

Marta Malinowska, Katarzyna Bielawska

## METABOLIZM I WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE KUMARYN

Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. E. Skrzydlewska

Hasła kluczowe: kumaryny, metabolizm, stres oksydacyjny, działanie prooksydacyjne.

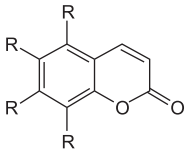
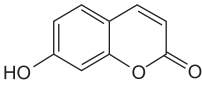
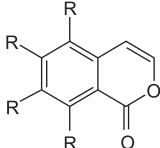
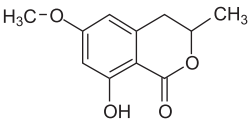
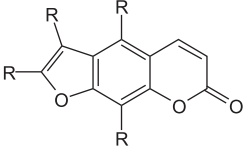
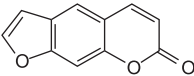
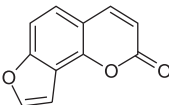
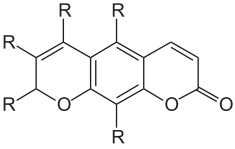
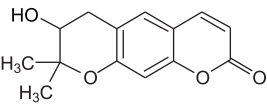
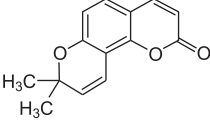
Key words: coumarins, metabolism, oxidative stress, prooxidative activity.

Kumaryny to grupa naturalnych związków występujących w owocach (głównie w cytrusach, borówce amerykańskiej, malinie nordyckiej), warzywach (głównie w pomidorach, brokułach, papryce, sałacie, cykorii), roślinach strączkowych, selerowatych, a także w licznych roślinach leczniczych (cynamonie, mięcie pieprzowej, zielonej herbacie, lubczyku) oraz w roślinach storczykowatych, motylkowatych i jasnotowatych (1). Kumaryny odznaczają się wielokierunkowym działaniem biologicznym i dzięki temu wykorzystywane są w medycynie naturalnej i farmacji. Podstawowy przedstawiciel tej grupy związków – kumaryna, wykazuje działanie uspokajające, przeciwozrętkowe, przeciwbólowe, a także działa spazmolitycznie na mięśnie gładkie przewodu pokarmowego, naczyń wieńcowych oraz oskrzeli i na skutek tego wykorzystywana jest w leczeniu i profilaktyce m.in. stanów skurczowych, zaporcia spastycznego, kolek i nerwic (2). 7-hydroksykumaryna (umbeliferon) występująca w roślinach z rodziny rutowatych (*Aegle marmelos* Correa i *Citrus aurantium*) absorbuje promieniowanie ultrafioletowe i z tego względu pochodne tego związku (np. octan umbeliferonu) znalazły zastosowanie przy produkcji kosmetyków przeciwsłonecznych (3). Natomiast 6-glikozyd 6,7-dihydroksykumaryny (eskulina), występujący głównie w korze kasztanowca, dzięki hamowaniu aktywności hialuronidazy poprawia szczelność i elastyczność drobnych naczyń krwionośnych, dzięki czemu hamuje krwawienia. Wykorzystywany jest w związku z tym w leczeniu zylaków, hemoroidów czy owrzodzeń (4). Ponadto, kumaryny stosowane są w leczeniu przeciwnowotworowym oraz w leczeniu HIV (5). Ze względu na charakterystyczny zapach, kumaryny stosowane są także jako dodatek do perfum, past do zębów oraz w przemyśle spożywczym jako dodatek do niektórych wyrobów alkoholowych (tj. wódka Żubrówka, likiery, wina grzane) oraz w produktach spożywczych zawierających cynamon (tj. ciastka, pierniki, płatki śniadaniowe, gummy do żucia, gotowe dania dla dzieci, herbaty). Ponieważ kumaryny są składnikami wielu roślin, pojawiają się wraz z nimi również w znacznych ilościach w przyprawach do zup, mięs, sosów oraz w suplementach diety (6).

Kumaryna [2H-1-benzopirany-2-on, 2H-chromeny-2-on] należy do grupy związków fenolowych, których szkielet zbudowany jest z dwóch połączonych pierście-

Tabela I. Podział naturalnych kumaryny

Table I. Classification of natural coumarins

Grupa kumaryny	Wzór ogólny	Przedstawiciel
kumaryny		 umbeliferon 7-hydroxycumaryna
izokumaryny		 6-metoksy-3-metylo-8-hydroksy- 3,4- -dihydroisokumaryna
furanokumaryny		 psolaren (furano[3,2:6,7]kumaryna)   angelicin (furanoo[2,3:7,8]kumaryna)
piranokumaryny		 dekursinol (3'-hydroksy-2',2'- -dimetylopirano[5,6:6,7]kumaryna)   seselina (2',2'-dimetylo-3- -pireno[6,5:7,8]kumaryna)

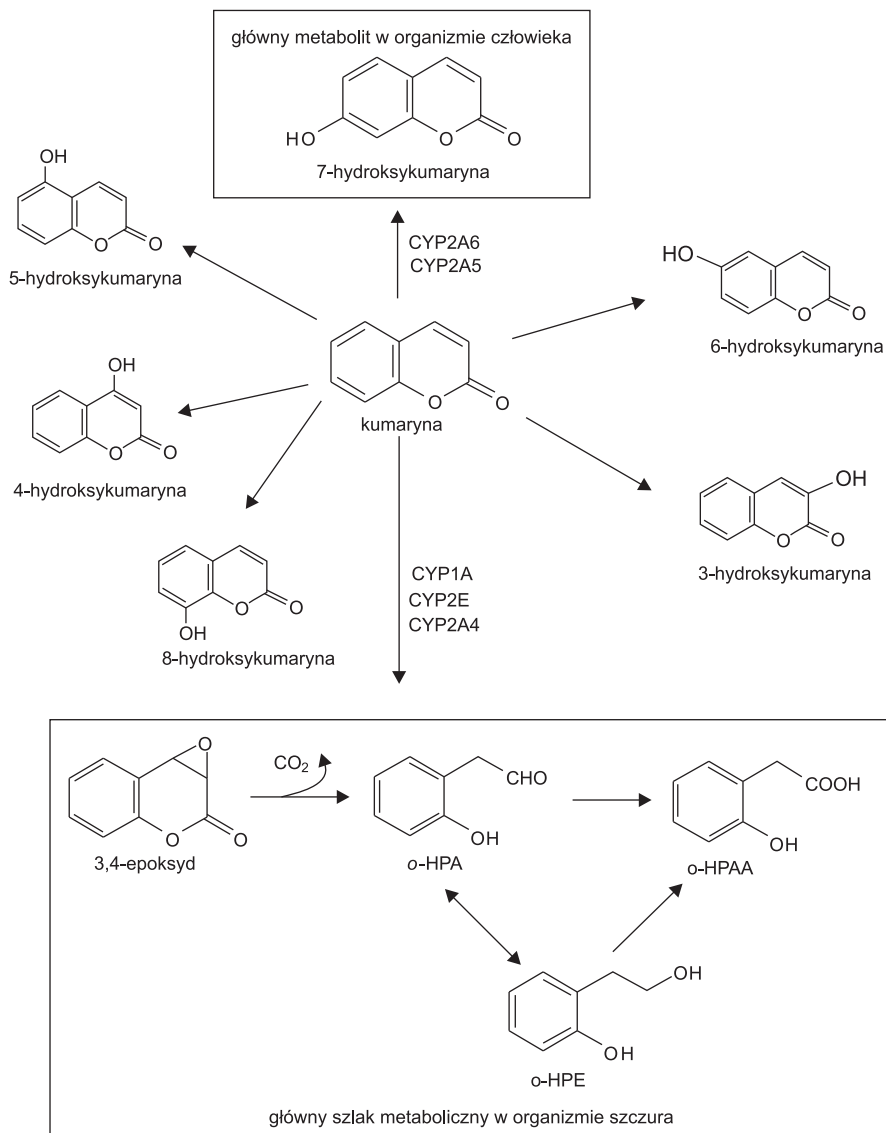
gdzie: R- H, OH, OCH<sub>3</sub>, alkil

ni: benzenu i  $\alpha$ -pironu. Po raz pierwszy niepodstawiona kumaryna została wyizolowana w XIX w. z Bobu Tonka (*Coumarouna odorata*), któremu zawdzięcza swoją nazwę. Kumaryna i jej naturalne pochodne, nazywane potocznie kumarynami, są wtórnymi metabolitami wielu roślin, a także niektórych mikroorganizmów. Szczególnie wysokie stężenie kumaryn występuje w oleju z niektórych partii Cynamonowca Chińskiego. Zidentyfikowano ponad 1300 naturalnie występujących pochodnych kumaryny, które często traktuje się, jako cykliczne laktony kwasu *cis-o*-hydroksycynamonowego (kwasu kumarynowego), odznaczającego się samoistną tendencją do tworzenia laktonu w wyniku wewnątrzcząsteczkowej reakcji estryfikacji. Prekursorami kumaryn są  $\beta$ -glikozydy kwasu kumarynowego oraz kumarowego (7).

Biorąc pod uwagę budowę cząsteczki, dzieli się je na: proste kumaryny, izokumaryny, furanokumaryny oraz piranokumaryny (tab. I). Do grupy prostych kumaryn należą pochodne kumaryny, z podstawnikami głównie w pozycji C-7, C-6 i C-3 szkieletu benzopironowego. Najczęściej występującymi podstawnikami są: grupa hydroksylowa, metoksylova oraz łańcuch alifatyczny. Kumaryny mogą występować, jako samodzielne cząsteczki bądź, jako aglikony w glikozydach ( $\beta$ -*O*-glikozydy) (7). Zostały wyizolowane z roślin, takich jak: *Coumarouna odorata*, *Haplophyllum patavinum*, *Aesculus hippocastanum*. Izokumaryny – pochodne benzo- $\alpha$ -izopironu z podstawnikami głównie w pozycjach C-3, C-6, C-7 i C-8, zostały wyizolowane z grzybów: *Artemisia*, *Aspergillus*, *Ceratocystis*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Streptomyces* oraz roślin z rodziny *Bignoniaceae*, *Compositae*, *Leguminosae*, *Myricaceae*. Wykazują one właściwości przeciwbakteryjne, tak jak fitoalexin wytwarzany m. in. przez korzenie marchwi w czasie infekcji grzybowej (8). Naturalnie występujące furanokumaryny to grupa pochodnych kumaryny, powstałych na skutek kondensacji szkieletu kumarynowego i pierścienia furanu. Można je dodatkowo podzielić na typ psolarenu (forma liniowa) i angelicyny (forma angularna). Furanokumaryny wyizolowano głównie z roślin należących do rodzin *Umbelliferae* i *Rutaceae* (9). Piranokumaryny natomiast powstają w wyniku kondensacji szkieletu kumarynowego z pierścieniem piranu, w pozycji C6-C7 (typu ksantyletyny) lub C7-C8 (typu seseliny), zostały one wyizolowane głównie z *Peucedanum decursivum* (10).

## METABOLIZM KUMARYN

Wprowadzone do organizmu doustnie kumaryny są natychmiast wchłaniane z przewodu pokarmowego, a następnie żyłą wrotną przenoszone bezpośrednio do wątroby (11). W organizmie człowieka czas półtrwania kumaryn to 1–2 godz. (12). Są one metabolizowane w wątrobie przez enzymy I fazy. W wyniku hydroksylacji powstają 3-, 4-, 5-, 6-, 7- i 8-hydroksykumaryny, a otwarcie pierścienia laktonowego prowadzi do powstania różnych związków, w tym aldehydu *o*-hydroksyfenylooctowego (*o*-HPA), kwasu *o*-hydroksyfenylooctowego (*o*-HPAA) i *o*-hydroksyfenyloetanolu (*o*-HPE). Pod wpływem enzymów II fazy związki te ulegają skoniugowaniu przez reszty kwasu glukuronowego i/lub siarkowego i wydalane są prawdopodobnie całkowicie z moczem (brak dowodów na ich akumulację w organizmie) jako glu-



Ryc. 1. Szlak metaboliczny kumaryny.

Fig. 1. Pathways of coumarin metabolism.

kuroniany oraz siarczany (13), choć zidentyfikowano także ich połączenia z glicyną i GSH (14).

Wpływ kumaryny na organizmy różnych gatunków zwierząt jest uzależniony od systemów metabolicznych i powstających metabolitów. Na organizmy szczura i myszy szczepów C3H/HeJ i C57BL/6J kumaryny działają toksycznie, natomiast nie stwierdzono takiego wpływu na organizm człowieka oraz myszy szczepów DBA/1J,

DBA/2J i 129/J (15). Kluczową rolę w reakcjach I fazy odgrywa cytochrom P450, a głównie jego izoenzymy CYP1, CYP2 i CYP3, katalizujące powstawanie produktów takich, jak 7-hydroksykumaryna, 3,4-epoksyd, 3-hydroksykumaryna (ryc. 1). Dominująca droga metabolizmu kumaryn w organizmie myszy zależy od szczepu i jest albo taka sama, jak w organizmie człowieka (np. mysz szczepu DBA/2J) lub szczura (np. mysz szczepu BALB/c).

W organizmie człowieka za metabolizm kumaryn odpowiedzialne są izoenzymy cytochromu P450 CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2E1, CYP3A4, przy czym dominuje powstawanie 7-hydroksykumaryn w reakcji katalizowanej przez izoenzym CYP2A6 (16). Głównymi metabolitami kumaryn (stanowiące ok. 60–98%) wyizolowanymi z moczu człowieka są 7-hydroksykumaryny oraz ich glukuraniany i siarczany (16).

W organizmie szczura obserwuje się brak lub niewielką aktywność izoenzymu cytochromu P450 katalizującego 7-hydroksylację (17). Głównym produktem metabolizmu kumaryn występującym w wątrobie szczura jest *o*-HPA, zaś w moczu – *o*-HPAA. Tworzenie obu związków jest katalizowane przez izoenzym CYP2A1. Uważa się, że związki te powstają w trakcie wieloetapowego procesu, na który składa się utlenianie kumaryn do nietrwałego 3,4-epoksydu oraz późniejsza dekarboksylacja pierścienia laktonowego (16). Wyniki modelowania molekularnego wykazały, że między N-końcem izoenzymu CYP2A1 hepatocytów szczura a atomem tlenu grupy ketonowej kumaryny, tworzy się wiązanie wodorowe sprzyjające 3,4-epoksydacji (18). 3,4-epoksyd gwałtownie ulega rozpadowi (czas połowicznego zaniku – 4 s) z jednoczesną dekarboksylacją prowadzącą do powstania *o*-HPA – głównego związku odpowiedzialnego za toksyczne działanie kumaryn na organizm szczura (19). *o*-HPA ulega przegrupowaniu do *o*-HPAA i *o*-HPE, przy czym utlenienie *o*-HPA do *o*-HPAA uważa się za mechanizm detoksykacji w hepatocytach szczura. Natomiast odwracalna redukcja *o*-HPA do *o*-HPE pogłębia cytotoksyczne działanie *o*-HPA, co jest związane z ponownym utlenieniem *o*-HPE do *o*-HPA w komórkach wątroby (20).

W organizmie myszy izoenzymami cytochromu P-450 odpowiedzialnymi za metabolizm kumaryn są CYP2A4 i CYP2A5. Pierwszy z nich katalizuje reakcję 3,4-epoksydacji, drugi zaś 7-hydroksylacji kumaryny (16), przy czym izoenzym CYP2A5 myszy wykazuje pewne podobieństwa strukturalne do izoenzymu CYP2A6 hepatocytów człowieka (21). Organizmy myszy szczepu DBA/1J, DBA/2J i 129/J wykazują wysoką aktywność izoenzymu CYP2A5, podczas gdy komórki wątroby myszy szczepu C3H/HeJ i C57BL/6J odznaczają się niską jego aktywnością. Pod wpływem izoenzymu CYP2A4 kumaryny metabolizowane są do *o*-HPA i *o*-HPAA (stanowiące ok. 98% metabolitów), powstających z nietrwałego 3,4-epoksydu (22). Dlatego kumaryny w dawce 100 mg/kg powodują 2–15-krotny wzrost poziomu aminotransferaz w osoczu, a badania histopatologiczne wykazują nekrozę hepatocytów myszy szczepu C3H/HeJ (23).

## WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE KUMARYN

Wiele pochodnych kumaryny wykazuje właściwości antyoksydacyjne, które przejawiają się głównie w ich zdolności do hamowania wytwarzania reaktywnych

form tlenu (RFT) oraz ich wychwytywania. Kumaryny wpływają na aktywność oksydazy ksantynowej – enzymu odpowiedzialnego za generację anionorodników ponadtlenukowych (24), (tab. II), przy czym badania *in vitro* i *in vivo* na szczurach wskazują, że zdolność kumaryn do hamowania aktywności tego enzymu jest wprost proporcjonalna do liczby grup hydroksylowych w cząsteczce (25). Niezależnie od wpływu kumaryn na aktywność oksydazy ksantynowej związki te, mogą również chelatować jony metali przejściowych (głównie żelaza i miedzi), katalizujące reakcje generacji RFT. Kluczową rolę w procesie hamowania peroksydacji lipidów pełni wiązanie jonów żelaza(II) w kompleks ADP-Fe(II)-dihydroksykumaryna. *orto*-dihydroksykumaryny, tworzą nietrwałe kompleksy z jonami żelaza(II), które następnie są utleniane do jonów żelaza(III), co sprzyja stabilizacji powstającego kompleksu, zwłaszcza w pH 6,8–7,5 (26). W przypadku *meta*-dihydroksykumaryn nie zaobserwowano zdolności do chelatowania jonów żelaza.

Tab e l a II. Wpływ wybranych pochodnych kumaryny na aktywność oksydazy ksantynowej

Tab l e II. Effect of selected coumarins on the activity of xanthine oxidase

Związek	Inhibicja (%)	IC <sub>50</sub> (μM)	Źródło
Kumaryna	1,59 ± 5,61	> 100	(25)
Dihydrokumaryna	5,32 ± 3,90	>100	(25)
Hydroksykumaryny:			
3-hydroksykumaryna		131	(24)
4-hydroksykumaryna	37,18 ± 3,8	78,13 ± 3,11	(25)
		195	(24)
7-hydroksykumaryna	8,67 ± 3,05	> 100	(25)
		236	(24)
		14,0 ± 3,9	(27)
6-hydroksy-7-metoksykumaryna		138	(24)
7-hydroksy-4-metylokumaryna	4,65 ± 2,93	>100	(25)
		15,1 ± 0,8	(27)
Skopoletyna (7-hydroksy-6-metoksykumaryna)	4,55 ± 3,46	>100	(25)
Dihydroksykumaryny:			
Eskuletyna (6,7-dihydroksykumaryna)	83,44 ± 2,76	10,84 ± 0,14	(25)
		8,2	(24)
Fraksetyna (7,8-dihydroksy-6-metoksykumaryna)	1,9 ± 0,6		(27)
5,7-dihydroksy-4-metylokumaryna	9,3 ± 2,1		(27)
4-metyloeskuletyna (6,7-dihydroksy-4-metylokumaryna)	37,35 ± 2,20	75,79 ± 1,98	(24)
		246	(24)

Table III. Zestawienie reaktywności wybranych kumaryn wobec wolnych rodników  
 Table III. Comparison of the reactivity of selected coumarins to free radicals

Związek	IC <sub>50</sub> (μM)		·OH	O <sub>2</sub> ·	HOCl	ABTS <sup>+</sup>	APPH	Źródło
	DPPH							
Kumaryna	nieaktywna	nieaktywna	nieaktywna	nieaktywna	nieaktywna	nieaktywna	nieaktywna	(37)
4-metylokumaryna	97200 ± 210	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	5680 ± 40	n.o.	(38)
6-hydroksy-4-metylokumaryna	5860 ± 190	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	320 ± 0,00	n.o.	(38)
7,8-dihydroksy-4-metylokumaryna	10 ± 10	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	3 ± 1	n.o.	(38)
Umbeliferon (7-hydroksykumaryna)	>200	>5000	>5000	26,7 ± 2,8	>2000	0,53 ± 0,05	187,2 ± 13,1	(39)
Dafnetyna (7,8-dihydroksykumaryna)	20,6 ± 2,3	3182 ± 236	3182 ± 236	3,2 ± 0,4	>2000	2,15 ± 0,2	17,8 ± 2,2	(39)
Eskuletyna (6,7-dihydroksykumaryna)	17,2 ± 1,2 17,8 ± 0,11	2783 ± 182	2783 ± 182	2,3 ± 0,4 46,9 ± 0,6	>2000	2,45 ± 0,02 17,2 ± 0,28	15,8 ± 1,9	(39) (38)
Eskulina (6-glukozyd 6,7-hydroksykumaryny)	3763 ± 71,0	n.o.	n.o.	89,1 ± 2,89	n.o.	406 ± 15,3	n.o.	(38)
Skopoletyna (7-hydroksy-6-metoksykumaryna)	>200	>5000	>5000	>200	>2000	1,57 ± 0,02	93,5 ± 6,9	(39)
Fraksetyna (7,8-dihydroksy-6-metoksykumaryna)	39,9 ± 2,8 44,1 ± 1,24	3816 ± 423	3816 ± 423	1,1 ± 0,2 40,5 ± 0,69	1858 ± 198	0,85 ± 0,01 37,4 ± 0,23 (1,21)	26,3 ± 2,1	(39) (38)

Najistotniejszym elementem struktury kumaryn determinującym ich zdolność do wychwytywania RFT jest elektronodonorowa grupa hydroksylowa, dlatego blokowanie tej grupy przez ugrupowanie metoksyłowe lub glikozydowe znacząco zmniejsza te zdolności (28), co zostało potwierdzone przez badania kwantowo-mechaniczne (29). Najbardziej efektywnie działają kumaryny zawierające grupy hydroksylowe w pozycjach C6 i/lub C7 (30) zaś obecność dwóch grup hydroksylowych, szczególnie w pozycji *orto* znacząco zwiększa reaktywność kumaryn w tych reakcjach. Silne zdolności do wychwytywania rodników nadtlenkowych (ok. 4–6-krotnie wyższe niż trolox) wykazują *orto*-dihydroksykumaryny, podczas gdy pochodne *meta* wykazują znacznie mniejszą zdolność do wychwytywania rodników. Sąsiadujące grupy hydroksylowe przy pierścieniu aromatycznym stabilizują powstający rodnik fenoksyłowy dzięki obecności wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego. Jeśli w cząsteczce występują trzy sąsiadujące grupy hydroksylowe, stabilizacja powstającego rodnika jest jeszcze większa i związek jest silniejszym antyoksydantem (31) (tab. III). Wprowadzenie natomiast grupy metylowej w pozycję C4 do *orto*-dihydroksykumaryny (np. 4-metyloeskuletyny) powoduje znaczące obniżenie reaktywności (24). Kumaryny redukują rodnik DPPH w porównywalnym stopniu jak znane antyoksydanty lub nawet efektywniej. Zdolność 6,7-dihydroksykumaryny (eskuletyny) oraz 4-metylo-7,8-dihydroksykumaryny do reakcji z rodnikiem DPPH jest porównywalna np. ze zdolnością kwercetyny (wartość  $EC_{50}$  ok. 25–27  $\mu\text{M}$ ) (32). Reaktywność kumaryn wobec rodnika DPPH rośnie w obecności elektronodonorowego podstawnika w szkielecie kumarynowym (takiego jak grupa  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{Cl}$  lub  $-\text{OCH}_3$ ) (33), natomiast maleje w obecności dużego podstawnika w pozycji C-3 ze względu na przeszkodę steryczną (34). Pomimo, iż wśród kumaryn największą reaktywność w reakcjach z rodnikami wykazują *orto*-dihydroksykumaryny (tab. III), to położenie podstawników hydroksylowych w pozycji *meta* w cząsteczkach dihydroksykumaryn nie wyklucza ich właściwości antyoksydacyjnych. Przykładem jest 5,8-dihydroksykumaryna i jej glikozyd. Oba związki wykazują zdolność do wychwytywania rodników  $\text{ABTS}^+$  oraz DPPH (35), hamują proces peroksydacji lipidów w porównywalnym stopniu do BHT oraz posiadają właściwości antyoksydacyjne (36).

Kumaryny wpływają również na aktywność enzymów antyoksydacyjnych takich, jak dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza i peroksydaza glutationowa oraz S-transferaza glutationowa w osoczu, wątrobie i nerkach szczura (40). Mają one wpływ także na stężenie nieenzymatycznych drobnocząsteczkowych antyoksydantów, np. 7-hydroksykumaryna i w znacznie większym stopniu eskuletyna (6,7-dihydroksykumaryna) podwyższają stężenie witaminy E i C oraz GSH (41). Eskuletyna, fraksetyna, dafnetyna są silniejszymi antyutleniaczami niż kwas kawowy lub witamina E (7,8-dihydroksy-4-metylokumaryna jest ok. 4-krotnie silniejszym inhibitorem peroksydacji lipidów niż  $\alpha$ -tokoferol), wykazują natomiast aktywność porównywalną z (+)-katechiną (39).

Konsekwencją działania antyoksydacyjnego kumaryn jest zmniejszenie oksydacyjnych modyfikacji składników komórek. Kumaryny (głównie dihydroksykumaryny) hamują peroksydację lipidów zarówno w warunkach *in vitro* indukowaną jonami miedzi lub AAPH (42), jak i w warunkach *in vivo* (41). Zapobiegają również oksydacyjnym modyfikacjom białek oraz DNA (43, 44), przy czym pochodne kumaryny działają efektywniej niż odpowiednie kwasy kumarynowe oraz glikozydy (39).



Działaniu antyoksydacyjnemu towarzyszy przeciwdziałanie rozwojowi nowotworów wywołanych czynnikami chemicznymi u zwierząt (44). Kumaryny (głównie furanokumaryny) wpływają na aktywność enzymów I i II fazy odpowiedzialnych za metabolizm policyklicznych węglowodorów aromatycznych (PAH) hamując tworzenie adduktów PAH-DNA w tkankach myszy (44, 45, 46). Wykazano także, iż liniowe furanokumaryny hamują aktywność izoenzymów cytochromu P450 1A1 i 1B1 zmniejszając aktywację benzo(a)piranu (B[a]P) – czynnika prokancerogennego uczestniczącego w uszkodzeniu DNA (45).

Table IV. Wartości standardowego biologicznego potencjału redoks ( $E^{\circ}$ ) wybranych kumaryn

Table IV. Oxidative potential ( $E^{\circ}$ ) of selected coumarins

Związek	Potencjał utleniający (mV)
$\alpha$ -tokoferol	480
Fraksetyna (7,8-dihydroksy-6-metoksykumaryna)	250
4-metyloeskuletyna (6,7-dihydroksy-4-metylokumaryna)	350
Eskuletyna (6,7-dihydroksykumaryna)	400
Skopoletyna (6-metoksy-7-hydroksykumaryna)	650
7-hydroksy-4-metylokumaryna	850
Eskulina (6-glukozyd 6,7-dihydroksykumaryny)	850
kwasy 7-hydroksykumaryno-4-octowy	900
4-hydroksykumaryna	900
7-hydroksykumaryna	900

W przeciwieństwie do hydroksylowych pochodnych kumaryny, pochodne metylowe mogą wykazywać działanie prooksydacyjne, generując wolne rodniki i redukując jony metali przejściowych. Wykazano, że 4-metylokumaryna i jej pochodne wchodzi w reakcję z rodnikiem nadtlenkowym w wyniku czego powstaje rodnik benzyłowy lub/i fenoksyłowy, które mogą inicjować peroksydację lipidów (47, 48). Potencjał utleniający 7-hydroksy-4-metylokumaryny jest znacząco wyższy niż  $\alpha$ -tokoferolu (tab. IV). Rodnik fenoksyłowy 7-hydroksy-4-metylokumaryny w reakcji z  $\alpha$ -tokoferolem może powodować powstanie rodnika tokoferylowego, który również inicjuje peroksydację lipidów (47). Właściwości prooksydacyjne kumaryn wynikają także z możliwości redukcji jonów  $Fe^{3+}$  i  $Cu^{2+}$ , z utworzeniem odpowiednio jonów  $Fe^{2+}$  i  $Cu^{+}$  katalizujących reakcję Fentona (26). Badania *in vitro* potwierdzają te właściwości w przypadku m.in. 5,7-dihydroksy-4-metylokumaryny, która utlenia LDL w reakcji katalizowanej przez jony miedzi (42).

M. Malinowska, K. Bielawska

## METABOLISM AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF COUMARINS

## PIŚMIENNICTWO

1. *Sproll C., Ruge W., Andlauer C., Godelmann R., Lachenmeier D.W.*: HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. *Food Chem*, 2008; 109: 462-469. – 2. *Venugopala K.N., Rashmi V., Odhav B.*: Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *Biomed Res Int*, 2013; <http://dx.doi.org/10.1155/2013/963248>. – 3. *Malik A., Kushnoor A., Saini V., Singhal S., Kumar S., Yadav Y.C.*: Analytical method development of nutraceutical: Umbelliferone. *Pharma Science Monitor*, 2012; 3, (1): 67-73. – 4. *Sirtori C.R.*: Aescin: pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacol Res*, 2001; 44(3): 183-183. – 5. *Asres K., Seyoum A., Veeresham C., Bucar F., Gibbons S.*: Naturally Derived Anti-HIV Agents. *Phytother Res*, 2005; 19: 557-581. – 6. *Wang Y.-H., Avula B., Nanayakkara N.P.D., Zhao J., Khan I.A.*: Cassia Cinnamon as a Source of Coumarin in Cinnamon-Flavored Food and Food Supplements in the United States. *J Agric Food Chem*, 2013; 61(18): 4470-6. – 7. *Haskins F.A., Gorz H.J.*: Glucosides of Coumarinic and o-Coumarinic Acids in the Tonka Bean. *Science*, 1963; 139: 496-497. – 8. *Superchi S., Phi D., Salvadori P., Marinelli F., Rainaldi G., Zanelli U., Nuti-Ronchis V.*: Synthesis and Toxicity to Mammalian Cells of the Carrot Dihydroisocoumarins. *Chem Res Toxicol*, 1993; 6: 46-49. – 9. *Kleiner H.E., Vulimiri S.V., Miller L., Johnson Jr W.H., Whitman C.P., DiGiovanni J.*: Oral administration of naturally occurring coumarins leads to altered phase I and II enzyme activities and reduced DNA adduct formation by polycyclic aromatic hydrocarbons in various tissues of SENCAR mice. *Carcinogenesis*, 2001; 22(1): 73-82. – 10. *Liu R., Sun Q., Shi Y., Kong L.*: Isolation and purification of coumarin compounds from the root of *Peucedanum decursivum* (Miq.) Maxim by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr A*, 2005; 1076: 127-132.

11. *Mielke H., Abraham K., Götz M., Vieth B., Lampen A., Luch A., Gundert-Remy U.*: Physiological based toxicokinetic modelling as a tool to assess target organ toxicity in route-to-route extrapolation – The case of coumarin. *Toxicol Lett*, 2011; 202: 100-110. – 12. *Rautio A., Kraul H., Kojo A., Salmela E., Pelkonen O.*: Interindividual variability of coumarin 7-hydroxylation in healthy volunteers. *Pharmacogenetics*, 1992; 2: 227-233. – 13. *Wang Q., Jia R., Ye C., Garcia M., Li J., Hidalgo I.J.*: Glucuronidation and sulfation of 7-hydroxycoumarin in liver matrices from human, dog, monkey, rat, and mouse. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2005; 41: 97-103. – 14. *Vassallo J.D., Hicks S.M., Born S.L., Daston G.P.*: Roles for Epoxidation and Detoxification of Coumarin in Determining Species Differences in Clara Cell Toxicity. *Toxicol Sci*, 2004; 82: 26-33. – 15. *Born S.L., Caudill D., Fliter K.L., Purdon M.P.*: Identification of the cytochromes P450 that catalyze coumarin 3,4-epoxidation and 3-hydroxylation. *Drug Metab Dispos*, 2002; 30: 483-487. – 16. *Born S.L., Caudill D., Smith B.J., Lehman-McKeeman L.*: In vitro Kinetics of coumarin 3,4-Epoxidation: Application to Species Differences in Toxicity and Carcinogenicity. *Toxicol Sci*, 2000; 58: 23-31. – 17. *Bogan D.P., Deasy B., O'Kennedy R., Smyth M.R.*: Interspecies differences in coumarin metabolism in liver microsomes examined by capillary electrophoresis. *Xenobiotica*, 1996; 26 (4): 437-445. – 18. *Lewis D.F.V., Lake B.G.*: Species Differences In Coumarin Metabolism: A Molecular Modelling Evaluation Of CYP2A Interactions. *Xenobiotica*, 2002; 32(7): 547-561. – 19. *Born S.L., Rodriguez P.A., Eddy C.L., Lehman-McKeeman L.D.*: Synthesis And Reactivity Of Coumarin 3,4-Epoxide. *Drug Metab And Dispos*, 1997; 25: 1318-1323. – 20. *Vassallo J.D., Hicks S.M., Daston G.P., Lehman-McKeeman L.D.*: Metabolic Detoxification Determines Species Differences in Coumarin-Induced Hepatotoxicity. *Toxicol Sci*, 2004; 80: 249-257.

21. *Lewis D.F.V., Dickins M., Lake B.G., Eddershaw P.J., Tarbit M.H., Goldfarb P.S.*: Molecular modelling of the human cytochrome P450 isoform CYP2A6 and investigations of CYP2A substrate selectivity. *Toxicology*, 1999; 133: 1-33. – 22. *von Weymarn L.B., Murphy S.E.*: CYP2A13-Catalysed Coumarin Metabolism: Comparison With CYP2A5 and CYP2A6. *Xenobiotica*, 2003; 33 (1): 73-81. – 23. *Cottrell S., Oliver K., Lake B.G., Powell C.J.*: Strain-Specific Enhancement Or Inhibition Of Coumarin Hepatotoxicity In Mice Following Pretreatment With Two Different Liver Enzyme-Inducing Agents. *Fundam Appl Toxicol*, 1996; 34: 47-55. – 24. *Costantino L., Rastelli G., Albasini A.*: Natural polyhydroxylated compounds as inhibitors of xanthine oxidase. *Pharmazie*, 1996; 51(12): 994-995. – 25. *Lin H.C., Tsai S.H., Chen C.S., Chang Y.C., Lee C.M., Lai Z.Y., Lin C.M.*: Structure-activity relationship of coumarin derivatives on xanthine oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *Biochem Pharmacol*,

2008; 75: 1416-1425. – 26. *Mladenka P., Macakova K., Zatloukova L., Rehakova Z., Singh B.K., Prasad A.K., Parmar V.S., Jahodar L., Hrdina R., Saso L.*: In vitro interactions of coumarins with iron. *Biochimie*, 2010; 92(9): 1108-1114. – 27. *Paya M., Halliwell B., Hoult J.R.*: Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species. Scavenging of superoxide, hypochlorous acid and hydroxyl radicals. *Biochem Pharmacol*, 1992; 44: 205-214. – 28. *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., Choe T.B., Moon D.C., Yun Y.P., Hong J.T.*: Anti-oxidative and Photo-protective Effects of Coumarins Isolated from *Fraxinus chinensis*. *Arch Pharm Res*, 2007; 30(10): 1293-1301. – 29. *Zhang H.Y., Wang L.F.*: Theoretical elucidation of structure-activity relationship for coumarins to scavenge peroxy radical. *J Mol Struct (Theochem)*, 2004; 673: 199-202. – 30. *Ferrari A.M., Sgobba M., Gamberini M.C., Rastelli G.*: Relationship between quantum-chemical descriptors of proton dissociation and experimental acidity constants of various hydroxylated coumarins. Identification of the biologically active species for xanthine oxidase inhibition. *Eur J Med Chem*, 2007; 42: 1028-1031.

31. *Zhang H.Y.*: Structure-Activity Relationships and Rational Design Strategies for Radical-Scavenging Antioxidants. *Curr Comp Aid Drug Des*, 2005; 1: 257-273. – 32. *Rehakova Z., Koleckar V., Cervenka F., Jahodar L., Saso L., Opletal L., Jun D., Kuca K.*: DPPH Radical Scavenging Activity of Several Naturally Occurring Coumarins and Their Synthesized Analogs Measured by the SIA Method. *Toxicol Mech Methods*, 2008; 18: 413-418. – 33. *Rajesh P.M., Natvar P.J.*: In vitro antioxidant activity of coumarin compounds by DPPH, Super oxide and nitric oxide free radical scavenging methods, *J Adv Pharm Edu Res*, 2011; 1: 52-68. – 34. *Rodríguez S.A., Nazareno M.A., Baumgartner M.T.*: Effect of different C3-aryl substituents on the antioxidant activity of 4-hydroxycoumarin derivatives. *Bioorg Med Chem*, 2011; 19: 6233-6238. – 35. *Pukalskas A., Van Beek T.A., Venskutonis R.P., Linssen J.P.H., Van Veldhuizen A., De Groot A.*: Identification of Radical Scavengers in Sweet Grass (*Hierochloa odorata*). *J Agric Food Chem*, 2002; 50: 2914-2919. – 36. *Bandoni D., Pukalskas A., Venskutonis R., Gruzdienė D.*: Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Res Int*, 2000; 33: 785-791. – 37. *Hoult J.R.S., Paya M.*: Pharmacological and Biochemical Actions of Simple Coumarins: Natural Products with Therapeutic Potential. *Gen Pharmacol*, 1996; 27(4): 713-722. – 38. *Čavar S., Kovač F., Maksimović M.*: Evaluation of the antioxidant activity of a series of 4-methylcoumarins using different testing methods. *Food Chem*, 2012; 133: 930-937. – 39. *Thuong P.T., Hung T.M., Ngoc T.M., Ha D.T., Min B.S., Kwack S.J., Kang T.S., Choi J.S., Bae K.H.*: Antioxidant Activities of Coumarins from Korean Medicinal Plants and their Structure-Activity Relationships. *Phytother Res*, 2010; 24: 101-106. – 40. *Łuczaj W., Stankiewicz-Kranc A., Milewska E., Roszkowska-Jakimiec W., Skrzydlewska E.*: Effect of sweet grass extract against oxidative stress in rat liver and serum. *Food Chem Toxicol*, 2012; 50: 135-140.

41. *Martin-Aragon S., Benedi J.M., Villar A.M.*: Effects of the Antioxidant (6,7-dihydroxycoumarin) Esculetin on the Glutathione System and Lipid Peroxidation in Mice. *Gerontology*, 1998; 44: 21-25. – 42. *Fausta N., Lorrain B., Prasad A.K., Parmar V.S., Saso L., Scaccini C.*: 4-methylcoumarins as antioxidants: Scavenging of peroxy radicals and inhibition of human low-density lipoprotein oxidation. *Biochimie*, 2010; 92: 1147-1152. – 43. *Kaneko T., Tahara S., Takabayashi F.*: Inhibitory Effect of Natural Coumarin Compounds, Esculetin and Esculin, on Oxidative DNA Damage and Formation of Aberrant Crypt Foci and Tumors Induced by 1,2-dimethylhydrazine in Rat Colons. *Biol Pharm Bull*, 2007; 30: 2052-2057. – 44. *Kleiner H.E., Vulimiri S.V., Starost M.F., Reed M.J., DiGiovanni J.*: Oral administration of the citrus coumarin, isopimpinellin, blocks DNA adduct formation and skin tumor initiation by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in SENCAR mice. *Carcinogenesis*, 2002; 23(10): 1667-1675. – 45. *Prince M., Campbell C.T., Robertson T.A., Wells A.J., Kleiner H.E.*: Naturally occurring coumarins inhibit 7,12-dimethylbenz[a]anthracene DNA adduct formation in mouse mammary gland. *Carcinogenesis*, 2006; 27(6): 1204-1213. – 46. *Cai Y., Kleiner H., Johnston D., Dubowski A., Bostic S., Ivie W., DiGiovanni J.*: Effect of naturally occurring coumarins on the formation of epidermal DNA adducts and skin tumors induced by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in SENCAR mice. *Carcinogenesis*, 1997; 18(8): 1521-1527. – 47. *Liu Z.Q., Yu W., Liu Z.L.*: Antioxidative and prooxidative effects of coumarin derivatives on free initiated and photosensitized peroxidation of human low-density lipoprotein. *Chem Phys Lipids*, 1999; 103: 125-135. – 48. *Singh T.S., Rao B.S.M., Mohan H., Mittal J.P.*: A pulse radiolysis study of coumarin and its derivatives. *J Photochem Photobiol A Chem*, 2002; 153: 163-171. – 49. *Wu C.-R., Huang M.-Y., Lin Y.-T., Ju H.-Y., Ching H.*: Antioxidant properties of Cortex *Fraxini* and its simple coumarins. *Food Chem*, 2007; 104: 1464-1471.