

TỔNG HỢP, NGHIÊN CỨU CẤU TRÚC VÀ THĂM DÒ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÁC PHỨC CHẤT Cu(II), Ni(II) VỚI XITRONENLAL VÀ MENTON THIOSEMICACBAZON

Đến Tòa soạn 21-6-2007

PHAN THỊ HỒNG TUYẾT¹, VŨ ĐĂNG ĐỘ², NGUYỄN HOA DU¹

¹Khoa Hoá học, Đại học Vinh

²Khoa Hoá học, Trường Đại học KHTN, ĐHQG Hà Nội

SUMMARY

Two new thiosemicarbazones derived from natural aldehyde and ketone, and their nickel(II), copper(II) complexes were synthesized and characterized by IR, UV-VIS, MS and NMR spectroscopies. The results indicate the formation of 1:2 metal to ligand complexes with empirical formulae $[CuL_2]$ and $[NiL_2]$ (HL: thiosemicarbazone). The Cu(II) and Ni(II) complexes are four coordinate and square planar geometry in which the ligands behave as bidentate chelating agents in the uninegatively charged form. The biological activity of thiosemicarbazones and complexes against the bacteria, fungi and cancer cell have been tested.

I - MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây thiosemicacbazon và phức chất của chúng đang được quan tâm nghiên cứu. Các kết quả cho thấy các thiosemicacbazon và phức chất của chúng có hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn [1 - 3], một số thiosemicacbazon còn có khả năng ức chế ung thư, ức chế sự phát triển một số loại vi rút (HSV, HIV)...[3 - 5]. Trong nhiều trường hợp hoạt tính sinh học thể hiện ở phức chất mạnh hơn và đa dạng hơn các thiosemicacbazon phối tử [2, 4, 6, 7]. Hiện nay, người ta đang quan tâm nghiên cứu các thiosemicacbazon là dẫn xuất của các anđehit, xeton tự nhiên và các phức chất của chúng, đây là một nhóm chất hứa hẹn có hoạt tính phong phú và có khả năng sử dụng trong y-dược học.

Trong bài báo này chúng tôi công bố kết quả tổng hợp thiosemicacbazon từ các anđehit và xeton có nguồn gốc tự nhiên là xitronenal và menton và các phức chất của chúng với Cu(II)

và Ni(II). Thành phần và cấu trúc của các hợp chất được nghiên cứu bằng các phương pháp phổ MS, IR, UV-VIS, RAMAN và NMR. Hoạt tính sinh học của các thiosemicacbazon và phức chất đã được thử nghiệm trên tám chủng vi sinh vật kiểm định (VSVKĐ), gồm các nhóm vi khuẩn Gram(+), Gram(-), nấm men và nấm mốc. Thử nghiệm khả năng ức chế tế bào ung thư trên hai chủng tế bào ung thư là ung thư gan (Hep-G₂) và ung thư phổi (LU).

II - THỰC NGHIỆM

1. Hoá chất và kỹ thuật thực nghiệm

a) Hoá chất

Thiosemicacbazon và các anđehit, xeton đều là các hoá chất tinh khiết của hãng Merck, các muối kim loại dạng PA của Trung Quốc, các dung môi đều dùng loại tinh khiết.

b) Kỹ thuật thực nghiệm

Phổ IR của phối tử và phức chất được ghi trên máy FTIR 8700 trong vùng 4000 - 400 cm^{-1} , bằng phương pháp ép viên với KBr. Phổ khối lượng được ghi trên máy LC-MSD-Trap SL, ion hoá bằng phương pháp phun electron (electrospray ionization-ESI). Phổ UV-VIS được ghi trên máy quang phổ tử ngoại GBC Instrument PC, các mẫu được pha trong etanol, nồng độ $10^{-5} \div 10^{-4}$ M ở pH 6 \div 7. Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ được ghi trên máy Bruker 500 MHz, trong dung môi DMSO. Các phép đo đều được thực hiện tại các phòng thí nghiệm chuyên dụng của Viện Hoá học- Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ RAMAN của các phối tử và phức chất được ghi trên máy Micro RAMAN LABRAM trong vùng 3500 - 100 cm^{-1} với bức xạ kích thích 632,8 nm từ nguồn laze heli-neon tại phòng Raman, Viện Khoa học Vật liệu- Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Việc thử hoạt tính sinh học được tiến hành tại phòng Sinh học thực nghiệm Viện Hoá học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2. Tổng hợp thiosemicabazon

Các thiosemicabazon được tổng hợp theo phương pháp chung, được mô tả trong các bài báo trước đây [1].

Thiosemicabazon xitronenal (**Hthiocitro**) được tổng hợp từ xitronenal (0,01 mol) và

thiosemicabazit (0,01 mol) trong dung môi etanol-nước (tỷ lệ mol 3:2), thêm khoảng 3 ml CH_3COOH khan, khuấy bằng máy khuấy từ trong 30 phút ở nhiệt độ khoảng 40°C. Để yên khoảng 6 giờ. Tách tinh thể màu trắng. Lọc, rửa nhiều lần bằng nước và hỗn hợp etanol-nước, sau đó bằng ete, kết tinh lại từ hỗn hợp etanol-nước và làm khô trong bình hút ẩm chứa P_2O_5 đến khối lượng không đổi.

Thiosemicabazon menton (**Hthiomen**) được tổng hợp từ (\pm)menton (0,01 mol) và thiosemicabazit (0,01 mol) trong dung môi etanol-nước (tỷ lệ 3:1), axit hoá bằng vài giọt H_2SO_4 loãng, đun hồi lưu trong 4 giờ, sau đó cho bay hơi chậm đến 1/3 thể tích ban đầu, để yên khoảng 12 giờ, lọc lấy tinh thể màu trắng mịn. Rửa nhiều lần bằng etanol-nước, kết tinh lại từ hỗn hợp etanol- nước, sau đó làm khô trong bình hút ẩm chứa P_2O_5 đến khối lượng không đổi.

3. Tổng hợp các phức chất Cu(II) và Ni(II)

Trên cơ sở nghiên cứu sơ bộ các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo phức, bao gồm: dung môi, pH, nhiệt độ, tỉ lệ kim loại: phối tử (M:L) bằng phương pháp phổ UV-VIS. Chúng tôi đã tổng hợp các phức chất của Cu(II), Ni(II) với Hthiocitro (*P-Cu-1*, *P-Ni-1*); Cu(II), Ni(II) với Hthiomen (*P-Cu-2*, *P-Ni-2*) ở các điều kiện được đưa ra ở bảng 1.

Bảng 1: Điều kiện tổng hợp phức chất Cu(II), Ni(II) với các thiosemicabazon

Kí hiệu mẫu	pH	Nhiệt độ, °C	Tỉ lệ M:L	Dung môi
P-Cu-1	6 - 7	30 - 40	1 : 2	Etanol-nước
P-Ni-1	7 - 8	50 - 60	1 : 2	-
P-Cu-2	7 - 8	30 - 40	1 : 2	-
P-Ni-2	8 - 9	50 - 60	1 : 2	-

Hoà tan thiosemicabazon tương ứng (0,002 mol) vào 150 ml etanol, đun nóng dung dịch, cho từ từ dung dịch muối kim loại MSO_4 (0,001 mol trong 50 ml H_2O) (M = Cu, Ni) và khuấy bằng máy khuấy từ khoảng 1 giờ. Để trong tủ lạnh 12 giờ, xuất hiện tinh thể. Lọc, rửa nhiều lần bằng etanol, nước, sau đó làm khô trong bình hút ẩm chứa P_2O_5 đến khối lượng không đổi.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phổ khối lượng (MS)

Trên phổ MS của các thiosemicabazon và phức chất đều xuất hiện cụm pic ion phân tử với cường độ lớn. Số khối của ion phân tử phù hợp với công thức phân tử, các phức chất thu được

có tỷ lệ kim loại và phối tử là 1:2. Kết quả phân tích phổ MS của các thiosemicabazon và phức chất được đưa ra ở bảng 2.

2. Phổ IR và Raman

So sánh phổ IR của các phối tử và phức chất tương ứng, đồng thời dựa vào kết quả qui kết phổ IR của các tác giả khác [1, 2, 4, 6, 7] đối với nhóm chất thiosemicabazon và phức chất của chúng, chúng tôi khẳng định các phức chất đã được tạo thành. Tần số của các dải hấp thụ đặc trưng trên phổ IR của phối tử và phức chất được trình bày ở bảng 3.

Trên phổ IR của phối tử, các dải hấp thụ ở vùng tần số cao ứng với dao động hoá trị đối xứng và bất đối xứng của nhóm NH₂, dải có tần số thấp hơn là của nhóm NH. Sự vắng mặt của dải hấp thụ đặc trưng cho dao động của nhóm SH ở vùng 2570 cm⁻¹, chứng tỏ ở trạng thái tự do phối tử tồn tại dạng thion. Trên phổ IR của các phức chất dải hấp thụ ứng với dao động của

nhóm NH-hidrazin biến mất, chứng tỏ proton của nhóm NH đã tách khỏi N thông qua quá trình enol hoá. Dải hấp thụ đặc trưng cho nhóm C=N chuyển dịch về vùng tần số thấp hơn so với dải hấp thụ tương ứng của phối tử, cho thấy nguyên tử N của nhóm NH-hidrazin đã tham gia tạo liên kết phối trí với ion kim loại. Dải hấp thụ của nhóm C=S trên phổ của phức chất dịch chuyển xuống tần số thấp hơn so với dải hấp thụ tương ứng trên phổ của phối tử, đồng thời trên phổ các phức chất đều xuất hiện các dải hấp thụ ở vùng tần số thấp, các dải này có thể gán cho dao động của các liên kết Cu-X, Ni-X (X= N, S). Tuy nhiên trên phổ IR các dải hấp thụ ở vùng tần số thấp, dưới 500 cm⁻¹, thường không rõ lắm. Nhưng phổ Raman của chúng lại ghi rất tốt ở vùng này. Trên phổ Raman của các phức chất Cu(II) và Ni(II) đều xuất hiện các dải hấp thụ mới ở vùng tần số thấp, từ 400 - 600 cm⁻¹, các dải hấp thụ này xác nhận sự tồn tại các liên kết Cu-N, Cu-S, Ni-N, Ni-S trong phức chất tương ứng.

Bảng 2: Kết quả phân tích phổ MS của các thiosemicabazon và phức chất

Kí hiệu mẫu	Số khối của pic ion phân tử ([MH] ⁺)	Kh.lượng phân tử M	Công thức phân tử
Hthiocitro	228	227	C ₁₁ H ₂₁ N ₃ S
P-Cu-1	516	515	CuC ₂₂ H ₄₀ N ₆ S ₂
P-Ni-1	511	510	NiC ₂₂ H ₄₀ N ₆ S ₂
Hthiomen	228	227	C ₁₁ H ₂₁ N ₃ S
P-Cu-2	516	515	CuC ₂₂ H ₄₀ N ₆ S ₂
P-Ni-2	511	510	NiC ₂₂ H ₄₀ N ₆ S ₂

Bảng 3: Qui kết tần hiệu phổ IR của các thiosemicabazon và phức chất Cu(II), Ni(II) của chúng

Chất	v, cm ⁻¹				
	v _{NH⁺} v _{NH₂}	δ _{NH₂} + v _{CN}	v _{NN}	v _{CS}	v _{MX} (M= Cu, Ni X = N, S)
Hthiocitro	3406, 3176, 2969	1590, 1530	1093	820	
P-Cu-1	3293, 2915	1603, 1510	1095	732	501, 456
P-Ni-1	3462, 3340	1652, 1518	1080	770	621, 429
Hthiomen	3433, 3210, 3146	1590, 1503	1081	823	
P-Cu-2	3427, 3291	1600, 1515	1115	741	615, 472
P-Ni-2	3418, 3218	1591, 1451	1079	728	515, 465

Việc phân tích phổ IR và Raman của các thiosemicabazon và phức chất tương ứng cho phép rút ra nhận xét: thiosemicabazon xitronenlal và thiosemicabazon menton ở trạng thái tự do đều tồn tại ở dạng thion (cấu trúc ở hình 1), khi tạo phức với Cu(II) và Ni(II) chúng chuyển sang dạng thiol thông qua quá trình enol hoá. Trong phức chất chúng thể hiện là phối tử hai càng, liên kết với ion kim loại được thực hiện qua nguyên tử S và N hidrazin (cấu trúc ở hình 1).

4. Phổ UV-VIS

So sánh phổ UV-VIS của thiosemicabazon và của các phức chất tương ứng thấy rằng phổ của các phối tử và phức chất khác nhau về hình dạng, cường độ các dải hấp thụ và vị trí của các dải hấp thụ. Điều này chứng tỏ rằng sự tạo phức đã xảy ra. Trong khi phổ của các phối tử chỉ chứa các dải dưới 300 nm (thuộc các bước chuyển nội bộ phối tử và chuyển điện tích) thì ở phổ của các phức chất có các dải ở vùng 300 - 400 nm (các bước chuyển của phân khung thiosemicabazit trong phức chất) và trên phổ của các phức chất Ni(II) còn có các dải hấp thụ có $\lambda > 400$ nm (của các chuyển mức d-d). Từ các kết quả này có thể cho rằng các phức chất Ni(II) (cấu hình d^8) có cấu trúc vuông phẳng, các phức chất Cu(II) có cấu trúc vuông phẳng hoặc tứ diện.

Từ kết quả của các phương pháp trên chúng tôi đề nghị cấu trúc của các thiosemicabazon và phức chất tổng hợp ở hình 1.

5. Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$

Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của các thiosemicabazon và phức chất Ni(II) đã được ghi. Việc ghi được phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của các phức chất Ni(II) cho thấy đây là các phức chất nghịch từ, tương ứng với cấu trúc vuông phẳng của các phức chất Ni(II).

Việc phân tích kết quả phổ $^1\text{H-NMR}$ của các thiosemicabazon và phức chất Ni(II) cho thấy: trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của các thiosemicabazon đều tồn tại tín hiệu của 1 proton ở vùng gần 11ppm, đây là tín hiệu của proton nhóm NH-hidrazin, xác nhận sự tồn tại của cấu trúc thion của chúng. Tiếp đến ở vùng trường cao hơn là

tín hiệu của các proton nhóm NH_2 , tín hiệu của các proton khác đều xuất hiện trên phổ ở các vị trí phù hợp. Trên phổ của phức chất Ni(II), đều không xuất hiện tín hiệu của proton nhóm NH-hidrazin, chúng tỏ phối tử đã chuyển sang dạng thiol thông qua quá trình enol hoá và đề proton. Tín hiệu của các proton khác đều xuất hiện ở các vị trí tương tự trên phổ của phối tử, chứng tỏ sự tạo phức không ảnh hưởng nhiều đến các proton ở xa trung tâm tạo phức.

So sánh phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của phối tử và phức chất Ni(II) tương ứng thấy rằng tín hiệu của các C nhóm CS và CN có sự biến đổi rất rõ rệt: trên phổ của phối tử tín hiệu của C nhóm CS ở gần 180ppm và tín hiệu của C nhóm CN ở gần 140 ppm, nhưng trên phổ của các phức chất các tín hiệu này đều không được ghi nhận, điều này cho phép dự đoán về sự tồn tại cấu trúc động của phức chất. Nhận xét này dựa trên cơ sở của một số tài liệu về phổ NMR [8], trong trường hợp này bản thân thiosemicabazon luôn tồn tại cân bằng tautome giữa 2 dạng thion và thiol, đồng thời các nguyên tử C của các nhóm CS và CN là các nguyên tử C liên kết với các nguyên tử liên kết trực tiếp với kim loại trong phức chất, do đó các nguyên tử C này chịu ảnh hưởng nhiều nhất của sự tạo phức, sự tồn tại cân bằng động đã gây nên sự giãn rộng vạch phổ của C tới mức không ghi nhận được vạch phổ này.

Kết quả phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ một lần nữa khẳng định cấu trúc của các phức chất như đã đề nghị là hợp lý.

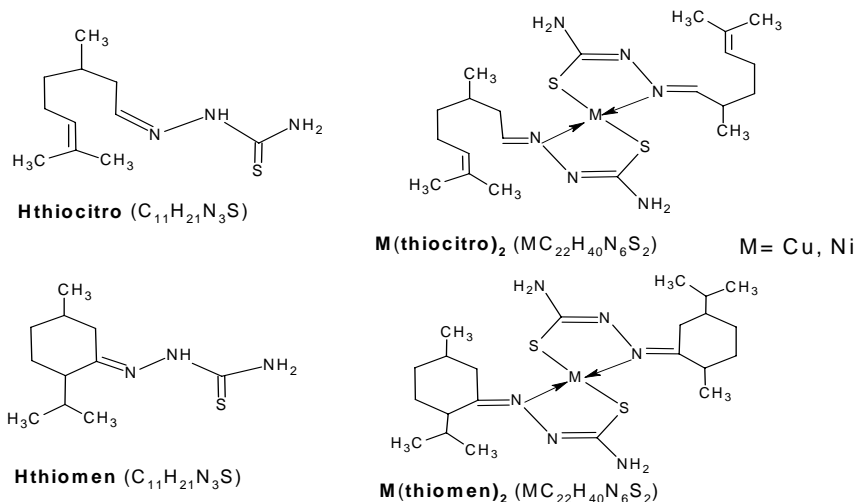
6. Kết quả thử hoạt tính sinh học

a) Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật (VSV)

Kết quả thử hoạt tính kháng VSV trên 8 chủng vi khuẩn Gram(+), Gram(-), nấm men và nấm mốc cho thấy các thiosemicabazon và phức chất đều thể hiện hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn khá mạnh và nhìn chung hoạt tính của các phức chất đều cao hơn phối tử tương ứng.

b) Kết quả thử hoạt tính kháng ung thư

Kết quả thử hoạt tính kháng ung thư trên 2 dòng tế bào ung thư là ung thư gan (Hep-G₂) và ung thư phổi (LU) được trình bày ở bảng 4.



Hình 2: Cấu tạo của các thiosemicabazon và phức chất Cu(II), Ni(II) của chúng

Bảng 4: Kết quả thử thử hoạt tính kháng ung thư

STT	Hợp chất	CS (tế bào sống sót), %		Giá trị IC ₅₀ , µg/ml	
		Hep-G ₂	LU	Hep-G ₂	LU
1	DMSO	100±0,0	100±0,0		
2	Chứng (+)	0,36±0,0	1,70±0,2	0,19	0,25
3	Hthiocitro	90,1±0,7	91,7±0,4	>5	>5
4	[Cu(thiocitro) ₂]	0,0±0,0	0,0±0,0	1,6	2,5
5	[Ni(thiocitro) ₂]	58,3±0,3	63,4±0,1	>5	>5
6	Hthiomen	61,2±0,2	93,4±1,7	>5	>5
7	[Ni(thiomen) ₂]	59,6±1,4	83,5±0,7	>5	>5
8	[Cu(thiomen) ₂]	0,0±0,0	0,0±0,0	4,3	3,8

Kết quả ở bảng 4 cho thấy các thiosemicabazon đều không có khả năng ức chế tế bào ung thư, nhưng khả năng này đều tăng lên đáng kể khi chuyển thành phức chất, đặc biệt các phức chất Cu(II) đều có khả năng ức chế mạnh trên cả hai dòng tế bào ung thư được thử nghiệm.

IV - KẾT LUẬN

Đã tổng hợp được thiosemicabazon xitronenlal, thiosemicabazon menton và các phức chất Cu(II), Ni(II) của chúng. Bằng phương pháp phân tích hàm lượng kim loại và

các phương pháp phổ MS, IR, UV-VIS và NMR đã xác định được thành phần và cấu trúc của của các hợp chất tổng hợp, rút ra nhận xét về sự biến đổi cấu trúc của các thiosemicabazon ở trạng thái tự do và trong phức chất. Các chất thu được đều có hoạt tính sinh học và hoạt tính của các phức chất mạnh hơn của phối tử tự do tương ứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chu Đình Kính, Vũ Đăng Độ, Phan Thị Hồng Tuyết. Tạp chí Phân tích Hoá Lý & Sinh học, T. 11(3), 39 - 42 (2006).

2. Dương Tuấn Quang. Luận án Tiến sĩ, Viện Hoá học, Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia (2002).
3. Ferrari M. B. et al. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 90, 113 - 126 (2002).
4. Beatriz N. B. et al. *Arkivoc (Arkat)*, ISSN 1424 - 6376, 14 - 23 (2002).
5. Altun A. et al. *Journal of Molecular Structure*, Vol. 535, 235 - 246 (2001).
6. V. Mishra, Pandeya et al. *Arch Pharm (Weinheim)*, 335(5), 183 - 186 (2002).
7. H. Beraldo, W. F. Nacif, L. R. Teixeira, J. S. Reboucas. *Transition metal chemistry (Weinheim)*, 27(1), 85 - 88 (2002).
8. M. B. Ferrari, et al. *Inorganica Chimica Acta*, 312(1-2), 81 - 87 (2001).
9. L. Charles Perrin and J. Tammy Dwyer. *Chem. Rev*, 90, 935 - 967 (1990).