

## HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN VÀ KHÁNG NẤM CỦA MỘT SỐ N-(2,3,4,6-tetra-*O*-axetyl- $\beta$ -*D*-galactopyranozy) THIOSEMICACBAZON BENZANDEHIT THỂ

Anti-bacterial and anti-fungal activity of some  
N-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -*D*-galactopyranosyl) thiosemicarbazone benzaldehydes

Bùi Thị Thu Trang<sup>1</sup>, Nguyễn Đình Thành<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Đất và môi trường, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

<sup>2</sup>Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

### TÓM TẮT

Nhằm tìm kiếm kháng thể mới giúp cho việc ngăn chặn các mầm bệnh do vi sinh vật gây ra, nghiên cứu này thông báo một số kết quả nhận được về ảnh hưởng kháng khuẩn và kháng nấm của một số glycozylthiosemicacbazon. Một số N - (2,3,4,6 - tetra - O - axetyl -  $\beta$  - D - galactopyranozy) thiosemicacbazone của benzaldehyt thể đã được tổng hợp thành công. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của chúng cũng được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán thạch trên một số tế bào. Kết quả nhận được cho thấy, các chất tổng hợp thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các tế bào *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus epidermidis* và *Candida albicans* tại nồng độ chất ức chế 40  $\mu$ L với bán kính vòng vô khuẩn 15 - 26 mm. Mỗi liên hệ cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học của các chất đã được tìm thấy với hệ số tương quan trong khoảng từ 0,91 - 0,99.

Từ khóa: Galactopyranozo, kháng khuẩn, kháng nấm, thiosemicacbazon.

### SUMMARY

The effect of synthetic N - (2, 3, 4, 6 - tetra - O - acetyl -  $\beta$  - D - galactopyranosyl) thiosemicarbazone benzaldehydes against the growth of bacteria and fungi were investigated. The results showed that all compounds significantly inhibited the growth of *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans* at concentration of 40 $\mu$ L. The structure-bioactivity relationships were studied and the regression equation built with relative coefficients in the range of 0.91 - 0.99.

Key words: Anti - bacteria, anti - fungi, galactopyranose, thiosemicarbazone.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi sinh vật như vi khuẩn, nấm, mốc là những sinh vật có tế bào tổng hợp, có khả năng phát triển rất nhanh trong điều kiện thuận lợi về nhiệt độ, độ ẩm. Đa số chúng gây hại cho vật chủ cũng như ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Dựa vào đặc điểm cấu tạo của vi sinh vật, người ta chia thành các nhóm khác nhau, chẳng hạn vi khuẩn Gram dương như *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Corynebacterium*, *Diphtheroids*; vi khuẩn Gram âm như *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*,

*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas pyocynans*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera* và một số loại nấm như nấm men, nấm sợi... (Alcama, 1997). Sự thâm nhập của vi khuẩn, nấm mốc tạo ra mối nguy hại cho cả các cơ thể sống và vật dụng. Các tính chất vốn có của vật dụng, đặc biệt các sản phẩm nông sản là môi trường tốt cho sự phát triển của các vi sinh vật. Những tính chất của nông phẩm như thành phần hóa học, các chuyển hóa hóa học, sinh học trong nông phẩm cũng là điều kiện tốt cho sự phát triển của vi khuẩn, nấm mốc. Việc xử lý kháng khuẩn, kháng nấm có tác dụng: ngăn chặn các mầm bệnh do vi sinh

vật gây ra, kiểm soát được sự thâm nhập có hại của vi khuẩn, ngăn chặn sự trao đổi chất của sản phẩm với vi sinh vật nhằm giảm sự tạo mùi, kiểm soát sự gây bẩn, tránh biến màu và làm giảm chất lượng sản phẩm. Do đó, vấn đề nghiên cứu sử dụng chất kháng nấm, kháng khuẩn trở nên có nhiều ý nghĩa và là ý tưởng đặc biệt trong việc bảo quản các sản phẩm nông nghiệp. Các chất này không những làm tăng giá trị sử dụng của các sản phẩm, tránh nấm mốc hay thối mà còn để bảo vệ sức khỏe con người.

Ở nước ta, do điều kiện khí hậu nóng ẩm, nhiều vùng có trình độ vệ sinh thấp trong khi việc điều trị bệnh lại không đến nơi đến chốn đã làm cho các mầm bệnh do vi khuẩn, nấm gây ra phát triển ngày càng trầm trọng. Trong đó phải kể đến là các bệnh về đường ruột, bệnh ngoài da... Một số vi sinh vật còn thấy có biểu hiện chống lại các chất kháng sinh thông thường. Vì vậy, việc tìm kiếm các chất kháng sinh mới có tác dụng hiệu quả trong phòng ngừa cũng như điều trị bệnh là vấn đề thiết thực và cần được nghiên cứu sâu rộng. Những năm gần đây, nhiều công trình nghiên cứu về chất kháng khuẩn tổng hợp hay hoạt chất chiết suất từ tự nhiên được công bố (Trương Phương và cs., 2002). Trong lĩnh vực tìm kiếm kháng thể mới, thiosemicabazon và một số phức chất kim loại của nó đã được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu rộng rãi. Nhiều hợp chất thể hiện hoạt tính

sinh học cao được tìm thấy như khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm, diệt tế bào ung thư, kháng virus như virus sốt rét mà đặc biệt là khả năng ức chế với virus HIV (Bal et al., 2005; Kizicikli et al., 2007; Genova et al., 2004). Với mục đích nghiên cứu tìm kiếm kháng thể mới, công trình này thông báo một số kết quả nhận được về ảnh hưởng kháng khuẩn và kháng nấm của một số glycozylthiosemicabazon.

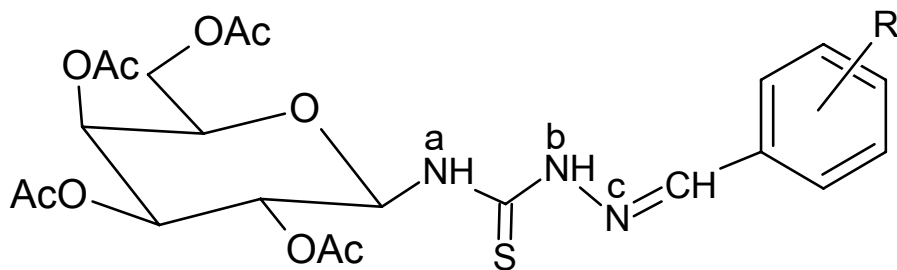
## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Hóa chất và tác nhân

Các chủng vi khuẩn: trực khuẩn Gram âm *K. pneumonia*, cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis*, nấm men *Candida albicans* được nuôi cấy tại Khoa Vi sinh, Bệnh viện 19-8 (Bộ Công an). Hợp chất thiosemicabazon là hóa chất tổng hợp, Phòng Tổng hợp hữu cơ 1, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### 2.2. Tổng hợp các hợp chất benzandehit N - (2, 3, 4, 6 - tetra - O - axetyl - $\beta$ - D - galactopyranozyl) thiosemicabazon thể

Các dẫn xuất galactopyranozyl thiosemicabazon 1a - g được tổng hợp như trong công trình đã công bố (Nguyễn Đình Thành và cs., 2006).



1a-g: R=*m*-NO<sub>2</sub> (a), *p*-Cl (b), *o*-NO<sub>2</sub> (c), *p*-NO<sub>2</sub> (d), *p*-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (e), 3,4-O<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (f), 5-Br-2-OH (g)

### 2.3. Phương pháp khảo sát tính kháng nấm, kháng khuẩn

Láng vi khuẩn và nấm đã nuôi cấy lên bề mặt của môi trường Miieller - Hinton (MH), Sabourous (SBR), thạch tương (TT) trên đĩa canh thang nuôi cấy qua đêm ở tủ ấm 37°C, đục lỗ và nhỏ thể tích dung dịch tương ứng (25, 50 và 100 µl) dung dịch chất thử, để trong tủ ấm 37°C khoảng 18 - 24 giờ, sau đó đọc kết quả bằng việc đo đường kính vòng vô khuẩn (tính bằng mm), phối hợp với các phương pháp tính toán để khảo sát hoạt tính sinh học của các hợp chất này.

### 2.4. Xử lý số liệu thực nghiệm

Các thông số phân tử của các chất tổng hợp được tính toán tối ưu hóa phân tử theo phương pháp AM1 sử dụng phần mềm Hyperchem Professional 8.0.5. Phương trình hồi quy được xây dựng theo phương pháp hồi quy đa biến bằng phần mềm Statgraphic 5.0. Các phép thử hoạt tính được tiến hành độc lập, lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình với sai số < 5%.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng kháng khuẩn, nấm của các glycozylthiosemicabazon được nghiên cứu theo phương pháp khuếch tán thạch tế bào. Các hợp chất được thử với 3 nồng độ khác nhau tương ứng là 10, 20, 40 g/mL. Bán kính vòng vô khuẩn được đo và tính toán như trong Bảng 1. Ở thể tích 25 µl (hay ở nồng độ 10 g/ml) các dẫn xuất trên đều không thể hiện hoạt tính kháng trực khuẩn Gram âm *K. pneumonia*. Điều thú vị ở đây là ở nồng độ này thì các chất không kháng cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis*, nấm men *C. albicans* mà kích thích các vi khuẩn này phát triển. ở thể tích 50 µl (hay nồng độ 20 µg/ml) các dẫn xuất thể hiện hoạt tính sinh học đáng kể với vòng vô khuẩn từ 10 mm đến 16 mm khi thử với trực khuẩn Gram âm

*K. pneumonia* trừ dẫn xuất với nhóm thế  $o\text{-NO}_2$  không có vòng vô khuẩn. Với cấu khuẩn Gram dương *S. epidermidis* và nấm men *C. albicans* các dẫn xuất này cũng không có vòng vô khuẩn nhưng kích thích cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis* và nấm men *C. albicans* phát triển. ở thể tích 100 µl (hay nồng độ 40 µg/ml) thì hầu hết các dẫn xuất này đều thể hiện hoạt tính sinh học rõ rệt với vòng vô khuẩn tương ứng như sau: kháng trực khuẩn Gram âm *K. pneumonia* với vòng vô khuẩn từ 18 mm đến 26 mm, tất cả các dẫn xuất đều có hoạt tính sinh học; kháng cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis* với vòng vô khuẩn từ 15 mm đến 22 mm; kháng nấm men *C. albicans* với vòng vô khuẩn từ 15 mm đến 26 mm trừ dẫn xuất với nhóm thế  $p\text{-N}(\text{CH}_3)_2$  ở nồng độ này không có vòng vô khuẩn nhưng kích thích kháng nấm men *C. albicans* phát triển.

Mối quan hệ giữa hoạt tính sinh học và cấu trúc phân tử của các glycozyl thiosemicabazon đã được khảo sát. Bằng cách tối ưu hóa phân tử, sử dụng phần mềm Hyperchem Professional 8.0.5, các thông số phân tử dùng trong tính toán QSAR theo mô hình Hansch được tính toán và dẫn ra ở bảng 2.

Khi sử dụng phương pháp hồi qui đa biến trong phần mềm STATGRAPHIC 5.0, chúng tôi nhận được các phương trình hồi qui đa biến mô tả sự phụ thuộc của hoạt tính sinh học vào các thông số phân tử như sau:

$$[\text{Gr}(-)] = 121,1319 + 1,0099 - 0,5165\text{LUMO}$$

$$R^2 = 0,91; F(2,4) = 9,97 \quad P < 0,028$$

$$[\text{Gr}(+)] = 39,3813 + 0,2083 \log P - 1,0467\text{MR} + 0,3548\text{ZNb} - 0,0303\text{ZNC} + 0,0407 \text{LUMO}$$

$$R^2 = 0,99; F(5,1) = 2593,5 \quad P < 0,015$$

$$[\text{Nấm}] = 720,7638 - 0,4488 - 1,6388\text{P} + 0,1438 \log P + 0,3495\text{ZNb} + 1,1036\text{HOMO}$$

$$R^2 = 0,99; F(5,1) = 667,47 \quad P < 0,029$$

**Bảng 1. Ảnh hưởng ức chế của các glycozylthiosemicabazon đến sự phát triển của một số vi sinh vật kiểm định**

Hợp chất	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)								
	Trực khuẩn Gram âm <i>K. pneumonia</i>			Cầu khuẩn Gram dương <i>S. epidermidis</i>			Nấm men <i>C. albicans</i>		
	10 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL
1a	0	15	25	0 ↑ <sup>(*)</sup>	0 ↑	20	0 ↑	0 ↑	22
1b	0	10	20	0 ↑	0 ↑	22	0 ↑	0 ↑	26
1c	0	0	20	0 ↑	0 ↑	22	0 ↑	0 ↑	26
1d	0	15	20	0 ↑	0 ↑	20	0 ↑	0 ↑	15
1e	0	16	26	0 ↑	0 ↑	15	0 ↑	0 ↑	0 ↑
1f	0	16	18	0 ↑	0 ↑	20	0 ↑	0 ↑	15
1g	0	12	22	0 ↑	0 ↑	20	0 ↑	0 ↑	15

(\*) . Không có vòng vô khuẩn nhưng kích thích vi khuẩn phát triển

Từ các phương trình hồi qui nhận được cho thấy, với mỗi chủng vi khuẩn khác nhau, hoạt tính sinh học của các galactozyl thiosemicabazon trên thay đổi phụ thuộc vào các thông số phân tử.

Trong tác dụng ức chế sự phát triển của cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis*, các yếu tố như độ khúc xạ phân tử (MR), hệ số phân bố octanol - nước (logP), mật độ điện tử trên nguyên tử nitơ Nb, Nc và mức năng lượng LUMO của phân tử có ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của phân tử. Sự tăng mật độ điện tử trên nguyên tử nitơ (Nb) hay sự tăng hệ số phân bố octanol - nước của phân tử dẫn đến tăng khả năng ức chế sự phát triển của chủng vi khuẩn này. Đồng thời các chất có độ khúc xạ phân tử cao cũng như mật độ điện tử trên nguyên tử nitơ (Nc)

lớn có xu hướng làm giảm hoạt tính của phân tử.

Ở nấm men *C. albicans*, chúng tôi lại thấy rằng, các yếu tố của phân tử như tính phân cực của phân tử (được thể hiện qua thông số ưa dầu  $\pi$ ), độ phân cực phân tử (P), hệ số phân bố octanol - nước, mật độ điện tử trên nguyên tử nitơ (Nb) và trạng thái năng lượng HOMO có ảnh hưởng đến hoạt tính của phân tử. Tương tự với cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis*, sự tăng mật độ điện tử trên nguyên tử nitơ (Nb) hay sự tăng hệ số phân bố octanol - nước của phân tử đều dẫn đến sự tăng giá trị hoạt tính sinh học. Tuy nhiên với nấm men *C. albicans*, sự tăng tính phân cực phân tử hay làm tăng độ phân cực phân tử sẽ làm giảm giá trị hoạt tính sinh học.

**Bảng 2. Các giá trị thông số phân tử trong nghiên cứu QSAR theo mô hình Hansch của một số hợp chất 1a-g**

R	Hợp chất	$\pi$	MR	S	V	lgP	P	LUMO	HOMO	$Z_{Na}$	$Z_{Nb}$	$Z_{Nc}$	Hoạt tính (đường kính vòng vô khuẩn, mm)		
													Gr (-)	Gr (+)	Nấm
<i>o</i> -NO <sub>2</sub>	1c	-0,28	7,36	750,08	1370,96	1,78	51,27	-8.572944	-0.929589	-0.3331	-0.2260	-0.0156	20	22	26
<i>m</i> -NO <sub>2</sub>	1a	-0,28	7,36	789,99	1399,76	1,78	51,27	-8.381837	-0.791693	-0.3324	-0.2659	0.0137	25	20	22
<i>p</i> -NO <sub>2</sub>	1d	-0,28	7,36	793,03	1401,19	1,78	51,27	-8.502198	-1.057144	-0.3320	-0.2638	0.0169	20	20	15
<i>p</i> -Cl	1b	0,71	6,03	787,32	1384,29	2,34	51,36	-8.261570	-0.321926	-0.3329	-0.2633	-0.0006	20	22	26
<i>p</i> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1e	0,18	15,55	827,69	1475,28	2,09	54,45	-7.928232	-0.080841	-0.3351	-0.2599	-0.0120	26	15	0
3,4-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1f	0,05	5,83	839,75	1440,22	1,51	51,77	-8.706717	-0.571030	-0.2905	-0.2791	-0.0415	18	20	15
5-Br-2-OH	1g	0,19	9,38	797,39	1414,59	2,33	52,69	-8.396665	-0.389327	-0.3310	-0.2567	-0.0556	22	20	15

*Ghi chú:*  $\pi$ : thông số ưa dầu Hansch;  $\sigma$ : hằng số nhóm thế Hammett; MR: độ khúc xạ phân tử; S: diện tích bề mặt phân tử; V: thể tích phân tử; lgP: hệ số phân bố octanol-nước; P: độ khâ phân cực;  $Z_{Na}$ ,  $Z_{Nb}$ ,  $Z_{Nc}$ : mật độ điện tích trên nguyên tử nitơ của nhóm thiosemicabazon; HOMO: mức năng lượng của orbital bị chiếm cao nhất; LUMO: mức năng lượng của orbital chưa bị chiếm thấp nhất; Gr(-): hoạt tính kháng khuẩn Gram âm *K. pneumoniae*; Gr(+): hoạt tính kháng khuẩn Gram dương *S. epidermidis*; Nấm: hoạt tính kháng nấm men *C. albicans*.

Các giá trị thông số QSAR của các phân tử được tính toán dựa trên sự tối ưu hóa phân tử theo phương pháp hoá lượng tử AM1, sử dụng phần mềm HyperChem Pro 8.0.5.

Các giá trị hoạt tính kháng trực khuẩn Gram âm *K. pneumonia* chỉ thay đổi nhẹ theo tính phân cực và trạng thái năng lượng LUMO của phân tử. Có thể trong trường hợp này, đặc trưng về sự tương đồng trong cấu trúc hóa học là yếu tố chính gây ra tác dụng ức chế phát triển của chủng vi khuẩn này. Các giá trị hệ số xác định  $R^2$  của phương trình hồi qui nhận được (0,91 với trực khuẩn Gram âm *K. pneumonia*; 0,99 với cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis* và nấm men *C. albicans*) có ý nghĩa cho phép dự đoán trước khả năng thể hiện hoạt tính của phân tử có cấu trúc giống galactozylthiosemicabazon với các chủng vi khuẩn này, từ đó cho phép định hướng trong tổng hợp chọn lọc các hoạt chất với từng mục đích sử dụng khác nhau.

Các ảnh hưởng dương tính nhận được của các chất tổng hợp với các vi khuẩn là những kết quả ban đầu, hy vọng các sản phẩm deaxetyl hóa có khả năng mang lại kết quả khả quan, là những chất kháng khuẩn kháng nấm mạnh.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nhận được cho thấy các chất tổng hợp đều thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của trực khuẩn Gram âm *K. pneumonia* ở nồng độ 20 g/mL, cầu khuẩn Gram dương *S. epidermidis* và nấm men *C. albicans* ở nồng độ chất ức chế 40 g/mL với bán kính vòng vô khuẩn 12 - 26 mm. Mặt khác, các kết quả nhận được còn cho thấy rằng, ở nồng độ thấp, 10 g/mL và 20 g/mL các chất có ảnh hưởng kích thích sự phát triển của các vi khuẩn này. Các thông số phân tử như tính phân cực phân tử, khả năng chuyển vận của các chất trong hệ nước

- đầu và mật độ điện tử trên nguyên tử nitơ trong khung thiosemicabazon là các yếu tố có ảnh hưởng đến giá trị hoạt tính sinh học.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alcama I.E. (1997). Fundamentals of Microbiology, 5th ed. Menlo Park, California, Benjamin Cumming.
- Bal T.R., B. Anand, P. Yogeewari, D. Sriram (2005). Synthesis and evaluation of anti-HIV activity of isatin beta-thiosemicarbazone derivatives. Bioorg. Med. Chem. Lett., 15(20), pp. 4451-4455.
- Genova P., T. Varadinova, A.I. Matesanz, D. Marinova, P. Souza (2004). Toxic effects of bis(thiosemicarbazone) compounds and its palladium(II) complexes on herpes simplex virus growth. Toxicol. App. Pharmacol., 197(2), pp. 107-112.
- Kizicikli I., Y.D. Kurt, B. Akkurt, A.Y. Genel, S. Birteksoz, G. Otuk, B. Ulkuseven (2007). Antimicrobial activity of a series of thiosemicarbazones and their Zn<sup>(II)</sup> and Pd<sup>(II)</sup> complexes. Folia microbol., 52(1), pp. 15-25.
- Nguyễn Đình Thành, Đặng Như Tại, Bùi Thị Thu Trang (2006). Góp phần nghiên cứu tổng hợp và chuyển hoá (tetra-O-axetyl-D-galactopyranozyl)thiosemicabazit với benzandehit và indol-3-andehit thể. *Tạp chí Khoa học, Khoa học tự nhiên và Công nghệ*, Vol. XXII, N.3C AP, tr. 179-183.
- Trương Phương, Ngô Duy Túy Hà, Trần Phúc Yên, Trần Cát Đông (2002). Tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng nấm kháng khuẩn của các dẫn chất thioure. Chuyên đề nghiên cứu khoa học được, Tập 6, số 1, tr. 67-71.