

Kumaryny i ich pochodne jako związki o szerokim spektrum aktywności biologicznej – przegląd ich potencjalnych zastosowań na podstawie wybranych badań

Coumarins and their derivatives as compounds with a broad spectrum of biological activity – a review of their potential applications based on selected research questions

¹ Koło Naukowe „Free Radicals” przy Zakładzie Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

² Zakładzie Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

*e-mail: jaroslaw.t.radzikowski@gmail.com, katarzyna.paradowska@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: kumaryny, surowce kumarynowe, fototerapia, aktywność przeciwnowotworowa, przeciwwirusowa, przeciwbakteryjna, choroby układu krążenia, choroby neurodegeneracyjne

Key words: coumarins, natural sources of coumarins, phototherapy, anticancer activity, antiviral activity, antibacterial activity, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases

Streszczenie

Kumaryny i ich pochodne to związki o zróżnicowanej budowie chemicznej, wykazujące szerokie spektrum aktywności biologicznej. Występują w wielu surowcach roślinnych, a jednocześnie dostępne są również w preparatach farmaceutycznych i kosmetycznych. O ich wszechstronnym zastosowaniu świadczy również wykorzystanie tych związków w tradycyjnej medycynie ludowej. Kumaryny wykazują działanie przeciwzkrzepowe, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne i neuroprotektoryjne, co sprawia, że mają potencjalne zastosowanie w terapii chorób układu krążenia, nowotworów oraz chorób neurodegeneracyjnych. Obecnie bada się i syntetyzuje coraz nowsze pochodne kumaryny, modyfikując ich szkielet w celu uzyskania nowych cząsteczek o ulepszonych właściwościach biologicznych i terapeutycznych. Testowanie nowych związków pozwala na identyfikację potencjalnych zastosowań tych substancji w nowoczesnej farmakologii.

Summary

Coumarins and their derivatives are compounds with diverse chemical structures that exhibit a wide spectrum of biological activities. They occur in many plant materials and are now also available in pharmaceutical and cosmetic formulations. Their versatile use is

further demonstrated by the role these compounds have played in tradition and folk medicine. Coumarins show anticoagulant, anticancer, antiviral, antibacterial, and neuroprotective effects, which makes them potentially useful in therapies for cardiovascular diseases, cancers, and neurodegenerative disorders. Currently, increasingly new coumarin derivatives are being studied and synthesized, with modifications to their core structure aimed at obtaining new molecules with improved biological and therapeutic properties. Testing new compounds allows researchers to identify potential applications in modern pharmacology.

Wstęp

Świat nauki od dawna dostrzega znaczenie substancji pochodzenia naturalnego, które znajdują szerokie zastosowanie zarówno w medycynie, jak i w codziennym funkcjonowaniu człowieka. Tradycja wykorzystywania roślin leczniczych towarzyszy ludzkości od wieków – preparaty z mięty pieprzowej stosowano w łagodzeniu dolegliwości gastrycznych, a owoce czarnego bzu – w terapii objawów przeziębienia. Przykłady te stanowią jedynie fragment bogatego dorobku fitoterapii, która przez stulecia stanowiła podstawowe źródło środków wspomagających leczenie chorób. Bliskość natury oraz powszechna dostępność surowców roślinnych sprzyjały wykorzystywaniu ich potencjału terapeutycznego na długo przed rozwojem nowoczesnych metod analitycznych.

Postęp technologiczny umożliwił szczegółową analizę składu chemicznego roślin oraz identyfikację związków odpowiedzialnych za ich aktywność biologiczną. Badania nad strukturą chemiczną substancji naturalnych pozwoliły na określenie ich szkieletów węglowych, obecności pierścieni oraz charakteru i rozmieszczenia podstawników. Zrozumienie zależności między budową a działaniem biologicznym (ang. *structure-activity relationship*, SAR) otworzyło drogę do celowej modyfikacji cząsteczek poprzez wprowadzanie lub eliminowanie określonych grup funkcyjnych, co umożliwia optymalizację ich właściwości farmakologicznych. Równolegle rozwinięto metody ekstrakcji i koncentracji substancji czynnych, zwiększając ich biodostępność oraz siłę działania.

Współczesna medycyna koncentruje się na poszukiwaniu związków o wysokiej selektywności wobec określonych celów molekularnych, o minimalnym profilu działań niepożądanych oraz zdolności do oddziaływania na różne szlaki patofizjologiczne. W tym kontekście szczególne zainteresowanie budzą związki kumarynowe, które – zgodnie z licznymi doniesieniami literaturowymi – wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej. Ich potencjał terapeutyczny oraz różnorodność strukturalna czynią je obiecującym przedmiotem dalszych badań nad nowymi strategiami farmakologicznymi.

Gdzieś w gujańskiej dżungli... *Comarouna Odorata*

Historia kumaryn ma swój początek we florze Ameryki Południowej. Na terenach Gujany Francuskiej Jean-Baptiste Christophe Fusée-Aublet opisywał nieznaną do tychczas nauce gatunki roślin, w tym *Comarouna Odorata*. To właśnie z tego południowoamerykańskiego drzewa w 1820 roku, dwaj naukowcy – August Carl Vogel oraz Nicolas-Jean-Baptiste-Gaston Guibourt – niezależnie od siebie wyizolowali kumarynę [1]. Francuski naukowiec nazwę związku oparł na karaibskim określeniu *coumarou*, używanym przez mieszkańców Gujany. Współcześnie *Comarouna Odorata* występuje pod nazwą *Dipteryx odorata*, czyli tonkowiec wonny. W przeszłości roślina ta była głównym surowcem do pozyskiwania kumaryny, dziś wykorzystuje się ją w przemyśle perfumeryjnym – m.in. przez firmy Tom Ford i Yves Rocher.

Kumaryny w tradycji i medycynie ludowej

Surowce kumarynowe od dawna znajdowały szerokie zastosowanie w gospodarstwie domowym i medycynie ludowej. Jeszcze zanim wyizolowano z nich pojedyncze związki, wykorzystywano je w kuchni, ogrodzie, garderobie, a nawet podczas kąpeli. Wśród roślin stosowanych tradycyjnie wymienia się nostrzyka, macierzankę oraz ziele ruty.

Nostrzyk żółty, zwany miodownikiem lub słodką koniczyną, służył do przygotowywania nalewek oraz marynowania mięsa. W Szwajcarii używano go także przy produkcji sera Gruyère. Kwiaty nostrzyka swoim słodkim aromatem przyciągały pszczoły do ogrodu, a suszone liście były skutecznym środkiem na mole ubraniowe. Stosowano także kąpiele z dodatkiem kwiatów, które miały poprawiać samopoczucie i łagodzić stany melancholijne. W medycynie ludowej nostrzyk ceniono przede wszystkim za działanie antyseptyczne. Suszone ziele stosowano jako dodatek do maści, rozcieńczonym naparem przemywano oczy, a zaparzone zioła podawano w celu poprawy trawienia i łagodzenia bólu głowy. Świeże liście przykładano natomiast do bolesnych zwichnięć stawów i niewielkich skaleczeń [2].

Macierzanka wonna zawdzięcza swój charakterystyczny zapach siana kumarynie obecnej w liściach. Słodko pachnące girlandy z tej rośliny wykorzystywano do ozdabiania świątyń oraz wypychania materacy. Podobnie jak w przypadku nostrzyka, liście macierzanki wkładano pod dywany i prześcieradła, aby odstraszać mole. Zmiażdżone liście stosowano na rany w celach antyseptycznych, natomiast napar z macierzanki podawano w celu łagodzenia bólu brzucha [2].

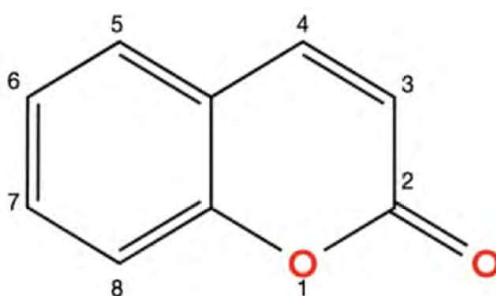
Ziele ruty – pierwowzór trefli w kartach – miało chronić przodków przed zarazą. Złodzieje zażywali napój zawierający rutę w celu profilaktyki przed dżumą, którą mogli się zarazić od ofiar rabunku. Grecy stosowali rutę jako dodatek do uniwersalnej odtrutki. Napar z ziele miał stymulować apetyt i menstruację. Zalecano jej stosowanie przy problemach z ciśnieniem, histerii oraz drgawkach [2].

W medycynie ludowej kora tonkowca wonnego była wykorzystywana jako środek ściągający i przeciwgorączkowy, a odwar z niej, czasami łączony z lokalnymi ziołami, podawano dzieciom w celu wzmocnienia organizmu. Nasiona *Dipteryx odorata*, dzięki zawartości kumaryny, stosowano w leczeniu astmy, gruźlicy, drgawek oraz jako wsparcie dla serca i układu rozrodczego. Tradycyjnie rośliny tej używano także przy kaszlu, biegunkach i chorobach pasożytniczych, takich jak schistosomatoza. Odwar z nasion podawano w czasie przeziębienia, a wyciąg alkoholowy na rumie służył do nacierania przy ukąszeniach węży, stłuczeniach oraz dolegliwościach reumatycznych. Olej tłoczony z nasion stosowano przy problemach żołądkowych, aftach w jamie ustnej oraz w celu wspomagania wzrostu włosów. Zimnych naparów z nasion używano do płukania gardła lub ucha w przypadku bólu i podrażnienia [3].

Budowa i właściwości kumaryn

Budowa

Kumaryny należą do grupy związków, które w swojej cząsteczce posiadają strukturę benzo- α -pironu, złożoną z połączenia pierścieni benzenu i α -pironu. Ze względu na budowę szkieletu węglowego można je również określić jako etery wewnętrzne hydroksykwasów oraz laktony kwasu cis-o-hydroksycynamonowego (kumarynowego), który, jako związek nietrwały, stabilizuje swoją cząsteczkę, samoistnie estryfikując się do zamkniętego pierścienia laktonu (ze względu na bliskie sąsiedztwo grup hydroksylowych i karboksylowych) (rys. 1).



Rysunek 1. Struktura kumaryny

Figure 1. Chemical structure of coumarin

Źródło: opracowanie własne.

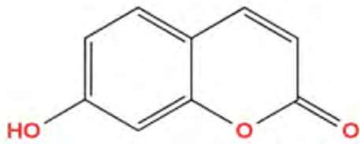
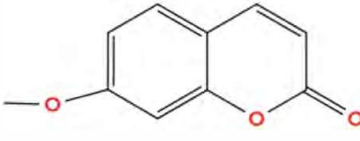
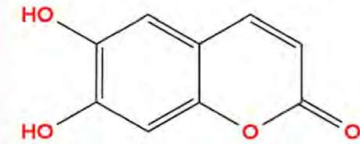
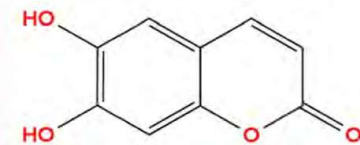
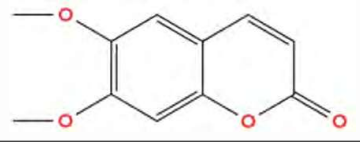
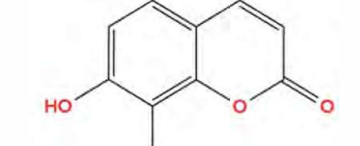
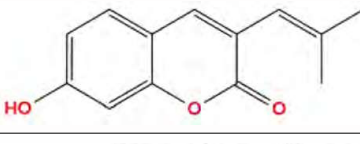
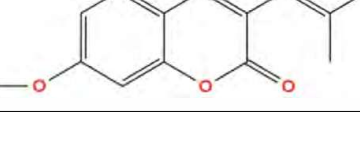
Kumaryny, w zależności od budowy podstawowej struktury, dzieli się na:

- kumaryny proste (z mostkiem tlenowym w pozycji 1);
- izokumaryny (z mostkiem tlenowym w pozycji 2);
- furanokumaryny (z dołączonym do benzo- α -pironu pierścieniem furanu):
 - typ psoralenu (forma liniowa) – pierścień furanu dołączony w pozycji C6–C7;
 - typ angelicyny (forma angularna) – pierścień furanu dołączony w pozycji C7–C8;

- piranokumaryny (z dołączonym do benzo- α -pironu pierścieniem piranu):
 - typ ksantyletyny – pierścień piranu dołączony w pozycji C6–C7;
 - typ seseliny – pierścień piranu dołączony w pozycji C7–C8.

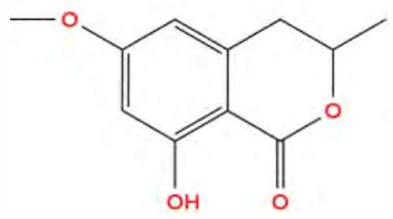
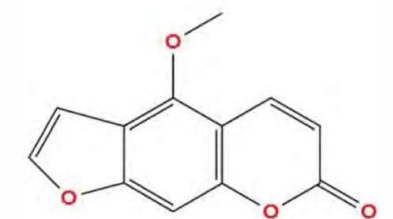
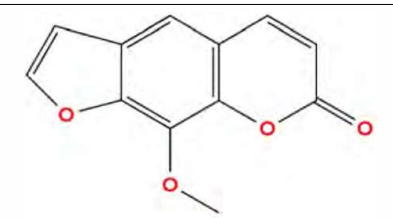
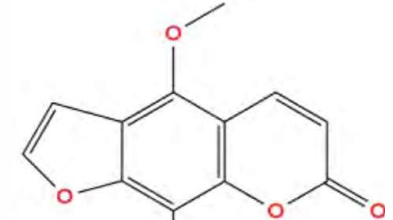
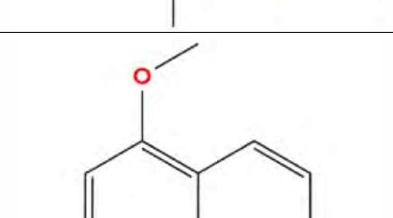
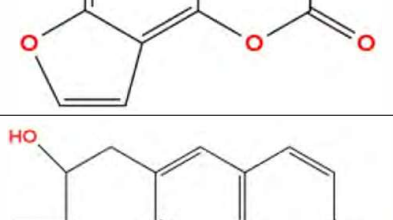
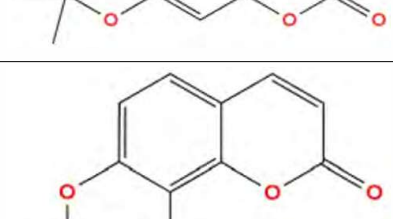
Najczęstsze podstawienia kumaryny występują przy atomach węgla: C–7, C–6, C–8, rzadziej C–5 i C–3. Dotyczą one grup hydroksylowych, metoksyłowych oraz łańcuchów alifatycznych.

Tabela 1. Podział kumaryny na typy wraz z przykładami
Table 1. Classification of coumarins, types with examples

Typ kumaryny	Nazwa związku	Miejsce podstawnika	Wzór chemiczny
Kumaryny proste	Umbeliferon	7-hydroksykumaryna	
	Herniaryna	7-metoksykumaryna	
	Eskuletyna	6,7-dihydroksykumaryna	
	Skopoletyna	6-metoksy-7-hydroksykumaryna	
Kumaryny proste	Skoparon	6,7-dimetyksykumaryna	
	Dafnetyna	7,8-dihydroksykumaryna	
	Ostenol	7-hydroksy-3-metylobut-2-en-1-ylokumaryna	
	Ostol	7-metoksy-3-metylobut-2-en-1-ylokumaryna	

Kumaryny i ich pochodne jako związki o szerokim spektrum aktywności...

Ciąg dalszy tabeli 1

Izokumaryny	6-metoksy-3-metylo-8-hydroksy-3,4- -dihydroisokumaryna		
Furanokumaryny (typ psoralen)	Bergapten	5-metoksypsoralen	
Furanokumaryny (typ psoralen)	Ksantotoksyna	8-metoksypsoralen	
	Izopimpinelina	5,8-dimeto-ksypsoralen	
Furanokumaryny (typ angeliczny)	Izobergapten	5-metoksyangelicyna	
Piranokumaryny (typ ksantyletyny)	Dekursinol	(3'-hydroksy-2',2'-dimetylopirano[5,6:6,7]kumaryna)	
Piranokumaryny (typ typ seseliny)	Seselina	(2',2'-dimetylo-3-pireno[6,5:7,8]kumaryna)	

Źródło: opracowanie własne [14].

Szkielet kumarynowy zawierają również związki, takie jak dikumarol, kumestrol i aflatoksyny, uważane za pochodne kumaryn. Dikumarol został odkryty na początku lat 20. XX wieku. Kanadyjski lekarz weterynarii, prof. Frank Schofield, odkrył, że związek ten powstaje w zgniłej koniczynie [4].

Natomiast kumestrol został po raz pierwszy zidentyfikowany jako związek o właściwościach estrogennych przez Emanuela M. Bickoffa w koniczynie ladino i lucernie w 1957 roku. Ostatnie wymienione pochodne – aflatoksyny – to grupa związków chemicznych zaliczanych do mykotoksyn. Są wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Aspergillus*.

Właściwości fizykochemiczne

W środowisku silnie zasadowym kumaryny tworzą rozpuszczalne w wodzie sole sodowe, które po obniżeniu pH powracają do postaci laktonu. W tkankach roślinnych związki te mogą występować w postaci wolnej lub glikozydowej. Postacie związane z cukrem są hydrofilowe i lepiej rozpuszczają się w wodzie niż kumaryny nieglukozydowane oraz furanokumaryny, które mają charakter lipofilowy [5].

Związki z tej grupy dobrze rozpuszczają się w etanolu, metanolu, benzenie, chloroformie oraz eterze etylowym lub naftowym, a na zimno – w acetonie i acetonitrylu. Podstawione kumaryny rozpuszczone w wodzie lub etanolu mają zdolność do fluorescencji. Kumaryny łatwo sublimują, mogą ulatniać się z parą wodną oraz wchodzić w skład frakcji olejkowej. Często nadają też specyficzną, słodką woń siana, zwłaszcza wysuszonym roślinom. Proces suszenia powoduje przekształcenie glikozydów kumarynowych w postaci laktonową. Bardziej reaktywne chemicznie laktony mogą prowadzić do reakcji alergicznych.

Surowce zawierające kumaryny

W przyrodzie kumaryny występują w roślinach naczyniowych, paprociach, rzadziej w grzybach z rodzaju *Aspergillus* i promieniowcach z rodzaju *Streptomyces*. Obficie gromadzą się w owocach, korzeniach, nasionach i pączkach liściowych.

Do najpopularniejszych surowców kumarynowych (które są bogatym źródłem kumaryn – tab. 2) zalicza się: *Fraxini folium*, *Fraxini cortex*, *Meliloti herba*, *Rutae folium*, *Rutae herba*, *Ammi majoris fructus* [6].

Tabela 2. Wybrane surowce roślinne zawierające kumaryny

Table 2. Selected plant raw materials containing coumarins

Roślina (gatunek, rodzina)	Surowiec roślinny	Zawarte w surowcu kumaryny
<i>Fraxinus excelsior</i> L. – jesion wyniosły <i>Oleaceae</i> – oliwkowate	<i>Fraxini folium, cortex</i> – liść, kora jesionu	fraksetyna i 8-glukozyd fraksetyny (fraksyna), fraksydyna, izofraksydyna i 7-glukozyd izofraksydyny (kalikantozyd) oraz eskuletyna i 6-glukozyd eskuletyny (eskulina), skopoletyna
<i>Melilotus officinalis</i> L. – nostrzyk żółty <i>Melilotus altissimus</i> <i>Thuill.</i> – nostrzyk wyniosły <i>Fabaceae</i> – bobowate	<i>Meliloti herba</i> – ziele nostrzyka	3,4-dihydrokumaryna (melilotyna), umbeliferon (7-hydroksykumaryna), skopoletyna (7-hydroksy-6-metoksykumaryna)
<i>Ruta graveolens</i> L. – ruta zwyczajna <i>Rutaceae</i> – rutowate	<i>Rutae folium, herba</i> – liść, ziele ruty	furanokumaryny typu psoralenu: psoralen, bergapten, ksantotoksyna, izopimpinolina, rutaryna, izoimperatoryna, piranokumaryny: ksantyletyna, hydroksykumaryna: umbeliferon; metoksykumaryna: herniaryna
<i>Ammi majus</i> L. – aminek większy <i>Apiaceae</i> – selerowate	<i>Ammi Majoris fructus</i> – owoc aminka większego	furanokumaryny typu psoralenu (około 1%), głównie ksantotoksyna (ammoidyna), bergapten, imperatoryna, izopimpinolina oraz marmezyna i glukozyd marmezyny (marmezynina).

Źródło: opracowanie własne [5, 6].

Preparaty zawierające kumaryny dostępne na polskim rynku

Środki zawierające kumaryny od dawna są wykorzystywane w leczeniu różnych schorzeń i dolegliwości. Są to zarówno preparaty dostępne bez recepty, jak i leki wymagające jej posiadania. Na rynku spotyka się zarówno związki syntetyczne, jak i produkty roślinne bogate w te substancje.

Do najważniejszych syntetycznych środków należy warfaryna – antagonistą witaminy K o działaniu przeciwzkrzepowym, stosowany w profilaktyce i terapii chorób układu krążenia, m.in. w leczeniu zakrzepicy żył głębokich oraz zatorowości płucnej. Podaje się ją doustnie w postaci tabletek.

Podobne właściwości wykazuje acenokumarol, który również blokuje działanie witaminy K. Lek ten stosuje się w zapobieganiu i leczeniu powikłań zakrzepowo-zatorowych, w tym zatorów, zakrzepicy żył głębokich oraz udarów niedokrwiennych u pacjentów z migotaniem przedsionków. Podobnie jak w przypadku warfaryny, preparaty z acenokumarolem dostępne są w formie tabletek stosowanych doustnie.

Kumaryny obecne są także w produktach pochodzenia roślinnego, które wspomagają krążenie żyłne, zmniejszają obrzęki i łagodzą dolegliwości związane z hemoroidami. Nostrzyk żółty działa przeciwobrzękowo i wzmacnia naczynia krwionośne. Stosuje się go w postaci okładów i płukanek przy stanach zapalnych skóry.

Kasztanowiec uszczelnia ściany naczyń krwionośnych, redukując ich podatność na pęknięcie. Jest składnikiem kosmetyków poprawiających napięcie skóry, zwłaszcza przy cerze naczynkowej lub dojrzałej. Jego ekstrakty pomagają również przy obrzękach, krwiakach, zapaleniu ścięgien oraz żylakach.

Arcydzięgiel litwor dostępny jest w postaci syropów, kropli, płynów doustnych oraz suszu ziołowego. Zawarte w nim furanokumaryny stosuje się w terapii bielactwa i łuszczyca w połączeniu z promieniowaniem ultrafioletowym. Roślina wykazuje również działanie rozkurczowe i żółciopędne. Poza zastosowaniami leczniczymi kumaryna bywa wykorzystywana w kosmetyce i perfumerii jako utrwalacz zapachu, nadając produktom ciepły, lekko orientalny aromat.

Działanie związków kumarynowych w świetle wybranych badań

We współczesnej medycynie i farmacji nieustannie prowadzi się poszukiwania nowych cząsteczek, które mogłyby stać się alternatywą dla obecnie stosowanych terapii. Rosnąca oporność bakterii na antybiotyki oraz potrzeba opracowania metod leczenia nowotworów o mniejszej toksyczności wobec zdrowych komórek sprawiają, że zapotrzebowanie na innowacyjne rozwiązania jest coraz większe. Szczególnym zainteresowaniem cieszą się związki, które działają wielokierunkowo – czyli potrafią wpływać na przebieg za pomocą więcej niż jednego mechanizmu.

Coraz więcej badań wskazuje, że kumaryny mogą stanowić obiecującą alternatywę dla dotychczasowych terapii. Te naturalne związki wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej – działają przeciwnowotworowo, przeciwwirusowo i przeciwbakteryjnie, a dodatkowo są badane pod kątem zastosowania w terapii chorób neurodegeneracyjnych oraz schorzeń układu krążenia. Co więcej, ich podstawowa struktura chemiczna – szkielet benzo- α -pironu – stanowi punkt wyjścia do syntezy nowych pochodnych kumaryn. Cecha ta sprawia, że możliwości wykorzystania kumaryn w medycynie są bardzo szerokie, a badacze wciąż odkrywają kolejne potencjalne zastosowania tych związków.

Choroby nowotworowe

W literaturze związkom kumarynowym przypisuje się właściwości przeciwnowotworowe. W badaniach pochodnych benzo- α -pironu aktywność tę tłumaczy się między innymi mechanizmem apoptozy zależnej od kaspaz [7]. Testowano także

wpływ kumaryn na ekspresję onkoprotein Bcl-2 i Bax w raku płuca (linie komórkowe A427 i Calu-1) metodą Western blot. Kumaryna i jej pochodna, 7-hydroksykumaryna, dodane do hodowli komórek A427, obniżały ekspresję białka Bcl-2 i zwiększały ilość białka Bax [8], tym samym wykazując działanie przeciwnowotworowe.

W innym badaniu analizowano właściwości antyproliferacyjne hybryd kumaryn z trifenyletylenem. Jeden ze związków – TCH-5c – hamował m.in. angiogenezę poprzez zatrzymywanie wydzielania VEGF, zwiększał ekspresję białka p21, indukując zatrzymanie cyklu w fazie G0/G1, oraz hamował powstawanie guzów wywołanych przez komórki SK-BR-3 in vivo (badania na modelu myszy nagiej) [9]. Wyniki wskazały na potencjalne znaczenie pochodnych kumaryn w opracowywaniu nowych strategii terapii raka piersi.

W kolejnym eksperymencie metodą Western blot zbadano wpływ eskuletyny (6,7-dihydroksykumaryny) na ludzkie komórki białaczki HL-60. Związek ten występuje głównie w korze oraz nasionach kasztanowca. Wyniki badań obejmowały:

- wzrost poziomu białka pRb;
- spadek poziomu białka CDK4;
- nadekspresję białka p27;
- spadek poziomu cykliny D1.

Wpływ pochodnej kumaryny na powyższe regulatory cyklu komórkowego sugeruje, że eskuletyna może hamować wzrost ludzkich komórek białaczki HL-60, zatrzymując je w fazie G1 cyklu komórkowego [10].

W następnym badaniu analizowano działanie indolilokumaryny nazwanej cofiną na nowotwór nerkowokomórkowy. Stwierdzono, że związek ten blokuje przejście cyklu komórkowego do fazy G2/M, indukował następnie proces apoptozy, hamował tworzenie mikrotubul i wykazywał silną aktywność przeciwnowotworową wobec hodowli monowarstwowych oraz sferoidów – trójwymiarowych skupisk komórek nowotworowych. Ponadto pochodna kumaryny zmniejszała aktywność pomp P-gp i BCRP [11]. Właściwość ta może być niezwykle istotna przy poszukiwaniu alternatywy dla ksenobiotyków ulegających wypompowaniu z komórek organizmu przez powyższe białka.

Choroby układu krążenia

W terapii chorób układu krążenia wspierająco stosuje się pochodne kumaryny, które charakteryzują się właściwościami przeciwzkrzepowymi. Do tej grupy należą związki syntetyczne, takie jak wspomniany wcześniej acenokumarol oraz dihydroksykumaryna (tab. 1), które są wykorzystywane zarówno w profilaktyce, jak i leczeniu zakrzepicy żyłnej oraz zatorów. Ponadto leki te znajdują zastosowanie w prewencji

powikłań sercowo-naczyniowych, na przykład w chorobie niedokrwiennej serca oraz u pacjentów z migotaniem przedsionków, u których zmniejszają ryzyko udaru mózgu. Warto przy tym zaznaczyć, że terapia kumarynowa wymaga regularnego monitorowania krzepliwości krwi (INR), aby uniknąć ryzyka krwawień lub niedostatecznej antykoagulacji.

Pochodne benzo- α -pironu opisuje się także jako cząsteczki wykazujące działanie hipotensyjne. W jednym z badań ekstrahowano związki z kory *Mammea africana* metodą maceracji. Za pomocą chromatografii flash przeprowadzono frakcjonowanie. Jedną z uzyskanych frakcji, zawierającą bioaktywne pochodne kumaryn (4-n-propylokumaryny, 4-fenylokumaryny), wykazywała efekt wazorelaksacyjny, powodujący rozkurcz mięśni gładkich w ścianie naczyń krwionośnych. Przypuszcza się, że związki te mogły mieć wpływ na rozszerzenie naczyń krwionośnych [12].

W badaniu oceny aktywności naczyniowej związków kumarynowych i flawonoidowych pozyskanych z nasion gatunków *Casimiroa* zaobserwowano wazorelaksację tętnic u szczurów. Wśród wyizolowanych związków wymienia się: herniarynę, imperatorynę oraz 8-geranyloksypsoralen. Wskazano, że imperatoryna rozszerza naczynia skuteczniej niż acetylocholina i posiada istotne właściwości antyoksydacyjne, co sugeruje, że może odegrać ważną rolę w zwalczaniu nadciśnienia i chorób naczyń [13]. W literaturze wymieniane są także inne pochodne kumaryn, wykazujące działanie hipotensyjne, m.in. skopoletyna, wisnadyna czy wyizolowany z *Phlojodicarpus sibiricus* khellacton [14].

W innych badaniach dla pochodnych kumaryn wykazano aktywność wspierającą mięsień sercowy. Sprawdzano działanie piranokumaryny: 3'-angeloyloksy-4'-acetoksy-3',4'-dihydroselesiny (Pd-Ia) na hemodynamikę sercowo-naczyniową oraz regionalną dysfunkcję mięśnia sercowego po przemijającej niedokrwistości u znieczulonych psów z otwartą klatką piersiową. Stwierdzono, że Pd-Ia działa jak antagonistą kanałów wapniowych (Ca^{2+}), podobnie jak diltiazem, lecz jest około 10 razy mniej skuteczny w obniżaniu średniego ciśnienia aortalnego, iloczynu ciśnienia oraz częstości skurczów. Dodatkowo poprawia funkcję niedokrwionego i reperfundowanego mięśnia sercowego [15]. Cechy te mogą wskazywać, że piranokumaryna jako analog diltiazemu wykazuje również potencjalne właściwości kardioprotekcyjne.

W kolejnym badaniu oceny aktywności biologicznej kumaryny i jej pochodnych w kontekście uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego serca zwrócono uwagę na pochodną 4-metylo-7-fenylokumaryny. Cząsteczka ta istotnie zmniejszała obszar zawału w izolowanym modelu serca szczura, zwiększała ciśnienie w lewej komorze oraz prawdopodobnie aktywowała kanały wapniowe typu L (efekt zniesiony w eksperymencie przez nifedypinę – lek stosowany w leczeniu nadciśnienia, będący blokerem kanałów wapniowych) [16]. Wyniki sugerują, że 4-metylo-7-fenylokumaryna może być w przyszłości stosowana w leczeniu niewydolności serca.

Choroby wirusowe

Szereg badań wskazuje na aktywność przeciwwirusową związków kumarynowych. W jednym z nich testowano właściwości zsyntetyzowanych nienukleozydowych analogów amidowych, w tym pochodnej kumaryny – [2-(pirydyn-2-ylometoksy) fenylo]amidu kwasu 2-oksy-2H-chromeno-3-karboksylowego (HL1). Zaobserwowano, że związek ten unieczynniał wirusa HSV-1F i redukował liczbę płytek wirusowych, wykazując działanie przeciwwirusowe ($EC_{50} = 37,20 \mu\text{g/ml}$, gdzie EC_{50} to stężenie substancji, przy którym obserwuje się 50% maksymalnego efektu biologicznego danego związku; im niższa wartość EC_{50} , tym silniejsze działanie związku), słabsze niż w przypadku acyklowiru ($EC_{50} = 2,8 \mu\text{g/ml}$) [17]. Związek HL1 mógłby być rozważany jako alternatywa w leczeniu HSV-1F, zwłaszcza w przypadkach oporności na standardowe leki nukleozydowe [17].

W kolejnym badaniu wykazano aktywność pochodnej kumaryny – 1-[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetyloglukopiranozylo)-1''-yl]-2-[(6'-bromokumaryn-3'-yl)metylotiono]benzimidazolu względem wirusa zapalenia wątroby typu C. Przy stężeniu $5,0 \mu\text{M}$ związek ten hamował replikację RNA HCV w 90%, nie wpływając jednocześnie na proliferację komórek [18]. Obserwowane zahamowanie HCV nie wynikało z toksyczności cząsteczki wobec komórek, lecz jej ukierunkowanego działania na wirusa, co czyni ją obiecującym środkiem leczniczym przeciw HCV.

Literatura opisuje grupy kumaryn hamujące aktywność enzymów HIV: proteazy i integrazy. Należą do nich m.in. 4-hydroxykumaryny, furanokumaryny oraz 3- i 4-fenylokumaryny. Ponadto wykazano silne działanie tricyklicznej pochodnej kumaryny 5-metoksy-2,2-dimetylo-6-(2-metylo-1-okso-2-butenylo)-10-propylo-2H,8H-benzo [1,2-b;3,4-bo]dipiran-8-onu pozyskiwanej z kory *Calophyllum brasiliense*. Cząsteczka ta hamuje aktywację NF- κ B i zmniejsza płynność błon, utrudniając wnikanie wirusa.

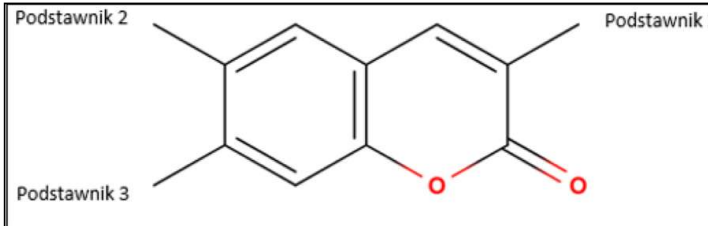
Opisane zostały także pochodne kumaryn działające na białka wirusa grypy H1N1 oraz H3N2. Tiazolilokumaryny i biskumaryny hamują neuraminidazę i hemaglutyninę, utrudniając wnikanie wirusa do wnętrza komórki i jego uwalnianie po replikacji. Innej pochodnej – eleuterozydowi B1 – przypisano silne działanie przeciwwirusowe, jeśli jest podawany w ciągu 6 godzin od zakażenia wirusem grypy. Stwierdzono, że związek ten hamuje ekspresję białek strukturalnych wirusa oraz ekspresję chemokin i cytokin [1].

Choroby bakteryjne

W przypadku pochodnych kumaryn obserwuje się także aktywność przeciwbakteryjną. Badano wpływ tych związków na fitopatogen *Ralstonia solanacearum*. Stwierdzono, że cząsteczki dafnertyny, eskuletyny i umbeliferonu ograniczają rozwój bakterii (MIC odpowiednio 64, 192 i 256 mg/l, gdzie MIC to z ang. *minimum*

inhibitory concentration – minimalne stężenie hamujące; najniższe stężenie substancji (np. antybiotyku, związku chemicznego, ekstraktu roślinnego), które całkowicie hamuje wzrost danego mikroorganizmu *in vitro*). Dodatkowo wykazano, że grupy –OH przyłączone do struktury benzo- α -pironu w pozycjach C-6, C-7 lub C-8 mogą zwiększać aktywność przeciwbakteryjną związku. Wśród mechanizmów działania wymienia się mechaniczne niszczenie błony komórkowej oraz hamowanie tworzenia biofilmu [19].

W innym badaniu zsyntetyzowano dwie serie związków: pochodne 3-arylokumaryny (rys. 2) oraz analogi kumaryny z podstawnikiem arylowym związanym poprzez grupę etynyłową (rys. 3). Związki te testowano w hodowlach czterech popularnych bakterii: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) i *Escherichia coli* (*E. coli*). Bakterie te są różnorodne pod względem budowy, środowiska życia oraz wpływu na organizmy żywe. Niektóre są częścią naturalnej flory jelitowej (np. *E. coli*), a inne mogą powodować choroby, np. *S. aureus* czy *P. aeruginosa*. Wśród testowanej grupy związków wyróżniono aktywność przeciwbakteryjną pochodnej kumaryny, jednej z pochodnych podstawionych grupą metoksy (–OMe) w pozycji C-3. Wykazywała ona najniższe wartości MIC (minimalne stężenie hamujące) wśród analizowanych związków. Dodatkowo charakteryzowała się wysokim powinowactwem wiązania i istotnymi wartościami hamowania wzrostu, podobnie jak pochodne o symbolach A5, B6 i B8 (rys. 2 i rys. 3) [20].

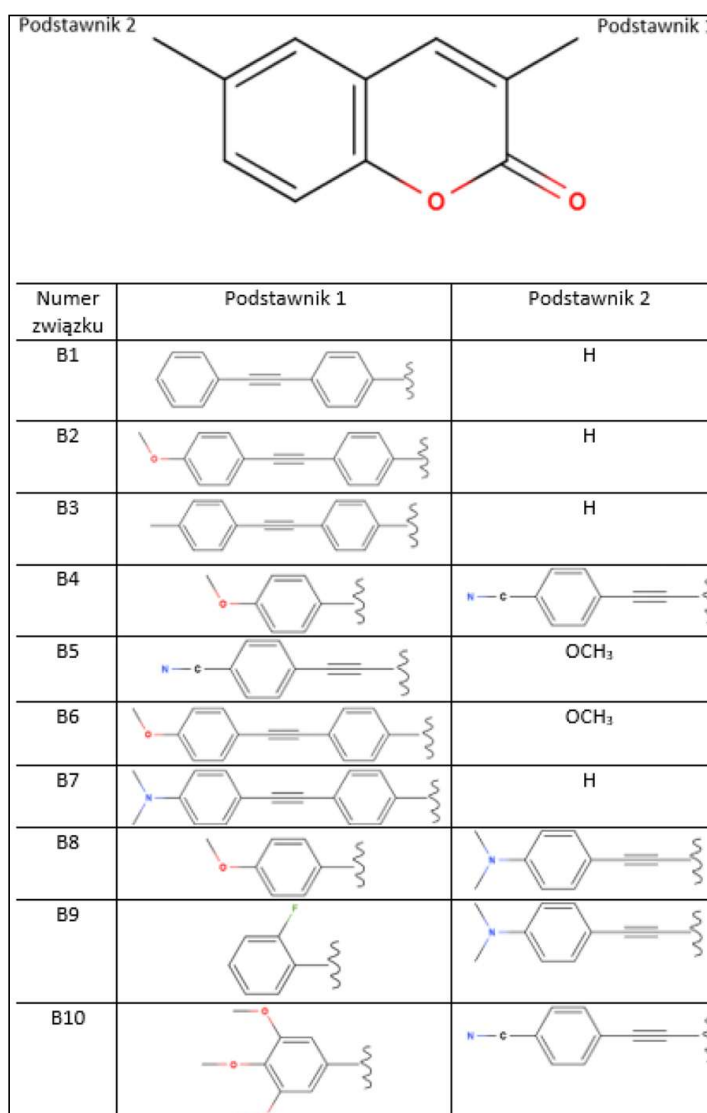


Numer związku	Podstawnik 1	Podstawnik 2	Podstawnik 3
A1	4-bromofenylo	H	H
A2	4-metylofenylo	H	H
A3	4-metoksyfenylo	H	H
A4	1-naftylo	H	H
A5	3,4,5-trimetoksyfenylo	H	H
A6	3-cyjanofenylo	H	H
A7	4-metoksyfenylo	OCH ₃	H
A8	4-chlorofenylo	OCH ₃	H
A9	benzylo	OCH ₃	H
A10	1-naftylo	OCH ₃	H
A11	1-naftylo	H	Cl
A12	4-metoksyfenylo	Br	H
A13	2-fluorofenylo	H	OCH ₃
A14	2-bromo-4-metoksyfenylo	Br	H
A15	4-bromofenylo	OCH ₃	H

Rysunek 2. Zestaw podstawników dla 3-arylokumaryn

Figure 2. A set of substituents for 3 arylcoumarins

Źródło: opracowanie własne na podstawie [20].



Rysunek 3. Zestaw podstawników dla kumaryn z podstawnikiem arylovym związanym poprzez grupę etynylową

Figure 3. A set of substituents for coumarins with an aryl substituent linked via an ethynyl group

Źródło: opracowanie własne na podstawie [20].

Kolejny eksperyment obejmował wpływ ekstraktu z *Aegle marmelos* na bakterię *Shigella dysenteriae* i zainfekowany nią organizm. Zauważono, że ekstrakt ten przyczynia się do utraty wirulencji i zmniejszenia przeżywalności bakterii. Za mechanizm działania przeciwbakteryjnego uznano stres oksydacyjny, któremu ulega *S. dysenteriae*, w wyniku hamowania aktywności dysmutazy ponadtlenkowej miedziowo-cynkowej (Cu-Zn SOD) – enzymu chroniącego bakterie przed wolnymi rodnikami. Badania wykazały, że za hamowanie dysmutazy odpowiedzialna jest imperatoryna – pochodna kumaryny, będąca składnikiem ekstraktu z *Aegle marmelos* [21].

Choroby skóry

Jedną z form terapii praktykowaną w dermatologii jest fotochemioterapia, nazywana inaczej PUVA. Stosuje się ją w leczeniu chorób skóry, takich jak łuszczyca, atopowe zapalenie skóry (AZS), bielactwo czy egzema. Terapia ta polega na przy-

mowaniu przez pacjenta psoralenu (furanokumaryny), który ma właściwości fotouczulające, przez co zwiększa wrażliwość skóry na światło. Kolejnym etapem jest ekspozycja skóry chorego na promieniowanie ultrafioletowe typu A, które hamuje proliferację komórek odpowiedzialnych za choroby skóry. W zależności od rodzaju PUVA ciało pacjenta naświetlane jest w całości (terapia klasyczna) bądź miejscowo (PUVA topical).

Badacze wyjaśniają mechanizm działania terapii PUVA poprzez powstawanie fotoproduktów w błonach komórkowych. Związki te indukują kinazy regulujące proliferację keratynocytów i zmniejszające aktywność limfocytów T. Dodatkowo zmiana profilu wydzielanych cytokin oraz nadekspresja białek apoptotycznych [22] skutkują zmniejszeniem stanu zapalnego, ustępowaniem zmian skórnych i wydłużeniem remisji chorób skóry.

Inną aktywność biologiczną przypisano natomiast eskuletynie, będącej jednym z głównych składników ekstraktu z *Fraxinus chinensis*. Badacze wykazali, że ta pochodna kumaryny ma silne działanie antyoksydacyjne względem rodnika DPPH ($IC_{50} = 2,1 \mu\text{g/mL}$) i anionów nadadtlenkowych ($IC_{50} = 0,6 \mu\text{g/mL}$), gdzie wartość IC_{50} definiuje się jako stężenie inhibitora, przy którym hamowanie określonej reakcji biologicznej wynosi 50%. Im niższa wartość IC_{50} , tym bardziej aktywny związek. Sam ekstrakt z rośliny wykazywał słabsze wartości: IC_{50} DPPH = $50 \mu\text{g/mL}$ oraz IC_{50} dla anionów nadadtlenkowych = $19,8 \mu\text{g/mL}$. Dodatkowo zaobserwowano, że eskuletyna powoduje zależny od dawki spadek ekspresji mRNA i białka MMP-1 w fibroblastach wystawionych na ekspozycję UVA [23]. Stąd można wskazać eskuletynę jako potencjalny środek spowalniający starzenie skóry.

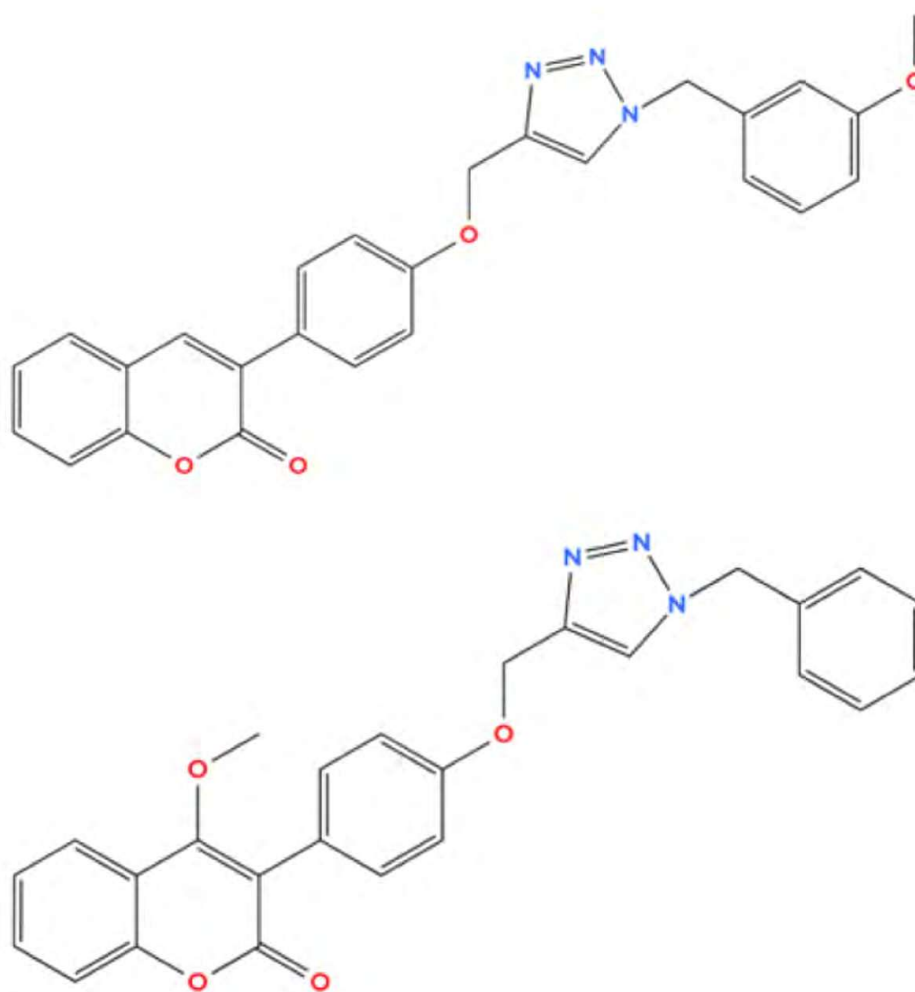
Choroby neurodegeneracyjne

Pochodne kumaryn obserwuje się również pod kątem ich korzystnego wpływu na układ nerwowy. Badano pochodne benzo- α -pironu: LM-031 i jego analogi w komórkach linii SH-SY5Y w modelu sprzyjającym agregacji białka tau (jednego z patomechanizmów chorób neurodegeneracyjnych). Wykazano, że związki kumarynowe zmniejszają agregację patogennego białka oraz ilość wolnych rodników. Ponadto ograniczają apoptozę komórek poprzez hamowanie kaspaz 1, 3 i 6 oraz sprzyjają wzrostowi wypustek nerwowych. Udowodniono także oddziaływanie cząsteczek LMDS-1/2 (analogów LM-031) z receptorem TRKB dla czynnika neurotroficznego BDNF, który wspiera funkcjonowanie neuronów [24].

W ostatnich latach badano wpływ wielu naturalnych i syntetycznych kumaryn na centralny układ nerwowy. Eksperymentowano z pochodnymi kumaryn i ich wielokierunkowym działaniem w leczeniu choroby Alzheimera (AD). Choroba ta jest nieuleczalną chorobą neurodegeneracyjną, której towarzyszy przewlekły proces

zapalny. Wybrany związek (rys. 4) przypisano zdolność do umiarkowanego hamowania butyrylocholinoesterazy oraz redukcji stanów zapalnych poprzez inhibicję lipooksygenazy. Dodatkowo stwierdzono, że zbadane pochodne kumaryn działają neuroprotekcyjnie w kontekście ochrony komórek przed wolnymi rodnikami tlenowymi [25]. Pomimo że zdolność do inhibicji badanych cząsteczek jest umiarkowana, to w zestawieniu z aktywnością antyoksydacyjną i przeciwzapalną stanowi cenne połączenie mechanizmów, które mogłoby być wykorzystane w opracowywaniu wielokierunkowych leków stosowanych w leczeniu choroby Alzheimera.

W innym badaniu testowano alkilowane pochodne kumaryn jako inhibitory enzymów związanych z degeneracją neuronów. Zaobserwowano aktywność hamującą oksydazę monoaminową (MAO) oraz anhidrazę węglanową [26]. Inhibicja tych enzymów skutkuje redukcją procesów neurozapalnych oraz ograniczeniem uszkodzeń neuronów przez wolne rodniki. Dlatego też pochodne kumaryn mogą być rozpatrywane jako środki zdolne do spowolnienia postępu choroby Alzheimera.



Rysunek 4. Pochodne kumaryn – inhibitory butyrylocholinoesterazy oraz lipooksygenazy

Figure 4. Coumarin derivatives – inhibitors of butyrylcholinesterase and lipoxygenase

Źródło: [20].

Podsumowanie

Kumaryny i ich pochodne stanowią wszechstronną oraz biologicznie aktywną klasę związków o istotnym znaczeniu dla farmacji, chemii medycznej oraz biotechnologii. Ich różnorodność strukturalna oraz możliwość ukierunkowanej modyfikacji chemicznej przekładają się na szerokie spektrum aktywności biologicznej, w tym właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, neuroprotektoryjne oraz przeciwnowotworowe. Coraz liczniejsze badania podkreślają, że kumaryny są obiecującymi cząsteczkami wykorzystywanymi w rozwoju nowoczesnej medycyny i mogą stanowić podstawę do opracowania skuteczniejszych i bardziej selektywnych strategii terapeutycznych.

Literatura

- [1] Mishra S., Pandey A., Manvati S., Coumarin: An emerging antiviral agent, *Heliyon*, 2020, 6(1), e03217.
- [2] Bremness L., *Wielka księga ziół, Wiedza i Życie*, Warszawa 1991.
- [3] *Salvia Paradise, Kumaru (Dipteryx odorata) – właściwości i zastosowanie*, <https://www.salviaparadise.pl/zielnik-roslin/kumaru-dipteryx-odorata/c-1212.html> (stan na dzień 27 lutego 2025).
- [4] Norn S., Permin H., Kruse E., Kruse P. R., On the history of vitamin K, dicoumarol and warfarin, *Dan Medicinhist Arbog*, 2014, 42, s. 99–119.
- [5] Kohlmunzer S., *Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji*, PZWL, Warszawa 1997.
- [6] Matławska I., *Farmakognozja*, Wydawnictwo UM, Poznań 2008, s. 183–188.
- [7] Küpeli Akkol E., Genç Y., Karpuz B., Sobarzo-Sánchez E., Capasso R., Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer, *Cancers (Basel)*, 2020, 12(7), 1959.
- [8] Elinos-Báez C. M., León F., Santos E., Effects of coumarin and 7OH-coumarin on Bcl-2 and Bax expression in two human lung cancer cell lines in vitro, *Cell Biology International*, 2005, 29(8), s. 703–708.
- [9] Cui N., Lin D.-D., Shen Y., Shi J.-G., Wang B., Zhao M.-Z., Zheng L., Chen H., Shi J.-H., Triphenylethylene-coumarin hybrid TCH-5c suppresses tumorigenic progression in breast cancer mainly through the inhibition of angiogenesis, *Anticancer Agents Medicinal Chemistry*, 2019, 19(10), s. 1253–1261.
- [10] Wang C. J., Hsieh Y. J., Chu C. Y., Lin Y. L., Inhibition of cell cycle progression in human leukemia HL-60 cells by esculetin, *Cancer Letters*, 2002, 183(2), s. 163–168.
- [11] Champelovier P., Barbier P., Daras E., Douillard S., Toussaint B., Persoon V., Curri V., Peyrot V., Combes S., The indolylcoumarin COUFIN exhibits potent activity against renal carcinoma cells without affecting hematopoietic system, *Anticancer Agents Medicinal Chemistry*, 2014, 14(6), s. 862–871.

- [12] Dongmo A. B., Azebaze A. G. B., Nguelefack T. B., Ouahouo B. M., Sontia B., Meyer M., Nkengfack A. E., Kamanyi A., Vierling W., Vasodilator effect of the extracts and some coumarins from the stem bark of *Mammea africana* (Guttiferae), *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 111(2), s. 329–334.
- [13] Bertin R., Chen Z., Martínez-Vázquez M., García-Argaéz A., Frolidi G., Vasodilation and radical-scavenging activity of imperatorin and selected coumarinic and flavonoid compounds from genus *Casimiroa*, *Phytomedicine*, 2014, 21(5), s. 586–594.
- [14] Bielawska K., Malinowska M., Cyuńczyk M., Wpływ kumaryn na organizm człowieka, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2014, 47(2), s. 213–221.
- [15] Chang T. H., Adachi H., Mori N., Saito I., Okuyama T., Effects of a pyranocoumarin compound isolated from a Chinese medicinal plant on ischemic myocardial dysfunction in anesthetized dogs, *European Journal Pharmacology*, 1994, 258(1-2), s. 77–84.
- [16] Figueroa-Valverde L., Rosas-Nexticapa M., Alvarez-Ramirez M., Melgarejo-Gutiérrez M., Mateu-Armand V., Garcimarrero-Espino A., Biological activity of a coumarin derivative on heart failure using an ischemia/reperfusion injury model, *Drug Res (Stuttg)*, 2024, 74(2), s. 47–52.
- [17] Mahapatra A. D., Patra C., Sepay N., Sinha C., Chattopadhyay D., Anti-HSV nucleoside and non-nucleoside analogues: spectroscopic characterisation of naphthyl and coumarinyl amides and their mode and mechanism of antiviral action, *3 Biotech*, 2023, 13(7), s. 245.
- [18] Hwu J. R., Singha R., Hong S. C., Chang Y. H., Das A. R., Vliegen I., De Clercq E., Neyts J., Synthesis of new benzimidazole-coumarin conjugates as anti-hepatitis C virus agents, *Antiviral Research*, 2008, 77(2), s. 157–162.
- [19] Yang L., Ding W., Xu Y., Wu D., Li S., Chen J., Guo B., New insights into the antibacterial activity of hydroxycoumarins against *Ralstonia solanacearum*, *Molecules*, 2016, 21(4), 468.
- [20] Prabhala P., Sutar S. M., Savanur H. M., Joshi S. D., Kalkhambkar R. G., In vitro antimicrobial combat, molecular modelling and structure activity relationship studies of novel class of aryl-ethyne tethered coumarin analogues and some 3-aryl coumarin derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 2022, 5, 100048.
- [21] Raja S. B., Murali M. R., Roopa K., Devaraj S. N., Imperatorin, a furocoumarin, inhibits periplasmic Cu-Zn SOD of *Shigella dysenteriae* thereby modulating its resistance towards phagocytosis during host–pathogen interaction, *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(8), s. 560–568.
- [22] Zarebska Z., Waszkowska E., Caffieri S., Dall'Acqua F., PUVA (psoralen + UVA) photochemotherapy: processes triggered in the cells, *Il Farmaco*, 2000, 55(8), s. 515–520.
- [23] Lee B. C., Lee S. Y., Lee H. J., Sim G.-S., Kim J.-H., Kim J.-H., Cho Y.-H., Lee D.-H., Pyo H.-B., Anti-oxidative and photo-protective effects of coumarins isolated from *Fraxinus chinensis*, *Arch Pharm Res*, 2007, 30(10), s. 1293–1301.

- [24] Lin T.-H., Küçükılınç T. T., Khoshtale F., Ayazgök B., Nadri H., Farokhi Alashti F., Forootanfar H., Akbari T., Shafiei M., Foroumadi A., Sharifzadeh M., Shafiee Ardestani M., Abaee M. S., Firoozpour L., Khoobi M., Mojtahedi M. M., Neuroprotective action of coumarin derivatives through activation of TrkB–CREB–BDNF pathway and reduction of caspase activity in neuronal cells expressing pro-aggregated tau protein, *International Journal Molecular Sciences*, 2022, 23(21), 12734.
- [25] Pourabdi L. i wsp., Synthesis of new 3-arylcoumarins bearing N-benzyl triazole moiety: Dual lipoxygenase and butyrylcholinesterase inhibitors with anti-amyloid aggregation and neuroprotective properties against Alzheimer's disease, *Frontiers Chemistry*, 2022, 9, 810233.
- [26] Berrino E., Carradori S., Carta F., Melfi F., Gallorini M., Poli G., Tuccinardi T., Fernández-Bolaños J. G., López Ó., Petzer J. P., Petzer A., Guglielmi P., Secci D., Supuran C. T., A multitarget approach against neuroinflammation: alkyl substituted coumarins as inhibitors of enzymes involved in neurodegeneration, *Antioxidants*, 2023, 12(12), 2044.