

Behandlung von Zellen mit Ciprofloxacin

Löslichkeit und Stabilität:

Ciprofloxacin zeigt eine extrem pH-Wert-abhängige Löslichkeit. Es ist in Wasser und Alkohol praktisch unlöslich. Bei pH 4 - 5 ist die Löslichkeit am höchsten (über 40 mg/ml). Dies entspricht der Hydrochlorid-Form von Ciprofloxacin, wenn der pH-Wert mit Salzsäure eingestellt wird. Im neutralen pH-Bereich ist es praktisch unlöslich, während sie im alkalischen Bereich wieder auf ca. 30 mg/ml ansteigt. Die Stabilität des Feststoffs Ciprofloxacin ist bei Raumtemperatur sehr hoch. Lösungen (25 mg/L in Dialyse-Flüssigkeit) zeigen selbst nach 42 Tagen bei Lagerung bei 37°C noch fast die volle Aktivität.

Ciprofloxacin als Feststoff befindet sich bei „Zellkulturreagenzien“ - entsprechende Menge (für 1mg/ml) abwiegen, mit ZK-Wasser versetzen, auf pH=4 ansäuern und steril filtrieren.

Behandlung von Mycoplasmen:

Es wurde festgestellt, dass viele Mycoplasmenarten sensitiv auf Ciprofloxacin reagieren, inklusive *A. laidlawii*, *M. orale*, *M. hyorhina*, *M. fermentans* und *M. arginini*. Diese Arten sind für die meisten Kontaminationen in der Zellkultur verantwortlich

Mit Mycoplasmen befallene Zellen werden 3 Wochen mit Ciprofloxacin (10µg/ml) behandelt (z.Zt existiert eine 1:100 konz. Lsg bei 4°C - Achtung - Ciprofloxacin ist lichtsensitiv !!) und nach einer Woche ohne Behandlung erneut auf Mycoplasmen getestet.

Wirkungsweise:

Ciprofloxacin ist ein Fluorochinolone und gehört zur Wirkstoffgruppe der Gyrasehemmer. Der Wirkungsmechanismus aller Fluorochinolone ist identisch. Sie hemmen die Topoisomerase II, auch Gyrase genannt, durch stabile Bindung an das Enzym. Die Aufgabe der Topoisomerase II ist die bakterielle DNA zu falten und spiralig zu verdrillen (supercoiling), damit sie in die Bakterienzelle hineinpasst. Die ca. 1 mm lange DNA wird auf diese Weise auf etwa 0,1 mm verkürzt. Durch die Bindung der Fluorochinolone an die Topoisomerase II werden eine Vielzahl von enzymatischen Reaktionen ausgelöst, die zum Zelltod führen. Es wird berichtet, dass die Fluorochinolone ihr intrazelluläres Ziel in *E. coli* durch einfache Diffusion durch die äußere und innere Membran erreichen. Das Wirkungsspektrum von Ciprofloxacin umfasst die meisten grampositiven und gramnegativen Bakterien, wobei die Wirkung auf die Gramnegativen oft stärker ist. Ciprofloxacin komplexiert verschiedene zwei- und dreiwertige Metallionen (Ca, Co, Mg, Zn), ohne dass dies jedoch zum antibakteriellen Effekt beiträgt.

Solubility and Stability: The solubility of ciprofloxacin extremely depends on the pH value. It is almost insoluble in water and alcohol. At pH 4 - 5 it shows the highest solubility (>40 mg/ml). This corresponds to the hydrochloride form of ciprofloxacin, if the pH value is adjusted with hydrochloric acid. Ciprofloxacin is almost insoluble in the neutral pH range, while solubility increases with increasing pH value (approx. 30 mg/ml at pH 11). The stability of the dry substance of ciprofloxacin is very high at room temperature. Solutions in dialysis fluid (25 mg/L) are stable even after 42 days when stored at 37°C.

Ciprofloxacin is located in “Zellkulturreagenzien”. Prepare a stock of 1mg/ml with cell culture grade water. It will only dissolve by adding HCl to a pH=4 – filter sterile.

Treatment of Mycoplasma: Many mycoplasma species have been found to be sensitive to ciprofloxacin, including *A. laidlawii*, *M. orale*, *M. hyorhinis*, *M. fermentans* and *M. arginini*. These species are responsible for most of the contamination in cell culture.

Cells suffering from mycoplasmas were incubated for 3 weeks with 10µg/ml Ciprofloxacin (at the moment there is a 1:100 stock at 4°C – attention ciprofloxacin is light sensitiv). After 1 week without test cells again for mycoplasmas.

Comment:

Ciprofloxacin is a fluoroquinolones and belongs to the group of gyrase inhibitors. The mode of action si identical for all fluoroquinolones. They inhibit topoisomerase II, also known as gyrase, by stably binding to the enzyme. Topoisomerase II folds and twists (supercoiling) the bacterial DNA, allowing for packing the DNA into the bacterial cell. Thus the DNA with an approximate lenght of 1 mm will be condensed to a lenght of approx. 0.1 mm. The binding of the fluoroquinolones to topoisomerase II causes many enzymatic reactions, leading to cell death. Fluoroquinolones have been reported to reach their intracellular target, DNA gyrase, in *E. coli* by a simple diffusion through the outer and inner membranes. Ciprofloxacin is active against most of the gram positive and gram negative bacteria, whereas its action against the gram negative is mostly stronger. Ciprofloxacin are known to chelate with several di- and trivalent cations (Ca, Co, Mg, Zn), but it seems that chelation does not contribute to the antibactericidal effect of ciprofloxacin .