

Studiul proprietăților spectrale și determinarea activității biologice pentru o serie de 4-[(4-clorobenzil)oxi]-azobenzeni

ANCA MOANĂ^{1*}, GABRIELA RĂU², STELIAN RADU²

¹Universitatea din Craiova, Facultatea de Chimie, Calea București, Nr. 107I, 200144, Craiova, România

²Universitatea de Medicină și Farmacie-Craiova, Facultatea de Farmacie, Mr. I. Antonescu, Nr. 94, 200144 Craiova, România

Ten 4-[(4-chlorobenzyl)oxi]-azobenzenes were characterized by NMR and MS. The ¹H NMR spectra showed a singlet integrating for two protons of methylen group and a multiplet for the aromatic protons. All these compounds were screened for their antibacterial activity against Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris and for their antifungal activity against Candida albicans by disk diffusion method. The phytobiological effect of all compounds was investigated using Triticum test.

Keywords: azoethers, ¹H NMR spectra, mass spectra, antimicrobial activity, antifungal activity

În ultimul timp s-a acordat o atenție deosebită utilizării celor trei izomeri clorurați ai clorurii de benzil în sinteza organică.

2-(Clorometil)-clorobenzenul, ca de altfel și 4-(clorometil)-clorobenzenul sunt importanți pentru obținerea prin reacția cu 4-(3H)-chinazolinona a 3-(2-clorobenzil)- respectiv 3-(4-clorobenzil)-4(3H)-chinolinonei cu activitate coccidiostatică și antihelmintică [1].

Prin reacția 4-terbutiltoluenului cu 2-(clorometil)-clorobenzen și 4-(clorometil)-clorobenzen catalizată de tetraclorura de titan se formează un amestec de 2-metil-5-terbutildifenilmetan, 2-terbutil-5-metildifenilmetan și izomerii monoclorurați ai metildifenilmetanului [2].

De asemenea au fost obținuți azomonoeteri prin condensarea unor 4-(fenilazo)-fenoli transformați în azofenoxizii corespunzători, cu 2-cloro, 3-cloro și 4-cloroclorura de benzil [3-5].

În ultimii ani, au fost publicate mai multe studii referitoare la spectrometria de masă a azoderivaților [6-14]. Concluzia care se desprinde este că toți azoderivații studiați prezintă ioni de rearanjare prin pierderea azotului și a diverșilor substituenți. Trebuie subliniat că poziția substituenților pe nucleele aromatice nu poate fi stabilită cu ajutorul spectrometriei de masă.

În lucrările publicate anterior sunt prezentate rezultatele cercetărilor noastre cu privire la sinteza și caracterizarea fizică și spectrală a acestor 4-[(4-clorobenzil)oxi]-azobenzeni [15], dar și studiul activității antimicrobiene [16] și fitobiologice [17] a unor compuși cu structură asemănătoare.

În această lucrare se descrie analiza spectrală (¹H RMN și spectrometrie de masă) și se prezintă câteva date legate de acțiunea antimicrobiană, antifungică și fitobiologică a unor compuși care conțin o grupă azo, o grupă eterică, dar și unul sau mai mulți atomi de clor.

Partea experimentală

Azoeterii analizați în această lucrare au fost sintetizați prin cuplarea unor azofenoxizi de sodiu cu 4-clorometil-clorobenzenul [15].

Spectrele de ¹H RMN au fost înregistrate cu un aparat Varian EM-360 (60MHz) în solvenți deuterați în funcție de

solubilitatea compusului analizat, utilizând ca standard intern sau extern tetrametilsilanul (TMS). Spectrele de masă au fost obținute folosind un aparat HPGC-MS 5890 cu MSD 5971.

Determinarea activității antimicrobiene s-a efectuat prin metoda difuzimetrică folosind ca mediu de cultură mediul Mueller-Hinton, soluțiile fiind realizate în etanol, acesta fiind de asemenea testat [16].

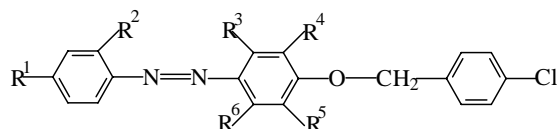
Ca microorganisme-test s-au folosit germeni gram-pozitivi (*Staphylococcus aureus* și *Streptococcus pyogenes*), germeni gram-negativi (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Proteus vulgaris*) și levura *Candida albicans*.

Plăcile Petri s-au închis, s-au incubat la 37°C timp de 18 h și s-a măsurat diametrul zonelor de inhibiție produs de substanțele cu proprietăți antimicrobiene asupra microorganismelor-test. Determinarea s-a făcut cu o precizie de 0,1mm și s-a calculat media aritmetică a diametrelor zonelor de inhibiție, testarea făcându-se pentru două microcomprimate în cazul fiecărui compus de testat. Conținutul în substanță activă pe fiecare microcomprimat a fost 100μg.

Din punctul de vedere al analizei fitobiologice, s-au studiat efectele asupra germinării și alungirii radiculare a cariopselor de grâu pentru 5 probe din fiecare compus, cu concentrații diferite: 0,1%; 0,5%; 0,75%; 1% și 5%. Analiza a fost efectuată comparativ cu un martor alcătuit, ca și probele, din 10 cariopse de grâu cu radica principală de 10mm îmbibate din 12 în 12 h cu 1mL apă de robinet proaspăt fiartă și răcită. Examenul macroscopic a fost efectuat la intervale de 12 h, începând din momentul introducerii cariopselor germinate în soluțiile de testat [17].

Rezultate și discuții

Acest articol prezintă spectrele ¹H RMN și de masă precum și activitatea biologică a zece 4-[(4-clorobenzil)oxi]-azobenzeni cu formula generală:



* Tel.: 0721095797

Tabelul 1
4-[(4-CLOROBENZIL)OXI]-AZOBENZENI

Compus	Denumire	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
I	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 2'-cloro-azobenzen	H	Cl	H	H	H	H
II	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 2-metil-2'-cloro-azobenzen	H	Cl	CH ₃	H	H	H
III	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 3-metil-4'-cloro-azobenzen	Cl	H	H	CH ₃	H	H
IV	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 2-metil-4'-cloro-azobenzen	Cl	H	CH ₃	H	H	H
V	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 3-cloro-4'-metil-azobenzen	CH ₃	H	H	Cl	H	H
VI	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 3,5-dimetil-4'-cloro-azobenzen	Cl	H	H	CH ₃	CH ₃	H
VII	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 3,6-dimetil-4'-cloro-azobenzen	Cl	H	H	CH ₃	H	CH ₃
VIII	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 3,4'-dicloro-azobenzen	Cl	H	H	Cl	H	H
IX	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 3,6-dicloro-azobenzen	H	H	H	Cl	H	Cl
X	4-[(4-clorobenzil)oxi]- 4'-metil-3,6-dicloro-azobenzen	CH ₃	H	H	Cl	H	Cl

Tabelul 2
DATE SPECTRALE

Compus	Protoni aromatici(δppm)	CH ₂ (δppm)	CH ₃ (δppm)	Pic de bază m/z (%)	Pic molecular m/z (%)
I	6,5	4,2	-	125(100%)	356(25%)
II	6,2	4,0	1,5	125(100%)	371(4%)
III	6,3	4,2	1,6	125(100%)	371(12%)
IV	6,3	4,1	1,5	125(100%)	371(15%)
V	6,4	4,0	1,4	125(100%)	371(30%)
VI	6,1	3,6	1,1	125(100%)	385(18%)
VII	6,2	4,0	1,3	125(100%)	385(24%)
VIII	6,9	4,3	-	125(100%)	391(6%)
IX	7,0	4,2	-	125(100%)	391(39%)
X	6,7	4,1	1,8	125(100%)	405(36%)

Putem spune că toți azomonoeterii studiați de noi prezintă în spectrul ¹H RMN două semnale: un multiplet corespunzând protonilor aromatici (δ=6,1-7,0 ppm) și un singlet datorat protonilor din grupa metilen (δ=3,6-4,3 ppm). În cazul azomonoeterilor care au ca substituent o grupă metil mai apare un singlet (δ=1,1-1,8 ppm).

În spectrul ¹H RMN al 4-[(4-clorobenzil)oxi]-3,5-dimetil-4'-cloroazobenzenului care are ca substituenți pe unul din nucleeele benzenice două grupe metil echivalente din punct de vedere magnetic, apare în plus un singlet la δ=1,0 ppm.

Semnalul datorat celor două grupe metil neechivalente din punct de vedere magnetic din molecula 4-[(4-

clorobenzil)oxi]-3,6-dimetil-4'-cloro-azobenzenului apare la δ=1,4 ppm și este un dublet.

Studiind spectrele ¹H RMN ale acestor azomonoeteri se observă că deplasările chimice ale grupelor metil de pe nucleeele benzenice au valori foarte apropiate și mici, corespunzând unor câmpuri înalte.

Spectrele ¹H RMN confirmă structura moleculară dedusă din ecuația reacției de sinteză și din spectrele UV-Vis și IR.

Interpretarea spectrelor de masă pentru zece 4-benziloxi-azobenzenii reprezintă o dovadă suplimentară referitor la structura acestor compuși. Mai mult, înregistrarea spectrelor de masă a fost utilă pentru determinarea maselor moleculare.

Fragmentarea descrisă în figura 1 pentru 4-[(4-clorobenzil)oxi]-2'-cloro-azobenzen este caracteristică pentru toți compușii studiați:

Se observă că fragmentarea are loc cu ruperea legăturii O-CH₂ dând picul de bază la m/z125 pentru toți compușii.

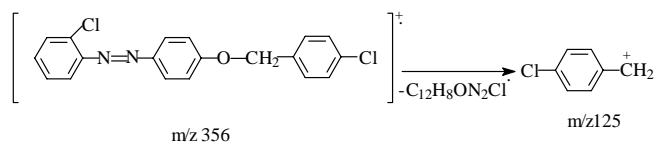


Fig. 1.

Activitatea antimicrobiană

Se constată o rezistență a tuturor bacteriilor testate în prezența azomonoeterilor studiați de noi.

În ceea ce privește activitatea antifungică, am observat o inhibare a creșterii ciupercii *Candida albicans* în prezența unora dintre compușii studiați. Este interesant de remarcat că prezintă activitate antifungică una dintre seriile de izomeri, valorile diametrului zonei de inhibiție a dezvoltării levurii, exprimată în mm, fiind următoarele: 4-[(4-clorobenzil)oxi]-2-metil-4'-cloroazobenzen (20mm), 4-[(4-clorobenzil)oxi]-3-cloro-4'-metilazobenzen (15mm), 4-[(4-clorobenzil)oxi]-3-metil-4'-cloroazobenzen (12mm) și 4-[(4-clorobenzil)oxi]-2-metil-2'-cloro-azobenzen (18mm).

Activitatea fitobiologică

A fost studiată acțiunea celor zece 4-[(4-clorobenzil)oxi]-azobenzeni luați în diferite concentrații asupra germinăției, și în special asupra alungirii radiculare a cariopselor germinate de grâu, *Triticum aestivum* subsp. *aestivum*, soiul Dropia (*Gramineae*), cu ajutorul testului *Triticum*.

S-a urmărit procesul de alungire a radiclei principale și aspectul lăstarilor, comparativ cu martorul. Datele experimentale au fost centralizate la intervale de 12 h, calculându-se apoi media aritmetică a valorilor obținute.

Rezultatele obținute evidențiază inhibiția alungirii radiculare, față de martor, la toate cele cinci concentrații folosite pentru cei zece 4-[(4-clorobenzil)oxi]-azobenzeni.

Concluzii

Au fost analizați zece 4-[(4-clorobenzil)oxi]-azobenzeni care conțin în moleculă o grupă azo, o grupă eterică, dar și unul sau mai mulți atomi de clor. Compușii prezintă interes atât sub aspectul chimic, cât și sub aspectul proprietăților farmacologice. Rezultatele obținute prin spectrometrie ¹H RMN și spectrometrie de masă confirmă structura compușilor. Studiul acțiunii biologice arată că o serie de patru izomeri prezintă activitate antifungică, iar toți compușii studiați inhibă alungirea radiculară a cariopselor germinate de grâu.

Bibliografie

1. ROUBINEK, F., VAVRINA, J., BUDESINSKY, Z., Collect. Czech. Chem. Commun., **47**, nr. 2, 1982, p. 630
2. POZDNYAKOVICH, Y.U., SAVYAK, R.P., SHEIN, S.M., J. Org. Chem. USSR, **22**, nr. 3, 1986, p. 522
3. RADU, S., BRĂTULESCU, G., Rev. Roum. Chim., **41**, 1996, p. 119
4. RADU, S., Rev. Roum. Chim., **42**, 1997, p. 471
5. RADU, S., BRĂTULESCU, G., POGANY, I., GORRICHON, J.P., MILA, J.P., Rev. Roum. Chim., **41**, 1996, p. 959
6. BOWIE, J.H., LEWIS, G.E., COOKS, R.G., J. Chem. Soc. (B), 1967, p. 621
7. RADU, S., Eur. mass. Spectrom., **1**, 1995, p. 561
8. NEKRASOV, Y.S., PUCHOV, V.A., VULFSUN, N.S., Zh. Obshchei. Khim., **38**, 1968, p. 1385
9. VOLLMIN, J.A., PACHLATKO, P., SIMON, W., Helv. Chim. Acta., **52**, 1969, p. 737
10. GILLAND, J.C., LEWIS, J.S., Org. Mass Spectrom., **9**, 1974, p. 1148
11. MESSMER, K., NUYKEN, O., Org. Mass Spectrom., **12**, 1977, p. 100
12. NUYKEN, O., MESSMER, K., Org. Mass Spectrom., **12**, 1977, p. 106
13. NATALIS, P., FRANKLIN, J.L., Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys., 1981, p. 4035
14. BRĂTULESCU, G., Rev. Roum. Chim., **45**, nr. 3, 2000, p. 277
15. RADU, S., MOANPĂ, A., RĂU, G., Rev. Chim. (București), **52**, nr. 11, 2001, p. 619
16. RADU, S., RĂU, G., MOANPĂ, A., Ann. Univ. Craiova, Seria Chimie, **XXXII**, 2003, p. 164
17. RADU, S., RĂU, G., MOGOȘANU, G., LEPĂDATU, C., PANĂ, M., Craiova Medicală, **6**, nr. 2, 2004, p. 196

Întriat în redacție: 1.10.2006