

Imię i Nazwisko: Monika Gensicka-Kowalewska

Tytuł: Synteza i ocena biologiczna oligopeptydowych analogów akrydyny/akrydonu jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych

STRESZCZENIE

Niniejsza praca doktorska obejmuje syntezę oraz testy aktywności biologicznej nowych analogów akrydyny/akrydonu z pochodnymi tuftsyny/retro-tuftsyny jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Akrydyny należą do grupy policyklicznych związków heteroaromatycznych. Ich struktura chemiczna wywodzi się z trójpierścieniowego związku aromatycznego, będącego analogiem antracenu zawierającego atom azotu w pierścieniu B. Związki te powszechnie stosowane są m.in. jako leki przeciwnowotworowe (np. amsakryna (66)). Jednak ze względu na skutki uboczne i toksyczność pochodnych akrydyny/akrydonu wciąż poszukuje się nowych analogów o lepszych właściwościach farmakologicznych.

Prace syntetyczne obejmowały otrzymanie 9-fenoksy-1-nitroakrydyny, 9-fenoksy-4-metylo-1-nitroakrydyny i 1-chloro-4-nitro-9(10*H*)-akrydonu, analogów tuftsyny/retro-tuftsyny oraz koniugatów tych związków. W pierwszym etapie syntezy akrydyny/akrydonu w wyniku kondensacji Ullmana otrzymałam odpowiednie kwasy antranilowe, które w obecności POCl₃ lub H₂SO₄ ulegały cyklizacji do pożądanej pochodnej akrydyny, bądź akrydonu. Syntezę odpowiednio chronionych analogów tuftsyny/retro-tuftsyny acylowanych na grupie ε-aminowej lizyny aminokwami tj. Gly, β-Ala, Val, Leu prowadziłam w roztworze z wykorzystaniem metody mieszanych bezwodników z chloromrówczanem izobutyli i NMM, w bezw. DMF. Następnie w reakcji substytucji nukleofilowej ww. związków otrzymałam koniugaty akrydyny/akrydonu z pochodnymi tuftsyny/retro-tuftsyny. Syntezę analogów akrydyny prowadziłam w fenolu, w temp. 50°C, w obecności TEA. Z kolei pochodne akrydonu otrzymywałam w bezw. DMF, w obecności TEA. Uzyskane związki poddawałam deprotekcji osłony Fmoc za pomocą 30% roztworu DEA w DMF, następnie pochodne przeprowadzałam w chlorowodorki. Zsyntetyzowane analogi scharakteryzowałam za pomocą technik spektroskopowych (¹H NMR, ¹³C NMR, MS) oraz analitycznych (TLC, HPLC-MS).

Wszystkie otrzymane związki (115a-e, 116a-e, 117, 118, 119a-e, 120a-e) poddałam wstępnym badaniom biologicznym *in vitro* na limfoidalnej linii komórkowej Jurkat oraz komórkach PBMC pochodzących od zdrowych dawców. W celu wyznaczenia IC₅₀

wykonałam testy żywotności MTT badające toksyczność pochodnych (115a-e, 116a-e, 117, 118, 119a-e, 120a-e).

Ponadto, przeprowadzono badania biologiczne określające żywotność amelanotycznych Ab i melanotycznych Ma komórek czerniaka i dwóch postaci neuroblastomy SH-SY5Y: cholinergicznej DC i dopaminergicznej NC za pomocą testu XTT. Na podstawie uzyskanych wyników IC_{50} wybrano związek (117), który poddano testom opisującym jego wpływ na apoptozę komórek.

Name: Monika Gensicka-Kowalewska

Title: Synthesis and study biological activity of acridine/acridone oligopeptides derivatives as potential anticancer drugs

SUMMARY

This doctoral dissertation contains the synthesis and biological activity testing of new acridine/acridone analogs with tuftsin/retro-tuftsin derivatives as potential anticancer drugs. Acridines are polycyclic heteroaromatic compounds. Their chemical structure is based on a tricyclic aromatic compound which is an analogue of anthracene containing a nitrogen atom in ring B. These compounds are commonly used as anticancer drugs (e.g., amsacrine (**66**)). However, due to the side effects and toxicity of acridine/acridone derivatives, new analogues with improved pharmacological properties are still sought after.

Synthesis included obtaining 9-phenoxy-1-nitroacridine, 9-phenoxy-4-methyl-1-nitroacridine and 1-chloro-4-nitro-9(10*H*)-acridone, tuftsin/retro-tuftsin analogs and conjugates of these compounds. In the first step of acridine/acridone synthesis due to Ullman condensation, the appropriate anthranilic acids were prepared. Then, in the presence of POCl₃ or H₂SO₄, they cyclized to acridine or acridone derivative. The synthesis of adequately protected analogues of tuftsin/retro-tuftsin acylated on ε-amino group of lysine with the amino acids: Gly, β-Ala, Val, Leu were carried out in a solution using a mixed anhydride method with isobutyl chloroformate and NMM in anhydrous DMF. Then, in the nucleophilic substitution reaction of the above-mentioned compounds, acridine/acridone conjugates with tuftsin/retro-tuftsin derivatives were received. The synthesis of acridine analogs were carried out in phenol at 50°C in the presence of TEA. In turn, acridone derivatives were prepared in anhydrous DMF, in the presence of TEA. Then, Fmoc-group was removed by using diethylamine and derivatives were converted into hydrochlorides. The synthesized analogs were characterized by means of spectroscopic techniques (¹H NMR, ¹³C NMR, MS) and analytical techniques (TLC, HPLC-MS).

All obtained compounds (**115a-e**, **116a-e**, **117**, **118**, **119a-e**, **120a-e**) were subjected to preliminary *in vitro* bioassays on the Jurkat and PBMC cells. In order to determine the IC₅₀, I performed MTT viability tests, which are used to investigate the toxicity of derivatives (**115a-e**, **116a-e**, **117**, **118**, **119a-e**, **120a-e**).

In addition, biological studies were carried out determining the viability of amelanotic Ab and melanotic Ma melanoma cells and two forms of SH-SY5Y neuroblastoma: cholinergic DC and dopaminergic NC using the XTT test. On the basis of the IC_{50} results selected compound (117), which was tested to describing its effect on cellular apoptosis.