

26. X.-P. Sun, C.-L. Shao, C.-Y. Wang, X.-B. Li, Y. Xu, P.-Y. Qian, K. Zhao, C.-J. Zheng, *Chem. Nat. Compd.* **48** (2012) 341
27. H.-Y. Fang, C.-C. Liaw, C.-H. Chao, Z.-H. Wen, Y.-C. Wu, C.-H. Hsu, C.-F. Dai, J.-H. Sheu, *Tetrahedron* **68** (2012) 9694
28. H.-Y. Fang, C.-H. Hsu, C.-H. Chao, Z.-H. Wen, Y.-C. Wu, C.-F. Dai, J.-H. Sheu, *Mar. Drugs* **11** (2013) 1853
29. C.-Y. Kuo, Y.-S. Juan, M.-C. Lu, M. Y.-N. Chiang, C.-P. Dai, Y.-C. Wu, P.-J. Sung, *Int. J. Mol. Sci.* **15** (2014) 10136
30. Y. Yang, Z. Liu, W.-H. Lin, Y.-B. Ji, *Xiandai Yaowu Yu Linchuang* **29** (2014) 11
31. W. Cheng, Z. Liu, Y. Yu, L. van Ofwegen, P. Proksch, S. Yu, W. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **27** (2017) 2736
32. L. S. Ciereszko, *Biol. Oceanogr.* **6** (1989) 363



АНИТА ЛАЗИЋ

научни сарадник, Иновационог центра Технолошко-металуршког факултета
e-mail: alazic@tmf.bg.ac.rs

ДЕРИВАТИ ФЕНОТИАЗИНА: ВИШЕ ОД САСТОЈКА ЛИТИЧКОГ КОКТЕЛА

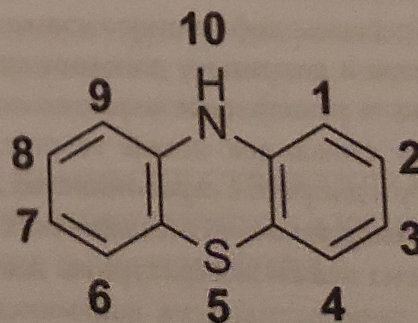
УВОД

Фокус медицинске хемије, усмерен је ка синтези и развоју "водећих молекула" (енгл. lead molecules), односно једињења која поседују одређену фармаколошку активност и као таква представљају полазну основу чијим структурним променама се побољшава активност, повећава селективност и смањује токсичност нових лекова [1]. Последњих двадесетак година, велико интересовање истраживача усмерено је ка различитим хемијским модификацијама на фенотиазинском језгру (слика 1). Овај ригидни, трициклични систем сачињен из два бензенова прстена међусобно спојена хетероцикличним 1,4-тиазинским прстеном, синтетисао је сасвим случајно 1883. године немачки хемичар Хајнрих Аугуст Бернтсен (Heinrich August Bernthsen), будући да му је првобитна намера била да потврди хемијску структуру тионина и метиленског плавог [2, 3]. Од пионирског Бернтсеновог рада, па до данашњих дана, синтетисано је преко пет хиљада деривата фенотиазина, од којих је чак стотинак пронашло разнолику примену у клиничкој пракси [2]. Интересанто је да сам фенотиазин не поседује фармаколошку активност, али су зато његови деривати увелико признати у медицини, а нарочито у психофармакологији. Будући да се везују за различите биолошке рецепторе, стекли су епитет "прљави лекови" (енгл. dirty drugs) [4]. Ова једињења ефикасно инхибирају првенствено допаминске, а потом и хистаминске, серотонинске, ацетилхолинске и α -адренергичке рецепторе, због чега се интензивно примењују у лечењу шизофреније и различитих форми психоза (халуцинација, делузија, биполарних поремећаја, анксиозности, агитација, манија и других облика импулсивног понашања) [4, 5]. Поред револуционарне антипсихотичке активности [6], деривати фенотиазина су изузетно ефикасни у третману неуродегенеративних болести попут Алцхајмерове и Паркинсонове,

а значајни су и као антибиотици, антивирални, антифунгални и антиинфламаторни агенси, антималарици, антиконвулзиви, аналгетици, имуносупресиви. Антипролиферативна, антиканцерогена и хемопреventивна активност (ефикасно инхибирају калмодулинске рецепторе и протеинкиназу C), представљају само једно од небројаних фармаколошких својстава која се могу приписати овој још увек недовољно медицински истраженој групи трицикличних тиазинских једињења [4, 6]. Овај рад је писан са намером да на систематичан начин илуструје вишедеценијска открића везана за евалуацију *in vitro* и *in vivo* фармаколошке активности различитих деривата фенотиазина, пружи увид у везу између њихове хемијске структуре и фармаколошке активности и пружи смернице за синтезе неких нових ефикаснијих деривата.

ХЕМИЈСКЕ МОДИФИКАЦИЈЕ ФЕНОТИАЗИНА

Првобитни Бернтсенов назив за фенотиазин, био је тиодифениламин, будући да га је синтетисао полазећи од дифениламина и сумпора. Поред овог, равноправно се употребљавају и називи 2,3,5,6-добензо-1,4-тиазин и дибензопаратиазин. Хемијска структура заједно са нумерацијом поменутог трицикличног система, представљена је на слици 1 [7, 8]:



Слика 1: Хемијска структура фенотиазина

Модификовањем његове структуре што, између осталог, обухвата:

- 1) увођење супституената на атом азота у 1,4-тиазинском прстену (положај 10, слика 1),
- 2) увођење супституената на атоме угљеника у бензеновим прстеновима (положаји 1-4 и 6-9, слика 1),
- 3) оксидацију атома сумпора до сулфонске и сулфоксидне групе,
- 4) супституцију једног или оба бензенова прстена хомоароматичним/хетероароматичним прстеновима,

добија се широк спектар потенцијално фармаколошки активних једињења [6, 8].

Деривати фенотиазина добијени супституцијом атома водоника амино групе, означавају се као 10Н-деривати, док се једињења добијена модификацијама на атому сумпора, означавају као 5-супституисани деривати [8]. Уопштено говорећи, фармаколошки активне деривате фенотиазина, карактерише присуство алкил ланца везаног за атом азота у положају 10 и он доприноси специфичним својствима ових једињења, док супституенти везани за атом угљеника у положају 2, доприносе њиховој ефикасности. Међу такозваним, "С-2-супституентима", најзначајнији су атоми халогена јер доприносе највећој ефикасности, а посебно се издваја трифлуорметил-група. Ефикасност деривата фенотиазина повећава се ако је липофилност супституента већа, јер ово олакшава пролазак молекула лека кроз липофилну крвно-моздану баријеру [4].

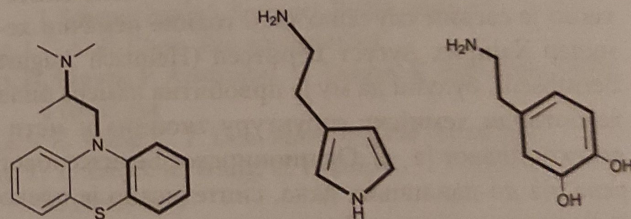
УТИЦАЈ ХЕМИЈСКЕ СТРУКТУРЕ НА АНТИПСИХОТИЧКУ АКТИВНОСТ ДЕРИВАТА ФЕНОТИАЗИНА

Деривати фенотиазина се због ефикасног везивања за различите неуротрансмитере у централном нервном систему, увелико примењују у лечењу различитих менталних поремећаја, а преваходно шизофреније [5]. Патофизиологија шизофреније је изузетно комплексна и још увек недовољно дефинисана. Познато је да се јавља код 1% глобалне популације, различитог етничког и социјалног статуса [9]. Пређашње дефиниције засниване су углавном на улози и доприносу допаминских рецептора настанку и развоју овог изузетно комплексног патолошког стања, док новије теорије, узимају у обзир улогу и допринос серотонинских, мускаринских, α -адренергичких и хистаминских рецептора [4, 10]. Према неким литературним наводима, као последица хиперактивности допаминских рецептора у мезолимбичким деловима мозга, јављају се позитивни симптоми шизофреније, као што су халуцинације и делузије [11]. Циљ фармакотера-

132 Хемијски преглед

пије је да применом одговарајућих антипсихотика све позитивне и негативне симптоме ове болести држи под контролом, како би се пацијенту пружио што квалитетнији живот [5]. Антипсихотике можемо класификовати на оне који припадају првој, другој и трећој генерацији. Типични или антипсихотици прве генерације се према својој хемијској структури деле на: фенотиазинске, бутирофенонске, тиоксантинске, дибензоксантинске, дихидроиндолонске и дифенилбутилпиперидинске, док се према степену инхибиције допаминских рецептора, групишу као високопотентни, средњепотентни и нископотентни. Амфолитични деривати фенотиазина који се употребљавају као антипсихотици, успешно пролазе кроз липидни двослој ћелијских мембрана и крвно-моздану баријеру, захваљујући високом подеоном коефицијенту овог трицикличног система. Њихово успешно везивање за одговарајуће неуротрансмитере у централном нервном систему, резултира следећим:

- 1) *Антидопамински ефекат* деривата фенотиазина-круцијално својство деривата фенотиазина са антипсихотичком активношћу је њихова способност да селективно инхибирају пет различитих типова допаминских рецептора. Афинитет ових једињења према допаминским рецепторима, објашњава се сличношћу у хемијским структурама која омогућава молекулу фенотиазина да се успешно веже за своје активно место на допаминском рецептору (слика 2) [4].



Слика 2: Структурне сличности између прометазина, хистамина и допамина (редом слева надесно) којим се објашњавају фармаколошка својства прометазина и осталих деривата фенотиазина

Прецизније говорећи, њихов терапијски ефекат заснива се на инхибицији активности D_2 рецептора присутних у деловима мозга као што су: striatum, nucleus accumbens, ventral tegmental nigra и substantia nigra, чиме се веома успешно умањују позитивни симптоми шизофреније.

- 2) *Антихистамински ефекат* деривата фенотиазина- сви деривати фенотиазина који се примењују у клиничкој пракси, с посебним акцентом на прометазин, изазивају антихистамински ефекат. До њега долази када се инхибира активност H_1 -рецептора који су између осталог одговорни за појаву алергија. У централном нервном систему, ови рецептори су већим делом смештени у делу који се назива tuberomammillary nucleus и одговар-

ни су за регулацију циклуса сан-јава, регулацију апетита и телесне температуре. Као споредни ефекат инхибиције активности Н1-рецептора, јављају се седација, повећан апетит и хипотермија.

3) *Антисеротонински ефекат деривата фенотиазина*-антипсихотици из групе фенотиазина, показују велики афинитет ка серотонинским (5-хидрокситриптаминским или 5-НТ) рецепторима као биолошким циљевима а међу њима су "најпривлачнији" они који носе ознаке 5-НТ1А, 5-НТ2А и 5-НТ2С. Блокадом ових рецептора јавља се анксиолитички ефекат.

4) *Инхибиција α-адренергичких рецептора*-инхибиција активности α1-адренергичких рецептора, доприноси развоју симпатолитичких споредних ефеката (хипотензија, рефлексна тахикардија и вртоглавица), док инхибиција активности α2-адренергичких рецептора доприноси антипсихотичком ефекту.

5) *Антихолинергички ефекат деривата фенотиазина*-деривати фенотиазина са антипсихотичком активношћу, селективно се везују за М1 и М2 мускарине ацетилхолинске рецепторе, непосредно доприносећи инхибицији активности аутономних ганглија која је праћена скупом најразличитијих симптома.

Према врсти супституента у положају С-2 и/или N-10, сви фенотиазински деривати класификују се као: деривати са алифатичним бочним ланцем (прометазин, хлорпромазин и левомепромазин (слика 3)), пиперидински деривати (тиоридазин и мезоридазин) и пиперазински деривати (флуфеназин, перфеназин, прохлорперазин и трифлуорперазин) [4]. При томе је успостављена следећа корелација између хемијске структуре бочног ланца и јачине антипсихотичког дејства: пиперазинска група > пиперидинска група > алифатични бочни ланац. Интересанто је напоменути да су пиперазински деривати фенотиазина фармаколошки најактивнији, али зато изазивају и највише споредних ефеката. Као резултат вишедеценијских истраживања утицаја хемијске структуре на антипсихотичку активност деривата фенотиазина, од елемената који највише доприносе овој активности, сачињен је следећи фармаколошки модел:

- 1) у положају С-2, круцијално је присуство трифлуорметил-групе,
- 2) липофилно фенотиазинско језгро и терцијарна амино-група, повезани су пропил ланцем,
- 3) електронегативни атоми/групе везани за С-2 атом, појачавају антипсихотичку активност деривата фенотиазина следећим редоследом: $-SO_2NR_2 > -CF_3 > -COCH_3 > -Cl$ [4].

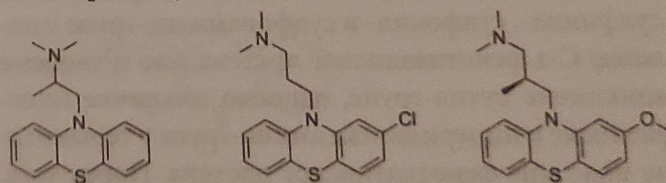
Значајно је напоменути да поједини фармаколошки елементи, постоје и код комерцијално дос-

тупних деривата фенотиазина:

Прометазин (Phenergan®)-будући да је од свих фенотиазинских антипсихотика прве генерације, по својој хемијској структури најсличнији хистамину, испољава најснажнији антагонистички ефекат ка Н1-рецепторима, а поред тога веома се успешно веже за допаминске и холинергичке рецепторе [12]. Због снажног седативног ефекта, анестезиолог Хенри Лаборит (Henri Laborit), примењивао га је као круцијални састојак "литичког коктела", тј. мешавине наркотика, седатива и хипнотика који је имао за циљ да пацијента уведе у стање "артифицијелне хибернације" и тако смањи компликације приликом буђења из анестезије. Данас се првенствено употребљава као седативни антихистаминик и антиеметик.

Хлорпромазин-иако је у периоду око Другог светског рата, примењиван као синтетски антималарик, Хенри Лаборит га је 1952. године, увео на велика врата у свет психофармакологије, показавши да пацијенте лако уводи у стање релаксираности познато као "хемијска лоботомија" [11]. Полазећи од чињенице да је по хемијској структури најсличнији допамину, јасно је да веома снажно инхибира његову активност, али се и поред тога успешно везује за серотонинске, хистаминске и α-адренергичке рецепторе, смањујући њихову активност у организму [13,14]. Интензивно се примењује у лечењу шизофреније, маније, анксиозности, насилног и импулсивног понашања, а као краткотрајна терапија у лечењу упорног штучања, мучнине и повраћања у терминалним стадијумима болести.

Левомепромазин (Nozinan®)-иако је по хемијској структури и фармакодинамичким својствима јако сличан хлорпромазину, као антипсихотик је чак за 50% слабији од њега. Као базални неуролептик са веома јаким седативним ефектом, користи се у лечењу поремећаја личности, узнемирености, депресије, разних облика психоза и тешких поремећаја сна.



Слика 3: Хемијска структура одабраних антипсихотика из групе фенотиазина: прометазин, хлорпромазин и левомепромазин (редом слева надесно)

УТИЦАЈ ХЕМИЈСКЕ СТРУКТУРЕ НА АНТИПРОЛИФЕРАТИВНУ АКТИВНОСТ ДЕРИВАТА ФЕНОТИАЗИНА

Антипролиферативна активност деривата фенотиазина, заснована је на њиховој способности

да инхибирањем механизма за репарацију ДНК и сигналних трансдукцијских путева, индукују програмирану ћелијску смрт (апоптозу) [4] и да инхибирањем активности калмодулинских рецептора, Р-гликопротеина и протеин киназе С, повећавају осетљивост малигнућ ћелија на примењене цитостатике, односно да повећавају ћелијску хемосензитивност. Према мишљењу неких аутора, повећање ћелијске хемосензитивности, супротан је процес у односу на мултиплу резистенцију малигнућ ћелија на примењене лекове (енгл. Multidrug resistance). Резултати SAR студија (енгл. Structure Activity Relationship) показују да би ефикасан инхибитор активности Р-гликопротеина, у оквиру своје хемијске структуре требало да садржи атом азота који ће при физиолошким рН-вредностима, бити протонан. Као један од потенцијалних механизма за повећање ћелијске хемосензитивности, наводе се неспецифичне реакције катјонског липофилног трицикличног деривата феноптиазина са анјонским липидним двослојем ћелијске мембране. Тако је показано да примена пипера-

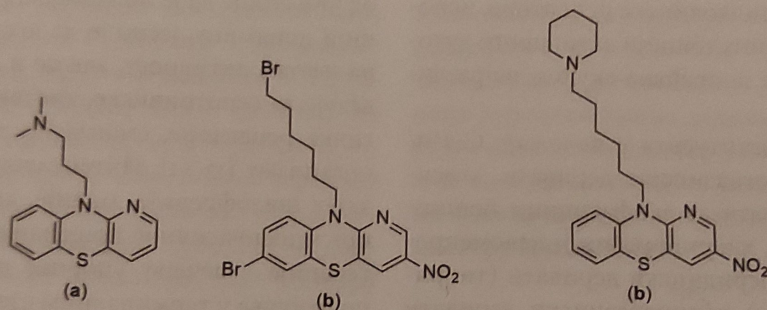
тенцију на лекове) и хемијске структуре деривата феноптиазина, омогућила су постављање следећег фармаколошког модела:

1) у положају С-2, неопходно је присуство карбонилне или етарске групе,

2) супституент у бочном ланцу је пиперазински/пиримидински амин који је са феноптиазинским прстеном спојен бутил ланцем,

3) у молекулу је присутна терминална терцијарна аминок-група или 4-супституисани пиперазин [15].

Опсежна двадесетогодишња истраживања Мотохасија (Motohasi) и његовог тима у којима су доказали да трициклични деривати феноптиазина супституисани у положају 10 амидоалкил-, сулфоамидоалкил-, хлоретилуреидоалкил-групом, или нафталенским прстеном, делују антипролиферативно на велики број ћелијских линија хуманог канцера (леукемија, меланом, канцер плућа, дебелог црева, централног нервног система, бубрега, дојке, јајника и простате), била су инспирација за бројне сличне студије [6, 8]. У једној од њих,



Слика 4. Хемијска структура 10-супституисаног пиридобензотиазина (а) и 10-супституисаних-1-азафенотиазина (б)

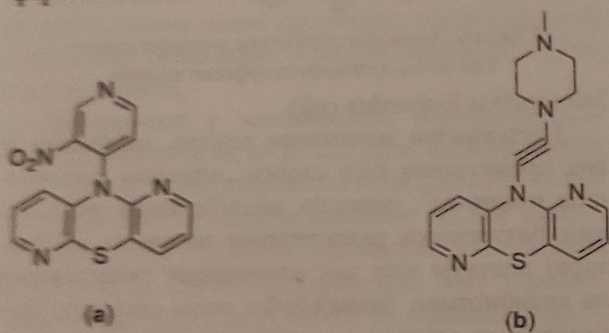
зинског деривата феноптиазина, флуфеназина, изазива флуидизацију структуре липидног двослоја малигнућ ћелија која се завршава инхибирањем ћелијских Р-гликопротеинских одбрамбених механизма. Други начин за повећање ћелијске хемосензитивности је увођење ацетил-, пропионил-, сулфинил-, сулфонил- и сулфонамидне-групе у положај С-2 феноптиазинског прстена, као и увођење ацикличне бутил-групе, односно цикличне пиперазинске и пиперидинске аминок-групе у терминалне положаје феноптиазинског прстена. Поред тога, показано је да присуство електрон-акцепторске карбонилне групе на феноптиазинском прстену или у бочном ланцу значајно повећава ћелијску хемосензитивност јер ова група омогућава изградњу јаких интермолекулских водоничних веза са интрамембранским фрагментима Р-гликопротеина [15]. Дуогодишња истраживања корелације хемопреентивне активности (која настаје инхибирањем калмодулинских, Р-гликопротеинских рецептора и протеин киназе С одговорних за мултиплу резис-

дискутована је корелација хемијске структуре и антипролиферативне активности, тип ћелијских линија хуманог канцера на које делују, као и механизам дејства перспективних пиридобензотиазина и дипиридоптиазина. Ови изомери азофенотиазина модификовани једним или два пиридинска прстена, због чега се називају и х-моноазафенотиазини и х,у-диазафенотиазини, респективно, смањују број малигнућ ћелија у организму активирањем програмиране ћелијске смрти, односно, апоптозе.

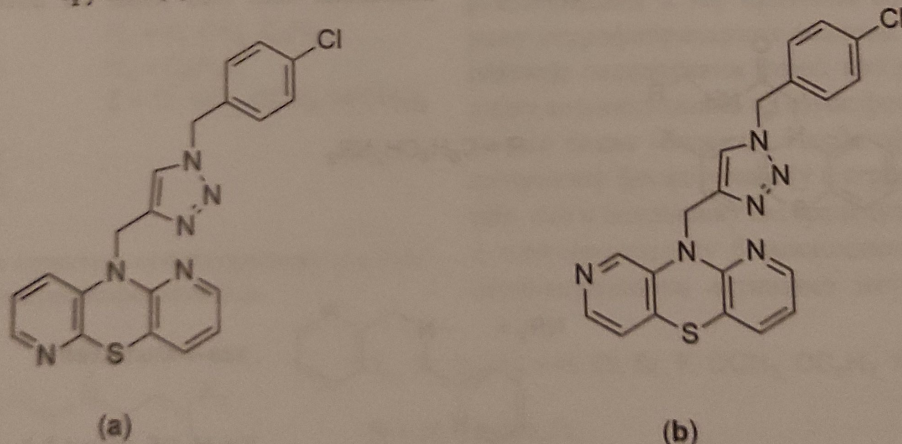
Међу њима, посебну пажњу истраживача, привлачи 10-супституисани пиридобензотиазин, познат под хемијским именом протипендил (Dominal[®], Tolnate[®]) (слика 4а), који је првобитно синтетисан за третман анксиозности и агитације, да би пре кратког времена била потврђена и његова антипролиферативна активност према следећим ћелијским линијама хуманог канцера: SNB-19 (глиобластом), С-32 (меланом), MCF-7 (канцер дојке) и Т47D (дуктални карцином). Његови аналози, односно 10-супституисани-1-азафенотиазини који

садрже аминоексил- и/или бромоексил-групу на 1,4-тиазинском прстену и електрофилну нитро-групу на пиридинском прстену (слика 4б), испољили су завидну активност према ћелијским линијама H460 (канцер плућа), T98G (канцер мозга) и SNU80 (канцер тироидне жлезде).

Од свих шест типова изомерних дипиридоптиазина (линеарних трициклических система и којима је 1,4-тиазински прстен кондензован са два ароматична пиридинска прстена), њих пет су фармаколошки активна једињења. Ови изомерни 1,6-, 1,8-, 1,9-, 2,7- и 3,6-диазафенотиазини, показали су импресивну антипролиферативну активност са IC₅₀-вредностима мањим од 100 и 1 μM. Од свих поменутих једињења, посебно су интересантни 1,6-диазафенотиазини супституисани алкил-, хетероарил-, амидоалкил- и диалкиламиноалкил-групом, будући да су према ћелијској линији MCF-7 показали већу активност у поређењу са референтним леком, цисплатином (слика 5).



Слика 5. Хемијска структура 1,6-диазафенотиазина супституисаних хетероарил (а) и диалкиламиноалкилних групама (б).

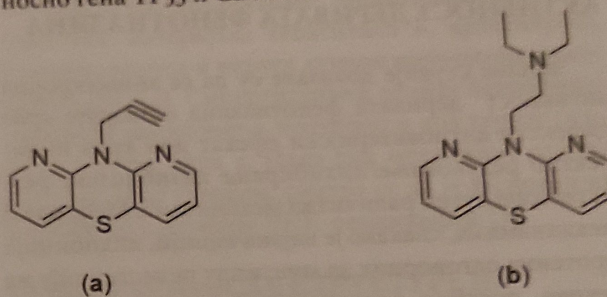


Слика 6. Хемијска структура 1,6-(а) и 1,8-диазафенотиазина (б) супституисаних 1,2,3-триазолским прстеном

Савремене SAR студије, су свој фокус усмериле ка 1,2,3-триазол-дипиридоптиазинским хибриди-ма изграђеним из 1,6- или 1,8-диазафенотиазина и p-хлорбензил супституисаног 1,2,3-триазолског прстена (слика 6), будући да су испољили изузетну антипролиферативну активност према ћелијским линијама SNB-19, Caco-2 (колоректални карци-

ном), A549 (канцер плућа) и MDA-MB231 (канцер дојке). У оквиру ових студија, доказано је да 1,8-диазафенотиазински хибрид инхибира пролиферацију свих поменутих малигнућ ћелија активирањем протеина који регулишу функцију митохондрија, доприносећи на тај начин програмираној ћелијској смрти.

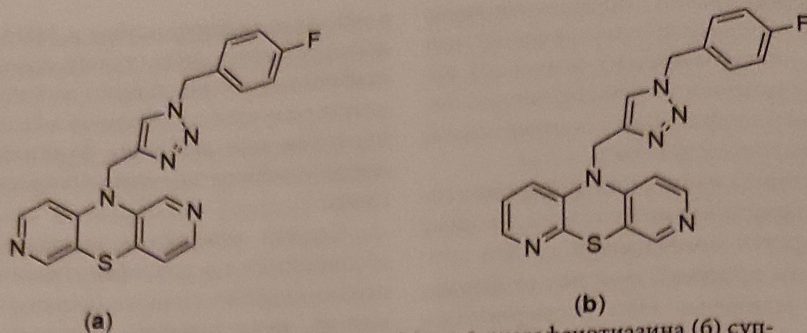
Сличан механизам дејства потврђен је код 10-пропинил-1,9-диазафенотиазина и његовог диетиламиноетил аналога (слика 7), за које је примењено одговарајућих квантитативних метода, установљено да селективно редукују експресију пролиферативног маркера, односно хистона H3, као и експресију регулатора ћелијског циклуса, односно гена TP53 и CDKN1A.



Слика 7. Хемијска структура 10-пропинил-1,9-диазафенотиазина (а) и његовог диетиламиноетил аналога (б)

Хибриди 2,7-, односно 3,6-диазафенотиазина и 4-флуорбензил супституисаног 1,2,3-триазолског прстена (слика 8), показују антипролиферативну активност према ћелијским линијама A549 и Caco-2 хуманог канцера са микроларним IC₅₀-вредностима. Општи закључак који можемо извести

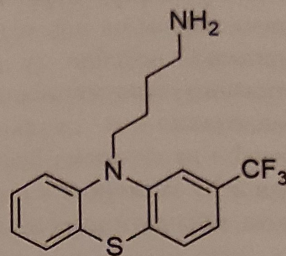
на основу резултата ове опсежне SAR студије је да антипролиферативна активност дисупституисаних дипиридоптиазина увелико зависи од врсте супституента на тиазинском атому азота и природе самог дипиридоптиазинског прстена [9].



Слика 8. Хемијска структура 2,7-(а) и 3,6-диазафенотиазина (б) супституисаних 1,2,3-триазолским прстеном

УТИЦАЈ ХЕМИЈСКЕ СТРУКТУРЕ НА АНТИБАКТЕРИЈСКУ И АНТИВИРУСНУ АКТИВНОСТ ДЕРИВАТА ФЕНОТИАЗИНА

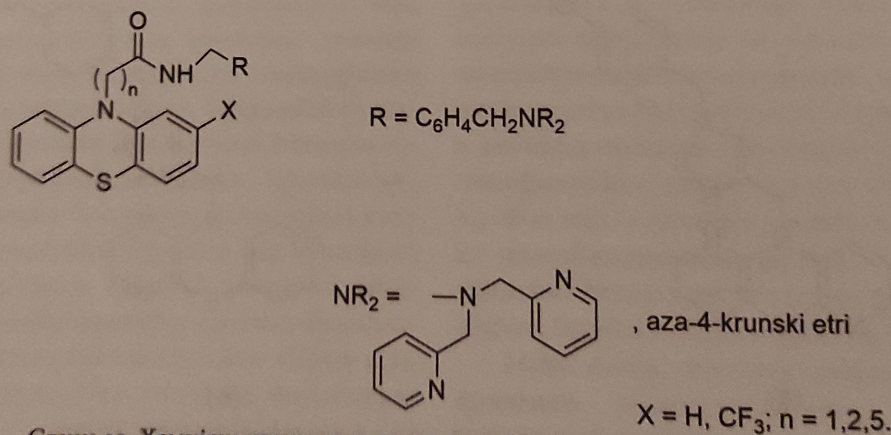
Бројне студије доказале су да се анимикробна активност деривата фенотиазина остварује кроз директан антибактеријски ефекат или кроз индиректно редуковање/инхибирање антибиотске резистенције путем раличитих механизма. Међу овим механизмима, свакако је најзначајнији, инхибиција протеина одговорних за мултиплу резистенцију на лекове, посебно гликопротеина, који делују као пумпа за избацивање различитих супстрата из ћелије (енгл. *efflux pump*) [16], што онемогућава антибиотцима да достигну своју оптималну бактерицидну концентрацију у цитоплазми. Инхибирањем ових ефлуксних пумпи, бактерије постају поново осетљиве на одговарајуће антибиотике. Поред тога што инхибирају везивање Ca^{2+} јона за калцијум-зависне протеине, односно калмодулинске рецепторе, онемогућавајући стандардно функцио-



Слика 9. Хемијска структура 2-трифлуорметил-10-(4-аминобутил)фенотиазина

Salmonela и *Escherihia coli*).

Специфичан механизам дејства, забележен је код прометазина који својим „ефектом елиминације плазида“, односно инхибирањем репликације бактеријски резистентног плазида (R-фактора) редукује или чак елиминише резистенцију на антибиотике. Захваљујући овом својству, прометазин се заједно са гентамицином, примењује као део синергистичке терапије код рекурентних инфекција изазваних Грам негативном бактеријом *Escherihia coli*. Као један од потенцијалних ме-



Слика 10. Хемијска структура деривата 10-Карбамоилалкилфенотиазина

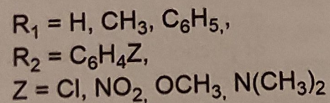
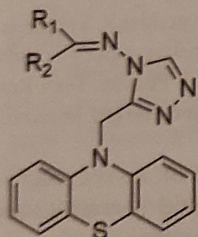
нисање ефлуксних пумпи, деривати фенотиазина делују и тако што инхибирањем ДНК-репликације онемогућавају регуларну деобу бактеријске ћелије. Инхибирање ДНК-репликације, ефектнији је механизам заштите у случају инфекције организма мултирезистентном *Mycobacterium tuberculosis*, метицилин резистентном *Staphylococcus aureus*, као и појединим Грам негативним бактеријама (*Shigella*,

ханизма дејства деривата фенотиазина, наводи се и дестабилизација ћелијске мембране која повећава пропустљивост ћелијског зида појединих бактерија и омогућава антибиотцима да лакше продру у цитоплазму. Антибактеријска и антифунгална активност потврђена је код деривата фенотиазина супституисаних у положају 10 (директно или кроз одговарајуће бочне ланце) различитим

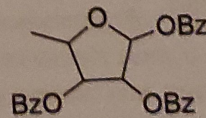
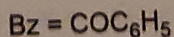
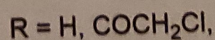
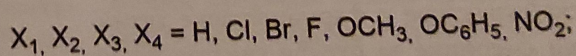
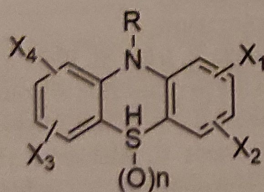
ацил- или хетероарил-групама. Међу малеатима 10-(3-аминпропил)- и 10-(4-аминобутил)фенотиазина, активних према различитим сојевима бактерија и гљивица, издваја се 2-трифлуорметил-10-(4-аминобутил)фенотиазин (слика 9) који се јаким интермолекулским интеракцијама везује за фосфолипидни двослој патогена *Saccharomyces cerevisiae* и *Trichophyton mentagrophytes* и у минималним инхибиторским концентрацијама од 0,4 $\mu\text{g/ml}$ и 1,5 $\mu\text{g/ml}$, респективно, онемогућава њихово нормално функционисање.

10-Карбамоилалкилфенотиазини који у оквиру своје хемијске структуре садрже хелатне групе (терцијарне аminer и аза-4-крунске етре) (слика 10), показују изузетну бактерицидну активност према *Bacillus subtilis* са минималним инхибиторским концентрацијама у опсегу 7,8-30 $\mu\text{g/ml}$. Као један од потенцијалних механизма дејства, наводи се нарушавање метал-јонске хомеостазе код бактерија, односно, нарушавање саморегулишућих процеса којима живи организми одржавају своју унутрашњу стабилност и свој опстанак, од стране хелатних група.

Примењени у минималним инхибиторским концентрацијама од 50 до 100 ppm, супституисани 1,2,4-триазолилметилфенотиазини (слика 11) делују бактерицидно на следеће патогене *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* и *Salmonella typhimurium*, слично референтном леку стрептомицину, односно анифунгално на гљивице рода *A. nigri*, *A. Flavus*, *Fusarium oxiporum* и *Trichoderma viride* слично референтном леку грисеофулфину.



Слика 11. Хемијска структура супституисаних 1,2,4-триазолилметилфенотиазина



Слика 12. Хемијска структура хлорацетил и рибофуранозил деривата фенотиазина

Изузетна антибактеријска и антифунгална активност која превазилази ону постигнуту применом стандардних антимикуробних лекова: стрептомицина, флуказанозола и микостатина, забележена је код мулти-супституисаних фенил деривата фено-

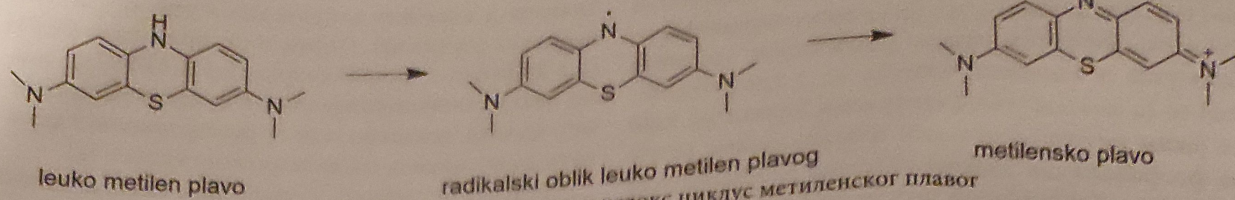
тиазина и њихових хлорацетил и рибофуранозил деривата (слика 12). Поред тога, применом DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилхидразила) и ABTS (2,2-азино-бис(3-етилбензотиазолин-6-сулфонске киселине)) методе, доказано је да су рибофуранозил деривати фенотиазина снажни антиоксиданси [4].

Резултати нешто скромнијих истраживања усмерених на *in vitro* антивирусну активност деривата фенотиазина, стављају хлорпромазин у епицентар будућих SAR анализа. За сада је показано овај изузетно фармаколошки активан дериват фенотиазина, инхибирањем везивања вируса за одговарајуће рецепторе на ћелијској мембрани, инхибирањем виралне ендоцитозе и инхибирањем виралне ДНК-репликације, онемогућава удвајање генетског материјала хепатитиса Б, аренавируса, Синдбис вируса и вируса хумане имунодефицијенције (ХИВ) [4]. Синергистички ефекат бензофенотиазина и ацикловира, потврђен је код херпес симплекса вируса типа 2. Иако сам механизам дејства још увек није утврђен, сматра се да је заснован на инхибирању виралне ДНК-репликације [7].

УТИЦАЈ ХЕМИЈСКЕ СТРУКТУРЕ НА АНТИОКСИДАТИВНУ АКТИВНОСТ ДЕРИВАТА ФЕНОТИАЗИНА

Свеобухватна истраживања развоја неуродегенеративних поремећаја спроведена почетком овог века, показују да је главни узрок настанка Паркинсонове и Алцхајмерове болести, оксидативни стрес. Патомеханизам Алцхајмерове болести, везује се за абнормалну агрегацију и складиштење β -амилоидних и тау протеина која води формирању неурофибриларних снопова. Поред тога што редукује оксидативни стрес, као један од најмоћнијих антиоксиданаса из групе фенотиазина, метиленско плаво (слика 13) такође ефикасно редукује патолошку фосфорилацију и агрегацију тау протеина, као и патолошку екстрацелуларну сегрегацију и олигомеризацију β -амилоидних протеина. Ова антиоксидативна активност метиленског плавог,

заснована је на његовој способности да се лако депротонује у положају 10 и тиме пређе у редуковани облик, односно леукометиленско плаво. Ова је успешно везује све оксидативне честице и стабилизује протеине [4].



Слика 13. Хемијска структура и редокс циклус метиленског плавог

ЗАКЉУЧАК

Трициклични фенотиазински систем који је превасходно у положају 10 модификован различитим моноцикличним (пиразол, тиазол, оксидазол, тиadiaзол, тетразол), моноцикличним азинским (пиридин и пиримидин) и бицикличним хомоароматичним (нафтален) прстеновима, заслужан је за постојање великог броја фармаколошки активних једињења. У основи антипсихотичке, антибактеријске, антифунгалне, антиканцерогене, антиконвулзивне, антimalаричне, антиоксидативне и имunosупресивне активности деривата фенотиазина, налазе се оптимална липофилност овог супституисаног трицикличног система која омогућава неометано продирање деривата кроз фосфолипидни двослој ћелијске мембране и крвно-мождану баријеру, као и адекватан одабир С-2 и N-10 супституената који омогућавају овом трицикличном систему да успостави јаке интермолекуларне интеракције са својим биолошким циљем. Њихова хемопревентивна активност која настаје као последица инхибирања рецептора одговорних за мултиплу резистенцију на лекове, биће израженија ако су у положају С-2 присутне карбонилна или етарска група, ако је супституент у бочном ланцу пиперазински/пиримидински амин који је са фенотиазинским прстеном спојен бутил ланцем и ако је у молекулу присутна терминална терцијарна amino-група или 4-супституисани пиперазин. Циљ овог рада је да кроз систематично представљање фармаколошке активности деривата фенотиазина, описивање хемијских и фармаколошких својстава најактивнијих и комерцијално доступних представника и успостављање корелације између хемијске структуре и фармаколошке активности, пружи смернице за будуће синтезе неких нових, мање токсичних и знатно фармаколошки активнијих једињења.

ABSTRACT

PHENOTHIAZINE DERIVATIVES: MORE THAN AN INGREDIENT OF LITHIC COCKTAIL

ANITA LAZIĆ, research associate, Innovation Centre of the Faculty of Technology and Metallurgy

This review summarizes current status in research of pharmacological properties of remarkably important organic heterocyclic compound, phenothiazine. The main goal of this review is to illuminate the significance of phenothiazine core as one of the potent pharmacophoric moieties for the future synthesis of new compounds possessing plentiful activities.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Graham P. Drug discovery and drug development, In: An introduction to medicinal chemistry, 2nd edition, New York, Oxford University Press, 2001:142–190.
- [2] Gopi C, Dasaratha Dhanaraju M. Recent progress in synthesis, structure and biological activities. *Rev. J. Chem.* 2019;9(2):95–126. doi: 10.1134/S2079978019020018.
- [3] Shweta S, Pandeya S. N, Anupam V, Deepika Y. Synthesis and biological activity of phenothiazine derivatives. *Int. J. Resarch Ayurveda Pharm.* 2011;2(4):130–1137.
- [4] Varga B, Csonka A, Csonka A, Molnár J, Amaral L, Spengler G. Possible biological and clinical applications of phenothiazines. *Anticancer Res.* 2017;37(11):5983–5993. doi:10.21873/anticancer.12045.
- [5] Vardanyan R, Hruby V. Antipsychotics, In: Synthesis of best-seller drugs, Academic Press, Massachusetts, 2016:87–110.
- [6] Jhansi Rani V, Ravi Kumar K, Naga Surekha Y. Synthesis, characterization and in-vitro antiinflammatory activity of phenothiazine derivatives. *Am. J. Pharm. Tech Res.* 2020;10(1):15–24, 2020. doi:10.46624/ajptr.2020.v10.i1.002.
- [7] Pluta K, Morak-Młodawska B, Jeleń M. Recent progress in biological activities of synthesized phenothiazines. *Eur. J. Med. Chem.* 2011;46(9):3179–3189. doi: 10.1016/j.ejmech.2011.05.013.
- [8] Massie S. P. The Chemistry of phenothiazine. *Chem. Rev.* 1954;54(5):797–833. doi: 10.1021/cr60171a003.
- [9] Morak-Młodawska B, Jeleń M, Pluta K. Phenothiazines modified with the pyridine ring as promising anticancer agents. *Life.* 2021;11(3):1–18. doi: 10.3390/life11030206.
- [10] Marino M.J, Davis E, Meltzer R.H, Knutsen L. J, Williams M. Schizophrenia. In: Taylor J. B, Triggle D. J. (eds.) *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, London, Elsevier, 2007:17–44.
- [11] Hudepohl N.S, Nasrallah H. A. Antipsychotic drugs. In: *Neurobiology of Psychiatric Disorders*, Schlaepfer T, Nemeroff C (eds.), London, Elsevier, 1st ed., 2012;106:657–667.
- [12] Dougherty M. M, Marraffa J.M. Phenothiazines. *Encycl. Toxicol.* Third Ed. 2014;3:881–883. doi: 10.1016/B978-0-

- 12-386454-3.00769-7.
- [13] Ban T. A. Fifty years chlorpromazine: a historical perspective. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2007;3(4):495-500.
- [14] Amani A.M. Synthesis and biological activity of piperazine derivatives of phenothiazine. *Drug Res.* 2015;65(1):5-8. doi: 10.1055/s-0033-1364001.
- [15] Jaszczyszyn A, Gasiorowski K, Świątek, P, Malinka W, Cieślak-Boczula K, Petrus J, Czarnik-Matusiewicz B. Chemical structure of phenothiazines and their biological activity. *Pharmacol. Reports* 2012;64(1):16-23. doi: 10.1016/S1734-1140(12)70726-0.
- [16] Erić S, Ilić K. Inhibitori P-glikoproteina kao modulatori rezistencije na antikancerogene lekove. *Arh. Farm.* 2010;60(3): 271-284.



Софија С. Бекић, научни сарадник
(sofija.bekic@dh.uns.ac.rs)
Сузана С. Јовановић-Шанта, редовни професор
(suzana.jovanovic-santa@dh.uns.ac.rs)
Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет,
Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине

КВАСАЦ-МОЋАН МОДЕЛ СИСТЕМ ЗА ИСПИТИВАЊЕ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ПОТЕНЦИЈАЛНИХ ЛЕКОВА

1. УВОД

Генотоксикологија идентификује супстанце које нарушавају интегритет деоксирибонуклеинске киселине (ДНК) и проучава механизме њиховог деловања и одговор испитиваног биолошког система на оштећење. Оштећење ДНК се може идентификовати и квантификовати као учесталост настајања адуката, ланчаних прекида, мутација или хромозомских аберација у молекулима ДНК. Генотоксини могу бити физичког и хемијског порекла. Испољавају три примарна ефекта - канцерогени, мутагени или тератогени. У већини случајева генотоксини изазивају мутације које могу довести до канцера и широког спектра других болести [1,2].

Супстанце које оштећују ДНК свакако нису добри кандидати за развој лекова, стога је главни циљ генотоксиколошких испитивања њихова елиминација у раној фази [2]. Агенције за лекове захтевају податке о генотоксичном потенцијалу нових лекова, као део процене безбедности њихове употребе [1]. Осим лекова, важно је и питање потенцијалне генотоксичности супстанци из животне средине и потрошачких производа, са којима смо свакодневно у контакту. На основу свега наведеног не изнећајуће потреба за развојем ефикасних, осетљивих и репродуцибилних *in vitro* и *in vivo* тестова генотоксичности.

У овом раду је дат преглед одабраних тестова за испитивање генотоксичности у квасцу, као модел организму који поседује огроман потенцијал. Његова моћ се огледа у једноставном и економичном узгајању у лабораторији, генетском систему којим се лако манипулише и, што је најважније, великом проценту конзервираних гена, као код човека [3]. Сваки од описаних тестова има своје предности

и ограничења, тако да се за најбољи увид у генотоксичност испитиваног агенса препоручује комбинација више њих.

2. КВАСАЦ - МОДЕЛ ОРГАНИЗАМ ВЕЛИКОГ ПОТЕНЦИЈАЛА

Квасац је уведен као експериментални модел организам средином 1930-их година и од тада се константно проучава и поклоњена му је велика пажња. Многи истраживачи га, захваљујући архитектури ћелије и основним ћелијским механизмима, сматрају идеалним системом за биолошка истраживања [4]. Нема сумње да је најбоље проучен једноћелијски еукариотски организам квасац *Saccharomyces cerevisiae*. Његов геном је секвенциран пре 25 година и њиме се успешно манипулише. У односу на бактерије, квасци имају већу генетичку комплексност, што их чини супериорнијим у односу на прокариоте. Затим, одликује их брз раст у дефинисаном медијуму, једноставно и јефино гајење у лабораторијским условима, а с обзиром на то да нису патогени, приликом извођења експеримента није потребна велика предострожност [3]. Поседују митохондрије и нуклеус, где је хромозомска ДНК упакована у структурну форму сличну оној код сисара. Захваљујући развоју широког спектра метода трансформације ћелије квасца су доступне за клонирање жељених гена, а плазмиди могу бити интегрисани у геном или унети као репликујући молекули [3,4]. Треба нагласити и да комплекснији еукариоти показују значајне сличности у механизмима основних ћелијских процеса са квасцима, па се успех овог модел организма заснива, између осталог, и на чињеници да су многи гени и протеини укључени у ове фундаменталне биолошке процесе