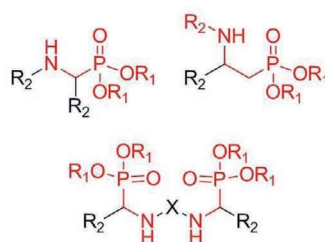


ALEKSANDRA TROCHA
DOROTA G. PIOTROWSKA
IWONA E. GŁOWACKA

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA AMINOFOSFONIANÓW – NAJNOWSZE OSIĄGNIĘCIA



R₁ = H, Alk, Ph
R₂ = sfunkcjonalizowany łańcuch
alkilowy/pierścień aromatyczny/heterocykliczny
X = sfunkcjonalizowany łańcuch alkilowy/pierścień
aromatyczny

- aktywność przeciwutleniająca
- aktywność przeciwnowotworowa
- aktywność przeciwbakteryjna
- aktywność przeciwgrzybicza
- aktywność przeciwzapalna
- inhibitory cholinoesterazy

ALEKSANDRA TROCHA* ,
DOROTA G. PIOTROWSKA ,
IWONA E. GŁOWACKA 

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA AMINOFOSFONIANÓW – NAJNOWSZE OSIĄGNIĘCIA

BIOLOGICAL ACTIVITY
OF AMINOPHOSPHONATES –
RECENT ADVANCES

Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

* aleksandra.trocha@umed.lodz.pl

Seria monografii naukowych dotyczących zagadnień z zakresu dyscyplin nauk farmaceutycznych, nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Wydawnictwo recenzowane i punktowane na zasadach zgodnych z Rozporządzeniem MNiSW z dnia 22 lutego 2019 r. w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej (Dz.U. 2019 poz. 392 z późn. zm.).

RADA NAUKOWA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni – Redaktor naczelna
prof. dr hab. Monika Łukomska-Szymańska – Zastępca redaktor naczelnej
prof. dr hab. Iwona Cygankiewicz
dr hab. Małgorzata Pikała, prof. uczelni

REDAKTOR PROWADZĄCA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni

REDAKCJA JĘZYKOWA

Magdalena Kokosińska

KOREKTA

Magdalena Kokosińska

OPRACOWANIE GRAFICZNE

Tomasz Przybył

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA AMINOFOSFONIANÓW – NAJNOWSZE OSIĄGNIĘCIA

Łódź 2023

WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI

<http://wydawnictwo.umed.pl/>

[e-mail: editorial@reports.umed.pl](mailto:editorial@reports.umed.pl)

Unikatowy identyfikator Wydawnictwa: 60000

(Komunikat Ministra Edukacji i Nauki z dnia 22 lipca 2021 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe)

ISBN 978-83-67198-33-2

WYDANIE PIERWSZE



© 2023. Pewne prawa zastrzeżone na rzecz autorów. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.pl>).

Licencjodawca: Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zezwala się na wykorzystanie treści monografii zgodnie z licencją – pod warunkiem zachowania niniejszej informacji licencyjnej oraz wskazania autorów jako właścicieli praw do tekstu.

Streszczenie: Otrzymywanie kwasów aminofosfonowych i ich pochodnych stanowi ważny kierunek badań w chemii medycznej. Ze względu na strukturalne podobieństwo do naturalnie występujących aminokwasów aminofosfoniany uznawane są za ich bioizostery. Dodatkowymi zaletami są niska toksyczność, wysoka lipofilowość oraz trwałość wiązania C–P. Na przestrzeni lat dowiedziono, że aminofosfoniany wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej, m.in. przeciwnowotworowej, przeciwdrobnoustrojowej, przeciwwirusowej, przeciwutleniającej czy hamującej działanie różnych enzymów. Do najbardziej rozpowszechnionych fosfonianowych analogów aminokwasów zaliczają się między innymi kwas 3-aminopropylofosfonowy (3-APPA), kwas L-2-amino-4-fosfonobutanowy (L-AP4) czy kwas 3-amino-2-(4-chlorofenyl)propylofosfonowy (faklofen). Duże znaczenie mają również fosfonopeptydy o krótkich łańcuchach węglowych, np. alafosfalina i dehydrofos. Zróżnicowana aktywność biologiczna aminofosfonianów zachęca do syntezy nowych związków o potencjalnym zastosowaniu w medycynie. Z uwagi na duże zainteresowanie tego typu związkami w niniejszej monografii przedstawiono najnowsze osiągnięcia (lata 2013–2022) dotyczące aminofosfonianów wykazujących wyższą aktywność biologiczną w porównaniu z lekami referencyjnymi. Zdecydowana większość opisanych w pracy związków to α -aminofosfoniany, jednak przytoczono również kilka przykładów biologicznie czynnych α -aminodifosfonianów oraz β -aminofosfonianów. Liczną grupę związków stanowią aminofosfoniany o działaniu antyproliferacyjnym. Wśród nich należy wyróżnić pochodne posiadające w swojej strukturze farmakofory o udokumentowanej aktywności biologicznej, np. fragment reiny, diacereiny, kwasu azjatykowego, irynotekanu czy kamptotecyny. Ponadto α -aminofosfoniany, jak również α -aminodifosfoniany sfunkcjonalizowane pierścieniem aromatycznym albo heteroaromatycznym, wykazują aktywność przeciwutleniającą potwierdzoną badaniami *in vitro* z wykorzystaniem różnych metod. Opisano przykłady związków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz hamującej działanie różnych enzymów, w tym acetylocholinoesterazy, COX-1, COX-2 czy tyrozynazy.

Słowa kluczowe: aminofosfoniany, aktywność biologiczna, przeciwutleniacze, cytostatyki, inhibitory

Abstract: The preparation of aminophosphonates and their derivatives is an important research topic in medicinal chemistry. Due to their structural similarity to naturally occurring amino acids, aminophosphonates are considered to be the bioisosteres of amino acids. Moreover, the advantages of aminophosphonates include low toxicity, high lipophilicity, and durability of C–P bond. Over the years, a broad spectrum of activity for aminophosphonates has been proven, including anticancer, antimicrobial, antiviral, antioxidant properties, or inhibitory activity toward various enzymes. Among the most well-known phosphonate analogues of amino acids, 3-aminopropylphosphonic acid (3-APPA), L-2-amino-4-phosphonobutyric acid (L-AP4), and 3-amino-(4-chlorophenyl)propylphosphonic acid (faclofen) need to be mentioned. Phosphonopeptides with short carbon chains, e.g. alaphosphalin and dehydrofos, are of great importance. The observed various biological activity of aminophosphonates prompted the synthesis of new compounds with potential applications in medicine. Due to the great interest in this type of compounds, herein the latest achievements (2013–2022) regarding aminophosphonates with higher biological activity when compared to reference drugs are presented. The vast majority of the described compounds include α -aminophosphonates, however, a few examples of biologically active α -aminodiphosphonates and β -aminophosphonates are also presented. Aminophosphonates with antiproliferative potency belong to a large group of compounds. Among them, derivatives having in their structure pharmacophores with well-documented biological activity should be distinguished, e.g. rhein, diacerein, asiatic acid, irinotecan, and camptothecin unit. α -Aminophosphonates and α -aminodiphosphonates functionalised with aromatic or heteroaromatic rings have also exhibited antioxidant activity confirmed by *in vitro* studies using various methods. Compounds having antimicrobial properties as well as inhibitory activity toward various enzymes, including acetylcholinesterase, COX-1, COX-2, and tyrosinase, have been exemplified.

Keywords: aminophosphonates, biological activity, antioxidants, cytostatics, inhibitors

Wykaz skrótów

2-AEP – kwas 2-aminoetylofosfonowy

3-APPA – kwas 3-aminopropylfosfonowy

4-MU – 7-hydroksy-4-metylokumaryna

5-Fu – 5-fluorouracyl

A_{0,5} – stężenie związku, które powoduje zmniejszenie początkowej absorbancji próbki o 50%

A375 – linia komórkowa ludzkiego czerniaka złośliwego

A549 – linia komórkowa ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc

A549/CDDP – linia komórkowa ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc oporna na cisplatynę

AA – kwas azjatykowy

ABTS – 2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian) diamonu

ACE – konwertaza angiotensyny

Ach – acetylocholina

AChE – acetylocholinoesteraza

Alk – grupa alkilowa

ATP – adenosynotryfosforan

Bax – białko proapoptotyczne należące do rodziny białek BCL-2 (ang. *BCL-2-associated X protein*)

BCL-2 – rodzina białek apoptotycznych (ang. *B-cell leukemia/lymphoma-2*)

Bcl-2 – białko antyapoptotyczne należące do rodziny białek BCL-2

BEL-7404 – linia komórkowa raka wątrobowokomórkowego

BHA – butylohydroksyanizol

BHT – butylohydroksytoluen

Bn – grupa benzykowa

BuChE – butylocholinoesteraza

CA4 – kombretastatyna A4

CAS – miejsce aktywne katalitycznie acetylocholinoesterazy (ang. *catalytic active site*)

CDDP – cisplatyna; cis-diaminodichloroplatyna(II)

CNE – linia komórkowa ludzkiego raka nosogardzieli

COX – cyklooksygenaza prostaglandynowa

COX-1 – cyklooksygenaza 1

COX-2 – cyklooksygenaza 2

CPT – kamptotecyna

CRT – kalretikulina

CUPRAC – metoda oceny potencjału przeciwutleniającego oparta o redukcję kompleksu batokuproiny lub neokuproiny z jonami Cu²⁺

DHA – kwas dehydroabietynowy

DOX – doksorubicyna

DPPH – 2,2-difenyl-1-pikrylohydrazyl

DU-145 – linia komórkowa ludzkiego raka prostaty

Eca109 – linia komórkowa ludzkiego raka przełyku

Et – grupa etylowa

FRAP – metoda oceny potencjału przeciwutleniającego oparta o redukcję kompleksu żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny z jonami Fe³⁺

GA – kwas glicyretynowy
GABA – kwas γ -aminomasłowy
GI₅₀ – stężenie związku powodujące zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych w 50%
GPx – peroksydaza glutationowa
HCPT – 10-hydroksykamptotecyna
HCT-116 – linia komórkowa ludzkiego raka jelita grubego
HEK 293 – ludzkie komórki embrionalne nerki
HEK 293T – ludzkie komórki embrionalne nerki zawierające duży antygen T wirusa SV40
HeLa – linia komórkowa raka szyjki macicy
Hep3B – linia komórkowa ludzkiego raka wątrobowokomórkowego
HepG2 – linia komórkowa ludzkiego raka wątrobowokomórkowego
HFB4 – linia komórkowa ludzkich prawidłowych melanocytów
HL-60 – linia komórkowa ludzkiej białaczki
HL-7702 – prawidłowe ludzkie komórki wątroby
HMGB1 – białko wydzielane przez uszkodzone tkanki i stymulujące procesy zapalne (ang. *high mobility group box 1*)
HT-29 – linia komórkowa ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego
Huh7 – linia komórkowa raka wątrobowokomórkowego
HUVEC – ludzkie komórki śródbłonna żyły pępowinowej
i-Bu – grupa izobutylova
IC₅₀ – stężenie związku powodujące spadek początkowego stężenia rodnika/jonu/H₂O₂ o 50%; stężenie związku hamujące wzrost badanej populacji w 50%; stężenie związku powodujące zahamowanie aktywności enzymu w 50%
IGROVI – linia komórkowa ludzkiego raka jajnika
i-Pr – grupa izopropylowa
IS – indeks selektywności
K562 – linia komórkowa ludzkiej białaczki szpikowej
L02 – linia prawidłowych ludzkich komórek wątroby
L-AP4 – kwas L-2-amino-4-fosfonobutanowy
LD₅₀ – stężenie związku szacowane jako stężenie śmiertelne dla 50% organizmów użytych do badań
MBC – minimalne stężenie bakteriobójcze
MCF-10A – linia prawidłowych ludzkich komórek nabłonkowych sutka
MCF-7 – linia komórkowa estrogenozależnego gruczolakoraka piersi
MCF-7/DOX – linia komórkowa estrogenozależnego gruczolakoraka piersi oporna na doksorubicynę
MDA-MB-231 – linia komórkowa raka piersi z mutacją genu BRAC-1/2
MDA-MB-435 – linia komórkowa ludzkiego raka piersi
Me – grupa metylowa
MG-63 – linia komórkowa ludzkiego kostniakomięsaka
MGC-803 – linia komórkowa ludzkiego raka żołądka
Mia-PaCa-2 – linia komórkowa ludzkiego raka trzustki
MIC – minimalne stężenie hamujące
MIL – millepachina

MMP – metaloproteinazy macierzowe
MMP-2 – metaloproteinaza-2
MMP-9 – metaloproteinaza-9
MRSA – szczep gronkowca odporny na metycylinę
MV4-11 – linia komórkowa ludzkiej ostrej białaczki szpikowej
N2a – mysie komórki nerwiaka niedojrzałego
NCI-H460 – linia komórkowa ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc
NF-κB – jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B
NLPZ – niesteroidowe leki przeciwzapalne
NNGH – kwas *N*-izobutylo-*N*-[4-metoksyfenylosulfonylo]glicylohydroksamowy
OUN – ośrodkowy układ nerwowy
OVCAR-3 – linia komórkowa ludzkiego raka jajnika
PARP – polimeraza poli(ADP-rybozy)
PAS – peryferyjne miejsce anionowe acetylocholinoesterazy (ang. *peripheral anionic site*)
PC-3 – linia komórkowa ludzkiego raka prostaty
PPG – grupa propargilowa
RFT – reaktywne formy tlenu
RP – metoda oceny potencjału przeciwutleniającego oparta o redukcję $\text{Fe}[(\text{CN})_6]_3$ do $\text{Fe}[(\text{CN})_6]_2$
sec-Bu – grupa *sec*-butylowa
SK-BR-3 – linia komórkowa gruczolakoraka piersi z ekspresją receptorów HER2
SKOV-3 – linia komórkowa ludzkiego raka jajnika
SKOV-3/CDDP – linia komórkowa ludzkiego raka jajnika oporna na cisplatynę
SOD – dysmutaza ponadtlenkowa
Spc-a-2 – linia komórkowa ludzkiego gruczolakoraka płuc
T24 – linia komórkowa ludzkiego raka pęcherza moczowego
TPTZ – kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-*S*-tiazyny
TROLOX – kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochromano-2-karboksylowy; pochodna witaminy E
U2OS – linia komórkowa ludzkiego kostniakomięsaka
U-973 – linia komórkowa ludzkiej białaczki
WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)
X – atom halogenu
ZOI – średnica strefy zahamowania wzrostu drobnoustrojów

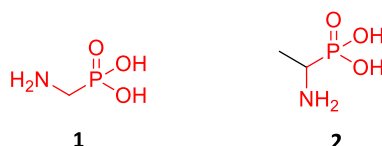
Spis treści

1. Wprowadzenie	10
2. Aminofosfoniany wykazujące aktywność przeciwutleniającą.....	11
3. Aminofosfoniany wykazujące aktywność przeciwnowotworową.....	16
3.1. Modyfikacja struktur cząsteczek biologicznie czynnych poprzez wprowadzenie ugrupowania α -aminofosfonianowego	16
3.2. Inne aminofosfoniany wykazujące aktywność przeciwnowotworową	26
4. Aminofosfoniany o działaniu przeciwdrobnoustrojowym	38
4.1. Aminofosfoniany o aktywności przeciwbakteryjnej.....	38
4.2. Aminofosfoniany o aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej.....	43
4.3. Aminofosfoniany o aktywności przeciwgrzybiczej	45
5. Inna aktywność.....	45
5.1. Inhibitory acetylocholinoesterazy (AChE)	45
5.2. Aminofosfoniany o aktywności przeciwzapalnej	47
5.3. Inne inhibitory	49
6. Podsumowanie.....	50
Bibliografia	51

1. Wprowadzenie

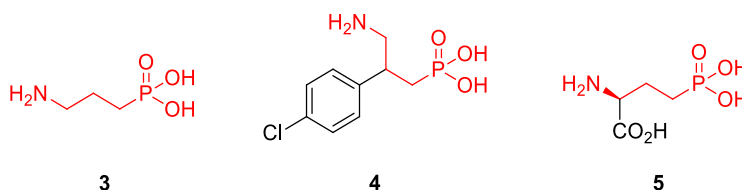
Duże zainteresowanie aminofosfonianami wynika niewątpliwie z ich strukturalnego podobieństwa do naturalnie występujących aminokwasów. Zbliżona budowa tych związków powoduje, że aminofosfoniany mogą z powodzeniem wiązać się z centrum aktywnym receptora bądź enzymu (Mucha i in., 2011). Do zalet fosfonianowych analogów aminokwasów zalicza się także ich wysoką lipofilowość, niską toksyczność oraz trwałość wiązania węgiel-fosfor (C–P) w warunkach hydrolizy kwasowej, zasadowej czy enzymatycznej (Horsman i Zechel, 2017). Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe aspekty, projektowanie oraz synteza tego typu układów jest ważnym kierunkiem badań w chemii medycznej.

Pierwsze doniesienia literaturowe dotyczące aminofosfonianów datowane są na rok 1943, kiedy to opisano syntezę kwasu aminometylofosfonowego **1** (Ryc. 1) (Pikl, 1943; Kukhar i Hudson, 2000). Jednakże rozwój badań nad tą klasą związków nastąpił dopiero w 1959 roku po wyizolowaniu kwasu 2-aminoetylofosfonowego **2** (2-AEP, ciliatyna, Ryc. 1) z *Ciliate protozoa* (Horiguchi i Kandatstu, 1959).



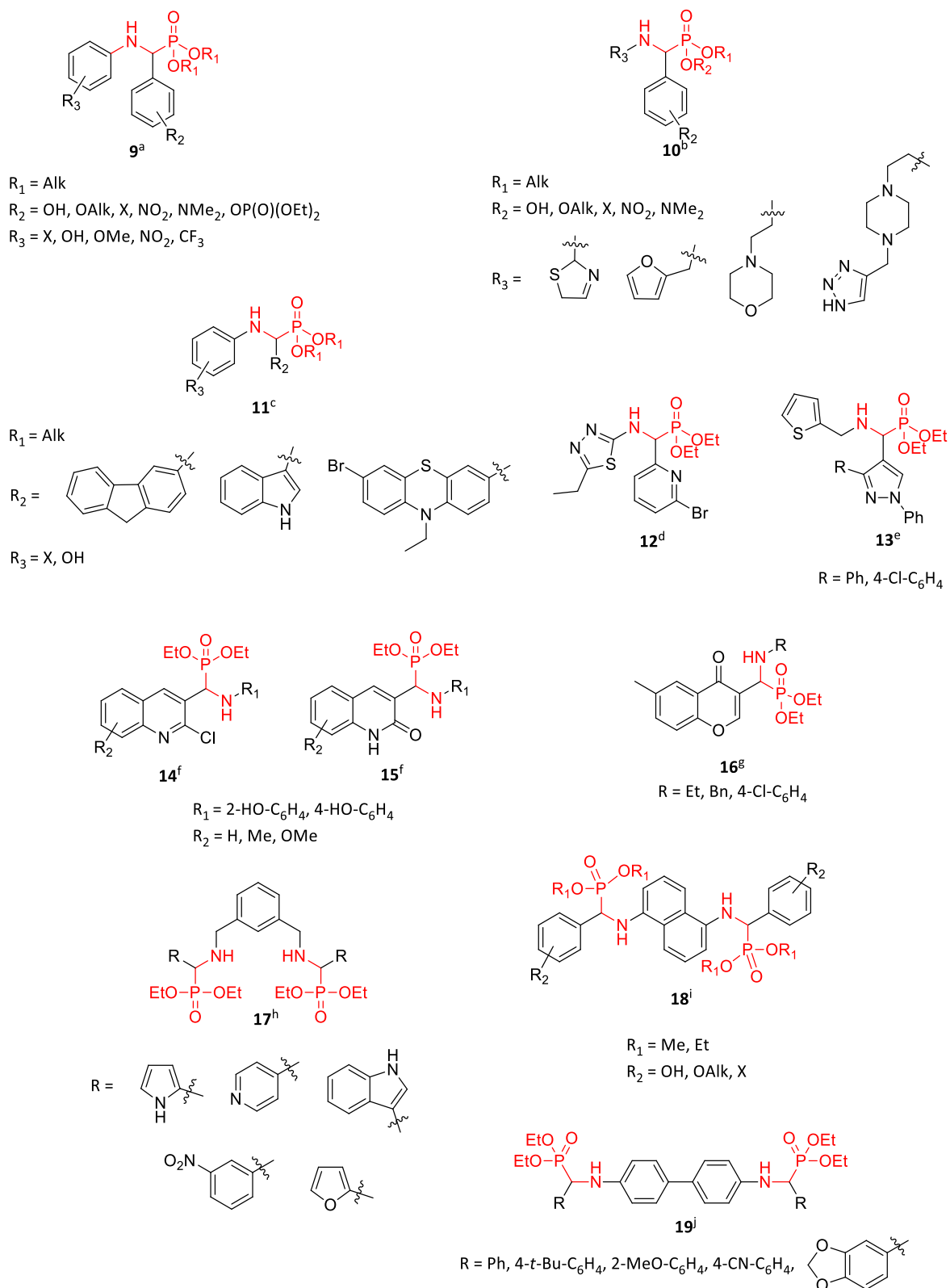
Rycina 1. Struktury kwasu aminometylofosfonowego **1** oraz kwasu 2-aminoetylofosfonowego **2**.

Zainteresowanie kwasami aminofosfonowymi i aminofosfonianami zaowocowało w kolejnych latach opublikowaniem wielu prac na temat ich syntezy i aktywności biologicznej. Dowiedziono, że związki te posiadają właściwości m.in. przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwirusowe, przeciwutleniające, a także stosowane są jako inhibitory różnych enzymów (Lejczak i Kafarski, 2009; Mucha i in., 2011; Naydenova i in., 2010; Orsini i in., 2010). Wśród szerokiej gamy aminofosfonianów wykazujących aktywność biologiczną na szczególną uwagę zasługują analogi powszechnie znanych neuroprzekaźników centralnego układu nerwowego (OUN) – kwasu γ -aminomastłowego (GABA) i kwasu glutaminowego. Kwas 3-aminopropylfosfonowy (3-APPA) **3** jest agonistą receptora GABA_B (Vigot i Batini, 1999), podczas gdy faklofen **4** działa jako jego antagonist (Ryc. 2) (Kerr i in., 1987). Kwas L-2-amino-4-fosfonobutanowy (L-AP4) **5** (Ryc. 2) wykazuje natomiast selektywną aktywność agonistyczną w stosunku do III grupy metabotropowych receptorów glutaminergicznych (Ma, 1999).



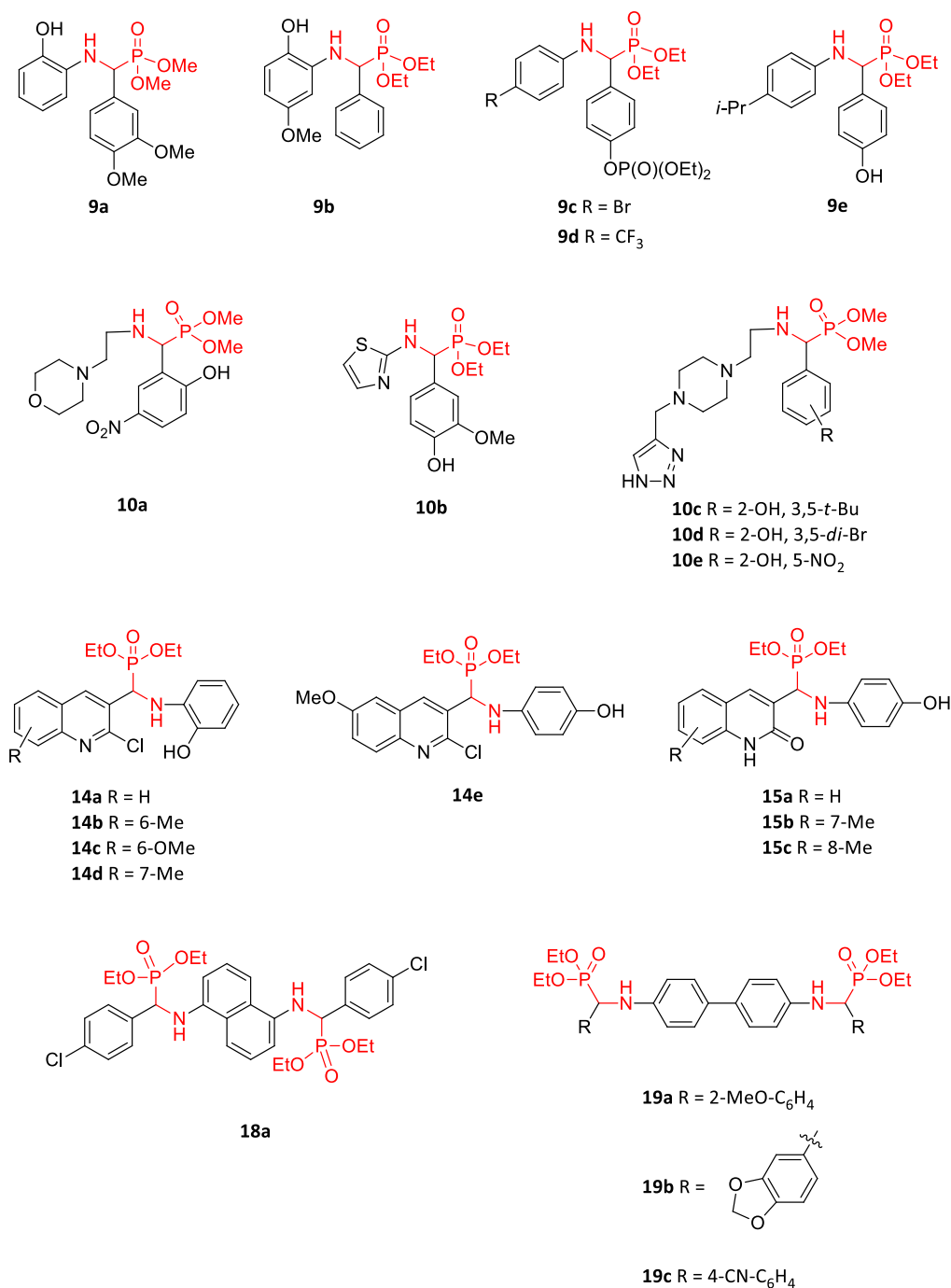
Rycina 2. Struktury 3-APPA **3**, faklofenu **4** i L-AP4 **5**.

Ważną grupą związków są także fosfonopeptydy o krótkich łańcuchach węglowych, do których należą m.in. alafosfalina **6** (Ryc. 3), wykazująca działanie podobne do penicyliny, czy cyklosepiny (Allen i in., 1978; Maruyama i in., 1979), dehydrofos **7** stosowany w leczeniu zakażeń *Salmonellą* (Johnson i in., 1984) oraz naturalnie występujący fosfotripeptyd K-26 **8** będący silnym inhibitorem konwertazy angiotensyny (ACE) (Ryc. 3) (Ntai i Bachmann, 2008).



Rycina 4. Ogólne struktury α -aminofosfonianów **9-16** oraz α -aminodifosfonianów **17-19** (a – Aissa i in., 2022; Reddy i in., 2014; Shaikh i in., 2016; Shashikumar i in., 2013; Sreelakshmi i in., 2018; Sudileti i in., 2019a; Tekale i in., 2014; Tellamekala i in., 2019; Zaout i in., 2021); b – Kandula i in., 2021; Nadiveedhi i in., 2021; Reddy i in., 2016; Sudileti i in., 2019b); c – An i in., 2019; Tekale i in., 2014); d – Gundluru i in., 2016); e – Shaikh i in., 2020a); f – Bazine i in., 2020); g – Ali i in., 2013); h – Rao i in., 2015); i – Sadik i in., 2019); j – Aissa i in., 2021).

Analizując budowę związków **9–19** (Ryc. 4), można zauważyć, że wszystkie posiadają w swej strukturze pierścienie aromatyczne lub heteroaromatyczne, które w wielu przypadkach są sfunkcjonalizowane grupami hydroksylowymi, alkoksyłowymi, nitrowymi czy atomami halogenów. Spośród szerokiej gamy związków (Ryc. 4) wyselekcjonowano pochodne **9a–e–14a–e**, **15a–c**, **18a** oraz **19a–c** (Ryc. 5), wykazujące najwyższą aktywność przeciwutleniającą w porównaniu z zastosowanym w danym teście wzorcem (Aissa i in., 2021; Aissa i in., 2022; Bazine i in., 2020; Kandula i in., 2021; Reddy i in., 2016; Sadik i in., 2019; Sreelakshmi i in., 2018; Sudileti i in., 2019b; Tekale i in., 2014; Zaout i in., 2021).



Rycina 5. Struktury związków **9a–e–14a–e**, **15a–c**, **18a** oraz **19a–c** wykazujących najwyższą aktywność przeciwutleniającą (**9a** – Sreelakshmi i in., 2018; **9b** – Zaout i in., 2021; **9c–d** – Aissa i in., 2022; **9e** – Tekale i in., 2014; **10a** – Reddy i in., 2016; **10b** – Sudileti i in., 2019b; **10c–e** – Kandula i in., 2021; **14a–e**, **15a–c** – Bazine i in., 2020; **18a** – Sadik i in., 2019; **19a–c** – Aissa i in., 2021).

Metodą *in vitro* najczęściej wykorzystywaną przy ocenie potencjału przeciwutleniającego związków jest metoda DPPH. Technika ta polega na badaniu zdolności określonej substancji do neutralizacji syntetycznego rodnika – 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH) (Gulcin, 2020). W tabeli 1 zostały przedstawione wartości parametru IC₅₀ (stężenie związku powodujące spadek początkowego stężenia rodnika DPPH o 50%), wyznaczone dla α-aminofosfonianów wykazujących znacznie wyższą aktywność antyoksydacyjną w porównaniu ze standardowymi przeciwutleniaczami – kwasem askorbinowym, butylohydroksytoluenem (BHT) oraz butylohydroksyanizolem (BHA). Na szczególną uwagę zasługuje pochodna **14e** (Ryc. 5), której aktywność przeciwutleniająca była odpowiednio 15- i 44-krotnie wyższa niż dla BHT i BHA (Bazine i in., 2020).

Tabela 1. Aktywność przeciwutleniająca α-aminofosfonianów **9a-b**, **10a-e**, **14e** oraz **15a** i **15c** względem rodnika DPPH (9a – Sreelakshmi i in., 2018; 9b – Zaout i in., 2021; 10a – Reddy i in., 2016; 10c-e – Kandula i in., 2021; 14e, 15a,c – Bazine i in., 2020).

Numer związku	IC ₅₀ [µg/ml]/[µM]	
	Badany związek	Wzorzec
9a	25,5 µg/ml	43,2 µg/ml (kwas askorbinowy)
9b	2,06±0,01 µg/ml	22,32±1,19 µg/ml (BHT)
		5,73±0,41 µg/ml (BHA)
10a	25,9±1,28 µg/ml	42,3±1,28 µg/ml (BHT)
10c	50,1±0,02 µg/ml	
10d	50,6±0,06 µg/ml	202,4±0,02 µg/ml (BHT)
10e	53,4±0,06 µg/ml	
14e	2,01±0,02 µM	29,72±0,59 µM(BHT)
15a	8,15±0,18 µM	87,32±0,47 µM(BHA)
15c	5,64±0,01 µM	

Innym stabilnym rodnikiem, który jest wykorzystywany do określenia potencjału antyoksydacyjnego związków, jest rodnik galwinoksyłowy (Shi i in., 2001). Najlepszą zdolność jego wygaszania wykazywały α-aminofosfoniany **14e** oraz **15b** (Ryc. 5), wartości stężenia powodującego zmniejszenie początkowej absorpcji badanej próbki o 50% (A_{0,5}) wynosiły 3,74±0,03 dla **14e** oraz 4,73±0,08 dla **15b**, podczas gdy dla BHT i BHA wartości parametru A_{0,5} wynosiły odpowiednio 15,06±0,18 i 29,84±0,06 µM (Bazine i in., 2020). Często stosuje się także metodę ABTS, która polega na ocenie zdolności badanego związku do neutralizacji kationorodnika generowanego z 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu diamonu) (ABTS) (Re i in., 1999). W tym wypadku najwyższą aktywność wykazywały pochodne **14e** i **15c**, dla których wartości stężeń powodujących spadek początkowego stężenia kationorodnika o 50% (IC₅₀) wynosiły odpowiednio 2,61±0,56 i 3,29±0,03 µM, dla porównania dla BHT było to 5,35±0,1 µM, a dla BHA – 13,31±0,03 µM (Bazine i in., 2020).

Potencjał przeciwutleniający związków można również określić poprzez badanie ich zdolności do zmiatania reaktywnych form tlenu. Aktywność α-aminofosfonianu **9e** (Ryc. 5) wyrażona jako stopień zmiatania rodnika hydroksylowego w procentach (% inhibicji) była 4-krotnie wyższa (% inhibicji = 81,82±2,53) niż w przypadku standardowo stosowanej witaminy C (% inhibicji = 20,63±2,53) (Tekale i in., 2014). Natomiast najwyższą zdolność neutralizacji nadtlenu wodoru będącego prekursorem rodnika hydroksylowego wykazywały związki **9a**, **10d**, **10e** i **18a** (Ryc. 5). Wyznaczone wartości parametru IC₅₀ (stężenie związku powodujące spadek początkowego stężenia H₂O₂ o 50%) w każdym przypadku były niższe od wartości wyznaczonych dla standardowych przeciwutleniaczy – kwasu askorbinowego i BHT: **9a** (IC₅₀ = 80,5 µg/ml) vs. kwas askorbinowy (IC₅₀ = 151,3 µg/ml) (Sreelakshmi i in., 2018), **10d** (IC₅₀ = 75,4±0,03 µM), **10e** (IC₅₀ = 89,2±0,05 µM) vs. BHT (IC₅₀ = 231±0,04 µM) (Kandula i in., 2021) oraz **18a** (IC₅₀ = 19,11 µg/ml) vs. kwas askorbinowy (IC₅₀ = 43,10 µg/ml) (Sadik i in., 2019).

Szeroko rozpowszechnione są także techniki wykorzystujące reakcje redukcji jonów metali. Ocenę zdolności redukowania jonów Fe³⁺ do Fe²⁺ można przeprowadzić przy zastosowaniu metody RP (*ang. reducing power*), która polega na redukcji kompleksu Fe[(CN)₆]₃ do Fe[(CN)₆]₂ (Jayapra-

kasha i in., 2001), metody FRAP (*ang. ferric reducing antioxidant power assay*) opartej o redukcję kompleksu 2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny (TPTZ) z jonami Fe³⁺ (Benzie i Strain, 1996) oraz za pomocą testu z 1,10-fenantroliną (Szydłowska-Czerniak i in., 2008). W tabeli 2 zestawiono wartości parametrów IC₅₀ (stężenie związku powodujące spadek początkowego stężenia Fe³⁺ o 50%) oraz A_{0,5} wyznaczone dla związków posiadających najwyższą zdolność redukcji jonów Fe³⁺ ocenioną przy zastosowaniu wyżej wymienionych metod (Aissa i in., 2021; Aissa i in., 2022; Bazine i in., 2020; Sudileti i in., 2019b; Zaout i in., 2021).

Tabela 2. Aktywność przeciwutleniająca α-aminofosfonianów **9b-d**, **10b**, **14a-d** oraz **19a** i **19c** oceniona w testach RP, FRAP i z 1,10-fenantroliną (9b – Zaout i in., 2021; 9c-d – Aissa i in., 2022; 10b – Sudileti i in., 2019b; 14a-d – Bazine i in., 2020; 19a,c – Aissa i in., 2021).

Numer związku	RP	FRAP	Test z 1,10-fenantroliną
9b	A _{0,5} = 4,84±0,75 µg/ml		
BHT	A _{0,5} = >50 µg/ml	–	–
BHA	A _{0,5} = 8,41±0,67 µg/ml		
14b	A _{0,5} = 14,32±0,06 µM		
14c	A _{0,5} = 13,30±0,18 µM		
14d	A _{0,5} = 13,06±0,04 µM	–	–
BHT	A _{0,5} = 40,70±3,94 µM		
BHA	A _{0,5} = 29,68±0,71 µM		
10b	–	IC ₅₀ = 25,44±1,14 µg/ml	–
Kwas askorbinowy		IC ₅₀ = 51,02±1,66 µg/ml	
9c			A _{0,5} = 0,9±0,038 µg/ml
9d			A _{0,5} = 0,066±0,02 µg/ml
Trolox	–	–	A _{0,5} = 5,21±0,027 µg/ml
Kwas askorbinowy			A _{0,5} = 3,08±0,02 µg/ml
14a			A _{0,5} = 1,99±0,20 µM
14c			A _{0,5} = 1,84±0,81 µM
BHT	–	–	A _{0,5} = 10,16±0,17 µM
BHA			A _{0,5} = 5,15±0,07 µM
19a			A _{0,5} = 1,14±0,26 µg/ml
19c			A _{0,5} = 1,22±0,19 µg/ml
Trolox	–	–	A _{0,5} = 5,21±0,27 µg/ml
Kwas askorbinowy			A _{0,5} = 3,08±0,02 µg/ml

Z kolei technika CUPRAC (*ang. cupric ion reducing antioxidant capacity*) oparta jest na redukcji jonów Cu²⁺ do Cu⁺ i polega na spektrofotometrycznym pomiarze absorpcji kompleksu jonów Cu⁺ z batokuproiną (2,9-dimetylo-4,7-difenylo-1,10-fenantrolina) lub neokuproiną (2,9-dimetylo-1,10-fenantrolina) (Apak i in., 2006). Najwyższy potencjał antyoksydacyjny wykazywały α-aminofosfoniany **14e** i **15c** (A_{0,5} = 1,86±0,01; 2,37±0,03 µM odpowiednio dla **14e**, **15c** oraz 43,65±0,87 i 20,19±0,19 µM odpowiednio dla BHT i BHA) (Bazine i in., 2020) oraz α-aminodifosfonian **19b** (A_{0,5} = 3,17±0,93 µg/ml dla **19b** oraz A_{0,5} = 8,69±0,14 i 8,31±0,15 µg/ml odpowiednio dla Troloxu i kwasu askorbionowego) (Aissa i in., 2021).

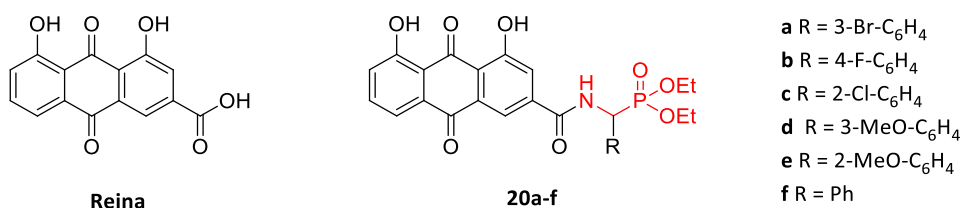
Zastosowanie znalazła także metoda polegająca na oznaczaniu całkowitego potencjału przeciwutleniającego w sprzężonym układzie β-karotenu z kwasem linolowym (Marco, 1968). Najwyższą aktywność antyoksydacyjną wykazywały związki **14b** i **14e**, dla których wartość parametru A_{0,5} wynosiła odpowiednio 2,37±0,02 i 1,88±0,11 µM, podczas gdy dla BHT i BHA były to wartości odpowiednio 5,62±0,00 i 6,99±0,00 µM (Bazine i in., 2020).

3. Aminofosfoniany wykazujące aktywność przeciwnowotworową

Choroby nowotworowe stanowią jedną z głównych przyczyn zgonów na całym świecie (Bray i in., 2018). Jak podaje Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), w 2020 roku odnotowano 19,3 miliona nowych zachorowań, z czego blisko 10 milionów to przypadki śmiertelne (Ferlay i in., 2021). Terapia chorób nowotworowych obejmuje najczęściej zarówno leczenie chirurgiczne, jak i chemioterapię. Podstawowym problemem współczesnej medycyny jest jednak nieznanostwo mechanizmów przyczyniających się do powstawania nowotworów, co w znacznym stopniu ogranicza możliwość projektowania skutecznych leków. Pomimo tego w wielu ośrodkach naukowych nieustannie trwają badania koncentrujące się na poszukiwaniu nowych związków o wyższej aktywności antyproliferacyjnej oraz szerokim profilem bezpieczeństwa.

3.1. Modyfikacja struktur cząsteczek biologicznie czynnych poprzez wprowadzenie ugrupowania α -aminofosfonianowego

Reina (Ryc. 6) jest naturalnie występującą pochodną antrachinonu i posiada szeroki zakres aktywności biologicznej, m.in. przeciwzapalnej, przeciwutleniającej, przeciwdrobnoustrojowej oraz przeciwnowotworowej (Zhou i in., 2015). W serii α -aminofosfonianów opartych na strukturze reiny (Yao i in., 2014) najlepszą aktywność przeciwnowotworową wykazywały związki **20a-f** (Ryc. 6).



Rycina 6. Struktury reiny oraz związków **20a-f**.

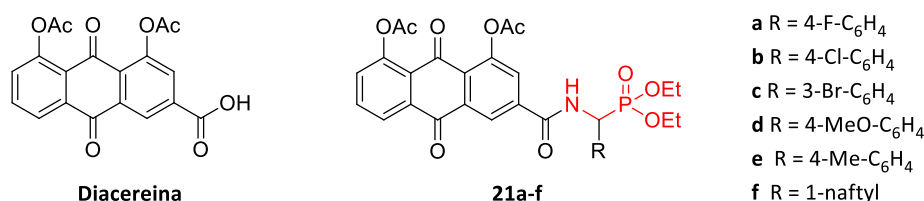
Spośród przedstawionych α -aminofosfonianów **20a-f** najlepszą aktywność przeciwnowotworową względem wszystkich pięciu badanych linii komórkowych – ludzkiego raka wątrobowokomórkowego (HepG2), ludzkiego raka nosogardzieli (CNE), ludzkiego gruczolakoraka płuc (Spca-2), raka szyjki macicy (HeLa) oraz ludzkiego raka jelita grubego (HCT-116) – wykazywał związek **20d**. W każdym przypadku wyznaczone wartości parametru IC₅₀, zdefiniowanego jako stężenie badanej substancji hamujące wzrost badanej populacji w 50%, były niższe niż dla 5-fluorouracylu (5-Fu) (Tabela 3). Warte uwagi jest także pochodna **20e**, która działała lepiej niż 5-fluorouracyl wobec linii CNE, Spca-2 oraz HeLa. Dowiedziono, że wszystkie otrzymane aminofosfoniany nie były cytotoksyczne względem prawidłowych ludzkich komórek śródbłonna żyły pępowinowej (HUVEC).

Tabela 3. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków **20a-f**.

Numer związku	IC ₅₀ [μM]				
	HepG2	CNE	Spca-2	HeLa	HCT-116
20a	62,37±2,17	40,12±3,14	75,36±4,89	78,23±6,32	40,18±3,56
20b	59,38±4,29	34,57±2,31	24,31±2,17	95,36±4,56	57,82±4,56
20c	39,19±1,02	67,98±5,71	28,27±2,14	35,23±2,23	48,20±2,34
20d	22,08±1,30	24,14±1,28	28,27±3,44	19,34±1,58	5,32±0,75
20e	30,01±2,31	28,56±1,87	14,97±3,26	25,64±2,59	8,37±0,88
20f	39,25±2,09	34,28±2,97	27,36±1,89	38,19±2,57	17,79±1,23
5-Fu	29,98±0,37	40,21±1,98	42,20±2,14	35,34±2,72	5,78±0,85

Dalsze badania przeprowadzone dla pochodnej **20d** wyraźnie dowiodły, że mechanizm działania polegał na indukowaniu apoptozy komórek linii HCT-116 poprzez zatrzymywanie ich wzrostu w fazie G1. Wpływ związku **20d** na aktywację ekspresji kaspaz wskazywał, że szlak apoptozy może przebiegać z udziałem receptora programowanej śmierci znajdującego się w błonie komórkowej (Yao i in., 2014).

Diacereina (Ryc. 7) jest pochodną reiny (Ryc. 6), stosowaną przede wszystkim w leczeniu choroby zwyrodnieniowej stawów (Pavelka i in., 2016). Modyfikacja jej struktury polegająca na wprowadzeniu ugrupowania α -aminofosfonianowego doprowadziła do otrzymania serii pochodnych (Qin i in., 2014), które przebadano pod kątem aktywności cytostatycznej wobec komórek linii HepG2, CNE, Spca-2 i HCT-116.



Rycina 7. Struktury diacereiny oraz związków **21a-f**.

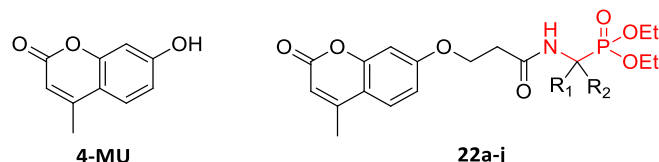
Wartości IC₅₀ wyznaczone dla pochodnych **21a-f** (Ryc. 7) wykazujących najlepsze działanie przeciwnowotworowe spośród całej serii związków zebrane zostały w tabeli 4.

Tabela 4. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków **21a-f**.

Numer związku	IC ₅₀ [μM]	
	HepG2	CNE
21a	13,65±1,05	18,45±2,04
21b	32,31±2,58	25,69±2,36
21c	55,90±3,37	24,43±2,56
21d	56,86±2,68	37,07±2,80
21e	22,93±1,34	19,19±0,89
21f	19,68±2,01	23,58±1,32
5-Fu	20,30±2,42	>50

Najlepszą aktywność antyproliferacyjną względem linii komórkowej CNE, lepszą niż szeroko stosowany 5-fluorouracyl, wykazywały związki **21a-f**, natomiast wobec linii HepG2 pochodne – **21a** i **21f**. Co więcej, żaden z badanych związków nie był cytotoksyczny względem prawidłowych komórek (Qin i in., 2014). Udowodniono ponadto, że mechanizm działania antyproliferacyjnego pochodnej **21e** był taki sam jak dla związku **20d** (Ryc. 6) (Yao i in., 2014).

Kolejną ważną grupę związków o aktywności przeciwnowotworowej stanowią pochodne kumaryny, zarówno te pozyskiwane z surowców naturalnych, jak i pochodzenia syntetycznego (Borges i in., 2005; Venugopala i in., 2013). Wprowadzenie ugrupowania α -aminofosfonianowego do struktury 7-hydroksy-4-metylokumaryny (**4-MU**, Ryc. 8) miało na celu poprawę aktywności przeciwnowotworowej poprzez zwiększenie powinowactwa do DNA. Na rycinie 8 przedstawiono związki **22a-d** wykazujące wyższą niż 5-Fu aktywność antyproliferacyjną wobec badanych linii komórkowych – linii komórek ludzkiego raka żołądka (MGC-803), raka nosogardzieli¹ (KB) i HCT-116 (Li i in., 2015).



a $R_1 = H$, $R_2 = 3\text{-Br-C}_6\text{H}_4$; b $R_1 = H$, $R_2 = 2\text{-MeO-C}_6\text{H}_4$; c $R_1 = H$, $R_2 = 2\text{-naftyl}$;
d $R_1 = \text{Me}$, $R_2 = \text{Ph}$

Rycina 8. Struktury **4-MU** oraz związków **22a-d**.

Pochodna **22d** działała lepiej niż lek referencyjny wobec komórek wszystkich linii, natomiast związki **22a-c** wykazywały wyższą aktywność jedynie względem linii KB (Tabela 5). Ponadto przedstawione związki nie były cytotoksyczne względem prawidłowych komórek linii HUVEC.

Tabela 5. Wartości IC_{50} wyznaczone dla związku **22a-d**.

Numer związku	IC_{50} [μM]		
	MGC-803	KB	HCT-116
22a	74,16±3,36	0,50±2,68	25,75±1,21
22b	36,85±1,96	0,45±1,03	23,68±5,89
22c	41,47±2,86	0,79±1,70	38,90±0,04
22d	14,55±1,11	0,08±1,12	8,68±3,20
5-Fu	15,32±1,96	1,23±1,09	10,05±2,20

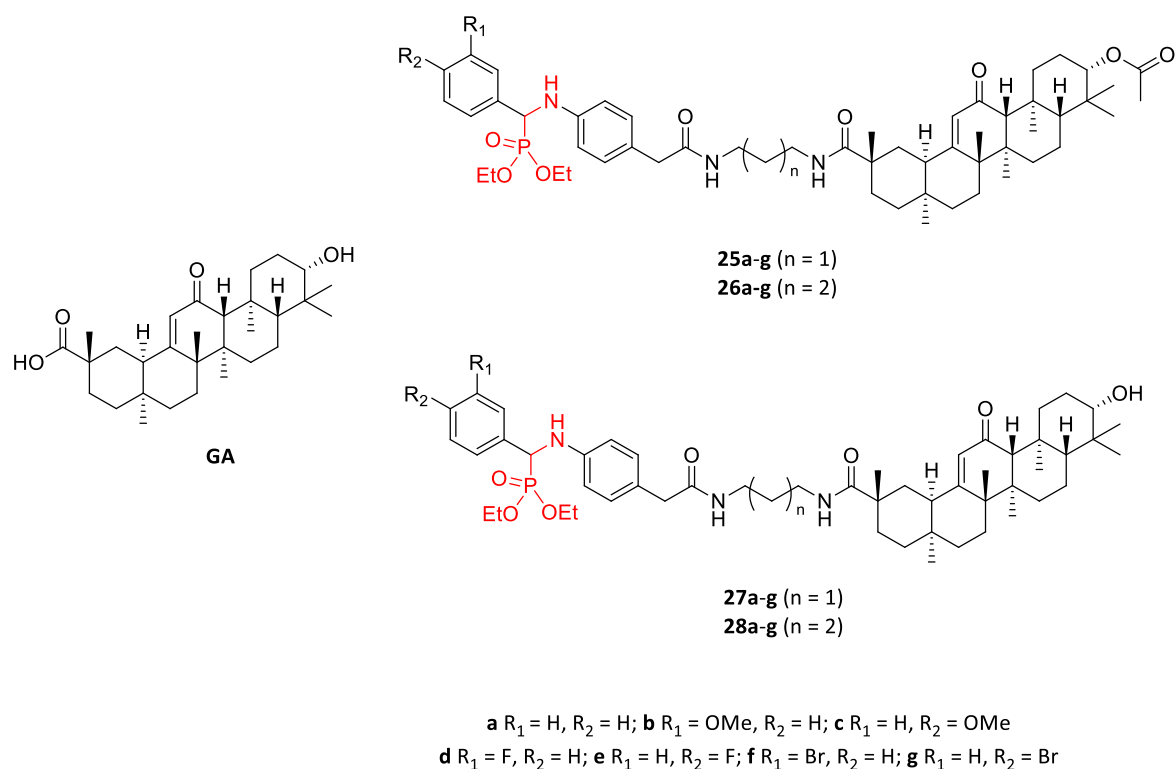
W toku dalszych badań udowodniono, że związek **22d** indukował apoptozę komórek HCT-116 poprzez zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1, aktywację kaspaz 3 i 9 oraz białek anty- i proapoptotycznych (Li i in., 2015).

Do związków wykazujących aktywność przeciwnowotworową należy także kwas azjatykowy (**AA**, Ryc. 9) – naturalnie występujący pentacykliczny terpen (Hsu i in., 2005). Sprawdzono wpływ obecności ugrupowania α -aminofosfonianowego na właściwości cytostatyczne pochodnych kwasu azjatykowego (Huang i in., 2016b).

¹ W zaprezentowanych pracach oryginalnych linie komórkowe KB oraz KB-vin są błędnie określane jako linie komórek ludzkiego raka nosogardzieli (KB-vin – linia komórkowa ludzkiego raka nosogardzieli oporna na winkrystynę). Prawidłowo są to sublinie linii HeLa – komórek ludzkiego raka szyjki macicy. Problem ten wyjaśniony jest w pracy, która ukazała się w *Cancer Research* w 2017 roku (Vaughan i in., 2017) (przyp. aut.).

Najlepsze działanie hamujące namnażanie się komórek raka płuc, lepsze niż oba zastosowane leki referencyjne, wykazywały pochodne **23f** oraz **23j**. Wszystkie przedstawione związki (**23a-n** oraz **24a-b**) były bardziej aktywne niż 5-Fu i cisplatyna wobec linii T24. Największą zdolność hamowania proliferacji komórek linii Spca-2 miały pochodne **23a** oraz **23c**, a wobec komórek linii SKOV-3 najskuteczniejszy okazał się związek **23j**. Wykazano również, że wszystkie otrzymane związki były mniej cytotoksyczne wobec prawidłowych komórek linii HUVEC niż 5-Fu i cisplatyna. Ponadto dowiedziano, że aktywność przeciwnowotworowa związku **23c** wobec linii komórkowej T24 była spowodowana apoptozą komórek nowotworowych poprzez regulację poziomu białek apoptotycznych z rodziny BCL-2 (*ang. B-cell leukemia/lymphoma-2*), aktywację kaspaz 3 i 9, a następnie rozszczepienie enzymów polimerazy poli(ADP-rybozy) (PARP). Analiza cyklu komórkowego potwierdziła, że związek **23c** hamował proliferację przez zatrzymanie fazy G1 (Huang i in., 2016b).

Kwas glicyretynowy (**GA**, Ryc. 10) jest kolejnym związkiem mającym udokumentowaną aktywność hamującą proliferację komórek nowotworowych, m.in. raka płuc (Huang i in., 2014) czy ludzkiej białaczki (Huang i in., 2016c). Opisano syntezę i aktywność cytostatyczną serii nowych inhibitorów jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF kappa B (NF- κ B) **25–28** (Ryc. 10), pochodnych kwasu glicyretynowego zawierających ugrupowania α -aminofosfonianowe (Jin i in., 2018).



Rycina 10. Struktury **GA** oraz związków **25–28a-g**.

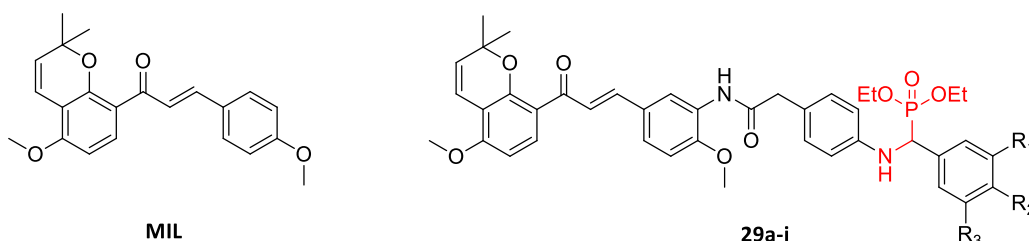
Większość otrzymanych związków wykazywała dużo wyższą zdolność hamowania rozwoju komórek ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (NCI-H460), ludzkiego kostniakomięsa (MG-63), raka żołądka (MGC-803), płuc (A549) oraz wątroby (HepG2) (IC₅₀ = od 6,25±0,95 do >50 μ M) niż sam kwas glicyretynowy (IC₅₀ = od 36,15±2,38 do >50 μ M), co wskazuje, że wprowadzenie funkcji α -aminofosfonianowej korzystnie wpływa na aktywność antyproliferacyjną. Najlepsze działanie względem wszystkich linii komórek nowotworowych, lepsze niż 10-hydroksykamptotecyna (**HCPT**), wykazywał związek **26e** (Tabela 7), przy czym odznaczał się on niską cytotoksycznością wobec prawidłowych ludzkich komórek wątroby (HL-7702).

Tabela 7. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związku 26e.

Numer związku	IC ₅₀ [μM]				
	NCI-H460	MG-63	MGC-803	A549	HepG2
26e	8,28±1,07	9,01±1,01	8,73±1,09	6,25±0,95	9,11±1,23
HCPT	10,08±1,05	10,69±1,15	9,71±1,03	9,13±1,09	10,21±1,06

Dalsze badania dowiodły, że pochodna **26e** powodowała zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie S i indukowała apoptozę w komórkach linii A549 poprzez zablokowanie szlaku sygnałowego NF-κB. Ponadto wywoływała spadek potencjału błony mitochondrialnej, indukowała produkcję RFT oraz hamowała migrację komórek nowotworowych linii A549 (Jin i in., 2018).

Millepachina (ang. *millepachine*, MIL, Ryc. 11) należy do grupy flawonoidów opartych na strukturze chalkonu i wykazuje aktywność przeciwnowotworową, w szczególności wobec komórek raka wątroby (Wu i in., 2013). W serii α-aminofosfonianowych pochodnych MIL (Huang i in., 2020a) związki **29a-j** (Ryc. 11) wykazywały aktywność antyproliferacyjną wobec badanych linii komórkowych – linii komórek ludzkiego czerniaka złośliwego (A375), ludzkiej białaczki szpikowej (K562), HepG2 oraz NCI-H460 na poziomie wyższym niż związek macierzysty – millepachina. Spośród nich najlepsze działanie miała pochodna **29h** (IC₅₀ = 2,03±0,91; 1,96±1,02; 0,85±0,83; 2,61±1,13 μM odpowiednio dla A375, K562, HepG2 oraz NCI-H460), znacznie wyższe niż MIL (IC₅₀ = 7,05±0,72; 8,58±1,01; 5,35±0,43 oraz 11,85±1,08 μM odpowiednio dla A375, K562, HepG2 oraz NCI-H460).



a R₁ = H; R₂ = OMe; R₃ = H; b R₁ = H; R₂ = Me; R₃ = H; c R₁ = H; R₂ = F; R₃ = H;
d R₁ = H; R₂ = NO₂; R₃ = H; e R₁ = OMe; R₂ = H; R₃ = H; f R₁ = Me; R₂ = H; R₃ = H;
g R₁ = F; R₂ = H; R₃ = H; h R₁ = OH; R₂ = OMe; R₃ = H; i R₁ = NO₂; R₂ = OMe; R₃ = H;
j R₁ = OMe; R₂ = OMe; R₃ = OMe

Rycina 11. Struktury MIL oraz związków 29a-j.

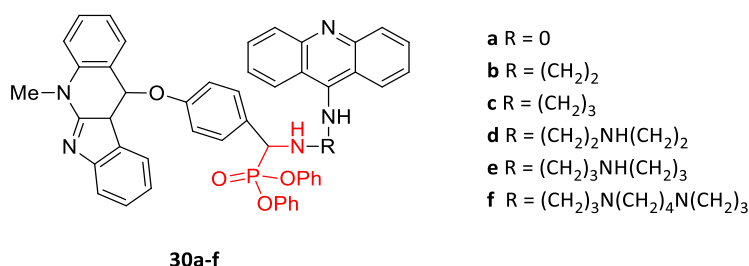
Dodatkowo związek **29h** wykazywał niską toksyczność w stosunku do prawidłowych komórek linii HL-7702. Ponadto porównano aktywności przeciwnowotworowe związku **29h** wobec linii komórkowej MCF-7 i linii komórek estrogenozależnego gruczolakoraka piersi opornych na doksorubicynę (MCF-7/DOX), a także działania cytostatyczne wobec linii A549 i linii komórek ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc opornych na cisplatynę (A549/CDDP). Wyznaczone wartości parametru IC₅₀ wskazują, że α-aminofosfonian **29h** wykazuje niemalże identyczną aktywność zarówno wobec linii komórkowych wrażliwych (MCF-7 i A549), jak i opornych na doksorubicynę (MCF-7/DOX) oraz cisplatynę (A549/CDDP) (Tabela 8).

Tabela 8. Porównanie aktywności cytostatycznej związku **29h** wobec linii komórkowych wrażliwych i opornych na doksorubicynę oraz cisplatynę.

Związek	IC ₅₀ [μM]			
	MCF-7	MCF-7/DOX	A549	A549/CDDP
29h	1,75±1,03	2,12±1,15	3,09±1,03	2,83±1,64
Doksorubicyna (DOX)	1,09±0,91	43,5±2,31	2,27±1,15	2,95±1,33
Cisplatyna (CDDP)	9,05±1,67	15,21±2,07	6,05±1,46	27,36±2,03

Udowodniono, że pochodna **29h** indukowała apoptozę komórek oraz zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M poprzez znaczne zahamowanie polimeryzacji mikrotubul. Dodatkowo związek **29h** przyczyniał się do spadku potencjału błony mitochondrialnej, zwiększenia produkcji RFT oraz regulacji poziomu białek apoptotycznych – Bax (białko proapoptotyczne należące do rodziny białek BCL-2; ang. *BCL-2-associated X protein*) oraz Bcl-2 (białko antyapoptotyczne należące do rodziny białek BCL-2), której towarzyszyła aktywacja kaspaz 3 i 9 (Huang i in., 2020a).

Jednym z podejść do otrzymywania biologicznie czynnych związków jest synteza tzw. cząstek hybrydowych (koniugatów). Połączenie struktur dwóch lub trzech związków wykazujących aktywność biologiczną często prowadzi do zmniejszenia lekooporności i poprawy aktywności dzięki efektowi synergicznemu (Rakesh i in., 2018). Związki **30a-f** zawierające w swej strukturze fragment neokryptolepiny (Bracca i in., 2014; Lavrado i in., 2010), akrydyny (Belmont i in., 2007; Denny, 2004) oraz ugrupowanie α -aminofosfonianowe przedstawiono na rycinie 12 (Ahmed i in., 2020).



Rycina 12. Struktury α -aminofosfonianów **30a-f**.

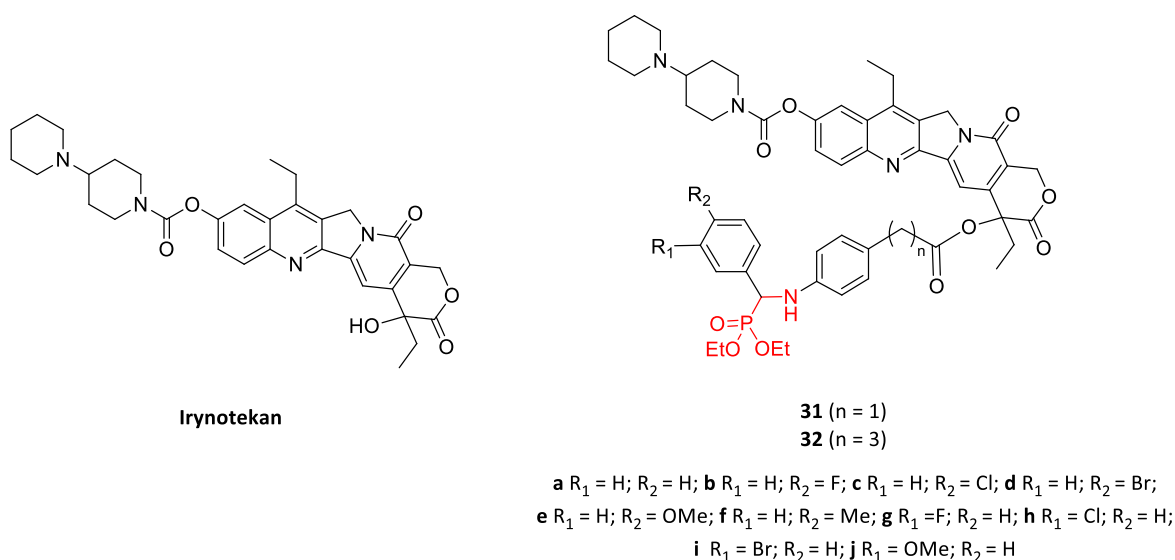
Związki **30a-f** zbadano pod kątem aktywności cytostatycznej *in vitro* wobec linii komórek raka jelita grubego (HCT-116), estrogenozależnego gruczolakoraka piersi (MCF-7), raka wątroby (HepG2) oraz niedrobnokomórkowego raka płuc (A549) (Tabela 9).

Tabela 9. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków **30a-f**.

Numer związku	IC ₅₀ [μM]			
	HCT-116	MCF-7	HepG2	A549
30a	5,8±1,4	8,2±1,7	23,1±2,4	19,4±2,3
30b	7,3±1,6	15,9±2,1	24,6±2,7	25,6±3,1
30c	7,0±1,7	18,3±2,1	27,8±2,9	25,2±3,2
30d	4,7±1,3	18,4±2,1	28,0±3,1	33,4±3,7
30e	5,7±1,5	18,8±2,3	26,8±2,9	29,0±3,5
30f	2,4±0,4	16,0±2,1	27,1±3,1	20,9±2,9
Doksorubicyna	10,9±2,3	26,5±3,7	32,8±3,6	27,9±4,1

Z analizy wartości IC₅₀ przedstawionych w tabeli 9 wynika, że związki **30a-c** oraz **30f** wykazywały lepszą aktywność antyproliferacyjną wobec wszystkich czterech linii komórkowych w porównaniu z doksorubicyną, natomiast pochodne **30d** i **30e** działały słabiej niż związek referencyjny jedynie w przypadku linii A549. Otrzymane wyniki potwierdzają synergiczny wpływ poszczególnych fragmentów strukturalnych na aktywność przeciwnowotworową zsyntezowanych cząsteczek hybrydowych (Ahmed i in., 2020).

Irynotekan (Ryc. 13) należy do grupy inhibitorów topoizomerazy I i jest stosowany w leczeniu jako środek przeciwnowotworowy (Rothenberg, 1997). Założono, że wprowadzenie funkcji α -aminofosfonianowej do struktury irynotekanu doprowadzi do zwiększenia skuteczności, zminimalizowania skutków ubocznych, a także poprawy właściwości fizykochemicznych otrzymanych pochodnych **31a-j** i **32a-j** (Ryc. 13) (Huang i in., 2020b).



Rycina 13. Struktury irynotekanu oraz pochodnych **31a-j** i **32a-j**.

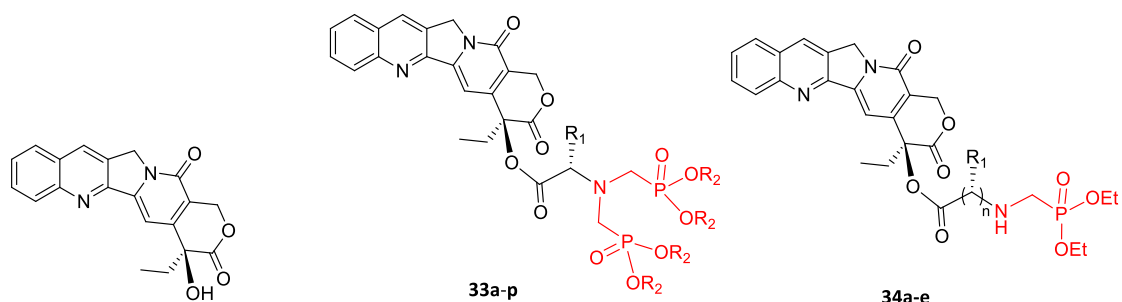
Wszystkie związki poddano ocenie aktywności antyproliferacyjnej *in vitro* wobec sześciu linii komórek nowotworowych – linii komórek ludzkiego kostniakomięsa (U2OS), linii komórek ludzkiego raka jajnika odpornej na cisplatynę (SKOV-3/CDDP), a także SKOV3, A549, MCF-7 oraz MG-63. Spośród wszystkich pochodnych najlepszą aktywność wobec wszystkich badanych linii komórkowych, wyższą niż irynotekan i cisplatyna, posiadał związek **32b** (Tabela 10).

Tabela 10. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związku **32b**.

Numer związku	IC ₅₀ [μM]					
	U2OS	SKOV-3/CDDP	SKOV-3	A549	MCF-7	MG-63
32b	1,75±0,95	1,39±1,02	0,92±0,81	3,05±1,27	2,20±1,35	3,23±1,01
Irynotekan	14,21±1,82	26,55±2,33	13,63±1,53	16,53±1,53	12,25±1,19	18,09±2,03
Cisplatyna	11,34±1,76	37,45±1,09	8,75±1,09	8,35±1,68	11,05±1,72	9,58±1,31

Na podstawie analizy mechanizmów zachodzących w komórkach raka jajnika (SKOV-3) wykazano, że związek **32b** powodował zatrzymywanie cyklu komórkowego w fazie S oraz indukował apoptozę wraz ze spadkiem potencjału błony mitochondrialnej. Ponadto, stosując model heteroprzyszczepu *in vivo*, dowiedziono, że pochodna **32b** znacząco hamowała wzrost guza u myszy i nie powodowała zauważalnej toksyczności (Huang i in., 2020b).

Kamptotecyna (CPT, Ryc. 14), podobnie jak irynotekan (Ryc. 13), jest szeroko rozpowszechnionym inhibitorem topoizomerazy I stosowanym w terapii przeciwnowotworowej (Pommier i in., 1995; Sriram i in., 2005). Zsyntezowano dwie serie nowych α-aminofosfonianowych pochodnych CPT – związki **33a-p** oraz **34a-e** (Ryc. 14) – które przebadano *in vitro* wobec sześciu linii komórek nowotworowych – ludzkiego raka wątrobowokomórkowego (Hep3B), raka piersi z mutacją genu BRAC-1/2 (MDA-MB-231), ludzkiego raka nosogardzieli opornego na winkrystynę (KB-vin), KB, MCF-7 oraz A549 (Chen i in., 2021).



CPT

33 a $R_1 = H, R_2 = Me$; b $R_1 = Me, R_2 = Me$; c $R_1 = i\text{-Pr}, R_2 = Me$; d $R_1 = i\text{-Bu}, R_2 = Me$; e $R_1 = sec\text{-Bu}, R_2 = Me$;
 f $R_1 = Bn, R_2 = Me$; g $R_1 = H, R_2 = Et$; h $R_1 = Me, R_2 = Et$; i $R_1 = i\text{-Pr}, R_2 = Et$; j $R_1 = i\text{-Bu}, R_2 = Et$;
 k $R_1 = sec\text{-Bu}, R_2 = Et$; l $R_1 = Bn, R_2 = Et$; m $R_1 = H, R_2 = Ph$; n $R_1 = Me, R_2 = Ph$; o $R_1 = sec\text{-Bu}, R_2 = Ph$;
 p $R_1 = Bn, R_2 = Ph$

34 a $R_1 = i\text{-Pr}, n = 1$; b $R_1 = i\text{-Bu}, n = 1$; c $R_1 = sec\text{-Bu}, n = 1$; d $R_1 = Bn, n = 1$; e $R_1 = H, n = 3$

Rycina 14. Struktura CPT oraz α -aminofosfonianów **33a-p** i **34a-e**.

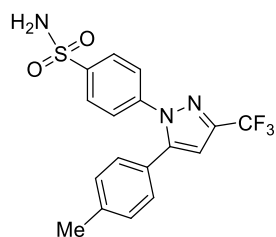
Prawie wszystkie otrzymane związki wykazywały dużo wyższą aktywność cytostatyczną *in vitro* niż stosowany w terapii przeciwnowotworowej irynotekan (Chen i in., 2021). Spośród nich związek **33g** (Ryc. 14) wykazywał najwyższą aktywność antyproliferacyjną wobec wszystkich testowanych linii komórek nowotworowych, 10-krotnie wyższą w porównaniu z irynotekaniem (Tabela 11). Natomiast żaden ze związków nie działał lepiej niż inny inhibitor topoizomerazy I – topotekan.

Tabela 11. Wartości IC_{50} wyznaczone dla związku **33g**.

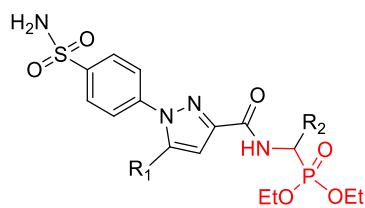
Numer związku	IC_{50} [μM]					
	Hep3B	MDA-MB-231	KB-vin	KB	MCF-7	A549
33g	0,153±0,031	1,611±0,241	0,974±0,079	0,834±0,111	0,334±0,061	0,517±0,039
Irynotekan	1,432±0,144	15,563±0,302	10,717±0,613	7,993±0,312	3,828±0,036	8,306±0,280
Topotekan	0,008±0,001	0,101±0,005	0,396±0,021	0,063±0,004	0,035±0,001	0,045±0,002

Mechanizm działania związku **33g** polegał nie tylko na indukowaniu apoptozy komórek i zatrzymaniu cyklu komórkowego, ale także na hamowaniu aktywności topoizomerazy I w komórce i systemie bezkomórkowym w sposób podobny do działania irynotekanu. Dodatkowo test ostrej toksyczności wykazał, że **33g** nie był toksyczny dla komórek wątroby i nerek oraz układu krwiotwórczego myszy. Aktualnie trwają badania nad dalszą optymalizacją struktury i oceną aktywności biologicznej tego związku (Chen i in., 2021).

Cyklooksigenaza-2 (COX-2) jest enzymem, który ulega nadekspresji po wystąpieniu stanu zapalnego w organizmie (Tsai i in., 2003). W ostatnich latach udowodniono, że ekspresja COX-2 ulega znacznemu podwyższeniu również w przypadku występowania niektórych nowotworów, np. piersi i trzustki (Maitra i in., 2002). Zaprojektowano serię α -aminofosfonianów posiadających w swej strukturze fragment celekoksybu (Ryc. 15), szeroko znanego inhibitora COX-2, a otrzymane związki przebadano pod kątem aktywności antyproliferacyjnej wobec czterech linii komórkowych (MCF-7, HeLa, HepG2 i HCT-116). Na rycinie 15 przedstawiono struktury związków o wyższej niż cisplatyna aktywności cytostatycznej względem badanych linii komórkowych (Zhang i in., 2020).



Celekoksyb



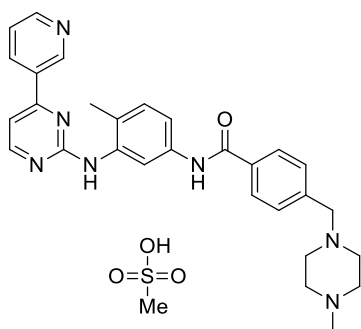
35a-v

- a R₁ = 4-F-C₆H₄, R₂ = Ph; b R₁ = 4-F-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄; c R₁ = 3-F-C₆H₄, R₂ = Ph; d R₁ = 3-F-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄;
 e R₁ = 2-F-C₆H₄, R₂ = Ph; f R₁ = 2-F-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄; g R₁ = 4-Cl-C₆H₄, R₂ = Ph; h R₁ = 4-Cl-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄;
 i R₁ = 3-Cl-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄; j R₁ = 3-Cl-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄; k R₁ = 2-Cl-C₆H₄, R₂ = Ph; l R₁ = 2-Cl-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄;
 m R₁ = 4-Br-C₆H₄, R₂ = Me; n R₁ = 4-Br-C₆H₄, R₂ = Ph; o R₁ = 4-Br-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄; q R₁ = 4-CF₃-C₆H₄, R₂ = Ph;
 p R₁ = 4-CF₃-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄; r R₁ = 4-MeO-C₆H₄, R₂ = Ph; s R₁ = 4-MeO-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄; t R₁ = 3-MeO-C₆H₄, R₂ = Me;
 u R₁ = 3-MeO-C₆H₄, R₂ = Ph; v R₁ = 3-MeO-C₆H₄, R₂ = 4-Br-C₆H₄

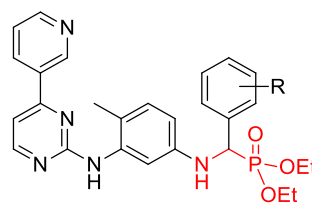
Rycina 15. Struktury celekoksybu oraz pochodnych 35a-v.

Najwyższą aktywność przeciwnowotworową względem komórek raka piersi (MCF-7) wykazywał związek **35c**, dla którego wyznaczona wartość IC₅₀ wynosiła 5,32±0,65 μM, podczas gdy dla cisplatyny IC₅₀ = 23,18±0,83 μM. W przypadku komórek raka szyjki macicy (HeLa) najskuteczniejszy był związek **35g** (IC₅₀ = 7,25±0,23 μM; dla cisplatyny IC₅₀ = 10,06±0,54 μM), raka wątroby (HepG2) – **35m** (IC₅₀ = 7,25±0,49 μM; dla cisplatyny IC₅₀ = 28,36±0,43 μM), a wobec raka jelita grubego (HCT-116) – pochodna **35t** (IC₅₀ = 2,34±0,27 μM; dla cisplatyny IC₅₀ = 8,73±1,09 μM). Związkiem o największym potencjale terapeutycznym był **35t** (IC₅₀ = 9,71±0,47; 16,43±0,62; 12,51±1,18 i 2,34±0,27 μM odpowiednio dla MCF-7, HeLa, HepG2 oraz HCT-116). Jednocześnie wykazano niską cytotoksyczność związków **35a-v** wobec prawidłowych komórek embrjonalnych nerki zawierających duży antygen T wirusa SV40 (HEK 293T). Przeprowadzone dokowanie molekularne wykazało, że antyproliferacyjne działanie związku **35t** wynika z indukcji apoptozy mitochondrialnej oraz hamowania cyklu komórkowego w fazie G1 (Zhang i in., 2020).

Kolejnym związkiem wykorzystywanym w leczeniu różnych typów nowotworów złośliwych, m.in. białaczki szpikowej, jest mesylan imatynibu (Ryc. 16) – selektywny inhibitor kinaz tyrozynowych, m.in. kinazy Bcr-Abl, znany pod nazwą handlową Gleevec (Nadal i Olavarria, 2004). W ostatnim czasie zsyntezowano α-aminofosfonianowe analogi mesylanu imatynibu **36a-j** (Ryc. 16) (Aita i in., 2021).



Mesylan imatynibu



36a-j

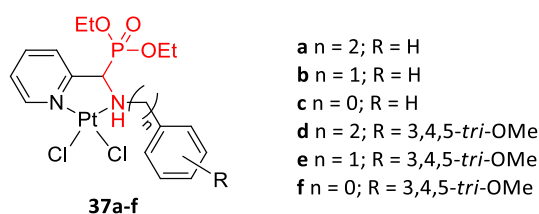
- a R = 4-NMe₂; b R = 4-NEt₂; c R = 3,4,5-tri-OMe; d R = 4-OH;
 e R = 4-Cl; f R = 4-Br; g R = 4-NO₂; h R = 3-NO₂; i R = 4-Cl, 3-NO₂;
 j R = 1-naftyl

Rycina 16. Struktury mesylanu imatynibu oraz związków 36a-j.

Ocena aktywności cytostatycznej *in vitro* wobec kilku linii komórkowych – ludzkiej białaczki (U-973 i HL-60), ludzkiego raka prostaty (DU-145), K562 oraz MCF-7 – wykazała, że związki zawierające w pierścieniu aromatycznym atom halogenu (**36f**, IC₅₀ = od 1,068±0,88 μM do 2,033±0,97 μM), grupę nitrową (**36g**, IC₅₀ = od 1,402±0,79 μM do 2,335±0,73 μM; **36h**, IC₅₀ = od 1,380±0,94 μM do 2,213±0,64 μM) oraz oba podstawniki jednocześnie (**36i**, IC₅₀ = od 1,437±0,92 μM do 2,558±0,76 μM) wykazywały lepszą aktywność przeciwnowotworową w porównaniu z doksorubicyną i imatynibem. Przeprowadzone badania *in silico* dowiodły, że aktywność przeciwnowotworowa wszystkich zaprojektowanych związków wynikała z hamowania ludzkiej kinazy tyrozynowej Bcr-Abl. Ponadto ocena ryzyka toksyczności przeprowadzona przy pomocy modelowania molekularnego wykazała, że wszystkie otrzymane związki cechowały się wysokim profilem bezpieczeństwa w porównaniu z imatynibem (Aita i in., 2021).

3.2. Inne aminofosfoniany wykazujące aktywność przeciwnowotworową

W 2013 roku zostały opisane synteza i aktywność przeciwnowotworowa serii nowych kompleksów platyny(II) **37a-f** (Ryc. 17) posiadających w strukturze ugrupowanie α-aminofosfonianowe (Huang i in., 2013a).



Rycina 17. Struktury kompleksów platyny(II) **37a-f**.

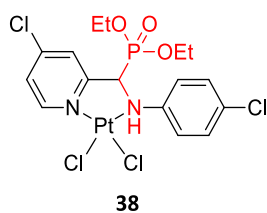
Wszystkie związki wykazywały selektywną aktywność wobec linii komórek raka wątrobowo-komórkowego (BEL-7404), wyższą niż powszechnie stosowana cisplatyna (Tabela 12).

Tabela 12. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków **37a-f**.

IC ₅₀ [μM]	Numer związku						
	37a	37b	37c	37d	37e	37f	Cisplatyna
	26,5	32,1	24,8	21,2	17,6	12,5	132,8

Ponadto kompleksy **37a-f** wykazywały niższą cytotoksyczność w stosunku do prawidłowych ludzkich komórek wątroby (HL-7702) niż do testowanych komórek nowotworowych, co świadczy o ich wysokim profilu bezpieczeństwa. Działanie przeciwnowotworowe badanych związków wynikało z indukowania apoptozy komórek oraz zatrzymywania cyklu komórkowego w fazie G1. Co więcej, badania ruchliwości elektroforetycznej i analiza spektralna przy wykorzystaniu zjawiska dichroizmu kołowego wykazały, że sposób wiązania kompleksu **37f** z DNA może być inny niż w przypadku cisplatyny (Huang i in., 2013a).

Kilka lat później ta sama grupa badawcza opublikowała wyniki badań dotyczących syntezy i aktywności antyproliferacyjnej kolejnej serii kompleksów platyny(II) zawierających ligand α-aminofosfonianowy (Huang i in., 2019). Spośród wszystkich nowych związków na szczególną uwagę zasługuje pochodna **38** (Ryc. 18), której działanie *in vitro* wobec komórek raka pęcherza moczowego (T24), kostniakomięsaka (MG-63), raka wątrobowokomórkowego (HepG2) oraz raka jajnika (SKOV-3) było dużo wyższe w porównaniu ze stosowanymi w terapii przeciwnowotworowej cisplatyną i oksaliplatyną (Tabela 13) (Huang i in., 2019).



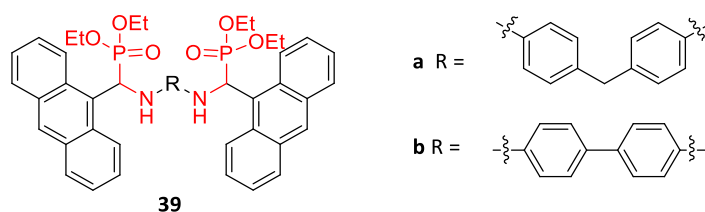
Rycina 18. Struktura kompleksu **38**.

Tabela 13. Wartości IC_{50} wyznaczone dla związku **38**.

Numer związku	IC_{50} [μM]			
	T24	MG-63	HepG2	SKOV-3
38	0,46±0,31	0,25±0,11	0,73±0,13	1,2±0,2
Cisplatyna	1,8±0,2	7,5±0,2	4,2±0,3	8,1±0,4
Oksaliplatyna	0,87±0,15	4,6±0,1	1,2±0,2	7,5±0,6

Ponadto kompleks ten był także mniej cytotoksyczny względem prawidłowych komórek wątroby linii HL-7702 niż badane chemioterapeutyki. Dalsze badania przeprowadzone na komórkach linii T24 dowiodły, że kompleksy platyny(II) gromadziły się w siateczce endoplazmatycznej, co powodowało jej silny stres wywołany generowaniem reaktywnych form tlenu, a to z kolei wyzwalalo ekspozycję kalretykuliny (CRT) na błonę komórkową oraz wydzielanie ATP i białka HMGB1 (ang. *high mobility group box 1*; białko wydzielane przez uszkodzone tkanki i stymulujące procesy zapalne). Sygnały te pobudzały komórki odpornościowe i powodowały cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych. Wykazano także wpływ kompleksu **38** na komórki nowotworowe, które stawały się immunogenne, a powstawanie guzów u badanych osobników było znacznie opóźnione. Silne działanie przeciwnowotworowe związku **38** związane z immunogenną śmiercią komórek potwierdzone zostało w dwóch niezależnych modelach mysich (Huang i in., 2019).

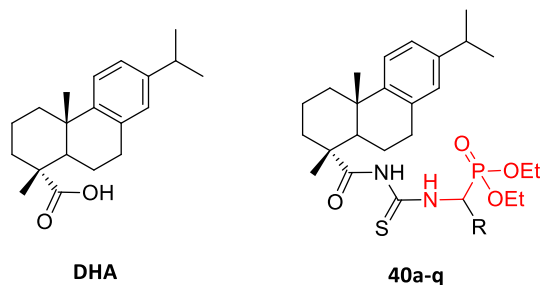
Kolejną grupą związków wykazujących aktywność przeciwnowotworową są α -aminofosfoniane pochodne antracenu (Ryc. 19) (Kraicheva i in., 2013).



Rycina 19. Struktury α -aminodifosfonianów **39a-b**.

Widoczne na rycinie 19 α -aminodifosfoniany **39a** i **39b** (Ryc. 19) wykazywały silne działanie przeciwnowotworowe wobec komórek ludzkiego gruczolaka jelita grubego linii HT-29 (IC_{50} = 0,434±0,0042 i 0,436±0,0044 mg/ml odpowiednio dla **39a**, **39b**), lepsze niż doksorubicyna (IC_{50} = 0,58±0,013 mg/ml). Testy bezpieczeństwa *in vitro* i *in vivo* potwierdziły niską toksyczność badanych związków wobec komórek prawidłowych (Kraicheva i in., 2013).

Opisane zostały synteza oraz aktywność przeciwnowotworowa serii α -aminofosfonianów **40a-q** (Ryc. 20) (Huang i in., 2013b) zawierających w swej budowie szkielet kwasu dehydroabietynowego (**DHA**, Ryc. 20).

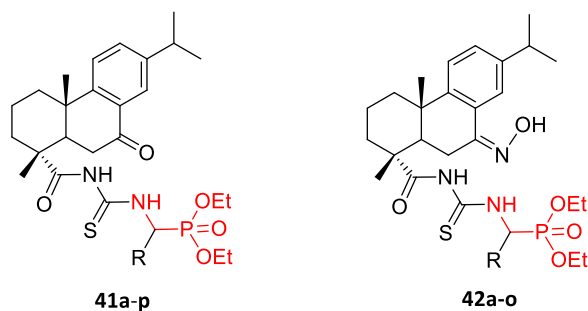


a R = Ph; b R = 4-MeO-C₆H₄; c R = 2-MeO-C₆H₄; d R = 3-MeO-C₆H₄;
 e R = 4-Me-C₆H₄; f R = 3-Me-C₆H₄; g R = 4-F-C₆H₄; h R = 2-F-C₆H₄;
 i R = 3-F-C₆H₄; j R = 4-Cl-C₆H₄; k R = 2-Cl-C₆H₄; l R = 3-Cl-C₆H₄;
 m R = 4-Br-C₆H₄; n R = 2-Br-C₆H₄; o R = 3-Br-C₆H₄; p R = 1-naftył
 q R = 2-naftył

Rycina 20. Struktury DHA oraz związków 40a-q.

Badania przesiewowe aktywności antyproliferacyjnej *in vitro* potwierdziły, że większość otrzymanych związków wykazywała wyższe działanie hamujące wobec linii komórek raka płuc (NCI-H460 i A549), raka wątroby (HepG2) oraz raka jajnika (SKOV-3) niż szeroko stosowany 5-Fu. W przypadku linii NCI-H460 wszystkie pochodne były bardziej aktywne (IC₅₀ w zakresie od 3,33±0,58 do 36,37±3,48 μM) niż związek referencyjny – 5-Fu (IC₅₀= 44,04±0,54 μM). Wobec linii A549 oraz SKOV-3 słabiej niż 5-Fu (IC₅₀= 34,33±0,23 i 24,43±0,41 μM odpowiednio dla linii A549 i SKOV-3) działała jedynie pochodna **40q** (IC₅₀= 45,74±3,87 i >50 μM odpowiednio dla linii A549 i SKOV-3), natomiast wartości IC₅₀ pozostałych związków mieściły się w zakresie od 12,66±1,76 do 29,58±1,46 μM dla A549 oraz od 9,96±1,08 do 21,35±2,01 μM dla SKOV-3. W przypadku komórek linii HepG2 najwyższą aktywność wykazywały pochodne **40a**, **40c-e**, **40h**, **40j**, **40k** oraz **40m-o** (IC₅₀ w zakresie od 7,70±1,06 do 29,96±2,46 μM; dla 5-Fu – IC₅₀=29,98±0,37). W toku dalszych badań ustalono, że związek **40c** indukował apoptozę komórek linii NCI-H460 poprzez zatrzymywanie cyklu komórkowego w fazie G1 (Huang i in., 2013b).

Kontynuując badania, zsyntezowano szereg kolejnych pochodnych DHA (Ryc. 20) – związki **41a-p** i **42a-o** (Ryc. 21), a następnie zbadano ich aktywność cytostatyczną wobec czterech linii komórkowych (NCI-H460, A549, HepG2 oraz SKOV-3) (Huang i in., 2013c).



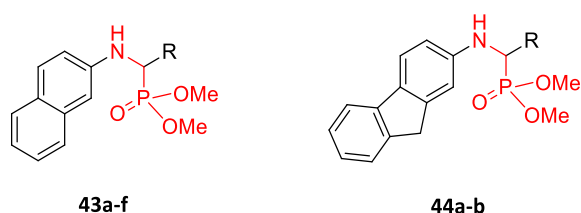
41 a R = Ph; **b** R = 4-MeO-C₆H₄; **c** R = 2-MeO-C₆H₄; **d** R = 3-MeO-C₆H₄; **e** R = 4-Me-C₆H₄; **f** R = 3-Me-C₆H₄; **g** R = 4-F-C₆H₄;
h R = 2-F-C₆H₄; **i** R = 3-F-C₆H₄; **j** R = 4-Cl-C₆H₄; **k** R = 2-Cl-C₆H₄; **l** R = 3-Cl-C₆H₄; **m** R = 4-Br-C₆H₄; **n** R = 3-Br-C₆H₄;
o R = 1-naftył; **p** R = 2-naftył

42 a R = Ph; **b** R = 4-MeO-C₆H₄; **c** R = 2-MeO-C₆H₄; **d** R = 4-Me-C₆H₄; **e** R = 3-Me-C₆H₄; **f** R = 4-F-C₆H₄; **g** R = 2-F-C₆H₄;
h R = 3-F-C₆H₄; **i** R = 4-Cl-C₆H₄; **j** R = 2-Cl-C₆H₄; **k** R = 3-Cl-C₆H₄; **l** R = 4-Br-C₆H₄; **m** R = 3-Br-C₆H₄; **n** R = 1-naftył;
o R = 2-naftył

Rycina 21. Struktura związków 41a-p i 42a-o.

Związek **41d** najskuteczniej hamował wzrost komórek raka płuc linii NCI-H460 ($IC_{50} = 11,49 \pm 0,49 \mu M$) oraz komórek raka jajnika linii SKOV-3 ($IC_{50} = 8,41 \pm 0,08 \mu M$); dla porównania IC_{50} dla 5-fluorouracylu wynosiło $44,04 \pm 0,54 \mu M$ oraz $24,43 \pm 0,41 \mu M$ odpowiednio dla linii NCI-H460 i SKOV-3. Pochodna **42c** wykazywała 3-krotnie wyższą aktywność cytostatyczną ($IC_{50} = 8,62 \pm 0,07 \mu M$) względem komórek raka wątroby linii HepG2 w porównaniu z 5-Fu ($IC_{50} = 29,98 \pm 0,37 \mu M$), a związek **42f** działał 5-krotnie lepiej ($IC_{50} = 7,00 \pm 0,04 \mu M$) niż 5-Fu ($IC_{50} = 34,33 \pm 0,23 \mu M$) wobec komórek raka płuc linii A549. Na przykładzie pochodnej **42f** dowiedziono, że wykazywała ona wyraźne działanie indukujące apoptozę komórek nowotworowych (Huang i in., 2013c).

Opisana została aktywność antyproliferacyjna *in vitro* serii α -aminofosfonianów bazujących na strukturze naftalenu i fluorenu (Chinthaparthi i in., 2013). Spośród wszystkich otrzymanych związków najwyższą aktywność przeciwnowotworową (Tabela 14) wobec komórek raka szyjki macicy (HeLa) oraz gruczolakoraka piersi z ekspresją receptorów HER2 (SK-BR-3) wykazywały związki **43a-f** oraz **44a-b** (Ryc. 22).



43 a R = 4-F-C₆H₄; **b** R = 4-Cl-C₆H₄; **c** R = Et; **d** R = Pr; **e** R = *i*-Bu; **f** R = Bu
44 a R = Et; **b** R = Bu

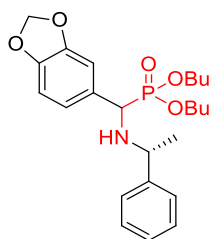
Rycina 22. Struktury związków **43a-f** i **44a-b**.

Tabela 14. Wartości IC_{50} wyznaczone dla związków **43a-f** i **44a-b**.

Numer związku	IC_{50} [$\mu g/ml$]	
	HeLa	SK-BR-3
43a	13,52±0,89	19,45±0,91
43b	12,76±0,86	11,29±0,81
43c	1,18±0,35	2,52±0,15
43d	6,16±0,19	5,41±0,16
43e	8,34±0,24	7,89±0,22
43f	2,10±0,85	3,37±0,95
44a	0,95±0,06	1,21±0,09
44b	1,45±0,08	2,79±0,11
Etopozyd	13,65±0,55	9,73±0,42
Kamptotecyna	3,57±0,33	2,83±0,11

Niemalże wszystkie przedstawione związki działały lepiej niż stosowany w leczeniu etopozyd wobec obu badanych linii komórkowych, a niektóre z nich (**43c**, **43f**, **44a** i **44b**) wykazywały aktywność wyższą niż kamptotecyna (Ryc. 16) (Chinthaparthi i in., 2013).

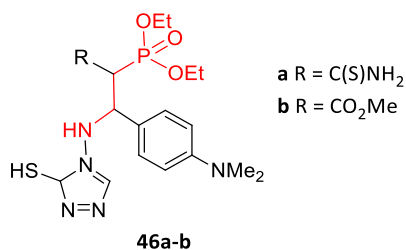
Wysoką aktywność cytostatyczną wobec linii komórek białaczki limfoblastycznej T (Jurkat) wykazywał α -aminofosfonian **45** (Ryc. 23). Wartość IC_{50} wyznaczona dla tej pochodnej wynosiła $4,0 \pm 0,08 \mu M$ i była znacznie niższa niż dla stosowanego w leczeniu tamoksyfenu ($IC_{50} = 8,8 \pm 0,16 \mu M$) (Bhattacharya i in., 2013).



45

Rycina 23. Struktura pochodnej 45.

Opublikowano wyniki badań dotyczących syntezy i aktywności przeciwnowotworowej serii β -aminofosfonianów zawierających w swej strukturze pierścień triazolu (Abdou i in., 2014). Aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec linii komórek ludzkiego raka jajnika (IGROVI i OVCAR-3), raka prostaty (PC-3 i DU-145), raka piersi (MDA-MB-231 i MDA-MB-435) oraz raka wątroby (HepG2) oceniono dla wybranych β -aminofosfonianów (**46a** i **46b**, Ryc. 24). Wartości stężeń badanych substancji powodujących zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych w 50% (GI_{50}) przedstawiono w tabeli 15.



46a-b

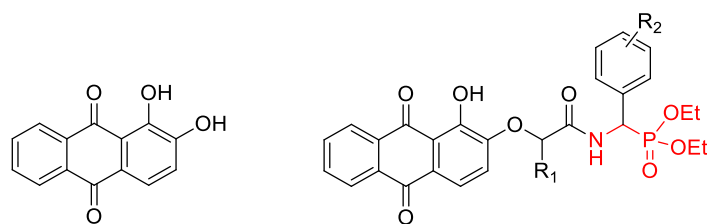
Rycina 24. Struktura związków 46a-b.

Tabela 15. Wartości GI_{50} wyznaczone dla związków 46a-b.

Numer związku	GI_{50} [μ M]						
	IGROVI	OVCAR-3	PC-3	DU-145	MDA-MB-231	MDA-MB-435	HepG2
46a	27,3	25,3	10,5	11,8	23,9	16,1	18,8
46b	28,9	31,9	19	22,7	14,4	22,5	29,7
Dokсорubicyna	38,4	26,9	15	28,3	26,4	26,9	23,6

Związek **46a** działał lepiej niż dokсорubicyna wobec wszystkich badanych linii komórkowych, natomiast pochodna **46b** była bardziej aktywna niż lek referencyjny względem linii IGROVI, DU-145, MDA-MB-231 oraz MDA-MB-435 (Abdou i in., 2014).

W 2014 roku opisano syntezę i aktywność antyproliferacyjną serii α -aminofosfonianowych pochodnych alizaryny – **47a-k** i **48a-q** (Ryc. 25) (Ye i in., 2014).



Alizaryna

47 R₁ = H; **a** R₂ = 4-Br; **b** R₂ = 2-Br; **c** R₂ = 2-OMe; **d** R₂ = 4-OMe; **e** R₂ = 3-OMe;
f R₂ = 2-F; **g** R₂ = 4-F; **h** R₂ = 2-Cl; **i** R₂ = Ph; **j** R₂ = 3-Me; **k** R₂ = 4-Me

48 R₁ = Me; **a** R₂ = 4-Br; **b** R₂ = 2-Br; **c** R₂ = 3-Br; **d** R₂ = 4-Cl; **e** R₂ = 2-Cl; **f** R₂ = 3-Cl;
g R₂ = 4-F; **h** R₂ = 2-F; **i** R₂ = 3-F; **j** R₂ = 2-OMe; **k** R₂ = 3-OMe; **l** R₂ = 4-OMe;
m R₂ = Ph; **n** R₂ = 1-naftyl; **o** R₂ = 2-naftyl; **p** R₂ = 3-Me; **q** R₂ = 4-Me

Rycina 25. Struktury związków **47a-k** i **48a-q**.

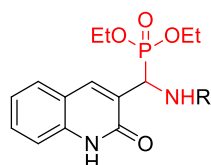
Badania *in vitro* potwierdziły cytostatyczne działanie otrzymanych związków wobec wybranych linii komórkowych (CNE, HCT-116, KB, NCI-H460, HepG2, A549, HeLa i MGC-803), a w wielu przypadkach wyznaczone wartości IC₅₀ były znacznie niższe niż dla 5-fluorouracylu. W tabeli 16 przedstawiono wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków wykazujących najlepszą aktywność przeciwnowotworową wobec każdej z badanych linii komórkowych.

Tabela 16. Wartości IC₅₀ dla α-aminofosfonianów wykazujących najlepszą aktywność względem każdej z badanych linii komórkowych.

Linia komórkowa	Numer związku	IC ₅₀ [μM]	
		Badany związek	5-Fu
CNE	48a	22,19±1,35	45,10±2,33
HCT-116	48b	7,31±1,12	10,05±6,34
KB	48b	0,13±0,021	1,23±0,16
NCI-H460	48e	3,80±1,03	45,14±2,14
HepG2	48e	19,94±1,07	38,34±3,24
A549	48h	6,76±1,48	34,34±3,90
HeLa	47j	10,57±1,04	23,33±0,12
MGC-803	48n	3,77±0,70	46,93±2,09

Większość przebadanych pochodnych była bardziej cytotoksyczna względem komórek nowotworowych niż komórek prawidłowych (HUVEC), co czyni je dobrymi kandydatami jako leki przeciwnowotworowe. Mechanizm działania otrzymanych α-aminofosfonianów potwierdzono na przykładzie pochodnych **48h** i **48n**. Udowodniono, że związki te indukowały apoptozę mitochondrialną i powodowały zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 poprzez zwiększenie produkcji jonów Ca²⁺ i reaktywnych form tlenu oraz poprzez wpływ na powiązane enzymy i geny (Ye i in., 2014).

Opisane zostały synteza i aktywność antyproliferacyjna serii nowych α-aminofosfonianów opartych na strukturze pierścienia 2-oksochinoliny (Fang i in., 2016). Na rycinie 26 przedstawiono struktury związków wykazujących lepszą aktywność przeciwnowotworową *in vitro* wobec wybranych linii komórkowych (A549, HeLa oraz MCF-7) w porównaniu z 5-fluorouracylem.



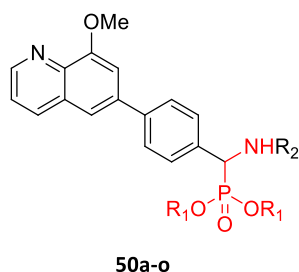
49a-t

a R = 2-Me-C₆H₄; b R = 3-Me-C₆H₄; c R = 4-Me-C₆H₄; d R = 3-CF₃-C₆H₄; e R = 4-CF₃-C₆H₄;
 f R = 4-NO₂-C₆H₄; g R = 4-MeO-C₆H₄; h R = 2-Cl-C₆H₄; i R = 3-Cl-C₆H₄; j R = 4-Cl-C₆H₄;
 k R = 2-Br-C₆H₄; l R = 3-Br-C₆H₄; m R = 3,4-di-Me-C₆H₃; n R = 3,5-di-CF₃-C₆H₃; o R = 2,4-di-NO₂-C₆H₃;
 p R = 2-Cl-4-NO₂-C₆H₃; q R = 3-Cl-4-F-C₆H₃; r R = 2,3-di-Cl-C₆H₃; s R = 3,5-di-Cl-C₆H₃; t R = 1-naftyl

Rycina 26. Struktury związków 49a-t.

Najlepszą zdolność hamowania wzrostu komórek raka płuc (A549) i raka szyjki macicy (HeLa) wykazywał związek **49q** (odpowiednio IC₅₀ = 16,6±0,9 i 2,5±0,6 μM). W przypadku linii komórkowej estrogenozależnego gruczolakoraka piersi (MCF-7) najlepsze działanie wykazywały pochodne **49q** (IC₅₀ = 1,0±0,4 μM) oraz **49t** (IC₅₀ = 0,3±0,1 μM). Powyższe wartości IC₅₀ były znacznie niższe w porównaniu z wartościami wyznaczonymi dla powszechnie stosowanego w leczeniu nowotworów 5-fluorouracylu (IC₅₀ = 34,32±2,1; 56,5±,4; 79,3±5,1 μM odpowiednio dla linii A549, HeLa, MCF-7). Wykazano, że mechanizm działania antyproliferacyjnego związku **49q** wobec komórek raka szyjki macicy opierał się na indukowaniu apoptozy i zatrzymywaniu cyklu komórkowego w fazach S i G2 (Fang i in., 2016).

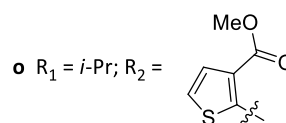
Wśród serii α-aminofosfonianów zawierających w swej strukturze pierścień chinoliny na szczególną uwagę zasługują pochodne **50a-o** (Ryc. 27) (Zhu i in., 2017).



50a-o

a R₁ = Et; R₂ = Ph
 b R₁ = Et; R₂ = 2-Me-C₆H₄
 c R₁ = Et; R₂ = 3-Me-C₆H₄
 d R₁ = Et; R₂ = 4-Me-C₆H₄
 e R₁ = Et; R₂ = 3-F-C₆H₄
 f R₁ = Et; R₂ = 3-Cl-C₆H₄

g R₁ = *i*-Pr; R₂ = Ph
 h R₁ = *i*-Pr; R₂ = 2-Me-C₆H₄
 i R₁ = *i*-Pr; R₂ = 3-Me-C₆H₄
 j R₁ = *i*-Pr; R₂ = 4-Me-C₆H₄
 k R₁ = *i*-Pr; R₂ = 3-Cl-C₆H₄
 l R₁ = *i*-Pr; R₂ = 4-Cl-C₆H₄
 m R₁ = *i*-Pr; R₂ = 3-NO₂-C₆H₄
 n R₁ = *i*-Pr; R₂ = 4-NO₂-C₆H₄

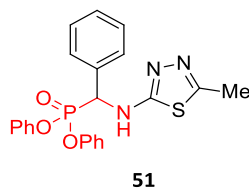


Rycina 27. Struktury związków 50a-o.

Wszystkie przedstawione związki **50a-o** wykazywały wysoką aktywność cytostatyczną względem komórek raka przetyku (Eca109), a wyznaczone dla nich wartości parametru IC₅₀ mieściły się z zakresie od 3,41±1,15 do 14,38±1,13 μM i były niższe niż dla stosowanego w leczeniu sunitynibu (IC₅₀ = 16,54±1,17 μmol/l). Z kolei pochodne **50h** i **50j** wykazywały silne działanie cytostatyczne również wobec komórek raka wątrobowokomórkowego (Huh7) (IC₅₀ = 4,00±1,14 i 2,26±1,20 μM odpowiednio dla **50h** i **50c**) w porównaniu z sunitynibem (IC₅₀ = 16,54±1,17 i 5,27 μM odpowiednio dla linii Eca109 i Huh7) (Zhu i in., 2017).

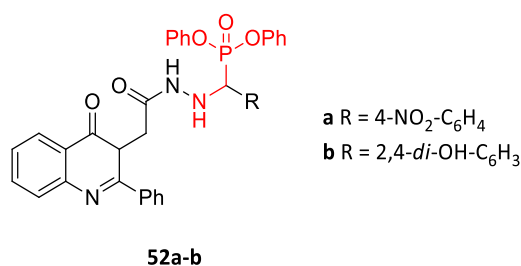
Związki zawierające w swej strukturze fragment 1,3,4-tiadiazolu wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej, m.in. przeciwnowotworowej (Sridhar i in., 2020; Yang i in., 2012), przeciwbakteryjnej (Taflan i in., 2019) czy przeciwzapalnej (Amir i Shikha, 2004). Opisane zostały synteza i aktywność cytostatyczna serii α-aminofosfonianowych pochodnych 1,3,4-tiadiazolu (Azaam i in., 2018). Badania *in vitro* potwierdziły wysoką zdolność związku **51** (Ryc. 28) do hamowania pro-

liferacji komórek ludzkiego gruczolakoraka piersi (MCF-7). Wartość IC_{50} wyznaczona dla związku **51** wynosiła 14,8 $\mu\text{g/ml}$, natomiast dla cisplatyny – 17 $\mu\text{g/ml}$ (Azaam i in., 2018).



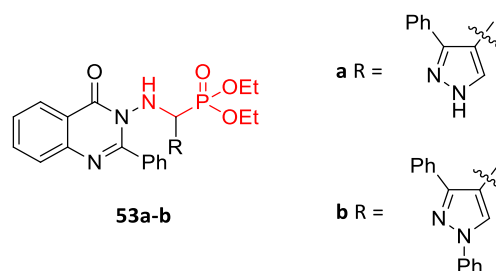
Rycina 28. Struktura związku **51**.

Opisana została synteza, a także aktywność przeciwnowotworowa α -aminofosfonianów zawierających w swej strukturze fragment chinazolinonu (Awad i in., 2018). Związki **52a** i **52b** (Ryc. 29) wykazywały wyższą zdolność do hamowania wzrostu komórek raka prostaty (PC-3) niż dokсорubicyna. Wartości IC_{50} wynosiły 8,44 \pm 0,9 μM i 6,68 \pm 0,5 μM odpowiednio dla **52a** i **52b** oraz 8,87 \pm 0,6 μM dla wzorca (Awad i in., 2018).



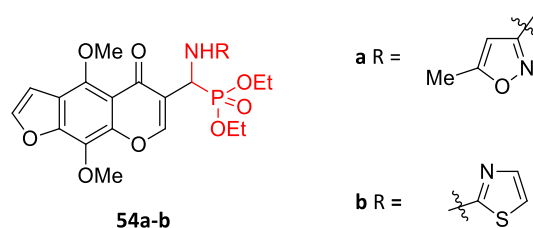
Rycina 29. Struktury związków **52a-b**.

Układ chinazolinonu występował także w strukturze α -aminofosfonianów **53a** i **53b** (Ryc. 30), które wykazywały lepszą aktywność przeciwnowotworową wobec komórek raka wątroby linii HepG2 (IC_{50} = 3,55 \pm 0,40 i 3,50 \pm 0,46 μM odpowiednio dla **53a** i **53b**) niż dokсорubicyna (IC_{50} = 3,66 \pm 0,42 μM) oraz porównywalną cytotoksyczność względem prawidłowych komórek melanocytów (HFB4) (Assiri i in., 2018).



Rycina 30. Struktury związków **53a-b**.

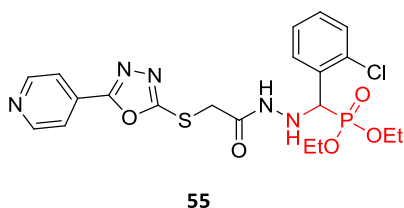
Kolejną grupę związków o działaniu przeciwnowotworowym stanowią α -aminofosfoniany **54a** i **54b** (Ryc. 31) zawierające w swej strukturze fragment furo[3,2-g]kromonu (Abu-Bakr i in., 2020).



Rycina 31. Struktura związków **54a-b**.

Przeprowadzone badania *in vitro* wykazały wysoką aktywność cytostatyczną związków **54a** i **54b** wobec ludzkich komórek raka jelita grubego (HCT-116). Wartości IC_{50} wynosiły odpowiednio 4,7 $\mu\text{g/ml}$ i 4,6 $\mu\text{g/ml}$ oraz były niższe niż dla powszechnie stosowanej doksorubicyny ($IC_{50} = 5,5 \mu\text{g/ml}$). Analogiczne estry metylowe i izopropylowe wykazywały znacznie słabszą aktywność wobec HCT-116 ($IC_{50} = 7,8\text{--}14,6 \mu\text{g/ml}$) (Abu-Bakr i in., 2020).

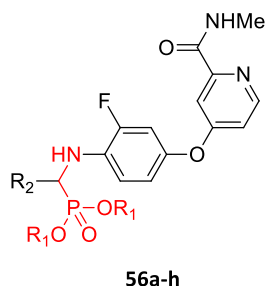
Z serii nowych α -aminofosfonianów zawierających w swej strukturze pierścień oksadiazolu (Ewies i in., 2019) na szczególną uwagę zasługuje pochodna **55** (Ryc. 32).



Rycina 32. Struktura związku **55**.

Badania *in vitro* dowiodły, że związek **55** wykazywał działanie antyproliferacyjne względem ludzkich komórek raka jelita grubego (HCT-116) na poziomie porównywalnym do doksorubicyny ($IC_{50} = 9,2 \pm 1,4$ i $9,4 \pm 3,9 \mu\text{M}$ odpowiednio dla **55** i dla doksorubicyny). Ponadto związek ten był selektywny wobec linii komórkowych HCT-116 w porównaniu z prawidłowymi komórkami okrężnicy (indeks selektywności $IS = 2,46$). Pochodną **55** przebadano również pod kątem zdolności do inicjowania apoptozy w komórkach raka jelita grubego. Stwierdzono, że związek ten 6-krotnie podwyższał poziom kaspazy 3 w komórkach HCT-116 w porównaniu z komórkami kontrolnymi. Pochodna **55** powodowała także znaczący wzrost poziomu kaspaz 8 i 9, nadekspresję poziomu cytochromu C, zwiększenie stężenia Bax i zmniejszenie stężenia białka Bcl-2 w komórkach HCT-116 (Ewies i in., 2019).

Opisano syntezę i aktywność przeciwnowotworową nowych α -aminofosfonianów posiadających w swej strukturze pierścień pirydyny. Spośród wszystkich otrzymanych pochodnych związki **56a-h** (Ryc. 33) wykazywały lepszą zdolność hamowania proliferacji komórek rakowych od powszechnie stosowanej doksorubicyny (Poola i in., 2019).

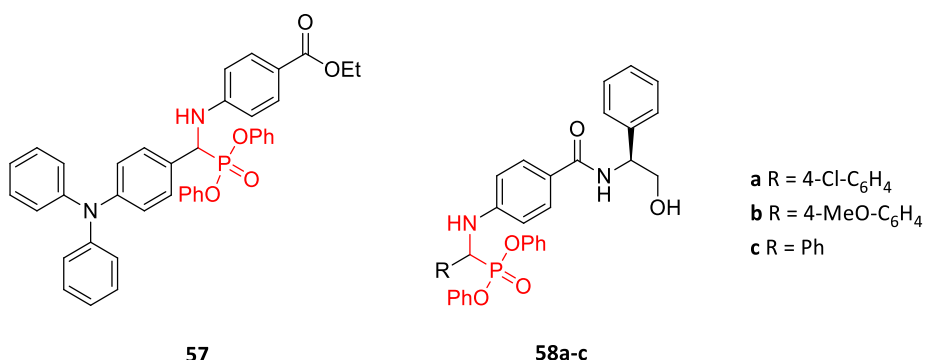


- a** $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = 3\text{-F-C}_6\text{H}_4$
b $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = 4\text{-Cl-C}_6\text{H}_4$
c $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = 4\text{-Cl-3-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_3$
d $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = 3\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4$
e $R_1 = \text{Me}$; $R_2 = 4\text{-Cl-C}_6\text{H}_4$
f $R_1 = \text{Me}$; $R_2 = 4\text{-MeO-C}_6\text{H}_4$
g $R_1 = \text{Me}$; $R_2 = 3\text{-Br-C}_6\text{H}_4$
h $R_1 = \text{Me}$; $R_2 = 3\text{-F-C}_6\text{H}_4$

Rycina 33. Struktury związków 56a-h.

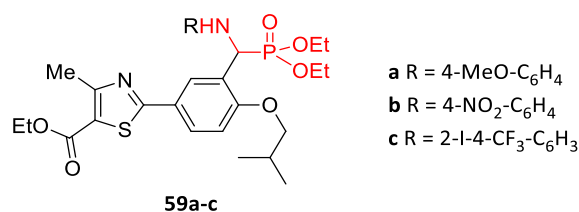
Wobec komórek raka piersi linii MCF-7 najwyższą aktywność antyproliferacyjną wykazywał związek **56e** ($\text{IC}_{50} = 11,44 \pm 0,012 \mu\text{M}$), podczas gdy wyznaczona wartość IC_{50} dla dokсорubicyny wynosiła $24,65 \pm 0,004 \mu\text{M}$. W przypadku linii MDA-MB-231 najlepiej działał związek **56b** ($\text{IC}_{50} = 15,86 \pm 0,016 \mu\text{M}$; dla wzorca $\text{IC}_{50} = 40,42 \pm 0,004 \mu\text{M}$). Pochodna **56b** była również najbardziej cytotoksyczna w stosunku do linii komórek ludzkiego raka trzustki (Mia-PaCa-2) ($\text{IC}_{50} = 35,35 \pm 0,008 \mu\text{M}$), ludzkiego raka szyjki macicy (HeLa) ($\text{IC}_{50} = 20,31 \pm 0,034 \mu\text{M}$) oraz ludzkiego raka wątrobowokomórkowego (HepG2) ($\text{IC}_{50} = 29,45 \pm 0,014 \mu\text{M}$) w porównaniu z dokсорubicyną, dla której wartości IC_{50} wynosiły odpowiednio $45,27 \pm 0,004$, $38,21 \pm 0,006$ i $35,43 \pm 0,016 \mu\text{M}$ dla linii Mia-PaCa-2, HeLa i HepG2. Ponadto związki **56a-h** nie były cytotoksyczne w stosunku do prawidłowych komórek embrionalnych nerki (HEK 293) (Poola i in., 2019). Przeprowadzone dokowanie molekularne wykazało występowanie silnych wiązań wodorowych pomiędzy badanymi związkami a miejscem aktywnym topoisomerazy II, enzymu o dużym znaczeniu w leczeniu chorób nowotworowych (Kellner i in., 2002).

W 2019 roku opisano syntezę i aktywność przeciwnowotworową dwóch serii nowych α -aminofosfonianów (Loredo-Calderon i in., 2019). Spośród wszystkich otrzymanych związków najwyższą aktywność antyproliferacyjną wobec dwóch linii komórek raka piersi (MDA-MB-231 i MCF-7) wykazywały pochodne **58a** ($\text{IC}_{50} = 26,61 \pm 5,08 \mu\text{M}$ dla MDA-MB-231) oraz **57** ($\text{IC}_{50} = 35,72 \pm 16,65 \mu\text{M}$ dla MCF-7), **58b** ($\text{IC}_{50} = 36,68 \pm 12,31 \mu\text{M}$ dla MCF-7) i **58c** ($\text{IC}_{50} = 0,50 \pm 0,22 \mu\text{M}$ dla MCF-7) (Ryc. 34). Warto podkreślić, że wszystkie wyznaczone wartości IC_{50} były znacznie niższe w porównaniu ze związkiem referencyjnym – fotemustyną ($\text{IC}_{50} = 851 \pm 75,86$ i $812,61 \pm 64,93 \mu\text{M}$ odpowiednio dla MDA-MB-231 i MCF-7). Przebadane związki wykazywały niską cytotoksyczność względem prawidłowych komórek nabłonkowych sutka (MCF-10A). Na przykładzie pochodnych **57** i **58b** udowodniono, że działanie antyproliferacyjne badanych α -aminofosfonianów wynikało z indukowania apoptozy poprzez aktywację kaspazy 3 (Loredo-Calderon i in., 2019).



Rycina 34. Struktury związków 57 i 58a-c.

W serii α -aminofosfonianów posiadających w swej strukturze pierścień 1,3-tiazolu najlepsze działanie cytostatyczne wobec linii komórek raka piersi (MCF-7 i MDA-MB-231), prostaty (DU-145), wątroby (HepG2) oraz szyjki macicy (HeLa) wykazywały związki **59a-c** (Ryc. 35) (Gundluru i in., 2021).



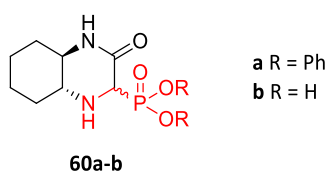
Rycina 35. Struktury związków **59a-c**.

Wartości IC₅₀ wyznaczone dla pochodnych **59a-c** (Tabela 17) były niższe niż dla związku referencyjnego – doksorubicyny. Badania *in silico* wykazały, że aktywność przeciwnowotworowa wszystkich otrzymanych α-aminofosfonianów jest wynikiem hamowania topoisomerazy II oraz polimerazy tubulinowej (Gundluru i in., 2021).

Tabela 17. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla α-aminofosfonianów **59a-c**.

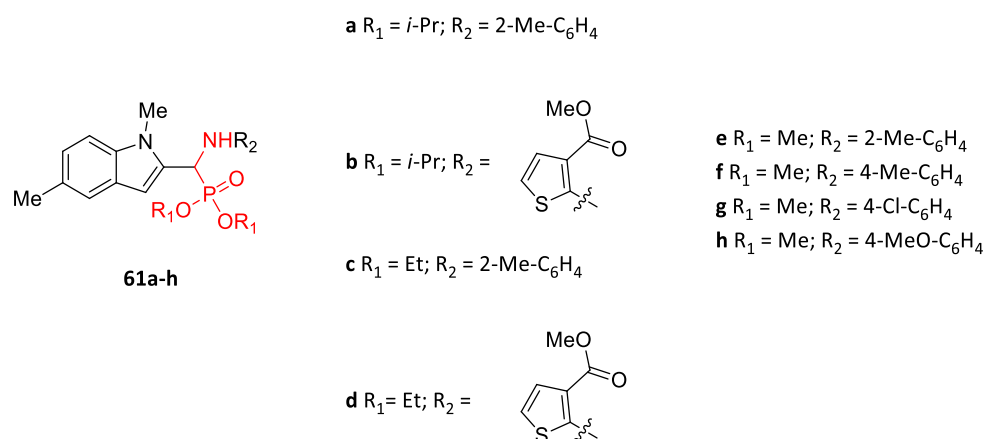
Numer związku	IC ₅₀ [μg/ml]				
	MCF-7	MDA-MB-231	DU-145	HepG2	HeLa
59a	12,54±0,027	8,18±0,018	3,02±0,018	22,01±0,008	10,68±0,019
59b	12,30±0,018	6,30±0,002	2,13±0,0018	20,89±0,008	9,60±0,016
59c	14,13±0,016	8,54±0,008	3,34±0,028	26,14±0,001	12,30±0,018
Doksorubicyna	16,18±0,017	8,64±0,006	3,82±0,024	26,68±0,002	12,65±0,018

Spośród dwóch serii związków zawierających w swej strukturze szkielet oktahydrochinoksalin-2(1*H*)-onu (Iwanejko i in., 2020) najlepszą zdolność hamowania proliferacji komórek ludzkiej ostrej białaczki szpikowej (MV4-11), wyższą niż cisplatyna (IC₅₀ = 0,46±0,26 μM), wykazywały α-aminofosfonian **60a** (IC₅₀ = 0,21±0,13 μM) oraz kwas fosfonowy **60b** (IC₅₀ = 0,45±0,25 μM) (Ryc. 36). Obie pochodne nie były cytotoksyczne względem komórek prawidłowych. Dalsze badania dowiodły, że związek **60a** indukował apoptozę komórek nowotworowych przy jednoczesnym zwiększeniu aktywności kaspazy 3/7 (Iwanejko i in., 2020).



Rycina 36. Struktury związków **60a-b**.

Kolejną grupę związków o aktywności przeciwnowotworowej stanowią α-aminofosfoniany zawierające w swej strukturze pierścień indolu (Ma i in., 2021). Na rycinie 37 przedstawiono struktury związków **61a-h** wykazujących wyższą aktywność cytostatyczną niż 5-fluorouracyl.



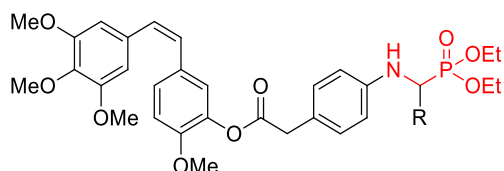
Rycina 37. Struktury związków **61a-h**.

Wszystkie przedstawione pochodne **61a-h** wykazywały lepsze działanie antyproliferacyjne wobec linii komórek raka wątroby (HepG2), natomiast wobec komórek raka żołądka (MGC-803) najwyższą aktywność miały związki **61b**, **61d** i **61g** (Tabela 18) (Ma i in., 2021).

Tabela 18. Wartości IC_{50} wyznaczone dla α -aminofosfonianów **61a-h**.

Numer związku	IC_{50} [μM]	
	HepG2	MGC-803
61a	47,1	–
61b	40,6	45,1
61c	37,1	–
61d	43,1	35,7
61e	67,4	–
61f	44,4	–
61g	34,2	44,8
61h	49,3	90,3
5-Fu	78,7	82,0

Strategia łączenia cytostatyków z regulatorami mikrośrodowiska nowotworowego jest obecnie skuteczną metodą leczenia nowotworów (Hanna i in., 2009; Kumari i in., 2021). W ostatnim czasie opublikowano wyniki badań dotyczących syntezy i aktywności antyproliferacyjnej nowych koniugatów zawierających w swej strukturze fragment inhibitora tubuliny oraz inhibitora macierzowych metaloproteinaz (MMP) (Yang i in., 2022). Celem badaczy było opracowanie cząsteczek, których działanie miało się opierać na jednoczesnym hamowaniu polimeryzacji tubuliny i zapobieganiu powstawania przerzutów. Otrzymane pochodne przebadano *in vitro* pod kątem ich aktywności przeciwnowotworowej wobec trzech linii komórkowych: raka wątroby (HepG2), raka płuc (A549) oraz raka piersi (MCF-7), a następnie porównano z wynikami otrzymanymi dla paklitakselu, NNGH (kwas *N*-izobutylo-*N*-[4-metoksyfenylosulfonylo]glicylohydroksamowy; inhibitor MMP) i CA4 (kombretastatyna A4; inhibitor tubuliny). Na rycinie 38 przedstawione są struktury związków **62a-l**, dla których wartości parametru IC_{50} były niższe niż dla paklitakselu.



62a-l

- a R = 4-Me-C₆H₄; b R = 4-MeO-C₆H₄; c R = 4-F-C₆H₄; d R = 4-NO₂-C₆H₄; e R = 2-Me-C₆H₄;
 f R = 3-Me-C₆H₄; g R = 3-F-C₆H₄; h R = 3-CF₃-C₆H₄; i R = 3-NO₂-C₆H₄;
 j R = 4-HO-3-MeO-C₆H₃; k R = 3-HO-4-MeO-C₆H₃; l R = 3,4-di-Cl-C₆H₃

Rycina 38. Struktury związków 62a-l.

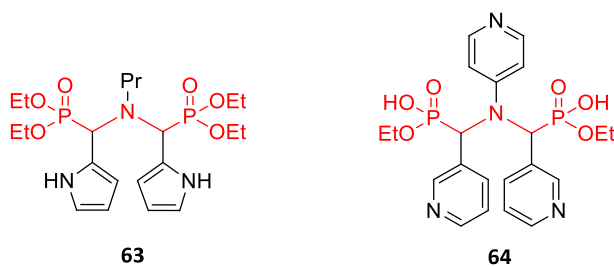
Najlepsze działanie wobec komórek linii HepG2 wykazywały pochodne **62e** i **62k**, dla których wartości IC₅₀ wynosiły 0,05 μmol/l i były dużo niższe niż dla paklitakselu (IC₅₀ = 0,22±0,01 μM) i CA4 (IC₅₀ = 0,09±0,01 μM). Dla pozostałych związków wyznaczone wartości IC₅₀ mieściły się w zakresie od 0,10±0,02 do 0,19±0,02 μM. W przypadku komórek linii A549 lepiej niż paklitaksel (IC₅₀ = 0,10±0,01 μM) działały związki **62i** (IC₅₀ = 0,07±0,01 μM) i **62k** (IC₅₀ = 0,08±0,04 μM), natomiast najwyższą aktywność hamującą proliferację komórek raka piersi wykazywały wszystkie przedstawione pochodne **62a-l** (IC₅₀ = od 0,17±0,01 do 0,50±0,21 μM oraz 0,64±0,05 μM dla paklitakselu). Oceniono także cytotoksyczność badanych koniugatów względem prawidłowych komórek wątroby (L02). Udowodniono selektywne działanie większości związków wobec komórek nowotworowych linii HepG2. W dalszym toku badań wykazano, że α-aminofosfonian **62e** hamował polimeryzację tubuliny, indukował zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M, wywoływał stres oksydacyjny w komórkach HepG2 i powodował apoptozę poprzez zależny od mitochondriów szlak apoptotyczny. Ponadto związek ten hamował powstawanie przerzutów w wyniku zmniejszenia poziomu metaloproteinaz-2 (MMP-2) i -9 (MMP-9) w komórkach HepG2 (Yang i in., 2022).

4. Aminofosfoniany o działaniu przeciwdrobnoustrojowym

Leczenie chorób zakaźnych stanowi obecnie duże wyzwanie. Współczesna medycyna dysponuje szeroką gamą leków przeciwdrobnoustrojowych, jednak w krótkim czasie stają się one coraz mniej skuteczne. Przyczyną takiego stanu rzeczy jest rosnąca lekooporność patogenów, które są zdolne do szybkiego wytwarzania różnych mechanizmów obronnych (Blair i in., 2015). Dlatego też potrzeba odkrycia skutecznych terapeutyków skłania naukowców do projektowania i syntezy nowych związków o potencjalnej aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

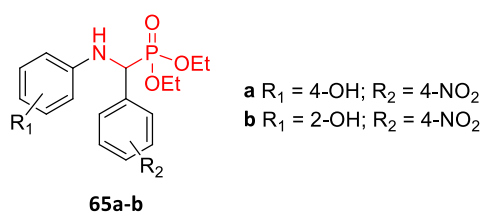
4.1. Aminofosfoniany o aktywności przeciwbakteryjnej

Wykazano, że α-minodifosfoniany **63** i **64** (Ryc. 39) w stężeniu 200 μg/ml skutecznie hamowały wzrost bakterii *Bacillus subtilis*. Wartości średnicy strefy zahamowania wzrostu bakterii (ZOI, ang. *zone of inhibition*) wyznaczone dla tych pochodnych wynosiły odpowiednio 17 i 20 mm i były wyższe niż dla amoksycyliny użytej jako lek referencyjny (ZOI = 15 mm). Związek **63** działał lepiej niż amoksycylina również wobec szczepu *Pseudomonas aeruginosa* (ZOI = 15 i 13 mm odpowiednio dla **63** i wzorca) (Damiche i Chafaa, 2017).



Rycina 39. Struktura związków **63** i **64**.

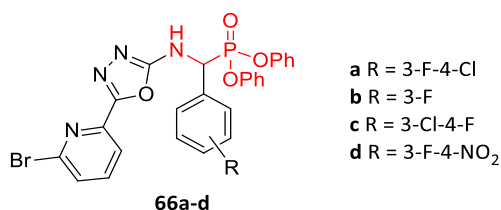
W serii α -aminofosfonianów zawierających w swej strukturze szkielet aminofenolu najwyższą aktywność przeciwbakteryjną wykazywały związki **65a-b** (Ryc. 40) (Hellal i in., 2017).



Rycina 40. Struktury związków **65a-b**.

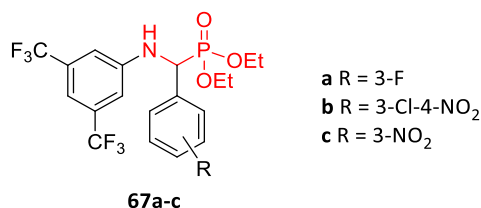
Obie pochodne **65a** i **65b** w stężeniu 100 $\mu\text{g/ml}$ wykazywały lepsze działanie przeciwbakteryjne w stosunku do *Bacillus subtilis* (ZOI = 32,6 \pm 0,4 i 31,8 \pm 0,0 mm odpowiednio dla **65a** i **65b**) oraz *Staphylococcus aureus* (ZOI = 31,0 \pm 0,7 i 30,4 \pm 0,1 mm odpowiednio dla **65a** i **65b**) w porównaniu z chloramfenikolem (ZOI = 30,8 \pm 0,0 mm oraz 27,5 \pm 0,9 mm – odpowiednio dla *Bacillus subtilis* oraz *Staphylococcus aureus*). Ponadto związek **65a** wykazywał lepsze działanie wobec *Pseudomonas Aeruginosa* (ZOI = 28,0 \pm 0,5 mm) niż lek referencyjny (ZOI = 27,5 \pm 0,9 mm). Dodatkowo dla wszystkich badanych patogenów wyznaczono wartość minimalnego stężenia hamującego (MIC) oraz minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC), a następnie obliczono stosunek MBC/MIC. W przypadku związków **65a** i **65b** wartość MBC/MIC wynosiła od 2 do 4, co wskazuje na silne działanie bakteriobójcze tych pochodnych (Hellal i in., 2017) (gdy MBC/MIC > 4 – substancja posiada działanie bakteriostatyczne, zaś gdy MBC/MIC \leq 4 – substancja wykazuje działanie bakteriobójcze) (Pankey i Sabath, 2004).

W serii α -aminofosfonianów opartych na strukturze 1,3,4-oksadiazolu (Boshta i in., 2018) najlepszą aktywność hamującą wzrost szczepu gronkowca odpornego na metycylinę (MRSA) wykazywały związki **66a-d** (Ryc. 41). Wartości ZOI wyznaczone dla tych pochodnych przy stężeniu 10 $\mu\text{g/ml}$ wynosiły odpowiednio 26, 19, 29 i 17 mm dla **66a**, **66b**, **66c** i **66d** i były wyższe niż dla stosowanego w lecznictwie antybiotyku – gentamycyny (ZOI = 15 mm) (Boshta i in., 2018).



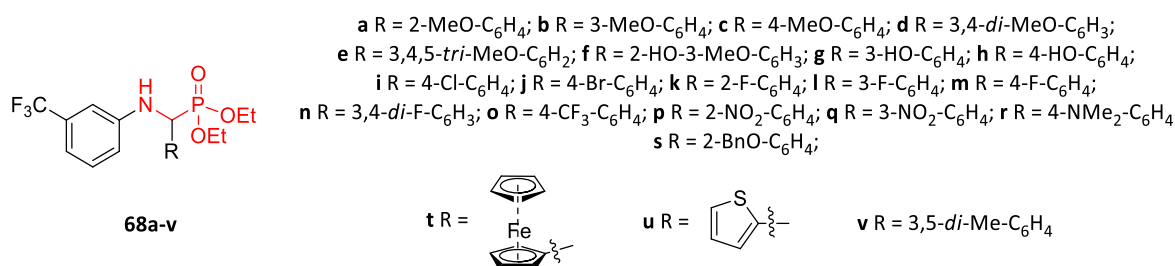
Rycina 41. Struktury związków **66a-d**.

Pośród fluorowanych α -aminofosfonianów najwyższą aktywność wobec *Staphylococcus aureus* wykazywały związki **67a-c** (Ryc. 42). Zmierzone średnice stref zahamowania wzrostu *S. aureus* wynosiły odpowiednio 16, 17 i 14 mm dla **67a**, **67b** i **67c** i były wyższe niż dla streptomycyny użytej jako wzorzec (ZOI = 13 mm) (Sudileti i in., 2019a).



Rycina 42. Struktury związków **67a-c**.

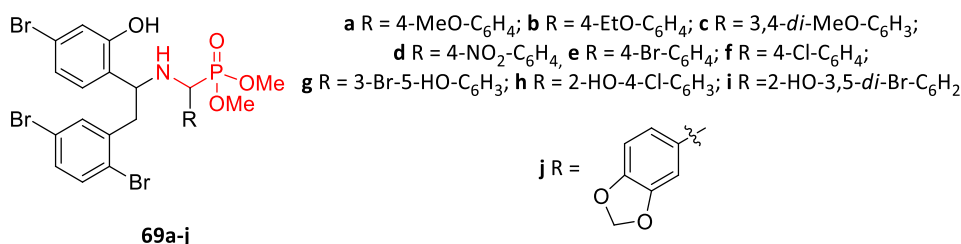
Otrzymano kolejną serię fluorowanych α -aminofosfonianów, które przebadano pod kątem aktywności przeciwbakteryjnej względem bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*) oraz Gram-ujemnych (*Escherichia coli* i *Salmonella typhi*) (Rasal i in., 2020). Na rycinie 43 przedstawiono struktury związków **68a-v** wykazujących lepsze działanie niż wzorzec – chloramfenikol.



Rycina 43. Struktury związków **68a-v**.

Wartości parametrów MIC wyznaczone dla związków **68a-v** były znacznie niższe (7,81–125 μ g/ml) w porównaniu ze wzorcem – chloramfenikolem (125–250 μ g/ml). Na szczególną uwagę zasługują pochodne **68t** (MIC = 7,81 μ g/ml) oraz **68p** i **68u** (MIC = 15,62 μ g/ml), których aktywność wobec *Staphylococcus aureus* była odpowiednio 32- i 16-krotnie wyższa niż dla leku referencyjnego (MIC = 250 μ g/ml). Najlepsze działanie hamujące wzrost *Bacillus subtilis*, znacznie wyższe niż chloramfenikol (MIC = 250 μ g/ml), wykazywały związki **68a** i **68q** (MIC = 15,62 μ g/ml). Pochodna **68t** okazała się najbardziej skuteczna względem *Escherichia coli* (MIC = 15,62 μ g/ml) oraz *Salmonella typhi* (MIC = 31,25 μ g/ml), działała 8-krotnie lepiej niż chloramfenikol (MIC = 125 i 250 μ g/ml odpowiednio dla *Escherichia coli* i *Salmonella typhi*) (Rasal i in., 2020).

Przeprowadzone badania *in vitro* potwierdziły aktywność α -aminofosfonianów **69a-j** (Ryc. 44) w stosunku do bakterii zarówno Gram-dodatnich (*Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus*), jak i Gram-ujemnych (*Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*) (Poola i in., 2020).



Rycina 44. Struktury związków **69a-j**.

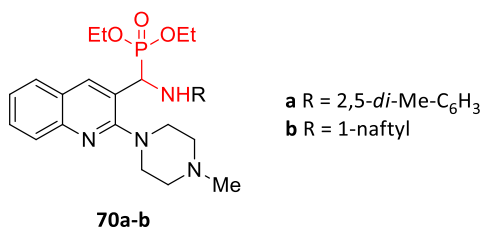
W przypadku wszystkich badanych szczepów bakterii wyznaczone wartości MIC dla pochodnych **69a**, **69d** oraz **69f-j** były niższe niż dla leku referencyjnego (Tabela 19).

Tabela 19. Wartości MIC wyznaczone dla związków **69a-j**.

Numer związku	MIC [$\mu\text{g/ml}$]			
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
69a	11,66	11,2	13,73	11,02
69b	15,36	18,2	16,22	16,08
69c	15,88	27,0	15,63	18,88
69d	9,24	10,5	11,72	11,32
69e	16,16	17,8	16,22	19,16
69f	14,11	15,9	14,78	12,11
69g	13,27	11,36	10,16	14,16
69h	15,66	17,2	16,08	19,04
69i	9,66	11,2	12,08	14,04
69j	8,5	10,5	9,38	8,18
Cyprofloksacyna	16,6	18,20	16,43	19,08

Związek **69c** wykazywał słabszą aktywność niż wzorzec jedynie wobec *Staphylococcus aureus*, natomiast związek **69e** – wobec *Klebsiella pneumoniae*. Na szczególną uwagę zasługuje pochodna **69j**, która działała najlepiej spośród całej gamy α -aminofosfonianów wobec wszystkich badanych szczepów bakterii (Poola i in., 2020).

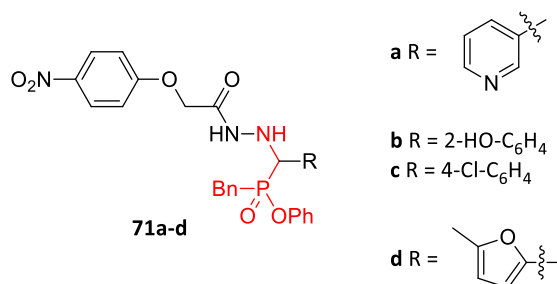
W serii α -aminofosfonianów zawierających w swej strukturze pierścień chinoliny i piperazyny (Rajkoomar i in., 2020) związki **70a** i **70b** (Ryc. 45) były bardziej aktywne od cyprofloksacyny wobec niektórych z badanych szczepów bakterii.



Rycina 45. Struktury związków **70a-b**.

Pochodna **70a** działała lepiej w stosunku do *Bacillus Cereus* (MIC = $9 \pm 0,5 \mu\text{M}$) i *Micrococcus Luteus* (MIC = $9 \pm 0,8 \mu\text{M}$) niż cyprofloksacyna (MIC = $28 \pm 0,5$ i $30 \pm 0,7 \mu\text{M}$ odpowiednio dla *Bacillus Cereus* i *Micrococcus Luteus*). Natomiast związek **70b** wykazywał wyższą aktywność przeciwbakteryjną wobec *Micrococcus Luteus* (MIC = $7 \pm 0,6 \mu\text{M}$) i *Staphylococcus aureus* (MIC = $9 \pm 0,5 \mu\text{M}$) niż cyprofloksacyna (MIC = $30 \pm 0,7$ i $25 \pm 1 \mu\text{M}$ odpowiednio dla *Micrococcus Luteus* i *Staphylococcus aureus*). Dodatkowe badania przeprowadzone na krewetkach solankowych wykazały niską toksyczność badanych związków. Śmiertelność po 24 godzinach wynosiła 30% i 31% odpowiednio dla **70a** i **70b** (przy stężeniu 500 $\mu\text{g/ml}$) (Rajkoomar i in., 2020).

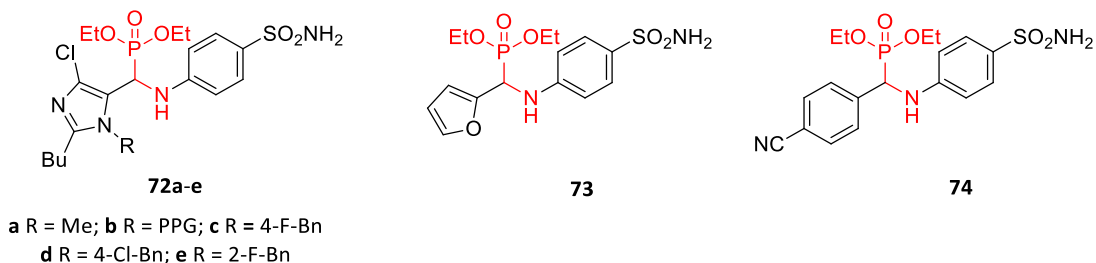
Aktywność przeciwbakteryjna wyrażona jako średnica strefy zahamowania wzrostu bakterii została zbadana dla α -aminofosfonianów **71a-d** (Ryc. 46) w stężeniu 50 mg/ml (Alotaibi i Amer, 2020).



Rycina 46. Struktury związków **71a-d**.

W przypadku *Pseudomonas Aeruginosa* wszystkie związki wykazywały lepsze działanie (ZOI = 30, 20, 12 i 10 odpowiednio dla **71a**, **71b**, **71c**, **71d**) niż cyprofloksacyna (ZOI = <6 mm). Pochodna **71a** (ZOI = 22 mm) była bardziej aktywna w stosunku do *Staphylococcus aureus* w porównaniu z amoksycyliną (ZOI = <6 mm) i wankomycyną (ZOI = 18 mm), natomiast związki **71b-d** działały lepiej niż amoksycyliną (ZOI = 16, 15 i 18 mm odpowiednio dla **71b**, **71c** i **71d**) (Alotaibi i Amer, 2020). Dokowanie molekularne przeprowadzone dla α -aminofosfonianu **71a** wykazało, że związek ten wiąże się z centrum aktywnym gyrazy DNA – enzymu odgrywającego ważną rolę w procesie replikacji DNA bakterii (Reece, 1991).

Opisane zostały synteza i aktywność przeciwbakteryjna α -aminofosfonianowych pochodnych sulfanilamidu wobec szerokiej gamy bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych (Wang i in., 2021). Pochodne **72a-e**, **73** i **74** (Ryc. 47) wykazywały lepsze działanie przeciwbakteryjne wobec niektórych badanych szczepów (MIC = 2–16 μ g/ml) niż standardowo stosowane chloramfenikol i norfloksacyna (MIC = 8–32 μ g/ml).

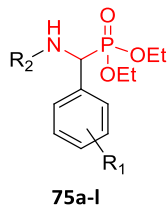


Rycina 47. Struktury związków **72a-e**, **73** i **74**.

Pochodna **73** wykazywała 2-krotnie wyższą aktywność względem *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (MIC = 4 μ g/ml) w porównaniu z chloramfenikolem i norfloksacyną (MIC = 8 μ g/ml). Natomiast w stosunku do bakterii *Escherichia coli* JM109 najlepiej działał związek **72e** (MIC = 2 μ g/ml). Wartość MIC była odpowiednio 8- i 4-krotnie niższa niż wyznaczona dla chloramfenikolu i norfloksacyny (MIC = 16 i 8 μ g/ml). Pochodną **72e** poddano dalszym badaniom, które dowiodły, że mechanizm jej działania polegał na niszczeniu błony komórkowej bakterii *Escherichia coli* poprzez wytwarzanie RFT i następującą po nim interkalację z DNA, co prowadziło do śmierci komórki bakteryjnej. Wykazano także niską toksyczność związku **72e** w stosunku do ludzkich krwinek czerwonych (Wang i in., 2021).

4.2. Aminofosfoniany o aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej

Dowodzono, że α -aminofosfoniany **75a-l** (Ryc. 48) wykazywały wyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* oraz wobec *Candida albicans* i *Aspergillus niger* w porównaniu ze stosowanymi w leczeniu chloramfenikolem i flukonazolem (Tabela 20) (Shashikumar i in., 2013).



a R₁ = 3-OEt, 4-OH; R₂ = 4-Cl-C₆H₄

c R₁ = 3-OEt, 4-OH; R₂ = 3-Cl-C₆H₄

e R₁ = 3-OMe, 4-OH, 5-NO₂; R₂ = 3-Cl-C₆H₄

g R₁ = 3-OMe, 4-OH, 5-NO₂; R₂ = Bn

i R₁ = 3,4-OH, 5-NO₂; R₂ = Pr

k R₁ = 3-OEt, 4-OH; R₂ = 2-Cl-C₆H₄

b R₁ = 3,4-OH, 5-NO₂; R₂ = 4-Cl-C₆H₄

d R₁ = 3,4-OH, 5-NO₂; R₂ = 3-Cl-C₆H₄

f R₁ = 3-OEt, 4-OH; R₂ = Bn

h R₁ = 3-OEt, 4-OH; R₂ = Pr

j R₁ = 3-OMe, 4-OH, 5-NO₂; R₂ = Pr

l R₁ = 3-OMe, 4-OH, 5-NO₂; R₂ = 2-Cl-C₆H₄

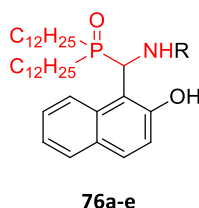
Rycina 48. Struktury związków **75a-l**.

Tabela 20. Wartości ZOI wyznaczone dla związków **75a-l**.

Numer związku	ZOI [mm]					
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. typhi</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
75a	2	6	9	5	7	11
75b	8	7	6	12	8	10
75c	5	9	6	11	9	9
75d	9	10	7	6	10	11
75e	9	10	8	12	9	11
75f	8	8	9	10	9	9
75g	5	9	6	11	9	9
75h	9	10	7	6	10	11
75i	10	13	8	12	11	9
75j	8	11	9	10	10	12
75k	8	10	6	11	8	6
75l	9	12	11	12	10	9
Chloramfenikol	8	7	10	10	–	–
Flukonazol	–	–	–	–	8	9

Spośród wszystkich przedstawionych związków (Ryc. 48) na szczególną uwagę zasługują pochodne **75d**, **75e**, **75h**, **75i** oraz **75l**, które działały lepiej niż użyte leki referencyjne wobec szerokiego panelu szczepów drobnoustrojów (Shashikumar i in., 2013).

Aktywność przeciwdrobnoustrojową α -aminofosfonianów **76a-e** (Ryc. 49) przebadano *in vitro* wobec wybranych bakterii Gram-ujemnych (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 i *Escherichia coli* ATCC 25922), Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 i *Bacillus cereus* 11778) oraz względem szczepu grzyba *Candida albicans* ATCC 885-653 (przy stężeniu 500 $\mu\text{g/ml}$) (Galkina i in., 2019).



a R = C₁₀H₂₁

b R = C₁₂H₂₅

c R = C₁₄H₂₉

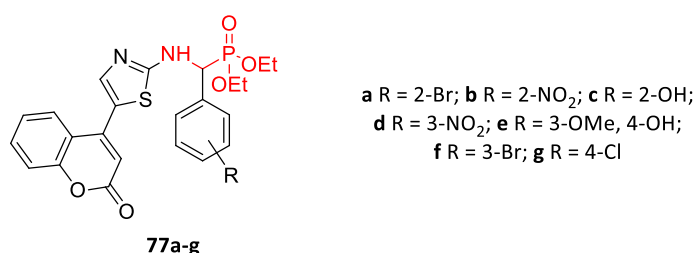
d R = C₁₆H₃₃

e R = C₁₈H₃₇

Rycina 49. Struktury związków **76a-e**.

Wszystkie związki wykazywały lepsze działanie przeciwbakteryjne wobec *Pseudomonas aeruginosa* (ZOI w zakresie od 10±0,25 do 15±0,2 mm) w porównaniu z chloroheksydyną (ZOI = 7±0,1 mm). Natomiast w przypadku szczepu *Bacillus cereus* wyższą aktywność niż lek referencyjny (ZOI = 9±0,2 mm) wykazywały pochodne **76a**, **76b**, **76d** i **76e** (ZOI w zakresie od 11±0,5 do 17±0,25 mm). W stosunku do *Staphylococcus aureus* lepiej niż wzorzec (ZOI = 16±0,5 mm) działał jedynie związek **76e** (ZOI = 17±0,3 mm). Pochodna **76e** wykazywała również wysoką aktywność hamującą wzrost *Candida albicans* (ZOI = 18±0,2 mm), nieznacznie wyższą niż chloroheksydyna (ZOI = 17±0,3 mm) (Galkina i in., 2019).

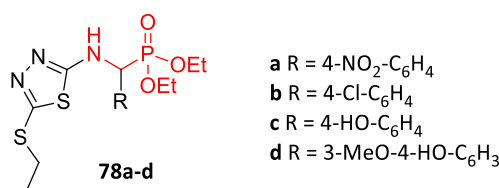
Związki oparte na strukturze kumaryny i tiazolu znane są z aktywności przeciwbakteryjnej (KhanYusufzai i in., 2017). Modyfikacja cząsteczki polegająca na wprowadzeniu ugrupowania α -aminofosfonianowego doprowadziła do otrzymania szeregu pochodnych (Litim i in., 2022). W całej serii pochodnych związki **77a-g** (Ryc. 50) wykazywały najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową.



Rycina 50. Struktury związków **77a-g**.

Najlepsze działanie przeciwbakteryjne oraz przeciwgrzybicze wobec szczepów *Escherichia coli* ESBL, *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2.1, *Acinetobacter baumannii* OXA-23 oraz *Candida albicans* wykazywał α -aminofosfonian **77a** (Ryc. 50). Wartość parametru MIC w każdym przypadku wynosiła 0,125 μ g/ml i była znacznie niższa niż dla zastosowanych leków referencyjnych – imipenemu, cyprofloksacyny, amikacyny i flukonazolu (MIC = 1–64 μ g/ml). Pozostałe związki **77b-g** wykazywały również aktywność przeciwdrobnoustrojową (wartości MIC w zakresie od 0,125 do 32 μ g/ml) (Litim i in., 2022).

W ostatnim czasie opisano syntezę i aktywność przeciwdrobnoustrojową serii α -aminofosfonianów opartych na strukturze 1,3,4-tiadiazolu, wśród których związki **78a-d** (Ryc. 51) działały lepiej niż leki referencyjne (Gundluru i in., 2016).



Rycina 51. Struktury związków **78a-d**.

Zbadano aktywność przeciwbakteryjną wszystkich związków wobec bakterii Gram-dodatnich (*Bacillus subtilis* ATCC 6051 i *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) oraz Gram-ujemnych (*Escherichia coli* ATCC 25922 i *Pseudomonas aureginosa* ATCC 15692). Aktywność przeciwgrzybiczą zsyntezowanych α -aminofosfonianów oceniono natomiast względem *Aspergillus niger* ATCC 1015, *Aspergillus flavus* ATCC 9643 i *Rhizopus oryzae* ATCC 20344. Zmierzone wartości średnicy zahamowania wzrostu przedstawiono w tabeli 21.

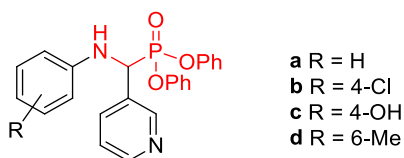
Tabela 21. Wartości ZOI dla związków 78a-d.

Numer związku	ZOI [mm]						
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aureginosa</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>	<i>R. oryzae</i>
78a	39±3	34±2	33±4	30±2	12±2	14±2	11±2
78b	37±2	36±3	36±1	29±2	10±3	12±5	15±2
78c	36±4	34±1	33±2	29±2	9±6	13±4	11±6
78d	7±4	7±3	8±5	8±3	8±4	8±3	9±2
Streptomycyna	36±2	33±1	32±3	28±2	–	–	–
Flukonazol	–	–	–	–	7±6	12±2	10±6

Pochodne **78a** i **78b** wykazywały lepsze działanie wobec wszystkich badanych szczepów bakterii oraz niemalże wszystkich grzybów w porównaniu z użytymi lekami referencyjnymi (Gundluru i in., 2016).

4.3. Aminofosfoniany o aktywności przeciwgrzybiczej

Kolejną grupę stanowią α -aminofosfoniany zawierające w swej strukturze pierścień pirydyny. Związki **79a-d** (Ryc. 52) wykazywały lepszą zdolność hamowania wzrostu badanych szczepów grzybów niż amfoterycyna B (Abdel-Megeed i in., 2013).



79a-d

Rycina 52. Struktury związków 79a-d.

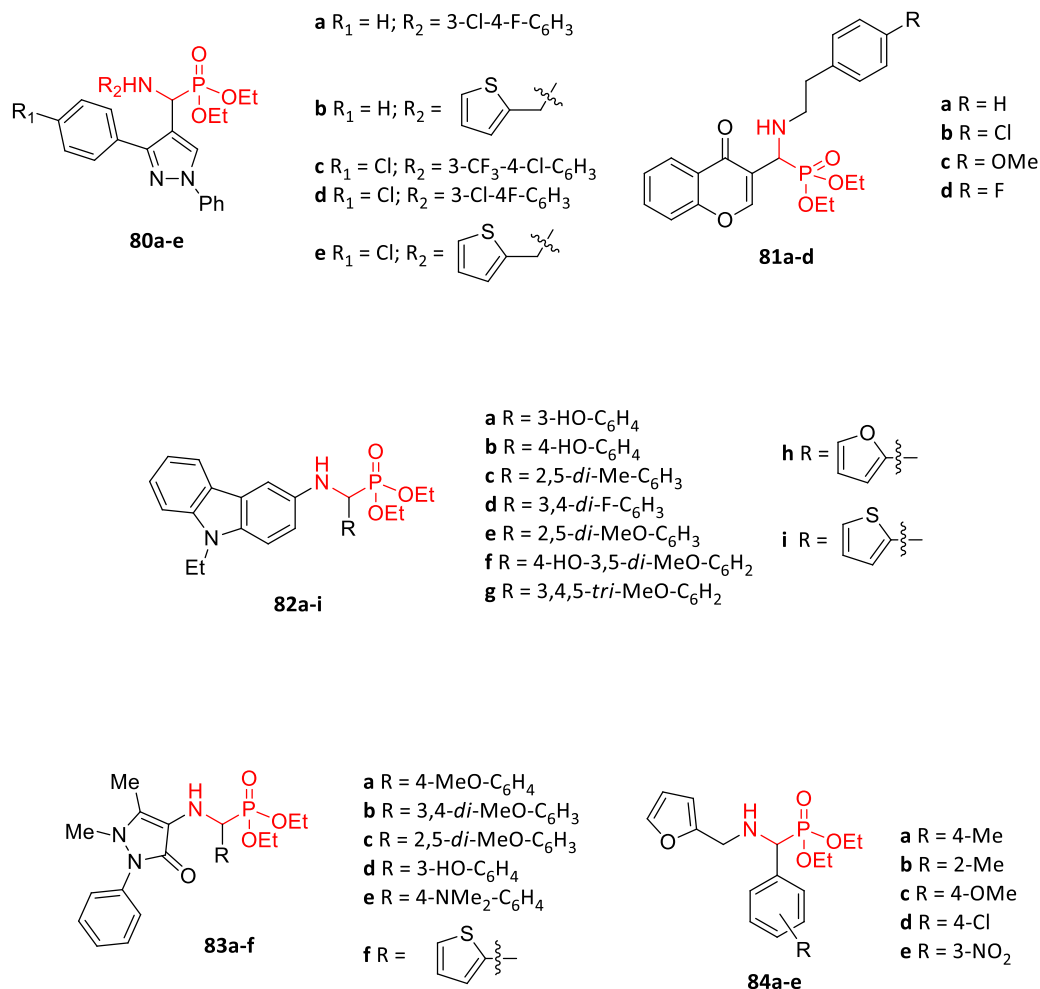
Najlepszą aktywność wobec *Candida albicans* wykazywały pochodne **79a** (MIC = 10±0,8 µg/ml), **79b** (MIC = 10±1,0 µg/ml) i **79d** (MIC = 10±1,5 µg/ml), lepszą niż wzorzec (MIC = 15µg/ml). Natomiast w przypadku *Sachccaromyces cerevisiae* najlepsze działanie wykazywały związki **79c** i **79d** (MIC odpowiednio 10±1,4 i 10±0,5 µg/ml); dla porównania: dla amfoterycyny B wartość MIC wynosiła 15 µg/ml. Ponadto przeprowadzono także ocenę toksyczności wszystkich badanych α -aminofosfonianów, która wykazała, że pochodne **79a**, **79b** i **79d** były bezpieczne do stosowania *in vivo* (LD₅₀ = 629; 8916 i 1000 µg/ml odpowiednio dla **79a**, **79b** i **79d**). W przypadku związku **79c** dawka śmiertelna wynosiła jedynie 100 µg/ml (Abdel-Megeed i in., 2013).

5. Inna aktywność

5.1. Inhibitory acetylocholinoesterazy (AChE)

Choroba Alzheimerera jest przewlekłym, postępującym zaburzeniem neurodegeneracyjnym występującym u osób w podeszłym wieku. Powoduje między innymi utratę pamięci, dysfunkcję poznawczą, obniżenie ogólnej kondycji psychicznej czy problemy z mową, a w zaawansowanym stadium uniemożliwia normalne funkcjonowanie (Blennow i in., 2006). Etiologia tej choroby nie jest do końca poznana, ale uważa się, że niski poziom acetylocholino (ACh) (Bartus i in., 1982), kumulacja β -amyloidu (Hardy i Selkoe, 2002), agregacja białek τ (Iqbal i in., 2009) oraz stres oksydacyjny (Bonda i in., 2010) mogą się przyczyniać do obumierania neuronów. Najczęściej stosowanymi lekami w leczeniu choroby Alzheimerera są inhibitory acetylocholinoesterazy, takie jak tarykryna, donepezyl, rywastygmina i galantamina. Środki te podwyższają poziom acetylocholino w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) w celu wzmocnienia neuroprzebieżności cholinergicznego (Anand i Singh, 2013).

W latach 2020–2022 ukazało się kilka prac dotyczących syntezy i aktywności inhibicyjnej wobec cholinoesterazy α -aminofosfonianów opartych na strukturze pirazolu (Shaikh i in., 2020a), chromonu (Shaikh i in., 2020b), karbazolu (Shaikh i in., 2020c), antypiryny (Shaikh i in. 2021) oraz furanu (Uparkar i in., 2022). Na rycinie 53 przedstawiono struktury związków **80a-e**, **81a-d**, **82a-i**, **83a-f** oraz **84a-e** wykazujących najlepszą aktywność hamującą AChE.



Rycina 53. Struktury związków **80a-e**, **81a-d**, **82a-i**, **83a-f** oraz **84a-e** (**80a-e** – Shaikh i in., 2020a; **81a-d** – Shaikh i in., 2020b; **82a-i** – Shaikh i in., 2020c; **83a-f** – Shaikh i in. 2021; **84a-e** – Uparkar i in., 2022).

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów jednoznacznie pokazały, że wszystkie pochodne wykazywały zdecydowanie lepsze działanie inhibitujące wobec acetylocholinoesterazy (AChE) niż względem butylocholinoesterazy (BuChE), o czym świadczą wysokie wartości indeksu selektywności ($IC_{50}(\text{BuChE})/IC_{50}(\text{AChE})$). W tabeli 22 przedstawiono wartości IC_{50} (stężenie badanej substancji powodujące zahamowanie aktywności AChE w 50%) wyznaczone dla związków o najwyższej aktywności hamującej AChE w porównaniu z zastosowanymi lekami referencyjnymi.

Tabela 22. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla najlepszych inhibitorów AChE (80a-e – Shaikh i in., 2020a; 81a-d – Shaikh i in., 2020b; 82a-l – Shaikh i in., 2020c; 83a-f – Shaikh i in., 2021; 84a-e – Uparkar i in., 2022).

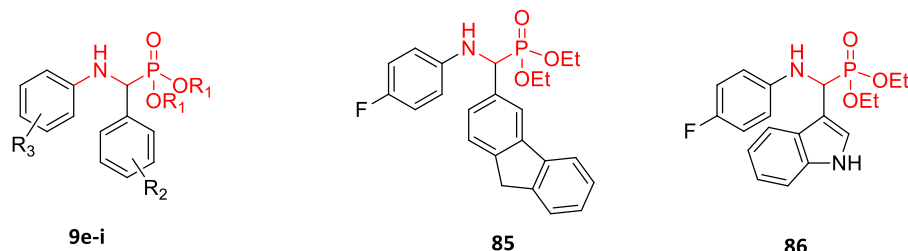
Nr związku	IC ₅₀ [μM]	Nr związku	IC ₅₀ [μM]
80a	0,138±0,01	81a	0,177±0,22
80b	0,055±0,143	81b	0,194±0,15
80c	0,109±0,09	81c	0,103±0,24
80d	0,082±0,04	81d	0,161±0,05
80e	0,017±0,02	Takryna	0,289±0,02
Takryna	0,210±0,032	Galantamina	3,643±0,07
Galantamina	3,148±0,139	Rywastygmina	5,207±0,11
Rywastygmina	2,632±0,21	83a	1,14±0,16
82a	0,475±0,12	83b	0,92±0,14
82b	1,383±0,19	83c	1,05±0,11
82c	1,622±0,30	83d	0,46±0,11
82d	0,825±0,15	83e	0,98±0,13
82e	1,162±0,22	83f	0,67±0,13
82f	1,713±0,56	Galantamina	1,72±0,09
82g	0,547±0,34	84a	1,152±0,015
82h	0,765±0,21	84b	0,884±0,002
82i	0,961±0,13	84c	2,249±0,026
Galantamina	1,91±0,11	84d	1,334±0,001
		84e	1,965±0,009
		Galantamina	2,935±0,02
		Rywastygmina	4,667±0,026

Związki **80b**, **80e**, **81c**, **82a**, **83d** oraz **84b** zostały poddane analizie kinetycznej, która wykazała ich mieszany typ inhibicji – oddziaływały one zarówno z miejscem aktywnym katalitycznej (CAS; ang. *catalytic active site*), jak i peryferyjnym miejscem anionowym (PAS, ang. *peripheral anionic site*) acetylocholinoesterazy. Wykazano również, że pochodne **80a-e** nie były cytotoksyczne względem ludzkich embrionalnych komórek nerkowych linii HEK 293, a związki **82a-i** i **83d-f** – względem mysich komórek nerwiaka niedojrzałego (N2a) (Shaikh i in., 2020a; Shaikh i in., 2020b; Shaikh i in., 2020c; Shaikh i in., 2021; Uparkar i in., 2022).

5.2. Aminofosfoniany o aktywności przeciwzapalnej

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) są jedną z najczęściej stosowanych grup farmaceutyków. Ich działanie opiera się na hamowaniu cyklooksygenazy prostaglandynowej (COX), która występuje w dwóch izoformach. Cyklooksygenaza 1 (COX-1) jest obecna w organizmie w warunkach fizjologicznych, natomiast cyklooksygenaza 2 (COX-2) jest uwalniana po wystąpieniu stanu zapalnego (Vane i in., 1998).

Opisano syntezę i aktywność przeciwzapalną serii α-aminofosfonianów **9e-i** oraz **85-86** (Ryc. 54) (Tekale i in., 2014).

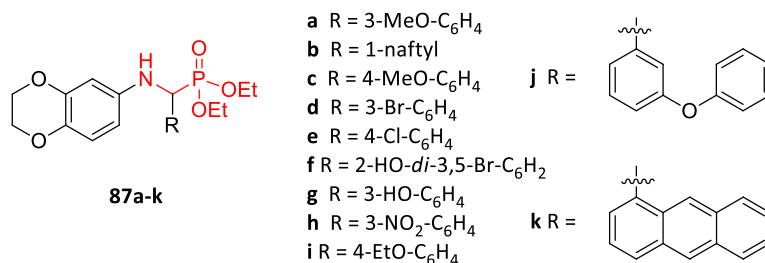


- e** $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = 4\text{-OH}$; $R_3 = 4\text{-}i\text{-Pr}$
f $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = 4\text{-F}$
g $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = 3,4\text{-di-OMe}$; $R_3 = 4\text{-F}$
h $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = 4\text{-SMe}$; $R_3 = 4\text{-}i\text{-Pr}$
i $R_1 = \text{Bu}$; $R_2 = 4\text{-SMe}$; $R_3 = 4\text{-}i\text{-Pr}$

Rycina 54. Struktury związków **9e-i**, **86** i **87**.

Wszystkie związki były lepszymi inhibitorami COX-1 i COX-2 niż powszechnie stosowana aspiryna. Wyznaczone wartości procenta inhibicji mieściły się w zakresie od $30,18 \pm 1,61\%$ do $89,84 \pm 0,32\%$ (COX-1) oraz od $34,18 \pm 0,96\%$ do $97,57 \pm 0,47\%$ (COX-2) w porównaniu z aspiryną (procent inhibicji = $8,54 \pm 0,37\%$ i $11,11 \pm 0,13\%$ odpowiednio dla COX-1 i COX-2). Najlepszą zdolność hamowania cyklooksygenazy 1 miała pochodna **9i**, natomiast najlepszym inhibitorem cyklooksygenazy 2 był związek **9g** (Tekale i in., 2014).

Opisano również aktywność przeciwzapalną α -aminofosfonianów **87a-k** (Ryc. 55), które w stężeniach $100 \mu\text{g/ml}$ i $200 \mu\text{g/ml}$ wykazywały aktywność hamującą wobec COX-1 i COX-2 (Shaik i in., 2022).



Rycina 55. Struktury związków **87a-k**.

W tabeli 23 zostały przedstawione wartości procenta inhibicji COX-1 i COX-2 wyznaczone dla związków **87a-k**.

Tabela 23. Wartości procenta inhibicji COX-1 i COX-2 wyznaczone dla związków **87a-k**.

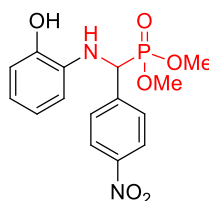
Numer związku	Procent inhibicji [%]			
	COX-1		COX-2	
	100 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml
87a	51,08±1,30	70,04±1,18	50,78±1,30	70,66±1,18
87b	45,18±1,22	73,08±0,72	40,32±1,151	68,60±1,51
87c	41,08±0,82	64,37±0,73	33,40±0,10	52,20±1,72
87d	43,38±0,33	66,60±1,18	35,65±1,08	52,74±1,32
87e	48,52±1,84	70,15±1,15	46,38±1,30	65,64±0,98
87f	50,33±0,71	71,08±1,44	48,08±1,21	66,66±1,18
87g	40,69±0,63	71,32±1,16	38,32±1,77	64,33±1,06
87h	51,36±0,12	76,11±1,21	35,77±1,35	64,66±1,27
87i	48,75±1,76	73,88±0,64	49,77±1,35	77,63±1,32
87j	45,81±1,78	68,74±1,77	37,40±1,43	60,10±1,33
87k	50,18±1,30	73,14±1,18	38,12±1,51	66,92±1,33
Celekoksyb	45,57±1,40	67,57±1,50	32,50±1,75	51,80±1,18

Najwyższą aktywność hamującą COX-1 w obu stężeniach (100 µg/ml i 200 µg/ml) posiadał związek **87h**, natomiast najlepszym inhibitorem COX-2 w stężeniu 100 µg/ml była pochodna **87a**, a w stężeniu 200 µg/ml – **88i** (Shaik i in., 2022).

Jedną z przyczyn pojawienia się stanu zapalnego w organizmie jest denaturacja białek wywołana zmianą ich drugo- i/lub trzeciorzędowej struktury na skutek działania czynnika termicznego bądź chemicznego (Opie, 1962). Związki **83d** oraz **83f** (Ryc. 53) wykazywały wyższą aktywność hamującą denaturację białek ($IC_{50} = 44,15 \pm 0,16 \mu M$ dla **83d** i $42,64 \pm 0,19 \mu M$ dla **83f**) w porównaniu z diklofenakiem ($IC_{50} = 46,29 \pm 0,12 \mu M$). Właściwości przeciwzapalne substancji powiązane są także z hamowaniem proteinaz serynowych obecnych w neutrofilach, które są odpowiedzialne za uszkodzenie tkanki w miejscu zapalenia (Pham, 2008). Przeprowadzone badania dowiodły, że pochodne **83d** oraz **83f** były również lepszymi inhibitorami proteiny (wartości IC_{50} wynosiły odpowiednio $41,25 \pm 0,18 \mu M$ dla **83d** i $37,57 \pm 0,19 \mu M$ dla **83f**) niż standardowo stosowany diklofenak ($IC_{50} = 45,76 \pm 0,14 \mu M$) (Shaikh i in., 2021).

5.3. Inne inhibitory

Enzymem odpowiedzialnym za rozkład węglowodanów złożonych do monosacharydów, np. glukozy, jest α -glukozydaza (Lebovitz, 1997). U osób cierpiących na cukrzycę typu 2 konieczne jest zmniejszenie wchłaniania glukozy z układu pokarmowego do krwi i w tym celu stosuje się inhibitory α -glukozydazy. W leczeniu są obecnie zarejestrowane trzy substancje o działaniu przeciw-cukrzycowym – akarboza, miglitol i wogliboza (van de Laar i in., 2005). Spośród serii α -aminofosfonianów przebadanych pod kątem hamowania α -glukozydazy (Sreelakshmi i in., 2018) związek **9j** (Ryc. 56) wykazywał najlepszą aktywność. Wyznaczony parametr IC_{50} wynosił $43,7 \mu g/ml$, podczas gdy dla akarbozy $IC_{50} = 53,2 \mu g/ml$ (Sreelakshmi i in., 2018).



9j

Rycina 56. Struktura związku 9j.

Tyrozynaza jest enzymem, który odgrywa kluczową rolę w procesie melanogenezy. Nadprodukcja melaniny przyczynia się do występowania wielu chorób skóry, m.in. melasmy, plam starczych czy przebarwień pozapalnych (Ortonne i Bissett, 2008). W celu ograniczenia produkcji melaniny w medycynie stosuje się inhibitory tyrozynazy (Chang, 2009). Związek **19c** (Ryc. 5) wykazywał dwukrotnie wyższą aktywność hamującą ten enzym ($IC_{50} = 12,11 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$) w porównaniu z kwasem kojowym ($IC_{50} = 25,23 \pm 0,78 \mu\text{g/ml}$) (Aissa i in., 2021).

6. Podsumowanie

W niniejszym przeglądzie zostały przedstawione najnowsze doniesienia literaturowe obejmujące lata 2013–2022 i dotyczące aktywności biologicznej aminofosfonianów. Z uwagi na niezwykle duże zainteresowanie tego typu układami w monografii przedstawiono związki wykazujące lepszą aktywność niż standardowo stosowane leki referencyjne. Najbardziej liczną grupę pochodnych stanowią α -aminofosfoniany, jednak opisano również kilka przykładów biologicznie czynnych α -aminodifosfonianów oraz β -aminofosfonianów. Wykazano, że związki te posiadają szerokie spektrum aktywności, m.in. przeciwnowotworowej, przeciwutleniającej, przeciwdrobnoustrojowej czy hamującej działanie różnych enzymów. Wiele z zaprezentowanych pochodnych charakteryzuje się interesującą aktywnością i jednocześnie stosunkowo niską cytotoksycznością wobec komórek prawidłowych, co czyni je dobrymi kandydatami jako leki.

Bibliografia

- Abdel-Megeed M.F., El-Hiti G.A., Badr B.E., Azaam M.M. 2013. Synthesis of a Series of Diphenyl (Arylamino)(Pyridin-3-yl)Methylphosphonates as Potential Antimicrobial Agents. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 188(7), str. 879–885. DOI: [10.1080/10426507.2012.717141](https://doi.org/10.1080/10426507.2012.717141).
- Abdou W.M., Ganoub N.A., Sabry, E. 2014. Design, synthesis and pharmacological screening of beta-amino-, thiadiazole/thiadiazine-phosphonate based triazole motifs as antimicrobial/cytotoxic agents. *Acta Pharmaceutica* 64(3), str. 267–284. DOI: [10.2478/acph-2014-0023](https://doi.org/10.2478/acph-2014-0023).
- Abu-Bakr S.M., Khidre M.D., Omar M.A., Swelam S.A., Awad, H.M. 2020. Synthesis of furo 3,2-g chromones under microwave irradiation and their antitumor activity evaluation. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 57(2), str. 731–743. DOI: [10.1002/jhet.3813](https://doi.org/10.1002/jhet.3813).
- Ahmed A.A.S., Awad H.M., El-Sayed I.E.T., El Gokha A.A. 2020. Synthesis and antiproliferative activity of new hybrids bearing neocryptolepine, acridine and alpha-aminophosphonate scaffolds. *Journal of the Iranian Chemical Society* 17(5), str. 1211–1221. DOI: [10.1007/s13738-019-01849-2](https://doi.org/10.1007/s13738-019-01849-2).
- Aissa R., Guezane-Lakoud S., Gali L., Toffano M., Ignaczak A., Adamia, M., Merabet-Khelassi M., Guillot R., Aribi-Zouioueche L. 2022. New promising generation of phosphates alpha-aminophosphonates: Design, synthesis, in-vitro biological evaluation and computational study. *Journal of Molecular Structure* 1247, nr art. 131336. DOI: [10.1016/j.molstruc.2021.131336](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131336).
- Aissa R., Guezane-Lakoud S., Toffano M., Gali L., Aribi-Zouioueche L. 2021. Fiaud's Acid, a novel organocatalyst for diastereoselective bis alpha-aminophosphonates synthesis with in-vitro biological evaluation of antifungal, antioxidant and enzymes inhibition potential. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 41, nr art. 128000. DOI: [10.1016/j.bmcl.2021.128000](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128000).
- Aita S., Badavath V.N., Gundluru M., Sudileti M., Nemallapudi B.R., Gundala S., Zyryanov G.V., Chamarti N.R., Cirandur S.R. 2021. Novel alpha-Aminophosphonates of imatinib Intermediate: Synthesis, anticancer Activity, human Abl tyrosine kinase Inhibition, ADME and toxicity prediction. *Bioorganic Chemistry* 109, nr art. 104718. DOI: [10.1016/j.bioorg.2021.104718](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104718).
- Ali T.E., Abdel-Aziz S.A., El-Edfawy S.M., Mohamed E.H.A., Abdel-Kariem S.M. 2013. Synthesis and biological evaluations of a series of novel azolyl, azinyl, pyranyl, chromonyl and azepinyl phosphonates. *Heterocycles* 87(12), str. 2513–2532. DOI: [10.3987/com-13-12836](https://doi.org/10.3987/com-13-12836).
- Allen J.G., Atherton F.R., Hall M.J., Hassall C.H., Holmes S.W., Lambert R.W., Nisbet L.J., Ringrose P.S. 1978. Phosphonopeptides, a new class of synthetic antibacterial agents. *Nature* 272(5648), str. 56–58. DOI: [10.1038/272056a0](https://doi.org/10.1038/272056a0).
- Alotaibi S.H., Amer, H.H. 2020. Synthesis, spectroscopic and molecular docking studies on new schiff bases, nucleosides and alpha-aminophosphonate derivatives as antibacterial agents. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(12), str. 3481–3488. DOI: [10.1016/j.sjbs.2020.09.061](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.061).
- Amir M., Shikha K. 2004. Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic and lipid peroxidation activities of some new 2-(2,6-dichloroanilino)phenyl acetic acid derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 39(6), str. 535–545. DOI: [10.1016/j.ejmech.2004.02.008](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2004.02.008).
- An T.N.M., Alam M., Son N.V., Cuong N.V., Quang N.M., Tr, M.D., Tan, L.V. 2019. Synthesis, Physical Chemistry, Molecular Docking, Bioactivities and Antioxidant Activity of alpha-Amino Phosphonates Based on Phenothiazine Using PEG-400 as Green Catalyst. *Chemistryselect* 4(31), str. 8915–8920. DOI: [10.1002/slct.201901560](https://doi.org/10.1002/slct.201901560).
- Anand P., Singh B. 2013. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of Pharmacal Research* 36(4), str. 375–399. DOI: [10.1007/s12272-013-0036-3](https://doi.org/10.1007/s12272-013-0036-3).
- Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E., Ercag E. 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 57(5–6), str. 292–304. DOI: [10.1080/09637480600798132](https://doi.org/10.1080/09637480600798132).
- Assiri M.A., Ali T.E., Ali M.M., Yahia I.S. 2018 Synthesis and anticancer activity of some novel diethyl {(chromonyl/pyrazolyl) [(4-oxo-2-phenyl-quinazolin-3(4H)-yl)amino]methyl}phosphonates. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 193(10), str. 668–674. DOI: [10.1080/10426507.2018.1487969](https://doi.org/10.1080/10426507.2018.1487969).
- Awad M.K., Abdel-Aal M.F., Atlam F.M., Hekal H.A. 2018. Design, synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of novel alpha-aminophosphonates based quinazolinone moiety as potential anticancer agents: DFT, NBO and vibrational studies. *Journal of Molecular Structure* 1173, str. 128–141. DOI: [10.1016/j.molstruc.2018.06.094](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.06.094).

- Azaam M.M., Kenawy E.R., El-din A.S.B., Khamis A.A., El-Magd M.A. 2018. Antioxidant and anticancer activities of alpha-aminophosphonates containing thiadiazole moiety. *Journal of Saudi Chemical Society* 22(1), str. 34–41. DOI: [10.1016/j.jscs.2017.06.002](https://doi.org/10.1016/j.jscs.2017.06.002).
- Bahorun T., Soobrattee M.A., Luximon-Ramma V., Aruoma O.I. 2006. Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease. *Internet Journal of Medical Update* 1(2), str. 25–41. DOI: [10.4314/ijmu.v1i2.39839](https://doi.org/10.4314/ijmu.v1i2.39839).
- Bartus R.T., Dean R.L., Beer B., Lippa A.S. 1982. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217(4558), str. 408–417. DOI: [10.1126/science.7046051](https://doi.org/10.1126/science.7046051).
- Baynes J.W. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40(4), str. 405–412. DOI: [10.2337/diabetes.40.4.405](https://doi.org/10.2337/diabetes.40.4.405).
- Bazine I., Cheraiet Z., Bensegueni R., Bensouici C., Boukhari A. 2020. Synthesis, antioxidant and anticholinesterase activities of novel quinoline-aminophosphonate derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 57(5), str. 2139–2149. DOI: [10.1002/jhet.3933](https://doi.org/10.1002/jhet.3933).
- Beckman K.B., Ames B.N. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews* 78(2), str. 547–581. DOI: [10.1152/physrev.1998.78.2.547](https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.2.547).
- Belmont P., Bosson J., Godet T., Tiano M. 2007. Acridine and Acridone Derivatives, Anticancer Properties and Synthetic Methods: Where Are We Now? *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 7(2), str. 139–169. DOI: [10.2174/187152007780058669](https://doi.org/10.2174/187152007780058669).
- Benzie I.F.F., Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239(1), str. 70–76. DOI: [10.1006/abio.1996.0292](https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292).
- Bhattacharya A.K., Raut D.S., Rana K.C., Polanki I.K., Khan M.S., Iram S. 2013. Diversity-oriented synthesis of alpha-aminophosphonates: A new class of potential anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 66, str. 146–152. DOI: [10.1016/j.ejmech.2013.05.036](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.05.036).
- Blair J.M.A., Webber M.A., Baylay A.J., Ogbolu D.O., Piddock L.J.V. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 13(1), str. 42–51. DOI: [10.1038/nrmicro3380](https://doi.org/10.1038/nrmicro3380).
- Blennow K., de Leon M.J., Zetterberg H. 2006. Alzheimer’s disease. *Lancet* 368(9533), str. 387–403. DOI: [10.1016/s0140-6736\(06\)69113-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(06)69113-7).
- Bonda D.J., Wang X.L., Perry G., Nunomura A., Tabato M., Zhu X.W., Smith M.A. 2010. Oxidative stress in Alzheimer disease: A possibility for prevention. *Neuropharmacology* 59(4–5), str. 290–294. DOI: [10.1016/j.neuropharm.2010.04.005](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.04.005).
- Borges F., Roleira F., Milhazes N., Santana L., Uriarte E. 2005. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: Occurrence, synthesis and biological activity. *Current Medicinal Chemistry* 12(8), str. 887–916. DOI: [10.2174/0929867053507315](https://doi.org/10.2174/0929867053507315).
- Boshta N.M., Elgamal E.A., El-Sayed I.E.T. 2018. Bioactive amide and α -aminophosphonate inhibitors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Monatshefte für Chemie* 149(12), str. 2349–2358. DOI: [10.1007/s00706-018-2303-y](https://doi.org/10.1007/s00706-018-2303-y).
- Bracca A.B.J., Heredia D.A., Larghi E.L., Kaufman T.S. 2014. Neocryptolepine (Cryptotackieine), A Unique Bioactive Natural Product: Isolation, Synthesis, and Profile of Its Biological Activity. *European Journal of Organic Chemistry* 36, str. 7979–8003. DOI: [10.1002/ejoc.201402910](https://doi.org/10.1002/ejoc.201402910).
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *A Cancer Journal for Clinicians* 68(6), str. 394–424. DOI: [10.3322/caac.21492](https://doi.org/10.3322/caac.21492).
- Chang T.S. 2009. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences* 10(6), str. 2440–2475. DOI: [10.3390/ijms10062440](https://doi.org/10.3390/ijms10062440).
- Chen Y.Y., Bai Y.P., Li B., Zhao X.B., Yang C.J., Liu Y.Q., Gao J.M., Guo J., Li C., Peng J.W., Zhao Z.M., Zhang Z.J., Xu C.R. 2021. Design and synthesis of novel 20(S)- α -aminophosphonate derivatives of camptothecin as potent antitumor agents. *Bioorganic Chemistry* 114, nr art. 105065. DOI: [10.1016/j.bioorg.2021.105065](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105065).
- Chinthaparthi R.R., Bhatnagar I., Gangireddy C.S.R., Syama S.C., Cirandur S.R. 2013. Green Synthesis of alpha-Aminophosphonate Derivatives on a Solid Supported TiO₂-SiO₂ Catalyst and Their Anticancer Activity. *Archiv Der Pharmazie* 346(9), str. 667–676. DOI: [10.1002/ardp.201300214](https://doi.org/10.1002/ardp.201300214).
- Damiche R., Chafaa S. 2017. Synthesis of new bioactive aminophosphonates and study of their antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities as well the assessment of their toxicological activity. *Journal of Molecular Structure* 1130, str. 1009–1017. DOI: [10.1016/j.molstruc.2016.10.054](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.10.054).

- Denny W.A. 2004. Chemotherapeutic Effects of Acridine Derivatives. *Medicinal Chemistry Reviews* 1(3), str. 257–266. DOI: [10.2174/1567203043401923](https://doi.org/10.2174/1567203043401923).
- Ewies E.F., El-Hussieny M., El-Sayed N.F., Fouad M.A. 2019. Design, synthesis and biological evaluation of novel alpha-aminophosphonate oxadiazoles via optimized iron triflate catalyzed reaction as apoptotic inducers. *European Journal of Medicinal Chemistry* 180, str. 310–320. DOI: [10.1016/j.ejmech.2019.07.029](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.029).
- Fang Y.L., Wu Z.L., Xiao M.W., Tang Y.T., Li K.M., Ye J., Xiang J.N., Hu A.X. 2016. One-Pot Three-Component Synthesis of Novel Diethyl((2-oxo-1,2-dihydroquinolin-3-yl)(arylamino) methyl)phosphonate as Potential Anticancer Agents. *International Journal of Molecular Sciences* 17(5), nr art. 653. DOI: [10.3390/ijms17050653](https://doi.org/10.3390/ijms17050653).
- Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Parkin D.M., Pineros M., Znaor A., Bray, F. 2021. Cancer statistics for the year 2020: an overview. *International Journal of Cancer* 149(4), str. 778–789. DOI: [10.1002/ijc.33588](https://doi.org/10.1002/ijc.33588).
- Galkina I.V., Khayarov K.R., Davletshin R.R., Gaynullin A.Z., Gerasimov A.V., Shulaeva M.P., Pozdeev O.K., Egorova S.N., Usupova L.M., Galkin V.I. 2019. The Pudovik reaction: the synthesis of bioactive α -aminophosphonates with long alkyl chains. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 194(4–6), str. 463–466. DOI: [10.1080/10426507.2018.1539848](https://doi.org/10.1080/10426507.2018.1539848).
- Gulcin I. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology* 94(3), str. 651–715. DOI: [10.1007/s00204-020-02689-3](https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3).
- Gundluru M., Badavath V.N., Shaik H.Y., Sudileti M., Nemallapudi B.R., Gundala S., Zyryanov G.V., Cirandur S.R. 2021. Design, synthesis, cytotoxic evaluation and molecular docking studies of novel thiazolyl alpha-aminophosphonates. *Research on Chemical Intermediates* 47(3), str. 1139–1160. DOI: [10.1007/s11164-020-04321-6](https://doi.org/10.1007/s11164-020-04321-6).
- Gundluru M., Sarva S., Kandula M.K.R., Netala V.R., Tartte V., Cirandur S.R. 2016. Phosphosulfonic acid-catalyzed green synthesis and bioassay of alpha-aryl-alpha'-1,3,4-thiadiazolyl aminophosphonates. *Heteroatom Chemistry* 27(5), str. 269–278. DOI: [10.1002/hc.21325](https://doi.org/10.1002/hc.21325).
- Hanna E., Quick J., Libutti S.K. 2009. The tumour microenvironment: a novel target for cancer therapy. *Oral Diseases* 15(1), str. 8–17. DOI: [10.1111/j.1601-0825.2008.01471.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2008.01471.x).
- Hardy J., Selkoe D.J. 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297(5580), str. 353–356. DOI: [10.1126/science.1072994](https://doi.org/10.1126/science.1072994).
- Hellal A., Chafaa S., Chafai N., Touafri L. 2017. Synthesis, antibacterial screening and DFT studies of series of alpha-amino-phosphonates derivatives from aminophenols. *Journal of Molecular Structure* 1134, str. 217–225. DOI: [10.1016/j.molstruc.2016.12.079](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.12.079).
- Hensley K., Robinson K.A., Gabbita S.P., Salsman S., Floyd R.A. 2000. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radical Biology and Medicine* 28(10), str. 1456–1462. DOI: [10.1016/s0891-5849\(00\)00252-5](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00252-5).
- Horiguchi M., Kandatsu M. 1959. Isolation of 2-Aminoethane Phosphonic Acid from Rumen Protozoa. *Nature* 184(4690), str. 901–902. DOI: [10.1038/184901b0](https://doi.org/10.1038/184901b0).
- Horsman G.P., Zechel D.L. 2017. Phosphonate Biochemistry. *Chemical Reviews* 117(8), str. 5704–5783. DOI: [10.1021/acs.chemrev.6b00536](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00536).
- Hsu Y.L., Kuo P.L., Lin L.T., Lin C.C. 2005. Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis and cell cycle arrest through activation of extracellular signal-regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways in human breast cancer cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 313(1), str. 333–344. DOI: [10.1124/jpet.104.078808](https://doi.org/10.1124/jpet.104.078808).
- Huang K.B., Chen Z.F., Liu Y.C., Li Z.Q., Wei J.H., Wang M., Xie X.L., Liang H. 2013a. Platinum(II) complexes containing aminophosphonate esters: Synthesis, characterization, cytotoxicity and action mechanism. *European Journal of Medicinal Chemistry* 64, str. 554–561. DOI: [10.1016/j.ejmech.2013.04.024](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.04.024).
- Huang K.B., Wang F.Y., Feng H.W., Luo H.J., Long Y., Zou T.T., Chan A.S.C., Liu R., Zou H.H., Chen Z.F., Liu Y.C., Liu Y.N., Liang, H. 2019. An aminophosphonate ester ligand-containing platinum(II) complex induces potent immunogenic cell death in vitro and elicits effective anti-tumour immune responses in vivo. *Chemical Communications* 55(87), str. 13066–13069. DOI: [10.1039/c9cc06563f](https://doi.org/10.1039/c9cc06563f).
- Huang R.Y., Chu Y.L., Huan Q.C., Chen X.M., Jiang Z.B., Zhang X., Zeng X. 2014. 18 β -Glycyrrhetic acid suppresses cell proliferation through inhibiting thromboxane synthase in non-small cell lung cancer. *PLoS ONE*, 9(4), nr art. e93690. DOI: [10.1371/journal.pone.0093690](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093690).

- Huang R.Z., Wang C.Y., Li J.F., Yao G.Y., Pan Y.M., Ye M.Y., Wang H.S., Zhang, Y. 2016b. Synthesis, antiproliferative and apoptosis-inducing effects of novel asiatic acid derivatives containing alpha-aminophosphonates. *RSC Advances* 6(67), str. 62890–62906. DOI: [10.1039/c6ra11397d](https://doi.org/10.1039/c6ra11397d).
- Huang W.J., Zhan, X., Chen, W.W. 2016a. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomedical Reports*, 4(5), str. 519–522. DOI: [10.3892/br.2016.630](https://doi.org/10.3892/br.2016.630).
- Huang X.C., Wang M., Pan Y.M., Tian X.Y., Wang H.S., Zhang, Y. 2013b. Synthesis and antitumor activities of novel alpha-aminophosphonates dehydroabiestic acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 23(19), str. 5283–5289. DOI: [10.1016/j.bmcl.2013.08.005](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.08.005).
- Huang X.C., Wang M., Pan Y.M., Yao G.Y., Wang H.S., Tian X.Y., Qin J.K., Zhang Y. 2013c. Synthesis and antitumor activities of novel thiourea alpha-aminophosphonates from dehydroabiestic acid. *European Journal of Medicinal Chemistry* 69, str. 508–520. DOI: [10.1016/j.ejmech.2013.08.055](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.08.055).
- Huang X.C., Wang M., Wang C.G., Hu W.W., You Q.H., M, T.H., Jia Q., Yu C.H., Liao Z.X., Wang, H.S. 2020a. Synthesis and biological evaluation of novel millepachine derivative containing aminophosphonate ester species as novel anti-tubulin agents. *Bioorganic Chemistry* 94, nr art. 103486. DOI: [10.1016/j.bioorg.2019.103486](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103486).
- Huang X.C., Wang M., You Q.H., Kong J., Zhang H.J., Yu C.H., Wang Y.M., Wang H.S., Huang R.Z. 2020b. Synthesis, mechanisms of action, and toxicity of novel aminophosphonates derivatives conjugated irinotecan in vitro and in vivo as potent antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 189, nr art. 112067. DOI: [10.1016/j.ejmech.2020.112067](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112067).
- Huang Y.C., Kuo C.L., Lu K.W., Lin J.J., Yang J.L., Wu R.S., Wu P.P., Chung J.G. 2016c. 18 α -Glycyrrhetic Acid Induces Apoptosis of HL-60 Human Leukemia Cells through Caspases- and Mitochondria-Dependent Signaling Pathways. *Molecules* 21, nr art. 872. DOI: [10.3390/molecules21070872](https://doi.org/10.3390/molecules21070872).
- Iqbal K., Liu F., Gong C.X., Alonso A.D., Grundke-Iqbal I. 2009. Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathologica* 118(1), str. 53–69. DOI: [10.1007/s00401-009-0486-3](https://doi.org/10.1007/s00401-009-0486-3).
- Iwanejko J., Wojaczynska E., Turlej E., Maciejewska M., Wietrzyk J. 2020. Octahydroquinoxalin-2(1H)-One-Based Aminophosphonic Acids and Their Derivatives-Biological Activity towards Cancer Cells. *Materials* 13(10), nr art. 2393. DOI: [10.3390/ma13102393](https://doi.org/10.3390/ma13102393).
- Jayaprakasha G.K., Singh R.P., Sakariah K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry* 73(3), str. 285–290. DOI: [10.1016/s0308-8146\(00\)00298-3](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(00)00298-3).
- Jin L., Zhang B., Hua S.X., Ji M., Huang X.C., Huang R.Z., Wang H.S. 2018. Glycyrrhetic acid derivatives containing aminophosphonate ester species as multidrug resistance reversers that block the NF-kappa B pathway and cell proliferation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 28(23–24), str. 3700–3707. DOI: [10.1016/j.bmcl.2018.10.025](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.10.025).
- Johnson R.D., Kastner R.M., Larsen S.H., Ose E.E. 1984. Antibiotic A53868 and process for production thereof. U.S. Patent 4.482.488.
- Kandula M.K.R., Gundluru M., Nemallapudi B.R., Gundala S., Kotha P., Zyryanov G.V., Chadive S., Cirandur S.R. 2021. Synthesis, antioxidant activity, and alpha-glucosidase enzyme inhibition of alpha-aminophosphonate derivatives bearing piperazine-1,2,3-triazole moiety. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 58(1), str. 172–181. DOI: [10.1002/jhet.4157](https://doi.org/10.1002/jhet.4157).
- Kellner U., Sehested M., Jensen P.B., Gieseler F., Rudolph P. 2002. Culprit and victim – DNA topoisomerase II. *Lancet Oncology* 3(4), str. 235–243. DOI: [10.1016/s1470-2045\(02\)00715-5](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(02)00715-5).
- Kerr D.I.B., Ong J., Prager R.H., Gynther B.D., Curtis D.R. 1987. Phaclofen: a peripheral and central baclofen antagonist. *Brain Research* 405(1), str. 150–154. DOI: [10.1016/0006-8993\(87\)90999-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)90999-1).
- KhanYusufzai S., Osman H., Khan M.S., Mohamad S., Sulaiman O., Parumasivam T., Gansau J.A., Johansah, N. and Noviany 2017. Design, characterization, in vitro antibacterial, antitubercular evaluation and structure-activity relationships of new hydrazinyl thiazolyl coumarin derivatives. *Medicinal Chemistry Research* 26(6), str. 1139–1148. DOI: [10.1007/s00044-017-1820-2](https://doi.org/10.1007/s00044-017-1820-2).
- Kraicheva I., Vodenicharova E., Shivachev B., Nikolova R., Kril A., Topashka-Anchev, M., Iliev I., Georgieva A., Gerasimova T., Tosheva T., Tashev E., Tsacheva I., Troev K. 2013. Anthracene-derived bis-aminophosphonates: crystal structure, in vitro antitumor activity, and genotoxicity in vivo. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 188(11), str. 1535–1547. DOI: [10.1080/10426507.2012.761986](https://doi.org/10.1080/10426507.2012.761986).
- Kukhar V.P., Hudson H.R. 2000. *Aminophosphonic and Aminophosphinic Acids Chemistry and Biological Activity*, wyd. 1. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.

- Kumari S., Advani D., Sharma S., Ambasta R.K., Kumar P. 2021. Combinatorial therapy in tumor microenvironment: Where do we stand?' *Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Cancer* 1876(2), nr art. 188585. DOI: [10.1016/j.bbcan.2021.188585](https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188585).
- Lavrado J., Moreira R., Paulo A. 2010. Indoloquinolines as Scaffolds for Drug Discovery. *Current Medicinal Chemistry* 17(22), str. 2348–2370. DOI: [10.2174/092986710791698521](https://doi.org/10.2174/092986710791698521).
- Lebovitz H.E. 1997. Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 26(3), str. 539–551. DOI: [10.1016/s0889-8529\(05\)70266-8](https://doi.org/10.1016/s0889-8529(05)70266-8).
- Lejczak B., Kafarski P. 2009. Biological Activity of Aminophosphonic Acids and Their Short Peptides. W: Bansal R. (red.), *Phosphorus Heterocycles I. Topics in Heterocyclic Chemistry*, 20. Springer, Berlin, Heidelberg, str. 31–63. DOI: [10.1007/7081_2008_1](https://doi.org/10.1007/7081_2008_1).
- Li Y.J., Wang C.Y., Ye M.Y., Yao G.Y., Wang H.S. 2015. Novel Coumarin-Containing Aminophosphonates as Antitumor Agent: Synthesis, Cytotoxicity, DNA-Binding and Apoptosis Evaluation. *Molecules* 20(8), str. 14791–14809. DOI: [10.3390/molecules200814791](https://doi.org/10.3390/molecules200814791).
- Litim B., Cheraiet Z., Meliani S., Djahoudi A., Boukhari A. 2022. Synthesis and potent antimicrobial activity of novel coumarylthiazole alpha-aminophosphonates derivatives. *Molecular Diversity* 26(2), str. 1161–1174. DOI: [10.1007/s11030-021-10242-2](https://doi.org/10.1007/s11030-021-10242-2).
- Loredo-Calderon E.L., Velazquez-Martinez C.A., Ramirez-Cabrera M.A., Hernandez-Fernandez E., Rivas-Galindo V.M., Espinoza E.A., Lopez-Cortina S.T. 2019. Synthesis of novel alpha-aminophosphonates under microwave irradiation, biological evaluation as antiproliferative agents and apoptosis inducers. *Medicinal Chemistry Research* 28(11), str. 2067–2078. DOI: [10.1007/s00044-019-02436-z](https://doi.org/10.1007/s00044-019-02436-z).
- Ma D.W. 1999. Conformationally constrained analogues of L-glutamate as subtype-selective modulators of metabotropic glutamate receptors. *Bioorganic Chemistry* 27(1), str. 20–34. DOI: [10.1006/bioo.1998.1107](https://doi.org/10.1006/bioo.1998.1107).
- Ma J.L., Li J., Guo P.H., Liao X.C., Cheng H.C. 2021. Synthesis and antitumor activity of novel indole derivatives containing alpha-aminophosphonate moieties. *Arabian Journal of Chemistry* 14(8), nr art. 103256. DOI: [10.1016/j.arabjc.2021.103256](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103256).
- Maitra A., Ashfaq R., Gunn C.R., Rahman A., Yeo C.J., Sohn T.A., Cameron J.L., Hruban R.H., Wilentz R.E. 2002. Cyclooxygenase 2 expression in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia - An immunohistochemical analysis with automated cellular imaging. *American Journal of Clinical Pathology* 118(2), str. 194–201. DOI: [10.1309/tpg4-ck1c-9v8v-8awc](https://doi.org/10.1309/tpg4-ck1c-9v8v-8awc).
- Marco G.J. 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society* 45(9), str. 594–598. DOI: [10.1007/bf02668958](https://doi.org/10.1007/bf02668958).
- Maruyama H.B., Arisawa M., Sawada T. 1979. Alafosfalin, a new inhibitor of cell-wall biosynthesis: in vitro activity against urinary isolates in Japan and potentiation with beta-lactams. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 16(4), str. 444–451. DOI: [10.1128/aac.16.4.444](https://doi.org/10.1128/aac.16.4.444).
- Mucha A., Kafarski P., Berlicki, L. 2011. Remarkable Potential of the alpha-Aminophosphonate/Phosphinate Structural Motif in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry* 54(17), str. 5955–5980. DOI: [10.1021/jm200587f](https://doi.org/10.1021/jm200587f).
- Nadal E., Olavarria, E. 2004. Imatinib mesylate (Gleevec/Glivec) a molecular-targeted therapy for chronic myeloid leukaemia and other malignancies. *International Journal of Clinical Practice* 5, str. 511–516. DOI: [10.1111/j.1368-5031.2004.00173.x](https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2004.00173.x).
- Nadivedhi M.R., Nuthalapati P., Gundluru M., Yanamula M.R., Kallimakula S.V., Pasupuleti V.R., Avula V.K.R., Vallela S., Zyryanov G.V., Balam S.K., Cirandur S.R. 2021. Green Synthesis, Antioxidant, and Plant Growth Regulatory Activities of Novel alpha-Furfuryl-2-alkylaminophosphonates. *ACS Omega* 6(4), str. 2934–2948. DOI: [10.1021/acsomega.0c05302](https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05302).
- Naydenova E.D., Todorov P.T., Troev, K.D. 2010. Recent synthesis of aminophosphonic acids as potential biological importance. *Amino Acids* 38(1), str. 23–30. DOI: [10.1007/s00726-009-0254-7](https://doi.org/10.1007/s00726-009-0254-7).
- Ntai I., Bachmann B.O. 2008. Identification of ACE pharmacophore in the phosphonopeptide metabolite K-26. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 18(10), str. 3068–3071. DOI: [10.1016/j.bmcl.2007.11.130](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.11.130).
- Opie E.L. 1962. On the relation of necrosis and inflammation to denaturation of proteins. *Journal of Experimental Medicine* 115(3), str. 597–608. DOI: [10.1084/jem.115.3.597](https://doi.org/10.1084/jem.115.3.597).
- Orsini F., Sello G., Sisti, M. 2010. Aminophosphonic Acids and Derivatives. Synthesis and Biological Applications. *Current Medicinal Chemistry* 17(3), str. 264–289. DOI: [10.2174/092986710790149729](https://doi.org/10.2174/092986710790149729).

- Ortonne J.P., Bissett D.L. 2008. Latest insights into skin hyperpigmentation, *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* 13(1), str. 10–14. DOI: [10.1038/jidsymp.2008.7](https://doi.org/10.1038/jidsymp.2008.7).
- Pankey G.A., Sabath L.D. 2004. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of gram-positive bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases* 38(6), str. 864–870. DOI: <http://dx.doi.org/10.1086/381972>.
- Pavelka K., Bruyere O., Cooper C., Kanis J.A., Leeb B.F., Maheu E., Martel-Pelletier J., Monfort J., Pelletier J.P., Rizzoli R., Reginster J.Y. 2016. Diacerein: Benefits, Risks and Place in the Management of Osteoarthritis. An Opinion-Based Report from the ESCEO. *Drugs & Aging* 33(2), str. 75–85. DOI: [10.1007/s40266-016-0347-4](https://doi.org/10.1007/s40266-016-0347-4).
- Pham C.T.N. 2008. Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 40(6–7), str. 1317–1333. DOI: [10.1016/j.biocel.2007.11.008](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.11.008).
- Pikl J. 1943. Organic compound and process for preparing the same (US Patent 2.328.358). U.S. Patent and Trademark Office. Dostępne online: <https://patents.google.com/patent/US2328358A/en?q=US+Patent+2.328.358> (dostęp: 15.03.2023).
- Pommier Y., Kohlhagen G., Kohn K.W., Leteurtre F., Wani M.C., Wall M.E. 1995. Interaction of an alkylating camptothecin derivative with a DNA base at topoisomerase I-DNA cleavage sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, str. 8861–8865. DOI: [10.1073/pnas.92.19.8861](https://doi.org/10.1073/pnas.92.19.8861).
- Poola S., Nadiveedhi M.R., Sarva S., Gundluru M., Nagaripati S., Shaik M.S., Kotha P., Chamarthi N., Cirandur S.R. 2019. Nano Sb2O3 catalyzed green synthesis, cytotoxic activity, and molecular docking study of novel α -aminophosphonates. *Medicinal Chemistry Research* 28(4), str. 528–544. DOI: [10.1007/s00044-019-02302-y](https://doi.org/10.1007/s00044-019-02302-y).
- Poola S., Nagaripati S., Tellamekala S., Chintha V., Kotha P., Yagan, J.R., Golla N., Cirandur S.R. 2020. Green synthesis, antibacterial, antiviral and molecular docking studies of alpha-aminophosphonates. *Synthetic Communications* 50(17), str. 2655–2672. DOI: [10.1080/00397911.2020.1753079](https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1753079).
- Qin J.M., Li J.F., Ye M.Y., Huang R.Z., Xu Q., Pan Y.M., Wang H.S., Yao G.Y. 2014. Synthesis and antitumor activities of novel diacerein alpha-aminophosphonates conjugates. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* 53(12), str. 1584–1595. Dostępne online: <http://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/30081/1/IJCB%2053B%2812%29%201584-1595.pdf> (dostęp: 15.03.2023).
- Rajkoomar N., Murugesan A., Prabu S., Gengan R.M. 2020. Synthesis of methyl piperazinyl-quinolinyl alpha-aminophosphonates derivatives under microwave irradiation with Pd-SrTiO(3)catalyst and their antibacterial and antioxidant activities. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 195(12), str. 1031–1038. DOI: [10.1080/10426507.2020.1799366](https://doi.org/10.1080/10426507.2020.1799366).
- Rakesh K.P., Wang S.M., Leng J., Ravindar L., Asiri A.M., Marwani H.M., Qin H.L. 2018. Recent Development of Sulfonyl or Sulfonamide Hybrids as Potential Anticancer Agents: A Key Review. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 18(4), str. 488–505. DOI: [10.2174/1871520617666171103140749](https://doi.org/10.2174/1871520617666171103140749).
- Rao K.U.M., Swapna S., Manidhar D.M., Reddy K.M.K., Reddy C.S. 2015. Efficient Synthesis of alpha-Aminophosphonates and Evaluation of Significance of P=O Group towards Antioxidant Activity. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 190(2), str. 232–239. DOI: [10.1080/10426507.2014.914937](https://doi.org/10.1080/10426507.2014.914937).
- Rasal S.A., Dhavan P.P., Jadhav B.L., Shimpi N.G. 2020. Synthesis of new alpha-aminophosphonates using nanoscale nickel-based metal-organic framework as a heterogeneous catalyst and their antibacterial activity. *Applied Organometallic Chemistry* 34(2), nr art. e5317. DOI: [10.1002/aoc.5317](https://doi.org/10.1002/aoc.5317).
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9–10), str. 1231–1237. DOI: [10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3).
- Reddy G.S., Rao K.U.M., Sundar C.S., Sudha S.S., Haritha B., Swapna S., Reddy C.S. 2014. Neat synthesis and antioxidant activity of alpha-aminophosphonates. *Arabian Journal of Chemistry* 7(5), str. 833–838. DOI: [10.1016/j.arabjc.2013.01.004](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.01.004).
- Reddy K.M.K., Santhisudha S., Mohan G., Peddanna K., Rao C.A., Reddy, C.S. 2016. Nano Gd2O3 catalyzed synthesis and anti-oxidant activity of new alpha-aminophosphonates. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 191(6), str. 933–938. DOI: [10.1080/10426507.2015.1119139](https://doi.org/10.1080/10426507.2015.1119139).
- Reece R.J., Maxwell, A. 1991. DNA gyrase – structure and function. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 26(3–4), str. 335–375. DOI: [10.3109/10409239109114072](https://doi.org/10.3109/10409239109114072).

- Rothenberg M.L. 1997. Topoisomerase I inhibitors: Review and update. *Annals of Oncology* 8(9), str. 837–855. DOI: [10.1023/a:1008270717294](https://doi.org/10.1023/a:1008270717294).
- Sadik S.M., Santhisudha S., Mohan G., Reddy N.M., Lakshmi P.S., Rajasekhar A., Rao C.A., Reddy C.S. 2019. Palladium acetate-catalysed one-pot green synthesis of bis α -aminophosphonates. *Research on Chemical Intermediates* 45(3), str. 1401–1420. DOI: [10.1007/s11164-018-3685-5](https://doi.org/10.1007/s11164-018-3685-5).
- Shaik Y.H., Chintha V., Gundluru M., Sarva S., Cirandur S.R. 2022. An efficient nano-FGT catalyzed green synthesis of alpha-aminophosphonates and evaluation of their antioxidant, anti-inflammatory activity and molecular docking studies. *Synthetic Communications* 52(1), str. 129–144. DOI: [10.1080/00397911.2021.2007402](https://doi.org/10.1080/00397911.2021.2007402).
- Shaikh M.H., Subhedar D.D., Khan F.A.K., Sangshetti J.N., Shingate B.B. 2016. Et₃NH HSO₄ -catalyzed one-pot, solvent-free synthesis and biological evaluation of alpha-amino phosphonates. *Research on Chemical Intermediates* 42(5), str. 5115–5131. DOI: [10.1007/s11164-015-2348-z](https://doi.org/10.1007/s11164-015-2348-z).
- Shaikh S., Dhavan P., Pavale G., Ramana M.M.V., Jadhav B.L. 2020a. Design, synthesis and evaluation of pyrazole bearing alpha-aminophosphonate derivatives as potential acetylcholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry* 96, nr art. 103589. DOI: [10.1016/j.bioorg.2020.103589](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103589).
- Shaikh S., Dhavan P., Ramana M.M.V., Jadhav B.L. 2020b. Design, synthesis and evaluation of new chromone-derived aminophosphonates as potential acetylcholinesterase inhibitor. *Molecular Diversity* 25(2), str. 811–825. DOI: [10.1007/s11030-020-10060-y](https://doi.org/10.1007/s11030-020-10060-y).
- Shaikh S., Dhavan P., Singh P., Uparkar J., Vaidya S.P., Jadhav B.L., Ramana M.M.V. 2021. Design, synthesis and biological evaluation of novel antipyrene based alpha-aminophosphonates as anti-Alzheimer and anti-inflammatory agent. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*. DOI: [10.1080/07391102.2021.2006088](https://doi.org/10.1080/07391102.2021.2006088).
- Shaikh S., Dhavan P., Singh P., Uparkar J., Vaidya S.P., Jadhav B.L., Ramana M.V. 2020c. Synthesis of carbazole based alpha-aminophosphonate derivatives: design, molecular docking and in vitro cholinesterase activity. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics* 40(11), str. 4801–4814. DOI: [10.1080/07391102.2020.1861981](https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1861981).
- Shashikumar N.D. 2013. Preparation of New alpha-Aminophosphonate Derivatives by Kabachnik-Fields Reaction Using a Recyclable Catalyst. *Journal of Chemistry* 2013, nr art. 240381. DOI: [10.1155/2013/240381](https://doi.org/10.1155/2013/240381).
- Shi H.L., Noguchi N., Niki, E. 2001. Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Flavonoids and Other Polyphenols* 335, str. 157–166. DOI: [10.1016/s0076-6879\(01\)35240-0](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(01)35240-0).
- Sreelakshmi P., Santhisudha S., Reddy G.R., Subbarao Y., Peddanna K., Apparao C., Reddy, C.S. 2018. Nano-Cu-Au-catalyzed solvent-free synthesis of α -aminophosphonates and evaluation of their antioxidant and α -glucosidase enzyme inhibition activities. *Synthetic Communications* 48(10), str. 1148–1163. DOI: [10.1080/00397911.2018.1437183](https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1437183).
- Sridhar G., Palle S., Vantikomm, J., Gangarapu K. 2020. Design, synthesis, and biological evaluation of amide derivatives of imidazo 2,1-b 1,3,4 thiadiazole as anticancer agents. *Synthetic Communications*, 50(21), str. 3221–3233. DOI: [10.1080/00397911.2020.1797814](https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1797814).
- Sriram D., Yogeewari P., Thirumurugan R., Bal T.R. 2005. Camptothecin and its analogues: a review on their chemotherapeutic potential. *Natural Product Research* 19(4), str. 393–412. DOI: [10.1080/14786410412331299005](https://doi.org/10.1080/14786410412331299005).
- Sudileti M., Chintha V., Nagaripati S., Gundluru M., Yasmin S.H., Wudayagiri R., Cirandur S.R. 2019b. Green synthesis, molecular docking, anti-oxidant and anti-inflammatory activities of alpha-aminophosphonates. *Medicinal Chemistry Research* 28(10), str. 1740–1754. DOI: [10.1007/s00044-019-02411-8](https://doi.org/10.1007/s00044-019-02411-8).
- Sudileti M., Gundluru M., Sarva S., Tellamekala S., Hari B., Meriga B., Cirandur S.R. 2019a. Tungstosulfonic acid-catalyzed green synthesis and bioassay of alpha-aminophosphonates. *Monatshefte Für Chemie* 150(6), str. 1101–1109. DOI: [10.1007/s00706-019-2385-1](https://doi.org/10.1007/s00706-019-2385-1).
- Szydłowska-Czerniak A., Dianoczki C., Recseg K., Karlovits G., Szlyk, E. 2008. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 76(4), str. 899–905. DOI: [10.1016/j.talanta.2008.04.055](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.055).

- Taflan E., Bayrak H., Er M., Karaoglu S.A., Bozdeveci A. 2019. Novel imidazo 2,1-b 1,3,4 thiadiazole (ITD) hybrid compounds: Design, synthesis, efficient antibacterial activity and antioxidant effects. *Bioorganic Chemistry* 89, nr. art 102998. DOI: [10.1016/j.bioorg.2019.102998](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102998).
- Tekale S.U., Kauthale S.S., Shaikh R.U., Marathe R.P., Nawale R.B., Pawar R.P. 2014. Aluminium nitride catalyzed solvent-free synthesis of some novel biologically active alpha-aminophosphonates. *Journal of the Iranian Chemical Society* 11(3), str. 717–724. DOI: [10.1007/s13738-013-0344-z](https://doi.org/10.1007/s13738-013-0344-z).
- Tellamekala S., Gundluru M., Sarva S., Nadiveedhi M.R., Sudileti M., Allagadda R., Chippada A.R., Cirandur S.R. 2019. Meglumine sulfate-catalyzed one-pot green synthesis and antioxidant activity of alpha-aminophosphonates. *Synthetic Communications* 49(4), str. 563–575. DOI: [10.1080/00397911.2018.1563795](https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1563795).
- Tsai C.H., Chou M.Y., Chang Y.C. 2003. The up-regulation of cyclooxygenase-2 expression in human buccal mucosal fibroblasts by arecoline: a possible role in the pathogenesis of oral submucous fibrosis. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 32(3), str. 146–153. DOI: [10.1034/j.1600-0714.2003.00004.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2003.00004.x).
- Uparkar J.J., Dhavan P.P., Jadhav B.L., Pawar S.D. 2022. Design, synthesis and biological evaluation of furan based alpha-aminophosphonate derivatives as anti-Alzheimer agent. *Journal of the Iranian Chemical Society* 19(7), str. 3103–3116. DOI: [10.1007/s13738-022-02515-w](https://doi.org/10.1007/s13738-022-02515-w).
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39(1), str. 44–84. DOI: [10.1016/j.biocel.2006.07.001](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001).
- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160(1), str. 1–40. DOI: [10.1016/j.cbi.2005.12.009](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009).
- van de Laar F.A., Lucassen P.L., Akkermans R.P., van de Lisdonk F.H., Rutten G.E., van Weel C. 2005. α -Glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes: Results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 28(1), str. 154–163. DOI: [10.2337/diacare.28.1.154](https://doi.org/10.2337/diacare.28.1.154).
- Vane J.R., Bakhle Y.S., Botting R.M. 1998. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 38, str. 97–120. DOI: [10.1146/annurev.pharmtox.38.1.97](https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.97).
- Vaughan L., Glanzel W., Korc, C., Capes-Davis A. 2017. Widespread Use of Misidentified Cell Line KB (HeLa): Incorrect Attribution and Its Impact Revealed through Mining the Scientific Literature. *Cancer Research* 77(11), str. 2784–2788. DOI: [10.1158/0008-5472.can-16-2258](https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-16-2258).
- Venugopala K.N., Rashmi V., Odhav, B. 2013. Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *Biomed Research International* 2013, nr art. 963248. DOI: [10.1155/2013/963248](https://doi.org/10.1155/2013/963248).
- Vigot R., Batini, C. 1999. Purkinje cell inhibitory responses to 3-APPA (3-aminopropylphosphinic acid) in RAT cerebellar slices. *Neuroscience Research* 34(3), str. 141–147. DOI: [10.1016/s0168-0102\(99\)00044-9](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(99)00044-9).
- Wang J., Ansari M.F., Lin J.M., Zhou C.H. 2021 Design and Synthesis of Sulfanilamide Aminophosphonates as Novel Antibacterial Agents towards Escherichia coli. *Chinese Journal of Chemistry* 39(8), str. 2251–2263. DOI: [10.1002/cjoc.202100165](https://doi.org/10.1002/cjoc.202100165).
- Wu W.S., Ye H.Y., Wan L., Han X.L., Wang G.C., Hu J., Tang M.H., Duan X.M., Fan Y., He S.C., Huang L., Pei H.Y., Wang X.W., Li X.X., Xie C.F., Zhang R.H., Yuan Z., Mao Y.Q., Wei Y.Q., Chen L.J. 2013. Millepachine, a novel chalcone, induces G(2)/M arrest by inhibiting CDK1 activity and causing apoptosis via ROS-mitochondrial apoptotic pathway in human hepatocarcinoma cells in vitro and in vivo. *Carcinogenesis* 34(7), str. 1636–1643. DOI: [10.1093/carcin/bgt087](https://doi.org/10.1093/carcin/bgt087).
- Yang L.M., Ma X., Guo K.R., Li J., Zhang C., Wu, L.Q. 2022. Dual-functional antitumor conjugates improving the anti-metastasis effect of combretastatin A4 by targeting tubulin polymerization and matrix metalloproteinases. *European Journal of Medicinal Chemistry* 238, nr art. 114439. DOI: [10.1016/j.ejmech.2022.114439](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114439).
- Yang X.H., Xiang L., Li X., Zhao T.T., Zhang H., Zhou W.P., Wang X.M., Gong H.B., Zhu H.L. 2012. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of 1,3,4-thiadiazol-2-amide derivatives as novel anticancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 20(9), str. 2789–2795. DOI: [10.1016/j.bmc.2012.03.040](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.03.040).
- Yao G.Y., Ye M.Y., Huang R.Z., Li Y.J., Pan Y.M., Xu Q., Liao Z.X., Wang H.S. 2014. Synthesis and antitumor activities of novel rhein alpha-aminophosphonates conjugates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 24(2), str. 501–507. DOI: [10.1016/j.bmcl.2013.12.030](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.12.030).

- Ye M.Y., Yao G.Y., Pan Y.M., Liao Z.X., Zhang Y., Wang, H.S. 2014. Synthesis and antitumor activities of novel alpha-aminophosphonate derivatives containing an alizarin moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry* 83, str. 116–128. DOI: [10.1016/j.ejmech.2014.02.067](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.02.067).
- Zaout S., Chafaa S., Hellal A., Boukhemis O., Khattabi L., Merazig H., Chafai N., Bensouici C., Bendjeddou L. 2021. Hydroxyphenylamine phosphonate derivatives: Synthesis, X-ray crystallographic analysis, and evaluation of their anti-Alzheimer effects and antioxidant activities. *Journal of Molecular Structure*, 1225, nr art. 129121. DOI: [10.1016/j.molstruc.2020.129121](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129121).
- Zhang B., Hu X.T., Gu J., Yang Y.S., Duan Y.T., Zhu, H.L. 2020. Discovery of novel sulfonamide-containing aminophosphonate derivatives as selective COX-2 inhibitors and anti-tumor candidates. *Bioorganic Chemistry* 105, nr art. 104390. DOI: [10.1016/j.bioorg.2020.104390](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104390).
- Zhou Y.-X., Xia W., Yue W., Peng C., Rahman K., Zhang H. 2015. Rhein: A Review of Pharmacological Activities. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, nr art. 578107. DOI: [10.1155/2015/578107](https://doi.org/10.1155/2015/578107).
- Zhu X.F., Zhang J., Sun S., Guo Y.C., Cao S.X., Zhao Y.F. 2017. Synthesis and structure-activity relationships study of alpha-aminophosphonate derivatives containing a quinoline moiety. *Chinese Chemical Letters* 28(7), str. 1514–1518. DOI: [10.1016/j.ccllet.2017.02.012](https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2017.02.012).
- Zuo L., Motherwell M.S. 2013. The impact of reactive oxygen species and genetic mitochondrial mutations in Parkinson's disease. *Gene* 532(1), str. 18–23. DOI: [10.1016/j.gene.2013.07.085](https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.07.085).

