

TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA MỘT SỐ DẪN XUẤT 2-AMINOTHIAZOLE

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NOVEL 2-AMINOTHIAZOLE DERIVATIVES

Phan Thị Hằng Nga^{1*}, Nguyễn Thị Minh Xuân², Phan Thị Kim Phượng¹

¹Khoa Y Dược - Đại học Đà Nẵng

²Trường Đại học Bách khoa - Đại học Đà Nẵng

*Tác giả liên hệ: pthnga@smp.udn.vn

(Nhận bài: 21/01/2022; Chấp nhận đăng: 16/3/2022)

Tóm tắt - Các dẫn xuất 2-aminothiazole đang thu hút sự quan tâm đáng kể về mặt sinh học khi được chứng minh có nhiều hoạt tính dược lý như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng ký sinh trùng, kháng virus, kháng ung thư, kháng viêm, chống co giật. Trong nghiên cứu này, bốn dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium (**5a-d**) đã được tổng hợp từ một phản ứng mới giữa hợp chất 2-amino-4-phenylthiazole với các aldehyde thơm. Phương pháp tổng hợp trong nghiên cứu này là hình thành liên kết N-C bằng phản ứng ngưng tụ và phản ứng cộng nucleophile. Các hợp chất đã tổng hợp được xác định cấu trúc bởi phương pháp phổ (FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR và MS), và đánh giá *in vitro* hoạt tính kháng khuẩn chống lại các chủng vi khuẩn *Bacillus cereus* SH (Gram dương) và *Escherichia coli* SH (Gram âm). Kết quả đã chỉ ra rằng, hai dẫn xuất (**5b**) và (**5c**) là tác nhân kháng khuẩn tiềm năng với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) trong khoảng 3 - 12 µg/mL.

Từ khóa - 2-aminothiazole; 2-aminothiazol-3-ium; hoạt tính kháng khuẩn

1. Đặt vấn đề

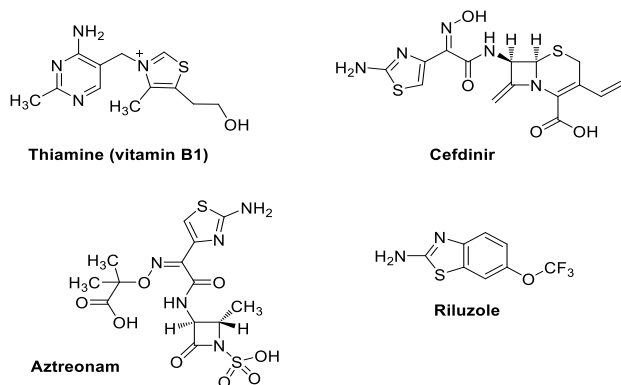
Những năm gần đây, tỷ lệ mắc các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn đã tăng lên đáng kể. Trong khi đó, toàn nhân loại đang chạy đua với kỷ nguyên kháng kháng sinh [1]. Nhiều chủng vi khuẩn đề kháng tất cả các loại kháng sinh thông dụng đã đặt ra một thách thức lớn cho nền y học và làm nổi bật nhu cầu cấp thiết phải tìm ra các chất kháng khuẩn mới mạnh hơn và có tính chọn lọc.

Abstract - 2-aminothiazole derivatives have shown considerable biological attention as demonstrated by a broad pharmacological activities such as antibacterial, antifungal, antiparasitic, anticancer antiinflammatory, anticonvulsant. In this study, four 2-aminothiazol-3-ium derivatives (**5a-d**) have been synthesized by an unusual reaction between 2-amino-4-phenylthiazole and aromatic aldehydes. The present protocol was constructed through N-C bond formation by the condensation and nucleophilic addition reactions. The synthesized compounds were characterized by spectral analyses (FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS), and tested *in vitro* for their antimicrobial activity against *Bacillus cereus* SH (Gram positive) and *Escherichia coli* SH (Gram negative). The results indicated that, two derivatives (**5b**) and (**5c**) exhibited as potential antibacterial agents with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 3 - 12 µg/mL.

Key words - 2-aminothiazole; 2-aminothiazol-3-ium; antimicrobial activity

chứa lưu huỳnh và nitơ – là thành phần cấu trúc quan trọng trong nhiều hợp chất tự nhiên, phẩm nhuộm, dược phẩm và các hợp chất tổng hợp khác. 2-Aminothiazole là dẫn xuất thế của thiazole trong đó nhóm amino (–NH₂) thế vào vị trí C-2 trên cấu trúc vòng thơm. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, các dẫn xuất có cấu trúc nhân 2-aminothiazole có tác dụng kháng khuẩn hiệu quả [2]. Một số thuốc kháng sinh chứa nhân 2-aminothiazole đã được thương mại hóa như Ceftriaxone, Cefotaxime, Cefdinir, Sulfathiazole, Cetraxone, Aztreonam, Riluzole [3]. Ngoài ra, các dẫn xuất chứa nhân 2-aminothiazole cũng thể hiện nhiều hoạt tính sinh học cao khác như kháng ung thư, kháng khối u, kháng lao, kháng sốt rét, kháng ký sinh trùng, kháng viêm,... [4]. Chính vì những tác dụng dược lý quý đó mà các dẫn xuất 2-aminothiazole đang thu hút sự quan tâm ngày một lớn từ các nhà khoa học trong quá trình nghiên cứu và phát triển thuốc.

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã thiết kế và tổng hợp các dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium mới với cấu trúc chứa đồng thời nhân thiazole-2-imine từ phản ứng giữa hợp chất 2-amino-4-phenylthiazole với các aldehyde thơm. Cấu trúc nhân thiazolium hiện diện trong hợp chất tự nhiên quan trọng là thiamine (Vitamin B1), một loại vitamin nhóm B có khả năng tan được trong nước. Trong cơ thể người, thiamine có chức năng như một co-enzyme trong quá trình chuyển hóa carbohydrate và acid amine [5]. Các muối



Hình 1. Cấu trúc của thiamine và một số thuốc kháng sinh chứa nhân thiazole

Thiazole thuộc nhóm hợp chất dị vòng thơm năm cạnh

¹ The University of Danang - School of Medicine and Pharmacy (Phan Thi Hang Nga, Phan Thi Kim Phuong)

² The University of Danang - University of Science and Technology (Nguyen Thi Minh Xuan)

thiazolium và bis-thiazolium đã được tổng hợp và thể hiện khả năng kháng sốt rét bởi nhóm nghiên cứu của Michèle Calas [6]. Imidazo[2,1-*b*]thiazolium bromide được nghiên cứu sở hữu các hoạt tính giảm đau và chống viêm [7]. Trong khi đó, thiazole-2-imine là dạng đồng phân phổ biến của 2-aminothiazole [8]. Các hợp chất chứa khung thiazole-2-imine cũng đã được báo cáo có các hoạt tính được lý đa dạng bao gồm chống viêm, giảm đau, kháng nấm, kháng khuẩn, kháng virus, kháng ký sinh trùng, giảm hắc tố melanin, và chống co giật [9].

Các dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium đã tổng hợp được đánh giá *in vitro* hoạt tính kháng khuẩn và hứa hẹn là những ứng viên đầy tiềm năng trong việc nghiên cứu phát triển các loại thuốc kháng sinh mới.

2. Thực nghiệm

2.1. Nguyên vật liệu và thiết bị

Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được đo trên máy JEOL 400MHz (độ dịch chuyển hóa học δ được tính theo ppm, hằng số tương tác J tính bằng Hz). Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS được đo trên máy 1100 series LC/MS/MS Trap Agilent. Phổ hồng ngoại được đo trên máy FT-IR 4700, JASCO bằng kỹ thuật dập viên KBr. Sắc ký bản mỏng (bản nhôm silica gel 60 F254 tráng sẵn độ dày 0,2 mm) từ Merck. Sắc ký cột sử dụng silica gel cỡ 0,040 - 0,063 mm (Merck). Các hóa chất được sử dụng có nguồn gốc từ Acros và Sigma-Aldrich. Các dung môi sử dụng cho sắc ký cột được cung cấp bởi Chemsol (Việt Nam).

Thí nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn được thực hiện tại phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Hóa, Trường Đại học Bách khoa – Đại học Đà Nẵng. Các chủng vi khuẩn được sử dụng trong thử nghiệm bao gồm *Escherichia coli* SH (*E. coli*, gram âm) và vi khuẩn *Bacillus cereus* SH (*B. cereus*, gram dương). Môi trường được sử dụng là Luria – Bertani (LB) lỏng. Sử dụng phương pháp pha loãng để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các hợp chất đã tổng hợp được theo tiêu chuẩn của Viện Tiêu chuẩn phòng thí nghiệm và phòng khám y tế, Mỹ (Clinical and Laboratory Standards Institute).

2.2. Tổng hợp

2.2.1. Tổng hợp 2-amino-4-phenylthiazole (3)

Cân lần lượt acetophenone (2,40 g; 20 mmol; 1eq.); thiourea (2,28 g; 30 mmol; 1,5eq.); I_2 (5,58 g; 22 mmol; 1,1 eq.); NEt_3 (2 ml; 0,01 mmol) vào bình cầu 500 ml. Thêm 20 ml EtOH vào hỗn hợp. Hỗn hợp phản ứng được đun ở 90 °C với khuấy từ liên tục trong vòng 4 giờ. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký bản mỏng (Hexane:EtOAc = 3:1). Sau khi phản ứng hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đuổi dung môi dưới áp suất thấp. Chất rắn thô được hòa tan trong nước nóng, sau đó chiết với diethyl ether. Pha hữu cơ được thêm NH_3 để điều chỉnh pH = 7-8 thu được sản phẩm rắn màu vàng. Tinh chế chất rắn màu vàng bằng phương pháp kết tinh lại trong hệ dung môi ethanol-nước thu được sản phẩm 2-amino-4-phenylthiazole (2,89 g, hiệu suất 82%). R_f = 0,4 (Hexane:EtOAc = 3:1). Sản phẩm được xác định cấu trúc bởi phổ FT-IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, và so sánh với dữ liệu phổ đã được công bố [10] có sự tương đồng.

2-amino-4-phenylthiazole (3): Chất rắn màu vàng nhạt, IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3436, 3255, 3157, 3115, 1598, 1524, 1482, 1439, 1336, 1200, 1070, 1032, 909, 845, 770, 664. HR-ESI-MS m/z 177,0550 $[M+H]^+$ (tính toán 177,0486; $C_9H_9N_2S$); 1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz; δ ppm): 7,79 (2H; dd; $J=8,3$; 1,3 Hz); 7,35 (2H; t; $J=7,7$ Hz); 7,24 (1H; t; $J=7,3$ Hz); 7,06 (2H; brs; NH_2); 7,00 (1H; s), ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz; δ ppm): 168,2; 149,9; 135,0; 128,5; 127,2; 125,6; 101,5.

2.2.2. Tổng hợp các dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium (5a, 5b, 5c, 5d)

Thêm 10 μ l HCl 1M (10% mol) vào bình phản ứng vial cỡ 3ml đã chứa sẵn hỗn hợp 2-amino-4-phenylthiazole (3) (35,2 mg, 0,2 mmol, 1eq.) và heteroarylaldehyde (4a-d) (1,05 eq.) hòa tan trong 1ml EtOH. Đóng chặt bình phản ứng và đun trong bếp dầu ở 90 °C với điều kiện khuấy từ mạnh liên tục trong 1 giờ. Sau đó để bình phản ứng nguội xuống nhiệt độ phòng. Thêm vào hỗn hợp phản ứng 1ml EtOH, sau đó thêm từ từ 15,1 mg $NaBH_4$ (0,04 mmol, 2 eq.) dưới điều kiện khuấy từ mạnh, hỗn hợp phản ứng chuyển sang màu vàng nhạt, và sau khoảng 10 phút thì mất màu vàng hoàn toàn. Gia nhiệt bình phản ứng đến 70 °C và tiếp tục giữ điều kiện khuấy từ mạnh liên tục trong 1 giờ thì dừng phản ứng. Hỗn hợp sau phản ứng được thêm 3 ml nước cất và tiến hành chiết với EtOAc (pH của pha nước khoảng 8-9). Lốp hữu cơ được rửa lần lượt với nước, nước muối bão hòa, làm khan bằng Na_2SO_4 , lọc và cô đuổi dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel, rửa giải cột bằng hệ dung môi Hexane/EtOAc) thu được các sản phẩm dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium (5a-d) tương ứng.

3-((2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)(4-methoxyphenyl)methyl)-2-((4-methoxybenzyl)amino)-4-phenylthiazol-3-ium (5a): chất rắn màu trắng ngà (49%); HR-ESI-MS m/z 591,1907 $[M^+]$ (tính toán 591,1888, $C_{34}H_{31}N_4O_2S_2$). IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3277; 3188; 2956; 2836; 1609; 1515; 1331; 1249; 1177; 1030; 824; 777; 701; 1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz): 8,04 (1H; t; $J=5,7$ Hz; N-H); 7,35–7,07 (16H; m); 6,97–6,85 (4H; m); 5,67 (1H; s; N-CH-N); 4,37 (2H; d; $J=5,4$ Hz; CH_2 -N); 3,74 (3H; s; OCH_3); 3,73 (3H; s; OCH_3), ^{13}C -NMR (100 MHz; DMSO- d_6): 166,4; 166,1; 158,4; 158,1; 146,1; 136,1; 135,0; 134,5; 131,0; 129,0; 128,5; 128,2; 128,1; 127,9; 127,8; 127,53; 127,47; 123,6; 123,3; 114,0; 113,8; 55,1; 47,0 (CH_2 -N); 40,6 (N-CH-N),

3-((2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)(p-tolyl)methyl)-2-((4-methylbenzyl)amino)-4-phenylthiazol-3-ium (5b): chất rắn màu trắng ngà (63%); HR-ESI-MS m/z 559,1989 $[M^+]$ (tính toán 559,1985, $C_{34}H_{31}N_4S_2$); IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3420; 3188; 3052; 2923; 1577; 1521; 1327; 1232; 1070; 1021; 972; 781; 693; 1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz; δ ppm): 8,06 (1H; t; $J=5,7$ Hz; N-H); 7,28–7,18 (8H; m); 7,17–7,11 (9H; m); 7,07 (3H; d; $J=8,0$ Hz); 5,69 (1H; s; N-CH-N); 4,41 (2H; d; $J=5,8$ Hz; CH_2 -N); 2,27 (6H; s), ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz; δ ppm): 166,4; 166,2; 146,3; 146,0; 141,3; 136,24; 136,17; 136,11; 135,0; 134,8; 129,4; 129,0; 128,2; 127,92; 127,86; 127,6; 127,5; 127,3; 123,5; 123,3; 47,3 (CH_2 -N); 41,1 (N-CH-N); 20,8 (CH_3); 20,7 (CH_3).

2-((4-hydroxybenzyl)amino)-3-((4-hydroxyphenyl)(2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)methyl)-4-phenylthiazol-3-ium (5c): chất rắn màu trắng ngà (56%); HR-ESI-MS m/z 563.1580 [M^+] (tính toán 563.1570, $C_{32}H_{27}N_4O_2S_2$); IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} : 3366; 3195; 3059; 3028; 1608, 1513; 1443; 1335; 1243; 1172; 1022; 829; 778; 699; 1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz; δ ppm): 9,44 (1H; s; OH); 9,34 (1H; s; OH); 7,92 (1H; t; $J=5,6$ Hz; N-H); 7,34–7,22 (4H; m); 7,21–7,05 (8H; m); 7,07–6,94 (4H; m); 6,73 (4H; d; $J=8,5$ Hz); 5,63 (1H; s; N-CH-N); 4,32 (2H; d; $J=5,6$ Hz; CH_2 -N), ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz; δ ppm): 166,3; 166,0; 156,5; 156,2; 146,0; 145,9; 135,2; 135,1; 134,6; 129,2; 129,1; 128,5; 128,1; 127,9; 127,8; 127,3; 127,3; 124,1; 123,8; 115,4; 115,1; 47,2 (CH_2 -N); 40,7 (N-CH-N),

2-((4-bromobenzyl)amino)-3-((4-bromophenyl)(2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)methyl)-4-phenylthiazol-3-ium (5d): chất rắn màu vàng nhạt (68%); HR-ESI-MS m/z 686.9894 [M^+] (tính toán 686.9895, $C_{32}H_{25}N_4S_2Br_2$). IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} : 3371; 3277; 3188; 3087; 2971; 1531; 1483; 1333; 1071; 1013; 780; 700; 1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz; δ ppm): (DMSO- d_6 ; 400 MHz): 8,16 (1H; t; $J=5,9$ Hz; N-H); 7,54 (4H; dd; $J=8,5$; 3,1 Hz); 7,33 (2H; d; $J=8,4$ Hz); 7,25–7,19 (6H; m); 7,18–7,09 (6H; m); 7,06 (2H; s); 5,72 (1H; s; N-CH-N); 4,44 (2H; d; $J=6,2$ Hz; CH_2 -N), ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz; δ ppm): 166,5; 166,1; 146,8; 146,7; 143,5; 138,7; 134,8; 134,8; 131,7; 131,2; 129,8; 129,6; 128,2; 127,9; 127,8; 127,5; 127,5; 122,5; 122,3; 120,2; 120,0; 46,7 (CH_2 -N); 41,0 (N-CH-N).

2.3. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Phương pháp pha loãng được sử dụng để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các hợp chất đã tổng hợp được theo tiêu chuẩn của Viện Tiêu chuẩn phòng thí nghiệm và phòng khám y tế, Mỹ (Clinical and Laboratory Standards Institute) [11]. Trong nghiên cứu này, 2 chủng vi khuẩn là *Escherichia coli* SH (*E. coli*, gram âm) và vi khuẩn *Bacillus cereus* SH (*B. cereus*, gram dương) được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Đại học Bách khoa - Đại học Đà Nẵng như là các vi sinh vật chỉ thị cho hoạt động kháng khuẩn của các hợp chất được kiểm tra. Tất cả các chủng chỉ thị được pha loãng 300 lần từ dịch vi khuẩn ban đầu có nồng độ 0,5 đơn vị McFarland trong môi trường Luria-Bertani (LB) lỏng (tryptone 10 g/L, cao nấm men 5 g/L, NaCl

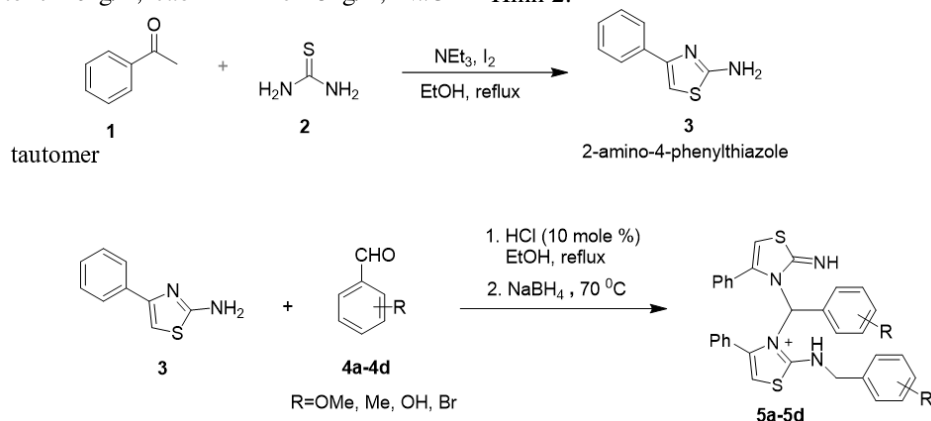
5 g/L). Từ đó 5 mL dịch vi khuẩn được phân bố vào trong các ống nghiệm. Các chất kháng khuẩn (được hòa tan ở nồng độ ban đầu là 10 mg/mL trong DMSO) được bổ sung vào các ống dịch vi khuẩn chỉ thị đã chuẩn bị ở trên tại một loạt các nồng độ pha loãng từ 120 μ g/mL đến 2 μ g/mL. Môi trường (mẫu trắng) đã bổ sung chất kháng khuẩn tương ứng nhưng không chứa tế bào vi khuẩn, và môi trường chứa tế bào vi khuẩn, bổ sung lượng DMSO tương ứng được đưa vào làm mẫu đối chứng. Các ống nghiệm được nuôi trong tủ ấm ở 37°C trong 24 giờ, tốc độ lắc là 200 vòng/phút. Mật độ quang học ở 595 nm (OD595) được ghi lại. Các ống nghiệm có độ hấp phụ quang tương ứng nhỏ hơn 20% so với ống dịch vi khuẩn không chứa chất kháng khuẩn được đem đi cấy trải trên môi trường LB agar để kiểm tra. Nồng độ thấp nhất mà tại đó số lượng CFU/mL còn lại chỉ chiếm 20% so với dịch vi khuẩn không chứa chất kháng khuẩn được xác định là MIC. Nồng độ thấp nhất mà tại đó không xuất hiện tế bào vi khuẩn trên đĩa môi trường nuôi cấy được xác định là MBC. Tất cả các thí nghiệm đã được thực hiện trong ba lần.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tổng hợp dẫn xuất 2-aminothiazole

Phương pháp tổng hợp khung 2-aminothiazole được áp dụng trong nghiên cứu này là sự ngưng tụ/đóng vòng giữa acetophenone và thiourea sử dụng tác nhân I_2 trong môi trường kiềm. Tác chất 2-amino-4-phenylthiazole (**3**) được chuyển hóa cấu trúc thông qua sự hình thành liên kết N-C bằng các phản ứng ngưng tụ và phản ứng cộng nucleophile với aldehyde thơm để tạo thành các dẫn xuất mới chứa nhân 2-aminothiazole (**5**). Bốn dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium đã được tổng hợp bao gồm 3-((2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)(4-methoxyphenyl)methyl)-2-((4-methoxybenzyl)amino)-4-phenylthiazol-3-ium (**5a**), 3-((2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)(p-tolyl)methyl)-2-((4-methylbenzyl)amino)-4-phenylthiazol-3-ium (**5b**), 2-((4-hydroxybenzyl)amino)-3-((4-hydroxyphenyl)(2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)methyl)-4-phenylthiazol-3-ium (**5c**) và 2-((4-bromobenzyl)amino)-3-((4-bromophenyl)(2-imino-4-phenylthiazol-3(2H)-yl)methyl)-4-phenylthiazol-3-ium (**5d**). Cấu trúc của các dẫn xuất thiazol-3-ium trên đã được xác định bởi các phương pháp phổ FT-IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR và MS.

Quy trình tổng hợp các dẫn xuất được trình bày trong Hình 2.

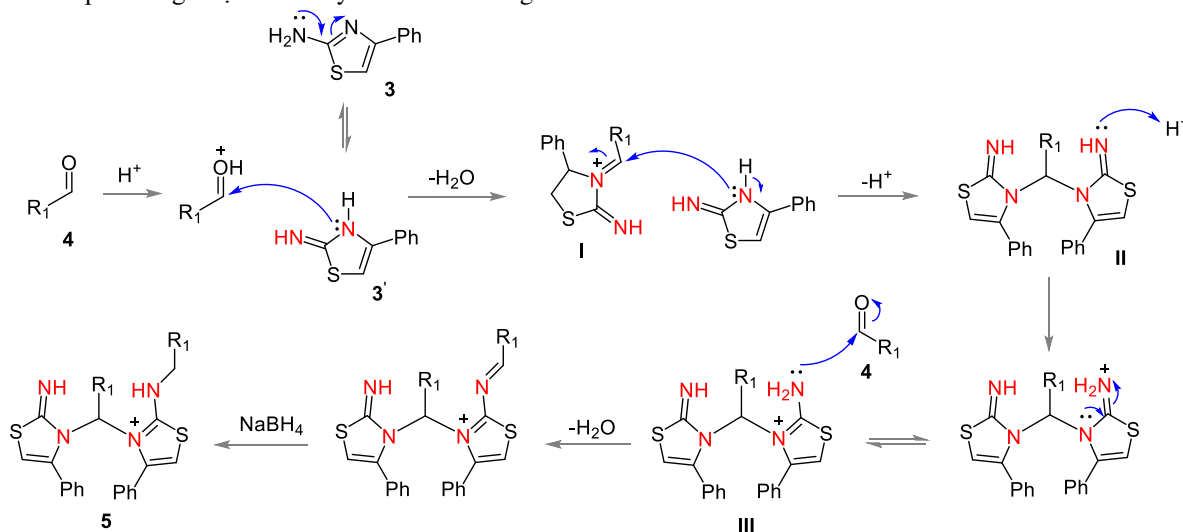


Hình 2. Quy trình tổng hợp dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium

2-amino-4-phenylthiazole (**3**) được tổng hợp từ tác chất ban đầu acetophenone, thiourea và iodine có mặt xúc tác NEt_3 theo phương pháp đã được báo cáo bởi nhóm nghiên cứu J. Safari [10] với hiệu suất cao 82%.

Để tổng hợp dẫn xuất 2-amino-thiazol-3-ium (**5**), từ 2-amino-4-phenylthiazole (**3**) trải qua 2 quá trình liên tiếp gồm ngưng tụ/cộng nucleophile với các aldehyde thơm (**4a-4d**) trong điều kiện xúc tác acid và tiếp theo là khử hóa imine bằng NaBH_4 tạo dẫn xuất cuối cùng là 2-aminothiazol-3-ium (**5a-5d**) với hiệu suất toàn bộ quá trình (2 bước) đạt 49-68%. Cơ chế của phản ứng được trình bày ở Hình 3. Trong tiến

trình phản ứng, quá trình ngưng tụ xảy ra trên N ở vị trí 3 của vòng thiazole với aldehyde, mà không phải là ở N của amine bậc 1 (nhóm thế amino ở vị trí 2 của vòng thiazole). Phản ứng cộng nucleophile giữa tautomer (**3'**) và aldehyde (**4**) tạo ra muối 2-imino-thiazole-3-iminium (chất trung gian **I**). Tiếp đến, tautomer (**3'**) cộng nucleophile vào chất trung gian (**I**) tạo thành bis (thiazole-2-imine)methane (**II**) [12]. Sau đó, chất trung gian (**II**) được proton hóa tạo ra dẫn xuất 2-aminothiazolium (**III**) trước khi tiếp tục phản ứng với aldehyde (**4**). Imine tạo thành sau quá trình ngưng tụ được khử bởi NaBH_4 để cho ra dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium (**5**).



Hình 3. Cơ chế phản ứng tạo thành dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium 5

Sự hình thành liên kết mới N-C được thực hiện bằng các phản ứng ngưng tụ và phản ứng cộng nucleophile, do đó nhóm thế trên vòng thơm của aldehyde (**4**) có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất của quá trình tổng hợp. Với aldehyde có gắn nhóm thế hút điện tử thì khả năng tham gia phản ứng ngưng tụ với thiazole tốt hơn nên cho hiệu suất sản phẩm cao hơn. Trong bốn aldehyde thơm gắn nhóm thế R lần lượt là -OMe (**4a**), -Me (**4b**), -OH (**4c**) và -Br (**4d**) thì chất (**4d**) với nguyên tử halogen có hiệu ứng cảm âm đã cho sản phẩm thiazolium với hiệu suất cao nhất (68%). Trong khi đó, chất (**4a**) với nhóm -OMe đẩy điện tử mạnh đã cho hiệu suất sản phẩm thấp (49%). Hai chất (**4b**) và (**4c**) chứa các nhóm thế đẩy điện tử yếu, khi phản ứng với 2-amino-4-phenylthiazole đã cho sản phẩm thiazolium với hiệu suất trung bình (63% và 56% tương ứng).

3.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Bảng 1. Nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của các chất chống lại 2 vi khuẩn chỉ thị là *E. coli* và *B. cereus*

Chất thử	<i>Escherichia coli</i> SH		<i>Bacillus cereus</i> SH	
	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MBC ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MBC ($\mu\text{g/mL}$)
5a	>120	>120	>120	>120
5b	10	12	12	14
5c	3	6	4	6
5d	>120	>120	>120	>120

Việc xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) là cần thiết nhằm đánh giá hiệu quả diệt khuẩn của các hợp chất đã tổng hợp được.

Bằng phương pháp pha loãng, bốn hợp chất **5a**, **5b**, **5c**, **5d** được bổ sung vào dịch vi khuẩn ở các nồng độ khác nhau, giá trị MIC và MBC của các chất được thể hiện như trong Bảng 1.

Từ kết quả trên cho thấy, trong 4 hợp chất đã tổng hợp được thì chỉ có thể xác định được nồng độ MIC và MBC của 2 hợp chất (**5b**) và (**5c**) trên cả 2 vi khuẩn chỉ thị là *E. coli* và *B. cereus*. Đây là 2 loài vi khuẩn gây bệnh thường gặp ở người [13]. Hai hợp chất (**5a**) và (**5d**) không thể hiện khả năng ức chế hoạt động của vi khuẩn ngay cả với nồng độ khảo sát lớn nhất là 120 $\mu\text{g/mL}$. Điều này có thể được giải thích do khả năng hòa tan trong nước của 2 chất này khá kém thể hiện qua việc hình thành nên các kết tủa lớn sau 24h khi được pha loãng trong môi trường nuôi cấy.

Cả 2 chất (**5b**) và (**5c**) đều là các chất diệt khuẩn với 2 giá trị MBC và MIC tương đối gần nhau, hay tỷ lệ MBC/MIC là nhỏ hơn 4 ở cả 2 vi khuẩn chỉ thị. Trong đó, (**5c**) có hoạt động kháng khuẩn tốt hơn với giá trị MIC và MBC nhỏ hơn rất nhiều so với (**5b**). Hoạt tính kháng khuẩn của cả 2 chất trên vi khuẩn gram âm là *E. coli* tốt hơn trên vi khuẩn gram dương *B. cereus* với giá trị MIC là cao hơn, tuy nhiên sự chênh lệch này là không đáng kể. Kết quả này cho thấy, tiềm năng sử dụng 2 chất diệt khuẩn này trong thực tế với phổ tác dụng tương đối rộng trên cả vi khuẩn gram âm và gram dương. Đặc biệt trong những năm gần đây với sự gia tăng tình trạng kháng kháng sinh ở vi khuẩn gây bệnh, việc tìm ra các hợp chất kháng khuẩn mới là vô cùng cần thiết. Vancomycin được coi là kháng sinh hiệu quả trong việc điều trị nhiễm khuẩn *B. cereus* với giá trị

MIC là 2-4 $\mu\text{g/mL}$, nhưng các nghiên cứu đã tìm thấy giá trị MIC tăng lên đến 24 $\mu\text{g/mL}$ ở các chủng *B. cereus* kháng kháng sinh phân lập được từ bệnh nhân. Trong nghiên cứu này, giá trị MIC của (**5c**) là 4 $\mu\text{g/mL}$ trên *B. cereus* (Bảng 1) thể hiện tiềm năng phát triển của hợp chất này trong việc điều trị nhiễm khuẩn *B. cereus* và các vi khuẩn gây bệnh khác. Tuy nhiên, các nghiên cứu sâu hơn và trên nhiều đối tượng vi khuẩn hơn là cần thiết cho các nghiên cứu tiếp theo trên 2 chất diệt khuẩn này.

4. Kết luận

Bốn dẫn xuất 2-aminothiazol-3-ium chứa đồng thời khung thiazole-2-imine trong cấu trúc đã được thiết kế và tổng hợp thành công thông qua các phản ứng ngưng tụ và cộng nucleophile giữa 2-amino-4-phenylthiazole với các aldehyde thơm. Cấu trúc hóa học của các dẫn xuất này đã được khẳng định bằng các phương pháp phân tích hiện đại FT-IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và MS. Kết quả thử nghiệm *in vitro* hoạt tính kháng khuẩn cho thấy, hai dẫn xuất (**5b**) và (**5c**) có khả năng kháng hai dòng vi khuẩn *Escherichia coli* và *Bacillus cereus*. Trong đó, hợp chất (**5c**) có hoạt động kháng khuẩn tốt hơn so với hợp chất (**5a**). Hoạt tính kháng khuẩn của cả 2 chất trên vi khuẩn gram âm là *E. coli* tốt hơn trên vi khuẩn gram dương *B. cereus* với giá trị MIC là cao hơn. Kết quả nghiên cứu này tạo tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm phát triển các loại kháng sinh mới.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng trong đề tài có mã số B2019-DN01-26.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Anuja C., Maryam M., Nichola R. N., Sara E. B., Rifat A., James B., Alison H. H., Alan J., Julie V. R., "Quantifying drivers of antibiotic resistance in humans: a systematic review", *The Lancet Infectious Diseases*, 18 (12), 2018, 368-378.
- [2] Mohanty, P., S. Behera, R. Behura, L. Shubhadarshinee, P. Mohapatra, A. K. Barick, and B. R. Jali, "Antibacterial Activity of Thiazole and its Derivatives: A Review", *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12 (2), 2021, 2171-2195.
- [3] Stefanska, J., Nowicka, G., Struga, M., Szulczyk, D., Koziol, A.E., Augustynowicz-Kopec, E., Napiorkowska, A., Bielenica, A., Filipowski, W., Filipowska, A. and Drzewiecka, A., "Antimicrobial and anti-biofilm activity of thiourea derivatives incorporating a 2-aminothiazole scaffold", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 63(3), 2015, 225-236.
- [4] Khalifa, M.E., "Recent developments and biological activities of 2-aminothiazole derivatives", *Acta Chimica Slovenica*, 65(1), 2018, 1-22.
- [5] Siddiqui N, Arshad MF, Ahsan W, Alam MS., "Thiazoles: a valuable insight into the recent advances and biological activities", *Int J Pharm Sci Drug Res*, 1(3), 2009, 136-143.
- [6] Hamzé, Abdallah, Eric Rubi, Pascal Arnal, Michel Boisbrun, Carole Carcel, Xavier Salom-Roig, Marjorie Maynadier, Sharon Wein, Henri Vial, and Michèle Calas, "Mono- and bis-thiazolium salts have potent antimalarial activity", *Journal of medicinal chemistry*, 48(10), 2005, 3639-3643.
- [7] Hassan, Alaa A., Nasr K. Mohamed, Ashraf A. Aly, Hendawy N. Tawfeek, Stefan Bräse, and Martin Nieger, "Synthesis and structure confirmation of 2, 4-disubstituted thiazole and 2, 3, 4-trisubstituted thiazole as thiazolium bromide salts", *Monatshfte für Chemie-Chemical Monthly*, 151 (7), 2020, 1143-1152.
- [8] Phukan, Nithi, and Jubaraj B. Baruah, "Imine-automers of aminothiazole derivatives: intriguing aspects of chemical reactivities", *CrystEngComm*, 18(21), 2016, 3877-3890.
- [9] Sondhi, Sham M., Nirupma Singh, Anand M. Lahoti, Kiran Bajaj, Ashok Kumar, Olivier Lozach, and Laurent Meijer, "Synthesis of acridinyl-thiazolino derivatives and their evaluation for anti-inflammatory, analgesic and kinase inhibition activities", *Bioorganic & medicinal chemistry*, 13(13), 2005, 4291-4299.
- [10] Abedi-Jazini, Z., Safari, J., Zarnegar, Z., & Sadeghi, M., "A simple and efficient method for the synthesis of 2-Aminothiazoles under mild conditions", *Polycyclic Aromatic Compounds*, 38(3), 2018, 231-235.
- [11] Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline. CLSI document M26-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 1999. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- [12] R. Abraham, P. Prakash, "A novel substrate controlled chemoselective synthesis of aryl bis (thiazole-2-imine)methanes from 2-aminothiazoles and aldehydes", *Tetrahedron Letters*, 58, 2017, 3057-3063.
- [13] Kaper, James B., James P. Nataro, and Harry LT Mobley, "Pathogenic *Escherichia coli*", *Nature reviews microbiology*, 2(2), 2004, 123-140.
- [14] Hilliard, Nicholas J., Robert L. Schelonka, and Ken B. Waites, "Bacillus cereus bacteremia in a preterm neonate", *Journal of Clinical Microbiology*, 41(7), 2003, 3441-3444.