

بررسی اثرات زیستی ترکیبات سولفونامید-شیف باز پوشش داده شده با میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید

مژگان تحریری^۱، معصومه طباطبایی^۲، محمد یوسفی^{۳*}، خیراله مهرانی^۴ و محمود دهقانی اشکذری^۵

۱- دکتری شیمی معدنی، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- استاد شیمی معدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

۳- دانشیار شیمی معدنی، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۴- استادیار شیمی معدنی، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۵. استادیار زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر- یزد، ایران

دریافت: آبان ۱۳۹۵، بازنگری: دی ۱۳۹۶، پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

چکیده: در این پژوهش، دو ترکیب سولفونامید-شیف باز N^1 -(۲-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزیلیدن)-۴-متیل بنزوسولفونیل هیدرازید و ۱،۲-بیس (۲-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزیلیدن هیدرازید) (۱) و N^1 -(۲-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزیلیدن)-۴-نیترو بنزوسولفونیل هیدرازید و ۱،۲-بیس (۲-هیدروکسی-۳-متوکسی-بنزیلیدن هیدرازید) (۲) از گونه‌های سولفونیل کلرید و شیف باز سنتز شدند. ترکیبات سنتز شده با مس (II) اکسید و روی اکسید پوشش داده شدند و از نظر فعالیت‌های ضدباکتری مورد بررسی قرار گرفتند. ترکیبات شیمیایی تهیه شده، با طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) و فروسرخ (FTIR)، الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) و تجزیه عنصری شناسایی شدند. برای ریخت‌شناسی میکروذرات اکسید فلزی پیش و پس از پوشش دهی ترکیبات سولفونامید-شیف باز با آن‌ها، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. همچنین، فعالیت ضدباکتری ترکیبات در برابر دو باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس) و یک باکتری گرم منفی (پروتئوس میرابیلیس) بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان می‌داد که فعالیت ضدباکتری ترکیبات سولفونامید-شیف باز خالص در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی نسبت به ترکیبات سولفونامید-شیف باز پس از پوشش دهی با میکرواکسیدهای فلزی کمتر است. لازم به ذکر است که آمپیسیلین و پنسیلین به عنوان داروهای استاندارد برای بررسی فعالیت ضدباکتری مورد استفاده قرار می‌گیرند.

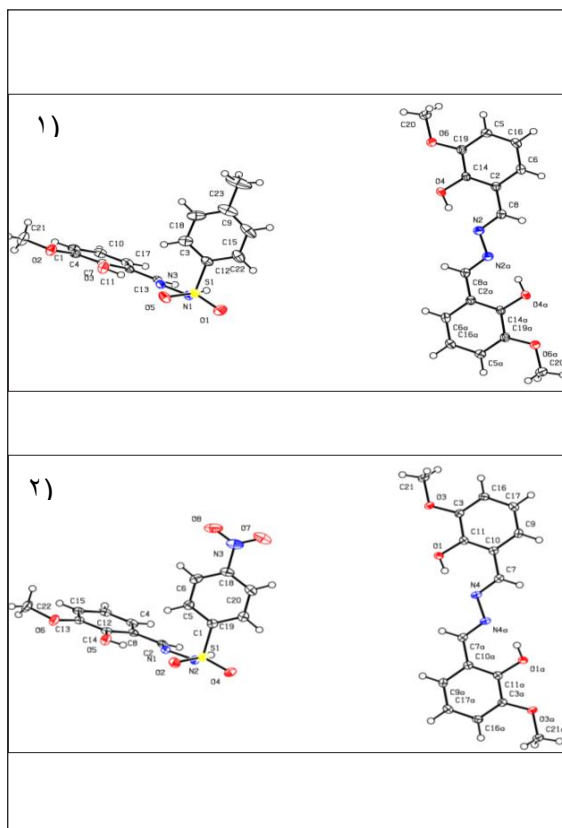
واژه‌های کلیدی: سولفونیل کلرید، شیف باز، فعالیت ضدباکتری، میکروذرات روی اکسید، میکروذرات مس (II) اکسید.

مقدمه

جلب کرده‌اند. این گروه از ترکیبات از نظر توپولوژی و آرایش ساختاری نیز مورد توجه هستند. بنابراین، تهیه ترکیبات جدید مهم‌ترین گام در توسعه کمپلکس‌های فلزی با ویژگی‌های

ترکیبات کوئوردیناسیون به دلیل ویژگی‌های کاتالیستی، برش DNA، ویژگی‌های مغناطیسی و زیستی توجه زیادی را به خود

جدید سولفونامید [۹ تا ۱۱] و شیف باز [۱۲ تا ۱۵] سنتز شدند اما به‌طور کلی سنتز ترکیبات مخلوط گونه‌های سولفونامید و شیف باز به‌ندرت مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۶]. بنابراین، ترکیبات جدیدی از مخلوط گونه‌های اولیه سولفونامید و شیف باز N' - (۲- هیدروکسی-۳- متوکسی بنزیلیدن)-۴- متیل بنزوسولفونیل هیدرازید و ۱،۲- بیس (۲- هیدروکسی-۳- متوکسی بنزیلیدن هیدرازید) (۱) و N' - (۲- هیدروکسی-۳- متوکسی بنزیلیدن)-۴- نیترو بنزوسولفونیل هیدرازید و ۱،۲- بیس (۲- هیدروکسی-۳- متوکسی بنزیلیدن هیدرازید) (۲) سنتز شد که از نظر ساختاری، فعالیت‌های ضدباکتری و ضدقارچ مورد بررسی قرار گرفتند. ساختار مولکولی ترکیبات سولفونامید و شیف باز سنتز شده در شکل ۱ دیده می‌شود [۸].



شکل ۱ نمایش ساختار مولکولی ترکیبات ۱ و ۲ [۸].

منحصربه‌فرد است. یکی از عوامل مؤثر در تهیه این ساختارها نوع لیگاند مورد استفاده در آن‌هاست. شرایط اوربیتال‌های لیگاند در اطراف فلز مرکزی با تغییرات عواملی از قبیل آرایش الکترونی، آرایش فضایی و مشخصات هندسی، تغییر می‌یابد. طی مطالعات انجام‌شده در سال‌های گذشته ترکیباتی که شامل مخلوطی از گروه‌های عاملی سولفونامید و شیف‌باز هستند، نقش مهمی را در تهیه کمپلکس‌های فلزی دارند. همچنین، این ترکیبات در زمینه زیستی فعالیت قابل توجهی از خود نشان می‌دهند [۱].

سولفونامیدها دارای یک گروه عاملی SO_2NH_2 هستند که این گروه عاملی به‌طور مستقیم به یک حلقه آروماتیک متصل است و به‌عنوان داروهای سولفا شناخته می‌شوند. نخستین داروهای سولفا در دهه ۱۹۳۰ کشف شدند که در زمینه‌های پزشکی بالینی به‌عنوان عوامل دارویی و زیستی به‌عنوان عوامل ضدباکتری، ضدتومور و ضدتیروئید کاربرد دارند [۲]. برخی دیگر از داروهای سولفا (سولفادیازین، سولفامازین و سولفاتiazول [۳]) در زمینه‌های برطرف‌کننده عفونت‌ها در سامانه بدنی انسان و حیوانات و همچنین شیمی‌درمانی کاربرد دارند [۴].

ترکیبات شیف باز حاوی یک گروه ایمینو ($-RC=N-$) هستند که به‌طور معمول با تراکم آمین نوع اول با یک گروه کربونیل فعال تشکیل می‌شوند. کمپلکس‌های فلزی که حاوی لیگاندهای شیف باز هستند، به‌طور معمول دارای تنوع ساختاری هستند. بنابراین، لیگاندهای شیف باز به‌عنوان کی‌لیت‌های بسیار مهمی در مطالعات سنتزی و ساختاری بشمار می‌آیند [۲]. بنابراین، این ترکیبات به‌عنوان رنگ‌دانه، تثبیت‌کننده‌های بسیاری، کاتالیست در صنعت و به‌عنوان ضدقارچ، ضدباکتری، ضدتومور، ضدسرطان و ضدالتهاب در زمینه زیستی کاربرد دارند [۵ تا ۷].

مقدار فعالیت ضد میکروبی گروه‌های عاملی آزومتین و سولفونامید در کنار یکدیگر، به نوع استخلاف‌های روی حلقه‌های آروماتیک آن‌ها بستگی دارد. طی مطالعات انجام‌شده در سال‌های اخیر، فعالیت قابل توجهی از ترکیبات سولفونامید-شیف باز در زمینه زیستی گزارش شده است [۸].

در گروه طباطبایی و همکارانش کمپلکس‌های فلزی با ترکیبات

توجه به قابلیت فعالیت ضدباکتری میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید و سولفونامیدها که به‌عنوان داروهای سولفا شناخته شده‌اند، هیچ‌گونه گزارشی ارائه نشده است که در این پژوهش به بررسی اثرات ضدباکتری سولفونامید- شیف بازها (ترکیبات ۱ و ۲) [۳۰] که با میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید پوشش داده شده‌اند، پرداخته شده است.

روش تجربی

مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

پارا تولوئن سولفونیل کلرید، ۴- نیترو بنزوسولفونیل کلرید، ۳- آمینو ۱-H-۲،۱-۴- تری آزول، ۲- هیدروکسی ۳- متوکسی بنزآلدهید، مس (II) نیترات سه آبه، روی (II) استات سدیم هیدروکسید و پتاسیم هیدروکسید از شرکت مرک، باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس^۱ و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس^۲) و باکتری گرم منفی (پروتئوس میرابیلیس^۳)، آمپیسیلین^۴ و پنسیلین^۵ به‌عنوان داروهای استاندارد و حلال‌های مورد نیاز از مرک و فلوکا^{۱۱} خریداری شد و بدون خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفتند.

طیف‌های FTIR^{۱۲} باطیف‌سنج مدل Bruker (TENSOR27) در گستره ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ cm⁻¹ با استفاده از قرص KBr و طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته‌ای ^{۱۳}NMR با دستگاه Bruker ALMAN ۴۰۰ مگاهرتز در گستره صفر تا ۱۲ ppm ثبت شده‌اند. تجزیه عنصری (CHNS) با دستگاه Costech ECS 4010 انجام شد. ویژگی ضدباکتری ترکیبات با دستگاه الیز مدل Biotek Instruments گزارش شد. الگوی پراش پرتو X (XRD)^{۱۴} با دستگاه پراش سنج مدل Philips مجهز به منبع پرتو $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ Cu-K α در گستره ۲θ برابر با ۱۰ تا ۸۰ °C گرفته شده است و تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM^{۱۵} با میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل TESCAN VEGA3, Czech تصویربرداری شد.

با توجه به رفتار ضد میکروبی میکرو و نانوذرات سرامیکی و فعالیت چشمگیر این ترکیبات در این زمینه، ویژگی ضد میکروبی آن‌ها با نانوفناوری تأیید شده است [۱۷ تا ۱۹]. در سال ۲۰۱۵ جاستین سیل^۱ و همکارش، نانوذرات روی اکسید را در اندازه‌های میکرو و نانو به‌عنوان یک عامل ضدباکتری بر روی باکتری‌های مختلف بررسی کردند. نتایج نشان داد، هرچه اندازه ذرات روی اکسید کوچک‌تر باشد، هسته‌های باکتری داخل سلول در سطح بزرگ‌تری با آن‌ها وارد تعامل می‌شوند و این عامل باعث افزایش فعالیت ضد میکروبی می‌شود که می‌تواند در زمینه صنایع غذایی کاربرد بسزایی داشته باشد [۲۰ تا ۲۵]. همچنین راقوپاتی^۲ و همکارانش در سال ۲۰۱۱ ویژگی ضدباکتری نانوذرات روی اکسید را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس^۳ بررسی کردند. نتایج نشان داد، این ذرات روی اکسید به دلیل داشتن گونه‌های اکسیژن فعال می‌توانند به‌عنوان یک عامل ضدباکتری برای کنترل و جلوگیری از عفونت‌های باکتریایی استفاده شوند [۲۱]. در پژوهش‌های دیگر، یاماموتو^۴ و سونیتا جاده‌اوی^۵ به ترتیب فعالیت ضدباکتری نانوذرات روی اکسید و میکروذرات مس (II) اکسید را بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی مورد بررسی قرار دادند. با بررسی نتایج مشخص شد که فعالیت ضدباکتری این ذرات با اندازه آن‌ها رابطه معکوسی دارد [۲۲ و ۲۳]. بنابراین، روی اکسید و مس (II) اکسید در ابعاد میکرو و نانو به‌عنوان یک عامل ضدباکتری مناسب در زمینه‌های گوناگون از قبیل صنعت منسوجات، ضد عفونی‌کننده آب، بسته‌بندی مواد غذایی و پزشکی استفاده می‌شود [۲۶ تا ۲۹].

بر اساس مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر، گزارش‌هایی در زمینه فعالیت ضد میکروبی ترکیبات سولفونامید-شیف باز [۸] و ذرات روی اکسید [۲۰ تا ۲۲] و مس (II) اکسید [۲۳] در ابعاد متفاوت به‌تنهایی گزارش شده است اما تاکنون با

1. Seil 2. Raghupathi 3. Staphylococcus aureus 4. Yamamoto 5. Sunita Jadhav 6. Staphylococcus epidermidis
7. Staphylococcus saprophyticus 8. Proteus mirabilis 9. Ampicillin 10. Pencillin 11. Fluka 12. Fourier transform infrared
13. Nuclear magnetic resonance 14. X-ray diffraction 15. Scanning electron microscope

روش سنتز ترکیبات ۱ و ۲

سرعت زیاد هم‌زده شد. سرانجام نمونه کدر رنگ واکنش صاف و رسوب به‌دست آمده در دمای 50°C خشک شد.

مطالعات ضد میکروبی

برای فعالیت ضد میکروبی ترکیبات، از روش حداقل غلظت بازدارنده MIC^۲ و انتشار دیسک^۳ استفاده شد. روش‌های متفاوتی برای تعیین حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت وجود دارد که برای مثال، می‌توان به MIC و انتشار دیسک اشاره کرد. ساده‌ترین و متداول‌ترین آن‌ها روش انتشار دیسک است که در این پژوهش از این روش استفاده شده است. برای بررسی ویژگی ضد میکروبی ترکیبات پیش و پس از قرار گرفتن در بسترهای میکروذرات اکسیدهای فلزی، محلول‌هایی از آن‌ها با غلظت مناسب در حلال دی‌متیل سولفوکسید DMSO تهیه شد. محلول‌ها به روش صاف کردن سترون^۴ تهیه شدند. سوبه‌های باکتریایی در محیط کشت مولر هینتون کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت قرار داده شدن در گرم‌خانه 37°C ، مورد استفاده قرار گرفت. از هر یک از باکتری‌ها به‌طور جداگانه یک کولونی برداشته شد و در درون محیط کشت نوترینت براث حل شد تا تعلیق‌های تهیه شود، به‌طوری‌که تعداد باکتری درون تعلیق باکتریال $1.5 \times 10^8 \text{ cfu/ml}$ برابر 0.5 مک فارلن باشد.

برای تعیین فعالیت ضد میکروبی ترکیبات با روش انتشار دیسک، هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک حاوی نمونه در محیط کشت با خط‌کش اندازه‌گیری شد. برای انجام این روش ابتدا یک تعلیق میکروبی با کدورت 0.5 مک فارلن ایجاد شد. برای تهیه یک تعلیق میکروبی با غلظتی که کدورت آن برابر کدورت محلول 0.5 مک فارلن باشد، تعدادی از کلونی‌های باکتری را درون مقداری سرم کاراندام‌شناسی^۵ سترون حل شدند به‌گونه‌ای که کدورت آن برابر کدورت 0.5 مک فارلن شود. سپس یک سواب سترون

ابتدا ترکیبات ۴- نیترو بنزوسولفونیل کلرید و پارا تولوئن سولفونیل کلرید به ترتیب برای تهیه ۴- نیتروسولفونیل هیدرازید و پارا-تولوئن سولفونیل هیدرازید استفاده شد [۳۱] سپس ترکیبات ۱ و ۲ از طریق واکنش پارا تولوئن سولفونیل هیدرازید و ۴- نیترو سولفونیل هیدرازید با ۲- هیدروکسی ۳- متوکسی بنزآلدئید با نسبت ۱:۱ در متانول (30 میلی‌لیتر) به روش بازروانی تهیه شد. درنهایت باگذشت زمان بلورهای زردرنگ و براق سوزنی شکل از ترکیبات سنتز شده به‌دست آمد.

تهیه میکرو ذرات روی اکسید

ابتدا محلول متانولی پتاسیم هیدروکسید تهیه و به محلول متانولی روی (II) استات به‌صورت قطره‌قطره در دمای 63°C افزوده شد. ترکیب تهیه‌شده به مدت ۳ ساعت هم‌زده شد و در محیط آزمایشگاه سرد و با مخلوطی از حلال‌های کلروفرم، و متانول با نسبت ۱:۱ به‌وسیله دستگاه گریزان^۱ شسته شد. رسوب به‌دست آمده درنهایت در دمای 50°C به مدت ۲ ساعت کلسینه شد [۳۲].

تهیه میکرو ذرات مس (II) اکسید

سدیم هیدروکسید 0.2 M به محلول آبی مس (II) نترات افزوده شد تا pH آن به 3.5 برسد و مخلوط واکنش در دمای 35°C به مدت ۲ ساعت تحت شرایط آب‌گرمایی قرار گرفت. سپس مخلوط صاف جدا و رسوب به‌دست آمده در دمای 50°C به مدت ۲ ساعت کلسینه شد [۳۳].

پوشش ترکیبات ۱ و ۲ با میکرو ذرات سرامیکی

ابتدا مخلوطی از لیگاند و حلال n-هگزان برای پوشش‌دهی میکرواکسیدهای فلزی تهیه شد. سپس به مخلوط تهیه‌شده، میکروذرات اکسید فلزی با نسبت‌های یکسان افزوده شد و مخلوط به‌دست آمده به مدت ۱ ساعت تحت دمای 68°C

1. Centrifuge 2. Minimum Inhibitory Concentration 3. Disk diffusion 4. Sterile 5. Physiology

نتیجه‌ها و بحث

بررسی طیف‌های FTIR

طیف FTIR برای میکروذرات مس (II) اکسید و روی اکسید به تقریب یکسان است. نوار جذبی پهن مشاهده شده در گستره 500 تا 800 cm^{-1} نشان‌دهنده وجود این میکروذرات سرامیکی است [۲۳ تا ۳۴].

FTIR: (KBr(cm^{-1})) 666 (Zn-O).

FTIR: (KBr(cm^{-1})) 668-586 (Cu-O).

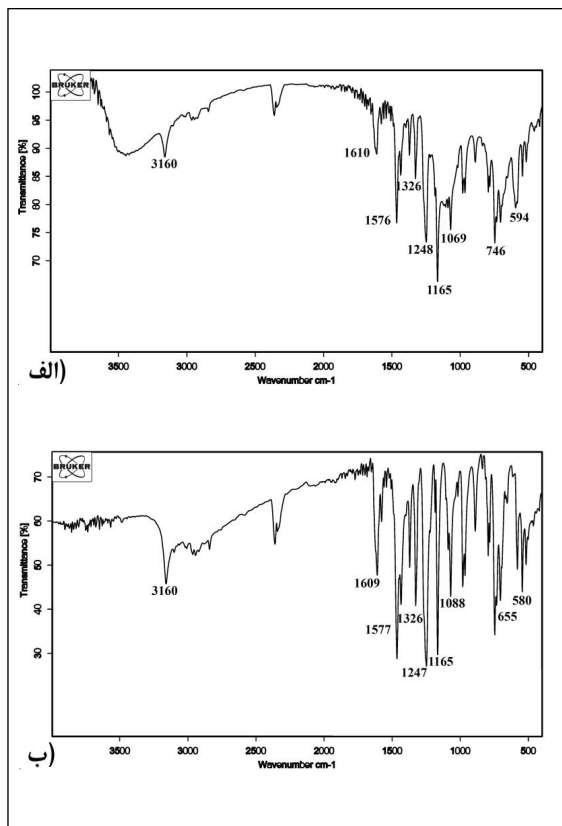
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، طیف FTIR برای ترکیبات ۱ و ۲ به تقریب یکسان است. در نواحی 2905 – 2850 cm^{-1} و 3820 برای (۱) و 3475 – 2605 cm^{-1} برای (۲) نوارهای جذبی مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده ارتعاشات کششی C-H و C=C آروماتیک ترکیب است. طیف FTIR از این ترکیبات پیوندهای مشخصی در 1610 cm^{-1} (۱)، 1612 cm^{-1} (۲) که می‌تواند به ارتعاش کششی گروه آزومتین $\nu\text{N}=\text{CH}$ اختصاص داد [۳۵ و ۳۶]. نوار جذبی در نواحی 1326 – 1166 cm^{-1} (۱) و 1364 – 1173 cm^{-1} (۲) مربوط به (sym و asym) ($\nu\text{S}=\text{O}$) است. در ناحیه‌های 1248 cm^{-1} و 1069 برای (۱) و 1247 cm^{-1} و 1077 برای (۲) نوارهای جذبی مشاهده می‌شود که به ترتیب نشان‌دهنده C-OH و $\text{C}-\text{OCH}_3$ ترکیب است. با توجه به طیف FTIR آلدهید مربوط و مقایسه آن با طیف FTIR ترکیبات ۱ و ۲، نشان می‌دهد واکنش تراکمی بین آلدهید و آمین انجام شده است. حذف ناحیه‌ی مربوط به نوار قوی در ناحیه 1700 cm^{-1} گروه کربونیل آلدهیدی در ترکیب سولفونامید- شیف باز و حضور نوار به نسبت قوی ($\text{C}=\text{N}$) ایمنی در ناحیه‌های 1610 cm^{-1} (۱) و 1612 cm^{-1} (۲) گواهی بر این استدلال است.

طیف‌های FTIR ترکیبات ۱ و ۲ همراه با بسترهای میکروذرات مس (II) اکسید و روی اکسید در شکل‌های ۳ و ۴ نشان می‌دهد که تغییرات مشاهده شده در نوارهای جذبی این ترکیبات و میکروذرات سرامیکی بیانگر قرار گرفتن این میکروذرات بر ترکیبات ۱ و ۲ است.

را وارد تعلیقه کرده و پس از گرفتن محلول اضافی سر لوله آن به آرامی در چند جهت متفاوت روی محیط کشت کشیده شد به گونه‌ای که هیچ جای خالی بر روی محیط باقی نماند و باکتری به صورت یکنواخت روی محیط کشت پراکنده شود. پس از خشک شدن سطح محیط که نباید بیش از پانزده دقیقه طول بکشد دیسک‌های نمونه با پنس سترون با فاصله حداقل 2 cm در محیط قرار داده شد. پس از 24 ساعت که نمونه درون محیط نفوذ کرد در صورت حساسیت باکتری به آن، در اطراف دیسک متناسب با قدرت نمونه در جلوگیری از رشد باکتری، یک هاله عدم رشد دیده می‌شود. هاله عدم رشد بیشتر باکتری، نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌باکتریال بیشتر است. سپس با خط‌کش میلی‌متری هاله‌های عدم رشد ایجاد شده را اندازه گرفته و با جداول موجود با آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت مطابقت می‌دهیم. فعالیت ضدباکتری ترکیبات در برابر دو باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس) و یک باکتری گرم منفی (پروتئوس میرابیلیس) مورد آزمایش قرار گرفتند. لازم به ذکر است که آمپیسیلین و پنسیلین به‌عنوان داروهای استاندارد انتخاب شده‌اند که هر دو از فعالیت ضد میکروبی بالایی برخوردارند.

روش حداقل غلظت بازدارنده MIC برای فعالیت ضدباکتری در روش حداقل غلظت بازدارنده MIC ابتدا تعلیقه باکتری و غلظت‌های متفاوتی از ترکیبات شیمیایی تهیه کرده و پلیت‌های ۹۶ گانه را به ترتیب از محیط کشت مولر هیتون برات MHB، ترکیبات شیمیایی و تعلیقه باکتری با نمونه‌گیر پر شد سپس جذب پلیت‌ها با دستگاه الایزر در گستره 640 nm خوانده شدند و در مدت 24 ساعت در گرمخانه در دمای 37 °C قرار داده شد. پس از 24 ساعت دوباره جذب در همان گستره با دستگاه الایزر خوانده شد و مقدار فعالیت ضدباکتری ترکیبات شیمیایی با داده‌های به‌دست آمده مورد بررسی قرار گرفت.

FTIR((1)-CuO):(KBr,cm⁻¹)3160(C-aromatic), 1609(C=N),1577(C=C aromatic),1326-1165(-N-S(=O)₂),1247(C-OH), 1088(C-OCH₃), 655-580 (Cu-O).



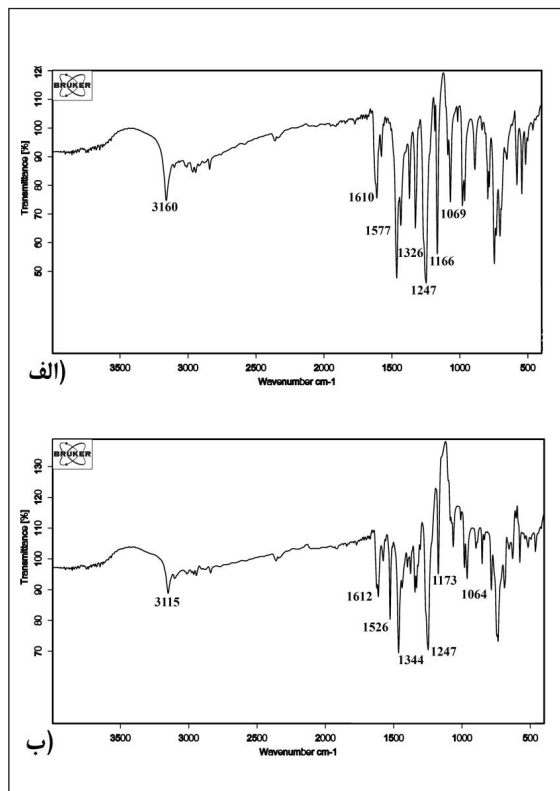
شکل ۳ طیف‌های FTIR ترکیب ۱ (الف) پس از پوشش‌دهی با میکروذرات روی اکسید و (ب) پس از پوشش‌دهی با میکروذرات مس (II) اکسید

FTIR ((2)-ZnO): (KBr,cm⁻¹) 3152 (C-H aromatic), 1612 (C=N), 1576(C=C aromatic), 1452 (-NO₂), 1376-1173 (-N-S(=O)₂), 1247 (C-OH), 1104 (C-OCH₃), 688-600 (Cu-O).

FTIR((2)-CuO): (KBr,cm⁻¹) 3151 (C-H aromatic),

FTIR(1)(KBr,cm⁻¹) 3160 (C-H aromatic), 1610-(C=N), 1577-(C=C aromatic), 1326-1166(-N-S(=O)₂), 1248(C-OH), 1069 (C-OCH₃).

FTIR (2)(KBr,cm⁻¹)3151(C-H aromatic), 1612 (C=N), 1526 (C=C aromatic), 1344-1173(-N-S(=O)₂),1247 (C-OH), 1064(C-OCH₃).



شکل ۴ طیف‌های FTIR ترکیب ۱ (الف) و ترکیب ۲ (ب) پیش از پوشش‌دهی با میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید

FTIR((1)-ZnO):(KBr,cm⁻¹)3160(C-H aromatic),1610(C=N),1571(C=C aromatic),1326-1165(-N-S(=O)₂),1248(C-OH),1069(C-OCH₃),746-594(Cu-O).

حلقه‌های آروماتیک در گستره‌های ppm ۶۹۲-۷۳۲ (۱) و ppm ۶۹۱-۸۷۰ (۲) دیده می‌شود. پروتون‌های گروه آزومتین N=CH ترکیبات ۱ و ۲ به ترتیب در ppm ۸۷۰ و ۷۳۱ قرار گرفته است. پروتون هیدروکسیل در ۱۱,۵۹ ppm و ۱۱,۵۷ به ترتیب برای ترکیبات ۱ و ۲ دیده می‌شود. افزون بر این، تعداد پروتون‌ها محاسبه شده در تجزیه و تحلیل CHNS نسبت به مقادیر مورد نظر نتایج خوبی را نشان می‌دهد.

¹H NMR(1): (CDCl₃, δ, ppm): 1.65 (s, 1H, SO₂NH), 2.42 (s, 3H, C-CH₃), 3.88 (s, 3H, -OCH₃), 6.92-7.82 (m, 7H, aromatic and 6H, benzylidenimin), 8.00 (s, 2H, -CH=N-), 11.59 (s, 1H, -OH), ppm.

Anal. Calcd. For C₂₃H₂₄N₃O₆S, (M=470.5): C, 58.71%; H, 5.14%; N, 8.93%; O, 20.40%; S, 6.81%; Found: C, 58.13%; H, 5.05%; N, 8.69%; S, 6.11%.

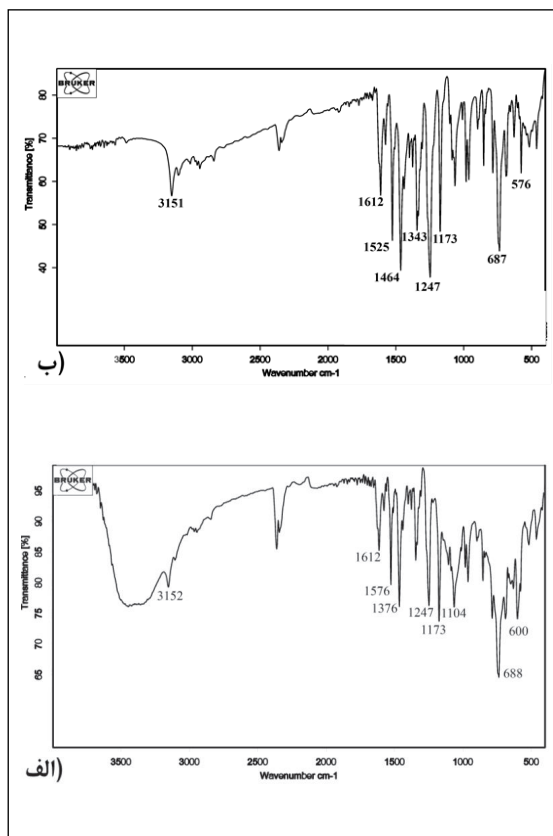
¹H NMR(2): (CDCl₃, δ, ppm): 1.56 (s, 1H, SO₂NH), 3.95 (s, 3H, -OCH₃), 6.91-8.72 (s, 7H, aromatic and 6H, benzylidenimin), 7.31 (s, 2H, -CH=N-), 11.57 (s, 1H, -OH), ppm

Anal. Calcd. For C₂₂H₂₁N₄O₈S, (M=501.5): C, 52.69%; H, 4.22%; N, 11.17%; O, 25.52%; S, 6.39%; Found: C, 52.58%; H, 4.00%; N, 11.12%; O, 25.38%; S, 6.08%.

شناسایی و ریخت‌شناسی میکروذرات مس (II) اکسید و روی اکسید برای شناسایی ترکیبات و ویژگی‌های ساختاری میکروذرات سنتز شده از الگوی پراش پرتو X (XRD) استفاده شد. شکل ۵ الگوهای پراش پرتو X میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید را در ناحیه ۱۰ تا ۸۰° نشان می‌دهد. تمام پیک‌ها نشان‌دهنده تبلور خوب ترکیب است [۳۷]. همچنین، اندازه تقریبی بلور میکروذرات اکسیدهای فلزی با استفاده از معادله شرر^۱ محاسبه شده است.

1. Scherrer

1612(C=N), 1525(C=C aromatic), 1464 (-NO₂), 1343-1177 (-N-S=O)₂, 1247 (C-OH), 1086 (C-OCH₃), 687-576 (Cu-O).

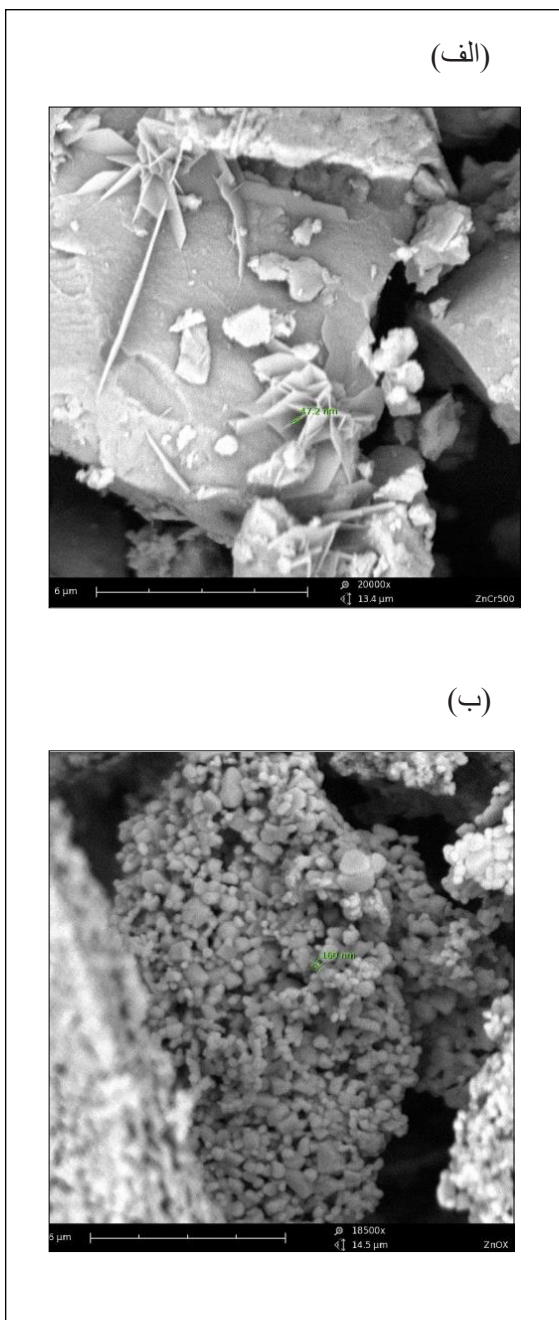


شکل ۴ طیف‌های FTIR ترکیب ۲ (الف) پس از پوشش‌دهی با میکروذرات روی اکسید و (ب) پس از پوشش‌دهی با میکروذرات مس (II) اکسید

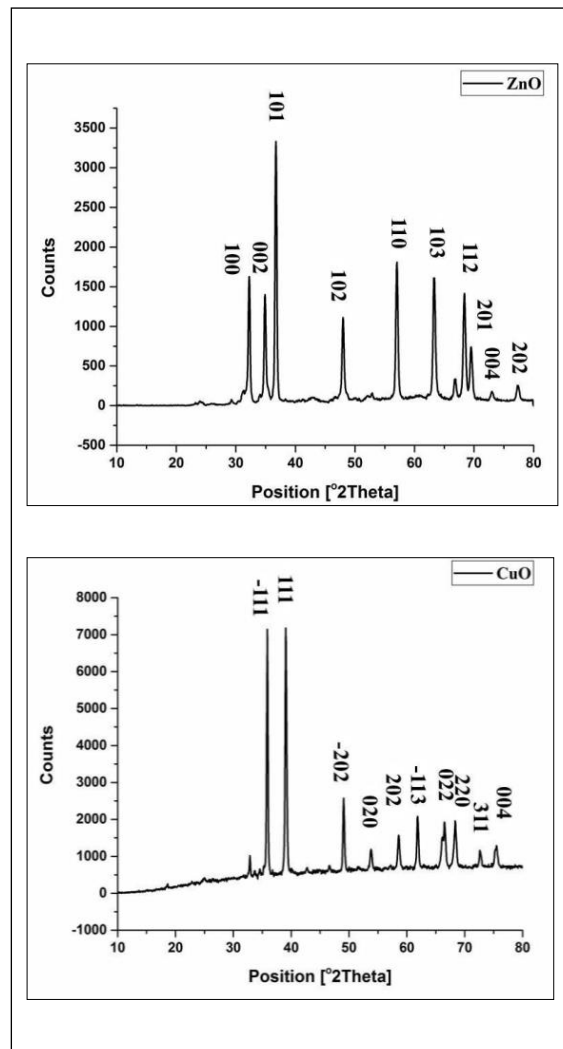
بررسی طیف ¹H-NMR و آنالیز عنصری ترکیبات ۱ و ۲

طیف ¹H-NMR ترکیبات سولفانامید- شیف باز در CDCl₃ ثبت شد. داده‌های طیفی ¹H-NMR نشان می‌دهد که سیگنال پروتون‌های متیل گروه سولفونامید ترکیب ۱ در گستره ppm ۲,۴۲ و پروتون متوکسی در ۳,۸۸ ppm و ۳,۹۵ به ترتیب برای ترکیبات ۱ و ۲ دیده می‌شود. پروتون‌های

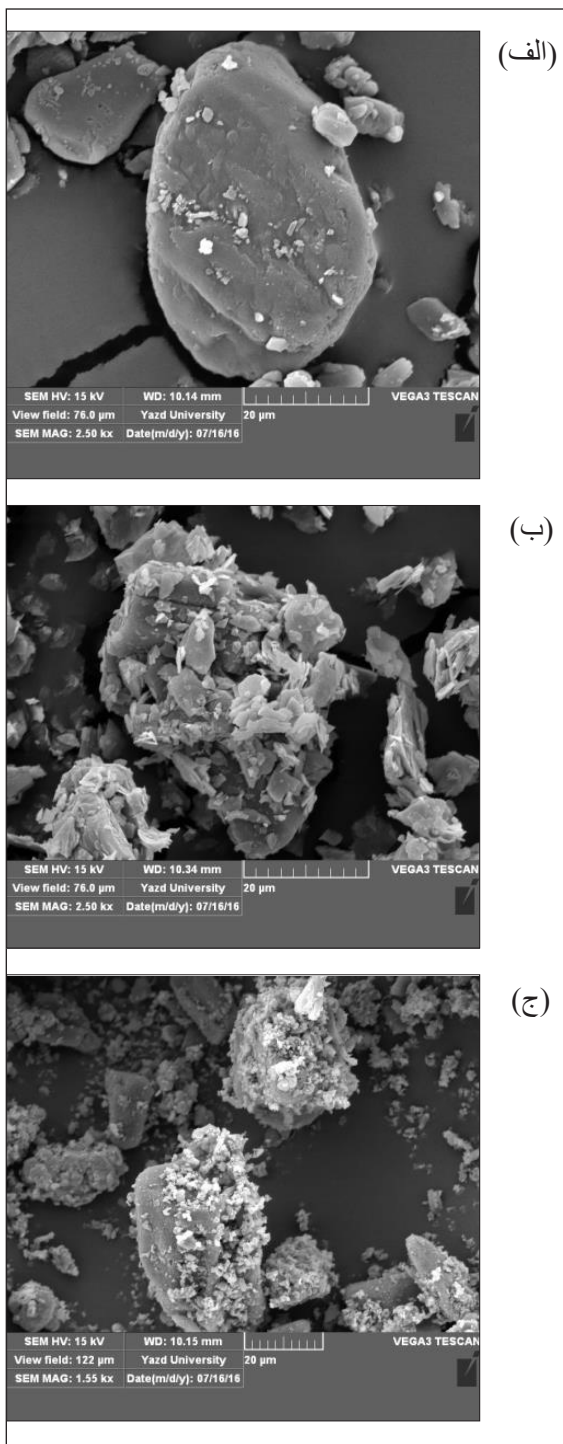
با توجه به این معادله، الگوهای XRD در شکل ۵ اندازه بلورک به تقریب ۲۷ nm برای میکروذرات روی اکسید و ۳۳ nm برای میکروذرات مس (II) اکسید تخمین زده شد. تصاویر SEM میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید (شکل ۶) و ترکیبات ۱ و ۲ پوشش داده شد با میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید در شکل های ۷ و ۸ آمده است.



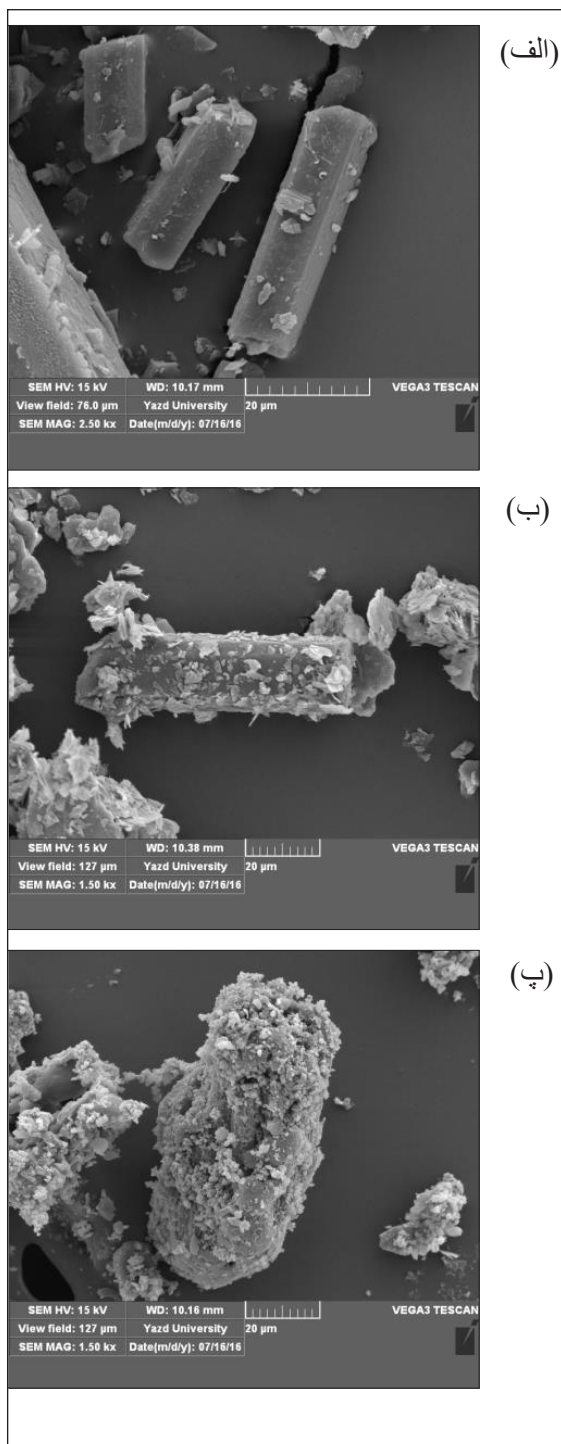
شکل ۶ تصاویر SEM (الف) میکرو ذرات روی اکسید و (ب) میکرو ذرات مس (II) اکسید



شکل ۵ الگوهای پراش پرتو XRD میکروذرات روی اکسید (ZnO) و میکروذرات مس (II) اکسید (CuO) تهیه شده پس از کلسینه شدن (دمای ۵۰۰ °C)



شکل ۸ تصاویر SEM (الف) ترکیب خالص ۲، (ب) پوشش‌دهی شده با میکروذرات روی اکسید و (پ) پوشش‌دهی شده با میکروذرات مس (II) اکسید



شکل ۷ تصاویر SEM (الف) ترکیب خالص ۱، (ب) پوشش‌دهی شده با میکروذرات روی اکسید و (پ) پوشش‌دهی شده با میکروذرات مس (II) اکسید

(Control) انتخاب شده‌اند که هر دو از فعالیت ضد میکروبی بالایی برخوردارند. با مقایسه ویژگی ضدباکتری ترکیبات ۱ و ۲ پیش و پس از پوشش دهی آن‌ها با میکروذرات مس (II) اکسید و روی اکسید، با داروهای استاندارد ذکر شده در بالا نشان می‌دهد که این ترکیبات فعالیت قابل توجهی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت از خود نشان می‌دهند. ترکیب ۱ بیشترین فعالیت را در برابر باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس) و ترکیب ۲ بیشترین فعالیت را در برابر باکتری گرم منفی (پروتئوس میرابیلیس) نسبت به ترکیبات دیگر از خود نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که با تغییر میکرو

بررسی فعالیت ضدباکتری ترکیبات ۱ و ۲ پیش و پس از پوشش دهی با میکروذرات مس (II) اکسید و روی اکسید (با روش انتشار دیسک) با توجه به فعالیت چشمگیر ضد میکروبی ترکیبات سولفونامید-شیف باز، در جدول ۱ فعالیت ضدباکتری ترکیبات شیمیایی ۱ و ۲ پیش و پس از پوشش دهی آن‌ها با میکرو ذرات مس (II) اکسید و روی اکسید، در برابر دو باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس) و یک باکتری گرم منفی (پروتئوس میرابیلیس) آورده شده‌اند. لازم به ذکر است که آمپیسیلین و پنسیلین به‌عنوان داروهای استاندارد

جدول ۱ فعالیت ضدباکتری ترکیبات ۱ و ۲ به‌تنهایی و پس از پوشش دهی آن‌ها با میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید با توجه به ناحیه عدم رشد (mm)

گرم مثبت		گرم منفی	نمونه
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	پروتئوس میرابیلیس	
ND	ND	ND	متانول (غلظت: 10 mg/ml)
16.2 ± 0.38	17.4 ± 0.12	13.3 ± 0.02	۱
۱۰	۱۰	۱۰	MIC
22.1 ± 0.21	21.2 ± 0.11	19.1 ± 0.04	1+ ZnO
۲/۵	۲/۵	۵	MIC
18.4 ± 0.08	18.9 ± 0.02	16.9 ± 0.09	1+ CuO
۵	۵	۵	MIC
14.0 ± 0.12	13.0 ± 0.08	15.8 ± 0.16	۲
۱۰	۱۰	۱۰	MIC
17.8 ± 0.18	17.9 ± 0.05	23.2 ± 0.18	۲+ ZnO
۵	۵	۲/۵	MIC
16.3 ± 0.05	16.2 ± 0.12	20.8 ± 0.20	۲+ CuO
۵	۵	۲/۵	MIC
23.7 ± 0.10	21.4 ± 0.02	27.1 ± 0.08	Control

weaker= 0-10 mm, moderate=11-15 mm, significant=above of 15 m

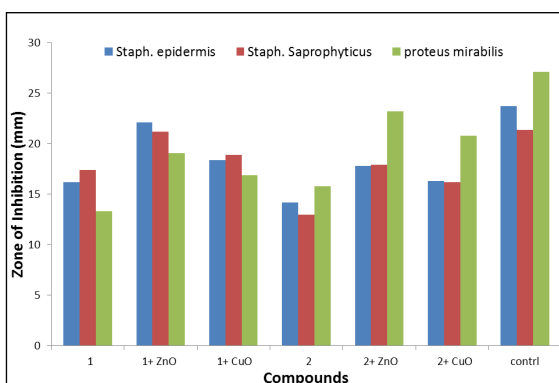
Control (Standard drug): Pencillin, Ampicillin

نشان داده درحالی که پس از پوشش دادن ترکیبات ۱ و ۲ با میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید فعالیت ضدباکتری افزایش یافته است. بر این اساس پوشش دهی ترکیبات سولفونامید-شیف باز با میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید حائز اهمیت است.

نتیجه گیری

در این پژوهش بررسی اثرات بیولوژیکی ترکیبات سولفونامید-شیف باز پوشش داده شده با میکرو ذرات روی اکسید و مس (II) بررسی شد. ترکیبات جدید سولفونامید-شیف باز سنتز و شناسایی شدند. با توجه به مطالعات انجام شده که نشان می دهد حضور گروه های عاملی مانند سولفونیل و آزومتین در این ترکیبات نقش مهمی در فعالیتهای ضدباکتری ایفاء می کنند، این ترکیبات برای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری های گرم مثبت، باکتری گرم منفی مورد بررسی قرار گرفتند. به طور کلی نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان می دهد که ترکیبات سولفونامید-شیف باز به تنهایی و پس از پوشش دادن میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید با این ترکیبات، ویژگی ضدباکتری دارند اما با این تفاوت که فعالیت ضدباکتری میکروذرات روی اکسید و مس (II) اکسید پوشش داده شده با این ترکیبات نسبت به ترکیبات ۱ و ۲ خالص بیشتر است که اهمیت میکروذرات سرامیکی را دو چندان می سازد. لازم به ذکر است هر چه اندازه ذرات سرامیکی کوچک تر باشند فعالیت ضدباکتری بهتری را نشان می دهند.

ذرات روی اکسید و مس (II) اکسید مقدار فعالیت ضدباکتری ترکیبات تغییر یافته است. همان طور که در شکل ۹ مشاهده می شود میکروذرات روی اکسید نسبت به میکرو ذرات مس (II) اکسید فعالیت ضد میکروبی بیشتری از خود نشان می دهد. این ترکیبات فعالیت مهار کننده خوبی در برابر گونه های متفاوتی از باکتری در گستره (mm) ۲۳/۲-۱۳ (جدول ۱) نشان داده اند. بنابراین، این ترکیبات برای مطالعات حداقل غلظت بازدارنده (MIC) مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). گستره MIC فعال این ترکیبات در دامنه وسیعی از (mg/ml) ۱۰-۲/۵ است.



شکل ۹ بررسی فعالیت ضدباکتری ترکیبات ۱ و ۲ پیش و پس از پوشش دادن ترکیبات ۱ و ۲ با میکرو ذرات روی اکسید و مس (II) اکسید

به طور کلی نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان می دهد که ترکیبات به تنهایی بر هر دو باکتری های گرم مثبت و منفی اثر کمتری را

مراجع

- [1] Yang, H.W.; Li, Y.Z.; Pan, X.; Suna, J.T.; Zhua, Ch.J.; Acta Cryst. 62, 1982–1983, 2006.
- [2] Vellaiswamy, G.; Ramaswamy, S.; Int J Pharm Pharm Sci. 6, 487-491, 2014.
- [3] El-Sonbatia, A.Z.; Diaba, M.A.; El-Halawanyb, M.M.; Salam, N.E.; Mater. Chem. Phys. 123, 439–449, 2010.
- [4] Sharaby, C.M.; Spectrochimica Acta Part A. 66, 1271–1278, 2007.
- [5] Gomathi, V.; Selvameena, R.; IJRSR. 4, 94-97, 2013.
- [6] Shivakumar, K.; Shashidhar, P.; Vithalreddy, M.; Halli, M.B.; J. Coordin. Chem. 61, 2274-2287, 2008.
- [7] Rajesh, D.H.; Satyanarayana, D.; Int J Pharm. Bio Sci. 3, 183–192, 2012.

- [8] Tahriri, M.; Yousefi, M.; Mehrani, K.; Tabatabaee, M.; Ashkezari, M.D.; *pharm. Chem.* 2016, accepted.
- [9] Tabatabaee, M.; Ghassemzadeh, M.; Hesami, L.; Neumuller, B.; *Acta Cryst. E66*, 1891-1902, 2010.
- [10] Tabatabaee, M.; Noozari, N.; *Acta Crysta.* 67, 1457-1467, 2011.
- [11] Tabatabaee, M.; Hesami, L.; Ghassemzadeh, M.; Rothenberger, A.Z.; *Kristallogr. Z.; Kristallogr. NCS*, 226, 273-274, 2011.
- [12] Tabatabaee, M.; Ghassemzadeh, M.; Zarabi, B.; Heravi, M.M.; Anary-Abbasinejad, M.; Neumüller, B.; *Phosphorus Sulfur.* 182, 677-686, 2007.
- [13] Tabatabaee, M.; Ghassemzadeh, M.; Dehghan, A.R.; Khavasi, H.R.; Heravi, M.M.; *Acta Cryst. E63*, 42-43, 2007.
- [14] Shirinkam, B.; Tabatabaee, M.; Kukovec, B. M.; Oliver, C.; Ghassemzadeh, M.; *Monatsh Chem.* 145, 1753-1757, 2014.
- [15] Shirinkam, B.; Tabatabaee, M.; Gassezmzadeh, M.; Neumuller, B.; *Acta Cryst. E68*, 2815-2824, 2012.
- [16] Dayan, S.; Ozpazan, N.K.; Ozdemir, N.; Dayan, O.; *J. Organomet. Chem.* 770, 21-28, 2014.
- [17] Valarmathy, G.; Subbalakshmi, R.; *Int J Pharm Bio Sci.* 4, 287-295, 2013.
- [18] Pan, X.; Redding, J.E.; Wiley, P.A.; Wen, L.; McConnell, J.S.; Zhang, B.; *Chemosphere.* 79, 113-116, 2010.
- [19] Ren, G.; Hu, D.; Cheng, E.W.C.; Vargas-Reus, M.A.; Reip, P.; Allaker, R.P.; *Int. J. Antimicrob. Agents.* 33, 587-590, 2009.
- [20] Sirelkhatim, A.; Mahmud, Sh.; Seeni, A.; Kaus, N. H.; Ling Chuo, A.; Siti Kh.; Bakhori, M.; Habsah, H.; Dasmawati, M.; *Micro-Micro Lett.* 7(30), 219-242, 2015.
- [21] Raghupathi, K. R.; Koodali, R. T.; Manna, A. C.; *ACS. Org. Langmuir.* 27(7), 4020-4028, 2011.
- [22] Yamamoto, O.; *Int. J. Inorg. Mater.* 3(7), 643-646, 2001.
- [23] Jadhav, S.; Gaikwad, S.; Nimse, M.; Rajbhoj, A.; *J Clust Sci.* 22, 121-129, 2011.
- [24] Rispoli, F.; Angelov, A.; Badia, D.; Kumar, A.; Seal, S.; Shahb, V.; *J. Hazard. Mater.* 180, 212-216, 2010.
- [25] Seil, J.T.; Webster, T. J.; *Int. J. of Micromed.* 7, 2767-2781, 2012.
- [26] Weir, E.; Lawlor, A.; Whelan, A.; Regan, F. *Analyst.* 133, 835-845, 2008.
- [27] Ruparelia, J.P.; Chatterjee, A.K.; Duttagupta, S.P.; Mukherji S. *Acta Biomater.* 4, 707-716, 2008.
- [28] Whitesides, G.M. *Microsci. Microtech. Chem.* 1, 172-179, 2005.
- [29] Huh, A.J.; Kwon, Y.J. *J. Control. Release.* 156, 128-145, 2011.
- [30] *
تحریری، مزگان؛ طباطبایی، معصومه؛ یوسفی، محمد؛ مهرانی، خیراله؛ دهقانی اشکذری، محمود " بلورشناسی و کانی‌شناسی ایران"، ۱۳۹۶، پذیرفته شده.
- [31] *Organic Syntheses; Coll.* 5, 1973, 1055.
- [32] He, S.; Qiu, L.; Fang, X.; Guan, G.; Chen, P.; Zhang, Z.; Peng, H.; *J. Mater. Chem. A.* 3, 9406-9410, 2015.
- [33] Shaffiey, S.F.; Shapoori, M.; Bozorgnia, A.; Ahmadi, M.; *Micromed J.* 1, 298-301, 2014.
- [34] Kumar, H.; Rani, R.; *Int. Lett. of Chem. Physic. and Astron.* 14, 26-36, 2013.
- [35] Tabatabaee, M.; Ghassemzadeh, M.; Zarabi, B.; Neumüller, B.; *Z Naturforsch.* 61b, 1421-1425, 2006.
- [36] Tabatabaee, M.; Ghassemzadeh, M.; Zarabi, B.; Heravi, M.M.; Anary-Abbasinejad, M.; Neumüller, B.; *Phosphorus Sulfur.* 182, 677-686, 2007.

Study of biological activity of sulfonamide-schiff bases compounds coating with zinc (II) and copper(II) micro oxides

Mozhgan Tahriri¹, Masoumeh Tabatabaee², Mohammad Yousefi^{3,*}, Kheirollah Mehrani⁴, Mahmood Dehghani Ashkezari⁵

1. PhD in Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Prof. of Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Yazd Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran.
3. Associate Prof. of Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Assistant Prof. of Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Science and Research Branch University, Tehran, Iran
5. Assistant Prof. Molecular cell biology, Department of Biology, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

Received: November 2016, Revised: January 2018, Accepted: February 2018

Abstract: In this study, two sulfonamide – Schiff base compounds "N'-(2-hydroxy-3-methoxybenzylidene)-4-methylbenzenesulfonohydrazide and 1,2-bis(2-hydroxy-3-methoxy-benzylidenehydrazine) (1) and N'-(2-hydroxy-3-methoxybenzylidene)-4-nitrobenzenesulfonohydrazide and 1,2-bis(2-hydroxy-3-methoxy-benzylidenehydrazine) (2)" were synthesized by sulfonyl chloride and Schiff base compounds. Copper and zinc oxides were coated by synthesized compounds and were tested for antibacterial activity. All compounds were identified by NMR and FTIR spectra, X-ray diffraction (XRD), and elemental analysis. Scanning Electron Microscope SEM was used for the morphology of micro metal oxides before and after coating with Sulfonamide-Schiff bases compounds. Accordingly, antibacterial activity of compounds against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus*) and Gram-negative bacteria (*Proteus mirabilis*) were tested. It should be noted that both have high antimicrobial activities. The result of the study shows that the antibacterial activities of the synthesized sulfonamide-schiff bases against gram positive and gram negative bacteria decrease after coating on micro metal oxides. It is also worth mentioning that Ampicillin and Penicillin have been utilized as two standard medicines for investigating the antibacterial activities.

Keywords: Sulfonyl chloride, Schiff base, Antibacterial activity, Micro particles zinc oxide, Micro particles copper oxide