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

Design, Synthesis and Evaluation of New Inhibitors of Beta-lactamase Eenzyme

A master thesis Submitted to the Committee of Postgraduate Studies

College of Pharmacy/University of Mosul

As a partial fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science in Pharmacy

By

Ahmed Abd Salih Abboosh

(B.Sc. Pharmacy 2012)

Supervised by

Assistant prof.

Dr. Ahmed Abdul-Jabbar Mahmood Shahir

PhD. Pharmaceutical Chemistry

2024 A.D ***1446 A.H***

Abstract

Chemicals known as antibiotics, whether bacteriostatic or bactericidal, kill or inhibit the growth of bacteria, allowing our bodies' natural defense mechanisms to eliminate these microbes.

Resistant microorganisms made catastrophic impacts on patients and societies. Bacterial release of beta-lactamase is the most prevalent cause of bacterial resistance. There are two distinct types of beta-lactamases, serine beta-lactamase (SBLs) and metallo beta-lactamase (MBLs).

Beta-lactamase inhibitors are medicinal compounds that, when co-administered with beta-lactam antibiotics, neutralize the impact of the beta-lactamase enzyme on the antibiotic's molecule, conserving those antibiotics from hydrolysis and keeping their antibacterial action. In 1977, clavulanic acid was first discovered as a beta-lactamase inhibitor. One challenge of beta-lactamase inhibitors is that these inhibitors have the beta-lactam ring, making them liable to degradation by beta-lactamases. Proposed strategies for combating beta-lactamases, which are responsible for antibiotic resistance, involve the creation of inhibitors that do not have beta-lactamase as their sole component.

In this work we made use of two scaffolds (4-phenoxyaniline and p-aminodiphenylamine) that have no beta-lactam ring in their structure, then we designed and synthesized many derivatives of them by using the modern molecular docking approach. The docking experiment was conducted on two types of beta-lactamases; TEM-1 (1pzp), which is SBL, and IMP-1 (1jje), which is MBL, in order to explore the affinity towards both beta-lactamases. The molecules with a high score are synthesized as amides by reacting the consequent freshly produced acid chlorides with the amine compounds in dichloromethane (DCM). The FTIR, 1H-NMR, and 13C-NMR indicate the formation of the amide bonds for both series.

In silico ADMET study was also performed to ensure their drug-likeness properties.

The ability of the synthesized compounds to inhibit the beta-lactamase activity of human pathogenic bacterial isolates (one gram-positive bacteria, specifically *Staphylococcus aueus*, as well as two gram-negative bacteria, specifically *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*) was evaluated by measuring the inhibition zones using the disc diffusion technique. The results represent that all the synthesized compounds had no activity as anti-beta-lactamase against *E. coli* and *K. pneumonia,* but concerning the *Staph. aureus* bacteria, nine of the synthesized compounds showed promising activities (Ph An 1, 5, 7, 10 and Am Ph 1, 2, 3, 5, 6) against *Staph. aureus* bacteria, resembling that of SI (clavulanic acid). Totally, the new amides dominate at least a single hydrophobic fraction in their chemical farmwork, in addition to the halogen atom or nitro group, which though they will increase the selectivity of the beta-lactamases.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

تصميم و تحضير و تقييم مثبطات جديدة لإنزيم البيتالاكتاميز

رسالة مقدمة للجنة الدراسات العليا
كلية الصيدلة / جامعة الموصل
كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل الطالب

أحمد عبد صالح عبوش
(بكالوريوس صيدلة 2012)

المشرف

الأستاذ المساعد
أحمد عبد الجبار محمود شاهر
(دكتوراه كيمياء صيدلانية)

هجري ١٤٤٦ **ميلادي ٢٠٢٤**

الخلاصة

المواد الكيميائية المعروفة بالمضادات الحيوية، سواء كانت مثبطة للبكتريا أو قاتلة للبكتريا، تقتل أو تمنع نمو البكتيريا، مما يسمح لآليات الدفاع الطبيعية في أجسامنا بالقضاء على هذه الميكروبات. للكائنات الحية الدقيقة المقاومة آثار كارثية على المرضى والمجتمعات. يعد إطلاق البكتيريا لانزيم البيتا لاكتاماز هو السبب الأكثر شيوعًا لمقاومة البكتيريا.

هناك نوعان متميزان من بيتا لاكتاماز، سيرين بيتا لاكتاماز (SBLs) وميتالو بيتا لاكتاماز (MBLs). مثبطات بيتا لاكتاماز هي مركبات طبية تعمل عند تناولها مع المضادات الحيوية بيتا لاكتام على تحييد تأثير إنزيم بيتا لاكتاماز على جزيء المضاد الحيوي، مما يحافظ على تلك المضادات الحيوية من التحلل المائي ويحافظ على تأثيرها المضاد للبكتيريا، في عام 1977 تم اكتشاف حمض clavulanic لأول مرة كمثبط لانزيم البيتا لاكتاماز. أحد عيوب مثبطات البيتا لاكتاماز هو أن هذه المثبطات تحتوي على حلقة بيتا لاكتام مما يجعلها عرضة للتحلل بواسطة انزيم البيتا لاكتاماز. تتضمن الاستراتيجيات المقترحة لمكافحة انزيم البيتا لاكتاماز، المسؤولة عن مقاومة المضادات الحيوية، إنشاء مثبطات لا تحتوي على البيتا لاكتام كمكون اساسي لها.

استخدمنا في هذا الدراسة مركبين (4-فينوكسيانيلين و بيتا-أمينوديفينيلامين) الذين لا يحتويان على حلقة بيتا لاكتام في تركيبهما، ثم قمنا بتصميم وتصنيع العديد من مشتقاتهما باستخدام طريقة الإرساء الجزيئي الحديث. أجريت تجربة الإرساء على نوعين من انزيم البيتا لاكتاماز؛ (TEM-1 1pzp) وهو SBL & (وIMP-1 1jje) وهو MBLs، من أجل استكشاف التقارب تجاه كل من انزيما البيتا لاكتاماز. تم تصنيع الجزيئات التي حققت الدرجة العالية في تجارب الالتحام الجزئي كأميدات عن طريق تفاعل كلوريدات الحمض المنتجة حديثًا مع المركبات الأمينية في ثنائي كلورو ميثان (DCM).

اشارت نتائج FTIR وH-NMR1 وC-NMR13 إلى تكوين روابط الأميد لكلتا السلسلتين. تم دراسة ال (ADMET) على جهاز الكومبيوتر للتأكد من خصائصها المشابهة للأدوية. تم تقييم قدرة المركبات المحضرة على تثبيط نشاط انزيم البيتا لاكتاماز للعزلات البكتيرية الممرضة للإنسان (بكتيريا موجبة جرام واحد وتحديدا Staphylococcus aureus بالإضافة إلى اثنين من بكتيريا سلبية جرام وتحديدا Escherichia coli و Klebsiella pneumonia) عن طريق قياس مناطق التثبيط باستخدام تقنية نشر القرص.

أظهرت النتائج أن جميع المركبات المحضرة ليس لها أي نشاط مضاد لانزيم البيتا لاكتاماز ضد E. coli و K.Pneumonia، أما بالنسبة لبكتريا Staphylococcus aureus فقد أظهرت تسعة من المركبات المحضرة نشاطا واعدا (Ph An 1, 5, 7, 10 و Am Ph 1, 2, 3, 5, 6) ضد بكتريا Staphylococcus aureus، ذلك مشابهة المركب المعياري (clavulanic acid).

احتوت الأميدات الجديدة على جزء واحد على الأقل كاره للماء في تركيبتها الكيميائية، بالإضافة إلى ذرة الهالوجينات أو مجموعة النيترو والتي على الرغم من أنها ستزيد الانتقائية تجاه انزيم البيتا لاكتاماز.