

Tổng hợp và đánh giá hoạt tính sinh học các dẫn xuất Oxazoline từ các dẫn xuất của (S)-(+)-2-Phenylglycinol

Lê Thị Loan Chi^{1*}, Trần Thị Phương Ngọc¹, Nguyễn Hoài Bảo Châu¹, Iwasa Seiji²

(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Trường Đại học Kỹ thuật Toyohashi

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Hợp chất chứa nhân dị vòng xuất hiện trong phần lớn cấu trúc của các dược chất trên thị trường cùng sự linh hoạt và tính chất hóa lý độc đáo, chúng có thể trở thành nền tảng thực sự của hóa dược trong tương lai. Tổng hợp chất mới và đánh giá hoạt tính sinh học của các dẫn chất oxazoline được các nhà khoa học quan tâm. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Thực hiện các quy trình tổng hợp các dẫn chất oxazoline từ các dẫn chất (S)-(+)-2-Phenylglycinol và dẫn chất benzoyl chloride. Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá trên mô hình trung hoà DPPH và hoạt tính kháng khuẩn *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. **Kết quả nghiên cứu:** Hiệu suất cho cả quá trình tổng hợp với 12 chất là 83,2 - 94,5%; các chất này không thể hiện hoạt tính chống oxy hoá và hoạt tính kháng khuẩn *E.coli*; một số dẫn chất thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *S.aureus* và *B.pumilus*, trong đó dẫn chất D₂ thể hiện hoạt tính kháng *S.aureus* với giá trị MIC trong khoảng 31,25 - 62,5 µg/mL và hoạt tính kháng *B.pumilus* với giá trị MIC thấp nhất là 62,5 µg/mL. **Kết luận:** Tổng hợp được 12 các dẫn xuất oxazoline và chỉ một số dẫn chất thể hiện hoạt tính kháng *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*.

Từ khóa: dẫn xuất oxazole, tổng hợp, kháng khuẩn, chống oxy hoá.

Study on the synthesis and evaluation of biological activity of Oxazoline compounds from (S)-(+)-2-Phenylglycinol derivatives

Le Thi Loan Chi^{1*}, Tran Thi Phuong Ngoc¹, Nguyen Hoai Bao Chau¹, Iwasa Seiji²

(1) Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Toyohashi University of Technology

Abstract

Introductions: The heterocyclic ring is a common component of most pharmaceuticals on the market, and due to their unique physicochemical properties, they may serve as a platform for pharmaceutical chemistry in the future. The synthesis of new compounds and the evaluation of the biological activity of oxazoline derivatives have attracted the attention of scientists. **Materials and method:** The process of synthesizing oxazoline derivatives from (S)-(+)-2-phenylglycinol and benzoyl chloride is carried out. Evaluation of antioxidant activity on DPPH neutralization model and antibacterial activity against *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. **Results:** The efficiency for the entire process synthesis of 12 oxazoline derivatives are 83.2 - 94.5%; they do not exhibit antioxidant activity, and antibacterial activity against *E.coli*. Among these derivatives, D₂ demonstrates activity against *S.aureus* with MIC values ranging from 31.25 - 62.5 µg/mL and activity against *B.pumilus* with the lowest MIC value of 62.5 µg/mL. **Conclusion:** 12 oxazole derivatives were synthesized and a few derivatives exhibit antibacterial activity against *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*.

Keywords: oxazoline derivatives, synthesis, antioxidant, antibacterial activity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vòng oxazoline trong các hợp chất oxazole là thành phần xuất hiện trong nhiều hợp chất từ thiên nhiên, có hoạt tính sinh học tiềm năng cũng như vai trò quan trọng trong tổng hợp nhiều dược chất. Oxazoline là các hợp chất dị vòng năm cạnh, chứa một nguyên tử Nitơ, một nguyên tử Oxy và có một liên kết

đôi. Liên kết đôi có thể nằm ở một trong ba vị trí trong vòng, do đó có ba dạng vòng oxazoline khác nhau. Trong đó, cấu trúc 2-oxazoline là phổ biến nhất, còn 3-oxazolines và 4-oxazolines chỉ tồn tại chủ yếu như các hợp chất nghiên cứu trong phòng thí nghiệm [1].

Hợp chất chứa nhân dị vòng oxazoline xuất hiện trong phần lớn cấu trúc của các dược chất trên thị

Tác giả liên hệ: Lê Thị Loan Chi, email: ltlchi@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 29/03/2024; Ngày đồng ý đăng: 6/05/2024; Ngày xuất bản: 10/6/2024

trường cùng sự linh hoạt và tính chất hóa lí độc đáo, chúng có thể trở thành nền tảng thực sự của hóa dược trong tương lai. Nghiên cứu các đặc tính hóa học và sinh học của các hợp chất dị vòng vẫn luôn rất thu hút rất nhiều nhà nghiên cứu trong thời gian qua và oxazoline là một trong những hợp chất như vậy do tầm quan trọng ngày càng tăng của nó trong lĩnh vực hóa dược. Mô hình thay thế trong các dẫn xuất oxazoline đóng vai trò then chốt trong việc mô tả các hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, chống ung thư, chống lao, chống viêm nhiễm, trị đái tháo đường, chống béo phì và chống oxy hóa... Oxazoline và các dẫn xuất của nó là một phần của một số hợp chất thuốc bao gồm aleglitazar - thuốc trị đái tháo đường, ditazole - chất ức chế kết tập tiểu cầu, mubritinib - chất ức chế tyrosine kinase và oxaprozin... Chính vì vậy, đề tài được thực hiện nhằm hy vọng cung cấp thêm các dẫn xuất oxazoline có các hoạt tính sinh học chưa từng được công bố trước đây [2].

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các dẫn chất oxazoline.

2.2. Nguyên liệu và thiết bị

Nguyên liệu: (S)-(+)-2-phenylglycinol; (S)-(+)-

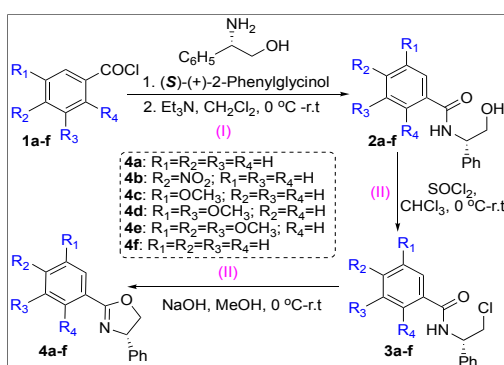
2-amino-3,3-dimethylbutanol; (S)-(+)-2-amino-3,3-trimethylbutanol; triethylamine Et_3N , thionyl chloride SOCl_2 và các dung môi sử dụng cho quy trình tổng hợp được cung cấp từ các công ty hoá chất Merck, TCI, Sigma-Aldrich, Trung Quốc và được sử dụng trực tiếp mà không qua tinh chế.

Thiết bị: bản mỏng tráng sẵn silicagel GF₂₅₄ của Merck với độ dày lớp 0,2 mm; Phổ $^1\text{H-NMR}$ được đo trên máy quang phổ JEOL JNM-ECX500, máy quang phổ UV-VIS Shimadzu V630, Japan.

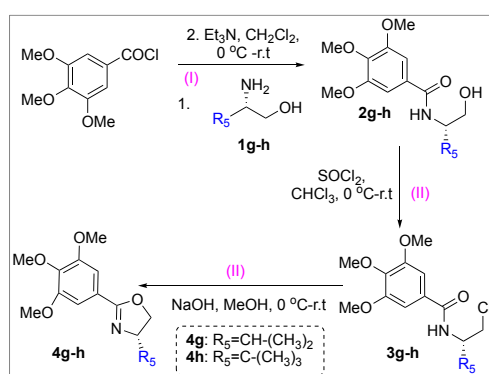
2.3 Phương pháp nghiên cứu

a) Tổng hợp các dẫn xuất:

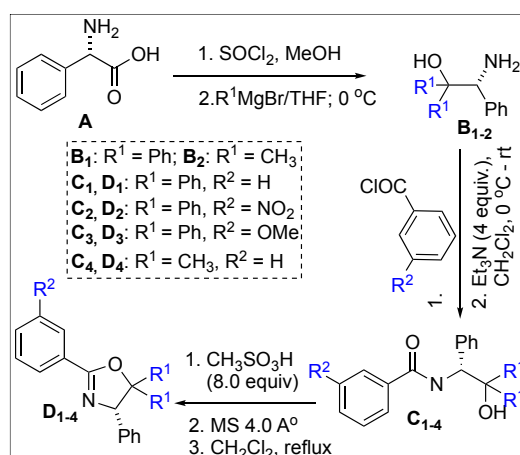
Từ các nguyên liệu ban đầu là các dẫn xuất của benzoyl chloride, (S)-alkylglycinol sẽ được tiến hành các phản ứng cộng hợp, thay thế và vòng hoá tạo thành các dẫn xuất oxazole theo các chuỗi phản ứng tương ứng của Hình 1a-c. Sản phẩm tổng hợp được tinh chế trong dung môi thích hợp hoặc bằng sắc ký cột. Vì các dẫn chất này là các hợp chất trung gian trong quá trình tổng hợp các xúc tác Ru(II)-Pheox và đã được công bố trên các tài liệu [3,4,5] nên các dẫn chất được tổng hợp lại trong bài báo này chỉ được xác định lại cấu trúc bằng một số thông số vật lý bao gồm so sánh sắc ký bản mỏng, so sánh cấu trúc phổ $^1\text{H-NMR}$.



Hình 1a. Quy trình tổng hợp các dẫn xuất oxazoline từ các dẫn xuất của Benzoyl Chloride và (S)-(+)-2-Phenylglycinol [3]



Hình 1b. Quy trình tổng hợp các dẫn xuất oxazoline từ các dẫn xuất (S)-(+)-2-Phenylglycinol của 3,4,5-trimethoxybenzoyl chloride Chloride [4]



Hình 1c. Quy trình tổng hợp các dẫn xuất oxazoline từ aminophenylacetic acid và các dẫn xuất (S)-(+)-2-Phenylglycinol [5,6]

Từ quy trình Hình 1a và 1b, các dẫn xuất của Benzoyl chloride **1a-g** (3,0 mmol) trong CH_2Cl_2 (4 mL) được thêm từ từ vào hỗn hợp (S)-(+)-2-phenylglycinol (3,3 mmol) và Et_3N (12 mmol) trong CH_2Cl_2 (5 mL) ở 0 °C. Sử dụng sắc ký lớp mỏng (SKLM), xác định được phản ứng kết thúc hoàn toàn sau khi khuấy từ 4-12 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất chân không bằng máy cô quay, và được hòa tan trong CHCl_3 (20 mL) và thêm từ từ SOCl_2 (1,10 mL; 15,0 mmol) ở 0 °C. Phản ứng kết thúc hoàn toàn sau khi khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng, dung môi và SOCl_2 dư được loại bỏ bởi NaHCO_3 bão hòa được thêm vào bằng cách khuấy trong 5 phút. Sản phẩm được chiết bằng CH_2Cl_2 (3 x 25 mL), làm khô bởi Na_2SO_4 khan và cô đặc dưới áp suất chân không bởi máy cô quay để thu được sản phẩm. Sản phẩm của giai đoạn này được hòa tan trong MeOH (12 mL) và NaOH 2,5N (600,0 mg; 15,0 mmol) bằng cách thêm vào từ từ ở 0 °C, sau đó hỗn hợp phản ứng được tiếp tục khuấy ở nhiệt độ phòng. Phản ứng kết thúc hoàn toàn sau 12 giờ. Thêm nước (25 mL) và CH_2Cl_2 (3 x 25 mL) để chiết. Hỗn hợp hữu cơ thu được được làm bay hơi bởi máy cô quay để đạt sản phẩm **4a-g** thô. Sử dụng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi Hexane:Ethyl acetate để thu được sản phẩm **4a-g** tinh khiết [3-4].

Từ quy trình Hình 1c; (S)-Diphenylphenylglycinol **B₁** được tổng hợp theo phản ứng sử dụng tác nhân Grignard đã được công bố [5,6]. Cho lần lượt hỗn hợp chứa (S)-diphenylphenylglycinol **B₁** (954,9 mg, 3,3 mmol, 1,1 đương lượng) và dung dịch chứa benzoyl chloride (421,7 mg, 3,0 mmol, 1,0 đương lượng) trong CH_2Cl_2 (20 mL) vào bình cầu, Et_3N (1,70 mL, 12,0 mmol, 4,0 đương lượng) được thêm từng giọt

và khuấy liên tục ở 0 °C. Sau khi khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được bay hơi dưới áp suất chân không. Dung dịch NaHCO_3 (bão hòa) (30 mL) được thêm vào phần còn lại và khuấy trong 5 phút. Chiết sản phẩm hữu cơ bằng CH_2Cl_2 (3 x 25 mL), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, và cô dưới áp suất chân không để thu được sản phẩm thô mong muốn **C₁**. Tinh chế **C₁** bằng sắc ký cột silica gel với Hex/EtOAc (6/1 (v/v)) để thu được **C₁** tinh khiết (1074,3 mg, hiệu suất 91%).

Cho lần lượt hỗn hợp hỗn hợp chứa **C₁** (1967,4 mg, 5,0 mmol, 1,0 đương lượng) và methansulfonic acid (40,0 mmol, 2,7 mL, 8,0 đương lượng) trong CH_2Cl_2 (30 mL), sàng phân tử 4,0 Å (3,0 g) vào bình cầu và cho hồi lưu trong 20h. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với CH_2Cl_2 (20 mL), rửa bằng dung dịch NaHCO_3 (40 mL) và nước muối bão hòa. Sau chiết thu được hệ dung môi hữu cơ, làm khô lớp hữu cơ trên bằng Na_2SO_4 khan. Làm bay hơi dung môi trong chân không để thu được (S)-2,4,5,5-tetraphenyl-4,5-dihydrooxazol **D₁** thô. Tinh chế **D₁** bằng sắc ký cột silica gel với Hex/EtOAc (4/1 (v/v)) để thu được **D₁**.

Thực hiện quy trình tương tự trên, thu được **D₂**, **D₃**, **D₄**.

b) Thử hoạt tính sinh học:

Thử hoạt tính chống oxy hoá trên mô hình trung hoà 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) [7]:

Nguyên tắc: hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá bằng cách đo hoạt tính trung hòa gốc tự do thông qua phản ứng mất màu tím của dung dịch DPPH trong methanol.

Tiến hành: chuẩn bị hỗn hợp phản ứng gồm: Trộn mẫu thử và DPPH gồm các loại mẫu với dãy thí

nghiệm: 10 µl mẫu +190 µl DPPH trong methanol để thu được dãy nồng độ: 500; 250; 125; 72,5; 36,25; 18,125; 9,063; 4,53 µg/ml; dãy mẫu trắng (Blank): 10 µl mẫu + 190 µl methanol. Mẫu đối chứng âm tính: 10 µl DMSO 10% +190 µl DPPH trong methanol. Mẫu đối chứng dương tính: 10 µl Quercetin + 190 µl DPPH trong ethanol; để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm. Mỗi thí nghiệm tiến hành 3 lần để tính giá trị trung bình.

Khả năng trung hoà gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$\% \text{ trung hòa DPPH} = \frac{[(\text{ACT} - \text{ASP})/\text{ACT}] \times 100}{}$$

Trong đó:

ACT: độ hấp thụ quang học của mẫu chứng gồm có DPPH và MeOH.

ASP: độ hấp thụ quang học của mẫu thử gồm có DPPH và dịch chiết.

Kết quả báo cáo bởi phần trăm khả năng trung hòa gốc tự do DPPH.

IC₅₀ được xác định là nồng độ tối thiểu của dịch chiết trung hòa được 50% lượng DPPH và được tính dựa vào đường tuyến tính giữa nồng độ của dịch chiết và % DPPH bị trung hòa.

Thử hoạt tính kháng khuẩn :

Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định nhằm đánh giá mức độ kháng khuẩn mạnh yếu của các mẫu thử thông qua độ đục của môi trường nuôi cấy [8]. Các giá trị thể hiện hoạt tính là IC₅₀ (50% Inhibitor Concentration- nồng độ ức chế 50%), MIC (Minimum Inhibitor Concentration - nồng độ tối thiểu ức chế). Các chủng vi sinh vật kiểm định bao gồm những vi khuẩn như: *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Môi trường nuôi cấy: MHB (Mueller-Hinton Broth) cho vi khuẩn. Mẫu chứng là doxycycline.

Cách tiến hành:

Pha loãng mẫu thử: mẫu ban đầu được pha loãng 2 bước trong DMSO 100% và nước cất tiệt trùng thành một dãy 4 - 10 nồng độ. Nồng độ thử cao nhất trong thử nghiệm là 256 µg/ml với dịch chiết và 128 µg/ml chất tinh khiết. Trường hợp đặc biệt thì pha mẫu theo yêu cầu. Thử hoạt tính: trước khi thí nghiệm, vi sinh vật kiểm định được hoạt hóa bằng môi trường nuôi cấy sao cho nồng độ vi khuẩn đạt 5 x 10⁵ CFU/ml. Lấy 10 µl dung dịch mẫu thử ở các nồng độ vào đĩa 96 giếng, thêm 190 µl dung dịch vi khuẩn và nấm đã được hoạt hóa ở trên, ủ ở 37°C/16 - 24h. Xử lý kết quả: giá trị MIC được xác định tại giếng có nồng độ chất thử thấp nhất ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật.

3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả tổng hợp

(S)-2,4-diphenyl-4,5-dihydrooxazole 4a sản phẩm dạng lỏng, không màu, hiệu suất 86,5%. Phổ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4,28 (dd, J = 8,2; 8,2 Hz; 1H), 4,80 (dd, J = 8,2; 10,1 Hz; 1H), 5,39 (dd, J = 8,2; 10,1 Hz; 1H), 7,27 - 7,55 (m; 8H); 8,03 - 8,08 (m, 2H).

(S)-2-(4-nitrophenyl)-4-phenyl-4,5-dihydrooxazole 4b sản phẩm dạng rắn, màu vàng, hiệu suất 82,3%. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4,37 (t; J = 8,41 Hz; 1H), 4,88 (dd; J = 8,41 Hz; J = 10,32 Hz; 1H) 5,45 (dd, J = 8,41 Hz, J = 10,32 Hz, 1H), 7,28 - 7,38 (m, 5H), 8,23 (d, J = 8,68 Hz, 2H), 8,30 (d; J = 8,68 Hz; 2H).

(S)-2-(3-methoxyphenyl)-4-phenyl-4,5-dihydrooxazole 4c sản phẩm dạng rắn, màu trắng, hiệu suất 89,1%. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3,85 (s, 3H); 4,27 (t; J = 8,41 Hz; 1H), 4,79 (dd; J = 8,41 Hz; J = 10,13 Hz; 1H), 5,38 (dd; J = 8,03 Hz; J = 9,94 Hz; 1H); 7,06 (dd; J = 2,68 Hz; J = 8,22 Hz; 1H); 7,25 - 7,37 (m, 6H); 7,58 (s, 1H); 7,62 (d; J = 7,64 Hz; 1H).

(S)-2-(3,5-dimethoxyphenyl)-4-phenyl-4,5-dihydrooxazole 4d sản phẩm dạng rắn, màu trắng, hiệu suất 91,0%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3,83 (s, 6H); 4,27 (dd; J = 8,24; 1H); 4,79 (dd; J = 8,24, J = 10,22; 1H); 5,38 (dd; J = 8,24; J = 10,07; 1H); 6,61 (t; J = 2,35; 1H); 7,20 (d; J = 2,44, 2H); 7,28 - 7,41 (m, 5H).

(S)-4-phenyl-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4,5-dihydrooxazole 4e sản phẩm dạng rắn, màu trắng, hiệu suất 91,0%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3,9 (s, 9H), 4,26 (t; J = 8,41 Hz; 1H); 4,78 (dd; J = 8,41 Hz, J = 10,32 Hz; 1H), 5,37 (dd; J = 8,03 Hz; J = 10,32 Hz; 1H), 7,26 - 7,33 (m, 2H), 7,33 - 7,38 (m, 5H).

(S)-4-phenyl-2-(2,3,4,5-tetrafluorophenyl)-4,5-dihydrooxazole 4f sản phẩm dạng rắn, màu trắng, hiệu suất 94,5%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4,30 (t; J = 8,41 Hz; 1H); 4,82 (dd; J = 8,41 Hz; J = 10,13 Hz; 1H); 5,43 (dd; J = 8,41 Hz; J = 10,13 Hz; 1H), 7,26 - 7,40 (m, 5H).

(S)-4-isopropyl-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4,5-dihydrooxazole 4g sản phẩm dạng rắn, màu trắng, hiệu suất 92%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0,93 (d; J = 6,71; 3H), δ 1,03 (d, J = 6,71, 3H), 1,88 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,91 (s, 6H), 4,13 (m, 2H), 4,40 (m, 1H), 7,21 (s, 1H).

(S)-4-(tert-butyl)-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4,5-dihydrooxazole 4h sản phẩm dạng rắn, màu trắng, hiệu suất 88%. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 0,94 (s, 9H), 3,87 (s, 3H), 3,90 (s, 6H), 4,02 (dd; J = 7,26 Hz; J = 10,13 Hz; 1H), 4,23 (dd; J = 7,64 Hz, J = 8,41 Hz, 1H), 4,32 (dd; J = 8,41 Hz, J = 9,94 Hz, 1H), 7,20 (s, 2H).

(S)-2,4,5,5-tetraphenyl-4,5-dihydrooxazole D₁ là chất rắn màu

vàng, hiệu suất 85%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,24 (d; J = 7,26 Hz; 2H), 7,73 (t; J = 8,41 Hz; 2H), 7,53 (t; J = 7,26 Hz; 1H), 7,48 (t; J = 7,26 Hz; 2H), 7,38 (t; J = 8,79 Hz; 2H), 7,32 (t; J = 7,26 Hz; 1H), 6,90 - 7,04 (m, 10H), 6,13 (s, 1H).

(S)-2-(3-nitrophenyl)-4,5,5-triphenyl-4,5-dihydrooxazole D₂ là chất rắn màu vàng (hiệu suất 92%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,03 (d; J = 1,91 Hz; 1H), 8,54 (d; J = 7,64 Hz; 1H), 8,41 (d; J = 8,41 Hz; 1H), 7,68 - 7,73 (m, 3H), 7,44 (t; J = 7,64 Hz; 2H), 7,36 (t; J = 7,64 Hz; 1H), 7,06 - 7,10 (m, 3H), 6,97 - 7,03 (m, 7H), 6,20 (s, 1H).

(S)-2-(3-methoxyphenyl)-4,5,5-triphenyl-4,5-dihydrooxazole D₃ là chất rắn màu vàng (hiệu suất 94%): ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,83 (d; J = 7,64 Hz; 1H), 7,72 - 7,75 (m, 3H), 7,48 (t; J = 8,03 Hz; 3H), 7,33 (t; J = 7,26 Hz; 1H), 6,97 - 7,14 (m, 11H), 6,13 (s, 1H), 3,88 (s, 3H).

(S)-5,5-dimethyl-2,4-diphenyl-4,5-dihydrooxazole D₄ là chất rắn màu trắng (hiệu suất 95%): ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,06 (d, J = 8,24 Hz, 2H), 7,40 - 7,52 (m, 3H), 7,23 - 7,35 (m, 5H), 5,04 (s, 1H), 1,65 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).

3.2. Kết quả thử hoạt tính sinh học:

Về hoạt tính chống oxy hóa:

Hoạt tính chống oxy hóa được thực hiện bằng phương pháp quang phổ với thuốc thử DPPH theo cơ chế dập tắt gốc tự do. Các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa sẽ làm mất màu tím của thuốc thử DPPH. Xác định sự thay đổi màu thông qua giá trị độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm. Giá trị IC₅₀ càng

nhỏ thì hoạt tính chống oxy hóa của mẫu nghiên cứu càng mạnh. Kết quả thực nghiệm thu được: với mẫu chứng dương (quercetin) IC₅₀ là 3,16 0,57 µg/ml, tuy nhiên với các mẫu thử nghiệm từ nồng độ 250 µg/ml đều không làm thay đổi màu thuốc thử. Do đó không xác định được giá trị IC₅₀ của mẫu thử tại các nồng độ khảo sát. Kết quả này chứng tỏ 12 mẫu thử nghiệm không có hoạt tính kháng oxy hoá.

Về hoạt tính kháng khuẩn:

12 mẫu các dẫn chất oxazoline trên được đem tiến hành khảo sát giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) trên chủng *Bacillus pumilus* ATCC 14884, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (thuộc gram dương), *Escherichia coli* ATCC 8739 (thuộc gram âm) bằng phương pháp vi pha loãng trên đĩa 96 giếng (với nồng độ các dẫn xuất giảm dần trong các giếng từ 250; 125; 62,5; 32,125; 15,625; 7,8125 µg/ml). Mẫu chứng kháng sinh doxycycline với nồng độ pha loãng từ 200 µg/ml (các nồng độ trong giếng từ 20; 10; 5; 2,5; 1,25 µg/ml). Kết quả hoạt tính kháng 3 dòng khuẩn được thể hiện trên Bảng 1. Kết quả cho thấy có 3 dẫn chất thể hiện tác dụng kháng khuẩn trên 2 dòng vi khuẩn thử nghiệm *S.aureus* và *B.pumilus* với giá trị MIC nằm trong khoảng 31,25 - 125 µg/mL, bao gồm: D₁, D₂, và D₃. Trong đó, với hoạt tính kháng khuẩn *S.aureus*, dẫn chất D₂ cho hoạt tính lớn nhất với giá trị MIC thấp nhất, trong khoảng 31,25-62,5 µg/mL. Dẫn chất D₃ đạt được giá trị MIC 62,5 µg/mL. Đồng thời, với hoạt tính kháng *B.pumilus* cũng nhận thấy rằng, dẫn chất D₂ cho hoạt tính lớn nhất với giá trị MIC thấp nhất là 62,5 µg/mL. Ngoài ra, cả 12 dẫn chất này không thể hiện hoạt tính kháng chủng *E.coli*.

Bảng 1. Giá trị MIC (µg/mL) của các dẫn xuất oxazoline

Vi sinh vật	D ₁	D ₂	D ₃	4a-h, D ₄	Doxycycline
	MIC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MIC (µg/ml)
Gram dương					
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	125	31,25 - 62,5	62,5	NA	1,25
<i>B. pumilus</i> ATCC 14884	NA	62,5	125	NA	1,25
Gram âm					
<i>E. coli</i> ATCC 8739	NA	NA	NA	NA	2,5

Với NA: không thể hiện hoạt tính trong khoảng khảo sát 250 (µg/ml) - 7,8125 (µg/ml)

4. BÀN LUẬN

4.1. Về tổng hợp hóa học

Theo quy trình Hình 1a-1b, từ các dẫn xuất của benzoyl chloride ban đầu, nghiên cứu đã tiến hành tổng hợp được các dẫn xuất bất đối oxazoline **4a-h** thông qua các phản ứng acyl hóa, phản ứng halogen

hóa và phản ứng vòng hóa tạo dẫn xuất 2-oxazoline. Phương pháp này cho hiệu suất cao, sản phẩm thu được đạt độ tinh khiết cao. Giai đoạn (I) là phản ứng acyl hóa (S)-2-phenylglycinol với tác nhân acyl hóa mạnh là các dẫn xuất của benzoyl chloride. Dung môi được sử dụng là dichloromethane tiến hành phản

ứng ở 0°C. Phản ứng tiến hành ở nhiệt độ thấp giúp kiểm soát được tốc độ của phản ứng không xảy ra quá nhanh, giảm khả năng tạo sản phẩm phụ, tăng hiệu suất của quá trình tổng hợp. Giai đoạn (II) được thực hiện thông qua tác nhân halogen hóa mạnh là thionyl chloride (SOCl₂) trong dung môi chloroform ở 0°C. Nhiệt độ thấp giúp kiểm soát được tốc độ của phản ứng và đồng thời giảm sự bay hơi của SOCl₂. Ngoài ra, vì thionyl chloride là một hợp chất dễ bị thủy phân dễ gây nổ và ăn mòn thiết bị bằng thủy tinh do đó cần loại hoàn toàn sau phản ứng. Giai đoạn (III) là phản ứng đóng vòng xảy ra trong môi trường kiềm. Dung môi MeOH được sử dụng thay vì dichloromethane nhằm tăng sự phân tán của chất phản ứng với NaOH, tăng hiệu suất của quá trình phản ứng.

Theo quy trình Hình 1c, Giai đoạn (I) từ **A** → **B**₁₋₂ là phản ứng Grignard [9], tác nhân này phản ứng với axit cacboxylic tạo phản ứng cộng, tuy nhiên có sự khác biệt với aldehyde và cetone là sản phẩm của phản ứng cộng này được hình thành sau 2 lần cộng hợp của muối Grignard để tạo thành **B**₁₋₂. Trong quá trình thực hiện phản ứng Grignard cần chú ý, các tác chất RMgX dễ thủy phân tạo tủa, vì vậy quá trình lấy tác chất cho phản ứng nên sử dụng bộ xi lanh pitong bằng kim loại, cho tác chất vào bình phản ứng từ từ nhằm tăng hiệu suất phản ứng. Giai đoạn (II) từ **B**₁₋₂ → **C**₁₋₄ là phản ứng giữa acyl chloride và amin [10], có cơ chế gồm 2 bước. Giai đoạn này tương đối dễ thực

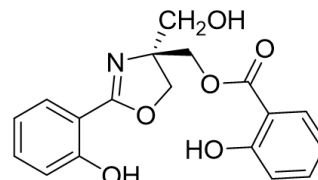
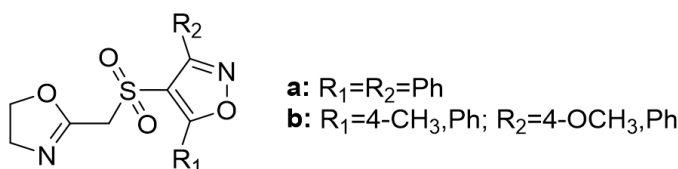
hiện, hiệu suất cao. Giai đoạn từ **C**₁₋₄ → **D**₁₋₄ là giai đoạn đóng mạch vòng. Giai đoạn này sử dụng acid mạnh để quá trình chuyển hoá sản phẩm được tốt hơn, hơn nữa còn cho rây phân tử 4.0 Å^o trong suốt quá trình phản ứng để hấp phụ hết lượng nước hình thành. Mục đích của các yếu tố này nhằm tăng hiệu suất phản ứng.

Nhiều dẫn xuất oxazoline đã được công bố trước đây thể hiện nhiều đặc tính sinh học và được ứng dụng trong lĩnh vực y dược. Trong bài báo này, nhóm nghiên cứu tổng hợp lại 12 dẫn xuất oxazoline [4,6] và đánh giá hoạt tính chống oxy hoá, hoạt tính kháng khuẩn của chúng với mục đích tạo một tổng quan đánh giá đầy đủ các đặc tính sinh học có thể có nhằm hy vọng về sau chúng có thể góp phần vào thư viện ứng dụng trong lĩnh vực y dược.

4.2. Về hoạt tính sinh học

Về hoạt tính chống oxy hóa

Kết quả thử hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH của các dẫn xuất oxazole đã tổng hợp được (**4a-h**, **D**₁₋₄) cho IC₅₀ lớn, cho thấy mẫu thử không thể hiện được hoạt tính chống oxy hóa. Một số công bố cho thấy các hợp chất chứa vòng oxazoline thể hiện hoạt tính chống oxy hóa có liên kết với nhóm sulfon hay các nhóm hydroxyl như hình 2 [11], tuy nhiên (các sản phẩm này (**4a-g**, **D**₁₋₄)) không chứa cả hai nhóm trên và không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trong khoảng khảo sát có thể phù hợp với công bố này.



Hình 2. Các hợp chất chứa vòng oxazoline có hoạt tính chống oxy hoá

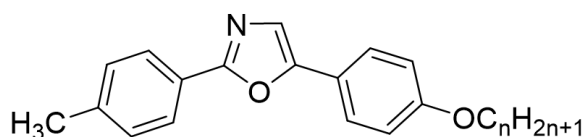
Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của các dẫn xuất oxazoline đã tổng hợp là yếu tố không thể thiếu trong mục đích đánh giá hoạt tính sinh học nhằm có một sự tổng quan đầy đủ về chúng. Nhóm nghiên cứu vẫn đang tiến hành thêm đánh giá các hoạt tính sinh học khác vì nhận thấy các tiềm năng của nhóm oxazoline như nhiều nghiên cứu đã công bố trước đây.

Về hoạt tính kháng khuẩn

Trong số 12 dẫn chất oxazoline thử nghiệm (**4a-h**, **D**₁₋₄), có 3 dẫn chất thể hiện tác dụng kháng khuẩn trên 2 dòng vi khuẩn thử nghiệm *S.aureus* và *B.pumilus* với giá trị MIC nằm trong khoảng 31,25 - 125 µg/mL,

bao gồm: **D**₁, **D**₂, và **D**₃. Trong đó, với hoạt tính kháng khuẩn *S.aureus*, dẫn chất **D**₂ cho hoạt tính lớn nhất với giá trị MIC thấp nhất, trong khoảng 31,25 - 62,5 µg/mL. Dẫn chất **D**₃ đạt được giá trị MIC 62,5 µg/mL. Đồng thời, với hoạt tính kháng *B.pumilus* cũng nhận thấy rằng, dẫn chất **D**₂ cho hoạt tính lớn nhất với giá trị MIC thấp nhất là 62,5 µg/mL. Ngoài ra, cả 12 dẫn chất này không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *E.coli* trong khoảng khảo sát. Kết quả này có thể phù hợp với một số công bố về khả năng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tốt khi chứa vòng oxazoline như Hình 3 [12].

Các dẫn xuất diphenyloxazole thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tốt:



Hình 3. Dẫn xuất diphenyloxazole có hoạt tính kháng khuẩn tốt

Nghiên cứu đã thành công trong việc tổng hợp và đánh giá các hoạt tính đối với các dẫn xuất oxazoline. Qua đó cho thấy việc thêm vào các nhóm phenyl vào vị trí 5 đối với nhóm oxazoline làm cải thiện đáng kể các hoạt tính sinh học. Ngoài ra, nhóm 3-nitrophenyl ở vị trí 2 của nhóm oxazoline thể hiện hoạt tính tốt hơn so với nhóm 3-methoxyphenyl ở cùng vị trí. Mặc dù kết quả nghiên cứu chỉ mới tìm ra một số chất có hoạt tính kháng khuẩn và không có hoạt tính chống oxy hoá, tuy nhiên, kết quả này ngoài việc góp phần bổ sung nhiều thông tin cho cơ sở dữ liệu về những chất có hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hoá. Đồng thời nhóm nghiên cứu hy vọng kết quả này có thể góp phần định hướng cho những nghiên cứu tiếp theo trong tương lai. Ngoài ra, theo một số nghiên cứu, các chất có chứa vòng oxazoline còn có những hoạt tính sinh học khác như kháng viêm, chống khối u, kháng virus *Plasmodium falciparum* gây bệnh sốt rét, hạ sốt, kích thích thần kinh trung ương [13]... thì với các dẫn chất đã tổng hợp ở trên, nhóm nghiên cứu sẽ tiếp tục thử nghiệm đánh giá các hoạt tính sinh học khác.

5. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết lập quy trình tổng hợp và tinh chế 12 dẫn xuất của oxazole **4a-h**, **D₁₋₄** có hiệu suất tổng của quy trình qua nhiều giai đoạn đạt 83,2 - 94,5%. Sản phẩm đã được xác nhận lại, khẳng định cấu trúc bằng đo phổ ¹H NMR và so sánh với kết quả phổ đã chính nhóm nghiên cứu công bố trước đó. Toàn bộ các dẫn chất được thử hoạt tính chống oxy hoá và hoạt tính kháng khuẩn. Kết quả cho thấy 12 dẫn chất này không thể hiện hoạt tính chống oxy hoá, và cũng không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *E.coli* trong khoảng khảo sát, một số dẫn chất thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *S.aureus* và *B.pumilus*, trong đó dẫn chất **D₂** thể hiện hoạt tính kháng *S.aureus* với giá trị MIC trong khoảng 31,25 - 62,5 µg/mL và hoạt tính kháng khuẩn *B.pumilus* với giá trị MIC thấp nhất là 62,5 µg/mL.

Lời cảm ơn: Chúng tôi trân trọng cảm ơn sự tài trợ của Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế cho đề tài mã số **9/23** để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jin Y and Du DM, "The synthesis of phosphine oxide-linked bis (oxazoline) ligands and their application in asymmetric allylic alkylation", *Tetrahedron* 2012; 68(18), pp. 3633-3640.
2. Michael C. Pirrung, L. Nathan Tumej, "Oxazoline Synthesis from Hydroxyamides by Resin Capture and Ring-Forming Release", *Journal of combinatorial Chemistry* 2000; 2, pp. 675-680.
3. Lê Thị Loan Chi, "Nghiên cứu quy trình tổng hợp các dẫn xuất của (S)-diphenyl-4,5-dihydrooxazole từ (S)-(+)-2-phenylglycinol", *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế* 2019; số đặc biệt , pp 57-62.
4. Le, T. L. Chi; Ozaki, S.; Chanthamath, S.; Shibatomi, K.; Iwasa, S. "Direct Catalytic Asymmetric Cyclopropylphosphonation Reactions of N,N-Dialkyl Groups of Aniline Derivatives by Ru(II)-Pheox Complex", *Organic Letter* 2018; 20, 4490-4493.
5. Lê Thị Loan Chi, Seiji Iwasa, "Tổng hợp bất đối xứng các dẫn xuất xúc tác Ru(II)-dialkyl-pheox từ các dẫn xuất quang hoạt (S)-2-amino-phenylethanol sử dụng trong phản ứng tạo vòng ba (cyclopropanation)", *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên* 2023; 123, 1A, 55-63.
6. Le, T. L. Chi; Agus, S; Ho, L.D.; S. Chanthamath; Shibatomi, K; Iwasa, S., "Catalytic Asymmetric Intermolecular Cyclopropanation of a Ketone Carbene Precursor by a Ruthenium(II)-Pheox Complex", *Advanced Synthesis & Catalysis* 2019; 361, 951-955.
7. Abramović H., Grobin B., Poklar Ulrih N. , Cigić B. «Relevance and standardization of in vitro antioxidant assays: ABTS, DPPH, and Folin-Ciocalteu», *Journal of Chemistry*. 2018; pp. 1-9.
8. Vanden B. D. A. , Vlietlinck A. J. «Screening methods for antibacterial and antiviral agents from hight plants», *Methods in Plant Biochemistry* 1991; (6), pp. 47-68.
9. Raphael MP, Jurgen G, Odile E, Michele C. The Grignard Reaction – Unraveling a Chemical Puzzle. *Journal of the American Chemical Society* 2020; 142(6), 2984-2994.
10. Robert JO, David R, *Organic Chemistry Study Guide*. Elsevier. 2015; 21, 385-418.
11. Kakkar S. , Narasimhan B. «A comprehensive

review on biological activities of oxazole derivatives», *BMC Chemistry* 2019; 13 (1), pp. 16

12. Shivani Bansal, A. K. Halve. "Oxazolines: Their Synthesis and Biological Activity", *Int. J. Pharm. Sci. Res* 2014; 5 (11), pp. 4601-4616.

13. Randall W. Moreadith, Tacey X. Viegas, Michael D. Bentley, J. Milton Harris, Zhihao Fang, Kunsang Yoon,

Bekir Dizman, Rebecca Weimer, Brendan P.Rae, Xiuling Li, Christoph Rader, David Standaert, Warren Olanow. "Clinical development of a poly(2-oxazoline) (POZ) polymer therapeutic for the treatment of Parkinson's disease – Proof of concept of POZ as a versatile polymer platform for drug development in multiple therapeutic indications", *European Polymer Journal* 2016; 88, pp. 524-552.