

## Streszczenie

W pracy dokonano analizy właściwości biologicznych (aktywności przeciwnowotworowej oraz zdolności hamowania aktywności heksokinazy typu II) w układzie komórkowym *in vitro* trzech grup związków chemicznych, wyselekcjonowanych na podstawie:

- 1) danych literaturowych (4 związki) - jasmonian metylu (JM), klotrimazol (KLO), metformina (MET), 3-bromopirogronian (3-BP), opisywane jako związki hamujące aktywność mitochondrialnej heksokinazy typu II (HKII),
- 2) wyników badań *in silico* metodą dokowania molekularnego do konformacji zamkniętej heksokinazy II (2 związki – kwas citrazynowy (CA) i kwas szikimowy (SA),
- 3) wyników dokowania molekularnego do konformacji otwartej białka (15 związków) – 13 pochodnych BTDA oraz 2 benzamidy (C4 i C6).

Związki grupy pierwszej nie wpływały na aktywność HKII w komórkach HepG2 wywodzących się z ludzkiego raka wątrobowo komórkowego. Z wyjątkiem JM, który był nieaktywny, hamowały natomiast proliferację komórek HepG2, powodowały hiperpolaryzację (MET) lub depolaryzację (KLO i 3BP) błony mitochondrialnej oraz modyfikowały wewnątrzkomórkowy poziom RFT.

Związki grupy drugiej również nie wpływały na aktywność HKII w komórkach HepG2, ale redukowały wewnątrzkomórkowy poziom RFT. Kwas szikimowy uszkadzał mitochondria i w zależności od czasu inkubacji powodował zarówno depolaryzację jak i hiperpolaryzację błony mitochondrialnej, powodujące wzrost lub spadek transbłonowego potencjału mitochondriów ( $\Delta\Psi_m$ ).

Związki grupy trzeciej (pochodne BTDA i benzamidy) wykazywały zróżnicowaną aktywność wobec niezróżnicowanych (P19SCs) i zróżnicowanych (P19dSc) komórek linii P19, wywodzącej się z raka zarodkowego myszy, zależną od struktury, stężenia i czasu inkubacji z komórkami.

Najbardziej obiecującym związkiem okazała się nowosyntetyzowana pochodna 27 BTDA, która jako jedyna w grupie związków wyselekcjonowanych w badaniach *in silico* hamowała aktywność HKII oraz proliferację nowotworowych komórek macierzystych linii P19, wpływając jednocześnie na potencjał ich błony mitochondrialnej i wewnątrzkomórkowy poziom RFT.

Krzysztof Kochel

## Summary

The study analyzes the biological properties (anticancer activity and the ability to inhibit the activity of type II hexokinase) in the *in vitro* cell system of three groups of chemical compounds, selected on the basis of:

1) literature data (4 compounds) - methyl jasmonate (JM), clotrimazole (KLO), metformin (MET), 3-BP 3-bromopyruvate (3BP), described as compounds inhibiting the activity of mitochondrial type II hexokinase (HKII),

2) *In silico* results obtained by molecular docking to the closed hexokinase II conformation (2 compounds - citrazine acid (CA) and shikimic acid (SA),

3) results of molecular docking to the open hexokinase II conformation (15 compounds) - 13 BTDA derivatives and 2 benzamides (C4 and C6).

The compounds of the first group did not affect the activity of HKII in HepG2 cells derived from human hepatocellular carcinoma. With the exception of JM, which was inactive, they inhibited the proliferation of HepG2 cells, caused hyperpolarization (MET) or depolarization (KLO and 3BP) of the mitochondrial membrane and modified the intracellular level of ROS.

The compounds of the second group also did not affect the HKII activity in HepG2 cells, but reduced the intracellular level of ROS. Shikimic acid damaged the mitochondria and depending on the time of incubation, caused both depolarization and hyperpolarization of the mitochondrial membrane, leading to an increase or a decrease in transmembrane mitochondrial potential ( $\Delta\Psi_m$ ).

The compounds of the third group (BTDA derivatives and benzamides), depending on structure, concentration and incubation time with cells, showed various activity against undifferentiated (P19SCs) and differentiated (P19dSc) P19 cells, originated from mouse embryonic cancer,.

The most promising compound appeared to be the newly synthesized derivative of BTDA, which was the only one in the group of compounds, selected in *in silico* studies, to inhibit HKII activity and proliferation of P19 cancer stem cells, affecting the mitochondrial membrane and intracellular RFT levels at the same time.

Krzysztof Kochel