

مقاله پژوهشی

سنتز مشتقات دو استخلافی ۳-بروموفنیل و ۵-۳-کلروفنیل-۱،۳،۴-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول در موقعیت‌های ۲ و ۵ از ۱،۳،۴-اکسادیازول‌های حاوی هالوژن و بررسی خاصیت ضد میکروبی آن‌ها

مهناز کریمی^۱، الهه تاجبخش^{۲*}، علی سولدوزی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبی‌شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، ایران

^۲ دانشیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۳ گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۴ دانشیار دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۰۶

چکیده

مقدمه: مشتقات اکسادیازول به لحاظ بیولوژیکی کاربرد فراوانی دارند و می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای ضد میکروبی باشند. در این ارتباط، مطالعه حاضر با هدف بررسی خاصیت ضد باکتریایی مشتقات سنتز شده اکسادیازول و مقایسه آن با داروهای ضد باکتریایی رایج در مورد برخی از باکتری‌های پاتوژن در پزشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: ایزومر ۴،۳،۱-اکسادیازول از بیشترین خواص دارویی و به‌ویژه ضد میکروبی برخوردار می‌باشد. در پژوهش حاضر از روش تک‌مرحله‌ای برای سنتز مشتقات جدید اکسادیازولی استفاده شد؛ به‌طوری که طراحی ترکیبات اولیه و فرایند سنتزی منجر به سنتز مشتقات اکسادیازولی با ایزومر ۴،۳،۱-اکسادیازول گردید. این ایزومر به روش طیف‌سنجی (InfraRed) IR، (Hydrogen-) H-NMR، (Nuclear Magnetic Resonance) C-NMR، (Carbon-Nuclear Magnetic Resonance)، طیف‌سنجی جرمی و کریستالوگرافی مورد بررسی و تأیید قرار گرفت و اثر ضد میکروبی باکتریایی آن به روش‌های انتشار چاهک و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) و کشندگی (MBC: Minimum Bactericidal Concentration) در غلظت‌های ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌های *انتروکوکوس فکالیس* PTCC 1788 و پروتئوس و *لگاریس* PTCC1861 تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر نشان دادند که ترکیبات سنتز شده در غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری *انتروکوکوس فکالیس* از فعالیت ضد باکتریایی برخوردار بودند؛ اما بر باکتری *پروتئوس و لگاریس* تأثیر نداشتند. **نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این پژوهش گویای آن بودند که مشتقات اکسادیازولی سنتز شده که به‌صورت تک‌مرحله‌ای سنتز شده‌اند، دارای خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت می‌باشند.

کلمات کلیدی: اکسادیازول، *انتروکوکوس فکالیس*، آنتی‌باکتریال، پروتئوس و *لگاریس*

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها دسته‌ای از داروها هستند که برای از بین بردن عوامل ایجادکننده بسیاری از بیماری‌های عفونی باکتریایی به صورت گسترده در سراسر دنیا مصرف می‌شوند و دارای ساختار شیمیایی متنوعی می‌باشند. کشف و سنتز این ترکیبات کمک بزرگی به درمان بیماری‌های عفونی کرده و طی سال‌های اخیر جان انسان‌های زیادی را نجات داده است. با این وجود آنچه به شدت دانشمندان را نگران کرده است، بی‌اثر شدن آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان برخی از بیماری‌های عفونی می‌باشد. آزمایش‌های بالینی نشان داده‌اند که آنتی‌بیوتیک‌های مشتق شده از اکسادیازول‌ها تأثیرات جانبی کمتر داشته و از تأثیرات آنتی‌میکروبی مطلوب‌تری برخوردار می‌باشند. امروزه با پیشرفت شیمی پزشکی بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها حاصل تغییرات مولکولی بر روی آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی هستند (۱-۵). اکسادیازول‌ها دسته‌ای از ترکیبات آلی هتروسیکل پنج عضوی هستند که دارای سه اتم هترو در موقعیت ۳،۱ و ۴ حلقه می‌باشند. مطالعات انجام شده در مورد این مشتقات حاکی از آن هستند که این ترکیبات فعالیت ضد سرطان، ضد تشنج، ضد ادم، ضد انگل و ضد التهابی خوبی دارند. اکسادیازول‌ها دارای اهمیت کاربردی در زمینه کشاورزی، داروسازی و شیمی دارویی هستند که در بین این مشتقات، اکسادیازولی با ایزومر ۴،۳،۱-اکسادیازول از بیشترین فعالیت دارویی برخوردار می‌باشد؛ اما یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های دارویی این ترکیبات، فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها است. این مشتقات از توانایی مهار میکروبهایی نظیر قارچ‌ها، باکتری‌های گرم منفی مانند: *اشرشیا کلی*، *ویبریو کلرا*، *سودوموناس آئروژینوزا* و باکتری‌های گرم مثبت مانند: *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس لیتوس* برخوردار می‌باشند. کشف قابلیت‌های فارماکولوژی و شیمی دارویی در این‌گونه مشتقات اهمیت مطالعه در

مورد آن‌ها را دوچندان می‌کند. در بسیاری از ترکیبات دارویی مورد استفاده، حلقه اکسادیازول به‌عنوان فعال‌ترین بخش از ترکیبات دارویی وارد عمل شده و تأثیرات خود را اعمال می‌نماید. برخی از ترکیبات اکسادیازول اخیراً بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ زیرا این ترکیبات دارای خواص بیولوژیکی وسیع مانند خواص ضد باکتری، ضد قارچی، مسکن، ضد التهاب، ضد ویروس، ضد سرطان، ضد فشار خون، ضد تشنج و ضد دیابت می‌باشند و در زمینه شیمی دارویی نیز به‌عنوان جانشین کربوکسیلیک اسیدها و کربوکسامیدها استفاده می‌گردند. ۴،۳،۱-اکسادیازول یک ترکیب هتروسیکل حاوی یک اتم اکسیژن و دو اتم نیتروژن در یک حلقه پنج عضوی است. توانایی ترکیبات هتروسیکل ۴،۳،۱-اکسادیازول برای انجام واکنش‌های شیمیایی مختلف، آن‌ها را برای طراحی مولکولی حائز اهمیت کرده است که این امر به دلیل ساختار منحصر به فرد آن‌ها که پتانسیل بیولوژیکی بالایی دارند، می‌باشد (۶-۱۱). از آنجایی که عده‌ای از میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های جدید مقاومت نشان می‌دهند، مطالعات برای کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید و سنتز آنتی‌بیوتیک‌های صناعی در طیف وسیعی صورت گرفته‌اند. برای نیل به این هدف مطالعات گسترده‌ای در امر سنتز مشتقات اکسادیازول‌ها و بررسی خاصیت دارویی آن‌ها انجام شده‌اند. سنتز این ترکیبات به روش‌های مختلفی صورت گرفته است که شایع‌ترین آن‌ها عبارت هستند از: واکنش هیدرازین با مشتقات کربوکسیلیک اسیدها، تشکیل دی‌آلکیل هیدرازها و آبگیری از آن‌ها. اکسادیازول‌ها دارای کاربردهای مختلفی هستند؛ به‌عنوان مثال ۴،۳،۱-اکسادیازول‌های آروماتیک مقاومت بسیار زیادی در برابر حرارت و هیدرولیز را از خود نشان می‌دهند و به‌عنوان رشته‌هایی برای تهیه کریستال مایع به کار می‌روند. برخی از ماکروسیکل‌های

سنتز ۳-بروموفنیل و ۵-۳-کلروفنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول در موقعیت‌های ۲ و ۵ از ۴،۳،۱-اکسادیازول‌های حاوی هالوژن و بررسی خاصیت ضد میکروبی آن‌ها بر روی *انتروکوکوس فکالیس* و *پروتئوس و لگاریس* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

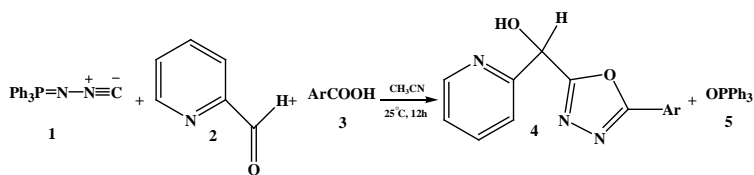
در مرحله اول این پژوهش ترکیبات ۴،۳،۱-اکسادیازولی به روش کاملاً جدید و تک‌مرحله‌ای سنتز شدند و با بازده بالا استخراج گردیدند. ساختار شیمیایی تمامی ترکیبات سنتز شده با استفاده از طیف‌سنجی IR، C-NMR و H-NMR بررسی گردید و تأیید شد. در مرحله دوم فعالیت ضد میکروبی ترکیبات سنتز شده به روش تعیین رقت لوله‌ای و انتشار چاهک بر روی دو باکتری بیماری‌زای *انتروکوکوس فکالیس* و *پروتئوس و لگاریس* مورد بررسی قرار گرفت (۲۰). جهت سنتز مشتقات ۵-۳-کلروفنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول و ۵-۳-بروموفنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول یک میلی‌مول از N-ایزوسیانو ایمینو تری‌فنیل به ۱۰ میلی‌لیتر محلول حاوی یک میلی‌مول مشتقات کربوکسیلیک اسید و ۲ میلی‌مول پیریدین کربالدهید در حلال استونیتریل به آرامی طی مدت ۵ دقیقه در دمای محیط اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت واکنش کامل شد. در ادامه، محصول از طریق پلیت سیلیکا ژل، مخلوط حلال پترولیوم اتر و اتیل استات به نسبت ۱:۵ جداسازی گردید. روش سنتزی پیشنهادی در شکل ۱ نشان داده شده است (۲۱، ۲۲).

ویژگی‌های فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیبات سنتز شده در شکل ۲ نشان داده شده‌اند.

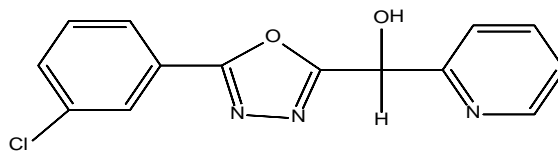
در شکل‌های ۳-۶ طیف‌های IR، H-NMR و C-NMR مشتق ۵-۳-برومو فنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-

حاوی ۴،۳،۱-اکسادیازول‌ها می‌توانند به‌عنوان انتقال‌دهنده اوره عمل کنند و نیز به‌عنوان لیگاند این توانایی را دارند که با فلزات قلیایی و یا فلزات قلیایی خاکی، کمپلکس تشکیل دهند و به‌عنوان انتقال‌دهنده عمل نمایند (۱۲). علاوه بر این، در تهیه کریستال‌های مایع نیز به کار می‌روند (۱۳). ۴،۳،۱-اکسادیازول‌ها در ساختار برخی از داروهای ضد افسردگی نیز وجود دارند. مکانیسم عمل این داروها به این شکل است که از آنزیم سیکلواکسیژناز در بدن جلوگیری می‌نمایند (۱۴). برخی از مشتقات بنزن سولفونامید ۴،۳،۱-اکسادیازول‌ها به‌عنوان پایین‌آورنده قند خون کاربرد دارند (۱۵) و تعدادی از آن‌ها دارای خاصیت ضد اسهال می‌باشند (۱۶). علاوه بر این، برخی از مشتقات ۴،۳،۱-اکسادیازول‌ها از ساخته‌شدن کیتین (لایه پوششی سخت حشرات) جلوگیری می‌کنند (۱۷). تعدادی نیز دارای خاصیت قارچ‌کشی می‌باشند (۱۸). اکسادیازول‌ها از اهمیت کاربردی در زمینه کشاورزی، داروسازی و شیمی دارویی برخوردار می‌باشند که در بین این مشتقات، اکسادیازولی با ایزومر ۴،۳،۱-اکسادیازول دارای بیشترین فعالیت دارویی است؛ اما یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های دارویی این ترکیبات، فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها است. این مشتقات توانایی مهار میکروب‌هایی نظیر قارچ‌ها، باکتری‌های گرم منفی مانند *اشرشیا کلی*، *ویبریو کلرا* و *سودوموناس آئروژینوزا* و باکتری‌های گرم مثبت مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس لیتنوس* را دارند. کشف قابلیت‌های فارماکولوژی و شیمی دارویی در این مشتقات اهمیت مطالعه در مورد آن‌ها را دوچندان می‌کند. ذکر این نکته ضرورت دارد که در بسیاری از ترکیبات دارویی مورد استفاده، حلقه اکسادیازول به‌عنوان فعال‌ترین بخش از ترکیبات دارویی وارد عمل شده و تأثیرات خود را اعمال می‌نماید (۱۹).

با توجه به موارد بیان‌شده، هدف از انجام این پژوهش



شکل ۱: روش سنتزی پیشنهادی مشتقات اکسادیازول



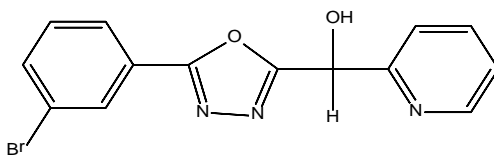
۳-۵-کلروفنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول

White powder, m.p. 139 °C, yield 77% (0.22g).

IR (KBr) (ν_{max} , cm^{-1}): 3444, 2926, 2856, 1673, 1578, 1513, 1377, 1239, 1120, 1022, 927.

1H NMR (300.13 MHz, $CDCl_3$): $\delta_H=6.71$ (s, 1H, OH), 6.19 (s, 1H, CH aliphatic), 7.38-7.56 (m, 2H, CH Arom), 7.58-7.94 (m, 1H, CH Arom), 7.94-7.99 (m, 1H, CH Arom), 8.12-8.14 (m, 1H, CH Arom), 8.12-8.25 (m, 1H, CH Arom), 8.43-8.46 (m, 1H, CH Arom), 8.87-8.93 (m, 1H, CH Arom).

^{13}C NMR (75.467 MHz, $CDCl_3$): $\delta_C=68.91$ (CH-OH), 127.80, 128.41, 128.57, 130.61, 131.91, 132.03, 137.26, 150.196 (8CH, Arom), 128.179, 135.474, 158.338 (3C, Arom), 161.8, 164.1 (2C, Oxadiazole).



۳-۵-بروموفنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول

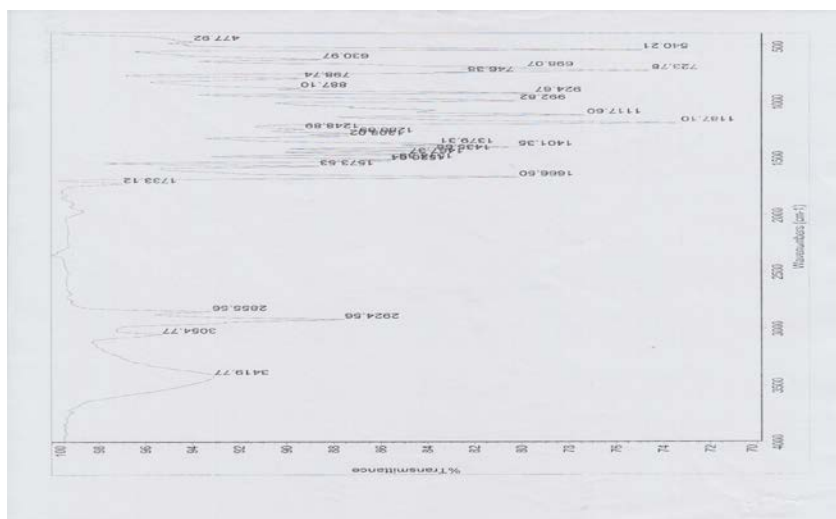
White powder, m.p. 162 °C, yield 78% (0.26g).

IR (KBr) (ν_{max} , Cm^{-1}): 3419 (br), 3054, 2924, 2855, 1666, 1573, 1401, 1379, 1187, 1117, 992.

1H NMR (300.13 MHz, $CDCl_3$): $\delta_H=6.64$ (s, 1H, OH), 6.18 (s, 1H, CH aliphatic), 7.47-7.56 (m, 2H, CH Arom), 7.65-7.77 (m, 2H, CH Arom), 8.00 (t, $^3J_{HH}=7.5$ Hz, 1H, CH Arom), 8.18 (d, 1H, $^3J_{HH}=8.1$ Hz, CH Arom), 8.45 (d, 1H, $^3J_{HH}=7.8$ Hz, CH Arom), 8.90-8.96 (m, 1H, CH Arom).

^{13}C NMR (75.467 MHz, $CDCl_3$): $\delta_C=67.3$ (CH-OH), 124.7, 128.4, 128.6, 130.6, 131.9, 125.7, 135.8, 137.3, 150.2 (9CH, Arom.), 122.4, 123.3 152.8 (3C, Arom.), 162.4, 164.7 (2C, Oxadiazole).

شکل ۲: خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ۳-۵-کلرو فنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول



شکل ۳: طیف IR ترکیب ۳-۵-بروموفنیل-۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول

چاهک‌ها تزریق گشت. در انتها، درب پلیت‌ها بسته شد و آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت پلیت‌ها از نظر تعیین حضور هاله عدم رشد بررسی شدند (۲۵-۲۳).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از تعیین رقت لوله‌ای

برای بررسی اثر ضد میکروبی مشتقات در دسترس، ابتدا محلولی از هریک از مشتقات اکسادیازولی و آنتی‌بیوتیک‌ها در حلال DMSO تهیه گردید. سپس، سویه‌های باکتریایی مورد بررسی به مدت ۱۸ ساعت در محیط کشت نوترینت براث در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. برای تعیین غلظت MIC، نیم مک‌فارلند از باکتری‌های استاندارد تهیه گردید. در ادامه، ۲۰ لوله در جالوله‌ای چیده گشت و در تمام لوله‌ها ۱ سی‌سی مولر هینتون براث، ۶۰۰ میکرولیتر آنتی‌بیوتیک و ۴۰۰ میکرولیتر باکتری مورد نظر ریخته شد. پس از مخلوط کردن، ۱ سی‌سی از لوله اول به لوله دوم اضافه گردید و این کار تا لوله پنجم ادامه پیدا کرد. باید خاطرنشان ساخت که ۱ سی‌سی از لوله پنجم بیرون ریخته شد و این کار برای هر سه غلظت ۱،۳ و ۵ صورت گرفت و در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس، لوله‌ها به‌طور چشمی از نظر کدورت بررسی گردیدند و بالاترین رقتی که باعث مهار رشد باکتری‌ها (عدم ایجاد کدورت) شد، به‌عنوان حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) ثبت گردید. علاوه‌براین، ۵ میکرولیتر از هریک از لوله‌های فاقد کدورت بر روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار کشت داده شد و بالاترین رقتی که از تشکیل کلنی بر روی محیط جامد پس از کشت به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جلوگیری نمود، به‌عنوان حداقل غلظت کشنده

مورد استفاده قرار گرفتند. شایان ذکر است که مشتقات سنتز شده اکسادیازولی (۴،۳،۱-اکسادیازول) به‌منظور تعیین فعالیت ضد میکروبی با غلظت مشخص محلول‌سازی شدند. به‌منظور انجام آزمون‌های انتشار چاهک و تعیین رقت لوله‌ای، محلولی به غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از مشتقات اکسادیازولی تهیه شد. در تهیه این محلول‌ها از حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO: Dimethyl Sulfoxide) استفاده شد. ابتدا از رقت‌های دارویی ضد باکتریایی، استوک تهیه گردید. به‌منظور تهیه محلول استوک، ۳،۱ و ۵ میلی‌گرم از مشتقات اکسادیازولی توسط ترازو وزن شد و در ۱ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل سولفوکساید حل گردید.

جهت انجام آزمون تعیین رقت لوله‌ای، پنج رقت ۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک‌ها و ۳،۱ و ۵ رقت از ۱۰۰۰ تا ۰/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از مشتقات اکسادیازولی فراهم شد. در ادامه به‌منظور تهیه محلول استوک ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از سیپروفلوکساسین، مقدار ۰/۰۰۲ گرم پودر خالص سیپروفلوکساسین در ۱ میلی‌لیتر DMSO حل گردید (۱۱).

تعیین فعالیت ضد باکتریایی مشتقات سنتز شده به روش انتشار از چاهک

پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی با کدورتی معادل استاندارد نیم مک‌فارلند، مقداری از کلونی باکتری به وسیله سواب پنبه‌ای استریل برداشته شد و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌صورت چمنی و کاملاً یکنواخت کشت گردید. سپس به وسیله پیپت پاستور، چاهک‌هایی در پلیت ایجاد شد. پس از کشت، چاهک‌هایی توسط پیپت پاستور در پلیت ایجاد گردید. در ادامه، ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های تهیه‌شده از مشتقات اکسادیازول، داروهای رفرنس (شاهد مثبت) و دی‌متیل سولفوکساید (شاهد منفی) به داخل

(MBC) در نظر گرفته شد.

و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر طی ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند.

نتایج

براساس نتایج حاصل از روش انتشار ماده ضد میکروبی در چاهک و بررسی هاله‌های عدم رشد مشخص گردید که ترکیبات سنتز شده بر روی باکتری‌های گرم مثبت به خوبی عمل می‌کنند؛ اما بر روی باکتری‌های گرم منفی کمی تأثیرگذار هستند که این امر خود نشان‌دهنده انتخابی عمل کردن ترکیبات سنتز شده می‌باشد.

پس از تأیید باکتری‌های تهیه شده از مرکز کلکسیون میکروبی، فعالیت ضد باکتریایی مشتقات سنتز شده مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه در مورد ایتروکوکوس فکالیس تخمیر قندهای سوربیتول، مانیتول و لاکتوز و در مورد پروتئوس و لگاریس تخمیر قندهای لاکتوز، گلوکز و سوکروز بررسی گردید.

براساس نتایج حاصل از روش انتشار ماده ضد میکروبی در چاهک و بررسی هاله‌های عدم رشد مشخص گردید که ترکیبات سنتز شده بر روی باکتری‌های گرم مثبت به خوبی عمل می‌کنند؛ اما بر روی باکتری‌های گرم منفی کمی

در روش انتشار ماده ضد میکروبی از چاهک، ترکیبات مورد آزمایش بر روی باکتری‌های مورد بررسی در غلظت‌های ۱ میلی گرم بر میلی لیتر، ۳ میلی گرم بر میلی لیتر

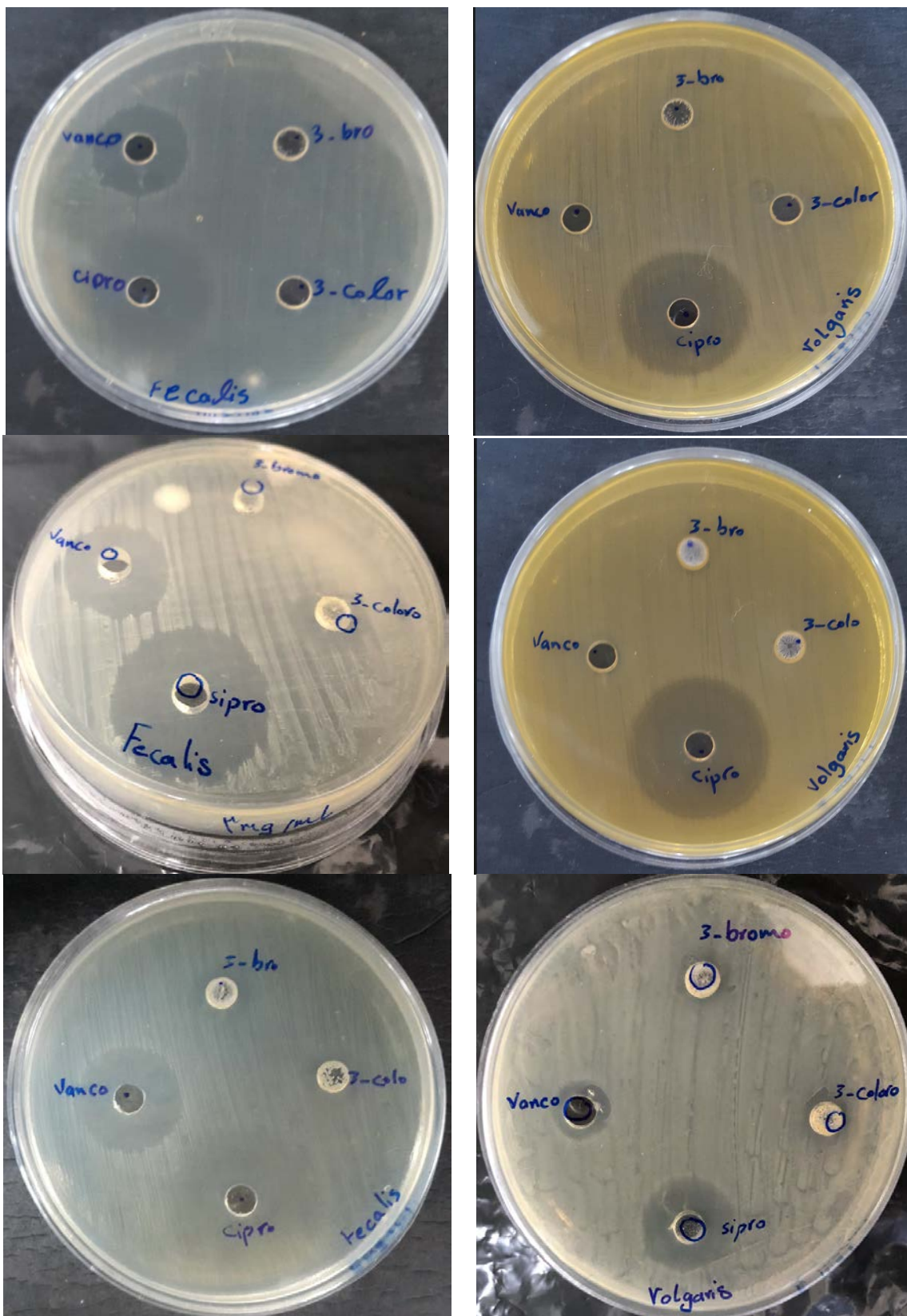
جدول ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) ترکیبات مورد آزمایش بر روی باکتری‌های تحت آزمایش در روش انتشار ماده ضد میکروبی از چاهک (در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر، ۳ میلی گرم بر میلی لیتر و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) در ۲۴ ساعت

باکتری	غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر	غلظت ۳ میلی گرم بر میلی لیتر	غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر
ایتروکوکوس فکالیس	ترکیب A: ۱۱	ترکیب A: ۹	ترکیب A: ۱۰
	ترکیب B: ۹	ترکیب B: ۹	ترکیب B: ۱۰
	سیپروفلوکساسین: ۲۲	سیپروفلوکساسین: ۲۴	سیپروفلوکساسین: ۲۱
	ونکومایسین: ۱۷	ونکومایسین: ۱۸	ونکومایسین: ۱۹
پروتئوس و لگاریس	ترکیب A: ۰	ترکیب A: ۰	ترکیب A: ۰
	ترکیب B: ۰	ترکیب B: ۷	ترکیب B: ۸
	سیپروفلوکساسین: ۲۳	سیپروفلوکساسین: ۲۶	سیپروفلوکساسین: ۲۹
	ونکومایسین: ۰	ونکومایسین: ۰	ونکومایسین: ۰

ترکیب A: ۵-۳-بروموفنیل-۴،۳،۱-اکسایدازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول
ترکیب B: ۵-۳-کلروفنیل-۴،۳،۱-اکسایدازول-۲-ایل-پیریدین-۲-ایل-متانول

جدول ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) ترکیبات مورد آزمایش بر روی باکتری‌های تحت آزمایش در روش انتشار ماده ضد میکروبی از چاهک (در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر، ۳ میلی گرم بر میلی لیتر و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) در ۴۸ ساعت

باکتری	غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر	غلظت ۳ میلی گرم بر میلی لیتر	غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر
ایتروکوکوس فکالیس	ترکیب A: ۱۲	ترکیب A: ۱۲	ترکیب A: ۱۴
	ترکیب B: ۱۱	ترکیب B: ۱۰	ترکیب B: ۱۶
	سیپروفلوکساسین: ۲۹	سیپروفلوکساسین: ۲۶	سیپروفلوکساسین: ۳۴
	ونکومایسین: ۱۹	ونکومایسین: ۲۰	ونکومایسین: ۲۵
پروتئوس و لگاریس	ترکیب A: ۱۰	ترکیب A: ۹	ترکیب A: ۸
	ترکیب B: ۰	ترکیب B: ۷۰	ترکیب B: ۹
	سیپروفلوکساسین: ۱۱	سیپروفلوکساسین: ۲۱۶	سیپروفلوکساسین: ۱۸
	ونکومایسین: ۰	ونکومایسین: ۱۰	ونکومایسین: ۱۱



شکل ۶: تصاویر مربوط به آزمایش انتشار از چاهک ترکیبات مورد آزمایش بر روی باکتری‌ها در غلظت‌های ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

جدول ۳: نتایج مربوط به MIC و MBC ترکیبات مورد آزمایش بر روی باکتری‌های مورد مطالعه (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

باکتری	انتروکوکوس فکالیس		انتروکوکوس فکالیس		انتروکوکوس فکالیس		انتروکوکوس فکالیس		انتروکوکوس فکالیس	
	غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر
ترکیب B	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰
ترکیب A	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۵۰۰
سیپروفلوکساسین	۲۵۰	۰/۳۱	۲۵۰	۰/۳۱	۲۵۰	۰/۳۱	۲۵۰	۰/۳۱	۲۵۰	۰/۳۱
وانکومايسين	۲۵۰	۰/۰۷	۲۵۰	۰/۰۷	۱۲۵	۰/۰۷	۱۲۵	۰/۰۷	۲۵۰	۰/۰۷

تأثیرگذار هستند که این امر خود نشان‌دهنده انتخابی عمل کردن ترکیبات سنتز شده می‌باشد.

بحث

برای اولین بار در سال ۱۹۹۵ ترکیبات ۴،۳،۱-اکسادیازول سنتز شدند. این گروه جدید آنتی‌بیوتیک با باکتری‌های مقاوم در مقابل متی‌سیلین و دیگر باکتری‌های مقاوم در مقابل داروها که تهدیدکننده سلامت عمومی هستند، مبارزه می‌کنند (۲۶). تعداد زیادی از مشتقات اکسادیازول ساخته شده‌اند و بسیاری از این ترکیبات طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضد میکروبی را نشان می‌دهند. برخی از اکسادیازول‌ها با جایگزین‌های متفاوت در محل‌های مختلف بر روی حلقه هتروسیکلیک موجب ایجاد فعالیت ضد قارچی و ضد باکتریایی می‌شوند. در این ارتباط، مباحثی و همکاران در پژوهشی دریافته‌اند که آنتی‌بیوتیک اکسادیازول مانع فعالیت پروتئین متصل‌شونده به پنی‌سیلین و سنتز زیستی دیواره سلولی می‌شود. این پژوهشگران بیان نمودند که این پروتئین باکتری مقاوم در مقابل متی‌سیلین را قادر به مقاوم شدن در مقابل داروها می‌کند (۲۷). در سال ۱۹۹۵ ترکیبات ۲ (۵) تیوکسو ۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-یل) اندول‌ها به وسیله Sonar و همکاران از واکنش اندول-۲- کربوهیدرازیدها به CS₂ (Carbon Disulfide) و KOH (Potassium Hydroxide) سنتز شدند. فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس،

پروتئوس و لگاریس و باسیلوس سوبتیلیس تأیید گردید (۲۸). از سوی دیگر در سال ۲۰۰۰، ۵-آریل ۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-یل ۲-کلرو- ۸،۱ نفتریدین‌ها به وسیله Mogilaiah و همکاران براساس واکنش ۱،۸-نفتیریدین-۲-۱-۳- کربوکسیلیک اسید هیدرازید با اسید حلقوی در حضور اسی کلرید فسفری سنتز شد و اثرات ضد میکروبی آن بررسی گردید (۲۹). علاوه بر این، در سال ۲۰۱۵ Mukesh و همکاران پژوهشی را در ارتباط با فعالیت‌های بیولوژیکی اکسادیازول‌ها انجام دادند و دریافته‌اند که ایزومرهای ترکیبات اکسادیازولی قدرت ضد میکروبی و ضد قارچی دارند (۳۰). Khalilullah و همکاران نیز پژوهشی را در مورد ایزومرهای سنتز شده از ۴،۳،۱-اکسادیازول انجام دادند. آن‌ها تأثیرات ترکیبات جدید خود را بر روی آسپرژیلوس فلاووس و کاندیدا/آلبیکنس مشاهده کردند (۲۲).

۴،۳،۱-اکسادیازول از ساختار ویژه‌ای مشتق شده است که از خود فعالیت‌های ویژه‌ای شامل: فعالیت ضد باکتری، ضد سل، ضد قارچ، ضد سرطان، ضد اسهال، ضد درد، ضد سم، خواب‌زدا و غیره را نشان می‌دهد. مقاومت به تعداد زیادی از عوامل ضد میکروبی در مقابل تنوعی از گونه‌های مهم باکتری به یک مشکل مهم جهانی تبدیل شده است. Maslat و همکاران در سال ۲۰۰۲ ترکیبات ۵.۵ دایمر کاپتو، دو واحد (۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-یل) پروپان، ۵.۵ دایمر کاپتو، دو واحد (۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-یل) بوتان، ۵.۵ دایمر کاپتو، دو واحد (۴،۳،۱-اکسادیازول-۲-

استافیلوکوکوس آرنوس و اشیریشیا کلی تأیید گردید (۳۴).

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان دادند که تمامی ترکیبات سنتز شده بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس و در غلظت‌های بیشتر بر روی باکتری گرم منفی پروتئوس ولگاریس از فعالیت آنتی‌باکتریال برخوردار می‌باشند. علاوه بر فعالیت آنتی‌باکتریال ترکیبات سنتز شده، نکته حائز اهمیت دیگر در این پژوهش روشی است که برای سنتز این مشتقات مورد استفاده قرار گرفته است. سنتز تک‌مرحله‌ای مسیری سریع و آسان برای سنتز ترکیبات دارویی می‌باشد که نتیجه آن ذخیره قابل توجهی از زمان، صرف انرژی کمتر و همچنین ارائه چشم‌اندازی روشن برای سنتز و معرفی ترکیبات دارویی جدید به جامعه پزشکی خواهد بود.

حمایت مالی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی بوده و با حمایت حوزه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شده است.

ملاحظات اخلاقی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه بوده و هیچ‌گونه تعارض منافی در آن وجود ندارد.

تضاد منافع

شایان ذکر است که هیچ‌گونه تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آن‌ها ارسال شده است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از کارشناس محترم مرکز

ایل) اکتان، ۵.۵ دی‌بنزیل تایو، دو واحد-(۴،۳،۱- اکسادیازول-۲-ایل) بوتان را سنتز کردند و فعالیت ضد باکتریایی در مقابل انتروکوکوس فکالیس و پروتئوس ولگاریس را نشان دادند (۲۱). Rai و همکاران نیز در سال ۲۰۰۹ ترکیب ۲-۱-۵-کلرو متوکسی فنیل ۵-متیل ۱-پیرازول ۴-ایل ۴،۳،۱-اکسادیازول را سنتز کردند و فعالیت ضد باکتریایی آن را بررسی نمودند. این ترکیب فعالیت باکتریایی خوبی علیه باسیلوس سوبتیلیس داشت و فعالیت متوسطی را علیه اشیریشیا کلی، استافیلوکوکوس آرنوس و کلبسیلا پنومونیه نشان داد (۱۱). در این زمینه، Yathirajan و همکاران ۲-(۶-برومو-۲-نفتالین) اوکسی) استوهیدرازید جایگزین شده با اسیدهای آروماتیک را در حضور POCH₃ سنتز کردند که این ترکیبات جدید، فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی را از خود نشان دادند (۳۱). Prakash و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ ترکیب نامتقارن ۲،۵ جایگزین ۴،۳،۱-اکسادیازول را سنتز نمودند. بر مبنای نتایج اثر ضد باکتریایی این ترکیب بر استافیلوکوکوس آرنوس با سیپروفلوکساسین تطابق داشت (۳۲). از سوی دیگر، Bhardwaj و همکاران در سال ۲۰۰۹ مشتقات ۴،۳،۱-اکسادیازول را با ترکیب هسته‌های اندول در یکی از موقعیت‌های آزاد اکسادیازول سنتز نمودند. این ترکیبات سنتز شده بر روی سویه‌های استاندارد باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس آرنوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشیریشیا کلی تأثیرگذار بودند. لازم به ذکر است که اثر ضد میکروبی این ترکیب با نورفلوکساسین و فلوکونازول قابل مقایسه بود (۳۳). Asif و Mohammed نیز در سال ۲۰۰۹ سری جدیدی از ۲-(۳-۴-بروموفنیل) پروپان-۳-(۱-۵-فنیل) جایگزین شده ۴،۳،۱-اکسادیازول از ۳-(۴-بروموبنزیل) اسید پروپونیک را به‌عنوان ماده راه‌انداز در واکنش با اکسی‌کلراید فسفرئوس هیدرازیدزین اسید آریل سنتز کردند که اثر ضد باکتریایی این ترکیب بر

References

- Mahon CR, Manoselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 2nd ed. New York: WB. Saunders Company; 2015. P. 15-158.
- Rappé MS, Giovannoni SJ. The uncultured microbial majority. *Ann Rev Microbiol*. 2017; 57(3):369-94.
- Liss RH, Batchelor FR. Economic evaluations of antibiotic use and resistance-a perspective: report Task Force 6. *Rev Infect Dis*. 1987; 9(3):S297-312.
- Chawla R, Arora A, Parameswaran MK, Chan P, Sharma D, Michael S, et al. Synthesis of novel 1,3,4-oxadiazole derivatives as potential antimicrobial agents. *Acta Pol Pharm*. 2010; 67(3):247-53.
- Adelstein GW, Yen CH, Dajani EZ, Bianchi RG. 3, 3-Diphenyl-3-(2-alkyl-1, 3, 4-oxadiazol-5-yl) propylecy cloalkylamines, a novel series of antidiarrheal agents. *J Med Chem*. 1976; 19(10):1221-5.
- Sangshetti JN, Chabukswar AR, Shinde DB. Microwave assisted one pot synthesis of some novel 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles as antifungal agents. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011; 21(1):444-8.
- Othman AA, Kihel K, Amara S. 1,3,4-oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives as potential antibacterial agents. *Arabian J Chem*. 2014; 23:1878.
- Morjan RY, Mkadmh AM, Beadham I, Elmanama AA, Mattar MR, Raftery J, et al. Antibacterial activity of novel nicotinic acid hydrazides and their conversion into N-acetyl-1,3,4-oxadiazoles. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014; 24(24):5796-800.
- Ravindra KC, Vagdevi HM, Vaidya VP, Padmashali B. Synthesis, anti-microbial and anti-inflammatory activities of 1,3,4-oxadiazoles linked to naphtho [2,1-b] furan. *Indian J Heterocyc. Chemist*. 2006; 45(4): 2506-11.
- Nailesh J, Korgaokar S, Parekh H. Synthesis and antimicrobial activity of substituted 1,3,4-oxadiazoles. *Indian J Heterocyc Chem*. 1996; 5(3):241-2.
- Rai NP, Narayanaswamy VK, Shashikanth S, Arunachalam PN. Synthesis characterization and antibacterial activity of 2-[1-(5-chloro-2-methoxy-phenyl)-5-methyl-1H-pyrazol-4-yl]-5- substituted-phenyl-[1,3,4] oxadiazoles. *Eur J Med Chem*. 2009; 44(3):4522-7.
- Hedrick JL, Twieg R. Poly (aryl ether oxadiazoles). *Macromolecules*. 1992; 25(7):2021-5.
- Ciccarelli FD, Doerks T, von Mering C, Creevey CJ, Snel B, Bork P. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science*. 2006; 56(6):1283-7.
- Gurupadaswamy HD, Girish V, Kavitha CV, Raghavan SC, Khanum SA. Synthesis and evaluation of 2,5-di(4-aryloxyloxy)methyl-1,3,4-oxadiazoles as anti-cancer agents. *Eur J Med Chem*. 2013; 63: 536-43.
- Gupta K. Addressing antibiotic resistance. *Dis Mon*. 2003; 49(2):99-110.
- Liss RH, Batchelor FR. Economic evaluations of antibiotic use and resistance-a perspective: report. *Rev Infect Dis*. 1987; 9(3):297-312.
- Souldozi A, Shojaei SH, Ramazani A, Slepokurad K, Lisd T. Synthesis and crystal structure of N-(2-(1,3,4-oxadiazol-2-yl) phenyl)-2,3-dimethylaniline. *Chinese J Struct Chem Rep*. 2014; 5(2):407-14.
- Kitao T, Tada T, Tanaka M, Narahara K, Shimojima M, Shimada K, et al. Emergence of a novel multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain producing IMP-type metallo- β -lactamases and AAC (6')-Iae in Japan. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 39(6):518-21.
- Yousaf M, Zahoor AF, Faiz S, Javed S, Irfan M. Recent synthetic approaches towards biologically potent derivatives/analogues of theophylline. *J Heterocyc Chem*. 2018; 21(3):842-51.
- Shridhar AH, Keshavayya J, Hoskeri J. Synthesis, characterization and pharmacological studies of novel bis-1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-triazole derivatives. *Der Chem Sinica*. 2011; 2(4):106-14.
- Mahajan P, Nikam M, Chate A, Nimbalkar U, Patil V, Bobade A, et al. Synthesis, antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial screening of newer thiophene-fused arylpyrazolyl 1,3,4-oxadiazoles. *Phosph Sulfur Silicon Relat Elements*. 2015; 190(11):256-65.
- Khalilullah H, Ahsan MJ, Hedaitullah M, Khan S, Ahmed B. 1,3,4-oxadiazole: a biologically active scaffold. *Mini Rev Med Chem*. 2012; 12(8):789-801.
- Lhermie G, Gröhn YT, Raboisson D. Addressing antimicrobial resistance: an overview of priority actions to prevent suboptimal antimicrobial use in food-animal production. *Frontiers Microbiol*. 2017; 7:2114.
- Hou L, Shi Y, Zhai P, Le G. Antibacterial activity and in vitro anti-tumor activity of the extract of the larvae of the housefly (*Musca domestica*). *J Ethnopharmacol*. 2007; 111(2):227-31.
- Amoo S, Ndhala AR, Finnie JF, Van Staden J. Antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties of *Burchellia bubaline*. *South Afr J Botany*. 2009; 75(4):60-3.

26. Alipour E, Mousavi Z, Safaei Z, Pordeli M, Safavi M, Firoozpour L, et al. Synthesis and cytotoxic evaluation of some new [1,3]dioxolo[4,5-g]chromen-8-one derivatives. *Daru*. 2014; 22:41.
27. Mobasheri H, Mahdiuni H, Shafiee A, Foroumadi A. Effects of novel antituberculosis agents on OmpF channel activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 376(1):174-9.
28. Sonar VN, Yadav LD, Sandhya S. New Mannich bases from oxadiazolyl indoles and their antibacterial activities. *Indian J Heterocyc Chem*. 1995; 4:203-5.
29. Mogilaiah K, Prashanthi M. Convenient synthesis of 5-aryl-2- [p-(1, 8-naphthyridin-2yl) phenoxy-methyl]-1,3,4-oxadiazoles under microwave irradiation. *Indian J Heterocyc Chem*. 2000; 14(3):185-8.
30. Maslat AO, Abussaud M, Tashtoush H, Al-Talib M. Synthesis, antibacterial, antifungal and genotoxic activity of bis-1,3,4-oxadiazole derivatives. *Pol J Pharmacol*. 2002; 54(1):55-9.
31. Mayekar AN, Yathirajan HS, Narayana B, Sarojini BK, Kumari NS. Synthesis and antimicrobial studies on new substituted 1,3,4-oxadiazole derivatives bearing 6-bromonaphthalene moiety. *Int J Chem*. 2010; 2(1):38-54.
32. Prakash O, Kumar M, Kumar R, Sharma C, Aneja KR. Hypervalent iodine (III) mediated synthesis of novel unsymmetrical 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles as antibacterial and antifungal agents. *Eur J Med Chem*. 2010; 45(9):4252-7.
33. Bhardwaj N, Saraf SK, Sharma P, Kumar P. Syntheses, evaluation and characterization of some 1, 3, 4-oxadiazoles as antimicrobial agents. *J Chem*. 2009; 6(4):1133-8.
34. Husain A, Ajmal M. Synthesis of novel 1, 3, 4-oxadiazole derivatives and their biological properties. *Acta Pharm*. 2009; 59(2):223-33.

Original Article

2-Substituent Synthesis of 3-Bromophenyl, 5-3 Chlorophenyl, 1, 3, 4-Oxadiazoles, 2-Yl Pyridine, and 2-Yl Methanol in Positions of 2 and 5 of 1, 3, 4-Oxadiazoles Containing Halogen and the Evaluation of their Antibacterial Properties

Mahnaz Karimi¹, Elahe Tajbakhsh^{2*}, Ali Souldozi^{3, 4}

¹ MSc in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord ,Iran

² Associate Professor of Microbiology ,Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch ,Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

³ Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

⁴ Associate Professor, Faculty of Basic Sciences, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

Received: 28 September 2018

Accepted: 15 December 2018

Abstract

Introduction: Oxadiazole derivatives are widely used biologically and regarded as good alternatives to antimicrobial drugs. The aim of this study was to evaluate the antibacterial properties of oxadiazole synthesized derivatives. They were also compared with common antibacterial drugs considering some pathogenic bacteria.

Materials and Methods: 1, 3, 4-oxadiazoles isomer maintains the most medicinal and especially antimicrobial properties. In this study, a one-step method was applied to synthesize new oxadiazole derivatives. Accordingly, the structures of the initial compounds and the synthesis process led to the synthesis of oxadiazole derivatives with 1, 3, 4-oxadiazoles isomer. Infrared, Hydrogen-Nuclear Magnetic Resonance, and Carbon-Nuclear Magnetic Resonance were used to evaluate this isomer. The antimicrobial and antibacterial properties of this isomer were assessed applying minimal inhibitory concentration, determination of minimal bactericidal concentration, and disc diffusion methods. These properties were tested against *Enterococcus faecalis* PTCC 1788 and *Proteus vulgaris* PTCC 1861 at concentrations of 1, 3, and 5 mg / ml.

Results: The results of the study showed that all the synthesized compounds had antibacterial activities against *E. faecalis* at the concentrations of 3 and 5 mg/ml; however, they did not have any effect on *P. vulgaris*.

Conclusion: The one-step synthesis of oxadiazole derivatives has antibacterial properties against gram-positive bacteria.

Keywords: Antibacterial, *Enterococcus faecalis*, Oxadiazole, *Proteus vulgaris*
