سنتز و بررسی اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مشتقات آلیلوکسی چالکون

جاوید شهبازی مجرد*[۱]، غلامرضا زرینی[۲]، حسین ناظمیه[۳]، محمدرضا زواره[۱]، زهرا خوشکام[۲]، داود عسگری[۱]

[۱]گروه شیمی دارویی، دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. [۲]گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران.

[۳]گروه فارماکوگنوزی، دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۵ ، تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۷

Synthesis , Antimicrobial and Antioxidant Evaluations of Allyloxy Chalcone Derivatives

Shahbazi Mojarrad J. [1*], Zarrini G. [2], Nazemiye H. [3], Zavareh M.R. [1], Khoshkam Z.[2], Asgari D.[1]

[1]Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. [2]Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran. [3]Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Received: 15 Jan. 2011, Accepted: 27 Apr. 2011

Objectives: Chalcones, a class of natural products, have different biological activities. The aim of this research was synthesis and evaluation of antimicrobial effects of three chalcones bearing allyloxy moiety similar to some natural flavanoids. **Methods:** Chalcones (3a-c) were prepared in two steps. First, vanillin, isovanillin and salicylaldehyde were reacted with allyl bromide to afford allyloxy aldehydes. Then, allyloxy aldehydes were reacted with 2-hydroxyacetophenone in the alkaline media to afford final products. Standard disc diffusion and Agar dilution methods were used for analyzing antimicrobial activities on three gram-positive and two gram-negative bacterial species and also three fungi species. Antioxidant activity of the compounds was determined by DPPH using brand-Williams method. **Results:** Chalcones 3a-c were synthesized as yellow-orange crystals in 60-70% yield. Chalcone 3c with concentration about 4 mg/disc had 11.7 mm inhibition zone on *P. aeruginosa* and Chalcone 3b with MIC value about 0.5 mg/ml, exhibited 8.8 and 16.5 mm inhibition zone in 2 and 4 mg/disc for *S. epidermidis,* respectively. Mean while MIC value of the Chalcones 3a and 3c was more than 2 mg/ml. Chalcones 3a-c had no antifungal activities. Antioxidant activities of chalcones 3a, 3b and 3c were determined to be 31, 28 and 27 percent respectively. **Conclusion:** Chalcones 3a-c were synthesized in two steps. Their antimicrobial and antioxidant activities were evaluated. The two 3b and 3c regioisomers showed selective and weak antibacterial activities. Chalcone 3b and 3c affected on gram positive and gram negative bacteria, respectively. Chalcone 3a did not show any antibacterial activity.

Key words: *Antimicrobial activity, Allyloxy chalcone, Antioxidant*

زمینه و هدف: چالکونها ترکیبات طبیعی با اثرات وسیع بیولوژیکی هستند. در این مقاله سه چالکون حاوی آلیلوکسی مشابه بعضی از فلاونوئیدهای پیچیده طبیعی سنتز گردیده و همچنین اثرات ضدمیکروبی آنها بررسی شده است. **روش ها:** مشتق آلیلوکسی چالکونهای ۳a-c از واکنش وانیلین و ایزووانیلین و سالیسیل آلدئید با آلیل بروماید و سپس با استوفنون در محیط بازی، در طی دو مرحله سنتز شدند. روش استاندارد دیسک دیفوژن و رقت سازی در آگار برای اندازه گیری اثرات ضدمیکروبی ترکیبات ۳a-c روی ۳ گونه باکتری گرم مثبت و ۲ گونه باکتری گرم منفی و ۳ گونه قارچ استفاده شد. اثرات آنتی اکسیدانی آنها با روش DPPH اندازه گیری گردید. **یافته ها:** چالکونهای ۳a-c بصورت کریستال های زرد – نارنجی با بهره ۷۰–٦۰٪ سنتز شدند. چالکون ۳c در غلظت ٤ mg قطر هاله ۱۱/۷mm روی *P. aeruginosa* ایجاد کرد. چالکون ۳b با MIC معادل ۰/۵ mg/ml روی *S. epidermidis* در غلظتهای ۲ mg و ٤ به ترتیب هاله های۸/۸mm و ۱٦/۵ را نشان داد. مقدار MIC برای چالکونهای ۳a و۳c بالای ۲ mg/ml بدست آمد. اثرات آنتی اکسیدانی چالکونهای ۳a ، ۳b و ۳c به ترتیب ۳۱ ، ۲۸ و ۲۷ درصد بود در ضمن چالکونهای سنتزی اثر ضدقارچی نداشتند. **نتیجه گیری:** چالکون ۳a-c در دو مرحله سنتز شدند و اثرات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آنها بررسی گردید. اگرچه چالکونهای ۳b و ۳c با هم رابطه ایزومری ساختاری دارند ، چالکون ۳b و۳c بترتیب روی باکتری گرم مثبت و منفی اثرضدباکتریایی ضعیف اما انتخابی نشان دادند. چالکون ۳a هیچگونه اثر ضدمیکروبی نداشت.

کلمات کلیدی: آلیلوکسی چالکون، ضدمیکروب، آنتی اکسیدان

*نویسنده مسئول: جاوید شهبازی مجرد، دانشیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

تلفن:۳۳٤۱۳۱۵ – ۰٤۱۱ فاکس: ۳۳٤٤۷۹۸ –۰٤۱۱ ،

ایمیل: jvshahbazi@yahoo.com و shahbazi_j@tbzmed.ac.ir

*Corresponding address: Javid Shahbazi Mojarrad, Associate Professor, Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Tel: +98-411-3341315; Fax: +98-411-3344798,

E-mail: Shahbazi_j@tbzmed.ac.ir , jvshahbazi@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

١- مقدمه

چالکونها که جز مشتقات ٣،١- دی آریل-٢-پروپن-١-اون میباشند ترکیبات طبیعی تا صناعی هستند که پیشسازی برای تهیه فلاونوئیدها (فلاوانون، فلاوون، فلاوونول، آرئون و ایزوفلاوانون) مورد استفاده قرار می گیرند. از چالکونهای طبیعی می توان به 4-Hydroxyderricin (١)، deoxy-xanthoangelol H (٢)، Licochalcone A-D و echinatin (٣) و غیره اشاره نمود. چالکونهای طبیعی یا سنتتیک اثرات بیولوژیکی مختلفی نظیر: ضدباکتریایی (٧-٣)، ضد قارچی (٩ ،٨)، ضدسرطانی (١١، ١٠، ٧) و ضدالتهابی (١٢ ،٧)، ضد لشمانیایی (١٣ ،٧) نشان میدهند. مطالعات نشان داده است که چالکونها اثرات ضد باکتریایی خوبی روی گونه های باکتری حساس و مقاوم به دارو نشان داده اند برای مثال چالکونهای سنتز شده توسط Liu و همکارانش روی گونه *S. aureus* خیلی موثر بوده اند (١٥ ،١٤). تحقیقات ادامه داری در جهت سنتز و تست اثرات ضدباکتریایی آنالوگهای جدید چالکونی در حال انجام است.

ساختار شیمیایی ترکیبات چالکونی با استخلاف آلیلوکسی یا پرنیلوکسی در شکل ١ آمده است. یکسری از چالکونهای طبیعی ، ترکیبات چالکونی هستند که دارای استخلاف پرنیل (prenyl) یا ژرانیل (geranyl) بوده که از طریق اکسیژن یا مستقیما به حلقه فنیل متصل میباشند. با توجه به اینکه گروه آلیل نظیر پرنیل بوده لذا ترکیبات چالکونی حاوی استخلاف آلیل مورد توجه قرار گرفته اند که میتوانند اثرات بیولوژیکی مختلفی داشته باشند. Sofalcone که یک مشتق پرنیلوکسی چالکون طبیعی بوده که دارای گروه پرنیل مشابه به آلیل است در مواضع پارای حلقله فنیل قرار گرفته است، روی هلیکوباکتر پیلوری اثر ضدباکتری خوبی نشان می دهد (١٦).

Chen و همکارانش ترکیب ٤،٢-دی متوکسی-'٤- آلیلوکسی چالکون خیلی موثر روی عامل مولد لشمانیا را معرفی نمودند که همانطوری که از ساختار ترکیب مشخص است علاوه بر گروه های متوکسی و هیدروکسی دارای گروه آلیلوکسی نیز در موقعیت پارای حلقه فنیل است (١٧). Aponte و همکارانش از روی ترکیبات طبیعی دی هیدروچالکونی که از گیاه *Iryanthera juruensis* Warb (Myristicaceae) جداسازی شده بود ترکیبات '٢،'٤-دی آلیلوکسی چالکونی حاوی دو گروه آلیلوکسی در موقعیت های ارتو و پارای حلقه فنیل سنتز نمودند که دارای فعالیت ضدتریپانوزوما (Anti-*Trypanosoma cruzi*) داشت (١٨). Kyogok و همکارانش ترکیب *O*-دی آلیلوکسی چالکونی A را که دارای اثر بهبودی زخم دارد را سنتز نمودند و بدنبال آن Mukherjee و همکارانش ترکیبات *O*-آلیلوکسی چالکون B را سنتز نمودند که دارای اثرات ضدتهاجمی (antiinvasive) روی سلولهای سرطانی MCF-7/6 نشان دادند (٦). در مشتقات پرنیلوکسی چالکون طبیعی همچون cordoin و 4-hydroxycordoin و آلیلوکسی چالکونهای سنتز شده که اثر ضدباکتری روی باکتریهای گرم مثبت و منفی داشتند نقش گروه های هیدروکسی و متوکسی و همینطور محل قرار گرفتن استخلافها روی حلقه های فنیل هم حائز اهمیت است همچنین عنوان شده که گروه های آلیل ، پرنیل و ژرانیل روی مولکول چالکون به عبور بهتر ترکیب از غشاهای بیولوژیکی کمک می کند (١٩).

در این مقاله سعی شده است که سنتز و اثرات ضد میکروبی سه مشتق چالکونی که حاوی آلیلوکسی و متوکسی روی حلقه B چالکون (ترکیبات **٣a-c**) مورد بررسی قرار گیرد.

٢- مواد و روش ها

٢-١: مواد

تمام ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در این مقاله از کارخانه مرک آلمان خریداری شد.

٢-٢: دستگاه

دستگاه اندازه گیری نقطه ذوب Gallenkamp ساخت انگلستان، طیف نگار مادون قرمز (FT-IR) مدل ٤٣٠٠ Shimadzu ساخت ژاپن و طیف نگار رزونانس مغناطیسی هسته (NMR)، ٢٠٠ مگاهرتز، مدل Bruker -Spectrospin در این مقاله مورد استفاده قرار گرفت.

٢-٣: روش کلی سنتز ٢- آلیلوکسی بنزآلدهیدها (٢a-c)

٦٠ میلی مول از مشتق بنزآلدهیدی در ٥٠ میلی لیتر استون حل شد و به آن ١٤/٤ گرم (١١٨/٨ میلی مول) آلیل برمید و ١٦/٢ گرم (١١٧ میلی مول) کربنات پتاسیم خشک اضافه گردید و در دمای ٦٠ درجه سانتی گراد به مدت ٤ ساعت حرارت داده شد. بعد از خنک شدن در دمای اتاق از صافی عبور داده شد و رسوب صاف شده با استون شستشو و سپس استون آن تحت خلا تبخیر گردید. کروماتوگرافی ستونی منجر به خالص سازی محصول شد.

٢-٤: روش کلی تهیه مشتقات آلیلوکسی چالکون (٣a-c)

٥٠ میلی مول آلیلوکسی بنزآلدهید های **٢a-c** و ٤/٦ گرم (٥٠ میلی مول) هیدروکسی استوفنون به نسبت مولی ١ به ١ باهم مخلوط شد و به مخلوط در حال به هم خوردن ، ٢٠ میلی لیتر محلول ٦٠٪ هیدروکسید پتاسیم متانولی به صورت

Archive of SID

www.SID.ir

قطره قطره اضافه گردید و به مدت ٢٤ تا ٣٦ ساعت به هم زده شد. بعد از اطمینان از اتمام واکنش توسط کنترل واکنش با TLC ، به منظور بدست آوردن چالکون، pH مخلوط با استفاده از اسید کلریدریک ١ نرمال تا ٧ پائین آورده شد و چالکون بدست آمده ٣ بار با اتیل استات (هر بار با ٣٠ میلی لیتر) از فاز آبی استخراج شد. از سولفات سدیم بدون آب به منظور جذب آب باقی مانده در فازهای آلی استفاده گردید. اتیل استات تحت خلأ تبخیر شد و سپس محصول با کروماتوگرافی بر روی ستون سیلیکاژل توسط سیستم حلال مناسب جداسازی شد.

٢-٥: روش بررسی اثر آنتی اکسیدانی چالکونهای a-3c با استفاده از متد DPPH

برای بررسی درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH از روش تغییر یافته برند- ویلیامز استفاده شد (٢٠). در این روش رادیکال آزاد پایدار به صورت محلول متانولی بنفش است که در صورت افزودن آنتی اکسیدان رنگ آن روشن و متمایل به زرد رنگ می شود که این تغییر رنگ را می توان از طریق کاهش جذب DPPH نیز مشاهده کرد.

از هر کدام از نمونه های چالکونی محلول ٥ میلی مولار در DMSO تهیه شد و محلولی با غلظت ٢٠٠ میکرومولار در محلول DPPH (٢ml) تهیه گردید و به مدت٢٠ دقیقه انکوبه شد . سپس میزان جذب آنها توسط اسپکتروفتومتر UV-visible در nm ٥١٧ اندازه گیری شد (A_s). میزان جذب DPPH خالص نیز در همان طول موج به عنوان کنترل تعیین می شود (A_c).

در این روش درصد فعالیت مهاری رادیکال های آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه می شود.

$$\% \text{ radical scavenging DPPH} = (A_c - A_s) \times 100 / A_c$$

نتایج بدست آمده با چالکون ها با فعالیت Trolox به عنوان شاهد مثبت مقایسه شد. میزان RC_{50} نشان دهنده غلظتی از ترکیبات است که سبب مهار ٥٠٪ رادیکال های آزاد DPPH شود.

٢-٦: روش بررسی اثر ضدمیکروبی چالکونهای 3a-c

در این بررسی از نمونه های باکتریایی *Staphylococcus epidermidis, Bacillus subtilis, Bacillus cereus,* و *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* نمونه های قارچی *Cryptococcus neoformans, Candida albicans* و *Saccharomyces cerevisiae* استفاده شد. اثر ضدمیکروبی سه چالکون سنتز شده به روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. برای این منظور مقادیر ١ ، ٢ و ٤ میلی گرم از این ترکیبات در شکل محلول در DMSO روی دیسک های استاندارد ٦/٤mm تهیه شد. دیسک های شاهد منفی از DMSO نیز تهیه گردید تا اثر ضدمیکروبی احتمالی حلال پایه نیز در نظر گرفته شود. نمونه های میکروبی در غلظت نیم مک فارلند تهیه و با سواب در سطح پلیت کشت داده شد و دیسک ها روی آن قرار داده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) از روش رقت سازی در آگار استفاده شد.

در این روش از محیط جامد مولر هینتون آگار حاوی غلظت های مختلف از ترکیبات مورد بررسی تهیه و در پلیت ها ریخته شد.

پس از بستن محیط ها، سوسپانسیونی از نمونه های میکروبی مورد آزمون در غلظت نیم مک فارلند (١/٥×١٠^٨cfu/ml) تهیه شد و با رقیق سازی سوسپانسیونها به cfu/ml ١٠^٦ ×٥ مقدار ٥ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتری به صورت نقطه ای روی پلیت ها قرار داده شد و رشد باکتری ها پس از ٢٤ ساعت گرماگذاری در ٣٧ °C با پلیت شاهد که فاقد ترکیب ضدمیکروبی بود مقایسه گردید. برای بررسی اثر ضد قارچی ترکیبات به روش مشابه روی محیط سابرود دکستروز آگار کشت داده شد و در دمای ٣٠°C به مدت ٢٤ ساعت گرماگذاری انجام شد (٢١).

٣- نتایج

یافته های حاصل از سنتز ترکیبات بهمراه خواص فیزیکی در جدول ١ آورده شده است.

در زیر نتایج و تفسیر طیف FT-IR و^{1}H NMR همان ترکیبات آمده است.

٣-١: یافته‌های حاصل از سنتز ترکیب ٢- آلیلوکسی بنزآلدهید (2a)

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 10.58 (s, 1H, CHO), 7.88 (dd, 1H, J= 1.76 Hz, J=7.21 Hz, C_6H), 7.55 (td, 1H, J= 1.82 Hz, J= 7.3 Hz, C_4H), 6.99-7.10 (m, 2H,C_5H, C_3H), 6.20-6.02 (m, 1H, -HC=C), 5.54-5.37 (m, 2H, $C=CH_2$), 4.70 (d, 2H, J=5.06 Hz, OCH_2)

٣-٢: یافته‌های حاصل از سنتز ترکیب ٤-آلیلوکسی-٣-متوکسی بنزآلدهید (2b)

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 9.81 (s, 1H, CHO), 7.41 (d, 1H, J=1.85 Hz, C_6H), 7.37 (s, 1H, C_2H), 6.94 (d, 1H, J= 8.72 Hz, C_5H), 6.15-5.96 (m, 1H, -HC=C), 5.46-5.28 (m, 1H, $C=CH_2$), 4.66 (d, 2H, J=3.57 Hz, OCH_2), 3.90 (s, 3H, OCH_3)

٣-٣: یافته‌های حاصل از سنتز ترکیب ٢-آلیلوکسی-٣- متوکسی بنزآلدهید (2c)

Archive of SID

www.SID.ir

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 10.47 (s, 1H, CHO), 7.47 (d, 1H, J=3.8 Hz, C_6H), 7.44 (d, 1H, J= 3.8 Hz, C_4H), 7.17 (t, 1H, J= 3.74, J= 1.64 Hz, C_5H), 6.21-6.01 (m, 1H, -HC=C), 5.43-5.27 (m, 2H, $C=CH_2$), 4.69 (d, 2H, J=6.04 Hz, OCH_2), 3.93 (s, 3H, OCH_3)

٤-٣: یافته‌های حاصل از سنتز ترکیب٣- ('٢- آلیلوکسی فنیل) -١- (٢- هیدروکسی فنیل) پروپن اون (٣a)

IR (NaCl) ν 3139 (O-H), 3050 (C-H, aromatic), 2869 (C-H, aliphatic), 1689 (C=O), 1635 (C=C conjugated), 1570 (C=C phenyl), 1025 cm^{-1} (C-O). ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 13.02 (s, 1H, OH), 8.27(d, 1H, J= 15.6 Hz, H_β),7.98(d, 1H, J= 8.23 Hz, C_6H), 7.89 (d, 1H, J= 15.6 Hz, H_α) 7.69 (d, 1H, J= 7.6 Hz, C_4H), 7.59-7.33 (m, 3H, C_5H, $C_{4'}H$, $C_{6'}H$), 7.13-6.99 (m, 3H, $C_{3'}H$, C_3H, C_5H), 6.25-6.09 (m, 1H, -HC=C), 5.56-5.38 (m, 2H, $C=CH_2$), 4.71 (d, 2H, J= 5.2 Hz, OCH_2); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ 194.56 (C=O), 161.20 (C_2), 151.072 ($C_{3'}$), 149.75 ($C_{4'}$), 146.40 (C_β), 136.85 (-CH=), 133.84 (C_4), 129.39 (C_6), 128.87 (C_3), 127.90 (C_1), 125.07 (C_α), 119.75 (C_5), 118.99 ($C_{1'}$), 118.83 ($C_{6'}$), 118.36 ($C_{5'}$), 116.48 ($C_{2'}$), 113.42 ($=CH_2$), 69.34 ($-OCH_2-$).

٥-٣: یافته‌های حاصل از سنتز ترکیب ٣- ('٤- آلیلوکسی- '٣- متوکسی فنیل) -١- (٢- هیدروکسی فنیل)پروپن اون (٣b)

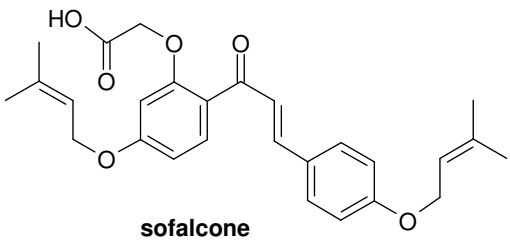
IR (NaCl) ν 3078 (O-H), 3050 (C-H, aromatic), 2850 (C-H, aliphatic), 1689 (C=O), 1637 (C=C conjugated), 1566 (C=C phenyl), 1026 cm^{-1} (C-O). ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8.10 (d, 1H, J= 7.10 Hz, C_6H), 7.93 (d, 1H, J= 15.3 Hz, H_β), 7.56 (d, 1H, J= 15.3 Hz, H_α), 7.55-6.90 (m, 6H, H aromatic), 6.30-6.00 (m, 1H, -HC=C), 5.55-5.30 (m, 2H, $C=CH_2$), 4.73 (d, 2H, J=5.34 Hz, OCH_2), 4.01 (s, 3H, OCH_3); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ 194.57 (C=O), 161.21 (C_2), 151.07 ($C_{3'}$), 149.75 ($C_{4'}$), 146.42 (C_β), 136.85 (-CH=), 133.84 (C_4), 129.39 (C_6), 128.87 (C_3), 127.90 (C_1), 125.08 (C_α), 119.75 (C_5), 119.01 ($C_{1'}$), 118.85 ($C_{6'}$), 118.37 ($C_{5'}$), 116.49 ($C_{2'}$), 113.43 ($=CH_2$), 69.37 ($-OCH_2-$), 56.34 ($-OCH_3$).

٦-٣: یافته‌های حاصل از سنتز ترکیب ٣- ('٢- آلیلوکسی- '٣- متوکسی فنیل) -١- (٢- هیدروکسی فنیل) پروپن اون (٣c)

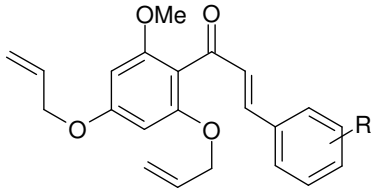
IR (NaCl) ν 3080 (O-H), 3050 (C-H, aromatic), 2850 (C-H, aliphatic), 1693 (C=O), 1639 (C=C conjugated), 1575 (C=C phenyl), 1026 cm^{-1} (C-O). ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8.24 (d, 1H, J= 15.3 Hz, H_β), 7.95 (d, 1H, J= 7.20 Hz, C_6H), 7.82 (d, 1H, J= 15.3 Hz, H_α), 7.60-7.45 (m, 1H, C_4H), 7.31-6.94 (m, 5H, C_3H, C_5H, $C_{4'}H$, $C_{5'}H$, $C_{6'}H$), 6.19-6.16 (m, 1H, -HC=C), 5.48-5.29 (m, 2H, $C=CH_2$), 4.63 (d, 2H, J=5.90 Hz, OCH_2), 3.90 (s, 3H, OCH_3); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ 194.65 (C=O), 161.21 (C_2), 153.22 ($C_{3'}$), 147.59 ($C_{2'}$), 140.03 (C_β), 137.05 (-CH=), 134.43 (C_4), 129.44 (C_6), 128.960 (C_3), 128.67 (C_1), 124.76 (C_α), 122.24 ($C_{1'}$), 120.06 ($C_{5'}$), 119.70 ($-C_5$), 119.06 ($C_{6'}$), 118.43 ($C_{4'}$), 116.48 ($=CH_2$), 74.32 ($-OCH_2-$), 56.34 ($-OCH_3$).

Archive of SID

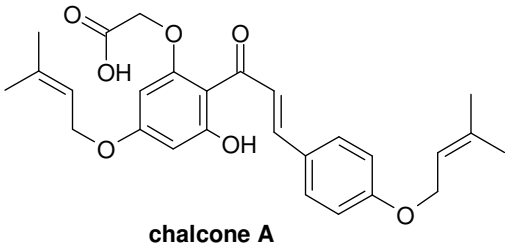
www.SID.ir



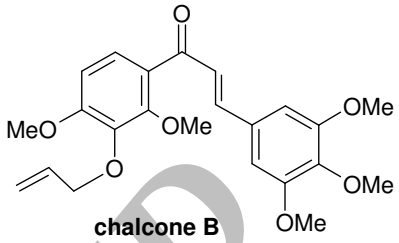
sofalcone



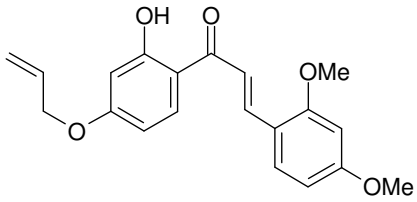
2',4'-diallyloxychalcone derivatives



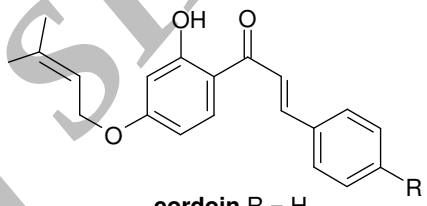
chalcone A



chalcone B

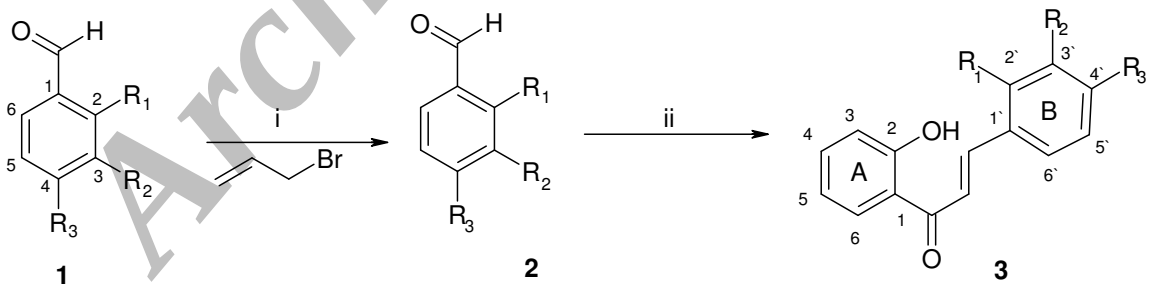


2,4-dimethoxy-4'-allyloxychalcone



cordoin R = H
4-hydroxycordoin R = OH

شکل ۱. ساختار شیمیایی چالکونهای طبیعی و سنتتیک حاوی استخلافهای آلیلوکسی و پرنیلوکسی



1 **2** **3**

a) R_1= OH, R_2 = R_3 = H
b) R_1= H, R_2 =OCH_3, R_3 = OH
c) R_1= OH, R_2 = OCH_3, R_3 = H

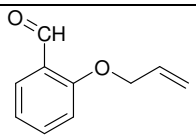
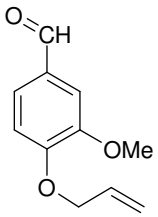
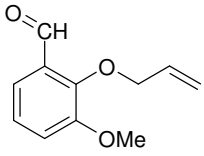
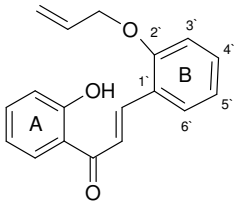
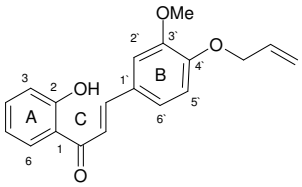
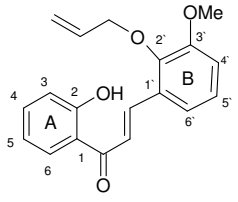
a) R_1= OAllyl, R_2 = R_3 = H
b) R_1= H, R_2 =OCH_3, R_3 = OAllyl
c) R_1= Oallyl, R_2 = OCH_3, R_3 = H

شمای ۱. نحوه و شرایط سنتز چالکونهای ۳a-c: **i**) پتاسیم کربنات بدون آب، استون، رفلاکس برای ٤ ساعت. **ii**) هیدروکسید پتاسیم متانولی ۶۰٪، ۲- هیدروکسی استوفنون، همزدن در دمای اتاق برای ۳۶ ساعت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. خواص فیزیکی و یافته های حاصل از سنتز ترکیبات ۲a-c و ۳a-c

ترکیبات سنتز شده	رنگ محصول	حلال کروماتوگرافی ستونی	بازده (٪)	R_f	نقطه ذوب (°C)	مهار رادیکال های DPPH (RC_{50},µM)
 **۲a**	کرم	پترولیوم اتر: کلروفرم (۸۵ : ۱۵)	۹۰	۰/۶	۹۲-۹۰	-
 **۲b**	سفید	n-هگزا ن : اتیل استات (۸۰ : ۲۰)	۹٤		۱۰۱-۹۸	-
 **۲c**	سفید	n-هگزان : اتیل استات (۸۰ : ۲۰)	۹٦	۰/۵	۱۰۳-۱۰۰	-
 **۳a**	زرد	n-هگزان – اتیل استات (۹۰ : ۱۰)	۷۰	۰/٦	روغنی	۳۲۲
 **۳b**	زرد	n-هگزان – اتیل استات (۸۵ : ۱۵)	٦٦	۰/۵	۸٤-۸۲	۳۵۷
 **۳c**	زرد	n-هگزان – اتیل استات (۹۰ : ۱۰)	۷۱	۰/۵	۸۸-۸٦	۳۷۰
Trolox	-	-	-	-	-	۳٦

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲. قطر هاله عدم رشد (میلی متر) چالکونهای ۳a-c در غلظت ٤ mg/Disc روی گونه های باکتری و قارچ

	گونه باکتری						گونه قارچ	
چالکونها	*P. aeruginosa*	*E. coli*	*B. cereus*	*B. subtilis*	*S. epidermidis*	*C. albicans*	*C. neoformans*	*S. cerevisiae*
۳a	۷/۱	۷/٤	۷/۲	۷/۰	۷/٦	٦/۷	٦/٦	٦/۸
۳b	۷/٦	۷/٥	۷/۹	۷/٦	۱٦/٥	۷/۲	٦/۸	٦/۷
۳c	۱۱/۸	۷/٤	۷/٦	۷/۲	۷/۸	۷/۰	٦/٤	٦/٤
جنتامیسین	۱٦/٤	۱٦/۸	۱۷/٦	۱۸/۳	۲۱/۲	–	–	–
آمفوتریسین	–	–	–	–	–	۱٤/٤	۱۳/٦	۱۸/٦

٤- بحث

٤-۱: سنتز چالکونها

در شمای ۱ سنتز چالکونها و در جدول ۱ خواص فیزیکی حدواسط ها و چالکونها آورده شده است. در این سنتز، ابتدا *O*-آلیلاسیون بنزآلدهیدهای **۱a-c** توسط آلیل بromید در حضور کربنات پتاسیم در استون حد واسط های **۲a-c** را تولید می کنند (۲۲،۲۳).

طیف ^{1}H NMR ترکیبات **۲a-c** موید انجام شدن واکنش است. در طیف ^{1}H NMR ترکیب **۲b** پیک تک شاخه با انتگراسیون یک پروتون مربوط به پروتون آلدئیدی در جابه جایی شیمیایی ppm ۱۰/۵۸-۹/۸۱ دیده می شود. پروتون =CH– به صورت چند شاخه در محدوده ppm ٦/۰-٦/۲ مشاهده می شود که با پروتون های مجاور یعنی $=CH_2$ و OCH_2 کوپلاژ نموده است. هیدروژن a (H_a) بروی $=CH_2$ با هیدروژن H_b $=CH_2$ و هیدروژن =CH– کوپلاژ می‌نماید. همچنین هیدروژن b (H_b) با هیدروژن a و هیدروژن =CH– کوپلاژ نموده و همراه با هیدروژن H_a بصورت پیک چند شاخه در جابه جایی حدود ppm ۵/۲۷-۵/۵٤ دیده می شوند. هیدروژنهای OCH_2 آلیلی نیز با هیدروژن =CH– کوپلاژ نموده بصورت پیک دو شاخه با انتگراسیون ۲ هیدروژن در جابه جایی شیمیایی حدود ppm ٤/٦۹ دیده می شود. با توجه به تفسیر فوق و مشاهده پیکهای مربوطه در طیف ^{1}H NMR استخلاف گروه آلیلیک بروی گروه هیدروکسی ثابت می‌شود.

در دو ترکیب **۲c** و **۲b** که دارای گروه متوکسی می‌باشند، پیک تک شاخه با انتگراسیون ۳ هیدروژن در جابه جایی حدود ppm ٤/۰-۳/۹ مربوط به گروه متوکسی میباشد. از واکنش تراکمی Claisen-Schmidt ما بین حد واسط های سنتز شده **۲a-c** و ارتو هیدروکسی استوفنون در محیط قلیایی چالکون های **۳a-c** تهیه شدند (۲۳،۲٤).

در طیف FT-IR ترکیبات حدواسط **۳a-c** از آنجا که هیدروکسی چالکون در پیوند هیدروژنی شرکت کرده بصورت پیک ضعیف در ناحیه $۳۰۸۰cm^{-1}$ ظاهر شده و گروه کربونیل به علت مزدوج شدن با پیوند دو گانه در ناحیه حدود $۱٦۸۹\ cm^{-1}$ آشکار شده است.

پیک تک شاخه مربوط به هیدروژن آلدئیدی که در طیف ^{1}H NMR ترکیبات **۲a-c** در جابه جایی شیمیایی ppm ۱۰/۵۸-۹/۸۱ دیده می‌شد در چاکونهای **۳a-c** دیگر دیده نمی‌شود که نشان دهنده واکنش CHO با هیدروکسی استوفنون و تشکیل چالکون می‌باشد.

در طیف ^{1}H NMR ترکیبات **۳a-c** پیک دو شاخه با انتگراسیون یک هیدروژن با ثابت کوپلاژ Hz ۱۵/٦ در جابه جایی شیمیایی ppm ۸ مربوط به هیدروژن بتا و پیک دو شاخه با انتگراسیون یک هیدروژن و ثابتهای کوپلاژ فوق در جابه جایی شیمیایی ppm ۷/۸ مربوط به هیدروژن آلفای چالکون می‌باشد.

٤-۲: بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی چالکونهای ۳a-c

رادیکال های آزاد یکی از فاکتورهای اصلی در آسیب های بیولوژیکی شناخته می شوند. یکی از مکانیسم های عمل آنتی اکسیدان های طبیعی و سنتتیک مهار رادیکال های آزاد تولید شده در سیستم های بیولوژیکی است که بر این اساس تست های تشخیص عملکرد آنتی اکسیدانی مواد مختلفی طراحی شده اند.

Archive of SID

www.SID.ir

یکی از این روش ها بررسی فعالیت مهار رادیکال پایدار DPPH (2,2-diphenyl-2-picryllhydrazyl) است (۲۰).

در جدول ۱ فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات **۳a-c** آورده شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی آنها ضعیف تر از ترکیب استاندارد Trolox می باشد. نتایج بررسی اثر ضد میکروبی ترکیبات **۳a-c** در جدول ۲ آمده است. این ترکیبات روی هیچ یک از نمونه های قارچی مورد مطالعه اثر قابل توجهی ندارد. در مطالعه فعالیت ضدباکتریایی، چالکون **۳a** در غلظت های مختلف ۱، ۲ و ٤ میلی گرم در هر دیسک روی نمونه های باکتریایی اثر محدودی داشت اما چالکون **۳b** در غلظت های ۲ و ٤ روی باکتری *S. epidermidis* به ترتیب هاله های عدم رشد ۸/۸ و ۱٦/۵ میلی متر ایجاد کرد ولی روی نمونه های دیگر تاثیری نداشت. چالکون **۳c** روی *P. aeruginosa* در غلظت ٤ میلی گرم هاله عدم رشد ۱۱/۷ میلی متر ایجاد کرد. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) برای چالکون **۳b** در باکتری *S. epidermidis* به میزان ۰/۵ mg/ml و برای بقیه باکتری های تست شده این مقدار بالای ۲ mg/ml بود.

۵- نتیجه گیری

چالکون **۳a-c** در دو مرحله با استفاده از روش *O*-آلیلاسیون و واکنش تراکمی Claisen-Schmidt از آلدئید های مورد نظر با راندمان بیشتر از ۷۰ درصد سنتز شدند. خصوصیات ساختاری ترکیبات سنتز شده توسط روشهای طیف سنجی تایید گردید.

اثرات ضدمیکروبی چالکونهای سنتز شده در مقابل پنج گونه باکتری و سه گونه قارچ مورد بررسی قرار گرفت. اگرچه چالکونهای **۳b** و **۳c** با هم رابطه ایزومری ساختاری دارند ، چالکون **۳b** و**۳c** بترتیب روی باکتری گرم مثبت و منفی اثر ضد باکتریایی ضعیف اما انتخابی نشان دادند.

در ضمن چالکون های **۳a-c** هیچگونه اثر ضدقارچی نداشتند. اثر آنتی اکسیدانی چالکون های **۳a-c** در روش DPPH ده برابر ضعیف تر از مشتق محلول در آب ویتامین E بود.

٦- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه علوم پزشکی تبریز بواسطه حمایتهای مالی طرح کمال تشکر را دارند.

References:

1. Sugamoto K., Kurogi C., Matsushita Y., Matsui T .Synthesis of 4-hydroxyderricin and related derivatives, Tetrahedron Letters, 2008, 49: 6639–6641.

2. Akihisa T., Tokuda H., Hasegawa D., Ukiya M., Kimura Y., Enjo F., Suzuki T., Nishino H. Chalcones and Other Compounds from the Exudates of *Angelica keiskei* and Their Cancer Chemopreventive Effects, Journal Natural Product, 2006, 69(1): 38–42.

3. Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T. mode of antibacterial action of retrochalcones from Glycyrrhiza inflata, phytochemistry, 1998, 48(l): 125-129.

4. Batovska D., Parushev S., Stamboliyska B., Tsvetkova I., Ninova M., Najdenski H. Examination of growth inhibitory properties of synthetic chalcones for which antibacterial activity was predicted, European Journal of Medicinal Chemistry, 2009, 44: 2211-2218.

5. Tomar V., Bhattacharjee G., Kumar K., Kumar A. Synthesis and antimicrobial evaluation of new chalcones containing piperazine or 2,5-dichlorothiophene moiety, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17: 5321–5324.

6.Mukherjee S., Kumar V., Prasad A.K., Raj H.G., Bracke M.E., Olsen C.E., Jain S.C., Parmar V.S. synthetic and biological activity evaluation studies on novel 1,3-diaryl propenones, Bioorganic medicinal chemistry, 2001, 9: 337-345.

7. Nowakowska Z. a review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones, European Journal of Medicinal Chemistry, 2007, 42: 125-137.

8. Nowakowska Z., Kedzia B., Schroeder G. synthesis, physicochemical properties and antimicrobial evaluation of new (E)-chalcones, European Journal of Medicinal Chemistry, 2008, 43: 707-713.

9. Mostahar S., Alam S., Islam A. cytotoxic and antimicrobial activities of two new synthetic 2'-oxygenated flavones reported from Andrographis viscosula, Journal Serbian Chemical Society, 2006, 72 (4): 321–329.

10. Konieczny M.T., Konieczny W., Sabisz M., Skladanowski A., Wakiec R., Augustynowicz-kopec E., Zwolska Z. synthesis of isomeric, oxathiolone fused chalcones, and comparison of their activity toward various microorganisms and human cancer cells line, Chemical and Pharmceutical Bulletin, 2007, 55(5): 817—820.

Archive of SID

www.SID.ir

11. Ivanova Y., Momekov G., Petrov O., Karaivanova M., Kalcheva V. Cytotoxic Mannich bases of 6-(3-aryl-2-propenoyl)-2(3H)-benzoxazolones, European Journal of Medicinal Chemistry, 2007, 42: 1382-1387.
12. Won S., Liu C.T., Tsao L.T., Weng J. R., Ko H.H., Wang J.P., Lin C.N. Synthetic chalcones as potential anti-inflammatory and cancer chemopreventive agents, European Journal of Medicinal Chemistry, 2005, 40: 103–112.
13. Kayser O., Kiderlen A.F. In vitro Leishmanicidal activity of naturally occurring chalcones, Phytotherapy Research, 2001, 15: 148–152.
14. Alcaradz L.E., Blanco S.E., Puig O.N., Tomas F., Ferretti F.H. Antibacterial activity of flavonoids against methicillin- resistant Staphylococcus aureus strains, Journal of Theoretical Biology, 2000, 205: 231–240.
15. Liu X.L., Xu Y.J., Go M.L. Functionalized chalcones with basic functionalities have antibacterial activity against drug sensitive Staphylococcus aureus, Eurpean Journal Medicinal Chemistry, 2008, 43:1681–1687.
16. Isomoto H., Furusu H., Ohnita K., Wen C.Y., Inoue K., Kohno S. Sofalcone, a mucoprotective agent, increases the cure rate of Helicobacter pylori infection when combined with rabeprazole, amoxicillin and clarithromycin, World Journal of Gastroenterology, 2005, 11: 1629–1633.
17. Chen, M.; Zhai, L.; Christensen, S. B.; Theander, T. G.; Kharazmi, A. Inhibition of Fumarate Reductase in Leishmania major and L. donovani by Chalcones, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2001, 45, 2023-2029.
18. Aponte J.C., Verástegui M., Málaga E., Zimic M., Quiliano M., Vaisberg A.J., Gilman R.H., Hammond G.B. Synthesis, Cytotoxicity, and Anti-*Trypanosoma cruzi* Activity of New Chalcones, Journal of Medicinal Chemistry, 2008, 51 (19): 6230–6234.
19. Pereira Ávila H., Albino Smânia E. F., Monache F. D., Smânia Júnior A. Structure–activity relationship of antibacterial chalcones, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2008, 16: 9790–9794.
20. Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 1958, 181:1199–1200.
21. Baron E.J., Finegold S.M., Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 8th edn. CV Mosby, St. Louis, 1990, pp 184–188.
22. William A.A., Peter A.C. Synthesis of (+ / -) arthrographol, Can. J. Chem., 1991, 69, 1909-1916.
23. Adibi H., Shahbazi Mojarrad J., Asgharloo H., Zarrini G. Synthesis, in vitro antimicrobial and antioxidant activities of chalcone and flavone derivatives holding allylic substitutions, Medicinal Chemistry Research, DOI 10.1007/s00044-010-9474-3 (in press).
24. Mavel S., Dikic B., Palakas S., Emond P., et al. Synthesis and biological evaluation of a series of flavone derivatives as potential radioligands for imaging the multidrug resistance-associated protein 1 (ABCC1/MRP1), Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006, 14: 1599–1607.

Archive of SID

www.SID.ir