



Antibacterial activity and efficient synthesis of 3,4 dihydropyrano [c] chromene derivatives by using ammonium trifluoroacetate (CF₃COONH₄) catalyst

Naser Montazeri

Department of Chemistry and Medicinal Chemistry, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

Article Information

Article history:

Received: 2017/02/08

Accepted: 2017/04/14

Available online: 2017/06/07

Article Subject:

Antimicrobial Substance

IJMM 2017; 11(2): 61-68

Corresponding author:

Dr. Naser Montazeri

Department of Chemistry and
Medicinal Chemistry,
Tonekabon Branch, Islamic
Azad University, Tonekabon,
Iran

Tel: 0989124856722

Email:

montazer1350@gmail.com

Abstract

Background and Aims: In this research, we present a three-component method for the preparation of 3,4-dihydropyrano[c]chromene derivatives in the presence of ammonium trifluoroacetate. All the compounds were evaluated for their in vitro antimicrobial activity against different bacterial strains. Antibacterial behavior of product was studied based on reference Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Materials and Methods: 3,4-Dihydropyrano[c]chromenes were synthesized using an efficient condensation of 4-hydroxycoumarin, aryl aldehydes and malononitrile catalyzed by ammonium trifluoroacetate. Different concentrations of analogs and positive control drugs were prepared in DMSO. Inoculums and sterile water were added to the fourteen test tubes each containing 1 mL of test solution at different concentrations. The tubes were incubated for 24h at 37 °C. After the incubation time, the antimicrobial activity was carefully evaluated.

Results: In an optimized reaction condition, the products 4a-j were obtained in high yields under reflux conditions. The antimicrobial screening data revealed that the compounds 4b and 4e have shown good activity against Gram-negative *Escherichia* spp.

Conclusions: Present methodology offers several advantages such as short reaction time, simple procedure with an easy work-up and mild reaction conditions. We anticipated that the present method will receive the attention of medicinal chemists and be used for elaborate synthesis and pharmaceutical screening of chromenes based molecules.

KeyWords: Antimicrobial activity, Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, 4-Hydroxycoumarin, ammonium trifluoroacetate.

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Montazeri N. Antibacterial activity and efficient synthesis of 3,4 dihydropyrano [c] chromene derivatives by using ammonium trifluoroacetate (CF₃COONH₄) catalyst. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (2): 61-68



Farname Inc.

بررسی فعالیت ضدباکتریایی و سنتز مشتقات ۳،۴-دی هیدروپیرانو [c] کرومن با استفاده از کاتالیزگر آمونیوم تری فلورو استات ($\text{CF}_3\text{COONH}_4$)

ناصر منتظری

گروه شیمی و شیمی دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: در این تحقیق، روشی سه جزئی برای تهیه مشتقات ۳،۴-دی هیدروپیرانو [c] کرومن در حضور آمونیوم تری فلورو استات ارائه می‌گردد. همه ترکیبات به دست آمده جهت فعالیت ضد باکتریایی در محیط آزمایشگاهی در مقابل سویه‌های مختلف باکتری مورد ارزیابی و رفتار ضدباکتریایی محصولات بر روی باکتری‌های گرم- مثبت و گرم- منفی مورد مطالعه قرار گرفتند.

مواد و روش کار: ۳،۴-دی هیدروپیرانو [c] کرومن‌ها با استفاده از واکنش تراکمی کارا از واکنش ۴-هیدروکسی کومارین، آریل هالیدها و مالونونیتریل کاتالیز شده توسط آمونیوم تری فلورو استات تهیه شدند. غلظت‌های مختلف از داروهای کنترلی مثبت و مشابه در DMSO آماده شدند. ماده تلقیحی و آب مقطر به ۱۴ لوله آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر محلول حاوی محیط کشت و باکتری اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C در انکوباتور قرار داده شد. پس از زمان انکوبه شدن، فعالیت ضد باکتریایی محیط به دقت مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در شرایط واکنش بهینه شده، محصولات مورد نظر $a-z$ ؛ تحت شرایط بازروانی با بازده بالایی به دست آمدند. داده‌های غربالگری ضد میکروبی آشکار کرد که ترکیبات b و e فعالیت خوبی در مقابل اشیریشیا کلی نشان می‌دهند.

نتیجه‌گیری: از روش تهیه رقت در لوله برای بررسی و تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری استفاده گردید. روش حاضر مزایای متعددی چون زمان واکنش کوتاه، فرآیند ساده با خالص سازی آسان و شرایط واکنش ملایم را پیشنهاد می‌کند. انتظار می‌رود که این روش توجه شیمی‌دان‌های دارویی را جلب کرده و برای تهیه و غربالگری دارویی مولکول‌های بر پایه کرومن مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: فعالیت ضد باکتریایی، باکتری گرم- مثبت، باکتری گرم- منفی، ۴-هیدروکسی کومارین، آمونیوم تری فلورو استات

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۰
پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۲۵
انتشار آنلاین: ۱۳۹۶/۰۳/۱۷
موضوع:

مواد ضد میکروبی

IJMM 1396; 11(2): 61-68

نویسنده مسئول:

دکتر ناصر منتظری

گروه شیمی و شیمی دارویی،
دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن،
تنکابن، ایران

تلفن: ۰۹۸۹۱۲۴۸۵۶۷۲۲

پست الکترونیک:

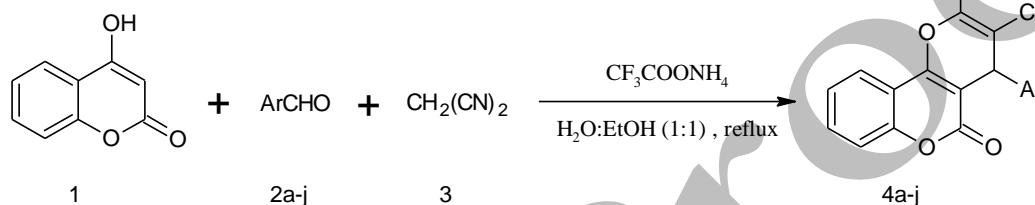
montazer1350@gmail.com

مقدمه

دی هیدروپیرانو [c] کرومن گزارش شده است. بررسی منابع نشان می‌دهد که روش‌های متعددی برای تهیه ۳،۴-دی هیدروپیرانو [c] کرومن‌ها از واکنش سه جزئی ۴-هیدروکسی کومارین، آریل آلدهیدها و مالونونیتریل در حضور کاتالیزگرهای مختلفی از قبیل هتروپولی اسیدها (۵)، دی آمونیوم هیدروژن فسفات (۶)، نانو اکسید روی (۷)، سدیم دودسیل سولفات (۸)، مورفولین (۹)، ۸،۱-دی آزایی سیکلو [۰،۴،۵] آندک-۷-ان (DBU: 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene) (۱۰)، پی پیریدین (۱۱)، پتاسیم کربنات تحت تابش دهی با ریزموج (۱۲)، منیزیم اکسید (۱۳)، سیلیکاژل‌های عامل‌دار شده با سولفونیک اسید (۱۴)، تری

مشتقات کرومن و به خصوص پیرانو کرومن‌ها به دلیل داشتن خواص مختلف شیمیایی و بیولوژیکی به میزان زیادی مورد توجه هستند. ترکیبات با این سیستم حلقه‌ای، دارای فعالیت‌های دارویی متنوعی همچون ضد مالاریا، ضد ایدز، ضد آزالیم، ضد سرطان، ضد تومور، ضد انعقاد خون و ضد باکتری می‌باشند (۱،۲). بعضی از مشتقات کرومن نیز به عنوان ضد لوسمی و ضد استفراغ گزارش شده‌اند (۳). علاوه بر این، ۳،۴-دی هیدروپیرانو [c] کرومن‌ها به خاطر مصارف زیاد صنعتی، دارویی و بیولوژیکی بسیار حائز اهمیت هستند (۴). با وجود خواص ذکر شده، روش‌های نسبتاً کمی برای تهیه مشتقات

لحاظ تجاری در دسترس، برای تهیه مشتقات ۴،۳-دی هیدروپیرانو [c] کرومن از تراکم سه جزئی ۴-هیدروکسی کومارین، آریل هالیدها و مالونونیتریل تحت شرایط بازروانی در حلال آب و اتانول (۱:۱) گزارش می‌گردد. پس از شناسایی، فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. بررسی فعالیت ضد باکتریایی روی شش سویه استاندارد انتخابی، سه باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوکوس ائورتوس* و *باسیلوس سوبتیلیس*) و سه باکتری گرم منفی (*اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه*) انجام شده است



شکل ۱: تهیه مشتقات ۴،۳-دی هیدروپیرانو [c] کرومن با استفاده از کاتالیزگر آمونیوم تری فلورو استات

آمونیوم تری فلورو استات (۳۰ درصد مولی براساس ۴-هیدروکسی کومارین) در حلال آب (۱۰ میلی لیتر) و اتانول (۱۰ میلی لیتر) در حمام روغن تحت شرایط بازروانی به مدت ۲ تا ۳ ساعت حرارت داده شد. پیشرفت واکنش با کروماتوگرافی لایه نازک کنترل گردید. پس از تکمیل واکنش، مخلوط واکنش تا دمای اتاق سرد و محصول جامد با صاف کردن جمع‌آوری گردید و با آب سرد شسته شد. جامد باقیمانده با ۳۰ میلی لیتر اتانول خالص نوبلور می‌شود و دی هیدروپیرانو [c] کرومن خالص (۴a-j) به دست آمد. ساختار کلیه محصولات با تعیین نقطه ذوب و نیز طیف سنجی مادون قرمز و رزونانس مغناطیسی هیدروژن و مقایسه آنها با نمونه‌های گزارش شده معتبر مورد تایید قرار گرفت.

ارزیابی باکتریایی

به منظور فعال ساختن سویه های استاندارد، باکتری‌ها به روش خطی در محیط آگار خون‌دار کشت داده شدند. در شرایط استریل و در کنار شعله، از پلیت کشت باکتری تک کلونی تهیه و در محیط کشت آگوشت مولر هینتون تلقیح شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه گردید. فعالیت ضد باکتریایی محیط حاوی باکتری با استاندارد نیم مک فارلند (تعداد $10^8 \times 1/5$ واحد کلونی باکتری در میلی لیتر) مقایسه و

سدیم سیترات (۱۵)، سیلیکاتل (۱۶)، پتاسیم آلومینیوم سولفات هیدراته (۱۷)، تتراپوتیل برومید آمونیوم (۱۸)، نانو تری اکسید آلومینیوم (۱۹)، کمپلکس‌های روتنیم و نانوذرات پالادیوم گزارش شده است (۲۰، ۲۱). همچنین فتوحی و همکارانش این واکنش را با استفاده از فرآیند الکتروشیمیایی انجام دادند (۲۲). بعضی از روش‌های گزارش شده دارای زمان واکنش نسبتاً طولانی بوده و در آن محصولاتی با بهره پایین با عدم قابلیت بازیابی کاتالیزگر تولید می‌گردند. بنابراین توسعه روش‌های موثرتر برای آماده سازی آنها ضروری است. در این پژوهش، آمونیوم تری فلورو استات (CF_3COONH_4) به عنوان کاتالیزگری بسیار کارا و از

مواد و روش‌ها

کلیه ترکیبات شیمیایی به کار رفته در این تحقیق از شرکت‌های مرک یا فلوکا خریداری شده و بدون خالص سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفته است. سویه های باکتریایی استاندارد شامل *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (PTCC 1435)، *استافیلوکوکوس ائورتوس* (PTCC 1431) و *باسیلوس سوبتیلیس* (PTCC 1254) به عنوان باکتری‌های گرم مثبت و *اشرشیاکلی* (PTCC 1330)، *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC 1430) و *کلبسیلا پنومونیه* (PTCC 1290) به عنوان باکتری‌های گرم منفی از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. نقاط ذوب ترکیبات سنتز شده با استفاده از دستگاه نقطه ذوب الکتریکی - حرارتی نوع ۹۱۰۰ ثبت شد. طیف‌های مادون قرمز (IR) با دستگاه طیف سنج شیمادزو ۴۳۰۰ و با استفاده از دیسک‌های KBr به دست آمد و طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته هیدروژن (1H NMR) با دستگاه طیف سنج بروکر ۵۰۰ مگا هرتز ثبت شد.

روش کلی سنتز ۴،۳-دی هیدروپیرانو [c] کرومن‌ها

(۴a-j)

محلولی از آریل آلدهید ۲a-j (۱ میلی مول)، مالونونیتریل ۳ (۱/۵ میلی مول)، ۴-هیدروکسی کومارین ۱ (۱ میلی مول) و

سانتی‌گراد، بازده به دست آمده قابل قبول نبود. نتایج به دست آمده به صورت خلاصه در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱: تاثیر مقدار آمونیوم تری فلورو استات و حلال بر روی واکنش

ردیف	کاتالیزگر (مول درصد)	دما (درجه سلسیوس)	حلال	زمان (ساعت)	بازده (درصد) ^b
۱	-	بازروانی	اتانول	۱۰	-
۲	-	بازروانی	آب	۱۰	-
۳	-	بازروانی	استونیتریل	۱۰	-
۴	-	بازروانی	کلروفرم	۱۰	-
۵	۳۰	دمای محیط	-	۵	۲۷
۶	۳۰	۸۰	-	۵	۴۲
۷	۳۰	۹۰	-	۵	۴۰
۸	۳۰	۱۰۰	-	۵	۴۳
۹	۲۵	بازروانی	اتانول	۵	۶۳
۱۰	۳۰	بازروانی	اتانول	۴	۶۷
۱۱	۳۵	بازروانی	اتانول	۴	۶۶
۱۲	۲۵	بازروانی	آب	۵	۶۲
۱۳	۳۰	بازروانی	آب	۴	۶۴
۱۴	۳۵	بازروانی	آب	۴	۶۴
۱۵	۲۵	بازروانی	استونیتریل	۵	۵۲
۱۶	۳۰	بازروانی	استونیتریل	۴	۵۶
۱۷	۳۵	بازروانی	استونیتریل	۴	۵۶
۱۸	۲۵	بازروانی	کلروفرم	۵	۳۵
۱۹	۳۰	بازروانی	کلروفرم	۴	۳۸
۲۰	۳۵	بازروانی	کلروفرم	۴	۳۷
۲۱	۲۵	بازروانی	آب : اتانول (۱:۱)	۳	۷۸
۲۲	۳۰	بازروانی	آب : اتانول (۱:۱)	۳	۸۱
۲۳	۳۵	بازروانی	آب : اتانول (۱:۱)	۳	۸۱

^a ۱ میلی‌مول از ۴-هیدروکسی کومارین، ۱ میلی‌مول بنزالدهید و ۱/۵ میلی‌مول مالونونیتریل تحت شرایط مختلف بازدهی براساس مقدار محصول جداسازی شده

برای عمومیت بخشیدن به این پژوهش و توسعه آن به ترکیبات مشابه، واکنش با آلدئیدهای آروماتیک دارای استخلاف‌های الکترون دهنده یا الکترون کشنده، مورد بررسی قرار گرفت و محصولات با بهره بالا و در مدت زمان کوتاه به دست آمدند. نتایج حاصل در جدول ۲ به صورت خلاصه آورده شده است.

حداقل غلظت از آنتی بیوتیک که قادر به مهار رشد باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی باشد به عنوان مقدار MIC در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از آن در جدول ۳ آورده شده است.

سپس با دستگاه طیف نوسنج بررسی و جذب نوری آن در طول موج ۶۵۰ نانومتر سنجش شد. در طول موج ۶۵۰ نانومتر جذب نوری معادل ۰/۳ تا ۰/۴ بیانگر نیم مک فارلند می باشد (۲۳). در ادامه، ابتدا مقدار یک میلی‌لیتر از غلظت mg/mL ۲۴۰۰ از محلول ۴،۳-دی‌هیدروپیرانو [C] کرومن حل شده در دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) به لوله اول اضافه و از روش تهیه رقت در لوله، برای بررسی و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری استفاده گردید. سپس $40 \mu L$ از سوسپانسیون باکتری‌هایی که غلظت آن cfu/mL 10^8 بود به لوله‌ها افزوده شد. آنگاه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و از لحاظ میزان رشد مورد بررسی قرار گرفتند. برای مقایسه اثرات ضد میکروبی، استروپتوماسین و پنی‌سیلین مورد استفاده قرار گرفته است.

یافته‌ها

در ابتدای تحقیق، واکنش ۴-هیدروکسی کومارین، بنزالدهید و مالونونیتریل به عنوان واکنش مدل در نظر گرفته شد تا تاثیر حلال‌های مختلف از قبیل آب، اتانول، استونیتریل و کلروفرم و همچنین مقادیر متفاوت کاتالیزگر آمونیوم تری فلورو استات (CF_3COONH_4) بررسی شود. در میان حلال‌های بررسی شده، واکنش در حلال‌های آب، اتانول و استونیتریل با استفاده از ۳۰ درصد مولی از کاتالیزگر، بازدهی متوسطی از محصول مورد نظر به دست آمد. در شرایط بهینه واکنش، ۱ میلی‌مول ۴-هیدروکسی کومارین، ۱/۵ میلی‌مول مالونونیتریل و ۱ میلی‌مول بنزالدهید در ۱۰ میلی‌لیتر حلال آب و ۱۰ میلی‌لیتر حلال اتانول (۱:۱) به مدت ۳ ساعت در حضور ۳۰ درصد مولی کاتالیزگر آمونیوم تری فلورو استات مخلوط شدند. واکنش تحت شرایط بازروانی به خوبی پیش رفت و هیچگونه محصول جانبی به وجود نیامد. پس از کامل شدن واکنش که با کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) کنترل گردید، محصول مورد نظر با بازدهی بالایی (۸۱ درصد) حاصل شد (شکل ۱). افزایش بیش از ۳۰ درصد مولی از کاتالیزگر، تاثیر چندانی بر بازدهی و زمان واکنش نداشته است. واکنش در شرایط بدون کاتالیزگر و در حضور حلال‌های ذکر شده نیز مورد بررسی قرار گرفت و بعد از طی زمان طولانی بیش از ۱۰ ساعت، محصولات با بازدهی بسیار کمی به دست آمد. لازم به ذکر است که واکنش در شرایط بدون حلال نیز مورد بررسی قرار گرفت و حتی در حضور ۳۰ درصد مولی از کاتالیزگر در دمای محیط و دماهای ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درجه

جدول ۲: سنتز مشتقات مختلف ۴،۳-دی‌هیدروپیرانو[*c*]کرومن کاتالیز شده با آمونیوم تری فلورو استات^a

ردیف	آریل آلدهید	محصول ^b	زمان (ساعت)	بازده (درصد) ^c	نقطه ذوب
۱	C ₆ H ₅	۴a	۳	۸۱	به دست آمده گزارش شده [۲۰] ۲۵۳-۲۵۵
۲	3-NO ₂ C ₆ H ₄	۴b	۲	۸۶	[۲۰] ۲۵۷-۲۵۸
۳	4-MeOC ₆ H ₄	۴c	۲	۸۳	[۱۵] ۲۳۲-۲۳۵
۴	4-NO ₂ C ₆ H ₄	۴d	۳	۹۱	[۱۶] ۲۵۹-۲۶۱
۵	4-ClC ₆ H ₄	۴e	۳	۸۵	[۱۶] ۲۶۵-۲۶۷
۶	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	۴f	۳	۸۰	[۱۴] ۲۵۷-۲۵۹
۷	4-OHC ₆ H ₄	۴g	۳	۸۲	[۱۴] ۲۶۴-۲۶۶
۸	4-MeC ₆ H ₄	۴h	۲	۸۵	[۱۰] ۲۵۳-۲۵۵
۹	3-ClC ₆ H ₄	۴i	۳	۸۱	[۱۰] ۲۴۲-۲۴۳
۱۰	3-MeOC ₆ H ₄	۴j	۲	۸۷	[۱۴] ۲۴۲-۲۴۴

^a ۱ میلی‌مول از ۴-هیدروکسی کومارین، ۱ میلی‌مول بنزالدهید و ۱/۵ میلی‌مول مالونونیتریل و ۳۰ درصد مولی از آمونیوم تری فلورو استات در حلال آب و اتانول (۱:۱) تحت شرایط بازروانی کلیه محصولات با مقایسه داده‌های فیزیکی و اسپکتروسکوپی به دست آمده با نمونه‌های معتبر گزارش شده شناسایی می‌شود. ^c بازدهی براساس محصولات جداسازی شده

جدول ۳: مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) برای ۴،۳-دی‌هیدروپیرانو[*c*]کرومن‌های (a-j4) و داروهای کنترل مثبت در مقابل رگه‌های باکتریایی مختلف

حداقل غلظت بازدارندگی (μg/mL)						
باکتری گرم - منفی			باکتری گرم - مثبت			
Ec	Kp	Pa	Bs	Sa	Se	ترکیبات
۷۵	۳۰۰	۱۵۰	۴۵۰	۳۰۰	۳۶۰	۴a
۳۷/۵	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۴b
۷۵	۳۰۰	۱۵۰	۳۰۰	۴۵۰	۳۰۰	۴c
۷۵	۱۵۰	۱۵۰	۴۵۰	۴۵۰	۳۰۰	۴d
۳۷/۵	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۴e
۷۵	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۳۰۰	۱۵۰	۴f
۷۵	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۳۰۰	۱۵۰	۴g
۷۵	۳۰۰	۱۵۰	۳۰۰	۳۰۰	۱۵۰	۴h
۷۵	۱۵۰	۱۵۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۴i
۷۵	۱۵۰	۱۵۰	۳۰۰	۴۵۰	۳۰۰	۴j
۱۲/۵	۶/۲۵	۱۲/۵	۱/۵۶۲	۱/۵۶۲	۳/۱۲۵	استرپتومایسین
۶/۲۵	۳/۱۲۵	۱/۵۶۲	۶/۲۵	۶/۲۵	۳/۱۲۵	پنی‌سیلین

مثبت: **Se: Staphylococcus epidermidis**; **Sa: Staphylococcus aureus**; **Bs: Bacillus subtilis**.
منفی: **Pa: Pseudomonas aeruginosa**; **Kp: Klebsiella pneumoniae**; **Ec: Escherichia coli**.

آلدهید به کار گرفته شده، تاثیر چشمگیری بر روند انجام واکنش ندارد. کارایی آمونیوم تری فلورو استات (CF₃COONH₄) به عنوان کاتالیزگر برای سنتز ۴،۳-دی‌هیدروپیرانو[*c*]کرومن (۴a) با سایر کاتالیزگرهای گزارش شده در مقالات علمی معتبر مقایسه گردید. نتایج آشکار ساخت که کاتالیزگر آمونیوم تری فلورو استات (CF₃COONH₄)، کاتالیزگری با کارایی بالا و دوستدار

بحث

در این تحقیق، مخلوطی از آب و اتانول به عنوان حلال و ۳۰ درصد مولی از کاتالیزگر آمونیوم تری فلورو استات برای واکنش انتخاب شده است. در همه موارد آریل آلدهیدهای با استخلاف‌های حاوی گروه‌های الکترون کشنده و یا الکترون دهنده به طور موفقیت آمیزی واکنش داده و محصولات مورد نظر با بازدهی بالا به دست آمدند. مشخص گردید که نوع آریل

محیط زیست بوده و می‌تواند برای سنتز ۴،۳-دی هیدروپیرانو [c] کرومن موثر عمل نماید.

بررسی نتایج گزارش شده در جدول ۳ نشان می‌دهد که ترکیبات ۴b و ۴e فعالیت ضدباکتریایی خوبی در مقابل باکتری اشرشیاکلی (باکتری گرم- منفی) با حداقل غلظت بازدارندگی $37/5 \mu\text{g/mL}$ در مقایسه با داروی استاندارد پنی‌سیلین دارند. سایر ترکیبات سنتز شده نیز فعالیت ضد باکتریایی قابل قبولی را در مقابل همه سویه‌های باکتریایی بررسی شده، نشان می‌دهند. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که آمونیوم تری فلورواستات می‌تواند به عنوان کاتالیزگر در سنتز مشتقات ۴،۳-دی هیدروپیرانو [c] کرومن موثر عمل نماید. از مزایای این روش می‌توان به فرآیند بسیار ساده، مراحل جداسازی آسان و خالص سازی محصولات اشاره کرد. همه محصولات کرومن (۴a-j) به دست آمده در ابتدا در محیط آزمایشگاه برای فعالیت ضد باکتریایی در مقابل سویه‌های باکتریایی گرم-مثبت شامل *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* و سویه‌های باکتریایی گرم- منفی شامل *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلبسیلا پنومونی* و *اشریشیا کلی* مورد ارزیابی قرار گرفتند و برای مقایسه، استرپتومایسین و پنی‌سیلین به عنوان داروهای کنترل مثبت استفاده شد و مقادیر حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) برای داروهای کنترل مثبت و هم‌تای استرپتومایسین و پنی‌سیلین در مقابل شش سویه باکتریایی با روش رقیق سازی مایع تعیین شد (۲۴،۲۵). در بررسی انجام شده توسط سنگانی و همکاران، مشتقات پیرانو [c-۳،۲] کرومن از ترکیبات پیرازولی سنتز شدند و در مقابل ۶ پاتوزن باکتریایی شامل *باسیلوس سابتیلیس*، *کلوستریدیوم تتانی*، *استافیلوکوکوس پنومونی*، *سالمونلا تیفی*، *ویبریوکلرا* و *اشریشیاکلی* و نیز برای فعالیت ضد قارچی در مقابل دو پاتوزن قارچی شامل *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *کاندیدا آلبیکانس* با استفاده از روش سنجش کمترین مقدار مهار کننده رشد باکتری در محیط مایع غربالگری شد (۲۶). از داده‌های غربالگری معلوم گردید که قدرت بعضی از ترکیبات در مقابل اغلب سویه‌های به کار رفته با داروهای تجاری برابر بوده و یا حتی قوی‌تر هستند. در بررسی دیگری که توسط الصغیر و همکارانش انجام گرفت، یک سری جدید از مشتقات پیرانو [c-۴،۳] کرومن، بنزول [c] کرومن، کرومو [c-۴،۳] پیرازول را از ۳- بنزوئیل-۲H-کرومن-۲-اون تهیه کردند. اغلب مشتقات کرومن

در مقایسه با سوبسترای اولیه، فعالیت ضد باکتریایی متوسط تا بالایی در مقابل با سویه‌های باکتریایی شامل سالمونلا تیفی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان دادند (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر، تعدادی از مشتقات جدید ۴،۳-دی هیدروپیرانو [c] کرومن از ۴-هیدروکسی کومارین سنتز شدند که بعضی از این ترکیبات سنتز شده فعالیت ضد باکتریایی چشمگیری را در مقابل سویه‌های باکتریایی گرم- مثبت از خود نشان داده‌اند. سویه‌های قارچی انتخاب شده برای ترکیبات مورد بررسی، از همه مقاوم‌تر بودند؛ چراکه هیچ یک از ترکیبات سنتز شده در مقابل سویه‌های قارچی مورد بررسی فعالیتی نشان ندادند. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته در تطبیق با اثرات ضد میکروبی مشاهده شده، بهترین فعالیت ضد باکتریایی با ABR-10 گزارش شده است (۲۸). در پژوهش حاضر تعدادی از مشتقات دی هیدروپیرانو [c] کرومن از ماده اولیه ۴-هیدروکسی کومارین با استفاده از کاتالیزگر آمونیوم تری فلورواستات تهیه شدند. همه ترکیبات سنتز شده برای فعالیت ضد باکتریایی در مقابل سویه‌های باکتریایی گرم- مثبت و گرم- منفی در محیط آزمایشگاهی غربالگری شدند. داده‌های غربالگری ضد میکروبی نشان داد که ترکیبات ۴b و ۴e فعالیت خوبی در مقابل باکتری گرم- منفی اشرشیاکلی از خود نشان می‌دهند. تقدیر و تشکر

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه میکروبی شناسی و شیمی دارویی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن و با حمایت‌های حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه انجام شده است؛ لذا بدین وسیله از کمک‌های مسئولین آزمایشگاه‌های مربوطه قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

References

1. Biot C, Glorian G, Maciejewski LA, Brocard JS. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of a new ferrocene-chloroquine analogue. *J Med Chem.* 1997;40(23):3715-3718.
2. Hafez EAA, Elnagdi MH, Elagamey AGA, EL-Taweel FMAA. Nitriles in heterocyclic synthesis: novel synthesis of benzo [c]-coumarin and of benzo [c] pyrano [3, 2-c] quinoline derivatives. *Heterocycles.* 1987;26(4):903-907.
3. Beagley P, Blackie MA, Chibale K, Clarkson C, Meijboom R, Moss JR, et al. Synthesis and antiplasmodial activity in vitro of new ferrocene-chloroquine analogues. *Dalton Transactions.* 2003(15):3046-3051.
4. Morgan LR, Jursic BS, Hooper CL, Neumann DM, Thangaraj K, LeBlanc B. Anticancer activity for 4,4'-dihydroxybenzophenone-2,4-dinitrophenylhydrazone (A-007) analogues and their abilities to interact with lymphoendothelial cell surface markers. *Bioorg Med Chem Lett.* 2002;12(23):3407-3411.
5. Heravi MM, Sadjadi S, Haj NM, Oskooie HA, Bamoharram FF. Role of various heteropolyacids in the reaction of 4-hydroxycoumarin, aldehydes and ethylcyanoacetate. *Catalysis Communications.* 2009;10(13):1643-1646.
6. Abdolmohammadi S, Balalaie S. Novel and efficient catalysts for the one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrano[c]chromene derivatives in aqueous media. *Tetrahedron Letters.* 2007;48(18):3299-3303.
7. Paul S, Bhattacharyya P, Das AR. One-pot synthesis of dihydropyrano[2,3-c]chromenes via a three component coupling of aromatic aldehydes, malononitrile, and 3-hydroxycoumarin catalyzed by nano-structured ZnO in water: a green protocol. *Tetrahedron Letters.* 2011;52(36):4636-4641.
8. Mehrabi H, Abusaidi H. Synthesis of biscoumarin and 3,4-dihydropyrano[c]chromene derivatives catalysed by sodium dodecyl sulfate (SDS) in neat water. *Journal of the Iranian Chemical Society.* 2010;7(4):890-894.
9. Heravi MM, Zakeri M, Mohammadi N. Morpholine Catalyzed One-pot Multicomponent Synthesis of Compounds Containing Chromene Core in Water. *Chinese Journal of Chemistry.* 2011;29(6):1163-1166.
10. Khurana JM, Nand B, Saluja P. DBU: a highly efficient catalyst for one-pot synthesis of substituted 3,4-dihydropyrano[3,2-c]chromenes, dihydropyrano[4,3-b]pyranes, 2-amino-4H-benzo[h]chromenes and 2-amino-4H-benzo[g]chromenes in aqueous medium. *Tetrahedron.* 2010;66(30):5637-5641.
11. Shaker RM. Synthesis and reactions of some new 4H-pyrano[3,2-c]benzopyran-5-one derivatives and their potential biological activities. *Pharmazie.* 1996;51(3):148-151.
12. Jiang W, Xiang Z, Xu B, Li X, Liu F, Fan G. Convenient preparation of Pd/RGO catalyst for the efficient hydrodechlorination of various chlorophenols. *New Journal of Chemistry.* 2016;40(1):372-376.
13. Seifi M, Sheibani H. High Surface Area MgO as a Highly Effective Heterogeneous Base Catalyst for Three-Component Synthesis of Tetrahydrobenzopyran and 3,4-Dihydropyrano[c]chromene Derivatives in Aqueous Media. *Catalysis Letters.* 2008;126(3):275-279.
14. Mohammadi Ziarani G, Badiee A, Azizi M, Zarabadi P. Synthesis of 3,4-Dihydropyrano[c]Chromene Derivatives Using Sulfonic Acid Functionalized Silica (SiO₂PrSO₃H). *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE).* 2011;30(2):59-65.
15. Montazeri N, Noghani T, Ghorchibeigy M, Zoghi R. Pentafluoropropionic Acid: An Efficient and Metal-Free Catalyst for the One-Pot Synthesis of Tetrahydrobenzo[b]pyran Derivatives. *Journal of Chemistry.* 2014;2014:5.
16. Patel DS, Avalani JR, Raval DK. One-pot solvent-free rapid and green synthesis of 3,4-dihydropyrano[c]chromenes using grindstone chemistry. *Journal of Saudi Chemical Society.* 2016;20, Supplement 1:S401-S405.
17. Karimi AR, Sedaghatpour F. Novel Mono- and Bis(spiro-2-amino-4H-pyrans): Alum-Catalyzed Reaction of 4-Hydroxycoumarin and Malononitrile with Isatins, Quinones, or Ninhydrin. *Synthesis.* 2010;2010(10):1731-1735.
18. Khurana JM, Kumar S. Tetrabutylammonium bromide (TBAB): a neutral and efficient catalyst for the synthesis of biscoumarin and 3,4-dihydropyrano[c]chromene derivatives in water and solvent-free conditions. *Tetrahedron Letters.* 2009;50(28):4125-4127.

19. Montaghami A, Montazeri N. An efficient method for the one-pot, three-component synthesis of 3, 4-dihydropyrano [c] chromenes catalyzed by nano Al₂O₃. *Oriental Journal of Chemistry*. 2014;30(3):1361-1364.
20. Tabatabaeian K, Heidari H, Mamaghani M, Mahmoodi NO. Ru (II) Complexes Bearing Tertiary Phosphine Ligands: A Novel and Efficient Homogeneous Catalyst for One-Pot Synthesis of Dihydropyrano [3, 2-c] chromene and Tetrahydrobenzo [b] pyran Derivatives. *Applied Organometallic Chemistry*. 2012;26(2):56.
21. Saha M, Pal AK. Palladium (0) Nanoparticles: A Novel and Reusable Catalyst for the Synthesis of Various Pyran Derivatives. 2012.
22. Fotouhi L, Heravi MM, Fatehi A, Bakhtiari K. Electrogenerated base-promoted synthesis of tetrahydrobenzo[b]pyran derivatives. *Tetrahedron Letters*. 2007;48(31):5379-5381.
23. McFarland J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*. 1907;49(14):1176-1178.
24. Mallie M, Bastide JM, Blancard A, Bonnin A, Bretagne S, Cambon M, et al. In vitro susceptibility testing of *Candida* and *Aspergillus* spp. to voriconazole and other antifungal agents using Etest: results of a French multicentre study. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;25(4):321-328.
25. Uzun O, Arikan S, Kocagöz S, Sancak B, Unal S. Susceptibility testing of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against yeast isolates in a Turkish University Hospital and effect of time of reading. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2000;38(2):101-107.
26. Sangani CB, Mungra DC, Patel MP, Patel RG. Synthesis and antimicrobial screening of pyrano[3,2-c]chromene derivatives of 1H-pyrazoles. *Central European Journal of Chemistry*. 2011;9(4):635.
27. El-Saghier AM, Naili MB, Rammash BK, Saleh NA, Kredan KM. Synthesis and antibacterial activity of some new fused chromenes. *Arkivoc*. 2007;16:83-91.
28. Mirnejad R, Vahdati AR, Rashidiani J, Erfani M, Piranfar V. The antimicrobial effect of lactobacillus casei culture supernatant against multiple drug resistant clinical isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* in vitro. *Iran Red Crescent Med J*. 2013;15(2):122-126.

