

**ОТЧЕТ ПО ПРОЕКТ ЗА НАУЧНО И КАРИЕРНО РАЗВИТИЕ**  
**НАЦИОНАЛНА ПРОГРАМА „МЛАДИ УЧЕНИ И ПОСТДОКТОРАНТИ“ II ЕТАП**

**Тема: Разработване на нови съединения с активност срещу мултирезистентни щамове на *Mycobacterium tuberculosis***

**Участник:** химик Мартин Равуцов

/длъжност/степен, име фамилия/

**Научен ръководител:** проф. дхн Владимир Димитров

/длъжност/степен, име фамилия/

София, 02.2021

Белодробната туберкулоза заема второ място по смъртност сред инфекциозните заболявания в световен мащаб. Според оценка на Световната здравна организация (СЗО) през 2017 г. са регистрирани над девет милиона новозаразени и около 1.3 милиона смъртни случая.<sup>1</sup> Появата на резистентни щамове на *Mycobacterium tuberculosis* (МТВ) ограничава ефективността на съществуващите лекарства, поради което, настоящите препоръки на СЗО за лечение на туберкулоза включват прилагане на четири до шест препарата в комбинация. Следователно, разработването на нови лекарствени кандидати е от съществено значение за постигане на целите, поставени в програмата „Да спрем туберкулозата“ под егидата на СЗО. Един от обещаващите методи за разработване на нови медикаменти с висока активност срещу мулти-резистентни патогени е получаването на т. нар. *хибридни антибиотици*, които съчетават в молекулата си два или повече фармакофора с различен механизъм на действие.<sup>2</sup> В тази връзка, основната цел на Етап II от проекта е подобряване на ефективността на клинично изпитани препарати чрез получаването на нови синтетични аналози. Ципрофлоксацин (Фигура 1) и метронидазол (Фигура 2) са избрани като подходящи субстрати поради високата им активност срещу набор от бактериални щамове. За подобряване на активността и фармакологичните свойства е предвидено модифициране на структурата на тези съединения чрез инкорпориране на нитроароматни фрагменти.<sup>3-5</sup>

Редица бензимидазолони производни също намират приложение като фармацевтични препарати с разнообразно действие.<sup>6</sup> Значителни усилия са насочени и към разработване на съединения с антитуберкулозно действие. До този момент няколко съединения показват умерена активност срещу мулти-резистентни щамове на МТВ.<sup>6</sup> В рамките на проекта е планирано да бъдат синтезирани производни с допълнителни фармакофорни групи като 2-аминобутанол, пиперазин и 5-нитрофуран (Фигура 3).

Работната програма на проекта е разделена на работни пакети (РП), които включват конкретни научни задачи (НЗ), както следва:

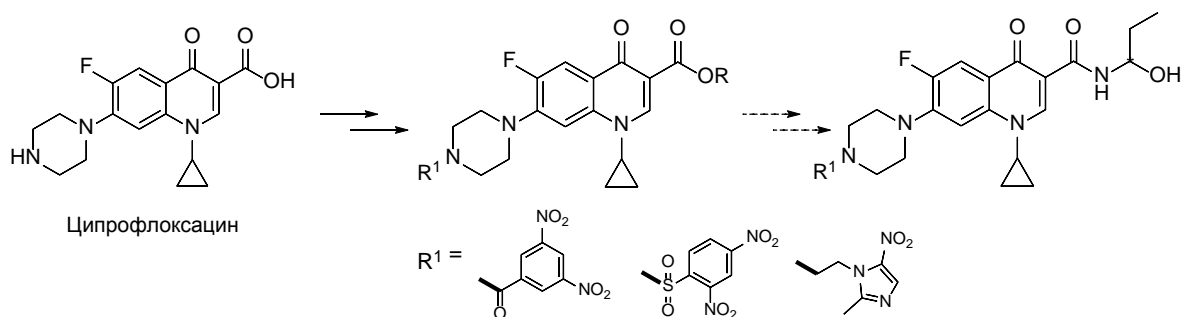
#### **РП 1. Получаване на ципрофлоксацинови производни:**

*НЗ 1:* Оптимизиране на реакционните условия за получаване на метилов естер на ципрофлоксацин.

*НЗ 2:* Въвеждане на подходящи нитроароматни заместители в пиперазиновото ядро на получения естер.

*НЗ 3:* Изследване на биологичната активност на получените нитроароматни производни срещу МТВ и анализ на получените резултати.

*НЗ 4:* Допълнително функционализиране на ципрофлоксацинови производни, проявяващи ниска активност, с 2-аминобутанол и изследване на тяхната антимикобактериална активност.

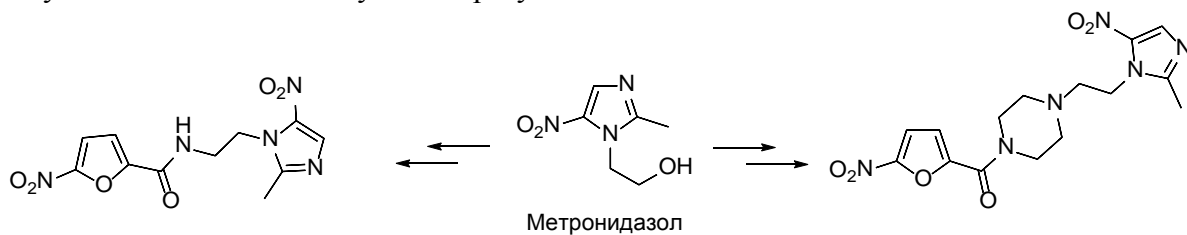


Фигура 1

### РП 2. Получаване на производни на метронидазол:

НЗ 1: Синтез на нитрофуранови производни на метронидазол.

НЗ 2: Изследване на биологичната активност на получените нитрофуранови производни срещу МТВ и анализ на получените резултати.



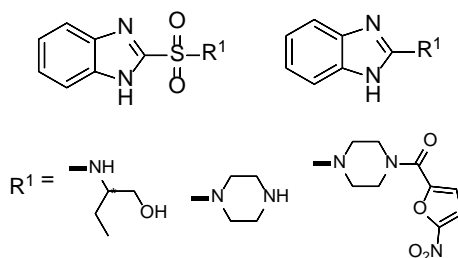
Фигура 2

### РП 3. Получаване на бензимидазолови производни:

НЗ 1: Синтез на сулфонамидни производни на бензимидазол.

НЗ 2: Синтез на amino-производни на бензимидазол.

НЗ 3: Изследване на биологичната активност на получените бензимидазолови производни срещу МТВ и анализ на получените резултати.



Фигура 3

## РП 1. Получаване на ципрофлоксацинови производни

**НЗ 1:** Оптимизиране на реакционните условия за получаване на метилов естер на ципрофлоксацин.

Първият етап от синтетичната стратегия за получаване на ципрофлоксацинови производни е синтез на метилов естер **2** (Схема 1). За целта е проведена реакция в метанол в присъствие на толуен 4-сулфонова киселина (*p*-TsOH), съгласно публикувана в литературата процедура.<sup>7</sup> Естер **2** е изолиран с 57 % добив. В последствие добивът на целевия продукт е повишен до 85 % чрез провеждане на реакцията в присъствие на молекулно сито (поставено в соклет).

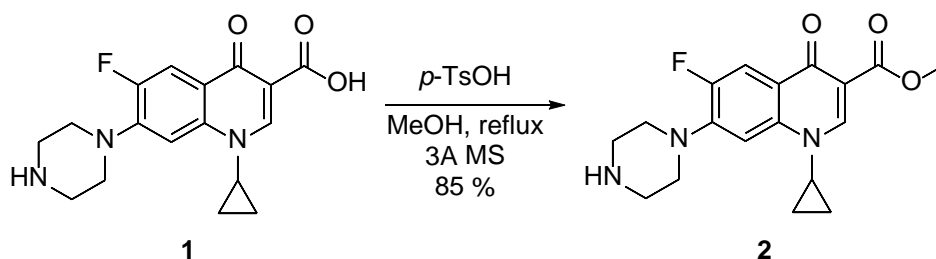


Схема 1

**НЗ 2:** Въвеждане на подходящи нитроароматни заместители в пиперазиновото ядро на получения естер.

В следващият етап са проведени експерименти за получаване на нитроароматни производни **5** и **6** (Схема 2) чрез реакция на **2** съответно с 3,5-динитробензоил хлорид (**3**) и 2,4-динитробензенсулфонил хлорид (**4**). Реакционните условия са оптимизирани чрез вариране на разтворителя и реакционната температура.

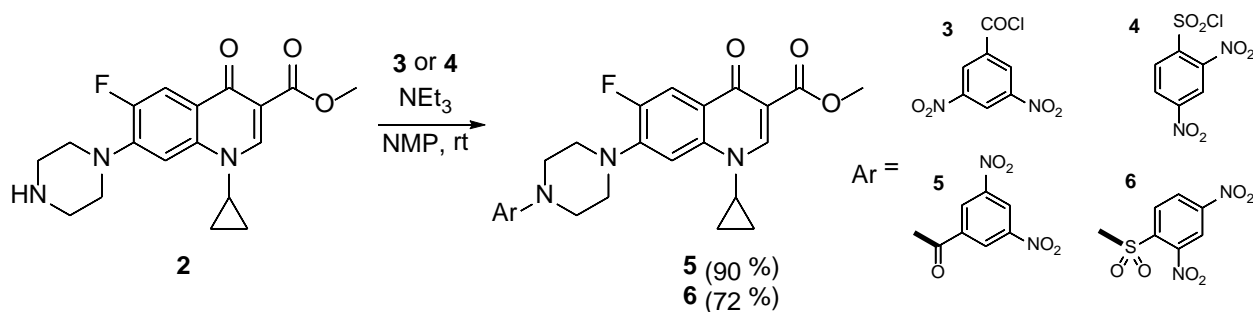


Схема 2

Въвеждане на метронидазолов заместител е осъществено чрез реакция на естер **2** с тозилиран метронидазол **8** (Схема 3), получен по литературна процедура.<sup>8</sup> Проведени са експерименти за оптимизиране на реакционните условия чрез вариране на разтворителя и реакционната температура, като към този момент не са намерени по-подходящи условия.

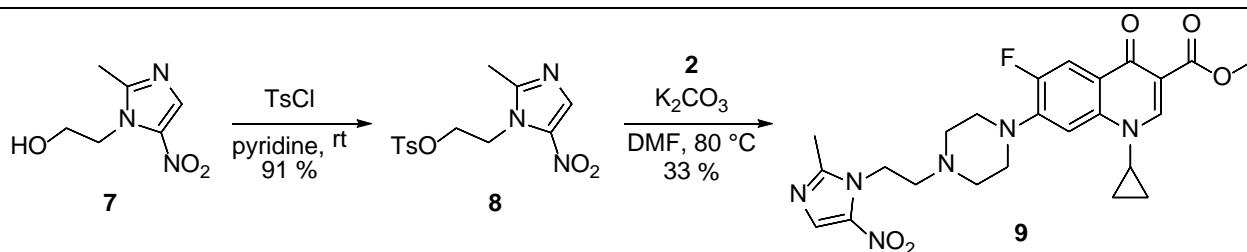


Схема 3

*НЗ 3: Изследване на биологичната активност на получените нитроароматни производни срещу МТВ и анализ на получените резултати.*

Антимикобактериалната активност на съединения **5**, **6** и **9** срещу референтен щам H<sub>37</sub>Rv на *Mycobacterium tuberculosis* е в процес на изследване.

## РП 2. Получаване на производни на метронидазол

*НЗ 1: Синтез на нитрофуранови производни на метронидазол.*

Получаването на нитрофуранови производни **13** и **15** е проведено в няколко стъпки от тозилиран метронидазол **8** (Схема 4). Третиране на съединение **8** с *tert*-бутилпиперазин-1-карбоксилат, последвано от сваляне на защитната група с водна солна киселина води до получаване на пиперазиново производно **11**. Съединение **13** е успешно изолирано след последваща реакция на **11** с 5-нитрофуран-2-карбонилхлорид (**12**) в среда от *N*-метилпиролидон (NMP) и триетиламин (NEt<sub>3</sub>). С цел изследване на влиянието на двата нови фармакофорни фрагмента (пиперазинов и нитрофуранов) в структурата на **13** върху антимикобактериалната активност са проведени експерименти за получаване на съединение **15**, в което липсва пиперазинов фрагмент.

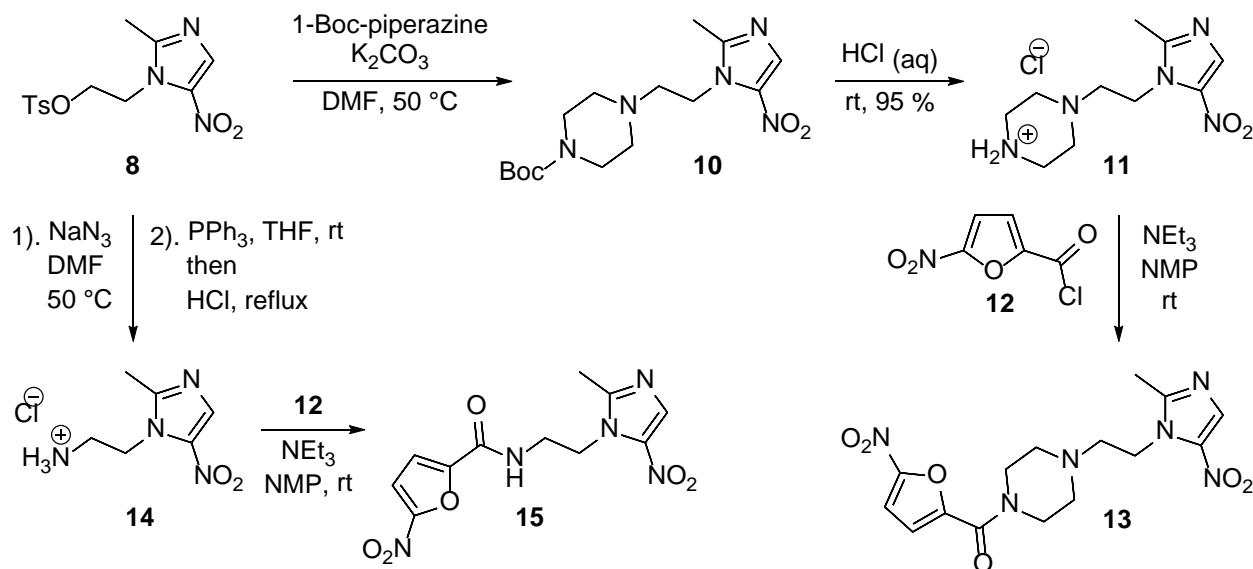


Схема 4

*НЗ 2: Изследване на биологичната активност на получените нитрофуранови производни срещу МТВ и анализ на получените резултати.*

Антимикобактериалната активност на съединения **13** и **15** срещу референтен щам H<sub>37</sub>Rv на *Mycobacterium tuberculosis* е в процес на изследване.

### РП 3. Получаване на бензимидазолови производни

*НЗ 1: Синтез на сулфонамидни производни на бензимидазол.*

За получаването на сулфонамидни производни на бензимидазол (Фигура 3) първоначално са проведени експерименти за синтез на 1H-бензо[d]имидазол-2-сулфонил хлорид (**17**) от 1H-бензо[d]имидазол-2-тиол по описани в литературата процедури (Схема 5). И в двата случая приложените реакционни условия не водят до получаване на суфонил хлорид **17**, поради което целевите сулфонамиди не са синтезирани на този етап.

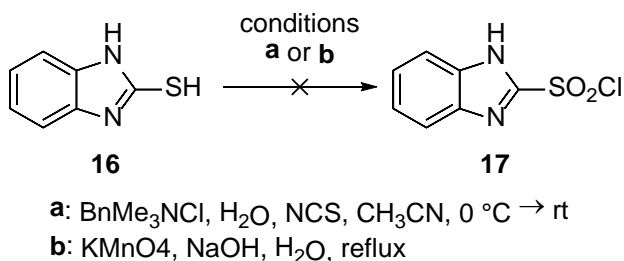


Схема 5

*НЗ 2: Синтез на amino-производни на бензимидазол.*

Съединение **19** е получено в една стъпки от 2-хлоро-1H-бензо[d]имидазол **18** (Схема 6). Последваща реакция на **19** с карбонил хлорид **12** води до получаване на метронидазолово производно **20** с добър добив (70 %).

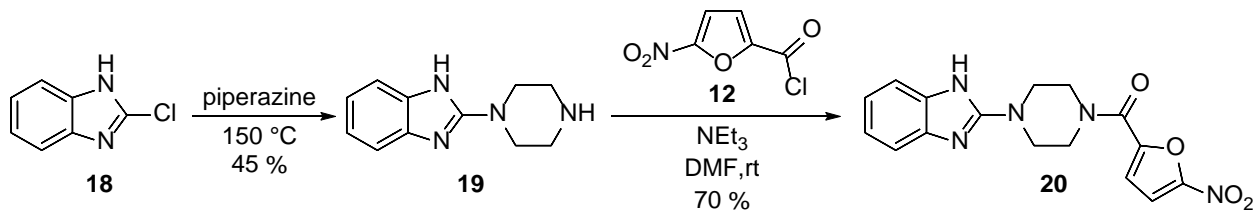


Схема 6

*НЗ 3: Изследване на биологичната активност на получените бензимидазолови производни срещу МТВ и анализ на получените резултати.*

Антимикобактериалната активност на съединения **19** и **20** срещу референтен щам H<sub>37</sub>Rv на *Mycobacterium tuberculosis* е в процес на изследване.

<b>Изводи/Обобщение</b>
<p>Въз основа на представените експериментални резултати могат да се обобщят следните приноси и изводи:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Оптимизирана е процедурата за получаване на метилов естер на ципрофлоксацин.</li> <li>2) Синтезирани са три нитроароматни прозводни на ципрофлоксацин.</li> <li>3) Синтезирани са две нитрофуранови производни на метронидазол.</li> <li>4) Синтезирани са две пиперазинови производни на бензимидазол.</li> </ol>
<b>Публикации (излезли или подадени за печат публикации, в които изрично е изказана благодарност към Програмата) и участия на научни форуми</b>
—
<b>Литература</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 21st WHO model list of essential medicines (2019), WHO/MVP/EMP/IAU/2019.06.</li> <li>2. Domalaon, Ronald, Temilolu Idowu, George G. Zhanel, and Frank Schweizer <i>Clinical Microbiology Reviews</i> <b>2018</b>, 31, e00077-17.</li> <li>3. Dobrikov, Georgi M., Violeta Valcheva, Margarita Stoilova-Disheva, Georgi Momekov, Pavleta Tzvetkova, Angel Chimov, and Vladimir Dimitrov <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i> <b>2012</b>, 48, 45-56.</li> <li>4. Dobrikov, Georgi M., Violeta Valcheva, Yana Nikolova, Iva Ugrinova, Evdokia Pasheva, and Vladimir Dimitrov <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i> <b>2013</b>, 63, 468-473.</li> <li>5. Nepali, Kunal, Hsueh-Yun Lee, and Jing-Ping Liou <i>Journal of Medicinal Chemistry</i> <b>2019</b>, 62, 2851-2893.</li> <li>6. Tahlan, Sumit, Sanjiv Kumar, and Balasubramanian Narasimhan <i>BMC Chemistry</i> <b>2019</b>, 13, 101.</li> <li>7. Yang, Xuan, Derek Ammeter, Temilolu Idowu, Ronald Domalaon, Marc Brizuela, Oreofe Okunnu, Liting Bi et al. <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i> <b>2019</b>, 175, 187-200.</li> <li>8. Clayton, R., &amp; Ramsden, C. A. <i>Synthesis</i> <b>2005</b>, 2695-2700.</li> </ol>

Дата: 04.02.2021 г. Изготвил: химик Мартин Равуцов

Научен ръководител: проф дхн Владимир Димитров