



Rezumatul tezei de doctorat intitulată

**„Contribuții la designul, studiul *in silico* și obținerea
unor hibrizi ai fluoroquinolonelor cu potențial biologic”**

Doctorand: **Ioana-Andreea Lungu**

Coordonator științific: **Prof. univ. dr. Aura Rusu**

Introducere

Infecțiile bacteriene au constituit și continuă să fie o provocare majoră pentru umanitate, în ciuda progreselor semnificative aduse de vaccinuri și antibiotice. Acestea continuă să afecteze populația la nivel global, inclusiv prin infecții asociate actului medical. În plus, creșterea rezistenței bacteriene și diminuarea eficacității antibioticelor reprezintă o amenințare gravă la nivel mondial. În acest context, cercetarea privind dezvoltarea de noi antibiotice eficiente devine esențială pentru gestionarea infecțiilor bacteriene.

Fluoroquinolonele (FQN) reprezintă o clasă majoră de agenți antibacterieni, eficienți împotriva bacteriilor Gram-negative și Gram-pozitive, cu aplicații terapeutice extinse, inclusiv în infecții virale, fungice, cancer și boli neurodegenerative. Cu toate acestea, utilizarea excesivă și uneori necorespunzătoare a fluoroquinolonelor în medicina umană și veterinară a condus la creșterea rezistenței bacteriene. Pentru a contracara această problemă, cercetările s-au concentrat pe dezvoltarea de noi derivați eficienți, cu proprietăți farmacocinetice și farmacodinamice optimizate, consolidând astfel valoarea terapeutică a acestei clase de compuși.

FQN sunt candidați ideali pentru dezvoltarea de compuși antibacterieni hibrizi datorită mai multor avantaje: efectul bactericid, potența ridicată, dezvoltarea lentă a rezistenței bacteriene și activitatea duală împotriva a două enzime bacteriene țintă (ADN-giraza și topoizomeraza IV). Pe lângă aceste beneficii funcționale, FQN prezintă avantaje structurale semnificative, fiind compuși sintetici ușor de optimizat structural, cu o capacitate excelentă de complexare a ionilor metalici și de combinare cu alte molecule active. Aceste caracteristici au facilitat includerea lor în numeroși hibrizi cu efect antibacterian, atât cu alte antibiotice (de exemplu, tetraciclina, aminoglicozide), cât și cu molecule non-antibiotice (de exemplu, benzimidazol, triazoli). Astfel, FQN au un rol important în cercetările pentru dezvoltarea de noi agenți antibacterieni, consolidând strategia de hibridizare ca o abordare promițătoare împotriva rezistenței bacteriene globale la antibiotice.

Tetraciclinele (TC) sunt antibiotice cu spectru larg, eficiente împotriva bacteriilor Gram-pozitive, Gram-negative, precum și a unor agenți patogeni precum paraziți, protozoare, rickettsii, micoplasme și clamidii. Acestea acționează prin inhibarea sintezei proteinelor prin interacțiunea cu ARN-ul ribozomal 16S al subunității ribozomale 30S. Pe lângă activitatea antibacteriană, TC prezintă efecte biologice suplimentare, precum activități antiapoptotice, antiinflamatoare, antivirale și neuroprotectoare, al căror mecanism de acțiune este în continuare investigat.

Folosite pentru tratamentul diverselor infecții, inclusiv cele respiratorii, urinare și genito-urinare, precum și în prevenirea malariei, utilizarea extinsă a TC a condus la apariția rezistenței bacteriene, prin mecanisme precum proteinele de protecție ribozomală și pompele de eflux. Cu toate acestea, TC continuă să fie esențiale în gestionarea infecțiilor bacteriene.

Antibioticele de tip hibrid, obținute prin legarea covalentă a doi farmacofori cu ținte bacteriene distincte, oferă o strategie promițătoare pentru combaterea rezistenței bacteriene. Aceste molecule au potențial de a prezenta eficacitate împotriva bacteriilor rezistente, un spectru extins de activitate și o eficiență prelungită chiar după apariția rezistenței. De asemenea, probabilitatea de a favoriza dezvoltarea ulterioară a rezistenței bacteriilor la antibiotice este redusă. Strategia de hibridizare conferă beneficii suplimentare față de administrarea separată a componentelor, consolidând potențialul terapeutic al acestui tip de antibiotice.



Studiul 1. Evaluarea potențialelor efecte inhibitorii asupra ADN-girazei bacteriene (*Escherichia coli*) a unor hibrizi ipotetici de tip tetraciclina-fluorochinolone

Acest studiu a avut ca obiectiv principal evaluarea capacității unor hibrizi ipotetici de tip TC-FQN de a inhiba ADN-giraza bacteriană (*Escherichia coli*). Sinteza acestor hibrizi, bazată pe metoda lui Sriram D. și colaboratorii (2007), respectă principii ale „chimiei verzi” prin utilizarea radiațiilor cu microunde și a solvenților relativ netoxici, precum etanolul. Până în prezent nu există structuri obținute prin microscopie crio-electronică sau cristalografie cu raze X ale unor complexe între acest tip de hibrizi și ADN-giraza. Astfel, studiul s-a concentrat pe proiectarea computațională a hibrizilor de tip TC-FQN și evaluarea interacțiunilor cu enzima țintă ADN-giraza prin andocare moleculară. În plus, studiul a urmărit și compararea hibrizilor cu albicidina, un inhibitor cunoscut al ADN-girazei, în ceea ce privește similitudinea moleculară și proprietățile fizico-chimice.

A fost creată o serie de 40 de hibrizi ipotetici de tip TC-FQN ale căror structuri au avut ca și componentă FQN balofloxacină, besifloxacină, ciprofloxacină, delafloxacină, finafloxacină, moxifloxacină, nemonoxacină, norfloxacină, sitafloxacină sau zabofloxacină, iar ca și componentă TC doxiciclina, minociclina, tetraciclina sau tigeciclina. Cele două componente antibiotice au fost legate printr-un conector metilen, la gruparea amidică de la C2 a TC și amina secundară sau primară a substituentului din poziția C7/amina primară a substituentului din poziția N1 (delafloxacină) a FQN.

Dintre structurile co-cristalizate disponibile în baza de date Protein Data Bank la momentul realizării studiului, a fost selectată o enzimă țintă al cărei ligand a fost legat în același situs cu cel al FQN: ADN-giraza bacteriană (*Escherichia coli*) cu albicidina ca ligand. Determinarea similitudinii dintre hibrizii de tip TC-FQN și ligandul co-cristalizat, calcularea parametrilor fizico-chimici ai structurilor proiectate ale hibrizilor și ai ligandului co-cristalizat în vederea comparării lor și andocarea moleculară au fost realizate cu ajutorul platformei FORECASTER.

Hibrizii Do-Ba (doxiciclina-balofloxacină), Mi-Fi (minociclina-finafloxacină) și Te-Ba (tetraciclina-balofloxacină) au prezentat cea mai apropiată asemănare fizico-chimică cu albicidina și scoruri de andocare similare. Cu toate acestea, unii hibrizi au depășit albicidina cu scoruri mai bune; în mod special s-a remarcat hibridul Te-De (tetraciclina-delafloxacină). Este probabil ca hibrizii studiați să inhibe sinteza ADN-ului prin legarea la complexii enzimă-ADN, similar cu componenta FQN. Studiile viitoare ar putea examina rolul subunității ribozomale 30S ca țintă vizată în cadrul unui posibil mecanism dual de acțiune. Acești hibrizi ar putea oferi un spectru larg de activitate și ar putea reduce dezvoltarea rezistenței bacteriene, deși sunt necesare cercetări suplimentare *in vitro* și *in vivo* pentru a confirma aceste ipoteze.

Studiul 2. Obținerea unor hibrizi de tip tetraciclina-fluorochinolone în vederea descoperirii unor compuși cu potențial efect antibacterian – studiu preliminar

Acest studiu a vizat optimizarea unei metode de sinteză pentru obținerea hibrizilor de tip TC-FQN utilizând un linker de tip metilen derivat din formaldehidă. Pornind de la cercetările lui Sriram D. și colaboratorii (2007) care au sintetizat baze Mannich ale TC cu FQN, studiul actual a folosit reacția de condensare Mannich pentru a obține hibrizi între FQN (ciprofloxacină, moxifloxacină, norfloxacină) și TC (doxiciclina, tetraciclina). Metodele de sinteză au inclus atât procedee clasice la reflux, cât și procedee la reflux asistate de microunde, iar variația parametrilor de reacție, inclusiv utilizarea unui catalizator, a fost explorată pentru optimizarea metodei.

Studiul preliminar al sintezei hibridului norfloxacină-doxiciclina a avut succes; analizele DSC și MS au susținut formarea unui nou compus distinct de compușii „părinte”. Ambele procedee de sinteză la reflux (clasică și asistată de microunde) au produs rezultate similare. Nu este clar dacă utilizarea catalizatorului $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a favorizat reacția Mannich de obținere a hibrizilor TC-FQN, deși una dintre probele din seria cu catalizator a prezentat raportul m/z cel mai apropiat de masa teoretică a hibridului.

Metoda de sinteză este simplă și implică o singură etapă, folosind solvenți netoxici. Rezultatele obținute sunt încurajatoare și reprezintă informații valoroase pentru optimizarea acestor metode de obținere a hibrizilor vizati.

Acești hibrizi bazați pe două molecule antibiotice de tip TC-FQN au potențialul de a contribui la dezvoltarea unor noi compuși eficienți în combaterea rezistenței bacteriene, datorită posibilului mecanism dublu de acțiune, conferit de cele două componente „părinte”.