

**ZASTOSOWANIA BIOLOGICZNE TETRAZOLI
I ICH POCHODNYCH**

**BIOLOGICAL APPLICATIONS OF TETRAZOLES
AND THEIR DERIVATIVES**

Agata Olszewska^{1*}, Weronika Strzempek^{2,3}

¹ *Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, Zespół Chemii Koordynacyjnej,
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków*

² *Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii,
Zespół Katalizy i Fizykochemii Ciała Stałego,
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków*

³ *Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum,
Wydział Farmacji, Katedra Farmakobiologii,
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków*

**e-mail: agata.mrowiec@doctoral.uj.edu.pl*

*Praca wyróżniona w konkursie Krakowskiego Oddziału PTChem na konferencji
studenckiej Horyzonty Nauki – Forum prac Dyplomowych 2017*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Właściwości przeciwbakteryjne
2. Właściwości przeciwgrzybicze
3. Właściwości przeciwzapalne i przeciwbólowe
4. Właściwości przeciwnowotworowe
5. Właściwości przeciwdrgawkowe
6. Właściwości przeciwpasożytnicze

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mgr Agata Olszewska jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Pracuje jako doktorantka w Zakładzie Chemii Nieorganicznej w Zespole Chemii Koordynacyjnej UJ w Krakowie. Jej zainteresowania naukowe dotyczą syntezy i badania właściwości nowych związków koordynacyjnych z metalami bloku d, w tym materiałów wysokoenergetycznych. Szczególną uwagę poświęca badaniom możliwej koordynacji tetrazoli oraz ich pochodnych do centrum metalicznego, które stanowią tematykę pracy doktorskiej.



Mgr Weronika Strzemppek jest studentką studiów III stopnia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Swoje badania realizuje z Zespole Katalizy i Fizykochemii Ciała Stałego Wydziału Chemii UJ oraz w Zakładzie Cytobiologii Katedry Farmakobiologii Collegium Medicum UJ. Jej główne zainteresowania naukowe dotyczą właściwości oraz zastosowań biologicznych materiałów MOF.

ABSTRACT

Due to the wide range of applications of tetrazoles, in recent years the number of publications and patents describing the synthesis, structural and physicochemical studies of compounds that contain tetrazole fragments in their structure has increased significantly [1].

Tetrazoles are unique compounds containing some of the most electron deficient aromatic rings so that they have one of the highest electron affinity [3]. They also have a whole range of coordination possibilities from simple monodentate ligands to complex polymer systems in which several of nitrogen atoms per tetrazole molecule are involved in the metal coordination. The presence of the metal allows a much wider application, combining the simple geometries and properties of organic compounds with the wealth of structure and properties of the metals.

The discussed heterocyclic compounds are not only the most modern high energetic materials for military purposes [5], but also fungicides [6], herbicides [7], a promising component in many modern therapies [8] and drugs [11] (e.g. derivatives of indomethacin, drug for arthritis [1]). One of the most important fields in which tetrazoles and their derivatives are widely used is medicinal chemistry. Because of their high physiological activity and low toxicity, they are versatile in both biochemical and pharmaceutical applications [9]. Moreover, different compounds containing tetrazoles have antimicrobial (Fig. 1) [11, 13–17], antifungal (Fig. 2) [18–20], antiparasitic (Fig. 13–16) [34–36], antiviral (Fig. 17–19) [37–41], analgesic and anti-inflammatory (Fig. 3, 4) [17, 21–24], anti-epileptic, anticonvulsant (Fig. 10–13) [30–33], antihypertensive, antitumor (Fig. 5–9) [25–29], antidiabetic and other properties [12]. This article is a review of the selected tetrazoles and their derivatives in terms of their biological applications.

Keywords: tetrazoles, tetrazoles derivatives, biological applications

Słowa kluczowe: tetrazole, pochodne tetrazoli, zastosowania biologiczne

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

A 549	– ludzka linia komórkowa gruczolakoraka płuc (ang. <i>human epithelial lung carcinoma</i>)
A2780	– ludzka linia komórkowa raka jajnika (ang. <i>human ovarian carcinoma</i>)
AT	– aminotransferaza (ang. <i>aminotransferase</i>)
DNA	– kwas dezoksyrybonukleinowy (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DU 145	– ludzka linia komórkowa nowotworu prostaty (ang. <i>human prostate carcinoma</i>)
ED ₅₀	– średnia dawka efektywna (ang. <i>median effecting dose</i>)
GABA	– kwas γ -aminomasłowy (ang. <i>γ-aminobutyric acid</i>)
HCV	– wirus zapalenia wątroby typu C (ang. <i>hepatitis C virus</i>)
HD ₅₀	– dawka wywołująca pożądaną efekt terapeutyczny dla połowy badanej populacji (ang. <i>effective dose</i>)
HeLa	– ludzka linia komórkowa raka szyjki macicy (ang. <i>human epithelial cervix adenocarcinoma</i>)
HepG2	– ludzka linia komórkowa nowotworu wątroby (ang. <i>human liver hepatocellular carcinoma</i>)
HIV	– ludzki wirus niedoboru odporności (ang. <i>human immunodeficiency virus</i>)
IC ₅₀	– stężenie inhibitora hamujące w 50% funkcje biologiczne i biochemiczne organizmów) (ang. <i>inhibitory concentration</i>)
komórki NK	– naturalni zabójcy (ang. <i>Natural Killer</i>)
LD ₅₀	– dawka powodująca zgon połowy osobników (ang. <i>lethal dose</i>)
MCF7	– ludzka linia komórkowa gruczolakoraka piersi (ang. <i>human epithelial breast adenocarcinoma</i>)
MTX	– metotreksat (ang. <i>methotrexate</i>)
NMDA	– kwas <i>N</i> -metylo- <i>D</i> -asparaginowy
PI	– indeks bezpieczeństwa (ang. <i>protective index</i>)
RAW 264.7	– mysie makrofagi krwi (ang. <i>murine macrophage from blood</i>)
RNA	– kwas rybonukleinowy (ang. <i>ribonucleic acid</i>)
scPTZ	– test podskórnego pentylenotetrazolu (ang. <i>subcutaneous pentylenetetrazole test</i>)
TD ₅₀	– dawka wywołująca toksyczność u połowy osobników (ang. <i>toxic dose</i>)
test MES	– test maksymalnego elektrowstrząsu (ang. <i>maximal electroshock seizure test</i>)

-
- | | |
|------|---|
| TMV | - wirus mozaiki tytoniowej (ang. <i>tobacco mosaic virus</i>) |
| TS | - syntaza tymidylanowa (ang. <i>thymidylate synthetase</i>) |
| W1L2 | - ludzka linia komórkowa limfoblastów (ang. <i>human lymphoblastoid</i>) |

WPROWADZENIE

Ze względu na szeroki zakres zastosowania tetrazoli, w ostatnich latach ilość publikacji i patentów opisujących syntezy, badania strukturalne i fizykochemiczne związków, które zawierają w swej strukturze fragmenty tetrazoli, znacząco wzrosła [1]. Tetrazole to krystaliczne ciała stałe barwy od białej do jasnożółtej o słabym charakterystycznym zapachu. Są rozpuszczalne w wodzie i alkoholu. Heterocykliczny pięcioatomowy pierścień tetrazolu o wzorze sumarycznym CN_4H_2 zawiera dwa wiązania podwójne oraz cztery atomy azotu, które stanowią aż osiemdziesiąt procent całkowitej masy cząsteczki. Jest to najwyższa wartość dla stabilnych podstawionych układów heterocyklicznych [2]. Z uwagi na obecność kilku atomów azotu tetrazole posiadają charakter kwasowy. Dodatkowo ulegają elektrofilowemu, a także nukleofilowemu podstawieniu. Tetrazole nie występują naturalnie w przyrodzie.

Tetrazole to związki zawierające silnie elektronowo-deficytowe pierścienie aromatyczne czego konsekwencją jest wysokie powinowactwo elektronowe [3]. Koordynacja poliazotowych związków do centrum metalicznego stanowi nie tylko pośredni etap w ich syntezie [4], ale pozwala także na otrzymywanie bardziej zaawansowanych strukturalnie związków i przyczynia się do wzrostu stabilności termicznej samych tetrazoli.

Omawiana klasa związków posiada szerokie spektrum możliwości koordynacyjnych, od prostych ligandów jednowiązujących, aż do rozbudowanych chelatowych układów polimerycznych. Łączenie związków organicznych o dobrze poznanej strukturze i własnościach z bogactwem związków nieorganicznych pozwala na zwiększenie możliwości aplikacyjnych tetrazoli o układy hybrydowe (nieorganiczno-organiczne). Cechą charakterystyczną tych układów jest posiadanie na poziomie molekularnym własności zdecydowanie innych od tworzących je elementów.

Tetrazole znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, są stosowane jako najnowocześniejsze materiały wysokoenergetyczne dla celów militarnych [5], ale również jako selektywne fungicydy [6] i herbicydy [7] o niskiej szkodliwości dla środowiska. Stanowią składniki licznych nowoczesnych terapii [8] i leków (np. pochodnej indometacyny, leku na artretyzm) [1].

Wybitne osiągnięcia chemii farmaceutycznej w ostatniej dekadzie są w znacznym stopniu związane z tworzeniem nowych leków zawierających pierścienie tetrazolowy jako fragment strukturalny. Związki te wykazują znaczną aktywność biologiczną, ale są jednocześnie odporne na degradację biologiczną. Jedną z najważniejszych dziedzin, w której tetrazole i ich pochodne (np. kompleksy koordynacyjne zawierające grupę tetrazolową) znajdują powszechne zastosowanie to chemia medyczna. Związki te mogą stanowić metaboliczny substytut grupy karboksylowej. Właściwość ta umożliwia wykorzystanie tetrazoli jako izosterycznych podstawników różnych grup funkcyjnych w rozwoju substancji biologicznie czynnych. W wielu przypadkach tetrazolowe analogi są równie aktywne jak wyjściowe związki, natomiast stanowią one bardziej stabilne metabolicznie związki. Ze

względu na wysoką aktywność fizjologiczną, a także niską toksyczność, możliwe jest ich wszechstronne zastosowanie zarówno w zakresie biochemicznym, jak i farmaceutycznym [9]. Dodatkowo tetrazole to również znane składniki nowej generacji materiałów filtracyjnych służących do oczyszczania płynów biologicznych, takich jak krew czy limfa, z obecnych w nich metali ciężkich [10].

Tetrazole stanowią klasę pięcioczłonowych bogatych w elektrony wieloazotowych związków heterocyklicznych. Ich wyjątkowa budowa sprawia, że wiele pochodnych tetrazoli jest stosowanych w lekach [11]. Zróżnicowane związki heterocykliczne zawierające tetrazole posiadają właściwości: przeciwdrobnoustrojowe, przeciwgrzybicze, przeciwbólowe, przeciwzapalne, przeciwpadaczkowe, przeciwdrgawkowe, przeciwnadciśnieniowe, przeciw-nowotworowe, przeciwcukrzycowe i inne [12]. Ze względu na wszechstronne zastosowanie ugrupowania tetrazolowego oraz znaną aktywność farmakologiczną prowadzone są kolejne badania nad zastosowaniem ich właściwości w różnych schorzeniach.

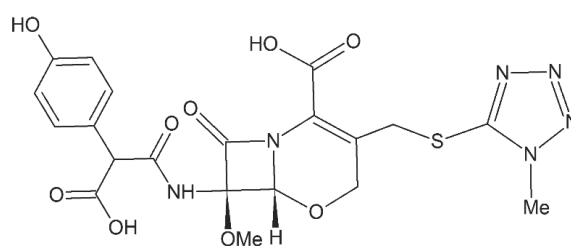
Pomimo tego, że ilość publikacji, opisujących zastosowanie tetrazoli w produktach farmaceutycznych wzrasta, istnieje nadal niewiele prac przeglądowych dotyczących tej klasy związków. Wciąż jest wiele właściwości, które należy zbadać w odniesieniu do tych wszechstronnych związków. Celem niniejszego artykułu jest zebranie i opisanie wybranych tetrazoli i ich pochodnych pod kątem właściwości biologicznych.

1. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWBAKTERYJNE

Przez dziesięciolecia choroby bakteryjne były uważane za szczególnie niebezpieczne. Do połowy XX wieku bakteryjne zapalenie płuc było prawdopodobnie główną przyczyną zgonów wśród osób starszych. Ze względu na wiele podjętych działań, między innymi poprawę stanu sanitarnego czy wprowadzenie szczepionek i antybiotyków, zmniejszyła się śmiertelność wywołana zakażeniami bakteryjnymi. Pomimo tego, wzrastająca oporność niektórych szczepów prowadzi do powrotu niektórych chorób. Na początku XXI wieku gruźlica spowodowana przez *Mycobacterium tuberculosis*, której kilka szczepów wykazało oporność na jeden lub więcej leków szeroko stosowanych w leczeniu infekcji, należała do najbardziej śmiertelnych chorób zakaźnych na całym świecie. Oporność bakterii na leki to poważny globalny problem zdrowotny, który wymaga opracowania nowych leków przeciwbakteryjnych skutecznie przeciwdziałających patogennym mikroorganizmom opornym na obecnie dostępne terapie.

Badania silnych i skutecznych środków przeciwbakteryjnych stanowią jedno z kluczowych wyzwań, nie tylko w zwalczaniu poważnych zakażeń, ale także w zapobieganiu i leczeniu niektórych zakaźnych powikłań oraz rozwoju innych metod terapeutycznych, takich jak chemioterapia czy chirurgia [13]. W literaturze istnieje wiele doniesień o silnych właściwościach bakteriobójczych pochodnych tetrazoli [11].

Najbardziej znanym przykładem leków zawierających 1-podstawiony fragment 5-tiotetrazolu są antybiotyki β -laktamowe należące do grupy cefalosporyn i penicylin. Takie antybiotyki mają niską toksyczność i szerokie spektrum aktywności. Jako główny fragment strukturalny zawierają pierścień β -laktamowy z różnymi podstawnikami w pozycjach 3 i 7, a ich aktywność przeciwbakteryjna związana jest z uszkodzeniem struktury ściany komórkowej i/lub błony komórkowej oraz zaburzeniem czynności prowadzących do jej odbudowy poprzez hamowanie syntezy mukopeptydów. Długo stosowanym antybiotykiem klasy 1-oksadetiacefalosporyny zawierającym fragment 5-tiotetrazolu był Latamoxef, który ze względu na liczne działania niepożądane został wycofany [14–16] (Rys. 1).



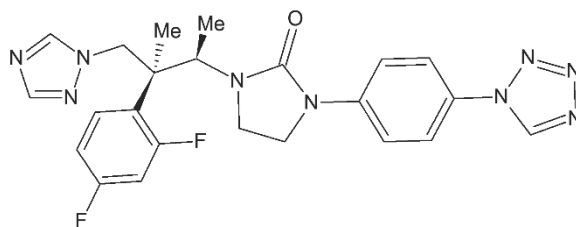
Rysunek 1. Struktura Latamoxefu [14–16]
Figure 1. Structure of the Latamoxef [14–16]

Antybiotyki klasy cefalosporyn są zwykle podzielone na generacje według ich właściwości przeciwbakteryjnych. Pochodne 1-podstawionych 5-tiotetrazoli są powszechnie obecne w każdym z pięciu istniejących pokoleń takich antybiotyków. Prowadzone są prace nad wprowadzeniem kolejnych generacji antybiotyków o lepszych właściwościach przeciwbakteryjnych i mniejszych skutkach ubocznych [17].

2. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWGRZYBICZE

W ciągu ostatniej dekady zakażenia grzybicze stały się jedną z przyczyn zachorowalności i umieralności osób z upośledzeniem systemu odporności, po zabiegach transplantacyjnych oraz chemioterapii [18]. Dlatego też w ostatnich latach wiele uwagi skupiono na rozwiązaniu problemu grzybów opornych na wiele leków.

Dotychczas 1-podstawione tetrazole nie były szeroko stosowane w procesie wytwarzania produktów farmaceutycznych stosowanych w terapiach przeciwgrzybiczych. Najbardziej znanymi są pewne pochodne antybiotyków β -laktamowych i optycznie aktywne preparaty przeciwgrzybicze typu azoli zawierające grupę tetrazolową zsyntezowane przez zespół Itchikawy [19, 20] (Rys. 2).



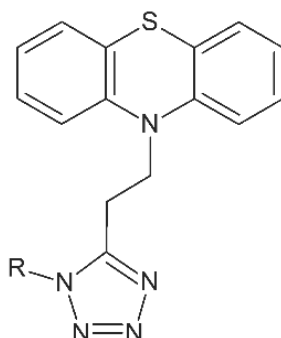
Rysunek 2. Struktura związku TAK-456 [19, 20]

Figure 2. The structure of the TAK-456 compound [19, 20]

3. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWPALNE I PRZECIWBÓLOWE

Ciało człowieka posiada szereg mechanizmów obronnych chroniących je od środowiska zewnętrznego. System odpornościowy składa się z odporności wrodzonej i nabytej. Pierwszy z nich odpowiada za obronę naszego ciała przed obcymi materiałami [21]. Kiedy ostre odpowiedzi zapalne trwają przez długi czas, tkanki lub narządy zaczynają nieprawidłowo funkcjonować. Uszkodzenie narządu prowadzi do licznych chorób, takich jak zapalenie żołądka, rak, cukrzyca i miażdżycza tętnic. Z tego względu konieczne jest opracowanie leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych, które są bezpieczne i skuteczne tak, aby zapobiec chorobom powodującym uszkodzenie narządów [22].

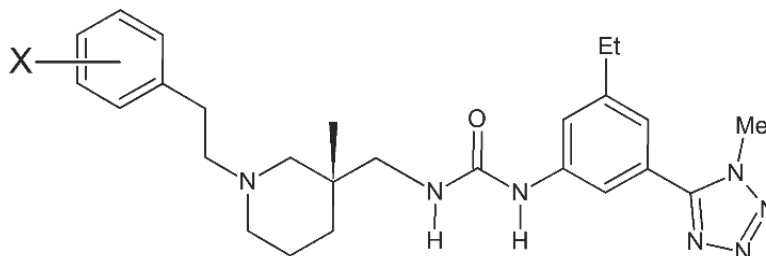
Jednymi z szerzej badanych związków są aktywne biologicznie substancje zawierające 1,5-dipodstawiony fragment tetrazolu. Przykładem jest preparat przeciwzapalny oparty na fenotiazynie [23] (Rys. 3). Oprócz aktywności przeciwzapalnej, związki tego typu wykazują również słabe działanie przeciwwrzodowe i przeciwbólowe.



Rysunek 3. Struktura związku opartego na fenotiazynie [23]

Figure 3. The structure of the compound based on phenothiazine [23]

Innym przykładem środków przeciwzapalnych są związki opisane przez Batta i zespół [24] (Rys. 4).



Rysunek 4. Struktura związku o działaniu przeciwzapalnym opisanego przez Batta z zespołem [24]
Figure 4. The structure of the anti-inflammatory compound described by Batt and team [24]

Zasadą działania takich związków (Rys. 3, 4) jest blokowanie receptorów chemokin (cytokin chemotaktycznych), które są głównymi mediatorami procesów zapalnych w organizmie człowieka [17].

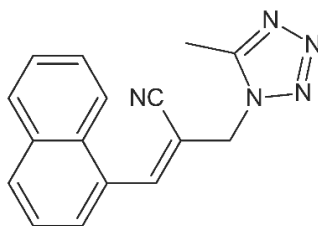
4. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWE

Wspólnym mianem rodziny chorób nowotworowych jest zmiana komórek prawidłowych w nowotworowe pod wpływem różnych czynników oraz tworzenie się ich w dowolnych miejscach w organizmie. Mechanizm ten związany jest z szeregiem zmian genetycznych oraz epigenetycznych takich jak mutacje punktowe, translokacje chromosomalne, metylacja DNA, modyfikacje histonów i inne.

Na podstawie danych opublikowanych w 2013 roku przez National Center for Health Statistics, w Stanach Zjednoczonych, 25% zgonów było konsekwencją chorób nowotworowych. Pomimo lepszego rozwoju metod leczenia zmian onkologicznych obecnie stosowane techniki prowadzą do immunosupresji nowotworów. Chemioterapia oraz radioterapia, których podstawą jest niszczenie guzów pod wpływem odpowiednio toksycznych związków chemicznych oraz promieniowania jonizującego, charakteryzują się szeregiem efektów ubocznych takich jak m. in. niszczenie komórek szpiku kostnego, co w konsekwencji prowadzi do pojawienia się neutropenii. Dodatkowo, zastosowanie metod chirurgicznych może inicjować odpowiedź immunosupresyjną, której efektem jest znaczne zmniejszenie liczby limfocytów oraz komórek NK (ang. *Natural Killer* – naturalni zabójcy). Dlatego też, jednym z głównych celów współczesnej medycyny jest opracowanie terapii antynowotworowej charakteryzującej się między innymi: stosunkowo selektywnym niszczeniem komórek nowotworowych, bez znacznego wpływu na komórki prawidłowe, wysoką skutecznością, niską inwazyjnością oraz wielokierunkowością.

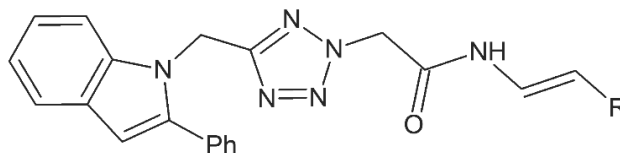
Jedną z obiecujących metod leczenia jest zastosowanie leków opartych na występowaniu w ich strukturze pierścienia tetrazolowego. Ugrupowanie to jest bioizosterycznym, stabilnym analogiem między innymi grup karboksylowych i *cis*-amidowych. Jedne z obiecujących pochodnych tetrazoli, które mogą posiadać właściwości przeciwnowotworowe zostały opisane w pracy m.in. Kumara. Zaproponowana

struktura (Rys. 5) została przebadana pod kątem skuteczności niszczenia komórek nowotworowych linii HepG2 (nowotwór wątroby), A 549 (gruczolakorak płuc) oraz DU 145 (nowotwór prostaty). Potwierdzono wysoką skuteczność działania związku oraz określono mechanizm działania. Związek ten najprawdopodobniej wiąże się ze strukturą DNA tworząc stabilny kompleks wywołujący genotoksycyzość [25].



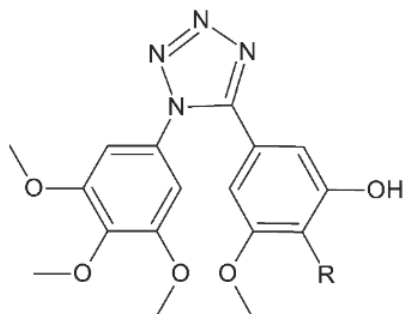
Rysunek 5. Struktura związku z pracy Kumara [25]
Figure 5. The structure of the compound from Kumar's work [25]

Inną strategią stosowaną w walce z chorobami nowotworowymi jest inhibicja polimeryzacji tubuliny (komponent profilamentów mikrotubuli) w komórkach nowotworowych. Prowadzi to do zahamowania syntezy wrzeciona kariokinetycznego co w konsekwencji powoduje zatrzymanie mitozy a następnie rozpoczęcie procesu apoptotycznego. Mechanizm ten może zostać aktywowany poprzez zastosowanie 1,5-diaryl-podstawionych-1,2,3,4-tetrazoli (Rys. 6). Związki tego typu prowadzą dodatkowo do uniemożliwienia łączenia się kolchicyny z tubuliną [26].



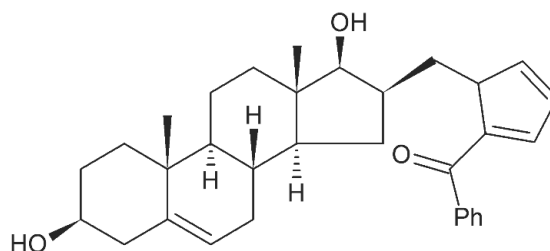
Rysunek 6. Struktura 1,5-diaryl-podstawionych-1,2,3,4-tetrazoli [26]
Figure 6. Structure of 1,5-diaryl-substituted-1,2,3,4-tetrazoles [26]

Jedhe oraz współpracownicy opracowali i ocenili grupę 1,5-dipodstawionych tetrazoli będących analogami kombretastatyny. Wykazano, że związki te (Rys. 7) dzięki obecności grup donorowych wiążących wiązania wodoru w pozycjach *ortho*- i *meta*- na pierścieniu 4-etoksyfenylowym B posiadają aktywność antyproliferacyjną oraz hamują proces polimeryzacji tubuliny. Dodatkowo wartość IC_{50} została oznaczona na poziomie stężeń μM [27].



Rysunek 7. Struktura 1,5-dipodstawionych tetrazoli (gdzie R = OH lub NH₂) [27]
 Figure 7. Structure of 1,5-disubstituted tetrazoles (where R = OH or NH₂) [27]

Kolejną grupę stanowią podstawione tetrazole steroidowe. Ich potencjalne właściwości przeciwnowotworowe zostały sprawdzone pod kątem leczenia nowotworów między innymi narządów rodnych kobiet. Badania *in vitro* przeprowadzono na liniach HeLa (rak szyjki macicy), MCF7 (gruczolakorak piersi) oraz A2780 (rak jajnika). Jednakże efekt został zaobserwowany jedynie w przypadku związku pokazanego na Rysunku 8 [28].

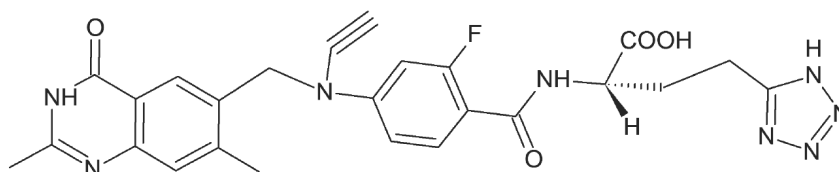


Rysunek 8. Struktura związku wykazującego właściwości antynowotworowe [28]
 Figure 8. The structure of the compound showing anti-cancer properties [28]

Inną koncepcję walki z chorobami nowotworowymi zaproponował Jackman. Opracował on lek o nazwie ZD9331, który jest gamma-tetrazolowym analogiem folianu 2-dezamino-2,7-dimetylo-N10-propargil 2'fluoro-5,8-dideazy (ZM214888). Jego mechanizm działania oparty jest na inhibicji syntazy tymidylanowej (TS), enzymu zaangażowanego w syntezę prekursorów nukleotydów. ZD9331 wykazuje silną aktywność hamującą i cytotoksyczną w stosunku do linii komórkowej W1L2 (ludzkie limfoblasty) wartość IC₅₀ wynosi 7 nM.

Sprawdzono również specyficzność leku do TS. Do podłoża hodowlanego dodano tymidynę, co spowodowało zwiększenie wartości IC₅₀ o ponad 10 000 razy. ZD9331 (Rys. 9) jest transportowany do komórek przede wszystkim przez aktywny transport folianów odbywający się za pośrednictwem przenośników zredukowanych folianów (RFC) lub receptorów folianów (FR), które nie stanowią substratu dla syntazy folipoliglutaminowej. Dlatego też uważany jest za związek konkurencyjny

do metotreksatu (MTX, leku stosowanego w chorobach nowotworowych działającego jako antagonistę kwasu foliowego) w procesie absorpcji do komórki. Badania przeprowadzone na modelu biologicznym TK -/- L5178Y (mysi chłoniak) pozwoliły ustalić minimalną dawkę leczniczą związku, która wynosiła około 3 mg/kg/mc po ciągłym podawaniu przez 24-godziny. W przypadku pojedynczych wstrzyknięć dożylnych (i.v.) wynosiła 25–50 mg/kg/mc. Dodatkowo ZD9331 wykazuje aktywność przeciwnowotworową przeciwko nowotworowi L5178Y TK +/-, gdy jest podawany w sposób ciągły w czasie 7-dniowej terapii. Faza zahamowania wzrostu trwała dłużej niż 5 dni, po podaniu leku w dawce 25–50 mg/kg/dzień. Zastosowanie większych dawek powodowało pojawienie się skutków ubocznych takich jak: utrata wagi (toksyczność żołądkowo-jelitowa) oraz mielodysplazja (neutropenia i trombocytopenia) [29].



Rysunek 9. Struktura leku o nazwie ZD9331 [29]

Figure 9. The structure of the drug called ZD9331 [29]

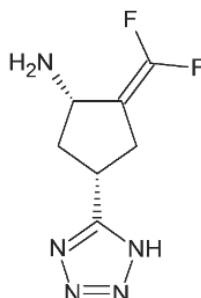
5. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWDRGAWKOWE

Padaczka zwana inaczej epilepsją jest chorobą neurologiczną obejmującą ośrodkowy układ nerwowy (o.u.n.). Schorzenie to charakteryzuje się nadmierną pobudliwością neuronów okolicy ruchowej kory mózgowej i pnia mózgu. Najczęstszymi objawami klinicznymi są: zaburzenia ruchowe, zmysłowe, świadomości, emocjonalne, wegetatywne.

Farmakoterapia epilepsji polega głównie na ograniczeniu oraz kontrolowaniu napadów oraz ich skutków. Działanie leków przeciw-padaczkowych polega między innymi na stabilizacji błony komórkowej neuronów co prowadzi do zatrzymania rozprzestrzeniania się impulsów. Mechanizm ten opiera się na hamowaniu działania prądu sodowego oraz odpowiednim oddziaływaniu na kanały potasowe oraz wapniowe. Drugą strategią jest pobudzenie neuroprzebieżnictwa hamującego przez wpływ na układ gabaergiczny lub też hamowania neuroprzebieżnictwa pobudzającego czego konsekwencją jest blokowanie receptorów aminokwasów pobudzających NMDA (kwas *N*-metylo-*D*-asparaginowy). Działanie leków przywracających równowagę stężenia neuroprzebieżników polega z reguły na zwiększaniu ilości GABA (kwas γ -aminomasłowy) – naturalnej substancji zatrzymującej przewodzenie impulsu lub na wpływie na powinowactwo GABA do receptorów GABA-ergicznych zwiększając efektywność jego działania.

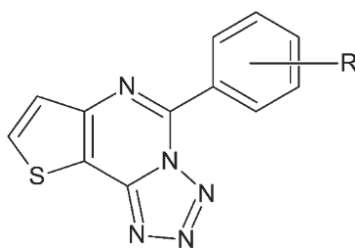
Różnorodność celów molekularnych w leczeniu epilepsji, powoduje, że większość leków działa wielokierunkowo. Jedną z grup o potencjalnych właściwościach przeciwdrgawkowych są pochodne tetrazoli.

W pracy Yuana oraz współpracowników została opisana struktura (Rys. 10), której właściwości zbadano pod kątem inhibicji receptorów GABA-AT (AT- aminotransferazy). Związek wykazał się odpowiednią lipofilowością na poziomie $\text{ClogP} = -0,48$ a wartość Kinakt/KI została przeliczona na $0,28 \text{ min}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$. Otrzymane dane pozwoliły na stwierdzenie, iż badany inhibitor neuroprzebieżnika GABA występuje na niskim poziomie w mózgu. Mechanizm ten poprzez hamowanie działania GABA-AT może prowadzić do zwiększenia stężenia GABA czego konsekwencją jest zapobieżenie powstawaniu drgawek [30].



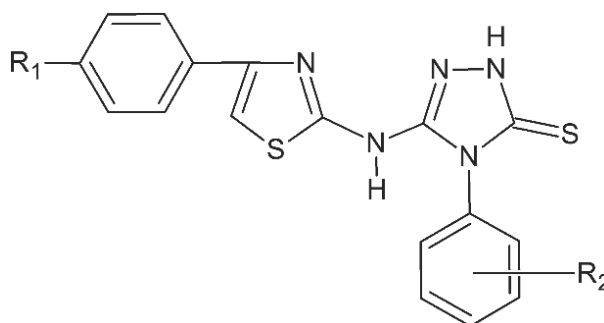
Rysunek 10. Struktura związku opisanego przez Yuana [30]
Figure 10. The structure of the compound described by Yuan [30]

Wang oraz współpracownicy skupili się na charakterystyce grupy pochodnych 5-alkoksytetrazolo-[1,5-c]tieno[2,3-e]pirymidyny w kontekście możliwych właściwości przeciwdrgawkowych. Badania przeprowadzono na szeregu struktur jednak tylko cztery z nich wykazywały umiarkowaną aktywność. Najlepsze właściwości przeciwdrgawkowe posiadały związki przedstawione na Rysunku 11 [31].



Rysunek 11. Struktura pochodnych 5-alkoksytetrazolo-[1,5-c]tieno[2,3-e]pirymidyny (gdzie R = 2-NH₂ lub 4-Br) [31]
Figure 11. Structure of 5-alkoxytetrazolo-[1,5-c] thieno[2,3-e]pyrimidine derivatives (where R = 2-NH₂ or 4-Br) [31]

Siddigui w 2010 roku opublikował dane dotyczące 3-[4-(fenyl)-1,3-tiazol-2-ylamino]-4-(fenyl)-4,5-dihydro-1H-1,2,4,5-tiotriazolu. Struktury zo-stały zaprojektowane tak by łączyć w sobie ugrupowanie tiazolu oraz triazolu, które wchodzi w skład komercyjnych leków przeciwdrgawkowych. Charakterystykę *in vivo* przeprowadzono przy użyciu dwóch modeli napadu padaczkowego: testu MES (ang. *maximal electroshock seizure test*, test maksymalnego elektrowstrząsu) oraz testu drgawek rozniecających wywołanych bodźcem chemicznym jakim był pentylenotetrazol (ang. *scPTZ*, *subcutaneous pentylenetetrazole test*, test podskórnego pentylenotetrazolu). Dwa z omawianych w pracy związków (Rys. 12) wykazały wysoką aktywność przeciwdrgawkową dla obu testów. W przypadku testu MES, wartości ED₅₀ (ang. *Median Effecting Dose*, średnia dawka efektywna) dla wspomnianych związków wyniosła odpowiednio 23,9 mg/kg i 13,4 mg/kg masy ciała. Drugi z testów wykazał wartości na poziomie 178,6 mg/kg i 81,6 mg/kg. Dodatkowo charakteryzowały się szerokim marginesem bezpieczeństwa, który określono korzystając z wskaźnika PI (indeks ochronny), wartości HD₅₀ (ang. *effective dose*, dawka wywołująca pożądany efekt terapeutyczny dla połowy badanej) oraz LD₅₀ (ang. *lethal dose*, dawka powodująca zgon połowy osobników), których wartości były lepsze niż dla standardowych leków [32].

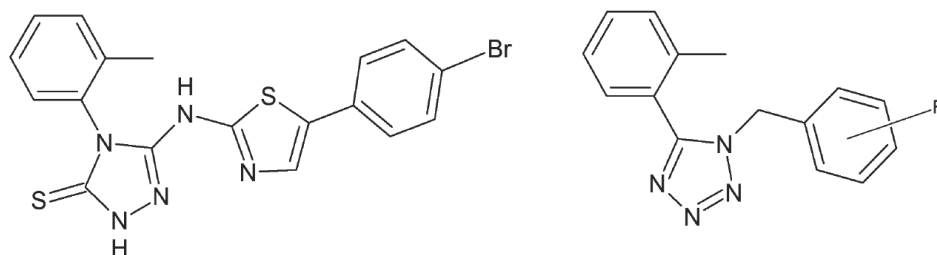


Rysunek 12. Struktury o najwyższej aktywności przeciwdrgawkowej (gdzie dla pierwszego związku R₁ = Cl R₂ = 4-OCH₃, dla drugiego R₁ = Br R₂ = 2-CH₃) [32]

Figure 12. Structures with the highest anticonvulsive activity (where for the first compound R₁ = Cl R₂ = 4-OCH₃, for the second R₁ = Br R₂ = 2-CH₃) [32]

Struktury zaproponowane przez Suddigui'ego oraz ich obiecujące właściwości przeciwdrgawkowe zapoczątkowały rozwój tej grupy związków. W oparciu o wspomniane uprzednio cechy, zauważono korelację między występowaniem grupy orto-metylofenylowej w cząsteczce a aktywnością. Najnowsze badania opublikowane w 2017 roku przez Donga oraz współpracowników [33] opierały się na charakterystyce pochodnych 5-(o-tolilo)-1H-tetrazolu jako środków o potencjalnych właściwościach przeciwdrgawkowych. Struktury projektowanych związków wraz ze związkiem wyjściowym pokazano na Rysunku 13 1-(2-metylobenzyl)-5-(o-tolilo)-1H-tetrazol wykazał aktywność przeciwdrgawkową wobec napadów wywoływanych przez MES. Dodatkowo posiada niższą neurotoksyczność o wartości

ED₅₀ również 12,7 mg/kg, TD₅₀ (ang. *toxic dose*, dawka wywołująca toksycność u połowy osobników) wyższej niż 500 mg/kg po wstrzyknięciu dootrzewnowym myszy oraz wartości indeksu PI powyżej 39,4. Przedstawione wyniki dowodzą, że przeprowadzone modyfikacje w obrębie struktury pozwalają na otrzymanie analogów o jeszcze lepszych właściwościach przeciwdrgawkowych.



Rysunek 13. Struktura wyjściowego związku oraz struktura z uwzględnieniem miejsca modyfikacji 5-(o-tolil)-1H-tetrazolu [33]

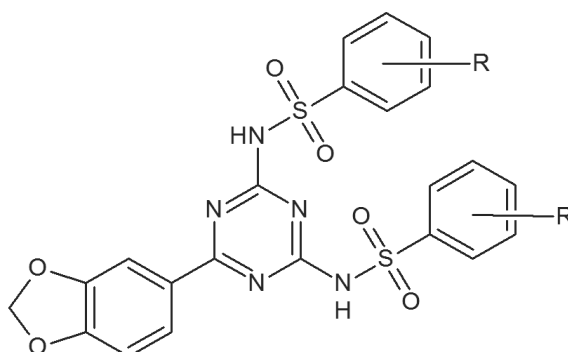
Figure 13. Structure of the starting compound and structure taking into account the site of modification of 5-(o-tolyl)-1H-tetrazole [33]

6. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWPASOŻYTNICZE

Choroby pasożytnicze dotyczą ponad 2 miliardy ludzi na całym świecie i powodują wysoką zachorowalność oraz śmiertelność szczególnie wśród najuboższych. Komercyjnie dostępne leki opierają się głównie na niszczeniu lub hamowaniu wzrostu pasożyta i są skuteczne wobec ograniczonej liczby pasożytów w określonej klasie. Dodatkowym mechanizmem jest blokowanie działania enzymów takich jak fosfofruktokinazy lub fumaryloreduktazy, które są odpowiedzialne za prawidłowy metabolizm węglowodanów. Zaburzenie działania układu oddechowego prowadzi do zahamowania produkcji energii a w konsekwencji do śmierci pasożyta. Leki, które opierają się na tej zasadzie to między innymi: niklosamid, albendazol, pyrinium.

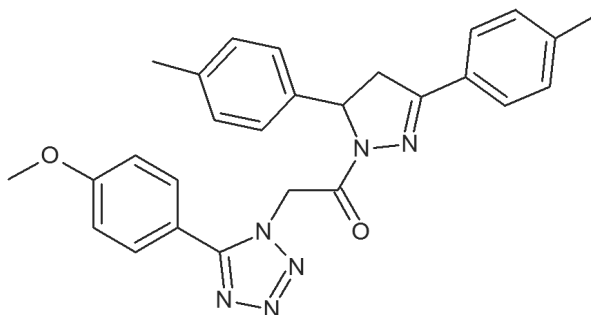
W literaturze można odnaleźć wiele pozycji, które opisują obiecujące właściwości pochodnych tetrazoli w leczeniu chorób pasożytniczych.

Wani oraz współpracownicy skupili się na określeniu aktywności przeciwwąbowej struktur opartych na pierścieniu tetrazolu oraz triazyny sprzężonych z grupą SO₂NH. Najlepsze parametry spośród proponowanych związków posiadają dwa z nich (Rys. 14). Są one obiecującymi inhibitorami kosmopolitycznego, pasożytniczego pełzaka jelita grubego człowieka (*Entamoeba histolytica*). Wartości IC₅₀ (ang. *inhibitory concentration*, stężenie inhibitora hamujące w 50% funkcje biologiczne i biochemiczne organizmów) wynoszą odpowiednio 1,05 μM i 1,02 μM. Cytotoksyczność związków sprawdzono na linii komórkowej HpG2 (ludzka linia komórek nowotworowych wątroby). Wartość IC₅₀ opisująca cytotoksyczność jest dla obu struktur mniejsza niż 100 μM [34].



Rysunek 14. Struktura związków o aktywności przeciw *Entamoeba histolytica* (gdzie R= 4-Cl lub 4-NO₂) [34]
 Figure 14. Structure of compounds with activity against *Entamoeba histolytica* (where R = 4-Cl or 4-NO₂) [34]

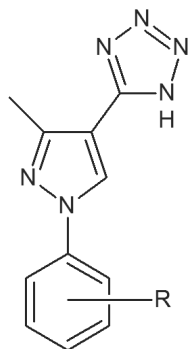
W kolejnej pracy autor scharakteryzował otrzymane pochodne pirazoliny pod kątem zastosowania jako inhibitory wzrostu szczepu *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS. Związek przedstawiony na Rysunku 15 wykazał w stosunku do innych zsyntezowanych struktur najsilniejsze zahamowanie wzrostu pasożyta, IC₅₀ na poziomie 0,86 μM, najniższą cytotoksyczność, IC₅₀ większe niż 100 μM) oraz wysoką wartość wskaźnika bezpieczeństwa wyższą niż 166,28. Otrzymane wyniki są dwukrotnie lepsze od parametrów charakteryzujących szeroko stosowany chemioterapeutyk metronidazol (IC₅₀ większe niż 55,55 μM) [35].



Rysunek 15. Struktura związku o działaniu przeciw *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS [35]
 Figure 15. The structure of the compound against *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS [35]

Pochodne tetrazoli wykazują również aktywność wobec pasożytniczych pierwotniaków należących do rodziny świdorców. Badania przeprowadzone przez Faria dotyczyły pochodnych 5-(1-aryl-3-metyl-1H-pirazol-4-yl)-1H-tetrazolu oraz ich prekursora 1-aryl-3-metyl-1H-pirazol-4-karbonitrylu. Ich działanie przeciw-pasożytnicze sprawdzono wobec dwóch gatunków *Leishmania braziliensis* oraz *Leishmania amazonensis* w formie morfologicznej promastigota. Jako model biologiczny w badaniach cytotoksyczności wykorzystano komórki linii RAW 264.7 (mysie makrofagi krwi). Najlepsze parametry otrzymano dla związków podstawio-

nych chlorofenylem (chlor w pozycji 3) oraz dichlorofenylem (chlor w pozycji 3 i 4) (Rys. 16). Największą skuteczność zaobserwowano wobec gatunku *Leishmania braziliensis*. Wartości IC_{50} omawianych związków oraz leku referencyjnego (pentamidyny) wynoszą odpowiednio ($IC_{50}/24\text{ h} = 15 \pm 0,14\ \mu\text{M}$), ($IC_{50}/24\text{ h} = 26 \pm 0,09\ \mu\text{M}$) oraz pentamidyna $IC_{50} = 13 \pm 0,04\ \mu\text{M}$ [36].



Rysunek 16. Struktura związku o działaniu przeciwko *Leishmania amazonensis* (gdzie R = 3-Cl lub R = 3,4-diC) [36]

Figure 16. The structure of the compound with activity against *Leishmania amazonensis* (where R = 3-Cl or R = 3,4-diC) [36]

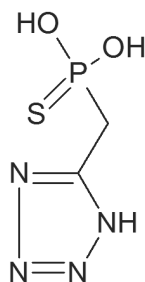
7. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWWIRUSOWE

Większość chorób spowodowanych zakażeniami wirusowymi nie wymaga stosowania szczególnej terapii. Wyjątek stanowią te, które zostały wywołane przez wirusa HIV (ang. *human immunodeficiency virus*, ludzki wirus niedoboru odporności). Komercyjnie dostępne leki przeciwwirusowe są przeważnie stosowane przeciwko trzem grupom wirusów: opryszczki, zapalenia wątroby oraz grypy. Mechanizm działania farmaceutyków przeciw-opryszczkowych polega na zahamowaniu replikacji wirusa, służąc jako substraty konkurencyjne w procesie polimerazy wirusa DNA. Terapia stosowana w leczeniu grypy opiera się na hamowaniu białka M2 kanału jonowego lub enzymu neuraminidazy, który odpowiedzialny jest za rozpad błony komórkowej zarażonej komórki co umożliwia opuszczenie cząstek zakaźnych. Zapalenie wątroby typu C wywołane wirusem HCV (ang. *Hepatitis C Virus*, wirus zapalenia wątroby typu C), leczone jest poprzez połączenie działania interferonu- α oraz rybawiryny. W terapii przewlekłego zapalenia wątroby typu B przeważnie wykorzystany jest interferon lub analogi nukleozydowych/nukleotydo-nych. Walka z wirusem opiera się na hamowaniu replikacji wirusa poprzez konkurencyjne łączenie się z jego polimerazą DNA.

W obecnych czasach rośnie poziom oporności wirusów na klinicznie stosowane leki. Mechanizm ten związany jest głównie z pojawianiem się mutacji w obrębie genu polimerazy DNA wirusa lub w genach odpowiedzialnych za kodowanie

kinazy wirusowej, która jest wymagana do aktywacji pewnych leków np. acyklowiru i gancyklowiru. Szeroka oporność wirusów wymusza poszukiwanie nowych i bardziej skutecznych cząsteczek [37].

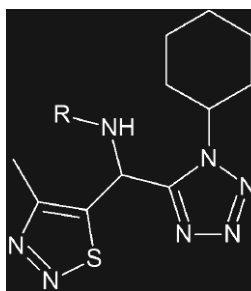
W pracy Hutchinsona oraz Naylora przedstawiono badania dotyczące aktywności przeciwwirusowej kwasów tetrazolofosfonowych i ich analogów. Działanie 5-(fosfonometylo)-1H-tetrazolu oraz szeregu jego pochodnych opisano pod kątem zahamowania polimerazy DNA wirusa opryszczki pospolitej (HHV-1 i HHV-2) oraz aktywności transkryptazy RNA wirusa grypy typu A. Na podstawie otrzymanych wyników postulowano, iż tylko 5-(fosfonometylo)-1H-tetrazol oraz 5-(tiofosfonometylo)-1H-tetrazol (Rys. 17) prowadziły do zahamowania transkryptazy wirusa grypy. Charakteryzowane związki nieznacznie hamowały polimerazę DNA wirusów HHV-1 oraz HHV-2. Niemniej jednak analog tio wykazał większą skuteczność jako inhibitor wspomnianych enzymów [38].



Rysunek 17. Struktura 5-(tiofosfonometylo)-1H-tetrazolu [35]

Figure 17. Structure of 5-(thiophosphonomethyl)-1H-tetrazole [35]

Yeung oraz współpracownicy w swoich badaniach skupili się na poszukiwaniu wśród pochodnych tetrazolowych związków będących inhibitorami przyłączenia wirusa HIV-1. 7-(2H-tetrazol-5-ilo)-1H-indolu (Rys. 18) okazał się silnym inhibitorem przyłączenia HIV-1. Na podstawie badań *in vivo* na szczurach, okazało się niestety, że związek po podaniu doustnym nie jest dostępny biologicznie. Najprawdopodobniej jedną z przyczyn takiego zachowania jest słaba absorpcja spowodowana kwaśnym charakterem ugrupowania tetrazolu [39, 40].



Rysunek 18. Struktura 7-(2H-tetrazol-5-ilo)-1H-indolu [39, 40]

Figure 18. The structure of 7-(2H-tetrazol-5-yl)-1H-indole [39, 40]

Tetrazole posiadają nie tylko medyczne zastosowania, w tym w lekach przeciw-wirusowych. Znane są także jako skuteczne pestycydy. W pracy Wanga oraz współpracowników opisano aktywność tetrazoli posiadających w strukturze pochodne 1,2,3-tiadiazolu (Rys. 19) przeciwko wirusowi TMV (ang. *tobacco mosaic virus*, wirus mozaiki tytoniowej). Badania mikrobiologiczne potwierdziły, że większość z zaproponowanych struktur posiada wymaganą aktywność. Wyniki porównano z komercyjnie stosowaną rybawiryną. Pochodne 1,2,3-tiadizolowe posiadają większą skuteczność niż rybawiryna [41].

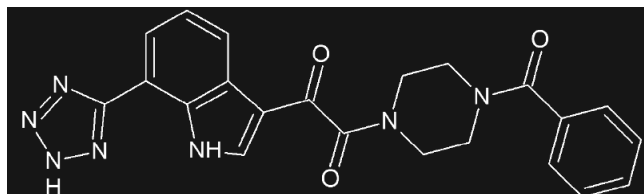
Rysunek 19. Struktura 1,2,3-tiadiazolowej pochodnej wykazującej aktywność przeciwko *tobacco mosaic virus* [41]

Figure 19. Structure of 1,2,3-thiadiazole derivative having activity against tobacco mosaic virus [41]

PODSUMOWANIE

Wiele tetrazoli i ich pochodnych posiada właściwości pozwalające na wykorzystanie ich w różnego typu terapiach między innymi: przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych, przeciw pasożytniczych czy też przeciw-wirusowych. Wybrane związki z ugrupowaniem tetrazolowym wykazują także działanie przeciwbólowe, przeciwzapalne oraz przeciwnowotworowe. Dodatkowo stanowią grupę leków, które pozwoliły ograniczyć śmiertelność spowodowaną przez choroby niegdyś uważane za nieuleczalne. Niniejsza praca stanowi podsumowanie i opis wybranych właściwości biologicznych związków zawierających w swej strukturze pierścień tetrazolowy, wraz z umieszczeniem struktur najważniejszych przedstawicieli.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] E. Popova, R. Trifonov, V. Ostrovskii, *Arkivoc*, 2012, **1**, 45.
- [2] L. Frija, A. Ismael, M. Cristiano, *Molecules*, 2010, **15**, 3757.
- [3] Y. Gong, P. Audebert, J. Tang, F. Miomandre, G. Clavier, S. Badre, *J. Electroanal. Chem.*, 2006, **592**, 147.
- [4] P. Lin, W. Clegg, R. Harrington, R. Henderson, *Dalton Trans.*, 2005, **14**, 2388.
- [5] R. Sivabalan, M. Anniyappan, S. Pawar, M. Talawar, G. Gore, S. Venugopalan, B. Gandhe, *J. Hazard. Mater.*, 2006, **137**, 672.
- [6] R. Herbst, C. Froberger, *J. Org. Chem.*, 1957, **22**, 1050.
- [7] A. Curtis, N. Jenings, *Compr. Heterocycl. Chem. III*, 2008, **5**, 160.
- [8] G. Agelis, A. Resvani, M. Matsoukas, T. Tselios, K. Kelaidonis, D. Kalavrizioti, D. Vlahakos, J. Matsoukas, *Amino Acids*, 2011, **40**, 411-420.
- [9] P. Gaponik, S. Voitekhovich, O. Ivashkevich, *Russ. Chem. Rev.*, 2006, **75**, 507.
- [10] L. Ostrovskii, V. Zubarev, V. Putis, S. Trifonov, R. Popova, E. Pinchuk, *Khimicheskaya Promyshlennost*, 2005, **82**, 605.
- [11] C. Wei, M. Bian, G. Gong, *Molecules*, 2015, **20**, 5528.
- [12] M. Asif, *Pharm. Methods*, 2014, **5**, 1.
- [13] S. Rostom, H. Ashour, H. Razik, A. El Fattah, N. El-Din, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 2410.
- [14] R. Powers, B. Shoichet, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 3222.
- [15] P.-Y. Lee, W.-N. Chang, C.-H. Lu, M.-W. Lin, B.-C. Cheng, C.-C. Chien, C.-J. Chang, H.-W. Chang, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, **51**, 957.
- [16] R. Brown, J. Klar, S. Lemeshow, D. Teres, H. Pastides, M. Sands, *Arch. Intern. Med.*, 1986, **146**, 2159.
- [17] L. Myznikov, A. Hrabalek, G. Koldobskii, *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2007, **43**, 1.
- [18] G. Turan-Zitouni, Z. Kaplancikli, M. Yildiz, P. Chevallet, D. Kaya, *Eur. J. Med. Chem.*, 2005, **40**, 607.
- [19] T. Ichikawa, T. Kitazaki, Y. Matsushita, H. Hosono, M. Yamada, M. Mizuno, K. Itoh, *Chem. Pharm. Bull.*, 2000, **48**, 1947.
- [20] T. Ichikawa, M. Yamada, M. Yamaguchi, T. Kitazaki, Y. Matsushita, K. Higashikawa, K. Itoh, *Chem. Pharm. Bull.*, 2001, **49**, 1110.
- [21] S. Akira, K. Takeda, *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, **4**, 499-511.
- [22] J. Hofmanova, N. Strakova, A. Vaculova, Z. Tylichova, B. Safarikova, B. Skender, A. Kozubik, *Mediat. Inflamm.* 2014, 848632.
- [23] A. Rajasekaran, P. Thampi, *Eur. J. Med. Chem.*, 2004, **39**, 273.
- [24] D. Batt, G. Houghton, J. Roderick, J. Santella, D. Wacker, P. Welch, Y. Orlovsky, E. Wadman, J. Trzaskov, P. Davies, C. Decicco, P. Carter, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 787.
- [25] C. Kumar, D.K. Parida, A. Santhoshi, A.K. Kota, B. Sridhar, V.J. Rao, *Med. Chem. Commun.*, 2011, **2**, 486.
- [26] R. Romagnoli, P. Baraldi, M. Salvador, D. Preti, M. Tabrizi, A. Brancale, X. Fu, J. Li, S. Zhang, E. Hamel, *J. Med. Chem.*, 2011, **55**, 475.
- [27] G. Jedhe, D. Paul, R. Gonnade, M. Santra, E. Hamel, T. Nguyen, G. Sanjayan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, **23**, 4680.
- [28] Z. Kádár, D. Kovács, É. Frank, G. Schneider, J. Huber, I. Zupkó, T. Bartók, J. Wölfling, *Molecules*, 2011, **16**, 4786.
- [29] A. Jackman, R. Kimbell, G. Aherne, L. Brunton, G. Jansen, T. Stephens, M. Smith, J. Wardleworth, F. Boyle, *Clin. Cancer Res.*, 1997, **3**, 911.
- [30] H. Yuan, R. Silverman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 1651-1654.

- [31] S. Wang, X. Deng, Y. Zheng, Y. Yuan, Z. Quan, L. Guan, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **56**, 139.
- [32] N. Siddiqui, S. Arya, W. Ahsan, B. Azad, *Int. J. Drug Dev. & Res.*, 2011, **3**, 55.
- [33] S. Dong, T. Wang, H. Wang, K. Qian, Z. Zhang, Y. Zuo, G. Luo, Y. Jin, Z. Wang, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 2017, doi:10.1002/ardp.201600389.
- [34] M. Wani, A. Bhat, A. Azam, I. Choi, F. Athar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **48**, 313.
- [35] M. Wani, A. Bhat, A. Azam, I. Choi, F. Athar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **54**, 845.
- [36] J. Faria, M. dos Santos, A. Bernardino, K. Becker, G. Machado, R. Rodrigues, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, **23**, 6310.
- [37] R. Raymund, M. Razonable, *Mayo Clin Proc.*, 2011, **86**, 1009.
- [38] D. Hutchinson, M. Naylor, *Nucl. Acids Res.*, 1985, **13**, 8519.
- [39] K. Yeung, Z. Qiu, Z. Yin, A. Trehan, H. Fang, B. Pearce, Z. Yang, L. Zadjura, C. D'Arienzo, K. Riccardi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, **23**, 203.
- [40] K. Yeung, Z. Qiu, Z. Yin, A. Trehan, H. Fang, B. Pearce, Z. Yang, L. Zadjura, C. D'Arienzo, K. Riccardi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, **23**, 209.
- [41] S. Wang, Z. Fang, Z. Fan, D. Wang, Y. Li, X.T. Ji, X. Hua, Y. Huang, T. Kalinina, V. Bakulev, *Chin. Chem. Lett.*, 2013, **24**, 8890.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 marca 2018