

ALEKSANDRA TROCHA IWONA E. GŁOWACKA

SUBSTANCJE LECZNICZE I ZWIĄZKI BIOLOGICZNIE CZYNNE Z GRUPY AZIRYDYN



Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

2024

04

ŁÓDŹ 2024

ALEKSANDRA TROCHA^{*1} D IWONA E. GŁOWACKA¹ D

SUBSTANCJE LECZNICZE I ZWIĄZKI BIOLOGICZNIE CZYNNE Z GRUPY AZIRYDYN

MEDICINAL SUBSTANCES AND BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FROM THE AZIRIDINE GROUP

¹ Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi,

* e-mail: aleksandra.trocha@umed.lodz.pl



UMEDICAL REPORTS

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.; tekst jednolity: Dz.U. 2022 poz. 661).

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 Pikala, prof. uczelni

REDAKTOR PROWADZĄCA dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni

REDAKCJA JĘZYKOWA Magdalena Kokosińska

KOREKTA Magdalena Zagrobelna

OPRACOWANIE GRAFICZNE Tomasz Przybył

SUBSTANCJE LECZNICZE I ZWIĄZKI BIOLOGICZNIE CZYNNE Z GRUPY AZIRYDYN

Łódź 2024

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI http://wydawnictwo.umed.pl/ e-mail: 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 978-83-67198-45-5

WYDANIE PIERWSZE



© 2024. Pewne prawa zastrzeżone na rzecz autorów. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<u>https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.pl</u>). Licencjobiorca: 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:** Azirydyny stanowią jeden z najcenniejszych układów heterocyklicznych zarówno z punktu widzenia chemii organicznej jak i medycznej. Ten fragment strukturalny obecny jest w wielu związkach pochodzenia naturalnego i otrzymanych w wyniku syntezy, które wykazują szerokie spektrum działania, m.in. antyproliferacyjnego, przeciwbakteryjnego czy przeciwwirusowego. Ze względu na duże naprężenie kątowe oraz różnicę elektroujemności pomiędzy atomem węgla i azotu, azirydyny z łatwością ulegają reakcjom nukleofilowego otwarcia pierścienia. Właściwości te odpowiadają zarówno za aktywność biologiczną jak również toksyczność i mutagenność związków zawierających ten fragment. Spośród dotychczas otrzymanych pochodnych azirydyn zastosowanie kliniczne znalazły jedynie tiotepa i mitomycyna C. W artykule zaprezentowano najnowsze osiągnięcia (2014–2024) dotyczące aktywności biologicznej związków zawierających w strukturze pierścień azirydynowy. Zdecydowana większość opisanych pochodnych azirydyn wykazuje działanie antyproliferacyjne i przeciwdrobnoustrojowe, jednakże wymieniono również kilka przykładów związków o właściwościach przeciwzapalnych, przeciwcukrzycowych, przeciwzakrzepowych czy hamujących aktywność różnych enzymów.

Słowa kluczowe: azirydyna, aktywność biologiczna, związki alkilujące, aktywność przeciwdrobnoustrojowa, inhibitory **Abstract:** Aziridine constitutes one of the most valuable heterocyclic systems both from the organic and medicinal chemistry point of view. This structural unit has been found in the many naturally occurring and synthetic biologically relevant compounds showing antiproliferative, antibacterial, and antiviral activities. Due to the high strain of the tree-membered ring and the difference in electronegativity between carbon and nitrogen atoms, aziridines readily undergo ring-opening reactions with nucleophiles. These properties are responsible for both the biological activity as well as the toxicity and mutagenicity of compounds containing this structural framework. Among aziridine derivatives obtained so far, only thiotepa and mitomycin C have found clinical applications. In this article, the latest achievements (2014–2024) regarding biologically active compounds containing aziridine ring in the structure are presented. The vast majority of the described aziridine derivatives exhibit antiproliferative and antimicrobial activity, however, a few examples of compounds having anti-inflammatory, antidiabetic, anticoagulant, and inhibitory properties have been also mentioned.

Keywords: aziridine, biological activity, alkylating compounds, antimicrobial activity, inhibitors

Wykaz skrótów

AA8 – komórki jajowe chomika chińskiego, zdolne do naprawy DNA AcaGH79 – bakteryjna β-glukuronidaza GH79 z Acidobacterium capsulatum 16HBE – linia ludzkich komórek nabłonka oskrzelowego A2780 – linia komórek ludzkiego raka jajnika A549 – linia komórek ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc ALI – model ostrego uszkodzenia płuc wywołanego lipopolisacharydem APPT – czas częściowej tromboplastyny po aktywacji B16 4A5 – linia komórek czerniaka Bn – grupa benzylowa BT549 – linia komórek ludzkiego raka piersi Bu – grupa butylowa t-Bu – grupa tert-butylowa BuChE – butyrylocholinoesteraza Bzh – grupa benzhydrylowa C4 – szczep gronkowca złocistego; izolat z nosogardzieli C8 – szczep gronkowca złocistego; izolat z nosogardzieli C7 – szczep gronkowca złocistego; izolat z nosogardzieli C19 – szczep gronkowca złocistego; izolat z nosogardzieli CA-4 – kombrestatyna A4 Cbz – grupa benzoksykarbonylowa CC50 - stężenie cytotoksyczne; stężenie związku powodujące zmiany cytopatogeniczne u 50% zdrowych komórek CCD-18Co – linia prawidłowych komórek okrężnicy CCRF-CEM – linia komórek nowotworowych ostrej białaczki limfoblastycznej CEM/ADR5000 – linia komórek białaczki z indukcją nadekspresji genu oporności wielolekowej ABCB1 cHex – grupa cykloheksylowa COLO 205 – linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego **CRP** – białko C-reaktywne D12 – szczep gronkowca złocistego; izolat z wrzodów/czyraków D14 – szczep gronkowca złocistego; izolat z kości **D15** – szczep gronkowca złocistego opornego na metycyline; izolat z kości D17 – szczep gronkowca złocistego opornego na metycylinę; izolat z kości D20 – szczep gronkowca złocistego; izolat z kości **DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy **EMA** – Europejska Agencja Leków (ang. European Medicines Agency) ERK – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo Et – grupa etylowa F1 – szczep gronkowca złocistego; izolat z wrzodów/czyraków F7 – szczep gronkowca złocistego; izolat z wrzodów/czyraków

F12 –szczep gronkowca złocistego; izolat z wrzodów/czyraków

FAK – kinaza ogniskowo-adhezyjna

Fc – grupa ferrocenylowa

FDA – Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration)

FUCA – α-fukozydaza GH29

G114 – linia komórek glejaka wielopostaciowego

G116 – linia komórek glejaka wielopostaciowego

G16 – linia komórek glejaka wielopostaciowego

GBA – β-glukozydaza GH1

GHA – α-galaktozydaza GH27

Gl₅₀ – stężenie związku powodujące zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych w 50%

GI101 – linia komórek przerzutowego raka piersi

GILM2 – linia komórek przerzutowego raka piersi

GILM3 – linia komórek przerzutowego raka piersi

HCC-2998 – linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego

HCT-116 – linia komórek ludzkiego raka jelita grubego

HEK 293 – linia ludzkich komórek embrionalnych nerki

HeLa – linia komórek raka szyjki macicy

HepG2 – linia komórek raka wątrobowokomórkowego

HL-60 – linia komórek białaczki promielocytowej

HT 29 – linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego

HT1080 – linia komórek ludzkiego włókniakomięsaka

IC₅₀ – stężenie związku powodujące zahamowanie aktywności proteasomu w 50%; stężenie związku powodujące zahamowanie wzrostu komórek w 50%; stężenie związku powodujące zahamowanie aktywności enzymu w 50%

IGROV-1 – linia komórek ludzkiego raka jajnika

IL-18 – interleukina 18

IL-6 – interleukina 6

K-562 – linia komórek ludzkiej białaczki

K_i – powinowactwo wiązania (ang. *binding affinity*)

KM 12 – linia komórek ludzkiego raka jelita grubego

L929 – linia komórek mysich fibroblastów tkanki łącznej

Leu – leucyna

LPS – lipopolisacharyd

MBC – minimalne stężenie bakteriobójcze

MCF-10 – linia prawidłowych komórek nabłonkowych sutka

MCF7 – linia komórek estrogenozależnego gruczolakoraka piersi

MDA-MB-231 – linia komórek raka piersi z mutacją genu BRAC-1/2

Me – grupa metylowa

MES SA DX – linia komórek wielolekoopornego mięsaka macicy

MES SA DXE – linia komórek wielolekoopornego mięsaka macicy

MFC – minimalne stężenie grzybobójcze

MIC – minimalne stężenie hamujące wzrost szczepów drobnoustrojów

MMAE – monometylo aurystatyna E

MMP2 – macierzowa metaloproteinaza 2

MMP9 – macierzowa metaloproteinaza 9

MRSA – szczep gronkowca oporny na metycylinę (ang.-łac. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*)

MS - syntaza metioninowa

MTB H37Rv – prątek gruźlicy; Mycobacterium tuberculosis H37Rv

NB4 – linia komórek białaczki promielocytowej

NHA – ludzkie astrocyty

OUN - ośrodkowy układ nerwowy

OVCAR-3 – linia komórek ludzkiego raka jajnika

PBMC – linia jednojądrzastych komórek krwi obwodowej

PC3 – linia komórek ludzkiego raka prostaty

PCT – prokalcytonina

Ph – grupa fenylowa

Phe – fenyloalanina

PI – inhibitor proteasomu

PMA - octan mirystynianu forbolu

Pr – grupa propylowa

*i-*Pr – grupa izopropylowa

RNA – kwas rybonukleinowy

SAR – zależność struktura-aktywność

SI – indeks selektywności

SKBR3 – linia komórek ludzkiego raka piersi

SKOV3 – linia komórek ludzkiego raka jajnika

SW480 – linia komórek gruczolakoraka jelita grubego

SW-620 – linia komórek ludzkiego raka jelita grubego

TEPA – N,N',N'-trietylenofosforamid

TMZ – temozolomid

TNF- α – czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor* α)

Trp – tryptofan

Ts – grupa tosylowa

U2OS – linia komórek ludzkiego kostniakomięsaka

UACC-62 – linia komórek czerniaka

UPS – system ubikwityna-proteasom

UV4 – komórki jajowe chomika chińskiego z mutacją genu ERCC1; niezdolne do naprawy DNA

UV5 – komórki jajowe chomika chińskiego z mutacją genu ERCC2; niezdolne do naprawy DNA **Val** – walina

VEGF – czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego

ZOI – średnica strefy zahamowania wzrostu drobnoustrojów

Spis treści

Wprowad	lzenie	10
1. Subst	tancje lecznicze posiadające w strukturze pierścień azirydynowy	10
1.1. T	۲iotepa	11
1.2. N	Mitomycyna C	11
2. Pocho	odne azirydyn o aktywności przeciwnowotworowej	12
3. Pocho	odne azirydyn o aktywności przeciwdrobnoustrojowej	33
4. Inna a	aktywność	41
Podsumov	wanie	46
Bibliografi	ia	47

Wprowadzenie

Współcześnie znanych jest wiele związków, zarówno pochodzenia naturalnego, jak i otrzymanych w wyniku syntezy, które w swojej strukturze posiadają pierścień azirydynowy i wykazują zróżnicowaną aktywność biologiczną, m.in. przeciwbakteryjną (Naganawa i in., 1975; Argoudelis i in., 1976; Harada i in., 2004), przeciwnowotworową (Ishizeki i in., 1987; Hanada i in., 1991; Remers i Dorr, 2012), przeciwwirusową (Zoidis i in., 2006; Kolocouris i in., 2007) czy hamującą aktywność enzymów (Huentelman i in., 2004; Schaschke, 2004). Z chemicznego punktu widzenia azirydyna (Ryc. 1) to trójczłonowy nasycony pierścień heterocykliczny, w którym jeden z atomów węgla został zastąpiony atomem azotu. Duże naprężenia kątowe spowodowane znacznym odchyleniem wartości kąta wewnętrznego w trójczłonowym pierścieniu w porównaniu z kątem tetraedrycznym (60° vs. 109,5°), a także różnica elektroujemności pomiędzy atomem węgla a heteroatomem powodują, że azirydyny są wysoce reaktywne. Chemia tych związków jest zdominowana przez reakcje otwarcia pierścienia (Stankovic i in., 2012; Akhtar i in., 2018; Sabir i in., 2018; Choi i in., 2021; Srivastava i Ha, 2023). Z uwagi na elektrofilowy charakter azirydyn z łatwością ulegają one wysoce regioi stereospecyficznym reakcjom z różnymi nukleofilami, w tym azotowymi, tlenowymi czy siarkowymi. Właściwość ta jest szczególnie istotna w kontekście mechanizmu działania pochodnych azirydyn, które w wielu przypadkach pełnią rolę czynników alkilujących o aktywności przeciwnowotworowej. Jednocześnie zdolność do kowalencyjnego wiązania się z białkami czy kwasami nukleinowymi jest przyczyną toksyczności i mutagenności tego typu związków (Ismail i in., 2009). Niniejsza monografia stanowi przegląd doniesień literaturowych z lat 2014–2024 dotyczących aktywności biologicznej związków posiadających w strukturze pierścień azirydynowy. W kilku przypadkach w celu otrzymania związków o wyższej aktywności wykorzystano strategie polegającą na połączeniu azirydyny z innymi farmakoforami w obrębie struktury jednej cząsteczki. Dodatkowo opisano mechanizmy działania a także wskazania do stosowania w terapii tiotepy oraz mitomycyny C – dwóch substancji, które na chwilę obecną są jedynymi lekami zawierającymi ten fragment strukturalny.

H N Azirydyna

Rycina 1. Struktura azirydyny.

1. Substancje lecznicze posiadające w strukturze pierścień azirydynowy

Jak dotąd na całym świecie, w tym w Polsce, zarejestrowano jedynie dwie substancje lecznicze posiadające w swej budowie pierścień azirydynowy. Należą do nich tiotepa oraz mitomycyna C (Ryc. 2) stosowane w terapii przeciwnowotworowej.



Rycina 2. Przykłady substancji leczniczych posiadających w strukturze pierścień azirydynowy.

1.1. Tiotepa

Tiotepa (Ryc. 2) jest siarkowym analogiem N,N',N'-trietylenofosforamidu (TEPA, Ryc. 2) – związku o działaniu antyproliferacyjnym, który ze względu na niestabilność chemiczną nie znalazł zastosowania w lecznictwie (Farber i in., 1953). W organizmie, przy udziale izoenzymów cytochromu P450, tiotepa ulega jednak desulfuracji i przekształca się w tlenowy analog (TEPA) (Kondo i in., 2019). Synteza tiotepy została opracowana na początku lat 50. XX wieku (Kuh i Seeger, 1954), a już w 1959 roku FDA (Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków) zatwierdziła ją jako lek wykorzystywany w terapii kilku typów nowotworów (Jarow i in., 2015). W Europie natomiast EMA (Europejska Agencja Leków) dopiero w 2010 roku zatwierdziła tiotepę do obrotu na rynku farmaceutycznym (Nishikori i in., 2022). Tiotepa jest wielofunkcyjnym cytostatykiem wykazującym właściwości alkilujące. Jej mechanizm działania nie jest w pełni poznany, lecz niewątpliwie polega on na alkilowaniu guaniny w pozycji N-7 (alkilowaniu może ulegać również adenina w pozycji N-3 lub N-7, jednakże preferowana jest pozycja N-7 guaniny) oraz na tworzeniu nieprawidłowych wiązań krzyżowych pomiędzy dwiema cząsteczkami zasady purynowej, co uniemożliwia rozwinięcie się podwójnej helisy DNA, a w konsekwencji prowadzi do zahamowania replikacji materiału genetycznego komórek nowotworowych. Zakłada się dwa alternatywne mechanizmy działania. W pierwszym z nich tiotepa bezpośrednio uczestniczy w sieciowaniu DNA, w drugim zaś jest prolekiem – najpierw ulega hydrolizie, a uwolniona w jej wyniku cząsteczka azirydyny pełni rolę czynnika alkilującego (Kondo i in., 2019). Tiotepa wykazywała również dużą skuteczność w leczeniu raka jajnika, piersi i pęcherza moczowego, jednak ze względu na występowanie głębokiej mielosupresji nie została rozpowszechniona na szerszą skalę. Obecnie tiotepa (w postaci roztworu do infuzji) stosowana jest w terapii skojarzeniowej z innymi chemioterapeutykami zarówno u pacjentów dorosłych, jak i u dzieci. Jednym ze wskazań do podania tej substancji jest przygotowanie przed allogenicznym lub autologicznym przeszczepem komórek macierzystych układu krwiotwórczego przeprowadzanym w przypadku występowania chorób krwi, m.in. białaczki, chłoniaka, szpiczaka plazmocytowego (mnogiego), talasemii czy niedokrwistości sierpowatej. Ponadto jest wykorzystywana w leczeniu guzów litych, np. raka sutka, jajnika, guzów OUN (ośrodkowy układ nerwowy) czy zarodkowych, w sytuacji gdy właściwym leczeniem jest wysokodawkowa chemioterapia z następowym przeszczepieniem komórek krwiotwórczych (Rejestr Produktów Leczniczych. 2024. Charakterystyka, Tepadina).

1.2. Mitomycyna C

Mitomycyna C (Ryc. 2) jest naturalnie występującym lekiem zaliczanym do antybiotyków przeciwnowotworowych. Została odkryta w latach 50. XX wieku przez japońskich mikrobiologów w kulturach Streptomyces caespitosus (Hata i in., 1956). W 1974 roku FDA wydała pierwsze pozwolenie na stosowanie mitomycyny C w leczeniu raka żołądka i trzustki (w połączeniu z innymi chemioterapeutykami) (Bradner, 2001). Podobnie jak tiotepa mitomycyna C należy do grupy związków alkilujących. W pierwszym etapie wymaga jednak aktywacji do formy biologicznie czynnej, która polega na enzymatycznej lub chemicznej redukcji chinonu do hydrochinonu. W zależności od warunków reduktywnej aktywacji tworzą się monoaddukty (wiązania kowalencyjne pomiędzy atomem C1 mitomycyny a pozycją N-2 guaniny – jednofunkcyjna aktywacja) lub bisaddukty (wiązania krzyżowe pomiędzy atomami C1 i C10 mitomycyny a pozycją N-2 dwóch cząsteczek guaniny – dwufunkcyjna aktywacja). Tworzenie wiązań między dwiema komplementarnymi nićmi DNA przyczynia się do inhibicji procesu replikacji, co odpowiada za właściwości przeciwnowotworowe mitomycyny (Tomasz, 1995). Mitomycyna jest niespecyficzna dla określonej fazy cyklu komórkowego, choć jej działanie jest najbardziej zauważalne w późnej fazie G1 oraz we wczesnej fazie S (Teus i in., 2009). Ponadto przyczynia się do rozpadu chromosomów, co prowadzi do fragmentacji nici DNA, a w wyższych stężeniach hamuje syntezę RNA oraz białek. Wykazuje również aktywność antyproliferacyjną wobec szerokiej gamy nowotworów, m.in. raka piersi, szyjki macicy, żołądka, płuc, pęcherza moczowego czy nowotworów okolic głowy i szyi. Jest stosowana w leczeniu paliatywnym w monoterapii lub jako składnik terapii wielolekowej u pacjentów z zaawansowanym przerzutowym rakiem żołądka oraz zaawansowanym i/lub przerzutowym rakiem piersi. Ponadto w terapii skojarzonej z innymi cytostatykami jest wykorzystywana w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuc oraz zaawansowanego raka trzustki. Mitomycynę C stosuje się również dopęcherzowo u pacjentów po zabiegu resekcji przezcewkowej (usunięcie tkanki przez cewkę moczową) w celu zapobiegania nawrotom powierzchownego raka pęcherza moczowego (Rejestr Produktów Leczniczych. 2024. Charakterystyka, Mitomycin Accord).

2. Pochodne azirydyn o aktywności przeciwnowotworowej

W ostatnim czasie opisano syntezę i aktywność biologiczną serii optycznie czynnych azirydynowych pochodnych fosfiny **1–4** oraz tlenku fosfiny **5–9** (Ryc. 3) (Kowalczyk i in., 2024). Aktywność przeciwnowotworową otrzymanych związków oceniono wobec komórek raka szyjki macicy (HeLa) i gruczolakoraka endometrialnego (Ishikawa). W tabeli 1 przedstawiono wartości parametru IC₅₀ (stężenie związku powodujące zahamowanie wzrostu komórek w 50%) wyznaczone dla związków **1–9**.



Rycina 3. Struktury związków 1–9.

		IC₅₀ (μM)	
Związek	HeLa	Ishikawa	L929
1	>100	13,9 ± 7,1	68,1 ± 11,2
2	>100	14,8 ± 6,5	>100
3	30,3 ± 4,5	>100	>100
4	39,2 ± 6,7	>100	22,0 ± 3,4
5	6,4 ± 2,1	4,6 ± 2,3	10,6 ± 3,2
6	40,7 ± 11,1	16,6 ± 2,5	13,7 ± 3,1
7	7,1 ± 2,6	10,5 ± 3,1	17,5 ± 2,1
8	19,6 ± 3,2	23,4 ± 7,6	17,0 ± 4,4
9	48,8 ± 12,3	>100	>100
cisplatyna	$10,4 \pm 4,4$	17,3 ± 5,2	26,2 ± 6,5

Tabela 1. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków 1–9.

Wykazano, że pochodne tlenku fosfiny **5–9** działały lepiej niż ich analogi **1–4**. Szczególnie warte uwagi są związki **5** i **7**, które hamowały proliferację komórek nowotworowych obu linii w stopniu wyższym niż powszechnie stosowana cisplatyna. Dodatkowe badania dowiodły, że azirydyny **5** i **7** przyczyniały się do wytwarzania reaktywnych form tlenu, zatrzymania cyklu komórkowego w fazie S oraz indukcji apoptozy komórek nowotworowych (Kowalczyk i in., 2024).

Związki **1–9** (Ryc. 3) przebadano również pod kątem aktywności przeciwbakteryjnej wobec czterech szczepów bakterii: *Escherichia coli* NCTC 8196, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 oraz *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749. Wszystkie związki były aktywne jedynie wobec szczepu *S. aureus* – wartość parametru MIC (minimalne stężenie hamujące wzrost szczepów drobnoustrojów) wynosiła 50 μ M i była znacznie wyższa niż dla cyprofloksacyny (MIC = 1,6 μ M) (Kowalczyk i in., 2024).

System ubikwityna–proteasom (UPS) stanowi jeden z głównych szlaków odpowiedzialnych za selektywne usuwanie uszkodzonych białek i utrzymanie homeostazy w komórce (Nandi i in., 2006). Obecnie inhibitory proteasomów (PI) znajdują zastosowanie jako leki przeciwnowotworowe (Crawford i in., 2011; Park i in., 2018; Chen i in., 2024; Zhou i in., 2024). Zalicza się do nich bortezomib, iksazomib oraz karfilzomib stosowane w terapii szpiczaka mnogiego oraz chłoniaka z komórek płaszcza. Ich mechanizm działania polega na tworzeniu kowalencyjnych wiązań z miejscem aktywnym proteasomu, co z kolei przyczynia się do występowania licznych działań niepożądanych oraz ograniczonego działania w przypadku guzów litych (Nunes i Annunziata, 2017). W ostatnim czasie uwagę przykuwają inhibitory niekowalencyjne wykazujące znacznie niższą toksyczność w porównaniu z kowalencyjnymi odpowiednikami. W 2022 roku opisano wyniki badań działania hamującego aktywność proteasomów nowej klasy trifluorometylowanych azirydyn **10a–k** (Ryc. 4) (lelo i in., 2022).



Rycina 4. Struktury związków 10a-k.

Związki poddano badaniom *in vitro* pod kątem ich aktywności hamującej wobec kilku proteaz cysteinowych i serynowych, a także podjednostek β 1, β 2 i β 5 proteasomu 20S. Dowiedziono, że związki **10a–k** wykazywały wyraźną selektywność w kierunku podjednostek β 5, natomiast w pozostałych przypadkach nie zaobserwowano żadnej aktywności hamującej (% inhibicji = 0–5%). Spośród wszystkich związków najlepszymi inhibitorami podjednostek β 5 były pochodne **10g** i **10h** (Tabela 2).

Tabela 2	. Aktywność	hamująca	związków	10g i 10h.
----------	-------------	----------	----------	------------

Związek	% inhibicji (<i>C</i> = 20 μM)	IC50 (μM)	K _i (μM)
10g	68 ± 0,4	13,6 ± 1,1	1,6 ± 0,13
10h	67 ± 0,1	14,1 ± 0,7	$1,6 \pm 0,08$

 IC_{50} – stężenie związku powodujące zahamowanie aktywności proteasomu w 50%

Ki – powinowactwo wiązania (ang. binding affinity)

Na podstawie przeprowadzonej analizy SAR (analiza zależności struktura–aktywność) wykazano, że do skutecznego wiązania się z celem molekularnym preferowane są przestrzennie rozbudowane, hydrofobowe podstawniki na azirydynowym atomie azotu. Ponadto w celu określenia korelacji pomiędzy działaniem inhibitującym a aktywnością antyproliferacyjną pochodne **10a–k** poddano badaniom wobec linii komórek nowotworowych ostrej białaczki limfoblastycznej (CCRF-CEM) oraz komórek białaczki z indukcją nadekspresji genu oporności wielolekowej ABCB1 (CEM/ADR5000). Ponownie okazało się, że związki **10g** i **10h** wykazywały najlepszą aktywność przeciwnowotworową, przy czym nie były cytotoksyczne wobec jednojądrzastych komórek krwi obwodowej linii PBMC (Tabela 3) (Ielo i in., 2022).

	IC ₅₀	(μM)	CC₅₀ (µM)
Związek	CCRF-CEM	CEM/ADR5000	PBMC
10g	25,45 ± 4,08	24,08 ± 4,05	>100
10h	32,82 ± 1,28	67,72 ± 8,80	>100
doksorubicyna	0,044 ± 0,01	20,50 ± 2,59	-

Tabela 3. Wartości IC₅₀ oraz CC₅₀ wyznaczone dla związków 10g i 10h.

CC50 - stężenie cytotoksyczne; stężenie związku powodujące zmiany cytopatogeniczne u 50% zdrowych komórek

Kontynuując badania, otrzymano kolejną serię trifluorometylowanych azirydyn **11a–l** jako potencjalnych inhibitorów proteasomu (Ryc. 5) (lelo i in., 2023).







Rycina 5. Struktury związków 11a-I.

Dowiedziono, że związki **11a–l** wykazywały aktywność chymotrypsynopodobną selektywnie hamując podjednostki β5 proteasomu 20S. Również w tym przypadku najlepszymi inhibitorami były pochodne posiadające na atomie azotu rozbudowane sterycznie, hydrofobowe podstawniki – związki **11c**, **11e** i **11i** (Tabela 4). Zaobserwowano także wpływ podstawnika w pozycji meta pierścienia aromatycznego (związki **11e** i **11i**), jak również podstawnika o charakterze zasadowym – morfolinowy (związek **11c**) czy pirolidynowy (związek **11i**) na podwyższenie aktywności (lelo i in., 2023).

Związek	% inhibicji (<i>C</i> = 20 μM)	IC50 (μM)	K _i (μM)
11c	67 ± 0,4	12,1 ± 0,2	1,4 ± 0,02
11e	73 ± 0,5	11,3 ± 0,6	1,3 ± 0,07
11	80 ± 0,9	9,8 ± 0,7	1,1 ± 0,08
bortezomib	100	0,085 ± 0,002	0,0098 ± 0,001

Tabela 4. Aktywność hamująca związków 11c, 11e i 11l.

Wiadomo, że glejak wielopostaciowy (glioblastoma) jest najczęstszym i najbardziej agresywnym pierwotnym nowotworem ośrodkowego układu nerwowego (Omuro i DeAngelis, 2013). Jednak pomimo wdrożenia odpowiedniego leczenia, tylko około 20% pacjentów przeżywa dwa lata od wstępnej diagnozy, a wskaźnik pięcioletniego przeżycia wynosi jedynie 5%. W ubiegłym roku opisano syntezę i potencjał proapoptotyczny nowych azirydyn **12** i **13** (Ryc. 6) mających w swojej strukturze ugrupowanie *N*-acylohydrazonowe (Witusik-Perkowska i in., 2023). Aktywność przeciwnowotworową tych związków zbadano wobec trzech linii komórek glejaka wielopostaciowego (G16, G114 i G116), genu BRAC-1/2 (MDA-MB-231) a ich cytotoksyczność oceniono względem ludzkich astrocytów (NHA).



Rycina 6. Struktury związków 12 i 13.

Wstępne badania przesiewowe wyraźnie ukazały potencjał proapoptotyczny związków **12** i **13** oraz ich niską toksyczność wobec prawidłowych komórek. Odsetek komórek apoptotycznych po 96 godzinach wynosił 50–70% dla **12** oraz 50–80% w przypadku **13**. Potencjał proapoptotyczny tych pochodnych był znacznie wyższy w porównaniu z temozolomidem (TMZ), który jest rutynowo stosowany w leczeniu glioblastomy. Wykazano również, że efekt cytotoksyczny badanych azirydyn jest blokowany przez autofagię cytoprotekcyjną – zjawisko to zaobserwowano również w przypadku leczenia temozolomidem. Zastosowanie chlorochiny będącej inhibitorem autofagii znacznie zwiększyło skuteczność zastosowanej terapii (Witusik-Perkowska i in., 2023).

W ostatnim czasie opublikowano wyniki badań nad syntezą i aktywnością cytostatyczną koniugatów **14a–d** (Ryc. 7) (Gundogdu i in., 2023). Otrzymane związki przetestowano *in vitro* pod kątem hamowania proliferacji komórek ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (A549), estrogenozależnego gruczolakoraka piersi (MCF7) oraz ludzkiego raka prostaty (PC3). Spośród otrzymanych pochodnych najwyższą aktywność przeciwnowotworową wobec wszystkich linii komórkowych wykazywał związek **14c**, który w stężeniu 100 μM powodował spadek względnej żywotności komórek do poziomu 25–30%. Dodatkowe badania wykazały, że pochodna **14c** skutecznie indukowała aktywność kaspazy 3 w komórkach linii A549 i PC3, co jednoznacznie wskazuje na apoptotyczny mechanizm jej działania (Gundogdu i in., 2023).



a R = Me; **b** R = Et; **c** = Ph; **d** = Bn

Rycina 7. Struktury związków 14a-d.

Opisana została synteza i aktywność antyproliferacyjna związków **15a–b** (Ryc. 8) posiadających w strukturze dwa ważne z punktu widzenia chemii medycznej farmakofory – fragment indolin-2-onu oraz pierścień azirydynowy. Celem molekularnym dla tych pochodnych był receptor czynnika komó-rek macierzystych c-KIT, ponieważ indolin-2-ony są aktywne względem nowotworów komórek tucz-nych (MCT), które wiążą się z nadekspresją c-KIT (Chaudhari i in., 2022).



Rycina 8. Struktury związków 15a-b.

Wstępne badania *in vitro* dowiodły, że związek **15a** wykazywał aktywność przeciwnowotworową wobec komórek ludzkiej białaczki linii K-562 oraz komórek czerniaka linii UACC-62 (% inhibicji = 44,10 i 44,88% odpowiednio dla K-562 i UACC-62). Pochodna **15b** wykazywała natomiast najlepsze działanie hamujące wzrost komórek raka okrężnicy linii KM12 (% inhibicji = 72,06%). Z tego względu związek **15b** poddano dodatkowym badaniom wobec szerokiego panelu 60 linii komórek nowotworowych (białaczka, niedrobnokomórkowy rak płuc, nowotwory OUN, czerniak, rak jajnika, rak nerki, rak prostaty, rak piersi oraz rak okrężnicy). Pochodna **15b** była najbardziej aktywna wobec komórek raka okrężnicy. Wartości parametru Gl₅₀ (stężenie związku powodujące zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych w 50%) zostały przedstawione w tabeli 5.

Linia komórkowa	GI₅₀ (μM)
COLO 205	2,39
HCC-2998	1,52
HCT-116	0,73
HCT-15	1,47
HT 29	1,33
KM 12	0,93
SW-620	1,06

Tabela 5. Aktywność hamująca związku 15b.

Średnie wartości parametru GI₅₀ w przypadku pozostałych linii komórkowych mieściły się w zakresie od 2,42 do 3,48 μM. Ponadto na podstawie testów śmiertelności udowodniono, że pochodna **15b** nie była toksyczna (Chaudhari i in., 2022).

Kolejną grupą związków wykazującą aktywność przeciwnowotworową są azirydynowe pochodne β-D-galaktopiranozydu, których syntezę i aktywność przeciwnowotworową opisano w 2013 roku (Vega-Pérez i in., 2013). Spośród całej serii związków najlepsze działanie względem ludzkich komórek raka płuc linii A549 i zarazem najwyższą selektywność wykazywał związek **16** (Ryc. 9). Natomiast w 2022 roku opublikowano wyniki badań dotyczących mechanizmu działania tej pochodnej (Burgos-Morón i in., 2022).



16

Rycina 9. Struktura związku 16.

Wykazano, że aktywność związku **16** wynikała z indukowania uszkodzeń DNA komórek nowotworowych. Tego typu uszkodzenia DNA są zwykle naprawiane poprzez wycinanie nukleotydów (ang. *nucleotide excision repair*, NER). Udowodniono, że komórki z zaburzeniami mechanizmu NER (komórki jajowe chomika chińskiego z mutacją genu ERCC1 – linia UV4 i komórki jajowe chomika chińskiego z mutacją genu ERCC2 – linia UV5) były znacznie bardziej podatne na działanie związku **16** niż komórki jajowe chomika chińskiego z prawidłowo funkcjonującym szlakiem naprawy (linia AA8). Wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla pochodnej **16** wynosiły 38,6 ± 6,3; 58,6 ± 9,3 oraz 318,7 ± 77,2 µM odpowiednio dla UV4, UV5 i AA8. Wykazano również, że skojarzenie związku **16** z oksaliplatyną i 5-fluorouracylem nieznacznie poprawiło selektywność obu tych leków wobec komórek nowotworowych, nie zaobserwowano jednak wyraźnego efektu synergistycznego. Pochodną **16** poddano dodatkowej ocenie aktywności cytotoksycznej wobec komórek raka szyjki macicy (HeLa), kostniakomięsaka (U2OS), raka wątrobowokomórkowego (HepG2), gruczolakoraka jelita grubego (SW480), białaczki promielocytowej (HL-60 i NB4) oraz PC3. Najlepsze działanie przeciwnowotworowe zaobserwowano wobec komórek linii HL-60 (IC₅₀ = 11,1 ± 0,9 i 0,9 ± 0,8 μ M odpowiednio dla **16** i dla 5-Fu) oraz NB4 (IC₅₀ = 21,4 ± 9,9 i 2,5 ± 0,3 μ M odpowiednio dla **16** i dla 5-Fu). Jednocześnie związek **16** wykazywał wysoką selektywność wobec komórek ostrej białaczki promielocytowej (SI = 30,7-37,0 dla linii HL-60 i 15,9-19,2 dla linii NB4) (Burgos-Morón i in., 2022).

Opublikowano wyniki badań nad syntezą i aktywnością antyproliferacyjną serii czterech diastereoizomerycznych azirydyn **17–20** (Ryc. 10) (Sert i in., 2021). Ich działanie cytostatyczne *in vitro* oceniono względem dwóch linii komórek nowotworowych – HeLa oraz PC3. Wszystkie otrzymane związki wykazywały wysoką aktywność wobec komórek ludzkiego raka prostaty. Wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla pochodnych **17–20** wynosiły 29,50 ± 0,02 dla **17**, 23,55 ± 0,01 dla **18**, 27,98 ± 0,05 dla **19** i 29,32 ± 0,05 μ M dla **20** i były niższe niż dla standardowo stosowanego jako wzorzec 5-fluorouracylu (IC₅₀ = 37,40 ± 0,01 μ M). Z kolei ich działanie cytostatyczne względem komórek raka szyjki macicy było dużo słabsze w porównaniu z lekiem referencyjnym (IC₅₀ = 39,57 ± 0,01; 25,88 ± 0,01; 39,25 ± 0,03; 24,98 ± 0,01 i 2,51 ± 0,01 μ M odpowiednio dla **17**, **18**, **19**, **20** i dla 5-Fu). Wyniki badań potwierdzają wpływ konfiguracji absolutnej na aktywność biologiczną związku. Przeprowadzone badania *in silico* udowodniły natomiast, że związki **17–20** spełniały regułę "pięciu" Lipińskiego, co świadczy o ich dobrej biodostępności (Sert i in., 2021).



Rycina 10. Struktury związków 17-20.

Ważnym zadaniem jest otrzymywanie związków ukierunkowanych na kilka celów molekularnych, ponieważ mogą one osiągać lepszy efekt terapeutyczny niż pochodne zaprojektowane na jeden konkretny cel. Mikrotubule odgrywają kluczową rolę w różnych procesach komórkowych i z tego względu związki hamujące ich dynamiczną niestabilność są uważane za doskonałe potencjalne leki przeciwnowotworowe (Jordan i Wilson, 2004). Z drugiej strony związki alkilujące DNA są od wielu lat szeroko stosowane klinicznie w chemioterapii nowotworów (Ralhan i Kaur, 2007). W poszukiwaniu skutecznych leków przeciwnowotworowych, które działają synergistycznie na tubulinę i DNA, zsyntezowano dwie nowe pochodne **21a** i **21b**, których rdzeń stanowi pierścień azirydyny (Ryc. 11) (Lin i in., 2021).



Rycina 11. Struktury związków 21a-b.

Związki te poddane zostały ocenie ich aktywności antyproliferacyjnej *in vitro* wobec czterech linii komórek nowotworowych – ludzkiego raka jajnika (A2780), ludzkiego raka jelita grubego (HCT-116), HeLa i A549. Jako leki referencyjne zastosowano kombrestatynę A4 (CA-4) oraz mitomycynę C. Wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla związków **21a** i **21b** przedstawione zostały w tabeli 6.

|--|

7		IC₅₀ (μM)	
ZWIĄŻEK	A2780	HCT-116	HeLa	A549
21a	1,90	1,84	1,09	1,20
21b	4,68	5,44	4,39	8,74
CA-4	0,004	0,004	0,004	0,004
mitomycyna C	0,18	0,56	0,20	0,63

Niestety obie pochodne wykazywały słabsze działanie przeciwnowotworowe niż użyte leki referencyjne. Najlepsze wyniki uzyskano dla azirydyny **21a** nieposiadającej podstawnika na atomie azotu (Lin i in., 2021).

W 2016 roku opisano syntezę i aktywność biologiczną serii związków **23a–j** posiadających w strukturze fragment diazirydynylochinonu, izoksazolu oraz tiofenu (Ryc. 12) (Swapnaja i in., 2016). Otrzymane pochodne przebadano m.in. pod kątem aktywności wobec komórek nowotworowych linii A549 i PC3. W tabeli 7 przedstawiono wartości IC₅₀ wyznaczone dla tych koniugatów.



f R =



23a-j



Rycina 12. Struktury związków 22a-j oraz 23a-j.

7	IC₅₀ (μM)		
Zwiążek	A549	PC3	
23a	1,5	>30	
23b	0,9	0,5	
23c	2,7	0,6	
23d	2,1	3,5	
23 e	1,7	1,0	
23f	1,7	21,3	
23g	3,7	2,0	
23h	1,5	1,4	
23i	7,3	1,2	
23j	15,3	0,5	
puromycyna	0,6	0,7	
mitomycyna C	0,5	0,5	

Tabela 7. Wartości IC50 wyznaczone dla związków 23a-j.

W serii otrzymanych pochodnych najbardziej obiecującą aktywność względem komórek raka prostaty wykazywały związki 23b i 23j, wartości parametru IC₅₀ równe były wartości wyznaczonej dla mitomycyny C i niższe niż dla puromycyny. Najlepsze działanie wobec komórek nowotworowych raka płuc, na poziomie zbliżonym do zastosowanych leków referencyjnych, miała natomiast pochodna 23b. Ponadto udowodniono, że wprowadzenie do struktury związków 22a-j (Ryc. 12) pierścienia azirydynowego w większości przypadków znacząco poprawiło działanie antyproliferacyjne otrzymanych pochodnych 23a–j. W przypadku związków 22a–j wartości parametru IC₅₀ mieściły się w zakresie od 10 do >30 dla linii A549 oraz od 7,2 do >30 dla linii PC3 (Swapnaja i in., 2016).

Kontynuując badania, zaprojektowano kolejną serię związków zawierających ugrupowanie diazirydynylochinonu oraz izoksazolu **25a–m** (Ryc. 13) (Kumar i in., 2019). Wszystkie pochodne zostały poddane badaniom pod kątem hamowania proliferacji komórek ludzkiego raka piersi (linie BT549 i MCF7), HeLa i A549, a ich cytotoksyczność oceniono względem prawidłowych ludzkich komórek embrionalnych nerki (HEK 293). W tabeli 8 przedstawiono wartości IC₅₀ wyznaczone dla pochodnych **25a–m**.



a R = H, R₁ = Ph; **b** R = H, R₁ = 4-Cl-C₆H₄; **c** R = H, R₁ = 4-F-C₆H₄; **d** R = H, R₁ = 3,5-*di*-Cl-C₆H₃; **e** R = H, R₁ = 4-CF₃-C₆H₄; **f** R = H, R₁ = tiofen-2-yl; **g** R = Me; R₁ = Ph; **h** R = Me; R₁ = 4-Cl-C₆H₄; **i** R = Me, R₁ = 2-Cl-C₆H₄; **j** R = Me; R₁ = 4-F-C₆H₄; **k** R = Me, R₁ = 3,5-*di*-Cl-C₆H₃; **l** R = Me, R₁ = 4-OPh-C₆H₄; **m** R = Me, R₁ = tiofen-2-yl.

Rycina 13. Struktury związków 24a-m oraz 25a-m.

			IC₅₀ (µg/mL)		
Związek	BT549	MCF7	HeLa	A549	HEK 293
25a	13,46 ± 1,21	2,21 ± 0,42	15,12 ± 1,09	62,01 ± 5,19	39,52 ± 1,63
25b	18,88 ± 3,21	3,12 ± 0,89	8,18 ± 2,22	28,33 ± 4,10	42,32 ± 3,01
25c	55,50 ± 5,01	16,02 ± 2,31	41,22 ± 5,53	33,7 ± 2,09	nieaktywny
25d	51,99 ± 2,89	18,43 ± 3,63	21,98 ± 1,98	42,31 ± 5,02	nieaktywny
25e	16,81 ± 1,79	2,32 ± 1,11	11,01 ± 2,12	8,03 ± 1,67	56,01 ± 4,19
25f	69,58 ± 6,6	18,16 ± 2,67	56,26 ± 4,62	64,60 ± 5,21	nieaktywny
25g	38,45 ± 2,60	12,12 ± 1,76	21,96 ± 0,98	45,17 ± 3,54	36,44 ± 2,89
25h	47,03 ± 5,33	14,16 ± 1,90	35,66 ± 4,07	29,07 ± 1,98	nieaktywny
2 5i	56,71 ± 4,98	10,34 ± 2,01	26,57 ± 3,03	39,60 ± 4,64	41,44 ± 4,09
25j	19,01 ± 2,56	6,35 ± 0,91	11,35 ± 1,19	15,8 ± 2,37	39,60 ± 4,64
25k	50,30 ± 4,04	21,14 ± 4,23	32,07 ± 2,78	35,19 ± 4,04	nieaktywny
251	38,81 ± 3,03	21,93 ± 3,33	25,65 ± 4,12	19,2 ± 2,49	nieaktywny
25m	22,20 ± 1,01	2,87 ± 0,83	13,81 ± 1,45	13,09 ± 3,41	24,36 ± 4,19
doksorubicyna	2,23 ± 0,81	2,03 ± 0,22	2,23 ± 0,81	2,64 ± 0,67	1,13 ± 0,13

Tabela 8. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków 25a-m.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że związki **25a–m** najwyższą aktywność przeciwnowotworową i jednocześnie najlepszą selektywność wykazywały w stosunku do komórek linii MCF-7. W przypadku pochodnych **25a**, **25b**, **25e** i **25m** wartości IC₅₀ były zbliżone do wartości wyznaczonej dla doksorubicyny. Przeprowadzona analiza zależności struktura–aktywność wykazała, że związki mające w pierścieniu chinonowym grupę metylową (**25g–m**) działały słabiej niż niepod-stawione pochodne (**25a–f**). Obecność atomu fluorowca podwyższała natomiast aktywność związ-ków **25b**, **25e** i **25j**. Wyniki dokowania molekularnego pokazały, że pochodne **25a–m** w korzystny sposób wiązały się z powierzchnią międzyfazową dimeru α - i β -tubuliny. Z kolei w celu zbadania wpływu pierścienia azirydynowego na aktywność związków zsyntezowano i przebadano również se-rię analogicznych pochodnych **24a–m** (Ryc. 13) nieposiadających w swojej budowie tego fragmentu. Wyniki badań biologicznych jednoznacznie udowodniły, że obecność układu azirydynowego w znacznym stopniu podwyższa aktywność przeciwnowotworową otrzymanych pochodnych. Wartości IC₅₀ dla związków **24a–m**: od 55,62 ± 2,75 do 99,62 ± 8,51 dla linii BT549; od 26,71 ± 1,54 do 88,99 ± 6,06 dla linii MCF-7; od 45,84 ± 2,79 do 91,26 ± 7,81 dla linii HeLa; od 27,46 ± 3,18 do 87,65 ± 6,01 dla linii A549 (Kumar i in., 2019).

W latach 2019–2021 ukazało się kilka prac na temat syntezy i aktywności przeciwnowotworowej tlenków fosfiny oraz fosfonianów zawierających pierścień azirydynowy – pochodne **26a–p** (Ryc. 14) (Carramiñana i in., 2019; Carramiñana i in., 2020; Carramiñana i in., 2021). Wszystkie związki poddano ocenie działania *in vitro* wobec komórek nowotworowych linii A549. Wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla azirydyn **26a–p** zebrane zostały w tabeli 9.





Rycina 14. Struktury związków 26a-p.

- · ·	IC₅₀ (μM)			
Związek	A549	MRC-5		
26a	4,3 ± 0,43	>50		
26b	1,5 ± 0,84	>50		
26c	3,6 ± 0,08	>50		
26d	2,0 ± 0,13	>50		
26e	3,3 ± 0,23	>50		
26f	8,5 ± 0,57	>50		
26g	-	>50		
26h	4,9 ± 0,38	>50		
26i	3,4 ± 0,36	>50		
26j	3,1 ± 0,38	>50		
26k	2,3 ± 0,96	>50		
261	8,1 ± 0,73	>50		
26m	3,6 ± 0,70	>50		
26n	13,3 ± 1,69	>50		
260	1,1 ± 0,32	4,9 ± 0,49		
26p	22,9 ± 1,9	>50		
doksorubicyna	0,48 ± 0,017	>50		

Tabela 9. Wartości IC50 wyznaczone dla związków 26a-p.

W pierwszej serii związków (**26a–I**), które zawierają w swojej budowie grupę cyjankową, fosfoniany **26a–c** oraz tlenki fosfiny **26d–e** wykazywały zbliżoną aktywność antyproliferacyjną. Znaczący jej spadek zaobserwowano w przypadku kwasu fosfonowego **26f**. Natomiast wprowadzenie elektronoakceptorowej grupy tosylowej na atom azotu w pierścieniu azirydynowym nie wpłynęło znacząco na działanie otrzymanych pochodnych **26g–k** w porównaniu z niepodstawionymi azirydynami **26a– e**. Związek **26l** posiadający benzoksykarbonylową grupę ochronną działał natomiast znacznie słabiej (Carramiñana i in., 2019). Wśród związków drugiej serii (**26m–o**) najlepsze działanie i jednocześnie najwyższą cytotoksyczność względem prawidłowych komórek fibroblastów płuc linii MRC-5 wykazywała azirydyna **26o** (Carramiñana i in., 2020). Z kolei związek **26p** jako jedyny ze wszystkich otrzymanych pochodnych w trzeciej serii hamował proliferację komórek raka płuc (Carramiñana i in., 2021). Wszystkie pozostałe pochodne były nietoksyczne względem prawidłowych komórek MRC-5.

Syntezę i aktywność przeciwnowotworową serii monoestrowych pochodnych kwasu fosfonowego **27–36** (Ryc. 15) zawierających pierścień azirydynowy opisano w 2019 roku (Khan i in., 2019). Najlepsze działanie względem komórek raka jelita grubego linii HCT-116 wykazywały związki **31**, **34** oraz **35** (IC₅₀ = 12,30 ± 0,11; 7,79 ± 0,06; 16,07 ± 0,09; 26,14 ± 0,05 i 2,01 ± 0,01 µM odpowiednio dla **31**, **34**, **35**, etopozydu i kamptotecyny). Wartości parametru IC₅₀ dla pozostałych pochodnych mieściły się w zakresie od 45,01 ± 0,14 do 102,42 ± 0,25 µM. Analiza zależności struktura–aktywność wykazała, że działanie cytostatyczne badanych związków było zależne od rodzaju podstawnika na atomie azotu w pierścieniu azirydynowym. Nie zaobserwowano natomiast znaczącej różnicy aktywności pomiędzy fosfonianem **36** (IC₅₀ = 12,85 ± 0,08) a monoestrem **34**. Związki **31**, **34** oraz **35** poddano także ocenie cytotoksyczności względem prawidłowych komórek okrężnicy linii CCD-18Co. Wykazano, że komórki prawidłowe były bardziej wrażliwe na działanie tych pochodnych niż komórki nowotworowe (IC₅₀ = 5,44 ± 0,32; 3,68 ± 0,22; 9,71 ± 0,22 i 6,52 ± 0,21 µM odpowiednio dla **31**, **34**, **35** i kamptotecyny). Dalsze badania pokazały, że mechanizm działania związków **31**, **34** oraz **35** wynikał z indukowania apoptozy jak również nekrozy komórek linii HCT-116 (Khan i in., 2019).



Rycina 15. Struktury związków 27–36.

Epotilon B (Ryc. 16) jest naturalnie występującym 16-członowym makrolidem o aktywności przeciwnowotworowej (Cheng i in., 2018). W 2020 roku opisano syntezę i aktywność antyproliferacyjną szerokiej gamy analogów epotilonu B posiadających w swojej budowie pierścień azirydynowy (Nicolaou i in., 2020). Wszystkie otrzymane pochodne przebadano pod kątem działania wobec komórek wielolekoopornego mięsaka macicy linii MES SA DXE oraz MES SA DX.



Rycina 16. Struktury epotilonu B, iksabepilonu i związków 37-42.

Najwyższą aktywność spośród wszystkich otrzymanych związków wykazywały pochodne **37–42**. (Ryc. 16) W większości przypadków wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla tych związków były znacznie niższe niż dla monometylo aurystatyny E (MMAE), epotilonu B oraz iksabepilonu. W tabeli 10 zestawione zostały wartości IC₅₀ dla pochodnych wykazujących najwyższą aktywność antyproliferacyjną (Nicolaou i in., 2020).

			IC₅₀ (nM)		
Związek	MES SA DXE	MES SA DX	SKBR3	SKOV3	HeLa
37a	0,33	0,55	0,60	0,10	0,61
37b	0,36	0,91	-	-	-
37c	0,01	0,03	0,02	0,01	0,02
37d	0,03	0,61	0,59	0,18	0,40
37e	0,99	2,30	-	-	-
37f	0,48	0,51	0,85	0,16	0,52
37g	0,52	0,44	-	-	-
37h	0,28	0,65	0,49	0,13	0,28
38	0,35	0,63	-	-	-
39	0,43	0,46	0,72	0,08	0,43
40	0,44	0,66	-	-	-
41	0,92	20,62	-	-	-
42	0,78	3,01	-	-	-
MMAE	0,46	113,7	0,10	0,09	1,17
epotilon B	1,49	3,63	2,32	1,27	1,87
iksabepilon	7,72	278,4	9,29	8,41	9,75

Tabela 10. Wartości IC50 wyznaczone dla związków 37-42.

Niemalże wszystkie wymienione pochodne (za wyjątkiem **41** i **42**) posiadały w strukturze minimum jeden atom fluoru, co potwierdza pozytywny wpływ tego pierwiastka na aktywność przeciwnowotworową (Gillis i in., 2015). Wybrane związki poddano dodatkowym badaniom z wykorzystaniem trzech linii komórek nowotworowych – ludzkiego raka piersi (SKBR3), ludzkiego raka jajnika (SKOV3) oraz HeLa. Ponownie okazało się, że najlepiej działały związki **37a, 37c, 37d, 37f, 37h** i **39** zawierające w swojej budowie atom fluoru.

Kolejną grupę związków o aktywności przeciwnowotworowej stanowią azirydynowe pochodne deltoiny (Ryc. 17) – naturalnie występującego środka hepatoprotekcyjnego i inhibitora TNF- α (ang. *tumor necrosis factor* α ; czynnik martwicy nowotworów) (Znati i in., 2018). Związki **43a,a'–43e,e'** (Ryc. 17) w postaci mieszaniny dwóch diastereoizomerów przebadano pod kątem hamowania proliferacji komórek ludzkiego raka jajnika (IGROV-1 i OVCAR-3) oraz HCT-116.



d,d' R = Pn; **b,b**' R = 4-CI-C₆H₄; **c,c**' R = 4-Me-C₆H₄ **d,d'** R = 4-CF₃-C₆H₄; **e,e'** R = 3,5-*di*-CI-C₆H₃



Spośród całej serii związków najlepszą aktywność względem komórek raka jelita grubego wykazywały pochodne **43a,a'–43c,c'** – wartości IC₅₀ wynosiły odpowiednio 5,9 ± 0,1; 6,1 ± 0,7 oraz 7,3 ± 0,9 μ M i były niższe niż dla deltoiny (IC₅₀ = 14,3 ± 0,2 μ M), co potwierdza wpływ pierścienia azirydynowego na aktywność przeciwnowotworową. Jednak związki te działały dużo słabiej niż powszechnie stosowany lek przeciwnowotworowy – doksorubicyna (IC₅₀ = 0,2 ± 0,0 μ M). Z kolei w przypadku linii IGROV-1 najlepiej działała mieszanina **43c,c'** (IC₅₀ = 6,3 ± 0,5; 49,0 ± 2,1 i 2,0 ± 0,1 odpowiednio dla **43c,c'**, deltoiny i dla tamoksifenu zastosowanego jako lek referencyjny). Wobec komórek linii OVCAR-3 wszystkie badane związki wykazywały umiarkowaną aktywność (IC₅₀ od 18,0 ± 0,7 do 71,0 ± 2,6 μ M) w porównaniu z deltoiną (IC₅₀ odpowiednio 49,0 ± 1,8 i 1,3 ± 0,1 μ M), jak i tamoksifenem (IC₅₀ odpowiednio 49,0 ± 1,8 i 1,3 ± 0,1 μ M) (Znati i in., 2018).

Zaprojektowano i otrzymano również serię 2-fenyloazirydyn **44a–d** (Ryc. 18), których potencjalny mechanizm działania miał polegać na oddziaływaniu z mniejszym rowkiem DNA (Vaidergorn i in., 2018). Zsyntezowane związki poddano ocenie aktywności przeciwnowotworowej względem komórek estrogenozależnego gruczolakoraka piersi (MCF-7) oraz raka piersi z mutacją genu BRAC-1/2 (MDA-MB-231), a ich cytotoksyczność zbadano wobec prawidłowych komórek nabłonkowych sutka (MCF-10). W tabeli 11 przedstawiono wartości parametrów IC₅₀ oraz CC₅₀ wyznaczone dla związków **44a–d** oraz dla cisplatyny zastosowanej jako lek referencyjny.



Rycina 18. Struktury związków 44a-d.

- · · ·	IC50	CC₅₀ (μM)	
ZWIĄŻEK	MCF-7	MDA-MB-231	MCF-10
44a	27,83 ± 0,42	40,42 ± 1,34	40,99 ± 0,25
44b	169,70 ± 5,99	19,00 ± 0,90	37,57 ± 1,50
44c	24,50 ± 1,11	19,89 ± 2,23	35,43 ± 1,31
44d	24,72 ± 0,50	11,09 ± 0,39	43,30 ± 0,03
cisplatyna	49,26 ± 0,21	78,14 ± 2,40	72,14 ± 4,12

Tabela 11. Wartości IC₅₀ oraz CC₅₀ wyznaczone dla związków 44a–d.

Wszystkie azirydyny wykazywały wyższą aktywność antyproliferacyjną wobec komórek linii MDA-MB-231 niż cisplatyna. W przypadku linii MCF-7 jedynie związek **44b** działał słabiej niż lek referencyjny. Natomiast najwyższą selektywność wobec komórek nowotworowych posiadała pochodna **44d** (SI = 1,83 i 4,08 odpowiednio dla MCF-7 i MDA-MB-231). Dalsze badania dowiodły, że azirydyna **44d** indukowała późno-apoptotyczną i nekrotyczną śmierć komórek linii MDA-MB-231 (Vaidergorn i in., 2018).

Główną przyczynę zgonów związanych z rakiem piersi stanowią przerzuty do innych organów. Komórki nowotworowe rozprzestrzeniają się do kości, wątroby czy mózgu, przy czym najczęściej swoim zasięgiem obejmują płuca (Lee, 1983). Opisano aktywność przeciwprzerzutową związku **45** (Ryc. 19) będącego syntetycznym analogiem oridoniny (ang. *oridonin*, Ryc. 19) – produktu naturalnego wyizolowanego z *Rabdosia rubescens* (Li i in., 2018).



Rycina 19. Struktury oridoniny i związku 45.

Dowiedziono, że pochodna **45** w znacznym stopniu hamowała proliferację, ruchliwość oraz adhezję komórek przerzutowego raka piersi linii MDA-MB-231, GI101, GILM2 i GILM3. Związek ten zmniejszał również ekspresję macierzowych metaloproteinaz 2 i 9 (MMP2 i MMP9), kinazy ogniskowo-adhezyjnej (FAK) oraz receptorów adhezji komórkowej z rodziny integryn. Ponadto badania *in vivo* wykazały, że azirydonina wpływała na zahamowanie przerzutów do płuc. Udowodniono, że działanie przeciwprzerzutowe związku **45** było związane z regulacją szlaku sygnałowego NRF-2/RHOA/ROCK (Li i in., 2018).

W 2017 roku opisano wyniki badań dotyczących syntezy i aktywności biologicznej serii azirydynowych pochodnych zerumbonu (Ryc. 20) – naturalnie występującego seskwiterpenu o szerokim spektrum aktywności, m.in. przeciwnowotworowej (Kalantari i in., 2017), przeciwutleniającej (Rosa i in., 2019) czy przeciwzapalnej (Chien i in., 2016). W celu oceny potencjału cytostatycznego związków **46a–v** (Ryc. 20) badania przeprowadzono na pięciu liniach komórek nowotworowych – ludzkiego włókniakomięsaka (HT1080), A549, HCT-116, HeLa oraz MDA-MB-231. Wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla badanych pochodnych zebrano w tabeli 12.



Zerumbon









Rycina 20. Struktury zerumbonu oraz związków 46a-v.

7			IC₅₀ (μM)		
ZWIĄŻEK	HT1080	A549	HCT-116	HeLa	MDA-MB-231
46a	>30	24,66 ± 0,653	>30	4,62 ± 0,153	>30
46b	26,34 ± 0,554	24,11 ± 0,474	16,66 ± 1,205	4,50 ± 0,733	>30
46e	15,33 ± 0,615	17,21 ± 1,169	>30	4,50 ± 0,208	12,50 ± 1,299
46f	25,72 ± 0,325	23,88 ± 1,329	>30	4,60 ± 0,242	>30
46h	22,59 ± 0,70	22,20 ± 1,209	>30	5,30 ± 0,090	16,80 ± 0,894
46i	>30	28,33 ± 0,130	17,64 ± 1,216	4,85 ± 0,955	>30
46j	25,95 ± 0,70	25,28 ± 1,140	>30	4,48 ± 0,219	>30
46k	>30	>30	>30	4,50 ± 0,251	>30
461	>30	>30	>30	5,56 ± 0,283	>30
46m	22,36 ± 1,22	22,16 ± 1,350	>30	4,30 ± 0,150	>30
46n	24,17 ± 0,024	24,78 ± 1,410	>30	4,71 ± 0,327	>30
460	>30	20,19 ± 0,020	>30	4,47 ± 0,183	>30
46r	17,52 ± 0,745	16,18 ± 0,480	18,29 ± 1,136	5,23 ± 0,115	17,80 ± 1,347
46t	22,12 ± 0,091	23,53 ± 1,410	>30	4,65 ± 0,791	20,20 ± 1,165
46u	>30	26,34 ± 0,912	>30	4,41 ± 0,600	>30
46v	>30	24,87 ± 0,207	>30	5,23 ± 0,277	>30
zerumbon	>30	>30	16,62 ± 0,063	4,97 ± 0,459	24,40 ± 0,644
naklitakaal	8,64 ± 0,205	7,31 ± 0,102	7,75 ± 0,077	5,50 ± 0,208	9,12 ± 1,109
ракшакѕег	nM	nM	nM	nM	nM

Tabela 12. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków 46a–v.

Z analizy danych zebranych w tabeli 12 wynika, że w większości przypadków wprowadzenie pierścienia azirydynowego do struktury zerumbonu powodowało znaczne podwyższenie aktywności przeciwnowotworowej otrzymanych pochodnych w porównaniu ze związkiem macierzystym. Na szczególną uwagę zasługują związki **46e** i **46r**, które wykazywały najwyższą aktywność wobec komó-rek ludzkiego włókniakomięsaka, raka płuc oraz okrężnicy. Jednak zarówno zerumbon, jak i jego azi-rydynowe pochodne działały dużo słabiej niż powszechnie stosowany lek przeciwnowotworowy paklitaksel (Gopalan i in., 2017).

Wybrane pochodne (**46f–h**, **46j–n**, **46r**, **46u** i **46v**, Ryc. 20) poddano także ocenie ich aktywności przeciwcukrzycowej. Wykazano, że związek **46j** był silniejszym inhibitorem α -glukozydazy niż standardowo stosowana akarboza (IC₅₀ = 45,845 ± 1,075 i 82,635 ± 0,075 µM odpowiednio dla **46j** i dla akarbozy). Z kolei najlepsze działanie hamujące α -amylazę wykazywała pochodna **46g** (IC₅₀ = 30,49 ± 0,36 i 8,255 ± 0,055 µM odpowiednio dla **46g** i dla akarbozy). Związek **46k** posiadał natomiast najlepsze właściwości antyglikacyjne (IC₅₀ = 47,865 ± 0,405 i 149,605 ± 0,375 µM odpowiednio dla **46k** i dla kwasu askorbinowego) (Gopalan i in., 2017).

Połączenie struktury dwóch ważnych z punktu widzenia chemii medycznej farmakoforów – azirydyny i 1,2,3-triazolu – miało doprowadzić do otrzymania związków o aktywności antyproliferacyjnej (Dong i in., 2017). Zsyntezowane pochodne **47j–r** (Ryc. 21) przebadano pod tym kątem, wykorzystując linię komórek HL-60 oraz HepG2.



Rycina 21. Struktury związków 47j–r.

 $\mathbf{r} \mathbf{R} = alfa - C_{10}H_7$

Najwyższą aktywność względem komórek nowotworowych linii HL-60 wykazywał związek **47n** (% inhibicji >90%), a wobec komórek raka wątrobowokomórkowego najlepiej działała pochodna **47j** (% inhibicji >50%) (Dong i in., 2017).

Poszukując kolejnych związków w grupie 1,2,3-triazolowych koniugatów azirydynowych o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym, zsyntetyzowano między innymi pochodną **48** (Ryc. 22) (Romanchikova i in., 2014).



Rycina 22. Struktura związku 48.

Związek **48** wykazywał słabe działanie *in vitro* wobec komórek czerniaka linii B16 4A5 (IC₅₀ = 34,4 μM). Dowiedziono, że pochodna **48** była selektywnym inhibitorem macierzowej metaloproteinazy 2, a ponadto powodowała zmniejszenie wydzielania czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF), co skutkowało hamowaniem angiogenezy. Wykazano również, że związek **48** zmniejszał inwazyjność komórek czerniaka, a także obniżał poziom fosforylacji kinaz 1 i 2 regulowanych sygnałem zewnątrzkomórkowym (ERK1/2) w komórkach czerniaka stymulowanych octanem mirystynianu forbolu (PMA) (Romanchikova i in., 2014).

W 2018 roku opisano syntezę i aktywność biologiczną dwóch serii azirydynowych pochodnych tiomocznika **49a–p** i mocznika **49r–s** (Ryc. 23) (Kowalczyk i in., 2018). Działanie cytostatyczne związków **49a–f** oraz **49o–p** zbadano w odniesieniu do komórek nowotworowych linii HeLa, a ich cytotoksyczność oceniono względem komórek mysich fibroblastów tkanki łącznej L929.



Rycina 23. Struktury związków 49a-h oraz 49i-s.

Spośród wszystkich związków najlepsze działanie antyproliferacyjne wobec komórek linii HeLa wykazywały pochodne **49b** i **49f** (IC_{50} = 28; 22 i 6,53 µg/mL odpowiednio dla **49b**, **49f** i dla cisplatyny), ale jednocześnie nie były selektywne wobec komórek nowotworowych.

Dodatkowo otrzymane związki poddano badaniom pod kątem ich aktywności przeciwbakteryjnej wobec kilku szczepów bakterii (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterococcus faecalis, Proteus vulgaris* oraz *Proteus mirabilis*). Azirydyny **49a–f, 49j–m** oraz **490–p** hamowały wzrost bakterii (z wyjątkiem szczepów *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Proteus*), choć w większości przypadków wartości parametrów MIC oraz MBC wyznaczonych dla tych związków były znacznie wyższe niż dla zastosowanych leków referencyjnych – ampicyliny, nitrofurantoiny i streptomycyny (Tabela 13).

Związek	<i>E. coli</i> NCTC 8196		S. aureus ATCC 6538		S. aureus 29213	S. aureus ATCC 29213		S. epidermidis ATCC 12228	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	МІС	MBC	
49a	>512	-	32	128	32	128	32	64	
49b	32	32	32	64	32	64	16	16	
49c	>512	-	32	64	32	64	32	64	
49d	128	128	256	512	256	512	256	512	
49e	>512	-	128	128	128	128	128	128	
49f	256	512	16	128	16	128	16	16	
49j	256	-	128	-	128	-	128	-	
49k	256	-	nieaktywny	-	nieaktywny	-	256	-	
491	256	-	256	-	256	-	256	-	
49m	nieaktywny	-	128	-	256	-	128	-	
490	65	128	8	16	8	16	4	8	
49p	256	256	64	128	64	128	64	128	
nitrofurantoina	8	8	16	32	16	32	8	8	
ampicylina	4	4	1	1	2	4	1	1	
streptomycyna	1	2	1	1	1	2	>512	>512	

Tabela 13. Wartości MIC (µg/mL) oraz MBC (µg/mL) wyznaczone dla związków 49a-p.

Biorąc pod uwagę dobrą aktywność pochodnych **49a–c** i **49f** wobec *Staphylococcus aureus*, poddano je dodatkowym badaniom i oceniono ich działanie wobec 12 szczepów klinicznych *S. aureus* (izolaty z nosogardzieli – C4, C7, C8 i C19; izolaty z wrzodów/czyraków – D12, F1, F7 i F12; izolaty z kości – D14, D15, D17 i D20). Najlepsze działanie hamujące wykazywała pochodna **49f** – wyznaczone dla niej wartości MIC mieściły się w zakresie 8–16 µg/mL i w przypadku większości szczepów były niższe niż wartości wyznaczone dla ampicyliny i nitrofurantoiny. Pochodne **49g** i **49h**, a także **49i**, **49n**, **49r**, **49s** oraz (*R*)-**49o** były nieaktywne wobec wszystkich zastosowanych szczepów (Kowalczyk i in., 2018).

Kolejnym związkiem wykazującym działanie antyproliferacyjne jest madurastatyna B3 **50** (ang. *madurastatine B3*, Ryc. 24) wyizolowana z promieniowców *Nocardiopsis* sp. LS150010, która wykazywała aktywność przeciwnowotworową względem komórek linii A549 i HeLa (IC₅₀ = 40 µg/mL). Z kolei działanie przeciwbakteryjne tego związku można ocenić jako bardzo obiecujące. W przypadku szczepów *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 oraz MRSA wartość parametru MIC wynosiła 6,25 µg/mL. Madurastatyna B3 wykazywała również silną aktywność hamującą wobec *Mycobacterium tuberculosis, Bacillus subtilis* oraz *Escherichia coli* (odpowiednio MIC = 20; 12,5 i 3,125 µg/mL) (Zhang i in., 2017).



Madurastatyna B3 50

Rycina 24. Struktura madurastatyny B3 50.

3. Pochodne azirydyn o aktywności przeciwdrobnoustrojowej

Koniugaty diazirydynylochinonu, izoksazolu oraz tiofenu – związki 23a-j (Ryc. 12, str. 21) – oprócz aktywności przeciwnowotworowej wykazywały również aktywność przeciwdrobnoustrojową (Swapnaja i in., 2016). Działanie przeciwbakteryjne zbadano wobec szerokiej gamy szczepów bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych (Micrococcus luteus MTCC 2470, Staphylococcus aureus MTCC 96 i MLS-16 MTCC 2940, Bacillus subtilis MTCC 121, Escherichia coli MTCC 739, Pseudomonas aeruginosa MTCC 2453 oraz Klebsiella planticola MTCC 530). Związki 23a, 23c, 23f, 23g i 23h wykazywały selektywną aktywność wobec Bacillus subtilis MTCC 121. Wyznaczona dla tych pochodnych wartość minimalnego stężenia hamującego (MIC) wynosiła 3,9 µg/mL, natomiast dla cyprofloksacyny – 0,9 μ g/mL. Z kolei pochodna **23h** silnie działała wobec *Staphylococcus aureus* MTCC 96, Staphylococcus aureus MLS-16 MTCC 2940, Bacillus subtilis MTCC 121 (MIC = 3,9 µg/mL) oraz wobec Klebsiella planticola MTCC 530 (MIC = 7,8 µg/mL). Dodatkowo dla wszystkich otrzymanych związków wyznaczono również wartość minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC). Pochodna 23h wykazywała najlepsze działanie bakteriobójcze względem Bacillus subtilis MTCC 121, Staphylococcus aureus MTCC 96 i Staphylococcus aureus MLS-16 MTCC 2940 (odpowiednio MBC = 3,9, 7,8 i 3,9 µg/mL; dla cyprofloksacyny MBC = 1,9; 0,9 i 1,9 µg/mL). Ponadto związki 23a, 23c i 23g wykazywały również dobrą aktywność w stosunku do Bacillus subtilis MTCC 121 (MBC = 7,8 μg/mL). Pozostałe pochodne miały umiarkowane działanie bakteriobójcze wobec wszystkich badanych szczepów bakteryjnych (wartości MBC mieściły się w zakresie od 15,6 do 125 µg/mL). Związki 23a, 23c, 23d, 23f, 23g i 23h wykazujące najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową poddano dalszym badaniom przesiewowym pod kątem ich aktywności hamującej powstawanie biofilmu. Do tego celu wykorzystano szczepy Bacillus subtilis MTCC 121, Staphylococcus aureus MTCC 96 i MLS16 MTCC 2940, *Micrococcus luteus* MTCC 2470 oraz *Klebsiella planticola* MTCC 530, które są ważnymi patogenami szpitalnymi. Związki **23a**, **23c**, **23f** i **23h** wykazywały aktywność wobec wszystkich badanych szczepów bakterii, wartości parametru IC₅₀ mieściły się w zakresie 1,9–38,9 μ M (dla porównania: dla cyprofloksacyny zakres ten wynosił 0,5–8 μ M). Następnie otrzymane pochodne poddano ocenie aktywności przeciwgrzybiczej wobec szerokiej gamy szczepów *Candida*. Związek **23h** działał wobec *C. albicans* MTCC 227, *C. albicans* MTCC 854 i *C. krusei* MTCC 3020 równie silnie jak mikonazol (MIC = 7,8 μ g/ml), a pochodna **23c** była wysoce aktywna wobec *C. aaseri* MTCC 1962 (MIC = 7,8 μ g/ml dla **23c** i mikonazolu) (Swapnaja i in., 2016).

Opisano syntezę i aktywność przeciwgruźliczą *in vitro* dwóch serii azirydyn **51a-f** oraz **52a-d** (Ryc. 25) (Sarojini i in., 2021).



Rycina 25. Struktury związków 51a-f oraz 52a-d.

Spośród wszystkich zbadanych związków pochodne **51b**, **51c**, **51e** oraz **52b** i **52c** wykazywały najbardziej obiecujące działanie wobec *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (MTB H37Rv) w porównaniu ze standardowymi lekami (Tabela 14).

Związek	MIC (µg/mL)
51a	13,7
51b	0,5
51c	3,125
51d	7,25
51e	1,25
51f	25
52a	11,5
52b	0,5
52c	2,50
52d	15,75
izoniazyd	0,1
ryfampicyna	0,2
etambutol	1,56
cyprofloksacyna	1,56

Związki **51b** i **52b** były trzykrotnie bardziej aktywne niż standardowo stosowane leki – etambutol i cyprofloksacyna. Na podstawie dokowania molekularnego ustalono, że pochodna **51b** oddziałuje z receptorem 5UHA w wyniku tworzenia się wiązania wodorowego pomiędzy atomem wodoru na azirydynowym atomie azotu a Gly538 (Sarojini i in., 2021).

W 2022 opisano syntezę oraz wyniki badań aktywności przeciwbakteryjnej azirydynowych pochodnych **53a–e** (Ryc. 26) wzorowanych na strukturze hymekromonu (Ryc. 26) – pochodnej kumaryny zarejestrowanej jako lek o silnym działaniu rozkurczowym (Kasztelan-Szczerbińska i in., 2022). Otrzymane związki przebadano wobec następujących szczepów bakterii – *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas savatanoi* oraz *Agrobacterium tumefasciens* (Zayane i in., 2016).



a R = Ph; **b** R = 4-OMe-C₆H₄; **c** R = 4-Cl-C₆H₄; **d** R = 3-Me-C₆H₄; **e** R = 1-naftyl

Rycina 26. Struktury hymekromonu oraz związków 53a-e.

W celu sprawdzenia wpływu pierścienia azirydynowego na aktywność otrzymanych pochodnych badaniom poddano również hymekromon. Wykazano, że związek macierzysty nie posiadał żadnej aktywności hamującej wzrost wybranych szczepów bakteryjnych. Pochodne **53a–e** działały natomiast w umiarkowanym stopniu – wartości średnicy strefy zahamowania wzrostu bakterii (ang. *zone of inhibition*, ZOI) zmierzone dla tych pochodnych były znacznie mniejsze niż w przypadku standardowo stosowanej ampicyliny (Tabela 15) (Zayane i in., 2016).

Tabela 15. Wartości ZOI wyznaczone dla związków 53a-e.

		ZOI (mm)	
Związek	Pseudomonas syringae	Pseudomonas	Agrobacterium
	pv, Syringae	savatanoi	tumefasciens
53a	9,5	13	11
53b	10,5	-	11
53c	11	11,5	7,5
53d	8,5	11	7,5
53e	10,5	10	-
ampicylina	22	18	25

Związki **53a–e** (Ryc. 26) oceniono również pod kątem aktywności przeciwzakrzepowej. W tym celu przeprowadzono badanie czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (APPT), które pozwala na ocenę prawidłowego działania układu krzepnięcia. Pochodne **53a–e** w stężeniu 1000µg/mL wy-kazywały zbliżoną aktywność przeciwzakrzepową (APPT = 54,9–74,3 s). Najsilniej spośród wszystkich związków działała azirydyna **53d** (APPT = 74,3 s) (Zayane i in., 2016). Ponadto związki **53a–e** (Ryc. 26)

działały również jako inhibitory butyrylocholinesterazy (BuChE). Wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla tych związków mieściły się w zakresie od 0,151 ± 0,012 do 0,454 ± 0,015 mg/mL, przy czym były znacznie wyższe od wartości IC₅₀ dla galantaminy (0,38 × $10^{-3} \pm 0,002 \times 10^{-3}$ mg/mL) (Zayane i in., 2016).

Związek **54** (Ryc. 27) posiadający w strukturze pierścień azirydynowy i trifluorometylowaną α -D-glukopiranozę poddano badaniom pod kątem aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej (Ghannay i in., 2020). W tabeli 16 przedstawiono wartości parametrów ZOI, MIC oraz MBC lub MFC (minimalne stężenie grzybobójcze) wyznaczone dla poszczególnych szczepów.



Rycina 27. Struktura związku 54.

		ZO	ZOI [mm]		MBC/MFC (mg/mL)
Szczep		54	chloramfenikolª cyklodekstryna ^b	54	54
bakterie	Staphylococcus aureus	15,00 ± 0,22	17,00 ± 1,00ª	6,25	25,00
dedetaio	Bacillus subtilis	15,00 ± 0,66	24,00 ± 0,00 ^a	6,25	25,00
Bacillus c	Bacillus cereus	19,00 ± 0,66	26,00 ± 1,00ª	3,17	12,50
bakterie	Escherichia coli	14,00 ± 0,22	23,50 ± 0,00 ^a	6,25	50,00
Gram- ujemne	Salmonella enteritidis	12,00 ± 0,66	16,00 ± 0,00ª	12,50	100,00
	Fusarium oxysporum	13,00 ± 0,33	20,00 ± 2,00 ^b	6,25	25,00
grzyby	Fusarium phyllophilum	8,00 ± 0,00	18,00 ± 1,50 ^b	12,50	100,00

Tabela 16. Wartości ZOI, MIC, MBC oraz MFC wyznaczone dla związku 54.

Azirydyna **54** wykazywała umiarkowany potencjał hamujący wzrost wybranych szczepów w porównaniu z zastosowanymi lekami referencyjnymi. Ponadto udowodniono, że pochodna **54** wykazywała działanie bakteriobójcze wobec szczepów bakterii Gram-dodatnich, a w przypadku szczepów Gram-ujemnych – bakteriostatyczne (gdy MBC/MIC ≤4 – substancja wykazuje działanie bakteriobójcze, zaś gdy MBC/MIC >4 – substancja ma działanie bakteriostatyczne) (Pankey i Sabath, 2004). Wobec *F. oxysporum* związek **54** wykazywał aktywność grzybobójczą a względem *F. phyllophilum* grzybostatyczną (Ghannay i in., 2020). W 2017 r. opisano syntezę i aktywność mikrobiologiczną azirydyn **55a,a'–60a,a'** (Ryc. 28) sfunkcjonalizowanych ugrupowaniem fosfonianowym (Dogan i in., 2017). Aktywność przeciwbakteryjna otrzymanych pochodnych została zbadana w odniesieniu do *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis* i *Pseudomonas aeruginosa*. W każdym przypadku wartości parametru MIC wynosiły min. 100 µg/mL, co świadczy o słabym działaniu przeciwbakteryjnym otrzymanych pochodnych. Aktywność przeciwgrzybiczą oceniono względem szczepu *Candidia albicans*. Umiarkowaną aktywność zaobserwowano dla pochodnych **57a'** i **58a'** (MIC = 12,5; 50 i 0,78 µg/mL odpowiednio dla **57a'**, **58a'** i dla flukonazolu) (Dogan i in., 2017).



Rycina 28. Struktury związków 55a,a'-60a,a'.

Kontynuując badania nad syntezą i oceną aktywności biologicznej azirydynowych pochodnych kwasu fosfonowego, zbadano działanie przeciwbakteryjne wcześniej otrzymanych pochodnych **27–35** (Ryc. 15, str. 25) (Khan i in., 2019) oraz trzech nowych związków **61–63** (Ryc. 29) (Khan i in., 2020).



Rycina 29. Struktury związków 61–63.

Wszystkie otrzymane azirydyny wykazywały aktywność wobec badanych szczepów bakterii, tj. *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* MRSA, *Klebsiella pneumoniae, Acetobacter baumanii, Pseudomonas aeruginosa i Enterobacter aerogenes*. W przypadku *P. aeruginosa* wartość parametru MIC wyznaczona dla wszystkich pochodnych była równa wartości wyznaczonej dla chloramfenikolu (MIC = 250 µg/mL). Natomiast wobec *A. baumanii* jedynie działanie związku **63** było porównywalne z lekiem referencyjnym (MIC = 125 µg/mL) (Khan i in., 2019; Khan i in. 2020).

Synteza fosfonianów posiadających w strukturze pierścień azirydynowy była również przedmiotem zainteresowania innej grupy badawczej (Keniche i in., 2016). Otrzymane związki **64–67** (Ryc. 30) poddano ocenie aktywności przeciwbakteryjnej wobec wielolekoopornych bakterii (*Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* oraz *Klebsiella pneumoniae*), które są odpowiedzialne za szereg zakażeń szpitalnych. Wyznaczone wartości ZOI zebrano w tabeli 17.





a R = Trp; b R = Phe; c R = Val; d R = Leu





a R = Trp; b R = Phe; c R = Val; d R = Leu

Rycina 30. Struktury związków 64-67.

Zusianalı	ZOI (mm)					
Związek	Bacillus Cereus	Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Klebsiella pneumoniae		
64a	-	10 ± 4	18 ± 2	19 ± 5		
64b	-	11 ± 2	17 ± 3	21 ± 3		
64c	-	13 ± 1	16 ± 3	20 ± 2		
64d	-	12 ± 2	15 ± 2	17 ± 4		
65	12 ± 5	19 ± 3	22 ± 4	29 ± 3		
66	10 ± 4	15 ± 3	25 ± 5	35 ± 2		
67a	11 ± 2	11 ± 4	12 ± 4	25 ± 2		
67b	15 ± 3	12 ± 4	15 ± 3	23 ± 3		
67c	15 ± 3	10 ± 4	10 ± 3	20 ± 5		
67d	15 ± 4	14 ± 4	16 ± 2	20 ± 5		
tetracyklina	20	20	17	19		
gentamycyna	18	19	18	19		

 Tabela 17. Wartości ZOI wyznaczone dla związków 64–67.

Analiza wyników badań wykazała, że pochodne **64–67** hamowały namnażanie się wybranych szczepów bakterii. Aktywność niemalże wszystkich związków (z wyjątkiem **64d**) wobec szczepu *K. pneumoniae* była porównywalna lub wyższa niż zastosowanych leków referencyjnych. Pochodne **65** i **66** wykazywały wyższą aktywność niż tetracyklina i gentamycyna również w stosunku do *E. coli* (Keniche i in., 2016).

Opisana została synteza i aktywność przeciwdrobnoustrojowa serii sfunkcjonalizowanych 2-aryloazirydyn **68–74** (Ryc. 31) (Giovine i in., 2014). Spośród wszystkich przebadanych związków najbardziej obiecujące działanie wykazywały pochodne **69** oraz **74** (Tabela 18).





N Me

∣ O_ Et

	MIC (µg/mL)							
Związek	Sca	zczepy bakterii			Szczepy g	rzybów		
	Staphylococcus aureus	Enterococcus faecalis	Escherichia coli	Candida albicans	Candida parapsilosis	Candida tropicalis	Candida krusei	
69	128	16	>128	64	32	32	16	
74	32	16	>128	>128	>128	>128	>128	
norfloksacyna	2	4	0,03	-	-	-	-	
chloramfenikol	8	4	8	-	-	-	-	
oksacylina	0,250	16	oporny	-	-	-	-	
flukonazol	-	-	-	0,5	-	1	-	
amfoterycyna B	-	-	-	0,5	1	1	1	

Tabela 18. Wartości MIC wyznaczone dla związków 69 i 74.

Azirydyna **74** była aktywna wobec dwóch szczepów bakteryjnych – *Staphylococcus aureus* 29213 i *Enterococcus faecalis* 29212. Natomiast związek **69** wykazywał selektywne działanie przeciwbakteryjne wobec szczepu *Enterococcus faecalis* 2921, jak również wykazywał działanie przeciwgrzybicze względem *Candida krusei* 6258. Pozostałe pochodne wykazywały umiarkowaną aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec wszystkich zastosowanych szczepów (MIC = 64-128 µg/mL) (Giovine i in., 2014).

4. Inna aktywność

W ostatnim czasie opisana została aktywność przeciwzapalna alkaloidów **75** i **76** (Ryc. 32) posiadających pierścień azirydynowy i rdzeń azabicyklo[3.1.0]heksanu (Hu i in., 2023).



Rycina 32. Struktury związków 75 i 76.

Oba związki wyizolowano z alstonii szkolnej (łac. *Alstonia scholaris)* – rośliny stosowanej w leczeniu chorób układu oddechowego, np. astmy, przewlekłej obturacyjnej choroby płuc czy krztuśca (Zhao i in., 2020.) W celu oceny działania przeciwzapalnego badanych pochodnych wykorzystano model zapalenia wywołany przez lipopolisacharyd (LPS) w ludzkich komórkach nabłonka oskrzelowego (16HBE). Alkaloidy **75** i **76** (w stężeniu 5 μ g/mL) znacząco obniżały poziom białek ostrej fazy – prokalcytoniny (PCT) oraz białka C-reaktywnego (CRP), a także białek zapalnych – interleukiny 18 (IL-18) oraz kaspazy-1 w komórkach stymulowanych LPS. W niektórych przypadkach ich aktywność hamująca była wyższa niż w przypadku standardowo stosowanego leku przeciwzapalnego – deksametazonu. Ponadto w modelu ALI (ostre uszkodzenie płuc wywołane LPS) zaobserwowano również spadek ekspresji cytokin prozapalnych – interleukiny 6 (IL-6) oraz TNF- α . Wykazano, że związek **76** łagodził objawy ostrego zapalenia płuc u myszy (krwotok pęcherzykowy i naciek zapalny) na poziomie porównywalnym do deksametazonu (Hu i in., 2023).

W 2016 roku opublikowano wyniki badań nad syntezą i aktywnością antyoksydacyjną serii azirydyn **77a–j** (Ryc. 33) (Borges i in., 2016). Oceniono wpływ otrzymanych związków na zmniejszanie poziomu peroksydacji lipidów. Wśród azirydyn posiadających w strukturze atom selenu związek **77a** zmniejszał poziom peroksydacji lipidów w największym stopniu, a najsłabiej działała pochodna **77e**. W grupie tioazirydyn najbardziej skuteczny był związek **77j** (Tabela 19) (Borges i in., 2016).





Związek	IC₅₀ (μM)
77a	70,6 ± 13,65
77b	184,3 ± 190,1
77c	79,0 ± 43,28
77d	88,25 ± 20,02
77e	291,6 ± 202,8
77f	80,0 ± 25,0
77g	116,2 ± 54,06
77h	89,6 ± 66,11
77i	107,5 ± 15,00
77j	87,5 ± 45,96

Tabela 19. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków 77a–j.

Syntaza metioninowa (MS) jest enzymem katalizującym przekształcanie homocysteiny w cysteinę (Banerjee i Matthews, 1990). W 2015 roku otrzymano związki **80** i **81** (Ryc. 34) będące azirydynowymi pochodnymi N^5 -metylotetrahydrofolianu **78** (Ryc. 34) i traktowane jako potencjalne inhibitory syntazy metioninowej (Deng i in., 2015). Na podstawie analizy wyników przeprowadzonych badań wykazano wyższe działanie hamujące związków **80** i **81** (IC₅₀ = 5,05 i 4,15 µM odpowiednio dla **80** i **81**) w porównaniu z analogiem **79** (Ryc. 34) nieposiadającym pierścienia azirydynowego (IC₅₀ = 24,42 µM), co sugeruje, że fragment ten w znacznym stopniu jest odpowiedzialny za działanie inhibitujące (Deng i in., 2015).



Rycina 34. Struktury związków 78-81.

Do badań aktywności różnej klasy enzymów wykorzystywane są tzw. sondy chemiczne, które działają na zasadzie inhibitorów (ang. *activity-based probes*, ABPs). W strukturze tego typu związków wyróżnia się trzy zasadnicze fragmenty: (a) reaktywną grupę wiążącą, która jest odpowiedzialna za trwałe połączenie z enzymem; (b) sekwencję rozpoznawczą, która umożliwia rozpoznanie danego enzymu i selektywne połączenie z sondą; (c) znacznik, dzięki któremu możliwa jest detekcja kompleksu sonda–enzym. Glukozydazy stanowią dużą grupę enzymów katalizujących hydrolizę wiązania glikozydowego i są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych (Wu i in., 2019). W 2015 roku opisano syntezę i aktywność biologiczną nieaktywowanych azirydyn **83**, **85** i **87** (Ryc. 35) opartych na strukturze cyklofellitolu (Ryc. 35) jako inhibitorów oraz sond aktywności glikozydaz, w których pierścień azirydynowy stanowił reaktywną grupę wiążącą (Jiang i in., 2015a). Ich działanie *in vitro* porównano z aktywnością wcześniej otrzymanych pochodnych **82**, **84** i **85** (Ryc. 35) (Willems i in., 2014; Jiang i in., 2015b) posiadających grupę acylową na azirydynowym atomie azotu, które opracowano jako wskaźniki aktywności odpowiednio β-glukozydazy GH1 (GBA), α-galaktozy-dazy GH27 (GLA) oraz α-fukozydazy GH29 (FUCA).



Rycina 35. Struktury cyklofellitolu oraz związków 82-87.

Wykazano, że azirydyna **83** była równie skutecznym inhibitorem GBA co jej *N*-acylowy analog **82** (stężenie związku powodujące zahamowanie aktywności enzymu w 50% IC₅₀ = 1,17 ± 0,03 i 1,45 ± 0,10 nM odpowiednio dla **82** i **83**). Ponadto związki **82** i **83** były równie efektywnymi wskaźnikami aktywności GH1 β-glukozydazy. W przypadku GLA związek **85** działał nieznacznie słabiej niż pochodna **84**, zarówno jako inhibitor (IC₅₀ = 2,10 ± 0,13 i 3,02 ± 0,12 nM odpowiednio dla **84** i **85**), jak i sonda chemiczna. Aktywność hamująca azirydyny **87** wobec FUCA była natomiast niemalże 500-krotnie słabsza niż aktywność analogu **86** (IC₅₀ = 7,84 ±0,11 i 3817,12 ± 292,30 nM odpowiednio dla **86** i **87**). Podobnie związek **87** okazał się być znacznie mniej efektywnym wskaźnikiem w porównaniu z aktywowaną azirydyną **86** (Jiang i in., 2015a).

Kontynuując badania, zsyntezowano kolejną serię azirydyn **88–96** (Ryc. 36), które przebadano pod kątem aktywności hamującej bakteryjną β -glukuronidazę GH79 z *Acidobacterium capsulatum* (AcaGH79) (Jiang, 2016). W tabeli 20 przedstawiono wartości parametru IC₅₀ wyznaczone dla otrzymanych pochodnych.



Rycina 36. Struktury związków 88-96.

Związek	IC₅₀ (nM)
88	159,4 ± 19,6
89	95,2 ± 11,2
90	111,1 ± 8,4
91	9532,5 ± 61,5
92	21555,0 ± 1193,8
93	435,6 ± 28,9
94	294,9 ± 19,0
95	51,8 ± 7,4
96	8084,4 ± 553,2

Tabela 20. Wartości IC₅₀ wyznaczone dla związków 88–96.

Spośród wszystkich otrzymanych związków najlepszym inhibitorem AcaGH79 była azirydyna **95**. Najsłabsze działanie wykazywała natomiast pochodna **92** (Jiang, 2016).

W 2018 roku ten sam zespół badawczy przedstawił wyniki badań dotyczących syntezy i aktywności związków **97–99** (Ryc. 37) jako inhibitorów α -L-iduronidazy (Artola i in., 2018). Wartości IC₅₀ wynosiły 40,6 ± 17,0; 58,1 ± 6,66 oraz 65,1 ± 5,73 µM odpowiednio dla **97**, **98** i **99**. Dodatkowo przebadano również dwa związki **100** i **101**, które były produktami pośrednimi w syntezie zaprojektowanych pochodnych **97–99** (Ryc. 37). Azirydyna **100** nie wykazywała żadnej aktywności hamującej, podczas gdy związek **101** działał znacznie lepiej (IC₅₀ = 12,2 ± 3,24 µM) niż docelowe sondy **97–99**, co sugeruje, że grupa karboksylowa nie jest kluczowym elementem struktury odpowiedzialnym za aktywność inhibitującą (Artola i in., 2018).



Rycina 37. Struktury związków 97–101.

Podsumowanie

Azirydyna stanowi jeden z najcenniejszych układów heterocyklicznych i występuje w strukturze wielu ważnych biologicznie czynnych związków. Jej zdolność do łatwego ulegania reakcjom otwarcia pierścienia jest w wielu przypadkach podstawą działania pochodnych zawierających ten fragment. Spośród wszystkich substancji zarejestrowanych obecnie w lecznictwie znane są zaledwie dwa leki posiadające w strukturze pierścień azirydynowy – tiotępa i mitomycyna C wykorzystywane w terapii przeciwnowotworowej. W niniejszym przeglądzie przedstawiono doniesienia literaturowe z lat 2014–2024 dotyczące aktywności biologicznej związków opartych na strukturze azirydyny. Najbardziej liczną grupę stanowią pochodne wykazujące działanie antyproliferacyjne i przeciwdrobnoustrojowe. Ponadto zaprezentowano również kilka przykładów substancji o aktywności przeciwzapalnej, przeciwcukrzycowej, przeciwzakrzepowej czy hamującej aktywność różnych enzymów. W kilku przypadkach jednoznacznie udowodniono, że pierścień azirydynowy jest odpowiedzialny za działanie danego związku. Spośród wszystkich przedstawionych pochodnych azirydyny na szczególną uwagę zasługują związki, których aktywność biologiczna jest zbliżona do aktywności zastosowanych leków referencyjnych bądź wyższa od nich. Analizując strukturę związków o działaniu przeciwnowotworowym, można zauważyć, że najbardziej aktywne były pochodne posiadające na azirydynowym atomie azotu podstawnik o charakterze elektronodonorowym, np. grupę alkilową. Z kolei zdecydowana większość substancji wykazujących najwyższą aktywność przeciwbakteryjną należy do grupy aktywowanych azirydyn. Biorąc pod uwagę bardzo obiecujące wyniki badań biologicznych niektórych z przedstawionych pochodnych, można uznać je za struktury wiodące w poszukiwaniu związków o jeszcze wyższej aktywności i selektywności.

Bibliografia

- Akhtar R., Naqvi S.A.R., Zahoor A.F., Saleem S. 2018. Nucleophilic ring opening reactions of aziridines. *Molecular Diversity* 22(2), str. 447–501. DOI: <u>10.1007/s11030-018-9829-0</u>.
- Argoudelis A.D., Reusser F., Whaley H.A., Baczynskyj L., Mizsak S.A., Wnuk, R.J. 1976. Antibiotics produced by streptomyces-ficellus. 1. Ficellomycin. *Journal of Antibiotics* 29(10), str. 1001– 1006. DOI: <u>10.7164/antibiotics.29.1001</u>.
- Artola M., Kuo C.L., McMahon S.A., Oehler V., Hansen T., van der Lienden M., He X., van den Elst H., Florea B.I., Kermode A.R., van der Marel G.A., Gloster T.M., Codée J.D.C., Overkleeft H.S., Aerts J. 2018. New Irreversible α-I-Iduronidase Inhibitors and Activity-Based Probes. *Chemistry. A European Journal* 24(71), str. 19081–19088. DOI: 10.1002/chem.201804662.
- Banerjee R.V., Matthews R.G. 1990. Cobalamin-dependent methionine synthase. *Faseb Journal* 4(5), str. 1450–1459. DOI: <u>10.1096/fasebj.4.5.2407589</u>.
- Borges R., Andrade F.C.D., Schwab R.S., Sousa F.S.S., de Souza M.N., Savegnago L., Schneider P.H. 2016. Straightforward synthesis and antioxidant studies of chalcogenoaziridines. *Tetrahedron Letters* 57(31), str. 3501–3504. DOI: <u>10.1016/j.tetlet.2016.06.101</u>.
- Bradner W.T. 2001. Mitomycin C: a clinical update. *Cancer Treatment Reviews* 27(1), str. 35–50. DOI: <u>10.1053/ctrv.2000.0202</u>.
- Burgos-Morón E., Pastor N., Orta M.L., Jiménez-Alonso J.J., Palo-Nieto C., Vega-Holm M., Vega-Pérez J.M., Iglesias-Guerra F., Mateos S., Lopez-Lázaro M., Calderón-Montano J.M. 2022. In Vitro Anticancer Activity and Mechanism of Action of an Aziridinyl Galactopyranoside. *Biomedicines* 10(1), nr art. 41. DOI: <u>10.3390/biomedicines10010041</u>.
- Carramiñana V., de Retana A.M.O., del Burgo A.V., de los Santos J.M., Palacios F. 2019. Synthesis and biological evaluation of cyanoaziridine phosphine oxides and phosphonates with antiproliferative activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 163, str. 736–746. DOI: <u>10.1016/j.ejmech.2018.12.002</u>.
- Carramiñana V., de Retana A.M.O., Palacios F. i de los Santos J.M. 2020. Synthesis of α-Aminophosphonic Acid Derivatives Through the Addition of *O*- and *S*-Nucleophiles to 2*H*-Azirines and Their Antiproliferative Effect on A549 Human Lung Adenocarcinoma Cells. *Molecules* 25(15), nr art. 3332. DOI: <u>10.3390/molecules25153332</u>.
- Carramiñana V., De Retana A.M.O., Palacios F. i De los Santos J.M. 2021. Synthesis and Antiproliferative Activity of Phosphorus Substituted 4-Cyanooxazolines, 2-Aminocyanooxazolines, 2-Iminocyanooxazolidines and 2-Aminocyanothiazolines by Rearrangement of Cyanoaziridines. *Molecules* 26(14), nr art. 4265. DOI: 10.3390/molecules26144265.
- Chaudhari P.J., Bari S.B., Surana S.J., Shirkhedkar A.A., Bonde C.G., Khadse S.C., Ugale V.G., Nagar A.A., Cheke R.S. 2022. Discovery and Anticancer Activity of Novel 1,3,4-Thiadiazole- and Aziridine-Based Indolin-2-ones *via In Silico* Design Followed by Supramolecular Green Synthesis. *Acs Omega* 7(20), str. 17270–17294, DOI: <u>10.1021/acsomega.2c01198</u>.
- Chen Q., Zhang M., Zheng S., Tong Y.X., Tan Y.M. 2024. Therapeutic progress in relapsed/refractory multiple myeloma. *Annals of Hematology* 103, str. 1833–1841. DOI: <u>10.1007/s00277-024-05730-y</u>.
- Cheng H., Huang H.L. i Huang G.L. 2018. Synthesis and antitumor activity of epothilone B. *European Journal of Medicinal Chemistry* 157, str. 925-934, DOI: <u>10.1016/j.ejmech.2018.08.055</u>.
- Chien T.Y., Huang S.K.H., Lee C.J., Tsai P.W., Wang C.C. 2016. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of Zerumbone against Mono-Iodoacetate-Induced Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences* 17(2), nr art. 249. DOI: <u>10.3390/ijms17020249</u>.
- Choi J., Yu T., Ha H.J. 2021. Alkylative Aziridine Ring-Opening Reactions. *Molecules* 26(6), nr art. 1703. DOI: <u>10.3390/molecules26061703</u>.
- Crawford L.J., Walker B., Irvine A.E. 2011. Proteasome inhibitors in cancer therapy. *Journal of Cell Communication and Signaling* 5(2), str. 101–110. DOI: <u>10.1007/s12079-011-0121-7</u>.

- Deng X.L., Guo Y., Tian C., Liu J.Y., Wang X.W., Zhang Z.L. 2015. Design, Synthesis and Activities of Aziridine Derivatives of N⁵-Methyltetrahydrofolate Against Methionine Synthase. *Chemical Research in Chinese Universities* 31(5), str. 742–745. DOI: <u>10.1007/s40242-015-5194-z</u>.
- Dogan Ö., Çakir S.P., Beksultanova N., Altanlar N., Simsek D., Karabiyik H. 2017. Enantioselective synthesis of new chiral 2-aziridinyl phosphonates and studies of their biological activities. *Tetrahedron-Asymmetry* 28(2), str. 324–329, DOI: <u>10.1016/j.tetasy.2017.01.003</u>.
- Dong H.R., Wu J.G., Gao Z.L. 2017. Design, synthesis, and anticancer activity evaluation of novel aziridine-1,2,3-triazole hybrid derivatives. *Synthetic Communications* 47(19), str. 1783–1796 DOI: <u>10.1080/00397911.2017.1353632</u>.
- Farber S., Appleton R., Downing V., Heald F., King J., Toch R. 1953. Clinical studies on the carcinolytic action of triethylenephosphoramide *Cancer* 6(1), str. 135–141.

DOI: <u>10.1002/1097-0142(195301)6:1<135::aid-cncr2820060113>3.0.co;2-r</u>.

- Ghannay S., Kadri A., Aouadi K. 2020. Synthesis, in vitro antimicrobial assessment, and computational investigation of pharmacokinetic and bioactivity properties of novel trifluoromethylated compounds using in silico ADME and toxicity prediction tools. *Monatshefte Fur Chemie* 151(2), str. 267–280. DOI: <u>10.1007/s00706-020-02550-4</u>.
- Gillis E.P., Eastman K.J., Hill M.D., Donnelly D.J., Meanwell N.A. 2015. Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry* 58(21), str. 8315–8359. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00258.
- Giovine A., Muraglia M., Florio M.A., Rosato A., Corbo F., Franchini C., Musio B., Degennaro L., Luisi R. 2014. Synthesis of Functionalized Arylaziridines as Potential Antimicrobial Agents. *Molecules* 19(8), str. 11505–11519. DOI: <u>10.3390/molecules190811505</u>.
- Gopalan G., Dhanya B.P., Saranya J., Reshmitha T.R., Baiju T.V., Meenu M.T., Nair M.S., Nish, P., Radhakrishnan K.V. 2017. Metal-Free *trans*-Aziridination of Zerumbone: Synthesis and Biological Evaluation of Aziridine Derivatives of Zerumbone. *European Journal of Organic Chemistry* 2017(21), str. 3072–3077. DOI: <u>10.1002/ejoc.201700410</u>.
- Gundogdu O., Gumus R., Karatas O.F., Kara Y. 2023. Synthesis and evaluation of the biological activities of novel hybrid isoindol-1,3-dione containing an aziridine unit. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 60(6), str. 987–992. DOI: <u>10.1002/jhet.4643</u>.
- Hanada M., Ohkuma H., Yonemoto T., Tomita K., Ohbayashi M., Kamei H., Miyaki T., Konishi M., Kawaguchi H., Forenza S. 1991. Maduropeptin, a complex of new macromolecular antitumor antibiotics. *Journal of Antibiotics* 44(4), str. 403–414, DOI: <u>10.7164/antibiotics.44.403</u>.
- Harada K., Tomita K., Fujii K., Masuda K., Mikami Y., Yazawa K., Komaki H. 2004. Isolation and structural characterization of siderophores, madurastatins, produced by a pathogenic Actinomadura madurae. Journal of Antibiotics 57(2), str. 125–135. DOI: 10.7164/antibiotics.57.125.
- Hata T., Sano Y., Sugawara R., Matsumae A., Kanamori K., Shima T., Hoshi T. 1956. Mitomycin, a new antibiotic from streptomyces. I. *Journal of Antibiotics* 9(4), str. 141–146. DOI: <u>10.11554/antibioticsa.9.4</u> 141
- Hu B.Y., Zhao Y.L., Zhou Z.S., Zhu Y.Y., Luo X.D. 2023. Significant anti-inflammatory aziridinecontaining indole alkaloids from the Chinese medicinal plant Alstonia scholaris. *Chemical Communications* 59(16), str. 2271–2274. DOI: <u>10.1039/d2cc07029d</u>.
- Huentelman M.J., Zubcevic J., Prada J.A.H., Xiao X.D., Dimitrov D.S., Raizada M.K., Ostrov D.A. 2004. Structure-based discovery of a novel angiotensin converting enzyme 2 inhibitor. *Hypertension* 44(6), str. 903–906, DOI: <u>10.1161/01.hyp.0000146120.29648.36</u>.
- Ielo L., Patamia V., Citarella A., Efferth T., Shahhamzehei N., Schirmeister T., Stagno C., Langer T., Rescifina A., Micale N., Pace V. 2022. Novel Class of Proteasome Inhibitors: In Silico and In Vitro Evaluation of Diverse Chloro(trifluoromethyl)aziridines. *International Journal of Molecular Sciences* 23(20), nr art. 12363. DOI: <u>10.3390/ijms232012363</u>.
- Ielo L., Patamia V., Citarella A., Schirmeister T., Stagno C., Rescifina A., Micale N., Pace V. 2023. Selective noncovalent proteasome inhibiting activity of trifluoromethyl-containing gemquaternary aziridines. Archiv Der Pharmazie 356(7), nr art. e2300174. DOI: <u>10.1002/ardp.202300174</u>.

- Ishizeki S., Ohtsuka M., Irinoda K., Kukita K.I., Nagaoka K., Nakashima T. 1987. Azinomycin-a and azinomycin-b, new antitumor antibiotics .3. Antitumor-activity. *Journal of Antibiotics* 40(1), str. 60–65. DOI: <u>10.7164/antibiotics.40.60</u>.
- Ismail F.M.D., Levitsky D.O., Dembitsky V.M. 2009. Aziridine alkaloids as potential therapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 44(9), str. 3373–3387. DOI: <u>10.1016/j.ejmech.2009.05.013</u>.
- Jarow J., Maher V.E., Tang S.H., Ibrahim A., Kim G., Sridhara R., Pazdur R. 2015. Development of Systemic and Topical Drugs to Treat Non-muscle Invasive Bladder Cancer. *Bladder Cancer* 1(2), str. 133–136. DOI: <u>10.3233/blc-150016</u>.
- Jiang J. 2016. Activity-based protein profiling of glucosidases, fucosidases and glucuronidases. Dostępne online: <u>https://scholarlypublications.universiteitleiden.nl/handle/1887/41279</u> (dostęp: 21.05.2024).
- Jiang J.B., Beenakker T.J.M., Kallemeijn W.W., van der Marel G.A., van den Elst H., Codée J.D.C., Aerts J., Overkleeft H.S. 2015a. Comparing Cyclophellitol *N*-Alkyl and *N*-Acyl Cyclophellitol Aziridines as Activity-Based Glycosidase Probes. *Chemistry-a European Journal* 21(30), str. 10861–10869. DOI: <u>10.1002/chem.201501313</u>.
- Jiang J.B., Kallemeijn W.W., Wright D.W., van den Nieuwendijk A., Rohde V.C., Folch E.C., van den Elst H., Florea B.I., Scheij S., Donker-Koopman W.E., Verhoek M., Li N., Schürmann M., Mink D., Boot R.G., Codée J.D.C., van der Marel G.A., Davies G.J., Aerts J., Overkleeft H.S. 2015b. *In vitro* and *in vivo* comparative and competitive activity-based protein profiling of GH29 α-L-fucosidases. *Chemical Science* 6(5), str.2782–2789. DOI: <u>10.1039/c4sc03739a</u>.
- Jordan M.A., Wilson L. 2004. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nature Reviews Cancer* 4(4), str. 253–265. DOI: <u>10.1038/nrc1317</u>.
- Kalantari K., Moniri M., Moghaddam A.B., Rahim R.A., Bin Ariff A., Izadiyan Z., Mohamad R. 2017. A Review of the Biomedical Applications of Zerumbone and the Techniques for Its Extraction from Ginger Rhizomes. *Molecules* 22(10), nr art. 1645. DOI: <u>10.3390/molecules22101645</u>.
- Kasztelan-Szczerbińska B., Szczerbińska A., Cichoż-Lach H. 2022. Hymekromon w terapii chorób dróg żółciowych oraz nowe perspektywy terapeutyczne leku – przegląd literatury. *Medycyna Faktów* 15(1/54), str. 85–91. DOI: <u>10.24292/01.MF.0122.12</u>.
- Keniche A., Bellifa S., Hassaine H., Simani M.Z., Mulengi J.K. 2016. Evaluation of antibacterial activities of novel aziridinyl phosphonates. 2016. *Algerian Journal of Natural Products* 4(1), str. 226–232. Dostępne online: <u>https://univ-bejaia.dz/ajnp/index.php/ajnp/article/view/22</u> (dostęp: 21.05.2024).
- Khan R., Dogan Ö., Güven K. 2020. *N*-Substituted aziridine-2-phosphonic acids and their antibacterial activities. *Organic Communications* 13(2), str. 51–56. DOI: <u>10.25135/acg.oc.77.20.03.1594</u>.
- Khan R., Ulusan S., Banerjee S., Dogan O. 2019. Synthesis, Characterization and Evaluation of Cytotoxic Activities of Novel Aziridinyl Phosphonic Acid Derivatives. *Chemistry & Biodiversity* 16(11), nr art. e1900375. DOI: <u>10.1002/cbdv.201900375</u>.
- Kolocouris N., Zoidis G., Foscolos G.B., Fytas G., Prathalingham S.R., Kelly J.M., Naesens L., De Clercq
 E. 2007. Design and synthesis of bioactive adamantane spiro heterocycles. *Bioorganic* & Medicinal Chemistry Letters 17(15), str. 4358–4362, DOI: <u>10.1016/j.bmcl.2007.04.108</u>.
- Kondo E., Ikeda T., Goto H., Nishikori M., Maeda N., Matsumoto K., Kitagawa H., Noda N., Sugimoto S., Hara J. 2019. Pharmacokinetics of thiotepa in high-dose regimens for autologous hematopoietic stem cell transplant in Japanese patients with pediatric tumors or adult lymphoma. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 84(4), str. 849–860. DOI: 10.1007/s00280-019-03914-2.
- Kowalczyk A., Pieczonka A.M., Kassassir H., Rachwalski M., Staczek P. 2024. A Study on the Biological Activity of Optically Pure Aziridine Phosphines and Phosphine Oxides. *Molecules* 29(7), nr art. 1430. DOI: 10.3390/molecules29071430.
- Kowalczyk A., Pieczonka A.M., Rachwalski M., Lesniak S., Staczek P. 2018. Synthesis and Evaluation of Biological Activities of Aziridine Derivatives of Urea and Thiourea. *Molecules* 23(1), nr art. 45. DOI: <u>10.3390/molecules23010045</u>.

- Kuh E., Seeger D.R. 1954. *Thiophosphoric acid derivatives and method of preparing the same*. U.S. Patent 2.670.347. Dostępne online: <u>https://patents.google.com/patent/US2670347A/en</u> (dostęp: 21.05.2024).
- Kumar P.R., Yennam S., Raghavulu K., Velatooru L.R., Kotla S.R., Penugurti V., Hota P.K., Behera M., Shree A.J. 2019. Synthesis of Novel Diaziridinyl Quinone Isoxazole Hybrids and Evaluation of Their Anti-Cancer Activity as Potential Tubulin-Targeting Agents. *Drug Research* 69(7), str. 406– 414. DOI: 10.1055/a-0810-7033.
- Lee Y. 1983 breast-carcinoma pattern of metastasis at autopsy. *Journal of Surgical Oncology* 23(3), str. 175–180. DOI: <u>10.1002/jso.2930230311</u>.
- Li D.F., Wang H., Ding Y., Zhang Z.W., Zheng Z., Dong J.B., Kim H., Meng X.J., Zhou Q.J., Zhou J., Fang L., Shen Q. 2018. Targeting the NRF-2/RHOA/ROCK signaling pathway with a novel aziridonin, YD0514, to suppress breast cancer progression and lung metastasis. *Cancer Letters* 424, str. 97–108. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.03.029.
- Lin S.B., Liang Y.R., Cheng J.Y., Pan F., Wang Y. 2021. Novel diaryl-2*H*-azirines: Antitumor hybrids for dual-targeting tubulin and DNA. *European Journal of Medicinal Chemistry* 214, nr art. 113256. DOI: <u>10.1016/j.ejmech.2021.113256</u>.
- Naganawa H., Usui N., Takita T., Hamada M., Umezawa H. 1975. *S*-2,3-dicarboxy-aziridine, a new metabolite from a streptomyces. *Journal of Antibiotics* 28(10), str. 828–829. DOI: <u>10.7164/antibiotics.28.828</u>.
- Nandi D., Tahiliani P., Kumar A., Chandu D. 2006. The ubiquitin-proteasome system. *Journal of Biosciences* 31(1), str. 137–155. DOI: <u>10.1007/bf02705243</u>.
- Nicolaou K.C., Shelke Y.G., Dherange B.D., Kempema A., Lin B.W., Gu C., Sandoval J., Hammond M., Aujay M., Gavrilyuk J. 2020. Design, Synthesis, and Biological Investigation of Epothilone B Analogues Featuring Lactone, Lactam, and Carbocyclic Macrocycles, Epoxide, Aziridine, and 1,1-Difluorocyclopropane and Other Fluorine Residues. *Journal of Organic Chemistry*, 85(5), str. 2865–2917. DOI: <u>10.1021/acs.joc.0c00123</u>.
- Nishikori M., Masaki Y., Fujii N., Ikeda T., Takahara-Matsubara M., Sugimoto S., Kondo E. 2022. An expanded-access clinical study of thiotepa (DSP-1958) high-dose chemotherapy before autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with malignant lymphoma. *International Journal of Hematology* 115(3), str. 391–398. DOI: <u>10.1007/s12185-021-03263-y</u>.
- Nunes A.T., Annunziata C.M. 2017. Proteasome inhibitors: structure and function. *Seminars in Oncology* 44(6), str. 377–380. DOI: <u>10.1053/j.seminoncol.2018.01.004</u>.
- Omuro A., DeAngelis L.M. 2013. Glioblastoma and Other Malignant Gliomas A Clinical Review. *Journal of the American Medical Association* 310(17), str. 1842–1850. DOI: 10.1001/jama.2013.280319.
- 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: <u>10.1086/381972</u>.
- Park J.E., Miller Z., Jun Y., Lee W., Kim K.B. 2018. Next-generation proteasome inhibitors for cancer therapy. *Translational Research* 198, str. 1–16. DOI: <u>10.1016/j.trsl.2018.03.002</u>.
- Ralhan R., Kaur J. 2007. Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 17(9), str. 1061–1075. DOI: <u>10.1517/13543776.17.9.1061</u>.
- Rejestr Produktów Leczniczych. 2024. Charakterystyka, Mitomycin Accord, proszek do sporządzania roztworu do wstrzykiwań/do infuzji lub do pęcherza moczowego, 10 lub 20 mg. Dostępne online: <u>https://rejestry.ezdrowie.gov.pl/api/rpl/medicinal-products/36152/characteristic</u> (dostęp: 15.05.2024).
- Rejestr Produktów Leczniczych. 2024. Charakterystyka, Tepadina, Proszek do sporządzania koncentratu roztworu do infuzji, 100 mg. Dostępne online: <u>https://rejestry.ezdrowie.gov.pl/api/rpl/medicinal-products/44617/characteristic</u> (dostęp: 15.05.2024).
- Remers W.A., Dorr R.T. 2012. Chemistry and Pharmacology of Imexon and Related Cyanoaziridines. *Current Medicinal Chemistry* 19(33), str. 5745–5753. DOI: <u>10.2174/092986712803988802</u>.

- Romanchikova N., Trapencieris P., Zemitis J., Turks M. 2014. A novel matrix metalloproteinase-2 inhibitor triazolylmethyl aziridine reduces melanoma cell invasion, angiogenesis and targets ERK1/2 phosphorylation. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 29(6), str. 765–772. DOI: 10.3109/14756366.2013.855207.
- Rosa A., Caprioglio D., Isola R., Nieddu M., Appendino G., Falchi A.M. 2019. Dietary zerumbone from shampoo ginger: new insights into its antioxidant and anticancer activity. *Food & Function* 10(3), str. 1629–1642. DOI: <u>10.1039/c8fo02395f</u>.
- Sabir S., Kumar G., Verma V.P., Jat J.L. 2018. Aziridine Ring Opening: An Overview of Sustainable Methods. *Chemistryselect* 3(13), str. 3702–3711. DOI: <u>10.1002/slct.201800170</u>.
- Sarojini P., Jeyachandran M., Sriram D., Ranganathan P., Gandhimathi S. 2021. Facile microwaveassisted synthesis and antitubercular evaluation of novel aziridine derivatives. *Journal of Molecular Structure* 1233, nr art. 130038. DOI: <u>10.1016/j.molstruc.2021.130038</u>.
- Schaschke N. 2004. Miraziridine A: natures blueprint towards protease class-spanning inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(4), str. 855–857. DOI: <u>10.1016/j.bmcl.2003.12.030</u>.
- Sert M., Isilar O., Yaglioglu A.S., Bulut A. 2021. Gabriel-Cromwell aziridination of amino sugars; chiral ferrocenoyl-aziridinyl sugar synthesis and their biological evaluation. *Carbohydrate Research* 509, nr art. 108430. DOI: <u>10.1016/j.carres.2021.108430</u>.
- Srivastava N., Ha H.J. 2023. Regioselective ring opening of aziridine for synthesizing azaheterocycle. *Frontiers in Chemistry* 11, nr art. 1280633. DOI: <u>10.3389/fchem.2023.1280633</u>.
- Stankovic S., D'Hooghe M., Catak S., Eum H., Waroquier M., Van Speybroeck V., De Kimpe N., Ha H.J. 2012. Regioselectivity in the ring opening of non-activated aziridines. *Chemical Society Reviews* 41(2), str. 643–665. DOI: <u>10.1039/c1cs15140a</u>.
- Swapnaja K.J.M., Yennam S., Chavali M., Poornachandra Y., Kumar C.G., Muthusamy K., Jayaraman V.B., Arumugam P., Balasubramanian S., Sriram K.K. 2016. Design, synthesis and biological evaluation of diaziridinyl quinone isoxazole hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 117, str. 85–98. DOI: <u>10.1016/j.ejmech.2016.03.042</u>.
- Teus M.A., de Benito-Llopis L., Alió J.L. 2009. Mitomycin C in Corneal Refractive Surgery. *Survey of Ophthalmology* 54(4), str. 487–502. DOI: <u>10.1016/j.survophthal.2009.04.002</u>.
- Tomasz M. 1995. Mitomycin-c small, fast and deadly (but very selective). *Chemistry & Biology* 2(9), str. 575–579. DOI: <u>10.1016/1074-5521(95)90120-5</u>.
- Vaidergorn M.M., Carneiro Z.A., Lopes C.D., de Albuquerque S., Reis F.C.C., Nikolaou S., Mello J., Genesi G.L., Trossini G.H.G., Ganesan A., Emery F.S. 2018. β-amino alcohols and their respective 2-phenyl-N-alkyl aziridines as potential DNA minor groove binders. *European Journal of Medicinal Chemistry* 157, str. 657–664. DOI: <u>10.1016/j.ejmech.2018.07.055</u>.
- Vega-Pérez J.M., Palo-Nieto C., Vega-Holm M., Góngora-Vargas P., Calderón-Montaño J.M., Burgos-Morón E., López-Lázaro M., Iglesias-Guerra F. 2013. Aziridines from alkenyl-β-Dgalactopyranoside derivatives: Stereoselective synthesis and in vitro selective anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 70, str. 380–392 DOI: <u>10.1016/j.ejmech.2013.10.020</u>.
- Willems L.I., Beenakker T.J.M., Murray B., Gagestein B., van den Elst H., van Rijssel E.R., Codée J.D.C., Kallemeijn W.W., Aerts J., van der Marel G.A., Overkleeft H.S. 2014. Synthesis of α- and β-Galactopyranose-Configured Isomers of Cyclophellitol and Cyclophellitol Aziridine. *European Journal of Organic Chemistry* 2014(27), str. 6044–6056. DOI: <u>10.1002/ejoc.201402589</u>.
- Witusik-Perkowska M., Glowacka P., Pieczonka A.M., Swiderska E., Pudlarz A., Rachwalski M., Szymanska J., Zakrzewska M., Jaskólski D.J., Szemraj J. 2023. Autophagy Inhibition with Chloroquine Increased Pro-Apoptotic Potential of New Aziridine-Hydrazide Hydrazone Derivatives against Glioblastoma Cells. *Cells* 12(14), nr art. 1906. DOI: <u>10.3390/cells12141906</u>.
- Wu L., Armstrong Z., Schröder S.P., de Boer C., Artola M., Aerts J., Overkleeft H.S. i Davies G.J. 2019. An overview of activity-based probes for glycosidases. *Current Opinion in Chemical Biology* 53, str. 25–36. DOI: <u>10.1016/j.cbpa.2019.05.030</u>.

- Zayane M., Rahmouni A., Daami-Remadi M., Ben Mansour M., Romdhane A., Ben Jannet H. 2016. Design and synthesis of antimicrobial, anticoagulant, and anticholinesterase hybrid molecules from 4-methylumbelliferone. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 31(6), str. 1566–1575. DOI: <u>10.3109/14756366.2016.1158171</u>.
- Zhang X.J., He H.T., Ma R., Ji Z.C., Wei Q., Dai H.Q., Zhang L.X., Song F.H. 2017. Madurastatin B3, a rare aziridine derivative from actinomycete *Nocardiopsis sp* LS150010 with potent anti-tuberculosis activity. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 44(4–5), str. 589–594. DOI: 10.1007/s10295-017-1908-1.
- Zhao Y.L., Yang Z.F., Wu B.F., Shang J.H., Liu Y.P., Wang X.H., Luo X.D. 2020. Indole alkaloids from leaves of *Alstonia scholaris* (L.) R. Br. protect against emphysema in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 259, nr art. 112949. DOI: <u>10.1016/j.jep.2020.112949</u>.
- Zhou X.Y., Xu R.Q., Wu Y., Zhou L., Xiang T.X. 2024. The role of proteasomes in tumorigenesis. *Genes & Diseases* 11(4), nr art. 101070. DOI: <u>10.1016/j.gendis.2023.06.037</u>.
- Znati M., Debbabi M., Romdhane A., Ben Jannet H., Bouajila J. 2018. Synthesis of new anticancer and anti-inflammatory isoxazolines and aziridines from the natural (-)-deltoin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 70(12), str. 1700–1712. DOI: <u>10.1111/jphp.13013</u>.
- Zoidis G., Fytas C., Papanastasiou L., Foscolos G.B., Fytas G., Padalko E., de Clercq E., Naesens L., Neyts J., Kolocouris N. 2006. Heterocyclic rimantadine analogues with antiviral activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 14(10), str. 3341–3348. DOI: <u>10.1016/j.bmc.2005.12.056</u>.



