Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Mosul
College of Pharmacy

Design, synthesis and antibacterial studies of new β-lactamase inhibitors

A Thesis
Submitted to the Department of Pharmaceutical Chemistry
and the Committee of Postgraduate Studies
College of Pharmacy/ University of Mosul
As a Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctoral
Degree of Philosophy in Pharmacy in Pharmaceutical Chemistry

By
Ahmed Abdul-Jabbar Mahmood
(B. Sc. Pharmacy 2000)
(M.Sc. Clinical Pharmacy 2006)

Supervised by

Prof. Dr. **Assistant Prof. Dr.**

Faris T. Abachi **Mohammed A. Al-Iraqi**

2021 A.D. **1442 A.H.**

Abstract

The β-lactam antibiotics were the most significant achievement in the history of medicinal chemistry. They includes four families of antibiotics, all of them are containing a four-membered β-lactam ring (azetidin-2-one), which is essential for their antibacterial activity.

Continuous use of β-lactams has initiated development of bacterial resistance in objective organisms. The β-lactamases are enzymes formed by bacteria that offer multi-resistance to β-lactam antibiotics as penicillins, cephalosporins, and to some extent carbapenems.

The well-known of class A β-lactamase is TEM-1. The constructions of class A (TEM) fold enzyme involving an α/β domain plus an α domain.

The β-Lactamase inhibitors affect the capability of the bacteria to inactivate β-lactam antibiotic, and using them in combination with β-lactam antibiotics by co-administration are now the most effective procedures to fight a particular resistance mechanism.

This work aimed to investigate, design by the aid of the computational docking study on both PBP (1qmf) and β-lactamases TEM-1 (1pzo), and then after selecting the best compounds (depending on the docking results) four series of compounds were synthesized as new inhibitors for TEM-1 β-lactamase:

Series I and II: relatively small molecules reassembling the β-lactamase inhibitors, as analogues without β-lactam ring (four compounds with 1,3,4-oxadiazole-2-thion moiety and eight compounds with 2-Aryl thiazolidine-4-carboxylic acids moiety.

Series III: larger molecules, having monobactam ring, these fourteen compounds were synthesized from reaction of Schiff bases with acid chlorides.

Series IV: compounds that derived from known antibacterial agents containing β-lactam ring, these ten amide compounds prepared by the reaction of acid chlorides with the amino antibacterial agents.

The docking results showed that as the hydrophobic substitutions increases in the tested compounds the scores will increases too. The tested compounds and mainly those with hydrophobic substitutions were bound variably in the region located between H10, H11 and H12 helices of TEM-1, which indicates that the pocket are mostly hydrophobic in nature

The success of synthetic reactions was recognized by following up the characteristic physical properties as melting point and R_f value, while a chemical structure of each of the synthesized compounds was confirmed by analyzing its FTIR, ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR spectra.

The antibacterial activities of synthesized compounds were tested *in vitro* against 4 strains of β-lactamase G(+)ve and G(-)ve pathogenic bacteria, in addition to test their anti β-lactamases activities and comparing them with that of clavulanic acid as a co-inhibitor with amoxicillin.

The ten compounds (Ox3, Tz5, Tz7, Tz8, Mb1, Mb4, Mb9, Mb10, Mb14 and Ad3) showed strong β-lactamase inhibitory activities against *E. coli* species, resembling or in all cases more than that of clavulanic acid, although all of them have no antibacterial activities. It is worth noting that all these compounds possess one or more than one hydrophobic moiety in their structures.

On the other hand, the six compounds Ox4, Ad4, Ad5, Ad6, Ad7 and Ad8 which also possess hydrophobic properties with a good anti β-lactamase activities against *E. coli* species, but it maybe interfered with their antibacterial activity. As a result, these compounds could be considered as anti β-lactamase at low concentration and antibacterial at higher one.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

تصميم وتحضير ودراسة الفعالية المضادة للبكتريا لمثبطات جديدة لخميرة مضادة البيتالاكتام

رسالة مقدمة الى فرع الكيمياء الصيدلانية ولجنة الدراسات العليا
في كلية الصيدلة /جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه
في الصيدلة في الكيمياء الصيدلانية

تقدم بها

احمد عبد الجبار محمود
(بكالوريوس صيدلة 2000)
(ماجستير صيدلة سريرية 2006)

باشراف

أ. د. فارس ذنون العباجي أ. م. د. محمد احمد العراقي

1442هـ 2021 م

الخلاصة

تعتبر مضادات البيتالاكتام الحيوية الإنجاز الأكثر أهمية وفعالية في تاريخ الكيمياء الطبية. تشتمل مجموعة المضادات الحيوية بيتالاكتام على أربع عائلات ، كل منهم يحتوي على حلقة البيتالاكتام الرباعية ، والتي تعتبر ضرورية لفعاليتهم المضادة للبكتيريا.

وقد أدى الاستخدام المستمر لمضادات البيتالاكتام الحيوية إلى زيادة هذه المقاومة البكتيرية . إن خمائر مضادات البيتالاكتام هي خمائر تنتج من البكتيريا التي تمتلك مقاومة متعددة لمضادات البيتالاكتام الحيوية مثل البنسلينات والسيفالوسبورينات وإلى حد ما الكاربابينيمات.

من اشهر خمائر مضادات البيتالاكتام من مجموعة الـ A هو TEM-1 حيث يتكون من جزئين ألفا و بيتا بالإضافة إلى جزء ألفا اخر ، ويقع الجيب النشط لهذا الخميرة بين حلزونات H10 و H11 في جزء الـ ألفا و بيتا.

تعتبر مثبطات خمائر مضادات البيتالاكتام الخط الدفاعي الرئيسي حيث تؤثر على قدرة البكتيريا في تعطيل مضادات البيتالاكتام الحيوية ، وتستخدم عن طريق التناول المتزامن مع هذه المضادات ، وبذلك تعد حاليا الإجراء الاكثر فعالية لابطال آلية مقاومة مضادات البيتالاكتام الحيوية .

الهدف من هذا العمل هو التصميم باستخدام دراسة قوة الالتحام مع كل من خميرة ارتباط البنسيلينات و كذلك مع خميرة مضادة البيتالاكتام وهو TEM-1 لاختيار أفضل المركبات ومن ثم (اعتمادًا على نتائج قوة الالتحام) تم تصنيع أربع سلاسل من المركبات كمثبطات جديدة لـخميرة مضادات البيتالاكتام نوع TEM-1 .

السلسلة الأولى والثانية:وهي عبارة عن مركبات صغيرة نسبيًا كنظائر لمثبطات خمائر مضادات البيتالاكتام . أربعة مركبات من مشتقات 1,3,4-oxadiazole-2- thion وكذلك ثمانية مركبات من مشتقات 2-Aryl thiazolidine-4-carboxylic acids .

السلسلة الثالثة: وهي اربعة عشر مركبا وزنها الجزيئي اعلى من السلسلتين السابقتين وتحتوي على حلقة احادية البكتام ، وقد حضرت هذه المركبات من تفاعل قواعد شيف مع كلوريدات الحوامض.

السلسلة الرابعة: مركبات مشتقة من مضادات البيتالاكتام الحيوية المعروفة التي تحتوي على حلقة بيتالاكتام ، وهي عشرة مركبات اميدية محضرة بتفاعل كلوريدات الحوامض مع العوامل الأمينية لمضادات البيتالاكتام الحيوية.

لقد تم التعرف على نجاح واكتمال تفاعلات التصنيع من خلال متابعة الخصائص الفيزيائية المميزة كدرجة الانصهار وعامل الاحتفاظ ، بينما تم تأكيد التركيب الكيميائي لكل من المركبات المصنعة من خلال تحليل أطيافها للاشعة تحت الحمراء والرنين النووي المغناطيسي للبروتون والرنين النووي المغناطيسي للكاربون.

وكذلك تم اختبار الأنشطة البيولوجية للمركبات المحضرة ضد اربعة سلالات من البكتيريا المسببة للأمراض والمحتوية على خميرة مضادة البيتالاكتام ، بالإضافة إلى اختبار أنشطتها كمثبطات جديدة للخميرة المضادة للبيتالاكتام ومقارنتها مع حمض الكلافيولنيك كمثبط مشارك مع الأموكسيسيلين.

تبين من الدراسة أن عشرة مركبات وهي (Ox3, Tz5, Tz7, Tz8, Mb1, Mb4, Mb9, Mb10, Ad3) و Mb14 ابدت أنشطة قوية لتثبيط خميرة مضادة البيتالاكتام في سلالة الـ *E. coli* ، جميع هذه المركبات اكثر نشاطاً من حمض الكلافيولنيك على الرغم من خلو هذه المركبات من اي نشاط مضادة للبكتيريا. من الجدير بالذكر أن كل هذه المركبات تحتوي في هيكلها التركيبي على جزء واحد أو اكثر كاره للماء.

كما تبين أيضاً أن ستة مركبات اخرى وهي Ox4, Ad4, Ad5, Ad6, Ad7 و Ad8 والتي تمتلك أيضًا جزء كاره للماء تبدي أنشطة قوية لتثبيط خميرة مضادة البيتالاكتام في سلالة الـ *E. coli* ، لكن هذا النشاط ربما يتداخل مع نشاطها المضاد للبكتيريا. نتيجة لذلك ، يمكن اعتبار هذه المركبات كمضادات لخميرة مضادة البيتالاكتام بتركيز منخفض ومضادات للبكتريا بالتراكيز العالية .