

"بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ"

"دانشگاه تهران"

"دانشکده داروسازی"

رساله:

"برای دریافت درجه دکتری از دانشگاه تهران"

موضوع:

"سنتز مشتقات جدیدی از نیتروایمیدازول"

براهنمائی:

"استاد ارجمند، جناب آقای دکتر عباس شفیعی"

نگارش:

"سیماسدراي"

شماره رساله: ۲۵۰۲

سال تحصیلی: ۱۳۶۶-۶۷

۱۰۰۹۹

با تشکر از:

خانم بخشعلی زاده

خانم شادان

خانم عزت‌تسی

خانم عسگری

خانم لهراسبی

آقای بازرگان

آقای بخشعلی زاده

آقای بـدري

آقای روستایی

آقای میراسماعیلی

" فهرست مطالب "

صفحه	عنوان
۱	مقدمه بخش اول :
۳	خواص فارماکولوژیک و بیوشیمیایی نیتروایمیدازولها
۵	چرا نیتروایمیدازولها را سنتز میکنیم؟
۶	مکانیسم اثر نیتروایمیدازولها
۶	فعال شدن در احیاء ۵- نیتروایمیدازولها
۱۲	فروردوکسین و احیاء مترونییدازول
۱۵	احیاء نیتروایمیدازولهای مختلف
۱۷	احیاء نیتروایمیدازول و تخریب DNA
۱۸	نیتروایمیدازولها DNA را تخریب میکنند
۱۹	واسطه احیاء شده مسئول تخریب DNA چیست؟
۲۰	میکروارگانیسمهایی که نیتروایمیدازول بر آنها موثرند
۲۱	آمییبیازو علائم و شیمی درمانی آن
۲۵	تریکومونیا زیس، علائم و شیمی درمانی آن
۲۵	فارماکولوژی مترونییدازول و تینیدازول
	بخش دوم :
۳۰	بررسی روشهای سنتز مشتقات ۵- نیتروایمیدازول
۳۲	بررسی روشهای سنتز مشتقات ۴- نیتروایمیدازول
	بخش سوم: تهیه
۳۴	۵- نیتروایمیدازول
۳۵	۱- متیل ۵- نیتروایمیدازول
۳۷	۲- هیدروکسی متیل-۱- متیل-۵- نیتروایمیدازول

صفحه	عنوان
۳۹	۱- متیل -۲- فرمیل -۵- نیتروایمیدازول
۴۰	۱- متیل -۵- نیتروایمیدازول -۲- کریوکسالدهیدکاربازون
۴۱	۵- آمینو-۲-(۱- متیل -۵- نیتروایمیدازول-۲- یل) -
	۴،۳،۱ تیا دیا زول
۴۱	۵- کلرو-۲- (۱-متیل -۵- نیتروایمیدازول-۲- یل) -
	۴،۳،۱ تیا دیا زول
۴۲	۵- برومو-۲-(۱- متیل-۵- نیتروایمیدازول -۲- یل) -
	۴،۳،۱ تیا دیا زول
۴۴	۱- متیل-۲-(۵- مرکا پتو-۴،۳،۱ تیا دیا زول-۲- یل) -
	۵- نیتروایمیدازول
۴۴	۱- متیل-۲-(۵- متیل مرکا پتو-۴،۳،۱ تیا دیا زول-۲- یل) -
	۵- نیتروایمیدازول .
۴۵	۱- متیل -۲- (۵- متیل سولفونیل-۴،۳،۱ تیا دیا زول -۲- یل) -
	۵- نیتروایمیدازول
۴۷	۵- (۱- متیل -۵- نیترو- ۲- ایمیدازولیل)-۲- متیل
	پیرازینیل -۴،۳،۱ تیا دیا زول
۴۹	۱- متیل -۴- نیتروایمیدازول
۴۹	۲- متیل -۴- نیتروایمیدازول
۵۰	۱-۲- دی متیل -۴- نیتروایمیدازول
۵۱	۱- متیل-۴- نیتروایمیدازول -۲- یل -استوفرما ت متیل استر
۵۲	۲- دی کلرومتیل - ۱- متیل -۴- نیتروایمیدازول

صفحه	عنوان
۵۲	۲- فرمیل -۱- متیل -۴- نیتروایمیدازول بخش چهارم:
۵۳	کارهای میکروبی انجام شده بر روی : ۱-متیل -۲- (۵ متیل سولفونیل -۴،۳،۱- تیا دیا زول -۲-یل) - ۵- نیتروایمیدازول
۶۰	روش بررسی اثر ضدقارچی بر روی جسم فوق
۶۳	خلاصه و نتیجه



مقدمه :

=====

نیتروایمیدازولها عواملدرمانی موثری برعلیه یکسری ازباکتریهای
بیهوازی وپروتوزوآها هستند . به همین دلیل استفاده درمانی آنها در
انسان و حیوانات مولدغذا پیوسته موردبررسی است .

تاریخچه مصرف نیتروایمیدازولها به صورت بالینی با کشف ۲ نیترو -
متیل ایمیدازول (آزلاما یسین) در سال ۱۹۵۵^(۱) و مشاهده اثر ضدتریکوموناس
آن آغازگشت . این امر محققین را واداشت که مشتقات مختلف نیتروایمیدازول
را ساخته و با انجام تست های بیولوژیکی روی آنها خواص درمانی آنها را
بررسی کنند . درپایین تحقیقات مترونیدازول یا ۱- (بتا هیدروکسی تیل)
۲- متیل ۵ نیتروایمیدازول ساخته شد و مشخص گردید که این جسم در بدن
و در لوله آژماش بخوبی بر روی تریکوموناس و ژینا لیس و انتا موبیا هیستو -
لیکا موثر است . تا قبل از کشف این دارو ، ترکیباتی که بصورت موضعی در معالجه
این بیماری مصرف میشدند ، فقط علائم ظاهری را تسکین میدادند و بیماری
بصورت مزمن باقی می ماند و در ضمن چون بیماری حاصل از تریکوموناس در مردان
را نمیتوان بطور موضعی درمان کرد ، سبب انتقال مجدد آلودگی به زنان
مدا و شده میگشت که با بکار بردن مترونیدازول در زن و شوهر همزمان درصده
زیادی از بیماران درمان شدند . شیوع این بیماری قبل از روش شیمی درمانی
سیستمیک تا ۷۰ درصد نیز گزارش شده است . این موفقیت در مصرف ترکیبات
نیتروایمیدازول مشوق سنتز ترکیبات مشابه شد و در نتیجه چند ترکیب دیگر از
مشتقات نیتروایمیدازول که از نظر ساختار و فعالیت مشابه مترونیدازول
هستند ، همچون تینیدازول ، نیمورا زول ، اورنیدازول ، کارنیدازول ، ساترا -
نیدازول و بنزنیدازول و . . . ساخته و عرضه شد .

در حال حاضر نیتروایمیدازولها بطور گسترده ای در درمان عفونتهای

باکتریایی بیهوازی اختیاری و اجباری و پروتوزوآهای غیرهوازی و خصوصا " درده سال اخیر به عنوان حساس کننده به اشعه در درمان تومورهای هیپوکسیک بکار میروند .

در ادامه این تحقیقات آزمایشگاه شیمی آلی با همکاری یونسکو سنتز (۲) مشتقات دیگری از نیتروایمیدازول را به عهده دارد. به امید اینکه داروهای موثر با عوارض جانبی کمتر بدست آید .

موضوع این رساله نیز بررسی روشهای ساخت مشتقات جدید نیتروایمیدازول میباشد. ترکیب ۱- متیل -۲- (۵- متیل سولفونیل - ۴،۳،۱- تیا - دیا زول -۲- یل) ۵ نیتروایمیدازول روش جدید سنتز برای ۱- متیل -۲- (۱، ۴،۳، تیا دیا زول -۲- یل) ۵- نیتروایمیدازول و چند مشتق دیگر از ۵ نیترو- ایمیدازول و ۴ نیتروایمیدازول ها .

بررسی اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی نیز صورت گرفت .

بخش اول: خواص فارماکولوژیک و بیوشیمیایی نیتروایمیدازول ها :

بیش از یک ربع قرن است که نیتروایمیدازول ها با پیشقراولی مترو-
نیدازول برای درمان عفونتها مصرف میشود. نیتروایمیدازول ها بطور
گسترده ای در درمان عفونتها با کتریبا بیبهازی اختیاری و اجباری و
پروتوزوآهای بیهوازی و درده سال اخیر به عنوان حساس کننده به اشعه در
درمان تومورهای هیپوکسیک بکار میروند.^(۳)

مصارف بالینی اصلی این ترکیبات در جدول یک مشاهده میشود.

مصارف بالینی نیتروایمیدازول ها در انسان

تیپ دارو	ارگانیم مسبب	بیماری
مشتقات ۵- نیتروایمیدازول	تریگوموناس واژینالیس	تریگومونیا زیس
	گاردنرللا (هموفیلوس) واژینالیس	واژینیت غیراختصاصی
	آنتاموبیا هیستولیکا	آمییبیا زیس روده ای
	ژیاردیا اینتستینالیس (لامبلیا)	" "
	بالانتیدیوم	" "
	باکتریوهای، کلستریدیوم	عفونتهای بعد از جراحی لیشمانیاز
	لیشمانیا مکزیکانا	
	خیلی عوامل جمله باکتریوهای وفوزی فرمها	استوما تیت و نسان
	ناشناخته	بیماری کرون
	تریپانوزوما کروز	بیماری شاگاس
مشتقات ۴- نیتروایمیدازول	—	تومور سلولهای هیپوکسیک

X

تا قبل از سال ۱۹۶۰ تریکومونیا زیس و اژینال شیوع گسترده‌ای در حدود ۵ تا ۷۰٪ داشت و تنها راه درمان آن دوش سرکه یا تا میونهای اشباع زمتیل و یوله بود. این روش‌ها در مان موضعی عمدتا "بی‌شربوده" زیرا انگل بسه غذا سکین و بارتولین پناه برده و مخزنی برای ایجاد عفونت مجدد و اژن ایجاد شده و عود بیماری رخ میداد. در مردان نیز تقریبا "درمانی برای ایمن بیماری وجود نداشت .

مترونیدا زول پیشرفت خوبی در شیمی‌درمانی محسوب میشود، زیرا بطور سیستمیک عمل کرده و از لحاظ بالینی بسیار موثر است . از سال ۱۹۶۰ به بعد سایر نیتروایمیدازول‌ها نیز در درمان بیماریهای عفونی بکار برده شدند. خصوصا "تینیدازول و اورنیدازول مصرف گسترده بالینی دارند و سایرین نیز همچون سکینیدازول، نیمورا زول، کارنیدازول و ۲ نیتروایمیدازول بنز-نیدازول. سکینیدازول بلندترین نیمه عمر سرمی را (۱۷ ساعت) در مقایسه با ۱۲-۱۳ ساعت برای تینیدازول و ساترانیدازول و ۸ ساعت برای مترو-نیدازول دارد. ساترانیدازول یک ۵ نیتروایمیدازول جدید است که یک متیل سولفونیل ایمیدازولیدنیون در محل کربن دوم حلقه ایمیدازول دارد و دارویی موثرتر از مترونیدا زول گزارش شده است .

در سال ۱۹۶۸ نیز جسم ۲- آمینو-۵- (۱ متیل-۵ نیترو-۲- ایمیدازولیل) ۴،۳،۱-تیا دیا زول به عنوان یک جسم جدید ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفت. و بسیار موثر شناخته شد، البته سمیت آن مانع از مصرف آن گردید. (۴)

۲- متیل سولفونیل متیل ایمیدازول نیز جدیداً "به عنوان عامل ضد میکروبی (۵) موثر شناخته شده است .

متاسفانه با وجود اثرات با رز ضدباکتریال نیترو هتروسیکل‌ها، به علت خطرات سرطانزایی و موتاژنی و سمیت به عنوان داروی ضد میکروبی انتخاب

(۶)
 اول کمتر مصرف میگردند. از لحاظ رابطه ساختارنی - فعالیت SAR، گروه نیترونبا یداز لحاظ فضایی احاطه شود. در ناحیه دونیتروایمیدازول نیز با قرار گرفتن یک گروه، همسبب افزایش لیپوفیلیسیته گشته و هممتابولیسیم ترکیب کندتر میگردود و در زمان بیشتری برای تاثیرخواهد داشت. استخلاف ناحیه دو، خود میتوانند تعیین کننده نوع اثر ترکیب گردد. ترکیب با ایمیدازولی ضد قارچ نیز معمولاً "گروه نیترون داشته و در اطراف از تا ایمیدازول - تراکم فضایی برقرار است. در ترکیب ما ممکن است حلقه تیا دیا زولی مسئول اثر ضد قارچی باشد.

چرا نیترون یدازول ها را سنتز میکنیم؟

بعد از جنگ جهانی دوم، صنعت داروسازی سودزایی در زمینه تحقیقات دارویی برای پیشگیری و درمان بیماریهای انسان و حیوان برده است. خصوصاً "در حال حاضر، تلاش و کوشش فراوانی در زمینه داروهای اعصاب و روان و "کلا" درمان بیماریهای به اصطلاح ناشی از تمدن و تجدید صورت گرفته است. در دهه های اخیر در صنایع داروسازی عقب نشینی در حال گسترشی در زمینه تحقیقات پیرامون داروهای نسبتاً "کم سود بیماریهای انگلی مناطق حاره صورت گرفته است. در نتیجه تقریباً "برای درمان انبوه جمعیت های متراکم آلوده، داروی مناسب و بیخطرتری در طی این ۳۰ سال ارائه نشده است.

(مثلاً "در مورد فیلاریا زیس و شیتوزوما و امثالهم) و با یستی توجه بین المللی به این مسئله شود، خصوصاً "در حال حاضر که تحقیقات در غرب پیرامون ایسوز، که جنجال برانگیخته، میباشد. ضروری است که تحقیقات در مورد درمانهای موثر تروبی خطر تر بیماری های فوق که در آینده نیز گریبانگیر بشر خواهد بود انجام گیرد.

مکانیسم نیتروایمیدازول ها :

شناخت توان بالقوه ضد میکروبی و بعد از آن ترکیبات نیترو هترو-سیکل، سبب پیشرفت مهمی در شیمی درمانی در ۱۹۴۰ تا ۱۹۵۰ گشت. از تعداد بیشمار مشتقات سنتز و تست شده، تعدادی کار برد بالینی یافته، خصوصاً "نیتروفوران به عنوان ضدباکتری، ۵-نیتروایمیدازول ها به عنوان ضد بیهازی ها و نیتروفوران ها و نیتروتیا زول های شیتوزومیسیدال (۷) .

با وجود اینکه هنوز هم مکانیسم عمل این ترکیبات بر روی میکروارگانیزمها کاملاً مشخص نشده است، خیلی زود این مسئله روشن گشت که مشتقات بدون گروه نیترو غیر فعال هستند. فعالیت ضد میکروبی با احیاء متابولیک گروه نیترو مرتبط است. هنگامیکه پیش از مشتقات ۵-نیتروایمیدازول، مترو-نیدازول در سال ۱۹۵۹ مطرح گشت، باعث تعجب بود که با سایر مشتقات نیترو تشابهی مشاهده نشد و مکانیسم عمل آن همچنان یک معما باقی ماند. تا اینکه یک دهه بعد نقش "فعال شدن در احیاء شدن" Reductive Activation = RA مطرح شد و بعدها این نقش مورد تأیید قرار گرفت .

ابتدا ما بر عمل مترونییدازول و سایر ۵-نیتروایمیدازول ها نظری داشتیم و سپس مقایسه‌ای با سایر مشتقات نیترو که شامل مشتقات ایمیدازول که دارای یک استخلاف نیترو در موقعیتی غیر از کربن ۵ میباشند،

فعال شدن در احیاء ۵-نیتروایمیدازولها: RA of 5-NI

عمل مترونییدازول و سایر مشتقات ۵-نیتروایمیدازول وابسته به آن بر روی میکروارگانیزم توسط کشتن انتخابی پروکار یوتهای غیر هوازی و اوکاریوتها مشخص میشوند. غلظتهای مهارکننده برای بی‌هوازی اختیاریها و هوازیها حداقل دو برابر بیشتر از مقدار لازم برای بی‌هوازیها میباشد، نشان

دهنده این موضوع که حضور اکسیژن با فعالیّت ضد میکروبی این ترکیبها ت
تداخل میکند. در میکروارگانیسم‌ها بی‌کربن‌ها به مشتقات ه- نیتروایمیدازول
حساس نیستند، موتا ژنیسته بیشتر ملاحظه میشود.

ی
به استناد بررسیهای اخیر، روندی که مترونییدازول بر روی میکروارگانیسم‌ها
بیهوازی عمل میکند را میتوان به چهار مرحله تقسیم کرد.

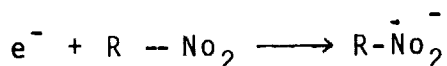
۱- داخل شدن جسم به داخل سلول هدف.

۲- فعال شدن در شرایط شدن. (RA)

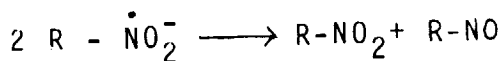
۳- تداخل فرم "فعال" با هدف داخل سلولی.

۴- شکسته شدن، یعنی "غیرفعال" شدن فرم "فعال"

مرحله دوم و اساسی متابولیک فعال شدن که در اختصاصی و انتخابی بودن
مشتقات نیتروایمیدازول مختلف تعیین کننده است، مهم و مورد بحث ماست.
در روند RA یک الکترون دهنده داخل سلولی، الکترون‌ها را برای گروه
نیترو فراهم میکند.

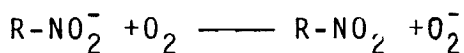


دلایل کافی نشان میدهد که اولین محصول مشتق رادیکال آزاد نیترواست
بیان کننده این مسئله که انتقال الکترون‌ها در مراحل تکالکترونی صورت
میگیرد. حتی در مدل‌ها سرعت تشکیل و ناپدید شدن رادیکال آزاد به
فاکتورهای متعددی بستگی دارد، از جمله شامل مقدار ذخیره الکترون بوده که
وابسته به سرعت تولید متابولیک آنها است، نحوه انتقال به گیرنده‌های
بیولوژیک یا مصنوعی، به غیر از مشتقات نیترو، تمایل الکترون و غلظت مشتق
نیترو، و سرعت اضمحلال رادیکال‌های آزاد نیترو، مثلاً



و واکنش با سایر ترکیبات مطرح است. یکی از فاکتورهای مهم در این روندها،

اکسیژن مولکولی است که میتواند برای الکترون مورد نیاز برای احیاء نیترو رقابت کرده و میتواند رادیکال آزاد نیترو را به ترکیب اولیه اکسیده کرده و خود به آنیون سوپراکسید احیاء شود.



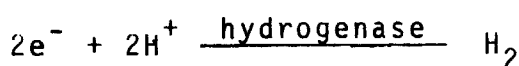
این امر سبب برقراری یک چرخه معیوب futile cycle که در آن - الکترونها حاصل از متابولیزم مصرف میشوند، بدون آنکه احیاء مشتقات نیترو رخ دهد.

این سؤال بایستی مطرح شود که گونه‌های فعال چگونه اند، حتی اگر تداخل آنها با هدف‌های داخل سلولی مورد بحث نباشد. نیتروایمیدازول‌های احیاء نشده یا محصولات نهایی پس از احیاء هیچگونه فعالیت ضد میکروبی ندارند، بنابراین گونه‌های فعال بیشتر یک محصول (یا محصولات) واسطه‌ای بین این دو نقطه میباشند. ترکیباتی که مطرح هستند شامل رادیکال‌های آزاد نیترو و آنیون سوپراکسید که در پی واکنش با اکسیژن تشکیل شده و همچنین محصولات احیاء‌های بعدی گروه نیترو [همچون نیتروزو $R-NO$]، و رادیکال‌های آزاد نیتروزو $R-\dot{N}O^-$ ، یا مشتقات هیدروکسیلامین $R-NHOH$] که ناشی از اضمحلال رادیکال آزاد و یا از طریق انتقال مستقیم الکترون‌های اضافی هستند. امکان آن هست که در تحت شرایط متفاوت برای ترکیبات مختلف واکنش‌های متفاوت محصولات مختلف نقش اصلی را بازی کنند. نقش RA در عملکرد ضد میکروبی به خوبی مستدل گشته، حتی به عنوان یک اصل مسلم پذیرفته شده و بیشتر بحث بر سر جزئیات است تا اثبات وجود آن ولی باید خاطر نشان کرد که بررسی مستقیم کمی این روند ممکن نیست، عمدتاً به علت اینکه طبیعت گونه‌های فعال ترکیبات شناخته نیستند.

در پروتوزوآ‌های بی‌هوازی و اکثر باکتری‌های بی‌هوازی، منشاء اصلی متابولیک الکترونها بی‌که به مترونی‌دازول داده شده و ناشی از دکربوکسیلاسیون

اکسیداتیو پیرووات متشکله زسیکل گلیکولیز است. روندی که توسط پیرووات : فروردوکسین اکسیدوردوکتا زکاتالیز میشود توسط سلولهای تماس نیافته و توسط مها رکننده های گلیکولیز احیاء دارو میتوانند مها رشود. در تاژک داری همچون تریکوموناس ولی نه در همه پروتوزوآهای بی هوازی این آنزیم در هیدروژنوزومها، اندامک مشخص این ارگانسیم جایگزین شده است. تکه های کوچک سلولی غنی از هیدروژنوزومها قادر به احیاء مترونیدا زول بوده اگر ترکیبات مورد نیاز برای فعالیت پیرووات : فروردوکسین اکسید ر دوکتا زمهیا باشد. این مسئله بسیار مهم است که تریکوموناس و باکتریهای بی هوازی توانایی خود را از دست میدهند تا مترونیدا زول را فعال کرده و به این دارو مقاوم میشوند اگر فعالیت پیرووات : فروردوکسین اکسیدوردوکتا ز خود را از دست دهند.

در نبود ترکیبات نیتروسیستم آنزیمی مسئول احیاء نیتروایمیدازول الکترونها را به سایر پذیرنده ها انتقال میدهند. در شرایط بی هوازی در تریکوموناس و باکتریهای بی هوازی پذیرنده اصلی پروتون H^+ است که به هیدروژن مولکولی توسط عمل هیدروژنازا احیاء میشود.



نیتروایمیدازولها بصورت موثر برای الکترون رقابت نموده و فی الواقع اولین دلیل برای این عمل مترونیدا زول مشاهده مها ر تولید هیدروژن در تریکوموناس توسط این ترکیب است. مسئله ای که بعدها در باکتریها نیز دیده شد. تولید هیدروژن تا حدی پس از اینکه داروی اضافه شده به سیستم انکوباسیون احیاء شد، دوباره شروع میشود، در نتیجه عمل ضد میکروبی وابسته به یک مها ر غیر قابل برگشت هیدروژنا ز مربوط نیست. یک استفاده کنننده آلترنا تیو الکترون مانعت میشود. این مانعت به خودی خود برای ارگانسیم