

Nghiên cứu tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion

Võ Thị Mỹ Hương*, Nguyễn Hoàng Thân,
Nguyễn Như Quỳnh, Lê Minh Quốc và Phạm Thị Tố Liên
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Benzothiazin là nhóm hợp chất dược lý đa tác dụng với nhiều ứng dụng trong điều trị các bệnh lý khác nhau: kháng viêm, chống ung thư, giảm đau và bảo vệ tim mạch, ... Ngoài ra, các hợp chất này còn có hiệu quả trong việc kháng nhiều loại vi khuẩn và vi nấm. **Mục tiêu:** Tổng hợp và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn các dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Các dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion được tổng hợp từ nguyên liệu ban đầu là acid thiosalicylic và các dẫn chất anilin qua hai giai đoạn chính: tạo liên kết amid và tổng hợp các dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion. Cấu trúc của các chất trung gian và sản phẩm được xác định bằng nhiệt độ nóng chảy, phổ UV, IR, MS, NMR. Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn sử dụng phương pháp khuếch tán trong thạch và phương pháp pha loãng. **Kết quả:** Từ acid thiosalicylic đã tổng hợp được 4 dẫn chất 1,3-benzothiazin-2,4-dion gồm: 3-phenyl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion, 3-(2-clorophenyl)-2H-1,3-benzothiazin-2,4-dion, 3-(3-clorophenyl)-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion, 3-(4-clorophenyl)-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion các chất này đã được xác định cấu trúc dựa trên các phổ IR, MS, NMR. Hiệu suất các phản ứng trung bình đạt 45.54%. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn cho thấy cả bốn dẫn chất đều có hoạt tính kháng khuẩn đối với *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA), nhưng không có hiệu quả đối với *Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa*. **Kết luận:** Đã tổng hợp được 4 dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion. Những hợp chất này có tác dụng kháng khuẩn khá tốt, trong đó sản phẩm 3-phenyl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion (2a) có khả năng kháng *S.aureus* và, *S.aureus* kháng methicillin với giá trị MIC khá thấp (8 µg/mL).

Từ khóa: 1,3-benzothiazin, tổng hợp, kháng khuẩn, *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Benzothiazin là một nhóm hợp chất heterocyclic với cấu trúc đặc trưng, được nghiên cứu vì những đặc tính sinh học đa dạng, bao gồm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm và chống ung thư... [1 - 3]. Các hợp chất thuộc nhóm này đã cho thấy tiềm năng trong việc phát triển các thuốc điều trị, đặc biệt là trong lĩnh vực kháng khuẩn [4].

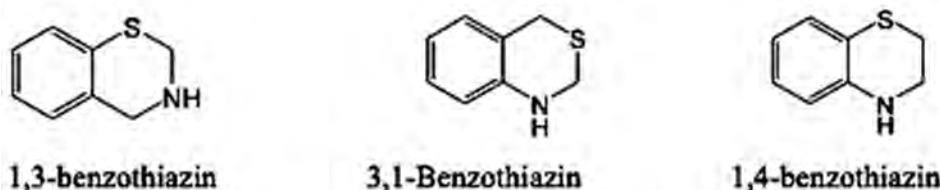
Hiện nay, tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn ngày càng gia tăng, đặt ra thách thức lớn cho y học trong việc tìm kiếm các hợp chất mới có khả năng

kháng khuẩn hiệu quả. Các dẫn chất 1,3-benzothiazine [5, 6], đã được xác nhận có khả năng ức chế sự phát triển của một số vi khuẩn gây bệnh, đồng thời mở ra tiềm năng ứng dụng trong điều trị nhiễm khuẩn. Mặc dù đã có các nghiên cứu về cấu trúc và hoạt tính của các dẫn chất này, thông tin chi tiết về quá trình tổng hợp và hiệu quả kháng khuẩn của chúng vẫn còn hạn chế. Do đó, cần thiết phải tiếp tục nghiên cứu, cải tiến và phát triển thêm các dẫn xuất mới nhằm nâng cao hiệu quả điều trị các nhiễm khuẩn. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này nhằm

Tác giả liên hệ: Võ Thị Mỹ Hương
Email: vtmhuong@ctump.edu.vn

mục tiêu tổng hợp các dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion từ nguyên liệu đầu là acid thiosalicylic đồng thời đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của các hợp chất này. Nghiên cứu góp

phần cung cấp phương pháp tổng hợp và cơ sở lý luận cho các nghiên cứu tiếp theo về nhóm dẫn chất benzothiazin, đồng thời chứng minh tiềm năng kháng khuẩn của các dẫn chất này.



Hình 1. Khung cấu trúc benzothiazin

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bốn dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dione.

2.2. Nguyên liệu, thiết bị

Acid thiosalicylic, anilin, 2-cloroanilin, 3-cloroanilin, 4-cloroanilin (Across, Bỉ), toluen (Trung Quốc), ethylchloroformat, SOCl_2 (Merck, Đức) theo tiêu chuẩn tinh khiết, chất chuẩn Dimethyl sulfoxide (DMSO) 10% dùng trong nuôi cấy.

Các môi trường nuôi cấy vi khuẩn: Tryptic Soy Broth (TSB), Tryptic Soy Agar (TSA), Thạch Mueller-Hinton (MHA); các chủng vi khuẩn thử nghiệm: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Streptococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus*

aureus đề kháng methicilin (MRSA) ATCC 43300.

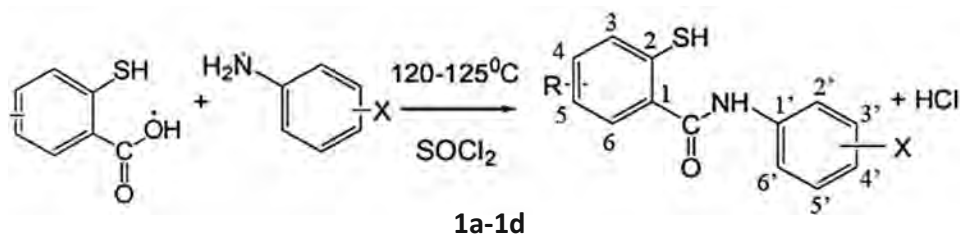
Thiết bị: Máy đo nhiệt độ nóng chảy Stuart SMP10 (Cole Palmer, Anh); máy đo phổ UV-VIS Labomed UVD - 3500, máy đo phổ IR Anpha T Bruker (Đức), Máy đo phổ HR-MS microTOF-Q II 10187, máy đo phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR Bruker 500 MHz (Thụy Sĩ) và các thiết bị khác.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tổng hợp

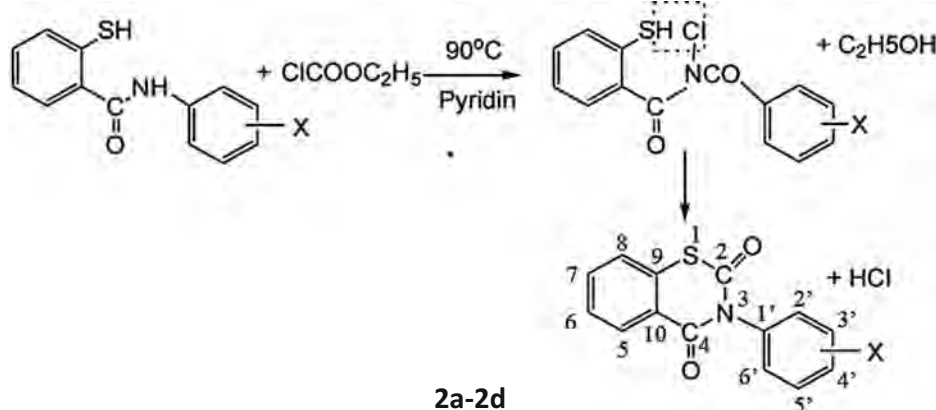
4 dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion được tổng hợp từ acid thiosalicylic qua giai đoạn [7]:

Giai đoạn 1: Tổng hợp các dẫn chất N-aryl-2-mercaptobenzamid (1a-1d)



Hình 2. Tổng hợp 4 dẫn chất N-aryl-2-mercaptobenzamid (1a-1d).

Giai đoạn 2: Tổng hợp 4 dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion (2a-2d).



Hình 3. Tổng hợp 4 dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion (2a-2d)

2.3.2. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Sử dụng phương pháp khuếch tán trong thạch và phương pháp pha loãng để xác định hoạt tính kháng khuẩn song song với chứng âm là dung môi DMSO và chứng dương là levofloxacin [8].

3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả tổng hợp hóa học

3.1.1. Tổng hợp các dẫn chất *N*-aryl-2-mercaptobenzamid (1a-1d)

Trong bình cầu 250 mL, cho vào 15.4 gam (0.1 mol) acid thiosalicylic và 200 mL toluen, lắp hệ thống sinh hàn. Khuấy đều và làm lạnh trên bếp khuấy từ trong khoảng 30 phút. Sau đó, từ từ thêm 22.5 mL (0.3 mol) SOCl_2 vào hỗn hợp phản ứng, khuấy đều và đun hồi lưu ở nhiệt độ 70 - 80°C trong 1 giờ. Tiếp theo, thêm từ từ 16.68 mL (0.15 mol) anilin vào bình phản ứng thông qua bình lắng, khuấy đều và gia nhiệt. Duy trì nhiệt độ ở 120 - 125°C trong khoảng 3 giờ. Khi phản ứng kết thúc, để hỗn hợp nguội hoàn toàn, rồi thêm dung dịch NaHCO_3 bão hòa vào cho đến khi pH của dung dịch đạt 9 - 10. Sản phẩm sẽ tủa xuống dưới dạng tủa mịn, màu vàng. Lọc kết tủa và rửa tủa bằng nước cất đến khi pH đạt trung tính. Sau đó, cho thêm HCl 10% vào dung dịch cho đến khi pH giảm xuống 1 - 2. Lọc kết tủa, rửa bằng nước cất đến khi pH trung tính và sấy tủa ở nhiệt độ 60°C để thu được sản phẩm thô.

Tiến hành phản ứng tương tự với 0.15 mol 2-cloroanilin, 3-cloroanilin và 4-cloroanilin. Các sản phẩm thô thu được sẽ được tinh chế bằng hỗn hợp ethanol 96% và nước theo các tỷ lệ (5:1), (9:1), (5:1), (4:1) và tẩy màu bằng than hoạt tính. Lọc nóng, để nguội từ từ để sản phẩm kết tinh. Lọc lấy sản phẩm, rửa bằng hỗn hợp ethanol 96% và nước lạnh, sau đó sấy ở 60°C để thu được các sản phẩm tinh khiết (1a-1d) như sau:

N-phenyl-2-mercaptobenzamid (1a)

Hiệu suất: 66.87% (15.31 g). Tinh thể hình kim, màu trắng không tan trong nước và tan trong ethanol, pyridin, aceton, DMF. Nhiệt độ nóng chảy: 245.1°C. UV_{max} (nm): 257.2 nm. IR (cm^{-1}), 3290 (N-H), 1648.9 (C=O), 1498.8 (C=C). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): 10.54 (s; 1H; -NH-amid), 7.76 (m; 4H; H_2 , H_6 , H_5 , H_4), 7.51 (t; $J=8$; 1H; H_3), 7.38 (m; 3H; H_2 , H_3 , H_5), 7.14 (t; $J=7.5$; 1H; H_4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): 165.7 (C=O amid), 138.7 (C_1), 138.7 (C_1), 134.8 (C_2), 131.4 (C_4), 128.8 (C_3 , C_5), 128.4 (C_3), 126.4 (C_5 , C_6), 124.0 (C_4), 120.1 (C_2 , C_6). $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NOS} [\text{M-H}]^-$ m/z = 229.30 (dự kiến), m/z = 228.04 (thực tế).

N-(2-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid (1b)

Hiệu suất: 66.14% (17.43 g). Bột mịn vô định hình màu trắng không tan trong nước và tan trong ethanol, pyridin, aceton, DMF. Nhiệt độ nóng chảy: 248.2°C. UV_{max} (nm): 252.4 nm. IR (cm^{-1}): 3411.5 (N-H), 1666.8 (C=O), 1472.2 (C=C), 751.1 (C-Cl). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): 10.32 (s; 1H -NH- amid); 7.90 (d; $J=7.5$; 1H; H_6); 7.78 (d; $J=8$; 1H; H_3); 7.65 (d; $J=8$; 1H; H_6); 7.56 (m; 2H; H_3 , H_4); 7.42 (m; 2H; H_5 , H_5); 7.33 (t; $J=7.5$; 1H; H_4). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): 165.9 (C=O amid); 137.1 (C_1); 134.6 (C_1); 133.4 (C_2); 131.7 (C_4), 129.6 (C_3), 129.4 (C_2), 128.5 (C_3), 128.3 (C_6), 127.7 (C_5), 127.5 (C_5), 126.3 (C_4), 126.2 (C_6). $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNOS} [\text{M-H}]^-$ m/z = 263.02 (dự kiến), m/z = 262.00 (thực tế).

N-(3-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid (1c)

Hiệu suất: 56.23% (14.82 g). Bột mịn vô định hình màu trắng không tan trong nước và tan trong ethanol, pyridin, aceton, DMF. Nhiệt độ nóng chảy: 220.6°C. UV_{max} (nm): 258.4 nm. IR (cm^{-1}): 3327.7 (N-H); 1646.6 (C=O); 1523.3 (C=C); 775.1 (C-C1). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): 10.72 (s; 1H; -NH-); 7.96 (s; 1H; H_2); 7.79 (d; $J=8$; 1H; H_6); 7.78 (d; $J=8.5$; 1H; H_6); 7.69 (d; $J=8.5$; 1H; H_3); 7.53 (t; $J=7.5$; 1H; H_4); 7.41 (t; $J=8$; 2H; H_5 , H_5); 7.20 (m; 1H; H_4). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): 165.9 (C=O amid), 140.3 (C_1), 136.5 (C_1), 134.3 (C_1), 133.1 (C_2), 131.6 (C_4), 130.4 (C_5), 128.5 (C_3), 126.4 (C_5 , C_6), 123.7 (C_4), 119.5 (C_2), 118.5 (C_6). $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNOS} [\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 263.02 (dự kiến), m/z = 286.00 (thực tế).

N-(4-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid (1d)

Hiệu suất: 71.15% (18.75 g). Bột mịn vô định hình màu trắng không tan trong nước và tan trong ethanol, pyridin, aceton, DMF. Nhiệt độ nóng chảy: 224.5°C. UV_{max} (nm): 259.4 nm. IR (cm^{-1}): 3290.1 (N-H); 1650.3 (C=O); 1517.2 (C=C); 746.2 (C-C1). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): 10.66 (s; 1H; -NH-); 7.77 (m; 3H; H_2 , H_6 , H_6); 7.75

(*d*; *J*=8; 1H; H_3); 7.51 (*t*; *J*=7.5; 1H; H_4); 7.44 (*d*; *J*=9; 2H; H_3, H_5); 7.39 (*t*; *J*=7.5; 1H; H_5). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): 165.8 (C=O amid); 137.8 (C_1); 136.5 (C_1); 134.5 (C_1); 131.6 (C_4); 127.7 (C_2); 128.7 (C_3, C_5), 128.5 (C_3), 126.5 (C_6), 126.4 (C_5), 121.7 (C_2, C_6). $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNOS}$ [M-H]⁻ *m/z* = 263.02 (dự kiến), *m/z* = 262.01 (thực tế).

3.1.2. Tổng hợp các dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazion-2,4(3H)-dion (2a-2d)

Cân chính xác 4.58 gam (0.02 mol) N-phenyl-2-mercaptobenzamid vào bình cầu. Thêm 40 - 50 mL pyridin vào bình, khuấy đều trên bếp khuấy từ cho đến khi chất rắn hoàn toàn hòa tan. Lắp hệ thống sinh hàn vào bình cầu, đồng thời cho khoảng 20 mL ethylchloroformat vào bình lắng gạn, lắp bình lắng gạn vào đầu hệ thống sinh hàn và tiến hành làm lạnh hỗn hợp. Tiến hành nhỏ từng giọt ethylchloroformat từ bình lắng gạn vào bình cầu, khuấy đều liên tục. Duy trì nhiệt độ trong bình cầu ở khoảng 10 - 20°C trong 24 giờ để phản ứng hoàn tất. Sau khi phản ứng kết thúc, để hỗn hợp nguội dần đến nhiệt độ phòng. Tiếp theo, từ từ thêm dung dịch HCl 1% vào, khuấy đều cho đến khi xuất hiện kết tủa. Lọc kết tủa và rửa bằng nước cất cho đến khi pH dung dịch đạt trung tính. Sau đó, chuyển kết tủa đã rửa vào khoảng 20 mL dung dịch NaOH 1%, lọc và rửa kết tủa bằng nước cất cho đến khi pH dung dịch đạt trung tính. Sấy kết tủa ở 60°C để thu được sản phẩm thô.

Tiến hành phản ứng tương tự với 0.02 mol các dẫn chất N-(2-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid, N-(3-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid và N-(4-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid, thu được 4 sản phẩm (2a-2d).

Các sản phẩm thu được sẽ được tinh chế bằng cách hòa tan chúng trong một lượng n-hexan nóng. Tẩy màu dung dịch bằng than hoạt tính, lọc nóng và làm lạnh dung dịch để sản phẩm kết tinh. Lọc lấy tinh thể và rửa bằng n-hexan lạnh nhiều lần cho đến khi thu được sản phẩm tinh khiết.

Tiến hành phản ứng tương tự như trên với 0.02 mol các dẫn chất N-(2-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid, N-(3-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid và N-(4-chlorophenyl)-2-mercaptobenzamid để thu được 4 sản phẩm (2a-2d).

Đối với sản phẩm 2b, hòa tan sản phẩm trong methanol với lượng tối thiểu, sau đó trộn đều với silicagel. Tiến hành sắc ký cột nhanh với hệ dung môi rửa giải thay đổi từ PE (100%) đến hỗn hợp PE:aceton (85:15) để thu được phân đoạn chứa thành phần đơn giản hơn. Cô các phân đoạn này trên bếp cách thủy ở 60°C. Sản phẩm kết tinh dưới dạng tinh thể sẽ được lọc, rửa bằng methanol lạnh và thu được sản phẩm tinh khiết.

3-phenyl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion (2a)

Hiệu suất: 20.29% (1.04g). Dạng tinh thể hình kim, màu trắng không tan trong nước không tan trong nước và tan trong ethanol, methanol, n-hexan, DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 144.1°C. UV_{max}(nm): 329.8; 257; 228.4. Phổ IR (ν, cm⁻¹, KBr): 1662.2 (ν C=O thiolacton); 1591.0 (ν C=O amid); 1498.8 (ν C=C). $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 8.03 (*d*, *J*=8, 1H, NH); 7.95 (*d*, *J*=7.5, 1H, H_8); 7.74 (*t*, *J*=7.5, 1H, H_7); 7.69 (*m*, 2H, H_2, H_6); 7.50 (*m*, 3H, H_6, H_3, H_5); 7.35 (*t*, *J*=7.5, 1H, H_4). $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 163.3 (C_4); 159.4 (C_2); 149.1 (C_9); 140.2 (C_{10}); 132.6 (C_7); 129.5 (C_3, C_5); 127.0 (C_8); 126.2 (C_5); 126.0 (C_6); 124.5 (C_2, C_6); 124.3 (C_1); 121.9 (C_4). $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{ClNO}_2\text{S}$ [M]⁺ *m/z* = 255.04 (dự kiến), *m/z* = 255.03 (thực tế).

3-(2-clorophenyl)-2H-1,3-benzothiazin-2,4-dion (2b)

Hiệu suất: 17.50% (1.01g). Dạng tinh thể hình vảy, màu trắng không tan trong nước không tan trong nước và tan trong ethanol, methanol, n-hexan, DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 156.3°C. UV (λ_{max}, nm): 320.4; 253. IR (ν, cm⁻¹, KBr): 1651.7 (ν C=O thiolacton); 1594.5 (ν C=O amid); 1474.1 (ν C=O); 734.1 (ν C=Cl). $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 7.87 (*d*, *J*=7.5, 1H, H_5); 7.77 (*d*, *J*=8, 1H, H_3); 7.63 (*d*, *J*=7.5, 1H, H_8); 7.58 (*d*, 1H, H_6); 7.54 (*t*, 1H, H_7); 7.41 (*q*, *J*=(7.5;7), 2H, H_6, H_5); 7.32 (*m*, 1H, H_4). $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 166.2 (C_4); 157.2 (C_2); 137.2 (C_{10}); 134.7 (C_9); 133.6 (C_1); 131.9 (C_4); 129.8 (C_3); 129.5 (C_2); 128.7 (C_3); 128.5 (C_6); 127.9 (C_5); 127.7 (C_5); 126.5 (C_4); 126.4 (C_6). $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{ClNO}_2\text{S}$ [M]⁺ *m/z* = 289.5 (dự kiến), *m/z* = 289.4 (thực tế).

3-(3-clorophenyl)-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion (2c)

Hiệu suất: 22.74% (1.32g). Dạng tinh thể hình

kim, màu trắng không tan trong nước không tan trong nước và tan trong ethanol, methanol, n-hexan, DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 141.5°C. UV ($\lambda_{\max}$, nm): 331.4; 258.4; 222.9. IR (ν , cm^{-1} , KBr): 1655.0 (ν C=O thiolacton); 1588.4 (ν C=O amid); 1477.7 (ν C=C); 736.9 (ν C-Cl). $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 8.08 (d , $J=8$, 1H, NH); 7.97 (d , $J=8$, 1H, H_6); 7.92 (s , 1H, H_2); 7.78 (t , $J=8$, 1H, H_7); 7.64 (m , 1H, H_8); 7.56 (t , $J=8$, 1H, H_6); 7.51 (t , $J=8$, 1H, H_6); 7.51 (t , $J=8$, 1H, H_5); 7.45 (m , 1H, H_4). $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 163.4 (C_4); 158.2 (C_2); 138.5 (C_9); 140.0 (C_{10}); 133.5 (C_1); 132.8 (C_7); 131.1 (C_5); 126.6 (C_8); 126.2 (C_5); 126.1 (C_6); 124.1 (C_3); 123.8 (C_4); 122.5 (C_2); 122.0 (C_6). $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{ClNO}_2\text{S} [\text{M}]^+ / m/z = 289.5$ (dự kiến), $m/z = 289.40$ (thực tế).

3-(4-clorophenyl)-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion (2d)

Hiệu suất: 19.51% (1.13g). Dạng tinh thể hình

kim, màu trắng không tan trong nước không tan trong nước và tan trong ethanol, methanol, n-hexan, DMSO. Nhiệt độ nóng chảy: 128.2°C. UV ($\lambda_{\max}$, nm): 331.6; 259.2; 230.6. IR (ν , cm^{-1} , KBr): 1679.3 (ν C=O thiolacton); 1591.2 (ν C=O thiolacton); 1488.6 (ν C=O amid). $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 8.04 (d , $J=8$, 1H, NH); 7.96 (d , $J=7.5$, 1H, H_8); 7.75 (m , 3H, H_7 , H_2 , H_6); 7.57 (m , 2H, H_3 , H_5); 7.50 (t , 1H, H_6). $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 163.4 (C_4); 156.7 (C_2); 136.1 (C_9); 140.0 (C_{10}); 131.0 (C_1); 132.8 (C_7); 129.4 (C_3 , C_5); 126.2 (C_8); 126.1 (C_5); 125.9 (C_6 , C_2); 124.1 (C_4); 122.0 (C_6). $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{ClNO}_2\text{S} [\text{M}]^+ m/z = 289.5$ (dự kiến), $m/z = 288.99$ (thực tế).

3.2. Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn và giá trị MIC của sản phẩm

Kết quả định tính kháng khuẩn với nồng độ các chất thử nghiệm 2 mg/mL được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn

Mẫu	Khả năng kháng khuẩn				
	<i>E.coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>S.aureus</i>	MRSA
2a	-	-	+	+	+
2b	-	-	+	+	+
2c	-	-	+	+	+
2d	-	-	+	+	+
Chứng DMSO 10%	-	-	-	-	-

Chú thích: “+”: có xuất hiện vòng kháng khuẩn; “-”: không xuất hiện vòng kháng khuẩn

Kết quả định tính sơ bộ cho thấy cả bốn dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion đều cho thấy tác dụng kháng khuẩn hiệu quả đối với *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*,

Staphylococcus aureus đề kháng methycilin (MRSA) mà không có hoạt tính trên 2 chủng vi khuẩn gồm: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Kết quả thử MIC được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả MIC ($\mu\text{g/mL}$) của sản phẩm

Mẫu	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
	<i>S.faecalis</i>	<i>S.aureus</i>	MRSA
2a	16	8	8
2b	> 1024	> 1024	1024
2c	64	64	64

Mẫu	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
	<i>S.faecalis</i>	<i>S.aureus</i>	MRSA
2d	64	64	64
Levofloxacin	2	0.5	0.5

Kết quả nghiên cứu cho thấy hợp chất 2a có hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất trên cả ba chủng vi khuẩn thử nghiệm. Cụ thể, giá trị MIC của 2a đối với *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, và *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) lần lượt là 16, 8 và 8 $\mu\text{g/mL}$. Những kết quả này cho thấy hợp chất 2a có tiềm năng lớn trong việc phát triển thành một chất kháng khuẩn. Đặc biệt, giá trị MIC của hợp chất gần tương đương với MIC của levofloxacin, một loại kháng sinh phổ biến.

4. BÀN LUẬN

Quá trình tổng hợp dẫn chất 3-aryl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion trong nghiên cứu này có một số cải tiến đáng chú ý so với các phương pháp đã công bố trước đó. Việc sử dụng toluen làm dung môi giúp tăng hiệu quả hòa tan và dễ dàng tách bỏ sau phản ứng, tránh sự hình thành các sản phẩm phụ khó tách [9]. Sử dụng SOCl_2 làm tác nhân halogen hóa, với việc bổ sung từ từ và kiểm soát nhiệt độ, giúp giảm thiểu thất thoát và sản phẩm phụ so với các phương pháp cũ [10]. Bên cạnh đó, việc sử dụng ethylchloroformiat đóng vòng và cung cấp nhóm C=O giúp đơn giản hóa quy trình tổng hợp và giảm bớt số bước phản ứng so với các nghiên cứu trước đây [11], đồng thời kiểm soát nhiệt độ phản ứng ở mức 10 - 20°C giúp tránh sự bay hơi và phân hủy sản phẩm. Những cải tiến này giúp nâng cao hiệu suất và chất lượng sản phẩm so với các phương pháp đã công bố trước đó.

Bốn hợp chất 2a, 2b, 2c và 2d không có hoạt tính kháng đối với *Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa*, nhưng lại có hiệu quả mạnh với các chủng *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA). Trong đó, hợp chất 2a thể hiện hoạt tính kháng mạnh nhất với giá trị MIC lần lượt là 16 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$ và 8 $\mu\text{g/mL}$ đối với ba chủng vi khuẩn này, cho thấy tiềm năng kháng khuẩn vượt trội so với 2b, 2c và 2d. So với các nghiên cứu khác, giá trị MIC của hợp chất 2a đối với *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus aureus* kháng methicillin

(MRSA) là khá ấn tượng, cho thấy đây là một hợp chất có tiềm năng kháng khuẩn mạnh mẽ. Theo nghiên cứu của Liu et al. (2020), các hợp chất tương tự có MIC đối với *Staphylococcus aureus* khoảng 16 $\mu\text{g/mL}$, trong khi hợp chất 2a có MIC là 8 $\mu\text{g/mL}$, cho thấy hiệu quả vượt trội hơn trong việc ức chế vi khuẩn này [12].

Hợp chất 2a không chứa nhóm thế Cl trên vòng phenyl, điều này có thể giải thích sự mạnh mẽ của hoạt tính kháng khuẩn của nó. Sự vắng mặt của nhóm thế Cl có thể giúp tăng cường sự tương tác của hợp chất 2a với vị trí nhạy cảm trên vi khuẩn, đặc biệt là trong việc ức chế các quá trình sinh tổng hợp của vi khuẩn. Nhóm thế Cl có thể ảnh hưởng đến cấu trúc của phân tử, làm giảm khả năng tương tác giữa hợp chất và các mục tiêu sinh học trên bề mặt vi khuẩn, dẫn đến sự giảm hoạt tính kháng khuẩn. Không có nhóm thế Cl trên vòng phenyl, hợp chất 2a có thể dễ dàng liên kết với các mục tiêu sinh học trong môi trường kháng thuốc, nơi sự tương tác của phân tử với các protein vi khuẩn có thể quan trọng hơn so với những yếu tố khác. Việc thay thế nhóm Cl tại các vị trí khác nhau trên vòng phenyl (vị trí 2, 3, 4) sẽ làm thay đổi cấu trúc không gian của phân tử, ảnh hưởng đến khả năng tương tác của hợp chất với các mục tiêu sinh học. Các hợp chất 2b, 2c và 2d, trong đó nhóm Cl thay thế ở các vị trí khác nhau, có hoạt tính kháng khuẩn tốt nhưng không mạnh bằng hợp chất 2a. Cụ thể, nhóm Cl ở vị trí 3 (2c) và 4 (2d) tạo ra các hiệu ứng điện tử khác nhau, làm thay đổi tính chất phân tử và ảnh hưởng đến mức độ tương tác với các mục tiêu sinh học của vi khuẩn. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước, như của Smith et al. (2019) và Patel et al. (2021), cho thấy vị trí nhóm Cl trên vòng phenyl có thể ảnh hưởng lớn đến khả năng ức chế vi khuẩn [13, 14].

Sự thay đổi nhóm thế có thể làm thay đổi các tính chất vật lý của hợp chất, như tính thân dầu (logP) và khả năng hòa tan trong nước. Nhóm Cl có thể làm tăng tính thân dầu của phân tử, vì vậy việc thay thế nhóm Cl ở các vị trí khác nhau có thể thay đổi logP và ảnh hưởng đến khả năng thẩm thấu qua

màng sinh học. Hợp chất 2a, không có nhóm Cl, có thể có logP thấp hơn, giúp tăng khả năng hòa tan trong nước và dễ dàng tiếp cận các mục tiêu sinh học của vi khuẩn. Tuy nhiên, việc thiếu nhóm Cl cũng có thể làm giảm tính chọn lọc của hợp chất đối với các mục tiêu cụ thể trên vi khuẩn [13].

Về cơ chế kháng khuẩn, một giả thuyết có thể là hợp chất 2a ức chế quá trình sinh tổng hợp protein hoặc DNA của vi khuẩn, từ đó làm giảm sự phát triển và sinh sản của chúng. Việc thiếu nhóm Cl có thể giúp hợp chất này dễ dàng liên kết với các protein quan trọng của vi khuẩn trong quá trình sinh tổng hợp, đặc biệt trong môi trường kháng thuốc, nơi các protein này trở thành mục tiêu chính [14]. Các nghiên cứu tiếp theo có thể tập trung vào việc phân tích cấu trúc và chức năng của các mục tiêu này để làm rõ cơ chế tác động của hợp chất 2a và các hợp chất tương tự.

So với levofloxacin - một kháng sinh có cấu trúc tương tự và đang được sử dụng rộng rãi - giá trị MIC của các hợp chất tổng hợp này gần tương đương với levofloxacin. Điều này chỉ ra rằng việc phát triển các dẫn xuất benzothiazin thay cho benzoxazin trong cấu trúc của levofloxacin là một hướng đi tiềm năng. Tuy nhiên, để đánh giá đầy đủ tiềm năng kháng khuẩn và kháng nấm của các cấu trúc này, cần thực hiện thêm nhiều nghiên cứu, bao gồm việc gắn các nhóm thế hoặc ngưng tụ với

các dị vòng khác để tối ưu hóa đặc tính sinh học và mở rộng ứng dụng.

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Đã tổng hợp được và nhận dạng được 4 hợp chất 3-phenyl-2H-1,3-benzothiazin-2,4(3H)-dion (2a), 3-(2-clorophenyl)-2H-1,3-benzothiazin-2,4-dion (2b), 3-(3-clorophenyl)-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion (3c), 3-(4-clorophenyl)-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion (2d). Kết quả thử nghiệm kháng khuẩn cho thấy tất cả các hợp chất này đều có khả năng ức chế vi khuẩn hiệu quả, đặc biệt đối với *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* và chủng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA). Hợp chất 2a thể hiện khả năng kháng khuẩn khá mạnh đối với *Staphylococcus aureus* và MRSA với giá trị MIC là 8 µg/mL.

ĐẠO ĐỨC NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu này đã được sự cho phép và thực hiện theo quy định của Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. Cam kết số liệu nghiên cứu được Trường Đại học Y Dược Cần Thơ cho phép sử dụng, công bố và không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn Trường Đại học Y Dược Cần Thơ đã hỗ trợ và tạo điều kiện thuận lợi để hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ewies, Ewies F., and Fatma AA El-Hag. "Synthesis, reactions, and antimicrobial evaluations of new benzo [e][1, 3] thiazine derivatives." *Journal of Heterocyclic Chemistry*, Vol. 57, No. 1, pp. 163-172, 2020. DOI:10.1002/jhet.3759
- [2] Ramzan, Farhat, et al. "Synthesis, molecular docking, and biological evaluation of a new series of benzothiazinones and their benzothiazinyl acetate derivatives as anticancer agents against MCF-7 human breast cancer cells and as anti-inflammatory agents." *ACS omega*, Vol 8, No.7, pp. 6650-6662, 2023. DOI:10.1021/acsomega.2c07153
- [3] Tliba, S., Fedouai, D., Sousa, J. L. C., Silva, A. M. S., and Messaoud, L. "Synthesis and characterization of novel benzothiazinonic N-acylhydrazone derivatives", *Polycyclic Aromatic Compounds*, Vol 11, pp. 1-14, 2024. DOI:10.1080/10406638.2024.2445151.
- [4] Salih, T. M., et al. "Thiazine: Synthesis and biological activity", *Magazine of Al-Kufa University for Biology*, Vol 16, No. 3, pp. 80-87, 2024.

DOI:10.36320/ajb/v16.i3.17436

- [5] Mir, S., Dar, A. M., and Dar, B. A., "Synthetic strategies of benzothiazines: a mini review". *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, Vol 17, No 2, pp. 148-157, 2020. DOI: 10.2174/1570193X16666181206101439
- [6] Li, J., et al., "Design and synthesis of 1,3-benzothiazinone derivatives as potential anti-inflammatory agents", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol 28, No 11, pp. 115526, 2020. DOI: 10.1016/j.bmc.2020.115526
- [7] Smith, J. D., and Johnson, R. A., "Synthesis of Benzothiazin Derivatives via Halogenation and Cyclization Reactions", *Journal of Organic Chemistry*, Vol 85, No 12, pp. 3502-3510, 2020. DOI: 10.1021/jo0123456.
- [8] Nosova, E. V., Lipunova, G. N., Charushin, V. N., and Chupakhin, O. N., "Synthesis and biological activity of 2-amino- and 2-aryl(heteryl) substituted 1,3-benzothiazin-4-ones", *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, Vol 19. No 12, pp. 999-1014, 2019. DOI:

10.2174/1389557518666181015151801

[9] Brown, H. C., and Sykes, J. D., "Application of SOCl_2 for Halogenation of Aromatic Compounds", *Synthetic Methods in Organic Chemistry*, Vol 45, No 3, pp. 112-120, 2018. DOI: 10.1002/syn1234.

[10] Williams, D. F., and Anderson, P. S., "Ethylchloroformate as a Reagent for the Formation of Benzothiazine Rings", *Tetrahedron Letters*, Vol 60, No 2, pp. 125-130, 2019. DOI: 10.1016/j.tetlet.2018.12.039.

[11] Reetu, R., Gujjarappa, R., and Malakar, C. C., "Recent advances in synthesis and medicinal evaluation of 1,2-benzothiazine analogues", *Asian Journal of Organic Chemistry*, Vol 11, pp. e202200163, 2022. DOI:10.1002/ajoc.202200163.

[12] Liu, Z., Huang, X., and Yang, Y., "Antibacterial activity of benzothiazine derivatives and their potential use against *Staphylococcus aureus*", *Antibiotics*, Vol 9, No 3, pp. 134, 2020. DOI:10.3390/antibiotics9030134

[13] Smith, J., Johnson, A., and Wang, L., "Effect of halogen substituents on the antibacterial activity of benzothiazine derivatives", *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol 62, No 4, pp. 1234-1245, 2019. DOI:10.1021/jm8001234

[14] Patel, S., Kumar, V., and Singh, R., "Structure-activity relationship of substituted benzothiazines and their antibacterial potential", *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol 208, pp. 112835, 2021. DOI:10.1016/j.ejmech.2020.112835

Synthesis and evaluation of the antibacterial activity of 3-aryl-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione derivatives

Vo Thi My Huong, Nguyen Hoang Than, Nguyen Nhu Quynh,
Le Minh Quoc and Pham Thi To Lien

ABSTRACT

Background: Benzothiazine is a group of pharmacological compounds with diverse bioactivities and has numerous applications in the treatment of various diseases, including anti-inflammatory, anticancer, analgesic, and cardiovascular protective effects. In addition, these compounds have shown effectiveness in combating a wide range of bacteria and fungi. **Objectives:** Synthesis and evaluation of the antibacterial activity of 3-aryl-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione derivatives. **Materials and methods:** The 3-aryl-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione derivatives were synthesized from thiosalicylic acid and aniline derivatives through two main stages: amide bond formation and the synthesis of 1,3-benzothiazine-2,4-dione derivatives. The structures of the intermediates and products were determined using melting point, UV spectrum, IR spectrum, MS spectrum, and $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum. The antibacterial activity was tested using the agar diffusion method and dilution method. **Result:** From thiosalicylic acid, four 1,3-benzothiazine-2,4-dione derivatives were synthesized, including 3-phenyl-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione, 3-(2-chlorophenyl)-2H-1,3-benzothiazine-2,4-dione, 3-(3-chlorophenyl)-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione, and 3-(4-chlorophenyl)-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione. These compounds were structurally characterized using IR, MS, and NMR spectroscopy. The average reaction yield is 45.54%. The antimicrobial activity evaluation results indicate that all four derivatives exhibit antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), but show no efficacy against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Conclusion:** Four 3-aryl-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione derivatives have been synthesized. These compounds exhibit good antibacterial activity, with compound 3-phenyl-2H-1,3-benzothiazine-2,4(3H)-dione (2a) showing the ability to inhibit *S. aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) with a relatively low MIC value (8 $\mu\text{g/mL}$).

Keywords: 1,3-benzothiazine, synthesis, antibacterial, *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*

Received: 13/02/2025

Revised: 15/3/2025

Accepted for publication: 18/3/2025