

**TIOSEMIKARBAZONY – WŁAŚCIWOŚCI
KOORDYNACYJNE W ASPEKCIE AKTYWNOŚCI
BIOLOGICZNEJ**

THIOSEMICARBAZONES – COORDINATION
PROPERTIES IN RELATION TO BIOLOGICAL
ACTIVITY

**Małgorzata Ostrowska¹, Yuliya Toporivska¹,
Monika Pyrkosz-Bulska²,
Elżbieta Gumienna-Kontecka^{*1}**

¹Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii
ul. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

*e-mail: elzbieta.gumienna-kontecka@chem.uni.wroc.pl

²Uniwersytet Śląski w Katowicach
Instytut Chemii, Zakład Chemii Organicznej
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice

Pracę dedykujemy pamięci Pani Profesor Małgorzaty Jeżowskiej-Bojczuk

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Charakterystyka tiosemikarbazonów
 - 1.1. Budowa i otrzymywanie
 - 1.2. Właściwości koordynacyjne tiosemikarbazonów
 - 1.3. Aktywność biologiczna
 - 1.4. Aktywność przeciwnowotworowa

Podsumowanie i wnioski

Piśmiennictwo cytowane

Mgr inż. Małgorzata Ostrowska ukończyła studia pierwszego i drugiego stopnia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego oraz studia pierwszego stopnia na Wydziale Inżynierjno-Ekonomicznym Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu. Obecnie jest doktorantką w Zespole Biologicznej Chemii Nieorganicznej Wydziału Chemii UWr. Jej zainteresowania dotyczą badań właściwości koordynacyjnych niskocząsteczkowych ligandów względem jonów metali bloku d. Szczególną uwagę poświęca badaniom dotyczącym wpływu struktury ligandów hydroksamowych na właściwości termodynamiczne metalakoronowych kompleksów Cu^{2+} , Ni^{2+} oraz Zn^{2+} .

Mgr Yuliya Toporivska pochodzi z Ukrainy, w roku 2011 została studentką Uniwersytetu Wrocławskiego, gdzie w roku 2016 zdobyła stopień magistra. Aktualnie kontynuuje studia III stopnia na Wydziale Chemii UWr w Zespole Biologicznej Chemii Nieorganicznej. Prowadzi badania nad kompleksami ligandów wielodonorowych z jonami metali przejściowych. Szczególną uwagę poświęca właściwościom koordynacyjnym jonu Zr^{4+} z ligandami hydroksamowymi.

Dr Monika Pyrkosz-Bulska ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, tu także uzyskała stopień doktora nauk chemicznych. Swoją pracę doktorską realizowała w Zespole Chemii Bionieorganicznej i Biomedycznej zajmując się badaniem oddziaływań ligandów aminobisfosfonowych z jonami Cu^{2+} i Ni^{2+} . Obecnie, przy współpracy z Uniwersytetem Wrocławskim, prowadzi badania nad specyfiką koordynacyjną ligandów tiosemikarbazonowych z metalami aktywnie biologicznymi.

Dr hab. Elżbieta Gumienna-Kontecka, prof. UWr, ukończyła jednolite studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Obecnie pracuje na stanowisku profesora Uniwersytetu Wrocławskiego na Wydziale Chemii, zajmując stanowisko kierownika Zespołu Biologicznej Chemii Nieorganicznej. Stopień doktora habilitowanego uzyskała w roku 2013. W swojej pracy badawczej zajmuje się strukturą i termodynamiką układów bionieorganicznych, ze szczególnym uwzględnieniem procesów transportu i homeostazy jonów metali (m.in. żelaza i miedzi) u patogenów. Tematyka jej badań koncentruje się wokół zależności struktura-funkcja sideroforów i ich układów biomimetycznych. Elżbieta Gumienna-Kontecka prowadzi także badania wielojądrowych związków koordynacyjnych i polimerów koordynacyjnych.

ABSTRACT

Thiosemicarbazones are considered to be potential therapeutics, because they possess a broad range of biological properties including antitumor, antimalarial and antimicrobial activity. Generally, the thiosemicarbazones coordinate to the metal centre by means of an (N,S) bidentate mode, and when an additional coordinating group is present, more diversified binding modes can occur such as a tridentate (X,N,S) coordination fashion. The stability of the metal complexes formed with the thiosemicarbazones strongly depends on the character of the metal ion, the X-donor atom of the additional functional group and the position and type of the substituents at the thiosemicarbazones.

The most prominent representative of this family is the α (N)-heterocyclic Triapine (3-aminopyridine- 2-carbaldehyde thiosemicarbazone; 3-AP), which is currently undergoing different phase-I and -II clinical trials as an antitumor agent, and demonstrates promising activity. Triapine is a very strong inhibitor of ribonucleotide reductase, the rate determining enzyme in the supply of deoxyribonucleotides for DNA synthesis required for cell proliferation. The mechanism of action involves most probably the formation of an iron(II)–Triapine complex, which reacts with molecular oxygen to result in the generation of reactive oxygen species. Subsequently, these reactive oxygen species are responsible for the quenching of the active-site tyrosyl radical of ribonucleotide reductase required for the enzymatic activity. As a result, the coordination chemistry of iron complexes of thiosemicarbazones has been receiving considerable attention.

This review describes the coordination chemistry of thiosemicarbazones, in particular analogs of Triapine. The coordination compounds of d-block elements are discussed with respect to their bonding and structures. Several of complexes are mononuclear, with distorted tetrahedral, square planar, square pyramid or octahedral as their common geometries. The metal-binding ability of STSC at physiological pH was compared and shown.

Further, various biological applications with emphasis an anticancer activity of the ligands/complexes are discussed in brief so as to indicate the importance of ligands under consideration.

Keywords: thiosemicarbazones, antitumor agents, biological activity, stability constants, transition metals

Słowa kluczowe: tiosemikarbazony, czynniki przeciwnowotworowe, aktywność biologiczna, stałe trwałości, metale przejściowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

IUPAC	– Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (ang. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
FTSC	– 2-formylopirydylotiosemikarbazon
PSTC	– pirydylo-2-karboksyaldehydo N^4, N^4 -dimetylotiosemikarbazon
APSTC	– 3-aminopirydylo-2-karboksyaldehydo N^4, N^4 -dimetylotiosemikarbazon
FaTSC	– 2-pirydyloformamid tiosemikarbazon
AcTSC	– 2-acetylpirydylotiosemikarbazon
Morph-dm-FTSC	– morfolino-dimetylo-2-formylopirydylotiosemikarbazon
mPip-dm-FTSC	– metylopiperazyno-dimetylo-2-formylopirydylotiosemikarbazon
STSC	– salicylaldehydotiosemikarbazon
BpT	– 2-benzylopirydylotiosemikarbazon
DpT	– di-2-pirydyloketono-3-tiosemikarbazon
DP44mT	– 2-(di-2-pirydylometyleno)- N, N -dimetylohydrazono-karbotioamid
DPC	– di(2-pirydylo)ketono-4-cydoheksylo-4-metylo-3-tiosemikarbazon
DMSO	– dimetylosulfotlenek
WHO	– Światowa Organizacja Zdrowia
AChE	– acetylocholinoesteraza
AD	– choroba Alzheimera
RR	– reduktaza rybonukleotydomowa
RFT	– reaktywne formy tlenu

WPROWADZENIE

W czasach gdy nowotwory, choroby neurodegeneracyjne oraz infekcje są bardzo poważnym problemem zdrowia publicznego, poszukiwanie innowacyjnych rozwiązań terapeutycznych oraz nowych środków leczniczych stanowi ogromne wyzwanie dla naukowców wielu dziedzin.

Pomimo ogromnego postępu w dziedzinie medycyny, wiele schorzeń pozostaje wciąż poza zasięgiem współczesnych metod leczenia. Jest to spowodowane, m.in. pojawiającymi się z roku na rok nowymi przypadkami chorobowymi, niejednorodnością nowotworów oraz ich wyjątkową odpornością terapeutyczną. W związku z tym, bardzo ważne jest poszukiwanie nowych, aktywnych biologicznie związków zdolnych do zwalczania chorób XXI wieku.

Poszukiwanie innowacyjnych i selektywnych terapeutyków opiera się w dużej mierze na projektowaniu i syntezie związków zdolnych do chelatacji jonów metali przejściowych zaangażowanych w procesy biologiczne. Przy planowaniu i modyfikacji kolejnych związków, w celu poprawienia ich możliwości aplikacyjnych, niezbędne jest szczegółowe zrozumienie chemii koordynacyjnej. Poprzez odpowiedni dobór struktury związku, geometrii oraz rozmieszczenia atomów donorowych, możemy regulować powinowactwo ligandów wobec jonów metali oraz trwałość powstających kompleksów tak, aby wywołać oczekiwane działanie biologiczne. Wprowadzanie dodatkowych grup funkcyjnych do cząsteczki wpływa na szybkość jej przenikania przez błony komórkowe, a także może zmniejszać niepożądane skutki uboczne.

Jedną z klas związków intensywnie badanych jako potencjalne terapeutyki o działaniu przeciwnowotworowym, są tiosemikarbazony. Są to łatwe w syntezie ligandy organiczne, które swoje szerokie spektrum aktywności biologicznej zawdzięczają zdolności chelatacji jonów metali. Łatwość modyfikacji tiosemikarbazonów sprzyja poszukiwaniom ligandów tworzących trwałe kompleksy. Kluczowym etapem projektowania nowych związków jest poznanie ich właściwości fizykochemicznych, zdolności koordynacyjnych, określenie miejsc koordynacyjnych oraz trwałości kompleksów jakie tworzą z jonami metali.

Celem niniejszej pracy jest podsumowanie wiedzy na temat związków tiosemikarbazonowych oraz scharakteryzowanie ich oddziaływań z jonami metali przejściowych w świetle ich aktywności biologicznej.

W pracy scharakteryzowano oddziaływanie ligandów tiosemikarbazonowych z jonami metali przejściowych, ze szczególnym uwzględnieniem jonów miedzi Cu^{2+} oraz żelaza $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$.

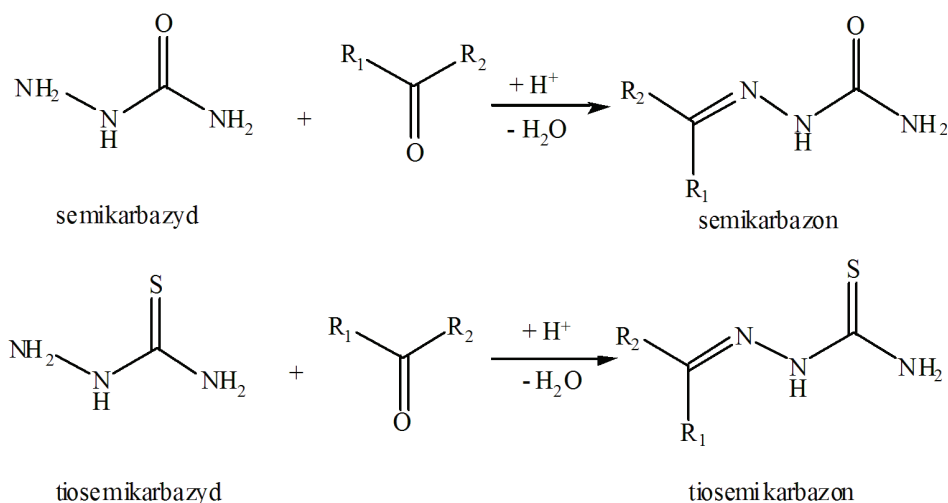
Kolejno dokonano krótkiej charakterystyki tiosemikarbazonów, ich budowy, metod syntezy oraz aktywności biologicznej. Szczególną uwagę poświęcono ich aktywności przeciwnowotworowej. Następnie przedstawiono przykładowe ligandy tiosemikarbazonowe, dla których wykonywane były badania dotyczące ich właściwości koordynacyjnych względem różnych jonów, a w szczególności kationów Cu^+ , Cu^{2+} , oraz Fe^{2+} i Fe^{3+} .

1. CHARAKTERYSTYKA TIOSEMİKARBAZONÓW

Tiosemikarbazony stanowią klasę związków znajdujących szerokie zastosowanie w analizie chemicznej, m.in. spektrofotometrii oraz spektrofluorymetrii do wykrywania jonów metali. Znajdują także szeroki zakres zastosowań farmaceutycznych; wykazują właściwości przeciwmalaryczne, przeciwbakteryjne oraz przeciwnowotworowe [1]. Aktywność biologiczna tiosemikarbazonów jest szeroko opisywana od roku 1940, jednak mechanizm, któremu zawdzięczają swoją efektywność, wciąż pozostaje nie do końca wyjaśniony. Głównym czynnikiem umożliwiającym zastosowanie tiosemikarbazonów jest ich zdolność chelatowania jonów metali o istotnym znaczeniu biologicznym [2].

1.1. BUDOWA I OTRZYMYWANIE

Tiosemikarbazony są siarkowymi analogami semikarbazonów, należących do pochodnych iminowych, otrzymywanych w wyniku kondensacji pomiędzy semikarbazidem oraz odpowiednim związkiem karbonylowym – ketonem lub aldehydem (Rys. 1) [3].



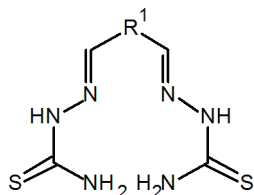
$\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{H}, \text{alkil}, \text{aryl}$

Rysunek 1. Schematyczne przedstawienie struktury i syntezy tiosemikarbazonów [4]

Figure 1. Schematic representation of structures and synthesis of thiosemicarbazones [4]

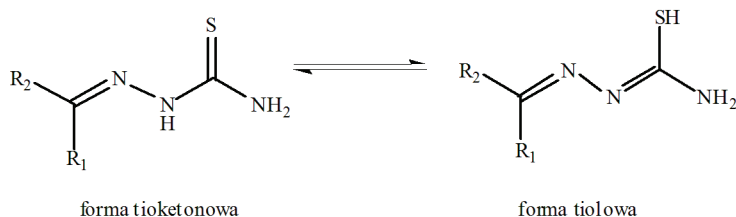
Zgodnie z nomenklaturą IUPAC, omawiane związki stanowią osobną klasę, a ich nazwy tworzy się od nazwy skondensowanego aldehydu czy ketonu,

po czym dodawane jest słowo „tiosemikarbazon” [5]. W zależności od rodzajów podstawników, można wyróżnić różne podklasy tiosemikarbazonów. Jedną z popularnych podklas są bis(tiosemikarbazony), których charakterystyczną cechą struktury są dwie molekuly tiosemikarbazonu, połączone poprzez pierścień aromatyczny albo wiązania C-C pomiędzy C² każdej cząsteczki (Rys. 2).



Rysunek 2. Struktura bis(tiosemikarbazonów), gdzie R1 = pierścień heterocykliczny, -CH₂-
Figure 2. Structure of bis(thiosemicarbazones), R1 = heterocyclic ring, -CH₂-

Obecność w strukturze tiosemikarbazonów ugrupowania C = N umożliwia występowanie tych związków w postaci dwóch stereoizomerów: E i Z (*trans* i *cis*). W ciele stałym występują w postaci formy tioketonowej i charakteryzują się zazwyczaj płaską geometrią, z atomem siarki skierowanym w pozycję *trans* względem azotu grupy azometinowej, co w rezultacie tworzy konfigurację E [6]. W roztworach wodnych tiosemikarbazonów obserwowane jest zjawisko tautomerii keto-enolowej, w wyniku której obecne są dwie równowagowe formy – tioketonowa oraz tienolowa (Rys. 3). Wskutek wewnątrzcząsteczkowego transferu protonu dochodzi do deprotonacji grupy hydrazonowej i protonacji atomu siarki [7].



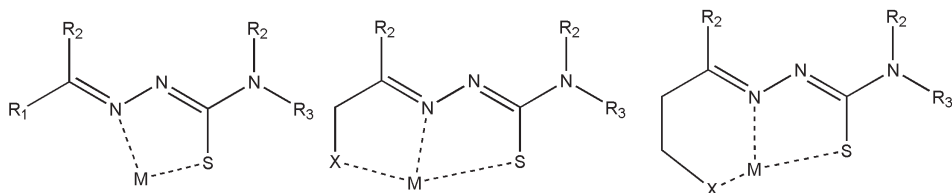
Rysunek 3. Tautomeryczne formy tiosemikarbazonów [7]
Figure 3. Tautomeric forms of thiosemicarbazones [7]

1.2. WŁAŚCIWOŚCI KOORDYNACYJNE TIOSEMIKARBAZONÓW

Badania dotyczące właściwości koordynacyjnych tiosemikarbazonów od dawna cieszą się dużą popularnością. Pierwszy przegląd dotyczący tej tematyki został opublikowany w roku 1974 [8]. Od tego czasu zanotowano szereg kompleksów tiosemikarbazonowych zawierających jony metali, takich jak wanad, cynk, kobalt, złoto, nikiel, srebro, pallad, gal, miedź oraz żelazo [9, 10]. Zdolność do chelatowania tak szerokiej gamy jonów metali zawdzięczają obecności w swojej strukturze bogatego

zestawu atomów donorowych. Obok imponującej liczby metali, z którymi tiosemikarbazony zdolne są tworzyć trwałe kompleksy, interesujący jest również fakt, że stabilizują one różne, często mniej powszechne, stopnie utlenienia tych metali [7].

Najczęściej występującymi typami koordynacyjnymi ligandów tiosemikarbazonowych jest koordynacja dwu- i trójkleszczowa. W przypadku koordynacji dwukleszczowej, atomami donorowymi są atomy azotu oraz siarki (N, S) ugrupowania azometynowego, natomiast trójkleszczowy typ koordynacji wykorzystuje następujące kombinacje atomów donorowych: (N, N, S); (O, N, S) oraz (C, N, S) (Rys. 4). Właściwości koordynacyjne tiosemikarbazonów mogą być odpowiednio dostosowywane poprzez wykorzystanie do ich syntezy aldehydów lub ketonów posiadających dodatkowe grupy funkcyjne, zawierające atomy donorowe (X) w pozycjach umożliwiających chelatowanie jonów metali. Pozwala to na trójkleszczowe wiązanie jonów metali przez cząsteczki tiosemikarbazonów i utworzenie dwóch pierścieni pięcioczłonowych lub pierścienia pięcio- i sześcioczłonowego [7]. Zwiększanie liczby pierścieni chelatowych zwiększa trwałość kompleksu. Należy jednak pamiętać, że wzrost rozmiarów tych pierścieni wpływa negatywnie na trwałość kompleksów [11]. Z kolei wprowadzenie do liganda tiosemikarbazonowego pierścienia aromatycznego z dodatkowymi atomami donorowymi (X) wpływa pozytywnie na zdolności chelatujące cząsteczki [6, 12].



Rysunek 4. Schematy koordynacji tiosemikarbazonów, gdzie R oznacza grupę funkcyjną, X oznacza dodatkowy atom donorowy [13]

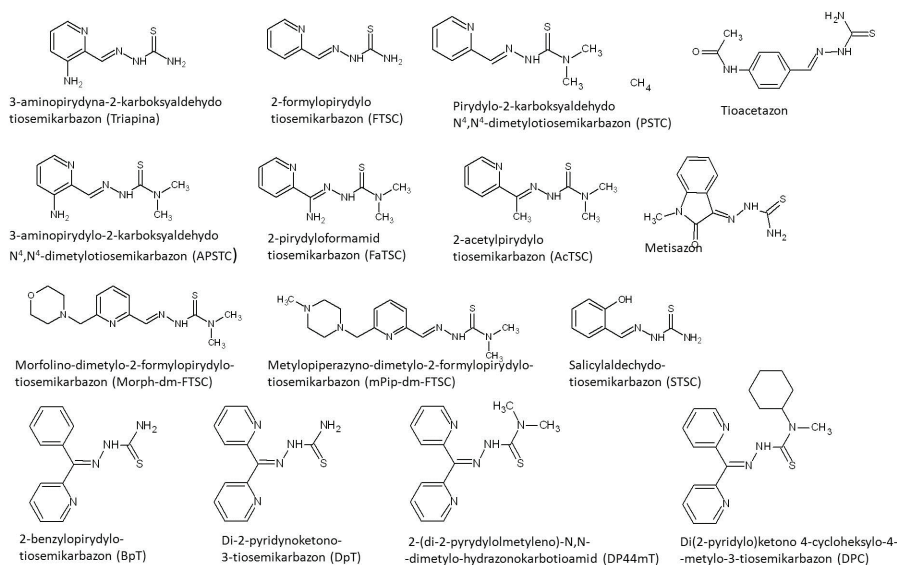
Figure 4. Coordination modes of thiosemicarbazones, R – functional group, X – additional donor atom [13]

Stabilność kompleksów tiosemikarbazonowych w znacznym stopniu zależy od jonu metalu, a także od rodzaju dodatkowego atomu donorowego X i miejsca jego podstawienia [13]. Zgodnie z teorią miękkich i twardych kwasów i zasad Pearsona (HSAB), wprowadzenie w miejscu X grupy –OH, twardej zasady, powoduje zwiększenie trwałości kompleksów z twardymi kwasami, takimi jak Fe(III), Al(III), Na(I), K(I), Mg(II), Ca(II); zamiana donorowego atomu tlenu na atom azotu (np. w pierścieniu pirydynowym) lub grupę tiolową powoduje powstanie trwałych kompleksów z metalami o bardziej miękkim charakterze, np. Pb(II), Cu(II), Fe(II) – dla azotu, czy Cu(I), Au(I), Ag(I) dla grupy tiolowej.

W ostatnich latach znacznie wzrosła liczba nowych publikacji dotyczących badań oddziaływań tiosemikarbazonów z jonami metali przejściowych. Zdecydowana większość opisuje kompleksy z jonami Cu^{2+} i $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, co wynika z właściwości redoks danych metali, mniej z jonami Zn^{2+} , Ni^{2+} , Ag^+ , Pt^{2+} , Ga^{3+} ,

Al³⁺ [1, 10, 14, 15]. Jest to wywołane poszukiwaniem efektywnych chelatorów tych kationów, w celu zbadania ich potencjalnej aktywności biologicznej, w szczególności przeciwnowotworowej.

Triapina należy do klasy $\alpha(N)$ -pirydyłowych pochodnych i jest jednym z najlepiej zbadanych związków tiosemikarbazonów. W roztworze triapina z jonami metali dwuwartościowymi Fe²⁺ i Cu²⁺ zachowuje się bardzo podobnie: monomeryczne kompleksy zaczynają się tworzyć już w pH < 2, gdzie biskompleksy powstają w pH > 2, a w pH zasadowym powstają hydrokso-formy kompleksowe. Jedyną różnicą jest powstanie dwujądrowej formy kompleksowej [Cu₂²⁺L₃] w układzie Cu²⁺-Triapina w zakresie pH 6–9 [1]. Dla układu Fe³⁺-Triapina zaobserwowano tylko dwie formy kompleksowe Fe³⁺L oraz Fe³⁺L₂, przy czym dominacja biskompleksu następuje prawie w całym zakresie pH 3–10. W przypadku jonów metali dwu- i trójwartościowych, utworzenie kompleksów następuje z zaangażowaniem do sfery koordynacyjnej dwóch atomów azotu (N_(pirydynowy), N_(azometynowy)) oraz atomu siarki (S_(hydrazonowa)) [14].



Rysunek 5. Wzory strukturalne wybranych ligandów tiosemikarbazonowych (pochodnych triapiny) omawianych w pracy

Figure 5. Structures of selected thiosemicarbazones (derivatives of Triapine) discussed in this review

W latach 2011–2015, zbadano właściwości koordynacyjne dla serii ligandów tiosemikarbazonowych będących *N*-heterocyklicznymi analogami triapiny [1, 10, 14, 15] (Rys. 5, Tabela 1).

W Tabeli 1 zaprezentowano dane dotyczące stałych trwałości oraz wartości pM dla związków koordynacyjnych $\alpha(N)$ -pirydyłowych tiosemikarbazonów (FTSC, PTSC, APTSC, FaTSC, AcTSC) i ich pochodnych (mPip-dm-FTSC i Morph-dm-FTSC) oraz salicylaldehydtiosemikarbazonu (STSC) z jonami Cu²⁺ i Fe²⁺ oraz Fe³⁺.

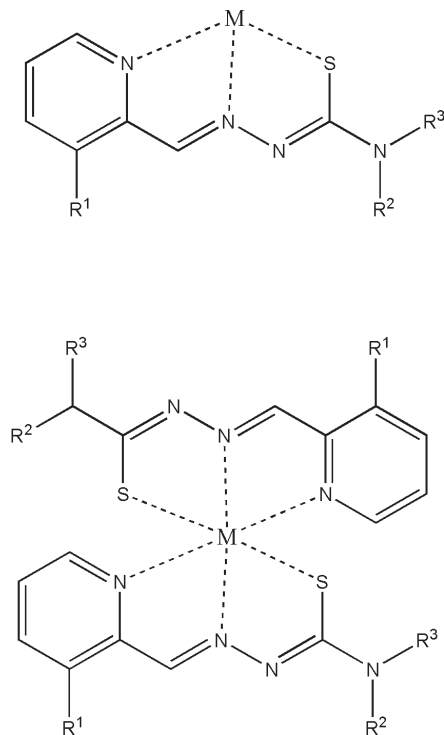
Tabela 1. Porównanie stałych trwałości oraz wartości pM dla ligandów tiosemikarbazonowych, pochodnych triapiny, z jonami metali Cu^{2+} i $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$
 Table 1. Comparison of stabilities constants and pM values for Cu^{2+} i $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ complexes of selected thiosemicarbazones

	Triapina	FTSC	PSTC	APSTC	FaTSC	AcTSC	mPip-dm-FTSC	Morph-dm-FTSC	STSC
$\log\beta[\text{CuLH}_2]$	–		–	–	–	–	27.5 ^d	–	–
$\log\beta[\text{CuLH}]$	–		–	–	–	–	26.47 ^d	20.3 ^d	23.03 ^c
$\log\beta[\text{CuL}]$	13.89 ^a		13.57 ^a	13.95 ^a	–	–	20.26 ^d	18.86 ^d	19.02 ^c
$\log\beta[\text{CuLH}_{-1}]$	5.89 ^a		–	7.20 ^a	–	–	8.4 ^d	7.2 ^d	8.75 ^c
$\log\beta[\text{CuLH}_{-2}]$	–5.98 ^a		–	–	–	–	–	–	–
$\log\beta[\text{CuL}_2\text{H}]$	27.16 ^a		27.49 ^a	28.11 ^a	–	–	–	–	–
$\log\beta[\text{CuL}_2]$	20.32 ^a		21.23 ^a	21.90 ^a	–	–	–	–	–
$\log\beta[\text{Cu}_2\text{L}_3]$	38.79 ^a		39.00 ^a	41.12 ^a	–	–	–	–	–
pCu ²⁺	11.56		11.49	12.82			17.80	17.02	18.48
$\log\beta[\text{Fe}^{2+}\text{LH}]$	15.91 ^a	–	–	–	15.96 ^b	–			21.00 ^c
$\log\beta[\text{Fe}^{2+}\text{L}]$	12.29 ^a	12.48 ^b	13.27 ^a	14.37 ^a	11.23 ^b	14.37 ^b			13.56 ^c
$\log\beta[\text{Fe}^{2+}\text{LH}_{-1}]$	–	–	–	8.92 ^a	–	–			–
$\log\beta[\text{Fe}^{2+}\text{L}_2\text{H}]$	27.70 ^a	26.2 ^b	27.54 ^a	29.09 ^a	27.41 ^b	28.35 ^b			32.73 ^c
$\log\beta[\text{Fe}^{2+}\text{L}_2]$	22.55 ^a	22.31 ^b	23.37 ^a	24.16 ^a	21.59 ^b	23.75 ^b			24.73 ^c
$\log\beta[\text{Fe}^{2+}\text{L}_2\text{H}_{-1}]$	10.83 ^a	–	–	–	10.44 ^b	12.97 ^b			16.12 ^c
pFe ²⁺	11.60	10.51	12.90	14.61	9.03	11.57			17.96
$\log\beta([\text{Fe}^{3+}\text{LH}]$	14.03 ^b	14.48 ^b	17.5 ^b	15.48 ^b	16.77 ^b	16.69 ^b			22.26 ^c
$\log\beta([\text{Fe}^{3+}\text{L}]$	–	–	–	–	–	–			18.68 ^c
$\log\beta[\text{Fe}^{3+}\text{L}_2\text{H}]$	–	–	–	–	–	–			39.14 ^c
$\log\beta([\text{Fe}^{3+}\text{L}_2]$	26.25 ^b	25.44 ^b	30.89 ^b	28.59 ^b	30.51 ^b	29.70 ^b			34.02 ^c
$\log\beta[\text{Fe}^{3+}\text{L}_2\text{H}_{-1}]$	–	–	–	–	–	–			22.72 ^c
pFe ³⁺	15.29	13.59	20.41	18.61	17.90	17.26			26.82

Stałe trwałości zostały wyznaczone w DMSO/H₂O 30%, T = 298K, I = 0,1 KCl. Wartości pM = –log [M] zostały policzone w pH 7,40; dla C_L/C_M = 10; C_M = 1 μM. (A) [1], (b) [14] (c) [10] (d) [15].

Dla α(N)-pirydylowych tiosemikarbazonów, analogów Triapiny, również zaobserwowano tworzenie mono- i bis-kompleksów z jonami Fe²⁺ oraz Fe³⁺. Monomeryczne kompleksy z jonami Fe²⁺ zaczynają się tworzyć w pH poniżej 2, a w wyniku ich powstania na widmach UV-Vis można zaobserwować wzrost pasma absorpcji przy 450–500 nm, dla biskompleksów zaobserwowano pasmo przy 610–620 nm w zakresie pH od 2–10 jest to pasmo z przeniesieniem ładunku z jonu metalu na ligand [1, 15]. Sugerowanym sposobem koordynacji dla kompleksów [Fe²⁺L] i [Fe²⁺L₂] jest model trójkleszczowy przy

zaangażowaniu w sferze koordynacyjnej jonu metalu atomów $N_{(\text{pirydynowy})}$, $N_{(\text{azometynowy})}$ i $S_{(\text{hydrazonowa})}$ (Rys. 6). Dla Fe^{3+} sugerowano analogiczny sposób koordynacji, co dodatkowo potwierdzono krystalograficznie [16].



Rysunek 6. Schemat proponowanych struktur kompleksów ligandów tiosemikarbazonowych [1, 10]
Figure 6. Proposed structures for metal complexes of thiosemicarbazones [1, 10]

Kolejne formy kompleksów z jonami Fe^{2+} ($[Fe^{2+}L_2H_{-1}]$ oraz $[Fe^{2+}LH_{-1}]$) powstają na skutek deprotonacji cząsteczki wody zaangażowanej w koordynację lub na skutek wymiany skoordynowanej grupy funkcyjnej na jon hydroksylowy [15].

Ligand STSC został zmodyfikowany w stosunku do struktury Triapiny poprzez zastąpienie pierścienia pirydynowego pierścieniem fenolowym. Modyfikacja ta doprowadziła do zmiany sfery koordynacyjnej jonów Fe^{2+} oraz Fe^{3+} z $N_{(\text{pirydynowy})}$, $N_{(\text{azometynowy})}$, $S_{(\text{hydrazonowa})}$ na $O_{(\text{fenolanowy})}$, $N_{(\text{azometynowy})}$, $S_{(\text{hydrazonowa})}$. Wprowadzenie atomu tlenu jako grupy funkcyjnej w kompleksach Fe^{3+} przyczyniło się do zwiększenia stałych trwałości związków koordynacyjnych, w porównaniu do kompleksów $\alpha(N)$ -pirydynowych o około 4 rzędy (Tab. 1), ale nie zmieniło stechiometrii związków w roztworach wodnych. Ponadto kompleks $[Fe^{3+}(STSC)_2]$ został wyizolowany w postaci kryształu [17]. Podobnie jak w przypadku $\alpha(N)$ -pirydynowych tiosemikarbazonów, tworzenie się monomerycznych kompleksów Fe^{2+} skutkuje pojawieniem się pasm absorpcji przy 430–480 nm, a biskompleksów – pasm przy około 600–620 nm [1, 10].

Geometria związków kompleksowych jonów Cu^{2+} wyróżnia się ze względu na wpływ efektu Jahn-Tellera, i co za tym idzie: odkształcenia od geometrii tetraedrycznej. Kompleksy Cu^{2+} $\alpha(N)$ -pirydynowych TSCs charakteryzują się tą samą sferą koordynacji co jony Fe^{2+} oraz Fe^{3+} . Przy użyciu technik badawczych, takich jak paramagnetyczny rezonans elektronowy oraz spektrometria mas, dwujądrowe formy kompleksów z jonami Cu(II) zaobserwowano tylko dla Triapiny, PTSC oraz APTSC; forma $[\text{Cu}_2\text{L}_3]$ również została uwzględniona i zaakceptowana w modelu potencjometrycznym [1].

Dla pochodnych $\alpha(N)$ -pirydynowych, wydłużonych o ugrupowanie morfolinowe czy metylo-piperazynowe (Morph-dm-FTSC i mPip-dm-FTSC odpowiednio), zaobserwowano tylko monomeryczne kompleksy Cu^{2+} . W zakresie pH od 5 do 8 tworzy się kompleks cztero-kleszczowy z zaangażowaniem trzech atomów azotu pochodzących z ugrupowania morfolinowego/piperazynowego, pirydynowego oraz azometynowego ugrupowań i jednego atomu siarki z grupy hydrazonowej. Taki model koordynacji potwierdzono krystalograficznie [15]. Ze zwiększeniem zasadowości roztworu tworzy się forma kompleksowa $[\text{CuLH}_{-1}]$, która odzwierciedla formowanie hydroksokompleksów, gdzie donorowy atom azotu, pochodzący od grupy morfolinowej/piperazynowej, został zastąpiony anionem hydroksylowym. Dla układu Cu^{2+} -mPip-dm-FTSC zaobserwowano dodatkowy krok deprotonacji w pH 6,26, który świadczy o deprotonacji terminalnego atomu azotu ugrupowania piperazynowego [15].

Mimo że stałe trwałości są wiarygodnym wskaźnikiem trwałości kompleksów, to nie zawsze odzwierciedlają efektywność wiązania jonu metalu w określonych warunkach. Procesy protonacji liganda, ale też liczba i charakter grup wiążących oraz różnice molowego stosunku metalu do liganda, mają bardzo duży wpływ na powstawanie form kompleksowych w różnym pH. Wobec powyższego, w celu porównania siły wiązania jonów metalu przez ligandy tiosemikarbazonowe, obliczamy stężenie wolnych jonów metalu w określonych warunkach stężeń metalu i liganda oraz w konkretnym pH. Im wyższa wartość pM (dla miedzi oznaczane jako pCu^{2+} , dla jonów żelaza $\text{pFe}^{2+}/\text{pFe}^{3+}$, tym skuteczniej ligand wiąże jony metalu w zadanych warunkach, Równanie (1).

$$pM(\text{II/III}) = -\log[M(\text{II/III})]_{aq} \quad (1)$$

Stężenie wolnych jonów metalu wyznaczono dla $c_{\text{ligand}} = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ i $c_{\text{M}} = 1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$, w warunkach pH 7,4 i 25°C. Obliczone wartości pM przedstawione są w Tabeli 1.

Z wyliczonych danych wynika, że w zadanych warunkach najmocniej jony $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ oraz Cu^{2+} wiążą ligand STSC, $\text{pFe}^{2+} = 17,96$, $\text{pFe}^{3+} = 26,82$, $\text{pCu}^{2+} = 18,48$. Wysoką wartość pCu^{2+} wykazują również mPip-dm-FTSC oraz Morph-dm-FTSC, które charakteryzują się czterokleszczowym sposobem koordynacji. Z omówionych danych wynika, że *N*-dimetylowane ligandy są silniejszymi chelatorami jonów metali przejściowych, w porównaniu do Triapiny, a czterokleszczowy sposób wiązania zwiększa stabilność kompleksów Cu^{2+} -tiosemikarbazon. Dane literaturowe pokazują

również, że większa stabilność kompleksów ligandów z grupami metylowymi przekłada się na ich zwiększoną aktywność biologiczną. Potwierdza to ogólną zależność, że aktywność biologiczna związków jest ściśle związana z ich strukturą i poprzez jej odpowiednie modyfikacje można zmieniać właściwości badanych związków [1, 10].

Wybór rozpuszczalnika DMSO/H₂O 30% w/w podyktowany jest niską rozpuszczalnością kompleksów w środowisku wodnym, w stężeniach potrzebnych do fizyko-chemicznej analizy kompleksów, rzędu 10⁻³ M. Niska rozpuszczalność związków koordynacyjnych nie jest przeszkodą w warunkach eksperymentów biologicznych, wykonywanych w stężeniach 10⁻⁶ M. W takich warunkach kompleksy tiosemikarbazonów są dobrze rozpuszczalne w wodzie.

1.3. AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

Aktywność biologiczna tiosemikarbazonów jest ściśle związana z ich zdolnością do chelatowania jonów metali przejściowych. W większości zanotowanych przypadków kompleksy tiosemikarbazonów wykazują znacznie wyższą aktywność w porównaniu do wolnych ligandów. Badania kompleksów Fe²⁺/Fe³⁺ oraz Cu²⁺ wykazały, że są one wyraźnie bardziej aktywne w procesie niszczenia komórek lub hamowania syntezy DNA, niż nieskompleksowane ligandy [18]. W ciągu ostatnich lat intensywnie badano możliwość biologicznego zastosowania wielu kompleksów omawianych ligandów. W wyniku prowadzonych na przełomie kilkudziesięciu lat badań udowodniono, że tiosemikarbazony oraz ich kompleksy mogą być stosowane jako środki przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne, a także przeciwwirusowe. Niektóre z nich są stosowane jako leki o wyżej wymienionym działaniu [19].

Pierwsze prace donoszące o zastosowaniu tiosemikarbazonów jako leków przeciwko trądowi oraz gruźlicy zostały opublikowane w połowie lat 90. [20, 21]. W tym czasie odkryto przeciwbakteryjne działanie tiosemikarbazonów, które zostało potwierdzone również *in vivo*. Znanym od roku 1954 środkiem stosowanym przeciwko *Mycobacterium spp.* jest indolo-3-tiosemikarbazon [22].

Jeden ze znanych prekursorów leków należący do grupy tiosemikarbazonów, tioacetazon (Rys. 5) – jest stosowany jako środek wspomagający leczenie gruźlicy. Jako prolek, czyli forma nieaktywna farmakologicznie, podawany jest on w połączeniu z substancją zwiększającą jego aktywność. Wykazuje on działanie przeciwko opornym szczepom *Mycobacterium tuberculosis*. Niestety, tioacetazon okazał się szczególnie toksyczny dla pacjentów zakażonych wirusem HIV, w związku z czym Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zajęła stanowisko sprzeciwiające się stosowania leku u pacjentów z tej grupy [23]. Konieczne było opracowanie analogów tioacetazonu, które okazały się bardziej aktywne biologicznie od swojego prekursora [24].

Badania dotyczące przeciwwirusowych właściwości tiosemikarbazonów zaowocowały odkryciem isatyno-β-tiosemikarbazonu, stanowiącego substancję

czynną leku Metisazon (Rys. 5), stosowanego m.in. w leczeniu ospy. Działanie tego leku opiera się na hamowaniu syntezy wirusowego mRNA [25, 26].

W literaturze zanotowano hamujący wpływ tiosemikarbazonów na wzrost pasożytniczych pierwotniaków, będących przyczyną malarii. Uważa się, że omawiane związki mają wpływ na proces trawienia hemoglobiny w wakuoli żywieniowej pasożytów. Przepuszczalnie istnieje kilka mechanizmów tego procesu, z których wszystkie mają niekorzystny wpływ na zdolność pasożyta do rozkładu hemoglobiny gospodarza, wymaganego dla syntezy odpowiednich białek. W jednym z mechanizmów opisuje się, że jako chelatory metali mogące wiązać jony Fe^{3+} , tiosemikarbazony mogą hamować wzrost malarii poprzez blokowanie dostępności tego metalu dla enzymów zaangażowanych w szlak biosyntezy hemu [27, 28]. Znalaziono również nieliczne przykłady kompleksów tiosemikarbazonów z jonami Cu^{2+} , Ni^{2+} oraz Fe^{2+} , wykazujących działanie antymalaryczne [9].

Najnowsze doniesienia literaturowe dowodzą, że związki tiosemikarbazonowe były badane w kierunku leczenia choroby Alzheimera (AD) [29, 30]. Pomocne w leczeniu choroby AD okazały się również kompleksy bis(tiosemikarbazonowe), szczególnie kompleksy Cu^{2+} . Jedną z przyczyn powstawania tej choroby jest zaburzona homeostaza jonów miedzi oraz cynku w mózgu. Bis(tiosemikarbazony), które z łatwością mogą przedostać się przez błony komórkowe, mogą przyczyniać się do modulowania stężenia tych jonów, których zaburzona homeostaza przyczynia się do powstawania AD, a tym samym regulować tworzenie się płytek β -amyloidowych. Dokładny mechanizm zaangażowania tych kompleksów w hamowanie patogenezы choroby Alzheimera jest nadal w trakcie badań [31]. Opracowano serię związków, które w strukturze zawierają farmakofor 1-benzylpiperydyny z Donepezilu (klinicznie używanego inhibitora acetylocholinoesterazy AChE) oraz resztę tiosemikarbazonu chelatującego metal. Tak zaprojektowane związki miały umożliwić: (1) chelatowanie metali aktywnych redoks (zapobieganie wytwarzania RFT oraz agregatów białkowych); (2) hamowanie aktywności acetylocholinoesterazy (w celu zwiększenia poziomu ACh); i (3) indukcję autofagii (w celu usunięcia toksycznych agregatów białkowych). Ponadto unikalna grupa tiosemikarbazonów wykazała ogólnie niską cytotoksyczność, która jest inną kluczową właściwością w leczeniu AD. Spośród badanych tiosemikarbazonów wiodący okazał się związek 4-N-(1-benzylpiperydin-4-yl) tiosemikarbazon pirydoksalu (PBPT). Środek ten wykazał najbardziej obiecującą wielokierunkową aktywność, podkreślając potencjał liganda wiodącego, PBPT, jako obiecującego wielofunkcyjnego środka do leczenia AD [32].

Znalaziono również inne zastosowanie dla kompleksów bis(tiosemikarbazonowych) z jonami Cu^{2+} . Prowadzone są badania nad wykorzystywaniem tych kompleksów jako radiofarmaceutyków do obrazowania cząsteczkowego procesów metabolicznych i fizjologicznych [33].

1.4. AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWA

W literaturze opisywane jest kilka mechanizmów oddziaływania tiosemikarbazonów i ich kompleksów w terapii przeciwnowotworowej. Wszystkie z nich oparte są na zdolności omawianej grupy ligandów do trwałego kompleksowania jonów miedzi lub żelaza [18]. Najszerzej opisywane mechanizmy dotyczą hamowania aktywności reduktazy rybonukleotydowej (RR), Fe-zależnego enzymu odpowiedzialnego za dostarczanie – prekursorów niezbędnych do syntezy DNA, odpowiedzialnych za namnażanie komórek [34]. RR składa się z dwóch podjednostek (R1 i R2). Podjednostka aktywna enzymu (R2), której kofaktorem jest rodnik tyrozynowy, stabilizowana jest przez jon żelaza [35]. Ze względu na wzmożony podział i większą aktywność RR, komórki nowotworowe mają zwiększone zapotrzebowanie na jony żelaza. Hamowanie aktywności RR spowalnia szybkość namnażania się komórek nowotworowych. W latach 60. sugerowano, że obniżenie aktywności RR jest powodowane przez wiązanie i dezaktywację jonów żelaza niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania enzymu, przez wprowadzane do komórki chelatory tego metalu [36]. Drugim mechanizmem hamującym działanie RR i wpływającym destrukcyjnie na komórkę nowotworową jest zainicjowany przez kompleksy tiosemikarbazonowe wzrost produkcji reaktywnych form tlenu (RFT) wpływających destabilizująco na rodnik tyrozynowy, niezbędny do aktywności enzymu [12]. Mechanizm działania jednego z przedstawicieli tiosemikarbazonów, Triapiny (Rys. 5), będącej obecnie w II fazie badań klinicznych, opiera się na hamowaniu RR poprzez generowanie RFT [37, 38]. Aktywność ta została zanotowana zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* [39]. Triapina wykazuje wysokie powinowactwo wobec jonów Fe^{2+} , a tworzone kompleksy reagują z cząsteczkowym tlenem, czego wynikiem jest wzmożona produkcja RFT [14]. Mimo że Triapina podczas wieloletnich badań klinicznych wykazywała szereg skutków ubocznych, takich jak zmęczenie, nudności czy wymioty, a nawet niedotlenienie i niedociśnienie, badania wciąż są kontynuowane [40]. Dotyczą one wykorzystania synergicznego działania Triapiny w połączeniu z powszechnie stosowanymi lekami przeciwnowotworowymi. W układzie takim Triapina ma za zadanie opóźnić procesy naprawcze DNA po uszkodzeniach wywołanych podanymi wcześniej środkami [41].

Kolejnym, opisywanym w literaturze mechanizmem antynowotworowej aktywności tiosemikarbazonów, jest ich zdolność do hamowania ATP-zależnego enzymu topoizomerazy IIa. Enzym ten odpowiedzialny jest za zmiany w strukturze przestrzennej DNA. Ułatwia on zachodzenie takich procesów, jak replikacja, transkrypcja oraz rekombinacja, w związku z czym zahamowanie aktywności tego enzymu uszkadza DNA oraz zatrzymuje cykl komórki [42, 43].

Aktywność tiosemikarbazonowych kompleksów Cu^{2+} opiera się na dostarczaniu jonów Cu^{2+} do komórek nowotworowych w postaci kompleksów. Po wprowadzeniu kompleksu do wnętrza komórki, w cytozolu, jony Cu^{2+} zredukowane są do jonów Cu^{+} , wobec których ligandy tiosemikarbazonowe wykazują znacznie niższe powinowactwo. W związku z tym, na skutek dysocjacji, Cu^{+} odłącza się od

liganda, który w postaci niezwiązanej opuszcza komórkę. Dostarczana w ten sposób do komórki neoplastycznej Cu^+ zatrzuwa ją, w wyniku czego hamuje jej czynności życiowe – syntezę DNA oraz fosforylację oksydacyjną [44, 45].

Wielotorowy charakter aktywności przeciwnowotworowej tiosemikarbazonów jest inspiracją przy projektowaniu nowych związków, jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Oprócz opisanej powyżej Triapiny, będącej najbardziej obiecującym związkiem z grupy tiosemikarbazonów, należy wspomnieć również o pochodnych zawierających dwa pierścienie pirydylowe (DpT) (Rys. 5), wykazujących aktywność przeciwnowotworową, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* [46]. Najskuteczniejszym chelatorem tej grupy jest Dp44mT, który został przebadany na 28 liniach nowotworowych, m.in. białaczki, szpiczaka mnogiego, raka piersi, wykazując w większości przypadków aktywność na poziomie nanomolowym [46]. Porównując jego aktywność antyproliferacyjną oraz indeks terapeutyczny z Triapiną oraz doxorubicyną, Dp44mT jest najbardziej aktywną substancją na poziomie *in vitro*. Kolejne badania biologiczne na modelu mysim potwierdziły wysoką aktywność tego chelatora, prowadząc do całkowitego zaniku guza [47]. Niestety badania *in vivo* ujawniły również kardiotoksyczność, która zdyskwalifikowała Dp44mT z dalszych badań klinicznych [46]. W wyniku intensywnych badań otrzymano kolejny bardzo skuteczny analog – DpC. Związek ten wykazał w badaniach *in vivo* i *in vitro* o wiele wyższą skuteczność oraz tolerancję niż jego poprzednik Dp44mT [48]. Najnowsze doniesienia podkreślają szczególną skuteczność DpC względem ludzkiego raka trzustki na modelu *in vivo*, wyższą niż stosowany powszechnie w medycynie lek gemcytabina [49].

Podstawowym mechanizmem działania obu związków, Dp44mT oraz DpC jest ich zdolność do chelatowania jonów żelaza oraz miedzi, co może spowodować tzw. „podwójne uderzenie” (ang. *double punch*). W pierwszej kolejności, poprzez związanie wewnątrzkomórkowego żelaza następuje zatrzymanie cyklu komórkowego. Następnie tworzące się kompleksy z żelazem lub miedzią uczestniczą w reakcji Fentona, generując reaktywne formy tlenu (RFT), w szczególności rodnik hydroksylowy, który działa cytotoksycznie na komórki [50, 51].

Co więcej, ze względu na dobrą tolerancję pacjentów na lek, podawany drogą dożylną oraz doustną, brak większych skutków ubocznych w optymalnych dawkach, a także dobry profil farmakokinetyczny, DpC w 2016 roku wszedł w I fazę badań klinicznych (NCT02688101) [52].

Inspirując się silną aktywnością przeciwnowotworową ligandów z klasy DpT (Rys. 5), skonstruowano nową klasę związków, poprzez zastąpienie jednego pierścienia pirydylowego pierścieniem fenolowym, otrzymując związki z serii BpT [53]. Modyfikacja ta zwiększyła ich liofilowość, ułatwiając tym samym wnikanie do wnętrza komórek [54]. Obie grupy ligandów charakteryzują się szerokim zakresem aktywności. Obok hamowania RR, oddziałują one również na inne cząsteczki istotne podczas przebiegu cyklu komórkowego, np. topoizomerazę $\text{II}\alpha$ [55, 56].

Podczas projektowania nowych tiosemikarbazonów o potencjalnym działaniu antyneoplastycznym należy pamiętać, że na ich aktywność ma wpływ przede wszystkim struktura wpływająca na ich zdolności koordynacyjne, liofilowość oraz rozpuszczalność w wodzie. Poprzez wprowadzanie odpowiednich grup funkcyjnych, można modyfikować wymienione cechy tak, by zoptymalizować aktywność związków i ich kompleksów oraz zmniejszać skutki uboczne, jakie mogą wywoływać podczas testów *in vivo*.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Przegląd literatury wyraźnie wskazuje, że tiosemikarbazony stanowią grupę związków o znacznym potencjale aktywności biologicznej, dzięki zdolności ligandów do silnego chelatowania jonów metali przejściowych, w szczególności Cu^{2+} i Fe^{3+} . Tym właściwościom zawdzięczają one, m.in. swoją aktywność przeciwnowotworową.

Badane dotychczas tiosemikarbazony tworzą trwałe kompleksy z omawianymi kationami metali. Jak dotąd, najbardziej obiecującym związkiem okazała się Triapina, która obecnie znajduje się w fazie badań klinicznych. Poprzez wprowadzanie dodatkowych lub nowych grup, możliwa jest znaczna modyfikacja właściwości uzyskanych związków. Duże znaczenie ma wprowadzanie do struktury tiosemikarbazonu dodatkowych atomów donorowych, które mogą brać bezpośredni udział w wiązaniu jonów metali. Jest to szczególnie istotne, ponieważ umożliwia zmianę trwałości tworzonych przez nie kompleksów oraz ma bezpośredni wpływ na ich aktywność biologiczną. Kolejne modyfikacje mają na celu uzyskanie najbardziej efektywnych ligandów, które będą skutecznie działały terapeutycznie, nie wywierając przy tym negatywnych skutków ubocznych. W pracy przedstawiono szereg ligandów będących pochodnymi Triapiny, charakteryzujących się wyższą trwałością kompleksów tworzonych z jonami Cu^{2+} oraz Fe^{3+} , a także większą aktywnością biologiczną. Najbardziej efektywne okazały się *N*-heterocykliczne ligandy, zawierające w swojej strukturze podstawniki metylowe.

Mimo że chemia tiosemikarbazonów jest znana od lat i od dawna przykładą się dużą uwagę do ich aktywności biologicznej, to dopiero ostatnio zaczęto szczegółowo badać ich właściwości koordynacyjne względem jonów metali przejściowych. Pozwoliło to na odkrycie związku pomiędzy strukturą tworzonych kompleksów, a ich funkcją i aktywnością *in vivo*. Prowadzone obecnie badania dotyczące tiosemikarbazonów dają obiecujące wyniki, które zostaną wkrótce opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] E.A. Enyedy, N.V. Nagy, E. Zsigo, C.R. Kowol, V.B. Arion, B.K. Keppler, T. Kiss, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2010, 1717.
- [2] D.S. Kalinowski, P. Quach, D.R. Richardson, *Future Med. Chem.*, 2009, **1**, 1143.
- [3] X.H. Du, C. Guo, E. Hansell, P.S. Doyle, C.R. Caffrey, T.P. Holler, J.H. McKerrow, F.E. Cohen, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 2695.
- [4] R.B. de Oliveira, E.M. de Souza-Fagundes, R.P.P. Soares, A.A. Andrade, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, **43**, 1983.
- [5] *IUPAC Nomenclature of Organic Compounds*, R. Panico, W.H. Powell, J.C. Richer (Red.), Blackwell, London 1993.
- [6] J.S. Casas, M.S. Garcia-Tasende, J. Sordo, *Coord. Chem. Rev.*, 2000, **209**, 197.
- [7] A.I. Matesanz, P. Souza, *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2009, **9**, 1389.
- [8] M.A. Ali, S.E. Livingstone, *Coord. Chem. Rev.*, 1974, **13**, 101.
- [9] P. Chellan, S. Nasser, L. Vivas, K. Chibale, G.S. Smith, *J. Organomet. Chem.*, 2010, **695**, 2225.
- [10] E.A. Enyedy, E. Zsigo, N.V. Nagy, C.R. Kowol, A. Roller, B.K. Keppler, T. Kiss, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2012**, 4036.
- [11] F.A. Cotton, *Chemia nieorganiczna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002.
- [12] Y. Yu, D.S. Kalinowski, Z. Kovacevic, A.R. Siafakas, P.J. Jansson, C. Stefani, D.B. Lovejoy, P.C. Sharpe, P.V. Bernhardt, D.R. Richardson, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 5271.
- [13] T.S. Lobana, R. Sharma, G. Bawa, S. Khanna, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 977.
- [14] E.A. Enyedy, M.F. Primik, C.R. Kowol, V.B. Arion, T. Kiss, B.K. Keppler, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 5895.
- [15] F. Bacher, O. Domotor, A. Chugunova, N.V. Nagy, L. Filipovic, S. Radulovic, E.A. Enyedy, V.B. Arion, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 9071.
- [16] C.R. Kowol, R. Trondl, P. Heffeter, V.B. Arion, M.A. Jakupec, A. Roller, M. Galanski, W. Berger, B.K. Keppler, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 5032.
- [17] W.S. Wu, Y.L. Feng, *Z. Kristallogr. New Cryst. Struct.*, 2003, **218**, 529.
- [18] H. Beraldo, D. Gambino, *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2004, **4**, 31.
- [19] J. Shim, N.R. Jyothi, N.A.M. Farook, *Asian J. Chem.*, 2013, **25**, 5838.
- [20] O. Koch, G. Stuttgen, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmakol. Exp. Pathol.*, 1950, **210**, 409.
- [21] E.M. Bavin, R.J.W. Rees, J.M. Robson, M. Seiler, D.E. Seymour, D. Suddaby, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1950, **2**, 764.
- [22] L.E. Weller, H.M. Sell, R.Y. Gottshall, *J. Am. Chem. Soc.*, 1954, **76**, 1959.
- [23] P. Nunn, J. Porter, P. Winstanley, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1993, **87**, 578.
- [24] G.D. Coxon, D. Craig, R.M. Corrales, E. Viialla, L. Gannoun-Zaki, L. Kremer, *Synthesis, Plos One*, 2013, 8.
- [25] D.J. Bauer, Stvincen, C.H. Kempe, P.A. Young, A.W. Downie, *Am. J. Epidemiol.*, 1969, **90**, 130.
- [26] D.C. Quenelle, K.A. Keith, E.R. Kern, *Antiviral Res.*, 2006, **71**, 24.
- [27] A. Walcourt, M. Loyevsky, D.B. Lovejoy, V.R. Gordeuk, D.R. Richardson, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, **36**, 401.
- [28] A. Chipeleme, J. Gut, P.J. Rosenthal, K. Chibale, *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, **15**, 273.
- [29] S. Ayton, P. Lei, A.I. Bush, *Free Radic. Biol. Med.*, 2013, **62**, 76.
- [30] P.T. Francis, A.M. Palmer, M. Snape, G.K. Wilcock, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1999, **66**, 137.
- [31] C. Lambert, H. Beraldo, N. Lievre, A. Garnier-Suillerot, P. Dorlet, M. Salerno, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2013, **18**, 59.
- [32] D. Palanimuthu, R. Poon, S. Sahni, R. Anjum, D. Hibbs, H.Y. Lin, P.V. Bernhardt, D.S. Kalinowski, D.R. Richardson, *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **139**, 612.

- [33] L. Wei, J. Easmon, R.K. Nagi, B.D. Muegge, L.A. Meyer, J.S. Lewis, *J. Nucl. Med.*, 2006, **47**, 2034.
- [34] J.M. Shao, B.S. Zhou, A.J. Di Bilio, L.J. Zhu, T.L. Wang, C. Qi, J. Shih, Y. Yen, *Mol. Cancer Ther.*, 2006, **5**, 586.
- [35] M. Kolberg, K.R. Strand, P. Graff, K.K. Andersson, *Biochim. Biophys. Acta - Proteins and Proteomics*, 2004, **1699**, 1.
- [36] A.C. Sartorelli, B.A. Booth, *Cancer Res.*, 1967, **27**, 1614.
- [37] C.M. Nutting, C.M.L. van Herpen, A.B. Miah, S.A. Bhide, J.P. Machiels, J. Buter, C. Kelly, D. de Raucourt, K.J. Harrington, 2009, **20**, 1275.
- [38] J. Kolesar, R.C. Brundage, M. Pomplun, D. Alberti, K. Holen, A. Traynor, P. Ivy, G. Wilding, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2011, **67**, 393.
- [39] R.A. Finch, M.C. Liu, S.P. Grill, W.C. Rose, R. Loomis, K.M. Vasquez, Y.C. Cheng, A.C. Sartorelli, *Biochem. Pharm.*, 2000, **59**, 983.
- [40] S. Wadler, D. Makower, C. Clairmont, P. Lambert, K. Fehn, M. Sznol, *J. Clin. Oncol.*, 2004, **22**, 1553.
- [41] C.A. Kunos, T. Radivoyevitch, J. Pink, S.M. Chiu, T. Stefan, J. Jacobberger, T.J. Kinsella, *Radiat. Res.*, 2010, **174**, 574.
- [42] J.C. Yalowich, X. Wu, R. Zhang, R. Kanagasabai, M. Hornbaker, B.B. Hasinoff, *Biochem. Pharmacol.*, 2012, **84**, 52.
- [43] S. Padhye, Z. Afrasiabi, E. Sinn, J. Fok, K. Mehta, N. Rath, *Inorg. Chem.*, 2005, **44**, 1154.
- [44] K.A. Price, P.J. Crouch, I. Volitakis, B.M. Paterson, S. Lim, P.S. Donnelly, A.R. White, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 9594.
- [45] K.Y. Djoko, P.S. Donnelly, A.G. McEwan, *Metallomics*, 2014, **6**, 2250.
- [46] M. Whitnall, J. Howard, P. Ponka, D.R. Richardson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2006, **103**, 14901.
- [47] J. Yuan, D.B. Lovejoy, D.R. Richardson, *Blood*, 2004, **104**, 1450.
- [48] D.B. Lovejoy, D.M. Sharp, N. Seebacher, P. Obeidy, T. Prichard, C. Stefani, M.T. Basha, P.C. Sharpe, P.J. Jansson, D.S. Kalinowski, P.V. Bernhardt, D.R. Richardson, *J. Med. Chem.*, 2012, **55**, 7230.
- [49] Z. Kovacevic, S. Chikhani, D.B. Lovejoy, D.R. Richardson, *Mol. Pharmacol.*, 2011, **80**, 598.
- [50] N.A. Seebacher, D.R. Richardson, P.J. Jansson, *Br. J. Pharmacol.*, 2015, **172**, 2557.
- [51] D.B. Lovejoy, P.J. Jansson, U.T. Brunk, J. Wong, P. Ponka, D.R. Richardson, *Cancer Res.*, 2011, **71**, 5871.
- [52] P.J. Jansson, D.S. Kalinowski, D.J.R. Lane, Z. Kovacevic, N.A. Seebacher, L. Fouani, S. Sahni, A.M. Merlot, D.R. Richardson, *Pharmacol. Res.*, 2015, **100**, 255.
- [53] D.S. Kalinowski, Y. Yu, P.C. Sharpe, M. Islam, Y.T. Liao, D.B. Lovejoy, N. Kumar, P.V. Bernhardt, D.R. Richardson, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 3716.
- [54] D.R. Richardson, D.S. Kalinowski, S. Lau, P.J. Jansson, D.B. Lovejoy, *Biochim. Biophys. Acta – General Subjects*, 2009, **1790**, 702.
- [55] N.T.V. Le, D.R. Richardson, *Blood*, 2004, **104**, 2967.
- [56] B.A. Yoshida, M.M. Sokoloff, D.R. Welch, C.W. Rinker-Schaeffer, *J. Natl. Cancer Inst.*, 2000, **92**, 1717.

