



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

José Maria Canelas Gomes Teixeira

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Paulo Carvalho e da Dra. Catarina Coelho e Monografia intitulada “Click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids in lung cancer therapy” sob a orientação do Professor Doutor Anthony Burke, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação e prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



FACULDADE DE FARMÁCIA  
UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

José Maria Canelas Gomes Teixeira

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Paulo Carvalho e da Dra. Catarina Coelho e Monografia intitulada “Click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids in lung cancer therapy” sob a orientação do Professor Doutor Anthony Burke, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação e prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, José Maria Canelas Gomes Teixeira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018293706, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids in lung cancer therapy” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação e expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos, legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 1 de setembro de 2023.

José Maria Canelas Gomes Teixeira

(José Maria Canelas Gomes Teixeira)

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Anthony Burke pela disponibilidade, compreensão e orientação exemplar.

Ao Dr. Paulo Carvalho pela oportunidade, confiança, profissionalismo e simpatia.

A toda a equipa da Farmácia Santa Clara, Cíntia, Filipa, Joana Lopes, Joana Rodrigues, Mónica, Pedro, e Rita pelos conhecimentos, experiência, profissionalismo e enorme paciência.

A toda a equipa da Administração Regional de Saúde do Centro pelo profissionalismo, oportunidade e conhecimentos transmitidos.

A Coimbra pelas memórias e experiências que levo comigo para sempre e para todo o lado.

Aos meus amigos pelo suporte, memórias e confiança.

Aos meus avós pelas palavras sábias e toda a experiência de vida que me transmitiram.

Aos meus tios por toda a ajuda, conselhos e boa disposição.

Aos meus pais, pelo apoio, motivação e por acreditarem em mim. Sem eles nada teria alcançado. Sem eles nada era possível e eu não era ninguém.

Obrigado a todos por tudo.

## Índice

### Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	7
1. Introdução .....	8
2. Análise SWOT.....	9
2.1. Pontos Fortes ( <i>Strengths</i> ).....	9
2.2. Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ) .....	12
2.3. Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	13
2.4. Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	13
3. Casos Práticos .....	14
4. Conclusão .....	16
Bibliografia.....	17

### Parte II - Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Abreviaturas.....	19
1. Introdução .....	20
2. Análise SWOT.....	21
2.1. Pontos Fortes ( <i>Strengths</i> ).....	21
2.2. Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ) .....	24
2.3. Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	24
2.4. Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	25
3. Conclusão .....	26
Bibliografia.....	27

### Parte III - Monografia “Click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids in lung cancer therapy”

Resumo .....	29
Abstract.....	30
Abbreviations.....	31
1. Introduction .....	32
2. Pathology.....	33
2.1. Small cell lung cancer .....	34
2.2. Non-small cell lung cancer .....	34
3. Click chemistry methods for preparing 1,2,3-triazole hybrids .....	35
3.1. Azide-alkyne Huisgen cycloaddition .....	36
3.2. Copper(I)-catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition .....	36
3.3. Ruthenium-catalysed 1,3-dipolar azide-alkyne cycloaddition (RuAAC) .....	38
3.4. Strain-promoted azide-alkyne cycloaddition .....	39
3.5. New strained cyclooctynes for SPAAC .....	40
4. Applications in lung cancer therapy .....	42
4.1. EGFR inhibition .....	42
4.2. VEGFR inhibitors .....	43
4.3. ALK/ROSI dual inhibition.....	44
4.4. ALK/TRK dual inhibition.....	45
4.5. MET inhibition .....	46

4.6. BRAF inhibition .....	47
4.7. PD-1/PD-L1 inhibition .....	47
4.8. IDO1 inhibition .....	48
4.9. ROS induction .....	49
4.10. Tubulin inhibitors .....	50
4.11. Drug delivery.....	50
5. Conclusion.....	52
References.....	53

# **Parte I**

## **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

Orientado pelo Dr. Paulo Carvalho

## **Abreviaturas**

**FSC** - Farmácia Santa Clara

**MNSRM** - Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*



## I. Introdução

A Farmácia de Oficina ou Farmácia Comunitária é a opção de carreira principal dos alunos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.<sup>1</sup> Trata-se de uma função exigente que requer conhecimentos teóricos extensos na área da saúde, com um grande foco nos medicamentos e nos seus efeitos. A preparação académica para este cargo é, naturalmente, fundamental para o desenvolvimento de um bom profissional. Sendo o profissional de saúde mais facilmente acessível, o farmacêutico deve estar sempre pronto a ajudar o utente. Como consta no Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, deve demonstrar empatia, altruísmo, compaixão e tolerância.<sup>2</sup> Este estágio foi extremamente enriquecedor, pois possibilitou uma melhor compreensão deste cargo no sistema nacional de saúde, e permitiu a aplicação prática dos conhecimentos inculcados durante o percurso académico.

As farmácias comunitárias desempenham um papel vital na saúde pública, que vai além da mera dispensa de medicamentos. Estes estabelecimentos são essenciais no aconselhamento ao utente e na promoção da literacia em saúde. São locais onde este pode esclarecer dúvidas acerca da sua saúde e medicação com profissionais qualificados. Para além disso, observa-se um crescente interesse em áreas como higiene oral, dermocosmética, nutrição e veterinária. Por esta razão, os farmacêuticos devem procurar estar informados acerca destes conceitos de forma a facilitar o atendimento.

O estágio foi realizado na Farmácia Santa Clara (FSC), em Coimbra. A equipa é composta por nove membros, incluindo o diretor técnico, e apresenta um ótimo ambiente de trabalho e profissionalismo. Contam com imensos utentes habituais que confiam plenamente no trabalho e dedicação dos farmacêuticos e técnicos. Demonstram cooperação e dinamismo ao enfrentarem os desafios de cada dia, e estão sempre dispostos a ajudar e esclarecer qualquer dúvida. O estágio teve início no dia 9 de janeiro e prolongou-se até dia 29 de abril de 2023, sob a orientação do Dr. Paulo Carvalho.

Experiências e conhecimentos adquiridos ao longo deste período de estágio serão expostos numa análise crítica. Com este propósito, o relatório será apresentado em formato de análise SWOT. Este método engloba quatro elementos: Pontos Fortes (*Strengths*), Pontos Fracos (*Weaknesses*), Oportunidades (*Opportunities*), e Ameaças (*Threats*). Os dois primeiros tratam-se de fatores internos e os dois últimos são fatores externos, fora do controlo da farmácia.<sup>3</sup>

## 2. Análise SWOT

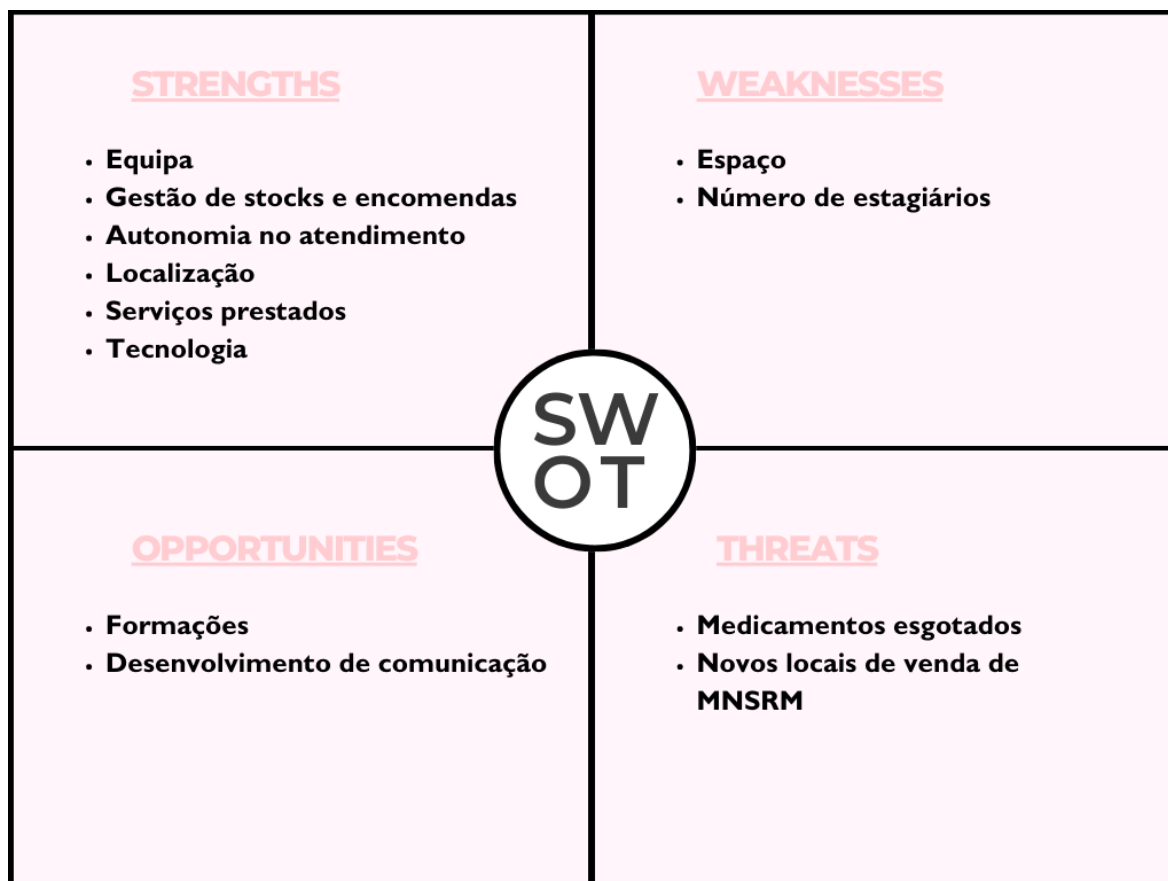


Figura 1 - Análise SWOT do estágio realizado em Farmácia Comunitária

### 2.1. Pontos Fortes (*Strengths*)

#### 2.1.1. Equipa

Como previamente mencionado, a equipa da FSC conta com um ambiente de trabalho invejável, havendo uma grande cooperação entre cada membro. São trabalhadores, atentos, e focados nas necessidades do utente. Sempre que possível, partilharam os conhecimentos que obtiveram ao longo de anos de experiência como profissionais de saúde, de uma forma clara e paciente.

A equipa foi um ponto muito positivo do estágio pois permitiram a minha integração no quotidiano da farmácia e envolveram-me em todos os aspetos do seu funcionamento. Demonstraram sempre disponibilidade para ajudar e esclarecer qualquer dúvida. A ajuda e atenção dos profissionais da FSC motivou-me para ser um melhor futuro profissional de saúde.

#### 2.1.2. Gestão de stocks e encomendas

A gestão de *stock* nas farmácias comunitárias é de extrema importância. Todos os dias são realizadas encomendas de acordo com os consumos diários no atendimento ao público. O objetivo é satisfazer as necessidades dos utentes sem causar desperdício de medicamentos.

Deve ser alcançado um equilíbrio entre estas duas componentes. O sucesso e organização no *backoffice* traduz-se numa farmácia muito mais eficiente. Esta tarefa é complexa e exige atenção contínua pois os consumos dos utentes são inconstantes, variando ao longo do ano.

O processo de receção de encomendas é um elemento fundamental no funcionamento da farmácia. Deve ser realizado meticulosamente, de forma a reduzir ao máximo os erros de *stock*. Após a receção, os produtos devem ser colocados cuidadosamente nos locais estipulados ou no *robot* de dispensa.

O controlo de validades é outro dos aspetos importantes no *backoffice*. As datas de validade de produtos, especialmente de medicamentos, devem ser rigorosamente monitorizadas. Um produto fora de validade não pode ser vendido em qualquer circunstância.

Na FSC, toda a equipa demonstra dedicação e atenção aos detalhes no *backoffice*. Como estagiário, a receção de encomendas foi uma das tarefas que mais realizei, principalmente nas primeiras semanas. A atitude perfeccionista da equipa foi inspiradora, o que me permitiu evoluir no decorrer do estágio.

### **2.1.2. Autonomia no atendimento**

A autonomia conferida aos estagiários no balcão de atendimento relevou-se uma grande oportunidade de aprendizagem. O atendimento trata-se do aspeto mais importante no quotidiano de um farmacêutico.

Inicialmente apenas observei atendimentos de outros farmacêuticos. Este período, além de permitir melhorar a minha compreensão do sistema informático, possibilitou memorizar alguns dos locais de armazenamento de medicamentos e outros produtos.

Comecei por realizar atendimentos em conjunto com um dos membros da equipa. Senti-me bem preparado e num ambiente seguro ao atender os meus primeiros utentes. Conte sempre com o suporte de um profissional experiente e qualquer dúvida foi rapidamente esclarecida.

Gradualmente, passei a ter autonomia no atendimento, mas sempre com a possibilidade de recorrer a qualquer membro da equipa caso surgisse alguma dificuldade. Com esta liberdade, melhorei bastante o meu desempenho e aprendi algo novo todos os dias. A oportunidade de contactar com utentes tão proximamente, permitiu desenvolver a minha capacidade de comunicação como profissional de saúde. Foi possível colocar em prática todos os conhecimentos obtidos no decorrer do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

#### **2.1.4. Localização**

A FSC está localizada dentro de um edifício de uma cadeia de supermercados. Esta proximidade confere uma elevada abundância de utentes que procuram uma ampla diversidade de produtos.

Devido a esta afluência, as oportunidades de aprendizagem foram imensas. Foi possível realizar ou assistir a aconselhamentos referentes a uma grande variedade de medicamentos com grupos farmacológicos distintos.

#### **2.1.5. Serviços prestados**

Diversos serviços são prestados pela FSC, além de aconselhamento e dispensa de medicamentos. Medições de glicémia, colesterol e triglicéridos são requisitadas diariamente por vários utentes. A leitura da pressão arterial é, também, muito solicitada. Ambos são serviços muito práticos para o utente, pois além da própria medição, é possível obter as opiniões e recomendações de um profissional de saúde face aos valores registados. Ocasionalmente, são requisitados medicamentos manipulados. Surgiu a oportunidade de participar na manipulação de duas pomadas com corticosteroides, onde apliquei conhecimentos obtidos em Farmácia Galénica. Outro serviço prestado é a administração de vacinas e injetáveis, que só pode ser realizada por um farmacêutico com o certificado correspondente.

A abundância de tarefas na farmácia garantiu uma experiência de estágio mais estimulante, motivante e enriquecedora. Foi possível estar envolvido na maior parte destes serviços e aprimorar conhecimentos em diversas vertentes do cargo de farmacêutico.

#### **2.1.6. Tecnologia**

Uma das grandes vantagens para os trabalhadores na FSC é a presença de um *robot* que dispensa, armazena e organiza produtos farmacêuticos. Os medicamentos em questão são maioritariamente os sujeitos a receita médica.

A utilização deste *robot* facilita imenso o atendimento. Erros na dispensa de medicamentos são reduzidos devido à precisão do sistema, principalmente, em termos de dosagem. Além disso, permite que o farmacêutico tenha mais tempo com o utente pois não tem de se afastar do balcão, o que permite obter mais informação sobre a pessoa e realizar um atendimento mais completo. Os benefícios deste instrumento estendem-se, também, ao *backoffice*. A receção de encomendas é, significativamente, mais eficiente e rápida, e o controlo de validades é simplificado.

Além do *robot* de dispensa de medicamentos, a FSC conta com a presença de um sistema de gestão de dinheiro. A utilização deste aparelho, permite a convergência de todas as transações financeiras em dinheiro num só recipiente. Desta forma, não é necessário cada trabalhador contabilizar a sua caixa no final do dia. Este sistema reduz imenso os erros de contagem e de trocos que possam ocorrer. Ademais, é uma vantagem para o utente pois o processo de pagamento é muito mais prático.

Com este sistema, senti-me muito mais seguro a realizar trocos e tive mais tempo com cada utente. Consequentemente, concentrei-me completamente no diálogo e o aconselhamento que prestei foi mais ponderado.

## **2.2. Pontos fracos (*Weaknesses*)**

### **2.2.1. Espaço**

Como anteriormente referido, a FSC encontra-se em proximidade com um supermercado. Esta característica confere uma grande afluência ao estabelecimento. No entanto, o espaço físico fica aquém do que seria confortável e prático numa farmácia com tanto movimento. Além de dificultar a mobilidade dos colaboradores, por vezes, é difícil armazenar produtos de grande volume e o *robot* de dispensa está frequentemente cheio.

Durante o meu estágio, surgiram algumas dificuldades na arrumação de medicamentos. Principalmente, na organização das reservas. Estas não apresentavam qualquer método de ordenação devido à falta de espaço. Quando os utentes tencionavam levantar as suas reservas, era desafiador encontrar os produtos associados ao nome de cada.

### **2.2.2. Número de estagiários**

O número de trabalhadores presentes durante o período de estágio revelou-se um pouco excessivo considerando o tamanho do estabelecimento. Habitualmente, estão presentes pelo menos três a quatro dos colaboradores na farmácia, sem contar com o diretor técnico. Tendo em conta que existem cinco balcões de atendimento, o número ideal de estagiários seria no máximo dois. Durante uma das semanas, chegaram a estar presentes quatro estagiários concomitantemente, embora um fosse observacional.

Esta quantidade exacerbada de membros da equipa a trabalhar em simultâneo, diminuiu significativamente o número de oportunidades de aprendizagem durante o estágio. Na maioria dos dias, apenas dois dos estagiários tinham a possibilidade de realizar atendimentos, logo era necessário combinar entre nós quem aproveitava cada ocasião. Uma melhor organização dos horários poderia ter mitigado este problema ligeiramente.

## **2.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

### **2.3.1. Formações**

Vários delegados visitaram a farmácia com o objetivo de promover um ou mais produtos em específico. Além disso, surgiram múltiplas oportunidades para participar em formações fora da farmácia. Ambas as abordagens foram extremamente informativas e proporcionaram conhecimentos específicos a cada produto, o que auxilia bastante o aconselhamento. O foco foi, principalmente, em produtos veterinários e dermocosmética. Pode ser complexo recomendar produtos nestas áreas devido à enorme diversidade de escolhas no mercado.

Após a frequência destas formações, senti-me mais confiante e preparado para aconselhar produtos veterinários ou dermocosmética a utentes. Além dos benefícios como profissional, os eventos fora da farmácia proporcionaram uma oportunidade para desenvolver uma relação mais próxima com os membros da equipa.

### **2.3.2. Desenvolvimento de comunicação**

Apesar de o quotidiano de um farmacêutico incluir numerosas tarefas, a maior parte do tempo é dedicado a atendimentos. Além da preparação teórica, é fundamental possuir uma grande proficiência em comunicação. Os farmacêuticos lidam com a saúde dos utentes, que muitas vezes pode ser um assunto sensível e emocional. Logo, é importante manter a calma e assumir uma postura de profissionalismo. Esta competência não é muito explorada ao longo do curso.

O estágio proporcionou uma grande oportunidade para desenvolver a minha capacidade de comunicar com os utentes. Contactei com pessoas em diversas realidades e situações. Foi desafiante atender às demandas de cada utente, mas trabalhar sob a pressão destas exigências foi estimulante e enriquecedor. O atendimento ao público é sempre um encargo complexo e esta experiência tem um valor incomensurável na preparação para entrar no mercado de trabalho.

## **2.4. Ameaças (*Threats*)**

### **2.4.1. Medicamentos esgotados**

A quantidade de medicamentos esgotados é uma dificuldade frequente em farmácias comunitárias. É uma situação preocupante e uma grande fonte de frustração para os utentes. Alguns doentes estão habituados a um certo laboratório e, muitas vezes, não estão dispostos a alternar para outro. Consequentemente, podem acabar por interromper a terapêutica que

lhes foi prescrita, colocando a própria saúde em risco. A “aversão” a medicamentos genéricos por parte dos utentes é uma das principais causas deste problema.

Estas ruturas de *stock* foram uma ocorrência diária muito comum. Criaram imensas situações desagradáveis, pois é difícil justificar perante os utentes que a medicação que procuram não está disponível.

#### **2.4.2. Novos locais de venda de MNSRM**

Os locais de comércio que vendem medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) são cada vez mais abundantes. Esta prática prejudica a sustentabilidade das farmácias comunitárias. Além disso, trata-se de um risco para a saúde pública, pois estes medicamentos podem ser aconselhados por profissionais sem formação adequada para tal.

Durante o estágio deparei-me com vários utentes que mencionaram a sua preferência pela compra de MNSRM em supermercados ou lojas de produtos de saúde. A farmácia não consegue competir com os preços nestes estabelecimentos. Logo, o farmacêutico deve destacar-se ao evidenciar o valor do seu aconselhamento posteriormente à compra de um destes medicamentos.

### **3. Casos Práticos**

#### **Caso Prático I**

Um senhor de 37 anos dirigiu-se à farmácia, afirmando que se encontra com problemas gastrointestinais. Explicou que começou a experienciar diarreia há cerca de uma semana e gostaria de comprar Imodium Rapid® para aliviar os sintomas. Comecei por perguntar se o senhor tomava alguma medicação crónica, ao qual ele respondeu negativamente. Em seguida, questionei se tinha viajado recentemente e o senhor também disse que não. Desta forma, foi possível excluir um caso de diarreia do viajante. Continuei a dialogar com o utente e este acabou por mencionar que teve uma amigdalite recentemente. Este problema de saúde era recorrente e, como o senhor já tinha antibióticos em casa, decidiu iniciar a tomar do medicamento sem ir ao médico. Informei o senhor que os sintomas gastrointestinais poderiam dever-se a esta automedicação e que nunca deveria tomar antibióticos por conta própria. Expliquei o perigo de desenvolvimento de bactérias resistentes devido ao abuso de antibióticos, e o risco de saúde pública que este problema representa. Além disso, avisei que, normalmente, a caixa deve ser tomada até ao final e, por isso, não deveriam sobrar antibióticos em casa. Recomendei ingerir muita água para evitar a desidratação, e a toma de um probiótico para repor a flora intestinal. O senhor comprou UL-250® e prometeu não tomar antibióticos sem receita.

## **Caso Prático 2**

Uma senhora de 59 anos deslocou-se à farmácia à procura de um descongestionante nasal. Recentemente, a utente iniciou a toma de um anti hipertensor, mas não se lembrava do nome deste. Esta afirmou que, no passado, utilizou o Actifed® em comprimidos e resultou numa melhoria dos sintomas. O princípio ativo deste medicamento trata-se de uma associação de cloridrato de pseudoefedrina com cloridrato de triprolidina. A pseudoefedrina é uma substância com ação simpaticomimética e pode interagir com medicamentos anti hipertensores. Ou seja, este medicamento pode provocar hipertensão e, também, reduzir o efeito de anti hipertensores. Logo, este descongestionante está contraindicado neste caso. Informe-i a utente que já não deve tomar o Actifed®, mas que poderia optar por utilizar um produto de lavagem nasal. Além disso, recomende-i aumentar a ingestão de água. A senhora acabou por comprar uma água do mar para realizar a lavagem nasal.

## **Caso Prático 3**

Uma jovem de 22 anos entrou na farmácia para comprar a pílula do dia seguinte. Questionei se a relação tinha sido desprotegida e quando tinha ocorrido. A utente afirmou que não usou proteção e que a relação tinha ocorrido há cerca de 10 horas. Pergunte-i, em seguida, quando tinha sido a última menstruação de forma a excluir a hipótese de gravidez. Por fim, certifiquei-me que a utente não apresenta doença hepática grave. Visto que a relação tinha ocorrido há menos de 24 horas, decidi então dispensar o levonorgestrel. Explique-i à utente as limitações deste medicamento e que nunca deve ser usado como método contraceptivo habitual.

## **Caso Prático 4**

Um senhor idoso hipertenso dirigiu-se à farmácia para medir a tensão arterial. O utente explicou que, em casa, tem registado valores mais altos do que o habitual. Procedi à medição da pressão arterial e o resultado foi 163/98. A segunda medição foi semelhante, com valores de 159/95. Visto que a tensão arterial realmente estava elevada, pergunte-i ao utente se tinha iniciado a toma de um novo medicamento, ou se tinha alterado algum aspeto do seu estilo de vida. Inicialmente, o utente referiu que não tinha ocorrido nenhuma mudança. No entanto, após conversar com este durante algum tempo, percebi que o utente estava ansioso e andava a dormir pouco devido a problemas pessoais. Explique-i-lhe que o seu estado psicológico e falta de sono poderia ser um fator no aumento da tensão arterial. Recomende-i um produto com valeriana para ajudar na qualidade do sono. Além disso, sugeri que o utente deveria contactar os seus familiares e expor os problemas que mencionou. Este agradeceu e afirmou



que iria falar com os seus filhos. Subsequentemente, o senhor continuou a visitar a farmácia e, gradualmente, os valores de tensão registados diminuíram significativamente.

### **Caso Prático 5**

Um senhor de 34 anos deslocou-se à farmácia, afirmando que tem uma infeção numa unha do pé e causa alguma dor. Ao observar o local afetado, foi possível observar que a unha estava amarelada e com um formato abnormal. Ademais, apresentava zonas com descamação. Após conversar algum tempo com o utente, este mencionou que era diabético. O fator de risco associado a esta patologia e os sintomas, sugerem um caso de onicomicose. Logo, decidi dispensar Terbinafina em comprimidos ao utente com indicação para tomar durante três meses. De forma a prevenir futuras infeções, recomendei aplicar produtos para fortalecer as unhas como o Excilor®. Além disso, referi que deve evitar andar descalço em espaços públicos e ter muita atenção na higienização.

### **4. Conclusão**

O estágio em farmácia comunitária é fundamental no percurso académico dos alunos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. É um período de consolidação de conhecimentos e desenvolvimento profissional. Após esta experiência, sinto-me significativamente mais preparado para entrar no mercado de trabalho. Melhorei a minha postura profissional e aprofundei os meus conhecimentos. O aconselhamento de utentes foi uma tarefa estimulante e gratificante. A gestão de *stock* revelou-se um processo muito mais complexo do que, inicialmente, aparenta ser. Compreendo melhor o papel do farmacêutico e as dificuldades que este enfrenta diariamente. O benefício que esta profissão traz à saúde pública é incomensurável.

Agradeço à equipa da FSC por esta oportunidade e pela confiança. A dedicação destes trabalhadores relevou-se uma grande inspiração. Considero-me equipado para exercer todas as funções englobadas no cargo de farmacêutico, sempre com motivação e abertura a novos conhecimentos.

## **Bibliografia**

1. **A Farmácia Comunitária - Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos** [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria>.
2. **ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. Ordem dos Farmacêuticos. 1998) 1–9.**
3. WEIHRICH, Heinz - The TOWS matrix—A tool for situational analysis. **Long Range Planning**. ISSN 0024-6301. 15:2 (1982) 54–66. doi: [https://doi.org/10.1016/0024-6301\(82\)90120-0](https://doi.org/10.1016/0024-6301(82)90120-0).

## **Parte II**

### **Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar**

Orientado pela Dra. Catarina Coelho

## **Abreviaturas**

**ACES** - Agrupamentos de Centros de Saúde

**ARS, IP** - Administrações Regionais de Saúde, Instituto Público

**ARSC, IP** - Administração Regional de Saúde do Centro, Instituto Público

**SF-GFM** - Gabinete de Farmácia e do Medicamento dos Serviços Farmacêuticos

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

**UAG** - Unidades de Apoio à Gestão

**UCC** - Unidades de Cuidados na Comunidade

**UCSP** - Unidades de Cuidados de Saúde Personalizados

**UF** - Unidades Funcionais

**URAP** - Unidades de Recursos Assistenciais Partilhados

**USF** - Unidades de Saúde Familiar

**USP** - Unidades de Saúde Pública

## I. Introdução

A Farmácia Hospitalar é a uma das áreas mais escolhidas pelos farmacêuticos em Portugal.<sup>1</sup> A Administração Regional de Saúde do Centro, Instituto Público (ARSC, IP) é uma instituição pública integrada na Administração Indireta do Estado, com autonomia administrativa, financeira e patrimonial.<sup>2</sup> A sua principal missão é garantir a prestação de cuidados primários de saúde ao público. Este setor é muito promissor para o futuro dos farmacêuticos, apresentando a possibilidade de novos empregos com funções mais alargadas e maior responsabilidade.

As Administrações Regionais de Saúde, Instituto Público (ARS, IP) estão distribuídas por cinco regiões: Alentejo, Algarve, Centro, Lisboa e Vale do Tejo, e Norte. Cada ARS, IP é responsável por vários Agrupamentos de Centros de Saúde (ACES) na sua região. Os ACES são constituídos por Unidades Funcionais (UF). Estas unidades de saúde podem ter diversas designações: Unidades de Cuidados na Comunidade (UCC), Unidades de Cuidados de Saúde Personalizados (UCSP), Unidades de Saúde Familiar (USF), Unidades de Saúde Pública (USP), Unidades de Recursos Assistenciais Partilhados (URAP), e Unidades de Apoio à Gestão (UAG). São necessários requisitos específicos para a atribuição destes títulos a cada uma das unidades.

Durante a realização deste estágio, fui integrado no Gabinete de Farmácia e do Medicamento dos Serviços Farmacêuticos (SF-GFM). Nesta organização estão englobados vários cargos como farmacêuticos, técnicos e assistentes operacionais. Atualmente, os SF-GFM contam com oito farmacêuticas. A sua principal função é a gestão de *stock* de medicamentos e material clínico das unidades. Esta tarefa exige uma colaboração próxima com os enfermeiros responsáveis e a dedicação constante das farmacêuticas, visto que a ARSC, IP engloba mais que 260 unidades.

O estágio curricular na ARSC, IP ocorreu na Farmácia Central dos SF-GFM na Pedrulha, em Coimbra e teve a duração total de 280 horas. Decorreu desde 2 de maio até 28 de junho de 2023, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Catarina Coelho. Será apresentado como uma análise SWOT. Esta é constituída por quatro elementos: dois fatores internos e dois fatores externos. Os fatores internos consistem em Pontos Fortes (*Strengths*) e Pontos Fracos (*Weaknesses*) e os fatores externos são compostos pelas Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*).<sup>3</sup>

## 2. Análise SWOT

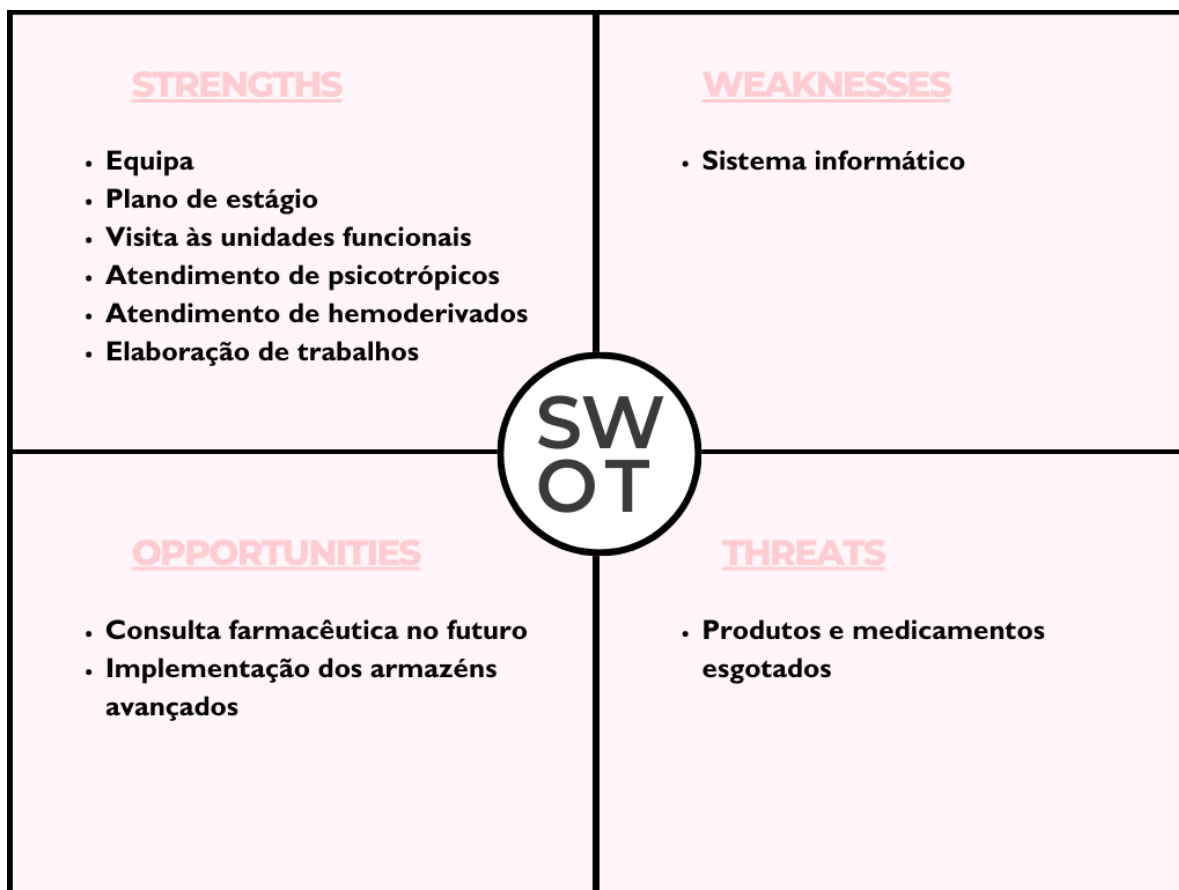


Figura 1 - Análise SWOT do estágio em Farmácia Hospitalar

### 2.1. Pontos Fortes (*Strengths*)

#### 2.1.1 Equipa

A equipa dos SF-GFM apresenta um grande espírito de interajuda. Embora cada farmacêutica possua responsabilidades distintas, a colaboração entre cada é habitual. O ambiente de trabalho é agradável e relaxado, mas sempre sem abdicar do profissionalismo. As colaboradoras estão sempre prontas a esclarecer dúvidas e ajudar em qualquer problema que possa surgir. Possuem amplo conhecimento acerca de todas as componentes do funcionamento da ARSC, IP. Os SF-GFM são uma parte fundamental de toda a operação de distribuição de medicamentos e material clínico.

Durante o estágio, todas as farmacêuticas, técnicos e auxiliares apresentaram disponibilidade para explicar qualquer conceito referente às suas funções. Desta forma, tive a possibilidade de expandir o meu conhecimento sobre diferentes tarefas e processos inerentes à ARSC, IP.

### **2.1.2. Plano de estágio**

A ARSC, IP está subdividida em várias entidades. Além disso, existe uma grande variedade de cargos. Por esta razão, pode ser complexo entender a organização e tarefas desta instituição. A todos os estagiários, é disponibilizado um manual de acolhimento para facilitar o processo de adaptação inicial. Este explica a divisão da ARSC, IP em ACES e, subsequentemente, em UFs. Também são descritas as funções primárias dos SF-GFM e a logística de distribuição dos medicamentos e material clínico. Todos estes conceitos são aprofundados em documentos disponíveis nos computadores disponibilizados aos estagiários. É conferida liberdade para explorar as responsabilidades e tarefas de cada encargo, à velocidade desejada.

O ajuste inicial ao método de trabalho na ARSC, IP foi mais simples com toda esta informação facilmente acessível. Após explicações ou esclarecimentos por colaboradores, foi possível colocar conhecimentos obtidos no contexto do funcionamento da ARSC, IP. A possibilidade de poder participar ou assistir ao quotidiano de cada trabalhador foi enriquecedora e informativa. Desta forma, o plano de estágio está meticulosamente concebido e permite uma introdução gradual ao espaço de trabalho.

### **2.1.3. Visita às unidades funcionais**

O abastecimento das UFs com medicamentos e material clínico representa o principal objetivo dos SF-GFM. Para melhor entender o funcionamento destes locais, é importante visitar e comunicar com os trabalhadores presentes. Ocasionalmente, as farmacêuticas dos SF-GFM dirigem-se a unidades pertencentes ao respetivo ACES. Assim, podem verificar diretamente se todas as necessidades destes estabelecimentos estão a ser satisfeitas.

Devido à implementação dos armazéns avançados, tive a oportunidade de me deslocar a duas unidades: UCC Castelo de Penela e UCSP Tábuia. Durante esta visita foi possível contactar com outros profissionais de saúde e compreender melhor as funções de cada um. Além disso, esta experiência expôs, em primeira mão, a influência do trabalho realizado pelos SF-GFM nas UFs.

### **2.1.4. Atendimento de psicotrópicos**

O atendimento de psicotrópicos é outra tarefa importante das farmacêuticas nos SF-GFM. Este processo é extremamente legislado e só pode ser realizado por farmacêuticos. O enfermeiro responsável em cada unidade deve registar a quantidade consumida de cada medicamento e remeter esta informação para os SF-GFM. Em seguida, o farmacêutico repõe o stock de acordo com os gastos reportados.

A possibilidade de assistir a estes atendimentos e observar todos os detalhes do processo foi uma experiência esclarecedora. Aprofundei o meu conhecimento acerca do circuito de medicamentos e das necessidades das UFs. Ademais, foi muito motivador testemunhar a confiança que é depositada nas farmacêuticas dos SF-GFM. O papel do farmacêutico na ARSC, IP é, de facto, muito respeitado.

### **2.1.5. Atendimento de hemoderivados**

No quotidiano dos SF-GFM é habitual a realização do atendimento de hemoderivados. A maioria destes consiste em imunoglobulinas anti-D para mulheres grávidas. A indicação terapêutica destes medicamentos é a profilaxia da doença hemolítica perinatal. Devem ser administrados às 28 semanas de gravidez em mulheres com sangue Rh negativo.<sup>4</sup> O pedido de imunoglobulina anti-D é realizado através de uma requisição de hemoderivados. O farmacêutico responsável deve conferir qual a data de administração e certificar-se que o medicamento é disponibilizado na altura certa.

Participar nestes atendimentos foi uma oportunidade incomum de contactar com estes medicamentos, pois em contexto de farmácia comunitária, a imunoglobulina anti-D não é distribuída. Este estágio permitiu alargar os meus conhecimentos acerca da utilização de hemoderivados.

### **2.1.6. Elaboração de trabalhos**

Ao longo do estágio foi requisitada a elaboração de vários documentos. A execução destes trabalhos teve como objetivo proporcionar uma fonte de informação de rápido acesso para as farmacêuticas dos SF-GFM. Foram abordados assuntos como a importância do aconselhamento farmacêutico, novos medicamentos anti hipertensores e métodos de esterilização na saúde oral. Além destes documentos, foi solicitada a realização de uma apresentação oral acerca do mais recente Consenso sobre Contraceção. A forma de exposição escolhida foi PowerPoint e a preparação estendeu-se ao longo de várias semanas. A exposição oral ocorreu na presença dos SF-GFM e da Dra. Catarina Coelho.

A realização destes trabalhos foi uma experiência extremamente informativa e uma excelente forma de ajudar a equipa no seu quotidiano. Expandi o meu conhecimento acerca de vários temas, e a apresentação oral permitiu um momento de discussão muito esclarecedor com as farmacêuticas presentes.



## **2.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)**

### **2.2.1. Sistema informático**

O sistema informático utilizado pela ARSC, IP é intitulado de SGICM. Tanto os serviços farmacêuticos como os administrativos, recorrem a este programa em grande parte das tarefas realizadas diariamente. Por exemplo, criação de guias de transporte e alteração de níveis de *stock* nos armazéns. Estas guias são enviadas juntamente com os medicamentos ou material clínico, de forma a registar concretamente o que foi remetido e permitir ao recetor verificar se ocorreram erros no envio. A alteração dos níveis consiste na gestão do *stock* atribuído a cada unidade funcional, ou seja, em cada unidade é possível definir a quantidade disponível de cada produto. Além destes exemplos, existem imensas funções realizadas com o SGICM mas, infelizmente, este sistema fica aquém das necessidades dos trabalhadores em vários aspetos. Este programa é desnecessariamente complexo em algumas tarefas mínimas como pesquisas e eliminação de linhas. Processos para múltiplos elementos como guias de transporte têm de ser realizados um a um. Após finalizar atendimentos e registar no sistema o *stock* utilizado, é difícil executar alterações caso tenha ocorrido algum erro. Por estas razões, um programa informático mais atualizado seria uma grande vantagem para os trabalhadores da ARSC, IP, pois permitiria uma realização mais eficiente e rápida das funções e tarefas necessárias.

Inicialmente, o sistema revelou-se confuso e pouco prático. Naturalmente, após usar este por algum tempo, fiquei mais confortável e confiante. No entanto, caso o programa fosse mais simples de utilizar, teria tido mais tempo para outras tarefas e oportunidades de aprendizagem durante o estágio.

## **2.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

### **2.3.1. Consulta farmacêutica no futuro**

A consulta farmacêutica nos cuidados de saúde primários pode vir a ser uma ocorrência habitual do sistema de saúde. A especialização dos farmacêuticos no medicamento, confere uma ferramenta muito útil nestes estabelecimentos. O farmacêutico pode esclarecer dúvidas sobre a medicação do utente. Por exemplo, como tomar, quais os possíveis efeitos secundários e se algum dos fármacos utilizados pode interagir. A ARSC, IP procura implementar a consulta farmacêutica nas UFs e, desta forma, melhorar a qualidade dos serviços prestados.

A consulta farmacêutica é uma ideia motivadora para os alunos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêutica. As funções dos farmacêuticos são cada vez mais reduzidas com o

aparecimento de outras profissões e o avanço da tecnologia. Esta nova tarefa nos cuidados de saúde primários pode originar novas possibilidades de carreira para a profissão.

### **2.3.2. Implementação dos armazéns avançados**

A ARSC, IP encontra-se no processo de implementação dos armazéns avançados. Estes consistem num sistema mais eficiente e prático de gerir o *stock* dos armazéns das unidades funcionais. É benéfico para todos os trabalhadores envolvidos. Para os enfermeiros responsáveis, é significativamente mais simples registar os consumos de cada medicamento ou material clínico. Desta forma, os armazéns serão abastecidos com os produtos requeridos mais facilmente. Para os SF-GFM torna-se mais prático gerir os *stocks* destes armazéns e entender as necessidades das unidades funcionais.

Durante o estágio tive a oportunidade de estar presente na implementação de dois armazéns avançados, como previamente mencionado. Testemunhar estas ocorrências foi importante, pois expandi a minha compreensão de todo o circuito dos medicamentos e material clínico. Além disso, foi uma oportunidade de entender mais profundamente a função dos enfermeiros responsáveis nestes armazéns.

## **2.4. Ameaças (*Threats*)**

### **2.4.1. Produtos e medicamentos esgotados**

À semelhança das farmácias comunitárias, vários produtos encontram-se esgotados ou com *stock* limitado. Este problema afeta medicamentos, vacinas, e material clínico. Muitas vezes é necessário enviar uma quantidade de produtos menor que a requisitada. Desta forma, é possível abastecer mais unidades funcionais, embora estas fiquem com um *stock* reduzido.

Em alguns atendimentos, não tinha conhecimento da necessidade de reduzir a quantidade enviada destes produtos. Para não cometer erros, foi preciso estar constantemente em contacto com outros membros da equipa. A falta de *stock* de certos medicamentos e vacinas é, particularmente, preocupante. Visto que muitos destes produtos são fundamentais na saúde dos utentes.

### **3. Conclusão**

A função de farmacêutico hospitalar é crucial no sistema de saúde nacional. O estágio na ARSC, IP foi uma experiência única que proporcionou uma perspectiva diferente deste cargo. A gestão de *stock* de medicamentos, vacinas, e material clínico nos cuidados de saúde primários acarreta imensa responsabilidade. Face à complexidade desta tarefa, os conhecimentos de um farmacêutico são, sem dúvida, de grande utilidade. Ao longo do estágio, expandi a minha compreensão acerca de diversos conceitos. Entender o circuito do medicamento foi interessante e desafiador. Este processo é muito detalhado e envolve múltiplos trabalhadores de vários cargos. Ao contactar com os profissionais da ARSC, IP, aprimorei a minha postura profissional e espírito de equipa.

Após este estágio, desenvolvi imenso respeito pelo trabalho da equipa dos SF-GFM. Agradeço pelos conhecimentos e experiência transmitidos. Além disso, admiro a luta destas trabalhadoras pelo reconhecimento dos farmacêuticos na área dos cuidados de saúde primários. Esta experiência proporcionou um grande desenvolvimento pessoal e profissional.

## Bibliografia

1. **Farmácia Hospitalar - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos** [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-hospitalar>.
2. **ARS | Centro, I.P** [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.arscentro.min-saude.pt>.
3. WEIHRICH, Heinz - The TOWS matrix—A tool for situational analysis. **Long Range Planning**. ISSN 0024-6301. 15:2 (1982) 54–66. doi: [https://doi.org/10.1016/0024-6301\(82\)90120-0](https://doi.org/10.1016/0024-6301(82)90120-0).
4. CROWTHER, C. A.; MIDDLETON, P. - Anti-D administration in pregnancy for preventing Rhesus alloimmunisation. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. ISSN 1465-1858. 2 (1999). doi: 10.1002/14651858.CD000020.

## **Parte III**

### **Monografia**

# **“Click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids in lung cancer therapy”**

Orientado pelo Professor Doutor Anthony Burke

## Resumo

Química “clique” é um termo amplo para reações eficientes, rápidas, flexíveis, e económicas. Os 1,2,3-triazóis estão intimamente relacionados com esta expressão em virtude do seu envolvimento nas reações “clique” mais notáveis, como a cicloadição azida-alcino catalisada por cobre (I) e a cicloadição azida-alcino promovida por tensão. A primeira reação é facilmente reproduzida e apresenta velocidades de reação notáveis. A segunda reação aplica estas qualidades em contexto celular. A química “clique” demonstra grande potencial numa infinidade de campos biomédicos.

O cancro do pulmão atormenta o mundo com a sua elevada taxa de mortalidade e prevalência. A descoberta de medicamentos para esta patologia é um empreendimento difícil e dispendioso. As reações “clique” são, certamente, valiosas neste objetivo, devido às suas características vantajosas. O uso de 1,2,3-triazóis derivados da química “clique” em fármacos novos e existentes, pode melhorar rendimentos, permitir uma síntese mais económica e melhorar a atividade terapêutica.

Esta revisão de literatura pretende estabelecer como os 1,2,3-triazóis obtidos através da química “clique” podem influenciar a terapia do cancro do pulmão. Múltiplas moléculas desta natureza foram descritas em vários artigos. Neste trabalho, são discutidos os resultados destes estudos, e destacada a importância dos 1,2,3-triazóis no seu sucesso.

**Palavras-chave:** Química “click”, CuAAC, SPAAC, Triazol, Cancro do pulmão, Descoberta de medicamentos, NSCLC.

## **Abstract**

Click chemistry is a broad term for efficient, fast, flexible, and economic reactions. 1,2,3-triazoles are closely related to this expression by virtue of their involvement in the most notable click reactions, such as the copper(I)-catalysed azide-alkyne cycloaddition and the strain-promoted azide-alkyne cycloaddition. The former reaction is easily reproduced and presents remarkable reaction rates. The latter reaction applies the aforementioned qualities in cellular context. Click chemistry has exhibited great potential in a plethora of biomedical fields.

Lung cancer plagues the world as the deadliest and one of the most prevalent types of cancer. Drug discovery for this pathology is a difficult and costly endeavour. Click reactions are, certainly, valuable in this undertaking, due to their advantageous features. Using click chemistry derived 1,2,3-triazoles in new and existing pharmacological molecules, can improve yields, allow for more affordable synthesis, and increase therapeutic activity.

This literature review aims to establish how 1,2,3-triazole hybrids obtained through click chemistry can influence lung cancer therapy. Multiple compounds of this nature have been reported. In this work, the results of these studies are discussed, and the importance of the 1,2,3-triazole unit in their success is highlighted.

**Keywords:** Click chemistry, CuAAC, SPAAC, triazole, lung cancer, drug discovery, NSCLC.

## **Abbreviations**

**ALK** - Anaplastic lymphoma kinase

**BARAC** - Biarylazacyclooctynone

**CuAAC** - Copper(I)-catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition

**DFT** - Density-functional theory

**DIBAC** - Aza-dibenzocyclooctyne

**DIBO** - Dibenzylcyclooctyne

**DIFO** - Difluorooctyne

**EGFR** - Epidermal growth factor receptor

**HGF** - Hepatocyte growth factor

**IDO I** - Indoleamine-pyrrole 2,3-dioxygenase

**MET** - mesenchymal epithelial transition factor

**NSCLC** - Non-small cell lung cancer

**NTRK** - Neurotrophic tyrosine kinase receptor gene

**PD-I** - Programmed cell death protein I

**ROS** - Reactive oxygen species

**ROSI** - Proto-oncogene tyrosine-protein kinase ROS

**RuAAC** - Ruthenium-catalysed 1,3-dipolar azide-alkyne cycloaddition

**SCLC** - Small cell lung cancer

**SPAAC** - Strain-promoted azide-alkyne cycloaddition

**TRK** - Tropomyosin receptor kinases

**VEGF** - Vascular endothelial growth factor receptor



## I. Introduction

Click chemistry is a widely used term for fast, simple, economic, and reliable chemical reactions between two molecules resulting in a more complex compound. These reactions have been increasingly applied in the biomedical industry because of their ability to produce new therapeutic agents and mark biomolecules in a rapid and sustainable manner.<sup>1;2</sup> They can also be used to efficiently and quickly merge two molecules that, under normal conditions, wouldn't be paired easily.<sup>3</sup> Click reactions are closely related to biorthogonal chemistry, an area based on the incredible advances made by Bertozzi's group.<sup>4</sup> This term refers to any reaction that is viable in living systems and does not interfere with biochemical processes.<sup>5</sup> Recently, both these areas of chemistry have seen significant breakthrough studies. For this work, the Noble Prize in chemistry in 2022 was awarded to Carolyn R. Bertozzi, Morten P. Meldal and K. Barry Sharpless. The copper(I)-catalysed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) developed by Sharpless and Meldal concurrently is one of click chemistry's crowning achievements for its simplicity and fast kinetics.<sup>6</sup> Bertozzi further improved upon this reaction's potential by making it viable in living cells.<sup>4</sup> Reactions with click chemistry's efficiency and biorthogonal chemistry's adaptability to the human body, can be a powerful tool in the pharmaceutical industry.

Every year, cancer presents very worrying statistics making it, naturally, one of the most researched pathologies globally. Lung cancer is one of the deadliest medical conditions in the world, being responsible for, approximately, 2.2 million new cases and 1.8 million deaths in 2020.<sup>7</sup> These statistics make it the most fatal kind of cancer and one of the leading causes of death in the world. Drug discovery for therapy in lung cancer is a very complex endeavour because the origin and factors of cancer are still under much discussion within the scientific community. A wide assortment of therapeutic targets can be considered for novel treatments.

Click chemistry can certainly have a brilliant future in the development of therapeutics for cancer. Existing medicinal compounds could be significantly improved by click chemistry reactions resulting in more powerful pharmacological properties, less unwanted side effects, and simplified production methods.<sup>2;3</sup> Accelerating development of new leads in drug discovery is also possible with these simple reactions.<sup>8</sup> Applications are immense in cancer, whether in targeted therapy, immunotherapy, biomarker testing or even radiation therapy.<sup>9; 10</sup> Click chemistry reactions might be a very useful instrument in drug manufacturing for lung cancer therapy.

1,2,3- triazoles are heterocyclic compounds with five members: two carbons and three nitrogen atoms.<sup>11</sup> They are rather stable and easy to obtain via click chemistry. These

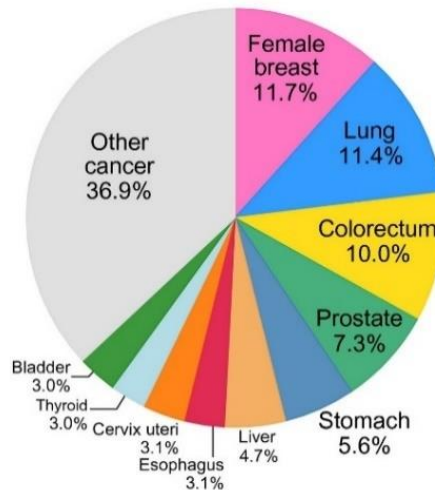
molecules are also capable of forming hydrogen bonds which increases their solubility.<sup>12</sup> Their adaptability and aptness to form complex compounds, confer 1,2,3-triazoles with impressive anticancer potential.<sup>13</sup> Not all methods of producing 1,2,3-triazole compounds use click chemistry. Nevertheless, an extensive variety of click reactions will result in these molecules.<sup>14</sup>

This work aims to ascertain how 1,2,3-triazole hybrids can be applied in lung cancer therapy by reviewing existing literature. To guarantee reactions in and out of biological context are fast and efficient, click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids might be a sensible solution. The literature retrieval method for this work involved, mainly, researching in the following websites: PubMed, Google Scholar, Web of Science, and ACS Publications.

## **2. Pathology**

Cancer is a vast comprising term for a devastating pathology which can target a wide range of tissues and organs. It consists of an abnormal uncontrolled growth of cells believed to result from DNA mutations that alter regular behaviour of cells.<sup>15</sup> This growth may evolve into a cancerous tumour. Another term used to refer to this disease is malignant neoplasm.<sup>16</sup> Malignant neoplasms are arranged into several histologic categories according to the type of cells they derive from: carcinoma, sarcoma, myeloma, leukaemia, and lymphoma.<sup>7</sup> They may also be classified according to their location in the human body. The breasts, lungs, prostate, colon, and rectum are considered the most common locations for cancerous tumours.<sup>17</sup>

Approximately, 19.3 million cancer cases were reported in 2020. About 10.1 million cases in men and 9.2 million cases in women. Number of cases and prevalent types of cancer vary according to sex due to a multitude of factors.<sup>18</sup> However, prostate and breast cancer are, evidently, the most notable reason for different incidence statistics between male and female. As previously stated, lung cancer is the most lethal type of cancerous tumour, being responsible for 18% of cancer deaths in 2020.<sup>7</sup> Most malignant neoplasms in lungs are carcinomas which are derived from epithelial cells.<sup>19</sup> As with most cancer types, an early diagnosis is fundamental to improving treatment efficacy. Some of the most common symptoms are coughing, fatigue, shortness of breath, chest pain, weight loss, and appetite loss.<sup>20</sup> Risk factors for this pathology include tobacco smoking, genetic predisposition, diet, alcohol consumption, diseases that cause chronic inflammation, exposure to radiation, air pollution, and carcinogens such as silica, asbestos, and chromium compounds.<sup>21</sup> Staging of lung cancer is classified according to the TNM system. This classification, fundamentally, consists in measuring the size of the tumour, evaluating affected lymph nodes, and verifying the existence of distant metastasis.<sup>22</sup> Lung cancer can be divided in two general histological types: non-small cell lung cancer (NSCLC) and small cell lung cancer (SCLC).<sup>17</sup>



**Figure 1** - Cancer statistics by type, in 2020.<sup>7</sup>

### 2.1. Small cell lung cancer

SCLC is the histological type of lung cancer with the worst prognosis. Characterized by an exceptionally fast proliferation rate and a high probability of metastasis.<sup>23</sup> Extremely aggressive and very lethal, most SCLC cancers will relapse, even after responding to initial treatment, and eventually lead to death.<sup>24</sup> It is the most uncommonly diagnosed type of lung cancer.<sup>25</sup> This carcinoma is thought to originate from neuroendocrine cells in the bronchi<sup>26</sup> but as with most cancers, this subject is still under much discussion. SCLC is the most closely linked cancer to smoking habits.<sup>27</sup> Only 2% of SCLC patients are non-smokers.<sup>28</sup> Genetic factors do play a role in this disease's incidence either directly<sup>29</sup> or indirectly, by influencing nicotine addiction disposition.<sup>30</sup> Staging of SCLC can be classified according to the TNM system. However, limited stage and extensive stage SCLC are the most used classifications in this pathology.<sup>22</sup>

Treatment for SCLC is severely limited due to its remarkably fast proliferation rates and limited number of targetable genetic alterations.<sup>23</sup> Chemotherapy, immunotherapy, and radiotherapy are the most used methods<sup>31:32</sup> but, as previously stated, relapses are common. Surgery is seldom used in SCLC.<sup>33</sup> Novel drugs for SCLC therapy are very complex to produce and, consequently, drug discovery is scarce in comparison to other types of lung cancer.<sup>32</sup>

### 2.2. Non-small cell lung cancer

About 85% of lung cancer cases are NSCLC.<sup>34</sup> This is a general term which englobes several types of lung cancer. Lung adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and large cell carcinoma are the most common classifications. As these subtypes of NSCLC are regarded as

very different pathologies, some researchers advocate for a more precise classification instead of simply dividing lung cancer into SCLC and NSCLC.<sup>35</sup>

Lung adenocarcinoma is diagnosed in most cases of NSCLC.<sup>36</sup> It arises in more peripheral airways.<sup>37</sup> This neoplasm can be classified as invasive or pre-invasive/minimally invasive. Invasive adenocarcinomas are divided, according to predominant cell types, as: lepidic, acinar, papillary, micropapillary and solid.<sup>38</sup> This pathology has the weakest correlation with tobacco smoking when compared to other lung cancer types, but it is still a major factor.<sup>39</sup> Multiple cells of origin are considered a possibility in lung adenocarcinomas. These include club cells, bronchioalveolar stem cells, alveolar epithelial type 2 cells, and more.<sup>40; 41</sup> DNA mutations that are present in this disease can occur in various genes, such as EGFR, TP53, KRAS, and ALK.<sup>42; 43</sup>

About 20 to 30% of NSCLCs are squamous cell carcinomas.<sup>44</sup> These neoplasms are usually located in the central portion of the lung and possesses a risk of forming cavities in major airways.<sup>38</sup> Tobacco smoking is a very important risk factor for this pathology.<sup>39</sup> Cells of origin for lung squamous cell carcinomas are not conclusively known, but evidence suggests basal cells in the tracheobronchial epithelium as a possibility.<sup>45; 46</sup> Squamous cell carcinoma can be associated with a great number of gene mutations including TP53, CDKN2A, EGFR, and NOTCH1.<sup>47; 48</sup>

In contrast to SCLC, treatment options for NSCLC tend to be vaster. Chemotherapy, radiation therapy, immunotherapy, targeted therapy, and even surgery can be considered.<sup>49</sup> Targetable genetic mutations are much more abundant,<sup>50</sup> and there is a lesser chance of metastasis in NSCLC,<sup>51</sup> which increases drug viability. For these reasons, this type of lung cancer presents a greater amount of published work.

### **3. Click chemistry methods for preparing 1,2,3-triazole hybrids**

Click chemistry was a term first described by Sharpless, Kolb and Finn in 2001. It is a very general term, therefore, some reactions that are considered click chemistry may display characteristics that do not fit all the criteria. To be considered as a click reaction most of these requirements should be met<sup>52</sup>:

- the reagents must be simple to obtain;
- the reaction should be stereoselective;
- the reaction's product yield must be high;
- the reaction must be modular, meaning it should use small molecules as building blocks to form more complex compounds;
- the reaction must happen readily in water and be insensitive to oxygen;

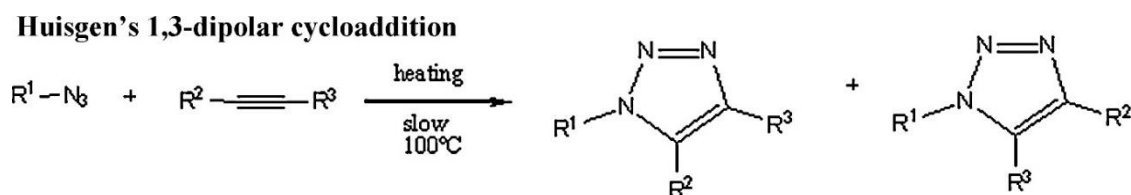
- formed byproducts should be inoffensive and easily removed;
- necessary purification methods should be nonchromatographic.

Evidently, reactions will hardly have all these chemical qualities and being categorized as a click reaction is often a subjective designation.

### 3.1. Azide-alkyne Huisgen cycloaddition

There are various click chemistry methods which can yield 1,2,3-triazole compounds as products. The Huisgen cycloaddition was the first step towards discovering click reactions. Huisgen's studies led to a deeper understanding of what is considered by Sharpless "the premier example of a click reaction."<sup>2</sup> The reaction (Figure 2) occurs between an alkyne (dipolarophile) and an azide (1,3-dipole) generating a 1,2,3-triazole.<sup>53</sup> It is generally not a regioselective nor stereoselective reaction, but nonetheless shows significant scope. Another drawback is the high temperatures needed to conduct this cycloaddition. Unfortunately, when considering these disadvantages, this reaction does not meet the criteria to be considered click chemistry. However, its importance cannot be underestimated, being a relevant reaction for more than sixty years.

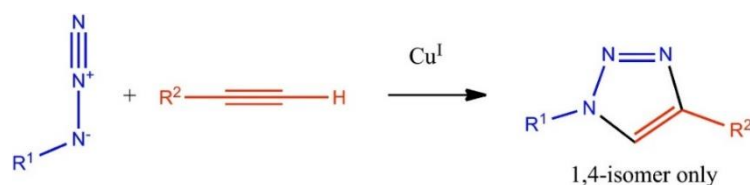
The concerted cycloaddition mechanism for this reaction proceeds has been indicated to be pericyclic in nature, similar to the Diels-Alder reaction.<sup>54</sup> The HOMO-LUMO gap for this reaction is substantial making it rather slow and difficult to achieve.<sup>55</sup>



**Figure 2** - Huisgen Cycloaddition reaction.<sup>127</sup>

### 3.2. Copper(I)-catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition

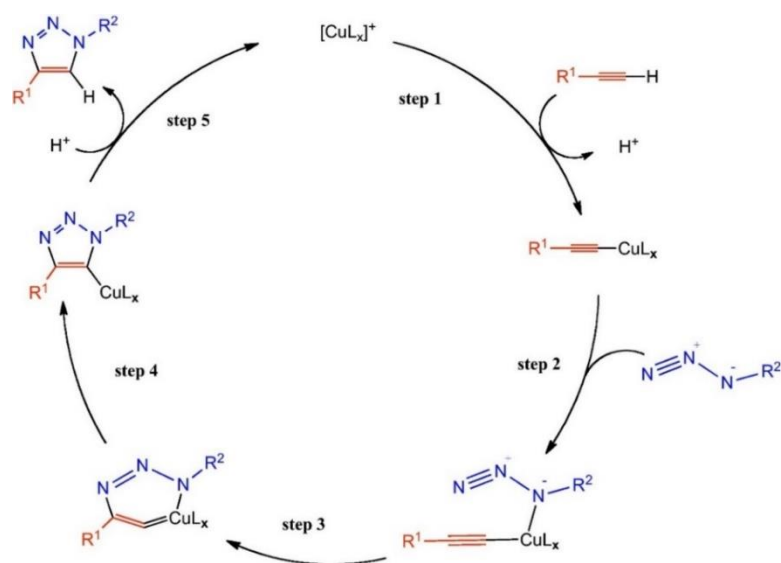
The CuAAC was first reported in 2002 in two different studies. One by Morten Meldal and the other by K.B. Sharpless and Valery Fokin.<sup>6</sup> This reaction is an azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition catalysed by copper (Figure 3), making it much faster and easier to achieve than the original Huisgen cycloaddition. It is reliable in aqueous environments and presents high yields across a broad spectrum of temperatures. While the original 1,3-dipolar cycloaddition was non-stereoselective and non-regioselective, the copper catalysed version is stereospecific and regioselective, giving exclusively, 1,4-isomers.<sup>56</sup> These characteristics, and its simplicity made it one of the first and most important click reactions to be discovered.



**Figure 3** - CuAAC reaction.<sup>127</sup>

The CuAAC reaction can be achieved in the following manner<sup>56</sup>: with copper (I) salts (such as CuI and CuBr), copper (II) salts in addition to a reducing agent, or oxidation of copper (0) nanoparticles. The most commonly used catalyst in CuAAC reaction is CuSO<sub>4</sub> with sodium ascorbate in excess as a reducing agent. These conditions present very high yields. The reducing agent should be in excess to make sure that the concentration of copper (I) is kept as high as possible throughout the reaction. The presence of the reducing agent also makes it much more resistant to oxidation, therefore, it is possible to successfully carry out the reaction in open air.<sup>57</sup>

The first proposed mechanism for the CuAAC reaction<sup>6</sup> was obtained through density functional theory calculations (DFT). Initially, in step 1 according to Figure 4, the copper catalyst coordinates with the terminal carbon of the alkyne. Subsequently, the copper also binds to the nitrogen proximal to the substituent of the azide in step 2. In step 3, the terminal nitrogen in the azide attacks the carbon that is unconnected to the copper, forming a heterocyclic metalocycle intermediate. The intermediate ring is contracted in step 4 and finally suffers proteolysis in step 5. This last step forms the final 1,2,3-triazole product and releases the copper catalyst to be used in another cycle.



**Figure 4** - CuAAC mechanism.<sup>127</sup>

Further studies on the mechanism envisioned the possibility of the intervention of a second copper atom, or in other words, the presence of a bimetallic complex during the cycle. In 2013, Fokin *et al.* presented convincing evidence for these bi-copper intermediate complexes. The binding of the second copper occurs after the deprotonation of the alkyne forming a binuclear complex.<sup>58</sup> This reaction (right-side Figure 5) is kinetically more favoured, having superior catalytic activity, but both mechanisms seem to occur according to some studies (Figure 5).<sup>59</sup> However, the reaction's mechanism, is still under discussion.

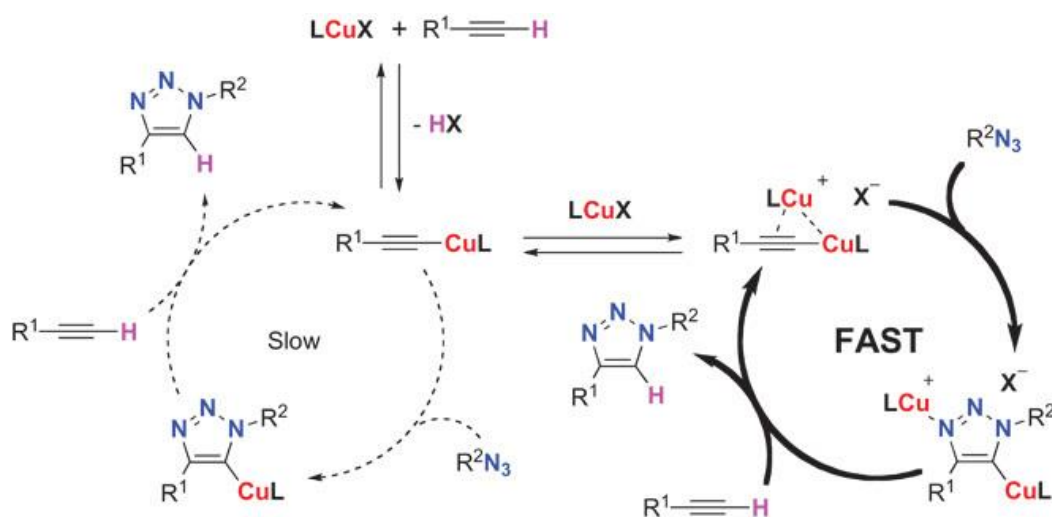
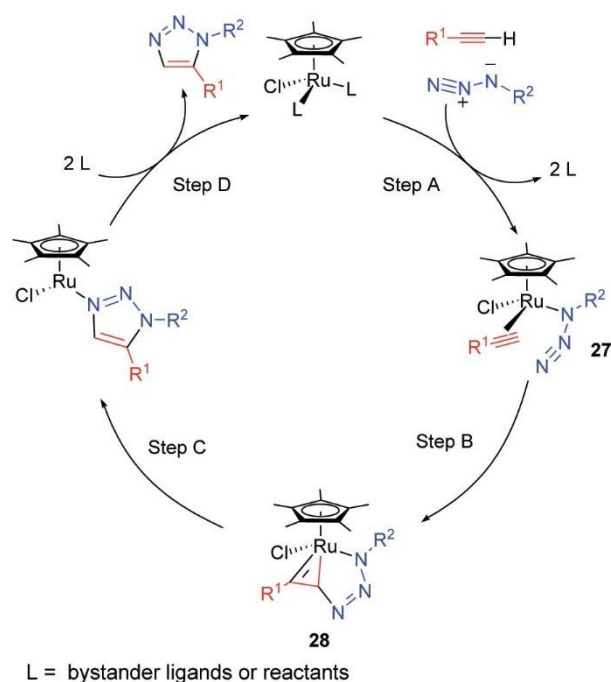


Figure 5 - Both proposed CuAAC mechanisms.<sup>59</sup>

### 3.3. Ruthenium-catalysed 1,3-dipolar azide-alkyne cycloaddition (RuAAC)

Another variation of azide-alkyne cycloaddition uses ruthenium as the catalyst. This reaction was first reported in an effort to develop a convenient method of obtaining 1,5-disubstituted 1,2,3-triazoles.<sup>60</sup> The possible reaction products include 1,5-disubstituted and 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazoles which cannot be obtained using the CuAAC reaction. The ruthenium-catalysed 1,3-dipolar azide-alkyne cycloaddition (RuAAC) is also stereospecific. The most effective catalysts are the pentamethylcyclopentadienyl ruthenium chloride complexes. Other catalysts such as cyclopentadienyl ruthenium produce 1,4-regioisomers or present low yields in comparison.<sup>61</sup>

The proposed mechanism for the RuAAC starts with the displacement of the spectator ligands producing an activated complex with the azide and alkyne, as represented in step A according to figure 6. In step B, oxidative coupling results in a ruthenacycle intermediate, which undergoes reductive elimination in step C. Finally, in step D, the triazole product is released and the ruthenium catalyst is regenerated for another cycle.<sup>61</sup>



**Figure 6 - RuAAC mechanism.**<sup>61</sup>

Both the copper and ruthenium catalysed 1,3-dipolar azide-alkyne cycloadditions, are convenient routes to producing 1,2,3-triazoles in a convenient and efficient manner, leading to a wide range of attainable products. Other metal catalysts were also reported to be capable of acting as catalysts for these reactions. One example is silver catalysts, as was reported by McNulty *et al.*<sup>62</sup>

### 3.4. Strain-promoted azide-alkyne cycloaddition

Despite the numerous advantages in using copper or ruthenium as catalysts for cycloadditions, their toxicity is a major drawback when used in the cellular context.<sup>63</sup> The traditional CuAAC can be used in the biomedical field if the reaction happens outside of living systems. Otherwise, this cycloaddition is severely limited. Some studies have shown the use of stabilizing ligands<sup>64, 65</sup> and chelating azide reagents<sup>66, 67</sup> can improve the CuAAC reaction and reduce copper's toxicity in biomolecules. The stabilizing ligands act by protecting copper from oxidation and increasing catalytic properties. Whereas the chelating reagents act by accelerating the reaction and neutralizing reactive oxygen species (ROS) that can damage cells.

In a different approach, Bertozzi *et al.* removed copper as a catalyst and used organic azides and strained cyclooctynes as reagents, developing the strain-promoted azide-alkyne cycloaddition (SPAAC).<sup>4</sup> Without the toxicity caused by copper catalysts, this reaction is adequate within the cellular context. It is an efficient reaction with extensive biomedical applications including for cancer treatment and fluorescent labelling of biomolecules.<sup>68; 69</sup>

The cycloalkyne's ring strain, which is crucial to the SPAAC mechanism, was first reported by Wittig and Krebs.<sup>70</sup> This strain occurs due to deformation of the triple bond in



cycloalkyne rings. The triple bond must assume abnormal angles when the molecule has less than ten carbons due to its small ring, making it extremely reactive.<sup>71</sup> In the cyclooctyne's triple bond, the linear angle of 180° is converted into a 155° angle<sup>72</sup>, resulting in a ring strain energy of, approximately, 18 kcal/mol.<sup>73</sup> In these molecules, ring reactivity is inversely related to its size. When the ring is small enough, such as in cyclopentynes and cyclopropynes, isolation can't be achieved due to their instability.<sup>74</sup> Cyclooctynes provide a good equilibrium between reactivity and stability when compared to other cycloalkynes.<sup>75</sup> Cycloheptynes are too difficult to isolate and must be complexed with metals, such as cobalt, to be stable.<sup>76</sup> While cyclononynes are stabler than cyclooctynes and, therefore, not as reactive.<sup>77</sup> For this reason, the cyclooctyne has seen more applications in click chemistry than other cycloalkynes.

The SPAAC (Figure 7) is a Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition when it comes to its mechanism. The reaction is faster than the Huisgen traditional cycloaddition, though not as efficient as the CuAAC. Click reactions which are not carried out in a biological environment, are, mostly, still reliant on metal catalysts.<sup>5</sup>



Figure 7 - SPAAC reaction.<sup>78</sup>

### 3.5. New strained cyclooctynes for SPAAC

Even though, the new SPAAC reaction circumvented toxicity in metal catalysed click chemistry, its kinetics were not on a par with the CuAAC, being comparable instead to the Staudinger ligation.<sup>68</sup> To improve SPAAC's speed, substituted cyclooctynes were developed. Of these new reagents, some of the most notable are difluorooctynes (DIFO), dibenzylcyclooctynes (DIBO), aza-dibenzocyclooctynes (DIBAC) and biarylazacyclooctynones (BARAC) (Figure 8).

DIFO (Figure 8) reagents are cyclooctynes with a difluoro group which improves reactivity by altering the alkyne's electronics. Various molecules of this class exist. The reaction's kinetics are vastly improved by these substituents.<sup>78</sup> The first generation DIFO was developed by Bertozzi *et al.* and is capable of achieving sixty-three times the reaction speed of Staudinger's ligation. It is also stabler and less likely to cause side reactions. This reagent combines the Staudinger reaction's biocompatibility with the CuAAC's efficiency and sensitivity.<sup>79</sup> Density functional theory (DFT) calculations for frontier orbitals on cyclooctynes and DIFO reagents revealed the geminal difluoro group increases HOMO energy and lowers

LUMO energy, therefore, reducing the HOMO-LUMO gap and increasing reactivity.<sup>80</sup> A major disadvantage was the synthesis of difluorinated cyclooctynes which presented extremely low yields.<sup>79</sup> Second generation DIFO reagents were developed by Codelli *et al.* to circumvent this drawback. Synthesis yields were increased by about twenty fold when compared to the first generation DIFO reagents. This was achieved by reducing the number of steps to carry out the synthesis by employing a one-step difluorination and a Wittig reaction.<sup>81</sup>

DIBO (Figure 8) reagents are cyclooctynes coupled with two benzene rings. The reaction rates were very significant.<sup>82</sup> Its most advantageous feature was its simplified synthesis, as methods of producing dibenzocyclooctatrienes are well known<sup>83</sup>, and these served as starting material. DIBO reagents were developed, further improving upon this new class of reagents.

One of the DIBO derivatives was the BARAC (Figure 8). Its chemical structure includes a nitrogen atom in its ring, and an oxygen atom as a substituent, which makes it a lactam.<sup>84</sup> This change in the molecule increases ring strain by further deforming its alkyne triple bond to even less than the 155°C angle assumed by the original cyclooctyne.<sup>85</sup> It is the SPAAC reagent with the fastest reaction rates, but it presents high instability when compared to other developed cycloalkynes.<sup>68</sup>

In 2010, Debets *et al.* reported another DIBO derivative named DIBAC<sup>86</sup> (Figure 8). It also became known as ADIBO<sup>87</sup> or DBCO.<sup>88</sup> DIBAC is not a lactam, but also possesses a nitrogen atom in its ring. The BARAC's reaction kinetics are still faster, however, DIBAC is much more stable.<sup>68</sup>

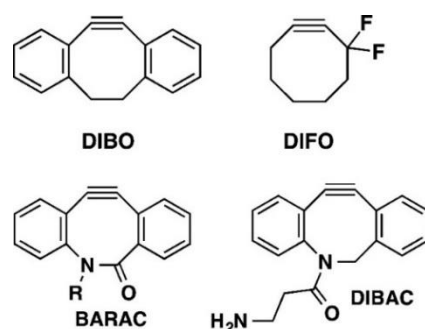


Figure 8 - New SPAAC reagents.<sup>128</sup>

Strain-promoted cycloadditions are in continuous development, with an already extensive backlog of novel reagents, this reaction is incredibly promising. Applications in biological chemistry and medicinal chemistry are vast and the biomedical field is, currently, benefiting from having click chemistry in its arsenal.

## 4. Applications in lung cancer therapy

A great deal of studies have proved click chemistry's potential in various types of cancer. Lung cancer therapy can be improved with click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids in various ways. These include improving upon existing molecules, producing new ones, or optimizing drug delivery systems.

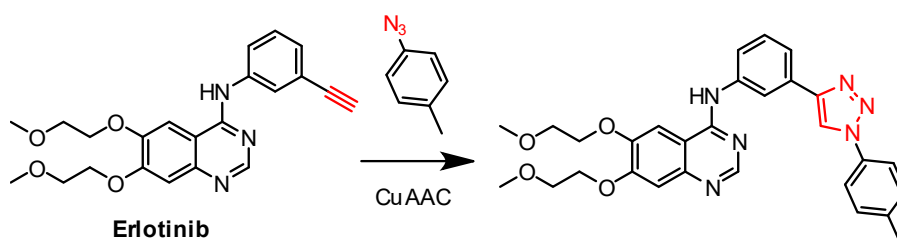
Lung cancer therapy exhibits numerous therapeutic methods and targets.<sup>49; 89</sup> The following studies represent applications of click chemistry derived 1,2,3-triazole hybrids for a great deal of these targets. Most of these studies look to evaluate the antiproliferative and inhibitory ability of their novel compounds. To achieve this, the model systems used are cancer cell lines that simulate tumour tissues. Numerous cancer cell lines exist, such as HeLa<sup>90</sup>, the most common cancer cell line, and the A549, which is derived from a lung adenocarcinoma.<sup>91</sup> Other methods, such as docking studies<sup>92</sup>, can also be employed to further understand the molecule's therapeutic mechanisms.

### 4.1. EGFR inhibition

Epidermal growth factor receptor (EGFR) is a transmembrane protein that belongs to the receptor tyrosine kinase family of enzymes. It allows the binding of epidermal growth factors to the cell, which induces proliferation and differentiation.<sup>93; 94</sup> Mutations or overexpression of this glycoprotein are present in numerous types of cancer. The manifestation of these genetic mutations will differ according to various factors including smoking, ethnicity, and gender. Chevallier *et al.* reported the prevalence of these mutations in NSCLC is, approximately, 19%.<sup>89</sup> EGFR mutations are regarded as some of the most exhibited in NSCLC. For this reason, inhibition of EGFR is a tool of great interest in targeted therapy for lung cancer.

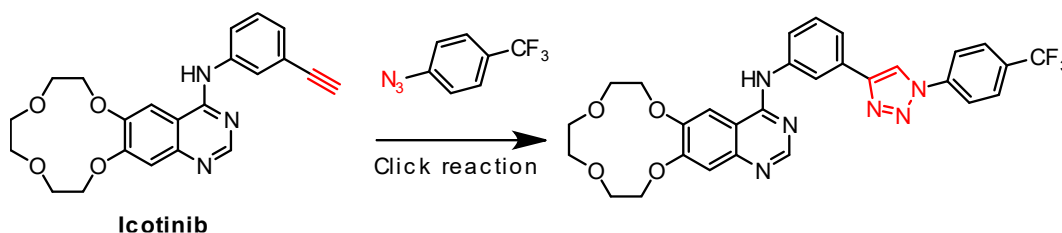
Erlotinib (Figure 9) is a commercialized EGFR inhibitor used in NSCLC. New 1,2,3-triazole containing Erlotinib derivatives which exhibited improved anti-cancer properties were reported in 2022. The new molecules were synthesized by using the CuAAC between erlotinib and a variety of azide compounds. The derivatives were tested and compared to the original Erlotinib by using H460, H1975, A549 and PC-9 NSCLC cell lines. Antiproliferative and EGFR inhibition assays were carried out through CCK-8 and ELISA, respectively. One molecule (product in Figure 9) was considered promising due to its improved antiproliferative activity against NSCLC, along with an acceptable EGFR inhibition capacity. In H460, H1975 and A549 cell lines, IC<sub>50</sub> values were between 3.77µM and 7.25µM. Control drug Erlotinib presented

IC<sub>50</sub> values between 10.20μM and 13.28μM, in the same cell lines. The only cell line where the original Erlotinib was not surpassed by this synthesized molecule was PC-9.<sup>95</sup>



**Figure 9** - Key CuAAC reaction used for the synthesis of the Erlotinib derivative.

Icotinib (Figure 10) is a commercialized EGFR-TKI inhibitor for treatment of NSCLC. Various icotinib 1,2,3-triazole derivatives were developed using click reactions. These molecules were tested in various NSCLC cell lines: H460, A549, H1299, PC-9 and H1975. The parent Icotinib drug was used as control, presenting IC<sub>50</sub> values of 2.63μM to 75.42μM (excluding H460 results which were greater than a 100μM). In comparison, the most promising molecule (product in Figure 10) demonstrated very good antiproliferative and cytotoxic effects (IC<sub>50</sub>= 2.22 to 6.61μM) in all cell lines. This new compound also presented significant EGFR inhibition (IC<sub>50</sub>= 1.49μM).<sup>96</sup>

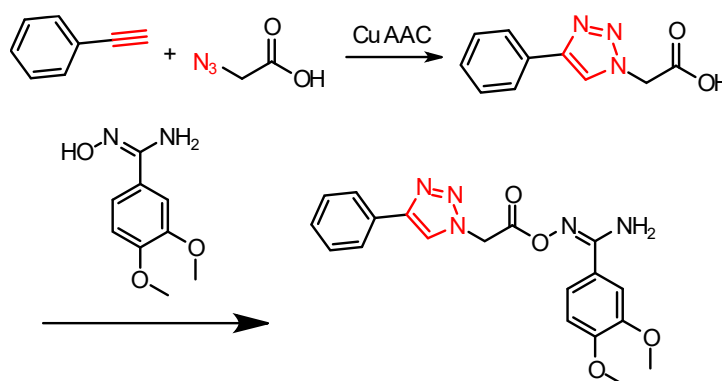


**Figure 10** - Key click reaction used for the synthesis of the Icotinib 1,2,3-triazole derivative.

## 4.2. VEGFR inhibitors

The vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) is another type of tyrosine kinase receptor mainly found on the surface of endothelial cells. This protein binds VEGFs which possess a fundamental role in the formation of blood vessels near the cell.<sup>97</sup> Thus, these receptors are very relevant in cancer therapies involving anti-angiogenesis agents. VEGF overexpression in cancer cells is frequent, therefore, inhibiting its receptor is a useful mechanism against NSCLC cells, as it can deprive them of nutrition that is fundamental to their survival.<sup>98</sup>

New 1,2,3-triazole-carboximidamide derivatives were developed using the CuAAC to produce the starting material. These hybrids were tested for their antiproliferative ability, and EGFR/VEGFR-2 inhibition in various cancer cell lines including A549. In this cell line, the most promising molecule (final product in Figure 11) had good antiproliferative activity results, with  $IC_{50}$  values equal to the control drug, erlotinib ( $IC_{50}=30nM$ ). VEGFR-2 inhibition for this new derivative was significant ( $IC_{50}=1.80nM$ ) but not as prevalent as in the control drug, sorafenib ( $IC_{50}=0.17nM$ ). Molecular docking studies revealed the phenyl triazole scaffold is capable of forming Pi-H bonds with target amino acids in VEGFR-2 inhibition. This demonstrates the triazole plays a significant role in the inhibition mechanism.<sup>99</sup>



**Figure 11** - Key reactions (including CuAAC) used for the synthesis of the 1,2,3-triazole-carboximidamide derivative.

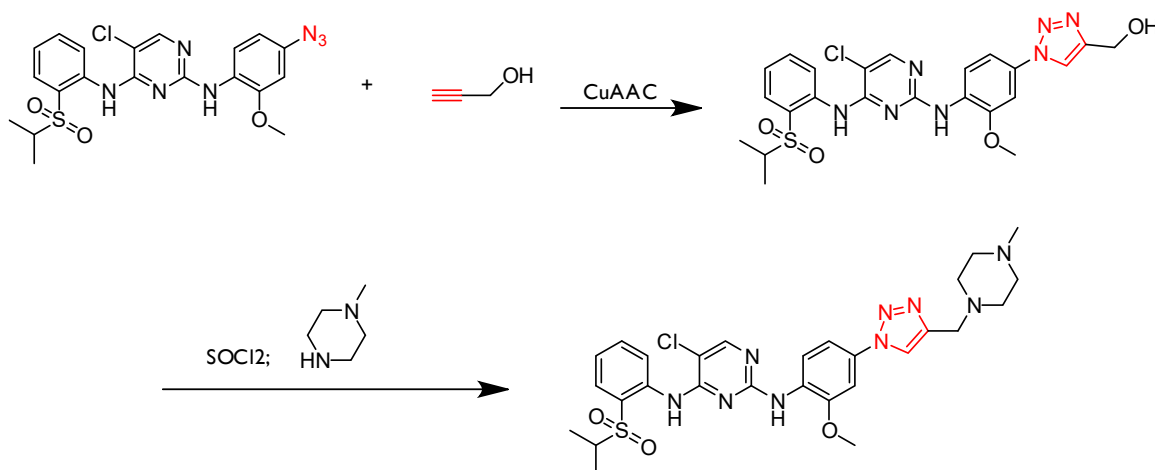
### 4.3. ALK/ROSI dual inhibition

Anaplastic lymphoma kinase (ALK) is an enzyme which is also part of the receptor tyrosine kinase family and is, normally, expressed during the development of the nervous system. In NSCLC, the fusion gene EML4-ALK is thought to play an important role in regulating various pathways which control proliferation and cell survival.<sup>100</sup> Around 3% of NSCLC cases present ALK gene alterations<sup>89</sup> and, consequently, drugs such as crizotinib have been developed to target ALK.<sup>34</sup>

The proto-oncogene tyrosine-protein kinase ROS (ROSI) is another receptor tyrosine kinase enzyme. Its normal function is largely undefined. ROSI gene alterations are very rare, being present in, approximately, 1% of NSCLC cases. Drugs such as entrectinib target ROSI positive NSCLC.<sup>101</sup>

Novel 2, 4-diarylaminopyrimidine analogues bearing 1,2,3-triazoles were reported. Synthesis occurs through a very complex synthetic pathway that includes the CuAAC in the final step. These molecules were tested in numerous NSCLC cell lines: HCC78, H2228, A549 and H460. The control drugs were Crizotinib and Ceritinib, which are commercialized as an ALK/ROSI inhibitor and ALK inhibitor, respectively. In H2228 and HCC78 cell lines, the best

compound (final product in Figure 12) presented a very robust cytotoxic activity, with  $IC_{50}$  values of  $0.095\mu\text{M}$  and  $0.040\mu\text{M}$ , respectively. The best control drug, Ceritinib, presented inferior  $IC_{50}$  values of  $0.099\mu\text{M}$  and  $0.058\mu\text{M}$ , in the same cell lines. ALK ( $IC_{50}=1.4\text{nM}$ ) and ROSI ( $IC_{50}=1.1\text{nM}$ ) inhibition was also significant making this compound very promising. After molecular docking studies, 1,2,3 triazole moieties were described as good building blocks to increase ROSI inhibition potency. 1,2,3-triazole units were revealed to engage in anion- $\pi$  interactions with target amino acids of ALK inhibition.<sup>102</sup>



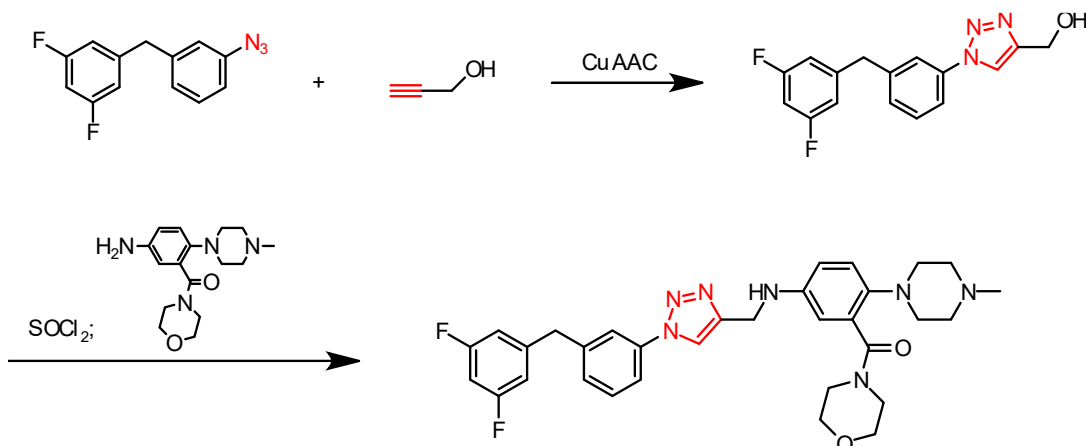
**Figure 12** - Key reactions (including CuAAC) used for the synthesis of the 2,4-diarylaminopyrimidine analogue bearing a 1,2,3-triazole.

#### 4.4. ALK/TRK dual inhibition

Tropomyosin receptor kinases (TRK) are a family of tyrosine kinases that are encoded by the neurotrophic tyrosine kinase receptor (NTRK) genes. TRKA, TRKB and TRKC (encoded by the genes NTRK1, NTRK2 and NTRK3, respectively) are the most common receptors of this group. NTRKA gene alterations are considered oncogenic drivers in various cancers. They are present in NSCLC but very rare.<sup>103</sup>

New phenyl triazole ALK/TRK dual inhibitor molecules were discovered in 2023.<sup>104</sup> Using CuAAC during synthesis, these compounds were produced to combat ALK or TRK inhibition resistant cancers. Antiproliferative ability was assessed using four NSCLC cell lines: KM-12, H2228, KARPAS299, and A549. Entrectinib, a commercialized TRK/ROSI/ALK inhibitor for cancer therapy<sup>105</sup>, was used as the control drug. The optimal compound (final product in Figure 13) that resulted from this study, exhibited  $IC_{50}$  values of  $0.079\text{-}0.138\mu\text{M}$  in antiproliferative assays, which was better than the control drug, entrectinib. Though the new molecule did not surpass entrectinib in TRKA inhibition, it was very comparable ( $IC_{50}$  of  $1.9\mu\text{M}$  and  $1.7\mu\text{M}$ , respectively). Safety profiling using normal human cell lines was very positive, showing good selectivity for cancer cells. Molecular docking studies confirmed the phenyl triazole is capable of forming various non-covalent bonds with target amino acids of ALK and

TRKA inhibition. These include anion- $\pi$ , alkyl- $\pi$ ,  $\pi$ - $\pi$  interactions, and, also, hydrogen bonds. This improved drug target interaction demonstrates the pharmacological utility of the 1,2,3-triazole in the compound structure.<sup>104</sup>

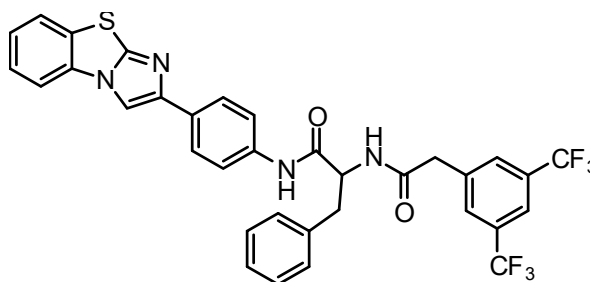


**Figure 13** - Key reactions (including CuAAC) used for the synthesis of the phenyl triazole ALK/TRK dual inhibitor.

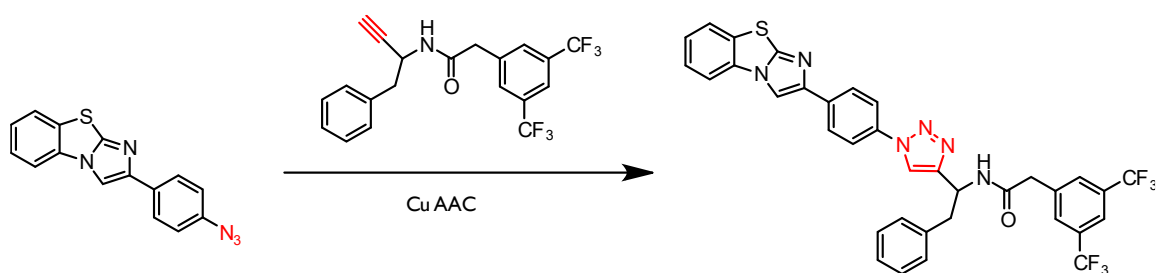
#### 4.5. MET inhibition

The mesenchymal epithelial transition factor (MET) gene codes a transmembrane protein which acts as a receptor to the hepatocyte growth factor (HGF). This growth factor plays a role in cell proliferation and growth.<sup>106</sup> About 3% of NSCLC cases present gene alterations in MET.<sup>89</sup> This gene is the therapeutic target of drugs such as capmatinib.<sup>107</sup>

Click chemistry was used in the synthesis of a new molecule for MET inhibition (product in Figure 15). It was obtained by modifying an existing compound named Triflorcas (Figure 14), developed in a previous study.<sup>108</sup> Through CuAAC, the original molecule's amide bond was replaced with a 1,2,3-triazole unit. This improvement simplifies the drug's production. One of the tested cancer lines was H1437 and results were very promising. Antiproliferative activity was on a par with Triflorcas and toxicity in normal cells was not observed. Docking studies confirmed the triazole's ability to form polar interactions with target amino acids in the ATP binding site of MET. This proves the 1,2,3-triazole has an important role in MET inhibition.<sup>109</sup>



**Figure 14** - Triflorcas.

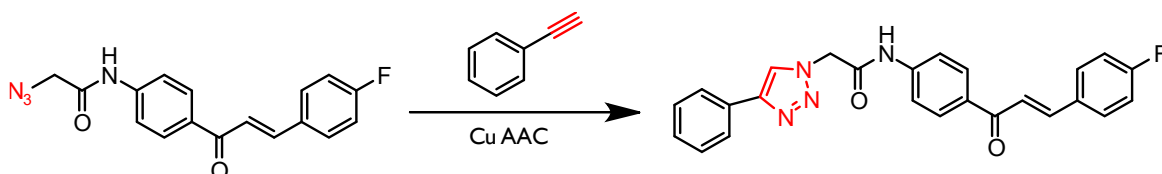


**Figure 15** - Key CuAAC reaction used for the synthesis of the Triazole-based Met inhibitor.

#### 4.6. BRAF inhibition

The proto oncogene B-Raf (BRAF) encodes a protein known as BRAF kinase. This protein is involved in cell proliferation and differentiation.<sup>110</sup> Close to 5% of NSCLC cases express gene alterations in BRAF.<sup>89</sup> For this reason, this gene is considered a relevant target for anti-cancer drugs.

Chalcone is a flavonoid present in various plant products. It exhibits various therapeutic activities including anti-cancer potential.<sup>111</sup> A novel series of 1,2,3-triazole chalcone hybrids were developed using CuAAC in their synthesis. These exhibit BRAF and EGFR inhibition activity. One compound (product in Figure 16) was considered optimal for its antiproliferative ability ( $IC_{50}=0.90-1.10\mu M$ ) comparable to Doxorubicin ( $IC_{50}=0.90-1.40\mu M$ ) in various cancer cell lines including A549. The 1,2,3-triazole in the chemical structure is described as crucial for the therapeutic activity of this molecule.<sup>112</sup>



**Figure 16** - Key CuAAC reaction used for the synthesis of the 1,2,3-triazole chalcone hybrid.

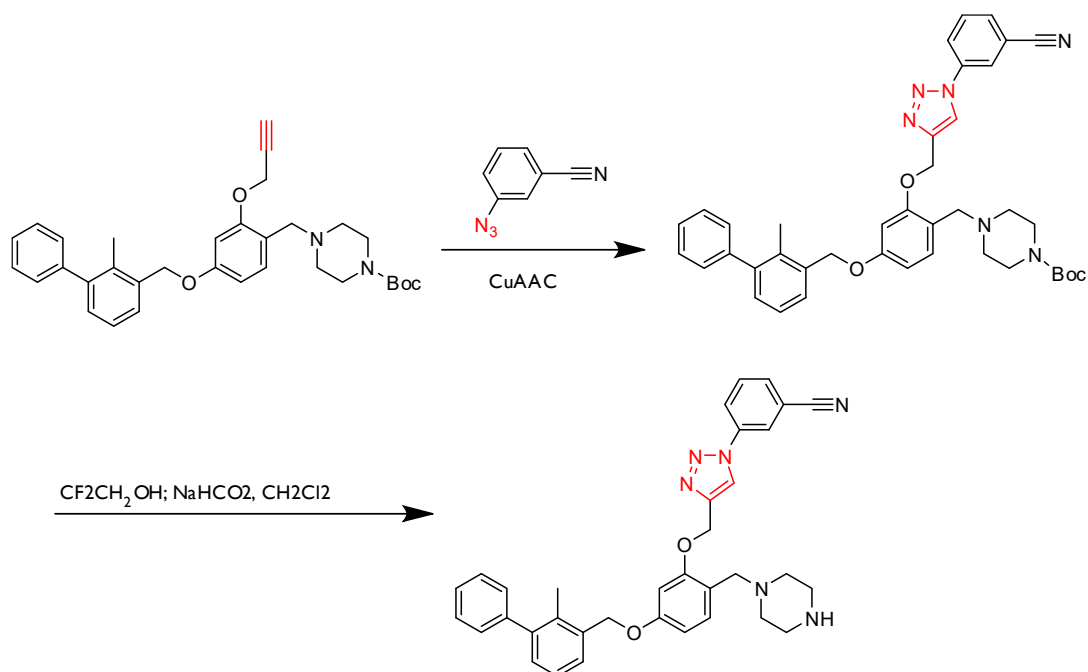
#### 4.7. PD-1/PD-L1 inhibition

The programmed cell death protein 1 (PD-1) is a receptor protein, normally found on the surface of T cells, and PD-L1 is one of its ligands. Together, these proteins play an integral role in inhibiting immune responses in cells. For this reason, the PD-1/PD-L1 pathway can enhance the survivability of cancer cells.<sup>113</sup> Immune checkpoint inhibitors such as Nivolumab were developed to target the PD-1/PD-L1 pathway.<sup>114</sup>

Novel biphenyl-1,2,3-triazole-benzonitrile derivatives were synthesized using click chemistry. These molecules exhibited PD-1/PD-L1 inhibition activity which is relevant in various types of cancer including NSCLC. This inhibitory ability was evaluated by a HTRF assay system. One of the produced molecules (final product in Figure 17) presented very significant



PD1/PD-L1 inhibition activity ( $IC_{50}=8.52 \mu M$ ), though it did not surpass the reference drug, BMS-202.<sup>115</sup>

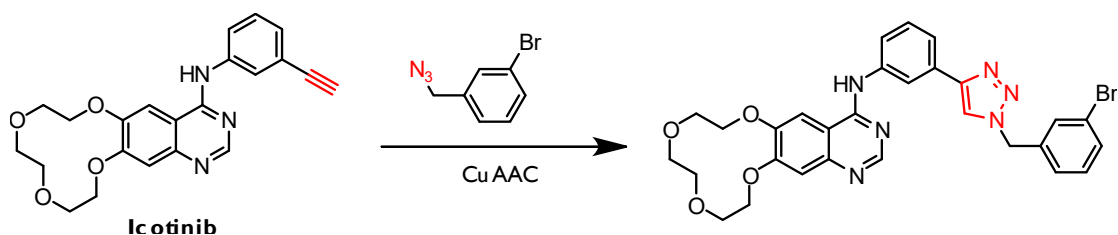


**Figure 17** - Key reactions (including CuAAC) used for the synthesis of the Biphenyl-1,2,3-triazole-benzonitrile derivative.

#### 4.8. IDO1 inhibition

Indoleamine-pyrrole 2,3-dioxygenase (IDO1) is an enzyme that plays a pivotal role in immune response. It regulates the kynurenine pathway, which is associated with immunosuppression in tumours, making it a target of great interest in cancer therapy. For this reason, various IDO1 inhibitor drugs have been developed.<sup>116</sup>

New icotinib-1,2,3-triazole hybrids were discovered, in 2020. CuAAC was used in the preparation of these compounds. Cytotoxicity and IDO1 inhibition studies were carried out by CCK-8 and Hela cell based assay, respectively. Promising IDO1 inhibition activity was registered in various derivatives. One compound (product in Figure 18) presented very promising results ( $IC_{50}=0.37 \mu M$ ), surpassing the original Icotinib molecule which exhibited  $IC_{50}$  values of  $2.57 \mu M$ .<sup>117</sup>

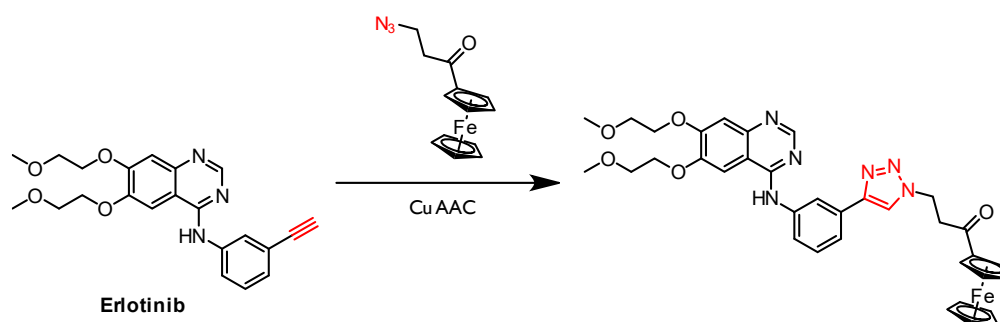


**Figure 18** - Key CuAAC reaction used for the synthesis of the Icotinib-1,2,3-triazole hybrid.

#### 4.9. ROS induction

Reactive Oxygen Species (ROS) are very reactive ions and molecules. These include superoxide anions ( $O_2^{\cdot-}$ ) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ).<sup>118</sup> ROS induction refers to increasing the concentration of these species in cells which, in turn, can lead to cell death or senescence. Cancer cells present higher levels of ROS. Therefore, they are more susceptible to ROS induction than normal cells. This therapeutic mechanism has been useful in various types of cancer treatment such as chemotherapy, targeted therapy, and radiotherapy.<sup>119</sup>

In 2022, five click chemistry ferrocenyl derivatives of erlotinib were discovered by Bieganski *et al.* who employed click chemistry methods with either CuAAC or RuAAC. The copper catalysed version was used to obtain 1,4-substituted isomers, and the ruthenium catalysed method was used to obtain 1,5-substituted isomers. These new compounds were evaluated in various erlotinib resistant NSCLC cell lines: A549, H1395, H1975 and H1650. BEAS-2B normal cell lines were used to test toxicity. Various compounds from the study presented good results but one compound (product in Figure 19) was considered optimal. This molecule exhibited better antiproliferative activity than the control drug, erlotinib, across all cancer cell lines.  $IC_{50}$  values for the new derivative were between  $7.9\mu M$  to  $27\mu M$ . Whereas erlotinib presented  $IC_{50}$  values of  $12\mu M$  to  $40\mu M$ . Another very positive comparison were the toxicity levels registered in the BEAS-2B normal cell lines. Toxicity was higher with erlotinib ( $IC_{50}=74\mu M$ ) than with the new molecule ( $IC_{50}=155\mu M$ ). Through molecular docking studies, it was observed that the compound exhibits ROS induction and EGFR inhibitions as mechanisms for its antiproliferative activity. ROS induction was considered the dominant mechanism. These studies also implied that the molecule's antiproliferative activity was, mainly, due to the length of the linker between the ferrocenyl and triazole moieties. In contrast, the choice between using RuAAC or CuAAC to obtain 1,4-substituted and 1,5-substituted 1,2,3-triazoles, respectively, is not as important to maintain the therapeutic properties of the compound. The second most promising compound in the study was produced via RuAAC, which supports these findings. This suggests both click chemistry methods are viable in the discovery of new drugs for cancer therapy.<sup>120</sup>

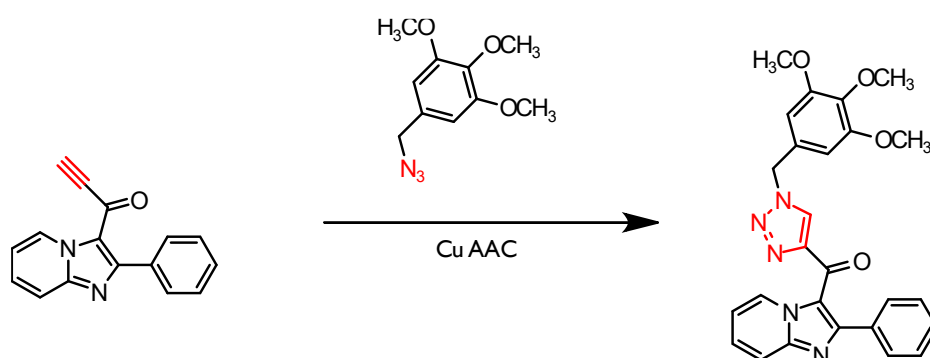


**Figure 19** - Key CuAAC reaction used for the synthesis of the Ferrocenyl erlotinib derivative.

#### 4.10. Tubulin inhibitors

Tubulin inhibitors act by disrupting the proper function of microtubules.<sup>121</sup> These tubulin polymers are very important to cellular structure and are involved in various biological processes such as cell division and intracellular transport. Tubulin inhibitors are a useful approach to anti-cancer drug development.<sup>122</sup>

Imidazopyridine linked 1,2,3-triazoles were produced as tubulin inhibitors against cancer cells. The new molecules were tested in various cancer cell lines including A549. As control, the study used paclitaxel ( $IC_{50}=0.04\mu M$ ), colchicine ( $IC_{50}=0.1\mu M$ ) and nocodazole ( $IC_{50}=1.47\mu M$ ), which are all drugs that exhibit tubulin inhibition as a mechanism. The optimal compound (product in Figure 20) presented the best results. In A549, antiproliferative activity was very acceptable with  $IC_{50}$  values of  $0.51\mu M$ . Through procedures such as flow cytometry analysis and molecular docking studies, the presence of the tubulin inhibition mechanism was further proved. It was also suggested that the triazole ring had a significant influence on this interaction with tubulin, by formation of hydrogen bonds.<sup>123</sup>



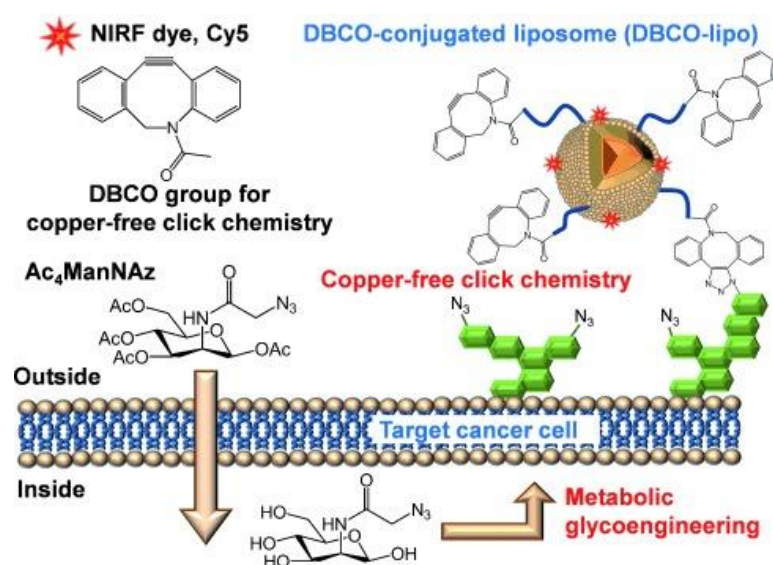
**Figure 20** - Key CuAAC reaction used for the synthesis of the Imidazopyridine linked 1,2,3-triazole.

#### 4.11. Drug delivery

Achieving high specificity in targeting cancer cells represents one of the most formidable challenges in cancer therapy. Improving drug delivery systems increases drug

efficacy and reduces toxicity in normal cells. Incorporating click chemistry's fast reaction speeds and good specificity in these systems can be an effective technique.

To improve drug delivery of anti-cancer nanoparticles, a new procedure (Figure 21) involving click chemistry methods was developed by Koo *et al.* SPAAC is a fundamental tool in this study by ensuring the drug influences its pharmacological target with high specificity and efficacy. Xenographed mice were used to test the efficacy of this new technique. The first step of this complex drug delivery concept is to remodel cancer cells with biomarkers. For this purpose, Ac<sub>4</sub>ManNAz molecules were chosen. Through glycoengineering, Ac<sub>4</sub>ManNAz molecules cause the cancer cells to artificially produce targetable sialic acids. These acids were engineered to contain terminal azide groups which are important for click reactions, as previously discussed. In the second step, PEGylated liposomes are combined with DBCO reagents. These modified liposomes are then intravenously injected into the mice. Finally, the liposome-DBCO compound reacts with the sialic acids on the surface of the cancer cells. This reaction is carried out through SPAAC, resulting in a 1,2,3-triazole linker between liposome and cancer cell. After completing the click induced binding, the liposome-DBCO complex releases the drug into the tumorous tissue. One of the tested cancer cell lines was A549 which successfully exhibited targetable sialic acids on their surface. The presence of the azide groups was confirmed through visualization with fluorescence (after treatment with detection agents). Apart from conferring the pharmacological nanoparticles with incredible selectivity for cancer cells, this drug delivery system also allows the artificial control of the drug's dose (a key issue in pharmacology). This is achieved by altering the Ac<sub>4</sub>ManNAz concentration and, therefore, changing the amount of nanoparticles released on the target cells.<sup>124</sup>



**Figure 21** - Schematic representation of the drug delivery system involving SPAAC.<sup>124</sup>

## 5. Conclusion

With click chemistry's advances in recent years, possibilities for drug discovery are endless. Besides speed and efficacy, these reactions offer great diversity. This feature naturally impacts development and production expenses in a positive way and, also, allows for the constant acquisition of novel drugs to reach more patients.

The synthesis of the 1,2,3-triazole moiety is the object of extensive research, and a practical choice for incorporating click chemistry in drug formulation. These moieties also exhibit diverse biological and pharmacological properties. Their ability to form hydrogen bonds is useful for increasing interaction with biological targets.<sup>12</sup>

As witnessed in a multitude of studies, lung cancer therapy can, most definitely, be enriched by the use of 1,2,3-triazole hybrids. These molecules have the potential to improve existent therapies and help in the discovery of new drugs. 1,2,3-triazole hybrids can influence various targets in lung cancer therapy. As a consequence, these compounds can benefit most types of treatment, such as chemotherapy<sup>125</sup>, targeted therapy<sup>102</sup>, and immunotherapy.<sup>115</sup> Click chemistry also impacts the area of drug delivery, as the carrier systems can be constructed efficiently, rapidly, and economically, by using this technique. This can have a positive impact on the development of new cancer therapies.

Treatment for SCLC is, as previously discussed, very limited. Available studies proposing new molecules are also in short supply, when compared to NSCLC. When testing new molecules, researchers, mostly, use NSCLC cancer cell lines. In stark contrast to NSCLC, click chemistry applications in SCLC seem to be less established. Perhaps due to the pathology's fast and incessant proliferation, focus should be on improving diagnosis methods.<sup>126</sup> In this endeavour, due to the ability to increase molecular structural diversity (or expand chemical space), click chemistry can be invaluable. Specially, when considering SPAAC's key advantages in the biological context.<sup>4</sup>

The most referred to method of click chemistry is, by far, the CuAAC. The fast reaction rates are very practical for drug synthesis. However, the SPAAC has great potential and can play a fundamental role in improving specificity and reducing toxicity in anti-cancer agents.<sup>3; 124</sup> It should also be noted that other click chemistry methods exist, like the ene- and yne-thiol reactions, inverse electron demand Diels-Alder reactions, Staudinger reactions, etc. Even though, click chemistry derived 1,2,3-triazoles hybrids are already relevant in various biomedical fields, their potential in cancer therapy is, perhaps, yet to be fully explored.

## References

1. KAUR, Jasleen; SAXENA, Mokshika; RISHI, Narayan - An Overview of Recent Advances in Biomedical Applications of Click Chemistry. **Bioconjugate Chemistry**. ISSN 15204812. 32:8 (2021) 1455–1471. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.1c00247.
2. KOLB, Hartmuth C.; SHARPLESS, K. Barry - The growing impact of click chemistry on drug discovery. **Drug Discovery Today**. ISSN 1359-6446. 8:24 (2003) 1128–1137. doi: [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(03\)02933-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(03)02933-7).
3. NWE, Kido; BRECHBIEL, Martin W. - Growing applications of «click chemistry» for bioconjugation in contemporary biomedical research. **Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals**. United States. ISSN 1557-8852. 24:3 (2009) 289–302. doi: 10.1089/cbr.2008.0626.
4. AGARD, Nicholas J.; PRESCHER, Jennifer A.; BERTOZZI, Carolyn R. - A strain-promoted [3 + 2] azide-alkyne cycloaddition for covalent modification of biomolecules in living systems. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 00027863. 126:46 (2004) 15046–15047. doi: 10.1021/ja044996f.
5. BIRD, Robert E. *et al.* - Bioorthogonal Chemistry and Its Applications. **Bioconjugate Chemistry**. ISSN 15204812. 32:12 (2021) 2457–2479. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.1c00461.
6. ROSTOVTSEV, Vsevolod V *et al.* - A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. **Angewandte Chemie International Edition**. ISSN 1433-7851. 41:14 (2002) 2596–2599. doi: [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4).
7. SUNG, Hyuna *et al.* - Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**. ISSN 0007-9235. 71:3 (2021) 209–249. doi: 10.3322/caac.21660.
8. THIRUMURUGAN, Prakasam; MATOSIUK, Dariusz; JOZWIAK, Krzysztof - Click Chemistry for Drug Development and Diverse Chemical–Biology Applications. **Chemical Reviews**. ISSN 0009-2665. 113:7 (2013) 4905–4979. doi: 10.1021/cr200409f.
9. CHEN, Yiping *et al.* - Click Chemistry-Mediated Nanosensors for Biochemical Assays. **Theranostics**. Australia. ISSN 1838-7640. 6:7 (2016) 969–985. doi: 10.7150/thno.14856.

10. ROSSIN, Raffaella *et al.* - Diels–Alder Reaction for Tumor Pretargeting: In Vivo Chemistry Can Boost Tumor Radiation Dose Compared with Directly Labeled Antibody. **Journal of Nuclear Medicine**. 54:11 (2013) 1989. doi: 10.2967/jnumed.113.123745.
11. FAROOQ, Tahir - Triazoles in Coordination Complexes. **Advances in Triazole Chemistry**. 2020) 201–221. doi: 10.1016/B978-0-12-817113-4.00001-9.
12. AGALAVE, Sandip G.; MAUJAN, Suleman R.; PORE, Vandana S. - Click chemistry: 1,2,3-triazoles as pharmacophores. **Chemistry - An Asian Journal**. ISSN 18614728. 6:10 (2011) 2696–2718. doi: 10.1002/asia.201100432.
13. RANI, Alisha *et al.* - CuAAC-enssembled 1,2,3-triazole-linked isosteres as pharmacophores in drug discovery: Review. **RSC Advances**. ISSN 20462069. 10:10 (2020) 5610–5635. doi: 10.1039/c9ra09510a.
14. TOTOBENAZARA, Jane; BURKE, Anthony J. - New click-chemistry methods for 1,2,3-triazoles synthesis: Recent advances and applications. **Tetrahedron Letters**. ISSN 18733581. 56:22 (2015) 2853–2859. doi: 10.1016/j.tetlet.2015.03.136.
15. UPADHYAY, Arun - Cancer: An unknown territory; rethinking before going ahead. **Genes & diseases**. Netherlands. ISSN 2352-3042. 8:5 (2020) 655–661. doi: 10.1016/j.gendis.2020.09.002.
16. BOORMAN, Gary A.; EVERITT, Jeffrey I. - Chapter 14 - Neoplastic Disease. Em SUCKOW, MARK A.; WEISBROTH, STEVEN H.; FRANKLIN, CRAIG L. (Eds.) - **The Laboratory Rat (Second Edition)**. Burlington : Academic Press, 2006. ISBN 978-0-12-074903-4. p. 479–511.
17. SIEGEL, Rebecca L. *et al.* - Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**. ISSN 0007-9235. 73:1 (2023) 17–48. doi: 10.3322/caac.21763.
18. KIM, Hae In; LIM, Hyesol; MOON, Aree - Sex differences in cancer: Epidemiology, genetics and therapy. **Biomolecules and Therapeutics**. ISSN 20054483. 26:4 (2018) 335–342. doi: 10.4062/biomolther.2018.103.
19. DU, Caigan; WANG, Yuzhuo - The immunoregulatory mechanisms of carcinoma for its survival and development. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**. ISSN 17569966. 30:1 (2011). doi: 10.1186/1756-9966-30-12.
20. BRADLEY, Stephen H.; KENNEDY, Martyn P. T.; NEAL, Richard D. - Recognising Lung Cancer in Primary Care. **Advances in therapy**. United States. ISSN 1865-8652. 36:1 (2019) 19–30. doi: 10.1007/s12325-018-0843-5.

21. MALHOTRA, Jyoti *et al.* - Risk factors for lung cancer worldwide. **European Respiratory Journal**. 48:3 (2016) 889. doi: 10.1183/13993003.00359-2016.
22. KALEMKERIAN, Gregory P. - Staging and imaging of small cell lung cancer. **Cancer imaging: the official publication of the International Cancer Imaging Society**. England. ISSN 1470-7330. 11:1 (2012) 253–258. doi: 10.1102/1470-7330.2011.0036.
23. RUDIN, Charles M.; POIRIER, John T. - Shining light on novel targets and therapies. **Nature Reviews Clinical Oncology**. ISSN 1759-4782. 14:2 (2017) 75–76. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.203.
24. GONG, Jun; SALGIA, Ravi - Managing Patients With Relapsed Small-Cell Lung Cancer. **Journal of oncology practice**. United States. ISSN 1935-469X. 14:6 (2018) 359–366. doi: 10.1200/JOP.18.00204.
25. CHANSKY, Kari *et al.* - The IASLC Lung Cancer Staging Project: External Validation of the Revision of the TNM Stage Groupings in the Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer. **Journal of Thoracic Oncology**. ISSN 15561380. 12:7 (2017) 1109–1121. doi: 10.1016/j.jtho.2017.04.011.
26. PARK, Kwon Sik *et al.* - Characterization of the cell of origin for small cell lung cancer. **Cell Cycle**. ISSN 15514005. 10:16 (2011) 2806–2815. doi: 10.4161/cc.10.16.17012.
27. WEN, Jing *et al.* - Lung carcinoma signaling pathways activated by smoking. **Chinese Journal of Cancer**. ISSN 1000467X. 30:8 (2011) 551–558. doi: 10.5732/cjc.011.10059.
28. VARGHESE, Anna M. *et al.* - Small-cell lung cancers in patients who never smoked cigarettes. **Journal of Thoracic Oncology**. ISSN 15561380. 9:6 (2014) 892–896. doi: 10.1097/JTO.000000000000142.
29. WANG, Junjun *et al.* - Genetic predisposition to lung cancer: Comprehensive literature integration, meta-analysis, and multiple evidence assessment of candidate-gene association studies. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 7:1 (2017). doi: 10.1038/s41598-017-07737-0.
30. IMPROGO, M. R. D. *et al.* - From smoking to lung cancer: The CHRNA5/A3/B4 connection. **Oncogene**. ISSN 09509232. 29:35 (2010) 4874–4884. doi: 10.1038/onc.2010.256.



31. ALVARADO-LUNA, Gabriela; MORALES-ESPINOSA, Daniela - Treatment for small cell lung cancer, where are we now?-a review. **Translational lung cancer research**. China. ISSN 2218-6751. 5:1 (2016) 26–38. doi: 10.3978/j.issn.2218-6751.2016.01.13.
32. CALIMAN, Enrico *et al.* - Challenges in the treatment of small cell lung cancer in the era of immunotherapy and molecular classification. **Lung Cancer**. ISSN 0169-5002. 175:2023) 88–100. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2022.11.014>.
33. XU, Long *et al.* - Surgery for small cell lung cancer: A Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Survey from 2010 to 2015. **Medicine**. United States. ISSN 1536-5964. 98:40 (2019) e17214–e17214. doi: 10.1097/MD.00000000000017214.
34. DUMA, Narjust; SANTANA-DAVILA, Rafael; MOLINA, Julian R. - Non–Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. **Mayo Clinic Proceedings**. ISSN 0025-6196. 94:8 (2019) 1623–1640. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.013>.
35. RELI, Valeria *et al.* - Abandoning the Notion of Non-Small Cell Lung Cancer. **Trends in Molecular Medicine**. ISSN 1471499X. 25:7 (2019) 585–594. doi: 10.1016/j.molmed.2019.04.012.
36. MOLINA, Julian R. *et al.* - Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. **Mayo Clinic proceedings**. England. ISSN 1942-5546. 83:5 (2008) 584–594. doi: 10.4065/83.5.584.
37. DAVIDSON, Morgan R.; GAZDAR, Adi F.; CLARKE, Belinda E. - The pivotal role of pathology in the management of lung cancer. **Journal of Thoracic Disease**. ISSN 20776624. 5:SUPPL.5 (2013). doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.43.
38. ZHENG, Min - Classification and Pathology of Lung Cancer. **Surgical Oncology Clinics of North America**. ISSN 15585042. 25:3 (2016) 447–468. doi: 10.1016/j.soc.2016.02.003.
39. KHUDER, Sadik A. - Effect of cigarette smoking on major histological types of lung cancer: a meta-analysis. **Lung Cancer**. ISSN 0169-5002. 31:2 (2001) 139–148. doi: 10.1016/S0169-5002(00)00181-1.
40. CHEN, Zhao *et al.* - Non-small-cell lung cancers: A heterogeneous set of diseases. **Nature Reviews Cancer**. ISSN 14741768. 14:8 (2014) 535–546. doi: 10.1038/nrc3775.

41. BENDER KIM, Carla F. *et al.* - Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. **Cell**. ISSN 00928674. 121:6 (2005) 823–835. doi: 10.1016/j.cell.2005.03.032.
42. COLLISSON, Eric A. *et al.* - Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma: The cancer genome atlas research network. **Nature**. ISSN 14764687. 511:7511 (2014) 543–550. doi: 10.1038/nature13385.
43. SEGUIN, Laetitia; DURANDY, Manon; FERAL, Chloe C. - Lung Adenocarcinoma Tumor Origin: A Guide for Personalized Medicine. **Cancers**. ISSN 20726694. 14:7 (2022). doi: 10.3390/cancers14071759.
44. PEREZ-MORENO, Pablo *et al.* - Squamous cell carcinoma of the lung: Molecular subtypes and therapeutic opportunities. **Clinical Cancer Research**. ISSN 10780432. 18:9 (2012) 2443–2451. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2370.
45. COLE, Brook B. *et al.* - Tracheal basal cells: A facultative progenitor cell pool. **American Journal of Pathology**. ISSN 15252191. 177:1 (2010) 362–376. doi: 10.2353/ajpath.2010.090870.
46. FERONE, Giustina *et al.* - Cells of origin of lung cancers: lessons from mouse studies. (2020). doi: 10.1101/gad.338228.
47. SÁNCHEZ-DANÉS, Adriana; BLANPAIN, Cédric - Deciphering the cells of origin of squamous cell carcinomas. **Nature Reviews Cancer**. ISSN 14741768. 18:9 (2018) 549–561. doi: 10.1038/s41568-018-0024-5.
48. HAMMERMAN, Peter S. *et al.* - Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. **Nature**. ISSN 14764687. 489:7417 (2012) 519–525. doi: 10.1038/nature11404.
49. ZAPPA, Cecilia; MOUSA, Shaker A. - Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. **Translational lung cancer research**. China. ISSN 2218-6751. 5:3 (2016) 288–300. doi: 10.21037/tlcr.2016.06.07.
50. RIDGE AOIFE M.; GINSBERG MICHELLE S., Carole A. ; McErlean - Epidemiology of Lung Cancer. **Seminars in Interventional Radiology**. ISSN 0739-9529. 30:02 (2013) 93–98. doi: 10.1055/s-0033-1342949.
51. GUO, Qianqian *et al.* - Current treatments for non-small cell lung cancer. **Frontiers in oncology**. Switzerland. ISSN 2234-943X. 12:2022) 945102. doi: 10.3389/fonc.2022.945102.

52. KOLB, Hartmuth C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. Barry - Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie International Edition**. ISSN 1433-7851. 40:11 (2001) 2004–2021. doi: [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5).
53. HUISGEN, R. - Kinetics and Mechanism of 1,3-Dipolar Cycloadditions. **Angewandte Chemie International Edition in English**. ISSN 0570-0833. 2:11 (1963) 633–645. doi: <https://doi.org/10.1002/anie.196306331>.
54. HUISGEN, Rolf - 1,3-Dipolar cycloadditions. 76. Concerted nature of 1,3-dipolar cycloadditions and the question of diradical intermediates. **The Journal of Organic Chemistry**. ISSN 0022-3263. 41:3 (1976) 403–419. doi: 10.1021/jo00865a001.
55. M. HERAVI, Majid *et al.* - Huisgen's Cycloaddition Reactions: A Full Perspective. **Current Organic Chemistry**. ISSN 13852728. 20:15 (2015) 1591–1647. doi: 10.2174/1385272820666151217183010.
56. BOCK, Victoria D.; HIEMSTRA, Henk; MAARSEVEEN, Jan H. VAN - Cu I-catalyzed alkyne-azide «click» cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective. **European Journal of Organic Chemistry**. ISSN 1434193X. 1 (2006) 51–68. doi: 10.1002/ejoc.200500483.
57. MELDAL, Morten; TOMØE, Christian Wenzel - Cu-catalyzed azide - Alkyne cycloaddition. **Chemical Reviews**. ISSN 00092665. 108:8 (2008) 2952–3015. doi: 10.1021/cr0783479.
58. ÖZKLLIÇ, Yılmaz; TÜZÜN, Nurcan S. - A DFT Study on the Binuclear CuAAC Reaction: Mechanism in Light of New Experiments. **Organometallics**. ISSN 15206041. 35:16 (2016) 2589–2599. doi: 10.1021/acs.organomet.6b00279.
59. JIN, Liqun *et al.* - Isolation of bis(copper) key intermediates in Cu-catalyzed azide-alkyne "click reaction. **Science Advances**. ISSN 23752548. 1:5 (2015). doi: 10.1126/sciadv.1500304.
60. ZHANG, Li *et al.* - Ruthenium-catalyzed cycloaddition of alkynes and organic azides. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 00027863. 127:46 (2005) 15998–15999. doi: 10.1021/ja054114s.
61. BOREN, Brant C. *et al.* - Ruthenium-catalyzed azide-alkyne cycloaddition: Scope and mechanism. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 00027863. 130:28 (2008) 8923–8930. doi: 10.1021/ja0749993.

62. MCNULTY, James; KESKAR, Kunal; VEMULA, Ramesh - The first well-defined silver(I)-complex-catalyzed cycloaddition of azides onto terminal alkynes at room temperature. **Chemistry - A European Journal**. ISSN 09476539. 17:52 (2011) 14727–14730. doi: 10.1002/chem.201103244.
63. KENNEDY, David C. *et al.* - Cellular consequences of copper complexes used to catalyze bioorthogonal click reactions. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 00027863. 133:44 (2011) 17993–18001. doi: 10.1021/ja2083027.
64. CHAN, Timothy R. *et al.* - Polytriazoles as copper(I)-stabilizing ligands in catalysis. **Organic Letters**. ISSN 15237060. 6:17 (2004) 2853–2855. doi: 10.1021/ol0493094.
65. WANG, Qian *et al.* - Bioconjugation by copper(I)-catalyzed azide-alkyne [3 + 2] cycloaddition. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 00027863. 125:11 (2003) 3192–3193. doi: 10.1021/ja021381e.
66. UTTAMAPINANT, Chayasith *et al.* - Fast, cell-compatible click chemistry with copper-chelating azides for biomolecular labeling. **Angewandte Chemie - International Edition**. ISSN 14337851. 51:24 (2012) 5852–5856. doi: 10.1002/anie.201108181.
67. BEVILACQUA, Valentina *et al.* - Copper-chelating azides for efficient click conjugation reactions in complex media. **Angewandte Chemie - International Edition**. ISSN 15213773. 53:23 (2014) 5872–5876. doi: 10.1002/anie.201310671.
68. DOMMERHOLT, Jan; RUTJES, Floris P. J. T.; DELFT, Floris L. VAN - Strain-Promoted 1,3-Dipolar Cycloaddition of Cycloalkynes and Organic Azides. **Topics in Current Chemistry**. ISSN 23648961. 374:2 (2016). doi: 10.1007/s41061-016-0016-4.
69. HANDULA, Maryana; CHEN, Kuo Ting; SEIMBILLE, Yann - Iedda: An attractive bioorthogonal reaction for biomedical applications. **Molecules**. ISSN 14203049. 26:15 (2021). doi: 10.3390/molecules26154640.
70. WITTIG, Georg; KREBS, Adolf - Zur Existenz niedergliedriger Cycloalkine, I. **Chemische Berichte**. ISSN 0009-2940. 94:12 (1961) 3260–3275. doi: <https://doi.org/10.1002/cber.19610941213>.
71. WITTIG, Georg; WEINLICH, Jürgen; WILSON, Eugene R. - Zur Existenz niedergliedriger Cycloalkine, VI. Über das intermediäre Auftreten von Cyclopentin. **Chemische Berichte**. 98:1965) 458–470.

72. TRÆTTEBERG, M. *et al.* - Cyclooctyne — a sterically strained molecule with an unusual CC triple bond geometry. **Journal of Molecular Structure**. ISSN 0022-2860. 128:1 (1985) 217–232. doi: [https://doi.org/10.1016/0022-2860\(85\)85053-5](https://doi.org/10.1016/0022-2860(85)85053-5).
73. TURNER, Richard B. *et al.* - Heats of hydrogenation. IX. Cyclic acetylenes and some miscellaneous olefins. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 0002-7863. 95:3 (1973) 790–792. doi: 10.1021/ja00784a025.
74. KREBS, Adolf; WILKE, Jürgen - Angle strained cycloalkynes. Em **Wittig Chemistry**. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 1983. ISBN 978-3-540-39508-9
75. HARRIS, Trevor; ALABUGIN, Igor V. - Strain and stereoelectronics in cycloalkyne click chemistry. **Mendeleev Communications**. ISSN 1364551X. 29:3 (2019) 237–248. doi: 10.1016/j.mencom.2019.05.001.
76. GREEN, James R. - (Cycloheptyne)dicobalt complexes in organic synthesis. **European Journal of Organic Chemistry**. ISSN 1434193X. 36 (2008) 6053–6062. doi: 10.1002/ejoc.200800836.
77. HAMLIN, Trevor A. *et al.* - Structural Distortion of Cycloalkynes Influences Cycloaddition Rates both by Strain and Interaction Energies. **Chemistry - A European Journal**. ISSN 15213765. 25:25 (2019) 6342–6348. doi: 10.1002/chem.201900295.
78. CHINOY, Zoeisha S.; FRISCOURT, Frédéric - Expanding the Strain-Promoted 1,3-Dipolar Cycloaddition Arsenal for a More Selective Bioorthogonal Labeling in Living Cells. **Israel Journal of Chemistry**. ISSN 18695868. 63:1–2 (2023). doi: 10.1002/ijch.202200055.
79. BASKIN, Jeremy *et al.* - Copper-free click chemistry for dynamic in vivo imaging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 104:2007) 16793–16797. doi: 10.1073/pnas.0707090104.
80. ESS, Daniel H.; JONES, Gavin O.; HOUK, K. N. - Transition states of strain-promoted metal-free click chemistry: 1,3-dipolar cycloadditions of phenyl azide and cyclooctynes. **Organic Letters**. ISSN 15237060. 10:8 (2008) 1633–1636. doi: 10.1021/ol8003657.
81. CODELLI, Julian A. *et al.* - Second-generation difluorinated cyclooctynes for copper-free click chemistry. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 00027863. 130:34 (2008) 11486–11493. doi: 10.1021/ja803086r.

82. NING, Xinghai *et al.* - Visualizing metabolically labeled glycoconjugates of living cells by copper-free and fast Huisgen cycloadditions. **Angewandte Chemie - International Edition**. ISSN 14337851. 47:12 (2008) 2253–2255. doi: 10.1002/anie.200705456.
83. JUNG, Michael E.; MILLER, Steven J. - Total synthesis of isopavine and intermediates for the preparation of substituted amitriptyline analogs: facile routes to substituted dibenzocyclooctatrienes and dibenzocycloheptatrienes. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 0002-7863. 103:8 (1981) 1984–1992. doi: 10.1021/ja00398a019.
84. JEWETT, John C.; SLETTEN, Ellen M.; BERTOZZI, Carolyn R. - Rapid Cu-free click chemistry with readily synthesized biarylazacyclooctynones. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 00027863. 132:11 (2010) 3688–3690. doi: 10.1021/ja100014q.
85. GORDON, Chelsea G. *et al.* - Reactivity of biarylazacyclooctynones in copper-free click chemistry. **Journal of the American Chemical Society**. United States. ISSN 1520-5126. 134:22 (2012) 9199–9208. doi: 10.1021/ja3000936.
86. DEBETS, Marjoke F. *et al.* - Aza-dibenzocyclooctynes for fast and efficient enzyme PEGylation via copper-free (3+2) cycloaddition. **Chemical Communications**. ISSN 13597345. 46:1 (2010) 97–99. doi: 10.1039/b917797c.
87. KUZMIN, Alexander *et al.* - Surface Functionalization Using Catalyst-Free Azide–Alkyne Cycloaddition. **Bioconjugate Chemistry**. ISSN 1043-1802. 21:11 (2010) 2076–2085. doi: 10.1021/bc100306u.
88. CAMPBELL-VERDUYN, Lachlan S. *et al.* - Strain-Promoted Copper-Free “Click” Chemistry for <sup>18</sup>F Radiolabeling of Bombesin. **Angewandte Chemie International Edition**. ISSN 1433-7851. 50:47 (2011) 11117–11120. doi: <https://doi.org/10.1002/anie.201105547>.
89. CHEVALLIER, Mathieu *et al.* - Oncogenic driver mutations in non-small cell lung cancer: Past, present and future. **World journal of clinical oncology**. United States. ISSN 2218-4333. 12:4 (2021) 217–237. doi: 10.5306/wjco.v12.i4.217.
90. SCHERER, William F.; SYVERTON, Jerome T.; GEY, George O. - STUDIES ON THE PROPAGATION IN VITRO OF POLIOMYELITIS VIRUSES: IV. VIRAL MULTIPLICATION IN A STABLE STRAIN OF HUMAN MALIGNANT EPITHELIAL

CELLS (STRAIN HELA) DERIVED FROM AN EPIDERMOID CARCINOMA OF THE CERVIX. **Journal of Experimental Medicine**. ISSN 0022-1007. 97:5 (1953) 695–710. doi: 10.1084/jem.97.5.695.

91. GIARD, Donald J. *et al.* - In Vitro Cultivation of Human Tumors: Establishment of Cell Lines Derived From a Series of Solid Tumors<sup>2</sup>. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**. ISSN 0027-8874. 51:5 (1973) 1417–1423. doi: 10.1093/jnci/51.5.1417.

92. PINZI, Luca; RASTELLI, Giulio - Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. **International journal of molecular sciences**. Switzerland. ISSN 1422-0067. 20:18 (2019) 4331. doi: 10.3390/ijms20184331.

93. ABOUREHAB, Mohammed A. S. *et al.* - Globally Approved EGFR Inhibitors: Insights into Their Syntheses, Target Kinases, Biological Activities, Receptor Interactions, and Metabolism. **Molecules (Basel, Switzerland)**. Switzerland. ISSN 1420-3049. 26:21 (2021) 6677. doi: 10.3390/molecules26216677.

94. HERBST, Roy S. - Review of epidermal growth factor receptor biology. **International Journal of Radiation Oncology\*Biography\*Physics**. ISSN 0360-3016. 59:2, Supplement (2004) S21–S26. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2003.11.041>.

95. SUN, Ge *et al.* - Discovery of a Series of 1,2,3-Triazole-Containing Erlotinib Derivatives With Potent Anti-Tumor Activities Against Non-Small Cell Lung Cancer. **Frontiers in Chemistry**. ISSN 2296-2646. 9:2022).

96. MAO, Longfei *et al.* - Design, synthesis and antitumor activity of icotinib derivatives. **Bioorganic Chemistry**. ISSN 0045-2068. 105:2020) 104421. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104421>.

97. SHIBUYA, Masabumi - Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. **Genes & cancer**. United States. ISSN 1947-6027. 2:12 (2011) 1097–1105. doi: 10.1177/1947601911423031.

98. FREZZETTI, Daniela *et al.* - VEGF as a potential target in lung cancer. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**. ISSN 1472-8222. 21:10 (2017) 959–966. doi: 10.1080/14728222.2017.1371137.

99. MAHMOUD, Mohamed A. *et al.* - Design, synthesis, and antiproliferative properties of new 1,2,3-triazole-carboximidamide derivatives as dual EGFR/VEGFR-2

- inhibitors. **Journal of Molecular Structure**. ISSN 0022-2860. 1282:2023) 135165. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135165>.
100. GOLDING, Brandon *et al.* - The function and therapeutic targeting of anaplastic lymphoma kinase (ALK) in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Molecular Cancer**. ISSN 1476-4598. 17:1 (2018) 52. doi: 10.1186/s12943-018-0810-4.
101. AL-SALAMA, Zaina T.; KEAM, Susan J. - Entrectinib: First Global Approval. **Drugs**. ISSN 1179-1950. 79:13 (2019) 1477–1483. doi: 10.1007/s40265-019-01177-y.
102. WANG, Yu *et al.* - Discovery of novel 2,4-diarylamino-pyrimidine analogues as ALK and ROS1 dual inhibitors to overcome crizotinib-resistant mutants including G1202R. **European Journal of Medicinal Chemistry**. ISSN 0223-5234. 143:2018) 123–136. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.008>.
103. COCCO, Emiliano; SCALTRITI, Maurizio; DRILON, Alexander - NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. **Nature Reviews Clinical Oncology**. ISSN 1759-4782. 15:12 (2018) 731–747. doi: 10.1038/s41571-018-0113-0.
104. CAO, Zhi *et al.* - Discovery of novel phenyl triazole analogs as TRK/ALK dual inhibitors with prospective antitumor effects. **Bioorganic Chemistry**. ISSN 0045-2068. 136:2023) 106563. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106563>.
105. JIANG, Qinghua *et al.* - Entrectinib, a new multi-target inhibitor for cancer therapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. ISSN 0753-3322. 150:2022) 112974. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112974>.
106. LAWRENCE, Ryan E.; SALGIA, Ravi - MET molecular mechanisms and therapies in lung cancer. **Cell adhesion & migration**. United States. ISSN 1933-6926. 4:1 (2010) 146–152. doi: 10.4161/cam.4.1.10973.
107. WOLF, Jürgen *et al.* - Capmatinib in MET Exon 14–Mutated or MET-Amplified Non–Small-Cell Lung Cancer. **New England Journal of Medicine**. ISSN 0028-4793. 383:10 (2020) 944–957. doi: 10.1056/NEJMoa2002787.
108. FURLAN, Alessandro *et al.* - Identification of new amino acid amides containing the imidazo[2,1-b]benzothiazol-2-ylphenyl moiety as inhibitors of tumorigenesis by oncogenic Met signaling. **European Journal of Medicinal Chemistry**. ISSN 0223-5234. 47:2012) 239–254. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.10.051>.



109. COLOMBO, Francesco *et al.* - 'Click' synthesis of a triazole-based inhibitor of Met functions in cancer cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. ISSN 0960-894X. 22:14 (2012) 4693–4696. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.05.078>.
110. YAN, Ningning *et al.* - BRAF-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer: Current Treatment Status and Future Perspective. **Frontiers in Oncology**. ISSN 2234-943X. 12:2022).
111. OUYANG, Yang *et al.* - Chalcone Derivatives: Role in Anticancer Therapy. **Biomolecules**. Switzerland. ISSN 2218-273X. 11:6 (2021) 894. doi: 10.3390/biom11060894.
112. MAGHRABY, Mohamed T. E. *et al.* - Design, synthesis, and modelling study of new 1,2,3-triazole/chalcone hybrids with antiproliferative action as epidermal growth factor receptor inhibitors. **Chemical Biology & Drug Design**. ISSN 1747-0277. 101:3 (2023) 749–759. doi: <https://doi.org/10.1111/cbdd.14178>.
113. HAN, Yanyan; LIU, Dandan; LI, Lianhong - PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. **American journal of cancer research**. United States. ISSN 2156-6976. 10:3 (2020) 727–742.
114. GUO, Liting; ZHANG, Haijun; CHEN, Baoan - Nivolumab as Programmed Death-1 (PD-1) Inhibitor for Targeted Immunotherapy in Tumor. **Journal of Cancer**. Australia. ISSN 1837-9664. 8:3 (2017) 410–416. doi: 10.7150/jca.17144.
115. NARVA, Suresh *et al.* - Synthesis and Evaluation of Biphenyl-1,2,3-Triazol-Benzotrile Derivatives as PD-1/PD-L1 Inhibitors. **ACS Omega**. ISSN 24701343. 5:33 (2020) 21181–21190. doi: 10.1021/acsomega.0c02916.
116. TANG, Kai *et al.* - Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors in clinical trials for cancer immunotherapy. **Journal of Hematology & Oncology**. ISSN 1756-8722. 14:1 (2021) 68. doi: 10.1186/s13045-021-01080-8.
117. MAO, Long-Fei *et al.* - Discovery of Icotinib-1,2,3-Triazole Derivatives as IDO1 Inhibitors. **Frontiers in Pharmacology**. ISSN 1663-9812. 11:2020).
118. BAYR, Hülya - Reactive oxygen species. **Critical Care Medicine**. ISSN 0090-3493. 33:12 (2005).
119. ZOU, Zhengzhi *et al.* - Induction of reactive oxygen species: an emerging approach for cancer therapy. **Apoptosis**. ISSN 1573-675X. 22:11 (2017) 1321–1335. doi: 10.1007/s10495-017-1424-9.

120. BIEGAŃSKI, Przemysław *et al.* - Click ferrocenyl-erlotinib conjugates active against erlotinib-resistant non-small cell lung cancer cells in vitro. **Bioorganic Chemistry**. ISSN 0045-2068. 119:2022) 105514. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105514>.
121. LOGAN, Caitlin M.; MENKO, A. Sue - Microtubules: Evolving roles and critical cellular interactions. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**. England. ISSN 1535-3699. 244:15 (2019) 1240–1254. doi: 10.1177/1535370219867296.
122. HAIDER, Kashif *et al.* - Tubulin inhibitors as novel anticancer agents: an overview on patents (2013-2018). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**. ISSN 1354-3776. 29:8 (2019) 623–641. doi: 10.1080/13543776.2019.1648433.
123. SAYEED, Ibrahim Bin *et al.* - Imidazopyridine linked triazoles as tubulin inhibitors, effectively triggering apoptosis in lung cancer cell line. **Bioorganic Chemistry**. ISSN 0045-2068. 80:2018) 714–720. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.07.026>.
124. KOO, Heebeom *et al.* - Bioorthogonal Copper-Free Click Chemistry In Vivo for Tumor-Targeted Delivery of Nanoparticles. **Angewandte Chemie International Edition**. ISSN 1433-7851. 51:47 (2012) 11836–11840. doi: <https://doi.org/10.1002/anie.201206703>.
125. KIM, Woo Gyum *et al.* - Chemo- and regioselective click reactions through nickel-catalyzed azide–alkyne cycloaddition. **Organic & Biomolecular Chemistry**. ISSN 1477-0520. 18:17 (2020) 3374–3381. doi: 10.1039/D0OB00579G.
126. NING, Jing *et al.* - Early diagnosis of lung cancer: which is the optimal choice? **Aging**. United States. ISSN 1945-4589. 13:4 (2021) 6214–6227. doi: 10.18632/aging.202504.
127. LIANG, Liyuan; ASTRUC, Didier - The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) «click» reaction and its applications. An overview. **Coordination Chemistry Reviews**. ISSN 00108545. 255:23–24 (2011) 2933–2945. doi: 10.1016/j.ccr.2011.06.028.
128. XIE, Sheng *et al.* - 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactivities of Perfluorinated Aryl Azides with Enamines and Strained Dipolarophiles. **Journal of the American Chemical Society**. ISSN 0002-7863. 137:8 (2015) 2958–2966. doi: 10.1021/ja511457g.