

Received: 08.01.2020
Accepted: 11.09.2020
Published: 04.02.2021

[1,2,4]triazyny – potencjalne leki w chemioterapii nowotworów

[1,2,4]triazines – as potential drugs in cancer chemotherapy

Anna Szymanowska¹, Agnieszka Gornowicz¹, Anna Bielawska¹, Krzysztof Bielawski²

¹Zakład Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Syntezy i Technologii Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie:

Choroby nowotworowe stanowią duże zagrożenie społeczne; w 2018 roku zdiagnozowano prawie 18 milionów nowych przypadków zachorowań na nowotwory. Wybór metody leczenia uzależniony jest od typu nowotworu, a także stopnia zaawansowania choroby w chwili diagnozy. W leczeniu wykorzystuje się przede wszystkim: metody chirurgiczne, radioterapię, immunoterapię, hormonoterapię i chemioterapię. Leki cytostatyczne mogą być stosowane zarówno w monoterapii, jak i w terapii skojarzonej. W latach 2009–2018 Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) dopuściła prawie 356 nowych leków w terapii przeciwnowotworowej. Należy jednak zwrócić uwagę, że mimo coraz większej dostępności nowoczesnych leków, choroba ta jest drugą główną przyczyną zgonów na świecie. Badania nad opracowaniem preparatów cytotoksycznych mają na celu zaprojektowanie struktury związku, którego działanie ukierunkowane będzie na komórki nowotworowe przy jednoczesnym braku wpływu na komórki prawidłowe. Strukturę chemiczną o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym mogą tworzyć pochodne triazyny, które są stosowane w terapii onkologicznej już od 1965 roku. W zależności od umiejscowienia atomów azotu w pierścieniu wyróżnia się trzy izomery: [1,2,3]triazyny, [1,2,4]triazyny, [1,3,5]triazyny. Odpowiednia modyfikacja struktury [1,2,4]triazyny ma na celu zapewnienie znacznie silniejszych właściwości cytotoksycznych i ograniczenie działań niepożądanych w porównaniu do obecnie stosowanych leków. Projektowanie nowych preparatów ma także poprawić komfort życia pacjenta. W artykule pokrótce przedstawiono w jaki sposób modyfikacja struktury chemicznej pochodnych [1,2,4]triazyny wpływa na wzrost ich aktywności cytotoksycznej i dlaczego te związki mogą być lepiej tolerowane niż obecnie stosowana terapia.

Słowa kluczowe:

[1,2,4]triazyny, sulfonamidy, chemioterapia nowotworów

Summary:

Cancers are a high risk for humanity. In 2018, approximately 18 million new cancer cases were diagnosed in the world. The choice of treatment depends on the type of cancer and its stage at diagnosis. The treatment of cancer consists mainly of surgical methods, radiotherapy, immunotherapy, hormone therapy and chemotherapy. Cytotoxic drugs can be used both in monotherapy and combination therapy. In 2009–2018, the US Food and Drug Administration (FDA) approved about 356 new drugs for cancer therapy. However, it should be noted that despite the increasing availability of modern drugs, this disease is the second leading cause of death in the world. Research on the development of a cytotoxic drug is aimed at designing a compound structure, whose action is directed at cancer cells while not affecting normal cells. Triazine derivatives might be the chemical structure with potential anticancer activity. This scaffold has been used in oncological therapy since 1965. Depending on the location of the nitrogen atoms in the ring, three isomers can be distinguished: [1,2,3]triazines, [1,2,4]triazines, [1,3,5]triazines. Modification of the structure of the [1,2,4]triazine derivatives should provide stronger cytotoxic properties and reduce the side effects of the novel drug. Designing new preparations also aims to improve the patient's quality of life. This review will briefly present how the modification

Keywords:	of the chemical structure of [1,2,4]triazine derivatives increases their cytotoxic activity against cancer and why these compounds may be better tolerated than current therapy. [1,2,4]triazines, sulfonamides, cancer chemotherapy
GICID DOI:	01.3001.0014.7145 10.5604/01.3001.0014.7145
Word count:	8 127
Tables:	6
Figures:	3
References:	69

Adres autorki: mgr Anna Szymanowska, Zakład Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Jana Kilińskiego 1, 15-089 Białystok; e-mail: anna.szymanowska@umb.edu.pl

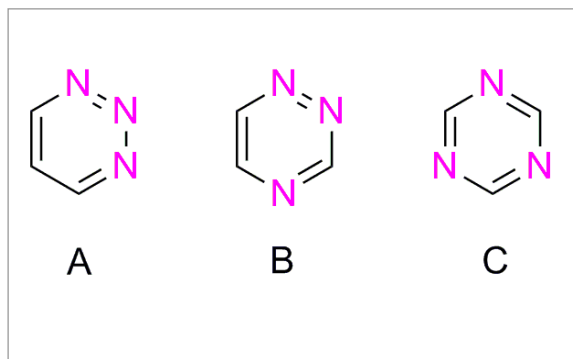
Wykaz skrótów: **AKT** – kinaza serynowo-treoninowa, **ALK** – kinaza chłoniaka anaplastycznego, **CAIX** – anhydraza węglanowa IX, **CAT** – katalaza, **CAXII** – anhydraza węglanowa XII, **CDK** – kinazy zależne od cyklin, **CDK2** – kinaza zależna od cykliny 2, **EGFR** – receptor naskórkowego czynnika wzrostu, **ERK** – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo, **ER-α** – receptor estrogenowy alfa, **FDA** – Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków, **GPx** – peroksydaza glutationowa, **GSH** – glutation, **GSSG** – disiarczek glutationu, **HER2** – receptor naskórkowego czynnika wzrostu 2, **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów, **HIF-1** – czynnik indukowany hipoksją 1, **IARC** – Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem, **IGF-1R** – receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu 1, **IR** – receptor insuliny, **NSCLC** – niedrobnokomórkowy rak płuc, **RFT** – reaktywne formy tlenu, **ROS** – wolne rodniki tlenowe, **RTK** – receptorowe kinazy tyrozynowe, **SAR** – zależność struktura-aktywność, **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa, **SYK** – kinaza tyrozynowa śledzionowa, **Trx** – reduktaza tioredoksyny, **VEGF** – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu.

WSTĘP

Mimo znacznego postępu, jaki dokonał się w ostatnich latach w zwalczaniu nowotworów, rozwój skutecznej terapii przeciwnowotworowej wciąż jest wyzwaniem dla współczesnej medycyny. Wybór metody leczenia jest uzależniony od stopnia zaawansowania choroby w chwili diagnozy. Zarówno chemioterapia, radioterapia, jak i immunoterapia wywołują wiele działań niepożądanych, które ograniczają skuteczność działania leków oraz mogą obniżać jakość życia pacjentów. Niezwykle istotne jest zatem poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych, a także opracowanie leków o lepszym profilu farmakologicznym, działających swoiście na komórki nowotworowe i niewywierających toksycznego wpływu na komórki zdrowe.

Poszukiwanie struktur wiodących polega na identyfikacji nowych związków chemicznych, oddziałujących na dobrze zdefiniowane cele molekularne.

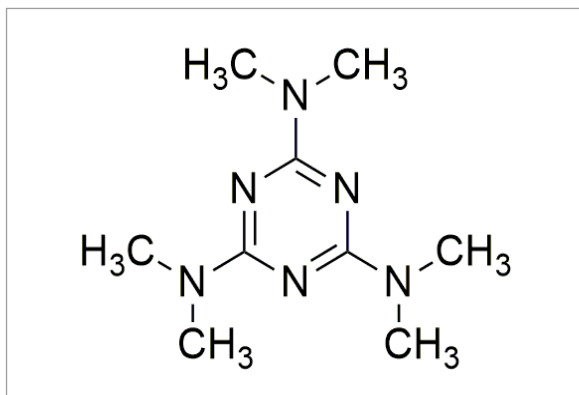
Ważną grupą związków o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym są pochodne triazyny. Zbudowane są z pierścienia heterocyklicznego mającego trzy atomy azotu. W zależności od umiejscowienia atomów azotu wyróżnia się trzy izomery: [1,2,3]triazyny, [1,2,4]triazyny i [1,3,5]triazyny (ryc. 1). Wykazują one działanie: przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwmalaryczne, znieczulające, przeciwzapalne oraz przeciwhistaminowe [11]. Jedną z pierwszych pochodnych



Ryc. 1. Wzory strukturalne triazyn. A-[1,2,3]triazyny, B-[1,2,4]triazyny, C-[1,3,5]triazyny”

układu triazynowego, o działaniu przeciwnowotworowym, uzyskaną w wyniku syntezy organicznej była heksametylomelamina, inaczej altretamina, której wzór przedstawiono na ryc. 2 [32, 46].

Pierwsze badania kliniczne z zastosowaniem heksametylomelaminy przeprowadzono w 1965 r., a dalsze badania aktywności wykazały, że w połączeniu z innymi lekami cytostatycznymi może być stosowana w raku: pochwy, drobnokomórkowym raku płuc, piersi, czy białaczki. Mechanizm działania altretaminy nie jest jeszcze dokładnie wyjaśniony, ale prawdopodobnie poprzez wtórne metabolity działa alkilująco [32, 46].



Ryc. 2. Wzór strukturalny heksametylomelaminy (altretaminy)

Jednym z pierwszych analogów [1,2,4]triazyny o działaniu przeciwnowotworowym był 6-azauracyl ([1,2,4]triazyno-3,5(2H,4H)-dion). Zsyntetyzował go w 1947 roku Seibert z semikarbazonu kwasu glioksalowego [53]. Niestety, metoda ta była mało wydajna. W 1956 roku Barlow, Welch i Falco zmodyfikowali syntezę tego leku, a to umożliwiło przeprowadzenie pierwszych badań klinicznych z zastosowaniem 6-azauracylu w 1960 roku. Jednak po zastosowaniu tego związku stwierdzono wiele działań niepożądanych ze strony centralnego układu nerwowego [55].

Bardzo ważną pochodną w tej grupie związków jest tirapazamina (1,4-ditlenek 3-amino-[1,2,4]benzotriazyny). Zespół badawczy kierowany przez Zemana po raz pierwszy w 1986 roku przeprowadził wiele eksperymentów, mających na celu ocenę potencjalnego działania przeciwnowotworowego tirapazaminy. Badania aktywności biologicznej wykonano na trzech liniach komórkowych: chemicznych (CHO HA-1), mysich (SCC VII) i ludzkich (A549) w warunkach hipoksji i normoksji. Na ich podstawie wykazano, że tirapazamina ma właściwości cytotoksyczne [69]. Preparat ten w warunkach hipoksji jest aktywowany przez wewnątrzkomórkową reduktazę w toksyczne rodniki, które powodują jedno- i dwuniciowe pęknięcia DNA, a to prowadzi do śmierci komórki. Tirapazamina może być potencjalnie wykorzystana w leczeniu niedotlenionych obszarów guzów litych, gdzie standardowe metody leczenia są nieskuteczne. Terapia wykorzystująca połączenie tirapazaminy z radioterapią i/lub chemioterapią jest na różnych etapach wielu badań klinicznych, m.in. połączenie tirapazaminy z procedurą embolizacji w nowotworze wątroby [1, 48].

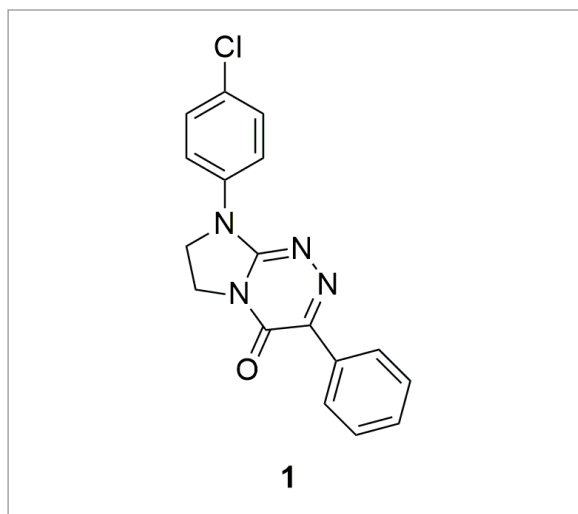
Intensywne prace badawcze nad zastosowaniem układu [1,2,4]triazyny w terapii przeciwnowotworowej zaowocowały uzyskaniem serii syntetycznych pochodnych wykazujących potencjalne działanie cytotoksyczne. Wyniki poszczególnych badań z ostatnich 10 lat przedstawiono niżej.

POCHODNE [1,2,4]TRIAZINY Z UGRUPOWANIEM IMIDAZOLOWYM

Sztanke i wsp., badając wykorzystanie związków heterocyklicznych w terapii przeciwnowotworowej i przeciwrzeczutowej,

zaprojektowali serię nowych pochodnych 3,8-dipodstawionych 7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-onów. Badania *in vitro* dotyczące określenia aktywności biologicznej przeprowadzono na dwóch liniach komórkowych: prawidłowych – fibroblastach skóry ludzkiej (HSF) i nowotworowych – fibroblastach linii szpiczakowatej (RPMI 8226). Związek 1 (ryc. 3) wykazywał najsilniejsze działanie cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych, bez istotnego wpływu na komórki prawidłowe [62].

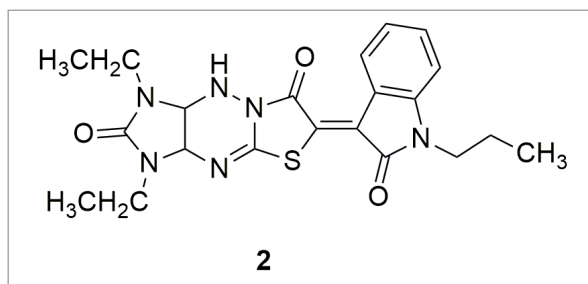
Oceniono również wpływ dwucyklicznych pochodnych 7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-onów na ruchliwość komórek raka szyjki macicy (HeLa). W tym eksperymencie również związek 1 (ryc. 3) najbardziej hamował migrację komórek, co może sugerować, że zmniejsza ryzyko powstawania przerzutów [62].



Ryc. 3. Wzór strukturalny związku 1

W 2018 r. Gazieva i wsp. ocenili wpływ podstawników na aktywność przeciwnowotworową nowo zsyntetyzowanych pochodnych imidazo[4,5-*e*]tiazolo[3,2-*b*][1,2,4]triazyny i imidazo[4,5-*e*]tiazolo[2,3-*c*][1,2,4]triazyny na cztery ludzkie linie komórkowe: raka piersi (MCF-7), mięsaka komórek prążkowanych (RD), raka płuc (A549) i jelita grubego (HCT-116). Najsilniejsze właściwości cytotoksyczne wykazywał związek 2 (ryc. 4) [23].

Oceniono również wpływ związku 2 na przeżywalność komórek wyprowadzonych z embrionalnych ludzkich komórek nerek (HEK293), a także zbadano jego właściwości proapoptotyczne wobec linii komórek białaczki T limfoblastycznej (komórki Jurkat). Po zastosowaniu związku 2 (ryc. 4) odnotowano prawie 3,5-krotnie mniej komórek proapoptotycznych niż dla związku referencyjnego – kamptotecyny. Nowo zsyntetyzowana pochodna, mimo silnych właściwości cytotoksycznych względem komórek: raka piersi, płuc, jelita grubego i mięsaka komórek prążkowanych, wykazywała znacznie słabsze właściwości proapoptotyczne wobec komórek Jurkat [23].

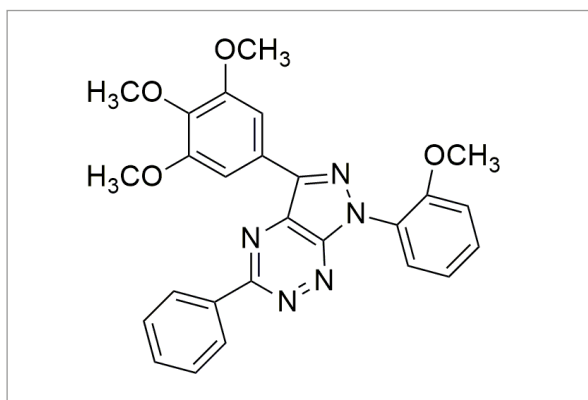


Ryc. 4. Wzór strukturalny związku 2

Podsumowując, pochodne [1,2,4]triazyny z ugrupowaniem imidazolowym mogą w przyszłości tworzyć strukturę wyjściową do opracowania związków bezpieczniejszych i bardziej skutecznych w terapii przeciwnowotworowej, niż obecnie stosowane. W przypadku pochodnych imidazotriazyno-4(6H)-onów obecność podstawnika p-chlorofenyowego w pozycji 8 znacząco zwiększała aktywność przeciwnowotworową w stosunku do komórek RPMI 8226, bez istotnego statystycznie wpływu na komórki prawidłowe. Natomiast ugrupowanie o-chlorofenyowe w tej samej pozycji powodowało utratę aktywności cytotoksycznej wobec wybranych linii komórkowych [62]. Położenie pierścienia tiazolowego w imidazotriazynach również wpływało na aktywność biologiczną. Pochodne imidazo[4,5-e]tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazyny wykazywały silniejsze właściwości przeciwnowotworowe w porównaniu do pochodnych imidazo[4,5-e]tiazolo[2,3-c][1,2,4]triazyny [23].

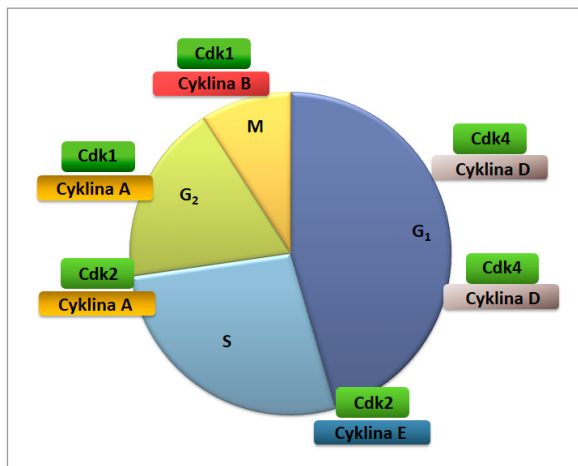
POCHODNE UKŁADU PIRAZOLO[4,3-E][1,2,4]TRIAZINY

W 2009 roku grupa naukowców pod kierownictwem Gucky'ego zsyntetyzowała nowe pochodne 3,7-diarylo-5-(3,4,5-trimetoksyfenylo)pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny, a następnie ocenili ich aktywność biologiczną względem pięciu ludzkich linii komórek nowotworowych: ostrej białaczki T-limfoblastycznej (CEM), ostrej białaczki T-limfoblastycznej odpornej na daunorubicynę (CEM DNR), raka białaczki (K562), białaczki odpornej na taksol (K562tax) i raka płuc (A549) w warunkach *in vitro*. Spośród badanych pochodnych na uwagę zasługuje związek 3 (ryc. 5), który wykazywał selektywne działanie na komórki raka płuc [24].



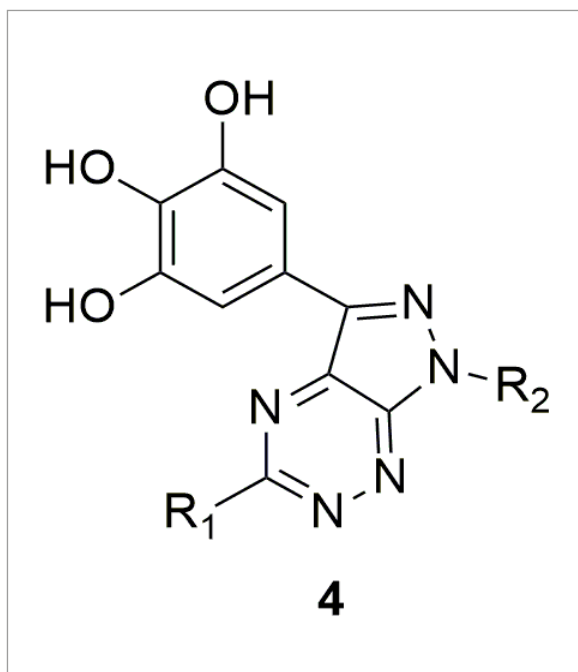
Ryc. 5. Wzór strukturalny najbardziej aktywnej pochodnej 3,7-diarylo-5-(3,4,5-trimetoksyfenylo)pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny – związku 3

W regulacji cyklu komórkowego znaczącą rolę odgrywają cykliny oraz kinazy zależne od cyklina (CDK) (ryc. 6). Zmiany w ich ekspresji mogą prowadzić do rozwoju nowotworów. Niedawne doniesienia sugerują, że zahamowanie aktywności kinazy zależnej od cyklina A i E, może być innowacyjnym celem terapeutycznym w chorobach nowotworowych [59, 63].



Ryc. 6. Udział cyklina i kinaz zależnych od cyklina (CDK) w cyklu komórkowym

Dlatego też w 2010 roku zsyntetyzowano 1,5-diarylo-3-(3,4,5-trihydroksyfenylo)-1H-pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyn. Strukturę związków przedstawiono na ryc. 7 i w tab. 1. Związki te były podobne strukturalnie do inhibitorów kinaz zależnych od cyklina (CDK) [25].



Ryc. 7. Wzór strukturalny pochodnych 1,5-diarylo-3-(3,4,5-trihydroksyfenylo)-1H-pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny (4a-4i)

Tabela 1. Nazwy grup funkcyjnych R1 i R2

Nr związku	R1	R2
4a	fenylova	2-hydroksyfenylova
4b	fenylova	3-hydroksyfenylova
4c	fenylova	4-hydroksyfenylova
4d	4-chlorofenylova	2-hydroksyfenylova
4e	4-chlorofenylova	3-hydroksyfenylova
4f	4-chlorofenylova	4-hydroksyfenylova
4g	4-chlorofenylova	4-chlorofenylova
4h	4-chlorofenylova	3,4,5-trihydroksyfenylova
4i	3,4,5-trihydroksyfenylova	3,4,5-trihydroksyfenylova

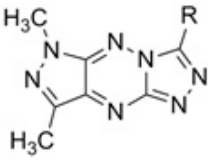
Cztery z otrzymanych pochodnych (4b, 4c, 4h, 4i) hamowały aktywność kinazy zależnej od cykliny 2 (CDK2). Wykazano również, że związek 4h działał najsilniej cytotoksycznie na ludzkie nowotworowe linie komórkowe: ostrej białaczki T-limfoblastycznej (CEM), ostrej białaczki T-limfoblastycznej odpornej na daunorubicynę (CEM DNR), przewlekłej białaczki szpikowej (K562) i raka płuc (A549) [25].

W następnym etapie przeanalizowano właściwości proapoptotyczne najbardziej aktywnego związku 4h, badając jego wpływ na cykl komórkowy i aktywność kaspaz wykonawczych 3/7 w komórkach ostrej białaczki T-limfoblastycznej. Zaobserwowano nieznaczną akumulację komórek w fazie S z jednoczesnym spadkiem liczby komórek w fazie G2/M. Zarówno 24-, jak i 48-godzinna ekspozycja komórek CEM na związek 4h powodowała także wzrost aktywności kaspazy-3 i -7, z tego wynika, że związek ten aktywował apoptozę [25].

W 2011 r. Mojzych zsyntetyzował wiele pochodnych układu pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny i ocenił ich aktywność biologiczną przez pomiar przeżywalności komórek nowotworowych: MCF-7 (raka piersi estrogenozależnego), PC-3 (raka gruczołu krokowego), Colo205 (raka jelita grubego) i NCI-H460 (raka płuc). Wzory strukturalne najbardziej aktywnych pochodnych przedstawiono na ryc. 8 [37]. Okazało się, że połączenie układu pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny z pierścieniem tetrazolowym lub triazolowym umożliwiło uzyskanie struktur o znacznie silniejszym działaniu cytotoksycznym w porównaniu do ich sulfonowych pochodnych [37].

Wyniki wskazują, że połączenie pierścienia [1,2,4]triazynowego z ugrupowaniem [1,2,4]triazolowym może być obiecującą strukturą wiodącą do syntezy związków o właściwościach przeciwnowotworowych. Dlatego też

Tabela 2. Wzory strukturalne pochodnych pirazolo[4,3-e]triazolo[4,5-b][1,2,4]triazyny

	Podstawnik - R	
	a	-H
	b	-CH ₃
	c	-CH ₂ Cl

w następnych badaniach oceniano wpływ podstawnika w pierścieniu triazolowym na aktywność cytotoksyczną nowych trójpierścieniowych pochodnych, których wzory strukturalne przedstawiono w tabeli 2 [40].

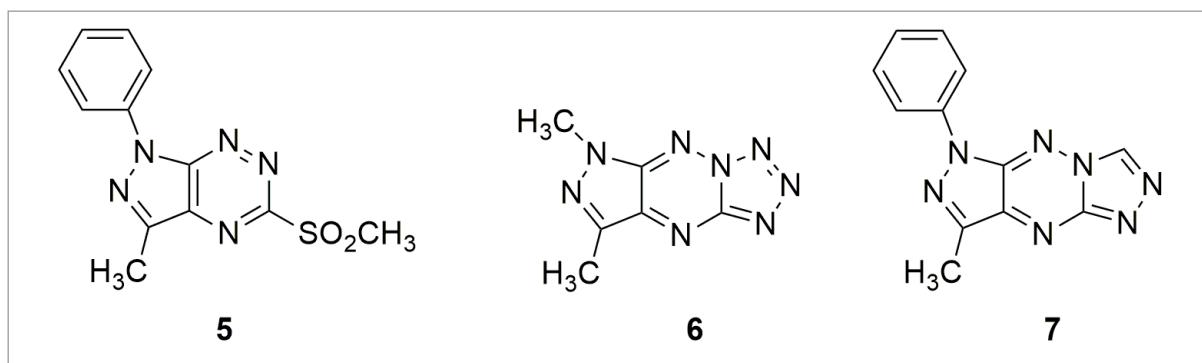
Na podstawie wstępnych badań *in vitro* można stwierdzić, że pochodne pirazolo[4,3-e]triazolo[4,5-b][1,2,4]triazyny wykazywały silne działanie antyproliferacyjne. Niepodstawiona pochodna (8a) (tab. 2) i pochodna z grupą chlorometylową (8c) (tab. 2) miały silne działanie cytotoksyczne wobec komórek A549 oraz LS180 [40].

Istotną grupę związków tworzą sulfonamidy, które mogą hamować aktywność: fosfodiesterazy typu 5, anhidrazy węglanowej, tyrozynazy, czy kinaz zależnych od cyklin. Najnowsze doniesienia wskazują, że hamowanie izoformy IX i XII anhidrazy węglanowej może mieć znaczenie w zwalczaniu nowotworów. W warunkach niedotlenienia w komórkach nowotworowych dochodzi do zwiększonej ekspresji anhidrazy węglanowej IX (CAIX) zależnej od aktywacji HIF-1. CAIX bierze udział w regulacji pH wewnątrz komórki, dzięki czemu umożliwia przeżycie i wzrost nowotworu w warunkach hipoksji, a kwasowe środowisko zewnętrzne sprzyja inwazji komórek nowotworowych. Zahamowanie tej izoformy enzymu prawdopodobnie może doprowadzić do śmierci komórek nowotworowych [45].

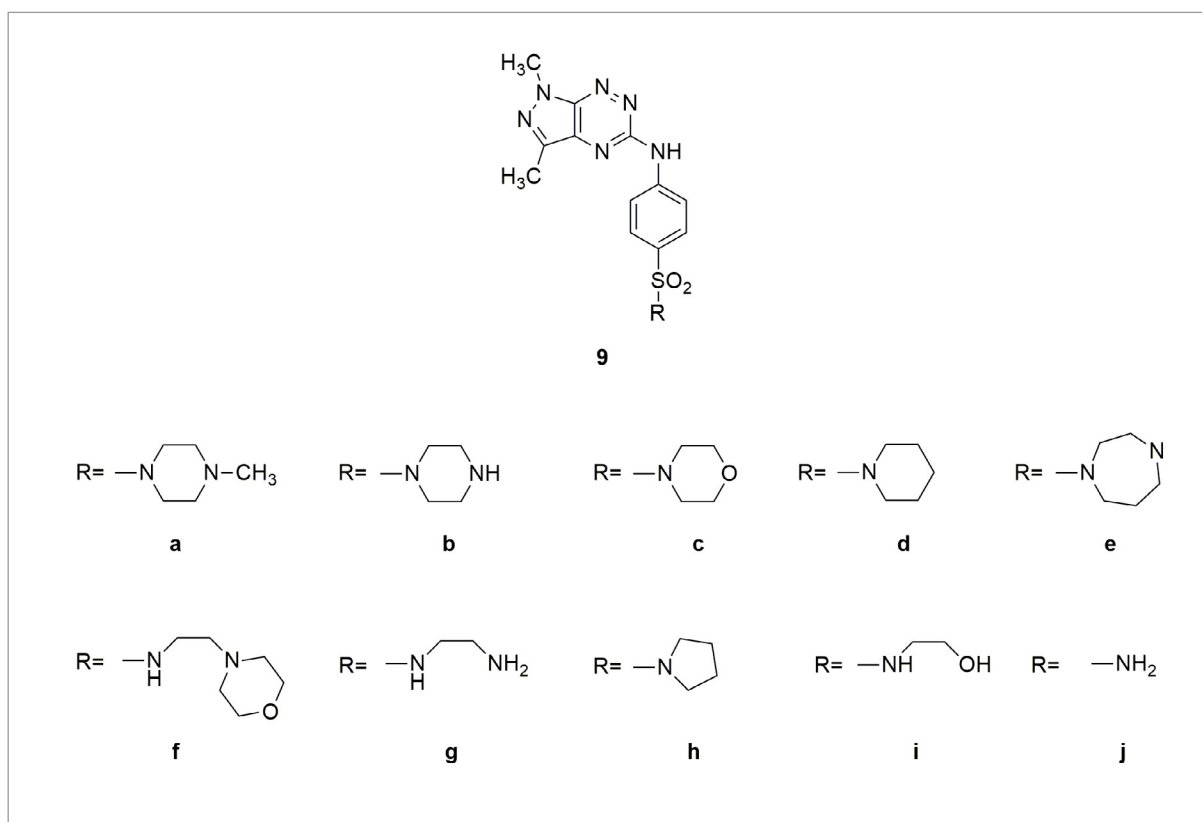
Dlatego też Mojzych i wsp. połączyli układ pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny z ugrupowaniem sulfonamidowym i ocenili wpływ nowo zsyntetyzowanych pochodnych na zdolność inhibicji anhidrazy węglanowej (ryc. 9) [38].

Wykazano, że związki 9g, 9i i 9j (ryc. 9) hamowały istotnie statystycznie aktywność anhidrazy węglanowej IX i XII, a związek 9a hamował aktywność izoformy XII bez istotnego wpływu na aktywność izoformy I, II i IX tego enzymu [38].

Ponadto, testowane pochodne umiarkowanie działały przeciwnowotworowo na linie komórek raka piersi estrogenozależnych (MCF-7) i estrogenoniezależnych (MDA-MB-231) [37]. Dla związków 9a, 9b, 9c, 9d, 9e, 9f, 9g i 9j (ryc. 9) oceniano ich wpływ na proliferację ludzkich linii komórkowych białaczki: z ekspresją genu *Bcr-Abl* (K562, BV173) i bez (HL60 i CCRF-CEM) w porównaniu do imatinibu i chlorambucylu. Wykazano, że silne działanie cytotoksyczne sulfonamidowych pochodnych [1,2,4]triazyn względem linii *Bcr-Abl* dodatnich wiąże się z inhibicją kinazy *Bcr-Abl*.



Ryc. 8. Wzory strukturalne najbardziej aktywnych związków 5, 6, 7



Ryc. 9. Wzory strukturalne sulfonamidowych pochodnych pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny (9a-9j)

Doniesienia wskazują, że nadekspresja Bcr-Abl w komórkach nowotworowych wpływa na aktywność kinaz zależnych od cyklin (CDK). Wykazano, że nowo zsyntetyzowane związki nie hamowały CDK2, co może świadczyć o selektywności w hamowaniu kinazy Bcr-Abl [12, 39].

Pochodne pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny są, jak dotąd, najmniej poznaną grupą związków heterocyklicznych. Niemniej jednak powyższe dane literaturowe wskazują, że struktura ta ma znaczną aktywność biologiczną. Działanie przeciwnowotworowe tego układu może być związane z inhibicją kinaz zależnych od cyklin, jak również kinazy Bcr-Abl. Ponadto, przyłączenie grupy sulfonamidowej do

układu pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny może nasilić działanie cytotoksyczne nowych związków przez hamowanie aktywności anhidrazy węglanowej [25, 37, 38, 39, 40, 45, 59, 63].

Przyłączenie pierścienia tetrazolowego lub triazolowego do dwupierścieniowej struktury pirazolo[4,3-e][1,2,4]triazyny może w znacznym stopniu poprawić aktywność biologiczną układu. Jednak zależy to od rodzaju i położenia podstawników w pierścieniu pirazolowym. W tetrazolowych pochodnych najsilniejsze właściwości przeciwnowotworowe miał związek 6 (ryc. 8), w którym pierścień pirazolowy był podstawiony dwiema grupami metylowymi. Dla triazolowych i sulfonowych pochodnych najsilniejsze

zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych zaobserwowano dla pochodnych 5 i 7 podstawionych grupą metylową i fenylową. Zmiana tych podstawników w pierścieniu pirazolowym powodowała osłabienie, a nawet utratę aktywności przeciwnowotworowej trójcyklicznych pochodnych triazyny [37].

POCHODNE [1,2,4]TRIAZINY ZAWIERAJĄCE SIARKĘ

Do syntezy [1,2,4]triazynonów, zawierających w swojej budowie pierścień tiofenowy, wykorzystano promieniowanie mikrofalowe, co znacznie poprawiło wydajność i skróciło czas trwania reakcji w porównaniu do tradycyjnej metody syntezy. Wykazano, że wobec linii komórek MCF-7 najsilniejsze właściwości cytotoksyczne wykazywał związek 11, a w stosunku do linii Hep-G2 i HCT-116 związek 10. Ich wzory przedstawiono na ryc. 10 [50].

Oceniono również wpływ nowo zsyntetyzowanych pochodnych na indukcję apoptozy w trzech liniach komórkowych: MCF-7, Hep-G2 i HCT-116. Wykazano, że oba testowane związki zapoczątkowywały programowaną śmierć komórek w badanych liniach komórkowych. Jednak związek 10 znacznie skuteczniej indukował apoptozę [50].

Poszukując nowych aktywnie biologicznych preparatów o aktywności przeciwnowotworowej, w 2013 roku zsyntetyzowano S-tioglikozydowe analogi [1,2,4]triazyny. Wykazano, że obecność pierścienia β-D-glukopiranozyłowego zwiększała aktywność biologiczną tych pochodnych [41].

Atom siarki w związkach heterocyklicznych odgrywa znaczącą rolę w farmakoterapii różnych schorzeń. Stąd też,

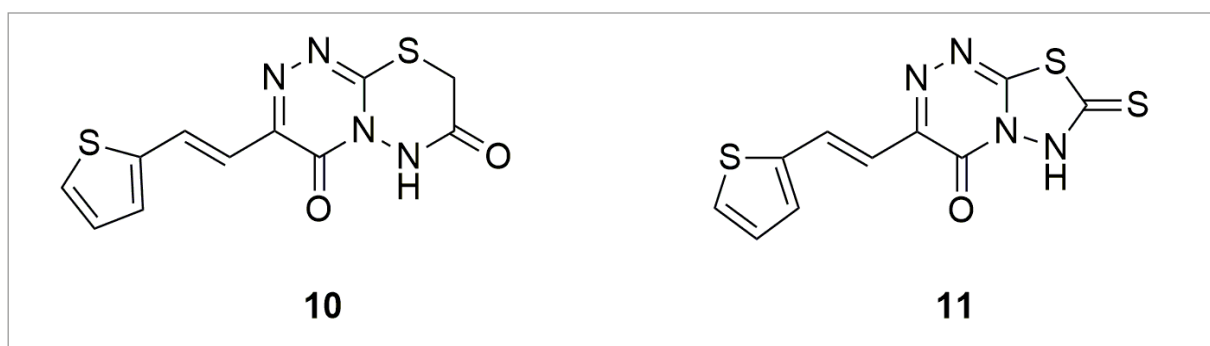
w 2015 r. Karczmarzyk i wsp. ocenili wpływ siarki na aktywność przeciwnowotworową związków. Struktury najaktywniejszych przedstawiono na ryc. 11 [28].

Na podstawie analizy struktura-aktywność wykazano, że obecność wiązania -S-S- między dwoma pierścieniami triazynowymi, a także wiązania -S-N- między pierścieniem triazynowym i piperolidynowym może powodować wzrost aktywności cytotoksycznej związków [28].

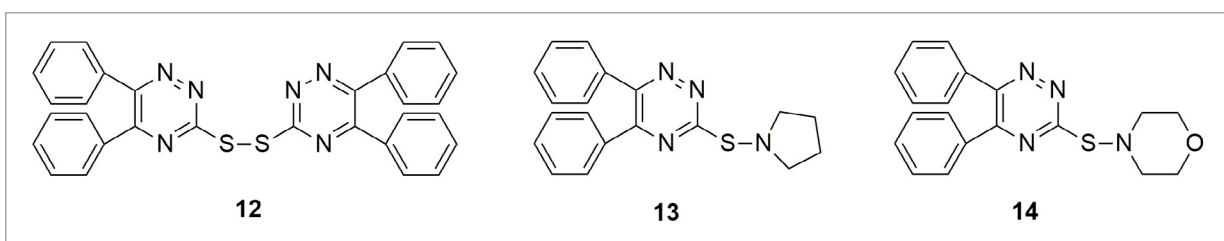
Branowska i wsp. w 2018 roku zaprojektowali grupę asymetrycznych disulfonowych pochodnych układu [1,2,4] triazyny. Związek 15j (tabela 3) wykazywał najsilniejsze właściwości cytotoksyczne na komórki MCF-7, porównywalne z aktywnością chlorambucylu. Zaobserwowano, że związek 15j słabiej działał cytotoksycznie na komórki prawidłowe niż zastosowany związek referencyjny: chlorambucyl [9].

Najnowsze doniesienia sugerują, że zahamowanie aktywności receptora estrogenowego może odgrywać istotną rolę w zwalczaniu raka piersi. Stąd też przeprowadzono analizę wiązania nowo zsyntetyzowanych pochodnych z receptorem estrogenowym alfa metodami dokowania molekularnego. Najbardziej aktywny okazał się związek 15j, który wiązał się z domeną Cys530 i Ala350 receptora ER-α (receptor estrogenowy typu α) [9].

Liczne publikacje o pochodnych [1,2,4]triazyn zawierających siarkę sugerują, że związki te mogą mieć potencjalne zastosowanie w różnych typach nowotworów. Przez połączenie ugrupowania [1,2,4]triazynowego z pierścieniem tiofenowym uzyskano serię nowych związków

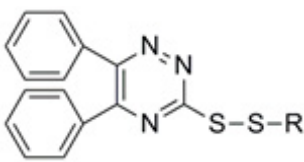


Ryc. 10. Wzory strukturalne związków 10 i 11



Ryc. 11. Struktura chemiczna pochodnych triazynowych zawierających atom siarki

Tabela 3. Wzór ogólny disulfonowych pochodnych układu [1,2,4]triazyny i nazwy podstawników R we wzorze 15

Wzór ogólny	Podstawniki	
 15	a: R= izopropylowa	h: R= fenylowa
	b: R= n-butylowa	i: R= p-toluenowa
	c: R= tert-butylowa	j: R= 4-metoksyfenylowa
	d: R= izobutylowa	k: R= 4-chlorofenylowa
	e: R= n-pentylowa	l: R= 4-nitrofenylowa
	f: R= dodecylowa	m: R= 2,4-dinitrofenylowa
	g: R= 1-hydroksyundecylowa	n: R= 2-benzotiazolowa

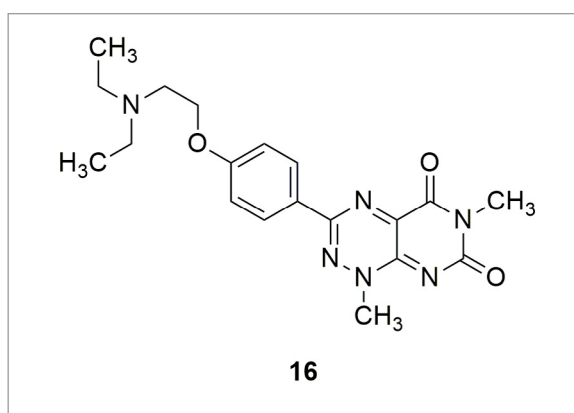
indukujących apoptozę w różnych ludzkich nowotworowych liniach komórkowych. Najsilniejsze właściwości cytotoksyczne wykazywały pochodne zawierające w swojej strukturze chemicznej pierścień tiadiazyn-5-onu (10) i tiadiazolino-2-tionu (11) [50]. Natomiast obecność grupy tiolowej w pozycji 3 pierścienia [1,2,4]triazynowego nie wpływała na aktywność biologiczną. Dopiero podstawienie grupy tiolowej pierścieniem pirodolinowym lub morfolinowym nasilało działanie przeciwnowotworowe tych pochodnych [28].

Wiele analogów zawierających w strukturze grupę disulfidową znalazło zastosowanie jako chemioterapeutyki. Przykładem związku o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej jest 5,6-difenyl[1,2,4]triazyno-3-(4-metoksyfenyl)disulfid (15j) (tab. 3), który jest antagonistą receptora estrogenowego. Aktywacja receptora estrogenowego uruchamia ekspresję genów receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1R), białka Bcl-2, cykliny D1 i naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF), których nadaktywność prowadzi do nadmiernej proliferacji i wzrostu komórek nowotworowych [7, 9, 28].

Wspomniane wcześniej ugrupowanie sulfonamidowe również znacznie poprawia właściwości przeciwnowotworowe pochodnych triazyn, a mechanizm ich działania jest związany z hamowaniem aktywności anhidrazy węglanowej IX i XII. Enzymy te w dużym stopniu odpowiadają za utrzymanie swoistych warunków mikrośrodowiska komórek nowotworowych, a ich nadmierna aktywność jest uznawana za jeden z ważniejszych czynników molekularnych, który może prowadzić do chemiooporności [38, 39].

KETONOWE POCHODNE [1,2,4]TRIAZYN

W 2011 roku opatentowano grupę pochodnych [1,2,4]triazyny o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym związanym z inhibicją szlaku Wnt/ β -kateniny. Wśród białek Wnt wyróżnia się dwie grupy: białka o właściwościach onkogennych (Wnt-1, Wnt-3A, Wnt-8 i Wnt-8B) oraz niemające właściwości transformujących (Wnt-4, Wnt-5a, Wnt-11). Białka Wnt są zaangażowane w proces migracji, różnicowania i podziałów komórkowych. Wyróżnia się



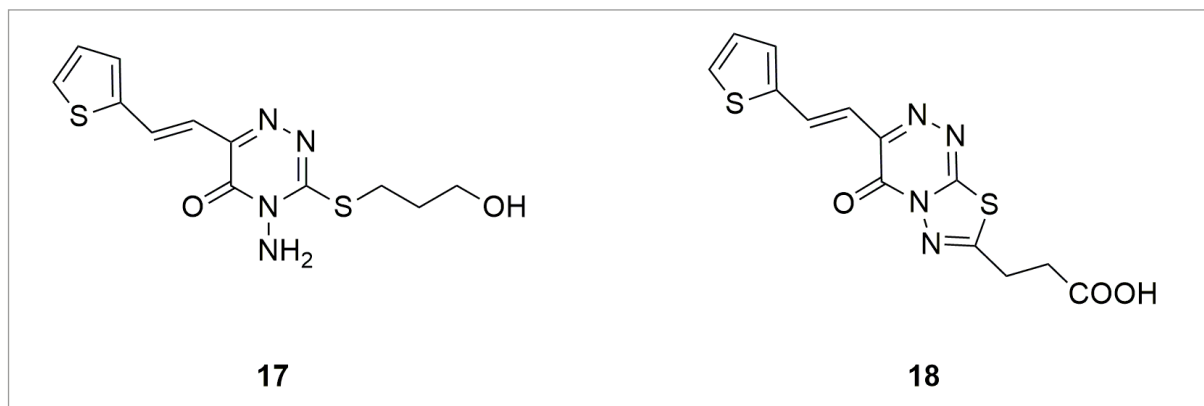
Ryc. 12. Wzór strukturalny związku (3-(4-(2-(dietyloamino)etoksy)fenyl)-1,6-dimetylopyrimido[5,4-e]-1,2,4]triazyn-7,7(1H,6H)dion

dwie drogi aktywacji szlaku Wnt: kanoniczny – związany z aktywnością β -kateniny i niekanoniczny – uzależniony od uwalniania jonów wapnia w komórce. Nadaktywność szlaku Wnt/ β -katenina często występuje w różnych nowotworach, m.in.: w nowotworze jelita grubego, wątroby, skóry, piersi i w wielu innych [30, 54, 56, 60].

Wstępne badania *in vitro* przeprowadzone na komórkach nabłonka jelita szczura pochodzącego z krypt jelitowych (IEC-18) wykazały znaczną aktywność antagonistyczną podstawionych pirymidotriazynodionów w stosunku do szlaku Wnt/ β -katenina, a to może mieć znaczenie w terapii przeciwnowotworowej. Najaktywniejszy w tej grupie był związek 16, którego strukturę chemiczną przedstawiono na ryc. 12 [60].

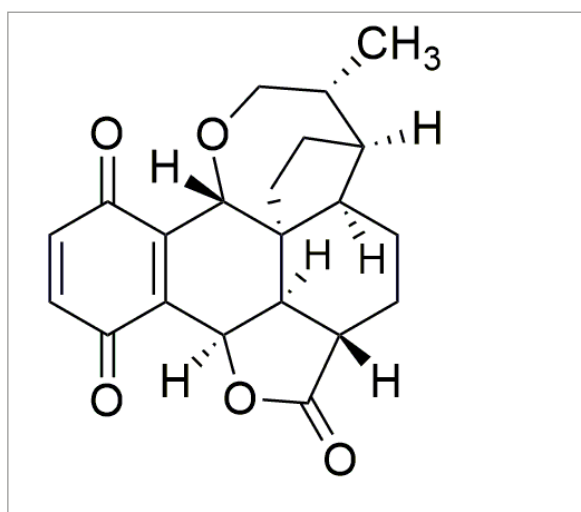
W 2011 roku zsyntetyzowano pochodne S-alkilo-[1,2,4]triazynonów oraz S-glikozylo-[1,2,4]triazynonów (ryc. 13) i oceniono ich aktywność biologiczną względem komórek nowotworowych wątroby (Hep-G2), jelita grubego (HCT-116) i piersi (MCF-7) [49].

Najsilniejsze właściwości cytotoksyczne miały związki 17 i 18. Związek 17 miał silniejsze właściwości proapoptotyczne względem linii komórek MCF-7 i HCT-116



Ryc. 13. Wzory strukturalne związków 17 i 18

w porównaniu do związku 18. Na podstawie analizy SAR stwierdzono, że aktywność przeciwnowotworowa wiązała się z obecnością wolnej grupy $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ lub $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ [49].



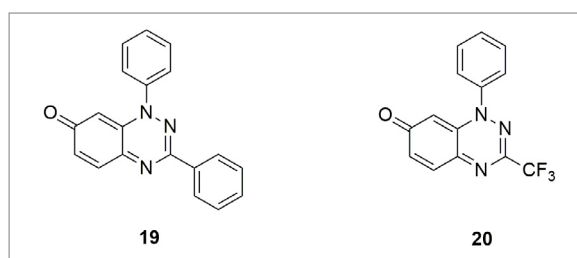
Ryc. 14. Wzór strukturalny pleurotyny

W 2016 roku dokonano syntezy serii pochodnych benzo[1,2,4]triazyn-7-onów. Na podstawie analizy struktury wykazano, że benzotriazynony miały bardzo podobną budowę do pleurotyny (ryc. 14), co może wskazywać, że związki te mają podobny mechanizm działania [61].

Pleurotyna należy do grupy antybiotyków naftochinonowych; naturalnie występuje w ekstrakcie z grzybów *Pleurotus griseus*, *Hohenbuehelia geogenia* i *Hohenbuehelia atrocaerulea*.

Mechanizm działania przeciwnowotworowego pleurotyny i pochodnych benzotriazynonów może być związany z hamowaniem aktywności reduktazy tioredoksyny (Trx). Nadekspresja Trx występuje w wielu nowotworach i wpływa na proliferację komórek i hamowanie apoptozy [3].

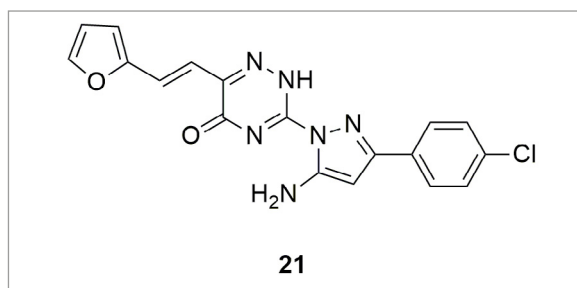
W celu określenia selektywności i cytotoksyczności oznaczono przeżywalność trzech linii komórkowych po inkubacji z nowo zsyntetyzowanymi pochodnymi. Związek 19 (ryc. 15) wykazywał silne działanie cytotoksyczne w stosunku do linii komórkowej raka prostaty (DU-145) i piersi (MCF-7). Niestety z taką samą siłą oddziaływał na komórki prawidłowe [61].



Ryc. 15. Wzory strukturalne pochodnych benzo[1,2,4]triazyn-7-onów

Mimo braku selektywności względem komórek nowotworowych i prawidłowych otrzymane benzotriazynony (związek 19 i 20) były zdolne do hamowania reduktazy Trx. W przeciwieństwie do pleurotyny, zablokowanie enzymu Trx przez benzotriazynony było procesem odwracalnym. Różnica w mechanizmie działania może być spowodowana obecnością ugrupowania chinonu w strukturze pleurotyny [61].

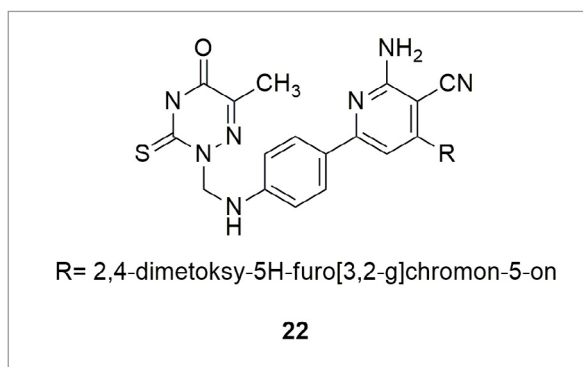
W 2012 r. zsyntetyzowano pochodne [1,2,4]triazyn-5-onów łącząc ich strukturę z pierścieniem pirazolowym lub



Ryc. 16. Wzór strukturalny związku 21

pirazolidynowym. Na podstawie badań przesiewowych NCI wyselekcjonowano 6 pochodnych o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. Dla najaktywniejszego związku 21 (ryc. 16) wykonano badania cytotoxyczności wobec 60 linii komórkowych obejmujących m.in.: białaczkę, drobno-komórkowego raka płuc, jelita grubego, nowotworu ośrodkowego układu nerwowego, czerniaka, raka jajnika, nerek, prostaty i piersi [8].

W 2015 r. zsyntetyzowano serię pochodnych 6-metylo-3-tio-3,4-dihydro-[1,2,4]triazyn-5(2H)-onów. Oceniono



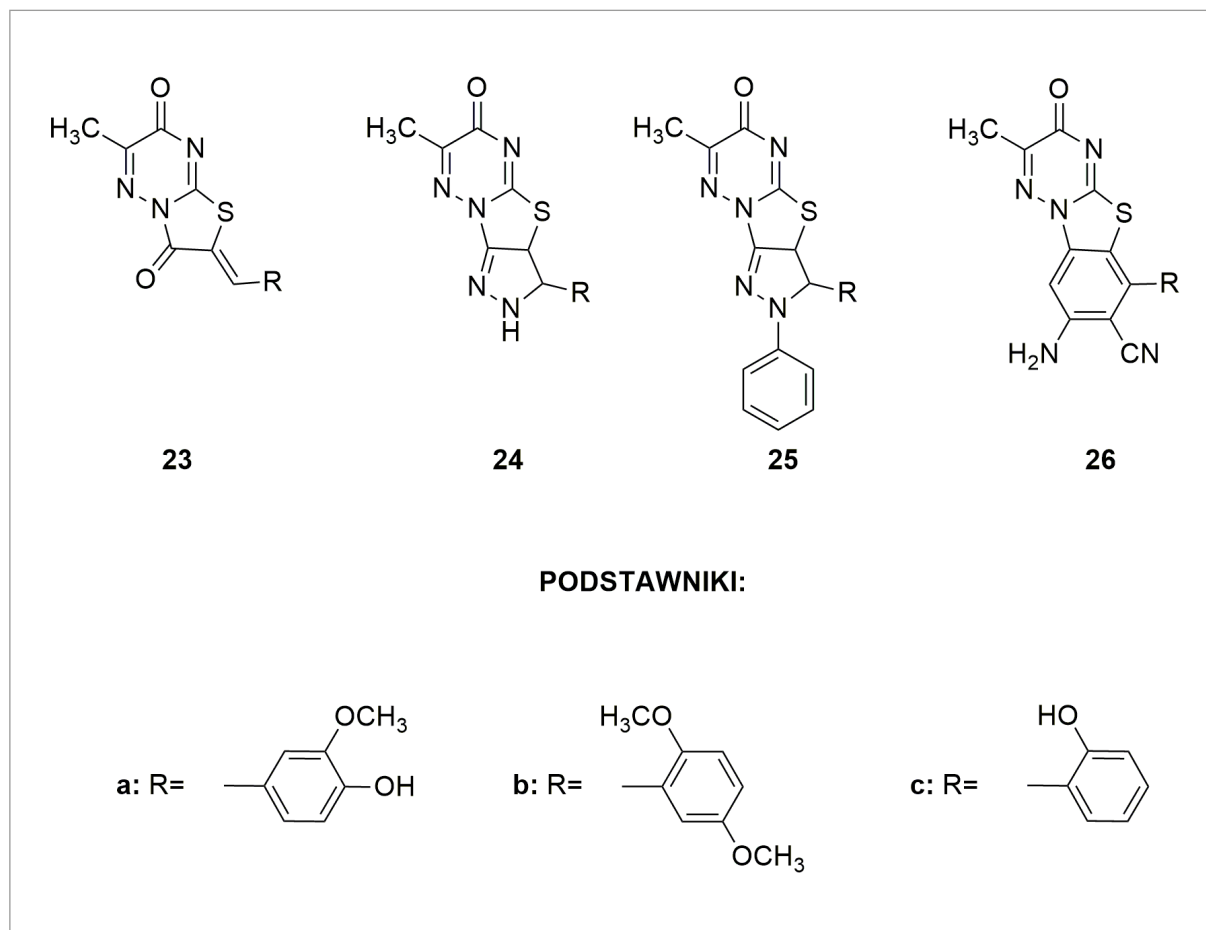
Ryc. 17. Wzór strukturalny związku 22

ich cytotoxyczność względem 17 nowotworowych linii komórkowych. Najsilniejsze właściwości przeciwnowotworowe uzyskano wobec linii raka jelita grubego Hep-G2 i piersi MCF-7. Badania *in vivo* przeprowadzono na ksenograftach myszy z przeszczepem tych komórek. W grupie MCF-7 i Hep-G2 ksenograftów zaobserwowano istotne zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych w porównaniu do doksorubicyny. Najaktywniejszy okazał się związek 22, którego wzór przedstawiono na ryc. 17 [16].

W 2016 r. Abd El-All i wsp. dokonali syntezy nowych dwu- i trójcyklicznych pochodnych wykorzystując 6-metylo-3-tio-3,4-dihydro-[1,2,4]triazyn-5(2H)-ony jako strukturę wyjściową (ryc. 18) [15].

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że obecność ugrupowania 2,5-dimetoksyfenylowego w strukturze 6-metylo-tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazyn-7-onów zwiększała aktywność cytotoxyczną względem dwóch linii komórkowych: MCF-7 i Hep-G2, w porównaniu do analogów z grupą 4-hydroksy-3-metoksyfenylową w tej pozycji. Niestety, żaden ze związków nie miał cytotoxycznego działania przeciwko komórkom raka płuc (A549) [15].

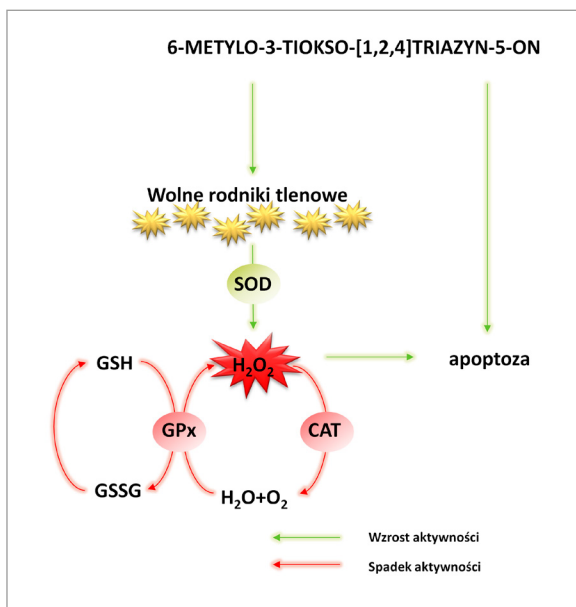
Za transformacje nowotworowe mogą być odpowiedzialne wolne rodniki tlenowe (ROS). Wzrost liczby i szybkości



Ryc. 18. Wzory strukturalne związków 23-26

podziałów komórkowych, a nawet zmiana wrażliwości na leki, może być następstwem zwiększonych ilości reaktywnych form tlenu (RFT) w komórkach nowotworowych. Nadmierna synteza RFT może prowadzić do wyczerpania mechanizmów antyoksydacyjnych komórek, a w następstwie tego procesu do nagromadzenia się wolnych rodników tlenowych i aktywacji apoptozy [26, 52].

Oceniono wpływ nowych pochodnych [1,2,4]triazyn-5-onów na indukcję stresu oksydacyjnego w obu liniach



Ryc. 19. Potencjalny wpływ 6-metylo-3-tiokso-1,2,4-triazyn-5-onów na stres oksydacyjny

komórkowych MCF-7 i Hep-G2. W tym celu oznaczono stężenie dysmutazy nadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx), H_2O_2 i zredukowanej postaci glutationu (GSH). Wykazano, że aktywność biologiczna tych związków powodowała wzrost stężenia SOD i wytwarzania H_2O_2 z jednoczesnym spadkiem aktywności GPx i CAT (ryc. 19). Nadmierna synteza nadtlenku wodoru w komórkach nowotworowych powodowała jego akumulację, a następnie aktywację apoptozy [15, 26, 52].

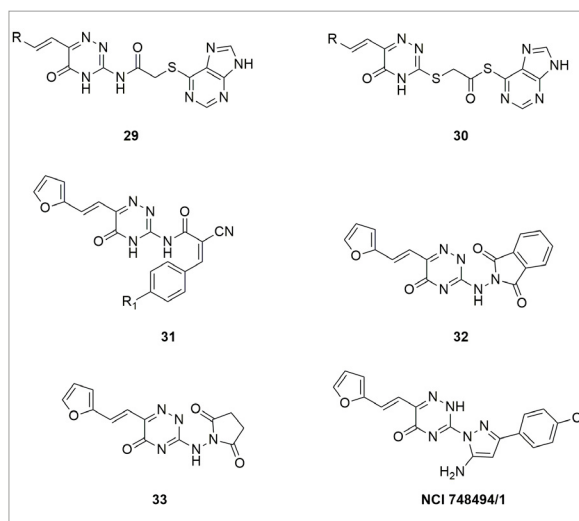
Voskoboinik i wsp. w 2016 roku zsyntetyzowali pochodne benzo[e][1,2,4]triazyno[2,3-c][1,2,4]triazyn-2-onów (tabela 4) i ocenili ich aktywność cytotoksyczną [64].

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że związek 27d wykazywał najsilniejsze właściwości antyproliferacyjne wobec komórek raka piersi MDA-MB-468 [64].

W wyniku syntezy organicznej w 2016 r. uzyskano wiele pochodnych [1,2,4]triazyn i oceniono ich aktywność anty-onkogeną względem komórek HepG-2. Związek 28b (tabela 5) wykazywał najsilniejsze właściwości przeciwnowotworowe. Siła działania tej pochodnej była prawie dwukrotnie większa w porównaniu do związku referencyjnego winblastyny [18].

Jedną z przyczyn rozwoju nowotworu może być również nadmierna aktywacja szlaku c-Met. Zahamowanie tego szlaku może być potencjalnym punktem uchwytu nowych preparatów cytostatycznych.

Ścieżka sygnalizacyjna HGF/c-Met ma istotny wpływ na utrzymanie fizjologicznych procesów w organizmie (embriogeneza, organogeneza czy naprawa tkanek po ostrym urazie), ale również jest zaangażowana w proces patogenezy nowotworów. C-Met wchodzi w interakcje z innymi receptorami kinazy tyrozynowej, tj.: EGFR, VEGFR i IGF-1R, co może wyjaśniać oporność komórek nowotworowych na terapie celowane. W 2017 roku El-Wakil i wsp. zaprojektowali pochodne 6-winylo-[1,2,4]triazyn-5-onów (ryc. 20, tab. 6) i ocenili ich aktywność cytotoksyczną względem ludzkich komórek nowotworowych: A549, HT-29, MKN-45. Związek 29d wykazywał znacznie silniejsze właściwości cytotoksyczne niż zastosowane związki referencyjne: foretinib, BMS-777607 i NCI 748494/1 [17, 21, 43, 51].



Ryc. 20. Wzory strukturalne pochodnych 6-winylo-[1,2,4]triazyn-5-onów

Testowana pochodna 29d (ryc. 20) wykazywała prawie 11 razy silniejsze działanie hamujące kinazę c-Met w porównaniu do wcześniej zsyntetyzowanego związku NCI 748494/1 [17].

W 2018 roku zsyntetyzowano szereg pochodnych benzo[1,2,4]triazyn-7-onów. Celem badań była ocena obecności pierścienia pirydynowego w strukturze związku na cytotoksyczność, stąd też podstawnik fenyłowy w związku 34 został zastąpiony pierścieniem 2-pirydylowym w związku 35 i 36 (ryc. 21) [29].

Wykazano, że związki zawierające ugrupowanie 2-pirydyłowe osiągały nawet 3-krotnie niższą wartość IC_{50} względem komórek MCF-7 w porównaniu do związku 34 [29].

Ze względu na silną aktywność biologiczną tirapazaminy w 2010 r. zsyntetyzowano nową pochodną 37 (1,4-ditlenek N-etoksymetylo-3-amino-[1,2,4]benzotriazyny),

Tabela 4. Wzory strukturalne nowych pochodnych benzo[e][1,2,4]triazyno[2,3-c][1,2,3]triazyn-2-onów

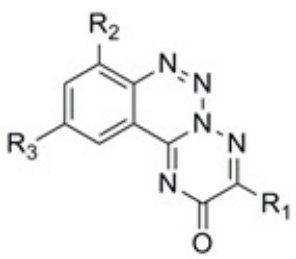
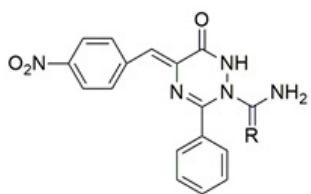
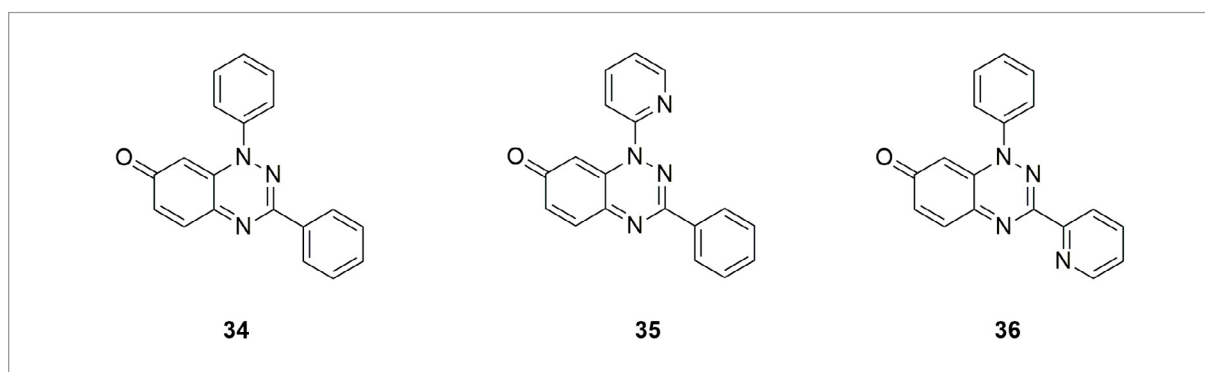
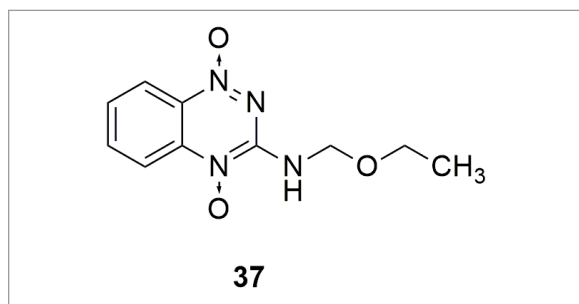
Wzór	Podstawniki			
	R ₁	R ₂	R ₃	
 27	a	CH ₃	H	
	b	C ₆ H ₅	H	
	c	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	H	
	d	4-iPr-C ₆ H ₄	H	
	e	4-tBu-C ₆ H ₄	H	
	f	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄	H	
	g	4-F-C ₆ H ₄	H	
	h	C ₆ H ₅	CH ₃	H
	i	C ₆ H ₅	H	Br
	j	4-F-C ₆ H ₄	H	Br

Tabela 5. Wzory strukturalne najbardziej aktywnych pochodnych

Numer związku	Wzór związku	Podstawnik R	
28		a	0
		b	S

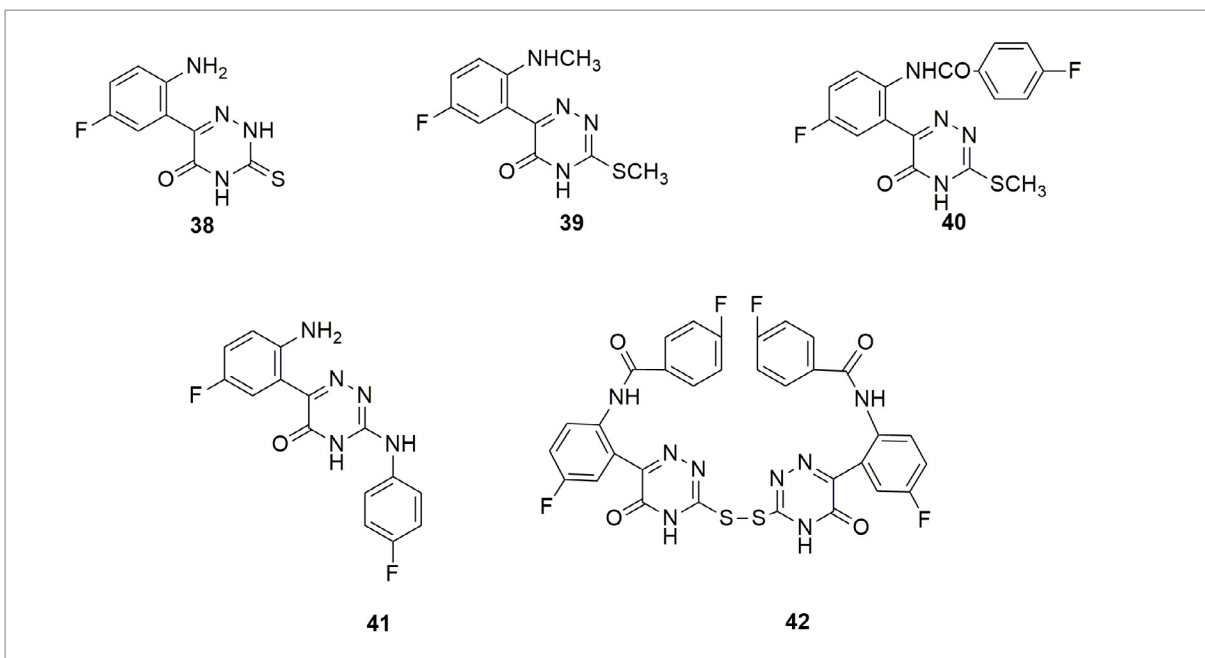
**Ryc. 21.** Wzory strukturalne pochodnych benzo[1,2,4]triazyn-7-onów**Ryc. 22.** Wzór strukturalny związku 37

wprowadzając podstawnik -CH₂OCH₂CH₃ do grupy aminowej (ryc. 22) [35].

Oceniono wpływ nowo zsyntetyzowanej pochodnej na przeżywalność nowotworowych linii komórkowych w warunkach hipoksji i normoksji. W stosunku do linii komórkowych: A549, PC3, SMMC-7721 i K562 związek 37 wywoływał silniejszy efekt cytotoksyczny w warunkach hipoksji w porównaniu do normoksji. Natomiast wobec linii komórek KB zaobserwowano odwrotne zjawisko: silniejsze zahamowanie proliferacji komórek w warunkach normoksji [35].

Tabela 6. Wzory strukturalne podstawników

PODSTAWNIK						
a	b	c	d	e	f	
R=				-	-	
R ₁ =	-H	-OH	-OCH ₃	-Cl	-Br	-NO ₂



Ryc. 23. Wzory strukturalne nowo zsyntetyzowanych fluorowych pochodnych [1,2,4]triazynonów

Heterocykliczne układy azotowe to ważny kierunek w badaniach związanych z odkrywaniem nowych leków. W celu poprawy właściwości fizykochemicznych do struktury [1,2,4]triazynonów dołączono atom fluoru ze względu na jego wysoką reaktywność [36].

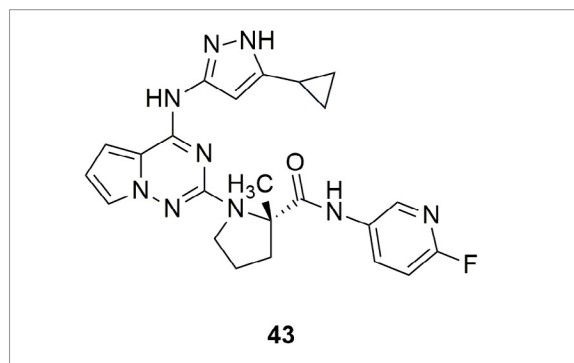
Wykazano, że niektóre z nowo zsyntetyzowanych pochodnych mogły hamować kinazę zależną od cykliny 2 w stopniu silniejszym lub równym olomucynie. Wzory najaktywniejszych pochodnych przedstawiono na ryc. 23 [36].

W ostatnich dziesięciu latach zaprojektowano wiele ketonowych pochodnych [1,2,4]triazyny o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych.

Najsilniejsze właściwości cytotoksyczne wykazywały pochodne uzyskane z połączenia pierścienia [1,2,4]triazynowego z ugrupowaniem chalconowym oraz grupą pirazolową, oksazolową lub pirydynową. Wartość IC₅₀ oscylowała w granicach 0,00049-9,6pM w zależności od linii komórkowej. Wykazano, że pochodna 22 (ryc. 17) w największym stopniu hamuje szybkość wzrostu guza

[16].

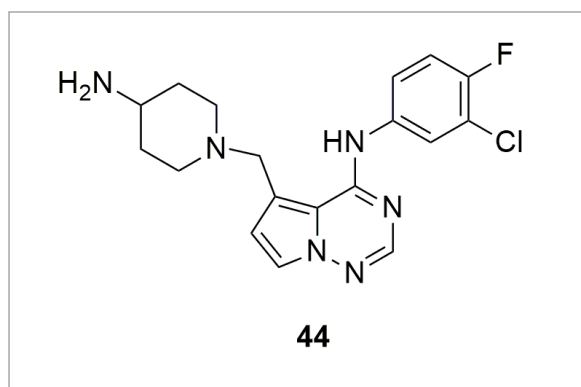
W zależności od struktury chemicznej ketonowe pochodne [1,2,4]triazyny wykazywały zróżnicowaną aktywność przeciwnowotworową. Aktywność biologiczna może być związana z inhibicją szlaku sygnałowego HGF/c-Met, Wnt /β- katenina, reduktazy tioredoksyny, czy kinaz zależnych od cyklin [17, 36, 43, 60, 61].



Ryc. 24. Wzór strukturalny związku 43

POCHODNE PIROLO[2,1-*f*][1,2,4]TRIAZINY

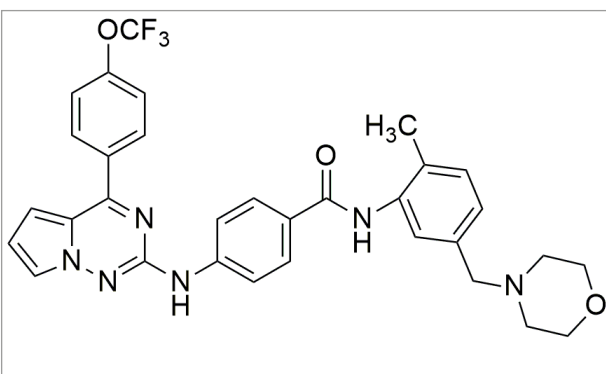
W strukturze wielu inhibitorów kinaz występuje pierścień pirazolopirymidynowy, dlatego w 2009 r. zsyntetyzowano serię pochodnych pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyny z ugrupowaniem aminopirazolowym. Wykazano, że związek 43 (ryc. 24) zarówno w monoterapii, jak i w terapii skojarzonej może zostać potencjalnym lekiem w zwalczaniu nowotworów litych [65].



Ryc. 25. Wzór strukturalny związku 44

W badaniach Finka i wsp. z 2011 r. skupiono się na zoptymalizowaniu struktury pochodnych pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyny przez zmniejszenie ich masy cząsteczkowej, lipofilności, a także poprawę ich właściwości farmakokinetycznych. Wykazano, że grupa aminopiperidynowa odgrywała znaczącą rolę w hamowaniu aktywności kinazy HER2 i EGFR, co ma istotne znaczenie w terapii przeciwnowotworowej. Najsilniejsze właściwości hamujące tej kinazy wykazywała pochodna 44 (ryc. 25) [19].

Xin i wsp. zaprojektowali w 2014 roku pochodne pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyny. Związek 45 (ryc. 26) wykazywał silną aktywność hamującą szlak Hedgehoga; ścieżka sygnałowa

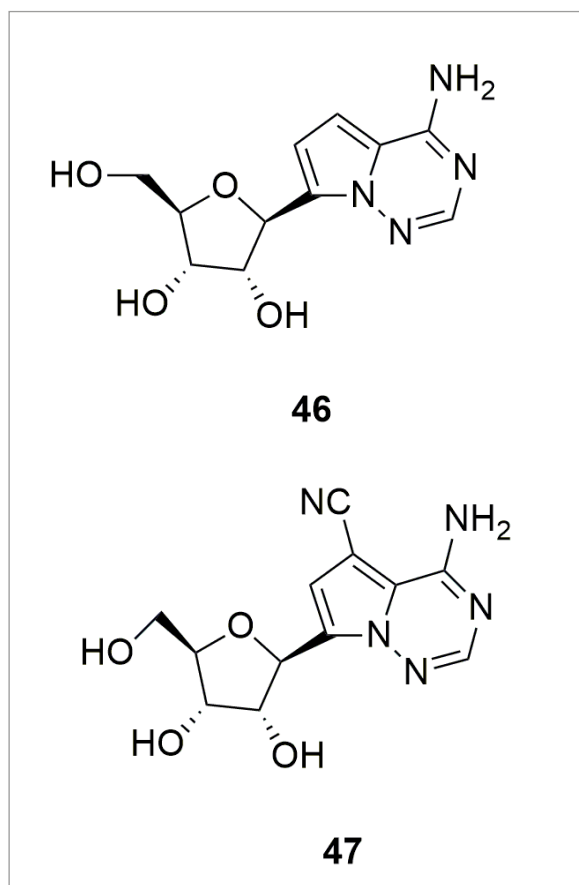


Ryc. 26. Wzór strukturalny związku 45

Hedgehoga odgrywa istotną rolę w procesie embriogenezy i regulacji proliferacji komórek macierzystych. Modyfikacja tego szlaku może doprowadzić do transformacji nowotworowej, a nawet spowodować oporność komórek

nowotworowych na leczenie. Nadaktywność tego szlaku stwierdza się w drobnokomórkowym raku płuc, żołądka, górnego odcinka przewodu pokarmowego, trzustki i prostaty. Obecnie w badaniach klinicznych znajduje się wiele inhibitorów tej ścieżki sygnałowej: vismodegib, sonidegib, saridegib, BMS-833923 itd. [66].

Dla pięciu najbardziej aktywnych pochodnych pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyny przeprowadzono badania *in vivo* na szczurach w celu określenia parametrów farmakokinetycznych [66].

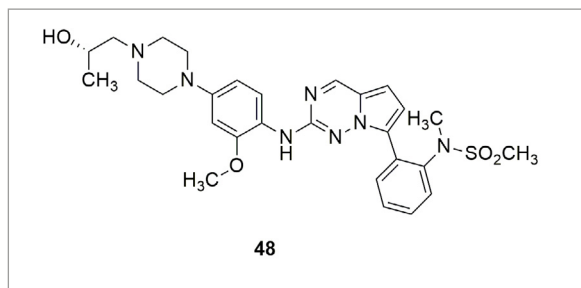


Ryc. 27. Wzory strukturalne C-nukleozydowych pochodnych zawierające układ pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyno-4-aminowy

W 2018 r. Li i wsp. zsyntetyzowali pochodne C-nukleozydowe zawierające układ pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyno-4-aminowy. W analogach C-nukleozydowych część cukrowa połączona jest z grupą heterocykliczną wiązaniem C-C. Związki te w odróżnieniu od pochodnych N-nukleozydowych wykazują oporność zarówno na hydrolityczny, jak i na enzymatyczny rozkład. Na podstawie przeprowadzonych testów wykazano, że najsilniejsze właściwości antyproliferacyjne względem badanych linii komórkowych (CAPAN-1, HCT-116, NCI-H460, HL-60, K-562, Z-138, MM.1S, DND-41) wykazywały związki 46 i 47 (ryc. 27) [34].

Jednym z punktów uchwytu terapii celowanej w zwalczaniu niedrobnokomórkowego raka płuc – NSCLC są

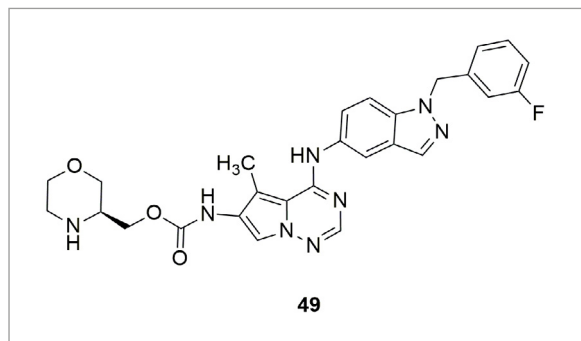
inhibitory kinazy ALK (kinaza chłoniaka anaplastycznego). U 2–5% chorych na raka gruczołowego płuca może występować rearanżacja genu *ALK*, który po połączeniu z genem *EML4* powoduje konstytutywną aktywację kinazy ALK.



Ryc. 28. Wzór strukturalny związku 48

Obecnie wiele inhibitorów ALK znajduje się na różnych etapach badań klinicznych [14].

Wykorzystując osiągnięcia naukowców i znane właściwości farmakologiczne inhibitorów tych kinaz, zaprojektowano nowe pochodne o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej i oceniono ich wpływ na kinazy ALK



Ryc. 29. Wzór strukturalny związku 49

i receptor insuliny czynnika wzrostu. Na podstawie przeprowadzonych badań *in vitro* i *in vivo* wyselekcjonowano związek 48, którego wzór strukturalny przedstawiono na ryc. 28 [44].

Dane literaturowe wskazują, że nadekspresja receptora EGFR i HER2 występuje w wielu nowotworach, m.in.: drobnokomórkowym raku płuca, jelita grubego, piersi, jajnika, głowy i szyi. W toku analizy struktura-aktywność uzyskano pochodną 49 (AC480) będącą inhibitorem kinazy EGFR i HER2 (ryc. 29) [22].

Związek 49 miał silne działanie cytotoksyczne na linii komórek raka piersi z wysoką ekspresją EGFR i HER2: HCC202 HCC1954 i AU565. Wobec linii niewykazujących ekspresji EGFR i HER2, tj. fibroblastach i komórkach raka jajnika A2780 i MRC5 nie obserwowano toksycznego działania tego związku [22].

Obiecujące wyniki badań *in vitro*, skłoniły naukowców do przeprowadzenia badań *in vivo*. Wpływ związku 49 oceniono u czterech gatunków zwierząt, określając

parametry farmakokinetyczne preparatu. We wszystkich grupach zwierząt zaobserwowano korzystny okres półtrwania po podaniu doustnym. Dalsze badania związku 49 wykazały, że ma on podobne właściwości hamujące rozwój guza zarówno w nowotworach z nadekspresją EGFR (GEO, L2987), jak i w nowotworach z nadekspresją HER2 (KPL4, N87). Nie odnotowano istotnej toksyczności związku, utraty masy ciała i śmiertelności przy wszystkich zastosowanych dawkach. Korzystne wyniki badań *in vitro* i *in vivo* zaowocowały w 2012 r. przeprowadzeniem badań klinicznych z zastosowaniem związku 49 u pacjentów z litym guzem [58].

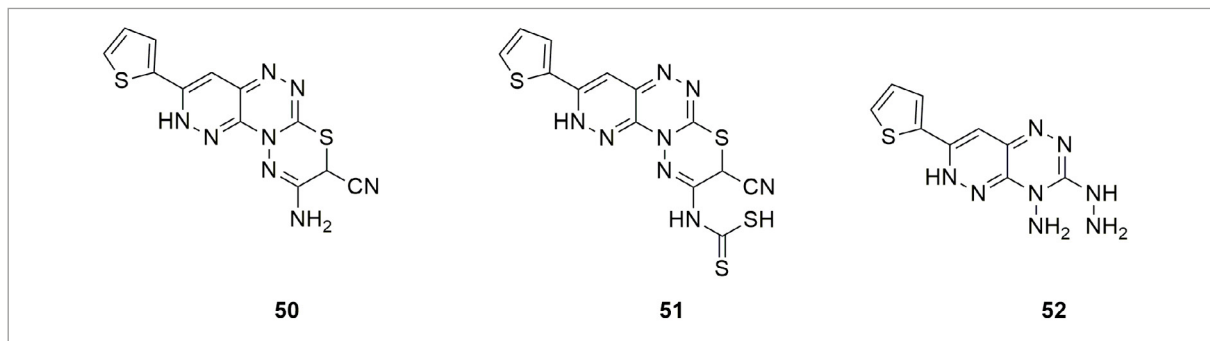
Istnieje wiele mechanizmów działania, poprzez które pochodne pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyny wykazują aktywność przeciwnowotworową. Jednym z nich jest możliwość blokowania receptorów IGF-1R i IR. Związek 43 (ryc. 24) wiązał się odwracalnie z tymi receptorami grupą aminopirazolową, co powodowało zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych i aktywację apoptozy [65].

Połączenie układu pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyny z grupą aminopiperidynową w pozycji 5 pozwoliło na uzyskanie serii związków hamujących aktywność receptorów EGFR i HER2. Zablockowanie ich hamuje szlaki sygnałowe MAPK i PI3K/AKT związane z proliferacją, migracją i inwazją komórek nowotworowych. Podobny mechanizm działania wykazywały pochodne układu pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyny, które w pozycji 6 miały pierścień morfolinowy [22, 58].

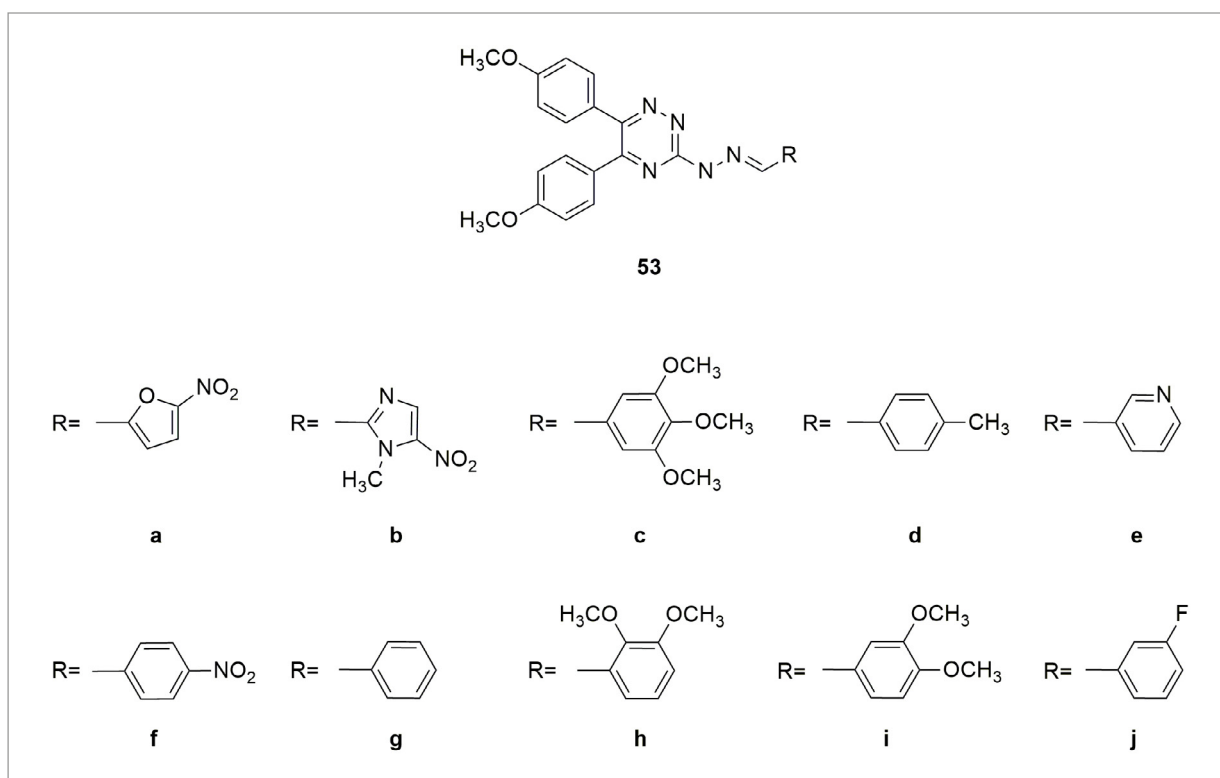
Właściwości antykancerogenne pochodnych pirolo[2,1-*f*][1,2,4]triazyn mogą być związane z blokowaniem szlaku Hedgehoga, jak również hamowaniem aktywności kinazy ALK [44, 66].

INNE POCHODNE [1,2,4]TRIAZYN

Ali i Saad opracowali metodę syntezy nowych pochodnych 4,6-dihydropirydazyno[3,4-*e*][1,2,4]triazyny (50–52) (ryc. 30) [2]. Spośród 24 otrzymanych pochodnych trzy z nich wykazywały umiarkowane właściwości cytotoksyczne wobec ludzkich nowotworowych linii komórkowych. Potencjalnym punktem uchwytu mogą być receptory adenyzynowe typu A2A i A3. Nadekspresję receptora A2A można zaobserwować w: komórkach neuroblastomy (SH-SY5Y, NG108-15), glejaka (C6), gwiazdziaka (U87MG), białaczki (U937, Jurkat cells), czerniaka (A375), raka jelita grubego (DLD-1, HT-29), szpiczaka (RPMI) i raka piersi (MCF-7). Nadekspresję receptora A3 stwierdza się w komórkach białaczki (HL60, K562, Jurkat, Nb2-11C, Nb2, 2H3, N62-11C, Yac-1, K-562), czerniaka (A375, B16-BL6, B16-F10, C32), raka prostaty (DU-145, PC3, LNCap-FGC10), glejaka (C6), raka płuca (SBC-3, A549, LU-65), mięsaka (MCA), raka jelita grubego (HCT-116) i wątroby (Li-7A). Aktywacja receptora A2A nasila proliferację komórek nowotworowych, a pobudzenie receptora A3 może zahamować podziały komórkowe. Receptory te mogą stanowić potencjalny cel molekularny nowych preparatów przeciwnowotworowych [2, 31]. W 2018 r. grupa naukowców z Uniwersytetu Medycznego z Iranu zaprojektowała nowe pochodne układu 3-(2-arylide-



Ryc. 30. Pochodne pirydazy[3',4':5,6][1,2,4]triazyno[3,4-b][1,3,4]tiadiazyny

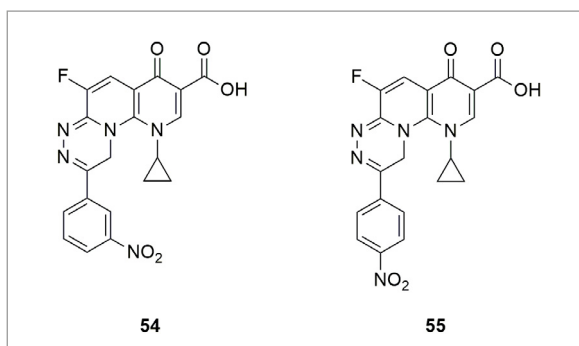


Ryc. 31. Wzory strukturalne pochodnych układu 3-(2-arylidenehydrazynilo)-5,6-bis(4-metoksyfenilo)[1,2,4]triazyny

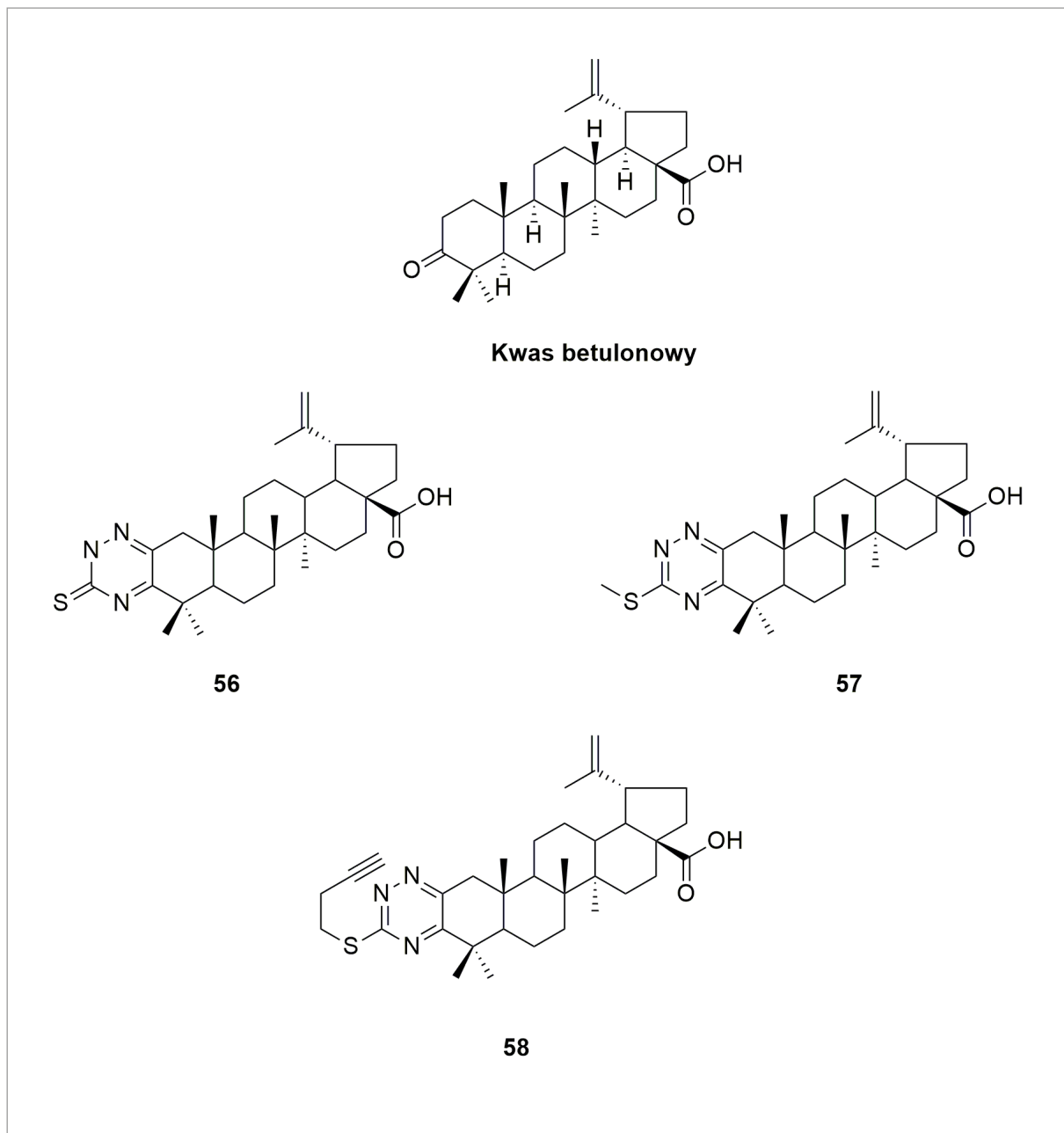
nohydrazynilo)-5,6-bis(4-metoksyfenilo)-[1,2,4]triazyny o potencjalnym działaniu antyngokonnym. Wśród badanych pochodnych na uwagę zasługuje struktura przedstawiona na ryc. 31 [47]. Trzy z testowanych związków (53a, 53b i 53c) wykazywały znaczące właściwości cytotoksyczne względem komórek HL-60 i MCF-7 [47].

W ostatnich latach gwałtownie wzrosła liczba bakterii opornych na obecnie stosowane terapie lekowe, co stwarza duże zagrożenie. Opracowano wiele metod pozwalających na zwalczanie oporności bakterii. Jedną z nich jest synteza nowych związków w oparciu o struktury już istniejących preparatów. Do grupy związków o szerokim zakresie działania, dużej wydajności i stosunkowo niskiej toksyczności należą fluorochinolony. W 2015 r. chińscy naukowcy podjęli próbę zsyntetyzowania nowych pochodnych tej

grupy związków z wykorzystaniem ugrupowania [1,2,4]triazynowego [20].



Ryc. 32. Wzory strukturalne związków 54 i 55



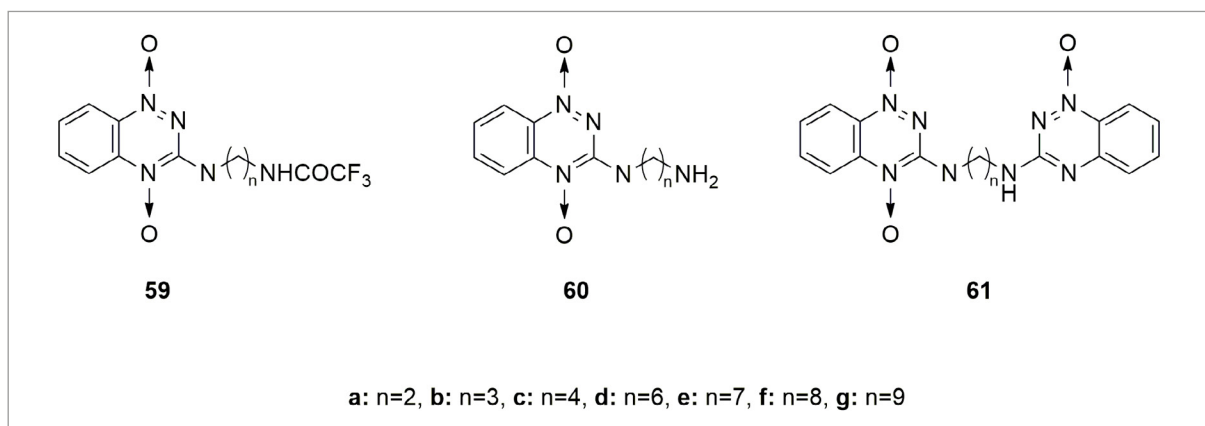
Ryc. 33. Wzory strukturalne kwasu betulonowego i jego pochodnych

Mechanizm działania fluorochinolonów polega na hamowaniu aktywności topoizomerazy II (gyrazy DNA) i topoizomerazy IV. Inhibicja topoizomerazy typu II jest nie tylko celem przeciwbakteryjnego działania fluorochinolonów, ale także jednym z ważnych celów molekularnych chemioterapeutyków. Aktywność biologiczna nowo zsyntetyzowanych pochodnych oceniono na ludzkich komórkach wątrobiaka (SMMC-7721), mysich komórkach białaczkowych (L1210) i ludzkich komórkach białaczkowych (HL60). Struktury najbardziej aktywnych związków przedstawiono na ryc. 32 [20].

Właściwości terapeutyczne metali znane są już od czasów starożytnych. W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie wykorzystaniem metali w terapii przeciwnowotworowej.

Modyfikacja istniejących struktur polegająca na wprowadzeniu metalu pozwoliła na uzyskanie wielu związków o lepszej aktywności cytotoksycznej i profilu farmakokinetycznym w porównaniu do pierwotnych struktur. Obiecującą strukturą wiodącą w terapii przeciwnowotworowej wydają się kompleksy metali z pochodnymi [1,2,4]triazyny, w których metal jest połączony z dwoma ligandami 5,6-difenylo-3-(2-pirydylo)-[1,2,4]triazyny. Zaobserwowano, że zarówno kompleksy miedzi, cynku, jak i niklu z [1,2,4]triazyną wykazywały silne działanie cytotoksyczne [4, 5, 6, 42].

Często opracowanie struktury nowego preparatu wiąże się z modyfikacją naturalnych związków.



Ryc. 34. Wzory strukturalne związków 59a-g, 60a-g, 61a-g

Kwas betulonowy (kwas 3-okso-lup-20(29)-en-28-oikowy) ma działanie przeciwzapalne, przeciwwirusowe, a także przeciwnowotworowe względem wielu linii komórkowych: SGC-7901, HepG-2, LNCaP, DU-145 i PC3. W 2014 r. Dinh i wsp. połączyli ugrupowanie triterpenowe kwasu betulonowego z grupą [1,2,4]triazyny (ryc. 33) [64, 67].

Wstępne badania cytotoksyczności nowych pochodnych triterpenoidowych triazyny wykazały, że związki 57 i 58 miały silne właściwości cytotoksyczne względem linii komórek: L1210, CEM i HeLa (ryc. 33) [13].

W 2014 r. podjęto próbę wprowadzenia do grupy aminowej tirapazaminy ugrupowania trifluoroacetamidowego (59), aminowego (60) lub 1-okso-3-amino-[1,2,4]benzotriazyny (61) – ryc. 34 [33].

W warunkach hipoksji większość związków miała około dwukrotnie silniejsze działanie cytotoksyczne niż w normoksji. Związki 60a-g były mniej cytotoksyczne w stosunku do wybranych linii komórkowych (MCF-7, NCI-H460 i HCT-116) w porównaniu do związków 59a-g [33].

Najsilniejsze działanie przeciwnowotworowe względem wszystkich linii komórkowych, zarówno w warunkach hipoksji, jak i normoksji wykazywały związki 61a i 61b (ryc. 34), które prowadziły do zahamowania cyklu komórkowego w fazie G2/M. W warunkach normoksji nie obserwowano znacznych zmian w aktywności kaspazy 3/7 pod wpływem testowanych związków, podczas gdy w środowisku o obniżonej zawartości tlenu zauważono znaczący wzrost aktywności tych kaspaz [33].

Yurttas i wsp. opierając się na doniesieniach literaturowych dokonali syntezy ponad trzydziestu pochodnych [1,2,4]triazyny o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. Analiza struktury chemicznej związków pozwoliła na stwierdzenie, że związki zawierające pierścień fenolowy podstawiony grupą chlorową w pozycji 2 i 4 wykazywały najsilniejszą aktywność biologiczną [68]. W 2013 r. opatentowano szereg pochodnych amidu kwasu [1,2,4]triazyno-6-karboksylowego. W badaniach *in vitro* oceniono ich wpływ na aktywność kinazy SYK. Kinaza SYK może stanowić

potencjalnie nowy cel terapii przeciwnowotworowej, ponieważ zahamowanie jej aktywności powoduje spadek aktywności kinazy AKT i ERK, a to prowadzi do zahamowania cyklu komórkowego i indukcji apoptozy [27, 57].

Zainteresowanie naukowców analogami [1,2,4]triazyny umożliwiło uzyskanie szeregu pochodnych o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej. Modyfikacja naturalnej struktury kwasu betulonowego i połączenie jej z pierścieniem triazynowym pozwoliła uzyskać związki o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej, jak również przeciwwirusowej. Obecność podstawnika metylotiolowego (57), a także 3-butyntyliotiolowego (58) w pozycji 3 kwasu [1,2,4]triazynobetulonowego warunkowała ich aktywność biologiczną. Związek 57 (ryc. 33) miał silniejsze działanie przeciwwirusowe antyHCMV w porównaniu do związku 58, ale właściwości cytotoksyczne względem komórek ostrej białaczki limfoblastycznej (CEM) były nieznacznie słabsze. Natomiast kwas 3-tiokso[1,2,4]triazynobetulonowy (56) (ryc. 33) nie miał aktywności biologicznej [13].

Wyniki badań przeprowadzonych na komórkach nowotworowych wykazały, że kompleksy 5,6-difenyl-3-(2-pirydylo)-[1,2,4]triazyny z miedzią, cynkiem lub niklem również miały silne właściwości przeciwnowotworowe. Najniższą wartość IC_{50} względem linii MCF-7 wykazywały kompleksy miedzi (9,8 μM), a najsłabsze kompleksy niklu, dla których wartość IC_{50} wynosiła 13,0 μM [4, 5, 6].

W przypadku pochodnych 5,6-bis(4-metoksyfenyl)-[1,2,4]triazyny zastąpienie w pozycji 3 pięciocłonowego pierścienia sześciocłonowym pierścieniem powodowały utratę aktywności przeciwnowotworowej tych związków. Zarówno związek 53a (ryc. 31) z grupą 5-nitrofuranyową i związek 53b (ryc. 31) z grupą 1-metylo-5-nitroimidazolową miały silne właściwości hamujące proliferację komórek MCF-7 oraz HL-60, podczas gdy związek 53e (ryc. 31) zawierający pierścień pirydynowy oraz związek 53f (ryc. 31) podstawiony grupą p-nitrofenylową pozbawione były działania cytotoksycznego. Ponadto związki 53a i 53b miały najniższą energię wiązania z receptorem mTOR w porównaniu z pozostałymi pochodnymi

tego układu. Blokowanie aktywności mTOR ma istotne znaczenie w hamowaniu rozwoju i wzrostu komórek nowotworowych [47].

PODSUMOWANIE

Częstotliwość występowania i śmiertelność z powodu nowotworów wzrasta w zatrważającym tempie. Według prognoz Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) liczba chorych na raka w 2030 wyniesie 22 mln, a w 2035 może wzrosnąć nawet do 24 milionów. Stąd też trwają intensywne prace nad opracowaniem nowych leków i metod diagnostycznych, które umożliwią wykrywanie choroby nowotworowej we wczesnym stadium, a także poprawią jakość leczenia i życia pacjenta po zdiagnozowaniu raka [10]. Stosowana obecnie chemioterapia w zaawansowanych stadiach choroby jest często niewystarczająca. Interesującą grupę związków stanowią pochodne triazyny.

W ciągu ostatnich dziesięciu lat zsyntetyzowano szereg pochodnych układu [1,2,4]triazyny, które obecnie znajdują się na różnych etapach badań *in vitro*, *in vivo* oraz badań klinicznych. Wzrost zainteresowania tą grupą związków wiąże się z ich szeroką aktywnością biologiczną, która może wynikać z hamowania: kinazy zależnej od cyklin, anhydrazy

węglanowej IX i XII, SYK, EGFR, szlaku Wnt/ β -kateniny, szlaku Hedgehoga, mTOR, RAS-RAF-MAPK. Modyfikacja struktury [1,2,4]triazyny pozwala na optymalizację właściwości przeciwnowotworowych [3, 9, 14, 17, 22, 25, 36, 38, 39, 47, 58, 60, 65, 66].

Niedawne doniesienia wskazują, że pochodne [1,2,4]triazyny oprócz aktywności przeciwnowotworowej mogą również mieć właściwości przeciwbakteryjne. Fluorochinolinowe pochodne triazyn oprócz działania antykancerogennego hamują również rozwój metycylinoopornych szczepów *Staphylococcus aureus*, a także wieloopornych szczepów *Escherichia coli*. Wartość MIC dla najbardziej aktywnej pochodnej była 16-krotnie niższa niż dla ciprofloksacyny względem bakterii MRSA i 32-krotnie niższa wobec wieloopornych szczepów bakterii *Escherichia coli* (MDR *E. coli*) niż dla ciprofloksacyny. Uzyskane wyniki mogą w przyszłości umożliwić uzyskanie bardziej skutecznych antybiotyków w terapii zakażeń gronkowcami i pałeczkami okrężnicy [20]. Układ [1,2,4]triazyny wydaje się obiecującym elementem strukturalnym wielu preparatów, które w przyszłości mogą znaleźć zastosowanie nie tylko w chemioterapii nowotworów, ale także w zwalczaniu infekcji bakteryjnych, wirusowych, grzybiczych jak, również u chorych w leczeniu chorób przewlekłych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abi-Jaoudeh N.: TATE Versus TACE, an open-label randomized study comparing trans arterial tirapazamine embolization versus trans arterial chemo embolization in intermediate stage hepatocellular carcinoma. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03145558> (12.12.2019)
- [2] Ali R.S., Saad H.A.: Synthesis and pharmacological studies of unprecedented fused pyridazino[3',4':5,6][1,2,4]triazino[3,4-b][1,3,4]thiadiazine derivatives. *Molecules*, 2018; 23: 1024
- [3] Al-Temimay I.A., Al-Jibouri M.H., Hassan A.A., Mohammad F.I.: Test the cytotoxicity of pleurotin extracted from and edible mushroom *Pleurotus osteratus* against three human carcinoma cell line. *Iraqi J. Sci.*, 2015; 56: 2773-2781
- [4] Anjomshoa M., Fatemi S.J., Torkzadeh-Mahani M., Hadadzadeh H.: DNA- and BSA-binding studies and anticancer activity against human breast cancer cells (MCF-7) of the zinc(II) complex coordinated by 5,6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2014; 127: 511-520
- [5] Anjomshoa M., Hadadzadeh H., Fatemi S.J., Torkzadeh-Mahani M.: A mononuclear Ni(II) complex with 5,6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine: DNA- and BSA-binding and anticancer activity against human breast carcinoma cells. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2015; 136: 205-215
- [6] Anjomshoa M., Hadadzadeh H., Torkzadeh-Mahani M., Fatemi S.J., Adeli-Sardou M., Rudbari H.A., Nardo V.M.: A mononuclear Cu(II) complex with 5,6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine: Synthesis, crystal structure, DNA- and BSA-binding, molecular modeling, and anticancer activity against MCF-7, A-549, and HT-29 cell lines. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015; 96: 66-82
- [7] Arpino G., Wiechmann L., Osborne C.K., Schiff R.: Crosstalk between the estrogen receptor and the HER tyrosine kinase receptor family: Molecular mechanism and clinical implications for endocrine therapy resistance. *Endocr. Rev.*, 2008; 29: 217-233
- [8] Ashour H.M., El-Wakil M.H., Khalil M.A., Ismail K.A., Labouta I.M.: Synthesis of some (E)-6-[2-(furan-2-yl)ethenyl]-1,2,4-triazin-5-ones and their biological evaluation as antitumor agents. *Med. Chem. Res.*, 2013; 22: 1909-1924
- [9] Branowska D., Ławecka J., Sobczewski M., Karczmarzyk Z., Wysocki W., Wolińska E., Olender E., Mirosław B., Perzyna A., Bielawska A., Bielawski K.: Synthesis of unsymmetrical disulfanes bearing 1,2,4-triazine scaffold and their *in vitro* screening towards anti-breast cancer activity. *Monatsh Chem.*, 2018; 149: 1409-1420
- [10] Bray F., Jemal A., Grey N., Ferlay J., Forman D.: Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008-2030): A population-based study. *Lancet Oncol.*, 2012; 13: 790-801
- [11] Cascioferro S., Parrino B., Spanò V., Carbone A., Montalbano A., Barraja P., Diana P., Cirrincione G.: Synthesis and antitumor activities of 1,2,3-triazines and their benzo- and heterofused derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017; 142: 74-86
- [12] Cortez D., Reuther G., Pendergast A.M.: The Bcr-Abl tyrosine kinase activates mitogenic signaling pathways and stimulates G1-to-S phase transition in hematopoietic cells. *Oncogene*, 1997; 15: 2333-2342
- [13] Dinh Ngoc T., Moons N., Kim Y., De Borggraeve W., Mashentseva A., Andrei G., Snoeck R., Balzarini J., Dehaen W.: Synthesis of triterpenoid triazine derivatives from allobetulone and betulinic acid with biological activities. *Bioorg. Med. Chem.*, 2014; 22: 3392-3300
- [14] Dziadziuszko R., Zyśk R.: Rak płuca – korzyści kliniczne leczenia inhibitorami ALK w świetle ograniczeń ekonomicznych w Polsce. *Onkol. Prakt. Klin. Edu.*, 2015; 1: 54-64

- [15] El-All A.S., Hassan A.S., Osman S.A., Yosef H.A., Abdel-Hady W.H., El-Hashash M.A., Atta-Allah S.R., Ali M.M., El Rashedy A.A.: Synthesis, characterization and biological evaluation of new fused triazine derivatives based on 6-methyl-3-thioxo-1,2,4-triazin-5-one. *Acta Pol. Pharm.*, 2016; 73: 79–92
- [16] El-All A.S., Osman S.A., Roaiah H.M., Abdalla M.M., El Aty A.A., Abd El-Hady W.H.: Potent anticancer and antimicrobial activities of pyrazole, oxazole and pyridine derivatives containing 1,2,4-triazine moiety. *Med. Chem. Res.*, 2015; 24: 4093–4104
- [17] Ell-Wakil M.H., Ashour H.M., Saudi M.N., Hassan A.M., Labouta I.M.: Design, synthesis and molecular modeling studies of new series of antitumor 1,2,4-triazines with potential c-Met kinase inhibitory activity. *Bioorg. Chem.*, 2018; 76: 154–165
- [18] Elsayed E.H., Radwan E.M.: New potential antitumor nitrogen heterocycles: Synthesis and cytotoxic evaluation. *Der Pharma Chemica*, 2016; 8: 399–413
- [19] Fink B.E., Norris D., Mastalerz H., Chen P., Goyal B., Zhao Y., Kim S.H., Vite G.D., Lee F.Y., Zhang H., Oppenheimer S., Tokarski J.S., Wong T.W., Gavai A.V.: Novel pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amines: Dual inhibitors of EGFR and HER2 protein tyrosine kinases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011; 21: 781–785
- [20] Gao L.Z., Li T., Yu S.X., Huang W.L., Zhao H., Hu G.Q.: Design, synthesis, antibacterial and anti-cell proliferation activities of [1,2,4]triazino[3,4-h][1,8]naphthyridine-8-one-7-carboxylic acid derivatives. *Acta Pharm. Sin.*, 2015; 50: 332–336
- [21] Garajová I., Giovannetti E., Biasco G., Peters G.J.: c-Met as a target for personalized therapy. *Transl. Oncogenomics*, 2015; 7: 13–31
- [22] Gavai A.V., Fink B.E., Fairfax D.J., Martin G.S., Rossiter L.M., Holst C.L., Kim S.H., Leavitt K.J., Mastalerz H., Han W.C., Norris D., Goyal B., Swaminathan S., Patel B., Mathur A. i wsp.: Discovery and preclinical evaluation of [4-[[1-(3-fluorophenyl)methyl]-1H-indazol-5-ylamino]-5-methylpyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-6-yl]carbamate, (3S)-3-morpholinylmethyl ester (BMS-599626), a selective and orally efficacious inhibitor of human epidermal growth factor receptor 1 and 2 kinases. *J. Med. Chem.*, 2009; 52: 6527–6530
- [23] Gazieva G.A., Izmet'ev A.N., Anikina L.V., Pukhov S.A., Meshchaneva M.E., Khakimov D.V., Kolotyrykina N.G., Kravchenko A.N.: The influence of substituents on reactivity and cytotoxicity of imidazothiazolotriazinones. *Mol. Divers.*, 2018; 22: 585–599
- [24] Gucký T., Fryšová I., Slouka J., Hajdúch M., Džubák P.: Cyclocondensation reaction of heterocyclic carbonyl compounds, Part XIII: Synthesis and cytotoxic activity of some 3,7-diaryl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazines. *Eur. J. Med. Chem.*, 2009; 44: 891–900
- [25] Gucký T., Řezníčková E., Džubák P., Hajdúch M., Kryštof V.: Synthesis and anticancer activity of some 1,5-diaryl-3-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-1H-pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazines. *Monatsh Chem.*, 2010; 141: 709–714
- [26] Gumulec J., Balvan J., Sztalmachova M., Raudenska M., Dvorakova V., Knopfova L., Polanska H., Hudcova K., Ruttkay-Nedecky B., Babula P., Adam V., Kizek R., Stiborova M., Masarik M.: Cisplatin-resistant prostate cancer model: Differences in antioxidant system, apoptosis and cell cycle. *Int. J. Oncol.*, 2014; 44: 923–933
- [27] Juszczyński P.: Nowe cele terapii ukierunkowanej w nowotworach układu chłonnego z perspektywy ostatnich 5 lat badań. *Hematologia*, 2015; 6: 1–9
- [28] Karczmarzyk Z., Wysocki W., Urbańczyk-Lipowska Z., Kalicki P., Bielawska A., Bielawski K., Ławecka J.: Synthetic approaches for sulfur derivatives containing 1,2,4-triazine moiety: Their activity for in vitro screening towards two human cancer cell lines. *Chem. Pharm. Bull.*, 2015; 63: 531–537
- [29] Keane L.A.J., Mirallai S.I., Sweeney M., Carty M.P., Zissimou G.A., Berezin A.A., Koutentis P.A., Aldabbagh F.: Anti-cancer activity of phenyl and pyrid-2-yl 1,3-substituted benzo[1,2,4]triazin-7-ones and stable free radical precursors. *Molecules*, 2018; 23: 574
- [30] Koziński K., Dobrzyń A.: Szlak sygnałowy Wnt i jego rola w regulacji metabolizmu komórki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1098–1108
- [31] Krzeminski P.: Receptory nukleotydowe w komórkach nowotworowych. *Postępy Biochemii*, 2014; 60: 490–505
- [32] Kwon Y.S., Nam J.H., Kim D.Y., Suh D.S., Kim J.H., Kim Y.M., Kim Y.T.: Hexamethylmelamine as consolidation treatment for patients with advanced epithelial ovarian cancer in complete response after first-line chemotherapy. *J. Korean Med. Sci.*, 2009; 24: 679–683
- [33] Lee C.I., Huang C.M., Huang W.H., Lee A.R.: Synthesis, preferentially hypoxic apoptosis and anti-angiogenic activity of 3-amino-1,2,4-benzotriazine-1,4-dioxide bearing alkyl linkers with a 3-amino-1,2,4-benzotriazine-1-oxide moiety. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2014; 14: 1428–1446
- [34] Li Q., Lescrinier E., Groaz E., Persoons L., Daelemans D., Herdewijn P., De Jonghe S.: Synthesis and biological evaluation of pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazine c-nucleosides with a ribose, 2'-deoxyribose, and 2',3'-dideoxyribose sugar moiety. *Chem. Med. Chem.*, 2018; 13: 97–104
- [35] Lou J., Zhou X., Weng Q., Wang D.D., Xia Q., Hu Y., He Q., Yang B., Lou P.: XQ2, a novel TPZ derivative induced G2/M phase arrest and apoptosis under hypoxia in non-small cell lung cancer cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2010; 74: 1181–1187
- [36] Makki M.S.I., Abdel-Rahman R.M., Khan K.A.: Fluorine substituted 1,2,4-triazinones as potential anti-HIV-1 and CDK2 inhibitors. *J. Chem.*, 2014; 2014: 430573
- [37] Mojzych M.: Cytotoxic activity of some pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazines against human cancer cell lines. *J. Chem. Soc. Pak.*, 2011; 33: 123–128
- [38] Mojzych M., Bielawska A., Bielawski K., Ceruso M., Supuran C.T.: Pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazine sulfonamides as carbonic anhydrase inhibitors with antitumor activity. *Bioorg. Med. Chem.*, 2014; 22: 2643–2647
- [39] Mojzych M., Šubertová V., Bielawska A., Bielawski K., Bazgier V., Berka K., Gucký T., Fornal E., Kryštof V.: Synthesis and kinase inhibitory activity of new sulfonamide derivatives of pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazines. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014; 78: 217–224
- [40] Mojzych M., Tarasiuk P., Karczmarzyk Z., Juszczak M., Rzeski W., Fruziński A., Woźny A.: Synthesis, structure and antiproliferative activity of new pyrazolo[4,3-e]triazolo[4,5-b][1,2,4]triazine derivatives. *Med Chem.*, 2018; 14: 53–59
- [41] Nassar I.F.: Synthesis and antitumor activity of new substituted mercapto-1,2,4-triazine derivatives, their thioglycosides, and acyclic thioglycoside analogs. *J. Heterocyclic Chem.*, 2013; 50: 129–134
- [42] Ndagi U., Mhlongo N., Soliman M.E.: Metal complexes in cancer therapy – an update from drug design perspective. *Drug Des. Devel. Ther.*, 2017; 11: 599–616
- [43] Noriega-Guerra H., Freitas V.M.: Extracellular matrix influencing HGF/c-MET signaling pathway: Impact on cancer progression. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018; 19: 3300
- [44] Ott G.R., Wells G.J., Thieu T.V., Quail M.R., Lisko J.G., Mesaros E.F., Gingrich D.E., Ghose A.K., Wan W., Lu L., Cheng M., Albom M.S., Angeles T.S., Huang Z., Aimone L.D., Ator M.A., Ruggeri B.A., Dorsey B.D.: 2,7-disubstituted-pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazines: New variant

of an old template and application to the discovery of anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitors with in vivo antitumor activity. *J. Med. Chem.*, 2011; 54: 6328–6341

[45] Pastorekova S., Gillies R.J.: The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: Links to hypoxia, acidosis and beyond. *Cancer Metastasis Rev.*, 2019; 38: 65–77

[46] Powis G.: Triazine and hydrazine derivatives. W: *Cancer Growth and Progression*: H.E. Kaiser. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht Netherlands, 1989, 113–118

[47] Ranjbar S., Edraki N., Khoshneviszadeh M., Foroumadi A., Miri R., Khoshneviszadeh M.: Design, synthesis, cytotoxicity evaluation and docking studies of 1,2,4-triazine derivatives bearing different arylidene-hydrazinyl moieties as potential mTOR inhibitors. *Res. Pharm. Sci.*, 2018; 13: 1–11

[48] Reddy S.B., Williamson S.K.: Tirapazamine: A novel agent targeting hypoxic tumor cells. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2009; 18: 77–87

[49] Saad H.A., Moustafa A.H.: Synthesis and anticancer activity of some new s-glycosyl and s-alkyl 1,2,4-triazinone derivatives. *Molecules*, 2011; 16: 5682–5700

[50] Saad H.A., Youssef M.M., Mosselhi M.A.: Microwave assisted synthesis of some new fused 1,2,4-triazines bearing thiophene moieties with expected pharmacological activity. *Molecules*, 2011; 16: 4937–4957

[51] Safaie Qamsari E., Safaei Ghaderi S., Zarei B., Dorostkar R., Bagheri S., Jadidi-Niaragh F., Somi M.H., Yousefi M.: The c-Met receptor: Implication for targeted therapies in colorectal cancer. *Tumour Biol.*, 2017; 39: 1010428317699118

[52] Ścibor-Bentkowska D., Czeczot H.: Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 58–72

[53] Seibert W.: Über den Mechanismus der Reaktion von Kishner-Wolff-Staudinger. I. Mildeilung. *Chem. Ber.*, 1947; 80: 494–502

[54] Shang S., Hua F., Hu Z.W.: The regulation of β -catenin activity and function in cancer: Therapeutic opportunities. *Oncotarget*, 2017; 8: 33972–33989

[55] Shnyder B.I., Frei E., Tuohy J.H., Gorman J., Freireich E.J., Brindley C.O.Jr., Clements J.: Clinical studies of 6-azauracil. *Cancer Res.*, 1960; 20: 28–33

[56] Showalter H.D., Turbiak A.J., Fearon E.R., Bommer G.T.: Pyrimidotriazinones and pyrimidopyrimidinediones and methods of using the same. Patent No. US 20110166144 A1, 2011

[57] Smith A.B., Thoma G., Van Eis M.: Monocyclic heteroarylcyloalkyldiamine derivatives. WO 2013171690 A1, 2013

[58] Soria J.C., Cortes J., Massard C., Armand J.P., De Andreis D., Ropert S., Lopez E., Catteau A., James J., Marier J.F., Beliveau M., Martell R.E., Baselga J.: Phase I safety, pharmacokinetic and pharmacodynamic trial of BMS-599626 (AC480), an oral pan-HER receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *Ann. Oncol.*, 2012; 23: 463–471

[59] Spoerri L., Oo Z.Y., Larsen J.E., Haass N.K., Gabrielli B., Pavey S.: Cell cycle checkpoint and DNA damage response defects as anticancer targets: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. W: *Stress Response Pathways in Cancer*: G. Wondrak, Springer, 2015; 29–49

[60] Stępień E., Jakubiak D.: Szlak Wnt jako potencjalny cel oddziaływania nanocząstek na komórki. W: *Nanocząstki i nanomateriały*, red.: J. Gromadzińska, W. Wąsowicz. Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego, Łódź 2013, 194–204

[61] Sweeney M., Coyle R., Kavanagh P., Berezin A.A., Lo Re D., Zissimou G.A., Koutentis P.A., Carty M.P., Aldabbagh F.: Discovery of anti-cancer activity for benzo[1,2,4]triazin-7-ones: Very strong correlation to pleurotin and thioredoxin reductase inhibition. *Bioorg. Med. Chem.*, 2016; 24: 3565–3570

[62] Sztanke K., Pasternak K., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M., Koziol A.E., Dybała I.: Crystal structure, antitumor and antimetastatic activities of disubstituted fused 1,2,4-triazinones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009; 19: 5095–5100

[63] Tadesse S., Caldron E.C., Tilley W., Wang S.: Cyclin-dependent kinase 2 inhibitors in cancer therapy: An update. *J. Med. Chem.*, 2019; 62: 4233–4251

[64] Voskoboinik O.Y., Kovalenko S.I., Shishkina S.V.: Benzo[e][1,2,4]triazino[2,3-c][1,2,3]triazin-2-ones electro-deficient heterocyclic compounds with promising anticancer activity. *Heterocycl. Commun.*, 2016; 22: 137–141

[65] Wittman M.D., Carboni J.M., Yang Z., Lee F.Y., Antman M., Attar R., Balimane P., Chang C., Chen C., Discenza L., Frennesson D., Gottardis M.M., Greer A., Hurlburt W., Johnson W. i wsp.: Discover of 2,4-disubstituted pyrrolo-[1,2-f][1,2,4]triazine inhibitor (BMS-754807) of insulin-like growth factor receptor (IGF-1R) kinase in clinical development. *J. Med. Chem.*, 2009; 52: 7360–7363

[66] Xin M., Zhang L., Tang F., Tu C., Wen J., Zhao X., Liu Z., Cheng L., Shen H.: Design, synthesis, and evaluation of pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazine derivatives as novel hedgehog signaling pathway inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, 2014; 22: 1429–1440

[67] Yang S.J., Liu M.C., Zhao Q., Hu D.Y., Xue W., Yang S.: Synthesis and biological evaluation of betulonic acid derivatives as antitumor agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015; 96: 58–65

[68] Yurttaş L., Demirayak Ş., Ilgın S., Atlı Ö.: In vitro antitumor activity evaluation of some 1,2,4-triazine derivatives bearing piperazine amide moiety against breast cancer cells. *Bioorg. Med. Chem.*, 2014; 22: 6313–6323

[69] Zeman E.M., Brown J.M., Lemmon M.J., Hirst V.K., Lee W.W.: SR-4233: A new bioreductive agent with high selective toxicity for hypoxic mammalian cells. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1986; 12: 1239–1242

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.