

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA POCHODNYCH THIAZOLO[4,5-*d*]PIRYMIDYNY

BIOLOGICAL ACTIVITY OF THIAZOLO[4,5-*d*]PYRIMIDINE DERIVATIVES

Lilianna Becan

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

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Aktywność biologiczna

1.1. Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza

1.2. Aktywność przeciwwirusowa

1.3. Działanie antyparkinsonowskie

1.4. Działanie przeciwłękowe i przeciwdepresyjne

1.5. Działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne

1.6. Aktywność antyproliferacyjna

1.7. Pestycydy

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr n. farm. Lilianna Becan ukończyła Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu (obecnie Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich). Obecnie jest adiunktem w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków tej uczelni. Stopień doktora nauk farmaceutycznych uzyskała w 1998 r. Zajmuje się syntezą nowych pochodnych tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny oraz izoksazolo[4,5-*d*]pirymidyny o potencjalnej aktywności biologicznej.

ABSTRACT

Thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine is one of the six structural isomers of the bicyclic ring system containing thiazole moiety fused with the pyrimidine. There are six structural isomers depending on the position of the nitrogen atoms. The isomer [4,5-*d*] does not contain the bridge-head nitrogen and can be considered as 7-thio analogue of the natural purine bases such as guanine and adenine. Due to the great of their biological potential the newly synthesized compounds are evaluated for various pharmacological activities. This review presents numerous thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives reported for their interesting biological activity including antibacterial [2, 3, 5, 7, 8, 10, 19], antifungal [2–6, 9, 10], antiviral [11–13], analgesic [18, 19], antidepressant [17] and anticancer properties [23–26]. Some urea and thiourea derivatives exhibited significant antiparkinsonian activity [14–16]. Tumor necrosis factor (TNF) promotes an inflammatory response, which in turn causes many of the clinical problems associated with autoimmune disorders. Ethyl 4-(2-amino-5,7-dioxo-3,4,5,7-tetrahydro-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-6(2*H*)-yl)butanoate derivatives **29** (Fig. 24) as a TNF α inhibitors have a potential use in the treatment of diseases such as refractory asthma, psoriasis, rheumatoid arthritis, irritable bowel syndrome, and other [21]. Blockade of the CXCR2 receptor by thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2(3*H*)-ones also represents an attractive strategy for treatment of inflammatory diseases [20]. Recently there have been developed CX₃CR1 receptor antagonists for the treatment of multiple sclerosis [22]. Isatoribine, 5-amino-3- β -D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (**20**) (Fig. 15) is a small molecule toll-like receptor 7 (TLR7) agonist and an activator of innate immunity. Its orally bioavailable analogue ANA 975 (Fig. 16) has been reported for probable use in treating disease states associated with abnormal cell growth, such as cancer and has anti HCV activity [13]. Thiazolo[4,5-*d*]pyrimidines inhibit the growth of the weeds which implies that they have a potential as herbicides [27].

Keywords: thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives, synthesis, biological activity

Słowa kluczowe: pochodne tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny, synteza, aktywność biologiczna

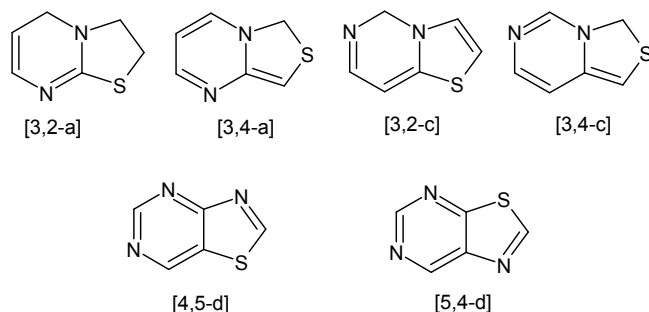
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

DNA	– kwas deoksyrybonukleinowy (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
RNA	– kwas rybonukleinowy (ang. <i>ribonucleic acid</i>)
MIC	– minimalne stężenie hamujące (ang. <i>minimal inhibitory concentration</i>)
IZ	– strefa zahamowania wzrostu (ang. <i>inhibition zone</i>)
IC ₅₀	– stężenie przy którym proliferacja komórek zostaje zahamowana w 50% (ang. <i>inhibitory concentration</i>)
CRH	– kortykoliberyna, hormon uwalniający kortykotropinę (ang. <i>corticotropin-releasing hormone</i>)
CRH-1	– receptor kortykoliberyny 1 (ang. <i>corticotrophin-releasing hormone receptor 1</i>)
TLR-7	– receptory, które uczestniczą w indukcji odpowiedzi immunologicznej, receptory TLR są przezbłonowymi glikoproteidami (ang. <i>Toll-like receptor</i>)
MDA	– dialdehyd malonowy, marker stresu oksydacyjnego (ang. <i>malondialdehyde</i>)
GSH	– glutation, tripeptyd o właściwościach przeciwutleniających (ang. <i>glutathione</i>)
GSH-Px	– peroksydaza glutationowa, enzym chroniący komórki przed utlenianiem (ang. <i>glutathione peroxidase</i>)
SOD	– dysmutaza nadtlenkowa, metaloproteina, enzym katalizujących dysmutację anionorodnika nadtlenkowego do tlenu oraz nadtlenku wodoru. (ang. <i>SuperOxide Dismutase</i>)
HEK 293	– ludzkie embrionalne komórki nerkowe 293, łatwe w hodowli i transfekcji (ang. <i>Human Embryonic Kidney 293 cells</i>)
ED ₅₀	– dawka efektywna, powoduje dany efekt u 50% osobników (ang. <i>effective dose</i>)
NLPZ	– niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. <i>Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs</i>)
IL-8	– interleukina 8, polipeptyd z rodziny chemokin (ang. <i>intrleukin-8</i>)
GRO α	– czynnik stymulujący wzrost czerniaka (ang. <i>growth regulated oncogene-alpha</i>)
CXCR2	– receptor interleukiny 8, beta (ang. <i>interleukin 8 receptor, beta</i>)
CX ₃ CR1	– receptor fraktaliny (ang. <i>fractaline receptor</i>)

TNF α	– czynnik martwicy nowotworów, glikoproteina, cytokina związana z procesem zapalnym (ang. <i>Tumor Necrosis Factor</i>)
NCI	– Narodowy Instytut Raka (ang. <i>National Cancer Institute</i>)
EGFR	– receptor naskórkowego czynnika wzrostu (ang. <i>epidermal growth factor receptor</i>)

WPROWADZENIE

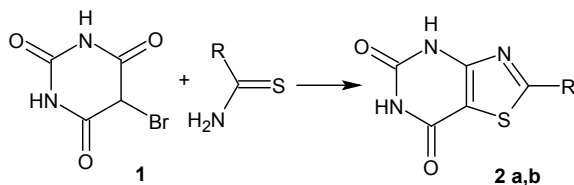
Układ tiazolopirymidyny składa się z dwóch pierścieni heterocyklicznych, sześciocząłkowej pirymidyny sprzężonej z pięciocząłowym tiazolem. Istnieje sześć izomerów strukturalnych tego układu, cztery z nich posiadają mostkowy atom azotu: tiazolo[3,2-*a*]pirymidyna, tiazolo[3,4-*a*]pirymidyna, tiazolo[3,2-*c*]pirymidyna i tiazolo[3,4-*c*]pirymidyna. Dwa kolejne izomery: tiazolo[4,5-*d*]pirymidyna oraz tiazolo[5,4-*d*]pirymidyna nie posiadają mostkowego azotu i mogą być uważane za odpowiednio 7 i 9-tio analogi puryn.



Rysunek 1

Figure 1

W niniejszej pracy zostanie przedstawiona aktywność biologiczna pochodnych tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny. Izomer ten jest przedmiotem badań od 70 lat. Pierwszą syntezę pochodnych tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny przeprowadzili w 1943 r. Erlenmeyer i Furger [1]. W reakcji kwasu 5-bromobarbiturowego (**1**) oraz tioformamidu lub tioacetamidu, otrzymali tiazolo[4,5-*d*]pirymidyno-5,7(4*H*,6*H*)-dion (**2a**) i jego 2-metylową pochodną **2b**.

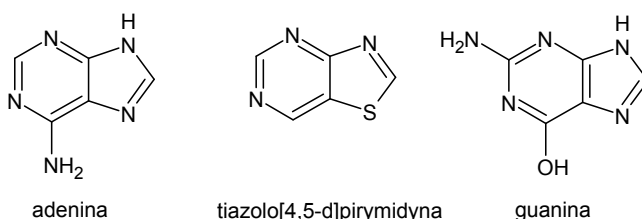


Schemat 1

Scheme 1

1. AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

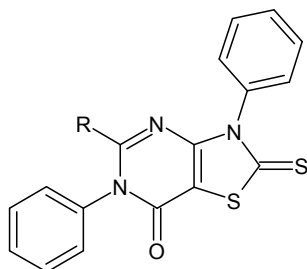
Pochodne tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny nie zostały dotychczas wprowadzone do lecznictwa, lecz z przeglądu rezultatów badań dostępnych w piśmiennictwie naukowym wynika, że wiele z nich wykazuje różnorodną aktywność biologiczną. Związki te mogą być uważane za 7-tio analogi strukturalne naturalnych zasad purynowych, adeniny i guaniny. Atom azotu w pozycji 7 imidazo[4,5-*d*]pirymidyny (puryny) został w nich zastąpiony atomem siarki. Podobieństwo budowy pochodnych tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny do fizjologicznych puryn powoduje, że mogą one wpływać na przebieg procesu syntezy DNA i RNA. Działają poprzez wiązanie się z wysokim powinowactwem z różnymi białkami docelowymi, receptorami i enzymami. Modyfikacje struktury naturalnych puryn są uznaną metodą syntezy związków biologicznie aktywnych, w tym leków przeciwnowotworowych, immunosupresyjnych czy przeciwwirusowych funkcjonujących w lecznictwie od wielu lat.



Rysunek 2
Figure 2

1.1. AKTYWNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNA I PRZECIWGRZYBICZA

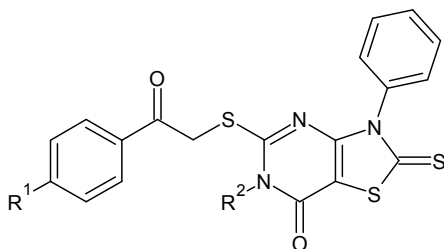
Wiele tiazolo[4,5-*d*]pirymidyn wykazuje aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą. Badania mikrobiologiczne najczęściej polegają na pomiarze strefy zahamowania wzrostu (IZ) i minimalnego stężenia hamującego wzrost patogenu (MIC). Prowadzone są w porównaniu do wzorców, którymi są stosowane w lecznictwie antybiotyki i środki przeciwgrzybicze. Nie ma korelacji między strukturą chemiczną substancji wzorcowych a budową badanego związku. Działanie hamujące wzrost bakterii *Staphylococcus aureus* (MIC = 20–30 µg/ml) zostało zaobserwowane u 3,6-difenylo-2-tioksotiazolo[4,5-*d*]pirymidyn-7(6*H*)-onów **3a-c**, podstawionych w pozycji 5 grupą azydową, trifenylofosforanyldenową i aminową. Związki te oraz 5-chloro pochodna **3d** były umiarkowanie aktywne wobec *Bacillus subtilis* (MIC = 50–80 µg/ml). Dodatkowo zaobserwowano dobrą aktywność związków **3a** i **3d** przeciwko *Escherichia coli* (MIC=30–40 µg/ml) [2].



- 3** a) $R = N_3$
 b) $R = N=P(C_6H_5)_3$
 c) $R = NH_2$
 d) $R = Cl$

Rysunek 3
 Figure 3

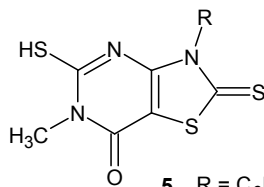
Aktywnością bakteriostatyczną wobec *Pseudomonas aeruginosa* równą wzorcowej tobramycynie wykazały się związki **4a** i **4d** (MIC = 8 µg/ml). *Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis* były wrażliwe na działanie związku **4b** (MIC = 1 µg/ml). Natomiast pochodna z rodnikiem 4-bromofenylovym **4c** była dwukrotnie bardziej aktywna od tobramycyny wobec *Staphylococcus aureus* (MIC = 2 µg/ml), na drożdżaki *Candida krusei* i *parapsilosis* działała silniej od wzorcowego flukonazolu [3].



- 4** a) $R^1 = CH_3, R^2 = C_2H_5$
 b) $R^1 = CH_3, R^2 = C_6H_5$
 c) $R^1 = Br, R^2 = C_6H_5$
 d) $R^1 = Br, R^2 = CH_3$

Rysunek 4
 Figure 4

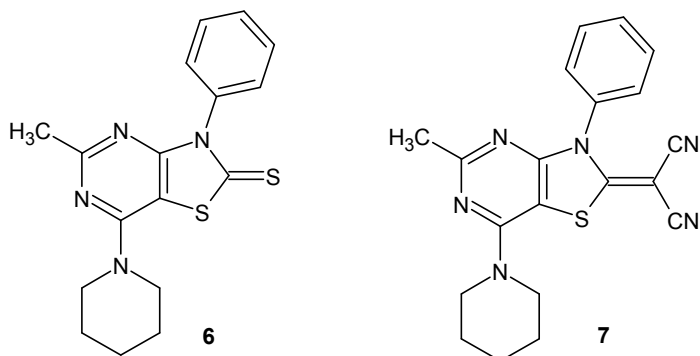
Dobłą aktywność wobec wymienionych drożdżaków posiadają również 5-tio-pochodne **5**, działają przeciwgrzybiczo porównywalnie z flukonazolem [4].



- 5** $R = C_6H_5, CH_3$

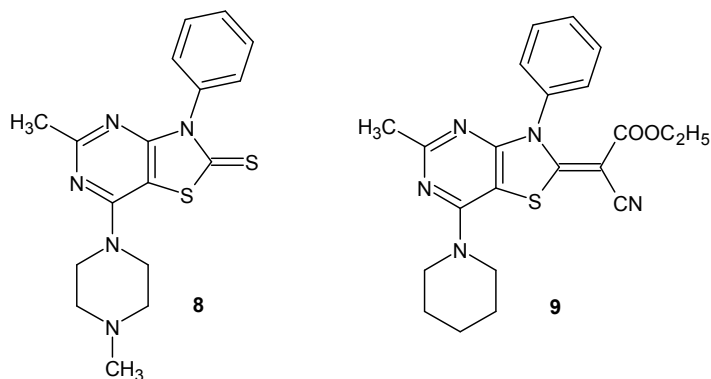
Rysunek 5
 Figure 5

Aktywność przeciwbakteryjna pochodnych 7-amino-3-metylotiazolo[4,5-*d*]-pirymidyny była określana w stosunku do ampicyliny. Najaktywniejsze pochodne **6** i **7** posiadały 50% aktywności wzorca wobec Gram(-) bakterii *Escherichia coli*.



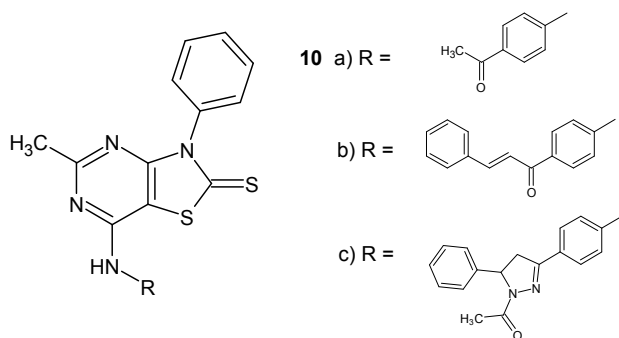
Rysunek 6
Figure 6

Związki o zbliżonej budowie 8 i 9 w stosunku do *Pseudomonas aeruginosa* wykazały się tylko 30% aktywnością w porównaniu do wzorca.



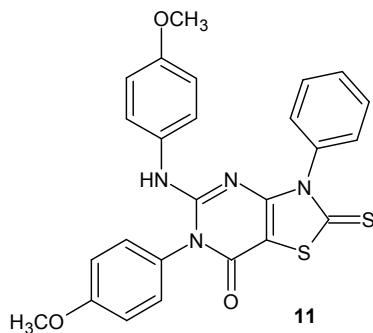
Rysunek 7
Figure 7

Pochodne 6 oraz 10a-c miały też niewielkie działanie przeciwgrzybicze wobec *Candida albicans* (MIC = 31,25 µg/ml), w porównaniu do klotrimazolu (MIC = 5 µg/ml) [5].



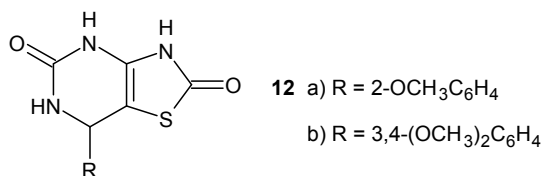
Rysunek 8
Figure 8

Bardzo aktywna wobec szczepów *Candida albicans*, *Aspergillus Niger*, *Aspergillus clavatus* była seria pochodnych z różnymi podstawnikami w 3,4 i 5 pozycji układu tiazolopirymidyny. Wykazano wartości MIC w zakresie 0,2–25,6 $\mu\text{g/ml}$, były one porównywalne z wzorcami, którymi były flukonazol (MIC = 0,5–16 $\mu\text{g/ml}$) i nystatyna (MIC = 7–8 $\mu\text{g/ml}$). Warunkiem szerokiego spectrum działania tych związków były rodniki fenyłowe z grupami elektrodonorowymi. Największą aktywność wykazał 3-fenylo-5-metoksyfenyloamino-6-metoksyfenylo-2-tioksotiazolo[4,5-*d*]-pirymidyn-7(6*H*)-on (**11**) [6].



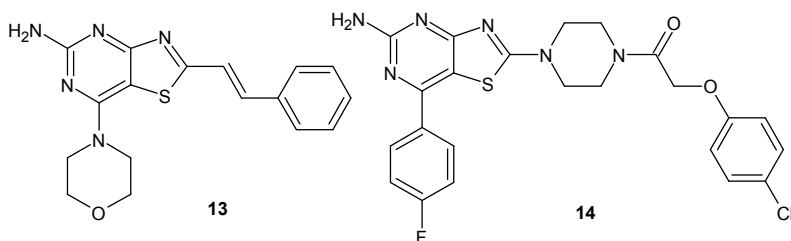
Rysunek 9
Figure 9

7-Arylo-6,7-dihydrotiazolo[4,5-*d*]pirymidyno-2,5(3*H*,4*H*)-diony **12a** i **12b** wykazały aktywność przeciwbakteryjną wobec *Staphylococcus aureus* (**12a** MIC = 72 $\mu\text{g/ml}$, **12b** MIC = 102 $\mu\text{g/ml}$). W badaniach jako wzorec została zastosowana sól sodowa cefuroksymu o MIC = 1,2 $\mu\text{g/ml}$ [7].



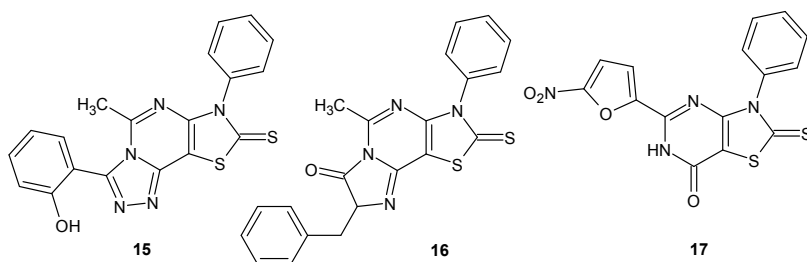
Rysunek 10
Figure 10

Główną drogą transportu białek bakteryjnych przez błony cytoplazmatyczne jest system sekrecji Sec. Zasadniczym komponentem tego systemu jest białko SecA, podstawowe u wszystkich bakterii a nieobecne u ludzi, które w związku z tym może być celem leków przeciwbakteryjnych. Dotychczas w piśmiennictwie opisano niewiele struktur heterocyklicznych będących inhibitorami SecA, wśród nich tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny. Badania prowadzono wobec *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*, patogenów odpowiedzialnych za zakażenia szpitalne i opornych na antybiotyki. Wśród wielu testowanych pochodnych dwie najaktywniejsze **13** i **14** hamowały powyżej 50% aktywność enzymów bakteryjnych [8].



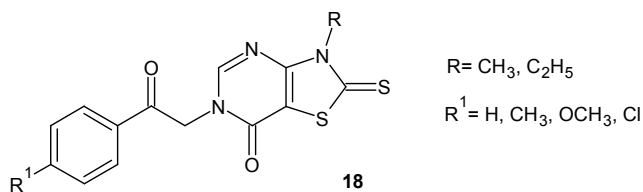
Rysunek 11
Figure 11

Aktywność nowych związków sprawdza się również pomiarem strefy zahamowania wzrostu IZ. 7-Fenyl-3-(2-hydroksyfenyl)-5-metylotiazolo-[5,4-*e*][1,2,4]triazolo[4,3-*c*]pirymidyno-8(7*H*)tion (**15**), 8-benzylo-3-fenyl-5-metylo-2-tiokso-3,8-dihydroimidazo[1,2-*c*]tiazolo[5,4-*e*]pirymidyn-7(2*H*)on (**16**) oraz 3-fenyl-5(5-nitrofurano-2-yl)-2-tioksotiazolo[4,5-*d*]pirymidyn-7(6*H*)-on (**17**) były bardzo aktywne wobec *Candida albicans* (IZ > 15 mm) i *Bacillus subtilis* (IZ = 11–15 mm) [9].



Rysunek 12
Figure 12

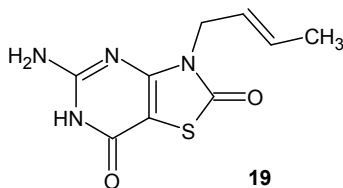
Szereg 3-alkilo-6-(2-arylo-2-okso-1-etylo)-2-tioksotiazolo[4,5-*d*]pirymidyn-2(3*H*)-onów **18** było testowanych na aktywność przeciwbakteryjną (wobec *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*) oraz przeciwgrzybiczą (wobec *Candida albicans*). Rezultaty były porównywalne z działaniem substancji standardowych, chloramfenikolu i ketokonazolu, nie znaleziono jednak żadnych zależności między strukturą a biologiczną aktywnością nowych pochodnych [10].



Rysunek 13
Figure 13

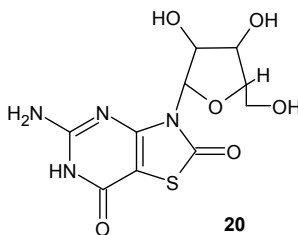
1.2. AKTYWNOŚĆ PRZECIWWIRUSOWA

Obecnie stosowane leki przeciwwirusowe mają strukturę analogów purynowych (acyklowir, gancyklowir, entekawir). Szereg 3-alkilo-5-aminotiazolo[4,5-*d*]pirymidyno-2,7(3*H*,6*H*)-dionów zostało przetestowanych w kierunku aktywności przeciw wirusom cytomegalii oraz opryszczki. Zbadano również ich toksyczność w stosunku do komórek szpiku kostnego. Najbardziej aktywny związek **19** okazał się inhibitorem wirusa opryszczki (IC₅₀ < 4,4 μM). Hamował także namnażanie się siedmiu szczepów wirusa cytomegalii w stężeniu 10-krotnie niższym niż referencyjny gancyklowir oraz był od niego mniej toksyczny [11].



Rysunek 14
Figure 14

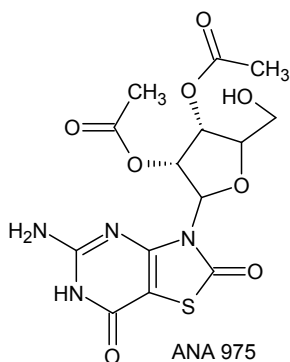
Podobny w swej strukturze analog nukleozydu 5-amino-3- β -*D*-rybofuranozylotiazolo[4,5-*d*]pirymidyno-2,7(3*H*,6*H*)-dion (**20**), w testach *in vivo* wykazał bardzo silną aktywność przeciw wirusowi *Semliki Forest*. Po jego podaniu przeżyło 92% zarażonych myszy, w grupie kontrolnej żadna.



Rysunek 15
Figure 15

Związek **20** wykazał większą immunoreaktywność niż nukleozyd macierzysty. Aktywność przeciwwirusowa obserwowana jedynie w warunkach *in vivo* sugerowała, że za działanie odpowiada interferon, którego produkcja znacząco wzrastała pod wpływem podania testowanego związku [12].

W wyniku kolejnych badań wykazano, że pochodna **20**, znana obecnie pod nazwą Isatoribine jest agonistą receptora TLR-7, indukującego syntezę endogennego interferonu i aktywującego układ odpornościowy. W testach klinicznych wykazano skuteczność Isatoribiny w zapaleniu wątroby wywołanym przez wirusa HCV. Otrzymano szereg analogów Isatoribiny, m.in. związek ANA 975, który po podaniu doustnym ulega w organizmie przekształceniu do substancji czynnej w wyniku hydrolizy enzymatycznej [13].



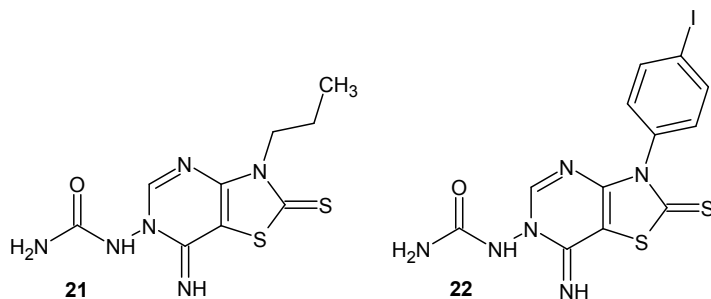
Rysunek 16

Figure 16

W badaniach przeprowadzonych na komórkach Vero mierzono aktywność przeciw wirusowi opryszczki (*Herpes simplex*), w porównaniu do leku przeciwwirusowego Aphidicolinu. Przedstawione wcześniej na Rysunku 11 pochodne **15** i **17** posiadały 50–60% aktywności przeciwwirusowej leku referencyjnego [9].

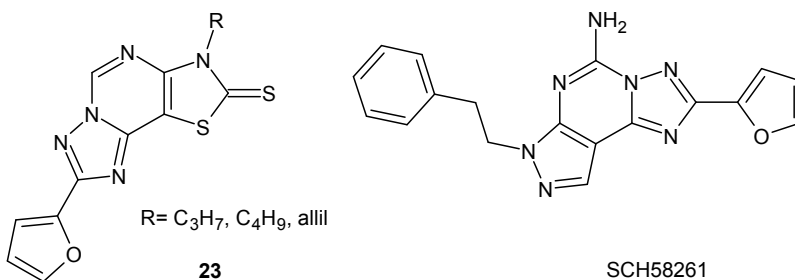
1.3. DZIAŁANIE ANTYPARKINSONOWSKIE

Obecnie duże znaczenie w terapii choroby Parkinsona przypisuje się antagonistom receptorów adenozynowych A_{2A} . Zlokalizowany w prążkowie podtyp A_{2A} receptora adenozynowego bierze udział w regulacji aktywności motorycznej, modulując aktywację receptora dopaminowego D_2 . Receptory adenozynowe A_{2A} i dopaminowe D_2 działają przeciwstawnie w obrębie neuronów prążkowiec. Blokada receptorów A_{2A} na szlaku nigrostriatalnym i zahamowanie interakcji adenozyny z tym receptorem może okazać się korzystne w leczeniu choroby Parkinsona. Na modelach zwierzęcych zaobserwowano też efekt neuroprotektyny. Powinowactwo do receptorów adenozynowych *in vitro* posiadają pochodne 7-imino-2-tiokso-3,7-dihydro-2*H*-tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny z ugrupowaniem mocznika w pozycji 6. Optimum aktywności wykazał związek **21** z podstawnikiem trójwęglowym w pozycji 3. Zarówno dłuższe jak i krótsze łańcuchy węglowe wpływają na zmniejszenie aktywności, korzystnie działa wprowadzenie rodnika aromatycznego, zwłaszcza w przypadku obecności halogenu w pozycji para pierścienia (związek **22**) [14].



Rysunek 17
Figure 17

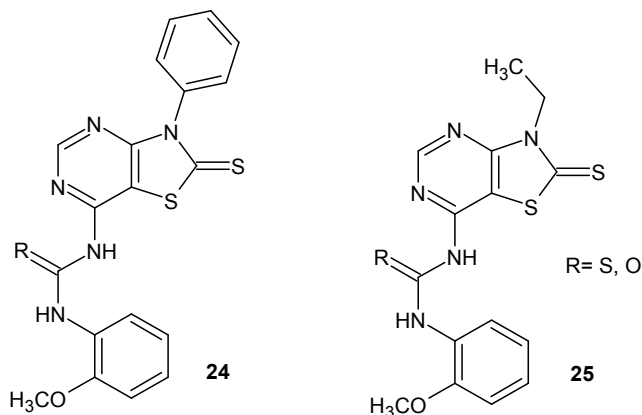
Trójpięścienne pochodne tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny **23** silnie blokowały receptor A_{2A} i odwracały indukowaną haloperidolem katepsję i akinezję u myszy. Badanie *in vitro* wykazało ich powinowactwo do tego receptora porównywalne ze standardowym antagonistą SCH58261 [15].



Rysunek 18
Figure 18

Nowe pochodne tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny **24** i **25** z podstawnikami 2-metoksyfenylenoureidowym i 2-metoksyfenylenotioureidowym w pozycji 7 były testowane *in vivo* na myszach, u których wywołano katepsję przez podanie haloperidolu. Jednocześnie badano poziom stresu oksydacyjnego przez oznaczenie stężeń dialdehydu malonowego MDA i glutationu GSH oraz zmierzenie aktywności dysmutazy nadtlenkowej SOD i peroksydazy glutationu GSH-Px. W grupie poddanej działaniu haloperidolu zaobserwowano peroksydację lipidów, obniżony poziom GSH i spadek aktywności enzymów SOD i GSH-Px. Podanie badanych ureidów i tioureidów 30 minut przed haloperidolem znacząco zmniejszyło stres oksydacyjny i przywróciło aktywność enzymów oraz wartości GSH i MDA niemal do poziomów próby kontrolnej. W teście indukowanej haloperidolem katepsji związki **24** i **25** okazały się skuteczniejsze od wzorcowej lewodopy. Obecność grupy metoksylowej w pozycji orto pierścienia aromatycznego zwiększa aktywność antykateptyczną i właściwości antyoksydacyjne pochodnych. Dobre właściwości lipofilowe związ-

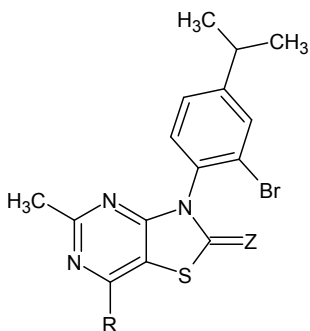
ków warunkują penetrację do ośrodkowego układu nerwowego i dają możliwość zastosowania ich w leczeniu schorzeń neurodegeneracyjnych [16].



Rysunek 19
Figure 19

1.4. DZIAŁANIE PRZECIWLĘKOWE I PRZECIWDOPRESYJNE

Wśród pochodnych omawianego układu znajdują się antagoniści receptorów dla kortykoliberyny (CRH) o potencjalnym zastosowaniu jako leki przeciwłękowe i przeciwdepresyjne. Ten 41-aminokwasowy peptyd, syntetyzowany w podwzgórze, odgrywa znaczącą rolę w regulacji odpowiedzi na stres u ssaków a także może być wydzielany w nadmiarze (hipersekrecja) u pacjentów z depresją. Wysokie powinowactwo *in vitro* do receptorów kortykoliberyny CRH-R1 posiadają niektóre pochodne 2-tio- i 2-okso-4,5-dihydro-2H-pyrimidin-5-ylidenu z ugrupowaniem aminowym w pozycji 7. Testy zostały przeprowadzone na komórkach linii HEK 293E, na których uprzednio transfekowano i poddano ekspresji ludzkie receptory CRH-1. Ze wstępnych badań między strukturą i aktywnością wynika, że niecykliczne podstawniki alkiloaminowe zwiększają powinowactwo do receptorów, szczególnie korzystne jest wprowadzenie łańcucha etylowego i *n*-propylowego. Najsilniejsze działanie wykazują związki podstawione ugrupowaniami dialkoksy [17].



Z= O, S

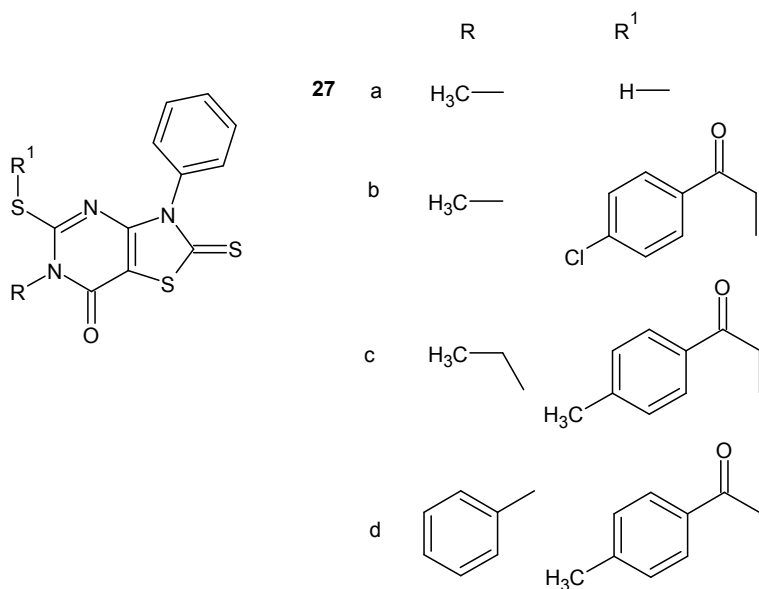
R= N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)CH₂-cyklo-C₃H₅,N(C₂H₅)C₄H₉, N(CH₃CH₂CHCH₃)₂,N(CH₂CH₂OCH₃)₂, morfolino**26**

Rysunek 20

Figure 20

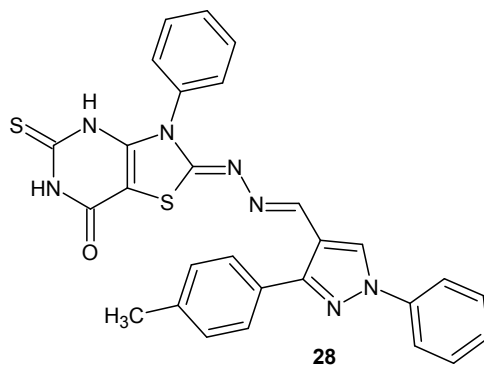
1.5. DZIAŁANIE PRZECIWBÓLOWE I PRZECIWZAPALNE

Większość niesteroidowych leków przeciwzapalnych wykazuje działanie gastrotoksyczne. Poszukiwane są nowe związki, które przy zachowaniu aktywności leczniczej byłyby pozbawione niepożądanego wpływu na układ pokarmowy. Wyniki badań biologicznych *in vivo* wykazują aktywność przeciwzapalną tiazolopirymidyn **27 b i c** porównywalną z fenylbutazonem (test hamowania obrzęku mysich łapek, wywołanego karageniną). Działanie przeciwbólne mierzono w teście „przeciągania się”, jako leku referencyjnego użyto kwasu acetylosalicylowego. Najaktywniejsze okazały się pochodne **27 a i d**. Cząsteczki o największej aktywności zostały przebadane na szczurach pod kątem wartości ED₅₀ (dawka efektywna, która powoduje efekt u 50% badanych osobników) i potencjału wrzodotwórczego. W badanej grupie zwierząt nie zaobserwowano zmian struktury śluzówki żołądka, w przeciwieństwie do grupy kontrolnej, której podawano fenylbutazon. Nowe pochodne tiazolopirymidyny nie działają ulcerogennie, przy aktywności porównywalnej z klasycznymi NLPZ [18].



Rysunek 21
Figure 21

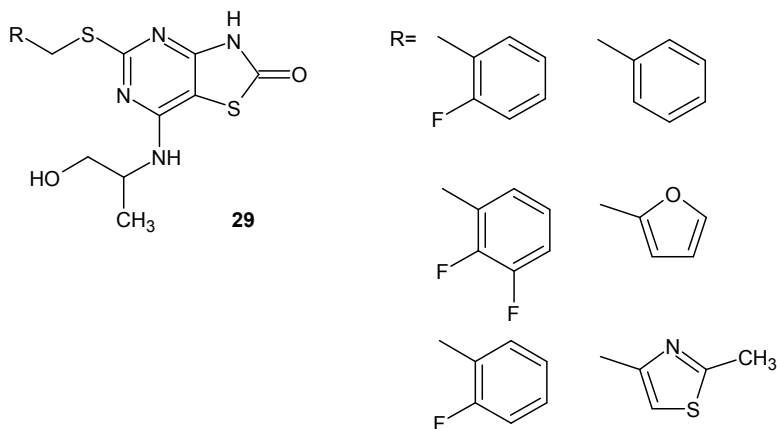
Związek **28** charakteryzuje się w warunkach *in vivo* jednoczesnym działaniem przeciwbakteryjnym i aktywnością przeciwzapalną porównywalną z ampicyliną i indometacyną, przy minimalnej ulcerogenności [19].



Rysunek 22
Figure 22

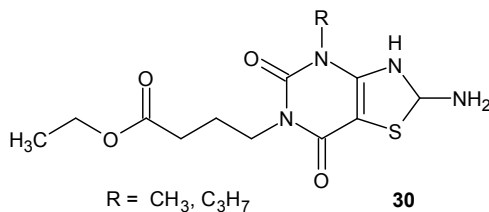
Chemokiny stanowią jedną z grup mediatorów stanu zapalnego, należą do nich m.in. interleukina 8 (IL-8) i onkogen α (GRO α), które poprzez receptor CXCR2 aktywują i rekrutują neutrofile do miejsc toczącego się stanu zapalnego. Podwyższony poziom IL-8 obserwuje się w przebiegu zapalenia stawów, astmy, wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, łuszczycy i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc.

Poszukiwanie antagonistów receptorów CXCR2 dla IL-8 wydaje się być atrakcyjną strategią postępowania w terapii procesów zapalnych. Seria silnych antagonistów receptora CXCR2, 5-tiobenzylu pochodne 7-(1-hydroksypropan-2-yl)otiazolo[4,5-*d*]pirymidyn-2(3*H*)-onu **29** cechuje się wysokim powinowactwem oraz dobrą biodostępnością biologiczną w badaniach na szczurach, przy podaniu doustnym. Aktywność tych pochodnych warunkują ugrupowanie 5-tiobenzylowe, optymalnie podstawione dwoma atomami fluoru oraz obecność aminoalkoholu w pozycji 7. Otrzymano również szereg pochodnych z grupą aminową w pozycji 2, które silnie blokowały receptor, niestety cechowały się słabą biodostępnością [20].



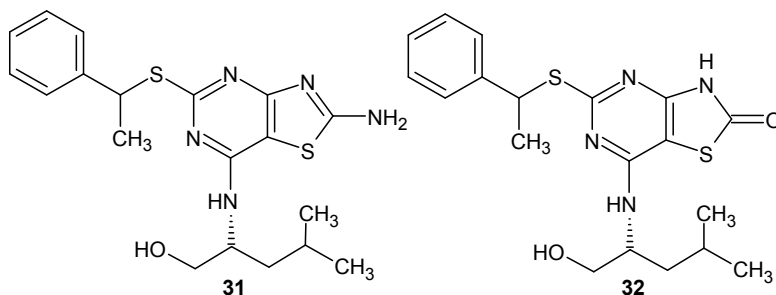
Rysunek 23
Figure 23

Czynnik martwicy nowotworów (TNF) promuje odpowiedź zapalną, która z kolei powoduje wiele problemów klinicznych związanych z chorobami autoimmunologicznymi. Pochodne estru etylowego kwasu 4-[2-amino-5,7-di-oksotiazolo[4,5-*d*]pirymidyn-6-yl]-masłowego **30** są inhibitorami uwalniania TNF α . Mogą być użyteczne w leczeniu tych chorób, w których nadmierne wytwarzanie cytokin prozapalnych odgrywa główną rolę takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane, astma, łuszczyca i zapalenie jelit [21].



Rysunek 24
Figure 24

Fraktalina, jedna z ok. 50 znanych chemokin, stanowi ważny czynnik w patogenezie chorób o podłożu zapalnym i autoimmunologicznym. Podwyższone stężenie fraktaliny stwierdzono w przebiegu m.in. stwardnienia rozsianego. 5-Tio podstawione 7-amino-5-tiotiazolo[4,5-*d*]pirymidyny są selektywnymi antagonistami receptora fraktaliny CX₃CR1, pierwszymi które mogą być stosowane doustnie w leczeniu stwardnienia rozsianego. Z szeregu przebadanych związków pochodne z rodnikiem leucynolu w pozycji 7 oraz podstawnikiem α -metylobenzylowym w pozycji 5 **31** i **32** charakteryzowały się wysoką selektywnością i powinowactwem do receptora oraz dobrymi właściwościami fizykochemicznymi [22].



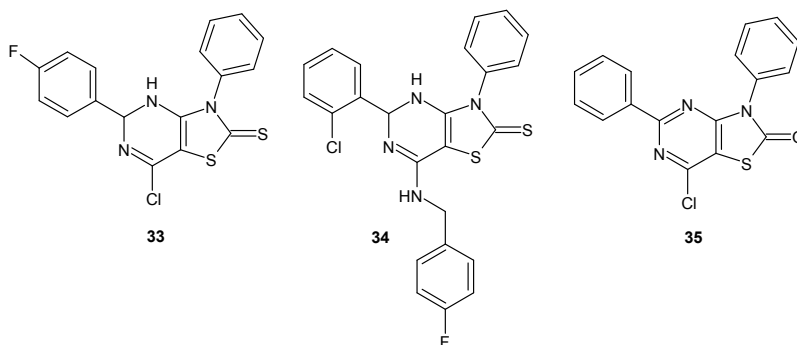
Rysunek 25
Figure 25

1.6. AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWA

W terapii nowotworów stosowane są m.in. leki będące analogami puryn i nukleozydów purynowych, należące do antymetabolitów m.in. merkaptopuryna, fludarybina, tioguanina, kladrybina. Aktywność cytostatyczna pochodnych izomeru 4,5-*d* tiazolopirymidyny może wynikać z ich podobieństwa strukturalnego do naturalnych zasad purynowych.

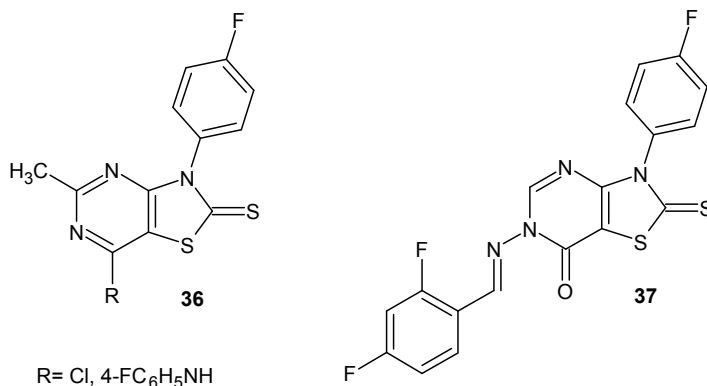
Badania screeningowe prowadzone są w warunkach *in vitro*. National Cancer Institute (NCI, Bethesda, USA) badane substancje poddaje wstępnym testom w dawce 10⁻⁵ mola, na 60 liniach ludzkich komórek nowotworowych wywodzących się z 9 paneli reprezentujących białaczkę, czerniaka, raka płuc, okrężnicy, piersi, jajnika, prostaty nerki i mózgu.

Większość pochodnych tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny wykazujących nasiloną aktywność antyproliferacyjną posiada w swojej strukturze ugrupowania aromatyczne i podstawniki elektroujemne. Silnym działaniem wobec linii HOP-92 niedrobnokomórkowego raka płuc i IGROV-1 raka jajnika cechuje się pochodna **33**. Związek **34** jest bardzo aktywny wobec nowotworów ośrodkowego układu nerwowego [23]. 7-Chloro-3,5-difenylotiazolo[4,5-*d*]pirymidyn-2(3*H*)-on (**35**) najsilniej hamuje wzrost linii UO-31 raka nerki oraz NCI-H522 niedrobnokomórkowego raka płuc [24].



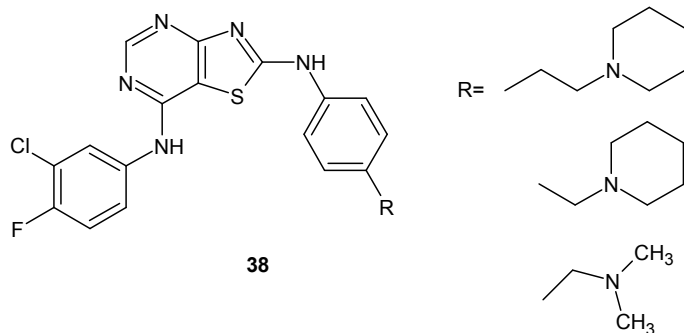
Rysunek 26
Figure 26

Znaczną aktywnością antyproliferacyjną w badaniach w NCI wykazały się również 3-(*p*-fluorofenylowe) pochodne **36** i **37** [25].



Rysunek 27
Figure 27

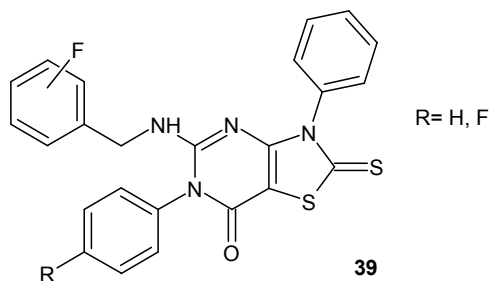
Substancje hamujące nadmierną aktywację receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) mogą znaleźć potencjalne zastosowanie jako leki przeciwnowotworowe. Należą do nich pochodne 2,7-diaminotiazolo[4,5-*d*]pirymidyny **38**, które w warunkach *in vitro* wykazują silne działanie antyproliferacyjne wobec ludzkiego gruczolakoraka jajnika linii SK-OV 3. Najlepsze efekty cytostatyczne mają miejsce, gdy w pozycji 7 znajdują się halogeny, w położeniu meta aniliny. Podstawniki przy pierścieniu w pozycji 2 nie mają wpływu na aktywność [26].



Rysunek 28
Figure 28

1.7. PESTYCYDY

Stosowane w agrochemii herbicydy, insektycydy i fungicydy często zawierają podstawniki fluorowane, które korzystnie wpływają na aktywność środków ochrony roślin. Szereg 5-arylo/alkiloamino-3-fenilo-6-arylo-2,3-dihydrotiazolo[4,5-*d*]pirymidyn-7(6*H*)-onów **39**, w dawce 100 mg/ml hamowało wzrost chwastnicy jednostronnej i rzepaku. Wyniki powyżej 95% osiągnęły związki z podstawnikiem zawierającym atom fluoru, w pozycji 5 tiazolopirymidyny, niezależnie od położenia tego atomu w pierścieniu aromatycznym [27].



Rysunek 29
Figure 29

PODSUMOWANIE

Obecnie jako substancje lecznicze zarejestrowane są dwa związki zawierające w swojej cząsteczce układ tiazolopirymidyny – ritanseryna i setoperon, antagoniści receptora serotoninowego 5-HT_{2A}. W obydwu przypadkach są to pochodne izomeru tiazolo[3,2-*a*]pirymidyny. Natomiast tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny nie zostały dotychczas wprowadzone do lecznictwa. Trwają badania kliniczne 5-amino-3-β-*D*-

rybofuranozylotiazolo[4,5-*d*]pirymidyno-2,7(3*H*,6*H*)-dionu (**20**) i jego analogów [13]. Struktura ta jest przedmiotem badań od lat 90 ubiegłego wieku, w tym czasie modyfikowano ją w celu polepszenia rozpuszczalności, uzyskania biodostępności przy podaniu doustnym, zmniejszenia toksyczności. Obecnie zakończona jest I faza badań klinicznych na zdrowych ochotnikach oraz chorych na HCV, istnieje szansa na rejestrację pochodnej tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny jako leku.

Opisane związki wykazują różnorodną aktywność biologiczną. Ich strukturalne podobieństwo do endogennych zasad purynowych, adeniny i guaniny może być jednym z czynników warunkujących działanie. Z przeglądu piśmiennictwa naukowego wynika, że pochodne tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny mają działanie przeciwbakteryjne [2, 3, 5, 7, 8, 10, 19], przeciwgrzybicze [2–6, 9, 10], przeciwwirusowe [11–13] i mogą być użyteczne w leczeniu zakażeń i infekcji. Wywierają antagonistyczny efekt wobec indukowanej haloperidolem katalapsji u myszy i stresu oksydacyjnego z czego wynika ich działanie przeciwparkinsonowskie [14–16]. Jako antagoniści receptorów CXCR2 oraz inhibitory uwalniania TNF α mogą być użyteczne w leczeniu tych chorób, w których nadmierne wytwarzanie cytokin prozapalnych odgrywa główną rolę, są to choroby autoimmunologiczne, takie jak reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane, astma, łuszczyca, zapalenie jelit i przewlekła obturacyjna choroba płuc [20, 21]. Wśród pochodnych omawianego układu znajdują się antagoniści receptorów dla kortykoliberyny (CRH) o potencjalnym zastosowaniu jako leki przeciwłękowe i przeciwdepresyjne [17]. Ostatnio opracowano syntezę 7-amino-5-tiotiazolopirymidyn, antagonistów receptora CX₃CR1, do stosowania w leczeniu stwardnienia rozsianego [22]. Niektóre tiazolo[4,5-*d*]pirymidyny, szczególnie z podstawnikami elektronegatywnymi, wykazują działanie cytostatyczne na wiele linii ludzkich komórek nowotworowych [23–26]. Hamują też wzrost roślin, stąd możliwość ich zastosowania w rolnictwie [27].

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H. Erlenmeyer, H.P. Furger, *Helv. Chim. Acta*, 1943, **26**, 366.
- [2] E.A.M. Badawey, S.M. Rida, A.A. Hazza, H.T.Y. Fahmy, Y.M. Gohar, *Eur. J. Med. Chem.*, 1993, **28**, 91.
- [3] H. Urgun, A. Balkan, M. Özalp, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 2000, **50**, 1115.
- [4] A. Balkan, H. Urgun, M. Özalp, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 2001, **51**, 839.
- [5] N.S. Habib, R. Soliman, A.A. El-Tombary, S.A. El-Hawash, O.G. Shaaban, *Arch. Pharm. Res.*, 2007, **30**, 1511.
- [6] M. Chhabria, I. Rathod, K. Vala, P. Patel, *Med. Chem. Res.*, 2011, **20**, 1450.
- [7] J.D. Akbari, K.B. Mehta, S.J. Pathak, H.S. Joshi, *Indian Journal of Chemistry*, 2008, **47B**, 477.
- [8] M-Y. Jang, S. De Jonghe, K. Segers, J. Anne, P. Herdewijn, *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, **19**, 702
- [9] M.A. El-Sherbeny, F.A. Badria, S.A. Kheira, *Med. Chem. Res.*, 1996, **6**, 28.
- [10] S. Demirayak, I. Kayagil, Y. Tunali, *J. Fac. Pharm. Istanbul*, 2005–2006, **38**, 79.
- [11] A.F. Lewis, G.R. Revankar, S.M. Fennewald, J.H. Huffman, R.F. Rando, *J. Heterocyclic Chem.*, 1995, **32**, 547.

- [12] K. Nagahara, J.D. Anderson, G.D. Kini, N.K. Dalley, S.B. Larson, D.F. Smee, B.S. Sharma, W.B. Jolley, R.K. Robins, H.B. Cottam, *J. Med. Chem.*, 1990, **33**, 407.
- [13] G.J. Haley, J.R. Lennox, A.X. Xiang, S.E. Webber, S.E. USPTO Patent Appl. No. 20080020989, 2008.
- [14] P.M. Luthra, C.B. Mishra, P.K. Jha, S.K. Barodia, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 1214.
- [15] C.B. Mishra, S.K. Barodia, A. Prakash, J.B.S. Kumar, P.M. Luthra, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 2491.
- [16] F. Azam, I.A. Alkskas, M.A. Ahmed, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, **44**, 3889.
- [17] J.P. Beck, M.A. Curry, R.J. Chorvat, L.W. Fitzgerald, P.J. Gilligan, R. Zaczek, G.L. Trainor, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1999, **9**, 1185.
- [18] A. Balkan, Z. Gören, H. Urgan, Ü. Çalis, A. Çakar Nur, P. Atilla, T. Uzbay, *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, 2002, **52**, 462.
- [19] A.A. Bekhit, H.T.Y. Fahmy, S.A.F. Rostom, A.M. Baraka, *Eur. J. Med. Chem.*, 2003, **38**, 27.
- [20] I. Walters, C. Austin, R. Austin, R. Bonnert, P. Cage, M. Christie, M. Ebden, S. Gardiner, C. Grahames, S. Hill, F. Hunt, R. Jewell, S. Lewis, I. Martin, D. Nicholls, D. Robinson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 798.
- [21] D.A. Carson, H.B. Cottam, L. Deng, US Patent No. 7098216, 2006.
- [22] S. Karlström, G. Nordval, D. Sohn, A. Hettman, D. Turek, K. Åhlin, A. Kers, M. Claesson *et al*, *J. Med. Chem.*, 2013, **56**, 3177.
- [23] L. Becan, E. Wagner, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 2008, **58**, 521.
- [24] L. Becan, E. Wagner, *Med. Chem. Res.*, 2013, **22**, 2376.
- [25] H.T.Y. Fahmy, S.A.F. Rostom, M.N. Saudi, J.K. Zjawiony, D.J. Robins, *Arch. Pharm. Med. Chem.*, 2003, **3**, 1.
- [26] R. Lin, S.G. Johnson, P.J. Connolly, S.K. Wetter, E. Binnun, T.V. Hughes, W.V. Murray, N.B. Pandey, S.J. Moreno-Mazza, M. Adams, A.R. Fuentes-Pesquera, S. A. Middleton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 2333.
- [27] Y. Liang, S. Fan, W.Y. Mo, H.W. He, *J. Fluorine Chem.*, 2007, **128**, 879.

Praca wpłynęła do Redakcji 13 września 2013