

**SYNTEZA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA
POCHODNYCH PIROLO[2,3-*d*]PIRYDAZYNY**
**SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF
PYRROLO[2,3-*d*]PYRIDAZINE DERIVATIVES**

Aleksandra Redzicka¹, Beata Tylińska²

¹ *Katedra i Zakład Chemii Leków Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław*

e-mail: aleksandra.redzicka@umed.wroc.pl

² *Katedra i Zakład Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
ul. Borowska 211a, 50-556 Wrocław*

e-mail: beata.tylinska@umed.wroc.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Syntezy pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny
 - 1.1. Synteza pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny z pochodnych pirolu
 - 1.2. Synteza pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny z pochodnych pirydazyny
 - 1.3. Synteza pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny z innych substratów
2. Aktywność farmakologiczna pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny
 - 2.1. Aktywność przeciwnowotworowa
 - 2.2. Aktywność przeciwwirusowa
 - 2.3. Aktywność przeciwzapalna - inhibitory PDE IV
 - 2.4. Aktywność hamująca wydzielanie soku żołądkowego

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr Aleksandra Redzicka ukończyła Wydział Chemii na Uniwersytecie Wrocławskim. Obecnie jest adiunktem w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Zajmuje się syntezą związków o potencjalnej aktywności przeciwbólowej, przeciwnowotworowej i przeciwbakteryjnej.

Dr inż. Beata Tylińska ukończyła Wydział Chemii na Politechnice Wrocławskiej. Obecnie jest adiunktem w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Stopień doktora nauk farmaceutycznych uzyskała w 2008 roku. Obecnie zajmuje się syntezą nowych pochodnych pirydo[4,3-*b*]karbazolu.

ABSTRACT

Pyrrolo[2,3-*d*]pyridazines are one of the four structural isomers of the bicyclic ring system containing pyrrole moiety condensed with a pyridazine ring. This review presents most of the literature data about synthetic pyrrolo[2,3-*d*]pyridazine derivatives and their biological activity. These 5,6-diazaindole analogues were first synthesized by Fischer et. al. in 1928. Compounds containing the pyrrolo[2,3-*d*]pyridazine scaffold can be synthesized from different substrates, but the syntheses may be classified into two main categories: annulation of pyrrole ring on to pyridazine derivatives or annulation of pyridazine ring on to pyrrole derivatives.

Pyrrolo[2,3-*d*]pyridazine derivatives have attracted considerable interest, owing to diverse biological activities. Most of them have been studied as antitumor and antiviral. Pyrrolo[2,3-*d*]pyridazines can also be used as acid pump antagonist.

Keywords: pyrrolo[2,3-*d*]pyridazine derivatives, biological activity, synthesis

Słowa kluczowe: pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny, aktywność biologiczna, synteza

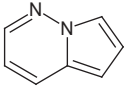
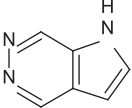
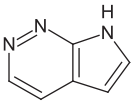
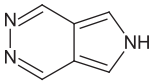
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

PMB	– parametoksybenzyl
TFA	– kwas trifluorooctowy
MsCl	– chlorek mesylu
DMSO	– dimetylosulfotlenek
TBAB	– bromek tetrabutylamoniowy
CAN	– azotan amonowo-cerowy(IV)
Cp	– cyklopentadienyl
HCMV	– ludzki wirus cytomegalii (ang. <i>human cytomegalovirus</i>)
HCV-1	– wirus zapalenia wątroby typu C (ang. <i>hepatitis C virus</i>)
HER-1	– ludzki receptor dla nabłonkowego czynnika wzrostu nazywany jest również; EGRF (ang. <i>human epidermal growth factor receptor 1</i>)
HER-2	– ludzki receptor dla nabłonkowego czynnika wzrostu; nazywany jest również ErbB2 (ang. <i>human epidermal growth factor receptor 2</i>)
HIV	– ludzki wirus niedoboru odporności (ang. <i>human immunodeficiency virus</i>)
HSV-1	– wirus opryszczki pospolitej typu 1 (łac. <i>herpes simplex virus 1</i>)
PDE IV	– fosfodiesteraza IV (ang. <i>phosphodiesterase IV</i>)
PEP	– fosfoenolopirogronian (ang. <i>phosphoenolopyruvate</i>)

WPROWADZENIE

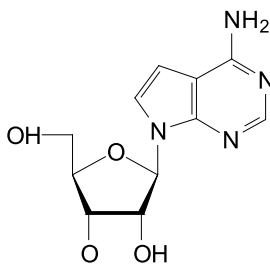
Pirolopirydazyny to skondensowane układy heterocykliczne, składające się z pierścienia pirolu oraz 1,2-diazyny. Mogą one występować w postaci czterech izomerów strukturalnych, których wzory oraz nazwy (zwyczajowe, systematyczne oraz najczęściej stosowane) przedstawiono w Tabeli 1. Tylko w przypadku izomeru [1,2-*b*] pirydazyny układ posiada 2 atomy azotu, z których jeden jest wspólny zarówno dla pierścienia pirolu jak i pirydazyny. Pozostałe izomery mają trzy atomy azotu w układzie. Typ sprzężenia (1,2-*b*, 2,3-*c*, 2,3-*d* oraz 3,4-*d*) w znaczącym stopniu determinuje właściwości biologiczne pochodnych pirolopirydazyny.

Tabela 1. Wzory strukturalne, nazwy zwyczajowe i systematyczne pirolopirydazyn
Table 1. Structural formulas, common and systematic names of pyrrolopyridazines

Nazwa chemiczna najczęściej stosowana	Wzór strukturalny	Nazwa zwyczajowa	Nazwa systematyczna (IUPAC)
Pirol[1,2- <i>b</i>]pirydazyna		5-azaindolizyna	1,2-diazabicyklo[4.3.0]non-2,4,6,8-tetraen
Pirol[2,3- <i>d</i>]pirydazyna		1,5,6-triazainden, 5,6-diazaindol	3,4,9-triazabicyklo[4.3.0]non-1,2,4,7-tetraen
Pirol[2,3- <i>c</i>]pirydazyna		6,7-diazaindol	2,3,9-triazabicyklo[4.3.0]non-1,2,4,7-tetraen
Pirol[3,4- <i>d</i>]pirydazyna		2,5,6-triazainden, 5,6-diazaizoidol	3,4,8-triazabicyklo[4.3.0]non-1,2,4,6-tetraen

Profil aktywności farmakologicznej pirolopirydazyn jest bardzo szeroki. Poprzez wpływ na różnorodne układy enzymatyczne oraz interakcje z receptorami błonowymi związki te działają przeciwnowotworowo [13–21], przeciwwirusowo [13–15, 22] i przeciwzapalnie [16, 17]. Dodatkowo hamują wydzielanie soku żołądkowego [23, 24].

W literaturze najczęściej opisywane są pochodne pirol[2,3-*d*]pirydazyny, z uwagi na ich analogię strukturalną do tubercydyny (Rys. 1) która jest naturalnym antybiotykiem wyizolowanym ze szczepów *Streptomyces*. Wykazuje ona właściwości zarówno przeciwdrobnoustrojowe jak i dodatkowo przeciwnowotworowe [7].



Tubercydyna

Rysunek 1

Figure 1

W poniższym artykule przedstawiona więc będzie synteza i właściwości farmakologiczne pochodnych pirolopirydazyn o tym typie sprzężenia.

1. SYNTEZY UKŁADU PIROLO[2,3-*d*]PIRYDAZYNY

Jako pierwsi pirolo[2,3-*d*]pirydazyny zsyntetyzowali w roku 1928 Fischer i współpracownicy [1]. Wyjściowym substratem była odpowiednia 2,3-dipodstawiona pochodna pirolu. Od tego czasu jeszcze wielu chemików otrzymywało pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny według tej samej strategii [2-6]. Innym materiałem wyjściowym do syntezy tych pochodnych 5,6-diazaindolu były układy zawierające substrat pirydazynowy. Synteza z wykorzystaniem pirydazynowego substratu została po raz pierwszy opisana w literaturze przez Cook and Castle w 1973 roku [7].

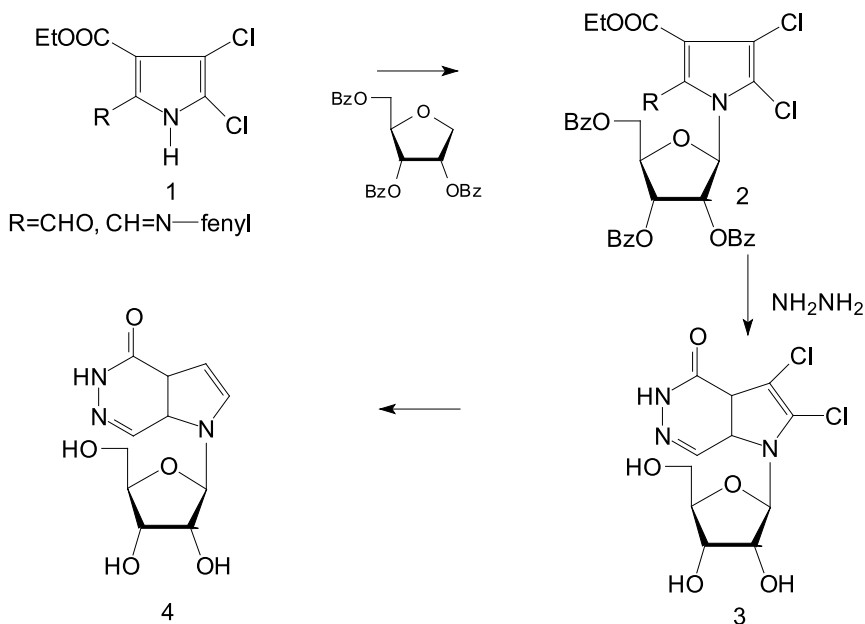
Generalnie w piśmiennictwie naukowym opisywane są dwie drogi otrzymywania pirolo[2,3-*d*]pirydazyn. Różnią się one rodzajem wyjściowego substratu. Związek użyty do syntezy może więc być pochodną pirolu (zostanie do niego dobudowany pierścień pirydazyny) bądź pochodną pirydazyny (dobudowany zostanie wtedy pięcioczłonowy pierścień pirolu). W literaturze zaproponowano również użycie innych substratów. Nowością w otrzymywaniu pirolo[2,3-*d*]pirydazyn jest opracowana przez Zhang i współautorów synteza typu one-pot [12].

1.1. SYNTEZA POCHODNYCH PIROLO[2,3-*d*]PIRYDAZYNY Z POCHODNYCH PIROLU

Jak już wspomniano pierwszą syntezę pirolopirydazyn z użyciem β,β' -pirolu zaproponował Fischer [1]. Od tego czasu zaczęto wykorzystywać ten substrat zmieniając jedynie rodzaje podstawników i sposób cyklizacji docelowego układu [2-5, 13].

Jednym z takich dipodstawionych pochodnych pirolu wykorzystanym do syntezy pirolo[2,3-*d*]pirydazyny jest ester etylowy kwasu 4,5-dichloro-2-formylo-

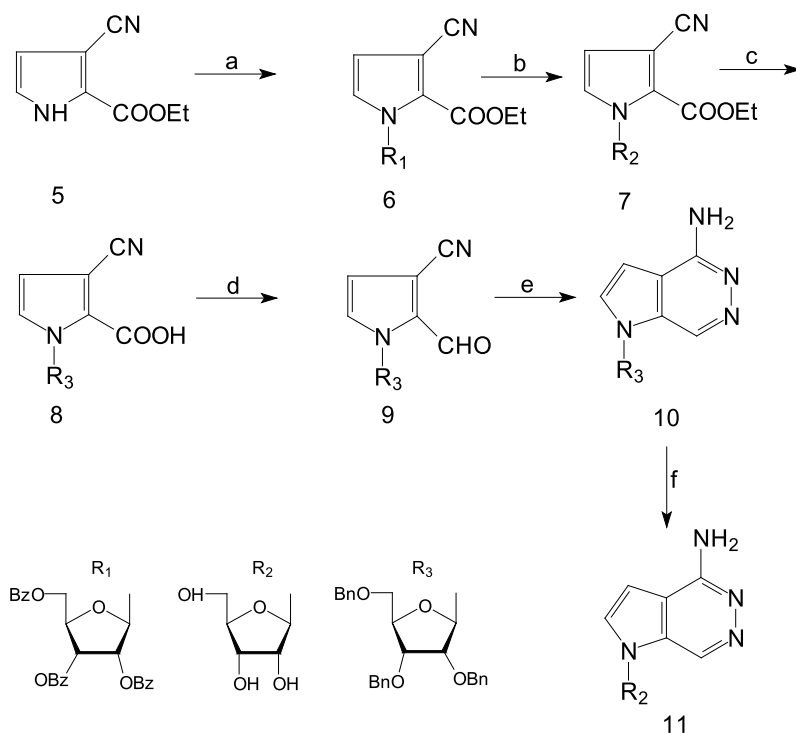
-1*H*-pirolo-3-karboxylowego **1**. Celem autorów było, oprócz dobudowania drugiego pierścienia heterocyklicznego, wprowadzenie do układu reszty cukrowej istotnej w badaniach farmakologicznych. Zaplanowana reakcja przebiegała zgodnie ze Schematem 1.



Schemat 1
Scheme 1

W reakcji soli sodowej wyjściowego związku **1** z 1-bromo-2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozą otrzymano z 50% wydajnością związek **2** (4,5-dichloro-2-formylo-1-(2,3,5-tri-*O*-benzoilo- β -*D*-rybofuranozylo)-1*H*-pirolo-3-karboxylan etylu), który ogrzewano w absolutnym etanolu z bezwodną hydrazyną uzyskując dichloropochodną pirolo[2,3-*d*]pirydazyny **3**. Pochodną **3** przekształcono w docelowy związek **4** przez katalityczną dehalogenację z użyciem palladu na węglu w atmosferze wodoru. Wydajność ostatniego etapu syntezy wynosiła 30–60% [4].

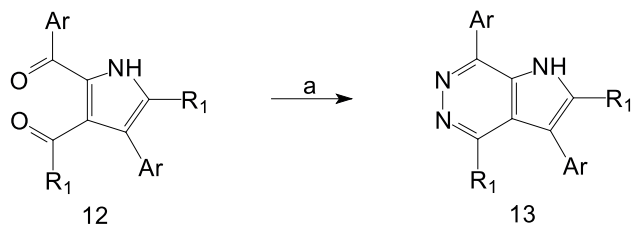
Według podobnej strategii otrzymane zostały pirolo[2,3-*d*]pirydazyny przez Maeda i współautorów [6]. Nie znali oni pracy swoich poprzedników i byli przekonani, że są prekursorami tak prowadzonej syntezy. Substratem wykorzystanym przez nich był 3-cyano-pirolo-2-karboxylan etylu **5**. Reakcja przebiegała zgodnie ze Schematem 2. Istotnym dla syntezy docelowych struktur była redukcja grupy kwasowej **8** do aldehydu **9**. W wyniku reakcji kondensacji związku **9** (autorzy otrzymali tylko β -*D*-diastereoizomer) z dichlorowodorkiem hydrazyny uzyskano pochodną pirolo[2,3-*d*]pirydazyny **10**, którą przekształcono w docelowy związek **11** (wydajność 30%).



a) NaH, R₁Cl, b) NaOEt/EtOH, c) KOH/BnBr, d) (COCl)₂, LiAl[(CH₃)CO]₃H
 e) H₂NNH₂·2HCl, f) BCl₃

Schemat 2
 Scheme 2

Pirol[2,3-*d*]pirydazyny **13** uzyskiwano również w reakcji kondensacji 2,3-dipodstawionej pochodnej pirolu **12** z wodzianem hydrazyny (Schemat 3).



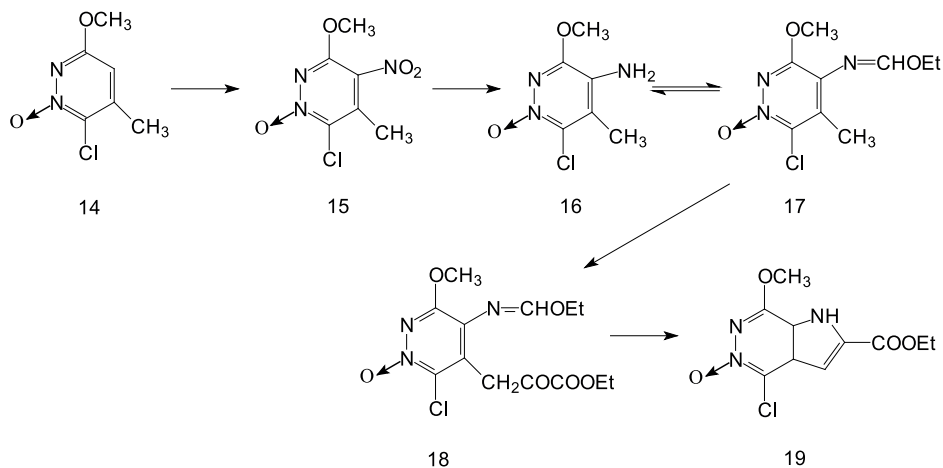
Ar = Ph, tolyl, R₁ = i-Pr
 a) N₂H₄H₂O, EtOH

Schemat 3
 Scheme 3

Reakcja przebiegała w łagodnych warunkach a produkty **13** otrzymano z 70–80% wydajnościami [12].

1.2. SYNTEZA POCHODNYCH PIROLO[2,3-*d*]PIRYDAZYNY Z POCHODNYCH PIRYDAZYNY

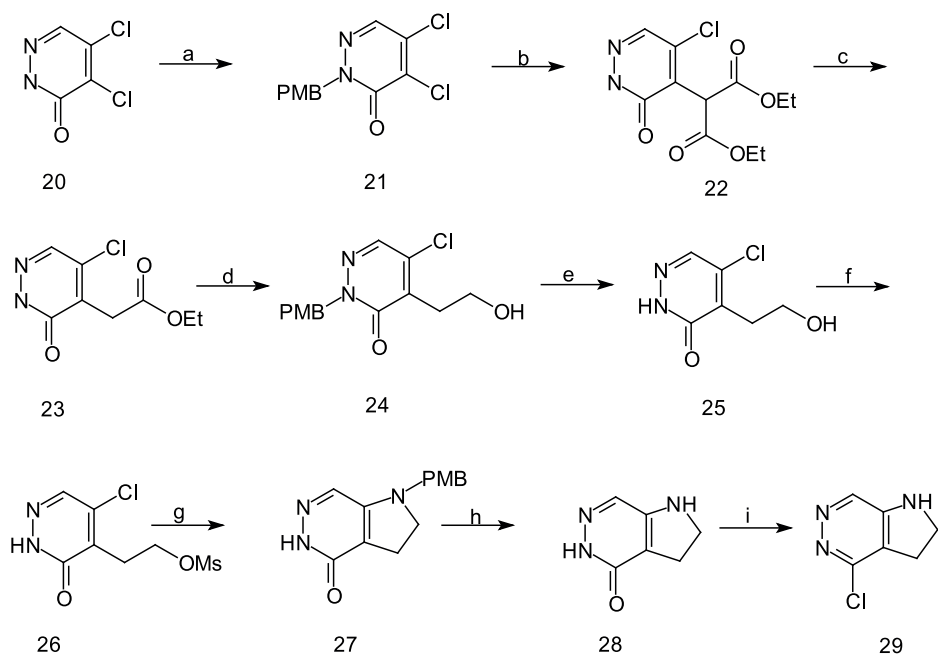
Syntezę pirolo[2,3-*d*]pirydazyny z wykorzystaniem rdzenia pirydazynowego zaproponował po raz pierwszy w 1973 roku Cook and Castle [7]. Zaproponowany przez nich sposób na otrzymanie tego układu przedstawiono na Schemacie 4.



Schemat 4
Scheme 4

Prekursorem użytym do syntezy był 1-tlenek etylo-4-etoksy-metylenoamino-3-metoksy-5-pirydazylopirogrojanu **17**. Związek docelowy **19** otrzymano w wyniku kwasowej hydrolizy a następnie cyklodehydratacji (prowadzonej metodą Reisserta). Wydajność tak prowadzonej syntezy wynosiła 84%

Innym substratem użytym do otrzymania pirolo[2,3-*d*]pirydazyny był 4,5-dichloropirydazyn-3-(2H)-on **20** (Schemat 5).

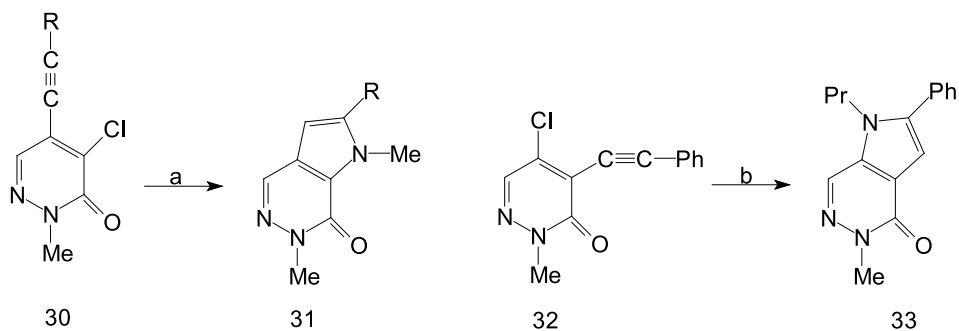


- a) PMBCl, TBAB, KOH, b) malonian dietylu, NaOEt, THF, c) DMSO, H₂O, d) NaBH₄, EtOH, e) CAN, CH₃CN, f) MsCl, Et₃N, g) PMB-NH₂, Et₃N, h) TFA, i) POCl₃

Schemat 5
Scheme 5

Jak wynika ze Schematu 5, po zablokowaniu protonu amidowego, związek **21** poddano reakcji z dietylomalonianem sodu. Następnie po usunięciu ugrupowania etoksykarbonylowego (przez ogrzewanie w DMSO) otrzymano ester **23**, który zredukowano do alkoholu za pomocą borowodoru sodu. Związek **26** otrzymano w reakcji pochodnej **25** z chlorkiem mesyłu, po czym strukturę **26** poddano reakcji cyklizacji otrzymując bicykliczną pochodną **27**. Po usunięciu PMB za pomocą TFA i reakcji z POCl₃ otrzymano docelową chloropochodną pirolo[2,3-*d*]pirydazyny **29** [8].

W 2003 roku R'kyek i współautorzy do syntezy pirolo[2,3-*d*] pirydazyny wykorzystali pochodne 5-alkinylo-4-chloro i 4-alkinylo-5-chloropirydazynonu (Schemat 6).



a) NH_3 , MeOH, MeCN, NaOEt

b) PrNH_2 , EtOH, NaOEt, EtOH

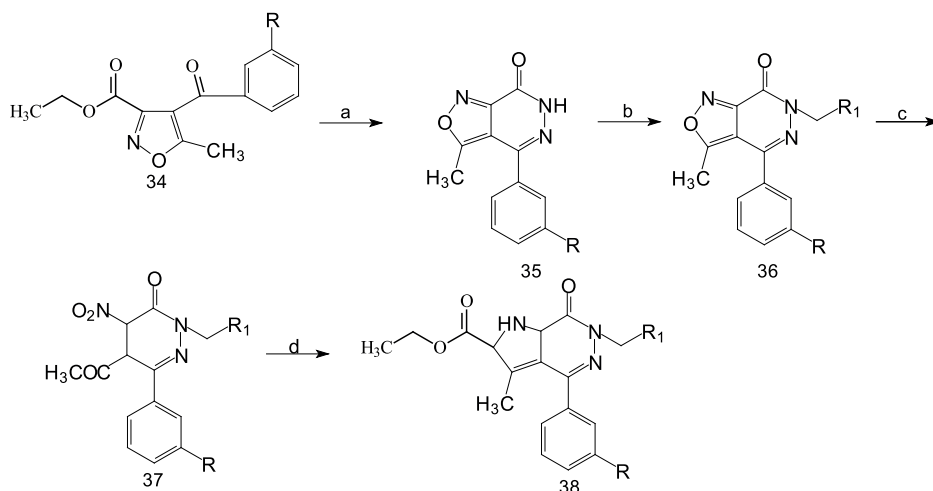
Schemat 6

Scheme 6

Związki **30**, **32** poddano reakcji z różnymi aminami m.in. z amoniakiem, propyloaminą (PrNH_2) w etanolanie sodu. Reakcje przebiegały z dobrymi wydajnościami (50–80%). Autorzy sugerują, znaczącą przydatność obu tych substratów do syntezy finalnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyn. Jednak, jak wynika z eksperymentu, wydajniejszą pochodną jest o-alkanylo-chloropirydazynon **32** [9].

1.3. SYNTEZA POCHODNYCH PIROLO[2,3-*d*]PIRYDAZYNY Z INNYCH SUBSTRATÓW

W roku 1997 Dal Piaz opisał syntezę pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyn. Mimo iż jako wyjściowy substrat użyto pochodnej izoksazolu **34** to kluczowym związkiem był 5-acetylo-2-etylo-4-nitro-6-fenyl-3(2H)-pirydazynon **37**.



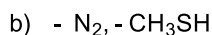
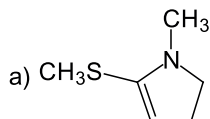
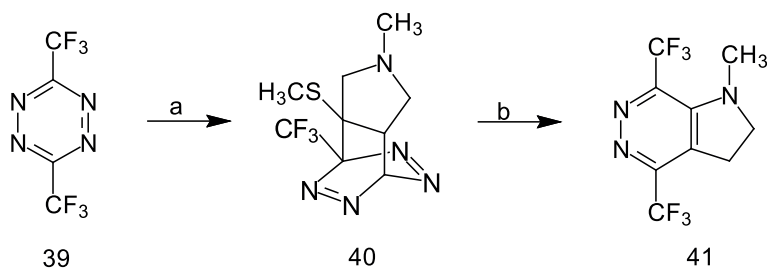
a) NH_2NH_2 b) bromek alkilu c) CAN d) $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$

Schemat 7

Scheme 7

Związek ten poddano reakcji cyklizacji (w temperaturze pokojowej) z estrem etylowym sarkozyny. Następnie dodano etanolanu sodu, bezwodnego etanolu i ogrzewano w temperaturze 50°C przez 30 minut, reakcję zakwaszono 6N HCl otrzymując docelową pochodną pirolo[2,3-*d*]pirydazyny **38** [10].

Do syntezy pirolo[2,3-*d*]pirydazyny (metodą cykloaddycji [4+2]) użyto jako wyjściowego materiału 3,6-bis(trifluorometylo)-1,2,4,5-tetrazyny (Schemat 8).

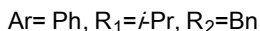
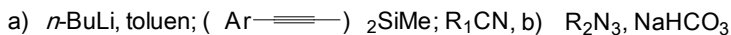
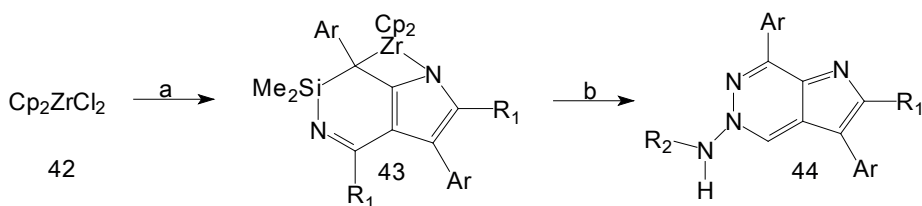


Schemat 8

Scheme 8

Związek **39** w temperaturze pokojowej w bezwodnym dioksanie (w atmosferze azotu) reagował z 1-metylo-2-metylotio-2-pirolidyną. Materiał wyjściowy całkowicie przereagował już po kilku minutach. Utworzony związek przejściowy **40** uległ przegrupowaniu do docelowej piropirydazyny **41**. Wydajność syntezy wynosiła około 51% [11].

Nowością w otrzymywaniu pirolo[2,3-*d*]pirydazyn jest przedstawiona przez Zhanga i współautorów synteza typu one-pot [12].



Schemat 9

Scheme 9

Synteza docelowej pirolo[2,3-*d*]pirydazyny **44** (Schemat 9) przebiegała dwuetapowo. Do cyrkonocenu **42** dodano 2 cząsteczki odpowiedniego nitrylu, jedną cząsteczkę nienasyconej pochodnej posiadającej atom krzemu oraz jednej cząsteczki azydki. Pierwszy etap reakcji prowadzono w atmosferze ciekłego azotu, a następnie (w drugim etapie) przez dwie godziny ogrzewano w temperaturze 50°C dodając po

kolei poszczególne substraty. Utworzył się produkt pośredni **43**, który ostatecznie w wyniku ogrzewania z odpowiednim azydkiem doprowadził do otrzymania pirolo[2,3-*d*]pirydazyny **44**. Docelowe struktury otrzymywano z około 50% wydajnościami [12].

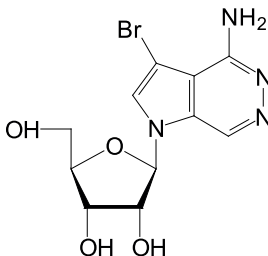
2. AKTYWNOŚĆ FARMAKOLOGICZNA POCHODNYCH PIROLO[2,3-*d*]PIRYDAZYNY

Pirol[2,3-*d*]pirydazyny są związkami aktywnymi farmakologicznie. Najdokładniej przebadane są ich właściwości cytotoksyczne, prowadzące do zahamowania proliferacji komórek. Mechanizm działania przeciwnowotworowego pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny nie został do końca poznany. Niektóre z nich oddziałują na nieśmiertelne komórki poprzez allosteryczną aktywację izoformy kinazy pirogronianowej [21] inne powodują zahamowanie aktywności kinaz tyrozynowych związanych z receptorem Her-2 [18].

Halogenopochodne tubercydyny, które wykazują wysoką cytotoksyczność, charakteryzują się również właściwościami przeciwwirusowymi skierowanymi przeciwko HCMV oraz HCV-1 [13–15]. Pirol[2,3-*d*]pirydazyny są również inhibitorami fosfodiesterazy IV [16, 17]. Hamują także aktywność pompy protonowej, zmniejszając tym samym wydzielanie do światła żołądka jonów wodorowych [23, 24].

2.1. AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWA

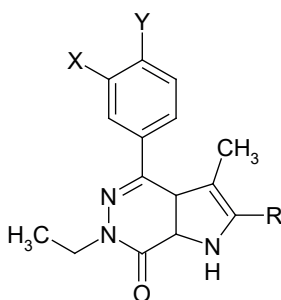
Z uwagi na analogie strukturalną (izomery konstytucyjne) pirolo[2,3-*d*]pirydazyn do tubercydyny (Rys. 1) otrzymano serie pochodnych tego układu posiadających aktywność antyproliferacyjną skierowaną przeciwko liniom komórkowym białaczki (L1210) oraz glejaka złośliwego (H.Ep.2) [13, 14]. Najbardziej aktywną pochodną 3-bromopirolo[2,3-*d*]pirydazyny przedstawiono na Rysunku 2.



Rysunek 2
Figure 2

Związek ten (Rys. 2) charakteryzuje się około 87 razy większą od tubercydyny wartością stężenia zahamowującego w 50% wzrost komórek glejaka złośliwego oraz tylko sześciokrotnie słabszym od 5-bromotubercydyny działaniem hamującym wzrost linii komórkowej L1210. Dodatkowo substancja ta wykazuje nieznaczną aktywność przeciwwirusową skierowaną przeciwko wirusom należącym do rodziny *Herpesviridae* (HCMV i HCV-1) [13, 14]. Autorzy wykazali, że oprócz atomu bromu istotne znaczenie dla działania przeciwnowotworowego pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny ma również grupa aminowa (C4) oraz ryboza (N1) [13–15].

W 2009 r. kolejną próbę syntezy pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny o przewidywanej aktywności chemioterapeutycznej podjął Del Piaz i współpracownicy. Otrzymali oni związki, których budowę przedstawiono wzorem ogólnym pokazanym na Rysunku 3 [16].



R = COOH, COOC₂H₅, COONH₂, CH₂OH

X = H, F

Y = H, F, Cl

Rysunek 3

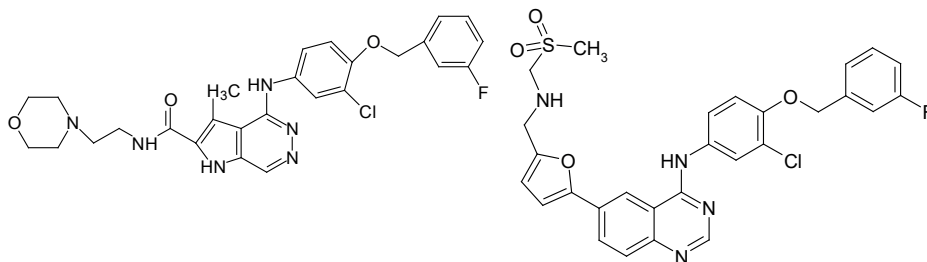
Figure 3

Żadna z otrzymanych pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny, w stężeniu równym 100 μM, nie wykazywała silnych właściwości antyproliferacyjnych, tzn. nie powodowała znaczącego zahamowania wzrostu wszystkich linii komórkowych ludzkich nowotworów. Bardzo słabą aktywność posiadał jedynie ester etylowy kwasu 6-etylo-2-fenilo-3-metylo-7-oksopirolo[2,3-*d*]pirydazyn-2-karboksylowego, który redukował do 54% wzrost komórek raka piersi (linia MCF7) [16].

W tym samym roku Tang Peng Cho wraz z współpracownikami zsyntetyzowali pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny, które mają zdolność hamowania aktywności kinaz tyrozynowych związanych z receptorem HER-2. Inhibitory kinaz tyrozynowych (gefitinib, erlotinib, lapatinib) znajdują zastosowanie w leczeniu onkologicznym, gdyż zwiększona ekspresja EGRF (HER-1) oraz ErbB2 (HER-2) może prowadzić do rozwoju nowotworów wywodzących się z komórek nabłonkowych (rak prostaty, piersi, okrężnicy, żołądka, niedrobnokomórkowy rak płuc) [18].

Z pośród zsyntetyzowanych pochodnych pirolo[2,3-*d*]pirydazyny największy potencjał przeciwnowotworowy wykazywała substancja pokazana na Rysunku 4,

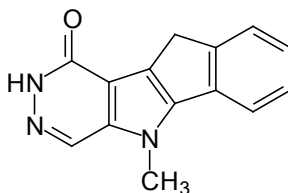
która charakteryzowała się podobną do lepatinibu wartością IC_{50} i wykazywała ponad 100-krotnie większą selektywność w odniesieniu do transferazy związanej z HER-1 [18].



Lepatinib

Rysunek 4
Figure 4

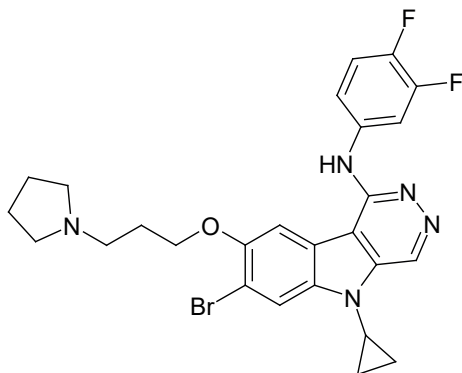
Aktywność nowotworową posiadają również wielopierścieniowe układy posiadające w swej strukturze pirolo[2,3-*d*]pirydazynę. W 2002 roku Murineddu i współpracownicy zsyntetyzowali 1-metylo-2-fenilo-4-oksopirolo[2,3-*d*]pirydazynę, która pozbawiona była działania antyproliferacyjnego. Jednakże modyfikacja strukturalna polegająca na skondensowaniu pirolopirydazyny z indenem, doprowadziła do otrzymania czteropierścieniowego związku 5 (Rys. 5), który wykazywał satysfakcjonującą aktywność oraz szerokie spektrum działania przeciwnowotworowego – substancja ta była najaktywniejsza w stosunku do linii komórkowych nowotworu nerki, okrężnicy oraz białaczki [19].



Rysunek 5
Figure 5

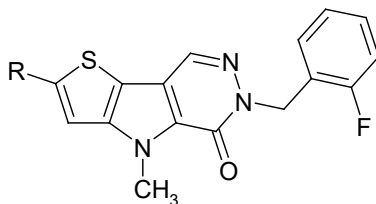
Aktywność cytotoksyczną wielopierścieniowych analogów pirolo[2,3-*d*]pirydazyny potwierdził również Rong Dong Li i współpracownicy, syntetyzując trójcykliczne pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny, których modyfikacja strukturalna polegała na skondensowaniu pirolo z pierścieniem fenylowym. Wśród otrzymanych przez Ronga Donga Li związków najsilniejszymi własnościami antyproliferacyjnymi skierowanymi przeciwko liniom komórkowym Bel-7402 (nowotwór wątroby) oraz HT-1080 (włókniakomięsak) charakteryzowała się substancja przedstawiona na Rysunku 6. Co istotne, działała ona około 7 razy silniej od gefetinibu, który jest

zarejestrowanym lekiem, stosowanym w chemioterapii niedrobnokomórkowego raka płuc [20].



Rysunek 6
Figure 6

Z kolei zsyntetyzowane w 2010 r. przez Jinga i współpracowników, oligocykliczne, skondensowane analogi pirolo[2,3-*d*]pirydazyny, przedstawione wzorem ogólnym na Rysunku 7, hamują wzrost komórek nowotworowych w wyniku nasilenia powinowactwa izoformy M2 kinazy pirogronanowej do fosfoenolpirogronianu [21].



R = Me, COMe, NO₂, CHO

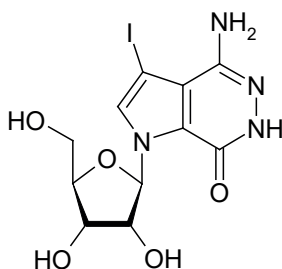
Rysunek 7
Figure 7

Pochodne tieno[2,3-*b*]pirolo[3,2-*b*]pirydazynonu (Rys. 7) powodują allosteryczną aktywację kinazy pirogronanowej, przez co zapobiegają akumulacji intermediatów glikolizy, w konsekwencji hamując proces proliferacji komórek nowotworowych. Spośród zsyntetyzowanych przez Jinga i współpracowników związków najsilniejszy potencjał chemioterapeutyczny wykazuje substancja z podstawnikiem metylokarboksylowym [21].

2.2. AKTYWNOŚĆ PRZECIWWIRUSOWA

Kolejnym profilem aktywności farmakologicznej pirolo[2,3-*d*]pirydazyn jest ich aktywność przeciwwirusowa, która skierowana jest przeciwko wirusom z rodziny *Herpesviridae* [13,14] oraz wirusowi HIV-1 [22].

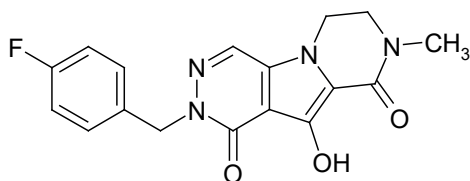
Zsyntetyzowane przez amerykańskich naukowców (Meade, Wotring, Drach, Townsed) halogenowe pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny zawierające karbonylowy atom tlenu w pozycji C7 charakteryzują się nie tylko aktywnością przeciwnowotworową, ale również przeciwwirusową. Związki te wykazują silniejszy efekt przeciwwirusowy w stosunku do HSV-1 oraz HCMV, niż ganciclovirum, który jest jednym ze standardowych leków stosowanych w zakażeniach wywołanych przez wirusy z rodziny *Herpesviridae* [14].



Rysunek 8
Figure 8

Jednakże związek ten (Rys. 8) i jego pochodne oddziałują nieselektywnie, zarówno na zainfekowane wirusem HSV-1, jak i zdrowe komórki [14].

W 2008 roku Wiscount i współpracownicy otrzymali trójcykliczne pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny wykazujące aktywność przeciwwirusową [22].

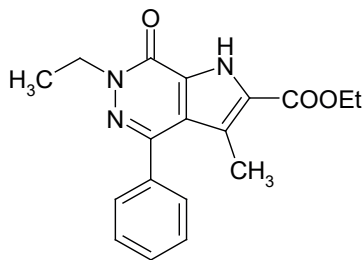


Rysunek 9
Figure 9

Zsyntetyzowane związki są inhibitorami integrazy HIV-1, enzymu umożliwiającego kowalencyjne przyłączenie genomu wirusa do DNA komórki gospodarza, co jest warunkiem koniecznym do przebiegu replikacji. Związki te mogą hamować aktywność enzymu nawet u wirusów zmutowanych, opornych na leki pierwszej generacji (np. reltegravir). Najbardziej aktywną strukturę przedstawiono na Rysunku 9 [22].

2.3. AKTYWNOŚĆ PRZECIWPALNA – INHIBITORY PDE IV

Zsyntetyzowany przez włoskich naukowców (V. Del Piaż i współpracownicy) związek (Rys. 10) jest najdokładniej przebadaną pochodną pirolo[2,3-*d*]pirydazyny, należąca do grupy inhibitorów fosfodiesterazy IV. Zahamowanie PDE IV umożliwia ograniczenie stanu zapalnego oraz rozszerzanie mięśni gładkich oskrzeli [16, 17].



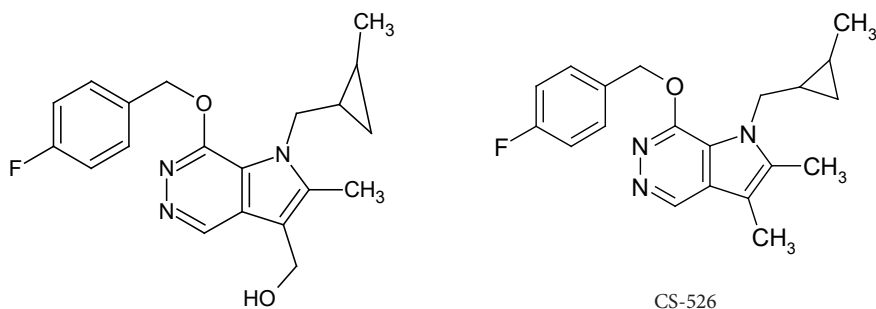
Rysunek 10

Figure 10

Związek ten jest inhibitorem PDE IV o sile działa zbliżonej do leku referencyjnego – rolipramu, satysfakcjonującej selektywności względem fosfodiesterazy typu IV i stosunkowo niskim powinowactwie do miejsca wiązania dla rolipramu (HARBS), z którym połączenie odpowiada za efekty uboczne występujące po zastosowaniu rolipramu [16]. Dodatkowo, w badaniach farmakologicznych, związek ten wykazywał zbliżony do indometacyny efekt przeciwzapalny [16].

2.4. AKTYWNOŚĆ HAMUJĄCA WYDZIELANIE SOKU ŻOŁĄDKOWEGO

Z przeglądu literaturowego wynika iż, pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny (Rys. 11) mają zdolność zmniejszania sekrecji kwasu solnego, w wyniku odwracalnego zahamowania aktywności pompy K^+/H^+ , czego efektem jest spadek wydzielania jonów wodorowych do światła przewodu pokarmowego [23, 24].



Rysunek 11
Figure 11

Ponadto związki te wykazują działanie mukoprotekcyjne [8], przez co nie tylko zapobiegają uszkodzeniu błony śluzowej żołądka przez indometacynę, ale również chronią ją przed działaniem amoniaku, który tworzy się pod wpływem ureazy, enzymu produkowanego przez *Helicobacter pylori* [24]. Dodatkowo hamują wzrost bakterii *H. pylori*, którego obecność w przewodzie pokarmowym może prowadzić do rozwoju choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy. Z badań przeprowadzonych przez Ito i jego współpracowników wynika, iż substancja CS-526 jest znacznie silniejszym inhibitorem pompy protonowej aniżeli zastosowany lek referencyjny – *Rabeprazolom natricum* [24].

PODSUMOWANIE

Z kilkudziesięciu przedstawionych w piśmiennictwie metod syntez układ pirolo[2,3-*d*]pirydazyny częściej otrzymywano z odpowiednio podstawionych pochodnych pirydyny dobudowując do nich pierścień pirolu. Jak dotąd związki będące pochodnymi tego układu nie zostały wprowadzone do leczenia. Jednakże wiele z nich ze względu na swoją aktywność stało się przedmiotem zgłoszeń patentowych [25–33]. Szczególnie interesujące są pirolo[2,3-*d*]pirydazyny dla których przeprowadzono szerokie badania farmakologiczne w kierunku hamowania pompy protonowej (związek CS-526) [24, 34]. Poza aktywnością hamującą wydzielanie soku żołądkowego, którego nadsekrecja prowadzi do wrzodów żołądka i dwunastnicy, pochodne pirolo[2,3-*d*]pirydazyny wykazują m.in. aktywność przeciwnowotworową, przeciwwirusową i przeciwzapalną.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] H. Fischer, E. Sturm, H. Friedrich, *Ann. Chem.*, 1928, **461**, 244.
- [2] R.N. Castle, M. Tisler, B. Stanovnik, *Chemistry of Heterocyclic Compounds Condensed Pyridazines Including Cinnolines and Phthalazines*, Wiley J. and Sons, 1973, **27**, 766.
- [3] J. Marquet, E. Bisagni, A. Luisfert, *J. Chim. Ther.*, 1968, **3**, 348.
- [4] R. Jones, *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, **78**, 159.
- [5] N. Girgis, R. Robins, *J. Heterocyclic Chem.*, 1990, **27**, 1989.
- [6] E. Meade, L. Townsend, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1991, **1**, 111.
- [7] D. Cook, R. Castle, *J. Heterocycl. Chem.*, 1973, **10**, 551.
- [8] E. Piatnitski, T. Khan, R. Mamidala, J. Anderson, R. Tangirala, A. Gilbert, *Tetrahedron Lett.*, 2012, **53**, 377.
- [9] O. R'kyek, B. Maes, G. Lemiere, R. Dommissie, *Heterocycles*, 2003, **11**, 2471.
- [10] V. Dal Piaz, M.P. Giovannoni, C. Castellana, J.M. Palacios, J. Beleta, T. Domenech, V. Segarra, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 1417.
- [11] N. Haider, K. Mereiter, R. Wanko, *Heterocycles*, 1994, **38**, 1845.
- [12] S. Zhang, J. Zhao, W.-X. Zhang, X. Zhenfeng, *Org. Lett.*, 2011, **13**, 1626.
- [13] E. Meade, L. Wotring, J. Drach, L. Townsend, *J. Med. Chem.*, 1992, **35**, 526.
- [14] E. Meade, L. Wotring, J. Drach, L. Townsend, *J. Med. Chem.*, 1993, **36**, 3834.
- [15] E. Meade, L. Wotring, J. Drach, L. Townsend, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 749.
- [16] V. Dal Piaz, C. Vereggelli, M. Giovannoni, C. Biancalani, A. Cilibrizi, A. Graziano, N. Cesari, *Acta Chim. Slov.*, 2009, **56**, 571.
- [17] V. Dal Piaz, M. P. Giovannoni, C. Castellana, J. M. Palacios, J. Beleta, T. Domenech, V. Segarra, *Eur. J. Med. Chem.*, 1998, **33**, 789.
- [18] P.C.Tang, J. Feng, L. Huang, Z. Xu, L. Cheng, X. Zhang, L. Zhang, B. Hu, *Bioorg Med Chem Lett.*, 2009, **19**, 6437.
- [19] G. Murineddu, G. Cignarella, G. Loriga, G. Pinna, *Chem. Pharm. Bull.*, 2002, **50**, 754.
- [20] R.D. Li, X. Zhao, S. Yu, P. Gong, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 2007, **340**, 426.
- [21] J. Jiang, M. Boxer, M. Vander, M. Shen, A. Skoumbourdis, N. Southall, H. Veith, W. Leister, Ch. Austin, H. Won Park, J. Inglese, L. Cantle, D. Auld, C. Thomas, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 3387.
- [22] C. Wiscount, P. Wiliams, L. Tran, M. Embrey, T. Fisher, V. Sherman, C. Homnick, D. Staas, T. Lyle, J. Wai, J. Vacca, Z. Wang, P. Felock, K. Stillmock, M. Witmer, M. Miller, D. Hazuda, A. Day, L. Gabryelski, L. Ecto, W. Schleif, D. DiStefano, Ch. Kochansky, M. Anari, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 4581.
- [23] H. Iwabuchi, M. Hagihara, N. Shibakawa, K. Matsunobu, H. Fujiwara, Zgłoszenie patentowe US 2004/0014762A1, 2004 patent.
- [24] K. Ito, K Kinoshita, A. Tomizawa, F. Inaba, Y. Morikawa-Inomata, M. Makino, K. Tabata, N. Shibakawa, *J. Pharm. Exp. Ther.*, 2007, **323**, 308.
- [25] T. Aono, S. Murai, F. Itoh, M. Yamaoka, M. Nakao, *Eur. Pat. Appl.* 1996 EP 733633.
- [26] K. Ito, M. Hagihara, N. Shibakawa, M. Shimizu, *PCT Int. Appl. WO 2004058768*, 2004, 33.
- [27] M. Hagihara, N. Shibakawa, K. Matsunobu, H. Fujiwara, K. Ito, *PCT Int. Appl. WO 2000077003*, 2000, 42.
- [28] B. Deng, J. Feng, L. Zhang, *PCT Int. Appl. WO 2007082470*, 2007, 124.
- [29] H. Iwabuchi, M. Hagihara, N. Shibakawa, K. Matsunobu, H. Fujiwara, *PCT Int. Appl. WO 2001058901 A1*, 2001, 84.

