

# TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG NẤM CỦA CÁC DẪN CHẤT N-(MORPHOLINO(PHENYL)METHYL)NICOTINAMID

Huỳnh Nguyễn Hoài Phương<sup>1</sup>, Đinh Thị Thu Thảo<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Trúc<sup>1</sup>,  
Trương Phương<sup>1</sup>, Võ Thị Cẩm Vân<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

**Mở đầu:** Việt Nam là một nước có tỉ lệ sử dụng kháng sinh và tỉ lệ đề kháng kháng sinh hàng đầu thế giới. Bên cạnh việc nâng cao ý thức sử dụng kháng sinh an toàn, hợp lý thì việc tổng hợp các hợp chất mới có tiềm năng kháng khuẩn, kháng nấm cũng rất cần thiết. Với mục tiêu trên, đề tài tiến hành tổng hợp các dẫn chất N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid mới và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các dẫn chất tổng hợp.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đối tượng nghiên cứu là 3 dẫn chất N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid. Phương pháp nghiên cứu: các dẫn chất N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid được tổng hợp bằng phản ứng Mannich sử dụng nguyên liệu là nicotinamid, morpholin và dẫn chất benzaldehyd. Phản ứng này được tối ưu hoá về thời gian và nhiệt độ để tìm được điều kiện phản ứng tối ưu. Các chất tổng hợp được kiểm tra cấu trúc bằng điểm chảy, sắc kí lớp mỏng, các phương pháp phổ như IR, MS, NMR. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các chất tổng hợp bằng phương pháp khuếch tán trên thạch.

**Kết quả:** Tìm được điều kiện tối ưu cho phản ứng Mannich và tổng hợp được 3 dẫn chất N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid với hiệu suất tốt. Kết quả phổ học cho thấy các chất có cấu trúc phù hợp với dự kiến. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm cho thấy chỉ có chất N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid cho hoạt tính yếu trên *Candida albicans*.

**Kết luận:** Đã tổng hợp được 3 dẫn chất N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid trong đó có 2 dẫn chất là chất mới theo tìm kiếm trên Sci-Finder. Trong các dẫn chất tổng hợp này, chỉ có N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid có hoạt tính yếu trên *Candida albicans*.

**Từ khoá:** N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid, kháng khuẩn, kháng nấm, base Mannich

## ABSTRACT

### SYNTHESIS AND EVALUATION THE ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF N-(MORPHOLINO(PHENYL)METHYL)NICOTINAMIDE DERIVATIVES

Huynh Nguyen Hoai Phuong, Dinh Thi Thu Thao, Nguyen Thanh Truc,  
Truong Phuong, Vo Thi Cam Van

\* Ho Chi Minh City Journal of Medicine \* Vol. 25 - No. 2 - 2021: 27 - 31

**Objectives:** Vietnam is a country with the highest rate in using antibiotics and resistance to antibiotics in the world. In addition to raising the awareness of safe and rational use of antibiotics, the synthesis of new compounds with potential antibacterial and antifungal activities is also essential. With above objectives, some new derivatives of N-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamide were prepared and screened for the antibacterial and antifungal activities

**Methods:** The synthesis used Mannich reaction with morpholine, nicotinamide and benzaldehyde derivatives as starting materials. The reactions were optimized. The three Mannich bases were structurally

<sup>1</sup>Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Tác giả liên lạc: ThS. Huỳnh Nguyễn Hoài Phương ĐT: 0947989950 Email: hoaihuonghuynh@ump.edu.vn

characterized using melting point, TLC, IR, MS, NMR. The *in vitro* antibacterial and antifungal activities were screening using BSAC standardized disc susceptibility testing method.

**Results:** The optimal condition for this Mannich reaction was found. The three derivatives of *N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamide were successfully synthesized. All synthesized compounds have no antibacterial activities, *N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamide has weak activity against *Candida albicans*

**Conclusion:** The three derivatives of *N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamide were successfully synthesized. There were two new compounds according to the searching on Sci-Finder. There is only one compound (*N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamide) with weak activity on *Candida albicans*.

**Keywords:** *N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamide, antibacterial and antifungal activity, Mannich base

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện tại, với sự giúp đỡ của máy tính, việc thiết kế phát triển thuốc mới đã hiệu quả hơn rất nhiều. Việc phát triển thuốc kháng khuẩn, kháng nấm mới vẫn còn nhiều khó khăn do đích tác động trên vi khuẩn, vi nấm thường không rõ ràng và có nhiều cơ chế khác nhau<sup>(1)</sup>. Do vậy, phát triển thuốc kháng khuẩn, kháng nấm theo cách cổ điển vẫn còn nhiều giá trị. Với phương pháp này, các nhóm dẫn chất mới sẽ được tổng hợp và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm với mục đích tìm ra những chất mới có hoạt tính. Trong những năm gần đây, các nghiên cứu trên base Mannich chứa morpholin hay phức kim loại của các base Mannich này cho những chất có tiềm năng kháng khuẩn, kháng nấm tốt<sup>(2-4)</sup>. Nghiên cứu này nhằm mục tiêu tổng hợp những base Mannich mới (dẫn chất *N*-(morpholino(phenyl)methyl) nicotinamid) đồng thời sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các chất này nhằm mục tiêu tìm ra những chất có hoạt tính tốt.

## ĐỐI TƯỢNG-PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Đối tượng nghiên cứu

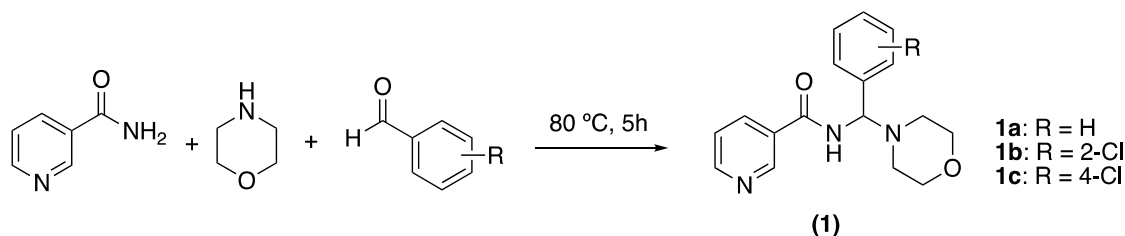
Ba dẫn chất *N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid bao gồm: *N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid (1a), *N*-(2-clorophenyl(morpholino)methyl)nicotinamid (1b) và *N*-(4-clorophenyl(morpholino)methyl)nicotinamid (1c).

### Nguyên liệu và trang thiết bị

Nicotinamid, morpholin, benzaldehyd, 2-clorobenzaldehyd, 4-clorobenzaldehyd, dung môi hữu cơ từ Trung Quốc và công ty Merck – Đức theo tiêu chuẩn tổng hợp; các môi trường nuôi cấy vi nấm và vi khuẩn: Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Mueller Hinton Agar (MHA), chủng vi nấm *Candida albicans* ATCC 10231, các chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922, chất chứng dương: ciprofloxacin (kháng khuẩn) và fluconazol (kháng nấm). Phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng silica gel GF<sub>254</sub> (hãng Merck – Đức). Điểm chảy đo trên máy Stuart SMP10; phổ IR đo trên máy Tensor 27 Bruker; phổ khối MS được đo trên máy Shimadzu LCMS; phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR được đo trên máy Bruker BioSpin GmbH 500 MHz. Một số dụng cụ sử dụng trong phần thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm: nồi hấp tiệt trùng Himaraya, tủ ấm Shellab, máy vortex Labnet, tủ cấy vô khuẩn, máy đo quang Gene Quant 1300.

### Phương pháp tổng hợp

Các dẫn chất *N*-(morpholino(phenyl)methyl)nicotinamid được tổng hợp bằng phản ứng Mannich sử dụng nguyên liệu là nicotinamid, morpholin và dẫn chất benzaldehyd (Hình 1). Khảo sát điều kiện tối ưu cho phản ứng. Tinh chế sản phẩm bằng phương pháp kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi methanol - nước (1:1).



Hình 1. Phản ứng tổng hợp dẫn chất *N*-(morpholino(phenyl)metyl)nicotinamid

### Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Sử dụng phương pháp đục lỗ trên thạch<sup>(5)</sup> với các mẫu thử 1a-c, song song với một đĩa chứng âm chỉ nhỏ dung môi DMSO và một đĩa chứng dương với chất chứng dương là ciprofloxacin (kháng khuẩn) và fluconazol (kháng nấm).

### KẾT QUẢ

#### Kết quả tổng hợp

##### Quy trình tổng hợp chung

Trong bình cầu 50 ml cho vào hỗn hợp morpholin và benzaldehyd (hoặc dẫn chất) với tỉ lệ đương lượng là 1:1, đun hồi lưu và khuấy ở nhiệt độ thích hợp. Thêm tiếp nicotinamid (1 đương lượng) vào, tiếp tục đun hồi lưu và khuấy. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng. Sản phẩm được lọc, kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi methanol – nước (1:1).

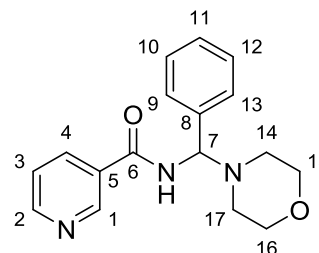
Phản ứng được khảo sát ở các khoảng nhiệt độ khác nhau: 0 °C, 30 °C, 60 °C, 80 °C, 100 °C. Kết quả thực nghiệm cho thấy rằng ở nhiệt độ 80 °C, sản phẩm thu được đạt hiệu suất cao, thời gian phản ứng ngắn, sản phẩm phụ sinh ra là ít nhất.

Ngoài việc khảo sát yếu tố nhiệt độ, phản ứng cũng được theo dõi theo thời gian từ 3 giờ – 48 giờ. Kết quả cho thấy sau 5 giờ, sản phẩm sinh ra là nhiều nhất và sản phẩm phụ ít nhất.

Như vậy, sau khi khảo sát, nhiệt độ tối ưu cho phản ứng tổng hợp các dẫn chất *N*-(morpholino(phenyl)metyl)nicotinamid là 80 °C, thời gian phản ứng tối ưu là 5 giờ.

Áp dụng quy trình tối ưu để tổng hợp các dẫn chất.

Các chất được tổng hợp có cấu trúc chung như sau:



Hình 2. Cấu trúc dẫn chất **1a**, dẫn chất **1b**: nhóm thế cloro gắn vào vị trí C13; dẫn chất **1c**: nhóm thế cloro gắn vào vị trí C11

#### *N*-(morpholino(phenyl)metyl)nicotinamid (**1a**)

Hiệu suất 58,8%. Bột kết tinh màu trắng, không mùi, kém tan trong nước, tan trong EtOH và MeOH; nhiệt độ nóng chảy: 157-159 °C. R<sub>f</sub>: 0,61 (toluen:aceton 1:1). IR (EtOH) ν (cm<sup>-1</sup>): 1635,64 (ν<sub>C=O</sub>), 1517,98 (ν<sub>C=C</sub>), 1112,93 (ν<sub>C-O</sub>). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 9,08 (2H, m, H1, NH), 8,72 (1H, dd, *J* = 4,5 Hz, 1,5 Hz, H2), 8,27 (1H, m, H4), 7,53 (3H, m, H3, H9, H13), 7,39 (2H, dd, *J* = 7,5 Hz, 7,0 Hz, H10, H12), 7,30 (1H, dd, *J* = 7,5 Hz, 7,0 Hz, H11), 5,90 (1H, d, *J* = 9,5 Hz, H7), 3,60 (4H, m, H15, H16), 2,50 (4H, m, H14, H17). <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 165,7 (C6), 151,9 (C2), 148,7 (C1), 138,8 (C8), 135,4 (C4), 129,8 (C5), 128,2 (C10, C12), 127,6 (C3), 127,4 (C9, C13), 123,3 (C11), 71,3 (C7), 66,2 (C15, C16), 48,8 (C14, C17); C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup> dự kiến 296,15, thực tế 296,25 m/z (Hình 2).

#### *N*-(2-clorophenyl (morpholino) metyl) nicotinamid (**1b**)

Hiệu suất 38,6%. Bột kết tinh màu trắng, không mùi, kém tan trong nước, tan trong EtOH và MeOH; nhiệt độ nóng chảy: 143-145 °C. R<sub>f</sub>: 0,71 (*n*-hexan:aceton 1:1). IR (EtOH) ν (cm<sup>-1</sup>):

1643,35 ( $\nu_{C=O}$ ), 1548,84 ( $\nu_{C=C}$ ), 1114,86 ( $\nu_{C-O}$ ).  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  (ppm): 8,98 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H1), 8,70 (1H, dd,  $J = 5,0$  Hz, 1,5 Hz, H2), 8,25 (1H, ddd,  $J = 8,0$  Hz, 4,0 Hz, 2,0 Hz, H4), 7,76 (1H, dd,  $J = 7,5$  Hz, 2,0 Hz, H12), 7,55 (1H, dd,  $J = 8,0$  Hz, 5,0 Hz, H3), 7,45 (1H, dd,  $J = 8,0$  Hz, 1,5 Hz, H9), 7,35 (2H, m, H10, H11), 6,19 (1H, s, H7), 3,70 (4H, m, H15, H16), 2,73 và 2,69 (4H, m, H14, H17).  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  (ppm): 168,1 (C6), 152,8 (C1), 149,3 (C2), 137,6 (C8), 137,3 (C4), 135,4 (C13), 131,9 (C5), 131,0 (C9), 130,6 (C11), 130,0 (C12), 128,1 (C10), 125,1 (C3), 70,9 (C7), 68,0 (C15, C16), 50,8 (C14, C17);  $C_{17}H_{18}ClN_3O_2$  [M-H]<sup>-</sup> dự kiến 330,11, thực tế 330,20 m/z, [M-H+2]<sup>-</sup> thực tế 332,21 m/z theo tỉ lệ 1:3 so với pic [M-H]<sup>-</sup> (Hình 2).

**N-(4-clorophenyl (morpholino) metyl) nicotinamid (1c)**

Hiệu suất 52,7%. Bột kết tinh màu trắng, không mùi, kém tan trong nước, tan trong EtOH và MeOH; nhiệt độ nóng chảy: 154-156 °C. R<sub>f</sub>: 0,73 (*n*-hexan:aceton 1:1). IR (EtOH)  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ): 1639,49 ( $\nu_{C=O}$ ), 1591,27 ( $\nu_{C=C}$ ), 1112,93 ( $\nu_{C-O}$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  (ppm): 9,05 (1H, dd,  $J = 2,0$  Hz, 0,5 Hz, H1), 8,73 (1H, dd,  $J = 2,0$  Hz, 1,5 Hz, H2), 8,32 (1H, ddd,  $J = 8,0$  Hz, 4,0 Hz, 1,5 Hz, H4), 7,60 – 7,55 (3H, m, H3, H10, H12), 7,41 (2H, m, H9, H13), 5,98 (1H, s, H7), 3,74 (4H, m, H15, H16), 2,64 và 2,59 (4H, m, H14, H17).  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  (ppm): 168,6 (C6), 152,8 (C1), 149,4 (C2), 138,7 (C8), 137,3 (C4), 134,9 (C11), 131,9 (C5), 130,2 (C9, C13), 129,6 (C10, C12), 125,1 (C3), 72,9 (C7), 68,0 (C15, C16), 50,4 (C14, C17);  $C_{17}H_{18}ClN_3O_2$  [M-H]<sup>-</sup> dự kiến 330,11, thực tế 330,18 m/z, [M-H+2]<sup>-</sup> thực tế 332,25 m/z theo tỉ lệ 1:3 so với pic [M-H]<sup>-</sup> (Hình 2).

**Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm**

Kết quả định tính cho thấy các chất tổng hợp được không có hoạt tính kháng khuẩn. Chất 1a có hoạt tính yếu trên *Candida albicans*.

**BÀN LUẬN**

Phản ứng tổng hợp các dẫn chất N-(morpholino(phenyl)metyl)nicotinamid được

theo dõi theo thời gian và được thực hiện ở các nhiệt độ khác nhau. Do phản ứng này xảy ra trong môi trường không dung môi, nguyên liệu lại ở những pha khác nhau nên ở nhiệt độ thấp, phản ứng xảy ra với hiệu suất rất thấp có thể do nguyên liệu không được phân tán tốt. Ở nhiệt độ quá cao (hơn 100 °C), phản ứng xảy ra theo nhiều hướng khác nhau nên sinh ra rất nhiều sản phẩm phụ, khó tinh chế. Theo kết quả nghiên cứu, nhiệt độ 80 °C và phản ứng tiến hành trong 5 giờ sẽ cho sản phẩm với quy trình tinh chế cũng như hiệu suất tối ưu.

Với mong muốn mở rộng các hợp chất tổng hợp, một số hợp chất có H linh động được sử dụng để thay thế cho nicotinamid như: acetophenon, acetanilid, 4-hydroxyphenylacetamid, isoniazid; phản ứng sử dụng các base khác nhau hay sử dụng thêm xúc tác là các acid Lewis. Tuy nhiên, phản ứng Mannich với các hợp chất này không xảy ra hay tạo thành chủ yếu là muối iminium giữa dẫn chất aldehyd và morpholin.

Phản ứng Mannich giữa nicotinamid, các dẫn chất aldehyd và morpholin là một phản ứng khó thực hiện do có thể tạo thành nhiều sản phẩm phụ khác nhau. Chúng tôi đã tìm được điều kiện thích hợp để có thể tiến hành phản ứng Mannich với hiệu suất tốt. Các chất **1b** và **1c** theo tìm kiếm trên SciFinder cho thấy đây là 2 chất mới, góp phần làm phong phú ngân hàng các chất tổng hợp.

Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các base Mannich này chưa thật khả quan, chỉ có chất 1a có hoạt tính ức chế yếu đối với *Candida albicans*.

**KẾT LUẬN**

Trong nghiên cứu này, 3 dẫn chất N-(morpholino(phenyl)metyl)nicotinamid đã được tổng hợp, trong đó có 2 dẫn chất N-(2-clorophenyl(morpholino)metyl)nicotinamid và N-(4-clorophenyl(morpholino)metyl)nicotinamid là những chất mới. Các hợp chất tổng hợp được kiểm tra độ tinh khiết và xác định cấu trúc thông qua các phương pháp như nhiệt độ nóng chảy,

phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân và khối phổ. Tất cả các kết quả phân tích có thể khẳng định hợp chất tổng hợp được có cấu trúc đúng như dự kiến.

Chất N-(morpholino(phenyl)metyl) nicotinamid có hoạt tính yếu trên *Candida albicans*.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu này nhận được tài trợ kinh phí của Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh cấp cho TS. Võ Thị Cẩm Vân, đề tài mã số 226/2020/HĐ-ĐHYD.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Silver LL (2011). Challenges of Antibacterial Discovery. *Clin Microbiol Rev*, 24(1):71-109.
2. Ünver Y, Deniz S, Çelik F, Akar Z, Küçük M, Sancak K (2016). Synthesis of new 1,2,4-triazole compounds containing Schiff and

Mannich bases (morpholine) with antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 3(31):89-95.

3. Thirugnanam T, Tamilvendan D, Amaladasan M (2013). Synthesis, characterization and antimicrobial screening of O-toluidine new mannich base of acetamide. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Sciences*, 3(1):12-15.
4. Shanmugapriya M, Sulthana AR, Jameel AA (2014). Synthesis of Cobalt (II), Nickel (II), Copper (II) and Zinc (II) Complexes of N-(1-Morpholinosalicylyl)benzohydrazide and their Antimicrobial Activities. *J Environ Nanotechnol*, 3(2):188-193.
5. Howe R, Andrews J (2012). BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 11). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(12):2783-2784.

Ngày nhận bài báo:	11/12/2020
Ngày phản biện nhận xét bài báo:	25/12/2020
Ngày bài báo được đăng:	20/04/2021