



UNIwersYTET MEDYczNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

mgr Aleksandra Anna Sochacka-Ćwikła

**Synteza nowych pochodnych 5-aminooksazolo-4-karbonitrylu
i oksazolo[5,4-d]pirymidyny o potencjalnej
aktywności biologicznej**

**Promotor: dr hab. Marcin Mączyński, prof. Uczelni
Promotor pomocniczy: dr Andrzej Regiec**

Streszczenie

Małocząsteczkowe związki heterocykliczne zawierające pierścienie izoksazolu, oksazolu lub układ oksazolo[5,4-*d*]pirymidyny charakteryzują się szerokim spektrum działania biologicznego, które wynika ze specyficznego oddziaływania z docelowymi strukturami organizmu takimi jak białka, receptory czy enzymy. Szczególnie interesujące pod kątem aktywności przeciwnowotworowej są związki oksazolo[5,4-*d*]pirymidyny ze względu na strukturalne podobieństwo do zasad purynowych. Stąd też projektowanie i synteza pochodnych oksazolo[5,4-*d*]pirymidyny powinna prowadzić do odkrywania potencjalnie cytotoksycznych cząsteczek, co wpisuje się w światowe trendy poszukiwania syntetycznych leków przeciwnowotworowych.

W cyklu publikacji będącym podstawą rozprawy, na który składają się dwa artykuły oryginalne (**P1** i **P4**) oraz dwie prace przeglądowe (**P2** i **P3**), wytyczono następujące cele badawcze: zaprojektowanie pochodnych 5-aminooksazolo-4-karbonitrylu oraz oksazolo[5,4-*d*]pirymidyny podstawionych korzystnym farmakologicznie pierścieniem isoksazolu (pochodne **S1**, **S2** i **S3** oraz związki **serii P1** i **serii P4**), ich synteza i ocena aktywności biologicznej oraz przegląd literatury prowadzący do określenia trendów w projektowaniu nowoczesnych terapii przeciwnowotworowych. W toku prowadzonych badań opracowano i zoptymalizowano metodę syntezy odpowiednio podstawionych oksazolo[5,4-*d*]pirymidyn, w wyniku której otrzymano szereg półproduktów oraz 27 nowych, nieopisanych w literaturze związków heterocyklicznych. Po określeniu jednorodności chemicznej wszystkich otrzymanych związków za pomocą metody TLC, ich struktura została potwierdzona metodami spektralnymi (w tym MS, NMR i IR), a w przypadku produktów finalnych także przy pomocy krystalografii rentgenowskiej. Warto zaznaczyć, że szczegółowe zbadanie reakcji zachodzących podczas syntezy omawianych pochodnych pozwoliło na określenie mechanizmu otrzymywania tej klasy połączeń heterocyklicznych. Z danych badań biologicznych pochodnych oksazolo[5,4-*d*]pirymidyny **serii P1** i **serii P4** wynika, że związki te wykazują działanie przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwzapalne i immunomodulujące. Należy podkreślić, że najlepszy profil immunoregulacyjny wykazywały związki **SCM5** i **SCM9** z **serii P1**, a najsilniejszą aktywność cytotoksyczną względem komórek HT29 zaprezentowały związki **SCM9** i **3g** (odpowiednio z **serii P1** i **serii P4**). W oparciu o uzyskane wyniki dokonano analizy zależności między strukturą a aktywnością badanych związków oraz określono, że prawdopodobny mechanizm ich działania jest związany z aktywnością proapoptotyczną. Ponadto badania teoretyczne z zakresu metod obliczeniowych oraz modelowania molekularnego pozwoliły dla badanych pochodnych zdefiniować VEGFR2 jako molekularny cel działania, określić sposób ich wiązania z miejscem aktywnym VEGFR2 oraz ocenić ich lekopodobieństwo. Na podstawie przeprowadzonego studium literaturowego obejmującego szczegółową analizę leków przeciwnowotworowych zarejestrowanych przez FDA

po 2010 roku stwierdzono, że pod kątem struktury w większości były to małowartościowe związki heterocykliczne zawierające atomy azotu i/lub tlenu, które charakteryzowały się głównie selektywnym sposobem działania.

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań pokazują, że podjęta tematyka badawcza ujęta w niniejszej pracy doktorskiej jest zasadna i stanowi wkład w rozwój chemii medycznej. Obiecujące wyniki skłaniają do kontynuowania badań nad projektowaniem nowych pochodnych oksazolo[5,4-*d*]pirymidyny z wykorzystaniem modelowania molekularnego oraz metod obliczeniowych mogących prowadzić do uzyskania kolejnych serii związków o lepszym spodziewanym działaniu biologicznym.

Summary

Small molecule heterocyclic compounds containing isoxazole ring, oxazole ring or oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine system show a broad spectrum of biological activity, which results from specific interactions with target organism structures such as proteins, receptors, or enzymes. Oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine compounds are of particular interest in terms of anticancer activity due to their structural similarity to purine bases. So, the design and synthesis of oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine derivatives should lead to the discovery of potentially cytotoxic molecules, which is in line with the global trends of research on the development of synthetic anticancer drugs.

In the series of publications included in my dissertation, which consists of two original articles (**P1** and **P4**) and two reviews (**P2** and **P3**), the chosen research goals were the following: designing 5-aminooxazole-4-carbonitrile and oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine derivatives substituted with a favorably pharmacological isoxazole system (derivatives **S1**, **S2** and **S3**, and compounds of **series P1** and **series P4**), their synthesis and biological activity evaluation, and a literature review leading to determination of trends in the design of modern anticancer therapies. Within these studies, I developed and optimized the synthesis method of appropriately substituted oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines, due to which I obtained several intermediates and 27 new heterocyclic compounds. The chemical homogeneity of all obtained compounds was determined with TLC method. Analysis of data obtained with spectral methods (including MS, NMR and IR) and X-ray crystallography confirmed their structures. It is worth noting that a detailed study of the synthesis of derivatives under discussion allowed for determining the mechanism of reactions for obtaining this class of heterocyclic compounds. Biological studies data on oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine derivatives of **series P1** and **series P4** show that these compounds have anticancer, antiviral, anti-inflammatory and immunomodulatory effects. It is worth emphasizing that **SCM5** and **SCM9** (from **series P1**) showed the best immunoregulatory profile, and **SCM9** and **3g** (from **series P1** and **series P4**, respectively) showed the highest cytotoxic activity against HT29 cells. Based on the obtained results, it can be possible to conduct the structure-activity relationship analysis of the tested compounds, and the plausible mechanism of action was determined to be related to a pro-apoptotic effect. In addition, theoretical research using computational methods and molecular docking allowed the selection of the VEGFR2 receptor as a molecular target for the tested derivatives, then to determine their binding mode to the VEGFR2 active site and to assess their drug-likeness. On the basis of a literature study including a detailed analysis of anticancer drugs registered by FDA after 2010, it stated that, in terms of structure, these drugs are mainly low-molecular heterocyclic compounds containing nitrogen and (or) oxygen atoms, which feature a selective mechanism of action.

The results of the research carried out so far show that the undertaken research topic of my dissertation is justified and contributes to the development of medicinal chemistry. Promising results

encourage the continuation of research on the design of new oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine derivatives using molecular modeling and computational methods that may lead to obtaining further series of compounds with better expected biological activity.