

Evaluation of the Efficacy of Synthetic Indole-Hydrazone-Thiazolidinone Compounds on *Candida* Isolates from Oral Infections

Ali Heydari¹
Mojtaba Taghizadeh Armaki²
Jalal Jafarzade³
Behnaz Vahidi¹
Mina Yazdizadeh¹
Soraya khafri⁴
Neda Babaii⁵
Asieh Khalilpour⁶

¹ General Dentistry Student, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

² Associate Professor, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

³ MSc in Medical Mycology, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁵ Associate Professor, Dental Materials Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁶ Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Social Determinants of Health Research Center, School of Public Health, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

(Received April 29, 2024 ; Accepted September 25, 2024)

Abstract

Background and purpose: Oral candidiasis is one of the most common infections affecting the mucosal surfaces and skin, specifically involving the oral mucosa. This disease is primarily caused by various species of *Candida*, including *Candida albicans*. Current treatments with polyene and azole antifungal drugs can affect patient cells, and there are also several limitations in treating fungal infections. These limitations include the shortage and high cost of antifungal drugs, their side effects, and the increasing resistance to azole drugs among *Candida* species. Given these challenges, researchers are exploring new antifungal drugs, particularly heterocyclic compounds. Heterocyclic compounds are widely used in the pharmaceutical industry. Thiazolidinone derivatives can weaken the fungal and bacterial resistance caused by many antibiotics and drugs. Additionally, oxindoles show significant pharmacological and biological activity. Given these factors and the notable biological properties of thiazolidinones and oxindoles, their potential for developing new antifungal drugs has gained interest among researchers. Therefore, this study aims to investigate the effectiveness of synthetic indole-hydrazone-thiazolidinones on *Candida* isolates obtained from oral infections.

Materials and methods: Antifungal susceptibility testing was conducted on 100 clinical isolates of *Candida*, including 53 *Candida albicans* isolates, 22 *Candida tropicalis* isolates, 17 *Candida parapsilosis* isolates, and 8 *Candida glabrata* isolates. The susceptibility of these isolates to 4a and 4b indole-hydrazone-thiazolidinone derivatives and nystatin was assessed using the broth microdilution method, based on CLSI-M27S4 guidelines for determining drug sensitivity in yeasts. Species identification was performed using phenotypic chrome agar and genetic PCR-RFLP methods. The compounds and antifungal drugs were tested at a dilution range of 0.016–16 µg/ml. The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the concentration that resulted in at least 50% inhibition of growth compared to the positive control group. Data were analyzed using SPSS version 20 software, with a significance level of $P < 0.05$.

Results: The results showed a significant difference in MIC values between the indole-hydrazone-thiazolidinone derivatives 4a and 4b, and nystatin against *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, and *Candida parapsilosis*. There was also a significant difference in the average MIC values of the derivatives. However, no significant difference was observed in MIC values between these derivatives and nystatin against *Candida glabrata*.

Conclusion: The antifungal activity of the indole-hydrazone-thiazolidinone derivatives was lower than that of nystatin against *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, and *Candida parapsilosis*. However, the activity against *Candida glabrata* was comparable to that of nystatin. Further studies on the cytotoxicity and side effects of these derivatives may pave the way for the development of new antifungal drugs and treatment options.

Keywords: indole-hydrazenothiazolidinone derivatives, *candida tropicalis*, *candida parapsilosis*, *candida glabrata*, *candida albicans*, nystatin

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (237): 30-39 (Persian).

Corresponding Author: Asieh Khalilpour - Social Determinants of Health Research Center, School of Public Health, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. (E-mail: Asieh.khalilpour@gmail.com) and Neda Babaii - Dental Materials Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. (E-mail: dr.nedababae@yahoo.com)

بررسی اثربخشی ترکیب سنتزی ایندول هیدرازونوتیازولیدینون بر روی ایزوله‌های کاندیداهای جدا شده از عفونت‌های دهانی

علی حیدری^۱
مجتبی تقی زاده ارمکی^۲
جلال جعفرزاده^۳
بهناز وحیدی^۱
مینا یزدی زاده^۱
ثریا خفری^۴
ندا بابایی^۵
آسیه خلیل پور^۶

چکیده

سابقه و هدف: کاندیدیازیس دهانی از شایع‌ترین عفونت‌های سطحی و جلدی مخاطی می‌باشد که مخاط دهان را درگیر می‌کند. این بیماری توسط گونه‌های مختلف از جمله کاندیدا آلیکنس در دهان ایجاد می‌شود. امروزه درمان با داروهای ضد قارچ گروه پلی آن و آزول، سلول‌های بیمار را تحت تاثیر قرار می‌دهند. وجود محدودیت‌هایی در درمان بیماری‌های قارچی مانند کمبود گرانی داروهای ضدقارچی، عوارض جانبی آن‌ها و نیز گسترش مقاومت‌های دارویی آزول در میان گونه‌های کاندیدا به عنوان یک مشکل مهم می‌باشد. با توجه به مشکل درمان‌های حاضر، توجه پژوهشگران به داروهای ضد قارچی جدید به‌ویژه ترکیبات هتروسیکلیک جلب شده است. از ترکیبات هتروسیکلیک به‌طور وسیع در صنایع داروسازی استفاده می‌شود. مشتقات تiazولیدینون، مقاومت قارچی و باکتریایی که توسط تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک و داروها ایجاد می‌شود را تضعیف نموده و همچنین اکسیندول‌ها فعالیت دارویی و بیولوژیکی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند. با توجه به نکات ذکر شده در بالا و در نظر گرفتن خصوصیات بیولوژیکی قابل توجه تiazولیدینون‌ها و اکسیندول، استفاده از آن‌ها برای تولید داروی ضد قارچی جدید مورد توجه محققان و پژوهشگران است. لذا این تحقیق به منظور بررسی اثر بخشی ترکیب سنتزی ایندول هیدرازونوتیازولیدینون بر روی ایزوله‌های قارچی کاندیدای جدا شده از عفونت دهانی انجام می‌شود.

مواد و روش‌ها: حساسیت دارویی ۱۰۰ ایزوله بالینی کاندیدا شامل ۵۳ ایزوله کاندیدا آلیکنس، ۲۲ ایزوله کاندیدا تروپیکالیس، ۱۷ ایزوله کاندیدا پاراپسیلوزیس و ۸ ایزوله کاندیدا گلابراتا نسبت به مشتقات 4a و 4b ایندول هیدرازونوتیازولیدینون و داروی نیستاتین به روش میکرودیالوژن برآش و براساس دستورالعمل CLSI-M27S4 برای تعیین حساسیت دارویی و مخمرها و برای شناسایی گونه‌ها براساس روش فنوتیپی کروم آگار و ژنتیکی PCR-RFLP استفاده گردید. دامنه رقت دارویی ترکیبات و داروهای ضدقارچی به ترتیب ۱۶-۰/۱۶، میکروگرم/میلی‌لیتر بوده است. غلظتی از ترکیبات که حداقل ۵۰ درصد مهار رشد نسبت به گروه کنترل مثبت را داشتند، به‌عنوان MIC (حداقل غلظت مهاري رشد) در نظر گرفته شد. آنالیز آماری با نرم‌افزار SPSS ۲۰ انجام و سطح معنی‌داری به صورت $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین MIC مشتقات 4a و 4b ایندول هیدرازونوتیازولیدینون و داروی نیستاتین علیه گونه‌های کاندیدا آلیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا پاراپسیلوزیس اختلاف معناداری وجود داشت و بین میانگین MIC‌های مشتقات با یکدیگر نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید؛ اما بین MIC این مشتقات با داروی نیستاتین علیه کاندیدا گلابراتا اختلاف معناداری وجود نداشت.

استنتاج: تاثیر گذاری مشتقات ایندول هیدرازونوتیازولیدینون در مقایسه با داروی نیستاتین برای ایزوله‌های کاندیدا آلیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا پاراپسیلوزیس کم‌تر بود، در حالی که تاثیر گذاری آن‌ها بر روی گونه‌های کاندیدا گلابراتا نسبت به نیستاتین در یک محدوده بود. با بررسی اثرات سایتوتوکسیستی و عوارض جانبی این مشتقات و هم‌چنین انجام بررسی‌های بیش‌تر بر روی آن‌ها می‌توان در آینده از این ترکیبات برای ساخت و سنتز داروهای ضدقارچی جدید و آلترا تيوهای درمانی بهره برد.

واژه‌های کلیدی: مشتقات ایندول هیدرازونوتیازولیدینون، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا آلیکنس، نیستاتین

مؤلف مسئول: آسیه خلیل پور - بابل: دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی سلامت
E-mail: Asieh.khalilpour@gmail.com
وندا بابایی - بابل: دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات مواد دندان، پژوهشکده سلامت
E-mail: dr.nedababae@yahoo.com

۱. دانشجوی دندان پزشکی عمومی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
 ۲. دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
 ۳. کارشناس ارشد قارچ‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
 ۴. استادیار، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
 ۵. دانشیار، مرکز تحقیقات مواد دندان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
 ۶. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
- تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۲/۲۲ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۷/۴

مقدمه

سل (۱۹)، ضد سرطان (۲۰) و ضد HIV (۲۱) یکی از نوید بخش ترین ترکیبات هستند که در ساخت دارو از آن‌ها استفاده شده است. علاوه بر این، مشتقات تiazولیدینون، مقاومت قارچی و باکتریایی که توسط بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروها ایجاد می‌شود را بسیار تضعیف نموده‌اند (۲۵-۲۲). با توجه به خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات علیه میکروارگانیسم‌های مختلف، در صورت تأیید اثر ضدقارچی آنها می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای ضد قارچی رایج باشند. لذا هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی اثرات ضدقارچی ترکیب سنتزی ایندول هیدرازونوتیازولیدینون بر روی ایزوله‌های کاندیداهاى جدا شده از عفونت‌های دهانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه

مطالعه حاضر یک مطالعه‌ی تجربی - آزمایشگاهی بوده که بر روی ۱۰۰ ایزوله کاندیدا جدا شده از عفونت‌های دهانی که شامل ۵۳ ایزوله کاندیدا/آلبیکنس، ۲۲ ایزوله کاندیدا/تروپیکالیس، ۱۷ ایزوله کاندیدا/پاراسیلوزیس و ۸ ایزوله کاندیدا/گلایراتا بوده است، در سال ۱۴۰۲-۱۴۰۱ انجام گرفت. ایزوله‌های کاندیدا که با استفاده از تست‌های فنوتیپی مانند کروم آگار و تست‌های ژنوتیپی PCR-RFLP تأیید گردیده بودند و در بانک گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی دانشکده علوم پزشکی بابل موجود بودند در شرایط استریل در محیط کشت قارچی سابورو دکستروز آگار حاوی کلرآمفنیکول کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند.

سنتز مشتقات ایندول هیدرازونوتیازولیدینون

واکنش‌های سه جزئی مخلوطی از اکسیندول (۱ میلی‌مول)، تیوسمی کاربازید (۲ میلی‌مول) و مالیمید (۱ میلی‌مول) در حضور ۰/۰۱ گرم اسید کلرواستیک به عنوان کاتالیزور در EtOH مطلق به صورت مغناطیسی در

گونه‌های کاندیدا جزء فلور نرمال پوست و مخاط بوده و در صورت فراهم بودن فاکتورهای زمینه مانند ضعف سیستم ایمنی و لوسمی، به حالت پاتوژن تغییر می‌یابد. در بین اشکال کاندیدیازیس، فرم دهانی شایع‌ترین عفونت فرصت طلب مخاط دهان می‌باشد که به دنبال رشد بیش از حد کاندیدا در حفره دهان ایجاد می‌شود. کاندیدا/آلبیکنس شایع‌ترین گونه کاندیدا در ایجاد کاندیدیازیس دهانی می‌باشد (۲۱). از عوامل زمینه‌ساز کاندیدیازیس دهانی می‌توان به استفاده از آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف، خشکی دهان، استفاده از دندان مصنوعی متحرک، تغییرات فلور میکروبی، مصرف سیگار، و بهداشت ضعیف دهان و دندان اشاره نمود (۷-۳). شایع‌ترین داروهای ضد قارچی مورد استفاده در درمان کاندیدیازیس دهانی متعلق به داروهای گروه پلی‌ان (نیستاتین) و آزول‌ها (مایکونازول) می‌باشد (۸). درمان‌های مکرر با داروهای ضدقارچ معمولاً موجب ایجاد عوارض جانبی متعدد، مقاومت‌های دارویی و عود مکرر عفونت‌های کاندیدیایی می‌شود (۹). بنابراین استفاده از راهکارهای مناسب برای جایگزینی داروهای سنتزی که مشکلات ذکر شده را از بین ببرد همواره مورد توجه بوده است. یکی از این راهکارها بهره‌گیری از ترکیبات سنتز شده جدید است (۱۰). از ترکیبات هتروسیکلیک به طور گسترده در صنایع داروسازی استفاده می‌شود و سنتز ترکیبات هتروسیکل جدید، همیشه موضوع جالب توجهی برای محققان بوده است (۱۱-۱۳). تiazولیدین یک ترکیب هتروسیکلیک با حلقه اشباع پنج عضوی با گروه تیواتر و گروه آمین در موقعیت‌های ۱ و ۳ حلقه است که با اتم‌های گوگرد و نیتروژن در حلقه پنج عضوی، در داروهای بالینی استفاده شده است (۱۴). این داروها به دلیل ویژگی‌های بیولوژیکی و دارویی متنوعی که دارند از جمله خاصیت ضدالتهاب (۱۵)، ضد درد (۱۶)، ضد تشنج (۱۷)، ضد دیابت (۱۸)، کاهنده چربی خون (۱۶)، مقاوم در برابر

محیط RPMI به بقیه چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته صاف (به جزء ستون اول) اضافه گردید. ستون‌های ۱۱ و ۱۲ به عنوان کنترل منفی (فقط دارو، بدون ارگانسیم) و کنترل مثبت (فقط ارگانسیم، بدون دارو) در نظر گرفته شد. برای ایجاد گرادیان دارویی به صورت سریالی از ستون اول ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به ستون دوم انتقال داده و این عمل تا ستون دهم ادامه یافت و ۱۰۰ میکرولیتر انتهای دور ریخته شد. در انتها به همه ستون‌ها به جزء ستون کنترل منفی، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های تهیه شده قارچی ۷۵ تا ۷۷ درصد اضافه شد و پلیت‌ها در دمای 35°C به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و بعد از آن نتایج نهایی بصورت چشمی خوانده شد و چاهکی که در آن ۵۰ درصد رشد مشاهده شد به عنوان کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد ایزوله (MIC) در نظر گرفته شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

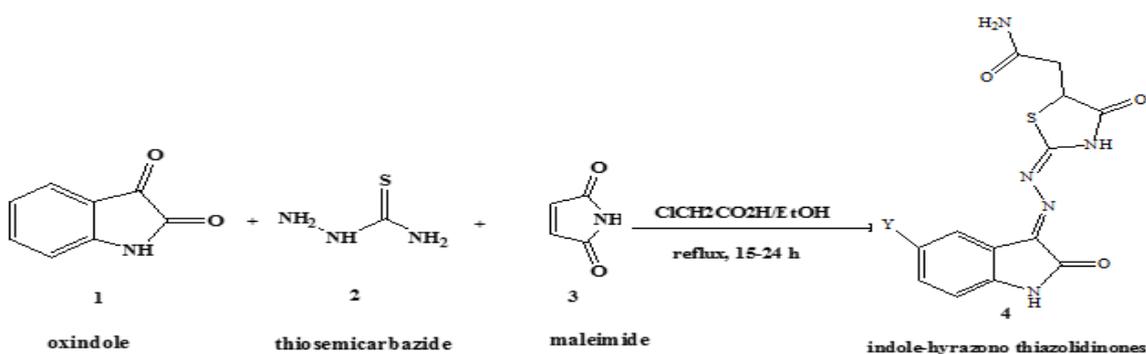
داده‌ها پس از جمع‌آوری وارد نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ شدند و با آزمون‌های آماری کروسکال-والیس و من-ویتنی در سطح اطمینان ۹۵ درصد آنالیز شدند.

دمای اتاق به مدت ۱۲-۲۴ ساعت هم زده شد. پس از اتمام واکنش (به‌دنبال TLC)، حلال حذف شد و باقیمانده در EtOH تبلور مجدد یافت و محصول منجر به تولید تiazolidinone به صورت پودر نارنجی به‌دست آمد (تصویر شماره ۱).

نام شیمیایی و تفاوت در مشتقات ایندول هیدرازونو تiazolidinone (4a-4b) در جدول شماره ۱ بیان شد.

ارزیابی حساسیت دارویی

حساسیت دارویی ایزوله کاندیدا با استفاده از روش Borth Microdilution و بر اساس پروتکل استاندارد CLSI-M27-S4 انجام گرفت (۲۶). داروی نیستاتین (Sigma-Aldrich USA) مشتقات ایندول هیدرازونو تiazolidinone، به منظور رسیدن به رقت نهایی $16 \mu\text{g/ml}$ ، ابتدا به میزان $3/2$ میلی‌گرم پودر خالص آن‌ها در یک میلی‌لیتر DMSO حل گردید. برای تهیه پلیت حساسیت دارویی، ابتدا داخل ستون اول ۲۰۰ میکرولیتر از مشتقات ایندول هیدرازونو تiazolidinone، داروی نیستاتین ریخته شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از



تصویر شماره ۱: نحوه سنتز مشتقات ایندول هیدرازونو تiazolidinone

جدول شماره ۱: نام شیمیایی مشتقات ایندول هیدرازونو تiazolidinone (4a-4b)

نام ترکیب	استخلاف Y	ترکیب
2-[(2Z)-4-Oxo-2-[(2Z)-(2-oxo-1,2-dihydro-3H-indol-3-ylidene)hydrazono]-1,3-thiazolidin-5-yl]acetamide, C13H11N5O3S	H	4a
2-[(2Z)-2-[(2Z)-(5-Chloro-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indol-3-ylidene)hydrazono]-4-oxo-1,3-thiazolidin-5-yl]acetamide, C13H10ClN5O3S	Cl	4b

یافته‌ها

هیدرازونو تیا زولیدینون و داروی ضد قارچی نیستاتین بر روی این گونه‌ها می‌باشد. میانگین MIC مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون به ترتیب برای گونه *کاندیدا گلابراتا* ۵ و برای داروی ضد قارچی نیستاتین ۵/۲۵ گزارش شد و اختلاف بین میانگین‌های MIC ترکیبات مختلف مورد سنجش با داروی نیستاتین برای ایزوله‌های *کاندیدا گلابراتا* بی‌معنی بوده است ($P > 0.0562$) و داروی ضد قارچی اثرات مهارکنندگی یکسانی با مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون بر روی گونه *کاندیدا گلابراتا* داشت. میانگین MIC برای گونه *کاندیدا گلابراتا* نسبت به گونه‌های دیگر مورد سنجش کم‌تر بود و اختلاف میانگین‌های MIC بین گونه *کاندیدا گلابراتا* با دیگر گونه‌های *کاندیدا* مورد سنجش معنی‌دار بود ($P < 0.001$). در مجموع مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون اثرات ضد قارچی بهتری بر روی گونه‌های *کاندیدا گلابراتا* نسبت به گونه‌های *کاندیدا* مورد سنجش دیگر داشتند (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲: نتایج حاصل از تست حساسیت دارویی گونه‌های *کاندیدا آلیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* مورد مطالعه نسبت به مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون و نیستاتین

ایزوله	(μg/ml) 4a	(μg/ml) 4b	نیستاتین (μg/ml)
میانگین کاندیدا آلیکنس	۲/۴۷	۲/۴۷	۱/۰۳
mean.G	۲/۰۸	۲/۱۳	۰/۳۶
رنج	۱-۸	۱-۸	۰/۰۲۲-۸
MIC50	۲	۲	۰/۲۵
MIC90	۴	۴	۲
میانگین کاندیدا تروپیکالیس	۵/۶۳	۴/۱۸	۰/۹۶
mean.G	۴	۲	۰/۵۶
رنج	۲-۳۲	۱-۱۶	۰/۱۲۵-۸
MIC50	۴	۱	۰/۵
MIC90	۸	۱۶	۱
میانگین کاندیدا پاراپسیلوزیس	۵/۶۳	۴/۱۸	۰/۹۶
mean.G	۴	۲	۰/۵۶
رنج	۲-۳۲	۱-۱۶	۰/۱۲۵-۸
MIC50	۴	۱	۰/۵
MIC90	۸	۱۶	۱

* geometric mean: میانگین هندسی

جدول شماره ۳: نتایج حاصل از تست حساسیت دارویی گونه‌های *کاندیدا گلابراتا* مورد مطالعه نسبت به مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون و نیستاتین

ایزوله	(μg/ml) 4a	(μg/ml) 4b	نیستاتین (μg/ml)
میانگین کاندیدا گلابراتا	۵	۵	۵/۲۵
رنج	۲-۸	۲-۱۶	۲-۱۶

در این تحقیق اثر مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون و داروی شاهد نیستاتین بر روی ۱۰۰ ایزوله *کاندیدا* جدا شده از بیماران *کاندیدا* یازیس دهانی شامل ۵۳ ایزوله *کاندیدا آلیکنس*، ۲۲ ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس*، ۱۷ ایزوله *کاندیدا پاراپسیلوزیس* و ۸ ایزوله *کاندیدا گلابراتا* انجام گرفت. میانگین MIC مشتقات 4a و 4b ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون به ترتیب برای *کاندیدا آلیکنس* ۲/۴۷ و برای *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا تروپیکالیس* ۵/۶۳ و ۴/۱۸ گزارش شد که نسبت به میانگین MIC داروی ضد قارچی نیستاتین که برای *کاندیدا آلیکنس* ۱/۰۳ و *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا تروپیکالیس* ۰/۹۶ بالاتر بود. نتایج آزمون تحلیل تعقیبی T-test نشان داد حداقل غلظت مهاری (MIC) در نیستاتین از MICهای مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون برای گونه‌های *کاندیدا آلیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* به طور معنی‌داری کم‌تر می‌باشد ($P < 0.001$) و داروی ضد قارچی نیستاتین با توجه به کم‌تر بودن میانگین MIC، MIC90 و GM اثرات مهارکنندگی بیش‌تری نسبت به مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون بر روی گونه‌های *کاندیدا آلیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* داشتند (جدول شماره ۲). در مقایسه مقادیر MICهای مشتقات ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون با هم (4a و 4b)، رابطه معنی‌اری بین آن‌ها وجود نداشت ($P > 0.0562$). تفاوت معنی‌داری بین میانگین MICهای *کاندیدا آلیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا پاراپسیلوزیس* و *کاندیدا گلابراتا* مشاهده نشد که نشان می‌دهد مشتقات 4a و 4b ایندول هیدرازونو تیا زولیدینون اثرات ضد قارچی مشابهی بر روی ایزوله‌های *کاندیدا* دارند (جدول شماره ۲).

داروی نیستاتین با رنج ۲-۱۶ و ترکیبات 4a و 4b با رنج ۲-۸ و ۱۶-۲ برای گونه‌های *کاندیدا گلابراتا* نشان‌دهنده اثرات ضد قارچی مشابه مشتقات ایندول

بحث

باتوجه به محدودیت داروهای ضدقارچی، افزایش بیماری‌های قارچی تهاجمی و ظهور گونه‌های مقاوم به درمان، محققان به سمت استفاده از ترکیبات مختلف با ساختارهای شیمیایی مناسب با اثرات ضد قارچی که می‌توانند در آینده برای ساخت و سنتز داروهای ضد قارچی جدید بکار روند، روی آورده‌اند. تiazولیدین یک ترکیب هتروسیکلیک با حلقه اشباع پنج عضوی با گروه تیواتر و گروه آمین در موقعیت‌های ۱ و ۳ حلقه است که با اتم‌های گوگرد و نیتروژن در حلقه پنج عضوی، در داروهای بالینی استفاده شده است (۱۴). علاوه بر این، مشتقات تiazولیدینون، مقاومت قارچی و باکتریایی که توسط بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروها ایجاد می‌شود را بسیار تضعیف نموده‌اند (۲۵-۲۲). در مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضدقارچی ترکیب سنتزی ایندول هیدرازونو تiazولیدینون بر روی ۱۰۰ ایزوله‌های کاندیدا جدا شده از عفونت‌های دهانی در کنار داروی ضدقارچی نیستاتین پرداخته شد. نتایج نشان داد اختلاف بین میانگین‌های MIC ترکیبات مورد سنجش با داروی نیستاتین برای ایزوله‌های کاندیدا آلبيکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا پاراپسیلوزیس معنادار است؛ اما اختلاف بین میانگین‌های MIC ترکیبات با داروی نیستاتین برای ایزوله‌های کاندیدا گلابراتا بی معنی گزارش شد. Moorthy و همکارانش در سال ۲۰۱۹ خاصیت ضد میکروبی و ضدقارچی دو سری از مشتقات ۲،۴ تiazولیدین دیون حاوی ایمیدازول سنتز شده را با تکنیک انتشار دیسک کاغذی و حداقل غلظت بازدارنده (MIC) بر روی ایزوله‌های میکروبی و قارچی استاندارد اسپرژیلوس نایجر و اسپرژیلوس فومیگاتوس ارزیابی کردند. تمام ترکیبات فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی خفیف تا متوسط را از خود نشان دادند. از بین ترکیبات متیل-۲-(۴-۳)-۲-متوکسی-۲-اکسواتیل-۲،۴-دیوکسوتiazولیدین-۵-یلیدین (متیل)-H1-ایمیدازول-۱-یل (استات (T2)، متیل-۲-(۵-۱)-۲-۲-۴-۱)

فلوروفیل تیواتیل (H1-ایمیدازول-۴-یل) متیلن-۲،۴-دیوکسوتiazولیدین-۳-یل (استات (T4) و متیل-۲-۲-(۳-۲)-متوکسی-۲-اکسواتیل-۲،۴-دیوکسوتiazولیدین-۵-یلیدین (متیل)-H1-ایمیدازول-۱-یل) استات (T8) دارای فعالیت ضد قارچی نسبتاً قوی بودند (۲۷). در مطالعه حاضر نیز مشتقات تاثیرات ضد قارچی خوبی بر روی ایزوله‌های کاندیدا گلابراتا داشتند. Trotsko و همکارانش هم‌چنین Sucheta و همکارانش در دو مطالعه مختلف در سال ۲۰۱۸ به ارزیابی اثرات ضد باکتریایی ترکیبات تiazولین-۲، ۴-دیون‌ها بر روی ایزوله‌های مختلف باکتریایی پرداختند که نتایج اثرات مناسب و بعضاً معنی‌دار ترکیبات را بر روی باکتری‌های گرم مثبت و ایزوله‌های باکتریایی باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلای نسبت به داروهای استاندارد از خود نشان دادند (۲۸، ۲۹).

مطالعه حاضر نیز همانند مطالعات فوق اثرات ضد میکروبی ترکیبات واجد ساختار تiazولیدین را تایید کرد. در سال ۲۰۱۴ Salah و همکارانش در نتایج مطالعه خود نشان دادند قطر هاله‌ی عدم رشد برای ترکیب هتروسیکل‌های اشباع شده با ۲-تینیل بر علیه کاندیدا آلبيکنس بیش تر از داروی ضد قارچی شاهد کلوتریمازول است (۳۰).

هم‌چنین Abdelmajeid و همکارانش در سال ۲۰۱۷ فعالیت ضد میکروبی مشتقات (Z)-5-Benzylidene-3-(5-heptadecyl-1,3,4-thiadiazol-4-yl) imino thiazolidin-4-one را در برابر اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، اسپرژیلوس فلاووس و کاندیدا آلبيکنس با استفاده از تکنیک انتشار دیسک ارزیابی کردند و ترکیب شماره 7a (C40H75N5O6S2)، 7b (C52H99N5O10S2)، 7c (C64H123N5O14S2) بیش‌ترین فعالیت ضد قارچی را نسبت به ایزوله‌های قارچی از خود نشان دادند (قطر هاله کاندیدا آلبيکنس: ۲۲/۱ mm/mg، اسپرژیلوس فلاووس: ۲۰/۹ mm/mg) که فعالیت آن‌ها از داروی

استاندارد آمفوتریسین B نیز بهتر بود (قطر هاله کاندیدا آلبيکنس: 20 mm/mg، آسپرژیلوس فلاووس: 16 mm/mg). Barakat و همکارانش در سال 2018 فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی قوی تر، ترکیبات سنتزی شده هتروسیکلی چند حلقه ای 4a-(10R,7a'R)-200-thioxo-2'-(p-tolyl)-50,60,70,7a'-tetrahydro-20Hdispiro[indoline-3,30-pyrrolizine-10,500-(10 R,7a'R)-20] 4b و (thiazolidine)-2,400-dione-phenyl-200-thioxo-50,60,70,7a'-tetrahydro-20 Hdispiro[indoline-3,30-pyrrolizine-10,500-(thiazolidine)-2,400-dione، که حاوی حلقه های اسپروکسیندول، پیرولیدین، و تیوکسوتیازولیدین-4- وان را بر علیه باکتری های استافیلوکوکوس پنومونی (RCMB 010010)، باسیلوس سوبتلیس (RCMB 010067)، سودوموناس آئروژینوزا (RCMB 010043) و اشیریشیا کلسی (RCMB 010052) و قارچ های آسپرژیلوس فومیگاتوس (RCMB 002568)، سینسفالستروم راسموزوم (RCMB 016001) ژئوتریکوم کاندیدوم (RCMB 05097) و کاندیدا آلبيکنس (RCMB 05036) را نسبت داروهای استاندارد آپی سلین، جنتامایسین، آمفوتریسین ب و فلوکونازول گزارش کردند (31). نتایج مطالعات فوق با مطالعه حاضر همخوانی نداشت. هرچند که در مطالعه ما اثرات ضد قارچی مشتقات علیه گونه های کاندیدا خصوصا گونه های کاندیدا گلابراتا گزارش شد اما ترکیبات بر خلاف مطالعات فوق اثرات ضد قارچی ضعیف تری نسبت به داروی استاندارد نیستاتین از خود نشان دادند که این تفاوت در نتایج می تواند به دلیل تفاوت در ساختار داروی های استاندارد، هم چنین عدم استفاده از سوش های استاندارد و هم چنین تفاوت در روش های مورد استفاده در مطالعه حاضر باشد. در مطالعه قاسمی و همکاران در سال 2015 هیچ کدام از مشتقات تیزاول و نانو ذرات نقره (6a-c) اثر مهارتی بر روی کاندیدا آلبيکنس نداشتند (32) هم چنین Desai و همکاران در

سال 2012 در مطالعه خود نشان دادند که مشتقات تیزاولیدین دارای اتصال کوینازولین اثر مهارتی بر روی کاندیدا آلبيکنس دارند (MIC=100-1000 میکروگرم/ میلی لیتر)، اما مشتقات تیزاولیدین بدون اتصال کوینازولین فاقد اثر بر روی کاندیدا آلبيکنس می باشند (33). در مطالعات فوق برخی ترکیبات با پایه تیزاولیدین اثرات ضد قارچی بر علیه کاندیدا آلبيکنس نداشتند که با مطالعه فوق همخوانی دارد اما با تغییر در ساختار آنها اثرات ضد قارچی در ترکیبات گزارش شده است که می تواند دلیل تفاوت در نتایج مطالعات با مطالعه حاضر باشد. نتایج مطالعات فوق اثرات ضد میکروبی، ضد باکتریایی و ضدانگلی مشتقات با داربست تیزاولیدین را نشان دادند که در برخی از آنها مشتقات اثرات بهتری نسبت به داروهای استاندارد مورد استفاده داشتند که این نتایج امیدوارکننده می تواند نوید بخش دستیابی به ترکیباتی دارویی با داربست تیزاولیدین برای بیماری های میکروبی و قارچی باشد.

با توجه به MIC به دست آمده، با اینکه اثرات ضد قارچی مشتقات ایندول هیدرازونوتیازولیدینون تایید شد اما تاثیر گذاری آنها در مقایسه با داروهای ضد قارچی نیستاتین برای ایزوله های کاندیدا آلبيکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا پاراپسیلوزیس کم تر بوده در حالی که تاثیر گذاری آنها بر روی گونه های کاندیدا گلابراتا نسبت به داروی نیستاتین در یک محدوده بود. با بررسی اثرات سایتوتوکسیستی و عوارض جانبی این مشتقات و هم چنین انجام بررسی های بیش تر بر روی آنها می توان در آینده از این ترکیبات برای ساخت و سنتز داروهای ضد قارچی جدید و آلترناتیوهای درمانی بهره برد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی و نتیجه طرح تحقیقاتی با کد رهگیری ۷۲۴۱۳۴۵۷۱ و با کد اخلاق IR.MUBABOL.HRI.REC.1401.167 مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل صورت پذیرفت.

References

1. Mohamed AA, Lu XL, Mounmin FA. Diagnosis and treatment of esophageal candidiasis: current updates. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2019; 2019(1): 3585136. PMID: 31772927.
2. Hizlisoy H, Dishan A, Bekdik IK, Barel M, Koskeroglu K, Ozkaya Y, Aslan O, Yilmaz OT. *Candida albicans* in the oral cavities of pets: biofilm formation, putative virulence, antifungal resistance profiles and classification of the isolates. *Int Microbiol* 2024. PMID: 38955904.
3. Millsop JW, Fazel N. Oral candidiasis. *Clin Dermatol* 2016; 34(4): 487-494. PMID: 27343964.
4. Alphandéry E. Iron oxide nanoparticles for therapeutic applications. *Drug Discov Today* 2020; 25(1): 141-149. PMID: 31586641.
5. Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, et al. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Med Mycol* 2011; 49(2): 208-211. PMID: 20795762.
6. Hibino K, Wong RW, Haegg U, Samaranayake LP. The effects of orthodontic appliances on *Candida* in the human mouth. *Int J Paediatr Dent* 2009; 19(5): 301-308. PMID: 19486368.
7. Chattopadhyay A, Patton LL. Smoking as a risk factor for oral candidiasis in HIV-infected adults. *J Oral Pathol Med* 2013; 42(4): 302-308.
8. Keyvanfar A, Najafiarab H, Talebian N, Tafti MF, Adeli G, Ghasemi Z, Tehrani S. Drug-resistant oral candidiasis in patients with HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2024; 24(1): 546. PMID: 38822256.
9. Davari A, Ahmadkhani F, Jafarzadeh J, Mirzakhani R, Roodgari S, Bagheri S, et al. A New Approach to Virulence Factors of *Candida albicans*: From Gene to Function. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 29(178): 181-196 (Persian).
10. Amirrajab N, Mousavi SA, Taheri B, Salari S, Sarsahra NA. In vitro antifungal potency of the moronecidin-like peptide against *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Candida tropicalis*. *Iran J Microbiol* 2023; 15(3):456-461. PMID: 37448671.
11. Abd Rehan T. Review on different five-membered heterocyclic aromatic compounds and their pharmaceutical applications. *GSI J Pub* 2024 ;12(6): 266-297.
12. da Silva FM, Junior JJ, Hernández Muñoz JA. The Chemistry of Aldehydes and Ketones in the Synthesis of Heterocycles-Historical Reactions with a New and Green Perspective. *Curr Organ Chem* 2024; 28(13): 1023-1045.
13. Dixit V, Kumar G, Kumar P, Soni A, Nemiwal M. Emerging Strategies for Synthesis of Heterocyclic Compounds Enabled by Titanium Oxide Nanoparticles as Heterogeneous Catalyst. *Tetrahedron* 2024; 160: 134039.
14. Kumar S, Arora A, Sapra S, Kumar R, Singh BK, Singh SK. Recent advances in the synthesis and utility of thiazoline and its derivatives. *RSC Adv* 2024; 14(2): 902-953.
15. Jain A, Sahu SK. Thiazolidine derivatives and their pharmacological actions. *E3S Web Conf* 2024; 556: 01052.
16. Pfaller M, Diekema D. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. by use of Clinical and Laboratory Standards

- Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. *J Clin Microbiol* 2012; 50(9): 2846-2856. PMID: 22740712.
17. Davydov E, Hoidyk M, Shtrygol' S, Karkhut A, Polovkovych S, Klyuchivska O, et al. Evaluation of thiopyrano [2, 3-d] thiazole derivatives as potential anticonvulsant agents. *Arch Pharm (Weinheim)* 2024; 357(10): e2400357. PMID: 38943436.
 18. Bhosle MR, Mali JR, Pal S, Srivastava AK, Mane RA. Synthesis and antihyperglycemic evaluation of new 2-hydrazolyl-4-thiazolidinone-5-carboxylic acids having pyrazolyl pharmacophores. *Bioorg Med Chem Lett* 2014; 24(12): 2651-2654. PMID: 24813740.
 19. Subhedar DD, Shaikh MH, Arkile MA, Yeware A, Sarkar D, Shingate BB. Facile synthesis of 1, 3-thiazolidin-4-ones as antitubercular agents. *Bioorg Med Chem Lett* 2016; 26(7):1704-1708. PMID: 26927426.
 20. Lesyk R, Zimenkovsky B, Kaminsky D, Kryshchysyn A, Havryluk R, Atamanyuk D, et al. Thiazolidinone motif in anticancer drug discovery. Experience of DH LNMU medicinal chemistry scientific group. *Biopolymer Cell* 2011; 27(2): 107-117.
 21. Rukyanaik V, Gamidi RK, Kumari J, Sriram D, Basavoju S. A Green one-pot three component synthesis of thiazolidine-2, 4-dione based bispirooxindolo-pyrrolidines with [Bmim] BF₄: their in vitro and in silico anti-TB studies. *Mol Divers* 2024. 1-5. PMID: 38789853.
 22. Hassan SA, Ziwar JB, muhammed Aziz D, Abdullah MN. Sonochemical synthesis of New Thiazolidin-4-one derivatives as potent anticancer and antimicrobial agents with Docking design, and Energy gap estimation. *J Molecul Struct* 2024; 1301: 137282.
 23. Hassan SA, Aziz DM, Abdullah MN, Bhat AR, Dongre RS, Hadda TB, et al. In vitro and in vivo evaluation of the antimicrobial, antioxidant, cytotoxic, hemolytic activities and in silico POM/DFT/DNA-binding and pharmacokinetic analyses of new sulfonamide bearing thiazolidin-4-ones. *J Biomol Struct Dyn* 2024; 42(7): 3747-3763. PMID: 37402503.
 24. de Oliveira Filho GB, de Oliveira Cardoso MV, Espíndola JWP, Ferreira LFGR, de Simone CA, Ferreira RS, et al. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of 4-thiazolidinones against *Trypanosoma cruzi*. *Bioorg Med Chem* 2015; 23(23): 7478-7486. PMID: 26549870.
 25. Abumelha HM, Alatawi OM, Alessa AH, Alatawi FA, Bayazeed A, Obaid NA, et al. Synthesis of new pyridine-thiazolidin-4-one and pyridine-pyrazole-thiazolidin-4-one conjugates: Molecular modelling and docking as antimicrobial agents. *J Molec Struc* 2024; 1309: 138233.
 26. Ghashari K, Mahdavi Omran S, Khalilpur A, Jafarzadeh J, Taghizadeh Armaki M, Hossein Nejad A, et al. Antifungal Susceptibility of 3, 4-di-hydropyrimidine-1-(H2)-L-H1-pyrrole Derivatives in *Candida* Clinical Isolates. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2022; 32(215): 26-34 (Persian).
 27. Moorthy P, Ekambaram SP, Perumal SS. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of imidazolyl thiazolidinedione derivatives. *Arab J Chem* 2019; 12(3): 413-419.
 28. Trotsko N, Kosikowska U, Paneth A, Plech T, Malm A, Wujec M. Synthesis and Antibacterial Activity of New Thiazolidine-2,4-dione-Based Chlorophenylthiosemicarba zone Hybrids. *Molecules* 2018; 23(5): 1023. PMID: 29701728.

29. Tahlan S, Verma PK. Synthesis, SAR and in vitro therapeutic potentials of thiazolidine-2, 4-diones. *Chem Cent J* 2018; 12(1): 1-11. PMID: 30515635.
30. Youssef MSK, Abeed AAO. Synthesis and antimicrobial activity of some novel 2-thienyl substituted heterocycles. *Heterocycl Commun* 2014; 20(1): 25-31.
31. Barakat A, Soliman SM, Al-Majid AM, Ali M, Islam MS, Elshaier YA, et al. New spiro-oxindole constructed with pyrrolidine/thioxothiazolidin-4-one derivatives: regioselective synthesis, x-ray crystal structures, Hirshfeld surface analysis, DFT, docking and antimicrobial studies. *J Molecul Struc* 2018; 1152: 101-14.
32. Ghasemi B, Najimi M, Mirzai MM, Mohmedi-Kartalai A, Askari VR. Study of antifungal effect of thiazole derivatives and silver nanoparticles, An in vitro study. *J Jiroft Uni Med Sci* 2016; 2(2): 10-15.
33. Desai N, Joshi V, Rajpara K, Vaghani H, Satodiya H. Facile synthesis of novel fluorine containing pyrazole based thiazole derivatives and evaluation of antimicrobial activity. *J Fluorin Chem* 2012; 142: 67-78.