

FARMAKOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ FLAWONOIDÓW I AMINOFLAWONÓW

PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF AMINOFLAVONES

Daria Szeliga^{1*}, Maria Korabik¹, Justyn Ochocki²

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

² Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

*e-mail: daria.szeliga@chem.uni.wroc.pl

Pracę dedykujemy pamięci Pani Profesor Małgorzaty Jeżowskiej-Bojczuk

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Kompleksy flawonoidów z jonami metali

1.1. Aktywność przeciwutleniająca kompleksów pochodnych flawonoidów z jonami metali

1.2. Aktywność przeciwnowotworowa kompleksów pochodnych flawonoidów z jonami metali

1.2.1. Właściwości przeciwnowotworowe pochodnych flawonoidów

1.2.2. Aktywność farmakologiczna poszczególnych aminoflawonów

1.2.2.1. 3-aminoflawony

1.2.2.2. 5-aminoflawony

1.2.2.3. 6-aminoflawony

1.2.2.4. 7-aminoflawony

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr Daria Szeliga absolwentka studiów I stopnia Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (2015). W 2017 roku ukończyła studia II stopnia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego i w tym samym roku rozpoczęła studia doktoranckie w Zespole Nieorganicznej Chemii Supramolekularnej. Jej zainteresowania naukowe obejmują m. in. badania właściwości fizykochemicznych związków koordynacyjnych d- i f- elektronowych z aktywnymi farmakologicznie ligandami.

Dr hab. Maria Korabik, prof. UWr, absolwentka Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Stopień doktora otrzymała w 1993 r., stopień naukowy doktora hab. w 2012r.. Jej zainteresowania naukowe skupiają się wokół tematyki magnetyków i magnezów molekularnych. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego. Od 2012 r. pełni funkcję kierownika Zakładu Dydaktyki Chemii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Prof. dr hab. Justyn Ochocki uzyskał dyplom magistra farmacji w Akademii Medycznej w Łodzi, w roku 1974. Stopień doktora otrzymał w 1984 r., stopień naukowy doktora hab. w 1998 r., a nominację profesorską w 2008 r. Prawo wykonywania zawodu farmaceuty na obszarze Rzeczypospolitej Polskiej uzyskał w 2010 r. W latach 1986, 1987 i 1992 odbył staże naukowe w zespole Profesora Jana Reedijka na Uniwersytecie w Lejdzie (Holandia). W latach 1993, 2001, 2005 był stypendystą DAAD – *Deutscher Akademischer Austauschdienst*, a w 1996, 1997 r. stypendystą programu TEMPUS, w zespole Profesora Bernharda Lipperta. Obecnie pełni funkcję kierownika Katedry Chemii Medycznej i kierownika Zakładu Chemii Nieorganicznej na Wydziale Farmacji Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

ABSTRACT

Aminoflavones belong to a group of flavonoids, compounds commonly found in nature. Their pharmacological and biochemical effects include cytotoxic, antioxidant and antitumor properties. The studies have shown that complexes of aminoflavons with metal ions can be potential drugs and seem to be promising in the treatment of ovarian cancer, breast cancer, lung adenocarcinoma and melanoma. In addition aminoflavones have a lower cytotoxic activity towards healthy cells than another compounds. In the view of their wide pharmacological and biological actions, they seem to have great therapeutic potential.

Keywords: flavonoids, flavones, aminoflavones, biological activity, anticancer properties

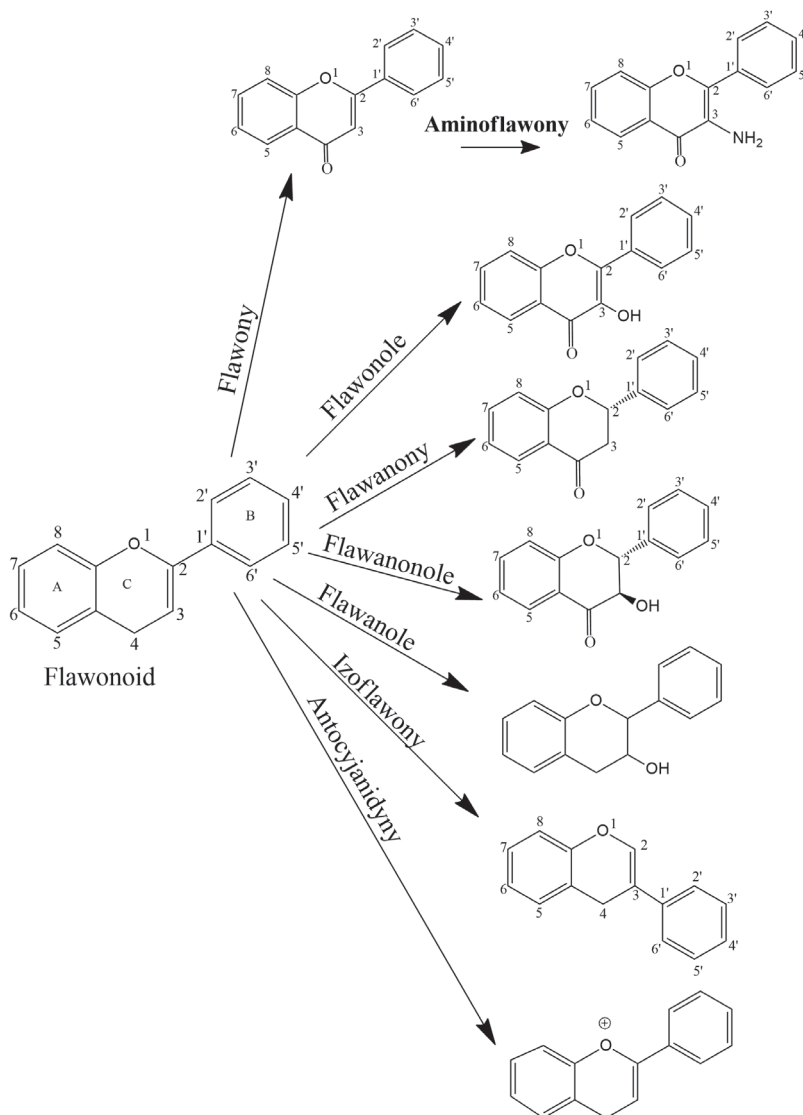
Słowa kluczowe: flawonoidy, flawony, aminoflawony aktywność biologiczna, właściwości przeciwnowotworowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AIDS	– zespół nabytego niedoboru odporności (ang. <i>acquired immune deficiency syndrome</i>)
DNA	– kwas deoksyrybonukleoinowy (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
UV	– promieniowanie nadfioletowe (ang. <i>ultraviolet</i>)
ATP	– adenozy-5'-trifosforan (ang. <i>adenosine triphosphate</i>)
MCF	– linia komórkowa nowotworu piersi (ang. <i>Michigan Cancer Foundation-7</i>)
A549	– linia komórkowa gruczolakoraka płuc (ang. <i>human non-small lung cancer cells</i>)
CAOV 3	– linia komórkowa nowotworu jajnika (ang. <i>Human Ovarian Cancer Cell Line</i>)
OVCAR 3	– linia komórkowa nowotworu jajnika (ang. <i>Human Ovarian Cancer Cell Line</i>)
MTT	– Bromek 3-(4,5-dimetylo-2-tiazolilo)-2,5-difenylo-2H-tetrazoliowy (ang. <i>3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide</i>)
BAX	– białko z rodziny Bcl-2 (ang. <i>Bcl-2-associated X protein</i>)
Bcl-2	– heterogenna grupa białek (ang. <i>B-cell lymphoma 2</i>)
BIRC5	– gen kodujący surwiwinę człowieka (ang. <i>Baculoviral IAP Repeat Containing 5</i>)
ER	– receptor estrogenowy (ang. <i>estrogen receptor</i>)
AhR	– receptor węglowodorowy (ang. <i>aryl hydrocarbon receptor</i>)
CYP	– oznaczenie genu kodującego enzym cytochrom P450 (ang. <i>Cytochrome P450</i>)
CYP1A1	– białka cytochromu P450 (ang. <i>Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1/ polypeptide2</i>)
CYP1A2	
MDA-MB-435	– linia komórkowa czerniaka (ang. <i>melanoma cell line</i>)
HeLa	– linia komórkowa wywodząca się z komórek raka szyjki macicy (ang. <i>Henrietta Lacks</i>)
EAC	– gruczolakorak przętyku (ang. <i>cancer of the external auditory canal</i>)
NM	– guzkowy czerniak (ang. <i>nodular melanoma</i>)
SSM	– czerniak szerzący się powierzchniowo (ang. <i>Superficial spreading melanoma</i>)
IC ₅₀	– medialne stężenie inhibitora hamujące w 50% funkcje biologiczne i biochemiczne organizmów (ang. <i>the half maximal inhibitory concentration</i>)

WPROWADZENIE

Aminoflawony są pochodnymi flawonów, należących do grupy flawonoidów-związków powszechnie występujących w roślinach, których aktywność biologiczna została szeroko opisana w literaturze [1]. Flawonoidy stanowią zróżnicowaną klasę wtórnych metabolitów roślinnych: znanych jest ponad 9000 ich struktur. Flawony natomiast stanowią jedną z najliczniejszych podgrup flawonoidów (Rys. 1) [2].



Rysunek 1. Klasy flawonoidów [3]

Figure 1. Subgroups of flavonoids [3]

Wszystkie flawonoidy posiadają wspólny trójcykliczny szkielet węglowy, oznaczany jako A, B i C. Wśród nich pierścień C jest heterocykliczny i zawiera atom tlenu [4]. Natomiast pierścień B jest dołączony do węgla C2, przy węglu C3 zwykle nie ma podstawnika [5].

Flawonoidy można klasyfikować bazując na różnicach w charakterze oraz pozycji odpowiednich podstawników, głównie grup hydroksylowych. Amfipatyczny charakter flawonoidów, czyli obecność hydrofilowych podstawników oraz hydrofobowych cyklicznych szkieletów węglowych, odgrywa kluczową rolę w reakcjach flawonoidów z jednostkami biologicznymi, wpływając na ich aktywność fizjologiczną [4].

Termin „flawon” został użyty po raz pierwszy w 1895 roku przez S. von Konstanteckiego oraz J. Tambora, którzy specjalizowali się w tej klasie flawonoidów [5]. Literatura wskazuje, że flawonoidy wykazują wiele właściwości biologicznych, np. cytostaticzne [6], apoptotyczne (indukujące śmierć komórki) [7, 8] przeciwwzapalne [9–11], przeciwwirusowe [12], antyangiogenne [13], przeciwutleniające [14], przeciwwrzodowe [15] oraz antymutagenne [16]. W dodatku niektóre z flawonoidów są silnymi modyfikatorami zarówno ekspresji, jak i aktywności specyficznych białek, np. cytochromu P450 [17–19]. Flawony z kolei przyciągają uwagę swoimi właściwościami przeciwwzapalnymi, antywirusowymi oraz przeciwnowotworowymi [20]. Ich aminopodstawione pochodne to właśnie aminoflawony [21], których rdzeniem jest pierścień flawonu (Rys. 1). Aminoflawony oraz ich pochodne są płaskie oraz chiralne, co wyróżnia je spośród innych klas flawonoidów [22–29]. Związki te znalazły zastosowanie jako leki antynowotworowe [19], [21], [30–43], leki przeciwwzapalne [40–43], a także leki przeciwdepresyjne [44].

Modyfikacje rdzenia flawonu były podstawą wielu syntetycznych i strukturalnych badań nad poprawą ich aktywności biologicznej [43]. Na podstawie badań zależności struktury i aktywności flawonu stwierdzono, że podwójne wiązanie między węglem C2 a C3, grupa karbonylowa w pozycji 4, grupy -metoksy, -hydroksy oraz grupy aminowe dołączane często w pozycjach 3, 5 i 7 poprawiają aktywność biologiczną [45]. Tego typu pochodne wykazały silne działanie jako środki przeciwnowotworowe, inhibitory niektórych enzymów kinazowych, takich jak np. kinazy cyklozależne, tyrozynowe, aromatazy, topoizomeryazy czy kinazy białkowe C [43]. Ugrupowanie flawonowe, dzięki swoim zróżnicowanym właściwościom farmakologicznym, stanowi potencjalny farmakofor [40] określający grupy funkcyjne potrzebne do związania leku z obiektem docelowym oraz wykazujący aktywność biologiczną, a także sposób przestrzennego rozmieszczenia grup względem siebie [46].

Niemal wszystkie pochodne flawonów zostały rozpoznane w źródłach botanicznych. Powszechnie występują w roślinach naczyniowych [42]. Flawony można odnaleźć we wszystkich nadziemnych i podziemnych częściach roślin – w łodygach, liściach, pąkach, korze, cierniach, kłęczach, kwiatach, owocach, nasionach, a także w wysięku z korzeni i liści oraz w żywicy [5]. Dzięki ich aktywności w fotouczulaniu,

transporcie energii i metabolizmie komórkowym, znalazły zastosowanie jako produkty biochemiczne i farmakologiczne w suplementach diety [47, 48]. Natomiast aminoflawony to związki, które nie występują naturalnie, dlatego muszą być syntezowane [40].

1. KOMPLEKSY FLAWONOIDÓW Z JONAMI METALI

Wśród różnych właściwości flawonoidów, chelatacja metali jest kluczową cechą, która wywiera duży wpływ na charakter i zdolności farmakologiczne flawonoidów. W ostatnich latach naukowcy podjęli się zsyntezowania i scharakteryzowania związków koordynacyjnych flawonoidów o potencjalnych zastosowaniach w różnych dziedzinach. Struktura tworzonego kompleksu zależy od rodzaju flawonoidu oraz jonu metalu. Od tego zależą także właściwości biologiczne odpowiednich kompleksów. Flawonoidy mają tendencję do pełnienia funkcji dawcy wodoru, co przyczynia się do powstawania związków kompleksowych o dobrej stabilności [4].

Powstająca struktura kompleksu flawonoidu z jonem metalu zależy od wielu czynników. Do nich zaliczyć można liczbę koordynacji i stopień utlenienia centralnego jonu metalu, liczbę dawców elektronów oraz ich bliskość w ligandach, a także warunki chelatujące, takie jak temperatura czy pH. Zazwyczaj proces chelatacji metali do pierścienia flawonoidu przypisuje się obecności i liczbie fenolowych grup hydroksylowych. Ich obecność w pozycji 3 lub 5 w bliskim sąsiedztwie grupy karbonylowej na ogół sprzyja tworzeniu się kompleksów jonów metali z udziałem tych grup [4]. Nawet jeśli ligandy posiadają różną liczbę miejsc wiązania metali, zwykle wiązanie koordynacyjne jest korzystnie utworzone pomiędzy grupą ketonową w czwartej pozycji w pierścieniu C i grupą hydroksylową w piątej pozycji pierścienia A, dając kompleksy 1:1 lub 1:2, a wynikać to może z bliskości grup dawców elektronów. Stosunek jonu metalu do liganda zależy również od natury jonu centralnego i jego liczby koordynacji. Kolejnym powodem różnego stosunku jonu metalu do liganda w tworzonym związku kompleksowym jest czynnik steryczny. Ma to szczególne znaczenie w przypadku ligandów o dużych rozmiarach, gdzie liczba schelatawanych ligandów do centralnego jonu metalu jest ograniczona [49]. Tworzenie związków kompleksowych zależy również od zastosowanych rozpuszczalników [50, 51].

Właściwości medyczne naturalnie występujących flawonoidów są bardzo dobrze znane od wielu lat. Jednak odkrycie, że ich kompleksy z jonami metali są bardziej skuteczne niż same flawonoidy, zmieniło przebieg badań nad lekami. Naukowcy wykazali, że kompleksy te można z powodzeniem stosować w leczeniu szeregu chorób, takich jak cukrzyca, niektóre infekcje bakteryjne oraz nowotwory. Wymienia się również ich rolę w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Huntingtona. Pomagają także w stanach zatrucia metalami ciężkimi. Tego typu kompleksy mogą również wpływać na równowagę żelaza w organizmach

żywych, co jest istotne w leczeniu takich chorób, jak np. ataksja Friedreicha czy Talasemia [52].

Naukowcy na całym świecie próbują zaprojektować skuteczne leki przeciw wciąż nieuleczalnym chorobom, takim jak AIDS, cukrzyca czy nowotwory. Od wielu lat badane są właściwości antynowotworowe kompleksów jonów metali miedzi(II), żelaza(II), żelaza(III) czy platyny(II). Ponadto znane są podobne właściwości samych flawonoidów oraz ich pochodnych. Te dwa fakty skłoniły naukowców do sprawdzenia, czy kompleksy tych metali z flawonoidami jako ligandami będą wykazywały większą aktywność biologiczną niż podstawowe związki [52].

Pochodne flawonoidów, ze względu na obecność grupy karbonylowej oraz grup hydroksylowych i aminowych, mogą koordynować jony metali i tworzyć związki kompleksowe. Jednakże reakcje pomiędzy nimi a jonami metali nie zawsze dotyczą tylko tworzenia wiązań koordynacyjnych. W zależności od rodzaju metalu, występować mogą reakcje redoks pomiędzy jonem metalu a ligandem, ponieważ większość pochodnych flawonoidów ma właściwości redukujące [53]. Jest to szczególnie istotne w przypadku jonów metali o właściwościach utleniających, np. żelaza(III) [54], rutenu(IV) [55], rutenu(III) [56], złota(III) [57] czy osmu(VIII) [58].

Kompleksy flawonoidów z jonami metali są barwne, często wykazują właściwości fluorescencyjne, utleniające lub antyutleniające, a także przeciwdrobnoustrojowe, antyproliferacyjne oraz wiele innych [53].

Złożoność budowy kompleksów pochodnych flawonoidów z jonami metali jest związana z orientacją przestrzenną, która może być odpowiedzialna za aktywność farmakologiczną. Kompleksy z jonami metali mogą wykazywać właściwości podobne jak macierzyste flawonoidy, ale też mogą przejawiać zupełnie inną aktywność biologiczną, ze względu na unikalne cechy strukturalne. Ostatnie doniesienia dotyczące kompleksów flawonoidów z jonami metali wskazują, że związki te wykazują zdecydowanie silniejszą aktywność biologiczną niż same ligandy. Powody tych różnic nie zostały jeszcze dokładnie wyjaśnione, jednak badania w tym kierunku nabierają rozpędu, torując drogę dzięki terapeutycznemu zastosowaniu kompleksów flawonoidów z jonami metali. Tylko nieliczne badania wskazują, że tego typu kompleksy mogą wywołać szkodliwe efekty w układach biologicznych. Wynika to prawdopodobnie z uwolnienia jonów metali z kompleksu, w wyniku dysocjacji lub działania kompleksów na wewnątrzkomórkowe miejsca docelowe [4].

Aminoflawony, z uwagi na obecność podstawionych grup aminowych, tworzą dwukleszczowe kompleksy, wykazując przy tym aktywność cytotoksyczną. Ogólnie przyjmuje się, że związki te łatwo mogą chelatować jony metali i tworzyć kompleksy metaloorganiczne [59].

1.1. AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA POCHODNYCH FLAWONOIDÓW

Flawonoidy oraz ich pochodne należą do najlepiej zbadanych związków przeciwutleniających. Ich właściwości antyoksydacyjne są silnie skorelowane ze strukturą. Obecność wolnych jonów metalu w organizmie człowieka przyczynia się do powstawania wolnych rodników powodujących stres oksydacyjny, który z kolei może wywołać kaskadę zdarzeń prowadzących do szeregu chorób, m.in. astmy, przedwczesnego starzenia się, chorób układu krążenia, zaburzeń neurologicznych oraz nowotworów [60]. W organizmie ludzkim znajduje się wiele jonów metali, w tym najważniejszego - żelaza. Mimo że żelazo występuje głównie w postaci związanej, może być również dostępne w postaci wolnego jonu żelaza(II) lub żelaza(III), i może być źródłem wolnych rodników, np. w reakcji Fentona, w której nadtlenek reaguje z jonem żelaza(II) i tworzy rodnik hydroksylowy [61]. Flawonoidy działają jako czynniki chelatujące ze względu na obecność karbonylowego tlenu oraz podstawników posiadających wolne pary elektronowe, np. grupy hydroksylowe czy aminowe [60]. Chelatowanie jonów metali skutecznie zmniejsza potencjał redoks danego jonu, tym samym opóźnia jego działania w kierunku tworzenia wolnych rodników. Zmniejszenie ilości żelaza, dzięki koordynacji do odpowiednich flawonoidów, powoduje obniżenie zaburzeń związanych ze stresem oksydacyjnym [62].

1.2. AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWA KOMPLEKSÓW POCHODNYCH FLAWONOIDÓW Z JONAMI METALI

Odkrycie przeciwnowotworowej aktywności flawonoidów zapoczątkowało szereg badań w celu zidentyfikowania najbardziej aktywnych flawonoidów i ich pochodnych przeciwko różnym formom nowotworów oraz poznania mechanizmu ich działania. Dane eksperymentalne wykazały, że flawonoidy charakteryzują się od 3 do 5 razy silniejszą aktywnością od innych czynników proapoptotycznych, czyli programujących śmierć komórki [60]. Aktywność przeciwnowotworowa flawonoidów jest głównie związana ze zdolnością do oddziaływania z DNA. Flawonoidy modyfikują ekspresję genów lub indukują fragmentację DNA, która prowadzi do aktywacji szlaków apoptotycznych [63].

Stwierdzono również, że niektóre kompleksy flawonoidów z jonami metali wykazują działanie przeciwnowotworowe, pośrednicząc w zatrzymaniu reakcji cyklu komórkowego, modyfikując strukturę DNA [64] [65]. Aktywność przeciwnowotworowa kompleksów z jonami metali w wielu przypadkach okazała się większa niż macierzystych flawonoidów. Potwierdzają to badania nad komórkami raka szyjki macicy [66], żołądka [67], wątroby [67], jelita grubego [68], komórek kościotwórczych [68], białaczkowych [69] czy ludzkich komórek wątrobiaka [68].

Kompleksy flawonoidów z jonami metali stanowią unikalną klasę pochodnych flawonoidów, które wykazują, w większości przypadków, bardzo dobre właściwości farmakologiczne, takie jak: przeciwutleniające, przeciwbakteryjne, przeciwno-

wotworowe, przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe czy prooksydacyjne. Stanowią tym samym ogromny potencjał terapeutyczny. Kompleksowanie metali powoduje silniejszą aktywność farmakologiczną oraz dużą stabilność zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* [4].

Szereg kompleksów flawonoidów z jonami metali, wykazujących potencjalną aktywność farmakologiczną, nie zostało do końca zbadanych. Na podstawie literatury zaobserwowano, że aktywność biologiczna zależy od struktury flawonoidowych kompleksów, rodzaju liganda i jonu centralnego. Zmiana konformacji czy bardziej płaska struktura kompleksów mogą również wywierać pozytywny wpływ na aktywność farmakologiczną. Systemy biologiczne obfitują w wiele cząsteczek, które mogą chelatować jony metali. Powinowactwo flawonoidu do jonu metalu jest niezwykle istotne w określaniu stabilności powstających kompleksów, dlatego niezbędne są dalsze badania nad wykorzystaniem potencjału klinicznego tych kompleksów [4].

Mechanizm aktywności przeciwnowotworowej pochodnych flawonoidów nie jest jeszcze do końca poznany, ponieważ właściwości biochemiczne zależą od struktury poszczególnych flawonoidów, gdzie każdy związek posiada inne właściwości biologiczne i przejawia różny mechanizm działania [70].

Podstawową cechą flawonoidów jest ich zdolność do wymiatania wolnych rodników. Te właściwości przeciwutleniające są po części odpowiedzialne za działanie przeciwnowotworowe [71]. Związki te zapobiegają uszkodzeniom komórek spowodowanym przez reaktywny tlen powstający zarówno w procesach metabolicznych, jak i powstający z czynników egzogennych, takich jak promieniowanie UV oraz ksenobiotyki, czyli substancje obce. Czynniki te mogą modyfikować fragmenty transkrypcyjne oraz aktywność kinaz białkowych [72], doprowadzając do uszkodzenia DNA, co zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia mutacji. Flawonoidy zapobiegają aktywacji protoonkogenu, czyli genu posiadającego możliwość przekształcenia się w aktywny gen powodujący nowotwór. Zapobiegają również zmianom w genach supresorowych, których rolą jest hamowanie rozwoju choroby nowotworowej [71]. Flawonoidy wykazują działanie antyproliferacyjne, czyli hamujące podziały mitotyczne komórek, a także indukują śmierć komórek nowotworowych. Jako zmiatacze wolnych rodników, hamują procesy inwazji i przerzutowania komórek nowotworowych [70], [73].

1.2.1. AKTYWNOŚĆ FARMOKOLOGICZNA AMINOFLAWONÓW

Badania prowadzone nad flawonami dowodzą, że regulują one funkcję makrofagów w usuwaniu komórek nowotworowych oraz są potencjalnymi inhibitorami proliferacji komórek (np. apigenina czy luteolina) [36]. Właściwości przeciwnowotworowe samych aminoflawonów wynikają z ich działania jako konkurencyjne inhibitory kinazy tyrozynowej w stosunku do ATP [74, 75]. Związki te wykazały działanie antyproliferacyjne, m. in. wobec ludzkich komórek raka piersi, linii komórkowej

MCF-7. Ponadto wykazały aktywność *in vitro* oraz *in vivo* przeciwko nowotworowi nerek [76].

Ponieważ aktywność biologiczna zależy od struktury flawonu, każda pochodna musi zostać poddana analizie indywidualnie. Ponadto niezbędne są analizy porównawcze pomiędzy różnymi pochodnymi flawonów, np. w stosunku do badań nad najsilniejszymi działaniami przeciwnowotworowymi [5].

1.2.1.1. 3-AMINOFLAWONY

Od czasu kiedy Barnett Rosenberg w 1965 r. odkrył przeciwnowotworową aktywność cisplatyny ($\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$), zaczęto intensywnie badać związki koordynacyjne metali oraz stosować je w terapii antynowotworowej [30] [77].

Wczesne badania zależności aktywność-struktura cisplatyny sugerują, że ligandy powinny być ustawione w konformacji *cis*, ponieważ tylko ona wykazuje aktywność biologiczną. Niemniej jednak, od lat 90. wiele związków *trans*-platyny znalazło zastosowanie jako leki przeciwnowotworowe [78]. Co więcej: niektóre z tych kompleksów wykazują aktywność w stosunku do tych komórek nowotworowych, na które nie działała *cis*-platyna [79].

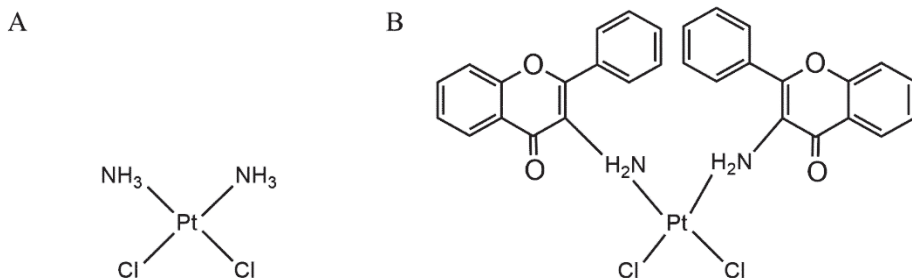
Z uwagi na ograniczenia w stosowaniu leków platynowych, projektowane są nowe związki metali wykazujące działanie przeciwnowotworowe, ale o mniejszych skutkach ubocznych oraz o mniejszej skłonności do indukowania lekooporności [30], ponieważ u wielu pacjentów wystąpiły takie objawy, jak nefrotoksyczność, redukcja komórek szpiku kostnego lub zwiększone ryzyko wystąpienia zakrzepicy żył głębokich [80, 81].

W ciągu ostatnich lat naukowcy skupiają się na kompleksach metali z takimi ligandami, które są istotne pod względem biologicznym i medycznym. Pochodne flawonoidów, posiadające różnorodne właściwości farmakologiczne, są szczególnie interesującymi kandydatami na ligandy.

cis-Pt(3-af)₂Cl₂

Przeciwnowotworowe i przeciwutleniające właściwości flawonów zachęciły naukowców do zsyntezowania kompleksu *cis*-Pt(3-af)₂Cl₂ i porównania z *cis*-platyną ($\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$) jego aktywności w odniesieniu do indukowania apoptozy i nekrozy w prawidłowych ludzkich limfocytach krwi obwodowej. Badania wykazały, że zsyntezowany kompleks jest mniej toksyczny wobec zdrowych komórek niż cisplatyna. Indukowanie apoptozy zachodzi w znacznie mniejszym stopniu, przez co *cis*-Pt(3-af)₂Cl₂ może być potencjalnym lekiem przeciwnowotworowym, wykazującym mniejsze skutki uboczne [31, 82, 83].

Kompleks $cis\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ jest strukturalnie związany z cisplatyną, ale zawiera cząsteczki 3-aminoflawonu, zamiast samych cząsteczek amoniaku jako ligandów (Rys. 2) [84].



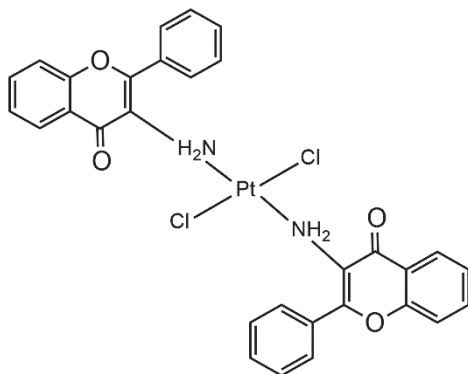
Rysunek 2. Przedstawienie struktur cisplatyny (A) i $cis\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ (B) [32]

Figure 2. Chemical structures of compounds: (A) cisplatin, (B) $cis\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ [32]

Porównano również kompleks $cis\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ oraz cisplatynę pod kątem cytotoksyczności wobec linii komórkowej A549 gruczolakoraka płuc. Stwierdzono, że kompleks ten wykazuje wysoką aktywność w indukowaniu apoptozy i nekrozy komórek nowotworowych. Wyniki wskazują, że $cis\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ może być potencjalnym lekiem chemoterapeutycznym [34, 83, 85, 86].

$trans\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$

Potencjalny efekt synergistyczny pomiędzy flawonoidami a jonami metali skłonił do zsyntezowania również $trans\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ [30]. Do syntezy tego związku zachęcały obiecujące właściwości przeciwnowotworowe izomeru $cis\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ [31–33].



Rysunek 3. Struktura $trans\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ [30]

Figure 3. Structure of $trans\text{-Pt}(3\text{-af})_2\text{Cl}_2$ [30]

Kompleks *trans*-Pt(3-af)₂Cl₂ ujawnił znaczącą cytotoksyczność w stosunku do wszystkich testowanych komórek nowotworowych [30, 87].

Stwierdzono, że związek *trans*-Pt(3-af)₂Cl₂ jest nieco mniej cytotoksyczny dla testowanych linii komórkowych raka niż *cis*-platyna, natomiast był również mniej toksyczny wobec prawidłowych limfocytów, w porównaniu z *cis*-platyną, co jest szczególnie istotne w zapobieganiu potencjalnych skutków ubocznych działania leku [30].

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że związek *trans*-Pt(3-af)₂Cl₂ wykazał aktywność przeciwnowotworową w stosunku do komórek raka jajnika [87]. Jest to nowotwór złośliwy, wykazujący wysokie zróżnicowanie w zależności od pochodzenia, struktury histologicznej, przebiegu choroby i metod leczenia. Nowotwór jajnika jest pochodzenia nabłonkowego, a jego zdolność do rozprzestrzeniania się w jamie otrzewnej jest cechą odróżniającą go od innych. W zaawansowanych stadiach choroby jama otrzewna jest głównym miejscem, w którym występują przerzuty [88] [89].

W badaniach porównano działanie *trans*-Pt(3-af)₂Cl₂ oraz cisplatyny wobec dwóch linii komórek nowotworowych jajnika: CAO V 3 oraz OVCAR 3 [87]. Dla oceny wpływu badanego związku oraz cisplatyny na komórki nowotworowe jajnika, wykonano test MTT. Test ten oparty jest na pomiarze aktywności przemian energetycznych w mitochondriach. Mierzona jest wówczas żywotność komórek za pomocą testu redukcji soli tetrazolowej. Badania wykazały, że wraz ze wzrostem stężenia *trans*-Pt(3-af)₂Cl₂ oraz cisplatyny maleje żywotność zarówno linii komórkowej CAO V 3, jak i OVCAR 3.

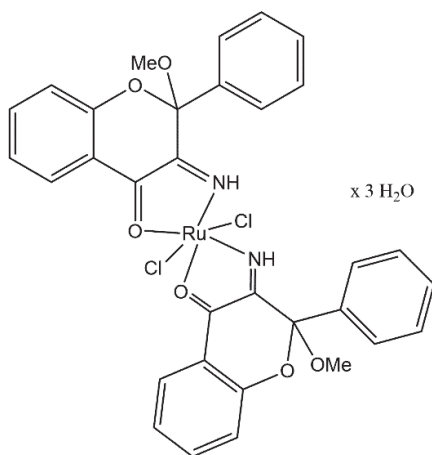
Przy nowotworze jajnika obserwuje się zaburzenia w procesie apoptozy, dlatego w badaniach rozpatrzono również ekspresję wybranych genów (BAX, BCL2, BIRC5) zaangażowanych w ten proces. W wyniku ekspozycji genów na *trans*-Pt(3-af)₂Cl₂ oraz cisplatynę zaobserwowano zwiększoną ekspresję genu BAX oraz zmniejszoną ekspresję genów BCL2 i BIRC5 wobec obu badanych związków [87].

***cis*-dichloro-bis (3-imino-2-metoksyflawanon) rutenu(II) · 3H₂O**

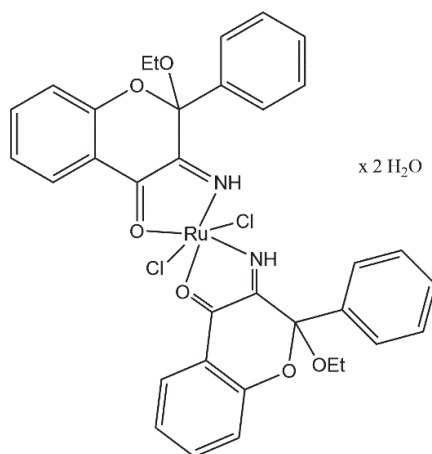
***cis*-dichlorido-bis (3-imino-2-etoksyflawanon)rutenu(II) · 2H₂O**

Aktywność przeciwnowotworową opisano również dla dwóch nowych flawonowych kompleksów rutenu(II), powstających podczas reakcji chlorku rutenu(II) z 3-aminoflawonem rozpuszczonym w alkoholu alifatycznym. Z alkoholu metyloвого otrzymano *cis*-dichloro-bis (3-imino-2-metoksyflawanon)rutenu(II) · 3H₂O, natomiast z alkoholu etylowego *cis*-dichlorido-bis (3-imino-2-etoksyflawanon) rutenu(II) · 2H₂O (Rys. 4). 3-aminoflawon został najpierw utleniony, a następnie uległ solwolizie do 3-imino-2-alkoksyflawanonu, będącego już właściwym ligandem dla jonu rutenu(II) [56] [90].

A



B



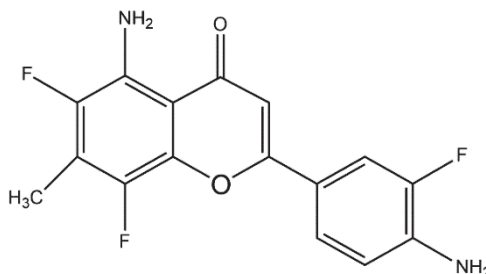
Rysunek 4. Struktura *cis*-dichloro-bis(3-imino-2-metoksyflawanon)rutenu(II) · 3H₂O (A) oraz *cis*-dichlorido-bis(3-imino-2-etoksyflawanon)rutenu(II) · 2H₂O (B) [90]

Figure 4. Structures of *cis*-dichlorido-bis(3-imino-2-methoxyflavanone)ruthenium(II)·3H₂O (A) and *cis*-dichlorido-bis(3-imino-2-ethoxyflavanone)ruthenium(II)·2H₂O (B) [90]

Aktywność farmakologiczną powstałych kompleksów badano wobec linii komórkowych ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego. Badania wykazały, że oba związki cechują się wysoką cytotoksycznością przeciwko komórkom nowotworowym. Jednocześnie badania *in vitro* wykazały niską toksyczność zsyntezowanych kompleksów wobec zdrowych ludzkich limfocytów. Szybka indukcja apoptozy jest częściowo spowodowana obecnością dużych lipofilowych ligandów, strukturalnie opartych na pierścieniu flawanonu ułatwiających transport przez błony [90].

1.2.1.2. 5-AMINOFLAWONY

W trakcie poszukiwań nowych czynników przeciwnowotworowych w walce z rakiem piersi, zsyntezowanych i zbadanych zostało wiele związków należący do grupy aminoflawonów. Jeden z nich to 5-aminoflawon (5-amino-2,3-fluorofenylo-6,8-difluoro-7-metylo-4H-1-benzopirano-4-on), wykazujący zróżnicowaną aktywność antyproliferacyjną przeciwko linii komórkowej MCF-7 nowotworu piersi oraz ludzkim komórkom raka sutka [21].



Rysunek 5. Struktura pochodnej 5-aminoflawonu (5-amino-2-(4-amino-3-fluorofenylo)-6,8-difluoro-7-metylo-4H-1-benzopirany-4-onu) [21]

Figure 5. Structure of 4H-1-benzopyran-4-one, 5-amino-2-(4-amino-3-fluorophenyl)-6,8-difluoro-7-methyl [21]

Aby sprawdzić mechanizm działania tego aminoflawonu, badano uszkodzenia DNA w linii komórkowej MCF-7. Analiza komórek wykazała równomierne hamowanie DNA po ekspozycji na aminoflawon [91]. W badaniach skupiono się również na aktywności aminoflawonu wobec arylowego receptora węglowodorowego (AhR). Wyniki wykazały, że cytotoksyczność aminoflawonu dla linii komórkowej MCF-7 nowotworu piersi jest wynikiem zaangażowania transdukcji sygnału za pośrednictwem AhR [21].

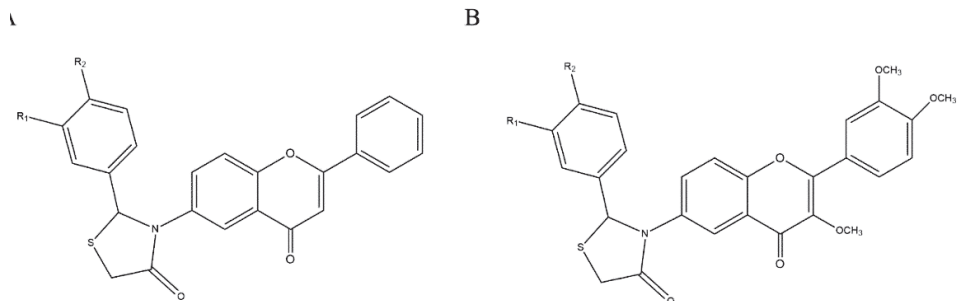
Przeprowadzono również badania, w których pochodna 5-aminoflawonu była intensywnie poddawana przemianom metabolicznym przez cytochromy P450 (CYP) typu 1A1 oraz 1A2, czyli enzymy zaangażowane w metabolizm endogennych substratów i leków. Radioznakowany aminoflawon został przekształcony przez rekombinowane enzymy CYP1A1 oraz CYP1A2 do reaktywnych związków, które kowalencyjnie wiążą makrocząsteczki. Inkubacja 5-aminoflawonu z serią ludzkich komórek nowotworowych spowodowała indukcję ekspresji CYP1A1 oraz CYP1A2, a także wiązania kowalencyjnego aminoflawonu do DNA. W badaniach wykazano, że aminoflawon jest zdolny do indukowania własnej aktywacji metabolicznej za pośrednictwem białek CYP1A1 oraz CYP1A2 i przekształcenia się do cytotoksycznych cząsteczek, niszczących DNA komórek nowotworowych [19].

1.2.1.3. 6-AMINOFLAWONY

Tiazolidynowe analogi 6-aminoflawonu

Poszukiwania nowych leków przeciwnowotworowych z wykorzystaniem aminoflawonów polegają nie tylko na kompleksowaniu z jonami metali. Zsyntezowano również analogi heterocykliczne przez połączenie pierścienia flawonowego i pierścienia tiazolidynowego, mające wzmacnić przeciwnowotworową aktywność takich pochodnych aminoflawonu, jak: 6-aminoflawon (Rys. 6), 6-amino-3-metoksyfla-

won oraz 6-amino-3-metoksy-3',4'-dimetoksyflawon, różniących się ilością grup metoksylowych. Związki te badano pod kątem ich aktywności przeciwnowotworowej w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*. Badania potwierdziły istniejący potencjał cytotoksyczny nowych analogów dla linii komórkowej czerniaka MDA-MB-435 i oraz linii komórkowej HeLa. Co ciekawe, obecność ugrupowań metoksylowych zwiększała potencjał cytotoksyczny wobec komórek nowotworowych nie powodując toksyczności wobec komórek zdrowych. Zgodnie z oczekiwaniami, zesyntezowane związki zwiększyły długość życia myszy chorujących na nowotwór [41].

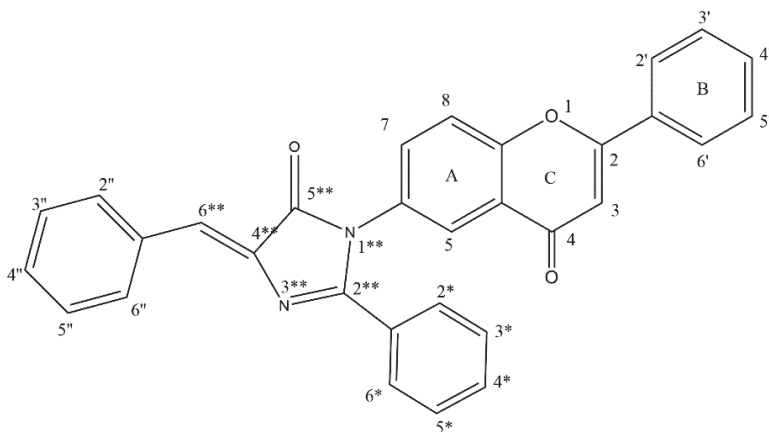


Rysunek 6. Struktura tiazolidinowego analogu 6-aminoflawonu (A) oraz 6-amino-3-metoksy-3',4'-dimetoksyflawonu (B) [41]

Figure 6. Structures of 6-Amino-3-methoxy-3',4'-dimethoxyflavone (B) and its thiazolidinone analog (A) [41]

Imidazolidynowe analogi 6-aminoflawonu

Przeprowadzono również syntezę imidazolidynowych analogów 6-aminoflawonu w oparciu o założenie, że połączenie tych dwóch związków, będących farmakoforami, może powodować synergiczne działanie przeciwnowotworowe [40]. Ogólną strukturę zaproponowanych analogów przedstawiono na Rysunku 7.



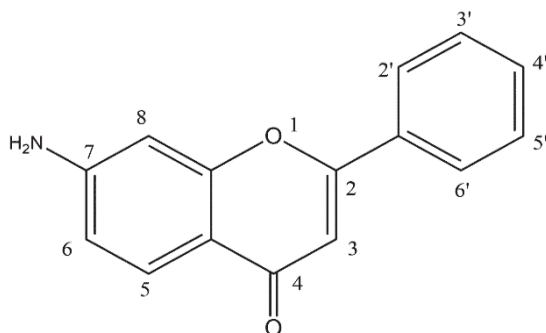
Rysunek 7. Struktura imidazolidynowego analogu aminoflawonu [40]

Figure 7. Structure of imiazolidinone analogue of flavone [40]

Wstępne badania cytotoksyczności *in vitro*, przeprowadzone przy użyciu testu MTT wobec dwóch różnych linii komórkowych, wykazały, że skompleksowanie imidazolidynowych pochodnych z aminoflawonem zwiększyło aktywność cytotoksyczną. Najbardziej aktywnym biologicznie związkiem okazał się ten posiadający 2 grupy metoksylowe w swojej strukturze. Badania *in vivo*, przeprowadzone na myszach indukowanych nowotworem przełyku EAC, również wykazały dużą aktywność przeciwnowotworową otrzymanych związków. Zbadano je także pod kątem właściwości przeciwzapalnych i zaobserwowano znaczący poziom aktywności [40].

1.2.1.4. 7-AMINOFLAWONY

Badano też aktywność farmakologiczną kompleksów rutenu(II) z 6-aminoflawonem oraz 7-aminoflawonem (Rys. 8) względem komórek czerniaka. W badaniach wykorzystano dwie linie zaawansowanego czerniaka: NM – czyli guzkowy czerniak, najbardziej agresywna forma nowotworu oraz SSM – czerniak szerzący się powierzchniowo, najczęściej występujący. Cytotoksyczność badanych związków oceniano za pomocą cytometrii przepływowej. Badania wykazały, że oba ligandy skutecznie zmniejszyły żywotność komórek nowotworu obu linii. Wartości IC₅₀ były podobne dla obu linii komórkowych, jednak linia NM była nieco bardziej wrażliwa na otrzymane kompleksy aminoflawonów z rutenem(II) [59].



Rysunek 8. Struktura 7-aminoflawonu [59]

Figure 8. Structure of 7-aminoflavone [59]

PODSUMOWANIE

Aminoflawony, jako podklasa flawonoidów, stanowią obszerną grupę związków wykazujących aktywność farmakologiczną. Ich działanie cytotoksyczne oraz przeciwutleniające wynika z możliwości tworzenia kompleksów dzięki chelatowaniu jonów metali. Aminoflawony są czynnikami chelatującymi ze względu na obecność w strukturze karbonylowego atomu tlenu oraz grupy aminowej, a także innych podstawników posiadających wolne pary elektronowe.

Celem współczesnej nauki jest projektowanie nowych związków kompleksowych, wykazujących działanie przeciwnowotworowe, ale zmniejszających skutki uboczne i nie wywołujących indukowania lekooporności. Badania skupiają się na syntezie kompleksów jonów metali z ligandami, które same wykazują aktywność biologiczną. Aminoflawony stanowią grupę niemal idealnych kandydatów do kompleksowania z jonami metali. Zsyntezowane kompleksy z aminoflawonami wykazały aktywność cytotoksyczną wobec takich nowotworów, jak gruczolakorak płuc, czerniak, a także nowotwór jajnika oraz piersi. Co więcej, kompleksy te wykazały się niską toksycznością w stosunku do zdrowych komórek.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A.D. Agrawal, *Int. J. Pharm. Sci. Nanotech*, 2011, 2.
- [2] J.B.H. Harborne, *Handbook of Natural Flavonoids*, 1999.
- [3] C. Weng, G. Yen, *Cancer Metastasis Rev.*, 2012, **31**, 323.
- [4] S. Selvaraj, S. Krishnaswamy, V. Devashya, S. Sethuraman, U.M. Krishnan, *Medicinal Research Reviews*, 2014, 677.
- [5] S. Martens, A. Mithöfer, *Phytochemistry*, 2005, **66**, 2399.
- [6] T. Fotsis, M.S. Pepper, E. Aktas, S. Breit, S. Rasku, H. Adlercreutz, K. Wahala, R. Montesano, L. Schweigerer, *Cancer Res.*, 1997, **57**, 2916.

- [7] Y. Azuma, Y. Onishi, Y. Sato, H.J. Kizaki, *Biochem.*, 1995, **118**, 312.
- [8] B. Plaumann, M. Fritsche, H. Rimpler, G. Brandner, R.D. Hess, *Oncogene*, 1996, **13**, 1605.
- [9] M.L. Ferrandiz, M.J. Alcaraz, *Agents Actions*, 1991, **32**, 283.
- [10] N.D.J. Onwukaeme, *Ethnopharmacol.*, 1995, **46**, 121.
- [11] M. Ito, S. Ishimoto, Y. Nishida, T. Shiramizu, H. Yunoki, *Agric. Biol. Chem.*, 1986, **50**, 1073.
- [12] N.D. Meyer, A. Haemers, L. Mishra, H.-K. Pandey, P.L.A.C. Pietres, D.A.V. Berghe, A.J. Vlietinck, *Med. Chem.*, 1991, **34**, 736.
- [13] T. Fotsis, M.S. Pepper, E. Aktas, S. Breit, S. Rasku, H. Adlercreutz, K. Wahala, R. Montesano, L. Schweigerer, *Cancer Res.*, 1997, **57**, 2916.
- [14] T.H. Simpson, N. Uri, *Chem. Ind.*, 1956, 956.
- [15] J.A. Beutler, J.H. Cardellina, L.C. Min, E. Hamel, G.M. Cragg, M.R.B. Boyd, *Med. Chem. Lett.*, 1993, **3**, 581.
- [16] M.E. Wall, M.C. Wani, G. Manikumar, P. Abraham, H. Taylor, T.J. Hughes, J. Warner, R.J. McGivney, *Nat. Prod.*, 1988, **51**, 1084.
- [17] Y.-F. Lu, M. Santostefano, B.D.M. Cunningham, M.D. Threadgill, S. Safe, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1995, **316**, 470.
- [18] S. Zhai, R. Dai, F.K. Friedman, R.E. Vestal, *Drug. Metab. Dispos.*, 1998, **26**, 989.
- [19] M. Kuffel, J.C. Schroeder, L.J. Pobst, S. Naylor, J.M. Reid, S.H. Kaufmann, M.M. Ames, *Mol. Pharmacol.*, 2002, **62**, 143.
- [20] F. Marin, M. Frutos, J. Perez-Alvarez, F. Martinez-Sanchez, J. Del Rio, *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 2002, **26**, 747.
- [21] A.I. Loaiza-Pe', S. Kenney, J. Boswell, M. Hollingshead, M.C. Alley, C. Hose, H.P. Ciolino, G.C. Yeh, J.B. Trepel, D.T. Vistica, E.A. Sausville, *Mol. Cancer Ther.*, 2004, 3.
- [22] B.A. Siles, H.B. Halsall, J.G. Dorsey, *J. Chromatogr. A*, 1995, **704**, 289.
- [23] E.K. Susłow, J.D. Gładysz, A. Białowska, Z. J. Ciunik, *Mol. Catal. B Enzym.*, 2006, **39**, 18.
- [24] C.H. Lin, W.R. Fang, C.M. Kuo, W.Y. Chang, Y.C. Liu, W.Y. Lin, J.C. Wu, C.E. Lin, *J. Chromatogr. A*, 2008, **1188**, 301.
- [25] R. Cirilli, R. Ferretti, E.D. Santis, B. Gallinella, L. Zanitti, F.L. Torre, *J. Chromatogr. A*, 2008, **1190**, 95.
- [26] J. Y' a~nez, P.K. Andrews, N.M. Davies, *J. Chromatogr. B*, 2007, **848**, 159.
- [27] F. Kanaze, M. Bounartzi, M. Georgarakis, I. Niopas, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2007, **61**, 472.
- [28] E. Cho, Y. Jeon, S. Jung, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2009, 30.
- [29] L.B. Kunde, S.M. Gade, V.S. Kalyani, S.P. Gupte, *Catal. Commun.*, 2009, **10**, 1881.
- [30] M. Fabijańska, K. Studzian, L. Szmigiero, A.J. Rybarczyk-Pirek, A. Pfitzner, B. Cebula-Obrzut, P. Smolewski, E. Zyner, J. Ochocki, *Dalton Trans*, 2014.
- [31] B. Kosmider, R. Osiecka, E. Ciesielska, L. Szmigiero, E. Zyner, J. Ochocki, *Mutation Research*, 2004, **558**, 169.
- [32] B. Kosmider, K. Wyszynska, E. Janik-Spiechowicz, R. Osiecka, E. Zyner, J. Ochocki, E. Ciesielska, W. Wasowicz, *Mutation Research*, 2004, **558**, 93.
- [33] B. Kosmider, I. Zawlik, P.P. Liberski, R. Osiecka, E. Zyner, J. Ochocki, J. Bartkowiak, *Mutation Research*, 2006, **604**, 28.
- [34] B. Kosmider, E. Zyner, R. Osiecka, J. Ochocki, *Mutation Research*, 2004, **563**, 61.
- [35] B. Kosmider, E. Zyner, R. Osiecka, J. Ochocki, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2004, **82**, 353.
- [36] B. Kosmider, R. Osiecka, *Drug Development Research*, 2004, **63**, 200.
- [37] R. Ghiasi, N. Sadeghi, *J. Chin. Chem. Soc.*, 2017, **64**, 934.
- [38] A.M. Brinkman, J. Wu, K. Ersland, W. Xu, *BMC Cancer*, 2014, **14**, 344.
- [39] M.A. Callero, G.V. Suárez, G. Luzzani, B. Itkin, A.I. Loaiza-Perez, *Int. J. of Onc.*, 2012, **41**, 125.
- [40] S. Moorkoth, K.K. Srinivasan, N.G. Kutty, A. Joseph, M. Naseer, *Med. Chem. Res.*, 2013, **22**, 5066.

- [41] S. Moorkoth, *Chem. Pharm. Bull.*, 2015, **63**, 974.
- [42] Y. Erdogdu, O. Unsalan, M. Amalanathan i I. Hubert Joe, *Journal of Molecular Structure*, 2010, **980**, 24.
- [43] A.Y. Habashneh, M.M. El-Abadelah, M.A. Zihlif, A. Imraish, M.O. Taha, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 2014, **347**, 415.
- [44] A. Mariana, M. Callero, I. Andrea, A. Loaiza-Pérez, *Int. J. Breast Cancer*, 2011, 9.
- [45] M. Hadjeri, C. Beney, A. Boumendjel, *Curr. Org. Chem.*, 2003, 7.
- [46] G. Patrick, *Chemia leków. Krótkie wykłady*, 2004.
- [47] J.B. Harborne, T.J. Marby, H. Marby, *The flavonoids*, 1975.
- [48] J.B. Harborne, T.J. Marby, *The Flavonoids: Advances in Research*, 1982.
- [49] S. Selvaraj, S. Krishnaswamy, V. Devashya, S. Sethuraman, U.M. Krishnan, 2012, **2**, 2797.
- [50] L. Mira, M.T. Fernandez, M. Santos, R. Rocha, M.H. Florencio, K.R. Jennings *Free Radic. Res.*, 2002, **36**, 1199.
- [51] A. Pekal, M. Biesaga, K. Pyrzyńska, *Biomaterials*, 2011, **24**, 41.
- [52] M. Grazul, E.C. Budzisz, *Chem. Rev.*, 2009, **253**, 2588.
- [53] M.M. Kasprzak, A. Erxleben, J. Ochocki, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 45853.
- [54] M. Balcerzak, A. Tyburska, E. Swiecicka-Fuchsel, *Acta Pharm.*, 2008, **58**, 327.
- [55] M. Balcerzak, M. Kopacz, A. Kosiorek, E. Swiecicka, S.A.S. Kus, *Anal. Sci.*, 2004, **20**, 1333.
- [56] J. Ochocki, M. Kasprzak, L. Checinska, A. Erxleben, E. Zyner, L. Szmigiero, A. Garza-Ortiz, J. Reedijk, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 9711.
- [57] M. Balcerzak, A. Kosiorek, E.J. Swiecicka, *Anal. Chem.*, 2006, **61**, 119.
- [58] A. Kosiorek-Rupinska, E. Swiecicka-Fuchsel, M. Balcerzak, *Anal. Lett.*, 2006, **39**, 589.
- [59] A. Pastuszko, K. Majchrzak, M. Czyż, B. Kupcewicz, E. Budzisz, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2016, **159**, 133.
- [60] H.B. Havsteen, *Pharmacol Ther.*, 2002, **96**, 67.
- [61] G. Richard, B.C. Zepp, B.C. Faust, J. Hoigne, *Environ. Sci. Technol.*, 1992, **26**, 313.
- [62] Y. Yu, Y. M. Lan, C.S. Wen, *Food Sci.*, 2006, **27**, 29.
- [63] C. Kandaswami, L.T. Lee, P.P. Lee, J.J. Hwang, F.C. Ke, Y.T. Huang, M.T. Lee, *In Vivo*, 2005, **19**, 895.
- [64] M. Tan, J. Zhu, Y. Pan, Z. Chen, H. Liang, H. Liu, H. Wang, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2009, 347872.
- [65] S. Selvaraj, S. Krishnaswamy, V. Devashya, S. Sethuraman, U.M. Krishnan, *RSC Adv.*, 2012, **2**, 11138.
- [66] K. Durgo, I. Halec, I. Sola, J. Franekic, *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*, 2011, **62**, 221.
- [67] M. Tan, J. Zhu, Y. Pan, Z. Chen, H. Liang, H. Liu, H. Wang, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2009, 347872.
- [68] S.B. Etcheverry, E.G. Ferrer, L. Naso, J. Rivadeneira, V. Salinas, P.A. Williams, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2008, **13**, 435.
- [69] D. Malesev, V.J. Kunti, *Serb. Chem. Soc.*, 2007, **72**, 921.
- [70] G. Di Carlo, N. Mascolo, A.A. Izzo, F. Capasso, *Life Sci.*, 1999, **65**, 337.
- [71] R.J. Nijveldt, E. Nood, D.E.C. Hoorn, P.G. Boelens, K. Norren, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **74**, 418.
- [72] W. Win, Z. Cao, X. Peng, M. Trush, Y. Li, *Mutat. Res.*, 2002, **213**, 113.
- [73] S. Kuntz, U. Wenzel, H. Daniel, *Eur. J. Nutr.*, 1999, **38**, 133.
- [74] M. Cushman, D.B.D.L. Nagarathnam, R.L. Geahlen, *J. Med. Chem.*, 1991, **34**, 798.
- [75] B.D.M. Cunningham, M.D. Threadgill, P.W. Groundwater, I.L. Dale, J.A. Hickman, *Anti. Cancer Drug*, 1992, **7**, 365.
- [76] M.A. Callero, G.V. Suarez, G. Luzzani, B. Itkin, B. Nguyen, A.I. Loaiza-Perez, *Int. J. Oncol.*, 2012, **41**, 125.
- [77] B. Rosenberg, V. Camp, T. Crigas, *Nature*, 1965, **205**, 698.
- [78] J. Alemán, V. del Solar, A. Alvarez-Valdés, C. Ríos-Luci, J.M. Padrón, C. Navarro-Ranninger, *Med. Chem. Comm.*, 2011, **2**, 789.

- [79] U. Kalinowska-Lis, J. Ochocki, K. Matlawska-Wasowska, *Coord. Chem. Rev.*, 2008, **252**, 1328.
- [80] J. Dudziak, M. Słomczyński, L. Torliński, *Choroby Serca i Naczyn.*, 2009, **2**, 73.
- [81] N. Johnson, J.L. Butour, G. e. a. Villani, *Progress in Clinical Biochemistry and Medicine*, 1989, 1.
- [82] E. Zyner, J. Graczyk, J. Ochocki, *Pharmazie*, 1999, **54**, 945.
- [83] B. Kosmider, S.A. Anuels, D. Evenberg, E. Zyner, L. Bahmed, R. Osiecka, J. Ochocki, *Drug Research.*, 2010, **60**, 149.
- [84] J. Ochocki, E. Zyner, PL Patent Nr P.185585, 2003.
- [85] B. Kośmider, I. Wójcik, R. Osiecka, J. Bartkowiak, E. Zyner, J. Ochocki, P. Liberski, *Investigational New Drugs*, 2005, **23**, 287.
- [86] E. Ciesielska, K. Studzian, E. Zyner, J. Ochocki, L. Szmigiero, *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2000, **5**, 441.
- [87] M. Orzechowska, M. Fabijańska, J. Ochocki, M. Małecki, *Ginekologia Polska*, 2017, **2**, 68.
- [88] E. Lengyel, *Am. J. Pathol.*, 2010, **177**, 1053.
- [89] M. Desjardins, J. Xie, H. Gurler, G.G. Muralidhar, J.D. Sacks, J.E. Burdette, M.V. Barbolina, *J. Ovarian Res.*, 2014, **7**, 70.
- [90] M.M. Kasprzak, L. Szmigiero, E. Zyner, J. Ochocki, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2011, **105**, 518.
- [91] L. Meng, G. Kohlhagen, Z. Liao, S. Antony, E. Sausville, Y. Pommier, *Cancer Res.*, 2005, **65**, 12.

Praca wpłynęła do Redakcji 30 maja 2018

