



سنتز، شناسایی طیفی و فعالیت ضد میکروبی رنگزاهای هتاریل آزوایندول جدید از برخی مشتقات ۲-آمینوبنزوتیازول

آسیه یحیی زاده^{۱*}، حسام‌الدین یوسفی^۲، زهرا نژاد مهدی پور^۳

۱- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، صندوق پستی: ۴۱۳۳۵-۱۹۱۴۱

۲- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، صندوق پستی: ۴۱۳۳۵-۱۹۱۴۱

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، صندوق پستی: ۴۱۳۳۵-۱۹۱۴۱

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۶ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۴/۶/۲۰

چکیده

در این تحقیق چهار آمین هتروسیکل از واکنش مشتقات آنیلین با پتاسیم تیوسیانات و محلول برم در استیک اسید تهیه شدند. از جفت کردن ۲-متیل ایندول با نمک‌های دی آزونیم تهیه شده از چهار آمین هتروسیکل سنتز شده و دو آمین هتروسیکل خریداری شده شش رنگزای جدید سنتز شدند. ساختار رنگزاهای با طیف‌سنجی UV-Vis، IR و ¹H NMR تأیید شد. خواص حلال‌پوشی آنها در حلال‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. علاوه بر این خواص ضد میکروبی رنگزاهای سنتز شده روی باکتری‌های اشرشیاکلی (EC)، باسیلوس سابیتیلیس (BS)، میکروکوکوس لوتئوس (ML) و سودوموناس آرتوژناز (PS) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که برخی از این ترکیبات دارای سطوح بالایی از فعالیت ضد میکروبی هستند.

واژه‌های کلیدی: نمک دی آزونیم، ۲-متیل ایندول، ۲-آمینوبنزوتیازول، حلال پوشی، فعالیت ضد میکروبی.

Synthesis, Spectral Characterization and Antimicrobial Activity of Novel Hetarylazoindole Dyes from Some 2-Aminobenzothiazole Derivatives

A. Yahyazadeh*, H. Yousefi, Z. Nezhadmehdipour

Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Guilan, P.O.Box: 41335-19141, Rasht, Iran

Received: 27-08-2014

Accepted: 15-02-2015

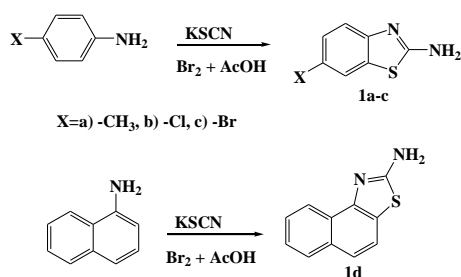
Available online: 11-09-2015

Abstract

In this study four heteroaryl amines have been prepared from the reaction of aniline derivatives, potassium thiocyanate and bromine in acetic acid. Coupling of diazonium salts of corresponding amines with 2-methylindole led to hetaryl-azoindole dyes. These dyes have been characterized by UV-Visible, FT-IR and ¹H NMR spectroscopy. The solvatochromism properties of dyes have been investigated in various solvents. In addition, the antimicrobial activity of the synthesized dyes has been evaluated against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus leuteus* and *Pseudomonas aeruginosa* bacterial strains. The results showed that some of these dyes are potential antibacterial compounds. *J. Color Sci. Tech.* 9(2015), 125-133©. Institute for Color Science and Technology.

Keywords: Diazonium salt, 2-methylindole, 2-aminobenzothiazole, Solvatochromism, Antimicrobial.

آمین‌های آروماتیک مختلف با پتاسیم تیوسیانات و برم در حلال استیک اسید تهیه شدند (شکل ۱). ساختار آمین‌های سنتز شده با نقطه ذوب و بعضاً روش طیف‌سنجی $^1\text{H NMR}$ بررسی و تأیید شد. از جفت‌شدن ۲-متیل‌این‌دول با محلول نمک دی‌آزونیوم تهیه شده از چهار آمین هتروسیکل سنتز شده و دو آمین هتروسیکل خریداری شده، شش رنگزای جدید سنتز شد (شکل ۲). ساختار ترکیبات حاصل با روش‌های طیف‌سنجی $^1\text{H NMR}$ ، IR و UV-Vis مورد تأیید قرار گرفت. طیف جذبی مواد رنگزای سنتز شده در حلال‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین فعالیت ضد میکروبی رنگزاهای سنتز شده بر روی باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس ساب‌تیلیس (BS)، میکروکوکوس لوتئوس (ML) و گرم باکتری‌های منفی اشرشیاکلی (EC)، و سودوموناس آرتوژناز (PS) بررسی شد.



شکل ۱: روش تهیه آمین‌های هتروسیکل.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد

حلال‌های به کار رفته در این تحقیق از بازارهای داخلی خریداری شدند و پس از تقطیر و خالص‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند. مواد اولیه از شرکت مرک و فلوکا خریداری شده و بدون هیچ‌گونه خالص‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲- روش کار

پیشرفت واکنش به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) دنبال شده و برای آشکارسازی از بخار ید یا لامپ UV دستگاه CAMAG استفاده شد. نقاط ذوب با استفاده از لوله موئین و به کمک دستگاه Electrothermal 9100 اندازه‌گیری شدند.

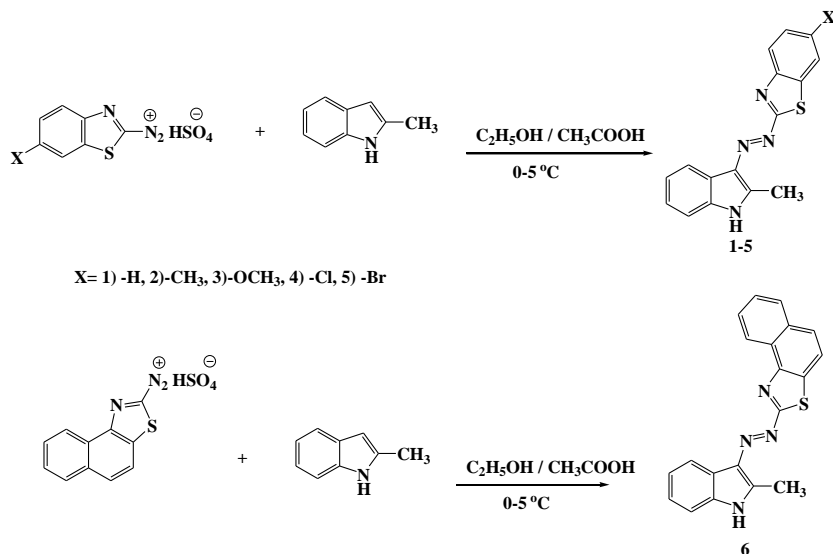
طیف‌های زیر قرمز (IR) به وسیله دستگاه Shimadzu FT-IR مدل 8400 ثبت گردیدند. اندازه‌گیری‌های طیف‌سنجی (UV-Vis) با استفاده از دستگاه Cary 100 Scan انجام شدند. طیف‌های $^1\text{H NMR}$ توسط دستگاه‌های 400 MHz و 500 MHz در 25°C اندازه‌گیری شدند.

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر تلاش بسیاری برای دستیابی به رنگزای آروماتیک هم‌ارز آنتراکینونی از نظر فام یعنی محدوده λ_{max} ارزش اقتصادی و سایر خواص غیررنگرزی صورت گرفته است، به طوری که استفاده از حدواسط‌های هتروسیکلی برای سنتز رنگزاهای آروماتیک دیسپرس به دلیل استحکام، شفافیت، ثبات رنگرزی و از همه مهم‌تر ضریب خاموشی بالای این نوع رنگزاهای رشد چشمگیری برخوردار بوده است. به عنوان مثال ترکیبات آمینوتیازول‌ها، آمینوبنزیوتیازول‌ها و آمینوبنزیوتیازول‌ها با دارا بودن اجزاء دی‌آزو الکترونگاتیو، جایگاهی باتوکرومیک مشخصی نسبت به ترکیبات بنزوئیدی مشابه ایجاد می‌کنند [۸-۱۱]. برخی از مشتقات تیازول‌ها و بنزو تیازول‌ها به دلیل خواص ویژه از ترکیبات مورد علاقه پژوهشگران به ویژه شیمی دان‌ها می‌باشند. این ترکیبات در صنایع گوناگون از قبیل اپتیک غیرخطی [۹-۱۱]، لیزر [۱۲]، ذخیره‌سازی اطلاعات [۱۳]، داروهای ضد درد [۱۴]، عفونت‌های HIV و مهارکننده باکتری [۱۵] در کنار سایر فناوری‌های پیشرفته مربوط به رنگ مورد استفاده قرار می‌گیرند.

مطالعات آزمایشگاهی مشخص نمودند که برخی از مواد رنگزای آرومی فعالیت زیستی قابل توجهی دارند [۱۶-۱۸]. کارسی و همکارانش در تحقیقات گسترده خود خواص ضد میکروبی مواد رنگزای بیس آرومی مشتق شده از ترکیبات پیرازولی را بر روی شش سویه باکتری گرم مثبت و گرم منفی و دو مخمر کاندیدا آلبیکنس و گلابراتا مورد بررسی قرار دادند، نتایج آزمایشگاهی نشان داد تأثیر مواد رنگزای سنتز شده بر روی مخمرهای کاندیدا آلبیکنس و گلابراتا بیشتر از باکتری‌های مورد آزمایش است [۱۹]. اهمیت رنگزاهای هتروسیکلی باعث شده که سنتز و بررسی کاربرد این نوع رنگزاهای در گروه تحقیقاتی ما نیز از اولویت خاصی برخوردار باشد. در همین راستا در مطالعاتی پس از سنتز مواد رنگزای هتروسیکل بر پایه جفت‌شونده‌های کینولونی، اوراسیلی و فنولی، خواص ضد باکتری آنها را مورد بررسی قرار گرفت و در برخی موارد نتایج قابل قبولی حاصل شد [۲۰-۲۳]. ایندول و مشتقات آنها دارای فعالیت‌های متنوع زیستی هستند و نقش مهمی را در ساختار ترکیبات طبیعی و عوامل درمانی دارند. برخی از مشتقات ایندول کاربردهای متنوع دارویی در داروهای ضد التهاب، ضد درد، ضد انگل، ضد قارچ، ضد افسردگی، ضد سل، ضد سرطان و ضد ویروس دارند [۲۴-۲۶]. نظر به اهمیت این ترکیبات و با توجه به اینکه تحقیقاتی در زمینه مواد رنگزای آرومی بر پایه ایندول و مشتقات ۲-آمینوبنزیوتیازول انجام نگرفته است در این تحقیق سنتز رنگزاهای آرومی هتروسیکل بر پایه ۲-متیل‌این‌دول با استفاده از مشتقات ۲-آمینوبنزیوتیازول و ۲-آمینونفتوتیازول مد نظر قرار گرفت.

برای تهیه این نوع ترکیبات ابتدا یک سری مشتقات ۲-آمینوبنزیوتیازول (1a-c) و مشتق ۲-آمینونفتوتیازول (1d) از تراکم



شکل ۲: ساختار رنگزهای هتروسیکل دیسپرس شده.

Gray solid (68 %), Mp: 320 < °C [Not reported], ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆); δ_H 8.48 (1 H, d, ³J_{HH} 8.43 Hz, CH), 8.47 (1H, s, CH), 8.30 (1H, d, ³J_{HH} 8.37 Hz, CH), 8.05 (1H, s, CH), 7.78-7.75 (1H, t, ³J_{HH} 6.85 Hz, CH) and 7.70-7.66 (1H, t, ³J_{HH} 8.45 Hz, CH).

۲-۲-۲- روش عمومی برای تهیه نمک‌های دی آزونیم از آمین‌های هتروسیکلی نوع اول

برای تهیه ۳ mmol از نمک‌های دی آزونیمی مربوطه، در یک ارلن ۲۵ ml مجهز به هم‌زن مغناطیسی ۳-۶ ml اسید سولفوریک ۹۶٪ ریخته و تا دمای °C ۶۵-۷۰ حرارت داده شد. همراه با هم‌زدن اسید، مقدار ۲۰۷-۳۱۰ mg (۳-۴,۵ mmol) نیتريت سدیم به آن اضافه شده و مدت ۲۰-۳۰ دقیقه در همان دما باقی‌ماند سپس دمای محلول با حمام آب-یخ در محدوده °C ۰-۵ ثابت نگه داشته شد. هم‌زمان در یک ارلن ۱۰۰ ml دیگر مقدار ۳ mmol از آمین‌های مربوطه را در ۱۵-۴۵ ml مخلوط حلال‌های اسید استیک گلاسیال و اسید پروپیونیک (نسبت ۵ به ۱) حل کرده و دمای آن با حمام آب-یخ به محدوده °C ۱-۵ رسانده شد. سپس محلول حاصل قطره قطره در مدت زمان ۲۵-۳۰ دقیقه به محلول نیتروزیل سولفوریک اسید اضافه شد. بعد از افزایش کامل محلول، ۱-۱,۵ ساعت دیگر هم‌زدن ادامه یافت و پیشرفت واکنش با ستون کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) بررسی و کامل شدن آن مشخص شد. محلول نمک دی آزونیم تهیه شده بلافاصله در مرحله بعد برای سنتز مواد رنگزای مربوطه مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲-۲- روش عمومی تهیه آمین‌های هتروسیکل (۱a-d)

در یک بالن ته گرد ۱۰۰ ml مجهز به هم‌زن مغناطیسی، (۲۲ mmol) تیوسیانات پتاسیم و (۱۰ mmol) آمین‌های آروماتیک مربوطه محلول در ۲۰ ml حلال اسید استیک ریخته و به تدریج در مدت زمان ۳۰ دقیقه، مقدار (۱۰ mmol) برم حل شده در (۲ ml) اسید استیک در دمای °C ۲۵-۳۰ به آن اضافه شد. این مخلوط به مدت ۲۴ ساعت هم‌زده شد. سپس رسوب‌های ناخالص حاصل چندین بار با آب سرد شست و شوی داده شدند. برای خالص‌سازی، رسوب‌های به دست آمده در ۱۰۰ میلی‌لیتر HCl ۱۵٪ حل و تا نقطه جوش محلول حرارت داده شد. محلول داغ حاصل بعد از ۱۵ دقیقه صاف و پس از سرد کردن تا دمای اتاق با محلول آمونیاک آبی خنثی شد. رسوب‌های حاصل جمع‌آوری و برای خالص‌سازی بیشتر در حلال اتانل تبلور مجدد شد [۲۷]. ساختار آمین‌های هتروسیکل تهیه شده با نقطه ذوب و بعضاً ¹H NMR بررسی شد که داده‌های فیزیکی آنها به قرار زیر است.

2-Amino-6-methylbenzothiazol (1a):
Yellow solid (75 %), Mp: 135-140 °C [Reported by Aldrich: 140-142 °C], ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃); δ_H 7.45 (1 H, d, ³J_{HH} 8.19 Hz, CH), 7.42 (1H, d, ⁴J_{HH} 1.16 Hz, CH), 7.15 (1H, dd, ³J_{HH} 8.19 Hz, ⁴J_{HH} 1.16 Hz, CH) and 5.45 (2H, b, NH₂).

2-Amino-6-chlorobenzothiazol (1b):
Milky white solid (76 %), Mp: 194-198 °C [Reported by Aldrich: 199-201 °C].

2-Amino-6-bromobenzothiazol (1c):
Brown solid (72 %), Mp: 207-211°C [Reported by Aldrich: 213-217 °C].

2-Amino-naphthothiazol (1d):

(2H, m, CH), 2.81 (s, 3H, CH₃).

3-(naphthothiazol-2-ylazo)-2-methylindol (dye 6):

Brown crystals (Yield: 80 %, Mp: 300 < °C). FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹), 3250 (NH), 3050-3120 (Aro.-H), 1498 (N=N); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆); δ_{H} 12.95 (1H, b, NH), 8.83-8.85 (1H, m, CH), 8.70 (1H, d, ³J_{HH} 4.0 Hz), 8.86-8.38 (2H, m, CH), 7.87-7.89 (2H, m, CH), 7.48 (1H, d, ³J_{HH} 7.2 Hz), 7.35-7.40 (3H, m, CH), 2.80 (s, 3H, CH₃).

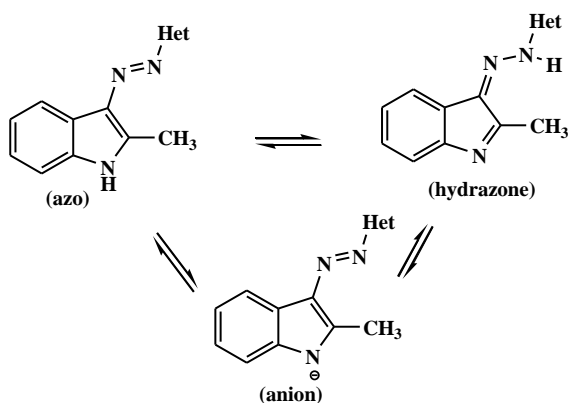
۲-۲-۴- روش بررسی خواص ضد میکروبی رنگزاهای آزویی ۱-

فعالیت ضد میکروبی ترکیبات سنتز شده روی باکتری‌های اشرشیاکلی (EC)، باسیلوس سابیتیلیس (BS)، میکروکوکوس لوتئوس (ML) و سودوموناس آرتوژناز (PS) بررسی شد. ترکیبات سنتز شده در DMSO حل شدند. سپس ۳ میلی‌لیتر از نوترین برات برای رسیدن به غلظت‌های نهایی ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به آن اضافه شد. باکتری مورد نظر به مخلوط اضافه و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفت. نمونه‌های کنترل با استفاده از محیط کشت‌های حاوی ۱: باکتری و DMSO، ۲: فقط حلال DMSO و ۳: فقط ترکیبات سنتز شده تهیه شدند. درجه رشد با اندازه‌گیری جذب در ۶۰۰ نانومتر انجام شد و اصلاحات با استفاده از کنترل‌ها صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- سنتز و تعیین ساختار

مواد رنگزای ۱-۶ از جفت کردن ۲-متیل‌ایندول با آمین‌های هتروآروماتیک تهیه شدند. (شکل ۲). برای این مواد رنگزا می‌توان سه شکل توتومری به نام‌های آزو، هیدرازون و شکل آنیونی را در نظر گرفت (شکل ۳).



شکل ۳: فرم‌های توتومری رنگزاهای هتروسیکل سنتز شده.

۲-۲-۳- روش عمومی سنتز رنگزاهای هتروسیکلی بر پایه ۲-

متیل‌ایندول

در یک ارلن ۱۰۰ ml مجهز به همزن مغناطیسی، ۸ ml حلال اتانل و ۲ ml حلال اسید استیک گلاسیال برای انحلال ۳ mmol از ترکیب جفت‌شونده ۲-متیل‌ایندول اضافه شد و دمای آن در حمام آب-یخ به محدوده °C ۵-۰ رسانده شد. محلول نمک‌های دی‌آزونیوم تهیه شده مرحله قبل از طریق قیف چکاننده به تدریج طی مدت ۴۰-۵۰ دقیقه همراه با هم‌زدن با همزن مغناطیسی برای تهیه مواد رنگزای مورد نظر به محلول حاوی ترکیب جفت‌شونده اضافه شد. هم‌زمان با افزایش نمک دی‌آزونیوم pH محلول کاهش می‌یابد که با افزایش محلول هیدروکسید سدیم ۱M، pH واکنش در محدوده ۴-۶ ثابت نگه داشته شد. پیشرفت واکنش‌ها با TLC تعقیب شد که کامل شدن آنها ۲،۵-۱،۵ ساعت به طول انجامید. رسوب‌های حاصل با پمپ خلاء روغنی صاف، شستشو و خشک شد و برای خالص‌سازی بیشتر با دی‌متیل‌فرمامید تبلور مجدد و خواص فیزیکی و شیمیایی رنگزاهای سنتز شده مورد بررسی قرار گرفتند. مشخصات طیفی تمامی مشتقات به صورت زیر است:

3-(benzothiazolylazo)-2-methylindol (dye 1):

Orange crystals (Yield: 82 %, Mp: 266-268 °C). FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹), 3070 (NH), 2950-3000 (Aro.-H), 1495 (N=N); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆); δ_{H} 12.84 (1H, b, NH), 8.31-8.33 (1H, m, CH), 8.01 (1H, d, ³J_{HH} 7.6 Hz, CH), 7.97 (1H, d, ³J_{HH} 7.6 Hz, CH), 7.47-7.52 (2H, m, CH), 7.43 (1H, d, ³J_{HH} 8.0 Hz, CH), 7.33-7.39 (2H, m, CH), 2.81 (3H, s).

3-(6-methylbenzothiazolylazo)-2-methylindol (dye 2):

Red crystals (Yield: 81 %, Mp: 260-261 °C). FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹), 3100 (NH), 2850-3000 (Aro.-H), 1500 (N=N); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆); δ_{H} 12.78 (1H, b, NH), 8.29-8.33 (1H, m, CH), 7.85 (1H, d, ³J_{HH} 8.0 Hz, CH), 7.79 (1H, s, CH), 7.46-7.50 (1H, m, CH), 7.30-7.35 (3H, m, CH), 2.80 (3H, s, CH₃), 2.45 (s, 3H, CH₃).

3-(6-methoxybenzothiazolylazo)-2-methylindol (dye 3):

Red crystals (Yield: 85 %, Mp: 259-260 °C). FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹), 3100 (NH), 2850-3000 (Aro.-H), 1500 (N=N); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆); δ_{H} 12.78 (1H, b, NH), 8.30-8.32 (1H, m, CH), 7.87 (1H, d, ³J_{HH} 8.8 Hz, CH), 7.56 (1H, d, ⁴J_{HH} 2.4 Hz, CH), 7.44-7.48 (1H, m, CH), 7.30-7.33 (2H, m, CH), 7.09 (1H, dd, ³J_{HH} 8.8 Hz, ⁴J_{HH} 2.4 Hz, CH), 3.85 (3H, s, OCH₃), 2.78 (s, 3H, CH₃).

3-(6-chlorobenzothiazolylazo)-2-methylindol (dye 4):

Brown crystals (Yield: 80 %, Mp: 254-256 °C). FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹), 3120 (NH), 2900-3050 (Aro.-H), 1490 (N=N); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆); δ_{H} 12.92 (1H, b, NH), 8.29-8.31 (1H, m, CH), 8.16 (1H, d, ⁴J_{HH} 2.0 Hz, CH), 7.95 (1H, d, ³J_{HH} 8.4 Hz, CH), 7.52 (1H, dd, ³J_{HH} = 8.4, ⁴J_{HH} 2.0 Hz, CH), 7.48-7.50 (1H, m, CH), 7.33-7.36 (2H, m, CH), 2.80 (s, 3H, CH₃).

3-(6-bromobenzothiazol-ylazo)-2-methylindol (dye 5):

Brown crystals (Yield: 78 %, Mp: 270-272 °C). FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹), 3200 (NH), 2950-3050 (Aro.-H), 1500 (N=N); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆); δ_{H} 12.90 (b, NH), 8.28-8.31 (1H, m), 8.14 (1H, d, ⁴J_{HH} 2.1 Hz), 7.95 (1H, d, ³J_{HH} 8.4 Hz), 7.52 (1H, dd, ⁴J_{HH} 8.4, ⁴J_{HH} 2.1 Hz), 7.48-7.51 (1H, m, CH), 7.31-7.34

۳-۲- مطالعه خواص جذبی و حلال پوشی رنگزهای هتروسیکل

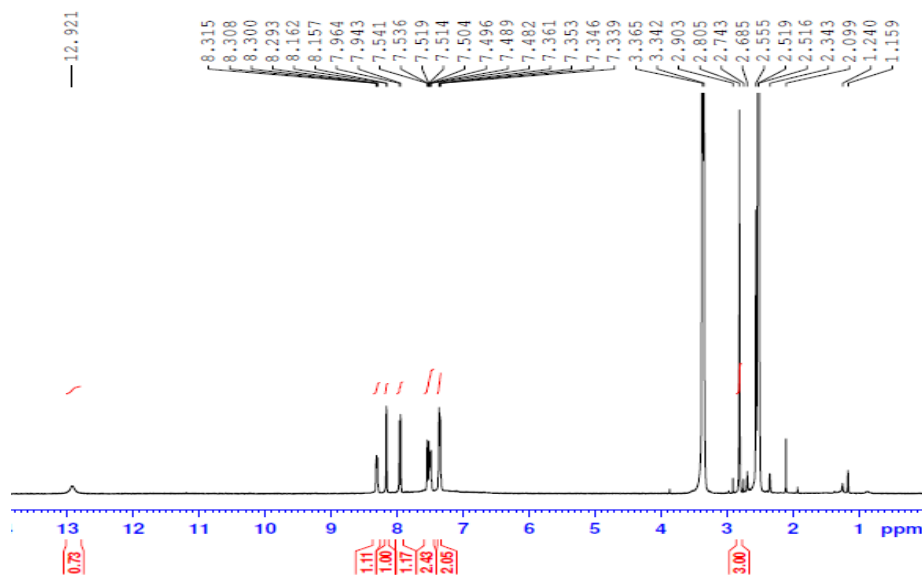
آزوی دیسپرس سنتز شده

طیف‌های جذبی UV-Vis نزدیک ترکیبات شیمیایی تحت تأثیر محیط اطراف خود به ویژه حلال قرار می‌گیرند به طوری که حلال‌ها می‌توانند موقعیت، شدت و شکل نوارهای جذبی انواع ترکیبات به ویژه رنگزها را تغییر دهند. امروزه این موضوع با توجه به اهمیت آن به یکی از موضوعات پرطرفدار پژوهشگران رنگ و شیمی فیزیک تبدیل شده است. در اینجا برای بررسی رفتار حلال پوشی، طیف جذب الکترونی مواد رنگزای سنتز شده در سه گروه حلال شامل حلال‌های پروتونی اتانل، استیک اسید، حلال‌های بازی قطبی DMF و DMSO و حلال‌های کمتر قطبی استونیتریل و کلروفرم در رابطه با اثر عوامل استخلافی با غلظت‌های 10^{-6} تا 10^{-8} M و در محدوده طول موج ۸۰۰-۲۵۰ nm ثبت شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که طول موج‌های جذبی نمونه‌های حاصل قابل مقایسه با بسیاری نمونه‌های تجارتي سنتز شده است که در آنها از دی‌آزوتی شونده‌های غیرهتروسیکلی (هموسیکل) استفاده شده است [۲۸].

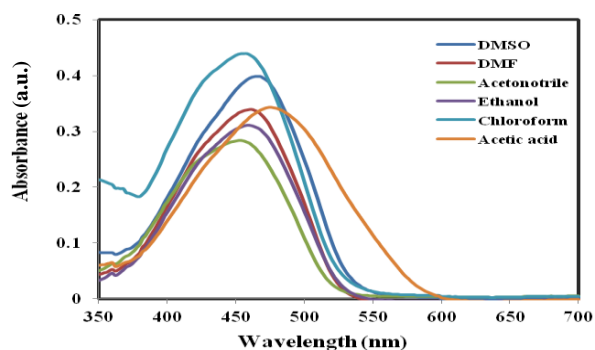
در طیف زیر قرمز (IR) تمامی ترکیبات تهیه شده (در KBr) ارتعاشات کششی NH آمینی در محدوده $3250-3070$ cm^{-1} ، ارتعاشات کششی پروتون‌های آروماتیکی (C-H) در محدوده $3120-3050$ و ارتعاشات کششی مربوط به گروه آزو (-N=N-) در ناحیه $1500-1495$ cm^{-1} ظاهر می‌شوند. طیف رزونانس مغناطیس پروتون (1H NMR) مواد رنگزای تهیه شده در $DMSO-d_6$ در دمای $25^\circ C$ ثبت و جابجایی شیمیایی (δ) پروتون NH آمینی را به صورت یکتایی پهن در محدوده $12.95-12.78$ ppm، پروتون‌های آروماتیکی را در محدوده $7.09-8.85$ ppm، پروتون‌های CH_3 جزء ایندولی را به صورت یکتایی در محدوده $2.81-2.78$ ppm، پروتون‌های CH_3 و OCH_3 جزء بنزوتیازولی (مواد رنگزای ۲ و ۳) را به صورت یکتایی به ترتیب در 3.85 ppm و 2.45 ppm نشان می‌دهند (برای نمونه شکل ۴ برای ترکیب رنگزای ۴). این نتایج نشان می‌دهند که این رنگزها در حلال DMSO در یک فرم توتومری غالب وجود دارند.

جدول ۱: داده‌های حلال پوشی (λ_{max}) برای رنگزهای سنتز شده در حلال‌های مختلف.

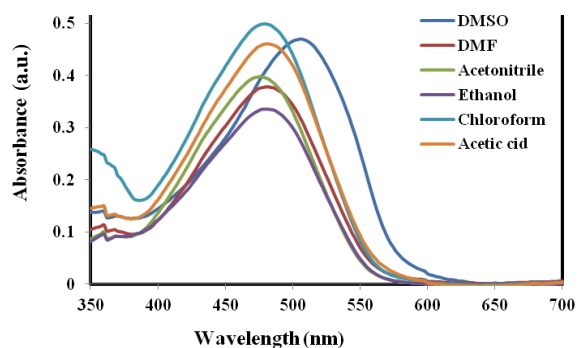
EtOH/H ⁺	Acetic acid	Ethanol	Chloroform	Acetonitrile	DMF	DMSO	EtOH/OH ⁻	Dye
۴۸۹	۴۸۴	۴۵۰	۴۴۴	۴۴۱	۴۵۶	۴۷۴	۴۶۹	۱
۴۹۵	۴۹۳	۴۵۲	۴۴۶	۴۴۴	۴۵۲	۴۷۲	۴۶۸	۲
۴۸۷	۴۷۹	۴۵۷	۴۵۶	۴۵۲	۴۶۱	۴۶۶	۴۶۶	۳
۴۶۳	۴۶۱	۴۵۶	۴۵۲	۴۵۰	۴۵۸	۴۶۸	۴۶۷	۴
۴۶۲	۴۶۱	۴۵۴	۴۵۱	۴۵۲	۴۶۰	۴۶۹	۴۶۴	۵
۴۸۰	۴۸۱	۴۸۰	۴۷۷	۴۷۶	۴۸۱	۵۰۶	۵۰۹	۶



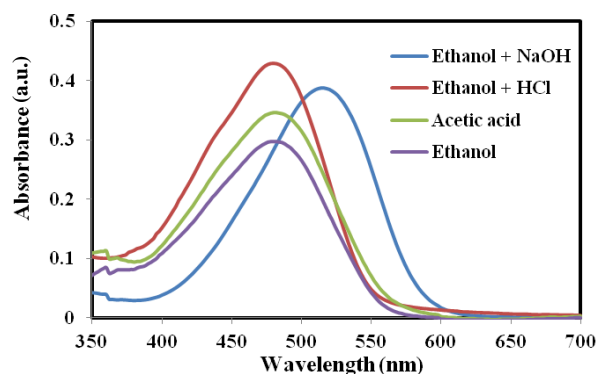
شکل ۴: طیف 1H NMR ۳-۲- (۶-کلروبنزو[d]تiazول-۲-یل)دی‌آزینیل-۲-متیل‌ایندول (رنگزای ۴).



شکل ۵: طیف جذب رنگزای ۳ در حلال‌های مختلف.



شکل ۶: طیف جذب رنگزای ۶ در حلال‌های مختلف.



شکل ۷: طیف جذب رنگزای ۶ در محلول‌های اسیدی و بازی.

بررسی بیشینه جذب رنگزاهای در حلال‌های مختلف نشان می‌دهد که با افزایش طول سیستم رزونانسی و قرار گرفتن گروه نفتوتیازولی بجای گروه بنزوتیازولی در جزء دی‌آزوتنه شونده، بیشینه جذب (λ_{max}) این رنگزای در تمامی حلال‌ها به طرف طول‌موج‌های بالاتر جابجا می‌شود (به عنوان مثال رنگزای ۶ در حلال اتانل نسبت به رنگزای ۱ به اندازه ۳۰ nm به سمت طول موج‌های بالاتر جابجا می‌شود). شکل ۸ طیف جذب تمامی رنگزاهای در حلال اتانل نشان می‌دهد.

همان‌طور که از جدول ۱ مشاهده می‌شود به علت قطبی بودن مواد رنگزای سنتز شده با تغییر حلال از غیرقطبی به قطبی طول موج جذبی افزایش می‌یابد و به عبارت دیگر تغییرات مثبتی در طیف جذبی مشاهده می‌شود ولی در برخی حلال‌ها و برای بعضی از نمونه‌ها این روند چندان منظم نیست به عنوان مثال برای مواد رنگزای ۱ تا ۳ طول موج جذبی در حلال دی‌متیل سولفوکسید کمتر از استیک اسید است در حالیکه برای نمونه‌های ۴ تا ۶ عکس این پدیده مشاهده می‌شود. اگرچه روند کلی بیشتر بودن طول موج جذبی بیشینه در حلال‌های قطبی دیده می‌شود. علاوه بر این مواد رنگزای ۱ تا ۶ در تمامی حلال‌ها یک بیشینه جذب نشان می‌دهند. بنابراین این ترکیبات در حالت محلول به صورت یک فرم توتومری وجود دارند. مواد رنگزای ۱-۳ در حلال پروتونی اسید استیک یک اثر باتوکرومیک نشان می‌دهند. به عنوان مثال بیشینه جذب رنگزای ۳-۲-۱ (۶-۲-۱) متوکسی‌بنزو[*d*]تiazول-۲-یل (دی‌آزنیل)-۲-متیل‌ایندول (رنگزای ۳) در حلال DMSO برابر ۴۶۶ nm، DMF برابر ۴۶۱ nm و در حلال اسید استیک مقدار ۴۷۹ nm می‌باشد (شکل ۵). در حلال بازی متوکسی‌بنزو[*d*]تiazول-۲-یل (دی‌آزنیل)-۲-متیل‌ایندول (رنگزای ۶) یک اثر باتوکرومیک را نسبت به سایر حلال‌های استفاده شده نشان می‌دهد. بیشینه جذب رنگزای ۶ در حلال DMSO برابر ۵۰۶ nm، DMF برابر ۴۸۱ nm و در حلال اسید استیک مقدار ۴۸۱ nm می‌باشد (شکل ۶) البته این اثر با شدت خیلی کمتر در رنگزاهای ۴ و ۵ نیز قابل مشاهده است. به نظر می‌رسد که این مواد رنگزای در حلال‌های بازی به علت از دست‌دادن پروتون اتم نیتروژن گروه ایندولی، در فرم‌های توتومری خنثی-آنیون در تعادل هستند (شکل ۳).

در بررسی اثر محیط اسیدی و بازی بر روی رنگزاهای مشخص شد که بیشینه جذب رنگزاهای ۱-۳ در اتانل با افزایش چند قطره محلول HCl، یک جابجایی قرمز (باتوکرومیک) در مقایسه با اتانل خالص نشان می‌دهند (رنگزای ۱، $\Delta\lambda_{max} = 49$ nm، رنگزای ۲، $\Delta\lambda_{max} = 43$ nm، رنگزای ۳، $\Delta\lambda_{max} = 30$ nm) این نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً این رنگزاهای در محیط اسیدی در فرم هیدرازون وجود دارند (شکل ۳). رنگزاهای ۴-۶ حساسیت چندانی به محیط اسیدی نشان نمی‌دهند. بیشینه جذب رنگزاهای ۴-۶ در اتانل با افزایش چند قطره محلول HCl، مشابه طیف جذبی آنها در حلال اسید استیک می‌باشد. در مقابل، λ_{max} همه رنگزاهای تهیه شده در اتانل با افزایش چند قطره NaOH یک جابجایی قرمز را نشان می‌دهند این جابجایی قرمز احتمالاً به علت حضور گونه آنیونی در محلول بازی NaOH + Ethanol می‌باشد. طیف جذبی رنگزای (۶) در محلول‌های اسیدی و بازی در شکل ۷ ارائه شده است.

این بررسی با استفاده از روش طیف‌سنجی (کدورت‌سنجی) انجام شد. مقادیر جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه ۱ به درصد رشد باکتری تبدیل شد:

$$\% \text{ bacterial growth in presence of dye} = \left[\frac{(\text{Abs}_{\text{sample}} - \text{Abs}_{\text{blank}})}{\text{Abs}_{\text{control}}} \right] \times 100 \quad (1)$$

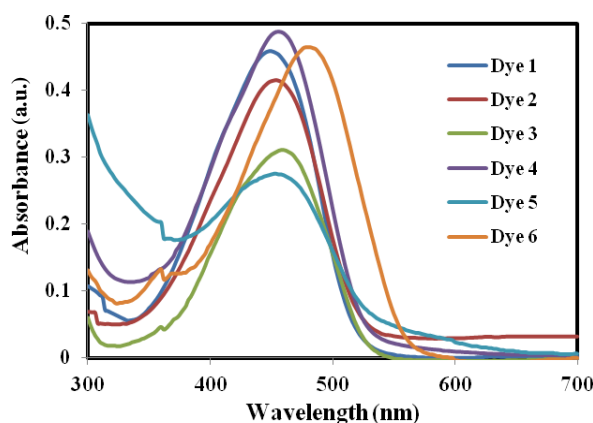
در رابطه ۱، جذب رنگزا در حضور باکتری = $\text{Abs}_{\text{sample}}$ ، جذب رنگزا در حلال دی‌متیل‌سولفوکسید در غیاب باکتری = $\text{Abs}_{\text{blank}}$ و جذب باکتری در محیط کشت در غیاب رنگزا = $\text{Abs}_{\text{control}}$ می‌باشد.

تقریباً تمامی رنگزها فعالیت ضد میکروبی از خود نشان دادند که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است. از بین ترکیبات بررسی شده رنگزهای ۳، ۶ و ۱ بیشترین فعالیت را از خود نشان دادند. رنگزای ۳ مانند تتراسایکلین رشد تمامی باکتری‌های استفاده شده را متوقف کرد. درصد رشد باکتری‌ها در حضور رنگزای ۶ شبیه پنی‌سیلین بوده و بجز باکتری اشرشیاکلی (EC) رشد سایر باکتری‌ها کاملاً متوقف شد. میزان رشد باکتری اشرشیاکلی (EC)، در حضور رنگزای ۶ و پنی‌سیلین به ترتیب ۳۹٪ و ۳۵٪ می‌باشد. رنگزای ۱ میزان رشد باکتری اشرشیاکلی (EC) را کاملاً متوقف کرد ولی مقدار رشد باکتری‌های سودوموناس آرتوژناز (PS)، و میکروکوکوس لوتئوس (ML) و باسیلوس سابتیلیس (BS) به ترتیب ۲۳٪، ۴۶٪ و ۳۸٪ می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که قرار گرفتن استخلاف متیل (رنگزای ۳) بجای استخلاف‌های متوکسی (رنگزای ۲)، کلرو (رنگزای ۴) و برم (رنگزای ۵) بر روی حلقه بنزوتیازولی و همچنین قرارگیری نفتو بنزو تیازول (رنگزای ۶) بجای بنزوتیازول (رنگزای ۱) باعث می‌شود که این رنگزهای ۳ و ۶ در مقایسه با سایر رنگزها برهم‌کنش بهتری با باکتری‌های مختلف داشته باشند و راحت‌تر به دیواره سلولی باکتری نفوذ و آن را از بین ببرند.

جدول ۲: درصد رشد باکتری‌های مختلف در حضور رنگزهای ۱-۶ در

غلظت (۱۲۵ µg/ml) در مقایسه با رشد آن در غیاب رنگزا.

B. subtilis	E. coli	M. leuteus	Ps. aeruginosa	Comp.
۰	۴۶	۲۳	۳۸	۱
۲۱,۴	۱۵,۵	۲۹	۱۴,۳	۲
۰	۰	۰	۰	۳
۵۴,۶	۳۲,۷	۱۱,۸	۶۹,۹	۴
۷۷,۳	۲۳,۸	۴۴,۸	۵۷,۵	۵
۳۹	۰	۰	۰	۶
۰	۰	۰	۰	Tetracycline
۰	۳۵	۰	۰	Penicillin
۰	۰	۶۸	۰	Vancomycin



شکل ۸: طیف جذبی رنگزهای ۱-۶ در حلال اتانل.

در بررسی اثر استخلاف بر روی بیشینه جذب مواد رنگزا مشخص شد که قرار گرفتن استخلاف‌های متوکسی، کلرو و برم (به ترتیب رنگزهای ۴ و ۵) بر روی حلقه بنزوتیازولی منجر به جابجایی بیشینه جذب به سمت طول موج‌های کوتاه‌تر (جابجایی آبی) در حلال‌های اسید استیک و دی‌متیل‌سولفوکسید در مقایسه با شتق بنزوتیازولی (رنگزای ۱) می‌شوند (در حلال اسید استیک رنگزای ۳، $\Delta\lambda_{\text{max}} = 5 \text{ nm}$ ، رنگزای ۴، $\Delta\lambda_{\text{max}} = 23 \text{ nm}$ ، رنگزای ۵، $\Delta\lambda_{\text{max}} = 23 \text{ nm}$ ، رنگزهای ۳، ۴ و ۵ در سایر حلال‌ها در مقایسه با رنگزای ۱ جابجایی قرمز نشان می‌دهند (در حلال استونیتریل رنگزای ۳، $\Delta\lambda_{\text{max}} = 12 \text{ nm}$ ، رنگزای ۴، $\Delta\lambda_{\text{max}} = 9 \text{ nm}$ ، رنگزای ۵، $\Delta\lambda_{\text{max}} = 12 \text{ nm}$).

قرار گرفتن استخلاف متیل (رنگزای ۲) بجای هیدروژن بر روی حلقه بنزوتیازولی منجر به جابجایی بیشینه جذب این رنگزا به سمت طول موج کوتاه‌تر (جابجایی آبی) در حلال‌های بازی دی‌متیل‌سولفوکسید و دی‌متیل‌فرمامید نسبت به رنگزای ۱ می‌شود. در سایر حلال‌ها یک جابجایی قرمز برای این ماده رنگزا در مقایسه با رنگزای ۱ مشاهده می‌شود (جدول ۱).

۲-۴- بررسی فعالیت ضد میکروبی رنگزهای سنتز شده

همان‌طور که در مقدمه ذکر شد فعالیت زیستی تیازول‌ها و بنزوتیازول‌ها در موارد مختلفی مانند ضد میکروبی، ضد قارچ و دیگر خواص به اثبات رسیده است. بنابراین با امید به این که ترکیبات سنتز شده از خود فعالیت زیستی نشان دهند با همکاری گروه زیست‌شناسی فعالیت ضد میکروبی تمامی ترکیبات سنتز شده ۱ تا ۶ روی باکتری‌های اشرشیاکلی (EC)، باسیلوس سابتیلیس (BS)، میکروکوکوس لوتئوس (ML) و سودوموناس آرتوژناز (PS) در غلظت ۱۲۵ µg/ml بررسی شد. برای ارزیابی بهتر نتایج از تتراسایکلین، پنی‌سیلین و ونکومایسین به عنوان نمونه‌های استاندارد استفاده شد.

تتراسایکلین رشد تمامی باکتری‌های استفاده شده را متوقف کرد. درصد رشد باکتری‌ها در حضور رنگزای ۶ شبیه پنی‌سیلین بوده و بجز باکتری اشرشیاکلی (EC) رشد سایر باکتری‌ها کاملاً متوقف شد.

تشکر و قدردانی

از زحمات بی‌دریغ دکتر عنایت اله مرادی و دکتر مهدی رسا در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق سری مشتقات ۲-آمینوبنزوتیازول از تراکم آمین‌های آروماتیک مختلف با تیوسیانات پتاسیم و برم در حلال اسید استیک تهیه و پس از دی‌آزوت‌شدن با ۲-متیل ایندول جفت‌شد. بازده فرآورده‌ها مطلوب و داده‌های جذبی نشان می‌دهند که در حالت محلول فقط در یک فرم توتومری وجود دارند. در بررسی فعالیت ضد میکروبی مشخص شد که از بین ترکیبات بررسی شده رنگزاهای ۳، ۶ و ۱ بیشترین فعالیت را از خود نشان دادند. رنگزای ۳ مانند

۵- مراجع

1. A. Saylam, Z. Seferoglu, N. Ertan, Azo-8-hydroxyquinoline dyes: The synthesis, characterizations and determination of tautomeric properties of some new phenyl- and heteroarylazo-8-hydroxyquinolines. *Mol. Liq.* 195(2014), 267-276.
2. N. Barbero, C. Barolo, D. Marabello, R. Buscaino, G. Gervasio, G. Viscardi, Synthesis, optical characterization and crystal and molecular X-ray structure of a phenylazojulolidine derivative. *Dyes Pigm.* 92(2012), 1177-1183.
3. M. A. Satam, R. K. Raut, R. D. Telore, N. Sekar, Fluorescent acid azo dyes from 3-(1,3-benzothiazol-2-yl)naphthalen-2-ol and comparison with 2-naphthol analogs. *Dyes Pigm.* 97(2013), 32-42.
4. L. Racane, Z. Mihalic, H. Ceric, J. Popovic, V. Tralic-Kulenovi, Synthesis, structure and tautomerism of two benzothiazolyl azo derivatives of 2-naphthol: A crystallographic, NMR and computational study. *Dyes Pigm.* 96(2013), 672-678.
5. A. Mohammadi, M. Safarnejad, Synthesis, structural characterization and tautomeric properties of some novel bis-azo dyes derived from 5-arylidene-2,4-thiazolidinone. *Spectrochim. Act. A.* 126(2014), 105-111.
6. A. Mohammadi, H. Ghafoori, B. Ghalami-Choobar, R. Rohinejad, Synthesis, solvatochromic properties and biological evaluation of some novel azo-hydrazone tautomeric dyes. *J. Mol. Liq.* 198(2014), 44-50.
7. A. Mohammadi, Novel triazine dyes based on N-phenylpiperazine: Synthesis, anti-bacterial activity and solvatochromic properties. *J. Mol. Liq.* 193(2014), 69-73.
8. E. O. Moradi Rufchahi, H. Yousefi, M. Mohammadinia, Synthesis and spectral properties of some azo disperse dyes containing a benzothiazole moiety. *J. Mol. Liq.* 188(2013), 173-177.
9. Y. Zhang, J. M. Perdiguero, U. Baumeister, C. Walker, J. Etxebarria, M. Prehm, J. Ortega, C. Tschierske, M.J. O'Callaghan, A. Adam Harant, M. Handschy, M. Laterally, Azo-bridged H-shaped ferroelectric dimesogens for Second-Order Nonlinear Optics: Ferroelectricity and Second harmonic generation. *J. Am. Chem. Soc.* 18(2009) 18386-18392.
10. M. M. M. Raposo, A. M. F. P. Ferreira, M. Belsley, J. C. V. P. Moura, 5'-Alkoxy-2,2'-bithiophene azo dyes: a novel promising series of NLO-chromophores. *Tetrahedron* 64(2008), 5878-5884.
11. M. M. M. Raposo, M. C. R. Castro, A. M. C. Fonseca, P. Schellenberg, M. Belsley, Design, synthesis, and characterization of the electrochemical, nonlinear optical properties, and theoretical studies of novel thienylpyrrole azo dyes bearing benzothiazole acceptor groups. *Tetrahedron.* 67(2011), 5189-5198.
12. C. Gayathri, A. Ramalingam. Z-scan determination of the third-order optical nonlinearities of an azo dye using diode-pumped Nd:Yag laser. *Optic.* 119(2008), 409-414.
13. M. R. Lutfor, G. Hegde, S. Kumar, C. Tschierske, V. G. Chigrinov. Synthesis and characterization of bent-shaped azobenzene monomers: Guest-host effects in liquid crystals with azo dyes for optical image storage devices. *Opt Mater* 32(2009), 176-183.
14. J. S. Carter, S. Kramer, J. Talley, T. Penning, P. Collins, M. J. Graneto, K. Seibert, C. Koboldt, J. Masferrer, B. Zweifel, Synthesis and activity of sulfonamide-substituted 4,5-diaryl thiazoles as selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9(1999), 1171-1174.
15. N. Hosain Nataj, E. Mohajerani, M. R. Yazdanbakhsh, A. Mohammadi. Studying optical and nonlinear optical properties of synthesized azo dyes doped in polymer and liquid crystal using birefringence and Z- scan techniques. *J Appl. Polym. Sci.* 127(2013), 456-462.
16. H. Hamidian, R. Tagizadeh, S. Fozooni, V. Abbasalipour, A. Taheri, M. Namjou, Synthesis of novel azo compounds containing 5(4H)-oxazolone ring as potent tyrosinase inhibitors. *Bio. Med. Chem.* 21(2013), 2088-2092.
17. H. Khanmohammadi, M. Pass, Kh. Rezaeian, Gh. Talei, Solvatochromism, spectral properties and antimicrobial activities of new azo-azomethine dyes with N₂S₂O₂ donor set of atoms. *J. Mol. Struct.* 1072(2014), 232-237.
18. Z. Sayed Ahmed, S. Mahmoud Aboul-Fetouh, S. Nassar Hesham, Synthesis, biological activity and dyeing performance of some novel azo disperse dyes incorporating pyrazolo[1,5-a]pyrimidines for dyeing of polyester fabrics. *J. Mol. Struct.* 1010(2012), 146-151.
19. F. Karci, N. Sener, M. Yamaç, I. Sener, A. Demircali, The synthesis, antimicrobial activity and absorption characteristics of some novel heterocyclic disazo dyes. *Dyes Pigm.* 80(2009), 47-52.
20. H. Yousefi, A. Yahyazadeh, M. R. Yazdanbakhsh, M. Rassa, E. O. Moradi-e-Rufchahi, Synthesis, spectral features and biological activity of some novel heteroarylazo dyes derived from 6-amino-1,3-dimethyluracil. *J. Mol. Struct.*

- 1015(2012), 27–32.
21. H. Yousefi, A. Yahyazadeh, E. O. Moradi Rufchahi, M. Rassa, Synthesis, spectral properties, biological activity and application of new 4-(benzyloxy)phenol derived azo dyes for polyester fiber dyeing. *J. Mol. Liq.* 180(2013), 51–58.
22. A. Yahyazadeh, H. Yousefi, Synthesis, spectral features and biological activity of some novelhetarylazo dyes derived from 8-chloro-4-hydroxyl-2-quinolone. *Spectrochim. Act. A.* 117(2014), 696–701.
23. H. Yousefi, A. Yahyazadeh, E. O. Moradi Rufchahi, M. Rassa, Synthesis, spectral properties, biological activity and application of new4-(benzyloxy)phenol derived azo dyes for polyester fiber dyeing. *J. Mol. Liq.* 180(2013), 51–58.
24. E. Yamuna, R. A. Kumar, M. Zeller, K. J. R. Prasad. Synthesis, antimicrobial, antimycobacterial and structure–activity relationship of substituted pyrazolo-, isoxazolo-, pyrimido- and mercaptopyrimidocyclohepta[b]indoles. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 47, 228.
25. D. J. Denhart, J. A. Deskus, J. L. Ditta, Q. Gao, H. D. King, E. S. Kozlowski, Z. Meng, M. A. LaPaglia, G. K. Mattson, T. F. Molski, M. T. Taber, N. JHH. Lodge, R. J. Mattson, J. E. Macor, Conformationally restricted homotryptamines. Part 5: 3-(trans-2-aminomethylcyclopentyl)indoles as potent selective serotonin reuptake inhibitors *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 4031, 19, 2009.
26. B. Joseph, O. Cornec, J. Y. Merour, Intramolecular Heck reaction: Synthesis of benzo[4,5]cyclohepta[b]indole derivatives. *Tetrahedron.* 7765, 54, 1998.
27. P. Jimonet, F. Audiau, M. Barreau, J.-Ch. Blanchard, A. Boireau, Y. Bour, et al. Riluzole series. synthesis and in vivo “antiglutamate” activity of 6-substituted-2-benzothiazolamines and 3-substituted-2-imino-benzothiazolines *J. Med. Chem.* 42(1999), 2828–2843.
28. R. M. Christie. Colour chemistry. Cambridge CB4 0WF, UK: Royal Society of Chemistry. 2001, 29-32.