

## TỔNG HỢP DẪN XUẤT BENZIMIDAZOLYLNAPHTHALENE VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC

Huỳnh Thị Minh Hải<sup>1</sup>, Trần Thanh Tuấn<sup>2</sup>, Oh Won Keun<sup>3</sup>, Hà Thị Kim Quy<sup>3</sup> và Bùi Thị Bửu Huệ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup> Phòng Thí nghiệm Dược liệu, Khoa dược, Trường Đại học Quốc gia Seoul, Hàn Quốc

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 07/06/2014

Ngày chấp nhận: 30/10/2014

### Title:

Synthesis and bioactivity evaluation of benzimidazolynaphthalene derivative

### Từ khóa:

Dẫn xuất benzimidazole, naphthalene, phản ứng Stobbe

### Keywords:

Benzimidazole derivatives, naphthalene, Stobbe reaction

### ABSTRACT

A new benzimidazolynaphthalene derivative 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol has been successfully synthesized from the starting material 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde. The synthetic process included 5 steps 1) Base induced Stobbe condensation, 2)  $Ac_2O/NaOAc$  mediated cyclization to form naphthalene ring, 3) Reduction of the ethyl ester moiety to form primary alcohol 4) oxidized the alcohol by PCC to give the corresponding aldehyde and 5) condensation of the formed aldehyde with 1,2-diaminebenzene to afford the desired product in 20.5% total yield. Results on bioactivity evaluation showed that compound 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol was not active against PEDV and H1N1 virus but possessed considerable cytotoxicity against MCF-7 cell at the concentration of  $3.48 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$  which was comparable with tamoxifen ( $4 \mu\text{g/mL}$ ).

### TÓM TẮT

Một dẫn xuất benzimidazolynaphthalene mới là 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol đã được tổng hợp thành công từ tác chất ban đầu 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde. Quá trình tổng hợp trải qua 5 bước: 1) Phản ứng ngưng tụ Stobbe sử dụng base mạnh potassium tert-butylate, 2) Cộng ghép vòng tạo khung naphthalene sử dụng hỗn hợp  $Ac_2O/NaOAc$ , 3) Khử nhóm ethyl ester thành alcol 4) Oxy hóa alcol tạo aldehyde tương ứng và 5) Ngưng tụ với 1,2-diaminebenzene tạo sản phẩm mong muốn. Hiệu suất tổng cộng của cả quá trình đạt 20%. Hợp chất 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol được tiến hành khảo sát hoạt tính kháng virus PEDV, virus cúm H1N1 và độc tính với tế bào ung thư MCF-7. Kết quả cho thấy hợp chất này không thể hiện hoạt tính kháng virus PEDV và H1N1 nhưng có độc tính ức chế 50% tế bào ung thư MCF-7 ở nồng độ  $3.48 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$  và có hoạt tính tương đương với đối chứng dương tamoxifen ( $4 \mu\text{g/mL}$ ).

## 1 GIỚI THIỆU

Các hợp chất có khung sườn naphthalene chiếm một vị trí quan trọng trong lĩnh vực hợp chất tự nhiên và tổng hợp được vì có khả năng kháng sinh,

kháng ung thư, kháng sốt rét, kháng HIV cũng như có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh (K. Nagaraja *et al.*, 2006 và Y. B. Rokade *et al.*, 2009). Một số loại thuốc có chứa cấu trúc vòng naphthalene đã

được thương mại hóa như nafacillin, naftifine, tolnaftate, terbinafine,... Mặt khác, các dẫn xuất benzimidazole cũng được biết có nhiều hoạt tính sinh học như chống u nhọt, giảm huyết áp, kháng virus, kháng nấm, kháng ung thư và chống dị ứng (Jayashankara *et al.*, 2008; Valdez *et al.*, 2002 và Porcari *et al.*, 1998). Chính vì vậy, việc tổng hợp các dẫn xuất có cấu trúc kết hợp khung naphthalene và benzimidazole hứa hẹn tạo ra cấu trúc mới có tiềm năng về hoạt tính sinh học, đặc biệt là khả năng kháng ung thư. Bài báo này trình bày kết quả tổng hợp một dẫn xuất benzimidazolynaphthalene mới là 3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol và khảo sát hoạt tính kháng virus cúm H1N1, virus PEDV và độc tính với tế bào ung thư MCF-7 của dẫn xuất tổng hợp được.

## 2 THỰC NGHIỆM

Các phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và phổ DEPT được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 500 NMR Spetrometer (độ dịch chuyển hóa học  $\delta$  được tính theo ppm, hằng số tương tác  $J$  tính bằng Hz) tại Viện Hóa học - Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam. Phổ khối lượng MS được đo trên máy 1100 series LC/MS/MS Trap Agilent. Các hóa chất và dung môi sử dụng có nguồn gốc từ Merck. Sắc ký bản mỏng sử dụng bản nhôm silica gel 60 F254 tráng sẵn độ dày 0.2 mm (Merck). Sắc ký cột sử dụng silica gel cỡ hạt 0.04-0.06mm (Merck).

### Tổng hợp (E)-3-(ethoxycarbonyl)-4-(3,4,5-trimethoxyphenyl)but-3-enoic acid (2)

Thêm từ từ hỗn hợp gồm hợp chất 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (1) (6.0 g - 30 mmol) và diethyl succinate (10.6 g - 60 mmol) trong *tert*-butyl alcohol, *t*-BuOH (40 mL) vào bình cầu 250 mL chứa sẵn hỗn hợp gồm potassium *tert*-butylate, *t*-BuOK (8.4 g - 75 mmol) trong *t*-BuOH (60 mL). Khuấy đều hỗn hợp với tốc độ 700 vòng/phút trong môi trường khí nitrogen ở 40°C trong 5 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được acid hóa bằng dung dịch  $\text{CH}_3\text{COOH}$  10%. Chiết sản phẩm bằng dung môi ethyl acetate, EtOAc (4×80 mL). Lọc hữu cơ được rửa lại nhiều lần bằng nước cất đến khi dịch chiết trung tính, sau đó rửa với dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  khan, cô đuổi dung môi thu được sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột với hệ dung môi giải ly là PE:EtOAc = 8:1, thu được một chất rắn màu trắng (7.88 g - 80.02%,  $R_f$  = 0.34, Hexane:EtOAc = 1:2).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 7.86 (s, 1H, =CH-), 6.66 (s, 2H, =CH-), 4.31 (q, 2H,  $J$  = 7.5 Hz,

$\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.88 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.86 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.62 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-COOH}$ ), 1.36 (t, 3H,  $J$  = 7.5 Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 175.9 (-COOH), 167.9 (-COO-), 153.3 (>C=), 142.7 (-CH=), 138.9 (>C=), 130.0 (>C=), 124.6 (=C<), 106.6 (-CH=), 61.6 (-COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 60.9 (-OCH<sub>3</sub>), 56.2 (OCH<sub>3</sub>), 34.1 (-CH<sub>2</sub>COOH), 14.2 (COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### Tổng hợp ethyl 4-acetoxy-5,6,7-trimethoxynaphthalene-2-carboxylate (3)

Hỗn hợp gồm chất (2) (7.88 g - 24 mmol), sodium acetate, NaOAc (1.968 g - 24 mmol) và acetic anhydride, Ac<sub>2</sub>O (19.2 mL -192 mmol) được khuấy trong bình cầu dung tích 100 mL ở 70°C, tốc độ khuấy 700 vòng/phút trong môi trường khí nitrogen trong 4 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được làm lạnh, hòa tan trong EtOAc, thêm dung dịch  $\text{NaHCO}_3$  bão hòa đến khi không còn sủi bọt khí. Dịch chiết EtOAc được rửa nhiều lần với nước đến khi môi trường trung tính (pH = 7), làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , cô đuổi dung môi được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel hệ dung môi PE:EtOAc = 9:1, thu được chất rắn kết tinh màu trắng (6.13g - 78.80%,  $R_f$  = 0.56, Hexane:EtOAc = 1:1).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 8.34 (d, 1H,  $J$  = 1.5 Hz, =CH-), 7.55 (d, 1H,  $J$  = 1.5 Hz, =CH-), 7.10 (s, 1H, =CH-), 4.41 (q, 2H,  $J$  = 7 Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.98 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.97 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.93 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 2.40 (s, 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 1.42 (t, 3H,  $J$  = 7 Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 169.9 (C=O), 165.9 (C=O), 153.6 (>C=), 147.6 (>C=), 145.7 (>C=), 144.5 (>C=), 131.9 (>C=), 127.9 (-CH=), 127.3 (>C=), 120.0 (>C=), 117.3 (-CH=), 104.8 (-CH=), 61.9 (-OCH<sub>3</sub>), 61.3 (-OCH<sub>3</sub>), 61.2 (-CH<sub>2</sub>), 55.9 (-OCH<sub>3</sub>), 20.8 (-COCH<sub>3</sub>), 14.3 (-CH<sub>3</sub>).

### Tổng hợp 3-(hydroxymethyl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (4)

Cho 60 mL dung môi tetrahydrofuran, THF vào bình cầu dung tích 250 mL đã sấy khô và được đậy kín bằng septum có chứa sẵn  $\text{LiAlH}_4$  (3.99 g - 105.06 mmol). Khuấy hỗn hợp trong môi trường khí nitrogen ở nhiệt độ phòng với tốc độ 700 vòng/phút khoảng 15 phút. Sau đó, cho thêm vào (từng giọt) hỗn hợp chứa chất (3) (6.13 g - 17.51 mmol) đã được hòa tan trong 40 mL THF. Tiếp tục khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được acid hóa bằng dung dịch HCl 1N, chiết sản phẩm với EtOAc (5×40 mL). Lọc hữu cơ được rửa nhiều lần bằng nước cất đến

khi dịch chiết trung tính, rửa lại bằng dung dịch NaCl bão hòa, làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  khan và cô đuổi dung môi thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được làm tinh khiết bằng sắc ký cột với hệ giải ly PE:EtOAc = 7:1 thu được một chất lỏng dạng dầu màu vàng nhạt (3.51 g -76.04%,  $R_f$  = 0.36, Hexane:EtOAc = 1:1).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 9.44 (s, 1H, OH), 7.15 (s, 1H, -CH=), 6.87 (s, 1H, -CH=), 6.72 (s, 1H, -CH=), 4.71 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH), 4.12 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.93 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 154.0 (>C=), 153.0 (>C=), 148.1 (=C<), 140.0 (>C=), 139.6 (>C=), 132.6 (>C=), 115.3 (=CH-), 112.1 (>C=), 107.4 (-CH=), 103.5 (-CH=), 65.2 (-CH<sub>2</sub>OH), 62.2 (-OCH<sub>3</sub>), 61.2 (-OCH<sub>3</sub>), 55.8 (-OCH<sub>3</sub>).

**Tổng hợp 4-hydroxy-5,6,7-trimethoxynaphthalene-2-carbaldehyde (5)**

Khuấy đều hỗn hợp gồm PCC (5.85 g - 26.6 mmol) cùng một lượng silica gel tương ứng trong 20 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ở nhiệt độ phòng trong môi trường khí nitrogen với tốc độ khuấy 700 vòng/phút. Sau 10 phút, thêm từ từ vào hỗn hợp trên một lượng dung dịch gồm chất (4) (3.51 g - 13.3 mmol) trong 30 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Tiếp tục khuấy ở nhiệt độ phòng đến 40 phút thì dừng phản ứng. Hòa tan hỗn hợp sau phản ứng bằng EtOAc, lọc nhanh sản phẩm vào phễu chiết, tiếp tục chiết lấy sản phẩm nhiều lần với EtOAc (5×30 mL). Lọc hữu cơ được rửa nhiều lần với nước cất, sau cùng rửa lại với NaCl bão hòa, làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  khan, cô đuổi dung môi, sản phẩm thô được làm tinh khiết bằng sắc ký cột với hệ giải ly là PE:EtOAc = 7:1 được một chất rắn kết tinh màu vàng nhạt (2.19 g - 62.47%,  $R_f$  = 0.76, Hex:EtOAc = 1:1).  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta$  ppm): 10.01 (s, 1H, -CHO), 9.57 (s, 1H, -OH), 7.70 (d, 1H,  $J$  = 1.5 Hz, -CH=), 7.18 (d, 1H,  $J$  = 1.5 Hz, -CH=), 7.09 (s, 1H, -CH=), 4.16 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 4.00 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.99 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 192.0 (-CHO), 154.7 (>C=), 153.6 (=C<), 148.3 (>C=), 142.2 (>C=), 135.3 (>C=), 131.8 (>C=), 123.9 (-CH=), 116.3 (>C=), 105.2 (-CH=), 105.1 (-CH=), 62.5 (-OCH<sub>3</sub>), 61.3 (-OCH<sub>3</sub>), 56.0 (-OCH<sub>3</sub>).

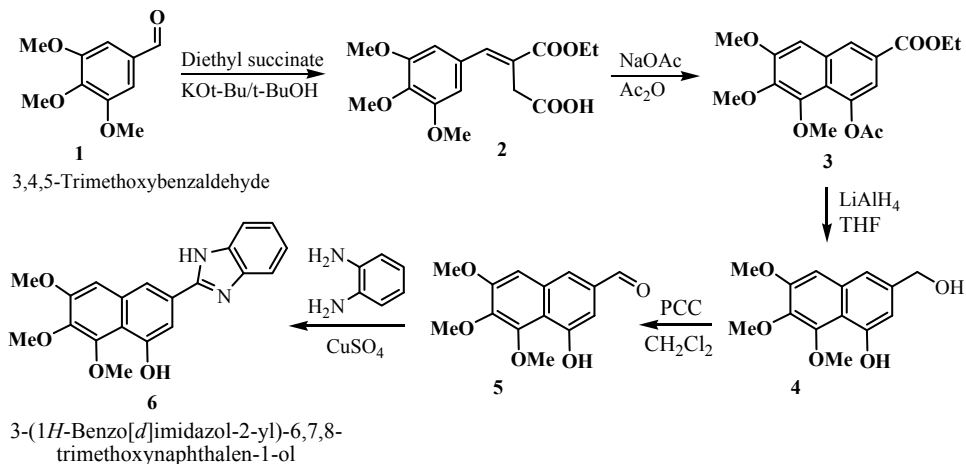
**Tổng hợp 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (6)**

Hòa tan aldehyde (5) (0.262 g - 1 mmol) vào ethanol, EtOH (2 mL) trong bình cầu 10 mL, cho từ từ dung dịch 1,2-phenylenediamine trong 2 mL EtOH vào khuấy đều với tốc độ 600 vòng/phút ở 65°C trong môi trường khí nitrogen khoảng 30 phút. Sau thời gian này cho thêm một lượng  $\text{CuSO}_4$  (0.08 g - 0.5 mmol). Hỗn hợp được tiếp tục khuấy trong 90 phút. Hỗn hợp sau phản ứng được chiết bằng EtOAc và cô đuổi dung môi thu được sản phẩm thô là một chất rắn màu nâu. Sản phẩm thô được làm tinh khiết bằng sắc ký cột với hệ giải ly PE:EtOAc = 4:1 thu được chất rắn kết tinh màu trắng (0.239 g-68.54%,  $t_{nc}^{\circ}$  = 254°C,  $R_f$  = 0.41, Hexane:EtOAc = 1:1). HR-ESI-MS:  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> = 351.  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO,  $\delta$ ppm): 12.90 (s, 1H, OH), 9.65 (s, 1H, NH), 8.07 (d,  $J$  = 1.5 Hz, 1H, CH), 7.66 (d,  $J$  = 8 Hz, 1H, CH), 7.53 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, CH), 7.47 (d,  $J$  = 1.5 Hz, 1H, CH), 7.21-7.18 (m, 3H, CH), 4.01 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, DMSO,  $\delta$ ppm): 153.7 (>C=), 153.2 (>C=), 151.2 (>C=), 148.2 (>C=), 143.8 (>C=), 140.8 (>C=), 135.0 (>C=), 132.4 (>C=), 128.0 (>C=), 122.5 (-CH=), 121.7 (-CH=), 118.8 (-CH=), 116.1 (-CH=), 113.8 (>C=), 111.3 (-CH=), 106.0 (-CH=), 104.1(-CH=), 62.3 (OCH<sub>3</sub>), 60.9 (OCH<sub>3</sub>), 55.8 (OCH<sub>3</sub>).

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Tổng hợp 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (6)**

Dẫn xuất 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (6) được tổng hợp từ tác chất ban đầu là 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (1). Quy trình tổng hợp gồm 5 bước và được tóm tắt trong Sơ đồ 1. Trong nghiên cứu này, giải pháp tổng hợp được chọn lựa là xây dựng khung naphthalene mang nhóm chức aldehyde trước, tiếp theo là sự ngưng tụ giữa nhóm aldehyde với một diaminebenzene thích hợp tạo khung benzimidazole.



### Sơ đồ 1: Tổng hợp dẫn xuất 3-benzimidazolynaphthalene

Một trong những phương pháp hiệu quả để tổng hợp vòng naphthalene là sử dụng phản ứng ngưng tụ Stobbe giữa các aldehyde hoặc ketone thơm với dialkyl succinate trong môi trường base tạo sản phẩm alkene. Cấu hình *E* của liên kết đôi C=C tạo thuận lợi cho việc ghép vòng tiếp theo dưới tác động của hỗn hợp Ac<sub>2</sub>O và NaOAc (Elias *et al.*, 2002 và Andrew *et al.*, 2008).

Xuất phát từ tác chất ban đầu là 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (**1**), phản ứng ngưng tụ Stobbe được thực hiện sử dụng base mạnh là potassium *tert*-butylate tạo ra (*E*)-alkene (**2**) với hiệu suất là 80.02%. Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy có xuất hiện tín hiệu cộng hưởng ở 7.86 ppm (mũi đơn) là proton đặc trưng của nhóm -CH=C, tín hiệu cộng hưởng ở 3.62 ppm (mũi đơn) là proton đặc trưng nhóm -CH<sub>2</sub>-COOH, tín hiệu cộng hưởng ở 4.32 ppm (mũi bốn, *J* = 7 Hz) là proton đặc trưng của nhóm -OCO-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, tín hiệu cộng hưởng ở 1.36 ppm (mũi ba, *J* = 7 Hz) là proton đặc trưng của nhóm -OCO-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> và không có tín hiệu cộng hưởng ở khoảng 9-10 ppm là proton đặc trưng của nhóm CHO. Phổ <sup>13</sup>C-NMR và DEPT cho thấy tín hiệu cộng hưởng ở 175.9 ppm ở phổ <sup>13</sup>C-NMR nhưng không thấy xuất hiện ở phổ DEPT 90 và DEPT 135 là carbon đặc trưng của nhóm carboxylic (-COOH). Tín hiệu cộng hưởng ở 167.9 ppm ở phổ <sup>13</sup>C-NMR nhưng không thấy xuất hiện ở phổ DEPT 90 và DEPT 145 là carbon đặc trưng nhóm carbonyl (C=O). Tín hiệu cộng hưởng ở 124.6 ppm và 142.7 ppm ở phổ <sup>13</sup>C-NMR là carbon đặc trưng của nhóm olefin (-CH=C-). Ngoài ra, còn có tín hiệu ở 60.9 ppm, hai tín hiệu ở 56.2 ppm là carbon của ba nhóm -OCH<sub>3</sub>, các tín hiệu ở 61.6 ppm, 34.1 ppm và 14.2 ppm là

các carbon lần lượt của nhóm -OCH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub> và -CH<sub>3</sub>.

Khi alkene (**2**) được tiếp tục cho phản ứng với hỗn hợp Ac<sub>2</sub>O/NaOAc, hợp chất ethyl 4-acetoxy-5,6,7-trimethoxynaphthalene-2-carboxylate (**3**) được tạo thành với hiệu suất 78.8%. Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy không còn tín hiệu cộng hưởng ở 3.62 ppm (mũi đơn) là tín hiệu đặc trưng của nhóm -CH<sub>2</sub>-COOH. Thay vào đó có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng ở 2.40 ppm (mũi đơn, 3H) là proton đặc trưng nhóm OCO-CH<sub>3</sub>. Từ đây cho thấy sự ghép vòng tạo khung naphthalene đã xảy ra. Ở phổ <sup>13</sup>C-NMR và phổ DEPT cho thấy tín hiệu cộng hưởng ở 169.9 ppm và 165.8 ppm ở phổ <sup>13</sup>C-NMR nhưng không thấy xuất hiện ở phổ DEPT 90 và DEPT 135 là carbon đặc trưng hai nhóm carbonyl (C=O). Các tín hiệu ở 61.2 ppm, 20.8 ppm và 14.3 ppm lần lượt là các tín hiệu đặc trưng của nhóm -OCH<sub>2</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, và -CH<sub>3</sub>. Ngoài ra, các tín hiệu ở 61.9 ppm, 61.3 ppm và 55.9 ppm là tín hiệu của các carbon đặc trưng của ba nhóm -OCH<sub>3</sub>.

Để tổng hợp dẫn xuất benzimidazolynaphthalene, nhóm ethyl ester của (**3**) cần được chuyển hóa thành nhóm CHO. Để đạt được mục tiêu này, trước tiên nhóm ethyl ester được khử thành alcol bậc một sau đó là giai đoạn oxy hóa alcol thành aldehyde tương ứng. Tác nhân khử được chọn lựa là LiAlH<sub>4</sub> sử dụng dung môi tetrahydrofuran (THF). Kết quả cho thấy, hợp chất 3-(hydroxymethyl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (**4**) được tạo thành với hiệu suất 76.04% Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy không còn tín hiệu cộng hưởng ở 4.32 ppm (mũi bốn, *J* = 7 Hz) và 1.36 ppm (mũi ba, *J* = 7 Hz) là những proton đặc trưng

của nhóm  $-\text{OCOCH}_2\text{CH}_3$ . Thay vào đó là có sự xuất hiện của tín hiệu cộng hưởng ở 4.71 ppm (mũi đơn, 2H) đặc trưng cho nhóm  $-\text{CH}_2\text{OH}$ . Thêm vào đó, tín hiệu ở 2.40 ppm (mũi đơn) là proton đặc trưng của nhóm  $-\text{OCOCH}_3$  cũng biến mất nhưng lại xuất hiện tín hiệu cộng hưởng ở 9.44 ppm (mũi đơn) là proton đặc trưng nhóm  $-\text{OH}$  (naphthalene) chứng tỏ cả nhóm acetyl cũng đã bị khử. Ở phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và phổ DEPT cho thấy không còn tín hiệu cộng hưởng ở 165.8 ppm và 169.9 ppm đặc trưng cho hai carbon nhóm  $-\text{C}=\text{O}$  của chất (3), đồng thời xuất hiện tín hiệu cộng hưởng tại 65.2 ppm là tín hiệu của carbon methylene của nhóm  $-\text{CH}_2\text{OH}$ .

Để oxy hóa nhóm alcol của hợp chất (4) thành aldehyde, tác nhân oxy hóa pyridiniumchloro chromate (PCC) được chọn lựa. Trong điều kiện này, aldehyde (5) được tạo thành với hiệu suất 62.47%. Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho thấy không còn tín hiệu cộng hưởng ở 4.71 ppm (mũi đơn, 2H) đặc trưng cho nhóm  $\text{CH}_2\text{OH}$  nhưng lại xuất hiện tín hiệu cộng hưởng ở 10.01 ppm (mũi đơn) là proton đặc trưng của nhóm  $-\text{CHO}$ . Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và phổ DEPT cho thấy không còn tín hiệu cộng hưởng ở 65.2 ppm là carbon đặc trưng cho nhóm  $-\text{CH}_2\text{OH}$  đồng thời xuất hiện tín hiệu cộng hưởng tại 192.1 ppm là carbon đặc trưng của nhóm  $-\text{CHO}$ . Ngoài ra, còn có các tín hiệu ở 62.5 ppm, 61.3 ppm và 56.0 ppm là các tín hiệu cộng hưởng đặc trưng của ba nhóm  $-\text{OCH}_3$ .

Để tạo dẫn xuất benzimidazole, phương pháp thông thường là thực hiện sự ngưng tụ giữa một aldehyde và một diaminebenzene. Nhiều hệ xúc tác được biết có thể được sử dụng để xúc tiến quá trình này (Raginee *et al.*, 2013 và Guo-Feng Chen *et al.*, 2013). Trong nghiên cứu này, phản ứng kết hợp giữa 4-hydroxy-5,6,7-trimethoxynaphthalene-2-carbaldehyde (5) và 1,2-phenylenediamine được thực hiện sử dụng  $\text{CuSO}_4$  làm xúc tác. Kết quả cho thấy, hợp chất 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (6) đã được tổng hợp thành công với hiệu suất khá tốt (68.54%). Phổ khối lượng ESI-MS cho thấy có tín hiệu ion phân tử  $m/z [\text{M}+\text{H}]^+ = 351.05$  tương ứng với công thức phân tử  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$  ( $M=350$  đ.v.c). Phổ  $^1\text{H-NMR}$

cho thấy có xuất hiện tín hiệu cộng hưởng ở 12.90 ppm (mũi đơn) là proton của nhóm  $-\text{OH}$ , tín hiệu cộng hưởng ở 9.65 ppm (mũi đơn) là proton của nhóm NH, đồng thời còn có 7 proton CH của vòng thơm cộng hưởng ở các vị trí 8.07, 7.66, 7.53, 7.47 và 7.21 ppm. Ngoài ra, các tín hiệu cộng hưởng ở 4.01, 3.95 và 3.87 (mũi đơn) là các proton đặc trưng của 3 nhóm  $-\text{OCH}_3$ . Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  kết hợp với DEPT cho thấy trong phân tử (5) có tất cả 20 carbon, trong đó có 10 carbon tứ cấp, 7 carbon CH và 3 carbon của nhóm  $\text{OCH}_3$ . Từ những dữ liệu phổ trên có thể xác định sản phẩm tổng hợp được là 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (6).

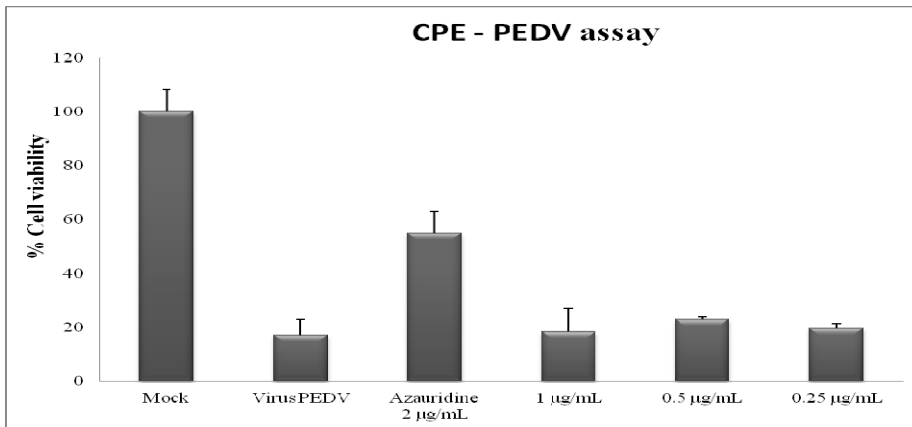
Như vậy, xuất phát từ tác chất ban đầu là 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde, trải qua 5 bước, dẫn xuất 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (6) đã được tổng hợp thành công với hiệu suất tổng đạt khoảng 20%.

### 3.2 Đánh giá hoạt tính sinh học

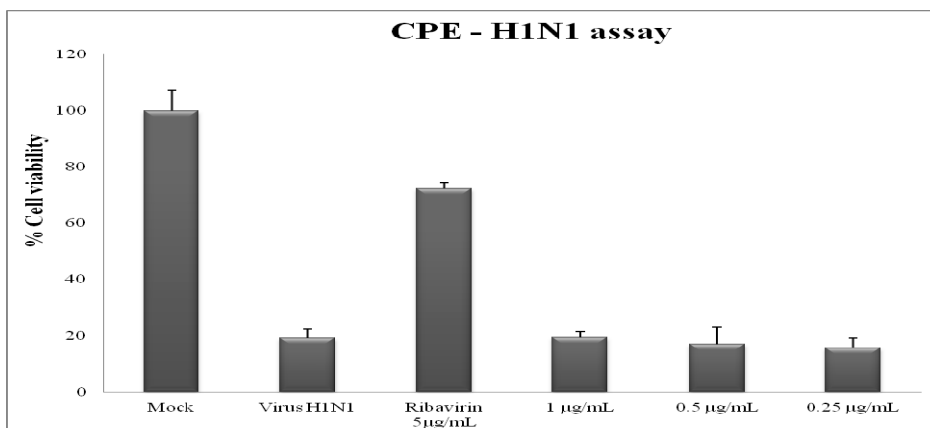
Hợp chất 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (6) được tiến hành khảo sát các hoạt tính sinh học bao gồm kháng virus PEDV, virus cúm H1N1 và độc tính với tế bào ung thư MCF-7. Các thử nghiệm hoạt tính sinh học được thực hiện tại phòng thí nghiệm Dược liệu, Khoa dược, Trường Đại học Quốc gia Seoul, Hàn Quốc.

#### 3.2.1 Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng virus cúm H1N1 và Porcine Epidemic Diarrhea (PEDV)

Hoạt tính kháng virus cúm H1N1 và PEDV được bước đầu đánh giá bằng phương pháp Cytopathic effect (CPE) inhibition với đối chứng âm là DMSO và lần lượt azauridine và ribavirin làm đối chứng dương. Benzoimidazoynaphthalene (6) được thử nghiệm với các nồng độ 1  $\mu\text{g/mL}$ , 0.5  $\mu\text{g/mL}$  và 0.25  $\mu\text{g/mL}$ . Kết quả được trình bày trong Hình 1 và Hình 2, trong đó Mock biểu thị % tế bào còn sống. Từ đây cho thấy, với thử nghiệm hoạt tính kháng virus đối chứng dương azauridin (2  $\mu\text{g/mL}$ ) và ribavirin (5  $\mu\text{g/mL}$ ) tăng lần lượt 2.5 lần và 3 lần, tuy nhiên chất (6) không thể hiện khả năng hoạt tính kháng virus PEDV và H1N1.



**Hình 1: Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng virus PEDV**

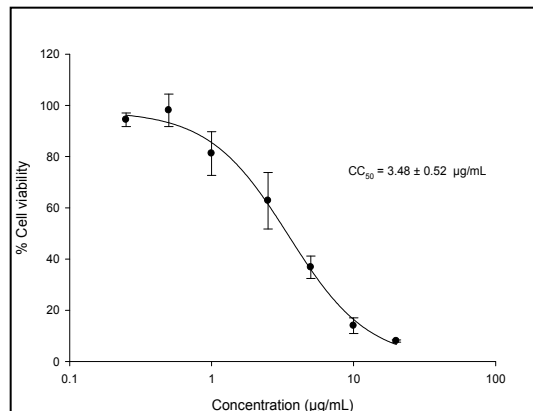
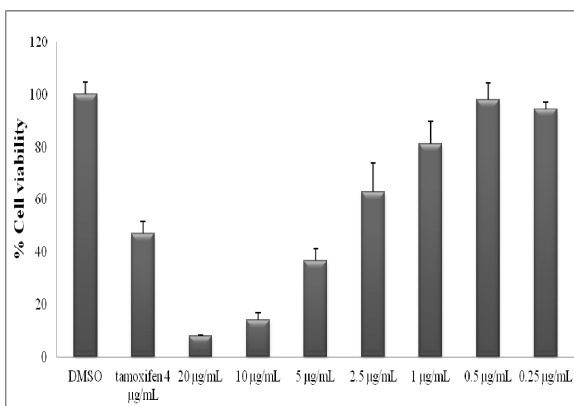


**Hình 2: Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng virus H1N1**

**3.2.2 Kết quả thử nghiệm độc tính đối với tế bào ung thư MCF-7**

Thử nghiệm độc tính với tế bào ung thư MCF-7 được sơ bộ đánh giá bằng phương pháp cytotoxicity assay với đối chứng âm là DMSO và tamoxifen

làm đối chứng dương. Benzoimidazoylnaphthalene (6) được thử nghiệm với dãy nồng độ từ 20 µg/mL đến 0.25 µg/mL. Kết quả cho thấy chất (6) ở nồng độ  $3.48 \pm 0.52$  µg/mL có độc tính ức chế 50% tế bào ung thư MCF-7 và có hoạt tính tương đương với đối chứng dương tamoxifen (4 µg/mL).



**Hình 3: Kết quả thử nghiệm độc tính đối với tế bào ung thư MCF-7**

#### 4 KẾT LUẬN

Đã tổng hợp thành công một dẫn xuất benzimidazolynaphthalene mới là 3-(1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl)-6,7,8-trimethoxynaphthalen-1-ol (**6**) với hiệu suất tổng đạt 20.5% (5 bước). Hợp chất (**6**) thể hiện hoạt tính độc tính ức chế 50% tế bào ung thư MCF-7 ở nồng độ  $3.48 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$  tương đương với chất đối chứng dương tamoxifen ( $4 \mu\text{g/mL}$ ). Các nghiên cứu chuyên sâu về cơ chế độc tính và thử nghiệm *in vivo* cho chất (**6**) đang tiếp tục được thực hiện.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Andrew N. Lowel *et al.*, 2008, A Concise Synthesis of the Naphthalene Portion of Purpuromycin, *J. Org. Chem.*, *73*, 1911-1918.
2. Elias *et al.*, 2002, Synthesis of Hydroxylated Naphthoquinone Derivatives, *Eur. J. Org. Chem.*, 3341-3350.
3. Guo-Feng Chen *et al.*, 2013, Eco-Friendly Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles Using Air as the Oxidant, *Aust. J. Chem.*, *66*, 262-266.
4. Jayashankara *et al.*, 2008, Synthesis and evaluation of antimicrobial activity of a new series of bis (isoxazoline) derivatives, *Arikvoc* xi:75-85.
5. K. Nagaraja *et al.*, 2006, *Arkivoc* xv: 142-152.
6. Porcari *et al.*, 1998, Design, synthesis, and antiviral evaluations of 1-(substituted benzyl)-2-substituted-5,6-dichlorobenzimidazoles as nonnucleoside analogues of 2,5,6-trichloro-1-( $\beta$ -D-ribofuranosyl)benzimidazole, *J. Med. Chem.*, *41*(8):1252-1262.
7. Raginee Jain *et al.*, 2013, Mild and highly efficient copper (II) sulfate catalyzed one pot synthesis of 2-aryl benzimidazole using atmospheric air as an oxidant and its antibacterial study, *Med. Chem. Res.*, *22*:1788-1794.
8. Valdez *et al.*, 2002, Synthesis and antiparasitic activity of 1*H*-benzimidazole derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *12*(16):2221-2224.
9. Y. B. Rokade *et al.*, 2009, Naphthalene Derivatives: A new range of antimicrobials with high therapeutic value, *Rasayan J. Chem.*, Vol. 2, No. 4, 972-980.