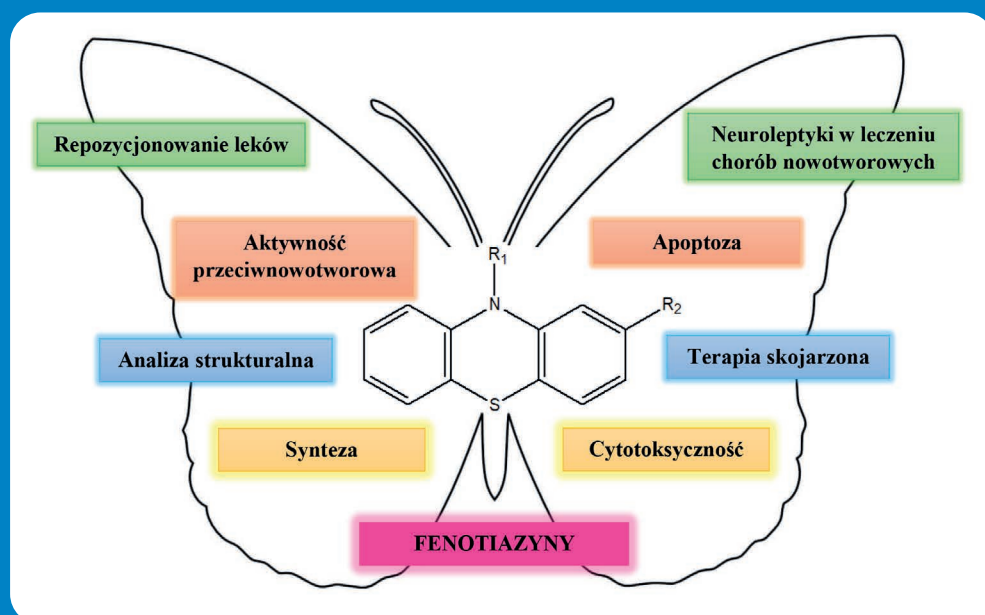


EMILIA MARTULA
BEATA MORAK-MŁODAWSKA
MAŁGORZATA JELEŃ

NEUROLEPTYCZNE FENOTIAZyny I ICH OBIECUJĄCY POTENCJAŁ PRZECIWNOWOTWOROWY



EMILIA MARTULA* ^{1,2} 
BEATA MORAK-MŁODAWSKA² 
MAŁGORZATA JELEŃ² 

NEUROLEPTYCZNE FENOTIAZYNY I ICH OBIECUJĄCY POTENCJAŁ PRZECIWNOWOTWOROWY

NEUROLEPTIC PHENOTHIAZINES AND THEIR PROMISING ANTICANCER POTENTIAL

¹ Szkoła Doktorska, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

² Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec,
e-mail: manowak@sum.edu.pl, bmlodawska@sum.edu.pl

* e-mail: emilia.martula2903@gmail.com, tel. 731978768

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

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

RADA NAUKOWA

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

REDAKTOR PROWADZĄCA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni

REDAKCJA JĘZYKOWA

Magdalena Kokosińska

KOREKTA

Magdalena Zagrobelna

OPRACOWANIE GRAFICZNE

Tomasz Przybył

NEUROLEPTYCZNE FENOTIAZYN Y I ICH OBIECUJĄCY POTENCJAŁ PRZECIWNOWOTWOROWY

Łódź 2024

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI

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

e-mail: editorial@reports.umed.pl

Unikatowy identyfikator Wydawnictwa: 60000

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

ISBN 978-83-67198-39-4

WYDANIE PIERWSZE



© 2024. Pewne prawa zastrzeżone na rzecz autorów. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.pl>).
Licencjobiorca: Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zezwala się na wykorzystanie treści monografii zgodnie z licencją – pod warunkiem zachowania niniejszej informacji licencyjnej oraz wskazania autorów jako właścicieli praw do tekstu.

Streszczenie: Fenotiazyny są lekami neuroleptycznymi, które w połowie XX w. wywołały rewolucję w psychiatrii. Choć od tego czasu minęło wiele lat, związki te ciągle pozostają w kręgu zainteresowań badawczych wielu środowisk naukowych na całym świecie. Substancje te, oprócz cennych właściwości antypsychotycznych, wykazują inne obiecujące aktywności, do których należą: aktywności przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwpierwotniakowe, antyoksydacyjne czy odwracające oporność wielolekową. Ze względu na liczne doniesienia naukowe w tej tematyce niniejsza monografia przedstawia najnowsze osiągnięcia opisujące potencjał przeciwnowotworowy wybranych leków fenotiazynowych z uwzględnieniem różnych ścieżek syntezy tych pochodnych i badań strukturalnych.

Słowa kluczowe: fenotiazyny, aktywność przeciwnowotworowa, synteza, analiza strukturalna

Abstract: Phenothiazines are neuroleptic drugs that sparked a revolution in psychiatry in the mid-20th century. Although many years have passed since then, these compounds are still of research interest to many scientific communities around the world. These substances, in addition to their valuable antipsychotic properties, show other promising activities that include anticancer, antimicrobial, antiviral, antiprotozoal, antioxidant or multidrug resistance reversing activities. Due to the numerous scientific reports on the subject, this monograph presents the latest developments describing the anticancer potential of selected phenothiazine drugs, taking into account the different pathways of synthesis of these derivatives and structural studies.

Keywords: phenothiazines, anticancer activity, synthesis, structural analysis

Wykaz skrótów

Akt – kinaza białkowa B (ang. *serine/threonine protein kinase*)
AML – ostra białaczka szpikowa (ang. *acute myeloid leukemia*)
BAD – białko agonistyczne śmierci komórki związane z BCL2 (ang. *BAD protein*)
BAX – białko proapoptotyczne należące do rodziny białek BCL-2 (ang. *BCL-2-associated X protein*)
BCL-2 – rodzina białek apoptotycznych (ang. *B-cell leukemia/lymphoma-2*)
CALM – kalmodulina (ang. *calmodulin*)
CCNE1 – onkogen CCNE1 (ang. *oncogene CCNE1*)
CCO – ontologia cyklu komórkowego (ang. *cell cycle ontology*)
CDK – kinazy cyklinozależne (ang. *cyclin-dependent kinases*)
CI – indeks kombinacji (ang. *combination index*)
COX-4 – podjednostka 4 oksydazy cytochromu c (ang. *cytochrome c oxidase subunit 4*)
CRC – nowotwór jelita grubego (ang. *colorectal cancer*)
CSC – mięsakorak (ang. *carcinosarcoma*)
DON – donepezil
EAG i ERG – kanały ethera (ang. *Ether-à-go-go-Related Gene*)
EC₅₀ – medialne stężenie skuteczne, obliczone stężenie, które indukuje w medium środowiskowym określony efekt u 50% organizmów doświadczalnych w określonych warunkach (np. działanie hamujące lub stymulujące procesy fizjologiczne, takie jak aktywność enzymatyczna, bioluminescencja, fotosynteza itp.; ang. *effective concentration*)
EMT – przejście nabłonkowo-mezenchymalne (ang. *epithelial-mesenchymal transition*)
ER – retikulum endoplazmatyczne (ang. *endoplasmic reticulum*)
ERK – kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym (ang. *extracellular signal-regulated kinases*)
ES – komórki mięsaka Ewinga (ang. *Ewing's sarcoma*)
GST – transferazy glutationowe (ang. *glutathione transferases*)
HAL – liaza histydynowo-amoniakalna (ang. *histidine ammonia-lyase*)
HIF1 α – czynnik indukowany hipoksją 1 α (ang. *hypoxia-induced factor 1 α*)
IC₅₀ – medialne stężenie inhibitora hamujące w 50% funkcje biologiczne i biochemiczne organizmów (ang. *inhibitory concentration*)
JNK – N-końcowe kinazy c-Jun (ang. *jun N-terminal kinases*)
LATS1 – kinaza supresorowa dużych nowotworów (ang. *large tumor suppressor kinase 1*)
LC₅₀ – medialne stężenie śmiertelne, wyznaczona wielkość stężenia substancji, po narażeniu na które można oczekiwać, że w czasie ekspozycji lub w trakcie określonego, umownego okresu po ekspozycji nastąpi zgon 50% organizmów narażonych na tę substancję (ang. *lethal concentration*)
MAPK, MEK – kinaza białkowa aktywowana mitogenami (ang. *mitogen-activated protein kinase*)
MDR – wielolekooporność (ang. *multiple drug resistance*)
MITF – czynnik transkrypcyjny związany z mikroftalmią (ang. *microphthalmia-associated transcription factor*)
MMP – metaloproteiny macierz (ang. *matrix metalloproteinases*)
MST1 – przeciwciało MST1 (ang. *antibody MST1*)
MTT – test kolorymetryczny służącym do oceny aktywności metabolicznej komórek (ang. *the MTT assay*)
MYC – rodzina genów regulatorowych i protoonkogenów kodujących czynniki transkrypcyjne (ang. *family of regulator genes*)
p70kK – rybosomalna kinaza białkowa S6 beta-1 (ang. *ribosomal protein S6 kinase beta-1*)
PAH1 – fosfataza fosfatydanowa (ang. *phosphatidate phosphatase*)
PAS – peryferyjne miejsce anionowe acetylocholinoesterazy (ang. *peripheral anionic site*)
P-gp – glikoproteina P (ang. *P-glycoprotein*)
PI3K – kinazy 3-fosfatydoinozytolu (ang. *phosphoinositide 3-kinases*)
PP2A – fosfataza białkowa 2 (ang. *protein phosphatase 2*)
PTEN – homolog fosfatazy i tensyny (ang. *phosphatase and tensin homolog*)

REST – RE1-wyciszający czynnik transkrypcyjny / czynnik wyciszający neurony (ang. *RE1-Silencing Transcription factor*)
ROS – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*)
RTK – receptorowe kinazy tyrozynowe (ang. *receptor tyrosine kinases*)
SIRT – sirtuiny (ang. *sirtuins*)
TCTP – translacyjne kontrolowane białko nowotworowe (ang. *translationally controlled tumor protein*)
TMZ – temozolomid (ang. *temozolomide*)
TOR – cel rapamycyny (ang. *target of rapamycin*)
VEGF – czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (ang. *vascular endothelial growth factor*)
YAP – białko korelatorowe transkrypcji (ang. *yes-associated protein*)

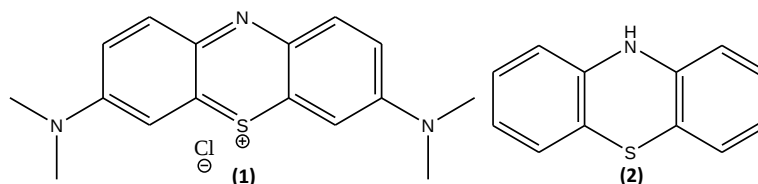
Spis treści

1. Wprowadzenie	9
2. Synteza układów fenotiazynowych.....	11
3. Struktura fenotiazyn	26
4. Potencjał przeciwnowotworowy wybranych neuroleptycznych fenotiazyn	28
5. Potencjał przeciwnowotworowy chlorpromazyny (4)	29
6. Działanie cytotoksyczne tiorydazyny (81).....	30
7. Perfenazyna (82) i jej potencjał przeciwnowotworowy	32
8. Cytotoksyczność flufenazyny (5)	32
9. Trifluoperazyna (83) i jej potencjał cytotoksyczny	34
10. Potencjał przeciwnowotworowy prochlorperazyny (84)	34
11. Cytotoksyczność neuroleptycznych fenotiazyn w terapiach skojarzonych	34
12. Podsumowanie	35
Bibliografia	36

1. Wprowadzenie

Fenotiazyny są związkami heterocyklicznymi o budowie trójpierścieniowej – dwa pierścienie benzenowe zostały połączone atomami azotu i siarki, tworząc środkowy pierścień 1,4-tiazynowy (Gupta i Kumar, 1988). To związki całkowicie syntetyczne, które nie posiadają żadnego odpowiednika ani prekursora w świecie przyrody ożywionej.

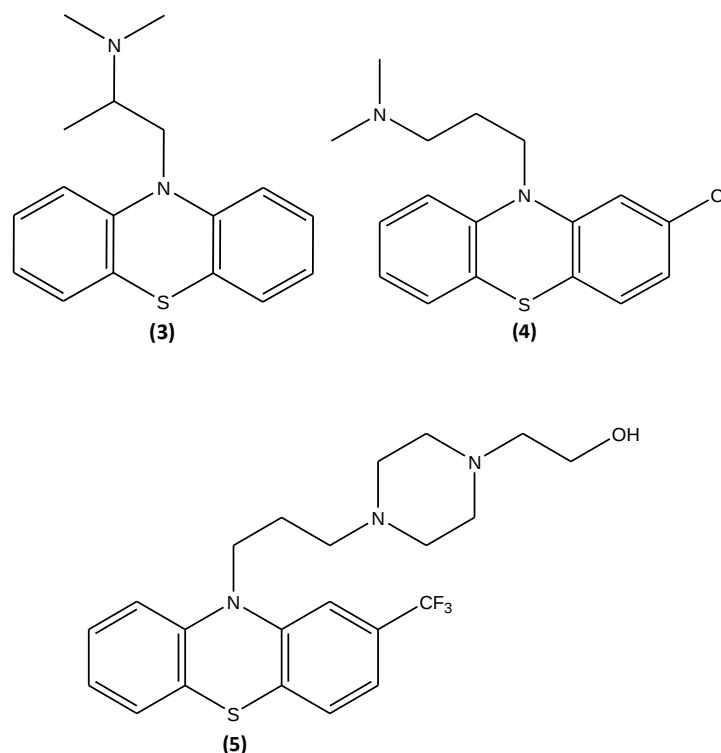
Pochodne fenotiazyny pierwotnie otrzymano w Europie pod koniec XIX wieku – synteza ta była związana z rozwojem badań nad barwnikami anilinowymi. Jednym z nich jest błękit metylenowy 1 (Ryc. 1), który jako sól fenotiazyniowa po raz pierwszy został zsyntetyzowany przez niemieckiego chemika Heinricha Caro w 1876 roku w Badische Anilin & Soda Fabrik (BASF) w Ludwigshafe (Baguley i in., 2016; Oz i in., 2011). Wyniki dalszych badań, prowadzonych przez Roberta Kocha i Paula Ehrlicha, zaprezentowały w 1891 roku (Ohlow i in., 2011; Oz i in., 2011), że związek ten wykazuje właściwości wybarwiania i aktywowania różnych gatunków drobnoustrojów, w związku z czym rozpoczęto testowanie go w kierunku zwalczania chorób tropikalnych. W konsekwencji zyskano pierwszy preparat stosowany w terapii przeciwmalarycznej (Baguley i in., 2016; Mitchell, 2006; Ohlow i in., 2011; Oz i in., 2011).



Rycina 1. Struktura błękitu metylenowego (1) i 10H-fenotiazyny (2).

Niepodstawiona fenotiazyna 2 (Ryc. 1) została otrzymana przez Heinricha Augusta Bernthsen w 1883 roku w reakcji termicznego siarkowania difenylenoaminy siarką elementarną (Bernthsen, 1883; Morak-Młodawska i in., 2021). Związek ten na czasy swojej świetności musiał poczekać ponad pięćdziesiąt lat. Dopiero w latach 40. XX wieku nastąpiło odkrycie właściwości przeciwhistaminowych prometazyny 3 (Ryc. 2) – pochodnej fenotiazyny posiadającej przy azocie w pierścieniu 1,4-tiazynowym podstawnik dimetyloaminopropylowy. Dokonała tego grupa francuskich badaczy z Paulem Charpentierem na czele, współpracujących z paryskim koncernem farmaceutycznym Rhône-Poulenc (López-Muñoz i in., 2005; Ohlow i in., 2011). Preparat ten został wykorzystany przez francuskiego chirurga dr. Henri-Marie Laborita, który opracował metodę zapobiegania wstrząsowi chirurgicznemu. Prometazynę opisano jako lek wywołujący u pacjentów chirurgicznych działanie uspokajające, przeciwlękowe, nazywane potem w literaturze medycznej „lobotomią farmakologiczną”. Odkrycie prometazyny zapoczątkowało kolejne szerokie badania naukowe nad fenotiazynami zmodyfikowanymi strukturalnie zarówno w pierścieniu benzenowym, jak i w łańcuchu alkiloaminoalkilowym. Efektem tych badań było otrzymanie przez Specia Laboratories przy Rhône-Poulenc w Paryżu w 1950 roku chlorowej pochodnej prometazyny (zawierającej w położeniu 2 pierścienia benzenowego atom chloru), którą nazwano chlorpromazyną 4 (Ryc. 2). Wykazywała ona intensywną aktywność przeciwhistaminową oraz działanie o charakterze adrenolitycznym, hibernacyjnym. Jako pierwszy preparat ten wykorzystał dr Laborit w Laboratorium Fizjologii Szpitala Wojskowego w Val-de-Grâce w Paryżu, a odkryte wówczas nadzwyczajne właściwości neuroleptyczne pozwoliły na wprowadzenie tej substancji już w 1952 roku (prawie dwa lata po zsyntezowaniu) i użycie jej przez lekarzy Jeana Delaya i Pierre’a Deniera do leczenia psychoz (López-Muñoz i in., 2005; Ohlow i in., 2011; Snyder, 1999). Początkowo fenotiazyna ta była opisywana przez wielu ówczesnych autorów jako „lek Laborita”, następnie nazwano ją chlorpromazyną, a gdy została skomercjalizowana we Francji przez firmę Rhône-Poulenc, jej nazwa handlowa brzmiała Largactil® (określenie pochodziło z języka francuskiego: *large activite* – szeroka aktywność i odzwierciedlało szerokie spek-

trum aktywności farmakologicznych, takich jak: antypsychotyczne, adrenolityczne, przeciwfibrylacyjne, przeciwobrzękowe, przeciwgorączkowe, przeciwwstrząsowe, przeciwdrgawkowe, przeciwwymiotne. Otrzymanie chlorpromazyny dało początek intensywnym badaniom nad kolejnymi neuroleptycznymi pochodnymi fenotiazyn zawierającymi zróżnicowane podstawniki w położeniu 10 układu fenotiazynowego. W ten sposób powstały grupy pochodnych: alifatycznych – posiadających podstawnik N,N-dialkiloaminoalkilowy, piperydynowych – zawierających podstawnik piperydinoalkilowy i piperazynowych – zawierających w swej strukturze podstawnik piperazynoalkilowy, obie wykazujące zróżnicowany potencjał antypsychotyczny (López--Muñoz i in., 2005).



Rycina 2. Struktura prometazyny (3), chlorpromazyny (4) i flufenazyny (5).

Zastosowanie zarówno chlorpromazyny, jak i kolejnych pochodnych fenotiazyn wówczas otrzymanych było przełomem w terapii schizofrenii ze względu na znaczną poprawę jakości życia ludzi cierpiących na tę chorobę i jednocześnie na redukcję czasu oraz liczby hospitalizacji w zamkniętych ośrodkach psychiatrycznych, co z kolei zmniejszyło koszty leczenia (Pawłowski, 2020; Snyder, 1999). Leki przeciwpsychotyczne mające w swojej budowie rdzeń fenotiazyny były bezkonkurencyjne w leczeniu zaburzeń psychicznych przez ponad pięćdziesiąt lat. Na liście WHO podstawowych leków niezbędnych przy farmakoterapii zaburzeń psychiatrycznych do dnia dzisiejszego widnieją chlorpromazyna 4 oraz flufenazyna 5 (Ryc. 2). Synteza pochodnych fenotiazyn spowodowała ogromny postęp w psychiatrii, umożliwiła leczenie chorych w warunkach ambulatoryjnych, a także skróciła czas niezbędnej hospitalizacji pacjentów (Kaczor i in., 2023; Schatzberg i in., 2010; Stępnicki i in., 2018). Z uwagi na stosunkową łatwość i niski koszt uzyskania, a nade wszystko wyczerpanie praw patentowych (Amaral i in., 2001), pochodne fenotiazyn należą do grupy związków, w obrębie których poszukuje się nowych aktywności biologicznych. Najnowsze badania prowadzone w wielu ośrodkach naukowych na świecie wskazują na kolejne, nieznane dotąd właściwości farmakologiczne klasycznych fenotiazyn, do których należą aktywności: przeciwnowotworowe (Fujiwara i in., 2022; Matteoni i in., 2021; Motohashi i in., 2006; Rundle-Thiele i in., 2015), przeciwpierwotniakowe (Dasgupta i in., 2008), przeciwbakteryjne (Dasgupta i in., 2008; Kristiansen i in., 2015), przeciwwirusowe (Kaur i Chu, 2013), przeciwzapalne (Shaikh i in., 2006), immunomodulujące (Sharma i Singh, 2011), antyoksydacyjne (Jeleń i in., 2023) oraz modyfikujące oporność wielolekową (Bisi i in., 2008). Wyniki tych badań są tematem wielu publikacji przeglądowych i rozdziałów monografii (Jaszczyszyn

i in., 2012; Pluta i in., 2011; Sudeshna i Parimal, 2010). Wśród licznych badań dotyczących neuroleptycznych fenotiazyn na czoło wysuwają się te ukierunkowane na aktywności przeciwnowotworowe (Huang i in., 2018). Niniejsza praca poświęcona jest ukazaniu potencjału biologicznego fenotiazyn z uwypukleniem ich metod otrzymywania i analizy strukturalnej.

2. Synteza układów fenotiazynowych

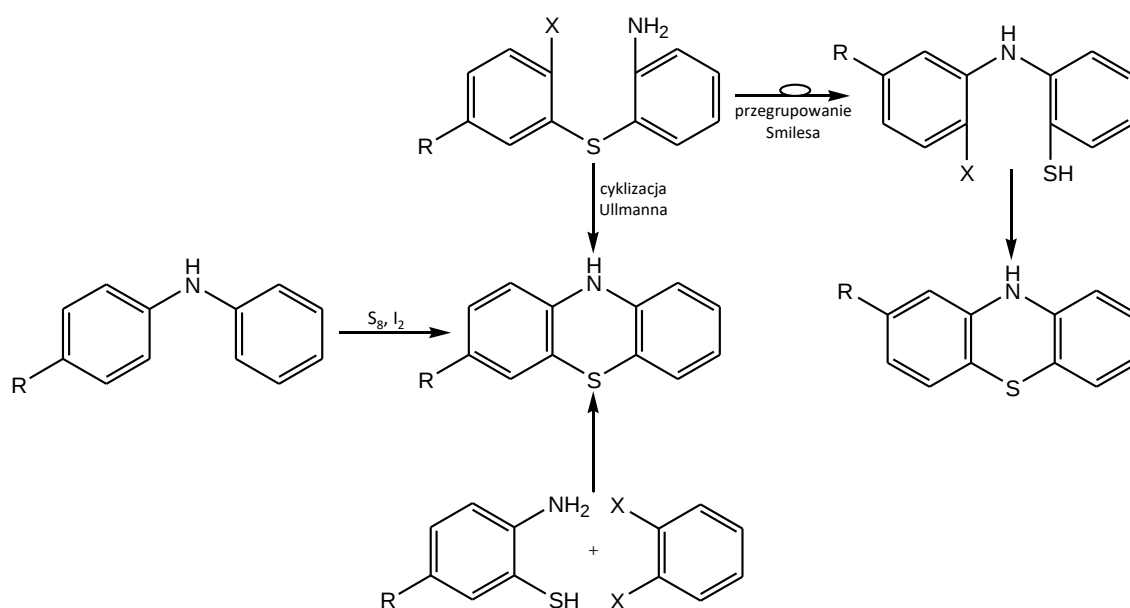
Synteza układu fenotiazynowego została dokładnie opisana w latach 50. ubiegłego stulecia, niemniej badania w tym obszarze ciągle trwają, czego dowodem jest pojawianie się każdego roku licznych prac naukowych ukazujących zarówno syntezę, jak i analizę w obszarze fenotiazyn. Dowodem na to jest fakt, że na dzień 15 listopada 2023 roku baza danych PubMed wskazała 55 509 rekordów dotyczących badań nad tego typu układami.

Niniejszy rozdział jest poświęcony różnym metodom syntez pozwalających otrzymywać pochodne fenotiazyn.

Ogólny sposób syntezy pierścienia 1,4-tiazynowego może być realizowany na trzech płaszczyznach:

- 1) syntez z użyciem difenyloamin i wybranych siarkowych reagentów,
- 2) syntez z użyciem 2,2'-dipodstawionych sulfidów difenylowych przebiegających zgodnie z reakcją Ullmanna zwaną cyklizacją Ullmanna lub poprzez przegrupowanie Smilesa typu S→N,
- 3) syntez z użyciem dwóch rodzajów 1,2-dipodstawionych benzenów.

Na poniższym schemacie przedstawiono ogólny zarys tego typu syntez.



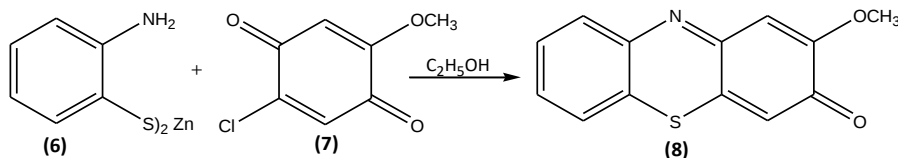
Rycina 3. Schemat syntez pierścienia 1,4-tiazynowego.

Warto zwrócić uwagę, że zarówno syntez przebiegające według cyklizacji Ullmanna, jak i poprzez przegrupowanie Smilesa pozwalają otrzymać izomeryczne układy fenotiazynowe, co jest istotnym problemem badań strukturalnych, których zadaniem było potwierdzenie budowy każdej nowej molekuly.

Syntezy fenotiazyn prowadzą najczęściej do otrzymania różnie podstawionych 10*H*-fenotiazyn, które następnie, przede wszystkim w reakcji N-alkilowania halogenkami dialkiloaminoalkilowymi w obecności silnej zasady, tworzą 10-podstawione fenotiazyny zawierające podstawnik farmakoforowy.

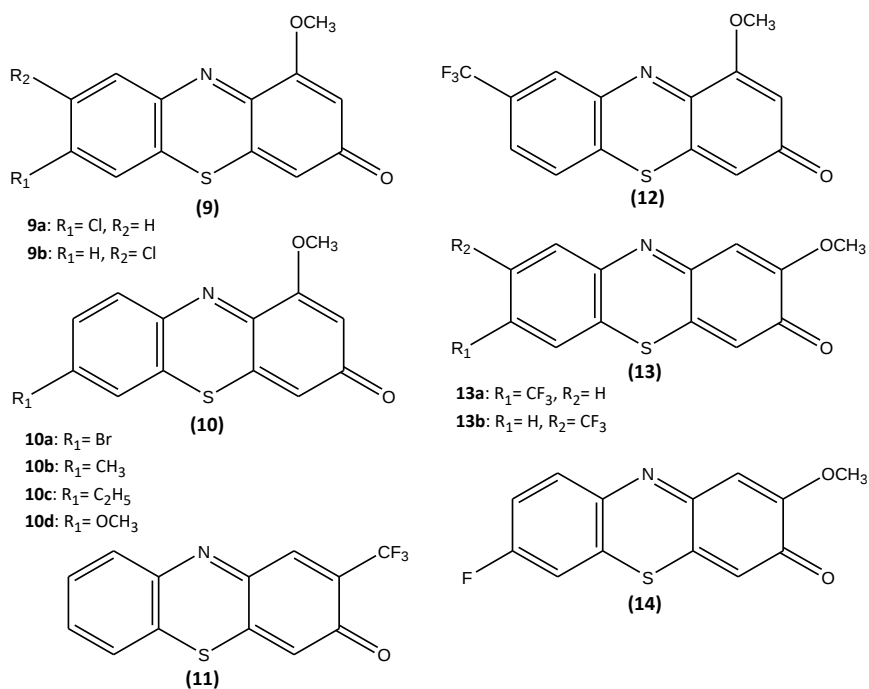
SYNTEZA Z WYKORZYSTANIEM BENZOCHINONU

Związkami szeroko stosowanymi w syntezie fenotiazyn są 2-aminobenzenotiole. Jedną z metod otrzymywania tych układów jest reakcja 2-aminobenzenotiolu lub jego soli cynkowej z 1,4-benzochinonami (Ryc. 4) (Gupta i Kumar, 1988).



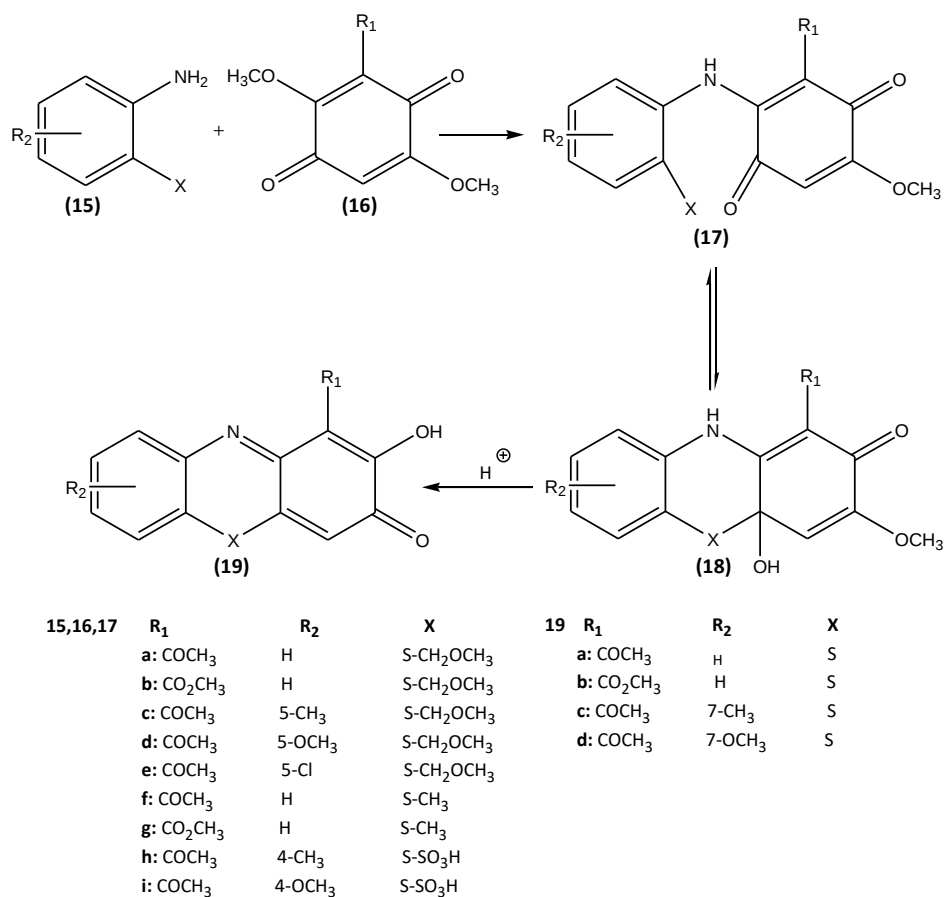
Rycina 4. Schemat syntezy soli cynkowej z 1,4-benzochinonem.

Reakcję wykorzystano również w syntezie 7/8-chloro-1-metoksyfenotiazyn-3-onów (**9a,b**), 7-podstawionych-1-metoksyfenotiazyn-3-onów (**10a-d**), 2-trifluorotometylofenotiazyn-3-onu (**11**), 1-metoksy-8-trifluorometylofenotiazyn-3-onu (**12**), 2-metoksy-7/8-trifluorotometylofenotiazyn-3-onów (**13a,b**) i 7-fluoro-2-metoksyfenotiazyn-3-onu (**14**). Struktury tych pochodnych zostały zamieszczone na rycinie 5 (Gupta i Kumar, 1988).



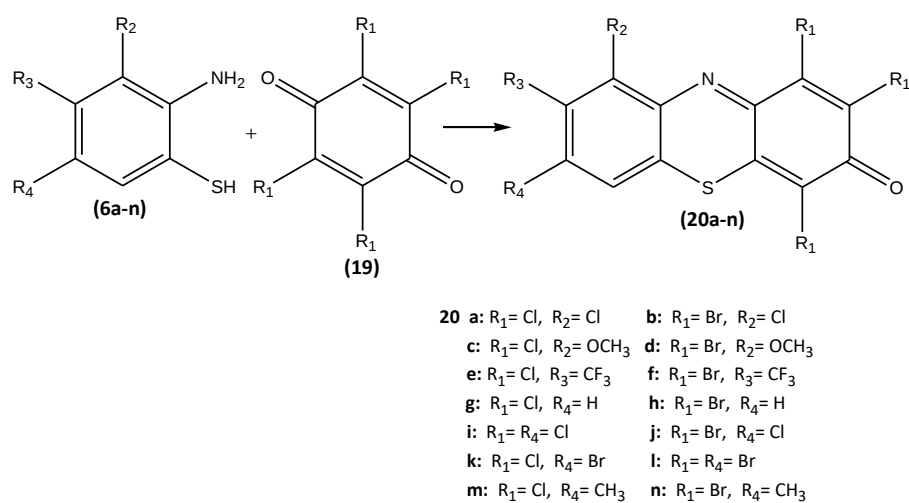
Rycina 5. Struktury chemiczne podstawionych fenotiazonów.

Została opisana synteza podstawionych 2-hydrokso-3*H*-fenotiazyn-3-onów (**19a-d**) z 3-acetylo- lub 3-metoksykarbonylo-2,5-dimetoksy-1,4-benzochinonami (**16a-i**) i podstawionych 2-aminobenzenotiolami (**15a-i**). Schemat syntezy tego typu pochodnych został ukazany na rycinie 6 (Gupta i Kumar, 1988; Oprean i Schäfer, 1973).



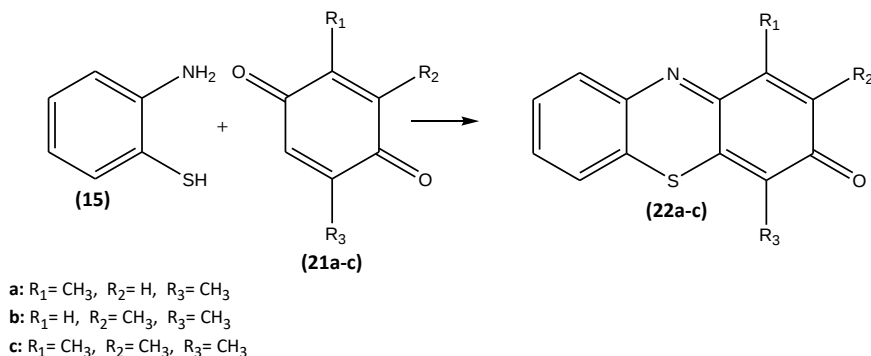
Rycina 6. Schemat syntezy podstawionych 2-hydroksy-3*H*-fenotiazyn-3-onów.

Reakcję rozszerzono poprzez dodanie chloranilu lub bromanilu w celu uzyskania trójhalegeno-
podstawionych fenotiazyn-3-onów (**20a-n**), których struktury przedstawiono na rycinie 7 (Gupta
i Kumar, 1988).



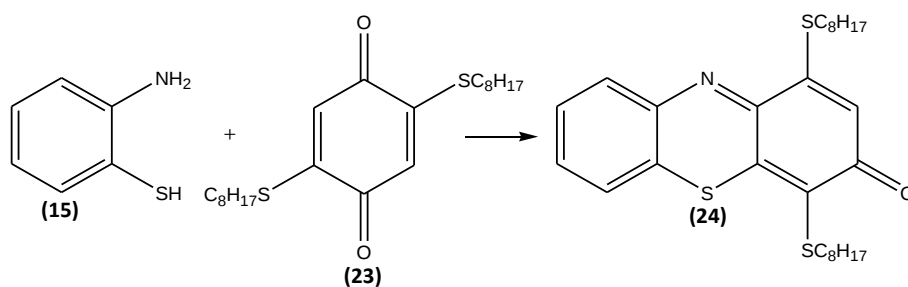
Rycina 7. Schemat syntezy trójhalegenopodstawionych fenotiaz-3-onów.

Analogiczny schemat reakcji obserwowany jest w przypadku połączenia 2,3-dimetylo- i 2,3,5-trimetylo-1,4-benzochinonów (**21a-c**) z 2-aminobenzotiolem. W wyniku syntezy otrzymywane są dimetylo- lub trimetylofenotiazyn-3-ony (**22a-c**) (Ryc. 8) (Anderson i Kochi, 1970; Gupta i Kumar, 1988).



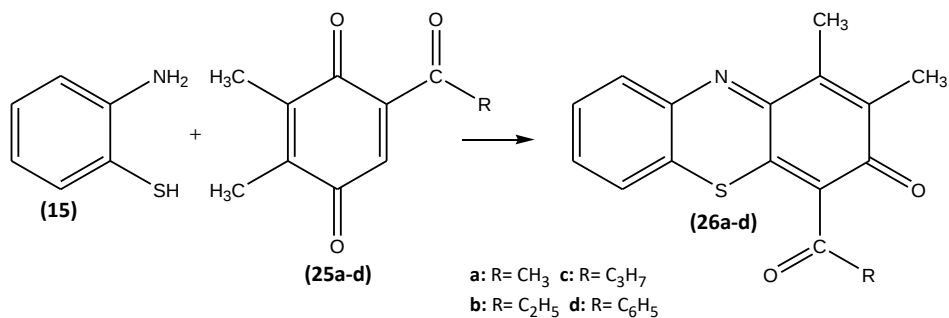
Rycina 8. Schemat syntezy metylofenotiazonów.

W wyniku kondensacji 2,5-ditioalkilo-1,4-benzochinonu (**23**) z 2-aminobenzotiolem otrzymano 1,4-ditioalkilofenotiazyn-3-on (**24**) (Gupta i Kumar, 1988).



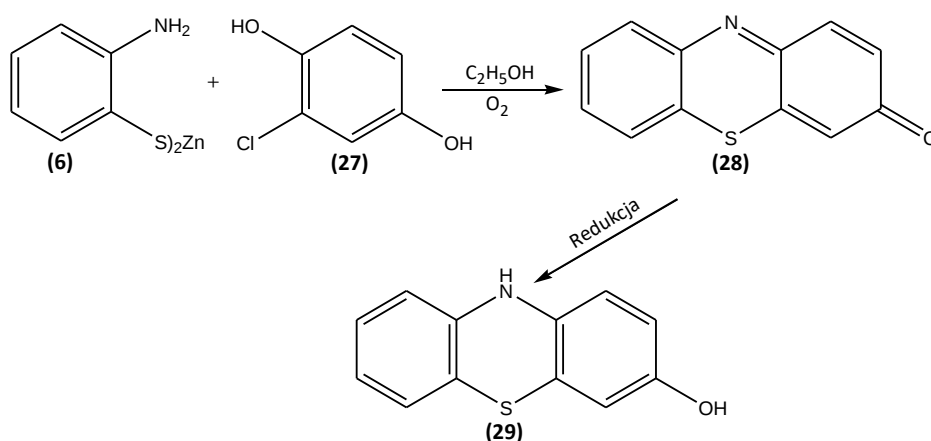
Rycina 9. Schemat syntezy tioalkilofenotiazonów.

Ponadto 4-acylo-1,2-dimetylofenotiazyn-3-on (**26a-d**) został otrzymany w wyniku kondensacji 2-aminobenzenotiołu z 2-acylo-5,6-dimetylo-1,4-benzochinonem (**25**) (ryc. 10) (Gupta i Kumar, 1988; Ueno i in., 1981).



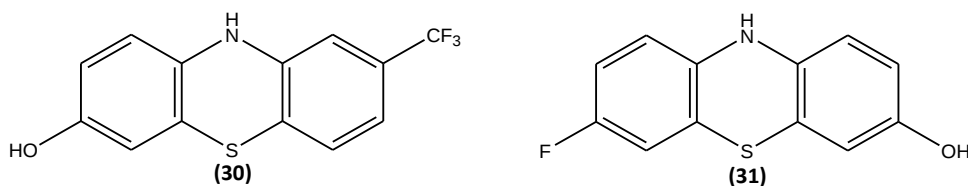
Rycina 10. Schemat syntezy acylo-dimetylofenotiazonów.

Reakcja chlorohydrochinonów z 2-aminobenzenotiolem prowadzi do otrzymania hydroksyfenotiazyn (**29**). Są to związki uznawane za potencjalne metabolity (Gupta i Kumar, 1988; Nodiff i in., 1967; Nodiff i in., 1968; Nodiff i in., 1971). Upřednio otrzymywano je w wyniku redukcji fenotiazonów albo w reakcji hydroksydifeniloamin z jodem (Gupta i Kumar, 1988; Harpur i in., 1950). Innym sposobem była dealkilacja alkoksyfenotiazyn (Gupta i Kumar, 1988; Houston i in., 1949), metoda ta nie charakteryzowała się jednak wysoką wydajnością. Hydroksyfenotiazynę otrzymano również w wyniku redukcji fenotiazonu (**28**) otrzymanego upřednio poprzez kondensację soli cynku 2-aminobenzenotiolu (**6**) z chlorohydrochinonem (**27**) w wodno-etanolowym roztworze wodorotlenku sodu (Gupta i Kumar, 1988; Nodiff i Hausman, 1966).



Rycina 11. Schemat syntezy hydroksyfenotiazyny.

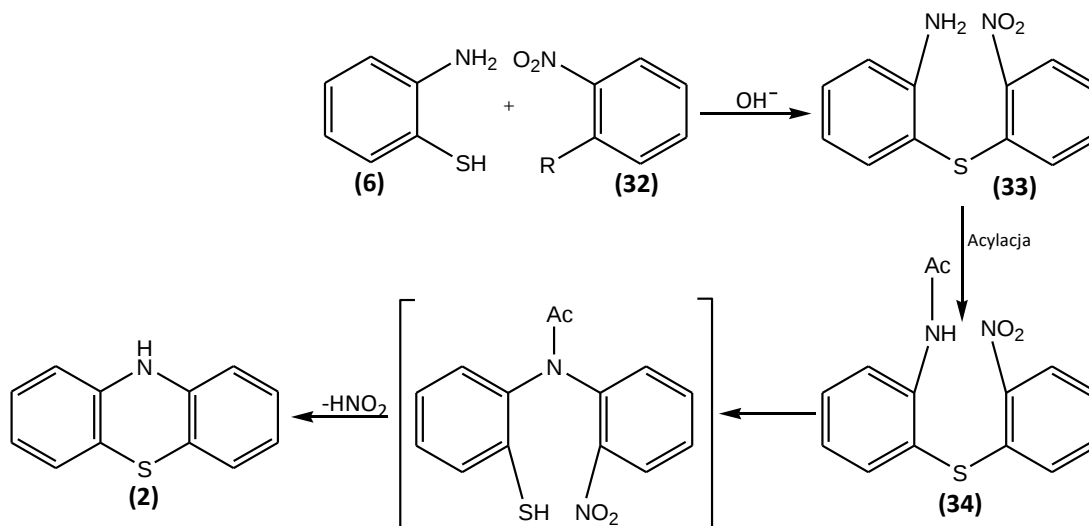
Zsyntezowano 2-trifluorometylo-7-hydroksyfenotiazynę (**30**) na drodze kondensacji soli cynkowej 2-aminobenzenotiolu z chlorohydrochinonem w wodno-etanolowym roztworze wodorotlenku sodu. Hydroksyfenotiazyna zawierająca w swojej budowie atom fluoru została otrzymana w wyniku reakcji soli cynku 2-amino-5-fluorobenzenotiolu z chlorohydrochinonem (**31**) (Gupta i Kumar, 1988). Struktury tych związków przedstawiono na rycinie 12.



Rycina 12. Struktura 2-trifluorometylo-7-hydroksyfenotiazyny (**30**) i 7-fluoro-3-hydroksyfenotiazyny (**31**).

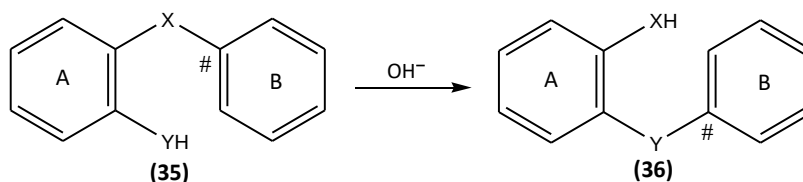
SYNTEZA Z WYKORZYSTANIEM HALOGENONITROBENZENU

W wyniku reakcji 2-aminobenzenotiolu z *orto*-halogenonitrobenzenem w warunkach alkalicznych otrzymywane są sulfidy 2-amino-2'-nitrofenylowe. Produkt syntezy ulega wewnątrzcząsteczkowemu przegrupowaniu Smilesa, w wyniku czego powstaje 2-merkapto-2'-nitrofenyloamina, która następnie ulega cyklizacji do układu 10*H*-fenotiazyny (ryc. 13).



Rycina 13. Schemat syntezy 10*H*-fenotiazyny z wykorzystaniem halogenonitrobenzenu.

W tym miejscu należy zwrócić uwagę na ważność przegrupowania Smilesa w syntezie fenotiazyn. Przegrupowanie Smilesa jest związane z migracją pierścienia aromatycznego z jednego heteroatomu (35) do drugiego (36) (Ryc. 14). Zjawisko to obserwuje się w grupie wewnątrzcząsteczkowych nukleofilowych pochodnych aromatycznych.



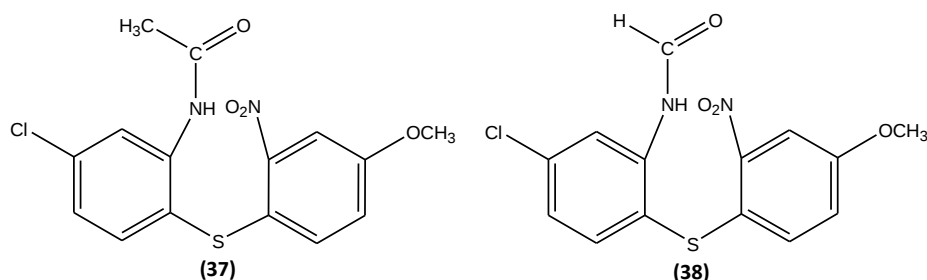
Rycina 14. Schemat obrazujący migrację pierścienia aromatycznego.

Przegrupowanie to jest zazwyczaj katalizowane przez odpowiednią zasadę. W środowisku jonów hydroksylowych następuje przekształcenie grupy $-YH$ w ugrupowanie $-Y$, które w dalszej kolejności ulega atakowi powstałego nukleofila ($-Y^-$) na atom węgla (#) i finalnie wypiera podstawnik $-X$. Niezbędnym wymogiem sterycznym do zajścia przegrupowania jest obecność podstawnika w takiej pozycji, aby umożliwić powstanie przejściowej formy pośredniej mającej pięciocząłowy (w niewielu przypadkach sześciocząłowy) pierścień. Ponadto istnieją inne czynniki wpływające na łatwość przegrupowania. Jednym z nich jest elektrofilowy charakter atomu węgla (#) w pierścieniu (pierścień B), przy którym następuje atak. Innym czynnikiem jest obecność podstawników w pierścieniu (pierścień B). Zaobserwowano, że w większości przypadków grupą aktywującą był podstawnik nitrowy w pozycji *orto* lub *para*. Pojedyncza grupa nitrowa w pozycji *orto* okazała się silniejszym aktywatorem przegrupowania niż pojedyncza grupa nitrowa w pozycji *para*. Kolejnym czynnikiem jest dodatni

charakter, a dokładniej względna pozytywność podstawnika X w porównaniu z ugrupowaniem YH lub Y⁻. Można to zobrazować, poddając przegrupowaniu związki zawierające grupę: -NHAc jako -YH i SO₂, SO lub S jako X. Związki posiadające grupę OH jako -YH ulegają przegrupowaniu tylko wtedy, gdy X będzie grupą: SO₂, SO lub atomem siarki (S). Łatwość przegrupowania zależy także od tendencji grupy -YH do utraty protonu w środowisku reakcji. W ogólny sposób można powiedzieć, że zwiększona zasadowość przyspiesza przegrupowanie. W rozpuszczalnikach alkoholowych przegrupowanie wzrasta w kolejności: NaOH < NaOMe < NaOEt < NaOPr-i, która wydaje się kolejnością akceptacji protonów. Ostatnim z czynników mających wpływ na łatwość przegrupowania jest zdolność podstawnika -Y do działania jako donor elektronów. Przegrupowanie dla YH następuje w sekwencji: NHAc > OH (alifatyczne) > NH₂ > OH (fenolowe) > SH (Evans i Smiles, 1935; Galbraith i Smiles, 1935; Gupta i Kumar, 1988; Levy i in., 1931; Levy i Smiles, 1932).

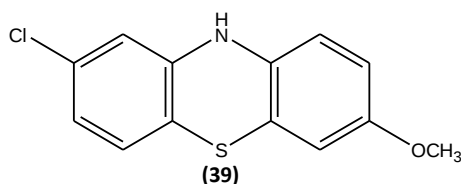
Warunkami koniecznymi wystąpienia przegrupowania Smilesa są wyższa elektropozytywność grupy X oraz wystarczająca kwasowość grupy YH, aby zapewnić skuteczną koncentrację odpowiednio silnego nukleofila. Kwasowość grupy YH (gdy YH = NH₂) jest wzmacniana obecnością podstawników, np. -NHCHO, -NHCOCH₃, -NHSO₂C₆H₅, -NHCH₃, które również powodują zmniejszenie nukleofilowości anionu -Y.

Na przegrupowania Smilesa wpływ ma również występowanie wiązania wodorowego w cząsteczkach związków chemicznych. W N-alkilowanych i N-acylowanych pochodnych wiązanie to nie występuje, dlatego nie ulegają one omawianemu przegrupowaniu. W wielu przypadkach reakcja N-acylowania jest konieczna do wystąpienia przegrupowania Smilesa i późniejszej cyklizacji sulfidów aminofenylowych prowadzącej do otrzymywania fenotiazyn (Gupta i Kumar, 1988; Maki, 1957; Rodig i in. 1966).



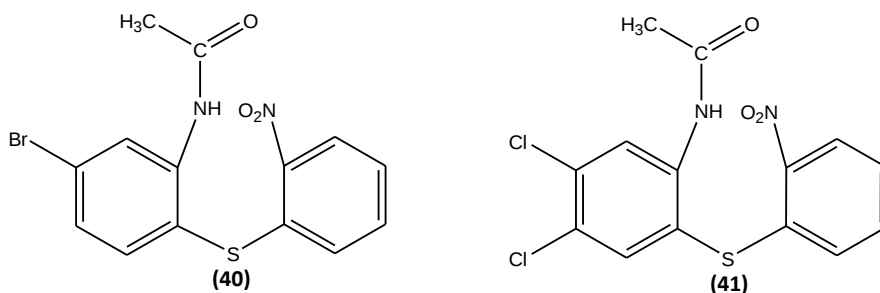
Rycina 15. Struktura sulfidu 2-acetamido-4-chloro-4'-metoksy-2'-nitrodifenylowego **(37)** oraz pochodnej formamidowej **(38)**.

Zaobserwowano przegrupowanie Smilesa wywołane halogenami dla sulfidów 2-bromo-2'-formamidodifenylowych w DMF i węglanie potasu (Gupta i Kumar, 1988; Nodiff i Hausman, 1964; Nodiff i in., 1968). Warto zauważyć, że czasami pochodne acetamidowe tj. sulfid 2-acetamido-4-chloro-4'-metoksy-2'-nitrodifenylowy **(37)**, nie ulegają przegrupowaniu nawet w ramach modyfikacji Clarke'a (Gupta i Kumar, 1988; Roe i in., 1956; Yale i in., 1957). Natomiast odpowiednie pochodne formamidowe **(38)** ulegają zarówno przegrupowaniu jak i cyklizacji dając 2-chloro-7-metoksyfenotiazyny **(39)** (Gupta i Kumar, 1988; Nodiff i Hausman, 1964).



Rycina 16. Struktura 2-chloro-7-metoksyfenotiazyny.

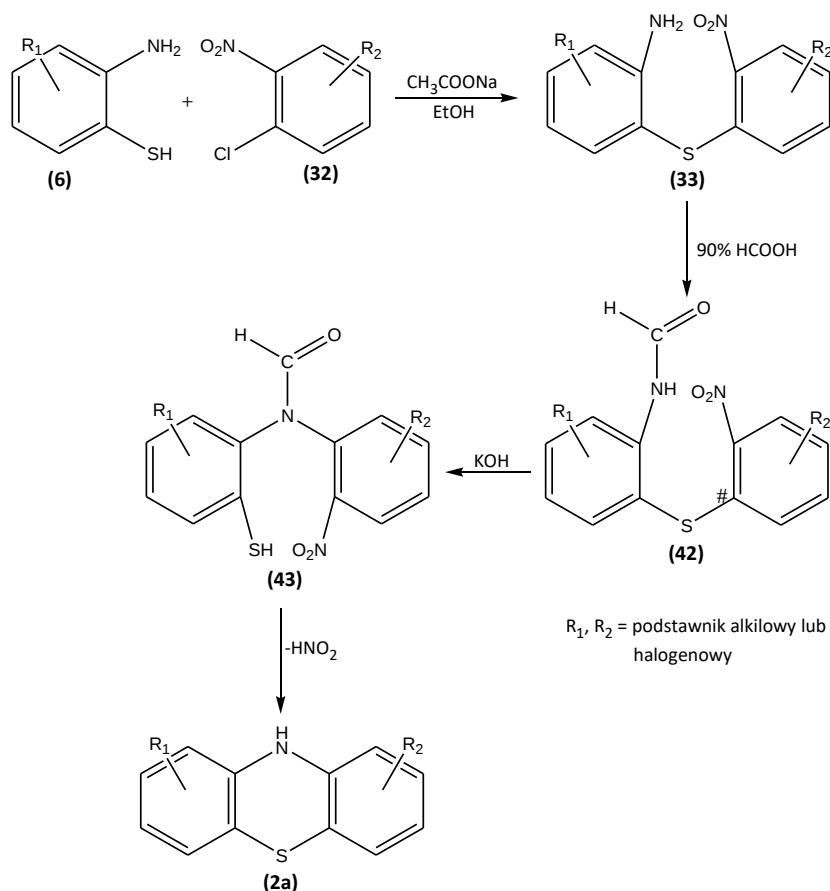
Przegrupowanie Smilesa, towarzyszące otrzymywaniu fenotiazyn, ma swoje ograniczenia. Sulfidy difenyłowe posiadające atom halogenu i grupę nitrową przy tym samym pierścieniu ulegają omawianemu przegrupowaniu, jednak nie jest ono obserwowane, gdy podstawniki znajdują się przy różnych pierścieniach. Przykładami związków, które nie ulegają przegrupowaniu, są sulfid 2-acetamido-4-bromo-2'-nitrodifenyłowy (**40**) i sulfid 2-acetamido-4,5-dichloro-2'-nitrodifenyłowy (**41**) (Gupta i Kumar, 1988).



Rycina 17. Struktura sulfidu 2-acetamido-4-bromo-2'-nitrodifenyłowego (**40**) i sulfidu 2-acetamido-4,5-dichloro-2'-nitrodifenyłowego (**41**).

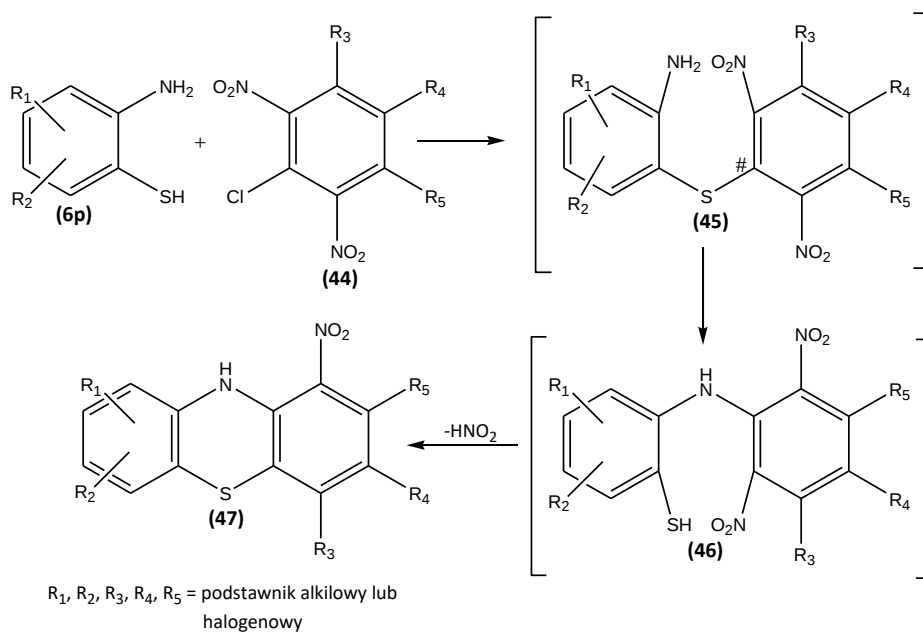
Doniesienia literaturowe wskazują, że atom halogenu w pozycji *orto* lub *para* (pierścień B) w stosunku do grupy nitrowej uniemożliwia zamknięcie pierścienia. Najprawdopodobniej jest to spowodowane efektem mezomerycznym, który powoduje powstanie cząstkowego ładunku ujemnego na atomie węgla, do którego przyłączona jest grupa nitrowa, co czyni go mniej podatnym na atak ujemnie naładowanego atomu siarki. Prawdopodobną przyczyną tego, dlaczego sulfidy 2-amino-4-halo-4'-alkoksy-2'-nitrodifenyłowe nie ulegają przegrupowaniu, może być efekt donorowy grupy alkoksylowej w pozycji 4'- i zmniejszenie elektrofilowości atomu węgla (#), który jest centrum ataku nukleofilowego. Ten sam efekt może być odpowiedzialny za niepowodzenie w zamknięciu pierścienia w związkach 40 i 41 (Gupta i Kumar, 1988).

Gupta i jego współpracownicy zsyntezowali szereg różnie podstawionych fenotiazyn poprzez przegrupowanie Smilesa odpowiednio podstawionych sulfidów 2-formamido-2'-nitrodifenyłowych otrzymywanych na drodze formylacji sulfidów difenyłowych. Sulfidy difenyłowe zostały otrzymane w wyniku kondensacji podstawionych 2-aminobenzenotioili lub ich soli sodowych z halogenonitrobenzenami w roztworze zasadowym (Gupta i Kumar, 1988).



Rycina 18. Schemat syntezy fenotiazyn poprzez przegrupowanie Smileasa odpowiednio podstawionych sulfidów 2-formamido-2'-nitrodifenylowych.

Reakcja 2-aminobenzenotiole z halogenonitrobenzenami zawierającymi dwie grupy nitrowe w pozycjach *orto* względem atomu halogenku prowadzi do bezpośredniego otrzymania fenotiazyny zamiast oczekiwanych sulfidów difenylowych. Gupta wraz ze swoimi współpracownikami dokładnie zbadali te reakcje i opracowali jednoetapową syntezę 1-nitrofenotiazyny (Gupta i Kumar, 1988).



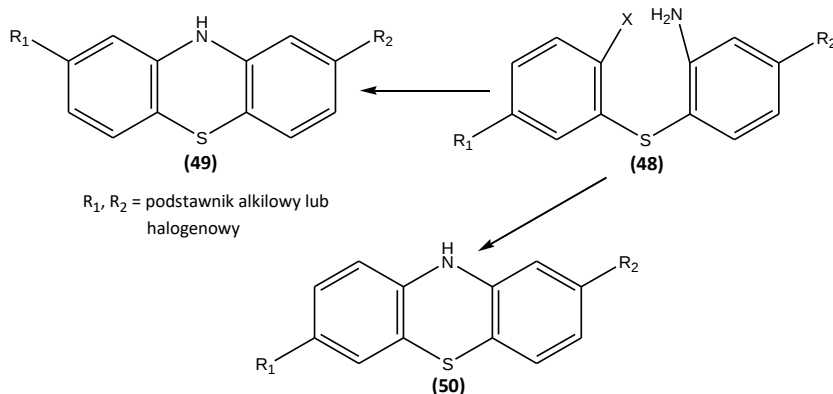
Rycina 19. Schemat reakcji 2-aminobenzenotiole z halogenonitrobenzenami.

Analogiczny przebieg reakcji zaobserwowano w przypadku halogenonitrobenzenów, gdzie atom halogenku ma w sąsiedztwie grupę nitrową, a także atom halogenku w obu pozycjach *orto*. Cyklizacja odbywa się poprzez eliminację atomu halogenku zamiast grupy nitrowej, a otrzymany disulfid ulega przegrupowaniu Smilesa i cyklizacji *in situ*, co prowadzi bezpośrednio do otrzymania fenotiazyny bez konieczności wydzielania sulfidów difenylowych.

Zwiększony efekt rezonansowy spowodowany obecnością dwóch grup nitrowych w pozycjach *orto* oraz połączone efekty rezonansowe i indukcyjne wymuszone przez jeden atom nitrowy i jeden atom halogenu aktywują przegrupowanie Smilesa, a także zamknięcie pierścienia w takim stopniu, że oba procesy zachodzą natychmiastowo i *in situ* (Gupta i Kumar, 1988).

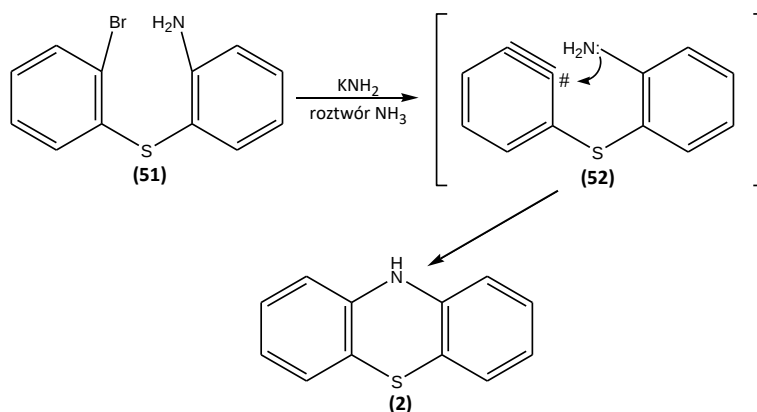
SYNTEZA Z WYKORZYSTANIEM SULFIDÓW ARYLOWYCH

Fenotiazyny otrzymano w wyniku cyklizacji sulfidów difenylowych. Mechanizm zachodzącej reakcji nie jest jednak pewny. Nie wiadomo, czy cyklizacja przebiega poprzez reakcję typu Ullmanna czy przegrupowanie Smilesa. Cyklizacja zależy od charakteru podstawników obecnych w pierścieniach. Atak grupy aminowej na atom węgla zawierający atom halogenu powoduje cyklizację przez kondensację typu Ullmanna, dając związek 49, a na atomie węgla zawierającym wiązanie sulfidowe powoduje cyklizację przez przegrupowanie Smilesa, dając związek 50 (Ryc. 20) (Gupta i Kumar, 1988).



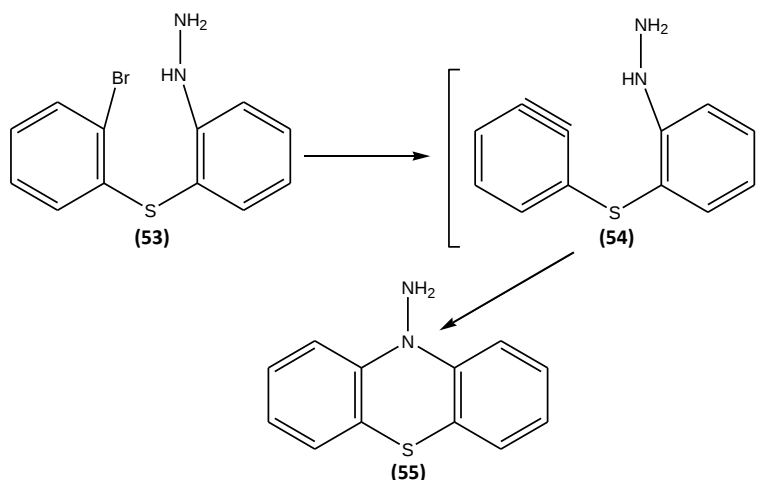
Rycina 20. Schemat cyklizacji sulfidów difenylowych.

Sulfid 2-amino-2'-bromodifenyłowy (**51**) w reakcji z amidkiem potasu KNH₂ w ciekłym amoniaku prowadzi do otrzymania fenotiazyny. Zakłada się, że cyklizacja przebiega z utworzeniem benzynu jako produktu pośredniego, podczas gdy w przypadku amidku sodu w benzenie tworzenie fenotiazyny odbywa się poprzez przegrupowanie Smilesa (Ryc. 21) (Gupta i Kumar, 1988).



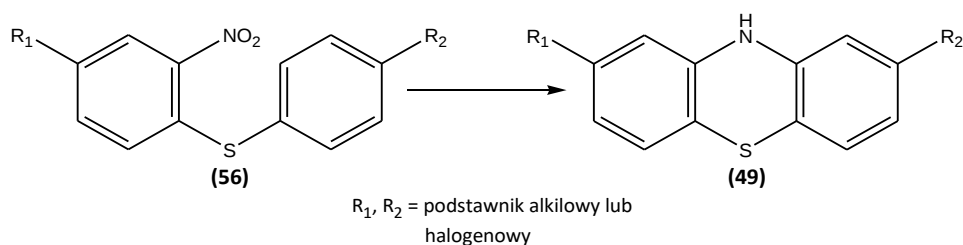
Rycina 21. Schemat syntezy fenotiazyny z sulfidu 2-amino-2'-bromofenyłowego (**51**).

Sulfid 2-bromo-2'-hydrazynodifenyłowy (**53**) cyklizuje do 10-aminofenotiazyny poprzez utworzenie półproduktu benzynowego (**54**) (Ryc. 22) (Gupta i Kumar, 1988).

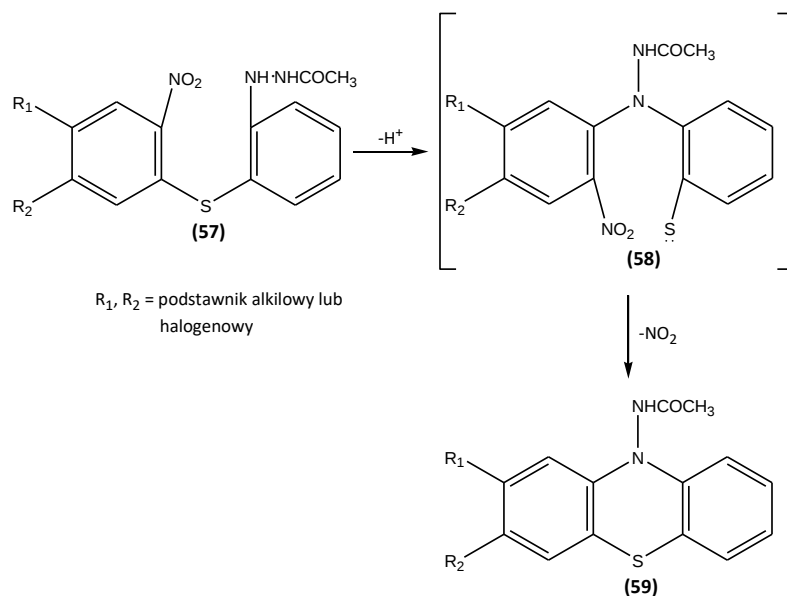


Rycina 22. Schemat syntezy 10-aminofenotiazyny z sulfidu 2-bromo-2'-hydrazynodifenyłowego (**53**).

Redukcyjna cyklizacja sulfidu *o*-nitrodifenyłowego (**56**) przy użyciu fosforynu trifenylu również prowadzi do otrzymania fenotiazyny (Ryc. 23). Natomiast sulfid 2-nitro-2'-(β -acetylo)hydrazynodifenyłowy (**57**) po cyklizacji poprzez przegrupowanie Smilesa daje 10-acetyloaminofenotiazynę (**59**) (Ryc. 24) (Gupta i Kumar, 1988).

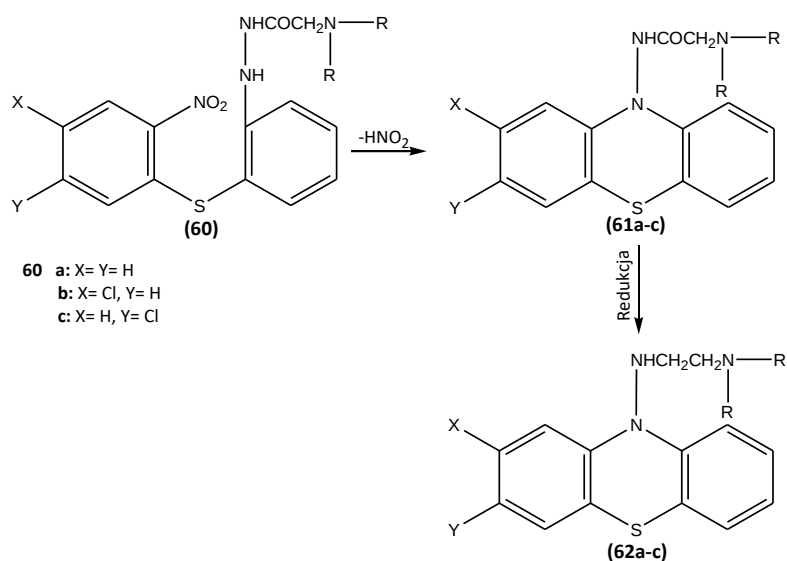


Rycina 23. Schemat redukcyjnej cyklizacji sulfidu *o*-nitrodifenyłowego (**56**).



Rycina 24. Schemat syntezy 10-acetyloaminofenotiazyny (**59**).

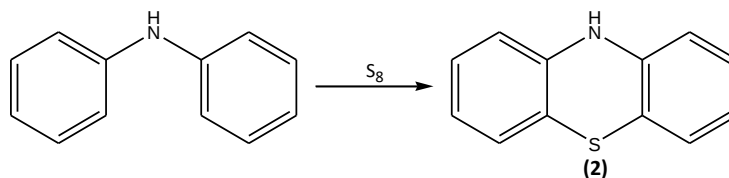
Cyklizacja międzycząsteczkowa poprzez przegrupowanie Smilesa sulfidów 2-nitro-2'-(β-dialkiloaminoacetylo)hydrazynodifenylu (**60**) dała 10-dialkiloaminoacetyloaminofenotiazyny (**61**), które po redukcji glinowodorkiem litu LiAlH_4 dały 10-β-dialkiloaminofenotiazyny (**62**) (Ryc. 25) (Gupta i Kumar, 1988).



Rycina 25. Schemat syntezy 10-β-dialkiloaminofenotiazyny (**62**).

SYNTEZA Z WYKORZYSTANIEM AMIN DIFENYLOWYCH

Pierwszą syntezę fenotiazyny przeprowadzono w 1883 r. na drodze fuzji difenyloaminy z siarką, co dało początek chemii fenotiazyn, a reakcja ta została nazwana siarkowaniem (ryc. 26).



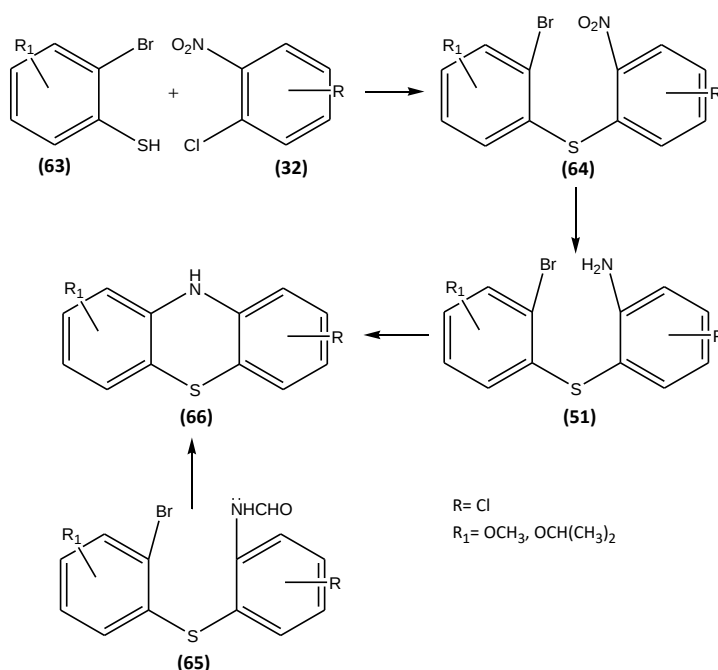
Rycina 26. Schemat syntezy fenotiazyny opracowany przez Bernthsen.

W kolejnych latach udoskonalano warunki prowadzenia tej reakcji. Zauważono, że zastosowanie jodu jako katalizatora obniża wymagania dotyczące temperatury i czasu reakcji oraz zwiększa jej wydajność. Stwierdzono także, że bezwodny chlorek glinu jest lepszym katalizatorem niż jod. Istnieją również doniesienia, według których proces siarkowania takich amin może być realizowany z zastosowaniem chlorku tionylu (Gupta i Kumar, 1988).

INNE WYBRANE SYNTEZY FENOTIAZYN

› Synteza z zastosowaniem bromobenzenotiole

W reakcji z chloronitrobenzenami 2-bromobenzenotiole (**63**) dają sulfidy 2-nitro-2'-bromodifenylo-
lowe. Związki te podczas późniejszej redukcji ulegają reakcji typu Ullmanna, dając fenotiazyny. Natomiast N-formylowane sulfidy difenylo-
lowe ulegają przegrupowaniu typu Smilesa, co daje izome-
tryczne fenotiazyny (Gupta i Kumar, 1988).

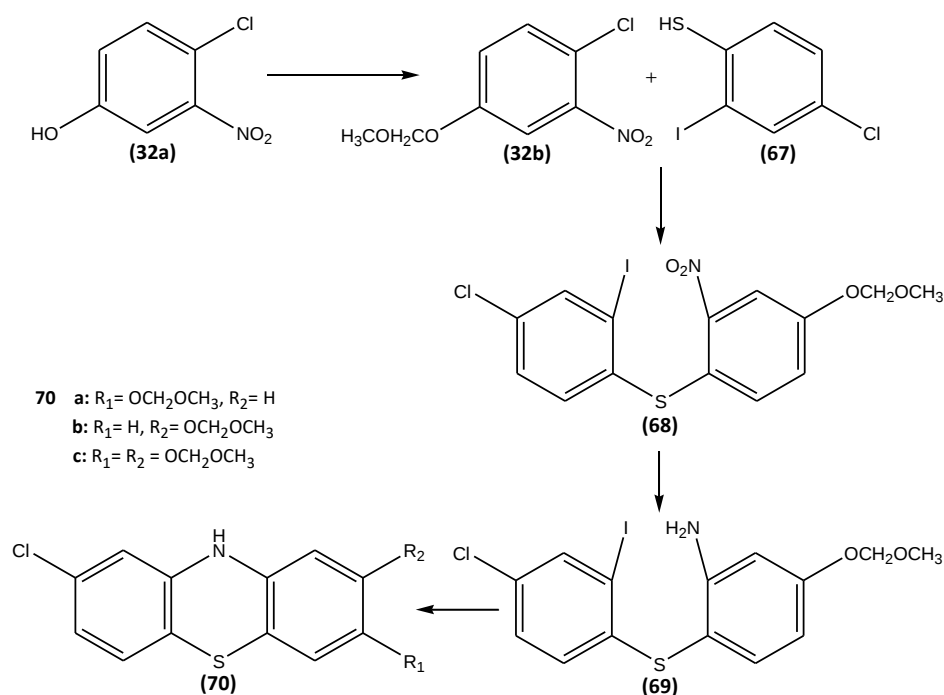


Rycina 27. Schemat syntezy fenotiazyny z wykorzystaniem bromobenzenotiole (**63**).

Sulfidy difenyłowe (**65**) reagują poprzez przegrupowanie Smilesa, co prowadzi do otrzymania tych samych fenotiazyn z lepszą wydajnością niż ma to miejsce podczas reakcji Ullmanna. Taki przebieg reakcji obserwujemy, gdy pierścień zawierający podstawnik, jakim jest brom, nie zawiera żadnego innego podstawnika (Ryc. 27) (Gupta i Kumar, 1988).

› Synteza z zastosowaniem 2-jodobenzenotiolu

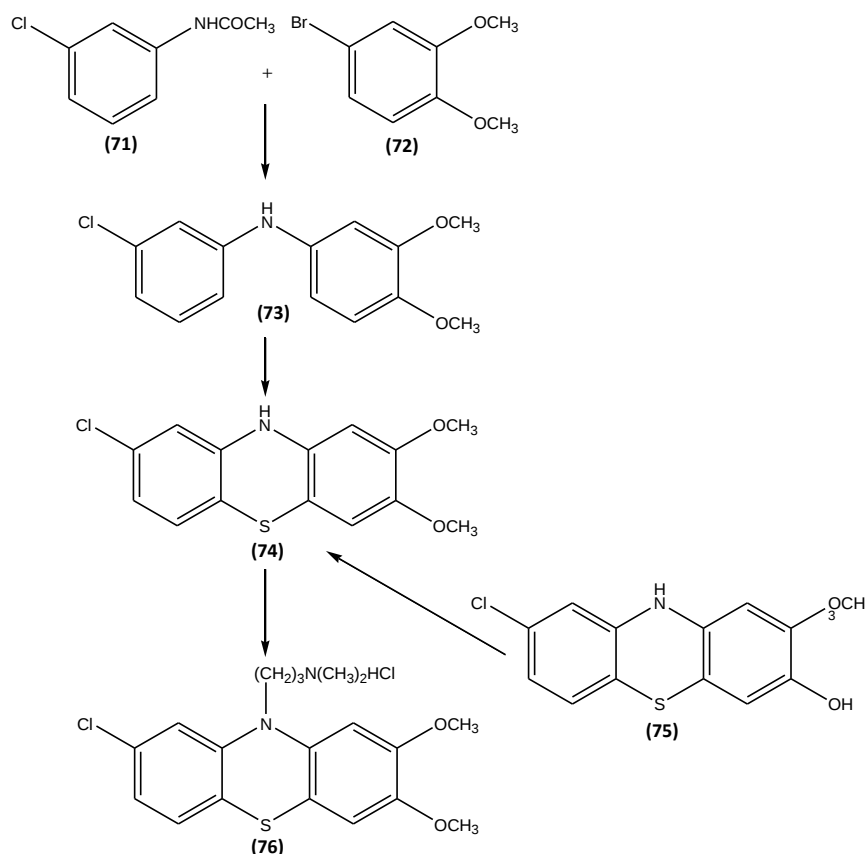
W kolejnej z metod otrzymywania fenotiazyn wykorzystuje się 2-jodo-4-chlorobenzenotiol (**67**). Związek ten w reakcji z *o*-halonitrobenzenami daje siarczki difenyłu (**68**), które po katalitycznej redukcji, a następnie zamknięciu pierścienia zachodzącego podczas ogrzewania w DMF z zastosowaniem katalizatora miedziowego osadzonego na stopie brązu dają fenotiazyny (**70**) (Ryc. 28) (Gupta i Kumar, 1988).



Rycina 28. Schemat syntezy fenotiazyny z wykorzystaniem 2-jodobenzenotiolu (**67**).

› Synteza z udziałem reakcji Goldberga

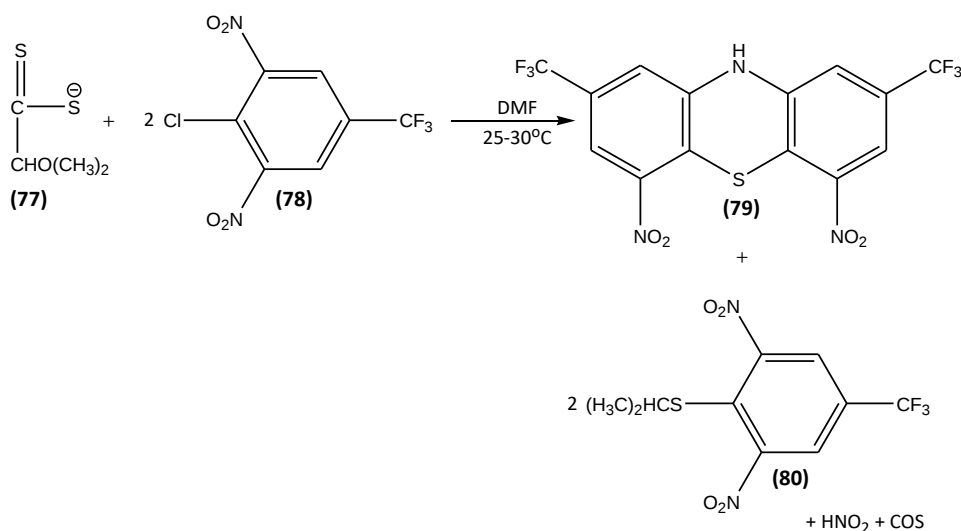
Naukowcy otrzymali chlorowoderek 7,8-dimetoksychloropromazyny (**76**) w reakcji Goldberga. Pierwszym etapem syntezy była kondensacja 3-chloroaceanilidu (**71**) z 4-bromoweratrole (**72**), prowadząca do otrzymania difenyloaminy (**73**). Efektem siarkowania otrzymanej difenyloaminy było otrzymanie dwóch izomerycznych fenotiazyn. Związki zostały rozróżnione na podstawie uzyskanych widm spektroskopowych oraz przeprowadzonych pomiarów temperatury topnienia (Ryc. 29) (Gupta i Kumar, 1988).



Rycina 29. Schemat syntezy z udziałem reakcji Goldberga.

› Synteza z zastosowaniem ditiowęglanu

Doniesienia literaturowe przedstawiają syntezę fenotiazyny z wykorzystaniem ditiowęglanu. Przeprowadzono reakcję 4-chloro-3,5-dinitrotrifluorometylobenzenu (**78**) z ditiowęglanem O-izopropylu-S-potasu (**77**), w wyniku której otrzymano odpowiednią trifluorometyfenotiazynę (**79**) oraz odpowiedni siarczek (**80**) (Ryc. 30).

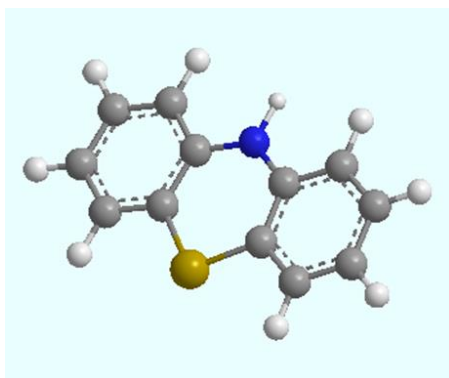


Rycina 30. Schemat syntezy z wykorzystaniem ditiowęglanu (**77**).

Alternatywną drogą wytwarzania trifluorometylofenotiazyny jest reakcja 4-chloro-3,5-dinitrotrifluorometylobenzenu z wodorosiarczkiem sodu w DMF w temperaturze 80–90°C (Gupta i Kumar, 1988).

3. Struktura fenotiazyn

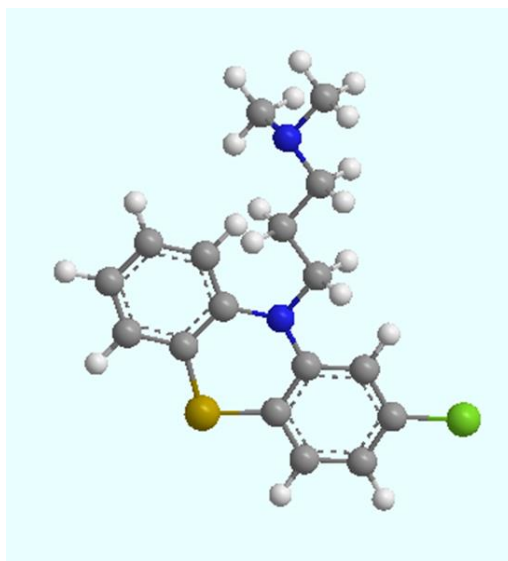
Od wielu lat prowadzone się badania nad przestrzenną strukturą fenotiazyn w celu określenia zależności aktywności farmakologicznej od ich budowy (Drugbank, 2023; Jelińska i in., 2012). W tych badaniach podstawową rolę odgrywa rentgenowska analiza strukturalna monokryształów, umożliwiającą uzyskanie fundamentalnych informacji dotyczących konformacji cząsteczki, konfiguracji, długości wiązań czy kątów pomiędzy wiązaniami i płaszczyznami (The Cambridge Structural Database, 2023). Obecnie w Cambridge Crystallographic Database zdeponowano blisko 1073 struktury pochodnych fenotiazyn (The Cambridge Structural Database, 2023). Na podstawie tych danych wiadomo, że cząsteczka fenotiazyny prawie we wszystkich zbadanych pochodnych nie jest płaska, a zgięta wzdłuż osi azot–siarka. Kąt zgięcia jest zależny zarówno od rodzaju podstawnika przy tiazynowym atomie azotu, jak i od rodzaju podstawników w pierścieniach benzenowych. Pierścień tiazynowy występuje w konformacji łódkowej, a podstawnik w pozycji 10 znajduje się najczęściej w pozycji quasi-ekwatorialnej. W niektórych przypadkach oddziaływania steryczne i elektronowe powodują, że podstawnik ten może się znaleźć w pozycji quasi-aksjalnej (ryc. 31).



Rycina 31. Budowa przestrzenna 10*H*-fenotiazyny (struktura 3D wykonana w ChemDraw 3D) z charakterystycznym kątem zgięcia w pierścieniu 1,4-tiazynowym.

Analiza rentgenostrukturalna 10*H*-fenotiazyny została opisana dwukrotnie ponad osiemdziesiąt lat po odkryciu przez Heinricha Bernthsenę tej molekuły (Bell i in., 1968; McDowell, 1976). Po raz pierwszy cząsteczka ta została scharakteryzowana przez Bella jako układ jednoskośny (Bell i in., 1968), a osiem lat później – przez McDowella jako układ rombowy (McDowell, 1976). Udowodniono, że rodzaj układu krystalograficznego wpływa na parametry strukturalne. Kąt dwuścienny pomiędzy płaszczyznami pierścieni benzenowych w układzie jednoskośnym wynosi 153,3°, a w układzie rombowym – 158,5°. Atom wodoru w pozycji 10 występuje w konformacji quasi-ekwatorialnej w stosunku do tiazynowego pierścienia. Długość wiązania węgiel–siarka (C-S) w układzie jednoskośnym wynosi 1,770 Å, w układzie rombowym – 1,762 Å, a długość wiązania węgiel–azot (C-N) odpowiednio 1,406 Å i 1,399 Å. W układzie jednoskośnym kąty pomiędzy wiązaniami węgiel–siarka–węgiel (C-S-C) i węgiel–azot–węgiel (C-N-C) wynoszą odpowiednio 99,6° i 121,5°, a w układzie rombowym – 100,9° i 124,4°. Badania te ukazały, że rodzaj układu krystalograficznego wpływa na parametry strukturalne, co może mieć zasadnicze przełożenie na oddziaływanie z określonymi celami molekularnymi. Niemniej najbardziej istotne znaczenie miało określenie przestrzennej budowy neuroleptycznych fenotiazyn, zawierających w pozycji 10 farmakoforowy podstawnik N,N-dialkiloaminoalkilowy, np.: dimetyloaminopropylowy, dietyloaminoetylowy, dimetyloamino-2-metylopropylowy, lub cykloaminoalkilowy, np. metylopiperazynopropylowy, hydroksyetylopiperazynopropylowy czy metylopipe rydynoetylowy (Chuu, 1988). Dla tego typu fenotiazyn stwierdzono również niepłaską budowę o kącie zgięcia dochodzącym prawie do 140°, np. w chlorpromazynie wynosi on 139,4°. Ponadto

warto zauważyć, iż w chlorpromazynie występuje labilny łańcuch trójwęglowy zakończony trzeciorzędową aminą i taki układ strukturalny determinuje wysokie receptorowe powinowactwo tej cząsteczki, a tym samym – aktywność przeciwpyschotyczną (ryc. 32).



Rycina 32. Przestrzenna budowa chlorpromazyny (struktura 3D wykonana w ChemDraw 3D) z charakterystycznym wygięciem łańcucha dimetyloaminopropylowego.

Podstawnik przy tiazynowym atomie azotu zajmuje pozycję quasi-ekwatorialną. W neuroleptycznych fenotiazynach następuje skrócenie wiązania węgiel-siarka (C-S) i zmniejszenie kąta węgiel-siarka-węgiel (C-S-C) w pierścieniu 1,4-tiazynowym, co prawdopodobnie jest wynikiem oddziaływań orbitalu d atomu siarki.

Zarówno charakterystyczna niepłaska, zgięta budowa, zwana budową motyla (z ang. *butterfly structure*), jak i odpowiednia odległość atomu azotu w łańcuchu alifatycznym są niezbędnymi czynnikami działania neuroleptycznego tego typu związków (Dea i in., 1988).

Warto zaznaczyć, że niektóre leki fenotiazynowe, takie jak np. prometazyna, lewopromazyna czy tioridazyna, posiadają asymetryczny atom węgla w łańcuchu bocznym. Wykazują właściwości chiralne. W literaturze czytamy także, że w przypadku trifluperazyny i prochlorperazyny w stanie stałym obserwujemy zjawisko enancjomorfizmu (McDowell, 1978; McDowell, 1979; McDowell, 1980). Dodatkowo niektóre fenotiazyny, jak np. tioridazyna, prochlorperazyna, trifluperazyna i triflupromazyna, występują w postaci dwóch niezależnych struktur w komórkach krystalograficznych (The Cambridge Structural Database, 2023).

Analiza strukturalna fenotiazyn z wykorzystaniem Cambridge Crystallographic Database, pozwala zauważyć, iż cząsteczki te nie zawsze posiadają konformację łódkową pierścienia 1,4-tiazynowego. Tego typu fenotiazyny w pewnych przypadkach tracą charakterystyczny kąt zgięcia i stają się prawie płaskie. Takie zmiany w strukturze cząsteczek fenotiazyn występują w związkach kompleksowych z pierwiastkami grup przejściowych, jak np. w kompleksach ze srebrem, złotem czy z miedzią (Obata i in., 1985).

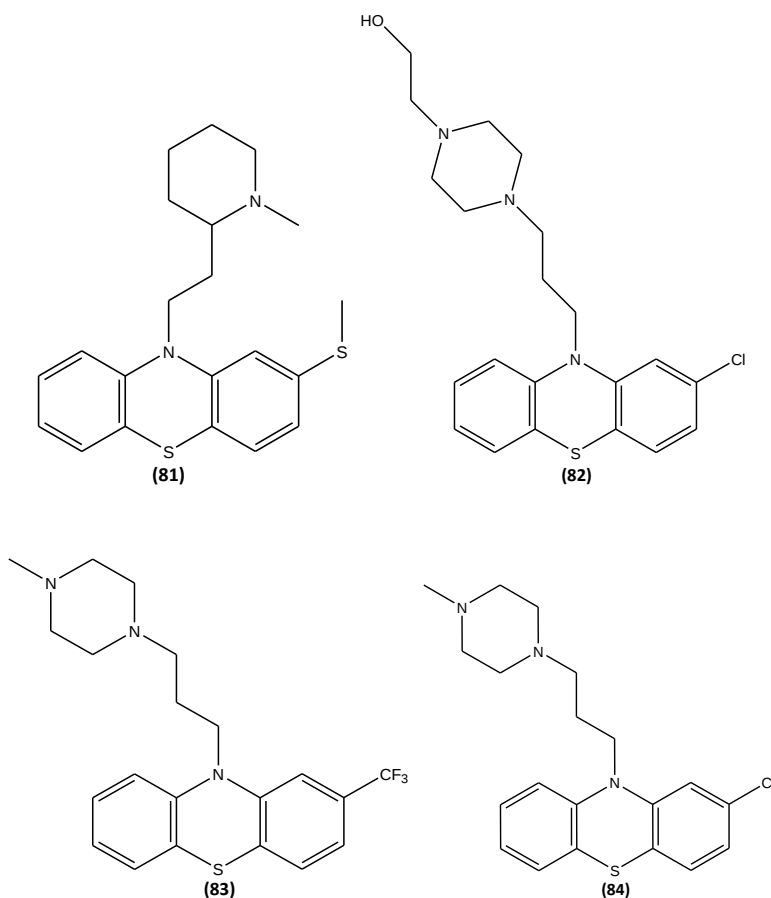
Należy mieć na uwadze, że analiza rentgenostrukturalna monokryształów wnosi wiele cennych informacji o budowie przestrzennej, konfiguracji i konformacji tricyklicznych fenotiazyn, ale badania te są wykonywane w ciele stałym. Analiza strukturalna przeprowadzona w roztworze przy użyciu spektroskopii NMR (Nuclear Magnetic Resonance) nie pozwala uzyskać tak szczegółowych danych. Uwzględnia się jednak fakt, że cząsteczka fenotiazyny w roztworze jest bardziej labilna i elastyczna. Uważa się, że pierścień tiazynowy również występuje w konformacji łódkowej, ale z możliwą inwersją, a podstawnik w pozycji 10 występuje w położeniu quasi-ekwatorialnym.

4. Potencjał przeciwnowotworowy wybranych neuroleptycznych fenotiazyn

Pierwsze sumaryczne ujęcie działania przeciwnowotworowego klasycznych fenotiazyn zostało wykonane przez zespół Motohashiego i przedstawione jako rozdział pt.: *Antitumor activity of phenothiazines (phenothiazine oncology)* w książce, która ukazała się pod koniec lat 80. ubiegłego wieku (Motohashi, 1988).

W kolejnych latach badano wpływ leczenia psychiatrycznego na częstość występowania chorób nowotworowych. Wyniki uzyskane dla populacji izraelskiej oraz żydowsko-izraelskiej pokazały, że znacznie mniejsza liczba zachorowań na nowotwór wystąpiła u pacjentów cierpiących na schizofrenię w porównaniu z osobami bez schizofrenii (Bisi i in., 2008). Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych, uwzględniające czynniki ryzyka i czynniki demograficzne, również wykazały zmniejszone ryzyko chorób nowotworowych u osób z rozpoznaniem schizofrenii w porównaniu z populacją ogólną (Kaur i Chu, 2013). Analiza wpływu leczenia psychiatrycznego na wybrane lokalizacje nowotworów ujawniła zwiększone ryzyko nowotworów specyficznych dla kobiet, takich jak nowotwór piersi. Wnioskowano, że przyczyną tego zjawiska może być wpływ leków psychiatrycznych na prolaktynę (Shaikh i in., 2006; Sharma i Singh, 2011). Można więc przypuszczać, że pacjenci leczeni na schizofrenię byli chronieni przed niektórymi chorobami nowotworowymi. Przyczyną tego zjawiska może być fakt, że leki neuroleptyczne stosowane w leczeniu schizofrenii, w tym fenotiazyny, wykazują także działanie przeciwnowotworowe i antyoksydacyjne (Jeleń i in., 2023).

Niniejsza praca stanowi przegląd badań wykonanych w ciągu ostatnich 13 lat dla siedmiu klasycznych leków fenotiazynowych o najbardziej obiecującym potencjale przeciwnowotworowym: chlorpromazyny 4, tiorydazyny 81, perfenazyny 82, flufenazyny 5, trifluoperazyny 83, prochlorperazyny 84, prometazyny 3. Struktury tych leków prezentują ryciny 2 i 33.



Rycina 33. Struktura tiorydazyny (81), perfenazyny (82), trifluoperazyny (83), prochlorperazyny (84).

5. Potencjał przeciwnowotworowy chlorpromazyny (4)

Wśród licznych doniesień ukazujących potencjał przeciwnowotworowy neuroleptycznych fenotiazyn uwagę zwraca skupienie się wielu badaczy na chlorpromazynie. Powoduje ona fragmentację DNA w ludzkich komórkach jamy ustnej (HSC-3 i Ca9-22) poprzez hamowanie fosforylacji Akt/mTOR. Zmniejszenie żywotności komórek nastąpiło przy minimalnej cytotoksyczności względem prawidłowych komórek jamy ustnej ($IC_{50} \approx 20 \mu M$) (Jhou i in., 2021). Na podstawie badań przesiewowych *in silico* chlorpromazynę scharakteryzowano jako małowcząstkową substancję wiążącą mSin3 PAH1. Wykazano, że pochodna wiąże się z wyizolowanym PAH1 połączonym z S-transferazami glutationu (GST), wykazując powinowactwo wiązania o wartości $15 \pm 4,2 \mu M$. Dokowanie chlorpromazyny do struktury PAH1 przedstawiło rearanżacje strukturalne indukowane tą molekułą. Stwierdzono, że pochodna, wiążąc się z PAH1 i indukując zmiany strukturalne, może blokować interakcje mSin3-REST, co z kolei zmniejsza represję transkrypcji, w której pośredniczy REST (Kurita i in., 2018). Doniesienia literaturowe wskazują na hamowanie sygnalizacji YAP w komórkach nowotworu piersi (MCF-7 i MDA-MB-231) przez chlorpromazynę. Pochodna indukowała zależny od dawki wzrost fosforylacji regulatorów YAP, LATS1 i MST1, promując w ten sposób fosforylację YAP i późniejszą degradację proteasomalną oraz obniżenie poziomów ekspresji jądrowej YAP. Hamowanie sygnalizacji YAP przez chlorpromazynę powodowało obniżenie poziomu macierzystości komórek nowotworu piersi, co skutkowało zmniejszeniem samoodnowy i chemooporności na doksorubicynę i taksol. Wpływ chlorpromazyny na YAP może być istotnym szlakiem zmniejszenia macierzystości i zwiększenia skuteczności istniejących chemioterapeutyków (Yang i in., 2019). W literaturze ukazano bezpośredni związek pomiędzy hamowaniem aktywności CcO przez chlorpromazynę a działaniem przeciwnowotworowym. Stwierdzono, że pochodna ta hamuje aktywność CcO w sposób zależny od dawki w opornych na TMZ liniach komórkowych glejaka (U251) wywodzących się z komórek UTMZ. Autorzy zaobserwowali jednak, iż związek ten nie miał wpływu na wrażliwe na TMZ komórki glejaka (U251). Specyficzność hamowania CcO najprawdopodobniej wynikała z preferencyjnego wiązania chlorprometazyny z miejscem wiązania styku COX4-1 i dwóch innych podjednostek kompleksu CcO. Hamowanie aktywności CcO przez chlorpromazynę było jednym z czynników wpływających na jej przeciwnowotworowe działanie (Oliva i in., 2017). Analiza sieci regulacji interakcji białkowych pozwoliła zidentyfikować MAPK8 i MAPK10 jako potencjalne cele przeciwnowotworowe dla chlorpromazyny (Qi i Ding, 2013). Chlorpromazyna indukuje również fosforylację kinazy regulowanej sygnałem zewnątrzkomórkowym $\frac{1}{2}$ (ERK $\frac{1}{2}$) i c-Jun N-końcowej kinazy (JNK), członków rodziny MAPK w linii komórkowej glejaka. Regulacja szlaku JNK(ERK1/2)/Egr-1/p21 przyczyniła się do przeciwnowotworowego działania chlorpromazyny w komórkach nowotworowych glejaka (C6). Chlorpromazyna zwiększyła fosforylację JNK i ERK1/2 w komórkach nowotworowych glejaka przy jednoczesnym zmniejszeniu fosforylacji p38 MAPK w tej samej linii komórkowej. Świadczyło to o zróżnicowanym wpływie tego neuroleptyku na kinazy, również na te same kinazy w zależności od rodzaju badanej linii komórkowej (Shin i in., 2010). Przeprowadzone badania wykazały, że chlorpromazyna zmniejszyła fosforylację ERK1/2 w komórkach mięsaka Ewinga (ES), prowadząc do zmniejszenia proliferacji komórek i indukowania apoptozy (Martins i in., 2011). Inne doniesienia ukazują działanie chlorpromazyny zwiększające fosforylację JNK w komórkach ludzkiego nowotworu jelita grubego (HCT116). Pochodna wywołuje zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych i zwiększenie apoptozy. Indukowana przez chlorpromazynę fosforylacja JNK przyczyniała się do degradacji inhibitora p53 sirtuiny 1 (SIRT1), indukując (bezpośrednio lub pośrednio) zależną od p53 apoptozę komórek HCT116 (Lee i in., 2015). Znana kinaza białkowa B (Akt) jest kolejną kinazą, na którą wpływa chlorpromazyna. Odpowiada ona za aktywację mTOR. Szlak Akt/mTOR reguluje cykl komórkowy i indukcję autofagii, a niedobory pojawiające się w tym szlaku zostały powiązane z chorobami nowotworowymi (Heras-Sandoval i in., 2014). Chlorpromazyna, bezpośrednio lub pośrednio, hamuje mTOR poprzez obniżenie poziomu fosforylowanego Akt (Shin i in., 2013). Pochodna zahamowała szlak Akt/mTOR w komórkach nowotworowych glejaka (U-87MG) pozbawionych PTEN, z konstytutywnie aktywnym szlakiem Akt/mTOR, wywołując zatrzymanie cyklu komórkowego i autofagiczną śmierć komórek. Chlorpromazyna zmniejszyła poziom fosforylacji Akt i mTOR, co doprowadziło do zatrzymania cyklu

komórkowego w fazie G2/M i zahamowania proliferacji również w komórkach nowotworu jamy ustnej (Jhou i in., 2021). Doniesienia literaturowe ukazują działanie przeciwnowotworowe chlorpromazyny wobec linii drobnokomórkowego nowotworu płuc (SCLC) (Zong i in., 2014). Chlorpromazyna hamuje kanały EAG i ERG, które należą do rodziny selektywnych kanałów potasowych uważanych za onkogenne (Asher i in., 2010; Wang i in., 2020). Regulacja aktywności kanałów EAG i ERG została powiązana z proliferacją i progresją różnych nowotworów (Asher i in., 2011; Badaoui i in., 2018; Huang i in., 2015; Valdés-Abadía i in., 2019). Zahamowanie aktywności tych kanałów, zarówno za pomocą niespecyficznych blokerów, jak i siRNA, zahamowało wzrost guzów nowotworowych (Glassmeier i in., 2012; Hartung i in., 2011; Huang i in., 2015). Hamowanie kanału EAG przez chlorpromazynę przebiegało poprzez inny mechanizm niż blokowanie kanału ERG. Pochodna ta wywoływała inhibicję kanału EAG w sposób zależny od stężenia i niezależny od stężenia IC_{50} , które wynosiło 3,7 μM . Hamowanie było wywołane najprawdopodobniej przez wiązanie się z wewnątrzkomórkową domeną PerArnt-Sim (PAS) kanałów. W przypadku kanałów ERG nie zauważono takiego mechanizmu (Wang i in., 2020). Doniesienia literaturowe wskazują, że chlorpromazyna zmniejszała poziom białka CALM w sposób zależny od stężenia, co powodowało zmianę lokalizacji komórkowej RTK z mutacjami związanymi z AML, bez zakłócania RTK typu dzikiego. Terapia chlorpromazyną była przyczyną dyslokacji zmutowanych RTK i obniżenia poziomów fosforylacji dalszych celów RTK. Ponadto pochodna hamowała wzrost komórek AML ze zmutowanymi RTK (Rai i in., 2020). Wykazano także silne działanie cytotoksyczne chlorpromazyny wobec opornych na TMZ komórek ludzkiego glejaka wielopostaciowego (GBM, U251) z wartością $IC_{50} = 13 \mu M$. Pochodna hamowała tworzenie neurosfery komórkowej i wzrost niezależny od przyczepności w miękkim podłożu agarowym. Ten przeciwnowotworowy efekt chlorpromazyny był specyficzny dla komórek GBM opornych na TMZ. W przypadku wrażliwych na TMZ komórek U251 zaobserwowano niewielkie zahamowanie wzrostu. Wnioskowano, że specyficzność tego efektu była spowodowana wiązaniem chlorpromazyny z podjednostką COX4-1 CcO wzbogaconą w komórkach U251 opornych na TMZ (Oliva i in., 2017). Wykorzystując linie komórkowe glejaka wielopostaciowego GBM (T98G, U-251 MG, U-87 MG), z których trzy (TS#1, TS#83, TS#163) wzrastały jako neurosfery pochodzące od pacjentów i wykazywały właściwości podobne do macierzystych, zbadano działanie przeciwnowotworowe chlorpromazyny. Zauważono, że hamowała ona żywotność komórek na drodze innego mechanizmu niż apoptoza oraz indukowała hiperdiploidię. Zmniejszała wydajność klonowania, a także tworzenie neurosfery i obniżała ekspresję genów macierzystych we wszystkich zastosowanych liniach komórkowych. Chlorpromazyna działała synergistycznie z temozolomidem, hamując żywotność komórek GBM. Wspólnie zmniejszały wydajność klonowania i indukowały śmierć komórek *in vitro* we wszystkich badanych liniach komórkowych (Matteoni i in., 2021). Doniesienia literaturowe prezentują aktywność chlorpromazyny względem komórek nowotworu jelita grubego (CRC). Pochodna ta indukowała zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M i wywoływała apoptozę w badanych komórkach. Zatrzymanie cyklu powiązано ze zmniejszoną aktywnością kompleksu cdc2/cykliny B1, w tym obniżoną ekspresją cykliny B1, cdc2 i cdc25c oraz podwyższonym poziomem ekspresji fosforylowanego cdc2 (Tyr15). Chlorpromazyna obniżała potencjał błony mitochondrialnej i podnosiła poziom reaktywnych form tlenu w komórkach nowotworowych. Jest to dowód na wewnątrzkomórkowy, mitochondrialny szlak apoptozy. Lek blokował fuzję autofagiczną i indukował cytotoksyczną autofagię w komórkach nowotworu jelita grubego. Wykazano, że chlorpromazyna hamowała wzrost guza (CRC, CT26) w dwóch podskórnych modelach mysich bez wywoływania skutków ubocznych. Na podstawie analizy liczebności komórek odpornościowych w mikrośrodowisku guza wykazano, że chlorpromazyna nie miała wpływu na ich proporcje. Autorzy zaobserwowali znaczące hamowanie przerzutów komórek CT26 do płuc i wydłużenie czasu życia myszy (Xu i in., 2022).

6. Działanie cytotoksyczne tiorydazyny (81)

Zbadano wpływ tiorydazyny na białka punktu kontrolnego. Wykazano, że jest ona w stanie hamować TCTP (sterowane translacją białko nowotworowe) i zwiększać ekspresję białka p53, co powoduje wzrost jego aktywności w indukowaniu apoptozy (Amson i in., 2011; Spengler i in., 2016). Blokuje ona także kinazy podobne do Tousled, które odpowiadają za rearanżację chromatyny w fazie S cyklu

komórkowego. Zahamowanie tych kinaz prowadzi do niestabilności genomu i apoptozy (Ronald i in., 2013; Spengler i in., 2016). Doniesienia literaturowe wskazują, że tiorydazyna zmniejsza ekspresję cykliny D1 i kinazy zależnej od cykliny 4 (CDK4), które odgrywają kluczową rolę w przejściu fazy G1 do fazy S. Ponadto zwiększa ekspresję białek hamujących CDK, takich jak p16 i p27, hamując przejścia G1/S i G2/M. Tiorydazyna zmniejsza ekspresję różnych białek antyapoptotycznych i antyproliferyacyjnych, takich jak chłoniak B-komórkowy-2 (BCL-2), surwiwina i onkogen mielocytomatozy komórkowej (c-MYC) (Park i in., 2014; Spengler i in., 2016). Badania przeprowadzone na komórkach nowotworowych szyjki macicy i endometrium udowodniły, że ten neuroleptyk blokuje szlak kinazy fosfoinozytydowej 3 (PI3K) oraz kinazy białkowej B (AKT), co może prowadzić do apoptozy i zahamowania proliferacji (Kang i in., 2012; Spengler i in., 2016). Badania *in silico* oparte na sygnaturach genów wykazały, że tiorydazyna hamuje szlak fosfatydyloinozytolo-3'-kinazy (PI3K)/Akt, a tym samym wywiera cytotoksyczność na komórki nowotworu jajnika (SKOV-3 i OVCAR-3) (Rho i in., 2011; Spengler i in., 2016). Tiorydazyna indukowała apoptozę oraz skutecznie hamowała wzrost stężenia glikoproteiny P w badaniach *in vitro* w stosunku do komórek nowotworowych mysiego chłoniaka (T MDR) (Spengler i in., 2011; Spengler i in., 2016). Intensywny metabolizm guzów nowotworowych jest możliwy dzięki zwiększonemu dopływowi krwi, który jest osiąganym między innymi poprzez wydzielanie naczyniowego czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF). Substancja ta wpływa na komórki śródbłonna i powoduje wnikanie małych naczyń krwionośnych do wnętrza guza. Tiorydazyna blokuje efekt stymulujący angiogenezę nowotworów. Badania *in vitro* przeprowadzone na komórkach nowotworowych jajnika (2774) wykazały, że hamuje ona ekspresję VEGF i czynnika indukowanego hipoksją 1 α (HIF1 α), a także zmniejsza fosforylację receptora VEGH 2 (Park i in., 2014; Spengler i in., 2016; Varga i in., 2017). Kolejne badania ukazały wpływ tego leku na selektywną inhibicję macierzystych komórek nowotworowych (CSC) bez hamowania somatycznych komórek macierzystych. Zakłada się, że efekt anty-CSC tiorydazyny może być spowodowany antagonizacją receptorów dopaminy, które ulegają ekspresji na CSC (Sachlos i in., 2012; Spengler i in., 2016; Varga i in., 2017). Podobny wynik zaobserwowano w przypadku komórek macierzystych glejaka (GBM8401 i U87MG), gdzie tiorydazyna indukowała autofagię i selektywnie niszczyła komórki macierzyste – bez wpływu na zdrowe neurony i komórki glejowe (Cheng i in., 2015; Spengler i in., 2016; Varga i in., 2017). Doniesienia literaturowe wskazują, że tiorydazyna jest w stanie hamować proliferację i inwazję CSC okrężnicy, a także zakłócać potencjał błony mitochondrialnej i zwiększać względną ekspresję genów proapoptotycznych BAX i kaspazy-3 (Varga i in., 2017; Zhang i in., 2017). Tiorydazyna wykazała selektywną cytotoksyczność wobec komórek ludzkiej białaczki w badaniach *in vitro*. Za pomocą macierzy PCR zobrazowano ekspresję genów zaangażowanych w szlaki śmierci komórkowej. Tiorydazyna wytworzyła impuls cytozolowy Ca²⁺, po którym nastąpił wychwyt mitochondrialny, powodując permeabilizację mitochondriów, aktywację kaspazy 9/3, stres retikulum endoplazmatycznego i apoptozę. Pochodna wykazała silną cytotoksyczność wobec komórek białaczkowych z nadekspresją BCL-2/BCL-xL. Doniesienia literaturowe prezentują także silną aktywność przeciwnowotworową tiorydazyny *in vivo* w różnych modelach guzów litych. Stwierdzono, że tiorydazyna indukuje apoptozę za pośrednictwem jonów wapnia z udziałem permeabilizacji mitochondriów i stresu ER. Świadczy to o potencjale farmakologicznym leku jako adiuwantu w terapii przeciwnowotworowej (Moraes i in., 2022). Zbadano potencjał przeciwnowotworowy tiorydazyny *in vitro* wobec linii komórkowej ludzkiego nowotworu wątroby (HepG2). Zaobserwowano zmniejszoną proliferację komórek poddanych działaniu tiorydazyny w porównaniu z komórkami nie poddanymi leczeniu. Zmniejszeniu uległa także ekspresja mRNA i białka PI3K/AKT w linii komórkowej nowotworu wątrobowokomórkowego (HCC). Tiorydazyna zmniejszała ekspresję antyoksydacyjnego mRNA SIRT1/NRF2. Poziom ROS znacznie wzrósł po zastosowaniu leczenia, natomiast poziom białka VEGF uległ znacznemu obniżeniu (Noha i in., 2021). Aktywność tiorydazyny w połączeniu z doksorubicyną przebadano także poprzez zastosowanie linii komórkowych nowotworu piersi (MCF-7). Stwierdzono, że połączenie tych dwóch leków może poprawić działanie przeciwnowotworowe doksorubicyny. Leczenie skojarzone zwiększyło ekspresję E-kadheryny, jednocześnie zmniejszając P-kadherynę, wimentynę i β -kateninę, co sugeruje, że leczenie może indukować odwrócenie EMT (Duarte i in., 2022).

7. Perfenazyna (82) i jej potencjał przeciwnowotworowy

Kolejną neuroleptyczną fenotiazyną wykazującą potencjał przeciwnowotworowy jest perfenazyna. Ukazano jej aktywność wobec komórek nowotworowych ludzkiego glejaka wielopostaciowego (U87-MG). Zaobserwowano zależny od stężenia spadek żywotności komórek z LC_{50} na poziomie 6,8 μ M. Sprawdzono także wpływ terapii łączonej na żywotność komórek – w tym celu zastosowano perfenazynę (5,0 μ M) z imatynibem (10,0 μ M). Wyniki wskazywały na znaczne zahamowanie żywotności komórek w przypadku terapii łączonej w porównaniu z substancjami stosowanymi osobno. Leczenie skojarzone wywołało wzrost fazy komórkowej G2/M o około 5% i spadek G0/G1 o 6% w porównaniu z lekami stosowanymi rozdzielnie. We frakcji sub-G1 i kaspazach 3, 4, 8 i 12 nie zaobserwowano zmian. Wnioskowano, że spadek żywotności U87-MG nie jest spowodowany apoptozą. Przeprowadzone badania wykazały, że perfenazyna, imatynib, a także obie substancje stosowane razem skutkują spadkiem międzykomórkowego poziomu ATP bez zmian w ekspresji pAKT/AKT po 24-godzinym leczeniu (Otręba i Kośmider, 2021; Tzadok i in., 2010). Zbadano indukcję apoptozy za pośrednictwem PP2A wywołaną przez perfenazynę, stosując linie komórkowe nowotworu ludzkiej ostrej białaczki limfoblastycznej T (KOPT-K1) oraz jej mysiego odpowiednika (142 T-ALL). Zastosowane leczenie wywołało pojawienie się frakcji DNA sub-G1, zwiększoną aktywność kaspaz i barwienie aneksyną V zarówno dla ludzkich, jak i mysich linii komórkowych. Świadczy to o wywołanej apoptozie analizowanych ludzkich komórek KOPT-K1 i mysich 142 T-ALL. Zaobserwowano również defosforylację substratów PP2A bez wpływu na poziom całkowitej AKT, ERK, p70S6K, MYC i BAD po inkubacji ludzkich komórek KOPT-K1. Perfenazyna powodowała defosforylację AKT, p70S6K i BAD oraz upośledzała wzrost komórek w liniach komórkowych 4T-ALL (hTALL1, hTALL2, hTALL6, hTALL8) (Gutierrez i in., 2014; Otręba i Kośmider, 2021). Działanie przeciwnowotworowe perfenazyny prze-testowano w stosunku do linii komórkowej chłoniaka psów (UL-1 i Ema). Zaobserwowano zależny od stężenia spadek żywotności komórek: o 50% (Ema) i 60% (UL-1) po 72 h od podania perfenazyny (10 μ M). Dwunastogodzinna espozycja perfenazyny (20 μ M) spowodowała zwiększenie poziomu kaspazy 3 w obu liniach komórkowych, a także zwiększenie poziomu aneksyny V w linii komórkowej UL-1, co świadczy o wyindukowaniu apoptozy (Otręba i Kośmider, 2021; Tsuji i in., 2016). Doniesienia literaturowe wskazują, że perfenazyna hamuje aktywności kinazy białkowej B i ERK1/2 w komórkach nowotworowych chłoniaka (LC: H69, H82, H592, U-1258, U-1568, U-1690, U-1906 i U 2020 (wszystkie SCLC); A549, H125, H1299, H157, H23, H661, U-1752 i U-1810 (wszystkie NSCLC). Za znaczne zmniejszenie żywotności uznano inhibitor sygnalizacji Akt (inhibitor Akt VIII, 10 i 30 μ M). Nie zaobserwowano zmniejszenia żywotności komórek po zahamowaniu ERK1/2 (FR180204, 10 i 30 μ M), zauważono jednak indukcję proliferacji komórek po zahamowaniu MEK1/2 (U0126, 5 i 10 μ M) (Otręba i Kośmider, 2021; Zong i in., 2014). Perfenazyna została także poddana badaniom w celu sprawdzenia jej aktywności przeciwnowotworowej wobec komórek nowotworowych trzustki. Przeprowadzona analiza żywotności komórek wykazała, że wartość IC_{50} dla pięciu linii komórkowych nowotworu trzustki po zastosowanej terapii wynosiła: 44,4 μ M (SU8686), 26,2 μ M (Panc0203), 31,4 μ M (Panc0327), 23,9 μ M (AsPc1) i 16,7 μ M (BxPc3). Dwie linie komórkowe nowotworu trzustki (MiaCaPa2 i Panc1005) wykazywały oporność na perfenazynę (Chien i in., 2015; Otręba i Kośmider, 2021).

8. Cytotoksyczność flufenazyny (5)

W literaturze odnotowano liczne doniesienia o aktywności przeciwnowotworowej flufenazyny. Wykazywała ona aktywność cytotoksyczną w stosunku do dwóch typów komórek mezenchymalnych glejaka (GSC#1) i prawidłowych (GSC#9) o właściwościach macierzystych. Flufenazyna (20 μ M) wywołała zmniejszenie żywotności komórek o 95%, najprawdopodobniej poprzez hamowanie proteazy MALT1. Analiza poziomów AKT, S6 i p70S6K w lizacie komórek GSC#9 wykazała, że lek nie wpływał na aktywację i fosforylację analizowanych białek (Jacobs i in., 2019; Otręba i Kośmider, 2021). Flufenazyna wywoływała proliferację, migrację i inwazję komórek ludzkiego nowotworu piersi MDA-MB-231 i Hs578T. Lek w dawce 20 μ M zmniejszył inwazję komórek o około 75% (MDA-MB-231) i 40% (Hs578T). Migracja komórek uległa zmniejszeniu do wartości poniżej 0,5 i 0,4 μ m/min

odpowiednio dla komórek MDA-MB-231 i Hs578T. Zaobserwowano także zależne od dawki zmniejszenie proliferacji komórek ludzkiego nowotworu piersi wyrażonych przez lucyferazę (MDA-MB-231-Luc). Analiza cyklu komórkowego wykazała zatrzymanie cyklu w fazie G1/S w obu liniach komórkowych (około 80% komórek MDA-MB-231, 70% komórek Hs578T). Flufenazyna (5, 15 i 20 μM) zmniejszała w sposób zależny od dawki tworzenie się sfer nowotworowych w komórkach MDA-MB-231 (od około 50% do 10%) i Hs578T TNBC (od około 70% do 10%), co świadczy o zdolności leku do hamowania progresji guza. Przy wysokich stężeniach flufenazyny (20, 25 i 30 μM) zaobserwowano promowanie apoptozy, czyli programowanej śmierci komórek. Po zadaniu komórek MDA-MB-231 i Hs578T flufenazyną (30 μM) 30% z badanej populacji wykazywało dodatni efekt w stosunku do aneksyny V, co świadczy o wystąpieniu apoptozy (Goyette i in., 2019; Otręba i Kośmider, 2021). Kolejne badania ukazały, że flufenazyna wykazuje działanie hamujące proliferację w następujących liniach komórkowych nowotworu piersi: 4T1, 4T1-Fu5, MDA-MB-231, MDA-MB-231-FU10, MCF-7, SKBR-3, MDA-MB-468, BT549, BT474 i HCC1954 z wartościami IC_{50} wynoszącymi odpowiednio: 7, 14, 14, 13, 4, 6, 10, 10, 11 i 12 μM . W przypadku linii komórkowych 4T1 i MDA-MB-231 wykazano zależne od czasu i stężenia zmniejszenie żywotności. Flufenazyna zmniejszała ekspresję p44/42 ERK i fosforylowanej AKT. W liniach komórkowych nowotworu piersi (4T1 i MDA-MB-231) zaobserwowano zwiększenie rozkładu fazy G0/G1 o około 9% w porównaniu z próbą kontrolną. Uzyskane wyniki pokazały działanie obniżające poziom ekspresji kinazy zależnej od cyklin CDK2, CDK4, cykliny D1 i cykliny E w sposób zależny od stężenia. Ponadto zaobserwowano zwiększenie ekspresji kluczowych kontrolerów przejścia G1/S, p21 w obu liniach komórkowych i p27 w komórkach MDA-MB-231. Zaobserwowano fragmentację jądrową i zmniejszenie objętości komórek. Przeprowadzone badania wykazały, że liczba komórek apoptycznych wzrosła z około 4% do 86% po 72-godzinym działaniu flufenazyną (zakres stężeń 0–20 μM). Pomiar poziomów kaspazy 3, BAX i BCL-2 wykazał zwiększone rozszczepienie kaspazy, spadek BCL-2 i niewielki wzrost BAX. Analiza zmian potencjału błony mitochondrialnej w czasie cytometrii przepływowej dowiodła, że apoptoza jest indukowana przez wewnętrzny szlak apoptotyczny, w którym pośredniczą mitochondria. Zmierzony poziom reaktywnych form tlenu (ROS) potwierdził jego wzrost po 12-godzinnej ekspozycji. Test Transwella potwierdził zdolność flufenazyny do hamowania przerzutów (Otręba i Kośmider, 2021; Xu i in., 2019). Badania przeprowadzone na hodowli 2D linii komórkowej ludzkiego nowotworu okrężnicy (HCT116) pozwoliły uzyskać wartość EC_{50} poniżej 10 μM w warunkach normoksji dla flufenazyny (Klutny i in., 2017; Otręba i Kośmider, 2021). Doniesienia literaturowe wskazują, że flufenazyna (2,5 μM) zwiększyła akumulację doksycykliny, obniżyła poziom ABCB1 oraz zmniejszyła aktywność i ekspresję cyklooksygenazy (COX-2) w linii komórkowej nowotworu okrężnicy LOVO/Dx. Potwierdza to aktywność antyproliferacyjną i proapoptotyczną tego neuroleptyku. Zaobserwowano zmniejszoną ekspresję BCL-2 ze zwiększoną ekspresją proapoptotycznego BAX oraz aktywność kaspazy 3, co może świadczyć o stymulacji apoptozy w komórkach nowotworu okrężnicy i wskazuje na działanie związane z odwracaniem oporności wielolekowej (anty-MDR) (Otręba i Kośmider, 2021; Środa-Pomianek, 2019). Zbadano żywotność komórek hodowli tkankowej wątrobiaka (HTC) po leczeniu flufenazyną. Otrzymane wyniki wskazują na zależny od stężenia spadek żywotności komórek w zakresie stężeń od 12,5 μM do 125 μM . Wartość EC_{50} wynosiła $63,2 \pm 1,0 \mu\text{M}$ (de Faria i in., 2015; Otręba i Kośmider, 2021). Doniesienia literaturowe ukazują wpływ flufenazyny na linie komórkowe ludzkiego nowotworu płuc. Związek ten (10 μM) zmniejszył żywotność komórek o 58% (SCLC H69), 100% (SCLC H82), 69% (SCLC H592), 100% (SCLC U-1285), 14% (SCLC U-1568), 29% (SCLC U-1690), 76% (SCLC U-1906) i 94% (SCLC U-2020). W przypadku linii NSCLC spadek żywotności wynosił 6% (A549), 0% (H125), 0% (H1299), 37% (H157), 7% (H23), 19% (H661), 31% (U-1752) i 20% (U-1810). Flufenazyna wywołała znaczną cytotoksyczność pierwotnych fibroblastów płuc płodu (WI-38). Ponadto spowodowała zależny od czasu i dawki wzrost pojawienia się markera autofagii w liniach komórkowych SCLC i NSCLC (Otręba i Kośmider, 2021; Zong i in., 2014). Zmierzono antyproliferacyjny wpływ flufenazyny na linie nie-drobnokomórkowego nowotworu płuc NSCLC (A549, PC9, PC9/R, H1975 i H522). Oszacowane wartości IC_{50} wynosiły: 58,92 μM (A549), 10,90 μM (PC9), 8,08 μM (PC9/R), 12,36 μM (H1975) i 12,67 (H522) (Jiang i in., 2018; Otręba i Kośmider, 2021). Badania wykazały, że flufenazyna (10 μM) działa hamująco względem glikoproteiny P (P-gp), a także uwrażliwia komórki nowotworowe odporne na

HAL. Zaobserwowany efekt jest jednak słabszy niż przy użyciu aripiprazolu (2,5 μM). Działanie hamujące P-gp wywołane flufenazyną było 10 razy mniejsze niż aripiprazolu, co świadczy o mniejszej swoistości wiązania flufenazyny z P-gp (Kim i in., 2018; Otręba i Kośmider, 2021). Literatura wskazuje na działanie uwrażliwiające flufenazyny na przykładzie linii komórkowej ludzkiego raka płaskonabłonkowego jamy ustnej (KB) i jej wielolekoopornej podlinii (KBV20C). Pochodna uwrażliwiła komórki KBV20C poddane działaniu HAL skuteczniej niż donepezil (DON). Flufenazyna wykazała niższą aktywność hamującą P-gp w porównaniu z DON, co może świadczyć o potencjalnie niższej toksyczności leku względem prawidłowych komórek (Kim i in., 2018; Otręba i Kośmider, 2021).

9. Trifluoperazyna (83) i jej potencjał cytotoksyczny

W kierunku aktywności przeciwnowotworowej prowadzono również badania nad trifluoperazyną. Przeprowadzone zostały badania *in vitro* z wykorzystaniem linii komórkowej nowotworu okrężnicy (CRC HCT116). Zaobserwowano, że trifluoperazyna osłabiła żywotność komórek HCT116 w sposób zależny od czasu i dawki. Wyliczona wartość IC_{50} wyniosła 14 μM . Zastosowany test Edu wykazał, że trifluoperazyna (5,5 μM) spowodowała działanie hamujące proliferację, czemu towarzyszyła indukcja apoptozy i autofagii. Stwierdzono, że trifluoperazyna może hamować żywotność i proliferację komórek CRC *in vitro*. Trifluoperazyna (5,5 μM) znacząco promowała apoptozę komórek. Obniżeniu uległa ekspresja CCNE1, CDK4 i czynnika antyapoptotycznego BCL-2, natomiast czynnik proapoptotyczny BAX uległ podwyższeniu. Trifluoperazyna stłumiła zdolność do migracji i inwazji CRC HCT116 poprzez hamowanie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT). Badania *in vivo* wykorzystujące model ksenoprzeszczepu ludzkiego HCT116 wykazały, że pochodna fenotiazyny znacznie zahamowała wzrost guza. Przeprowadzona analiza wskaźnika proliferacji wykazała, że trifluoperazyna zmniejsza poziom Ki-67 *in vivo*. Wyniki analizy fenotypu EMT komórek nowotworowych wskazują na zwiększenie ekspresji E-kadheryny, ale zmniejszenie ekspresji N-kadheryny. Potwierdzono, że trifluoperazyna hamuje fenotyp EMT (Qian i in., 2019).

10. Potencjał przeciwnowotworowy prochlorperazyny (84)

W literaturze odnotowany został również potencjał przeciwnowotworowy prochlorperazyny. Związek ten poddano analizie pod kątem jego wpływu na proliferację komórek inicjujących przerzuty do mózgu (BT478). Zaobserwowano zależny od stężenia spadek żywotności komórek, a wartość EC_{50} wyniosła 11,9 μM (Otręba i Kośmider, 2021; Singh i in., 2018).

11. Cytotoksyczność neuroleptycznych fenotiazyn w terapiach skojarzonych

Istnieją liczne prace naukowe wskazujące na użycie neuroleptycznych fenotiazyn w terapiach skojarzonych. Jeden z artykułów prezentuje aktywność przeciwnowotworową prometazyny, chlorpromazyny i tiorydazyny w połączeniu z 11 aktywnymi związkami selenu wobec linii komórkowej mysiego chłoniaka T MDR. Fenotiazyny z różnymi modyfikacjami chemicznymi wykazywały różne poziomy właściwości adiuwantowych. W zaprezentowanych badaniach tiorydazyna wykazywała w niższym zakresie stężeń niższe wartości CI w porównaniu z prometazyną i chlorpromazyną (Gajdacs i in., 2020). W innych tekstach naukowych ukazano, że flufenazyna, prochlorperazyna i perfenazyna wykazywały cytotoksyczność w stosunku do linii komórkowych ludzkiego glejaka wielopostaciowego (GBM8401 i U87-MG). Klonogenne IC_{50} wynosiło poniżej 10 μM dla perfenazyny i prochlorperazyny, natomiast dla flufenazyny nie wyznaczono tego parametru. IC_{50} określone przy użyciu eksperymentu MTT wynosiło 5–10 μM dla flufenazyny i perfenazyny, oraz powyżej 10 μM dla prochlorperazyny. Na podstawie analizy wyników testu MTT dla komórek U87MG i GBM8401 dla flufenazyny stwierdzono zależny od stężenia znaczny spadek żywotności komórek (Cheng i in., 2015; Otręba i Kośmider, 2021). Wpływ perfenazyny i prochlorperazyny zbadano także na linii komórkowej ludzkiego glejaka (U87-MG). Zauważono zależny od dawki spadek żywotności komórek w stężeniach od 0,5 μM do 10,0 μM w zakresie 32,0–92,2% i 30,5–92,7% po podaniu odpowiednio perfenazyny i prochlorperazyny. Wyznaczone wartości EC_{50} wynosiły 0,98 μM i 0,97 μM odpowiednio dla perfenazyny i prochlorperazyny (Otręba i Buszman, 2018; Otręba i Kośmider, 2021). Pochodne fenotiazyny przetestowano na linii komórkowej ludzkiego nowotworu płaskonabłonkowego jamy ustnej (KB) i jej

wielolekoopornej podlinii (KBV20C). Na podstawie wykonanego testu żywotności stwierdzono, że chlorpromazyna (5 μM) nie uwrażliwia komórek (KBV20C) opornych na winkrystynę. Efekt uwrażliwiający uzyskano przy jednoczesnym zastosowaniu loratadyny i flufenazyny o niskich stężeniach. Loratadyna i flufenazyna (5 μM) w połączeniu z eribuliną wykazały zbliżone działanie uwrażliwiające jak winkrystyna z loratadyną lub winkrystyna z flufenazyną. Świadczy to o skuteczności uwrażliwiania opornych komórek nowotworowych przez flufenazynę i loratadynę w terapii skojarzonej z eribuliną lub winkrystyną. Flufenazyna i loratadyna, w niskich dawkach, mogą być również łączone z innymi lekami antymitotycznymi w celu uwrażliwiania komórek nowotworowych z nadekspresją P-gp (Kim i in., 2019; Otręba i Kośmider, 2021). Zbadano także wpływ pochodnych fenotiazyny na komórki czerniaka. Oszacowane na podstawie badań żywotności komórek wartości IC_{50} dla linii komórkowych czerniaka po terapii flufenazyną wynosiły: 10,5 μM (UACC903), 9,5 μM (1205Lu), 24,5 μM (451Lu), 21,1 μM (451LuR), 19,1 μM (WM164M) i 21,7 μM (C8161.C19). Wartości IC_{50} dla perfenazyny wynosiły: 9,7 μM (UACC903), 9,3 μM (1205Lu), 17,9 μM (451Lu), 10,9 μM (451LuR), 15,2 μM (WM164M) i 23,2 μM (C8161.C19). Obliczono również wartości IC_{50} dla ludzkiej linii komórkowej fibroblastów (FF2441) po terapii flufenazyną i perfenazyną, były one na poziomie odpowiednio 24,6 μM i 50,5 μM . Uzyskane wyniki pokazują, że komórki czerniaka wykazywały większą wrażliwość wobec perfenazyny, która była mniej toksyczna względem komórek prawidłowych. Komórki UACC903 poddano perfenazynie w dawce 10 μM i wybarwiono aneksyną-V/PI. Zaobserwowano znaczny wzrost odsetka wczesnych komórek apoptotycznych (8%) w porównaniu z kontrolą (1,5%), a także komórek nekrotycznych (27,3%) względem kontroli (0,4%). Trzygodzinna inkubacja komórek UACC903 z perfenazyną (10 μM) wywołała spadek MMP w 15% komórek. Dalsza terapia spowodowała wzrost komórek z niższym MMP do 24%. Śmierć komórek wywołana działaniem flufenazyny i perfenazyny nie była zależna od kaspazy i indukował ją prawdopodobnie inny szlak śmierci komórkowej (Kuzu i in., 2017; Otręba i Kośmider, 2021). Aktywność perfenazyny i prochlorperazyny w stosunku do czerniaka zbadano dzięki ludzkim komórkom melanocytycznym (COLO829) i amelanocytycznym (C32). Na podstawie żywotności komórek obliczono wartości EC_{50} dla perfenazyny (3,99 μM i 2,62 μM) i prochlorperazyny (3,76 μM i 2,90 μM) odpowiednio dla komórek COLO829 i C32. Zmierzono również ruchliwość komórek po podaniu leków. Zaobserwowano działanie hamujące przerzutowanie komórek C32. Na podstawie uzyskanych wyników wnioskowano, że prochlorperazyna może hamować rozprzestrzenianie się czerniaka amelanocytycznego *in vivo*. W linii komórkowej COLO829 zaobserwowano zależny od dawki wzrost poziomu MITF, a w komórkach C32 – znaczący spadek poziomu MITF po działaniu prochlorperazyną (Otręba i Kośmider, 2021; Otręba i in., 2019). Zmierzono wartości EC_{50} dla prawidłowych ludzkich melanocytów naskórka (HEMn), ciemnopigmentowanych i jasno-pigmentowanych, wynosiły 2,76 μM (Otręba i Kośmider, 2021; Otręba i in., 2016) i 18,49 μM (Otręba i Kośmider, 2021; Otręba i in., 2017) odpowiednio dla perfenazyny i prochlorperazyny w stosunku do ciemnopigmentowanych komórek (HEMn) oraz 0,63 μM (Otręba i Kośmider, 2021; Otręba i in., 2018) dla jasnopigmentowanych komórek (HEMn) traktowanych prochlorperazyną. Uzyskane wyniki świadczą o mniejszej toksyczności stosowanych leków względem czerniaka melanocytycznego niż amelanocytycznego (Otręba i Kośmider, 2021; Otręba i in., 2018).

12. Podsumowanie

Od wielu lat fenotiazyny wzbudzają zainteresowanie środowisk naukowych ze względu na istotną rolę, jaką odgrywają w medycynie. W literaturze naukowej pojawiło się wiele doniesień o cennych aktywnościach fenotiazyn, które nie są związane z ich aktywnością antypsychotyczną. W niniejszym artykule ukazano rezultaty badań ostatnich lat nad potencjałem przeciwnowotworowym neuroleptycznych fenotiazyn z uwzględnieniem różnych ścieżek syntezy tych pochodnych i badań strukturalnych. Intensywny postęp nauki w tym kierunku budzi duże nadzieje, iż związki te mogą okazać się cenne w walce z chorobami cywilizacyjnymi, do których należą choroby nowotworowe.

Finansowanie: Grant Metropolitarnego Funduszu Wspierania Nauki 2023: PCN-1-041/K/2/F, PCN-1-043/K/2/F.

Bibliografia

- Aaron J.J., Gaye Seye M.D., Trajkovska S., Motohashi N. 2009. Bioactive Phenothiazines and Benzo[a]phenothiazines: Spectroscopic studies and biological and biomedical properties and applications. W: Motohashi N. (red.) *Bioactive Heterocycles VII, Topics in Heterocyclic Chemistry*. Tom 16, str. 153–231.
Dostępne online: https://link.springer.com/chapter/10.1007/7081_2008_125
(dostęp: 21.12.2023).
- Amaral L., Viveiros M., Kristiansen J.E. 2001. Phenothiazines: potential alternatives for the management of antibiotics resistant infections of tuberculosis and malaria in developing countries. *Tropical Medicine and International Health* 12, str. 1016–1022.
DOI: [10.1046/j.1365-3156.2001.00804.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2001.00804.x).
- Amson R., Pece S., Lespagnol A., Vyas R., Mazzarol G., Tosoni D., Colaluca I., Viale G., Rodrigues-Ferreira S., Wynendaele J., Chaloin O., Hoebeke J., Marine J.C., Di Fiore P.P., Telerman A. 2011. Reciprocal repression between P53 and TCTP. *Nature Medicine* 18, str. 91–99.
DOI: [10.1038/nm.2546](https://doi.org/10.1038/nm.2546).
- Anderson J. M., Kochi J. K. 1970. Silver(I)-catalyzed oxidative decarboxylation of acids by peroxydisulfate. Role of silver(II). *Journal of the American Chemical Society* 92, str. 1651–1659.
DOI: [10.1021/ja00709a039](https://doi.org/10.1021/ja00709a039).
- Asher V., Sowter H., Shaw R., Bali A., Khan R. 2010. Eag and HERG potassium channels as novel therapeutic targets in cancer. *World Journal of Surgical Oncology* 8, nr art. 113.
DOI: [10.1186%2F1477-7819-8-113](https://doi.org/10.1186%2F1477-7819-8-113).
- Asher V., Warren A., Shaw R., Sowter H., Bali A., Khan R. 2011. The role of Eag and HERG channels in cell proliferation and apoptotic cell death in SK-OV-3 ovarian cancer cell line. *Cancer Cell International* 11, nr art. 6. DOI: [10.1186/1475-2867-11-6](https://doi.org/10.1186/1475-2867-11-6).
- Badaoui M., Mimsy-Julienne C., Saby C., Van Gulick L., Peretti M., Jeannesson P., Morjani H., Ouadid-Ahidouch H. 2018. Collagen type 1 promotes survival of human breast cancer cells by overexpressing Kv10.1 potassium and Orai1 calcium channels through DDR1-dependent pathway. *Oncotarget* 9, 37, str. 24653–24671. DOI: [10.18632/oncotarget.19065](https://doi.org/10.18632/oncotarget.19065).
- Baguley B.C., Biggar R.J., Beland F.A., Carcache de Blanco E.J., Betz J.M., Cunningham M.L., Dunnick J.K., Lachenmeier D.W., Guo L., Lunn R.M., Jameson C.W., Marques M.M., Karagas M., McCormick D L., Knight T.L., Singh S. 2016. Methylene Blue. *Some Drugs and Herbal Products* 108, str. 155–179.
- Barak Y., Achiron A., Mandel M., Mirecki I., Aizenberg D. 2005. Reduced cancer incidence among patients with schizophrenia. *Cancer* 104 (12), str. 2817–2821. DOI: [10.1002/cncr.21574](https://doi.org/10.1002/cncr.21574).
- Bell J. D., Blount J. F., Briscoe O. V., Freeman H. C. 1968. The crystal structure of phenothiazine. *Chemical Communications* 24, str. 1656–1657. DOI: [10.1039/C19680001656](https://doi.org/10.1039/C19680001656).
- Berntsen A. 1883. Über das Methylenblau. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 16, 1, str. 1025–1028. DOI: [10.1002/cber.188301601231](https://doi.org/10.1002/cber.188301601231).
- Bisi A., Meli M., Gobbi S., Rampa A., Tolomeo M., Dusonchet L. 2008. Multidrug resistance reverting activity and antitumor profile of new phenothiazine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16(13), str. 6474–6482. DOI: [10.1016/j.bmc.2008.05.040](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.05.040).
- Bonvicino G.E., Yogodzinski L.H., Hardy R.A. 1962. A New Type of Smiles Rearrangement of N,N-Dialkyl-N'-[2-(o-bromophenoxy)phenyl]- 1,3-propanediamines to 2-[N-(3-Dialkylamino-propyl)-o-bromoanilino]phenols. *Journal of Organic Chemistry* 27, str. 4272–4280.
DOI: [10.1021/jo01059a035](https://doi.org/10.1021/jo01059a035).

- Cheng H.W., Liang Y.H., Kuo Y.L., Chuu C.P., Lin C.Y., Lee M.H., Wu A. T.H., Yeh C. T., Chen El. T., Whang-Peng J., Su C. L., Huang C.YF. 2015. Identification of thioridazine, an antipsychotic drug, as an antiglioblastoma and anticancer stem cell agent using public gene expression data. *Cell Death & Disease* 6(5), nr art. e1753. DOI: [10.1038/cddis.2015.77](https://doi.org/10.1038/cddis.2015.77).
- Chien W., Sun Q.Y., Lee K.L., Ding L.W., Wuensche P., Torres-Fernandez L.A., Koeffler H.P. 2015. Activation of protein phosphatase 2A tumor suppressor as potential treatment of pancreatic cancer. *Molecular Oncology* 9, str. 889–905. DOI: [10.1016/j.molonc.2015.01.002](https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.01.002).
- Chu S.C.C. 1988. Phenothiazines and 1,4-benzothiazines: Chemical and Biomedical Aspects. W: Gupta. R.R. (red.) *Crystal structures of phenothiazines and 1,4-benzothiazines*. Elsevier, str. 475–524. DOI: [10.1002/recl.19891080412](https://doi.org/10.1002/recl.19891080412).
- Cohen M., Dembling B., Schorling J. 2002. The association between schizophrenia and cancer: a population-based mortality study. *Schizophrenia Research* 57(2–3), str. 139–146. DOI: [10.1016/s0920-9964\(01\)00308-5](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(01)00308-5).
- Dasgupta A., Dastridara S.G., Shirataki Y., Motohashi N. 2008. Antibacterial activity of artificial phenothiazines and isoflavones from plants. *Bioactive Heterocycles VI, Topics in Heterocyclic Chemistry* 15, str. 67–132. DOI: [10.1007/7081_2007_108](https://doi.org/10.1007/7081_2007_108).
- de Faria P.A., Bettanin F., Cunha R.L., Paredes-Gamero E.J., Homem-de-Mello P., Nantes I.L., Rodrigues T. 2015. Cytotoxicity of phenothiazine derivatives associated with mitochondrial dysfunction: a structure-activity investigation. *Toxicology* 330, str. 44–54. DOI: [10.1016/j.tox.2015.02.004](https://doi.org/10.1016/j.tox.2015.02.004).
- Dea P. K., Keyzer H., Maurer J.S. Phenothiazines and 1,4-benzothiazines: Chemical and Biomedical Aspects. W: Gupta R.R. (red.) *Structure-activity relationship of phenothiazines and 1,4-benzothiazines*. Elsevier, str. 1988–1992.
- DrugBank. Dostępe online: <https://go.drugbank.com/> (3.02.2024).
- Duarte D., Rêma A., Amorim I., Vale N. 2022. Drug Combinations: A New Strategy to Extend Drug Repurposing and Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast and Colon Cancer Cells. *Biomolecules* 12(2), nr art. 190. DOI: [10.3390/biom12020190](https://doi.org/10.3390/biom12020190).
- Evans W.J., Smiles S. 1935. Derivatives of o-thioldiphenylamine. *Journal of the American Chemical Society*, str. 1263–1265. DOI: [10.1039/JR9350001263](https://doi.org/10.1039/JR9350001263).
- Fujiwara R., Taniguchi Y., Rai S., Iwata Y., Fujii A., Fujimoto K., Kumode T., Serizawa K., Morita Y., Espinoza J. L., Tanaka H., Hanamoto H., Matsumura I. 2022. Chlorpromazine cooperatively induces apoptosis with tyrosine kinase inhibitors in EGFR-mutated lung cancer cell lines and restores the sensitivity to gefitinib in T790M-harboring resistant cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 626, str. 156–166. DOI: [10.1016/j.bbrc.2022.08.010](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.08.010).
- Gajdacs M., Nove M., Csonka A., Varga B., Sanmartin C., Varez E.D., Spengler G. 2020. Phenothiazines and Selenocompounds: A Potential Novel Combination Therapy of Multidrug Resistant Cancer. *Anticancer Research* 40(9), str. 4921–4928. DOI: [10.21873/anticancer.14495](https://doi.org/10.21873/anticancer.14495).
- Galbraith F., Smiles. S. 1935. The rearrangement of o-hydroxysulphones. *Journal of the American Chemical Society*, str. 1234–1238. DOI: [10.1039/JR9350001234](https://doi.org/10.1039/JR9350001234).
- Glassmeier G., Hempel K., Wulfsen I., Bauer C.K., Schumacher U., Schwarz J.R. 2012. Inhibition of HERG1 K⁺ channel protein expression decreases cell proliferation of human small cell lung cancer cells. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 463(2), str. 365–376. DOI: [10.1007/s00424-011-1045-z](https://doi.org/10.1007/s00424-011-1045-z).
- Goyette M.A., Cusseddu R., Elkholi I., Abu-Thuraia A., El-Hachem N., Haibe-Kains B., Côté J.F. 2019. AXL knockdown gene signature reveals a drug repurposing opportunity for a class of antipsychotics to reduce growth and metastasis of triple-negative breast cancer. *Oncotarget* 10(21), str. 2055–2067. DOI: [10.18632/oncotarget.26725](https://doi.org/10.18632/oncotarget.26725).
- Gupta R.R., Kumar M. 1988. Synthesis, properties and reactions of phenothiazines. Phenothiazine and 1,4-Benzothiazines—Chemical and Biological Aspect. *Elsevier* 108(4), str. 1–161. DOI: [10.1002/recl.19891080412](https://doi.org/10.1002/recl.19891080412).

- Gutierrez A., Pan L., Groen R.W., Baleyrier F., Kentsis A., Ma-rineau J., Aster J.C. 2014. Phenothiazines induce PP2A-mediated apoptosis in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Investigation* 124, str. 644–655. DOI: [10.1172/JCI65093](https://doi.org/10.1172/JCI65093).
- Harpur R.P., Swales W.E., Danstedt D.F. 1950. The fate of phenothiazine in the gastrointestinal tract of the sheep. *Canadian Journal of Research* D28, str. 143–161. DOI: [10.1139/cjr50d-011](https://doi.org/10.1139/cjr50d-011).
- Hartung F., Stühmer W., Pardo L. A. 2011. Tumor cell-selective apoptosis induction through targeting of K(V)10.1 via bifunctional TRAIL antibody. *Molecular Cancer* 10, nr art. 109. DOI: [10.1186/1476-4598-10-109](https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-109).
- Heras-Sandoval D., Pérez-Rojas J. M., Hernández-Damián J., Pedraza-Chaverri J. 2014. The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration. *Cell Signal* 26(12), str. 2694–2701. DOI: [10.1016/j.cellsig.2014.08.019](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.08.019).
- Houston D.F., Kester E.B., De Eds F. 1949. Phenothiazine Derivatives: Mono-oxygenated Compounds. *Journal of the American Chemical Society* 71, str. 3816–3818. DOI: [10.1021/ja01179a067](https://doi.org/10.1021/ja01179a067).
- Huang J, Zhao D., Liu Z., Liu F. 2018. Repurposing psychiatric drugs as anticancer agents. *Cancer Letters* 10(419), str. 257–265. DOI: [10.1016/j.canlet.2018.01.058](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.01.058).
- Huang X., He Y., Dubuc A. M., Hashizume R., Zhang W., Reimand J., Yang H., Wang T.A., Stehbins S.J., Younger S., Barshow S., Zhu S., Cooper M.K. 2015. EAG2 potassium channel with evolutionarily conserved function as a brain tumor target. *Nature Neuroscience* 18(9), str. 1236–1246. DOI: [10.1038/nn.4088](https://doi.org/10.1038/nn.4088).
- Ibrahim N. E. S., Morsy H., Abdelgwad M. 2021. The Comparative Effect of Nisin and Thioridazine as Potential Anticancer Agents on Hepatocellular Carcinoma. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology* 9(4), str. 452–462. DOI: [10.52547/rbmb.9.4.452](https://doi.org/10.52547/rbmb.9.4.452).
- Jacobs K. A., André-Grégoire G., Maghe C., Li Y., Thys A., Harford Wright E., Gavard J. 2019. Control of the endo-lysosome homeostasis by the paracaspase MALT1 regulates glioma cell survival. *BioRxiv* 1, nr art. 582221. DOI: [10.1101/582221](https://doi.org/10.1101/582221).
- Jaszczyżyn A., Gąsiorowski K., Świątek P., Malinka W., Cieślík-Boczula K., Petrus J., Czarnik-Matusiewicz B. 2012. Chemical structure of phenothiazines and their biological activity. *Pharmacological Reports* 64, 1, str. 16–23. DOI: [10.1016/j.ejphar.2010.08.045](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.08.045).
- Jeleń M., Morak-Młodawska B., Korlacki R. 2023. Anticancer activities of tetra-, penta-, and hexacyclic phenothiazines modified with quinoline moiety. *Journal of Molecular Structure* 1287(5), nr art. 135700. DOI: [10.1016/j.molstruc.2023.135700](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135700).
- Jelińska A., Pałka J., Zając M. 2012. *Chemia medyczna, cele leków, substancje czynne, biologia chemiczna*. Wrocław, MedPharm.
- Jhou A.J., Chang H.C., Hung C.C., Lin H.C., Lee Y.C., Liu W.T., Han K.F., Lai Y.W., Lin M.Y., Lee C.H. 2021. Chlorpromazine, an antipsychotic agent, induces G2/M phase arrest and apoptosis via regulation of the PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy pathways in human oral cancer. *Biochemical Pharmacology* 184, nr art. 114403. DOI: [10.1016/j.bcp.2020.114403](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114403).
- Jiang X., Lu W., Shen X., Wang Q., Lv J., Liu M., Pang X. 2018. Repurposing sertraline sensitizes non-small cell lung cancer cells to erlotinib by inducing autophagy. *Journal of Clinical Investigation Insight* 3(11), nr art. e98921. DOI: [10.1172/jci.insight.98921](https://doi.org/10.1172/jci.insight.98921).
- Kaczor A.A., Wróbel T.M., Bartuzi D. 2023. Allosteric Modulators of Dopamine D2 Receptors for Fine-Tuning of Dopaminergic Neurotransmission in CNS Diseases: Overview, Pharmacology, Structural Aspects and Synthesis. *Molecules* 28, 1, nr art. 178. DOI: [10.3390/molecules28010178](https://doi.org/10.3390/molecules28010178).
- Kang S., Dong S. M., Kim B. R., Park M. S., Trink B., Byun H. J., Rho S. B. 2012. Thioridazine induces apoptosis by targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in cervical and endometrial cancer cells. *Apoptosis* 17, 9, str. 989–997. DOI: [10.1007/s10495-012-0717-2](https://doi.org/10.1007/s10495-012-0717-2).
- Kaur P., Hann Chu J. J. 2013. Chikungunya virus: An update on antiviral development and challenges. *Drug Discovery Today* 18, 19-20, str. 969–983. DOI: [10.1016/j.drudis.2013.05.002](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.05.002).

- Kim J.Y., Kim K.S., Kim I.S., Yoon S. 2019. Histamine receptor antagonists, loratadine and azelastine, sensitize P-gp-overexpressing antimitotic drug-resistant KBV20C cells through different molecular mechanisms. *Anticancer Research* 39(7), str. 3767–3775. DOI: [10.21873/anticancerres.13525](https://doi.org/10.21873/anticancerres.13525).
- Kim J.Y., Son J.Y., Lee B.M., Kim H.S., Yoon S. 2018. Aging-related repositioned drugs, donepezil and sildenafil citrate, increase apoptosis of anti-mitotic drug-resistant KBV20C cells through different molecular mechanisms. *Anticancer Research* 38(9), str. 5149–5157. DOI: [10.21873/anticancerres.12837](https://doi.org/10.21873/anticancerres.12837).
- Kim J.Y., Tae I.H., Lee B.M., Kim H.S., Yoon S. 2018. Low doses of the anti-psychotic drug aripiprazole have strong P-gp-inhibitory activity and sensitize anti-mitotic drug-resistant cancer cells. *Anticancer Research* 38(9), str. 5101–5108. DOI: [10.21873/anticancerres.12830](https://doi.org/10.21873/anticancerres.12830).
- Klutzný S., Lesche R., Keck M., Kaulfuss S., Schlicker A., Christian S., Steigemann P. 2017. Functional inhibition of acid sphingomyelinase by Fluphenazine triggers hypoxia-specific tumor cell death. *Cell Death & Disease* 8(3), nr art. e2709. DOI: [10.1038/cddis.2017.130](https://doi.org/10.1038/cddis.2017.130).
- Kristiansen J.E., Dastidar S.G., Palchoudhuri S., Roy D.S., Das S., Hendricks O., Christensen J.B. 2015. Phenothiazines as a solution for multidrug resistant tuberculosis: From the origin to present. *International Microbiology* 18, str. 1–12. DOI: [10.2436/20.1501.01.229](https://doi.org/10.2436/20.1501.01.229).
- Kurita J.I., Hirao Y., Nakano H., Fukunishi Y., Nishimura Y. 2018. Sertraline, chlorprothixene, and chlorpromazine characteristically interact with the REST-binding site of the corepressor mSin3, showing medulloblastoma cell growth inhibitory activities. *Scientific Reports* 8(1), nr art. 13763. DOI: [10.1038/s41598-018-31852-1](https://doi.org/10.1038/s41598-018-31852-1).
- Kuzu O. F., Gowda R., Noory M. A., Robertson G. P. 2017. Modulating cancer cell survival by targeting intracellular cholesterol transport. *British Journal of Cancer* 117(4), str. 513–524. DOI: [10.1038/bjc.2017.200](https://doi.org/10.1038/bjc.2017.200).
- Lee W.Y., Lee W.T., Cheng C.H., Chen K.C., Chou C.M., Chung C.H., Sun M.S., Cheng H.W., Ho M.N., Lin C. W. 2015. Repositioning antipsychotic chlorpromazine for treating colorectal cancer by inhibiting sirtuin 1. *Oncotarget* 6(2)9, str. 27580–27595. DOI: [10.18632/oncotarget.4768](https://doi.org/10.18632/oncotarget.4768).
- Levy A.A., Rains H.C., Smiles S. 1931. The rearrangement of hydroxy-sulphones. *Journal of the American Chemical Society*, str. 3264–3269. DOI: [10.1039/JR9310003264](https://doi.org/10.1039/JR9310003264).
- Levy A.A., Smiles S. 1932. The rearrangement of hydroxy-sulphones. *Journal of the American Chemical Society*, str. 1488–1492. DOI: [10.1039/JR9320001488](https://doi.org/10.1039/JR9320001488).
- López-Muñoz F., Alamo C., Cuenca E., Shen W.W., Clervoy P., Rubio G. 2005. History of the Discovery and Clinical Introduction of Chlorpromazine. *Annals of Clinical Psychiatry* 17(3), str. 113–135. DOI: [10.1080/10401230591002002](https://doi.org/10.1080/10401230591002002).
- Maki Y. 1957. Sulfur-containing Pyridine Derivatives. *Pharmaceutical Society of Japan* 77, str. 485–490. DOI: [10.1248/yakushi1947.77.5_485](https://doi.org/10.1248/yakushi1947.77.5_485).
- Martins A. S., Ordóñez J. L., Amaral A. T., Prins F., Floris G., Debiec-Rychter M., Hogendoorn P. C., de Alava E. 2011. IGF1R signaling in Ewing sarcoma is shaped by clathrin-/caveolin-dependent endocytosis. *PLOS One* 6(5), nr art. e19846. DOI: [10.1371/journal.pone.0019846](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019846).
- Matteoni S., Matarrese P., Ascione B., Ricci-Vitiani L., Pallini R., Villani V., Pace A., Paggi M.G., Abbruzzese C. 2021. Chlorpromazine induces cytotoxic autophagy in glioblastoma cells via endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 40(1), nr art. 347. DOI: [10.1186/s13046-021-02144-w](https://doi.org/10.1186/s13046-021-02144-w).
- McDowell J.J. 1978. Perphenazine, a phenothiazine derivative. *Acta Crystallographica* B34, str. 686–689. DOI: [10.1107/S0567740878003829](https://doi.org/10.1107/S0567740878003829).
- McDowell J.J. 1976. The crystal and molecular structure of phenothiazine. *Acta Crystallographica* B32, str. 5–10. DOI: [10.1107/S0567740876002215](https://doi.org/10.1107/S0567740876002215).
- McDowell J.J. 1979. Prochlorperazine-methanosulphonic acid (1:2), a phenothiazine derivative. *Acta Crystallographica* B35, str. 2433–2436. DOI: [10.1107/S0567740879009560](https://doi.org/10.1107/S0567740879009560).
- McDowell J.J. 1980. Trifluoperazine hydrochloride, a phenothiazine derivative. *Acta Crystallographica* B36, str. 2178–2181. DOI: [10.1107/S0567740880008291](https://doi.org/10.1107/S0567740880008291).
- Mitchell S.C. 2006. Phenothiazine: The Parent Molecule. *Current Drug Targets* 7(9), str. 1181–1189. DOI: [10.2174/138945006778226552](https://doi.org/10.2174/138945006778226552).

- Moraes V.W.R., Santos V.M., Suarez E.R., Ferraz L.S., de Mello Lopes R., Mognol G.P., Campeiro J.D., Machado-Neto J.A., Nascimento F.D., Hayashi M.A. F. 2022. Targeting Ca²⁺ and Mitochondrial Homeostasis by Antipsychotic Thioridazine in Leukemia Cells. *Life* 12(10), nr art. 1477. DOI: [10.3390/life12101477](https://doi.org/10.3390/life12101477).
- Morak-Młodawska B., Jeleń M., Pluta K. 2021. Phenothiazines Modified with the Pyridine Ring as Promising Anticancer Agents. *Life* 11(3), 206, str. 1–19. DOI: [10.3390/life11030206](https://doi.org/10.3390/life11030206).
- Motohashi N. 1988. Phenothiazines and 1,4-benzothiazines: Chemical and Biomedical Aspects. W: Gupta, R.R. (red.), *Antitumor activity of phenothiazines (phenothiazine oncology)*, str. 705–770.
- Motohashi N., Kawase M., Satoh K., Sakagami H. 2006. Cytotoxic potential of phenothiazines. *Current Drug Targets* 7(9), str. 1055–1066. DOI: [10.2174/138945006778226624](https://doi.org/10.2174/138945006778226624).
- Nodiff E.A., Hausman M. 1964. A New Phenothiazine Synthesis. The Halogen-Induced Smiles Rearrangement. *Journal of Organic Chemistry* 29, str. 2453–2455. DOI: [10.1021/jo01031a512](https://doi.org/10.1021/jo01031a512).
- Nodiff E.A., Hausman M. 1966. A Simple Preparation for Some Hydroxyphenothiazines. *Journal of Organic Chemistry* 31, str. 625–626. DOI: [10.1021/jo01340a526](https://doi.org/10.1021/jo01340a526).
- Nodiff E.A., Ina S., Oda N., Hayazaki T., Nishibe S., Kohno T., Hausman M., Manian A.A. 1967. Synthesis of possible metabolites of chlorpromazine. I. 7-hydroxy derivatives of chlorpromazine, nor1-chlorpromazine and nor2-chlorpromazine. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 4, str. 239–245. DOI: [10.1002/jhet.5570040212](https://doi.org/10.1002/jhet.5570040212).
- Nodiff E.A., Oda N., Hayazaki T., Ina S., Ito T., Nishibe S., Ueda T., Suzuki K., Hausamn M., Manian A.A. 1968. Synthesis of possible metabolites of chlorpromazine. II. 3-, 8- and 9-hydroxy-chlorpromazine. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 5, str. 165–177. DOI: [10.1002/jhet.5570050203](https://doi.org/10.1002/jhet.5570050203).
- Nodiff E.A., Sharma H.L., Kohno T., Schnierle F., Mori M., Manian A.A. 1971. Synthesis of possible metabolites of chlorpromazine. IV 7-hydroxy-nor1 - and nor2 -chlorpromazine sulfoxide. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 8, str. 321–326. DOI: [10.1002/jhet.5570080231](https://doi.org/10.1002/jhet.5570080231).
- Obata A., Yosimori M., Hamada K., Kawazura H. 1985. Crystal and molecular structures of fenethiazine hydrochloride and its cation radical-copper (II) complex salt. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 58, str. 437–441. DOI: [10.1246/bcsj.58.437](https://doi.org/10.1246/bcsj.58.437).
- Ohlow M., Moosmann B. 2011. Phenothiazine: The seven lives of pharmacology's first lead structure. *Drug Discovery Today* 16(3–4), str. 119–131. DOI: [10.1016/j.drudis.2011.01.001](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.01.001).
- Oliva C.R., Zhang W., Langford C., Suto M.J., Griguer C.E. 2017. Repositioning chlorpromazine for treating chemoresistant glioma through the inhibition of cytochrome c oxidase bearing the COX4-1 regulatory subunit. *Oncotarget* 8(23), str. 37568–37583. DOI: [10.18632/oncotarget.17247](https://doi.org/10.18632/oncotarget.17247).
- Oprean I., Schäfer W. 1973. Über die Chemie substituierter Benzochinone, XIII1) Synthese von 2-Hydroxy-3H-3-phenothiazinonen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 765, str. 1–7. DOI: [10.1002/jlac.19727650102](https://doi.org/10.1002/jlac.19727650102).
- Otręba M., Beberok A., Wrzesniok D., Buszman E. 2018. *In vitro* melanogenesis inhibition by fluphenazine and prochlorperazine in normal human melanocytes lightly pigmented. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 26(1), str. 85–89. DOI: [10.1007/s40199-018-0206-4](https://doi.org/10.1007/s40199-018-0206-4).
- Otręba M., Pajor M., Warncke J.D. 2019. Antimelanoma activity of perphenazine and prochlorperazine in human COLO829 and C32 cell lines. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 392(10), str. 1257–1264. DOI: [10.1007/s00210-019-01668-5](https://doi.org/10.1007/s00210-019-01668-5).
- Otręba M., Wrzesniok D., Beberok A., Rok J., Buszman E. 2016. Fluphenazine and perphenazine impact on melanogenesis and antioxidant enzymes activity in normal human melanocytes. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 73(4), str. 903–911.
- Otręba M., Wrzesniok D., Rok J., Beberok A., Buszman E. 2017. Prochlorperazine interaction with melanin and melanocytes. *Pharmazie* 72(3), str. 171–176. DOI: [10.1691/ph.2017.6787](https://doi.org/10.1691/ph.2017.6787).
- Otręba M., Buszman, E. 2018. Perphenazine and prochlorperazine induce concentration-dependent loss in human glioblastoma cells viability. *Pharmazie* 73(1), str. 19–21. DOI: [10.1691/ph.2018.7806](https://doi.org/10.1691/ph.2018.7806).

- Otręba, M., Kośmider, L. 2021. *In vitro* anticancer activity of fluphenazine, perphenazine and prochlorperazine. A review. *Journal of Applied Toxicology* 41(1), str. 82–94. DOI: [10.1002/jat.4046](https://doi.org/10.1002/jat.4046).
- Oz M., Lorke D.E., Hasan M., Petroianu G.A. 2011. Cellular and molecular actions of Methylene Blue in the nervous system. *Medicinal Research Review* 31(1), str. 93–117. DOI: [10.1002/med.20177](https://doi.org/10.1002/med.20177).
- Park M.S., Dong S.M., Kim B.R., Seo S.H., Kang S., Lee E.J., Lee S.H., Rho S.B. 2014. Thioridazine inhibits angiogenesis and tumor growth by targeting the VEGFR-2/PI3K/mTOR pathway in ovarian cancer xenografts. *Oncotarget* 5(13), str. 4929–4934. DOI: [10.18632/oncotarget.2063](https://doi.org/10.18632/oncotarget.2063).
- Pawłowski M. 2020. *Chemia leków*, tom 1. Warszawa, PZWL.
- Pluta K., Morak-Młodawska B., Jeleń M. 2011. Recent progress in biological activities of synthesized phenothiazines. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46(8), str. 3179–3189. DOI: [10.1016/j.ejmech.2011.05.013](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.05.013).
- Qi L., Ding Y. 2013. Potential antitumor mechanisms of phenothiazine drugs. *Science China Life Sciences* 56(11), str. 1020–1027. DOI: [10.1007/s11427-013-4561-6](https://doi.org/10.1007/s11427-013-4561-6).
- Qian K., Sun L., Zhou G., Ge H., Meng Y., Li J., Li X., Fang X. 2019. Trifluoperazine as an alternative strategy for the inhibition of tumor growth of colorectal cancer. *Journal of Cellular Biochemistry* 120(9), str. 15756–15765. DOI: [10.1002/jcb.28845](https://doi.org/10.1002/jcb.28845).
- Rahman T., Clevenger C. V., Kaklamani V., Lauriello J., Campbell A., Malwitz K., Kirkland R.S. 2014. Antipsychotic treatment in breast cancer patients. *American Journal of Psychiatry* 171(6), str. 616–621. DOI: [10.1176/appi.ajp.2013.13050650](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2013.13050650).
- Rai S., Tanaka H., Suzuki M., Espinoza J. L., Kumode T., Tanimura A., Yokota T., Oritani K., Watanabe T., Kanakura Y., Matsumura I. 2020. Chlorpromazine eliminates acute myeloid leukemia cells by perturbing subcellular localization of FLT3-ITD and KIT-D816V. *Nature Communications* 11, nr art. 4147. DOI: [10.1038/s41467-020-17666-8](https://doi.org/10.1038/s41467-020-17666-8).
- Rho S.B., Kim B.R., Kang S. 2011. A gene signature-based approach identifies thioridazine as an inhibitor of phosphatidylinositol-3'-kinase (PI3K)/AKT pathway in ovarian cancer cells. *Gynecologic Oncology Reports* 120(1), str. 121–127. DOI: [10.1016/j.ygyno.2010.10.003](https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2010.10.003).
- Rodig O.E., Collier R.E., Schlatzer R.K. 1966. Pyridine Chemistry. II. Further Studies on the Smiles Rearrangement of the 3-Amino-2,2'-dipyridyl Sulfide System. The Synthesis of Some 1,6-Diazaphenothiazines. *Journal of Medicinal Chemistry* 9, str. 116–120. DOI: [10.1021/jm00319a028](https://doi.org/10.1021/jm00319a028).
- Roe A., Montgomery J.A., Yarnall W.A., Hoyle V.A. 1956. The Preparation of Some Fluorophenothiazines. *Journal of Organic Chemistry*, 21, str. 28–31. DOI: [10.1021/jo01107a005](https://doi.org/10.1021/jo01107a005).
- Ronald S., Awate S., Rath A., Carroll J., Galiano F., Dwyer D., Kleiner-Hancock H., Mathis J.M., Vigod S., De Benedetti A. 2013. Phenothiazine inhibitors of TLKs affect double-strand break repair and DNA damage response recovery and potentiate tumor killing with radiomimetic therapy. *Genes & Cancer* 4(1–2), str. 39–53. DOI: [10.1177/1947601913479020](https://doi.org/10.1177/1947601913479020).
- Rundle-Thiele D., Head R., Cosgrove L., Martin J.H. 2015. Repurposing some older drugs that cross the blood-brain barrier and have potential anticancer activity to provide new treatment options for glioblastoma. *British Journal of Clinical Pharmacology* 81(2), str. 199–209. DOI: [10.1111/bcp.12785](https://doi.org/10.1111/bcp.12785).
- Matteoni S., Matarrese P., Ascione B., Buccarelli M., Ricci-Vitiani L., Pallini R., Villani V., Pace A., Paggi M.G., Abbruzzese C. 2021. Anticancer Properties of the Antipsychotic Drug Chlorpromazine and Its Synergism With Temozolomide in Restraining Human Glioblastoma Proliferation *In Vitro*. *Frontiers in Oncology* 11, nr art. 635472. DOI: [10.3389/fonc.2021.635472](https://doi.org/10.3389/fonc.2021.635472).
- Sachlos E., Risueno R.M., Laronde S., Shapovalova Z., Lee J.H., Russell J., Malig M., McNicol J.D., Fiebig-Comyn A., Graham M., Levadoux-Martin M., Lee J.B., Giacomelli A.O., Hassell J.A., Fischer-Russell D., Trus M.R., Foley R., Leber B., Xenocostas A., Brown E D., Collins T.J., Bhatia M. 2012. Identification of drugs including a dopamine receptor antagonist that selectively target cancer stem cells. *Cell* 149(6), str. 1284–1297. DOI: [10.1016/j.cell.2012.03.049](https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.049).

- Schatzberg A.F., Nemeroff C. 2010. Textbook of Psychopharmacology. *The American Psychiatric Publishing* 167(4), nr art. 478. DOI: [10.1176/appi.ajp.2010.10010012](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.10010012).
- Shaikh S.M.T., Seetharamappa J., Kandagal P.B., Ashoka S. 2006. Binding of the bioactive component isothipendyl hydrochloride with bovine serum albumin. *Journal of Molecular Structure* 786(1), str. 46–52. DOI: [10.1016/j.molstruc.2005.10.021](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.10.021).
- Sharma S., Singh A. 2011. Phenothiazines as anti-tubercular agents: Mechanistic insights and clinical implications. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 20, 12, str. 1665–1676. DOI: [10.1517/13543784.2011.628657](https://doi.org/10.1517/13543784.2011.628657).
- Shin S.Y., Kim C.G., Kim S.H., Kim Y.S., Lim Y., Lee Y.H. 2010. Chlorpromazine activates p21Waf1/Cip1 gene transcription via early growth response-1 (Egr-1) in C6 glioma cells. *Experimental & Molecular Medicine* 42(5), str. 395–405. DOI: [10.38588/Femm.2010.42.5.041](https://doi.org/10.38588/Femm.2010.42.5.041).
- Shin S.Y., Lee K.S., Choi Y.K., Lim H.J., Lee H.G., Lim Y., Lee Y.H. 2013. The antipsychotic agent chlorpromazine induces autophagic cell death by inhibiting the Akt/mTOR pathway in human U-87MG glioma cells. *Carcinogenesis* 34(9), str. 2080–2089. DOI: [10.1093/carcin/bgt169](https://doi.org/10.1093/carcin/bgt169).
- Singh M., Venugopal C., Tokar T., McFarlane N., Subapanditha M.K., Qazi M., Singh S.K. 2018. Therapeutic targeting of the premetastatic stage in human lung-to-brain metastasis. *Cancer Research* 78(17), str. 5124–5134. DOI: [10.1158/0008-5472.can-18-1022](https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-18-1022).
- Snyder S. H. 1999. Drugs for a new millennium. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 354(1392), str. 1985–1994. DOI: [10.1098/rstb.1999.0538](https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0538).
- Spengler G., Csonka Á., Molnár J., Amaral L. 2016. The Anticancer Activity of the Old Neuroleptic Phenothiazine-type Drug Thioridazine. *Anticancer Research* 36(11), str. 5701–5706. DOI: [10.21873/anticancer.11153](https://doi.org/10.21873/anticancer.11153).
- Spengler G., Molnár J., Viveiros M., Amaral L. 2011. Thioridazine induces apoptosis of multidrug-resistant mouse lymphoma cells transfected with the human ABCB1 and inhibits the expression of P-glycoprotein. *Anticancer Research* 31(12), str. 4201–4205.
- Stępnicki P., Kondej M., Kaczor A.A. 2018. Current Concepts and Treatments of Schizophrenia. *Molecules* 23(8), nr art. 2087. DOI: [10.3390/Molecules23082087](https://doi.org/10.3390/Molecules23082087).
- Sudeshna G., Parimal K. 2010. Multiple non-psychiatric effects of phenothiazines: A review. *European Journal of Pharmacology* 648(1–3), str. 6–14. DOI: [10.1016/j.ejphar.2010.08.045](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.08.045).
- Środa-Pomianek K., Michalak K., Palko-Łabuz A., Uryga A., Świątek P., Majkowski M., Wesołowska O. 2019. The combined use of phenothiazines and statins strongly affects doxorubicin-resistance, apoptosis, and COX-2 activity in colon cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences* 20(4), nr art. 955. DOI: [10.3390/ijms20040955](https://doi.org/10.3390/ijms20040955).
- The Cambridge Structural Database. Cambridge Crystallographic Data Centre, Boston. Dostępne online: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/software/csd/> (dostęp: 16.01.2024).
- Tsuji S., Yabe R., Usui T., Mizuno T., Ohama T., Sato K. 2016. Antitumor effects of perphenazine on canine lymphoma. *The Journal of Veterinary Medical Science* 78(8), str. 1293–1298. DOI: [10.1292/jvms.15-0707](https://doi.org/10.1292/jvms.15-0707).
- Tworoger S.S., Hankinson S.E. 2006. Prolactin and breast cancer risk. *Cancer Letters* 243(2), str. 160–169. DOI: [10.1016/j.canlet.2006.01.032](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.01.032).
- Tzadok S., Beery E., Israeli M., Uziel O., Lahav M., Fenig E., Nordenberg J. 2010. *In vitro* novel combinations of psychotropics and anti-cancer modalities in U87 human glioblastoma cells. *International Journal of Oncology* 37(4), str. 1043–1051. DOI: [10.3892/ijo.00000756](https://doi.org/10.3892/ijo.00000756).
- Ueno Y., Takeuchi Y., Koshitani J., Yoshida T. 1981. The photochemical synthesis of 4-acyl-1,2-dimethyl-3H-phenothiazin-3-ones. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 18, str. 645–647. DOI: [10.1002/jhet.5570180345](https://doi.org/10.1002/jhet.5570180345).
- Valdés-Abadía B., Morán-Zendejas R., Rangel-Flores J.M., Rodríguez-Menchaca A.A. 2019. Chloroquine inhibits tumor-related Kv10.1 channel and decreases migration of MDA-MB-231 breast cancer cells *in vitro*. *European Journal Pharmacology* 855, str. 262–266. DOI: [10.1016/j.ejphar.2019.05.017](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.05.017).
- Varga B., Csonka A., Csonka A., Molnár J., Amaral L., Spengler G. 2017. Possible Biological and Clinical Applications of Phenothiazines. *Anticancer Research* 37(11), str. 5983–5993. DOI: [10.21873/anticancer.12045](https://doi.org/10.21873/anticancer.12045).

- Wang Z.J., Soohoo S.M., Tiwari P.B., Piszczek G., Brelidze T.I. 2020. Chlorpromazine binding to the PAS domains uncovers the effect of ligand modulation on EAG channel activity. *Journal of Biological Chemistry* 295(13), str. 4114–4123. DOI: [10.1074/jbc.ra119.012377](https://doi.org/10.1074/jbc.ra119.012377).
- Xu F., Xi H., Liao M., Zhang Y., Ma H., Wu M., Xue Q., Sun H., Zhang Y., Xia Y. 2022. Repurposed antipsychotic chlorpromazine inhibits colorectal cancer and pulmonary metastasis by inducing G2/M cell cycle arrest, apoptosis, and autophagy. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 89(3), str. 331–346. DOI: [10.1007/s00280-021-04386-z](https://doi.org/10.1007/s00280-021-04386-z).
- Xu F., Xia Y., Feng Z., Lin W., Xue Q., Jiang J., Yu L. 2019. Repositioning antipsychotic fluphenazine hydrochloride for treating triple negative breast cancer with brain metastases and lung metastases. *American Journal of Cancer Research* 9(3), str. 459–478.
- Yale H.L., Sowinski F., Bernstein J. 1957. 10-(3-Dimethylaminopropyl)-2-(Trifluoromethyl)-phenothiazine Hydrochloride (VESPRIN1) and Related Compounds. I. *Journal of the American Chemical Society* 79, str. 4375–4381. DOI: [10.1021/ja01573a037](https://doi.org/10.1021/ja01573a037).
- Yang C.E., Lee W.Y., Cheng H.W., Chung C.H., Mi F.L., Lin C.W. 2019. The antipsychotic chlorpromazine suppresses YAP signaling, stemness properties, and drug resistance in breast cancer cells. *Chemico-Biological Interactions* 302, str. 28–35. DOI: [10.1016/j.cbi.2019.01.033](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.01.033).
- Zhang C., Gong P., Liu P., Zhou N., Zhou Y., Wang Y. 2017. Thioridazine elicits potent antitumor effects in colorectal cancer stem cells. *Oncology Reports* 37(2), str. 1168–1174. DOI: [10.3892/or.2016.5313](https://doi.org/10.3892/or.2016.5313).
- Zong D., Zielinska-Chomej K., Juntti T., Mörk B., Lewensohn R., Hååg P., Viktorsson, K. 2014. Harnessing the lysosome-dependent antitumor activity of phenothiazines in human small cell lung cancer. *Cell Death & Disease* 5(3), nr art. e1111. DOI: [10.1038/cddis.2014.56](https://doi.org/10.1038/cddis.2014.56).

