

## STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

---

Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie. Pomimo znacznego postępu, jaki dokonał się w diagnostyce oraz leczeniu onkologicznym, szacuje się, że w 2022 roku z powodu nowotworów zmarło prawie 10 milionów osób [1]. Trudne i długotrwałe leczenie, liczne skutki uboczne terapii onkologicznej oraz rosnąca oporność komórek nowotworowych na stosowane chemioterapeutyki wymuszają konieczność poszukiwania nowych, bardziej skutecznych i bezpiecznych leków przeciwnowotworowych.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była synteza 1,3,4-oksadiazolowych i 1,2,4-triazolowych pochodnych 4,6-dimetylo-2-sulfanylopirydyno-3-karboksyamidu o potencjale przeciwnowotworowym oraz ocena ich aktywności biologicznej. W świetle najnowszych danych literaturowych, związki zawierające pierścienie oksadiazolu bądź triazolu wykazują znaczące właściwości cytostatyczne [2,3]. Aby wzmocnić aktywność biologiczną nowych połączeń, wbudowano do ich struktury dodatkowo różne ugrupowania farmakoforowe (grupy *N*-acylohydrazonową, aminometylową czy azometinową), korzystne ze względu na aktywność przeciwnowotworową [4–6]. Zaproponowana koncepcja budowy nowych połączeń jest spójna z ideą hybrydyzacji molekularnej – powszechnej strategii stosowanej w chemii medycznej, mającej na celu uzyskanie nowych substancji o zwiększonej aktywności biologicznej.

Zaprojektowane połączenia zostały otrzymane na drodze kilkuetapowej syntezy prowadzonej metodami klasycznymi. W jej wyniku uzyskano szereg półproduktów oraz 33 nowe, nieopisane dotąd w literaturze związki finalne, w tym 19 1,3,4-oksadiazolowych pochodnych stanowiących serie **I** i **II** oraz 14 pochodnych 1,2,4-triazolu stanowiących serię **III**. Po potwierdzeniu tożsamości otrzymanych połączeń metodami spektralnymi, przeprowadzono w warunkach *in vitro* ocenę ich aktywności przeciwnowotworowej. Wykonano także badania *in silico* wybranych związków celem określenia niektórych parametrów fizykochemicznych oraz wskazania ich prawdopodobnego mechanizmu działania przeciwnowotworowego.

Wyniki przeprowadzonych badań *in vitro* udowodniły wysoki potencjał przeciwnowotworowy niektórych połączeń a także pozwoliły na wyciągnięcie ogólnych wniosków dotyczących zależności między strukturą a aktywnością cytotoksyczną pochodnych 4,6-dimetylo-2-sulfanylopirydyno-3-karboksyamidu. Spośród wszystkich serii,

1,3,4-oksadiazolowe pochodne o budowie *N*-zasad Mannicha (seria **III**) były najmniej aktywne przeciwnowotworowo. Związkami, które najsilniej hamowały żywotność komórek nowotworowych, szczególnie linii niedrobnokomórkowego raka płuc (A549) oraz gruczolakoraka okrężnicy (LoVo) były *N*-acylohydrazonowe pochodne serii **II**. Najbardziej obiecujący związek **13**, posiadający ugrupowanie 2-bromobenzylidenowe, dodatkowo silnie hamował aktywność COX-1 i COX-2 oraz wykazywał działanie antyoksydacyjne. Dobrą bądź umiarkowaną aktywnością cytotoksyczną wobec linii komórkowych raka żołądka (EPG) oraz jelita grubego (HT-29) charakteryzowały się wybrane związki serii **III** o budowie zasad Schiffa. Ponadto określono, że prawdopodobny mechanizm ich działania związany jest z aktywnością proapoptotyczną. Należy zaznaczyć, że cechą wspólną związków serii **I** jak i **III** jest obecność w łańcuchu bocznym wiązania azometinowego ( $-N=CH-$ ), co może wskazywać na jego kluczową rolę w wystąpieniu aktywności cytotoksycznej w tej grupie związków. Warto podkreślić, że wszystkie badane połączenia charakteryzowały się niższą cytotoksycznością w stosunku do komórek prawidłowych w porównaniu z tą, wyznaczoną dla komórek zmienionych nowotworowo.

Biorąc pod uwagę wyniki dotychczas przeprowadzonych badań należy stwierdzić, że poszukiwanie leków przeciwnowotworowych w grupie pochodnych 4,6-dimetylo-2-sulfanylopirydyno-3-karboksyamidu jest wysoce zasadne. Uchwycone w analizie SAR (*structure-activity relationship*) zależności stanowią podstawę do dalszych modyfikacji strukturalnych pochodnych opartych na szkielecie 4,6-dimetylo-2-sulfanylopirydyno-3-karboksyamidu, mających na celu otrzymanie nowych, jeszcze bardziej aktywnych połączeń.

## SUMMARY

---

Cancer is one of the leading causes of death worldwide. Despite the significant development in oncological diagnosis and treatment during the past decades, it was estimated that almost 10.0 million cancer-related deaths were reported in 2022 [1]. Difficult and long-term treatment, numerous adverse effects of cancer therapies and the growing resistance of neoplastic cells to the chemotherapeutics used necessitate the search for new, more effective and selective anticancer agents.

The aim of the present doctoral dissertation was the synthesis of 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-triazole derivatives of 4,6-dimethyl-2-sulfanylpyridine-3-carboxamide with anticancer potential and evaluation of their biological properties. In light of the latest literature data, compounds containing oxadiazole or triazole rings exhibit significant cytostatic properties [2,3]. To enhance the biological activity of the new molecules, various pharmacophore groups (*N*-acyl hydrazone, aminomethyl or azomethine groups), which are beneficial due to their anticancer activity, were additionally introduced [4–6]. The proposed concept of structural design of new compounds is consistent with the idea of molecular hybridization - a common strategy used in medicinal chemistry, aimed at obtaining new substances with increased biological activity.

The designed compounds were obtained in a multi-step synthesis using classical methods. As a result, several intermediates and 33 new final compounds, previously undescribed in the literature, were obtained, including 19 of 1,3,4-oxadiazole derivatives constituting series **I** and **II**, and 14 of 1,2,4-triazole derivatives constituting series **III**. After confirming the structures of the obtained compounds using spectral methods, their *in vitro* anticancer activity was assessed. *In silico* tests of selected compounds were also performed to determine some of the physicochemical parameters and to indicate their probable mode of anticancer activity.

The results of *in vitro* assays proved the high anticancer potential of some compounds. Also, based on the obtained results, it can be possible to allow for drawing general conclusions from the structure-activity relationship analysis of the tested molecules. Among all series, 1,3,4-oxadiazole derivatives with the *N*-Mannich base structure (series **III**) were the least anticancer active. The compounds that most strongly inhibited the viability of cancer cells, especially the lines of non-small cell lung cancer (A549) and colon adenocarcinoma (LoVo),

were *N*-acyl hydrazone derivatives of series **II**. The most promising compound **13**, having a 2-bromobenzylidene moiety, additionally strongly inhibited the activity of COX-1 and COX-2, and exhibited antioxidant properties. Good to moderate cytotoxic activity against gastric (EPG) and colon cancer (HT-29) cell lines was displayed by selected compounds of series **III** with the structure of Schiff bases. Moreover, it was determined that the probable mode of their action is related to pro-apoptotic activity. It should be noted that a common feature of compounds of series **I** and **III** is the presence of an azomethine bond ( $-N=CH-$ ) in the side chain, which may indicate its key role in the cytotoxic activity in this group of compounds. It is worth mentioning, that all tested derivatives were characterized by lower cytotoxicity towards normal cells compared to those determined for cancer cells.

Taking into account the results of the studies, it should be concluded that the search for anticancer drugs in the group of 4,6-dimethyl-2-sulfanylpyridine-3-carboxamide derivatives is highly justified. The relationships captured in the SAR (*structure-activity relationship*) analysis constitute the basis for further structural modifications of derivatives based on the 4,6-dimethyl-2-sulfanylpyridine-3-carboxamide skeleton, aimed at obtaining new, more active compounds.