

Tổng hợp para-menthan-3,8-diol từ citronellal theo cơ chế Prins

Phan Tấn Phát, Phan Thị Thanh Thủy*

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*ptthuy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Para-menthan-3,8-diol (PMD) là hoạt chất có khả năng xua đuổi muỗi với hiệu quả cao đã được chứng minh, tuy nhiên vẫn chưa phổ biến ở Việt Nam. Việc nghiên cứu tổng hợp PMD tại Việt Nam góp phần phát triển sản phẩm chứa PMD, đa dạng hóa sản phẩm trên thị trường và góp phần ngăn chặn sự lây lan các bệnh truyền nhiễm từ muỗi. Áp dụng tổng hợp PMD theo cơ chế phản ứng Prins thay đổi các điều kiện tổng hợp bao gồm lượng acid sử dụng, nồng độ acid sử dụng, nhiệt độ, thời gian phản ứng và chọn điều kiện tối ưu tổng hợp PMD. Kết quả đã tổng hợp và tinh chế para-menthan-3,8-diol trong điều kiện ở Việt Nam (hiệu suất khoảng 61%) với các thông số tối ưu được đề xuất bao gồm nhiệt độ phản ứng ở 50°C, nồng độ acid sulfuric 0,25%, lượng dung dịch acid / lượng citronellal = 40 / 1 và thực hiện trong khoảng thời gian 6 giờ. Đồng thời nghiên cứu cũng tách được 2 đồng phân cis và trans PMD bằng phương pháp sắc kí cột và được xác định cấu trúc bằng phổ hồng ngoại (IR) và cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).

Nhận 01.10.2020

Được duyệt 15.10.2020

Công bố 30.10.2020

Từ khóa

para-Menthan-3,8-diol, citronellal, Prins.

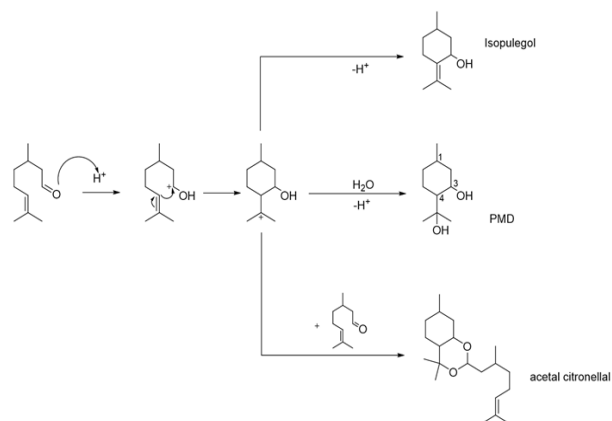
© 2020 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Muỗi là trung gian truyền nhiều bệnh nguy hiểm như sốt rét hay sốt xuất huyết. Theo thống kê năm 2016 tại Việt Nam, muỗi là tác nhân lây truyền bệnh sốt rét và tập trung chủ yếu ở các tỉnh miền Nam và miền Trung với đỉnh điểm theo mùa vào tháng 12 đến tháng 2, gây ảnh hưởng lớn đến sức khỏe người dân [1]. Bệnh sốt xuất huyết Dengue, chủ yếu gây ra bởi loài muỗi *Aedes aegypti* với tỉ lệ tử vong 0,8% và tình hình bệnh sẽ nặng hơn ở người già hay ở người mắc bệnh đi kèm [2].

Một trong những biện pháp hiệu quả để ngăn chặn các bệnh lây truyền từ muỗi là ngăn không cho muỗi đốt. Hoạt chất p-menthan-3,8-diol (PMD) là một trong những chất giúp ngăn ngừa côn trùng cắn hiệu quả và đã được công nhận bởi CDC Mỹ [3]. PMD đã được tổng hợp và tinh chế bởi Yuasa và cộng sự với điều kiện tinh chế khắc nghiệt ở -50°C, li tâm thu được sản phẩm với hiệu suất khoảng 80% [4].

Ở Việt Nam hiện nay, sản phẩm chứa hoạt chất PMD vẫn chưa phổ biến. Việc nghiên cứu tổng hợp PMD tại Việt Nam góp phần phát triển sản phẩm chứa PMD, đa dạng hóa sản phẩm trên thị trường và góp phần ngăn chặn sự lây lan các bệnh truyền nhiễm từ muỗi.



Hình 1 Cơ chế Prins cho tổng hợp PMD từ citronellal [5]

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu và trang thiết bị nghiên cứu

(±) - Citronellal (Sigma-Aldrich); acid sulfuric, *n*-hexan, natri sulfat, ethyl acetat, natri bicarbonat (Xilong, Trung Quốc); silicagel 60 (Merck).

Máy đo điểm chảy Stuart, máy đo phổ IR IRAffinity-1S hãng Shimadzu, máy đo NMR BRUKER AvanceNEO 400MHz.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Tổng hợp PMD

Áp dụng tổng hợp PMD theo cơ chế phản ứng Prins (Hình 1): cân dung dịch acid sulfuric cho vào bình cầu 100 mL,

điều chỉnh nhiệt độ mong muốn. Cho từ từ 1,00 g (\pm)-citronellal và khuấy. Sau thời gian phản ứng, dung dịch thu được được trung hòa bằng dung dịch NaHCO₃ 4%. Lớp dầu được chiết với *n*-hexan (10 mL x 2 lần). Pha dầu được loại dung môi bằng cô quay. Thêm 5 mL *n*-hexan, làm lạnh ở -20°C trong 48 giờ và thu kết tinh. Kết tinh được sắc kí cột với hệ dung môi *n*-hexan: ethyl acetat để thu lấy sản phẩm tinh khiết.

Phát hiện vết trên sắc kí lớp mỏng bằng thuốc thử vanilin sulfat, sấy ở nhiệt độ 100°C - 110°C trong khoảng 5 phút.

Nghiên cứu thay đổi các điều kiện tổng hợp bao gồm lượng acid sử dụng, nồng độ acid sử dụng, nhiệt độ, thời gian phản ứng và chọn điều kiện tối ưu tổng hợp PMD.

2.2.2 Xác định đặc điểm và cấu trúc sản phẩm

Sản phẩm thu được được đánh giá cảm quan và xác định nhiệt độ nóng chảy.

Xác định cấu trúc thông qua phổ IR, phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Tổng hợp, tinh chế, xác định lí tính và cấu trúc PMD

Nghiên cứu thực hiện tổng hợp PMD và đã thu được kết tinh từ *n*-hexan. Kết tinh chỉ cho 2 vết trên bản mỏng sắc kí. Nghiên cứu hệ dung môi sắc kí cột để tách riêng 2 vết.

Bảng 1 Khảo sát tỉ lệ dung môi sắc kí cột

Tỉ lệ <i>n</i> -hexan:ethyl acetat	R _{F1} *	R _{F2} *
8 : 1	0,05	0,03
7 : 1	0,06	0,03
6,6 : 1	0,09	0,05
5 : 1	0,21	0,13
4 : 1	0,27	0,17
3,6 : 1	0,35	0,24

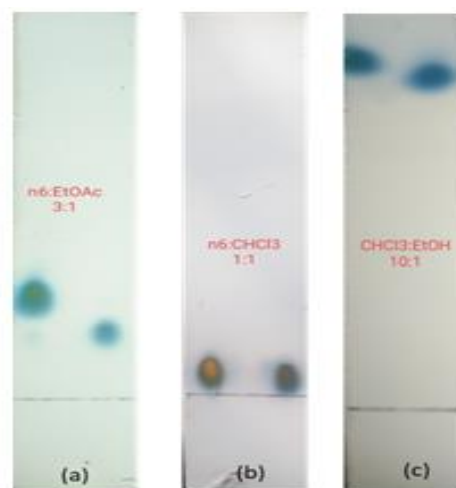
* R_{F1} : hệ số di chuyển của vết trên và R_{F2} : hệ số di chuyển của vết dưới.

Dựa trên kết quả khảo sát chọn hệ dung môi *n*-hexan:ethyl acetat (4:1) để thực hiện sắc kí cột vì ΔR_F lớn nhất (khoảng 0,1) và độ dịch chuyển không quá lớn.

Điều kiện sắc kí cột: lượng mẫu chạy 0,30 g, lượng silicagel 60 là 30,00 g, hệ dung môi *n*-hexan : ethyl acetat (4:1) và cột sắc kí 40 cm x 2 cm.

Kết quả sắc kí cột thu được 0,1919 g phân đoạn 1 (ra trước) và 0,0401 g phân đoạn 2 (ra sau). Cả 2 phân đoạn được đánh giá sơ bộ độ tinh khiết bằng sắc kí lớp mỏng với 3 hệ dung môi khác nhau cho 1 vết với 3 hệ số R_F khác nhau (Hình 2).

Hai phân đoạn được xác định lí tính, đo phổ IR, phổ NMR và được xác định cấu trúc: phân đoạn 1 là *cis*-PMD và phân đoạn 2 là *trans*-PMD.



Hình 2 Kết quả sắc kí lớp mỏng 2 phân đoạn thu được (a) hệ *n*-hexan:ethyl acetat = 3:1; (b) hệ *n*-hexan:cloroform = 1:1; (c) hệ cloroform:ethanol = 10:1 (phân đoạn 1 bên trái và phân đoạn 2 bên phải)

Đồng phân 3,4-*cis*-PMD: kết tinh màu trắng hoặc không màu, không mùi hoặc có mùi thơm nhẹ, tan trong ethanol, *n*-hexan, ít tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 81°C; IR (cm⁻¹): 3219, 2941, 2910, 2866, 2841, 1279, 1250, 1213; ¹H-NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 4,44 – 4,38 (m, 1H), 2,81 (s, 2H), 1,88 – 1,75 (m, 3H), 1,75 – 1,65 (m, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,20 – 1,13 (m, 1H), 1,11 – 1,01 (m, 1H), 0,99 – 0,89 (m, 1H), 0,88 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H); ¹³C-NMR (100 MHz, cloroform-*d*) δ 73,29; 68,08; 48,33; 42,53; 34,87; 28,91; 28,86; 25,62; 22,21; 20,26 (kết quả phù hợp với kết quả đã công bố của Yuasa và cộng sự [5]).

Đồng phân 3,4-*trans*-PMD: kết tinh màu trắng hoặc không màu, không mùi hoặc có mùi thơm nhẹ, tan trong ethanol, *n*-hexan, ít tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 58°C; IR (cm⁻¹): 3260, 2967, 2951, 2922, 2855, 1224; ¹H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 3,78 – 3,67 (m, 1H), 3,05 – 2,93 (m, 2H), 1,98 – 1,89 (m, 1H), 1,74 – 1,60 (m, 2H), 1,52 – 1,37 (m, 2H), 1,23 (s, 6H), 1,10 – 1,00 (m, 1H), 0,99 – 0,94 (m, 1H), 0,92 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,91 – 0,85 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, cloroform-*d*) δ 75,09, 72,93, 53,49, 44,68, 34,57, 31,37, 30,17, 27,13, 23,76, 21,99 (kết quả phù hợp với kết quả đã công bố của Yuasa và cộng sự [5]).

Vậy kết tinh từ *n*-hexan thu được chính là hỗn hợp đồng phân *cis/trans*-PMD

3.2. Khảo sát qui trình tổng hợp PMD

Tổng hợp PMD với qui mô 1,00 g citronellal với các yếu tố được đưa vào khảo sát bao gồm lượng dung dịch acid sulfuric (10,00 g và 40,00 g), nồng độ acid (0,005% và 0,25%, kl/kl), nhiệt độ phản ứng (50°C và 90°C), thời gian phản ứng (2 giờ và 6 giờ). Các giá trị cao hơn được gọi chung là mức cao và các giá trị thấp hơn được gọi là mức thấp trong các khảo sát của nghiên cứu. Kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 2.

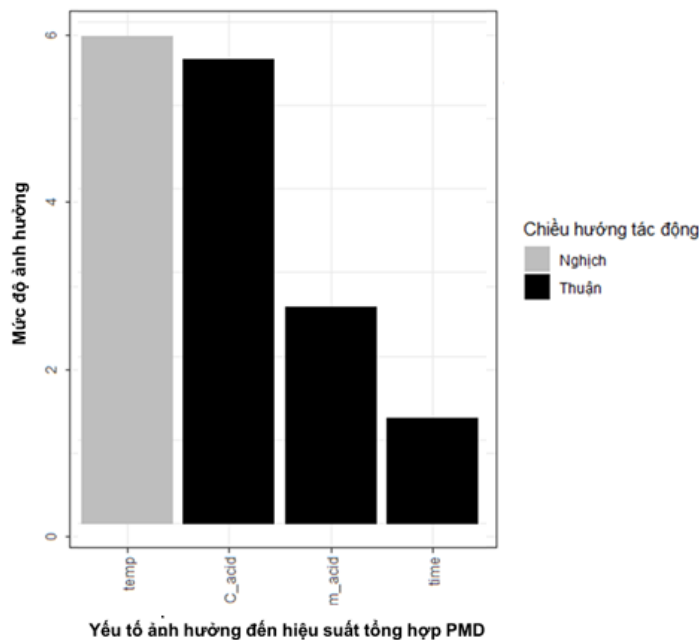
Bảng 2 Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng lên tổng hợp PMD

STT	Nồng độ H ₂ SO ₄ (%)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Lượng acid (g)	Lượng citronellal (g)	Lượng kết tinh (g)	Hiệu suất (%)
1	0,005	90	2	10,00	1,0060	0,0794	7,07
2	0,005	50	2	40,00	0,9955	0,2203	19,81
3	0,250	50	6	40,00	0,9971	0,4188	37,61
4	0,005	50	6	10,00	1,0080	0,2278	20,24
5	0,005	90	6	40,00	1,0020	0,5224	46,67
6	0,250	90	2	40,00	1,0000	0,2498	22,36
7	0,250	50	2	10,00	0,9950	0,6863	61,75
8	0,250	90	6	10,00	0,9960	0,1849	16,62

Nhằm đánh giá sự ảnh hưởng mạnh hay yếu của các yếu tố khảo sát, biểu đồ Pareto được xây dựng dựa trên kết quả thu được (Hình 3).

Với kết quả thu được cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ và nồng độ acid lên hiệu suất tổng hợp là nhiều nhất. Nhiệt độ tỉ lệ nghịch còn nồng độ acid tỉ lệ thuận với hiệu suất tổng hợp, tức trong điều kiện khảo sát thì nhiệt độ ở mức thấp (50°C) và nồng độ acid ở mức cao (0,25%) cho kết quả tốt hơn, điều này có thể được giải thích là do ở nhiệt độ cao, các sản phẩm phụ (isopulegol và tạp acetal) dễ tạo thành hơn còn ở nồng độ acid quá loãng thì mức độ tác động của H⁺ lên nhóm carbonyl của citronellal không cao.

Đánh giá về lượng acid và thời gian phản ứng, khi tăng lượng acid sử dụng và thời gian phản ứng thì hiệu suất tăng, điều này được giải thích là do phản ứng tổng hợp PMD diễn ra theo 2 pha, nếu lượng acid nhiều và cùng mức độ khuấy trộn thì khả năng tiếp xúc giữa pha dầu và pha nước dễ dàng hơn làm tăng hiệu suất. Về thời gian phản ứng, nếu thời gian quá ngắn thì nguyên liệu sẽ còn làm hiệu suất tổng hợp không cao. Kết quả phân tích cho thấy thí nghiệm 7 cho kết quả tốt nhất, điều kiện thực hiện ở nhiệt độ 50°C, nồng độ acid sulfuric 0,25%, lượng dung dịch acid: lượng citronellal (40:1) và thực hiện trong khoảng thời gian 6 giờ thu được hiệu suất khoảng 61%.

**Hình 3** Biểu đồ Pareto thể hiện mức độ ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát lên hiệu suất tổng hợp PMD.

(temp: nhiệt độ phản ứng, C-acid: nồng độ acid sulfuric, m-acid: khối lượng acid sulfuric, time: thời gian thực hiện phản ứng)

4 Kết luận

Nghiên cứu đã thực hiện tổng hợp, tinh khiết và xác định cấu trúc PMD với 2 dạng đồng phân *cis*-PMD và *trans*-PMD dựa trên điều kiện hiện có ở Việt Nam. Nghiên cứu cũng đã phân tích ảnh hưởng của các điều kiện phản ứng

lên hiệu suất tổng hợp, từ đó xác định điều kiện tổng hợp để thu được hiệu suất cao.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, mã số đề tài: 2020.01.068/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. World Health Organization. *Regional Office for the Western Pacific (2018), National malaria programme review - Viet Nam, Manila: WHO Regional Office for the Western Pacific.*
2. Bui Vu Huy, Le Nguyen Minh Hoa, Dang Thi Thuy, Nguyen Van Kinh, Ta Thi Dieu Ngan, Le Van Duyet, Nguyen Thanh Hung, Ngo Ngoc Quang Minh, Nguyen Thanh Truong, and Nguyen Van Vinh Chau (2019), "*Epidemiological and clinical features of dengue infection in adults in the 2017 outbreak in Vietnam*", BioMed Research International, Vol. 2019.
3. John-Paul Mutebi, William A. Hawley and William G. Brogdon (2019), *Yellow book: Protection against Mosquitoes, Ticks, & Other Arthropods*, Centers for Disease Control and Prevention, America, Vol. 2.
4. Yoshifumi Yuasa, Haruki Tsuruta and Yoko Yuasa (2000), "*A practical and efficient synthesis of p-menthane-3,8-diols*", Organic Process Research & Development, Vol. 4, pp. 159-161.
5. Pastor Isidro M. and Yus Miguel (2007), "*The Prins reaction: advances and applications*", Current Organic Chemistry, Vol. 11, pp. 925-957.

Synthesis of para-menthane-3,8-diol from citronellal through Prins mechanism

Phat Tan Phan, Thuy Thi Thanh Phan *

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

*ptthuy@ntt.edu.vn

Abstract Para-menthan-3,8-diol (PMD) is a proven, highly effective mosquito repellent, but not yet popular in Vietnam. Synthesis of PMD contributes to the development and the diversity of the products contain PMD in Vietnam. Moreover, these products also help to prevent the spread of the infectious diseases by mosquitoes. The study synthesized and purified para-menthan-3,8-diol from citronellal through Prins mechanism in Vietnamese conditions (H ~ 61%) with recommended optimal parameters including reaction temperature at 50⁰C, 0.25% sulfuric acid, the ratio of acid solution and citronellal (40: 1) and reaction time about 6 hours. Both of *cis* and *trans* PMD isomers were separated by column chromatography and identified structures by infra – red (IR) and NMR spectrometry.

Keywords para-Menthan-3,8-diol, citronellal, Prins