

Synthesis of Ciprofloxacin-Isatin Conjugates as Potential Cytotoxic Agents

Saeed Emami¹,
Milad Raeesi²

¹ Professor, Department of Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Pharm.D Student, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 7, 2015 Accepted June 6, 2016)

Abstract

Background and purpose: In recent years, the incidence of cancers has increased in the world. Therefore, many researches have focused on new strategies for treatment of cancers. Previous studies showed that quinolone antibacterials can inhibit human topoisomerases at high concentrations and can be considered as potential cytotoxic agents. On the other hand, 5,7-dibromoisatin is a cytotoxic agent and inhibits tubulin polymerization. Accordingly, a series of ciprofloxacin-isatin conjugates were prepared as potential cytotoxic agents.

Materials and methods: Isatin was dibrominated by bromine in refluxing ethanol. The 5,7-dibromoisatin was reacted with ciprofloxacin in the presence of paraformaldehyde to produce *N*-Mannich base of ciprofloxacin. Furthermore, 5,7-dibromoisatin was reacted with 1-bromo-2-chloroethane to give *N*-(2-chloroethyl)-5,7-dibromoisatin. The latter compound was reacted with ciprofloxacin to afford related conjugate analog containing two carbons linker. All compounds were purified by extraction and crystallization. The structures of compounds were assigned by IR and NMR spectroscopy.

Results: Conveniently, several new conjugates of ciprofloxacin and isatin containing methylene or ethylene linker were prepared. The isolated yields for final compounds were 23 to 34%. In the preparation of final compounds with methylene linker (compounds **4a** and **4b**), ethanol was found to be the best solvent while *N,N*-dimethylformamide (DMF) was an appropriate solvent for preparation of compound **4c**, bearing an ethylene linker. The final products were re-crystallized from DMF or DMF-water.

Conclusion: The conjugate analogs of ciprofloxacin and isatin derivatives can be obtained using an appropriate and convenient method. The designed compounds have both pharmacophoric motifs of quinolones and isatin and potentially can be considered as new cytotoxic agents.

Keywords: Cancer, Quinolones, Isatin, Conjugate, Synthesis

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(138): 161-169 (Persian).

سنتز مشتقات کنژوگه از سیپروفلوکساسین و ایزاتین به منظور دستیابی به ترکیبات جدید سیتوتوکسیک

سعید امامی^۱میلاد رئیسی^۲

چکیده

سابقه و هدف: در سال های اخیر با توجه به افزایش بیماری سرطان، تحقیقات برای کشف و بهبود اثر داروهای ضد سرطان افزایش یافته است. بر اساس تحقیقات صورت گرفته برخی کینولون ها با مهار توپوایزومرازهای انسانی اثرات سیتوتوکسیک از خود نشان داده اند. از سویی دیگر در راستای کشف مولکول های جدید با خاصیت سیتوتوکسیک و با پتانسیل اثر ضد سرطان مشخص گردیده است که ۵ و ۷-دی بروموایزاتین اثرات سیتوتوکسیک بسیار قوی دارد و اثرات آن بیش تر از خود ایزاتین می باشد. در این مطالعه جهت دستیابی به ترکیبات جدید سیتوتوکسیک، آنالوگ های کنژوگه جدیدی از سیپروفلوکساسین و مشتقات ایزاتین سنتز شده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ابتدا ایزاتین به وسیله برماسیون با برم به ۵ و ۷-دی بروموایزاتین تبدیل گردید. ترکیب حاصل وارد واکنش با سیپروفلوکساسین شده و در حضور فرمالین به مشتق *N*-Mannich base مربوطه تبدیل گردید. از طرف دیگر ۵ و ۷-دی بروموایزاتین با کلروبرومواتان وارد واکنش شد و محصول *N*-کلرواتیل از آن تهیه گردید. سپس از واکنش محصول اخیر با سیپروفلوکساسین مشتق کنژوگه با پل دو کربنه تهیه شد. خالص سازی ترکیبات با روش های متداول استخراج و تبلور مجدد انجام شد و ساختار ترکیبات به نحو مقتضی با روش های طیف سنجی IR، NMR تعیین و تایید گردید.

یافته ها: ترکیبات جدیدی که حاصل کنژوگه کردن سیپروفلوکساسین و مشتقات ایزاتین توسط پل یک یا دو کربنه بودند، تهیه شدند و بازده مرحله نهایی بین ۲۳ تا ۳۴ درصد بود. برای تهیه ترکیبات نهایی با پل یک کربنی (ترکیبات 4a و 4b) اتانول حلال مناسبی بود اما برای تهیه ترکیب دارای پل دو کربنی (4c)، *N,N*-دی متیل فراماید (DMF) حلال بهتری بود. تبلور مجدد ترکیبات نهایی نیز در DMF به تنهایی و یا در DMF و آب صورت گرفت.

استنتاج: آنالوگ های کنژوگه از سیپروفلوکساسین و مشتقات ایزاتین با روشی قابل قبول و سهل الوصول قابل تهیه هستند. این ترکیبات دارای دو نوع فارماکوفور برای اثر روی توپوایزومراز و سیستم توبولین هستند و به صورت بالقوه می توانند به عنوان ترکیبات ضدسرطان مورد بررسی قرار گیرند.

واژه های کلیدی: سرطان، کینولون، ایزاتین، مشتقات کنژوگه، سنتز

مقدمه

توپوایزومرازهای نوع II، آنزیم هایی هستند که نقش حیاتی در کنترل توپولوژیکی و کانفورماسیونی DNA در طی فرآیندهای نسخه برداری و همانندسازی عهده دار هستند. در واقع توپوایزومراز II شکستن زنجیره دوتایی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۸۳-۹۲ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مؤلف مسئول: سعید امامی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی و مرکز تحقیقات علوم دارویی E-mail: sd_emami@yahoo.com

۱. استاد، گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱۰/۲۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۳/۱۷

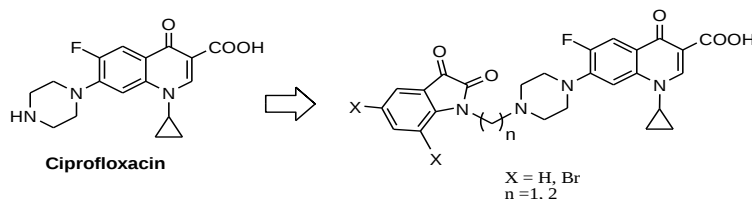
این، ناحیه C-7 تنها موقعیت مولکول کینولون هاست که امکان استخلاف حجیم در آن وجود دارد (۱۳-۱۱). در مطالعه حاضر براساس موارد پیشگفت و به منظور دستیابی به ترکیبات جدید سیتوتوکسیک، داروی سیروفلوکساسین که دارای پیرازین در موقعیت C-7 حلقه کینولون می باشد با مشتقات ایزاتین به صورت آنالوگ های کنژوگه در آمده است (تصویر شماره ۱). لذا در این مطالعه به نحوه سنتز و شناسایی این ترکیبات خواهیم پرداخت.

مواد و روش ها

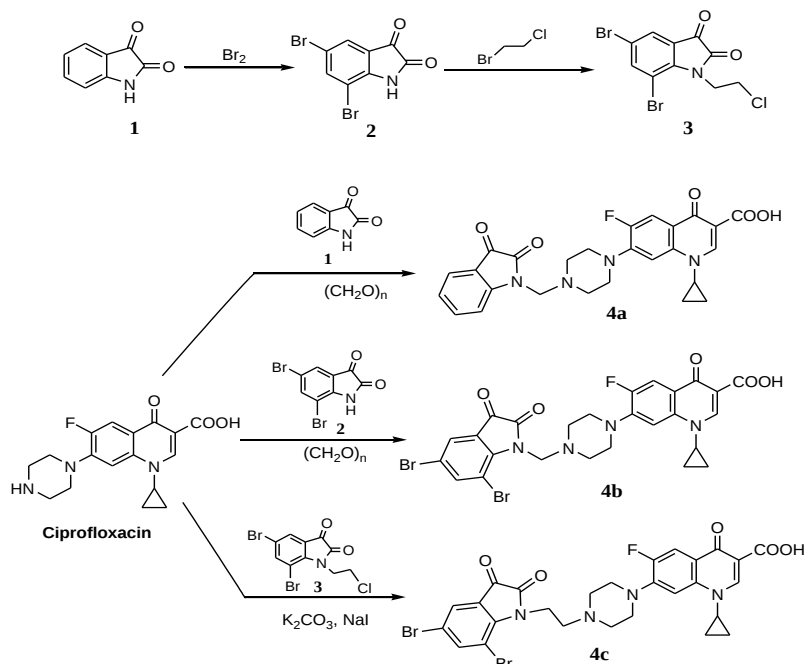
نمای کلی سنتز ترکیبات موردنظر در تصویر شماره ۲ آورده شده است. تمامی واکنش ها و ترکیبات به دست آمده به وسیله کروماتوگرافی روی لایه نازک (TLC) کنترل شدند. روش TLC با استفاده از ورقه های نازک آلومینیومی دارای لایه نازک سیلیکاژل صورت پذیرفت و پس از قرار گرفتن در حلال مناسب و پیشرفت حلال و جدا شدن لکه ها روی سیلیکاژل، لکه ها به وسیله لامپ ماوراء بنفش (UV) قابل رؤیت گردید. تغلیظ محلول ها پس از انجام واکنش و استخراج به وسیله دستگاه تقطیر در خلأ صورت گرفت. به منظور خشک کردن محلول های آلی از سولفات سدیم بدون آب استفاده گردید.

نقطه ذوب مواد به وسیله دستگاه Bibby Stuart Scientific SMP3 اندازه گیری شد. طیف مادون قرمز (IR) با استفاده از دستگاه Perkin Elmer و طیف رزونانس مغناطیسی هیدروژن ($^1\text{H-NMR}$) با بهره گیری از دستگاه اسپکترومتر Bruker 400 MHz تهیه گردید و جابه جایی شیمیایی (δ) بر حسب ppm و در مقایسه با شاهد داخلی تترامیل سیلان (TMS) بود.

DNA را کاتالیز می نماید به نحوی که یکی از زنجیره های DNA بتواند از آن عبور کرده و بدین ترتیب پیچ و تاب خوردن های DNA کنترل گردد. این آنزیم ها هم در سلول های یوکاریوت و هم در سلول های پروکاریوت یافت می شوند و تارگت مناسبی برای مداخلات شیمی درمانی در درمان عفونت ها و هم چنین سرطان ها به شمار می روند (۴-۱). کینولون ها دسته ای از ترکیبات ضدباکتری هستند که آنزیم توپوایزومراز II باکتریایی را مهار می کنند و اساساً به منظور درمان عفونت ها در انسان توسعه پیدا کرده اند (۵). تحقیقات نشان داده اند که کینولون ها می توانند توپوایزومراز های انسانی و هم چنین پلیمریزاسیون توبولین را مهار نمایند و به صورت بالقوه به عنوان ترکیبات ضد سرطان مطرح باشند. با توجه به شباهت های مکانیسمی و ساختاری توپوایزومراز نوع II پروکاریوتی (DNA ژیراز و توپوایزومراز IV) و توپوایزومراز نوع II یوکاریوتی، تلاش های زیادی برای شیف دادن اثرات ضدباکتریایی کینولون ها به اثرات ضدتوموری صورت گرفته است (۹-۶). از سویی دیگر در پی مطالعات گذشته جهت یافتن مولکول های جدید با خاصیت سیتوتوکسیک و با پتانسیل اثر ضدسرطان، اخیراً مشخص گردیده است که ۵ و ۷-دی بروموایزاتین اثرات سیتوتوکسیک بسیار قوی روی رده سلولی U937 دارد و اثرات آن بیش تر از خود ایزاتین می باشد (۱۰). بررسی رابطه ساختمان-فعالیت کینولون ها نشان داده است که فارماکوفور اصلی این داروها ۴-پیریدون-۳-کربوکسیلیک اسید می باشد که با یک حلقه ثانوی به صورت ادغام شده در آمده است. مهار آنزیم های توپوایزومراز و نفوذ سلولی کینولون ها به شدت تحت تاثیر استخلاف در C-7 می باشد. علاوه بر



تصویر شماره ۱: آنالوگ های کنژوگه طراحی شده از سیروفلوکساسین و ایزاتین



تصویر شماره ۲: سنتز آنالوگ های کنژوگه از سیپروفلوکساسین و مشتقات ایزاتین

در در دمای اتاق بهم زده شد. روند پیشرفت واکنش با استفاده از TLC پی گیری شد که پس از گذشت یک روز واکنش پایان یافته بود. به مخلوط واکنش ۱۵ میلی لیتر آب اضافه شد و با اتیل استات (۳ بار، هر بار ۲۵ میلی لیتر) استخراج گردید. پس از خشک کردن فاز آلی با سولفات سدیم بدون آب، حلال در فشار کم تبخیر شد. رسوب حاصل توسط هگزان (۳ بار، هر بار ۳ میلی لیتر) شسته شد و در دمای اتاق خشک شد. وزن محصول به دست آمده ۱۸۰ میلی گرم بود.

تهیه ۱-سیکلوپروپیل-۷-۴-۲-دی-کسو-۳-دی-هیدرو-ایندول-۱-یل متیل-پیرازین-۱-یل-۶-فلورو-۴-کسو-۱-۴-دی-هیدرو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (4a)

به مخلوطی از ۴ میلی لیتر اتانول و سیپروفلوکساسین (۱۰۹/۵ میلی گرم، ۰/۳۳ میلی مول)، پارافرمالدهید (۱۵ میلی گرم، ۰/۵ میلی مول) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق بهم زده شد. سپس به مخلوط واکنش، ایزاتین (۴۹ میلی گرم، ۰/۳۳ میلی مول) اضافه گردید و رفلاکس شد. روند پیشرفت واکنش با

تهیه ۵ و ۷-دی برم-۱-ایندولین-۲-۳-دی-اون (2)

ایزاتین (۱ گرم، ۶/۸ میلی مول) با ۲۰ میلی لیتر اتانول مخلوط شد و کمی حرارت داده شد تا به صورت محلول در آید. به محلول به دست آمده، برم (۱/۰۴ میلی لیتر، ۲۰/۴ میلی مول) به صورت قطره قطره اضافه شد و سپس رفلاکس گردید. روند پیشرفت واکنش با استفاده از TLC پی گیری شد. پس از ۴ ساعت واکنش پایان یافت. مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت. بلورهای نارنجی رنگ حاصل، صاف شده و با اتانول سرد (۳ بار، هر بار ۳ میلی لیتر) شسته شد و در دمای اتاق خشک شد. وزن محصول به دست آمده ۱/۱ گرم بود.

تهیه ۵ و ۷-دی برم-۱-۲-کلرواتیل-ایندولین-۲-۳-دی-اون (3)

مخلوطی از دی بروموایزاتین (۱۵۲ میلی گرم، ۰/۵ میلی مول)، ۱-کلرو-۲-برومواتان (۲۱۴/۵ میلی گرم، ۱/۵ میلی مول) و کربنات پتاسیم (۲۰۷ میلی گرم، ۱/۵ میلی مول) در ۴ میلی لیتر *N,N*-دی متیل فرمامید (DMF)

استفاده از TLC پی گیری شد. پس از ۲۴ ساعت رفلاکس، مخلوط واکنش تغلیظ گردید و باقیمانده در DMF متبلور شد. پس از صاف کردن، بلورها با DMF سرد (۳ بار، هر بار ۳ میلی لیتر) شسته شد و در دمای اتاق خشک گردید. وزن محصول خشک به دست آمده ۵۵ میلی گرم بود.

تهیه ۱-سیکلوپروپیل-۷-۴-۵-دی برومو-۲-و-۳-دی اکسو-۲-و-۳-دی هیدرو-۱-اندول-۱-یل متیل-پیرازین-۱-یل-۶-فلورو-۴-اکسو-۱-دی هیدرو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (4b)

به مخلوطی از سیپرو فلوکساسین (۱۰۹/۵ میلی گرم، ۰/۳۳ میلی مول) و اتانول (۴ میلی لیتر)، پارافمالدهید (۱۵ میلی گرم، ۰/۵ میلی مول) و دی بروموایزاتین (۱۰۱ میلی گرم، ۰/۳۳ میلی مول) اضافه شد و رفلاکس گردید. روند پیشرفت واکنش با استفاده از TLC پی گیری شد. پس از ۲۴ ساعت محلول واکنش تغلیظ گردید و ۴ میلی لیتر DMF به آن اضافه و بهم زده شد. سپس کمی آب به مخلوط واکنش اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت ماندن در یخچال، رسوب حاصل صاف و با آب سرد (۳ بار، هر بار ۳ میلی لیتر) شسته شد و در دمای اتاق خشک گردید. وزن رسوب حاصل ۵۵ میلی گرم بود.

تهیه ۱-سیکلوپروپیل-۷-۴-۲-۵-دی برومو-۲-و-۳-دی اکسو-۲-و-۳-دی هیدرو-۱-اندول-۱-یل-۶-فلورو-۴-اکسو-۱-دی هیدرو-کینولین-۳-کربوکسیلیک اسید (4c)

سیپرو فلوکساسین (۱۰۹/۵ میلی گرم، ۰/۳۳ میلی مول)، ۵ و ۷-دی برومو-۱-۲-کلرواتیل-ایندولین-۲-و-۳-دی اون (۱۲۱ میلی گرم، ۰/۳۳ میلی مول)، کربنات پتاسیم (۱۳۷ میلی گرم، ۰/۹۹ میلی مول) و یدید سدیم (۴۹/۵ میلی گرم، ۰/۳۳ میلی مول) به یک بالن منتقل شد و پس از افزودن DMF (۴ میلی لیتر)، مخلوط حاصل در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد بهم زده شد. روند پیشرفت واکنش با استفاده از TLC پی گیری شد. پس از ۴۸ ساعت واکنش

پایان یافت. به مخلوط واکنش ۱۵ میلی لیتر آب اضافه گردید و در یخچال قرار گرفت. رسوب حاصل بعد از صاف کردن، مجدداً در DMF و آب متبلور شد و در دمای اتاق خشک گردید. وزن محصول خشک به دست آمده ۵۰ میلی گرم بود.

یافته ها

در این مطالعه دو ترکیب حدواسط مشتق ایزاتین (ترکیبات ۲ و ۳) و ترکیبات نهایی مشتق سیپروفلوکساسین (ترکیبات 4a، 4b و 4c) سنتز گردیده‌اند. همان گونه که در تصویر شماره ۲ مشاهده می گردد، ابتدا ایزاتین (1) به وسیله برماسیون با برم به ۵ و ۷-دی بروموایزاتین (2) تبدیل گردید. با توجه به این که گروه کربونیل ناحیه ۳ ایزاتین هدایت کننده *meta* و نیتروژن ناحیه ۱ هدایت کننده *ortho* و *para* می باشد لذا عمل برم دار شدن صرفاً در نواحی ۵ و ۷ ایزاتین صورت گرفت. در ادامه ۵ و ۷-دی بروموایزاتین با کلروبرومواتان در حضور کربنات پتاسیم و در حلال DMF وارد واکنش شد و مشتق کلرواتیل از دی بروموایزاتین (3) به دست آمد. از واکنش مانیک (Mannich reaction) سیپروفلوکساسین با خود ایزاتین (1) در حضور فرمالدئید و دمای رفلاکس در حلال اتانول، مشتق مربوطه 4a به دست آمد. به طور مشابه ۵ و ۷-دی بروموایزاتین (2) نیز با سیپروفلوکساسین واکنش کرده و به مشتق N-Mannich base مربوطه 4b تبدیل شد. هم چنین از واکنش سیپروفلوکساسین با مشتق کلرواتیل 3 در حضور نمک بازی کربنات تاسیم و کاتالیزور سدیم یدید، ترکیب 4c با پل ایتلنی حاصل شد. خلص سازی ترکیبات با روش های متداول استخراج تبلور مجدد انجام شد و ساختار آن ها با روش های طیف سنجی مورد تایید قرار گرفت. اسامی شیمیایی، بازده واکنش، نقطه ذوب و اطلاعات طیفی شامل IR و NMR ترکیبات سنتز شده در جدول شماره ۱ آورده شده است. شناسایی ساختار ترکیبات سنتز شده عمدتاً توسط اطلاعات به دست آمده از طیف سنجی ^1H NMR صورت

گرفته است (جدول شماره ۱). در این جا به عنوان نمونه به یافته‌های حاصل از طیف $^1\text{H NMR}$ ترکیب **4b** اشاره می‌شود. چهار پروتون سیکلوپروپیل در محدوده ۱/۲۲-۱/۱۵ و ۱/۲۹-۱/۳۸ به صورت چند شاخه ظاهر شدند. هم‌چنین ۴ عدد از پروتون‌های پیرازین در ۲/۸۰-۲/۶۷ به صورت چند شاخه ظاهر شدند. پروتون‌های پل متیلنی به دلیل نداشتن هیدروژن همسایه به صورت تک شاخه در ۲/۸۹ ظاهر شدند. چهار پروتون دیگر حلقه پیرازین زیر پیک آب مخفی شده بود. پروتون محل اتصال سیکلوپروپیل در ۲/۸۰-۳/۹۰ به صورت چند شاخه ظاهر شد. در بین پروتون‌های آروماتیک کم‌ترین جابه‌جایی شیمیایی مربوط به پروتون موقعیت ۸ کینولون بوده که به دلیل متا-کاپلینگ با فلوئور به صورت دو شاخه در ۷/۵۹ ظاهر شد. پروتون موقعیت ۴ ایزاتین در ناحیه ۷/۶۸ ظاهر شده است و به دلیل اثر کوپلاژ با پروتون متا به صورت دو شاخه با ثابت کوپلاژ ۲Hz در آمده است. پروتون موقعیت ۵ کینولون به دلیل همسایگی با فلوئور به صورت دو شاخه در ۷/۹۱ با ثابت کوپلاژ ۱۳/۲Hz ظاهر شد. پروتون موقعیت ۶ ایزاتین به دلیل قرار گیری بین دو اتم برم در ناحیه ۸/۰۵ ظاهر شده است و به سبب کوپلاژ با پروتون متا به صورت دو شاخه با ثابت کوپلاژ ۲Hz در آمده است. پروتون موقعیت ۲ کینولون به صورت تک شاخه در ۸/۶۷ ظاهر شد. تفاوت ساختاری ترکیب **4c** با ترکیب **4b** در پل اتصال‌دهنده حلقه‌های پیرازین

و ایزاتین می‌باشد لذا مهم‌ترین تفاوت مشاهده شده در طیف $^1\text{H NMR}$ ترکیب **4c** با ترکیب **4b** نیز در این بخش بود به طوری که چهار پروتون پل اتیلنی ترکیب **4c** در موقعیت‌های ۳/۶۶ و ۳/۷۵ به صورت دو سه شاخه مجزا و با ثابت کوپلاژ ۶Hz ظاهر شده‌اند.

بحث

امروزه داروهای متعدد با مکانیسم‌های متنوع برای درمان سرطان در دسترس هستند اما ایندکس درمانی نامناسب، عدم پاسخ برخی سرطان‌ها و ایجاد مقاومت باعث شده تا پژوهش‌ها جهت کشف داروهای جدید هم‌چنان ادامه یابد (۱۴). از جمله داروهایی که در گذشته از لحاظ سمیت سلولی و توانایی مهار رشد سلول‌های سرطانی ارزیابی شده‌اند، کینولون‌ها هستند. اکثر کینولون‌هایی که اثرات ضدتوموری از خود نشان داده‌اند دارای گروه آریل در موقعیت C-7 بوده‌اند. وارد کردن حلقه آریل در C-7 کینولون‌ها ویژگی اثر را از توپوایزومراز باکتریایی به سمت انسانی سوق می‌دهد. به عنوان نمونه یک سری از ۷-پیریدیل یا ۷-(۴-هیدروکسی فیل) کینولون‌ها مثل WIN572946 و CP-115953 و هم‌چنین ترکیبات چهار حلقه‌ای از کینولون‌ها مثل A-621767 و A-852268 (تصویر شماره ۳) به عنوان ترکیبات موثر روی آنزیم‌های نوع II یوکاریوتی و سیتوکسیک روی سلول‌های سرطانی انسانی معرفی

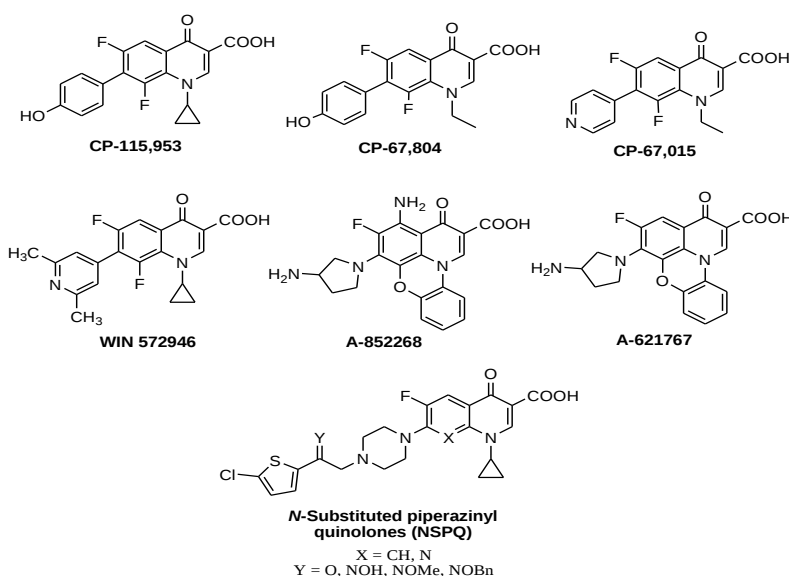
جدول شماره ۱: اسامی شیمیایی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و طیفی ترکیبات سنتز شده

کد ترکیبات	نام شیمیایی ترکیبات	اطلاعات فیزیکوشیمیایی و طیفی سنتزی
2	5,7-Dibromoindoline-2,3-dione	Yield: 53%; mp: 252-254 °C; IR (KBr, cm^{-1}): 3244, 1771, 1742, 1459, 1449, 1303, 1163, 874, 688.
3	5,7-Dibromo-1-(2-chloroethyl)indoline-2,3-dione	Yield: 32%; mp: 127-129 °C; IR (KBr, cm^{-1}): 3071, 1732, 1754, 1604, 1450, 1294, 1137, 890, 763; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 3.79 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.34 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Cl}$), 7.80 (s, 1H, H-4), 8.13 (s, 1H, H-6).
4a	1-Cyclopropyl-7-[4-(2,3-dioxo-2,3-dihydro-indol-1-ylmethyl)-piperazin-1-yl]-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-quinoline-3-carboxylic acid	Yield: 34%; mp: 175-177 °C; IR (KBr, cm^{-1}): 3462, 1742, 1628, 1613, 1493, 1311, 1259, 1159, 1011, 749; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.12-1.38 (m, 4H, cyclopropyl), 2.80-2.90 (br s, 4H, piperazine), 3.75-3.85 (m, 1H, cyclopropyl), 4.53 (s, 2H, CH_2N), 7.16 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz, H-5, isatin), 7.35 (d, 1H, $J = 7.6$, H-8), 7.50-7.61 (m, 2H, H-4, H-7, isatin), 7.68 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz, H-6, isatin), 7.88 (d, 1H, $J = 13.2$ Hz, H-5), 8.65 (s, 1H, H-2).
4b	1-Cyclopropyl-7-[4-(5,7-dibromo-2,3-dioxo-2,3-dihydro-indol-1-ylmethyl)-piperazin-1-yl]-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-quinoline-3-carboxylic acid	Yield: 25 %; mp: 248-250 °C; IR (KBr, cm^{-1}): 3445, 1771, 1743, 1615, 1450, 1303, 1163, 874, 689; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.15-1.22 (m, 2H, cyclopropyl), 1.29-1.38 (m, 2H, cyclopropyl), 2.67-2.80 (m, 4H, piperazine), 2.89 (s, 2H, CH_2), 3.30-3.40 (m, 4H, piperazine), 3.80-3.90 (m, 1H, cyclopropyl), 7.59 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H-8), 7.68 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H-4'), 7.91 (d, 1H, $J = 13.2$ Hz, H-5), 8.05 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H-6'), 8.67 (s, 1H, H-2).
4c	1-Cyclopropyl-7-[4-[2-(5,7-dibromo-2,3-dioxo-2,3-dihydro-indol-1-yl)-ethyl]-piperazin-1-yl]-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-quinoline-3-carboxylic acid	Yield: 23 %; mp: 170-172 °C; IR (KBr, cm^{-1}): 3471, 1742, 1604, 1448, 1127, 706, 615; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.17-1.23 (m, 2H cyclopropyl), 1.28-1.37 (m, 2H cyclopropyl), 3.48-3.57 (m, 4H, piperazine), 3.66 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, CH_2), 3.75 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, CH_2), 3.79-3.88 (m, 1H, cyclopropyl), 7.60 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H-8), 7.70 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz, H-4'), 7.85 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz, H-6'), 7.96 (d, 1H, $J = 13.2$ Hz, H-5), 8.69 (s, 1H, H-2).

شده‌اند (۹-۶). اخیراً تعدادی از کینولون‌ها (NSPQ)، تصویر شماره ۳) که دارای استخلاف‌های ۲- (۵- کلروتیوفن-۲- (۲- ایل) یا ۲- اکسواتیل یا ۲- (۵- کلروتیوفن-۲- ایل) یا ۲- اکسواتیل یا ۲- (۵- کلروتیوفن-۲- ایل) یا ۲- اکسی ایمینواتیل روی حلقه پیرازین ناحیه ۷ سیروفلوکساسین، نورفلوکساسین و انوکساسین بوده‌اند توسط گروه تحقیقاتی مطالعه حاضر سنتز گردیده‌اند و اثرات سیتوتوکسیک آن‌ها روی رده‌های سلول‌های سرطانی به اثبات رسیده است (۱۵). ترکیبات یادشده در واقع آنالوگ *N*- (۲- آریل-۲- اکسی ایمینواتیل) پیرازینیل کینولون‌ها بودند که خود این ترکیبات هم اثر مهاری قابل ملاحظه‌ای بر رشد رده‌های سلولی سرطانی کلیه (ACHN)، پستان (MCF-7) و سلول‌های رنگدانه پوست (SKMEL-3) در مقایسه با داروی اتوپوزاید از خود نشان داده‌اند (۱۳).

همان‌گونه که اشاره گردید شباهت‌های مکانیسمی و ساختاری توپوایزومراز نوع II پروکاریوتی و یوکاریوتی باعث شده تا تلاش‌های زیادی برای سوق دادن اثرات ضدباکتریایی کینولون‌ها به سمت اثرات ضدتوموری صورت گیرد. بیش تر کینولون‌های فوق‌الذکر با پتانسیل ضدسرطانی فقط از طریق اثر روی آنزیم‌های نوع II

یوکاریوتی باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شوند. اما به نظر می‌رسد می‌توان ضمن سوئیچ کردن اثرات کینولون‌ها از ضدباکتری به ضدسرطان، مکانیسم دیگری را نیز به این ترکیبات ضمیمه نمود تا بتوانند به صورت دوگانه عمل نمایند. یکی از استراتژی‌های مهم در دستیابی به داروهای جدید، طراحی آنالوگ‌های کونژوگه می‌باشد تا مولکول بتواند از طریق دو فارماکوفور متفاوت و متمایز خود، با دو مکانیسم مختلف عمل کند. در این صورت احتمال گسترش مقاومت نیز کاهش خواهد یافت (۱۶). لذا در این مطالعه، ۵ و ۷- دی برموایزاتین که یک ترکیب سیتوتوکسیک بسیار قوی روی برخی رده سلولی است (۱۰) از طریق پل متیلنی و یا اتیلنی به بخش پیرازینی مولکول سیروفلوکساسین متصل گردید. استخلاف روی پیرازین در مولکول سیروفلوکساسین می‌تواند طیف اثر آن را تغییر دهد و بخش ایزاتینی هم ممکن است مکانیسم تازه‌ای از جمله مهارکنندگی توپولین را به آنالوگ‌های کونژوگه جدید (ترکیبات 4b و 4c) ببخشد. ضمن این که ترکیب 4b که یک ترکیب *N*-Mannich base است، ممکن است در شرایط *in vivo* شکسته شود و دو مولکول اصلی را آزاد نماید اما مشتق اتیلنی یعنی 4c در شرایط یاد شده پایدارتر به



تصویر شماره ۳: برخی از کینولون‌های گزارش شده با اثر سیتوتوکسیک

ضدسرطان مورد بررسی قرار گیرند.

سیاسگزاری

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران جهت حمایت مالی صمیمانه سپاس گزاری می شود. ضمناً این مقاله حاصل از طرح تحقیقاتی شماره ۸۳-۹۲ و پایان نامه آقای میلاد رئیسی دانشجوی دکترای داروسازی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران بوده است.

نظر می رسد و ساختار خود را بهتر حفظ می نماید. در هر حال روشن شدن این موضوع مستلزم انجام آزمایشات *in vivo* و *in vitro* و تست های پایداری می باشد.

در این مطالعه ترکیبات کنژوگه جدیدی از سیپروفلوکساسین و مشتقات ایزاتین تهیه شدند که در آن دو بخش ساختاری با واسطه پل یک یا دو کربنه به هم اتصال یافته اند. در واقع این ترکیبات دارای دو نوع فارماکوفور برای اثر روی توپوایزومراز و سیستم توپولین هستند و به صورت بالقوه می توانند به عنوان ترکیبات

References

1. Chen T, Sun Y, Ji P, Kopetz S, Zhang W. Topoisomerase II α in chromosome instability and personalized cancer therapy. *Oncogene* 2015; 34(31): 4019-4031.
2. Chen W, Qiu J, Shen YM. Topoisomerase II α , rather than II β , is a promising target in development of anti-cancer drugs. *Drug Discov Ther* 2012; 6(5): 230-237.
3. Chikamori K, Grozav AG, Kozuki T, Grabowski D, Ganapathi R, Ganapathi MK. DNA topoisomerase II enzymes as molecular targets for cancer chemotherapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10(7): 758-771.
4. Pommier Y, Leo E, Zhang H, Marchand C. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chem Biol* 2010; 17(5): 421-433.
5. Hooper DC. Clinical applications of quinolones. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1400(1-3): 45-61.
6. Chu DT, Hallas R, Tanaka SK, Alder J, Balli D, Plattner JJ. Synthesis and antitumor activities of tetracyclic quinolone antineoplastic agents. *Drugs Exp Clin Res* 1994; 20(5): 177-183.
7. Permana PA, Snapka RM, Shen LL, Chu DTW, Clement JJ, Plattner JJ. Quinobenoxazines: a class of novel antitumor quinolones and potent mammalian DNA topoisomerase II catalytic inhibitors. *Biochemistry* 1994; 33(37): 11333-11339.
8. Robinson MJ, Martin BA, Gootz TD, Mcguirk PR, Osheroff N. Effects of novel fluoroquinolones on the catalytic activities of eukaryotic topoisomerase II: Influence of the C-8 fluorine group. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 36(4): 751-756.
9. Wentland MP, Leshner GY, Reuman M, Gruett MD, Singh B, Aldous SC, et al. Mammalian topoisomerase II inhibitory activity of 1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-7-(2,6-dimethyl-4-pyridinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid and related derivatives. *J Med Chem* 1993; 36(19): 2801-2809.
10. Matesic L, Locke JM, Vine KL, Ranson M, Bremner JB, Skropeta D. Synthesis and hydrolytic evaluation of acid-labile imine-linked cytotoxic isatin model systems. *Bioorg Med Chem* 2011; 19(5): 1771-1778.
11. Emami S, Shafiee A, Foroumadi A. Quinolones: Recent Structural and Clinical Developments. *IJPR* 2005; 4(3): 123-136.
12. 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(6): 375-386.
13. Rajabalian S, Foroumadi A, Shafiee A, Emami S. Functionalized *N* (2-oxyiminoethyl) piperazinyl quinolones as new cytotoxic agents. *J Pharm Pharm Sci* 2007; 10(2): 153-158.
14. Emami S, Dadashpour S. Current developments of coumarin-based anti-cancer agents in medicinal chemistry. *Eur J Med Chem* 2015; 102: 611-630.
15. Foroumadi A, Emami S, Rajabalian S, Badinloo M, Mohammadhosseini N, Shafiee A. *N*-Substituted piperazinyl quinolones as potential cytotoxic agents: Structure–activity relationships study. *Biomed Pharmacother* 2009; 63(3): 216-220.
16. Kamal A, Kashi Reddy M, Viswanath A. The design and development of imidazothiazole-chalcone derivatives as potential anticancer drugs. *Expert Opin Drug Discov* 2013; 8(3): 289-304.