

mgr inż. Julia Krzywik

*Synteza, analiza spektroskopowa oraz ocena właściwości przeciwnowotworowych
nowych pochodnych kolchicyny*

STRESZCZENIE

Przedmiotem rozprawy doktorskiej zatytułowanej: *Synteza, analiza spektroskopowa oraz ocena właściwości przeciwnowotworowych nowych pochodnych kolchicyny* było opracowanie metod chemicznej modyfikacji kolchicyny (substancji wykazującej szerokie spektrum właściwości biologicznych) oraz charakterystyka spektralna i biologiczna otrzymanych pochodnych kolchicyny.

Praca składa się z pięciu publikacji naukowych oraz dwóch polskich patentów, w których opisano syntezę oraz właściwości podwójnie modyfikowanych pochodnych kolchicyny. Wszystkie analogi zawierają fragment metyloaminowy w pozycji C10 i różne ugrupowania w pozycji C7: amidowe, sulfonamidowe, karbaminanowe, tiokarbaminianowe, mocznikowe, tiomocznikowe, guanidynowe oraz różnie podstawione 1,2,3-triazole i aminy. Aby potwierdzić strukturę i określić czystość związków wykorzystano chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas (LC-MS) oraz spektroskopię protonowego i węglowego rezonansu magnetycznego (^1H NMR, ^{13}C NMR).

We współpracy z naukowcami z różnych ośrodków badawczych przeprowadzono również szereg badań nad otrzymanymi pochodnymi kolchicyny. Wszystkie związki opisane w niniejszej pracy przetestowano *in vitro* pod kątem ich zdolności do hamowania proliferacji komórek. Ich cytotoksyczność określono wobec pięciu linii komórkowych, tj. ludzkiego raka płuc (A549), ludzkiego gruczolakoraka piersi (MCF-7), ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego (LoVo) i jego podlinii odpornej na doksorubicynę (LoVo/DX) oraz normalnych mysich fibroblastów (BALB/3T3). Wyznaczono także współczynniki oporności i selektywności badanych związków, a w celu oceny możliwego mechanizmu działania przeprowadzono badania dokowania molekularnego *in silico* wybranych serii pochodnych.

Większość podwójnie modyfikowanych pochodnych kolchicyny była bardziej cytotoksyczna niż niemodyfikowana kolchicyna, a niektóre związki charakteryzowały się dodatkowo korzystnymi współczynnikami selektywności. Poza tym, obliczenia komputerowe sugerują, że chemiczna modyfikacja nie zmieniła mechanizmu działania pochodnych kolchicyny i ich aktywność jest związana z oddziaływaniem z tubuliną - białkiem tworzącym wrzeciono podziałowe podczas mitozy.

Wyniki badań przedstawionych w niniejszej rozprawie doktorskiej pozwoliły zaobserwować zależności pomiędzy strukturą a aktywnością przeciwaproliferacyjną pochodnych kolchicyny, wytypować związki do dalszych badań przedklinicznych oraz wskazać racjonalne kierunki dalszych modyfikacji kolchicyny.

mgr inż. Julia Krzywik

*Synthesis, spectroscopic analysis and anticancer properties evaluation
of new colchicine derivatives*

SUMMARY

The subject of the doctoral dissertation entitled: *Synthesis, spectroscopic analysis and anticancer properties evaluation of new colchicine derivatives* was to develop methods of chemical modification of colchicine (a substance with a broad spectrum of biological activity) as well as spectral and biological characteristics of the obtained colchicine derivatives.

The research work presented as the basis for doctor of science degree is described in five scientific publications and two Polish patents, concerning the syntheses and properties of double-modified colchicine derivatives. All colchicine analogs contain a methylamine fragment at position C10 and different groups at position C7: amide, sulfonamide, carbamate, thiocarbamate, urea, thiourea, guanidine and variously substituted 1,2,3-triazole and amines. To confirm the structure and to determine the purity of the compounds, liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS) and proton and carbon magnetic resonance spectroscopy (^1H NMR, ^{13}C NMR) were used.

In cooperation with scientists from various research centers, a number of studies were also carried out on the obtained colchicine derivatives. All compounds described in this work were tested *in vitro* for their ability to inhibit cell proliferation. Their cytotoxicity was determined against five cell lines, i.e. human lung carcinoma (A549), human breast adenocarcinoma (MCF-7), human colon adenocarcinoma (LoVo) and its doxorubicin-resistant subline (LoVo/DX), and normal murine embryonic fibroblast cell line (BALB/3T3). The resistance and selectivity coefficients of the tested compounds were also determined and, in order to evaluate the possible mechanism of action, *in silico* molecular docking studies of selected series of derivatives were performed.

Most of the doubly modified colchicine derivatives were more cytotoxic than unmodified colchicine, and some compounds were additionally characterized by favorable selectivity coefficients. In addition, computer calculations suggest that chemical modification did not change the mechanism of action of colchicine derivatives and their cytotoxicity is related to interaction with tubulin – a protein that forms the spindle during mitosis.

The results of the research presented in this doctoral dissertation allowed us to observe the relationship between the structure and antiproliferative activity of colchicine derivatives, select compounds for further preclinical studies and indicate rational routes for further modifications of colchicine.