

# Single-Step Synthesis of 1,3,4-Oxadiazoles Containing Fluorophenyl Ring and Evaluation of their Antibacterial Effect on Gram-negative Pathogens in Vitro

Yasin Serve ahrabi<sup>1\*</sup>, Solmaz Tahaye abadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Faculty of basic sciences, Islamic azad university of Tehran branch, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Biotechnology, Faculty of basic sciences, Islamic azad university of Tehran branch, Tehran, Iran

## Abstract

**Introduction:** Nowadays, the emergence of drug resistance in bacteria is a serious threat to the health of human societies. The present study aimed to evaluate the antibacterial activity of newly synthesized 1, 3, 4-oxadiazole derivatives based on fluorophenyl functional groups ; moreover, it aimed to compare them with common antibacterial drugs.

**Methods and Materials:** In this study, single-step derivatives of 1, 3, 4-oxadiazoles were obtained from the single-stranded reaction of N-iso-syano-imino-3, phenyl-phosphorene, carboxylic acid derivatives and 2-pyridine-carbaldehyd acid in the acetonitrile solvent. The antibacterial activity of the newly synthesized compounds by repeating once on Salmonella enterica PTCC1787 and Escherichia coli PTCC1552 was investigated by well diffusion for determining minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC).

**Results:** The highest levels of growth inhibition were in the combination of 4i of 22 m.m for Salmonella enterica and 24 m.m for Escherichia coli. Moreover, the inhibitory and lethal concentrations of compound 4i had more favorable results than other compounds.

**Discussion and Conclusion:** The synthesized compounds, in particular the compound having the functionality of d-fluorophenyl (4i), have antibacterial activity against Salmonella enterica and Escherichia coli. In addition to the antifungal activity of newly synthesized compounds, single-step synthesis is a fast and easy route for the synthesis of drug compounds with more efficacy and dissipation. Furthermore, a clear vision can be presented for synthesizing and introducing new drug compounds into the medical community.

**Keywords:** Antibacterial, 1,3,4-Oxadiazole, Salmonella entrica, Escherichia coli

(\*Corresponding Author) Yasin Serve-ahrabi, Department of Microbiology, Faculty of basic sciences, Islamic azad university of Tehran branch, Tehran, Iran. Email: yasin.ahrabi2016@gmail.com

## سنتز تک مرحله‌ای ۱، ۳، ۴-اکسادیازول‌های حاوی حلقه فلوروفنیل و بررسی اثر ضد باکتریایی آنها بر روی پاتوژن‌های گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی

یاسین سرواهرابی<sup>۱\*</sup>، سولماز طاهای ابدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

### چکیده

**مقدمه:** امروزه بروز مقاومت دارویی در باکتری‌ها تهدید جدی برای سلامت جوامع بشری محسوب می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی خاصیت ضد باکتریایی مشتقات جدید سنتز شده ۱، ۳، ۴-اکسادیازول بر پایه گروه‌های عاملی فلوروفنیل و مقایسه آن با داروهای ضد باکتریایی رایج می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در پژوهش حاضر از واکنش تک مرحله‌ای N-یزو-سیانو-ایمینو-۳-فنیل-فسفران، مشتقات کربوکیلیک اسید و ۲-پیریدین کربالدئید در حلال استونیتریل مشتقات جدیدی از ۱، ۳، ۴-اکسادیازول‌ها به صورت تک مرحله‌ای بدست آمد. فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات جدید سنتز شده با یکبار تکرار بر روی باکتری‌های سالمونلا انتریکا PTCC1787 و اشریشیا کلی PTCC1552 به روش انتشار از چاهک، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** بیشترین میزان هاله عدم رشد مربوط به ترکیب ۴i به اندازه ۲۲ میلی متر برای سالمونلا انتریکا و اندازه ۲۴ میلی متر برای اشریشیا کلی بود، همچنین میزان غلظت بازدارندگی و کشندگی ترکیب ۴i نیز نسبت به سایر ترکیبات نتایج مطلوب تری داشت. **بحث و نتیجه‌گیری:** ترکیبات سنتز شده به خصوص ترکیب دارای گروه عاملی دی-فلوروفنیل (۴i) دارای فعالیت ضد باکتریایی بر علیه دو باکتری سالمونلا انتریکا و اشریشیا کلی می‌باشند، علاوه بر فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات جدید سنتز شده، سنتز تک مرحله‌ای مسیری سریع و آسان برای سنتز ترکیبات دارویی است که با بازده بیشتر و اتلاف انرژی کمتر و همچنین چشم‌انداز روشنی برای سنتز و معرفی ترکیبات دارویی جدید به جامعه پزشکی می‌توان ارائه کرد.

**کلمات کلیدی:** ضد باکتریایی، ۱، ۳، ۴-اکسادیازول، سالمونلا انتریکا، اشریشیا کلی.

### مقدمه

از بیماری‌های عفونی است (۲). مقاومت به آنتی بیوتیک یعنی میکروب‌های بیماری‌زا که برای مبارزه با آنان آنتی بیوتیک استفاده می‌شوند، با جهش ژنی نسبت به این داروها مقاومت پیدا می‌کنند و نسل‌های جدیدی به وجود می‌آورند که نمی‌توان با آن‌ها مبارزه کرد. از مهم‌ترین عوامل این نوع مقاومت دارویی، مصرف خودسرانه یا بیش از حد آنتی بیوتیک‌ها است (۳). توانایی میکروب‌ها در

آنتی بیوتیک‌ها مواد شیمیایی هستند که از ترکیبات طبیعی و ساختگی به دست می‌آیند. کشف و سنتز این ترکیبات، کمک بزرگی به درمان بیماری‌های عفونی کرده و طی سال‌های اخیر جان انسان‌های زیادی را نجات داده است (۱). با این وجود آن چه به شدت دانشمندان را نگران کرده است، بی‌اثر شدن آنتی بیوتیک‌ها در درمان برخی

(۹). ۴،۳،۱-اکسادیازول‌ها دارای کاربردهای فراوانی می‌باشند از جمله می‌توانند به‌عنوان انتقال‌دهنده اوره عمل کنند و همچنین به‌عنوان لیگاند این توانایی را دارند که با فلزات قلیایی یا فلزات قلیایی خاکی کمپلکس تشکیل دهند و به‌عنوان انتقال‌دهنده عمل کنند (۱۰). ۴،۳،۱-اکسادیازول‌ها در ساختار برخی از داروهای ضد افسردگی مثل نان-استرودیال وجود دارد. مکانیسم عمل این دارو به این شکل است که از فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز در بدن جلوگیری می‌کند (۱۱). تعدادی از مشتقات ۴،۳،۱-اکسادیازول‌ها دارای خاصیت ضد اسهال می‌باشند (۱۲). ۱،۳،۴-اکسادیازول‌ها توانایی مهار باکتری‌های گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باکتری‌های گرم منفی مانند اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژنوزا را دارند (۱۴-۱۳). مطالعات انجام شده و کشف قابلیت‌های ضد باکتریایی و شیمی دارویی در ۱،۳،۴-اکسادیازول‌ها، اهمیت مطالعه بر روی آن‌ها را دوچندان نموده است (۱۵). در بسیاری از ترکیبات دارویی مورد استفاده، حلقه‌ی اکسادیازول به‌عنوان فعال‌ترین بخش از ترکیبات دارویی وارد عمل شده و تأثیرات خود را اعمال می‌نماید (۱۶-۱۷). هدف از انجام این پژوهش سنتر تک مرحله‌ای مشتقات [۵- (فلوروفنیل) - ۱،۳،۴-اکسادیازول - ۲-ایل] - [پیریدین - ۲-ایل] - متانول و بررسی خاصیت ضد باکتریایی آنها بر روی باکتری‌های سالمونلا انتریکا PTCC۱۷۸۷ و اشرشیاکلی PTCC۱۵۵۲ می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۸ با همکاری نویسندگان در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز انجام شد. مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از نمایندگی شرکت مرک آلمان در ایران خریداری شد. طیف سنجی مادون قرمز (IR) توسط اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu و رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (H-NMR و C-NMR) توسط دستگاه Varian-INOVA ۵۰۰MHz تعیین شد. باکتری‌های مورد استفاده و تأیید شده از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران تهیه گردید.

پژوهش حاضر طی دو مرحله انجام شده است، مرحله‌ی اول شامل: ترکیبات ۴،۳،۱-اکسادیازولی به روش تک مرحله‌ای سنتر و با بازده بالا استخراج شدند. ساختار شیمیایی تمامی ترکیبات سنتر شده با

تغییر تنها دلیل مقاومت به آنتی بیوتیک نیست. از سال ۱۹۸۷ هیچ رده آنتی بیوتیک تازه‌ای تولید نشده و در خط تولید شرکت‌های داروسازی بزرگ تقریباً هیچ آنتی بیوتیک تازه‌ای نیست. برای تولید آنتی بیوتیک جدید، انگیزه اقتصادی کافی وجود ندارد چرا که آنتی بیوتیک‌ها فقط در صورت لزوم برای یک یا دو هفته مصرف می‌شوند و به دلیل خطر مقاومت میکروب‌ها، مدت استفاده از آن‌ها محدود است (۴). مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌ها اغلب بر اساس مکانیسم‌هایی نظیر تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده‌ی دارو (۵)، تغییر نفوذپذیری باکتری نسبت به دارو، تغییر در گیرنده‌های دارو در سطح باکتری، تغییر در ساختار دیواره‌های سلولی باکتری و دستیابی به مسیرهای متابولیکی فرعی که جبران‌کننده‌ی واکنش مهار شده توسط دارو هستند صورت می‌گیرد که یا به صورت موتاسیون خود به خودی بر روی ژنهای کنترل‌کننده‌ی حساسیت باکتری و یا از طریق انتقال پلاسمید، از یک باکتری به باکتری دیگر منتقل می‌شوند (۶). با توجه به دلایل مختلفی نظیر استفاده‌ی گسترده و بی‌رویه آنتی بیوتیک‌ها توسط انسان، استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ویروسی، کامل نکردن دوره درمانی آنتی بیوتیکی، استفاده از رژیم‌های درمانی تک دارویی به جای چند دارویی، فقدان تست‌های تشخیصی سریع جهت تعیین عوامل عفونت، مقاومت‌های آنتی بیوتیکی به سرعت گسترش یافته است (۷). در صورت عدم کنترل و گسترش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی، یا افزایش گونه‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک و افزایش شکست درمانی در زمینه درمان عفونت با میکروب‌های مقاوم به آنتی بیوتیک روبرو می‌شویم که این امر خود منجر به طولانی شدن دوره‌ی بیماری و به موازات آن افزایش احتمال انتقال بیماری به سایر افراد جامعه، افزایش طول مدت بستری در بیمارستان، افزایش نیاز به داروهای گران‌تر و در عین حال با عوارض بیشتر برای درمان و افزایش خطر مرگ و میر بیمارانی می‌شود. اکسادیازول‌ها از جمله ترکیبات هتروسیکلی هستند که فعالیت‌های ضد باکتریایی آن‌ها در طیف وسیعی از ترکیبات دارویی شناخته شده است (۸). اکسادیازول یک حلقه‌ی پنج عضوی متشکل از یک اتم اکسیژن، دو اتم نیتروژن و دو اتم کربن است که با چهار ساختار ایزومری معرفی می‌شود که این ساختارها شامل ۱،۳،۴-اکسادیازول، ۱،۲،۵-اکسادیازول، ۱،۲،۴-اکسادیازول و ۱،۲،۳-اکسادیازول می‌باشند

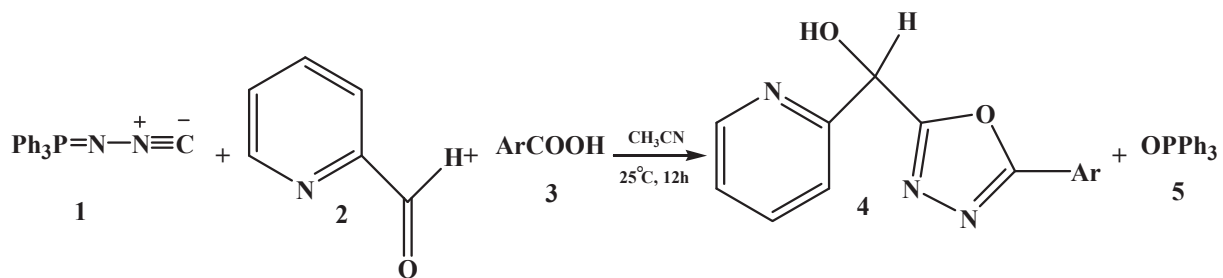
درب پلیت‌ها را برای جلوگیری از آلودگی بستیم باید توجه داشت که محیط کشت به صورت یکنواخت در کف پلیت پخش شود. پس از سفت شدن محیط‌های کشت تا زمان استفاده از آن‌ها در یخچال نگه داری شدند. یک محیط کشت برداشتیم و از هریک از پلیت‌های حاوی کلنی باکتری‌ها که همان کشت ذخیره بود با سواب استریل مقداری کلنی برداشته و به صورت چمنی و یکنواخت بر روی هر پلیت کشت دادیم سپس توسط پیپت پاستور استریل شده ۵ چاهک در محیط کشت مورد نظر ایجاد کردیم و درون چاهک‌ها را با محلول‌های تهیه شده از مشتقات ۱،۳،۴-اکسادیازول، داروهای رفرنس که به عنوان کنترل مثبت از آن‌ها استفاده شد پر کردیم و در انتها درب پلیت‌ها را بسته و به مدت ۲۴ ساعت آن‌ها را در دمای ۳۷ درجه و در داخل انکوباتور قرار دادیم. بعد از گذشت ۲۴ ساعت پلیت‌ها را از نظر تعیین حضور عدم هاله و اندازه‌گیری قطر هاله‌ی عدم رشد مورد بررسی قرار دادیم.

سپس تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از تعیین رقت لوله‌ای انجام شد، برای بررسی اثر ضدباکتریایی مشتقات ۱،۳،۴-اکسادیازولی ابتدا محلولی از هریک از آن‌ها و آنتی بیوتیک‌های موردنظر در حلال دی متیل سولفوکساید تهیه شد. سپس سویه‌های باکتریایی تحت آزمایش در محیط کشت نوترینت براث در لوله‌های آزمایش استریل شده کشت داده شدند. سپس از این لوله‌های کشت داده شده اقدام به تهیه غلظت مناسب به روش کدورت نیم مک فارلند نمودیم سپس رقت‌های متوالی از هریک از مشتقات در محیط کشت نوترینت براث تهیه شد و لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه و در داخل انکوباتور نگهداری شدند. روز بعد لوله‌ها به طور چشمی از نظر کدورت مورد بررسی قرار گرفتند و بالاترین رقتی که باعث مهار رشد باکتری

استفاده از طیف سنجی H-NMR و C-NMR و IR مورد بررسی و تأیید قرار گرفتند. روش کار عمومی سنتز مشتقات ۱،۳،۴-اکسادیازول‌ها به این صورت است که ۱ میلی مول از N-ایزو سیانوایمینوتری فنیل فسفران به ۱۰ میلی لیتر محلول حاوی ۱ میلی مول مشتقات کربوکسیلیک اسید و ۱ میلی مول از ۲-پیریدین کربالدهید در حلال استونیتریل به آرامی در مدت ۵ دقیقه در دمای محیط اضافه کرده، سپس روند پیشرفت واکنش را با TLC کنترل کرده و بعد از ۲۴ ساعت واکنش کامل می‌شود. سپس از طریق پلیت سیلیکاژل و با مخلوط حلال پترولیوم اتر و اتیل استات به نسبت ۱:۵ محصول جداسازی می‌شود (۱۹-۱۸) (شکل ۱).

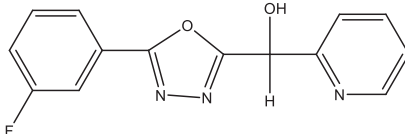
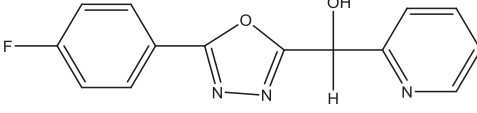
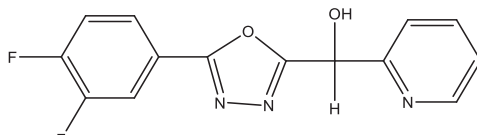
سپس محلول سازی از مواد جدید سنتز شده توسط حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر به منظور بررسی فعالیت ضد باکتریایی انجام شد، همچنین پودر خالص آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و سفتری زوکسیم ساخت شرکت سیگما جهت استفاده به عنوان نمونه‌ی کنترل در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

در مرحله‌ی دوم تعیین فعالیت ضد باکتریایی مشتقات سنتز شده به روش انتشار از چاهک انجام شد، برای تهیه‌ی محیط کشت مولر هیتون آگار به مقداری که نیاز بود از پودر آماده‌ی محیط کشت برداشتیم، وزن کرده و دریک ارلن ریختیم و به آن آب مقطر اضافه کردیم تا حجم آن به اندازه لازم برسد، سپس پودر را کاملاً درون آن حل کرده و سپس درب ارلن را به وسیله‌ی پنبه و فویل بسته و به مدت ۱ ساعت در انکوباتور قرار دادیم که با فشار ۱۵ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی گراد استریل شود، پس از خارج کردن محیط کشت از اتوکلاو و سرد کردن آن درب پلیت‌ها تک تک کنار شعله باز کرده و پس از اضافه کردن محیط کشت به آن‌ها سریعاً



شکل ۱- روش سنتز کلی پیشنهادی ۱، ۳، ۴-اکسادیازول

جدول ۱- مشتقات سنتز شده ۱، ۳، ۴-اکسادیازول‌ها و اطلاعات ساختاری و طیفی آنها

اطلاعات ترکیب	کد ترکیب
<p>۵- (۳-فلورو فنیل)-۱،۳،۴-اکسادیازول -۲- ایل- [پیریدین-۲- ایل]- متانول</p>  <p>White powder, m.p. 125 °C, yield 71% (0.192g).</p> <p>IR (KBr) (<math>\nu_{\max}</math>, <math>\text{Cm}^{-1}</math>): 3435 (br), 3055, 2924, 2855, 1677, 1549, 1463, 1370, 1216, 1180, 1091, 998.</p> <p><math>^1\text{H}</math> NMR (300.13 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta_{\text{H}}</math>= 6.16 (s, CH, aliphatic), 6.54 (s, 1H, OH), 7.31-7.36 (m, 1H, CH Arom), 7.54-7.64 (m, 1H, CH Arom), 7.64-7.67 (m, 1H, CH Arom), 7.94-7.98 (m, 2H, CH Arom), 8.01-8.06 (m, 1H, CH Arom), 8.46 (d, 1H, <math>^3J_{\text{HH}}</math>= 8.1 Hz, CH Arom), 8.92-8.93 (m, 1H, CH Arom).</p> <p><math>^{13}\text{C}</math> NMR (75.467 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta_{\text{C}}</math>= 66.8 (CH-OH), 114.9 (d, 1H, <math>^2J_{\text{CF}}</math>= 24.4 Hz, CH Arom), 120.0 (d, 1CH, <math>^2J_{\text{CF}}</math>= 21.2, Arom), 123.7 (d, 1C, <math>^3J_{\text{FC}}</math>= 3.4, Arom), 125.7, 128.2, 137.3, 150.2 (4 CH Arom), 158.2, 161.7, 166.8 (3C).</p>	4g
<p>۵- (۴-فلورو فنیل)-۱،۳،۴-اکسادیازول -۲- ایل- [پیریدین-۲- ایل]- متانول</p>  <p>White powder, m.p. 128 °C, yield 77% (0.22g).</p> <p>IR (KBr) (<math>\nu_{\max}</math>, <math>\text{Cm}^{-1}</math>): 3406, 3057, 2928, 1677, 1607, 1491, 1438, 1185, 1115, 716.</p> <p><math>^1\text{H}</math> NMR (300.13 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta_{\text{H}}</math>= 6.23 (s, CH, Aliphatic), 6.61 (s, 1H, OH), 7.47-7.48 (m, 2H, CH Arom), 7.64-7.71 (m, 2H, CH Arom), 7.53-7.55 (m, 1H, CH Arom), 7.99-8.04 (m, 1H, CH Arom), 8.42-8.45 (d, 1H, <math>^3J_{\text{HH}}</math>= 7.5 Hz, CH Arom), 8.89-8.91 (m, 1H, CH Arom).</p> <p><math>^{13}\text{C}</math> NMR (75.467 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta_{\text{C}}</math>= 67.01 (CH-OH), 115.50 (2CH, d, <math>^2J_{\text{CF}}</math>= 22.08 Hz, CH Arom), 132.04 (2CH, d, <math>^3J_{\text{CF}}</math>= 9.032 Hz, CH Arom), 162.38 and 167.37 (1C, d, <math>^1J_{\text{CF}}</math>= 250.39 Hz, C Arom), 127.40 (1C Arom), 125.66, 128.19, 137.21, 150.24 (4 CH Arom), 158.23, 161.70, 166.81 (3C).</p>	4h
<p>۵- (۳،۴-دی فلورو فنیل)-۱،۳،۴-اکسادیازول -۲- ایل- [پیریدین-۲- ایل]- متانول</p>  <p>White powder, m.p. 140 °C, yield 77% (0.22g).</p> <p>IR (KBr) (<math>\nu_{\max}</math>, <math>\text{Cm}^{-1}</math>): 3412, 3062, 2926, 1683, 1601, 1486, 1431, 1185, 1112, 718.</p> <p><math>^1\text{H}</math> NMR (300.13 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta_{\text{H}}</math>= 6.20 (s, CH, Aliphatic), 6.61 (s, 1H, OH), 7.46-7.54 (m, 2H, Arom), 7.64-7.71 (m, 1H, Arom), 7.96-8.01 (m, 1H, Arom), 8.21-8.25 (m, 1H, Arom), 8.44-8.46 (m, 1H, Arom), 8.87-8.91 (m, 1H, Arom).</p> <p><math>^{13}\text{C}</math> NMR (75.467 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta_{\text{C}}</math>= 66.82 (CH-OH), 116.70 (1CH, d, <math>^3J_{\text{CF}}</math>= 22.64 Hz, CH Arom), 119.24-120.06 (1CH, d of d, <math>^3J_{\text{CF}}</math>= 2.013 Hz, <math>^2J_{\text{CF}}</math>= 16.86 Hz, CH Arom), 126.13-126.50 (1CH, d of d, <math>^4J_{\text{CF}}</math>= 2.26 Hz, <math>^3J_{\text{CF}}</math>= 3.522 Hz, CH Arom), 127.42 (1CH, q, <math>J_{\text{CF}}</math>= 3.77 Hz, CH Arom), 149.01-149.52 and 154.99-155.50 (1CF, d of d, <math>^2J_{\text{CF}}</math>= 12.83 Hz, <math>^1J_{\text{CF}}</math>= 257.89 Hz), 145.03-145.55 and 154.99-155.50 (1CF, d of d, <math>^2J_{\text{CF}}</math>= 12.83 Hz, <math>^1J_{\text{CF}}</math>= 257.89 Hz, CF Arom), 124.72, 128.20, 137.31, 150.22 (4CH, Arom), 158.33, 161.82, 166.81 (3C).</p>	4i

هر دو باکتری مورد آزمایش بخوبی عمل نموده و تاثیر قابل توجهی در مقایسه با نمونه‌های کنترل مثبت داشته است. نتایج مربوط به اندازه‌های هاله‌های عدم رشد و حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) در جدول ۲ ذکر گردیده‌اند و نمودار مقایسه‌ای هاله‌های عدم رشد نیز در نمودار ۱ ذکر گردیده، همچنین تصاویر پلیت‌ها در اشکال ۲ و ۳ نشان داده شده‌اند.

(عدم ایجاد کدورت) شده بود به عنوان حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) در نظر گرفته شد. همچنین ۵ میکرولیتر از هر یک از لوله‌های فاقد کدورت بر روی محیط کشت جامد (مولر هیتون آگار) کشت داده شد و بالاترین رقتی که از تشکیل کلنی بر روی محیط کشت جامد جلوگیری نمود به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) در نظر گرفته شد.

### بحث و نتیجه‌گیری

شیوع جهانی بیماری‌های حاصل از باکتری‌های گرم منفی و شدت بیماری‌زایی آنها و توجه به این نکته که آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم شدت بیماری‌زایی آنها را افزایش می‌دهند، اهمیت پیشگیری را برجسته

### یافته‌ها

بر اساس یافته‌های حاصل از روش انتشار ماده ضد میکروبی از چاهک و بررسی هاله‌های عدم رشد و همچنین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) ترکیبات، مشخص گردید که ترکیب ۴i بر روی

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) و حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ترکیبات مورد آزمایش بر روی هر یک از باکتری‌های تحت آزمایش (در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر)

اشریشیا کلی PTCC۱۵۵۲			سالمونلا انتریکا PTCC۱۷۸۷			باکتری
MBC	MIC	قطر هاله عدم رشد	MBC	MIC	قطر هاله عدم رشد	ترکیب
-	NA	۸	-	NA	۸	۴g
-	NA	۸	-	NA	۹	۴h
۱۰۰۰	۵۰۰	۲۴	۲۵۰	۲۵۰	۲۲	۴i
۳۱/۲۵	۶۲/۵	۳۶	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۳۶	سیپروفلوکساسین
۳۱/۲۵	۶۲/۵	۳۴	۱۲۵	۲۵۰	۳۸	سفتی زوکسیم

۴g: ۵- (۳-فلورو فنیل) -۱، ۳، ۴-اکسادیازول -۲-ایل] - [پیریدین -۲-ایل] - متانول

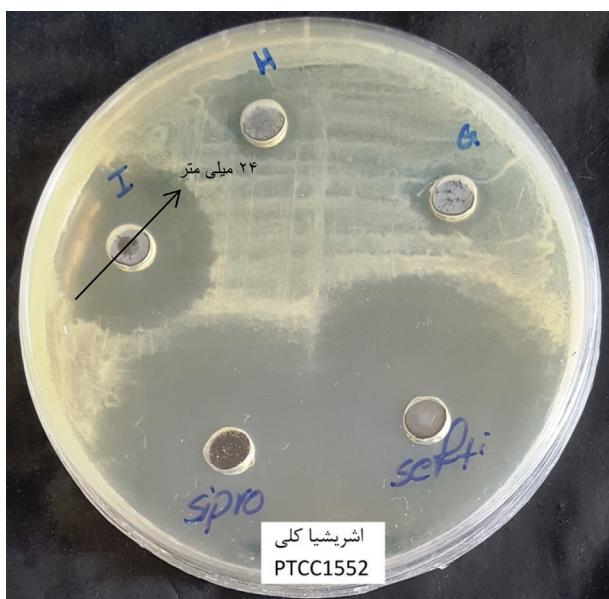
۴h: ۵- (۴-فلورو فنیل) -۱، ۳، ۴-اکسادیازول -۲-ایل] - [پیریدین -۲-ایل] - متانول

۴i: ۵- (۳، ۴-دی فلورو فنیل) -۱، ۳، ۴-اکسادیازول -۲-ایل] - [پیریدین -۲-ایل] - متانول

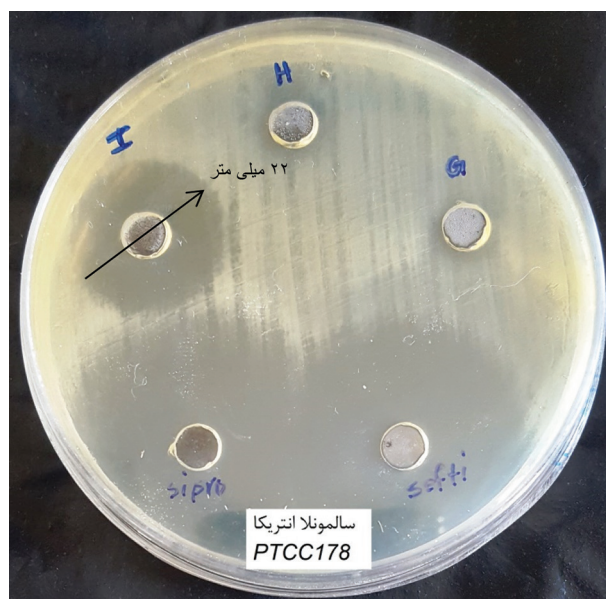
### هاله عدم رشد بر حسب میلی متر



نمودار ۱- نمودار مقایسه‌ای هاله‌های عدم رشد نمونه‌ها و ترکیبات سنتز شده جدید



شکل ۳- آزمایش انتشار از چاهک ترکیبات مورد آزمایش بر روی باکتری اشرشیا کلی در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر



شکل ۲- آزمایش انتشار از چاهک ترکیبات مورد آزمایش بر روی باکتری سالمونلا انتریکا در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر

اورئوس و اشرشیا کلی فعالیت نشان دادند (۲۳). Ningaiah و همکاران در سال ۲۰۱۴ سری جدید از ۲- (۵- متیل-۱-۳-دی فنیل - H<sub>1</sub>- پیرازول -۴- ایل) -۵- فنیل -۱، ۳، ۴-اکسادیازول‌های a-mv به‌وسیله حلقوی شدن N' - بنزیل - ۵ - متیل - ۱ و ۳ دی فنیل - H<sub>1</sub>- پیرازول -۴- کربوئیدرازید، با استفاده از POCL<sub>3</sub> در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و یا حلقوی شدن اکسیداتیوئیدرازون‌ها را ساختند که مشتق از آریل آلدئید و (N') - بنزیلیدین - ۵ - متیل - ۱ و ۳- دی فنیل - H<sub>1</sub>- پیرازول -۴- کربوئیدرازیدهای ۵a-d با استفاده از کلروآمین T به‌عنوان اکسیدکننده ساخته شدند (۱۷). از بین ترکیبات سنتز شده مشتق ۳، ۴-دی فلورو فنیل -۱، ۳، ۴-اکسادیازول -۲- ایل - پیریدین -۲- ایل - متانول (۴i) دارای بیشترین قطر هاله‌ی عدم رشد به ترتیب با ۲۲ میلی متر برای سالمونلا انتریکا و ۲۴ میلی متر برای اشرشیا کلی در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بین هر سه ترکیب داشت، این ترکیب در مقایسه با داروهای سیپروفلوکساسین و سفتری زوکسیم عملکرد نزدیکی از خود نشان داد. برای اولین بار در سال ۱۹۹۵ ترکیبات ۱، ۳، ۴-اکسادیازول‌ها سنتز شدند. این گروه جدید آنتی بیوتیک با باکتری‌های مقاوم در مقابل متیسیلین و دیگر باکتری‌های مقاوم در مقابل داروها که تهدیدکننده‌ی سلامت عمومی هستند، مبارزه می‌کند (۲۴). همچنین در تحقیقی که توسط Rapolu و همکاران در سال

می‌سازد (۲۰). آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شامل: پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، مونوباکتام‌ها و کارباپنم‌ها از جمله پرمصرف‌ترین داروهای ضدباکتریایی می‌باشند. این در حالی است که امروزه، بسیاری از سویه‌های باکتریایی در نتیجه‌ی جهش‌های ژنتیکی و یا به واسطه تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز، در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند (۲۱). بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs)، گروهی از آنزیم‌های بتالاکتاماز هستند که سبب مقاومت باکتری‌ها در برابر پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها (به ویژه سفالوسپورین‌های نسل سوم) و نیز مونوباکتام‌ها می‌گردند. چنین سویه‌هایی اغلب نسبت به کارباپنم‌ها نظیر ایمپنم و مروپنم حساس هستند که با مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز موارد مقاومت دارویی نسبت به آنها به تدریج در حال افزایش است. در میان باکتری‌های گرم منفی، اعضاء جنس‌های اشرشیا، کلبسیلا، پروتئوس، انتروباکتر، سراشیا، سیتروباکتر، سالمونلا، سودوموناس، بورخولدريا و آسیتوباکتر، از جمله مهم‌ترین باکتری‌هایی هستند که قادر به تولید این نوع بتالاکتامازها می‌باشند (۲۲)، Ravindra و همکاران در سال ۲۰۰۶ وجود فعالیت ضد باکتریایی و ضد التهابی ۱، ۳، ۴-اکسادیازول‌ها را که به نفتول [۲و ۱-b] فوران مرتبط بود، گزارش کردند. در میان ترکیباتی که جهت فعالیت ضد باکتریایی بررسی شده بودند ترکیباتی که دارای R = P-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> بودند، بر علیه استافیلوکوکوس



دیگر به این قسمت پیشنهاد می‌شود. لازم به ذکر است که حداقل غلظت مهاری ترکیبات در دامنه ۲۰ تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری‌ها بودند. با توجه به اثر مطلوب خاصیت ضد باکتریایی ترکیب ۵-۳-۴- دی فلورو فنیل-۱،۳،۴-اکسادیازول-۲- ایل- پیریدین-۲- ایل- متانول بر روی سالمونلا انتریکا و اشریشیا کلی، با نتایج حاصل می‌توان ترکیب مذکور را به عنوان یک دارو در درمان بیماری‌های ناشی از اثر این باکتری‌ها استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از مسئولین محترم آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### References

- Lee S, Eom MS, Han MS. Multi-screening of  $\beta$ -lactam antibiotics for  $\beta$ -lactamase resistance by means of a paper-based analytical device with a 4-(2-pyridylazo) resorcinol (PAR)-Hg<sup>2+</sup> complex. *Analytical methods*. 2019; 11(13):1729-34.
- Tian J, Xiao C, Huang B, Jiang X, Cao H, Liu F, Zhang W. Combating multidrug resistance through an NIR-triggered cyanine-containing amphiphilic block copolymer. *ACS Applied Bio Materials*. 2019 Apr 12;2(5):1862-74.
- Chatzopoulou M, Reynolds L. Role of antimicrobial restrictions in bacterial resistance control: a systematic literature review. *Journal of Hospital Infection*. 2020 Feb 1; 104(2):125-36.
- Heianza Y, Zheng Y, Ma W, Rimm EB, Albert CM, Hu FB, Rexrode KM, Manson JE, Qi L. Duration and life-stage of antibiotic use and risk of cardiovascular events in women. *European Heart Journal*. 2019 Dec 14;40(47):3838-45.
- Ayaz M, Ullah F, Sadiq A, Ullah F, Ovais M, Ahmed J, Devkota HP. Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. *Chemico-biological interactions*. 2019 Aug 1; 308:294-303.
- Martens E Demain AL. The antibiotic resistance crisis, with a focus on the United States. *The Journal of antibiotics*. 2017 May; 70(5):520.
- Rather IA, Kim BC, Bajpai VK, Park YH. Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. *Saudi journal of biological sciences*. 2017 May 1; 24(4):808-12.
- Arunkumar S, Ilango K, Manikandan RS, Sudha M, Ramalakshmi N. Synthesis, Characterisation and Biological Evaluation of some novel 2, 5-Disubstituted-1, 3, 4-oxadiazole derivatives of Gallic acid. *International Journal of Chem Tech*. 2009;1:1094-9.
- Morjan RY, Mkadmh AM, Beadham I, Elmanama AA, Mattar MR, Raftery J, Pritchard RG, Awadallah AM, Gardiner JM. Antibacterial activities of novel nicotinic acid hydrazides and their conversion into N-acetyl-1, 3, 4-oxadiazoles. *Bioorganic & medicinal Chemistry letters*. 2014 Dec 15;24(24):5796-800.
- Hedrick JL, Twieg R. Poly (aryl ether oxadiazoles). *Macromolecules*. 1992 Mar;25(7):2021-5.
- Jubie S, Ramesh PN, Dhanabal P, Kalirajan R, Muruganatham N, Antony AS. Synthesis, antidepressant and antimicrobial activities of some novel stearic acid analogues. *European journal of medicinal chemistry*. 2012 Aug 1;54:931-5.
- Yu Q, Yin P, Zhang J, He C, Imler GH, Parrish DA, Shreeve JN. Pushing the limits of oxygen balance in 1, 3, 4-oxadiazoles. *Journal of the American Chemical Society*. 2017 Jul 5;139(26):8816-9.
- Othman AA, Kihel M, Amara S. 1, 3, 4-Oxadiazole, 1, 3, 4-thiadiazole and 1, 2, 4-triazole derivatives as potential antibacterial agents. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019 Nov 1;12(7):1660-75.
- Rapolu S, Alla M, Bommenna VR, Murthy R, Jain N, Bommareddy VR, Bommineni MR. Synthesis and biological screening of 5-(alkyl (1H-indol-3-yl))-2-(substituted)-1, 3, 4-oxadiazoles as antiproliferative and anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013 Aug 1;66:91-100.

۲۰۱۳ انجام شد، یک سری از ۵ (آلکیل (H<sub>1</sub>- ایندول - ۳ - ایل) - ۲- (ترکیب جایگزین شده) - ۱، ۳، ۴-اکسادیازول‌ها به طور موثر به وسیله‌ی حلقوی شدن اکسیداتیو ئیدرازیدهای N- بنزیلیدین - (H<sub>1</sub>- ایندول - ۳ - ایل) آلکان با استفاده از دی (استوکسی) یدوبنزن را ساختند. ئیدرازیدهای N- بنزیلیدین - (H<sub>1</sub>- ایندول - ۳ - ایل) آلکان خود از اسیدهای ایندول - ۳ - کریوکسیلیک ساده مشتق می‌شوند. بر اساس نتایج به دست آمده بهترین فعالیت را علیه رده سلول‌های سرطان انسانی و نیز التهاب ورم موش صحرایی را نشان دادند (۲۵). گمان می‌رود که گروه عاملی دی-فلوروفنیل متصل به موقعیت ۳، ۴ با فعالیت ضد میکروبی خود باعث ایجاد خاصیت ضد باکتریایی بر علیه باکتری‌های مذکور شده است، در ادامه و برای قویتر شدن خاصیت ضد باکتریایی افزودن گروه‌های عاملی



- 15- Solet SM, Sharma NK, Bhadauria RS. Biological Evaluation of Novel Synthesized 2, 5-disubstituted-1, 3, 4-oxadiazole derivatives. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2019 Aug 30;9(4-A):573-6.
- 16- Shah VR, Vadodaria M, Parikh AR. Synthesis of 1, 3, 4-Oxadiazoles Having Nicotinamide Moiety as Potential Antimicrobial Agents. *ChemInform*. 1997 Sep 30;28(40):no-.
- 17- Ningaiah S, Bhadraiah UK, Doddaramappa SD, Keshavamurthy S, Javarasetty C. Novel pyrazole integrated 1, 3, 4-oxadiazoles: Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2014 Jan 1;24(1):245-8.
- 18- Mahajan P, Nikam M, Chate A, Nimbalkar U, Patil V, Bobade A, Chaudhari A, Deolankar D, Javale B, Gill C. Synthesis, antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial screening of newer thiophene-fused arylpyrazolyl 1, 3, 4-oxadiazoles. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements. 2015 Nov 2;190(11):1803-13.
- 19- Khalilullah H, J Ahsan M, Hedaitullah M, Khan S, Ahmed B. 1, 3, 4-oxadiazole: a biologically active scaffold. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2012 Jul 1;12(8):789-801.
- 20- Folgari L, Bielicki J, Heath PT, Sharland M. Antimicrobial-resistant Gram-negative infections in neonates: burden of disease and challenges in treatment. *Current opinion in infectious diseases*. 2017 Jun 1;30(3):281-8.
- 21- Rizk NA, Kanafani ZA, Tabaja HZ, Kanj SS. Extended infusion of beta-lactam antibiotics: optimizing therapy in critically-ill patients in the era of antimicrobial resistance. *Expert review of anti-infective therapy*. 2017 Jul 3;15(7):645-52.
- 22- Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*. 2001 Oct 1;14(4):933-51.
- 23- Ravindra KC, Vagdevi HM, Vaidya VP, Padmashali B. Synthesis, antimicrobial and antiinflammatory activities of 1, 3, 4-oxadiazoles linked to naphtho [2, 1-b] furan.
- 24- Alipour E, Mousavi Z, Safaei Z, Pordeli M, Safavi M, Firoozpour L, Mohammadhosseini N, Saeedi M, Ardestani SK, Shafiee A, Foroumadi A. Synthesis and cytotoxic evaluation of some new [1, 3] dioxolo [4, 5-g] chromen-8-one derivatives. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014 Dec;22(1):41.
- 25- Rapolu S, Alla M, Bommenna VR, Murthy R, Jain N, Bommareddy VR, Bommineni MR. Synthesis and biological screening of 5-(alkyl (1H-indol-3-yl))-2-(substituted)-1, 3, 4-oxadiazoles as antiproliferative and anti-inflammatory agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2013 Aug 1;66:91-100.