تحضير بعض مركبات الفورمازان المشتقة من قواعد شيف ودراسة فعاليتها البايلوجية

شيماء ابراهيم جياد[1] و حسين عبود إدهام[2]

[1]جامعة كركوك – كلية التربية للعلوم الصرفة
[2] المديرية العامة لتربية كركوك

الخلاصة

تم تحضير مركبات لقواعد شف المشتقة من تكاثف الامين الاولي السلفاميثاكسازول مع الديهايدات اروماتية مختلفة بوجود الايثانول المطلق كمذيب وعُدَّت هذه المركبات النواة الاساسية لتحضير مركبات الفورمازان، اذا تم تحضير املاح الدايازونيوم من خلال معاملة الامين الاولي مع نتريت الصوديوم وبوجود حامض معدني ويليها تحضير مركبات الفورمازان من خلال تفاعل قواعد شف مع املاح الدايازونيوم بوجود البريدين كمذيب وشُخصت المركبات طيفيا بواسطة طيف الاشعة تحت الحمراء وطيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (^{1}H.nmr) والكربون (^{13}C.nmr).

الكلمات المفتاحية : السلفاميثاكسازول ، قواعد شف ، املاح الدايازونيوم ، الفورمازون

Synthesis of Some Formazan Derivatives from Schiff's Bases and Studying of Biological Activity

Shima Ibraheem Chyad Al-khazraji [1] and Hussein Abbood Idham [2]

[1]Kirkuk University-College of Education for pure Science
[2] Directorate General of Education Kirkuk

[1]husain.abood88@gmail.com
[2] nihadkhaleel@sciences.uodiyala.edu.iq

Received 20 February 2017 Accepted 2 April 2017

Abstract

Schiff's base were prepared by condensation primary amine (sulfamethoxazole) with different aromatic aldehydes in presence absolute ethanol as a solvent these compounds were considered applied for the preparation of formazan derivatives Diazonium salts were obtained by treatment of the primary amine with sodium nitrite and the presence of metal acid and followed by the preparation of formazan derivatives through reacts with the Schiff's base with diazonium salts in presence pyridine as a solvent.

Key words: sulfamethoxazole, Schiff's bases**,** Diazonium salts, Formazan.

المقدمة

سُميت قواعد شف بهذا الاسم نسبة إلى العالم شف الذي حضرها لأول مرة سنة (1864) م ,وذلك من تكاثف بسيط بين الالديهايدات أوالكيتونات مع الأمينات الأولية [2,1].وسُميت هذه المُركبات بأسماء شتى اعتماداً على طبيعة كل من R و R` و R`` ، وتُعرف قواعد شف بالايمينات ( Imines ) أو الازوميثينات ( Azomethines ) أو الانيلات (Aniles) أو البنزانيلات (Benzanils) إذ إن كل من R و Ar في الانيلات مجموعة اليفاتية أو اروماتية أو ذرة هيدروجين و R`` حلقة بنزين معوضة أو غير معوضة وفي الايمينات تكون R حلقة بنزين معوضة أو غير معوضة و R` ذرة هيدروجين و R`` مجموعة الكيل أو أريل (Alkyl or Aryl group) ، و يُطلق عليها كذلك اسم الكيتيمينات (Ketimines) عندما تُشتق من الكيتونات أي تمثل كل من R و R` مجموعة الكيل أو أريل، وتُسمى الديمينات (Aldimines ) عندما تُشتق من الالديهايدات أي تكون R مجموعة الكيل أو أريل و R` ذرة هيدروجين ، ويفضل أن تحتوي هذه المُركبات على مجموعة أريل لزيادة استقراريتها نوعاً ما وحفاظاً عليها من التفكك أو التبلمر[3]. اما املاح الدايازونيوم فتحضر من خلال معالجة الأمين العطري مثل الأنيلين مع نتريت الصوديوم بوجود حمض معدني وفي المحلول المائي تكون هذه الأملاح غير مستقرة عند درجات حرارة أعلى من 5 °م ، وتميل مجموعة $N^{+}\equiv N$ لأن تُفقد وتتحول إلى N_2 بهيئة غاز النيتروجين.ويمكن عزل مركبات الدايازونيوم كأملاح رباعي فلور البورات المستقرة عند درجة حرارة الغرفة ، ان مركبات الدايازونيوم العادية غير معزولة وحالما تحضر يجب أن تستخدم مباشرة في التفاعلات ، وكان أول استخدام لأملاح الدايازونيوم هو إنتاج النسج المصبوغ ذي الثباتية ضد الغسيل، وذلك بغمس النسيج في محلول مائي من أملاح الدايازونيوم ثم في محلول من المواد المساعدة على الازدواج إن أملاح الدايازونيوم حساسة للضوء وتتفكك في الضوء قرب مجال الأشعة فوق البنفسجية وقد استخدمت هذه الخاصية في إنتاج الملفات ففي هذه العميلة يغطى الورق بملح الدايازونيوم وبعد التعريض للضوء يحول باقي الدايازو الى اصباغ آزوي المستقر وذلك في محلول مائي من المادة المساعدة على الازدواج "Coupler" كما يستخدم في العملية ألاكثر شيوعا حيث يغطى الورق بالدايازو والمادة الرابطة والحمض لمنع الازدواج وبعد تعريض الورق للضوء، تظهر الصورة باستخدام بخار من المزيج الأمونياكي والماء

الذي يحفز الازدواج[4].اما مركبات الفورمازان فتم تحضيرها من خلال ازدواج قواعد شف مع املاح الديازونيوم وبوجود البردين كمذيب[5] .ولمركبات الفورمازان تطبيقات طبية واسعة حيث اظهرت هذه المركبات فعالية مضادة للجراثيم[6] وكذلك اظهرت مركبات الفورمازان كمواد مضادة للسرطان[7] .واستخدمت مركبات الفورمازان على نطاق واسع في الاصباغ وكذلك استخدمت كليكندات في تفاعلات تكوين المعقدات وكذلك ككواشف تحليلية تم استخدامها وبسبب لونها العميق استخدمت كدلائل جيدة في تفاعلات الاكسدة والاختزال[8] ويمكن استخدام مركبات الفورمازان مع بعض الليكندات الفلزية جنب الى جنب في بعثرة الاصباغ حيث يتم في اول خطوة مزج الاصباغ مع متعدد استر السليلوز او في مرحلة الطباعة او صباغة الورق تستخدم الياف متعدد الاميد كما تستخدم مركبات الفورمازان في تقدير بقايا بعض العناصر[9] ، وتستخدم في تطوير نوع جديد من كواشف الأكسدة الاختزالية اللونية وفي التحليل السريري كمؤشر على بقاء الخلية مع اقل سمية [10&11]

الجزء العملي

المواد الكيميائية المستخدمة من انتاج شركات (Fluka), (BDH), (Aldrich). استخدم جهاز طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) في مختبرات قسم الكيمياء- كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة تكريت - من نوع Shimadzu infrared Spectrophotometer Fourier Transform FT .IR 8400S. جهاز قياس طـــــــــــيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون والكـــــاربون (^{1}H.nmr and ^{13}C.nmr) في مختبرات قسم الكيمياء،الصين باستعمال جـــــهاز من نوع Bruker Ultra shield 400MHz باستعمال رباعي مثيل سيلان (TMS) مرجعاً، واستعمال ثنائي مثيل سلفوكساید (DMSO-$_6$d) مذيباً , جهاز قياس درجة الانصهارفي مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة /قسم الكيمياء في جامعة كركوك من نوع Stuart / SAM10 والميزان الحساس من نوع Sartorius.اما الفعالية البايلوجية تم قياسها في مختبرات مستشفى كركوك العام.

- **تحضير سلسلة قاعدة شف (I_1-I_3)**

حُضرت قواعد شف من إذابة (0.0 1 mol) من الأمين الأولي السلفا ميثاكسازول (Sulfamethaxazole) في (20ml) إيثانول مُطلق، ثم أُضيف اليه تدريجيا (0.01 mol) من المركب الالديهايدي الاروماتي المذاب في (15ml) إيثانول مطلق ثم أُضيفت قطرات من حامض الخليك الثلجي كعامل مُساعد ، صُعد المزيج لمدة 3hr (تُوبع سير التفاعل باستعمال تقنية TLC)، رشُح الراسب وأُعيدت بلورته من الايثانول المطلق.

- **تحضير مركبات املاح الدايازونيوم (I_4-I_6)**

حُضرت مركبات املاح الديازونيوم من من إذابة (0.00 1 mol) من مشتقات الامين يحتوي محلولا حامضيا من الماء المقطر (حامض الهيدروكلوريك تركيزه 32% 2mL مع الماء المقطر 5 mL) مع المحافظة على درجة الحرارة (1-5°)

م،وفي دورق اخر يذاب (0.001 mol) من نتريت الصوديوم في كمية مناسبة من الماء المقطر ويضاف الى محلول الامين المحمض بصورة تدريجية مع المحافظة على درجة الحرارة (1-5°) م مع التحريك لمدة 3hr.

- **تحضير مركبات الفورمازان (I_7-I_9)**

حُضرت مركبات الفورازان من اذابة (0.05 mol) من مركبات قواعد شف(I_1-I_4) في (30 ml) بيريدين ثم مُزج المحلول مع املاح الدايازونيوم المحضرة وبصورة انية مع المحافظة على درجة حرارة التفاعل (1-5°) م ويضاف (1gm) خلات الصوديوم وتحريك مزيج التفاعل لمدة 3hr ومن ثم ترشيح الناتج وغسله بالماء المقطر للتخلص من بقايا البريدين والناتج أُعيدت بلورته بالايثانول المطلق.

- **الجزء الخاص بالفعالية البيولوجية**

انواع الجراثيم المستخدمة

البكتريا كائنات حية وحيدة الخلية بدائية النواة تمتلك جدارا" خلويا" متحركا" او غير متحركا" تتكاثر بالانشطار البسيط ذاتية او متباينة التغذية واسعة الانتشار في الطبيعة هنالك العديد من البكتريا التي تسبب الإمراض للإنسان تقسم تبعا" لصبغة كرام التيفوئيدية الى قسمين :

الأول هي البكتريا الموجبة لصبغة كرام (gram positive)

اما الثاني فهي بكتريا سالبة لصبغة كرام (gram negative)

لقد استخدمت في هذه الدراسة خمسة أنواع من الجراثيم الممرضة وهي

Eschershia Coli* , *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Ps.aeruginosa*, *protus

وقد أخذت هذه الجراثيم من الراقدين في مستشفى أزادي العام وتم اختيارها لأهميتها في الحقل الطبي لما تظهره من مقاومة المضادات الحيوية.

- **الأوساط الزرعية**

لقد تم استخدام الوسط ألزرعي الأتي وحضر حسب تعليمات الشركة المنتجة له:

وسط ألزرعي المغذي (muller-Hinton-agar) وهو وسط غذائي شفاف ذو لون اصفر داكن مفيد في اختبار حساسية الأحياء المجهرية تجاه المضادات الحيوية حيث حضر الوسط وعقم بالمؤصدة (Autoclave) ويستعمل هذا الوسط لزرع وتكاثر لجراثيم المختلفة .

- **تحضير محاليل المركبات**

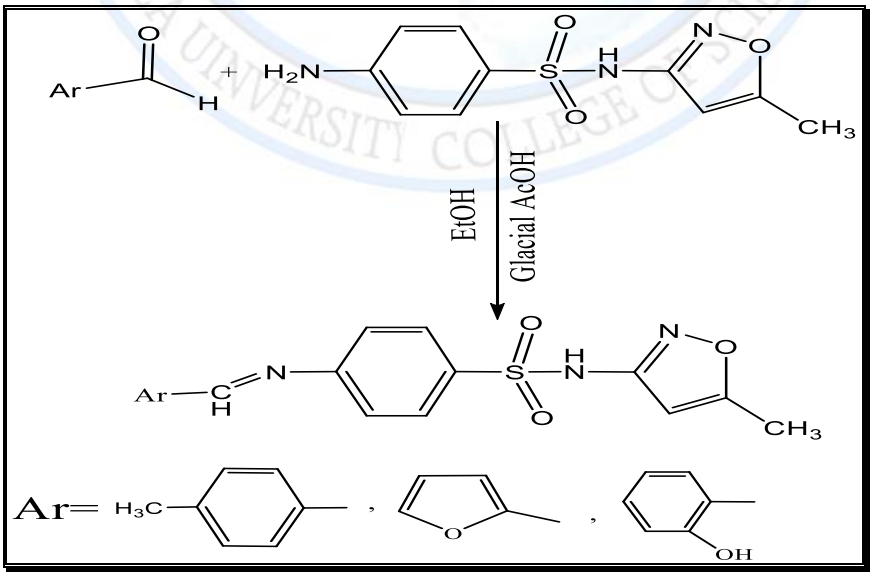
تم تحضير المحاليل الكيميائية لبعض المركبات المحضرة وذلك باستخدام مذيب خاص لكل مادة بثلاثة تراكيز هي(50 ، 100،150) ملغم/ مل لكل واحد من هذه المشتقات الصلبة.

- **طريقة اختبار حساسية البكتريا للمركبات المحضرة**

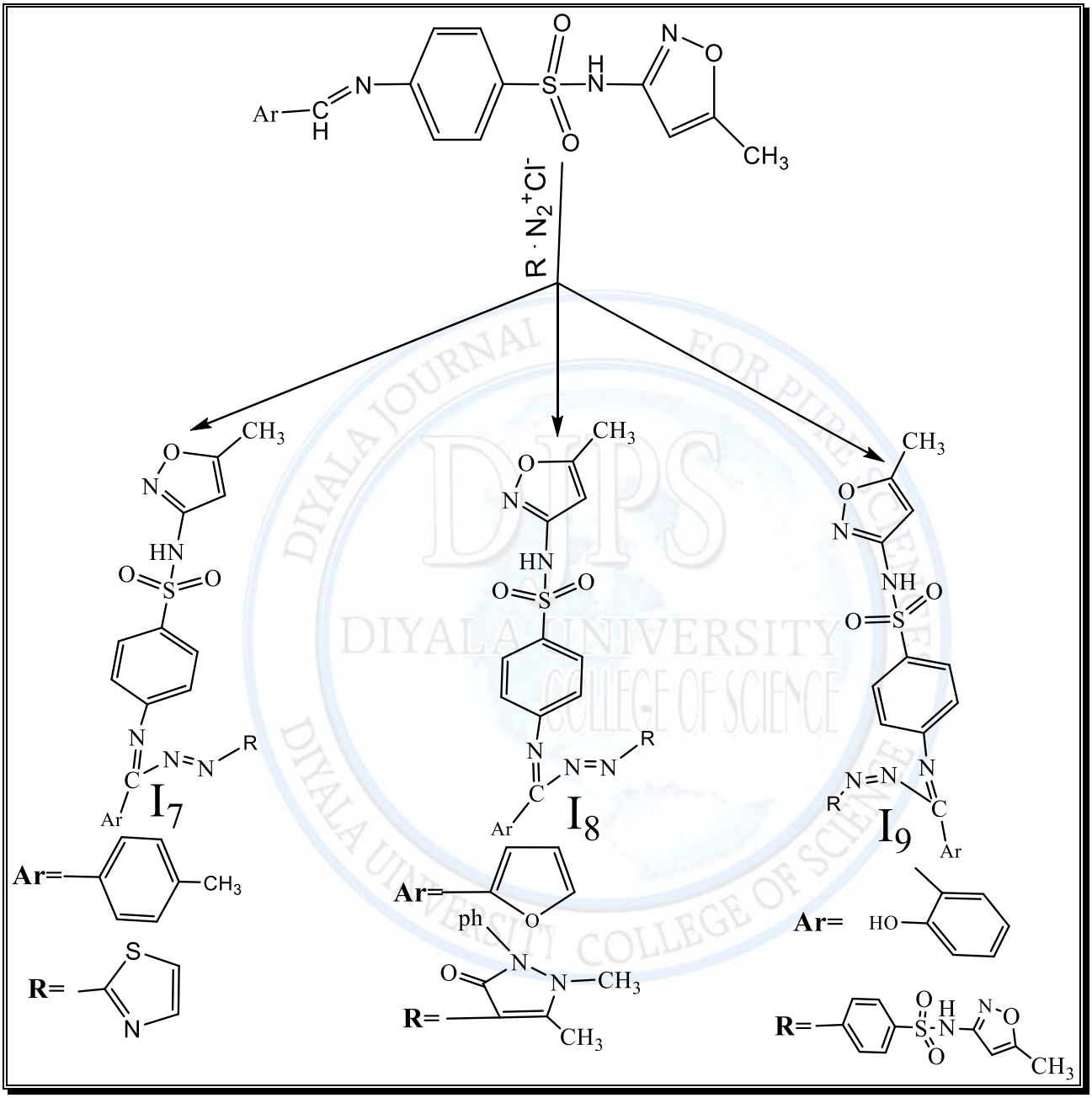
تم استخدام طريقة الانتشار في الوسط الزرعي المحورة (Modified agar diffusion method) والتي تسمى طريقة كربي وباور (*Kerby- Bauer method*) إذ حضر الوسط ألزرعي المغذي وعقم بجهاز الاوتوكليف ثم وزع في أطباق وترك ليتصلب وحضن عند درجة حرارة (37) مئوية لمدة (24 ساعة) للتأكد من عدم تلوثها بعد ذلك لقحت الأطباق بالعزلات الجرثومية بطريقة النشر ثم حضنت عند درجة حرارة (37) مئوية لمدة ساعة واحدة , ثم حفرت الأطباق بمعدل ثلاث حفر في محيط كل طبق وأضيف في كل حفرة احد التراكيز المحضرة وبعد ذلك حضنت الأطباق بدرجة حرارة (37) مئوية لمدة ساعة واحدة ولمدة (24 ساعة) ثم قرأت النتائج في اليوم الأتي لبيان حساسية المشتقات المستخدمة التي تعتمد على قطر التثبيط اذ ان الزيادة في قطر التثبيط يعني الزيادة في الفعالية البايلوجية للمركبات المحضرة ومقارنة ذلك مع قطر التثبيط للمضاد الحيوي القياسي ***(Amoxitillin)،(Chloramphenicol)،(Cefixime)،(Cefocaxime)***

النتائج والمناقشة

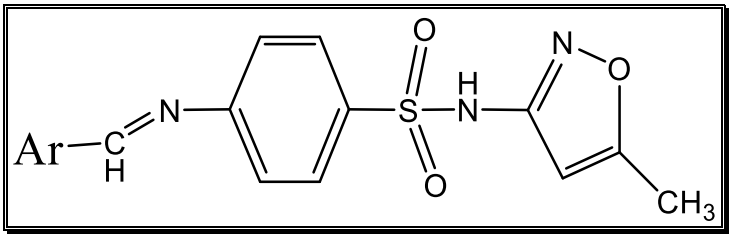
حُضرت مركبات قواعد الشف للسلفاميثاكسازول من تكاثفه مع مشتقات الالديهايدات والموضحة في المخطط (1-1) وبوجود الايثانول المطلق مذيبا وبوجود حامض الخليك الثلجي كعامل مساعد ،شُخصت هذه طيفيا بواسطة الاشعة تحت الحمراء،اما مركبات الفورمازان والموضحة في المخطط (1-2) حضرت من تفاعل مركبات املاح الدايازانيوم والمحضرة انيا الى مركبات قواعد شف المذابة في البريدين مع المحافظة على درجة حرارة التفاعل (1-5) مئوية وتحريك التفاعل لمدة 3hr وتوبع تغير اللون وشُخصت المركبات طيفيا بواسطة طيف الاشعة تحت الحمراء وطيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (^{1}H.nmr) والكربون (^{13}C.nmr) .



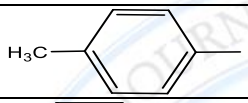
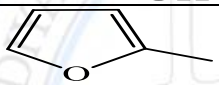
مخطط (1-1) يوضح مركبات قواعد الشف

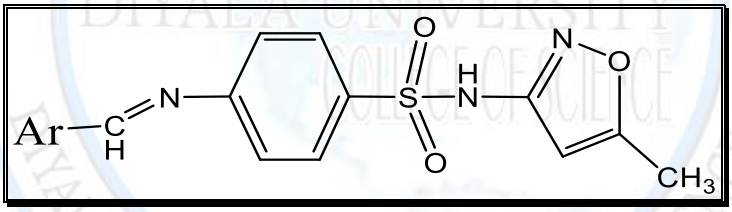


مخطط (1-2) يوضح مركبات الفورمازان المحضرة



جدول (1-1) يوضح الخصائص الفيزيائية للمركبات (I_1-I_3)

Comp.No	Ar	M.Wt	M.p°C	Color	Yield%
I_1		355.41	200-203	White	87
I_2		357.38	203-205	Yellow	70
I_3		331.34	216-219	Light Brown	78

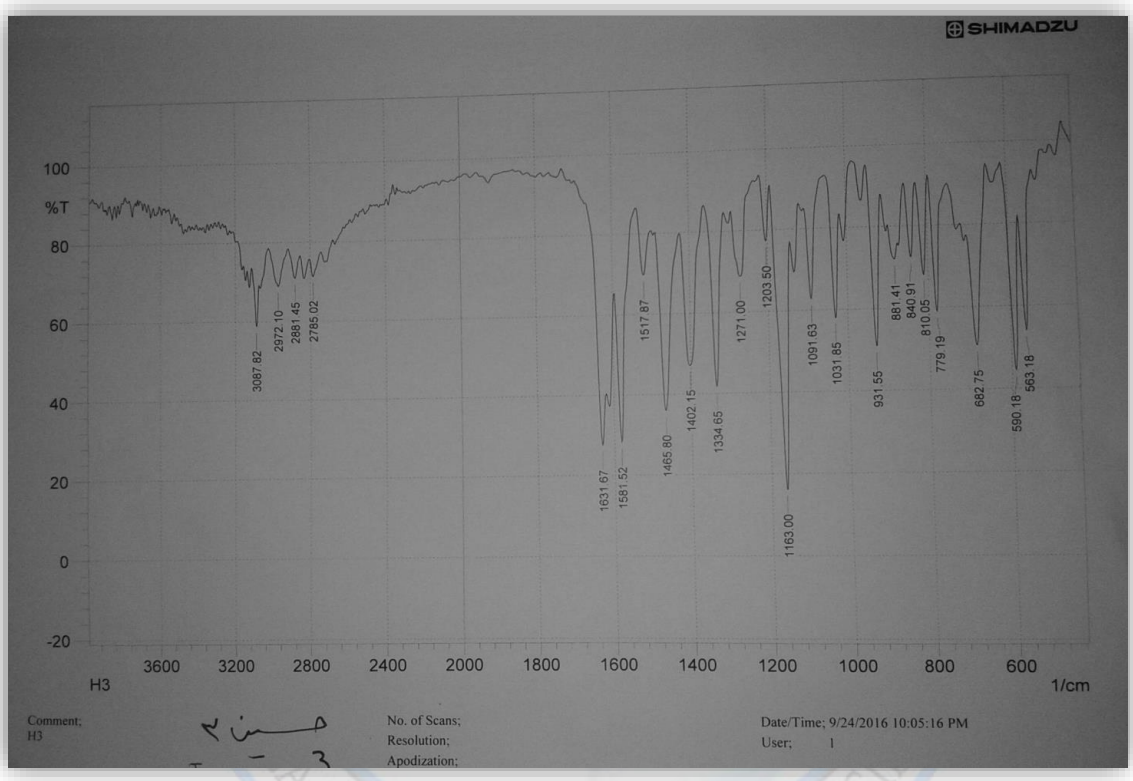


جدول (1-2) يوضح طيف الاشعة تحت الحمراء للمركبات (I_1-I_3)

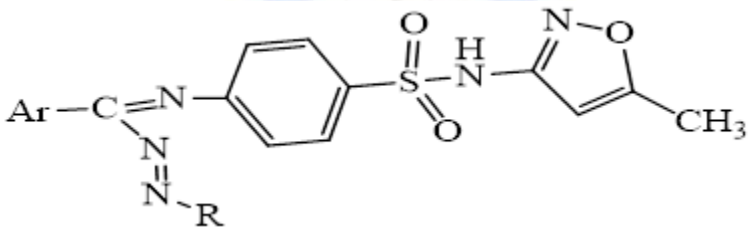
IR v cm^{-1} (KBr)			
Comp.No	C=C Aromatic	C=N(isomethine)	Others
I_1	1558	1600	(2877 sy-2921 asy) of CH_3 (1153 sy-1330 asy)of SO_2
I_2	1540	1612	(3345) of OH (2870 sy-2891 asy) of CH_3 (1143 sy-1340 asy)of SO_2
I_3	1581	1610	(3087)of C-H Ar (2881 sy-2972 asy) of CH_3 (1163 sy-1334 asy)of SO_2

حيث تم تشخيص المركبات طيفيا اذ شخص المركب (I_3) بواسطة طيف الاشعة تحت الحمراء حيث اظهر حزمة انحناء عند التردد ($810cm^{-1}$) تعود لمجموعة (H-C=) الاروماتية وحزمتي امتصاص عند المدى-sym($1162cm^{-1}$) والتي تعود الى المط المتناظر والمط الغير المتناظر على الترتيب والتي تعود لمجموعة SO_2 ، asym($1334cm^{-1}$)

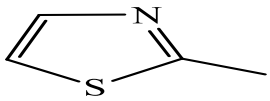
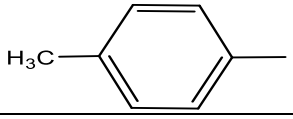
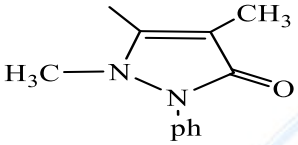
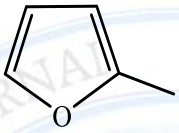
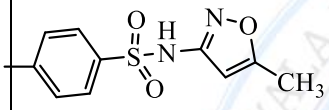
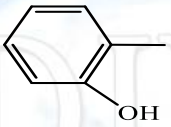
وحزمتي امتصاص عند المدى(2881cm^{-1}sym-2972cm^{-1}asym) والتي تعود الى المط المتناظر والمط الغير المتناظر على الترتيب والتي تعود لمجموعة CH_3،وحزمة امتصاص عند التردد (3087cm^{-1}) والتي تعود الى مط مجموعة C-H الاروماتية ، والشكل(1-1) يوضح طيف الاشعة تحت الحمراء (IR) للمركب (I_3)



شكل (1-1) يوضح طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب (I_3)

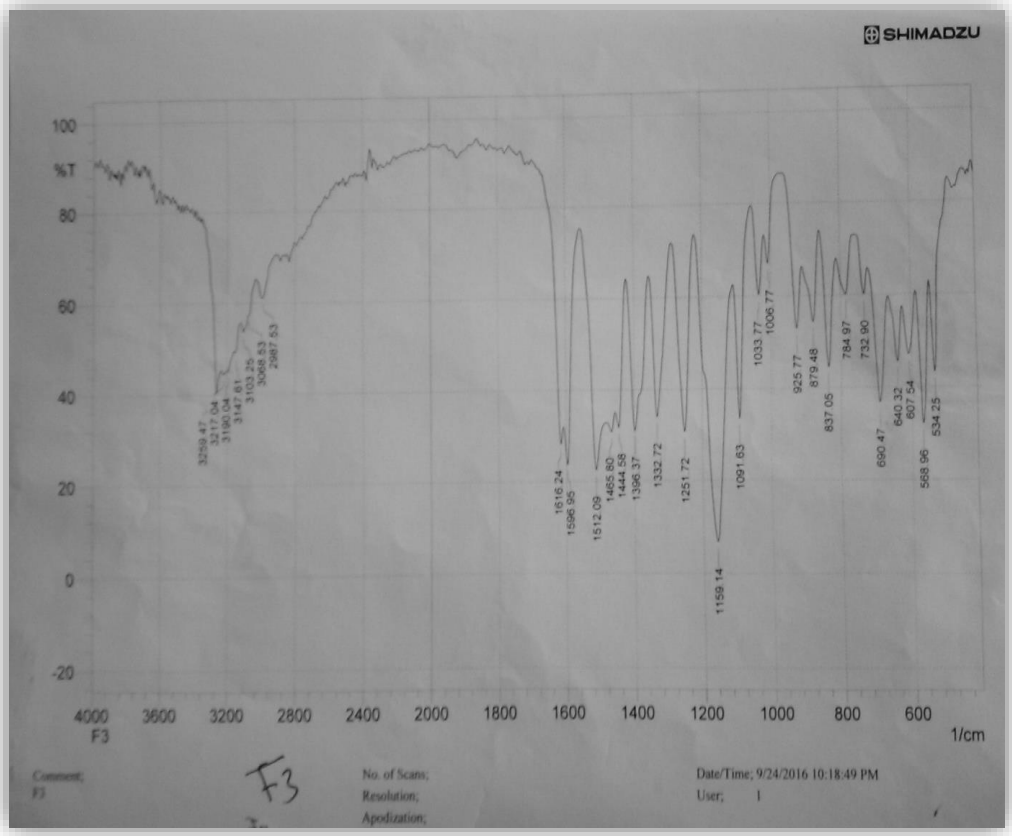


جدول (1- 3) يوضح طيف الخصائص الفيزيائية للمركبات (I_7-I_9)

Comp.No	R	Ar	M.Wt	M.p°C	Color	Yield%
I_7			466.53	201-203	Black	55
I_8			569.63	195-197	Orange-reddish	61
I_9			635.71	159-162	White yellowish	67

جدول (1-4) يوضح طيف الاشعة تحت الحمراء للمركبات (I_7-I_9)

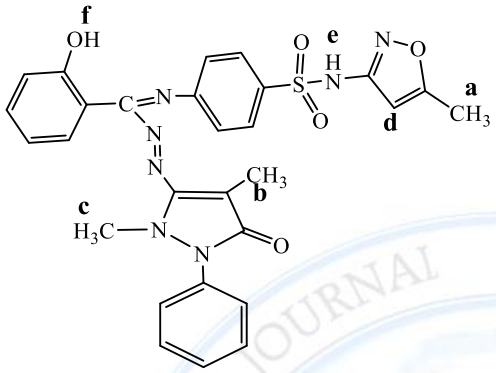
IR ν cm^{-1} (KBr)			
Comp.No	C=C Aromatic	N=N	Others
I_7	1580	1560	(3278) 0f N-H (3055) of C-H Ar (2877 sy-2993 asy) of CH_3 (1157 sy-1330 asy) of SO_2
I_8	1571	1475	(3310) 0f N-H (3085) of C-H Ar (2894 sy-2989 asy) of CH_3 (1616) of C=O (1163 sy-1340 asy) of SO_2
I_9	1512	1465	(3259) 0f N-H (3068) of C-H Ar (2820 sy-2987 asy) of CH_3 (1616) of C=O (1159 sy-1332 asy) of SO_2

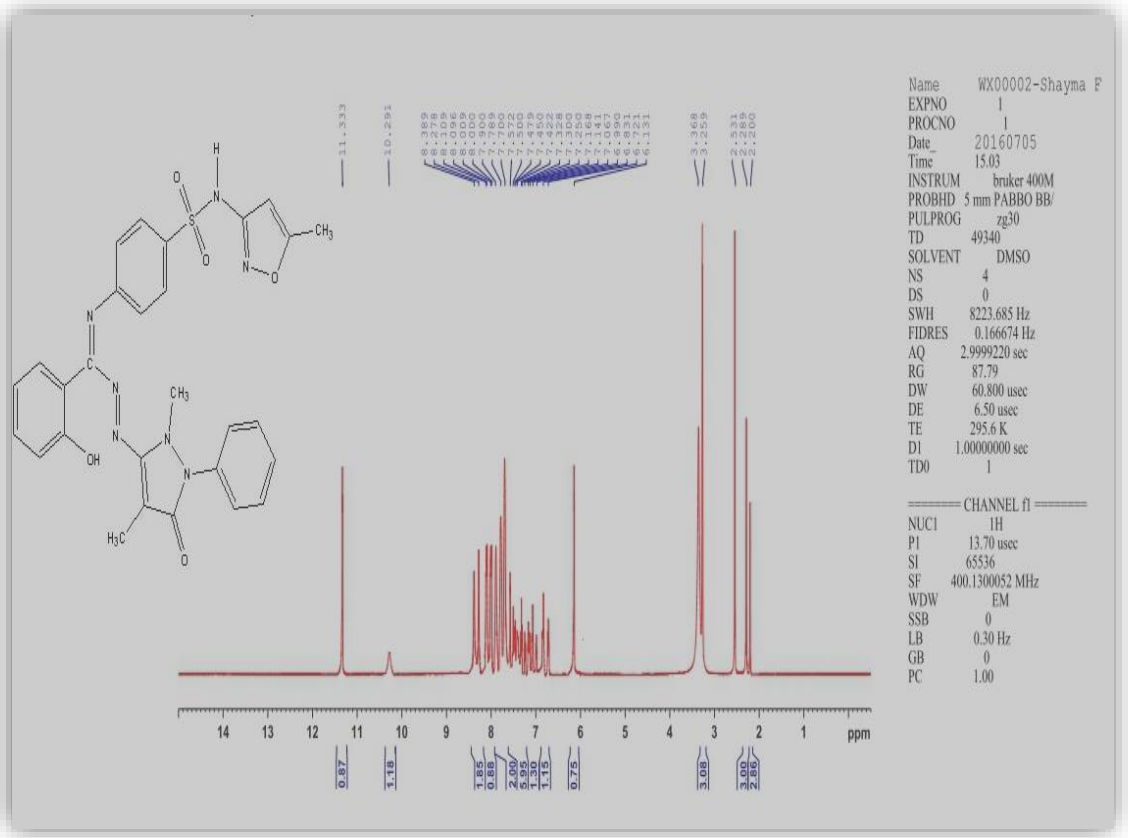


شكل (1-2) يوضح طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب (I_9)

اما المركب (I_8) فقد شُخص طيفيا بواسطة طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون(^{1}H.nmr) حيث اظهر الطيف اشارة مفردة عند الازاحة الكيميائية (2.20ppm)تعود لمجموعة المثيل والمشار لها بالرمزa في الجدول ، واشارة مفردة عند الازاحة الكيميائية (2.28ppm) والتي تعود لمجموعة المثيل والمشار لها بالرمز b في الجدول، واشارة مفردة عند الازاحة الكيميائية (3.36ppm) والتي تعود لمجموعة المثيل والمشار لها في الطيف بالرمز c في الجدول ، واشارة مفردة عند الازاحة الكيميائية (6.13ppm) والتي تعود الى بروتون مجمـــــوعة (H-C=) والمشار لها بالرمز d في الجدول ،واشارات متعددة عند الازاحـــات الكيميائية (6.72-8.38)، واشارة مفردة عند الازاحة الكيميائية (10.29ppm) والعائدة لبروتون مجموعة الامين والمشار لها بالرمز e في الجدول ، واشارة مفردة عند الازاحة الكيميائية (11.33ppm) والتي عود الى بروتون مجموعة الهيدروكسيل والمشار لها بالرمز e في الجدول (1-5)Iادناه:

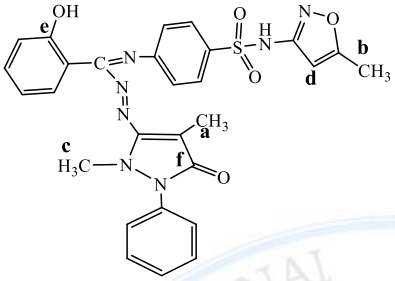
جدول (1- 5) يوضح قيم الازاحات الكيميائية للمركب (I_8)

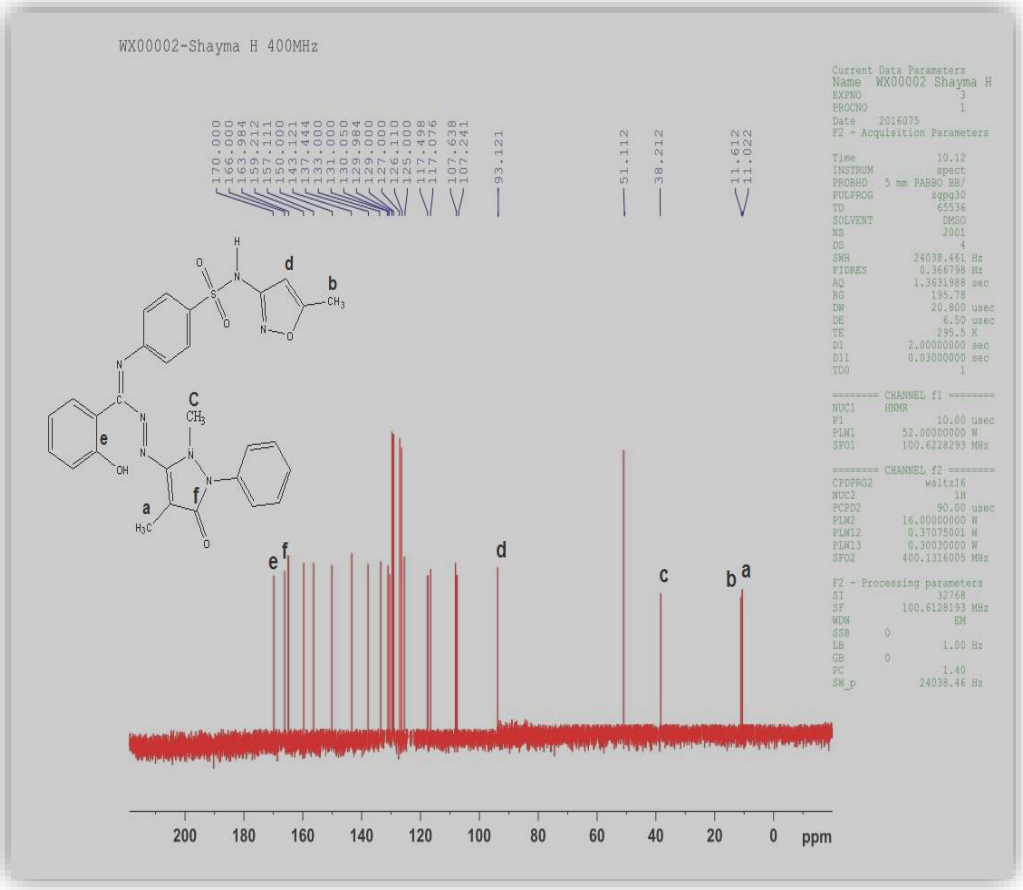
^{1}H-nmr Chemical shift (ppm)	
	H(a) = 2.20 (3H,singlet) H(b) = 2.28 (3H,singlet) H(c) = 3.36 (3H,singlet) H(d) = 6.13 (1H,singlet) H(Ar) = 6.72-8.38 (13H,multible) H(e) = 10.29 (1H,singlet) H(f) = 11.33 (1H,singlet)



شكل (3-1) يوضح طيف الرنين النووي للمغناطيس ^{1}H.nmr للمركب (I_8)

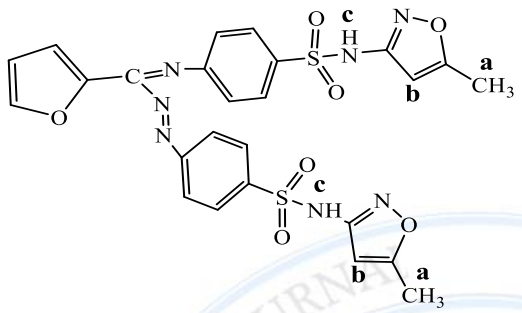
جدول (1- 6) يوضح قيم الازاحات الكيميائية للمركب (I_8)

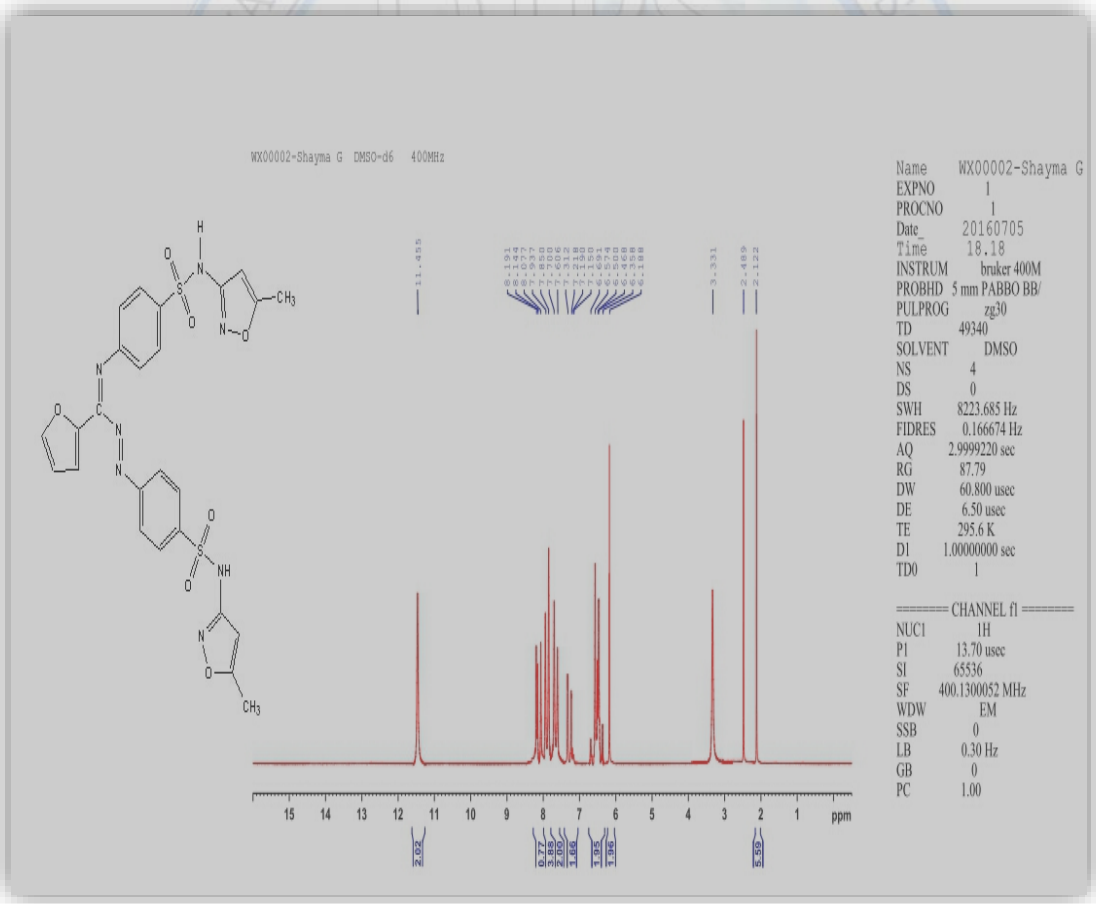
^{13}C-nmr Chemical shift (ppm)	
	a = 11.02 b= 11.61 c= 38.21 d= 93.12 Aromatic ^{13}C =107.24-163.98 f=166.00 e=170.00



شكل (1-4) يوضح طيف الرنين النووي للمغناطيس ^{13}C.nmr للمركب (I_8)

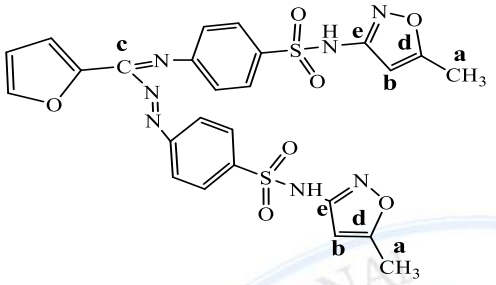
جدول (1-7) يوضح قيم الازاحات الكيميائية للمركب (I_9)

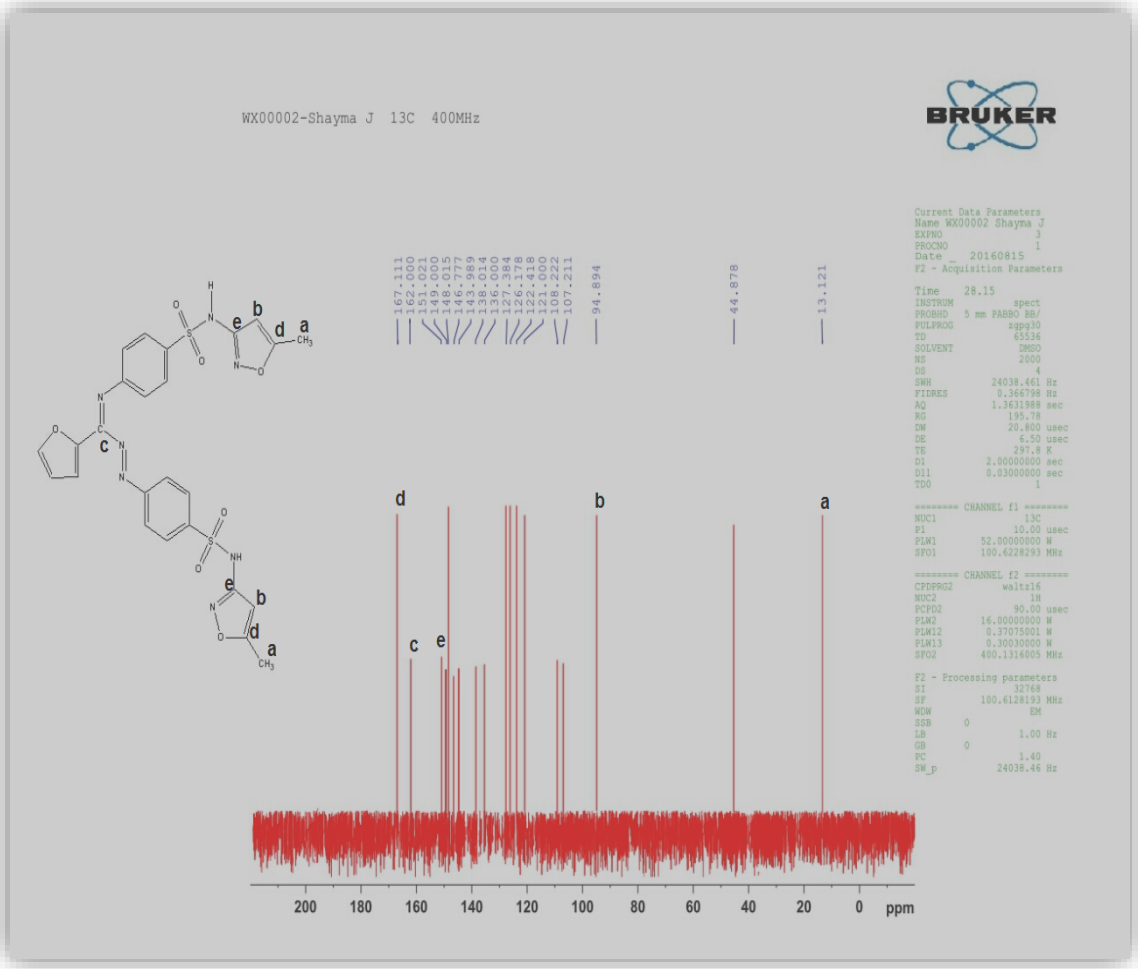
^{1}H-nmr Chemical shift (ppm)	
	H(a) = 2.12 (6H,singlet) H(b) = 6.16 (2H,singlet) H(Ar) = 6.35-8.19 (11H,multible) H(c) = 11.45 (2H,singlet)



شكل (1-5) يوضح طيف الرنين النووي للمغناطيس ^{1}H.nmr للمركب (I_9)

جدول (1-8) يوضح قيم الازاحات الكيميائية للمركب (I_9)

^{13}C-nmr Chemical shift (ppm)	
	a= 13.12 b= 44.87 Aromatic ^{13}C =107.21-149.00 e= 151.02 c= 162.00 d= 167.11



شكل (1-6) يوضح طيف الرنين النووي للمغناطيس ^{13}C.nmr للمركب (I_9)

جدول (1-9) يوضح الفعالية التثبيطية للمركبات المحضرة في نمو عدد من الجراثيم السالبة والموجبة (قطر دائرة التثبيط مقاسة بالملم)

Comp. No.	Conc.	E.coli	pseudeudomonas	Klebisella	Staphylococcs aureus
I_1	50	8	.....	4	.....
	100	20	14	10	.....
	150	28	31	22	20
I_2	50	10	.....	14	16
	100	22	.....	20	22
	150	34	16	28	30
I_3	50	……	.....	.....	5
	100	19	.....	25	.....
	150	26	.....	23	.....
I_7	50	.....	.....	.....	.....
	100	.....	.....	.....	.....
	150	.....	.....	.....	.....
I_8	50	12	.....	14	.....
	100	27	.....	24	18
	150	35	.....	36	.....
I_9	50	4	.....	12	.....
	100	16	11	16	18
	150	26	22	28	24
Cefocaxime(C.C.X10) disc/5mg	0	0	34	28	0
Chloramphenicol(C.C.30) disc/30mg	0	0	28	30	0
Amoxitillin(A.M.C30) disc/30 mg	0	0	0	15	0
DMSO& $CHCl_3$	0	0	0	0	0

- < 5 mm = غير فعال
- (10-5) mm = فعالية قليلة
- (20 -11) mm = فعالية متوسطة

اكبر من 20 mm = عالي الفعالية

ألمصادر

1. Williams , D.R. , (1972), ***Chem. , Rev***. , 72 . 203 and References Cited there in
2. 2.Schiff , H. Ann(1864) , 131 , 118 .
3. S. patai, (1979) " the chemistry of carbon –Nitrogen Double Bond ", John wiley and sons, New York Ed; 162 .
4. 4 . R. V .Hoffman (1990), "m-TrifluoromethylbenzenesulfonylChloride". Org Synth.; Coll. Vol. 7: 508.
5. S. I. MARJADI, J. H. SOLANKI and A. L. PATEL , (2009), E-Journal of Chemistry , 6(3), 844-848.
6. Desai. R. M and Desai . J . M, (1999), Indian J Heterocycl Chem, 8(4), 329.
7. Desai. J. M and Shah. V. H, Indian J Chem., 2003, 42(B), 631.
8. Yusra H Al-Araji, Jawad K Shneine, and Ahmed A Ahmed , (2015)IJRPC, 5(1), 41-76.
9. Lehmann, (1990) Urs Eur. Pat. Appl. E. P. 352, 222.
10. 10.M. Mizoguchi, M. Ishiyama, M. Shiga and K. Sasamoto Bunseki Kagaku, 45(2), (1996).525.
11. M. Ishiyama, M. Shiga, K. Sasamoto, M. Mizoguchi and P. G. He, (1993) Chem. Pharm.Bull, 41(6). 1118