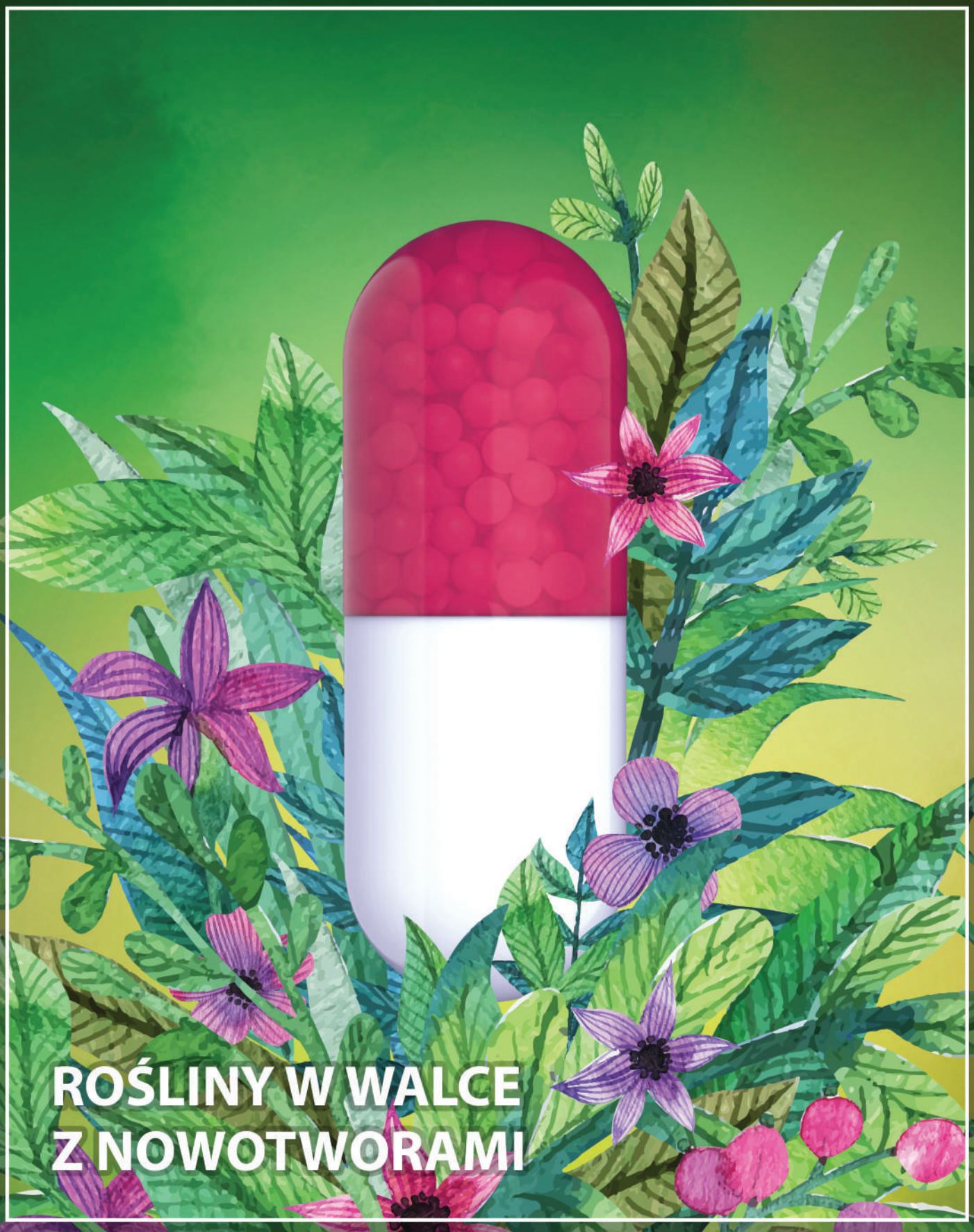
Nauki Przyrodnicze
numer 3 (9)/2015



ROŚLINY W WALCE Z NOWOTWORAMI

ISSN 2353-13-71

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Nauki Przyrodnicze

ARTYKUŁY/ ARTICLES

3-11. Furanokumaryny – właściwości i aktywność biologiczna / Furanocoumarins -properties and biological activity

Autorzy: Kamila Kosidło, Aleksandra Żurek, Katarzyna Zarosa.
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

12-25. Rośliny jako źródło leków przeciwnowotworowych/ Plants as a source of anticancer drugs

Autorzy: Magdalena Doniak, Andrzej Kaźmierczak.
Uniwersytet Łódzki

Z ogromną satysfakcją informujemy, że czasopismo Nauki Przyrodnicze, w ocenie czasopism naukowych znalazło się na nowych listach ocen na rok 2015 (lista B) i uzyskało 2 pkt. MNISW.

Nauki Przyrodnicze

Redaktor naczelny
Mateusz Gortat

Zastępca redaktora naczelnego
Dariusz Wolski

Redaktor techniczny
Paweł Kuś

Rada naukowa:
prof. dr hab. Bogusław Makarski (UP Lublin)
dr hab. inż. Marek Stankevič (UMCS Lublin)
dr Sylwester Kowalik (UP Lublin)
dr Anna Stępniowska (UP Lublin)
mgr inż. Dariusz Wolski (UP Lublin)
mgr Mateusz Gortat (UP Lublin)
lek. med. Łukasz Pastuszak (Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny w Warszawie)

Projekt okładki
Robert Giza

Adres do korespondencji
Stowarzyszenie Studentów Nauk Przyrodniczych
ul. Akademicka 13 20 - 950 Lublin
ssnp@poczta.pl
www.naukiprzyrodnicze.pl

Odpowiedzialność za treść i materiały graficzne ponoszą autorzy

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

KAMILA KOSIDŁO
ALEKSANDRA ŻUREK
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Biologii i Biotechnologii
Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii
Zakład Wirusologii i Immunologii
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin
e - mail: k.kosidlo@poczta.onet.pl
e - mail: zurekaleksandra@wp.pl

KATARZYNA ZAROSA
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Biologii i Biotechnologii
Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii
Zakład Genetyki i Mikrobiologii
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin
e-mail: kasiazarosa@wp.pl

FURANOKUMARYNY – WŁAŚCIWOŚCI I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

FURANOCOUMARINS – PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY

STRESZCZENIE

FURANOKUMARYNY to związki chemiczne o wielokierunkowej aktywności biologicznej, występujące powszechnie w przyrodzie. Pod względem strukturalnym furanokumaryny zostały sklasyfikowane na dwa typy: typ angelicyny oraz znacznie częściej spotykany typ psoralenu, do którego zaliczyć można, m.in. bergapten, imperatorynę, ksantotoksynę i peucedaninę.

Niektóre z furanokumaryn mogą ulegać fotoaktywacji, dzięki czemu wykorzystywane są w terapii chorób, takich jak łuszczyca i bielactwo. Wykazano również, że charakteryzuje je szereg innych właściwości, m.in. działanie przeciwdrgawkowe, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze czy przeciwzapalne. Powszechnie znanym zjawiskiem jest interakcja furanokumaryn zawartych w soku z grejpfruta z wieloma grupami leków, co w rezultacie może poważnie zaburzać ich działanie. Związki furanokumarynowe mogą być także odpowiedzialne za powstawanie różnego rodzaju alergii, wywołanych poprzez kontakt roślin zawierających te substancje ze skórą, zwłaszcza podczas słonecznych dni.

W ciągu ostatnich kilku lat, szczególną uwagę zwrócił jednak inny aspekt działania tych związków, mianowicie ich aktywność przeciwnowotworowa. Pojawia się coraz więcej doniesień o wpływie furanokumaryn na żywotność i proliferację komórek wielu linii nowotworowych, a także o przeciwnowotworowym działaniu tych związków *in vivo.*

SŁOWA KLUCZOWE: furanokumaryny, fotoaktywacja, aktywność biologiczna

SUMMARY

FURANOCOUMARINS are naturally occurring chemical compounds, characterized by a diverse biological activity. They can be divided into two structural groups: the angelicin type and the much more common psoralen type. Psoralen-type furanocoumarins include such compounds as bergapten, imperatorin, xanthotoxin and peucedanin.

Some of these substances can be photoactivated which has already been used in the psoriasis and vitiligo treatment. Furthermore, it has been proved that they exhibit anticonvulsant, antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties.It is also well known that furanocoumarins from grapefruit juice are responsible for interactions with many drugs which can severely impair their therapeutic effect. Moreover, they can also be the cause of different allergic reactions, due to the contact of bare skin with plants containing these substances, especially on sunny days.

In the last few years, however, there has been another aspect of furanocoumarins' activity which was especially highlighted – the anticancer properties. There are more and more reports about their effect on the viability and proliferation of cancer cells, both in vitro and *in vivo.*

KEYWORDS: furanocoumarins, photoactivation, biological activity

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

WSTĘP

Substancje naturalnie występujące w roślinach są od wielu lat obiektem zainteresowania naukowców z zakresu biologii czy farmakologii, ze względu na możliwość zastosowania ich w terapii różnych chorób człowieka. Prowadzone są liczne badania, których celem jest określenie struktury, właściwości biologicznych oraz możliwości klinicznego zastosowania tych związków. Dotychczas powstało wiele prac skupiających się na właściwościach substancji takich jak: flawonoidy, terpeny, alkaloidy czy saponiny. Ostatnio coraz większe zainteresowanie wzbudzają furanokumaryny, które, podobnie jak wymienione powyżej substancje, charakteryzują się różnorodną i wielokierunkową aktywnością biologiczną. Furanokumaryny znalazły już zastosowanie w terapii niektórych chorób, a właściwości biologiczne wielu z tych związków zostały dobrze przebadane, niemniej jednak najnowsze badania sugerują możliwość zastosowania tych związków również w chemoprewencji czy nawet terapii nowotworów.

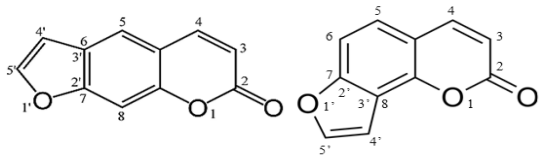
Furanokumaryny to grupa związków chemicznych syntetyzowanych przez rośliny jako produkty metabolizmu wtórnego. Zalicza się je do fitoaleksyn, związków wykorzystywanych przez rośliny w mechanizmach obronnych przeciwko patogenom, takim jak: wirusy, bakterie, owady i grzyby. Dotyczy to jednak przede wszystkim tzw. furanokumaryn liniowych (linear furanocoumarins, LFCs) – typu psoralenu (BERENBAUM, FEENY, 1981; SZEWCZYK, BOGUCKA-KOCKA, 2012).

Furanokumaryny charakteryzują się bardzo zróżnicowaną aktywnością biologiczną, dzięki czemu znalazły już zastosowanie w terapii wielu chorób człowieka. W połączeniu z naświetlaniem promieniami ultrafioletowymi są one z powodzeniem wykorzystywane, m.in. w leczeniu łuszczycy i bielactwa, łysienia, skórnych chłoniaków T-komórkowych, egzemy, liszaja płaskiego oraz ziarniniaka grzybiastego. Wykazano również, że niektóre z nich posiadają właściwości hipotensyjne oraz uspokajające (oddziałują na ośrodkowy układ nerwowy), przeciwzapalne, przeciwbólowe, przeciwzakrzepowe oraz przeciwdrgawkowe (MATŁAWSKA, 2008; SZEWCZYK, BOGUCKA-KOCKA, 2012). Najnowsze badania potwierdzają także ich udział w hamowaniu procesu powstawania końcowych produktów zaawansowanej glikacji, które odgrywają rolę w rozwoju cukrzycy i jej powikłań (miażdżycy, przewlekłej niewydolności nerek) oraz choroby Alzheimera (KIM I WSPÓŁAUT., 2012; VISTOLI I WSPÓŁAUT., 2013). Wobec tak różnorodnej aktywności furanokumaryn, rozpoczęto również badania nad ich właściwościami przeciwnowotworowymi i udowodniono, że mogą one hamować proliferację oraz wykazywać cytotoksyczność wobec komórek wielu linii nowotworowych in vitro (SZEWCZYK, BOGUCKA-KOCKA, 2012). Działanie furanokumaryn jest jednak także odpowiedzialne za szereg efektów niepożądanych, co wiąże się z koniecznością ostrożnego ich stosowania. Niektóre furanokumaryny (głównie typu psoralenu) wykazują silne działanie fotouczulające – mogą przyczyniać się do powstania różnego rodzaju alergii skórnych pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (MATŁAWSKA, 2008; BAJ, 2011). Istnieją również doniesienia sugerujące, że związki te mają właściwości mutagenne, kancerogenne i hepatotoksyczne (JABŁOŃSKA-RYŚ, 2007; SZEWCZYK, BOGUCKA-KOCKA, 2012).

BUDOWA I KLASYFIKACJA

Struktura związków furanokumarynowych opiera się na rdzeniu kumarynowym (benzo-α-pironie), który połączony jest z pierścieniem furanu wróżnych pozycjach (Rys. 1). Podstawienie przy węglu C6 i C7 determinuje przynależność furanokumaryn do typu psoralenu (typ liniowy), zaś przy węglu C7 i C8 – do typu angelicyny (typ angularny) (KOHLMÜNZER, 1998; MATŁAWSKA, 2008).

Pochodne psoralenu i angelicyny powstają poprzez przyłączenie do rdzenia kumarynowego lub (rzadziej) pierścienia furanu odpowiednich podstawników w różnych pozycjach (Tab. 1, 2). W zależności od ich liczby i umiejscowienia zmieniają się właściwości oraz aktywność biologiczna furanokumaryn.



Rys. 1. Przykłady furanokumaryn typu angelicyny i różnice w ich budowie (na podstawie: KOHLMÜNZER, 1998; MATŁAWSKA, 2008).

Nazwa	Podstawniki	
	C5	C6
angelicyna	H	H
izobergapten	OCH_3	H
pimpinelina	OCH_3	OCH_3
sfondyna	H	OCH_3

Tab. 1. Przykłady furanokumaryn typu angelicyny i różnice w ich budowie (na podstawie: KOHLMÜNZER, 1998; MATŁAWSKA, 2008).

Nazwa	Podstawniki			
	C5	C8	C4'	C5'
psoralen	H	H	H	H
bergapten	OCH_3	H	H	H
imperatoryna	H	OCH_2-CH=$C(CH_3)_2$	H	H
izopimpinelina	OCH_3	OCH_3	H	H
ksantotoksyna	H	OCH_3	H	H
peucedanina	H	H	OCH_3	CH-$(CH_3)_2$

Tab. 2. Przykłady furanokumaryn typu psoralenu i różnice w ich budowie (na podstawie: http://en.chembase.cn/molecule-179744.html; KOHLMÜNZER, 1998; MATŁAWSKA, 2008).

POWSTAWANIE I WYSTĘPOWANIE W PRZYRODZIE

Mechanizm syntezy furanokumaryn nie został jeszcze w pełni poznany, nie zbadano wszystkich procesów prowadzących do ich wytworzenia oraz enzymów, które w tych reakcjach uczestniczą. Wykazano natomiast, że synteza związków furanokumarynowych rozpoczyna się od umbeliferonu (7-hydroksykumaryna), który powstaje z fenyloalaniny w szlaku kwasu szikimowego. Po przyłączeniu się do niego jednostki pięciowęglowej – pirofosforanu dimetyloallilu (dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP) ulega on stopniowej cyklizacji do marmezyny, która przekształcana jest następnie do psoralenu. Powyższy mechanizm dotyczy jednak wyłącznie furanokumaryn liniowych. Synteza związków angularnych również rozpoczyna się od umbeliferonu, jednakże po dodaniu jednostki pięciowęglowej ulega on przekształceniu do ostenolu, a następnie do angelicyny. Zarówno psoralen, jak i angelicyna mogą z kolei dać początek wielu pochodnym furanokumarynowym (BOURGAUD I WSPÓŁAUT., 2006; DEWICK, 2002; KOHLMÜNZER, 1998).

Wykazano, że związki furanokumarynowe typu psoralenu występują w przyrodzie znacznie częściej niż ich formy angularne. Ich obecność jest szczególnie charakterystyczna dla roślin z rodzin *Apiaceae* (selerowate) oraz *Rutaceae* (rutowate). Znajdują się one również u niektórych przedstawicieli *Moraceae* (morwowate – rodzaje *Brosimum, Dorstenia*, *Fatoua* i *Ficus*) oraz *Leguminosae* (bobowate – rodzaje *Psoralea* i *Coronilla*). Furanokumaryny angularne występują w mniejszych ilościach i są charakterystyczne przede wszystkim dla roślin z rodzin *Apiaceae* i *Leguminosae* (Tab. 3).

Związki furanokumarynowe syntetyzowane są w różnych tkankach oraz częściach roślin – najintensywniej w owocach i korzeniach, jednakże pewne ich ilości wykryto również w liściach, kwiatach, łodydze oraz korze. Rozmieszczenie furanokumaryn w roślinie oraz stężenie, w jakim występują zależy od etapu jej rozwoju, stadium wegetatywnego oraz enzymów uczestniczących w roślinnym metabolizmie wtórnym. Spośród związków liniowych najczęściej spotykany jest psoralen, bergapten, ksantotoksyna oraz izopimpinelina, natomiast do najbardziej powszechnych form angularnych zaliczyć można angelicynę, sfondynę i pimpinelinę. Furanokumaryny występują w postaci wolnej bądź jako glikozydy.

U większości roślin furanokumaryny syntetyzowane są w odpowiedzi na różne czynniki stresowe, zarówno biotyczne, jak i abiotyczne, np.: mikroorganizmy, owady, grzyby, promieniowanie ultrafioletowe, różnego rodzaju zanieczyszczenia oraz uszkodzenia mechaniczne (SZEWCZYK, BOGUCKA-KOCKA, 2012; BOURGAUD I WSPÓŁAUT., 2006; KOHLMÜNZER, 1998).

Nazwa związku	Roślina/surowiec roślinny
psoralen	*Psoralea spp.*, liście figowca, korzeń lubczyka
bergapten	olejek bergamotowy, aminek większy, liście/korzeń selera zwyczajnego, korzeń lubczyka, arcydzięgla, biedrzeńca, ziele/korzeń pietruszki, liście/ziele ruty, owoc kminku, gorysza krymskiego, *Heracleum spp.* (barszcz)
imperatoryna	gorysz miarz, owoc aminka większego, kminku, owoc/korzeń arcydzięgla, owocnia pomarańczy gorzkiej (olejek eteryczny)
izopimpinelina	owoc aminka większego, liście/ziele ruty, korzeń biedrzeńca
ksantotoksyna	owoc aminka większego, kminku, korzeń arcydzięgla, biedrzeńca, ziele ruty
peucedanina	owoc gorysza krymskiego
angelicyna	korzeń arcydzięgla
izobergapten	korzeń biedrzeńca
pimpinelina	korzeń arcydzięgla, biedrzeńca
sfondyna	korzeń barszczu, biedrzeńca

Tab. 3. Występowanie furanokumaryn liniowych i angularnych w przyrodzie (na podstawie: KOHLMÜNZER, 1998; MATŁAWSKA, 2008).

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA I WŁAŚCIWOŚCI

Furanokumaryny charakteryzują się wielokierunkową aktywnością biologiczną, co czyni je bardzo zróżnicowaną grupą związków.

Wpływ na owady, bakterie i grzyby

Jak już wcześniej wspomniano, furanokumaryny pełnią u roślin funkcję fitoaleksyn. Badania na ten temat prowadzone były już w latach siedemdziesiątych XX wieku. Udowodniono, że związki furanokumarynowe mogą hamować żerowanie owadów, takich jak niektóre motyle z rodziny sówkowatych (*Spodoptera litura* i *littoralis*, *Heliothis virescens*), przybyszki amerykańskiej (*Periplaneta americana*), czy karaczanów (*Neostylopyga rhombifolia* - karaczan arlekin i *Blattella germanica* - karaczan prusak). Potwierdzono również, że ksantotoksyna (8-metoksypsoralen, 8-MOP) wykazuje działanie owadobójcze w stosunku do *Spodoptera eridania*, które może być dodatkowo wzmocnione pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (YAJIMA, MUNAKATA, 1979; HADAČEK I WSPÓŁAUT., 1994; STEVENSON I WSPÓŁAUT., 2003). Większość badań na temat aktywności furanokumaryn względem szkodników owadzich dotyczy form liniowych tych związków, istnieją jednak doniesienia potwierdzające podobne właściwości związków angularnych. Wykazano na przykład, że angelicyna zmniejsza tempo wzrostu oraz płodność niektórych gatunków motyli z rodziny paziowatych (np. *Papilio polyxenes*), których larwy przystosowały się do żerowania na roślinach zawierających furanokumaryny typu psoralenu (BERENBAUM, FEENY, 1981).

Prowadzono również badania, mające określić właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze tych związków. Udowodniono, że imperatoryna i izoimperatoryna hamują wzrost bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, takich jak: gronkowce (*Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*), pałeczka ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*), enterobakterie (*Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli*), czy niektóre paciorkowce (*Streptococcus mutans* i *Streptococcus viridans*) (WIDELSKI I WSPÓŁAUT., 2009). Dwa stereoizomery wodzianu oksypeucedaniny wykazywały działanie bakteriostatyczne w stosunku do laseczki woskowej (*Bacillus cereus*) oraz hamowały wzrost drożdżaków (*Candida albicans*) i grzybów z rodzaju *Microsporum* (*M. audouinii*) (DONGFACK I WSPÓŁAUT., 2012). Potwierdzono również, że niektóre furanokumaryny działają przeciwbakteryjnie względem MRSA (methicyllin-resistant *Staphylococcus aureus*, gronkowiec złocisty oporny na metycylinę) oraz hamują wzrost grzybni zgnilizny twardzikowej (*Sclerotinia sclerotiorum*) i gatunków z rodzaju *Fusarium*. (RAZAVI, ZARRINI, 2010; AL-BARWANI, ELTAYEB, 2004).

Fotoaktywacja i jej znaczenie

Jedną z najciekawszych i najczęściej wykorzystywanych w medycynie właściwości furanokumaryn jest ich zdolność do ulegania fotoaktywacji. Niektóre z tych związków, pod wpływem promieniowania ultrafioletowego mogą łączyć się z zasadami pirymidynowymi DNA, tworząc fotoaddukty (KOHLMÜNZER, 1998). Dzięki swojej strukturze, cząsteczki furanokumaryn już w ciemności są zdolne do interkalacji pomiędzy dwie pary zasad kwasu nukleinowego i jest to proces odwracalny. Pod wpływem naświetlania promieniowaniem UVA (o długości 320-400 nm), na skutek reakcji cykloaddycji mogą następnie powstać trzy rodzaje monoadduktów: dwa diastereoizomery powstałe w wyniku połączenia podwójnego wiązania 5,6 zasady pirymidynowej oraz wiązania 4',5' pierścienia furanu, a także (znacznie rzadziej) 3,4-monoaddukt, uzyskany poprzez podwójne wiązanie 3,4 pierścienia piranowego. Ostatni etap fotaktywacji polega na cykloaddycji 4',5'-monoadduktów z zasadą pirymidynową komplementarnej nici DNA poprzez wiązanie 3,4 pierścienia piranu. W wyniku powyższej reakcji tworzą się diaddukty obejmujące międzyniciowe wiązania krzyżowe (tzw. cross-link) (CZYŻ, 1989; DALL'ACQUA I WSPÓŁAUT., 2004). Tymina jest zasadą, która najczęściej ulega cykloaddycji z furanokumarynami. Istnieją jednak doniesienia wskazujące na przeprowadzanie podobnych reakcji z udziałem cytozyny. W przypadku pochodnych angularnych, powstawanie diadduktów obejmujących międzyniciowe wiązania krzyżowe zachodzi bardzo rzadko, ze względu na ich budowę kątową (CZYŻ, 1989; DALL'ACQUA I WSPÓŁAUT., 2004).

Zdolność furanokumaryn do tworzenia fotoadduktów została wykorzystana w medycynie do leczenia chorób skóry, takich jak łuszczyca i bielactwo. Naświetlanie promieniami UVA, poprzedzone doustnym podaniem np. bergaptenu (5-metoksypsoralen) lub ksantotoksyny w odpowiednich dawkach, stosowane jest w tzw. terapii PUVA. Powoduje ona repigmentację skóry (w przypadku bielactwa) oraz hamując replikację DNA, zapobiega

nadmiernej proliferacji keratynocytów (komórek naskórka), co jest pożądane w leczeniu łuszczycy. Długotrwała bądź źle dobrana terapia PUVA niesie jednak za sobą poważne ryzyko. Może powodować oparzenia, przyczyniać się do powstania zaćmy, a także zwiększać ryzyko zachorowania na nowotwory skóry (POPKO I WSPÓŁAUT., 2011; ROMAŃSKA-GOCKA, 2009; DEWICK, 2002).

Zjawisko fotoaktywacji furanokumaryn zostało również wykorzystane w innej metodzie leczenia, tzw. fotoferezie – fotochemioterapii pozaustrojowej (ECP, extracorporeal photopheresis). Polega ona na pobraniu od pacjenta leukocytów, do których dodaje się odpowiednią dawkę ksantotoksyny i naświetla pozaustrojowo promieniowaniem UVA, po czym ponownie wprowadza się je do organizmu chorego. Mechanizm działania fotoferezy nie został jeszcze dokładnie poznany, jednak przypuszcza się, że powstawanie międzyniciowych wiązań krzyżowych w DNA powoduje jego uszkodzenie i prowadzi m.in. do indukcji apoptozy nowotworowych limfocytów T, przekształcenia monocytów w komórki dendrytyczne, zdolne do fagocytozy złośliwych klonów limfocytów oraz zmiany profilu i stężenia wydzielanych cytokin. Fotochemioterapia pozaustrojowa (ECP) jest stosowana m.in. w leczeniu skórnych chłoniaków T-komórkowych, zespołu Sezary'ego czy choroby-przeszczep przeciwko gospodarzowi (Graft-Versus-Host Disease, GVHD) (PAWLACZYK I WSPÓŁAUT., 2003; WOLNICKA-GŁUBISZ, ZARĘBSKA, 2003; WARD, 2011).

Właściwości fotoreaktywne furanokumaryn są również odpowiedzialne za powstawanie różnego rodzaju alergii, tzw. fitofotodermatoz. W obecności światła słonecznego, na skutek kontaktu skóry z roślinami zawierającymi te związki, może dojść do pojawienia się dolegliwości skóry, takich jak: zaczerwienienie, obrzęk, pęcherze czy przebarwienia (BAJ, 2011; DEWICK, 2002).

Właściwości przeciwdrgawkowe

Zarówno badania *in vitro*, jak i in vivo sugerują, że furanokumaryny mogą znaleźć zastosowanie jako substancje o działaniu przeciwdrgawkowym.

Kwas γ-aminomasłowy (gamma-aminobutyric acid, GABA) to neuroprzekaźnik o działaniu hamującym. Zmniejszone stężenie tego związku odnotowuje się w przebiegu chorób, takich jak depresja czy epilepsja. Wykazano, że imperatoryna hamuje aktywność transaminazy GABA, powodując tym samym zwiększenie poziomu GABA w mózgu (CHOI I WSPÓŁAUT., 2005; ŁUSZCZKI I WSPÓŁAUT., 2008). W przypadku epilepsji, w powstawaniu drgawek istotną rolę odgrywa także napływ jonów Ca^{2+} do komórek (SOBOLEWSKA I WSPÓŁAUT., 2008). Badania potwierdziły, że furanokumaryny, takie jak: imperatoryna, izoimperatoryna, archangelicyna, bergapten czy ksantotoksyna mogą pełnić rolę antagonistów kanałów wapniowych, przyczyniając się do zmniejszenia częstotliwości napadów padaczkowych (HÄRMÄLÄ I WSPÓŁAUT., 1992). Wykazano również, że imperatoryna istotnie zwiększała działanie leków przeciwdrgawkowych, tj. fenytoiny, karbamazepiny, fenobarbitalu oraz lamotryginy (ŁUSZCZKI I WSPÓŁAUT., 2008). Aktywność przeciwdrgawkową imperatoryny i ksantotoksyny wykazano także in vivo, w modelu maksymalnego wstrząsu elektrycznego (maximal electroshock seizure, MES) u myszy (ŁUSZCZKI I WSPÓŁAUT., 2010).

Aktywność przeciwnowotworowa

Wśród wielu właściwości biologicznych przypisywanym furanokumarynom, na szczególną uwagę zasługuje ich aktywność przeciwnowotworowa, udowodniona zarówno *in vitro* (z zastosowaniem wielu nowotworowych linii komórkowych), jak i in vivo. W przypadku niektórych badań, do oceny przeciwnowotworowego działania tych związków była brana pod uwagę ich zdolność do ulegania fotoaktywacji. Wykazano, że niektóre z furanokumaryn hamują proliferację komórek nowotworowych takich linii jak: HT-29 i HCT-15 (rak jelita grubego), MCF-7, SKBR-3 i ZR-75 (rak piersi), A549 (niedrobnokomórkowy rak płuca), SK-OV-3 (rak jajnika), SK-MEL-2 (czerniak), XF498 (nowotwór ośrodkowego układu nerwowego), HL-60 (białaczka promielocytarna) oraz J5 (rak wątrobowokomórkowy). Furanokumaryny mogą również indukować apoptozę komórek nowotworowych, zarówno poprzez szlak wewnętrzny, jak i zewnętrzny, co udowodniono na przykładzie linii: HepG2 (rak wątrobowokomórkowy), HeLa (rak szyjki macicy), Hep-2 (nowotwór złośliwy krtani), HT-29, MCF-7, J5 i HL-60, a także komórek Jurkat (ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkowa) (UM I WSPÓŁAUT., 2010; PANNO I WSPÓŁAUT., 2010; LEE I WSPÓŁAUT., 2003; VIOLA I WSPÓŁAUT., 2004; VIOLA I WSPÓŁAUT. 2007;

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

KIM I WSPÓŁAUT., 2007; BĄDZIUL I WSPÓŁAUT., 2014; BARTNIK I WSPÓŁAUT., 2006; LUO I WSPÓŁAUT., 2011; SZEWCZYK, BOGUCKA-KOCKA, 2012).

Jak dotąd potwierdzono, że związki furanokumarynowe mogą m.in.: hamować ekspresję cykliny D1 (powiązanej z rozwojem nowotworów) oraz białek szoku cieplnego (heat shock proteins, Hsps). Wiele z tych substancji może indukować autofagię, depolaryzację błon mitochondrialnych oraz zatrzymanie cyklu komórkowego na granicy faz G0/G1 oraz G2/M. Wykazano ich wpływ na szlak sygnałowy PI3K/AKT, produkcję reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species, ROS) oraz uwolnienie cytochromu c i aktywację kaspazy 3, 8 i 9. Udowodniono, że niektóre furanokumaryny mogą również uwrażliwiać komórki linii raka płuc H23, H292 i A549 na anoikozę (apoptozę zależną od braku adhezji), a także obniżać poziom antyapoptotycznych białek Bcl-2, Bcl-x i Mcl-1 oraz zwiększać ekspresję białek promujących apoptozę – Bax i p53. Ponadto badania *in vivo* na myszach wykazały, że imperatoryna indukuje apoptozę komórek nowotworowych linii HepG2, zaś peucedanina hamuje rozwój nowotworu Ehrlicha (SANCHO I WSPÓŁAUT., 2004; BARTNIK I WSPÓŁAUT., 2006; LEE I WSPÓŁAUT., 2003; JAKUBOWICZ-GIL I WSPÓŁAUT., 2012; VIOLA I WSPÓŁAUT. 2007; PANNO I WSPÓŁAUT., 2010; CHOOCHUAY I WSPÓŁAUT., 2013; LUO I WSPÓŁAUT., 2011).

Inne właściwości

Stwierdzono, że niektóre furanokumaryny mogą hamować powstawanie końcowych produktów zaawansowanej glikacji, które biorą udział w procesach starzenia oraz są odpowiedzialne, m.in. za rozwój miażdżycy oraz powikłań cukrzycowych, takich jak: retinopatia, neuropatia i nefropatia. W najnowszych badaniach udowodniono, że izoimperatoryna wyizolowana z rośliny *Angelica dahurica* wykazuje silną aktywność hamującą powstawanie tych niepożądanych produktów (KIM I WSPÓŁAUT., 2012).

Istnieją również doniesienia, wskazujące na antyoksydacyjne i przeciwzapalne działanie furanokumaryn. Wykazano, że sfondyna może hamować ekspresję cyklooksygenazy-2 (COX-2) indukowaną przez interleukinę-1β, zmniejszając tym samym uwalnianie prostaglandyny E2 (YANG I WSPÓŁAUT., 2002). Niektóre pochodne furanokumarynowe, takie jak 9-hydroksy-4-metoksypsoralen i allo-izoimperatoryna, mają z kolei zdolność do wychwytywania/wymiatania reaktywnych form tlenu (AMPONSAH I WSPÓŁAUT., 2013; YU I WSPÓŁAUT., 2008; SRI RANGANATH I WSPÓŁAUT., 2011; PIAO I WSPÓŁAUT., 2004). Właściwości przeciwzapalne bergaptenu i wodzianu oksypeucedaniny zostały również potwierdzone w badaniach *in vivo* (AMPONSAH I WSPÓŁAUT., 2013).

Wykazano także, że związki furanokumarynowe, takie jak imperatoryna i bergapten mogą pobudzać różnicowanie oraz dojrzewanie szczurzych osteoblastów (poprzez zwiększanie ekspresji białka morfogenetycznego kości 2) (TANG I WSPÓŁAUT., 2008). Dodatkowo udowodniono, że bergapten, ksantotoksyna i angelicyna po wzbudzeniu promieniowaniem UVA, indukują różnicowanie ludzkich komórek erytroidalnych (VIOLA I WSPÓŁAUT., 2008).

Niektóre badania sugerują także, że furanokumaryny mogą posiadać właściwości przeciwbólowe, przeciwzakrzepowe, hipotensyjne oraz uspokajające (oddziałując na ośrodkowy układ nerwowy) (MATŁAWSKA, 2008; SZEWCZYK, BOGUCKA-KOCKA, 2012).

Istnieją sprzeczne doniesienia na temat hepatotoksyczności niektórych furanokumaryn. Wykazano na przykład, że bergapten podawany w fotochemioterapii może wywoływać zapalenie wątroby u niektórych pacjentów, a test *in vivo* potwierdził jego hepatotoksyczne działanie u myszy. Jednakże na podstawie najnowszych wyników badań uzyskanych przez chińskich naukowców można przypisać mu zupełnie inną rolę. Wykazano w nich bowiem, że bergapten przeciwdziała hepatotoksycznemu działaniu acetaminofenu u myszy, wykazuje działanie antyoksydacyjne oraz nie wpływa toksycznie na komórki wątroby (LIU I WSPÓŁAUT., 2012).

Bardzo ciekawym zjawiskiem charakteryzującym furanokumaryny jest ich wpływ na działanie cytochromu P450 (CYP). Badania wykazały, że związki te mogą indukować lub hamować aktywność wielu podtypów CYP, m.in.: CYP1A2, CYP2A6, CYP2B1 i CYP6B4. Furanokumaryny występujące w soku z grejpfruta, przede wszystkim 6',7'-dihydroksybergamotyna, a także bergamotyna i 6',7'-epoksybergamotyna, pełnią rolę inhibitorów CYP3A4, odpowiedzialnego w organizmie człowieka za metabolizm leków. Wykazano, że mogą one oddziaływać na wiele grup leków, m.in. statyny, blokery kanałów wapniowych czy immunosupresanty oraz zaburzać ich działanie (GUO, YAMAZOE, 2004; REGUEIRO I WSPÓŁAUT., 2014).

Podsumowanie

Furanokumaryny to niewątpliwie niezwykłe związki chemiczne, charakteryzujące się wielokierunkową aktywnością biologiczną. Dzięki zdolności do ulegania fotoaktywacji, z powodzeniem wykorzystywane są one w terapii łuszczycy i bielactwa. Coraz więcej źródeł wskazuje również na ich właściwości antybakteryjne, przeciwgrzybicze, owadobójcze, przeciwzapalne, przeciwdrgawkowe oraz przeciwnowotworowe. Szczególnie interesujące wydaje się być potencjalne działanie furanokumaryn jako środków chemoprewencyjnych, niezbędne są jednak dalsze badania, zarówno in vitro, jak i in vivo, potwierdzające nie tylko skuteczność, ale i bezpieczeństwo stosowania tych związków w terapii chorób nowotworowych.

LITERATURA

AL-BARWANI F. M., ELTAYEB E. A. 2004. Xanthotoxin and Other Furanocoumarins as Phytoalexins in Pastinaca sativa L. roots. SQU Journal for Science 9, 7-16.

AMPONSAH I. K., FLEISCHER T. C., DICKSON R. A., ANNAN K., THOSS V. 2013. Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activity of Furanocoumarins and Sterolin from the stem bark of Ficus exasperate Vahl (*Moraceae*). Journal of Scientific and Innovative Research 2(5), 880-886.

BAJ T. 2011. Rośliny uczulające na światło słoneczne. Aptekarz Polski 56(34), 28-29.

BARTNIK M., GŁOWNIAK K., JAKUBOWICZ-GIL J., PAWLIKOWSKA-PAWLĘGA B., GAWRON A. 2006. Effect of peucedanin and bergapten (5-MOP), furanocoumarins isolated from *Peucedanum tauricum* Bieb. (*Apiaceae*) fruits, on apoptosis induction and heat-shock protein expression in HeLa cells. Herba Polonica 52(4), 71-78.

BĄDZIUL D., JAKUBOWICZ-GIL J., PADUCH R., GŁOWNIAK K., GAWRON A. 2014. Combined treatment with quercetin and imperatorin as a potent strategy for killing HeLa and Hep-2 cells. Molecular and Cellular Biochemistry 392(1-2), 213-225.

BERENBAUM M., FEENY P. 1981. Toxicity to Angular Furanocoumarins to Swallowta ilButterflies: Escalation in a Coevolutionary Arms Race?. Science 212(4497), 927-929.

BOURGAUD F., HEHN A., LARBAT R., DOERPER S., GONTIER E., KELLNER S., MATERN U. 2006. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. Phytochemistry Reviews 5, 293-303.

CHOI S. Y., AHN E. M., SONG M. C., KIM D. W., KANG J. H., KWON O. S., KANG T. C., BAEK N. I. 2005. In Vitro GABA-Transaminase Inhibitory Compounds from the Root of Angelica dahurica. Phytotherapy Research 19, 839-844.

CHOOCHUAY K., CHUNHACHA P., PONGRAKHANANON V., LUECHAPUDIPORN R., CHANVORACHOTE P. 2013. Imperatorin sensitizes anoikis and inhibits anchorage-independent growth of lung cancer cells. Journal of Natural Medicines 67(3), 599-605.

CZYŻ M. 1989. Psoraleny jako narzędzia w badaniu struktury i funkcji kwasów nukleinowych. Postępy Biochemii 35(4), 591-609.

DALL'ACQUA F., VIOLA G., VEDALDI D. 2004.Molecular Basis of Psoralen Photochemotherapy. [W:] CRC Handbook Of Organic Photochemistry and Photobiology. HORSPOOL W., LENCI F. (red.). CRC Press, 2751-2762

DEWICK P. M. 2002.Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. John Wiley & Sons, Chichester.

DONGFACK M. D. J., LALLEMAND M. C., KUETE V., MBAZOA C. D., WANSI J. D., TRINH-VAN-DUFAT H., MICHEL S., WANDJI J. 2012. A New Sphingolipid and Furanocoumarins with Antimicrobial Activity from Ficus exasperate. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 60(8), 1072–1075.

GUO L. Q., YAMAZOE Y. 2004. Inhibition of cytochrome P450 by furanocoumarins in grapefruit juice and herbal medicines. Acta Pharmacologica Sinica 25(2), 129-134.

HADAČEK F., MÜLLER C., WERNER A., GREGER H., PROKSCH P. 1994. Analysis, Isolation and Insecticidal Activity of Linear Furanocoumarins and Other Coumarin Derivatives from *Peucedanum* (*Apiaceae: Apioideae*). Journal of Chemical Ecology 20(8), 2035-2052.

HÄRMÄLÄ P., VUORELA H., HILTUNEN R., NYIREDY S., STICHER O., TÖRNQUIST K., KALTIA S. 1992. Strategy for the isolation and identification of coumarins with calcium antagonistic properties from the roots of *Angelica archangelica*. Phytochemical Analysis 3(1), 42.

JABŁOŃSKA-RYŚ E. 2007. Zawartość furanokumaryn w selerze korzeniowym. Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu. CCCLXXXIII (41), 499.

KALTIA S. 1992. Strategy for the isolation and identification of coumarins with calcium antagonistic properties from the roots of *Angelica archangelica*. Phytochemical Analysis 3(1), 42.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

JABŁOŃSKA-RYŚ E. 2007. Zawartość furanokumaryn w selerze korzeniowym. Roczniki Akade Rolniczej w Poznaniu. CCCLXXXIII (41), 499.

JAKUBOWICZ-GIL J., PADUCH R., ULZ Z., BĄDZIUL D., GŁOWNIAK K., GAWRON A. 2012. Cell death in HeLa cells upon imperatorin and cisplatin treatment. Folia Histochemica et Cytobiologica 50(3), 381–390.

KIM H. Y., LEE K. H., LEE D. G., LEE S. 2012. The protective activity of linear furanocoumarins from *Angelica dahurica* against glucose-mediated protein damage. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry 55(3), 355, 356.

KIM Y. K., KIM Y. S., RYU S. Y. 2007. Antiproliferative effect of furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica* on cultured human tumor cell lines. Phytotherapy Research 21(3), 288, 289.

KOHLMÜNZER S. 1998. Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.

LEE Y. M., WU T. H., CHEN S. F., CHUNG J.G. 2003. Effect of 5-methoxypsoralen (5-MOP) on cell apoptosis and cell cycle in human hepatocellular carcinoma cell line. Toxicology in Vitro 17, 279-286.

LIU W. X., JIA F. L., HE Y. Y., ZHANG B. X. 2012. Protective effects of 5-methoxypsoralen against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. World Journal of Gastroenterology 18(18), 2197-2201.

LUO K. W., SUN J.G., CHAN J.Y., YANG L., WU S.H., FUNG K.P., LIU F.Y. 2011. Anticancer effects of imperatorin isolated from A*ngelica dahurica*: induction of apoptosis in HepG2 cells through both death-receptor- and mitochondria--mediated pathways. Chemotherapy 57(6), 449.

ŁUSZCZKI J. J., ANDRES-MACH M., GLEŃSK M., SKALICKA-WOŹNIAK K. 2010. Anticonvulsant effects of four linear furanocoumarins, bergapten, imperatorin, oxypeucedanin, and xanthotoxin, in the mouse maximal electroshock-induced seizure model: a comparative study. Pharmacological Reports 62, 1231- 1235.

ŁUSZCZKI J. J., WOJDA E., RASZEWSKI G., GŁOWNIAK K., CZUCZWAR S. J. 2008. Influence of imperatorin on the anticonvulsant activity and acute adverse-effect profile of lamotrigine in maximal electroshock-induced seizures and chimney test in mice. Pharmacological Reports 60, 566-572.

POPKO M., KACALAK-RZEPKA A., BIELECKA--GRZELA S., WESOŁOWSKA J., KLIMOWICZ A., MALESZKA R. 2011. Bielactwo nabyte jako problem estetyczny. Nieinwazyjne metody leczenia bielactwa. Annales Academiae Medicae Stetinensis 57(3), 23-25.

RAZAVI S. M., ZARRINI G. 2010. Bioactivity of aviprin and aviprin-3'-O-glucoside, two linear furanocoumarins from *Apiaceae.* Russian Journal of Bioorganic Chemistry 36(3), 359, 360.

REGUEIRO J., VALVERDÚ-QUERALT A., NEGREIRA N., SIMAL-GÁNDARA J., LAMUELA-RAVENTÓS R. M. 2014. Identification and Quantification of Grapefruit Juice Furanocoumarin Metabolites in Urine: An Approach Based on Ultraperformance Liquid Chromatography Coupled to Linear Ion Trap-Orbitrap Mass Spectrometry and Solid-Phase Extraction Coupled to Ultraperformance Liquid Chromatography Coupled to Triple Quadrupole-Tandem Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry 62(9), 2134–2139.

ROMAŃSKA-GOCKA K. 2009. Farmakoterapia łuszczycy. Farmacja Polska 65(9), 647-652.

SANCHO R., MÁRQUEZ N., GÓMEZ-GONZALO M., CALZADO M. A., BETTONI G., COIRAS M. T., ALCAMÍ J., LÓPEZ--CABRERA M., APPENDINO G., MUÑOZ E. 2004. Imperatorin inhibits HIV-1 replication through an Sp1-dependent pathway. The Journal of Biological Chemistry 279(36), 37349.

SOBOLEWSKA A., SZYNDLER J., TURZYŃSKA D., PŁAŹNIK A. 2008. Mechanizmy działania nowych leków przeciwpadaczkowych. Postępy Psychiatrii i Neurologii 17(1), 53-59.

SRI RANGANATH Y., HARINADHA BABU V., SANDEEP G., PARAMESHWAR R. 2011. Synthesis and evaluation of some novel furocoumarin derivatives for radical scavenging profile and cytotoxic studies. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 3(4), 62-67.

STEVENSON P. C., SIMMONDS M. S. J., YULE M. A., VEITCH N. C., KITE G. C., IRWIN D., LEGG M. 2003. Insect antifeedant furanocoumarins from *Tetradium daniellii.* Phytochemistry 63, 41-46.

SZEWCZYK K., BOGUCKA-KOCKA A. 2012.Analytical Methods for Isolation, Separation and Identification of Selected Furanocoumarins in Plant Material. [W:] Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. RAO V. (red.). InTech, Rijeka, 57-64.

TANG C. H., YANG R. S., CHIEN M. Y., CHEN C. C., FU W. M. 2008. Enhancement of bone morphogenetic protein-2 expression and bone formation by coumarin derivalittoralis for antiproliferative activity against HT-29 human colon cancer cells. Process Biochemistry 45(1), 114–119.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

tives via p38 and ERK-dependent pathway in osteoblasts. European Journal of Pharmacology 579(1-3), 40-48.

UM Y. R., KONG C. S., LEE J. I., KIM Y. A., NAM T. J., SEO Y. 2010. Evaluation of chemical constituents from Glehnia

VIOLA G., FACCIOLO L., VEDALDI D., DI-SARÒ S., BASSO G., DALL'ACQUA F. 2004.Differential response of linear and angular psoralens in PUVA-induced apoptosis in HL-60 cells. Photochemical & Photobiological Sciences 3(3), 237-239.

VIOLA G., FORTUNATO E., CECCONET L., DI-SARÒ S., BASSO G. 2007. Induction of apoptosis in Jurkat cells by photoexcited psoralen derivatives: Implication of mitochondrial dysfunctions and caspases activation. Toxicology in Vitro 21, 211-216.

VIOLA G., VEDALDI D., DALL'ACQUA F., LAMPRONTI I., BIANCHI N., ZUCCATO C., BORGATTI M., GAMBARI R. 2008. Furocoumarins photolysis products induce differentiation of human erythroid cells. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 92(1), 24-27.

VISTOLI G., DE MADDIS D., CIPAK A., ZARKOVIC N., CARINI M., ALDINI G. 2013. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation. Free Radical Research 47(1), 3, 4.

WARD D. M. 2011. Extracorporeal Photopheresis: How, When, and Why. Journal of Clinical Apheresis 26, 276-283.

WIDELSKI J., POPOVA M., GRAIKOU K., GŁOWNIAK K., CHINOU I. 2009. Coumarins from *Angelica lucida* L. - Antibacterial Activities. Molecules 14, 2729-2733.

WOLNICKA-GŁUBISZ A., ZARĘBSKA Z. 2003. PUVA – fotofereza, fotochemioterapia pozaustrojowa. Przegląd Dermatologiczny 90(5), 383-389.

YAJIMA T, MUNAKATA K. 1979. Phloroglucinol-type Furocoumarins, a Group of Potent Naturally-Occurring Insect Antifeedants. Agricultural and Biological Chemistry 43(8), 1701-1705.

YANG L. L., LIANG Y. C., CHANG C. W., LEE W. S., KUO C. T., WANG C. C., LEE H. M., LIN C. H. 2002. Effects of sphondin, isolated from *Heracleum laciniatum*, on IL-1β-induced cyclooxygenase-2 expression in human pulmonary epithelial cells. Life Sciences 72(2), 199.

YU J., GHIVIRIGA I., BUSLIG B. S., CANCALON P. 2008. A strong antioxidant isolated from grapefruit juice retentate. LWT - Food Science and Technology 41(3), 420.

http://en.chembase.cn/molecule-179744.html

http://www.scbt.com/datasheet-205965-psoralen.html

http://www.scbt.com/datasheet-210817-angelicin.html

Autorzy pracy składają serdeczne podziękowania dla Pani Dr hab. Barbary Zdzisińskiej za cenne uwagi i sugestie oraz pomoc merytoryczną podczas pisania niniejszej pracy.

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

MAGDALENA DONIAK

Uniwersytet Łódzki
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Katedra Cytofizjologii
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
e-mail: magdadoniak@o2.pl

ANDRZEJ KAŹMIERCZAK

Uniwersytet Łódzki
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Katedra Cytofizjologii
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
e-mail: kazma@interia.pl

ROŚLINY JAKO ŹRÓDŁO LEKÓW PRZECIWNOWOTWOROWYCH

PLANTS AS A SOURCE OF ANTICANCER DRUGS

STRESZCZENIE

Regulacja metabolizmu komórek oraz wzrostu i rozwoju organizmów znajduje się w centrum zainteresowania zarówno nauk biologicznych, jak i medycznych, w których trosce pozostaje zdrowie człowieka. Jednym z tego typu zjawisk jest proces programowanej śmierci komórkowej, której indukcja jest pożądanym zjawiskiem w leczeniu, jak i chemoprewencji, czyli zapobieganiu powstawania nowotworów. Obok wielu syntetycznych chemioterapeutyków stosowanych w onkologii znacznym zainteresowaniem cieszą się substancje pochodzenia roślinnego, charakteryzujące się oczekiwanymi właściwościami w zakresie działania przeciwnowotworowego. W ramach tego stosuje się zarówno nieczyszczone ekstrakty roślinne, jak i oczyszczone substancje. Substancje te poprzez uruchamianie szeregu specyficznych szlaków w komórkach nowotworowych mogą prowadzić do ich śmierci w sposób pośredni tj. na drodze katastrofy mitotycznej lub bezpośredni, tj. na drodze apoptotycznej lub nekrotycznej, jak również poprzez indukcję procesu starzenia.

SŁOWA KLUCZOWE: apoptoza, komórki nowotworowe, katastrofa mitotyczna, programowana

SUMMARY

Regulation of cellular metabolism as well as growth and development of whole organisms are in the centre of interest of biological and medical research aiming to maintain human health and well-being. One of such phenomena is the programmed cell death, which is used to prevent and treat of tumours. In oncological therapy, beside classical synthetic chemotherapeutic agents, many compounds obtained from plants are used. Both crude and purified compounds are used. Switching on specific pathways the agents can lead to death of tumour cells, either indirectly, via mitotic catastrophe, or directly via apoptosis or necrosis as well as senescence.

KEYWORDS: furanocoumarins, photoactivation, biological activity

Wykaz skrótów: AIF – ang. apoptosis inducing factor, czynnik aktywujący apoptozę; AP-1 – ang. activator protein 1; działa jako czynnik transkrypcyjny; Apaf-1 – ang. apoptosis protease activating factor-1, cytoplazmatyczny czynnik aktywujący proteazy; Apo2.7 – mitochondrialne białko, charakterystyczne dla procesu apoptozy; Bcl-2 – ang. B-cell lymphoma 2, rodzina białek apoptotycznych; CDK – ang. cyclin-dependent kinases, cyklino-zależne kinazy kluczowe dla cyklu komórkowego; ERK – ang. extracellular-signal-regulated kinases, grupa kinaz MAP; FasL – ang. Fas ligand, ligand receptora Fas, należącego do rodziny receptorów TNF; JAK – ang. janus kinases; niereceptorowa kinaza tyrozynowa; JNK – ang. Jun N-terminal kinase, reguluje aktywność białek zlokalizowanych w mitochondriach; MAPK – ang. mitogen-activated protein kinases, kinazy aktywowane mitogenami; MMP-1 i MMP-2 – ang. matrix metalloproteinase-1/2, metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomorkowej 1/2; NF-κB – ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, czynnik transkrypcyjny; p-53 – czynnik transkrypcyjny o własnościach supresora nowotworowego; Smac/DIABLO – ang. second mitochondria-derived activator of caspase/direst IAP-binding protein with low pl, mitochondrialny czynnik 2. aktywujący kaspazy; TNF-α – ang. tumor necrosis factor, białka nadrodziny receptorow czynnika nekrozy. Bax, Bad, Bid, Bcl-XL, tBid, Bak, Mcl-1

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

WSTĘP – CZYM JEST NOWOTWÓR?

Nowotwór jest chorobą organizmów wielokomórkowych i można go nazwać zjawiskiem nieprawidłowego rozwoju komórek, który jest wywołany licznymi zmianami w ekspresji genów oraz mutacjami genów regulujących przebieg cyklu komórkowego. Wśród najważniejszych genów, których mutacje mogą doprowadzić do powstania nowotworu, są geny p53 i p21 (produkty tych genów kontrolują prawidłowe wejście komórek w fazę replikacji) oraz białko Rb (retinoblastoma; kontroluje czynniki odpowiedzialne za transkrypcję genów kodujących białka cyklu komórkowego, takich jak cykliny i kinazy). Zaburzenia w tym zakresie prowadzą do zachwiania równowagi pomiędzy proliferacją, różnicowaniem się i śmiercią komórek, a to prowadzi do naruszenia homeostazy liczby komórek organizmu, co razem ze zjawiskiem przemieszczania się zmienionych komórek w organizmie (metastaza) może spowodować zwiększoną zachorowalność, a często nawet śmierć gospodarza. Samo zjawisko nowotworzenia jest ewolucyjnie stare i przypuszcza się, że nowotwory pojawiły się równocześnie z parzydełkowcami, tj. ok. 600 mln lat temu. Nowotwory mogą występować u organizmów wielu grup systematycznych zwierząt. Jednakże, zjawiska nowotworzenia nie obserwuje się w przypadku nicieni, niesporczaków, a także u takich organizmów jak wrotki. Przypuszcza się, że w tych organizmach istnieje mechanizm zabezpieczający komórki przed rozwojem nowotworów. Możliwość poznania tego mechanizmu byłaby przełomem w walce z nowotworami, które są jedną z kluczowych chorób cywilizacyjnych XXI wieku (RUDDON, 2007).

W porównaniu do komórek rozwijających się prawidłowo, komórki nowotworowe, pomimo tego, że tworzą strukturalno-funkcjonalną całość, charakteryzują się zmianami w metabolizmie. Do głównych cech metabolicznych wyróżniających komórki nowotworowe zaliczamy zmiany w obrębie błon komórkowych, takie jak zwiększająca się liczba kanałów błonowych, zmiana struktury receptorów i białek enzymatycznych, przez co komórki stają się niewrażliwe na działanie zewnętrznych, jak i wewnętrznych, cząsteczek sygnałowych (w tym inhibitorów wzrostu i proliferacji). Niemożność odebrania informacji przez te komórki powoduje zakłócenie przebiegu szlaków transdukcji sygnałów, takich jak szlaki programowanej śmierć komórkowej (głównie apoptozy), co prowadzi do zwiększonej proliferacji komórek, czemu towarzyszy intensywne oddychanie komórkowe, w wyniku którego jest generowana duża ilość reaktywnych form tlenu (ROS; ang. Reactive Oxygen Species), biorących udział w sygnalizacji transformacji nowotworowej. Ponadto, komórki nowotworowe mają zdolność tworzenia nowych naczyń krwionośnych (angiogeneza), którymi dostarczane są do nich niezbędne substancje pokarmowe i tlen, a także do przemieszczania się w inne miejsca organizmu (ŚCIBIOR-BENTKOWSKA I CZECZOT, 2009).

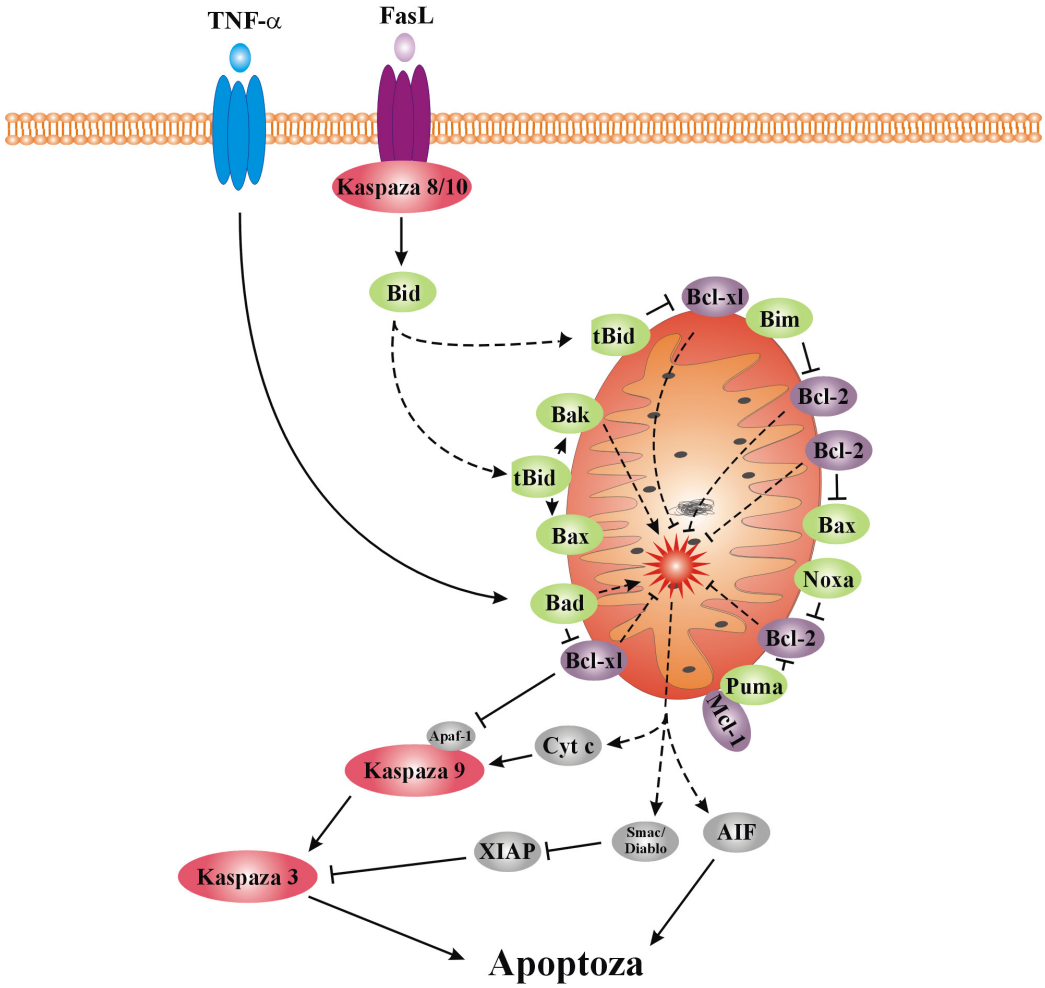
Indukcja programowanej śmierci komórkowej, przede wszystkim apoptozy, w komórkach nowotworowych jest ważnym narzędziem w walce z nimi, a także w tzw. chemoprewencji. Apoptoza, która jest doskonale zorganizowanym procesem (Rys. 1), może być indukowana przez czynniki zewnętrzne, w tym substancje naturalne pochodzenia roślinnego. Dotychczas zidentyfikowano wiele takich substancji, które charakteryzują się zróżnicowaną budową chemiczną i występują powszechnie w warzywach, owocach czy ziołach, które są w stanie zapoczątkować śmierć komórek na drodze apoptozy w wielu typach nowotworów (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001).

SUBSTANCJE NATURALNE STOSOWANE W INICJACJI ŚMIERCI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Już w starożytności stosowano rośliny w leczeniu wielu schorzeń, w tym bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych. Jednak w medycynie XX wieku rośliny zostały zastąpione syntetycznymi związkami produkowanymi w laboratoriach na skalę przemysłową. Jednakże, od kilkunastu lat substancje pochodzenia roślinnego przeżywają swój renesans i są znowu szeroko stosowane, także w medycynie klasycznej. Poszukiwane są coraz to nowe właściwości znanych nam naturalnych związków pochodzenia roślinnego, w celu polepszenia zdrowia, jak i poprawienia jakości i długości życia. Prowadzone na szeroką skalę badania naukowe dostarczają wiedzy o najskuteczniej działających substancjach. Wydaje się, że najbardziej atrakcyjne są te, które mogłyby działać plejotropowo i te, które będą mogły być wykorzystane także przeciwko komórkom nowotworowym (DUDKOWSKA I KUCHAREWICZ, 2014).

Ze względu na fakt, że komórki nowotworowe są odporne na czynniki, które mogłyby je całkowicie wyeliminować z organizmu, obecnie można wyróżnić dwie strategie walki z nimi. Pierwsza polega na ograniczeniu podziałów komórkowych, natomiast druga, która może być realizowana w połączeniu z pierwszą, to indukcja śmierci komórek.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl



Apaf-1 (ang. *apoptotic protease activating factor 1*) - cytoplazmatyczny czynnik aktywujący apoptozę.

Cyt c - cytochrom c.

XIAP (ang. *X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein*) - inhibitor apoptozy sprzężony z chromosomem X.

Smac/Diablo (ang. *second mitochondria-derived activator of caspase/direct IAP-binding protein with low pI*) - mitochondrialny czynnik 2. aktywujący kaspazy.

AIF (ang. *apoptosis inducing factor*) - czynnik aktywujący apoptozę.

RYS. 1. Wybrane (zewnętrzny i wewnętrzny) szlaki sygnalizacji apoptozy indukowane przez roślinne substancje przeciwnowotworowe. W wyniku aktywacji szlaków metabolicznych komórki przez potencjalne cząsteczki przeciwnowotworowe, dochodzi do przyłączenia się ligandów (TNF-α, FasL) do receptorów śmierci (TNF, Fas), zlokalizowanych w błonie komórkowej. W przypadku aktywacji receptora TNF, dochodzi do uruchomienia aktywności proapoptotycznego białka Bad, które hamuje aktywność antyapoptotycznego białka Bcl-xl. W następstwie tego dochodzi do powstania apoptosomu (cyt c, prokasaza 9, Apaf-1, ATP) i aktywacji szlaku kaskady kaspaz poprzez kaspazę 3 uruchamiających proces apoptozy. W przypadku natomiast aktywacji receptora Fas, następuje uruchomienie aktywności kaspazy 8 i 10, które poprzez hydrolizę białka Bid, do aktywnej formy tBid, poprzez białka, takie jak Bim, Bax, Noxa, Puma działa hamująco na aktywność białek antyapoptotycznych (Bcl-xl, Bcl-2, Mcl-1), prowadząc tym samym do uwolnienia z mitochondriów czynników proapoptotycznych, takich jak cyt c niezbędny do powstania apoptosomu, Smac/DIABLO (blokujący XIAP) oraz AIF i uruchomienia szlaku apoptozy (wg STĘPIEŃ I WSPÓŁAUT., 2007).

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Najczęściej w obu przypadkach, dotychczas stosowane były leki syntetyczne tzw. chemioterapeutyki oraz zabiegi z zastosowaniem radioterapii. Skuteczność tych zabiegów jest zróżnicowana i zależy od kilku parametrów, przede wszystkim, od rodzaju nowotworu oraz stopnia zaawansowania jego rozwoju. Właśnie, w tym aspekcie istotne znaczenie mają substancje pochodzenia roślinnego, ponieważ wspomagają zasadnicze leczenie i działają chemoprewencyjnie, zabezpieczając komórki zdrowe przed transformacją nowotworową (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001).

Substancje o charakterze przeciwnowotworowym znajdują się w roślinach stosowanych w ziołolecznictwie, jak również w roślinach stanowiących uzupełnienie diety człowieka. Lecznicze substancje występują w poszczególnych organach roślinnych (np. łodygach, liściach, korzeniach czy nasionach). Do najbardziej powszechnych roślin w omawianym zakresie należy widliczka (*Selaginella tamariscin* Beauv.; jeden z gatunków widłaków), klon nikko (*Acer nikoensa*) oraz jemioła pospolita (*Viscum album*) (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001), a także kulczyb wroniego oka (nasiona; *Strychnos nux-vomica*) (REPKA, 2001; LEE I WSPÓŁAUT., 2008) czy *Brucea javanica* (owoce) (REPKA, 2001; LAU I WSPÓŁAUYT., 2008).

Te, jak i inne rośliny, zawierają substancje o charakterze leczniczym; wśród nich związki polifenolowe i ich pochodne, antybiotyki antracyklinowe i ich chinonowe analogi, alkaloidy i inne metabolity z atomem azotu w cząsteczce, terpenoidy, polisacharydy, poliaminy oraz cytokininy (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001; CARIMI I WSPÓŁAUT., 2003; DUDKOWSKA I KUCHAREWICZ, 2014). Ze względu na dużą liczbę substancji wykorzystywanych w leczeniu i profilaktyce nowotworów, artykuł opisuje tylko wybrane substancje spośród wyżej przedstawionych grup związków.

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWE ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH

Związki polifenolowe stanowią grupę roślinnych wtórnych metabolitów, syntetyzowanych głównie z fenyloalaniny, a czasami także z tyrozyny. Pod względem chemicznym polifenole można zdefiniować jako związki posiadające co najmniej jeden pierścień aromatyczny podstawiony jedną lub większą liczbą grup hydroksylowych. W zależności od liczby hydroksylowanych aromatycznych pierścieni i rodzaju grup funkcyjnych, wśród związków pochodzenia fenolowego można wyróżnić kwasy fenolowe, polifenole i monofenole. Zidentyfikowano, również dużą liczbę pochodnych związków fenolowych, wśród których są polifenole proste, fenylopropanoidy, pochodne kwasu benzoesowego, flawonoidy i stilbeny oraz polimery związków fenolowych jak np. garbniki (proantocyjanidyny), czy lignany (WENG I YEN, 2012). Dieta człowieka składa się z mieszaniny roślinnych polifenoli. Uważa się, że człowiek jest w stanie spożyć ok. 1 g polifenoli dziennie (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001).

Pod względem biologicznym, związki polifenolowe są silnymi antyoksydantami. Przeciwdziałają dysfunkcjom organizmu powstałym w wyniku niesprawnego działania mechanizmu antyoksydacyjnego lub nadmiernie produkowanych utleniaczy w organizmie, zapobiegając rozwojowi takim chorobom jak choroba wieńcowa serca czy udar mózgu. Najnowsze badania donoszą, że polifenole wykazują działanie cytotoksyczne, posiadają silne właściwości hamujące rozwój nowotworów, metastazę i angiogenezę (WENG I YEN, 2012).

Jednym ze znanych związków w tym zakresie jest kurkumina (polifenol zbudowany z reszt kwasu ferulowego), żółty barwnik spożywczy pozyskiwany z kłączy byliny ostryżu długiego (*Curcuma longa*), charakteryzujący się silnym działaniem plejotropowym, ponieważ jest stosowany np. w indyjskiej przyprawie curry (WENG I YEN, 2012). Kurkumina reguluje wiele procesów komórkowych, takich jak utrzymanie równowagi oksydoredukcyjnej, np. komórek nerwowych. W tych komórkach kurkumina ogranicza syntezę β-amyloidu, kluczowego czynnika rozwoju choroby Alzheimera, który jest syntetyzowany podczas stresu oksydacyjnego. Ponadto, kurkumina uczestniczy w ograniczeniu aktywności transkrypcyjnego czynnika NF-κB, a co za tym idzie innych białek, również cykolooksygenazy (COX-2) i interleukiny 8 (IL-8) (WOLANIN I PIWOCKA, 2008), a także czynnika wzrostu i kinaz, w tym kinazy typu MAP i JAK (WOLANIN I PIWOCKA, 2008), zaangażowanych w przebieg reakcji zapalnych (KUMARAVEL I WSPÓŁAUT., 2012). Plejotropowe działanie kurkuminy przejawia się, także zahamowaniem metastazy komórek nowotworowych wątroby (CBO140C12) oraz szczurzych komórek wątrobiaka (AH109A).

W komórkach raka piersi (MDAMB231) wpływa na funkcjonowanie receptorów estrogenowych, między innymi poprzez ograniczenie aktywności czynników NF-κB/AP-1 zależnych od metaloproteinaz typu MMP-1 i -2 (WENG I YEN, 2012). Ponadto, analog kurkuminy, jakim jest BDMC-A (bidemetoksykurkumina) (DEVASENA I WSPÓŁAUT., 2002), zatrzymując cykl komórkowy w fazie G2/M

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

powoduje zahamowanie proliferacji komórek raka piersi (MCF-7), z jednoczesną inicjacją zewnętrznego i wewnętrznego szlaku apoptozy, poprzez zahamowanie aktywność białek Bcl-2 oraz aktywację białek: p53, Bax, cytochromu c, Apaf-1, FasL oraz kaspazy 8, 9 i 3 (Rys. 1) (MOHANKUMAR I WSPÓŁAUT., 2014). Dodatkowo, produkty metabolizmu kurkuminy, którymi są kwas ferulowy i wanilina, również wykazują właściwości cytotoksyczne względem komórek nowotworowych (DUDKOWSKA I KUCHAREWICZ, 2014). Kwas ferulowy, poprzez usuwanie wolnych rodników, wykazuje właściwości chemoprewencyjne wobec komórek zdrowych (SRINIVASAN I WSPÓŁAUT., 2007), natomiast wanilina bierze udział w naprawie zmutowanego DNA komórek nowotworowych, między innymi komórek raka jelita grubego (HT-29) (HO I WSPÓŁAUT., 2009), ograniczając także metastazę tych komórek (LIRDPRAPAMONGKOL I WSPÓŁAUT., 2005).

Źródłem polifenoli jest także imbir lekarski (*Zingiber officinale*), który jest stosowany od wieków w tradycyjnej medycynie wschodniej, między innymi w leczeniu symptomów stanów zapalnych, schorzeń reumatoidalnych i chorób przewodu pokarmowego. Jego kłącza zawierają między innymi [6]-gingerol (wymowa dżindżerol; chemiczny analog kapsaicyny) i jego analogi: 6-shogaol (wymowa szogaol) i 6-paradol. Związki te wykazują, także wiele właściwości przeciwbakteryjnych, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001). W kulturach in vitro [6]-gingerol hamuje namnażanie się komórek nowotworowych jelita człowieka (COLO-205) oraz komórek śródbłonka naczyniowego pępowiny HUVECs. Ponadto, zatrzymuje cykl komórkowy tych komórek w fazie G1, poprzez ograniczenie aktywności cykliny D1, a także powoduje zahamowanie metastazy, oraz hamując aktywność takich czynników jak COX-2, NF-κB oraz kinazy MAP p38 (p38 MAPK), powoduje zahamowanie angiogenezy (KIM I WSPÓŁAUT., 2005). [6]-gingerol, [6]-paradol i [6]-shogaol aktywują proces apoptozy poprzez aktywację mitochondriów w tym zakresie, które generują najważniejsze czynniki proapoptotyczne, czyli cytochrom c oraz reaktywne formy tlenu (ROS), zwiększenie aktywności białek Bax, Bad, Bid, Fas i FasL oraz kaspaz, a także zahamowanie aktywności angiogenezy (KIM I WSPÓŁAUT., 2005). [6]-gingerol, [6]-paradol i [6]-shogaol aktywują proces apoptozy poprzez aktywację mitochondriów w tym zakresie, które generują najważniejsze czynniki proapoptotyczne, czyli cytochrom c oraz reaktywne formy tlenu (ROS), zwiększenie aktywności białek Bax, Bad, Bid, Fas i FasL oraz kaspaz, a także zahamowanie aktywności antyapoptotycznych białek rodziny Bcl-2, takich jak Bcl-XL (Rys. 1) (LEE I SURH, 1998; PAN I WSPÓŁAUT., 2008; RAO I WSPÓŁAUT., 2008).

Kolejną substancją polifenolową jest pochodna stilbenów, resweratrol (3,5,4'-trihydroksystilben), który po raz pierwszy został wyizolowany w 1940 roku z korzeni ciemiężycy (*Veratrum grandiflorum*) (AGGARWAL I WSPÓŁAUT., 2004). Aktualnie, obecność resweratrolu wykazano, między innymi w winogronach, jagodach czy orzechach ziemnych. Znane od lat właściwości kardioprotekcyjne i neuroprotekcyjne wina czerwonego wynikają właśnie z obecności w nim resweratrolu, a także garbników, pektyn i witamin z grupy A, B i C (OLAS, 2006). Ponadto, resweratrol posiada właściwości chemoprewencyjne i przeciwnowotworowe. Wpływa na poszczególne fazy nowotworzenia (tj. na inicjację, promocję i progresję tego procesu), poprzez modulowanie szlaków transdukcji sygnałów w komórkach, które kontrolują podziały i rozwój komórek, a także apoptozę, stan zapalny, angiogenezę i metastazę. Dlatego też, jest uważany za jeden z najlepszych czynników, jaki można zastosować w terapii przeciwnowotworowej (SHUKLA I SINGH, 2011), w przypadku wielu typów nowotworów, jak np. rak piersi, prostaty, żołądka, jelita grubego czy trzustki (AGGARWAL I WSPÓŁAUT., 2004). Wykazano, że resweratrol w komórkach raka piersi (MCF-7, MDA-MB-231) oraz mysich komórkach skóry (POZO-GUISADO I WSPÓŁAUT., 2005; ROY I WSPÓŁAUT., 2009) hamuje cykl komórkowy i indukuje apoptozę za pośrednictwem szlaku mitochondrialnego, uwalniając cytochromu c, Apaf-1 i aktywując kaspazy (Rys. 1) oraz PARP (polimeraza poli(ADT-rybozy)) (ROY I WSPÓŁAUT., 2009; KILIAŃSKA I WSPÓŁAUT., 2010).

Podnosi także, ekspresję białka p53, którego obniżona aktywność jest jedną z przyczyn nowotworzenia (ROY I WSPÓŁAUT., 2009).

Na szczególną uwagę, w zakresie właściwości przeciwnowotworowych związków polifenolowych, zasługują flawonoidy z grupy flawonoli (kwercetyna, kemferol), flawony (luteolina, apigenina), flawanony (hesperydyna), flawanonole, izoflawony (genisteina, daidzeina), katechiny (katechina, galusan epigallokatechiny), antocyjanidyny (cyjanidyna) (BACHANEK I CZAUDERNA, 2014) i chalkony (JASIŃSKI I WSPÓŁAUT., 2009). Pod względem chemicznym izoflawony są

związkami strukturalnie zbliżonymi do hormonów steroidowych, aczkolwiek nie są pochodnymi cholesterolu. Są syntetyzowane przez ponad 300 gatunków roślin, a także niektóre bakterie i grzyby (BACHANEK I CZAUDERNA, 2014). Duża grupa tych związków pełni zróżnicowane dobroczynne działanie na zdrowie człowieka, dzięki właściwościom antyoksydacyjnym, kardioprotekcyjnym i przeciwnowotworowym (JASIŃSKI I WSPÓŁAUT., 2009). Dzięki zablokowaniu aktywności proteasomów indukują apoptozę w komórkach białaczki Jurkat T. Wykazano, że aktywność wymienionych związków względem proteasomów przedstawia się następująco: apigenina ≥ luteolina > kwercetyna > kempferol (gdzie najsilniej działa apigenina). Zróżnicowana aktywność tych związków wynika z budowy chemicznej cząsteczek, w których atom czwarty (C4) w pierścieniu C wykazuje najwyższą aktywność wobec substratów. Dodatkowo modelowanie komputerowe wykazało, że usunięcie grupy hydroksylowej w pozycji C3 dodatkowo zwiększa możliwości hamowania aktywności proteasomów i jednocześnie indukowania apoptozy (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001; CHEN I DOU, 2008). Odbywa się to dzięki oddziaływaniu ze specyficznymi procesami odpowiedzialnymi za regulację apoptozy, takimi jak uwalnianie cytochromu c z mitochondriów, aktywację kaspazy 9 i 3, stymulację syntezy kaspazy 8 i białka tBid, a także ograniczenie ekspresji antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2, takich jak Bcl-X(L), stymulację ekspresji białek Bax i Bak (Rys. 1) oraz oddziaływanie z jądrowym czynnikiem NF-κB (GIOVANNINI I WSPÓŁAUYT., 2007).

Biflawonoidy, które są strukturalnymi dimerami flawonoidów, występując w około 200 różnych strukturach (KRAUZE-BARANOWSKA, 2003), wykazują wiele biologicznych właściwości, takich jak działanie antyoksydacyjne, chelatujące, immunostymulujące, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe (KANG I WSPÓŁAUT., 2009). Jednym z biflawonoidów jest ochnaflawon, który występuje w łodygach wiciokrzewu japońskiego (*Lonicera japonica*). Związek ten hamuje proliferację komórek nowotworowych ludzkiej okrężnicy (HCT-15), powodując powstanie nieaktywnej formy kinazy zależnej od cyklin (cdc2), a to prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego tych komórek w fazie G1 (PRASAD I WSPÓŁAUT., 2010) i G2/M (KANG I WSPÓŁAUT., 2009). Powstanie nieaktywnej kinazy cdc2 jest również wynikiem działania ochnaflawonu na cyklinę A, B1 i E1. Ponadto, ochnaflawon indukuje apoptozę, która przejawia się fragmentacją DNA, aktywacją kaspazy 8, 9 i 3, a także PARP (KANG I WSPÓŁAUT., 2009).

Wśród makrocząsteczkowych polifenoli wyróżnia się garbniki i lignany. Związki te wykazują silne właściwości antyoksydacyjne i zmiatające wolne rodniki (VINARDELL I WSPÓŁAUT., 2008). Niektóre pochodne garbników (tellimagrandyna II, remuryna B, nobotanina A, C, F i K, rugosyna D, oenoteina A, woodfordana D i F) wykazują cytotoksyczność w stosunku do ludzkich komórek białaczki HL-60. Efekt ten przejawia się hydrolizą DNA do odcinków internukleosomowych. Naturalny, zlignifikowany materiał roślinny również posiada właściwości cytotoksyczne wobec komórek HL-60. Jednakże ich przekształcone alkaliczne i siarkowe formy są nieaktywne (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001).

POLIFENOLE OBECNE W EKSTRAKTACH Z HERBATY, KAWY I KAKAO

Z liści herbaty chińskiej (*Camellia sinensis*) pozyskuje się zieloną i czarną odmianę herbaty (NAKAZATO I WSPÓŁAUT., 2005). Głównymi polifenolami występującymi w herbacie (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001), a także w kawie i kakao (KRSTIC I WSPÓŁAUT., 2015) są (-)-galusan epigallokatechiny (EGCG) – główny składnik zielonej herbaty, (-)-epigallokatechina (EGC), (-)-galusan epikatechiny (ECG), (-)-epikatechina (EC). Te polifenole wykazują zdolność hamowania rozwoju komórek nowotworowych raka płuc linii PC-9 z następującą skutecznością: EGCG = ECG > EGC > EC (gdzie najskuteczniejszy jest EGCG). Ponadto, polifenole aktywują procesy prowadzące do apoptozy w wielu typach nowotworów, takich jak rak prostaty, okrężnicy i płuc. EGCG indukuje apoptozę w tych komórkach poprzez hamowanie aktywności TNF-a (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001). Dodatkowo EGCG zatrzymuje cykl komórkowy w fazie G0-G1 w komórkach chłoniaka Burkitta, inicjując następnie pojawienie się klasycznych symptomów apoptozy, takich jak fragmentacja DNA, widoczna w postaci drabinki, aktywacja kaspazy 9 i 3, ale nie 8, zahamowanie aktywności antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 i Mcl-1, zmianę przepuszczalności błon mitochondrialnych i uwolnienie z mitochondriów do cytozolu białek proapoptotycznych (w tym cytochrom c, Smac/DIABLO i AIF) (Rys. 1) oraz generowanie reaktywnych form tlenu (NAKAZATO I WSPÓŁAUT., 2005).

ANTYBIOTYKI ANTRACYKLINOWE I CHINONY

Antybiotyki antracyklinowe są zbudowane z aglikonu i reszty cukrowej. Część aglikonowa jest

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

zbudowana z czterech pierścieni (A, B – hydroksychinon, C – chinon i D). Wśród antybiotyków antracyklinowych wyróżnia się dwa najczęściej stosowane w terapii przeciwnowotworowej: doksorubicynę i daunorubicynę (SZUŁAWSKA I CZYŻ, 2006). Działanie antracyklin polega na swoistym wiązaniu się z DNA, poprzez interkalację w przestrzenną strukturę helisy oraz modyfikowanie za sprawą reaktywnych form tlenu zasad azotowych, które powstają w reakcjach przemian antracyklin (SZUŁAWSKA I CZYŻ, 2006). Jednak stosowanie antracyklin ma swoje ograniczenia. Pomimo tego, że są to skuteczne czynniki hamujące aktywność polimerazy DNA i topoizomerazy II, przez co zatrzymują syntezę DNA i proliferację komórek nowotworowych (SZUŁAWSKA I CZYŻ, 2006), to wykazują toksyczność wobec innych komórek, np. kardiomiocytów, między innymi dzięki generowaniu w tych komórkach reaktywnych form tlenu, a także aktywacji czynników apoptotycznych, takich jak białka Bax, kaspazy 3 i PARP-1. W związku z tym, w przypadku terapii antybiotykami antracyklinowymi stosuje się czynniki chemoprewencyjne. Jednym z nich jest kwas taninowy, który podobnie jak inne pochodne garbników, jest silnym antyoksydantem i działa kardioprotekcyjnie (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001; TIKOO I WSPÓŁAUT., 2011). Podobne właściwości przeciwnowotworowe wykazują również inne antracykliny, takie jak szikonina (chinon) (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001), a także antracyklinowa pochodna chinonowa, HU-331 (3-hydroksy-2-[(1R)-6-izopropenylo-3-metylocykloheks-2-en-1-yl]-5-petylo-1,4-benzochinon(KOGAN I WSPÓŁAUT., 2007; WU I JAN, 2010).

METABOLITY WTÓRNE ZWIERAJĄCE AZOT

Do roślinnych metabolitów wtórnych, zawierających w cząsteczce atom azotu zaliczamy alkaloidy, betalainy, glikozydy cyjanogenne i glukozynolany (ŚMIECHOWSKA I WSPÓŁAUT., 2008), nazywane także glukozynolatami (BALCEREK, 2007; KOPCEWICZ I LEWAK, 2002). Alkaloidy obejmują dużą grupę związków, zbudowanych z heterocyklicznych pierścieni, które są syntetyzowane z ornityny (alkaloidy pirolidynowe, tropanowe i pirolizydynowe), lizyny (alkaloidy piperydynowe i chinolizydynowe), tyrozyny (alkaloidy izochinolinowe), tryptofanu (alkaloidy indolowe i chinolinowe), a także ze związku purynowego – ksantyny (alkaloidy purynowe) (KOPCEWICZ I LEWAK, 2002).

Jednym z celów terapii przeciwnowotworowej jest zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych. Można to osiągnąć także poprzez destabilizację mikrotubul, która polega na depolimeryzacji α- i β-tubulin wrzeciona podziałowego. Alkaloidy, takie jak winblastyna i winkrystyna, które są pozyskiwane między innymi z takich roślin, jak barwinek różowy (*Catharanthus roseus*) wykazują właściwości wykorzystywane w terapii przeciwnowotworowej. Zasadnicze działanie tych związków polega na demontażu mikrotubul tworzących wrzeciono kariokinetyczne podczas mitozy, tym samym, winblastyna i winkrystyna powodują zatrzymanie podziału komórek w metafazie. Ponadto, alkaloidy wpływają na mikrotubule zaangażowane w chemotaksję i migrację organelli i pęcherzyków sekrecyjnych na terenie komórek (w szczególności neuronów), a także poza nie. Wpływają także na strukturalną integralność niektórych komórek (TEICHER, 2008). Dlatego też, winblastyna i winkrystyna są stosowane w leczeniu białaczki, chłoniaków, nowotworu piersi, jąder, płuc oraz mięsaka Kaposi'ego (SHOEB, 2006).

Wśród niewielkiej grupy betalain, związków zawierających w swojej budowie azot oraz cukier, na uwagę zasługują betacyjanidyny, betaksantyny i betanina, które są izolowane z owoców Rivina humilis. Mechanizm działania tych betalain polega na hamowaniu rozwoju i proliferacji komórek, między innymi komórek nowotworowych czerniaka (B16-F10) oraz komórek białaczki (K562). Indukują one proces apoptozy, której głównymi przejawami w tym przypadku jest uwalnianie cytochromu c z mitochondriów oraz aktywacja PARP, ograniczenie aktywności białek Bcl-2 oraz zmniejszenie potencjału błon komórkowych (KHAN I WSPÓŁAUT., 2012).

Kolejna grupa azotowych roślinnych metabolitów wtórnych to glikozydy cyjanogenne. Podobnie jak w przypadku alkaloidów, indukcja syntezy glikozydów cyjanogennych jest formą ochrony roślin przed roślinożercami. Ponadto, wiele związków, takich jak amygdalina, prunazyna czy linamaryna, wykazuje działanie przeciwnowotworowe (SIEGIEŃ, 2007). Prowadzone są od lat badania właściwości przeciwnowotworowych amygdaliny (lek pod nazwą „laetrile" lub witamina B17), która występuje między innymi w pestkach brzoskwiń, moreli, a także migdałów. Pomimo dowiedzionego działania proapoptotycznego amygdaliny w komórkach prostaty

linii DU145 i LNCaP (CHANG I WSPÓŁAUT., 2006), badania przeprowadzone na szeroką skalę nie potwierdzają dużej skuteczności działania tych związków, które jednak nadal są stosowane głównie jako alternatywna/wspomagająca terapia przeciwnowotworowa. Ponadto, metabolizm glikozydów cyjanogennych przebiega z wytworzeniem trującego cyjanku (HCN), którego akumulacja w organizmie może prowadzić do silnych zatruć, dlatego też dawki tych związków ustalane są indywidualnie dla każdego pacjenta (MILAZZO I WSPÓŁAUT., 2007; SIEGIEŃ, 2007).

Kolejną grupę glikozydów stanowią glukozynolany, które występują w roślinach należących do rodziny krzyżowych (kapustowate; *Brassicaceae* Burnett., *Cruciferae* Juss.), takich jak kapusta, brokuły i kalafior. Wśród glukozynolanów występujących w roślinach krzyżowych są: synigryna, glukonapina, glukoiberyna czy glukorafinina (SZWEJDA-GRZYBOWSKA, 2011). Cząsteczka glukozynolanu składa się z trzech części: glukozy w formie grupy β-D-tioglukozowej, siarkowego ugrupowania oksymowego oraz łańcucha bocznego zbudowanego z reszty aminokwasowej (ŚMIECHOWSKA I WSPÓŁAUT., 2008; SZWEJDA-GRZYBOWSKA, 2011). Zarówno same glukozynolany, jak i produkty ich metabolizmu, izotiocyjaniany (np. sulforafan) i indole (np. indolo-3-karbinol) (ZALEGA I SZOSTAK-WĘGIEREK, 2013), wykazują głównie właściwości chemoprewencyjne (ŚMIECHOWSKA I WSPÓŁAUT., 2008). Działanie glukozynolanów w terapii przeciwnowotworowej polega na aktywacji enzymów detoksykacji ksenobiotyków, które mogą być potencjalnymi czynnikami rakotwórczymi (ŚMIECHOWSKA I WSPÓŁAUT., 2008). Aktywują one między innymi transferazę glutationową (KUSZNIEREWICZ I WSPÓŁAUT., 2007, TRAKA I MITHEN, 2009), co zaobserwowano w komórkach raka okrężnicy (HT-29) oraz raka wątroby (HepG2) (SZWEJDA-GRZYBOWSKA, 2011). Poprzez obniżenie aktywności białek cyklu komórkowego, takich jak cyklina B1 czy kinaz Cdc25C, prowadzą do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G2/M (HAYES I WSPÓŁAUT., 2008). Ponadto, glukozynolany i izotiocyjaniany aktywują apoptozę w szlaku wewnętrznym (mitochondrialnym) (Rys. 1), który jest związany z uwalnianiem cytochromu c z przestrzeni międzybłonowej mitochondriów, regulacją aktywności białek Bcl-2, szlaku kinaz MAPK oraz aktywacją kaspazy 3. W przypadku komórek nowotworowych okrężnicy (HT-29) apoptoza przebiega z udziałem trzech kinaz: JNK, ERK i p38 (TRAKA I MITHEN, 2009).

— TERPENOIDY (TERPENY, IZOPRENOIDY) —

Jest to duża grupa związków pochodzenia roślinnego, których wspólnym elementem budowy jest 5-węglowy węglowodór – izopren (C5H8) n. Wśród tych związków wyróżnia się monoterpeny (10 atomów węgla, czyli dwie jednostki izoprenu), seskwiterpeny (15 atomów węgla), diterpeny (20 atomów węgla), triterpeny (30 atomów węgla), tetraterpeny (40 atomów węgla) i politerpeny (> 20 cząsteczek izoprenu) (KOPCEWICZ I LEWAK, 2002).

Roślinne pochodne izoprenoidów, takie jak alkohol perylowy (obecny w wiśniach, mięcie, szałwii i nasionach selera), geraniol (obecny w marchwi, owocach cytryny, limonki i pomarańczy oraz w gałce muszkatołowej, czarnych jagodach i jeżynach) czy farnezol (trawa cytrynowa i rumianek), powodują zahamowanie potranslacyjnej prenylacji białek, syntezy cholesterolu i angiogenezy, zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G0/G1 oraz przejściowo w fazie G2/M, poprzez syntezę inhibitorów kinaz cyklinozależnych p21Cip1 i p27Kip1 i redukcję zawartości cyklin A i B1 oraz ograniczenie aktywności kinazy cdc2. Związki te indukują apoptozę oraz zwiększenie wrażliwości komórek nowotworowych na radioterapię i chemioterapię, między innymi komórek gruczolaka trzustki (WISEMAN I WSPÓŁMAT., 2007).

Najbardziej rozpowszechnionym diterpenem jest taksol (paklitaksel), który jest pozyskiwany z owoców cisu zachodniego (*Taxus brevifolia*), a także innych roślin rodzaju *Taxus*. Właściwości lecznicze taksolu znane są od stuleci. Obecne badania skupiają się na poznaniu mechanizmów przeciwnowotworowego działania tego leku (SHOEB, 2006). Dotychczasowe badania wykazały, że taksol uczestniczy w regulacji cyklu komórkowego. Podany w niewielkich ilościach unieruchamia mikrotubule wrzeciona podziałowego podczas mitozy, powodując zablokowanie proliferacji komórek i indukcję apoptozy, również poprzez regulację aktywności anty- i proapoptotycznych białek (JIANG I WSPÓŁAUT., 2008).

W wysokich dawkach taksol wpływa na zwiększenie polimeryzacji wiązek mikrotubul, blokując wejście komórek w fazę S, co również prowadzi do zahamowania cyklu komórkowego, a także indukcji nekrozy. Taki mechanizm działania taksolu zaobserwowano w licznych typach nowotworów, takich jak rak prostaty (PC-3) czy komórki HL-60 (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001).

Kolejnym, powszechnie występującym w przyrodzie i dobrze znanym związkiem

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

przeciwnowotworowym z grupy triterpenów jest betulina i jej pochodna, kwas betulinowy, które są pozyskiwane z kory brzozy (Betula; ZDZISIŃSKA I WSPÓŁAUT., 2010). Te związki, należące do terpenów typu lupanu, znalazły zastosowanie w leczeniu nowotworów, między innymi poprzez indukcję szlaku mitochondrialnego procesu apoptozy w komórkach czerniaka, raka jelita grubego, raka piersi, raka płuc (ZDZISIŃSKA I WSPÓŁAUT., 2010), prostaty, czy raka wątroby (KUJAWA-WARCHALA I NAZARUK, 2012). Mechanizm działania betuliny i kwasu betulinowego polega na aktywacji czynników proapoptotycznych, takich jak białka z rodziny Bcl-2 oraz czynnika NF-κB odpowiedzialnego za aktywację ekspresji genów białek proapoptotycznych, wchodzących w skład szlaków transdukcji apoptozy, prowadząc jednocześnie do śmierci komórek nowotworowych. Czynniki te powodują zmiany w funkcjonowaniu i strukturze mitochondriów, prowadząc do zmiany przepuszczalności zewnętrznej błony mitochondrialnej i uwolnienia do cytoplazmy komórek, czynników, takich jak cytochrom c czy AIF, aktywując następnie kaspazy wykonawcze procesu apoptozy. Ponadto, generowanie ROS pełniących funkcję sygnalizacyjną podczas śmierci komórkowej, głównie przez kwas betulinowy, prowadzi do aktywacji kaspaz, a także proapoptotycznych kinaz MAPK – p38 i SAP/JNK (KUJAWA-WARCHALA I NAZARUK, 2012).

POLISACHARYDY, GLIKOPROTEINY I LEKTYNY

Takie makrocząsteczki jak białka, lipidy, kwasy nukleinowe oraz węglowodany stanowią element zainteresowania nauki od kilkudziesięciu lat czy nawet stu lat. Zainteresowanie związkami cukrowymi wywodzi się z faktu, że ich obecność, głównie na powierzchni błony komórkowej stanowi element sygnalizacji, rozpoznawania się komórek i przylegania ich do siebie (adhezja), a także uczestniczenia w wielu procesach fizjologicznych, takich jak embriogeneza, różnicowanie się komórek, wzrost, odpowiedź immunologiczna, rozwój chorób, czy metastaza nowotworów (GHAZARIAN I WSPÓŁAUT., 2011).

Prawidłowe komórki muszą przejść wiele przemian, aby stać się komórkami nowotworowymi, które następnie przedostaną się do sąsiednich lub oddalonych od ogniska choroby tkanek. Zmiany genetyczne wywołują w komórkach nowotworowych nadekspresję między innymi cząsteczek sygnałowych, w wyniku czego stają się one obojętne na działanie produktów genów supresorowych, takich jak białko Rb i p53. Pewne zmiany genetyczne pozwalają aktywować telomerazę, która wywołuje wysoki potencjał replikacyjny w tych komórkach i sprawia, że stają się „nieśmiertelne". Obok zmian genetycznych, komórki nowotworowe charakteryzują się zmianami w zakresie zdolność do przemieszczania się oraz angiogenezy. Niektóre ze zmian genetycznych pozwalają komórkom nowotworowym ominąć mechanizmy systemu immunologicznego; są one związane ze zmianami struktury węglowodanów na powierzchni komórek, które są wynikiem zaburzenia aktywności glukozylotransferaz i glikozydaz, które zmieniają węglowodany i inne związki cukrowe (glikolipidy i glikoproteiny; GHAZARIAN I WSPÓŁAUT., 2011).

Pomimo tego, że węglowodany mogą być potencjalnymi czynnikami transformacji nowotworowej, badania przeprowadzone w ostatniej dekadzie potwierdzają przeciwnowotworowe właściwości polisacharydów pochodzenia roślinnego. Jednym z takich związków jest proteoglikan szafranu (Crocus sativus), strukturalnie podobny do białkowych arabinogalaktanów. Związek ten wywołuje, w nieszkodliwych stężeniach, fragmentację DNA typową dla apoptozy. Jednak mechanizm apoptozy z udziałem tych związków może być aktywowany w makrofagach, natomiast w komórkach nowotworowych HeLa już nie. Wydaje się, że to zjawisko jest związane z syntezą w makrofagach wolnych rodników i tlenku azotu (NO), które uczestniczą między innymi w hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych (TARAPHDAR I WSPÓŁAUT., 2001), a także w stymulacji degradacji DNA i regulacji jego syntezy (PARIZADEH I WSPÓŁAUT., 2011). Podobne działanie odnotowano w komórkach raka wątroby (HepG-2) i raka krtani (Hep-2; PARIZADEH I WSPÓŁAUT., 2011).

Mówiąc o węglowodanach, należy wspomnieć także o lektynach, które są glikoproteinami posiadającymi zdolność tworzenia kompleksów z cukrami i lipidami. Są to związki, które występują niemal we wszystkich organizmach. Jednak, pomiędzy związkami tego typu u roślin i zwierząt nie ma strukturalnej homologii. Wspólną właściwością jest, natomiast, zdolność wiązania cukrów (GHAZARIAN I WSPÓŁAUT., 2011). Lektyny obok wiskotoksyny i innych białek o niskiej masie cząsteczkowej znajdują się w ekstraktach z jemioły pospolitej (Viscum album). Ekstrakty te wykazują toksycz-

ność oraz stymulują układ immunologiczny, w tym komórki NK, monocyty, granulocyty oraz limfocyty T (SABOVÁ I WSPÓŁAUT., 2010), natomiast zawarte w nich lektyny mają zdolność do aktywacji mitochondrialnego czynnika Apo2.7, który indukuje apoptozę (TRÖGER I WSPÓŁAUT., 2013). Ponadto, ekstrakty z jemioły, które stanowią alternatywną terapię przeciwnowotworową, mogą zostać kojarzone z tradycyjnymi chemioterapeutykami, takimi jak doksorubicyna. W tym zakresie wykorzystuje się efekt synergiczny tych związków na komórki nowotworowe (SABOVÁ I WSPÓŁAUT., 2010).

POLIAMINY

Poliaminy są grupą związków o prostej budowie chemicznej, które w swojej strukturze posiadają grupy aminowe. Ponadto są zaliczane do grupy fitohormonów roślinnych, ze względu na fakt, że wykazują typowe dla tych hormonów właściwości. Poliaminy występują także w organizmach zwierzęcych. Wśród tych związków znajduje się putrescyna (1,4-diaminobutan), która jest prekursorem innych poliamin, takich jak spermina i spermidyna. Do tej grupy związków zalicza się również kadaweryne (ZDROJEWICZ I LACHOWSKI, 2014). Bezpośrednim prekursorem poliamin jest aminokwas, arginina. Najważniejszą rolę, jaką pełni ten aminokwas to udział w procesach cyklu mocznikowego. Pozbawienie komórek prawidłowo rozwijających się argininy sprawia, że komórki te wykorzystują cytrulinę do syntezy tego aminokwasu. W przypadku komórek nowotworowych brak argininy powoduje ich obumieranie. Jednakże, omega-hydroksy-L-arginina podana egzogennie do hodowli komórek raka gruczołu sutkowego człowieka (MDA-MB-468), powoduje aktywację kaspazy 3, a tym samym aktywuje proces apoptozy (Rys. 1) (GRABOŃ, 2006). Spośród poliamin największą uwagę skupia się na putrescynie. W prawidłowo rozwijających się komórkach putrescyna uczestniczy w regulacji proliferacji i cyklu komórkowego, poprzez kontrolowanie przejścia pomiędzy poszczególnymi fazami cyklu, a także w prawidłowym przebiegu programowanej śmierci komórkowej. Jedną z właściwości jest ich funkcja protekcyjna, zabezpieczająca materiał genetyczny przed działaniem czynników kancerogennych. Jest to możliwe dzięki temu, że poliaminy występują w postaci kationu dodatniego, który ma zdolność łączenia się z komórkowymi makromolekułami, takimi jak ujemnie naładowana cząsteczka DNA. Putrescyna wpływa także na ograniczenie migracji i rozprzestrzeniania się komórek nowotworowych. Czynnikiem odwracającym tę sytuację jest związek DFMO-α (difluorometylornityna/eflornityna), który obniża poziom putrescyny i zatrzymuje cykl komórkowy komórek nowotworowych w fazie G1 (ZDROJEWICZ I LACHOWSKI, 2014). Ponadto, poprzez ograniczenie dostępności substancji pokarmowych, DFMO-α hamuje angiogenezę w ludzkich komórkach raka żołądka oraz komórkach czerniaka, co prowadzi do obumierania tych komórek (GRABOŃ, 2006).

CYTOKININY

Niezwykle interesującą grupą związków w zakresie kontroli PCD są cytokininy (JABŁOŃSKA-TRYPUĆ I CZERPAK, 2009). Są to hormony roślinne (KOPCEWICZ I LEWAK, 2002), które kontrolują zarówno proces apoptozy nowotworów zwierzęcych, jak i ludzkich (JABŁOŃSKA-TRYPUĆ I CZERPAK, 2009) oraz PCD u roślin (Rys. 2) (CARIMI I WSPÓŁAUT., 2003; DONIAK I WSPÓŁAUT., 2014). W tym zakresie najsilniejszą aktywność wykazują rybozydy cytokinin oraz BAP (benzyloaminopuryna). BAP ma zdolność do hamowania niektórych ludzkich kinaz białkowych włącznie z CDK, przez co może wpływać ograniczająco na proliferację komórek i aktywację apoptozy, co stanowi, jak już wiele razy wspomniano, jeden z głównych celów terapii przeciwnowotworowej (JABŁOŃSKA-TRYPUĆ I CZERPAK, 2009). Inne cytokininy wywołują podobne właściwości, z tym jednak, że istnieje konieczność stosowania wyższych stężeń tych związków (CARIMI I WSPÓŁAUT., 2003). Kinetyna oraz izopentenyloadenina (IPA) i benzyloadenina (BA) efektywnie hamują rozwój komórek i indukują redukcję MTT oraz morfologiczne zmiany w dojrzałych granulocytach białaczki szpikowej (MINORSKY, 2003). Natomiast rybozydy cytokinin efektywnie hamują rozwój i indukują apoptozę, ograniczając zawartość komórkowego ATP oraz zaburzając potencjał błonowy mitochondriów i akumulując ROS (ISHII I WSPÓŁAUT., 2002). W przypadku komórek roślinnych wykazano, że BAP hamuje proliferację i indukuje programowaną śmierć komórek kultur *Daucus carota* L. i *Arabidopsis*, której przejawem jest fragmentacja jądrowego DNA (CARIMI I WSPÓŁAUT., 2003). Podobnie, choć z innymi przejawami procesu, działa kinetyna (Rys. 2) (DONIAK I WSPÓŁAUT., 2014).

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

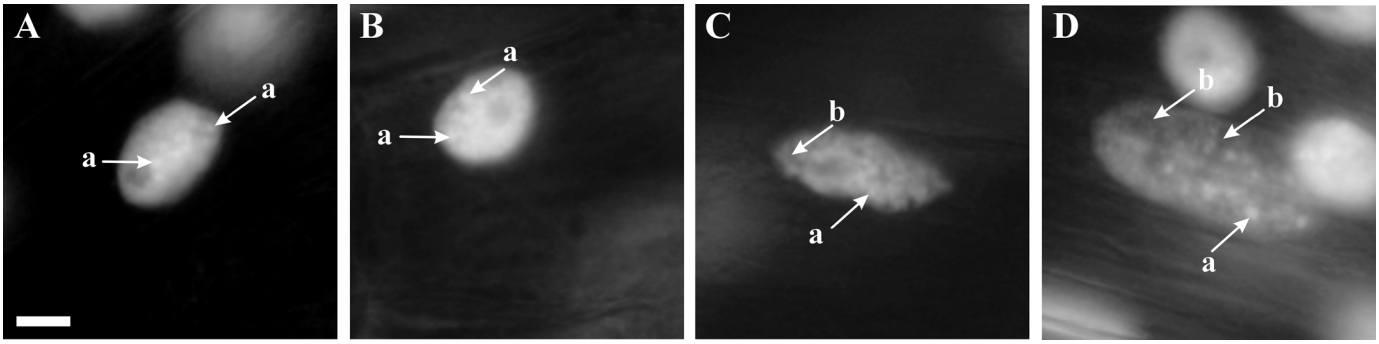


FIG. 2. Morfologiczne przejawy kondensacji (A,B), degradacji i ubytku chromatyny (C,D) podczas śmierci komórkowej indukowanej kinetyną obserwowane na poziomie jądra komórkowego komórek kory pierwotnej korzeni *Vicia faba ssp.* minor (bobik) podobne do tych, jakie obserwuje się podczas apoptozy u organizmów zwierzęcych (obserwacje własne). a – kondensacja chromatyny, b – degradacja i ubytek chromatyny; skala = 10 μm, dotyczy wszystkich zdjęć.

PODSUMOWANIE

Substancje pochodzenia naturalnego stanowią interesującą grupę potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Jednak stosowanie w terapii przeciwnowotworowej tylko substancji pochodzenia naturalnego nie przynosi oczekiwanych rezultatów w przypadku zaawansowanych stadiów nowotworów. Ich skuteczne działanie w tym zakresie dotyczy wczesnych etapów nowotworzenia i w chemoprewencji. Stosowanie ekstraktów z roślin leczniczych, które zawierają mieszaninę różnych związków, dodatkowo skojarzone z klasyczną terapią przeciwnowotworową – chemioterapią lub radioterapią, przynosi lepsze efekty.

Ponadto, kolejną przeszkodą stosowania substancji pochodzenia naturalnego jest ich niska biodostępność zarówno dla komórek rozwijających się prawidłowo, jak i dla komórek nowotworowych. Substancje pochodzenia roślinnego, głównie w kulturach in vitro, wywołują efekt w niskich dawkach, jednak ich wchłanianie w żywym organizmie, zbudowanym z miliardów komórek jest utrudnione. Znamy wiele właściwości tych substancji, jednak nie znamy skutecznej drogi ich podania, dlatego kolejnym krokiem, w celu usprawnienia ich działania, powinno być skonstruowanie nośnika tych substancji, lub też znalezienie analogów, które byłyby lepiej przyswajalne przez organizm.

LITERATURA

AGGARWAL B.B., BHARDWAJ A., AGGARWAL R.S., STERAM N.P., SHISHODIA S., TAKADA Y. 2004. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. Anticancer Research 24, 2783-2840.

BACHANEK I., CZAUDERNA M. 2014. Izoflawony – struktura, aktywność biologiczna oraz metody oznaczania przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Widomości Chemiczne 68, 661-681.

CARIMI F., ZOTTINI M., FORMENTIN E., TERZI M., LO SCHIAVO F. 2003. Cytokinins: new apoptotic inducers in plants. Planta 216, 413-421.

CHANG H.K., SHIN M.S., YANG H.Y., LEE J.W., KIM Y.S., LEE M.H., KIM J., KIM K.H., KIM C.J. 2006. Amygdalin induces apoptosis through regulation of Bax and Bcl-2 expressions in human DU145 and LNCaP prostate cancer cells. Biological and Pharmaceutical Bulletin 29, 1597-1602.

CHEN D., DOU Q.P. 2008. Tea polyphenols and their roles in cancer prevention and chemotherapy. International Journal of Molecular Science 9, 1196-1206.

DEVASENA T., RAJASEKARANA K.N., MENON V.P. 2002. Bis-1,7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dione (a curcumin analog) ameliorates DMH-induced hepatic oxidative stress during colon carcinogenesis. Pharmacological Research 46, 39-45.

DONIAK M., BARCISZEWSKA M.Z., KAŹMIERCZAK J., KAŹMIERCZAK A. 2014. The crucial

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

elements of the 'last step' of programmed cell death induced by kinetin in root cortex of *V. faba ssp.* minor seedlings. Plant Cell Reports 33, 2063-2076.

DUDKOWSKA M., KUCHAREWICZ K. 2014. Związki pochodzenia naturalnego modulujące starzenie i śmierć komórek. Postępy Biochemii 60, 207-220.

GHAZARIAN H., IDONI B., OPPENHEIMER S.B. 2011. A glycobiology review: Carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. Acta Histochemia 113,236-247.

GIOVANNINI C., SCAZZOCCHIO B., VARÌ R., SANTANGELO C., D'ARCHIVIO M., MASELLA R. 2007. Apoptosis in cancer and atherosclerosis: polyphenol activities. Annali dell'Istituto Superiore di Sanità 43 406-416.

GRABOŃ W. 2006. Arginina – podstawowy aminokwas w procesie nowotworzenia. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 60, 483-489.

HAYES J.D., KELLEHER M.O., EGGLESTON I.M. 2008. The cancer chemopreventive actions of phytochemicals derived from glucosinolates. European Journal of Nutrition 47, 73-88.

HO K., YAZAN L.S., ISMAIL N., ISMAIL M. 2009. Apoptosis and cell cycle arrest of human colorectal cancer cell line HT-29 induced by vanillin. Cancer Epidemiology 33, 155-160.

ISHII Y., HORI Y., SAKAI S., HONMA Y. 2002. Control of differentiation and apoptosis of human myeloid leukemia cells by cytokinins and cytokinin nucleosides, plant redifferentiation-inducing hormones. Cell Growth & Diffentiation 13, 19-26.

JABŁOŃSKA-TRYPUĆ A., CZERPAK R. 2009. Cytokininy, ich aktywność biochemiczna w procesach podziałów, starzenia i apoptozy komórek ludzkich i zwierzęcych. Postępy Biologii Komórki 36, 135-154.
JASIŃSKI M., MAZURKIEWICZ E., RODZIEWICZ P., FIGLAROWICZ M. 2009. Flawonoidy – budowa, właściwości i funkcja ze szczególnym uwzględnieniem roślin motylkowych. Biotechnologia 2, 81-94.

JIANG S., ZU Y., FU Y., ZHANG Y., EFFERTH T. 2008. Activation of the mitochondria-driven pathway of apoptosis in human PC-3 prostate cancer cells by a novel hydrophilic paclitaxel derivative, 7-xylosyl-10-deacetylpaclitaxel. International Journal of Oncology 33, 103-111.

KANG Y.J., MIN H.Y., HONG J.Y., KIM Y.S., KANG S.S., LEE S.K. 2009. Ochnaflavone, a natural biflavonoid, induces cell cycle arrest and apoptosis in HCT-15 human colon cancer cells. Biomolecules & Therapeutics 17, 282-287.

KHAN M.I., HARSHA P.S.C.S., GIRIDHAR P., RAVISHANKAR G.A. 2012. Pigment identification, nutritional composition, bioactivity, and in vitro cancer cell cytotoxicity of *Rivina humilis* L. berries, potential source of betalains. LWT - Food Science and Technology 47, 315-323.

KILIAŃSKA Z.M., ŻOŁNIERCZYK J., WĘGIERSKA-GĄDEK J. 2010. Biologiczna aktywność polimerazy poli(ADP-rybozy)-1. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 64, 344-363.

KIM E.C., MIN J.K., KIM T.J., LEE S.J., YANG H.O., HAN S., KIM Y.M., KWON Y.G. 2005. [6]-gingerol, a pungent ingredient of ginger, inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. Biochemical and Biophysical Research Communications 335, 300-308.

KOGAN N.M., SCHLESINGER M., PRIEL E., RABINOWITZ R., BERENSHTEIN E., CHWVION M., MECHOULAM R. 2007. HU-331, a novel cannabinoid-based anticancer topoisomerase II inhibitor. Molecular Cancer Therapeutics 6, 173-183.

KOPCEWICZ J., LEWAK S. 2002. Fizjologia roślin. PWN, Warszawa.

KRAUZE-BARANOWSKA M. 2003. Aktywność farmakologiczna biflawonoidów. Część I. Postępy Fitoterapii 1, 11-15.

KRSTIC M., STOJADINOVIC M., SMILJANIC K., STANIC-VUCINIC D., CIRKOVIC VELICKOVIC T. 2015. The anti-cancer activity of green tea, coffee and cocoa extracts on human cervical adenocarcinoma HeLa cells depends on both pro-oxidant and antiproliferative activities of polyphenols. The Royal Society of Chemistry Advances 5, 3260-3268.

KUJAWA-WARCHALA K., NAZARUK J. 2012. Aktywność farmakologiczna pentacyklicznych związ-

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

ków triterpenowych. Postępy Fitoterapii 1, 35-47.

KUMARAVEL M., SANKAR P., RUKKUMANI R. 2012. Antiproliferative effect of an analog of curcumin bis-1,7-(2-hydroxyphenyl)--hepta-1,6-diene-3,5-dione in human breast cancer cells. European Review for Medical and Pharmacological Science 16, 1900-1907.
KUSZNIEREWICZ B., PIASEK A., LEWANDOWSKA J., ŚMIECHOWSKA A., BARTOSZEK A. 2007. Właściwości przeciwnowotworowe kapusty białej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 6, 20-34.

LAU S.T., LIN Z.X., ZHAO M., LEUNG P.S. 2008. Brucea javanica fruit induces cytotoxicity and apoptosis in pancreatic adenocarcinoma cell lines. Phytotherapy Research 22, 477-86.

LEE E., SURH Y.J. 1998. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids, [6]-gingerol and [6]-paradol. Cancer Letters 134, 163-168.
LEE S.M., KWON J.I., CHOI Y.H., EOM H.S., CHI G.Y. 2008. Induction of G2/M arrest and apoptosis by water extract of Strychni Semen in human gastric carcinoma AGS cells. Phytotherapy Research 22, 752-758.

LIRDPRAPAMONGKOL K., SAKURAI H., KAWASAKI N., CHOO M.K., SAITOH Y., AOZUKAY., SINGHIRUNNUSORN P., RUCHIRAWAT S., SVASTI J., SAIKI I. 2005. Vanillin suppresses in vitro invasion and in vivo metastasis of mouse breast cancer cells. European Journal of Pharmaceutical Sciences 25, 57-65.

MILAZZO S., LEJEUNE S., ERNST E. 2007. Laetrile for cancer: a systematic review of the clinical evidence. Supportive Care in Cancer 15, 583-595.

MINORSKY P.V. 2000. The hot and the classic. Plant Physiology 132, 1135-36.

MOHANKUMAR K., PAJANIRADJE S., SRIDHARAN S., KUMAR SINGH V., RONSARD L., BANERJEA A.C., SELVANESAN BENSON C., SELVARAJ COUMAR M., RAJAGOPALAN R. 2014. Mechanism of apoptotic induction in human breast cancer cell, MCF-7, by an analog of curcumin in comparison with curcumin – an in vitro and in silico approach. Chemico-Biological Interaction 210, 51-63.

NAKAZATO T., ITO K., IKEDA Y., KIZAKI M. 2005. Green tea component, catechin, induces apoptosis of human malignant B cells via production of reactive oxygen species. Clinical Cancer Research 11, 6040-6049.

OLAS B. 2006. Resweratrol jako dobroczyńca w profilaktyce chorób układu krążenia. Kosmos 55, 277-285.

PAN M.H., HSIEH M.C., KUO J.M., LAI C.S., WU H., SANG S., HO C.T. 2008. 6-Shogaol induces apoptosis in human colorectal carcinoma cells via ROS production, caspase activation, and GADD 153 expression. Molecular Nutrition & Food Research 52, 527-537.

PARIZADEH M.R., GHARIB F.G., ABBASPOUR A.R. AFSHAR J.T., GHAYOUR-MOBARHAN M. 2011. Effects of aqueous saffron extract on nitric oxide production by two human carcinoma cell lines: hepatocellular carcinoma (HepG2) and laryngeal carcinoma (Hep2). Avicenna Journal of Phytomedicine 1, 43-50.

POZO-GUISADO E., MERINO J.M., MULERO-NAVARRO S., LORENZO-BENAYAS M.J., CENTENO F., ALVAREZ-BARRIENTOS A.., SALGUERO P.M.F. 2005. Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF-κB. International Journal of Cancer 115, 74-84.
PRASAD S., PHROMNOI K., YADAV V.R., CHATURVEDI M.M., AGGARWAL B.B. 2010. Targeting inflammatory pathways by flavonoids for prevention and treatment of cancer. Planta Medica 76, 1044-1063.

RAO G.V., KUMAR S., ISLAM M., MANSOUR S.E. 2008. Folk medicines for anticancer therapy – a current status. Cancer Therapy 6, 913-922.

REPKA V. 2001. Elicitor-stimulated induction of defense mechanisms and defense gene activation in grapevine cell suspension cultures. Biologia Plantarum 44, 555-565.

ROY P., KALRA N., PRASAD S., GEORGE J., SKUHLA Y. 2009. Chemopreventive potential of resveratrol in mouse skin tumors through regulation of mitochondrial and PI3K/AKT signaling pathways. Pharmaceutical Research 26, 221-217.

Ruddon R.W. 2007. Cancer Biology. Oxford University Press, New York.

SABOVÁ L., PILÁTOVÁ M., SZILAGYI K., SABO R., MOJŽIŠ J. 2010. Cytotoxic effect of mistletoe (*Viscum*

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

album L.) extract on Jurkat cells and its interaction with doxorubicin. Phytotherapy Research 24, 365-368.

SHOEB M. 2006. Anticancer agents from medicinal plants. Bangladesh Journal of Pharmacology 1, 35-41.

SHUKLA Y., SINGH R. 2011. Resveratrol and cellular mechanisms of cancer prevention. Annals of the New York Academy of Sciences doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05870.x

SIEGIEŃ I. 2007. Cyjanogeneza u roślin i jej efektywność w ochronie roślin przed atakami roślinożerców i patogenów. Kosmos 56, 155-166.

SRINIVASAN M., SUDHEER A.R., MENON V.P. 2007. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 40, 92-100.

STĘPIEŃ A., IZDEBSKA M., GRZANKA A. 2007. Rodzaje śmierci komórki. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 61, 420-428.

SZUŁAWSKA A., CZYŻ M. 2006. Molekularne mechanizmy działania antracyklin. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 60, 78-100.

SZWEJDA-GRZYBOWSKA J. 2011. Antykancerogenne składniki warzyw kapustnych i ich znaczenie w profilaktyce chorób nowotworowych. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLIV, 1039-1046.

ŚCIBIOR-BENTKOWSKA D., CZECZOT H. 2009. Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 63, 58-72.

ŚMIECHOWSKA A., BARTOSZEK A., NAMIEŚNIK J. 2008. Przeciwrakotwórcze właściwości glukozynolanów zawartych w kapuście (*Brassica oleracea* var. capitata) oraz produktów ich rozpadu. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 62, 125-140.

TARAPHDAR A.K., ROY M., BHATTACHARYA R.K. 2001. Natural products as inducers of apoptosis: implication for cancer therapy and prevention. Current Science 80, 1387-1396.

TEICHER B.A. 2008. Newer cytotoxic agents: attacking cancer broadly. Clinical Cancer Research 14, 1610-1617.

TIKOO K., SANE M.S., GUPTA C. 2011. Tannic acid ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity and potentiates its anti-cancer activity: potential role of tannins in cancer chemotherapy. Toxicology and Applied Pharmacology 251, 191-200.

TRAKA M., MITHEN R. 2009. Glucosinolates, isothiocyanates and human health. Phytochemistry Reviews 8, 269-282.

TRÖGER W., GALUN D., REIF M., SCHUMANN A., STANKOVIĆ N., MILIĆEVIĆ M. 2013. Viscum album [L.] extract therapy in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer: a randomised clinical trial on overall survival. European Journal of Cancer 49, 3788-3797.

VINARDELL M.P., UGARTONDO V., MITJANS M. 2008. Potential applications of antioxidant lignins from different sources. Industrial Crops and Products 27, 220-223.

WENG C.J., YEN G.C. 2012. Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. Cancer Treatment Reviews 38, 76-87.

WISEMAN D.A., WERNER S.R., CROWELL P.L. 2007. Cell cycle arrest by the isoprenoids perillyl alcohol, geraniol, and farnesol is mediated by p21Cip1 and p27Kip1 in human pancreatic adenocarcinoma cells. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 320, 1163-1170.

WOLANIN K., PIWOCKA K. 2008. Kurkumina – od medycyny naturalnej do kliniki. Kosmos 57, 53-65.

Wu H.Y., Jan T.R. 2010. Cannabidiol hydroxyquinone-induced apoptosis of splenocytes is mediated predominantly by thiol depletion. Toxycology Letters 195, 68-74.

ZALEGA J., SZOSTAK-WĘGIEREK D. 2013. Żywienie w profilaktyce nowotworów. Część I. Polifenole roślinne, karotenoidy, błonnik pokarmowy. Problemy Higieny i Epidemiologii 94, 41-49.

ZDROJEWICZ Z., LACHOWSKI M. 2014. Znaczenie putrescyny w organizmie człowieka. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 68, 393-403.

ZDZISIAŃSKA B., SZUSTER-CIESIELSKA A., RZESKI W., KANDEFER-SZERSZEŃ M. 2010. Właściwości lecznicze betuliny i kwasu betulinowego, składników ekstraktu z kory brzozy. Farmaceutyczny Przegląd Naukowy 62, 33-39.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Nauki Przyrodnicze

WARUNKI PUBLIKACJI
ZASADY PRZYJMOWANIA PRAC DO DRUKU
ACCEPTANCE RULES OF ARTICLE TO PUBLISH

1. Czasopismo działa w systemie Open Acces.
2. Redakcja szczególnie jest zainteresowana artykułami z następujących dziedzin nauk przyrodniczych: agrobioinżynieria, biochemia, biologia, biotechnologia, chemia, ekologia, farmacja, medycyna, ochrona środowiska, ogrodnictwo, technologia przetwórstwa żywności, toksykologia, zoologia, zootechnika, żywienie człowieka i inne.
3. Tekst musi zwierać następujące informacje: tytuł pracy, imię (w pełnym brzmieniu) i nazwisko(a) autora(ów), nazwę i adres zakładu pracy (w przypadku uczelni: nazwę uczelni, wydział, katedrę/zakład/instytut, adres), adres poczty elektronicznej (e-mail).
4. Do pracy należy dołączyć krótkie (nieprzekraczające 300 wyrazów) streszczenie w jęz. angielskim (wraz z tytułem) i polskim, informujące o zasadniczej jej treści. Dodatkowo w obu językach należy podać maksymalnie 5 słów kluczowych.
5. Tekst:
   - musi zawierać wstęp, podsumowanie/wnioski i literaturę oraz podział tekstu właściwego na nagłówki
   - czcionka Times New Roman
   - odstępy między wierszami: 1
   - bez używania wyróżnień (np. podkreślenia), z wyjątkiem kursywy
   - wyraźne odznaczenie tytułów i nagłówków bez ich centrowania
   - zaznaczenie akapitów
   - wszystkie śródtytuły bez numeracji, czcionką tej samej wielkości
   - cytowane w tekście prace zaznaczamy przez podanie nazwiska autora(ów) (pisanych kapitalizowanymi literami) i roku publikacji w nawiasie półokrągłym, np. (BORKOW-SKI, 2013), (FORNALIK I WSPÓŁAUT., 2011)
   - cytowaną literaturę należy zestawić na końcu maszynopisu bez numeracji, w alfabetycznej kolejności, według nazwisk autorów, w następujących formatach:

artykuł:
TAMASKI J. S., ZOMBAN M. 1999. Jak pisać artykuł. Nauki Przyrodnicze 1, 11-15.
rozdział:
GORTAT M. 2012. Fityniany – substancje antyodżywcze w żywieniu ludzi i zwie-rząt.[W:] Toksyczne substancje chemiczne. LIPIŃSKI W. (red.). Instytut Naukowo-Wydawniczy SPATUM., Radom, 107-127.
książka:
SEIDENSTICKER J. 1992. Wielkie koty, królewskie stworzenia dzikiego świata. Elipsa, Warszawa.

6. Rysunki, schematy i fotografie:

6. Rysunki, schematy i fotografie:
   - mają być wykonane w jednym z formatów: *.cdr, *.eps, *.tif, *.psd i dostarczone jako osobne pliki wraz ze zbiorem tekstowym. Redakcja nie przyjmuje figur w formacie: .doc czy .rtf;
   - opisy na rysunkach powinny być wykonane czcionką odpowiedniej wielkości, nie mniejszą niż 12 punktów;
   - podpisy pod rycinami powinny być zamieszczone na końcu artykułu na osobnej stronie;
   - redakcja zaznacza sobie prawo odmówienia przyjęcia artykułu z uwagi na nieczytelny rysunek;
   - autor artykułu oświadcza, że ma prawa autorskie do publikowanej grafiki;
   - w przypadku, gdy Autorzy zamierzają włączyć do swego artykułu ilustracje publikowane przez autorów cytowanych prac oryginalnych, należy uzyskać z wydawnictwa zgodę na przedruk;
7. Do pracy należy dołączyć list przewodni, podpisany przez wszystkich autorów, zawierający następujące informacje:
   - oświadczenie o oryginalności artykułu i nieskładaniu analogicznej pracy do druku w innym czasopiśmie;
   - określenie wkładu poszczególnych autorów w powstanie tekstu;
   - informacje o źródłach finansowania (np. grant) w przypadku prac oryginalnych (podpisanie zgody na opublikowanie artykułu).
8. Autorzy są zobowiązani do wykonania korekty artykułu i zwrotu poprawionego tekstu wiadomością e-mail do Redakcji w ciągu 4 dni od chwili otrzymania.
9. Przyjęcie pracy do druku jest równoznaczne z przeniesieniem przez Autora (Autorów) praw autorskich na rzecz Wydawcy.
10. Recenzja artykułu:
    - do każdej oceny powołuje się co najmniej dwóch niezależnych recenzentów;
    - rekomendowanym rozwiązaniem jest model, w którym autor(zy) i recenzenci nieznają swoich tożsamości (tzw. „double-blind review proces");
    - ma mieć formę pisemną i kończyć się jednoznacznym wnioskiem co do dopuszczenia artykułu do publikacji lub jego odrzuceniu.
11. Kontakt z Redakcją:
    Stowarzyszenie Studentów Nauk Przyrodniczych
    ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
    e-mail: ssnp@poczta.pl
    Redaktor naczelny: Mateusz Gortat, tel. 661 657 875
12. Artykuły prosimy nadsyłać na adres e-mail: ssnp@poczta.pl
13. Autor ponosi koszty wszystkich pozytywnych recenzji, w wypadku nie naniesienia poprawek do artykułu, co skutkuje brakiem możliwości publikacji.

www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl
www. naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl