

**NAJNOWSZE KIERUNKI POSZUKIWAŃ
CZĄSTECZEK O AKTYWNOŚCI
PRZECIWPRAŃKOWEJ**

**RECENT RESEARCH OF COMPOUNDS WITH
ANTITUBERCULAR ACTIVITY**

Paulina Płoszaj¹, Agnieszka Piwowar², Stanisław Ryng¹

¹ *Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich
ul. Borowska 211 A, 50-556 Wrocław*

² *Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich
ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław
e-mail: paulina.ploszaj@umed.wroc.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Cząsteczki w fazie badań klinicznych
 - 1.1. Cząsteczki w IV fazie badań klinicznych
 - 1.2. Cząsteczki w III fazie badań klinicznych
 - 1.3. Cząsteczki w II fazie badań klinicznych
2. Wybrane cząsteczki w fazie badań podstawowych
 - 2.1. Analogi izoniazydu
 - 2.2. Pochodne tienylo-pirymidyny
 - 2.3. Pochodne imidazo-tiadiazolo-benzimidazolu
 - 2.4. Pirymidynowe pochodne benzokumaryn

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mgr inż. Paulina Płoszaj jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Od 2009 roku jest asystentem w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. W pracy badawczej zajmuje się syntezą i oznaczaniem aktywności biologicznej pochodnych hydrazynu kwasu 5-amino-3-metylo-izoksazolo-4-karboksylowego.



Dr hab. Agnieszka Piwowar, prof. nadzw. jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu. Pracę naukową i dydaktyczną rozwijała w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej, a obecnie jest zatrudniona na stanowisku prof. nadzw. w Katedrze i Zakładzie Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Kierunki zainteresowań naukowych dotyczą badania mechanizmów i poszukiwania nowych markerów w diagnozowaniu, monitorowaniu przebiegu i ocenie skuteczności terapii wybranych chorób cywilizacyjnych (cukrzyca, zespół metaboliczny, choroby sercowo-naczyniowe, niepłodność męska, choroby autoimmunologiczne, nowotwory) oraz oceny aktywności biologicznej nowych związków (jak pochodne hydrazynu kwasu 5-amino-3-metylo-izoksazolo-4-karboksylowego) i badania ich mechanizmów (w tym cytotoksycznego, wolnorodnikowego) i działania (m.in. antibakteryjnego i przeciwzapalnego) oraz możliwości wykorzystania tych związków w terapii chorób i zakażeń bakteryjnych.



Prof. dr hab. Stanisław Ryng jest absolwentem Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu. Pracę naukową w ostatnich 27 latach związał z Uniwersytetem Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Publikuje, patentuje i recenzuje z afiliacją Tej Uczelni. Kierunki prac naukowych obejmują obszary: syntezy, aktywności biologicznych i zależności pomiędzy strukturą i aktywnością biologiczną w zakresach terapeutycznych immunosupresyjnych, immunostymulujących oraz immunomodulujących, a także przeciwnowotworowych i przeciwzapalnych.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) remains a leading cause of morbidity and mortality in developing countries [1]. With the discovery of chemotherapeutic agents in the 1940s and implementation of directly-observed therapy short course (DOTS) in the 1980s, it was believed that TB would decline globally. Although a declining trend was observed in most developed countries, this was not evident in other parts of the world [2]. In addition, the rate of successful treatment has been compromised in recent years due to the increasing prevalence of multidrug-resistant (MDR-) and extensively drug-resistant TB (XDR-TB) strains [3].

Accordingly, significant efforts have been made to discover and develop new treatment modalities against TB. This article serves as a summary of the most recent developments in search for novel anti-tubercular compounds. Here we focus on reviewing the results of basic research and clinical trials obtained in 2015 including: a) the phase IV clinical trials conducted for newly developed: bedaquiline, delamanid, clofazimine (previously registered for treatment of leprosis) b) phase III for fixed-dose combination of existing drugs: pretomanid – moxifloxacin – pyrazinamide) and c) the phase II clinical trials for sutezolid, AZD5847 and SQ109 [4]. All newly developed compounds used in these studies have been briefly characterized and their synthesis pathways fully described. In addition we review the most recent and promising results on nicotinic acid hydrazides, thienyl-pyrimidines imidazole-thiadiazole-benzimidazole and benzocoumarine derivatives presenting their synthesis pathways, most active chemical structures and their potential applications. Throughout this paper the ultimate direction for new drug development strategies, in search for the anti-tubercular agents, have been reviewed.

Keywords: tuberculosis, anti-tubercular compounds

Słowa kluczowe: gruźlica, związki przeciwpłaatkowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

TB	– gruźlica (ang. <i>Tuberculosis</i>)
MTB	– <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MDR-TB	– gruźlica wielolekooporna na leki I-go rzutu (ang. <i>multidrug resistant tuberculosis</i>)
XDR-TB	– gruźlica wielolekooporna na leki I-go i II-go rzutu (ang. <i>extensively drug resistant tuberculosis</i>)
HIV	– ludzki wirus niedoboru odporności (ang. <i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
INH	– izoniazyd
EMB	– etambutol
MIC	– minimalne stężenie hamujące (ang. <i>minimal inhibitory concentration</i>)
DMF	– dimetyloformamid
TEA	– trietanolamina
LDA	– diizopropylamidek litu (ang. <i>lithium diisopropylamide</i>)
THF	– tetrahydrofuran (ang. <i>tetrahydrofuran</i>)
DBU	– 1,8-diazabicyklo(5.4.0)undek-7-en
MsCl	– chlorek kwasu metanosulfonowego (ang. <i>methanesulfonyl chloride</i>)
BINAP	– 2,2'-bis(difenylofosfino)-1,1'-binaftalen (ang. <i>2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthalene</i>)
DCM	– dichlorometan (ang. <i>dichloromethane</i>)
ACE-CI	– chloromrówczan chloroetylu (ang. <i>1-chloroethyl chloroformate</i>)
DIAD	– ester diizopropylowy kwasu azodikarboksylowego (ang. <i>diisopropyl azodicarboxylate</i>)
Me	– metyl (ang. <i>methyl</i>)
Et	– etyl (ang. <i>ethyl</i>)
Bu	– butyl (ang. <i>buthyl</i>)
Ph	– fenyl (ang. <i>phenyl</i>)
KatG	– katalaza-peroksydaza (ang. <i>catalase-peroxidase</i>)
NAT	– <i>N</i> -acetylotransferaza

WPROWADZENIE

Gruźlica jest chorobą zakaźną wywołowaną przez prątki *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Ta kwasoodporna bakteria należy do tlenowców. Głównym składnikiem ściany komórkowej prątków są związki lipidowe. Ponad 60% masy ściany komórkowej stanowią lipidy, które nie są spotykane u innych grup mikroorganizmów. Skład ten determinuje właściwości prątków gruźlicy (słabe barwienie metodą Gramma, długi czas wzrostu, oporność na czynniki środowiskowe i leczenie) [5].

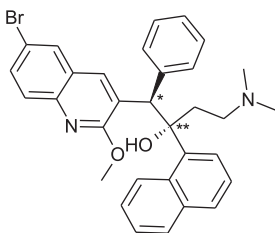
Gruźlica jest drugą przyczyną zgonów na świecie, spowodowaną przez jeden patogen. W 2013 roku około 1,5 miliona ludzi zmarło z powodu gruźlicy, a 9 milionów zostało zakażonych [1]. Statystycznie u 1 na 10 zarażonych *Mycobacterium tuberculosis* rozwinie się gruźlica. Dodatkowo osoby znacznie bardziej narażone na zachorowanie to: zarażeni wirusem HIV (ang. *Human Immunodeficiency Virus*), cukrzycy, palacze tytoniu oraz osoby niedożywione [6]. Gruźlica jest chorobą uleczalną, w której od lat stosuje się leki standardowe. Do leków I-rzutu należą: izoniazyd (INH), ryfampicyna, pirazynamid, etambutol (EMB) i streptomycyna. W przypadku rozwinięcia lekooporności, do leczenia włączane są leki II-rzutu: etionamid, cykloseryna, kapreomycyna, kwas paraaminosalicylowy, amikacyna, kanamycyna, fluorochinolony, klarytromycyna i inne [7]. To właśnie narastający problem lekooporności szczepów *Mycobacterium tuberculosis* jest głównym powodem poszukiwań nowych sposobów terapii. Znanym problemem jest gruźlica wielolekooporna (ang. *multidrug resistant tuberculosis*, MDR-TB) definiowana, jako oporność na co najmniej dwa leki stosowane w terapii podstawowej (np. izoniazyd i ryfampicynę) [8]. W ostatnich latach istotnym problemem terapeutycznym jest również gruźlica z opornością wielolekową o rozszerzonej oporności prątków (ang. *extensively drug resistant tuberculosis*, XDR-TB) na izoniazyd, ryfampicynę, chinoliny oraz aminoglikozydy lub kapreomycynę [9]. Fakt, że w ostatnich 40 latach nie wprowadzono do lecznictwa nowego, w pełni skutecznego i bezpiecznego leku przeciwko gruźlicy oraz narastająca oporność szczepów, potwierdza jak złożony jest to problem [10].

1. CZĄSTECZKI W FAZIE BADAŃ KLINICZNYCH

W chwili obecnej prowadzone są badania nad siedmioma cząsteczkami (stan na styczeń 2016). Trzy z nich znajdują się w IV fazie badań klinicznych (bedakwilina, delamanid, klofazymina). W fazie III bedakwilina i delamanid są badane w połączeniu z zoptymalizowaną terapią podstawową (ang. *Optimized Background Regimen*); testuje się również połączone dawkowanie pretomanidu z moksyflokscyną i pirazynamidem. W fazie II badane są obecnie trzy cząsteczki (sutezolid, AZD5847 oraz SQ109) [4].

1.1. CZĄSTECZKI W IV FAZIE BADAŃ KLINICZNYCH

Bedakwilina, diarylowa pochodna chinoliny, przedstawiona na Rysunku 1, aktywnie hamuje syntezę mykobakteryjnej syntetazy ATP i układ pompy protonowej. W badaniach *in vitro* potwierdzono jej ni zwykle wysoką skuteczność (minimalne stężenie hamujące (MIC) na poziomie 0,06 µg/ml) [11]. W badaniach klinicznych, potwierdzono skuteczność bedakwiliny wobec prątków wielolekoopornych [12]. Cząsteczka została wprowadzona do leczenia w Europie w 2013, a w Polsce rok później. Jednakże biorąc pod uwagę skutki uboczne, takie jak zwiększona śmiertelność, wzrost aktywności enzymów wątrobowych oraz wydłużenie odcinka QT w zapisie akcji serca [13], jej stosowanie nie jest rozpowszechnione.

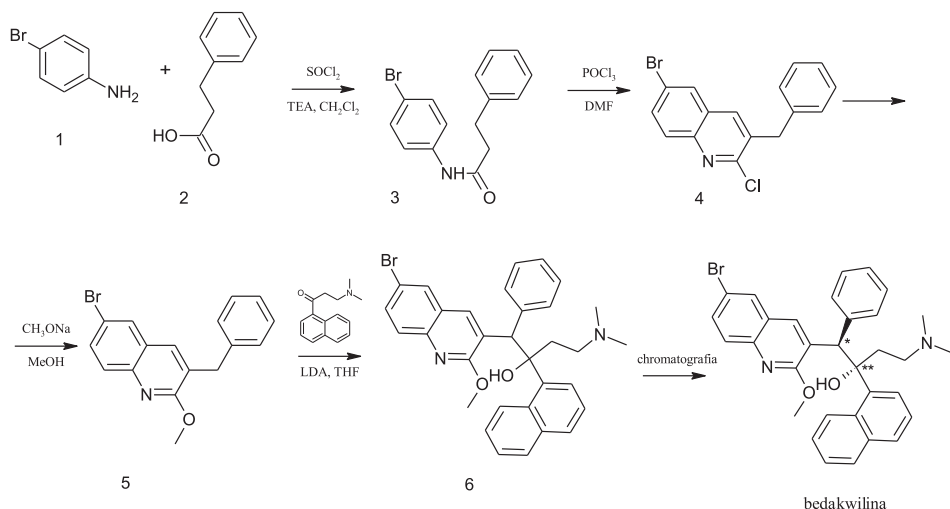


(*R,**S)-1-(6-Bromo-2-metoksy-3-chinolino)-4-dimetyloamino-2-(1-naftylo)-1-fenylo-butan-2-ol

Rysunek 1. Bedakwilina

Figure 1. Bedaquiline

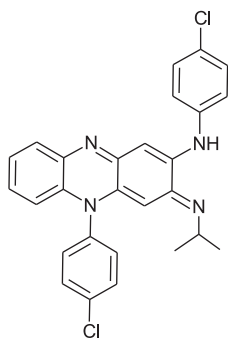
Synteza bedakwiliny z kwasu 3-fenylopropionowego (2) i *p*-bromoaniliny (1) przebiega w pięciu etapach (Schemat 1). Pierścienie chinolonowe otrzymuje się w reakcji Vilsmeier’a–Hacka, natomiast końcowa kondensacja prowadzi do otrzymania czterech stereozomerów rozdzielanych dzięki chromatografii kolumnowej i chiralnej chromatografii [14, 15].



Schemat 1. Synteza bedakwiliny

Scheme 1. Bedaquiline synthesis

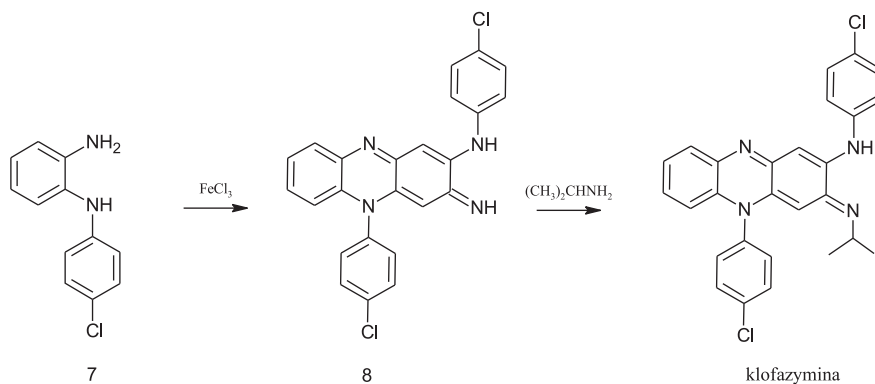
Klofazymina, pochodna iminofenazyny (przedstawiona na Rysunku 2), znana jako lek stosowany w terapii trądu, znalazła nowe zastosowanie w leczeniu gruźlicy [16]. Kluczowym elementem strukturalnym cząsteczki jest fenazyna z grupą alkiloiminową (izopropylloimina) w pozycji 2 oraz podstawniki fenylowe w pozycjach 3 i 10. Takie ułożenie grupy alkiloiminowej oraz odpowiedni halogen w cząsteczce, determinują efekt przeciwprątkowy [17, 18]. Mechanizm działania klofazyminy polega na blokowaniu syntezy bakteryjnego DNA poprzez wiązanie do zasady guaninowej [19]. Dodatkowo, klofazymina powoduje aktywację fosfolipazy A2 neutrofilii i uwolnienie lizofosfatydylocholiny oraz kwasu arachidonowego, co sprawia, że ma podobny mechanizm działania do interferonu gamma [20, 21]. W badaniach *in vitro* potwierdzono skuteczność przeciwprątkową klofazyminy (MIC na poziomie 0,03 µg/ml do 8 µg/ml w zależności od rodzaju szczepu) [22]. Jeszcze lepszy efekt uzyskano w połączeniach klofazyminy z etambutolem (MIC od 0,0625 µg/ml do 16 µg/ml [23]. Mimo pozytywnych wyników terapii klofazyminą u prawie 65% pacjentów, kliniczne zastosowanie cząsteczki jest ograniczone towarzyszącymi jej skutkami ubocznymi [24]. Nadmierna pigmentacja skóry notowana jest u ponad 80% pacjentów stosujących leczenie, a dolegliwości ze strony układu pokarmowego u 40–50% leczonych [25].

2-*p*-chloroanilino-5-*p*-chlorofenyl-3,5-dihydro-3-izopropyl-imino-fenazymina

Rysunek 2. Klofazymina

Figure 2. Clofazimine

Synteza klofazyminy w pierwszym etapie przebiega poprzez utlenianie 2-(*p*-chloroanilino) aniliny (7) chlorkiem żelaza(III), a następnie podstawienie izopropylaminą (Schemat 2) [26–28].

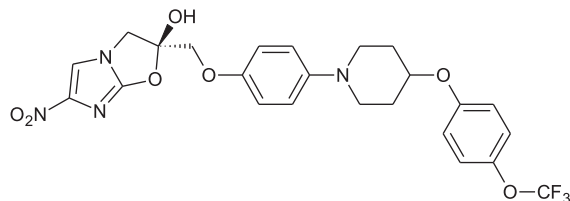


Schemat 2. Synteza klofazyminy

Scheme 2. Clofazimine synthesis

Delamanid, (OPC-67683) pochodna nitro-dihydro-imidazooksazolu (Rys. 3) jest inhibitorem syntezy kwasów mykotalowych [29]. Wiele nitro-heterocyklicznych pochodnych, jak 5- i 2- nitroimidazole oraz 5-nitrofurany posiada właściwości przeciwpierwotniakowe i przeciwbakteryjne lecz zwykle charakteryzują się one również działaniem mutagenym [30]. Również kilka pochodnych nitro-dihydroimidazolu, mimo obiecujących wyników badań przeciwpłatkowych nie zostało wprowadzonych do badań klinicznych, ze względu na towarzyszący efekt mutageny [31]. Delamanid w badaniach *in vitro* wykazał efekt hamujący wzrost prątków grzyźliczych (również tych wielolekoopornych) w zakresie stężeń 0,006–0,024 $\mu\text{g}/\text{ml}$ oraz brak efektów ubocznych, charakterystycznych dla tej grupy nitro-heterocyklicznych pochodnych [29]. Lek został warunkowo dopuszczony do lecznictwa w 2014

roku, potrzebne są jednak dane potwierdzające jego długoterminową skuteczność i bezpieczeństwo [32]. Pochodna różniąca się tylko brakiem podstawnika metylo-owego przy pierścieniu izoksazolowym to również dopuszczony w ostatnim czasie do leczenia cząsteczka PA-824, jako lek pretomanid.

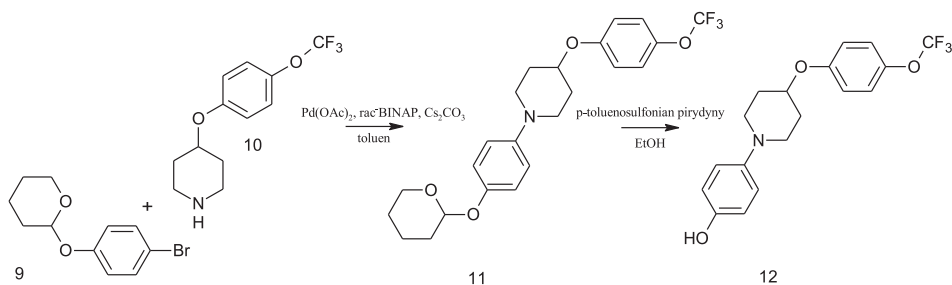


(2R)-2-metylo-6-nitro-2-[(4-{4-[4-(trifluorometoksy)fenoksy]-1-piperydynylo}-fenoksy)metylo]-2,3-dihydroimidazo[2,1-b][1,3]oksazol

Rysunek 3. Delamanid

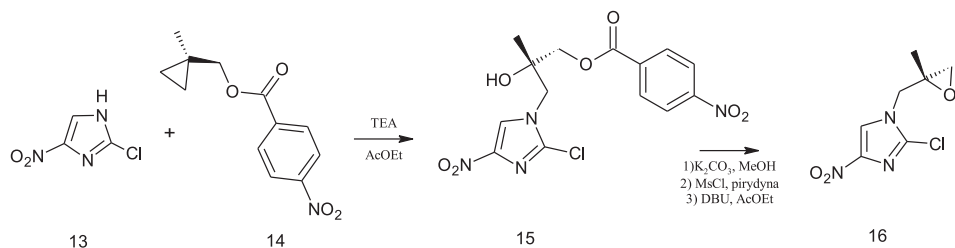
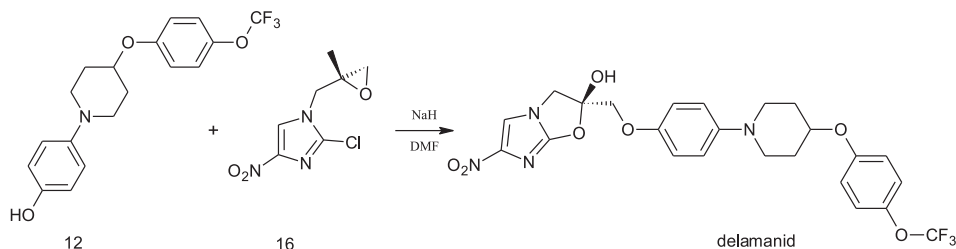
Figure 3. Delamanid

Synteza delamanidu jest złożona. W dwóch odrębnych ścieżkach otrzymuje się syntony (Schemat 3 i Schemat 4) ostatecznej syntezy delamanidu. Pierwszy z nich 4-[4-(4-trifluorometoksyfenoksy)piperydyn-1-ylo]fenol (**12**) otrzymuje się podczas arylicacji Buchwalda katalizowanej palladem, a następnie poprzez usunięcie zabezpieczającego tetrahydropiranu do uzyskania fenolu (**12**). Drugi z ostatecznych półproduktów (**16**) powstaje w reakcji podstawionego nitroimidazolu (**13**) z estrem epoksydowym kwasu *p*-nitrobenzoesowego (**14**), który następnie poddaje się cyklizacji z chlorkiem kwasu metanosulfonowego w środowisku pirydyny [33]. Na Schemacie 5 przedstawiono reakcję związków **12** i **16** oraz powstający w niej delamanid.



Schemat 3. Synteza półproduktu **12** do otrzymania Delamanidu

Scheme 3. Semi-substrate **12** synthesis required for Delamanide production

Schemat 4. Synteza półproduktu **16** do otrzymania DelamaniduScheme 4. Intermediate product **16** synthesis required for Delamanide production

Schemat 5. Synteza delamanidu

Scheme 5. Delamanid synthesis

1.2. CZĄSTECZKI W III FAZIE BADAŃ KLINICZNYCH

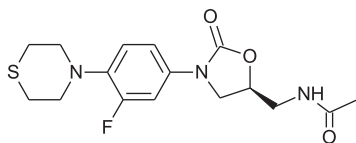
W fazie III badań klinicznych, opisane powyżej bedakwilina i delamanid są badane w połączeniu z zoptymalizowaną terapią podstawową (ang. *Optimized Background Regimen*).

Na tym samym etapie badań jest również połączone dawkowanie pretomanidu z moksyflokscyną i pirazynamidem.

1.3. CZĄSTECZKI W II FAZIE BADAŃ KLINICZNYCH

Sutezolid (PNU-100480) to syntetyczny związek z grupy oksazolidynonów (Rys. 4), w którym tiomorfolinowa pochodna zbudowana została na oksazolidynowym farmakoforze. Jedynie enancjomer *S* wykazuje działanie przeciwbakteryjne [34]. Sutezolid hamuje syntezę bakteryjnych białek poprzez wiązanie 23S rRNA w podjednostce 50S rybosomu [35]. Pierwszy związek tej grupy wprowadzony do leczenia – linezolid, znalazł zastosowanie w ciężkich zakażeniach bakteryjnych, takich jak szpitalne i pozaszpitalne zapalenie płuc [36, 37]. Sutezolid wykazywał podobne do linezolidu właściwości przeciwbakteryjne i przeciwprątkowe *in vitro* (MIC \approx 1 $\mu\text{g/ml}$), jednak w badaniu *ex vivo* w hodowli z pełnej krwi obwodowej był znacznie bardziej skuteczny od linezolidu w modelu gruźlicy [38]. W badaniach

klinicznych I fazy potwierdzono skuteczność sutezolidu, nie wykazując jednocześnie skutków ubocznych obserwowanych dla linezolidu (neuropatia obwodowa i neuropatia nerwu wzrokowego, zmiany w obrazie hematologicznym krwi) [39, 40]. Obecnie prowadzone są rozszerzone badania nad sutezolidem – schematem dawkowania i oceną skuteczności [41].

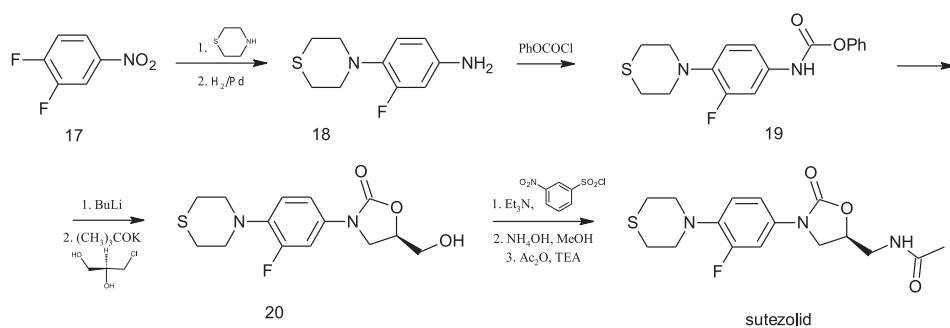


N-(((5*S*)-3-[3-fluoro-4-(tiomorfolino-4-yl)fenylo]-2-okso-1,3-oksazolidyno-5 metylo)-acetamid

Rysunek 4. Sutezolid

Figure 4. Sutezolid

Synteza sutezolidu rozpoczyna się od 3,4-difluoro-nitrobenzenu (**17**), do którego przyłącza się tiomorfolinę, a następnie redukuje grupę nitrową do aminowej i przeprowadza w amid (**19**). W następnym etapie deprotonację azotu uzyskuje się tert-butanolanem litu, a cyklizację (*S*)-3-chloro-1,2-propanediolem. Pierwszorzędowy alkohol przeprowadza się przez aminę do finalnego produktu – sutezolidu (Schemat 6) [42, 43].

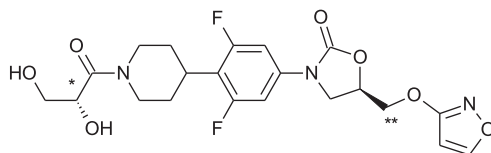


Schemat 6. Synteza sutezolidu

Scheme 6. Sutezolid synthesis

Podobnie jak Sutezolid, **AZD5847** należy do grupy oksazolidynonów. Jest fenyloowo-piperazynową pochodną 2-oksazolidionu, która analogicznie jak inne antybiotyki tej klasy blokują syntezę białek (Rys. 5). W cząsteczce obecne są dwa centra chiralne (**S*, ***R*), jednak nie ma dowodów na jej izomeryzację *in vivo* [44]. Aktywność przeciwko szczepom *M. tuberculosis* H37Rv określono na 1 µg/ml [45]. Związek wykazuje również aktywność bakteriostatyczną na inne szczepy bakterii gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium spp*) [46]. W testach toksykologicznych wykazano nieznaczne zmiany obrazu hematologicznego krwi przy stosowaniu

AZD 5847, bez żadnego wpływu na szpik kostny. Nie stwierdzono również hepatotoksyczności, natomiast obserwowano wydłużenie odcinka QT w zapisie akcji serca [47].

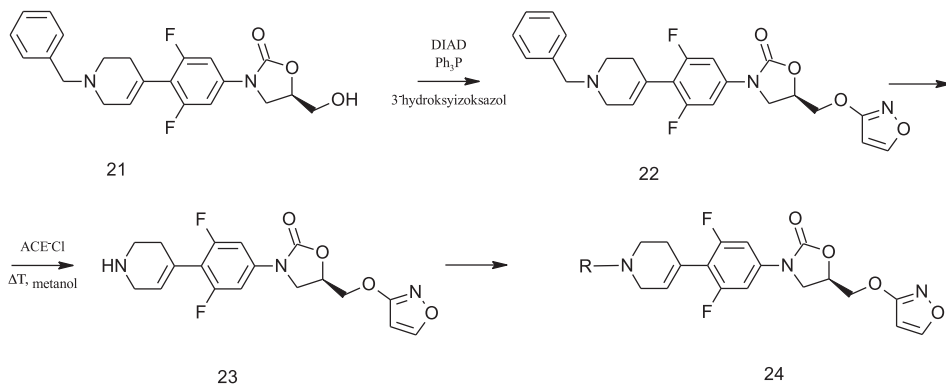


[(5R)-3-(4-{1-[(2S)-2,3-dihydroksypropano]-1,2,3,6-tetrahydropyridyn-4-yl})-3,5-difluorofenilo-5-[(isoksazoloksy-3-)metylo]-1,3-oksazolan-2-on

Rysunek 5. AZD5847

Figure 5. AZD5847

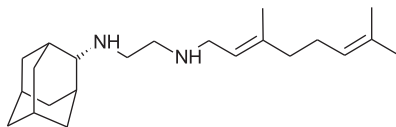
Synteza AZD5847 w literaturze przedmiotu nie jest w pełni opisana. Ogólnie przedstawiono ją na Schemacie 7 poniżej [48].



Schemat 7. Ogólny schemat syntezy AZD5847

Scheme 7. General procedure of AZD5847 synthesis

SQ109 jest 1,2-etylenodiaminową pochodną etambutolu (Rys. 6). Mechanizm działania cząsteczki opiera się na hamowaniu transportu MmpL3 – transportera odpowiedzialnego za dostarczanie kwasów mykolewowych do zewnętrznej warstwy ściany komórkowej *Mycobacterium tuberculosis* [49]. W badaniach przesiewowych, związek SQ109 uzyskał dobre wyniki hamowania wzrostu prątków (MIC 0,7–1,56 μM dla szczepów H37Rv) przy relatywnie niskiej toksyczności *in vitro* oraz *in vivo* [50]. Wstępne badania II fazy potwierdziły aktywność wobec prątków wielolekoopornych jak i tych o rozszerzonej oporności. Dodatkowo SQ109 działa na prątki sfagocytowane przez makrofagi na poziomie równym izoniazydowi i znacznie lepiej niż etambutol [51]. Wstępne badania potwierdziły jeszcze lepszą skuteczność SQ109 w terapii łączonej z innymi nowymi lekami (SQ109 + bedakwilina oraz SQ109 + sutezolid) [52, 53].

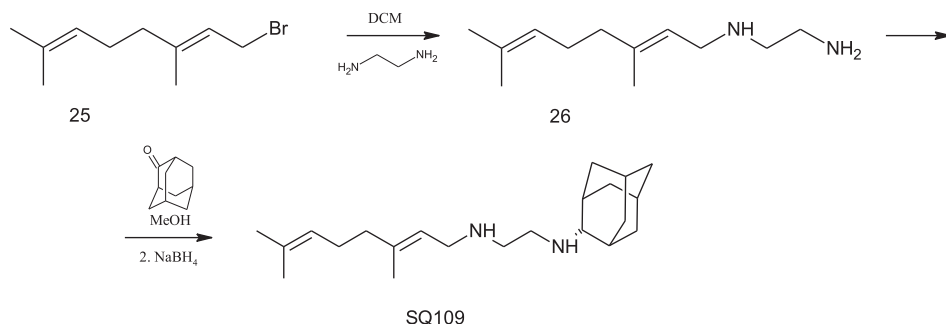


N-Adamantan-2-ylo-N'-((E)-3,7-dimetylo-octa-2,6-dienylo)-etano-1,2-diamina

Rysunek 6. SQ109

Figure 6. SQ109

Syntezę SQ109 przeprowadza się z oktadienu (25), który podstawia się etylenodiaminą. Następnie podstawia amantanonem i redukuje [54–56]. Zapis syntezy przedstawia Schemat 8 poniżej:



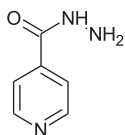
Schemat 8. Synteza SQ109

Scheme 8. SQ109 synthesis

2. WYBRANE CZĄSTECZKI W FAZIE BADAŃ PODSTAWOWYCH

2.1. ANALOGI IZONIAZYDU (HYDRAZYDY KWASU NIKOTYNOWEGO)

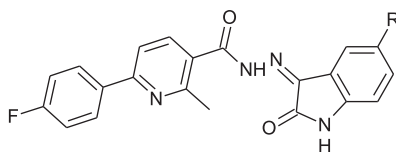
Izoniazyd (INH), czyli pirydyno-4-karbohydryd (Rys. 7) jest lekiem pierwszego rzutu stosowanym w gruźlicy, wprowadzonym do leczenia w latach 50tych ubiegłego stulecia. Jest pro-lekiem, który do aktywacji *in vivo* wymaga katalazy-peroksydazy bakteryjnej (KatG) [56]. Jego aktywność przeciwprątkowa opiera się na hamowaniu syntezy kwasów mykolowych wchodzących w skład ściany komórkowej *Mycobacterium tuberculosis*, choć jego dokładny mechanizm działania nie został ostatecznie potwierdzony [57, 58]. Od czasu wprowadzenia leku na rynek, notuje się wzrastającą oporność szczepów na izoniazyd oraz połączenia izoniazydu z innymi lekami pierwszego i drugiego rzutu, co stwarza duży problem terapeutyczny [59, 60].



Rysunek 7. Isoniazyd

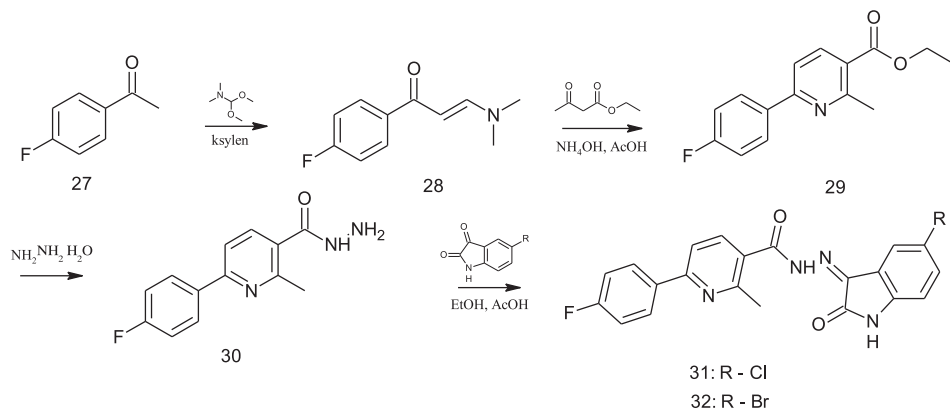
Figure 7. Isoniazide

Mając na uwadze powyższe, autorzy wielu prac dotyczących aktywności przeciwprątkowej pochodnych hydrazidu kwasu nikotynowego, modyfikują grupę hydrazydową innymi grupami funkcyjnymi, próbując zachować właściwości przeciwgruźlicze, jednocześnie redukując negatywne skutki uboczne i problem oporności szczepów na INH [61–64]. W opublikowanej w 2015 roku pracy, Eldehna i in. [65] zsyntetyzowali 18 pochodnych izoniazidu i przebadali ich aktywność przeciwko *Mycobacterium tuberculosis*. Najwyższą aktywność przeciwprątkową potwierdzono dla pochodnych hydrazidu kwasu 2-oksoindolino-(6-(4-fluorofenilo))-2-metylonikotynowego (Rys. 8). Dla związków **31** i **32** potwierdzono MIC na poziomie odpowiednio 12,5 oraz 6,25 µg/ml wobec referencyjnych wartości dla izoniazidu 0,75 µg/ml i pirazynamidu 3,21 µg/ml. Oba związki nie wykazały toksyczności w testach przeprowadzonych na liniach komórkowych HT-29 raka jelita grubego oraz and PC-3 raka prostaty. Syntezę związków **31** i **32** zaprezentowano poniżej na Schemacie 9.



(31: R – Cl, 32: R – Br)

Rysunek 8. Pochodne hydrazidu kwasu 2-oksoindolino-(6-(4-fluorofenilo))-2-metylonikotynowego **31**, **32**Figure 8. Derivatives of 2-oxoindolidine-(6-(4-fluorophenyl))-2-methylnicotinic acid hydrazide **31**, **32**



Schemat 9. Synteza pochodnych hydrazynu kwasu 2-oksoindolino-(6-(4-fluorofenilo))-2-metylonikotynowego **31, 32**

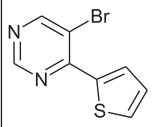
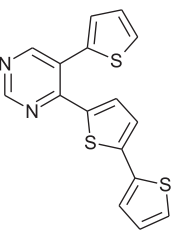
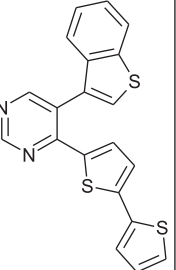
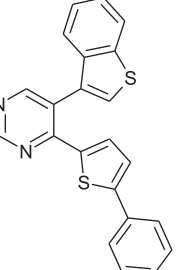
Scheme 9. Synthesis of 2-oxoindolidine-(6-(4-fluorophenyl))-2-methylnicotinic acid hydrazide derivatives **31, 32**

2.2. POCHODNE TIENYLO-PIRYMIDYNY

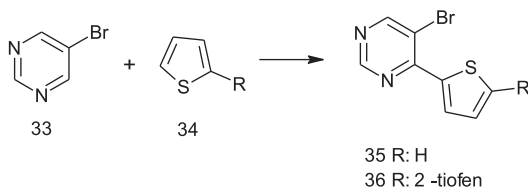
Pochodne pirymidyn przejawiają szeroki zakres aktywności biologicznej, takie jak: przeciw-nowotworowe, przeciwbólowe, przeciwzapalne [66–68] jak również przeciwpłatkowe [69–71]. W roku 2015 zespół E. Verbitskiego opublikował dane dotyczące aktywności pochodnych tienylo-pirymidyn przeciwko szczepom *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv [72]. Spośród 32 nowych mono-tienylo i di-tienylo podstawionych pochodnych pirymidyny, 4 wykazały aktywność przeciwpłatkową na poziomie podobnym do izoniazydu. Wartości MIC dla poszczególnych związków i substancji referencyjnej zestawiono poniżej w tabeli (Tab. 1).

Tabela 1. Porównanie wartości minimalnego stężenia hamującego dla najbardziej aktywnych pochodnych tienylo-pirymidyny

Table 1. Comparison of minimal inhibitory concentration among the most active thienylpyrimidine derivatives

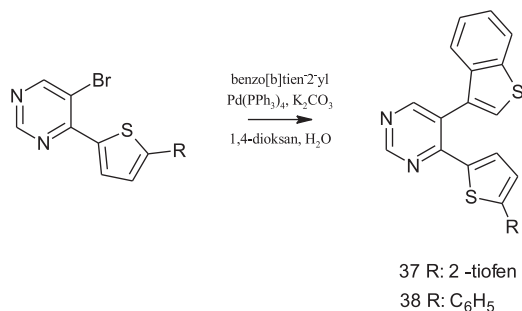
	35 5-bromo-4-(2-tiofeno)pirymidyna	36 4-(2,2'-5-bitiofeno 5-(2-tiofeno)pirymidyna	37 5-(1-benzotiofeno-3-ylo)-4-(2,2'-bi-tiofen-5-ylo)-pirymidyna	38 5-(1-benzotiofeno-3-ylo)-4-(5-fenylo-tiofen-2-ylo)pirymidyna	
związek					INH
MIC µg/ml	0,7	0,7	0,37	0,15	0,1

Minimalne stężenie hamujące wyznaczone dla pozostałych związków wahało się od 3,0 do 12,5 µg/ml. Przy obiecujących wynikach potwierdzających aktywność przeciwpłatkową związków **37** i **38**, nie uzyskano satysfakcjonujących rezultatów w testach toksyczności *in vivo*. Natomiast dla pochodnych **35** i **36** potwierdzono toksyczność w wysokich dawkach. Niemniej, pochodne tienopirymidyny są interesującą grupą związków aktywnych wobec *Mycobacterium tuberculosis*, których dalsze badania mogą przynieść obiecujące rezultaty. Syntezę przykładowych związków **35**–**38** zaprezentowano na Schematach 10a i 10b poniżej:



Schemat 10a. Synteza pochodnych tienylopirymidyny **35**, **36**

Scheme 10a. Synthesis of thienylpyrimidine derivatives **35**, **36**



Schemat 10b. Synteza pochodnych tienylopirymidyny 37, 38

Scheme 10b. Synthesis of thienylpyrimidine derivatives 37, 38

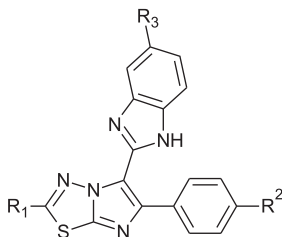
2.3. POCHODNE IMIDAZO-TIADIAZOLO-BENZIMIDAZOLU

Jak wykazano powyżej, układy heterocykliczne są intensywnie eksploatowanym kierunkiem poszukiwań nowych leków, w tym przeciwgruźliczych. Heterocykliczny układ 1,3,4-tiadiazolu jest obecny w kilku lekach przeciwbakteryjnych, wprowadzonych już do lecznictwa (pochodna sulfonamidowa: sulfametizol, antybiotyk beta-laktamowy z grupy cefalosporyn: cefazolina) [73]. Aktywność przeciwko szczepom mykobakteryjnym potwierdzono dla pochodnych 1,3,4-tiadiazolu w połączeniu z imidazolem [74, 75] oraz 1,3,4-tiadiazolowych pochodnych piperazyńlo fluorochinolonów [76] i sulfonamidów [77]. Natomiast, pochodne benzimidazolu głównie znane z aktywności przeciw pasożytniczej (albendazol, mebendazol), również wykazują zdolności hamowania wzrostu *Mycobacterium tuberculosis* [78–80]. Wykorzystując wszystkie powyższe ugrupowania heterocykliczne (imidazol, 1,3,4-tiadiazol oraz benzimidazol) Ramprasad i współautorzy, zsyntetyzowali pochodne imidazo[2,1-b][1,3,4]tiadiazolo-benzimidazolu (Rys. 9 oraz Tab. 2) o aktywności przeciwprątkowej [73]. Aż 7 pochodnych (**44a-g**) uzyskało zadowalającą aktywność przeciwko *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (MIC 3,125 µg/ml, w odniesieniu do INH 0,1 oraz EMB 3,13), co przedstawiono w tabeli poniżej.

Tabela 2. Lista podstawników dla pochodnych imidazo-tiadiazolo-benzimidazolu

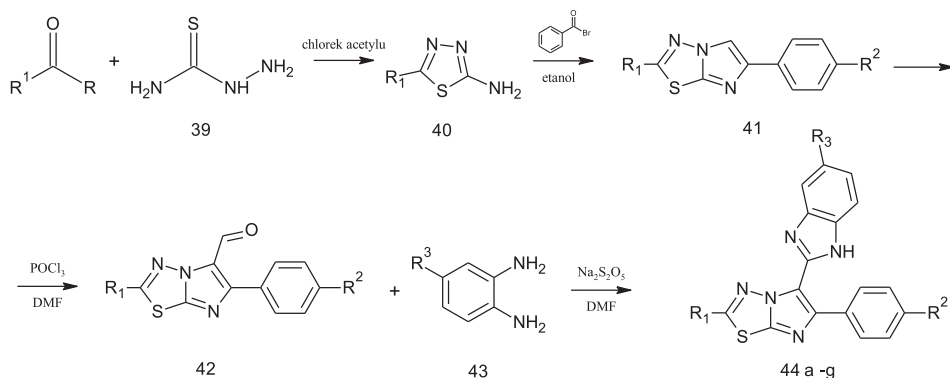
Table 2. List of substituents for imidazo-thiadiazolo-benzimidazole derivatives

	R ¹	R ²	R ³
44a	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	OCH ₃	Cl
44b	4-Cl-C ₆ H ₄	CH ₃	H
44c	4-Cl-C ₆ H ₄	F	H
44d	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	Cl	H
44e	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	Cl	Cl
44f	CH ₃	Cl	Cl
44g	CH ₃	CH ₃	H



Rysunek 9. Wzór ogólny pochodnych imidazo[2,1-*b*] [1,3,4]tiadiazolo-benzimidazolu
Figure 9. General formula for imidazo[2,1-*b*] [1,3,4]thiazolo-benzimidazole derivatives

W pierwszym etapie syntezy pochodnych **44a-g** powstaje 1,3,4-tiadiazolo-2-amina z odpowiednim podstawnikiem w pozycji C5. Następnie w reakcji z α -halogeno-acetofenonem powstają, podstawione w pozycji 2, 6-aryloimidazo[2,1-*b*][1,3,4]tiadiazole (**41**). Ostatnim etapem syntezy jest reakcja Vilsmeier'a-Hacka pomiędzy otrzymanymi tiadiazolami a podstawioną *o*-fenyldiaminą. Ogólny schemat syntezy pochodnych **44a-g** przedstawiono poniżej na Schemacie 11.

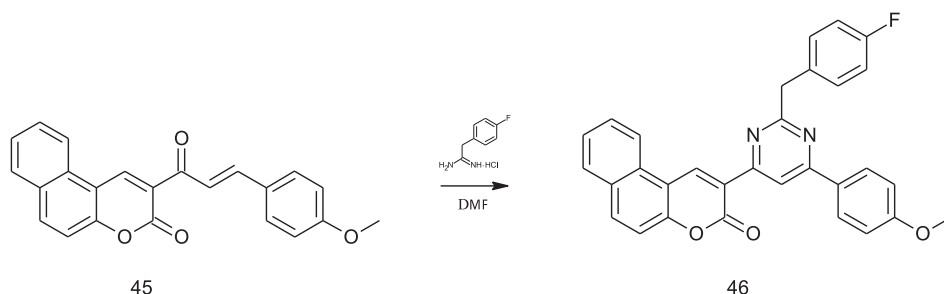


Schemat 11. Synteza pochodnych imidazo-tiadiazolo-benzimidazolu **44 a-g**
Scheme 11. Synthesis of imidazo-thiadiazolo-benzimidazole derivatives **44 a-g**

2.4. PIRYMIDYNOWE POCHODNE BENZOKUMARYN

Kumaryny, czyli pochodne benzo- α -piranu, są związkami występującymi w naturze, głównie w roślinach. Ich naturalne i syntetyczne pochodne znalazły wiele zastosowań w naukach farmaceutycznych jako leki przeciwnowotworowe, antybakteryjne, przeciwkrzepliwie, również jako inhibitory lipooksygenazy oraz cyklooksygenazy [81]. Pirymidynowe pochodne kumaryn wykazały działanie przeciwbólowe, przeciwbakteryjne, rozluźniające naczynia krwionośne, przeciwnowotworowe [82–86]. Biorąc pod uwagę fakt, że wiele leków przeciwgruźliczych to pochodne pirydynowe lub pirazynowe (izoniazyd, klofazymina, pirazynamid) Reddy i współautorzy podjęli się syntezy pirymidynowych pochodnych benzokuma-

ryn [87]. Otrzymano 15 nowych związków, z których jeden **46** wykazał znamiennej aktywność przeciwpłatkową wobec *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (MIC 0,05 µg/ml w porównaniu do MIC 0,02 µg/ml dla izoniazydu). Profil toksyczności dla związku badanego **46** i leku referencyjnego był podobny. Syntezę **46** przeprowadzono kondensując podstawione benzokumaryny z chlorkiem 2-(4-fluorofenyl)acetamidyny (Schemat 12).



Schemat 12. Schemat syntezy związku **46**

Scheme 12. Scheme of synthesis compound **46**

PODSUMOWANIE

Dane literaturowe potwierdzają narastającą liczbę przypadków zachorowań na gruźlicę, znaczny wzrost lekooporności płatków. Przy braku nowych skutecznych leków przeciwpłatkowych, prowadzone są intensywne badania nad opracowaniem nowej, efektywnej terapii przeciwko *Mycobacterium tuberculosis*. W niniejszym artykule opisano stan wiedzy na temat cząsteczek będących w III i II fazie badań klinicznych, jak również dokonano przeglądu wybranych, najnowszych doniesień na temat związków będących w fazie badań podstawowych. Przedstawiono syntezy, ogólne mechanizmy działania oraz aktywności poszczególnych związków. Przeanalizowane dane literaturowe ukazują aktualne kierunki poszukiwań nowych leków w terapii gruźlicy, wskazują na ważność tego problemu oraz możliwość szybkiego wprowadzenia leków będących w ostatniej fazie badań klinicznych do rutynowej terapii przeciwpłatkowej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Global Tuberculosis Report 2014, WHO.
- [2] V.K. Chadha, Indian J. Tuberc., 2009, **56**(1), 30.
- [3] I. Abubakar, M. Zignol, D. Falzon, M. Raviglione, L. Ditiu, S. Masham, I. Adetifa, N. Ford, H. Cox, S.D. Lawn, B.J. Marais, T.D. McHugh, P. Mwaba, M. Bates, M. Lipman, L. Zijenah, S. Logan, R. McNerney, A. Zumla, K. Sarda, P. Nahid, M. Hoelscher, M. Pletschette, Z.A. Memish, P. Kim, R. Hafner, S. Cole, G.B. Migliori, M. Maeurer, M. Schito, A. Zumla, Lancet Infect. Dis., 2013, **13**(6), 529.

- [4] <http://www.newtbdrugs.org/project.php?id=202745>.
- [5] K. Todar, *Mycobacterium tuberculosis and Tuberculosis*, Todar's Online Textbook of Bacteriology 2009.
- [6] Tuberculosis, Fact Sheet 104. WHO Report 2015.
- [7] D. Michałowska-Mitczuk, *Postępy Farmakoterapii. Farmakoterapia gruźlicy*, 2009, **65** (1), 51.
- [8] R. Loddenkemper, D. Sagabiel, A. Brendel. Eur. Respir. J., 2002, **36**, 66.
- [9] M. Zignol, M.S. Hosseini, A. Wright, C.L. Weezenbeek, P. Nunn, C.J. Watt, B.G. Williams, C. Dye, J. Infect. Dis., 2006, **194**(4), 479.
- [10] H. Tomioka, K. Namba, Kekkaku, 2006, **81**, 753.
- [11] K. Andries, P. Verhasselt, J. Guillemont, H.W. Göhlmann, J.M. Neefs, H. Winkler, J. Van Gestel, P. Timmerman, M. Zhu, E. Lee, P. Williams, D. de Chaffoy, E. Huitric, S. Hoffner, E. Cambau, C. Truffot-Pernot, N. Lounis, V. Jarlier, Science, 2005, **14**, 223.
- [12] A.K. Kakkar, N. Dahiya, Tuberculosis (Edinb), 2014, **94**(4), 357.
- [13] Provisional CDC Guidelines for the Use and Safety Monitoring of Bedaquiline Fumarate (Sirturo) for the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis, MMWR Recomm. Rep. 2013, **62**, 1.
- [14] J. Guillemont, *Quinoline derivatives and their use as mycobacterial inhibitors*, WO/2004/011436 (2004).
- [15] N. Lounis, J. Guillemont, N. Veziris, A. Koul, V. Jarlier, K. Andries, Med. Mal. Infect., 2010, **40**(7), 383.
- [16] Y.S. Kwon, B.H. Jeong, W.J. Koh, Curr. Opin. Pulm. Med., 2014, **20**(3), 280.
- [17] S.G. Franzblau, J.F. O'Sullivan, Antimicrob. Agents Chemother., 1988, **32**, 1583.
- [18] C. Jagannath, M.V. Reddy, S. Kailasam, Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1995, **151**, 1083.
- [19] N.E. Morrison, G.M. Marley, Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis., 1976, **44**(1-2), 133.
- [20] J.L. Arbiser, S.L. Moschella, J. Am. Acad. Dermatol., 1995, **32**(2 Pt 1), 241.
- [21] T. Wu, S.J. Levine, M.G. Lawrence, C. Logun, C.W. Angus, J.H. Shelhamer, J. Clin. Invest., 1994, **93**(2), 571.
- [22] X.W. Gui, H.P. Xiao, Z.Y. Hu, Z.L. Cui, J. Wang, J.M. Lu, Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi, 2011, **34**(8), 579.
- [23] Z. Zhang, T. Li, G. Qu, Y. Pang, Y. Zhao, Int. J. Antimicrob. Agents, 2015, **45**(1), 71.
- [24] M. Gopal, N. Padayatchi, J.Z. Metcalfe, M.R. O'Donnell, Int. J. Tuberc. Lung. Dis., 2013, **17**, 1001.
- [25] T. Dey, G. Bridgen, H. Cox, Z. Shubber, G. Cooke, N. Ford, J. Antimicrob. Chemother., 2013, **68**(2), 284.
- [26] V.C. Barry, J.G. Belton, M.L. Conalty, J.M. Denny, D.W. Edward, J.F. O'Sullivan, D. Twomey, F. Winder, Nature, 1957, **179**(4568), 1013.
- [27] V.C. Barry, M.L. Belton, M.L. Conalty, J.F. O'Sullivan, H. Ernst, US Pat. 2.948.726 (1960).
- [28] V. Barry, M.L. Belton, J.F. O'Sullivan, J. Chem Soc., 1958, 859.
- [29] M. Matsumoto, H. Hashizume, T. Tomishige, M. Kawasaki, H. Tsubouchi, H. Sasaki, Y. Shimokawa, M. Komatsu. PLoS Med., 2006, **3**(11), 466.
- [30] W. Raether, H. Hänel, Parasitol Res., 2003, **90** (1), 19.
- [31] D.R. Ashtekar, R. Costa-Perira, K. Nagarajan, N. Vishvanathan, A.D. Bhatt, W. Rittel, Antimicrob. Agents Chemother., 1993, **37**(2), 183.
- [32] Drug Discovery & Development, EMA Recommends Two New Tuberculosis Treatments, 2013
- [33] H. Sasaki, Y. Haraguchi, M. Itotani, H. Kuroda, H. Hashizume, T. Tomishige, M. Kawasaki, M. Matsumoto, M. Komatsu, H. Tsubouchi, J. Med. Chem., 2006, **49**(26), 7854.
- [34] S.J. Brickner, Current Pharmaceutical. Design, 1996, **2**, 175.
- [35] U. Patel, Y.P. Yan, F.W. Jr Hobbs, J. Kaczmarczyk, A.M. Slee, D.L. Pompliano, M.G. Kurilla, E.V. Bobkova, J. Biol. Chem., 2001, **276**(40), 37199.
- [36] K.J. Shaw, M.R. Barbachyn, Ann N Y Acad. Sci., 2011, **1241**, 48.

- [37] *Charakterystyka produktu leczniczego – linezolid*, 2012.
- [38] K.N. Williams, C.K. Stover, T. Zhu, R. Tasneen, S. Tyagi, J.H. Grosset, E. Nuermberger, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**(4), 1314.
- [39] R.S. Wallis, W. Jakubiec, V. Kumar, G. Bedarida, A. Silvia, D. Paige, T. Zhu, M. Mitton-Fry, L. Ladutko, S. Campbell, P.F. Miller, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011, **55**(2), 567.
- [40] G.B. Migliori, B. Eker, M.D. Richardson, G. Sotgiu, J.P. Zellweger, A. Skrahina, J. Ortmann, E. Girardi, H. Hoffmann, G. Besozzi, N. Bevilacqua, D. Kirsten, R. Centis, C. Lange, *Eur. Respir. J.*, 2009, **34**(2), 387.
- [41] R.S. Wallis, R. Dawson, S.O. Friedrich, A. Venter, D. Paige, T. Zhu, A. Silvia, J. Gobey, C. Ellery, Y. Zhang, K. Eisenach, P. Miller, A.H. Diacon, *PLoS One*, 2014, **9**(4), 94462.
- [42] M.R. Barbachyn, D.K. Hutchinson, S.J. Brickner, M.H. Cynamon, J.O. Kilburn, S.P. Klemens, S.E. Glickman, K.C. Grega, S.K. Hendges, D.S. Toops, C.W. Ford, G.E. Zurenko, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**(3), 680.
- [43] B. Villemagne, C. Crauste, M. Flipo, A.R. Baulard, B. Déprez, N. Willand, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **51**, 1.
- [44] V. Balasubramanian, S. Solapure, H. Iyer, A. Ghosh, S. Sharma, P. Kaur, R. Deepthi, V. Subbulakshmi, V. Ramya, V. Ramachandran, M. Balganes, L. Wright, D. Melnick, S.L. Butler, V.K. Sambandamurthy, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2014, **58**(1), 495.
- [45] V. Balasubramanian, S. Solapure, R. Shandil, S. Gaonkar, K.N. Mahesh, J. Reddy, A. Deshpande, S. Bharath, N. Kumar, L. Wright, D. Melnick, S.L. Butler, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2014, **58**(7), 4185.
- [46] A. Wookey, P.J. Turner, J.M. Greenhalgh, M. Eastwood, J. Clarke, C. Sefton, *Clin. Microbiol. Infect.*, 2004, **10**(3), 247.
- [47] Balasubramanian, D. Melnick, A 14-day multiple ascending dose study: AZD5847 is well tolerated at predicted exposure for treatment of tuberculosis (TB) (Abstract A1-1735). Poster session presented at: 51st Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 2011.
- [48] M.B. Gravestock, D.G. Acton, M.J. Betts, M. Dennis, G. Hatter, A. McGregor, M.L. Swain, R.G. Wilson, L. Woods, A. Wookey, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, **13**(23), 4179.
- [49] W. Li, A. Upadhyay, F.L. Fontes, E.J. North, Y. Wang, D.C. Crans, A.E. Grzegorzewicz, V. Jones, S.G. Franzblau, R.E. Lee, D.C. Crick, M. Jackson, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2014, **58**(11), 6413.
- [50] M. Protopopova, C. Hanrahan, B. Nikonenko, R. Samala, P. Chen, J. Gearhart, L. Einck, C.A. Nacy, *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, **56**(5), 968.
- [51] L. Jia, J.E. Tomaszewski, C. Hanrahan, L. Coward, P. Noker, G. Gorman, B. Nikonenko, M. Protopopova, *Br. J. Pharmacol.*, 2005, **144**(1), 80.
- [52] V.M. Reddy, T. Dubuisson, L. Einck, R.S. Wallis, W. Jakubiec, L. Ladutko, S. Campbell, C.A. Nacy, *J. Antimicrob. Chemother.*, 2012, **67**(5), 1163.
- [53] V.M. Reddy, L. Einck, K. Andries, C.A. Nacy, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2010, **54**(7), 2840.
- [54] R.E. Lee, M. Protopopova, E. Crooks, R.A. Slayden, M. Terrot, C.E. 3rd Barry, *J. Comb. Chem.*, 2003, **5**(2), 172.
- [55] O.K. Onajole, P. Govender, P.D. van Helden, H.G. Kruger, G.E. Maguire, I. Wiid, T. Govender, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**(5), 2075.
- [56] B. Lei, C.J. Wei, S.C. Tu, *J. Biol. Chem.*, 2000, **275**(4), 2520.
- [57] E.K. Schroeder, N. de Souza, D.S. Santos, J.S. Blanchard, L.A. Basso, *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2002, **3**(3), 197.
- [58] J. Sandy, A. Mushtaq, A. Kawamura, J. Sinclair, E. Sim, E. Noble, M.J. Mol. Biol., 2002, **318**, 1071.
- [59] M. Zignol, M. Dara, A.S. Dean, D. Falzon, A. Dadu, K. Kremer, H. Hoffmann, S. Hoffner, K. Floyd, *Drug Resist. Updat.*, 2013, **16**(6), 108.

- [60] M. Moore, I.M. Onorato, E. McCray, K.G. Castro, *JAMA* 1993–1996, **215** (1997), 833.
- [61] M.S.C. Lourenço, M.L. Ferreirab, M.V.N. Souza, M.A. Peralta, T.R.A. Vasconcelos, M. das Graças, M.O. Henriques, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, **43**, 1344.
- [62] S.H. Cardoso, J.V. de Assis, M.V. de Almeida, M.C.S. Lourenço, F.R.C. Vicente, M.V.N. de Souza, *Quim. Nova.*, 2009, **32**, 1557.
- [63] B. Bottari, R. Maccari, F. Monforte, R. Ottana, E. Rotondo, M.G. Vigorita, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2000, **10**, 657.
- [64] V. Judge, B. Narasimhan, M. Ahuja, D. Sriram, P. Yogeewari, E.D. Clercq, C. Pannecouque, J. Balzarini, *Med. Chem. Res.*, 2012, **21**, 1935.
- [65] W.M. Eldehna, M. Fares, M.M. Abdel-Aziz, H.A. Abdel-Aziz, *Molecules*, 2015, **20**(5), 8800.
- [66] G.E. Wright, J.J. Gambino, *J. Med. Chem.*, 1984, **27**(2), 181.
- [67] L.F. Jalander, J.E. Lönnqvist, *Heterocycles*, 1998, **48**, 743.
- [68] N.M. Khalifa, M.A. Al-Omar, G. Amr Ael, A.R. Baiuomy, R.F. Abdel-Rahman, *Bioorg. Khim.*, 2015, **41**(2), 218.
- [69] E. Matyugina, A. Khandazhinskaya, L. Chernousova, S. Andreevskaya, T. Smirnova, A. Chizhov, I. Karpenko, S. Kochetkov, L. Alexandrova, *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, **20**(22), 6680.
- [70] M.H. El-Hamamsy, A.W. Smith, A.S. Thompson, M.D. Threadgill, *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, **15**(13), 4552.
- [71] J. Morgan, R. Haritakul, P.A. Keller, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, **13**(10), 1755.
- [72] E.V. Verbitskiy, E.M. Cheprakova, P.A. Slepukhin, M.A. Kravchenko, S.N. Skorniyakov, G.L. Rusinov, O.N. Chupakhin, V.N. Charushin, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **97**, 225.
- [73] J. Ramprasad, N. Nayak, U. Dalimba, P. Yogeewari, D. Sriram, S.K. Peethambar, R. Achur, H.S. Kumar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **95**, 49.
- [74] F. Hadizadeh1, R. Vosooghi, *J. Heterocyc. Chem.*, 2008, **45**, 1.
- [75] S.G. Alegaon, K.R. Alagawadi, P.V. Sonkusare, S.M. Chaudhary, D.H. Dadwe, A.S. Shah, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2012, **22**(5), 1917.
- [76] S. Talath, A.K. Gadad, *Eur. J. Med. Chem.*, 2006, **41**(8), 918.
- [77] A. Foroumadi, A. Sakhteman, Z. Sharifzadeh, N. Mohammadhosseini, B. Hemmateenejad, M.H. Moshafi, M. Vosooghi, M. Amini, A. Shafiee, *J. Pharm. Sci.*, 2007, **15**(4), 218.
- [78] S.A. Stanley, S.S. Grant, T. Kawate, N. Iwase, M. Shimizu, C. Wivagg, M. Silvis, E. Kazyanskaya, J. Aquadro, A. Golas, M. Fitzgerald, H. Dai, L. Zhang, D.T. Hung, *ACS Chem. Biol.*, 2012, **7**(8), 1377.
- [79] M. Pieroni, S.K. Tipparaju, S. Lun, Y. Song, A.W. Sturm, W.R. Bishai, A.P. Kozikowski, *Chem. Med. Chem.*, 2011, **6**(2), 334.
- [80] K. Kumar, D. Awasthi, S.Y. Lee, I. Zanardi, B. Ruzsicska, S. Knudson, P.J. Tonge, R.A. Slayden, I. Ojima, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**(1), 374.
- [81] R.O. O'Kennedy, R.D. Thomes Coumarins, *Biol. Appl. Mode Action*, Willey, 1997.
- [82] R.S. Keri, K.M. Hosamani, R.V. Shingalapur, M.H. Hugar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**(6), 2597.
- [83] A.H. Abd El-Wahab, *Pharmaceuticals (Basel)*, 2012, **5**(7), 745.
- [84] K.M. Amin, F.M. Awadalla, A.A. Eissa, S.M. Abou-Seri, G.S. Hassan, *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, **19**(20), 6087.
- [85] K.B. Puttaraju, K. Shivashankar, M. Chandra, V.P. Mahendra, P.N. Rasal, V. Vivek, K. Rai, M.B. Chanu, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **69**, 316.
- [86] K.M. Hosamani, D.S. Reddy, H.C. Devarajegowda, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 11261.
- [87] D.S. Reddy, K.M. Hosamani, H.C. Devarajegowda, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **101**, 705.