

سنترز N-(S) - [۳-۳]-فلوئورو-۴-N-۱-پیپیرازینیل (فنیل) -

۲-اکسو-۵-اکسازولیدینیل [متیل] استامید، هیدروکلرید و بررسی اثرات ضد باکتری آن

مرجانه صمدی زاده^۱، مریم نخجیری^{۱*}، عباس شفیعی^۲، علیرضا فرومدی^۲، علی خلیج^۲، محمد علی فرامرزی^۳ و نسرین صمدی زاده^۴

۱- دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.

۲- دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات طراحی و توسعه دارو، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- گروه بیو تکنولوژی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران.

چکیده: با معرفی اکسازولیدینون ها و کاربرد آن ها در زمینه کلینیکال پیشرفت مهمی در درمان عفونت های ناشی از برخی باکتری های گرم - مثبت پدید آمد. مشتقی از اکسازولیدینون سنتز، و اثر ضد باکتری آن روی یک سری از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی با استفاده از روش agar dilution بررسی شده است. مقدارهای MIC (کمترین غلظت بازدارندگی)، در مقایسه با لاینزولید و سیپروفلوکساسین به عنوان داروهای مرجع به دست آمد و مورد مقایسه قرار گرفت. نتیجه ها نشان می دهند که این ترکیب با عنوان (S)-N-(۳-۳)-فلوئورو-۴- (پیپرازین-۱-یل) فنیل-۲-اکسواکسازولیدین-۵-یل) متیل) استامید هیدروکلرید در مقایسه با لاینزولید اثر بسیار بیشتری در بازدارندگی باکتری گرم-منفی *Escherichia coli* داشته است (MIC = ۵۰ µg/ml). همچنین این ترکیب روی باکتری گرم-مثبت *Micrococcus luteus* اثر بازدارندگی ۲ برابر قویتری در مقایسه با سیپروفلوکساسین (MIC= ۳.۱۲۵ µg/ml) داشته است.

کلمات کلیدی: اکسازولیدینون؛ باکتری های گرم؛ ضد باکتری

مقدمه

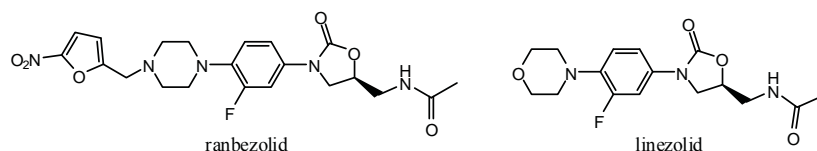
هستند که در برابر آنتی بیوتیک های موجود تا حدود زیادی مقاوم شده اند [۱]. اکسازولیدینون ها دسته جدیدی از آنتی بیوتیک های سنتزی با فعالیت ضد ارگانسیم های گرم-مثبت از قبیل:

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) و vancomycin-resistant enterococci (VRE) هستند [۲]

مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها به صورت یک مشکل عمده در آمده است. از جمله باکتری های گرم-مثبت *Staphylococcus faecalis*، *Enterococcus aureus*، *Staphylococcus pneumoniae*، *Streptococcus faecium* و *Enterococcus*.

باکتری های گرم-مثبتی مانند *multidrug, enterococci* -streptococci و *staphylococci resistant* ایجاد می شود، مورد استفاده قرار می گیرد [۲]. اگرچه این دارو به نسبت گران قیمت است، بسیار به صرفه تر از سایر داروهای هم رده خود است [۱۲]. لاینزولید داروی به نسبت مطمئنی به شمار می رود و عمده ترین علت سمیت آن که تا کنون گزارش شده است مربوط به امکان ایجاد thrombocytopenia در صورت استفاده طولانی مدت است [۱۳-۱۵].

کیب ها و حد واسط های آنان اجتناب ناپذیر می کند؛ لذا در اینجا سنتز و بررسی اثر ضد میکروبی)-N-(۳-۳-فلوئورو-۴-پیرازین-۱-ایل) فنیل)-۲-اکسواکسازولیدین-۵-ایل) متیل) استامید هیدروکلرید به عنوان حد واسط کلیدی مشتقات اکسازولیدینونی گزارش شده است.



شکل ۱ دو نمونه از مولکول های شناخته شده اکسازولیدینونی

دستگاه ها

- ۱- دستگاه اندازه گیری نقطه ذوب مدل میکروسکوپی ریچارد-جانگ
- ۲- دستگاه NMR مدل Bruker
- ۳- دستگاه IR مدل Nicolet Magna IRSSO
- ۴- دستگاه Mass مدل Finnigan mat TSQ-۷۰
- ۵- دستگاه هیدروژن دار کردن

- سنتز ۱- (۲-فلوئورو-۴-نیترو فنیل) پیرازین (۲)

به محلولی از ۱۲ گرم (۷۵،۴ میلی مول) ۳،۴-دی فلوئورو نیترو بنزن (۱) در ۱۵۰ میلی لیتر استونیتریل، ۱۶،۲۴ گرم (۱۸۸،۶ میلی مول) پیرازین افزوده و به مدت ۳ ساعت رفلاکس شد. بعد از خنک شدن، حلال های اضافی در حلال تبخیر شد. سپس به

۵- دانشمندان E. I. du Pont de Nemours & Company نخستین کسانی بودند که در اواخر دهه ۱۹۷۰، خواص آنتی میکروبی اکسازولیدینون ها را کشف کردند [۶]. برای مثال، می توان از لاینزولید شکل (۱) به عنوان یکی از ترکیب های موثر آنتی باکتریال که در گروه اکسازولیدینون ها جای می گیرد، نام برد [۷]. بعدها رانبزولاید نیز که از همین دسته ترکیبات هستند با موفقیت سنتز شد (شکل ۱) [۸]. این اکسازولیدینون ها با جلوگیری از سنتز ۷۰S complex initiation، از سنتز پروتئین جلوگیری می کنند و به این طریق مانع رشد و گسترش باکتری ها می شوند [۹ و ۱۰]. کشف لاینزولید دامنه انتخاب درمان را گسترش بخشید و ضمن پوشش دادن اثرات ضد باکتری برای طیف وسیع تری از باکتری ها، مصرف این دسته از داروها از روش بلع را نیز امکان پذیر ساخت [۱۱]. لاینزولید به عنوان دارویی جهت درمان عفونت های موضعی و تنفسی که به وسیله

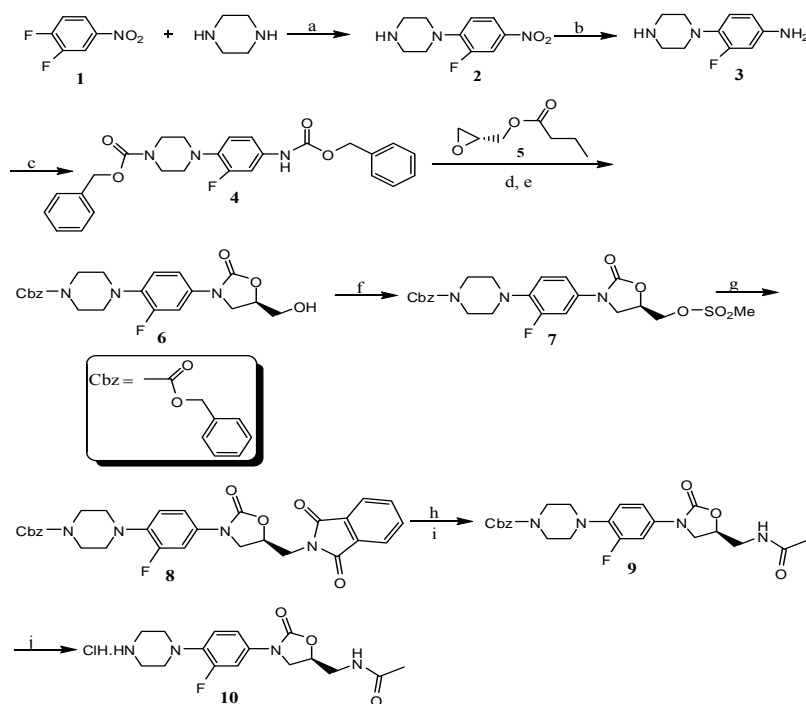
بخش تجربی

سنتز ترکیب هدف ۱۰، براساس شمای کلی ۱ انجام شده است.

مواد

۳،۴-دی فلوئورو نیترو بنزن، پی پیرازین، استونیتریل، اتیل استات، سدیم سولفات، دی کلرو متان، پالادیم/کربن، تترا هیدرو فوران (THF)، استون، خاک دیاتومه، سدیم کربنات، بنزیل کلرو فرمات، کلرو فرم، زغال فعال، یخ خشک، *n*-بوتیل لیتیم، (R)-گلیسیدیل بوتیرات، آمونیم کلراید، *n*-هگزان، تری اتیل آمین (TEA)، متان سولفونیل کلراید، پتاسیم فتالیمید، سیلیکاژل، متانول، اتیل آمین، پیریدین، گاز هیدروژن و گاز آرگون همگی در مقیاس آزمایشگاهی به کار گرفته شدند.

...و بررسی اثرات ضد باکتری آن



شمای ۱ واکنشگرها و واکنش های تشکیل ترکیب (a) استون نیتریل، رفلاکس؛ (b) گاز هیدروژن، ۵٪ پالادیم-کربن، تترا هیدروفوران؛ (c) بنزیل کلروفرمات، کربنات هیدروژن سدیم، استون - آب؛ (d) بوتیل لیتیم، تتراهیدرو فوران - ۷۸ درجه سانتی گراد؛ (e) (R) - گلیسیدیل بوتیرات؛ (f) مزتیل کلراید، تری اتیل آمین، دی کلرو متان؛ (g) پتاسیم فتالیمید، استون نیتریل، آب، رفلاکس؛ (h) متیل آمین محلول در آب، اتانول، رفلاکس؛ (i) انیدرید استیک، پیریدین؛ (j) پالادیم-کربن، گاز هیدروژن، متانول-دی کلرومتان.

IR: ν_{max} (KBr) ۳۰۲۲ (NH), ۱۵۱۸ and ۱۳۳۶ (NO_2) cm^{-1} ; MS: m/z ۲۲۵ (۳۷, M^+), ۱۸۳ (۱۰۰), ۱۳۷ (۳۷), ۵۸ (۴۳).

- سنتز N-کربو بنزوکسی - ۳-فلوئورو-N-کربو بنزوکسی - پیپیرازینیل/آنیلین (۴)

مخلوطی از ۱۲/۵ گرم (۵۵,۵۴ میلی مول) از ۲ و ۱/۴ گرم پالادیم/کربن ۵ درصد در ۱۱۵ میلی لیتر تتراهیدرو فوران در بمب هیدروژن دار کردن ریخته (روی استیر) و تحت فشار ۴۰ psi از گاز هیدروژن برای ۱/۵ ساعت در دمای آزمایشگاه هیدروژن دار شد. سپس مخلوط واکنش روی خاک دیاتومه صاف و ۲ بار با ۵۰ میلی لیتر تتراهیدروفوران شستشو داده شد. پس از تبخیر حلال زیر صافی، به جسم روغنی (شکل ۳) مقدار ۴۰ ml استون افزوده شد و حلال آن در حلال تبخیر شد. آمین به دست آمده را به طور

باقیمانده مقدار ۲۰۰ میلی لیتر آب افزوده و ۳ بار با اتیل استات ۲۵۰ میلی لیتر استخراج شد. لایه های آلی را به هم افزوده و با ۲۰۰ میلی لیتر آب و سپس با ۲۰۰ میلی لیتر آب نمک اشباع استخراج شدند. پس از آن با سدیم سولفات انیدر آبیگری و حلال در حلال تبخیر شد. روغن نارنجی به دست آمده با استفاده از حلال اتانول - دی کلرو متان ۲ درصد بر روی سیلیکاژل کروماتوگرافی شد به این ترتیب ۱۴/۵ گرم از جسم ۲ با راندمان ۸۵ درصد و با نقطه ذوب ۶۶ °C به دست آمد [۱۶].

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ۵۰۰ MHz) δ : ۷.۹۴ (ddd, ۱H, $J=9, 2.5$ and ۱ Hz, H_a nitrobenzene), ۷.۸۵ (dd, ۱H, $J=13$ and ۲.۵ Hz, H_p nitrobenzene), ۶.۸۸ (t, ۱H, $J=9$ Hz, H_f nitrobenzene), ۳.۲۵-۳.۲۳ (m, ۴H, piperazine), ۳.۰۴-۳.۰۱ (m, ۴H, piperazine);

آنگاه فاز آبی ۳ بار با اتیل استات و هر بار ۲۵ میلی لیتر، استخراج و فازهای آلی به یکدیگر افزوده و با استفاده از سدیم سولفات از آن ها آگیری به عمل آمد و حلال در خلاء تبخیر شد. به این ترتیب مقدار ۴/۸۲ گرم از رسوب سفید رنگ ۶ به دست آمد. رسوبات حاصله با مخلوط اتیل استات - هگزان (۱:۱) در حمام آب گرم برای ۳۰ دقیقه نگه داشته و بعد در یخچال گذاشته سپس صاف گردید. فراورده ی ۳,۵۵ گرم رسوب سفید رنگ ۶ با راندمان ۸۲ درصد و با نقطه ذوب 150°C - 149°C به دست آمد [۱۶].

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ۵۰۰ MHz) δ : ۷.۴۶ (dd, ۱H, $J=14.5$ and ۲.۵ Hz, H_f fluorobenzene), ۷.۳۹-۷.۳۷ (m, ۴H, H_f , H_g , H_h and H_i phenyl), ۷.۳۶-۷.۳۲ (m, ۱H, H_f phenyl), ۷.۱۳ (dd, ۱H, $J=9$ and ۲.۵ Hz, H_g fluorobenzene), ۶.۹۲ (t, ۱H, H_h fluorobenzene), ۵.۱۷ (s, ۲H, benzylic CH_2), ۴.۷۷-۴.۷۳ (m, ۱H, H_f oxazolidinone), ۴.۰۳-۳.۹۸ (m, ۲H, CH_2OH), ۳.۹۷-۳.۹۳ (m, ۱H, H_h oxazolidinone), ۳.۸-۳.۷۴ (m, ۱H, H_g oxazolidinone), ۳.۶۸ (t, ۴H, $J=5$ Hz, piperazine), ۳.۰۲ (t, ۴H, $J=5$ Hz, piperazine); IR: ν_{max} (KBr) ۳۴۲۶ (OH), ۱۷۴۱ and ۱۶۶۴ ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; MS: m/z ۴۲۹ (۶۶, M^+), ۳۳۸ (۲۵), ۲۹۴ (۳۳), ۲۶۵ (۴۰), ۲۳۹ (۲۵), ۹۱ (۱۰۰).

سنتر $N-(R)$ -[۳-]۳-فلوئورو-۴- N -
۱- (۴-کربونیزوکسی) پیپیرازینیل-فنیل-۲-اکسو-۵-
اکسازولیدینیل/متیل/فتالیمید (۸)

به مخلوطی از ۳/۵ گرم (۸/۱۵ میلی مول) از ترکیب ۶ و ۲/۵ میلی لیتر (۱۷/۹۷ میلی مول) تری اتیل آمین در ۸۸ میلی لیتر دی کلرو متان در 0°C ، مقدار ۰/۷۵ میلی لیتر (۹/۶۹ میلی مول) متان سولفونیل کلرید به صورت قطره ای در مدت ۲ دقیقه افزوده شد. این مخلوط به مدت ۱/۵ ساعت در این دما سپس برای ۳ ساعت در دمای اتاق به هم زده شد. پس از آن محلول با ۷۴ میلی لیتر آب شستشو داده شد و فاز آبی با ۱۳ میلی لیتر دی کلرو متان استخراج شد. فازهای آلی را به هم افزوده و به آن ها ۶۳ میلی لیتر اتیل استات افزوده شد و سپس با سدیم سولفات آب گیری

سریع در ۶۹ میلی لیتر استون حل و به ۱۳۸ میلی لیتر محلول آبی سدیم کربنات ۱۰ درصد در یک بالن ۵۰۰ میلی لیتر در حال هم زدن افزوده شد. دمای مخلوط را تا 0°C سرد و به آن مقدار ۱۸ میلی لیتر بنزیل کلروفرمات به طور قطره ای در طول ۲۰ دقیقه افزوده شد. دما در این مدت بین 5°C - 0°C ثابت نگه داشته شد. سپس مخلوط برای ۱ ساعت در 5°C و پس از آن برای ۱ شبانه روز در دمای اتاق به هم زده شد. سپس مخلوط واکنش ۳ بار با ۵۰ میلی لیتر آب و ۳ بار با ۵۰ میلی لیتر کلرو فرم استخراج شد. مخلوط به دست آمده با سدیم سولفات انیدر خشک و حلال آن در خلاء تبخیر شد. ماده به دست آمده با کربن فعال در متانول داغ رنگبری شد. ۱۲/۵ گرم رسوب سفید رنگ ۴ با راندمان ۵۲ درصد و با نقطه ذوب 161°C - 159°C به دست آمد [۱۶].

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ۵۰۰ MHz) δ : ۷.۳۹-۷.۳۲ (m, ۱۰H, phenyl), ۶.۹۸ (d, ۱H, $J=9$ Hz, H_f nitrobenzene), ۶.۸۵ (t, ۱H, $J=9$ Hz, H_g nitrobenzene), ۶.۷۰ (brs, ۱H, H_h nitrobenzene), ۵.۱۹ (s, ۲H, CH_2O), ۵.۱۷ (s, ۲H, CH_2O), ۳.۶۷ (t, ۴H, $J=5$ Hz, piperazine), ۲.۹۹ (brs, ۴H, piperazine); IR: ν_{max} (KBr) ۳۲۸۳ (NH), ۱۷۱۶ and ۱۶۹۰ ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; MS: m/z ۴۶۳ (۵۴, M^+), ۳۲۸ (۴۰), ۹۱ (۱۰۰), ۸۸ (۶۶).

سنتر $N-(R)$ -[۳-]۳-فلوئورو-۴- N -
۱- (۴-کربونیزوکسی) پیپیرازینیل-فنیل-۲-اکسو-۵-
اکسازولیدینیل/متانول (۶)

به مخلوطی از ۴/۳۳ گرم از ترکیب ۴ (۱۰/۰۶ میلی مول) در ۵۰ میلی لیتر تتراهیدروفوران خشک در -78°C تحت گاز آرگون، ۶/۸ میلی لیتر از N - بوتیل لیتیم در هگزان ۱/۶ مولار به طور قطره ای در ۵ دقیقه افزوده شد. بعد از ۱/۵ ساعت مقدار ۱/۵۵ میلی لیتر از (R) - گلیسیدیل بوتیرات ۵ به مخلوط افزوده شد. این مخلوط به مدت ۱ ساعت در دمای -78°C سپس به مدت ۳/۵ ساعت در دمای اتاق به هم زده شد. به مخلوط حاصل ۲۵ میلی لیتر محلول آبی آمونیم کلرید اشباع و به دنبال آن ۲۵ میلی لیتر اتیل استات و ۵ میلی لیتر آب افزوده و فاز ها از هم جدا شدند.

...و بررسی اثرات ضد باکتری آن

آمین ۴۰ درصد در آب (۳۴.۸۵ میلی مول) و ۳۰ میلی لیتر اتانول را به مدت ۵/۵ ساعت باز روانی شد و سپس به این مخلوط ۰.۵ میلی لیتر متیل آمین افزوده و برای ۱ ساعت دیگر باز روانی شد. فراورده به دست آمده تحت فشار کم تغلیظ شد و باقی مانده در ۱۵ میلی لیتر پیریدین حل شد. این مخلوط تا صفر درجه سانتی گراد سرد شد و به آن ۵ میلی لیتر انیدرید استیک افزوده و برای ۱ شبانه روز هم زده شد. سپس حلال ها تحت فشار کم تبخیر و رسوب سفید رنگ حاصل با ستون کروماتوگرافی* خالص کرده و ۴۲۰ میلی گرم رسوب سفید رنگ (ترکیب ۹) با راندمان ۳۳ درصد و با نقطه ذوب $174-176^{\circ}\text{C}$ به دست آمد [۱۶].

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ۵۰۰ MHz) δ : ۷,۴۵ (dd, ۱H, $-J=14.5$ and ۲,۵ Hz, H_α fluorobenzene), ۷,۳۹, ۷,۳۷ (m, ۴H, H_α , H_β , H_γ , H_δ and H_ϵ phenyl), ۷,۰۶ (m, ۷,۳۲ (m, ۱H, H_α phenyl), ۷,۰۹-۷,۳۶ ۱H, H_β fluorobenzene), ۶,۹۲ (t, ۱H, $J=9$ Hz, H_α fluorobenzene), ۵,۹۷ (t, ۱H, $J=6.5$ Hz, H_α fluorobenzene), ۴,۷۴ (m, ۱H, H_α oxazolidinone), -NH), ۴,۸۰, ۳,۷۱ (m, ۲H, -۴,۰۰ (m, ۱H, CH_2NH), ۳,۷۶-۴,۵۰ CH_2NH and CH_2 oxazolidinone), ۳,۶۸ (t, ۳,۵۸ (m, ۱H, -۴H, $J=5$ Hz, piperazine), ۳,۶۴, ۲,۹۸ (m, ۴H, $J=5$ Hz, - CH_2 oxazolidinone), ۳,۰۸ piperazine), ۲,۰۳ (s, ۳H, CH_3CO); IR: ν_{max} (KBr) ۳۳۱۳ (NH), ۱۷۵۱, ۱۶۸۵ and ۱۶۴۴ ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; MS: m/z ۴۷۰ (۱۲, M^+), ۴۲۶ (۱۲), ۳۳۵ (۵), ۱۷۷ (۵), ۱۰۵ (۵), ۹۱ (۱۰۰), ۵۶ (۳۸).

ستتر (S) -N-[[۳-فلوئورو-۴-N-۱-پیبیرازینیل] فنیل]-۲-اکسو-۵-اکسازولیدینیل/متیل/استامید، هیدروکلرید (۱۰)

مخلوطی از ۰.۴ گرم (۰.۸۵ میلی مول) از ۹ و ۰.۰۶ گرم پالادیم/کربن ۱۰ درصد در ۱۹ میلی لیتر متانول و ۶ میلی لیتر دی کلرومتان تحت گاز هیدروژن برای یک شبانه روز به هم زده شد. سپس مخلوط روی خاک دیاتومه صاف و به وسیله ۵۰ میلی لیتر دی کلرومتان و سپس با ۲۵ میلی لیتر اتیل استات شستشو

به عمل آمد و در خلاء تبخیر شد. رسوب زرد کف مانند (ترکیب ۷) به دست آمد [۱۶].

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ۸۰ MHz) δ : ۷,۵۶-۷,۳۲ (m, ۶H, H Phenyl, H_α fluorobenzene), ۷,۱-۶,۵۳ (m, ۲H, H_α and H_β fluorobenzene), ۵,۱۶ (s, ۲H, PhCH_2), ۵,۰۵-۴,۵۳ (m, ۱H, H_α oxazolidinone), ۴,۵۴-۴,۴۰ (m, ۲H, CH_2O), ۴,۳۰-۳,۵۳ (m, ۲H, H_α oxazolidinone), ۳,۵۲-۳,۵۶ (m, ۴H, piperazine), ۳,۱۵-۲,۹۵ (m, ۷H, CH_2 and piperazine). IR: ν_{max} (KBr) ۱۷۵۱ and ۱۶۹۵ ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} .

به این ماده (۷) ۱۲۶ میلی لیتر استون نیتریل و ۰/۶۳ میلی لیتر آب و ۴/۵۷ گرم (۲۴/۵۵ میلی مول) پتاسیم فتالیمید افزوده و مخلوط برای ۴۸ ساعت باز روانی شد. پس از تبخیر، رزین زرد رنگ به دست آمده با مخلوطی از ۱۰۰ میلی لیتر اتیل استات - هگزان (۱:۱) و ۵۰ میلی لیتر اتیل استات مجاور و حجم مخلوط به ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد. با سرد کردن این مخلوط تا 4°C رسوب زرد رنگی تشکیل شد که با استفاده از ستون کروماتوگرافی گرادیان با حلال (۱۰-۰) درصد متانول - دی کلرومتان خالص شد که از آن ۳ گرم جسم ۸ با راندمان ۶۶ درصد و با نقطه ذوب $127-129^{\circ}\text{C}$ به دست آمد [۱۶].

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ۵۰۰ MHz) δ : ۸,۰۰, ۷,۳۰ (m, ۷H, H Phenyl, H_α and -phthalimide), ۷,۵۶, ۴,۵۸ (m, ۱H, - H_β phenyl), ۵,۱۴ (s, ۲H, PhCH_2O), ۵,۰۰-۴,۲۰ (m, ۲H, CH_2N), ۴,۱۵- H_α oxazolidinone), ۴,۴۰, ۳,۹۰ (m, ۲H, H_α oxazolidinone), ۳,۶۹ (t, ۴H, $J=4.9$ Hz, piperazine), ۳,۰۰ (t, ۴H, $J=5$ Hz, piperazine); IR: ν_{max} (KBr) ۱۷۴۶ and ۱۷۱۰ ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} .

ستتر (S) -N-[[۳-فلوئورو-۴-N-۱-پیبیرازینیل] فنیل]-۲-اکسو-۵-اکسازولیدینیل/پیبیرازینیل/استامید (۹)

مخلوطی از ۱.۵۱ گرم (۲.۷ میلی مول) از ۸ و ۳ میلی لیتر متیل

با استفاده از روش رقیق سازی آگار آزمایش شد [۱۷]. مقدارهای کمترین غلظت بازدارندگی (MIC)، در مقایسه با لایزولید و سیپروفلوکساسین به عنوان داروهای مرجع به دست آمد و مورد مقایسه قرار گرفت. رقیق سازی ترکیب ۱۰ و داروهای استاندارد ضد باکتری لایزولید و سیپروفلوکساسین در ۱ میلی لیتر DMSO انجام شد. محلول های متفاوت به ۱۹ میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون آگار مذاب در ۵۰ درجه سانتیگراد افزوده شد تا غلظت های نهایی در گستره ۶۴-۰/۰۰۲ ml/μg به دست آید. سوسپانسیون باکتری با حل کردن کلونی در محیط کشت مولر هینتون آگار در محلول نمکی ۰/۸۵ درصد در یک شبانه روز تهیه شد. چگالی سلولی سوسپانسیون باکتری به روش فتومتری در طول موج ۶۰۰ nm اندازه گیری شد که با چگالی سلولی استاندارد ۰/۵ مک فارلند سازگاری داشت. سپس سوسپانسیون باکتری در محلول نمکی ۰/۸۵ درصد رقیق شد تا ۱۰^۷ ml/CFU تهیه شد. ۱ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری که حاوی ۱۰^۷ ml/CFU بود، به صورت نقطه ای (spot) در ظرف های پتری کشت داده شد و در دمای ۳۷ - ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت انکوبه شد. حداقل غلظت مهار کننده (MIC) حداقل غلظتی از ترکیب سنتتیک است که مانع رشد قابل مشاهده باکتری ها روی صفحه می شود. برای اطمینان از عدم تاثیر حلال روی رشد باکتری ها، یک کنترل با محیط کشت حاوی DMSO با رقت های یکسان مورد آزمون قرار گرفت.

نتیجه ها و بحث

روشی که در شکل ۲ نشان داده شده است، روش Herweh-Kauffmann است که در آن یک آریل ایزوسیانات با (R)-گلیسیدیل بوتیرات در مجاور کاتالیست لیتیم برمید واکنش داده است. در حالی که این روش به خوبی برای تهیه اکسازولیدینون استر با بازده بالا مناسب است. محدودیت عمومی آن نیاز به ایزوسیانات هایی است که به صورت تجاری در دسترس نیستند و بایستی به طور کلی تهیه ایزوسیانات ها شامل واکنش آنیلین ها با فسژن است که به دلیل تشکیل نمک هم ارز آنیلین هیدروکلراید

داده شد. سپس زیر صافی ها تغلیظ شده و ۰/۴ گرم رسوب سفید رنگ به دست آمد. رسوب به دست آمده با ۵/۱۱ میلی لیتر متانول - اتیل استات ۱۰ درصد در حمام آب گرم برای ۳۰ دقیقه حرارت داده و سپس تا صفر درجه سانتی گراد سرد شد. پس از آن رسوب صاف شد تا ۰/۲۶ گرم رسوب سفید رنگ (ترکیب ۹) با راندمان ۹۱ درصد و با نقطه ذوب ۲۰۰°C - ۱۹۸ به دست آمد [۱۶].

¹H NMR (DMSO, ۵۰۰ MHz) δ: ۹.۰۳ (brs, ۲H, NH_۲⁺), ۸.۲۶ (t, ۱H, J=۶ Hz, CONH), ۷.۵۰ (dd, ۱H, J=۱۵ و ۲.۵ Hz, H_۲ fluorobenzene), ۷.۱۹ (dd, ۱H, J=۹ و ۲.۵ Hz, H_۳ fluorobenzene), ۷.۱۲ (t, ۱H, J=۹ Hz, H_۴ fluorobenzene), ۴.۶۸-۴.۷۱ (m, ۱H, H_۵ oxazolidinone), ۴.۰۷ (t, ۱H, J=۹ Hz, CH_۲NH), ۳.۶۹ (dd, ۱H, J=۹ و ۶ Hz, CH_۲NH), ۳.۳۹ (t, ۲H, J=۵.۵ Hz, CH_۲ oxazolidinone), ۳.۲۱-۳.۲۲ (m, ۲H, piperazine), ۳.۱۶-۳.۱۷ (m, ۳H, piperazine), ۱.۸۱ (s, ۳H, CH_۳CO); IR: ν_{max} (KBr) ۳۴۳۶ و ۳۳۲۹ (NH), ۱۷۴۱ (C=O) و ۱۶۴۴ (CONH) cm⁻¹; MS: m/z ۳۳۷ (۴۵, M⁺), ۲۹۵ (۱۰۰), ۲۵۰ (۵۳), ۱۹۱ (۳۲), ۵۷ (۳۲).

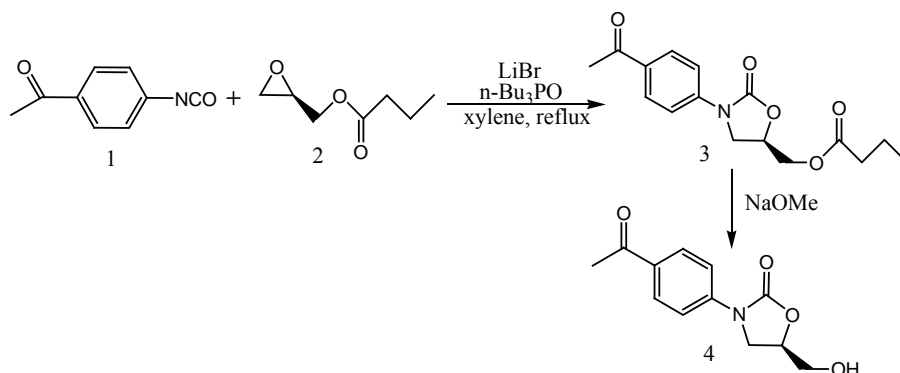
بررسی فعالیت ضد باکتریایی

ترکیب ۱۰ برای بررسی اثر ضد باکتریایی بر روی تعدادی از باکتری های گرم-مثبت شامل:

Staphylococcus aureus ATCC ۶۵۳۸p,
Staphylococcus epidermidis ATCC ۱۲۲۲۸,
Staphylococcus warneri, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus luteus*,
Corynebacterium glutamicum, *Bacillus subtilis*
PTCC ۱۰۲۳, MRSA ۳, MRSA ۵ and MRSA ۱۷

و تعدادی از باکتری های گرم-منفی شامل:

Escherichia coli ATCC ۸۷۳۹, *Klebsiella pneumonia* ATCC ۱۰۰۳۱, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC ۹۰۲۷



شکل ۲ واکنش تهیه اکسازولیدینون استر

مخلوطی از چندین فراورده جانبی، شامل ایزومر ۴-هیدروکسی متیل-۲-اکسازولیدینون که از فرآیند دیگر به دست آمده می شود. روش گزارش شده، یک روش کلی برای سنتز نامتقارن N-آریل- (R۵)-هیدروکسی متیل-۲-اکسازولیدینون ها با چندین مزیت نسبت به روش های دیگر است:

۱) حلقه اکسازولیدینونی می تواند از N-آریل کربامات های در دسترس تهیه شود و از سمیت و سایر محدودیت های تهیه و جداسازی ایزوسیانات ها اجتناب می شود. این روش به طور گسترده ای استفاده از استخلاف آریل یا هترو آریل موجود در اکسازولیدینون ها را وسعت می بخشد. کربامات های پیش نیاز از آنیلین های استخلاف شده یا هترو آریل آمین ها و آلکوکسی کربونیل کلرید ها به آسانی تهیه می شود.

۲) ۵-(هیدروکسی متیل) اکسازولیدینون مورد نظر بدون نیاز به یک مرحله صابونی کردن به دست می آید.

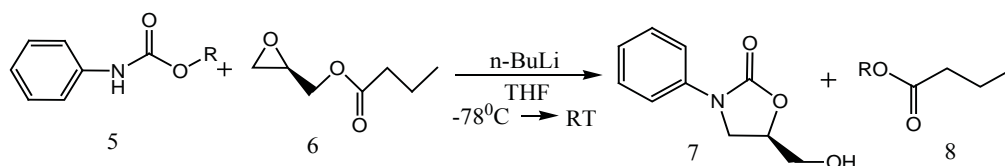
۳) شرایط واکنش بسیار ملایم است، راندمان بالاست و فراورده ۵-(هیدروکسی متیل) اکسازولیدینون با خلوص نوری بالایی به دست می آید.

با ۵۰ درصد وارونگی همراه است. افزون بر این، ماهیت سمی فسژن، سایر محدودیت ها شامل دمای زیاد مورد نیاز برای یک مرحله اضافی جهت شکستن استر بوتیرات، که ترکیب ۴ را تولید می کند را نیز شامل می شود.

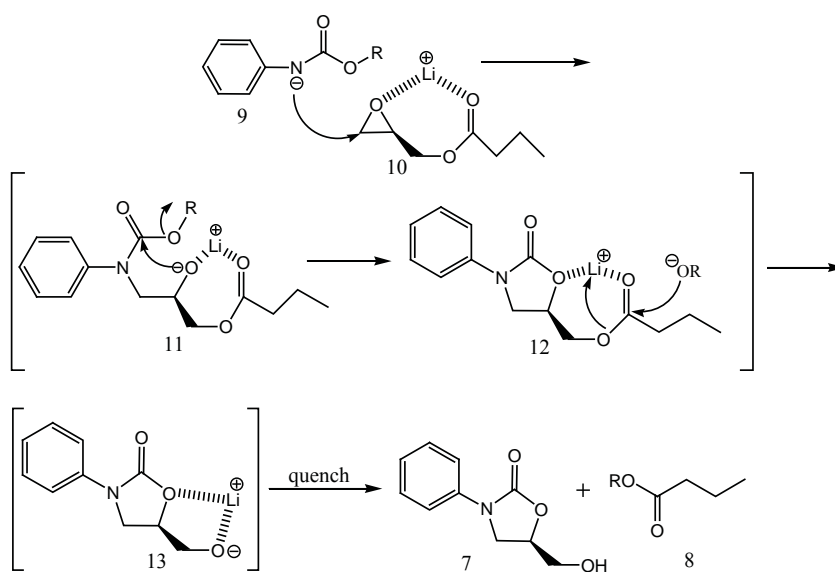
یک روش جدید و ملایم تر، برای سنتز اکسازولیدینون ها، شامل آلکیل دار کردن R- گلیسیدیل بوتیرات (ترکیب ۶) که به صورت تجاری قابل دسترس است با N-لیتیو- N-آریل کربامات هایی که با پروتون زدایی از آریل کربامات ها با استفاده از *n*- بوتیل لیتیم در دمای -۷۸- درجه سانتیگراد انجام می شود، پیشنهاد شده است (شکل ۳) مکانیسم انجام این واکنش در شکل ۴ گزارش شده است.

N-آریل-۵- هیدروکسی متیل اکسازولیدینون به طور مستقیم از این واکنش به دست می آید که جا به جایی استر نیز به صورت هم زمان با استفاده از لیتیم آلکوکسید تهیه شده در حلقوی شدن انجام می شود. تعادل جا به جایی استری به نفع تشکیل نمک ۱۳ است (شکل ۴).

استفاده از یون لیتیم برای حفظ استرئوشیمی واکنش لازم است. در مقابل استفاده از نمک های سدیم (NaH), $(\text{NaN}(\text{SiMe}_3)_2)$ یا پتاسیم $(\text{KN}(\text{SiMe}_3)_2, \text{KH})$ نیازمند دماهای بالاتری است و فراورده ها بازدهی کمتری دارند، همچنین منجر به تشکیل



شکل ۳ روش جدید تهیه اکسازولیدینون



شکل ۴ تعادل جا به جایی استری

بحث و بررسی اثرات ضد میکروبی

مقایسه با سیپروفلوکساسین ($3.125 \mu\text{g/ml} = \text{MIC}$) داشته است. اگرچه این ترکیب بر روی باکتری گرم-منفی *Pseudomonas aeruginosa* (a.P)، همانند لایزولید بی اثر بوده؛ ولی در سایر مورددهای دارای اثرهای ضد باکتری بوده است و در نهایت این نتیجه های مثبت راه را برای تبدیل این ترکیب به یک ماده دارای ارزش دارویی هموار می سازد.

مقدارهای MIC بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر در جدول ۱ آورده شده است. این مقدارهای نشان می دهند که ترکیب ۱۰ در مقایسه با لایزولید اثر بسیار بیشتری در بازدارندگی باکتری گرم-منفی *Escherichia coli* (E.coli) داشته است ($\text{MIC} = 50 \mu\text{g/ml}$). همچنین این ترکیب روی باکتری گرم-مثبت *Micrococcus luteus* (l.M) اثر بازدارندگی دو برابر قویتری در

جدول ۱ فعالیت ضدباکتریایی ترکیب ۱۰ و داروهای مرجع در محیط کشت مصنوعی (ml/μg in MICs)										
میکروارگانیزم ^a	B. s	C. g	E. c	K. p	M. l	P. a	S. a	S. e	S. l	S. s
۱۰	۱۲/۵	۱/۵۶۳	۵۰	۲۵	۱/۵۶۳	>۱۰۰	۱۲/۵	۶/۲۵	۱۲/۵	۳/۱۲۵
لاینزولید	۰/۳۹۱	۰/۷۸۱	>۱۰۰	۶/۲۵	۰/۷۸۱	>۱۰۰	۰/۷۸۱	۰/۷۸۱	۱/۵۶۳	۰/۷۸۱
سیپروفلوکساسین	۰/۱۹۵	۰/۳۹۱	۰/۰۱۲	۰/۰۰۳	۳/۱۲۵	۰/۳۹۱	۰/۱۹۵	۰/۳۹۱	۰/۷۸۱	۰/۰۹۸

^a B. s: Bacillus subtilis PTCC ۱۰۲۳; C. g: Corynebacterium glutamicum; E. c: Escherichia coli ATCC ۸۷۳۹; K. p: Klebsiella pneumonia ATCC ۱۰۰۳۱; M. l: Micrococcus luteus; P. a: Pseudomonas aeruginosa ATCC ۹۰۲۷; S. a: Staphylococcus aureus ATCC ۶۵۳۸p; S. e: Staphylococcus epidermidis ATCC ۱۲۲۲۸; S. l: Staphylococcus lentus; S. s: Staphylococcus saprophyticus.

مراجع

- [9] Jones, R. N.; Johnson, D. M.; Erwin, M. E.; Antimicrob Agents Chemother; 3, 720-6; 1996.
- [10] Norrby, R.; Expert Opin Pharmacother; 2, 293-302; 2001.
- [11] Diekema, D. I.; Jones, R. N.; Drugs; 1, 7-16; 2000.
- [12] Fasani, E.; Tilocca, F.; Albini, A.; Photochem Photobiol; 4, 879-85; 2009.
- [13] Johnson, A. P.; IDrugs; 3, 240-5; 2003.
- [14] Hutchinson, D. K.; Curr Top Med Chem; 9, 1021-42; 2003.
- [15] Bernard, L.; Stern, R.; Lew, D.; Hoffmeyer, P.; Clin Infect Dis; 9, 1197; 2003.
- [16] Brickner, S. J.; Hutchinson, D. K.; Barbachyn, M. R.; Manninen, P. R.; Ulanowicz, D. A.; Garmon, S. A.; Grega, K. C.; Hendges, S. K.; Toops, D. S.; Ford, C. W.; Zurenko, G. E.; J Med Chem; 39, 673-79; 1996.
- [17] Baron, E. J.; Bailey, W. R.; Finegold, S. M., Mosby in St. Louis. Written in English, xv; 861, 139; 1990.
- [1] Tally, F. P.; DeBruin, M. F.; J Antimicrob Chemother; 4, 523-6; 2000.
- [2] Wilcox, M. H.; Expert Opin Pharmacother; 13, 2315-26; 2005.
- [3] Stevens, D. L.; Dotter, B.; Madaras-Kelly, K.; Expert Rev Anti Infect Ther; 1, 51-9; 2004.
- [4] Nilius, A. M.; Curr Opin Investig Drugs; 2, 149-55; 2003.
- [5] Moellering, R. C.; Ann Intern Med; 2, 135 42; 2003.
- [6] Renslo, A. R.; Luehr, G. W.; Gordeev, M. F.; Bioorg Med Chem; 12, 4227-40; 2006.
- [7] Lee, J. S.; Cho, Y. S.; Chang, M. H.; Koh, H. Y.; Chung, B. Y.; Pae, A. N.; Bioorg Med Chem Lett; 22, 4117-20; 2003.
- [8] Das, B.; Rudra, S.; Yadav, A.; Ray, A.; Rao, A. V.; Srinivas, A. S.; Soni, A.; Saini, S.; Shukla, S.; Pandya, M.; Bhateja, P.; Malhotra, S.; Mathur, T.; Arora, S. K.; Rattan, A.; Mehta, A.; Bioorg Med Chem Lett; 19, 4261-7; 2005.

Synthesis and Evaluation of Antimicrobial Activity of (S)-N-[[3-[3-fluoro-4-(N-1-piperazinyl) phenyl]-2-oxo-5-oxazolidinyl] methyl]acetamide, hydrochloride

Maryam Nakhjiri*¹, Marjaneh Samadizadeh¹, Abbas Shafiee² and Alireza Foroumadi²

1- Department of Chemistry, Islamic Azad Uni., Tehran-center Branch, Sana'at Sq, Tehran, Iran.

2- Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract: The introduction of oxazolidinones to clinical practice represents an important advance in the therapy of infections due to some gram-positive bacteria. An oxazolidinone derivative has been synthesized and evaluated against a panel of Gram-positive and Gram-negative bacteria using a conventional agar dilution method. MIC values were compared with those of linezolid and ciprofloxacin as reference drugs. Thus, in the present study we report synthesis and antibacterial activity assay of (S)-N-((3-(3-fluoro-4-(piperazin-1-yl)phenyl)-2-oxooxazolidin-5-yl)methyl)acetamide hydrochloride and it was shown to be highly potent against gram-negative bacterium 'Escherichia coli' (MIC= 50 µg/ml). In addition this compound found to act 2 times more potent against gram-positive bacterium 'Micrococcus luteus' (MIC=3.125 µg/ml).

Keywords: Oxazolidinone; gram bacteria; Antibacterial activity.

*E mail: maryam_nakhjiri@yahoo.com