

## تحضير مشتق جديد للسلفون أميدات إنطلاقاً من 4-أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل ودراسة الفعالية البيولوجية له

سمارة ديب \* د. رشدي مدور \*\* د. ثناء شريتح\*\*\*

### المُلخَص

تم في هذا البحث تحضير مشتق جديد للسلفون أميد وفق مرحلتين إذ جرى في المرحلة الأولى تحضير 4-أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل (BAS)، ثم حُضِر في المرحلة الثانية 2-[(4-أسيت أميد فينيل) سلفون أميد]-3-ميثيل حمض البوتانويك (V) انطلاقاً من مركب BAS مع الحمض الأميني الفالين وباستخدام وسط أساسي من هيدروكسيد الصوديوم حيث تم الحصول على راسب أبيض بمرود (70%).

أثبتت بنية المشتق المُحَضَّر بالطرائق الطيفية المناسبة:  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  و  $\text{DEPT-135}^\circ$  و  $\text{FT-IR}$ ، وقد جرى التأكيد من فعالية وتأثير المركب المحضّر على نوعين من الأحياء الدقيقة فأبدى تأثيراً محدوداً على *Escherichia coli* ولم يُظهر فعالية تجاه *Staphylococcus aureus*.

**الكلمات المفتاحية :** 4-أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل، السلفون أميد، الحمض الأميني.

(\* طالبة ماجستير : قسم الكيمياء-كلية العلوم-جامعة البعث-حمص-سوريا

(\*\* أستاذ مساعد في قسم الكيمياء-كلية العلوم-جامعة البعث-حمص-سوريا

(\*\*\* أستاذ مساعد في قسم الكيمياء-كلية العلوم الثانية-جامعة البعث-حمص-سوريا

## Preparation of new derivative for sulfonamide from 4-acetamidobenzenesulfanyl chloride and Studying a biological activity

SAMARA DEEB\* RUSHDI MADWAR\*\* THANAA SHRITEH \*\*\*

### Abstract

In this research, new sulfonamide compound was prepared according two steps.

In the first step, 4-acetamidobenzenesulfanyl chloride (BAS) was prepared as a starting compound, In the second step, the derivative 2-[(4-acetamidophenyl) sulfonamido]-3-methyl butanoic acid (V) was prepared by reacted of (BAS) with the amino acid valine , using sodium hydroxide as basic aqueous solution .

The structure of the derivative was characterized by various spectroscopy methods:  $^1\text{H-NMR}$  ,  $^{13}\text{C-NMR}$  ,DEPT 135°, FT-IR.

A biological study of the derivative was also conducted against medically important strains, namely, *S. aureus* and *E. coli* . where it showed limited efficient towards *E. coli* and no activity against *S. aureus*.

**Key words:** 4-acetamidobenzenesulfonyl chloride, sulfonamide , amino acid.

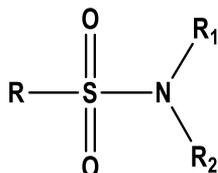
\*) Master Student: Department of chemistry, Faculty of science Al-Baath university, Syria

\*\*) Assoc. Prof. in chemistry department, Faculty of science Al-Baath university, Syria

\*\*\*) Assoc. Prof. in chemistry department, Faculty of science Al-Baath university, Syria

## 1-مقدمة:

تُعد السلفون أميدات صنف هام من أصناف المركبات المستخدمة في صناعة المستحضرات الصيدلانية التي جذبت الكثير من الاهتمام [1]، وهي من أكثر المضادات الحيوية استخداماً في العالم وتُعرف بأدوية السلفا [2]. تحتوي بنيتها على الزمرة الوظيفية R-SO<sub>2</sub>-NR<sub>2</sub> إذ تكون زمرة السلفونيل متصلة بزمرة الأمين كما في البنية التالية [3]:



بعد تطوير السلفون أميدات مجالاً رائداً في الكيمياء الطبية إذ أدت بعض أدوية السلفا إلى الوصول إلى ما يسمى بسحر الشفاء في عالم العلاج الكيميائي مثل السلفانيلاميد (مضاد حيوي) والسلفا ديازين (دواء لالتهاب السحايا) والسلفاسيتاميد (مسكن) والسلفا مونوميثوكسين (مدر للبول) والسلفا سالازين (خافض الضغط) والسلفا دوكسين (مضاد للملاريا) [4]، ومع بذل العديد من الجهود مؤخراً لتطوير طرائق اصطناع جديدة للسلفون أميدات، لا يزال الاصطناع التقليدي باستخدام المركبات الأمينية وكلوريد السلفونيل من الطرائق المفضلة بسبب كفاءتها وبساطتها وسهولة تطبيقها [5].

يُستخدم اسلوبان عامان لهذا الاصطناع أحدهما باستخدام المذيبات العضوية، والآخر وفق شروط Schotten-Baumann المعتدلة باستخدام محلول مائي قلوي وتعتبر هذه الطريقة من الطرائق الهامة إذ يُعد الماء من المذيبات الآمنة بيئياً وتُحد من استخدام المذيبات العضوية الضارة والباهظة الثمن [6].

## 2-هدف البحث:

يهدف هذا البحث إلى:

- 1- تحضير المركب 4- أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل (BAS).
  - 2- تحضير المشتق الجديد 2-[(4-أسيت أميد فينيل) سلفون أميد]-3-ميثيل حمض البوتانوئيك (V) إنطلاقاً من المركب السابق.
  - 3- دراسة الفعالية البيولوجية للمركب المحضر تجاه نوعين من الاحياء الدقيقة: واحدة ايجابية الغرام *S. aureus* والأخرى سلبية الغرام *E. coli*.
- تأتي أهمية هذا البحث من كون مشتقات السلفون أميدات ذات تطبيقات هامة في المجال الدوائي.

### 3- القسم التجريبي:

#### 3-1- الأجهزة والأدوات المستخدمة:

- جهاز مطياف الأشعة تحت الأحمر من شركة Jasco اليابانية، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة البعث.
- مطياف الطنين النووي المغناطيسي من شركة Bruker شدة حقله 400 MHz، هيئة الطاقة الذرية في دمشق .
- سخانة كهربائية مزودة بحساس حراري ومحرك مغناطيسي مركب عليها جهاز تقطير مرتد وحويلة ثنائية الفتحة وقمع تنقيط إضافة لزجاجيات مختلفة.
- ميزان تحليلي بدقة 0.1 mg وجهاز قياس درجة الانصهار Electrothermal.
- قمع بوخنر موصول بمضخة تفريغ.
- سيليكاجل (مخصص للأعمدة الكروماتوغرافية) ذات نعومة 230 ميش من شركة Merck الألماني.
- أوراق ترشيح.
- ورق pH.

#### 3-2- المواد الكيميائية المستخدمة:

- حمض أميني (فالين) من إنتاج شركة Merck الألمانية .
- حمض كلور السلفونيك وحمض كلور الماء من شركة Sigma Aldrich الألمانية.
- مذيبات عضوية مختلفة (كلوروفورم ، إيتانول).
- هيدركسيد الصوديوم من شركة BDH.
- ماء مقطر.

#### 3-3- الجزء العملي:

#### 3-3-1: تحضير 4- أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل (BAS):

يُجهز دورق 250 ml ويبرد في حمام ثلجي ويوضع فيه (0.02 mol, 3 g) من الأسيت أنيليد الجاف، ويضاف (0.18 mol, 11.96 ml) فائض من حمض كلور السلفونيك على دفعات صغيرة حتى الانتهاء من كامل الكمية، يسخن بعدها مزيج التفاعل باستخدام حمام مائي عند الدرجة 50-60°C لمدة ساعة حتى يكتمل التفاعل، يُترك بعدها الدورق يبرد لدرجة حرارة المخبر، ونفرغ محتوى التفاعل في دورق يحوي 100 g من الثلج فيتشكل راسب أبيض حليبي، يُرشح على قمع بوخنر ويُغسل مرتين بمقدار 100 ml من الماء المقطر ثم يفصل الراسب ويجفف (المردود 85%، درجة انصهاره 148 °C). يستخدم هذا المنتج لاحقاً في المرحلة الثانية [7].

#### 3-3-2: تحضير [4-أسيت أميد فينيل] سلفون أميد-3- ميتيل حمض البوتانويك (V):

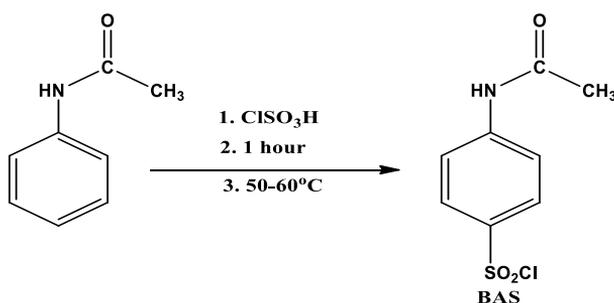
يُضاف (0.0029 mol, 0.669 g) من 4-أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل (BAS) إلى 10 ml من محلول الحمض الأميني الفالين المحضر في 2% NaOH

وذلك ضمن مدد زمنية منتظمة بإضافة 2% NaOH مع التحريك المستمر بواسطة محرك مغناطيسي لمدة تسع ساعات حتى اكتمال التفاعل، بعدها يُعدل pH وسط التفاعل إلى المجال 2-3 بإضافة حمض كلور الماء 6M. يُجمع الراسب الناتج بالترشيح ويُبقى بواسطة كروماتوغرافيا العمود باستخدام طور جرف (كلوروفورم: إيثانول 40:60)، ليتم الحصول على راسب أبيض اللون ذي درجة انصهار  $222-225^{\circ}\text{C}$ ، وبمردود 70%.

#### 4- النتائج والمناقشة:

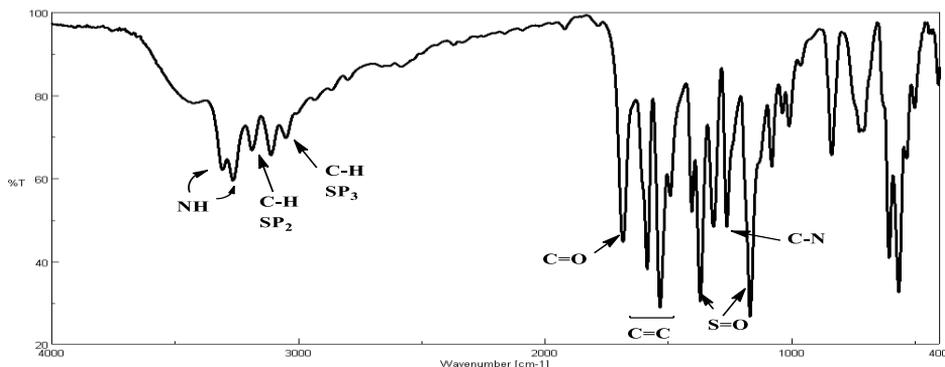
##### 1-4 - نتائج تفاعل تحضير 4-أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل (BAS):

حُضر المركب BAS انطلاقاً من تفاعل الاسيت أنيليد مع حمض كلور السلفونيك وفق الطريقة المرجعية المذكورة سابقاً في الجزء العملي عبر تفاعل استبدال الكتروليفي للحصول على منتج أبيض كامد قليلاً، وذو رائحة قريبة من رائحة حمض الخل، جرى استخدامه لاحقاً.



تفاعل (1): تحضير 4- أسيت أميد بنزن كلوريد السلفونيل (BAS).

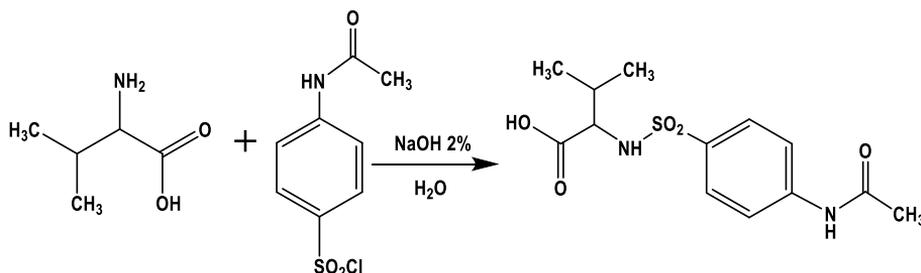
بيدي طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (BAS) الشكل (1) عصابتي امتصاص عند  $1370 \text{ cm}^{-1}$  و  $1167 \text{ cm}^{-1}$  عائدتين إلى الزمرة  $\text{SO}_2$  وعصابتي امتصاص  $3307 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3263 \text{ cm}^{-1}$  عائدتين لزمرة NH وعصابات امتصاص أخرى عند كل من  $1683 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1533 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1317 \text{ cm}^{-1}$  عائدة لزمرة الكربونيل C=O، والرابطة المضاعفة العطرية C=C، وامتطاط الرابطة C-N على الترتيب [8].



الشكل (1): طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (BAS)

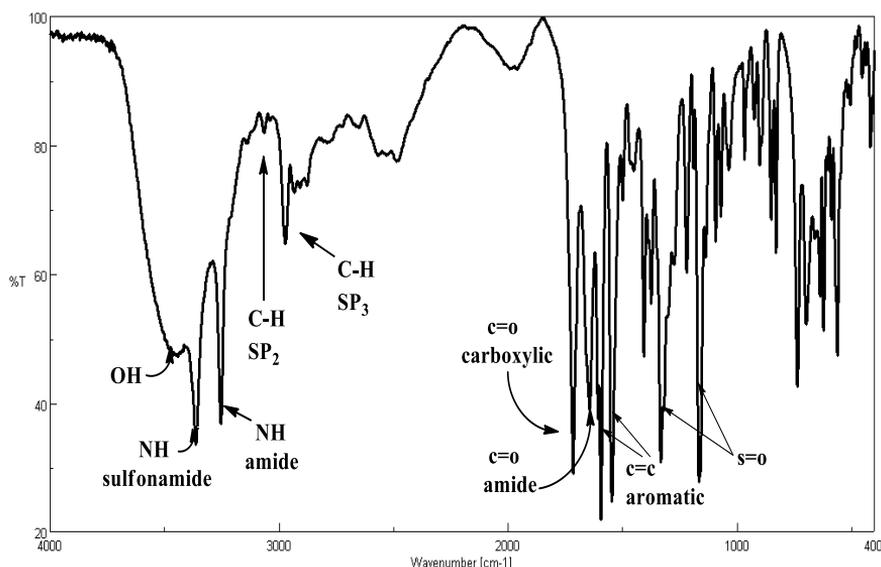
#### 2-4- نتائج تفاعل تحضير-2-(4-أسيت أميد فينيل) سلفون أميد-3-ميتيل حمض البوتانويك (V):

حضر المنتج (V) من تفاعل (BAS) المحضر في المرحلة السابقة مع الحمض الأميني الفالين، وفق تفاعل استبدال نوكليو فيلي في وسط قلوي من NaOH المستخدم لتعزيز نوكليو فيلية الأمين من جهة وتعديل HCl المنطلق من جهة أخرى وفق المعادلة التالية:



تفاعل (2): تحضير المشتق الجديد للسلفوناميد (V).

يبيد طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (V) الشكل (2) عصابات امتصاص عند  $1332\text{ cm}^{-1}$  و  $1165\text{ cm}^{-1}$  عائدتين إلى الزمرة  $\text{SO}_2$  وثلاث عصابات عند القيم:  $1546\text{ cm}^{-1}$  و  $1593\text{ cm}^{-1}$  و  $3064\text{ cm}^{-1}$  عائدة للحلقة العطرية، ومجموعة عصابات عائدة لعدة زمر على النحو الآتي:  $3441\text{ cm}^{-1}$  (امتطاط) O-H الكربوكسيلية، و  $3363\text{ cm}^{-1}$  (امتطاط) N-H السلفوناميدية، و  $3254\text{ cm}^{-1}$  (امتطاط) N-H الأمينية، و  $2972\text{ cm}^{-1}$  (امتطاط)  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ ، و  $1715\text{ cm}^{-1}$  C=O الكربوكسيل، و  $1644\text{ cm}^{-1}$  C=O الأميدية.

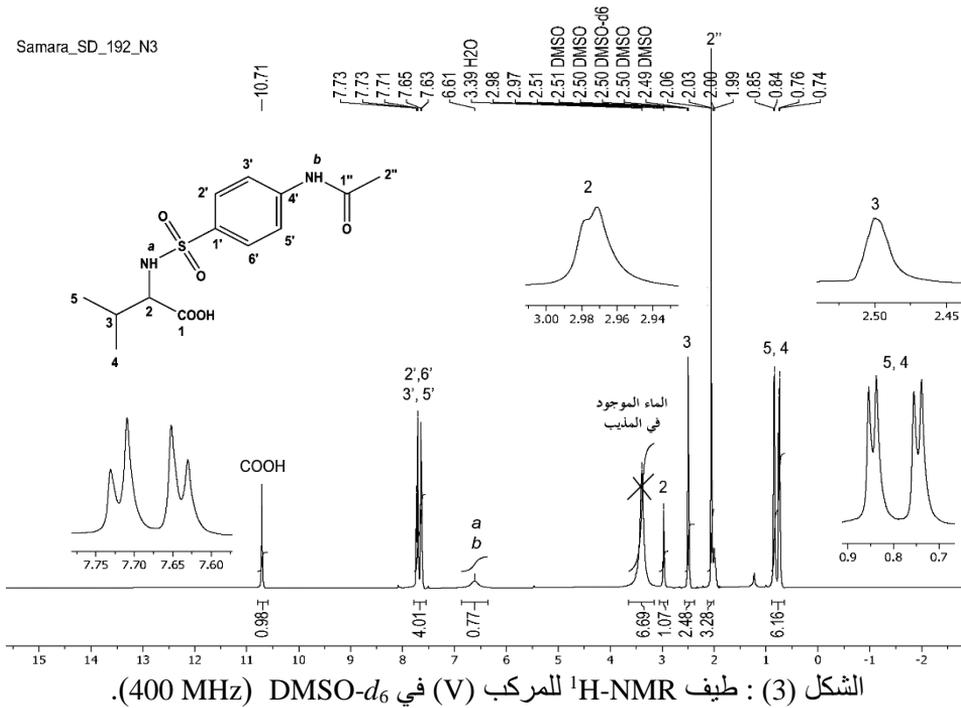


الشكل (2): طيف الأشعة تحت الحمراء للمنتج (V)

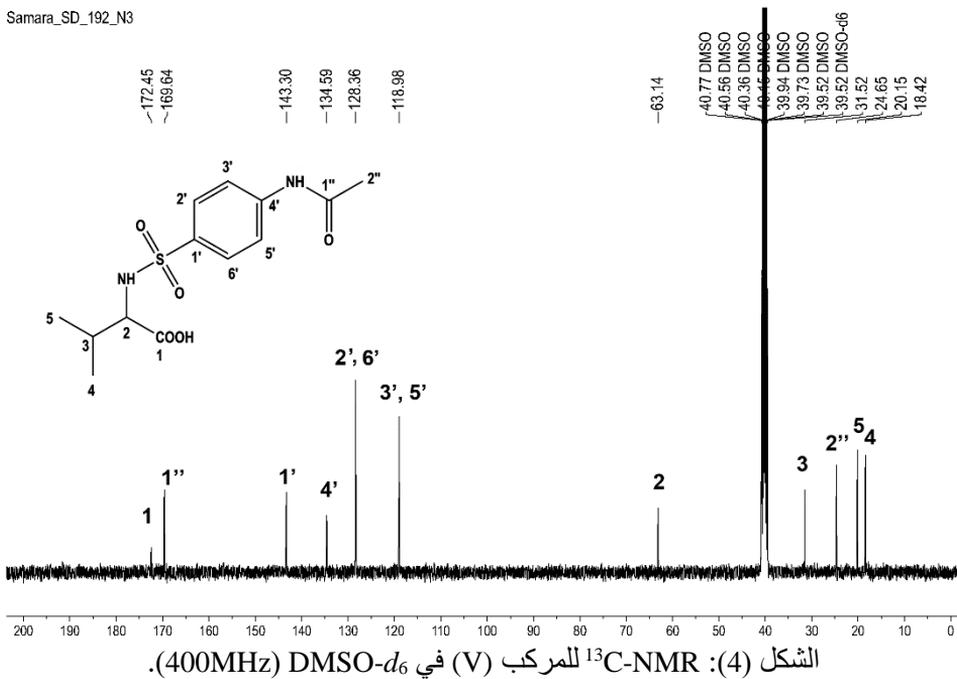
سُجِّل طيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني  $^1\text{H-NMR}$  في  $\text{DMSO}$  المديتر (الشكل 3) حيث أظهر إشارتين ثنائيتين عائدتين لكل من بروتونات زمرة الميثيل (H-4) و (H-5) عند الانزياح  $(\delta 0.760, d, 3\text{H})$  و  $(\delta 0.850, d, 3\text{H})$  وإشارة متعددة عائدة لبروتون (H-3) عند الانزياح  $(\delta 2.51, m, 1\text{H})$  متراكبة مع إشارة المحل وإشارة أحادية عائدة لبروتونات الميثيل (H-2") عند الانزياح  $(\delta 2.06, s, 3\text{H})$  وإشارة ثنائية عائدة للبروتون (H-2) عند الانزياح  $(\delta 2.980, s, 1\text{H})$ ، وظهرت البروتونات العطرية متعددة في المجال 6-8 ppm وإشارة أحادية عريضة عائدة لبروتوني الأمين (H-a) و (H-b) عند الانزياح  $(\delta 6.610, br, s)$  [9][10] أما بروتون الزمرة الكربوكسيلية (H-1) فأظهر إشارة أحادية عند الانزياح  $(\delta 10.71, s, 1\text{H})$ .

يظهر الشكل (4) طيف الطنين النووي المغناطيسي الكربوني للمركب (V) حيث يظهر (11) إشارة وبأخذ التناظر في صيغة المركب بعين الاعتبار فإن هذه الاشارات عائدة إلى (13) ذرة كربون.

Samara\_SD\_192\_N3



Samara\_SD\_192\_N3



جدول(1): قيم الانزياحات وثوابت التزاوج للمركب (V)

<sup>1</sup> H	DEPT	<sup>13</sup> C	No
10.71, s	C	172.45	1
2.980 (d, J = 3.4 Hz, 1H)	CH	63.14	2
2.510, m	CH	31.52	3
0.760 (d, J = 6.7 Hz, 3H)	CH <sub>3</sub>	18.42	4
0.850 (d, J = 6.8 Hz, 3H)	CH <sub>3</sub>	20.15	5
	C	143.30	1'
7.719 (d, J = 8.76 Hz, 2H)	CH	128.36	2', 6'
7.640 (d, J = 8.36 Hz, 2H)	CH	118.98	3', 5'
	C	134.59	4'
		169.64	1''
2.06( s,3H)	CH <sub>3</sub>	24.65	2''
6.610 (br. s)			NH
6.610 (br. s)			CO-NH

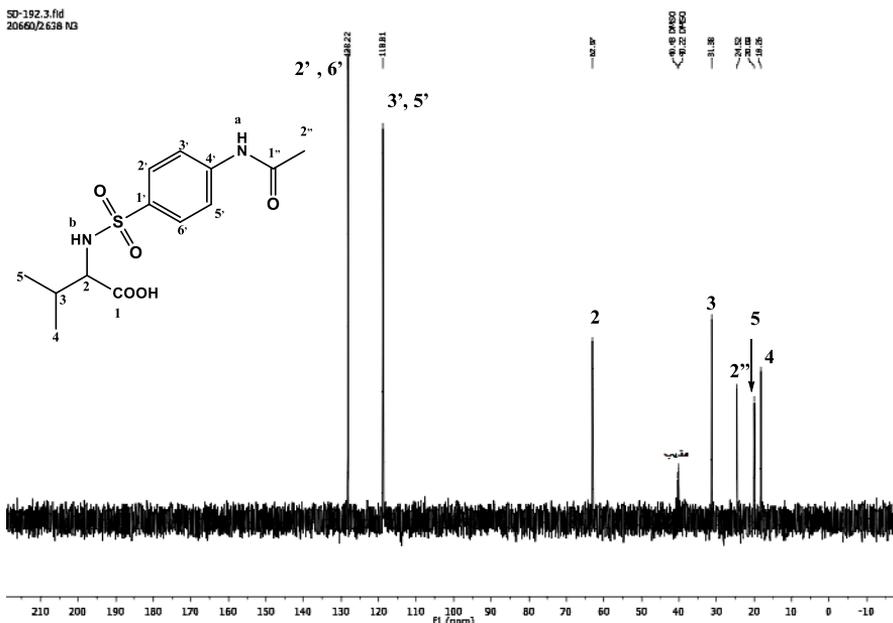
أظهر طيف DEPT 135° الشكل (5) سبع إشارات امتصاص عائدة لذرات الكربون الحاملة لأعداد فردية من ذرات الهيدروجين في الطور الموجب من الطيف وعدم وجود أي إشارات امتصاص تابعة لذرات كربون حاملة لأعداد زوجية في الطور السالب من الطيف بينما اختفت إشارات ذرات الكربون الرابعة.

##### 5- دراسة الفعالية البيولوجية :

تم اجراء الدراسة البيولوجية على نوعين من البكتيريا ايجابية الغرام *S.aureus* وسلبية الغرام *E.Coli*، وفي ما يلي الخطوات العملية للدراسة البيولوجية :

1- تم تحضير تراكيز مختلفة للمنتج (V) ( $50, 100, 200 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) في مذيب DMSO (6%).

2- تحضير الأقراص: حضرت الأقراص من ورق ترشيح Whatmans No 3 بقطر 6 mm ومن ثم توضع في طبق بتري ويضاف فوقها مقدار 10 ml من الماء المقطر، وتعقم في صناديق موصد (Autoclave) لمدة 20 دقيقة عند الدرجة  $120^\circ\text{C}$ ، ومن ثم تشبع بمقدار  $10-40 \mu\text{L}$  من تراكيز مختلفة للمنتج عن طريق غمرها .



الشكل (5): طيف  $135^\circ$  DEPT (400 MHz) لمركب (V) في  $DMSO-d_6$ .

- 3- أوساط الزرع: يحضر أغار الوسط ويصب في أطباق بتري ويترك حتى يتصلب.
- 4- يحضر اللقاح البادئ Inoculum أو المعلق البكتيري المتجانس من مزرعة حديثة عمرها بين 18 إلى 24 ساعة. تُؤخذ مسحة من المستعمرة البكتيرية المراد اختبارها، وتُزرع في وسط مغذي وتحضن لمدة 24 ساعة عند الدرجة  $37^\circ C$  بحيث تكون البكتيريا في مرحلة الثبات في الوسط المغذي، بعدها تكشف مستعمرات معينة متفرقة بواسطة إبرة تلقح وتفرغ في أنبوب يحوي 3 ml من الماء الفيزيولوجي المعقم للحصول على المعلق البكتيري ثم تترك لمدة 15 دقيقة، ثم تضبط العكارة على محلول 0.5 McFarland، يجب استعمال هذا اللقاح في مدة 15 دقيقة الأولى من تحضيره لتفادي نمو البكتيريا.
- 5- الزرع: يغمس ماسح قطني معقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به على كامل السطح الصلب الجاف من الأعلى إلى الأسفل بصورة خطوط متلاصقة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير الطبق  $60^\circ$  في كل مرة، ثم تشعب الأقراص المعقمة ذات القطر 6 mm بمقدار  $10-40 \mu L$  من التراكيز المختلفة للمركبات، ومن ثم توضع فوق الأوساط المزروعة.
- 6- عملية الحضانة: تترك أطباق البتري لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لتجف، وكذلك للانتشار الجيد للمادة الفعالة، بعدها تحضن لمدة 18-24 ساعة في درجة الحرارة  $37^\circ C$ .
- 7- اختيار الجنتاميسين كصاد مقارنة بتركيز 1 mg/ml لمقارنة المركبات المحضرة نسبة له وذلك بمقارنة قطر الهالة، ويوضح الجدول (2) النتائج التي حصلنا عليها من المركب المحضر تجاه كل من *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*:

الجدول (2)، أقطار حالات التثبيط للمركب المحضر تجاه كل من *S. aureus* و *E. coli*.

نوع الجرثومة	تركيز العينة	قطر منطقة التثبيط (mm)
<i>S. aureus</i>	200 µg/ml	-
	100 µg/ml	-
	50 µg/ml	-
<i>E. coli</i>	200 µg/ml	9
	100 µg/ml	7
	50 µg/ml	-

أظهر المركب المحضر فعالية ضئيلة تجاه بكتريا *E. coli* بتركيز 200 µg/ml ، أما في حالة البكتريا *S. aureus* لم يظهر المركب أية منطقة تثبيط (هالة عدم نمو) مما يشير إلى عدم فعاليته تجاهها.

#### 6- الاستنتاجات والتوصيات :

تم تحضير مشتق جديد للسلفون أميدات عبر مرحلتين باستخدام الحمض الأميني الفالين بحضور وسط أساسي من NaOH وبمردود 70%، وبناءً على نتائج بحثنا فإننا نوصي بأن يجرى تحرر أكثر عمقاً في تفاعلات تحضير مشتقات سلفون أميدية مع الأحماض الأمينية وذلك لقلّة دراسة هذه المحضرات، إضافة للصعوبة التي تكثف تحضير مثل هذه المشتقات، كما أن نتائج الدراسة البيولوجية تشير إلى إمكانية وجود قدرة تثبيطية جيدة في حال استخدمت هذه المركبات بتركيز من مرتبة الملي غرام بدل الميكرو غرام.

#### Referances:

- [1] Mok. B .L .J, (2008), *The synthesis of functionalized sulfonamides*. University of London, University College London (United Kingdom), 307p.
- [2] Qadir. M. A, Ahmed. M, Khaleeq. A, (2016), *Synthesis, antibacterial and antifungal possession of amino acids containing sulfonamide moieties*, Pak. J. Pharm. Sci, 29(5), 1609-1613.
- [3] Abdul Qadir. M, Ahmed. M, Aslam. H, Waseem. S, Shafiq. M. I,(2015),*Amidine sulfonamides and benzene sulfonamides: synthesis and their biological evaluation*. Journal of Chemistry, 2015, 8p

- [4] Dorn. J. M, Alpern. M, McNulty. C, & Volcheck. G. W, (2018), *Sulfonamide drug allergy*, Current allergy and asthma reports, 18(7), 1-10.
- [5] Ajani. O. O, (2012), *Synthesis of New N, N-Disubstituted Aryl- and Alkylaryl Sulphonamides and their Antimicrobial Properties*. (Doctoral dissertation, Covenant University), 266p.
- [6] Deng. X, & Mani. N. S, (2006), *A facile, environmentally benign sulfonamide synthesis in water*. Green Chemistry, 8(9), 835-838.
- [7] Jabbar. A. H, (2016), *Synthesis of some sulfa drug derivatives as antibacterial agents*. (Doctoral dissertation, Ministry of Higher Education), 87p.
- [8] Tan. S, Yang. Y, Luo. Z, Zhao. S, Huang. D, Zhang. J, Wang. G, (2011), *An alternative synthetic process of p-acetamino benzene-sulfonyl chloride through combined chlorosulfonation by  $HClSO_3$  and  $PCl_5$* . Chemical Papers, 65(4), 510-518.
- [9] Turczan. J, & Medwick. T, (1972), *Identification of sulfonamides by NMR spectroscopy*, Journal of pharmaceutical sciences, 61(3), 434-443.
- [10] Silverstein. R. M, Bassler. G. C, (1962), *Spectrometric identification of organic compounds*. Journal of Chemical Education, 39(11), 546.