

SINTEZAT E DISA DERIVATEVE TË REJA TË BENZOPIRANON-2 DHE AKTIVITETI I TYRE KUNDËR *KLEBSIELLA*. KRAHASIMI ME BARNAT STANDARTE SYNTHESIS OF SOME NEW 2H-[1]-BENZOPYRAN-2-ONE DERIVATIVES AND THEIR ACTIVITY AGAINST *KLEBSIELLA*. COMPARISON WITH THE STANDARD DRUG

KOZETA VASO,^{a*} AZIZ BEHRAMI,^b OSMAN LECI,^b MUJË PLAKOLLI,^b ISLAM KRASNIQI.^b

^aUniversiteti i Tiranës. Fakulteti i Shkencave Natyrore. Departamenti i Kimisë

^bUniversiteti i Prishtinës. Departamenti i Kimisë

E-mail: kozeta_v@yahoo.it

PERMBLEDHJE

Janë sintetizuar Benzopiranonet: Hidroksi-4-nitro-3-benzopiranon-2 (**2**); Klor-4-nitro-3-benzopiranon-2 (**3**); β-Naftilamino-4-nitro-3-benzopiranon-2 (**4**); [Amino-4-dihidroksi-2,6-pirimidinë]-4-nitro-3-benzopiranon-2 (**5**); N-Etilhidrazino-4-benzopiranon-2 (**6**); Butilamino-4-benzopiranon-2 (**7**). Identiteti dhe struktura e këtyre komponimeve është vërtetuar në bazë të pikës së shkrires, të dhënave spektrale të spektroskopisë IK (Infra të Kuqe), RMB (Rezonanca Magnetike Berthamore), dhe nga analiza elementare e tyre. Është analizuar aktiviteti i tyre inhibues ndaj kulturës bakteriale *Klebsiella*. Duke e krahasuar me aktivitetin e streptomycinës është konstatuar se këto komponime kanë treguar aktivitet bakteriostatik dhe baktericid.

ABSTRACT

Benzopyranones of 4-Hydroxy-3-nitro-2H-[1]-benzopyran-2-one (**2**); 4-Chlor-3-nitro-2H-[1]-benzopyran-2-one (**3**); 4-(2-Naphthylamino)-3-Nitro-2H-[1]-benzopyran-2-one (**4**); 4-(4-amino-2,6-dihydroxypyrimidine)-3-nitro-2H-[1]-benzopyran-2-one (**5**); 4-[N-Ethylhydrazino]-2H-[1]-benzopyran-2-one (**6**); 4-Butylamino-2H-[1]-benzopyran-2-one (**7**), have been synthesized and characterized using elemental analysis, IR spectra, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectra. The antibacterial activity of all synthesized compounds and

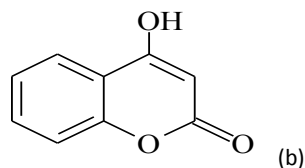
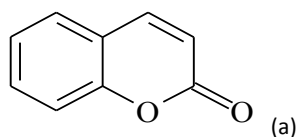
standard drug (Streptomycin) have been evaluated against the bacterial culture *Klebsiella*. The compounds show bacteriostatic and bactericidal activity.

Fjalët kyçe: Benzopiranon-2, spektra IK, RMB, *Klebsiella*, aktivitet inhibues.

HYRJE

Kumarina (benzopiranon-2) (a) është më pak aktive^{5,10} sesa Hidroksi-4-benzopiranon-2 (b). Ne raportojmë sintezat e disa derivateve të benzopiranon-2, duke u nisur nga hidroksi-4-benzopiranon-2. Është analizuar gjithashtu aktiviteti i tyre inhibues ndaj kulturës bakteriale *Klebsiella*, dhe ky aktivitet është krahasuar me aktivitetin e streptomycinës. Është konstatuar se këto komponime kanë treguar aktivitet bakteriostatik dhe baktericid.

Kumarina dhe derivatet e saj tregojnë aktivitet të ndryshëm fiziologjik dhe si të tilla kanë gjetur aplikim në shkencat mjekësore^{4,6}. Aplikim të madh mjekësor gjejnë si antibakterial^{7,8,9,11}. Qëllimi i studimit është gjetja e mundësive të zëvendësimit të disa antibiotikëve me këto derivate.



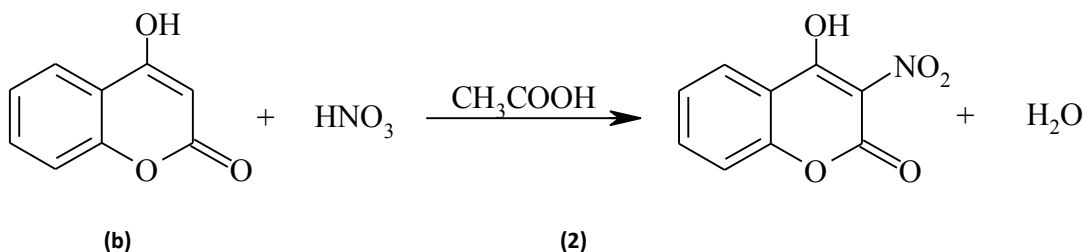
MATERIALI DHE METODA

Të gjitha sintezat janë zhvilluar në kushte refluksi. Reaksionet janë monitoruar me kromatografi në shtresë të hollë (TLC-silica G) dhe vizualizimi i pllakave është bërë me avuj jodi.

Pastrimi i produkteve të sintezave është bërë me rikristalizim nga tretësia të ndryshëm duke u bazuar në karakteristikat e komponimit. Pikat e shkrirjes janë përcaktuar me paisje elektrotermike me gyp kapilar. Spektrat IK janë regjistruar në spektrofotometër të llojit Buck Scientific në formë të peletave me KBr. Spektra $^1\text{H-RBM}$ janë regjistruar në spektrometrin e llojit Varian 300MHz spektrometër duke përdorur

DMSO- d_6 si tretës dhe TMS si standard referent. Shiftet kimike janë dhënë në δ ppm. Spektrat e masës janë matur në spektrometrin e Masës LKB 9000. Analiza elementare është bërë me ndihmën e analizatorit Perkin-Elmer 240 B CHN.

1. Sinteza e Hidroksi-4-nitro-3-benzopiranon-2. (2) Për të realizuar sintezën e Hidroksi-4-nitro-3-benzopiranon-2 shfrytëzohet metoda e njohur më parë C.F. Huebner dhe K.P. Link^{2,3}. Për këtë përziejehet hidroksi-4-benzopiranon-2 me acidin nitrik në prani të acidit acetik si katalizator sipas skemës 1.



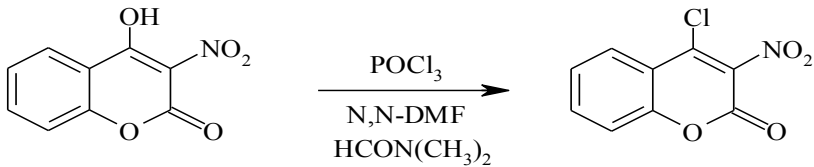
Skema Nr. 1 Sinteza e Hidroksi-4-nitro-3-benzopiranon-2

Në një balon 100ml vendosen 5g Hidroksi-4-benzopiranon-2 treten në 10 ml acid acetik glacial, dhe i shtohet perzierja për nitrim (3ml acid nitrik të përqëndruar dhe 2.6 ml acid acetik glacial).

Baloni në të cilin është vendosur përzierja vendoset në banjë uji dhe në temperaturë vazhdon refluksi deri sa të çlirohen avujt e oksideve të azotit më ngjyrë të kuqe. Përzierja më pas ftohet në akull deri sa të kristalizojnë kristalet me ngjyrë të verdhë. Kristalet filtrohen e pastaj shpëlahen me ujë, pastaj me tretësirë të ngopur të bikarbonatit të natriumit dhe sërish me ujë e në fund me alkool etilik absolut. Rikristalizimi bëhet me etanol absolut. Rendimenti nga rikristalizimi është 85%. t.sh. 171-172°C.

2. Sinteza e Klor-4-nitro-3-benzopiranon-2. (3) Në një balon 100ml hedhim 1.85 ml N,N-Dimetilformamid dhe vendoset në banjë uji të ftohtë dhe akulli, pastaj në balon pikohet POCl_3 4 ml. Reaksioni i N,N-DMF dhe POCl_3 realizohet duke e përzier me përzirës magnetik në temperaturën 10°C për 15 minuta. Më pas, largohet banja e akullit dhe në balon shtohet në formë pikash tretësira e nitro-3-hidroksi-4-benzopiranon-2; 5,5 g dhe 12 ml N,N-DMF si tretës me polaritet të lartë.

Vazhdohet refluksi deri në formim të kristaleve me ngjyrë të verdhë. Produkti i fituar filtrohet, shpëlahet me H_2O dhe tretësirë bikarbonat natriumit dhe sërish me ujë. Rikristalizimi realizohet me përzirjen benzenheksan. t.sh. 162-163°C

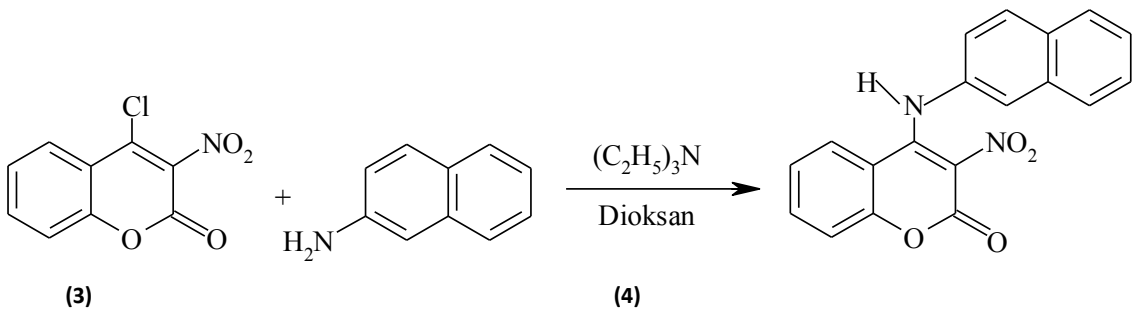


Skema Nr. 2 Sinteza e Klor-4-Nitro-3-benzopiranon-2

3. Sinteza e β -Naftilamino-4-nitro-3-benzopiranon-2.

(4) Si substrat për këtë sintezë është marrë klor-4-nitro-3-benzopiranon-2. Në një balon 100 ml vendosen 0.5 g klor-4-nitro-3-benzopiranon-2 dhe treten në 15 ml dioksan. Tretësirës i shtohen sasi ekuimolare 0.320 g β -naftilaminë dhe 1 ml trietilaminë si katalizator. Kjo përzjerje refluktohet me përzjerje magnetike në

temperaturë dhomë për 45 minuta. Pas përfundimit të reaksionit produkti filtrohet, shpëlahet me dioksan, eter dhe thahet në ajër. Rikristalizohet me alkool etilik absolut dhe fitohet një produkt kristalor me ngjyrë të kuqe në kafe. Rendimenti nga rikristalizimi është 70%, t.sh. 175°C. Reaksioni realizohet sipas skemës 3.



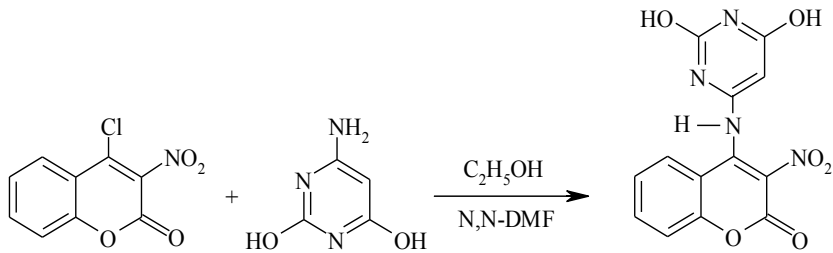
Skema Nr. 3 Sinteza e Nitro-3-naftilamino-4-benzopiranon-2

4. Sinteza e [Amino-4-dihidroksi-2,6-pirimidinë]-4-nitro-3-benzopiranon-2. (5)

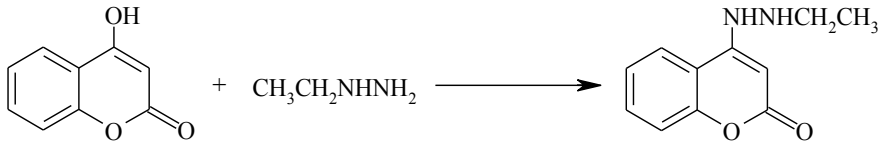
2g të klor-4-nitro-3-benzopiranon-2 vendosen në një balon qelqi me vëllim 100ml dhe sasi ekuimolekulare 1.50g të amino-4-dihidroksi-2,6-pirimidinë. Meqë të dy reagentët janë të ngurtë tretën në 5ml etanol absolut, pas një kohe të shkurtër i shtohen edhe 2ml N,N-DMF. Përzjerja i nënshtrohet refluxit në temperaturë 90°C derisa të formohet precipitat me ngjyrë të bardhë në të verdhë. Filtrohet, dhe precipitatin e rikristalizojmë me përzjerjen alkool etilik-benzen në raportin 1:1. Rendimenti nga rikristalizimi është 63%. t.sh. 341°C. Reaksioni realizohet sipas skemës 4.

5. Sinteza e N-Etilhidrazino-4-benzopiranon-2. (6)

Në një balon me vëllim 100ml vendosen 2 g hidroksi-4-benzopiranon-2 dhe sasi ekuivalente 0.85ml etilhidrazinë. Fillimisht në balon hidhet Hidroksi-4-kumarina e pastaj me pipetë shtohet etilhidrazinë dhe vazhdon refluxi. Pas 1 ore refluxi në temperaturë 250-300°C në balon shfaqet precipitat me ngjyrë të verdhë të çelur. Precipitati filtrohet, rikristalizimi bëhet me etanol dhe N,N-DMF, kristalet me ngjyrë të verdhë thahen. Rendimenti nga rikristalizimi është 80%. t.sh. 205-207°C. Skema 5 paraqet reaksionin.



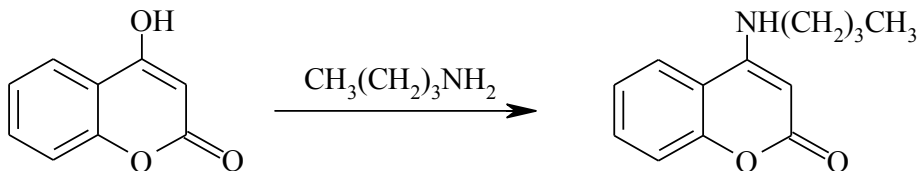
Skema Nr. 4 Sinteza e [Amino-4-dihidroksi-2,6-pirimidinë]-4-nitro-3-benzopiranon-2



Skema Nr. 5 Sinteza e N-Etilhidrazino-4-benzopiranon-2.

6. Sinteza e Butilamino-4-benzopiranon-2. 2 g hidroksi-4-benzopiranon-2 vendosen në një balon me vëllim 100ml, në balon shtohen gjithashtu sasi ekuivalente 1.5ml të amino-1-butanit. Baloni vendoset nën refluks për disa orë në temperaturën 300°C. Në fund të reaksionit në muret e balonit shfaqen kristale

me ngjyrë kafe. Kristalet filtrohen dhe shpëlohen në metanol për të larguar vajin. Rikristalizimi bëhet me metanol dhe kristalet i lëmë të thahen. Rendimenti nga rikristalizimi është 62% , t.sh. 104.7°C. Skema 6 paraqet reaksionin



Skema Nr. 6. Sinteza e Butilamino-4-benzopiranon-2.

Hulumtimi i aktivitetit antibakterial të derivateve të sintetizuara të benzopiranon-2 në mikroorganizmin *Klebsiella*

Për hulumtimin e aktivitetit mikrobiologjik të substancave të sintetizuara aplikohet metoda e disqeve si metodë më efikase. Aktiviteti mikrobiologjik është krahasuar me aktivitetin e Streptomycinës^{1,11}. Bazë e hulumtimit është veprimi inhibues i këtyre komponimeve të sintetizuara në kulturën bakteriale; mikroorganizmin *Klebsiella*.

Mbjellja e kulturës bakteriale fillimisht është bërë në tretësirë bujonie(suspension bakterial) e pastaj e bartur në pjata Petri në terrenin ushqyes Agar-Mc-Conkey .

Veprimi i këtyre substancave në këtë mikroorganizëm është përcaktuar duke matur diametrin e zonave të inhibimit të tyre në terrenet ushqyese në të cilat

paraprakisht është mbjellë kultura bakteriale. Disqet e sterilizuara paraprakisht lagen me tretësirë të substancave përkatëse, ku si tretës është përdorur N,N-Dimetilformamidi e më pas janë vendosur në pjata Petri mbi kulturën e mbjellë. Hulumtimet e zonave inhibuese janë bërë për të gjitha komponimet e sintetizuara, duke i lagur disqet me tretësira të substancave me përqëndrime 1mg/ml; 3mg/ml dhe 5mg/ml. Pas vendosjes së disqeve zhvillimi i kulturës bakteriale është bërë në kushte inkubimi për 48 orë në temperaturën 35°C.

REZULTATET DHE DISKUTIMET

Identiteti i komponimit (**2**) vërtetohet me pikën e shkrires 171-172°C dhe të dhënat spektrale:

Spektri IK (KBr) cm^{-1} ; 3300-3600(OH); 1735(C=O α -pironi); 1603(C=C aromatik); 1330 NO_2 ; 1550(C- NO_2); 750(C-H aromatik).

Spektri ^1H -RMB (DMSO-d6) ppm; 8.0 -7.1 m (4 H aromatik).

Spektri ^{13}C -RMB (DMSO); 137-115 (6C aromatik); 177-174 (C=O); 160-159 (C- NO_2); 115-137 (CH aromatik).

Identiteti i komponimit (3) vërtetohet me pikën e shkrires 162-163°C dhe të dhënat spektrale:

Spektri IK (KBr) cm^{-1} ; 1739(C=O α -pironi); 1605(C=C aromatik); 859(C-Cl); 644(C-Cl); 782(C-C).

Spektri ^1H -RMB (DMSO-d6) ppm; 8.0 -7.1 m (4 H aromatik).

Spektri ^{13}C -RMB (DMSO); 137-115 (6C aromatik); 177-174 (C=O); 160-159 (C- NO_2); 115-137 (CH aromatik).

Identiteti i komponimit (4) vërtetohet me pikën e shkrires 175°C, dhe të dhënat spektrale:

Spektri IK (KBr) cm^{-1} ; 3343(Vibrimet e lidhjes N-H); 1697(C=O α -pironi); 1607(C=C aromatik); 776(vibrimet C-C aromatike); 2835(vibrimet C-H aromatik).

Spektri ^1H -RMB (DMSO-d6) ppm; 8.9 s (1H; NH); 8.2-7.3 m (11 H aromatik).

Spektri ^{13}C -RMB (DMSO); 133-119 m (15C aromatik); 43-38(DMSO); 134-117 m (15 C-H aromatik).

Identiteti i komponimit (5) vërtetohet me pikën e shkrires 341°C, dhe të dhënat spektrale:

Spektri IK (KBr) cm^{-1} ; 3283(N-H); 1663(C=O α piron); 1617(C=N); 1555(C=C aromatik); 752(C-C); 1532(C=C aromatik).

Spektri ^1H -RMB (DMSO-d6) ppm; 10.3-9.8 s (1H; NH); 7.9-7.2m (6H aromatik); 5.0-4.2s (2H-2OH); 6.9-5.8 s (1H CH-3).

Spektri ^{13}C -RMB (DMSO); 164 (C-aromatike); 74 (2C-OH); 40.2-38.5(DMSO).

Identiteti i komponimit (6) vërtetohet me pikën e shkrires 205-207°C dhe të dhënat spektrale:

Spektri IK (KBr) cm^{-1} ; 3390-3174(NH-NH); 3318(N-H); 1664(C=O α -piron); 3069(C-H aromatik); 1606-1546(C=C); 782(C-C).

Spektri ^1H -RMB (DMSO-d6) ppm 9.6-8.9s (1H; NH); 8.6-8.1s (1H; NH); 7.9-6.9m (4H aromatik); 4.9-4.5s (1H; CH_3); 3.6-3.2s(2H; CH_2); 2.4-1.8s(3H; CH_3).

Spektri ^{13}C -RMB (DMSO); 161.3 (C=O); 153.4-153.1 (C-N); 136.2-114.2 (12C aromatik); 132.2-117.0 (8-C-H aromatike); 17.1 CH_3 ; 40.3-38.6(DMSO); 83.5 (CH-3).

Identiteti i komponimit (7) vërtetohet me pikën e shkrires 104.7°C dhe të dhënat spektrale:

Spektri IK (KBr) cm^{-1} ; 3414(N-H); 3078(C-H aromatik); 2940(C-H alifatik); 1715(C=O α -pironi); 1609(C=C); 1554(C=C); 759(C-C).

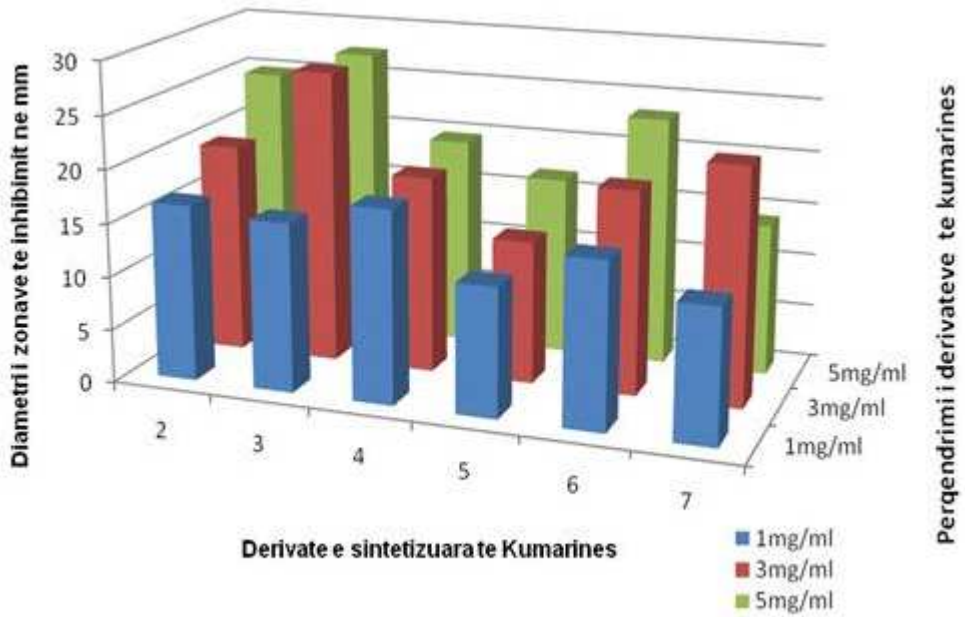
Spektri ^1H -RMB (DMSO-d6) ppm 8.2-7.9 d (1H; NH); 7.9-7.2 m (4H aromatik); 3.4-3.0 t (6H; 3CH_2); 2.2-1.8 s (3H; CH_3); 6.6-5.9s (1H, C-3).

Spektri ^{13}C -RMB (DMSO); 177(C=O); 136-124 (7C aromatik); 100.8(C3); 40.3-34.5(DMSO); 28(CH_2); 22(CH_2); 12(CH_2); 10.9(CH_2); 7.7(CH_3); 8(CH_3); 116(CH aromatik); 24.1(CH_2); 9.2(CH_2).

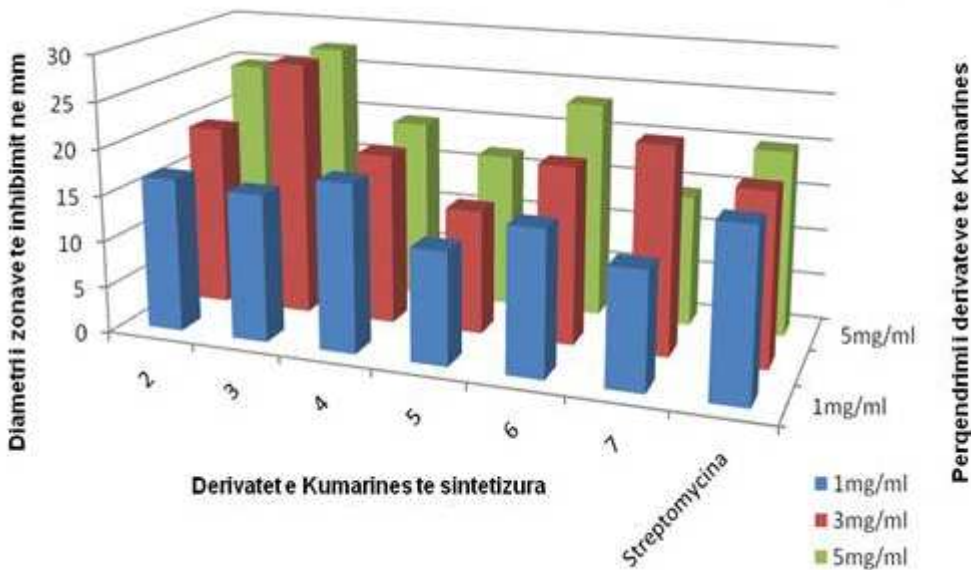
Për derivatet e benzopiranon-2 të sintetizuara (në përqëndrimet 1mg/ml, 3mg/ml dhe 5mg/ml) është përcaktuar diametri i zonave të inhibimit në kulturën bakteriale *Klebsiella* në mm. Ky diametër është krahasuar me diametrin e zonave të inhibimit të Streptomycinës¹¹, dhe tretësit N,N-DMF. Rezultatet paraqiten në tabelën 1, si edhe grafikun 1 dhe 2.

Komponimet	Përqëndrimi i tretësirave dhe zonat e inhibimit		
	1mg/ml	3mg/ml	5mg/ml
Nr. 2	16.6mm	19.8mm	24.9mm
Nr. 3	15.9mm	27.6mm	27.5mm
Nr. 4	18.1mm	18.5mm	19.7mm
Nr. 5	12.1mm	13,4mm	16.8mm
Nr. 6	15.5mm	19.1mm	23.4mm
Nr. 7	12.5mm	22.2mm	14.2mm
Streptomycina	18mm	18.5mm	20mm
N,N-dimetilformamidi (DMF)	4.1mm	4.1mm	4.1mm

Tabela nr. 1. Diametri i zonave të inhibimit i derivateve të sintetizuara të kumarinës, në kulturën *Klebsiella* dhe krahasimi me Streptomycinën.



Grafiku 1. Diametri i zonave të inhibimit për klebsiella



Grafiku 2. Diametri i zonave të inhibimit për klebsiella dhe krahasimi me streptomycinën

KONKLuzionet

Ky studim tregon se derivatet e benzopiranon-2 të sintetizuara 2; 3; 4; 5; 6 dhe 7 pengojnë rritjen e *klebsiella*. Pra, është evidenca e parë e vetive antibakteriale kundër *klebsiella*.

Komponimet e sintetizuara kanë treguar aktivitet bakteriostatik dhe baktericid.

Komponimi 4 edhe me rritjen e përqëndrimit karakterizohet me aktivitet bakteriostatik. Komponimet e tjerë me aktivitet baktericid. Komponimet 1; 2 dhe 6 janë më aktivë si baktericidë kundër *klebsiella*.

Duke i krahasuar me barnat standarte (streptomycina) vetëm komonimet 2 dhe 3 kanë veti të mira antibakteriale.

BIBLIOGRAFIA

1. Abyshev, A.z.; Gimdein, V.A.; Semenov, E.V.; Agaev, E.M.; Abdulla-zade, A.A.; Guseinov, A.B.; (2006) Structure and biological properties of 2H-1-benzopyran-2-one (coumarin) derivatives. *Pharmaceutical Chemical Journal*. 40, 607-610.
2. Barry A. L., (1976) The Antimicrobial Susceptibility test principle and practices, 180.
3. El-Agody, A.M., Abd El-Latif, M.S., El-Hady, N.A., Fakery, A.H., Bedair, A.H., (2001) Heteroaromatization

with 4-hydroxycoumarine part 2, *Molecules*, 6, 519-527.

4. Hoult J.R., Paya M. (1996) Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins; natural products with therapeutic potential. *Gen.Pharmacol*. 27; 713-22.

5. Kusar M., Svete J., Stanovnik B., (1996) *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 33: 1041.

6. Leci O., Projekt shkencor (1989). Sinteza dhe izolimi i komponimeve aktive fiziologjike me bazë të heterocikleve.

7. Nofal. Z.M., M.El-Zahar, S.Abd El-Karim, 2000 Novel coumarin derivatives with expected biological activity, *Molecules*. 5: 99-113.

8. Seely H W., Demark P.J., (1981) *Mikrobes in Action*, Laboratory of Mikrobiology, 3 Ed, W H Freeman and Co U.S.A 385.

9. Stanovnik B., Susachitzky H., Scriven E. F., (1993) *Progress in Heterocyclic Chemistry*, Vol.5, Pergamon Press, Oxford, 75-146.

10. Taboicoviq I., Guic Z., Turkovnik M., (1976) *Tetrahedron Letters*. 4823.

11. Vyas, K.B; Nimavat, K.S; Jani, G.R; Hathi, M.V. (2009) Synthesis and antimicrobial activity of coumarin derivatives metal complexes: An in vitro evaluation. *Orbital* 1(2).