

Stacjonarne Studia Doktoranckie

Genetyki Molekularnej, Cytogenetyki i Biofizyki Medycznej

Joanna Sarnik

Komórkowe i molekularne mechanizmy działania farmakoforów węglowodanowych zawierających siarkę

Cellular and molecular mechanisms of action of sulfur-
containing carbohydrate pharmacophores

Praca doktorska

wykonana w Katedrze Genetyki Molekularnej UŁ

Instytut Biochemii UŁ

pod kierunkiem

dr hab. Tomasza Popławskiego , prof. UŁ

Streszczenie

W przedstawionej pracy doktorskiej pt. „Komórkowe i molekularne mechanizmy działania farmakoforów węglowodanowych zawierających siarkę” poddano biologicznej analizie cztery zróżnicowane pod względem strukturalnym tiocukry. Badano właściwości przeciwnowotworowe trzech 1-4-tiodisacharydów (FCP6-9) oraz tiocukru zawierającego motyw kwasu salicylowego (FCP8).

Głównym celem badań była **ocena komórkowych i molekularnych mechanizmów działania farmakoforów węglowodanowych zawierających siarkę.**

Szczegółowe badania, wykonane w warunkach *in vitro*, miały na celu:

- określenie cytotoksyczności i genotoksyczności badanych związków w komórkach nowotworowych na przykładzie wybranych linii nowotworowych, oraz powiązanie ich aktywności z budową farmakoforu,
- określenie zdolności badanych związków do hamowania proliferacji komórek,
- określenie zdolności badanych związków do bezpośrednich interakcji z cząsteczką DNA,
- ocenę zdolności badanych związków do indukcji procesu apoptozy lub nekrozy w komórkach nowotworowych,
- analizę odpowiedzi komórek nowotworowych na badane związki w kontekście zmian profilu ekspresji genów,
- analizę procesu transportu badanych związków do komórek nowotworowych.

Analizowano cytotoksyczne, cytostatyczne, pro-oksydacyjne, pro-apoptotyczne i genotoksyczne właściwości tiocukrów. Dodatkowo oznaczano wpływ wybranego związku na aktywność reduktazy tioredoksyny, glutationu, poziomu tioli i stresu retikulum endoplazmatycznego.

Badania wykonano na siedmiu liniach komórek nowotworowych:

- niedrobnokomórkowego raka płuc A549 (ATCC® CCL-185™),
- raka szyjki macicy HeLa (ATCC® CCL-2™),
- raka jelita grubego LoVo (ATCC® CCL-229™),
- raka piersi MCF7 (ATCC® HTB-22™),
- glejaka U-87MG (ATCC® HTB-14™),
- glejaka wyprowadzonego od pacjentów H6PX i H7PX,

- oraz jednej linii komórek prawidłowych PNT2 (95012613HPA Culture Collections Sigma).

Związkiem posiadającym największy potencjał przeciwnowotworowy jest związek **FCP6** – ma on właściwości cytotoksyczne, genotoksyczne, apoptogenne i pro-oksydacyjne wobec komórek nowotworowych. Jego mechanizm związany jest ze zmniejszaniem zdolności komórki do neutralizowania wolnych rodników tlenowych poprzez hamowanie aktywności systemów antyoksydacyjnych opartych na glutationie i tioredoksynie. Dodatkowo związek ten hamuje syntezę białek w komórce nowotworowej zaburzając składanie białek czego efektem jest stres retikulum endoplazmatycznego i odpowiedź komórki na akumulację nieprawidłowo złożonych białek. W kontekście porównania całej grupy badanej wywnioskowano, że obecność grup acetylowych przyłączonych do 1-4-tiodisacharydów zwiększa ich potencjał przeciwnowotworowy.

Poznanie mechanizmu działania badanych FCP, a także aktywności związanej z ich strukturą daje możliwość w przyszłości na opracowanie nowych pochodnych o wyższym potencjale przeciwnowotworowym, jak również prowadzenie w przyszłości kolejnych etapów badań w warunkach *in vivo*.



SUMMARY

In the presented dissertation "Cellular and molecular mechanisms of action of sulfur-containing carbohydrate pharmacophores" four thiosugars derivative were subjected to biological analysis. The anticancer properties of 3 different derivatives 1-4-thiodisaccharides (**FCP6-9**) and one salicylic acid motif (**FCP8**) were investigated.

The main aim of investigations was to evaluate **the cellular and molecular mechanisms of sulfur-containing carbohydrate pharmacophores.**

Detailed studies *in vitro*, aimed at:

- determination of cytotoxicity and genotoxicity of studied thiosugars in cancer cells and correlation of their activity with the structure of thiosugars,
- assessment of the ability of studied thiosugars to inhibit cancer cell proliferation,
- analysis of studied thiosugars interaction with the DNA,
- evaluation of the ability of the studied thiosugars to induction of apoptosis or necrosis in cancer cells,
- analysis of cancer cell response to the studied thiosugars,
- evaluation of the transport of the studied thiosugars to the cancer cells.

Cytotoxic, cytostatic, pro-oxidative, pro-apoptotic and genotoxic properties of the thiosugars were investigated. In addition, the effects of thiosugars on the activity of thioredoxin reductase, glutathione, thiol levels and endoplasmic reticulum stress were also evaluated.

The study was performed on seven human cancer cell lines:

- human non-small lung adenocarcinoma (A549),
- human cervical carcinoma (HeLa),
- human colon cancer (LoVo),
- human breast adenocarcinoma (MCF-7),
- human glioma cells (U-87MG),
- two human glioma cell lines derived from cancer patients (H6PX and H7PX),
- and one normal human cell line (PNT2).

It was found that the compound with the highest anti-tumor potential has the **FCP6** compound – it has cytotoxic, genotoxic, apoptogenic, and pro-oxidative properties against cancer cells. Its mechanism is associated with reducing the cell's ability to neutralize free

oxygen radicals by inhibiting the activity of antioxidant systems based on glutathione and thioredoxin. Also, this compound inhibits the synthesis of proteins in a cancer cell by disrupting protein assembly, which results in the stress of the endoplasmic reticulum and cell response to the accumulation of abnormally complex proteins. In the context of comparing the entire study group, it was concluded that the presence of acetyl groups attached to 1-4-thiodisaccharides increases their anti-tumor potential.

Understanding the mechanism of action as well as the activity of the FCPs involved in their structure gives the opportunity in the future to develop new derivatives with higher anti-cancer potential, as well as to conduct subsequent stages in the future *in vivo*.

A handwritten signature in blue ink, reading "Serilly Joana". The signature is written in a cursive style with a large, prominent initial 'S'.