



بررسی فعالیت ضد میکروبی مشتقات جدید سیپروفلوکساسین

شقایق چخماقی^۱، موج خالقی^{۱*}، حجت اله خباززاده^۲

چکیده

مقدمه: مقاومت آنتی بیوتیکی از زمان کشف آنتی بیوتیک ها یک واقعیت شناخته شده بوده است، اما در سال های اخیر با افزایش گونه های مقاوم و کاهش آنتی بیوتیک های مؤثر و در دسترس، به مسئله ای نگران کننده تبدیل شده است. بنابراین، کشف و یا سنتز عوامل ضد باکتریایی جدید نقشی کلیدی در حل مسئله بحران مقاومت آنتی بیوتیکی ایفا می کند. هدف از این مطالعه، سنتز مشتقات جدید آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین به منظور اثرگذاری بیشتر بر روی باکتری های مقاوم به سیپروفلوکساسین بود. **مواد و روش ها:** سری جدیدی از مشتقات تیواوره و تیوسیانات سیپروفلوکساسین سنتز شد و سپس تست آنتی بیوگرام به روش انتشار دیسک بر روی باکتری های استاندارد و باکتری های بالینی مقاوم انجام شد. همچنین حداقل غلظت مهار کننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) ترکیبات سنتزی تعیین گردید. **نتایج و بحث:** نتایج نشان داد که ترکیبات S1-6 دارای فعالیت آنتی باکتریال بوده و ترکیب S4 با هاله عدم رشد ۳۸ میلی متر بر روی *P. aeruginosa* ATCC 27853 موثرترین ترکیب بوده است. از طرف دیگر حداقل غلظت مهارکنندگی سیپروفلوکساسین خالص بر روی باکتری *E. coli* ATCC 25922، ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود، در حالی که ترکیبات S1-6 دارای حداقل غلظت مهارکنندگی کمتر از ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بر روی این باکتری می باشد، که نشان دهنده فعالیت آنتی باکتریال بالای ترکیبات است. به طور کلی بر اساس نتایج به دست آمده، با اضافه کردن استخلاف ها و گروه های عاملی مختلف به سیپروفلوکساسین، می توان مشتقات جدیدی سنتز کرد که بر روی باکتری های مقاوم، موثر باشد.

واژه های کلیدی: باکتری های مقاوم، تیوسیانات، سیپروفلوکساسین، ضد میکروبی، مقاومت آنتی بیوتیکی

۱- دانشجو کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

۱- دانشیار میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران (*نویسنده مسئول: m.khaleghi@uk.ac.ir)

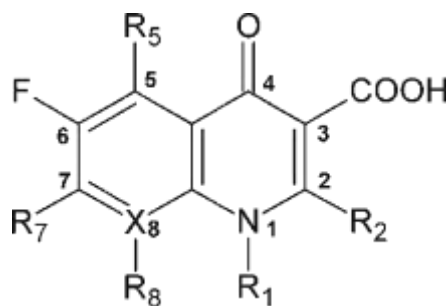
۲- دانشیار شیمی آلی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

مقدمه

یکی از علل اصلی مرگ و میر در جهان عفونت‌های باکتریایی است. باکتری‌هایی مانند *Acinetobacter baumannii* وسیعی از عفونت‌ها باشند. کشف آنتی‌بیوتیک‌ها در دهه‌های گذشته باعث کنترل و کاهش چشمگیر بیماری‌های عفونی شد (Christaki et al., 2020). اما با گذشت زمان، به دلیل استفاده نادرست و تکامل مقاومت باکتری‌ها، این گروه از داروها عموماً کارایی خود را در محیط‌های بالینی از دست دادند (Khaleghi et al., 2014). به طور کلی، انسان‌ها با روش‌های زیادی باعث تسریع مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شود به عنوان مثال، تجویز بیش از حد و نادرست آنتی‌بیوتیک‌ها برای علائمی که در بسیاری از موارد ممکن است توسط باکتری‌ها ایجاد نشده باشد، یکی از موارد مشکل‌ساز در این زمینه است (Jia & Zhao, 2021).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی از زمان کشف آنتی‌بیوتیک‌ها یک واقعیت شناخته شده بود، اما در بیست سال گذشته فراوانی و سرعت ظهور گونه‌های مقاوم رو به افزایش بوده است (Hutchings et al., 2019). افزایش مقاومت باکتری‌ها و کاهش تولید و توسعه آنتی‌بیوتیک‌ها، یک چشم‌انداز ترسناک و نگران‌کننده است، به طوری که سازمان بهداشت جهانی معضل مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به عنوان یکی از تهدیدهای بزرگ برای انسان، حیوانات و محیط زیست اعلام نموده است (Fair & Tor, 2014). پاتوژن‌های مقاوم به سرعت در سراسر جهان پخش می‌شوند و از طرفی تعداد آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر و در دسترس کاهش می‌یابد. از این رو، کشف عوامل ضد باکتریایی جدید نقشی کلیدی در حل مسئله بحران مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایفا می‌کند (2013 Saeedi et al.,).

کوئینولون‌ها یکی از رایج‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های تجویز شده در جهان است که برای درمان طیف گسترده‌ای از عفونت‌های باکتریایی استفاده می‌شود. در اوایل دهه ۱۹۶۰، نالیدیکسیک اسید به عنوان اولین کوئینولون برای درمان عفونت‌های مجاری ادراری ناشی از میکروارگانیزم‌های گرم منفی معرفی شد. سپس نسل دوم کوئینولون‌ها به نام فلوروکوئینولون (شکل ۱)، مانند نورفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و افلوکساسین به بازار عرضه شدند. یکی از مشخصات مهم و اصلی این ترکیبات از نظر ساختاری، حضور یک اتم فلورور در موقعیت ۶ و یک حلقه پیرازین در موقعیت ۷ است (Foroumadi et al., 2007). اتم فلورور به دلیل تقویت انتشار سلولی و اتصال دارو به کمپلکس آنزیم-DNA، بهترین جانشین برای موقعیت ۶ است و آمین حلقوی پنج یا شش عضوی (مانند پیرولیدین، پیرازین) در موقعیت ۷ بر خواص ضد باکتریایی و فارماکوکینتیکی فلوروکوئینولون‌ها تأثیر می‌گذارد (Ahadi & Emami, 2020).



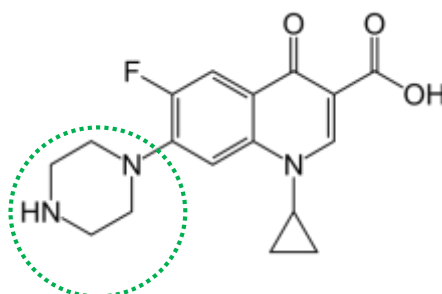
شکل ۱- ساختار فلوروکوئینولون ها (Rusu *et al.*, 2023).

Figure 1: Structure of fluoroquinolone (Rusu *et al.*, 2023)

فلوروکوئینولون ها یکی از متداول ترین گروه های آنتی بیوتیکی که جایگزین محبوبی برای مشتقات پنی سیلین و سفالوسپورین در درمان عفونت های مختلف می باشد. فلوروکوئینولون ها فعالیت باکتری کشی خود را از طریق مهار آنزیم های DNA ژیراز و توپوایزومراز IV اعمال می کند. مهار این آنزیم های باکتریایی باعث اختلال در تکثیر طبیعی DNA، ایجاد آسیب اکسیداتیو و تحریک مکانیسم های مرگ سلولی می شود (Wang *et al.*, 2012).

اگرچه کوئینولون ها آنتی بیوتیک های نسبتاً بی خطری هستند اما عوارض جانبی نادر و کمتر شایعی مانند حالت تهوع، سردرد، سرگیجه، ناهنجاری های کبدی، آرتروپاتی و ناهنجاری های غضروفی دارند. این عوارض جانبی در ۲ تا ۲۰ درصد از بیماران تحت درمان با کوئینولون ها رخ می دهد. اثرات نامطلوب کوئینولون ها را می توان با تجویز درست و آگاهی از عوامل خطر از جمله در بیماران بالای ۶۰ سال و یا داروهای تداخلی کاهش داد (Oliphant & Green, 2002).

سیپروفلوکساسین (شکل ۲) یکی از قوی ترین و مهم ترین آنتی بیوتیک های گروه فلوروکوئینولون است که در سال ۱۹۸۷ سنتز و مورد تایید FDA قرار گرفت و به طور موفقیت آمیزی برای درمان طیف وسیعی از عفونت های باکتریایی از جمله عفونت های دستگاه تنفسی (RTI)، عفونت های دستگاه ادراری (UTI)، بیماری های مقاربتی (STD) و عفونت های گوارشی استفاده شد (Rehman *et al.* 2019).



شکل ۲- ساختار سیپروفلوکساسین: سیپروفلوکساسین ۱-سیکلوپروپیل-۶-فلورو-۴-اکسو-۷-پیرازین-۱-یل-۳-کربوکسیلیک اسید است. حلقه پیرازین به رنگ سبز مشخص شده است (Sharma *et al.*, 2010).

Figure 2: Ciprofloxacin structure: Ciprofloxacin is 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7- Piperazine -1-ylquinoline-3-carboxylic acid. The piperazine ring is highlighted in green (Sharma *et al.*, 2010)

امروزه مقاومت باکتری‌ها به فلوروکوئینولون‌ها به طور نگران‌کننده‌ای رو به افزایش است. به این منظور تلاش‌های گسترده‌ای جهت سنتز فلوروکوئینولون‌های جدید در برابر باکتری‌های مقاوم انجام شده است و اعمال تغییرات در فلوروکوئینولون‌ها با افزودن گروه‌های عاملی مختلف منجر به دست‌یابی ترکیبات فعال‌تر شده است. در بسیاری از کینولون‌ها یک رابطه متقابل بین افزایش فعالیت گرم مثبت و کاهش فعالیت گرم منفی مشاهده می‌شود (Appelbaum & Hunter, 2000).

به طور کلی، بیشتر تحقیقات از زمان معرفی فلوروکوئینولون‌ها، بر روی عملکرد موقعیت کربن شماره ۷ (حلقه پیرازین) متمرکز شده است. به نحوی که عمدتاً، تکامل این گروه از طریق تغییر در موقعیت C-7 مولکول اصلی ناشی می‌شود (شکل ۲) و بخش‌های دیگر مولکول به ندرت اصلاح می‌شوند زیرا به عنوان مثال، گروه کربوکسیلیک اسید در موقعیت ۳ و اکسیژن آگزوسیکلیک در موقعیت ۴ بخشی از مولکول هستند که به DNA ژیراز باکتریایی متصل می‌شود بنابراین مهم است که با استرویشیمی اطراف آن ناحیه، تداخل وجود نداشته باشد (Sharma *et al.*, 2010). همچنین تغییر در موقعیت ۲ به علت نزدیک بودن به محل اتصال، میتواند منجر به کاهش سطح فعالیت ضد میکروبی شود. (Zhang *et al.*, 2018).

همانطور که ذکر شد، زنجیره جانبی متصل به پیرازین با تعدادی از ویژگی‌های کلیدی سیپروفلوکساسین، نظیر طیف ضد باکتریایی، فراهمی زیستی و اثرات نامطلوب مرتبط است و یک عامل تعیین‌کننده در فعالیت ضد میکروبی است (Emami *et al.*, 2005). امروزه تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید فرآیندی پرهزینه و زمان‌بر است و معمولاً اصلاح آنتی‌بیوتیک‌های موجود به عنوان مسیر مقرون به صرفه‌تر انتخاب می‌شود. بنابراین در این مطالعه با توجه به اهمیت موقعیت کربن شماره ۷، جایگزین‌های جدیدی برای C-7 به منظور افزایش فعالیت ضد میکروبی، طراحی و سنتز شد. همچنین فعالیت‌های آنتی‌باکتریال ترکیبات سنتزی مورد بررسی قرار گرفت.

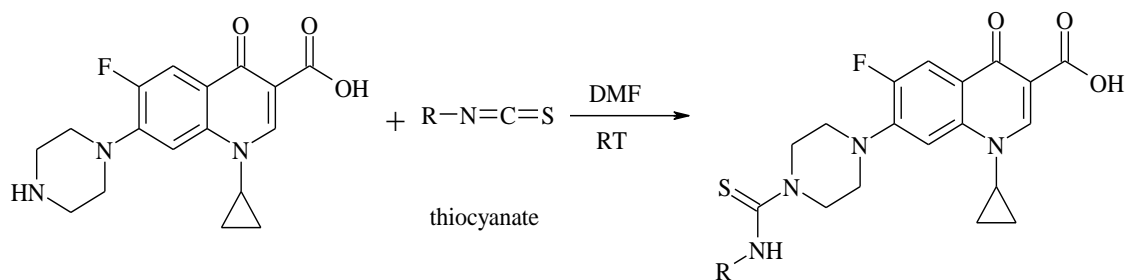
مواد و روش‌ها

سنتز مشتقات آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین

تمام ترکیبات شیمیایی و حلال‌های مورد نیاز از برند Merck خریداری شدند. نمای کلی مکانیسم سنتز ترکیبات مورد نظر در شکل ۳ و ۴ آورده شده است. ترکیبات پس از سنتز توسط $^1\text{H NMR}$ و IR تعیین ساختار شدند.

روش عمومی سنتز ترکیبات S1, S2, S3: مقدار ۳۳۰ میلی‌گرم (۱ میلی‌مول) سیپروفلوکساسین در ۲۰ میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرماید (DMF) در دمای محیط حل شد، سپس مقدار ۱ میلی‌مول از مشتقات تیوسیانات به آن اضافه، مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط توسط همزن مغناطیسی هم زده شد. در سنتز ترکیبات S3, S2, S1 به ترتیب گروه‌های فنیل کارباموتیول، متیل کارباموتیول و بنزیل کارباموتیول به سیپروفلوکساسین متصل شد (شکل ۳). پس از تکمیل واکنش، ۳۰۰ میلی‌لیتر آب

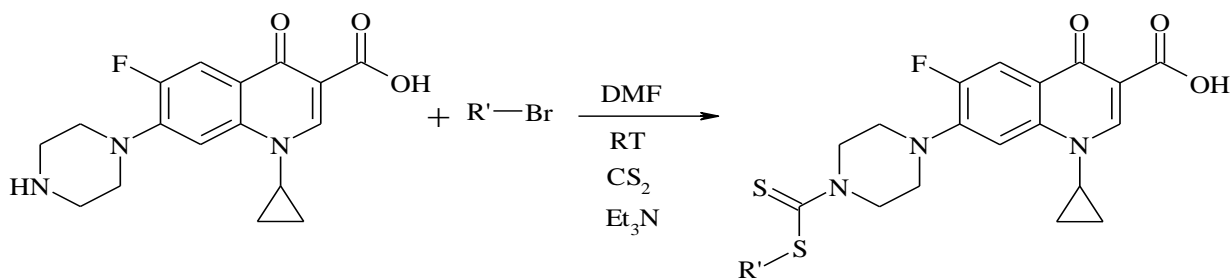
مقطر به مخلوط اضافه و رسوب حاصله صاف شد. جهت خالص سازی ترکیبات تبلور مجدد توسط اتانول صورت گرفت (Shamsa *et al.*, 2011).



شکل ۳- مسیر سنتز ترکیبات S1,S2,S3 (رسم شده توسط نرم افزار ChemBioDraw)

Figure 3: Synthesis pathway of S1,S2,S3 Compounds (Drawn by ChemBioDraw Software)

روش عمومی سنتز ترکیبات S4,S5,S6: مقدار ۳۳۰ میلی گرم (۱ میلی مول) سیپروفلوکساسین در ۲۰ میلی لیتر دی متیل فرمامید (DMF) در دمای محیط حل شد و سپس مقدار ۰/۲۷۸ میلی لیتر (۲ میلی مول) تری اتیل آمین و ۰/۰۷۲ میلی لیتر (۱/۲ میلی مول) کربن دی سولفید و مقدار ۱ میلی مول از مشتقات آلکیل هالید به آن اضافه گردید. در سنتز ترکیبات S6,S5,S4 به ترتیب گروه های اتیل کارباموتیول تیواستات، بنزیل کارباموتیول تیواستات، بنزیل کاربامو دی تیونات به سیپروفلوکساسین متصل شد (شکل ۴). مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط توسط همزن مغناطیسی هم زده شد و سپس مخلوط به ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و pH آن توسط محلول ۱ مولار HCl به ۶/۵ رسانده شد. رسوب حاصله صاف شده و سپس توسط اتانول تبلور مجدد گردید (Shamsa *et al.*, 2011).



شکل ۴- مسیر سنتز ترکیبات S4,S5,S6 (رسم شده توسط نرم افزار ChemBioDraw)

Figure 4: Synthesis pathway of S4,S5, S6 Compounds (Drawn by ChemBioDraw Software)

بررسی فعالیت ضد میکروبی

فعالیت ضد میکروبی ترکیبات سنتز شده با روش های انتشار دیسک و تعیین حداقل غلظت مهار کننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) بر روی سویه‌های بالینی مقاوم به سیپروفلوکساسین و همچنین سویه های استاندارد بررسی شدند. سویه های استاندارد در این مطالعه، شامل *Escherichia coli ATCC 25922*، *Klebsiella pneumoniae PTCC 1859*، *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* و *Staphylococcus aureus ATCC 25923* بود که از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. سویه های بالینی از بیمارستان شهر کرمان جمع آوری شده و پس از تعیین هویت سویه ها توسط روش های بیوشیمیایی برای تست های آنتی باکتریال استفاده شدند که در این تحقیق از ۲ سویه *Staphylococcus aureus* و ۳ سویه *Pseudomonas aeruginosa* استفاده شد.

سنجش انتشار دیسک

فعالیت ضد میکروبی ترکیبات به روش انتشار دیسک بر روی باکتری های استاندارد و مقاوم انجام شد (Hudzicki, 2009). باکتری های مذکور در محیط کشت مولر هینتون آگار (MHA) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. سپس از سویه های موردنظر در سرم فیزیولوژی مطابق با کدورت نیم مک فارلند سوسپانسیون تهیه شد و بر روی محیط کشت MHA به صورت چمنی کشت شدند. مقدار ۵ میکرو گرم از ترکیبات S1-6 در ۲۵ میکرولیتر DMSO حل شد و محلول به دیسک‌های بلانک تلقیح شد. سپس دیسک ها بر روی محیط کشت MHA قرار گرفت و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در گرمخانه نگه داری شدند. پس از این مدت ، قطر هاله های عدم رشد در اطراف دیسک بر حسب میلی متر اندازه گیری و ثبت گردید. در این پژوهش از سیپروفلوکساسین به عنوان کنترل مثبت و از DMSO بعنوان کنترل منفی استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت مهار کننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت مهار کننده ترکیبات روش میکرودايلوشن براث انتخاب شد. به این منظور از میکروتیتر پلیت استریل ۹۶ خانه استفاده گردید. ابتدا به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه شد و سپس سریال رقت (از ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تا ۰/۷۸ میکروگرم بر میلی لیتر) از ترکیبات مورد نظر تهیه و اضافه گردید. در آخر به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی (معادل با کدورت نیم مک فارلند) اضافه گردید و در نهایت، نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس چاهک ها از نظر رشد و عدم رشد باکتری مورد ارزیابی قرار گرفتند. اولین چاهکی که عدم رشد باکتری در آن مشاهده شد به محیط فاقد آنتی بیوتیک منتقل شد و به مدت ۱۷ الی ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد. بعد از گذشت زمان، در صورت رشد، آن غلظت به عنوان MIC و عدم رشد به عنوان غلظت MBC

گزارش شد. لازم به ذکر است یک چاهک کنترل مثبت (باکتری + محیط کشت) و یک چاهک به عنوان کنترل منفی (محیط کشت) برای هر نمونه در نظر گرفته شد (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

آنالیز آماری

تمام آزمایش ها با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) در IBM SPSS Statistics 26 با سطح معنی داری $P \leq 0.05$ انجام شد.

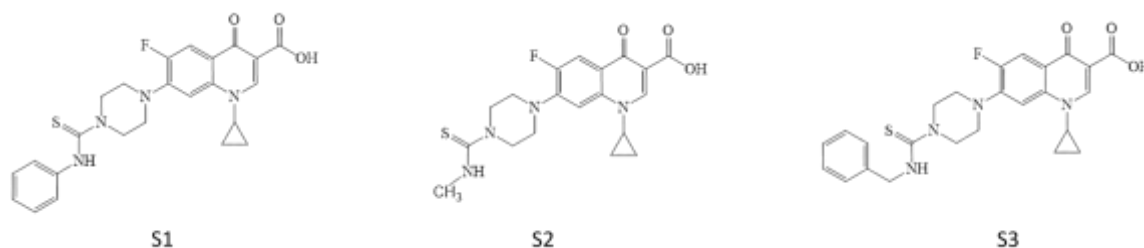
نتایج

سنتز مشتقات سیپروفلوکساسین

روش سنتز ترکیبات در شکل های ۳ و ۴ نشان داده شده است. شش مشتق مختلف از سیپروفلوکساسین سنتز شد که به ترکیبات S3, S2, S1 به ترتیب، گروه های فنیل کارباموتیول، متیل کارباموتیول و بنزیل کارباموتیول متصل شد. در مورد ترکیبات S6, S5, S4 به ترتیب گروه های اتیل کارباموتیول تیواستات، بنزیل کارباموتیول تیواستات، بنزیل کاربامو دی تیونات به حلقه پیرازین سیپروفلوکساسین متصل شد. نتایج طیف سنجی $^1\text{H NMR}$ و IR ساختار شیمیایی ترکیبات سنتز شده S1-6 را تایید کردند.

به عنوان مثال، در طیف NMR ترکیب S1 هیدروژن های گروه CH_2 سیکلوپروپیل و هیدروژن های گروه CH سیکلوپروپیل به ترتیب در ناحیه ۱/۲۱-۱/۳۷ ppm و هیدروژن های حلقه پیرازین در ناحیه ۳/۸۱ ppm و صورت پیک چند تایی ظاهر گردیده است. همچنین NH گروه فنیل کارباموتیول در ناحیه ۹/۵۳ ppm ظاهر شده است. در مورد ترکیب S2 طیف NMR نشان داد که هیدروژن های گروه CH_2 سیکلوپروپیل و هیدروژن های گروه CH سیکلوپروپیل به ترتیب در ناحیه ۱/۲۰-۱/۳۵ ppm و ۳/۸۴ قرار دارد.

هیدروژن های حلقه پیرازین در ناحیه ۳/۴۱-۳/۴۳ ppm به صورت پیک چند تایی ظاهر گردیده است. متیل متصل به گروه کارباموتیول در ناحیه ۲/۹۷ ppm به صورت یک پیک دوتایی با ثابت کوپلاژ ۳/۹ Hz ظاهر شده است. در طیف NMR ترکیب S3 هیدروژن های گروه CH_2 سیکلوپروپیل و هیدروژن های گروه CH سیکلوپروپیل به ترتیب در ناحیه های ۱/۲۰-۱/۳۵ ppm و ۴/۹۶ ppm و هیدروژن های حلقه پیرازین در ناحیه ۳/۴۶ ppm به صورت پیک چند تایی ظاهر گردیده است. گروه CH_2 بنزیل در ناحیه ۴/۸۵ ppm به صورت پیک دوتایی با ثابت کوپلاژ ۵/۴ Hz ظاهر گردیده است (شکل ۵).



شکل ۵- ساختار ترکیبات. به ترتیب از چپ به راست S1, S2, S3 (رسم شده توسط نرم افزار ChemBioDraw)

Figure 5: The structures of compounds. from left to right. S1, S2, S3 (Drawn by ChemBioDraw Software)

(S1): 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(4-(phenylcarbamothioyl) Piperazine -1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

IR (KBr): 1631, 1715, 2899, 3381 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.21-1.37 (4H, m, 2CH₂, cyclopropyl), 3.45 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 3.81 (1H, m, CH, cyclopropyl), 7.12-7.56 (6H, m, arom), 7.83 (1H, d, $^3J_{\text{H-F}} = 13.2$ Hz, arom), 8.61 (1H, s, CH-vinyl), 9.53 (1H, s, NH), 15.09 (1H, s, OH).

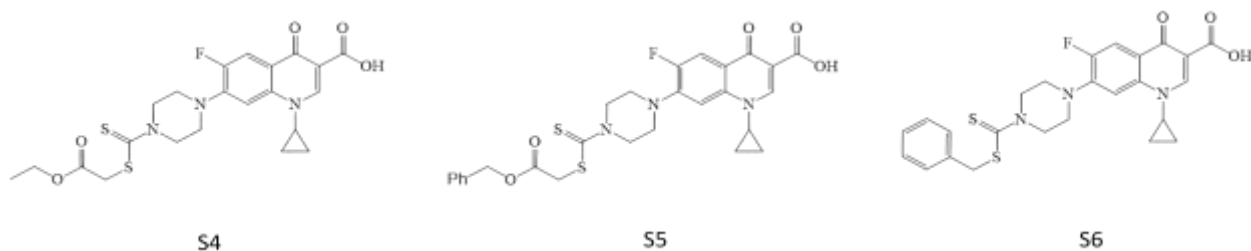
(S2): 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-(methylcarbamothioyl) Piperazine -1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

IR (KBr): 1631, 1719, 2918, 3441 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.20-1.35 (4H, m, 2CH₂, cyclopropyl), 2.97 (3H, d, J = 3.9 Hz, CH₃), 3.41-3.43 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 3.84 (1H, m, CH, cyclopropyl), 4.01-4.05 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 7.58 (1H, d, J = 7.4 Hz, arom), 7.88 (1H, m, NH), 7.95 (1H, d, $^3J_{\text{H-F}} = 13.3$ Hz, arom), 8.61 (1H, s, CH-vinyl), 15.19 (1H, s, OH).

(S3): 7-(4-(benzylcarbamothioyl) Piperazine -1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

IR (KBr): 1631, 1714, 2904, 3407 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.20-1.35 (4H, m, 2CH₂, cyclopropyl), 3.46 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 4.11 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 4.85 (2H, d, J = 5.4 Hz, CH₂ benyl), 4.96 (1H, m, CH, cyclopropyl), 7.23-7.45 (5H, m, arom and NH), 7.59 (1H, d, J = 7.4 Hz, arom), 7.95 (1H, d, $^3J_{\text{H-F}} = 13.3$ Hz, arom), 8.41 (1H, t, J = 5.7 Hz, arom), 8.69 (1H, s, CH-vinyl), 15.19 (1H, s, OH).

در ترکیب S4 هیدروژن های سیکلوپروپیل و گروه متیل در ناحیه ۱/۲۰ - ۱/۳۷ ppm و هیدروژن های حلقه پپرازین در ناحیه ۴/۲۵ ppm به صورت پیک چند تایی ظاهر گردیده است. همچنین هیدروژن های گروه OCH₂ در ناحیه ۴/۱۴ ppm ظاهر شده است. طیف NMR ترکیب S5 نشان داد که هیدروژن های گروه CH₂ سیکلوپروپیل و هیدروژن های گروه CH سیکلوپروپیل به ترتیب در ناحیه ۱/۱۷ - ۱/۳۷ ppm و ۳/۸۰ ppm قرار دارد. همچنین هیدروژن های گروه CH₂ حلقه پپرازین در ناحیه ۳/۵۳ - ۳/۵۷ ppm و پروتون های گروه OCH₂ در ناحیه ۵/۱۷ ppm ظاهر گردیده است. در طیف NMR ترکیب S6 هیدروژن های گروه CH₂ سیکلوپروپیل و هیدروژن های گروه CH سیکلوپروپیل به ترتیب در ناحیه ۱/۱۹ - ۱/۳۷ ppm و ۳/۸۰ ppm قرار دارد. هیدروژن های CH₂ گروه بنزیلی در ناحیه ۴/۴۰ - ۴/۴۷ ppm ظاهر گردیده است (شکل ۶).



شکل ۶- ساختار ترکیبات ، به ترتیب از چپ به راست ساختار S4,S5,S6 (رسم شده توسط نرم افزار ChemBioDraw)

Figure 6: The structure of compounds, from left to right, S4,S5,S6 structure (Drawn by ChemBioDraw Software)

(S4):1-cyclopropyl-7-(4-(((2-ethoxy-2-oxoethyl)thio)carbonothioyl) Piperazine -1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

IR (KBr): 1629, 1728, 2916, 3437 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.20-1.37 (7H, m, 2CH₂, cyclopropyl and CH₃ ethyl), 3.56 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 3.82 (1H, m, CH, cyclopropyl), 4.14 (2H, d, J = 7.1 Hz, OCH₂), 4.25 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 4.47 (2H, s, S-CH₂), 7.59 (1H, s, arom), 7.93 (1H, d, $^3J_{\text{H-F}} = 13.2$ Hz, arom), 8.66 (1H, s, CH-vinyl), 14.97 (1H, s, OH).

(S5): 7-(4-(((2-(benzyloxy)-2-oxoethyl)thio)carbonothioyl) Piperazine -1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

IR (KBr): 1627, 1748, 2925, 3438 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.17-1.37 (4H, m, 2CH₂, cyclopropyl), 3.53-3.57 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 3.80 (1H, m, CH, cyclopropyl), 4.22-4.27 (2H, m, 2CH piperazine), 4.34 (2H, s, S-CH₂), 4.40-4.47 (2H, m, 2CH, piperazine), 5.17 (2H, s, O-CH₂), 7.32-7.43 (5H, m, arom), 7.54 (1H, d, J = 6.6 Hz, arom), 7.86 (1H, d, $^3J_{\text{H-F}} = 13.2$ Hz, arom), 8.62 (1H, s, CH-vinyl), 15.15 (1H, s, OH).

(S6):7-(4-((benzylthio)carbonothioyl) Piperazine -1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

IR (KBr): 1631, 1713, 2865 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.19-1.37 (4H, m, 2CH₂, cyclopropyl), 3.54 (4H, m, 2CH₂, piperazine), 3.80 (1H, m, CH, cyclopropyl), 4.19 (2H, m, 2CH piperazine), 4.50 (2H, m, 2CH, piperazine), 4.40-4.47 (2H, s, S-CH₂), 7.29-7.45 (5H, m, arom), 7.54 (1H, m, arom), 7.88 (1H, d, $^3J_{\text{H-F}} = 13.2$ Hz, arom), 8.63 (1H, s, CH-vinyl), 15.16 (1H, s, OH).

فعالیت ضد میکروبی

انتشار دیسک: سویه های بالینی مورد استفاده در آزمایش، به سیپروفلوکساسین مقاوم بوده و هاله عدم رشدی را نسبت به سیپروفلوکساسین نشان ندادند، اما به نظر می رسد که این سویه ها نسبت به مشتقات سنتز شده حساسیت بیشتری از خود نشان دادند. همان طور که در جدول ۱ مشخص است، ترکیب S6 در *S. aureus* 1 در ۳۴ میلی متر داشته، در صورتی که این سویه در برابر سیپروفلوکساسین کاملا مقاوم بوده است. همچنین این سویه نسبت به مشتقات S1 و S2 نیز از

حساسیت خوبی برخوردار بود به طوری که قطر هاله عدم رشد نسبت به این ترکیبات به ترتیب ۳۰ و ۲۱ میلی متر اندازه گیری شد. از طرف دیگر براساس نتایج به دست آمده مشخص گردید که مشتق S2 نسبت به سایر ترکیبات، دارای بیشترین اثر ضد میکروبی است ($p < 0.05$) به طوری که بر روی تمامی سویه های میکروبی (استاندارد و بالینی) دارای قطر هاله عدم رشد > 20 mm است (به غیر از *S. aureus* 2 و *P. aeruginosa* 3).

جدول ۱: فعالیت ضد میکروبی مشتقات سیپروفلوکساسین به روش دیسک دیفیوژن بر روی باکتری های استاندارد و بالینی (هاله عدم رشد بر حسب میلی متر). S1 - S6 ترکیبات سنتزی می باشد و سیپروفلوکساسین (Cip) به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شده است.

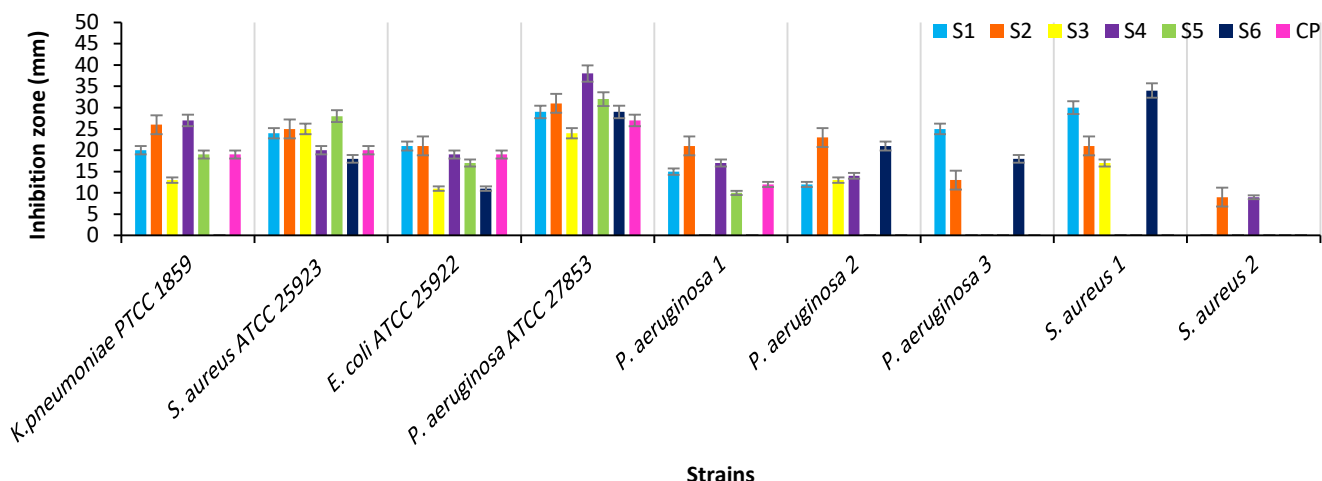
Table 1 Antimicrobial activity of ciprofloxacin derivatives by disc diffusion method on standard and clinical bacteria (zone of inhibition in mm). S1 - S6 are synthetic compounds and ciprofloxacin (Cip) is considered as a positive control.

| strain | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | Cip* |
|------------------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| <i>K.pneumoniae</i> PTCC 1859 | 20± 0.02 | 26±0.05 | 13±0.08 | 27±0.05 | 19±0.19 | 0 | 19±0.02 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | 24±0.08 | 25±0.06 | 25±0.02 | 20±0.05 | 28±0.05 | 18±0.03 | 20±0.05 |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 21±0.02 | 21±0.05 | 11±0.05 | 19±0.09 | 17±0.08 | 11±0.02 | 19±0.06 |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 29±0.05 | 31±0.01 | 25±0.12 | 38±0.08 | 32±0.02 | 29±0.18 | 27±0.11 |
| <i>P. aeruginosa</i> 1** | 15±0.19 | 21±0.05 | 0 | 17±0.15 | 10±0.03 | 0 | 12±0.09 |
| <i>P. aeruginosa</i> 2** | 12±0.05 | 23±0.08 | 13±0.07 | 14±0.02 | 0 | 21±0.05 | 0 |
| <i>P. aeruginosa</i> 3** | 25±0.11 | 13±0.09 | 0 | 0 | 0 | 18±0.15 | 0 |
| <i>S. aureus</i> 1** | 30±0.03 | 21±0.19 | 17±0.11 | 0 | 0 | 34±0.08 | 0 |
| <i>S. aureus</i> 2** | 0 | 9±0.05 | 0 | 9±0.06 | 0 | 0 | 0 |

* سیپروفلوکساسین به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شده است.

** سویه ها بالینی و مقاوم به سیپروفلوکساسین می باشد.

مطابق جدول ۱، ترکیبات سنتز شده بر روی سویه های استاندارد دارای بیشترین اثر ضد میکروبی بودند و این تاثیر بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی از نظر آماری معنی دار نبود و تفاوت معنی داری بین دو گروه گرم مثبت و گرم منفی وجود نداشت (شکل ۷). از طرف دیگر مشخص شد، که ترکیبات S1، S2 و S3 در تمام سویه های مورد آزمایش دارای بیشترین اثر ضد میکروبی بوده است. بدین ترتیب ترکیبات دارای مشتقات تیوسیانات فعالیت ضد میکروبی بهتری نسبت به مشتقات تیواوره داشتند به طوری که مشتقات تیوسیانات نسبت به کنترل (سیپروفلوکساسین) افزایش تقریباً ۵۰ درصد را از خود نشان دادند.



شکل ۷-مقایسه اثر ضد باکتریایی ترکیبات سنتزی S1-S6 به روش دیسک دیفیوژن بر باکتری های بالینی و استاندارد

Figure 7-Comparison of the antibacterial effect of the synthetic compounds S1-S6 by disk diffusion method on clinical and standard bacteria

حداقل غلظت مهار کننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC): بر اساس نتایج بدست آمده، مشخص گردید بیشتر ترکیبات سنتز شده، هم باکتریواستاتیک و هم باکتریسیدال هستند. همان طور که در جدول ۲ آمده است، این ترکیبات در غلظت های بالا دارای اثر کشندگی هستند ولی در غلظت های پایین، اثر باکتریواستاتیک دارد. بر طبق یافته ها، ترکیب S2 بر روی تعداد بیشتری از سویه های میکروبی مورد مطالعه، اثر مهارکنندگی و کشندگی داشت و بازه فعالیت مهارکنندگی رشد آن در سویه های مختلف از ۰/۳۹ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر متفاوت بود.

همچنین علی رغم مقاومت نسبی اکثر سویه ها، ترکیب S1 با حداقل غلظت مهارکنندگی ۰/۷۸ میکروگرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۱/۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر دارای بهترین اثر ضد میکروبی بوده است. MIC و MBC ترکیب S4 بر روی *P. aeruginosa ATCC 27853* کم و نزدیک به هم است که نشان دهنده فعالیت آنتی باکتریایی بالای این ترکیب است. در بررسی های بدست آمده مشخص گردید که ترکیب سنتزی S2 روی تعداد بیشتری از نمونه ها دارای اثر مهارکنندگی و کشندگی است که نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی بالا این ترکیب نسبت به سیپروفلوکساسین است.

جدول ۲: تعیین حداقل غلظت مهار کننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) ترکیبات بر علیه باکتری های مختلف (مقادیر بر حسب $\mu\text{g/ml}$ است). S1 - S6 ترکیبات سنتزی می باشد و سیپروفلوکساسین (Cip) به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شده است.

Table 2: Determination of Minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of compounds against different bacteria (values are in $\mu\text{g/ml}$). S1 - S6 are synthetic compounds and ciprofloxacin (Cip) is considered as a positive control.

| strain | S1 | | S2 | | S3 | | S4 | | S5 | | S6 | | Cip** | |
|---------------------------------|-------|------|------|-----|-------|-----|------|------|------|-----|-------|------|-------|------|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| <i>K.pneumoniae</i> PTCC 1859 | 25 | 100 | 12.5 | 100 | 6.25 | 100 | 12.5 | 100 | 0.78 | 100 | - | - | 12.5 | 100 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | 6.25 | 100 | 0.78 | 100 | 3.125 | 100 | 6.25 | 25 | 1.56 | - | 25 | - | 3.125 | 25 |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 3.125 | 100 | 12.5 | 100 | 25 | 100 | 25 | 100 | 25 | - | 0.39 | - | 50 | 100 |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 0.78 | 1.56 | 25 | 100 | 12.5 | 100 | 12.5 | 25 | 12.5 | 100 | 50 | - | 0.39 | 1.56 |
| <i>P. aeruginosa</i> 1* | 50 | - | 25 | - | - | - | 25 | 100 | 25 | 100 | - | - | 25 | 100 |
| <i>P. aeruginosa</i> 2* | 0.78 | - | 50 | 100 | 25 | 100 | 1.56 | 12.5 | - | - | - | 12.5 | 12.5 | 100 |
| <i>P. aeruginosa</i> 3* | 12.5 | 100 | 0.39 | 100 | - | - | - | - | - | - | 3.125 | 12.5 | 6.25 | 50 |
| <i>S. aureus</i> 1* | 12.5 | 100 | 25 | 100 | 1.56 | - | - | - | - | - | - | 1.56 | 12.5 | - |
| <i>S. aureus</i> 2* | 6.25 | 100 | 25 | 100 | 12.5 | 50 | 25 | 100 | - | - | - | - | 25 | 100 |

*سویه ها بالینی و مقاوم به سیپروفلوکساسین است.

** سیپروفلوکساسین به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شده است.

بحث

سیپروفلوکساسین یک آنتی بیوتیک پرکاربرد با طیف وسیع است که به علت اثر باکتری کشی قوی، به عنوان یکی از آنتی بیوتیک های اصلی و در حال توسعه حوزه بالینی محسوب می شود (Rehman et al.2019). با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در سال های اخیر، اصلاح و تغییر در ساختار آنتی بیوتیک های موجود، یکی از راه های مقابله با این بحران است. ما در این تحقیق با افزودن گروه هایی از مشتقات تیواوره و تیوکاربامات امکان دست یابی به قدرت ضد میکروبی بیشتر را فراهم کردیم. به طوری که در برخی از ترکیبات در مقایسه با سیپروفلوکساسین خالص، مقادیر حداقل غلظت مهاری (MIC) افزایش حداقل ۵۰ درصد را نشان دادند. ترکیب S1 با حداقل غلظت مهاری ۰/۷۸ میکروگرم بر میلی لیتر بر روی باکتری استاندارد *P. aeruginosa* ATCC 27853 و باکتری مقاوم *P. aeruginosa* 2 بهترین اثر را داشته است. بنابراین افزودن گروه فنیل تیوکارباموتیول به حلقه پیرازین باعث افزایش فعالیت آنتی باکتریال سیپروفلوکساسین می شود. به طور کلی، در روش انتشار دیسک، ترکیبات دارای مشتقات تیوسیانات فعالیت ضد میکروبی بهتری نسبت به مشتقات تیواوره داشتند. ترکیب S5 و S4 در

روش انتشار دیسک نسبت به کنترل (سیپروفلوکساسین خالص) نتایج بهتری ارائه داد که ممکن است به علت وجود گروه استری در ساختار باشد.

مصحفی و همکاران با قرار دادن استخلاف بنزیل تیو و بنزیل سولفونیل ۱ و ۳ و ۴- تیادی آزول در موقعیت کربن شماره ۷ سیپروفلوکساسین مشتقات جدیدی سنتز نمودند. آن ها گزارش کردند که مشتقات بنزیل تیو ۱ و ۳ و ۴- تیادی آزول متصل شده به پپرازین در موقعیت ۷ کوئینولون ها دارای اثرات ضد میکروبی قوی تری نسبت به مشتقات بنزیل سولفونیل ۱ و ۳ و ۴- تیادی آزول بوده و تغییرات استخلاف حلقه فنیل نیز تاثیر زیادی در اثرات ضد میکروبی این مشتقات ندارد. نتایج به دست آمده نشان داد که ترکیبات سنتز شده اثرات مهار کنندگی بسیار بیشتری نسبت به سیپروفلوکساسین بر روی باکتری های گرم مثبت (*S. aureus* و *B. subtilis*) داشت، اما بر روی باکتری های گرم منفی (*E. coli* و *K. pneumoniae*) فعالیت قابل توجهی نداشت در حالی که ترکیبات سنتز شده در پژوهش ما، بر روی سویه های گرم مثبت و گرم منفی موثر بوده است (Moshefi et al, 2001).

یک سری از مشتقات N-(5-benzylthio-1,3,4-thiadiazol-2-yl) و N-(5-benzylsulfonyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl) سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین سنتز شد که در آن ها هیدروژن N-4 گروه پپرازینیل نورفلوکساسین و سیپروفلوکساسین با نیتروبنزیل تیو و نیتروبنزیل سولفونیل جایگزین شده است. نتایج آزمایش های MIC بر علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد که مشتقات سیپروفلوکساسین معمولاً قوی تر از مشتقات نورفلوکساسین به ویژه در برابر پاتوژن های گرم مثبت هستند. ترکیبات سنتز شده در تحقیق حال حاضر نتایج بهتری در سویه های *E. coli*، *P. aeruginosa* ارائه داد (Foroumadi et al, 2005).

در مطالعه مشابه دیگری، سیپروفلوکساسین از طریق واکنش با اتیل سیانواستات و اتیل استواستات آسیله شد تا مشتق سیانواستیل پپرازینیل دی هیدروکینولین و مشتق اکسوبوتانوئیل پپرازینیل دی هیدروکینولین به دست آید. نتایج نشان داد که ترکیبات اثرات خوبی در برابر باکتری های مقاوم به سیپروفلوکساسین مانند *E. coli*، *P. aeruginosa* و *K. pneumoniae* نشان می دهند. در این پژوهش ترکیب ۸ بر روی *P. aeruginosa* ATCC 27853 هاله عدم رشد ۳۴ میلی متر داشته است اما در تحقیق حاضر ترکیب S4 بر روی همین سویه، هاله عدم رشد ۳۸ میلی متر داشت و اثر ضد میکروبی بهتری از خود نشان داد (Alsughayer et al, 2021).

همچنین Pedrood و همکاران گزارش کردند که موقعیت گروه عاملی در مقایسه با نوع جایگزینی نقش مهم تری دارد. آن ها مشتقات نیتروژن- تیواسیله سیپروفلوکساسین را سنتز کردند، که این ترکیبات فعالیت ضد باکتریایی خوبی بر روی دو باکتری گرم منفی *E. coli* و *P. aeruginosa*، و باکتری گرم مثبت، *S. aureus* و *S. epidermidis* از خود نشان داد (Pedrood et al, 2022).

نتیجه گیری

به طور کلی، تغییر در ساختار آنتی بیوتیک های موجود در بازار، یک استراتژی کارآمد برای کشف داروهای ضد باکتریایی جدید است. در این مطالعه هدف، توسعه و سنتز مشتقات جدیدی از سیپروفلوکساسین بود. ترکیبات سنتز شده دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی در برابر باکتری های مقاوم به ویژه باکتری های گرم منفی بودند. ترکیب S4 با گروه اتیل کارباموتیول تیواستات دارای بیشترین هاله عدم رشد در روش انتشار دیسک بود. نتایج این تحقیق نشان می دهد که متصل کردن مشتقاتی از گروه های تیواوره و تیوسیانات به حلقه پیرازین سیپروفلوکساسین می تواند اثر ضد باکتریایی بالاتری را نسبت به سیپروفلوکساسین خالص (کنترل) نشان دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه تحت عنوان " سنتز مشتقات جدید سیپروفلوکساسین و سولفانامید و بررسی فعالیت ضد میکروبی آن ها" مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۴۰۱ است که با حمایت دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شده است. بدین وسیله از تمامی کسانی که ما را در این مطالعه صمیمانه یاری رسانند، نهایت سپاسگزاری را داریم.

عدم تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام میدارند که در انجام این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

References

- Ahadi, H., & Emami, S. (2020). Modification of 7-piperazinylquinolone antibacterials to promising anticancer lead compounds: Synthesis and in vitro studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 187, 111970.
- Appelbaum, P. C., & Hunter, P. A. (2000). The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *International journal of antimicrobial agents*, 16(1), 5-15.
- Alsughayer, A., Elassar, A. Z. A., Hasan, A. A., & Al Sagheer, F. (2021). Antibiotic resistance and drug modification: Synthesis, characterization and bioactivity of newly modified potent ciprofloxacin derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 108, 104658.
- Christaki, E., Marcou, M., & Tofarides, A. (2020). Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. *Journal of molecular evolution*, 88, 26-40.
- Emami, Saeed & Foroumadi, Alireza. (2005). Quinolones: Recent Structural and Clinical Developments. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 3.
- Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, 25-64.

Foroumadi, A., Emami, S., Hassanzadeh, A., Rajaei, M., Sokhanvar, K., Moshafi, M. H., & Shafiee, A. (2005). Synthesis and antibacterial activity of N-(5-benzylthio-1, 3, 4-thiadiazol-2-yl) and N-(5-benzylsulfonyl-1, 3, 4-thiadiazol-2-yl) piperazinyl quinolone derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 15(20), 4488-4492.

Foroumadi, A., Emami, S., Mansouri, S., Javidnia, A., Saeid-Adeli, N., Shirazi, F. H., & Shafiee, A. (2007). Synthesis and antibacterial activity of levofloxacin derivatives with certain bulky residues on piperazine ring. *European journal of medicinal chemistry*, 42(7), 985-992.

Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology*, 15, 55-63.

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51, 72-80.

Jia, Y., & Zhao, L. (2021). The antibacterial activity of fluoroquinolone derivatives. *European journal of medicinal chemistry*, 224, 113741.

Khaleghi, M., Bokaiean, M., & Saeedi, S. (2014). Assessment of antimicrobial activity of *Myrtus communis* extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Applied Biology*, 26(2), 37-46. (In Persian)

Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*, 10(2), 165.

Moshafi, M. H., Foroumadi, A. R., & Rajaei, M. (2001). Evaluation of antibacterial activity of new N-piperazinyl quinolone derivatives with 1, 3, 4. thiadiazole group. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 8(1), 32-37.

Oliphant, C. M., & Green, G. M. (2002). Quinolones: a comprehensive review. *American family physician*, 65(3), 455-465.

Pedrood, K., Azizian, H., Montazer, M. N., Moazzam, A., Asadi, M., Montazeri, H., & Mahdavi, M. (2022). Design and synthesis of new N-thioacylated ciprofloxacin derivatives as urease inhibitors with potential antibacterial activity. *Scientific Reports*, 12(1), 13827.

Rehman, A., Patrick, W. M., & Lamont, I. L. (2019). Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: new approaches to an old problem. *Journal of Medical Microbiology*, 68(1), 1-10.

Rusu, A., Munteanu, A. C., Arbănași, E. M., & Uivarosi, V. (2023). Overview of Side-Effects of Antibacterial Fluoroquinolones: New Drugs versus Old Drugs, a Step Forward in the Safety Profile? *Pharmaceutics*, 15(3), 804.

Saeedi, S., Khaleghi, M., & Pour Saedi, S. (2013). Study of the antimicrobial activity of ethanol extract of Cayenne pepper, *Amaranthus retroflexus* and *Satureja hortensis* against antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Applied Biology*, 25(2), 39-48. (In Persian)

Shamsa, F., Foroumadi, A., Shamsa, H., Samadi, N., Faramarzi, M. A., & Shafiee, A. (2011). Synthesis and in-vitro antibacterial activities of acetylanthracene and acetylphenanthrene derivatives of some fluoroquinolones. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(2), 225.

Sharma, P. C., Jain, A., Jain, S., Pahwa, R., & Yar, M. S. (2010). Ciprofloxacin: review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 25(4), 577-589.

Wang, S., Jia, X. D., Liu, M. L., Lu, Y., & Guo, H. Y. (2012). Synthesis, antimycobacterial and antibacterial activity of ciprofloxacin derivatives containing a N-substituted benzyl moiety. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(18), 5971-5975.

Zhang, G. F., Liu, X., Zhang, S., Pan, B., & Liu, M. L. (2018). Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities. *European journal of medicinal chemistry*, 146, 599-612.

Assessment of antimicrobial activity of new derivatives of ciprofloxacin

Shaghayegh chakhmaghi¹, *Moj khaleghi¹, Hojatollah Khabazzadeh²

Received: 2023/3/5

Accepted: 2023/7/10

Abstract

Introduction: Antibiotic resistance has been a known fact since the discovery of antibiotics, but in recent years, with the increase of resistant species and the decrease of effective and available antibiotics, it has become a worrying issue. Therefore, discovering or synthesizing new antibacterial agents plays a key role in solving the antibiotic resistance crisis. This study aimed to synthesize new derivatives of ciprofloxacin antibiotics to be more effective on ciprofloxacin-resistant bacteria. **Method:** A new series of thiourea and thiocarbamate derivatives of ciprofloxacin were synthesized and then the antibiogram test was performed by disk diffusion method on standard bacteria and clinically resistant bacteria. Also, the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of synthetic compounds were determined. **Results and discussion:** The results showed that all compounds S1-6 had antibacterial activity, and compound S4 was the most effective compound with an inhibition zone of 38 mm on *P. aeruginosa* ATCC 27853. The minimum inhibitory concentration of ciprofloxacin on *E. coli* ATCC 25922 is 50 µg/ml, while all the synthesized compounds have a minimum inhibitory concentration of less than 50 µg/ml, which indicates the high antibacterial activity of the synthetic compounds. In general, based on the obtained results, by adding different substituents and functional groups to ciprofloxacin, it is possible to synthesize new derivatives that are effective on resistant bacteria.

Keywords: Antibiotic Resistance, Antimicrobial, Ciprofloxacin, Resistant Bacteria, Thiocyanate

1-Master student in microbiology, Faculty of Sciences ,Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

2-Associate Professor of Microbiology, Faculty of Sciences , Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

* (Corresponding author: m.khaleghi@uk.ac.ir)

3-Associate Professor of Organic Chemistry, Faculty of Sciences , Shahid Bahonar University, Kerman, Iran