

Synthesis of 1-aryl 4-phenyl 1,2,3-triazols and Investigating Anti-Fungal and Anti-Bacterial Activity in *In Vitro* Conditions

Elham Zarenezhad¹, Abdolmajid Ghasemian¹, Aida Iraj^{2,3}, Mahsa Rostami chijan⁴, Maryam Kazemi¹, Elham Haghjoo⁴

¹Noncommunicable Diseases Research Center, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

²Stem Cells Technology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

³Research Center for Traditional Medicine and History of Medicine, Department of Persian Medicine, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

⁴Department of Persian Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

Abstract

Background: 3,2,1 triazoles are an important class of five-membered heterocyclic compounds whose unique biological properties have made them an important class of chemical compounds. The biological activity of these compounds is known as anti-fungal, anti-bacterial, anti-tumor, anti-inflammatory, anti-depressant, anti-tuberculosis, anti-HIV, etc.

Materials and methods: In this research, first we synthesized new courcomin catalyst. We investigated synthesis of some 1,2,3 triazol derivatives and evaluated their anti-bacterial and anti-fungal effects. After synthesis and purification of some 1,2,3-triazol compound, the inhibitory effect of compounds against fungal (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*) and against bacterial (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) was evaluated.

Results: It was found that compound (**3**): 1-(4-bromobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-ol exhibited the best antifungal activities. Also this compound showed good activity against *Staphylococcus aureus* as a Gram-positive bacteria.

Conclusion: According to the results, it seems that the use of recombinant substance 3 as a new compound with acceptable antimicrobial properties can be considered.

Keywords: *Azoles, Antimicrobial activity, Biological activity.*

Cited as: Zarenezhad E, Ghasemian A, Iraj A, Rostami chijan M, Kazemi M, Haghjoo E. Synthesis of 1-aryl 4-phenyl 1,2,3-triazols and Investigating Anti-Fungal and Anti-Bacterial Activity in In Vitro Conditions. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2024; 34(1): 46-55.

Correspondence to: Elham Zarenezhad, Mahsa Rostami Chijan

Tel: +98 7153314068

E-mail: El.zarenezhad@gmail.com, mahsa_59_2007@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0003-2805-1910, 0000-0001-5617-9191

Received: 8 May 2023; **Accepted:** 30 Aug 2023

سنتر ترکیبات ۱-آریل-۴-فنیل ۱،۲،۳-تری آزول ها و بررسی فعالیت ضد قارچی و ضد باکتریای آنها در شرایط برون تنی

الهام زارع نژاد^۱، عبدالمجید قاسمیان^۱، ایدا ایرجی^۲، مهسا رستمی چایجان^۴، مریم کاظمی^۱، الهام حق جو^۴

^۱مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

^۲مرکز تحقیقات فناوری سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

^۳مرکز تحقیقات طب سنتی و تاریخ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

^۴بخش طب ایرانی دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

چکیده

سابقه و هدف: ۱،۲،۳-تری آزول‌ها طبقه مهمی از ترکیبات هتروسیکلی پنج عضوی هستند که خواص بیولوژیکی منحصر به فرد آنها را به طبقه مهمی از ترکیبات شیمیایی تبدیل کرده است. فعالیت زیستی این ترکیبات از قبیل مواد ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد تومور، ضد التهاب، ضد افسردگی، ضد سل، ضد HIV و غیره شناخته شده است. **روش بررسی:** در این مطالعه بر آن شدیم تا مشتقات آزولی را سنتز کرده و اثرات ضد قارچی آن را بررسی کنیم. ابتدا کاتالیزگر بر پایه کورمین سنتز و با *CuI* مشخص شد پس از سنتز، خالص سازی و شناسایی محصولات ۱،۲،۳-تری آزولها، خواص ضد قارچ ترکیبات بر علیه قارچ‌های (آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس) و همچنین خواص ضد باکتری آن بر علیه (اشرشیاکلی و استفیلوکوکوس اورئوس) مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** بر اساس تست‌های بررسی شده مشخص شد ماده نوترکیب ۳ با نام ۱-(۴-برمو بنزیل)-۱-هیدروژن ۱ و ۲-تری آزول ۴-ایل مؤثرترین اثرات ضد قارچی خود را در بین ۸ ترکیب مورد مطالعه از خود نشان داده است. همچنین این ترکیب تأثیری خوبی بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس آرتوس از خود نشان داد.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد استفاده از ماده نوترکیب ۳ به عنوان ترکیب جدید با خواص ضد میکروبی قابل قبول می‌تواند مطرح باشد.

واژگان کلیدی: آزول‌ها، خاصیت ضد میکروبی، خواص بیولوژیکی.

مقدمه

شیمی کلیک (Click Chemistry) ارائه شده به وسیله شارپلس و همکارانش در سال ۲۰۰۱، به طور انکار ناپذیر یکی از مهم‌ترین روش‌ها در شیمی معاصر است. عبارت «واکنش کلیک» مجموعه‌ای از واکنش‌های آلی را توصیف می‌کند که تحت شرایط ملایم در

واکنش‌های حلقه‌زایی، در حضور کاتالیزگر مس به صورت انتخابی پیش می‌رود (۱). از میان عده‌ای از واکنش‌های کلیک که در گذشته گزارش شده، واکنش حلقه‌زایی دو قطبی ۱ و ۳ آزیدها و آلکین‌های در حدود یک قرن پیش شناخته شده است. بررسی مکانیسمی این واکنش توسط *Hougen* و *Guch* انجام شده است (۲) مشخص شده است که استفاده از مس به عنوان کاتالیزگر سرعت واکنش حلقه‌زایی جهت گزین را تا بصورت 1×10^7 برابر افزایش می‌دهد (۳). امروزه سنتر ترکیبات آزولی بیشترین توجه را به خود جلب کرده و در حوزه‌های مختلف شیمی آلی، شیمی دارویی، شیمی پلیمر، شیمی مواد، بیوشیمی و زیست‌شناسی شیمیایی بکار گرفته شده است (۴-۶). آزیدهای آلی ترکیبات حدواسط با ارزشی در سنتز به شمار

آدرس نویسنده مسئول: فسا، مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر دانشگاه علوم پزشکی فسا، الهام زارع

نژاد، بخش طب ایرانی، دانشگاه علوم پزشکی فسا مهسا رستمی چایجان

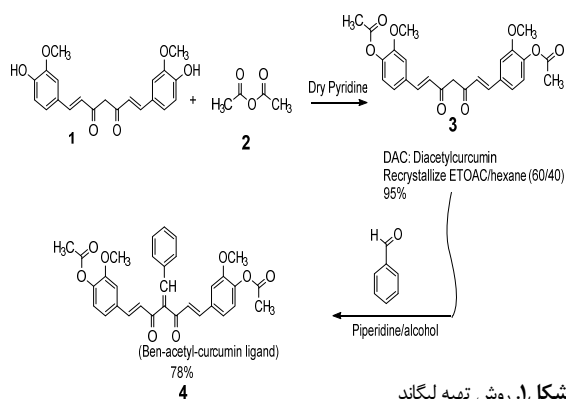
(email: El.zarenezhad@gmail.com, mahsa_59_2007@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0003-2805-1910, 0000-0001-5617-9191

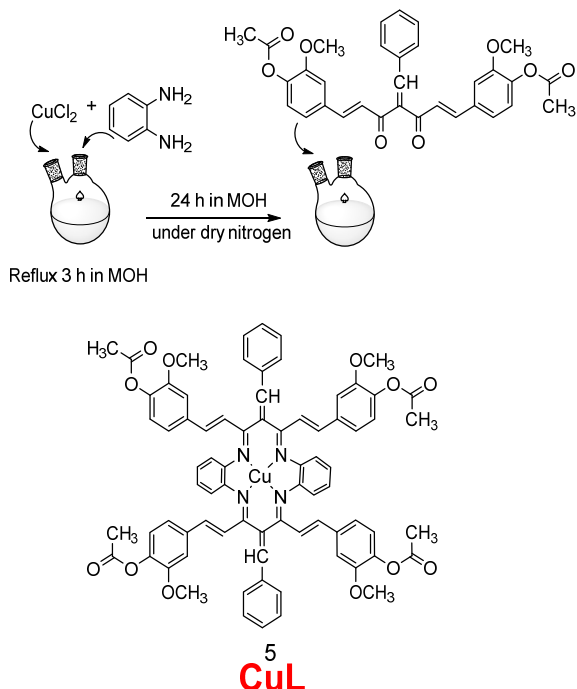
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۲/۱۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۶/۸

پیریدین هم زده شده و مخلوط به دست آمده طی فرایند خالص سازی در مخلوط حلال اتیل استات و هگزان نرمال (۴۰/۶۰) متبلور شد و ترکیب دی استیل کورکومین اون (۳) با راندمان ۹۵ درصد بدست آمد. در مرحله دوم دی استیل کورکومین (۱ میلی مول) و بنزالدهید (۱ میلی مول) در حضور کاتالیزگر پیپریدین و در حلال الکلی متانول به هم خورد و لیگاند بنزلیدین-استیل-کورکومین (۴) با راندمان ۷۸ درصد تشکیل شد (شکل ۱).



در مرحله سوم کلرید مس (۱ میلی مول) و ارتوفنیلین دی آمین در متانول برای سه ساعت بازروانی شد سپس بنزلیدین استات کورکومین (۴) حل شده در متانول به مخلوط واکنش اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت تحت همزن مکانیکی قرار گرفت. (شکل ۲) در نهایت کریستال های ایجاد شده از کاتالیزگر صاف شد و تحت خلاء خشک و به صورت CuL در مقاله معرفی شد.



می آیند. از زمان تهیه آزیدها توسط Petter Grape در سال ۱۸۶۴ تا کنون، این ترکیبات مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۷). یکی از نگرانی های عمده علوم پزشکی مقاومت باکتریایی و قارچی است تا جایی که مقاومت بعضی از باکتری ها و قارچها به بیش از ۹۰ درصد رسیده است (۸). الکساندر فلمینگ با بررسی مقاومت باکتری-ها در سال ۱۹۴۵ موفق به کسب جایزه نوبل شد (۹). امروزه در مواردی که مقاومت دارویی ایجاد می شود با تغییر دارو به مقابله با آن می پردازند (۱۰). از آنجا که ۱ و ۲-تری آزولها بزرگترین خانواده داروهای ضد قارچی هستند که با ممانعت از متیلانسیون لانسترون موجب اختلال در سنتز ارگسترول می شود (۱۱). تأثیر بالینی مناسب و بی خطر بودن داروهای آزولی در درمان عفونت های سطحی و منتشره قارچی موجب مصرف روز افزون آنها در سرتاسر جهان شده است (۱۱، ۱۲). در سال های اخیر به علت علاقه و توجه ما به سنتز ترکیبات آزولی و بررسی خواص ضد باکتری و ضد قارچی آنها (۱۳-۱۵) در این تحقیق سنتز مشتقات آزولی و اثرات ضد قارچی ترکیبات مورد مطالعه قرار گرفت. در این مقاله روش ملایم و موثری برای سنتز کاتالیزگر مس و سپس مشتقات ۱-آریل-۴-فنیل-۲،۱-تری آزول گزارش شده است.

مواد و روشها

مواد شیمیایی و معرف های مورد استفاده

تمامی مواد و وسایل آزمایشگاهی مورد نیاز شامل پروپاژیل برمید، سدیم آزید، سود، کلروفرم، اتیل استات، هگزان نرمال، تتراهیدروفوران، استونیتریل، سیلیکاژل، کاغذ TLC، کربنات پتاسیم، فناسیل برمید و مولار هینتون برات و ساپرا دکستروز برات از شرکت های مرک، فولکا و آلدريج خریداری و بدون خالص سازی مورد استفاده قرار گرفتند. حلال هگزان نرمال، اتیل استات پس از تقطیر استفاده گردید. طیف های ¹HNMR در حلال CDCl₃ با استفاده از دستگاه بوکر اوانس در ۲۵۰ MHz اندازه گیری شد. و ¹³CNMR در حلال CDCl₃ با دستگاه بروکر اوانس با قدرت ۷۵ مگاهرتز اندازه گیری شد. طیف های FTIR با استفاده از قرص پتاسیم برماید KBr با دستگاه JASCO FT/IR 400 PLUS ثبت شد. پیشرفت واکنش ها با TLC و استفاده از صفحات سیلیکاژل مورد بررسی قرار گرفت و جهت کروماتوگرافی صفحه ای از سیلیکاژل ۶۰ با مش ۴۰۰-۲۳۰ استفاده شده است.

روش سنتز کاتالیزگر مس جدید بر پایه کورکومین

ابتدا کاتالیزگر فعال مس به عنوان کاتالیزگر مناسب برای سنتز مشتقات ۲،۱-تری آزولی بر اساس مطالعات قبلی ساخته شد (۴، ۱۶). در مرحله اول کورکومین (۱) و استیک اندرید (۲) در حلال

روش عمومی سنتز تری آزولها

در این روش ۲ میلی مول آلکیل هالید، ۲ میلی مول آلکین (شامل پروپاژیل الکل و فنیل استیلن)، ۲/۲ میلی مول سدیم آزید و ۰/۰۴ مول کاتالیزگر سنتز شده CuL به همراه آسکوربیک اسید به عنوان احیا کننده (۰/۲ میلی مول) به بالنی که حاوی ۵ میلی لیتر آب و ۱۰ میلی لیتر تتراهیروفوران اضافه و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به شدت هم زده شد، با گذشت هر ۳۰ دقیقه نمونه گیری انجام شد و روند پیشرفت واکنش با TLC مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. پس از اطمینان از پایان واکنش به وسیله پیگیری با TLC، مخلوط واکنش جهت استخراج با آب و کلروفرم رقیق شد و در مرحله بعد محصول که قابلیت حل شدن در کلروفرم را دارد با استفاده از قیف جداکننده جداسازی و با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء استخراج گردید و رسوب سفیدی بدست آمد. در نهایت محصول خام بدست آمده به روش تبلور مجدد در آب و اتانول خالص سازی و آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی انجام گردید. اطلاعات طیفی همراه با طیف NMR آنها از دو ترکیب جدید آورده شده است.

داده های طیفی ترکیبات جدید سنتز شده

ترکیب ۲ جدول (۱):

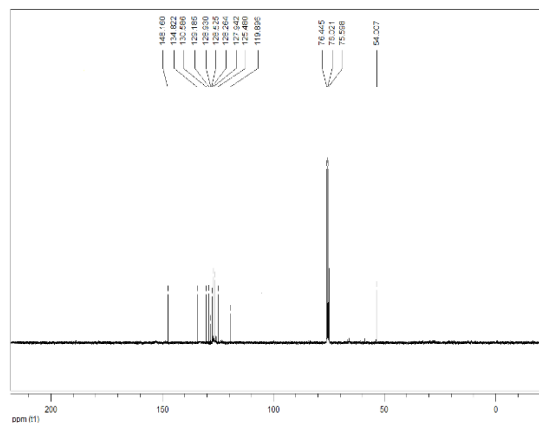
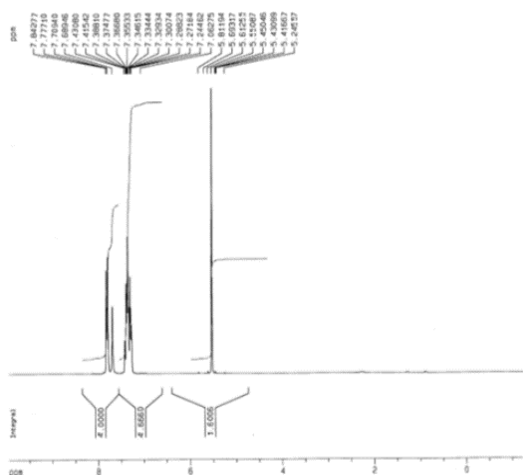
1-Benzyl-4-phenyl-1H-1,2,3-triazole (2):
Recrystallization from EtOH/H₂O (3:1) gave compound 2 as colorless crystals in 92% yield; mp 129–130 °C; IR (KBr): $\nu=698,724, 780, 1049, 1076, 1223, 1358, 1465, 3120\text{cm}^{-1}$; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta=5.55$ (s, 2H), 7.24–7.43 (m, 6 H), 7.70 (s, 1 H), 7.77–7.84 (m, 4H); ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): $\delta=54.0, 119.8, 125.4, 128.2, 127.9, 128.5, 128.9, 129.1, 130.5, 134.8, 148.1$; anal. calcd. for C₁₅H₁₃N₃ (235.284): C 76.57, H 5.57; found: C 76.41, H 5.68.

ترکیب ۴ جدول (۱):

1-(4-Bromobenzyl)-4-phenyl-1H-1,2,3-triazole (4):
Recrystallization from EtOH/H₂O (3:1) gave compound 4 as colorless crystals in 87% yield; mp 152.5–153 °C; IR (KBr): $\nu=692, 762, 799, 1052, 1078, 1220, 1432, 1460, 1486, 3086\text{cm}^{-1}$; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta=5.52$ (s, 2 H), 7.17 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.25–7.45 (m, 3 H), 7.54 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.69 (s, 1H), 7.82 (d, 2H, J=8.4 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): $\delta=59.8, 119.8, 122.9, 125.6, 127.4, 128.1, 128.9, 129.3, 129.4, 132.1, 134.0, 148.5$; anal. calcd. for C₁₅H₁₂BrN₃ (314.180): C 57.34, H 3.85; found: C 57.20, H 3.95.

روش تهیه سوسپانسیون باکتریای و قارچی:

باکتری های *Staphylococcus aureus* (PTCC 1133) و قارچ های *Candida albicans* (ATCC 10231), *Aspergillus niger* (ATCC 16404), مورد مطالعه قرار گرفت و سپس هر باکتری در محیط مولر هینتون آگار به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و و هر قارچ در محیط ساپرو دکستروز آگار به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد کشت داده شد. سپس برای تهیه سوسپانسیون باکتری در شرایط استریل و محیط مولر هینتون برات و در فاز رشد لگاریتمی توسط دستگاه اسپکتوفتومتر با لوله استاندارد مک فارلند شماره ۰/۵ غلظت نیم مک فارلند از هر باکتری بدست آمد (۱۶) همچنین تهیه سوسپانسیون قارچی نیز از کلونیهای ایجاد شده در سرم فیزیولوژی انجام شد، سپس با استفاده از لام نفوبار غلظتی از سلول های قارچی معادل ۱/۵ * ۱۰^۳ اسپور در میلی لیتر به دست آمد.



شکل ۳. طیف ترکیب ۲

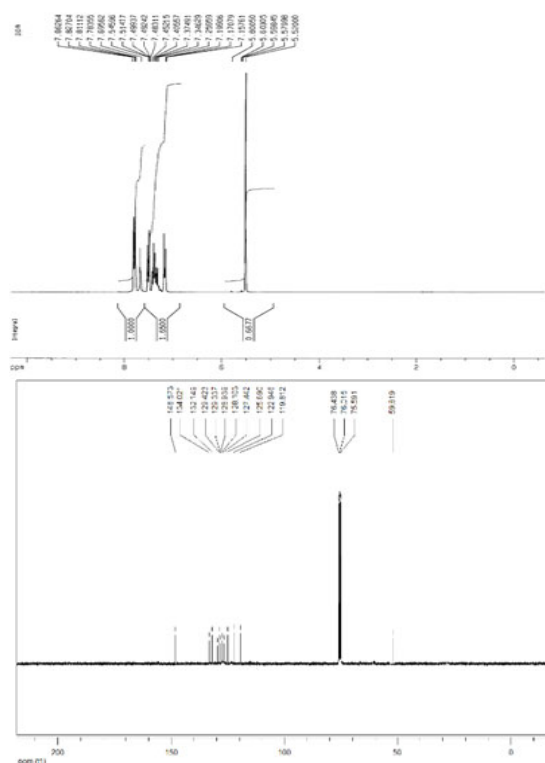
درجه سانتی گراد، نتایج قرائت گردید. وجود کدورت در هر چاهک نشان دهنده رشد باکتری می باشد. آخرین گوده ای که کدورت را نشان نداد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد گزارش شد و از آمپی سلین و جنتا مایسین به عنوان داروی استاندارد کنترل رشد استفاده شد. روش MIC برای قارچ ها هم به شکل بالا استفاده شد با این تفاوت که از محیط کشت سابرو دکستروز برات و از کلوتریمازول به عنوان داروی استاندارد کنترل رشد استفاده شد

تحلیل آماری

تمامی ترکیبات سنتز شده و داروهای استاندارد مورد استفاده با سه بار تکرار مورد ارزیابی بر علیه میکروب ها قرار گرفت. تحلیل آماری تمام نمونه ها با کمک نرم افزار Spss نسخه ۲۰ و روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام شد.

یافته‌ها

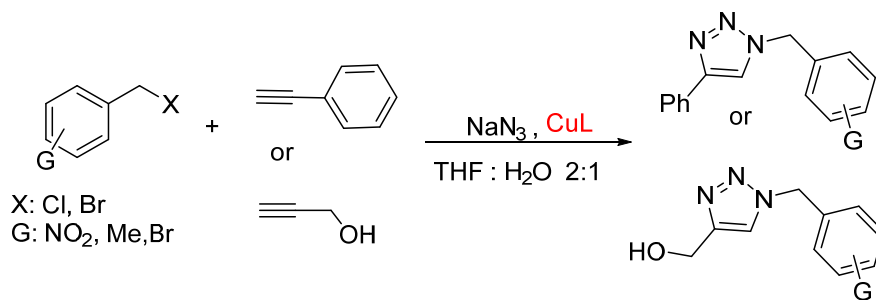
امروزه پژوهشگران در تلاش هستند که دسته جدیدی از مولکول‌ها که دارای خواص ضد میکروبی هستند را طراحی و سنتز کنند، به همین دلیل در ادامه تحقیقات خود در زمینه سنتز ترکیبات آزولی (۴، ۱۴، ۱۷) بر آن شدیم که طبق گزارشات انجام شده (۱۸) مشتقاتی از ۳،۲،۱-تری آزول‌ها ایجاد، و به بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی آنها پرداخته شود. برای سنتز این ترکیبات از بنزوئیل هالیدها و مشتقات استیلنی شامل (پروپازیل الکل یا فنیل استیلین) در حضور سدیم آزید و کاتالیزگر مس در مخلوط حلال آب و تتراهیرو فوران طبق شکل ۵ انجام شد. به منظور بهینه‌سازی شرایط واکنش، تأثیر حلال‌های آلی مختلف در حضور کاتالیزگر در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). همان طور که در جدول ۱، به خوبی نشان داده شده است، حلال نقش مهمی در پیشرفت واکنش دارد. در میان حلال های مورد بررسی، مخلوط حلال تتراهیرو فوران و اب با تسبب حجمی ۲ به ۱ (جدول ۱، ردیف ۵) بهترین نتیجه نشان داد.



شکل ۴. طیف ترکیب ۴

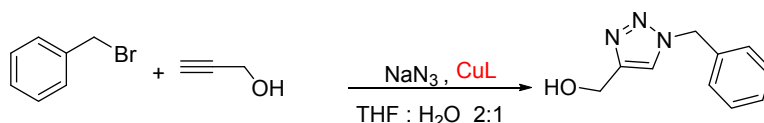
روش حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC)

در مرحله اول محلول های استوک از ترکیبات سنتز شده به وسیله ی حل کردن مقادیر لازم در حلال DMSO به دست آمد و تمامی استوک ها با غلظت ۱۰۰ میکروگرم/میلی لیتر تهیه شد. آزمایش MIC از روش میکروبراث دیلوشن با استفاده از میکروپلیت ۹۶ خانه ای استریل طبق پروتوکل CLSI انجام شد. برای باکتری ها، ابتدا به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از استوک مشتقات آزولی ساخته شده ریخته شد سپس از محیط کشت مولر هینتون برات ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه شد (در گروه کنترل ۱۰۰ میکرولیتر از استوک آبی بیوتیک دارویی شامل جنتامایسین و آمپی سلین با غلظت اولیه ۱۰۰) ریخته شد، سپس از چاهک اول ۱۰۰ میکرو لیتر را برداشته به چاهک دوم اضافه گردیده و به همین ترتیب تا چاهک ۱۱ رقیق سازی گردید و به خانه ۱۲ اضافه نگردید، خانه ۱۲ برای کنترل رشد باکتری استفاده گردید. در مرحله بعد به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷



شکل ۵. سنتز ترکیبات آزولی

جدول ۱. اثر حلالهای مختلف آلی برای تولید محصول (۱-بنزیل-۱-هیدروژن، ۳،۱-۲-تربازول-۴-ایل) متانول در حضور کاتالیزگر



ردیف	حلال ^a	Time (h)	دما (درجه سانتیگراد)	راندمان (%) ^b
۱	H ₂ O/DMSO	۰/۷۵	۱۰۰	۷۹
۲	H ₂ O/DMF	۰/۷۵	۱۰۰	۷۳
۳	H ₂ O/ <i>t</i> -BuOH	۱/۵	۱۰۰	۶۰
۴	H ₂ O/MeCN	۱/۲۵	۱۰۰	۷۰
۵	H ₂ O/THF	۰/۵	۱۰۰	۹۰
۶	H ₂ O/DMSO	۱	۱۰۰	۹۶
۷	H ₂ O/acetone	۲	۱۰۰	۵۲
۸	H ₂ O	۴	۱۰۰	۴۱
۹	THF	۴	۱۰۰	۶۳

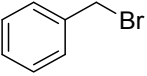
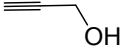
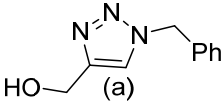
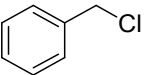
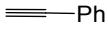
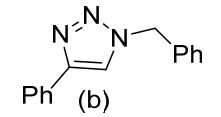
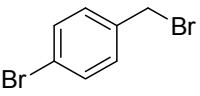
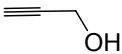
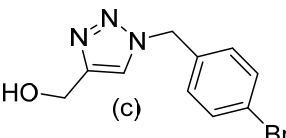
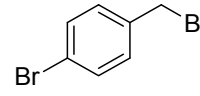
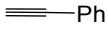
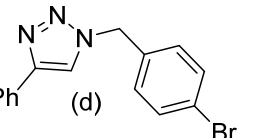
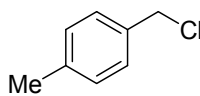
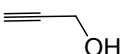
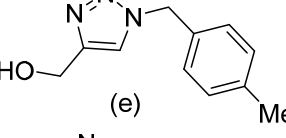
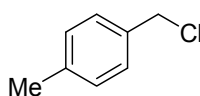

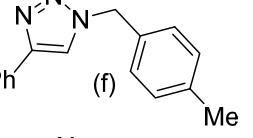
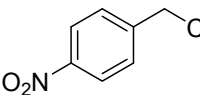
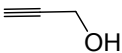
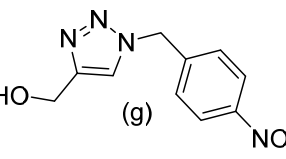
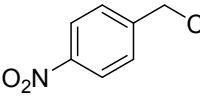
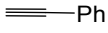
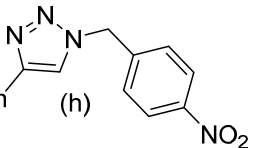
^a For entries 1-7, a mixture of 1:2 (V/V) solvents were used. ^b Isolated yield.

برای بررسی قدرت کاتالیزوری کاتالیزگر [CuL] و سایر کاتالیزگرهای مس گزارش شده در حلقه زایی کلیک نتایج مقایسه‌ای در جدول ۳ خلاصه شده است. هنگامی که واکنش در غیاب کاتالیزگر انجام شد، حتی با افزایش زمان واکنش، هیچ محصولی تشکیل نشد (جدول ۳، ردیف ۱). با توجه به نتایج جدول ۳، بازده بالاتر محصول 1a و زمان واکنش کوتاهتر با استفاده از [CuL] (جدول ۳، ردیف ۲) در مقایسه با سایر کاتالیزگرهای مس بررسی شده، به دست آمد. استفاده از کاتالیزگرهای دیگر نتایج رضایت بخشی برای تولید محصول 1a به همراه داشت، با این حال واکنش‌ها به زمان واکنش طولانی‌تری نیاز داشتند، همان طور که در (جدول ۳، ردیف ۵، ۶) مشاهده می‌شود. واکنش حلقه زایی کلیک که سادگی و شرایط ملایم و ایجاد محصولات ناحیه‌گزين از مشخصه اصلی این واکنش هاست (۱۹)، بین آزیدها و آلکین‌ها در حضور کاتالیزگر مس در شرایط ملایم طبق شکل (۶) انجام می‌گیرد. ابتدای

علاوه بر این، استفاده از نسبت حلال‌های آلی به آب شامل دی‌متیل سولفوکساید / آب و دی‌متیل فرماید / آب با نسبت حجمی ۲ به ۱ نیز محصول را در زمان معقولی تولید کرد. استفاده از مخلوط حلال‌های دیگر، بازده متوسطی از محصول را در دوره‌های زمانی طولانی‌تر به همراه داشت. علاوه بر این، زمانی که آب و تتراهیدروفوران به تنهایی استفاده شدند، بازده ۴۱٪ و ۶۳٪ برای ۱a به ترتیب پس از ۴ ساعت به دست آمد (جدول ۱، ردیف ۸ و ۹) عملکرد کم به دست آمده برای 1a با استفاده از آب، به عدم حلالیت مواد اولیه آلی در آب نسبت داده می‌شود.

بر این اساس ۸ مشتق ۳،۲،۱-تری آزول طبق جدول ۲ سنتز شد. در این سنتز از بنزیل هالیدهای دارای گروه‌های الکترون دهنده و الکترون کشنده استفاده گردید و مشخص شد هر دو گروه از ترکیبات قابلیت ایجاد حلقه‌های آزولی بر طبق این پروتکل (شکل ۵) را دارند.

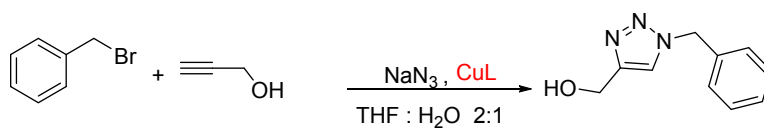
جدول ۲. نتایج حاصل از سنتز ۱ و ۲ تری آزولها

ردیف	هالید	آلکین	محصول	زمان (ساعت)	راندمان (%)	نقطه ذوب رفرنس
۱				۰/۶	۹۰	۷۵-۷۳ (۱۹) ۷۷-۷۴
۲				۰/۷	۹۲	۱۲۹-۱۳۱ (۱۹) ۱۳۰-۱۲۸
۳				۱/۶	۸۲	۱۱۱-۱۱۰ (۱۹) ۱۱۰
۴				۱/۵	۸۷	۱۵۲,۵-۱۵۳
۵				۱/۸	۸۳	۸۵-۸۸ ۸۵-۸۷
۶				۰/۶	۹۲	۱۵۷-۱۵۶ (۲۰) ۱۵۸-۱۵۶
۷				۳	۸۱	۹۵-۹۲ (۲۱) ۱۰۰-۹۵
۸				۲/۵	۸۵	۱۵۶-۱۵۸ 157- (19) ۱۵۹

انتهایی به کربن شماره ۲ استلید واکنش حلقه زایی انجام شده و حدواسط [IV] که شش عضوی است تشکیل شده که با نوآرایی که صورت می‌گیرد ترکیب حلقوی ۵ عضوی پایدار [V] ایجاد می‌شود و در مرحله آخر به سرعت کاتالیزگر از محیط واکنش خارج شده و محصول پنج عضوی آزولی ایجاد می‌شود (۲۲).

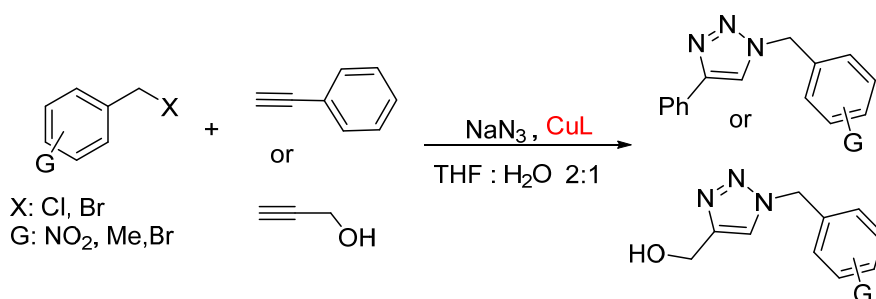
احیای کاتالیست مس (II) در حضور اسکوربیک اسید به مس (I) انجام می‌گیرد سپس مس (I) واکنش حلقه زایی بین آزیدها و آلکین ها طبق مکانیسم گزارش شده در شکل (۶) به صورت مرحله ای پیش می‌برد . مکانیسم با واکنش دادن آلکین با مس (I) آغاز می‌شود و حدواسط [I] ایجاد می‌شود در مرحله بعد آزید [III] با مس واکنش داده و حدواسط [III] ایجاد می‌شود، سپس در اثر حمله نیتروژن

جدول ۳. مقایسه کاتالیزگر [CuI] در مقایسه با کاتالیزگرهای دیگر برای تولید محصول (۱-بنزیل-۱-هیدروژن، ۳،۱-۲-تریازول-۴-یل) متانول

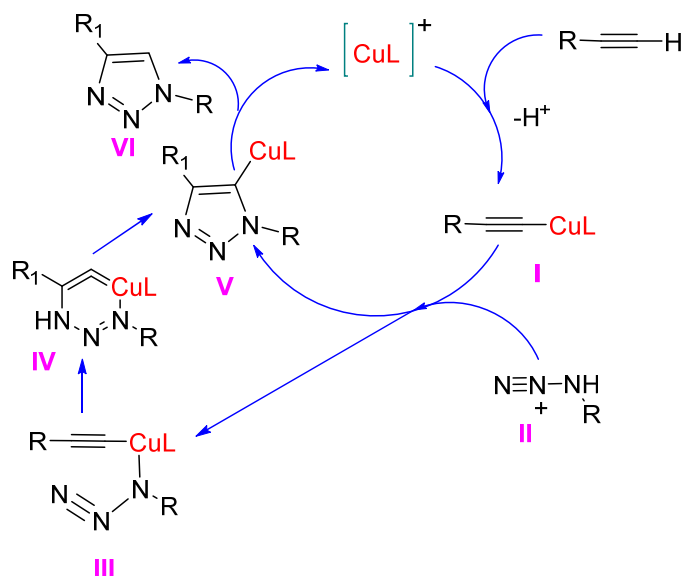


Entry ^{ref}	Catalyst	Time (h)	Yield ^a (%)
۱	-	۲	۰
۲	[CuI]	۰/۵	۹۰
۴ ^{۲۶}	CuI	۸	۸۴
۵ ^{۲۷}	Cu(OAc) ₂	۷	۷۳
۶ ^{۱۴}	Cu/C	۱	۸۷

^a Isolated yield.



شکل ۵. سنتز ترکیبات آزولی



شکل ۶. مکانیسم پیشنهادی سنتز آزولها

جولوگیری کند و در از بین رفتن آنها تأثیرگذار باشند، به همین دلیل خواص ضد باکتری و ضد قارچ ترکیبات آزولی (h-a) سنتز شده به روش میکرو دایلوژن به شکل زیر مورد بررسی قرار گرفت. با بررسی نتایج آزمایشات MIC باکتری-های مورد مطالعه (جدول ۴) مشاهده گردید، ترکیبات شیمیایی a و c در حداقل غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی

مشتقات آزولها می‌توانند با تأثیر بر روی غشا میکروارگانیسم‌ها و با اتصال به غشا و ترکیب با آنزیم سیتوکرم P450 سلول‌های قارچی موجب اختلال در سنتز ارگسترول شده و به همین دلیل ساخته شدن ناقص سلول قارچی رخ می‌دهد و در نهایت منجر به مرگ سلول قارچی می‌شود (۲۳). همچنین آزولها می‌تواند از رشد باکتری‌ها

و میر در سراسر جهان هستند (۲۴). آنتی بیوتیک‌ها معمولاً برای مبارزه با عفونت‌های میکروبی استفاده می‌شوند (۲۵). با این حال، به دلیل سوء استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، میکروب‌ها به طور فزاینده‌ای نسبت به اکثر آنها مقاوم‌تر شده‌اند. بنابراین، شیمی‌دانان دارویی به طور مداوم به دنبال جایگزین‌های جدید یا بهبود یافته برای مبارزه با عفونت‌های میکروبی هستند. یکی از مهم‌ترین مواد پرکاربرد که خانواده آزول‌ها است که مطالعات زیادی در زمینه خاصیت ضد میکروبی بر روی آنها انجام گرفته است (۱، ۵، ۲۶). در تحقیقات اخیر مشخص شد که آزول‌های حاوی کورکومین دارای خاصیت ضد میکروبی شایانی هستند (۲۷). تعداد زیادی از هیبریدهای ۱،۲،۴-تریازول حاوی کینولون با توجه به اثر ضد میکروبی قوی آنها، به ویژه در برابر سویه‌های باکتریایی مقاوم، در داروهای کاندید درمانی جدید گنجانده شده‌اند (۲۸). ترکیبات تری آزول حاوی تریازول خواص ضد میکروبی خوبی بر روی باکتریهای گرم مثبت و منفی نشان دادند (۲۹). نظر به اهمیت مشتقات آزولی در صنایع داروسازی بنابراین سنتز کاتالیزگرهای جدید و کاربردی برای تولید این دسته از مشتقات دارویی بسیار حائز اهمیت است.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر دانشگاه علوم پزشکی فسا تشکر می‌کنیم. این طرح با کد اخلاق IR.FUMS.REC.1400.078 مورد تایید کمیته اخلاق قرار گرفته است.

لیتر بر روی باکتری گرم مثبت استفیلوکوکوس آرتوس و ترکیبات شیمیایی a و g در حداقل غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بر روی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی اثرات بازدارندگی رشد خود را نسبت به باکتری‌های مورد مطالعه نشان داده‌اند ($P < 0.05$) که عملکرد خوب این دسته از ترکیبات را میتوان به حضور گروه عاملی هیدروکسیل در این دسته از ترکیبات نسبت داد که نفوذ پذیری در غشا باکتری را افزایش میدهد. و نیز ترکیب c بیشترین اثرات بازدارندگی ضد قارچی خود را در حداقل غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس و ترکیبات شیمیایی g، d، c، h در حداقل غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین اثر بازدارندگی رشد را بر روی قارچ اسپرژیلوس نایجر نشان داد ($P < 0.05$).

با بررسی جامع تر نتایج میتوان به این نتیجه رسید که ماده نو ترکیب a به عنوان موثر ترین ماده با خواص مهارى رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی می باشد و ماده نو ترکیب c موثرترین اثرات ضد قارچی خود را در بین ۸ ترکیب مورد مطالعه از خود نشان داده اند و نیز از سوی دیگر ماده نو ترکیب c علاوه بر اثرات ضد قارچی، اثرات ضد باکتری گرم مثبت را به همراه دارد.

بحث

امروزه با توجه به مقاومت میکروبی سنتز ترکیبات جدید با خاصیت ضد میکروبی بسیار حایز اهمیت است (۲۴). در حال حاضر، در بیمارستان‌ها و مراکز بهداشتی اجتماعی، عفونت‌های میکروبی بیماری‌های بسیار شایعی هستند و عامل اصلی مرگ

REFERENCES

- Marzi M, Farjam M, Kazeminejad Z, Shiroudi A, Kouhpayeh A, Zarenezhad E. A recent overview of 1, 2, 3-triazole-containing hybrids as novel antifungal agents: focusing on synthesis, mechanism of action, and structure-activity relationship (SAR). *J Chem* 2022;2022:1-50.
- Huisgen R. Kinetics and reaction mechanisms: selected examples from the experience of forty years. *Pure Appl Chem* 1989;61:613-28.
- Haridas V, Sharma YK, Sahu S, Verma RP, Sadanandan S, Kacheshwar BG. Designer peptide dendrimers using click reaction. *Tetrahedron* 2011;67:1873-84.
- Afsarian MH, Farjam M, Zarenezhad E, Behrouz S, Rad MNS. Synthesis, antifungal evaluation and molecular docking studies of some tetrazole derivatives. *Acta Chimica Slovenica* 2019;66:874-87.
- Kazeminejad Z, Marzi M, Shiroudi A, Kouhpayeh SA, Farjam M, Zarenezhad E. Novel 1, 2, 4-Triazoles as Antifungal Agents. *BioMed Res Int* 2022;2022.
- Thirumurugan P, Matosiuk D, Jozwiak K. Click chemistry for drug development and diverse chemical-biology applications. *Chem Rev* 2013;113:4905-79.
- Bräse S, Gil C, Knepper K, Zimmermann V. Organic azides: an exploding diversity of a unique class of compounds. *Angew Chem Int Ed Engl* 2005;44:5188-240.

8. Khosravi A, Malecan M. Effects of *Lavandula stoechas* extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria. *J Inflamm Dis* 2004;7:3-9.
9. Fleming A. The true history of the discovery of penicillin. *Biomed Sci* 2003:247.
10. Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Science* 1992;257:1064-73.
11. Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and emerging azole antifungal agents. *Clin Microb Rev* 1999;12:40-79.
12. Warnock D. Itraconazole and fluconazole: new drugs for deep fungal infection. *J Antimicrob Chemother* 1989;24:275-6.
13. Behrouz S, Rad MNS, Rostami S, Behrouz M, Zarehnezhad E, Zarehnezhad A. Design, synthesis, and biological activities of novel azole-bonded β -hydroxypropyl oxime O-ethers. *Mol Divers* 2014;18:797-808.
14. Rad MNS, Behrouz S, Behrouz M, Sami A, Mardkshoshnood M, Zarenezhad A, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel 1, 2, 3-triazolyl β -hydroxy alkyl/carbazole hybrid molecules. *Mol Divers* 2016;20:705-18.
15. Zarenezhad E, Soltani Rad MN, Behrouz S, Esmailzadeh S, Farjam M. Immobilized [Cu (cdsalMeen)] on silica gel: a highly efficient heterogeneous catalyst for 'Click'[3+ 2] Huisgen cycloaddition. *J Iran Chem Soc* 2017;14:509-19.
16. Rajesh J, Gubendran A, Rajagopal G, Athappan P. Synthesis, spectra and DNA interactions of certain mononuclear transition metal (II) complexes of macrocyclic tetraaza diacetyl curcumin ligand. *J Mol Struct* 2012;1010:169-78.
17. Foroughi HO, Kargar M, Erjaee Z, Zarenezhad E. One-pot three-component reaction for facile and efficient green synthesis of chromene pyrimidine-2, 4-dione derivatives and evaluation of their anti-bacterial activity. *Monatsh Chem* 2020;151:1603-8.
18. Hashemi E, Beheshtiha YS, Ahmadi S, Heravi MM. In situ prepared CuI nanoparticles on modified poly (styrene-co-maleic anhydride): An efficient and recyclable catalyst for the azide-alkyne click reaction in water. *Transit Met Chem* 2014;39:593-601.
19. Tourani H, Naimi-Jamal MR, Panahi L, Dekamin M. Nanoporous metal-organic framework Cu₂ (BDC) 2 (DABCO) as an efficient heterogeneous catalyst for one-pot facile synthesis of 1, 2, 3-triazole derivatives in ethanol: Evaluating antimicrobial activity of the novel derivatives. *Sci Iran* 2019;26:1485-96.
20. Sharghi H, Khalifeh R, Doroodmand MM. Copper nanoparticles on charcoal for multicomponent catalytic synthesis of 1, 2, 3-Triazole derivatives from benzyl halides or alkyl halides, terminal alkynes and sodium azide in water as a "Green" solvent. *Advanced Synthesis and Catalysis* 2009;351:207-18.
21. Zohreh N, Hosseini SH, Pourjavadi A, Bennett C. Immobilized copper (II) on nitrogen-rich polymer-entrapped Fe₃O₄ nanoparticles: a highly loaded and magnetically recoverable catalyst for aqueous click chemistry. *Appl Organomet Chem* 2016;30:73-80.
22. Himo F, Lovell T, Hilgraf R, Rostovtsev VV, Noodleman L, Sharpless KB, et al. Copper (I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *J Am Chem Soc* 2005;127:210-6.
23. Orozco AS, Higginbotham LM, Hitchcock CA, Parkinson T, Falconer D, Ibrahim AS, et al. Mechanism of fluconazole resistance in *Candida krusei*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2645-9.
24. Zarenezhad E, Abdulabbas HT, Marzi M, Ghazy E, Ekrahi M, Pezeshki B, et al. Nickel nanoparticles: applications and antimicrobial role against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Antibiotics* 2022;11:1208.
25. Hoolageri SR, Nesaragi AR, Kamble RR, Dixit S, Vootla S, Joshi SD, et al. Green Synthesis of Novel Triazolothiadiazine-Coumarins Catalyzed by Agro Waste Extract: An Approach towards In-Silico and In-Vitro Anti-Fungal Activity. *Chemistryselect*. 2022;7:e202200077.
26. Strzelecka M, Świątek P. 1, 2, 4-Triazoles as important antibacterial agents. *Pharmaceuticals* 2021;14:224.
27. Patil SA, Nesaragi AR, Rodríguez-Berrios RR, Hampton SM, Bugarin A, Patil SA. Coumarin triazoles as potential antimicrobial agents. *Antibiotics* 2023;12:160.
28. Ezelarab HAA, Abbas SH, Hassan HA, Abuo-Rahma GEA. Recent updates of fluoroquinolones as antibacterial agents. *Arch Pharm* 2018;351:e1800141.
29. Gondru R, Kanugala S, Raj S, Ganesh Kumar C, Pasupuleti M, Banothu J, et al. 1,2,3-triazole-thiazole hybrids: Synthesis, in vitro antimicrobial activity and antibiofilm studies. *Bioorganic Med Chem Lett* 2021;33:127746.