

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

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

## تهیه مشتقات N-(۵-نیتروآریل)-۴،۳،۱- تیادی آزول-۲- ایل [پیرازینیل کینولون‌ها و ارزیابی خواص ضد باکتریایی آن‌ها به روش برون‌نی

محمد حسن مصحفی<sup>۱</sup>، سیده ملیحه صفوی<sup>۲</sup>، علیرضا فرومدی<sup>۳</sup>

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

### 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 میکوباکتریال مثل باکتری‌های غیر هوازی می‌باشند. هدف این مطالعه یافتن مشتقات جدید نیتروآریل تیادی آزول- کینولون و بررسی اثرات ضدباکتریایی 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 انجام شد. از زمان و مکان واکنش ۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۸-متوکسی-۴-اکسو-۷- (پیرازین-۱-ایل) -۱-او-۴-دی هیدروکینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (ترکیب 3) با ۲-کلرو-۵-(نیتروآریل) -۴،۳،۱- تیادی آزول (ترکیبات 9a-f) در حضور DMF و بیکربنات سدیم در دمای ۸۵-۹۰ درجه سانتی‌گراد، ترکیبات نهایی ۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۷- [۴-۵]-(نیتروآریل)-۴،۳،۱-تیادی آزول-۲-ایل]- [پیرازین-۱-ایل]-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (8a-f) سنتز شدند. ترکیبات 8a-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 مهار بر علیه باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اینتروکوکوس فیکالیس، میکروکوکوس لوتئوس در مقایسه با داروی گتی‌فلوکساسین و سایر ترکیبات سنتز شده می‌باشد.

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

**واژه‌های کلیدی:** کینولون، ترکیبات نیتروآروماتیک، ۴،۳،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: ۰۲۱-۶۶۴۶۱۱۷۸، پست الکترونیکی: aforumadi@yahoo.com

## مقدمه

فلوروکینولون‌ها گروهی از داروهای ساخته شده ضد باکتری می‌باشند که امروزه به طور گسترده‌ای 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 فلورین 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. قبلاً کینولون‌ها فقط در درمان عفونت‌های مجاری ادراری مؤثر بودند اما بسیاری از داروهای جدید مثل گارنوکساسین (1)، موکسی فلوکسازین (2) و گنتی فلوکسازین (3) برای درمان عفونت‌های مجاری تنفسی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به طوری که این داروها بر علیه *S. Pneumoniae* مؤثرند [۳-۷].

تغییر در ساختار پایه مولکول شامل افزایش گروه‌ها به موقعیت‌های  $N_1$ ،  $C_5$ ،  $C_7$  باعث بهبود اثرات ضد باکتریایی می‌گردد. قرار گرفتن گروه پپرازین در موقعیت  $C_7$  و یک گروه سیکلوپروپیل در موقعیت  $N_1$  که در سیپروفلوکسازین (4) و در کینولون‌های جدیدتر مثل فلوروکینولون (2) و فلوروکینولون (3) قابل مشاهده است باعث افزایش قدرت داروها شده است [۷]. حلقه پپرازین و کربوکسیلیک اسید در موقعیت  $C_7$  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 فلورین در موقعیت ۶ برای مهار آنزیم‌های هدف ضروری است [۸]. سازوکار عمل این

داروها مهار DNA ژیراز و توپوایزومراز IV می‌باشد. DNA ژیراز همان توپوایزومراز II باکتریایی می‌باشد که کنترل توپولوژیکی مارپیچ دوتایی DNA را در طی فرآیندهای همانند سازی و ترجمه به عهده دارد [۹-۱۰]. مهار DNA ژیراز یا توپوایزومراز IV و قدرت نفوذ کینولون‌ها در سلول‌ها تحت تأثیر استخلاف موقعیت  $C_7$  ساختار استاندارد ۴-کینولون-۳-کربوکسیلیک اسید است. به علاوه، اعتقاد بر این است که برای ارگانیسیم‌های گرم مثبت، افزایش جرم مولکولی و حجم استخلاف در موقعیت  $C_7$  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)-۴،۳،۱-تیمادی آزول و کینولون‌های مختلف از جمله مشتقات سیپروفلوکسازین (4)، نورفلوکسازین (5)، انوکسازین (6) و لووفلوکسازین (7) با قدرت ضد باکتریایی قوی‌تر علیه ارگانیسیم‌های گرم مثبت در مقایسه با ترکیبات والد خود ساخته شده است [۱۵-۱۷].

عوارض جانبی و ناخواسته نظیر علائم مشاهده شده در سیستم عصبی مرکزی، اثر متقابل دارو- دارو، سمیت‌زایی 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 (4) در حال افزایش است. این مقاومت چند دارویی موجب گردیده تلاش برای دستیابی به کینولون‌های جدید دو چندان گردد. نسل جدید

500 Broker تعیین شد. جا به جایی شیمیایی به عنوان  $\delta$  بر حسب ppm (Parts Per Million) و تترامیل سیلان به عنوان استاندارد داخلی دستگاه می‌باشد.

#### روش عمومی سنتز ترکیبات نهایی 8a-f:

(۱) -سیکلوپروپیل -۶-فلوئورو-۷- [۴-۵] (نیتروآریل) - (۴،۳،۱-تیادی آزل-۲-یل- [۱-۱-یل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید):

مخلوطی از ۲-کلرو-۵- (نیتروآریل) - (۴،۳،۱- تیادی آزل (9a-f) (۵/۰ میلی مول)، ۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۸-متوکسی-۴-اکسو-۷- (پپیرازین-۱-یل)-۱-۴-دی هیدروکینولین-۳-کربوکسیلیک اسید ( ترکیب 3) (۵/۰ میلی مول)، و بیکربنات سدیم (۵/۰ میلی مول) در Dimethylformamide (DMF) (۱۰ میلی لیتر) در ۸۵-۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت گرم شد، بعد از تبدیل کامل ترکیب ۹ به محصول که با Thin (TLC) Layer Chromatography مشخص می‌گردد، ۲۰ میلی لیتر آب اضافه گردید و رسوب صاف شده با آب شستشو گردید. رسوب به دست آمده توسط ستون کوتاه سیلیکاژل با حلال کلروفرم-اتانل با نسبت ۵:۹۵ خالص گردید. محصول با DMF-H<sub>2</sub>O کریستال گیری شد.

#### بررسی فعالیت ضد باکتریایی: حداقل غلظت

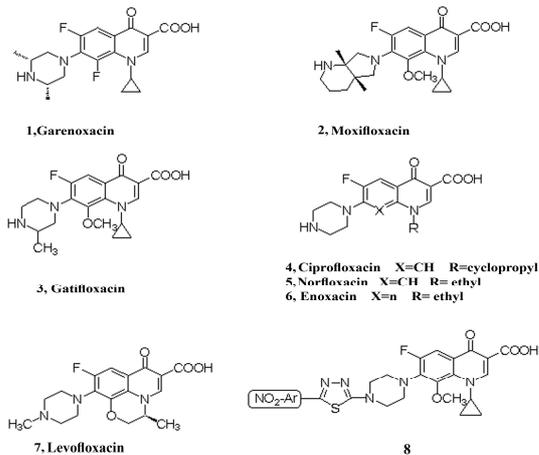
مهارکننده رشد (Minimum Inhibitory Concentration) کلیه ترکیبات سنتز شده نهایی بر علیه باکتری‌ها شامل استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC ۴۹۴۰، استرپتوکوکوس پنومونیا ATCC ۱۲۴۰، باسیلوس سوبتیلیس ATCC ۶۰۵۱، اینتروکوکوس فیکالیس NCTC ۶۰۱۳، میکروکوکوس لوتئوس ATCC ۱۱۱۰، اشیریشیاکولی ATCC ۲۵۹۲۲، سالمونلا تایفی ATCC ۱۹۴۳۰، شیگلا فلکسنری NCTC ۸۵۱، کلبسیلا پنومونیا ATCC ۱۰۰۳۱، 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 (4) یک فلوروکینولون جدید (نسل چهارم) با اثرات ضد باکتریایی قوی‌تری در مقایسه با فلوروکینولون‌های قدیمی‌تر مثل فلوروکینولون (4) بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و بی‌هوازی می‌باشد [۲۰]. کاهش قند خون به عنوان عارضه جانبی این دارو منجر به حذف آن از بازارهای آمریکایی شد [۲۱]. بنابراین، تلاش برای سنتز مشتقات فلوروکینولون (3) 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 آزل - کینولون و بررسی اثرات ضد باکتریایی آن‌ها بر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شامل استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استرپتوکوکوس پنومونیا، باسیلوس سوبتیلیس، اینتروکوکوس فیکالیس، میکروکوکوس لوتئوس، اشیریشیاکولی، سالمونلا تایفی، شیگلا فلکسنری، کلبسیلا پنومونیا، سراتیا مارسسنس و پسودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

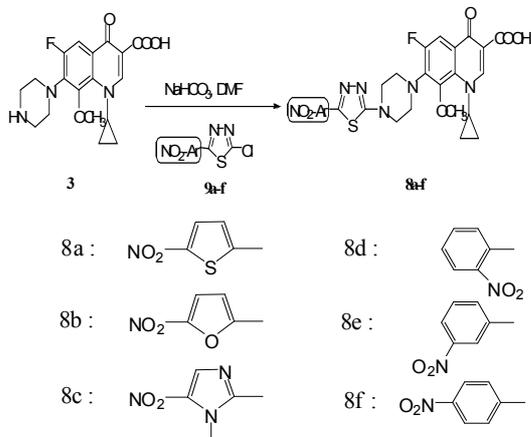
این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. مطالعه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از شرکت‌های مرک و آلدریچ خریداری گردید. نقطه ذوب بوسیله دستگاه Kofler hot stage اندازه‌گیری گردید. طیف مادون قرمز (IR) در دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu 470 و طیف Hydrogen-1 nuclear magnetic resonance ( <sup>1</sup>H-NMR) با استفاده از اسپکترومتر

جهت مقایسه با ترکیبات ساخته شده در این تحقیق در شکل ۱ آورده شده است.



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

ترکیبات 8a-f طبق روش کلی ارایه شده در شکل ۲ سنتز شدند.



شکل ۲- ساختار شیمیایی و روش کلی سنتز ترکیبات 8a-f

مشخصات ترکیبات سنتز شده بدین ترتیب می‌باشد:

- ۱- سیکلوپروپیل -۶- فلئوئورو-۷- [۴]-[۵]-[۵]
- نیتروتیوفن-۲- [۱یل]- ۴،۳،۱- تیادی آزول-۲- [۱یل]-
- پپیرازین-۱- [۱یل]- ۸- متوکسی-۴- اکسو-کینولین-۳-
- کربوکسیلیک اسید (8a)

بهره واکنش ۶۷٪، نقطه ذوب ۲۴۹-۲۵۰ درجه سانتی‌گراد

مارس سنس ۱۱۱۱ PTCC، پسودوموناس آئروژینوزا ATCC ۲۷۸۵۳ در محیط کشت جامد مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکننده (MIC) حداقل غلظتی از ترکیب سنتتیک می‌باشد که مانع رشد قابل مشاهده باکتری‌ها روی پلیت می‌گردد. حداقل غلظت مهارکننده رشد گتی فلوکساسین نیز به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. رقیق‌سازی ترکیبات 8a-f و داروی استاندارد ضد باکتری (گتی فلوکساسین) در ۱ میلی‌لیتر Dimethyl sulfoxide (DMSO) انجام شد. رقت‌های مختلف به ۱۹ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون آگار مذاب در ۵۰ درجه سانتی‌گراد اضافه شد تا غلظت‌های نهایی در محدوده ۶۴-۰/۰۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آید. سوسپانسیون باکتری با حل کردن کلونی در محیط کشت مولر هینتون آگار در نمک ۰/۸۵٪ به صورت over night تهیه گردید. دانسیته سلولی سوسپانسیون باکتری به روش فتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید که با دانسیته سلولی استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند مطابقت داشت. سپس سوسپانسیون باکتری در نمک ۰/۸۵٪ رقیق شد تا  $10^7$  واحد تشکیل‌دهنده کلونی در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه شود. ۱ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری که حاوی  $10^7$  CFU/spot بود، به صورت نقطه‌ای در پتری دیش‌ها کشت داده شد و در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت انکوبه گردید. برای اطمینان از عدم تأثیر حلال روی رشد باکتری‌ها، یک کنترل با محیط کشت حاوی DMSO با رقت‌های یکسان که در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت، تست شد.

## نتایج

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

بهره واکنش ۷۱٪، نقطه ذوب ۲۷۳-۲۷۲ درجه

سانتی‌گراد

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.04-1.50 (m, 4H, cyclopropyl), 3.30-4.31 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.62 (m, 2H, phenyl), 7.70 (m, 1H, phenyl), 7.95 (d, 1H, H<sub>5</sub>-quinolone, J = 12 Hz), 8.05 (d, 1H, phenyl, J = 6.5 Hz), 8.86 (s, 1H, H<sub>2</sub>-quinolone). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1731 and 1623 (C=O), 1541 and 1372 (NO<sub>2</sub>).

۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۷-۴-۵-۵-۳-۱

نیتروفنیل-۴،۳،۱-تیادی آزل-۲-ایل-۱-پپرازین-۱

ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک

اسید (8e)

بهره واکنش ۷۰٪، نقطه ذوب ۱۷۳-۱۷۲ درجه

سانتی‌گراد

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.99-1.48 (m, 4H, cyclopropyl), 3.35-4.33 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.81 (d, 1H, H<sub>5</sub>-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, H<sub>2</sub>-quinolone). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1738 and 1618 (C=O), 1531 and 1347 (NO<sub>2</sub>).

۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۷-۴-۵-۴-۱

نیتروفنیل-۴،۳،۱-تیادی آزل-۲-ایل-۱-پپرازین-۱

ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک

اسید (8f)

بهره واکنش ۶۲٪، نقطه ذوب ۲۷۱-۲۶۹ درجه

سانتی‌گراد

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.00-1.59 (m, 4H, cyclopropyl), 3.42-4.32 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.79 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.80 (d, 1H, H<sub>5</sub>-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, H<sub>2</sub>-quinolone). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1726 and 1623 (C=O), 1521 and 1332 (NO<sub>2</sub>).

نتایج فعالیت ضدباکتریایی: ترکیبات در شرایط

آزمایشگاهی با روش رقیق‌سازی آگار بر علیه تعدادی از

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.90-1.54 (m, 4H, cyclopropyl), 3.30-3.99 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.59 (s, 1H, H<sub>3</sub>-thiophen), 7.81 (d, 1H, H<sub>5</sub>-quinolone, J = 12 Hz), 8.16 (s, 1H, H<sub>4</sub>-thiophen), 8.71 (s, 1H, H<sub>2</sub>-quinolone). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1729 and 1618 (C=O), 1511 and 1347 (NO<sub>2</sub>).

۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۷-۴-۵-۵-۱

نیتروفوران-۲-ایل-۱-۴،۳،۱-تیادی آزل-۲-ایل-۱

پپرازین-۱-ایل-۱-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳

کربوکسیلیک اسید (8b)

بهره واکنش ۵۷٪، نقطه ذوب ۲۶۹-۲۶۷ درجه

سانتی‌گراد

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.95-1.58 (m, 4H, cyclopropyl), 3.33-3.90 (m, 9H, piperazine, and cyclopropyl), 3.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.48 (s, 1H, H<sub>3</sub>-furan), 7.80 (d, 1H, H<sub>5</sub>-quinolone, J = 12 Hz), 8.10 (s, 1H, H<sub>4</sub>-furan), 8.73 (s, 1H, H<sub>2</sub>-quinolone). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1724 and 1619 (C=O), 1521 and 1351 (NO<sub>2</sub>).

۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۷-۴-۵-۱-۱-متیل

۵-نیترو-۱-ایمیدازول-۲-ایل-۱-۴،۳،۱-تیادی آزل-۲

ایل-۱-پپرازین-۱-ایل-۱-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳

کربوکسیلیک اسید (8c)

بهره واکنش ۶۰٪، نقطه ذوب ۲۷۶-۲۷۴ درجه

سانتی‌گراد

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.04-1.53 (m, 4H, cyclopropyl), 3.30-3.98 (m, 9H, piperazine and cyclopropyl), 3.75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 4.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-imidazole), 7.80 (d, 1H, H<sub>5</sub>-quinolone, J = 11.5 Hz), 8.23 (s, 1H, imidazole), 8.73 (s, 1H, H<sub>2</sub>-quinolone). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1736 and 1623 (C=O), 1516 and 1357 (NO<sub>2</sub>).

۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۷-۴-۵-۲-۱

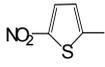
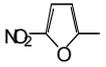
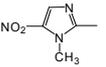
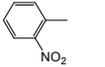
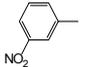
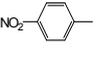
نیتروفنیل-۴،۳،۱-تیادی آزل-۲-ایل-۱-پپرازین-۱

ایل-۸-متوکسی-۴-اکسو-کینولین-۳-کربوکسیلیک

اسید (8d)

میکروارگانسیم‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. حداقل غلظت به عنوان داروی رفرانس تعیین شد (جدول ۱).  
 مهارکننده در مقایسه با کینولون والد گتی فلوکساسین (3)

جدول ۱- اثرات ضدباکتریایی ترکیبات 8a-f و داروی رفرانس گتی فلوکساسین بر علیه سوش‌های انتخاب شده (MIC بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

ترکیبات NO <sub>2</sub> -Ar	8a	8b	8c	8d	8e	8f	3
سوش‌های میکروبی							-
Staphylococcus aureus ATCC 25923	۰/۵	۰/۱۲۵	۰/۰۶۲۵	۳۲	۶۴<	۳۲	۰/۲۵
Staphylococcus epidermidis ATCC 4940	۰/۲۵	۰/۰۳۱۳	۱	۰/۱۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۱۲۵	۰/۰۶۲۵
Streptococcus pneumonia ATCC 1240	۰/۵	۰/۵	۲	۰/۵	۲	۰/۱۲۵	۰/۲۵
Bacillus subtilis ATCC 6051	۱	۰/۰۰۷۸	۲	۰/۰۶۲۵	۳۲	۰/۰۶۲۵	۰/۵
Enterococcus faecalis NCTC 6013	۴	۰/۲۵	۴	۴	۶۴<	۲	۰/۵
Micrococcus luteus ATCC 1110	۸	۰/۲۵	۸	۱	۲	۱	۱
Escherichia coli ATCC 25922	۶۴	۲	۶۴	۳۲	۶۴<	۳۲	۱
Salmonella typhi ATCC 19430	۲	۲	۰/۵	۳۲	۶۴<	۱۶	۰/۰۶۲۵
Shigella flexneri NCTC 8516	۲	۱	۴	۸	۶۴<	۱۶	۰/۰۶۲۵
Klebsiella pneumonia ATCC 10031	۳۲	۲	۱	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۰/۵
Serratia marcescens PTCC 1111	۳۲	۱۶	۶۴	۳۲	۶۴<	۱۶	۰/۵
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۶۴<	۲

M. luteus و feacalis و ترکیبات 8b، 8d و 8f بر علیه S. aureus دارای اثرات قابل مقایسه و بهتر نسبت به گتی فلوکساسین می‌باشند. اثر ترکیبات بر روی باکتری‌های گرم منفی چندان قابل توجه نیست.

چنان که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد ترکیبات 8b و 8c بر علیه S. aureus دارای اثرات بهتری نسبت به گتی فلوکساسین می‌باشند. ترکیبات 8b و 8e بر علیه S. epidermidis ترکیب 8f بر علیه S. pneumonia ترکیبات 8b، 8d و 8f بر علیه B. subtilis، ترکیب 8b بر علیه E.

## بحث

گروه متوکسی در موقعیت ۸ و گروه سیکلوپروپیل 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 پپرازینیل 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 8a در مقایسه با مشتق ۵- نیترو تیوفن- ۳ و ۴ و ۱- تیادی آزول - سیپروفلوکساسین که قبلاً گزارش شده ضعیف‌تر است، بنابراین قرار دادن گروه متوکسی در موقعیت ۸ حلقه سیپروفلوکساسین این ترکیب، از قدرت ضد باکتریایی آن می‌کاهد. مقایسه ترکیب 8b با مشتق ۵- نیترو فوران- 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 نیترو فنیل (ترکیبات 8e، 8f و 8d) در مقایسه با مشتقات نیترو فنیل ۳ و ۴ و ۱- تیادی آزول سیپروفلوکساسین [۲۴] بر علیه برخی باکتری‌های گرم مثبت بسیار قوی‌ترند.

## نتیجه‌گیری

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

از بین ترکیبات سنتز شده در این تحقیق آنالوگ نیترو فوران 8b دارای قوی‌ترین اثر مهاری بر علیه باکتری‌های گرم مثبت ( $S. epidermidis$ ) MIC= ۰/۰۳۱۳، میکروگرم در میلی‌لیتر، ( $B. subtilis$ ) MIC= ۰/۰۰۷۸، میکروگرم در میلی‌لیتر، ( $E. feacalis$ ) MIC= ۰/۲۵، میکروگرم در میلی‌لیتر، ( $M. luteus$ ) MIC= ۰/۲۵، 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 8c علیه باکتری گرم مثبت ( $S. aureus$ ) MIC= ۰/۰۶۲۵ 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 ( $S. typhi$ ) MIC= ۰/۵ 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- (۵- نیترو هتروآریل) -۴،۳،۱- تیادی آزول بر روی حلقه پپرازین کینولون‌ها مثل سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، انوکساسین و لووفلوکساسین قدرت ضد باکتریایی ترکیبات را افزایش می‌دهد [۱۶-۱۵]. طبق نتایج، مشتقات جدید نیتروآریل تیادی آزول - کینولون 8a-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 ۴،۳،۱- تیادی آزول فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به طوری که مشتق نیترو فوران 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.

می‌باشند، 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 فلوکساسین 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] Leshner 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(Suppl1): 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 mannich bases. *Eur J Med Chem*, 2000; 35: 249-55.
- [19] Foroumadi A, Emami S, Pournourmohammadi 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. Moshafi<sup>1</sup>, M. Safavi<sup>2</sup>, A.R. Foroumadi<sup>3</sup>

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 9 compounds 9a-f), in DMF in the presence of nahCO<sub>3</sub> at 85-90°C, gave final compounds 1-cyclopropyl- 6fluoro-[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, nitrofuranyl 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-nitrofuranyl 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.

**Ethical Approval:** 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., Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Corresponding Author) Tel: (021) 66954708, Fax: (021) 66461178, E-mail: aforoumadi@yahoo.com