp và thử hoạt tính sinh học của một số dẫn chất aryloxy-s-triazin*” với các mục tiêu: Tổng hợp một số dẫn chất aryloxy-s-triazin và thử hoạt tính sinh học của các dẫn chất đã tổng hợp được (kháng khuẩn kháng nấm, kháng tế bào ung thư) với hy vọng tìm được các chất có hoạt tính sinh học cao hướng tới các nghiên cứu sâu hơn về khả năng ứng dụng trong thực tế.

2. THỰC NGHIỆM

SKLM được thực hiện trên bản mỏng silicagel Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck). Điểm chảy được ghi trên máy Electrothermal digital. Phổ IR được ghi trên máy Perkin Elmer. Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ được ghi trên máy Avance 500 MHz (Bruker). Phổ MS được ghi trên máy Auspec Premier. Các hoạt tính sinh học được thử nghiệm tại phòng Sinh học thực nghiệm - Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm được tiến hành theo

phương pháp hiện đại của Van den Bergher và Vlietlinck [9], thực hiện trên các phiến vi lượng 96 giếng. Hoạt tính kháng các dòng tế bào ung thư được thực hiện theo mô hình thử nghiệm của Viện nghiên cứu ung thư quốc gia Mỹ (NCI).

- Quy trình chung để tổng hợp chất **1 - 2**

**Tiến hành phản ứng:* Cho vào bình cầu 3 cổ 0,03 mol hợp phần phenol, 6 ml dung dịch NaOH 20% (0,03 mol). Khuấy cho tan hoàn toàn. Thêm từ từ 0,01 mol xyanuric clorit. Đun hồi lưu. Theo dõi phản ứng bằng SKLM với hệ dung môi toluen:AcOEt (4:1). Kết thúc phản ứng sau 5 giờ, để nguội.

**Xử lý hỗn hợp sau phản ứng:* Hỗn hợp sau phản ứng được lọc hút chân không, rửa tủa bằng nước cất. Chiết sản phẩm bằng hỗn hợp dung môi AcOEt : H₂O (1:1). Gạn bỏ lớp nước, chiết lấy lớp AcOEt, làm khan bằng Na₂SO₄, lọc qua phễu thủy tinh, cất quay loại dung môi. Kết tinh lại trong benzen, sấy khô thu được sản phẩm.

- Quy trình chung để tổng hợp chất **3 - 6**

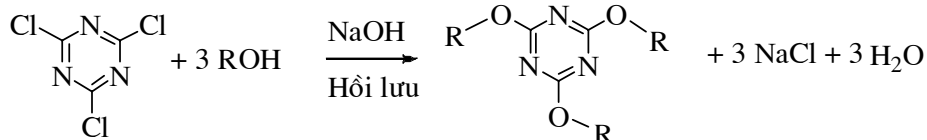
**Tiến hành phản ứng:* Cân 0,045 mol hợp phần phenol cho vào bình cầu 3 cổ, thêm 40 ml axeton + 1,8 g NaOH (0,045 mol), khuấy cho tới khi tạo thành hỗn dịch đồng nhất. Thêm từ từ 0,01 mol xyanuric clorit. Đun hồi lưu 5 giờ. Theo dõi phản ứng bằng SKLM với hệ dung môi toluen : AcOEt (4:1).

**Xử lý hỗn hợp sau phản ứng:* Lọc hút chân không, rửa tủa bằng hỗn hợp C₂H₅OH: H₂O (1:1). Kết tinh lại từ toluen.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Tổng hợp hoá học

Sơ đồ tổng hợp hoá học: chúng tôi tiến hành các phản ứng tổng hợp theo sơ đồ phản ứng chung sau đây:



Với R = C₆H₅- (1); o-CHOC₆H₄- (2); 2-CH₃O-4-CHOC₆H₃- (3); m-NO₂C₆H₄- (4); p-NH₂C₆H₄- (5); o-HOCOC₆H₄- (6).

Dựa trên quy trình tổng hợp dẫn chất aryloxy-s-triazin theo tài liệu tham khảo [6], chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm khảo sát phản ứng tổng hợp dẫn chất aryloxy-s-triazin. Các thông số chính của phản ứng tổng hợp là:

- Tỷ lệ mol chất phản ứng: phenol/cyanuric clorit/NaOH là 3 : 1 : 3,
- Thời gian phản ứng: 3 giờ,
- Nhiệt độ phản ứng: 25°C hoặc hồi lưu,
- Dung môi phản ứng: axeton.

Ứng dụng quy trình trên chúng tôi đã tiến hành phản ứng tổng hợp 2,4,6-triphenyloxy-1,3,5-triazin (1) từ phenol và xyanuric clorit. Kết quả cho thấy hiệu suất của phản ứng rất thấp chỉ đạt 17%. Chính vì vậy, chúng tôi đã khảo sát các điều kiện của phản ứng và đưa ra quy trình tổng hợp với các thông số phù hợp như sau:

- Tỷ lệ mol chất phản ứng: phenol/cyanuric

clorit/NaOH thay đổi tùy theo hợp phần phenol tham gia phản ứng.

- Thời gian phản ứng: 5 giờ,
- Nhiệt độ phản ứng: đun hồi lưu,
- Dung môi phản ứng: nước (đối với phản ứng tổng hợp chất 1, 2); hỗn hợp dung môi axeton + nước, tỉ lệ 1 : 1 (đối với phản ứng tổng hợp chất 3, 4, 5 và 6).

Các phản ứng tổng hợp một số dẫn chất aryloxy-s-triazin được thực hiện theo quy trình này đều đạt hiệu suất cao. Các phản ứng tổng hợp trong khoảng thời gian < 5 giờ thì thu được hỗn hợp các sản phẩm thể trong đó chủ yếu là dẫn chất thể monoaryloxy và diaryloxy cùng với một lượng nhỏ dẫn chất thể triaryloxy. Các phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng để xác định thời gian phản ứng thích hợp. Hiệu suất và một số hằng số vật lý của các chất tổng hợp được ghi ở bảng 1.

Bảng 1: Hiệu suất và một số hằng số vật lý của các chất tổng hợp được

Chất	CTPT, KLPT	Thời gian, h	Màu sắc	DM kết tinh lại	Điểm chảy, °C	Hiệu suất, %	Phổ khối lượng (M ⁺)
1	C ₂₁ H ₁₅ N ₃ O ₃ M = 357,36	5	Trắng	Benzen	236 - 238	55,4	357
2*	C ₂₄ H ₁₅ N ₃ O ₆ M = 441,39	5	Trắng	Axeton:AcOEt (1 : 1)	176 - 178	43,0	441
3*	C ₂₇ H ₂₁ N ₃ O ₉ M = 531,47	5	Trắng	Toluen	194	73,5	-
4*	C ₂₁ H ₁₂ N ₆ O ₉ M = 492,36	5	Vàng nhạt	Toluen	133 133,2 - 133,5	58,5	492
5*	C ₂₁ H ₁₈ N ₆ O ₃ M = 402,41	5	Tím nhạt	Toluen	230	62,0	403
6*	C ₂₄ H ₁₅ N ₃ O ₉ M = 457,39	5	Trắng	Axeton:AcOEt (1 : 1)	183,5	41,0	-

* Các chất chưa thấy công bố trong các tài liệu tham khảo được.

Đã sơ bộ kiểm tra độ tinh khiết của các chất tổng hợp được bằng đo nhiệt độ nóng chảy (bảng 1) và SKLM với hệ dung môi khai triển là CHCl₃:MeOH

(30:1) cho thấy các chất tổng hợp được đều cho một vết rõ gọn khi soi dưới đèn tử ngoại. Cấu trúc của các chất tổng hợp được 1 - 6 đã được xác định bằng

phân tích phổ IR, MS và NMR.

Các chất tổng hợp được ghi phổ hồng ngoại trên máy Perkin Elmer với kỹ thuật viên nén KBr trong

vùng 4000 - 500 cm^{-1} tại phòng Phân tích phổ IR - Viện Hoá học - Viện KH&CN Việt Nam. Kết quả phân tích phổ hồng ngoại được ghi ở bảng 2.

Bảng 2: Số liệu phổ hồng ngoại của các chất tổng hợp được, ν (cm^{-1})

Chất	νNH_2	$\nu=\text{C-Harom}$	$\nu\text{C}=\text{O}$	$\nu\text{C}=\text{N}$	$\nu\text{CH}_3\text{O}$	$\nu \text{C}\equiv\text{C}_{\text{arom}}$	νNO_2	$\nu\text{-C-O-Ar}$	$\delta=\text{C-Harom}$
1		3060		1568		1492		1378	1207
2		3074	1692	1563		1478		1361	1279
3		3067	1693	1571	2852	1508		1369	1275
4		3043		1575		1504	1532 1374	1374	1224
5	3390			1615		1506		1378	1194
6		3074	1723	1565		1475		1362	1278

Phân tích phổ đồ của các chất đã tổng hợp cho phép chúng tôi nhận biết được các dải hấp thụ đặc trưng của dao động hoá trị, dao động biến dạng của các nhóm chức và các liên kết điển hình có trong cấu trúc phân tử từng chất. Số liệu phân tích phổ phù hợp với cấu trúc dự kiến của chất tổng hợp được. Cả 6 chất đều không thấy còn dải hấp thụ đặc trưng cho dao động C-Cl mà xuất hiện dải hấp thụ đặc trưng cho dao động hoá trị C-O-Ar trong khoảng 1378 - 1361 cm^{-1} , điều đó chứng tỏ nhóm thế $-\text{Cl}$ đã được thay bằng $-\text{O-Ar}$. Như vậy cả 6 chất đều là sản phẩm thế triaryloxy-s-triazin. Cả 6 chất đều có dải hấp thụ đặc trưng cho dao động hoá trị C=N trong vùng 1615 - 1563 cm^{-1} , dao động của vòng benzen trong vùng 1508 - 1478 cm^{-1} và dao động biến dạng C-H vòng benzen trong vùng 1279 - 1194 cm^{-1} . Điều này là phù hợp với dự đoán do cả 6 chất đều có vòng s-triazin và nhân thơm. Chất (2), (3) có dải hấp thụ ở 1692, 1693 cm^{-1} và chất (6) có dải hấp thụ ở 1723 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hoá trị của nhóm C=O . Riêng chất (3) có thêm dao động hoá trị ở 2852 cm^{-1} đặc trưng của nhóm $-\text{OCH}_3$ do đi từ nguyên liệu ban đầu là vanillin. Chất (4) có dải hấp thụ ở 1532 cm^{-1} và 1374 cm^{-1} rất đặc trưng cho dao động hoá trị đối xứng và dao động hoá trị bất đối xứng của nhóm $-\text{NO}_2$. Chất (5) có dải hấp thụ ở 3390 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hoá trị của nhóm $-\text{NH}_2$.

Chúng tôi đã tiến hành ghi khối phổ của 4 chất. Từ kết quả phổ được ghi có thể nhận thấy bốn chất được ghi phổ có các pic phân mảnh phù hợp với sơ đồ phân mảnh. Các pic phân tử này có số khối đúng với số khối của chất dự kiến và tuân theo qui tắc nitơ, các hợp phần của toàn bộ cấu trúc phân tử đều thể hiện trên phổ khối qua các ion mảnh đặc trưng của phân tử chất khảo sát. Sự phân mảnh của các hợp chất được phân tích phổ MS trong quá trình va chạm electron thường xảy ra theo các hướng phân cắt liên kết sau đây:

- Cắt tại liên kết: $\text{C}_{\text{triazin}}-\text{OAr}$

- Cắt tại liên kết: O-Ar

- Cắt tại liên kết: $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{X}$ (X: nhóm thế trên hợp phần aryloxy).

Đã tiến hành phân tích phổ cộng hưởng từ proton ($^1\text{H-NMR}$) và cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C ($^{13}\text{C-NMR}$) của chất 1 và 4. Kết quả phân tích phổ cộng hưởng từ proton ($^1\text{H-NMR}$) và cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C ($^{13}\text{C-NMR}$) được ghi trong bảng 4.

Phổ cộng hưởng từ proton cho phép nhận biết được các dạng proton và số lượng proton của các chất được ghi phổ qua số liệu về độ chuyển dịch hoá học và cường độ các pic được trình bày ở bảng 6. Cả 2 chất được ghi phổ (1, 4) có các tín hiệu có độ dịch chuyển hoá học nằm trong khoảng 7,20 - 8,10 ppm của các proton thơm. Từ kết quả phân tích phổ được ghi ở bảng 4 có thể nhận thấy 2 chất được ghi phổ (1, 4) có số carbon và độ dịch chuyển hoá học của các vị trí cacbon phù hợp với công thức dự kiến.

Từ kết quả phân tích phổ IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ của các chất tổng hợp được cho phép chúng tôi kết luận các chất tổng hợp được tinh khiết và có cấu trúc đúng như dự kiến.

2. Kết quả thử tác dụng sinh học

Với điều kiện kinh phí có hạn chúng tôi mới chỉ lựa chọn 3 chất tổng hợp được là chất 1, 2 và 4 để tiến hành thử tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm và kháng tế bào ung thư. Trong đó, chất 1 có hợp phần phenol chứa nhân thơm không có nhóm thế, chất 2 và 4 hợp phần phenol chứa nhân thơm có nhóm thế $-\text{CHO}$ và $-\text{NO}_2$.

a) Thử tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm

Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của 3 chất 1, 2 và 4 được tiến hành thử trên 2 chủng vi khuẩn Gram (-) là: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*; hai chủng vi khuẩn Gram (+): *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; hai chủng nấm sợi: *Aspergillus nige*, *Fusarium oxysporum* và hai chủng

nấm men: *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của 3 chất (1, 2 và 4) cho thấy các chất này đều không có hoạt tính kháng các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm.

b) Thử tác dụng kháng tế bào ung thư

Chúng tôi đã tiến hành khả năng gây độc tế bào của 3 chất (1; 2; 4) đối với dòng ung thư gan người (Hep-2) và dòng ung thư phổi (LU). Kết quả cho thấy các chất này đều không có hoạt tính kháng hai dòng tế bào Hep-2 và LU.

Bảng 4: Số liệu phổ cộng hưởng từ proton ($^1\text{H-NMR}$) và cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C ($^{13}\text{C-NMR}$) của một số chất tổng hợp được

Chất	Công thức cấu tạo	$^1\text{H-NMR}$ δ (ppm)	$^{13}\text{C-NMR}$ δ (ppm)
1		7,36 -7,32 (t, 6H, H-3, H-3', H-3'', H-5, H-5', H-5''), 7,23-7,20 (t, 3H, H-4, H-4', H-4''); 7,14-7,12 (d, J = 7,5 Hz, 6H, H-2, H-2', H-2'', H-6, H-6', H-6'')	173,68 (3C _{triazin} -1,3,5); 151,60 (3C-1, 1', 1''); 129,43 (6C-3, 5, 3', 5', 3'', 5''); 126,03 (3C-4, 4', 4''); 121,39 (6C-2, 6, 2', 6', 2'', 6'')
4		8,04 -8,02 (d, J = 7 Hz, 3H, H-3, H-3', H-3''); 7,66-7,63, (t, 3H, H-5, H-5', H-5''); 7,41-7,37 (t, 3H, H-4, H-4', H-4''); 7,30-7,28 (d, J = 8,5 Hz, 3H, H-6, H-6', H-6'')	173,11 (3C _{triazin} -1,3,5); 144,4 (3C-1, 1', 1''); 141,07 (3C-2, 2', 2''); 135,9 (3C-5, 5', 5''); 128,28 - 127,12 (3C-4, 4', 4''); 125,80 - 124,79 (3C-6, 6', 6'')

3. Bàn luận

3.1. Tổng hợp hoá học

- Ảnh hưởng của các nhóm thế trên hợp phần phenol: Chúng tôi có dự định khảo sát một cách hệ thống sự ảnh hưởng của các nhóm thế trên hợp phần phenol đối với khả năng tham gia phản ứng thế ái nhân vào vòng *s*-triazin. Tuy nhiên, do hoá chất phục vụ nghiên cứu không sẵn có trên thị trường nên chúng tôi chỉ tiến hành tổng hợp các dẫn chất aryloxy-*s*-triazin từ các nguyên liệu sẵn có và đưa ra một số nhận xét sơ bộ về khả năng phản ứng của các hợp phần phenol như sau:

+ Sự có mặt của các nhóm thế đẩy điện tử trên hợp phần phenol như $-\text{OCH}_3$, $-\text{NH}_2$ làm tăng khả năng phản ứng thế ái nhân vào vòng *s*-triazin.

+ Ngược lại sự có mặt của các nhóm thế hút điện tử trên hợp phần phenol như $-\text{CHO}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{COOH}$ làm giảm khả năng phản ứng thế vào vòng *s*-triazin.

Bên cạnh ảnh hưởng của các nhóm thế đến phản ứng tổng hợp, hiệu suất của phản ứng còn phụ thuộc nhiều vào quá trình tinh chế sản phẩm.

3.2. Tác dụng sinh học

- Tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm: đã thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của 3 chất tổng hợp được là các chất (1), (2) và (4). Kết quả cho thấy các chất này đều không có hoạt tính kháng các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm.

- Tác dụng kháng tế bào ung thư: Ba chất (1), (2) và (4) thử hoạt tính kháng tế bào ung thư gan (Hep-2) và tế bào ung thư phổi (LU) đều cho kết quả âm tính. Như vậy các chất này không có khả năng kháng dòng tế bào Hep-2 và dòng tế bào LU in vitro. Dựa theo một số tài liệu nghiên cứu về dẫn chất aryloxy-*s*-triazin cho thấy khi vào cơ thể các dẫn chất này bị chuyển hoá ở gan nhờ enzyme Cytochrom P-450 tạo ra chất chuyển hoá trung gian có hoạt tính sinh học cao [5].

4. KẾT LUẬN

1. Đã tổng hợp được 6 dẫn chất aryloxy-*s*-triazin theo qui trình đơn giản và thu được hiệu suất cao, trong đó có 5 chất (2 - 6) là các chất chưa thấy công bố trong các tài liệu mà chúng tôi tham khảo được. Đã xác định cấu trúc của các chất tổng hợp được

bằng phân tích phổ hồng ngoại, phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ proton $^1\text{H-NMR}$ và phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^{13}\text{C-NMR}$. Kết quả phân tích phổ cho phép chúng tôi kết luận tất cả các chất tổng hợp được đều tinh khiết và có cấu trúc đúng như dự kiến.

2. Đã thử tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm của 3 chất (1), (2), (4) với 4 chủng vi khuẩn và 4 chủng vi nấm kiểm định. Kết quả cho thấy các chất này không có hoạt tính kháng các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm.

3. Đã thử tác dụng kháng tế bào ung thư của 3 chất (1), (2) và (4) trên dòng tế bào ung thư gan người (Hep-2) và tế bào ung thư phổi (LU). Kết quả cho thấy các chất này đều không có tác dụng kháng các dòng tế bào ung thư trên thử in vitro.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bonny L. Johnson et al. Journal of Cancer, Vol. 42, 2157 - 2161 (1978).

2. Donald W. Kaiser et al., Journal of The American Chemical Society, Vol. 73, 2984 - 2986 (1951).
 3. Edwin M. Smolin and Lorence Rapoport. The chemistry of heterocyclic compounds s-triazine and derivatives, 1 - 10, New York (1959).
 4. Fredric C. Schaefer, Jack T. Thurston and James R. Dudley. Journal of The American Chemical Society, Vol. 73, 2990 - 2992 (1951).
 5. Goodman and Gilman's, The Pharmacological basic of therapeutics, pp. 1389 - 1392, Mc Graw - Hill Medical Publishing Division, 10th edition, Vol. II (2001).
 6. Hutton, Jonathan Alderley Park. Processes for the preparation substituted-1,3,5-triazines, European Patent Office, Publication number 0544444 A1 (1992).
 7. Likhiwitayawuid K., Angerhofer C. K. et al. J. Nat. Prod., 56 (1), 30 - 38 (1993).
 8. Sewa S. Legha et al., Journal of cancer, Vol. 38, 27 - 33 (1976).
 9. A. J. Vlietlinck, D. A. Vanden Berger. Methods in plants biochemistry, 6, 47- 68 (1991).

Liên hệ: **Đinh Thị Thanh Hải**

Bộ môn Hoá Hữu cơ, Đại học Dược Hà Nội
 13-15 Lê Thánh Tông, Hà Nội
 Email: thanhhai969@yahoo.com