● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ نهم، شمارهٔ ۱، ص ۳۷-۳۲، ۱۳۸۱

مقالهٔ پژوهشی

بررسی اثرات ضد میکروبی مشتقات جدیدی از پیپرازینیل کینولون‌ها با استخلاف ۱ و ۳ و ۴ - تیادی آزول

دکتر محمدحسن مصحفی[۱]، دکتر علیرضا فرومدی[۱]، دکتر مجید رجائی[۲]

خلاصه

کینولون‌ها داروهای ضد میکروبی وسیع‌الطیفی هستند که کاربرد زیادی داشته و مصرف آنها به طور چشمگیری در حال گسترش می‌باشد. مکانیسم اثر این داروها از طریق مهار آنزیم DNA - ژیراز می‌باشد. مهار این آنزیم و طیف اثر کینولون‌ها تا حدود زیادی وابسته به استخلاف کربن شماره ۷ کینولون‌ها می‌باشد. موقعیت کربن شماره ۷، یکی از موقعیت‌هایی است که می‌توان استخلاف‌های حجیم را در آن قرار داد. از سوی دیگر، مشتقات بنزیل تیو و بنزیل سولفونیل ۱ و ۳ و ۴ - تیادی‌آزول دارای اثر ضد میکروبی می‌باشند. بر این اساس، اثرات ضدمیکروبی تعدادی از مشتقات جدید کینولون‌ها که دارای استخلاف حجیم بنزیل تیو و بنزیل سولفونیل ۱ و ۳ و ۴ ـ تیادی آزول در موقعیت ۷ کینولون‌ها بودند، بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی استاندارد به روش رقیق سازی در محیط جامد مورد ارزیابی قرار گرفتند. از سیپروفلوکساسین به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید و نتایج به صورت حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر گزارش گردید. نتایج نشان می‌دهد که به طور کلی ترکیبات مورد آزمایش دارای اثرات ضد میکروبی بسیار قوی‌تری از سیپروفلوکساسین بر باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمایش (استافیلوکوکوس آرئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باسیلوس سابتیلیس) بوده ولی اثر آنها بر باکتری‌های گرم منفی آزمایش شده (اشرشیا کولی، انتروباکترآئروژنز و کلبسیلا پنومونیه) به مراتب کمتر از کینولون شاهد می‌باشد، به طوری که در برخی موارد اثرات انتخابی بر باکتری‌های گرم مثبت بوجود آمده است. ضمناً به نظر می‌رسد که مشتقات بنزیل تیو ۱ و ۳ و ۴ ـ تیادی‌آزول متصل شده به پیپرازین در موقعیت ۷ کینولون‌ها دارای اثرات ضد میکروبی قوی‌تری نسبت به مشتقات بنزیل سولفونیل ۱ و ۳ و ۴ ـ تیادی‌آزول بوده و تغییر استخلاف حلقه فنیل نیز تأثیر زیادی در اثرات ضد میکروبی این مشتقات ندارد.

واژه‌های کلیدی: کینولون‌ها، اثرات ضد میکروبی، ۱ و ۳ و ۴- تیادی‌آزول

۱ـ استادیار دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۲ـ دکتر داروساز

مقدمه

ترکیبات شیمیایی برای درمان بیماری‌ها از قرن هیجدهم به بعد مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ارلیش پایه گذار دانش شیمی درمانی، اصول سمیت انتخابی را به این معنی عنوان نمود که یک داروی ضد میکروبی بایستی حداقل عوارض و سمیت را برای میزبان داشته باشد. از آنجا که ابتلاء به بیماری‌های عفونی در جهان و به خصوص درکشورهای در حال توسعه یکی از مسایل و مشکلات دنیای پزشکی است و مقاومت نسبت به عوامل ضد میکروبی مرتباً رو به افزایش است، بایستی ضمن رعایت اصول صحیح مصرف در پی کشف و سنتز داروهای جدید با حداقل عوارض جانبی بود. کینولون‌ها یکی از این دسته داروها هستند که مشمول این سیر تکاملی شده‌اند. این دسته دارویی جزو آنالوگ‌های اسید نالیدیکسیک هستند که در دهه ۱۹۶۰ مورد توجه قرار گرفته‌اند. کشف اسید نالیدیکسیک توسط لیستر و همکارانش طی سنتز کلروکین صورت گرفت. لذا محصول جانبی تحقیق در مورد داروهای ضد مالاریا به شمار می‌آید (۱۰).

اسید نالیدیکسیک بر روی بسیاری از باکتری‌های گرم منفی مؤثر است. این دارو در درمان عفونت‌های مجاری ادراری مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). داروهای قدیمی این گروه به علت کاربرد درمانی محدود و توسعه سریع مقاومت باکتریایی از اهمیت کمی برخوردار می‌باشند (۱۱). تغییر در ساختمان اسید نالیدیکسیک منجر به کشف عوامل ضد میکروبی با عنوان فلوروکینولون‌ها گردید که با گذشت زمان جایگاه ویژه‌ای در شیمی درمانی مدرن علیه باکتری‌ها کسب کرده‌اند (۱۱). کینولون‌ها اثر باکتریسیدی خود را به وسیله مهار آنزیم DNA - ژیراز باکتری اعمال می‌کنند. تحقیقات قبلی مبین این نکته است که این عمل و همچنین نفوذ آنها به داخل سلول به میزان زیادی به طبیعت استخلاف در C7 بستگی دارد. به علاوه، تنها موقعیتی از ملکول که می‌تواند استخلاف حجیم را تحمل نماید، موقعیت ۷ می‌باشد (۱۱). اضافه شدن پیپرازین در موقعیت ۷ و فلوئور در موقعیت ۶ منجر به ایجاد عوامل ضد میکروبی شد که فلوروکینولون‌ها (نسل دوم) نام گرفتند و شامل نورفلوکساسین، سیپروفلوکساسین ، افلوکساسین و غیره می‌باشند که در مقایسه با ترکیبات نسل اول از جهات طیف اثر، فعالیت ضد میکروبی و خواص فارماکوکینتیک مناسب‌تر می‌باشند (۳).

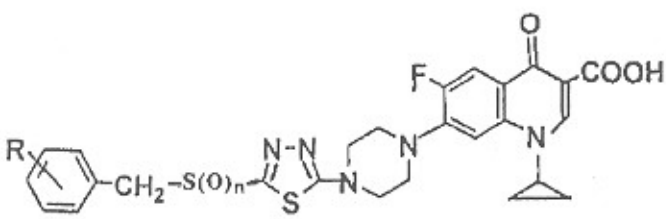
جدیدترین گروه کینولون‌ها (نسل سوم) شامل ترکیباتی هستند که در ساختمان آنها چند اتم فلوئور وجود دارد، مانند لومفلوکساسین، فلروکساسین، تمافلوکساسین. اغلب این ترکیبات یا هنوز در مرحله توسعه بالینی قرار دارند یا اخیراً تنها در چند کشور به وارد بازار شده‌اند (۸). از طرف دیگر، برخی از ترکیبات که حاوی حلقه ۱ و ۳ و ۴ - تیادی آزول با استخلاف بنزیل مرکاپتو یا بنزیل سولفونیل در ساختمان خود هستند، دارای اثر ضد باکتری قوی می‌باشند. فلوروکینولون‌ها ذاتاً طیف ضد میکروبی وسیعی دارند. بیشترین فعالیت ضد میکروبی فلوروکینولون‌ها روی باکتری‌های گرم منفی هوازی - بی‌هوازی اختیاری و در درجه دوم روی کوکسی‌های گرم مثبت است (۱۲). همچنین از اولین داروهای خوراکی هستند که روی عفونت‌های ناشی از پسودوموناآئروژینوزا مؤثرند (۱۲). کینولون‌ها به علت مکانیسم منحصر به فرد و متفاوت با سایر داروها نظیر آمینوگلیکوزیدها و بتالاکتام در شرایطی که مقاومت دارویی ایجاد شده باشد، قابل مصرف می‌باشند (۱۳). مقاومت میکروبی ایجاد شده در برابر کینولون‌ها به علت موتاسیون بر روی کروموزوم باکتریایی است و مقاومت وابسته به پلاسمید در برابر کینولون‌ها هنوز گزارش نشده است (۱۴). جذب خوراکی این دسته دارویی خوب و نسبتاً سریع است و فراهمی زیستی (bioavailability) مناسبی می‌دهد. این دسته دارویی در موارد عفونت‌های دستگاه ادراری و تناسلی، گوارشی، اوتیت، استئومیلیت، ذات‌الریه، عفونت‌های پوست و نسج نرم و غیره کاربرد دارند (۲).

در این تحقیق جهت بررسی اثرات ضد میکروبی یک سری از مشتقات N - (۵ - بنزیل مرکاپتو و بنزیل سولفونیل ۱ و ۳ و ۴ تیادی آزول - ۲ - ایل) پیپرازینیل کینولون‌ها که در آزمایشگاه شیمی دارویی مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان سنتز شدند، مورد آزمایش قرار گرفتند (۱).

مواد و روش کار

ترکیبات مورد آزمایش در این تحقیق مشتقات جدیدی از N-پیپرازینیل کینولون‌ها با استخلاف ۱و۳و۴ - تیادی آزول بودند. فرمول شیمیایی این ترکیبات در شکل ۱ و مشخصات فیزیکی آنها در جدول ۱ ذکر شده‌اند . محیط‌های کشت مورد استفاده عبارت بودند از: soybean casein digest agar (SCDA) و soybean casein digest broth (SCDB)، تیوگلیکولات و مولر هینتون آگار (ساخت کارخانه مرک). فعالیت ضد میکروبی ترکیبات سنتز شده مورد اشاره با روش رقیق سازی در محیط جامد (agar dilution method) مورد بررسی قرار گرفت (۹). محیط تیوگلیکولات جهت انتقال میکروب‌ها از حالت لیوفیلیزه (تهیه شده از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران) به محیط کشت SCDA بکار رفت. محیط SCDA برای

فعال کردن میکروب‌ها و نگهداری آنهاو محیط SCDB جهت فعال کردن سوش‌های میکروبی قبل از انجام آزمایش استفاده شد. محیط کشت مولر هینتون آگار جهت سنجش اثرات ضد میکروبی مواد مورد آزمایش استفاده شد. کلیه لوازم شیشه‌ای با استفاده از آون و محیط‌های کشت، سرم فیزیولوژی و سرپیچ‌های لاستیکی در اتوکلاو استریل شدند. تمام مراحل آزمایش زیر لامینرایرفلو جهت رعایت شرایط استریلیتی انجام شد. برای تهیه رقت‌های مختلف ترکیبات سنتز شده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان حلال و از آب مقطر برای بدست آوردن رقت‌های نهایی استفاده شد. همچنین از DMSO و آب مقطر با رقت مشابه به عنوان شاهد منفی و از نمونه‌های حاوی سیپروفلوکساسین به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. بدین صورت که ۱۲/۸ میلی گرم از هر یک از نمونه‌های مورد آزمایش به طور جداگانه در بالون ژوژه ۱۰ میلی لیتری ریخته و با DMSO به حجم رسانده شد. بر این اساس، یک محلول ذخیره با غلظت ۱۲۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. سپس با رقیق‌سازی متوالی رقت‌های بعدی تهیه گردیدند. سپس رقت‌های تهیه شده از ترکیبات سنتز شده و همچنین شاهدهای مثبت و منفی به طور جداگانه با محیط کشت مذاب مولر هینتون آگار مخلوط شده و در پلیت یکبار مصرف ریخته شدند. پلیت ها پس از سرد شدن در یخچال نگهداری شدند. میکروب‌های مورد استفاده از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید که در جدول ۲ آمده است. این میکروب‌ها روی محیط کشت ذخیره (SCDA) به طور جداگانه کشت داده شدند چند کولونی از کشت تازه باکتری مورد نظر به وسیله لوپ به محیط کشت SCDB منتقل شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵-۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. برای تهیه اینوکولوم (inoculum) استاندارد، محیط کشت میکروبی (SCDB) تارسیدن به کدورت ۰/۵ مک فارلند رقیق شد. سپس به نسبت ۱:۲۰۰ به وسیله سرم فیزیولوژی رقیق شد. تعداد میکروارگانیسم‌ها حدود 5×10^{6} cfu بود. سپس سریعاً با استفاده از میکروپیپت ۲ میکرولیتر اینوکولوم تهیه شده به سطح محیط کشت‌های جامد حاوی ترکیبات سنتز شده و شاهدهای مثبت و منفی منتقل گردید. پلیت‌ها در گرمخانه ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰-۱۶ ساعت قرار گرفتند. بعد از طی این مدت هر یک از پلیت‌ها از لحاظ رشد یا عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد نظر بررسی شدند. کمترین غلظتی از ماده ضدمیکروبی که مانع رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت شده بود، به عنوان کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) در نظر گرفته شد. آزمایشات انجام شده ۳ بار تکرار شدند.



شکل ۱: *فرمول شیمیایی ترکیبات مورد آزمایش*

جدول ۱: *فرمول شیمیایی و مشخصات فیزیکی ترکیبات مورد آزمایش*

مشخصات فیزیکی / شماره ترکیب	R	n	فرمول بسته مولکولی	وزن مولکولی	نقطه ذوب
۱	4-NO_2	۰	$C_{26}H_{23}FN_6O_5S_2$	۵۸۲	۱۲۲-۱۲۳
۲	2-NO_2	۰	$C_{26}H_{23}FN_6O_5S_2$	۵۸۲	۱۸۹-۱۹۰
۳	2-Cl-6-F	۰	$C_{26}H_{22}ClF_2N_5O_3S_2$	۵۸۹/۵	۱۵۳-۱۵۴
۴	2,4-di-Cl	۰	$C_{26}H_{22}Cl_2FN_5O_3S_2$	۶۰۶	۳۱۰-۳۱۱
۵	2,5-diMe	۰	$C_{28}H_{28}FN_5O_3S_2$	۵۶۵	۱۳۰-۱۳۱
۶	H	۲	$C_{26}H_{24}FN_5O_5S_2$	۵۶۹	۳۰۵-۳۰۶
۷	4-NO_2	۲	$C_{26}H_{23}FN_6O_7S_2$	۶۱۴	۲۸۰-۲۸۱

جدول ۲: حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC-μg/ml) ترکیبات سنتز شده در مقایسه با کینولون اصلی

میکروب / شماره ترکیب	B.s	St.a	St.ep	E.a	Ecoli	K.p
۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۴	۳۲	۸
۲	۰/۰۰۱	۰/۰۶	۰/۰۰۲	۲	۲	۸
۳	۰/۰۰۸	۰ ۰۲	۰/۰۰۱	۸	۶۴	۳۲
۴	۰/۰۳	۱۵	۰/۰۰۴	۴	۶۴	۱۶
۵	۰/۰۱۵	۰/۰۱۵	۰/۰۰۱	۲	۴	۲
۶	۰/۰۰۸	۱	۰/۰۶	۲	۲	۸
۷	۰/۰۰۴	۰/۵	۰/۰۳	۳۲	>۶۴	۳۲
سیپروفلوکساسین	۰/۱۳	۰/۵	۰/۵	۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۶

		PTCC NO
باسیلوس سابتیلیس	B.s	۱۰۲۳
استافیلوکوکوس آرئوس	St.a	۱۱۱۲
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	St.ep	۱۱۱۴
آنتروباکتر آئروژنز	E.a	۱۲۲۱
اشرشیاکولی	E.coli	۱۳۳۰
کلبسیلا پنومونیه	K.p	۱۰۵۳

نتایج

نتایج مربوط به حداقل غلظت ممانعت کننده ترکیبات نهایی سنتز شده بر روی میکروب‌های مورد اشاره در جدول ۲ آورده شده است. بر اساس این جدول، ترکیب شماره ۳ بیشترین اثر ممانعت کننده از رشد را روی میکروب‌ها ی گرم مثبت داشت که در مقایسه با سیپروفلوکساسین از قدرت به مراتب بالاتری برخوردار بود. به طور کلی ترکیبات سنتز شده اثرات ممانعت کنندگی بسیار بیشتری نسبت به سیپروفلوکساسین بر روی باکتری‌های گرم مثبت داشته‌اند، ولی بر روی باکتری‌های گرم منفی فعالیت قابل توجهی نداشته‌اند.

بحث

فعالیت ضد میکروبی قوی و تاثیر قابل توجه در غلظت‌های پایین، طیف ضد میکروبی وسیع، سمیت ناچیز و پارامترهای فارماکوکینتیکی مطلوب از امتیازات مهم فلوروکینولون‌ها به شمار می‌رود (۷). ولی این بدین معنی نیست که تلاش در جهت کشف کینولون‌های جدید بایستی متوقف شود، چرا که ترکیبات موجود هر چند اثر خوبی روی باکتری‌های گرم مثبت دارند، اما فعالیت ناچیزی بر روی فعالیت باکتری‌های گرم منفی دارند. نشان داده شده است که موقعیت شماره ۷ کینولون‌ها محل تداخل این داروها با آنزیم توپوایزومراز II و DNA - ژیراز باکتری می‌باشد و قدرت ضد میکروبی و طیف فعالیت این ترکیبات به میزان قابل توجهی به این ناحیه و استخلاف موجود در آن بستگی دارد و این ناحیه تنها موقعیتی از مولکول است که می‌تواند استخلاف حجیم داشته باشد. این استخلاف باعث افزایش حلالیت دارو در چربی گشته و در برخی خواص فیزیکوشیمیایی و فارماکوکینتیک، اثرات مطلوبی را ایجاد می‌نماید (۴،۷). به دلیل پیدایش مقاومت‌های دارویی تحقیقات زیادی جهت سنتز کینولون‌های جدید با اثرات قوی و عوارض جانبی کمتر صورت گرفته است. طی این تحقیقات، مشتقات جدیدی از N-پیپرازینیل کینولون‌ها سنتز شده و اثرات ضد میکروبی آنها بررسی گردیده‌اند (۵،۶). با توجه به اثرات بیولوژیک مشاهده شده در مشتقات ۱ و ۳ و ۴ - تیادی‌آزول که دارای ریشه مرکاپتو یا سولفونیل در ساختمان خود می‌باشند، اقدام به تلفیق ساختمان تیادی آزول با کینولون‌ها گردید و یکسری از مشتقات سیپروفلوکساسین که دارای حلقه ۱ و ۳ و ۴ - تیادی‌آزول با استخلاف بنزیل مرکاپتو و بنزیل سولفونیل در ناحیه ۷ می‌باشند، با پیش بینی افزایش خاصیت ضد باکتریایی مورد ارزیابی اثرات ضد میکروبی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده مبین صحت این پیش بینی است. البته، عواملی از قبیل pH محیط کشت، اجزای

محیط کشت، ثبات دارو در دمای انکوباتور، میزان باکتری تلقیح شده به محیط کشت و طول مدت انکوباسیون این نتایج را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اکسید شدن گوگرد و تبدیل آن به گروه سولفونیل (SO2)باعث کاهش شدید اثر ترکیب روی باکتری‌های گرم منفی و کاهش قابل ملاحظه اثر روی باکتری‌های گرم مثبت خواهد شد (جدول ۱ و ۲).

وجود استخلافاتی از قبیل ۲ -کلرو، ۶ - فلوئورو، ۲و۴ - دی کلرو و یا ۲ و ۵ - دی‌متیل بر روی حلقه بنزن باعث افزایش اثر نسبی ترکیب به کینولون اصلی شد (جدول ۱و۲). وجود استخلاف نیترو (NO2) بر روی حلقه بنزن باعث افزایش چشمگیر فوق‌العاده بر روی باکتری‌های گرم مثبت شد (جدول ۱ و ۲). در مجموع، ترکیبات مورد آزمایش اثرات ممانعت کنندگی بسیار بیشتری نسبت به سیپروفلوکساسین بر روی باکتری‌های گرم مثبت نشان دادند، ولی بر روی باکتری‌های گرم منفی فعالیت قابل توجهی نداشتند.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان به خاطر حمایت‌های مالی این پژوهش در قالب طرح پژوهشی قدردانی می‌گردد.

Summary

Evaluation of Antibacterial Activity of New N-piperazinyl Quinolone Derivatives with 1,3,4- Thiadiazole Group

MH. Moshafi, PhD[1]., AR. Foroumadi, PhD[1]. and M. Rajaei, Pharm.D[2].

1. Assistant Professor of Pharmacy School, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran,

2. Pharmacist

Quinolones are broad-spectrum antibacterial agents. They have many clinical uses which are increasing. Quinolones exert antibacterial activity primarily by inhibiting bacterial DNA gyrase. The inhibition of DNA gyrase by the quinolones are greatly influenced by the nature of the C-7 substituent on the quinolones molecule. Substitution of bulky functional groups is also possible in C-7 position. Furthermore, benzylthio and benzylsulfonyl-1,3,4- thiadiazole derivatives have antibacterial activity. Accordingly, a series of N-piperazinyl at C-7 position of standard quinolones structure were evaluated for their antibacterial activity against gram positive and gram negative bacteria using serial dilution test in solid media. The minimum inhibitory concentration (MIC) for each derivative was recorded as microgram per milliliter and comparied with ciprofloxacin as standard drug. The results showed that antibacterial activity of these compounds were higher than ciprofloxacin against tested gram positive bacteria (S.aureus, S.epidermidis, B.subtillis), though the potency against tested gram-negative bacteria (E.coli, E.aeruginosa, K.pneumoniae) was significantly less than that of quinolones as control drugs. In some cases there are selective activities against gram-positive bacteria. Meanwhile compounds that have benzylthio -1,3,4- thiadiazole attached to the piperazine group at C-7 position of the quinolone molecule had a stronger antibacterial activity as compaired with that of benzylsulfonyl 1,3,4- thiadiazole. Furthermore, changing the substitution on the phenyl ring had no significant difference in the spectrum of antibacterial activity.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2002; 9(1): 32-37

Key Words: *Quinolones, Antibacterial activity, 1,3,4- Thiadiazole*

منابع

۰۱ فرومدی، علیرضا، مصحفی، محمدحسن و رجایی، مجید: سنتز و بررسی اثرات ضد میکروبی مشتقات جدیدی از N- پیپرازینیل کینولون‌ها با استخلاف ۳،۱و ۴-تیادی آزول. طرح تحقیقاتی پایان یافته شماره ۳۹۱ معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، بخش تجربی.

2. Andriole VT: Quinolones. In: Mandell GL, Douglas RG and Bennett JE (Eds). Principle and practice of infections disease. 3rd ed., New York, Churchill Livingstone, Inc., 1990; PP334-345.
3. Cooper CS, Klock PL, Chu DT, Hardy DJ, Swanson RN and Plattner JJ. Preparation and *in vitro* and *in vivo* evaluation of quinolones with selective activity against gram-positive organisms. *J Med Chem* 1992; 35(8): 1392-8.
4. Domagala JM, Hanna LD, Heifetz CL *et al.* New structure-activity relationships of the quinolone antibacterials using the target enzyme. The development and application of a DNA gyrase assay. *J Med Chem* 1986; 29(3): 394-404.
5. Foroumadi A, Davood A, Mirzaei M, Emami S and Moshafi MH. Synthesis and Antibacterial activity of some novel N-substituted piperazinyl- quinolones. *Boll Chim Farm* 2001; 140(6): 411-416
6. Foroumadi A, Emami S, Haghighat P and Mshafi MH. Synthesis and *In vitro* Antibacterial activity of new N-Substituted piperazinyl quinolones. *Pharm Pharmacol Commun* 1999; 5: 591-594
7. Hooper DC. Mechanisms of action of antimicrobials : Focus on fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 2001; 32(suppl 1): S9-S15.
8. Janknegt R and Hekster YA: Developments in quinolones. Bacteriology, Pharmacokinetics and initial clinical experience of several investigational guinolone derivatives. *Pharm Weekbl Sci* 1989; 11(2): 33-43.
9. Kondo H, Sakamoto F, Kodera Y and Tsukamoto G. Studies on prodrugs. 5. Synthesis and antimicrobial activity of N-(-Oxoalkyl) norfloxacin derivatives. *J Med Chem* 1986; 29(10): 2020-2024.
10. Lesher GY, Fredrich EJ, Greott MD, Bailey JH and Brundach PR. 1,8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J Med Chem* 1962; 5: 1063-1068.
11. Mandell GL: The quinolones. In Hardman JG, Limibird LE, Molinoff PB and Ruddon RW (Eds), Goodman and Gilmans the Pharmacological Basis of therapeutics. 8th ed. New Yourk, Pergamon Press Inc, 1990; PP1057-1068.
12. Siporin C. The evulution of fluorinated quinolones: Pharmacology, microbiological activity, clinical uses and toxicites. *Annu Rev Microbbiol* 1989; 43: 601-627.
13. Sanders CC, Sanders WEJr, Goering RV and Werner V. Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones, B-lactamas, and aminoglycosides with special referance to cross-resistance between unrelated drug-classes. *Antimicrob Agents chemother* 1984; 26(6): 797-801.
14. Smith JT. Mutational resistance to 4-quinolone antibacterial agents. *Eur J Clin Microbiol* 1984; 3(4): 347-50.