

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI

VŨ TRẦN ANH



**TỔNG HỢP MỘT SỐ DẪN CHẤT
CỦA HYDANTOIN VÀ THĂM DÒ
TÁC DỤNG KHÁNG KHUẨN,
KHÁNG NẤM VÀ CHỐNG UNG THƯ**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

CHUYÊN NGÀNH : HOÁ DƯỢC

MÃ SỐ : 62.73.01.10

HÀ NỘI – 2010

CÔNG TRÌNH ĐÃ HOÀN THÀNH TẠI:

Trường Đại học Dược Hà Nội

Viện Khoa học- Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

PGS. TS. Nguyễn Quang Đạt

TS. Đinh Thị Thanh Hải

Có thể tìm đọc luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Hà Nội

- Thư viện Trường Đại học Dược Hà Nội

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Nguyễn Quang Đạt, Đinh Thị Thanh Hải, Vũ Trần Anh, Nguyễn Thu Hương, Đậu Công Hồng, Lê Mai Hương (2006), “Tổng hợp và hoạt tính chống ung thư của một số dẫn chất 5-arylidenehydantoin”, *Tạp chí Dược học*, 11A, 50-54.
2. Dat Nguyen Quang, Hai Dinh Thi Thanh, Anh Vu Tran, Huong Nguyen Thi Thu, Hong Dau Cong, Huu Doan Thi, Huong Le Mai (2007), “Synthesis and cytotoxic activity of some 5-arylidenehydantoin derivatives”, *Proceeding of the Fifth Indochina Conference on Pharmaceutical Sciences (Pharma Indochina V)*, Bangkok, Thailand, November 21-24, PCP-P-42.
3. Vũ Trần Anh, Nguyễn Quang Đạt, Đinh Thị Thanh Hải, Đoàn Thị Hữu (2008), “Tổng hợp và thử hoạt tính sinh học của một số dẫn chất 5-arylidenehydantoin”, *Tạp chí Dược học*, 12, 36-39.
4. Vũ Trần Anh, Nguyễn Quang Đạt, Đinh Thị Thanh Hải, Phạm Thị Vy (2009), “Tổng hợp và thử hoạt tính sinh học của một số 5-arylidenehydantoin và dẫn chất base Mannich”, *Tạp chí Hoá học*, T47 (4A), 7-11.
5. Vũ Trần Anh, Nguyễn Quang Đạt, Đinh Thị Thanh Hải, Trần Thị Oanh (2009), “Tổng hợp và thử hoạt tính sinh học của 5-(o- và p-clorobenzylidene)hydantoin và dẫn chất base Mannich”, *Tạp chí Dược học*, 12, 38-42.

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Đặt vấn đề.

Các dẫn chất hydantoin là dãy chất đã được quan tâm nghiên cứu về tổng hợp hoá học, tác dụng sinh học và ứng dụng làm thuốc. Một số dẫn chất hydantoin đã được sử dụng làm thuốc như phenytoin (thuốc chống động kinh), nitrofurantoin (thuốc kháng khuẩn), dantrium (thuốc giãn cơ vân), nilutamid (thuốc điều trị ung thư tuyến tiền liệt di căn). Trong những năm qua, các nhà nghiên cứu trên thế giới và trong nước tiếp tục nghiên cứu, tổng hợp và sàng lọc tác dụng sinh học của các dẫn chất hydantoin, đã tìm thấy nhiều dẫn chất có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, và tác dụng chống ung thư. Trong số đó, các dẫn chất 5-arylidenhydantoin thiên nhiên và tổng hợp đã thể hiện tiềm năng hoạt tính chống ung thư rất đáng quan tâm. Mặt khác, nhiều công trình nghiên cứu đã chứng tỏ các dẫn chất base Mannich cũng có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, chống ung thư khá cao.

Các thành tựu nghiên cứu tổng hợp và ứng dụng các dẫn chất hydantoin nêu trên cho thấy việc tiếp tục nghiên cứu tổng hợp và thử hoạt tính sinh học của các dẫn chất hydantoin, đặc biệt là các dẫn chất 5-arylidenhydantoin là rất cần thiết và có nhiều triển vọng.

2. Mục tiêu của luận án

- Tổng hợp một số dẫn chất của hydantoin thuộc dãy 5-arylidenhydantoin và các dẫn chất base Mannich.
- Thử sàng lọc tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, kháng tế bào ung thư của các chất tổng hợp được để tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học cao và có thể rút ra các nhận xét sơ bộ về mối liên quan cấu trúc - tác dụng của dãy chất này.

3. Những đóng góp mới của luận án

- Đã tổng hợp được 43 dẫn chất của hydantoin, trong đó có 32 chất chưa thấy công bố trong các tài liệu tham khảo được.
- Đã xác định được cấu trúc của tất cả các chất tổng hợp được bằng các phương pháp phổ IR, phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H và ^{13}C -NMR kết hợp với các kỹ thuật phổ 2D-NMR (HSQC, HMBC), phổ khối lượng MS.
- Đã thử một số tác dụng sinh học của các chất tổng hợp được với kết quả là:
 - * Đã sàng lọc được 2 chất có tác dụng với chủng vi khuẩn *B.subtilis* (MIC=50 $\mu\text{g/ml}$), 7 chất có hoạt tính kháng chủng vi khuẩn *S.aureus* (MIC=25-50 $\mu\text{g/ml}$).
 - * Đã sàng lọc được 1 chất có hoạt tính kháng nấm *Asp.niger* (MIC=50 $\mu\text{g/ml}$), 3 chất có hoạt tính kháng chủng nấm *S.cerevisiae* (MIC=50 $\mu\text{g/ml}$).
 - * Đã sàng lọc được 13 chất có hoạt tính kháng tế bào ung thư gan Hep-G2 (IC₅₀=0,38÷5 $\mu\text{g/ml}$).

4. Bố cục của luận án

Luận án có 154 trang, gồm 4 chương, 12 bảng, 36 hình, 79 tài liệu tham khảo và 45 phụ lục. Các phần chính trong luận án: Đặt vấn đề (2 trang), tổng quan (31 trang), nguyên vật liệu, trang thiết bị và phương pháp nghiên cứu (6 trang), thực nghiệm và kết quả nghiên cứu (50 trang), bàn luận (63 trang), kết luận và đề xuất (2 trang).

B. NỘI DUNG LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Đã tập hợp và trình bày một cách hệ thống các công trình nghiên cứu trong nước và quốc tế về các vấn đề:

- Các phương pháp tổng hợp hydantoin và dẫn chất bao gồm:
 - * Các phương pháp tổng hợp hydantoin và hydantoin thể.
 - * Các phương pháp tổng hợp các dẫn chất xuất phát từ nhân hydantoin.
- Tác dụng sinh học của các dẫn chất hydantoin bao gồm: tác dụng chống co giật; tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm; tác dụng chống ung thư và các tác dụng khác.

CHƯƠNG 2. NGUYÊN VẬT LIỆU, TRANG THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu, hoá chất, dung môi, thiết bị thí nghiệm.

- Các hoá chất, dung môi (Merck, Trung Quốc, Việt Nam).
- Các dụng cụ thí nghiệm hữu cơ thông thường.
- Các thiết bị đo nhiệt độ nóng chảy, phổ IR, phổ cộng hưởng từ hạt nhân, phổ khối lượng.
- Các chủng vi khuẩn, vi nấm và các dòng tế bào ung thư do Phòng Sinh học thực nghiệm - Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên - Viện Khoa học và Công nghệ cung cấp.

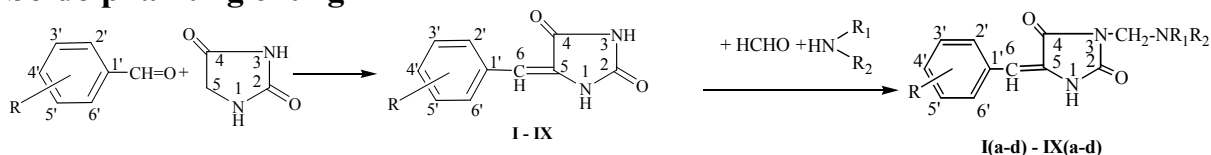
2.2 Phương pháp nghiên cứu

- Đã sử dụng các phương pháp thực nghiệm trong hoá học hữu cơ để tổng hợp các chất dự kiến.
- Sử dụng sắc ký lớp mỏng để theo dõi quá trình tiến triển của phản ứng. Kiểm tra độ tinh khiết của sản phẩm bằng sắc ký lớp mỏng và đo nhiệt độ nóng chảy.
- Xác định cấu trúc các hợp chất tổng hợp được dựa trên các phương pháp phổ: hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều, phổ khối lượng.
- Thử sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm được tiến hành theo phương pháp của Berghe V.A và Vlietlinck, thực hiện trên các phiên vi lượng 96 giếng.
- Thử tác dụng kháng tế bào ung thư được tiến hành theo phương pháp P. Skehan và cộng sự và K.Likhiwitayawid, hiện đang được áp dụng tại Viện nghiên cứu ung thư quốc gia Mỹ (National Cancer Institution - NCI).

CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Tổng hợp hoá học

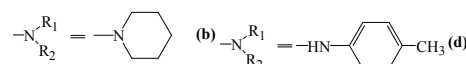
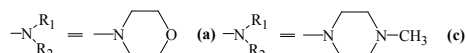
Sơ đồ phản ứng chung



R=H (I); 2'-OH (II); 4'-OH (III);
4'-(CH₃)₂N; 4'-F (V); 2'-Cl (VI);
4'-Cl; 3'-NO₂; 4'-NO₂

(R=H (I); 2'-OH (II); 4'-OH (III);
4'-(CH₃)₂N (IV); 4'-F (V); 2'-Cl (VI);
4'-Cl (VII); 3'-NO₂ (VIII); 4'-NO₂ (IX))

(R=H (I); 2'-OH (II); 4'-OH (III); 4'-(CH₃)₂N (IV); 4'-F (V);
2'-Cl (VI); 4'-Cl (VII); 3'-NO₂ (VIII); 4'-NO₂ (IX))



3.1.1 Tổng hợp các dẫn chất 5-arylidenehydantoin (I-IX)

Quy trình tổng hợp chung:

Cho vào bình cầu 5 g (0,05 mol) hydantoin, thêm 50ml nước cất, đun nóng hỗn hợp ở nhiệt độ 60°C, hydantoin tan hoàn toàn. Trung hòa dung dịch trên bằng dung dịch natri hydrocarbonat bão hòa đến pH = 7. Thêm vào bình cầu 4,5ml ethanolamin và nâng nhiệt độ lên đến 85°C. Vừa đun nóng, vừa khuấy đều hỗn hợp phản ứng và thêm từng giọt dung dịch của 0,05 mol aldehyd thơm trong 10 ml ethanol vào bình phản ứng. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đun hồi lưu. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi CHCl₃:isoC₃H₇OH (9:1) trên bản mỏng silicagel 60 F₂₅₄, phát hiện vết bằng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phản ứng kết thúc sau 4-7 giờ tùy theo aldehyd thơm sử dụng. Để nguội, đổ hỗn hợp phản ứng ra cốc có mỡ. Lọc hút thu kết tủa. Rửa bằng nước cất và cồn lạnh. Sấy khô tủa thu được. Kết tinh lại trong dung môi thích hợp.

Kết quả: Đã tổng hợp được 9 dẫn chất 5-arylidenedhydantoin (**I-IX**). Kết quả trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1: Kết quả tổng hợp các dẫn chất 5-arylidenedhydantoin (I-IX**)**

| STT | Ký hiệu chất | R | M | Thời gian phản ứng (giờ) | Dung môi kết tinh lại | Thực nghiệm | | Tài liệu [61] | |
|-----|--------------|--------------------------------------|-----|--------------------------|-----------------------|------------------|---------------|------------------|---------------|
| | | | | | | Nhiệt độ nc (°C) | Hiệu suất (%) | Nhiệt độ nc (°C) | Hiệu suất (%) |
| 1 | I | -H | 188 | 6 | EtOH | 220÷222 | 60,3 | 220-224 | 71,3 |
| 2 | II | 2'-OH | 204 | 7 | EtOH:DMF (8:1) | 294÷295 | 54,1 | 293-294 | 21,6 |
| 3 | III | 4'-OH | 204 | 7 | EtOH:DMF (8:1) | 312÷313 | 57,2 | 311-314 | 34,6 |
| 4 | IV | 4'-N-(CH ₃) ₂ | 231 | 7 | AcOH 60% | 278÷279 | 52,6 | 263-266 | 37,6 |
| 5 | V | 4'-F | 206 | 5 | EtOH:DMF (6:1) | 260÷262 | 64,5 | 260-262 | 70,6 |
| 6 | VI | 2'-Cl | 222 | 5 | EtOH:DMF (2:1) | 282÷284 | 67,1 | 278-281 | 73,9 |
| 7 | VII | 4'-Cl | 222 | 5 | EtOH:DMF (2:1) | 305÷306 | 70,4 | 303-305 | 62,7 |
| 8 | VIII | 3'-NO ₂ | 233 | 4 | EtOH:DMF (5:3) | 291÷292 | 74,2 | 280-282 | 47,6 |
| 9 | IX | 4'-NO ₂ | 233 | 4 | EtOH:DMF (5:3) | 320÷322 | 75,4 | 314-316 | 51,3 |

3.1.2 Tổng hợp các dẫn chất base Mannich của các 5-arylidenedhydantoin (**I(a-d)-IX(a-d)**)

Quy trình tổng hợp chung:

Cho vào bình phản ứng 0,0025 mol chất **I-IX**, thêm 15ml EtOH, khuấy ở nhiệt độ phòng cho phân tán đều trong 15 phút. Cho tiếp 0,21ml formol (0,0025 mol HCHO) và 0,0025 mol amin, 3-4 giọt CH₃COOH, khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Sau đó đun cách thủy nâng dần nhiệt độ tới 85°C thì thêm tiếp DMF vào từ từ để hỗn hợp tan hoàn toàn. Sau đó, tiếp tục khuấy và giữ nhiệt độ phản ứng ở 85°C. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng, hệ dung môi H₂O:AcOH:MeOH (4:2:4) với các chất **I(a-d)÷VI(a-d)**, **VIII (a-d)**, hệ dung môi H₂O:MeOH (2:3) với các chất **VII (a-d)**, **IX(a-d)**, phát hiện vết bằng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sau 2-5 giờ phản ứng đạt tối ưu. Đổ hỗn hợp phản ứng ra cốc có mỡ, để nguội đến nhiệt độ phòng, để trong tủ

lạnh 24 giờ. Sau đó cạo thành cục thật kỹ để tạo tủa tốt. Lọc hút, rửa tủa bằng EtOH lạnh thu được sản phẩm thô. Kết tinh lại trong dung môi thích hợp, sấy khô ở 60°C trong tủ sấy chân không trong 3h thu được sản phẩm.

Kết quả: 34 dẫn chất base Mannich **I(a-d)÷IX(a-d)** của các chất 5-arylidenediantoin (**I-IX**). Kết quả trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2: Kết quả tổng hợp các dẫn chất base Mannich (I(a-d)÷IX(a-d))

| ST T | Ký hiệu chất | R | NR ₁ R ₂ | M | Thời gian phản ứng (giờ) | Dung môi kết tinh lại | Nhiệt độ nc (°C) | Hiệu suất (%) |
|------|---------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----|--------------------------|-----------------------|------------------|---------------|
| 10 | Ia | H | | 287 | 3,5 | EtOH | 192÷193 | 76,6 |
| 11 | Ib | H | | 285 | 2,5 | EtOH | 209÷210 | 71,6 |
| 12 | Ic | H | | 300 | 3 | EtOH | 191÷192 | 78,6 |
| 13 | Id | H | | 307 | 4,5 | EtOH | 220÷223 | 84,7 |
| 14 | IIa | 2'-OH | | 303 | 4 | EtOH | 172÷173 | 25,0 |
| 15 | IIb | 2'-OH | | 301 | 3 | EtOH | 177÷178 | 41,1 |
| 16 | IIc | 2'-OH | | 316 | 3,5 | EtOH | 167÷168 | 32,9 |
| 17 | IId | 2'-OH | | 323 | 5 | EtOH | 157÷158 | 69,3 |
| 18 | IIIa | 4'-OH | | 303 | 4 | EtOH | 228÷229 | 40,9 |
| 19 | IIIb | 4'-OH | | 301 | 3 | EtOH | 207÷208 | 70,4 |
| 20 | IIIc | 4'-OH | | 316 | 3,5 | EtOH | 196÷197 | 70,8 |
| 21 | IIId | 4'-OH | | 323 | 5 | EtOH | 168÷171 | 52,0 |
| 22 | IVa | 4'-N(CH ₃) ₂ | | 330 | 4 | EtOH:DMF (6:1) | 246÷248 | 58,1 |
| 23 | IVb | 4'-N(CH ₃) ₂ | | 328 | 3 | EtOH | 238÷239 | 67,0 |
| 24 | IVc | 4'-N(CH ₃) ₂ | | 343 | 3,5 | EtOH | 209÷210 | 31,5 |
| 25 | IVd | 4'-N(CH ₃) ₂ | | 350 | 5 | EtOH | 249÷251 | 56,0 |
| 26 | Va | 4'-F | | 305 | 3,5 | EtOH:DMF (6:1) | 198÷199 | 44,6 |
| 27 | Vb | 4'-F | | 303 | 2,5 | EtOH | 220÷221 | 52,8 |
| 28 | Vc | 4'-F | | 318 | 3 | EtOH | 193÷194 | 40,2 |
| 29 | Vd | 4'-F | | 325 | 4,5 | EtOH | 211÷212 | 41,8 |
| 30 | VIa | 2'-Cl | | 321 | 3,5 | EtOH | 192÷193 | 43,5 |
| 31 | VIb | 2'-Cl | | 319 | 2,5 | EtOH | 208÷209 | 67,6 |
| 32 | VIc | 2'-Cl | | 334 | 3 | EtOH | 158÷161 | 38,2 |
| 33 | VIId | 2'-Cl | | 341 | 4,5 | EtOH | 218÷219 | 66,7 |
| 34 | VIIa | 4'-Cl | | 321 | 3,5 | EtOH | 234÷236 | 71,0 |
| 35 | VIIb | 4'-Cl | | 319 | 2,5 | EtOH | 225÷226 | 70,2 |
| 36 | VIIc | 4'-Cl | | 334 | 3 | EtOH | 199÷200 | 43,1 |
| 37 | VIIId | 4'-Cl | | 341 | 4,5 | EtOH | 232÷233 | 65,6 |
| 38 | VIIIa* | 3'-NO ₂ | | 332 | 3 | EtOH | 202÷203 | 51,8 |
| 39 | VIIIb* | 3'-NO ₂ | | 330 | 2 | EtOH | 179÷181 | 50,9 |
| 40 | VIIIId | 3'-NO ₂ | | 352 | 4 | EtOH | 196÷197 | 54,5 |
| 41 | IXa | 4'-NO ₂ | | 332 | 3 | EtOH | 224÷226 | 56,6 |
| 42 | IXb | 4'-NO ₂ | | 330 | 2 | EtOH | 220÷221 | 46,0 |
| 43 | IXd | 4'-NO ₂ | | 352 | 4 | EtOH | 244÷246 | 44,3 |



3.2 Xác định cấu trúc của các chất tổng hợp được.

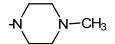
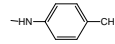
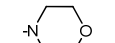
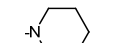
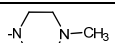
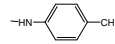
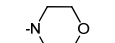
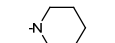
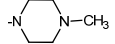
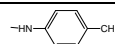
Để xác nhận cấu trúc của các chất tổng hợp được, chúng tôi đã tiến hành ghi phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H và ^{13}C -NMR kết hợp với các kỹ thuật phổ 2D-NMR (HSQC, HMBC), phổ khối lượng MS. Kết quả phân tích phổ được ghi ở các bảng 3.3, 3.4, 3.5, 3.6.












Bảng 3.3 : Số liệu phổ IR và phổ ^1H -NMR của các dẫn chất 5-arylidenehydantoin (I-IX)



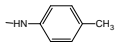
| STT | Ký hiệu chất | R | IR (KBr, $\nu_{\text{cm}^{-1}}$) | | | ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, δ_{ppm}) | | | |
|-----|--------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|----------------------|----------------------|---|
| | | | $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ | $\nu_{\text{C}_2=\text{O}}$ | $\nu_{\text{C}_4=\text{O}}$ | H_6 | N_3H | N_1H | Nhân thơm |
| 1 | I | -H | 1656 | 1768 | 1715 | 6,41 | 11,19 | 10,51 | 7,61(<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=7,5$); 7,39(<i>t</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=7,5$); 7,32(<i>t</i> , 1H, H_4 , $J=7,25$) |
| 2 | II | 2'-OH | 1661 | 1752 | 1708 | 6,69 | 11,11 | 10,20 | 7,55(<i>dd</i> , 1H, H_6 , $J=7,75;1,25$); 7,16(<i>td</i> , 1H, H_4 , $J=7,75;1,5$); 6,88(<i>t</i> , 1H, H_3 , $J=8;1$); 6,83(<i>t</i> , 1H, H_5 , $J=7,5$) |
| 3 | III | 4'-OH | 1653 | 1752 | 1710 | 6,36 | 10,27 | 10,27 | 7,48 (<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=8,5$); 6,81 (<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=8,5$) |
| 4 | IV | 4'-N(CH ₃) ₂ | 1656 | 1740 | 1719 | 6,34 | 11,00 | 10,23 | 7,48 (<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=9$); 6,70(<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=9$); 2,95(<i>s</i> , 6H, -N(CH ₃) ₂). |
| 5 | V | 4'-F | 1665 | 1799 | 1737 | 6,41 | 11,40 | 10,90 | 7,67(<i>ddd</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=7,5;2, J_{\text{H-F}}=5,5$); 7,24(<i>t</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=8,75;1,5, J_{\text{H-F}}=7$) |
| 6 | VI | 2'-Cl | 1664 | 1779 | 1732 | 6,55 | 11,33 | 10,67 | 7,71(<i>dd</i> , 1H, H_6 , $J=7,75;1,75$); 7,53(<i>d</i> , 1H, H_3 , $J=7,5$); 7,36(<i>qd</i> , 2H, $\text{H}_{4',5'}$, $J=7,75;1,75$) |
| 7 | VII | 4'-Cl | 1666 | 1797 | 1737 | 6,39 | 11,20 | 10,90 | 7,64(<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=8,5$); 7,45(<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=8,5$) |
| 8 | VIII | 3'-NO ₂ | 1665 | 1773 | 1717 | 6,53 | 11,35 | 10,85 | 8,36(<i>s</i> , 1H, H_2); 8,13(<i>dd</i> , 1H, H_4 , $J=8;1,5$); 8,01(<i>d</i> , 1H, H_6 , $J=7,5$); 7,67(<i>t</i> , 1H, H_5 , $J=8$) |
| 9 | IX | 4'-NO ₂ | 1665 | 1770 | 1736 | 6,49 | 11,40 | 10,90 | 8,21(<i>s</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=8,5$); 7,86(<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=8,5$) |

Bảng 3.4 : Số liệu phổ IR và phổ ^1H -NMR của các dẫn chất base Mannich (I(a-d)-IX(a-d))

| TT | Ký hiệu chất | NR ₁ R ₂ | IR (KBr, $\nu_{\text{cm}^{-1}}$) | | | | ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, δ_{ppm}) | | | |
|----|--------------|---|-----------------------------------|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|--------------|------------------|---|
| | | | $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ | $\nu_{-\text{CH}_2}$ | $\nu_{\text{C}_2=\text{O}}$ | $\nu_{\text{C}_4=\text{O}}$ | N_1H | H_6 | -CH ₂ | Giá trị khác |
| 10 | Ia |  | 1659 | 2959 | 1769 | 1719 | 10,80 | 6,54 | 4,36 | 7,65 (<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=7,5$); 7,42 (<i>t</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=7,5$); 7,34 (<i>t</i> , 1H, H_4 , $J=7,25$); 3,54 (<i>t</i> , 4H, $\text{H}_{3'',5''}$, $J=4,5$); 2,50 (<i>t</i> , 4H, $\text{H}_{2'',6''}$, $J=1,5$). |
| 11 | Ib |  | 1658 | 2935 | 1758 | 1715 | 10,75 | 6,52 | 4,35 | 7,65 (<i>d</i> , 2H, $\text{H}_{2',6'}$, $J=7,5$); 7,41 (<i>t</i> , 2H, $\text{H}_{3',5'}$, $J=7,75$); 7,34 (<i>t</i> , 1H, H_4 , $J=7,25$); 2,50(<i>t</i> , 4H, $\text{H}_{2'',6''}$, $J=5,5$); 1,46 (<i>t</i> , 4H, $\text{H}_{3'',5''}$, $J=2$); 1,32 (<i>d</i> , 2H, H_4 , $J=4,5$) |

| | | | | | | | | | | |
|----|-------------|---|------|------|------|------|-------|------|------|--|
| 12 | Ic |  | 1662 | 2846 | 1765 | 1714 | 10,80 | 6,54 | 4,37 | 7,66 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=7,5); 7,42 (<i>t</i> , 2H, H _{3',5'} , J=7,75); 7,35 (<i>t</i> , 1H, H _{4'} , J=7,25); 2,51 (<i>t</i> , 4H, H _{2',6'} , J=3,5); 2,28 (<i>b</i> , 4H, H _{3',5'}); 2,14 (<i>s</i> , 3H, -CH ₃) |
| 13 | Id |  | 1658 | 2965 | 1760 | 1710 | 10,74 | 6,53 | 4,89 | 7,61 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=7); 7,39 (<i>t</i> , 2H, H _{3',5'} , J= 7,75); 7,33 (<i>t</i> , 1H, H _{4'} , J=7,25); 6,90 (<i>d</i> , 2H, H _{3',5'} , J=8); 6,75 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=8,5); 6,29 (<i>t</i> , 1H, -NH, J=7,5); 2,13 (<i>s</i> , 3H, -CH ₃) |
| 14 | IIa |  | 1660 | 2965 | 1775 | 1721 | 10,30 | 6,80 | 4,35 | 7,58 (<i>dd</i> , 1H, H _{6'} , J=8;1,5); 7,18 (<i>td</i> , 1H, H _{4'} , J=8,25;1); 6,88 (<i>d</i> , 1H, H _{3'} , J=8,5); 6,84 (<i>t</i> , 1H, H _{5'} , J=7,5); 3,55 (<i>t</i> , 4H, H _{3',5'} , J= 4,5); 2,50 (<i>t</i> , 4H, H _{2',6'} , J=1,5) |
| 15 | IIb |  | 1648 | 2945 | 1765 | 1716 | 10,29 | 6,77 | 4,34 | 7,55 (<i>d</i> , 1H, H _{6'} , J=7); 7,18 (<i>td</i> , 1H, H _{4'} , J=7,75;1,5); 6,88 (<i>d</i> , 1H, H _{3'} , J=7,5); 6,83 (<i>t</i> , 1H, H _{5'} , J=7,5); 2,49 (<i>d</i> , 4H, H _{2',6'} , J=1,5); 1,46 (<i>s</i> , 4H, H _{3',5'}); 1,31 (<i>s</i> , 2H, H _{4'}) |
| 16 | IIc |  | 1667 | 2943 | 1781 | 1727 | 10,31 | 6,66 | 4,34 | 7,55 (<i>dd</i> , 1H, H _{6'} , J=7,75;1,5); 7,17 (<i>td</i> , 1H, H _{4'} , J=7,75;1,5); 6,87 (<i>d</i> , 1H, H _{3'} , J=8); 6,84 (<i>t</i> , 1H, H _{5'} , J=7,5); 2,50 (<i>t</i> , 4H, H _{2',6'} , J=2); 2,31 (<i>s</i> , 4H, H _{3',5'}); 2,14 (<i>s</i> , 3H, -CH ₃) |
| 17 | IIId |  | 1657 | 2954 | 1757 | 1707 | 10,50 | 6,80 | 4,88 | 7,52 (<i>dd</i> , 1H, H _{6'} , J=7,5); 7,16 (<i>td</i> , 1H, H _{4'} , J=7,75;1,5); 6,89 (<i>t</i> , 1H, H _{3'} , J=8); 6,83 (<i>t</i> , 1H, H _{5'} , J=7,5); 6,90 (<i>t</i> , 2H, H _{3',5'} , J=8,5); 6,75 (<i>t</i> , 2H, H _{2',6'} , J=8,5); 6,24 (<i>t</i> , 1H, -NH, J=7); 2,13 (<i>s</i> , 3H, -CH ₃) |
| 18 | IIIa |  | 1655 | 2946 | 1757 | 1711 | 10,6 | 6,48 | 4,34 | 9,85 (<i>s</i> , 1H, OH); 7,51 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=8,5); 6,81 (<i>d</i> , 2H, H _{3',5'} , J =8,5); 3,54 (<i>t</i> , 4H, H _{3',5'} , J=4,5); 2,49 (<i>t</i> , 4H, H _{2',6'} , J=2) |
| 19 | IIIb |  | 1652 | 2935 | 1763 | 1716 | 10,61 | 6,46 | 4,33 | 7,50 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=8,5); 6,80 (<i>d</i> , 2H, H _{3',5'} , J=8,5); 2,49 (<i>t</i> , 4H, H _{2',6'} , J=1,5); 1,45 (<i>t</i> , 4H, H _{3',5'} , J=5); 1,31 (<i>s</i> , 2H, H _{4'}) |
| 20 | IIIc |  | 1653 | 2948 | 1764 | 1712 | 10,35 | 6,47 | 4,34 | 7,51 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=9); 6,81 (<i>d</i> , 2H, H _{3',5'} , J=9); 2,50 (<i>m</i> , 4H, H _{2',6'} , J=2); 2,27 (<i>b</i> , 4H, H _{3',5'}); 2,11 (<i>s</i> , 3H, -CH ₃) |
| 21 | IIId |  | 1653 | 2954 | 1758 | 1705 | 10,53 | 6,48 | 4,89 | 7,49 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=8,5); 6,81 (<i>d</i> , 2H, H _{3',5'} , J=8,5); 6,91 (<i>d</i> , 2H, H _{3',5'} , J=7,5); 6,76 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , J=8,5); 6,28 (<i>t</i> , 1H, -NH, J= 7); 2,14 |




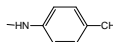

| | | | | | | | | | | |
|----|------------|---|------|------|------|------|-------|------|------|---|
| | | | | | | | | | | (s, 3H, -CH ₃) |
| 22 | IVa |  | 1651 | 2859 | 1755 | 1711 | 10,52 | 6,47 | 4,34 | 7,52 (d, 2H, H _{2',6'} , J=8,5); 6,72 (d, 2H, H _{3',5'} , J=7); 3,54 (t, 4H, H _{3'',5''} , J=4,5); 2,97 (s, 6H, -N(CH ₃) ₂); 2,50 (t, 4H, H _{2'',6''} , J=2) |
| 23 | IVb |  | 1654 | 2931 | 1752 | 1705 | 10,52 | 6,45 | 4,32 | 7,51 (d, 2H, H _{2',6'} , J=9); 6,71 (d, 2H, H _{3',5'} , J=9); 2,96 (s, 6H, -N(CH ₃) ₂); 2,50 (d, 4H, H _{2'',6''} , J=2); 1,45 (b, 4H, H _{3'',5''}); 1,30 (s, 2H, H _{4'}) |
| 24 | IVc |  | 1651 | 2937 | 1757 | 1706 | 10,53 | 6,46 | 4,33 | 7,51 (d, 2H, H _{2',6'} , J=9); 6,72 (d, 2H, H _{3',5'} , J=8,5); 3,28 (s, 4H, H _{2'',6''}); 2,97 (s, 6H, -N(CH ₃) ₂); 2,27 (b, 4H, H _{3'',5''}); 2,11 (s, 3H, -CH ₃) |
| 25 | IVd |  | 1651 | 2915 | 1744 | 1698 | 10,47 | 6,46 | 4,86 | 7,49 (d, 2H, H _{2',6'} , J=9); 6,74 (d, 2H, H _{3',5'} , J=8); 6,89 (d, 2H, H _{3'',5''} , J=8); 6,70 (d, 2H, H _{2'',6''} , J=9); 6,27 (t, 1H, -NH, J=7); 2,95 (s, 6H, -N(CH ₃) ₂); 2,12 (s, 3H, -CH ₃) |
| 26 | Va |  | 1663 | 2957 | 1767 | 1712 | 10,84 | 6,55 | 4,36 | 7,71 (t, 2H, H _{2',6'} , J=8,5, J _{H-F} =5,5); 7,25 (t, 2H, H _{3',5'} , J=9, J _{H-F} =8,5); 3,54 (t, 4H, H _{3'',5''} , J=4,5); 2,50 (t, 4H, H _{2'',6''} , J=1,5) |
| 27 | Vb |  | 1664 | 2940 | 1766 | 1710 | 10,76 | 6,51 | 4,32 | 7,68 (t, 2H, H _{2',6'} , J=9, J _{H-F} =5); 7,23 (t, 2H, H _{3',5'} , J=8,5, J _{H-F} =6,5); 2,47 (t, 4H, H _{2'',6''} , J=1,5); 1,45 (t, 4H, H _{3'',5''} , J=4,5); 1,29 (d, 2H, H _{4'} , J=4,5) |
| 28 | Vc |  | 1664 | 2946 | 1757 | 1717 | 10,80 | 6,54 | 4,36 | 7,70 (t, 2H, H _{2',6'} , J=9,5, J _{H-F} =5,5); 7,24 (t, 2H, H _{3',5'} , J=9,5, J _{H-F} =8,5); 2,50 (t, 4H, H _{2'',6''} , J=1,5); 2,28 (s, 4H, H _{3'',5''}); 2,14 (s, 3H, -CH ₃) |
| 29 | Vd |  | 1662 | 2920 | 1762 | 1720 | 10,76 | 6,53 | 4,87 | 7,65 (m, 2H, H _{2',6'} , J=9,5, J _{H-F} =5,5); 7,21 (t, 2H, H _{3',5'} , J=9, J _{H-F} =8,5); 6,88 (d, 2H, H _{3'',5''} , J=8); 6,73 (d, 2H, H _{2'',6''} , J=8,5); 6,30 (t, 1H, -NH, J=7,5); 2,11 (s, 3H, -CH ₃) |
| 30 | VIa |  | 1656 | 2959 | 1768 | 1718 | 10,96 | 6,66 | 4,36 | 7,74 (dd, 1H, H _{6'} , J=7,5; 2); 7,54 (d, 1H, H _{3'} , J=7,5); 7,38 (td, 2H, H _{4',5'} , J=7,5; 1); 3,54 (d, 4H, H _{3'',5''} , J=4); 2,50 (d, 4H, H _{2'',6''} , J=1,5) |
| 31 | VIb |  | 1656 | 2934 | 1771 | 1721 | 10,92 | 6,64 | 4,34 | 7,73 (dd, 1H, H _{6'} , J=7,5); 7,53 (d, 1H, H _{3'} , J=8); 7,37 (t, 2H, H _{4',5'} , J=8); 2,49 (d, 4H, H _{2'',6''} , J=1,5); 1,46 (d, 4H, H _{3'',5''} , J=5); 1,31 (d, 2H, H _{4'} , J=8) |
| 32 | VIc |  | 1658 | 2951 | 1769 | 1720 | 10,90 | 6,65 | 4,36 | 7,75 (dd, 1H, H _{6'} , J=8); 7,53 (d, 1H, H _{3'} , J=7,5); 7,37 (t, 2H, H _{4',5'} , J=7,5); 2,5 (d, 4H, H _{3'',5''} , J=1,5); 2,28 (b, 4H, H _{2'',6''}); 2,12 (s, 3H, CH ₃) |


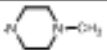



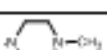
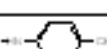

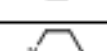
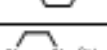
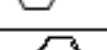

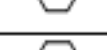

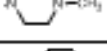

| | | | | | | | | | | |
|----|------------|---|------|------|------|------|-------|------|------|---|
| | |  | 1665 | 2955 | 1775 | 1716 | 11,05 | 6,62 | 4,37 | 8,21 (<i>s</i> , 2H, H _{3',5'} , <i>J</i> =9); 7,90 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , <i>J</i> =8,5); 3,55 (<i>t</i> , 4H, H _{3'',5''} , <i>J</i> =4,5); 2,50 (<i>d</i> , 4H, H _{2'',6''} , <i>J</i> =1,5) |
| 42 | IXb |  | 1665 | 2933 | 1779 | 1714 | 11,00 | 6,57 | 4,35 | 8,20 (<i>s</i> , 2H, H _{3',5'} , <i>J</i> =9); 7,88 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , <i>J</i> =9); 2,50 (<i>t</i> , 4H, H _{2'',6''} , <i>J</i> =1,5); 1,46 (<i>d</i> , 4H, H _{3'',5''} , <i>J</i> =5); 1,31 (<i>d</i> , 2H, H _{4''} , <i>J</i> =4,5) |
| 43 | IXd |  | 1663 | 2860 | 1763 | 1718 | 11,05 | 6,61 | 4,89 | 8,20 (<i>s</i> , 2H, H _{3',5'} , <i>J</i> =8,5); 7,85 (<i>d</i> , 2H, H _{2',6'} , <i>J</i> =8,5); 6,35 (<i>t</i> , 1H, -NH, <i>J</i> =7,5); 6,89 (<i>d</i> , 4H, H _{3'',5''} , <i>J</i> =8); 6,73 (<i>t</i> , 4H, H _{2'',6''} , <i>J</i> =8,5); 2,13 (<i>s</i> , 3H, -CH ₃) |

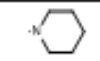
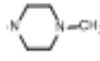

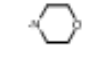

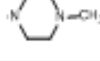

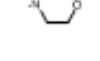
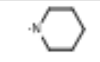


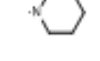

Bảng 3.5: Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các dẫn chất 5-arylidenedantoin (I-IX)

| STT | Ký hiệu chất | R | $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , δ_{ppm}) | | | | |
|-----|--------------|-------------------------------------|---|-----------------------|-----------------------|--------------|--|
| | | | C_6 | $\text{C}_4=\text{O}$ | $\text{C}_2=\text{O}$ | C_5 | Các giá trị khác |
| 1 | I | -H | 108,21 | 165,45 | 155,58 | 127,93 | 132,90 (C-1'); 129,28 (C-2',6'); 128,68 (C-3',5'); 128,28 (C-4') |
| 2 | II | 2'-OH | 103,79 | 165,50 | 155,31 | 127,08 | 155,71 (C-2'); 129,81 (C-4'); 129,35 (C-6'); 120,01 (C-1'); 119,28 (C-5'); 115,43 (C-3'). |
| 3 | III | 4'-OH | 109,25 | 165,57 | 155,50 | 125,36 | 157,95 (C-4'); 131,17 (C-2',6'); 123,83 (C-1'); 115,68 (C-3',5') |
| 4 | IV | 4'-N(CH ₃) ₂ | 110,30 | 165,65 | 155,49 | 123,87 | 150,22 (C-4'); 130,94 (C-2',6'); 120,23 (C-1'); 111,92 (C-3',5'); 39,75 (-N(CH ₃) ₂) |
| 5 | V | 4'-F | 107,15 | 165,45 | 155,56 | 127,74 | 160,79 (C-4'); 131,54 (C-2',6'); 129,54 (C-1'); 115,76 (C-3',5') |
| 6 | VI | 2'-Cl | 102,87 | 165,18 | 155,56 | 129,56 | 133,04 (C-2'); 130,85(C-1'); 130,10 (C-6'); 130,01 (C-3'), 129,73 (C-4'); 127,46 (C-5') |
| 7 | VII | 4'-Cl | 106,80 | 165,42 | 155,66 | 128,49 | 132,78 (C-4'); 131,92 (C-1'); 130,98 (C-2',6'); 128,71 (C-3',5') |
| 8 | VIII | 3'-NO ₂ | 105,50 | 165,20 | 155,77 | 130,05 | 148,20 (C-3'); 135,15 (C-1'); 134,83 (C-6'); 130,18 (C-5'); 123,62 (C-2'); 122,50 (C-4') |
| 9 | IX | 4'-NO ₂ | 105,09 | 165,22 | 155,73 | 130,9 | 146,18 (C-4'); 139,99 (C-1'); 130,07(C-2',6'); 123,67 (C-3',5') |

Bảng 3.6: Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các dẫn chất base Mannich (I(a-d)-IX(a-d))

| STT | Ký hiệu chất | R | NR ₁ R ₂ | $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , δ_{ppm}) | | | | | |
|-----|--------------|-------|---|---|-----------------------|-----------------------|--------------|----------------------|--|
| | | | | C_6 | $\text{C}_4=\text{O}$ | $\text{C}_2=\text{O}$ | C_5 | -NCH ₂ N- | Các giá trị khác |
| 10 | Ia | H |  | 109,51 | 164,98 | 155,69 | 126,36 | 59,79 | 132,71 (C-1'); 129,39 (C-2'6'); 128,68 (C-3',5'); 128,48 (C-4'); 65,94 (C-3'',5''); 50,32 (C-2'',6'') |
| 11 | Ib | H |  | 109,26 | 165,04 | 155,84 | 126,44 | 60,6 | 132,75 (C-1'); 129,34 (C-2'6'); 128,66 (C-3',5'); 128,41 (C-4'); 51,16 (C-2'',6''); 25,35 (C-3'',5''); 23,28 (C-4''). |
| 12 | Ic | H |  | 109,38 | 164,94 | 155,71 | 126,38 | 59,57 | 132,72 (C-1'); 129,36 (C-2'6'); 128,64 (C-3',5'); 128,42 (C-4'); 54,58 (C-3'',5''); 49,78 (C-2'',6''); 45,59 (-CH ₃) |
| 13 | Id | H |  | 109,65 | 164,07 | 155,01 | 126,26 | 47,99 | 143,52 (C-1''); 132,62 (C-1'); 129,38 (C-2'6'); 129,26 (C-3'',5''); 128,66 (C-3',5'); 128,51 (C-4'); 125,73 (C-4''); 112,75 (C-2'',6''); 19,92 (-CH ₃) |
| 14 | IIa | 2'-OH |  | 105,10 | 164,98 | 155,82 | 125,47 | 59,68 | 155,39 (C-2); 130,04 (C-4'); 129,43 (C-6'); 119,81 (C-1'); 119,25 (C-5'); 115,44 (C-3'); 65,94 (C-3'',5''); 40,00 (C-2'',6'') |

| | | | | | | | | | |
|----|-------|-------------------------------------|---|--------|--------|--------|--------|-------|---|
| 15 | IIIb | 2'-OH |  | 104,87 | 165,06 | 155,55 | 125,66 | 60,46 | 155,80 (C-2'); 129,95 (C-4'); 129,41 (C-6'); 119,88 (C-1'); 119,20 (C-5'); 115,45 (C-3'); 51,18 (C-2'',6''); 25,35 (C-3'',5''); 23,29 (C-4'') |
| 16 | IIIc | 2'-OH |  | 105,06 | 165,07 | 155,49 | 125,96 | 59,42 | 155,91 (C-2'); 129,95 (C-4'); 129,52 (C-6'); 119,95 (C-1'); 119,12 (C-5'); 115,56 (C-3'); 54,37 (C-3'',5''); 49,73 (C-2'',6''); 45,49 (-CH ₃) |
| 17 | III d | 2'-OH |  | 105,10 | 164,07 | 154,69 | 125,41 | 47,88 | 155,78 (C-2'); 130,03 (C-4'); 129,38 (C-6'); 119,72 (C-1'); 119,21 (C-5'); 115,43 (C-3'); 143,53 (C-1''); 129,21 (C-3'',5''); 125,68 (C-4''); 112,75 (C-2'',6''); 19,88 (-CH ₃) |
| 18 | IIIa | 4'-OH |  | 110,58 | 165,02 | 155,56 | 123,66 | 59,63 | 158,14 (C-4'); 131,25 (C-2',6''); 123,62 (C-1'); 115,68 (C-3',5''); 65,94 (C-3'',5''); 50,35 (C-2'',6'') |
| 19 | IIIb | 4'-OH |  | 110,37 | 165,13 | 155,75 | 123,77 | 60,45 | 158,12 (C-4'); 131,30 (C-2',6''); 123,69 (C-1'); 115,70 (C-3',5''); 51,21 (C-2'',6''); 25,37 (C-3'',5''); 23,32 (C-4'') |
| 20 | IIIc | 4'-OH |  | 110,48 | 165,01 | 155,60 | 123,69 | 59,42 | 158,13 (C-4'); 131,31 (C-2',6''); 123,63 (C-1'); 115,67 (C-3',5''); 54,43 (C-3'',5''); 49,81 (C-2'',6''); 45,60 (-CH ₃) |
| 21 | III d | 4'-OH |  | 110,72 | 165,17 | 154,93 | 123,57 | 47,85 | 158,19 (C-4'); 131,35 (C-2',6''); 123,01 (C-1'); 115,68 (C-3',5''); 143,57 (C-1''); 129,24 (C-3'',5''); 125,68 (C-4''); 112,77 (C-2'',6''); 19,92 (-CH ₃) |
| 22 | IVa | 4'-N(CH ₃) ₂ |  | 111,63 | 165,07 | 155,54 | 122,06 | 59,56 | 155,54 (C-2); 150,34 (C-4'); 131,11 (C-2',6''); 119,98 (C-1'); 111,85 (C-3',5''); 65,96 (C-3'',5''); 50,39 (C-2'',6''); 39,75 (-N(CH ₃) ₂) |
| 23 | IVb | 4'-N(CH ₃) ₂ |  | 111,43 | 165,20 | 155,74 | 122,21 | 60,39 | 150,33 (C-4'); 131,09 (C-2',6''); 120,06 (C-1'); 111,89 (C-3',5''); 51,27 (C-2'',6''); 39,83 (-N(CH ₃) ₂); 25,43 (C-3'',5''); 23,38 (C-4'') |
| 24 | IVc | 4'-N(CH ₃) ₂ |  | 111,45 | 164,97 | 155,49 | 122,10 | 59,32 | 150,30 (C-4'); 131,01 (C-2',6''); 119,98 (C-1'); 111,82 (C-3',5''); 54,43 (C-3'',5''); 49,83 (C-2'',6''); 45,58 (-CH ₃); 40,00 (-N(CH ₃) ₂) |
| 25 | IV d | 4'-N(CH ₃) ₂ |  | 111,89 | 164,27 | 154,95 | 122,03 | 47,77 | 150,40 (C-4'); 129,34 (C-2',6''); 119,94 (C-1'); 112,80 (C-3',5''); 143,67 (C-1''); 131,17 (C-3'',5''); 125,69 (C-4''); 111,89 (C-2'',6''); 39,83 (-N(CH ₃) ₂); 20,03 (-CH ₃) |
| 26 | Va | 4'-F |  | 108,46 | 164,99 | 155,78 | 126,17 | 59,82 | 160,91 (C-4'); 131,71 (C-2',6''); 129,37 (C-1'); 115,79 (C-3',5''); 65,97 (C-3'',5''); 50,33 (C-2'',6'') |
| 27 | Vb | 4'-F |  | 108,21 | 165,05 | 155,92 | 126,24 | 60,63 | 160,86 (C-4'); 131,65 (C-2',6''); 129,40 (C-1'); 115,77 (C-3',5''); 51,16 (C-2'',6''); 25,38 (C-3'',5''); 23,30 (C-4'') |
| 28 | Vc | 4'-F |  | 108,27 | 164,89 | 155,72 | 126,23 | 59,57 | 160,82 (C-4'); 131,53 (C-2',6''); 129,34 (C-1'); 115,64 (C-3',5''); 54,39 (C-3'',5''); 49,76 (C-2'',6''); 45,56 (-CH ₃) |
| 29 | Vd | 4'-F |  | 108,64 | 164,09 | 155,10 | 126,06 | 47,96 | 160,93 (C-4'); 131,72 (C-2',6''); 129,32 (C-1'); 115,62 (C-3',5''); 143,56 (C-1''); 131,65 (C-3'',5''); 115,80 (C-4''); 112,72 (C-2'',6''); 19,93 (-CH ₃) |
| 30 | VIa | 2'-Cl |  | 104,13 | 164,70 | 155,71 | 128,64 | 59,96 | 133,10 (C-2'); 130,70 (C-1'); 130,16 (C-6'); 129,97 (C-4'); 129,58 (C-3'); 127,50 (C-5'); 65,97 (C-3'',5''); 50,30 (C-2'',6'') |

| | | | | | | | | | |
|----|--------|---------------------------------|---|--------|--------|--------|--------|-------|--|
| 31 | VIIb | 2 ¹ -Cl |  | 103,88 | 164,90 | 155,93 | 128,77 | 60,83 | 133,10 (C-2''); 130,74 (C-1'); 130,14 (C-6'); 129,94 (C-4'), 129,61 (C-3'); 127,52 (C-5'); 51,17 (C-2'',6''); 25,41 (C-3'',5''); 23,32 (C-4'') |
| 32 | VIIc | 2 ¹ -Cl |  | 104,01 | 164,84 | 155,84 | 128,83 | 59,77 | 133,10 (C-2''); 130,76 (C-1'); 130,18 (C-6'); 129,96 (C-4'), 129,61 (C-3'); 128,83 (C-5); 127,52 (C-5'); 59,77 (-N-CH ₂ -N); 54,47 (C-3'',5''); 49,79 (C-2'',6''); 45,67 (CH ₃) |
| 33 | VIIId | 2 ¹ -Cl |  | 104,34 | 163,81 | 155,01 | 128,54 | 48,05 | 133,10 (C-2''); 130,61 (C-1'); 130,14 (C-6'); 130,01 (C-4'), 129,56 (C-3'); 127,48 (C-5'); 143,55 (C-1''); 129,33 (C-3'',5''), 125,72 (C-4''), 112,68 (C-2'',6''), 19,98 (-CH ₃) |
| 34 | VIIa | 4 ¹ -Cl |  | 108,06 | 164,95 | 155,76 | 126,91 | 59,87 | 133,08 (C-4'); 131,73 (C-1'); 131,09 (C-2',6'); 128,70 (C-3',5'), 65,97 (C-3'',5''); 50,31 (C-2'',6'') |
| 35 | VIIb | 4 ¹ -Cl |  | 107,80 | 165,04 | 155,94 | 127,10 | 60,69 | 132,92 (C-2''); 131,80 (C-1'); 131,05 (C-2',6'); 128,70 (C-3',5'); 51,17 (C-2'',6''); 25,39 (C-3'',5''); 23,31 (C-4'') |
| 36 | VIIc | 4 ¹ -Cl |  | 107,93 | 164,95 | 155,82 | 127,01 | 59,66 | 132,94 (C-4'); 131,76 (C-1'); 131,08 (C-2',6'); 128,69 (C-3',5'); 54,45 (C-3'',5''), 49,78 (C-2'',6''); 45,66 (-CH ₃) |
| 37 | VIIId | 4 ¹ -Cl |  | 108,29 | 164,07 | 155,12 | 128,73 | 48,03 | 143,57 (C-1''); 133,08 (C-4'); 131,67 (C-1'); 131,13 (C-2',6'), 129,63 (C-3',5'); 126,85 (C-3'',5''); 125,78 (C-4''); 112,75 (C-2'',6''); 20,02 (CH ₃) |
| 38 | VIIIa | 3 ¹ -NO ₂ |  | 106,74 | 164,77 | 155,89 | 128,67 | 59,95 | 148,17 (C-3'); 135,25 (C-1'); 134,64 (C-6'); 130,03 (C-5'); 123,75 (C-2'); 122,66 (C-4'); 65,96 (C-3'',5''); 59,95 (-N-CH ₂ -N); 50,27 (C-2'',6'') |
| 39 | VIIIb | 3 ¹ -NO ₂ |  | 106,50 | 165,03 | 156,29 | 129,13 | 60,84 | 148,22 (C-3'); 135,29 (C-1'); 134,83 (C-6'); 130,11 (C-5'); 123,74 (C-2'); 122,65 (C-4'); 51,22 (C-2'',6''); 25,45 (C-3'',5''); 23,37 (C-4'') |
| 40 | VIIIId | 3 ¹ -NO ₂ |  | 107,03 | 163,88 | 155,25 | 128,53 | 48,10 | 148,16 (C-3'); 135,30 (C-1'); 134,56 (C-6'); 129,37 (C-5'); 123,79 (C-2'); 122,76 (C-4'); 143,54 (C-1''); 129,37 (C-3'',5''); 125,79 (C-4''); 112,73 (C-2''); 20,01 (-CH ₃) |
| 41 | IXa | 4 ¹ -NO ₂ |  | 105,08 | 164,85 | 155,93 | 130,83 | 60,03 | 146,16 (C-4'); 139,78 (C-1'); 130,06 (C-2',6'); 123,66 (C-3',5'); 65,95 (C-3'',5''); 50,25 (C-2'',6'') |
| 42 | IXb | 4 ¹ -NO ₂ |  | 106,04 | 165,05 | 156,26 | 130,17 | 60,90 | 146,22 (C-4'); 139,96 (C-1'); 130,08 (C-2',6'); 123,68 (C-3',5'); 51,16 (C-2'',6''); 25,43 (C-3'',5''); 23,33 (C-4'') |
| 43 | IXd | 4 ¹ -NO ₂ |  | 106,67 | 163,92 | 155,22 | 130,29 | 48,20 | 146,40 (C-4'); 139,66 (C-1'); 130,11 (C-2',6'); 123,70 (C-3',5'); 143,53 (C-1''); 129,38 (C-3'',5''); 125,84 (C-4''); 112,75 (C-2''); 20,02 (-CH ₃) |

3.3 Thử nghiệm hoạt tính sinh học

3.3.1 Thử tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm

Tại phòng Sinh học thực nghiệm - Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên (Viện Khoa học và công nghệ Việt Nam), 43 chất do chúng tôi tổng hợp đã được thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm theo phương pháp của Vanden Bergher và Vlietlink. Kết quả được trình bày ở bảng 3.7.

Bảng 3.7: Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các chất tổng hợp được

| Chất | Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC): µg/ml | | | | | | | |
|------------------|---------------------------------------|----------------------|-------------------|------------------|------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| | Vi khuẩn Gr(-) | | Vi khuẩn Gr(+) | | Nấm mốc | | Nấm men | |
| | <i>E.coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>B.subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>Asp.niger</i> | <i>F. oxysporum</i> | <i>S.cerevisiae</i> | <i>C. albicans</i> |
| Tetracyclin | 6,875 | (-) | | | | | | |
| Ampicillin | | | 21,8375 | 21,8375 | | | | |
| Nystatin | | | | | 5,78 | 2,89 | 11,56 | 11,56 |
| I±VI | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| I(a-d) ÷ VI(a-d) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VII | (-) | (-) | (-) | 50 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VIIa | (-) | (-) | (-) | 50 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VIIb | (-) | (-) | (-) | 25 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VIIc | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VIIId | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VIII | (-) | (-) | (-) | 50 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VIIIa | (-) | (-) | (-) | 50 | 50 | (-) | (-) | (-) |
| VIIIb | (-) | (-) | (-) | 50 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| VIIIId | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| IX | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| IXa | (-) | (-) | (-) | 50 | (-) | (-) | 50 | (-) |
| IXb | (-) | (-) | 50 | (-) | (-) | (-) | 50 | (-) |
| IXd | (-) | (-) | 50 | (-) | (-) | (-) | 50 | (-) |

3.3.2 Thử tác dụng kháng các dòng tế bào ung thư người

43 chất do chúng tôi tổng hợp đã được thử hoạt tính kháng các dòng tế bào ung thư người theo phương pháp của Skehan P. và Likhivitayawid và cộng sự tại Phòng Sinh học thực nghiệm (Viện KH&CNVN). Kết quả được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8: Kết quả thử hoạt tính kháng các dòng tế bào ung thư người của các chất tổng hợp

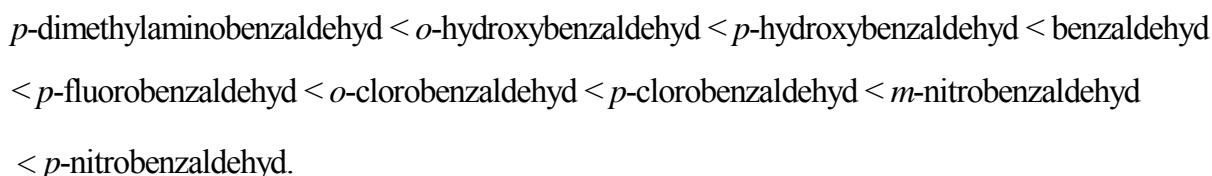
| Chất | Giá trị IC ₅₀ (µg/ml) | | Kết luận | Chất | Giá trị IC ₅₀ (µg/ml) | | Kết luận |
|-----------|----------------------------------|----------------|------------|-----------|----------------------------------|----------------|-------------------|
| | Dòng tế bào Hep-G2 | Dòng tế bào LU | | | Dòng tế bào Hep-G2 | Dòng tế bào LU | |
| DMSO | 0 | 0 | | DMSO | 0 | 0 | |
| Chứng (+) | 0,34 | 0,42 | Dương tính | Chứng (+) | 0,34 | 0,42 | Dương tính |
| I | >5 | >5 | Âm tính | Vb | >5 | >5 | Âm tính |
| Ia | >5 | >5 | Âm tính | Vc | >5 | >5 | Âm tính |
| Ib | >5 | >5 | Âm tính | Vd | >5 | >5 | Âm tính |
| Ic | >5 | >5 | Âm tính | VI | 2,72 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| Id | >5 | >5 | Âm tính | VIa | 4,22 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| II | >5 | >5 | Âm tính | VIb | 4,31 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IIa | >5 | >5 | Âm tính | VIc | >5 | >5 | Âm tính |
| IIb | >5 | >5 | Âm tính | VIđ | >5 | >5 | Âm tính |
| IIc | >5 | >5 | Âm tính | VII | 4,69 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IIđ | >5 | >5 | Âm tính | VIIa | >5 | >5 | Âm tính |
| III | >5 | >5 | Âm tính | VIIb | 1,53 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IIIa | >5 | >5 | Âm tính | VIIc | 0,38 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IIIb | >5 | >5 | Âm tính | VIIđ | 2,89 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IIIc | >5 | >5 | Âm tính | VIII | 5 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IIIđ | >5 | >5 | Âm tính | VIIIa | 4,31 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IV | >5 | >5 | Âm tính | VIIIb | 3,71 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IVa | >5 | >5 | Âm tính | VIIIđ | 1,99 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IVb | >5 | >5 | Âm tính | IX | 3,70 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IVc | >5 | >5 | Âm tính | IXa | 2,77 | >5 | Dương tính 1 dòng |
| IVđ | >5 | >5 | Âm tính | IXb | >5 | >5 | Âm tính |
| V | >5 | >5 | Âm tính | IXđ | >5 | >5 | Âm tính |
| Va | >5 | >5 | Âm tính | | | | |

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

4.1 Về tổng hợp hoá học và xác định cấu trúc các chất tổng hợp được

4.1.1 Về phản ứng tổng hợp các dẫn chất 5-arylidenehydantoin

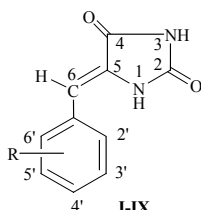
Các dẫn chất 5-arylidenehydantoin được tổng hợp bằng phản ứng ngưng tụ các aldehyd thơm với hydantoin trong dung môi là hỗn hợp nước-ethanol (1:1) với xúc tác là ethanolamin. Các dẫn chất 5-arylidenehydantoin điều chế được đều là các chất rắn có màu trắng, một số chất có màu vàng. Các chất đều có điểm nóng chảy tương đối cao, từ 220÷322⁰C, các chất **III**, **VII**, **IX** phân huỷ ở nhiệt độ nóng chảy. Kết quả được trình bày ở bảng 3.1 cho thấy thời gian phản ứng và hiệu suất phụ thuộc vào nhóm thế của aldehyd thơm. Khả năng phản ứng của các aldehyd thơm tăng theo thứ tự như sau:



Điều này là hợp lý vì nhóm NO₂ là nhóm hút điện tử mạnh do hai hiệu ứng -I và -M (hằng số thế Hammett σ của *m*-NO₂ là 0,71; của *p*-NO₂ là 0,78) nên hiển nhiên làm tăng mật độ điện tích dương trên nguyên tử carbon carbonyl khiến cho phản ứng dễ dàng nhất (thời gian phản ứng 4 giờ, hiệu suất 74,2÷75,4%). Các nguyên tử halogen (F,Cl) có hiệu ứng hút điện tử yếu do hai hiệu ứng -I và +M (hằng số thế Hammett σ của *p*-F là 0,06; của *p*-Cl là 0,23) nên ảnh hưởng của chúng yếu hơn nhóm -NO₂ (5 giờ, 64,4÷70,3%) và mạnh hơn benzaldehyd (6 giờ, 60,3%). Trong khi đó, các nhóm đẩy điện tử (*o*-OH, *p*-OH, *p*-N(CH₃)₂) do hiệu ứng +M (hằng số Hammett σ của *p*-OH là -0,37; của *p*-N(CH₃)₂ là -0,83) làm giảm mật độ điện tích dương trên carbon carbonyl khiến phản ứng chậm và hiệu suất kém hơn cả (7 giờ, 52,6÷57,2%).

4.1.2 Về xác định cấu trúc của các dẫn chất 5-arylidenehydantoin tổng hợp được (**I-IX**).

Cấu trúc của 9 chất (**I-IX**) được xác định bằng phân tích phổ hồng ngoại IR, phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H và ¹³C-NMR kết hợp các kỹ thuật phổ 2D NMR (HSQC, HMBC), phổ khối lượng MS.



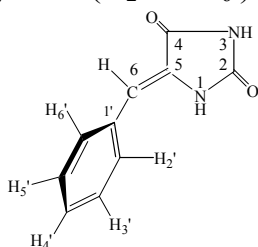
- Phổ IR của các chất **I-IX** xuất hiện dải hấp thụ đặc trưng cho liên kết đôi ethylenic (C₍₅₎=C₍₆₎) nằm trong vùng từ 1666÷1653cm⁻¹. Đây là dải hấp thụ quan trọng cho phép sơ bộ khẳng định sự tạo thành sản phẩm của phản ứng ngưng tụ (xem bảng 3.3). Các dao động hoá trị của liên kết C=C của các chất **I-IX** xuất hiện trong vùng 1666÷1653cm⁻¹ chứng tỏ các chất chúng tôi tổng hợp được là đồng phân Z.

- Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy tín hiệu của proton H-N_1 và H-N_3 (tín hiệu từ, cường độ yếu), độ chuyển dịch hoá học của proton H-N_3 có giá trị từ $11,00 \div 11,40$ ppm, độ chuyển dịch hoá học của proton H-N_1 có giá trị từ $10,20 \div 10,90$ ppm. Proton ethylenic (H-6) có tín hiệu cộng hưởng ở dạng singlet nằm trong vùng từ $6,34 \div 6,69$ ppm. Các nhóm thế trên nhân thơm gây ảnh hưởng làm thay đổi tín hiệu cộng hưởng của các proton trên nhân thơm. Ảnh hưởng của các nhóm thế đối với tín hiệu của các proton trên nhân thơm được trình bày ở bảng 4.1

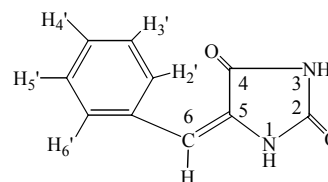
Bảng 4.1: Độ chuyển dịch hoá học của các proton trên nhân thơm của các 5-arylidenedhydantoin tổng hợp được (I-IX)

| Ký hiệu | R | H_2' | H_3' | H_4' | H_5' | H_6' |
|-------------|------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| I | -H | 7,61 | 7,39 | 7,32 | 7,39 | 7,61 |
| II | 2'-OH | | 6,88 | 7,14 | 6,83 | 7,55 |
| III | 4'-OH | 7,48 | 6,81 | | 6,81 | 7,48 |
| IV | 4'-(CH_3) $_2$ N- | 7,48 | 6,70 | | 6,70 | 7,48 |
| V | 4'-F | 7,67 | 7,24 | | 7,24 | 7,67 |
| VI | 2'-Cl | | 7,53 | 7,36 | 7,36 | 7,71 |
| VII | 4'-Cl | 7,64 | 7,45 | | 7,45 | 7,64 |
| VIII | 3'-NO $_2$ | 8,36 | | 8,13 | 7,67 | 8,01 |
| IX | 4'-NO $_2$ | 7,86 | 8,21 | | 8,21 | 7,86 |

Từ phổ $^1\text{H-NMR}$ có thể phân biệt hai đồng phân Z và E bằng cách dựa trên độ chuyển dịch hoá học của proton ethylenic (H-6) và proton ortho phenyl trên phần benzylic (H_2' và H_6')



Đồng phân Z



Đồng phân E

* Do nhóm carbonyl $\text{C}_4=\text{O}$ ở gần proton ethylenic H-6 của dạng đồng phân Z, nên hiệu ứng anisotrop $\text{C}_4=\text{O}$ giảm chắn proton H-6 ở dạng đồng phân Z so với đồng phân E, vì thế proton H-6 của dạng đồng phân Z sẽ cộng hưởng ở trường yếu hơn và có độ chuyển dịch hoá học lớn hơn.. Độ chuyển dịch hoá học của proton ethylenic ở vùng trường thấp (δ_{H} 6,40 – 7,00 ppm) sẽ tương ứng với đồng phân Z, ở vùng trường cao (δ_{H} 6,20 – 6,30 ppm) sẽ tương ứng với đồng phân E. Các chất ngưng tụ (**I-IX**) có độ chuyển dịch hoá học của proton ethylenic từ $6,34 \div 6,83$ ppm tương ứng là đồng phân Z.

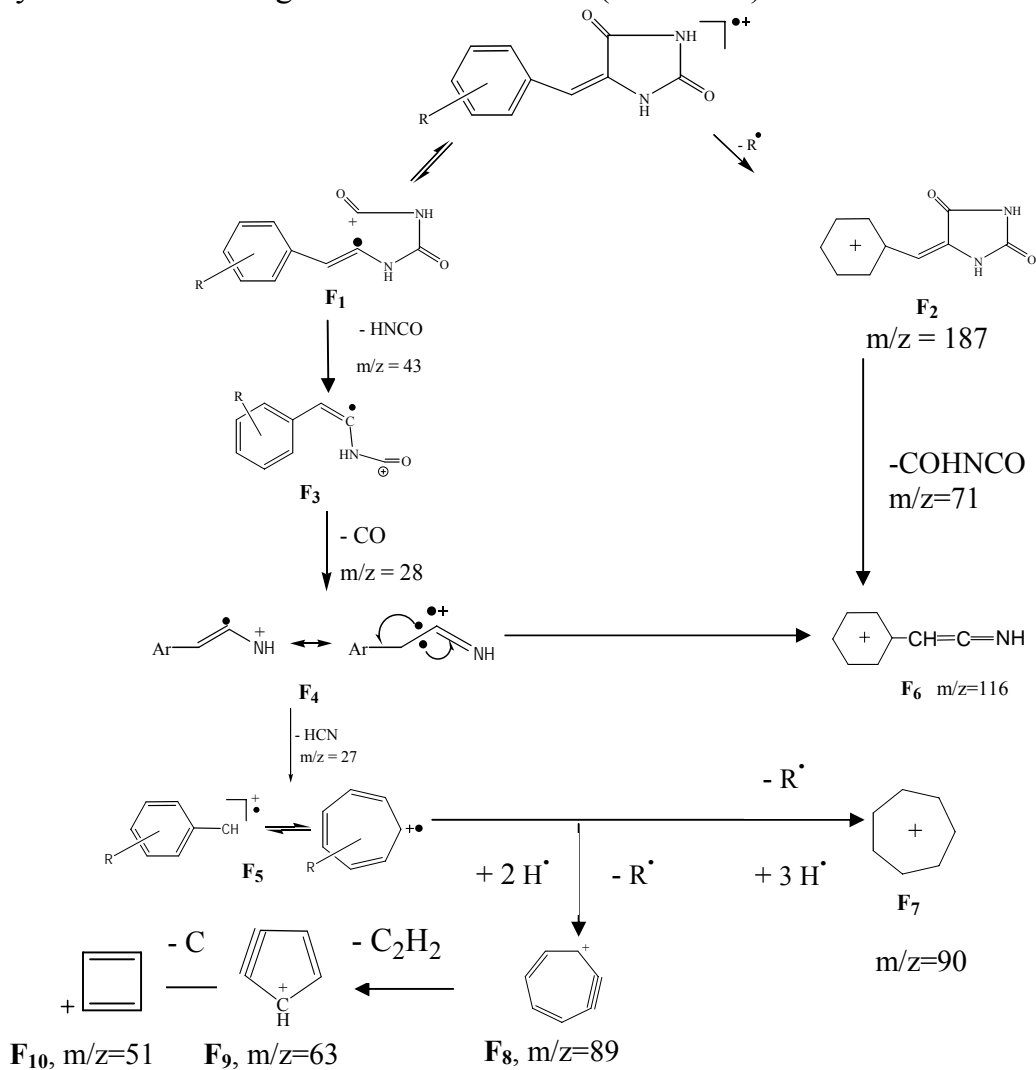
* Các chất ngưng tụ **I, II, V, VI, VII** có độ chuyển dịch hoá học của proton H_o từ $7,55 \div 7,71$ ppm (phù hợp với giá trị 7,52-7,65 ppm của đồng phân Z, trong khi δ_{H_o} của đồng phân E là 7,90-7,98 ppm theo công trình của Tan và cộng sự đối với một số 5-arylidenedhydantoin có nhóm thế -Cl, - CH_3 , - OCH_3 ở vị trí 4'). Chất **III** và chất **IV** ở vị trí 4' có 2 nhóm đẩy điện tử mạnh là *p*-hydroxy và *p*-dimethylamino nên giá trị của

H_o là 7,48 ppm. Chất **VIII**, chất **IX** do có nhóm thế hút điện tử ở vị trí 3' và 4' nên có độ chuyển dịch hoá học của H_o tương ứng là H-2' - 8,36 ppm và H-6' - 8,01 ppm với chất **VIII**, H-2' và H-6' là 7,86 ppm với chất **IX**. Như vậy số liệu độ chuyển dịch hoá học của H_o (H-2', H-6') cho thấy các chất **I-IX** có cấu hình Z.

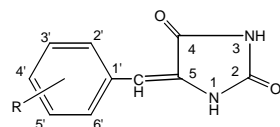
- Xét phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các chất ngưng tụ **I-IX** cho thấy số lượng nguyên tử carbon cũng như độ chuyển dịch hoá học tương ứng phù hợp (xem bảng 3.5). Cấu trúc của các chất còn được xác nhận qua kỹ thuật phổ 2D HSQC, HMBC.

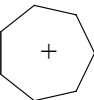
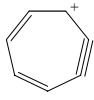
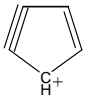
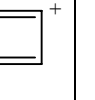
- Để khẳng định thêm cấu trúc của dãy chất ngưng tụ 5-arylidenediantoin chúng tôi tiến hành ghi phổ MS theo phương pháp EI. Trong phổ khối lượng của các hợp chất này nhận thấy xuất hiện pic phân tử có cường độ lớn, số khối của ion phân tử phù hợp với kết quả tính khối lượng phân tử chính xác của các hợp chất này. Ngoài ra, trên phổ đồ còn nhận thấy các pic của các ion mảnh đặc trưng (bảng 4.6) phù hợp với sơ đồ phân mảnh (Hình 4.19).

Sự hình thành các ion mảnh trong phổ MS (EI) của các 5-arylidenediantoin có thể xảy ra theo các hướng chính theo sơ đồ sau (Hình 4.19).



Hình 4.19. Sơ đồ phân mảnh tổng quát chất ngưng tụ

Bảng 4.6 : Số liệu phổ MS các dẫn chất 5-arylidenedantoin tổng hợp được (I-IX)**Công thức cấu tạo chung:****I-IX**

| Số TT | Ký hiệu | M | M ⁺ | F ₁ -R | F ₁ -HNCO | F ₃ -CO | F ₄ -HCN | F ₂ -CONHCO |  |  |  |  | Khác |
|-------|---------|-----|----------------|-------------------|----------------------|--------------------|---------------------|------------------------|---|---|---|---|---|
| | | | F ₁ | F ₂ | F ₃ | F ₄ | F ₅ | F ₆ | F ₇ | F ₈ | F ₉ | F ₁₀ | |
| 1 | I | 188 | 188 | 187 | 144 | 117 | | 116 | 90 | | 63 | 51 | |
| 2 | II | 204 | 204 | 187 | 161 | 133 | 106 | 116 | 90 | | 63 | 51 | |
| 3 | III | 204 | 204 | | 161 | 133 | 106 | | 90 | 89 | 63 | 51 | |
| 4 | IV | 231 | 231 | 187 | 188 | 160 | 132 | 116 | 90 | 89 | 63 | 51 | |
| 5 | V | 206 | 206 | 187 | 163 | 135 | 108 | 116 | | 89 | | | |
| 6 | VI | 222 | 222 224 | 187 | | 151 | 124 | 116 | 90 | 89 | 63 | | |
| 7 | VII | 222 | 222 224 | | 179 | 151 | 123 | 116 | | 89 | 63 | | |
| 8 | VIII | 233 | 233 | 187 | | 162 | | 116 | | 89 | 63 | | F ₁₁ =[M-NO]=203, F _{11'} =[M-NO- CONHCO]=132 |
| 9 | IX | 233 | 233 | 188 | | 162 | | 116 | 90 | 89 | 63 | | F ₁₁ =[M-NO]=203, F _{11'} =[M-NO- CONHCO] |

4.1.3 Về phản ứng tổng hợp các dẫn chất base Mannich của 5-arylidenedhydantoin

Do có 2 nhóm carbonyl hoạt hoá nên H ở -NH imid (N-3) linh động hơn H ở -NH amid (N-1), vì thế phản ứng Mannich ở N-3 dễ dàng hơn ở N-1; mặt khác do nhóm aryliden ở C-5 cản trở không gian nên phản ứng thế aminomethyl vào N-1 gặp khó khăn. Vì thế với các dẫn chất 5-arylidenedhydantoin, phản ứng Mannich chỉ xảy ra ở N-3. Các base Mannich điều chế được đều là các chất rắn, có màu trắng, một số có màu vàng nhạt đến vàng, hồng nhạt đến da cam, có điểm nóng chảy thấp hơn hẳn các arylidenedhydantoin gốc (bảng 3.2). Sự khác biệt này là do các nhóm thế aminomethyl ở N-3 làm cho phân tử cồng kềnh hơn, khó sắp xếp thành mạng lưới tinh thể đều đặn nên điểm nóng chảy thấp hơn so với chất gốc không thế. Thời gian phản ứng phụ thuộc vào các chất amin và vào cấu tạo phân tử arylidenedhydantoin. Đối với mỗi chất arylidenedhydantoin thì thời gian phản ứng tăng theo thứ tự các amin như sau: piperidin < N-methylpiperazin < morpholin < *p*-toluidin. Đối với cùng một chất amin thì thời gian phản ứng tăng theo thứ tự sau của các arylidenedhydantoin:



4.1.4 Về xác định cấu trúc của các base Mannich tổng hợp được

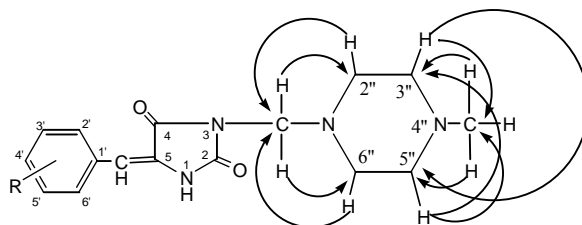
Cấu trúc của các sản phẩm tạo thành được xác định bằng phân tích phổ hồng ngoại IR, phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H và ^{13}C -NMR kết hợp các kỹ thuật phổ 2D NMR (HSQC, HMBC), phổ khối lượng MS. Kết quả được trình bày ở bảng 3.4, bảng 3.6.

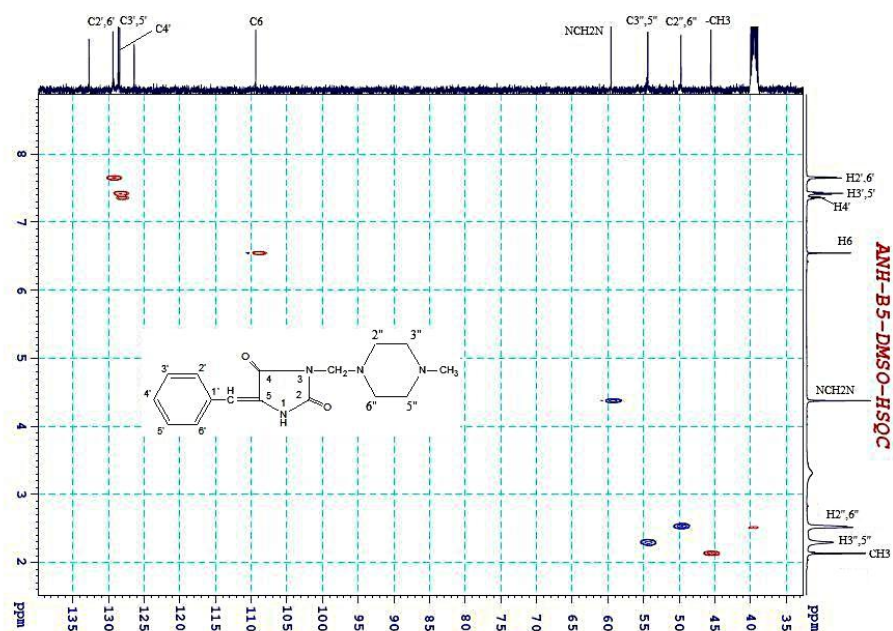
- Phổ IR của các chất **I(a-d)-IX(a-d)** xuất hiện dải hấp thụ đặc trưng cho liên kết đôi ethylenic ($\text{C}_{(5)}=\text{C}_{(6)}$) nằm trong vùng từ $1667\div 1648\text{cm}^{-1}$, số liệu này cho thấy dẫn chất base Mannich tổng hợp được cũng có cấu hình Z. Phổ IR còn cho thấy xuất hiện dải hấp thụ nằm trong vùng từ $2965\div 2846\text{cm}^{-1}$ đặc trưng cho dao động hoá trị của liên kết -CH₂. Số liệu phổ IR nêu trên sơ bộ cho thấy phản ứng Mannich đã xảy ra và đã tổng hợp được các dẫn chất base Mannich như dự kiến (xem bảng 3.4).

- Phổ ^1H -NMR cho thấy có tín hiệu đặc trưng của proton ethylenic có độ chuyển dịch hoá học nằm trong vùng từ $6,39\div 6,80\text{ppm}$, nên có cấu hình là Z, nhóm thế ở N-3 không gây ảnh hưởng làm thay đổi cấu hình của các base Mannich so với các aryliden ban đầu. Độ chuyển dịch hoá học của proton H-N1 có giá trị từ $10,20\div 11,12\text{ppm}$. Có sự xuất hiện của tín hiệu của proton của nhóm $>\text{N}-\text{CH}_2-\text{N}<$, tương ứng với độ chuyển dịch hoá học có giá trị từ $4,32\div 4,90\text{ppm}$.

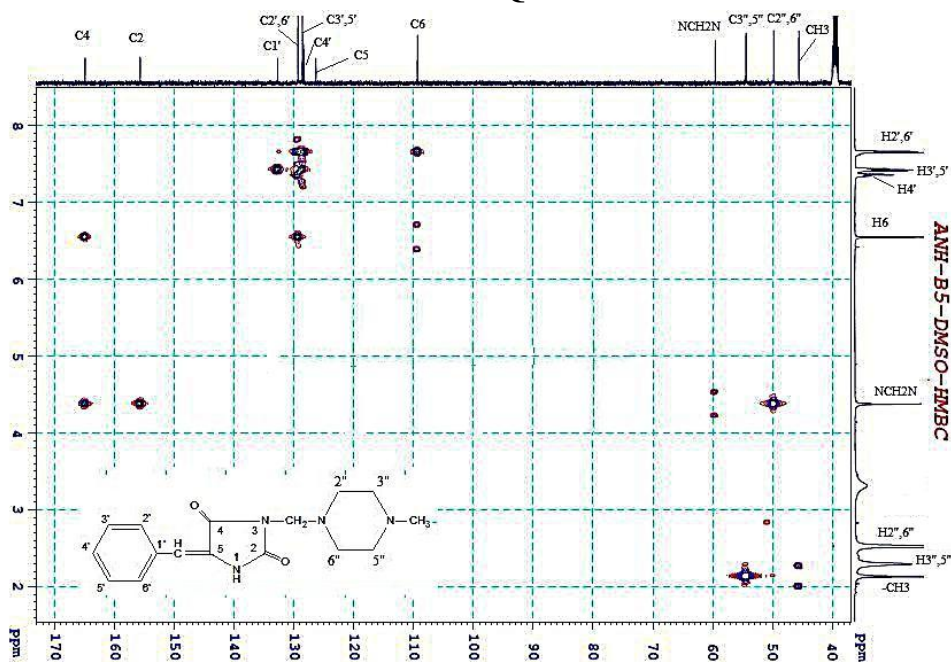
- Xét phổ ^{13}C -NMR của các chất base Mannich **I(a-d)-IX(a-d)** cho thấy số lượng nguyên tử carbon cũng như độ chuyển dịch hoá học tương ứng phù hợp (xem bảng 3.6). Cấu trúc của các chất còn được xác nhận qua kỹ thuật phổ 2D HSQC, HMBC.

Hình 4.30 và 4.31 minh hoạ các tương tác gần và tương tác xa của chất **Ic** (dẫn chất base Mannich từ N-methylpiperazin).





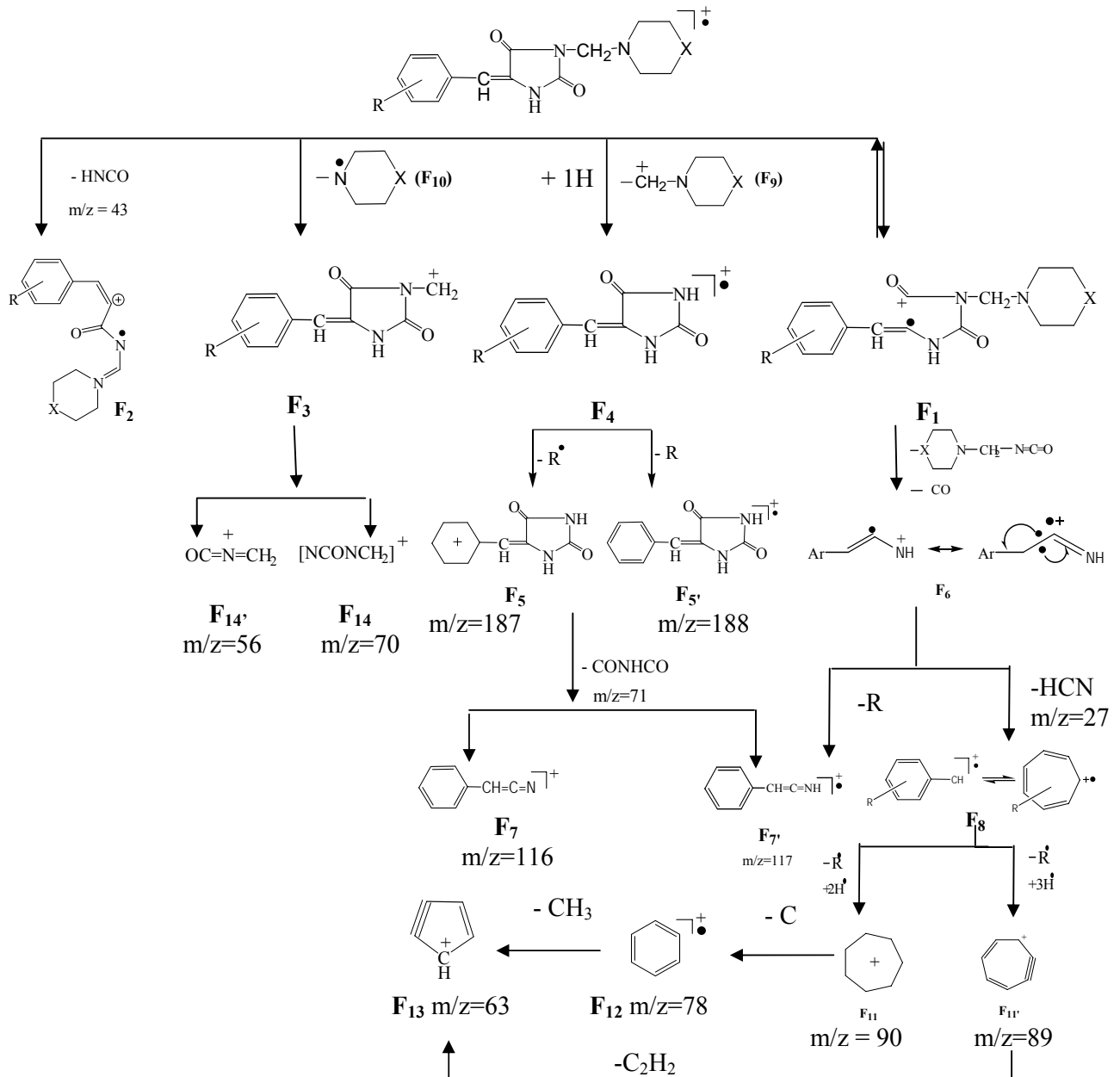
Hình 4.30. Phổ HSQC của chất Ic



Hình 4.31. Phổ HMBC của chất Ic

- Chúng tôi tiến hành ghi phổ MS của các chất base Mannich theo phương pháp EI và LC. 32 chất có xuất hiện pic phân tử có khối lượng ion phân tử phù hợp với khối lượng phân tử dự đoán của chất dự kiến.

Sự hình thành các ion mảnh trong phổ MS (EI) của các base Mannich của các 5 arylidenhydantoin có thể xảy ra theo các hướng chính theo sơ đồ sau (Hình 4.35). Số liệu các pic ion mảnh của một số dẫn chất base Mannich (I(a-d), III(a-d), VII(a-d), VIII(a-d)) được ghi ở bảng 4.11.



Hình 4.35. Sơ đồ phân mảnh tổng quát dẫn chất base Mannich

4.2 Về tác dụng sinh học

4.2.1 Về hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm.

- Trong số 43 chất tổng hợp được có 2 chất (IXb, IXd) có tác dụng với chủng vi khuẩn *B.subtilis* (MIC=50 μ g/ml), 7 chất (VII, VIIa, VIIb, VIII, VIIIa, VIIIb, IXa) có hoạt tính kháng chủng vi khuẩn *S.aureus* (riêng chất VIIb có MIC=25 μ g/ml), 6 chất còn lại có MIC=50 μ g/ml). 1 chất (VIIIa) có hoạt tính kháng nấm *Asp.niger* (MIC=50 μ g/ml), 3 chất (IXa, IXb, IXd) có hoạt tính kháng chủng nấm *S.cerevisiae* (MIC=50 μ g/ml). Cả 43 chất tổng hợp được đều không có hoạt tính kháng 2 chủng vi khuẩn Gram (-) (*E.coli*, *P.aeruginosa*), không có hoạt tính kháng các chủng nấm *F.oxysporum* và *C.albicans*.

- Các nhóm thế hút điện tử (nhóm thế *p*-cloro ở các chất **VII**, **VIIa**, **VIIb**; các nhóm thế -NO₂ (nhóm thế *m*-NO₂) ở các chất **VIII**, **VIIIa**, **VIIIb** và nhóm thế -NO₂ (nhóm thế *p*-NO₂) ở các chất **IXa**, **IXb**, **IXd**) đã góp phần mang lại hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các dẫn chất 5-arylidenedantoin và dẫn chất base Mannich của chúng. Theo chúng tôi, có lẽ các nhóm thế hút điện tử (Cl, NO₂) đã làm phân cực mạnh liên kết đôi C=C của nhóm carbonyl α,β -không no, làm tăng khả năng tham gia phản ứng cộng Michael với các chất ái nhân sinh học (chứa -SH, -NH₂) của vi khuẩn và nấm, do đó gây ra tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm. Ảnh hưởng của các nhóm thế base Mannich chỉ thấy rõ đối với chất **IX**, chất **IX** không có hoạt tính còn 3 chất **IXa**, **IXb**, **IXd** có hoạt tính.

4.2.2 Về hoạt tính kháng tế bào ung thư người.

- Trong số 43 chất tổng hợp được có 13 chất (**VI**, **VIa**, **VIb**, **VII**, **VIIb**, **VIIc**, **VIIId**, **VIII**, **VIIIa**, **VIIIb**, **VIIIId**, **IX**, **IXa**) có hoạt tính kháng tế bào ung thư gan Hep-G2 (IC₅₀=0,38÷5 μ g/ml) trong đó chất có hoạt tính mạnh nhất là chất **VIIc** (IC₅₀=0,38 μ g/ml). Cả 43 chất tổng hợp được đều không có hoạt tính kháng tế bào ung thư phổi LU.

- 4 dẫn chất 5-arylidenedantoin (**VI**, **VII**, **VIII**, **IX**) và 9 dẫn chất base Mannich của chúng (**VIa**, **VIb**, **VIIb**, **VIIc**, **VIIId**, **VIIIa**, **VIIIb**, **VIIIId**, **IXa**) có đặc điểm cấu tạo chung là chứa nhóm thế hút điện tử (Cl, NO₂). Cơ chế tác dụng giả thiết tương tự như đã nêu trên đối với tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm là : các nhóm thế hút điện tử (Cl, NO₂) đã làm phân cực mạnh liên kết đôi C=C của nhóm carbonyl α,β -không no của phân tử thử nghiệm dẫn tới khả năng tham gia phản ứng cộng Michael của chúng với các chất ái nhân sinh học của tế bào ung thư với hệ quả ức chế sự phát triển của tế bào ung thư này. Mặt khác, liên kết đôi liên hợp ngoài vòng còn tạo cho hợp chất có khả năng tác dụng là tương tác với vị trí hoạt động của EGFR (thụ thể của yếu tố tăng trưởng biểu mô). Đó là cơ chế tác dụng kép của dãy chất này.

- Về so sánh tác dụng của dẫn chất base Mannich với các 5-arylidenedantoin gốc, nhận thấy ảnh hưởng của nhóm thế aminomethyl ở N-3 không đồng đều, không có tính qui luật. Để giải thích ảnh hưởng của nhóm thế base Mannich cần xem xét đến các thông số lý hoá như logP và các thông số điện tử và cấu trúc như momen lưỡng cực μ , hằng số lập thể E_s hay khả năng chuyển hoá các base Mannich trở lại chất ban đầu có hoạt tính với vai trò là tiền thuốc (prodrug) như được nêu trong tài liệu của P.K. Larsen [37].

- Các hợp chất khác không có hoạt tính kháng Hep-G2 và LU nhưng có thể có hoạt tính kháng các dòng tế bào ung thư khác

4.2.3 Tính logP của các chất tổng hợp được để đánh giá sơ bộ liên quan giữa hoạt tính sinh học và tính chất lý hoá.

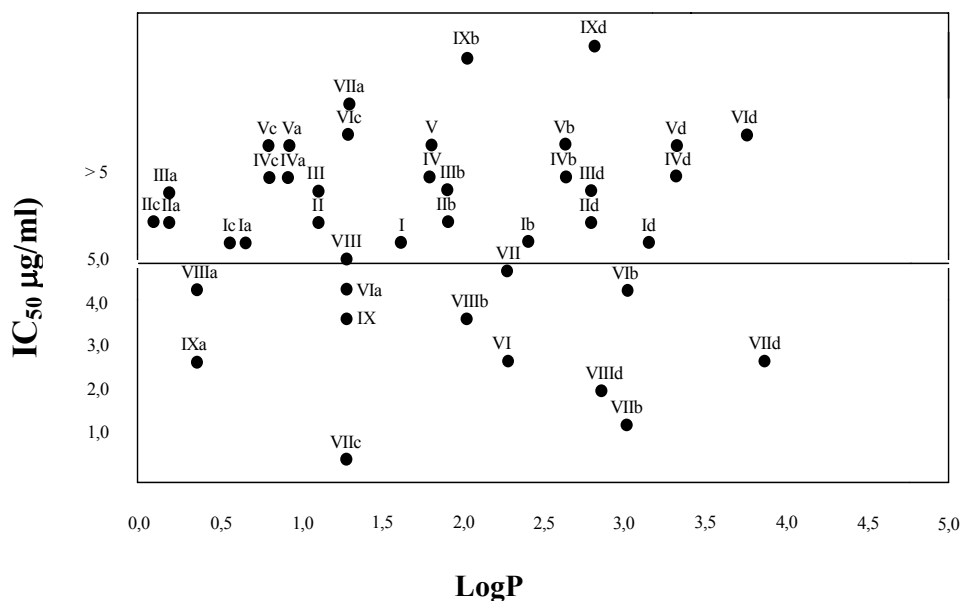
Chúng tôi đã tính logP của 43 chất tổng hợp được bằng cách sử dụng phần mềm ChemSketch để vẽ công thức các chất, sau đó dùng phần mềm KowWin version 1.67 để tính giá trị logP của các chất. Kết quả được ghi ở bảng 4.12. Giá trị logP của 43 dẫn chất hydantoin tổng hợp được đều < 4, giá trị này đáp ứng yêu cầu về giá trị logP

của các phân tử giống thuốc là ≤ 5 theo “qui tắc 5” của Lipinsky.

Chúng tôi trình bày mối liên quan giữa các giá trị logP và IC_{50} ở hình 4.36. Từ hình 4.36 có thể nhận thấy khoảng giá trị logP của 13 dẫn chất hydantoin có hoạt tính kháng dòng tế bào ung thư gan Hep-G2 ($IC_{50} \leq 5 \mu\text{g/ml}$) là $0,36 \div 3,84$ hoàn toàn tương tự với khoảng giá trị logP của 30 dẫn chất hydantoin còn lại không có hoạt tính kháng dòng tế bào ung thư gan Hep-G2 ($IC_{50} > 5 \mu\text{g/ml}$) là $0,17 \div 3,84$. Điều này cho thấy không có mối liên quan rõ ràng giữa giá trị logP và hoạt tính kháng dòng tế bào Hep-G2 của dãy chất nghiên cứu.

Bảng 4.12 : Giá trị logP của các chất tổng hợp được tính bằng phần mềm KowWin.

| Chất | LogP | Chất | LogP | Chất | LogP |
|------|------|------|------|--------|------|
| I | 1,65 | IV | 1,82 | VII | 2,29 |
| Ia | 0,68 | IVa | 0,86 | VIIa | 1,32 |
| Ib | 2,43 | IVb | 2,60 | VIIb | 3,07 |
| Ic | 0,65 | IVc | 0,83 | VIIc | 1,29 |
| Id | 3,2 | IVd | 3,37 | VIIId | 3,84 |
| II | 1,17 | V | 1,85 | VIII | 1,32 |
| IIa | 0,20 | Va | 0,88 | VIIIa | 0,36 |
| IIb | 1,94 | Vb | 2,63 | VIIIb | 2,10 |
| IIc | 0,17 | Vc | 0,85 | VIIIId | 2,87 |
| IId | 2,72 | Vd | 3,40 | IX | 1,32 |
| III | 1,17 | VI | 2,29 | IXa | 0,36 |
| IIIa | 0,20 | VIa | 1,32 | IXb | 2,10 |
| IIIb | 1,94 | VIb | 3,07 | IXd | 2,87 |
| IIIc | 0,17 | VIc | 1,29 | | |
| IIId | 2,72 | VIId | 3,84 | | |



Hình 4.36. Giá trị log P và IC_{50} của các 5-arylidenehydantoin và các dẫn chất base mannich của chúng đối với dòng tế bào ung thư gan Hep-G2

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

1. Kết luận

Từ những kết quả nghiên cứu đã trình bày trên đây, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Đã tổng hợp được 43 dẫn chất của hydantoin, trong đó có 32 chất chưa thấy công bố trong các tài liệu tham khảo được [**I(a-d)**÷**VII(a-d)**, **VIII d**, **IXa**, **IXb**, **IXd**]. Kết quả cụ thể như sau:

- Đã tổng hợp được 9 dẫn chất 5-arylidenedhydantoin (**I-IX**).

- Đã tổng hợp được 34 dẫn chất base Mannich (**I(a-d)**÷**IX(a-d)**) của các chất 5-arylidenedhydantoin (**I-IX**).

+ Tất cả các chất tổng hợp được đều được kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng và đo nhiệt độ nóng chảy. Cấu trúc các chất tổng hợp được xác định bằng phân tích phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ proton (¹H-NMR), phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹³C (¹³C-NMR), phổ 2 chiều (HMBC, HSQC), phổ khối lượng (MS). Kết quả thu được cho phép chúng tôi kết luận các chất tổng hợp được có cấu trúc đúng như dự kiến và đều có cấu hình Z.

2.+ Đã thử tác dụng kháng khuẩn của 43 chất tổng hợp được với 2 chủng vi khuẩn Gram (+) và 2 chủng vi khuẩn Gram (-). Kết quả cho thấy trong số 43 chất tổng hợp được có 2 chất (**IXb**, **IXd**) có tác dụng với chủng vi khuẩn *B.subtilis* (MIC=50µg/ml), 7 chất (**VII**, **VIIa**, **VIIb**, **VIII**, **VIIIa**, **VIIIb**, **IXa**) có hoạt tính kháng chủng vi khuẩn *S.aureus* (riêng chất **VIIb** có MIC=25 µg/ml, 6 chất còn lại có MIC=50µg/ml). Cả 43 chất tổng hợp được đều không có hoạt tính kháng 2 chủng vi khuẩn Gram (-) (*E.coli*, *P.aeruginosa*)

+ Đã thử tác dụng kháng nấm của 43 chất tổng hợp được với 2 chủng nấm mốc, 2 chủng nấm men. Kết quả cho thấy trong số 43 chất có 1 chất (**VIIIa**) có hoạt tính kháng nấm *Asp.niger* (MIC=50µg/ml), 3 chất (**IXa**, **IXb**, **IXd**) có hoạt tính kháng chủng nấm *S.cerevisiae* (MIC=50µg/ml). Cả 43 chất tổng hợp được đều không có hoạt tính kháng các chủng nấm *F.oxysporum* và *C.albicans*.

+ Đã thử hoạt tính kháng tế bào ung thư của 43 chất tổng hợp được đối với 2 dòng tế bào ung thư người là tế bào ung thư gan Hep-G2 và tế bào ung thư phổi LU. Kết quả cho thấy trong số 43 chất tổng hợp được có 13 chất (**VI**, **VIa**, **VIb**, **VII**, **VIIb**, **VIIc**, **VII d**, **VIII**, **VIIIa**, **VIIIb**, **VIII d**, **IX**, **IXa**) có hoạt tính kháng tế bào ung thư người Hep-G2 (IC₅₀=0,38÷5µg/ml) trong đó chất có hoạt tính mạnh nhất là chất **VIIc** (IC₅₀=0,38 µg/ml). Cả 43 chất tổng hợp được đều không có hoạt tính kháng tế bào ung thư phổi LU. Kết quả về hoạt tính kháng tế bào ung thư gan Hep-G2 của dãy chất này là rất đáng quan tâm.

2. Đề xuất

Từ các kết quả nghiên cứu trên đây, chúng tôi có những đề xuất sau:

- Tiến hành xác định độc tính cấp và tác dụng chống khối u ở động vật thí nghiệm đối với các chất có hoạt tính kháng tế bào ung thư mạnh để hướng tới việc tìm kiếm thuốc chống ung thư.

- Tiếp tục thử nghiệm hoạt tính kháng tế bào ung thư của các chất tổng hợp được trên các dòng tế bào ung thư khác.

- Tiếp tục tổng hợp và sàng lọc hoạt tính sinh học của các dẫn chất hydantoin nhằm tìm kiếm các chất có triển vọng trong dãy chất này.