

Research Paper

Study on Antibacterial Effect of New Thiazole and Imidazole Derivatives on Zoonoses Bacterial Pathogen

*Behzad Ghasemi¹, Hamid Beyzaei², Seyed Hadi Hashemi³, Vahid Reza Askari⁴

1. DVM, Young Researchers and Elite Club, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
4. DP Candidate, Department of Pharmacology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.



Citation: Ghasemi B, Beyzaei H, Hashemi SH, Askari VR. [Study on Antibacterial Effect of New Thiazole and Imidazole Derivatives on Zoonoses Bacterial Pathogen (Persian)]. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2016; 23(5):762-769. <http://dx.doi.org/10.21859/sums-2305762>

doi: <http://dx.doi.org/10.21859/sums-2305762>

Received: 27 Jul. 2016

Accepted: 24 Oct. 2016

ABSTRACT

Backgrounds Drug resistance in zoonotic bacterial pathogens is a serious risk, which threatens the prosperity and profitability of livestock industry and also public health. To confront this threat, it is necessary to determine and use novel antibacterial compounds on the resistant bacteria. Thiazole and imidazole derivatives are the novel antibacterial agents; the current study aimed at assessing the antibacterial effect of 1 thiazole derivative and 2 imidazole derivatives on *Rhodococcus equi*, *Brucella abortus*, and *Pasteurella multocida*.

Methods & Materials To investigate the antibacterial effect of selected antibiotics, the disk diffusion method was used and the diameter of growth inhibition zone was also measured; the serial dilution method in micro-plates was also employed to assess the minimum inhibitory concentrations (MICs).

Results The results showed that none of the thiazole and imidazole derivatives had inhibitory effect on *B. abortus*. Imidazole derivatives also lacked any inhibitory clue on the tested bacteria. The inhibitory effect was only observed in the thiazole derivative with MICs of 128 and 16 µg/mL, and growth inhibition zone diameter of 19.3±0.2 and 28.1±0.3 mm on *R. equi* and *P. multocida*, respectively.

Conclusion The inhibitory effect of thiazole derivative was observed on *R. equi* and *P. multocida*. This antibiotic also showed more inhibitory effects on *P. multocida*.

Keywords:

Antibacterial, Thiazole, Imidazole

* Corresponding Author:

Behzad Ghasemi, DVM

Address: Young Researchers and Elite Club, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.

Tel: +98 (551) 6621931

E-mail: behzad.ghasemi99@gamil.com

بررسی اثر ضدباکتریایی مشتقات جدید تiazول و ایمیدازول بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای مشترک بین انسان و دام

* بهزاد قاسمی^۱، حمید بیضائی^۲، سید هادی هاشمی^۳، وحیدرضا عسکری^۴

۱- دکترای حرفه‌ای، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

۲- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۴- دانشجوی دکترای حرفه‌ای، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۶ مرداد ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: ۳ آبان ۱۳۹۵

اهداف: مقاومت دارویی در باکتری‌های پاتوژن مشترک بین انسان و دام خطری است که رونق و سودآوری صنعت دام‌پروری و سلامت جامعه را تهدید می‌کند. برای مقابله با این تهدید، شناسایی و کاربرد ترکیبات ضدباکتریایی جدید روی باکتری‌های مقاوم ضروری است. مشتقات تiazول و ایمیدازول ترکیبات ضدباکتریایی جدیدی هستند. در این مطالعه اثر ضدباکتریایی یک مشتق تiazول و دو مشتق ایمیدازول بر باکتری‌های رودوکوکوس اکوئی و بروسلا آبروتوس و پاستورلا مولتی‌سیدا بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: برای بررسی اثر ضدباکتریایی مشتقات، از روش انتشار در دیسک برای اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد و از روش رقت‌سازی در پلیت ۹۶ خانه برای تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد هیچ‌یک از مشتقات تiazول و ایمیدازول بر باکتری بروسلا آبروتوس اثر مهاری نداشتند. مشتقات ایمیدازول نیز هیچ‌گونه اثر مهاری بر باکتری‌ها نداشتند. اثر مهاری تنها از مشتق تiazول با ۱۲۸ و ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و قطر هاله مهار رشد 0.7 ± 1.9 و 0.7 ± 2.8 میلی‌متر به ترتیب بر باکتری‌های رودوکوکوس اکوئی و پاستورلا مولتی‌سیدا مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: اثر مهاری مشتق تiazول بر دو باکتری پاستورلا مولتی‌سیدا و رودوکوکوس اکوئی مشاهده شد که این اثر مهاری بر باکتری پاستورلا مولتی‌سیدا بسیار قوی‌تر بود.

کلیدواژه‌ها:

ضدباکتریایی، تiazول، ایمیدازول

مقدمه

بروسلا آبروتوس یکی از مهم‌ترین باکتری‌های مشترک میان انسان و دام است که موجب مرگ‌ومیر و سقط در دام‌ها و بروز بیماری تب مالت در انسان می‌شود و مشکلات فراوانی را در سطح جهان به وجود می‌آورد [۳]. استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها برای اهدافی چون افزایش رشد یا کنترل و درمان بیماری‌ها در دام‌پزشکی، باعث افزایش مقاومت دارویی در باکتری‌ها زئونوز شده است. این امر صنعت دام‌پروری و سلامت و بهداشت جامعه را به خطر انداخته است [۴]. مطالعات اخیر با نشان دادن مقاومت دارویی در سه پاتوژن رودوکوکوس اکوئی و پاستورلا مولتی و بروسلا آبروتوس، مقاومت دارویی را در برخی از سویه‌های این پاتوژن‌ها نشان داده‌اند [۵-۷]. برای حفظ صنعت دام‌پروری و ارتقای بهداشت عمومی، مقابله با باکتری‌های مقاوم ضروری است. تحقق این هدف تنها با شناسایی و کاربرد ترکیبات جدید ضدباکتریایی میسر خواهد شد [۸].

برخی باکتری‌های پاتوژن مشترک بین انسان و دام نظیر رودوکوکوس اکوئی و بروسلا آبروتوس و پاستورلا مولتی‌سیدا صنعت دام‌پروری و سلامت جامعه را تهدید می‌کند [۱-۳]. رودوکوکوس اکوئی باکتری کوباسیل گرم مثبت ساپروفیت خاک است که مدت‌هاست به عنوان یکی از عوامل اصلی ایجاد پنومونی در کره اسب‌ها شناخته می‌شود. بیماری‌های ناشی از این باکتری همراه با علائمی مثل سرفه، دیسترس تنفسی، کاهش اشتها و شنیدن صداهای غیرطبیعی از ریه هستند و همه‌ساله میلیون‌ها دلار به صنعت پرورش اسب خسارت وارد می‌کند [۱]. پاستورالا مولتی‌سیدا باکتری زئونوز و گرم منفی است. بیماری‌های ریوی حاصل از این باکتری خسارت‌های مالی فراوانی را به پرورش‌دهندگان گاو و گوساله وارد می‌کند [۲].

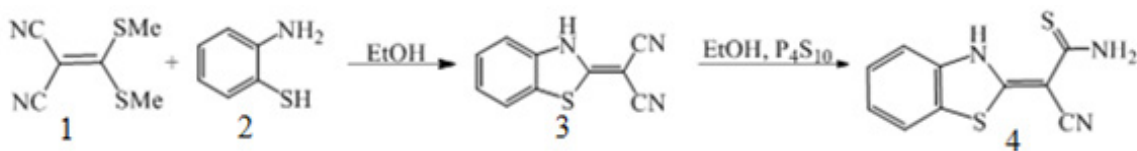
* نویسنده مسئول:

بهزاد قاسمی

نشانی: نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان.

تلفن: ۶۶۲۱۹۳۱ (۵۵۱) ۹۸+

پست الکترونیکی: behzad.ghasemi99@gamil.com



تصویر ۱. مراحل سنتز مشتقات تiazول [۱۶].

۴: (E)-۲-(بنزو[d]تiazول-۲(H)-ایلیدن)-۲-سیانوآنتیوآمید

سنتز مشتقات ایمیدازول

مشتقات ایمیدازول (۳a-b) طی فرایندی یک مرحله‌ای سنتز شدند و ساختار شیمیایی آن‌ها با پراش اشعه X تک‌بلور و H^1 NMR (Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance) و C^{13} NMR (Nuclear Magnetic Resonance Carbon) تجزیه عنصری و طیف‌سنجی جرم تأیید شد. سپس این مشتقات در حلال DMSO با غلظت ۸۱۹۲ میکروگرم بر میلی لیتر به صورت محلول تهیه شدند (تصویر شماره ۲) [۱۷].

تهیه سوسپانسیون باکتریایی

باکتری‌های مطالعه‌شده رودوکوکوس اکوئی (ATCC ۳۳۷۰۱) و پاستورلا مولتی‌سیدا (ATCC ۱۲۹۴۸) و بروسلا آبورتوس (ATCC ۲۳۴۴۸) از دانشکده دام‌پزشکی تهران تهیه شدند. سپس برای بروسلا آبورتوس با ۷-۱۰ درصد CO_2 و به مدت ۴ روز و برای باکتری‌های دیگر به مدت ۲۴ ساعت در محیط مولر هینتون آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون انجام شد. سپس در شرایط استریل در محیط مولر هینتون براس و در فاز رشد لگاریتمی با دستگاه اسپکتروفوتومتر و غلظت نیم مک‌فارلند ($1/5 \times 10^8$ CFU/ml) از هر باکتری به دست آمد که به عنوان منبع ذخیره در نظر گرفته شد [۱۸].

تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC)

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ گوده‌ای استریل و با روش برات میکرودایلوشن طبق استاندارد CLSI انجام شد. بدین منظور ابتدا

در چند سال اخیر مشتقات تiazول و ایمیدازول به خاطر خواص گوناگون درمانی مانند مهار سلول‌های سرطانی، اثر ضد التهاب و آنتی‌اکسیدانی و قدرت مهار پاتوژن‌های قارچی و انگلی بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند [۹-۱۳]. علاوه بر خواص ذکرشده، آزمایش‌های جدید قدرت ضدباکتریایی مشتقات تiazول و ایمیدازول را روی بسیاری از باکتری‌های پاتوژنی چون باسیلوس سوبتلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنمونیه و پروتئوس ولگاریس نشان داده‌اند. متأسفانه بیشتر این تحقیقات بر باکتری‌های انسانی معطوف بوده و توجه کمتری به پاتوژن‌های مشترک بین انسان و دام صورت گرفته است [۱۴، ۱۵]. در این مطالعه اثر ضدباکتریایی مشتقات جدید تiazول و ایمیدازول روی سه باکتری رودوکوکوس اکوئی و پاستورلا مولتی‌سیدا و بروسلا آبورتوس در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است.

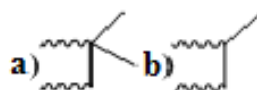
مواد و روش‌ها

سنتز مشتقات تiazول

مشتق تiazول شماره ۴ طی فرایندی سه مرحله‌ای سنتز و ساختار شیمیایی آن با پراش اشعه X تک‌بلور و H^1 NMR (Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance) و C^{13} NMR (drogen Nuclear Magnetic Resonance) تجزیه عنصری و طیف‌سنجی جرم تأیید شد. سپس این مشتقات در حلال DMSO با غلظت ۸۱۹۲ میکروگرم بر میلی لیتر به صورت محلول تهیه شدند (تصویر شماره ۱) [۱۶].



R =



تصویر ۲. مراحل سنتز مشتقات ۳a-b ایمیدازول [۱۷]

۳a: ۲-(۴-دی‌متیل ایمیدازولیدین-۲-ایلیدن) مالونونیتریل

۳b: ۲-(۴-متیل ایمیدازولیدین-۲-ایلیدن) مالونونیتریل

داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد [۱۸].

یافته‌ها

نتایج تحقیق نشان داد هیچ‌کدام از مشتقات تiazول و ایمیدازول بر باکتری بروسلا آبروتوس اثر مهاری نداشتند. مشتقات ایمیدازول نیز هیچ‌گونه اثر مهاری بر باکتری‌های آزمایش شده نداشتند. اثر مهاری تنها از مشتق شماره ۴ تiazول با MIC ۱۲۸ و ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و قطر هاله مهار رشد $19/3 \pm 0/2$ و $28/1 \pm 0/3$ میلی‌متر به ترتیب بر باکتری‌های رودوکوکوس آکوئی و پاستورلا مولتی‌سیدا مشاهده شد. در آزمایش آنتی‌بیوگرام بیشترین حساسیت رودوکوکوس آکوئی و پاستورلا مولتی‌سیدا به ترتیب در جنتامایسین و پنی‌سیلین مشاهده شد (جدول شماره ۱ و ۲).

بحث

بررسی مشتقات تiazول و ایمیدازول روی سه باکتری پاتوژن مشترک نشان داد بروسلا آبروتوس به تمام این مشتقات مقاوم است. این امر اهمیت رعایت بهداشت و سیاست قرنطینه و کشتار دام‌های مبتلا به بروسلاز را بیشتر نشان می‌دهد. دو مشتق ۳a-b ایمیدازول در این بررسی هیچ‌گونه اثر مهاری بر باکتری‌های آزمایش شده نداشتند. این در حالی است که برخی از مشتقات ایمیدازولین توانایی مهار باکتری‌هایی چون سودوموناس و اشرشیاکلی را دارند. احتمالاً تفاوت اثر و قدرت مهاری باکتریایی این مشتقات به علت وجود ترکیباتی چون کلرو فنیل است [۱۹]. آزمایش‌ها قدرت ترکیب متیل نیترو ایمیدازول

از محیط کشت مولر هینتون براث (مرک آلمان) ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه شد، سپس به اولین چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از مشتقات تiazول یا ایمیدازول (در گروه‌های کنترل ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین یا پنی‌سیلین شرکت سیگما) اضافه شد و بعد از مخلوط کردن، ۱۰۰ میکرولیتر از آن برداشته و به چاهک دوم اضافه شد. به همین ترتیب رقت‌سازی در چاهک‌ها انجام شد. سپس به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی اضافه شد. برای بروسلا آبروتوس با ۱۰-۷ درصد CO_2 و بعد از ۴ روز و برای باکتری‌های دیگر بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نتایج خوانده شد. وجود شفافیت در هر گوده نشان‌دهنده رشد نکردن باکتری و وجود کدورت در گوده حاکی از رشد باکتری بود. آخرین گوده‌ای که کدورتی را نشان نداد به عنوان MIC گزارش شد [۱۸].

تعیین قطر هاله عدم رشد

ابتدا در محیط مولر هینتون آگار با سوآپ آغشته به سوسپانسیون باکتریایی کشت سطحی باکتری صورت گرفت، سپس با استفاده از سمپلر، ۲۰ میکرولیتر از غلظت MIC به دست آمده برای هر یک از مشتقات تiazول و ایمیدازول و آنتی‌بیوتیک‌ها روی دیسک‌های بلانک استریل ریخته شد. برای بروسلا آبروتوس با ۱۰-۷ درصد CO_2 و بعد از ۴ روز و برای باکتری‌های دیگر بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله مهار رشد با خط کش مخصوص اندازه‌گیری شد. نتایج قطر هاله مهار رشد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد. برای تجزیه و تحلیل

جدول ۱. قطر هاله مهار رشد (میلی‌متر) مشتقات تiazول و ایمیدازول و آنتی‌بیوتیک‌ها.

مشتقات/آنتی‌بیوتیک‌ها	رودوکوکوس آکوئی	پاستورلا مولتی‌سیدا	بروسلا آبروتوس
۴ (مشتق تiazول)	$19/3 \pm 0/2$	$28/1 \pm 0/3$	—
۳a (مشتق ایمیدازول)	—	—	—
۳b (مشتق ایمیدازول)	—	—	—
پنی‌سیلین	$27/2 \pm 0/5$	$30/5 \pm 0/3$	$22/1 \pm 0/1$
جنتامایسین	$25/4 \pm 0/3$	$21/2 \pm 0/0$	$16/3 \pm 0/2$

—: مشاهده نکردن اثر مهاری در بالاترین غلظت

جدول ۲. MIC (میکروگرم بر میلی‌لیتر) مشتقات تiazول و ایمیدازول و آنتی‌بیوتیک‌ها.

مشتقات/آنتی‌بیوتیک‌ها	رودوکوکوس آکوئی	پاستورلا مولتی‌سیدا	بروسلا آبروتوس
۴ (مشتق تiazول)	۱۲۸	۱۶	—
۳a (مشتق ایمیدازول)	—	—	—
۳b (مشتق ایمیدازول)	—	—	—
پنی‌سیلین	۴	۰/۵	۲
جنتامایسین	۱	۸	۲

—: مشاهده نکردن اثر مهاری در بالاترین غلظت

برای کاربردی شدن استفاده از آن در دامپزشکی برداشته شده است. پیشنهاد می‌شود اثرات سمی و درمانی این ترکیب جدید روی حیوانات آزمایشگاهی و دام‌های مزرعه بررسی شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را از کارکنان و مسئولان دانشگاه زابل به دلیل حمایت از انجام این پژوهش اعلام می‌کنند. در ضمن این پروژه حامی مالی نداشته است.

(یک مشتق ایمیدازول) را در مهار باکتری‌هایی مانند پرتئوس ولگاریس و پروتئوس میرابلیس اثبات کرده است. این ترکیب با تولید رادیکال‌های آزاد باعث آسیب و مرگ باکتری می‌شود. قدرت آزادسازی رادیکال‌های آزاد در مشتقات a-b ۳ ایمیدازول در پژوهش حاضر وجود نداشت [۲۰].

اثر مهارتی مشتق شماره ۴ تیزول بر رودوکوکوس اکوئی و پاستورلا مولتی‌سیدا در این پژوهش نشان داده شد. در ساختار این مشتق، کنار حلقه تیزول اتصال دیگری وجود دارد که احتمالاً در تقویت اثر مهارتی مشتق شماره ۴ مؤثر است و آن اتصال تیوآمید به حلقه تیزول است. تیوآمید جزء مهم داروی پرتیوآمید به شمار می‌رود که علیه مایکوباکتریوم کاربرد دارد [۲۱]. قدرت مهارتی این مشتق بر پاستورلا مولتی‌سیدا نسبت به رودوکوکوس اکوئی کاملاً مشهود است. البته بررسی مشتقات بنزو [d] تیزول روی استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آنروجینوزا در تحقیق مادیلا و همکاران اختلاف زیادی را بین اثر مهارتی مشتقات روی این دو باکتری گرم مثبت و منفی نشان نداد [۲۲]. دو روش مهارت‌آزمی‌های سلولی و مهارت DNA از مهم‌ترین مکانیسم‌های مهارت باکتری‌ها به کمک مشتقات تیزول است که بیشتر تحقیقات انجام‌شده نیز بر آن تأکید دارند [۲۳، ۲۴]. چنگ و همکاران در شرایط آزمایشگاهی ۳/۱۳ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر را برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آنروجینوزا اندازه‌گیری کردند که احتمالاً قدرت این مشتقات به علت وجود ترکیباتی چون کلرفنیل و بروموفنیل در مشتقات تیزول استفاده‌شده باشد [۲۵].

تحقیقات زیادی به بررسی اثر ضدباکتریایی مشتقات تیزول پرداخته‌اند که در همه آن‌ها از روش اندازه‌گیری قطر هاله مهارت یا اندازه‌گیری MIC یا هر دو روش استفاده شده است. در همین راستا می‌توان به تحقیق چندرش و همکاران اشاره کرد که با اندازه‌گیری قطر هاله مهارت رشد در شرایط آزمایشگاهی، قدرت مشتقات تیزول را در مهارت باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس مگاتریوم، اشرشیاکلی و سودوموناس آنروجینوزا بررسی کردند. بارتی و همکاران نیز با اندازه‌گیری MIC و قطر هاله مهارت رشد در شرایط آزمایشگاهی، قدرت مشتقات تیزول را در مهارت باکتری‌های سالمونلا تیفی، اشرشیاکلی، کلبسیلا پنمونیه، ویبریو کلرا و استافیلوکوکوس اورئوس اثبات کردند [۲۶، ۲۷]. مقایسه اثر مهارتی عصاره‌های آبی و الکلی سیاه‌دانه روی پاستورلا مولتی‌سیدا با ۶۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با اثر مهارتی مشتق شماره ۴ تیزول، قدرت بالای این مشتق تیزول را در شرایط آزمایشگاهی روی این باکتری نشان می‌دهد [۸].

پیشنهادها

با اثبات اثر ضدباکتریایی مشتق شماره ۴ تیزول بر رودوکوکوس اکوئی و پاستورلا مولتی‌سیدا در شرایط آزمایشگاهی، اولین قدم

References

- [1] Coleman M, Kuskie K, Liu M, Chaffin K, Libal M, Giguère S, et al. In vitro antimicrobial activity of gallium maltolate against virulent *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*. 2010; 146(1-2):175-8. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.05.027
- [2] Zhang M, Han X, Liu H, Tian M, Ding C, Song J, et al. Inactivation of the ABC transporter ATPase gene in *Brucella abortus* strain 2308 attenuated the virulence of the bacteria. *Veterinary Microbiology*. 2013; 164(3-4):322-9. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.02.017
- [3] Katsuda K, Hoshinoo K, Ueno Y, Kohmoto M, Mikami O. Virulence genes and antimicrobial susceptibility in *Pasteurella multocida* isolates from calves. *Veterinary Microbiology*. 2013; 167(3-4):737-41. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.09.029
- [4] Guardabassi L. Veterinary hospital-acquired infections: The challenge of MRSA and other multidrug-resistant bacterial infections in veterinary medicine. *Veterinary Journal*. 2012; 193(2):307-8. doi: 10.1016/j.tvjl.2012.04.005
- [5] Horohov DW, Loynachan AT, Page AE, Hughes K, Timoney JF, Fetting M, et al. The use of streptolysin O (SLO) as an adjunct therapy for *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Veterinary Microbiology*. 2011; 154(1-2):156-62. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.06.037
- [6] Kofteridis DP, Christofaki M, Mantadakis E, Maraki S, Drygiannakis I, Papadakis JA, et al. Bacteremic community-acquired pneumonia due to *Pasteurella multocida*. *International Journal of Infectious Diseases*. 2009; 13(3):81-83. doi: 10.1016/j.ijid.2008.06.023
- [7] Marianelli C, Graziani C, Santangelo C, Xibilia MT, Imbriani A, Amato R, et al. Molecular epidemiological and antibiotic susceptibility characterization of *brucella* isolates from humans in Sicily, Italy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45(9):2923-8. doi: 10.1128/jcm.00822-07
- [8] Gharibi D, Ghorbanpoor-Najafabadi M, Mohabat A. [Study of antibacterial activity of ethanol extract from *nigella sativa* against some important veterinary bacterial pathogens (Persian)]. *Veterinary Research*. 2012; 8(1):13-21.
- [9] Santos K, Laranjo M, Abrantes AM, Brito AF, Gonçalves C, Sarmiento Ribeiro AB, et al. Targeting triple-negative breast cancer cells with 6,7-bis(hydroxymethyl)-1H,3H-pyrrolo[1,2-c]thiazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014; 79:273-81. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.04.008
- [10] Helal MHM, Salem MA, El-Gaby MSA, Aljahdali M. Synthesis and biological evaluation of some novel thiazole compounds as potential anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013; 65:517-26. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.04.005
- [11] Zelisko N, Atamanyuk D, Vasylenko O, Grellier P, Lesyk R. Synthesis and antitrypanosomal activity of new 6,6,7-trisubstituted thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2012; 22(23):7071-4. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.09.091
- [12] Wittne K, Stipković Babić M, Makuc D, Plavec J, Kraljević Pavelić S, Sedić M, et al. Novel 1,2,4-triazole and imidazole derivatives of l-ascorbic and imino-ascorbic acid: Synthesis, anti-HCV and antitumor activity evaluations. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2012; 20(11):3675-85. doi: 10.1016/j.bmc.2012.01.054
- [13] Robert JMH, Sabourin C, Alvarez N, Robert-Piessard S, Le Bault G, Le Pape P. Synthesis and Antileishmanil Activity of New Imidazolidin-2-one Derivatives. 2004; 35(1). doi: 10.1002/chin.200401106
- [14] Ghasemi B, Najimi M, Ghasemi J. [Evaluation of antibacterial effects of benzothiazole derivatives on bacterial food pathogens (Persian)]. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2015; 9(1):35-41.
- [15] Salhi L, Bouzroua-Aichouche S, Benmalek Y, Benmalek B, Poulain-Martini S, Cacciuttolo B, et al. An efficient conversion of maleimide derivatives to 2-thioxo imidazolidinones. *Organic Communications*. 2013; 6(2):87-94.
- [16] Bakavoli M, Beyzaei H, Rahimizadeh M, Eshghi H. Regioselective synthesis of 2-[(E)-(benzo[d]thiazol-2(3H)-ylidene)(cyano)methyl]thiazoles. *Heterocyclic Communications*. 2011; 17(3-4):151-154. doi: 10.1515/hc.2011.031
- [17] Beyzaei H, Aryan R, Keshtegar Z. Synthesis of new imidazolidine and tetrahydropyrimidine derivatives. *Advances in Chemistry*. 2014; 1-4. doi: 10.1155/2014/834641
- [18] Soleymani N, Sattari M, Sephehriserest S, Daneshmandi S, Derakhshan S. [Evaluation of reciprocal pharmaceutical effects and antibacterial activity of *Bunium persicum* essential oil against some gram positive and gram negative bacteria (Persian)]. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2010; 4(1-2):26-34.
- [19] Jamal Abdul Nasser A, Idhayadhulla A, Surendra Kumar R, Selvin J. Synthesis and biological activities of new series of imidazolidin-2,4-dione derivatives. *Asian Journal of Chemistry*. 2010; 22(8):5853-5858.
- [20] Shahid HA, Jahangir S, Yousuf S, Hanif M, Sherwani SK. Synthesis, crystal structure, structural characterization and in vitro antimicrobial activities of 1-methyl-4-nitro-1H-imidazole. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016; 9(5):668-75. doi: 10.1016/j.arabj.2014.11.001
- [21] Bartels H, Bartels R. Simple, rapid and sensitive determination of protonamide in human serum by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1998; 707(1-2):338-41. doi: 10.1016/s0378-4347(97)00584-7
- [22] Maddila S, Gorle S, Seshadri N, Lavanya P, Jonnalagadda SB. Synthesis, antibacterial and antifungal activity of novel benzothiazole pyrimidine derivatives. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016; 9(5):681-7. doi: 10.1016/j.arabj.2013.04.003
- [23] Brvar M, Perdih A, Oblak M, Mašič LP, Solmajer T. In silico discovery of 2-amino-4-(2,4-dihydroxyphenyl)thiazoles as novel inhibitors of DNA gyrase B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2010; 20(3):958-62. doi: 10.1016/j.bmcl.2009.12.060
- [24] LvP, Wang KR, Yang Y, Mao WJ, Chen J, Xiong J, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel thiazole derivatives as potent FabH inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2009; 19:6750-6754.
- [25] Cheng K, Xue J, Zhu H. Design, synthesis and antibacterial activity studies of thiazole derivatives as potent eCKAS III inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2013; 23(14):4235-8. doi: 10.1016/j.bmcl.2013.05.006
- [26] Bharti SK, Nath G, Tilak R, Singh SK. Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2,4-disubstituted thiazole ring. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010; 45(2):651-60. doi: 10.1016/j.ejmech.2009.11.008

- [27] Jagani CL, Sojitra NA, Vanparia SF, Patel TS, Dixit RB, Dixit BC. Microwave promoted synthesis and antimicrobial activity of 3-thiazole substituted 2-styryl-4(3H)-quinazolinone derivatives. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2012; 16(4):363-9. doi: 10.1016/j.jscs.2011.02.001

