

Streszczenie

Rosnące zainteresowanie wpływem jonów metali na funkcjonowanie organizmów żywych spowodowało wyodrębnienie nowego działu chemii zwanego chemią bionieorganiczną. Chemię bionieorganiczną można z powodzeniem traktować, jako dziedzinę interdyscyplinarną, gdyż jej profil rozciąga się od fizyki, przez chemię nieorganiczną, biochemię, biotechnologię aż do medycyny klinicznej.

Wiele jonów metali, za sprawą specyficznego wiązania do ważnych biologicznie molekuł, ma bezpośredni wpływ na prawidłowe lub patologiczne funkcjonowanie organizmów żywych. Unikalne właściwości kompleksów metali, takie jak magnetyczne, spektroskopowe, aktywność redoks, kwasowość, elektrofilowość, tworzenie różnych form chemicznych od kationowych do rodnikowych, oferuje wiele interesujących możliwości dla przyszłego rozwoju metalofarmaceutyków.

Dlatego uzasadnione jest prowadzenie badań mających na celu wyjaśnienie sposobu koordynacji jonów metali z wybranymi molekułami. Warto podkreślić fakt, że nawet niewielka modyfikacja w strukturze molekuły może spowodować diametralną zmianę jej właściwości fizykochemicznych i biologicznych, włączając w to sposób i efektywność jej koordynacji z jonami metali.

W swojej pracy zajęłam się flawonoidami, grupą związków pochodzenia roślinnego, wywodzących się z polifenoli. Na przestrzeni ostatniego dziesięciolecia poświęca się im szczególną uwagę ze względu na liczne właściwości biologiczne. Wykazują one, zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo*, działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe oraz zapobiegają rozwojowi chorób neurodegeneracyjnych [1, 2].

Aktywność biologiczna flawonoidów daje szerokie perspektywy ich zastosowania również, jako naturalnych leków w terapii różnych chorób [3-10].

Wykazano, że flawonoidy mają zdolność łączenia się z jonami metalitworząc chelatowe kompleksy, które przejawiają większą aktywność biologiczną niż wolne flawonoidy [11, 12]. Spośród tych jonów szczególnie interesujące są jony miedzi. Miedź jest mikroelementem niezbędnym do życia wielu organizmów, ponieważ bierze udział w procesach fotosyntezy i oddychania. Występuje w centrach aktywnych wielu enzymów, ze względu na łatwość pobierania i oddawania elektronu w czasie zmiany stopnia utlenienia. [13]. Jony miedzi(II) odgrywają istotną rolę w układach biologicznych, przez co cieszą się ogromnym zainteresowaniem w obszarze badań chemii bionieorganiczej i biomedycyny. Dlatego też miedź była przedmiotem moich badań zmierzających do określenia właściwości

chelatujących i aktywności biologicznej wybranych flawonoidów i ich syntetycznych analogów.

Grupą związków, wzbudzającą zainteresowanie naukowców są syntetyczne analogi naturalnych flawonoidów. Obiektem intensywnych badań w ostatnich latach stały się zasady Schiffa niektórych flawonów [14-18].

W chemii koordynacyjnej zasady Schiffa są często używane, jako ligandy chelatujące. Wykazano, że powstałe kompleksy charakteryzują się zwiększoną aktywnością biologiczną [19, 20]. Zasady Schiffa stanowią ważną grupę związków w dziedzinie medycyny oraz farmacji. Zarówno zasady Schiffa, jak i ich kompleksy z metalami są wykorzystywane, jako związki modelowe do poznania struktur biomolekuł oraz zrozumienia wielu procesów biologicznych.

W niniejszej pracy obiektami badań były fizetyna i syntetyczna pochodna hesperetyny (hydrazonowa zasada Schiffa hesperetyny, HHSB) oraz ich chelatowe połączenia z jonami Cu(II). Wybór takich obiektów miał na celu porównanie właściwości zarówno fizykochemicznych jak i biologicznych flawonoidów i ich syntetycznych pochodnych zawierających grupę azometinową otrzymanych w reakcji kondensacji pierwszorzędowych amin z grupą ketonową flawonoidu.

Fizetyna (3,3',4',7-tetrahydroksyflawon) należy do naturalnie występujących, bioaktywnych związków flawonoidowych. Fizetyna posiada szerokie spektrum właściwości biologicznych oraz zastosowań terapeutycznych [21]. Z kolei, hesperetyna to jeden z flawonoidów należący do klasy związków, flawanonów, wykazuje właściwości antyoksydacyjne [22, 23] i przeciwnowotworowe [24, 25]. Aktywność farmakologiczna hesperetyny jest związana z jej oddziaływaniem z białkami lub innymi biomolekułami, wpływem na ich strukturę oraz funkcje [26, 27]. Ponadto wykazano, że koordynacja jonów miedzi (II) może zwiększyć biologiczną aktywność, na przykład kompleksy Cu(II) z hesperetyną wykazują wyższe właściwości inhibitujące wobec linii komórkowych SGC-7901 i HepG2 niż wolny ligand [28].

Zrozumienie procesów kompleksowania flawonoidów i ich pochodnych jest istotne dla wyjaśnienia biologicznej roli jonów metali oraz znaczenia *tych obiecujących* pod względem *medycznym związków*. Do tej pory nie zostały udokumentowane w literaturze naukowej badania dotyczące reakcji równowagowych tworzenia różnych form kompleksów w układach: Cu(II)-fizetyna i Cu(II)-hesperetynowa zasada Schiffa zachodzących w roztworach oraz badania dotyczące ich struktury. Badania w roztworze są niezbędne, ponieważ substancje biologicznie czynne działają w przestrzeniach komórkowych o różnej zawartości wody, a

zatem informacje o właściwościach kwasowo-zasadowych, sposobie koordynacji jonów metali, dają wyobrażenie jakie formy chemiczne biomolekuł mogą uczestniczyć w procesach biochemicznych zachodzących w komórkach. Pełną charakterystykę stechiometrii utworzonych kompleksów, zakresu ich występowania oraz otoczenia donorowego sfery koordynacyjnej jonu Cu(II) uzyskano dzięki zastosowaniu różnych metod badawczych: miareczkowania potencjometrycznego, spektroskopii UV-Vis, EPR, NMR, ESI MS i CD oraz analizy X-ray.

W swoich badaniach skupiłam się nie tylko na określeniu właściwości fizykochemicznych fizetyny, hydrazonej zasady Schiffa hespertyny oraz ich miedziowych chelatów ale również na określeniu ich właściwości biologicznych. Zbadałam właściwości antyoksydacyjne monitorując efektywność zmiatania wolnych rodników DPPH i ABTS.

Podjęłam próbę wyjaśnienia mechanizmu oddziaływań tych związków z CTDNA i plazmidowym DNA. Uzyskane, obiecujące wyniki zwłaszcza dla HHSB i jej miedziowego kompleksu CuHHSB skłoniły mnie do zbadania właściwości cytotoksycznych tych układów wobec wybranych linii komórek nowotworowych (HeLa (rak szyjki macicy) i K562 (białaczka)) oraz komórek HUVEC (ludzkie komórki śródbłonna żyły pępowinowej) jako klasycznego układu modelowego. Ponadto określiłam aktywność przeciwbakteryjną HHSB i CuHHSB wobec trzech szczepów bakterii Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae*: *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 8739 i dwóch szczepów bakterii Gram-dodatnich *S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* ATCC 19111.

Otrzymane przeze mnie wyniki mogą stanowić cenne źródło informacji w zakresie projektowania nowych związków chemicznych o potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym.