

## سنتز مشتقات ۱ و ۳ دی تین با استفاده از حلال اتکتیک سبز گلیسرول:پتاسیم کربنات و بررسی فعالیت ضد باکتریایی علیه سویه‌های باکتریایی مشترک بین آبزیان و انسان

محمد رضا مقدم منش<sup>۱،۲</sup>، دادخدا غضنفری<sup>۱\*</sup>، عنایت اله شیخ حسینی<sup>۱</sup>، محمد رضا اخگر<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیمی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

<sup>۲</sup> اداره کل استاندارد استان سیستان و بلوچستان، سازمان ملی استاندارد، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۱/۲۳

تاریخ تصحیح: ۹۸/۱۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۰۸

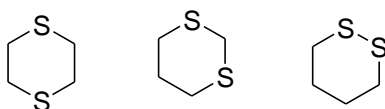
### چکیده

ارائه روش‌های نوین و سبز و پیدا کردن حلال‌های دوستدار محیط زیست در سنتز ترکیبات آلی بسیار حائز اهمیت است. در این تحقیق سنتز مشتقات ۱ و ۳ دی تین با استفاده از حلال اتکتیک گلیسرول:پتاسیم کربنات مورد بررسی قرار گرفت و علاوه بر این اثرات ضدباکتریایی ترکیبات سنتز شده بر علیه دو سویه باکتریایی ادوارد سیلا تاردا و لاکتوکوکوس گارویه بر طبق استاندارد *CLSI* و با روش برات میکرو دایلوژن بر مبنای قطر هاله عدم رشد (*IZD*)، حداقل غلظت مهارکنندگی (*MIC*) و حداقل غلظت کشندگی (*MBC*) مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد که می‌توان از گلیسرول:پتاسیم-کربنات بعنوان حلال سبز و مناسب در سنتز ترکیبات ۱ و ۳ دی تین استفاده نمود و نتایج بررسی فعالیت‌های ضدباکتریایی نیز مشخص نمود که این ترکیبات به خصوص مشتق *5f* قابلیت مهار ادوارد سیلا تاردا و لاکتوکوکوس گارویه به ترتیب با غلظت‌های ۶۴ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر را دارد. علاوه بر این اثبات گردید که بین ساختار مشتقات و فعالیت ضدباکتریایی رابطه مشخصی وجود دارد و بالاترین اثرگذاری مربوط به ترکیبات حاوی کلر است و پس از کلر، برم و نیتروژن رتبه‌های بعدی را در اثرگذاری دارند.

**کلمات کلیدی:** شیمی سبز، حلال اتکتیک، ۱ و ۳ دی تین، باکتری‌های آبزیان، اثرات ضدباکتریایی.

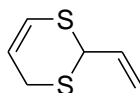
### ۱- مقدمه

ترکیبات هتروسیکلی در ساختار بسیاری از ترکیبات طبیعی و سنتزی حضور دارند و کاربردهای فراوانی در زندگی روزمره ما دارند. این ترکیبات بطور کلی در تنظیم فعالیت‌های زیستی نقش مهمی دارند و در ساختار اکثر داروها وجود دارند [۱ و ۲]. دی‌تین‌ها ترکیبات هتروسیکلی حلقوی ۶ عضوی هستند که دارای ۲ اتم گوگرد در ساختار خود می‌باشند. بسته به نوع قرارگیری این ترکیبات در حلقه با نام‌های ۱ و ۲ دی تین، ۱ و ۳ دی تین و ۱ و ۴ دی تین نامگذاری می‌شوند. اتم‌های گوگرد در ۱ و ۳ دی تین در موقعیت ۱ و ۳ می‌باشد.



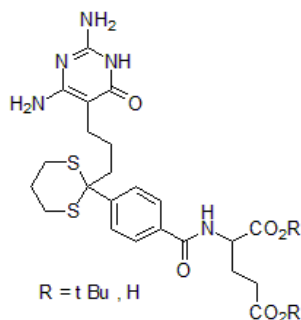
شمتیک ۱- ساختار شیمیایی ۱، ۲، ۳، ۱ و ۴ دی تین

سیر دارای خواص درمانی بسیاری دارد، گزارشاتی از حضور مشتق ۲-وینیل-۴-H-۱ و ۳ دی تین در سیر شده است [۳-۵].

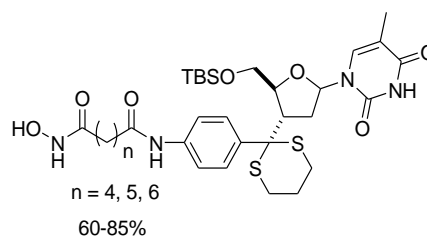


شمتیک ۲- ساختار ۲-وینیل-۴-H-۱ و ۳ دی تین موجود در سیر

علاوه بر این ترکیبات هتروسیکلی مختلفی سنتز شده اند که حاوی حلقه ۱ و ۳ دی تین بوده و دارای خواص بیولوژیکی می باشند از جمله: دمارتینو و همکاران ترکیباتی سنتز کردند که در آن ها حلقه ۱ و ۳ دی تین حضور دارد و دارای فعالیت گلیسینامید ریبونوکلئوتید فرمیلترانسفراز می باشد علاوه بر این در سال ۲۰۱۷ ترکیبات هتروسیکلی چند حلقه ای سنتز شده که دارای خواص مهارکنندگی هیستون دیاستیلاز می باشد [۶ و ۷].



ب



آ

شمتیک ۳- ترکیبات سنتز شده حاوی حلقه ۱ و ۳ دی تین دارای خاصیت آ: مهارکنندگی هیستون دیاستیلاز، ب: گلیسینامید ریبونوکلئوتید فرمیلترانسفراز روش های متعددی برای سنتز ۱ و ۳ دی تین ها وجود دارد که مهمترین آن ها استفاده از ۱ و ۳ پروپان تیول و ترکیبات حاوی گروه کربونیل در حضور کاتالیزورهای مختلف می باشد [۸ و ۹]. در روشی دیگر مهربانی و همکاران با استفاده از کربن دی سولفید، دایمدون و متیلن فعال در حضور تری اتیل آمین بعنوان کاتالیست بازی باز ترکیباتی جدید از ۱ و ۳ دی تین ها را سنتز و گزارش کردند [۱۰].

حلال های اتکتیک نقش اساسی در شیمی سبز دارند. از آن ها می توان بعنوان مواد ارزان، غیرسمی، قابل بازیافت، دوستدار محیط زیست در سنتز ترکیبات هتروسیکلی و آلی استفاده نمود. در شیمی آلی و سنتز هتروسیکل ها این ترکیبات می توانند

بعنوان اسید و باز لوویس و لوری برونشند نقش بازی کنند. حلال‌ها اتکتیک مخلوطی از ترکیب حاوی دهنده پیوند هیدروژنی و ترکیبات گیرنده پیوند هیدروژنی یا نمک فلزات می‌باشند [۱۱-۱۳].

گزارشات متعددی از استفاده حلال‌های اتکتیک در سنتز ترکیبات هتروسیکلی ارائه شده است. بعنوان مثال کولین کلراید و اوره بعنوان سیستم اتکتیکی در سنتز مشتقات پیریدو[۲ و ۳-d] پیریمیدین‌ها مورد استفاده قرار گرفت است، گلوکز و اوره نیز سیستم دیگری است که برای سنتز مشتقات پیرازول‌ها گزارش شده است [۱۳ و ۱۴]. اخیراً استفاده از گلیسرول و پتاسیم کربنات بعنوان حلال اتکتیک در سنتز هتروسیکل‌ها بسیار مورد استفاده قرار گرفته است. از سیستم فوق مشتقات ایزواکسازول‌ها و پیرازول‌ها با بازده بالا و دارای خواص بیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفته است. [۱۲ و ۱۵].

واکنش‌های چند جزئی در شیمی آلی بسیار کاربردی می‌باشد و در سنتز ترکیبات آلی و هتروسیکلی و داروها مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این واکنش‌ها سه یا تعدادی بیشتر ماده اولیه در یک ظرف با یکدیگر واکنش داده می‌شود و در نهایت محصول مورد نظر بدون جداسازی حدواسطها بدست می‌آید. اهمیت این واکنش‌ها به دلیل ایجاد ترکیبات متنوع، بازده بالا، ارزان و مقرون به صرفه بودن، صرفه جویی اتمی و مولکولی، تشکیل پیوندهای متنوع در یک مرحله و کم بودن اثرات زیست محیطی می‌باشد [۱۶ و ۱۷].

در حوزه پرورش آبزیان عفونت‌های باکتریایی مهمترین مشکل محسوب می‌شود [۱۸]. /دوارد سیلا تاردا/ باکتری گرم منفی از خانواده /نتروباکتریاسیا می‌باشد. این باکتری عامل ایجاد سپتیمی /دوارد سیلا در ماهی‌ها می‌باشد [۱۹]. لاکتوکوکوس گارویه باکتری گرم مثبت و عامل بیماری لاکتوکوکوزیس در ماهی‌ها به ویژه قزل آلائی رنگین کمان می‌باشد و علاوه بر ماهی در گاو، سگ، گربه و بوفالو و در فرآورده‌های دامی شامل نظیر شیر گاو نیز یافت می‌باشد. این باکتری گرم مثبت موجب اندوکاردیت در انسان می‌شود [۲۰-۲۵].

با توجه به اهمیت سنتز ترکیبات هتروسیکلی دارای خواص بیولوژیکی با استفاده از روش‌های نوین و سبز که دوستدار محیط زیست می‌باشند در این تحقیق مشتقات ۱ و ۳ دی‌تین با استفاده از کاتالیزور دابکو سنتز شده و خواص ضدباکتریایی آن‌ها علیه سویه‌های مقاوم بیمارستانی و سویه‌های باکتری‌های آبزیان مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- مواد شیمیایی و سویه‌های مورد استفاده

تمامی حلال‌ها و مواد شیمیایی از شرکت‌های مرک و سیگما آلدریچ تهیه شده و خالص‌سازی روی آن‌ها صورت نگرفته است. سویه‌های باکتریایی از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (IBRC) تهیه شد.

## ۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده

نقطه ذوب ترکیبات با استفاده از دستگاه Kruss نوع KSP1 N اندازه‌گیری شده و تصحیح نگردیده است. طیف‌های کربن و هیدروژن ترکیبات با استفاده از دستگاه Bruker FT-NMR Ultra Shield-250 (250 and 75 MHz, resp) انجام گرفته است. طیف‌های FT-IR با استفاده از دستگاه Bruker Tensor 27 انجام شده است و تهیه غلظت سوبه‌های باکتریایی با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر Jenway 6405 انجام گرفته است.

## ۲-۳- سنتز مشتقات ۳ دی تین

ابتدا مقدار ۰/۰۱ مول (۱/۴۰ گرم) پتاسیم کربنات و ۰/۰۴ مول (۳/۶۰ گرم) گلیسرول را به مدت ۲ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هم‌زدن قرار گرفت. محلول همگن بدون رنگ تهیه شده بعنوان حلال اتکتیک در مراحل بعد مورد استفاده قرار گرفت.

۱ میلی‌مول دایمدون (۰/۱۴۰ گرم) و ۳ میلی‌مول (۰/۲۲۸) کربن دی سولفید را در ۱ گرم حلال اتکتیک تهیه شده ریخته و به مدت نیم ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هم‌زدن قرار گرفت. در ظرف دیگر مقدار ۱ میلی‌مول مشتقات ایزاتین و ۱ میلی‌مول مالونونیتریل (۰/۰۶۶ گرم) را در ۱ گرم حلال اتکتیک حل و به مدت نیم ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هم‌زدن قرار گرفت. سپس مخلوط‌های دو ظرف با هم ترکیب و واکنش با TLC مورد رصد قرار گرفت. پس از کامل شدن واکنش، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب: اتانول (۱:۱) به مخلوط اضافه به مدت نیم ساعت هم زده شد. سپس رسوبات جدا و در استونیتریل تبلور مجدد شد.

*6'-amino-2'-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)-2-oxospiro[indoline-3,4'-[1,3]dithiine]-5'-carbonitrile (5a, C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>).*

M.p. 289–291 °C; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3378, 3314 and 3144 (NH<sub>2</sub>, NH), 2192 (CN), 1722, 1667 (CO); <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 0.98 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 2.02-2.19 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>), 6.77 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-Ar), 6.84-6.97 (3H, m, H-Ar), 7.19 (2H, br s, NH<sub>2</sub>), 10.38 (1H, s, NH); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 27.4, 28.0, 32.4, 47.02, 50.4, 57.9, 109.7, 111.2, 117.8, 122.2, 123.4, 128.6, 134.8, 142.5, 159.2, 164.6, 178.5, 195.4. Anal. Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: C, 58.37; H, 4.16; N, 10.21; S, 15.59. Found: C, 58.32; H, 4.19; N, 10.23; S, 15.62.

*6'-amino-5-chloro-2'-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)-2-oxospiro[indoline-3,4'-[1,3]dithiine]-5'-carbonitrile*

(5b, C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>).

M.p. 304–306 °C (decomp.); IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3400, 3290 and 3156 (NH<sub>2</sub>, NH), 2192 (CN), 1726, 1680 (CO); <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 1.00 (6H, s, 2Me), 2.05-2.13 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.45-2.62 (2H, m, CH<sub>2</sub>) 6.79 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-Ar), 7.01 (1H, s, H-Ar), 7.17 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-Ar), 7.31 (2H, s, NH<sub>2</sub>), 10.54 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 27.6, 27.9, 32.4, 46.1, 47.5, 50.4, 57.2,

110.6, 111.1, 117.7, 123.7, 126.1, 128.5, 136.9, 141.5, 159.3, 165.1, 178.3, 195.6. Anal. Calcd for  $C_{20}H_{16}ClN_3O_3S_2$ : C, 53.86; H, 3.62; N, 9.42; S, 14.38. Found: C, 53.82; H, 3.63; N, 9.45; S, 14.40.

*6'-amino-5-bromo-2'-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)-2-oxospiro[indoline-3,4'-[1,3]dithiine]-5'-carbonitrile* (5c,  $C_{20}H_{16}BrN_3O_3S_2$ ).

M.p. 306–307 °C (decomp.); IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3364, 3290 and 3127 (NH<sub>2</sub>, NH), 2193 (CN), 1726, 1654 (CO); <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 0.99 (6H, s, 2Me), 2.04-2.13 (2H, br s, CH<sub>2</sub>), 2.44-2.61 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 6.74 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-Ar), 7.18-7.72 (4H, m, H-Ar, NH<sub>2</sub>), 10.53 (1H, s, NH); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 27.6, 28.0, 32.4, 46.1, 50.4, 57.2, 110.6, 111.6, 113.8, 117.6, 126.4, 131.7, 137.2, 141.9, 159.3, 165.1, 178.1, 195.6. Anal. Calcd for  $C_{20}H_{16}BrN_3O_3S_2$ : C, 48.98; H, 3.29; N, 8.57; S, 13.08. Found: C, 49.01; H, 3.27; N, 8.62; S, 13.12.

*6'-amino-2'-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)-5-nitro-2-oxospiro [indoline-3,4'-[1,3]dithiine]-5'-carbonitrile* (5d,  $C_{20}H_{16}N_4O_5S_2$ ).

M.p. 301–304 °C (decomp.); IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3324, 3245 and 3195 (NH<sub>2</sub>, NH), 2189 (CN), 1741, 1650 (CO); <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 0.99 (3H, s, Me), 1.03(3H, s, Me), 2.04-2.21 (2H, m, 2CH<sub>2</sub>), 2.47-2.68 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 7.0 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-Ar), 7.44 (2H, br s, NH<sub>2</sub>), 7.94 (1H, s, H-Ar), 8.13 (1H, d, *J* = 8.25 Hz, H-Ar), 11.16 (1H, s, NH); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 27.4, 28.1, 32.5, 46.1, 50.2, 56.3, 109.9, 110.2, 117.5, 119.3, 126.2, 135.8, 142.8, 149.1, 159.5, 160.9, 165.6, 179.1, 195.8. Anal. Calcd for  $C_{20}H_{16}N_4O_5S_2$ : C, 52.62; H, 3.53; N, 12.28; S, 14.05. Found: C, 52.66; H, 3.52; N, 12.29; S, 13.98.

*6'-amino-2'-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)-5-nitro-1-(4-nitrobenzyl)-2-oxospiro[indoline-3,4'-[1,3]dithiine]-5'-carbonitrile* (5e,  $C_{27}H_{22}N_4O_5S_2$ ).

M.p. 248–250 °C; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3391, 3365 (NH<sub>2</sub>), 2195 (CN), 1714, 1670 (CO); <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 1.00 (3H, s, Me), 1.03(3H, s, Me), 2.05-2.52 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>), 5.06 (2H, s, CH<sub>2</sub>-Ar), 6.74 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-Ar), 6.97 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-Ar), 7.09-7.17 (2H, m, H-Ar), 7.37 (2H, br s, NH<sub>2</sub>), 7.75 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-Ar), 8.15 (2H, d, *J* = 8.15 Hz, H-Ar); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 27.4, 28.0, 32.4, 43.2, 50.3, 109.2, 110.9, 117.9, 123.3, 123.6, 123.9, 128.8, 134.0, 142.5, 144.8, 147.2, 159.3, 165.2, 177.2, 195.7. Anal. Calcd for  $C_{27}H_{22}N_4O_5S_2$ : C, 59.32; H, 4.06; N, 10.25; S, 11.73. Found: C, 59.36; H, 4.01; N, 10.23; S, 11.76.

*6'-amino-1-(2,4-dichlorobenzyl)-2'-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)-2-oxospiro[indoline-3,4'-[1,3]dithiine]-5'-carbonitrile* (5f,  $C_{27}H_{21}Cl_2N_3O_3S_2$ ).

M.p. 271–273 °C; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3375, 3262 (NH<sub>2</sub>), 2115 (CN), 1724, 1667 (CO); <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 1.00 (3H, s, Me), 1.02(3H, s, Me), 2.08-2.24 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.48-2.66 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 4.91 (2H, s, CH<sub>2</sub>-Ar), 6.73 (1H, d, *J* = 7.25 Hz, H-Ar), 7.01 (1H, d, *J* = 7.07 Hz, H-Ar), 7.11-7.19 (2H, m, H-Ar), 7.29 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-Ar), 7.38 (2H, br s, NH<sub>2</sub>), 7.51 (1H, d, *J* = 8.22 Hz, H-Ar), 7.69 (1H, s, H-Ar); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 27.5, 28.0, 32.4, 47.1, 50.3, 109.0, 110.9, 117.9, 123.5, 123.6, 127.7, 129.0, 129.3, 129.6, 132.8, 132.2, 133.3, 133.9, 142.5, 159.3, 165.2, 177.3,

195.8. Anal. Calcd for  $C_{27}H_{21}Cl_2N_3O_3S_2$ : C, 56.84; H, 3.71; N, 7.36; S, 11.24. Found: C, 56.81; H, 3.75; N, 7.33; S, 11.27.

#### ۲-۴- بررسی فعالیت میکروبی ترکیبات سنتز شده

سویه‌های باکتریایی آبزین ادوارد سیلا تاردا (IBRC-M 10718)، لاکتوکوکوس گارویه (IBRC-M 10900) که با استفاده از معیار کدورت سنج استاندارد نیم مک فارلند ( $1 \times 10^5$  CFU/mL) در ناحیه ۶۲۵ نانومتر دستگاه اسپکتروفوتومتر آماده گردیده، مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی خاصیت ضدباکتریایی بر طبق استاندارد CLSI و روش ارائه شده در مطالعات قبلی انجام شد [۲۶ و ۲۷].

برای بررسی حداقل غلظت بازدارندگی، غلظت اولیه ۸۱۹۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از ترکیبات سنتزی در حلال DMSO تهیه شد. حداقل غلظت بازدارندگی با روش براث میکرو دایلوژن در پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل در محیط مولر هینتون انجام شد. ابتدا به هر چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه گردید، سپس به اولین چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از مشتقات سنتزی اضافه و مخلوط گردید و پس از مخلوط کردن مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از آن را برداشته و به چاهک دوم اضافه و به همین ترتیب رقیق سازی ترکیبات سنتزی در چاهک‌ها انجام و غلظت‌های ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲، ۱۰۲۴، ۲۰۴۸ و ۴۰۹۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر آماده شد. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی با غلظت نیم مک فارلند به چاهک‌ها اضافه شد و در نهایت در خانه آخر هر ردیف ۵۰ میکرو لیتر محیط کشت، ۵۰ میکرو لیتر DMSO و ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی به عنوان کنترل منفی اضافه گردید. پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. شفاف بودن چاهک‌ها حاکی از عدم رشد باکتری و کدورت نشان دهنده وجود باکتری در آن چاهک است، اولین چاهکی که شفافیت از آن شروع شده به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی گزارش شد.

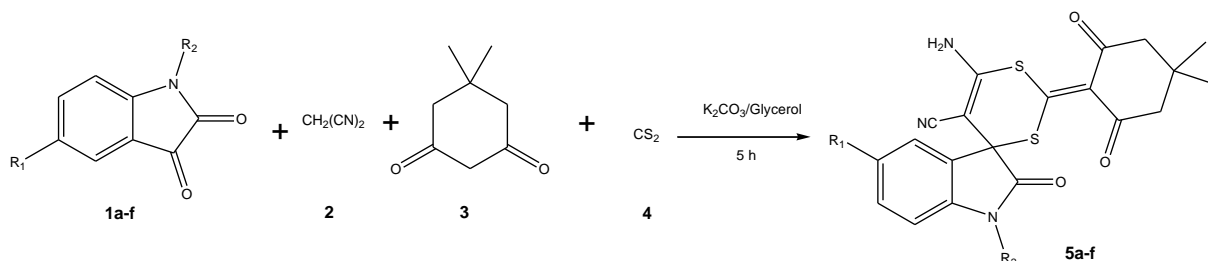
برای بررسی حداقل غلظت کشندگی چاهک‌هایی که شفاف بوده را جداگانه به سوآپ آغشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد غلظتی را که باکتری رشد نکرده به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد.

برای بررسی قطر هاله سویه‌های باکتری را توسط سوآپ روی محیط مولر هینتون آگار کشت و مقدار ۱۵ میکرولیتر از حداقل غلظت بازدارندگی رشد ترکیبات بر روی دیسک بلانک استریل تزریق شد و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله با کولیس اندازه گیری شد (برای هر سویه مقدار ۱۵ میکرولیتر DMSO بعنوان کنترل منفی نیز جداگانه روی دیسک بلانک تزریق شد). کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار و نتایج بصورت میانگین گزارش شد.

### ۳- بحث و نتیجه گیری:

#### ۳-۱- نتایج حاصله از سنتز مشتقات ۱ و ۳ دی تین

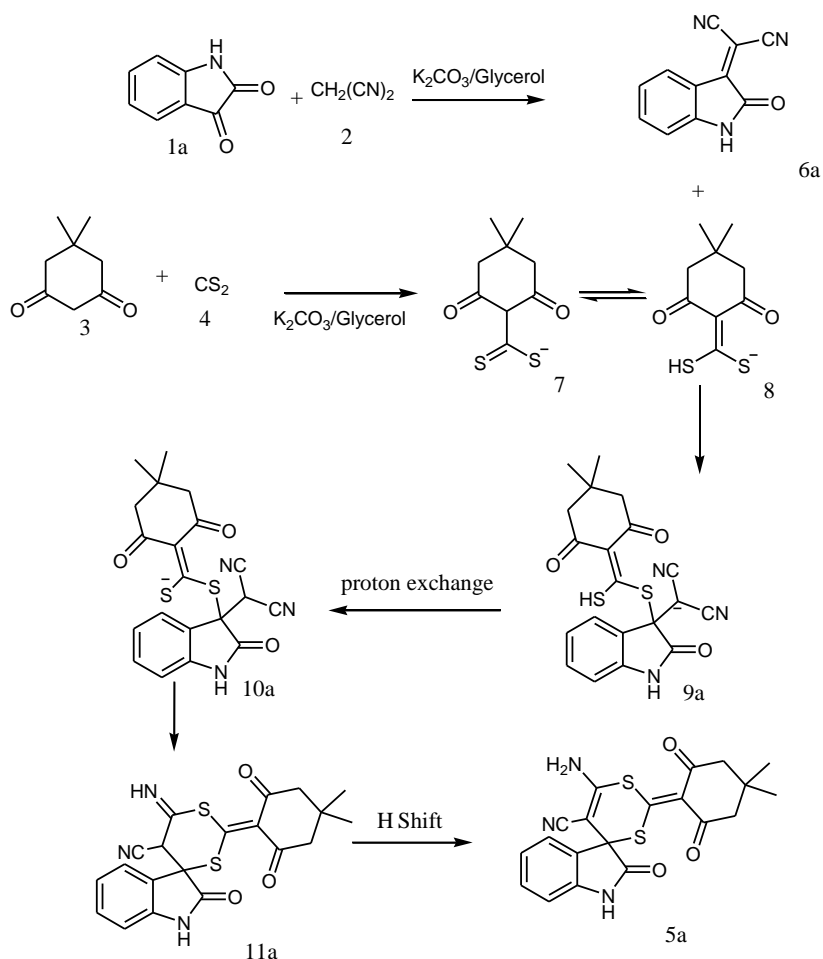
در این تحقیق مشتقات ۱ و ۳ دی تین با استفاده از گلیسرول:پتاسیم کربنات بعنوان حلال سبز بر طبق شماتیک ۴ سنتز گردید.



a= R<sub>1</sub>: H, R<sub>2</sub>:H; b= R<sub>1</sub>: Cl, R<sub>2</sub>:H; c= R<sub>1</sub>: Br, R<sub>2</sub>:H; d= R<sub>1</sub>: NO<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>:H; e= R<sub>1</sub>: H, R<sub>2</sub>:4-NO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>; e= R<sub>1</sub>: H, R<sub>2</sub>:2,4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>

شماتیک ۴- سنتز مشتقات ۱ و ۳ دی تین دارای با استفاده از حلال سبز گلیسرول:پتاسیم کربنات

مکانیسم پیشنهادی برای این واکنس در شماتیک ۵ آورده شده است.



شماتیک ۵- مکانیسم پیشنهادی برای سنتز مشتقات ۱ و ۳ دی تین دارای با استفاده از حلال سبز گلیسرول:پتاسیم کربنات

## ۳-۱-۱- بدست آوردن روش بهینه

برای بدست آوردن نسبت‌های بهینه مواد تشکیل دهنده حلال در سنتز مشتقات دی‌تین، ابتدا حلال با نسبت‌های مختلف گلیسرول و پتاسیم کربنات ساخته و سنتز ترکیبات مورد بررسی و آزمون قرار گرفت. نتایج در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. بهینه سازی نسبت مواد تشکیل دهنده حلال

بازده	نسبت کربنات	گلیسرول:پتاسیم مشتق شده	سنتز ردیف
۰	بدون حلال	۵a	۱
۰	گلیسرول	۵a	۲
۱۲	پتاسیم کربنات	۵a	۳
۷۵	۱:۴	۵a	۴
۷۳	۱:۵	۵a	۵
۶۱	۱:۶	۵a	۶
۴۷	۱:۱۰	۵a	۶

نتایج بدست آمده اثبات گردید که بهترین بازده مربوط به نسب ۱:۴ (گلیسرول:پتاسیم کربنات) در سنتز ترکیبات دارد. نسبت کمتر از ۱:۴ مخلوط به طور کامل حل و همگن نشده و ایجاد حلال مناسب و شفاف نمی‌کند [۲۸]. واکنش در شرایط بدون حلال، گلیسرول و پتاسیم کربنات به تنهایی نیز مورد بررسی قرار گرفت و واکنش در شرایط بدون حلال و شرایط استفاده از گلیسرول به تنهایی نتیجه‌ای در بر نداشت و در حضور پتاسیم کربنات به تنهایی نیز بازده بسیار پایین مشاهده شد. تعداد ۶ مشتق دی‌تین با استفاده از گلیسرول:پتاسیم کربنات بعنوان حلال سبز در شرایط بهینه سنتز گردید. اطلاعات ترکیبات سنتز شده در جدول ۲ آورده شده است.



جدول ۱. اطلاعات مشتقات سنتز شده

شماره مشتق	ساختار مشتق	زمان (ساعت)	بازده	ذوب	نقطه [۲۹]
Δa		۵	۷۵		۲۸۹-۲۹۱
Δb		۵	۸۴		۳۰۴-۳۰۶
Δc		۵	۷۳		۳۰۶-۳۰۷
Δd		۵	۷۶		۳۰۱-۳۰۴
Δe		۵	۷۳		۲۴۸-۲۵۰
Δf		۵	۶۸		۲۷۱-۲۷۳

ترکیبات ۱ و ۳ دی‌تین سنتز شده در این واکنش طی گزارشات قبلی با استفاده از تری‌اتیل‌آمین و نانوذرات منیزیم‌اکسید سنتز گردیده است، در جدول ۳ مقایسه شرایط سنتز ترکیب واکنش آورده شده [۲۴].

جدول ۳: مقایسه شرایط مختلف در سنتز مشتق Δc

سنتز	مشتق شده	شرایط واکنش	زمان سنتز (ساعت)	بازده
Δc	استفاده از کاتالیزور تری‌اتیل‌آمین	۵/۵	۷۳	
Δc	استفاده از کاتالیزور منیزیم‌اکسید	۴:۵	۸۱	
Δc	استفاده از حلال اتکتیک	۵	۷۶	

همانطور که مطرح شد این سنتز قبلاً در حضور کاتالیزورهای تری اتیل آمین و نانوذرات منیزیم اکسید گزارش شده است، انجام واکنش در شرایط مختلف تقریباً نتایج مشابهی از نظر زمان انجام واکنش و راندمان دارد. تری اتیل آمین کاتالیزور غیر سبز بوده و با توجه به دردسترس بودن گلیسرول و پتاسیم کربنات و کم هزینه بر بودن نسبت سنتز نانوذرات منیزیم اکسید، استفاده از سیستم اتکتیکی مذکور بعنوان حلال سبز و دوستدار محیط زیست در سنتز مشتقات ۱ و ۳ا دی تین مناسب تر و پیشنهاد می شود.

### ۳-۱- نتایج حاصله از بررسی فعالیت های ضدباکتریایی ترکیبات سنتز شده

فعالیت ضدباکتریایی ترکیبات سنتز شده ۱ و ۳ا دی تین بر روی باکتری های آبیان ادوارد سیلا تاردا (IBRC-M 10718)، لاکتوکوکوس گارویه (IBRC-M 10900) مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۴).

جدول ۴. اثرات ضدباکتریایی مشتقات سنتز شده بر علیه ادوارد سیلا تاردا و لاکتوکوکوس گارویه

سویه های باکتریایی	مشتقات سنتز شده						آنتی بیوتیک		
	a5	b5	c5	d5	e5	f5	پنیسیلین ن	جنتامیسین	
ادوارد سیلا تاردا	قطرهاله عدم رشد	-	۱۴	۱۲	۱۲	۱۱	۱۴	۱۵	۱۶
	حداقل غلظت	-	۲۵۶	۵۱۲	۱۰۲۴	۵۱۲	۶۴	۴	۴
	مهارکنندگی	-	۵۱۲	۱۰۲۴	۲۰۴۸	۱۰۲۴	۱۲۸	۱۶	۴
	حداقل غلظت کشندگی	-	۵۱۲	۱۰۲۴	۲۰۴۸	۱۰۲۴	۱۲۸	۱۶	۴
لاکتوکوکوس گارویه	قطرهاله عدم رشد	۱۰	۱۵	۱۳	۱۲	۱۲	۱۷	۱۶	۱۷
	حداقل غلظت	۱۰۲۴	۳۲	۲۵۶	۵۱۲	۵۱۲	۸	۲	۱۶
	مهارکنندگی	۱۰۲۴	۳۲	۲۵۶	۵۱۲	۵۱۲	۸	۲	۱۶
	حداقل غلظت کشندگی	۲۰۴۸	۶۴	۲۵۶	۱۰۲۴	۱۰۲۴	۱۶	۴	۳۲

اندازه قطر هاله بر اساس میلی متر، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر اساس میکروگرم بر میلی لیتر مطرح شده است

ترکیب سنتز شده ۵a بر روی ادوارد سیلا تاردا اثرگذار نبود و مشتقات ۵b-f به ترتیب با مقادیر ۵۱۲، ۱۰۲۴، ۲۰۴۸، ۱۰۲۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر بر مبنای حداقل غلظت کشندگی بر روی ادوارد سیلا تاردا اثر گذار بودند. تمامی مشتقات سنتز شده بر روی لاکتوکوکوس گارویه اثر گذار بوده و مقادیر حداقل غلظت کشندگی برای مشتقات ۵a-f به ترتیب ۲۰۴۸، ۶۴، ۲۵۶، ۱۰۲۴، ۱۰۲۴ و ۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. بهترین اثرگذاری بر روی دو سویه های باکتری های آبیان مربوط به مشتق ۵f می باشد. حضور دو اتم کلر در ساختار این مشتق باعث ایجاد بیشترین اثرگذاری بر روی هر دو سویه ادوارد سیلا تاردا و لاکتوکوکوس گارویه می باشد. مشتق ۵b با یک کلر رتبه بعدی را از نظر اثرگذاری بر روی این دو سویه باکتریایی نشان

داد. پس از کلر، برم و نیتروژن به ترتیب روی هر دو سویه /ادوارد سیلا تاردا/ و لاکتوکوکوس گارویه اثرگذار بودند. ترتیب اثرگذار مشتقات پس از  $\delta f$  به شرح  $\delta a < \delta d < \delta e < \delta c < \delta b$  می‌باشند. نتایج فعالیت ضدباکتریایی ترکیبات سنتزی با داروهای تجاری پنسیلین و جنتامایسین مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصله اثبات کرد که مشتق  $\delta f$  نسبت به داروی تجاری جنتامایسین اثرگذاری بهتری بر روی سویه باکتریایی لاکتوکوکوس گارویه دارد.

#### ۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، با استفاده از حلال اتکتیک سبز گلیسرول:پتاسیم کربنات، مشتقاتی از  $\delta$  و  $\delta$  تین‌ها طی واکنش چندجزئی سنتز شد. نتایج حاصل از سنتز ترکیبات با نتایج گزارش شده قبلی و استفاده از نانوذرات منیزیم اکسی مشابه می‌باشد و با توجه به سبز بودن حلال اتکتیک مورد استفاده و راحت بودن روش ارائه شده در این پژوهش، گلیسرول:پتاسیم کربنات بعنوان حلال دوستدار محیط زیست در سنتز این ترکیبات پیشنهاد می‌شود. خواص ضدباکتریایی ترکیبات سنتز شده بر علیه باکترهای آبزبان مورد بررسی قرار گرفت و رابطه مشخصی بین ساختار ترکیبات و خواص بیولوژیکی آن‌ها مشاهده شد علاوه بر این یکی از مشتقات سنتز شده خواص بیولوژیکی بالاتری نسبت به داروهای تجاری موجود از خود نشان داد. از مزیت‌های این تحقیق می‌توان به سنتز ترکیبات هتروسیکلی دارای خاصیت بیولوژیکی با استفاده از حلال اتکتیک که از روش‌های نوین و دوستدار محیط زیست در سنتز ترکیبات آلی است و استفاده از مواد ارزان و در دسترس اشاره کرد و می‌توان سیستم اتکتیکی گلیسرول:پتاسیم کربنات را بعنوان حلال مناسب در سنتز ترکیبات مشابه  $\delta$  و  $\delta$  تین‌ها معرفی کرد.

#### ۵- مراجع

- [1] M. Nikpassand, I. Z. Fekri, *J. Of Applied Chemistry*, 51 (1398) 325, in Persian.
- [2] S. Behrouz, *J. Of Applied Chemistry*, 50 (1398) 125, in Persian.
- [3] A. Kamel, M. Saleh, *Studies in Natural Products Chemistry*, 23 (2000) 455.
- [4] E. Block, S. Ahmad, M. K. Jain, R. W. Crecely, R. Apitz-Castro, M. R. Cruz, *Journal of the American Chemical Society*, 106 (1984) 8295.
- [5] R. Apitz-Castro, S. Cabrera, M. R. Cruz, H. Ledezma, M. K. Jain, *Thrombosis Research*, 32 (1983) 155.
- [6] J. K DeMartino, I. Hwang, S. Connelly, I. A. Wilson, D. L. Boger, *Journal of Medicinal Chemistry*, 51 (2008) 5441.
- [7] M. Yamashita, T. Tahara, S. Hayakawa, H. Matsumoto, S. I. Wada, K. Tomioka, A. Iida, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26 (2018) 1920.
- [8] K. Chaiseeda, W. Chavasiri, *Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements*, 19 (2017) 1034.
- [9] H. R. Shaterian, H. R. Ahmadian, M. Ghashang, R. Doostmohammadi, H. Yarahmadi, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 135 (2008) 1099.

- [10] H. Mehrabi, Z. Esfandiarpour, T. Davodian, *Journal of Sulfur Chemistry*, 39 (2018) 164.
- [11] P. Xu, G. W. Zheng, M. H. Zong, N. Li, W. Y. Lou, *Bioresour. Bioprocess*, 4 (2007) 1.
- [12] H. Beyzaei, M. K. Deljoo, R. Aryan, B. Ghasemi, M. M. Zahedi, M. Moghaddam-Manesh, *Chemistry Central Journal*, 12 (2018) 114.
- [13] R. Aryan, H. Beyzaei, M. Nojavan, M. Rezaei, *Res Chem Intermed*, 43 (2017) 4713.
- [14] R. Aryan, H. Beyzaei, M. Nojavan, F. Pirani, H. S. Delarami, M. Sanchooli, *Molecular Diversity*, 23 (2018) 93.
- [15] H. Beyzaei, Z. Motraghi, R. Aryan, M. M. Zahedi, A. Samzadeh-Kermani, *Acta Chim. Slov*, 64 (2017) 911.
- [16] M. D. Daroonkala, H. Kiyani, *J. Of Applied Chemistry*, 52 (1398) 307, in Persian.
- [17] M. Abaszadeh, A. Asadipour, *J. Of Applied Chemistry*, 47 (1397) 285, in Persian.
- [18] L. Santos, F. Ramos, *Trends Food Sci. Tech*, 52 (2016) 16.
- [19] W. H. Ewing, A. C. McWhorter, M. R. Escobar, A. H. Lubin, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 15 (1965) 33.
- [20] M. Shahrani, M. Raissy, E. Tajbakhsh, *Biological Journal of Microorganism*, 11 (2014) 71, in Persian.
- [21] C. Y. Wang, H. S. Shie, S. C. Chen, J. P. Huang, I. C. Hsieh, M. S. Wen, *International Journal of Clinical Practice*, 61 (2007) 68.
- [22] K. Rantsiou, R. Urso, L. Iacumin, C. Cantoni, P. Cattaneo, *Applied Environmental Microbiology*, 71 (2005) 1977.
- [23] C. Ravelo, B. Magarinos, S. LopezRomalde, A. E. Toranzo, J. L. Romalde, *Journal of Clinical Microbiology*, 41 (2003) 751.
- [24] M. G. Carvalho, M. C. Vianni, J. A. Elliot, M. Reeves, R. R. Facklam, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 418 (1997) 401.
- [25] L. A. Deveriese, J. Hommez, H. Laevens, P. B. Adme, F. Haesebrouck, *Veterinary Microbiology*, 70 (1999) 87.
- [26] M. Moghaddam-manesh, S. Hosseinzadegan, H. Beyzaei, *The Journal of Urmia University of Medical Sciences*, 30 (2019) 163, in Persian.
- [27] H. Beyzaei, B. Ghasemi, M. R. Moghadam Manesh, *yafte*, 18 (2016) 68, in Persian.
- [28] J. Naser, F. Mjalli, B. Jibril, S. Al-Hatmi, Z. Gano, *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 4 (2013) 114.
- [29] M. Moghaddam-manesh, D. Ghazanfari, E. Sheikhhosseini, M. Akhgar, *ChemistrySelect*, 4 (2019) 9247.