

## اصطناع مشتقات جديدة للكومارين وتوصيفها انطلاقاً من فينولات مختلفة ودراسة فعاليتها الحيوية وخواصها المضادة للأكسدة

تيماء العوض<sup>(1)</sup> و فاروق قنديل<sup>(2)</sup> وسامح حمو<sup>(2)</sup>

تاريخ الإيداع 2014/08/24

قبل للنشر في 2014/12/24

### الملخص

اصطنعت في هذا البحث ثلاثة مشتقات جديدة للكومارين انطلاقاً من تفاعل فينولات مختلفة مع أسيتو أسيتات الإيتيل، ومن ثم أجريت مفاعلة المركب الناتج مع ثيو سيمي كاربازيد لتشكيل المركبات الحلقية الموافقة. حددت هوية المركبات باستخدام تقانة مطيافية التحليل البروتيني النووي ومطيافية الكتلة ومطيافية الأشعة تحت الحمراء، درست الفعالية المضادة للأكسدة بتعيين القدرة على كبح الجذور الحرة باختبار الـ DPPH الذي أظهر فعالية جيدة لها كمضادات أكسدة. كما درست الفعالية الحيوية على بعض أنواع البكتيريا. أظهرت هذه الدراسة فعالية واضحة لمشتقات الكومارين الجديدة تجاه الجراثيم الموجبة والسالبة للغرام.

الكلمات المفتاحية: الكومارين، الفينولات، المركبات الحلقية، أسيتوأسيتات الإيتيل، مضادات الأكسدة، DPPH.

(<sup>1</sup>) طالبة دكتوراه، (<sup>2</sup>) أستاذ، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.

## **Synthesis and characterization of new Coumarin Derivatives starting with different phenols and study of their Biological and Antioxidant Activities.**

**T. Al-Awad<sup>(1)</sup>; F. Kandil<sup>(2)</sup> and S. Hamo<sup>(2)</sup>**

Received 24/08/2014

Accepted 24/12/2014

### **ABSTRACT**

Three new Coumarin derivatives were synthesised of different Phenols and Ethylacetoacetate. The produced compounds were reacted with Thiosemicarbazid. The prepared compounds were characterized by (<sup>1</sup>H-NMR, IR, and MS) Sprctroscopies. The Antioxidant Activity was studied by DPPH radical scavenging activity. The tested compounds showed good antioxidant activity. The biological activity was studied with some kinds of bacteria. The present study showed activity on staphylococcus oureus odu Escherichia coli.

**Key words:** Coumarin, Phenols, Cyclo compound, Ethyl acetoacetate, Antioxidants, DPPH.

---

<sup>(1)</sup> Ph. D., Student, <sup>(2)</sup> Prof., Department of Chemistry, Damascus University, Syria.

## المقدمة

يوجد كثير من الأسباب التي جعلت عدداً من الباحثين يعملون على تطوير طرائق جديدة لتحضير مشتقات الكومارين. التطبيقات الواسعة لهذه المركبات خاصة في المجال البيولوجي بوصفها مركبات دوائية [1]، إذ أظهرت مجموعة من مشتقات الكومارين فعالية مضادة لسرطان الدم [2]، كما أظهرت مشتقات أخرى فعالية ضد البكتريا والفطريات *Aspergillus Niger* التي تسبب التسمم الغذائي، وأظهرت مشتقات أخرى فعالية ضد الالتهابات، أما صناعياً فقد استخدمت بوصفها مادة مازة في أعمدة الفصل [3].

في العام 2000 حضرت مشتقات جديدة من تفاعل الريزورسينول مع مشتقات فينولية، ومعالجة الناتج مع كلورو أسيتات الإيتيل، فتشكلت المركبات الحلقية الموافقة، إذ استخدمت كمضادات فطرية وبكتيرية [4].

حضرت في العام 2005 مشتقات للكومارين انطلاقاً من مركبات فينولية مختلفة فأثبتت نجاحها في عملية استخلاص المعادن بواسطة تقنية الاستخلاص (سائل - سائل) المعروفة التي تقوم على نقل المادة المذابة من الطور المائي إلى الطور العضوي، وتحديد نسب الاستخلاص بتقنية الأشعة فوق البنفسجية [5].

في العام 2009 حضر بعض مشتقات الكومارين انطلاقاً من الريزورسينول مع أسيتو أسيتات الإيتيل، ودرست الخواص المضادة للأكسدة لهذه المركبات إذ استخدمت كمضادات أكسدة (Antioxidant)، وهي عبارة عن مركبات ذات لون أحمر بتركيز  $10^{-4}M$ ، وذات طول موجي (517nm) باستخدام تقنية الأشعة فوق البنفسجية، ومن أجل دراسة الفعالية المضادة للأكسدة استخدم ثنائي فينيل بكريل هيدرازيل (DPPH) كمركب عياري لتعيين القدرة على كبح الجذور الحرة [6].

**أهمية البحث:** في هذا البحث حضرت مشتقات للكومارين انطلاقاً من مركبات فينولية مع أسيتوأسيتات إيتيل، ودرست فعاليتها الحيوية وخواصها المضادة للأكسدة

## مواد البحث وطرائقه

**مواد البحث:** تم الحصول على المواد المستخدمة في هذا البحث من شركة ميرك (Merck) وهي أسيتوأسيتات الإيتيل وهيدروكسي أسيتوفينون ودي هيدروكسي التولوين والإيتانول والأسيتونتريل والميتانول 2-أمينوالفينول وتولوين وكلوروفورم وDPPH، وقد استخدم الماء المقطر في بعض التجارب.

## الأجهزة المستخدمة:

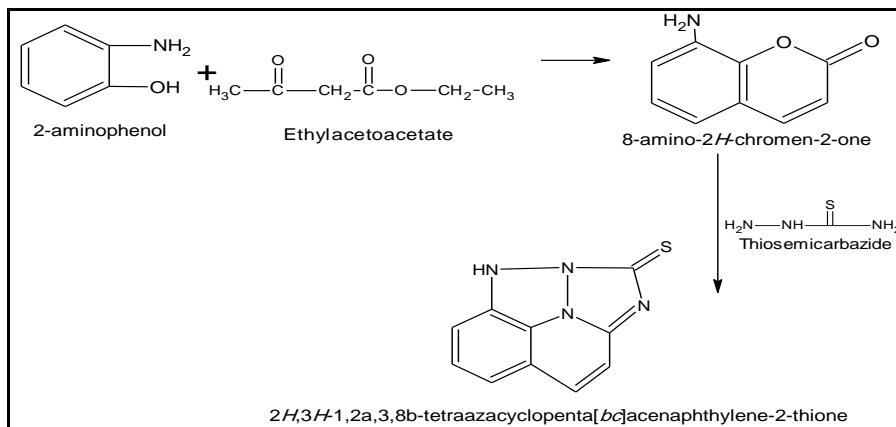
(1) سخان كهربائي مع خلاط أو محرك مغناطيسي Nuova Stir hot plate - Japan

- (2) ميزان الكتروني ذو أربعة أرقام عشرية Sartorius basic -China
- (3) سبيكترو فوتومتر من نوع JASCO-V-630 (UV-VIS) -Japan
- (4) مطياف ما تحت الأحمر من نوع FT\ IR – 4100 – JASCO-Japan
- (5) جهاز LC-MS من شركة KRATUS -JAPAN
- (6) مطياف الطنين المغناطيسي النووي يعمل على تواتر 400MHZ من شركة Bruker الألمانية.

### الاصطناع:

تحضير H2, H3, a2,1-b8, 3, 1-تترا أزا سيكلو بنتا [bc] أسينا فثيلين 2-ثيون (I):

يحل 1.09 غ (0.01 مول) من أورتو الأمينوفينول مع 1.3 غ (0.01 مول) من أسيتو أسيتات الإثيل. يسخن المزيج حتى الدرجة 150 س° مع التحريك المستمر مدة 12 ساعة. يترك المزيج ليبرد فيتشكل راسب. يرشح الراسب ويغسل بالماء المقطر، ثم يضاف 0.091 غ (0.01 مول) ثيوسيمي كاربازيد. يحرك المزيج مدة 12 ساعة بدرجة حرارة الغرفة، ويترك المزيج ليبرد فتتشكل بلورات حمراء اللون، يرشح الراسب ويغسل بالماء المقطر عدة مرات، ثم تنقى البلورات المتشكلة بإعادة البلورة في الإيثانول. ينقى الراسب من جديد بواسطة العمود الكروماتوغرافي باستخدام الطور المتحرك (إيثانول: كلوروفورم) (50:50 حجم/حجم). ينحل المركب المحضر بالأسيتو نتريل:



(I)

المردود (63.55%)، درجة الانصهار (188-200) س°،  $R_f = 0.59$  (أسيتون: ماء) (50:50 حجم/حجم)

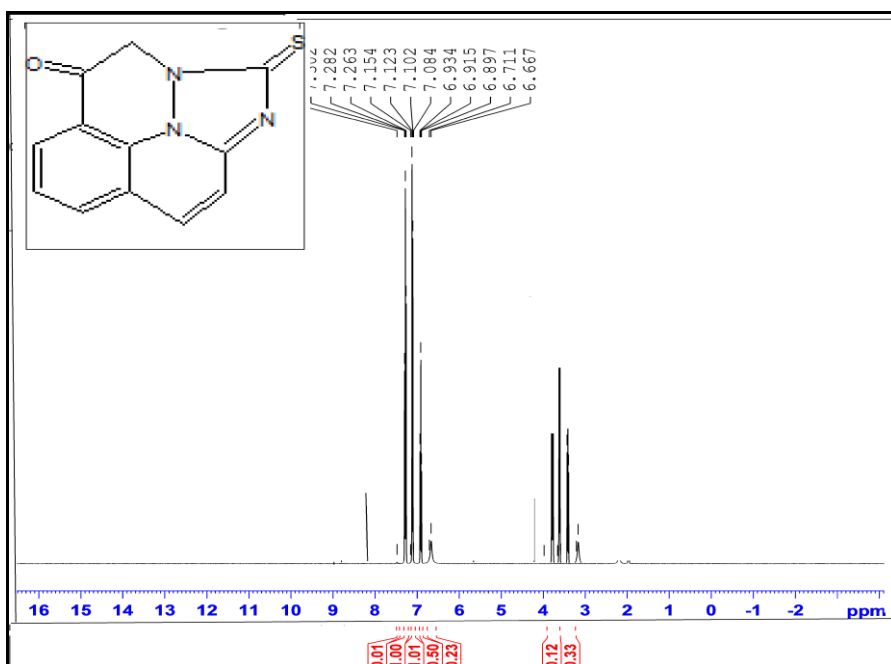
(MS): m/z=214

IR (KBr pellets,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3425.5 (-NH), 1651.1 (C=S), 1650 (C=N), 1610.5

(C=C)<sub>arom</sub>, 3028.8 (-C-H)<sub>arom</sub>, 3000.7 (C-H)<sub>ALphatic</sub>

$^1\text{H NMR}$ : (CD<sub>3</sub>CN): 7.24-8.26(m, Ar-H), 7.412(-HC=CH-), 7.25(H, -NH).

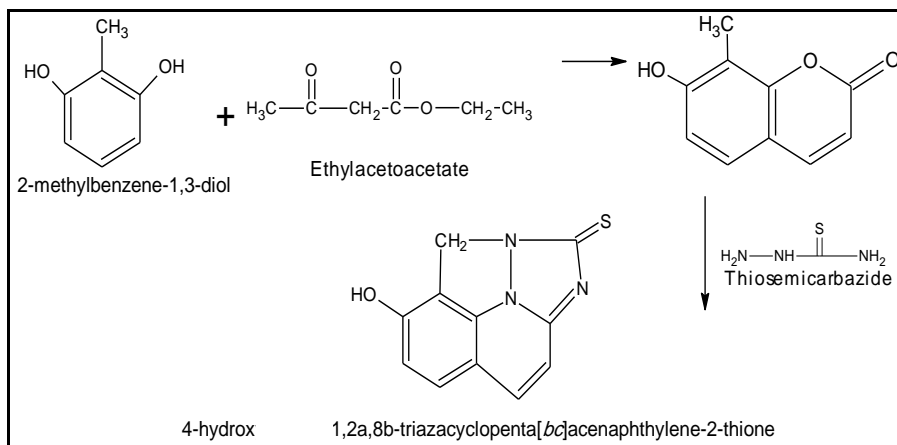




الشكل (2) طيف NMR للمركب (II)

### تحضير 4-هيدروكسي-1,2,8-b- تري أزا سيكلونينا أسيناثيلين -2 - ثيون: (III)

يحل 1.24 غ (0.01 مول) من 2-متيل بنزن 3,1-ديول مع 1.3 غ (0.01 مول) من أسيتو أسيتات الإثيل. يسخن المزيج حتى الدرجة 150س° مع التحريك المستمر مدة 12 ساعة. يترك المزيج ليبرد فيتشكل راسب. يرشح الراسب ويغسل بالماء المقطر ثم يضاف 0.091 غ (0.01 مول) من ثيوسيمي كاربازيد. يحرك المزيج مدة 12 ساعة بدرجة حرارة الغرفة، ويترك المزيج ليبرد فتتشكل بلورات ذات لون أحمر فاتح، يرشح الراسب ويغسل بالماء المقطر عدة مرات ثم تنقى البلورات المتشكلة بإعادة البلورة في الإيثانول. ينقى الراسب من جديد بواسطة العمود الكروماتوغرافي باستخدام الطور المتحرك (إيثانول: كلوروفورم) (50:50 حجم/حجم). ينحل المركب المحضر بالأسيتو نتريل:

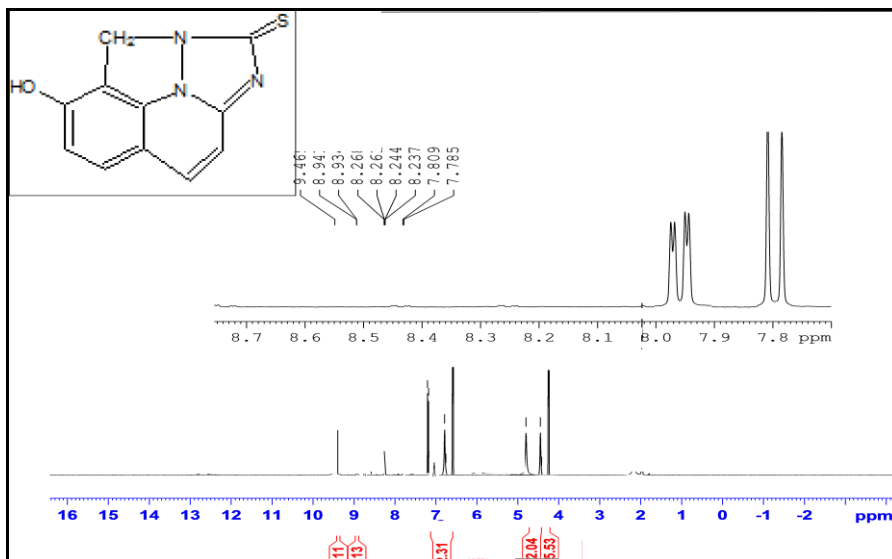


(III)

المردود (42,76%)، درجة الانصهار (226-225) س<sup>°</sup>،  $R_f = 0.61$  (أسيتون: ماء) (50:50 حجم/حجم)  
(MS):  $m/z = 299$

IR : (KBr pellets, cm<sup>-1</sup>): 3400.5 (-OH), 1651.1 (C=S), 1612.5 (C=C)arom, 3002.8 (-CH)arom, 1645 (-C=N)

<sup>1</sup>H NMR: (CD<sub>3</sub>CN): 9.2 (1H, -OH), 4.1 (3H, CH<sub>2</sub>), 7.24-8.26 (m, Ar-H), 7.439 (-HC=CH-).



الشكل (3) طيف NMR للمركب (III)

1- دراسة الفعالية الحيوية: درست الفعالية الحيوية للمركبين (I, II) مع بعض الجراثيم الموجبة والسالبة للغرام [7]، والنتائج موضحة في الجدول الآتي 3=n (إذ n عدد مرات تكرار التجربة):

الجدول (2) يتضمن الجدول الآتي نتائج دراسة الفعالية الحيوية للمركبين I,II.

<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Salmonella sp</i>			<i>Klebsiella sp</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Escherichia coli</i>			التركيز	
30	30	29	21	20	20	9	12	11	13	14	14	10	10	9	10 <sup>-3</sup> g/l	1
33	32	32	26	26	26	0	0	0	18	17	17	10	10	9	10 <sup>-4</sup> g/l	1
32	32	32	25	25	25	0	0	0	18	19	19	10	10	9	10 <sup>-3</sup> g/l	2
30	30	30	21	21	21	9	10	10	12	12	12	10	10	9	10 <sup>-4</sup> g/l	2

2- تعيين القدرة على الكبح (الخواص المضادة للأكسدة):

تعيين القدرة على كبح الجذور الحرة باختبار الـ DPPH ثنائي فينيل بكريل هدرزيل بطريقة Blois وتتم بواسطة جذر حر وثابت له لون بنفسجي في الحالة الحرة يتحول إلى اللون الأصفر في الحالة المعتدلة [8] .

يحل 0.045g (0.1) مول (DPPH-) 2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl في الميثانول النقي حتى الحصول على تركيز 0.2 mM. ثم يُحضَّر أربعة محاليل من المركبات المحضرة في الميثانول النقي بتركيز (1250, 1000, 750, 500, 250) ميكروغرام/مل تعادل (0.1 مول). يستعمل الفيتامين C كمركب مرجعي تقاس به القدرة على كبح الجذور الحرة بسبب قدرته الإرجاعية. يوضع في أنبوب اختبار 1مل من المحلول المراد اختباره، ثم يضاف إليه 5مل من محلول الـ DPPH. بعد التحريك توضع الأنابيب في مكان مظلم في درجة حرارة الغرفة مدة 20 دقيقة. تقاس الامتصاصية في جهاز الـ UV عند طول موجة 517 نانومتراً (المحل الشاهد يكون 2.5 مل من الميثانول النقي+1مل من الـ DPPH).

تحسب نسبة كبح الجذور الحرة بالطريقة الحسابية الآتية [9].

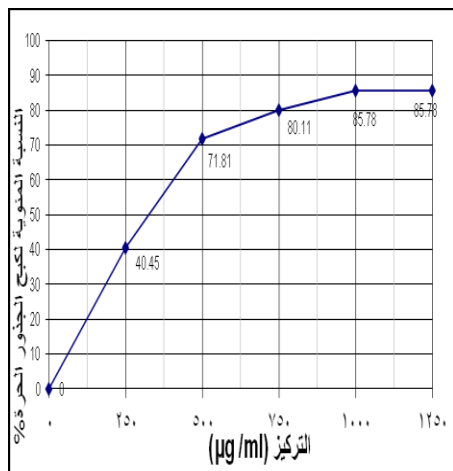
$$DPPH\% = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100$$

إذ  $A_A$  امتصاصية العينة،  $A_B$  امتصاصية العينة الشاهدة

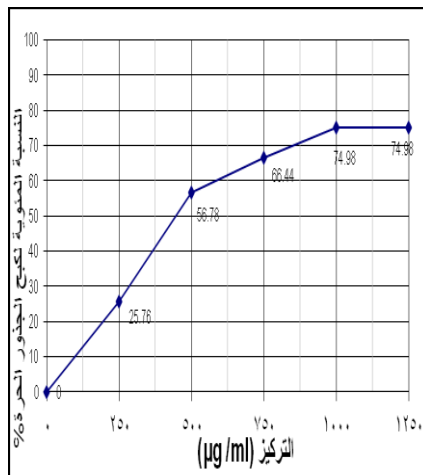
الجدول (2) نتائج اختبار الـ DPPH (نسب كبح الجذور الحرة على المركبات المحضرة).

التركيز (µg/ml)	0	250	500	750	1000	1250
النسبة المئوية للمركب I	0	25.76	56.78	66.45	74.98	74.98
النسبة المئوية للمركب II	0	45.45	63.65	78.90	86.87	86.87
النسبة المئوية للمركب III	0	33.77	45.77	69.22	90.22	90.22

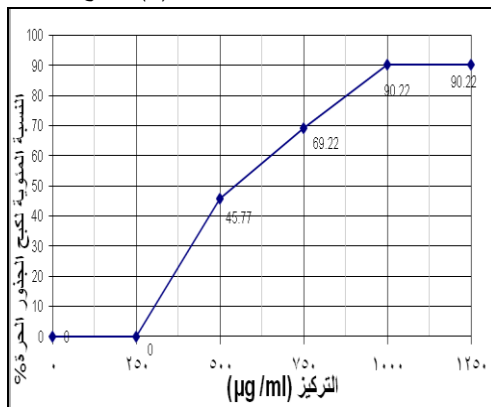




الشكل (2) نتائج اختبار DPPH للمركب II



الشكل (1) نتائج اختبار DPPH للمركب I



الشكل (3) نتائج اختبار DPPH للمركب III

### النتائج والمناقشة

1- حضر المشتق (I) انطلاقاً من تفاعل أورثوأمينوفينول مع أسيتوأسيتات الإيتيل ومعالجة الناتج مع ثيوسيمي كاريبيد. حددت هوية المركب الناتج بواسطة مطيافية ماتحت الأحمر IR ومطيافية الكتلة MS ومطيافية الطنين المغناطيسي النووي  $^1\text{H-NMR}$ . إذ يلاحظ في طيف IR لهذا المركب اختفاء عصابات امتصاص زمرة الهيدروكسيل التابعة لأورثو أمينوالفينول والزمرة الكربونيلية التابعة لأسيتو أسيتات الإيتيل وظهور عصابة امتصاص الزمر الامينية والإيمينية، وزمرة الثيوكربونيل، كما أظهر طيف الكتلة القمة 214 الموافقة

للكتلة الجزيئية للمركب المذكور، ويتضمن طيف  $H^1NMR$  لهذا المركب الانزياحات الكيميائية لبروتونات زمر الأمين والروابط المضاعفة والحلقة العطرية.

2- حضر المشتق الكوماريني (II) انطلاقاً من تفاعل 2-هيدروكسي أسيتوفينون مع أسيتوأسيتات الإثيل، ومفاعلة الناتج مع ثيوسيمي كاربازيد. حددت هوية المركب بواسطة مطيافية ماتحت الأحمر IR ومطيافية الكتلة MS ومطيافية الطنين المغناطيسي النووي  $H^1NMR$ . إذ يلاحظ في طيف IR لهذا المركب اختفاء عصابات امتصاص زمرة الهيدروكسيل العائدة 2-هيدروكسي أسيتوفينون والزمرة الكربونيلية التابعة لأستيو أسيتات الإثيل وظهور عصابة امتصاص الزمر الأمينية وزمرة الثيوكربونيل، كما أظهر طيف الكتلة القمة 241 الموافقة للكتلة الجزيئية للمركب المذكور، ويتضمن طيف  $H^1NMR$  لهذا المركب الانزياحات الكيميائية للبروتونات الميثيلية والروابط المضاعفة والحلقة العطرية.

3- حضر المشتق الكوماريني (III) انطلاقاً من تفاعل 2-ميتيل بنزن 1,3-ديول وأستيوأسيتات الإثيل ومعالجة الناتج مع ثيوسيمي كاربازيد. حددت هوية المركب بواسطة مطيافية ماتحت الأحمر IR ومطيافية الكتلة MS ومطيافية الطنين المغناطيسي النووي  $H^1NMR$ . إذ يلاحظ في طيف IR لهذا المركب اختفاء عصابات امتصاص زمرة الهيدروكسيل التابعة لأمينوالفينول والزمرة الكربونيلية التابعة لأستيو أسيتات الإثيل، وظهور عصابة امتصاص الزمر الأمينية وزمرة الثيوكربونيل والزمرة الهيدروكسيلية، كما أظهر طيف الكتلة القمة 299 الموافقة للكتلة الجزيئية للمركب المذكور، ويتضمن طيف  $H^1NMR$  لهذا المركب الانزياحات الكيميائية للبروتونات الميثيلية والروابط المضاعفة والزمرة الهيدروكسيلية والحلقة العطرية.

4- اختُبر المركبان المحضران (II,I) على أنواع من الجراثيم منها الإيجابية للغرام (*Staphylococcus aureus*) والسالبة للغرام (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp.* *Salmonella sp.*)

فكانت الفعالية الحيوية واضحة لكلا المركبين، بالنسبة إلى المركب (I) وعند التركيز  $10^{-3}$  غ/ل أثبت فعاليته ضد أنواع الجراثيم جميعها وعندما انخفض التركيز إلى  $10^{-4}$  غ/ل كان مضاداً لأنواع الجراثيم كلها باستثناء *Klebsiella sp.* في حين لوحظ أن المركب (II) كان مضاداً لأنواع الجراثيم كلها دون استثناء *Klebsiella sp.* أيضاً، وعندما انخفض التركيز إلى  $10^{-4}$  غ/ل أصبح مضاداً لأنواع الجراثيم كلها دون استثناء.

5- أظهرت نتائج اختبار DPPH على المركبات المحضرة قدرة كبيرة على كبح الجذور الحرة، كانت نسب الكبح بالنسبة إلى المركب III عالية جداً مقارنة بالمركبات الأخرى، إذ وصلت نسبة الكبح 90,22% وأقل نسبة كبح للمركب I إذ بلغت 74,98%، مع العلم أن

النسبة المئوية تتزايد مع ازدياد تركيز المركب المدروس حتى تثبت عند التركيز 750 ميكروغرام /مل.

### الاستنتاجات

- 1- سهولة اصطناع مشتقات عضوية للكومارين انطلاقاً من فينولات مختلفة وهي:  
(I) H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>-1,2,3-b-تترا أزاسيكلو بنتا [bc]أسيناقتلين-2-ثيون  
(II) 2-ثيوكسو H<sub>2</sub>, 1,2,3-b تري أزاسيكلو بنتا فينالين 4(H<sub>3</sub>)-ثيون  
(III) 4-هيدروكسي H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, 1,2,3-b تري أزا سيكلوينتا أسيناقتلين-2-ثيون
- 2- عينت هوية المركبات المحضرة بواسطة مطيافية الكتلة (MS)، ومطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR)، ومطيافية (H<sup>1</sup>NMR)؛ وأكدت المعطيات الطيفية تشكل المركبات المحضرة.
- 3- درست الفعالية الحيوية للمركبين (I, II) وأثبتت فعاليتها الحيوية للعديد من الجراثيم الموجبة والسالبة للغرام عند تراكيز محددة.
- 4- درست الخواص المضادة للأكسدة للمركبات المحضرة وأثبتت قدرتها على كبح الجذور الحرة لكاشف الـ DPPH بنسب مئوية مختلفة.
- 5- يمكن تحضير مركبات ذات خواص طبية انطلاقاً من المركبات المحضرة واستخدامها في المجالات الدوائية والصناعية المتعددة.
- 6- تطبيق المركبات المحضرة في تقنيات الاستخلاص وانتزاع الشوارد من الأوساط المائية.

## References

- 1- Nofal, Z. M., El-Zahar M. I. and Abd El-Karim. S. S. 2000. Novel Coumarin Derivatives with Expected Biological Activity, Cairo, Egypt. *Drug Research*, 67(4): 423-427.
- 2- Kadhum H. 1, Ahmed A. Al-Amiery 1, 2, Ahmed Y. Musa 1 and Abu Bakar Mohamad 1. 2011. The Antioxidant Activity of New Coumarin Derivatives, Iraq, *Journal of Molecular Sciences, Int. Ed.*, 112: 5677 – 659.
- 3- Satyanarayana, V. S. V., Sreevani, P., AmaravadiSivakumar, and Vijayakumar. V. 2008. Synthesis and antimicrobial activity of new Schiff bases containing coumarin moiety and their spectral characterization India, VIT University, Vellore-632014.
- 4- Mona A. Hosny, Hyam A. Radwan. 2005. Synthesis and Anticancer Activity of Some New Derivatives of Coumarin and Quinolinyl Mercaptotriazoles, Cairo, Egypt. *Chem., Int. Ed.*, 47: 6877 – 6880.
- 5- Valizadeha, H. and Shockravib. A. 2009. An efficient procedure for the synthesis of coumarin derivatives using TiCl<sub>4</sub> as catalyst under solvent-free conditions, Tehran, Iran. *Eur. Jour. Med. Chem.* 40: 694-700.
- 6- Satyanarayana, V. S. V., Sreevani, P., Amaravadi Sivakumar, and Vijayakumar. V. 2009. Synthesis and antimicrobial activity of new Schiff bases containing coumarin moiety and their spectral characterization, India, *Drug Research*, 32: 221-233.
- 7- Casadevall, A., MD. Scharff. Return to the past. 1995. The case for antibody -based therapies in infectious diseases. *Clin Infect Dis*, 21, 150–61.
- 8- Mohammadi. Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxidant des huiles essentielles et des flavonoides de quelque plantes de la region de tlemcen .algerie, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15: 3177–3180.