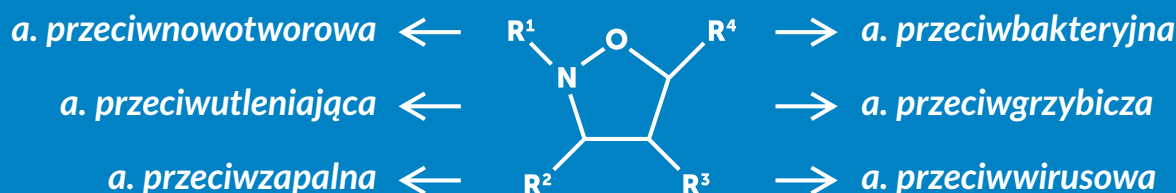





MAGDALENA ŁYSAKOWSKA
DOROTA G. PIOTROWSKA
IWONA E. GŁOWACKA

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA SFUNKCJONALIZOWANYCH IZOKSAZOLIDYN



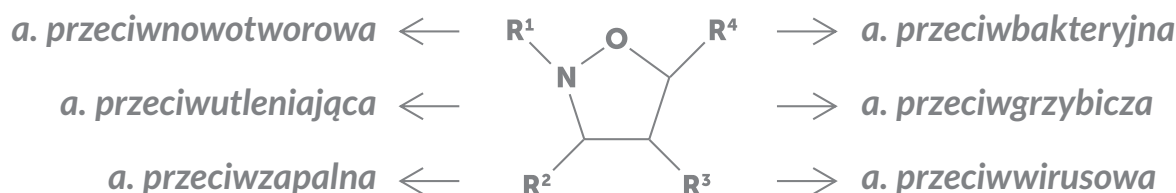
MAGDALENA ŁYSAKOWSKA* ,
DOROTA G. PIOTROWSKA ,
IWONA E. GŁOWACKA 

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA SFUNKCJONALIZOWANYCH IZOKSAZOLIDYN

BIOLOGICAL ACTIVITY OF FUNCTIONALIZED ISOXAZOLIDINES

Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

* magdalena.lysakowska@umed.lodz.pl



Seria monografii naukowych dotyczących zagadnień z zakresu dyscyplin nauk farmaceutycznych, nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Wydawnictwo recenzowane i punktowane na zasadach zgodnych z Rozporządzeniem MNiSW z dnia 22 lutego 2019 r. w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej (Dz.U. 2019 poz. 392 z późn. zm.; tekst jednolity: Dz.U. 2022 poz. 661).

RADA NAUKOWA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni – Redaktor naczelna
prof. dr hab. Monika Łukomska-Szymańska – Zastępca redaktor naczelnej
prof. dr hab. Iwona Cygankiewicz
dr hab. Małgorzata Pikala, prof. uczelni

REDAKTOR PROWADZĄCA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni

REDAKCJA JĘZYKOWA

Magdalena Kokosińska

KOREKTA

Magdalena Zagrobelna, Anna Sikorska

OPRACOWANIE GRAFICZNE

Tomasz Przybył

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA SFUNKCJONALIZOWANYCH IZOKSAZOLIDYN

Łódź 2023

WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI

<http://wydawnictwo.umed.pl/>

e-mail: editorial@reports.umed.pl

Unikatowy identyfikator Wydawnictwa: 60000

(Komunikat Ministra Edukacji i Nauki z dnia 22 lipca 2021 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe)

ISBN 978-83-67198-34-9

WYDANIE PIERWSZE



© 2023. Pewne prawa zastrzeżone na rzecz autorów. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.pl>).

Licencjobiorca: Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zezwala się na wykorzystanie treści monografii zgodnie z licencją – pod warunkiem zachowania niniejszej informacji licencyjnej oraz wskazania autorów jako właścicieli praw do tekstu.

Streszczenie: Izoksazolidyny stanowią niezwykle ważną grupę związków heterocyklicznych zarówno z punktu widzenia chemii medycznej, jak i chemii organicznej. Są one powszechnie wykorzystywane jako bloki budulcowe w syntezie licznych związków zarówno cyklicznych, m.in. β -laktamów, hydroksylaktamów, aminolaktonów, benzodiazepin czy oksazonów, jak i alifatycznych, np. nitronów czy też amino/nitroalkoholi. Z punktu widzenia chemii medycznej szerokie zainteresowanie tą grupą związków wynika głównie z ich różnorodnej aktywności biologicznej, m.in. przeciwgrzybiczej, przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej, przeciwnowotworowej, przeciwutleniającej i przeciwzapalnej. Otrzymano szereg izoksazolidynowych pochodnych nukleoz(t)ydów, w których fragment rybozy zastąpiono izoksazolidyną. Opisano także wiele steroidów, peptydomimetyków i peptydowych kwasów nukleinowych zawierających w swej strukturze pierścień izoksazolidyny. Ponadto fragment izoksazolidynowy występuje w strukturze wielu produktów naturalnych, m.in. alkaloidów wyizolowanych z różnych gatunków roślin, wodnych zwierząt bezkręgowych czy płazów. Spośród otrzymanych do tej pory podstawionych izoksazolidyn cykloseryna znalazła zastosowanie kliniczne w leczeniu pacjentów ze zdiagnozowaną gruźlicą wielolekooporną (MDR-TB). W niniejszej pracy opisano szczegółowo aktywność biologiczną związków zawierających w swej strukturze fragment izoksazolidyny.

Słowa kluczowe: izoksazolidyna, cykloseryna, aktywność biologiczna, 1,3-dipolarna cykloadycja, analogi nukleoz(t)ydów

Abstract: Isoxazolidines belong to the important group of heterocyclic compounds in both medicinal and organic chemistry. They are commonly applied as building blocks for the synthesis of numerous compounds, both cyclic, e.g. β -lactams, hydroxylactams, aminolactones, benzodiazepines, and oxazones as well as aliphatic ones, e.g. nitrones or amino/nitroalcohols. In medicinal chemistry wide interest of this group of compounds results mainly from their diverse biological activity, e.g. antifungal, antibacterial, antiviral, anticancer, antioxidant and anti-inflammatory. A number of isoxazolidine derivatives of nucleos(t)ides were obtained, in which the ribose moiety was replaced with isoxazolidine. Many steroids, peptidomimetics, and peptide nucleic acids having an isoxazolidine ring have also been described. Furthermore, the isoxazolidine ring occurs in the structure of many natural products, including alkaloids isolated from various species of plants, aquatic invertebrates, and amphibians. Among the substituted isoxazolidines obtained so far, cycloserine has been used in the clinical treatment of patients diagnosed with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). In this research work, the biological activity of various compounds containing an isoxazolidine moiety has been described.

Keywords: isoxazolidine, cycloserine, biological activity, 1,3-dipolar cycloaddition, nucleos(t)ite analogs

Wykaz skrótów

8305C – linia komórkowa anaplastycznego raka tarczycy
A-549 – linia komórkowa ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc
ABTS – 2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)
ADP – difosforan adenozyiny
AIDS – zespół nabytego niedoboru odporności
AFT – aktywator transkrypcji
AGEs – końcowe produkty zaawansowanej glikacji
Fas – transmembranowa glikoproteina typu I
AMV – wirus białaczki ptasiej
AZT – azydotymidyna
CEM – linia komórkowa ludzkiej białaczki z limfocytów T
CMV – wirus cytomegalii
COLO-5 – linia komórkowa nowotworu okrężnicy
COX-1 – cyklooksygenaza 1
COX-2 – cyklooksygenaza 2
DNA – kwas deoksyrybonukleinowy
DPPH – 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl
DU-145 – linia komórkowa raka prostaty
EC₅₀ – stężenie badanej substancji zmniejszające replikację wirusa w komórkach o 50%
ee – nadmiar enancjomeryczny
FRAP – metoda oceny potencjału przeciwutleniającego oparta o redukcję kompleksu żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny z jonami Fe³⁺
FTC-133 – linia komórkowa pęcherzykowego raka tarczycy
GI₅₀ – stężenie badanej substancji powodujące zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych w 50%
GP – receptor glikoproteinowy
HEL – linia komórkowa ludzkich embrionalnych fibroblastów płuc
HeLa – linia komórkowa raka szyjki macicy
HepG2 – linia komórkowa ludzkiego nowotworu wątroby
HIV – ludzki wirus niedoboru odporności
HL-6 – linia komórkowa ludzkiej białaczki promielocytarnej
HSV-1 – wirus opryszczki pospolitej typu 1
HT-29 – linia komórkowa raka jelita grubego
HTLV-1 – wirus T-limfotropowy typu 1
IC₅₀ – stężenie badanej substancji hamujące aktywność komórek nowotworowych w 50%; stężenie badanej substancji powodujące spadek początkowego stężenia rodnika o 50%; stężenie badanej substancji hamujące aktywność enzymu w 50%
IMR-32 – linia komórkowa neuroblastomy
K562 – linia komórkowa ludzkiej przewlekłej białaczki szpikowej
KB – linia komórkowa raka płaskonabłonkowego
KB/VCR – linia komórkowa raka płaskonabłonkowego opornego na wazopresynę
L1210 – linia komórkowa mysiej białaczki
MCF-7 – linia komórkowa raka piersi
MIC – minimalne stężenie hamujące
MOLT-3 – linia ludzkich komórek T-limfoblastycznych
NLPZ – niestereoidowe leki przeciwzapalne
MRSA – gronkowiec złocisty oporny na metycylinę
NMDA – receptor *N*-metylo-D-asparginowy
OVCAR – linia komórkowa nowotworu jajnika

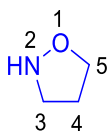
PC-3 – linia komórkowa nowotworu prostaty
PLA₂ – fosfolipaza A₂
PTSD – zespół stresu pourazowego
Raji – linia komórkowa chłoniaka
RFT – reaktywne formy tlenu
SH-SY5Y – linia komórkowa neuroblastomy
TBARS – kwas tiobarbiturowy
THP-1 – linia komórkowa ostrej białaczki monocytarnej
TPTZ – kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-triazyny
TXA₂ – tromboksan A₂
U-937 – linia komórkowa ostrej białaczki monoblastycznej
VZV – wirus ospy wietrznej i półpaśca
VLA-4 – późny antygen
ZOI – strefa zahamowania wzrostu

Spis treści

1. Wprowadzenie.....	9
2. Leki zawierające w swej strukturze pierścień izoksazolidyny	12
3. Izoksazolidyny o aktywności przeciwgrzybiczej	13
4. Izoksazolidyny o aktywności przeciwbakteryjnej	19
5. Izoksazolidyny o aktywności przeciwwirusowej.....	27
6. Izoksazolidyny o aktywności przeciwnowotworowej.....	32
7. Izoksazolidyny o aktywności przeciwutleniającej.....	44
8. Izoksazolidyny o aktywności przeciwzapalnej	45
9. Izoksazolidyny działające na układ krwionośny.....	46
10. Izoksazolidyny o innym działaniu biologicznym	47
11. Podsumowanie	48
Bibliografia.....	49

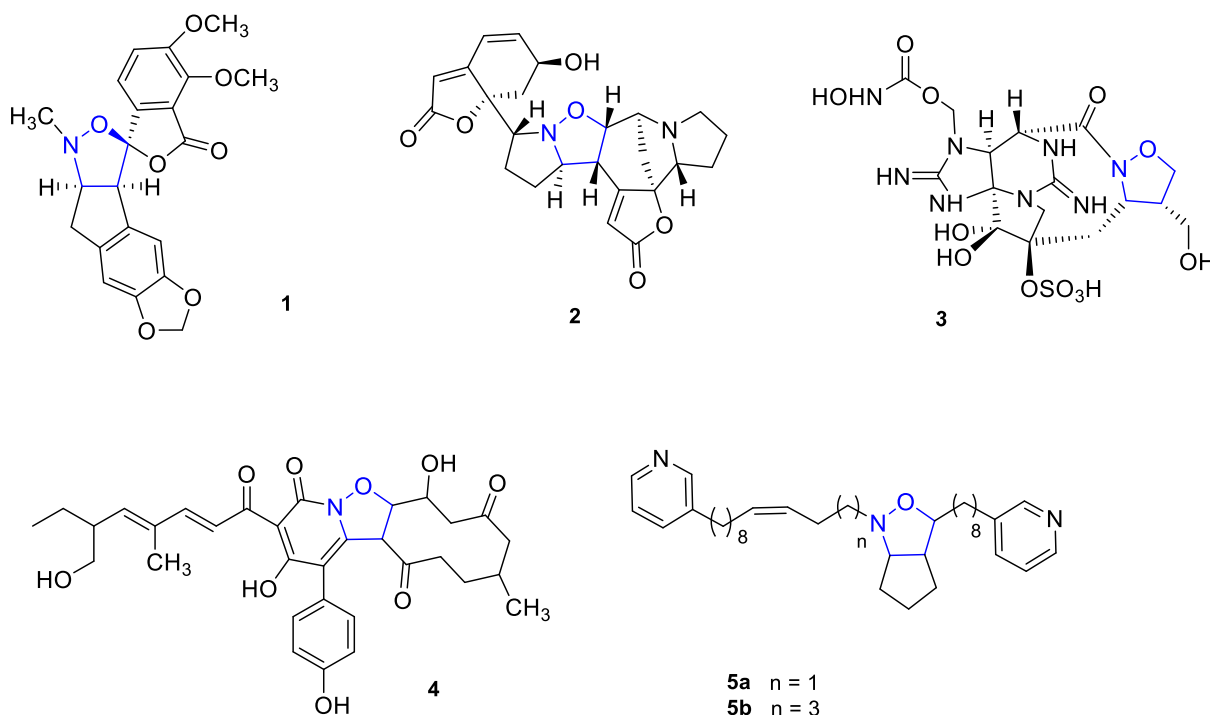
1. Wprowadzenie

Izoksazolidyny (Ryc. 1) z punktu widzenia chemii medycznej stanowią ważną grupę związków heterocyklicznych. Wciąż rosnące zainteresowanie pochodnymi izoksazolidyn wynika z ich różnorodnej aktywności biologicznej, m.in. przeciwnowotworowej, przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej, przeciwvirusowej czy też przeciwwzapalnej (Berthet i in., 2016).



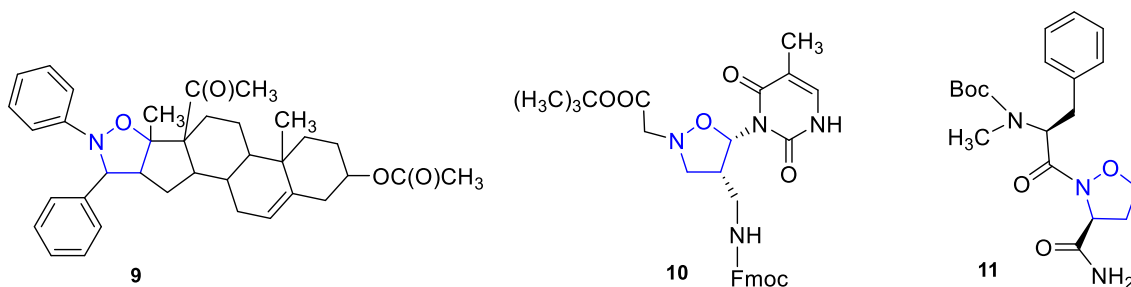
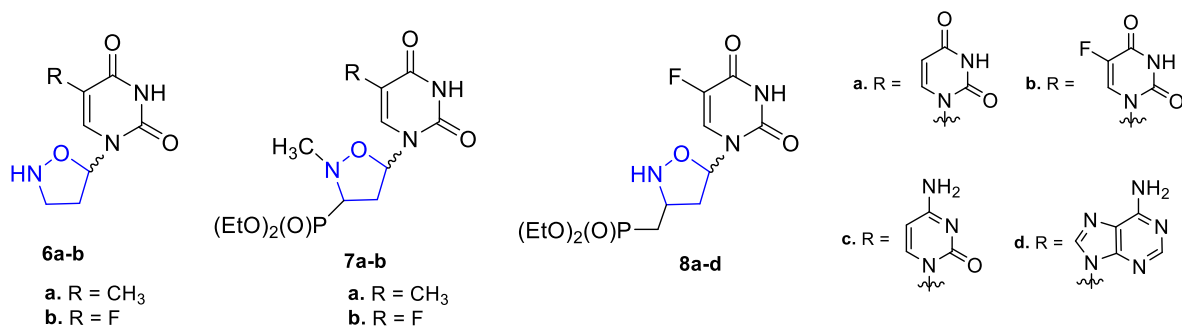
Rycina 1. Struktura izoksazolidyny.

Ponadto pierścień izoksazolidynowy występuje w strukturze wielu produktów naturalnych, m.in. alkaloidów **1**, **2**, **3**, **4**, **5a-b** wyizolowanych z różnych gatunków roślin, wodnych zwierząt bezkręgowych czy płazów (Ryc. 2) (Berthet i in., 2016).



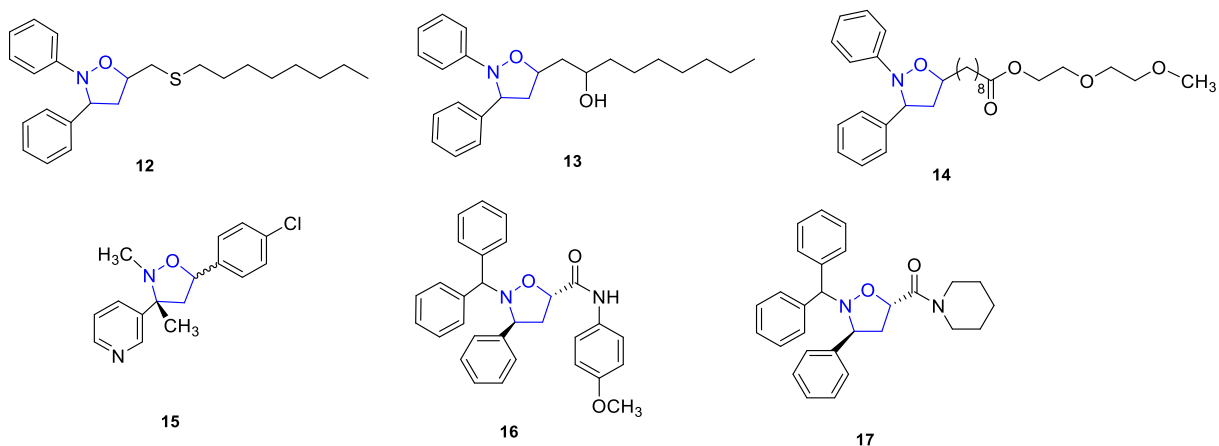
Rycina 2. Struktury alkaloidów zawierających pierścień izoksazolidyny.

Izoksazolidyny wykazują także zdolność do naśladowania związków naturalnych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania żywych organizmów. Pierścień izoksazolidyny może zastąpić rybozę, co prowadzi do otrzymania analogów nukleozydów, np. związków **6a-b** (Leggio i in., 1996; Leggio i in., 1997), a także nukleotydów, np. związków **7a-b** oraz **8a-d** (Piperno i in., 2010) o aktywności m.in. przeciwvirusowej czy też przeciwnowotworowej. Opisano także szereg steroidów, m.in. pochodną **9** (Culbertson i in., 1964), peptydomimetyków, np. związek **10** (Vasella i in., 1983) oraz peptydowych kwasów nukleinowych, w tym pochodną **11** (Merino i in., 2007), zawierających w swojej strukturze ugrupowanie izoksazolidynowe (Ryc. 3).



Rycina 3. Struktury analogów nukleoz(t)ydów, steroli, peptydomimetyków zawierających w swej strukturze pierścień izoksazolidyny.

Związki zawierające pierścień izoksazolidyny znalazły zastosowanie nie tylko w medycynie, lecz także w innych dziedzinach życia. Pochodne **12-14** wykazują działanie antykorozyjne, mogą być więc stosowane w przemyśle metalurgicznym (Yildirim i Cetin, 2008), natomiast związki **15-17** są potencjalnymi środkami grzybobójczymi stosowanymi w uprawie roślin (Ryc. 4) (Reddy i in., 2012; Żelechowski i in., 2015).



Rycina 4. Struktury izoksazolidyn o działaniu antykorozyjnym i grzybobójczym.

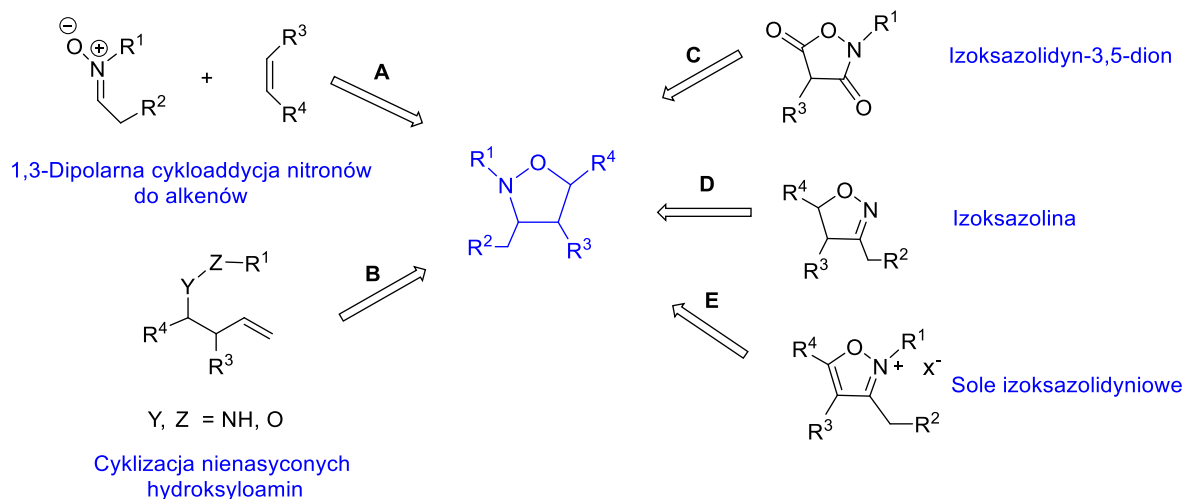
Opracowano wiele metod syntezy izoksazolidyn (Schemat 1). Najczęściej wykorzystywaną jest reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji nitronów do alkenów opisana po raz pierwszy w 1967 roku przez Ochai (Schemat 1, metoda A) (Ochai i in., 1967). Na przestrzeni ostatnich dziesięciu lat modyfikowano warunki prowadzenia reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji umożliwiające otrzymanie izoksazolidyn z wysoką wydajnością. Zastosowano m.in. promieniowanie mikrofalowe (Enderlini in., 2005) zamiast tradycyjnego ogrzewania, a także ciecze jonowe, które umożliwiły prowadzenie reakcji zgodnie z zasadami tzw. zielonej chemii (Chakraborty i Luitel, 2013).

Inną metodą tworzenia pierścienia izoksazolidynowego jest wewnątrzcząsteczkowa cyklizacja nienasyconych hydroksyloamin umożliwiająca otrzymanie adduktów, których nie można uzyskać

w reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji (Schemat 1, metoda B). W zależności od zastosowanych warunków rozróżnić można m.in. cyklizację: elektrofilową, rodnikową, katalizowaną palladem czy też addycję Michaela (Lombardo i in., 2005).

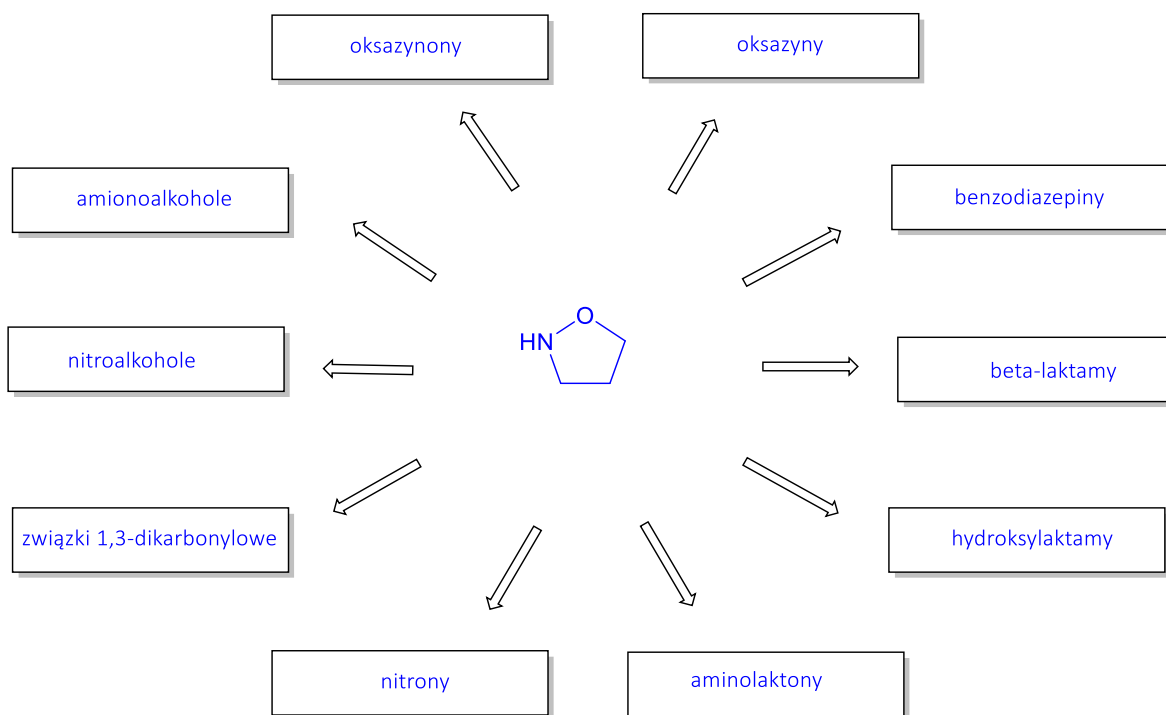
Pierścień izoksazolidyny można otrzymać także w wyniku reakcji uwodornienia, utlenienia czy też redukcji przy wykorzystaniu jako substratów izoksazolidyn-3,5-dion (Schemat 1, metoda C) (Merino i in., 2000), izoksazolinę (Schemat 1, metoda D) (Fischer i in., 2013) oraz czwartorzędowe sole izoksazolidyniowe (Schemat 1, metoda E) (Ikeda i Kuwano, 2016).

Inne metody syntezy wykorzystujące jako substrat:



Schemat 1. Metody syntezy izoksazolidyn.

Izoksazolidyny stanowią ważną grupę związków heterocyklicznych z punktu widzenia także chemii organicznej. Rosnące zainteresowanie tą grupą związków wynika z możliwości wykorzystania izoksazolidyn jako produktów pośrednich w syntezie wielu związków zarówno cyklicznych, jak i alifatycznych (Schemat 2). W wyniku rozerwania wiązania N–O można otrzymać związki 1,3-dikarbonylowe (Casuscelli i in., 1995), nitrony (Ali i Wazeer, 1992), nitroalkohole (Roger i in., 2004), aminoalkohole (Aouadi i in., 2012), a także związki zawierające inne pierścienie heterocykliczne, m.in. aminolaktony (Inouye i in., 1979), β-laktamy (Padwa i in., 1981), hydroksylaktamy (Coldham i in., 2011), oksazyny i oksazynony (Khumtaveeporn i Alper, 1995) czy też benzodiazepiny (Pagar i Liu, 2015). Izoksazolidyny znalazły zastosowanie także jako organiczne katalizatory stosowane np. w reakcji cykloaddycji (Ahrendt i in., 2000).

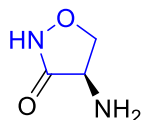


Schemat 2. Wykorzystanie izoksazolidyn w syntezie organicznej.

Ukazało się wiele prac przeglądowych dotyczących syntezy izoksazolidyn oraz przykładów ich zastosowania i działania biologicznego. W niniejszej monografii została szczegółowo opisana aktywność biologiczna związków zawierających w swej budowie pierścień izoksazolidyny.

2. Leki zawierające w swej strukturze pierścień izoksazolidyny

Od lat 50. XX wieku lekiem drugiego rzutu stosowanym w leczeniu gruźlicy wielolekoopornej (MDR-TB) jest D-cykloseryna – 4-aminoizoksazolidy-3-on **18** (Ryc. 5).



18

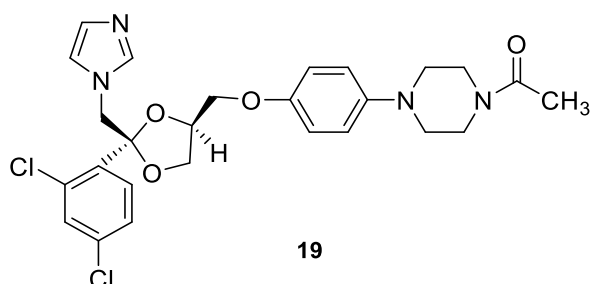
Rycina 5. Struktura D-cykloseryny **18**.

W 1954 r. Harned, Hidy i La Baw wykryli D-cykloserynę w *Streptomyces orchidaceus*. W tym samym czasie Harris Ruger, Reagan Wolf oraz Wallich Woodruff znaleźli tę samą substancję w hodowlach *Streptomyces garyphalus* i *Streptomyces lavandulae* (Chruściel, 1958). Działanie bakteriostatyczne D-cykloseryny **18** polega na zahamowaniu funkcjonowania enzymów: racemazy alaninowej i syntetazy D-alanyl-D-alaniny, zaburzającym syntezę peptydoglikanu – składnika ściany komórkowej prątków gruźlicy. D-Cykloseryna **18** dobrze wchłania się z przewodu pokarmowego i osiąga stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym bliskie stężeniu w surowicy (Zakrzewska-Rowińska, 2000). Późniejsze badania dotyczące jej działania biologicznego wykazały, że D-cykloseryna **18** jest agonistą jednego z receptorów jonotropowych, dokładnie: receptora NMDA (*N*-metylo-D-asparginowy), który bierze udział w procesie neurotransmisji i rozwoju synaps (Deepak i in., 1995). Udowodniono, że D-cykloseryna **18**, zatwierdzona początkowo przez Food and Drug Administration do leczenia gruźlicy, może być stosowana również w leczeniu zaburzeń neuropsychiatrycznych oraz

chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Alzheimera. Badania przedkliniczne i kliniczne przeprowadzone w latach 1998–2007 wykazały, że D-cykloseryna **18** – na skutek pobudzenia receptora NMDA – wzmacnia wygaszanie reakcji emocjonalnych w zespole stresu pourazowego (PTSD), ale nie wykazuje selektywnego działania przeciwlękowego (Norberg i in., 2008).

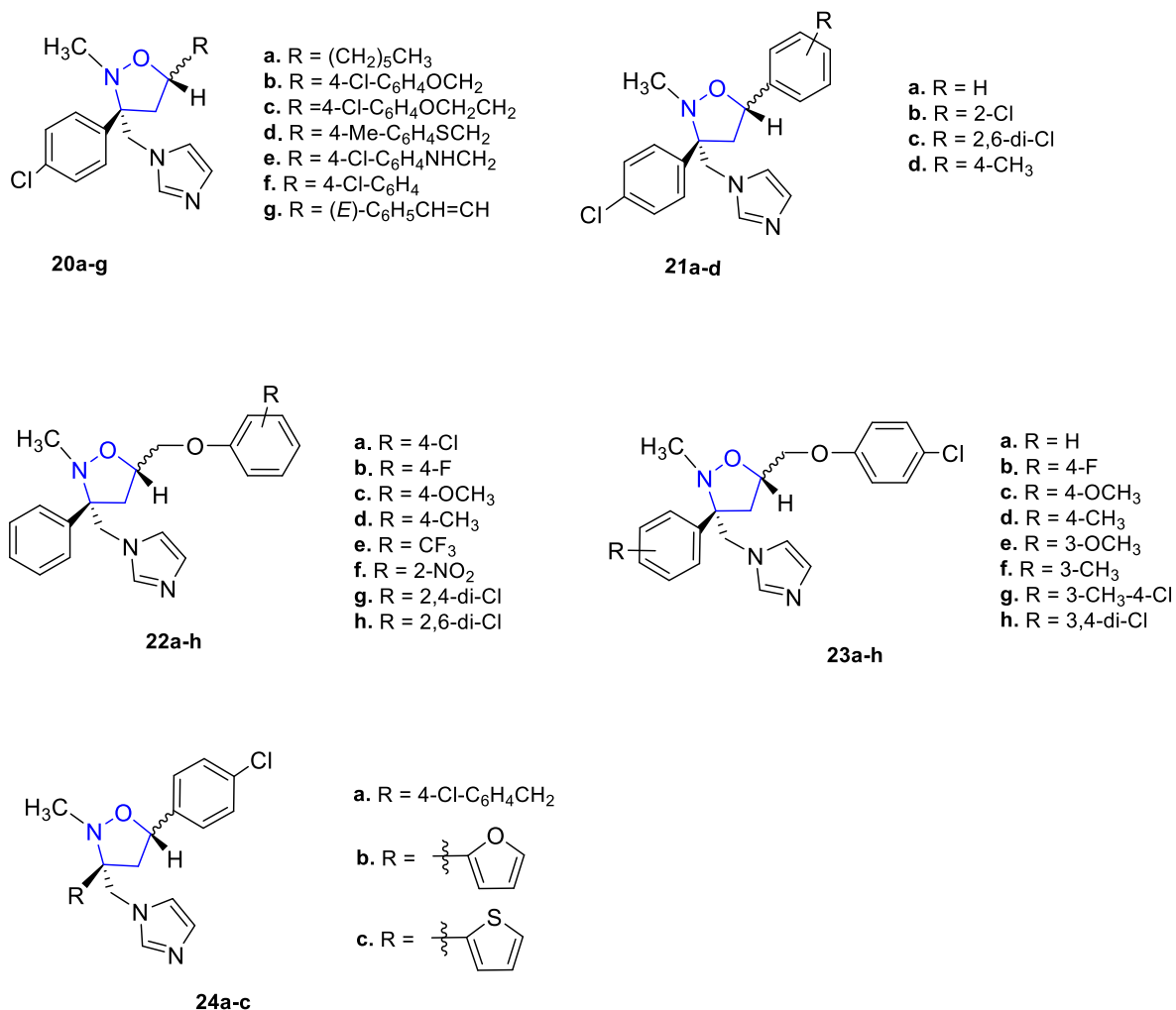
3. Izoksazolidyny o aktywności przeciwgrzybiczej

Do lat 40. XX wieku zarejestrowano niewiele leków wykorzystywanych do zwalczania ogólnoustrojowych infekcji grzybiczych. Odkrycie polienowych leków przeciwgrzybiczych przyczyniło się do postępu w mykologii medycznej (Maertens, 2004). Mechanizm działania leków polienowych polega na tworzeniu kompleksów ze sterolami obecnymi w błonie komórkowej grzyba, które kumulują się w niej i zwiększają jej przepuszczalność, co prowadzi do obumarcia komórki grzyba (Polak, 1978). Pomimo iż odkryta amfoterycyna B szybko stała się kluczowym lekiem wykorzystywanym w terapii poważnych infekcji grzybiczych, jej stosowanie wiązało się z występowaniem wielu skutków ubocznych, w tym nefrotoksyczności. Dalsze poszukiwania nowych, mniej toksycznych leków przeciwgrzybiczych doprowadziły do odkrycia azoli, które obecnie są uważane za najskuteczniejsze syntetyczne leki przeciwgrzybicze (Maertens, 2004). Ich mechanizm działania jest oparty również na zaburzeniu syntezy błony komórkowej grzyba. Azole działają poprzez hamowanie 14- α -demetylasy lanosterolu, co prowadzi do zmniejszenia zawartości ergosterolu w błonie komórkowej grzyba, a w efekcie skutkuje zahamowaniem wzrostu jego komórek, które w konsekwencji wolniej się namnażają i stają się bardziej podatne na fagocytozę (Cannon i in., 2009). Przedstawicielem tej grupy związków jest ketokonazol **19** (Ryc. 6), który został wprowadzony do leczenia infekcji grzybiczych w latach 80. ubiegłego wieku i przez prawie dekadę uznawany był za lek pierwszego wyboru. Jednak ze względu na rosnącą lekooporność infekcji grzybiczych nadal poszukuje się nowych związków o działaniu grzybobójczym (Choi i in., 2019).



Rycina 6. Struktura ketokonazolu **19**.

W 1988 roku opublikowano pierwszą pracę, w której opisano syntezę i aktywność przeciwgrzybiczą izoksazolidyn *cis*-**20-24** (Ryc. 7) jako pochodnych ketokonazolu **19** (Ryc. 6) (Mullen i in., 1988b).



Rycina 7. Struktura izoksazolidyn **20-24**.

Badania biologiczne *in vitro* przeprowadzono na wybranych gatunkach grzybów, w tym na dermatoficie: *Trichophyton rubrum*, grzybie drożdżopodobnym: *Candida albicans* oraz grzybie pleśniowym: *Aspergillus fumigatus*. Wszystkie izoksazolidyny *cis*-**20-24** wykazywały aktywność przeciwgrzybiczą wobec *Candida albicans* wyższą lub porównywalną (MIC = 2–7 µg/ml) do działania leku referencyjnego – ketokonazolu (MIC = 7–20 µg/ml). Aktywność grzybobójcza izoksazolidyn *cis*-**20-24** (MIC = 0,2–2 µg/ml) w stosunku do dermatofitu *Trichophyton rubrum* była porównywalna lub nieco słabsza niż aktywność wzorca (MIC = 0,2–0,7 µg/ml). Natomiast wobec *Aspergillus fumigatus* najlepsze działanie przeciwgrzybicze na poziomie leku referencyjnego wykazywały izomery *cis* związków: **20d**, **20f**, **21b-c**, **23b** oraz **24a-c** (MIC = 2–7 µg/ml) (Mullen i in., 1988b).

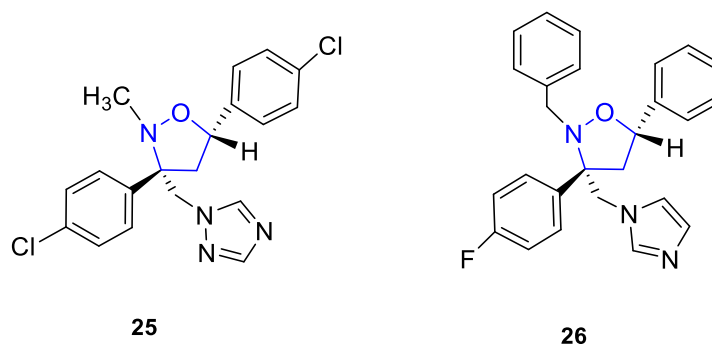
Dla wybranych izoksazolidyn **20-24** (Ryc. 7) dodatkowo oznaczono aktywność przeciwgrzybiczą *in vitro* w stosunku do innych gatunków grzybów: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum audouinii*, *Epidemophyton floccosum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Microsporum canism* oraz *Candida stellatoidea* (Tabela 1) (Mullen i in., 1988b).

Tabela 1. Aktywność przeciwgrzybicza izoksazolidyn *cis-20f*, *cis-21a-b*, *trans-21c-d*.

Numer związku	MIC [$\mu\text{g/ml}$]						
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton tonsurans</i>	<i>Trichophyton schoenleinii</i>	<i>Microsporium canism</i>	<i>Microsporium audouinii</i>	<i>Epidemophyton floccosum</i>	<i>Candida stellatoidea</i>
<i>cis-20f</i>	< 0,2	< 0,2	0,7	2,0	2,0	< 0,2	2,0
<i>cis-21a</i>	< 0,2	0,7	2,0	2,0	7,0	0,7	7,0
<i>cis-21b</i>	< 0,2	< 0,2	0,7	2,0	2,0	< 0,2	0,7
<i>cis-21</i>	7,0	0,7	7,0	2,0	20,0	0,7	7,0
<i>cis-21d</i>	0,7	0,7	2,0	7,0	7,0	0,7	0,7
<i>trans-21c</i>	7,0	0,7	7,0	2,0	20,0	0,7	7,0
<i>trans-21d</i>	2,0	2,0	2,0	7,0	20,0	2,0	0,7
ketokonazol	2,0	< 0,2	< 0,7	2,0	7,0	< 0,2	20,0

Wszystkie przebadane izoksazolidyny wykazywały aktywność grzybobójczą względem gatunku *Candida stellatoidea* wyższą od działania leku referencyjnego – ketokonazolu. Najwyższe działanie przeciwgrzybicze w stosunku do *Trichophyton mentagrophytes*, ponad 10-krotnie wyższe od aktywności wzorca, zaobserwowano dla związków *cis-20f* oraz *cis-21a-b*. Pozostałe izoksazolidyny wykazywały aktywność przeciwgrzybiczą porównywalną lub słabszą z działaniem ketokonazolu (Ryc. 7, Tabela 1) (Mullen i in., 1988a).

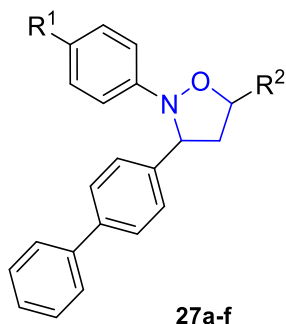
Jako kontynuację projektu zsyntezowano izoksazolidyny **25** i **26** (Ryc. 8) będące analogami aktywnych przeciwgrzybiczo izoksazolidyn **20-24** (Ryc. 7) (Mullen i in., 1988b; Palmer i in., 1989).



Rycina 8. Struktura izoksazolidyn **25-26**.

Aktywność przeciwgrzybicza związku **25** wobec *Trichophyton rubrum* była porównywalna z aktywnością ketokonazolu (MIC = 0,7 $\mu\text{g/ml}$). Natomiast izoksazolidyny **25** i **26** wykazywały działanie grzybobójcze wobec *Candida albicans* (MIC = 7 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$ odpowiednio dla związku **26** oraz **25**), również porównywalne z aktywnością wzorca (Mullen i in., 1988b; Palmer i in., 1989).

Kolejną grupą związków wykazujących działanie przeciwgrzybicze są *N*-fenyloizoksazolidyny **27a-f** (Ryc. 9) (Kumar i in., 2003a).



- a. R¹ = H, R² = COOC₆H₅
- b. R¹ = H, R² = CH₂OH
- c. R¹ = OCH₃, R² = C₆H₅
- d. R¹ = OCH₃, R² = CH₂OH
- e. R¹ = F, R² = C₆H₅
- f. R¹ = F, R² = CH₂OH

Rycina 9. Struktura izoksazolidyn **27a-f**.

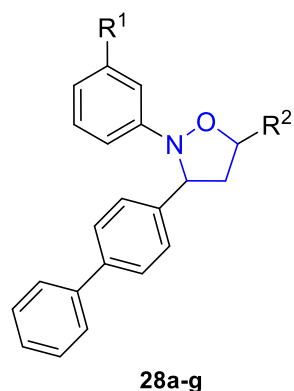
Otrzymane związki **27a-f** przebadano wobec trzech gatunków grzybów: *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Botrydiplochia theobromae* (Ryc. 9, Tabela 2) (Kumar i in., 2003a).

Tabela 2. Aktywność przeciwgrzybicza izoksazolidyn **27a-f**.

Numer związku	MIC [mM]		
	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Botrydiplochia theobromae</i>
27a	7,0	5,0	9,5
27b	12,0	3,5	12,0
27c	2,5	5,0	5,0
27d	3,0	3,0	5,5
27e	2,5	5,5	5,0
27f	3,0	3,0	6,0
nystatyna	3,0	5,0	2,5


Wykazano wysoką aktywność przeciwgrzybiczą pochodnych **27a-f** względem *Aspergillus flavus* oraz *Fusarium moniliforme*. Związki **27c** oraz **27e** wykazywały działanie grzybobójcze wobec *Aspergillus flavus* wyższe niż nystatyna wykorzystana jako lek referencyjny, natomiast pochodne **27d** oraz **27f** były aktywne na poziomie wzorca. Izoksazolidyny **27b**, **27d** i **27f** wykazywały aktywność grzybobójczą wobec *Fusarium moniliforme* wyższą niż lek referencyjny. W przypadku pochodnych **27a** i **27c** aktywność w stosunku do *Fusarium moniliforme* była porównywalna z działaniem nystatyny. Przeprowadzone badania wykazały najłabsze działanie przeciwgrzybicze pochodnych **27a-f** wobec *Botrydiplochia theobromae* (Ryc. 9, Tabela 2) (Kumar i in., 2003a).

W nurcie badań zsyntezowano dodatkowo izoksazolidyny **28a-g** (Ryc. 10) jako analogii związków **27a-f** (Ryc. 9) (Kumar i in., 2003b).



28a-g


a. $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{C}_6\text{H}_5$

b. $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 =$ 

c. $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{COOCH}_3$

d. $R^1 = \text{Cl}$, $R^2 = \text{COOC}_2\text{H}_5$

e. $R^1 = \text{Cl}$, $R^2 = \text{COOC}_6\text{H}_5$

f. $R^1 = \text{Cl}$, $R^2 =$ 

g. $R^1 = \text{Cl}$, $R^2 = \text{COOCH}_3$

Rycina 10. Struktura izoksazolidyn **28a-g**.

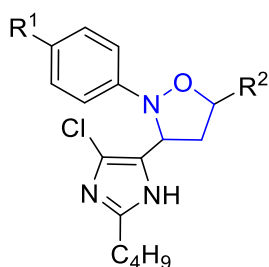
Przeprowadzone badania potwierdziły aktywność przeciwgrzybiczą otrzymanych izoksazolidyn **28a-g** w stosunku do trzech gatunków grzybów: *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* oraz *Botrydiodia theobromae* (Ryc. 10, Tabela 3) (Kumar i in., 2003b).

Tabela 3. Aktywność przeciwgrzybicza izoksazolidyn **28a-g**.

Numer związku	MIC [$\mu\text{g/ml}$]		
	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Botrydiodia theobromae</i>
28a	40,0	50,0	20,0
28b	30,0	30,0	20,0
28c	20,0	20,0	20,0
28d	40,0	40,0	40,0
28e	30,0	30,0	20,0
28f	30,0	30,0	20,0
28g	20,0	20,0	20,0
nystatyna	12,0	14,0	21,0

Związki **28a-c** oraz **28e-g** wykazywały działanie grzybobójcze porównywalne z działaniem leku referencyjnego nystatyny wobec *Botrydiodia theobromae*. Aktywność izoksazolidyn **28a-g** wobec *Aspergillus flavus* oraz *Fusarium moniliforme* była natomiast słabsza w porównaniu z działaniem wzorca. Tylko pochodne **28c** i **28g** wykazywały aktywność przeciwgrzybiczą wobec trzech badanych gatunków grzybów: *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* oraz *Botrydiodia theobromae* w stężeniu 20 $\mu\text{g/ml}$ (Ryc. 10, Tabela 3) (Kumar i in., 2003b). Pochodne **28a-c** oraz **28e-g** wykazywały zatem słabszą aktywność przeciwgrzybiczą w porównaniu ze swoimi analogami – związkami **27a-f**.

Opisano także syntezę i aktywność przeciwgrzybiczą 3-imidazoiloizoksazolidyn **29a-e** (Ryc. 11) (Sadashiva i in., 2004).



29a-e

a. $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOCH}_3$

b. $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOC}_6\text{H}_5$

c. $R^1 = \text{Cl}$, $R^2 = \text{COOCH}_3$

d. $R^1 = \text{Cl}$, $R^2 = \text{COOC}_2\text{H}_5$

e. $R^1 = \text{Cl}$, $R^2 = \text{COOC}_6\text{H}_5$

Rycina 11. Struktura izoksazolidyn **29a-e**.

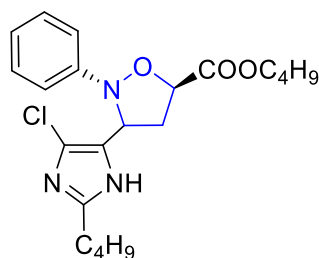
Związki **29a-e** poddano badaniom *in vitro* wobec trzech patogenów: *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus niger* oraz *Cephalosporium acremonium* (Ryc. 11, Tabela 4) (Sadashiva i in., 2004).

Tabela 4. Aktywność przeciwgrzybicza izoksazolidyn **29a-e**.

Numer związku	MIC [$\mu\text{g/ml}$]		
	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Cephalosporium acremonium</i>
29a	17 \pm 1	15 \pm 0,3	23 \pm 1,3
29b	85 \pm 1,3	27 \pm 0,9	95 \pm 2,5
29c	13 \pm 0,7	15 \pm 1,1	17 \pm 0,5
29d	95 \pm 1,4	31 \pm 1,2	127 \pm 3,0
29e	85 \pm 3,0	76 \pm 1,7	31 \pm 2,1
nystatyna	35,0	32,0	39,0

Pochodne **29a** oraz **29c** w stosunku do *Fusarium moniliforme* wykazywały 2-krotnie wyższą aktywność przeciwgrzybiczą niż nystatyna użyta jako lek referencyjny. Ponadto związki te wobec *Cephalosporium acremonium* wykazywały aktywność wyższą od wzorca. Równie wysokie działanie grzybobójcze wobec tego gatunku grzyba wykazywał związek **29e**. Selektywną aktywność przeciwgrzybiczą względem *Aspergillus niger*, porównywalną z aktywnością nystatyny, zaobserwowano natomiast dla izoksazolidyn **29b** oraz **29d** (Ryc. 11, Tabela 4) (Sadashiva i in., 2004).

Z uwagi na bardzo wysoką aktywność przeciwgrzybiczą związków **29a-e** postanowiono zbadać wpływ czystości enancjomerycznej na działanie przeciwgrzybicze. W tym celu otrzymano pochodną **29f** (Ryc. 12) z różną czystością enancjomeryczną (ee >96%, ee >69%) (Sadashiva i in., 2005a).

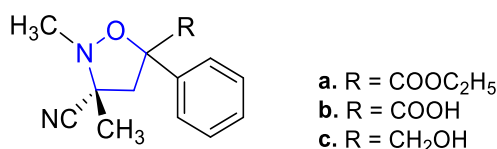


29f

Rycina 12. Struktura izoksazolidyny **29f**.

Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono, że izoksazolidyna **29f** (ee >96%) wykazuje wyższą aktywność przeciwgrzybiczą wobec zbadanych trzech gatunków grzybów: *Cephalosporium acremonium*, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus niger* (MIC = 11–14 $\mu\text{g/ml}$) w porównaniu ze związkiem **29f** (ee >69%) otrzymanym z niższym nadmiarem enancjomerycznym (MIC = 28–36 $\mu\text{g/ml}$). Aktywność grzybobójcza izoksazolidyny **29f** (ee >96%) była porównywalna z działaniem leku referencyjnego – nystatyny (Sadashiva i in., 2005a).

Podstawione 5-fenylizoksazolidyny **30a-c** (Ryc. 13) stanowią kolejną grupę aktywnych przeciwgrzybiczo izoksazolidyn (Zadrozna i in., 2005).

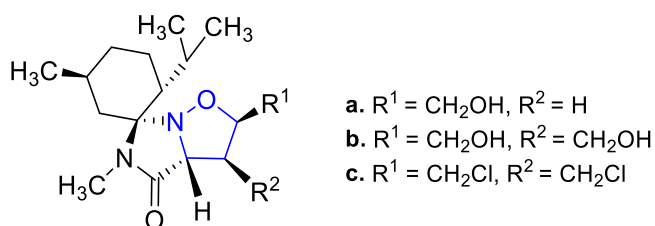


30a-c

Rycina 13. Struktura izoksazolidyn **30a-c**.

Z przeprowadzonych badań *in vitro* jednoznacznie wynika, że związki **30a-c** wykazują aktywność przeciwgrzybiczą wobec *Candida albicans*. W serii pochodnych **30a-c** najwyższą aktywność wykazywał związek **30a**. Zmierzona średnica strefy zahamowania wzrostu (ZOI) wynosiła 13 mm. Nieco słabsze działanie grzybobójcze zaobserwowano dla izoksazolidyn **30a** oraz **30b** (ZOI = 12 mm, 10 mm odpowiednio dla związku **30b** oraz **30a**). Aktywność izoksazolidyn **30a-c** była niższa od aktywności mikonazolu (ZOI = 23 mm) użytego w badaniu jako związek referencyjny (Zadrożna i in., 2005).

Enancjomerycznie czyste bicykliczne izoksazolidyny **31a-c** (Ryc. 14) to pochodne wykazujące aktywność przeciwgrzybiczą. Otrzymane na drodze 1,3-dipolarnej cykloaddycji związku **31a-c** poddano ocenie aktywności przeciwgrzybiczej wobec czterech gatunków grzybów drożdżopodobnych: *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* (Mosbah i in., 2019).



31a-c

Rycina 14. Struktura izoksazolidyn **31a-c**.

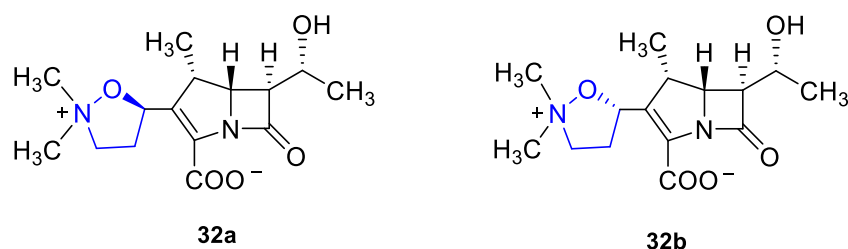
Związki **31a-c** najwyższą aktywność przeciwgrzybiczą wykazywały wobec *Candida tropicalis*. Wartość MIC w każdym przypadku wynosiła 0,25 mg/ml i była niższa od wartości wyznaczonej dla amfoterycyny B (MIC = 0,39 mg/ml). Dodatkowo wobec drożdżaka *Candida parapsilosis* pochodna **31b** (MIC = 0,125 mg/ml) wykazywała także wyższą aktywność przeciwgrzybiczą od wzorca (MIC = 0,195 mg/ml). Natomiast wobec szczepów *Candida albicans* oraz *Candida krusei* aktywność przeciwgrzybicza związków **31a-c** była słabsza niż amfoterycyny B (Mosbah i in., 2019).

4. Izoksazolidyny o aktywności przeciwbakteryjnej

Walka z chorobami bakteryjnymi to zjawisko trwające od setek lat. Odkrycie przez Alexandra Fleminga pod koniec lat 20. XX wieku pierwszego antybiotyku – penicyliny początkowo napawało optymizmem z racji możliwości kontrolowania zakażeń bakteryjnych oraz braku toksycznego działania antybiotyku na organizm człowieka (Fleming, 1929). Jednakże z biegiem lat nadużywanie antybiotyków, szczególnie w lecznictwie pozaszpitalnym, doprowadziło do rozwoju szeregu szczepów bakterii opornych na najczęściej podawane leki (Levy i Marshall, 2004). Pomimo dobrze poznanych mechanizmów działania leków przeciwbakteryjnych, do których możemy zaliczyć hamowanie metabolizmu komórkowego oraz syntezy ściany komórkowej bakterii, a także oddziaływanie z błoną cytoplazmatyczną komórek bakteryjnych czy też zakłócenie syntezy białka bakteryjnego, trudno opanować nieustannie rosnącą

lekooporność (Graham, 2017). Dlatego nadal poszukuje się nowych związków, w tym także izoksazolidyn o potencjalnym działaniu przeciwbakteryjnym.

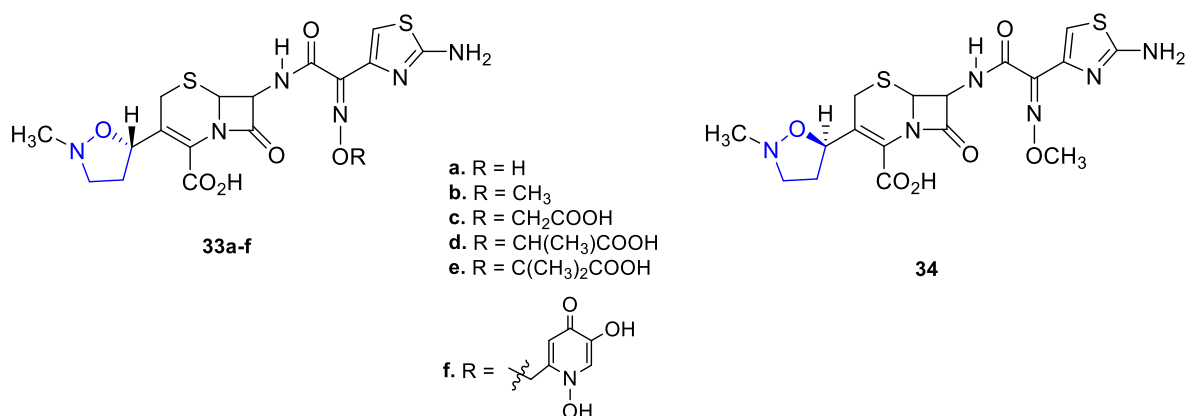
Opisano syntezę oraz aktywność biologiczną koniugatów izoksazolidyn z karbapenami **32a-b** (Ryc. 15) (Nishi i in., 1995).



Rycina 15. Struktura izoksazolidyn **32a-b**.

Najwyższą aktywność w stosunku do wybranych szczepów bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych zaobserwowano dla izoksazolidyn **32a-b** otrzymanych na drodze 1,3-dipolarnej cykloaddycji 2-winylokarbapenemów z odpowiednim nitronem. Wobec szczepów *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* oraz *Enterococcus faecalis* związki **32a-b** (MIC = 0,05 µg/ml; 0,1 µg/ml; 0,8 µg/ml) wykazywały działanie przeciwbakteryjne lepsze niż wzorzec – imipenem (MIC = 0,1 µg/ml; 1,6 µg/ml). Natomiast wobec szczepów *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Klebsiella pneumoniae* 2-krotnie wyższą aktywność od imipenemu wykazywała pochodna **32a**. Wyznaczone wartości MIC w przypadku związku **32a** wynosiły 0,8 µg/ml i 0,1 µg/ml vs. 1,6 µg/ml i 0,2 µg/ml dla imipenemu, odpowiednio dla *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae*. Wobec tych samych szczepów pochodna **32b** wykazywała działanie przeciwbakteryjne (MIC = 0,2 µg/ml; 1,6 µg/ml odpowiednio dla *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) na poziomie wzorca. Izoksazolidyny **32a-b** wykazywały także aktywność wobec szczepów: *Staphylococcus aureus* (MIC = 0,01 µg/ml), *Streptococcus pyogenes* (MIC < 0,003 µg/ml), *Streptococcus pneumoniae* (MIC < 0,003 µg/ml) i *Proteus mirabilis* (MIC = 0,4 µg/ml) porównywalną z działaniem imipenemu (Nishi i in., 1995).

Równie dobre działanie przeciwbakteryjne wykazywały związki (*S*)-**33a-f**, (*R*)-**34** oraz (*R*)-**33b** (Ryc. 16) zawierające w swej strukturze pierścień izoksazolidyny podstawiony w pozycji C5 ugrupowaniem cefalosporyny (Huang i in., 1992).



Rycina 16. Struktura izoksazolidyn **33-34**.

Badanie aktywności przeciwbakteryjnej dla izoksazolidyn (*S*)-**33a-f** oraz (*R*)-**34** wykonano na dziewiętnastu szczepach bakterii (Ryc. 16, Tabela 5, Tabela 6) (Huang i in., 1992).

Tabela 5. Aktywność przeciwbakteryjna izoksazolidyny (S)-33f.

Numer związku	MIC (µg/ml)										
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Salmonella schottmuelleri</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
(S)-33f	0,006	0,003	0,05	<0,003	0,05	0,006	0,05	0,05	0,012	<0,003	0,012
ceftazydyma	0,20	0,20	0,39	0,39	0,20	0,10	0,20	0,39	0,025	0,05	0,78

Analiza wyników badań biologicznych wykazała najbardziej zróżnicowaną aktywność dla związku (S)-33f. Jego działanie przeciwbakteryjne w stosunku do dziesięciu szczepów było wyższe niż dla leku referencyjnego – ceftazydymy (Ryc. 16, Tabela 5) (Huang i in., 1992)

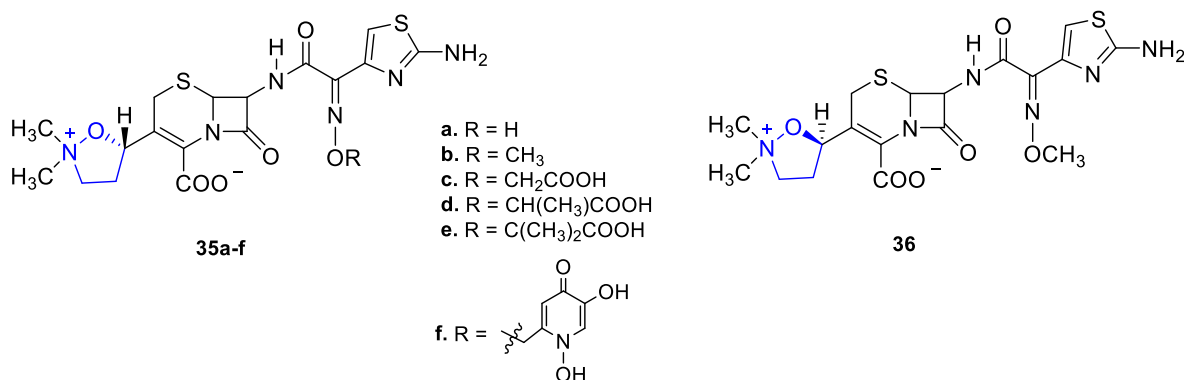
Równie wysoką aktywność przeciwbakteryjną wyższą od działania użytego w badaniu wzorca w stosunku do dziesięciu szczepów bakterii wykazywała izoksazolidyna (S)-33b (Ryc. 16, Tabela 6) (Huang i in., 1992).

Tabela 6. Aktywność przeciwbakteryjna izoksazolidyny (S)-33b.

Numer związku	MIC (µg/ml)									
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella schottmuelleri</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
(S)-33b	3,13	0,39	0,10	0,025	0,025	0,05	3,13	0,012	0,012	0,025
ceftazydyma	12,5	3,13	3,13	0,20	0,20	0,10	12,5	0,025	0,05	0,05

Natomiast najbardziej selektywne wobec badanych szczepów były związki (R)-34 oraz (S)-33e (Ryc. 16). Aktywność przeciwbakteryjną izoksazolidyny (R)-34 w stosunku do trzech szczepów bakterii: *Micrococcus luteus* (MIC = 1,56 µg/ml), *Klebsiella pneumoniae* (MIC = 0,05 µg/ml), *Providencia rettgeri* (MIC = 0,025 µg/ml) była wyższa od substancji wzorcowej. Także wobec trzech szczepów bakterii: *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris* i *Escherichia coli* pochodna (S)-33e (MIC = 0,006–0,025 µg/ml) wykazywała działanie przeciwbakteryjne lepsze od ceftazydymy (Ryc. 16) (Huang i in., 1992).

Zsyntezowane związki (S)-33a-f oraz (R)-34 przekształcono w czwartorzędowe sole amoniowe (S)-35a-f oraz (R)-36, które również poddano ocenie aktywności przeciwbakteryjnej (Ryc. 17, Tabela 7) (Huang i in., 1992).



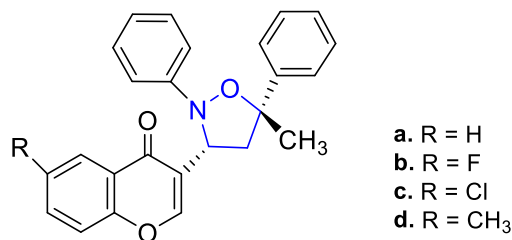
Rycina 17. Struktura izoksazolidyn 35-36.

Tabela 7. Aktywność przeciwbakteryjna izoksazolidyny (S)-**35c** oraz (S)-**35d**.

Numer związku	MIC (µg/ml)										
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter aerogenus</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Providencia rettgeri</i>
(S)- 35c	0,78	0,05	0,10	0,10	0,025	0,05	0,012	0,10	0,10	0,012	0,012
(S)- 35d	1,56	0,05	0,20	0,05	0,025	0,10	0,025	0,10	0,10	<0,003	0,025
ceftazydyma	3,13	0,20	0,39	0,20	0,05	0,20	0,05	0,20	0,39	0,025	0,05

W porównaniu ze związkami obojętnymi (S)-**33a-f** i (R)-**34** (Ryc. 16) otrzymane sole (S)-**35a-f** oraz (R)-**36** (Ryc. 17) wykazywały wyższe działanie przeciwbakteryjne zarówno wobec bakterii Gram-dodatnich, jak i bakterii Gram-ujemnych, w szczególności w stosunku do bakterii *Citrobacter freundii*, wobec której związki (S)-**33a-f** i (R)-**34** nie wykazywały działania hamującego. Najwyższą aktywność (ponad 4-krotnie wyższą od wzorca – ceftazydymy) wobec *Citrobacter freundii* zaobserwowano dla izoksazolidyny (S)-**35e** (MIC = 12,5 µg/ml). Działanie hamujące rozwój największej liczby szczepów bakterii wykazywały związki (S)-**35c** oraz (S)-**35d** (Huang i in., 1992).

Opisano także syntezę oraz aktywność przeciwbakteryjną izoksazolidyn **37a-d** zawierających w pozycji C3 układ chromanylu (Ryc. 18) (Singh i in., 2016).

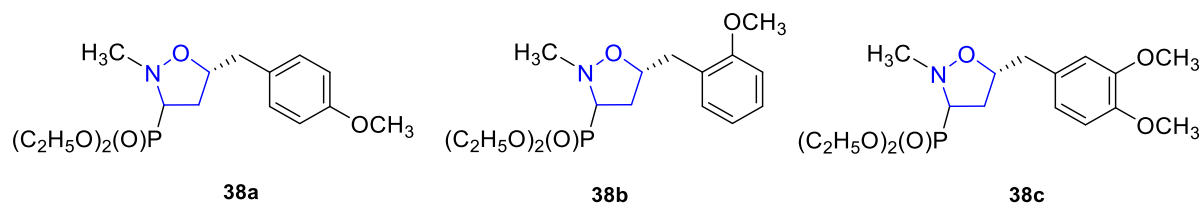


37a-d

Rycina 18. Struktura izoksazolidyn **37a-d**.

Badanie aktywności przeciwbakteryjnej przeprowadzono wobec szczepów bakterii Gram-ujemnych: *Salmonella typhimurium-1*, *Salmonella typhimurium-2* oraz wobec bakterii Gram-dodatniej *Staphylococcus aureus* odpornej na metycylinę (MRSA). Najwyższe działanie wykazano dla izoksazolidyny **37b** zawierającej w pozycji C6' atom fluoru. Pochodna ta działała na poziomie wzorca – gentamycyny zarówno wobec szczepów *Salmonella typhimurium-1* i *Salmonella typhimurium-2* (MIC = 1,56 µg/ml), jak również szczepu *Staphylococcus aureus* opornego na metycylinę (MIC = 3,12 µg/ml). Ponadto dla zsyntezowanych izoksazolidyn **37a-d** przeprowadzono badanie dokowania molekularnego, w którym odnośnikami były ciprofloksacyna i linezolid. Na jego podstawie wysunięto wniosek, że pochodne chromanylowe wykazują mechanizm działania zbliżony do fluorochinolonów – działają przeciwbakteryjnie przez inhibicję gyrazy DNA. Spośród związków **37a-d** największe podobieństwo do ciprofloksacyny wykazała najbardziej aktywna izoksazolidyna **37d**. Dla tego związku wykonano także badanie ADME (adsorbcja, dystrybucja, metabolizm, eliminacja), na podstawie którego stwierdzono dobre właściwości farmakokinetyczne izoksazolidyny **37d**. Dodatkowo w oparciu o regułę Lipińskiego wykazano, że związek **37d** powinien dobrze się wchłaniać po podaniu *per os* (Singh i in., 2016).

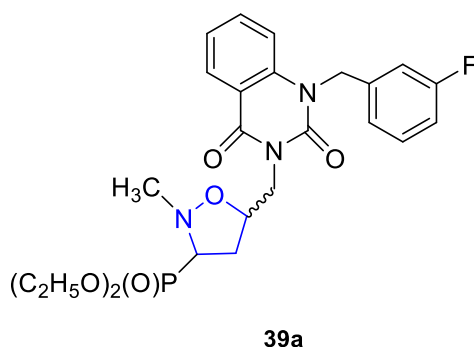
Aktywność przeciwbakteryjna 3-fosforyloizoksazolidyn **38a-c** (Ryc. 19) otrzymanych w wyniku 1,3-dipolarnej cykloaddycji C-dietoksyfosforylonitronu z wybranymi allilobenzenami została zbadana wobec dwóch szczepów bakterii Gram-dodatnich: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* oraz dwóch gatunków bakterii Gram-ujemnych: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Piotrowska i in., 2017b).



Rycina 19. Struktura izoksazolidyn **38a-c**.

Najwyższą aktywność zaobserwowano dla związku **38c**, który hamował wzrost bakterii *Staphylococcus aureus* w 25% przy stężeniu 50 mg/l. Równie wysoki procent zahamowania wzrostu *Staphylococcus aureus*, ale w zakresie stężeń 25–200 mg/l, wykazywały pochodne **38a-b**. Izoksazolidyna **38c** hamowała także wzrost bakterii *Staphylococcus epidermidis* w zakresie 20–40% przy stężeniu 5–200 mg/l (Piotrowska i in., 2017b).

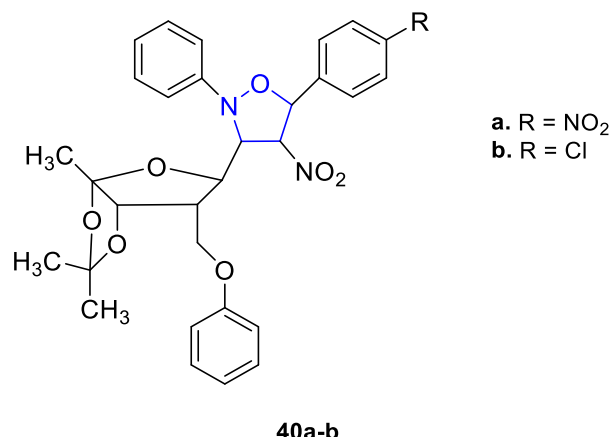
Przykładem związku o działaniu przeciwbakteryjnym jest także 3-dietoksyfosforyloizoksazolidyna **39a** zawierająca w swej strukturze układ chinazolino-2,4-dionu (Ryc. 20) (Łysakowska i in., 2022).



Rycina 20. Struktura izoksazolidyny **39a**.

Przeprowadzone badania wykazały najwyższą aktywność przeciwbakteryjną związku **39a** wobec szczepu bakterii Gram-dodatniej *Bacillus cereus* (MIC = 0,625 mg/ml). Dodatkowo izoksazolidyna **39a** nie wykazywała działania mutagennego w stosunku do *Bacillus cereus* w stężeniu równym wartości MIC (Łysakowska i in., 2022).

Kolejną serię stanowią D-glukozowe pochodne izoksazolidyn **40a-b** (Ryc. 21), które zostały zaprojektowane także jako związki o działaniu przeciwbakteryjnym. Badania biologiczne wykonane wobec trzech szczepów bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* potwierdziły założoną tezę (Damodiran i in., 2009).

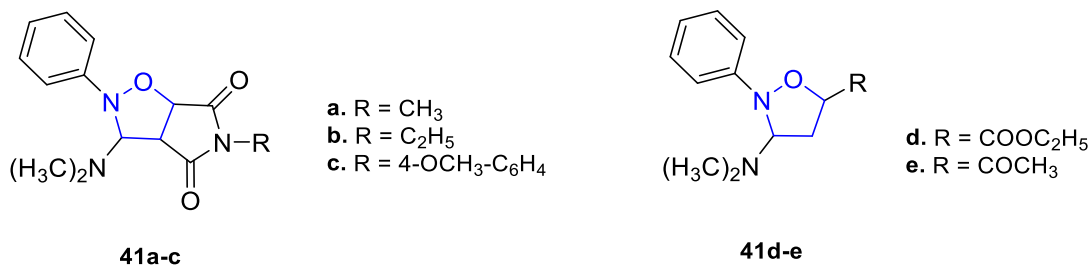


Rycina 21. Struktura izoksazolidyn **40a-b**.

Związek **40a** wykazywał wysoką aktywność przeciwbakteryjną w stosunku do *Staphylococcus aureus* (MIC = 0,654 μM). Natomiast wobec szczepów: *Escherichia coli* oraz *Pseudomonas aeruginosa* najwyższą aktywność zaobserwowano dla pochodnej **40b** (MIC = 0,947 μM, 0,646 μM odpowiednio dla szczepu *Escherichia coli* oraz *Pseudomonas aeruginosa*) (Damodiran i in., 2009).

Dla zsyntezowanych izoksazolidyn **40a-b** (Ryc. 21) wyznaczono także elektryczny moment dipolowy, parametr wykazujący bezpośredni związek z aktywnością przeciwbakteryjną. Ulokowanie ładunku elektrycznego w cząsteczce wpływa na jej właściwości, w tym na rozpuszczalność oraz aktywność przeciwbakteryjną. Dla związku **40b** oznaczono dodatnią korelację między rosnącym momentem dipolowym oraz rosnącą aktywnością przeciwbakteryjną w stosunku do *Escherichia coli* oraz *Pseudomonas aeruginosa* (Damodiran i in., 2009).

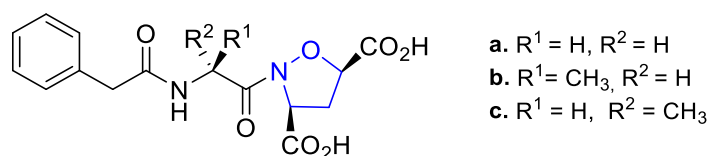
Opisano również *N*-fenyloizoksazolidyny **41a-e** (Ryc. 22) wykazujące aktywność przeciwbakteryjną *in vitro* wobec wybranych bakterii Gram-dodatnich: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* oraz Gram-ujemnych: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* (Chakraborty i in., 2010).



Rycina 22. Struktura izoksazolidyn **41a-e**.

Najwyższą aktywność wobec szczepu bakterii Gram dodatniej – *Bacillus subtilis* oraz Gram-ujemnej – *Proteus vulgaris* zaobserwowano dla związków **41a-e**. Dla izoksazolidyn **41a-d** w stosunku do obu szczepów bakterii wyznaczona wartość parametru MIC w każdym przypadku wynosiła 10 μg/ml, podczas gdy dla związku **41e** była 5-krotnie wyższa (MIC = 50 μg/ml). Wyznaczone wartości MIC w zakresie 10–50 μg/ml są porównywalne do wartości minimalnego stężenia hamującego oznaczonego do powszechnie stosowanych antybiotyków, w tym penicyliny czy sulfonamidu (Chakraborty i in., 2010).

Podobieństwo strukturalne między antybiotykami β-laktamowymi takimi jak penicylina a kwasami izoksazolidino-3,5-dikarboksylowymi **42a-c** (Ryc. 23) pozwala założyć, że związki te mogą być aktywnymi mikrobiologicznie analogami antybiotyków β-laktamowych (Nora i in., 2006).

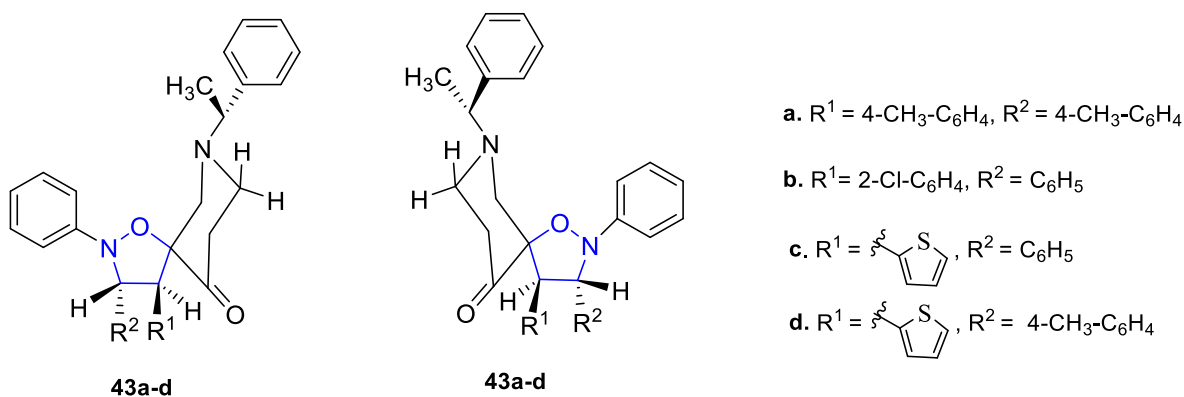


42a-c

Rycina 23. Struktura izoksazolidyn 42a-c.

Kwasy izoksazolidyno-3,5-dikarboksylowe **42a-c** poddano ocenie aktywności przeciwbakteryjnej wobec bakterii Gram-dodatnich: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium vaccae* oraz bakterii Gram-ujemnych: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Samonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*. Wykazano aktywność przeciwbakteryjną kwasów izoksazolidyno-3,5-dikarboksylowych **42a-c** w stosunku do *Escherichia coli*. Wyznaczona aktywność, mierzona tzw. strefą zahamowania wzrostu (ZOI), dla pochodnych **42a-c** była mniejsza (ZOI = 20–26 mm) niż dla użytej jako wzorzec penicyliny G (ZOI = 54 mm) (Nora i in., 2006).

Aktywne przeciwgruźliczo spiroizoksazolidyny **43a-d** oraz **44a-d** (Ryc. 24) zsyntezowano na drodze reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji C-arylo-N-fenylonitronów i wybranych odpowiednio sfunkcjonalizowanych pirydynonów (Kumar i in., 2010).



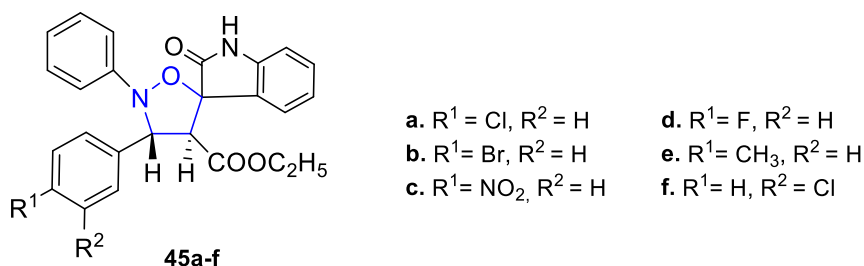
43a-d

44a-d

Rycina 24. Struktura izoksazolidyn 43a-d oraz 44a-d.

Badania prowadzone na *Mycobacterium tuberculosis* wykazały najwyższe działanie przeciwgruźlicze 2,5-krotnie wyższe od etambutolu – leku stosowanego w leczeniu gruźlicy (MIC = 7,64 μM) pochodnej **43a** (MIC = 3,02 μM). Nieco słabszą aktywność w stosunku do *Mycobacterium tuberculosis*, jednak nadal wyższą od działania etambutolu, zaobserwowano dla związków **43b-d** oraz **44a** i **44c** (MIC = 5,98–6,33 μM). Najśłabszą aktywność przeciwbakteryjną wykazano dla spiroizoksazolidyn **44c-d** (MIC = 23,90–24,57 μM) (Kumar i in., 2010).

Opisano także (spiroindolino)izoksazolidyny **45a-f** (Ryc. 25), które także wykazywały działanie prątkobójcze wobec *Mycobacterium tuberculosis* (Raunak i in., 2005).

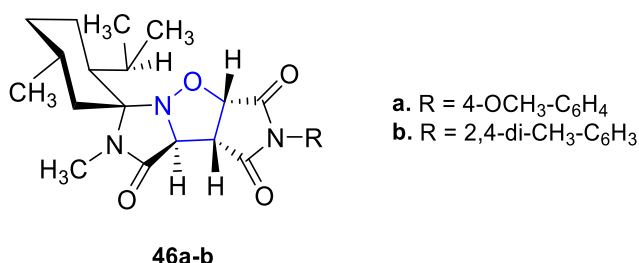


45a-f

Rycina 25. Struktura izoksazolidyn 45a-f.

Związki **45a-f** hamowały wzrost bakterii *Mycobacterium tuberculosis* na poziomie 15–29% przy MIC = 6,25 µg/ml. Najwyższe działanie przeciwbakteryjne w stosunku do prątków gruźlicy wykazywała pochodna **45f** (29%), natomiast najslabsze zahamowania wzrostu *Mycobacterium tuberculosis* wyznaczono dla (spiroindolino)izoksazolidyny **45c** (15%) (Raunak i in., 2005).

Kolejna seria enancjomerycznie czystych, aktywnych mikrobiologicznie izoksazolidyn to związki **46a-b** (Ryc. 26) (Ghannay i in., 2017).



Rycina 26. Struktura izoksazolidyn **46a-b**.

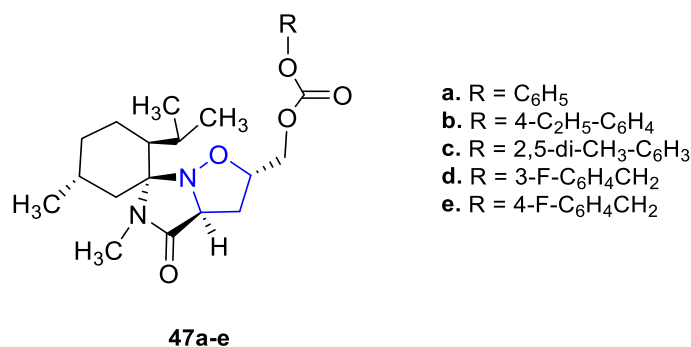
Aktywność przeciwbakteryjna otrzymanych związków **46a-b** została zbadana względem wybranych bakterii Gram-dodatnich: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* oraz bakterii Gram-ujemnych: *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (Ryc. 26, Tabela 8) (Ghannay i in., 2017).

Tabela 8. Aktywność przeciwbakteryjna izoksazolidyny **46a-b**.

Numer związku	ZOI (mm)						
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
46a	11,33±0,22	12,66±0,22	11,00±0,66	10,00±0,00	9,66±0,22	15,00±0,22	9,00±0,00
46b	20,66±0,88	21,66±0,22	24,66±0,22	9,66±0,22	22,00±0,66	20,33±0,22	23,00±0,66
chloramfenikol	24,00±0,00	26,00±1,00	12,00±1,00	20,00±2,00	17,00±1,00	16,00±0,00	22,00±1,00

Aktywność przeciwbakteryjną oznaczono za pomocą pomiaru średnicy zahamowania wzrostu (ZOI). Pochodna **46b** w porównaniu ze związkiem **46a** wykazywała wyższą aktywność przeciwbakteryjną. Dla izoksazolidyny **46b** oznaczono 2-krotnie wyższe od substancji wzorcowej – chloramfenikolu działanie przeciwbakteryjne w stosunku do *Listeria monocytogenes*. Ponadto pochodna **46b** wykazywała także aktywność przeciwbakteryjną względem *Staphylococcus aureus* oraz *Salmonella enteritidis* wyższą od chloramfenikolu oraz działanie wobec *Klebsiella pneumoniae* porównywalne z lekiem referencyjnym. Natomiast związek **46a** wykazywał porównywalną ze wzorcem aktywność wobec *Listeria monocytogenes*. Dodatkowo izoksazolidyny **46a-b** wykazywały słabszą niż chloramfenikol aktywność w stosunku do pozostałych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych z wyjątkiem *Escherichia coli*. Dla izoksazolidyn **46a-b** oznaczono także właściwości farmakokinetyczne, na podstawie których stwierdzono, że pochodne **46a-b** spełniają regułę Lipińskiego (Ryc. 26, Tabela 8) (Ghannay i in., 2017).

Jako kontynuację otrzymano nowe enancjomerycznie czyste bicykliczne izoksazolidyny **47a-e** (Ryc. 27) (Ghannay i in., 2020).



- a. R = C₆H₅
- b. R = 4-C₂H₅-C₆H₄
- c. R = 2,5-di-CH₃-C₆H₃
- d. R = 3-F-C₆H₄CH₂
- e. R = 4-F-C₆H₄CH₂

Rycina 27. Struktura izoksazolidyny **47a-e**.

Aktywność biologiczną pochodnych **47a-e** zbadano także wobec wybranych bakterii Gram-dodatnich: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* oraz Gram-ujemnych: *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* (Ryc. 27, Tabela 9) (Ghannay i in., 2020).

Tabela 9. Aktywność przeciwbakteryjna izoksazolidyny **47a-e**.

Numer związku	ZOI (mm)					
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
47a	10,00±0,22	9,00±0,22	8,00±0,00	11,00±0,33	12,00±0,66	9,00±0,66
47b	9,00±0,33	12,00±0,00	8,00±0,22	9,00±0,22	13,00±0,33	9,00±0,00
47c	12,00±0,33	9,00±0,88	7,00±0,22	10,00±0,22	16,00±0,22	10,00±0,22
47d	9,00±0,00	24,00±0,22	9,00±0,22	10,00±0,33	19,00±0,88	–
47e	9,00±0,22	10,00±0,22	–	–	9,00±0,225	–
chloramfenikol	24,00±0,00	26,00±1,00	20,00±2,00	17,00±1,00	23,50±0,00	16,00±0,00

Pomiaru aktywności przeciwbakteryjnej dokonano poprzez zmierzenie średnicy strefy zahamowania wzrostu bakterii (ZOI). Działanie porównywalne z aktywnością chloramfenikolu w stosunku do *Bacillus cereus* wykazywała tylko izoksazolidyna **47d**. Izoksazolidyny **47a-c** oraz **47e** były mniej aktywne niż użyta substancja wzorcowa. Wszystkie otrzymane pochodne **47a-e** działały tylko wobec *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* oraz *Escherichia coli* (Ryc. 27, Tabela 9) (Ghannay i in., 2020).

5. Izoksazolidyny o aktywności przeciwwirusowej

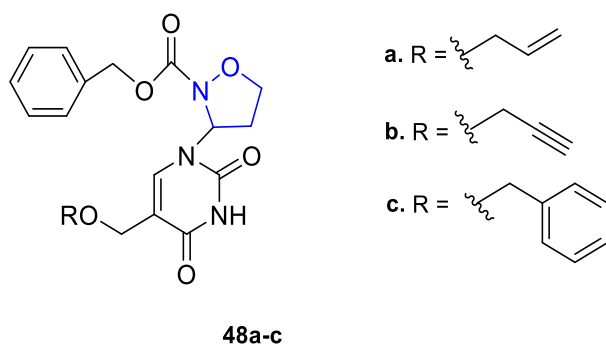
Choroby zakaźne wywoływane są nie tylko przez bakterie i grzyby, lecz również przez wirusy, które mają zdolność do przenoszenia obcych kwasów nukleinowych pomiędzy komórkami gospodarza. Cykl rozwojowy wirusa umożliwia mu przebywanie w komórce gospodarza przez dłuższy okres, co skutkuje jego niewykrywalnością dla układu odpornościowego. W celu namnażania wirus wykorzystuje mechanizm biochemiczny komórek gospodarza, dlatego liczba potencjalnych leków stosowanych do zwalczania wirusa jest znacznie ograniczona w porównaniu z lekami wykorzystywanymi w zwalczaniu innych mikroorganizmów. Pierwszy zarejestrowany lek przeciwwirusowy – idoksurydyna – pojawił się stosunkowo późno, bo w latach 60. XX wieku, a przez kolejne 20 lat w lecznictwie wykorzystywano

dodatkowo tylko amantadynę i widarabinę. Z biegiem czasu na skutek dokładnego zbadania wirusowego genomu, a w konsekwencji – szczegółowego poznania mechanizmów infekcji wirusowych nastąpił przełom w odkryciu nowych leków stosowanych w zwalczaniu infekcji wirusowych, jednak nadal postęp w leczeniu zakażeń wirusowych, w tym także wywołanych przez wirus HIV (wirus ludzkiego niedoboru odporności), jest znikomy w kontekście zwalczania infekcji bakteryjnych (Graham, 2017; Kausar i in., 2021). Zakażenie ludzkim wirusem nabytego niedoboru odporności (HIV) prowadzi do choroby przewlekłej (AIDS), w której układ immunologiczny ulega stopniowemu osłabieniu w wyniku zmniejszenia liczby limfocytów CD4. Intensywne badania prowadzone w ciągu ostatnich trzydziestu lat umożliwiły otrzymanie wielu leków wykorzystywanych w zwalczaniu infekcji wywołanych przez wirus HIV. Zaliczyć do nich możemy przede wszystkim nukleozydowe/nukleotydowe oraz nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy, a także inhibitory fuzji, inhibitory proteazy, inhibitory integrazy oraz inhibitory koreceptorów (Mehellou i De Clercq, 2010). Pomimo dostępnej szerokiej gamy leków przeciwwirusowych nadal poszukuje się nowych substancji leczniczych, przede wszystkim z powodu rosnącej liczby zakażeń, a w konsekwencji – zwiększonej śmiertelności spowodowanej infekcjami wirusowymi.

Pierwsze prace dotyczące aktywności przeciwwirusowej izoksazolidynowych analogów nukleozydów opublikowano w latach 90. XX wieku. Opisano syntezę oraz aktywność przeciwwirusową związku **6a** (Ryc. 3), który wykazywał 10-krotnie wyższą od azydetymidyny (AZT) zdolność inhibicji wirusa HIV (Leggio i in., 1996; Leggio i in., 1997).

Aktywność przeciwwirusową wobec wirusa HIV wykazywały także 3-(dietoksyfosforylo)izoksazolidyny **7a-b** (Ryc. 3). Związki **7a-b** hamowały namnażanie ludzkiego wirusa niedoboru odporności w stopniu porównywalnym z użytym w badaniu lekiem referencyjnym – tenofowirem ($EC_{50} = 1 \pm 0,1$ nM) oraz 10-krotnie lepiej w porównaniu z AZT ($EC_{50} = 10$ nM). Dodatkowo dla izoksazolidyn **7a-b** wykazano wysoką zdolność hamowania odwrotnej transkryptazy wirusa białaczki ptasiej (AMV). Aktywność przeciwwirusowa związków **7a-b** wobec AMV była 10-krotnie wyższa w porównaniu z AZT oraz porównywalna z działaniem tenofowiru. Jednocześnie wykazano dużo niższą toksyczność pochodnych **7a-b** ($CC_{50} > 500$ μ M) w porównaniu z azydetymidyną ($CC_{50} = 12,14$ μ mol/l) (Piperno i in., 2010).

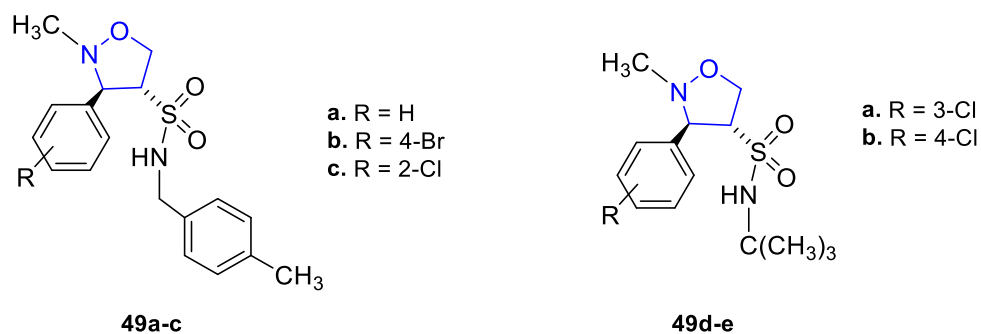
Izoksazolidyny **48a-c** (Ryc. 28) zawierające w pozycji C3 podstawiony pierścień uracylu wykazywały także aktywność w stosunku do wirusa HIV (Romeo i in., 2019).



Rycina 28. Struktura izoksazolidyn **48a-c**.

W serii pochodnych **48a-c** najwyższe działanie przeciwwirusowe wykazywał związek **48c** (MIC = 0,01 μ M). Aktywność ta była jednak słabsza niż ryłpiwiryny (MIC = 0,038 μ M) (Romeo i in., 2019).

Opisano także sulfonamidowe pochodne izoksazolidyny **49** (Ryc. 29) jako związki hamujące namnażanie wirusa HIV (Loh i in., 2010).

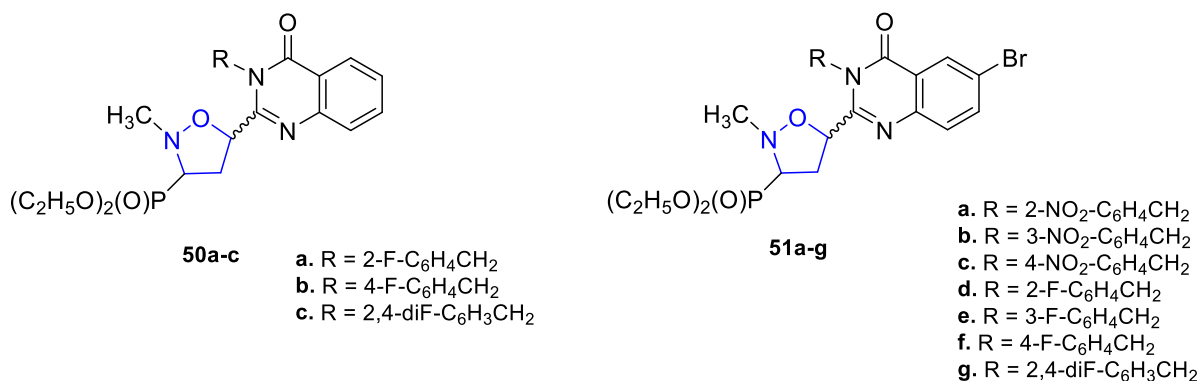


Rycina 29. Struktura izoksazolidyn 49a-e.

Pochodne **49a-e** wykazywały aktywność w stosunku do ludzkiego wirusa niedoboru odporności przy jednoczesnym braku toksycznego działania na komórki ludzkie. Związki **49a** oraz **49b** najskuteczniej hamowały odwrotną transkryptazę wirusa HIV ($IC_{50} = 75,0\text{--}76,0\ \mu\text{M}$). Nieco słabsze działanie przeciwwirusowe wykazywały izoksazolidyny **49d-e** ($IC_{50} = 80,0\ \mu\text{M}$, $85,0\ \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku **49e** oraz **49d**), natomiast związek **48c** najslabiej hamował namnażanie wirusa HIV ($IC_{50} = 93,0\ \mu\text{M}$) (Loh i in., 2010).

Opisano także fosfonianowe pochodne izoksazolidyn **8a-d** (Ryc. 3) wykazujące aktywność przeciwwirusową w stosunku do ludzkiego wirusa T-limfotropowego typu 1 (HTLV-1). Otrzymane w wyniku 1,3-dipolarnej cykloaddycji związku **8a-d** hamowały namnażanie wirusa HTLV-1 w stężeniu $0,6\ \text{nM}$ i wykazały tym samym prawie 7-krotnie wyższe działanie w porównaniu z azydotymidyną (AZT) użytą jako wzorzec (Chiacchio i in., 2007).

Natomiast 3-(dietoksyfosforylo)izoksazolidyny **50** oraz **51** (Ryc. 30), zawierające w pozycji C5 układ chinazolin-4-onu, były aktywne wobec wirusa ospy wietrznej i półpaśca (VZV) (Piotrowska i in., 2016; Grabkowska-Drużyc i in., 2018).

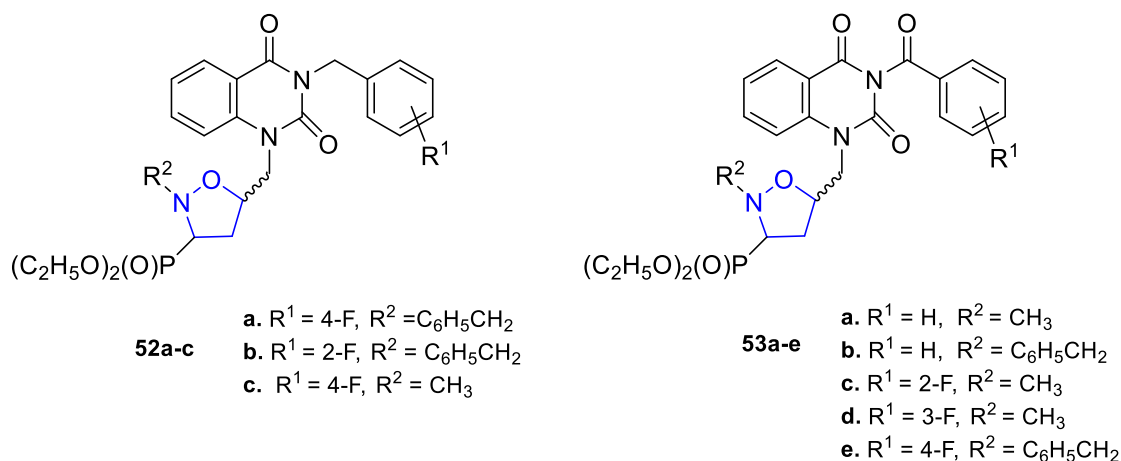


Rycina 30. Struktura izoksazolidyn 50a-c oraz 51a-g.

Izoksazolidyny **50a-c** (Ryc. 30) hamowały namnażanie szczepu VZV TK⁺ (zawierającego kinazę tymidynową) w zakresie stężeń $6,84\text{--}15,29\ \mu\text{M}$ i wykazały tym samym działanie niższe tylko o jeden rząd wielkości niż użyty w badaniu wzorzec – acyklowir ($EC_{50} = 1,55\pm 1,0\ \mu\text{M}$) (Piotrowska i in., 2016). Natomiast pochodne **51a-g** (Ryc. 30), zawierające sfunkcjonalizowane ugrupowanie 6-bromochinazolin-4-onu, były aktywne zarówno wobec szczepu VZV TK⁻, jak i VZV TK⁺. Izoksazolidyny **51a-b** najskuteczniej hamowały namnażanie wirusa VZV TK⁻ ($EC_{50} = 5,40\text{--}5,80\ \mu\text{M}$), nieco słabsze działanie zaobserwowano dla związków **51c**, **51e-f** ($EC_{50} = 7,50\text{--}7,70\ \mu\text{M}$). Najslabszą aktywność względem szczepu VZV TK⁻ wykazywały natomiast izoksazolidyny **51d** oraz **51g** ($EC_{50} = 9,56\ \mu\text{M}$ i $10,5\ \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku **51d** oraz **51g**). Jednakże w każdym przypadku wyznaczone wartości parametru EC_{50} były niższe niż dla acyklowiru i briwudyny ($EC_{50} = 39,2\ \mu\text{M}$; $31,9\ \mu\text{M}$ odpowiednio) użytych w badaniu jako leki referencyjne. Najwyższą zdolność inhibicji VZV TK⁺ zaobserwowano natomiast dla pochodnych **52b-d** oraz **52g** ($EC_{50} = 6,84\text{--}8,70\ \mu\text{M}$). Dla izoksazolidyn **52a** oraz **51e-f** oznaczono słabsze

działanie przeciwwirusowe wobec szczepu VZV TK⁺ (EC₅₀ = 10,30–12,60 μM). Związki **51b** oraz **51d-g** hamowały także replikację cytomegalowirusa (CMV) w zakresie stężeń 8,94–12,50 μM – wykazano tym samym wyższą aktywność niż gancyklowir (EC₅₀ = 16,9 μM oraz 7,7 μM odpowiednio dla szczepu AD-169 oraz Davis) użyty jako lek referencyjny (Grabkowska-Druzyc i in., 2018).

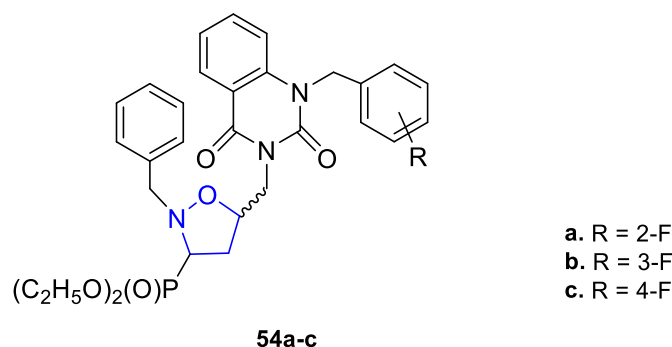
Dla izoksazolidyn **52-53** (Ryc. 31) zawierających w pozycji C5 fragment chinazolino-2,4-dionu oznaczono natomiast aktywność wobec wirusa ospy wietrznej i półpaśca (VZV) (Piotrowska i in., 2017a).



Rycina 31. Struktura izoksazolidyn **52a-c** oraz **53a-e**.

Działanie 10-krotnie silniejsze od acyklowiru i 4-krotnie wyższe od briwudyny w stosunku do szczepu VZV TK⁻ wykazywały pochodne 3-benzylchinazolino-2,4-dionów **52a-b** (EC₅₀ = 3,6±2,9 μM i 5,1±1,6 μM odpowiednio dla związku **52a** i **52b**), które również hamowały namnażanie wirusa VZV TK⁺ (EC₅₀ = 3,0±2,3 μM i 4,7±3,8 μM odpowiednio dla związku **52a** i **52b**), jednak aktywność ta była znacznie niższa w porównaniu z działaniem leków referencyjnych – acyklowiru (EC₅₀ = 0,08±0,1 μM) i briwudyny (EC₅₀ = 0,005±0,007 μM). Pochodne **53a-e** zawierające w swej strukturze fragment 3-benzoylchinazolino-2,4-dionu wykazywały nieco słabsze działanie przeciwwirusowe zarówno dla szczepu VZV TK⁺ (EC₅₀ = 6,0–8,5 μM), jak i VZV TK⁻ (EC₅₀ = 7,6–13,7 μM). Izoksazolidyna **52c** hamowała natomiast replikację adenowirusa typu 2 (EC₅₀ = 17,5 μM), jednak 2-krotnie słabiej niż substancje wykorzystane jako wzorce: cidofowir i aluwidyna (EC₅₀ = 10,0 μM) (Piotrowska i in., 2017a).

Autorzy, zachęteni dobrą aktywnością przeciwwirusową związków **52-53** (Ryc. 31), zsyntetyzowali ich analogi – izoksazolidyny **54a-c** (Ryc. 32) (Łysakowska i in., 2022).

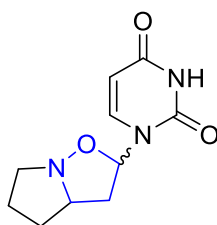


Rycina 32. Struktura izoksazolidyn **54a-c**.

Związki **54a-c** były również aktywne w stosunku do wirusa ospy wietrznej i półpaśca (VZV). Pochodna **54b** wykazywała najwyższą, porównywalną ze wzorcem briwudyną zdolność hamowania replikacji wirusa VZV TK⁻ (EC₅₀ = 14,49 μM). Izoksazolidyny **54a** oraz **54c** wykazywały nieco słabsze

działanie przeciwwirusowe wobec wirusa ospy wietrznej i półpaśca nie zawierającego kinazy tymidynowej (VZV TK⁻) (EC₅₀ = 20,0 μM; 27,59 μM odpowiednio dla związku **54c** oraz **54a**) (Łysakowska i in., 2022).

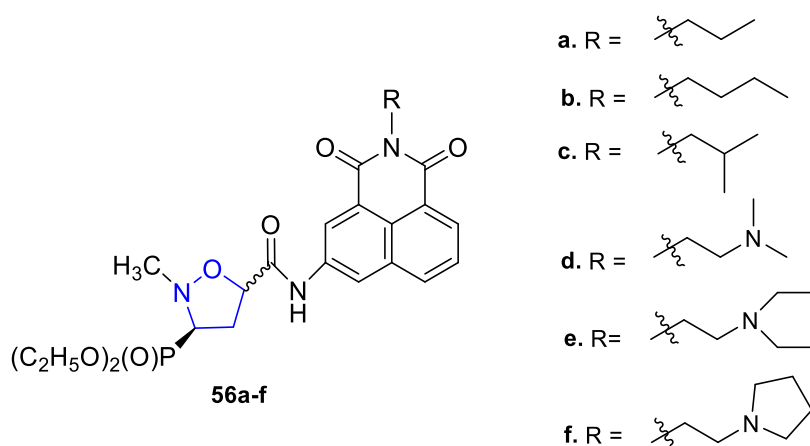
Opisano również syntezę oraz aktywność przeciwwirusową bicyklicznej izoksazolidyny **55** (Ryc. 33), która hamowała replikację wirusa opryszczki typu 1 (HSV-1) w 41% przy stężeniu 100 μM oraz w 83% przy stężeniu 500 μM (Procopio i in., 2005).



55

Rycina 33. Struktura izoksazolidyny **55**.

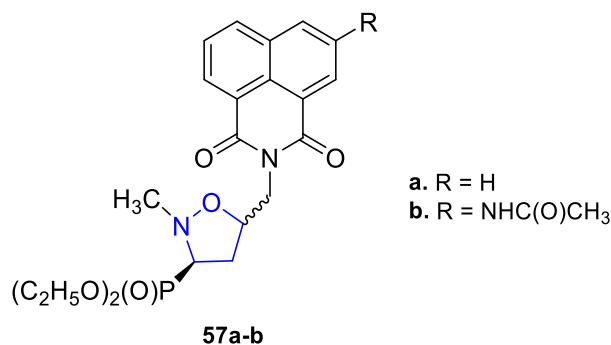
Kolejną grupę sfunkcjonalizowanych izoksazolidyn o działaniu przeciwwirusowym stanowią 3-(dietoksyfosforylo)izoksazolidyny **56a-f** (Ryc. 34) (Kokosza i in., 2015).



Rycina 34. Struktura izoksazolidyn **56a-f**.

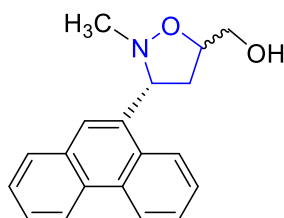
Najwyższą aktywność porównywalną z wzorcem – gancyklowirem – wobec cytomegalowirusa (CMV) wykazywały związki *trans*-**56d** (EC₅₀ = 8,9 μM) oraz *trans*-**56f** (EC₅₀ = 8,9–20,0 μM). Dodatkowo izoksazolidyna *trans*-**56d** hamowała namnażanie szczepu wirusa VZV TK⁻ (EC₅₀ = 26,0–34,0 μM) na poziomie aktywności użytego w badaniu wzorca – acyklowiru (EC₅₀ = 33,0–44,0 μM) oraz szczepu VZV TK⁺ (EC₅₀ = 14,0–15,0 μM), jednak aktywność ta była słabsza od działania leku referencyjnego (EC₅₀ = 1,5–3,6 μM). Ponadto pochodne **56a-f** poddano badaniom aktywności wobec wirusa ospy wietrznej i półpaśca (dla obu szczepów). Wszystkie związki były aktywne wobec VZV TK⁺ oraz VZV TK⁻ w zakresie stężeń 11,0–45,0 μM. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały także działanie przeciwwirusowe związku *trans*-**56d** wobec wirusa krowianki, jednak było ono 2-krotnie słabsze w porównaniu z działaniem leków referencyjnych – cidofowiru i briwudyny (Kokosza i in., 2015).

Dodatkowo zsyntezowano izoksazolidyny **57a-b** (Ryc. 35), które hamowały namnażanie wirusa Coxsackie (EC₅₀ = 43,0–73,0 μM) i wykazywały aktywność dużą wyższą niż lek referencyjny – rybawiryna (EC₅₀ = > 250,0 μM). Dla związku **57b** oznaczono ponadto 2-krotnie wyższe od rybawiryny działanie wobec wirusa Punta Toro (EC₅₀ = 50,0–100,0 μM) (Kokosza i in., 2015).



Rycina 35. Struktura izoksazolidyn **57a-b**.

Opisano także 3-(fenantren-9-yl)izoksazolidynę **58a** (Ryc. 36) jako kolejny związek o aktywności przeciwwirusowej. Dla pochodnej **58a** zaobserwowano specyficzne działanie w stosunku do wirusa Puna Toro ($EC_{50} = 9,6 \mu\text{M}$). Aktywność pochodnej **58a** była prawie 10-krotnie wyższa niż rybawiryny ($EC_{50} = 80,0 \mu\text{M}$) użytej jako lek referencyjny (Rescifina i in., 2006).



58a

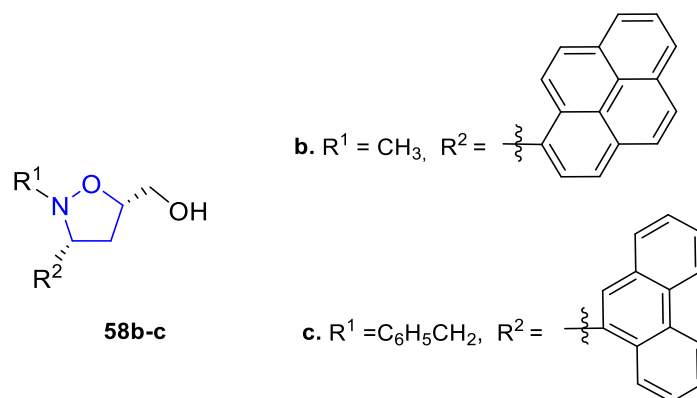
Rycina 36. Struktura izoksazolidyny **58a**.

6. Izoksazolidyny o aktywności przeciwnowotworowej

Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn śmierci ludzi na całym świecie, a liczba pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą nowotworową wzrasta z każdym rokiem. Chemioterapia, obok chirurgii i radioterapii, jest jedną ze standardowych metod leczenia nowotworów, jednak odkrycie pierwszego cytotoksycznego leku przeciwnowotworowego – chlorowodoru chlormetyny (nitrogranulogenu) – nastąpiło dopiero w latach 40. XX wieku (Rubach i Siedlecki, 2014). Z biegiem lat osiągnięto znaczny postęp w rozwoju nowych leków stosowanych w zwalczaniu chorób nowotworowych. Głównym mechanizmem działania leków przeciwnowotworowych jest zahamowanie syntezy DNA lub innych procesów w cyklu życiowym komórki, co prowadzi do zahamowania jej dalszego podziału. Stosowanie leków przeciwnowotworowych jest nierozdzielnie związane z licznymi skutkami ubocznymi występującymi u pacjenta zarówno w trakcie chemioterapii, jak i po jej zakończeniu. Leki te działają na wszystkie szybko dzielące się komórki w ustroju, nie tylko na komórki nowotworowe, lecz także m.in. szpiku kostnego czy przewodu pokarmowego. Dlatego nadal poszukuje się nowych, skutecznych substancji leczniczych, które działałyby poprzez inny, bardziej selektywny i celowany mechanizm umożliwiający zniszczenie tylko komórek nowotworowych, co byłoby mniej destrukcyjne dla organizmu (Isoldi i in., 2005).

Interkalatory są interesującą grupą środków chemioterapeutycznych stosowanych w leczeniu nowotworów. Głównym mechanizmem działania klasycznych interkalatorów jest ich odwracalne oddziaływanie z podwójną helisą DNA poprzez interkalację między parami zasad, co powoduje zahamowanie procesu interkalacji, a w konsekwencji – śmierć komórki (Baguley i in., 2003).

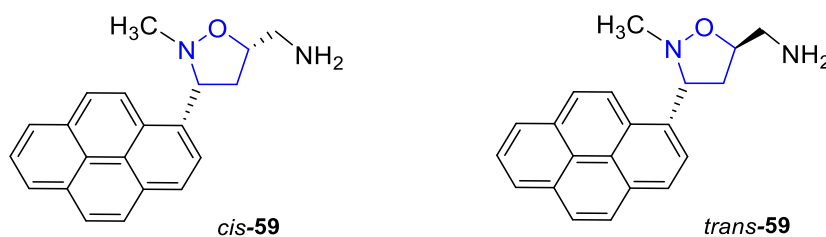
Izoksazolidyny **58b-c** (Ryc. 37) zawierające w pozycji C3 aromatyczne układy wielopierścieniowe (fenantren oraz piren) wykazywały właściwości interkalujące (Rescifina i in., 2006).



Rycina 37. Struktura izoksazolidyn **58b-c**.

Na podstawie badań stwierdzono cytostatyczne działanie pochodnych **58b-c** w stosunku do linii ludzkich komórek T-limfoblastycznych (MOLT-3) ($\text{IC}_{50} = 78,0 \mu\text{M}$ i $112,0 \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku **58c** i **58b**). Dodatkowo izoksazolidyna **58c** wykazywała działanie przyspieszające apoptozę, wywołane dodaniem przeciwciał molekularnych anti-Fas (Rescifina i in., 2006).

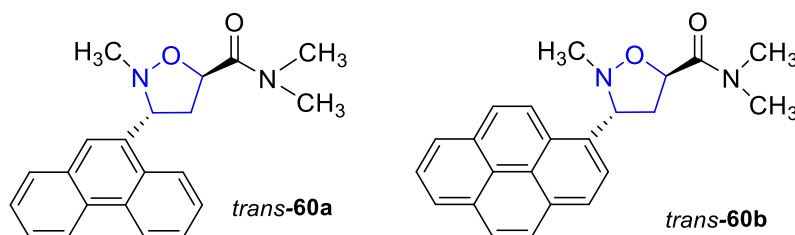
Kontynuując badania w tej grupie związków, otrzymano izoksazolidynę **59** (Ryc. 38) (Rescifina i in., 2011).



Rycina 38. Struktura izoksazolidyny **59**.

Związek **59** (zarówno izomer *cis*, jak i *trans*) wykazywał aktywność cytostatyczną *in vitro* wobec czterech linii komórkowych: raka szyjki macicy (HeLa), ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (A-549), ostrej białaczki monocytarnej (THP-1) oraz ludzkich komórek T-limfoblastycznych (Molt-3). Najwyższą zdolność do hamowania proliferacji komórek linii A-549 zaobserwowano dla izomeru *cis-59* ($\text{IC}_{50} = 9,0 \mu\text{M}$). Nieco słabszą aktywność przeciwnowotworową w stosunku do tej samej linii wykazywał izomer *trans-59* ($\text{IC}_{50} = 11,0 \mu\text{M}$). Działanie antyproliferacyjne obu izomerów związku **59** wobec linii HeLa zaobserwowano przy stężeniu $15 \mu\text{M}$, natomiast wobec linii Molt-3 – przy stężeniu $12,0 \mu\text{M}$ oraz $17,0 \mu\text{M}$ odpowiednio dla izoksazolidyny *cis-59* oraz *trans-59*. Najśłabsze działanie cytostatyczne wobec linii THP-1 wykazywał związek **59** ($\text{IC}_{50} = 18,0\text{--}19,0 \mu\text{M}$) (Rescifina i in., 2011).

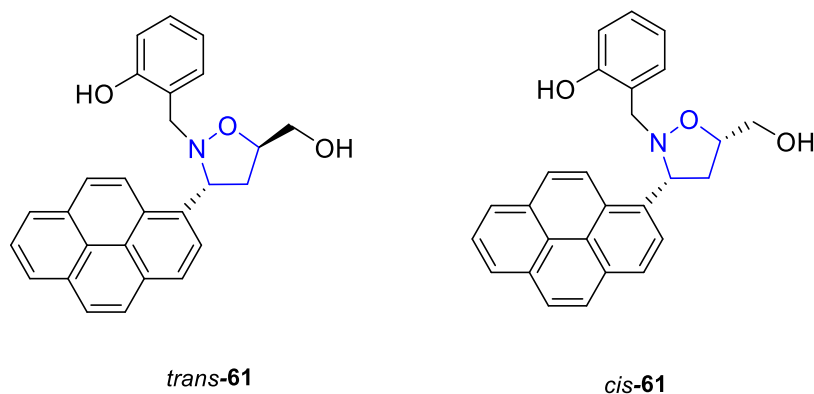
W nurcie badań autorzy otrzymali izoksazolidyny **60a-b** (Ryc. 39) będące analogami związków **59** (Ryc. 38) wykazujących działanie cytostatyczne (Rescifina i in., 2012a).



Rycina 39. Struktura izoksazolidyny **60a-b**.

Związek *trans*-**60b** hamował proliferację komórek linii: HeLa, Molt-3, A-549 oraz THP-1 w zakresie stężeń 4,0–6,0 μM , natomiast pochodna *trans*-**60a** wykazywała słabsze działanie cytostatyczne wobec linii komórkowych: A-549 ($\text{IC}_{50} = 10,0 \mu\text{M}$), HeLa ($\text{IC}_{50} = 14,0 \mu\text{M}$), Molt-3 ($\text{IC}_{50} = 15,0 \mu\text{M}$), THP-1 ($\text{IC}_{50} = 10,0 \mu\text{M}$). Najbardziej aktywna izoksazolidyna *cis*-**60b** została także wykorzystana jako modelowy związek w badaniu interkalacji z DNA grasicy cielej (Rescifina i in., 2012a).

Prace nad modyfikacją strukturalną aktywnych cytostatycznie związków **58b-c**, **59** oraz **60** (Ryc. 37–39) doprowadziły do otrzymania izoksazolidyny **61** (Ryc. 40) (Rescifina i in., 2012b).



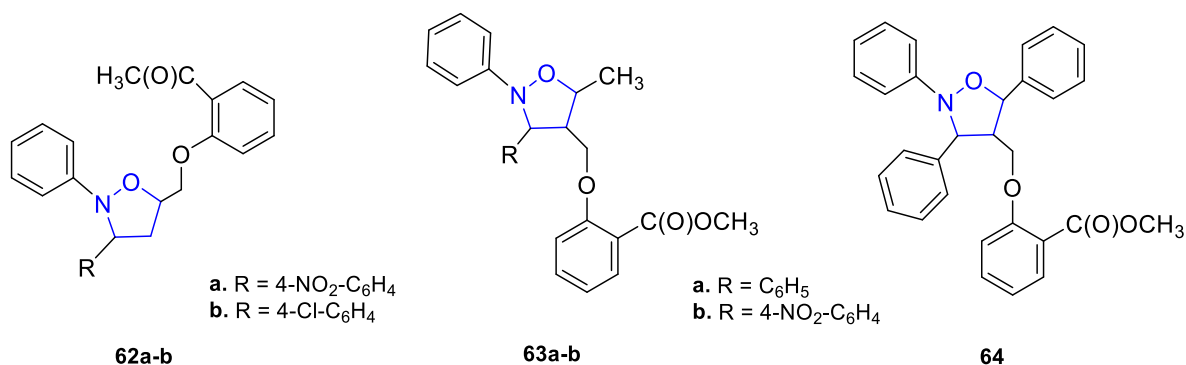
Rycina 40. Struktura izoksazolidyny **61**.

Przeprowadzone badania wykazały jeszcze wyższą, w porównaniu ze związkami **58b-c** oraz **59-60** (Ryc. 37–39), aktywność antyproliferacyjną izoksazolidyny *cis*-**61** ($\text{IC}_{50} = 2,0 \mu\text{M}$) w stosunku do linii komórkowej ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (A-549). Ponadto potwierdzono także jej aktywność przeciwnowotworową względem trzech innych linii komórkowych: HeLa, Molt-3 oraz THP-1 ($\text{IC}_{50} = 4,0\text{--}7,0 \mu\text{M}$). Dla izomeru *trans*-**61** zaobserwowano natomiast słabsze działanie cytostatyczne wobec badanych linii komórek nowotworowych ($\text{IC}_{50} = 9,0\text{--}15,0 \mu\text{M}$). Badania zdolności interakcji dla związku **61** wykazały wyższe właściwości interkalujące pochodnej *cis*-**61** w porównaniu z izoksazolidynami **58b-c**, **59** oraz **60** (Ryc. 37–39) (Rescifina i in., 2012b).

Trzeba także wspomnieć, że 3-(dietoksyfosforylo)izoksazolidyny **56d** oraz **56f** (Ryc. 34, str. 30), poza aktywnością przeciwwirusową, wykazywały także działanie interkalujące. Badanie aktywności przeciwnowotworowej *in vitro* wykonano na linii komórkowej: raka szyjki macicy (HeLa), ludzkiej białaczki z limfocytów T (CEM) oraz białaczki mysiej (L1210). Najwyższą aktywność antyproliferacyjną w stosunku do komórek nowotworowych linii L1210 wykazywał związek **56d** ($\text{IC}_{50} = 1,5 \pm 0,3 \mu\text{M}$ i $2,9 \pm 0,2 \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku *trans*-**56d** oraz *cis*-**56d**). Nieco słabsze działanie wobec komórek tej linii wykazywała natomiast izoksazolidyna **56f** ($\text{IC}_{50} = 1,7 \pm 0,4 \mu\text{M}$ i $4,4 \pm 0,1 \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku *trans*-**56f** oraz *cis*-**56f**), dla której oznaczono także najwyższą aktywność cytostatyczną w stosunku do komórek linii HeLa ($\text{IC}_{50} = 1,1 \pm 0,9 \mu\text{M}$ i $3,0 \pm 0,3 \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku *trans*-**56f** oraz *cis*-**56f**). Związek **56d** był także aktywny cytostatycznie wobec komórek linii HeLa ($\text{IC}_{50} = 1,8 \pm 0,9 \mu\text{M}$ i $3,3 \pm 0,3 \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku *trans*-**56d** oraz *cis*-**56d**). Pochodne **56d** oraz **56f** wykazywały najniższą aktywność antyproliferacyjną w stosunku do komórek linii CEM (Kokosza i in., 2015).

Niezwykle ważną grupą leków stosowanych w leczeniu chorób nowotworowych są analogi nukleozydów stosowane jako proleki. Aktywowane poprzez fosforylację do odpowiednich trifosforanów blokują podziały komórek i wbudowują się do nowo utworzonych kwasów nukleinowych (Galmarini i in., 2002) lub też indukują apoptozę, czyli programują śmierć komórki (Zinzani i in., 1994).

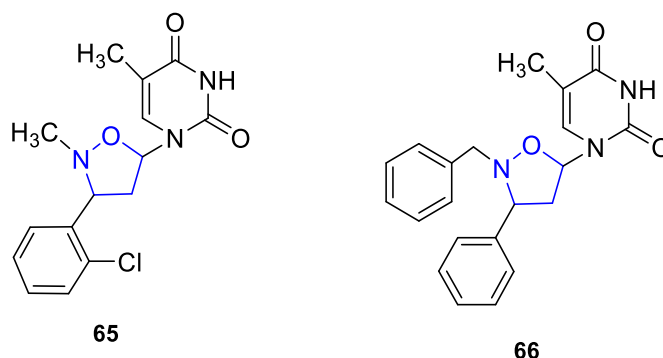
Ponadto *N*-fenyloizoksazolidyny **62a-b**, **63a-b** oraz **64** (Ryc. 41) wykazywały aktywność cytostatyczną w stosunku do wybranych linii komórek nowotworowych (Singh i in., 2007).



Rycina 41. Struktura izoksazolidyn **62-64**.

Pochodne **63a** oraz **63b** hamowały wzrost komórek nowotworowych linii gruczolakoraka jelita grubego (HT-29) o 57% i 42% (odpowiednio dla związku **63a** i **63b**), podczas gdy mitomycyna C oraz 5-fluorouracyl (użyte jako substancje wzorcowe) przy tym samym stężeniu powodowały zahamowanie wzrostu komórek linii HT-29 o odpowiednio 31% oraz 34%. Wykazano także, iż izoksazolidyny **62a-b**, **63a-b** oraz **64** hamowały wzrost komórek linii raka piersi (MCF-7) (GI = 26–29%) porównywalnie z 5-fluorouracylem (GI = 31%). Dodatkowo pochodna **64** powodowała zahamowanie wzrostu komórek linii raka prostaty (DU145) (GI = 59%), jednak słabiej w porównaniu z użytymi lekami referencyjnymi: mitomycyną C oraz paklitakselem (GI = 85–89%) (Singh i in., 2007).

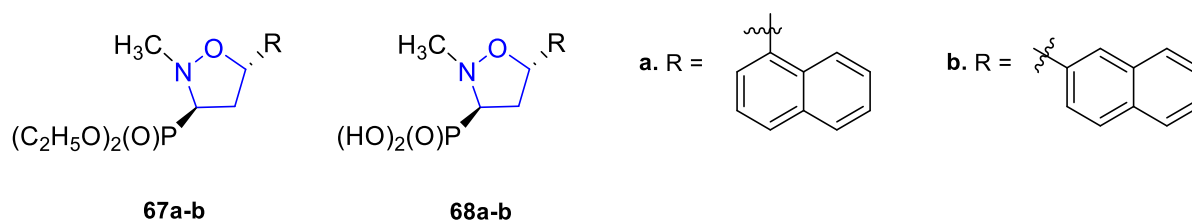
Natomiast 3-aryloizoksazolidyny **65-66** (Ryc. 42), zawierające w pozycji C5 pierścienia izoksazolidynowego tyminę, także wykazywały działanie przeciwnowotworowe (Bortolini i in., 2010).



Rycina 42. Struktura izoksazolidyn **65-66**.

Najwyższą aktywność antyproliferacyjną w komórkach Jurkat uśmiertelnionej linii ludzkiej białaczki T-limfocytarnej zaobserwowano dla związku **65** (IC₅₀ = 8,8±4,4 μM). Pochodna **66** wykazywała słabszą aktywność przeciwnowotworową w stosunku do badanej linii (IC₅₀ = 19,3±2,4 μM) w porównaniu z izoksazolidyną **65** (Bortolini i in., 2010).

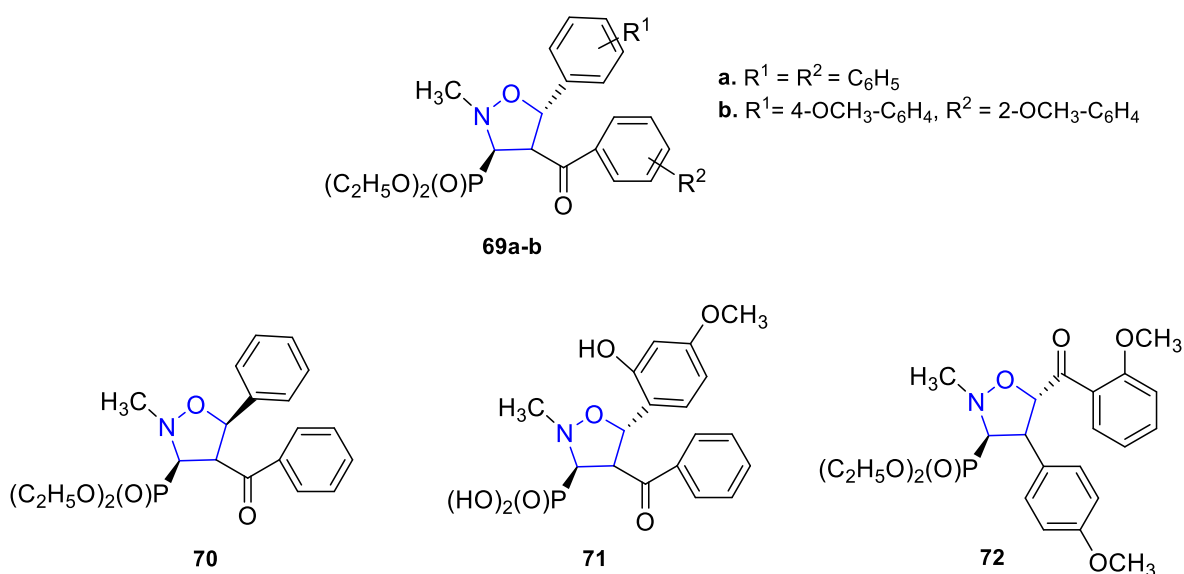
Opisano również syntezę oraz aktywność biologiczną fosfonianowych 5-naftyloizoksazolidyn **67a-b** oraz **68a-b** (Ryc. 43) (Piotrowska i in., 2011a).



Rycina 43. Struktura izoksazolidyn **67-68**.

Badania *in vitro* wykazały aktywność cytostatyczną związków **67a-b** w stosunku do linii komórkowej raka szyjki macicy (HeLa) ($IC_{50} = 0,05\text{--}0,07\text{ mM}$ i $0,08\text{--}0,1\text{ mM}$ odpowiednio dla związku **67a** oraz **67b**) oraz linii komórkowej ludzkiej przewlekłej białaczki szpikowej (K562) ($IC_{50} = 0,09\text{--}0,2\text{ mM}$ i $0,03\text{--}0,15\text{ mM}$ odpowiednio dla związku **67a** oraz **67b**). Równie wysokie działanie antyproliferacyjne zaobserwowano dla izoksazolidyn **69a-b** będących produktami hydrolizy związków **67a-b**. Wyznaczone dla związków **68a-b** wartości IC_{50} mieściły się w zakresie $0,08\text{--}0,1\text{ mM}$ dla linii komórkowej HeLa, natomiast dla linii komórkowej K562 – w zakresie $0,1\text{--}0,3\text{ mM}$. Badania dotyczące mechanizmu działania związków **67a-b** oraz **68a-b** nie wykazały ich wiązania z DNA, a tym samym wykluczyły zakładany przez autorów pracy mechanizm interkalacji (Piotrowska i in., 2011a).

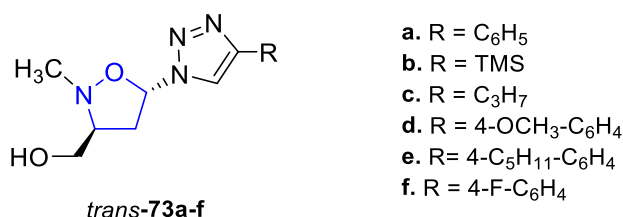
Kontynuując badania, przedstawiono serię tetrapodstawionych izoksazolidyn **69a-b** oraz **70-72** (Ryc. 44), których aktywność została zbadana w stosunku do tych samych linii komórek nowotworowych: HeLa i K562 (Piotrowska i in., 2011b).



Rycina 44. Struktura izoksazolidyn **69-72**.

Zsyntezowane izoksazolidyny **69a-b** oraz **70-72** były aktywne cytostatycznie w stosunku do obu badanych linii komórkowych. Najwyższą aktywność w stosunku do komórek nowotworowych linii K562 wykazywały związki **70** ($IC_{50} = 0,07\text{ mM}$) oraz **72** ($IC_{50} = 0,08\text{ mM}$), nieco słabiej działały pochodne **69a** oraz **69b** ($IC_{50} = 0,09\text{ mM}$). Najwyższą aktywność antyproliferacyjną wobec komórek linii HeLa wyznaczono natomiast dla izoksazolidyny **71** ($IC_{50} = 0,08\text{ mM}$) oraz **72** ($IC_{50} = 0,09\text{ mM}$) (Piotrowska i in., 2011b).

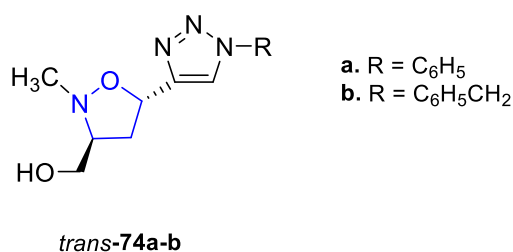
Ponadto 3-(hydroksymetylo)izoksazolidyny **73a-f** (Ryc. 45) zawierające w pozycji C5 pierścienia izoksazolidyny fragment triazolu także wykazywały aktywność przeciwnowotworową (Romeo i in., 2013).



Rycina 45. Struktura izoksazolidyn **73a-f**.

Badania przeprowadzone na dwóch liniach komórkowych raka tarczycy: linii FTC-133 (linia komórkowa pęcherzykowego nowotworu tarczycy) oraz linii 8305C (linia komórkowa anaplastycznego nowotworu tarczycy) wykazały wyższą aktywność otrzymanych pochodnych **73a-f** w stosunku do linii FTC-133 ($IC_{50} = 3,87\text{--}7,00 \mu\text{M}$). Najlepsze działanie cytostatyczne w stosunku do linii komórkowej pęcherzykowego nowotworu tarczycy, porównywalne z aktywnością wzorca – gemcytabiny ($IC_{50} = 3,36 \mu\text{M}$), wyznaczono dla izoksazolidyn: *trans*-**73c** ($IC_{50} = 3,87 \mu\text{M}$) oraz *trans*-**73e** ($IC_{50} = 3,95 \mu\text{M}$). Izoksazolidyny *trans*-**73c** i *trans*-**73e** były również najbardziej aktywne w stosunku do linii anaplastycznego nowotworu tarczycy ($IC_{50} = 5,52 \mu\text{M}$ i $5,96 \mu\text{M}$ odpowiednio dla związku *trans*-**73c** oraz *trans*-**73e**). Dalsze badania dotyczące mechanizmu działania wykazały, iż otrzymane pochodne **73a-f** indukują apoptozę poprzez kaspazę-3, a także powodują fragmentację DNA głównie w linii komórkowej pęcherzykowego nowotworu tarczycy (Romeo i in., 2013).

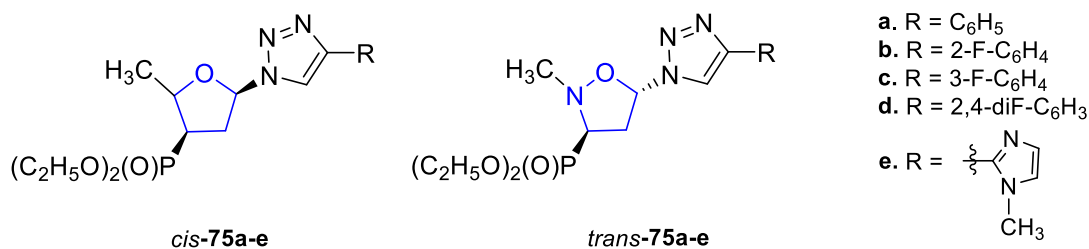
Kontynuując badania nad tą klasą połączeń, opisano również syntezę i aktywność przeciwnowotworową izoksazolidyn *trans*-**74a-b** (Ryc. 46) (Giofre i in., 2015).



Rycina 46. Struktura izoksazolidyn **74a-b**.

Otrzymane na drodze 1,3-dipolarnej cykloaddycji związki *trans*-**74a-b** hamowały wzrost komórek ludzkiej linii neuroblastomy (SH-SY5Y) w 56% przy stężeniu $100 \mu\text{M}$, a także komórek raka jelita grubego (HT-29) oraz ludzkiego nowotworu wątroby (HepG2) w 50 % przy tej samej wartości stężenia (Giofre i in., 2015).

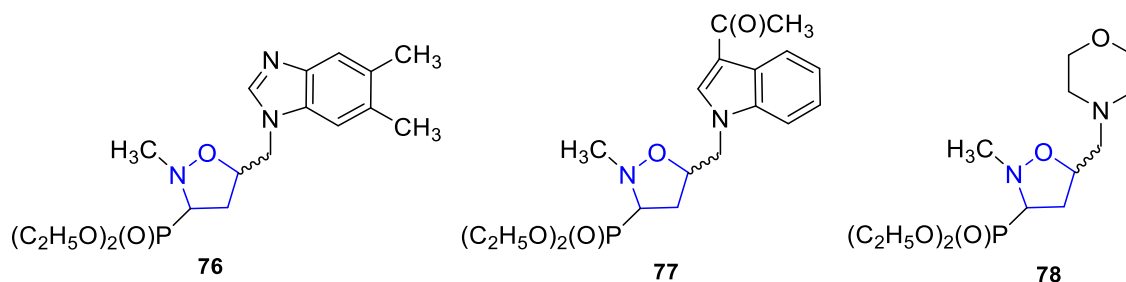
Opisano także serię 3-fosforyloizoksazolidyn **75a-e** (Ryc. 47) będących analogami aktywnych cytostatycznie związków **73a-f** (Ryc. 45) (Piotrowska i in., 2012).



Rycina 47. Struktura izoksazolidyn **75a-e**.

Badania *in vitro* potwierdziły aktywność antyproliferacyjną pochodnych **75a-e** wobec linii komórkowej ludzkich embrionalnych fibroblastów płuc (HEL). Największą zdolność hamowania proliferacji komórek nowotworowych wobec linii HEL zaobserwowano dla pochodnych *trans*-**75a** oraz *trans*-**75c** ($IC_{50} = 40,0 \mu\text{M}$), a także *cis*-**75b-d** ($IC_{50} = 41,0\text{--}43,0 \mu\text{M}$). Pozostałe izoksazolidyny wykazywały aktywność cytostatyczną w zakresie stężeń $54,0\text{--}78,0 \mu\text{M}$ (Piotrowska i in., 2012).

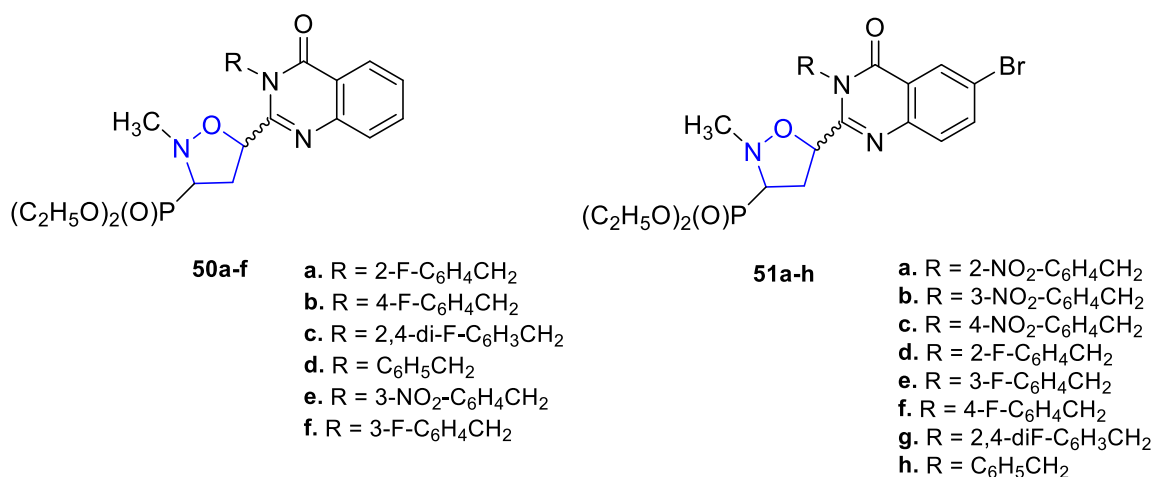
Izoksazolidyny **76-78** (Ryc. 48), zaprojektowane jako analogi nukleotydów, zostały również przebadane pod kątem działania przeciwnowotworowego (Łysakowska i in., 2014).



Rycina 48. Struktura izoksazolidyn 76-78.

Pochodne **76-78** hamowały wzrost komórek linii białaczki mysiej ($IC_{50} = 33,0 \pm 3,3 - 88,0 \pm 9,9 \mu M$), przy czym najwyższe działanie antyproliferacyjne wykazywał związek **77**. Izoksazolidyna *trans*-**78** była ponadto aktywna cytostatycznie w stosunku do linii HeLa ($IC_{50} = 96,0 \pm 11 \mu M$), podczas gdy izomer *cis* związku **78** nie wykazywał działania przeciwnowotworowego (Łysakowska i in., 2014).

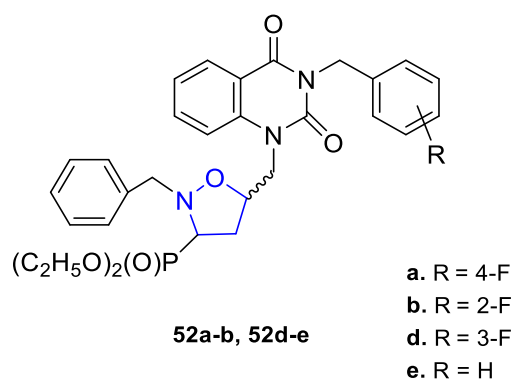
Kolejną serię związków zsyntezowanych jako analogi nukleotydów stanowią pochodne **50a-f** oraz **51a-h** (Ryc. 49) (Piotrowska i in., 2016).



Rycina 49. Struktura izoksazolidyn 50a-f oraz 51a-h.

Badania *in vitro* wykazały aktywność antyproliferacyjną otrzymanych izoksazolidyn **50a-g** oraz **51a-h** w stosunku do linii komórkowej ludzkiej białaczki z limfocytów T (CEM). Pochodne **51e-g** hamowały wzrost komórek linii CEM w zakresie stężeń $9,6 \pm 2,2 - 10,0 \pm 0 \mu M$, wykazując tym samym silniejsze działanie antyproliferacyjne w porównaniu do wzorca – 5-fluorouracylu ($IC_{50} = 18,0 \pm 5,0 \mu M$). W przypadku izoksazolidyn **51a**, **51c-d** oraz **51h** zaobserwowano niższą aktywność cytostatyczną ($IC_{50} = 13,0 \pm 1,0 - 17,0 \pm 12,0 \mu M$) w odniesieniu do związków **50e-f**, jednak nadal wyższą niż dla 5-fluorouracylu (Grabkowska-Drużyc i in., 2018). Słabsze działanie przeciwnowotworowe w porównaniu ze wzorcem w stosunku do badanej linii CEM wykazywały natomiast izoksazolidyny **50a-f** ($IC_{50} = 24,0 \pm 8,0 - 30,0 \pm 12,0 \mu M$) (Piotrowska i in., 2016).

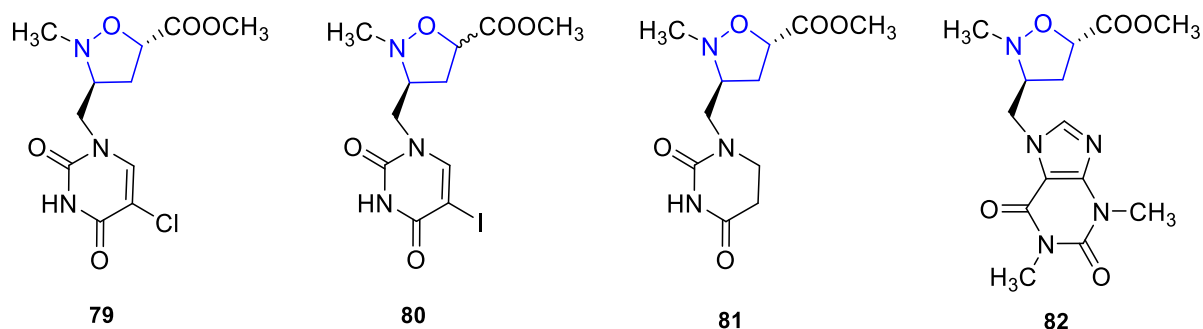
Dla izoksazolidyn **52** (Ryc. 50) poza działaniem przeciwwirusowym zaobserwowano także aktywność cytostatyczną wobec trzech linii komórkowych: ludzkiej białaczki z limfocytów T (CEM), białaczki mysiej (L1210) oraz raka szyjki macicy (HeLa) (Piotrowska i in., 2017a).



Rycina 50. Struktura izoksazolidyn **52a-b** oraz **52d-e**.

Aktywność antyproliferacyjną, porównywalną lub wyższą od 5-fluorouracylu ($IC_{50} = 18 \pm 5,0 \mu M$) wobec linii komórkowej CEM wykazywały izoksazolidyny **52e** ($IC_{50} = 10,0 \pm 6,0 - 15,0 \pm 4,0 \mu M$), **52a** ($IC_{50} = 13,0 \pm 1,0 - 17,0 \pm 3,0 \mu M$) oraz **52d** ($IC_{50} = 17 \pm 2,0 \mu M$). Działanie w stosunku do linii komórkowej L1210 zaobserwowano dla pochodnych **52a-b** oraz **52d-e** ($IC_{50} = 17,0 \pm 0 - 19,0 \pm 0 \mu M$). Izoksazolidyny **52a-b** były dodatkowo aktywne wobec linii komórkowej HeLa ($IC_{50} = 17,0 \pm 1,0 - 18 \pm 1 \mu M$). Aktywność izoksazolidyn **52** wobec linii komórkowych: L1210 oraz HeLa była jednak niższa od aktywności wzorca ($IC_{50} = 0,33 \pm 0,17 \mu M$ i $0,54 \pm 0,12 \mu M$ odpowiednio dla linii CEM i L1210) (Piotrowska i in., 2017a).

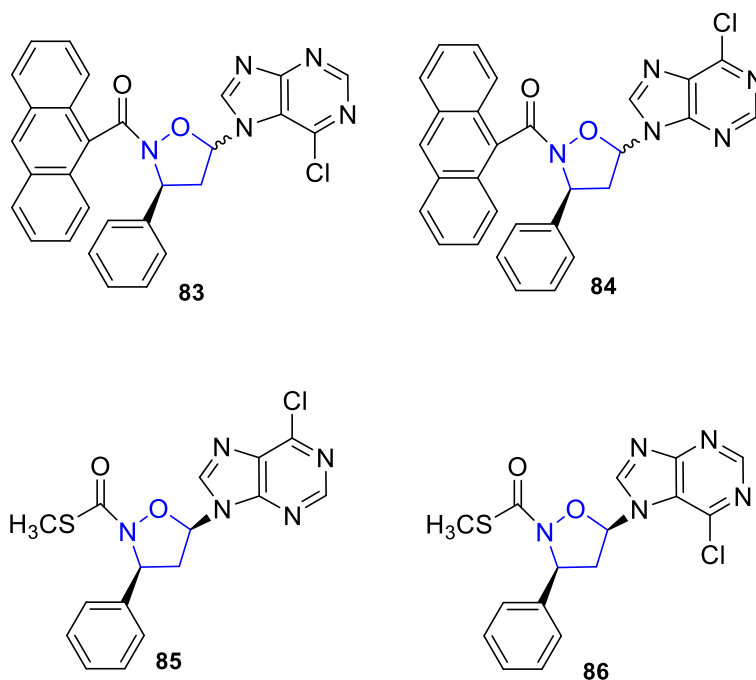
Opisano także syntezę oraz aktywność antyproliferacyjną izoksazolidyn **79-82** (Ryc. 51) (Piotrowska i in., 2019).



Rycina 51. Struktura izoksazolidyn **79-82**.

Związki **79-82** posiadające przy węglu C3 wybrane modyfikowane nukleozasady, otrzymane w reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji akrylanu metylu z odpowiednim nitronem, wykazywały aktywność cytostatyczną *in vitro* wobec linii komórkowej trzustki (Capan-1). Najlepsze działanie antyproliferacyjne zaobserwowano dla izoksazolidyn **79** i **81**, dla których, wartości IC_{50} były w zakresie 38,3–38,5 μM . Izoksazolidyny **80** i **82** zawierające w pozycji C3 izoksazolidyny, odpowiednio 5-jodouracyl oraz teofilinę, wykazywały działanie hamujące wzrost komórek nowotworowych linii Capan-1 ($IC_{50} = 41,4 - 43,2 \mu M$). Aktywność przeciwnowotworowa dla izoksazolidyn **79-82** była jednak słabsza od użytych w badaniach leków referencyjnych (Piotrowska i in., 2019).

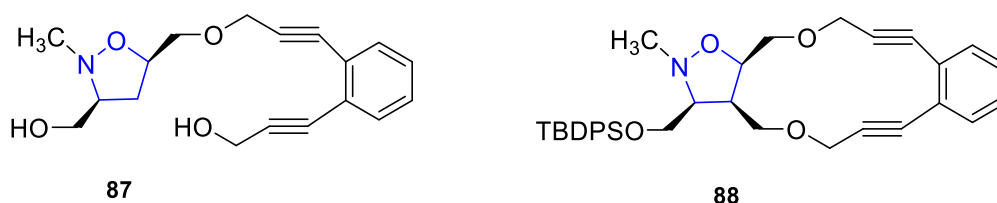
Kolejną grupą związków o działaniu cytostatycznym są 3-fenylizoksazolidyny **83-84** oraz **85-86** (Ryc. 52) stanowią (Memeo i in., 2018; Marraffa i in., 2020).



Rycina 52. Struktura izoksazolidyn **83-86**.

W stosunku do linii komórkowej ludzkiej białaczki monoblastycznej (U-937) aktywność antyproliferacyjną wykazywały pochodne **83-84** oraz **85-86**, a dodatkowo związki **85-86** były aktywne w stosunku do linii ludzkich komórek T-limfoblastycznych (MOLT-3). Badania *in vitro* na linii komórkowej U-937 wykazały najwyższą aktywność izoksazolidyny *cis*-**83** ($IC_{50} = 15,1 \pm 2,5 \mu M$), a najniższą dla izomeru *trans*-**83** ($IC_{50} = 42,7 \pm 1,7 \mu M$). Oba izomery związku **84**, zarówno *cis*, jak i *trans*, hamowały proliferację komórek linii U-937 przy tym samym stężeniu $20,1 \pm 1,1 \mu M$ (Marraffa i in., 2020). Lepsze działanie zaobserwowano w przypadku pochodnych **85-86**. Wykazano, że izoksazolidyna **86**, zawierająca w pozycji C5 N7-podstawiony układ 6-chloropuryny, hamowała proliferację komórek linii U937 oraz MOLT-3 w zakresie stężeń $4,7 \pm 0,1 - 5,1 \pm 0,5 \mu M$, podczas gdy izoksazolidyna **86**, posiadająca w pozycji C5 N9-podstawiony fragment 6-chloropuryny, była aktywna cytostatycznie przy nieco wyższym stężeniu ($IC_{50} = 5,7 \pm 0,3 - 6,0 \pm 0,3 \mu M$). Uzyskane wartości stężenia hamującego dla związków **85-86** były niższe niż dla irynotekanu ($IC_{50} = 6,7 \pm 0,1 - 6,9 \pm 0,2 \mu M$) użytego jako wzorzec (Memeo i in., 2018).

Dla izoksazolidyn **87** i **88** (Ryc. 53) zsyntezowanych w reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji octanu winylu z odpowiednim nitronem zbadano aktywność antyproliferacyjną w stosunku do trzech linii komórkowych: linii komórkowej ludzkiej neuroblastomy (SH-SY5Y), linii gruczolakoraka jelita grubego (HT-29) oraz linii komórkowej ludzkiego nowotworu wątroby (HepG2) (Romeo i in., 2014).



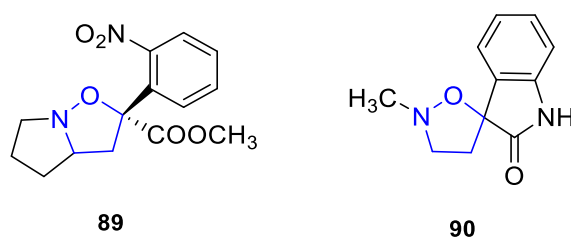
Rycina 53. Struktura izoksazolidyn **87-88**.

Wykazano działanie hamujące wzrost komórek wszystkich zbadanych linii (SH-SY5Y, HT-29, HepG2) przez związki **87** i **88**. Najsilniejsze działanie antyproliferacyjne względem linii komórkowej HT-

29 w teście MTT zaobserwowano dla izoksazolidyny **88** – uzyskano najwyższą proliferację komórek po upływie 72 godzin przy stężeniu 100 μM (Romeo i in., 2014).

Bicyklo- oraz spiroizoksazolidyny to kolejna grupa związków wykazujących działanie przeciwnowotworowe. Wspomniany alkaloid **5a** (ang. *pyrinodemine A*) (Ryc. 2), wyizolowany z gąbki morskiej *Amphimedon*, wykazywał wysoką aktywność antyproliferacyjną *in vitro* w stosunku do linii komórkowej białaczki mysiej (L1210) ($\text{IC}_{50} = 0,058 \mu\text{g/ml}$) oraz linii komórkowej raka płaskonabłonkowego (KB) ($\text{IC}_{50} = 0,5 \mu\text{g/ml}$) (Tsuda i in., 1999).

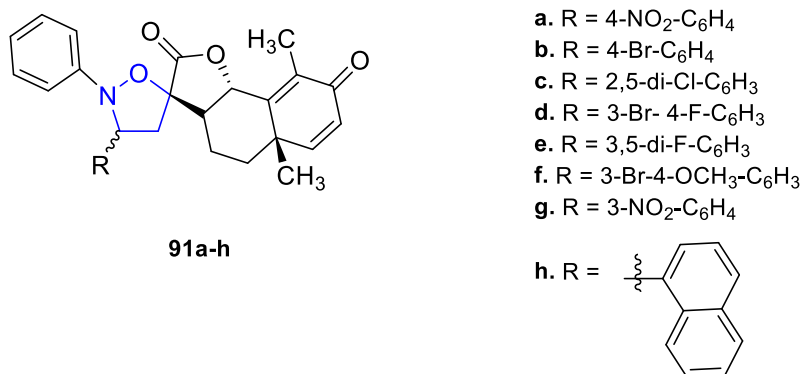
Dla izoksazolidyn **89** oraz **90** (Ryc. 54) zbadano aktywność przeciwnowotworową w stosunku do trzech linii komórkowych: ludzkiego wielokomórkowego raka płuc (H460), piersi (MCF-7) oraz nowotworu centralnego układu nerwowego (SF-268) (Yong i in., 2007).



Rycina 54. Struktura izoksazolidyn **89-90**.

Otrzymane pochodne były aktywne wobec wszystkich trzech linii komórek nowotworowych, przy czym najwyższą aktywność zaobserwowano w stosunku do linii MCF-7. Spiroizoksazolidyna **90** ($\text{GI}_{50} = 2,6 \pm 0,1 \mu\text{M}$) wykazywała silniejsze działanie cytostatyczne w stosunku do linii komórkowej nowotworu piersi (MCF-7) w porównaniu z bicykloizoksazolidyną **89** ($\text{GI}_{50} = 4,1 \pm 0,2 \mu\text{M}$) (Yong i in., 2007).

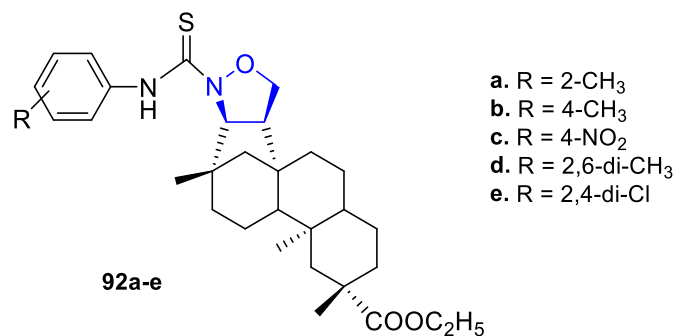
Kolejnym przykładem izoksazolidyn wykazujących działanie przeciwnowotworowe są związki **91a-h** (Ryc. 55) (Khazir i in., 2013).



Rycina 55. Struktura izoksazolidyn **91a-h**.

Badania prowadzone na linii komórkowej nowotworu prostaty (PC-3) wykazały lepsze działanie antyproliferacyjne tych pochodnych ($\text{IC}_{50} = 0,01-1,4 \mu\text{M}$ dla (*S*)-**91a-h** oraz (*R*)-**91a-h**) w odniesieniu do leków referencyjnych: 5-fluorouracylu ($\text{IC}_{50} = 2,2 \mu\text{M}$) oraz adriamycyny ($\text{IC}_{50} = 6,0 \mu\text{M}$). Izoksazolidyny (*S*)-**91a-b**, (*R*)-**91a-c** oraz (*S*)-**91e** były bardziej aktywne także w stosunku do linii komórkowej ostrej białaczki monocytarnej (THP-1) ($\text{IC}_{50} = 0,1-0,8 \mu\text{M}$) niż 5-fluorouracylu ($\text{IC}_{50} = 1,0 \mu\text{M}$). Ponadto związki (*S*)-**91a-d** oraz (*R*)-**91a-e** hamowały także w wyższym stopniu proliferację komórek nowotworu piersi w zakresie stężeń 0,09–0,9 μM w porównaniu z adriamycyną ($\text{IC}_{50} = 0,5 \mu\text{M}$) (Khazir i in., 2013).

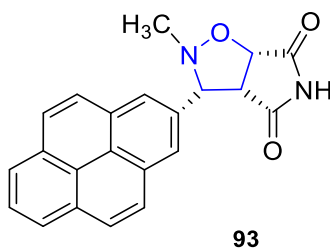
Opisano również syntezę i badanie aktywności biologicznej bicyklicznych izoksazolidyn **92a-e** (Ryc. 56) (Zhu i in., 2013).



Rycina 56. Struktura izoksazolidyn **92a-e**.

Najwyższe działanie cytostatyczne w stosunku do linii komórkowej chłoniaka (Raji) porównywalne z działaniem wzorca – cisplatyny (IC₅₀ = 17,32 μM) – posiadał związek **92d** (IC₅₀ = 19,72 μM). Natomiast izoksazolidyny **92a-c** oraz **92e** wykazywały zdolność hamowania proliferacji komórek Raji w wyższym zakresie stężeń 21,85–27,64 μmol/l, wykazując tym samym działanie słabsze od użytego leku referencyjnego (Zhu i in., 2013).

Bicykliczną izoksazolidynę **93** (Ryc. 57), zawierającą w pozycji C3 izoksazolidyny układ pirenu, zaprojektowano jako związek o potencjalnym działaniu interkalującym (Rescifina i in., 2011).



Rycina 57. Struktura izoksazolidyny **93**.

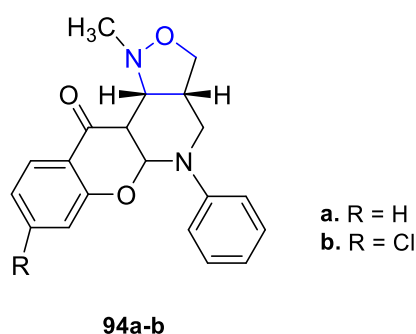
Związek **93** wykazywał słabszą aktywność przeciwnowotworową w stosunku do linii komórkowej A-549, Molt-3, THP-1 oraz HeLa w porównaniu z monocyklicznymi izoksazolidynami **59**, **60b** oraz **61** (Tabela 10, Ryc. 38–40) (Rescifina i in., 2011).

Tabela 10. Aktywność przeciwnowotworowa izoksazolidyny **59**, **60b**, **61**, **93**.

Numer związku	IC ₅₀ [μM]			
	HeLa	Molt-3	A-549	THP-1
59	15	12–17	9–11	18–19
60b	5	6	4	6
61	4	5	2	7
93	135	95	83	102

Dla bicyklicznych izoksazolidyn **94a-b** (Ryc. 58) zbadano aktywność przeciwnowotworową w stosunku do pięciu linii komórkowych: nowotworu okrężnicy (COLO-05), nowotworu prostaty (PC-3),

nowotworu jajnika (OVCAR-5), ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (A-549), neuroblastomy (IMR-32) (Singh i in., 2013).

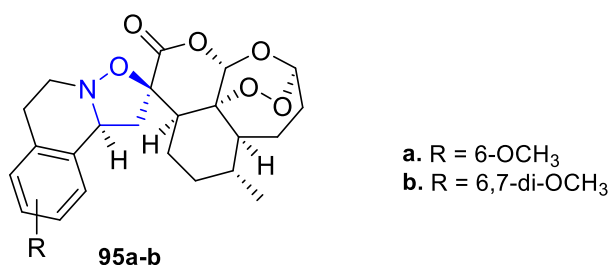


Rycina 58. Struktura izoksazolidyn **94a-b**.

Aktywność cytostatyczną w stosunku do linii COLO-5, prawie 2-krotnie wyższą od działania leku referencyjnego – 5-fluorouracylu, wykazywała izoksazolidyna **94a** ($IC_{50} = 12,6 \mu M$). Związek **94b** hamował natomiast proliferację komórek linii IMR-32 w stężeniu $10,07 \mu M$, wykazał jednak działanie prawie 6-krotnie słabsze niż adriamycyna wykorzystana w badaniu jako wzorzec (Singh i in., 2013).

Bicykliczne izoksazolidyny **31a-c** (Ryc. 14), poza działaniem przeciwdrobnoustrojowym, wykazywały także działanie antyproliferacyjne. Zbadano aktywność związków **31a-c** w stosunku do linii komórkowej raka szyjki macicy (HeLa). Najwyższe działanie cytostatyczne zaobserwowano dla pochodnej **31c** ($GI_{50} = 46,2 \pm 1,2 \mu M$) (Mosbah i in., 2019).

Spirobicykliczne izoksazolidyny **95a-b** (Ryc. 59) będące analogami artemizyny to kolejna grupa izoksazolidyn o działaniu antyproliferacyjnym (Liu i in., 2015).

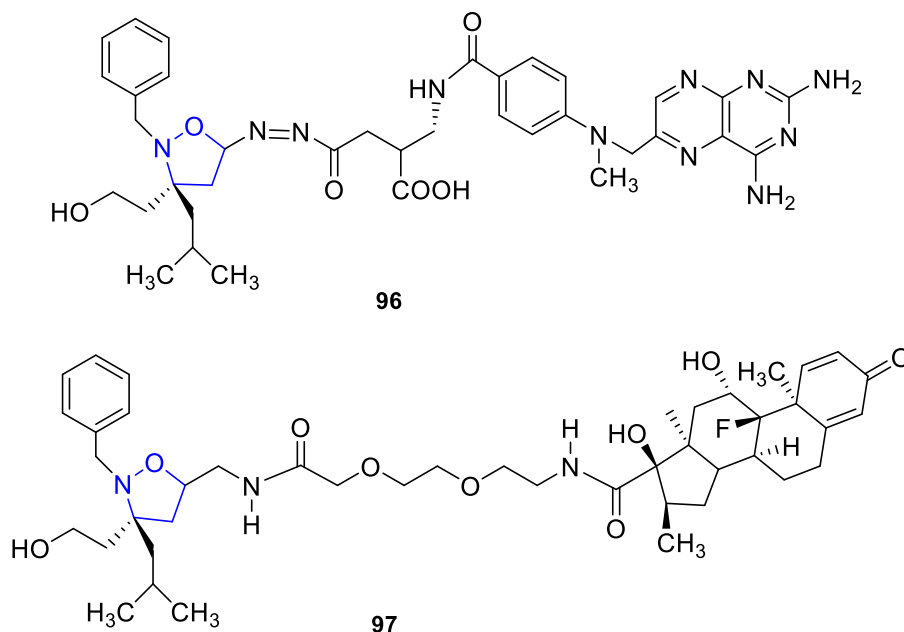


Rycina 59. Struktura izoksazolidyn **95a-b**.

Aktywność cytostatyczna zsyntezowanych na drodze 1,3-dipolarnej cykloadycji pochodnych **95a-b** została zbadana w stosunku do trzech linii komórkowych: raka płaskonabłonkowego (KB), raka płaskonabłonkowego opornego na wazopresynę (KB/VCR) oraz ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (A-549). Otrzymane izoksazolidyny **95a-b** hamowały proliferację wszystkich trzech badanych linii komórkowych w zakresie stężeń $1,47-5,01 \mu M$, wykazując aktywność od 4- do 14-krotnie wyższej od artemizyny. Najwyższe działanie antyproliferacyjne w stosunku do linii komórkowej KB zaobserwowano dla związku **95a** ($IC_{50} = 1,47 \mu M$). Natomiast najbardziej aktywną w stosunku do linii KB oraz KB/VCR była izoksazolidyna **95b**, dla której wartości IC_{50} wynosiły odpowiednio $2,53 \mu M$ oraz $2,35 \mu M$ (Liu i in., 2015).

Aktywatory transkrypcji (AFT) regulują ekspresję genów zaangażowanych zarówno w prawidłowe, jak i patologiczne procesy komórkowe. Cząsteczki, które mogą odtworzyć funkcję aktywatorów transkrypcji, mają ogromny potencjał, mogą być wykorzystywane jako środki terapeutyczne – w tym jako leki o działaniu cytostatycznym (Ma, 2011).

Zaprojektowano izoksazolidyny **96-97** (Ryc. 60) jako potencjalne aktywatory transkrypcji. Związek **97** wykazywał wysoką zdolność aktywacji transkrypcji na poziomie naturalnego białka AFT-4 (Minter i in., 2004), natomiast izoksazolidyna **98** działała jako domena aktywacji transkrypcji (TAD) (Casey i in., 2009).

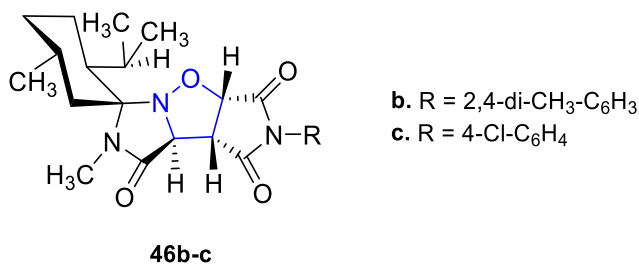


Rycina 60. Struktura izoksazolidyn **96-97**.

7. Izoksazolidyny o aktywności przeciwutleniającej

Wolne rodniki tlenowe i reaktywne formy tlenu (RFT) wykazują zdolność reakcji z różnymi strukturami komórkowymi, co prowadzi m.in. do konwersji białek, peroksydacji lipidowej, a także uszkodzenia struktury kwasów nukleinowych. Nadmierna reaktywność aktywnych form tlenu oraz zaburzenia równowagi pomiędzy ich wytwarzaniem a neutralizacją prowadzą do powstania stresu oksydacyjnego. W licznych badaniach udowodniono, iż skutki działania wolnych rodników mogą być przyczyną wielu chorób, m.in. schorzeń układu krążenia i układu oddechowego, cukrzycy, chorób nowotworowych czy chorób narządu wzroku (Chakraborty i in., 2009). Z tego powodu poszukiwanie nowych związków o działaniu antyoksydacyjnym jest przedmiotem zainteresowania wielu grup badawczych na świecie.

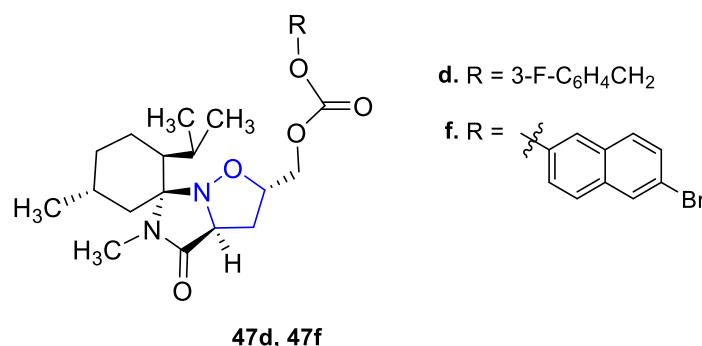
W ostatniej dekadzie opublikowano wiele prac, w których przedstawiono struktury związków, w tym także izoksazolidyn, wykazujących aktywność przeciwutleniającą. Dla pochodnych **46b-c** (Ryc. 61) określono potencjał przeciwutleniający trzema różnymi metodami (Ghannay i in., 2017).



Rycina 61. Struktura izoksazolidyn **46b-c**.

Izoksazolidyna **46b** w teście z użyciem DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) wykazywała najwyższą aktywność przeciwutleniającą. Wyznaczona dla związku **46b** wartość parametru IC_{50} na poziomie $0,50 \pm 1,02$ mg/ml świadczyła o aktywności wyższej od wzorcowego przeciwutleniacza – BHT (butylohydroksytoluenu) ($IC_{50} = 0,72 \pm 1,01$ mg/ml). Zastosowano metodę polegającą na oznaczeniu potencjału przeciwutleniającego w sprzężonym układzie β -karotenu z kwasem linolowym, co wykazało wyższą aktywność antyoksydacyjną izoksazolidyn **46c** ($IC_{50} = 0,71 \pm 1,1$ mg/ml) oraz **44b** ($IC_{50} = 0,43 \pm 1,5$ mg/ml) w porównaniu ze wzorcem. Natomiast w teście ABTS, który polega na ocenie zdolności badanego związku do neutralizacji kationorodnika generowanego z ABTS [2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu)], wykazano najwyższe działanie przeciwutleniające, jednak niższe od aktywności wzorcowego przeciwutleniacza – Troloxu ($IC_{50} = 0,30 \pm 0,08$ mg/ml) – dla izoksazolidyny **44b** ($IC_{50} = 0,42 \pm 1,50$ mg/ml) (Ghannay i in., 2017).

Kontynuując badania w kierunku poszukiwania związków o aktywności przeciwutleniającej, w grupie izoksazolidyn zsyntetyzowano pochodne **47d** oraz **47f** (Ryc. 62) i poddano je ocenie potencjału przeciwutleniającego z wykorzystaniem trzech metod (DPPH, ABTS, FRAP) (Ghannay i in., 2020).



Rycina 62. Struktura izoksazolidyn **47d**, **47f**.

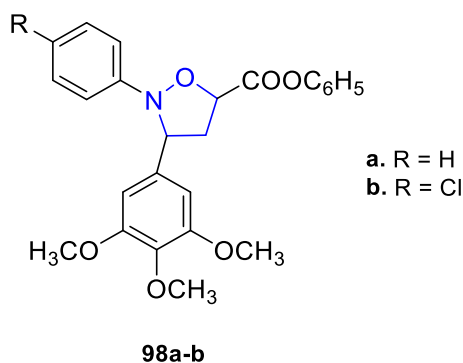
Tylko w metodzie FRAP (ang. *ferric reducing antioxidant power assay*) wykorzystującej redukcję związku TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-triazyny) aktywność przeciwutleniająca izoksazolidyny **47d** ($EC_{50} = 0,69 \pm 0,25$ mg/ml) oraz **47f** ($EC_{50} = 0,95 \pm 0,06$ mg/ml) była wyższa od standardowo stosowanej witaminy C ($EC_{50} = 0,99 \pm 0,07$ mg/ml) (Ghannay i in., 2020).

Dla izoksazolidyn **31a-c** (Ryc. 14) wykazujących działanie przeciwbakteryjne zbadano także aktywność przeciwutleniającą z wykorzystaniem metody z kwasem tiobarbiturowym. Najwyższą aktywność antyoksydacyjną wykazywała izoksazolidyna **31b** ($EC_{50} = 0,55 \pm 0,09$ mM), nieco słabiej działały natomiast pochodne **31a** oraz **31c** ($EC_{50} = 0,81 \pm 0,11$ mM i $1,40 \pm 0,14$ mM odpowiednio dla związku **31a** i **31c**). Uzyskane wartości parametru EC_{50} dla badanych izoksazolidyn **31a-c** były niższe niż dla Troloxu użytego jako wzorzec ($EC_{50} = 2,73 \pm 0,07$ mM) (Mosbah i in., 2019).

8. Izoksazolidyny o aktywności przeciwzapalnej

Zapalenie to uporządkowany proces rozwijający się w tkance pod wpływem urazu. Mechanizm działania leków przeciwzapalnych wpływających na syntezę eikozanoidów obejmuje hamowanie fosfolipazy A_2 (PLA_2) poprzez indukowanie uwalniania aneksyn (białek o działaniu m.in. przeciwzapalnym) za pomocą syntetycznych glikokortykosteroidów oraz hamowanie działania cyklooksygenazy ($COX-1$ oraz $COX-2$) przez niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) (da Silva-Souza i in., 2014).

Jako związki o potencjalnym działaniu przeciwzapalnym zsyntetyzowano 3-aryloizoksazolidyny **98a-b** (Ryc. 63) (Sadashiva i in., 2005b).

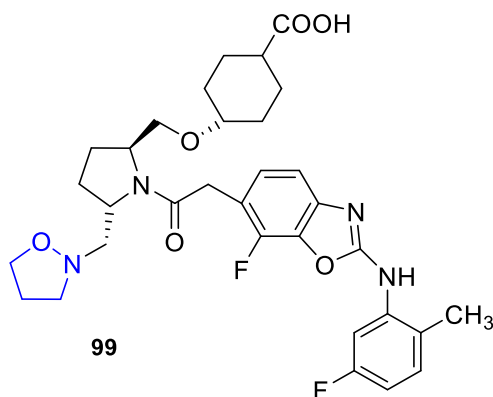


Rycina 63. Struktura izoksazolidyn **98a-b**.

Na podstawie badań *in vitro* i *in vivo* wykazano działanie inhibujące związków **98a-b** wobec fosfolipazy A₂ wyizolowanej z jadu węża oraz ludzkiej zapalnej mazi stawowej. Izoksazolidyny **98a-b** wykazywały aktywność hamującą enzym PLA₂ (IC₅₀ około 55 μM). W badaniu *in vivo* zaobserwowano również porównywalne działanie redukujące obrzęk w łapie myszy oraz aktywność heomolityczną związków **98a** oraz **98b** (Sadashiva i in., 2005b).

Integryna VLA-4 odgrywa ważną rolę w procesie adhezji migracji i proliferacji komórek zapalnych w miejscu powstania zapalenia. Nieprawidłowy przebieg procesu komórkowego powoduje uszkodzenie tkanek, co prowadzi do powstania wielu chorób zapalnych i autoimmunologicznych, takich jak astma, reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane czy też choroba Leśniowskiego–Crohna (Elices i in., 1990; Yang i Hagmann, 2003).

Izoksazolidyna **99** (Ryc. 64) to kolejny związek o potencjalnym działaniu przeciwzapalnym (Setoguchi i in., 2013).



Rycina 64. Struktura izoksazolidyny **99**.

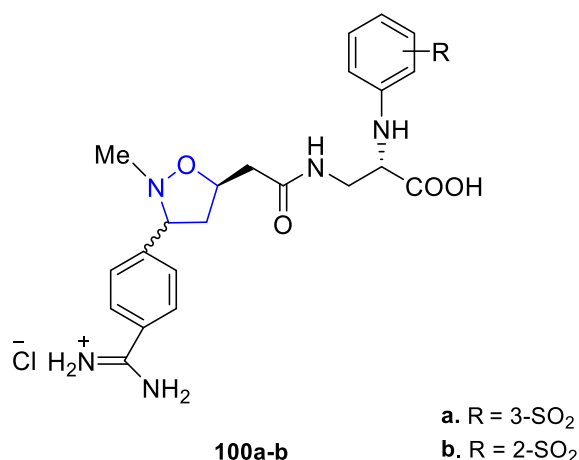
Aktywność antagonistyczna wobec VLA-4 została potwierdzona w badaniach *in vitro*. Związek **99** wykazywał działanie inhibujące intergryny VLA-4 przy stężeniu 2,20 nM. Wyznaczona dla związku **99** wartość współczynnika dystrybucji (Log D) była większa od 2, co świadczyło o dobrej dostępności doustnej badanej izoksazolidyny (Setoguchi i in., 2013).

9. Izoksazolidyny działające na układ krwionośny

Receptory glikoproteinowe GP IIb/IIIa odgrywają główną rolę w agregacji płytek krwi – przyłączają fibrynogen oraz czynnik von Willebranda jako swoiste mostki, co umożliwia łączenie poszczególnych płytek krwi. Płytki ulegające agregacji uwalniają nagromadzony difosforan adenozyliny (ADP) oraz tromboksan A₂ (TXA₂), które pobudzają kolejne płytki krwi, będące w fazie spoczynku, do agregacji.

Kluczowe jest więc poszukiwanie nowych związków będących inhibitorami receptorów glikoproteinowych płytek krwi, tak aby hamować agregację aktywowanych trombocytów (Lefkovits i in., 1995).

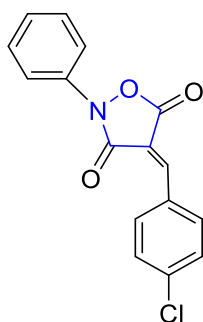
Opisano izoksazolidyny **100a-b** (Ryc. 65) będące inhibitorami receptorów glikoproteinowych GP IIb/IIIa (Confalone i in., 1999).



Rycina 65. Struktura izoksazolidyn **101a-b**.

W badaniu *in vitro* najlepsze działanie hamujące agregację płytek krwi przy użyciu ludzkiego osocza bogatopłytkowego wykazywała pochodna *cis*-**100a** (IC₅₀ = 0,028 μM). Aktywność ta była ponad 50-krotnie wyższa od działania izomeru *trans* związku **100a** (IC₅₀ = 1,5 μM). W tym samym badaniu izoksazolidyna *cis*-**100b** (IC₅₀ = 0,058 μM) wykazywała ponad 2-krotnie słabsze działanie inhibujące agregację płytek krwi w porównaniu z pochodną *cis*-**100a**. Badanie *in vivo* izoksazolidyny **100a** na modelu psim ujawniło jej korzystny profil farmakokinetyczny. Podanie dożylne związku **100a** w dawce 0,025 mg/kg powodowało hamowanie agregacji płytek krwi na poziomie 50% po upływie 12 godzin (Confalone i in., 1999).

Dla izoksazolidyny **101** (Ryc. 66) została zbadana również aktywność antykoagulacyjna. Badania prowadzone *in vivo* na szczurach wykazały, że po podaniu *per os* związku **101** w dawce 330 mg/kg po upływie od 12 do 48 godzin nastąpił spadek poziomu protrombiny o 25% (Rehse i Meder, 1986).



101

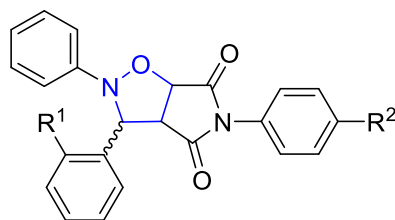
Rycina 66. Struktura izoksazolidyny **101**.

10. Izoksazolidyny o innym działaniu biologicznym

Końcowe produkty zaawansowanej glikacji, tzw. AGEs (ang. *advanced glycation endproducts*), zostają utworzone na skutek zajścia nieenzymatycznej reakcji Maillarda, w której to powstają wysoko usieciowane związki ulegające kumulacji w organizmie. Glikacja jest procesem zachodzącym pomiędzy grupą karbonylową cukrów a grupami zasadowymi występującymi w białkach, lipidach oraz kwasach

nukleinowych. Glikacja ulega nasileniu w stanach zaburzeń metabolicznych, w tym cukrzycy, dlatego wysoki poziom końcowych produktów zaawansowanej glikacji prowadzi do powstania m.in. angiopatii, retinopatii, nefropatii czy też kardiomiopatii. Ponadto wysoki poziom AGEs jest przyczyną powstania miażdżycy czy niewydolności serca, podnosi ryzyko wystąpienia choroby neurodegeneracyjnej – Alzheimerera, a także różnych typów nowotworów (Singh i in., 2014).

Otrzymane na drodze 1,3-dipolarnej cykloaddycji piroloizoksazolidyny **102a-h** (Ryc. 67) hamowały tworzenie końcowych produktów zaawansowanej glikacji (Kaur i in., 2013).



102a-h

- a. $R^1 = H, R^2 = Cl$
- b. $R^1 = CH_3, R^2 = Cl$
- c. $R^1 = OCH_3, R^2 = Cl$
- d. $R^1 = COOH, R^2 = Cl$
- e. $R^1 = OH, R^2 = H$
- f. $R^1 = OH, R^2 = CH_3$
- g. $R^1 = OH, R^2 = OCH_3$
- h. $R^1 = OH, R^2 = COOH$

Rycina 67. Struktura izoksazolidyn **102a-h**.

Analiza wykonanych wyników badań wykazała wyższą aktywność izomerów *cis* izoksazolidyn **102a-h** w porównaniu z izomerami *trans*. Wszystkie zsyntezowane związki **102a-h** ($IC_{50} = 7,18 \pm 1,45 - 33,05 \pm 2,11 \mu M$) wykazywały wyższe działanie inhibitujące tworzenie AGEs niż aminoguanidyna ($IC_{50} = 40,54 \pm 2,0 \mu M$) użyta jako związek referencyjny. Najwyższą aktywność hamującą tworzenie AGEs, ponad 6-krotnie wyższą od aminoguanidyny, wykazywały pochodne **102a-c** ($IC_{50} = 7,18 \pm 1,45 \mu M, 7,40 \pm 1,30 \mu M, 8,63 \pm 1,61 \mu M$, odpowiednio dla związku **102b, 102a, 102c**) (Kaur i in., 2013).

Węglowodany stanowią główny składnik codziennej diety człowieka, a także odgrywają kluczową rolę w dostarczaniu energii. Enzymem rozkładającym wiązanie α -1,4-glikozydowe w skrobi i pokrewnych α -glukanach jest α -amylaza. Otrzymane w wyniku hydrolizy monosacharydy ulegają wchłanianiu ze światła jelita, a następnie zostają wprowadzone do krwioobiegu. Hamowanie α -amylazy lub α -glukozydazy spowalnia trawienie węglowodanów i prowadzi do obniżenia poziomu glukozy we krwi, dlatego można je uznać za obiecujący sposób leczenia cukrzycy (Sundarram i in., 2014).

Bicykliczne izoksazolidyny **31a-c** (Ryc. 14), poza aktywnością przeciwbakteryjną i cytostatyczną, wykazywały także działanie *in vitro* hamujące aktywność świńskiej amylazy trzustkowej. Dla związków **31a-c** oznaczono wysoką aktywność inhibitującą działanie α -amylazy w zakresie stężeń 23,70–64,35 μM , podczas gdy dla akarbozy zastosowanej jako lek referencyjny wartość IC_{50} wynosiła 282,12 μM (Mosbah i in., 2019).

11. Podsumowanie

Aktualnie wiele zespołów naukowych na całym świecie prowadzi badania dotyczące syntezy związków zawierających w swej strukturze pierścienie izoksazolidyny. Zainteresowanie tą grupą połączeń wynika przede wszystkim z szerokiego spectrum aktywności biologicznej izoksazolidyn, szczególnie przeciwbakteryjnego i przeciwgrzybiczego, ale także przeciwnowotworowego i przeciwwirusowego. Dodatkowo możliwość wielokierunkowego przekształcenia pochodnych izoksazolidyn m.in. w aminoalkohole, związki 1,3-dikarbonylowe, nitrony czy też laktamy czyni je ważnymi blokami budulcowymi wykorzystywanymi w syntezie organicznej.

Bibliografia

- Ahrendt K.A., Borths C.J., MacMillan D.W.C. 2000. New strategies for organic catalysis: The first highly enantioselective organocatalytic Diels-Alder reaction. *Journal of the American Chemical Society* 122(17), str. 4243–4244. DOI: [10.1021/ja000092s](https://doi.org/10.1021/ja000092s).
- Ali S.A., Wazeer M.I.M. 1992. Peracid induced ring-opening of isoxazolidines – a mechanistic study. *Tetrahedron Letters*, 33(22), str. 3219–3222. DOI: [10.1016/s0040-4039\(00\)79856-x](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(00)79856-x).
- Aouadi K., Msaddek M., Praly J.P. 2012. Cycloaddition of a chiral nitron to allylic motifs: an access to enantiopure sugar-based amino acids displaying a stable glycosidic bond and to 4(S)-4-hydroxy-L-ornithine. *Tetrahedron*, 68(6), str. 1762–1768. DOI: [10.1016/j.tet.2011.12.048](https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.12.048).
- Baguley B.C., Wakelin L.P.G., Jacintho J.D., Kovacic P. 2003. Mechanisms of action of DNA intercalating acridine-based drugs: How important are contributions from electron transfer and oxidative stress? *Current Medicinal Chemistry*, 10(24), str. 2643–2649. DOI: [10.2174/0929867033456332](https://doi.org/10.2174/0929867033456332).
- Berthet M., Cheviatt T., Dujardin G., Parrot I., Martinez J. 2016. Isoxazolidine: a privileged scaffold for organic and medicinal chemistry. *Chemical Reviews*, 116(24), str. 15235–15283. DOI: [10.1021/acs.chemrev.6b00543](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00543).
- Bortolini O., De Nino A., Eliseo T., Gavioli R., Maiuolo L., Russo B., Sforza F. 2010. Synthesis and biological evaluation of diastereoisomerically pure N,O-nucleosides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(19), str. 6970–6976. DOI: [10.1016/j.bmc.2010.08.024](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.08.024).
- Cannon R.D., Lamping E., Holmes A.R., Niimi K., Baret P.V., Keniya M.V., Tanabe K., Niimi M., Goffeau A., Monk B.C. 2009. Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(2), str. 291–321. DOI: [10.1128/cmr.00051-08](https://doi.org/10.1128/cmr.00051-08).
- Casey R.J., Desaulniers J.P., Højfeldt J.W., Mapp A.K. 2009. Expanding the repertoire of small molecule transcriptional activation domains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(3), str. 1034–1043. DOI: [10.1016/j.bmc.2008.02.045](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.02.045).
- Casucelli F., Chiacchio U., Rescifina A., Romeo R., Romeo G., Tommasini S., Uccella N. 1995. Ring-opening of isoxazolidine nucleus – competitive formation of alpha, beta-enones and tetrahydro-1,3-oxazines. *Tetrahedron*, 51(10), str. 2979–2990. DOI: [10.1016/0040-4020\(95\)00030-c](https://doi.org/10.1016/0040-4020(95)00030-c).
- Chakraborty B., Chhetri M.S., Samanta A. 2010. A green approach in aqueous phase synthesis of isoxazolidine derivatives from N-phenyl-alpha-amino nitron and their antibacterial activities. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, 49(8), str. 1155–1160.
- Chakraborty B., Luitel G.P. 2013. An efficient ecofriendly protocol for the synthesis of novel fluoro isoxazoline and isoxazolidines using N-benzyl fluoro nitron via cycloaddition reactions. *Tetrahedron Letters*, 54(8), str. 765–770. DOI: [10.1016/j.tetlet.2012.11.111](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.11.111).
- Chakraborty P., Kumar S., Dutta D., Gupta V. 2009. Role of antioxidants in common health diseases. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2(2), str. 238–244.
- Chiacchio U., Rescifina A., Iannazzo D., Piperno A., Romeo R., Borrello L., Sciortino M.T., Balestrieri E., Macchi B., Mastino A., Romeo G. 2007. Phosphonated carbocyclic 2'-Oxa-3'-azanucleosides as new antiretroviral agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(15), str. 3747–3750. DOI: [10.1021/jm070285r](https://doi.org/10.1021/jm070285r).
- Choi F.D., Juhasz M.L.W., Mesinkovska N.A. 2019. Topical ketoconazole: a systematic review of current dermatological applications and future developments. *Journal of Dermatological Treatment*, 30(8), str. 760–771. DOI: [10.1080/09546634.2019.1573309](https://doi.org/10.1080/09546634.2019.1573309).
- Chruściel T. 1958. Cykloseryna i streptowaricyna – nowe leki przeciwgruźlicze. *Wszecławiat*, 1, 21–23.
- Coldham I., Burrell A.J.M., Guerrand H.D.S., Oram N. 2011. Cascade cyclization, dipolar cycloaddition to bridged tricyclic amines related to the daphniphyllum alkaloids. *Organic Letters*, 13(6), str. 1267–1269. DOI: [10.1021/ol102961x](https://doi.org/10.1021/ol102961x).
- Confalone P.N., Jin F.Q., Mousa S.A. 1999. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists derived from isoxazolidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9(1), str. 55–58. DOI: [10.1016/s0960-894x\(98\)00686-6](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(98)00686-6).
- Culbertson T.P., Moersch G.W., Neuklis W.A. 1964. The synthesis of steroidal 16alpha,17alpha-fused isoxazolines and isoxazolidines. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1(5), str. 280–287. DOI: [10.1002/jhet.5570010517](https://doi.org/10.1002/jhet.5570010517).

- Da Silva-Souza H.A., de Lira M.N., Costa-Junior H.M., da Cruz C.M., Vasconcellos J.S.S., Mendes A.N., Pimenta-Reis G., Alvarez C.L., Faccioli L.H., Serezani C.H., Schachter J., Persechini P.M. 2014. Inhibitors of the 5-lipoxygenase arachidonic acid pathway induce ATP release and ATP-dependent organic cation transport in macrophages. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes*, 1838(7), str. 1967–1977. DOI: [10.1016/j.bbamem.2014.04.006](https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.04.006).
- Damodiran M., Sivakumar P.M., SenthilKumar R., Muralidharan D., Kumar B., Doble M., Perumal P.T. 2009. Antibacterial activity, quantitative structure-activity relationship and diastereoselective synthesis of isoxazolidine derivatives via 1,3-dipolar cycloaddition of d-glucose derived nitron with olefin. *Chemical Biology & Drug Design*, 74(5), str. 494–506. DOI: [10.1111/j.1747-0285.2009.00887.x](https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2009.00887.x).
- Deepak C.D., Dennis C., John K. 1995. Glycine site agonists of the NMDA receptor: A review. *CNS Drug Reviews*, 1, str. 227–260. DOI: [10.1111/j.1527-3458.1995.tb00285.x](https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.1995.tb00285.x).
- Elices, M.J., Osborn, L., Takada, Y., Crouse, C., Luhowskyj, S., Hemler, M.E., Lobb, R.R. 1990. VCAM-1 on activated endothelium interacts with the leukocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4 fibronectin binding-site. *Cell*, 60(4), 577–584. DOI: [10.1016/0092-8674\(90\)90661-w](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90661-w).
- Enderlin G., Taillefumier C., Didierjean C., Chapleur Y. 2005. Cycloaddition reactions on activated exo-glycols. *Tetrahedron-Asymmetry*, 16(14), str. 2459–2474. DOI: [10.1016/j.tetasy.2005.06.027](https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2005.06.027).
- Fischer R., Stanko B., Pronayova N. 2013. Diastereoselective synthesis of racemic 3,4-cis and 3,4-trans isomers of isoxazolidine-4,5-diols and their derivatives. *Synlett*, 24(16), str. 2132–2136, DOI: [10.1055/s-0033-1339674](https://doi.org/10.1055/s-0033-1339674).
- Fleming A. 1929. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. Influenzae. *British Journal of Experimental Pathology*, 10(3), str. 226–236.
- Galmarini C.M., Mackey J.R., Dumontet C. 2002. Nucleoside analogues and nucleobases in cancer treatment. *Lancet Oncology*, 3(7), str. 415–424. DOI: [10.1016/s1470-2045\(02\)00788-x](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(02)00788-x).
- Ghannay S., Bakari S., Ghabi A., Kadri A., Msaddek M., Aouadi K. 2017. Stereoselective synthesis of enantiopure N-substituted pyrrolidin-2,5-dione derivatives by 1,3-dipolar cycloaddition and assessment of their in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27(11), str. 2302–2307. DOI: [10.1016/j.bmcl.2017.04.044](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.044).
- Ghannay S., Bakari S., Msaddek M., Vidal S., Kadri A., Aouadi K. 2020. Design, synthesis, molecular properties and in vitro antioxidant and antibacterial potential of novel enantiopure isoxazolidine derivatives. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), str. 2121–2131. DOI: [10.1016/j.arabjc.2018.03.013](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.03.013).
- Giofre S.V., Romeo R., Carnovale C., Mancuso R., Cirmi S., Navarra M., Garozzo A. and Chiacchio M.A. 2015. Synthesis and biological properties of 5-(1H-1,2,3-triazol-4-yl)isoxazolidines: A new class of C-nucleosides. *Molecules*, 20, str. 5260–5275. DOI: [10.3390/molecules20045260](https://doi.org/10.3390/molecules20045260).
- Grabkowska-Družyc M., Andrei G., Schols D., Snoeck R., Piotrowska D.G. 2018. Isoxazolidine conjugates of N3substituted 6-bromoquinazolinones-synthesis, anti-varizella-zoster virus, and anti-cytomegalovirus activity. *Molecules*, 23, nr art. 1889. DOI: [10.3390/molecules23081889](https://doi.org/10.3390/molecules23081889).
- Graham P. 2017. Wybrane zagadnienia z chemii medycznej. W: *Chemia medyczna*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN SA.
- Huang S.P., Koyama Y., Ikeda D., Kondo S., Takeuchi T. 1992. Synthesis and activity of potent 3-(isoxazolidin-5-yl)cephalosporins and 3-(isoxazolidinium-5-yl)cephalosporins. *Journal of Antibiotics*, 45(12), str. 1939–1948. DOI: [10.7164/antibiotics.45.1939](https://doi.org/10.7164/antibiotics.45.1939).
- Ikeda R., Kuwano R. 2016. Asymmetric hydrogenation of isoxazolium triflates with a chiral iridium catalyst. *Chemistry-a European Journal*, 22(25), str. 8610–8618. DOI: [10.1002/chem.201600732](https://doi.org/10.1002/chem.201600732).
- Inouye Y., Watanabe Y., Takahashi S., Kakisawa H. 1979. Preparation of N-benzyl-alpha-ethoxycarbonylnitron and its reactions with some olefins. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 52(12), str. 3763–3764. DOI: [10.1246/bcsj.52.3763](https://doi.org/10.1246/bcsj.52.3763).
- Isoldi M.C., Visconti M.A., Castrucci A.M.D. 2005. Anti-cancer drugs: Molecular mechanisms of action. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 5(7), str. 685–695. DOI: [10.2174/1389557054368781](https://doi.org/10.2174/1389557054368781).
- Kaur A., Singh B., Jaggi A.S. 2013. Synthesis and evaluation of novel 2,3,5-triaryl-4H,2,3,3a,5,6,6a-hexahydropyrrolo[3,4-d]isoxazole-4,6-diones for advanced glycation end product formation inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(3), str. 797–801. DOI: [10.1016/j.bmcl.2012.11.080](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.11.080).
- Kausar S., Khan F.S., Rehman M., Akram M., Riaz M., Rasool G., Khan A.H., Saleem I., Shamim S., Malik A. 2021. A review: Mechanism of action of antiviral drugs. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 35. DOI: [10.1177/20587384211002621](https://doi.org/10.1177/20587384211002621).

- Khazir J., Singh P.P., Reddy D.M., Hyder I., Shafi S., Sawant S.D., Chashoo G., Mahajan A., Alam M.S., Saxena A.K., Arvinda S., Gupta B.D., Kumar H.M.S. 2013. Synthesis and anticancer activity of novel spiro-isoxazoline and spiro-isoxazolidine derivatives of alpha-santonin. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 63, str. 279–289. DOI: [10.1016/j.ejmech.2013.01.003](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.01.003).
- Khumtaveeporn K., Alper H. 1995. Selective rhodium-catalyzed insertion of carbon monoxide into the nitrogen-oxygen bond of isoxazolidines. New reduction, migration, and rearrangement reactions catalyzed by iridium complexes. *Journal of Organic Chemistry*, 60(25), str. 8142–8147. DOI: [10.1021/jo00130a013](https://doi.org/10.1021/jo00130a013).
- Kokosza K., Andrei G., Schols D., Snoeck R., Piotrowska D.G. 2015. Design, antiviral and cytostatic properties of isoxazolidine-containing amonafide analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(13), str. 3135–3146. DOI: [10.1016/j.bmc.2015.04.079](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.079).
- Kumar K.R.R., Mallesha H., Basappa Rangappa K.S. 2003a. Synthesis of novel isoxazolidine derivatives and studies for their antifungal properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38(6), str. 613–619. DOI: [10.1016/s0223-5234\(03\)00077-1](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(03)00077-1).
- Kumar K.R.R., Mallesha H., Rangappa K.S. 2003b. Synthesis of novel isoxazolidine derivatives and their antifungal and antibacterial properties. *Archiv Der Pharmazie*, 336(3), str. 159–164. DOI: [10.1002/ardp.200390015](https://doi.org/10.1002/ardp.200390015).
- Kumar R.S., Perumal S., Shetty K.A., Yogeewari P., Sriram D. 2010. 1,3-Dipolar cycloaddition of C-aryl-N-phenylnitrones to (R)-1-(1-phenylethyl)-3-(E)-arylmethylidene tetrahydro-4(1H)-pyridinones: Synthesis and antimycobacterial evaluation of enantiomerically pure spiroisoxazolidines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(1), str. 124–133. DOI: [10.1016/j.ejmech.2009.09.034](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.09.034).
- Lefkovits J., Plow E.F., Topol E.J. 1995. Mechanisms of disease – platelet glycoprotein iib/iii receptors in cardiovascular medicine. *New England Journal of Medicine*, 332(23), str. 1553–1559. DOI: [10.1056/nejm199506083322306](https://doi.org/10.1056/nejm199506083322306).
- Leggio A., Liguori A., Procopio A., Siciliano C., Sindona G. 1996. Synthesis of 4'-aza analogues of 2',3'-dideoxythymidine by 1,3-dipolar cycloadditions of nitrones to 1-N-vinyl-thymine. *Tetrahedron Letters*, 37(8), str. 1277–1280. DOI: [10.1016/0040-4039\(95\)02373-9](https://doi.org/10.1016/0040-4039(95)02373-9).
- Leggio A., Liguori A., Procopio A., Siciliano C., Sindona G. 1997. A novel class of 4'-aza analogues of 2',3'-dideoxynucleosides as potential anti-HIV drugs. *Nucleosides & Nucleotides*, 16(7–9), str. 1515–1518. DOI: [10.1080/07328319708006219](https://doi.org/10.1080/07328319708006219).
- Levy S.B., Marshall B. 2004. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, 10(12), str. 122–129. DOI: [10.1038/nm1145](https://doi.org/10.1038/nm1145).
- Liu G., Song S.S., Shu S.Q., Miao Z.H., Zhang A., Ding C.Y. 2015. Novel spirobicyclic artemisinin analogues (artemalogues): Synthesis and antitumor activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 103, str. 17–28. DOI: [10.1016/j.ejmech.2015.08.035](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.08.035).
- Loh B., Vozzolo L., Mok B.J., Lee C.C., Fitzmaurice R.J., Caddick S., Fassati A. 2010. Inhibition of HIV-1 Replication by Isoxazolidine and Isoxazole Sulfonamides. *Chemical Biology & Drug Design*, 75(5), str. 461–474. DOI: [10.1111/j.1747-0285.2010.00956.x](https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2010.00956.x).
- Lombardo M., Rispoli G., Licciulli S., Trombini C., Dhavale D.D. 2005. 3-Bromo-propenyl acetate in organic synthesis: an expeditious route to 3-alkyl-4-acetoxy-5-iodomethyl isoxazolidines. *Tetrahedron Letters*, 46(22), str. 3789–3792. DOI: [10.1016/j.tetlet.2005.04.004](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.04.004).
- Łysakowska M., Balzarini J., Piotrowska D.G. 2014. Design, Synthesis, Antiviral, and Cytostatic Evaluation of Novel Isoxazolidine Analogs of Homonucleotides. *Archiv Der Pharmazie*, 347(5), str. 341–353. DOI: [10.1002/ardp.201300382](https://doi.org/10.1002/ardp.201300382).
- Łysakowska M., Glowacka I.E., Andrei G., Schols D., Snoeck R., Lisiecki P., Szemraj M., Piotrowska, D.G. 2022. Design, synthesis, anti-varicella-zoster and antimicrobial activity of (isoxazolidin-3-yl)phosphonate conjugates of N1-functionalised quinazoline-2,4-diones. *Molecules*, 27, nr art. 6526. DOI: [10.3390/molecules27196526](https://doi.org/10.3390/molecules27196526).
- Ma J. 2011. Transcriptional activators and activation mechanisms. *Protein & Cell*, 2(11), str. 879–888. DOI: [10.1007/s13238-011-1101-7](https://doi.org/10.1007/s13238-011-1101-7).
- Maertens J.A. 2004. History of the development of azole derivatives. *Clinical Microbiology and Infection*, 10, str. 1–10. DOI: [10.1111/j.1470-9465.2004.00841.x](https://doi.org/10.1111/j.1470-9465.2004.00841.x).
- Marraffa A., Presenti P., Macchi B., Marino-Merlo F., Mella M., Quadrelli P. 2020. N,O-Nucleoside Analogues: Metabolic and Apoptotic Activity. *Chemistryopen*, 9(5), str. 528–537. DOI: [10.1002/open.202000034](https://doi.org/10.1002/open.202000034).

- Mehellou Y., De Clercq E. 2010. Twenty-Six Years of Anti-HIV Drug Discovery: Where Do We Stand and Where Do We Go? *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(2), str. 521–538. DOI: [10.1021/jm900492g](https://doi.org/10.1021/jm900492g).
- Memeo M.G., Valletta E., Macchi B., Porta A., Bovio B., Moiola M., Quadrelli P. 2018. Ene Reaction of Nitrosocarbonyl Mesitylene with the Cinnamyl Alcohol: Metabolic Activity and Apoptosis of the Synthesized 6-Chloropurine N,O-Nucleoside Analogues. *Acs Omega*, 3(7), str. 7621–7629. DOI: [10.1021/acsomega.8b00970](https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00970).
- Merino P., Franco S., Merchan F.L., Tejero T. 2000. Stereodivergent approaches to the synthesis of isoxazolidine analogues of alpha-amino acid nucleosides. Total synthesis of isoxazolidinyl deoxypolyoxin C and uracil polyoxin C. *Journal of Organic Chemistry*, 65(18), str. 5575–5589. DOI: [10.1021/jo0002689](https://doi.org/10.1021/jo0002689).
- Merino P., Tejero T., Mates J., Chiacchio U., Corsaro A., Romeo G. 2007. 3-(Aminomethyl)-2-(carboxymethyl)isoxazolidinyl nucleosides: building blocks for peptide nucleic acid analogues. *Tetrahedron-Asymmetry*, 18(13), str. 1517–1520, DOI: [10.1016/j.tetasy.2007.06.029](https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2007.06.029).
- Minter A.R., Brennan B.B., Mapp A.K. 2004. A small molecule transcriptional activation domain. *Journal of the American Chemical Society*, 126(34), str. 10504–10505. DOI: [10.1021/ja0473889](https://doi.org/10.1021/ja0473889).
- Mosbah H., Chahdoura H., Mannai A., Snoussi M., Aouadi K., Abreu R.M.V., Bouslama A., Achour L., Selmi B. 2019. Biological activities evaluation of enantiopure isoxazolidine derivatives: in vitro, in vivo and in silico studies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 187(3), str. 1113–1130. DOI: [10.1007/s12010-018-2868-2](https://doi.org/10.1007/s12010-018-2868-2).
- Mullen G.B., Decory T.R., Mitchell J.T., Allen S.D., Kinsolving C.R., Georgiev V.S. 1988a. Studies on antifungal agents .23. Novel substituted 3,5-diphenyl-3-(1H-imidazol-1-ylmethyl)-2-alkylisoxazolidine derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 31(10), 2008–2014. DOI: [10.1021/jm00118a027](https://doi.org/10.1021/jm00118a027).
- Mullen G.B., Swift P.A., Bennett G.A., Decory T.R., Maryniak D.M., Dormer P.G., Georgiev V. 1988b. Synthesis and antifungal activity of novel isoxazolidine compounds. *Antifungal Drugs*, 544(1), str. 32–45. DOI: [10.1111/j.1749-6632.1988.tb40387.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb40387.x).
- Nishi K., Imuta M., Kimura Y., Miwa H. 1995. Synthesis and antibacterial activity of 2-(isoxazolidin-5-yl)carbapenem derivatives. *Journal of Antibiotics*, 48(12), str. 1481–1487. DOI: [10.7164/antibiotics.48.1481](https://doi.org/10.7164/antibiotics.48.1481).
- Nora G.P., Miller M.J., Mollmann U. 2006. The synthesis and in vitro testing of structurally novel antibiotics derived from acylnitroso Diels-Alder adducts. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(15), str. 3966–3970. DOI: [10.1016/j.bmcl.2006.05.021](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.05.021).
- Norberg M.M., Krystal J.H., Tolin D.F. 2008. A meta-analysis of D-Cycloserine and the facilitation of fear extinction and exposure therapy. *Biological Psychiatry*, 63(12), str. 1118–1126. DOI: [10.1016/j.biopsych.2008.01.012](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.01.012).
- Ochiai M., Obayashi M., Morita K. 1967. A new 1,3-dipolar cycloaddition reaction – synthesis of some isoxazolidine derivatives. *Tetrahedron*, 23(6), str. 2641–2648. DOI: [10.1016/0040-4020\(67\)85128-7](https://doi.org/10.1016/0040-4020(67)85128-7).
- Padwa A., Koehler K.F., Rodriguez A. 1981. Nitrono cycloaddition – a new approach to beta-lactams. *Journal of the American Chemical Society*, 103(16), str. 4974–4975. DOI: [10.1021/ja00406a065](https://doi.org/10.1021/ja00406a065).
- Pagar V.V., Liu R.S. 2015. Gold-catalyzed cycloaddition reactions of ethyl diazoacetate, nitrosoarenes, and vinyl diazo carbonyl compounds: Synthesis of isoxazolidine and benzo[b]azepine derivatives. *Angewandte Chemie-International Edition*, 54(16), str. 4923–4926. DOI: [10.1002/anie.201500340](https://doi.org/10.1002/anie.201500340).
- Palmer G.C., Ordy M.J., Simmon, R.D., Strand J.C., Radov L.A., Mullen G.B., Kinsolving C.R., Stgeorgiev V., Mitchell J.T., Allen S.D. 1989. Selection of orally active antifungal agents from 3,5-substituted isoxazolidinenderivatives based on acute efficacy-safety profiles. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(6), str. 895–905. DOI: [10.1128/aac.33.6.895](https://doi.org/10.1128/aac.33.6.895).
- Piotrowska D.G., Andrei G., Schols D., Snoeck R., Grabkowska-Drużyc M. 2016. New isoxazolidine-conjugates of quinazolinones synthesis, antiviral and cytostatic activity. *Molecules*, 21, nr art. 959. DOI: [10.3390/molecules21070959](https://doi.org/10.3390/molecules21070959).
- Piotrowska D.G., Andrei G., Schols D., Snoeck R., Łysakowska M. 2017a. Synthesis, anti-varicella-zoster virus and anti-cytomegalovirus activity of quinazoline-2,4-diones containing isoxazolidine and phosphonate substructures. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 126, str. 84–100. DOI: [10.1016/j.ejmech.2016.10.002](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.002).
- Piotrowska D.G., Balzarini J., Glowacka I.E. 2012. Design, synthesis, antiviral and cytostatic evaluation of novel isoxazolidine nucleotide analogues with a 1,2,3-triazole linker. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 47, str. 501–509. DOI: [10.1016/j.ejmech.2011.11.021](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.11.021).

- Piotrowska D.G., Cieslak M., Krolewska K., Wroblewski A.E. 2011a. Design, synthesis and cytotoxicity of a new series of isoxazolidine based nucleoside analogues. *Archiv Der Pharmazie*, 344(5), str. 301–310. DOI: [10.1002/ardp.201000282](https://doi.org/10.1002/ardp.201000282).
- Piotrowska D.G., Cieślak M., Krolewska K., Wróblewski A.E. 2011b. Design, synthesis and cytotoxicity of a new series of isoxazolidines derived from substituted chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(4), str. 1382–1389. DOI: [10.1016/j.ejmech.2011.01.067](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.01.067).
- Piotrowska D.G., Glowacka I.E., Schols D., Snoeck R., Andrei G., Gotkowska J. 2019. Novel isoxazolidine and gamma-lactam analogues of homonucleosides. *Molecules*, 24, nr art. 4014. DOI: [10.3390/molecules24224014](https://doi.org/10.3390/molecules24224014).
- Piotrowska D.G., Wróblewski A.E., Balzarini J., Andrei G., Schols D., Snoeck R., Felczak A., Wronska N., Lisowska K., Glowacka I.E. 2017b. Synthesis and biological activity of novel phenol-conjugates of isoxazolidines. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 74(4), str. 1091–1100.
- Piperno A., Giofre S.V., Iannazzo D., Romeo R., Romeo G., Chiacchio U., Rescifina A., Piotrowska D.G. 2010. Synthesis of C-4'-truncated phosphonated carbocyclic 2'-oxa-3'-azanucleosides as antiviral agents. *Journal of Organic Chemistry*, 75(9), str. 2798–2805. DOI: [10.1021/jo902485m](https://doi.org/10.1021/jo902485m).
- Polak A. 1978. Synergism of polyene antibiotics with 5-fluorocytosine. *Chemotherapy*, 24(1), str. 2–16. DOI: [10.1159/000237753](https://doi.org/10.1159/000237753).
- Procopio A., Alcaro S., De Nino A., Maiuolo L., Ortuso F., Sindona G. 2005. New conformationally locked bicyclic N,O-nucleoside analogues of antiviral drugs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15(3), str. 545–550. DOI: [10.1016/j.bmcl.2004.11.048](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.11.048).
- Raunak, Kumar V., Mukherjee S., Poonam, Prasad A.K., Olsen C.E., Schaffer S.J.C., Sharma S.K., Watterson A.C., Errington W., Parmar V.S. 2005. Microwave mediated synthesis of spiro-(indoline-isoxazolidines): mechanistic study and biological activity evaluation. *Tetrahedron*, 61(23), str. 5687–5697. DOI: [10.1016/j.tet.2005.03.027](https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.03.027).
- Reddy A.R., Guo Z., Siu F.M., Lok C.N., Liu F.L., Yeung K.C., Zhou C.Y., Che C.M. 2012. Diastereoselective ruthenium porphyrin-catalyzed tandem nitron formation/1,3-dipolar cycloaddition for isoxazolidines. Synthesis, in silico docking study and in vitro biological activities. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10(46), str. 9165–9174. DOI: [10.1039/c2ob26518d](https://doi.org/10.1039/c2ob26518d).
- Rehse K., Meder J. 1986. Anticoagulant effects of isoxazolidine-3,5-diones. *Archiv Der Pharmazie*, 319(2), str. 133–140. DOI: [10.1002/ardp.19863190208](https://doi.org/10.1002/ardp.19863190208).
- Rescifina A., Chiacchio M.A., Corsaro A., De Clercq E., Iannazzo D., Mastino A., Piperno A., Romeo G., Romeo R., Valveri V. 2006. Synthesis and biological activity of isoxazolidinyl polycyclic aromatic hydrocarbons: Potential DNA intercalators. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(2), str. 709–715. DOI: [10.1021/jm050772b](https://doi.org/10.1021/jm050772b).
- Rescifina A., Chiacchio U., Corsaro A., Piperno A., Romeo R. 2011. Isoxazolidinyl polycyclic aromatic hydrocarbons as DNA-intercalating antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(1), str. 129–136. DOI: [10.1016/j.ejmech.2010.10.023](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.10.023).
- Rescifina A., Varrica M.G., Carnovale C., Romeo G., Chiacchio U. 2012a. Novel isoxazole polycyclic aromatic hydrocarbons as DNA-intercalating agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 51, str. 163–173. DOI: [10.1016/j.ejmech.2012.02.038](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.02.038).
- Rescifina A., Zagni C., Romeo G., Sortino S. 2012b. Synthesis and biological activity of novel bifunctional isoxazolidinyl polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(16), str. 4978–4984. DOI: [10.1016/j.bmc.2012.06.035](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.06.035).
- Roger P.Y., Durand A.C., Rodriguez J., Dulcere J.P. 2004. Unprecedented in situ oxidative ring cleavage of isoxazolidines: Diastereoselective transformation of nitronic acids and derivatives into 3-hydroxymethyl 4-nitro tetrahydrofurans and pyrrolidines. *Organic Letters*, 6(12), str. 2027–2029. DOI: [10.1021/ol049394f](https://doi.org/10.1021/ol049394f).
- Romeo R., Giofre S.V., Carnovale C., Campisi A., Parenti R., Bandini L., Chiacchio M.A. 2013. Synthesis and biological evaluation of 3-hydroxymethyl-5-(1H-1,2,3-triazol) isoxazolidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(24), str. 7929–7937. DOI: [10.1016/j.bmc.2013.10.001](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.10.001).
- Romeo R., Iannazzo D., Veltri L., Gabriele B., Macchi B., Frezza C., Marino-Merlo F., Giofre S.V. 2019. Pyrimidine-2,4-diones in the design of new HIV RT inhibitors. *Molecules*, 24, nr art. 1718. DOI: [10.3390/molecules24091718](https://doi.org/10.3390/molecules24091718).

- Romeo R., Navarra M., Giofre S.V., Carnovale C., Cirmi S., Lanza G., Chiacchio M.A. 2014. Synthesis and biological activity of new arenediynes-linked isoxazolidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(13), str. 3379–3385. DOI: [10.1016/j.bmc.2014.04.047](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.04.047).
- Rubach M., Siedlecki P. 2014. Początki chemioterapii w Polsce: w 40. rocznicę powstania pierwszej w kraju Kliniki Chemioterapii w Instytucie Onkologii w Warszawie. *Nowotwory Journal of Oncology*, 64, str. 544–550. DOI: [10.5603/NJO.2014.0097](https://doi.org/10.5603/NJO.2014.0097).
- Sadashiva M.P., Mallesha H., Hitesh N.A., Rangappa K.S. 2004. Synthesis and microbial inhibition study of novel 5-imidazolyl substituted isoxazolidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12(24), str. 6389–6395. DOI: [10.1016/j.bmc.2004.09.031](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.09.031).
- Sadashiva M.P., Mallesha H., Murthy K.K., Rangappa K.S. 2005a. Enhancement in antimicrobial activity of 2-(phenyl)-3(2-butyl-4-chloro-1H-imidazolyl)-5-butylate isoxazolidine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15(7), str. 1811–1814. DOI: [10.1016/j.bmcl.2005.02.034](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.02.034).
- Sadashiva M.P., Nataraju A., Mallesha H., Rajesh R., Vishwanath B.S. Rangappa K.S. 2005b. Synthesis and evaluation of trimethoxyphenyl isoxazolidines as inhibitors of secretory phospholipase A(2) with anti-inflammatory activity. *International Journal of Molecular Medicine*, 16(5), str. 895–904.
- Setoguchi M., Iimura S., Sugimoto Y., Yoneda Y., Chiba J., Watanabe T., Muro F., Iigo Y., Takayama G., Yokoyama M., Taira T., Aonuma M., Takashi T., Nakayama A., Machinaga N. 2013. A novel, potent, and orally active VLA-4 antagonist with good aqueous solubility: trans-4-1-2-(5-Fluoro-2-methylphenylamino)-7-fluoro-6-benzoxazolyl acetyl-(5S)-methoxy(methyl)amino methyl-(2S)-pyrrolidinylmethoxy cyclohexanecarboxylic acid. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(1), str. 42–61. DOI: [10.1016/j.bmc.2012.11.003](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.11.003).
- Singh G., Sharma A., Kaur H., Ishar M.P.S. 2016. Chromanyl-isoxazolidines as antibacterial agents: synthesis, biological evaluation, quantitative structure activity relationship, and molecular docking studies. *Chemical Biology & Drug Design*, 87(2), str. 213–223. DOI: [10.1111/cbdd.12653](https://doi.org/10.1111/cbdd.12653).
- Singh R., Bhella S.S., Sexana A.K., Shanmugavel M., Faruk A., Ishar M.P.S. 2007. Investigations of regio- and stereoselectivities in the synthesis of cytotoxic isoxazolidines through 1,3-dipolar cycloadditions of nitrones to dipolarophiles bearing an allylic oxygen. *Tetrahedron*, 63(10), str. 2283–2291. DOI: [10.1016/j.tet.2006.12.076](https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.12.076).
- Singh S., Chopra A., Singh G., Saxena A. K., Ishar M. P. S. 2013. Synthesis and in-vitro cytotoxic evaluation of novel chromano-piperidine fused isoxazolidines: discovery of a potent lead. *Journal of Pharmacy Research*, 7, str. 337–341. DOI: [10.1016/j.jopr.2013.04.018](https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.04.018).
- Singh V.P., Bali A., Singh N., Jaggi A.S. 2014. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 18(1), str. 1–14. DOI: [10.4196/kjpp.2014.18.1.1](https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.1.1).
- Sundarram A., Pandurangappa T., Murthy K. 2014. α -Amylase production and applications: a review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2, str. 166–175. DOI: [10.12691/jaem-2-4-10](https://doi.org/10.12691/jaem-2-4-10).
- Tsuda M., Hirano K., Kubota T., Kobayashi J. 1999. Pyrindodemin A, a cytotoxic pyridine alkaloid with an isoxazolidine moiety from sponge Amphimedon sp. *Tetrahedron Letters*, 40(26), str. 4819–4820. DOI: [10.1016/S0040-4039\(99\)00852-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)00852-7).
- Vasella A., Voefray R., Pless J., Huguenin R. 1983. Synthesis of D-5-oxaproline and L-5-oxaproline and of a new captopril analog. *Helvetica Chimica Acta*, 66(4), str. 1241–1252. DOI: [10.1002/hlca.19830660424](https://doi.org/10.1002/hlca.19830660424).
- Yang G.X., Hagmann W.K. 2003. VLA-4 antagonists: Potent inhibitors of lymphocyte migration. *Medicinal Research Reviews*, 23(3), str. 369–392. DOI: [10.1002/med.10044](https://doi.org/10.1002/med.10044).
- Yildirim A., Cetin M. 2008. Synthesis and evaluation of new long alkyl side chain acetamide, isoxazolidine and isoxazoline derivatives as corrosion inhibitors. *Corrosion Science*, 50(1), str. 155–165. DOI: [10.1016/j.corsci.2007.06.015](https://doi.org/10.1016/j.corsci.2007.06.015).
- Yon S.R., Ung A.T., Pyne S.G., Skelton B.W., White A.H. 2007. Synthesis of novel 3'-spirocyclic-oxindole derivatives and assessment of their cytostatic activities. *Tetrahedron*, 63(25), str. 5579–5586. DOI: [10.1016/j.tet.2007.04.028](https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.04.028).
- Zadrożna I., Kurkowska J., Kruszewska H. 2005. Chemical and biochemical transformations of 5-ethoxycarbonyl-5-phenyl-2-isoxazolines. *Il Farmaco* 60, str. 948–954. DOI: [10.1016/j.farmac.2005.07.003](https://doi.org/10.1016/j.farmac.2005.07.003).
- Zakrzewska-Rowińska E. 2000. *Gruźlica w praktyce lekarskiej*, Warszawa: PZWL.
- Zelechowski K., Golebiewski W.M., Krawczyk M. 2015. Synthesis and fungicidal activity of 2-(diphenylmethyl)-3-aryl isoxazolidine-5-carboxamides. *Monatshefte Fur Chemie*, 146(11), str. 1895–1905. DOI: [10.1007/s00706-015-1568-7](https://doi.org/10.1007/s00706-015-1568-7).

- Zhu S.L., Wu Y., Liu C.J., Wei C.Y. Tao J.C. Liu H.M. 2013. Synthesis and in vitro cytotoxic activity evaluation of novel heterocycle bridged carbothioamide type isosteviol derivatives as antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(5), str. 1343–1346. DOI: [10.1016/j.bmcl.2012.12.091](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.12.091).
- Zinzani P.L., Tosi P., Visani G., Martinelli G., Farabegoli P., Buzzi M., Ottaviani E., Salvucci M., Bendandi M., Zaccaria A., Tura, S. 1994. Apoptosis induction with 3 nucleoside analogs on freshly isolated B-chronic lymphocytic-leukemia cells. *American Journal of Hematology*, 47(4), str. 301–306. DOI: [10.1002/ajh.2830470410](https://doi.org/10.1002/ajh.2830470410).

