

تحضير بعض مشتقات بنزاميداوزل ودراسة خواصها الطيفية وفعاليتها الحيوية

محمد عبد كاظم* و بسام رمضان سرheid**

* كلية التربية/ جامعة الأنبار

** كلية الزراعة/ جامعة الأنبار

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة تحضير عدد من مشتقات المركب Benzimidazole التي شملت مركبات قواعد شيف Schiff bases (a-e) المحضرة عن طريق التكثيف المباشر بين بنزاميداوزل وبعض الالديهيدات الاليفاتية والاروماتية. وتم تشخيص المركبات المحضرة بواسطة الطرائق الطيفية (طيف الأشعة تحت الحمراء (I.R.) والتحليل الدقيق للعناصر (C.H.N.) وطيف الرنين النووي المغناطيسي (N.M.R) وطيف الكتلة (MS). تم قياس الفعالية المضادة للبكتريا تجاه المركبات المحضرة على ثلاثة أنواع من البكتريا المرضية. وتمت مقارنة فعالية المركبات المحضرة باستخدام طريقة نشر الأقراص حيث لوحظ إن لبعض هذه المركبات فعالية مضادة للبكتريا.

Preparation of some Benzimidazole derivatives and study of their spectrometric properties and biological activity

M. A. Kazem* and B. R. Serheed**

* College of Education\ University of Al-Anbar

** College of Agriculture\ University of Al-Anbar

Abstract

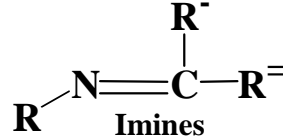
This research discussed the preparation of some derivatives of Benzimidazole which included Schiff base compounds (a-e). They were prepared by direct condensation between Benzimidazole and aliphatic or aromatic aldehydes. The prepared compounds were identified by Infrared spectra (I.R.), micro analysis of elements (C.H.N.), Nuclear magnetic resonance spectrum (N.M.R.) and (MS) spectrum.

Antibacterial activity of the prepared compounds was measured on three genus of pathogenic bacteria. The comparative study of biological activity was done using diffusion , and antibacterial activity was noticed in some of these compounds.

المقدمة

قواعد شيف وخواصها:

قواعد شيف مركبات تحتوي على مجموعة الازومثين (-CH=N-) تم تحضيرها لأول مرة من قبل العالم الألماني Schiff حيث حضر عددا منها بتكاثف الأمينات الأولية الالفاتية والاروماتية وبعض الأحماض الامينية مع الالديهيدات والكيتونات الالفاتية والاروماتية (1-3) , وتعتمد تسمية تلك القواعد على طبيعة المجاميع (R=, R-,R) المرتبطة بمجموعة الازومثين والتي تمتلك الصيغة البنائية العامة (4,5) .



قواعد شيف الاروماتية مواد صلبة وذات استقرار حراري عالٍ (6) , تتراوح ألوانها من الأصفر الفاتح إلى الأحمر , أما تلك المحضرة من الأمينات الالفاتية فهي في الغالب سوائل (7) .
تعد مشتقات بنزاميداوزل من قواعد شيف حيث وصفت مشتقات بنزاميداوزل ذات التنوع الواسع بأهميتها في مجال الكيمياء العلاجية (chemotherapeutic) (8) وقد بينت مركبات الاوكساديازول فعاليتها الحيوية ضد الطفيليات والبكتريا (9)

البكتريا المرضية Pathogenic Bacteria

البكتريا أحياء مجهرية بدائية النواة تتراوح أبعادها بين (1-6 mm) مايكرو متر طولاً ومن (0.5-1 mm) مايكرو متر عرضاً توجد بأشكال مختلفة منها الكروي المتضمن الأنواع المسماة بالمكورات Cocci و الاسطوانية المتضمن أنواعا تدعى العصيات Baccilli و الحلزونية وتضم أنواعاً تدعى بالحلزونات Spirilla . ويشكل الماء 80-90% من وزنها وتحتوي الخلية على مواد أخرى مثل الكربون و النتروجين و الأوكسجين و الفسفور و الحديد والمنغنيز وعناصر أخرى (10).

هناك العديد من البكتريا التي تسبب مختلف الأمراض للإنسان تقسم تبعاً لصبغة كرام التفريقية الى قسمين الأولى : هي البكتريا الموجبة لصبغة كرام (Gram Positive) تظهر تحت المجهر بلون ازرق أو ارجواني ومن الأمثلة على هذا النوع بكتريا (Staphylococcus aureus) و (Staphylococcus viridans) . أما النوع الثاني: فهي البكتريا السالبة لصبغة كرام (Gram negative) وهذه تظهر تحت المجهر بلون احمر أو احمر وردي مثل بكتريا (Pseudomonas aeruginosa) و (Esherichia Coli) .

إن العلاقة بين الإنسان والبكتريا المرضية نشأت من مقدرة بعض الأجناس البكتيرية على إحداث أمراض من خلال امتلاكها فتك بالمضيف الذي تعيش فيه (11).
استخدمت في هذه الدراسة ثلاثة أجناس من البكتريا واحدة موجبة لصبغة كرام واثنان من الأجناس سالبة لصبغة كرام وهي عزلات بكتيرية محلية وذلك لاختبار الفعالية البايولوجية للمشتقات المحضرة .

المواد وطرائق العمل

تم مزج (2.2غم) من المركب 3-(2methylbenzimidazol-1-yl) propanoic acid hydrazide (1) مع (0.012 غم) من أحد الالدهايدات الاليفاتية أو الاروماتية الآتية:

P-nitrobenzaldehyde, O-chlorobenzaldehyde, 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde, P-methoxybenzaldehyde, P-N-N-Dimethylaminobenzaldehyde.

حيث صعد المزيج بوجود الايثانول المطلق (20مل) لمدة خمس ساعات , وبعد التبريد فصل الراسب بالترشيح ثم جفف وأعيدت بلورته باستخدام الايثانول كمذيب . تم تشخيص الناتج بواسطة طيف (I.R.) والتحليل الكمي للعناصر .

الدراسة الحيوية

البكتريا:

استخدمت في هذه الدراسة ثلاث أجناس من البكتريا المرضية إحداها موجبة لصبغة كرام و اثنان سالبة لصبغة كرام و قد عزلت هذه البكتريا من حالات مرضية في مستشفى الرمادي العام.
اختيار حساسية البكتريا تجاه المركبات المحضرة:

لدراسة تأثير المركبات المؤثرة استخدمت طريقة نشر الأقراص (12) التي تستعمل في اختيار فعالية المضادات الحيوية مختبرياً.

طريقة الانتشار حول القرص Disc diffusion method

اجري الاختبار تبعاً لطريقة Bauer و جماعته (13) و المحورة من قبل منظمة الصحة العالمية (14) وفق الخطوات التالية:

استخدمت أطباق وسط (nutrient agar) و حضر الوسط بإذابة (37غم) منه في لتر من الماء المقطر , ثم عقم الوسط بالموصدة Autoclave و بعدها برد إلى درجة حرارة (40 - 45م) ثم صب في أطباق بمعدل (20مل) لكل طبق , و ترك في جو الغرفة لحد التصلب.

حضنت الأطباق بدرجة حرارة (37م) لمدة (24ساعة) للتأكد من خلو الأطباق من التلوث و التخلص من الرطوبة الزائدة حفظت بعدها الأطباق في الثلاجة لحين الاستعمال.

تنشيط العزلات البكتيرية

نقلت (4) مستعمرات من البكتريا قيد الدراسة باستخدام العروة Loop إلى أنبوب اختبار يحتوي على (5مل) من وسط المرق المغذي (Nutrient agar) المعقم , رجت الأنبوبة جيداً و حضنت بدرجة حرارة 37م (لمدة 18ساعة).

تلقيح الأطباق

خفف العالق البكتيري بنسبة (1/100) باستخدام المحلول الفسلجي المعقم ذي التركيز (0.85%) تلافياً لحدوث النمو المكتظ. نقل (0.5مل) من العالق البكتيري المخفف إلى كل طبق, دور الطبق عدة مرات بزاوية (60 درجة) بعد الإضافة, نشر العالق بمسحة قطنية معقمة على سطح وسط الاختبار, مررت المسحة ثلاث مرات ثم تركت الإطباق لمدة (15-20 دقيقة) بدرجة حرارة 37م ليحدث التشرب و يجف.

نشر الأقراص

ثبتت الأقراص باستخدام ملقط Forcep معقم ذو نهاية دقيقة مع الضغط الخفيف على سطح القرص، تركت مسافة لا تقل عن (24ملم) بين قرص و آخر و (1سم) بين القرص و حافة الطبق تلافياً لحدوث التداخل بين مناطق التثبيط. حضنت الأطباق بوضع مقلوب بدرجة حرارة 37م° لمدة (24ساعة).

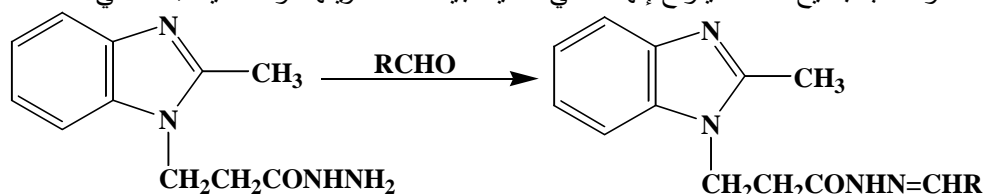
قياس قطر التثبيط

قيس قطر التثبيط لكل قرص باستخدام المسطرة الملمترية و قورنت النتائج مع الجداول الخاصة بالمعادلات القياسية للمضادات الحيوية (15) و عدت البكتريا حساسة (S) أو متوسطة الحساسية (I) أو مقاومة (R) اعتماداً على قطر التثبيط (وهي المنطقة الشفافة المحيطة بقرص المضاد الحيوي بضمنها قطر المضاد نفسه و الخالية من النمو الجرثومي).

النتائج والمناقشة

نتائج تشخيص مركبات قواعد شيف

أن قواعد شيف المشتقة من الالديهيدات الاروماتية تعد مضادات ميكروبية جيدة فقد تم تحضير عدد منها عن طريق تكاثف كميات من البنزاميدازول مع الديهيدات اروماتية و لقد اختير لهذه الدراسة أمينات اروماتية معوضة بمجاميع مختلفة يتوقع إنها تعطي فعالية جيدة عند تكوينها قواعد شيف، كما في المعادلة:



يتضمن التفاعل هجوم نيوكليوفيلي لمجموعة الأمين على كاربون مجموعة الكاربونيل للالديهيد لتكوين N-substituted hemiaminals الذي يفقد جزيء ماء ليعطي المركب المشتق. ويلاحظ في جدول (1) الذي يحتوي على المركبات المشتقة من البنزاميدازول من اجل تقييم النشاط المضاد للبكتريا لها.

جدول (1) البيانات التجريبية والفيزيائية والتحليل الدقيق للعناصر (C.H.N.) للمركبات المحضرة

Comp. No.	R	M.P/C ^o (Recryst. solvent)	Yield%	Formulae (M.wt)	Analysis % Calculated / found		
					C	H	N
a		187-189 Ethanol/H2O	80	C18H17ClN4O (340.84)	63.43 63.41	5.04 5.01	16.44 16.40
b		199-201 Ethanol/H2O	82.7	C18H17N5O3 (351.36)	61.53 61.59	4.88 4.82	19.93 19.99
c		167-169 Ethanol/H2O	88	C19H20N4O2 (336.43)	67.84 67.87	6.00 6.12	16.66 16.69
d		229-231 Ethanol/H2O	85	C19H20N4O3 (352.43)	64.74 64.71	5.73 5.69	15.90 15.96
e		179-181 Ethanol/H2O	90	C20H23N5O (349.48)	68.73 68.68	6.65 6.60	20.04 20.12

وقد شخصت قواعد شيف باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء (I.R.) و طيف الرنين النووي المغناطيسي (N.M.R) والتحليل الكمي للعناصر (C.H.N.) و طيف الكتلة, وجاءت النتائج مطابقة مع الصيغ البنائية المقترحة من قبلنا. (جدول 2).

جدول (2) بيانات الطيف للمركبات المحضرة

Comp. No.	Spectra data
a	IR.(KBr,cm ⁻¹):3100(NH),2990(CH),1671(C=O), (CH=N-) 1640 MS,m/z(%): 342 (M ⁺³⁷ ,Cl,20.7),340(M ⁺³⁵ ,Cl,58.3), 14.5(100)
b	IR.(KBr, cm ⁻¹):3045(NH)2964(CH),1671(C=O),1514,1327(NO ₂)
c	IR.(KBr,cm ⁻¹):3190(NH),3000(CH),1670(C=O), (CH=N-) 1650 ¹ H-NMR.(CDCl ₃ ,δppm):2.45(3H,s,CH ₃ at C-2 of benzimidazole),3.0 (2H,t,j, =7Hz, NCH ₂ CH ₂),3.6(3H,s,OCH ₃),4.35(2H,t,J=7Hz, NCH ₂ CH ₂),and 10.3 (1H,s,NH) . MS,m/z(%):336(M ⁺ ,100).
d	IR.(KBR,cm ⁻¹):3400(OH), 3200(NH),2968(CH),1664(C=O), (CH=N-) 1630 ¹ H-NMR.(DMSO-d ₆ , δ ppm):2.5(3H,s,CH ₃ at C-2 of benzimidazole), 3.0(2H,t,J=7Hz, NCH ₂ CH ₂),3.7(3H,s,OCH ₃),4.35(2H,t,J=7Hz, NCH ₂ CH ₂), 6.65-7.9 (8H,m,7aromatic protons and 1H of N=CH), 9.5(1H,s,OH) and 11.1 (1H,s,NH) MS,m/z(%):352(M ⁺ , 57),145(100).
e	IR.(KBR,cm ⁻¹):3251(NH), 2984(CH), 1672(C=O), (CH=N-) 1640 ¹ H-NMR.(DMSO-d ₆ , δ ppm):2.5(3H,s,CH ₃ at C-2 of benzimidazole), 2.95(6H,s, N(CH ₃) ₂), 3.2 (2H,t,J=7Hz, NCH ₂ CH ₂),4.45 (2H,t,J=7Hz, NCH ₂ CH ₂),6.7-7.9 (9H,m,8aromatic protons and 1H of N=CH), and 11.1 (1H,s,NH)

الفعالية الحيوية

تمت دراسة تأثير جميع المركبات من (قواعد شيف) المحضرة على ثلاث أجناس من البكتريا المرضية منها موجبة لصبغة كرام (Gram positive) و اثنان سالبة لصبغة كرام (Gram negative).

وتمت دراسة حساسية البكتريا تجاه مركبات المحضرة و استخدمت في هذه الطريقة خمس تراكيز في مذيب (DMSO) أن اختيار هذا المذيب يعود لعدم تأثيره على النمو البكتيري و تم تحضير نموذج السيطرة من المذيب لوحده و دراسة تأثيره على البكتريا في نفس الظروف.

لم تظهر بعض المركبات من (قواعد شيف) المحضرة نتائج إيجابية أو (ذات إيجابية قليلة) تجاه البكتريا , و البعض الآخر أعطت نتائج إيجابية جيدة تجاه البكتريا و عليه نقول : أن مقاومة أي جنس من أجناس البكتريا للمركبات الكيماوية ناتج عن وجود غلاف سميك يحيط بالخلية بسبب احتوائه على نسبة عالية من الدهون و الذي يمنع تلك المركبات من دخول الخلية , أو نتيجة لحدوث طفرة في جين معين يؤدي إلى إنتاج أنزيم يسبب مقاومة هذه البكتريا للمادة الكيماوية .

وعليه لغرض محاولة تفسير سبب فعالية المركبات المحضرة في البحث ضد أجناس البكتريا يمكن اقتراح الأسباب الآتية :

1- الصفة المخيلية لبعض المركبات المحضرة إذ يمكنها أن تكون معقدات تناسقية مع الأيونات الموجودة في جسم الخلية البكتيرية مثل البوتاسيوم و الزنك و الحديد .

2- قدرة هذه المركبات على إذابة الطبقة الدهنية لجدار هذه البكتريا مما يسبب نضوح سوائل الخلية إلى الخارج و تدميرها .

3- امكانية تكوين اواصر هيدروجينية بين مجاميع الهيدروكسيل و النتروجين في المركبات و جزيئات الماء و هذا بدوره يؤدي الى تعطيل الافعال الحيوية للخلية و تدميرها .

و قد تكون فعالية هذه المركبات التي لوحظت بسبب احد هذه العوامل او جميعها من وجهة نظرنا. و الجدول (3) يوضح اقطار التثبيط للمركبات المحضرة ضد انواع البكتريا المستخدمة في الدراسة.

جدول (3) بيانات الفعالية الحيوية لمركبات (قواعد شيف) المحضرة

البكتريا المستخدمة			التركيز mg/ml	رقم المركب
<i>Esherichia coli</i>	<i>Pneumonia klebsilla</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		
7	14	0.1	a
.....	4	12	1	
5	11	10	
.....	8	19	20	
5	9	18	40	
.....	14	7	0.1	b
4	16	16	1	
.....	11	22	10	
9	17	18	20	
.....	16	40	
.....	10	0.1	c
6	9	5	1	
3	4	17	10	
.....	17	16	20	
.....	9	20	40	
7	15	0.1	d
5	16	13	1	
.....	22	-----	10	
8	22	9	20	
.....	9	40	
.....	6	18	0.1	e
5	8	12	1	
.....	10	
.....	15	20	
.....	15	40	

المصادر

- 1- Schiff H., Ann., (1864). 131, 118.
- 2- AL-Janabi K. W., (1995). M. Sc. thesis, AL-Mustansiriya, Univ.
- 3- AL-Janabi H. H., (2000). M. Sc. thesis, AL-Anbar Univ.
- 4- Laver R. W. (1963). Chem. Rev., 63, 489.
- 5- Kadhum M. A., (2003). M.Sc. thesis, , AL-Anbar Univ.
- 6- AL-Hity W. f. h., (1988). M.Sc. thesis, College of Education, Saladdin Univ.
- 7- Syke P., (1975). Aguide Book to Mechanism in Organic Chemistry., 4th ed., Longmann, 216.
- 8- Boruan C. R., and Skib E. B., (1994). J. Med. chem., 37, 1625.
- 9- Kubo K., Kohara Y., Yoshimora Y., Inada, Shibouta Y., Furukawa Y., Kato T., Nishikaawa K. and Naka T., (1993) J. Med. Chem., 36, 2343.
- 10- لجنة من تدريسي قسم علوم الحياة. (1991). الاحياء المجهرية. 90 , 306 , 317 , جامعة بغداد.
- 11- Holt J. G., Krieg N. R., Sneathg P. H., Staleg J. T. and Williams S. T., (1994). Sergey's Manual of Deter minative Bacteriology., 9th , U.S.A.
- 12- Seeley H. W. and Vandemark P. J., (1981). Microbes in action., 3rd ed., W. H. Free man and company, U.S.A., 178.
- 13- Bauer A. W., Kirby W. A. M., Sherris J. S. and Turk M. Amer., (1966). J. Clin Pathol., 45,493.
- 14- Vandepitte J., Engbaek K., Piot P. and Heuck C. C., (1991). Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology., World Health Organization Geneva.
- 15- Garrod L. P., Lambert H. P., Ogrady F. and Water P. M., (1981). Antibiotic and Chemotherapy., 5th ed. Churchill Living Ston , Edinburgh, London.