**Streszczenie**

W ostatnich latach dokonał się ogromny postęp w poszukiwaniu metod leczenia nowotworów, jednak chemioterapia jest nadal jedną z najpowszechniej stosowanych metod leczenia chorób nowotworowych. Niestety efekty uboczne i niedostateczna skuteczność chemioterapii wymagają nieustanną potrzebę poszukiwania nowych leków przeciwnowotworowych. Jednym z celów molekularnych leków przeciwnowotworowych jest cząsteczka DNA. Wśród związków działających na DNA są naturalne związki wiążące się z mniejszą bruzdą DNA (MGBA’s), które działają w sposób nieinterkalacyjny, wiążąc się w sposób selektywny z DNA. Mechanizm wiązania się netropsyny (NT) z B-DNA, klasycznego przedstawiciela MGBA, bardzo aktywnego związku lecz zbyt toksycznego, by mógł być stosowany w lecznictwie, stał się inspiracją do projektowania i syntezy wielu nowych związków o podobnym sposobie działania.

Innym atrakcyjnym celem dla chemioterapii nowotworów jest proces przemian kwasu foliowego, jeden z istotnych szlaków biochemicznych zachodzących w komórce. Aktywny w tym procesie enzym - reduktaza dihydrofolianowa (DHFR) katalizuje redukcję dihydrofolianu (DHF) do tetrahydrofolianu (THF), bezpośrednio regulując metabolizm kwasów nukleinowych, aminokwasów oraz wzrost i różnicowanie komórek. Trimetoprim (TMP) jest klasycznym inhibitorem bakteryjnej DHFR, należy do powszechnie stosowanych antybiotyków, zaś jego wpływ na działanie *h*DHFR jest niewielki. Niemniej, modyfikacje struktury cząsteczki w odniesieniu do TMP jako związku modelowego dały wiele związków o aktywności wobec ludzkiej DHFR z potencjałem do zastosowania także w terapii przeciwnowotworowej.

Celem przedstawionej pracy była synteza metodą syntezy na fazie stałej 24 nowych wielocelowych analogów TMP, zaprojektowanych w analogii do NT poprzez wbudowanie wiązania amidowego w miejsce mostka metylenowego łączącego dwa pierścienie aromatyczne w cząsteczce TMP. W celu zbadania wpływu elastyczności konformacyjnej na aktywność wobec hDHFR zsyntetyzowano też związki zawierające obok wiązania amidowego wiązania podwójne i pojedyncze węgiel-węgiel. Pierścień pirymidynowy zastąpiono odpowiednio: pirydynowym i benzenowym. Niektóre związki w pierścieniu benzenowym połączonym z fragmentem 3,4,5-trimetoksyfenylowym zawierały dodatkowe podstawniki halogenowe (chlor, brom, fluor, jod). Pozwoliło to na zbadanie zarówno ich elektronowego, jak i przestrzennego wpływu na aktywność inhibitorową DHFR oraz powinowactwo do miejsca aktywnego enzymu, a także na zdolność wiązania się z DNA.

Na podstawie wyników testu wypierania bromku etydyny z kompleksu z DNA, potwierdzono zdolność wiązania z DNA dla wszystkich związków. Związki: 2A (45,18%); 5A (69,17%); 13B-14B (49,89% i 43,85%) oraz 17B-18B (41,68% i 42,99%) wykazały wyższe powinowactwo wiązania do plazmidu pBR322 niż NT. Specyficzność wiązania do mniejszej bruzdy DNA oceniono na podstawie wyznaczenia stałych asocjacji z użyciem Calf thymus DNA, DNAT4, poli (dA-dT)2 i poli (dG-dC)2. Test hamowania DHFR wykazał, że wszystkie związki charakteryzowały się wyższą aktywnością inhibicyjną wobec ludzkiego enzymu DHFR niż TMP (, z wyjątkiem związków 9B (IC50 = 56,05μM) i 11B (IC50 = 55,32μM). Pochodne: 2A (0,99 μM); 3A (0,72 μM); 2B (1,11 μM); 6B (0,99 μM); 13B (0,89 μM); 14B (0,97 μM); oraz 16B (0,88 μM) okazały się najsilniejszymi inhibitorami DHFR. Dane uzyskane na podstawie dokowania molekularnego wskazują, iż niektóre związki oddziałują silnie z ważną katalitycznie resztą *Glu*-30 enzymu DHFR. Spośród wszystkich otrzymanych związków wybrano pięć (2B;6B;13B;14B;16B) w celu zbadania dokładniejszego mechanizmu działania. Szczegółowa analiza została przeprowadzona z wykorzystaniem danych z symulacji MD: RMSD, RMSF, SASA i Rg. Wprowadzenie wiązania amidowego do nowo zsyntetyzowanych analogów TMP zwiększyło ich powinowactwo do *h*DHFR w porównaniu do niemodyfikowanego TMP (-7,5 kcal/mol) co potwierdzają również badania MD, w których stwierdzono, że reszty Ala-9, Val-115 i Tyr-121 były odpowiedzialne za stabilizację naszych ligandów poprzez oddziaływanie z grupą amidową.

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły słuszność głównych założeń dotyczących syntezy związków wielocelowych o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych. Niezbędne są oczywiście dalsze badania otrzymanych związków
w celu potwierdzenia metodą in vitro ich zdolności antyproliferacyjnych wobec różnych linii komórek nowotworowych. Otrzymane struktury mogą stanowić też wzorzec do opracowania kolejnych analogów TMP o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych.