

Tổng hợp các dẫn chất tetrahydroquinolin có tiềm năng khôi phục sự nhạy cảm của *Staphylococcus aureus* kháng methicillin đối với cefuroxim

Lương Thị Thảo Vi^{1,2}, Vũ Thanh Thảo¹, Nguyễn Vũ Giang Bắc¹, Trần Ngọc Châu^{1*}

¹Trường Dược, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 41-43 Đinh Tiên Hoàng, phường Sài Gòn, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Y - Dược, Trường Đại học Yersin Đà Lạt, 27 Tôn Thất Tùng, phường Lâm Viên - Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/7/2024; ngày chuyển phản biện 3/7/2024; ngày nhận phản biện 19/8/2024; ngày chấp nhận đăng 25/8/2024

Tóm tắt:

Việc điều trị nhiễm khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) gặp nhiều khó khăn do tình trạng đề kháng với nhiều loại kháng sinh, do đó việc nghiên cứu nhằm khôi phục sự nhạy cảm của vi khuẩn đối với các kháng sinh đang bị đề kháng trên lâm sàng thông qua chất bổ trợ là một giải pháp được quan tâm. Các dẫn chất tetrahydroquinolin (1)-(6) được tổng hợp dựa trên phản ứng thế ái nhân (S_N). Cấu trúc của các chất nghiên cứu được xác định bằng phương pháp quang phổ. Hoạt tính bổ trợ được khảo sát với cefuroxim bằng phương pháp vi pha loãng trên 3 chủng vi khuẩn: MRSA ATCC 33591 và 2 chủng lâm sàng MRSA 29, MRSA 84 được phân lập từ hốc mũi người tại Khoa Lâm sàng 3, Bệnh viện Da liễu TP Hồ Chí Minh, trong khoảng thời gian từ tháng 6 đến tháng 9 năm 2022 (theo Hội đồng Y đức số CAIN457F2342). Giá trị chỉ số nồng độ ức chế của phối hợp (Fractional inhibitory concentration - FIC) của các phối hợp tiềm năng được xác định theo phương pháp bàn cờ. Ở nồng độ nhỏ hơn 1/4 nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum inhibitory concentration - MIC), các dẫn chất (1) và (3) thể hiện tác dụng hiệp đồng với cefuroxim trên 2 chủng lâm sàng MRSA 29 và MRSA 84. Mối liên quan giữa cấu trúc và tác dụng đã khẳng định vai trò quan trọng của nhóm thế benzyl trên các dẫn chất tetrahydroquinolin trong việc khôi phục sự nhạy cảm của MRSA đối với cefuroxim.

Từ khóa: bổ trợ kháng sinh, cefuroxim, hiệp đồng, khuẩn tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin, tetrahydroquinolin.

Chỉ số phân loại: 3.4, 3.5

Synthesis of tetrahydroquinoline derivatives re-sensitising methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to cefuroxime

Thi Thao Vi Luong^{1,2}, Thanh Thao Vu¹, Vu Giang Bac Nguyen¹, Ngoc Chau Tran^{1*}

¹School of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 41-43 Dinh Tien Hoang Street, Sai Gon Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Medicine and Pharmacy, Yersin University of Dalat, 27 Ton That Tung Street, Lam Vien - Da Lat Ward, Lam Dong Province, Vietnam

Received 2 July 2024; revised 19 August 2024; accepted 25 August 2024

Abstract:

The methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections are becoming more and more difficult to treat due to the reduced number of effective antibiotics available. The restoration of antibiotic sensitivity to drug-resistant bacterial strains by antibiotic adjuvants is a potent strategy. Six tetrahydroquinoline derivatives (1)-(6) were synthesised based on a nucleophilic substitution reaction (S_N). The structures of the studied compounds were elucidated by spectroscopic methods. The cefuroxime adjuvant activity was investigated using the broth microdilution method against 3 MRSA strains: ATCC 33591 and two clinical strains (MRSA 29 and MRSA 84), which were isolated from human nasal cavities at Clinical Department 3, Ho Chi Minh City Hospital of Dermato Venereology, from June to September 2022 (in accordance with the Ethics Committee approval No. CAIN457F2342). The fractional inhibitory concentration (FIC) value of the potential combination was determined according to the checkerboard method. At a concentration below 1/4 of the minimum inhibitory concentration (MIC), compounds (1) and (3) demonstrated synergistic action with cefuroxime on two clinical strains, 29 and 84. Structure activity relationship study suggests that tetrahydroquinoline derivatives containing an ortho-substituted benzyl group have the ability to sensitise MRSA to cefuroxime.

Keywords: antibiotic adjuvant, cefuroxime, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, synergistic effect, tetrahydroquinoline.

Classification numbers: 3.4, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: tranchau@ump.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Việc sử dụng kháng sinh không hợp lý là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến sự gia tăng các chủng vi khuẩn kháng thuốc. Trong số đó, tụ cầu vàng kháng methicillin (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* - MRSA) là “mối đe dọa nghiêm trọng” đối với sức khỏe con người [1]. Các chủng MRSA trên lâm sàng hiện nay có khả năng kháng nhiều thuốc và thậm chí đã xuất hiện một số chủng giảm tính nhạy cảm với kháng sinh hàng đầu như vancomycin [2, 3]. Tình hình kháng thuốc kháng sinh của MRSA diễn biến phức tạp với tỷ lệ tử vong cao. Theo ước tính, mỗi năm trên thế giới MRSA gây ra hơn 2 triệu ca nhiễm khuẩn bệnh viện và hơn 9000 ca tử vong [4]. Tỷ lệ tử vong do nhiễm MRSA cao hơn 64% so với dạng nhiễm khuẩn không kháng thuốc [5].

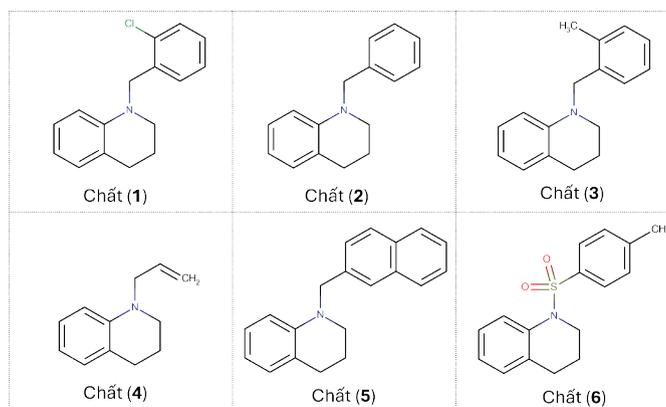
Nghiên cứu khám phá và phát triển các cấu trúc mới có tác dụng kháng khuẩn trực tiếp thường tốn nhiều thời gian và tiềm ẩn rủi ro gặp thất bại, vì vậy hướng khôi phục sự nhạy cảm của vi khuẩn đối với các kháng sinh đã bị đề kháng trên lâm sàng, thông qua việc phát triển các chất bổ trợ đang ngày càng thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu [6]. Theo hướng tiếp cận này, các chất bổ trợ mặc dù không có tác dụng kháng khuẩn trực tiếp nhưng có thể tác động làm đảo ngược cơ chế đề kháng của các vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh. Những nghiên cứu về chất bổ trợ được triển khai với định hướng tác động trên các cơ chế kháng thuốc khác nhau ở vi khuẩn. Hiện nay, các chất ức chế beta-lactamase là nhóm chất bổ trợ cho các kháng sinh beta-lactam đang được sử dụng trên lâm sàng để điều trị nhiều chủng vi khuẩn đề kháng [7].

Nghiên cứu tại Đại học McMaster (Ontario, Canada) [8] lần đầu tiên cho thấy, dẫn chất tetrahydroquinoline (1) có tác dụng bổ trợ, khôi phục sự nhạy cảm của MRSA đối với cefuroxim. Thử nghiệm được tiến hành trên chủng vi khuẩn MRSA USA300 cho kết quả khả quan, khi cải thiện tính nhạy cảm với cefuroxim. Kết quả nghiên cứu trong bài báo này phát triển thêm một số dẫn chất tetrahydroquinoline, hướng tác dụng bổ trợ khôi phục sự nhạy cảm trên một số chủng MRSA đối với kháng sinh cefuroxim trong điều kiện Việt Nam.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Dựa vào giả thiết về tác dụng bổ trợ kháng sinh của nhóm dẫn chất mang cấu trúc tetrahydroquinoline, các dẫn chất trong nghiên cứu được thiết kế với ý tưởng kết hợp khung tetrahydroquinoline với một số nhóm thế tiềm năng (hình 1) [8].



Hình 1. Cấu trúc của các dẫn chất tetrahydroquinoline trong nghiên cứu.

Các dẫn chất số (1)-(3) là sự kết hợp giữa khung tetrahydroquinoline với nhóm thế mang vòng thơm. Trong đó, dẫn chất số (1) là chất kiểm chứng giả thiết trong điều kiện thực nghiệm của nhóm nghiên cứu tại Đại học McMaster, (2) và (3) là các dẫn chất biến đổi nhằm khảo sát vai trò của các nhóm thế khác nhau trên vòng benzyl đối với hoạt tính bổ trợ. Dẫn chất số (4) là sự kết hợp giữa khung tetrahydroquinoline với nhóm thế allyl dạng mạch thẳng. Dẫn chất số (5) là sự kết hợp giữa khung tetrahydroquinoline với vòng naphthalen qua cầu nối methylen nhằm khảo sát hiệu ứng không gian lên khả năng gắn kết với đích tác động trên vi khuẩn. Dẫn chất số (6) là sự kết hợp giữa khung tetrahydroquinoline với nhóm thế *p*-tosyl qua cầu nối sulfamid.

2.2. Nguyên liệu và thiết bị

Tất cả nguyên liệu, dung môi dùng trong tổng hợp đều có độ tinh khiết hóa học và được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ), Merck (Đức), Acros Organics (Bi), ChemSol (Việt Nam) và Macklin (Trung Quốc). Nhiệt độ nóng chảy được đo bằng máy StuartTM SMP10 (Anh). Phổ NMR được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 500 MHz (Thụy Sĩ). Môi trường nuôi cấy vi khuẩn: Mueller-Hinton agar - MHA (HiMedia, Ấn Độ), Mueller-Hinton broth - MHB (HiMedia, Ấn Độ). Hóa chất thử nghiệm hoạt tính bổ trợ: Dimethyl sulfoxid (Merck, Đức), Cefuroxim (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ), Natri clorid (Việt Nam).

Chủng vi khuẩn thử nghiệm: 1 chủng chuẩn MRSA ATCC 33591; 2 chủng lâm sàng MRSA 29 và MRSA 84 phân lập từ hốc mũi người tại Khoa Lâm sàng 3, Bệnh viện Da liễu TP Hồ Chí Minh, trong khoảng thời gian từ tháng 6 đến tháng 9 năm 2022 (theo Hội đồng Y đức số CAIN457F2342). Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong tủ ấm Shel Lab RI28-2 (Hoa Kỳ).

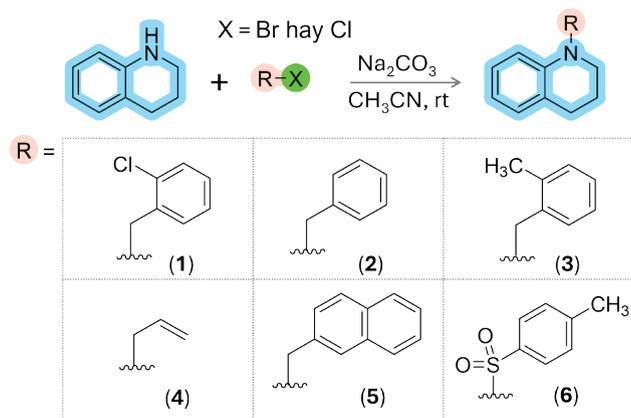
2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp dự đoán *in silico* các tính chất theo luật 5 của Lipinski

Để đảm bảo các dẫn chất được thiết kế có thể tiếp tục phát triển thành phân tử thuốc, bộ công cụ ADMETlab 2.0 được sử dụng để dự đoán *in silico* các thông số phản ánh đặc tính dùng làm thuốc (drug-like) của các hợp chất. Các thông số dự đoán bao gồm: khối lượng phân tử (MW), hằng số cân bằng thân dầu - thân nước (LogP), số nhóm nhận liên kết hydro (nHA), số nhóm cho liên kết hydro (nHD), số liên kết có thể quay (nRot), mức độ thỏa mãn Luật 5 của Lipinski (Ro5) [9].

2.3.2. Phương pháp tổng hợp của các dẫn chất (1)-(6)

Phương pháp tổng hợp các dẫn chất tetrahydroquinoline (1)-(6) được thể hiện ở hình 2. 1,2,3,4-Tetrahydroquinoline (4 mmol), dẫn chất halogenid (4 mmol) và 6 ml acetonitril được đưa vào bình phản ứng. Phản ứng được xúc tác bằng Na_2CO_3 (12 mmol), khuấy ở nhiệt độ phòng và được theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM) đến khi hết nguyên liệu. 20 ml nước cất được bổ sung vào hỗn hợp sau phản ứng để hòa tan Na_2CO_3 và chuyển vào bình lắng gạn, sau đó được chiết với dicloromethan (DCM) đến khi sản phẩm chuyển hết từ lớp nước sang lớp DCM (theo dõi bằng SKLM). Lớp DCM được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa trước khi làm khan bằng Na_2SO_4 khan. Lớp DCM được tiến hành cô quay dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi và thu sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp thích hợp (kết tinh lại hoặc sắc ký cột) để thu được sản phẩm tinh khiết.



Hình 2. Phản ứng tổng hợp các dẫn chất tetrahydroquinoline (1)-(6).

2.3.3. Phương pháp khảo sát tác dụng bổ trợ kháng sinh

Các chất thử nghiệm (1)-(6) được pha trong dimethyl sulfoxid (DMSO) để đạt nồng độ thích hợp (gấp 40 lần nồng độ đầu tiên trong dãy nồng độ cần thử nghiệm). Dung dịch kháng sinh được pha trong nước cất để đạt nồng độ thích hợp (dung dịch kháng sinh mẹ) [10].

Vi khuẩn thử nghiệm được cấy ria trên môi trường Mueller-Hinton agar (MHA), ủ 37°C trong 24 giờ. 2-3 khuẩn lạc đơn được bổ sung vào NaCl 0,9% và điều chỉnh $\text{OD}_{600\text{nm}}$ là 0,1, tương đương mật độ 10^8 CFU/ml. Vi khuẩn sau đó được pha loãng và bổ sung vào môi trường thử nghiệm, sao cho mật độ cuối trong môi trường là 10^6 CFU/ml.

Hoạt tính bổ trợ kháng sinh của các chất nghiên cứu được khảo sát theo thứ tự thử nghiệm như sau:

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh: Từ dung dịch kháng sinh mẹ, kháng sinh được pha loãng trong môi trường Mueller Hinton Broth (MHB) tạo thành dãy nồng độ từ 1024 $\mu\text{g/ml}$ giảm 1/2 cho đến nồng độ cuối cùng đạt 2 $\mu\text{g/ml}$. Trên đĩa 96 giếng, kháng sinh được cho vào mỗi giếng 100 μl tương ứng với mỗi nồng độ. 100 μl vi khuẩn (trong môi trường MHB) có mật độ 10^6 CFU/ml được bổ sung vào mỗi giếng. Ủ đĩa ở 37°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, giếng có nồng độ thấp nhất ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn được ghi nhận là MIC [10].

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu của chất nghiên cứu (1)-(6): Trên đĩa 96 giếng, chất thử được cho vào mỗi giếng 5 μl dung dịch chất thử nghiệm từ dãy nồng độ pha loãng liên tục 1/2 lần. 195 μl môi trường MHB có mật độ vi khuẩn 10^6 CFU/ml được bổ sung vào mỗi giếng. Đĩa 96 giếng được ủ ở 37°C trong 24 giờ, sau đó ghi nhận giá trị MIC [10].

Khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh trong phối hợp với chất nghiên cứu: Dãy dung dịch kháng sinh trong MHB có mật độ vi khuẩn 10^6 CFU/ml được chuẩn bị từ nồng độ từ 1/4 MIC giảm đến 4 $\mu\text{g/ml}$. Trên đĩa 96 giếng, dung dịch chất thử nghiệm nồng độ 400 μM được cho vào mỗi giếng 5 μl . Với mỗi nồng độ kháng sinh, 195 μl dung dịch kháng sinh trong MHB có mật độ vi khuẩn 10^6 CFU/ml được bổ sung vào mỗi giếng. Đĩa 96 giếng được ủ ở 37°C trong 24 giờ, sau đó ghi nhận giá trị MIC [8, 10].

Xác định nồng độ ức chế phối hợp theo phương pháp bàn cờ: Dãy dung dịch kháng sinh và chất thử nghiệm với khoảng nồng độ dao động xung quanh giá trị MIC khi phối hợp và không phối hợp được chuẩn bị. Trên đĩa 96 giếng, phối hợp lần lượt từng nồng độ của kháng sinh với từng nồng độ của chất nghiên cứu trong môi trường MHB có mật độ vi khuẩn 10^6 CFU/ml. Đĩa 96 giếng được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, mỗi giếng được thêm vào 20 μl dung dịch thuốc thử resazurin 0,5 mg/ml. Đĩa 96 giếng được ủ ở 37°C trong 3 giờ. Các giếng có vi khuẩn mọc sẽ làm chuyển màu thuốc thử từ xanh dương sang hồng hoặc tím, các giếng không có sự phát triển của vi khuẩn sẽ không làm chuyển màu xanh dương của thuốc thử [8, 10].

Xác định giá trị FIC theo công thức:

$$FIC = \frac{MIC_{\text{chất nghiên cứu khi phối hợp}}}{MIC_{\text{chất nghiên cứu khi không phối hợp}}} + \frac{MIC_{\text{cefuroxim khi phối hợp}}}{MIC_{\text{cefuroxim khi không phối hợp}}}$$

Nhận xét kết quả: Nếu giá trị $FIC \leq 0,5$: Hiệp đồng; nếu giá trị FIC trong khoảng $0,5 < FIC \leq 4$: Cộng hợp; nếu giá trị $FIC > 4$: Đối kháng. Các thử nghiệm được tiến hành song song với các giếng chứng như bảng 1.

Bảng 1. Các giếng chứng trong thử nghiệm hoạt tính bổ trợ.

Tên giếng chứng	Thành phần
Chứng sự phát triển của vi khuẩn	200 µl môi trường MHB chứa vi khuẩn
Chứng dung môi DMSO	5 µl DMSO và 195 µl môi trường MHB chứa vi khuẩn
Chứng âm	200 µl môi trường MHB

Kết quả chỉ có giá trị khi vi khuẩn trong giếng chứng dung môi DMSO và giếng chứng sự phát triển của vi khuẩn mọc bình thường, nhưng trong giếng chứng âm không có sự phát triển của vi khuẩn.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả dự đoán *in silico* về các tính chất theo luật 5 của Lipinski

Theo kết quả dự đoán từ ADMETlab 2.0 (bảng 2), các dẫn chất số (1)-(6) đều thỏa mãn luật 5 Lipinski về điều kiện được dùng làm thuốc đường uống (không vi phạm quá 1 tiêu chí trong các thông số).

Bảng 2. Kết quả dự đoán *in silico* về các tính chất theo luật 5 Lipinski (Ro5).

Chất	MW	logP	nHA	nHD	nRot	Luật 5 Lipinski
<i>Yêu cầu</i>	<500 Da	≤5	0-10	0-5	0-10	<i>Thỏa yêu cầu</i>
(1)	257,1	5,171	1	0	2	Thỏa yêu cầu
(2)	223,1	4,629	1	0	2	Thỏa yêu cầu
(3)	237,2	5,036	1	0	2	Thỏa yêu cầu
(4)	173,1	3,721	1	0	2	Thỏa yêu cầu
(5)	273,2	5,720	1	0	2	Thỏa yêu cầu
(6)	287,1	4,156	3	0	2	Thỏa yêu cầu

Từ các kết quả dự đoán *in silico* ở bảng 2, cả 6 dẫn chất đã thiết kế được tiến hành tổng hợp hóa học.

3.2. Kết quả tổng hợp của các dẫn chất (1)-(6)

Dẫn chất số (1): Tên IUPAC: 1-(2-chlorobenzyl)-1,2,3,4-tetrahydroquinoline; CTPT: $C_{16}H_{16}ClN$; cảm quan: dạng dầu, màu hồng; độ tan: tan trong DCM, aceton, DMSO; ít tan trong ethanol; không tan trong nước; phương pháp tinh chế: sắc ký cột với hệ dung môi *n*-hexan:DCM

(95:5); hiệu suất: 19,2 %; phổ 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7,39-7,38 (m; 1H); 7,24-7,22 (m; 1H); 7,21-7,15 (m; 2H); 7,0 -6,94 (m; 2H); 6,58 (td; $J=7,0$ Hz; $J=1,0$ Hz; 1H); 6,32 (d; $J=8,0$ Hz; 1H); 4,51 (s; 2H); 3,40 (t; $J=6,0$ Hz; 2H); 2,85 (t; $J=6,0$ Hz; 2H); 2,08-2,03 (m; 2H); phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 145,2; 135,7; 133,0; 129,5; 129,0; 128,0; 127,6; 127,3; 126,9; 122,2; 116,0; 110,9; 53,5; 50,1; 28,1; 22,5.

Dẫn chất số (2): Tên IUPAC: 1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline; CTPT: $C_{16}H_{17}N$; cảm quan: dạng dầu, màu vàng nhạt; độ tan: tan trong DCM, aceton, DMSO; ít tan trong ethanol; không tan trong nước; phương pháp tinh chế: sắc ký cột với hệ dung môi *n*-hexan:DCM (9:1); hiệu suất: 12,0%; phổ 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7,33-7,22 (m; 5H); 6,97 (t; $J=7,0$ Hz; 2H); 6,57 (t; $J=7,5$ Hz; 1H); 6,50 (d; $J=8,0$ Hz; 1H); 4,48 (s; 2H); 3,36 (t; $J=6,0$ Hz; 2H); 2,82 (t; $J=6,5$ Hz; 2H); 2,01 (quintet; $J=6,0$ Hz; 2H); phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 145,6; 139,0; 129,0; 128,6; 127,2; 126,7; 126,6; 122,2; 115,8; 111,0; 55,2; 49,9; 28,2; 22,4.

Dẫn chất số (3): Tên IUPAC: 1-(2-methylbenzyl)-1,2,3,4-tetrahydroquinoline; CTPT: $C_{17}H_{19}N$; cảm quan: dạng dầu, màu vàng nhạt; độ tan: tan trong DCM, aceton, DMSO; ít tan trong ethanol; không tan trong nước; phương pháp tinh chế: sắc ký cột với hệ dung môi *n*-hexan:DCM (9:1); hiệu suất: 57,8%; phổ 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7,19-7,11 (m; 4H); 6,99-6,94 (m; 2H); 6,57 (td; $J=7,5$ Hz; $J=1,0$ Hz; 1H); 6,37 (d; $J=8,0$ Hz; 1H); 4,39 (s; 2H); 3,34 (t; $J=5,5$ Hz; 2H); 2,84 (t; $J=6,0$ Hz; 2H); 2,32 (s; 3H); 2,05-2,00 (m; 2H); phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 145,7; 136,0; 135,5; 130,3; 128,9; 127,2; 126,6; 126,1; 126,0; 122,2; 115,8; 110,8; 53,4; 49,7; 28,2; 22,5; 18,9.

Dẫn chất số (4): Tên IUPAC: 1-allyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline; CTPT: $C_{12}H_{15}N$; cảm quan: dạng dầu, màu vàng nhạt; độ tan: tan trong DCM, aceton, DMSO; ít tan trong ethanol; không tan trong nước; phương pháp tinh chế: sắc ký cột với hệ dung môi *n*-hexan: DCM (9:1); hiệu suất: 50,1%; phổ 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7,02 (t; $J=8,0$ Hz; 1H); 6,94 (d; $J=7,5$ Hz; 1H); 6,56 (t; $J=8,0$ Hz; 2H); 5,88-5,81 (m; 1H); 5,21-5,13 (m; 2H); 3,87 (d; $J=5,0$ Hz; 2H); 3,27 (t; $J=6,0$ Hz; 2H); 2,76 (t; $J=6,0$ Hz; 2H); 1,96 (quintet; $J=6,0$ Hz; 2H); phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 145,3; 133,6; 129,0; 127,1; 122,4; 115,9; 115,7; 111,0; 53,8; 49,2; 28,2; 22,3.

Dẫn chất số (5): Tên IUPAC: 1-(naphthalen-2-ylmethyl)-1,2,3,4-tetrahydroquinoline; CTPT: C₂₀H₁₉N; cảm quan: bột kết tinh, màu vàng nâu; độ tan: tan trong DCM, aceton, DMSO; ít tan trong ethanol; không tan trong nước; phương pháp tinh chế: sắc ký cột với hệ dung môi n-hexan:DCM (95:5); hiệu suất: 1,1%; nhiệt độ nóng chảy: 92-93°C; phổ ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8,00 (d; J=8,0 Hz; 1H); 7,91 (d; J=8,0 Hz; 1H); 7,77 (t; J=4,5 Hz; 1H); 7,56-7,51 (m; 2H); 7,39 (d; J=4,5 Hz; 2H); 7,02 (d; J=7,5 Hz; 1H); 6,95 (t; J=7,5 Hz; 1H); 6,59 (t; J=7,0 Hz; 1H); 6,44 (d; J=8,5 Hz; 1H); 4,92 (s; 2H); 3,40 (t; J=5,5 Hz; 2H); 2,87 (t; J=6,0 Hz; 2H); 2,06 (quintet; J=5,9 Hz; 2H); phổ ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 145,7; 133,9; 132,8; 131,2; 128,93; 128,88; 127,4; 127,3; 126,0; 125,7; 125,6; 123,6; 122,7; 122,4; 115,9; 111,0; 53,3; 49,7; 28,3; 22,5.

Dẫn chất số (6): Tên IUPAC: 1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline; CTPT: C₁₆H₁₇NO₂S; cảm quan: tinh thể hình kim, màu trắng; độ tan: tan trong DCM, aceton, DMSO; ít tan trong ethanol; không tan trong nước; phương pháp tinh chế: kết tinh lại bằng ethanol tuyệt đối; hiệu suất: 33,5%; nhiệt độ nóng chảy: 95-96°C; phổ ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,79 (d; J=8,5 Hz; 1H); 7,47 (d; J=8,0 Hz; 2H); 7,19-7,17 (m; 3H); 7,07 (t; J=7,5 Hz; 1H); 7,00 (d; J=7,5 Hz; 1H); 3,80 (t; J=6,0 Hz; 2H); 2,44 (t; J=7,0 Hz; 2H); 2,38 (s; 3H); 1,64 (quintet; J=6,0 Hz; 2H); phổ ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 143,5; 136,9; 136,8; 130,7; 129,6; 129,1; 127,1; 126,5; 125,0; 124,9; 46,5; 26,6; 21,6; 21,5.

Dựa theo tra cứu trên SciFinder [11], các dẫn chất số (1), (4) và (5) là các dẫn chất mới chưa được công bố các dữ liệu phổ thực nghiệm; các dẫn chất số (2), (3) và (6) có các kết quả phân tích phổ phù hợp với tài liệu tham khảo [12, 13]. Kết quả phân tích phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR và SKLM của các chất cho cấu trúc hoàn toàn phù hợp với dự kiến ban đầu, độ tinh khiết thích hợp để thực hiện thử nghiệm hoạt tính sinh học.

3.3. Kết quả khảo sát tác dụng hỗ trợ kháng sinh cefuroxim

Giá trị MIC của cefuroxim đối với các chủng MRSA ATCC 33591, MRSA 29, MRSA 84 lần lượt là >1024, 64 và 128 µg/ml (bảng 3). Các giá trị MIC trên cho thấy, 3 chủng vi khuẩn này đề kháng đối với cefuroxim theo bảng biện giải của CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute -

Viện Tiêu chuẩn Phòng thí nghiệm và Lâm sàng) (MIC ≥ 8 µg/ml) [14]. Các dẫn chất tetrahydroquinoline (1)-(6) đều chưa ghi nhận hoạt tính kháng khuẩn ở nồng độ 800 µM. Như vậy, các chất nghiên cứu phù hợp để khảo sát tác dụng hỗ trợ với cefuroxim trên 3 chủng vi khuẩn thử nghiệm.

Bảng 3. Tác dụng làm giảm nồng độ ức chế tối thiểu đối với cefuroxim của các dẫn chất (1)-(6). Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.

Tên chất	MIC của cefuroxim (µg/ml)								
	Chủng MRSA ATCC 33591			Chủng MRSA 29			Chủng MRSA 84		
	Không phối hợp	Phối hợp	Số lần giảm	Không phối hợp	Phối hợp	Số lần giảm	Không phối hợp	Phối hợp	Số lần giảm
(1)		>256	0		8	8		16	8
(2)		>256	0		16	4		32	4
(3)	>1024	>256	0	64	8	8	128	16	8
(4)		>256	0		>16	0		>32	0
(5)		>256	0		>16	0		>32	0
(6)		>256	0		>16	0		>32	0

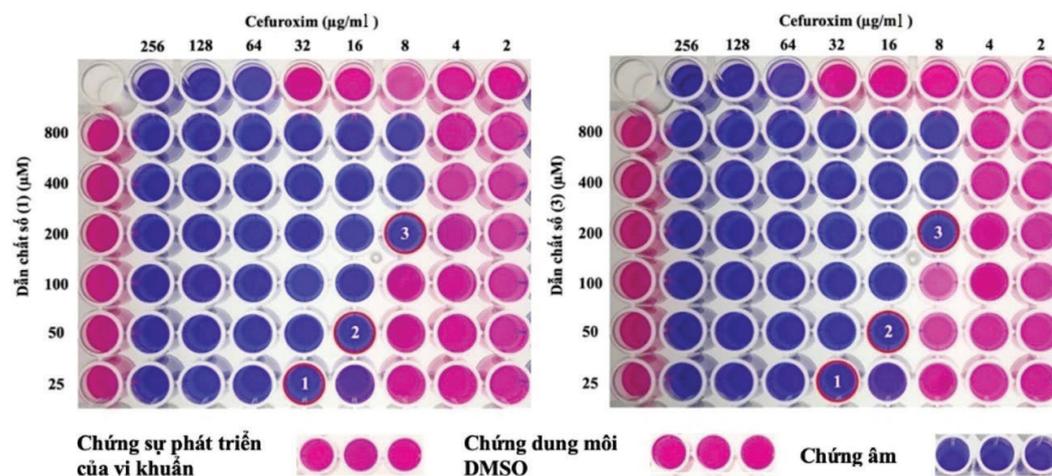
Với nồng độ 400 µM (<1/2 MIC), dẫn chất số (1) đã được chứng minh có tác dụng hỗ trợ kháng sinh tương đồng với nghiên cứu của M.A. Farha và cs (2014) [8] trong điều kiện thử nghiệm tại Việt Nam.

Trong số 6 dẫn chất tetrahydroquinoline tổng hợp, các dẫn chất số (1), (2) và (3) có khả năng làm giảm MIC của cefuroxim ở 2 trong số 3 chủng MRSA thử nghiệm. Trong đó, dẫn chất số (1) và (3) thể hiện hoạt tính tốt hơn với độ giảm MIC là 8 lần so với dẫn chất số (2) với độ giảm MIC là 4 lần ở 2 chủng phân lập từ lâm sàng (chủng MRSA 29 và MRSA 84). Như vậy, dẫn chất số (3) đã được phát hiện có hoạt tính hỗ trợ cefuroxim tương đương dẫn chất số (1). Độ giảm MIC của cefuroxim khi có mặt chất nghiên cứu đối với 2 chủng MRSA lâm sàng là như nhau.

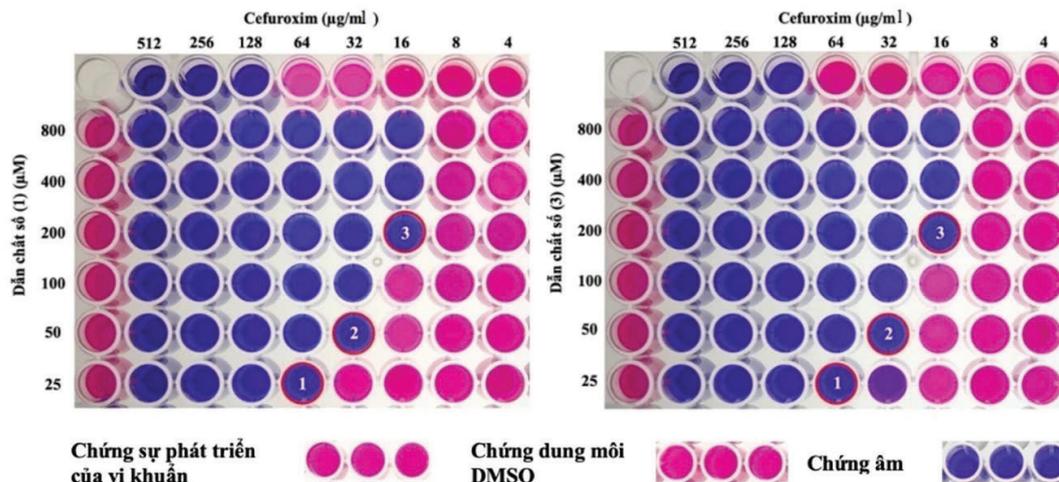
Mặt khác, không có sự giảm MIC của cefuroxim nào được ghi nhận trên chủng MRSA ATCC 33591. Điều này cho thấy, cơ chế đề kháng của chủng MRSA ATCC 33591 và MRSA 29, MRSA 84 không đồng nhất và chủng MRSA ATCC 33591 có thể không chứa đích tác động mà các chất được tổng hợp trong nghiên cứu này nhắm đến.

Dựa vào kết quả khảo sát tác dụng làm giảm MIC đối với cefuroxim của các chất nghiên cứu, dẫn chất số (1) và (3) được lựa chọn làm các chất tiềm năng để xác định FIC trong phối hợp với cefuroxim trên 2 chủng vi khuẩn MRSA 29 và MRSA 84 (hình 3).

(A) Thử nghiệm trên MRSA 29



(B) Thử nghiệm trên MRSA 84



Hình 3. Thử nghiệm bàn cờ của phối hợp các chất tiềm năng và cefuroxim trên (A) MRSA 29, (B) MRSA 84.

Kết quả thử nghiệm bàn cờ của các phối hợp tiềm năng được trình bày trong hình 3 và các giá trị FIC được xác định chi tiết ở bảng 4. Trong đó, dẫn chất số (1) và (3) thể hiện tác động tương đương nhau trong phối hợp với cefuroxim. Khi nồng độ chất thử nghiệm càng tăng thì giá trị FIC của phối hợp càng giảm. Như vậy, tác động của các dẫn chất tiềm năng này phụ thuộc vào nồng độ, với mức tác động cao nhất được ghi nhận là hiệp đồng. Cụ thể là ở nồng độ 200 µM (<math><1/4</math> MIC), dẫn chất số (1) và (3) đều cho thấy khả năng làm giảm MIC của cefuroxim lớn nhất (giảm 8 lần) và giá trị FIC tốt nhất trên cả 2 chủng vi khuẩn MRSA 29 và MRSA 84 (FIC<math><0,25</math>). So sánh với các nghiên cứu trước đây, kết quả nghiên cứu cho thấy sự tương đồng về tác dụng hiệp đồng của các dẫn chất tiềm năng với cefuroxim trên các chủng MRSA. Với các dẫn chất cùng nhóm tetrahydroquinoline,

nghiên cứu của M.A. Farha và cs (2014) [8] cho thấy, phối hợp của dẫn chất số (1) và cefuroxim có tác dụng hiệp đồng trên chủng MRSA USA300 với FIC là 0,19. Kết quả của nghiên cứu này đã khẳng định tác dụng của dẫn chất số (1) với 2 chủng MRSA lâm sàng tại Việt Nam.

Bên cạnh đó, một số nghiên cứu về hoạt tính hỗ trợ cefuroxim của các dẫn chất không cùng nhóm cấu trúc tetrahydroquinoline cũng được công bố. Nghiên cứu của H.K. Lui và cs (2019) [15] cho thấy một số dẫn chất 3-aminobenzamid có tác dụng hiệp đồng với cefuroxim trên 3 chủng MRSA lâm sàng với FIC là 0,1. Nghiên cứu của J. Yap và cs (2021) [16] đã chứng minh tác dụng hiệp đồng của 1,4-naphthoquinon và cefuroxim trên một số chủng MRSA khác nhau với giá trị FIC từ 0,06 đến 0,3.

Bảng 4. Kết quả xác định giá trị chỉ số nồng độ ức chế của phôi hợp của phôi hợp các chất tiềm năng và cefuroxim.

Tên chất	Vị trí	MIC cefuroxim (µg/ml)		MIC chất nghiên cứu (µM)		FIC	Tác động
		Không phôi hợp	Phôi hợp	Không phôi hợp	Phôi hợp		
MRSA 29							
(1)	1		32	25	< 0,52	Cộng hợp	
	2		16	> 800	50	< 0,28	Hiệp đồng
	3	64	8	200	< 0,25	Hiệp đồng	
(3)	1		32	25	< 0,52	Cộng hợp	
	2		16	> 800	50	< 0,28	Hiệp đồng
	3		8	200	< 0,25	Hiệp đồng	
MRSA 84							
(1)	1		64	25	< 0,52	Cộng hợp	
	2		32	> 800	50	< 0,28	Hiệp đồng
	3	128	16	200	< 0,25	Hiệp đồng	
(3)	1		64	25	< 0,52	Cộng hợp	
	2		32	> 800	50	< 0,28	Hiệp đồng
	3		16	200	< 0,25	Hiệp đồng	

Dựa vào hoạt tính của các dẫn chất có thể thấy, nhóm chức benzyl trong các dẫn chất tetrahydroquinoline liên quan đến tác dụng hỗ trợ kháng sinh. Đặc biệt, các dẫn chất mang nhóm chức benzyl có nhóm thế ở vị trí ortho như (1) và (3) có khả năng hỗ trợ kháng sinh tốt hơn. Tuy nhiên, số lượng các dẫn chất mang nhóm chức benzyl trong nghiên cứu này còn hạn chế. Do đó, việc thay đổi nhóm thế và vị trí nhóm thế trên vòng benzen của khung cấu trúc benzyl nhằm tạo thêm nhiều dẫn chất benzyl thế với cấu trúc và hoạt tính khác nhau nên được tiếp tục thực hiện. Bên cạnh đó, việc lai hóa giữa khung tetrahydroquinoline với các cấu trúc tiềm năng đã công bố nên được xem xét nhằm cải thiện hoạt tính [8].

4. Kết luận

Sáu dẫn chất mang khung cấu trúc tetrahydroquinoline kết hợp với các nhóm chức hóa học và khung cấu trúc vòng khác nhau đã được tổng hợp và tinh chế đạt độ tinh khiết phù hợp. Trong đó, các dẫn chất mang nhóm chức benzyl cho thấy tiềm năng khôi phục sự nhạy cảm của 2 chủng MRSA lâm sàng trong điều kiện Việt Nam là MRSA 29 và MRSA 84 đối với kháng sinh cefuroxim, với giá trị FIC < 0,25.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Central for Disease Control and Prevention (2019), *Antibiotic Resistance Threats in The United States*, 139pp, DOI: 10.15620/cdc:82532.

[2] J.H. Song, P.R. Hsueh, D.R. Chung, et al. (2011), "Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: An ANSORP study", *J. Antimicrob. Chemother.*, **66**(5), pp.1061-1069, DOI: 10.1093/jac/dkr024.

[3] S.J.V. Hal, T.P. Lodise, D.L. Paterson (2012), "The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: A systematic review and meta-analysis", *Clin. Infect. Dis.*, **54**(6), pp.755-771, DOI: 10.1093/cid/cir935.

[4] K. Hiramatsu, H. Hanaki, T. Ino, et al. (1997), "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility", *J. Antimicrob. Chemother.*, **40**(1), pp.135-136, DOI: 10.1093/jac/40.1.135.

[5] D.J. Payne, M.N. Gwynn, D.J. Holmes, et al. (2007), "Drugs for bad bugs: Confronting the challenges of antibacterial discovery", *Nat. Rev. Drug Discov.*, **6**(1), pp.29-40, DOI: 10.1038/nrd2201.

[6] G.D. Wright (2016), "Antibiotic adjuvants: Rescuing antibiotics from resistance", *Trends Microbiol.*, **24**(11), pp.862-871, DOI: 10.1016/j.tim.2016.06.009.

[7] H. Douafer, V. Andrieu, O. Phanstiel, et al. (2019), "Antibiotic adjuvants: Make antibiotics great again!", *J. Med. Chem.*, **62**(19), pp.8665-8681, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01781.

[8] M.A. Farha, K. Koteva, R.T. Gale, et al. (2014), "Designing analogs of ticlopidine, a wall teichoic acid inhibitor, to avoid formation of its oxidative metabolites", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **24**(3), pp.905-910, DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.12.069.

[9] G. Xiong, Z. Wu, J. Yi, et al. (2021), "ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties", *Nucleic Acids Res.*, **49**(W1), pp.W5-W14, DOI: 10.1093/nar/gkab255.

[10] Clinical and Laboratory Standards Institute (2018), *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, 11th Edition, CLSI standard M07.

[11] American Chemical Society (2024), *CAS SciFinder® - Chemical Compound Database*, <https://scifinder.cas.org>, accessed 8 May 2024.

[12] P. Adhikari, D. Bhattacharyya, S. Nandi, et al. (2021), "Reductive alkylation of quinolines to n-alkyl tetrahydroquinolines catalyzed by arylboronic acid", *Org. Lett.*, **23**(7), pp.2437-2442, DOI: 10.1021/acs.orglett.1c00302.

[13] A. Gioiello, E. Rosatelli, M. Teofrasti, et al. (2013), "Building a sulfonamide library by eco-friendly flow synthesis", *ACS. Comb. Sci.*, **15**(5), pp.235-239, DOI: 10.1021/co400012m.

[14] Clinical and Laboratory Standards Institute (2023), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 33rd Edition, CLSI supplement M100.

[15] H.K. Lui, W. Gao, K.C. Cheung, et al. (2019), "Boosting the efficacy of anti-MRSA beta-lactam antibiotics via an easily accessible, non-cytotoxic and orally bioavailable FtsZ inhibitor", *Eur. J. Med. Chem.*, **163**, pp.95-115, DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.11.052.

[16] J. Yap, S.Y. Tan, S.Q. Tang, et al. (2021), "Synergistic antibacterial activity between 1,4-naphthoquinone and β-lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*", *Microb. Drug Resist.*, **27**(2), pp.234-240, DOI: 10.1089/mdr.2020.0178.