



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی اثر سمیت سلولی مشتقات جدید سارافلوکساسین بر روی رده

سلولی ۳T۳

توسط:

فاطمه عباسلو

اساتید راهنما:

دکتر محمدحسن مصحفی

دکتر حمید فروتن فر



Kerman University of Medical Sciences
Faculty of Pharmacy

Pharm. D Thesis

Title:

**Cytotoxicity evaluation of new derivatives of sarafloxacin against
3T3 cell line**

By:

Fatemeh Abbaslu

Supervisors:

Dr. Mohammad Hasan Moshafi

Dr. Hamid Forootanfar

Autumn 2020

Thesis No: 1211

اظهارنامه و حق انتشار

اینجانب فاطمه عباسلو متعهد می‌شوم موارد مذکور در این پایان‌نامه حاصل فعالیت‌های پژوهشی خود بوده و مسئولیت صحت داده‌ها و اطلاعات گزارش شده در این پایان‌نامه را به عهده می‌گیرم. تمامی حقوق مادی و معنوی این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان بوده و هرگونه استفاده تنها با کسب اجازه ممکن خواهد بود. استناد به مطالب و نتایج این پایان‌نامه در صورتی که به نحو مناسبی ارجاع داده شود بلامانع است.

امضا دانشجو: *فاطمه عباسلو*

تاریخ: ۹۹/۷/۷

PharmD Thesis کرمان
دانشگاه داروسازی

خلاصه

مقدمه: از مشکلات نگران‌کننده در رابطه با آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت میکروارگانیسم‌ها به آن‌هاست؛ بنابراین به علت افزایش روزافزون مقاومت میکروبی، نیاز به تولید ترکیبات جدید با خاصیت ضد میکروبی وسیع برای کنترل و کاهش این مشکل بیش از پیش احساس می‌شود. با اصلاح ساختارهای شیمیایی و ساختن مشتقات دارویی از داروهای موجود می‌توان به طیف جدیدی از خواص دست یافت. کینولون‌ها دسته‌ای از داروهای ضد میکروبی وسیع‌الطیف صناعی هستند که به علت خواص متعددی که به عنوان یک آنتی‌باکتریال ایده‌آل دارند تا به امروز مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. سارافلوکساسین که یکی از داروهای این دسته می‌باشد مورد توجه محققان قرار گرفته است. از آنجایی که تکوین داروهای جدید، نیازمند مطالعات پیش‌بالینی می‌باشد، در این مطالعه سمیت سلولی احتمالی ترکیبات دارویی مشتق شده از سارافلوکساسین با استفاده از آزمون بررسی سمیت MTT بر روی سلول‌های نرمال NIH/3T3 بررسی گردید.

روش‌ها: غلظت‌های مختلف از ۸ ترکیب مشتق شده از سارافلوکساسین در محیط کشت RPMI تهیه گردید. سپس سمیت سلولی آن‌ها در مواجهه با سلول‌های نرمال NIH/3T3 بر اساس روش MTT Assay مورد بررسی قرار گرفت. همچنین نتایج بدست آمده با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ طبق آزمون آماری t -test مستقل بررسی گردید.

نتایج: نتایج حاصل از بررسی ۸ ترکیب مشتق شده از سارافلوکساسین نشان می‌دهد که درصد زنده‌مانی سلول‌های نرمال NIH/3T3 که در معرض مشتقات سارافلوکساسین قرار گرفته‌اند، در هیچ‌یک از غلظت‌های بررسی شده به زیر ۷۰ درصد نرسیده است. همچنین در بررسی نتایج با

نرم افزار SPSS نشان داده شد که تفاوت معنی داری بین درصد زندهمانی سلولها در غلظت های

مختلف ترکیبات با درصد زندهمانی سلول های کنترل وجود ندارد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت که این ۸ ترکیب دارویی مشتق شده از

سارافلوکساسین در مقیاس سلولی دارای سمیت نمی باشند.

کلمات کلیدی: فلوروکینولون، سمیت سلولی، سارافلوکساسین، آزمایش MTT، سلول NIH/3T3.

Abstract

Introduction: Today, one of the alarming issues in medicine is the incidence of antibiotic resistance in microorganisms. Accordingly, the need to formulate new compounds with extensive antimicrobial properties to control and subdue this issue is anticipated keenly due to the ever-increasing microbial resistance. A new range of properties can be obtained by modifying the chemical structures and producing pharmaceutical derivatives of existing drugs. In parallel with this end, quinolones are a category of synthetic broad-spectrum antimicrobials that have been regarded by researchers to date given their numerous properties establishing them as an ideal antibacterial. Sarafloxacin, which is one of the drugs pertaining to this category, has been regarded by researchers likewise. In this study, the potential cytotoxicity of sarafloxacin-derived drug compounds was investigated by MTT assay method on normal NIH/3T3 cells, given that the development of new drugs requires preclinical studies.

Methods: First, varying concentrations of sarafloxacin-derived drug compounds were prepared in the RPMI medium, and then, their cytotoxicity in the presence of normal NIH/3T3 cells was estimated by the MTT assay method. Data was analysed by using independent sample *t*-test, by means of SPSS statistics for windows, version 26.0.

Results: The results obtained from the study of eight respective sarafloxacin-derived compounds designate that the survival rate of normal NIH/3T3 cells exposed to sarafloxacin derivatives did not decline below 70% in any of the studied concentrations. Furthermore, the comparison of results with SPSS software confirmed that there is no significant discrepancy between the survival percentage of cells in different compound concentrations and the survival percentage of control cells.

Conclusion: According to the obtained results, it is confirmed that these eight compounds derived from sarafloxacin are not toxic at the cellular scale.

Keywords: Fluoroquinolones, Cytotoxicity Assay, Sarafloxacin, MTT Assay, NIH/3T3 Cells

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I.....	خلاصه
IV.....	Abstract
V.....	فهرست مطالب
VIII.....	فهرست جدول‌ها
IX.....	فهرست شکل‌ها
X.....	فهرست نمودارها

فصل اول: مقدمه

Error! Bookmark not defined.....	۱-۱- پیشگفتار و هدف
Error! Bookmark not defined.....	۲-۱- کینولون‌ها
Error! Bookmark not defined.....	۱-۲-۱- کاربردهای بالینی کینولون‌ها
Error! Bookmark not defined.....	۲-۲-۱- عوارض جانبی کینولون‌ها
Error! Bookmark not defined.....	۳-۲-۱- مکانیسم اثر
Error! Bookmark not defined.....	۴-۲-۱- مکانیسم مقاومت
Error! Bookmark not defined.....	۵-۲-۱- رابطه ساختمان و اثر
Error! Bookmark not defined.....	۶-۲-۱- سارافلوکساسین
Error! Bookmark not defined.....	۳-۱- روش‌های بررسی سمیت مواد دارویی
Error! Bookmark not defined.....	۱-۳-۱- روش‌های <i>In vitro</i>
Error! Bookmark not defined.....	۱-۱-۳-۱- تکنیک MTT assay

۱-۴- رده سلولی نرمال NIH/3T3.....**Error! Bookmark not defined.**

۱-۵- محیط کشت سلولی (RPMI 1640).....**Error! Bookmark not defined.**

فصل دوم: مواد دستگاه‌ها و روش‌ها

۱-۲- مواد و وسایل مصرفی مورد استفاده در مطالعه.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده در مطالعه.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۳- ترکیبات سنتزی مورد استفاده در مطالعه.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴- آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد استفاده.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴-۱- بافر فسفات - سالین (PBS).....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴-۲- تریپسین استریل ۰/۲۵ درصد.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴-۳- تریپان بلو.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴-۴- محلول MTT (۰/۵ درصد).....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴-۵- آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین - استرپتومایسین.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴-۶- سرم جنین گاوی (FBS).....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۴-۷- محیط کشت سلولی (RPMI 1640).....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۵- کشت سلولی.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۵-۱- نحوه دریافت و نگهداری کشت سلولی.....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۵-۱-۱- دیفریز کردن (خارج کردن سلول‌ها از حالت انجماد).....**Error! Bookmark not**

defined.

۲-۵-۱-۲- پاساژ (واکشت سلول‌ها).....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۵-۱-۳- فریز کردن (انجماد سلول‌ها).....**Error! Bookmark not defined.**

۲-۵-۲- شمارش و تعیین درصد سلول‌های زنده در سوسپانسیون (Viability Test) **Error!**

Bookmark not defined.

۶-۲- انجام آزمایش سمیت سلولی MTT..... **Error! Bookmark not defined.**

۱-۶-۲- انکوبه کردن سلول‌ها در چاهک (روز اول آزمون)..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۶-۲- قرارگیری سلول‌ها در معرض ترکیبات (روز دوم)..... **Error! Bookmark not defined.**

۳-۶-۲- افزودن MTT و خواندن جذب (روز سوم)..... **Error! Bookmark not defined.**

۴-۶-۲- محاسبه درصد زنده‌مانی سلول‌ها (Viability%)..... **Error! Bookmark not defined.**

۷-۲- انجام محاسبات و آزمون آماری..... **Error! Bookmark not defined.**

فصل سوم: نتایج

۱-۳- نتایج بررسی زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 برای مشتقات سارافلوکساسین مورد مطالعه

..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۳- مقایسه درصد زنده‌مانی حاصل از مشتقات سارافلوکساسین مورد مطالعه **Error! Bookmark**

not defined.

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۱-۴- بحث و نتیجه‌گیری..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۴- پیشنهادات..... **Error! Bookmark not defined.**

منابع

منابع ۱۱

PharmD Thesis کرمان داروسازی دانشگاه دانشکده

فهرست جدول‌ها

صفحه

عنوان

جدول ۱-۱- شاخص‌های بیولوژیکی متداول قابل اندازه‌گیری با استفاده از روش‌های برون‌تنی

ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

ERROR! جدول ۱-۲- مواد و وسایل مصرفی مورد استفاده و شرکت تولیدکننده آن‌ها

BOOKMARK NOT DEFINED.

ERROR! BOOKMARK NOT جدول ۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده در این مطالعه

DEFINED.

ERROR! جدول ۲-۳- مشتقات ترکیب سارافلوکساسین مورد بررسی در این مطالعه

BOOKMARK NOT DEFINED.

ERROR! جدول ۲-۴- ساختمان شیمیایی مشتقات سارافلوکساسین مورد بررسی در این مطالعه

BOOKMARK NOT DEFINED.

ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED. (PBS) جدول ۲-۵- اجزای بافر فسفات- سالین

ERROR! BOOKMARK NOT (RPMI 1640) جدول ۲-۶- اجزای محیط کشت سلولی

DEFINED.

جدول ۳-۱- میانگین درصد زنده‌مانی حاصل از بررسی سمیت سلولی مشتقات سارافلوکساسین

ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

شکل ۱-۱- ساختار شیمیایی نالیدیکسیک اسید. . **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۲-۱- ساختمان شیمیایی تعدادی از فلوروکینولون‌ها **ERROR! BOOKMARK NOT**

DEFINED.

شکل ۳-۱- مکانیسم فعالیت فلوروکینولون‌ها..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۴-۱- مکانیسم‌های مقاومت فلوروکینولون‌ها. **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۵-۱- ساختمان شیمیایی ۴-اکسوا و ۴-دی‌هیدروکینولین-۳-کربوکسیلیک اسید **ERROR!**

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۶-۱- ساختمان کلی کینولون‌ها..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۷-۱- ویژگی‌های ساختاری مشترک کینولون‌ها **ERROR! BOOKMARK NOT**

DEFINED.

شکل ۸-۱- ساختار شیمیایی سارافلوکساسین **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۹-۱- واکنش تبدیل نمک MTT به نمک فورمازان در میتوکندری سلول زنده **ERROR!**

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۱۰-۱- نمای میکروسکوپی رده سلولی NIH/3T3 **ERROR! BOOKMARK NOT**

DEFINED.

شکل ۱-۲- نمایی از تقسیم‌بندی‌های لام نئوبار در زیر میکروسکوپ **ERROR! BOOKMARK**

NOT DEFINED.

شکل ۲-۲- شمایی کلی از مراحل انجام آزمایش سمیت سلولی به کمک روش MTT **ERROR!**

BOOKMARK NOT DEFINED.

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
	نمودار ۱-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S16	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۲-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S17	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۳-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S-O-1	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۴-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S-O-3	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۵-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S-S-1	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۶-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S-S-2	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۷-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S-S-5	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۸-۳- در صد زنده‌مانی رده سلولی NIH/3T3 بر اساس غلظت‌های مختلف ترکیب
S-O-2	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

منابع

- [1] Lawrence R, Jeyakumar E. Antimicrobial resistance: a cause for global concern. **BMC Proc** 2013; 7: 1-14.
- [2] Stockwell V, Duffy B. Use of antibiotics in plant agriculture. **Rev Sci Tech** 2012; 31: 199-210.
- [3] Mohammadzadeh S, Shariatpanahi M, Hamedi M, Ahmadkhaniha R, Samadi N, Ostad SN. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. **Food Chem** 2007; 103: 1097-103.
- [4] Foroumadi A, Sedaghat S, Emami S, Yazdani M, Moshafi MH, Safavi M, *et al.* Synthesis and structure-activity relationship study of 2-substituted-5-(5-nitro-2-thienyl)-1, 3, 4-thiadiazoles as anti-*Helicobacter pylori* agents. **Lett Drug Des Discov** 2009; 6: 468-74.
- [5] Bowden K, Izadi J. Multifunctional derivatives of metronidazole. **Farmaco** 1998; 53: 58-61.
- [6] Dubey S, Jain V, Preethi G. Evaluation of lipophilicity, antimicrobial activity and mutagenicity of some novel ester prodrugs of metronidazole. **CSIR** 2009; 48: 1571-6
- [7] Ivanov D, Budanov S. Ciprofloxacin and antibacterial therapy of respiratory tract infections. **Antibiot Khimioter** 2006; 51: 29-37.
- [8] Andersson MI, MacGowan AP. Development of the quinolones. **J Antimicrob Chemother** 2003; 51: 1-11.
- [9] Hooper DC, Wolfson JS. The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. **Antimicrob Agents Chemother** 1985; 28: 716-21.
- [10] Heeb S, Fletcher MP, Chhabra SR, Diggle SP, Williams P, Cámara M. Quinolones: from antibiotics to autoinducers. **FEMS Microbiol Rev** 2011; 35: 247-74.
- [11] Nelson JM, Chiller TM, Powers JH, Angulo FJ. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. **Clin Infect Dis** 2007; 44: 977-80.
- [12] Hill RG, Rang HP eds. **Drug discovery and development: technology in transition**. 2nd ed. London: Elsevier Health Sciences, 2013: 211-27
- [13] Freshney RI. **Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications**. 7th ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2016: 1-13

- [14] Alpar B, Günay H, Geurtsen W, Leyhausen G. Cytocompatibility of periodontal dressing materials in fibroblast and primary human osteoblast-like cultures. **Clin Oral Investig** 1999; 3: 41-8.
- [15] Ostad SN. The teratogenic and toxicological effects of drugs delivered directly to the female genital tract [**PhD Thesis**]. Brighton (Uk): University of Brighton, 1996; 15-9
- [16] Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD, Bailey JH, Brundage RP. 1, 8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. **J Med Chem** 1962; 5: 1063-5.
- [17] Janknegt R, Hekster Y. Developments in quinolones. **Pharm Weekbl** 1989; 11: 33-43.
- [18] Fàbrega A, Madurga S, Giralt E, Vila J. Mechanism of action of and resistance to quinolones. **Microb Biotechnol** 2009; 2: 40-61.
- [19] Suresh Kumar EV, Etukala JR, Ablordeppey SY. Indolo [3, 2-b] quinolines: synthesis, biological evaluation and structure activity-relationships. **Mini Rev Med Chem** 2008; 8: 538-54.
- [20] Redgrave LS, Sutton SB, Webber MA, Piddock LJ. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. **Trends Microbiol** 2014; 22: 438-45.
- [21] Rodríguez-Martínez JM. Mechanisms of plasmid-mediated resistance to quinolones. **Enferm Infecc Microbiol Clin** 2005; 23: 25-31.
- [22] Whalen K. **Lippincott illustrated reviews: pharmacology**. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2018: 1550-641
- [23] Domagala JM. Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. **J Antimicrob Chemother** 1994; 33: 685-706.
- [24] Hooper DC. New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. **Clin Infect Dis** 2000; 30: 243-54.
- [25] Oliphant CM, Green G. Quinolones: a comprehensive review. **Am Fam Physician** 2002; 65: 455.
- [26] Hooper DC, Rubinstein E, eds. **Quinolone antimicrobial agents**. 3rd ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 2003: 235-47.

- [27] Velpandian T, Gupta S, Gupta Y, Agarwal H, Biswas N. Comparative studies on topical lomefloxacin and ciprofloxacin on ocular kinetic and experimental corneal ulcer. **J Ocul Pharmacol Ther** 1999; 15: 505-11.
- [28] Kondo H, Sakamoto F, Kodera Y, Tsukamoto G. Studies on prodrugs. 5. Synthesis and antimicrobial activity of *N*-(oxoalkyl) norfloxacin derivatives. **J Med Chem** 1986; 29: 2020-4.
- [29] Acton QA. **Efferent neurons - advances in research and application**. Georgia: ScholarlyEdition, 2012: 115-24.
- [30] Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. **Microbiol Mol Biol Rev** 1997; 61: 377-92.
- [31] Wolfson JS, Hooper DC. The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity *in vitro*. **Antimicrob Agents Chemother** 1985; 28: 581.
- [32] Berger JM, Gamblin SJ, Harrison SC, Wang JC. Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. **Nature** 1996; 379: 225-32.
- [33] Zhao X, Xu C, Domagala J, Drlica K. DNA topoisomerase targets of the fluoroquinolones: a strategy for avoiding bacterial resistance. **Proc Natl Acad Sci USA** 1997; 94: 13991-6.
- [34] Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, *et al*. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. **Infect Control Hosp Epidemiol** 2008; 29: 996-1011.
- [35] Cattoir V, Poirel L, Rotimi V, Soussy C-J, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. **J Antimicrob Chemother** 2007; 60: 394-7.
- [36] Hooper DC. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and anti-topoisomerase resistance. **Clin Infect Dis** 1998; 27: S54-S63.
- [37] Correia S, Poeta P, Hébraud M, Capelo JL, Igrejas G. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? **J Med Microbiol** 2017; 66: 551-9.

- [38] Koga H, Itoh A, Murayama S, Suzue S, Irikura T. Structure-activity relationships of antibacterial 6, 7-and 7, 8-disubstituted 1-alkyl-1, 4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. **J Med Chem** 1980; 23: 1358-63.
- [39] Franchini C, Muraglia M, Corbo F, Florio MA, Di Mola A, Rosato A, *et al.* Synthesis and biological evaluation of 2-mercapto-1, 3-benzothiazole derivatives with potential antimicrobial activity. **Arch Pharm (Weinheim)** 2009; 342: 605-13.
- [40] Domagala JM, Hanna LD, Heifetz CL, Hutt MP, Mich TF, Sanchez JP, *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: 394-404.
- [41] Siporin C, Heifetz CL, Domagala JM, eds. **The new generation of quinolones.** New York: Marcel Dekker Inc, 1990: 1-43.
- [42] Al-Tel TH, Al-Qawasmeh RA, Zaarour R. Design, synthesis and *in vitro* antimicrobial evaluation of novel Imidazo [1, 2-a] pyridine and imidazo [2, 1-b][1, 3] benzothiazole motifs. **Eur J Med Chem** 2011; 46: 1874-81.
- [43] Emami S, Shafiei A, Foroumadi A. Quinolones: recent structural and clinical developments. **Iran J Pharm Res** 2005; 4: 123-36.
- [44] Cooper CS, Klock PL, Chu DT, Fernandes PB. The synthesis and antibacterial activities of quinolones containing five-and six-membered heterocyclic substituents at the 7-position. **J Med Chem** 1990; 33: 1246-52.
- [45] Holtzapple CK, Buckley SA, Stanker LH. Development of antibodies against the fluoroquinolone sarafloxacin and molecular modeling studies of cross-reactive compounds. **Food Agric Immunol** 1997; 9: 13-26.
- [46] Martinsen B, Horsberg TE, Sohlberg S, Burke M. Single dose kinetic study of sarafloxacin after intravenous and oral administration of different formulations to Atlantic salmon (*Salmo salar*) held in sea water at 8.5°C. **Aquaculture** 1993; 118: 37-47.
- [47] Trevan JW. The error of determination of toxicity. **Proc R Soc Lond** 1927; 101: 483-514.
- [48] Blaauboer BJ. The applicability of *in vitro*-derived data in hazard identification and characterisation of chemicals. **Environ Toxicol Pharmacol** 2002; 11: 213-25.

[49] Bakand S, Winder C, Khalil C, Hayes A. Toxicity assessment of industrial chemicals and airborne contaminants: transition from *in vivo* to *in vitro* test methods: a review. **Inhal Toxicol** 2005; 17: 775-87.

[۵۰] باکند ش، عامری الف، فرشاد ع. مروری بر روش‌های ارزیابی سمیت مواد شیمیایی، گذار از

روش‌های اینویوو به روش‌های نوین اینویترو. **سلامت کار ایران** ۱۳۸۶؛ ۴: ۳۵-۲۹.

[51] Stellman JM ed. **Encyclopaedia of occupational health and safety**. 4th ed. Geneva: International Labour Organization, 1998 (Vol 2): 14-28.

[52] Barile FA. **Introduction to *in vitro* cytotoxicology, mechanisms and methods**. Cleveland: CRC Press, 2019: 1-13.

[53] Gad SC, ed. ***In vitro* toxicology**. 2nd ed. New York: Taylor & Francis, 2000: 12-24.

[54] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods** 1983; 65: 55-63.

[55] Ekwall B. Screening of toxic compounds in mammalian cell cultures. **Ann N Y Acad Sci** 1983; 407:64-77.

[56] Bakand S, Winder C, Khalil C, Hayes A. Novel *in vitro* exposure techniques for toxicity testing and biomonitoring of airborne contaminants. **ALTEX** 2005; 22: 184

[57] Sylvester PW. **Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability**. In: Satyanarayanajois SD (ed). **Drug design and discovery**. Totowa (NJ): Humana Press 2011: 157-68.

[58] Carmichael J, DeGráff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. **Cancer Res** 1987; 47: 936-42.

[59] Marionnet A, Lizard G, Chardonnet Y, Schmitt D. Comparative evaluation of the antiproliferative effect of cyclosporin A and γ -interferon on normal and HPV-transformed keratinocytes by cell counting, MTT assay and tritiated thymidine incorporation. **Cell Biol Toxicol** 1997; 13: 115-23.

[60] Irfan Maqsood M, Matin MM, Bahrami AR, Ghasroldasht MM. Immortality of cell lines: challenges and advantages of establishment. **Cell Biol Int** 2013; 37: 1038-45.

[61] Sabzevari O, Andalibi M, Ahmadiani A, Kamalinezhad M, Ostad S. Cytotoxicity assay of fenugreek aqueous extract on NIH3T3 fibroblast cells. **Tehran Univ Med J** 2008; 66: 545-51

- [62] Todaro GJ, Green H. Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. **J Cell Biol** 1963; 17: 299-313.
- [63] Theiszova M, Jantova S, Dragunova J, Grznarova P, Palou M. Comparison the cytotoxicity of hydroxiapatite measured by direct cell counting and MTT test in murine fibroblast NIH-3T3 cells. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub** 2005; 149: 393.
- [64] Rucinska A, Roszczyk M, Gabryelak T. Cytotoxicity of the isoflavone genistein in NIH 3T3 cells. **Cell Biol Int** 2008; 32: 1019-23.
- [65] Tofighi Z, Asgharian P, Goodarzi S, Hadjiakhoondi A, Ostad SN, Yassa N. Potent cytotoxic flavonoids from Iranian *Securigera securidaca*. **Med Chem Res** 2014; 23: 1718-24.
- [66] Orsine JVC, Brito LM, Silva RC, Almeida MdFMS, Novaes MRCG. Cytotoxicity of *Agaricus sylvaticus* in non-tumor cells (NIH/3T3) and tumor (OSCC-3) using tetrazolium (MTT) assay. **Nutr Hosp** 2013; 28: 1244-54.
- [67] Ayaz M, Sadiq A, Wadood A, Junaid M, Ullah F, Khan NZ. Cytotoxicity and molecular docking studies on phytosterols isolated from *Polygonum hydropiper* L. **Steroids** 2019; 141: 30-5.
- [68] Leibiger C, Kosyakova N, Mkrtchyan H, Gleib M, Trifonov V, Liehr T. First molecular cytogenetic high resolution characterization of the NIH 3T3 cell line by murine multicolor banding. **J Histochem Cytochem** 2013; 61: 306-12.
- [69] National Institutes of Health. NIH3T3 Cell Line. [Internet]. Washington, D.C: U.S. Department of Health and Human Services; [Updated 2020 Jan3; Cited 2020 June13]. Available from: <http://www.nih3t3.com/>.
- [70] Moore GE, Gerner RE, Franklin HA. Culture of normal human leukocytes. **JAMA** 1967; 199: 519-24.
- [71] Atlas RM, Snyder JW. **Handbook of media for clinical microbiology**. 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press, 2006: 256-75.
- [72] Jones GE, ed. **Human Cell Culture Protocols**. Totowa (NJ): Humana Press, ۱۹۹۶: 35-44
- [73] 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: 375-86.

- [74] Pandeya SN, Sriram D, Nath G, De Clercq E. Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of norfloxacin Mannich bases. **Eur J Med Chem** 2000; 35: 249-55.
- [75] Foroumadi A, Emami S, Pournourmohammadi S, Kharazmi A, Shafiee A. Synthesis and *in vitro* leishmanicidal activity of 2-(1-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol-2-yl)-5-substituted-1, 3, 4-thiadiazole derivatives. **Eur J Med Chem** 2005; 40: 1346-50.
- [76] Mascellino M, Farinelli S, Iegri F, Iona E, De Simone C. Antimicrobial activity of fluoroquinolones and other antibiotics on 1,116 clinical gram-positive and gram-negative isolates. **Drugs Exp Clin Res** 1998; 24: 139.
- [77] Albrecht R. **Development of antibacterial agents of the nalidixic acid type**. In: Jucker E (ed). **Progress in drug research**. Basel (CH): Birkhäuser Basel, 1977: 9-104.
- [78] Odagiri T, Inagaki H, Nagamochi M, Kitamura T, Komoriya S, Takahashi H. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel 7-[(3*a*S, 7*a*S)-3*a*-Amino-6,6-dihydro-2H-pyrido[3,4-c]pyrrol-2(3*H*)-yl]-8-methoxyquinolines with Potent Antibacterial Activity against Respiratory Pathogens. **J Med Chem** 2018; 61: 7234-44.
- [79] Cooper CS, Klock PL, Chu DT, Hardy DJ, Swanson RN, Plattner JJ. Preparation and *in vitro* and *in vivo* evaluation of quinolones with selective activity against Gram-positive organisms. **J Med Chem**. 1992; 35: 1392-8.
- [80] Lefkowitz R. **Neurohumoral transmission: the autonomic and somatic motor nerve systems**. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS (eds). **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 8th ed. New York: Pergamon Press, 1990: 137-۸۳.
- [81] Shen LL, Mitscher LA, Sharma PN, O'donnell T, Chu DW, Cooper CS, *et al*. Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: a cooperative drug-DNA binding model. **Biochemistry** 1989; 2۸: ۳۸۸۶-۹۴.
- [82] Asadipour A, Moshafi MH, Khosravani L, Moghimi S, Amou E, Firoozpour L, *et al*. *N*-substituted piperazinyl sarafloxacin derivatives: Synthesis and *in vitro* antibacterial evaluation. **DARU J Pharm Sci** 2018; 26: 199-207.
- [83] Jazayeri S, Moshafi MH, Firoozpour L, Emami S, Rajabalian S, Haddad M, *et al*. Synthesis and antibacterial activity of nitroaryl thiadiazole-gatifloxacin hybrids. **Eur J Med Chem** 2009; 44: 1205-9.

- [84] Emami S, Foroumadi A, Samadi N, Faramarzi MA, Rajabalian S. Conformationally Constrained Analogs of *N*-Substituted Piperazinylquinolones: Synthesis and Antibacterial Activity of *N*-(2, 3-Dihydro-4-hydroxyimino-4*H*-1-benzopyran-3-yl)-piperazinylquinolones. **Arch Pharm** 2009; 342: 405-11.
- [85] Khalaj A, Nakhjiri M, Negahbani AS, Samadzadeh M, Firoozpour L, Rajabalian S, *et al.* Discovery of a novel nitroimidazolyl-oxazolidinone hybrid with potent anti Gram-positive activity: synthesis and antibacterial evaluation. **Eur J Med Chem** 2011; ۴۶: ۶۵-۷۰.
- [86] Robinson MJ, Martin B, Gootz T, McGuirk P, Moynihan M, Sutcliffe J, *et al.* Effects of quinolone derivatives on eukaryotic topoisomerase II. A novel mechanism for enhancement of enzyme-mediated DNA cleavage. **J Biol Chem** 1991; 266: 14585-92.
- [87] 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** 1992; 36: 751-6.
- [88] Elsea SH, McGUIRK PR, Gootz TD, Moynihan M, Osheroff N. Drug features that contribute to the activity of quinolones against mammalian topoisomerase II and cultured cells: correlation between enhancement of enzyme-mediated DNA cleavage *in vitro* and cytotoxic potential. **Antimicrob Agents Chemother** 1993; 37: 2179-86.
- [89] Multhaupt H, Alvarez J, Rafferty P, Warhol M, Lackman R. Fluoroquinolone's effect on growth of human chondrocytes and chondrosarcomas: *in vitro*: and: *in vivo*: correlation. **J Bone Jt Surg** 2001; 83: S56-61.
- [90] Gootz T, McGuirk P, Moynihan M, Haskell S. Placement of alkyl substituents on the C-۷ position of fluoroquinolones: dramatic differential effects on mammalian topoisomerase II and DNA gyrase. **Antimicrob Agents Chemother** 1994; ۳۸: ۱۳۰-۳.
- [91] Foroumadi A, Soltani F, Emami S, Davood A. Antituberculosis agents. III. *in vitro* evaluation of antimycobacterial activity and cytotoxicity of some *N*-piperazinyl quinolone derivatives. **Boll Chim Farm** 2002; 141: 247-9.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی

پایان نامه خانم فاطمه عباسلو دانشجوی داروسازی ورودی ۹۱ به شماره ۱۲۱۱

نحت عنوان:

بررسی اثر سمیت سلولی مشتقات جدید سارافلوکسازین بر روی رده سلولی 3T3

استاد (اساتید) راهنما:

دکتر محمدحسن مصطفی
۹۹/۷/۷

دکتر حمید فروتن فر

هیئت محترم داوران:

۳-دکتر احسان مهاجری

۲-دکتر صالحه صبوری

۱-دکتر یعقوب پورشجاعی

در تاریخ ۹۹/۰۷/۰۷ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۸٫۹۰
(با حروف) هجده و نود و نه صدم به تصویب رسید.

دکتر مصطفی پورنامداری
رئیس اداره پایان نامه

محمد رضا نخعی
کارشناس اداره پایان نامه

دکتر باقر امیرحیدری
رئیس دانشکده

دکتر میترا مهربانی
معاون پژوهشی دانشکده