

Synteza oraz badanie aktywności biologicznej izotiocyjanianów wobec linii komórkowych raka pęcherza moczowego

Rak pęcherza moczowego zajmuje 10 miejsce wśród najczęściej występujących nowotworów na świecie. Raki pęcherza moczowego są powszechnie uznawane za chemooporne, a nieudana terapia pierwszego rzutu oparta głównie na cisplatynie prowadzi do jeszcze bardziej opornych, zagrażających życiu nowotworów złośliwych, które są trudne do wyleczenia nawet najnowszymi lekami (jak np. winfluniną). W związku z tym koniecznym jest podejmowanie prób w poszukiwaniu nowych związków mogących być potencjalnymi terapeutykami. Grupą takich związków, które w przyszłości mogłyby zostać nowymi lekami są izotiocyjaniany. Są to związki występujące w warzywach krzyżowych np. brokułach, kalafiorze czy brukselce. Powstają w wyniku hydrolizy glukozynolanów przy udziale merozyny. Izotiocyjaniany posiadają właściwości chemoprewencyjne, przeciwnowotworowe oraz bakteriobójcze. Wpływają na wiele różnych procesów biologicznych, takich jak: cykl komórkowy, apoptoza czy angiogeneza. Ze względu na ich zdolność do akumulacji w pęcherzu moczowym, rak pęcherza moczowego staje się naturalnym celem dla terapii z udziałem izotiocyjanianów.

Niniejsza praca doktorska została podzielona na dwie główne części. Celem pierwszej części było wyprowadzenie komórek linii raka pęcherza moczowego opornych na obecnie stosowane w terapii cytostatyki, tj. cisplatynę, winblastynę, gemcytabinę oraz łącznie na cisplatynę jak i gemcytabinę, a następnie dokonanie ich charakterystyki molekularnej. Natomiast celem drugiej części pracy była synteza serii strukturalnie zróżnicowanych izotiocyjanianów będących pochodnymi estrów aminokwasów oraz ocena aktywności biologicznej zsyntetyzowanych związków wobec komórek linii raka pęcherza moczowego, scharakteryzowanych w pierwszej części pracy.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż komórki linii lekoopornych, wywodzące się z komórek różnych linii wyjściowych mimo tego, że są odporne na ten sam cytostatyk, rozwinęły swoją oporność na drodze różnych mechanizmów, co stwierdzono na podstawie analizy ekspresji genów oraz poziomu białek związanych z opornością na dany związek. Konsekwencją tego są zupełnie odmienne profile oporności krzyżowej komórek linii opornych raka pęcherza moczowego na inne związki.

Podczas realizacji drugiej części pracy otrzymano 29 syntetycznych izotiocyjanianów będących pochodnymi estrów aminokwasów. Związki powstały w ramach dwóch serii badawczych. Pierwsza seria obejmowała 18 związków: estry metylowe, butylowe, etylowe, benzylowe, izopropylowe oraz cykloheksylowe alaniny, fenyloalaniny lub fenyloglicyny. Na podstawie wyników aktywności antyproliferacyjnej *in vitro* tych związków stwierdzono, iż izotiocyjaniany będące pochodnymi estrów metylowych są bardziej aktywne od pozostałych. W związku z tym druga seria składała się z 11 izotiocyjanianów opartych wyłącznie o estry metylowe aminokwasów. Związki te również poddano testom antyproliferacyjnym *in vitro*, aby następnie móc wyłonić najbardziej aktywne i zbadać mechanizmy odpowiedzialne za ich aktywność biologiczną. Następnie podjęto próbę odpowiedzi na pytanie: jak struktura izotiocyjanianów wpływa na ich aktywność antyproliferacyjną? Zsyntetyzowane związki wykazują aktywność antyproliferacyjną zarówno wobec komórek wyjściowych raka pęcherza moczowego jak i komórek linii lekoopornych. Powodują, m.in.: wzrost aktywności kaspazy 3/7, hamują cykl komórkowy w fazie G2/M, obniżają potencjał klonogeny komórek oraz hamują polimeryzację tubuliny. Wykazano, iż struktura chemiczna izotiocyjanianów ma wpływ na ich aktywność biologiczną - im prostszy łańcuch boczny aminokwasu izotiocyjanianu oraz im krótszy łańcuch alifatyczny estru, tym związek wykazuje silniejszą aktywność antyproliferacyjną.

Podsumowując, w ramach niniejszej pracy doktorskiej wyprowadzono cztery nowe lekooporne linie komórkowe raka pęcherza moczowego oraz dokonano ich charakterystyki molekularnej. Zsyntetyzowano 29 izotiocyjanianów będących pochodnymi estrów aminokwasów, które wykazują aktywność antyproliferacyjną wobec komórek linii wrażliwych oraz lekoopornych raka pęcherza moczowego. Udowodniono, iż struktura chemiczna zsyntetyzowanych izotiocyjanianów ma wpływ na ich właściwości antyproliferacyjne.