

TỔNG HỢP MỘT SỐ DẪN XUẤT CỦA CYCLOART-23Z-ENE-3 β -25-DIOL VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CHÚNG

Đến Tòa soạn 10-01-2006

NGUYỄN VĂN TUYẾN, NGUYỄN VĂN HÙNG VÀ NGUYỄN QUYẾT CHIẾN

Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công Nghệ Việt Nam

SUMMARY

*Cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol was isolated from the leaves of *Aglaia gigantea* by bioassay-guided fractionation. This compound showed very good cytotoxicity against human hepatoma (Hep-G2) and KB cells. In order to investigate the relationship between biological activity and structure of the derivatives of cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol, we carried out synthesis of several new derivatives and examined their biological activities.*

I - MỞ ĐẦU

Chi *Aglaia* là chi lớn thuộc họ xoan (Meliaceae). Đã có rất nhiều nghiên cứu phát hiện hoạt tính sinh học lý thú của một số loài *Aglaia* [1 - 9]. Các chất phát hiện có hoạt tính sinh học trong chi này chủ yếu là lớp chất rocaglamit. Trong công trình trước đây [10], khi nghiên cứu hoạt tính sinh học của cây *Aglaia gigantea* mọc ở rừng Quốc gia Cúc Phương, chúng tôi đã tách được chất cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol. Chất này có hoạt tính tiêu diệt tế bào ung thư biểu mô người (KB) và tế bào ung thư gan người (Hep-2) rất mạnh. Kết quả này khuyến khích chúng tôi tổng hợp một số dẫn chất mới của nó nhằm tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học và nghiên cứu mối tương quan giữa hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm và cấu trúc của các dẫn xuất này. Trong bài báo này, chúng tôi thông báo về việc tổng hợp một số dẫn xuất của cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol (**2a-2d**) và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các chất này.

II - THỰC NGHIỆM

1. Thiết bị và nguyên liệu

Phổ cộng hưởng từ proton (500 MHz) và cacbon-13 (125 MHz) được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân phân giải cao 500 MHz (Bruker, CHLB Đức). Phổ khối lượng được đo trên máy phổ khối MS 5989B (Hewlett Packard, Mỹ). Phổ IR được đo trên máy quang phổ hồng ngoại FTIR IMPACT 410 (CHLB Đức).

2. Thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Các phép thử hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm được tiến hành theo phương pháp của Vanden Berghe and Vlietinck [11]. Các chủng vi sinh vật kiểm định được sử dụng gồm:

Vi khuẩn gram (-): *Escherichia coli* (Ec), *Pseudomonas aeruginosa* (Pa).

Vi khuẩn gram (+): *Staphylococcus aureus* (Sa), *Bacillus subtilis* (Bs).

Nấm mốc: *Aspergillus niger* (An), *Fusarium oxysporum* (Fo).

Nấm men: *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), *Candida albicans* (Ca).

Nấm và vi khuẩn được duy trì trong môi trường dinh dưỡng SDB (Sabouraud Dextrose Broth) và TSB (Trypcase Soy Broth). Các chủng kiểm định được hoạt hóa trước khi tiến hành thí nghiệm trong môi trường dinh dưỡng dịch thể 24 giờ đối với vi khuẩn và 48 giờ đối với vi nấm.

3. Tổng hợp chất 2a - 2d

3 β -Acetoxy-cycloart-23Z-ene-25-ol (2a)

Hỗn hợp phản ứng gồm cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol (**1**) (100 mg, 0,2mmol), anhydrit axetic (46,8 mg, 0,24 mmol), pyridin (15,82 mg, 0,2 mmol) và vài tinh thể của xúc tác dimetyl aminopyridin trong 10 ml của diclorometan. Hỗn hợp này được khuấy và duy trì ở 40°C trong khoảng 24 h. Sau khi kết thúc, hỗn hợp phản ứng được xử lý với nước, chiết bằng CH₂Cl₂. Dịch chiết của sản phẩm phản ứng được rửa bằng H₂O, làm khan bằng Na₂SO₄, sau đó cất loại dung môi, cho sản phẩm thô. Sản phẩm thô được làm sạch trên cột silica gel với hệ dung môi là hexan/axeton (9/1) nhận được 98,3 mg chất rắn màu trắng (chất **2a**), hiệu suất 90%, đnc 96°C. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,34 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, H_a-19); 0,57 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, H_b-19); 0,84 (3H, s, CH₃); 0,86 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃); 0,89 (6H, s, CH₃); 0,96 (3H, s, CH₃); 1,31 (6H, bs, 2x CH₃); 2,04 (3H, s, CH₃); 4,57 (1H, dd, $J = 11$ và 4,5 Hz, H-3); 5,59 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-23); 5,60 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-24). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 15,1 (C-30); 18,0 (C-18); 18,2 (C-21); 19,2 (C-28); 20,1 (C-9); 20,9 (C-6); 21,3 (C-2'); 25,4 (C-29); 25,7 (C-7); 25,9 (C-10); 26,4 (C-11); 26,7 (C-2); 28,0 (C-16); 29,7 (C-27); 29,8 (C-26); 29,9 (C-19); 31,6 (C-1); 32,7 (C-12); 35,5 (C-15); 36,4 (C-20); 39 (C-22); 39,4 (C-4); 45,3 (C-13); 47,1 (C-5); 47,7 (C-8); 48,8 (C-14); 51,0 (C-17); 70,7 (C-25); 80,6 (C-3); 125,6 (C-23); 139,3 (C-24); 170,9 (C-1').

3 β -Isobutyryloxy-cycloart-23Z-ene-25-ol (2b)

Chất **2b** được tổng hợp theo quy trình tổng hợp chất **2a** và dùng anhydrit isobutyric, nhận được chất rắn màu trắng (chất **2b**), đnc 116°C, hiệu suất 94%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,35 (1H, d, $J = 4$ Hz, H_a-19); 0,57 (1H, d, $J = 4$ Hz, H_b-19); 0,84 (3H, s, CH₃);

0,86 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃); 0,89 (3H, s, CH₃); 0,90 (3H, s, CH₃); 0,97 (3H, s, CH₃); 1,17 (3H, dd, $J = 7$ Hz, CH₃); 1,18 (3H, dd, $J = 7$ Hz, CH₃); 1,31 (6H, bs, 2xCH₃); 2,57 (1H, q, $J = 7$ Hz, H - 2'); 4,55 (1H, dd, $J = 11$ và 4,5 Hz, H-3); 5,59 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H - 23); 5,60 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-24). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 15,2 (C-30); 18,2 (C-18); 18,84 (C-21); 18,9 (C-4'); 19,2 (C-3'); 19,28 (C-28); 20,1 (C-9); 20,9 (C-6); 25,4 (C-29); 25,8 (C-7); 26 (C-10); 26,4 (C-11); 26,7 (C-2); 28,0 (C-16); 29,8 (C-27); 29,9 (C-26); 29,99 (C-19); 31,6 (C-1); 32,7 (C-12); 34,49 (C-2'); 35,5 (C-15); 36,4 (C-20); 39 (C-22); 39,6 (C-4); 45,3 (C-13); 47,1 (C-5); 47,8 (C-8); 48,8 (C-14); 52,0 (C-17); 70,7 (C-25); 80,1 (C-3); 125,6 (C-23); 139,3 (C-24); 176,8 (C-1').

3 β -Benzoyloxy-cycloart-23Z-ene-25-ol (2c)

Chất **2c** được tổng hợp theo quy trình tổng hợp chất **2a** và dùng anhydrit benzoic, nhận được chất rắn màu trắng (chất **2c**), đnc 86°C, hiệu suất 92%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,37 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H_a-19); 0,62 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H_b-19); 0,87 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃); 0,91 (3H, s, CH₃); 0,93 (3H, s, CH₃); 0,99 (3H, s, CH₃); 1,05 (3H, s, CH₃); 1,31 (3H, s, CH₃); 1,32 (3H, s, CH₃); 4,8 (1H, dd, $J = 11$ và 4 Hz, H-3); 5,60 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-23); 5,61 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-24); 7,42-7,48 (2H, m, 2x =CH); 7,53 - 7,56 (1H, m, =CH); 7,04-7,06 (2H, m, 2x=CH). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 15,4 (C-30); 18,0 (C-18); 18,3 (C-21); 19,2 (C-28); 20,2 (C-9); 20,9 (C-6); 25,5 (C-29); 25,8 (C-7); 26 (C-10); 26,5 (C-11); 26,8 (C-2); 28,0 (C-16); 29,8(C-27); 29,8 (C-26); 29,9 (C-19); 31,6 (C-1); 32,7 (C-12); 35,5 (C-15); 36,4 (C-20); 39 (C-22); 39,8 (C-4); 45,3 (C-13); 47,2 (C-5); 47,8 (C-8); 48,8 (C-14); 52,0 (C-17); 70,7 (C-25); 81,3 (C-3); 125,6 (C-23); 128,3 (=CH và =CH); 129,5 (2x=CH); 131 (C=CH); 132,6 (C=CH); 139,3 (C-24); 166,3 (C-1').

3 β -Cinamoyloxy-cycloart-23Z-ene-25-ol (2d)

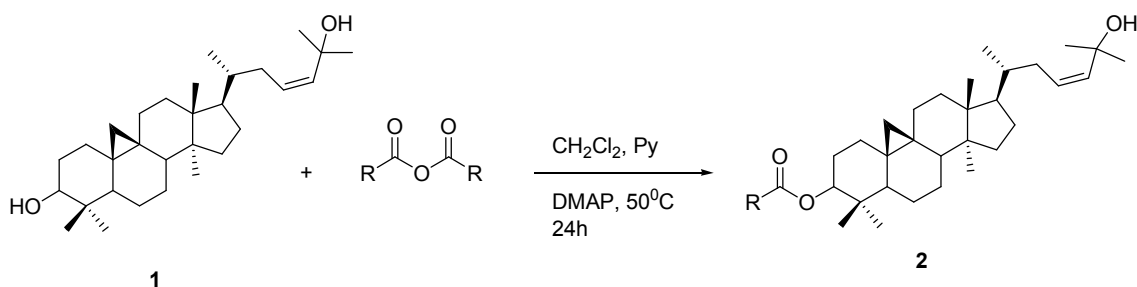
Hỗn hợp phản ứng gồm cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol (**1**) (10 mg, 0,02 mmol), cinamoyl clorua (5 mg, 0,025 mmol), (1,58 mg, 0,02 mmol) và vài tinh thể của xúc tác dimetyl

aminopyridin trong 10 ml diclorometan. Hỗn này được khuấy và duy trì ở 40°C trong khoảng 24 h. Sau khi kết thúc, hỗn hợp phản ứng được xử lý với nước và chiết bằng CH₂Cl₂. Dịch chiết của sản phẩm được rửa bằng H₂O, làm khan bằng Na₂SO₄, sau đó cất loại dung môi, cho sản phẩm thô. Sản phẩm thô được làm sạch trên cột silica gel với hệ dung môi là hexan/axeton (80/15) nhận được 12 mg chất màu trắng (chất **2d**), đnc 127°C, hiệu suất 90%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,37 (1H, d, J = 4,1 Hz, H_a-19); 0,61 (1H, d, J = 4,1 Hz, H_b-19); 0,81 (3H, d, J = 6,5 Hz, CH₃); 0,89 (3H, s, CH₃); 0,90 (3H, s, CH₃); 0,97 (3H, s, CH₃); 0,98 (3H, s, CH₃); 1,30 (3H, s, CH₃); 1,31 (3H, s, CH₃); 4,72 (1H, dd, J = 11,2 và 4,7 Hz, H-3); 5,61 (1H, d, J = 3,5 Hz, H - 23); 5,62 (1H, d, J = 3,5 Hz, H-24); 6,4 (1H, d, J = 16, H-2'); 7,35 - 7,41 (3H, m, 3 x =CH); 7,51 - 7,55 (2H, m, 2x =CH); 7,68 (1H, d, J = 16 Hz, H-3'). ¹³C-NMR (125 MHz,

CDCl₃): δ 15,3 (C-30); 18,0 (C-18); 18,3 (C-21); 19,2 (C-28); 20,1 (C-9); 20,9 (C-6); 25,5 (C-29); 25,8 (C-7); 26 (C-10); 26,5 (C-11); 26,9 (C-2); 28,0 (C-16); 29,7(C-27); 29,9 (C-26); 30,0 (C-19); 31,6 (C-1); 32,7 (C-12); 35,5 (C-15); 36,4 (C-20); 39 (C-22); 39,7 (C-4); 45,3 (C-13); 47,2 (C-5); 47,8 (C-8); 48,8 (C-14); 52,0 (C-17); 70,7 (C-25); 80,8 (C-3); 118,9 (C-2'); 125,6 (C-23); 128 (2x=C=CH); 128,8 (2x=C=CH); 130,1 (=CH); 134,6 (=CH); 139,3 (C-24); 144,2 (=CH); 166,8 (C-1').

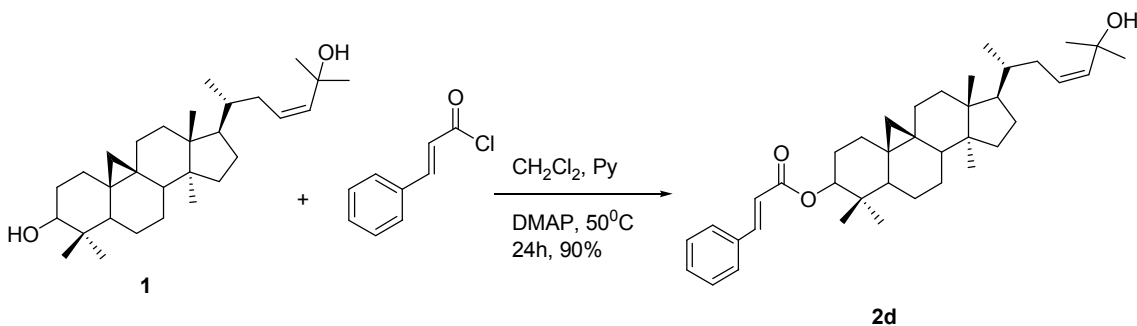
III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Cấu trúc của chất cycloart-23Z-ene-3β-25-diol có hai nhóm hydroxyl, trong đó nhóm hydroxyl bậc hai có thể phản ứng với anhidrit hoặc clorua của các axit để tạo thành các dẫn xuất của cycloart-23Z-ene-3β-25-diol. Các dẫn xuất (**2a-2d**) được tổng hợp theo sơ đồ 1 và 2.



- 2a)** R = CH₃ (90%)
2b) R = C₆H₅ (94%)
2c) R = (CH₃)₂CH (92%)

Sơ đồ 1



Sơ đồ 2

Như đã chỉ ra trong sơ đồ 1, cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol (**1**) tác dụng với anhydrit của các axit trong dung môi diclorometan, có mặt pyridin và xúc tác 4-dimetyl aminopyridin, ở nhiệt độ khoảng 50°C trong khoảng 24 h, cho các chất **2a**, **2b** và **2c** với hiệu suất tương ứng là 90, 94 và 92%.

Chất **2d** được tổng hợp theo sơ đồ 2. Cho chất **1** phản ứng với cinamoyl clorua trong môi trường pyridin và xúc tác là 4-dimetyl aminopyridin, ở nhiệt độ 50°C trong khoảng 24

h, thu được chất **2d** với hiệu suất 90%.

Các chất **2a** - **2d** được thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định. Kết quả thử hoạt tính của các chất này được trình bày ở bảng 1. Cụ thể là, chất **2a** có hoạt tính kháng các dòng *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *C. albicans* và *S. cerevisiae*. Chất **2b** có hoạt tính kháng các dòng *B. subtilis*, *A. niger*, *C. albicans* và *S. cerevisiae*. Chất **2c** có hoạt tính kháng các dòng *F. oxysporum* và *S. cerevisiae*. Chất **2d** có hoạt tính kháng các dòng *A. niger* và *S. cerevisiae*.

Table 1: Khả năng kháng vi sinh vật của các dẫn chất **2a** - **2b**

N°	Chất	Antimicrobial activity MIC, $\mu\text{g/ml}$							
		<i>Ec</i>	<i>Pa</i>	<i>Bs</i>	<i>Sa</i>	<i>An</i>	<i>Fo</i>	<i>Ca</i>	<i>Sc</i>
1	2a	50	(-)	50	50	(-)	(-)	50	50
2	2b	(-)	(-)	50	(-)	50	(-)	50	50
3	2c	(-)	(-)	200	(-)	(-)	50	(-)	50
4	2d	(-)	(-)	(-)	(-)	50	(-)	(-)	50

Tóm lại, chúng tôi đã tổng hợp được dẫn xuất **2a-2d** của cycloart-23Z-ene-3 β -25-diol (**1**) với hiệu suất cao. Các chất này đã được nghiên cứu khả năng kháng các vi sinh vật kiểm định. Kết quả cho thấy, cả bốn chất này đều có hoạt tính kháng một số dòng vi sinh vật nghiên cứu.

Lời cảm ơn: Các tác giả chân thành cảm ơn sự tài trợ của IFS (the International Foundation for Sciences) Stockholm, Sweden, Grant F/2768-3, Tổ chức cấm phổ biến vũ khí OPCW (Organization for the Prohibition of Chemical Weapons), và đề tài nghiên cứu cơ bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. B. Y. Hwang, et al. Journal of Organic Chemistry, 69 (18), P. 6156 (2004).
2. O. Koul, H. Kaur, S. Goomber, S. Wahab. Journal of Applied Entomology, 128 (3), P. 177 - 181 (2004).
3. B. Hausott, H. Greger, B. Marian B. International Journal of Cancer, 109 (6), P. 933 - 940 (2004).
4. J. F. Rivero-Cruz, et al. Journal of Natural Products, 67 (3), P. 343 - 347 (2004).
5. A. Inada, H. Nishino, M. Kuchide, J. Takayasu, T. Mukainaka, Y. Nobukuni, M. Okuda, H. Tokuda. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 24 (11), P. 1282 - 1285 (2001).
6. S. K. Wang, C. Y. Duh. Planta Medica, 67 (6), P. 555 - 557 (2001).
7. H. Greger, T. Pacher, B. Brem, M. Bacher, O. Hofer. Phytochemistry, 57 (1), P. 57 - 64 (2001).
8. M. Dreyer, et al. Journal of Natural Products, 64 (4), P. 415 - 420 (2001).
9. P. Proksch, R. Edrada, R. Ebel, F. I. Bohnenstengel, B. W. Nugroho. Pharmaceutical Current Organic Chemistry, 5 (9), P. 923 - 938 (2001).
10. Nguyen Van Tuyen, Nguyen Van Hung, and et al. Journal of Advances in Natural Sciences, 6, 263 - 266 (2005).
11. D. V. Berghe, A. J. Vlietinck. Plant Biochemistry, 6, 47 (1991).

12.