



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2020 00641**

(22) Data de depozit: **14/10/2020**

(41) Data publicării cererii:  
**29/04/2022** BOPI nr. **4/2022**

(71) Solicitant:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE  
CHIMICO-FARMACEUTICĂ - ICCF  
BUCUREȘTI, CALEA VITAN NR.112,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **PINTILIE LUCIA, INTRAREA VORONEȚ  
NR.14, BL.D 8, SC.3, ET.1, AP.36,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **TANASE CONSTANTIN,  
ȘOS. ALEXANDRIEI NR.11, BL.C-11, SC.E,  
ET.2, AP.69, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,  
RO**

(54) **DERIVAȚI DE 6-METILCHINOLONE INHIBITORI DUALI  
AI ADN GIRAZA ȘI TOPOIZOMERAZA IV ȘI INHIBITORI  
DE INTEGRAZA**

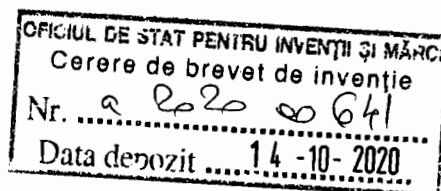
(57) Rezumat:

Invenția se referă la derivați cu structură chinolonă cu activitate antimicrobiană utilizați în tratamentul infecțiilor cauzate de microorganisme gram- pozitive și gram-negative. Derivații 6-metil-chinolonici, conform invenției, sunt aleși dintre acidul 1-etil-6-metil-7-morfolinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic și acidul 1-etil-6-

metil-7-(3- metil-piperazinil)-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic ca inhibitori duali ai ADN giraza și Topoizomeraza IV și inhibitori de integrază.

Revendicări: 3





### Derivati de 6-metilchinolone inhibitori duali ai ADN giraza si Topoizomeraza IV si inhibitori de integraza

Inventia se refera la identificarea prin proiectare si simulare "*in silico*" a unor derivati cu structura chinolonica, potentiali inhibitori duali ai ADN giraza si Topoizomeraza IV si inhibitori de integraza si procedeu de preparare al lor.

Inhibitorii de ADN Giraza reprezinta o importanta clasa de medicamente antibacteriene cu spectru larg de actiune. Structura de baza a acestor medicamente (Figura 1) este o structura biciclica, ce contine un inel A de tip 4-piridinona combinat cu un inel aromatic sau heteroaromatic B. Inelul A de tip 4-piridinona este un inel cu necesitate absoluta: a unei nesaturari in pozitia 2-3, a unei functii acide libere in pozitia 3, a unui substituent la azotul din pozitia 1.

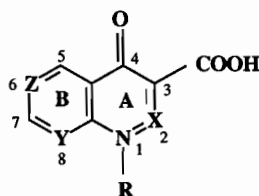


Fig. 1 Structura de baza a chinolonelor

Mecanismul de actiune se bazeaza pe inhibarea topoizomerazei prokariotice de tip II, denumita ADN giraza si in cateva cazuri a topoizomerazei IV. Chinolona reactioneaza direct cu cromozomul bacterian, astfel inhibarea enzimei fiind urmata de interactiunea cu ADN-ul bacterian.

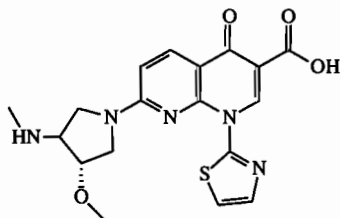
Prin modificari structurale efectuate pe nucleul chinolinic, in pozitiile 1,2, 3, 6, 7 si 8, au fost obtinute noi structuri, care, pe langa proprietatile antibacteriene poseda si proprietati antitumorale si/sau antivirale.

In practica medicala sunt utilizati un numar mare de agenti antimicrobieni cu structura chinolonica, unii dintre ei fiind considerati de specialistii farmacologi ca medicamente de prima necesitate in terapia antiinfectioasa umana si veterinara. Chinolonele prezinta un spectru larg si o activitate antibacteriana puternica. Ele se caracterizeaza printr-o farmacocinetica ce permite utilizarea lor in toate infectiile localizate.

In ultimul timp, studiile farmacologice au dovedit ca chinolonele poseda si alte activitati biologice: activitate antitumorală (ex. Voreloxin: primul derivat din clasa chinolonelor cu activitate anticanceroasa), activitate antimicobacteriana (Ex. Moxifloxacină), activitate antivirală pe virusul

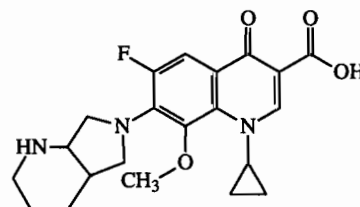


herpes, in inhibarea bolilor neurovegetative si a infectiilor ischemice si in stocarea produselor alimentare (datorita proprietatilor bactericide).



**Voreloxin**

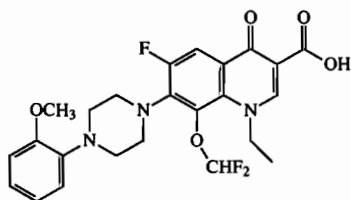
Clin Cancer Res; 16(7) Apr. 1, 2010



**Moxifloxacin**

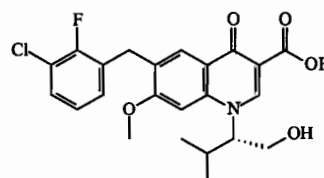
Bioorg. Med. Chem., 27(14), 2019

In ultimii 30 de ani, numerosi compusi cu structura chinolonica au fost evaluati pentru activitatea anti HIV. Unul dintre acesti compusi este chinolona K-12 care inhiba replicarea virusului imunodeficientei umane la etapa de transcripție. Elvitegravir este primul inhibitor de integraza utilizat in tratamentul infectiei cu HIV aprobat de U.S. Food and Drug Administration.



**K-12**

Antiviral Chem. Chemother., 9(5), 1998



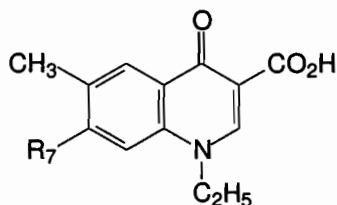
**Elvitegravir**

Arch. Pharm. Chem. Life. Sci., 352(9), 2019

Chinolonele, considerate "privileged building blocks", obtinute prin metode simple si flexibile de sinteza, permit dezvoltarea de biblioteci mari de molecule bioactive. Cercetarile pentru obtinerea unui nou medicament cu structura chinolonica, continua in multe laboratoare din intreaga lume.

Un parametru important in procesul de dezvoltare a unui nou medicament, este si afinitatea medicamentului fata de tinta identificata (proteina/enzima). Predictia modului de legare a ligandului la tinta (proteina/enzima), prin simulare moleculara ar permite restrangerea sintezei la compusii cei mai promitatori.

Prezenta inventie largeste gama derivatilor derivati cu structura chinolonica inhibitori duali ai ADN giraza si Topoizomeraza IV cu noi compusi care corespund formulei generale I:



## I

in care  $R_7$  este morfolinil, 3-methyl-piperazinil.

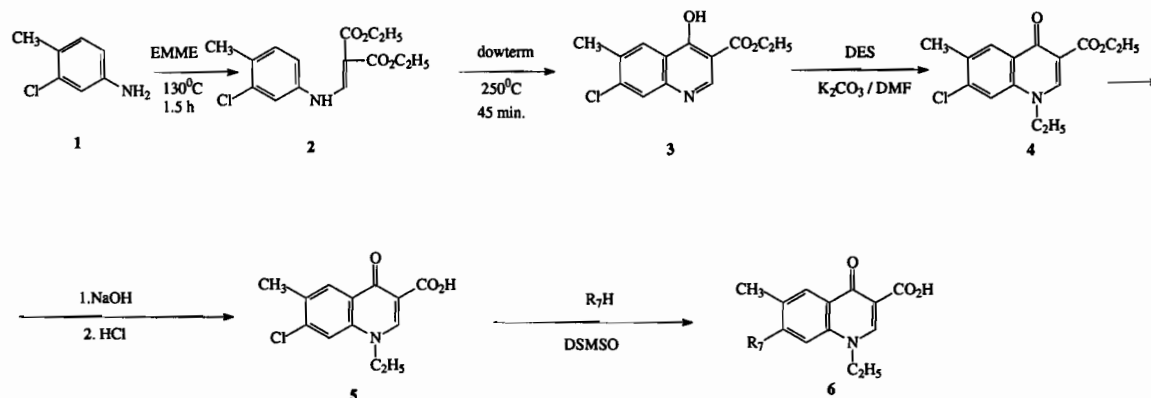
Structurile compusilor au fost proiectate utilizand Spartan Wavefunction, Inc. Irvine CA USA. Pentru fiecare compus a fost generata structura 3D modelul CPK, s-a optimizat geometria prin minimizarea energiei, in vederea obtinerii conformerului cel mai stabil, de energie minima. Au fost calculati descriptorii moleculari si proprietati moleculare: masa, energia, energia de solvatare, energia orbitalilor de frontiera, aria, volumul, suprafata polara totala (TPSA), ovalitatea, coeficientul de partiție apă-octanol (logP), polarizabilitatea, mometul de dipol.

Studiile de andocare moleculara ale compusilor proiectati se realizeaza cu CLC Drug Discovery Workbench pentru a identifica si a vizualiza modul de interactiune ligand-receptor. Au fost studiate interactiunile compusilor proiectati cu o serie de receptori extrasi din Protein Data Bank:

- *S. aureus* - DNA gyrase, PDB ID: 4P8O;
- *Mycobacterium tuberculosis* DNA gyrase, PDB ID: 3M4I;
- Human Topo IIa ATPase/AMP-PNP, PDB ID: 1ZXM;
- HIV-1 Reverse Transcriptase (RT), PDB ID: 2ZD1.

Derivatii de 6-metil-chinolone se prepara prin sinteza prin metoda descrisa in Schema de Reactie Nr.1.

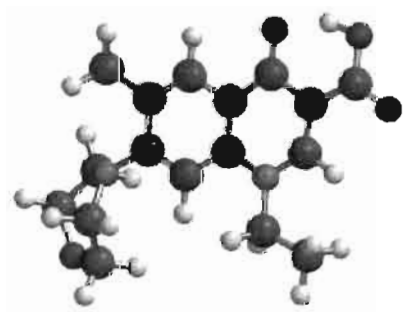
## Schema de reactii Nr.1



6-Metil-chinolonele se obtin prin sinteza chimica, prin metoda Gould-Jacobs, metoda ce consta in reactia dintre o anilina nesubstituita la atomul de azot (1) si etoximetilen malonatul de etil (EMME) (Schema Nr.1). Anilinometilen malonatul de etil (2) format, este supus unui proces de incalzire pentru a induce ciclizarea Gould-Jacobs, conducand astfel la obtinerea esterului etilic al acidului 4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (3). Urmatoarea operatie este aceea de alchilare la azotul din pozitia 1, alchilare ce se realizeaza cu dialchilsulfati, obtinandu-se astfel chinolin-3-carboxilatul (4). Operatia finala pentru a produce compusul cheie (5) in sinteza derivatilor de acizi chinolin-3-carboxilici, este hidroliza bazica, operatie in urma careia se genereaza gruparea carboxilica libera, grupare ce confera activitate biologica compusului chinolonic. Printr-o reactie de substitutie regiospecifica se realizeaza inlocuirea clorului din pozitia 7 a nucleului chinolinic cu un heterociclu, obtinandu-se astfel compusii cu structura chinolonica (6).

**Exemplul 1:** Proiectarea compusilor ce corespund Formulei generale I

Utilizand Spartan Wavefunction, Inc. Irvine CA USA au fost generate structurile 3D (6MePQ25 si 6MePQ27), a caror geometrie a fost optimizata prin minimizarea geometriei, in vederea obtinerii conformerului cel mai stabil, de energie minimă. Pentru fiecare conformer s-a realizat o analiză conformatională și calcule a unor proprietăți moleculare, importante pentru analiza cantitativă a relațiilor structură-activitate (QSAR).



Structura 3D a compusului 6MePQ25



Structura 3D a compusului 6MePQ27

Au fost calculati descriptorii moleculari și proprietăți moleculare: masa, energia, energia de solvatare, energia orbitalilor de frontieră, aria, volumul, suprafața polară totală (TPSA), ovalitatea, coeficientul de partiție apă-octanol (logP), polarizabilitatea, mometul de dipol (Tabel 1)



Tabel Nr. 1. Proprietatile moleculare a compusilor proiectati

| Compus  | Proprietati calculate |                         |             |             |               |                                                      |                      |           |       |                        |                          |     |     |
|---------|-----------------------|-------------------------|-------------|-------------|---------------|------------------------------------------------------|----------------------|-----------|-------|------------------------|--------------------------|-----|-----|
|         | Energie [au]          | Moment de dipol [debye] | E HOMO [eV] | E LUMO [eV] | HOMO-LUMO GAP | Polarizabilitate [10 <sup>-30</sup> m <sup>3</sup> ] | PSA[Å <sup>2</sup> ] | Ovalitate | Log P | Aria [Å <sup>2</sup> ] | Volum [ Å <sup>3</sup> ] | HBA | HBD |
| 6MePQ25 | -1070.26364           | 9.79                    | -6.06       | -1.57       | 4.49          | 65.90                                                | 52.328               | 1.46      | 1.92  | 326.50                 | 315.51                   | 5   | 1   |
| 6MePQ27 | -1089.71616           | 10.65                   | -5.91       | -1.48       | 4.43          | 67.66                                                | 57.077               | 1.49      | 2.01  | 350.02                 | 336.97                   | 5   | 1   |

### Exemplul 2 Studii de andocare moleculara

Studiile de andocare ale compusilor proiectati s-au realizat cu CLC Drug Discovery Workbench pentru a identifica si vizualiza modul de interactiune ligand-receptor. Au fost studiate interactiunile compusilor proiectati cu o serie de tinte, care au fost importate din Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/>:

- *S. aureus* - DNA gyrase, PDB ID: 4P8O;
- *Mycobacterium tuberculosis* DNA gyrase, PDB ID:3M4I;
- Human Topo IIa ATPase/AMP-PNP, PDB ID:1ZXN;
- HIV-1 Reverse Transcriptase (RT), PDB ID:2ZD1.

Studiile de docking au fost efectuate conform protocolului (Pintilie L., Stefaniu A., "In silico drug design and molecular docking studies of some quinolone compounds",

<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.72995>): a fost importata protein receptor din Protein Data Bank, a fost extras ligandul natural, co-cristalizatul, a fost amplasat locul de legare a ligandului (binding site), a fost redocat co-cristalizatul si validata docarea. Validarea docarii a fost efectuata pentru a ne asigura ca orientarea ligandului si pozitia din locul de legare (binding site) este valida si cat mai aproape de realitate. Au fost stabilite legaturile de hidrogen dintre co-cristalizat si resturile de aminoacizi din situsul de legare, a fost creat grupul de interactiune format din resturile de aminoacizi. A fost efectuata docarea tuturor liganzilor si au fost stabilite legaturile de hidrogen create de fiecare ligand cu resturile de aminoacid din interiorul locului de legare (binding site). Au fost stabilite grupurile de interactiune din interiorul locului de legare (binding site) a fiecarui ligand. Au fost calculate proprietatile moleculare ale tuturor liganzilor si a fost efectuata docarea tuturor liganzilor, determinandu-se functia "scor de docking" (scor de andocare) (Figura Nr. 1, Tabel Nr. 2). Studiile de andocare moleculara au fost realizate comparativ cu chinolone cunoscute: ciprofloxacin (pentru 4P8O si 3M4I), vosaroxin (pentru 1ZXN) si elvitegravir (pentru 2ZD1).



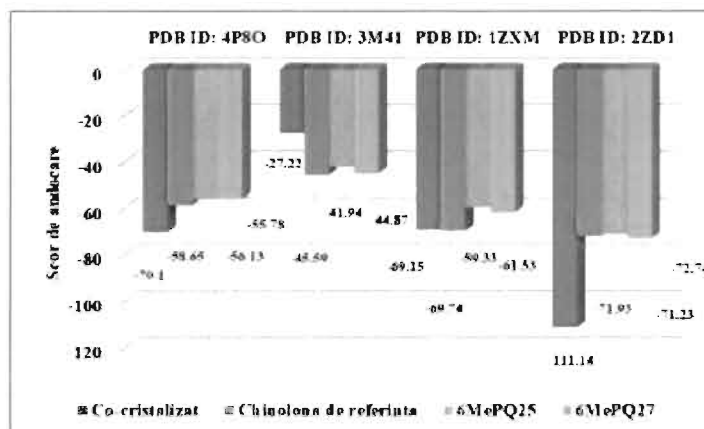


Figura Nr.1. Scorul de andocare comparativ cu chinolona de referinta

Tabel Nr.2. Scorul de andocare moleculara a compusilor proiectati comparativ cu scorul de andocare al co-cristalizatului si al chinolonei consacrate

| Comp.          | PDB ID:4P8O |      | PDB ID: 3M4I |      | PDB ID: 1ZXN |      | PDB ID:2ZDI |      |
|----------------|-------------|------|--------------|------|--------------|------|-------------|------|
|                | Scor        | RMSD | Scor         | RMSD | Scor         | Scor | Scor        | RMSD |
| Co-cristalizat | -70.10      | 0.02 | -27.22       | 1.43 | -69.15       | 2.05 | -111.14     | 0.08 |
| Ciprofloxacin  | -58.65      | 0.09 | -45.59       | 0.72 | -            | -    | -           | -    |
| Vosaroxin      | -           | -    | -            | -    | -69.74       | 0.09 | -           | -    |
| Elvitegravir   | -           | -    | -            | -    | -            | -    | -71.93      | 1.58 |
| 6MePQ25        | -56.13      | 0.24 | -41.94       | 0.08 | -59.33       | 0.09 | -71.23      | 0.04 |
| 6MePQ27        | -55.50      | 0.22 | -44.87       | 0.05 | -61.53       | 0.09 | -72.74      | 0.06 |

Au fost calculati o serie de parametri (Tabel Nr.3), cum ar fi si parametrii inclusi in Regula lui Lipinski (Lipinski's rule of five) (Advanced Drug Delivery Reviews.2001;**46**, p.3-26):

- Numarul de atomi donori de hidrogen trebuie sa fie mai mic decat 5 (numarul total de legaturi azot-hidrogen si oxigen-hidrogen);
- Numarul de atomi acceptori de hidrogen trebuie sa fie mai mic decat 10 (numarul total de atomi de oxigen si azot)
- masa moleculara mai mica decat 500 Da;
- logP (coeficientul de partitie apa-octanol) mai mic decat 5.

Acesti parametri pot da informatii pentru identificarea moleculelor ce au sansa sa devina medicamente. In cazul celor 2 compusi proiectati, nu exista nicio incalcare a Regulii lui Lipinski.

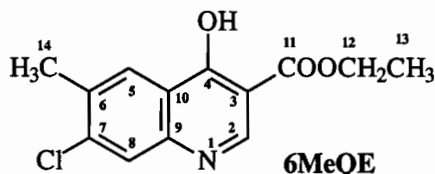


Table Nr. 3. Parametrii calculati cu Softul CLC Drug Discovery Workbench

| Ligand  | Numar de atomi | Masa [Daltons] | Nr. Legaturi flexibile | Lipinski violations | Donori de hidrogen | Acceptori de hidrogen | LogP |
|---------|----------------|----------------|------------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|------|
| 6MePQ25 | 43             | 316.35         | 3                      | 0                   | 1                  | 6                     | 3.30 |
| 6MePQ27 | 47             | 329.39         | 3                      | 0                   | 2                  | 6                     | 1.18 |

**Exemplul 3:** Sinteza esterului etilic al acidului 6-metil-7-cloro-4-hidroxi chinolin-3-carboxilic (6MeQE)

Solutia formata din 0,5 moli 3-cloro-4-metil-anilina (70,8 g) si 0,5 moli etoximetilenmalonatul de etil (110,32 g) se incalzeste timp de 1,5 ore, sub agitare, la temperatura de 130°C, cu indepartarea concomitenta a alcoolului etilic rezultat in urma reactiei de condensare. [(3-cloro-4-metil-anilino)-metilen]-malonatul de dietil rezultat, fara a fi separat din masa de reactie, se toarna peste dowterm (400 ml). Se incalzeste amestecul de reactie, sub agitare intensa, timp de 45 min., la 250°C. Masa de reactie se lasa sa se raceasca sub agitare la temperatura camerei si se filtreaza precipitatul format, care se spala cu dowterm si acetona si se usuca. Se obtin 101 g ester etilic al acidului 6-metil-7-cloro-4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (p.t.<sup>0</sup> 312-316°C; randamentul global = 76 %).



<sup>1</sup>H-RMN(dmso-d<sub>6</sub>, δ ppm, J Hz): 8.56(s, 1HH-2); 8.08(s, 1H, H-5(8)); 7.69(s, 1H, H-8(5)); 4.21(q, 2H, H-12, 7.1); 2.23(s, 3H, H-14); 1.28(t, 3H, H-13, 6.1).

FT-IR(solid in ATR, ν cm<sup>-1</sup>): 3145m; 3114m; 3089s; 2985m; 1691vs; 1609vs; 1551m; 1466m; 1443m; 1377m; 1355m; 1286s; 1243w; 1195s; 1167s; 1109m; 1031m; 990m; 906w; 881m; 854w; 806m; 761w; 727w; 654w; 547w.

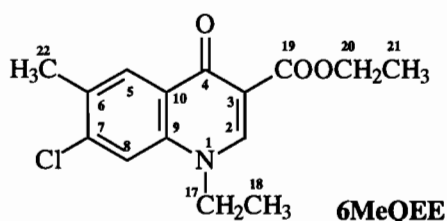
Amestec de 6-Me-7-Cl cu 5-Cl-6-Me în raport ~ 7:3. Se scrie compusul majoritar 6-Me-7-Cl.

**Exemplul 4:** Sinteza esterului etilic al acidului 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6MeQEE)

Un amestec format din N,N-dimetilformamida – 110 ml, 0,025 moli ester etilic al acidului 6-metil-7-cloro-4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (6,64 g), si 0,1125 moli carbonat de potasiu (15,86 g) se incalzeste sub agitare timp de 1 ora la 100°C, dupa care se raceste la 80°C. Se adauga apoi 0,1125 moli dietil sulfat (17,7 g) si se incalzeste masa de reactie sub agitare la 100°C, timp de 25



ore. La sfarsitul regimului, masa de reactie se raceste sub agitare la 20°C. Solutia de dimetilformamida care contine esterul etilic al acidului 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic se toarna, sub agitare, peste 300 ml de apa si se raceste timp de 8 ore la 0-5°C. Produsul brut obtinut dupa filtrare si uscare se purifica prin recristalizare din alcool isopropilic-apa. Se obtin 5,14 g produs pur (p.t. 182,8-184,8°C; randament global reactie + purificare 70%).



$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm,  $J$  Hz): 8.42(s, 1H, H-2); 8.33(q, 1H, H-5,  $^4J(\text{H-22} - \text{H-5}) = 1.0$  Hz); 7.42(s, 1H, H-8); 4.39(q, 2H, H-17, 7.2); 4.21(q, 2H, H-20, 7.3); 2.47(s, 3H, H-22); 1.54(t, 3H, H-21, 7.3); 1.41(t, 3H, H-18, 7.2).

A fost pus în evidență unul din cazurile rare când se vede cuplajul peste 4 legături între protonii H-22 din grupa metil și protonul H-5 din ciclul chinolonic. Valoarea determinată de 1.0 Hz este în acord cu datele de literatură.

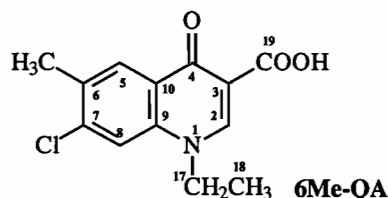
$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 173.67(C-4); 165.63(C-19); 148.51(C-2); 139.69(Cq); 137.50(Cq); 133.57(Cq); 129.64(C-5); 127.70(Cq); 115.94(C-8); 111.25(C-3); 60.95(C-20); 48.94(C-17); 19.76(C-22); 14.50(C-18-21).

FT-IR(solid in ATR,  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ): 3026w; 2980w; 2935w; 2865w; 1682s; 1632s; 1593vs; 1536m; 1484s; 1457m; 1380m; 1361m; 1329m; 1307m; 1254m; 1216s; 1179s; 1109m; 1081m; 1051w; 1021m; 990m; 931w; 860w; 843m; 804m; 763w; 732w; 683w; 599w; 538w; 490w; 437w.

**Exemplul 5:** Sinteza acidului 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6MeQA)

Se incalzeste la reflux, sub agitare timp de 2 ore amestecul de reactie format din 0,075 moli ester etilic al acidului 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (22 g) si o solutie apa (500 ml)-etanol (200 ml) de 0,1875 moli hidroxid de sodiu (07,6 g). Se adauga carbune activ, se agita inca 30 de minute la aceeasi temperatura, se filtreaza, se mai adauga 250 ml apa si se precipita acidul 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic prin picurare de acid acetic glacial, pana la pH 4,5. Se filtreaza produsul brut, se spala cu apa pana la pH neutru, si

se usuca. După recristalizarea din dimetilformamida se obțin 13,55 g acid 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (p.t. 272,2-273,6°C, randament reacție +purificare 68%).



$^1\text{H-NMR}$ (dmso- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J$  Hz): 8.98(s, 1H, H-2); 8.23(s, 1H, H-8); 8.11(s, 1H, H-5); 4.55(q, 2H, H-17, 7.1); 2.46(s, 3H, H-19); 1.38(t, 3H, H-18, 7.1).

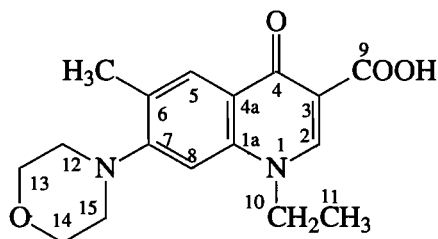
$^{13}\text{C-NMR}$ (dmso- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 177.10(C-19); 165.91(C-4); 149.38(C-2); 140.35(Cq); 138.13(Cq); 134.45(Cq); 127.58(CH); 124.39(Cq); 118.12(Cq); 107.97(Cq); 49.08(C-17); 19.45(C-19); 14.62(C-18).

FT-IR(solid in ATR,  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ): 3047w; 2986w; 1699s; 1603vs; 1564m; 1515m; 1457vs; 1379s; 1331m; 1296m; 1264m; 1224s; 1120m; 1094w; 1019m; 994m; 953s; 902m; 869m; 806m; 776w; 736w; 686w; 607w; 538w.

**Exemplul 6:** Sinteza acidului 1-etil-6-metil-7-morfolinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6MePQ25)

Un amestec format din acid 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6MeQA) (2,65 g, 0,01 moli), morfolina (8,71 g, 0,10 moli) și 40 ml dimetilsulfoxid se încălzește sub agitare la temperatura de 120-130°C, timp de 12 ore, după care se adaugă a doua porție de morfolina (4,35 g, 0,05 mol). Se continuă agitarea amestecului de reacție la aceeași temperatură încă 7 ore, după care se adaugă ultima porție de morfolina (4,35 g, 0,05 mol) și se continuă regimul de reacție încă 10 ore. La sfârșitul regimului, masa de reacție se răcește sub agitare și apoi se distilă la vid. Reziduul obținut se dizolvă într-o soluție de hidroxid de sodiu 2N (12,5 ml) și apă (12,5 ml); se adaugă carbune activ și se agită timp de 30 min. la 60°C. Soluția obținută după filtrare se aduce la pH 7 prin tratare cu o soluție de acid acetic 10 %. După filtrare, produsul brut obținut se purifică prin dubla recristalizare din N,N-dimetilformamida. Se obțin 1,58 g acid 1-etil-6-metil-7-morfolinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6MePQ25) (p.t. 263,2-266,5°C, randament reacție +purificare 50%).



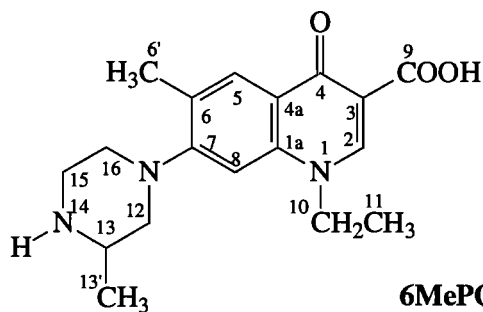
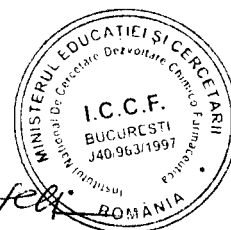
**6MePQ25**

$^1\text{H-NMR}$ (dmso- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J$  Hz,  $T=298\text{K}$ ): 15.54(s, 1H, H-9); 8.90(s, 1H, H-2); 8.07(s, 1H, H-5); 7.18(s, 1H, H-8); 4.56(q, 2H, H-17, 7.1); 3.80(m, 4H, H-13, H-15, syst.  $A_2B_2$ ); 3.07((m, 4H, H-12, H-14, syst.  $A_2B_2$ ); 2.39(s, 3H,  $\text{CH}_3$ -6); 1.42(t, 3H, H-18, 7.1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (dmso- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $T=298\text{K}$ ): 176.63(C-4); 166.32(C-9); 156.73(C-1a); 148.10(C-2); 138.65(C-7); 131.02(C-6); 127.71(C-5); 120.10(C-3); 107.21(C-4a); 105.71(C-8); 66.24(C-13, C-15); 51.14(C-12, C-14); 48.69(C-10); 18.12(6- $\text{CH}_3$ ); 14.34(C-11).

**Exemplul 7:** Sinteza acidului 1-etil-6-metil-7-(3-metil-piperazinil)-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6MePQ27)

Un amestec format din acid 1-etil-6-metil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (2,65 g, 0,01 moli), 2-metil-piperazina (10,16 g; 0.1 moli) si DMSO (40 mL) se incalzeste sub agitare energica timp de 9 ore la  $110\text{-}120^\circ\text{C}$ , dupa care se adauga a doua portie de 2-metil-piperazina (5 g; 0.05 moli) si se continua agitarea la aceeasi temperatura timp de inca 31 ore. La sfarsitul regimului masa de reactie se raceste sub agitare si apoi se distila la vid. Rreziduul obtinut se dizolva intr-o solutie de acid acetic 10 % iar dupa filtrare, solutia obtinuta se aduce la pH 7,2 cu o solutie de hidroxid de sodiu 2N. Precipitatul format se filtreaza, se spala cu apa si dupa uscare se purifica prin recristalizare din metanol. Se obtin 1,71 g produs pur ( $p.t. = 215,1\text{-}218,9^\circ\text{C}$ ; randament reactie + purificare 52 %).

**6MePQ27**

$^1\text{H-NMR}$ (dmso- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J$  Hz,  $T=313\text{K}$ ): 8.92(s, 1H, H-2); 8.09(d, 1H, H-5); 7.17(s, 1H, H-8); 4.57(q, 2H, H-10, 7.3); 3.26(m, 2H, H-12A, H-16A, syst AB,  $J(\text{H}^A\text{-H}^B)=11.5\text{Hz}$ ); 3.38÷2.56(m, 4H, H-12B, H-15, H-16B); 2.57(m, 1H, H-12B,  $J(\text{H}^A\text{-H}^B)=11.5\text{Hz}$ ); 2.39(s, 3H, H-6'); 1.41(t, 3H, H-11, 7.3); 1.13(d, 3H, H-13', 7.1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (dmso- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 176.87(d, C-4); 166.39(C-9); 155.85(C-2); 148.17(C-7); 138.74(C-1a); 131.18(C-4a); 127.74(C-8); 120.09(C-6); 107.22(C-3); 105.80(C-5); 56.89(C-12); 50.49(C-16); 50.05(C-15); 48.73(C-10); 44.52(C-13); 18.16(C-6'); 14.39(C-11).

FT-IR(solid in ATR,  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ): 3400m; 2981w; 2835w; 2745w; 1700m; 1613vs; 1578s; 1519m; 1387s; 1334m; 1303m; 1253m; 1203m; 1164m; 1135m; 1090m; 1041m; 1009w; 906w; 805w; 708w; 646w.

S-a determinat activitatea antibacteriană *in vitro* pentru compușii prezentați la exemplele 6 și 7. Testarea activității antibacteriene s-a făcut pe o serie de specii bacteriene aflate în spectrul de activitate al chinolonei utilizate actualmente în practica clinică. S-a determinat CMI în bulion Mueller-Hinton, utilizându-se metoda microdiluțiilor. Tulpinile bacteriene față de care s-a făcut testarea sunt *E. Coli* ATCC25922, *S.aureus* ATCC29223 și *P.aeruginosa* ATCC 27853 (Tabel Nr.4).

Tabel nr. 4. Concentratia minima inhibitorie ( $\mu\text{g/ml}$ )

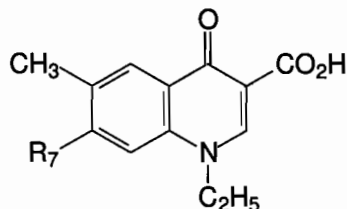
| Denumire compus | Concentratie minima inhibitorie ( $\mu\text{g/ml}$ ) |                                           |                                      |
|-----------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------|
|                 | <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 8739                 | <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 6538 | <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 8739 |
| 6MePQ25         | 64                                                   | 16                                        | 128                                  |
| 6MePQ27         | 32                                                   | 32                                        | 128                                  |

S-a observat ca, cei 2 compusi prezinta o slaba activitate antimicrobiana conform cu rezultatele studiului de andocare moleculara. Scorul de andocare pentru cei 2 compusi este mai mic decat al chinolonei de referinta: ciprofloxacina (PDB ID: 4P8O). Scorul de andocare scade in ordinea: ciprofloxacina:-58,65 > 6MePQ25:-56,13 > 6MePQ27:-55,50. S-a observat ca, cei 2 compusi proiectati si sintetizati prezinta potentiala activitate fata de ADN-Gyaza si fata de Topoisomeraza IV. S-a observat de asemenea ca cei 2 compusi prezinta potentiala activitate antivirala. In cazul tinte receptor 2ZD1 scorul de andocare a celor 2 compusi proiectati si sintetizati si ai chinolonei de referinta scade in ordinea : 6MePQ27:-72,74 > Elvitegravir:-71,93 > 6MePQ25:-71,23.



**REVENDICARI**

1. Derivati 6-metil-chinolonic, cu formula generala I

**I**

**caracterizati prin aceea ca** R<sub>7</sub> este morfolinil sau 3-metil-piperazinil.

2. Derivat 6-metil-chinolonic, conform revendicarii 1, **caracterizat prin aceea ca**, este acidul 1-etil-6-metil-7-morfolinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic.

3. Derivat 6-metil-chinolonic, conform revendicarii 1, **caracterizat prin aceea ca**, este acidul 1-etil-6-metil-7-(3-metil-piperazinil)-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic.

