

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره هشتم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۸، ۲۶۲-۲۵۳

تهیه مشتقات N-[۵-نیتروآریل)-۱،۳،۴- تیادی آزول-۲- ایل] پیپرازینیل

کینولون‌ها و ارزیابی خواص ضد باکتریایی آنها به روش برونتی

محمد حسن مصطفی^۱، سیده مليحه صفوی^۲، علیرضا فرمودی^۳

دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۸/۷/۱۶ دریافت اصلاحیه به نویسنده: ۸۸/۵/۳ پذیرش مقاله: ۸۸/۸/۴ ارسال مقاله به نویسنده: ۸۷/۱۲/۵

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت به داروهای ضد باکتریایی در حال گسترش است و دستیابی به داروهای ضد میکروب جدید و درک سازوکار آنها حیاتی است. کینولون‌ها دارای اثرات ضد باکتریایی قوی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و پاتوژن‌های میکروب‌کتریال مثل باکتری‌های غیر هوایی می‌باشند. هدف این مطالعه یافتن مشتقات جدید نیتروآریل تیادی آزول-کینولون و بررسی اثرات ضد باکتریایی آنها بر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی تهران و کرمان انجام شد. از واکنش ۱-سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۸-متوكسی-۴-اکسو-۷-(پیپرازین-۱-ایل)-۱،۴-دی‌هیدروکینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (ترکیب ۳) با ۲-کلرو-۵-(نیتروآریل)-۱،۴،۳،۱- تیادی آزول (ترکیبات ۹a-f) در حضور DMF و بیکربنات سدیم در دمای ۸۵-۹۰ درجه سانتی‌گراد، ترکیبات نهایی ۱-سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۷-۴-(نیتروآریل)-۱،۴،۳،۱- تیادی آزول-۲- ایل]- پیپرازین-۱-ایل]-۸-متوكسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (۸a-f) سنتز شدند. ترکیبات ۸a-f در شرایط آزمایشگاهی با روش رقیق‌سازی آگار بر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی آزمایش شدند.

یافته‌ها: از بین ترکیبات تهیه شده در این تحقیق، آنالوگ نیتروفوران (8b) دارای قوی‌ترین اثر مهاری بر علیه باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس‌سبتیلیس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اینتروکوکوس فیکالیس، میکروکوکوس لوتئوس در مقایسه با داروی گتی‌فلوکسازین و سایر ترکیبات سنتز شده می‌باشد.

نتیجه‌گیری: قرار دادن گروه حجیم [۵-نیتروآریل)-۱،۴،۳،۱- تیادی آزول-۲- ایل] می‌تواند روش فعالیت ضد باکتریایی کینولون‌های والد و گروه‌های نیتروآریل تأثیر داشته باشد به طوری که آنالوگ ۵-نیتروفوران قوی‌ترین اثر ضد باکتریایی را بر علیه میکروارگانیسم‌های تست شده نشان داد.

واژه‌های کلیدی: کینولون، ترکیبات نیتروآروماتیک، ۱- تیادی آزول، اثرات ضد باکتری

۱- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- (نویسنده مسئول) استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تلفن: ۰۲۱-۶۶۹۵۴۷۰۸، دورنگار: ۰۲۱-۶۶۶۴۱۱۷۸، پست الکترونیکی: aforoumadi@yahoo.com

مقدمه

داروها مهار DNA ژیاز و توپوایزومراز IV می‌باشد. ژیاز همان توپوایزومراز II باکتریایی می‌باشد که کنترل توپولوژیکی مارپیچ دوتایی DNA را در طی فرآیندهای DNA همانندسازی و ترجمه به عهده دارد [۹-۱۰]. مهار ژیاز یا توپوایزومراز IV و قدرت نفوذ کینولون‌ها در سلول‌ها تحت تأثیر استخلاف موقعیت C₇ ساختار استاندارد ۴-کینولون-۳-کربوکسیلیک اسید است. به علاوه، اعتقاد بر این است که برای ارگانیسم‌های گرم مثبت، افزایش جرم مولکولی و حجم استخلاف در موقعیت C₇ مانع نفوذ مولکول نمی‌شود [۱۱-۱۳]. به طور کلی استخلاف در موقعیت ۷ کینولون‌ها نقش مهمی در رابطه با اثرات ضد میکروبی، فارماکوکینتیک و عوارض این داروها دارد [۱۴] با توجه به این مسئله، چندین هیبرید از ۵-نیتروآریل)-۱،۴،۳،۱-تیادی آزول و کینولون‌های مختلف از جمله مشتقات سیپروفلوکساسین (۴)، نورفلوکساسین (۵)، انوکساسین (۶) و لووفلوکساسین (۷) با قدرت ضد باکتریایی قوی‌تر علیه ارگانیسم‌های گرم مثبت در مقایسه با ترکیبات والد خود ساخته شده است [۱۵-۱۷].

عارض جانبی و ناخواسته نظیر عالیم مشاهده شده در سیستم عصبی مرکزی، اثر متقابل دارو- دارو، سمیتازی در مقابل نور، آسیب کبد و قلب از چندین کینولون جدید گزارش شده است. از سوی دیگر مقاومت باکتریایی برای بسیاری از پاتوژن‌ها اثبات شده است و مطالعه باکتری‌های مختلف نشان می‌دهد که مقاومت در طی چند سال می‌تواند افزایش و توسعه یابد. مقاومت در برابر فلوروکینولون‌ها به خصوص انواع قدیمی‌تر مثل فلوروکینولون (۴) در حال افزایش است. این مقاومت چند دارویی موجب گردیده تلاش برای دستیابی به کینولون‌های جدید دو چندان گردد. نسل جدید

فلوروکینولون‌ها گروهی از داروهای ضد باکتری می‌باشند که امروزه به طور گستردگی در درمان عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱]. نالیدیکسیک اسید، اولین عضو گروه کینولون‌ها، در سال ۱۹۶۲ کشف گردید [۲]. اولین تغییر در ساختار پایه کینولون‌ها، قرار دادن اتم فلور در موقعیت ۶ بود که قدرت ضد باکتریایی آنها را بهبود بخشید و موجب گردید کینولون‌ها به عنوان داروهای مفیدی برای درمان عفونت‌های ادراری، عمومی و مجرای تنفسی مورد استفاده قرار گیرند. قبل از کینولون‌ها فقط در درمان عفونت‌های مجاری ادراری مؤثر بودند اما بسیاری از داروهای جدید مثل گارنوکساسین (۱)، موکسی فلوکساسین (۲) و گتی فلوکساسین (۳) برای درمان عفونت‌های مجاری تنفسی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به طوری که این داروها بر عليه S. pneumoniae مؤثرند [۳-۷].

تغییر در ساختار پایه مولکول شامل افزایش گروه‌ها به موقعیت‌های N₁, C₅, C₇ باعث بهبود اثرات ضد باکتریایی می‌گردد. قرار گرفتن گروه پیپرازین در موقعیت C₇ و یک گروه سیکلوبروپیل در موقعیت N₁ که در سیپروفلوکساسین (۴) و در کینولون‌های جدیدتر مثل فلوروکینولون (۲) و فلوروکینولون (۳) قابل مشاهده است باعث افزایش قدرت داروها شده است [۷]. حلقه پیپرازین و کربوکسیلیک اسید در موقعیت C_۳ که حالت دو قطبی ایجاد می‌کند، قدرت نفوذ داروها در سلول‌های باکتریایی را افزایش داده، بدین ترتیب باعث افزایش قدرت اثر دارو می‌شود. حالت دو قطبی باعث نفوذ دارو در بافت‌های انسانی نیز می‌شود. اتم فلور در موقعیت ۶ برای مهار آنزیم‌های هدف ضروری است [۸]. سازوکار عمل این

تعیین شد. جابجایی شیمیایی به عنوان δ بر حسب ppm و ترمتیل سیلان به عنوان (Parts Per Million) استاندارد داخلی دستگاه می‌باشد.

روش عمومی سنتز ترکیبات نهایی-f
 ۸a-f-۱-سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۷-۴-۵-(نیتروآریل)-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل]-۱-پیپرازین-۱-ایل]-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید): مخلوطی از ۲-کلرو-۵-(نیتروآریل)-۱-۴،۳،۱-تیادی آزول (۹a-f) (۰/۵ میلیمول)، ۱-سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۸-متوکسی-۴-اکسو-۷-(پیپرازین-۱-ایل)-۱-۴-دی هیدروکینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (ترکیب ۳) (۰/۵ میلیمول)، و بیکربنات سدیم (۰/۵ میلیمول) در (DMF) (Dimethylformamide) (۱۰ میلیلیتر) در ۸۵-۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت گرم شد، بعد از تبدیل کامل ترکیب ۹ به محصول که با (TLC) Thin Layer Chromatography مشخص می‌گردد، ۲۰ میلیلیتر آب اضافه گردید و رسوب صاف شده با آب شستشو گردید. رسوب به دست آمده توسط ستون کوتاه سیلیکاژل با حلal کلروفرم-اتانول با نسبت ۵:۹۵ خالص گردید. محصول با DMF-H₂O کریستال گیری شد.

بررسی فعالیت ضد باکتریایی: حداقل غلظت (Minimum Inhibitory Concentration) مهارکننده رشد کلیه ترکیبات سنتز شده نهایی بر علیه باکتری‌ها شامل استافیلکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳، استافیلکوکوس اپیدرمیدیس ATCC ۴۹۴۰، استرپتوکوکوس پنومونیا ATCC ۱۲۴۰، باسیلوس سوبتیلیس ۶۰۵۱، اینتروکوکوس فیکالیس ۶۰۱۳، NCTC ۲۵۹۲۲، میکروکوکوس لوئیس ATCC ۱۱۱۰، اشريشیاکولی ATCC ۱۹۴۳۰، شیگلا فلکسنری NCTC ۱۰۰۳۱، کلبسیلا پنومونیا ATCC ۸۵۱، سراتیا

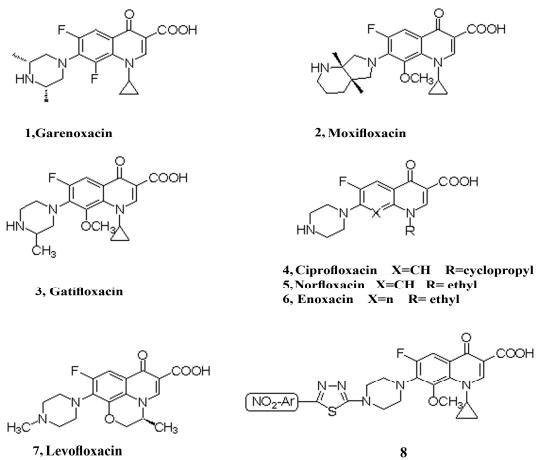
کینولون‌ها باید بتوانند از یک سو بر مقاومت چند دارویی غلبه نمایند و از سوی دیگر دارای عوارض جانبی کمتر باشند [۱۹-۸،۱۸]. فلوروکینولون (۳) یک فلوروکینولون جدید (نسل چهارم) با اثرات ضد باکتریایی قوی‌تری در مقایسه با فلوروکینولون‌های قدیمی‌تر مثل فلوروکینولون (۴) بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و بی‌هوایی می‌باشد [۲۰]. کاهش قند خون به عنوان عارضه جانبی این دارو منجر به حذف آن از بازارهای آمریکایی شد [۲۱، ۲۲]. بنابراین، تلاش برای سنتز مشتقات فلوروکینولون (۳) با اثرات بهتر و تحمل بالاتر ضروری به نظر می‌رسد تا به محدودیت‌های این فلوروکینولون غلبه شود. هدف این مطالعه یافتن مشتقات جدید نیتروآریل تیادی آزول-کینولون و بررسی اثرات ضد باکتریایی آنها بر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شامل استافیلکوکوس اورئوس، استافیلکوکوس اپیدرمیدیس، استرپتوکوکوس پنومونیا، باسیلوس سوبتیلیس، اینتروکوکوس فیکالیس، میکروکوکوس لوئیس، اشريشیاکولی، سالمونلا تایفی، شیگلا فلکسنری، کلبسیلا پنومونیا، سراتیا مارسینس و پسودوموناس آئروزینوزا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی تهران و کرمان انجام شد. مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از شرکت‌های مرک و آلدريچ خریداری گردید. نقطه ذوب به وسیله دستگاه Kofler hot stage Kofler hot stage Shimadzu مادون قرمز (IR) در دستگاه اسپکتروفوتومتر Shimadzu Hydrogen-1 nuclear magnetic resonance ۴۷۰ و طیف Broker () با استفاده از اسپکترومتر ¹H-NMR

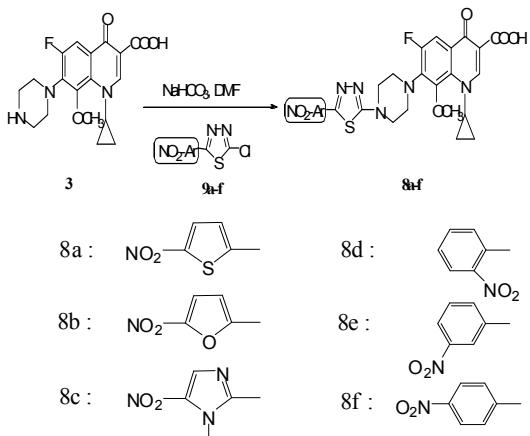
جهت مقایسه با ترکیبات ساخته شده در این تحقیق در

شکل ۱ آورده شده است.



شکل ۱- ساختار شیمیایی برخی کینولون ها و هیبریدهای نیتروآریل تیادی آزول-کینولون سنتز شده.

ترکیبات ۸a-f طبق روش کلی ارایه شده در شکل ۲ سنتز شدند.



شکل ۲- ساختار شیمیایی و روش کلی سنتز ترکیبات ۸a-f. مشخصات ترکیبات سنتز شده بدین ترتیب می باشد: ۱- سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۷-نیترو-۴-نیتروتیوفن-۲-ایل-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل-۳-پیپرازین-۱-ایل-۸-متوكسی-۴-اکسو-کینولین-۳-

کربوکسیلیک اسید (8a)

بهره واکنش ۰.۶۷٪، نقطه ذوب ۲۴۹-۲۵۰ درجه سانتی گراد.

مارسینس ۱۱۱ PTCC در محیط کشت جامد مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکننده (MIC) حداقل غلظتی از ترکیب سنتتیک می باشد که مانع رشد قابل مشاهده باکتری ها روی پلیت می گردد. حداقل غلظت مهارکننده رشد گتی فلوکسازین نیز به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. رقیق سازی ترکیبات ۸a-f و داروی استاندارد ضد باکتری (گتی فلوکسازین) در ۱ میلی لیتر مختلف به ۱۹ میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون آگار مذاب در ۵۰ درجه سانتی گراد اضافه شد تا غلظت های نهایی در محدوده ۰.۶۴-۰.۰۰۲ میکرو گرم در میلی لیتر به دست آید. سوسپانسیون باکتری با حل کردن کلونی در محیط کشت مولر هینتون آگار در نمک ۰/۸۵٪ به صورت over night باکتری به روش فتوسنتزی در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری گردید که با دانسیته سلولی استاندارد ۰/۵ مکفارلند مطابقت داشت. سپس سوسپانسیون باکتری در نمک ۰/۸۵٪ رقیق شد تا ۱۰^۷ واحد تشکیل دهنده کلونی در میلی لیتر (CFU/ml) تهیه شود. ۱ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری که حاوی ۱۰^۷ CFU/spot بود، به صورت نقطه ای در پتری دیش ها کشت داده شد و در دمای ۳۵-۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت انکوبه گردید. برای اطمینان از عدم تأثیر حلال روی رشد باکتری ها، یک کنترل با محیط کشت حاوی DMSO با رقت های یکسان که در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت، تست شد.

نتایج

ساختار شیمیایی برخی کینولون ها و هیبریدهای نیتروآریل تیادی آزول-کینولون که تاکنون ساخته شده،

بهره واکنش ۷۱٪، نقطه ذوب ۲۷۳-۲۷۲ درجه سانتی گراد.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.04-1.50 (m, 4H, cyclopropyl), 3.30-4.31 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.76 (s, 3H, CH₃O), 7.62 (m, 2H, phenyl), 7.70 (m, 1H, phenyl), 7.95 (d, 1H, H₅-quinolone, J = 12 Hz), 8.05 (d, 1H, phenyl, J = 6.5 Hz), 8.86 (s, 1H, H₂-quinolone). IR (KBr, cm⁻¹): 1731 and 1623 (C=O), 1541 and 1372 (NO₂).

-۳)-۵]-۴]-۶-فلوئورو-۷-۱-سیکلوبروپیل-۴-نیتروفنیل-۱-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل-۱-پیپرازین-۱-ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (8e)

بهره واکنش ۷۰٪، نقطه ذوب ۱۷۳-۱۷۲ درجه سانتی گراد.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 0.99-1.48 (m, 4H, cyclopropyl), 3.35-4.33 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.75 (s, 3H, CH₃O), 7.81 (d, 1H, H₅-quinolone, J = 12 Hz), 7.83 (t, 1H, phenyl, J = 8 Hz), 8.30-8.31 (m, 1H, phenyl), 8.39-8.41 (m, 1H, phenyl), 8.43-8.54 (m, 1H, phenyl), 8.73 (s, 1H, H₂-quinolone). IR (KBr, cm⁻¹): 1738 and 1618 (C=O), 1531 and 1347 (NO₂).

-۱-سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۷-۱-نیتروفنیل-۱-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل-۱-پیپرازین-۱-ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (8f)

بهره واکنش ۶۲٪، نقطه ذوب ۲۷۱-۲۶۹ درجه سانتی گراد.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.00-1.59 (m, 4H, cyclopropyl), 3.42-4.32 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.79 (s, 3H, CH₃O), 7.80 (d, 1H, H₅-quinolone, J = 11.5 Hz), 8.07 (d, 2H, phenyl, J = 8.5 Hz), 8.40 (d, 2H, phenyl, J = 8.5 Hz), 8.72 (s, 1H, H₂-quinolone). IR (KBr, cm⁻¹): 1726 and 1623 (C=O), 1521 and 1332 (NO₂).

نتایج فعالیت ضدبacterیایی: ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی با روش رقیق‌سازی آگار بر علیه تعدادی از

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 0.90-1.54 (m, 4H, cyclopropyl), 3.30-3.99 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.72 (s, 3H, CH₃O), 7.59 (s, 1H, H₃-thiophen), 7.81 (d, 1H, H₅-quinolone, J = 12 Hz), 8.16 (s, 1H, H₄-thiophen), 8.71 (s, 1H, H₂-quinolone). IR (KBr, cm⁻¹): 1729 and 1618 (C=O), 1511 and 1347 (NO₂).

-۵)-۴]-۶-فلوئورو-۷-۱-سیکلوبروپیل-۴-نیتروفنیل-۲-ایل-۱-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل-۱-پیپرازین-۱-ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (8b)

بهره واکنش ۵۷٪، نقطه ذوب ۲۶۹-۲۶۷ درجه سانتی گراد.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 0.95-1.58 (m, 4H, cyclopropyl), 3.33-3.90 (m, 9H, piperazine, and cyclopropyl), 3.72 (s, 3H, CH₃O), 7.48 (s, 1H, H₃-furan), 7.80 (d, 1H, H₅-quinolone, J = 12 Hz), 8.10 (s, 1H, H₄-furan), 8.73 (s, 1H, H₂-quinolone). IR (KBr, cm⁻¹): 1724 and 1619 (C=O), 1521 and 1351 (NO₂).

-۱-سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۷-۱-متیل-۵-نیترو-۱-ایمیدازول-۲-ایل-۱-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل-۱-پیپرازین-۱-ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (8c)

بهره واکنش ۶۰٪، نقطه ذوب ۲۷۶-۲۷۴ درجه سانتی گراد.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.04-1.53 (m, 4H, cyclopropyl), 3.30-3.98 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.75 (s, 3H, CH₃O), 4.35 (s, 3H, CH₃-imidazole), 7.80 (d, 1H, H₅-quinolone, J = 11.5 Hz), 8.23 (s, 1H, imidazole), 8.73 (s, 1H, H₂-quinolone). IR (KBr, cm⁻¹): 1736 and 1623 (C=O), 1516 and 1357 (NO₂).

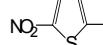
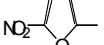
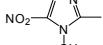
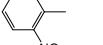
-۱-سیکلوبروپیل-۶-فلوئورو-۷-۱-نیتروفنیل-۱-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل-۱-پیپرازین-۱-ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (8d)

به عنوان داروی رفانس تعیین شد (جدول ۱).

میکروارگانیسم‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. حداقل غلظت

مهارکننده در مقایسه با کینولون والد گتی‌فلوکسازین (۳)

جدول ۱- اثرات ضد باکتریایی ترکیبات ۸a-f و داروی رفانس گتی‌فلوکسازین (۳) بر علیه سوش‌های انتخاب شده (MIC) بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر.

سوش‌های میکروبی	ترکیبات NO ₂ -Ar	8a	8b	8c	8d	8e	8f	۳
								-
Staphylococcus aureus		۰/۵	۰/۱۲۵	۰/۰۶۲۵	۳۲	۶۴<	۳۲	۰/۲۵
ATCC 25923		۰/۲۵	۰/۰۳۱۳	۱	۰/۱۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۱۲۵	۰/۰۶۲۵
Staphylococcus epidermidis		۰/۲۵	۰/۰۰۷۸	۲	۰/۰۶۲۵	۳۲	۰/۰۶۲۵	۰/۰۵
ATCC 4940		۰/۵	۰/۵	۲	۰/۵	۲	۰/۱۲۵	۰/۲۵
Streptococcus pneumonia		۰/۵	۰/۵	۲	۰/۵	۲	۰/۱۲۵	۰/۲۵
ATCC 1240		۱	۰/۰۰۷۸	۲	۰/۰۶۲۵	۳۲	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Bacillus subtilis		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۲	۰/۰۶۲۵	۳۲	۰/۰۶۲۵	۰/۵
ATCC 6051		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۲	۰/۰۶۲۵	۳۲	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Enterococcus faecalis		۴	۰/۲۵	۴	۴	۶۴<	۲	۰/۵
NCTC 6013		۸	۰/۲۵	۸	۱	۲	۱	۱
Micrococcus luteus		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵
ATCC 1110		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Escherichia coli		۶۴	۲	۶۴	۳۲	۶۴<	۳۲	۱
ATCC 25922		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Salmonella typhi		۲	۲	۰/۵	۳۲	۶۴<	۱۶	۰/۰۶۲۵
ATCC 19430		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Shigella flexneri		۲	۱	۴	۸	۶۴<	۱۶	۰/۰۶۲۵
NCTC 8516		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Klebsiella pneumonia		۳۲	۲	۱	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۰/۵
ATCC 10031		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Serratia marcescens		۳۲	۱۶	۶۴	۳۲	۶۴<	۱۶	۰/۵
PTCC 1111		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Pseudomonas aeruginosa		۶۴<	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۲
ATCC 27853		۰/۵	۰/۰۰۷۸	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۵

علیه E. feacalis و ترکیبات ۸b, ۸d, ۸f بر علیه M. luteus دارای اثرات قابل مقایسه و بهتر نسبت به گتی‌فلوکسازین می‌باشند. اثر ترکیبات بر روی باکتری‌های گرم منفی چندان قابل توجه نیست.

چنان‌که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد ترکیبات ۸b و ۸c بر علیه S. aureus دارای اثرات بهتری نسبت به گتی‌فلوکسازین می‌باشند. ترکیبات ۸b و ۸e بر علیه S. pneumoniae ۸f بر علیه S. epidermidis ترکیبات ۸b, ۸d و ۸f بر علیه B. subtilis, ترکیب ۸b

بحث

گروه متوكسى در موقعیت ۸ و گروه سیکلوبروپیل بر روی N1 حلقه کینولون، از مشتقات گتی فلوکساسین و سیپروفلوکساسین هستند. مقایسه MIC این ترکیبات با مشتقات گتی فلوکساسین ساخته شده در مطالعه Jazayeri و همکاران [۲۲] نشان می‌دهد حذف گروه ۳-متیل از روی پیپرازینیل گتی فلوکساسین باعث کاهش اثرات ضد باکتریایی می‌گردد.

به علت شباهت ترکیبات سنتز شده در این تحقیق با سیپروفلوکساسین، بین این ترکیبات و مشتقات سیپروفلوکساسین که در مطالعات قبلی [۱۵] گروه گزارش شده، مقایسه‌ای انجام شد. ترکیب ۸a در مقایسه با مشتق ۵-نیتروتیوفن-۴ و ۱-تیادی آزول- سیپروفلوکساسین که قبلاً گزارش شده ضعیفتر است، بنابراین قرار دادن گروه متوكسى در موقعیت ۸ حلقه سیپروفلوکساسین این ترکیب، از قدرت ضد باکتریایی آن می‌کاهد. مقایسه ترکیب ۸b با مشتق ۵-نیتروفوران- ۴ و ۳ و ۱-تیادی آزول - سیپروفلوکساسین [۲۳] نشان می‌دهد قدرت آن در مقابل برخی باکتری‌ها بیشتر و در مقابل برخی دیگر ضعیفتر است. مشتقات نیتروفنیل (ترکیبات ۸f و ۸e) در مقایسه با مشتقات نیتروفنیل ۴ و ۳ و ۱-تیادی آزول سیپروفلوکساسین [۲۴] بر علیه برخی باکتری‌های گرم مثبت بسیار قوی‌ترند.

نتیجه‌گیری

فلوروکینولون‌ها با استخلاف ۷-پیپرازینیل دارای اثرات ضد باکتریایی قوی می‌باشند و استخلاف C₇ در این سری از داروها محل برخورد با آنژیم توپوایزومراز بوده و موجب انعطاف‌پذیری در ساختار این داروها نیز می‌گردد [۱۶]. با توجه به نقش گروه پیپرازین در موقعیت ۷، در این تحقیق یک سری از مشتقات گتی فلوکساسین که دارای حلقه پیپرازین استخلاف شده با مشتقات نیتروآریل

از بین ترکیبات سنتز شده در این تحقیق آنالوگ نیتروفوران ۸b دارای قوی‌ترین اثر مهاری بر علیه MIC= ۰/۰۳۱۳ (S. epidermidis مثبت باکتری‌های گرم در میلی‌لیتر)، MIC=۰/۰۰۷۸ (B. subtilis میکروگرم در میلی‌لیتر)، MIC=۰/۲۵ (E. faecalis میکروگرم در میلی‌لیتر)، MIC=۰/۲۵ (M. luteus میکروگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با داروی رفرانس گتی فلوکساسین و سایر ترکیبات سنتز شده می‌باشد. این ترکیب در مقایسه با سایر ترکیبات سنتز شده بر علیه باکتری‌های گرم منفی نیز دارای اثرات ضد باکتریایی قوی‌تری است. البته ترکیب ۸c علیه باکتری گرم مثبت قوی‌تری (S. aureus میکروگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با داروی رفرانس و سایر ترکیبات دارای قوی‌ترین اثر بوده و اثر ضد باکتریایی آن در برابر باکتری گرم منفی MIC=۰/۵ (S. typhi میکروگرم در میلی‌لیتر) نیز قوی‌تر از اثر سایر ترکیبات می‌باشد اما در مقایسه با گتی فلوکساسین ضعیفتر است.

مطالعات گذشته نشان می‌دهد که قرار دادن گروه‌های ۵-نیتروهتروآریل (۱-۴،۳-تیادی آزول بر روی حلقه پیپرازین کینولون‌ها مثل سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، انوکساسین و لووفلوكساسین قدرت ضد باکتریایی ترکیبات را افزایش می‌دهد [۱۵-۱۶]. طبق نتایج، مشتقات جدید نیتروآریل تیادی آزول-کینولون ۸a-f اثرات ضد باکتریایی قوی علیه باکتری‌های گرم مثبت داشته اما اثرات آن‌ها بر باکتری‌های گرم منفی چندان قابل ملاحظه نیست. نوع نیتروآریل متصل به ۱-تیادی آزول فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به طوری که مشتق نیتروفوران قوی‌تر از بقیه مشتقات می‌باشد. این ترکیبات به علت قرار گرفتن

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان جهت تأمین اعتبار این طرح تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

می‌باشد، سنتز شده و اثرات ضد باکتریایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. در بین ترکیبات سنتز شده مشتق نیتروفوران (8b) دارای قوی‌ترین اثر ضد باکتری در مقایسه با داروی مرجع گتی فلوكساسین و سایر ترکیبات سنتز شده می‌باشد.

References

- [1] Hooper DC. New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. *Clin Infect Dis* 2000; 30(2): 243-54.
- [2] Lesher GY, Froelich EJ, Gruett MD, Bailey JH, Brundage RP. 1,8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J Med Chem* 1962; 91: 1063-5.
- [3] Ball P, Fernald A, Tillotson G. Therapeutic advances of new fluoroquinolones. *Expert Opin Investig Drugs* 1998; 7(5): 761-83.
- [4] Tillotson GS. Quinolones: structure-activity relationships and future predictions. *J Med Microbiol* 1996; 44(5): 320-4.
- [5] Domagala JM. 1994 Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33(4): 685-706.
- [6] Emami S, Shafiee A, Foroumadi A. Structural features of new quinolones and relationship to antibacterial activity against Gram-positive bacteria. *Mini Rev Med Chem* 2006; 6(4): 375-86.
- [7] Andersson MI, MacGowan AP. Development of the quinolones. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51(Suppl 1): 1-11.
- [8] Takahashi H, Hayakawa I, Akimoto T. The history of the development and changes of quinolone antibacterial agents. *Yakushigaku Zasshi* 2003; 38(2): 161-79.
- [9] Hooper DC. Mode of action of fluoroquinolones. *Drugs* 1999; 58(Suppl 2): 6-10.
- [10] Berger JM, Gamblin SJ, Harrison SC, Wang JC. Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature* 1996; 379(6562): 225-32.
- [11] Efthimiadou EK, Katsaros N, Karaliota A, Psomas G. Synthesis, characterization, antibacterial activity, and interaction with DNA of the vanadyl-enrofloxacin complex. *Bioorg Med Chem Lett* 2007; 17(5): 1238-42.

- [12] Coleman K. Recent advances in the treatment of Gram-positive infections. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies* 2004; 1: 455-60.
- [13] Foroumadi A, Emami S, Mansouri S, Javidnia A, Saeid-Adeli N, Shirazi FH, Shafiee A. Synthesis and antibacterial activity of levofloxacin derivatives with certain bulky residues on piperazine ring. *Eur J Med Chem* 2007; 42(7): 985-92.
- [14] Higgins PG, Fluit AC, Schmitz FJ. Fluoroquinolones: structure and target sites. *Curr Drugs Targets* 2003; 4(2): 181-90.
- [15] Foroumadi A, Mansouri S, Kiani Z, Rahmani A. Synthesis and in vitro antibacterial evaluation of N-[5-(5-Nitro-2-thienyl)-1,3,4-thiadiazole-2-yl] piperazinyl quinolones. *Eur J Med Chem* 2003; 38(9): 851-4.
- [16] Foroumadi A, Mansouri S, Emami S, Mirzai J, Sorkhi M, Saeid-Adeli N, Shafiee A. Synthesis and antibacterial activity of nitroaryl thiadiazole-levofloxacin hybrids. *Arch Pharm (Weinheim)* 2006; 339 (11): 621-4.
- [17] Foroumadi A, Soltani F, Moshafi MH, Ashraf-Askari R. Synthesis and in vitro antibacterial activity of some N-(5- aryl-1,3,4- thiadiazole-2- yl) piperazinyl quinolone derivatives. *J Farmaco* 2003; 58(10): 1023-8.
- [18] Pendeya SN, Sriram D, Nath G, Declercq E. Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of norfloxacin manich bases. *Eur J Med Chem* 2000; 35: 249-55.
- [19] Foroumadi A, Emami S, Pourourmohammadi S, Kharazmi A, Shafiee A. Synthesis and in vitro leishmanicidal activity of 2-(1-methyl-5-nitro-1H-imidazol-2-yl)-5-substituted-1,3,4-thiadiazole derivatives. *Eur J Med Chem* 2005; 40(12): 1346-50.
- [20] Perry CM, Barman Balfour JA, Lamb HM. Gatifloxacin. *Drugs* 1999; 58(4): 683-96.
- [21] Ge TF, Law PY, Wong HY, Ho YY. Gatifloxacin affects GLUT1 gene expression and disturbs glucose homeostasis in vitro. *Eur J Pharmacol* 2007; 573(1-3): 70-4.
- [22] Jazayeri SS, Moshafi MH, Firoozpour L, Emami S, Haddad M, Pahlavanzadeh F, et al. Synthesis and antibacterial activity of nitroaryl thiadiazole-gatifloxacin hybrids. *Eur J Med Chem* 2009; 44: 1205-9.
- [23] Foroumadi A, Ashraf-Askari R, Moshafi MH, Emami S, Zeynali A. Synthesis and in vitro antibacterial activity of N-[5-(5-nitro-2-furyl)-1,3,4-thiadiazole-2-yl] piperazinyl quinolone derivatives. *Pharmazie* 2003; 58(6):432-3.
- [24] Foroumadi A, Soltani F, Moshafi MH, Ashraf-Askari R. Synthesis and in vitro antibacterial activity of some N-(5-aryl-1,3,4-thiadiazole-2-yl) piperazinyl quinolone derivatives. *Farmaco* 2003; 58(10): 1023-8. .

Synthesis and *In vitro* Antibacterial Activity of *N*-[5-(5-nitroaryl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl] Piperazinyl Quinolones

M.H. Moshafi¹, S.M. Safavi², A. Foroumadi³

Received: 23/02/09

Sent for Revision: 25/07/09

Received Revised Manuscript: 08/10/09

Accepted: 26/10/09

Background and Objectives: Because resistance to antimicrobial drugs is widespread, recognition of new antimicrobial and understanding of their mechanisms are vital. The quinolones have a broad antibacterial spectrum of activity against Gram-positive, Gram-negative and mycobacterial pathogens such as anaerobes. In the present study, the synthesis and antibacterial activity of a new series of *N*-piperazinyl quinolones containing 5-(nitroaryl)-1, 3, 4-thiadiazole-2-yl moiety have been studied.

Materials and Methods: In this laboratory study, the reaction of 1-cyclopropyl-6 fluoro-8 methoxy-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1, 4- dihydroquinoline-3- carboxylic acid (compound 3), with 2-chloro-5-(nitroaryl)-1,3,4-thiadiazol (compounds 9a-f), in DMF in the presence of NaHCO₃ at 85-90°C, gave final compounds 1-cyclopropyl- 6fluoro-7-[4-[5-(nitroaryl)-1,3, 4-thiadiazol-2yl], piperazin-1-yl] -8- methoxy-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid (8a-f). compounds 8a-f, were tested *in vitro* by the conventional agar dilution method against a panel of microorganisms including *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *salmonella typhi*, *shigella flexneri*, *klebsiella pneumonia*, *serratia marcescens* and *pseudomonas aeruginosa*.

Results: Among synthesized compound, nitrofuran analog 8b exhibited more potent inhibitory activity against Gram-positive bacteria including *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *E. feacalis*, *M. luteus*, in respect to other synthesized compounds and reference drug gatifloxacin.

Conclusion: Introduction of the bulky group of [5-(5-nitroaryl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl] could dramatically impact the antibacterial activity of the parent quinolone, and among the nitroaryl groups, 5-nitrofuryl analogue showed the most potent antibacterial activity against the tested microorganisms.

Key words: Quinolones, Nitroaromatic Compounds, 1,3,4-Thiadiazole, Antibacterial Activity

Funding: This research was funded by Kerman University of Medical Sciences.

Conflict of Interest: None declared.

1- Associate Prof., Dept. of Microbiology, Faculty of Pharmacy, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2- Master Science, Pharmaceutical Sciences Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Prof., Pharmaceutical Sciences Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
(Corresponding Author) Tel: (021) 66954708, Fax: (021) 66461178, E-mail: aforoumadi@yahoo.com