

اصطناع وتوصيف مشتق دوائي جديد للأزو 4-أمينو

أنتي بايرين فنيل أفرين ودراسة فعاليتها

البيولوجية

(1)رنيم لازق , (2)د.رشدي مدور, (3)د.ثناء شريطح

الملخص

تم في هذا البحث، تصنيع مشتق دوائي جديد للأزو أنتي بايرين من خلال تصنيع ملح الديازونيوم له ، ومن ثم تصالبه مع فينيل افرين.

حددت هوية الناتج بالاعتماد على الطرائق المطيافية كطيف أشعة تحت الحمراء وطيفي الطنين النووي المغناطيسي البروتوني والكربوني، وبينت نتائج هذه الدراسة أنها كانت متفقة مع الصيغة المقترحة لهذا المركب.

كما درست الفعالية البيولوجية للمركب على نوعين من الجراثيم الشائعة والممرضة سريريًا *E.Coli* و *Steaphylococcus*؛ فتمين أن لهذا المشتق قدرة تثبيطية كبيرة تجاه نمو جرثومة *E.Coli* وقدرة تثبيطية لا بأس بها اتجاه *Steaphylococcus* مقارنة بالمادة المرجعية الجنتاميسين.

كلمات مفتاحية: أنتي بايرين، مشتق دوائي ، النشاط البيولوجي، فينيل افرين، تثبيط هالة النمو.

1 طالبة ماجستير كيمياء عضوية - قسم الكيمياء - كلية العلوم جامعة البعث

2 استاذ مساعد- قسم الكيمياء- كلية العلوم - جامعة البعث

3 أستاذ مساعد- قسم الكيمياء- كلية العلوم الثانية - جامعة البعث

Synthesis and characterization of a new pharmacological derivative of azo 4-aminoantipyrine phenylephrine and study its biological activity.

(¹)Raneem Lazek, (²) Dr.Rushdy Madwar , (³) Dr.Thanaa shreteh

Abstract

In this study, azo derivative was synthesized by synthesizing diazonium Salt from 4-Amino Antipyrine and then crossed with phenylephrine.

The identity of the compound was determined based on spectroscopic methods such as infrared and ¹H-NMR, ¹³C-NMR and the results of this study showed that they were in agreement with the blistered formula of this compound.

The biological activity of this compound was studied on two types of common and clinically pathogenic of bacteria E.Col and Steaphylococcus; It was found that this azo derivative had a significant inhibiting ability towards the growth of E.Col bacteria and lower activity against Steaphylococcus compared to the reference substance gentamicin.

Key words: 4-Amino Antipyrine, azo derivative, biological activity, phenylephrine, Inhibition of halo growth.

¹ Organic Chemistry Master Student, Chemistry Department, Faculty of Science, Al Baath University

² Associate Professor, Chemistry Department, Faculty of Science, AL Baath University

³ Associate Professor, Chemistry Department, Faculty of Science, AL Baath University

1- مقدمة:

شهدت العقود الماضية إدخال عدد من المركبات الصيدلانية التي تحتوي في بنيتها على عدة حلقات مثل البيبيرازين، والبيبيردين، والإيميدازول، والبنزوديازيبينات، وغيرها من الحلقات غير المتجانسة التي تحتوي على النيتروجين، الكبريت والأكسجين؛ التي تمتلك خصائص فزيولوجية مهمة تتراوح من مضادات الهيستامين ومضادة لارتفاع ضغط الدم، وبشكل خاص اكتسب البيرازول ومشتقاته أهمية في الصناعات الكيميائية والصيدلانية.

4-aminoantipyrine المسمى (4-AAP) هو مشتق من البيرازول و يمتلك حلقة

لاكتام مكونة من خمسة مجموعات وظيفية في جزيء بيرازولون ومجموعة أمينية حرة.

يتمتع 4-AAP بفعالية بيولوجية عالية، حيث تظهر الدراسات الصيدلانية الحديثة والممارسات السريرية، بأنه يدخل في الصناعات الدوائية المهمة، حيث له خواص مسكنة للألام و خافض لدرجات الحرارة و مضاد للالتهابات البلعومية و الالتهابات [6].

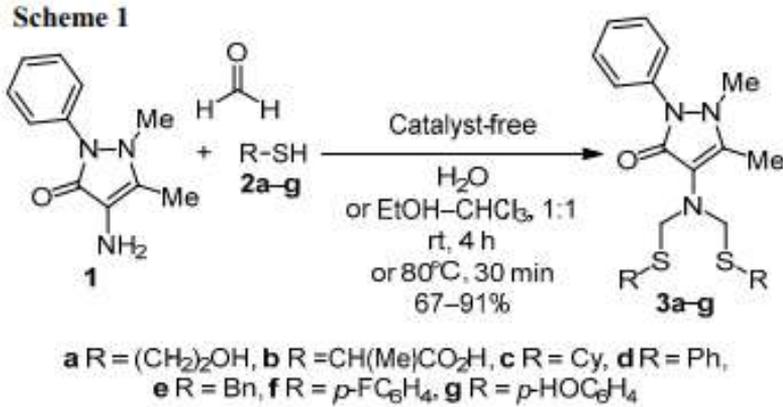
ويستخدم 4-AAP كمادة أولية و أساسية لتحضير أصباغ الأزو الأحادية والثنائية لما له من أهمية بيولوجية و أهمية في مجالات عدة وخصوصاً في تحضير المركبات العضوية والمعقدات المعدنية التساندية [1].

كما وجد حديثاً أنه يمتلك خواص بيولوجية كمضادات للفطريات، البكتيريا، مسكنة للألام، مهدئات، خافضة للحرارة، مضادة للالتهابات. أما في المجال الصناعي فقد استعمل المركب 4-AAP كمثبط (مانع) لتآكل الفولاذ (الخفيف) والزنك في محلول حامض الكبريتك وحامض النتريك كما استعمل المركب 4-AAP ككاشف الكتروليفي لتقدير الحديد الثلاثي في الماء والنفايات الصناعية السائلة ونماذج التربة، كما استخدم 4-AAP في تحضير عدد مختلف من صبغات الأزو و أصباغ لأنسجة البولستر. [1,2]

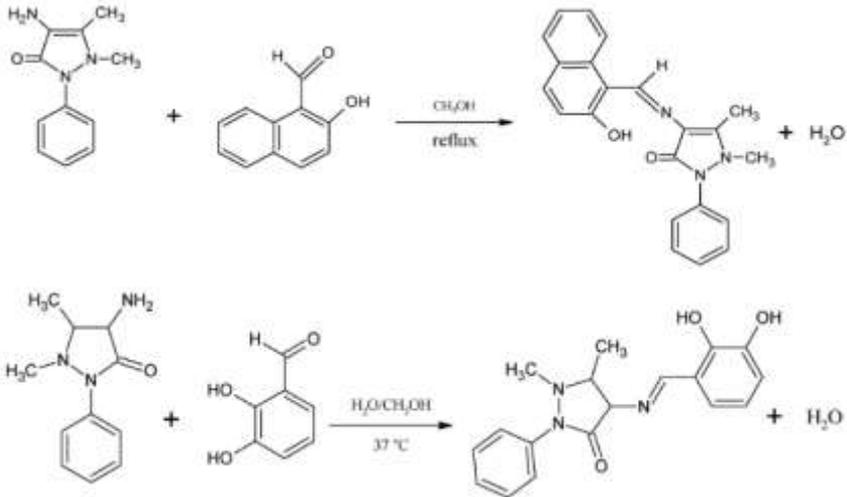
أما في المجال الزراعي، فاستخدم المركب 4-AAP في تقدير كمية بقايا المبيدات في العينات البيئية في تقدير الفينولات و الأمينات العطرية وتقدير بعض المركبات الصيدلانية وكذلك في تقدير الكوليسترول وبعض الأحماض الناتجة من تقويض بعض المركبات داخل الجسم

[1-2].

في عام 2019 قام مجموعة من العلماء في روسيا بتطوير طريقة انتقائية لاصطناع مشتقات السلفانيل الحلقية للأمبيرون عن طريق تفاعل مثيلة ثيوميثيل الامبيرون (4- AAP) مع الفورمالديهايد والنيول في وسط مائي تحت ظروف مختلفة وفق التفاعل التالي [8]:



وتم إثبات أنه من خلال طريقة الالتحام الجزيئي أن مشتقات الأمينية المستبدلة N- ، N-bis(sulfanylmethyl) قد تعمل كمثبطات انتقائية لـ COX-2 من النوع التنافسي . وفي عام 2020 تم من قبل Valentine اصطناع مشتقات لأسس شيف انطلاقاً من 4-أمينو الأنتي بايرين من خلال تكاثف مجموعة الأمين مع كل من ألدهيد بيتا النفول و3,2-ثنائي هيدروكسي البنز ألدهيد وفق المخطط التالي [7]:



2- هدف البحث:

- ❖ اصطناع مشتق دوائي جديد لأزو انتي بايرن فينيل افرين.
- ❖ التأكد من هوية الناتج طيفياً من خلال مطيافية الرنين النووي المغناطيسي البروتوني $^1\text{H-NMR}$ ومطيافية الرنين النووي المغناطيسي $^{13}\text{C-NMR}$ وباستخدام مطيافية الأشعة تحت الأحمر (FT-IR).
- ❖ دراسة الفعالية البيولوجية للناتج تجاه بعض الجراثيم.

3- المواد وطرائق العمل:

3-1- الأجهزة والأدوات المستخدمة:

- جهاز الطنين النووي المغناطيسي نموذج 400MHz من شركة Bruker السويسرية.
- جهاز الامتصاص الضوئي ما تحت الأحمر نموذج FT-IR-4100 من شركة Jasco اليابانية.
- صفائح كرماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من الألمنيوم مطلية بالسليكا جل 60F₂₅₄ قياس 20 X 20 من شركة Merck الألمانية.
- جهاز قياس درجة الانصهار Electrothermal Melting Point Apparatus .
- ميزان حساس من النوع Sartorius BL-210S.
- سخان مزود بمحرك 254nm,366nm مغناطيسي Agimatic P-Selecta 243.
- مصباح UV مزود بلمبتين 254nm,366nm من شركة DESAGA الألمانية.

3-2- المواد الكيميائية المستخدمة:

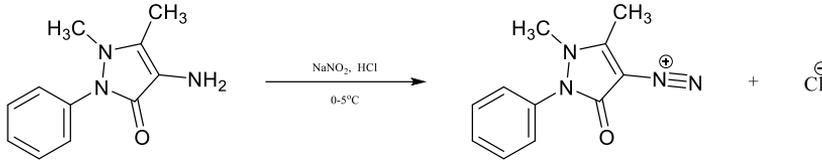
- 4-امينو انتي بايرن، فينيل افرين، نترتيت الصوديوم، كربونات الصوديوم، ايتانول مطلق، هيدروكسيد الصوديوم، دي كلورو ميتان، دي ميتيل سلفوكسيد DMSO، حمض كلور الماء المركز 37%، ميتانول مطلق، ماء مقطر.

3-3- تحضير أزو انتي بايرن فنيل أفرين:

صنع أزو أنتي بايرين فنيل أفرين على مرحلتين:

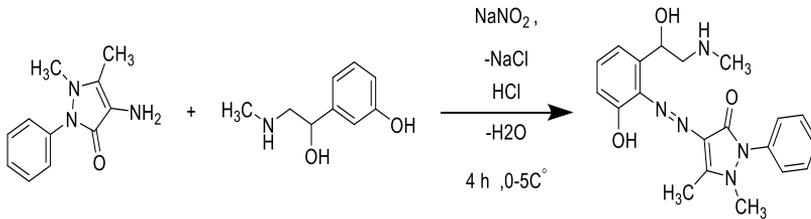
المرحلة الأولى: تحضير ملح الديازونيوم:

يُضاف إلى دورق كروي أحادي العنق (2.035gr, 0.01 mol) من 4-أمينو أنتي بايرين و10ml إيتانول و10ml ماء مقطر و5ml من حمض كلور الماء المركز، ويُوضع في حمام ثلجي درجة حرارته $0-5^{\circ}\text{C}$ ويُحرك حتى تمام الإنحلال، ثم يُضاف بالتدريج قطرة قطرة 15ml محلول مائي من نترتيت الصوديوم (1gr , 0.01 mol) عند درجة الحرارة نفسها حيث يتغير لون المحلول من الأرجواني إلى أصفر برتقالي مما يدل على تشكل ملح الديازونيوم، وبعد ذلك يُحفظ مزيج التفاعل في الثلج لضمان عدم تخرّب الملح .



المرحلة الثانية: إزدواج ملح الديازونيوم مع فينيل أفرين:

يُضاف إلى دورق آخر (1.672gr , 0.01 mol) من الفينيل أفرين بعد إذابته بـ 10 ml إيثانول ومحلول 3gr من كربونات الصوديوم ومحلول 1gr من هيدروكسيد الصوديوم مع التحريك، ثم يُضاف هذا المحلول ببطء قطرة-قطرة إلى ملح الديازونيوم المحضّر سابقاً و عند نفس درجة الحرارة المنخفضة حمام ثلجي حرارته ($0-5^{\circ}\text{C}$) ليبدأ تفاعل الإزدواج مع الاستمرار بالتحريك لمدة 4 ساعات.



يُضاف حمض كلور الماء لتحويل الأساس الفائض إلى ملح صوديومي وعندما يصبح (PH=6) يترسب الناتج، ويُفصل بالترشيح، ويُنقى بإعادة البلورة باستخدام الإيثانول، فتم الحصول على راسب بني فاتح بمردود 58% ودرجة انصهار $m.p = 235-237^{\circ}\text{C}$.

3-5- دراسة الفعالية البيولوجية:

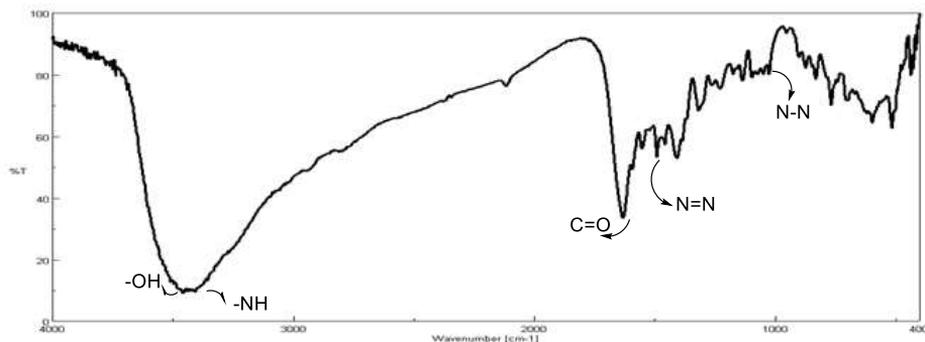
تمت دراسة النشاط البيولوجي لأزو انتي بايرين فنييل أفرين في مخبر الجراثيم في كلية الصيدلة على نوعين من البكتريا الممرضة سريريا: جرثومة إيجابية الغرام (*Staphylococcus Aureus S.T*)، وجرثومة سلبية الغرام (*E. Col*) مزروعتان داخل طبقين من أطباق بتري (Petri) حاويتان على وسط مغذي نوع (agar medium). (11).

وحضرت عينات من المركب المصنع بتركيزين ($50,100\mu\text{gr/l}$) باستخدام مذيب ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO)، وعينة من المادة المرجعية (جنتاميسين) (GE) أيضاً بتركيز ($100\mu\text{gr/l}$) باستخدام المذيب نفسه، ووضعت العينات في كل طبق Petri التي تم إعدادها مسبقاً باستخدام أسطوانات من الفولاذ المقاوم للصدأ (stainless steel)، ثم وضعت الأطباق داخل حاضنة مدة (36) ساعة بدرجة حرارة الوسط الخلوي ($36.5-37^\circ\text{C}$).

4- النتائج والمناقشة:

4-1- دراسة بنية ازو انتي بايرين فنييل أفرين:

تم تحديد هوية الناتج باستخدام الطرائق الطيفية $^1\text{H-NMR}$ و $^{13}\text{C-NMR}$ و (FT-IR)، حيث أظهر طيف الأشعة ما تحت الحمراء (الشكل (1)) للمركب وجود عصابات امتصاص رئيسية عند الأعداد الموجية 1408 Cm^{-1} عائدة لامتصاص مجموعة (N=N)، كما أظهر الطيف عصابة امتصاص قوية عند (1681cm^{-1}) تعود لامتصاص مجموعة الكربونيل (C=O)، وعند 3460 Cm^{-1} تعود لتداخل امتصاص الروابط (NH,OH) في حلقة الفينيل أفرين و الانتي بايرين بالإضافة لامتصاصات أخرى موضحة في الجدول (1).

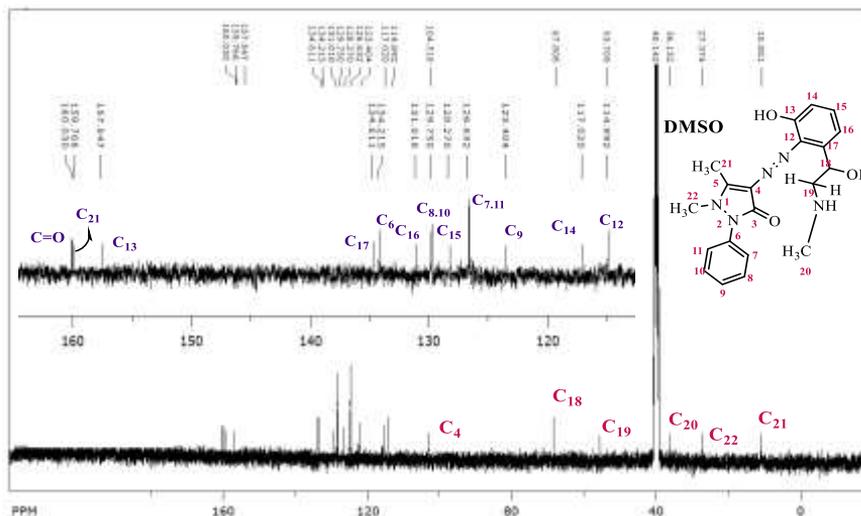


الشكل (1): طيف الأشعة ما تحت الحمراء للمنتج

الجدول (1): قيم عصابات الامتصاص في طيف (FT-IR) للمنتج

العدد الموجي (ν Cm ⁻¹)	الزمرة الوظيفية
3461	-OH,-NH
1681	C=O
1593-1490	C=C
1407	N=N
3050	C-H(Sp ² Stretch)

كما سجل الرنين النووي المغناطيسي الكربوني الشكل (2) للمنتج في ثنائي ميثيل سيلفوكسيد المديتر (DMSO)، ويبين طيف الطنين النووي المغناطيسي الكربوني-¹³C NMR، باستخدام d6-DMSO للمركب الناتج عدة انزياحات تعود إلى ذرات كربون مختلفة في المركب الناتج، حيث ظهر انزياح عند (160.03 ppm) عائد للكربون مجموعة الكربونيل (C=O).بالإضافة لانزياحات اخرى عند (159.77, 134.22, 126.63, 67.81ppm) تعود لذرات الكربون: (C5,C15,C7,11,C18) على الترتيب.

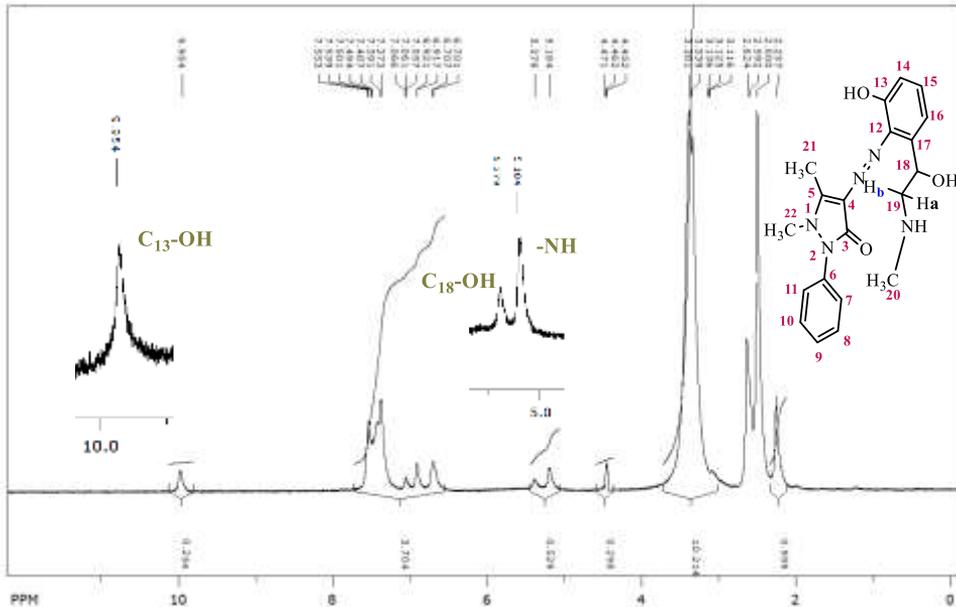


الشكل (2): طيف الرنين النووي المغناطيسي الكربوني ^{13}C -NMR للمنتج

الجدول (2): قيم الانزياحات لطيف الرنين النووي المغناطيسي الكربوني ^{13}C -NMR للمنتج

الانزياح الكيميائي ppm	No	الانزياح الكيميائي ppm	No
134.22	C ₁₅	160.03	C=O
128.27	C ₁₆	104.52	C ₄
134.61	C ₁₇	159.77	C ₅
67.81	C ₁₈	131.02	C ₆
123.98	C ₂₀	126.63	C _{7,11}
53.71	C ₁₉	129.57	C _{8,10}
36.15	C ₂₀	123.40	C ₉
10.88	C ₂₁	141.89	C ₁₂
27.37	C ₂₂	157.55	C ₁₃
		117.02	C ₁₄

كما سجل طيف الرنين النووي المغناطيسي البروتوني الشكل (3) لأزو أنتي بايرين فنيل أفرين في ثنائي ميثيل سيلفوكسيد المديتر (DMSO)، حيث يبين الطيف ظهور أربع عند (6.71ppm, d,1H) تعود للبروتون المرتبط بالكربون (14)، (6.92ppm, d,1H) و لبروتون الكربون (16)، و (7.39ppm,d,1H) لبروتون الكربون (9)، و (7.55ppm,d,2H) لبروتوني ذرتي الكربون (7 و 11)، بالإضافة لإنزياحات أخرى موضحة في الجدول (3).



الشكل(3): طيف الرنين النووي المغناطيسي البروتوني $^1\text{H-NMR}$ للناتج

الجدول(3): قيم الانزياحات لطيف الرنين النووي المغناطيسي البروتوني $^1\text{H:NMR}$ للناتج

اشارات ثنائية:

1H-NMR(δ ,ppm)	الرقم
7.55ppm (2H,d)	C _{7,11} -H
7.50-7.48 ppm (2H,t)	C _{8,10} -H
9.95 ppm (1H,s)	C ₁₃ -OH
6.71 ppm (1H,d,J=4 Hz)	C ₁₄ -H
7.07-7.05 ppm (1H,t, J1=2Hz, J2=1.6Hz)	C ₁₅ -H
6.92 ppm (1H,d)	C ₁₆ -H
4.47-4.45 ppm (1H,t,, J1=3.6Hz, J2=4Hz)	C ₁₈ -H
2.62-2.59 ppm (1H,t,J1=4.4 Hz, J2=3.6Hz)	C ₁₉ -Ha
3.11-3.13 ppm (1H,t,J1=J2=4.2Hz)	C ₁₉ -Hb
3.38 ppm (3H,s)	C ₂₀ -H
2.25 ppm(3H,s)	C ₂₁ -H
3.34 ppm(3H,s)	C ₂₂ -H
5.18 ppm(1H,s)	N-H

4-3- دراسة الفعالية البيولوجية للنتاج:

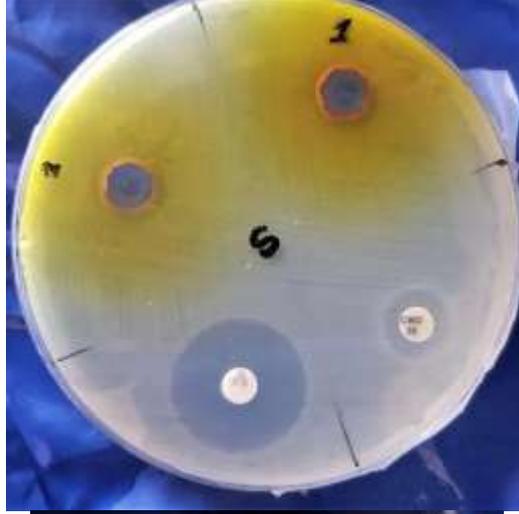
تمت دراسة النشاط البيولوجي للمركب المصنع على نوعين من البكتريا، وتحديد التركيز المثبط الأدنى MIC.

اصطناع وتوصيف مشتق دوائي جديد لأزو 4-أمينو أنتي بايرين فنييل أفرين ودراسة فعاليته البيولوجية

حُضرت عينتان من المركب بتركيزين (100µg/ml) و (50µg/ml) وعينة من المادة المرجعية (جنتاميسين) (GE) بالتركيز (100µg/ml) باستخدام مذيب ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO)، وضعت العينات داخل الأطباق بواسطة أسطوانات من الستانلس ستيل قطرها حوالي (8mm)، تحوي جرثومة إيجابية الغرام (*Staphylococcus Aureus*) و جرثومة سلبية الغرام *E.Coli* وتم الحضان لمدة 36 ساعة عند درجة حرارة الوسط الخلوي 36.5-37°C.

الجدول (4): أقطار مناطق التنشيط للمركبين اتجاه الجرثومتين

قطر منطقة التنشيط (mm)	تركيز العينة	العينة	نوع الجرثومة
12	50µgr/ml	الناتج 2	<i>Staphylococcus Aureus</i> (S.T) إيجابية الغرام
14	100µgr/ml	1	
19	1mgr/ml	جنتاميسين	
24	50µgr/ml	الناتج 2	<i>Ecoli</i> سلبية الغرام
27	100µgr/ml	1	
30	1mgr/ml	جنتاميسين	



E.Col

Staphylococcus Aureus

الشكل (5): مناطق التثبيط للمنتج تجاه الجرثومتين

لوحظ من الشكل السابق: من أجل الجرثومتين إيجابية الغرام (*Staphylococcus Aureus*) و سلبية الغرام (*E. Col*) وجود مناطق تثبيط (هالة عدم نمو) للمنتج كما هو موضح بالجدول (4)، أي أن للمركب قدرة تثبيطية كبيرة اتجاه الجرثومة سلبية الغرام *E. Col* أما بالنسبة للجرثومة إيجابية الغرام *Staphylococcus* أبدى فعالية لآبأس بها مقارنة بالمادة المرجعية الجنتاميسين.

5- الاستنتاجات والمقترحات:

1. أدى تفاعل الفليل أفيرين مع ملح الديازونيوم للانتي بايرين إلى تشكل مشتق دوائي جديد.
2. حددت هوية المركب بالاعتماد على الطرائق المطيافية كطيف أشعة تحت الحمراء وطيفي الطنين النووي المغناطيسي البروتوني والكربوني .
3. كما درست الفعالية البيولوجية للمركب على نوعين من الجراثيم إيجابية الغرام (*Staphylococcus Aureus*) و سلبية الغرام (*E. Col*) ووجد أن للمركب قدرة تثبيطية كبيرة اتجاه الجرثومة سلبية الغرام *E. Col* ؛ إذ بلغ قطر هالة عدم النمو 27mm، أما بالنسبة للجرثومة إيجابية الغرام *Steaphylococcus* أبدى فعالية لأبأس بها مقارنة بالمادة المرجعية الجنتاميسين .
4. نقترح اصطناع المزيد من مشتقات الأزو انتي بايرين الدوائية نظراً لفعاليتها البيولوجية العالية تجاه البكتريا الممرضة سريعاً.

شكر وتقدير:

يتقدم المؤلفون بخالص الشكر والعرفان للدكتورة ميساء علوش على ما قدمته من مساعدة في إنجاز هذا البحث.

6-المراجع:

1. Vardanyan, R., & Hruby, V. (2006). *Synthesis of essential drugs*. Elsevier.
2. Metwally, K. A., Abdel-Aziz, L. M., Lashine, E. S. M., Husseiny, M. I., & Badawy, R. H. (2006). Hydrazones of 2-aryl-quinoline-4-carboxylic acid hydrazides: Synthesis and preliminary evaluation as antimicrobial agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(24), 8675-8682.
3. Shoaib, M., Rahman, G., Shah, S. W. A., & Umar, M. N. (2015). Synthesis of 4-aminoantipyrine derived Schiff bases and their

- evaluation for antibacterial, cytotoxic and free radical scavenging activity. /// *Bangladesh Journal of Pharmacology*///, 10(2), 332-36.
4. Cunha, S., Oliveira, S. M., Rodrigues Jr, M. T., Bastos, R. M., Ferrari, J., de Oliveira, C. M., ... & Lariucci, C. (2005). Structural studies of 4-aminoantipyrine derivatives. *Journal of molecular structure*, 752(1-3), 32-39.
 5. Sahoo, J., Sahoo, C. R., Sarangi, P. K. N., Prusty, S. K., Padhy, R. N., & Paidesetty, S. K. (2020). Molecules with versatile biological .
 6. activities bearing antipyrinyl nucleus as pharmacophore. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 186, 111911.
 7. Ossai, V., Obiefuna, A. P., Laraps, B. C., Okenyeka, O. U., Ezeorah, J. C., Dege, N., ... & Obasi, N. L. (2020). Crystal structural and in silico studies of Schiff bases derived from 4-aminoantipyrine. *Solid State Sciences*, 106, 106293.
 8. Akhmadiev, N. S., Mescheryakova, E. S., Khairullina, V. R., Akhmetova, V. R., & Ibragimov, A. G. (2020). Green synthesis of new sulfanyl derivatives of ampyrone and prediction of their anti-inflammatory activity. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 56(4), 473-481.

