

7. STRESZCZENIE

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu 26 nowych aryloiloacetylenowych kompleksów złota na przeżywalność, przebieg cyklu komórkowego oraz wybrane parametry biochemiczne komórek ssaczych linii nowotworowych, a także wzrost opornych na leki azolowe drożdży *Candida albicans*. Badane związki można podzielić na trzy grupy różniące się typem liganda kompleksującego złoto: kompleksy trifenylfosfinowe (grupa 1.), kompleksy trietylofosfinowe (grupa 2.) oraz kompleksy etynyloferrocenowe (grupa 3.). Jako związki referencyjne stosowano chlorki złota (I) i (III) oraz auranofinę – organiczny kompleks złota o dobrze zbadanych właściwościach biologicznych.

Pierwszym etapem badań była ocena właściwości antyproliferacyjnych badanych związków względem komórek nowotworowych linii A549, HepG2 i SW620, różniących się pochodzeniem narządowym (odpowiednio: płuco, wątroba, jelito), a także wyjściowym poziomem glutationu, aktywnością reduktazy glutationowej i ilością reduktazy tioredoksyny. Wykazano, że aktywność antyproliferacyjna zależy od typu stosowanego liganda, a silniejszy efekt przejawiają kompleksy trifenylfosfinowe i ferrocenowe. Nie wykazano zależności od rodzaju drugiego liganda, a aktywność żadnego z badanych związków nie była wyższa od aktywności auranofiny.

Drugim etapem badań była weryfikacja hipotezy, że aktywność antyproliferacyjna nowych kompleksów złota jest skutkiem zaburzeń równowagi redoks w komórkach. Oceniano stężenie grup tiolowych, glutationu (GSH), jego dwusiarczku (GSSG) oraz łącznego stężenia GSH+GSSG, a także aktywność reduktazy glutationowej w komórkach poddanych czterogodzinnej ekspozycji na badane związki. Stwierdzono znaczne ubytki puli GSH i aktywności RG po narażeniu na najwyższe stężenia związków; najsilniejsze w próbach inkubowanych z kompleksami trietylofosfinowymi.

Kolejna analiza dotyczyła wpływu pochodnych złota na dystrybucję faz cyklu komórkowego w komórkach nowotworowych. Wykazano, że część testowanych pochodnych złota wywoływała blok G1/S, zaś inne indukowały apoptozę. Aktywność związków silnie zależała od rodzaju linii komórkowej.

Odrębnym zagadnieniem analizowanym w ramach niniejszej pracy była rola wybranych białek oporności wielolekowej w procesie detoksykacji modelowego związku złota, za jaki uznano auranofinę. Modelem badawczym zastosowanym do tego celu były krwinki czerwone człowieka. Wykazano, że ani białka z podrodziny ABCC ani ABCG2 nie wpływają na proces eksportu złota z krwinek czerwonych.

Ostatnim zadaniem badawczym było określenie aktywności antyproliferacyjnej aryloiloacetylenowych kompleksów złota względem inwazyjnych szczepów drożdży *Candida albicans*. Analiza wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC) wyznaczonych dla badanych szczepów (szczep 10231, 60193, MYA-574) wykazała, że najwyższą aktywność antyproliferacyjną przejawiały kompleksy trietylofosfinowe oraz etynyloferrocenowe. Uzyskane wyniki pozwalają sądzić, że badane kompleksy złota nie są substratami białek CDR1 i CDR2, których nadekspresja cechuje szczep MYA-574.

Aleksandra Żul

8. ABSTRACT

The main goal of this study was to assess the effects of 26 new ariloilacetylene gold complexes on viability, cell cycle progression and selected biochemical parameters of mammalian cancer cell lines as well as growth of azole-resistant *Candida albicans*. The investigated compounds may be classified in three groups depending on the type of gold-complexing ligand: triphenylphosphine (group 1), triethylphosphine (group 2) and ferrocene derivatives (group 3). Gold (I) and (III) chlorides as well as auranofin - an organic gold complex of well-known biological activity - were used as reference compounds.

In the first phase of this study, antiproliferative activity of investigated compounds towards A549, HepG2 and SW620 cancer cell lines differing not only in organ origin (lung, liver and intestine, respectively) but also in baseline level of glutathione, glutathione reductase activity and thioredoxin reductase amount. It was shown that antiproliferative activity depends on the type of ligand used and more pronounced effects are exerted by triphenylphosphine and ferrocene complexes. No dependence on the type of other ligand was demonstrated and activity of none of the compounds was higher than that of auranofin.

In the second phase of this study a hypothesis that antiproliferative activity of novel gold complexes results from cellular redox balance disturbance was verified. Thiol group, glutathione (GSH) and its disulfide (GSSG) as well as combined GSH+GSSG concentration and glutathione reductase activity were assessed in cells exposed to the investigated compounds for four hours. Significant loss of GSH pool and glutathione reductase activity was observed after exposure to the highest compound concentration; the most pronounced effects were observed in triethylphosphine samples.

The effects of investigated gold compounds on cell cycle phase distribution in cancer cells was then analyzed. It was demonstrated that some of investigated gold compounds induced G1/S blockage while others induced apoptosis. The activity of a given compound strongly depended on a cell line type.

Another problem that was analyzed in this study was the role of selected multidrug resistance proteins in detoxication of auranofin - a model gold compound. Human erythrocytes were used as a research model. It was demonstrated that neither ABCC proteins nor ABCG2 protein influence the export of gold out of red blood cells.

The last research task was to determine the antiproliferative activity of ariloilacetylene gold complexes against invasive strains of *Candida albicans*. The analysis of minimal inhibitory concentration (MIC) in investigated strains (10231, 60193, and MYA-574 strains) revealed that the highest antiproliferative activity was exerted by triethylphosphine and ferrocene complexes. The

results obtained in this study allow to conclude that investigated gold complexes are not substrates of CDR1 or CDR2 proteins that are overexpressed by MYA-574 strain.

Aleksandra Zal