

TỔNG HỢP MỘT SỐ XETON α,β - KHÔNG NO ĐI TỪ 6-AXETYL-5-HIDROXI-4-METYL CUMARIN

Dương Ngọc Toàn^{1*}, Nguyễn Minh Thảo²

¹Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQG Hà Nội

TÓM TẮT

6-acetyl-5-hidroxy-4-methylcoumarin được tổng hợp bằng phản ứng đóng vòng của 2,4-dihydroxyacetophenon với ethyl acetoacetate. Sản phẩm sau đó đã được biến đổi bởi sự ngưng tụ với andehit thơm để tạo thành một loạt các xeton α,β -không no mới (7 hợp chất). Cấu trúc của các sản phẩm này đã được xác nhận bởi các phương pháp phổ IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, HSQC, HMBC. Hoạt tính sinh học của các hợp chất đã được nghiên cứu.

Từ khóa: methylcoumarin, aldehydes, α,β -unsaturated ketones, xeton α,β - không no, andehit.

Ngày nhận bài: 07/4/2019; Ngày hoàn thiện: 20/5/2019; Ngày duyệt đăng: 29/5/2019

SYNTHESIS OF SOME α,β -UNSATURATED KETONES FROM 6-ACETYL-5-HYDROXY-4-METHYL COUMARIN

Duong Ngoc Toan^{1*}, Nguyen Minh Thao²

¹University of Education - TNU

²VNU University of Science

ABSTRACT

6-acetyl-5-hidroxy-4-methylcoumarin was prepared by cyclic reaction of 2,4-dihydroxyacetophenone with ethyl acetoacetate to form intermediate compound. Then this intermediate product was transformed by condensation with aromatic aldehydes to form a series of new α,β -unsaturated ketones (7 compounds). Their structure were confirmed by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, HSQC, HMBC spectroscopic data. Biological activities of these compounds investigated.

Keywords: methylcoumarin, aldehydes, α,β -unsaturated ketones, xeton α,β - không no, andehit.

Received: 07/4/2019; Revised: 20/5/2019; Approved: 29/5/2019

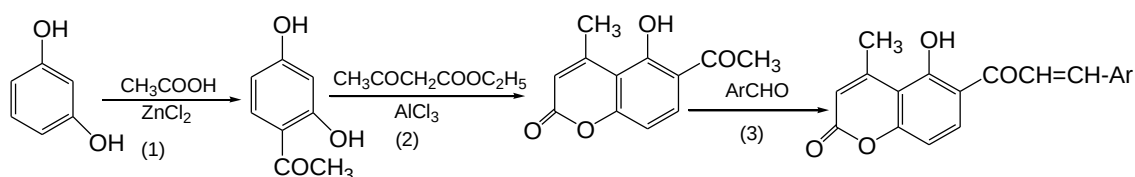
* Corresponding author. Email: duongngoctoankhoahoa@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Các xeton α,β - không no là một lớp chất hữu cơ phong phú mà trong phân tử của chúng có chứa nhóm vinyl xeton ($-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}-$). Hoạt tính sinh học đa dạng của các xeton α,β - không no, đặc biệt các hợp chất có chứa nhân dị vòng, như kháng khuẩn, chống nấm, diệt cỏ dại và trừ sâu, chống ung thư gan, phổi... đã được đề cập trong nhiều công trình nghiên cứu [1,2,3,4,5,6,7]. Để góp phần vào việc tổng hợp các xeton α,β - không no mới và thăm dò hoạt tính sinh học của chúng, chúng tôi nghiên cứu tổng hợp các xeton α,β - không no đi từ 6-axetyl-5-hidroxi-4-metylcumarin.

2. Thực nghiệm

Các xeton α,β - không no được tổng hợp theo sơ đồ sau:



Giai đoạn (1): Cho vào bình cầu ba cổ (250 ml) có lắp sinh hàn hồi lưu và nhiệt kế 13,6g ZnCl_2 khan (0,1 mol) và 15,4ml CH_3COOH băng (0,27 mol). Đun sôi dung dịch đồng thời lắc đều để ZnCl_2 tan hết. ZnCl_2 tan hết khi nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng đạt 140°C . Để nguội hỗn hợp đến khoảng 110°C rồi thêm 11,0g resoxinol (0,1 mol), tiếp tục đun hồi lưu phản ứng và duy trì nhiệt độ phản ứng ở khoảng $152-159^\circ\text{C}$ trong vòng 40 phút. Để nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng, sau đó đổ vào cốc chứa 200g nước đá và khuấy mạnh, sản phẩm tách ra được lọc hút và kết tinh lại trong dung môi etanol-nước theo tỷ lệ 1:2 về thể tích nhận được 10,6g các tinh thể nhỏ màu đỏ ánh kim, nóng chảy ở $145-146^\circ\text{C}$. Hiệu suất phản ứng đạt 70%.

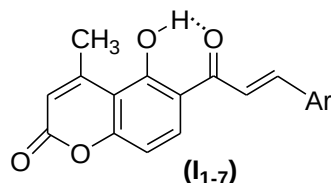
Giai đoạn (2): Cho vào bình cầu hai cổ 250 ml có lắp sinh hàn hồi lưu và nhiệt kế, 40ml $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ và 6,75g AlCl_3 . Đun sôi đến khi chất rắn tan hết. Để nguội đến 100°C , thêm

3,8 g 2,4-dihydroxiacetophenon (0,025 mol) và 3,25 g etyl axetoacetat (0,025 mol). Đun hỗn hợp suốt 2 giờ trong khoảng nhiệt độ $155-163^\circ\text{C}$. Làm lạnh hỗn hợp, thêm 5,0-7,5 ml dung dịch HCl để phá hủy phức. Để yên trong 30 phút, cất lôi cuốn hơi nước để loại hết nitrobenzen. Hỗn hợp còn lại được làm lạnh, lọc chất rắn và kết tinh lại bằng etanol nhận được 2,18 g sản phẩm là tinh thể hình kim, màu nâu xám nóng chảy ở $164-165^\circ\text{C}$. Hiệu suất phản ứng đạt 40%.

Giai đoạn (3): Đun hồi lưu hỗn hợp 6-axetyl-5-hidroxi-4-metylcumarin và andehit thơm với tỷ lệ mol 1:1 trong dung môi etanol tuyệt đối, xúc tác là 4-6 giọt piperidin trong khoảng 25-30 giờ, thấy có chất rắn tách ra, sau đó kết tinh lại sản phẩm trong dung môi DMF: ancol etylic đến khi trên sắc ký bản mỏng silicagel cho một vết tròn, gọn.

Kết quả tổng hợp các xeton α,β - không no được trình bày ở *Bảng 1*.

Bảng 1. Dữ liệu vật lý của các xeton α,β - không no từ 6-axetyl-5-hidroxi-4-metylcumarin (II)



Hợp chất	Ar	$t_m^0, ^\circ\text{C}$	R_f^*	H (%)	IR (cm^{-1})			
					ν_{CO} lacton	ν_{CO} liên hợp	ν_{OH}	$\delta_{\text{-CH=}}$
I ₁	<i>m</i> -Clophenyl	290-292	0,82	78	1741	1641	-	981
I ₂	<i>p</i> -Metylphenyl	281-283	0,67	75	1726	1631	3049	989
I ₃	<i>p</i> -Hiđroxiphenyl	264-266	0,78	68	1696	1633	3384	-
I ₄	<i>m</i> -Nitrophenyl	292-294	0,81	64	1735	1639	3440	986
I ₅	2-Thienyl	261-263	0,65	72	1740	1613	3426	985
I ₆	<i>p</i> -Bromphenyl	286-288	0,78	78	1732	1631	-	988
I ₇	<i>p</i> -Metoxiphenyl	261-262	0,84	80	1755	1633	3436	-

(*Bản mỏng silicagel, hệ dung môi *n*-hexan:axeton 5:3 theo thể tích)

Phổ hồng ngoại của các hợp chất được đo dưới dạng viên nén với KBr trên máy FTS-6000; Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được đo trong dung môi DMSO- d_6 trên máy BRUKER XL-500 tại Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ khối lượng của các hợp chất nghiên cứu được ghi trên máy AutoSpec Premier (USA).

Hoạt tính độc tế bào của các hợp chất được chúng tôi thử nghiệm tại phòng Hóa sinh ứng dụng – Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phương pháp thử hoạt tính độc tế bào được tiến hành theo tài liệu [8, 9]. Phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa kỳ (NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư ở điều kiện *in vitro*.

Các dòng tế bào ung thư nghiên cứu được nuôi cấy trong các môi trường nuôi cấy phù

hợp có bổ sung thêm 10% huyết thanh phôi bò (FBS) và các thành phần cần thiết khác ở điều kiện tiêu chuẩn (5% CO₂; 37°C; độ ẩm 98%; vô trùng tuyệt đối). Tùy thuộc vào đặc tính của từng dòng tế bào khác nhau, thời gian cấy chuyển cũng khác nhau. Tế bào phát triển ở pha log sẽ được sử dụng để thử độc tính.

Thử độc tế bào: 200 μl dung dịch tế bào ở pha log nồng độ 3.10^4 tế bào/ml vào mỗi giếng (đĩa 96 giếng) trong môi trường RPMI 1640 cho các dòng tế bào HepG2, KB. Mẫu thử được xử lý với tế bào ở các nồng độ pha loãng khác nhau sao cho đạt đến nồng độ cuối cùng là 128 $\mu\text{g/ml}$; 32 $\mu\text{g/ml}$; 8 $\mu\text{g/ml}$; 2 $\mu\text{g/ml}$; 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Ủ 37°C, 5% CO₂ 3 ngày.

Giếng điều khiển gồm 200 μl dung dịch tế bào 3.10^4 tế bào/ml, ủ 37°C, 5% CO₂ 3 ngày; thêm 50 μl MTT (1 mg/ml pha trong môi trường nuôi cấy không huyết thanh) và ủ tiếp ở 37°C/ 4giờ; loại bỏ môi trường, thêm 100 μl

DMSO lắc đều đọc kết quả ở bước sóng 540 nm trên máy spectrophotometer Genios TECAN.

Phần trăm kim hãm sự phát triển của tế bào được tính toán dựa trên số liệu đo mật độ quang học OD trên máy quang phổ TECAN theo công thức sau:

$$\text{ODmẫu thử} - \text{ODcontrol}(-)$$

$$\text{IC} = 100\% \cdot \frac{\text{ODcontrol}(+) - \text{ODcontrol}(-)}{\text{ODmẫu thử} - \text{ODcontrol}(-)}$$

$$\text{ODcontrol}(+) - \text{ODcontrol}(-)$$

Giá trị IC₅₀ được tính dựa trên kết quả số liệu phần trăm kim hãm sự phát triển của tế bào bằng phần mềm máy tính table curve.

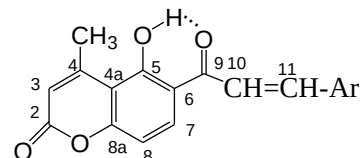
3. Kết quả và thảo luận

Trên phổ hồng ngoại của các xeton α,β -không no đều thấy xuất hiện các đỉnh hấp thụ đặc trưng cho dao động hoá trị của nhóm cacbonyl lacton ở vùng 1696-1755 cm⁻¹ và

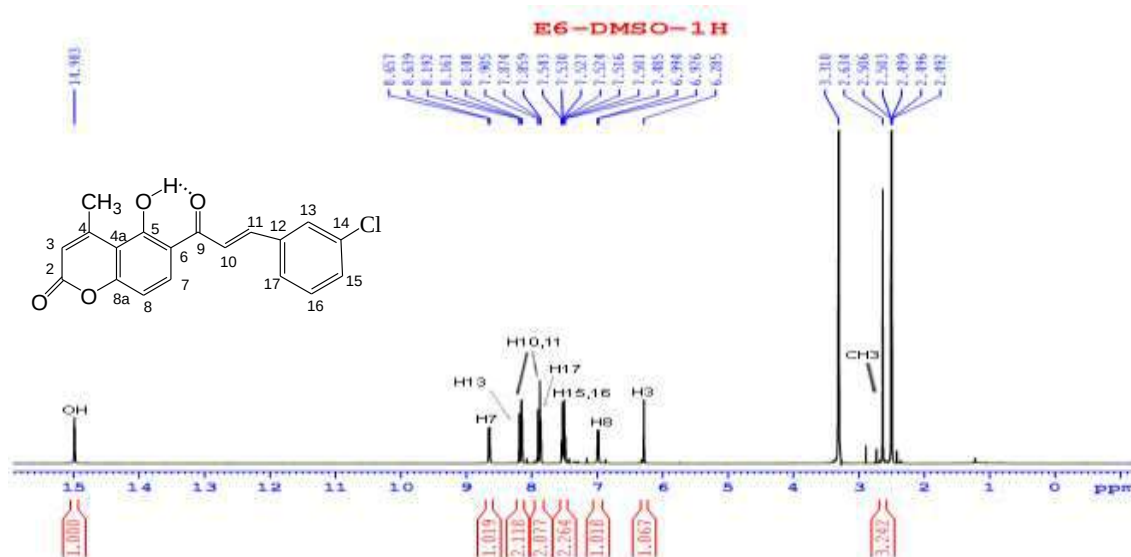
nhóm CO liên hợp ở vùng 1613-1641 cm⁻¹, đặc biệt có đỉnh hấp thụ ở vùng 985-989 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động biến dạng không phẳng của nhóm vinyl ở cấu hình *trans* (xem *Bảng 1*).

Phổ cộng hưởng từ proton (¹H NMR) của xeton α,β -không no **I**₁ thấy xuất hiện một đôi doublet với dạng hiệu ứng mái nhà nằm trong vùng 7,90 – 8,19 ppm với hằng số tương tác spin-spin là $J=15,5$ Hz, điều này xác định cấu hình của nhóm vinyl là *trans*. Ngoài ra trên phổ cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho chuyển dịch hoá học của các proton khác có mặt trong phân tử (*Hình 1*). Đặc biệt, phổ ¹H NMR của xeton α,β -không no (**I**₃, **I**₇) không thấy xuất hiện một đôi doublet dưới dạng hiệu ứng mái nhà với hằng số tương tác spin-spin $J=15,5-16,5$ Hz, mà lại xuất hiện một tín hiệu singlet (xem *Hình 2* và *Bảng 2*).

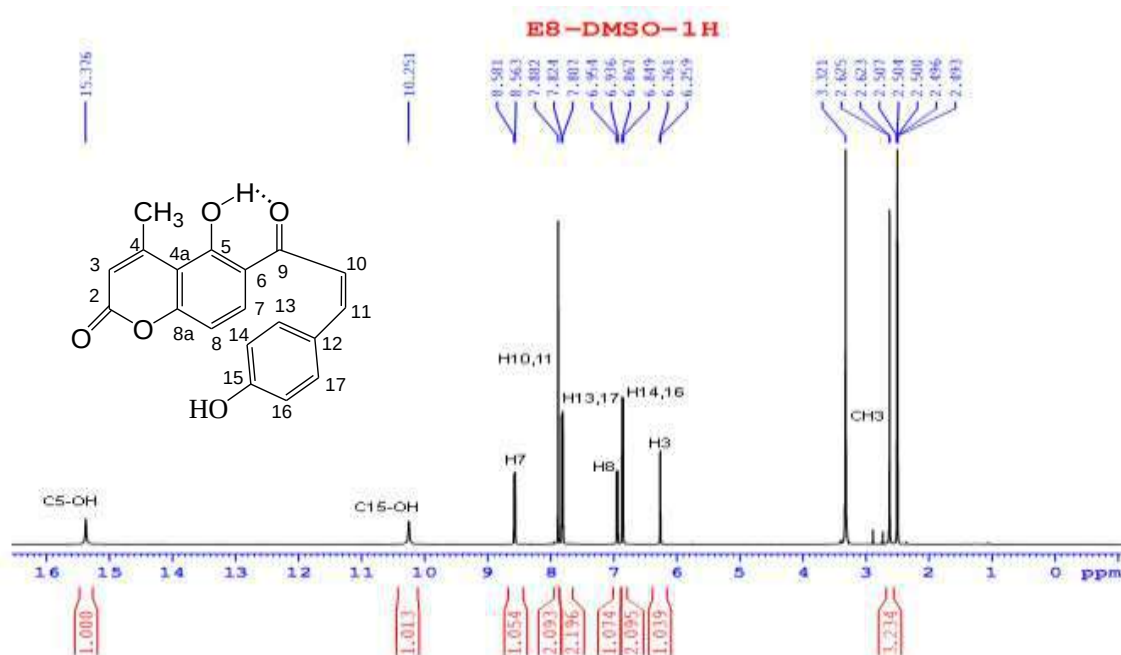
Bảng 2. Dữ kiện phổ ¹H NMR của một số xeton α,β -không no đi từ 6-axetyl-5-hidroxi-4-metylcumarin



Hợp chất	Ar	Phổ ¹ H NMR: δ ppm (J Hz)				
		H-10, H-11	Các proton H-3, H-7, H-8	Các proton vòng Ar	OH	4-CH ₃
I ₁		8,19 và 7,90 (J=15,5)	6,28 (1H, s, H-3); 6,98 (1H, d, H-8, J=9); 8,64 (1H, d, H-7, J=9);	7,52(2H, m, H-15, H-16, J: 7,5); 7,87(1H, d, H-17, J: 7,5); 8,14(1H, s, H-13).	14,98 (1H, s)	2,63 (3H, s)
I ₃		7,88 (s, 2H)	6,26 (1H, d, H-3, J=1); 6,94 (1H, d, H-8, J=9); 8,57 (1H, d, H-7, J=9);	6,85 (2H, d, H-14, H-16, J=9); 7,81 (2H, d, H-13, H-17, J=9); 10,25 (1H, s, C-15-OH).	15,37 (1H, s)	2,62 (3H, d, J:1)
I ₇		7,97 (s, 2H)	6,29 (1H, s, H-3); 6,98 (1H, d, H-8, J=9); 8,62 (1H, d, H-7, J=9);	7,05 (2H, d, H-14, H-16, J=9); 7,95 (2H, d, H-13, H-17, J=9);	15,32 (1H, s)	2,64 (3H, s)



Hình 1. Phổ ^1H NMR của I_1



Hình 2. Phổ ^1H NMR của I_3

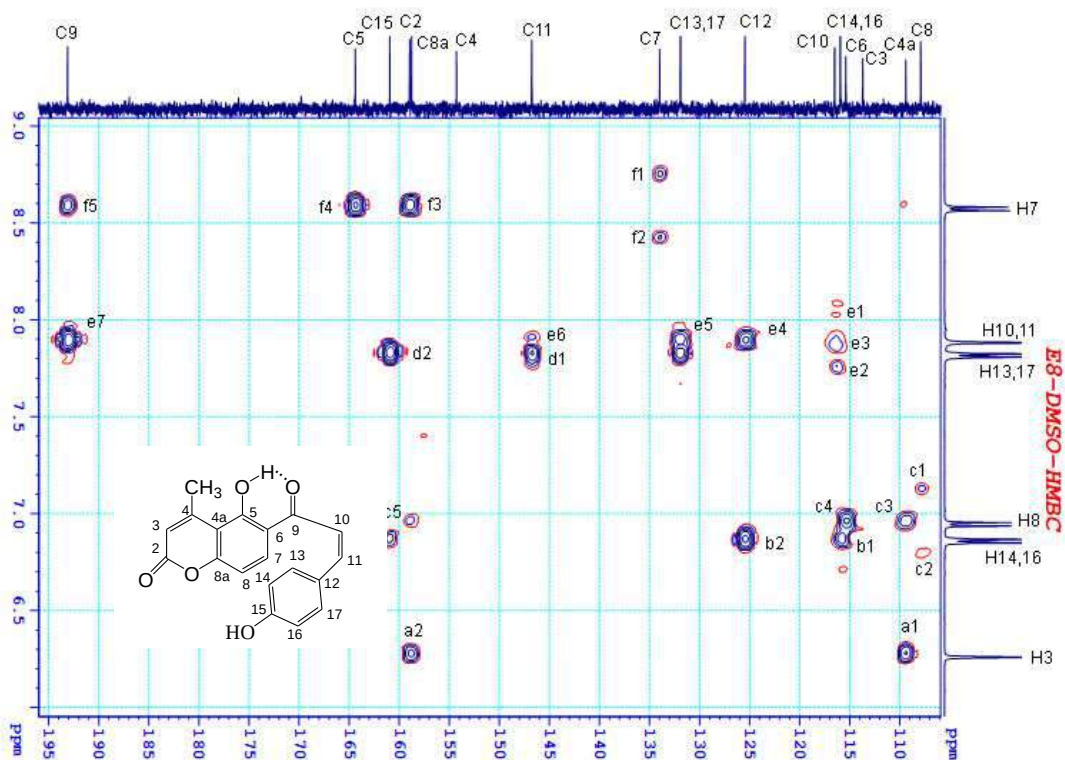
Các hợp chất I_3 , I_7 với gốc Ar có chứa các nhóm (-OH, -OCH₃) ở vị trí *para* với các hiệu ứng đẩy electron mạnh thì nhóm vinyl trong xeton α,β - không no tổng hợp được thường tồn tại dưới dạng cấu hình *cis*, còn các hợp chất còn lại với gốc Ar có chứa các nhóm hút electron hoặc nhóm đẩy electron yếu vào vòng benzen như (-Cl, -CH₃,...) thì nhóm vinyl trong xeton α,β - không no tổng hợp

được chúng tồn tại dưới dạng cấu hình *trans*. Trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất I_3 thấy đầy đủ các tín hiệu cộng hưởng của các nguyên tử cacbon trong hợp chất. Trên phổ HSQC xác định được tín hiệu của các nguyên tử cacbon đính trực tiếp với H, sau đó dựa vào phổ HMBC (hình 3) để xác định chính xác các tín hiệu cacbon không đính với H qua 2-3 liên kết và kiểm tra các tín hiệu khác. Thí dụ, từ

tín hiệu cộng hưởng 193,15 ppm là tín hiệu cacbon bậc 4 (không giao với tín hiệu proton nào trên phổ HSQC), chúng tôi quy kết đây là tín hiệu của C-9. Từ tín hiệu tương tác *e7* trên phổ HMBC chúng tôi quy kết được tín hiệu cộng hưởng ở 7,88 ppm (s, 2H) là tín hiệu của 2 proton H-10, H-11. Từ tín hiệu giao trên phổ HSQC chúng tôi quy kết được các tín hiệu cộng hưởng của C-10 và C-11. Dựa vào tín hiệu giao *e5* trên phổ HMBC chúng tôi quy kết được tín hiệu cộng hưởng của C-13, C-17. Tương tự, từ tín hiệu giao *e4* trên phổ HMBC chúng tôi quy kết được tín hiệu cộng hưởng của C-12. Hay từ tín hiệu *doublet* ở 6,26 ppm (d, *J*:1), chúng tôi quy kết đây là tín hiệu của H-3, dựa vào phổ HSQC chúng tôi quy kết được tín hiệu cộng hưởng của C-3.

Từ các tín hiệu giao *a1* trên phổ HMBC, chúng tôi quy kết được tín hiệu cộng hưởng của C-4a, và từ tín hiệu giao *a2* chúng tôi quy kết được tín hiệu cộng hưởng của C-2... Tín hiệu cộng hưởng trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất **I₃** được thể hiện trên *Bảng 3*.

Trên phổ ^1H NMR của các hợp chất tổng hợp được chúng tôi nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng ở vùng trường thấp, với độ chuyển dịch hóa học từ 14,98 – 15,37 ppm, singlet, cường độ 1H. Dựa vào phổ 2D NMR chúng tôi quy kết đây là tín hiệu của proton nhóm C5-OH, sở dĩ proton này có độ chuyển dịch hóa học cao như vậy là do sự tạo thành liên kết hidro với nguyên tử O trong nhóm C=O trong nhóm *vinyl* xeton ngay bên cạnh tạo vòng 6 cạnh bền vững.



Hình 3. Phổ HMBC của **I₃**

Bảng 3. Dữ kiện phổ ^{13}C NMR của hợp chất **I₃ (δ , ppm)**

C-2	158,9	C-6	115,3	C-10	116,5	C-5	164,4
C-3	113,7	C-7	134,0	C-11	146,7	C-9	193,1
C-4	154,2	C-8	107,9	C-12	125,4	C-14, C-16	115,9
C-4a	109,4	C-8a	158,7	C-13, C-17	131,9	C15	160,9
C-5	164,4	C-9	193,1	C-14, C-16	115,9	CH ₃	23,4

Hoạt tính độc tế bào của một số xeton α,β - không no được thử nghiệm tại phòng Hóa sinh ứng dụng – Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Kết quả thử nghiệm hoạt tính độc tế bào dòng KB- ung thư biểu mô được trình bày ở *Bảng 4*.

Bảng 4. Hoạt tính gây độc tế bào trên dòng KB (ung thư biểu mô)

STT	Hợp chất	Nồng độ chất thử ($\mu\text{g/ml}$) và phần trăm ức chế (%)					IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
		128	32	8	2	0,5	
1	I ₁	90	63	57,5	18	0	6,92
2	I ₄	45	39	28	12	0	>128
3	I ₇	48	35	24	12	0	>128

Từ *Bảng 4* chúng tôi nhận thấy hợp chất **I₁** với gốc Ar là *m*-clophenyl có hoạt tính độc tế bào với dòng KB- ung thư biểu mô tương đối tốt với giá trị IC₅₀: 6,92 $\mu\text{g/ml}$.

4. Kết luận

Bằng phản ứng của các anđehit thơm với 6-axetyl-5-hidroxi-4-metylcumarin đã tổng hợp được 07 hợp chất xeton α,β - không no. Cấu tạo của các sản phẩm đã được xác nhận bằng các phương pháp phổ IR, NMR. Hoạt tính gây độc tế bào trên dòng KB – ung thư biểu mô của một số hợp chất tổng hợp được đã được thử nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Dương Ngọc Toàn, *Lược án Tiến sĩ Hóa học*, Trường Đại học Khoa học tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội, 2015.
- [2]. Nakamura Y., and et al, “A tropical ginger sesquiterpene, activates phase II drug metabolizing enzymes”. *FEBS Lett.*, 572(1-3), pp. 245-250, 2004.
- [3]. Nguyễn Minh Thảo, Nguyễn Văn Vinh, Trần Quốc Toàn, Nguyễn Đức Chính, Đồng Thị Duyên, *Tạp chí Hóa học*, Tập 47 (1), tr. 22-27, 2009.
- [4]. Nguyễn Minh Thảo, *Nghiên cứu tổng hợp, hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của một số xeton α,β - không no có chứa nhân dị vòng*:

Indol, furan, cumarin, quinolin, Báo cáo kết quả thực hiện đề tài trọng điểm cấp Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội, 2007.

- [5]. Egi M., Yamaguchi Y., Fujiwara N., Akai S., “Mo-Au Combo Catalysis for Rapid 1,3-Rearrangement of Propargyl Alcohols into α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds”, *Org. Lett.*, 10, pp. 1867-1870, 2008.
- [6]. Madkour H. M. F., “Reactions with 2-Methyl-8-phenyl-benzopiran-4-one and Its Derivatives”, *Rev. Roum. Chim.*, 38, pp. 1117-1125, 1993.
- [7]. Valenta P. P., Drucker N. A., Bode J. W., Walsh PP. J., “Simple One-pot Conversion of Aldehydes and Ketones to Enals”, *Org. Lett.*, 11, pp. 2117-2119, 2009.
- [8]. Fresney R. I., Culture of animal Cells; John Wiley & Sons Inc., New York, *A manual of basis techniques*, 3rd Edition, 1993.
- [9]. Scudiero D. A., Shoemaker R. H., Kenneth D. P. P., Monks A., Tierney S., Nofziger T. H., Currens M. J., Seniff D., Boyd M. R., “Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines”, *Cancer Reseach*, 48, pp. 4827-4833, 1988.

