JARC

تهیه موثر و سبز فراورده‌های افزایشی پیروگالل–نین‌هیدرین در محیط مایع یونی و بررسی اثر ضدباکتریایی و هم‌افزایی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا

شیوا خلیل‌مقدم[۱و*]، اشرف‌سادات شاه‌ولایتی[۲و*]، آتوسا علی‌احمدی[۳]

۱. استادیار بیوشیمی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره)، شهرری، تهران، ایران
۲. دانشیارشیمی آلی، باشگاه پژوهشگران جوان ونخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره)، شهرری، تهران، ایران
۳. استادیار میکروبیولوژی، گروه بیولوژی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

دریافت: بهمن ۱۳۹۷، بازنگری: مرداد ۱۳۹۸، پذیرش: مهر ۱۳۹۸

چکیده: مقاومت باکتری‌ها به پادزیست یکی از بزرگترین چالش‌هایی است که سلامت انسان را تهدید می‌کند. برای معرفی ترکیب‌های جدید آلی با اثر ضدباکتری، دو مشتق از خانواده ایندنوبنزوفوران از واکنش تراکمی نین‌هیدرین با پیروگالل با نسبت‌های متفاوت در محیط مایع یونی به‌عنوان حلال سبز تهیه و اثر آن‌ها در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا جداشده از بیماران بستری در بیمارستان طالقانی بررسی شد. برای تعیین کمترین غلظت بازدارندگی رشد باکتری (MIC) از روش رقت‌سازی محیط مایع در حجم کم، استفاده و کلرامفنیکل به‌عنوان پادزیست استاندارد درنظرگرفته شد. مقایسه نتایج دو نمونه سنتتیک نشان داد که فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین در مقابل باکتری‌های یادشده (MIC: 100 µg/ml) در مقایسه با فراورده افزایشی ۲:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین (MIC:200 µg/ml) (اثر ضدباکتریایی بهتری دارد. مطالعه اثر هم‌افزایی ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از فراورده افزایشی ۲:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین و یا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین به همراه سری رقتی از کلرامفنیکل، نشان داد که غلظت مهارکننده رشد کلرامفنیکل تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: فراورده افزایشی پیروگالل–نین‌هیدرین، هم افزایی، کلرامفنیکل، اثر ضد باکتریایی

مقدمه

پادزیست[۱]ها، فراورده‌های دگرگشت[۲] دومی و شامل یک گروه وسیع از ترکیب‌های شیمیایی تولیدشده بر عوامل عفونی هستند. این ترکیب‌ها در غلظت‌های کم بر ریزاندامگان فعالیت ضدمیکروبی دارند [۱]. مصرف بی‌رویه پادزیست‌ها با گذشت زمان موجب افزایش مقاومت و کاهش مقدار حساسیت باکتری‌ها به این

1. Antibiotic 2. Metabolism

*عهده‌دار مکاتبات: a_shahvelayati@iausr.ac.ir

ترکیب‌ها شد. امروزه مقاومت پادزیستی ریزاندامگان بیماری‌زا، به یکی از جدی‌ترین معضلات بهداشت جهانی تبدیل شده است [۲]. دراین بین می‌توان از ریزاندامگان استافیلوکوکوس اورئوس[1]، اشرشیاکلی[2] و سودوموناس آئروژینوزا[3] یاد کرد. استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی و یکی از عوامل اصلی مرگ و میر بر اثر این عفونت‌ها شناخته شده است [۳ و ۴]. این باکتری در ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها مانند عفونت‌های پوستی و مسمومیت غذایی نقش دارد [۵]. اشرشیاکلی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده انتروباکتریاسه[4]، از عوامل شایع ایجادکننده عفونت‌های ادراری است [۶]. سودوموناس آئروژینوزا سومین عامل عفونت‌های بیمارستانی پس از استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی است [۷]. عفونت‌های سودوموناسی بیشتر در سوختگی‌ها، عفونت‌های ادراری و بیماری‌های ریوی مانند سیستیک فیبروزیس گزارش شده‌اند [۸]. افزایش روز افزون عفونت‌های بیمارستانی از یک طرف [۹] و افزایش سویه‌های مقاوم به پادزیست باکتری‌های یادشده از طرف دیگر، اهمیت پژوهش بر این باکتری‌ها را نشان می‌دهد.

مولکول نین‌هیدرین از سری ترکیب‌های ۱،۲،۳-تری‌کربونیل است که کربن کربونیل مرکزی بسیار الکترون‌دوست‌تر از کتن‌های ساده است و به‌آسانی با هسته‌دوست‌ها واکنش می‌دهد. با توجه به وجود چندین مرکز فعال در نین‌هیدرین واکنش‌های جالبی از آن قابل طراحی است. از جمله واکنش نین‌هیدرین با پلی‌فنل‌ها مانند پیروگالل، اورسینول و یا گالیک اسید که می‌تواند منجر به فراورده‌های تک-افزایشی[5] و دو-افزایشی[6] با ساختار بنزوفوران شود. این فراورده‌ها ویژگی‌های جالبی همانند شناساگرهای اسید و باز در محیط‌های با pH متفاوت و نقش گیرنده مصنوعی برای جذب مولکول‌ها و یون‌های مهمان دارند [۱۰ و ۱۱]. ترکیب‌های بنزوفورانی زیادی با ویژگی ضدباکتریایی [۱۲]، ضدقارچی [۱۳]، ضدالتهابی [۱۴] و کاهش‌دهنده قند خون [۱۵] گزارش شده‌اند. در پژوهش اخیر، ترکیب‌های بنزوفوران از واکنش نین‌هیدرین با پیروگالل در شرایط آسان در محیط مایع یونی به‌عنوان حلال سبز تهیه شد و تاثیرهای ضدباکتریایی آن‌ها بررسی شد.

در سال‌های اخیر، مایع‌های یونی به‌علت ویژگی بی‌همتایشان مانند قطبیت بالا، پایداری گرمایی، قابلیت امتزاج با ترکیب‌های آلی و آب، اشتعال‌ناپذیری و قابلیت استفاده دوباره بسیار موردتوجه قرار گرفته‌اند [۱۶]. این ترکیب‌ها نمک‌هایی با نقطه ذوب پایین هستند که از یون‌های مثبت و منفی حجیم و نامتقارن تشکیل شده‌اند و توانای حل‌کردن هر دو مواد قطبی و غیرقطبی را دارند. استفاده از مایع‌های یونی به‌عنوان حلال برپایه با اصول شیمی سبز است و پژوهش‌های زیادی دراین راستا به چاپ رسیده است [۱۷ تا ۱۹].

در این پژوهش، تاثیر ضدباکتریایی مشتق‌های ایندنوبنزوفوران تهیه‌شده (فراوردهای تک-افزایشی و دو-افزایشی پیروگالل-نین‌هیدرین) بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به پادزیست بررسی شد. همچنین، برهم‌کنش‌های ضدمیکروبی مشتق‌های جدید تهیه‌شده با پادزیست کلرامفنیکل[7] بر باکتری‌های یادشده به یکی از حالت‌های هم‌افزایی، عدم تاثیر یا کاهش، مورد بررسی قرار گرفت. هدف نهایی از انجام این پژوهش‌ها به‌کارگیری مواد تهیه‌شده جدید در صنعت داروسازی است.

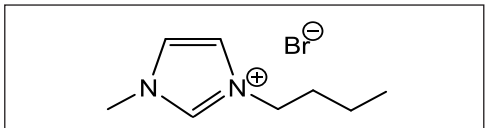
بخش تجربی

مواد شیمیایی و دستگاه‌ها

مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش از شرکت‌های مرک، فلوکا و آلدریچ خریداری شده و بدون خالص‌سازی دوباره مورداستفاده قرار گرفته‌اند. مایع یونی مورداستفاده در واکنش‌ها ترکیب ۱-بوتیل-۳-متیل ایمیدازولیم برمید بود (شکل۱) که از واکنش ۱-متیل ایمیدازول و بوتیل برمید تهیه شده بود [۲۰]. طیف‌های FTIR با طیف‌سنج BrukerTensor-27 و طیف‌های ^{1}H NMR و ^{13}C به‌ترتیب با دستگاه‌های FT-NMR BRUKER DRX-500 AVANCE

1. Staphylococcus aureus 2. Escherichia coli 3. Pseudomonas aeruginosa 4. Enterobacteriaceae 5. Mono-adduct product
6. Bis-adduct product 7. Chloramphenicol

با فرکانس 500MHz در $CDCl_3$ و BRUKER DRX-300 با فرکانس 300MHz در $CDCl_3$ ثبت شدند. چرخش ویژه مایع‌های یونی دستوار[1] با دستگاه قطبش‌سنج[2] مدل Atago, AP-300 اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری نقاط ذوب از دستگاه Electrothermal 9100 استفاده شده است.



۱-بوتیل-۳-متیل ایمیدازولیم برومید ([bmim]Br)

شکل ۱ ساختار مایع یونی

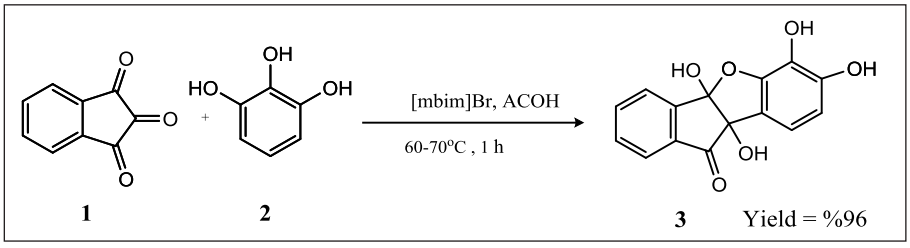
روش عمومی تهیه فراورده تک-افزایشی پیروگالل-نین‌هیدرین (۳)

نین‌هیدرین (۱۷۸ میلی‌گرم، ۱ میلی‌مول) و پیروگالل (۱۲۶ میلی‌گرم، ۱ میلی‌مول) و مایع یونی ۱-بوتیل-۳-متیل ایمیدازولیم برمید (۱میلی‌لیتر) در ظرف واکنش قرار داده شد. سپس، به آن استیک اسید گلاسیال (۶ میلی گرم، ۰/۱ میلی مول) تحت دمای ۶۰ تا ۷۰ °C با همزن مغناطیسی به مدت ۱ ساعت هم‌زده شد. در هنگام انجام واکنش، پیشرفت واکنش با سوانگاری لایه نازک (TLC) کنترل شد. سوانگاشت[3] به‌دست آمده از TLC پیشرفت واکنش را تأیید کرد. پس از اتمام واکنش و افزایش ۵ میلی‌لیتر آب مقطر، رسوب را صاف و با آب شستشو داده شد. سپس، برای خالص‌سازی بیشتر با مخلوط حلالی اتانل/ اتیل استات/ هگزان نوبلور شد. جرم مولکولی فراورده ۲۸۶ گرم بر مول و نقطه ذوب آن در گستره ۲۶۵ تا ۲۶۶ °C بود. بازده واکنش ۹۶ ٪ به‌دست آمد (شکل ۲).

4b,6,7,9b-Tetrahydroxy-4bH-indeno[1,2-b] benzofuran-10(9bH)-one (3): Colorless crystals; m.p.: 265-266 °C; yield: 0.27g (96%); FTIR (KBr): 3387, 3324, 3200, 1713, 1635, 1603, 1225, 1138 cm^{-1}; 1H NMR (DMSO): δ = 6.31 (1 H, d, ^3J 8.1, CH), 6.35 (1 H, br-s, OH-alcoholic), 6.62 (1 H, d, ^3J 8.1, CH), 7.57 (1 H, t, ^3J 7.5, CH), 7.89 (1 H, d, ^3J 7.5, CH), 7.79 (1H, br-s, OH-alcoholic), 7.82 (1 H, t, ^3J 7.5, CH), 7.89 (1 H, d, ^3J 7.5, CH), 8.53 (1H, br-s, OH-phenolic), 9.12 (1H, br-s, OH-phenolic) ppm.; ^{13}C NMR (DMSO): δ 83.4 (C-OH), 105.5 (C-OH), 110.2 (CH), 112.6 (CH), 119.3 (C), 123.8 (CH), 126.2 (CH), 128.2 (CH), 128.9 (CH), 132.5 (C), 139.6 (C), 160.3 (C_{arom}-O), 164.2 (C_{arom}-OH), 169.8 (C_{arom}-OH), 199.8 (C=O) ppm; EI-MS: m/z (%) = 286 (M^+, 76), 268 (21), 184 (22), 153 (95), 126 (43), 104 (100), 76 (78); Anal. Cal. for $C_{15}H_{10}O_6$ (286.0): C (62.94), H (3.52); Found: C (62.22), H (3.85

روش عمومی تهیه فراورده دو-افزایشی پیروگالل-نین‌هیدرین (۴)

نین‌هیدرین (۳۵۶ میلی‌گرم، ۲ میلی‌مول) و پیروگالل (۱۲۶ میلی‌گرم، ۱ میلی‌مول) و مایع یونی ۱-بوتیل-۳-متیل‌ایمیدازولیم



شکل۲ طرحواره تهیه فراورده تک-افزایشی پیروگالل-نین‌هیدرین (۳) در مایع یونی

1. Chiral 2. Polarimeter 3. Chromatogram

برمید (۱میلی‌لیتر) در ظرف واکنش قرار داده شد. سپس، به آن استیک اسید گلاسیال (۶ میلی‌گرم، ۰٫۱ میلی‌مول) تحت دمای ۱۰۰ تا ۱۱۰°C با همزن مغناطیسی به مدت ۲ ساعت هم‌زده شد. در هنگام انجام واکنش، پیشرفت واکنش با سوانگاری لایه نازک (TLC) کنترل شد. سوانگاشت به‌دست آمده از TLC پیشرفت واکنش را تأیید کرد. پس از پایان واکنش و افزایش ۵ میلی‌لیتر آب مقطر، رسوب به‌دست آمده را صاف و با آب شسته شد. سپس، برای خالص‌سازی بیشتر با مخلوط حلالی اتانل/ اتیل استات نوبلور شد. جرم مولکولی فراورده ۴۴۶ گرم بر مول و گستره نقطه ذوب ۲۳۲ تا ۲۳۳ °C است. بازده واکنش ۹۰ ٪ به‌دست آمد (شکل۳).

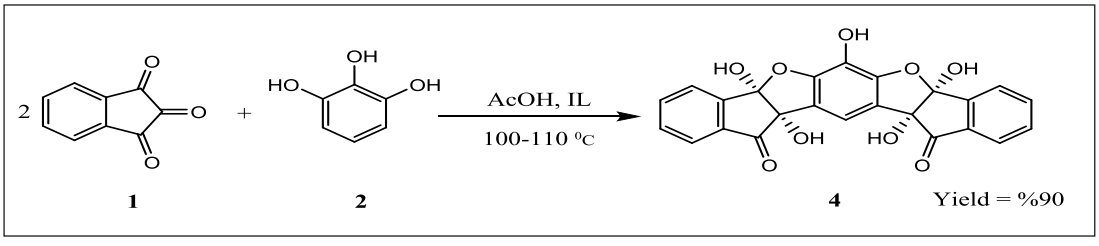
6,12a,13b,4b,7a-Pentahydroxy-12a,13b,4b,7a-tetrahydroindano[1,2-b]indano[2'',1''-5',4']:(furano[2',3'-5,4 benzo[d] furan-12,14-dione (4
Colorless crystals; m.p.: 231-233°C; yield: 0.40 g (90%); FTIR (KBr): 3431, 3330, 3071, 1726, 1605, 1499, 1233, 1108 cm^{-1}; ^1H NMR (DMSO): δ = 6.90 (1 H, s, CH), 6.32-6.35 (2 H, br-s, 2 OH-alcoholic), 7.55-7.57 (2 H, m, 2 CH), 7.87-7.89 (2 H, m, 2 CH), 7.77-7.79 (2 H, br-s, 2 OH-alcoholic), 7.82 (2 H, m, 2 CH), 7.89-8.02 (2 H, m, 2 CH), 8.73 (1H, br-s, OH-phenolic) ppm; ^{13}C NMR (DMSO): δ 80.2 (2 C-OH), 102.6 (2 C-OH), 108.2 ($CH_{p\text{-}arom}$), 119.2 (2 $C_{m\text{-}arom}$), 123.8 (2 CH), 127.1 (2 CH), 128.8 (2 CH), 129.3 (2 CH), 133.5 (2 C), 139.6 (2 C), 163.2 (2 C_{arom}-O), 168.3 (C_{arom}-OH), 197.9 (2 C=O) ppm; Anal. Cal. for $C_{24}H_{14}O_9$ (446.3): C (64.58), H (3.16); Found: C, (65.02), H (3.25

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی باکتریایی (MIC)[1]

این بخش از پژوهش، برپایه استانداردهای ارایه‌شده توسط CLSI[2] انجام شد [۲۰]. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی باکتریایی نمونه‌های مورد بررسی، سری رقتی از هر نمونه در مولر هینتون براث[3] تهیه شد (از ۰٫۴ تا ۱۰۰۰ µg/ml با حجم نهایی ۱۰۰ µl). تعلیقه‌ای از کشت تازه (۱۸ تا ۲۰ ساعته) باکتری در نرمال سالین تهیه و کدورت آن با لوله نیم مک‌فارلند تنظیم شد. این تعلیقه به نسبت۱:۱۰۰ با مولر هینتون براث رقیق و سپس، ۱۰۰ µl از آن به هر چاهک افزوده شد. پس از گرماگذاری، چاهک‌ها از لحاظ داشتن کدورت بررسی شد و کم‌ترین غلظت بازدارندگی رشد باکتری، تعیین و برپایه µg/ml ثبت شد. همه آزمایش‌های تعیین MIC سه بار تکرار شد (جدول۱). برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی باکتریایی ترکیب‌های تهیه‌شده، باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923)، اشرشیاکلی (ATCC25922) و سودوموناس آئروژینوزا (ایزوله بالینی) به‌کارگرفته شد.

نتیجه‌ها و بحث

در این پژوهش، دو مشتق از خانواده بنزوفوران از واکنش افزایشی



شکل۳ طرح‌واره تهیه فراورده دو-افزایشی پیروگالل-نین‌هیدرین (۴) در مایع یونی

1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) 2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 3. Mueller Hinton Broth

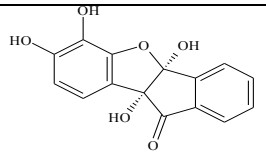
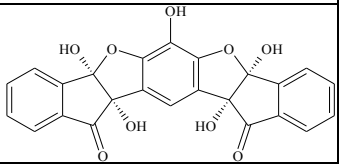
نین‌هیدرین با پیروگالل در محیط مایع یونی در نسبت‌های مولی متفاوت تشکیل شد (جدول ۳). در پژوهش‌های پیش، ساخت این سری ترکیب‌ها در استیک اسید گلاسیال به‌عنوان حلال گزارش شده بود [۱۱] که به‌علت سمیت و زمان زیاد واکنش، مایع یونی جایگزین آن شد. به‌کارگیری مایع یونی در حضور مقدار کاتالتیکی اسید افزون بر افزایش بهره واکنش، موجب کاهش زمان واکنش و سهولت جداسازی فراورده شد.

ساختار ترکیب ۳، با طیف‌سنجی‌های جرمی ^{1}HNMR، ^{13}CNMR، و FTIR مورد تایید قرار گرفت. در طیف ^{1}H-NMR ترکیب ۳، پیک‌های مربوط به OH الکلی در δ برابر با ۶٫۳۵ و ۷٫۷۹ ppm و OH فنلی در ۸٫۵۳ و ۹٫۱۲ ppm دیده شدند. دو پیک دوتایی در ۶٫۳۱ و ۶٫۶۲ ppm برای پروتون‌های حلقه فنلی و پیک‌های مشخصی در گستره ۷٫۵۷ تا ۷٫۸۹ ppm برای پروتون‌های گروه آریل ظاهر شدند. طیف ^{13}C-NMR ترکیب ۳ پانزده پیک قابل تشخیص در تایید ساختار پیشنهادی نشان داد. رزونانس گروه کربونیل در طیف ^{13}C-NMR در ناحیه ppm ۱۹۹٫۸ دیده شد. رزوناس کربن‌های آلیفاتیک متصل به OH در نواحی ۸۳٫۴ و ppm ۱۰۵٫۵ و رزونانس کربن‌های آروماتیک در گستره ۱۱۰٫۲ تا ppm ۱۶۹٫۸ دیده شدند که کامل با ساختار پیشنهادی همخوانی داشت. افزون‌بر طیف ^{1}H-NMR، طیف FTIR نیز وجود OH را در ترکیب ۳ تایید کرد. پیام‌های ارتعاش کششی O-H در ۳۲۰۰، ۳۳۲۴ و ۳۳۸۷ cm^{-1} ظاهرشد. پیام ارتعاشی کششی پیوند C=O به دلیل رزونانس با حلقه آروماتیک در ۱۷۱۳ cm^{-1} ظاهر شد.

ساختار ترکیب ۴ با طیف‌سنجی‌های جرمی ^{1}HNMR، ^{13}CNMR، و FTIR مورد تایید قرار گرفت. در طیف ^{1}H-NMR ترکیب ۴، پیک‌های مربوط به OH الکلی به‌صورت پیک پهن در گستره‌های ۶٫۳۲ تا ppm ۶٫۳۵ و ۷/۷۷ تا ppm ۷٫۷۹ و OH فنلی در ppm ۸٫۷۳ دیده شدند. پیک یکتایی در ppm ۶٫۹۰ مربوط به تنها پروتون حلقه فنلی و پیک‌های مشخصی در گستره ۷٫۵۵ تا ppm ۸٫۰۲ برای پروتون‌های دوگروه آریل ظاهر شدند. در طیف ^{13}C-NMR ترکیب ۴ سیزده پیک قابل تشخیص دیده شد که تقارن در ساختار پیشنهادی را تایید می‌کند. برای مثال، رزونانس‌های دو گروه کربونیل در طیف ^{13}C-NMR در ppm ۱۹۷٫۹ دیده شد. رزوناس کربن‌های آلیفاتیک متصل به OH در ۸۰٫۲ و ppm ۱۰۲٫۶ و رزونانس کربن‌های آروماتیک در گستره ۱۰۸٫۲ تا ppm ۱۶۸٫۳ دیده شدند که با ساختار پیشنهادی همخوانی دارد. افزون‌بر طیف ^{1}H-NMR، طیف FTIR نیز وجود OH را در ترکیب ۴ تایید کرد. نوارهای ارتعاش کششی O-H در ۳۳۳۰ و ۳۴۳۱ cm^{-1} ظاهر شده‌اند. نوار ارتعاشی کششی پیوند C=O در ۱۷۲۶ cm^{-1} ظاهر شده است.

در سازوکار احتمالی این روش‌های تهیه، موقعیت اورتو

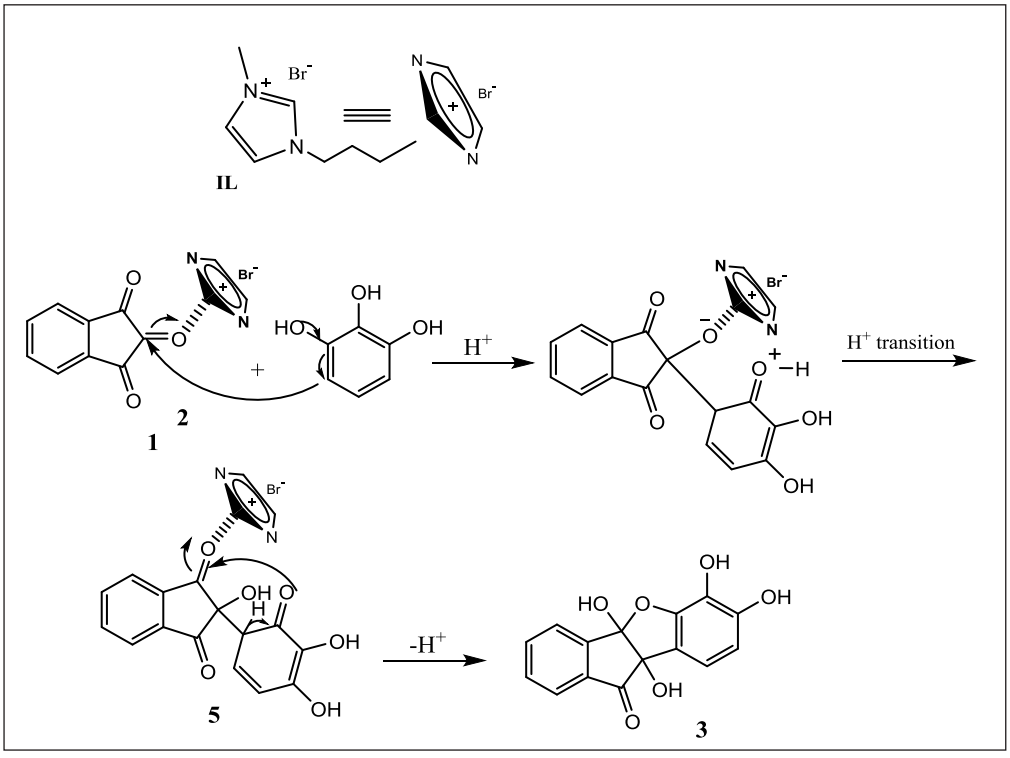
جدول ۱ ساختار و نام فراورده‌های واکنش نین‌هیدرین و پیروگالل

ساختار ترکیب	نام آیوپاک	نام اختصاری	شماره ترکیب
	-4b,6,7,9bTetrahydroxy-4bH indeno[1,2b]benzofuran-10 (9bH)-one	فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل-نین‌هیدرین	۳
	6,12a,13b,4b,7a-Pentahydroxy-12a,13b,4b,7a-tetrahydroindano[1,2-b]indano[2",1"-5',4']furano[2',3'-5,4]benzo[d]furan-12,14-dione	فراورده افزایشی ۲:۱ پیروگالل-نین‌هیدرین	۴

پرالکترون در پیروگالل به‌صورت گزینشی با گروه کربونیل موقعیت ۲ نین‌هیدرین واکنش می‌دهد و حدواسطی مانند ساختار ۵ تشکیل می‌شود (شکل ۴). بخش کاتیونی مایع یونی با ایجاد جاذبه الکتروستاتیک با اکسیژن کربونیل، ویژگی الکترون‌دوستی آن را افزایش داده و حمله هسته‌دوستی پیروگالل به آن آسانتر انجام می‌شود. فرایند بسته‌شدن حلقه در حدواسط ۵ منجر به تشکیل فراورده ۳ می‌شود. چنانچه شرایط برای دو–افزایشی آماده باشد، واکنش با واردشدن یک مولکول دیگر نین‌هیدرین ادامه می‌یابد و فراورده دو–افزایشی ۴ تشکیل می‌شود.

بررسی ویژگی ضدباکتریایی و هم افزایی فراورده‌های افزایشی تهیه‌شده

جدول‌های ۲ و ۳ نتایج اثر ضدباکتریایی فراورده‌های افزایشی تهیه‌شده به تنهایی و در کنار پادزیست کلرامفنیکل را نمایش می‌دهد. اثر ضدباکتریایی فراورده‌های تهیه‌شده بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و چند سویه مقاوم به پادزیست سودوموناس آئروژینوزا، جداشده از بیماران بستری در بیمارستان طالقانی، انجام شد. بر پایه نتایج به‌دست آمده، کلرامفنیکل در غلظت بالاتر از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، رشد باکتری‌ها را متوقف کرد. بنابراین، باکتری‌ها به پادزیست کلرامفنیکل مقاوم بودند. فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین در بیشتر موارد با MIC برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، نسبت به فراورده افزایشی ۲:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین با MIC برابر با ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر ضدباکتریایی بیشتری دارد. مطالعه هم‌افزایی۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین و فراورده افزایشی ۲:۱ نین هیدرین–پیروگالل به همراه سری رقتی از کلرامفنیکل نشان داد، غلظت مهارکننده رشد باکتری در شرایط استفاده همزمان کلرامفنیکل و ترکیب‌های تهیه‌شده، تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافته است.



شکل ۴ سازوکار احتمالی تهیه فراورده‌های افزایشی نین‌هیدرین–پیروگالل

جدول ۲ اثرات ضدباکتریایی فراورده افزایشی ۲:۱ نین هیدرین–پیروگالل برحسب مقادیر MIC

باکتری یا ریزاندامگان	فراورده افزایشی ۲:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین/ کلرامفنیکل (µg/ml)	فراورده افزایشی ۲:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین (µg/ml)	کلرامفنیکل (µg/ml)
استافیلوکوکوس اورئوس	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
اشرشیاکلی	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا* (۱)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۲)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۳)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۴)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۵)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۶)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۷)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۸)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۹)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۰)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۱)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۲)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۳)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۴)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰

* شماره‌های داخل پرانتزها مربوط به بیماران متفاوت بستری در بیمارستان طالقانی است.

جدول ۳ تاثیرهای ضدباکتریایی فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین برحسب مقادیر MIC

باکتری یا ریزاندامگان	فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین/ کلرامفنیکل (µg/ml)	فراورده افزایشی ۱:۱ پیروگالل–نین‌هیدرین (µg/ml)	کلرامفنیکل (µg/ml)
استافیلوکوکوس اورئوس	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
اشرشیاکلی	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۲)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۳)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۴)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۵)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۶)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۷)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۸)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۹)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۰)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۱)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۲)	۵۰	۱۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۳)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰
سودوموناس آئروژینوزا (۱۴)	۵۰	۲۰۰	۵۰۰

* شماره‌های داخل پرانتزها مربوط به بیماران متفاوت بستری در بیمارستان طالقانی است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، یک روش کارآمد، ساده و دوستار محیط‌زیست برای تهیه فراورده‌های افزایشی پیروگالل-نین‌هیدرین در محیط مایع یونی آورده شده است. از مزیت‌های این روش می‌توان به‌سادگی روش عملی واکنش، بازده بالا، زمان کوتاه واکنش و خالص‌سازی ساده فراورده‌ها بدون به‌کارگیری ستون سوانگاری و در نتیجه، کاهش پسماندها و آلودگی‌ها اشاره کرد. نتایج بررسی ویژگی زیستی فراورده‌های تهیه شده، نشان داد که اثر هم‌افزایی کلرامفنیکل و ترکیب‌های تهیه‌شده، تاثیر بسزایی در مقدار MIC کلرامفنیکل دارد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر، با حمایت مالی باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری به اجرا در آمده است. بدین وسیله از آن واحد دانشگاهی تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

مراجع

[1] Hanlon, G.; "Fundamentals of microbiology" in: Aulton M.E. (Ed.), "Pharmaceutics, The Science of Dosage Form Design", 2nd Ed., Churchill Livingstone, London, 2002.

[2] Hussain, T.; Pakistan at the verge of potential epidemics by multi-drug resistant pathogenic bacteria, Adv. Life Sci 2, 46-47, 2015.

[3] Hamdan– Partida, A.; Sainz-Espunes, T.; Bustos-Martinez, J.; J. Clinical. Microbiol. 48, 1701-1705, 2010.

[4] Ravat hi, G.; Puri, J.; Jain, B.K.; Bacteriology of burns, Burns 24, 347-349, 1998.

[5] Shittu, A.; Okon, K.; Adesida, S.; Oyedara, O.; Witte, W.; Strommenger, B.; Layer, F.; BMC Microbiology 11, 92-100, 2011.

[6] Borsari, A.; Bucher,B.; Brazzola, P.; Dolina, G.; Clinical Therapeutics 30, 2090-2095, 2008..

[7] Zinsser, H.; Wolfgang, K. Joklik; Amos, D.B.; Willett, H.P.; "Zinsser Microbiology", 20th Ed., McGraw-Hill Professional Publishing, U.S., 1992.

[8] Vanhems, P.; lepape, A.; Savey, A.; Jambou, A.; Fabry, P.; J. Hosp Infect. 45, 98-106, 2000.

[9] Arvanitidou, M.; Katikaridou, E.; Tsakria, A.; J. Hosp. Infect. 61, 219-240, 2005.

[10] Lee, K.Y.; Seo, J.; Kim, J.N.; Tetrahedron Letters 46, 4505-4508, 2005.

[11] Bengiat, R.; Gil, M.; Klein, A.; Cohen, O.; Cohen, S.; Dubnikova, F.; Tetrahedron 72, 2429-2439, 2016.

[12] Kirilmis, C.; Ahmedzade, M.; Süleyman, S.; Koca, M.; Euro. J. Med Chem.43, 300-308, 2008.

[13] Shazia, N.; Philip, C.; Stevenson, S.; Phythian, J.; Nigel, C.; Veitch David, R.; Tetrahedron 62, 4214-4226, 2006.

[14] Balasaheb, Y.; Agasimundin, Y.S.; Shivkumar, B.; Devanand Shinde, B.; J. Chil. Chem. Soc. 54, 77-79, 2009.

[15] Chetan, B.; Sanganna, B.; Sandip, K.; Patil, L.; International Journal of Chemical Sciences and Applications 1, 42-49, 2010.

[16] Wasserscheid, P.; Welton, T.; Ionic liquids in Synthesis 21, 223-224, 2003.

[17] Yavari, I.; Kowsari, E.; Tetrahedron Lett. 48, 3753-3756, 2007.

[18] Yavari, I.; Shahvelayati, A.S.; Ghanbari, M.;

J. Iran. Chem. Soc. 8, 636-642, 2011.
[19] Shahvelayati, A.S.; Esmaeeli, Z.; J. Sulfur Chem. 33, 319-325, 2012.
[20] Vygodskii, Y.S.; Lozinskaya, E.I.; Shaplov, A.S.; Macromol. Rapid. Commun. 23,676-679, 2002.
[21] Murray, P.; Ellen, B.; Manual of clinical microbiology, 9th Edition, ASM press, USA, 2007.

JARC

Efficient and green synthesis of the ninhydrin-pyrogallol adducts in an ionic liquid and investigation of their antibacterial and synergistic effects on Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa

Shiva Khalil- Moghaddam[1,*], Ashraf Sadat Shahvelayati[2,*], Atousa Aliahmadi[3]

1. Assistant Prof. of Biochemistry ,Young Researchers and Elite Club, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) shahr-e-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate Prof. of Organic Chemistry, Young Researchers and Elite Club, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) shahr-e-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Assistant Prof. of Microbiology, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Recieved: February 2016, Revised: August 2017, Accepted: October 2017

Abstract: Antimicrobial resistance of bacteria is one of the greatest challenges that threatens human health. In order to introduce new compounds with antibacterial effects, two derivatives of ninhydrin-pyroglycol adducts were synthesized by condensation reaction in an ionic liquid as a green solvent and their effects on Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalized patients in Taleghani Hospital was investigated. To determine the lowest bacterial growth inhibitory concentration (MIC) broth micro-dilution method was used. Chloramphenicol was used as standard antibiotic. Comparison of the results of two synthetic samples showed that pyrogallol-ninhydrin adduct 1:1 versus the above bacteria was superior to pyrogallol-ninhydrin adduct 1:2. Synergistic antibacterial effects study of 200 µg/ml of pyrogallol-ninhydrin adduct 1:2 or 100 µg/ml of pyrogallol-ninhydrin adduct 1:1 plus chloramphenicol series, showed that the concentration of chloramphenicol growth inhibitors decreased to 50 µg/ml.

Keywords: Ninhydrin-pyrrogallol adducts, Chloramphenicol, Antibacterial effect, Synergy, Ionic liquid

*Corresponding author Email: a_shahvelayati@iausr.ac.ir