

سنتز و بررسی اثر ضد باکتری مشتق جدید تتراآزوکالیکس [۴] آرن بر باکتری باسیلوس سرئوس

کعبه رهنمای لاکمه سری^{۱*}، سعید تقوایی گنجه‌علی^۲، رضا زادمرد^۳ و مینا روشنی^۴

۱- دانشجوی دکترای شیمی آلی، دانشکده علوم پایه، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۲- استاد شیمی آلی، دانشکده شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دانشیار شیمی آلی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران

۴- دانشیار شیمی آلی، دانشکده علوم پایه، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

دریافت: مهر ۱۳۹۴، پذیرش: آذر ۱۳۹۴

چکیده: در این پژوهش مشتق تترا آزو کالیکس [۴] آرن بر پایه ۲ و ۶- دی آمینو پیریدین به وسیله واکنش کوپلینگ آزو میان نمک تترا دیازونیم کالیکس [۴] آرن و ۲ و ۶- دی آمینو پیریدین سنتز شده است. شناسایی ترکیب به دست آمده به وسیله روش‌های طیف‌سنجی (فروسرخ، فرابنفش، ¹³CNMR، ¹HNMR و جرمی) صورت گرفت. ویژگی ضد باکتری با استفاده از آزمون رقیق‌سازی محیط کشت (broth macrodilution) انجام شد. این بررسی روی چهار سویه استاندارد انتخابی، دو گرم مثبت (باسیلوس سرئوس و استافیلوکوک اورئوس) و دو گرم منفی (اشرشیاکلی و سودو موناس آئروژینوزا) صورت پذیرفت.

واژه‌های کلیدی: آزو- کالیکس [۴] آرن، ۲ و ۶- دی آمینو پیریدین، ویژگی ضد باکتری

مقدمه

متشکل از واحدهای فنلی است، که به وسیله پل‌های متیلن به یکدیگر متصل شده‌اند [۲۱ و ۲۲].

کالیکس آرن‌ها به عنوان پذیرنده‌هایی که به وسیله عامل‌دار شدن ناحیه بالایی و پایینی آن تهیه می‌شوند [۲۳]. آن‌ها به صورت ترکیب‌های فعال شیمیایی، الکتروشیمیایی و حسگرهای نوری به کار می‌روند [۲۴ تا ۲۶] که ناشی از توانایی‌شان در کی‌لیت کردن یون‌ها و مولکول‌ها به صورت انتخابی و گزینشی است [۲۷ تا ۳۰]. نشانند گروه‌های عاملی بر روی کالیکس [n] آرن‌ها می‌تواند گروه جدیدی از کالیکس [۴] آرن‌ها دارای کاربردهای گوناگون عنوان شده را ایجاد کنند [۳۱ تا ۳۸].

Fatima [۳۹] و kalchenko و همکارانش [۴۰] در گزارش‌هایی

ترکیب‌های آزو طبقه‌ای از ترکیب‌های شامل پیوند دوگانه $N=N$ با توانایی جذب نور مرئی هستند و به طور گسترده‌ای در کاربردهای عملی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱ تا ۴]. این ترکیب‌ها به طور موفقیت‌آمیزی به عنوان سوئیچ‌های نوری [۵ و ۶]، صافی‌های رنگ LCD [۷]، حسگرهای شیمیایی [۸ و ۹]، لیزر [۱۰] و ذخیره‌سازی داده‌های نوری [۱۱] به خدمت گرفته می‌شوند. در این میان برخی از مطالعه‌ها به شناسایی و خالص‌سازی و کاربرد ساختارهای آزوی سنتزی و طبیعی به عنوان ترکیبات ضد باکتری اختصاص داده شده است [۱۲ تا ۲۰]. کالیکس [۴] آرن‌ها خانواده‌ای از سوپرامولکول‌های حلقوی هستند که دارای حفره‌ای

رسانیده شد. برای تشکیل آنیون کالیکس حدود یک ساعت و سی دقیقه به مخلوط واکنش زمان داده شد پس از این مدت ۱/۹ میلی لیتر ۱-یدوپروپان در مدت ۱۰ دقیقه به صورت یکنواخت به مخلوط واکنش افزوده شد. مخلوط واکنش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد در شرایط باز روانی هم زده شد. سپس محتویات بالن به ۵۰ ml آب افزوده و با دی کلرومتان استخراج شد. فاز آلی به دست آمده چند بار به وسیله آب شسته شد. پس از خشک کردن فاز آلی با سدیم سولفات و تبخیر حلال از تبلور مجدد جامد به دست آمده در مخلوط دی کلرومتان و متانول، فراورده جامد سفیدرنگ با بازده ۶۵٪ به دست می آید. شکل ۱ روش سنتز این ترکیب را نشان می دهد.

¹HNMR (500 MHz, CDCl₃): (1.02 (12H, t, CH₃), 1.6 (36H, s, C(CH₃)₃), 2.06 (8H, m, CH₂), 3.15 (4H, d, ArCH₂Ar), 3.86 (8H, t, OCH₂), 4.46 (4H, d, ArCH₂Ar), 6.82 (8H, S, ArH)

سنتز ۵، ۱۱، ۱۷، ۲۳ تترا نیترو - ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸- تترا پروپوکسی کالیکس [۴]/آرن (۳)

۲،۴۵ گرم (۳ mmol) از ترکیب ۲، داخل یک بالن ریخته و به آن مقدار ۱:۱ از ۳۰ میلی لیتر دی کلرومتان و ۳۰ میلی لیتر استیک اسید کلاسیال افزوده شد. بالن در حمام یخ و نمک در ۵- درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد. درحالی که محتویات بالن به هم خورده می شد، ۱۷ میلی لیتر از نیتریک اسید ۶۵٪ به تدریج (قطره قطره) افزوده شد، در این مرحله بر اثر آزاد شدن گاز NO₂ رنگ محلول بنفش تیره می شود، پس از این مرحله هم زدن محلول در دمای اتاق تا تغییر رنگ به زرد روشن ادامه یافت و استخراج با دی کلرومتان انجام شد. پس از تبخیر حلال، به منظور خالص سازی جسم جامد به دست آمده با حلال های دی کلرومتان و متانول تبلور مجدد شد. به این ترتیب رسوب زردرنگ با بازده ۵۸٪ به دست آمد.

¹HNMR (500MHz, CDCl₃): (1.08 (12H, t, CH₃), 1.94 (8H, m, CH₂) 3.44 (4H, d, ArCH₂Ar),

فعالیت درمانی کالیکس [۴] آرن ها و مشتق های آن را شرح داده اند این گزارش ها حاکی از آن است که برخی از این ترکیب ها فعالیت های جالبی علیه باکتری ها از خود نشان داده اند [۴۱ و ۴۲]. در دهه گذشته چند مثال از مشتق های کالیکس آرن هایی که قادرند با مولکول های زیستی برهم کنش کنند گزارش شده است [۴۳]. در این پژوهش سنتز مشتق تترا آزوکالیکس [۴] آرن بر پایه ۲ و ۶- دی آمینو پیریدین ارایه شده است.

پس از شناسایی، رفتار ضد باکتری آن مورد بررسی قرار گرفته است. بررسی رفتار ضد باکتری روی چهارسویه استاندارد انتخابی، دو باکتری گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس، باسیلوس سرئوس) و دو باکتری گرم منفی (اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا) انجام شده است. بررسی های ضد باکتری بر اساس روش finegold and baron (۱۹۹۰) است [۴۵].

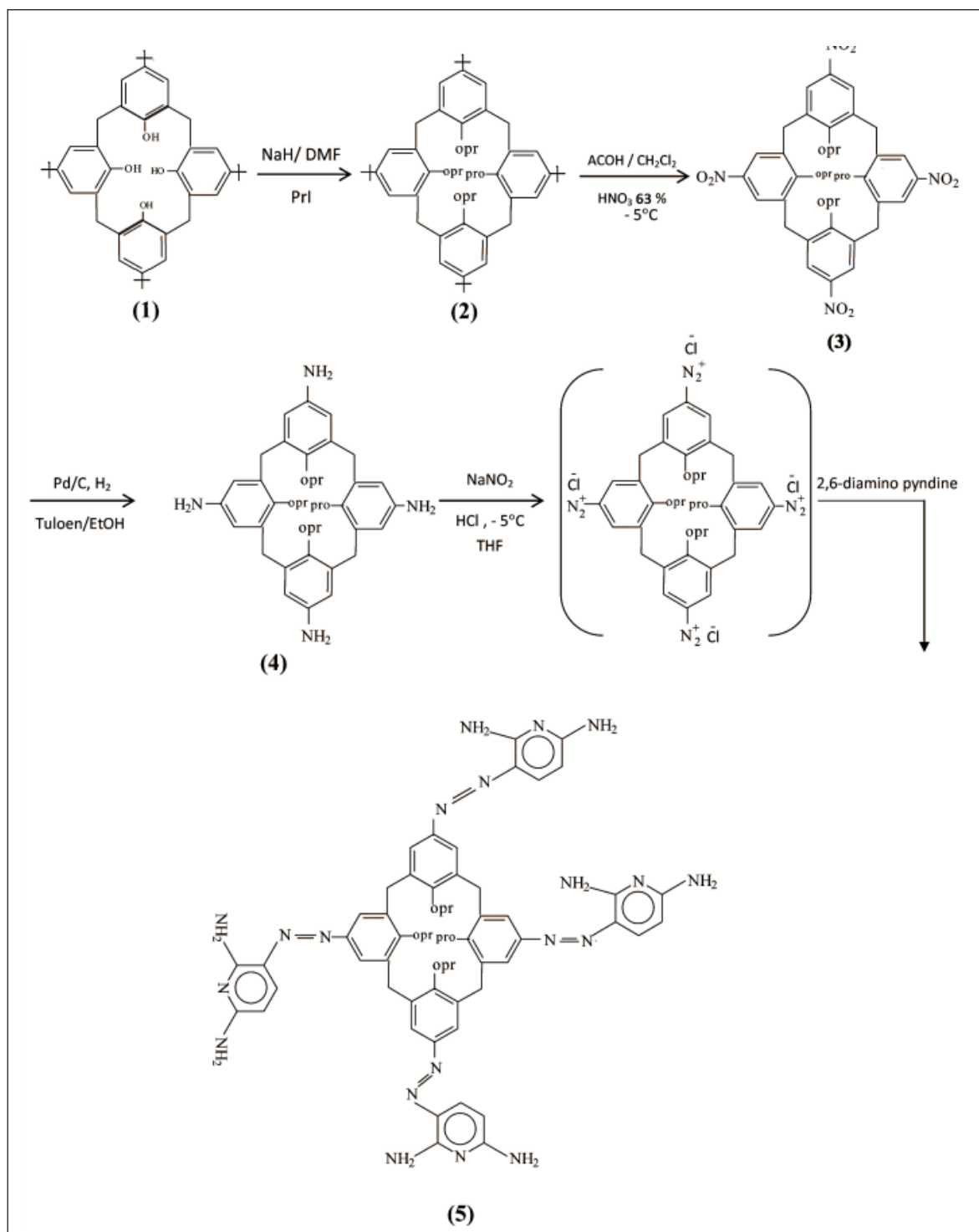
بخش تجربی

مواد و روش ها

پاراتریشیوبوتیل فنل، ۱- یدوپروپان، سدیم هیدرید، ۲ و ۶- دی آمینو پیریدین از شرکت مرک، استون، استیک اسید گلاسیال، دی کلرو متان، متانول، فرمالدهید و سود از شرکت دکتر مجلی تهیه شدند.

سنتز ۵، ۱۱، ۱۷، ۲۳- تترا تریشیوبوتیل ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸- تترا پروپوکسی کالیکس [۴]/آرن (۴)

۰،۴۸ گرم سدیم هیدرید ۶۰ درصد در روغن معدنی را تحت جو آرگون، دو تا سه بار با ده میلی لیتر هگزان خشک شسته شد تا روغن موجود در سدیم هیدرید در حلال حل شود و سدیم هیدرید بیشینه فعالیت خود را به دست آورد (مقدار مازاد سدیم هیدرید به مخلوط واکنش افزوده می شود تا آب موجود در دی متیل فرامید را از بین ببرد) پس از این مرحله حدود ۳۰ میلی لیتر دی متیل فرامید روی سدیم هیدرید ریخته شد. پس از چند دقیقه هم زدن، ۰،۶۵ گرم (۱ mmol) پاراتریشیوبوتیل کالیکس [۴] آرن (۱) به مخلوط واکنش افزوده و دمای واکنش به ۸۰ درجه سانتی گراد



شکل ۱ چگونگی سنتز تتراآزو کالیکس [۴] آرن بر پایه ۲ و ۶ دی آمینو پیریدین

آن‌گاه مخلوط واکنش در ۱۰۰ ml آب ریخته شد. رسوب تشکیل شده روی کاغذ صافی جمع‌آوری و با آب شسته و سپس خشک شد. فراورده به‌دست آمده با بازده ۶۵٪ به دست آمد.

MP > 300 °C (decomposed). IR (KBr): ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) = 3346 (N-H), 2960 (arom. C-H), 2873 (aliph. C-H), 1583 (C=C), 1448 (N=N), 1204, 1114 (C-O). UV-vis (DMSO): λ_{\max} = 427 nm

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 0.96 (12H, t, CH₃), 1.95 (8H, m, CH₂), 3.35, (4H, d, ArCH₂Ar, J= 8.6 Hz), 3.87 (8H, t, OCH₂), 4.45 (4H, d, ArCH₂Ar, J= 8.6 Hz), 5.78 (4H, d, py-H), 6.38 (16H, br s, NH₂), 7.2 (8H, s, ArH), 7.4 (4H, d, py-H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm), 11.0, 23.5, 31.1, 78.2, 99.0, 122.1, 124.5, 135.2, 136.0, 148.5, 154.5, 157.1, 161.2. FABMS m/z: 1145 (M+).

روش کشت باکتری و تعیین کمترین غلظت ممانعتی

باکتری‌های موردنظر استاندارد به‌صورت آمپول شیشه‌ای لیوفیلیزه بود که باید فعال شود. بدین منظور از ۴ سوپه‌ی باکتری‌های عنوان شده به روش خطی پلیت تهیه شد. در شرایط استریل کامل و در کنار شعله از پلیت کشت باکتری تک کلونی برداشت شد و در لوله‌های حاوی ۲ تا ۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع (مولر هینتون براث) تلقیح شد. این لوله‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت قرار داده شد تا باکتری رشد کند کدورت محیط حاوی باکتری با استاندارد نیم مک فارلند^۱ (تعداد $10^8 \times 1.5$ واحد کلونی باکتری در میلی‌لیتر) سنجش شد و سپس این کار با دستگاه طیف‌نورسنج نیز بررسی شد و جذب نوری (OD)^۲ آن در طول موج ۶۵۰ نانومتر سنجش شد.

برای تعیین کمترین غلظت ممانعتی (MIC)^۳ برای ترکیب سنتر شده ۵، ابتدا باکتری‌ها در محیط کشت مایع (مولر هینتون براث) کشت داده شدند و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار

3.99 (8H, t, OCH₂), 4.54 (4H, d, ArCH₂Ar), 7.6 (8H, S, ArH). ¹³CNMR (125MHZ, CDCl₃) (10.5, 23.5, 31.3, 78.1, 124.2, 135.6, 143.0, 162.0.

سنتر ۵، (۱۱، ۱۷، ۲۳) - تتراآمینو ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸ - تتراپروپوکسی کالیکس [۴] آرن (۴)

۱،۶۴ گرم (۲،۱۲ mmol) از ترکیب ۳ به همراه ۰،۱۶ گرم (۱۰٪ وزنی پالادیم بر روی کربن) در ۵۰ ml مخلوط ۱:۱ متانول و تولوئن وارد شد، سوسپانسیون به‌دست آمده تحت اتمسفر گاز هیدروژن در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت هم زده و مخلوط واکنش روی کاغذ صافی صاف شد. پس از تبخیر حلال از محلول به‌دست آمده، فراورده خالص با بازده ۶۴٪ به دست آمد.

FT-IR(cm⁻¹): 3372 (N-H), 2959 (arom.C-H), 2810 (aliph.C-H), 1603 (C=C), 1067 (C-O-C arom). ¹HNMR (500 MHz, CDCl₃): (0.98 (12H, t, CH₃), 1.88 (8H, m, CH₂), 2.93 (4H, d, ArCH₂Ar), 3.73 (8H, t, OCH₂), 3.82 (8H, brs, NH₂), 4.32 (4H, d, ARCH₂Ar), 6.15 (8H, 4, ArH).

سنتر ۵، (۱۱، ۱۷، ۲۳) تتراکس [۳] - (۲ و ۶- دی آمینو پیریدین) آزو [۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸] - تتراپروپوکس کالیکس [۴] آرن (۵)

به محلول ۷۶ میلی‌گرم (۰،۱۲ mmol) ترکیب تتراآمین کالیکس [۴] آرن ۴ در ۵ میلی‌لیتر THF در دمای صفر درجه سانتی‌گراد، یک میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۳٪ افزوده شد. سپس ۴۳ میلی‌گرم (۰،۶۱ mmol) از محلول سدیم نیتريت در ۳ میلی‌لیتر آب که تا دمای صفر درجه سانتی‌گراد سرد شده به‌تدریج و به‌صورت قطره‌قطره به محلول افزوده شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت به هم زده شد. آن‌گاه محلول ۱۳۳،۱۴ میلی‌گرم (۱،۲۲ mmol) ۲ و ۶- دی آمینو پیریدین در ۲ میلی‌لیتر پیریدین و ۴ میلی‌لیتر THF در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به مخلوط واکنش افزوده و به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق هم زده شد.

1. MCFarland

2. Optical density

3. Minimum inhibitory concentration

نتیجه‌ها و بحث

با استفاده از واکنش تراکمی بین پارا آلکیل فنل‌ها با فرمالدهید در محیط بازی به یک ساختار تترامر حلقوی می‌رسیم. با توجه به لزوم پایداری کانفورمر Cone، از پاراترشیو بوتیل فنل به‌عنوان واکنشگر استفاده شد. در مراحل تشکیل کالیکس آرن، نوع باز مصرفی و مقدار حرارت می‌تواند در نوع کالیکس آرن تشکیل شده مؤثر باشد برای آن که فرآورده کالیکس آرن باشد، از سود و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد [۴۶]. ضرورت پایدار بودن و اهمیت استحکام گیرنده‌های کالیکس [۴] آرن در ادامه سنتز مشتقی با چهار گروه پروپیل بخش پایین حلقه در (Lower rim) ساختار کالیکس [۴] آرن ایجاد شد. مشتق‌های آلکیله این ترکیب‌ها نسبت به پاراترشیو بوتیل کالیکس [۴] آرن تحرک کمتری برای تبدیل کانفورماسیون به یکدیگر داشته لذا می‌توان گفت مشتق‌های آلکیل در بخش پایین حلقه از استحکام بیشتری برخوردارند. در این کار پژوهشی نیز سعی شده از استخلاف‌های پروپیل برای این منظور استفاده شود که در حلال DMF خشک در حضور باز قوی سدیم هیدرید با استفاده از پروپیل یدید انجام شده است.

برای سنتز مولکول هدف لازم بود گروه‌های آمین در بخش بالای حلقه قرار گیرند. با قرار دادن گروه‌های آمین در ناحیه بالایی کالیکس آرن، این امکان به وجود می‌آید که مشتق‌های متفاوتی با انتخاب پذیری خاص سنتز شوند. تترآمینو کالیکس آرن‌ها حد واسط‌های مفیدی هستند و این قابلیت را دارند تا گسترش ساختار از ناحیه بالایی و پایینی کالیکس آرن را فراهم کنند. به این منظور با استفاده از روش ایپسونیتراسیون، استخلاف‌های ترشیو بوتیل از روی حلقه‌های آروماتیک کالیکس برداشته شده و گروه‌های نیترو در ناحیه بالایی بر روی حلقه نشانده شد. به این ترتیب در طی یک واکنش جانشینی الکتروفیلی، نیتراسیون انجام شد. در این واکنش با تغییر شرایط مانند غلظت عامل نیترو کننده، دمای واکنش و حلال می‌توان به‌طور انتخابی هر یک از حلقه‌های آروماتیک را نیترو کرد. این واکنش به‌وسیله اسید نیتریک ۶۵٪، در مخلوط دی کلرومتان و استیک گلاسیال در دمای ۵°C- منجر به تهیه‌ی مشتق تترانیترو کالیکس [۴] آرن ۳ می‌شود. جذب قوی ۱۳۴۰

گرفتند تا باکتری رشد کند. زمانی که OD محیط حاوی باکتری در طول موج ۶۵۰ نانومتر به حدود ۰/۳ تا ۰/۴ رسید. این مقدار جذب بیانگر این است که تعداد باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر از محیط برابر 1×10^8 باکتری است یعنی کدورت نیم مک فارلند به‌دست آمده است.

این آزمایش که به کمترین غلظت بازدارنده نیز نام‌گذاری شده است، شامل آزمایشی است که طبق آن مشخص می‌شود کمترین غلظت ترکیب سنتزی که توانایی جلوگیری رشد میکروارگانیسم را دارد چقدر است.

در هر کدام از لوله‌ها ۱ میلی‌لیتر از محیط مولر هینتون براف افزوده شد. سپس آن‌ها را در اتوکلاو قرار کرده تا استریل شوند. بعد از کشت و رشد باکتری که $40 \mu\text{l}$ از سوسپانسیون باکتری‌ها که غلظت آن 10^8 cfu/ml بود به لوله‌ها افزوده شد. در مرحله بعد افزودن ترکیب ۵ به لوله‌ها که محلول در DMSO بودند، بیشترین مقدار افزوده شد (به ترتیب به هر کدام از لوله‌ها ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و $500 \mu\text{g}$ افزوده شد). آن گاه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از انکوباتور خارج و از لحاظ رشد باکتری و ایجاد کدورت مورد بررسی قرار گرفتند.

برای مقایسه، تتراسایکلین به‌عنوان کنترل مثبت و DMSO به‌عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفته است. نتیجه‌ها در جدول ۱ ارایه شده‌اند.

جدول ۱ نتیجه‌های به‌دست آمده مربوط به کمترین غلظت بازدارندگی

ترکیب	کمترین غلظت بازدارندگی ($\mu\text{g/ml}$)		
	سودوموناس آئروژینوزا	اشرشیاکلی	باسیلوس سرئوس
۵	-	۱۰۰	۴۰
DMSO (دی متیل سولفو کساید)	-	-	-
تتراسایکلین	۲۷	۲۲	۲۰

پروتون متیلن‌های وسطی (CH_2) به صورت چندتایی در 1.9 ppm نمایان می‌شوند. ۱۲ هیدروژن مربوط به گروه‌های متیل انتهایی (CH_3) به صورت پیک سه‌تایی در ناحیه 0.9 ppm ظاهر می‌شوند.

در طیف ^{13}C NMR ناحیه آلیفاتیک شامل کربن‌های گروه پروپیل، CH_3 در 11 ppm و CH_2 در 23.5 ppm و کربن OCH_2 در 78 ppm (CH_2 متیلن پل شده) در 31 ppm دیده می‌شود. کربن‌های ناحیه آروماتیک که از 99 ppm تا 161 ppm قرار گرفته است. شاخص‌ترین کربن‌های ناحیه آروماتیک مربوط به کربن‌های نوع چهارم است. ناپوشیده‌ترین آن‌ها کربن حلقه آروماتیک کالیکس [۴] آرن متصل به اکسیژن اتری است. پس از آن کربن‌های متصل به نیتروژن ناپوشیده‌تر بوده و در میدان پایین‌تر ظاهر می‌شوند که پیک مربوط به کربن حلقه پیریدین که استخلاف آمین به آن متصل است و از آن جایی که استخلاف آروماتیک قرار دارد این کربن در میدان پایین‌تری نسبت به سایر کربن‌های نوع چهارم متصل به نیتروژن قرار دارد.

نتیجه‌گیری

مشتق تتراآزوکالیکس [۴] آرن بر پایه ۲ و ۶-دی آمینو پیریدین سنتز شد. با توجه به داشتن چهار گروه آزو در ساختار این ترکیب از خود رفتار ضد باکتری نشان داده است. نتیجه‌های به دست آمده از آزمون‌های MIC با روش رقت در لوله میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش بیانگر این موضوع است که بیشترین حساسیت مربوط به باکتری باسیلوس سرئوس نسبت به ترکیب سنتز شده بود که با غلظت $40 \mu\text{g/ml}$ کمترین غلظت بازدارندگی برای باکتری را داشته است و بیشترین مقدار مقاومت مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا بوده است. همچنین این ترکیب به علت دارا بودن حفره بزرگ‌تر نسبت به کالیکس [۴] آرن مادر می‌تواند به عنوان گیرنده یونی و مولکولی نیز عمل کند.

به استناد پژوهش‌های پیشین پیش‌بینی می‌شود که قرار گرفتن ۲ و ۶-دی آمینو پیریدین در قسمت بالای حلقه، ترکیب سنتز شده‌ی ۵ این امکان فراهم می‌شود تا بتوان به عنوان یونوفر در ساخت الکتروود انتخاب‌گرایی روی و جیوه و کادمیم به کار گرفته شود.

تا 1350 cm^{-1} و 1518 cm^{-1} در طیف فروسرخ، گروه NO_2 در فرآورده را تأیید می‌کند. در طیف ^1H NMR هیدروژن‌های متیلنی پل با $1.1 > \Delta\delta$ کانفورماسیون Cone را تأیید می‌کند. در مرحله بعد احیای گروه‌های NO_2 به NH_2 ، در حضور ۱۰٪ وزنی پالادیم بر روی کربن در تولوئن تحت اتمسفر هیدروژن در دمای اتاق انجام می‌پذیرد که با بازده بالایی همراه است. در طیف فروسرخ آن پیک موجود در 3372 cm^{-1} مربوط به N-H است. نکته قابل توجه در بررسی طیف ^1H NMR پروتون‌های آمین با سطح زیر پیک ۸ پروتون در 3.82 و پروتون‌های متیلن پل با $1.3 > \Delta\delta$ کانفورماسیون cone این مشتق را تأیید می‌کنند.

مرحله دست‌یابی به مولکول هدف با استفاده از واکنش جفت شدن آزو، میان نمک دیازونیوم کالیکس [۴] آرن و ۲، ۶-دی آمینو پیریدین انجام می‌پذیرد.

طیف فرابنفش ترکیب تتراآزوکالیکس [۴] آرن سنتز شده ۵، بیشینه جذب در 427 nm را نشان می‌دهد. در طیف فروسرخ پیک 1448 cm^{-1} نشانه وجود گروه آزو است.

هیدروژن‌های موجود در متیلن پل به صورت دو پیک دوتایی در ناحیه‌های 3.3 ppm و 4.4 ppm ظاهر می‌شوند. تفاوت جابه‌جایی شیمیایی ($\Delta\delta$) بین پروتون‌های محوری و استوایی متیلن‌های پل در این ترکیب حدود 1.15 ppm است که دلیل قاطعی بر cone بودن کانفورماسیون است.

پروتون‌های ناحیه آروماتیک حلقه‌های کالیکس [۴] آرن به صورت یک پیک یکتایی در ناحیه 7.2 ppm با سطح زیر پیک ۸ پروتون ظاهر می‌شوند که نشانه تقارن در ساختار است.

پروتون‌های مجاور گروه آزو روی حلقه‌های پیریدینی که پروتون‌های ارتو نسبت به استخلاف آزو محسوب می‌شوند ناپوشیده تر بوده و در میدان پایین 7.4 ppm ظاهر می‌شوند و پروتون دیگر حلقه‌های پیریدینی در موقعیت ارتو گروه آمین حلقه پیریدین با سطح زیر پیک چهار پروتون در میدان بالاتر 5.7 ppm مشاهده می‌شوند. چهار استخلاف opr در موقعیت پایین حلقه است. هشت هیدروژن مربوط به متیلن اتری (OCH_2) به صورت سه‌تایی در ناحیه 3.8 ppm و شکافتگی هشت

مراجع

- [1] Yazdanbakhsh, M.R.; Yousefi, H.; Mammaghani, M.; Moradi, E.O; Rassa, Pouramir, H.M.; Bagheri, M.; Journal of Molecular Liquids., 169, 21-26, 2012.
- [2] Moradi-Rufchahi, E.O.; Ghanadzadeh-Gilani,A.; Dyes and Pigments., 95, 632-638, 2012.
- [3] Moradi-Rufchahi, E.O.; Ghanadzadeh-Gilani,A.; Journal of Molecular Liquids., 160, 160-165, 2011.
- [4] Sidir, Y.G.; Sidir, I.; Berber, H.; Tasal, E.; Journal of Molecular Liquids., 162, 148-154, 2011.
- [5] Coelho, P.J.; Castro, M.C.R.; Fonseca, A.M.C.; Raposo, M.M.M.; Dyes and Pigments., 92 745-748, 2011.
- [6] Haberhauer, G.; Kallweit, C.; Angewandte Chemie International Edition., 49(13), 2418-2421, 2010.
- [7] Pietraszkiewicz, M.; Prus, P.; Fabia-Nowski, W.; Pol. J. Chem., 72(6), 1068, 1998.
- [8] Lee, H.Y.; Song, X.; Park, H.; Baik, M-H.; Lee, D.; Journal of the American Chemical Society., 132, 12133-12144, 2010.
- [9] Sharma, A.K.; Singh, I.; Food Analytical Methods., 2, 311-316, 2009.
- [10] Gavathri, C.; Ramalingam, A.; Optik., 119, 409-414, 2008.
- [11] Lutfor, M.R.; Hegde, G.; Kumar, S.; Tschierske, C.; Chigrinov, V.G.; Optical Materials., 32, 176-183, 2009.
- [12] Gupta, D.; Kumari, S.; Gulrajani, M.L. Color. Technol., 117, 328, 2011.
- [13] Gupta, D.; Kumari, S.; Gulrajani, M.L.; Color. Technol., 117, 333, 2011.
- [14] Gupta, D.; Colourage., 8, 41, 1999.
- [15] Gupta, D.; Colourage., 10, 17, 1999.
- [16] Karci, F.; Sener,N; Yamac,M.; SenerI.; Demircali,A.; Deys Pigm., 80, 47, 2009.
- [17] Wainwright,M.; Deys Pigm., 76, 582, 2008.
- [18] Ispir, E. Deys Pigm. 82, 13,2009.
- [19] Xu, H.; Zeng,X.; Bioorg. Med. Chem. Lett. 20, 4193,2010.
- [20] Manvar, A.; Bavishi, A.; Radadiya, A.; Patel, J.; Vora, V.; Dodia, N.; Rawal, K.; Shah, A.; Bioorg. Med. Chem. Lett., 21, 4728, 2011.
- [21] Gutsche, C.D.; Acc. Chem.Res., 16, 161, 1983.
- [22] shinkai, S.; pure APPL. Chem., 59, 425, 1987.
- [23] Gutstch, C.D.; Calixarenes Revisited, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1998
- [24] Chen, X.L.; He, X.W.; Hu, X.B.; Analyst., 124(12), 1787,1992.
- [25] Pietraszkiewicz, M.; Prus, P.; Fabia-Nowski, W.; Pol. J. Chem., 72(6), 1068, 1998.
- [26] Zieg, M.; ler, I.; poor, B.; kubinyi, M.; Grofcsik, A.; Grun, A.; Bitter, I.; J. Mol. Structure., 650, 39-44, 2003.
- [27] Mohammed-Zieg ler,I.; kubinyi, M.; Grofcsik, A.; Grun, A.; Bitter, I.; J. Mol. structure., 480/481, 289, 1999.
- [28] Jorgensen, M.; krebs,F.C.; J.chem. soc.,perkin Trans, 2(9), 1929, 2000.
- [29] Li, H.B.; Hu, H.Z.; Gao, Z.N.; Chen-Chines, y.y.; J. Anal. Chem., 30(3), 318, 2002.
- [30] Grofcsik, A.; Baranyai, P.; Bitter, I.; Grun, A.; koszegi, E.; kabinyi, M.; Pul, K.; Videoczy, T.; J. Mol. struct., 614, 69-73, 2002.
- [31] Rashidi – Ranjbar, P.; Taghvaei – Gan-

- jali, S.; Shabani, B.; Akbari, K.; molecules. 5. 941-944, 2000.
- [32] Taghvaei – Ganjali, S.; Modjallal, A.; Acta chim. Slov. 48, 427-430, 2001
- [33] Taghvaei-Ganjali,S.; Shafai,M.; Khosravi,M.; Acta Chim.slov.49,903-908,2002
- [34] Arvand- Barmchi, M.; Mousavi, M.F.; Zanjanchi, M.A.; Shamsipour, M.; S. Taghvaei- Ganjali, S.; Analytical letters. 35, 5, 2002.
- [35] Taghvaei – Ganjali, S.; Mohammad Ali khalilzadeh, M.; Tahvildari, K.; Khosravi, M.; Asian journal of chemistry 19. 1494-1498, 2007
- [36] Taghvaei-Ganjali,S.; Zadmard,R.; Superamolecular Chemistry.51,1-5,2007.
- [37] Zadmard, R.; Taghvaei – Ganjali, S.; Gorji, B.; Chem. Asian J., 4, 1458, 2009.
- [38] Hosseini, M.; Taghvaei – Ganjali, S.; Ganjali. M.R.; intern. J. Environ. Anal. Chem., 89, 6, 407, 2009
- [39] de fatima, A.; Fernandes. S.A; sabino, A.A. curr. Drug Discovery Technol.6,151, 2009.
- [40] Rodik, R.V.; Boyko, V. I.;Kalchenko, V.I.curr. Med. Chem.16, 1630, 2009.
- [41] Yo.T.,Fujiwara; k., otsuka, M., Jp10203906, 1998.
- [42] Lamartin, R.; Tsukada.; wilson, D.; Shirata, A.C.R. chim. 5, 163-169, 2002.
- [43] (a) Fletcher, S.; Hamilton, A.D.Curr. Pin. Chem. Biol. 9, 632, 2005.
- (b)Peczuh, M.W; Hamilton, A.D. Chem. Rev. 100, 2479, 2000.
- [44] Rodik, R.V.; Boyko, V. I.;Kalchenko, V.I.curr. Med. Chem. 16, 1630, 2009.
- [45] E. J Baron, S.M. Finegold, Bailey and scotts' diagnostic microbiology, 8th E d., Philadelphia Toronto, 363-407, 1990.
- [46] Gutsche, C.D.; Iqbal. M.; Stewart, D. J. org. chem, 51, 724, 1986.

Synthesis and application of Tetra azo- calixaren derivative on *B. cereus* bacteria

K. Rahnama-Lakomehsari^{1,*}, S. Taghvaei-Ganjeh-Ali², R. Zadmand³ and M. Roshan⁴

1. PhD Student of Organic Chemistry, Faculty of Sciences, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
2. Prof. of Organic Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate Prof. of Organic Chemistry, Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Tehran, Iran
4. Associate Prof. of Organic Chemistry, Faculty of Sciences, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received: October 2015, Accepted: December 2015

Abstract: In this report, zocalix[4]arene derivative based on 2,6-diamino pyridine has been synthesized from diazo-coupling reaction between tetradiazonium salt of calix[4]arene and 2,6-diaminopyridine. The obtained product has been characterized by various spectroscopic methods such as IR, ¹HNMR, ¹³CNMR, and Mass spectroscopy. Antibacterial behavior of product was studied based on reference Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Keywords: Azo-calixarene, 2,6-diamino-pyridine, Antibacterial activity