# STRESZCZENIE

Nowotwór jelita grubego jest trzecim najczęściej diagnozowanym nowotworem złośliwym na świecie. Obecnie stosowana chemioterapia jest niewystarczająca, stąd też trwają intensywne prace nad opracowaniem nowych skutecznych leków działających specyficznie na komórki raka okrężnicy i niewywierających toksycznego wpływu na komórki prawidłowe [222].

Duże nadzieje wiąże się z pochodnymi triazyn, które stosowane są w terapii onkologicznej od lat siedemdziesiątych dwudziestego wieku. Odpowiednia modyfikacja struktury 1,2,4-triazyny pozwala na opracowanie pochodnych o silnych właściwościach cytotoksycznych względem komórek nowotworowych [112, 128, 160-162, 195, 223].

Badania prowadzone w ramach niniejszej pracy doktorskiej obejmowały opracowanie syntezy nowych sulfonamidowych pochodnych pirazolo[4,3-*e*]tetrazolo-
[4,5-*b*][1,2,4]triazyny oraz ocenę ich wpływu na indukcję apoptozy w komórkach raka jelita grubego DLD-1 i HT-29.

Związkiem wyjściowym w syntezie była znana z literatury
3-metylosulfanylo-1,2,4-triazyna, która w dwuetapowej syntezie przekształcona została do
5-acetylo-1,2,4-triazyny. Otrzymany keton poddawany był reakcji z chlorowodorkiem fenylohydrazyny. Produkt tej reakcji w obecności kwasu *p*-toulenosulfonowego uległ na drodze wewnątrzcząsteczkowego nukleofilowego podstawienia wodoru przemianie do pochodnej pirazolo[4,3-*e*][1,2,4]triazyny. Z uwagi na małą reaktywność w tym dwucyklicznym układzie grupy metylosulfanylowej (-SCH3) w reakcjach substytucji nukleofilowej zastąpiono ją bardziej elektroujemną grupą metylosulfonylową (-SO2CH3) poprzez utlenienie w warunkach katalizy dwufazowej w obecności nadmanganianu potasu, kwasu octowego i bromku tetrabutyloamoniowego. Otrzymany sulfon poddano chlorosulfonowaniu, a następnie reakcji z aminami i otrzymano z dobrą wydajnością odpowiednie sulfonamidy, które na drodze substytucji nukleofilowej grupy metylosulfonowej azydkiem sodu przekształcono w finalne trójcykliczne tetrazolowe pochodne (**96a-f**). Otrzymane związki oczyszczano na kolumnach chromatograficznych stosując odpowiednio dobrane eluenty. Struktura i czystość nowych związków została oznaczona metodami spektroskopowymi (1H NMR, 13CNMR i HRMS).

Badania *in vitro* wykonano na komórkach raka jelita grubego DLD-1 i HT-29.
Na podstawie przeprowadzonych badań, wykazano, że nowe syntetyczne pochodne **96a-f** posiadają właściwości cytotoksyczne względem komórek raka jelita grubego DLD-1
i HT-29 w zakresie mikromolarnych stężeń (IC50 od 1,1 µM do 4,61 µM). Wstępne wyniki testu MTT pozwoliły na wybranie do dalszych badań biologicznych trzech najbardziej aktywnych pochodnych (**96a-c**). Aktywność antyproliferacyjna wyselekcjonowanych związków została potwierdzona testem inkorporacji [3H]-tymidyny do DNA obu linii komórkowych (DLD-1 i HT-29).

W badaniach molekularnego mechanizmu działania związków **96a-c** wykazano,
że wszystkie wybrane pochodne prowadzą do zapoczątkowania apoptozy w badanych liniach komórkowych, co potwierdzono metodą cytometryczną z wykorzystaniem aneksyny V-FITC oraz za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej stosując barwienie oranżem akrydyny i bromkiem etydyny. Związki **96a-c** prowadzą do obniżenia mitochondrialnego potencjału błonowego oraz wzrostu liczby komórek z aktywną
kaspazą 9, co wstępnie potwierdza aktywację apoptozy na drodze szlaku wewnętrznego. Ponadto związki **96a-c** zwiększają odsetek komórek z aktywnymi kaspazami 8 i 10,
co wskazuje na aktywację programowanej śmierci komórki w linii DLD-1 i HT-29 również na drodze szlaku zewnętrznego.