مقاله پژوهشی

ارزیابی بیولوژیکی بخش‌های هتروسیکل تعدادی از مشتقات جدید آزول‌ها به‌عنوان عوامل بالقوه ضد باکتری و ضد قارچ

ابوذر روئین تن*

دانشگاه افسری و تربیت پاسداری امام حسین (ع)، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۰۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۶/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: هسته‌های آزول، بخش بسیار مهمی از داروهای ضد میکروبی، ضد درد و ضدالتهاب را تشکیل می‌دهند. آزول‌ها گروهی از ترکیبات ضد باکتری و ضد قارچ هستند که به دلیل پایین بودن سمیت و اثربخشی بالا، دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت می‌باشند. امروزه تلاش‌های فراوان برای توسعه داروهای ضد باکتری و ضد قارچ با سمیت کمتر، اثربخشی بیشتر و مکانیسم عمل جدید صورت گرفته است. در این مطالعه تلاش شده است تا اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی مشتقات جدید آزولی را بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به‌صورت توصیفی - مقطعی انجام شد. فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی ترکیبات طراحی‌شده به ترتیب بر روی سوش‌های استاندارد گرم منفی و گرم مثبت و قارچ‌های *آسپرژیلوس نیجر*، *آسپرژیلوس فلاووس*، *کاندیدا آلبیکانز* به کمک روش حداقل غلظت مهارکنندگی انجام شد.

نتایج: از میان ترکیبات موردمطالعه، ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل ۲- متیل، ۴- ایمیدازول اثر ضد باکتریایی قوی را در برابر *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوک اورئوس*، *باسیلوس سابتلیس* به اثبات رساند، درحالی‌که ترکیبات حاوی حلقه هتروسیکل ایمیدازول و بنزایمیدازول اثرات ضد قارچی در برابر *آسپرژیلوس نیجر*، *آسپرژیلوس فلاووس*، *کاندیدا آلبیکانز* نشان دادند. حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد این باکتری‌ها و قارچ‌ها از ۱۲/۵ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متغیر است.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آن است که ترکیبات طراحی‌شده حاوی حلقه‌های هتروسیکل ۲- متیل، ۴- ایمیدازول، ایمیدازول و بنزایمیدازول در مطالعه‌ی حاضر اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی امیدبخشی از خود نشان دادند. از طرفی ترکیبات مورد تست دارای طیف اثر مناسبی بودند، بدین‌جهت که بر روی هر دو سویه گرم مثبت و گرم منفی اثر ضد باکتریایی نشان دادند.

کلمات کلیدی: عوامل ضد باکتری، عوامل ضد قارچ، آزول‌ها، سمیت، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد

مقدمه

امروزه بیماری‌های ایجادشده توسط باکتری‌ها و قارچ‌ها موجب اثرات سوء بر سلامت عمومی شده است. عفونت‌های باکتریایی مشکل رو به رشدی در پزشکی عصر حاضر است (۱). آنتی‌بیوتیک‌ها رایج‌ترین داروهای مورداستفاده در سراسر دنیا و ضروری‌ترین جزء درمان به‌ویژه در کشورهای درحال‌توسعه که بیماری‌های عفونی مرگ‌ومیر زیادی را به خود اختصاص داده، می‌باشند و داروهایی مهم و کلیدی در درمان و پیشگیری از بروز عفونت محسوب می‌شوند؛ اما افزایش شمار شکست‌های بالینی آن‌ها به دنبال ایجاد مقاومت ضد میکروبی قابل‌انتظار خواهد بود و آینده‌ی مبهمی برای آن‌ها پیش رو است. به‌طورکلی به نظر می‌رسد تعداد نسبتاً کمی ترکیب ضد باکتری

*نویسنده مسئول: ابوذر روئین تن، دانشگاه افسری و تربیت پاسداری امام حسین (ع)، تهران، ایران
Email: abroeintan@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0001-9471-591X

کارآمد در سال‌های آینده وجود داشته باشد؛ بنابراین تحقیقات بسیار برای تکوین و توسعه‌ی مواد ضد باکتری ضروری به نظر می‌رسد (۱).

مقاومت به مواد ضد میکروبی به نگرانی عمده‌ای برای سلامت عمومی در سراسر دنیا تبدیل شده است. در دهه‌های اخیر علی‌رغم ورود مستمر این ترکیبات به بازار، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها رو به افزایش بوده است. در بیمارستان‌ها ۷۰ درصد باکتری‌ها حداقل به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند (۲). یکی از راهکارها در خصوص مقابله با مقاومت باکتریایی تحقیق درزمینه توسعه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های جدید است. در مقایسه با یک یا دو دهه‌ی گذشته تعداد نسبتاً کمی آنتی‌بیوتیک در حال گذراندن مراحل روانه شدن به بازار دارویی هستند (۲).

افزایش عفونت‌های قارچی ناشی از قارچ‌های بیماری‌زا و فرصت‌طلب، به‌ویژه در بیماران با ضعف سیستم ایمنی از اوایل دهه ۹۰، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر به‌خصوص در بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده است. پاتوژن‌های فرصت‌طلب مهم مانند کاندیدا آلبیکنس و سایر گونه‌های کاندیدا در این میان نقش به سزایی دارند. هرچند کاندیدا آلبیکنس به‌عنوان یک بیماری‌زای فرصت‌طلب دهانی، همچنان فراوان‌ترین گونه جداشده نسبت به سایر عوامل قارچی است (۳). امّا سایر گونه‌های کاندیدا، به‌خصوص کاندیدا دابلینینسیس در بیماران با نقص سیستم ایمنی (بیماران مبتلابه ایدز، سرطان و بیماران پیوندی) سبب ایجاد عفونت‌های سیستمیک می‌شوند و گونه‌های کاندیدا به‌عنوان چهارمین عامل عفونت‌های خونی بیماران بستری در بیمارستان مطرح‌شده‌اند که مسئول تقریباً ۴۰ درصد موارد مرگ‌ومیر می‌باشند (۴).

درمان طولانی و تکراری، سبب ظهور و پیدایش ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول در میان گونه‌های کاندیدا شده است؛ بنابراین استفاده از داروهای ضد قارچی به‌صورت ترکیبی می‌تواند سبب پیشگیری و یا تعویق گسترش مقاومت عوامل قارچی نسبت به داروهای ضد قارچی گردد و همچنین مصرف مقادیر ترکیبی از داروهای ضد قارچی سبب کاهش سمّیت ناشی از مصرف دوزهای بالا و منفرد هر یک از ترکیبات می‌گردد (۴).

آزول‌ها گروه مهمی از ترکیبات هتروسیکل می‌باشند که با توجه به نسبت طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی به آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای در شیمی دارویی برخوردار هستند (۶-۵). فعالیت‌های بیولوژیکی ضد سل، ضدالتهاب، ضد تشنج، ضد سرطان، ضد صرع، ضد درد، بی‌حس‌کننده موضعی برای مشتقات آزولی گزارش شده است (۷). از مهم‌ترین فعالیت بیولوژیکی آزول‌ها می‌توان به اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی آن‌ها اشاره نمود (۸). در مطالعه زانگ و همکاران مشتقات جدیدی از بنزایمیدازول شامل آنالوگ‌های فلکونازول سنتز و فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی آن بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی و قارچها بررسی شده است (۸). مطالعات شائو- لین و همکاران نشان داد که مشتقات جدید بنز ایمیدازول سنتز شده اثر مطلوبی بر جلوگیری از رشد گونه‌های مختلف ضد باکتریایی و ضد قارچی دارد (۹).

در مطالعات پیشین مشتقات مختلفی از آزول‌ها سنتز و فعالیت بیولوژیکی آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۰). بر اساس سابقه‌ای که از مشتقات ایمیدازولی و بنز ایمیدازولی در طراحی و سنتز ترکیبات با فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی اشاره شد و ازآنجاکه تاکنون مطالعاتی روی سنتز و بررسی خواص بیولوژیکی ترکیبات آزولی شامل دو بخش هتروسیکل گزارش نشده است، در این تحقیق اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی مشتقات جدید آزول‌ها شامل دو بخش هتروسیکل، بر روی برخی از مهم‌ترین پاتوژن‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچها بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم‌های تحت بررسی در این پژوهش: میکروارگانیسم‌های مورداستفاده در این پژوهش شامل دو سویه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* با کد (ATCC 25923)، *باسیلوس سابتیلیس* (ATCC 654) و دو سویه گرم منفی *اشریشیاکلی* (ATCC 25922)، *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853) و گونه‌های ضد قارچ *کاندیدا آلبیکانز* (ATCC 10231)، *آسپرژیلوس نایجر* (ATCC 16404)، *آسپرژیلوس فلاووس* (ATCC۱۵۵۴۶) بودند که از آزمایشگاه میکروب‌شناسی و قارچ‌شناسی موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه تهران تهیه و در محیط کشت نوترینت آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

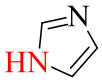
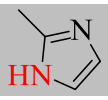
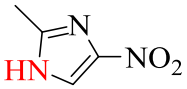
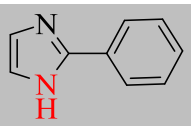
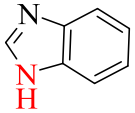
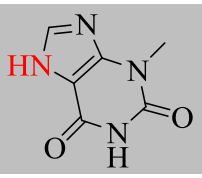
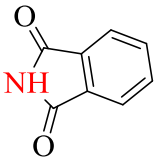
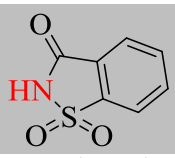
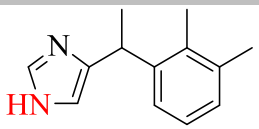
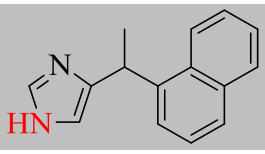
این تحقیق به‌صورت توصیفی - مقطعی در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه امام حسین (ع) انجام پذیرفت. در این تحقیق اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی ۱۰ ترکیب از مشتقات جدید آزولی که با

بازده مناسب و خلوص بالا طی یک واکنش ۴ مرحله‌ای طراحی و سنتز شده‌اند موردبررسی قرار گرفت (۱۱). ساختار کلی و جزئیات ساختاری ترکیبات موردمطالعه در شکل ۱ و جدول ۱ آورده شده است.



شکل ۱- ساختار کلی ترکیبات موردمطالعه

جدول ۱- جزئیات ساختاری ترکیبات موردمطالعه

شماره ترکیب	ساختار هتروسیکل	نام هتروسیکل
۱		Imidazole
۲		2-methyl Imidazole
۳		4-nitro-2-methyl Imidazole
۴		2-phenylimidazole
۵		Benzimidazole
۶		Theophylline
۷		Phthalimide
۸		Saccharin
۹		Medetomidine
۱۰		Naphto Medetomidine

بررسی فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی ترکیبات

فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها علیه سوش‌های استاندارد گرم مثبت و گرم منفی و اثر ضد قارچی آن‌ها بر روی آسپرژیلوس نیجر، کاندیدا آلبیکانز و آسپرژیلوس فلاووس با روش میکروتیتر موردبررسی قرار گرفت. از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین به‌عنوان استاندارد کنترل برای باکتری‌ها و از آمفوتریسین بی به‌عنوان استاندارد کنترل قارچ‌ها استفاده گردید. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی Minimum (inhibitory concentration; MIC) ترکیبات سنتز شده از روش میکرودایلوشن براث (Broth Microdilution) استفاده شد. به‌منظور تعیین MIC، از ترکیبات سری‌های رقت ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون براث (مرک-آلمان)، داخل چاهک‌های میکرو پلیت ریخته شد. سپس به اولین خانه از هر ردیف، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ماده شیمیایی با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به آن اضافه و مخلوط گردید. در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر از خانه‌های ردیف اول به خانه‌های ردیف دوم ریخته و به همین ترتیب تا ردیف ۹ رقیق گردید. خانه‌ی دهم با ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به‌عنوان کنترل مثبت و خانه‌ی یازدهم حاوی ۱۰۰ میکرولیتر مولر هینتون براث به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. در این آزمایش ماده شیمیایی سنتزی با حلالی که تأثیر ضد میکروبی نداشت (دی متیل سولفوکسید) رقیق شد. به‌منظور بررسی اثر حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) بر روی باکتری، به‌صورت دوتایی برای تمام ترکیبات کنترلی قرار داده شد. در آخر به همه‌ی چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی رقیق‌شده، ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون حل‌شده در ۲۵ میلی‌لیتر مولر هینتون براث معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شد. بعد از گذشت ۱۲ تا ۷۲ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد (بسته به نوع باکتری)، کف پلیت‌ها در زیر نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (M501 CamSpec) و در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر مشاهده شد و وجود کدورت که نشان‌دهنده‌ی رشد باکتری‌ها است مورد ارزیابی قرار گرفت. از همین روش برای بررسی اثرات ضد قارچی (در محیط سابرو دکستروز براث و آگار) ترکیبات استفاده شد. طبق تعریف، غلظت اولین چاهکی که هیچ کدورتی در آن مشاهده نگردید، معادل حداقل غلظت مهاری (MIC) در نظر گرفته شد (۱۲).

تجزیه‌وتحلیل آماری

به‌منظور اطمینان از نتایج حاصل از آزمایش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی علیه باکتری‌های پاتوژن و قارچ‌ها سه تکرار از هر آزمایش انجام شد و میانگین و انحراف معیار آن‌ها محاسبه و به‌عنوان نتیجه ثبت شد. این محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت. مقایسه معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون (One- sample T- Test) انجام و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات طراحی‌شده علیه سوش‌های استاندارد گرم مثبت و گرم منفی و اثرات ضد قارچی با روش میکروتیتر موردبررسی واقع شد. نتایج فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی این ترکیبات در جدول ۲ و ۳ آورده شده است. این نتایج به‌صورت حداقل غلظت مهاری (MIC) و پس از سه بار تکرار گزارش شده است و به این معناست که ترکیبات نهایی در آن غلظت‌ها از رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها جلوگیری کرده است.

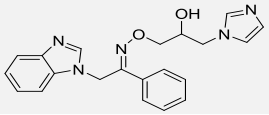
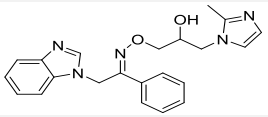
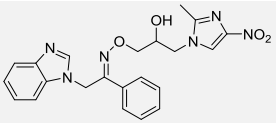
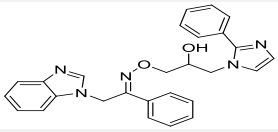
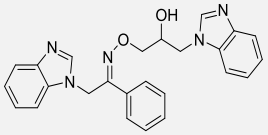
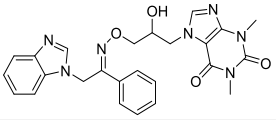
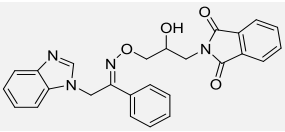
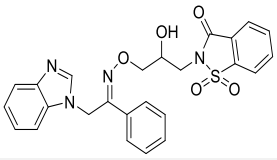
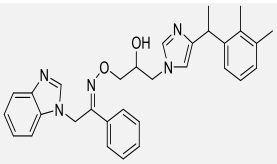
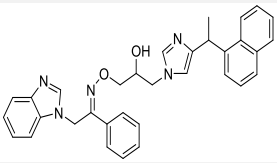
نتایج حاصل از بررسی MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی) ترکیبات موردمطالعه نشان داد که ترکیب شماره ۳ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل ۲- متیل، ۴- نیترو ایمیدازول) روی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس ارئوس*، *باسیلوس سابتیلیس* دارای مهار رشد به ترتیب در رقت‌های ۱/۰± ۱۲/۵، ۰/۵± ۱۲/۵، ۱/۰± ۲۵ و ۲/۰± ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است.

ترکیب شماره ۳ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل ۲- متیل، ۴- نیترو ایمیدازول) با حداقل غلظت مهارکنندگی ۱/۰۰± ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین اثر مهاری را بر باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیاکلی* نسبت به ترکیب مرجع پنی‌سیلین با MIC، ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از خود نشان داد، همچنین مقدار MIC این ترکیب با حداقل غلظت مهارکنندگی ترکیب مرجع استرپتومایسین در برابر میکروارگانیسم *اشریشیاکلی* (۱/۰± ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) یکسان بود.

با توجه به نتایج حداقل غلظت مهاری مشخص شد که ترکیب

شماره ۱ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل ایمیدازول) با MIC، ۲/۰± ۲۵ و ۱/۰± ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر مهاری مطلوبی در برابر قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *کاندیدا آلبیکانز* نسبت به ترکیب مرجع آمفوتریسین- بی با حداقل غلظت مهاری ۵۰ و

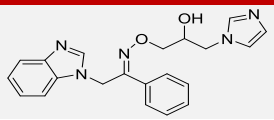
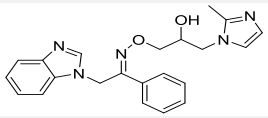
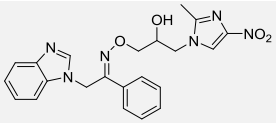
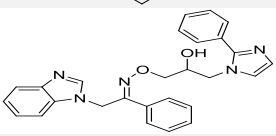
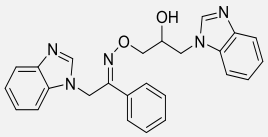
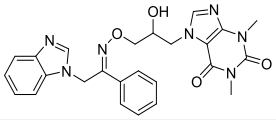
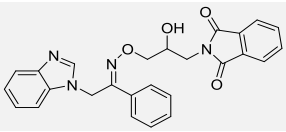
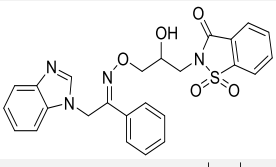
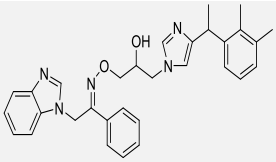
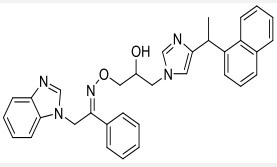
جدول ۲- حداقل غلظت مهاری (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ترکیبات طراحی‌شده بر رشد سویه‌های مختلف باکتریایی

شماره ترکیب	ساختار ترکیب	سودوموناس آئروژینوزا	اشریشیاکلای	استافیلوکوک اورئوس	باسیلوس سابتلیس
۱		۳/۰±۵۰	۲/۰±۱۰۰	۳/۰±۵۰	۲/۰±۵۰
۲		۳/۰±۱۰۰	۳/۰±۵۰	۱/۰±۲۰۰	۳/۰±۵۰
۳		۱/۰±۱۲/۵	۰/۵±۱۲/۵	۱/۰±۲۵	۲/۰±۲۵
۴		۳/۷±۲۰۰	۲/۰±۵۰	۳/۰±۵۰	۱/۰±۱۰۰
۵		۳/۰±۵۰	۳/۰±۵۰	۲/۰±۱۰۰	۲/۰±۵۰
۶		۳/۰±۱۰۰	۳/۰±۵۰	۲/۰±۵۰	۴/۰±۲۰۰
۷		۰/۷±۵۰	۱/۵±۱۰۰	۳/۰±۵۰	۱/۵±۵۰
۸		۱/۴±۱۰۰	۱/۰±۵۰	۲/۰±۲۰۰	۲/۰±۵۰
۹		۳/۰±۵۰	۱/۰±۵۰	۳/۶±۲۰۰	۳/۰±۱۰۰
۱۰		۲/۰±۵۰	۲/۰±۱۰۰	۳/۰±۵۰	۳/۰±۵۰
مرجع	پنی‌سیلین	۵۰	۵۰	۱۲/۵	۲۵
مرجع	استرپتومایسین	۲۵	۱۲/۵	۵۰	۱۲/۵

۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارد. همچنین ترکیب شماره ۵ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل بنز ایمیدازول) اثر مهاری مطلوبی با MIC، ۱/۰ ±۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در برابر *آسپرژیلوس فلاووس* نسبت به آمفوتریسین- بی با حداقل غلظت مهاری ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نشان داد.

بررسی‌های آماری آزمون تی - تست نشان داد که ترکیب شماره ۳ به‌طور معنی‌داری در ($p < 0.05$)، دارای خواص ضد میکروبی متفاوتی علیه سوش‌های باکتریایی گرم مثبت و منفی است. همچنین آنالیز آماری نشان داد که تأثیر ضد قارچی ترکیبات شماره ۱، ۳ و ۵ بر روی هر سه قارچ مورد آزمایش

جدول ۳- حداقل غلظت مهاری (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ترکیبات طراحی‌شده بر رشد قارچ‌های مختلف

شماره ترکیب	ساختار ترکیب	*آسپرژیلوس نیجر*	*آسپرژیلوس فلاووس*	*کاندیدا آلبیکانز*
۱		۳/۰±۵۰	۲/۰±۲۵	۱/۰±۱۲/۵
۲		۴/۰±۲۰۰	۳/۰±۵۰	۲/۰±۱۰۰
۳		۲/۰±۲۵	۲/۰±۵۰	۱/۰±۱۲/۵
۴		۳/۰±۱۰۰	۱/۰±۱۰۰	۲/۰±۵۰
۵		۳/۰±۵۰	۱/۰±۱۲/۵	۱/۰±۲۵
۶		۳/۵±۲۰۰	۲/۰±۵۰	۳/۰±۱۰۰
۷		۲/۰±۱۰۰	۳/۰±۱۰۰	۳/۰±۵۰
۸		۳/۰±۵۰	۲/۰±۱۰۰	۲/۰±۵۰
۹		۳/۴±۲۰۰	۳/۰±۵۰	۲/۰±۱۰۰
۱۰		۲/۰±۱۰۰	۳/۶±۲۰۰	۱/۰±۵۰
مرجع	بی- آمفوتریسین	۵۰	۵۰	۲۵

تفاوت معنی‌داری در ($p < 0.05$) را نشان می‌دهند؛ بنابراین ترکیبات ۱، ۳ و ۵ بر روی هر سه قارچ مورد آزمایش تأثیر متفاوتی دارند. میانگین ± انحراف معیار مربوط به MIC در جدول ۲ و ۳ گزارش شده است.

بحث

آزول‌ها و ترکیبات مشتق شده از آن‌ها هتروسیکل‌های حاوی نیتروژن هستند که نقش مهمی را در درمان بیماری‌ها ایفا می‌کنند (۷). طی شش دهه گذشته مشتقات مختلفی از آزول‌ها سنتز و فعالیت بیولوژیکی آن‌ها موردبررسی قرار گرفته است. نتایج مطالعات گذشته نشان داد که بسیاری از مشتقات سنتز شده دارای طیف وسیعی از فعالیت بیولوژیکی می‌باشند (۷). با توجه به تحقیقات قبلی بر روی داروهای آزولی به‌عنوان عوامل مؤثر ضد قارچ و عوامل ضد باکتری (۱۵-۱۳)، مطالعه بر روی مشتقات جدیدی از آزول‌ها شامل بخش‌های هتروسیکل ایمیدازول و مشتقات آن که طی یک واکنش ۴ مرحله‌ای سنتز و با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی شناسایی گردیدند، انجام شد و در ادامه فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی آن‌ها بر روی سویه‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ‌های مختلف موردبررسی قرار گرفت. مطالعه کابیلان و همکاران بر روی سنتز و ارزیابی فعالیت بیولوژیکی مشتقات جدید اکسیم بنزایمیدازول نشان داد که این ترکیبات دارای اثر ضد باکتریایی مطلوبی علیه سوش‌های باکتریایی *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس ارئوس*، *باسیلوس سابتیلیس* می‌باشند، به‌گونه‌ای که مشتقات بنزایمیدازول سنتز شده دارای گروه کلر در موقعیت پارا حلقه آروماتیک اثر مهاری مطلوب‌تری نسبت به ترکیبات مرجع پنی‌سیلین و استرپتومایسین در برابر *استافیلوکوکوس ارئوس*، *باسیلوس سابتیلیس* و *اشریشیاکلی* با MIC، ۲۵، ۱۲/۵ و ۱۲/۵ از خود نشان دادند. بررسی‌ها نشان داد که نتایج مطالعه آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر نزدیک به هم است. با بررسی نتایج مطالعه مذکور مشخص شد که فعالیت ضد قارچی ترکیب دارای گروه کلر در موقعیت پارا اثر مهاری مطلوب‌تری نسبت به ترکیب مرجع آمفوتریسین- بی علیه قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *کاندیدا آلبیکانز* با MIC، ۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارد که این نتایج با خواص ضد قارچی ترکیب شماره ۱ مطالعه حاضر تقریباً مشابه است (۱۶).

در تحقیقاتی مشابه شائوفانگ زو و همکاران در سال ۲۰۱۳ تعدادی از مشتقات اکسیم اتر بنزایمیدازول دارای حلقه مورفولین را سنتز و فعالیت ضد قارچی آن‌ها را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که ترکیبات سنتز شده اثر مهاری قابل قبولی بر روی انواع مختلف قارچ‌ها داشتند (۱۷). در مطالعه دیگر که ویسوانچ و همکاران بر روی مشتقاتی از بنزایمیدازول انجام دادند، به ترکیباتی دست یافتند که اثر مهاری قابل‌توجهی بر روی سویه‌های گرم مثبت و گرم منفی از خود نشان دادند (۱۸). با دقت در نتایج مطالعه مذکور مشخص شد که بنزایمیدازول‌های استخلاف شده در موقعیت ۲ به‌وسیله حلقه‌های آروماتیک دارای گروه الکترونگاتیو کلر در موقعیت پارا اثر مهاری مطلوبی در برابر *استافیلوکوکوس ارئوس*، *اشریشیاکلی* نسبت به مرجع سیپروفلوکساسین نشان دادند به‌طوری‌که قطر هاله عدم رشد ۱۹ تا ۲۳ میلی‌متر داشتند (۱۸). در تحقیق دیگری ترکیباتی با هسته آزول طی یک واکنش سه مرحله‌ای سنتز و فعالیت بیولوژیکی آن‌ها علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ‌های مختلف به روش انتشار در چاهک و تعیین حداقل غلظت مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مطالعات نشان داد که مشتقات سنتز شده آزولی دارای گروه ایزوپروپیل در موقعیت پارا حلقه آروماتیک و برم در موقعیت متا نسبت به داروهای استاندارد سیپروفلوکساسین و فلکونازول فعالیت بیولوژیکی مطلوبی نسبت به سوش‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس ارئوس*، *اشریشیاکلی* و قارچ *کاندیدا آلبیکانز* نشان دادند (۱۹). در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای بر روی مشتقات جدید بنزایمیدازول استخلاف شده با پی‌پریدین صورت گرفت و اثر ضد باکتریایی آن‌ها به روش انتشار دیسک بر روی چندین سویه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات سنتز شده دارای حلقه پی‌پریدین بیشترین اثر مهاری را بر روی سویه‌های باکتریایی، *استافیلوکوکوس ارئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیاکلی* با قطر هاله عدم رشد ۱۵ تا ۲۰ میلی‌متر داشتند (۲۰). از میان ترکیبات موردمطالعه در این تحقیق، ترکیب شماره ۳ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل ۲- متیل، ۴- نیترو ایمیدازول) بهترین اثر مهاری را بر سوش‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد. تمامی ترکیبات موردمطالعه بر روی باکتری‌های *سودوموناس آئروزینوزا*، *اشریشیاکلای*، *استافیلوکوکوک اورئوس*، *باسیلوس سابتلیس* به‌اندازه یک‌چهارم داروهای آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین مؤثر بودند. ترکیبات شماره ۱ (ترکیب حاوی

حلقه هتروسیکل ایمیدازول) و ۳ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل ۲- متیل، ۴- نیترو ایمیدازول) و ۵ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل بنز ایمیدازول) بهترین اثر مهاری را بر روی قارچ‌های آسپرژیلوس نیجر، *آسپرژیلوس فلاووس*، *کاندیدا آلبیکانز* نشان دادند. مطالعات نشان داد که تمامی ترکیبات سنتز شده به‌اندازه یک‌چهارم داروی مرجع آمفوتریسین- بی بر روی قارچ‌های موردمطالعه مؤثر بودند.

ازآنجاکه تمامی ساختارهای طراحی‌شده و موردمطالعه در این تحقیق جدید می‌باشند، برای تجزیه‌وتحلیل علمی و منطقی به‌منظور نقش مهم حلقه‌های آزولی و اثر استخلاف در ایجاد فعالیت بیولوژیکی ضد باکتریایی و ضد قارچی، ضروری است هتروسیکل‌های مختلفی در اندازه و با داشتن استخلاف‌های گوناگون در مرحله آخر استفاده شوند (۱۱) تا نقش استخلاف ازنظر ممانعت فضایی و تأثیر بر روی تغییر میزان حداقل غلظت مهاری (MIC) مشخص گردد.

همچنین پیشنهاد می‌شود اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی ترکیبات حدواسط ساخته‌شده در مراحل قبل (مرحله دوم و سوم) قبل از اتصال حلقه‌های هتروسیکل، هرکدام به‌صورت جداگانه موردبررسی قرار گیرد (۱۱). به این منظور اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی حدواسط اکسیمی به‌تنهایی بررسی شد و نتایج نشان داد که ترکیب حدواسط اکسیمی نیز اثرات بیولوژیکی مؤثری دارد که این مهم به دلیل وجود حلقه آزولی بنزایمیدآزول در مرحله اول واکنش است.

نتیجه‌گیری

نتیجه‌ی کلی اینکه ترکیبات موردمطالعه در پژوهش حاضر اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی امیدبخشی از خود نشان دادند، به‌ویژه ترکیب شماره ۳ (ترکیب حاوی حلقه هتروسیکل ۲- متیل، ۴- نیترو ایمیدازول) که بر روی سویه‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی و انواع مختلف قارچ‌ها تأثیر مطلوبی داشتند. مطالعات نشان داد که ترکیبات دیگر مورد تست، دارای طیف اثر مناسبی می‌باشند، بدین‌جهت که بر روی هر دو سویه گرم مثبت و گرم منفی اثر ضد باکتریایی و بر روی قارچ‌ها اثر ضد قارچی نشان دادند. نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که حضور گروه‌های هتروسیکل آزولی موجود در ساختار این ترکیبات یکی از مهم‌ترین عامل ایجاد فعالیت ضد قارچی آن‌ها است. با توجه به ساختار جدید این ترکیبات، مطالعات بیشتری در جهت افزایش قدرت و طیف اثر این ترکیبات موردنیاز است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد ۹۶۱۰۲۵ در دانشگاه امام حسین (ع) انجام گردید. نویسندگان مقاله از همکاری تمامی افرادی که در مطالعه حاضر شرکت داشتند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Zinner SH. Antibiotic use: present and future. New Microbiol. 2007; 30: 321-325.
2. Bruning L. Emerging infectious diseases: threats to the or Interview by Kimberly Howell. Today's Surg Nurse. 1995; 18: 21-23.
3. Kantarcioglu A S, Yucel A. The presence of fluconazole-resistant candida dubliniensis strain among candida albicans isolated from immunocompromised or otherwise debilitated HIV-negative Turkish patients. Rev. Iberoam. Mycol. 2002; 19 (1): 44-48.
4. Anaissie EJ, Mc Ginnis MR, Pfaller M A. Clinical Mycology. UK: Mosby. 2003: 195-196.
5. Abignente E, Arena F, Luraschi E, Saturnino C, Marmo E, Cazzola M, Rossi F, Lampa E. Research on heterocyclic compounds XVIII-Imidazo[2,1-b]-1,3,4-thiadiazole derivatives Il. Farmaco. Ed. Sci. 1985; 40: 190–195.
6. Kaur A, Kumar, R, Kalidhar U. Synthesis, spectral studies and biological activities of some novel biphenyl imidazo[2,1-b]- 1,3,4-thiadiazole derivatives. Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. 2012; 3:1084–1096.
7. Bhoomendra A, Sirajunisa T, Ravikiran A. Biological activities of imidazo[2,1 b][1,3,4]thiadiazole derivatives: A review. J. Saudi. Chem. Soc. 2013.

8. Hui-Zhen Zhang, Guri L.V. Damu, Gui-Xin Cai, Cheng-He Zhou. Design, synthesis and antimicrobial evaluation of novel benzimidazole type of Fluconazole analogues and their synergistic effects with Chloromycin, Norfloxacin and Fluconazole. Euro. J. Med. Chem. 2013; 64: 329-344.
9. Shao-Lin Z, Guri D, Ling Z, Rong-Xia G, Cheng-He Z. Synthesis and biological evaluation of novel benzimidazole derivatives and their binding behavior with bovine serum albumin. Euro. J. Med. Chem. 2012; 55: 164-175.
10. Palkar M.B, Noolvi M.N, Maddi V.S, Ghatale M, Nargund L.G. Synthesis, spectral studies and biological evaluation of novel series of 2-substituted-5,6-diarylsubstituted imidazo[2,1-b]- 1,3,4-thiadiazole derivatives as possible anti-tubercular agents. Med. Chem. Res. 2012; 21: 1313–1321.
11. Roeintan A, Moosavi M, Soltani Rad M N, Behrouz S. Click Synthesis of Some Novel Benzimidazol Oxime Ethers Containing Heterocycle Residues as Potential -Adrenergic Blocking Agents. J. Chin. Chem. Soc. 2015; 62:1097-1104.
12. ONiel M, Smith M, Heckelman P. The Merck Index, ed.13th, Merck & Co. Inc, New Jersey. 2001; 1785.
13. Khalafi-Nezhad A, Soltani Rad M. N, Hakimelahi G. H, Mokhtari B. One step synthesis of imidazole and benzimidazole acycloaromatic nucleoside analogs. Tetrahedron. 2002; 58: 10341-10344.
14. Khabnadideh S, Rezaei Z, Khalafi-Nezhad A, Bahrinajafi R, Mohamadi R, Farrokhroza A. A. Synthesis and antifungal activity of benzimidazole, benzotriazole and aminothiazole derivatives. Bioorg. Med. Chem. 2003; 13: 2863-2868.
15. Khalafi-Nezhad A, Soltani Rad M. N, Mohabatkar H, Asrari Z, Hemmateenejed B. Design, synthesis, antibacterial and QSAR studies of benzimidazole and imidazole chloroaryloxyalkyl derivatives. Bioorg. Med. Chem. 2005; 13: 1931-1938.
16. Kabilan S, Srinivasan B, Gopalakrishnan A, Paramasivam P, Chennan R. Synthesis and Biological Evaluation of NovelBenzimidazol/Benzoxazolylethoxypiperidone Oximes. Biol. Pharm. Bull. 2006; 29(1): 125-130.
17. Shaofang Zhou, Fubo Li, Peizhi Zhang, Lin Jiang. Synthesis and antifungal activity of novel 1-(1H-benzoimidazol-1-yl)propan-2-one oxime-ethers containing the morpholine moiety. Res. Chem. Intermed. 2013;39:1735-1743.
18. Viswanath A, Keerthana B, HimaBindu G, Sudha B Rani, and Srinivasa P Babu. Synthesis and Biological Evaluation Of Novel Benzimidazol Derivatives. I. J. P. CBS. 2016; 6(2): 215-221.
19. Bahaa G M, Youssif S, Galal A, Ibrahim M S. Synthesis and Biological Evaluation Of Novel 1,2,3-Triazol-N-Arylidene Acetohydrazide Incorporating Benzimidazol Ring Moiety as Potential Antimicrobial Agents. J. Curr. Chem. Pharm. Sc. 2014; 4(2):54-64.
20. Sree Ram Babu J, Ravi Sankar T, Sudhakar Babu K, Latha J. Synthesis, characterization and biological evaluation of some novel N1,N3-substituted 1-piperidin-4-yl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one derivatives. Der Pharma Chemica. 2014; 6(5):58-63.

Oiginal Article

Biological Evaluation of Heterocycle Moiety of Some Novel Azoles Derivatives as Antibacterial and Antifungal Potential Agents

Roeintan A*

Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Imam Hossein, Tehran, Iran

Received: 25 Feb 2018 Accepted: 15 Sep 2018

Abstract

Background & Objective: Azole nucleuses are the substantial parts of antimicrobial, analgesic and anti-inflammatory drugs. The azole class of compounds is the most popular among the antibacterial and antifungal classes because of its lower toxicity, higher efficacy and a broad spectrum of activity. Today, Efforts have focused on the development of new, less toxic and more efficacious antifungal and antibacterial drugs, with the novel mechanism of action. In this study, we tried to investigate the antibacterial and antifungal effects of the new azole derivatives.

Materials & methods: This research is a descriptive – cross sectional study. The antibacterial and antifungal activity of compounds was evaluated using the minimum inhibitory concentration (MIC) method on a series of gram positive and gram negative bacterial strains and *Aspergillus Niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*. The Minimum Inhibitory Concentration from the growth of this bacteria and fungi ranges from 12.5 mg/ml to 200 mg/ml.

Results: Among the tested compounds, 4- Nitro, 2- methyl imidazole hetrocycle-pathic compound exerted potent in vitro antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* while compounds (imidazole, benzimidazole hetrocycle-pathic compound) exhibited potent in vitro antifungal activity against *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus Niger*.

Conclusion: Our results indicated that the designed derivatives (4- Nitro, 2- methyl imidazole, imidazole and benzimidazole hetrocycle-pathic compounds) showed effective antibacterial and antifungal activity mainly against a series of gram positive and gram negative bacterial strains. On the other hand, the tested compounds had an appropriate spectrum effect, because they showed antibacterial effect on both positive and negative strains.

Keywords: Antibacterial Agents, Antifungal Agents, Azoles, Toxicity, Minimum Inhibitory Concentration

***Corresponding Author: : : Roeintan Abozar,** Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Imam Hossein, Tehran
Email: abroeintan@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0001-9471-591X