

## SYNTEZY I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA POCHODNYCH PIRYDOPIRYDAZYNY

### SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF PYRIDOPYRIDAZINE DERIVATIVES

**Wanda Paulina Nawrocka, Anna Nowicka**

*Katedra i Zakład Technologii Leków  
Uniwersytet Medyczny im Piastów Śląskich we Wrocławiu  
ul. Borowska 211a, 50-556 Wrocław  
e-mail: anna.nowicka@umed.wroc.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Endralazyna – lek zawierający w swojej strukturze układ pirydo[4,3-*c*]-pirydazyny
2. Pochodne o aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*
3. Pochodne o aktywności przeciwwirusowej i przeciwbakteryjnej
4. Pochodne o aktywności analgetycznej
5. Nowe ligandy dla receptora GABA-A
6. Pochodne o aktywności moczopędnej
7. Pochodne – inhibitory fosfodiesterazy typu 5 (PDE-5)
8. Pochodne – inhibitory fosfodiesterazy typu 4 (PDE-4)
9. Znaczniki chemiluminescencyjne w testach immunochemicznych
10. Pochodne o zastosowaniu pozamedycznym

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Prof. dr hab. Wanda Paulina Nawrocka** jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej i pracuje na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Stopienie naukowe doktora nauk farmaceutycznych i doktora habilitowanego w zakresie chemii i technologii środków leczniczych uzyskała na tutejszym Wydziale. W 2009 roku Prezydent RP Lech Kaczyński nadał jej tytuł naukowy profesora dr hab. w zakresie chemii i technologii środków leczniczych. Od 2009 jest kierownikiem Katedry i Zakładu Technologii Leków. Kierunki badań naukowych: synteza i struktura związków heterocyklicznych w tym 1,5-benzo- i 1,5-pirydodiazepin, chinazolinonu-4, 2-aminobenzimidazolu, o potencjalnej aktywności biologicznej: psychotropowej, immunotropowej i przeciwnowotworowej.

**Mgr inż. Anna Nowicka** ukończyła Inżynierię Materiałową na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Jest również absolwentką Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu. Od 2010 roku jest asystentem w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Zajmuje się syntezą nowych pochodnych 2-aminobenzimidazolu o potencjalnej aktywności biologicznej.

## ABSTRACT

For many years all six isomers of pyridopyridazines have been an interesting class of heterocyclic compounds because of their biological and chemical properties. Endralazine is a hypotensive drug, which contain pyrido[4,3-*c*]pyridazine structure.

Presented in this paper selected compounds exhibit antiviral [20] and antibacterial [21, 22] activity. Based on review of the chemical literature, derivatives of pyridopyridazine showed a multipharmacological effects such as analgesic [23–29] and diuretic [33–38] activity.

Some chemical compounds, containing pyridopyridazine moiety showed anticancer activity *in vitro* with different mechanism of action [12, 15, 18, 19]. Novel pyrazolopyridopyridazine derivatives have been identified as more potent and selective phosphodiesterase 5 (PDE5) inhibitors than sildenafil [41]. Pyrido[2,3-*d*]pyridazine derivatives were synthesized as selective PDE4 inhibitors [44–46], with good selectivity profile and less undesirable side effects. 2,3,8-Trisubstituted pyrido[2,3-*d*]pyridazines were novel classes of GABA-A receptor benzodiazepine binding site ligands [30, 31]. While pyrido[2,3-*c*]pyridazine derivatives were selective agonists for the benzodiazepine site of GABA-A receptor [32].

Some of new substituted pyrido[3,2-*c*]pyridazine derivatives possess molluscicidal activity [54] and can be used as biodegradable agrochemicals.

Keywords: pyridopyridazine derivatives, structures, syntheses, biological activity

Słowa kluczowe: pochodne pirydopirydazyn, struktury, syntezy, aktywność biologiczna

---

---

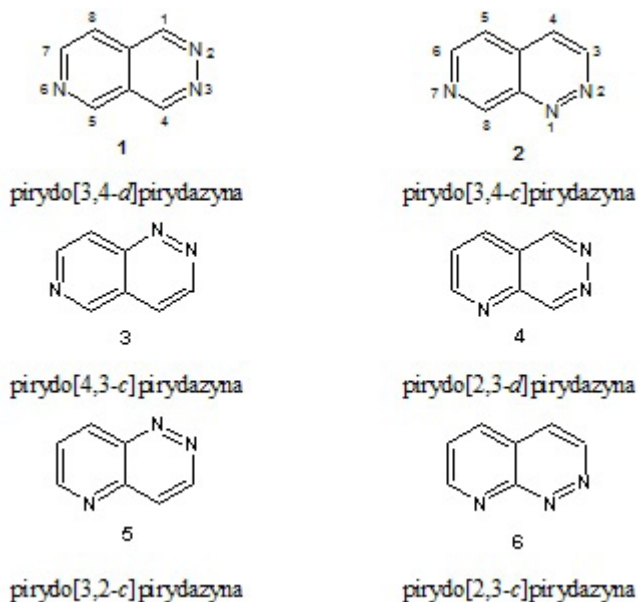
## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

GABA	- kwas $\gamma$ -aminomasłowy (ang. <i><math>\gamma</math>-aminobutyric acid</i> )
PDE	- fosfodiesteraza (ang. <i>phosphodiesterase</i> )
CNS	- centralny układ nerwowy (ang. <i>central nervous system</i> ) w języku polskim stosuje się OUN – ośrodkowy układ nerwowy
DNA	- kwas deoksyrybonukleinowy (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
VEGF	- czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. <i>vascular endothelial growth factor</i> )
HIV	- ludzki wirus niedoboru odporności (ang. <i>human immunodeficiency virus</i> )
HCMV	- wirus cytomegalii (łac. <i>cytomegalovirus</i> )
cGMP	- 3',5'-cykliczny guanozynomonofosforan (ang. <i>cyclic guanosine monophosphate</i> )
cAMP	- 3',5'-cykliczny adenozybonomonofosforan (ang. <i>cyclic adenosine monophosphate</i> )
TNF	- czynnik martwicy guza (ang. <i>tumor necrosis factor</i> )
NMP	- N-metylo-2-pirolidon (ang. <i>N-Methyl-2-pyrrolidone</i> )
DMF	- dimetyloformamid (ang. <i>dimethylformamide</i> )
TEA	- trietyloamina (ang. <i>triethylamine</i> )
MCPBA	- kwas <i>m</i> -chloroperoksybenzoesowy (ang. <i>meta-chloroperoxybenzoic acid</i> )

## WPROWADZENIE

Pochodne pirydopyridazyny są aktywne farmakologicznie, biologicznie i znalazły zastosowanie w diagnostyce medycznej. Hamują wzrost komórek nowotworowych *in vitro* [12, 15, 18, 19], wpływają na układ krążenia, wykazują m.in. powinowactwo do receptora GABA-A [30–32], aktywność antynocyceptywną [23–29], mają właściwości diuretyczne [33–38], są inhibitorami fosfodiesteraz: PDE4 [44–46] i PDE5 [41]. Zdolność m.in. do chemiluminescencji [47–53] predestynuje je do zastosowań w diagnostyce medycznej. Mają również zastosowanie w technice i rolnictwie [54].

Pirydopyridazyny mogą występować w sześciu, przedstawionych poniżej, formach izomerycznych [1]:

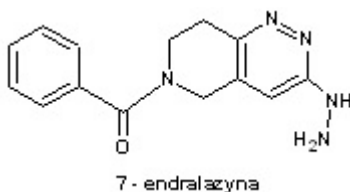


Rysunek 1  
Figure 1

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że pochodne wszystkich sześciu izomerów pirydopyridazyn są aktywne biologicznie, a największym zainteresowaniem cieszą się pochodne pirydo[3,4-*d*]pirydazyny. W tej pracy zostaną zaprezentowane wybrane struktury oraz syntezy pochodnych pirydopyridazyn aktywnych biologicznie.

## 1. ENDRALAZYNA – LEK ZAWIERAJĄCY W SWOJEJ STRUKTURZE UKŁAD PIRYDO[4,3-C]PIRYDAZYNY

Lekiem – przedstawicielem pochodnych pirydo[4,3-c]pirydazyiny o działaniu hipotensyjnym jest Endralazyina – 6-benzoilo-3-hydrazyno-5,6,7,8-tetrahydropirydo[4,3-c]pirydazyina (7). Powoduje ona rozszerzenie światła naczyń poprzez atonię mięśniówki oraz w niewielkim stopniu poprzez hamowanie czynności ośrodka naczyniowego w CNS [2–10]. Stosuje się ją w samoistnym nadciśnieniu tętniczym oraz pochodzenia nerkowego, najczęściej w skojarzeniu z innymi lekami hipotensyjnymi:  $\beta$ -blokerami lub diuretykami.



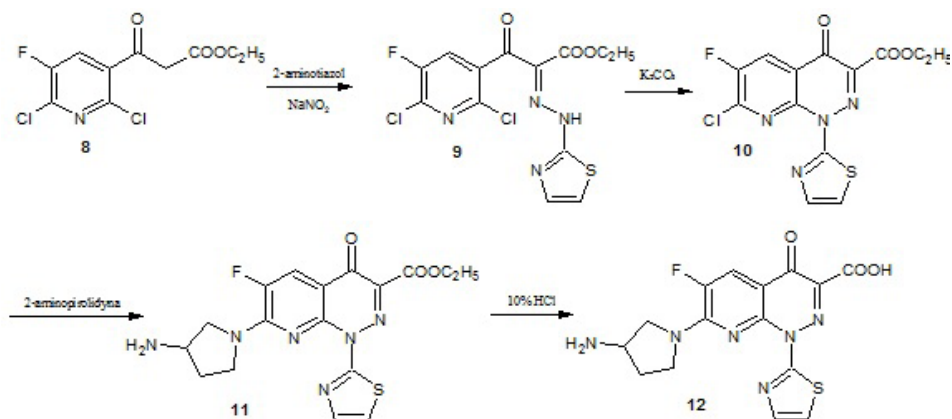
Rysunek 2  
Figure 2

## 2. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWEJ *IN VITRO*

Topoizomerazy są to enzymy odpowiedzialne za katalizowanie reakcji przecinania i łączenia łańcuchów DNA [11]. Umożliwiają one jego replikację i translację, warunkując tym samym odpowiednią strukturę DNA. Typ II wspomnianego enzymu przecina jednocześnie oba łańcuchy polinukleotydowe i jest odpowiedzialny za dodawanie superskrętów do cząsteczki DNA.

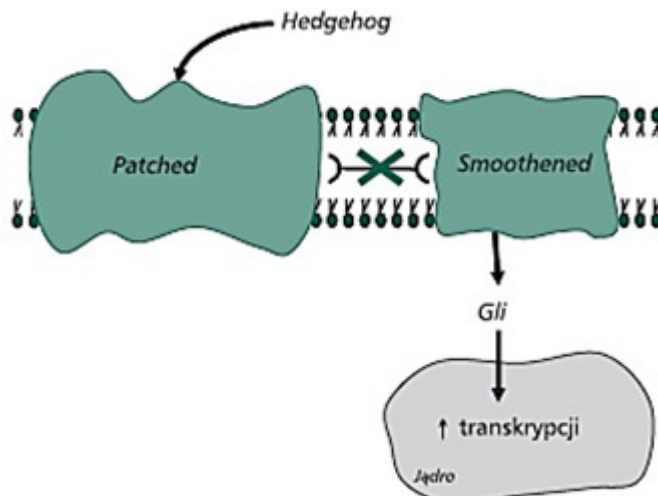
W normalnych warunkach nacięcia utworzone przez ten enzym są bardzo szybko usuwane. Jeśli jednak we wnętrzu komórki znajdują się inhibitory topoizomerazy II, związki stabilizujące kompleks: topoizomeraza II – DNA, mogą powstawać liczne mutacje np. delecje, insercje i translokacje. Prowadzi to w ostateczności do indukcji apoptozy [11]. Komórki nowotworowe charakteryzujące się szybkim podziałem wykazują wysoki poziom ekspresji topoizomerazy II.

Zsyntezowana według *schematu 1*, przez K. Tomita i in., pochodna pirydo[2,3-c]-pirydazyiny **12** była inhibitorem topoizomerazy II [12]. W badaniach na mysich liniach komórkowych białaczki wykazała działanie cytotoksyczne *in vitro*.



Schemat 1  
Scheme 1

W ostatnich latach opisano nowe mechanizmy patogenezy nowotworów. Odkrycie terapeutycznego znaczenia ścieżki sygnałowej *Hedgehog/Patched* (Rys. 3) pozwoliło diagnozować embrionalne nowotwory CNS, według kryteriów molekularnych a nie morfologicznych [13]. W patogenezie tych nowotworów mogą brać udział geny, które kontrolują rozwój niektórych tkanek, w tym również tkanek CNS w okresie embriogenezy.



Rysunek 3. Ścieżka sygnałowa *Hedgehog/Patched* [13]  
Figure 3. Signal path *Hedgehog/Patched* [13]

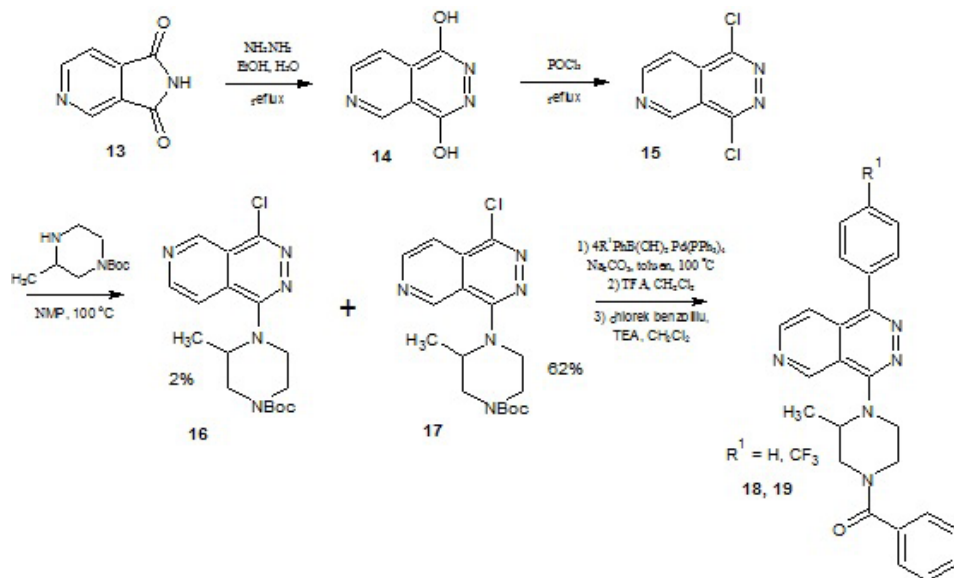
W błonie komórkowej znajdują się związane ze sobą dwa białka – *Smoothened* i *Patched*. Aktywacja białka *Smoothened* następuje w momencie jego uwolnienia się od białka *Patched*. Powoduje to, że cytoplazmatyczne białko *Gli* przedostaje się do

jądra komórkowego w całości, gdzie działa jako czynnik aktywujący transkrypcję genów, które napędzają proliferację. Białko *Gli* w warunkach prawidłowych ulega w cytoplazmie rozczepieniu na dwie części, z których tylko jedna przenika do jądra komórki, pełniąc funkcję hamującą transkrypcję [13, 14]. Białko *Smoothened* może być aktywowane na 3 sposoby:

- kiedy białko *Patched* łączy się ze swoim ligandem – *Sonic Hedgehog* – fizjologicznie uruchamia się ścieżka sygnałowa, prowadząca do aktywacji transkrypcji,
- inaktywująca mutacja genu *PTCH* uniemożliwia połączenie się obu białek,
- mutacje genu kodującego białko *Smoothened*, powodujące aktywację go bez pomocy z zewnątrz.

Dodatkowo ekspresja białka *Hedgehog* przez guz nowotworowy na zasadzie stymulacji autokrynnej, nieustannie pobudza komórki do proliferacji [13, 14].

Przedstawiona ścieżka molekularna ma również znaczenie w innych, różnych pod względem morfologii nowotworach: rak trzustki, drobnokomórkowy rak płuca, a także nowotwory złośliwe prostaty czy jelita grubego. Inhibitory białka *Smoothened* poprzez hamowanie sygnału ścieżki molekularnej – sygnałowej, powodują regresję nowotworów embrjonalnych. Pochodne pirydo[3,4-*d*]pirydazyny **18** i **19** zsyntetyzowane przez B. Lucasa i in. wykazały w badaniach *in vitro* działanie inhibujące białko *Smoothened* (Schemat 2) [15]. Mogą być użyte w leczeniu różnego rodzaju nowotworów np. rak pęcherza, nerek, wątroby oraz nowotworów występujących w centralnym systemie nerwowym a także w białaczce.

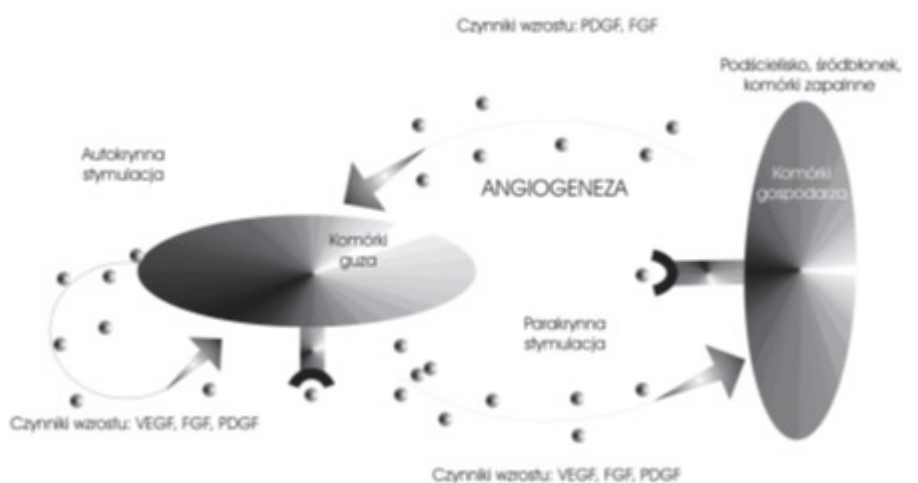


Schemat 2  
Scheme 2



Większość guzów litych nie może wzrastać dopóki nie rozwinię własnej sieci naczyń krwionośnych, dostarczających wraz z krwią niezbędnych im czynników wzrostu [16]. W momencie niedotlenienia lub niedokrwienia pod wpływem uwalnianych cytokin dochodzi do zapoczątkowania procesu angiogenezy.

Głównym czynnikiem, który rozpoczyna angiogenezę jest odkryty w 1983 roku przez Dvoraka czynnik wzrostu śródbłonka – białko VEGF. Peptyd ten wywołuje swój efekt biologiczny poprzez łączenie się z receptorami należącymi do grupy receptorów kinazy tyrozynowej. Wyróżnia się dwa receptory VEGF: VEGFR-1 (Flt-1) oraz VEGFR-2 (KDR), które znajdują się w komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych (Rys. 4) [17]. Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu jest najsilniejszym induktorem zwiększonej przepuszczalności naczyń. Powoduje on wyciek białek osocza do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, co zapoczątkowuje proces „kiełkowania” naczyń.

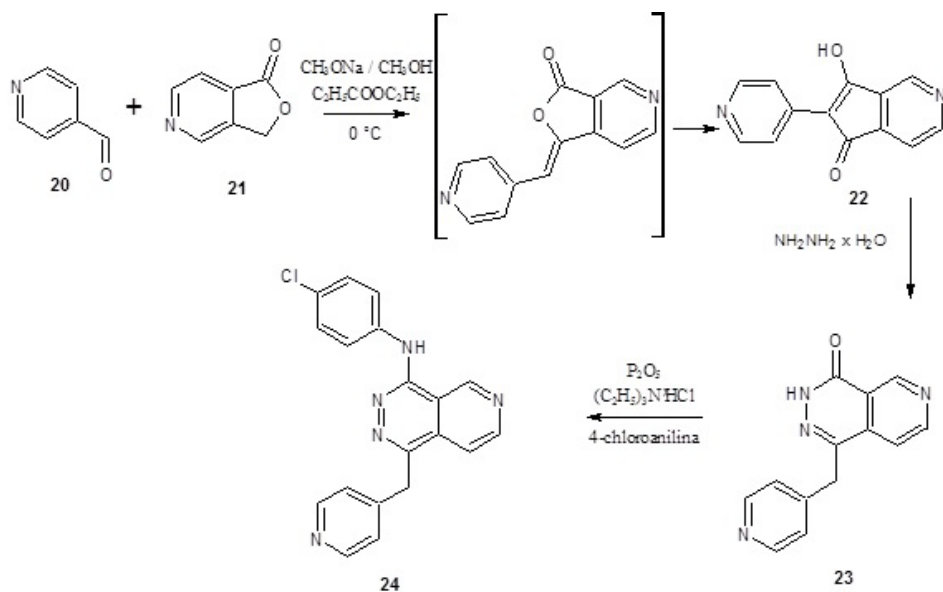


Rysunek 4. Stymulacja parakryna i autokryna przez angiogeniczne czynniki wzrostu [17]

Figure 4. Paracrine and endocrine stimulation by angiogenic growth factors [17]

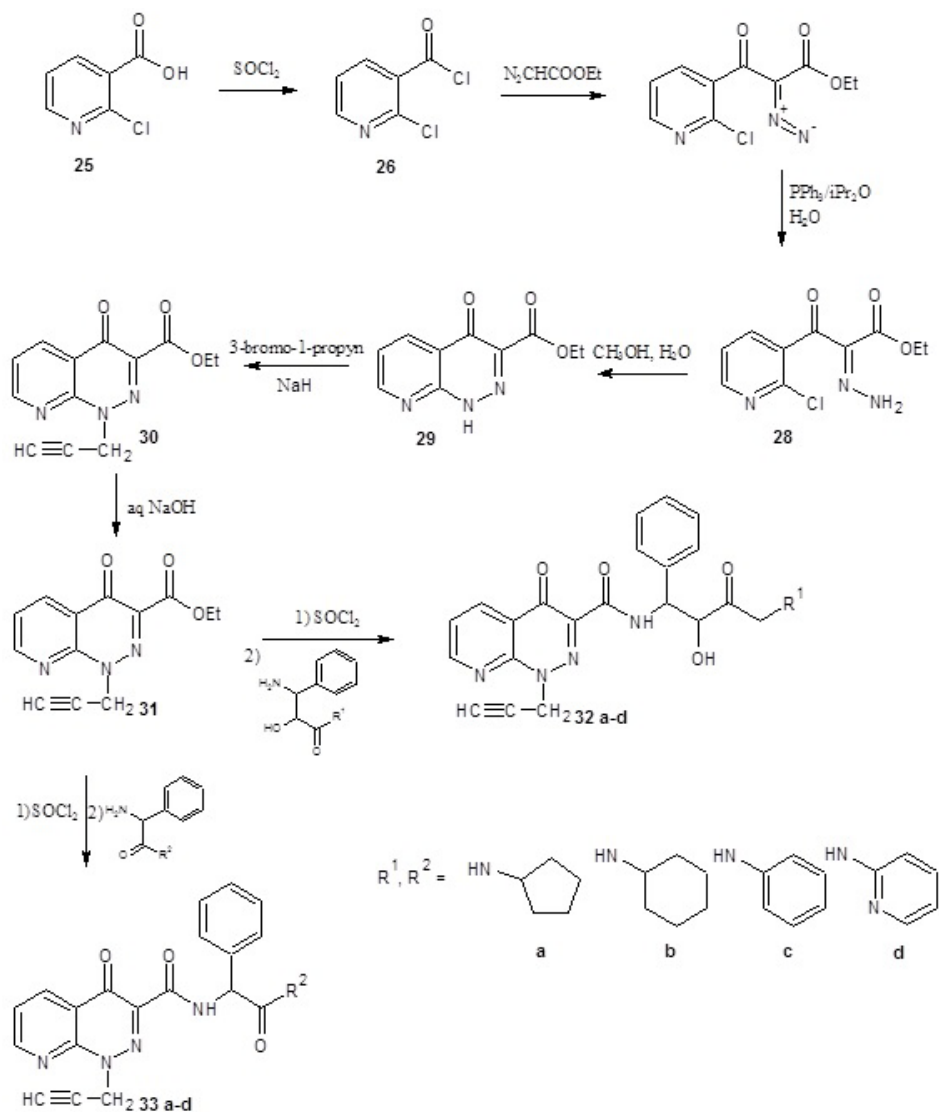
Terapia antyangiogenna jest jedną z najintensywniej rozwijających się metod leczenia chorób nowotworowych. Polega na zahamowaniu wzrostu guza i jego przerzutów poprzez zablokowanie tworzenia nowych naczyń okołonowotworowych. Środkami antyangiogennymi mogą być m.in. związki hamujące proliferację komórek śródbłonkowych, migrację lub etap rekonstrukcji naczyń krwionośnych.

Nową klasę inhibitorów kinaz, wykazujących wysoką selektywność do receptorów VEGF [18] reprezentuje 4-(4-chloroanilino)-1-(4-pirydylo)pirydo[3,4-*d*]pirydazyna (**24**) otrzymana według Schematu 3.



Schemat 3  
Scheme 3

Silną cytotoksyczność *in vitro* wobec ludzkich linii komórkowych raka: jajnika, prostaty, gardła, piersi, jelita, płuc, trzustki i białaczki, przy niskim indeksie toksyczności wykazywały: *N*-(2-(cyklopentylamino)- (33a), *N*-(2-(cykloheksylamino)- (33b), *N*-(2-anilino)-2-okso-1-fenyletylo)-4-okso-1-(prop-2-ynylo)-1,4-dihydropirydo[2,3-*c*]pirydazyn-3-karboksamid (33c) (Schemat 4) [19].

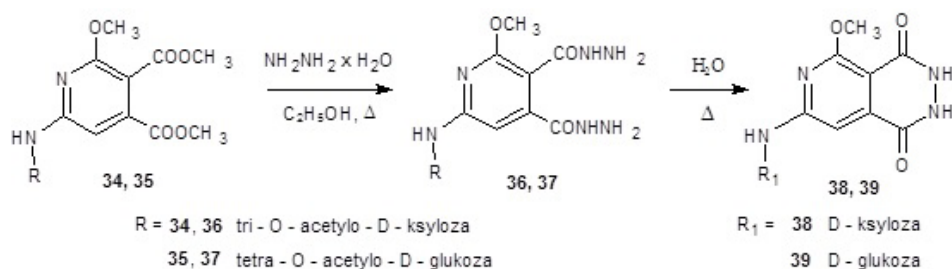


Schemat 4

Scheme 4

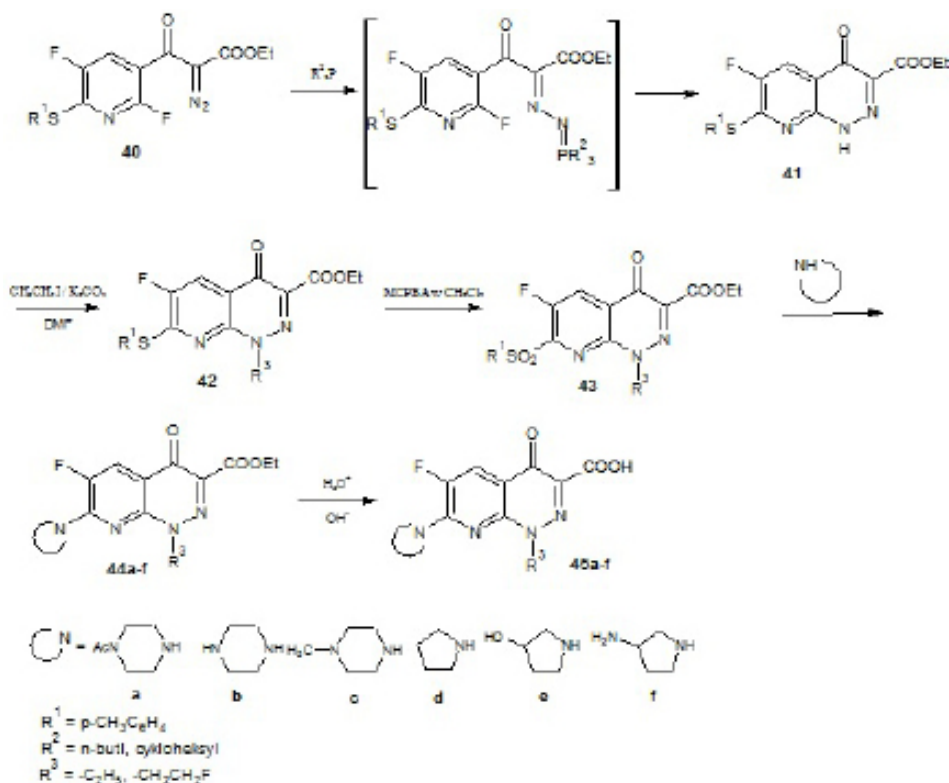
### 3. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWWIRUSOWEJ I PRZECIWBAKTERYJNEJ

Pochodne pyrido[3,4-*d*]pirydazyny **38** i **39** (Schemat 5), zawierające w swojej strukturze reszty cukrowe, wykazywały zdolność hamowania cyklu rozwojowego wirusów HIV-1, HIV-2 oraz cytomegalii (HCMV) [20].



Schemat 5  
Scheme 5

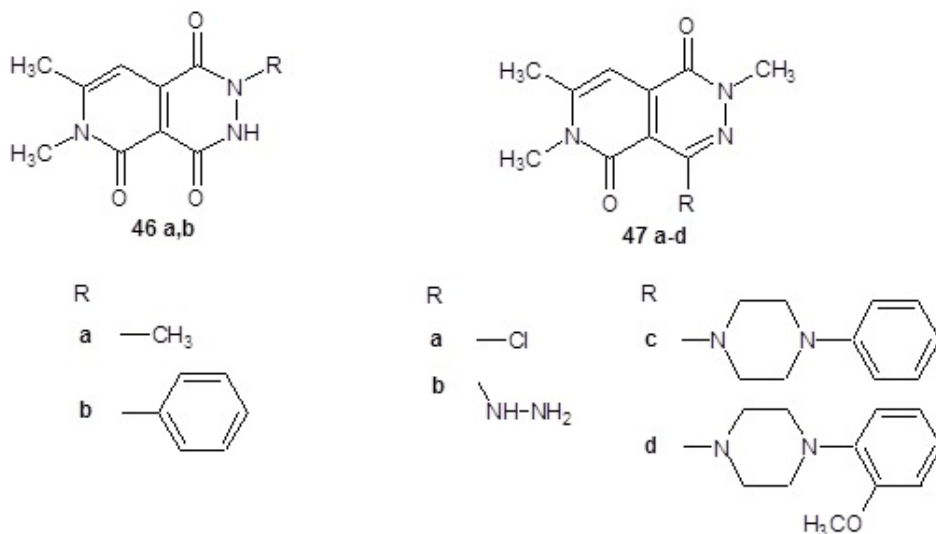
Zdolność hamowania wzrostu szczepów bakterii *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli* wykazały pochodne kwasu 1,7-dipodstawione-6-fluoro-4-oksopirydo[2,3-c]pirydazyjno-3-karboxylowego **45 a-f** (Schemat 6) [21].



Schemat 6  
Scheme 6

Z kolei zdolność do hamowania wzrostu *Mycobacterium tuberculosis* wykazywały pochodne 2-(alkilo/ arylo)-1,4,5-triokso-1,2,3,4,5,6-heksahidropirydo[3,4-d]

pirydazyny **46a-b** oraz 2-(alkilo, arylo)-1,5-diokso-1,2,5,6-tetrahydropirydo[3,4-*d*]pirydazyny **47a-d** [22].

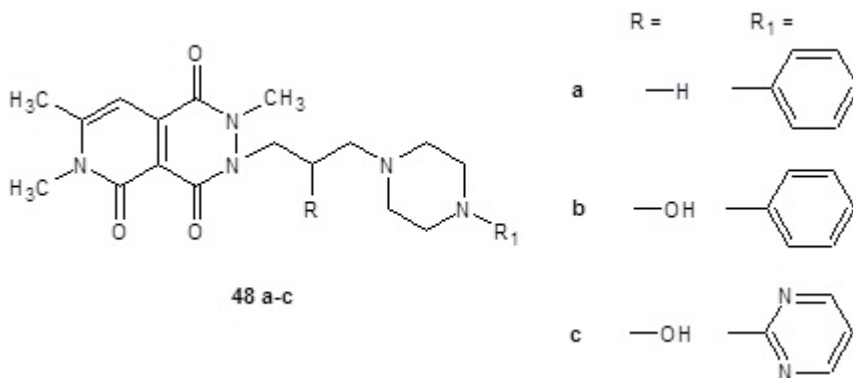


Schemat 7  
Scheme 7

#### 4. POCHODNE O AKTYWNOŚCI ANALGETYCZNEJ

W serii prac Śladowska i in. [23–29] zaprezentowali pochodne pirydo[3,4-*d*]pirydazyny o właściwościach przeciwbólowych.

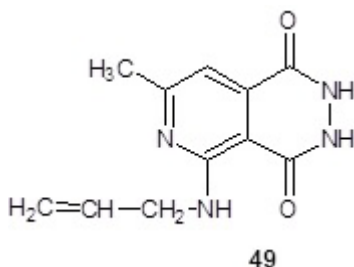
Silne właściwości analgetyczne wykazywały m.in. pochodne 1,4,5-triokso-1,2,3,4,5,6-heksahydropirydo[3,4-*d*]pirydazyny **48 a-c** [23, 24].



Rysunek 5  
Figure 5

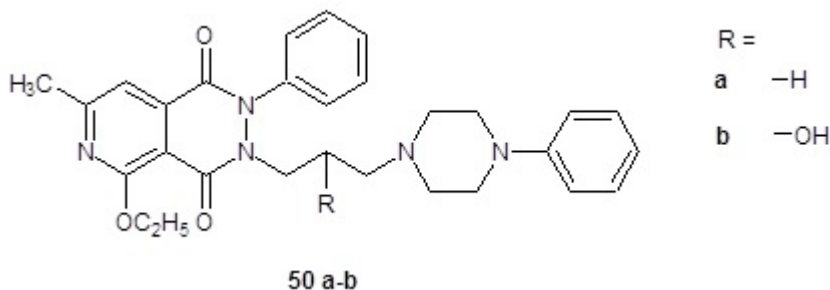
W przeprowadzonych testach biologicznych związki **48b** i **48c** znacząco hamowały spontaniczną aktywność lokomotywną myszy [24], natomiast związek **48a** dodatkowo działał przeciwdepresyjnie [23].

Właściwości przeciwbólowe w obydwu stosowanych testach „przeciągania się” i „gorącej płytki” wykazywał związek **49**, zawierający w pozycji 5 podstawnik *N*-aliloaminowy [27]. Hamował także spontaniczną aktywność lokomotywną myszy.



Rysunek 6  
Figure 6

Właściwości przeciwbólowe silniejsze od aspiryny wykazywały pochodne **50a,b**, które także silnie hamowały lokomocję i przedłużały sen myszy wywołany podaniem tiopentalu [28].



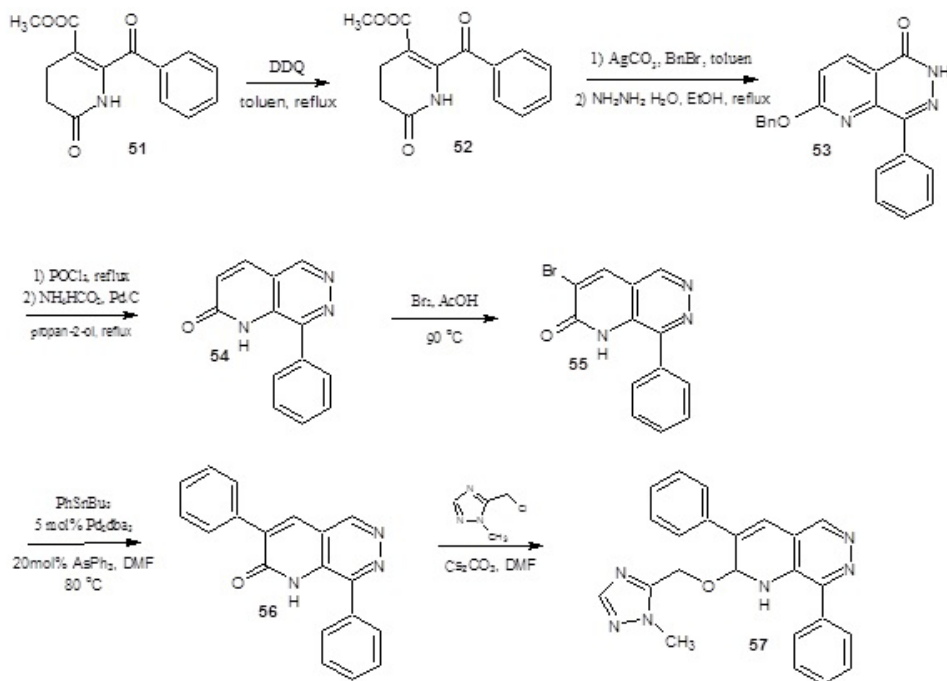
Rysunek 7  
Figure 7

## 5. NOWE LIGANDY DLA RECEPTORA GABA-A

Receptory GABA należą do receptorów błonowych, występujących w ośrodkowym układzie nerwowym i dzielą się na dwie klasy – jonotropowy receptor GABA-A oraz metabotropowy receptor GABA-B.

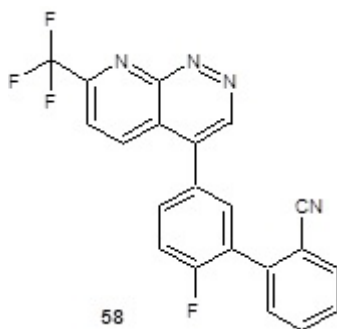
Zespół A. Mitchinsona, opracował syntezę 2,3,8-tripodstawionych pirydo[2,3-*d*]-pirydazyn wiążących się z receptorem GABA-A (Schemat 8) [30, 31]. Najwyż-

sze powinowactwo do receptora GABA-A wykazał związek 57, który wiązał się z domeną dla benzodiazepin, jednak nie posiadał aktywności wewnętrznej.



Schemat 8  
Scheme 8

Z kolei agonistami receptora GABA-A były pochodne piryno[2,3-*c*]pirydazyny, opatentowane przez Goodacre'a i Hallett'a [32]. Związki te wykazały duże powinowactwo do podjednostek  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$  i  $\alpha_5$  ludzkiego receptora GABA-A, a ich struktura warunkuje łatwe przechodzenie przez barierę krew-mózg. Najwyższe powinowactwo wykazywał 2-[2-fluoro-5-(7-trifluorometylopiryno[2,3-*c*]pirydazyn-4-yl)fenyl]benzonieryl (58). Związki te mogą znaleźć zastosowanie w prewencji lub leczeniu niepokoju oraz drgawek, a także chorób degeneracyjnych CNS np. choroby Alzheimera.

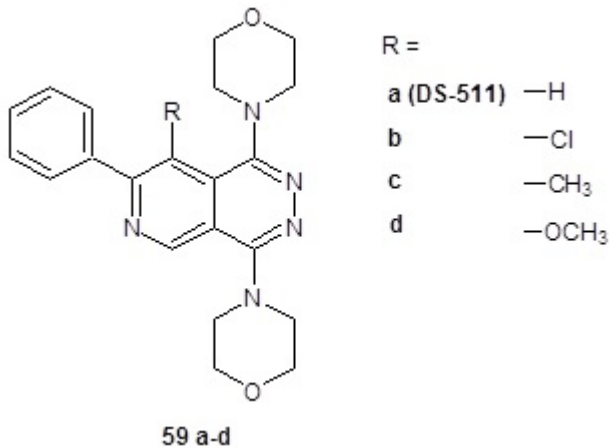


Rysunek 8  
Figure 8

## 6. POCHODNE O AKTYWNOŚCI MOCZOPĘDNEJ

W kilku pracach zespołów japońskich naukowców [33–38] zaprezentowano syntezy pochodnych pirydo[3,4-*d*]pirydazyny **59a-d**, wykazujących silne działanie moczopędne.

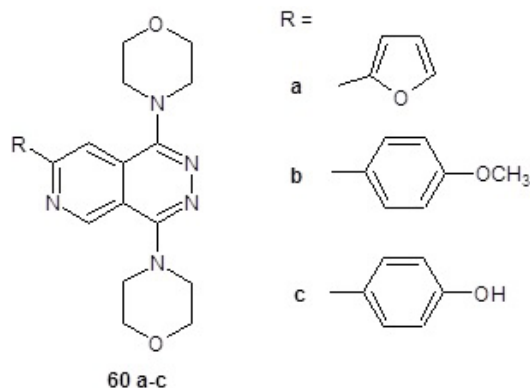
Znaczącą aktywność moczopędną wykazała 1,4-dimorfolino-7-fenylopirydo[3,4-*d*]pirydazyna (**59a**) – DS-511 [33].



Rysunek 9  
Figure 9

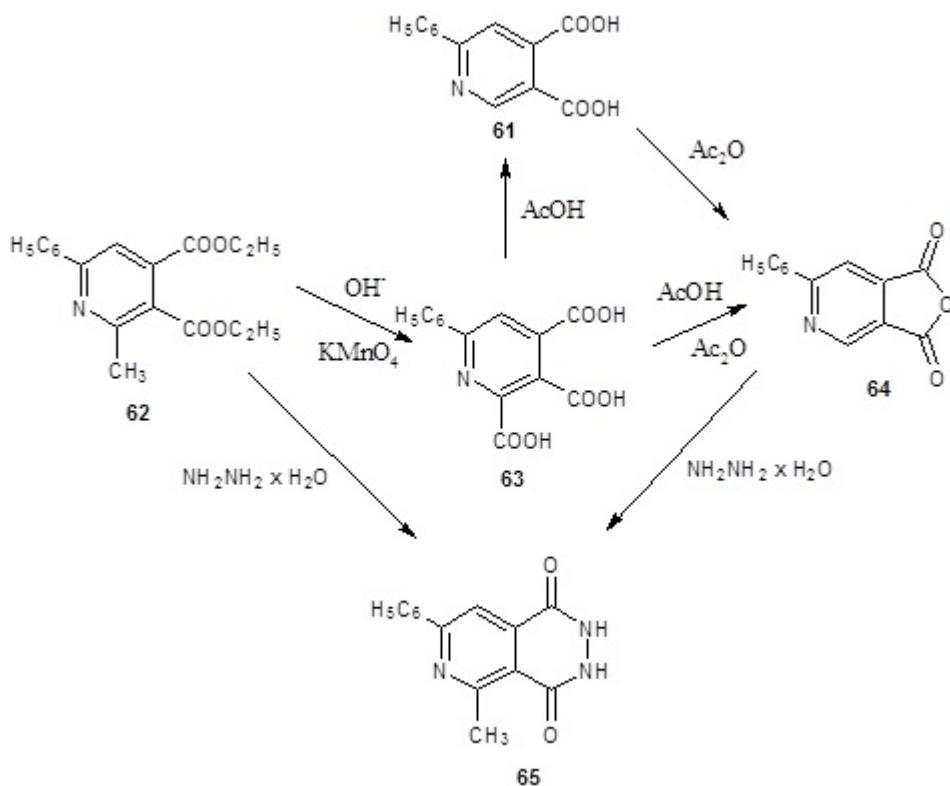
Modyfikacja struktury chemicznej związku **59a**, doprowadziła do otrzymania pochodnych **60a-c** o zbliżonej aktywności diuretycznej [34].





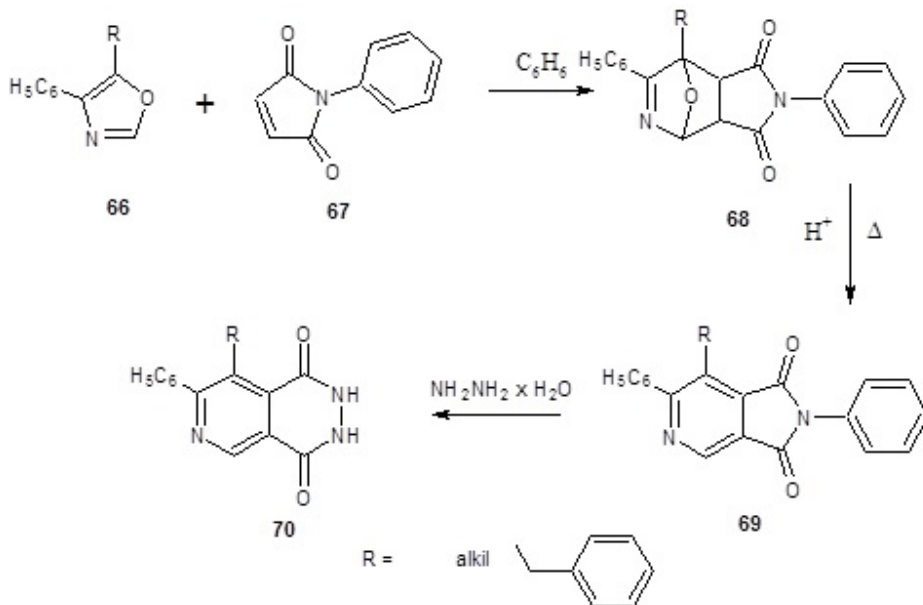
Rysunek 10  
Figure 10

7-Fenyl-5-metylo-1,4-diokso-1,2,3,4-tetrahydropirydo[3,4-*d*]pirydazyna (**65**) otrzymana przez Oka i in. z kwasu 6-arylo-pirydyno-2,3,4-trikarboksylowego (**63**) (Schemat 9) wykazywała wysoką aktywność moczopędną [35].



Schemat 9  
Scheme 9

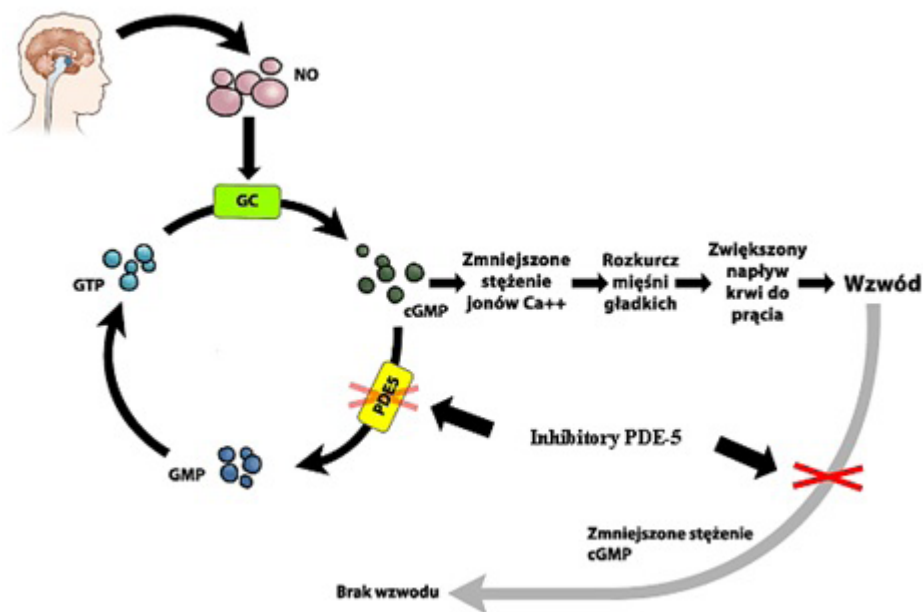
Inną metodę syntezy pochodnych pirydo[3,4-*d*]pirydazyiny **70** o aktywności moczopędnej zaprezentowali Omura i in. [37] (Schemat 10).



Schemat 10  
Scheme 10

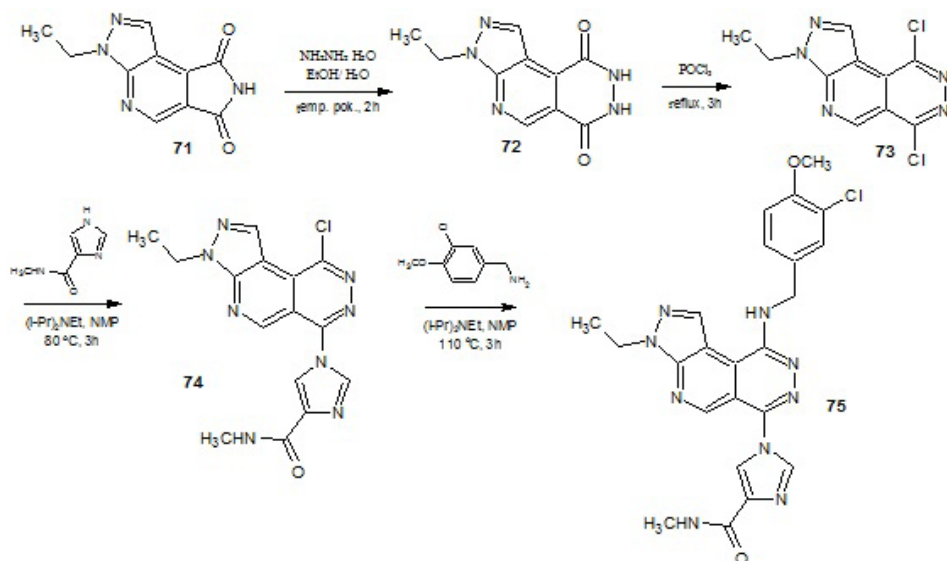
## 7. POCHODNE – INHIBITORY FOSFODIESTERAZY TYPU 5 (PDE5)

Fosfodiesteraza typu 5 jest enzymem, który katalizuje rozkład cyklicznych nukleotydów: cAMP i cGMP [39]. Mechanizm działania jej inhibitorów polega na hamowaniu izoenzymu PDE5, który znajduje się w komórkach mięśni gładkich naczyń członka. W czasie pobudzenia seksualnego następuje uwolnienie tlenu azotu (NO), który stymuluje uwolnienie cyklicznej guanylowej. Prowadzi to do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia cyklicznego monofosforanu guanozyny (cGMP), a co za tym idzie obniżenia wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia i ostatecznie rozkurczu mięśni gładkich naczyń, zwiększonego napływu krwi do ciał jamistych i wzrodu (Rys. 11).



Rysunek 11. Mechanizm działania inhibitorów PDE5 [40]  
 Figure 11. Mechanism of action of PDE5 inhibitors [40]

Wśród inhibitorów PDE5 są pochodne piryno[3,4-*d*]pirydazyny (Schemat 11), które w odróżnieniu od sildenafilu, selektywnie hamowały ten izoenzym [41]. Testy na zwierzętach wykazały, że związek 75 posiadał porównywalną zdolność do podnoszenia ciśnienia krwi w ciałach jamistych. Badania kliniczne przeprowadzone na zdrowych ochotnikach potwierdziły jego wysoką skuteczność. W porównaniu do sildenafilu ograniczone zostały skutki uboczne m.in. zaburzenia widzenia.

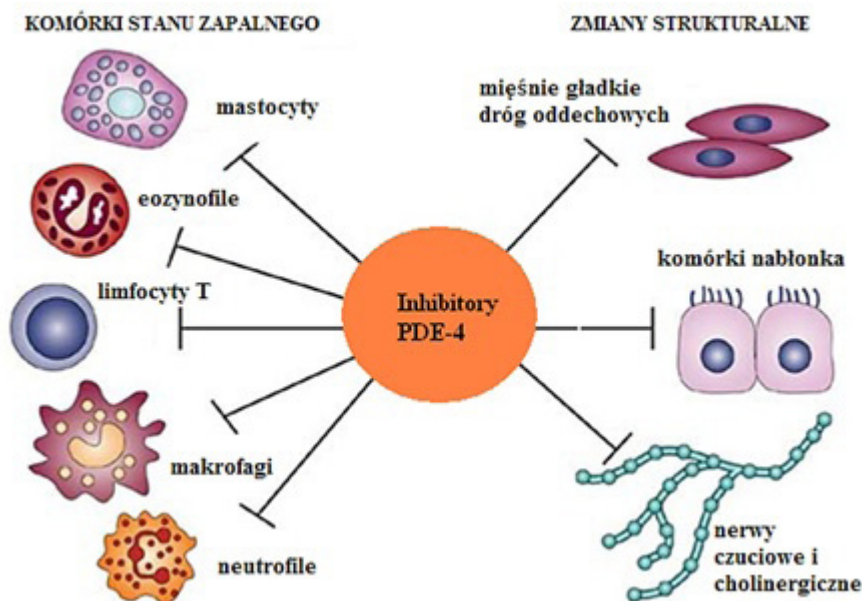


Schemat 11  
Scheme 11

## 8. POCHODNE BĘDĄCE INHIBITORAMI FOSFODIESTERAZY TYPU 4 (PDE4)

W przemianach cAMP bierze również udział fosfodiesteraza 4. Występuje w eozynofilach, mastocytach, monocytach, neutrofilach, a razem z PDE3 w bazo-filach, makrofagach pęcherzykowych i limfocytach T [42]. Reguluje ona zawartość cAMP w mięśniach gładkich układu oddechowego.

Selektywne inhibitory fosfodiesterazy 4-tej są nową grupą leków, łączącą aktywność przeciwwzapalną z działaniem rozszerzającym oskrzela (Rys. 12). Hamują indukowany antygenem skurcz oskrzeli oraz zmniejszają nadmierną reaktywność dróg oddechowych oraz przepuszczalność naczyń płucnych.

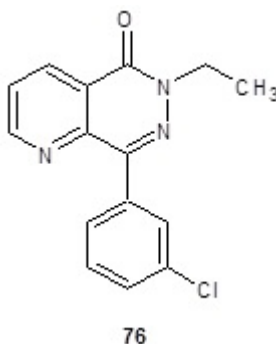


Rysunek 12. Mechanizm działania inhibitorów PDE4 [43]

Figure 12. Mechanism of action of PDE4 inhibitors [43]

Rolipram – *R,S*-4-(3-cyklopentylloksy-4-metoksyfenyl)-pirolidyno-2-on, jest najlepiej poznanym inhibitorem PDE4, wykazuje bardzo wysokie powinowactwo do enzymu, co skutkuje występowaniem działań niepożądanych np. nudności, wymioty, bóle głowy.

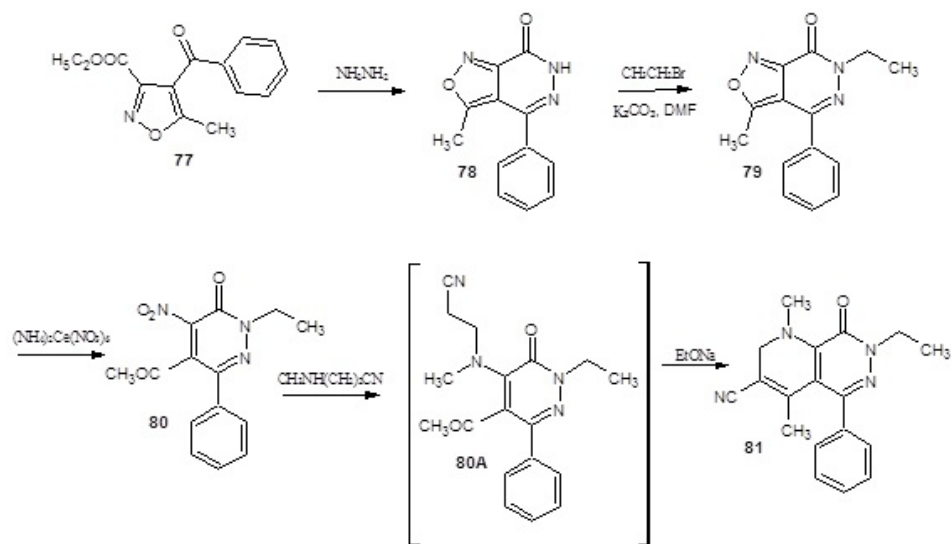
Jedną z pierwszych otrzymanych pochodnych pirydo[2,3-*d*]pirydazyny był „Syntex” czyli 8-(3-chlorofenyl)-6-etylopirydo[2,3-*d*]pirydazyn-5(6*H*)-on (76) (Rys. 13), który charakteryzował się wysokim powinowactwem do miejsca wiązania się z enzymem [44].



Rysunek 13

Figure 13

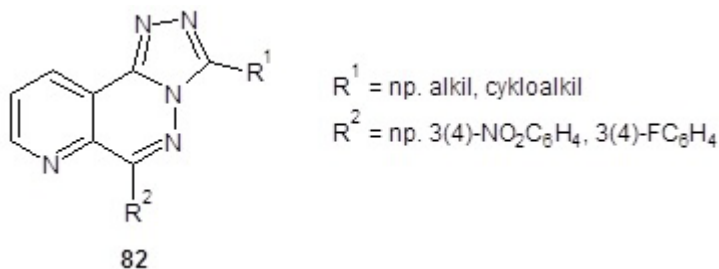
Modyfikacja chemiczna jego struktury dała związek **81** (Schemat 12), który także posiadał powinowactwo do PDE4 i nie wykazywał działań niepożądanych [45].



Schemat 12

Scheme 12

Opatentowane przez hiszpańskich naukowców trójpierścieniowe związki **82**, są inhibitorami cyklicznej fosfodiesterazy, głównie typu 4 [46] i wykazują dodatkowo różnorodną aktywność biologiczną.

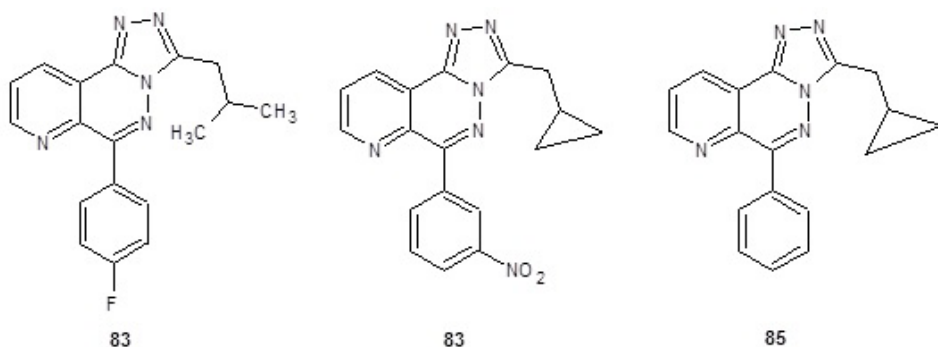


Rysunek 14

Figure 14

Triazolo[4,3-*b*]pyrido[3,2-*d*]pyridazyny **83–85** [46], posiadały zdolność blokowania wytwarzania niektórych prozapalnych cytokin np. TNF $\alpha$ . Mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób alergicznych, zapalnych oraz immunologicznych np. astmy, reumatoidalnego zapalenia stawów, osteoporozy, a także przy przeżyciach, w atopowym zapaleniu skóry. Wykazano również ich korzystny wpływ

na CNS, co jest istotne przy leczeniu choroby Alzheimera, depresji czy demencji. Dodatkowo indukują proces regeneracji tkanek, dlatego mogą być stosowane w przypadku leczenia trudno gojących się ran.

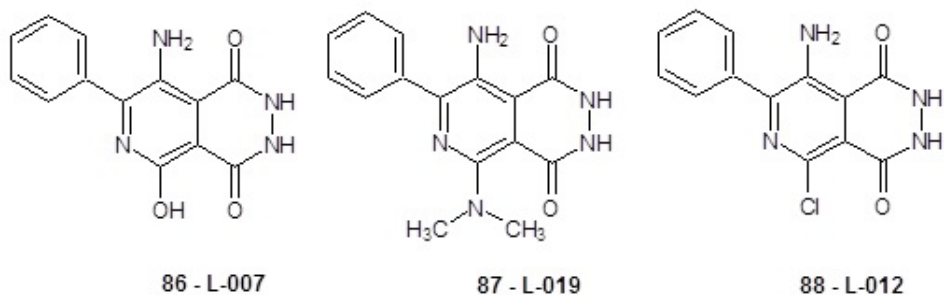


Rysunek 15  
Figure 15

## 9. ZNACZNIKI CHEMILUMINESCENCYJNE W TESTACH IMMUNOCHEMICZNYCH

Zdolność do chemiluminescencji pochodnych pirydopirydazyn może być wykorzystywana m.in. w testach do diagnozowania nowotworów [47].

Przedmiotem amerykańskiego patentu [47] są trzy pochodne pirydo[3,4-*d*]-pirydazyny **86–88** wykazujące zdolność do chemiluminescencji. Najczulszym znacznikiem był 8-amino-5-chloro-7-fenyl-2,3-dihydro-pirydo[3,4-*d*]pirydazyno-1,4-dion (**88**) – L-012. Znalazł on zastosowanie w wielu testach diagnostycznych, m.in. analizujących spontaniczną i stymulowaną aktywność metaboliczną neutrofilów, które będąc komórkami fagocytującymi pełnią istotną funkcję w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej [48, 49]. L-012 jako znacznik reaguje z różnymi rodzajami reaktywnych form tlenu wytwarzanych przez zaktywowane neutrofile, powodując silną chemiluminescencję. Jest wysoce czuły i pozwala prowadzić badania nad wolnymi rodnikami generowanymi przez systemy biologiczne oraz nad ich rolą w patogenezie różnych chorób.

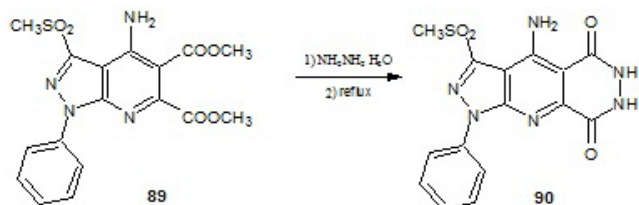


Rysunek 16  
Figure 16

Bakteria *Helicobacter pylori* jest uznawana za jeden z czynników powstawania choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy [50, 51]. Może występować w dwóch formach, tj. ruchliwej (spiralnej) i przetrwalnikowej (ziarenkowca). Stwierdzono, że ze względu na swój metabolizm tlenowy, ta ostatnia jest odpowiedzialna za powstawanie stanu zapalnego błony śluzowej żołądka. Wykazano także, że tworzenie ziarenkowców jest wynikiem narażenia bakterii na różne czynniki stresogenne np. niekorzystne stężenie tlenu.

Znacznik L-012 znalazł zastosowanie w testach wykrywających obecność formy przetrwalnikowej (ziarenkowca) bakterii *Helicobacter pylori*. Podczas przemiany *Helicobacter pylori* generuje olbrzymie ilości anionorodnika ponadtlenkowego ( $O_2^{\cdot-}$ ), który destrukcyjnie oddziałuje na komórki mięśniówki żołądka. Zastosowanie znacznika L-012, umożliwiło oznaczenie stężenia reaktywnej formy tlenu, wytwarzanego przez bakterię podczas jej transformacji w formę ziarenkowca [51, 52].

Naukowcy japońscy otrzymali serię pochodnych pirazolo[4,3':5,6]pirydo[2,3-d]pirydazyn **90** (Schemat 13), które wykazywały zdolność chemiluminescencji porównywalną lub większą od luminolu – substancji wzorcowej [53].

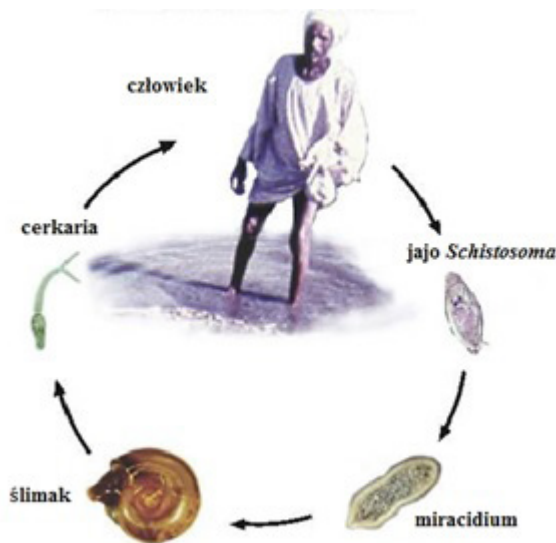


Schemat 13  
Scheme 13



## 10. POCHODNE PIRYDOPIRYDAZYN O ZASTOSOWANIU POZAMEDYCZNYM

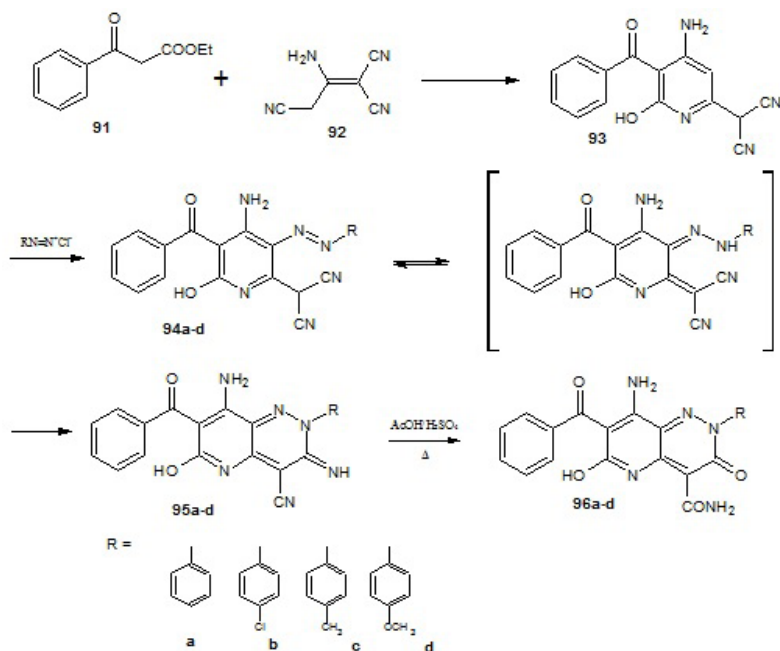
Schistosomatoza jest po zimnicy najpoważniejszym problemem parazytologicznym w skali światowej, zwłaszcza w krajach Afryki i Ameryki Południowej [54]. Wywołwana jest przez rozdzielnopłciowe przywry z rodzaju *Schistosoma*, których cykl życiowy jest ściśle związany ze środowiskiem wodnym (Rys. 17). Postacie rozwojowe *Schistosoma*, czyli cercarie rozwijają się w ślimakach lądowo-wodnych. Te ostatnie uwolnione przez mięczaka do wody zarażają człowieka wnikając przez skórę do naczyń krwionośnych, skąd wędrują do płuc, serca i wątroby.



Rysunek 17. Cykl życiowy *Schistosoma mansoni* [55]

Figure 17. Life cycle of *Schistosoma mansoni* [55]

Pochodne pirydo[3,2-*c*]pirydazyny **95 a-d**, **96 a-d**, zsyntezowane przez Abdelrazeka i in. [54] (Schemat 14), wykazywały znaczną toksyczność w stosunku do pośredniego żywiciela przywry – ślimaka *Biomphalaria alexandrina*. Testy potwierdziły, że najskuteczniejszymi środkami likwidującymi mięczaki były związki **95b** i **96b**, zawierające w swojej strukturze podstawnik 4-chlorofenylowy.



Schemat 14  
Scheme 14

## PODSUMOWANIE

Pochodne pirydopirdazyn wszystkich sześciu form izomerycznych wykazują różnorodną aktywność biologiczną: przeciwnowotworową *in vitro*, przeciwwirusową i przeciwbakteryjną, analgetyczną, moczopędną. Oddziałują z receptorami GABA-A i są również inhibitorami enzymów fosfodiesteraz. Ze względu na swoje właściwości biologiczne i chemiczne mogą mieć zastosowanie w leczeniu, diagnostyce medycznej, a także w technice i rolnictwie. W pracy zaprezentowano m.in. lek hipotensyjny Endralazynę – 6-benzoilo-3-hydrazyno-5,6,7,8-tetrahydropirydo[4,3-*c*]pirydazynę, oraz wybrane struktury i syntezy pochodnych pirydopirydazyn różnorodnie aktywnych biologicznie wraz z ich mechanizmami działania farmakologicznego.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A.R. Katritzky, E. Lunt, C.G. Newton, *Comprehensive heterocyclic chemistry*, Oxford, 1984, 3, 243.
- [2] E. Schenker, A.G. Sandoz: US 3838125, 1974.
- [3] R. Salzmann, US 3954754, 1976.

- [4] R. Salzmann: US 4152435, 1979.
- [5] F.C. Reubi, Eur J Clin Pharmacol., 1978, **13**, 185.
- [6] R. Salzmann, H. Bürki, D. Chu, B. Clark, P. Marbach, R. Markstein, H. Reinert, H. Siegl, R. Waite, Arzneimittelforschung., 1979, **29**, 1843.
- [7] E.R. Higgs, R.A. Banks, P.R. Harrison, J.C. Kingswood, J.C. Mackenzie, Postgrad. Med. J., 1982, **58**, 767.
- [8] W. Kirch, T. Axthelm, J. Cardiovasc. Pharmacol., 1982, **4**, 562.
- [9] P.A. Meredith, H.L. Elliott, D.R. McSharry, A.W. Kelman, J.L. Reid, Br. J. Clin. Pharmacol., 1983, **16**, 27.
- [10] J.J. Hoffmann, T. Thien, A. T'Laar, Br. J. Clin. Pharmacol., 1983, **16**, 39.
- [11] E. Pawełczyk, M. Zajac, A. Jelińska, *Chemia leków*, Wydawnictwo Naukowe Akademii Medycznej w Poznaniu, Poznań, 2006.
- [12] K. Tomita, Y. Tsuzuki, K. Shibamori, M. Tashima, F.Kajikawa, Y. Sato, S. Kashimoto, K. Chiba, K. Hino, J. Med. Chem., 2002, **45**, 5564.
- [13] W. Domagała, Pol. Prz. Neurol., 2007, **3**, 127.
- [14] M. Małecki, A. Gładysz, K. Mościcka, A. Lipiec, Post. Biol. Komorki., 2008, **35**, 441.
- [15] J. Kaizerman, B. Lucas, D. McMinn, R. Zmboni, US 0099173 A1, 2009.
- [16] T.M. Zielonka, Alerg. Astma Immun., 2003, **8**, 169.
- [17] E. Swidzińska, W. Naumnik, E. Chyczewska, Pneumonol. Alergol., Pol. 2006, **74**, 414.
- [18] G. Bold, K.H. Altmann, J. Frei, M. Lang, P.W. Manley, P. Traxler, B. Wietfeld, J. Brügggen, E. Buchdunger, R. Cozens, S. Ferrari, P. Furet, F. Hofmann, G. Martiny-Baron, J. Mestan, J. Rösel, M. Sills, D. Stover, F. Acemoglu, E. Boss, R. Emmenegger, L. Lässer, E. Masso, R. Roth, C. Schlachter, W. Vetterli, D. Wyss, J.M. Wood, J. Med. Chem., 2000, **43**, 2310.
- [19] V. Kumar, V.K. Sanna, A.T. Singh, M. Jaggi, P.K. Sharma, R. Irchhaiya, A.C. Burman, J. Sci. Islam. Repub. Iran, 2009, **20**, 325.
- [20] J. Cobo, A. Sanchez, M. Nougueras, Tetrahedron, 1997, **53**, 8225.
- [21] T. Miyamoto, J. Matsumoto, Chem. Pharm. Bull., 1990, **38**, 3359.
- [22] J. Stanasiuk, Acta Pol Pharm., 2006, **63**, 420.
- [23] H. Śladowska, J. Potoczek, M. Sieklucka-Dziuba, G. Rajtar, M. Młynarczyk, Z. Kleinrok, Il Farmaco, 1995, **50**, 37.
- [24] H. Śladowska, J. Potoczek, G. Rajtar, M. Sieklucka-Dziuba, M. Młynarczyk, Z. Kleinrok, Il Farmaco, 1996, **51**, 431.
- [25] H. Śladowska, J. Stanasiuk, M. Sieklucka-Dziuba, T. Saran, Z. Kleinrok, Il Farmaco, 1998, **53**, 475.
- [26] H. Śladowska, J. Potoczek, M. Sokołowska, G. Rajtar, M. Sieklucka-Dziuba, T. Kocki, Z. Kleinrok, Il Farmaco, 1998, **53**, 468.
- [27] H. Śladowska, M. Bodetko, M. Sieklucka-Dziuba, G. Rajtar, D. Żółkowska, Z. Kleinrok, Farmaco, 1997, **52**, 657.
- [28] H. Śladowska, M. Sokołowska, A. Sabiniarz, B. Filipek, J. Sapa, Boll. Chim. Farmac., 2004, **143**, 211.
- [29] H. Śladowska, B. Filipek, J. Sapa, M. Sieklucka-Dziuba, M. Szymańska, Z. Kleinrok, M. Sokołowska, Boll. Chim. Farmac., 2003, **142**, 21.
- [30] R.W. Carling, J.L. Castro Pineiro, A. Mitchinson, L.J. Street, WO 01/18001 A1, 2001.
- [31] A. Mitchinson, W.P. Blackaby, S. Bourrain, R.W. Carling, R.T. Lewis, Tetrahedron Lett., 2006, **47**, 2257.
- [32] S.C. Goodacre, D.J. Hallett, US 714822, 2006.
- [33] I. Matsuura, K. Okui, Chem. Pharm. Bull., 1969, **17**, 2266.
- [34] Y. Oka, K. Omura, A. Miyake, K. Itoh, M. Tomimoto, N. Tada, S. Yorugi, Chem. Pharm. Bull., 1975, **23**, 2239.

- [35] Y. Oka, K. Itoh, A. Miyake, N. Tada, K. Omura, M. Tomimoto, S. Yorugi, *Chem. Pharm. Bull.*, 1975, **23**, 2306.
- [36] Y. Oka, E. Mizuta, K. Nishikawa, K. Omura, *Chem. Pharm. Bull.*, 1976, **24**, 2078.
- [37] K. Omura, N. Tada, M. Tomimoto, Y. Usui, Y. Oka, S. Yurugi, *Chem. Pharm. Bull.*, 1976, **24**, 2699.
- [37] S. Yurugi, S. Kikuchi, US 4017490, 1977.
- [38] M. Banach: [www.poradnikmedyczny.pl](http://www.poradnikmedyczny.pl), 2005.
- [39] <http://www.midva.com/pl/erekcija/zakaj/pogled/>
- [40] G. Yu, H. Mason, X. Wu, J. Wang, S. Chong, B. Beyer, A. Henwood, R. Pongrac, L. Seliger, B. He, D. Normandin, P. Ferrer, R. Zhang, L. Adam, W.G. Humphrey, J. Krupinski, J.E. Macor, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 457.
- [41] P. Nejman-Gryz, H. Grubek-Jaworska, J. Glapiński, R. Chazan, *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 2006, **74**, 106.
- [42] [http://www.nature.com/nrd/journal/v3/n10/fig\\_tab/nrd1524\\_F7.html](http://www.nature.com/nrd/journal/v3/n10/fig_tab/nrd1524_F7.html).
- [43] V. Dal Piaz, M.P. Giovannoni, C. Castellana, J.M. Palacios, J. Beleta, T. Doménech, V. Segarra, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 1417.
- [44] V. Dal Piaz, M.P. Giovannoni, C. Castellana, J.M. Palacios, J. Beleta, T. Doménech, V. Segarra, *Eur. J. Med. Chem.*, 1998, **33**, 789.
- [45] J.G. Ferrer, M.I. Crespo, A.V. Noverola, A.F. Garcia, US 6407108B1, 2002.
- [46] H. Masuya, Y. Aramaki, Patent US 5420275, 1995.
- [47] M. Freitas, J. Lima, E. Fernandes, *Anal. Chim. Acta*, 2009, **649**, 8.
- [48] W. Krumrych, E. Wiśniewski, *Medycyna Wet.*, 2006, **2**, 204.
- [49] X. Wang, E. Sturegard, R. Rugar, H. Nilsson, P.A. Aleljung, B. Carlen, R. Willen, T. Wadstrom, *J. Med. Microbiol.*, 1997, **46**, 657.
- [50] M. Sorberg, M. Nilsson, H. Hanberger, L.E. Nilsson, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1996, **15**, 216.
- [51] X. Wang, E. Sturegard, R. Rugar, H. Nilsson, P.A. Aleljung, B. Carlen, R. Willen, T. Wadstrom, *J. Med. Microbiol.*, 1997, **46**, 657.
- [52] Y. Tominaga, N. Yoshioka, S. Kataoka, N. Aoyama, T. Masunari, A. Miike, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **36**, 8641.
- [53] F.M. Abdelrazek, A. El-Din, M. Fathyb, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 2005, **338**, 329.
- [54] [http://www.unibielefeld.de/biologie/Didaktik/Zoologie/html\\_deutsch/pics/zyklus\\_eng.jpg](http://www.unibielefeld.de/biologie/Didaktik/Zoologie/html_deutsch/pics/zyklus_eng.jpg).

Praca wpłynęła do Redakcji 8 listopada 2013