

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

4.819



دانشگاه علوم پزشکی تهران  
دانشکده داروسازی

پایان نامه :

جهت دریافت دکترای عمومی داروسازی

موضوع :

سنتز و بررسی اثر ضد میکروبی

مشتقات نیتروایمیدازولیل متیلن بنزوفوران - (۲H) ۳- آن

اساتید راهنما :

جناب آقای دکتر عباس شفیعی

جناب آقای دکتر محسن امینی

سرکار خانم دکتر لطیفه نویدپور

اساتید مشاور :

سرکار خانم دکتر نسرین صمدی

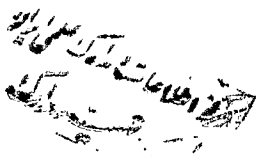
جناب آقای دکتر محمدعلی فرامرزی

۱۳۸۶ / ۱۶ / ۳۰

نگارش :

نوگس حاج اسفندیاری

۹۰۸۱۹



شماره پایان نامه : ۴۶۶۸

سال تحصیلی : ۱۳۸۵-۸۶

با تشکر و قدردانی از:

اساتید ممتزم جناب آقای دکتر فلج، جناب آقای دکتر امانلو و جناب آقای

دکتر دولت آبادی که قضاوت این رساله را پذیرفتند.

پایان نامه ام را تقدیم می‌کنم به استاد ارجمندم جناب آقای دکتر شفیع

که شاگردی ایشان برایم افتخار بزرگی است

و تقدیم به استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر امینی که همیشه از

راهنمایی‌های ارزشمند ایشان بهره‌بردم

با سپاس فراوان از اساتید گرامیم سرکار خانم دکتر صمدی و جناب آقای

دکتر فرامرزی

پایان نامه ام را تقدیم می‌کنم به سرکار فایم دکتر نویدپور، استاد عزیزم که  
نگران نگرانی‌هایم بود و با دانش فراوان و مهربانی بی‌مدشان همواره مرا  
ممایت کردند.

و تقدیم به عزیزترین هایم

پدر و مادر مهربان و دلسوزم

قواهران بی نظیرم و همسر گرامی قواهرم

که ممایت هایشان بی اندازه است

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱.....	چکیده.....
۲.....	فصل اول: کلیات.....
۲.....	۱-۱- مقدمه.....
۴.....	۲-۱- طراحی آنتی بیوتیک های جدید بر اساس مولکول هدف.....
۵.....	۳-۱- مسیر shikimic acid.....
۷.....	۱-۳-۱- مهارکننده های مسیر shikimic acid.....
۷.....	۱-۱-۳-۱- Glyphosate.....
۸.....	۱-۳-۱-۲- (۶S)-۶-فلوئورو شیکیمات.....
۱۰.....	۴-۱- Chorismate synthase.....
۱۰.....	۱-۴-۱- تاریخچه.....
۱۰.....	۲-۴-۱- معرفی بیوشیمیایی آنزیم.....
۱۱.....	۳-۴-۱- مکانیسم آنزیم.....
۱۶.....	۴-۴-۱- ساختار آنزیم chorismate synthase.....

- ۱-۴-۵ مهار کننده‌های آنزیم chorismate synthase ..... ۱۷
- ۱-۵-۵ سایر اثرات مشتقات بنزوفورانونی ..... ۲۰
- ۱-۶-۶ نیتروایمیدازول ها ..... ۲۳
- ۱-۶-۱-۱ معرفی ..... ۲۳
- ۱-۶-۲-۲ مکانیسم اثر ضد میکروبی نیتروایمیدازول ها ..... ۲۳
- ۱-۶-۳-۳ مکانیسم مقاومت به مترونیدازول ..... ۲۶
- ۱-۶-۴-۴ رابطه ساختمان- فعالیت نیتروایمیدازول ها ..... ۲۷
- فصل دوم: سنتز ترکیبات ..... ۲۹
- ۲-۱-۱-۱ اساس طراحی ترکیبات ..... ۲۹
- ۲-۲-۲-۲ بخش تئوری سنتز ..... ۳۰
- ۲-۲-۱-۱ بررسی روشهای مختلف سنتز حلقه بنزوفوران-۳ (۲H)- آن ..... ۳۰
- ۲-۲-۲-۲ یافتن مناسب ترین روش سنتز حلقه بنزوفوران-۳ (۲H)- آن ..... ۳۴
- ۲-۲-۳-۳ بررسی روش های تراکم حلقه بنزوفوران-۳ (۲H)- آن با آریل کربالدئید ..... ۳۸
- ۲-۳-۲-۳ بخش تجربی ..... ۴۰
- ۲-۳-۱-۱ تهیه بنزوفوران-۳ (۲H)- آن ..... ۴۰
- ۲-۳-۱-۱-۱-۱ روش کلی A : استریفیکاسیون مشتقات ۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید ..... ۴۱
- ۲-۳-۱-۱-۳-۲ اتیل سالیسیلات (2a) ..... ۴۲
- ۲-۳-۱-۱-۳-۲ اتیل ۵-کلروسالیسیلات (2b) ..... ۴۲
- ۲-۳-۱-۱-۳-۲ اتیل ۵-متوکسی سالیسیلات (2e) ..... ۴۲
- ۲-۳-۱-۲-۲ روش کلی B و C : تهیه مشتقات ۲-(کربوکسی متوکسی) بنزوئیک اسید ..... ۴۴

۴۵.....	۲-(کربوکسی متوکسی) بنزوئیک اسید (4a)	-۱-۲-۱-۳-۲
۴۵.....	۲-(کربوکسی متوکسی)-۵-کلرو بنزوئیک اسید (4b)	-۲-۲-۱-۳-۲
۴۵.....	۲-(کربوکسی متوکسی)-۵-متوکسی بنزوئیک اسید (4e)	-۳-۲-۱-۳-۲
۴۷.....	۳- استوکسی بنزوفوران : تهیه مشتقات	-۳-۱-۳-۲
۴۷.....	۳- استوکسی بنزو فوران (5a)	-۱-۳-۱-۳-۲
۴۷.....	۳- استوکسی -۵- کلرو بنزو فوران (5b)	-۲-۳-۱-۳-۲
۴۸.....	۳- استوکسی -۵- متوکسی بنزو فوران (5e)	-۳-۳-۱-۳-۲
۴۹.....	۳- روش کلی E : تهیه مشتقات بنزوفوران-۳ (۲H)- أن	-۴-۱-۳-۲
۴۹.....	بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6a)	-۱-۴-۱-۳-۲
۵۰.....	۵-کلرو بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6b)	-۲-۴-۱-۳-۲
۵۰.....	۵- برومو بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6c)	-۳-۴-۱-۳-۲
۵۰.....	۵- متیل بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6d)	-۴-۴-۱-۳-۲
۵۰.....	۵- متوکسی بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6e)	-۵-۴-۱-۳-۲
۵۱.....	۵- یدو بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6f)	-۶-۴-۱-۳-۲
۵۱.....	۶- کلرو بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6g)	-۷-۴-۱-۳-۲
۵۱.....	۶- متیل بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6h)	-۸-۴-۱-۳-۲
۵۱.....	۶- متوکسی بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6i)	-۹-۴-۱-۳-۲
۵۲.....	۷- کلرو بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6j)	-۱۰-۴-۱-۳-۲
۵۲.....	۷- متیل بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6k)	-۱۱-۴-۱-۳-۲
۵۲.....	۷- متوکسی بنزوفوران-۳ (۲H)- أن (6l)	-۱۲-۴-۱-۳-۲

۵۴.....	۲-۳-۲- تهیه ۱- متیل ۴- نیترو ایمیدازول-۵- کربالدئید
۵۴.....	۲-۳-۲- سنتز ۵- هیدروکسی متیل-۲- مرکاپتو-۱- متیل ایمیدازول
۵۵.....	۲-۲-۳-۲- سنتز ۵- هیدروکسی متیل-۱- متیل ایمیدازول
۵۶.....	۲-۲-۳-۲- سنتز ۵- هیدروکسی متیل-۱- متیل-۴- نیترو ایمیدازول
۵۷.....	۲-۲-۳-۲- سنتز ۱- متیل ۴- نیترو ایمیدازول-۵- کربالدئید
۵۸.....	۲-۳-۳- تهیه ۱- متیل-۵- نیترو ایمیدازول ۲- کربالدئید
۵۹.....	۲-۳-۴- تهیه محصولات نهایی (Z) -۲- (۱- متیل-۵- نیترو-۱H- ایمیدازول-۲- ایل) متیلن) بنزوفوران- ۳(۲H)- آن
۶۰.....	۲-۳-۴-۱- (Z) -۲- (۱- متیل-۵- نیترو-۱H- ایمیدازول-۲- ایل) متیلن) بنزوفوران-۳(۲H)- آن (7a)
۶۰.....	۲-۴-۳-۲- (Z) -۵- کلرو-۲- (۱- متیل-۵- نیترو-۱H- ایمیدازول-۲- ایل) متیلن) بنزوفوران-۳(۲H)- آن (7b)
۶۱.....	۲-۴-۳-۲- (Z) -۵- برومو-۲- (۱- متیل-۵- نیترو-۱H- ایمیدازول-۲- ایل) متیلن) بنزوفوران-۳(۲H)- آن (7c)
۶۱.....	۲-۴-۴-۲- (Z) -۵- متیل-۲- (۱- متیل-۵- نیترو-۱H- ایمیدازول-۲- ایل) متیلن) بنزوفوران-۳(۲H)- آن (7d)
۶۲.....	۲-۴-۳-۲- (Z) -۵- متوکسی-۲- (۱- متیل-۵- نیترو-۱H- ایمیدازول-۲- ایل) متیلن) بنزوفوران-۳(۲H)- آن (7e)
۶۲.....	۲-۴-۳-۲- (Z) -۵- یدو-۲- (۱- متیل-۵- نیترو-۱H- ایمیدازول-۲- ایل) متیلن) بنزوفوران-۳(۲H)- آن (7f)



۲-۳-۴-۷- (Z) -۶- کلرو-۲-((۱-متیل-۵- نیترو-۱H-ایمیدازول-۲-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- أن  
 .....(7g) ۶۳

۲-۳-۴-۸- (Z) -۶- متیل-۲-((۱-متیل-۵- نیترو-۱H-ایمیدازول-۲-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- أن  
 .....(7h) ۶۳

۲-۳-۴-۹- (Z) -۶- متوکسی-۲-((۱-متیل-۵- نیترو-۱H-ایمیدازول-۲-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)-  
 أن .....(7i) ۶۴

۲-۳-۴-۱۰- (Z) -۷- کلرو-۲-((۱-متیل-۵- نیترو-۱H-ایمیدازول-۲-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)-  
 أن .....(7j) ۶۴

۲-۳-۴-۱۱- (Z) -۷- متیل-۲-((۱-متیل-۵- نیترو-۱H-ایمیدازول-۲-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)-  
 أن .....(7k) ۶۵

۲-۳-۴-۱۲- (Z) -۷- متوکسی-۲-((۱-متیل-۵- نیترو-۱H-ایمیدازول-۲-ایل)متیلین) بنزوفوران-  
 (۲H)- أن .....(7l) ۶۵

۲-۳-۵- تهیه محصولات نهایی (Z) -۲-((۱-متیل-۴- نیترو-۱H-ایمیدازول-۵-ایل)متیلین) بنزوفوران-  
 (۲H)- أن ..... ۶۷

۲-۳-۵-۱- (Z) -۲-((۱-متیل-۴- نیترو-۱H-ایمیدازول-۵-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- أن .....(8a) ۶۸

۲-۳-۵-۲- (Z) -۵- کلرو-۲-((۱-متیل-۴- نیترو-۱H-ایمیدازول-۵-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- أن  
 .....(8b) ۶۸

۲-۳-۵-۳- (Z) -۵- برومو-۲-((۱-متیل-۴- نیترو-۱H-ایمیدازول-۵-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- أن  
 .....(8c) ۶۹

۲-۳-۵-۴- (Z) -۵- متیل-۲-((۱-متیل-۴- نیترو-۱H-ایمیدازول-۵-ایل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- أن  
 .....(8d) ۶۹

٢-٣-٥-٥ (Z) -٥- متوكسى-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)-

أُن (8e).....٧٠

٢-٣-٥-٦ (Z) -٥- يـدو-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)- أُن

.....(8f)٧٠

٢-٣-٥-٧ (Z) -٦- كلرو-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)- أُن

.....(8g)٧١

٢-٣-٥-٨ (Z) -٦- متيل-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)- أُن

.....(8h)٧١

٢-٣-٥-٩ (Z) -٦- متوكسى-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)-

أُن (8i).....٧٢

٢-٣-٥-١٠ (Z) -٧- كلرو-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)-

أُن (8j).....٧٢

٢-٣-٥-١١ (Z) -٧- متيل-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)-

أُن (8k).....٧٣

٢-٣-٥-١٢ (Z) -٧- متوكسى-٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن) بنزوفوران-٣-(٢H)-

أُن (8l).....٧٣

٢-٣-٦-٦ تهيه (Z) -٢-((١-متيل-٥- نيترو-١H-ايميدازول-٢-ايل)متيلن)-٥-نيترو بنزوفوران-٣-(٢H)-

أُن (7m).....٧٥

٢-٣-٧-٧ تهيه (Z) -٢-((١-متيل-٤- نيترو-١H-ايميدازول-٥-ايل)متيلن)-٥-نيترو بنزوفوران-٣-(٢H)-

أُن (8m).....٧٦

فصل سوم: آزمون میکروبی.....	۷۷
۱-۳- ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات سنتز شده.....	۷۷
۱-۱-۳- وسایل و مواد مورد نیاز.....	۷۸
۲-۱-۳- میکروارگانیزم های مورد آزمایش و فعال کردن آنها.....	۷۹
۳-۱-۳- تهیه اینوکولوم.....	۸۰
۴-۱-۳- تهیه رقت های اجسام.....	۸۱
۵-۱-۳- گرمخانه گذاری و خواندن نتایج.....	۸۲
فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری.....	۸۸
۱-۴- استرئوشیمی (شیمی فضایی) ترکیبات نهایی.....	۸۸
۲-۴- بررسی نتایج ضد میکروبی ترکیبات.....	۹۱
۱-۲-۴- بررسی نتایج اثر ترکیبات بر باکتری های گرم مثبت مورد آزمون.....	۹۲
۲-۲-۴- بررسی نتایج اثر ترکیبات بر باکتری های گرم منفی مورد آزمون.....	۹۴
منابع.....	۹۶
پیوست.....	۱۰۲

## چکیده:

با توجه به سرعت بروز مقاومت میکروبی به آنتی بیوتیک هایی که به طور رایج در درمان عفونت های جامعه و بیمارستانی استفاده می شوند به ویژه در سه دسته بزرگ باکتری های گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس، انتروکوکوس و استرپتوکوکوس، امروزه تهیه ترکیبات ضد میکروب جدید به ویژه با مکانیسم های متفاوت از مکانیسم اثر آنتی بیوتیک های رایج مورد اهمیت است. آنزیم chorismate synthase که آنزیم کلیدی در مسیر سنتز ترکیبات آروماتیک باکتری ها می باشد، یکی از مولکول های هدف جهت سنتز ترکیبات ضد میکروبی جدید می باشد. در این پایان نامه با مطالعه ساختار مهارکننده های این آنزیم و نیز اثرات ضد میکروبی شناخته شده حلقه نیتروایمیدازول، ترکیبات (Z)-۲-((۱-متیل-۵-نیترو-۱H-ایمیدازول-۲-یل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- آن (7a-m) و همچنین (Z)-۲-((۱-متیل-۴-نیترو-۱H-ایمیدازول-۵-یل)متیلین) بنزوفوران-۳-(۲H)- آن (8a-m) سنتز گردیدند.

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات سنتز شده در مقابل چهار باکتری گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس ارئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین و نیز سه باکتری گرم منفی شامل سودوموناس آئروژنوزا، اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه انجام شد.

در بررسی فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات مورد مطالعه در این پایان نامه ابتدا یک غربالگری اولیه با روش agar dilution صورت گرفت. سپس حداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری ها (MIC) اجسام فعال ضد میکروبی، با همین روش تعیین گردید.

ترکیبات 8a-m در بالاترین غلظت به کار برده شده (۱۰۰ µg/ml) هیچ گونه اثر مهاری بر رشد باکتری های مورد آزمون نداشتند.

اجسام 7a-m دارای اثر مهارى بر رشد باكترى هاى گروه استافيلوكوكوس ، باسيلوس سوبتيليس و كلبسيلا پنومونيه مى باشند. مقايسه حداقل غلظت مهار كننده رشد اين تركيبات نشان داد كه حضور استخلاف هاى متفاوت در موقعيت هاى مختلف بنزوفوران-3 (2H)- آن همراه با حفظ اثر تركيب مى باشد. در اين بين اجسام 7c و 7f كه داراى استخلاف هاى حجيم برم ويد در موقعيت 5 مى باشند داراى اثر كمتر و يا بدون اثر در غلظت هاى به كار برده شده مى باشند.

حضور استخلاف الكترون كشنده نيز در حلقه بنزوفورانون (تركيب 7m) ، اثر تركيب را كاهش مى دهد. اين الگوها در مورد باكترى هاى گروه استافيلوكوكوس ، باسيلوس سوبتيليس و نيز كلبسيلا پنومونيه به طور كلّى تكرر مى شوند.

قوى ترين تركيب ضد ميكروبي در ميان تركيبات سنتز شده ، تركيب 7l مى باشد كه در مقابل باكترى هاى گروه استافيلوكوكوس، باسيلوس سوبتيليس و نيز كلبسيلا پنومونيه حداقل غلظت مهارى معادل  $0.78 \mu\text{g/ml}$  نشان داد.

# فصل اول

## کلیات

## فصل اول: کلیات

### ۱-۱- مقدمه

امروزه مشکل بروز مقاومت میکروبی به آنتی بیوتیک هایی که به طور رایج در درمان عفونت های جامعه و بیمارستانی استفاده می شوند، بسیار نگران کننده است. به ویژه در سالهای اخیر رده های مقاوم در سه دسته بزرگ گرم مثبت یعنی استافیلوکوکوس، انتروکوکوس و استرپتوکوکوس افزایش یافته است. به عنوان مثال، در حال حاضر ۴۰ درصد عفونت های ناشی از استافیلوکوکوس ارئوس در بیمارستان ها به متی سیلین مقاوم است (۱)، همچنین عفونت های ناشی از انتروکوکوس های مقاوم به ونکوماسین افزایش یافته که بخشی از این رده ها به تمامی آنتی بیوتیک های شناخته شده مقاوم می باشند (۲،۳). استرپتوکوکوس پنومونیه نیز که شایع ترین عامل پنومونی ناشی از اجتماع است روز به روز به  $\beta$ -لاکتام ها و ماکرولیدها مقاوم تر می شود.

تا چندی پیش، بیشترین تمرکز سیاست صنعت داروسازی جهت مقابله با این مقاومت ها ایجاد تغییرات و اصلاحات بر روی آنتی بیوتیک های موجود بوده است. هر چند این روش تا امروز جهت غلبه بر باکتریها موفق بوده است لیکن با توجه به سرعت بالای بروز مقاومتها، اکنون راهی جز تهیه آنتی بیوتیک های با مکانیسم اثر جدید به نظر نمی رسد (۴).

مکانیسم اثربخشی آنتی بیوتیک ها باید چنان باشد که علاوه بر کارآمدی بالا، دارای سمیت انتخابی برای باکتری بوده و به میزبان آسیب نرسانند. فاکتورهایی که منجر به انتخابی عمل کردن آنتی بیوتیک می گردند عبارتند از:

- هدف اثر آنتی بیوتیک فقط در باکتری موجود باشد.