

# Flavonoidok a rákban és az apoptózisban

## Kivonat

Világszerte a rák a második vezető halálok. Bár a rák kezelésére sok különböző megközelítés létezik, ezek gyakran fájdalmasak a káros mellékhatások, és néha hatástalanok a hagyományos rákellenes gyógyszerekkel vagy sugárterápiával szembeni növekvő rezisztencia miatt. A késleltetett/gátolt apoptózis célbavétele a rákkezelés egyik fő célja és a kutatás erősen aktív területe. A növényi eredetű természetes vegyületek jelentős érdeklődésre tartanak számot magas biológiai hasznosulásuk, biztonságosságuk, minimális mellékhatásaik, és ami a legfontosabb, költséghatékonyságuk miatt. A flavonoidok fontossá váltak rákellenes ágensekként és jelentős potenciált mutattak, mint olyan citotoxikus rákellenes ágensek, amelyek elősegítik az apoptózist a rákos sejtekben. Ebben az áttekintésben a flavonoidok, valamint a rák kezelésében az apoptózist célba vevő hatásosságuk összefoglalása kerül megvitatásra.

## 1. Bevezetés

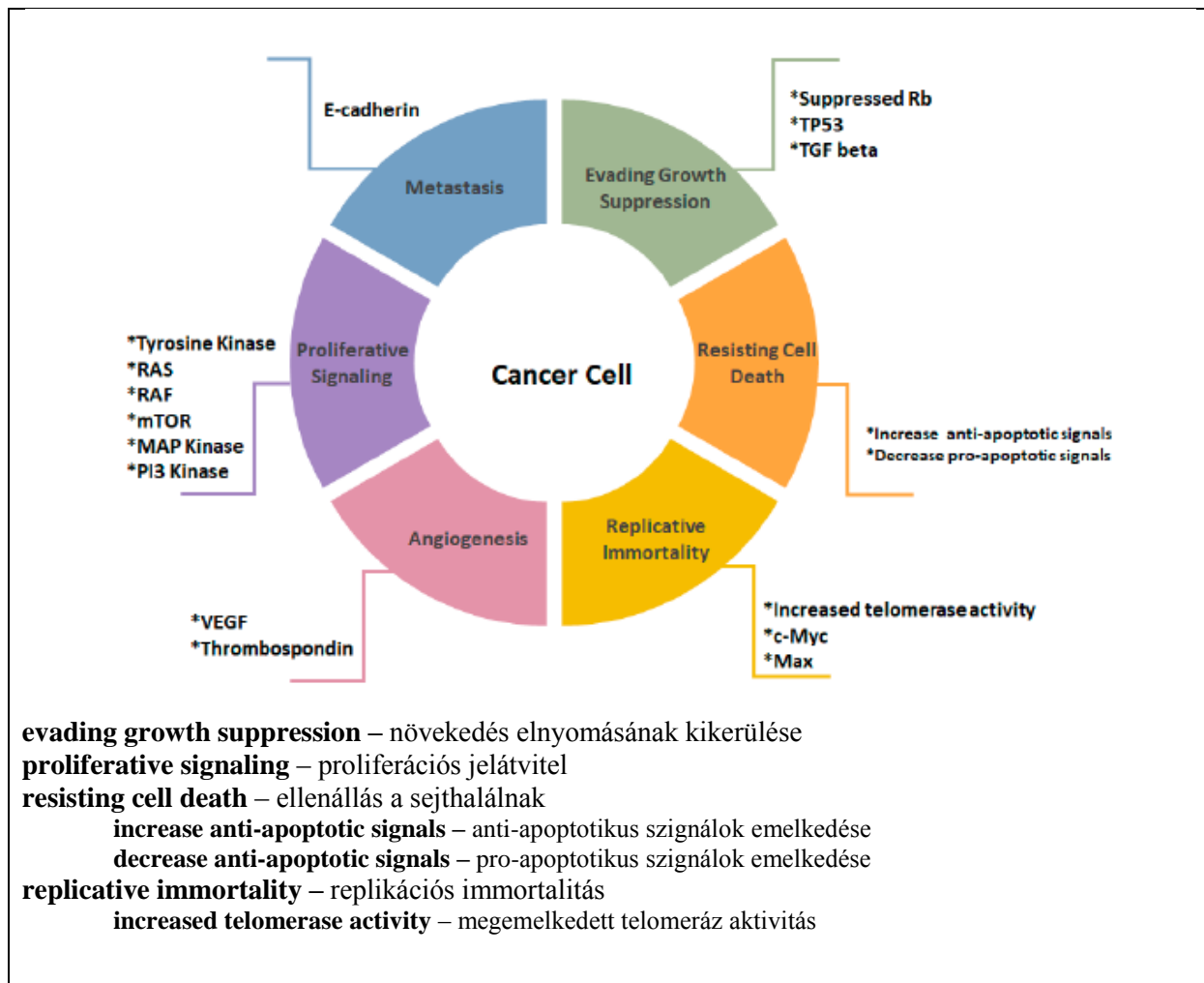
---

A rák egy heterogén betegség, amelyet a celluláris homeosztázis és működés irreverzibilis károsodása indít be. A rák progressziója a kontrollálatlan sejtnövekedés és differenciálódás eredménye az apoptotikus funkciók elvesztésével együtt, ami a neopláziás sejt populáció masszív elterjedéséhez vezet. A rák belső okai az apoptotikus funkció hiányának, a genetikai mutációknak, az oxidatív stressznek és a hipoxiának tulajdoníthatóak, míg a rák külső okai a túlzott ibolyántúli sugárzással, a sugárzással, a szennyezéssel, a dohányzással és a stressz-szel függenek össze. Hat olyan jellemző van, amely hozzájárul a tumorigenezishez és megkülönbözteti a rákos sejteket a normál egészséges sejtektől (1. ábra).

### 1. ábra

#### A rákos sejt jellemzőinek bemutatása

A növekedés elnyomásának kikerülését az Rb, TP 53 és TGF béta gátlása közvetíti. A sejthalálnak való ellenállást az anti-apoptotikus tényezők növekedése és a pro-apoptotikus tényezők csökkenése jellemzi. A replikációs immortalitás, a telomeráz aktivitás, a c-Myc és Max növekedés eredménye. Az angiogenezist a VEGF és a trombospondin növekedése segíti elő. A megnövekedett proliferatív jelátvitelt a megnövekedett tirozin kináz hatás, a Ras, a Raf, az m-TOR, a MAP kináz és a PI3 kináz jellemzi. A metasztázis képződést az E-kadherin elvesztése jellemzi.



## 2. Apoptózis

Az apoptózis egy szigorúan szervezett folyamat, amelyet számos szignál transzdukciós kaszkád és celluláris fehérje szabályoz. A rák és sok más betegség – mint amilyen az AIDS, a cukorbetegség és a Parkinson kór – az apoptotikus útvonalak egyensúlyhiánya és az aberráns mechanizmusok miatt következik be. Így tehát az apoptotikus mechanizmusok és a kapcsolódó útvonalak alapos megismerése nemcsak a betegség megismerését, hanem a betegség kezelését is szolgálja.

### 2.1. Apoptotikus fehérjék

Az apoptotikus fehérjék osztályozása elsősorban az apoptózisban betöltött szerepüktől függ (2B ábra). A pro-apoptikus fehérjék a fehérje családtól függően (1) kaszpázokra és a Bcl2 családra oszthatóak.

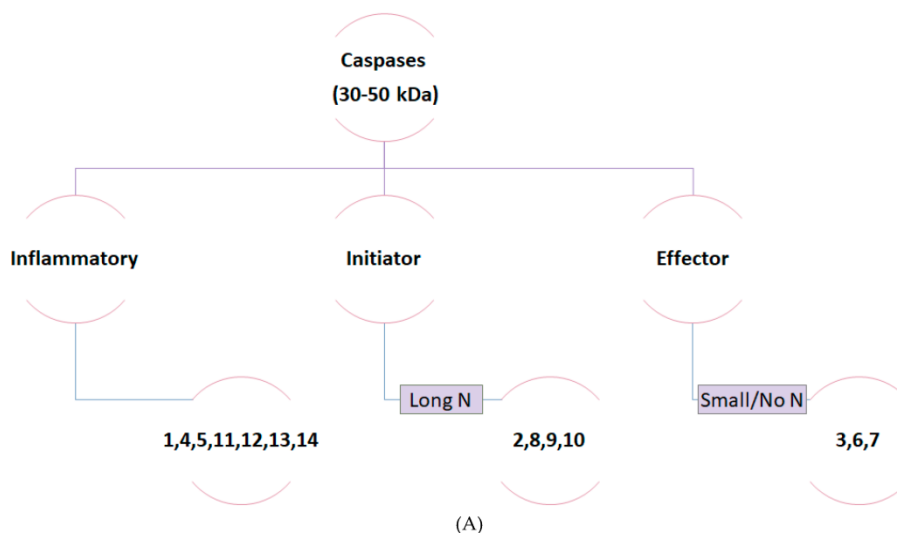
## 2. ábra

### (A) A kaszpázok osztályozása

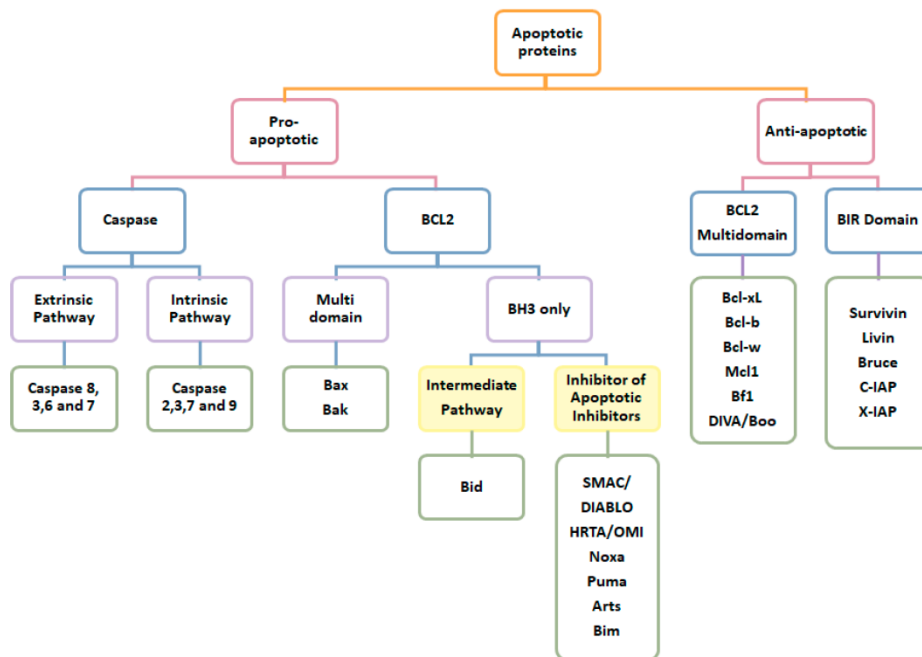
A kaszpázok három alcsoportba sorolhatóak: gyulladáskeltő kaszpázokra (1, 4, 5, 11, 12, 13, 14), iniciátor kaszpázokra a belső (intrinsic) és külső (extrinsic) apoptotikus útvonalakban hosszú N terminálissal (2, 8, 9, 10) és effektor kaszpázokra (3, 6, 7), amelyek rövid/hiányzó N-terminálisukról ismertek.

### (B) Az apoptotikus fehérjék osztályozása az apoptózisban betöltött funkciójuk szerint

A pro-apoptotikus fehérjék kaszpáz és Bcl-2 családokba sorolhatóak. A kaszpázok további csoportokra oszthatóak az apoptotikus útvonalban betöltött szerepük szerint. A Bcl-2 fehérjék több doménnel rendelkező proteinek (Bax és Bak) és „csak” BH3 doménnel rendelkező proteinek (Bid és az olyan apoptotikus gátlók, mint az SMAC/Diablo, HRTA/Omi, Noxa, Puma, Arts és Bim). Az anti-apoptotikus fehérjéket több doménnel rendelkező fehérjékként (Bcl-xl, Bcl-b, Bcl-w, Mcl-1, Bfl és DIVA/Boo) és BIR domén családként (survivin, livin, bruce, c-IAP és x-IAP) csoportosítják.



(A)



(B)

(1) A kaszpázok, az aszpartát-specifikus cisztein fehérjék kulcsszerepet játszanak az apoptózis indukálásában és általában prokaspázként ismert inaktív heterodimérek formájában találhatóak meg. Tizennégy, a kaszpázokhoz tartozó, és struktúrájuk és funkciójuk szerint besorolt proteint ismerünk (2A ábra).

(2) A Bcl-2 család (2B ábra) szabályozza a sejtek viselkedését egy programozott sejthalálon keresztül. A mitokondrium külső membránjánál elhelyezkedve, főleg a citokróm c kibocsátását modulálja. A fehérjék Bcl-2 családját strukturálisan a BH3 domén jelenléte alapján különböztetik meg. A Bcl-2 család vagy beindítja az apoptózist a multidoménű Bax/Bak-on keresztül, vagy gátolja a „csak” BH3 családhoz tartozó anti-apoptotikus fehérjéket (IAP-ok), amelyek magukba foglalják a Puma-t, a NOXA-t, a Bim-et, a Bad-ot, Smac/Diablo-t, a Hrta/Omi-t, az Arts-ot. A citokinek által előidézett apoptózisban kulcsfontosságú Puma és NOXA a DNS károsodás és a P53 transzkripciójának eredményeként termelődik. A Bad (amelyeket a táplálékhiány és a növekedési jelek indukálnak), a Smac/Diablo, a Hrta/Omi és az Arts, mind a MOMP eredményeképpen termelődik. Az apoptózis inhibitoraként működő anti-apoptotikus fehérjék (2B ábra), amelyek a Bcl-2 család tagjai, több BH doménű alosztályokra oszthatók, amelyek a Bcl-xL, Bcl-B, Bcl-W, Mcl-1, Bfl-1, Diva/Boo-t tartalmazzák. Nem stresszes celluláris feltételek mellett ezek a fehérjék felülszabályozódnak annak érdekében, hogy kötődjenek, kölcsönhatásba lépjenek és elkülönítsék a pro-apoptotikus Bax-ot és Bak-ot, megőrizve a mitokondriális membrán integritást. Az anti-apoptotikus proteinek doménjei magukban foglalják az N-IAP-t, a c-IAP 1-et, a c-IAP 2-öt, és az x-IAP-t. A here-specifikus survivin és ubiquitin konjugáló enzimek, a livin és a bruce/appollon mind a kaszpázok gátlásán keresztül funkcionálnak.

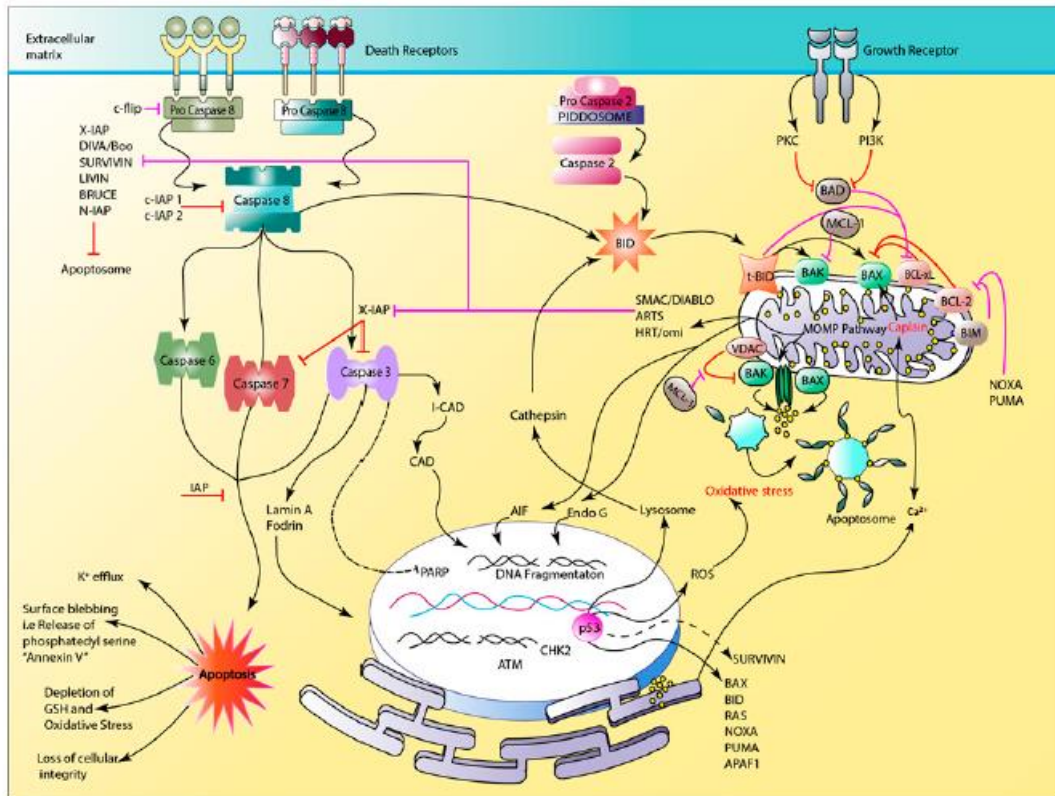
## 2.2. Az apoptotikus útvonal

A 3. ábra az apoptózisban részt vevő két fő útvonalat ábrázol. Először a külső/halál receptor által indukált útvonalat és másodszer a belső útvonalat, amelyben a mitokondriális stressz is részt vesz. A külső útvonalban a szignáltranszdukciós kaszkád aktiválódása a halál szignáloknak az olyan trimerikus halálligandokhoz történő kötődésén keresztül következik be, mint a FAS és a TNF. Ha egyszer egy külső celluláris halál szignált kapnak, az iniciátor prokaspáz-8 és -10 (amelyek a halál receptor FADD/TRADD régióinak belső membránjához kötődnek) aktiválódik, ami egy DISC komplex képződését eredményezi, és így a szignáltranszdukciós kaszkád tovább halad. Ezt követően az aktiválódott kaszpáz részt vesz a mitokondriális amplifikációs hurok aktivációjában a „csak” BH3 domént tartalmazó Bid fehérjén keresztül, így egyfajta kapocsként szolgálva a külső és a belső útvonalak között. A t-BID – ami egy, a mitokondriális membránon elhelyezkedő aktív forma – a felelős a belső kaszkádért a pro-apoptotikus multidoménű Bcl-2 fehérjék, a Bax és a Bak aktivációján keresztül. Az aktivált Bax és Bak növekvő MOMP-ot mediál a pórusok képződésén és a mitokondriális membrán potenciál ( $\Delta\Psi_m$ ) változásán keresztül, ami citokróm c kibocsátást eredményez. A citokróm c, az Apaf 1 fehérje és a prokaspáz-9 egy apoptoszómát képez, ami a végrehajtó kaszpázok aktivációján keresztül növeli az apoptotikus kaszkádot.

### 3. ábra

A belső, külső, mitokondriális és endoplazmás retikulum apoptotikus útvonalai

Az apoptotikus fehérjék (fekete nyilak) szerepe és anti-apoptotikus fehérjék (piros) általi gátlásuk, amelyeket apoptotikus inhibitorok (rózsaszín) szabályoznak. Egy apoptotikus sejt általában megnövekedett  $K^+$  kiáramlás, felületi buborék kialakulás, az olyan anti-oxidatív markerek, mint a GSH depléciója, kromatin kondenzáció és a celluláris integritás elvesztése jellemző.



**surface blebbing, i.e. release of phosphatidyl serine „Annexin V”** – felületi buborékképződés, azaz a „phosphatidyl serine „Annexin V” kibocsátása  
**loss of cellular integrity** – a celluláris integritás elvesztése

A mitokondriális porusok megkönnyítik a Smac/Diablo és a Hrt/Omi kibocsátását is, amelyek a BIR család inhibitorai és a kaszpáz-9 gátlásán keresztül hatnak. A belső útvonalakat belülről szintén aktiválhatja az oxidatív stressz, a hipoxia, az intracelluláris kalcium ionok megnövekedett intracelluláris koncentrációja, fertőzés, vagy azoknak a növekedési faktoroknak az eltávolítása, amelyek akadályozzák a pro-apoptikus Bad fehérjét, amely a Bax-ot és a Bak-ot is stimulálja. A Bax és a Bak aktivációja a Bcl-xL és a Bcl-2 anti-apoptikus fehérjék gátlásával mediálódik. A Bak funkciója a VDAC-n keresztül korlátozódik. Az IAP-k aktiválódása a TP53 tumor szupresszor gén túlkifejeződésének eredményeként következik be, ami a pro-apoptikus „csak” BH3 doménű proteinek, a Bid-ek (Bcl-xL-t gátló), a Noxa (Bcl-2-t gátló) és a Puma (Mcl-1-et gátló) aktiválódását eredményezi, amelyek mindegyike hozzájárul a Bax-Bak porus kialakulásához és a citokróm c kibocsátásához. A p53 részt vesz a ROS indukciójában és a celluláris stressz növekedésének folyamatában, mert bizonyítást nyert, hogy a ROS fokozhatja a kaszpáz működést.

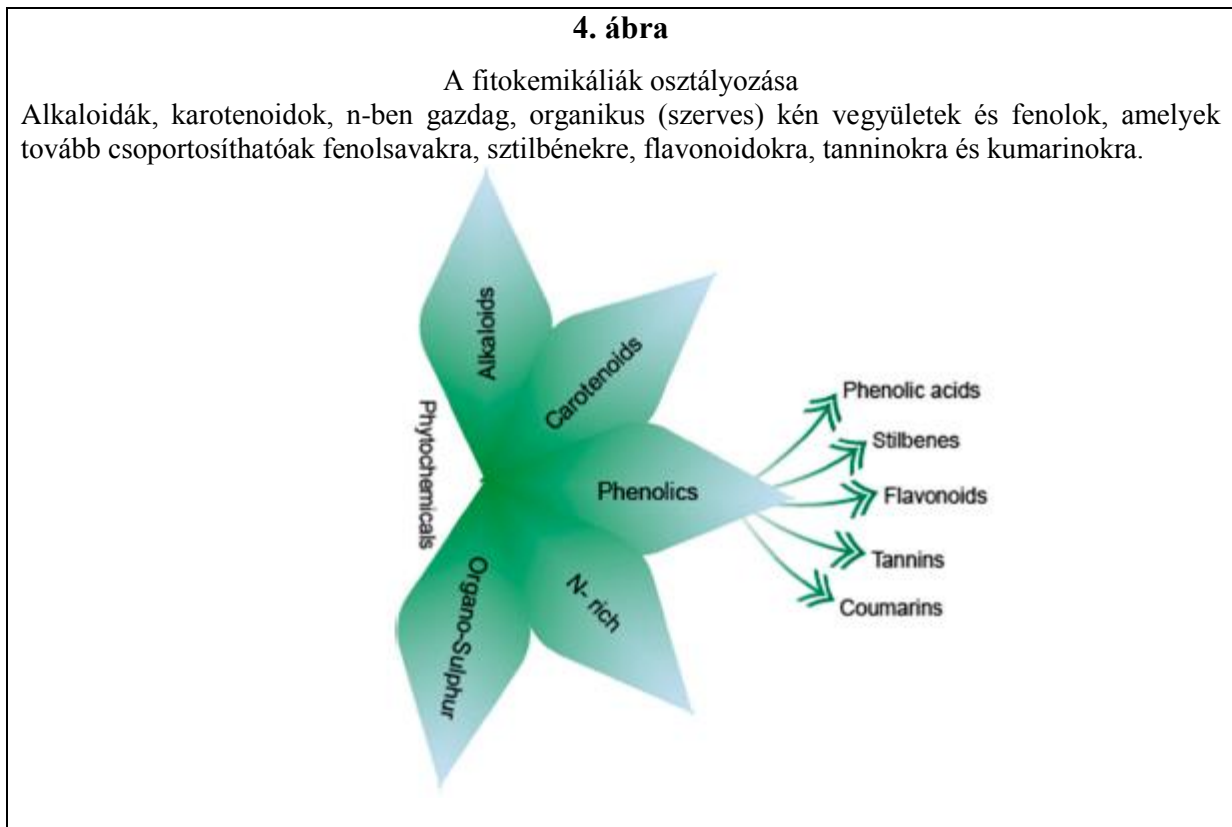
A ROS stimulálja a  $H_2O_2$  termelést, eltolja az intracelluláris pH-t és elősegíti a Bak aktiválódását. Továbbá az  $O_2^-$  modulálja a VDAC működését, így növeli a mitokondriális membrán permeabilitást. A p53-hoz lizoszomális permeabilitás társul, katepszint bocsátva ki, amely aktiválja a Bid-et és a Bak-ot a mitokondriális membránon. A p53 továbbá a prokaspáz-2 aktiválódásához a p53-indukálta proteinből történő kibocsátásán keresztül egy halál doménnel, a PIDDOSOME-mal kapcsolódik. Ezt követően a kaszpáz-2 növeli t-Bid aktiválódását, erősítve a mitokondriális amplifikációs hurkot. A MOMP útvonal aktiválja az AIF-et és az Endo G-t, ami növeli a DNS fragmentációt. Továbbá, a Smac/Diablo kibocsátása gátolja a BIR domén család működését, megelőzve a kaszpáz 9 gátlását. A citokrom c a  $Ca^{2+}$  ionoknak a mitokondriumba történő kibocsátásában az ER felületén levő Inozitol 1,4,5 foszfát aktiválásán keresztül vesz részt, ami a  $Ca^{2+}$  felhalmozódását eredményezi a mitokondriális térben és így növeli a mitokondriális stresszt és a porusképződést. A megnövekedett intracelluláris  $Ca^{2+}$  ion koncentráció beindítja a kalpain – egy nukleáris és celluláris membránok dekompozícióját célba vevő intracelluláris endonukleáz – aktiválódását is. A kaszpáz-3-at a mitokondriális hurok amplifikációban betöltött a kaszpáz-3 funkciója mellett végrehajtó kaszpáznak is tekintik, amely gátolja és hasítja a DNS javítási folyamattal összefüggő PARP-ot. A PARP aktiválja a CAD-ot, ami hozzájárul a DNS fragmentációhoz, valamint a Lamin A aktiválódásához, kromatin kondenzációt és nukleáris membrán degradációt eredményezve. Többek között apoptotikus testek kialakulását vették észre a fodrin aktiválódását követően. A már említett reakciók/útvonalak olyan jellemző fiziológiai és morfológiai módosulásokhoz vezetnek, mint a sejtsugorodás, apoptotikus testek és hólyagok képződése (piknózis) és membránváltozások, amelyet befolyásol a foszfatidilszerin „Annexin V”, lehetővé téve a fagocita sejtek támadását. Eszerint a kromatin kondenzáció (kariorrhexis), a DNS fragmentáció, a nukleáris membrán lebomlása és a mitokondriális membrán átjárhatóságának növekedése, valamint a magas ATP fogyasztás is szerepet játszik ezekben a változásokban.

A rákos sejtek rezisztenciát mutattak az onkogén gének (mint amilyen a *c-Myc*, amely növeli a celluláris proliferációt és elnyomja a p53-at) és az anti-apoptotikus fehérjék (Bcl-2, survivin, livin, stb.) túlkifejeződése által közvetített apoptózissal szemben. Ezzel ellentétben, a rákos sejtek apoptózissal szembeni rezisztenciáját modulálni lehet a pro-apoptotikus fehérjék (kaspázok, Bad, Bax, stb.) alulszabályozásán és a p53 tumorsuppressziós funkciójának elvesztésén keresztül. Az apoptotikus útvonalak rezisztenciájának legyőzése egy érdekes megközelítés a rák kezelésében. Ez főleg a p53 (gyógyszeres, gén és immunterápiával), a kaszpázok (gyógyszeres és génterápia) és a BIR család célba vételével, valamint az IAP működésének stimulálásával érhető el. Az utóbbi időben a növényi alapú rákkezelés a kutatás aktív területe lett szerte a bolygón. Ebben az áttekintésben megtárgyaljuk, milyen hatásai vannak a flavonoidoknak a rákkezelésben és hogyan befolyásolják az apoptotikus útvonalakat.

### 3. Fitokemikáliák

#### 3.1. A fitokemikáliák osztályozása

A fitokemikáliák bioaktív, nem-táplálék jellegű vegyületek, amelyek széles körben megtalálhatóak a növényekben, és olyan hatásaik vannak, amelyek csökkenthetik a különböző betegségek kockázatát. Több mint 50.000 különböző ismert fitokemikália van a növények birodalmában. A fitokemikáliák alaposztályozását a 4. ábra mutatja.



A fenolok túlnyomórészt egy vagy több benzolgyűrűvel rendelkeznek, és mono- vagy poli-hidroxiláltak lehetnek. A fenolok az emberi étrendben a legbőségesebben jelen lévő antioxidánsok. A fenolok nem-flavonoid fenolokra, köztük fenolsavakra, sztilbénekre, tanninokra, kumarinokra és a flavonoidokra oszthatóak.

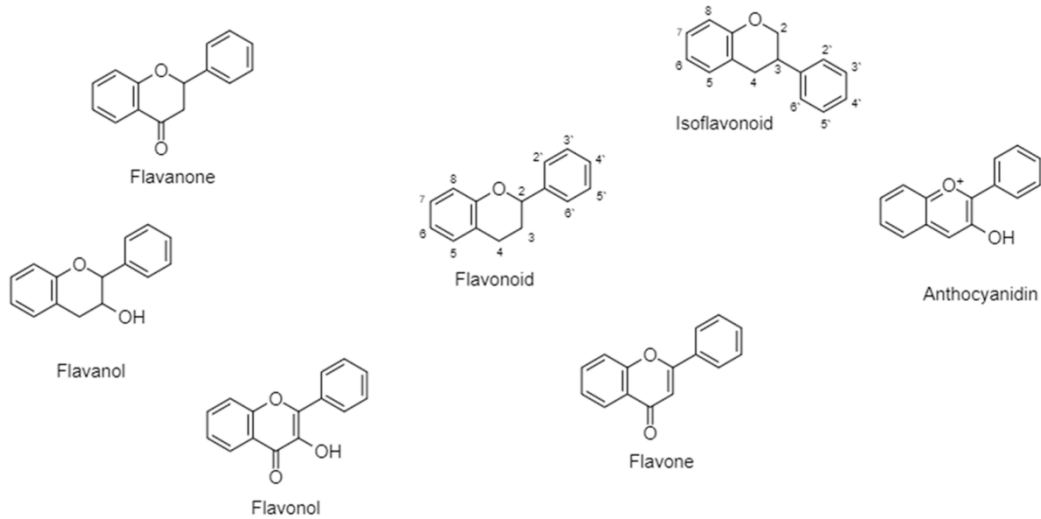
#### 3.2. Flavonoidok

A flavonoidok másodlagos növényi metabolitok, amelyek a virágok színéért és illatáért felelősek és antibakteriális, vírusellenes, antioxidáns, anti-allergén és gyulladásgátló tulajdonságokkal rendelkeznek. A karcinogenezis folyamatában a flavonoidok több szignáltranszdukciós útvonallal interferálnak és így korlátozzák a proliferációt, az angiogenezist és a metasztázist vagy növelik az apoptózist (5A, B ábra).

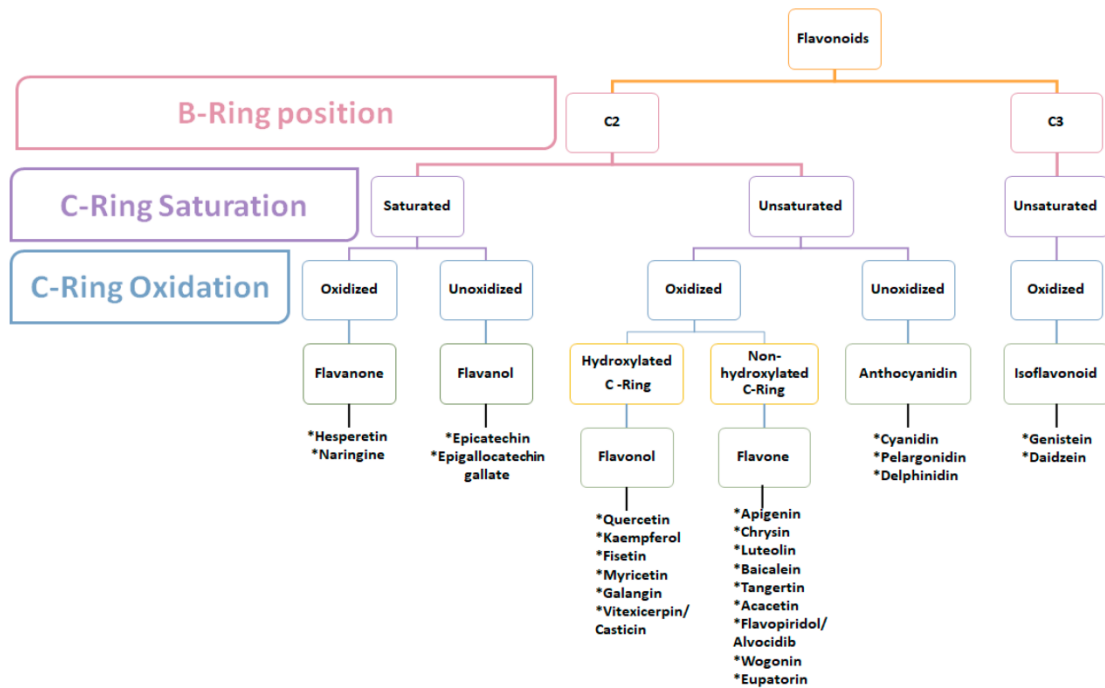
### 5. ábra

(A) A flavonoidok strukturális különbözőségeiktől függő besorolása hat osztályba: flavanol, flavanon, flavonoid, flavon, antocianidin és izoflavonoid.

(B) A növényi flavonoidok strukturális osztályozása a B-gyűrű C2-n vagy C3-on elfoglalt pozíciója, a B-gyűrű szaturációja és oxidációja szerint.



(A)



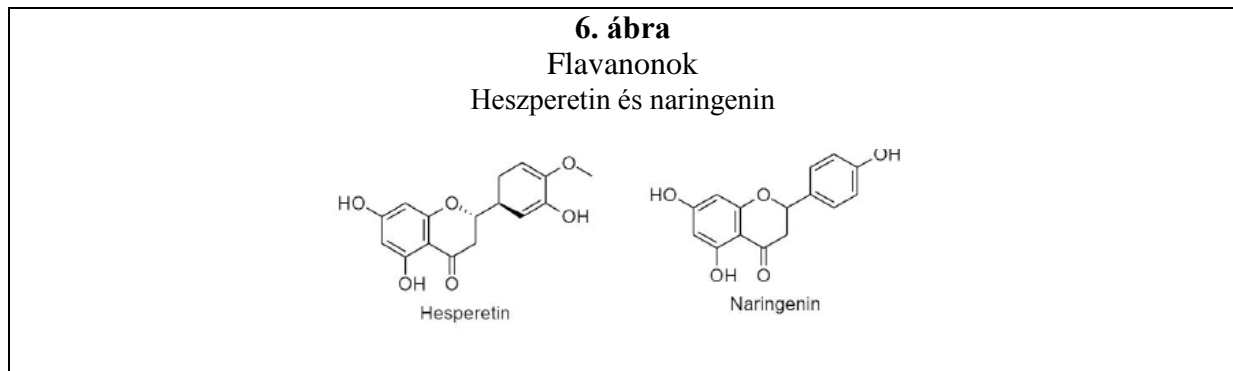
(B)

A polifenol terpenoidok 15 szénatomból állnak, amelyek kromángyűrűként (A és C) helyezkednek el és vagy a C2-ben (flavonoidok) vagy a C3-ban (izoflavonoidok) kapcsolódnak a B gyűrűhöz. Ahogyan azt az [5A, B ábra](#) illusztrálja, a C gyűrű szaturációja és oxidációja szerint 5 további fő osztályra lehet őket bontani. Mindegyik osztályban más a hidroxiláció és a szubsztitúció mértéke. A flavonoidok vagy glikozidokként léteznek hozzákapcsolódó cukorral vagy aglikonokként hozzákapcsolódó cukor nélkül.

### 3.2.1. Flavonoidok (a C2-höz kapcsolódó B gyűrű) – szaturált C gyűrű

#### 3.2.1.1. Flavanon

A di-hidroflavonokként is ismert flavanonokat a szaturált, oxidált C gyűrű jellemzi. A flavanonok megtalálhatóak a citrus gyümölcsökben és antioxidáns hatásukról, valamint gyök eltávolító képességükről ismertek. A heszperetin és a naringenin a két fő flavanon vegyület ([6. ábra](#)).



#### (A) Heszperetin

A heszperetin vagy 5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavanon egy aglikon, amely bőséges mennyiségben jelen van a citrus gyümölcsökben, a cseresznyefajtákban és a paradicsomban. A heszperetin és glikozidja, a heszperidin neuroprotektív, vazkuláris, gyulladásgátló, anti-allergén, antioxidáns és antikarcinogén hatásairól ismert. A heszperetin rákellenes hatásait vagy a ROS megnövelésével, a mitokondriális potenciál csökkentésével, a DNS fragmentáció indukálásával, vagy pedig a Fas és FADD ligandumok túlkifejeződésével fejtí ki. A heszperetin pro-apoptikus hatásait mind in vitro, mind pedig in vivo kutatásokkal értékelték. A heszperetin citokróm c, APAF-1, kaspáz-3 és -9 kifejeződést indukált és csökkentette a Bax és Bcl-2 arányt a gyomorrák sejtekben. A heszperetinnel azt is megállapították, hogy sejthalált indukál az Eca109 sejtekben azáltal, hogy növeli a ROS-t és csökkenti a GSH koncentrációkat, megerősítve a belső mitokondriális sejthalált. Hasonló pro-apoptikus hatások kapcsolódtak a HT-29, az MCF-7 és az MDA-MB-231 sejtekhez. A HT-20 sejtvonalban továbbá a heszperetin csökkentette az olyan enzimikus antioxidánsok, mint a SOD, a CAT, és a GPx koncentrációját. Ezzel szemben a H522 sejtekben a heszperetin külső tényezők általi apoptózist idézett elő a Fas és a FADD ligandumok túlkifejeződésén keresztül, valamint a kaspáz-9 szintek emelkedését és a p53 szintek alulszabályozását indukálta. A heszperetinnel megállapították továbbá, hogy belső és/vagy külső apoptózist, valamint G2/M

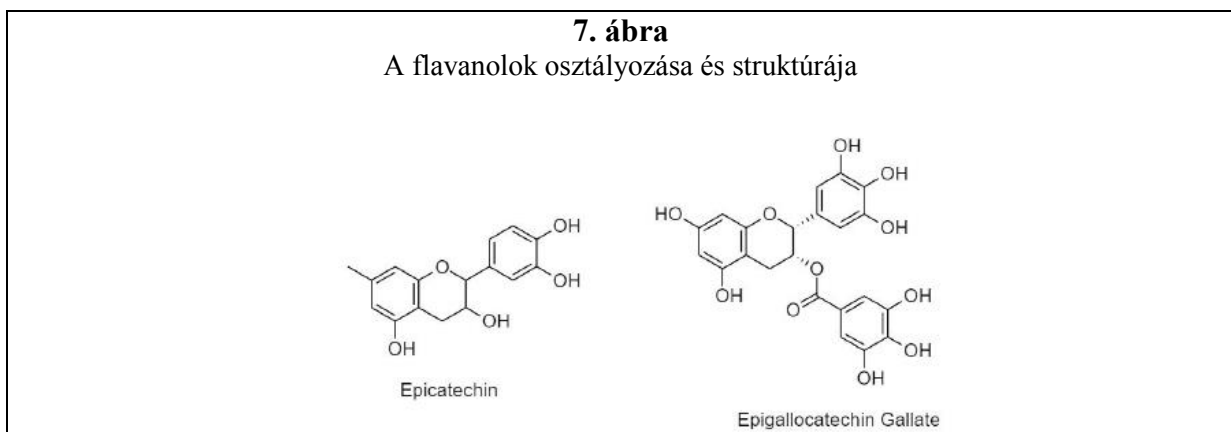
fázisban sejtciklus leállást indukál a SiHa sejtvonalakban. Az NF- $\kappa$ B útvonal gátlása mellett a heszperetin csökkentette a Bcl-2 transzkripciót és translációt a PC-3 sejtvonalakban.

### (B) Naringenin

Az 5,7,4'-trihidroxi-flavanonként is ismert naringenin egy aglikon, amely főleg a narancsban és a grapefruitban található meg. Jelentős mértékű farmakológiai profilja és széles körű biológiai hatásai vannak, köztük rákellenes, antioxidáns, antimutagén, antiproliferatív és gyulladásgátló képességekkel rendelkezik. A naringenin rákellenes tulajdonságait vagy a megemelkedett ROS, a csökkent mitokondriális potenciál, a DNS károsodás előidézése vagy külsőleg a Fas és FADD ligandum indukálja. Egy, az SGC-7901 sejteken végzett vizsgálatban a naringenin apoptózist idézett elő a p53 kifejeződés, a PARP hasítás, a Bax és a kaszpáz-3 hasítás növekedése révén, valamint csökkentette a Bcl-2 és a survivin kifejeződést. Az A431 és a HepG2 sejtekben továbbá a naringenin leállította a sejtciklust a  $G_0/G_1$  és/vagy a  $G_2/M$  fázisban, csökkentette a  $\Delta\Psi_m$ -et és növelte a kaszpáz-3 vagy Bax/Bcl-2 arányt. A HepG2 sejteket tekintve az in vivo kutatások feltárták, hogy a naringenin növelte a citokróm c és az AIF/Endo G mobilizációját a mitokondriális membránból és csökkentette a GSH koncentrációt, a SOC-ot és a kataláz aktivitást. Az MCF-7 sejtvonalak naringenin kezelése is a kaszpáz-3 aktiválódását eredményezte. Továbbá egy naringenin által szintetizált származék (N101-2) sejtciklus leállást eredményezett a szub- $G_1$  fázisban a SiHa sejtekben. Ennek megfelelően a belső apoptózis modulálódott a p53, a kaszpáz-3, -8 és -9 megemelkedett szintjei; a megnövekedett PARP; és a Bax felülszabályozódása miatt. Ezzel ellentétben, a külső apoptotikus útvonalat megerősítette a Fas/FasL túlkifejeződése. A HeLa és PC-3 sejtekben a naringenin növelte az intracelluláris ROS szintet és az  $\Delta\Psi_m$  elvesztését indukálta.

#### 3.2.1.2. Flavanolok

A katekineként ismert flavan-3-olok bőségesen előfordulnak a banánban, az almában, az őszbarackban, a körtében és az áfonyában. A flavanonhoz hasonlóan a flavanolt egy szaturált C gyűrű jellemzi. Azonban ez általában nem oxidált, és egy hidroxil csoporttal rendelkezik a C3-nál. A katekinek sejtciklus leállást gyakorolhatnak több olyan több jelátvivő útvonal modulációja révén, mint a nukleáris faktor- $\kappa$ B, az MAPK, az epidermális növekedési faktor, a vaszkuláris növekedési faktor, az endoteliális növekedési faktor és a mátrix metalloproteináz. A flavanolok további alcsoportokra, epikatekinre és epigallokatekin-gallátra oszthatóak (7. ábra).



### (A) Epikatekin

Az epikatekin széles körben előfordul a fekete csokoládében, a szőlőben és a zöld teában. Az epikatekinről ismert, hogy hatékony antioxidáns, amely hozzájárul az apoptózishoz és megelőzi az angiogenezist azáltal, hogy modulálja a jelátvivő enzimek hatását. Az epikatekin antiproliferatív tulajdonságait figyelték meg mind a HeLa, mind pedig az MKN-45 sejtekben, amelyekben a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> által mediált oxidatív stressz a rákos sejtek gyors megsemmisüléséhez vezetett. Más kutatások megállapításai felvetették, hogy az epikatekin képes célba venni az Akt és NFκB proliferatív jelátvitelt is. Figyelmet érdemel, hogy az epikatekin panaxadiollal vagy ciszplatinnal kombinálva szinergisztikus pro-apoptikus hatásokat mutatott a HCT-116-ban, illetve a tubuláris vese karcinómában.

### (B) Epigallokatekin-gallát (EGCG)

Az EGCG-ről azt közölték, hogy apoptózist indukál sok rák sejtvonalonban. A prosztatata karcinóma sejtekben az EGCG jelentősen indukálta a TRAIL által mediált apoptózist és, a kissejtes tüdő karcinómában az EGCG növelte a kaszpáz-3 aktivitást. Az EGCG továbbá növelte a Bax/Bcl-2-öt, a p53-at, a p21-et, a kaszpáz-3-at és -9-et, a PTEN-t, valamint alulszabályozta a PI3K-t, az AKT-ot és a Bcl-2-t a T47D és a HFF sejtekben. Az EGCG-ről azt is megállapították, hogy stimulálja a p21 és a p27 kifejeződést az MDA-MB-468, az MDA-MB-231 és a HS578t sejtekben, továbbá gátolja a Ki-67-et a (PRB)-E2F/DP útvonalban. Az EGCG antiproliferatív tulajdonságait emberi nyelőcső laphámsejtes karcinóma sejtvonalakon in vitro és tumor xenograftokon in vivo vizsgálták. Az EGCG-ről megállapították, hogy sejtciklus leállást gyakorol a G<sub>1</sub> fázisban az Eca-109 és Te-1 sejtekben, miközben az apoptózist a ROS és a kaszpáz-3 hasítás megemelkedett szintjei kísérték. Az in vivo kísérletet tekintve a proliferáció a VEGF csökkenésén keresztül gátlódott. Továbbá a HT-29 sejtekben az EGCG apoptózist indukált az Akt, ERK ½ vagy a p38 MAPK gátlás miatt. Ezen kívül a 293T sejtekben az EGCG Bax/Bcl-2, a kaszpázok és a citokrom c kibocsátás modulálásán keresztül proapoptikus hatásait mutatták ki. Az EGCG Bcl-xL csökkenése miatti dóziszfüggő citotoxikus hatását figyelték meg az A549 sejtekben. *Gupta S. és munkatársai* azt közölték, hogy az EGCG a sejt proliferációt az indukált apoptózisban az NF-κB/p65 nukleáris transzlokáció által csökkentette. Az MCF-7 mellrák sejtekben az EGCG gátolta az ErbB2 és az ErbB3 foszforilációját és elnyomta a MAPK útvonalat, míg az NF639 és az SMF emlőrák sejtekben az EGCG a közlés szerint csökkentette az ErbB2/neu sejt proliferációt és foszforilációt, valamint gátolta az NF-κB és MAPK útvonalakat. Az SW837 vastagbél rák sejtekben az EGCG a közlés szerint csökkentette az EGFR, ErbB2 és ErbB3 celluláris szintjeit.

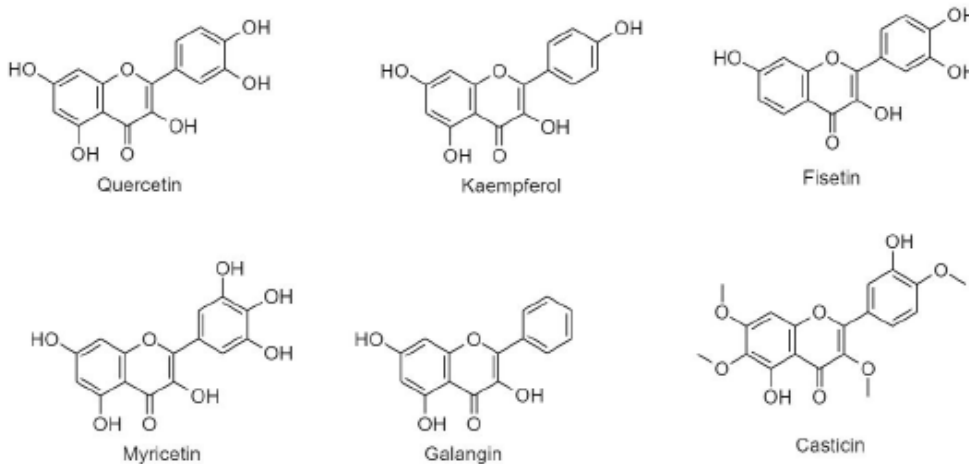
## 3.2.2. Flavonoidok (C2-höz kapcsolódó B gyűrű) – telítetlen C gyűrű

### 3.2.2.1. Flavonol

A flavonolt a telítetlen C gyűrű jellemzi a C2-C3-nál, amely oxidálódva megtalálható a C4-nél és hidroxilálva a C3-nál. A flavonol széleskörűen megtalálható a kelkáposztában, a fejes salátában, a hagymában, a szőlőben és a bogyós gyümölcsökben. A flavonolokat hat csoportra osztjuk (8. ábra).

## 8. ábra

A flavonolok osztályozása és szerkezete



### (A) Kvercetin

A 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavon vagy kvercetin a legbőségesebben rendelkezésre álló flavonoid, amely széles körben megtalálható a fakérgekben, a virágokban, a paradicsom magjában, az almában, a bogyós gyümölcsökben, a vöröshagymában, a tealevelekben, a káposztafélékben, a kapribogyókban, a mogyoróhagymában és a mogyoróban. A kvercetin fitoösztrogén, amely strukturálisan az endogén ösztrogén  $17\beta$ -ösztradiolra emlékeztet. Számos kutatás támasztja alá a kvercetin rákellenes potenciálját. Az MCF-7 sejtekben a kvercetin apoptózist idézett elő a Bax, a kaszpáz-3 növekedésén és a Bcl-2 csökkenésén, valamint nekroptózist a RIPK1 és a RIPK3 túlkifejeződésén keresztül. Egy másik kutatás kimutatta, hogy a kvercetin képes belső mitokondriális apoptotikus útvonalat indukálni. Ezzel ellentétben a kvercetin növelte a külső apoptózist a BT-474 sejtvonalakban. Érdekes módon nem volt hatása a Bcl-2-re vagy a Bax-ra és ezért nem indukált semmilyen belső apoptotikus útvonalat.

A kvercetin mitokondriálisan indukált pro-apoptotikus hatásait kimutatták a HL-60 sejtvonalakban a Cox-2, a kaszpáz-3, a Bax, a Bad, a Bcl-2, a citokróm c és a PARP modulációja révén. A BC1, a BC3 és a BCBL limfóma sejtekben a kvercetin apoptózist idézett elő a PI3K/AKT/mTOR és a STAT3 útvonalak alulszabályozása révén. A kvercetin az EGCG-vel kombinálva a sejt életképességét a PC-3 és az LNCaP sejtekben levő MDR1 gátlása révén csökkentette. Az LNCaP hatékony csökkenése a PC-3 felett továbbá arra utal, hogy a kvercetin mediálja a p53 apoptotikus útvonalat is. Hasonló módon, amikor a kvercetint metforminnal együtt adták be, a kvercetin gátolta a proliferatív PI3K/AKT útvonalat. Miközben a kvercetin csökkentette az ErbB2 tirozin kináz aktivitást, valamint a PI3K és az AKT foszforilációt az SKBR3 mellrák sejtekben, csökkentette az ERK  $\frac{1}{2}$  foszforilációt és az AKT foszforilációt és gátolta az NF- $\kappa$ B útvonalat a HepG2 májrák sejtekben.

## (B) Kempferol

A kempferol vagy 3,4,5,7-tetrahidroxiflavon egy nem toxikus étrendi flavonoid, amely megtalálható a teában, a kelkáposztában, a babban, a vöröshagymában, a paradicsomban, az eperben, a brokkoliban, a káposztában, az almában és a szőlőben. A kempferol antioxidáns, gyulladásgátló, antimikrobiális, neuroprotektív és rákellenes képességekkel rendelkezik. A kempferol strukturálisan az ösztrogénra emlékeztet, így kettős ösztrogén/antiösztrogén hatásai lehetnek a koncentrációjától függően, és jelölt lehet az olyan hormonális alapú rákfajták kezelésére, mint a petefészek rák, a mellrák és méhnyakrák; a hepatocelluláris melanóma, az akut promyelocitás leukémia; és a glióma. Az MDA-MB-453 mellrák sejtekben a kempferol DNS fragmentációt, a p53 kifejeződés felülszabályozását és foszforilációt idézett elő, ami a sejt proliferatív jelátvitelének megszakításához, így apoptózishoz vezet. A kempferolhoz a belső apoptózis indukciója társult az A2780/CP70, az A2780wt és az OVCAR-3 sejtvonalakban a mitokondriális útvonalon keresztül, amelybe bele értendő a kaszpáz-3, a kaszpáz-7, a p53, a Bax, a Bad növekedése és a Bcl-xL csökkenése. A kempferol csökkentette az Akt útvonal proliferatív jelátvitelét is és megelőzte az angiogenezist a VEGF alulszabályozása révén. Hasonló hatásokat figyeltek meg a HL-60 és az NB-4 sejtek esetében. Egy másik kutatásban a kempferol szinergisztikusan növelte a ciszplatin hatását az OVCAR-3-ban levő c-Myc túlkifejeződése révén. A HepG2 sejtek esetében a kempferolról megállapították, hogy apoptózist indukál az ER stresszen és a CHOP útvonalon keresztül. A kempferol továbbá növelte az apoptózist a mitokondriális membrán depolarizáción keresztül, valamint az A172 sejtekben az x-IAP és survivin antiapoptotikus fehérjék kifejeződésének alulszabályozását. Továbbá a HeLa sejtvonalakban a kempferolhoz a Bax/Bcl-2 arány megemelkedésén keresztül a mitokondriális funkció és az apoptózis modulációja társult.

## (C) Fizetin

A 3,7,3',4'-tetrahidroxiflavon, amely fizetinként is ismert, megtalálható az eperben, az almában, a datolyaszilvában, a szőlőben, a vöröshagymában és az uborkában. A fizetinről azt közölték, hogy neutrofil, antikarcinogén és gyulladásgátló tulajdonságokkal rendelkezik. A fizetin apoptózist indított be az LNCaP sejtvonalakban a PARP hasítás, a citokróm c kibocsátás, a kaszpáz-3, -8, -9 hasítás, a Bad, a Bax és a Smac/Diablo megnövekedése, valamint a Bcl-2, a Bcl-xL és az x-IAP alulszabályozása révén. A DU145 és a PC3 sejtekben a fizetin csökkentette az NF- $\kappa$ B aktivitását. Továbbá, a rákos sejtek TRAIL-lel és fizetinnel történő együttes kezelése a kaszpáz-3, és -8 szignifikáns aktivációját, valamint a mitokondriális membrán megszakítását okozta. A fizetin csökkentette a sejt életképességet és apoptózist indukált az SNU-1 sejtvonalakban. A fizetin hasonló hatásokat mutatott a HeLa sejtekben mind in vitro, mind pedig in vivo a  $\Delta\Psi_m$ , a kaszpáz-3 és -8, valamint a Bax/Bcl-2 arány modulálásán keresztül, ami a PARP hasításához vezet. Ezen kívül a fizetinhez sorafenib-bel kombinálva is pro-apoptikus képességek társultak xenograftokban. Megjegyzést érdemel, hogy a fizetin ER stressz mediált apoptózist indukált az NSCLS-ben. Fontos, hogy a fizetinnel és a melatoninnal kombinált kezelés a MeWo és az Sk-mel-28 sejtekben a PARP fehérje hasítását, a citokróm c mitokondriális kibocsátását, valamint a COX-2 és az NF- $\kappa$ B fehérjék gátlását eredményezte. Továbbá az U266 sejtekben a fizetin megnövelte a szub-G<sub>1</sub>

populációt, a kaszpáz-3 aktiválódást, a Bax, Bim és Bad túlkifejeződését; a Bcl-2 és az Mcl-1 alulszabályozódását; és a ROS folyamatos keletkezését.

#### (D) Miricetin

A 3,5,7,3',4',5'-hexahidroxi-flavon vagy miricetin egy gyakori, a fekete teában, a zöld teában vagy a borban megtalálható étrendi flavonoid. A miricetinhez antibakteriális, vírusellenes, antioxidáns és antikarcinogén hatások kapcsolhatóak. A miricetin rákkal szembeni védő szerepét DNS kondenzációval, a Bcl-xL és Bcl-2 kifejeződés szuppressziójával és a mitokondriális AIF kibocsátásának növekedésével mutatták ki a HCT-15 sejtekben. Azonban semmilyen, a kaszpáz-3 és -9 hasításra gyakorolt hatás nem volt megfigyelhető. Az UVB által indukált HaCaT sejtekben a miricetin az Akt útvonal gátlásával fejtett ki pro-apoptotikus hatást. A Bad foszforiláció és  $\Delta\Psi_m$  csökkenését, valamint a citokróm c, a Smac és az AIF kibocsátás csökkenését is megfigyeltek. Továbbá a SKOV3 sejtekben a miricetin dózisfüggő módon nukleáris kromatin kondenzációt és fragmentációt, valamint DNS kettős száltöréseket indukált. A ciszplatin rezisztens OVCAR-3 és A2780/CP70 sejtvonalakban a miricetin legyőzte a rák kemorezisztenciát és magasabb citotoxicitást mutatott, mint a ciszplatin. A mögöttes mechanizmusokban vannak mind belső, mind pedig külső apoptotikus útvonalak, amit megerősített a Bcl-2, illetve a DR5 szabályozott kifejeződése. Végül: a miricetin által a TNBC-ben indukált apoptózis mechanizmusa a ROS indukálása révén vált érthetővé, ami DNS kettős száltöréseket és a mitokondriális apoptotikus útvonal aktiválódását eredményezte.

#### (E) Galangin

A 3,5,7-trihidroxi-flavon, amely galanginként is ismert, erősen koncentrált formában van jelen a mézben és a propoliszban, valamint a kínai lesser galangal (*Alpinia officinarum*, kínai gömbér) gyógynövényben. Számos kutatás megállapításai utalnak a galangin rákellenes tulajdonságaira. A galangin hatását a HCT-15, valamint a HT-29 férfi és női emberi vastagbélrák sejtvonalakon vizsgálták. Az eredmények kaszpáz és mitokondrium függő apoptotikus útvonalakat mutattak beleértve a DNS kondenzációt, a kaszpáz-3 és -9 aktiválódást, az AIF kibocsátását és a mitokondriális membrán potenciál elvesztését. Az SNU-484 sejtekben a galangin apoptózist idézett elő és gátolta a sejt proliferációt mind dózis, mind pedig időfüggő módon. A kezelt sejtekben a sejt morfológiájának, a PARP hasításnak, a DNS fragmentációnak, a kaszpáz-3 és -9, valamint a MAP kináz útvonal aktiválódásának változásait figyelték meg. A HepG2, a Hep3B és a PLC/PRF/5by sejtvonalakban a galangin pro-apoptotikus tendenciákat mutatott a Bax-nak a mitokondriumba való transzlokációja révén, valamint csökkenést a Bcl-2 kifejeződésben, a kaszpáz-8 és Bid aktiválódásában, a citokróm c kibocsátásában és a PARP hasításban. Továbbá a galangin pro-apoptotikus hatásaihoz a B16F10 sejtekben a  $\Delta\Psi_m$  diszrupciója, a kaszpáz-3 és -9 és PARP hasítása, valamint a p38 MAPK útvonal indukálása társult. Ezen túlmenően a galangin megfordította TRIAL rezisztenciát is a Caki, ACHN és A498 sejtekben úgy, hogy alulszabályozta a Bcl-2-t, a c-FLIP-et, az Mcl-1-et és a survivint, valamint gátolta az NF- $\kappa$ B útvonalat. A galangin a berberinnel kombinálva szinergisztikusan a sejtciklus leállításához vezetett az Eca9706, a TE-1 és az EC109 sejtekben a G<sub>2</sub>/M fázisban.

#### (F) Kaszticin (vitexicarpin)

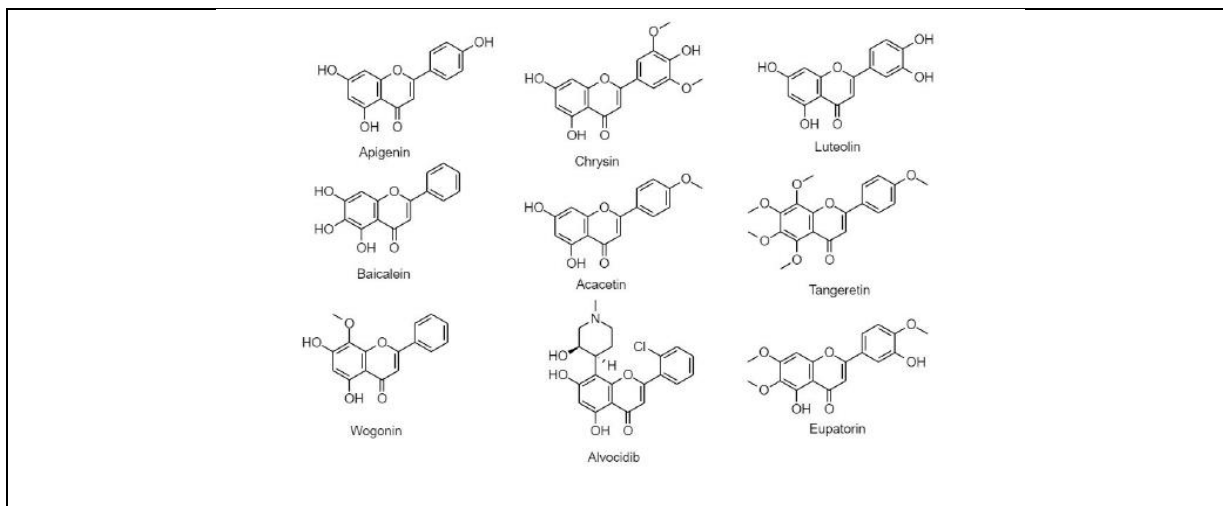
A 3'5-dihidroxi-3,4'6,7-tetrametoxiflavon vagy kaszticin jól ismert erős farmakológiai profiljáról, és gyulladásgátló, neuroprotektív, fájdalomcsillapító, immunmoduláló, és ami a legfontosabb, ösztrogén és rákellenes ágensként történő felhasználásáról. A H460, A549 és H157 humán NSLC sejtvonalakon végzett in vitro vizsgálat a sejt életképességének 50 %-os csökkenését mutatta, ami a membrán depolarizációjával, a citokróm c mitokondriális kibocsátásával, a kaszpáz-3 és -9 aktiválódásával, a DNS fragmentáció növekedésével, az x-IAP és Bcl-xL fehérjék alulszabályozásával, valamint a Bax és a Bid felül szabályozásával járt. A BGC-823, az SGC-7901 és az MGC-803 sejtvonalakban, valamint az emberi vastagbél rák HT-29, HCT-116, SW480 sejtvonalaiban a kaszticin az apoptózist belsőleg idézte elő a c-FLIP, a Bcl-2, az x-IAP és a survivin alulszabályozásával. A külső útvonalat megerősíti a TRAIL által előidézett citotoxicitás, mivel intenzíven felül szabályozta a DR5 receptor kifejeződését úgy, hogy nem volt hatása a DR4 vagy „csali” receptorokra. A PANC-1 sejtek és a PC-3 sejtvonalak kaszticinnel történt kezelése apoptózist indukált és sejtciklus leállást idézett elő a Bax/Bcl-2 arány megváltoztatásán és a kaszpáz-3 aktiválásán keresztül. Hasonló hatásokat figyeltek meg az U251, az U87 és az U373 sejtekben. A NOZ és az SGC996 sejtek xenograftjaiban a kaszticin gátolta a proliferációt, apoptózist indukált és sejtciklus leállást okozott a G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>-nél a mitokondriális apoptotikus útvonalon át, amelyben a Bax, a Bcl-2, a ciklin D, a kaszpáz-3, -9 és a PARP modulációját figyelték meg.

#### 3.2.2.2. Flavonok

A flavonok főleg levelekben, virágokban és gyümölcsökben találhatóak meg. A zellert, a petrezselymet, a mentát, a kamillát, a vörös paprikát és a ginkgo bilobát a flavonok gazdag forrásának tekintik. A flavonolokhoz hasonlóan szerkezetük a C2-C3 pozíciónál egy telítetlen C gyűrűből, és a C4-nél egy keton gyűrűből áll, de a flavonoloktól eltérően hiányzik a hidroxiláció a C3-nál. A flavonok közé tartozik az apigenin, a krizin, a luteolin, a baikalein, a tangertin, az acatecin, a flavopiridol/alvodicidib, a wogonin és az eupatorin (9. ábra).

### 9. ábra

A flavonok osztályozása és szerkezete



### (A) Apigenin

Az apigenin vagy 5,7,4'-trihydroxiflavon egy fitoösztrogén aglikon, ami bőségesen megtalálható a szőlőben, a spenótban, a narancsban, a fokhagymában, a petrezselyemben, a zellerben, a sárgarépában, a propoliszban, az articsókában, az oreganóban és a kamillában. Az apigenin rákellenes hatékonysága a PC-3, a 22Rv1 és a DU145 sejtekben a HDAC enzimaktivitás gátlásából származik a transzkripciós és translációs szinteken, ami a H3 hiperacetilációjához vezet a *p21/waf1* promóteren. Ennek megfelelően Bax túlkifejeződést, x-IAP, a c-IAP1, c-IAP2, valamint a survivin, Bcl-2 és Bcl-xL fehérjék elcsendesítését (knockdown-ja) és a citokróm c kibocsátását is megfigyelték. Továbbá az SCC25 és az A431 sejtekben az apigenin önmagában vagy az 5-fluorouracillal (5-Fu) vagy ciszplatinnal kombinálva sejtciklus leálláshoz vezetett a G<sub>2</sub>/M fázisban azáltal, hogy megnövelte a ROS szintjeit, csökkentette a glutationt és TNF-R-t és TRAIL-R-t indukált. Az apigenin elnyomta az ACHN, a 786-0 és a Caki-1 RCC sejt proliferációt is in vivo a G<sub>2</sub>/M fázisban a sejtciklus leállításán, a DNS károsodáson és a p53 felülszabályozásán keresztül. A T24 sejt vonalban az apigenin inaktíválta a PI3K/Akt útvonalat, a p53, p21 és p27 ciklinek foszforilációját, aktiválta a kaszpáz kaszkádot, citokróm c-t bocsátott ki, alulszabályozta a Bcl-xL-t, a Bcl-2m-et és az Mcl-1-et, felülszabályozta a Bax-ot, a Bad-ot és a Bak-ot. Az SW480 xenograft modellben az apigenin változást idézett elő a ciklin D1, a BAG-1, a Bcl-2 és a FADD kifejeződésében, ami apoptózishoz vezetett. Továbbá a BCPAP sejtekben az apigenin dóziszfüggő módon gátolta az életképességet a megnövekedett ROS és az ezt követő DNS károsodás indukciója révén. A HCT-116 sejtekben az apigenin belső, külső és ER stressz által elindított apoptózist indukált, ezzel együtt a ROS emelkedését, a mitokondriális membrán potenciál és a Ca<sup>2+</sup> keletkezését idézte elő. Az apigenin felülszabályozta a CHOP, a DR5, a BID, a Bax fehérje kifejeződését, a citokróm kibocsátást és a kaszpáz kaszkád -3-at, -8-at és -9-et. Az apigenin a közlés szerint csökkentette az EGFR és az ErbB2 ligandum által indukált foszforilációját, ezáltal károsítva a lefelé irányuló jelátvitelüket és így apoptózist indukált a fej-nyaki laphám karcinóma sejtekben. Ezen kívül az apigenin gátolta a rosszindulatú mezotelióma sejtek proliferációját és túlélését in vitro, növelte a reaktív oxigén fajták intracelluláris termelődését, és DNS károsodást idézett elő. Az apigenin által indukált sejthalálhoz a Bax/Bcl-2 arány növekedése, a p53 kifejeződés emelkedése, a kaszpáz 9 és 8

aktiválódása és a PARP-1 hasítása kapcsolódott. A rosszindulatú mezotelióma egy #40a sejtekkel transzplantált in vivo C57BL/6 egér modelljében az intraperitoneálisan beadott apigenin csökkentette a daganat növekedésének kockázatát és növelte a medián túlélési arányokat az apigeninnel kezelt egereknél. *Shukla S. és munkatársai* azt közölték, hogy az apigenin kezelés csökkentette a sejt proliferációt, növelte a sejtek arányát a G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> fázisban és csökkentette az Rb és p38 kináz szintjeit.

#### (B) Krizin

Az 5,7-dihydroxiflavon vagy krizin egy olyan flavonoid, amely bőségesen megtalálható a thai propoliszban és mézben. A krizin egy apigenin analóg, magas terápiás potenciállal, amely kedvezően hat az intesztinális membrántranszportra. Azonban, a gyors metabolizmus és kiürülés miatti alacsony biológiai hasznosulása következtében más flavonoid vegyületekkel összehasonlítva kedvező hatásai kevésbé érvényesülnek. A krizin jól ismert gyulladásgátló, antioxidáns és rák kezelésében kemopreventív ágensként betöltött szerepe mellett magas potenciált mutatott, mint aromataz gátló. A krizinről azt közölték, hogy a legpotensebb flavonoid, amely a HeLa sejtvonalakban a sejt életképességében és az apoptózis beindításában játszik szerepet a megnövekedett DNS fragmentáció, valamint a p38 és az NF- $\kappa$ B/p65 indukálása révén. Az U937-et túlkifejező Bcl-2-ben a krizin az x-IAP alulszabályozása és az Akt inaktivációja mellett pro-apoptikus hatásokat mutatott a kaszpáz-3 aktiválásán és a PLC-1 megnövekedett degradációján keresztül. Ezen kívül a krizinnel kapcsolatos TRAIL által indukált apoptózist figyeltek meg az A549 és a HeLa sejtvonalakban. A TRAIL által indukált sejthalál szelektív módon indukálódott a STAT3 gátlásán és az Mcl-1 „csendesítésén” (knockdown) keresztül. A krizin kezelést követően a TRAIL által indukált sejthalált figyeltek meg a HCT-116 és a CNE1 sejtekben is. Egy nemrégiben zajlott vizsgálatban a teljes mechanizmus megismerésre és feltárára került a DU145 és PC-3 sejtek felhasználásával – ide tartozik az MMP elvesztése, a ROS emelkedése, az ER stressz indukálása, és a PI3K szupressziója. Az SP6.5 és az M17 melanóma tenyésztett sejtekben a krizin aktiválta a mitokondriálisan függő apoptotikus útvonalat a membrán potenciál elvesztésén, a citokróm c kibocsátásán és a kaszpáz-3 és -9 – de -8-én nem – aktiválásán keresztül. A krizin önmagában vagy ciszplatinnal kombinálva a HepG2 és a QGY7701 ráksejtekben belső és külső apoptotikus útvonalakat indukált a p53, a Bax, a kaszpáz-3, -8 és -9 és a DR5 megnövekedett szintjei, és az ezzel együtt lecsökkent Bcl-2 szintek miatt.

#### (C) Luteolin

A luteolin vagy 5,7,3',4'-tetrahydroxiflavon jól ismert kemopreventív, gyulladásgátló és citotoxikus kemoterápiás ágens. A HepG2 sejtekben a luteolin növelte a citokróm c koncentrációját, transzlokálta a mitokondriális Bax-ot és Bak-ot és aktiválta a JNK útvonalat. Egy tumor xenograft modellben a luteolin aktiválta a JNK és NF- $\kappa$ B jelátvitelt és a ROS kibocsátást. Az NSCL A549-ben a luteolin aktiválta a JNK-t, növelte a Bax-ot és elősegítette a kaszpáz-3 és -9 hasítását. Ezen kívül a luteolin citotoxicitást indukált, növelte a p53 és p21 kifejeződését, csökkentette az MDM4 fehérje kifejeződést, és aktiválta kaszpáz-3-at és -9-et in vivo. A luteolinnal kezelt NCI-H4 60 sejtekben az apoptózis belsőleg, külsőleg és az ER

stresszen keresztül módosult. Az ER stresszt és a ROS megnövekedését figyelték meg in vitro és in vivo az U251MG és az U87MG sejtekben is. A luteolin kombinálása olyan kemoterápiás gyógyszerekkel, mint az 5-fluorouracil vagy a gemcitabin szinergisztikusan indukált anti-proliferatív hatást, amit a csökkent nukleáris GSK-3b és NF $\kappa$ B fehérje kifejeződés és a megnövekedett citokróm c is mutatott. A PANC-1-ben, a CoLo-357-ben és a BxPC-3-ban a luteolin növelte a Bax/Bcl-2 arányt, amihez kaszpáz-3 növekedés, PARP hasítás és NF- $\kappa$ B gátlás társult. A luteolin és a paclitaxel együttes beadása az egér xenograftok MDA-MB-231 sejtjeibe a daganat méretének csökkenését eredményezte az aktivált kaszpáz-3 és -8, valamint fokozta a Fas kifejeződését. A luteolin gátolta a metasztatikus mellrák sejt vonalakat is a VEGF kifejeződésének csökkentésével. A luteolinról azt közölték, hogy belső és külső apoptotikus útvonalat indukál a HeLa sejtekben a kaszpáz-3 és -8 aktivációs kaszkád fokozása; a  $\Delta\Psi_m$  citokróm c kibocsátásával összefüggő csökkenése; a BCL-2 és Bcl-xL kifejeződésének gátlása; valamint a Fas/FasL, a DR5/TRAIL és a FADD halál receptorok felülszabályozása révén.

#### (D) Bajkalein

Az 5,6,7-dihidroxiflavon vagy bajkalein egy aglikon, amely bőségesen megtalálható a *Scutellaria baicalensis* (bajkái csucsóka) gyökerében. A bajkalein kiterjedt farmakológiai, gyulladásgátló, anti-kardiovaszkuláris és neurodegeneráció ellenes hatásairól ismert. A ráksejtekre gyakorolt mitokondrium és receptor által is mediált proapoptotikus hatását főleg a Bcl-2 család modulálásával éri el. Az SCC-4 sejtekben a bajkalein megemelte a Bax-ot és csökkentette a Bcl-2-t, módosította a citokróm c kibocsátását és aktiválta a kaszpáz kaszkádot. A bajkalein továbbá növelte a DR5-öt és a TRAIL-t a fehérje és a transzkripciós szinteken, és megemelte a ROS szintjét is, valamint ER stresszt indukált. A bajkalein hasonló anti-proliferatív hatásait figyelték meg a PCa sejtekben. Ezen kívül a bajkalein a BxPC-3 és a PANC-1 sejt vonalakban elnyomta a proliferációt és a metasztázist az Akt és az ERK aktivitások csökkentésével. A CRC HT-29-ben a bajkalein a G<sub>1</sub> fázisban sejt ciklus leállást, DNS fragmentációt, kromatin kondenzációt; csökkent Bcl-2 és megnövekedett Bax kifejeződést; csökkent MMP-9-et; és kontrollált Akt-ot indukált. Egér xenograftokban a bajkalein modulálta az Akt- és a p53-függő útvonalat, és csökkentette az MMP 2/9 kifejeződését. A bajkalein kezelés in vitro és in vivo, dózisfüggő-módon az SGC-7901 sejtek apoptózist és  $\Delta\Psi_m$  diszrupcióját idézte elő, és a Bcl-2 alulszabályozásával, valamint a Bax felülszabályozásával modulálta a Bax/Bcl-2-t. Az MDA-MB-231 sejtekben továbbá a bajkalein pro-apoptikus hatásaihoz a mitokondriális potenciál diszrupciója, citokróm c kibocsátás, a kaszpáz-3 és -9 aktivációja, valamint megnövekedett Bax/Bcl-2, és megemelkedett p53 kifejeződés, továbbá az ERK/p38 MAPK útvonal jelátvitelének megemelkedése társult. A bajkalein továbbá jelentősen gátolta az inváziót és a metasztázist azáltal, hogy csökkentette az MMP-2/9 kifejeződést és alulszabályozta a MAPK-ot. A bajkalein alulszabályozta a Bcl-2-t és felülszabályozta a kaszpáz-3-at, -8-at és a Fas/FasL-t a HeLa sejtekben. A bajkalein továbbá ER stresszt indukált, felülszabályozta a Bax-ot, alulszabályozta a Bcl-2-t, valamint a kaszpáz-3, -9 és a PARP hasítását indukálta a HCC sejtekben in vitro és in vivo. A bajkalein gátolta a tumor sejt proliferációt is, és G<sub>2</sub>/M leállást indukált a HCC J5 sejtekben.

#### (E) Tangeretin

Az 5,6,7,8, 4'-pentametoxiflavon, amely tangeretinként is ismert, a tangerin és más citrus gyümölcsök héjának olajában található. A tangeretinről megállapították, hogy a DMBA-indukálta oxidatív stresszt a Sprague-Dawley patkányok mellrákjában a SOD, CAT, GPx, GST, GSH, az aszkorbinsav és az  $\alpha$ -tokoferol antioxidáns enzimek mérséklésével csökkentette. A tangeretinről megállapították, hogy sejtciklus leállást okoz a G<sub>1</sub>/S fázisban a p53/p21 felülszabályozásával és a metasztázist az MMP-2 és -9, valamint a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor szupressziójával gátolja. Az AGS-ben a tangeretin dóziszfüggő módon idézett elő apoptózist a p53-függő mitokondriális diszfunkción és a Fas/FasL külső útvonalon keresztül. A tangeretin továbbá elnyomta a p53 gátló PFT- $\alpha$ -t is a p53, a kaszpáz-3, -8 és -9 aktivitás, valamint a Bax, a t-Bid, a p53, a Fas és a FasL felülszabályozásával. Ezen kívül az U-87MG-ben és az LN-18-ban a tangeretin G<sub>2</sub>/M leállást és apoptózist idézett elő a PTEN, és a ciklin-D és cdc-2 mRNS, valamint a fehérje kifejeződések modulálásával. A tangeretin továbbá a TRIAL-lal kombinálva a H1299 és a H1975 sejtekben alulszabályozta az anti-apoptotikus Bcl-2-t, a Bcl-xL-t, a survivint, az x-IAP-ot, a c-IAP1-et és a c-IPA2-t, és megemelte a pro-apoptotikus Bax és a kaszpáz-3, -8 és -9 kifejeződését. A DR4 és 5 kifejeződésének szignifikáns megnövekedése mellett az ER stressz indukcióját közvetítette a CHOP felülszabályozása és a ROS megemelkedése révén.

#### (F) Acacetin

Az acacetin egy, a sáfrányos szeklice virágából kivont 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavon. Az acacetinhez peroxidáció ellenes, gyulladásgátló, plazmódia ellenes és rákellenes hatások kapcsolódnak. A T-sejtes leukémia Jurkat sejtjeiben az acacetin időfüggő módon apoptózist idézett elő a nukleáris és sejt morfológia megváltoztatásán; a kaszpáz-3, -8 és -9 aktivitás indukcióján; az Apaf-1 és a citokróm c kibocsátásán és a Bax/Bcl-2 arány megnövelésén keresztül. A krónikus limfoid leukémiában (CLL) az acacetin pro-apoptikus hatásain végzett kutatásban a B-limfociták xenograftjairól és az egészséges B-limfocitákról bebizonyosodott, hogy közvetlenül a mitokondriális útvonalat veszik célba a megnövekedett citokróm c kibocsátáson, kaszpáz-3 aktiváción, a reaktív oxigén fajták (ROS) megnövekedett koncentrációján, és az MMP összeomlásán keresztül. Az acacetin antimetasztatikus potenciált mutatott a DU-145 sejtekben a protein és mRNS szinteken az MMP 2 és 9, valamint az u-Pa kifejeződésének gátlásában részt vevő p38 MAPK foszforilációjának gátlásán keresztül. Az acacetinről továbbá megállapították, hogy befolyásolja a kromatin kondenzációt és képes szignifikánsan csökkenteni a nukleáris NF- $\kappa$ B-t, ami a Bcl-2 és az x-IAP, valamint a COX-2 proliferatív fehérje alulszabályozásával járt. Az MCF-7 és a HSC-3 sejtvonalakban az acacetin befolyásolta a növekedés gátlást, a DNS fragmentációt és a PARP hasítást; növelte a kaszpáz-7, -8 és -9 aktivitást és csökkentette a Bcl-2-t. Az acacetin csökkentette a mitokondriális membrán potenciált, modulálta az AIF és a citokróm c kibocsátást és növelte a ROS képződést, ami ezt követően apoptózist eredményezett.

#### (G) Flavopiridol/Alvocidib

A flavopiridol egy ciklinfüggő kináz gátló, amely főleg a CDK 9-et veszi célba a klinikai kísérletek II-es fázisában. A flavopiridol hatásosnak mutatkozott a krónikus limfoid

leukémia (CLL) SU-DHL-4 és TMB8 sejtjeinek a kezelésében. A flavopiridol általában sejtciklus leállást és apoptózist indít el egy p53-tól független mechanizmusban, amelyben benne van az antiapoptikus Mcl-1 és az x-IAP alulszabályozása és az ER stressz indukciója. A HCC-ben a flavopiridol gátló hatása együtt járt az Mcl-1 gátlásával, ami fokozta a kaszpáz-3 aktiválódását és a PARP hasítását. Figyelmet érdemel, hogy a flavopiridollal kombinálva alkalmazott doxorubicin a HCC egérmodellekben szignifikánsan csökkentette a proliferatív jelátvitelt. Továbbá: az oxaliplatinnal kombinálva alkalmazott flavopiridol anti-proliferatív és pro-apoptikus hatásaihoz a melanóma sejtekben, valamint a szubkután beinjektált allograftjában dóziszfüggő módon fokozott kaszpáz-3, -7 és -9 aktivitás társult a mitokondriális apoptotikus útvonalon keresztül. Az U2OS, a SaOS2, az SJSA-1 és 143B metasztatizáló oszteosarkómában nanomoláris koncentrációkban a flavopiridol kezelés jelentősen csökkentette a kadherin 3-at és 4-et, így csökkentve a metasztatikus potenciált a tüdőben.

#### (H) Wogonin

A *Scutellaria baicalensi*-ből kivont wogoninhoz vagy 5,7-dihidroxi-8-metoxiflavonhoz antioxidáns, gyulladásgátló, görcsoldó, neuroprotektív, antibakteriális és vírusellenes hatások társulnak. A wogonin az LNcaP sejtekben megemelte az apoptotikus Bax jelátvitelben érintett p21, p27, p53 és PUMA szinteket. Érdekes módon a wogonin az SK-N-BE2 és IMR-32 sejtvonalakban befolyásolta a mitokondriális diszfunkciót és az ER-t a citokrom c kibocsátás miatt; megváltoztatta a Bcl-2, a Bax és a Bid kifejeződését; fokozta a kaszpáz-3, -4, -8, -9 és -12 aktivitóját és a PARP hasítását; és az ER-stressz kapcsolt GRP-78 és GRP-94 fehérjék kifejeződését idézte elő. Az NSLC A549 és HeLa sejtvonalaiban a wogonin és a ciszplatin szinergetikus hatásait figyelték meg a kaszpáz-3 aktivitás potenciációján, az ezt követő PARP hasításon és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akkumuláción keresztül. A wogonin kezelést követően a HT-29 sejtek életképessége dóziszfüggő módon elnyomásra került a sejtciklus G<sub>1</sub> fázisban történő leállításának előidézésével; megnövekedett a DNS fragmentáció, a kromatin kondenzáció és a Bax/Bcl-2 arány; inaktiválódott a PI3K/Akt útvonal; és a felül szabályozás és aktiválódás történt a p53-ban. Az A2780 sejtekben a wogonin gátolta a proliferációt és a metasztatizációt a VEGF, a Bcl-2 és az Akt kifejeződés csökkenése, valamint a Bax kifejeződés és a p53 kaszpáz-3 hasítás növekedése révén. A wogonin citotoxikus hatásait figyelték meg a HCC sejtvonalakban és xenograftokban, ami az Akt jelátvitel inaktivációjának volt betudható, és ami a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> megemelkedett szintjeihez és az ER Ca<sup>2+</sup> kibocsátásához vezetett. A HPCC sejtek wogonin-nal történt kezelése apoptózishoz vezetett a megnövekedett ROS generálódás miatt.

#### (I) Eupatorin

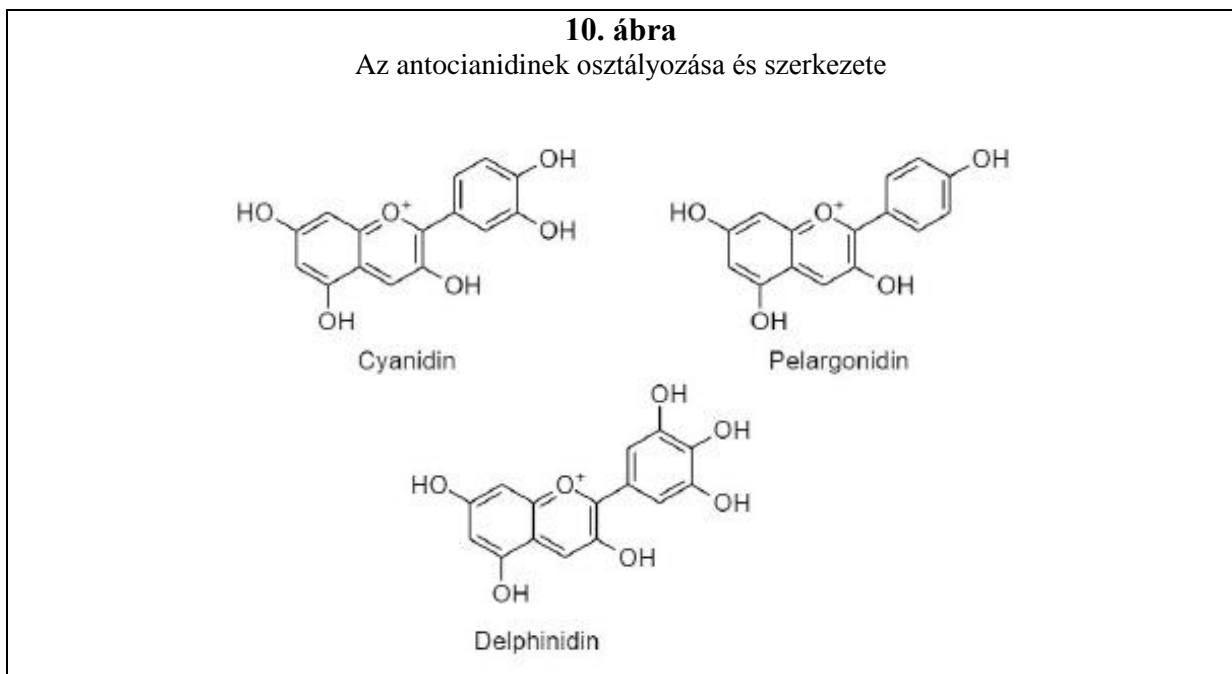
Az 5,3'-dihidroxi-6, 7, 4'-trimetoxiflavont, amely eupatorinként is ismert, az *Orthosiphon stamineus*-ból, a *Lantana montevidensis* leveleiből és a *Tanacetum vulgare* légyökeű növényekből izolálták. Az eupatorin szub-mikromoláris koncentrációkban és dóziszfüggő módon gátló hatásokat mutatott az MDA-MB-468 sejtvonalakra. Az eupatorin a sejtciklus leálláshoz vezetett a G<sub>2</sub>M fázisban. A citotoxikus aktív hatóanyaggá válás mechanizmusát a CYP1 metabolikus útvonalának szelektív aktivációja tárta fel. A G<sub>2</sub>M fázisban a sejtciklus leállítás kiváltását közölték a HeLa sejtekkel kapcsolatban is. A BAX egy p53-tól független útvonalon történő aktiválódása mellett, az eupatorin felül szabályozta a p53-

at, a p21-et, a kaszpáz-3-at és -7-et és a PARP hasítást. A HT-29 és SW948 sejtvonalakban az eupatorin csökkentette a sejt életképességét és apoptózist indukált a mitokondriális membrán potenciál csökkenése révén, amit a Bax/Bcl-2 kifejeződés emelkedése és a ROS szintek növekedése kísért. Vastagbélrák esetében az eupatorinnal és doxorubicinnal történő kombinált kezelés egyidejűleg növelte meg a Bax/Bcl-2 arányt, a kaszpáz-3 kifejeződést és a PARP hasítást és indukált apoptotikus sejthalált. Emberi leukémia sejtekben apoptózist indukált a citokróm c mitokondriális kibocsátása, több kaszpáz aktiválása és a PARP hasítás révén. Végül: az apoptózis és a sejtciklus leállás HepG2-ben történő indukciója a p53, a MAPK-ok és a mitokondriális útvonalak modulációja révén vált hatásossá.

### 3.2.2.3. Antocianidinek

Az antocianidineket a flavonoidok vízdékony, telítetlen, nem oxidálódott osztályaként jellemzik, amelyek növényi pigmentekként fordulnak elő, amelyek a növény pH-tól függő színéért felelősek, ami része a vonzerejüknek.

Az antocianinok antioxidáns hatása fenol struktúrájuktól és a hidroxilációjuktól függ a molekula C gyűrűjének 3-as pozíciójánál, valamint a B gyűrűjének 3'-as, 4'-es és 5'-ös pozíciójánál (10. ábra). Az antocianidinek (10. ábra) csökkentik a DNS-t károsító oxidatív adduktumait, a lipid peroxidációt, gátolják a mutagenezist, valamint modulálják a jelátvivő kaszkádokat, így csökkentve a celluláris proliferációt. Az aglikonok általában potensebb antioxidánsok, mert a kisebb számú cukorcsoport miatt szélesebb körű farmakológiai hatásokat mutatnak a kardiovaszkuláris betegségekre és az elhízásra, valamint daganatellenes, gyulladásgátló és antimutagén aktivitással is rendelkeznek.



#### (A) Cianidin

A cianidin általában egy cukorhoz kapcsolódva található meg, pl. mint cianidin-3-O- $\beta$ -glükopiranozid (C3G). Jelentős hatásokat mutat a sejtciklus leállás indukálásában, a

proliferáció gátlásában (azáltal, hogy gátolja a VEGF-et), a metasztázisban (azáltal, hogy gátolja az MMP 2-t és 9-et) és erősíti az apoptózis kaszpáz-független AIF útvonalát (azáltal, hogy aktiválja a citokróm c és a Bax fehérje kifejeződését) a különféle rákos sejtvonalakban. A C3G antiproliferatív hatása DU145 és az LnCap sejtvonalakban a kaszpáz-3 aktiválódásán és a p21 fehérje kifejeződés indukcióján keresztül közvetítődött, a DNS fragmentáció növekedésével és a P75NGFR tumorszupresszor szintjeinek emelkedésével együtt. Az U87 sejtekben a C3G pro-apoptikus hatásokat mutatott a Bax és a p53 RNS kifejeződésének megemelkedésével, míg a Bcl-2 kifejeződése csökkent.

A C3G az MCF-7 sejtekben is apoptózist mediált a morfológiai változások, a felületi buborékképződés és a nukleáris kondenzáció befolyásolásán keresztül. A cianidin apoptózist indukál az RCC-ben azáltal, hogy növelte a kaszpáz-3-at, gátolta a metasztázist az E-kadherin gátlásán keresztül, valamint gátolta a daganat növekedését a kopasz egér xenograftokban. A G<sub>2</sub>/M fázisban sejtciklus leállást és DNS fragmentációt figyeltek meg az U937-ben a cianidin kezelést követően. Végül: a cianidin-3,5-diglükózid, a cianidin-3-glükózid, a cianidin-3-rutinozid és a peonidin-3-glükózid blokkolta az SMMC-7721 sejteket in vitro, és a H22 sejteket in vivo azzal, hogy a G<sub>2</sub>/M-nél a sejtciklus leállást, DNS károsodást, az antioxidáz aktivitások fokozását és a lipid peroxidáció szintjének csökkenését váltotta ki.

#### (B) Pelargonidin

A pelargonidin egy antocianidin, ami bőségesen előfordul a bogyós gyümölcsökben. Az acilált pelargonidin származékok koncentráció-függő módon citotoxikus hatást mutattak a Bel-7402 sejtekben, ami antioxidáns és pro-oxidáns tulajdonságaikkal, valamint a DNS károsodásra gyakorolt hatásukkal függött össze. A pelargonidin glükózid a HT-29-ben apoptózist indukált a kaszpáz-3 aktivációja révén. Ennek megfelelően a HT-29 pelargonidinnak való kitettsége a citokróm c kibocsátását okozta a mitokondriumban; felülszabályozta a kaszpáz-3 és -9, a Bax és Bid aktivitását; a PARP hasítása mellett alulszabályozta a Bcl-2 és a Bcl-xL kifejeződését; p53 és p21waf1 kifejeződést indukált. Továbbá, az U2OS sejtvonalban a pelargonidin az MMP ROS által indukált csökkenését idézett elő és G<sub>2</sub>/M sejtciklus leálláshoz vezetett. Ezen kívül a pelargonidin dóziszfüggő módon csökkentette a p-PI3K és a p-AKT proliferatív kaszkádok kifejeződését is.

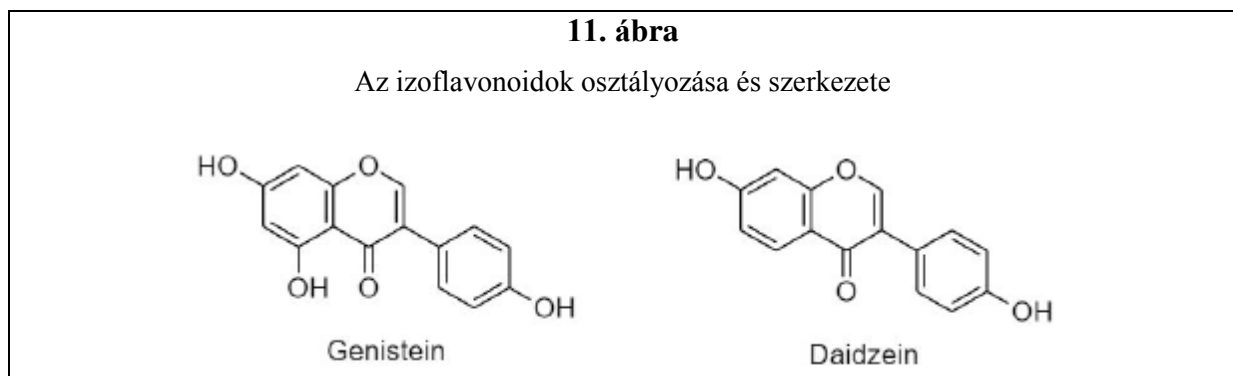
#### (C) Delfinidin

A delfinidin egy jelentős antocianidin, amely bőségesen megtalálható az olyan különböző színes gyümölcsökben és zöldségekben, mint a vörös káposzta, a bogyós gyümölcsök, az édesburgonya és a szőlő. A delfinidin anti-angiogén, gyulladásgátló, anti-mutagén, antioxidáns és anti-tumorgenikus képességekkel rendelkezik. A SKOV3 sejtekben a delfinidin dóziszfüggő módon csökkentette a proliferációt a PI3K/AKT és az ERK 1/2 mitogén által aktivált fehérje kináz jelátvivő kaszkádok inaktiválása révén. Ehhez hasonlóan, az NSCLC-ben a delfinidin gátolta a PI3K aktivációját, az AKT és a MAPK-ok foszforilációját; a PARP hasítását; a kaszpáz-3 és -9 kaszpázok aktiválódását; a Bcl-2, a Bcl-xL és az Mcl-1 alulszabályozódását; valamint a Bax és a Bak felülszabályozódását. Egér xenograftokban a tumor növekedésének szignifikáns gátlását, a Ki67 és PCNA sejt-proliferációs markerek és CD31, VEGF angiogenezis egyértelmű csökkenését is megfigyelték a kezelést követően.

Továbbá a B CLL-ben a delfinidin-3-O-glükozid és a delfinidin-3-O-rutinozid pro-apoptikus hatásokat mutatott a redox-érzékeny kaszpáz-3 aktiválási mechanizmusán, valamint a Bad/Bcl-2 útvonal diszregulációján keresztül úgy, hogy gyorsan defoszforizálta az AKT-ot és a Bad-ot, valamint alulszabályozta a Bcl-2-t. A delfinidin továbbá apoptózist, valamint sejtciklus leállást indukál az erősen metasztatikus emberi prosztata rák PC3 sejteiben és az androgén refrakter emberi prosztata rák 22Rnu1 sejtekben az NF- $\kappa$ B útvonal számos komponensének gátlása révén. A delfinidin (2 mg) intraperitoneális beadása háromszor egy héten szignifikánsan csökkentette a tumor növekedését atímiás szörtelen egerekben, amelyekbe PC3 sejteket ültettek be (a prosztata rák egy in vivo modelljében). A kutatások feltárták, hogy a delfinidinnel történt kezelés szignifikánsan csökkentette az NF- $\kappa$ B/p65, az anti-apoptotikus Bcl2, a Ki67 és a PCNA kifejeződését ezekben a daganatokban.

### 3.2.3. Izoflavonoidok (C3-hoz kapcsolódott B gyűrű)

A növényekben az izoflavonoidok eloszlása a szójababra és a hüvelyes zöldségekre korlátozódik, de megtalálták őket néhány mikrobában is. Az izoflavonoidokat tovább osztjuk genisteinre és daidzeinre (11. ábra). Az izoflavonoidok magas fogyasztása korrelált az ösztrogénnel kapcsolatos rákfajták csökkent kockázatával ösztrogén hatása és a miatt a képessége miatt, hogy képes versenyezni a 17 $\beta$ -ösztradiollal in vitro és állatkísérletekben. Azt is megerősítették, hogy az izoflavonok DNS fotoprotektív hatásokat gyakorolnak és felül szabályozzák a glutation peroxidáz enzim kifejeződését.



#### (A) Genistein

A genistein vagy 5,7,4'-trihidroxiizoflavon egy fitoszterol, amely bőségesen megtalálható a szójababban. A genistein érintette a proliferációt, a differenciálódást és az apoptózist az MCF-7 és a 3T3-L1 sejtekben azáltal, hogy szabályozta az ösztrogén receptor- $\alpha$  (ER $\alpha$ ) kifejeződést és megváltoztatta a Bax/Bcl-2 arányt. A genistein MDA-MB sejtekkel szembeni citotoxikus hatásai közé tartozik magában foglalta az endogén réz Notch-1 útvonal mobilizációja miatti pro-oxidáns jelátvitelt, ami az NF- $\kappa$ B aktivitás gátlását, valamint a Bcl-2 és a Bcl-xL alulszabályozását eredményezte. Az A2780, C200 sejtekben továbbá a genistein alulszabályozta a Bcl-2-t, a Bcl-xL-t, a c-IAP1-et, a survivint és az NF- $\kappa$ B-t. Az LNCaP sejtekben a genistein apoptózist indukált a mitokondriális membrán potenciál megnövekedett, TRAIL által előidéztet megszakítása révén. A daidzein és a genistein szinergisztikus hatást mutatott a sejt proliferáció gátlására és az apoptózis előidézésére az LNCaP-ban és a C4-2B-

ben. A genistein és a szelén kombinációja a PC3-ban és az LNCaP-ban (hormonfüggő) dózis- és időfüggő módon szignifikánsan gátolta a növekedést és a metasztázist annak az MMP-2 kifejeződésnek a csökkentésével, ami aktív invázióval és a metasztázissal járt. A HT-29 sejtvonalakban a genistein hatását a FOXO3 tumor szupresszor aktiválódása és defoszforilációja magyarázta, amit általában csillapított az EGF. A genistein HT-29 vastagbél rákkal szembeni potenciálja azt mutatta, hogy az apoptózist a transzkripció, fehérje és enzimatisz szinteken megnövekedett kaszpáz-3 aktivitás és csökkent a mátrix metalloproteináz-2 (MMP2) aktivitás váltotta ki, miközben úgy hatott, hogy beindította az apoptózis mitokondriális útját a HCT-116 és a LoVo sejtekben az Akt foszforilációjának gátlásával.

#### (B) Daidzein

A daidzeinként is ismert 7,4'-dihydroxiizoflavon egy szójababból izolált étrendi fitoösztrogén. Strukturálisan a genisteinhez hasonlít; azonban hiányzik belőle a hidroxil csoport az 5-ös pozíciónál. A daidzein antiproliferatív hatásokat mutatott különböző rák sejtvonalakban. Koncentráció- és időfüggő módon az MCF-7 sejtekben és xenograftokban a daidzein stimulálta a ROS termelődését; a citokróm c kibocsátását a mitokondriális membránból; a kaszpáz-7 és -9 aktiválódását; és a Bax/Bcl-2 arány megváltozását. A daidzein szerepet játszott az apoptózis beindításában a HCCSK-HEP-1-ben, ami a Bak felülszabályozásával, valamint a Bcl-2 és a B-xL fehérjék alulszabályozásával; a mitokondriális citokróm c kibocsátásával; az APAF-1-gyel; valamint a kaszpáz-3 és -9 aktiválódásával járt.

## 4. Összefoglaló megjegyzések, jövőbeni perspektívák és következtetések

A növényi kivonatokról bebizonyították, hogy az apoptotikus útvonalak modulálásával erős jelöltek a különböző rákfajták kezelésére. A fő mechanizmusok közé tartozik az apoptotikus fehérjéket belső- és külső aktiválása, a ROS megemelkedése, és a DNS károsodás indukcióját. Az ebben a kéziratban a különböző rákfajtákra a különböző flavonoidok IC<sub>50</sub> értékeit az [1. táblázatban adjuk meg](#).

1. táblázat				
a különböző flavonoidok IC <sub>50</sub> értékei az egyes ráktípusokban				
Vegyület	Rák típusa/Sejtvonal	Időpont (h)	IC <sub>50</sub>	Referencia
Heszperetin	Myeloid	24	500 ± 100 µM	[222]
Naringenin	Lymphoid	48	164.9 ± 21.83 µM	[222]
EGCG	Mell T47D	72	14.17 µM	[49]
	Prostata LNCaP	48	0.4 µM	[223]
	Prostata PC3	48	38.95 µM	[224]
	Tüdő	24	70 µM	[225]
	Hólyag		70–80 µM	

## 1. táblázat

a különböző flavonoidok IC<sub>50</sub> értékei az egyes ráktípusokban

Vegyület	Rák típusa/Sejtvonal	Időpont (h)	IC <sub>50</sub>	Referencia
				[226]
	Akut T-sejtes limfoblasztos leukémia (CCRF-CEM)		16.04 ± 1.56 μM	[227]
Kvercetin	Hólyag	48	876.9 ± 13.1 μM	[222]
Kempferol	Csont	24	148.4 μM	[222]
Fizetin	Eritroid	48	15 ± 2 μM	[222]
Miricetin	Vastagbél	72	68.0 ± 20.4 μM	[222]
Galangin	Máj	24	100.4 ± 17.0 μM	[222]
Kaszticin	Tüdő A549	48	0.4 μMol/L	[228]
	Akut T-sejtes limfoblasztos leukémia (CCRF-CEM)	24 & 72	0.28 ± 0.02 μM	[227]
	Leukémia K562	48	5.95 μM	[229]
	Leukémia Kasumi-1	48	15.56 μM	[229]
	Leukémia HL-60	48	4.82 μM	[229]
Apigenin	ER- mell	24	60.4 ± 15.8 μM	[222]
Chrysin	ER+ breast	48	82.5 μM	[222]
Luteolin	Tüdő	72	35.9 ± 9.3 μM	[222]
Bajkalein	Gyomor	72	64.3 μM	[222]
Tangertin	Melanóma	48	0.3 μM	[222]
Acacetin	Száj laphám HSC-3	24	25 μg/mL	[162]
	MCF7	24	26.4 ± 0.7 μM	[167]
	Melanóma		0.79 mM	[230]
Flavopiridol	Hólyag RT4/RT112	24–72	150–350 nM	[231]
	Hólyag T24/SUP	24–72	1000 nM	[231]
	GCT/giant cell tumor/óriássejtes tumor	72	60–70 nM	[232]
	SKOV, MCF-7, HeLa	72	280–350 nM	[232]
	Ezofageális	72	100–150 mM	[233]
	HNSCC tumor xenograftok	10 hét	5 mg/kg/nap	[234]
	Hematopoietikus SUDHL4	12	120 mMol/l	[235]
	Prostata PC3	12	203 mMol/l	[235]
Wogonin	Petefészek	72	19.9 ± 1.2 μM	[222]
Eupatorin	HeLa		11.72 ± 2.86 μM	[236]
	K562		4.29 ± 1.35 μM	[236]
	MCF7		16.61 ± 5.56 μM	[236]
	RPM18226		4.77 ± 0.51 μM	[236]
	HL-60		14.09 ± 0.55 μM	[236]
	MOLT		4.74 ± 0.43 μM	[236]
	MDA-MB-468	96	0.5 μM	[182]
	MCF-7	96	50 μM	[182]
Cianidin	HL-60	48	31.6 μM	[237]

## 1. táblázat

a különböző flavonoidok IC<sub>50</sub> értékei az egyes ráktípusokban

Vegyület	Rák típusa/Sejtvonal	Időpont (h)	IC <sub>50</sub>	Referencia
Pelargonidin	HL-60	48	85.2 µM	[237]
	Oszteoszarkóma U2OS		15 µM	[200]
	HepG2	24	33 µM	[238]
Delfinidin	HepG2	24	77 µM	[238]
	HL-60	48	10.9 µM	[237]
Genistein	Hepatocelluláris Hepa1-6	24	20 µM	[239]
	Hasnyálmirigy Mia-PaCa2	24	20 µM	[240]
	Hasnyálmirigy PANC-1	24	25 µM	[240]
	Pancreatic H6C7	24	120 µM	[240]
	Vastagbél HCT 116	24	690 µM	[217]
	Vastagbél HCT 116	48	135 µM	[217]
	Vastagbél HCT 116	72	61 µM	[217]
Daidzein	Vastagbél HT-29	48	200 µM	[241]
	MIA PaCa-2	48	200 µM	[241]
	PetefészekSKOV3 [224]	24	20 µM	[242]
	BEL-7402	48	59.7 ± 8.1 µM	[243]

### 4.1. Biológiai hasznosulás

A biológiai hasznosulás a vegyületnek az a mennyisége, amely felszívódik és metabolizálódik az emberi szervezetben, miután lenyelték és általában a maximális plazma koncentrációban (C<sub>max</sub>) megadva mérjük. Epidemiológiai adatok feltárták, hogy kapcsolatot van a flavonoidokban gazdag étrend és az emberi betegségek megelőzése között. A flavonoid vegyületek, mint gyógyító és védő ágensek hatékonyságát számos emberi betegség ellen tesztelték kiterjedten in vitro kísérleti modellekben, és eltérések mutatkoztak a flavonoidok in vitro megfigyelt biológiai tulajdonságai és in vivo megfigyelt bioaktivitása között. Míközben sok természetben előforduló flavonoidnak megvan az a potenciálja, hogy hatékony rákellenes ágens legyen in vitro, ilyen jótékony hatásokat nem lehet elérni embereknél, mert ezek közül a növényi eredetű másodlagos metabolitok közül soknak alacsony a biológiai hasznosulása a szervezetben. Így a rákellenes flavonoidok biológiai hasznosulását részletesen kell tanulmányozni. Egy flavonoid vegyület bioaktivitásának a megismeréséhez (a vegyületnek be kell jutnia a keringésbe és el kell érnie a szöveteket, natív vagy metabolizált formájában, elegendő mennyiségben ahhoz, hogy biológiai hatást tudjon kifejteni) fontos megértenünk felszívódásának, biológiai hasznosulásának és metabolizmusának folyamatát.

A szervezetben a glikozilált flavonoidok, mint amilyenek a flavonolok, izoflavonok, a flavonok és az antocianinok a felszívódást megelőzően általában a nekik megfelelő aglikonjukká hidrolizálódnak a bél vagy a vastagbél mikroflóra révén. A lipofil aglikonok a bél epiteliális sejtjeibe passzív diffúzió révén jutnak be, míg az epiteliális transzporterek a glikozidok bél epiteliális sejtekbe történő felvételét segítik elő. A glikozilált flavonoidok abszorpció s rátája sokkal kisebb, amikor összehasonlítjuk a bélben levő aglikon

flavonoidokkal. A felszívódást követően a flavonoidok módosulásoknak vannak kitéve a vékonybélben, a májban és a vesében. A poszt-abszorptív metabolikus változások, mint amilyen a flavonoidok metilációja, a szulfurizációja vagy a glükuronidációja a keringésbe és a célszövetbe való bejutásukat megelőzően szintén nagymértékben megváltoztatja biológiai tulajdonságaikat. Továbbá azok a szervezetbe bekerült flavonoid vegyületek, amelyek nem szívódnak fel a proximális vékonybélben, eléri a vastagbelet, ahol ki vannak téve a vastagbél mikrobáknak, amelyek lebontják ezeket a flavonoid molekulákat, amelynek során a heterociklikus oxigént tartalmazó gyűrű széthasad és az ezt követően keletkezett degradációs termékek (általában hidroxilált fenil karboxil savak) ezután tudnak felszívódni. A galluszsav, valamint az izoflavonok, a flavanonok, a katekin és a kvercetin glükozidjairól ismert, hogy ezeknek a legmagasabb a biológiai hasznosulásuk, míg az antocianinoké és a pro-antocianidineké a legalacsonyabb.

A precíziós gyógyászatban már eljutottak számos flavonoid biológiai hasznosulásának a megértéséig, de sok flavonoid vegyület esetében még mindig hiányzik a gyenge orális biológiai hasznosulás kérdésének a megoldása. A jobb biológiai hasznosulást úgy lehet elérni, hogy átlépjük azokat a határokat, amit az oldhatóság, a celluláris átjárhatóság, a metabolikus változás, valamint ezeknek a vegyületeknek az emberi szervezetből való kiürülése jelent, és megkönnyítjük a célszövet általi felvételüket. Számos kutatócsoport kísérli meg, hogy növelje a védő flavonoid vegyületek biológiai hasznosulását a bélből történő felszívódás javításával, a felszívódás helyének megváltoztatásával és a metabolikus stabilitás javításával. Bár néhány flavonoid vegyület már kapható a kereskedelemben tabletták formájában, az embernek óvatosnak kell lennie, mivel nagy mennyiségű koncentrált flavonoid közegészségügyi aggodalmakat kelthet a káros mellékhatásokról rendelkezésre álló információk korlátozott volta, valamint ezeknek a vegyületeknek a gyógyszerekkel való kölcsönhatásai miatt egy in vivo kísérleti elrendezésben és a klinikai kísérletekben. Bár vitatható, kutatások azt közölték, hogy a genistein, egy szója izoflavon, stimulálhatja az MCF-7 mellrák sejtek növekedését és proliferációját azáltal, hogy erősíti az inzulinszerű növekedési faktor útvonalat, még ösztrogén vagy progeszteron hormonok hiányában is.

Számos különböző olyan molekula van (szénhidrátok és fehérjék) a biológiai rendszerben, amelynek megvan az a potenciálja, hogy befolyásolja a flavonoidok biológiai hasznosulását. Az olyan tényezők, mint az életkor, a nem és a genotípus, különböző mértékben modulálhatják ezen biológiai molekulák bioaktivitásának a kifejeződését, amelyek viszont befolyásolják a felszívódást, a metabolizmust, a keringő koncentrációkat, szöveteknek való kitettségét és az elfogyasztott flavonoid vegyületek eliminációját. Ezért még nagyobb kihívást jelent az életkorra, a nemre, a fennálló betegségi állapot(ok)ra, a meglévő gyógyszerekre, a szokásos étrendre (és az ételmiszer fizikokémiai tulajdonságaira) és a bél mikrobióma természetére vonatkozó megfontolások bevonása, ha a flavonoid vegyületek biológiai hasznosulását és hatékonyságát klinikai kísérletekben rákellenes készítményként akarjuk megérteni. Annak érdekében, hogy a preklinikai kutatásokban használt hatékony terápiás dózisokat kapjunk, tökéletesebb és célzottabb gyógyszer szállítási technikákat kell alkalmazni, hogy a maximális hatékonyságot lehessen elérni minimális mellékhatások mellett. A nanotechnológia alapú gyógyszer szállítási rendszerekben elért fejlődés jobb lehetőségeket

biztosít az oldékonyság növelésére, a biológiai hasznosulás javítására és a flavonoidok célba jutási képességének a javítására. Az aktuális kutatásoknak arra kellene összpontosítaniuk, hogy megfelelő molekuláris szállítókat tervezzenek a flavonoid készítmények célszövetekhez történő eljuttatására. A nanorészecskéket (liposzómák, polietilén glikol liposzómák, a nikkell alapú, a lecitin alapú és a nanoszalag) szállítókat alkalmazó kutatásokról azt közölték, hogy a kvercetin esetében a készítmény szolid tumorokhoz történő eljuttatását illetően a sikeresek a központi idegrendszer, a tüdő, a vastagbél, a máj és a mellrákok in vitro és in vivo modelljében

#### *4.2. Kombinációs terápia*

A növényi kivonatokról bebizonyosodott, hogy erős jelöltek a különböző ráktípusok kezelésére azáltal, hogy modulálják az apoptotikus útvonalat. A fő mechanizmus magában foglalja az apoptotikus fehérjék belső és külső faktorok általi aktivációját, a ROS megemelkedését és a DNS károsodás indukcióját. Továbbá a flavonoid-polifenol/flavonoid és a flavonoid/klasszikus rákellenes gyógyszer kombinációkról a közlemények azt mutatták, hogy javította a rákkezelés hatásosságát.

A pterosztilbén és a kvercetin kombinációja hatásosan csökkentette a sejtnövekedést és proliferációt, csökkentette a Bcl-2 kifejeződést és növelte a sejthalált, miközben csökkentette a B16M-F10 melanóma sejtek metasztatikus potenciálját in vitro, és csökkentette a daganat növekedését és javította a túlélési arányokat egy B16M-F10 melanóma sejteket hordozó in vivo egér modellben. Közlemények szerint a genistein és a rezveratrol kombinációja csökkentette a daganat növekedését és az IGF-1 kifejeződést azoknál az SV40 patkányoknál, amelyek prosztatarák xenograftokat hordoztak. A genistein és a tearubigin kombináció szinergisztikus hatásokat mutatott, szignifikánsan csökkentette a sejtburjánzást a G<sub>2</sub>/M fázis sejtciklus leállítását mutatta a PC-3 prosztata rák sejtekben. Egy kvercetin és EGCG-t alkalmazó kombinációs terápiát alkalmazó megközelítés csökkentette a sejt proliferációt, sejthalált indukált és sejt ciklus leállást okozott a G<sub>2</sub>/M fázisban a PC-3 és az LNCaP prosztata rák sejtekben. A kvercetinnek és az EGCG-nek ebben a kombinációjában a kvercetin javította a zöld tea polifenoljának biológiai hasznosulását és csökkentette a felszívódást követő metilációját mind in vitro, mind pedig in vivo. LAPC-4 prosztata rák sejt xenograftokat hordozó SCID egereknél a kvercetin és EGCG-t alkalmazó kombinációs kezeléshez a daganatos sejt proliferáció szignifikáns gátlása, az androgén receptor kifejeződés csökkenése, a PI3K/Akt jelátvivő útvonal elnyomása és az apoptózis stimulálása társult a Bax/Bcl-2 arány növekedésén keresztül. Egy másik kutatásban a luteolin és az EGCG kombinációjának a közlések szerint alacsony koncentrációban (amelynél az egyes ágensek minimális apoptózist idéznek elő) szinergisztikus hatása volt és növelte az apoptózist mind a fej- és nyaki, mind pedig a tüdő ráksejt vonalakban. Ugyanez a kutatás azt közölte, hogy a luteolin és az EGCG kombinációja csökkentette a daganat növekedését, gátolta a Ki67 kifejeződését, növelte a sejthalált és csökkentette a daganat növekedését a csecsemőmirigy hiányos [atimiás] egerek olyan modelljeiben, amelyek mind a fej- és a nyaki laphámsejtes karcinóma, mind pedig a tüdőrák sejtek xenograftjait hordozták. A luteolin és az EGCG kombinációjának szinergisztikus hatásait a p53 megemelkedett foszforiláció és a p53 függő hatásoknak a PARP és a kaspáz-3 hasítására gyakorolt hatásának tulajdonították. Az MDA-

MB-231 hármás negatív mellrák sejtekben a kurkumin és az EGCG kombinációja csökkentette a sejt proliferációját, növekedését, és életképességét és G<sub>2</sub>/M sejt ciklus leállást okozott, miközben csökkentette a daganat térfogatát az atimiás kopasz egereknél, amelyekbe MDA-MB-231 sejteket ültettek, ami korrelált a VEGF receptor-1 (VEGFR1) szintjeinek csökkenésével. Az ellaginsav, ami egy dióban, a tőzegáfonyában és az eperben előforduló természetes antioxidáns, hatékonyabbá tette a kvercetin hatásait a p21waf1/cip1-re, a p53-ra és a MAP kinázokra in vitro. Az ellaginsav és a kvercetin, valamint a kvercetin és a rezveratrol kombinációja csökkentette a sejt proliferációt a kaszpáz-3 aktivitás növelése révén növelte a sejthalált, és sejtciklus leállást okozott a MOLT-4 leukémia sejtekben.

*Suganuma és munkatársai* azt közölték, hogy az EGCG a tamoxifennel vagy sulindacal kombinálva csökkentette a TNF $\alpha$  kibocsátását és csökkentette a sejtburjánzást a PC-9 tüdőrák sejtekben és, hogy az EGCG stimulálta a celecoxib hatásait és csökkentette a sejt proliferációt, növelte a GADD153 szintjeit, valamint a p38 foszforilációját a PC-9 és az A549 tüdőrák sejtekben. Egy másik kutatásban az EGCG celecoxib-bal történő kombinációja a közlés szerint csökkentette az LNCaP, PC-3 és CWR22Rv1 prosztaták sejtek proliferációját, növekedését és életképességét és csökkentette a daganat növekedését, növelte a Bax/Bcl-2 arányt, a PARP hasítást és a kaszpáz-3 és -9 kifejeződést, miközben csökkentette az NF- $\kappa$ B aktivitást, valamint a PSA és IGF-1 szérumszintjeit. Az EGCG kombinálása más olyan rákellenes gyógyszerekkel, mint amilyen paklitaxel/docetaxel, doxorubicin, ciszplatin, gemcitabin és a tasocitinib, hatásosan csökkentette a sejt burjánzást, megnövelte a sejthalált, csökkentette a daganat növekedését és javította a túlélési arányokat in vitro és in vivo a prosztatá-, a mell-, a petefészek-, a máj- és a hasnyálmirigy rák modellekben. A kvercetin a doxorubicinnel kombinálva jelentősen csökkentette a sejt proliferációt, a DNS és fehérje szintézist és a sejt invazivitást az MCF-7 és az MDA-MB-231 mellrák sejtekben. A Hep2 gégerák sejtekben a kvercetin és a ciszplatin kombinálása csökkentette a ráksejt proliferációt és sejthalált/apoptózist indukált, amit mechanisztikusan az Akt foszforiláció gátlásának és a Bcl-xL és a Ki67 szintek ezzel együtt járó csökkenésének, valamint a HSP70 aktivitás csökkenésének tulajdonították, miközben emelkedett a JNK foszforilációja, a c-fos kifejeződése, a Bax/Bcl-2 arány, a ROS termelés, a kaszpáz-8 és -9 aktivitása és a citokróm c kibocsátása. A genisteinnek olyan más rákellenes gyógyszerekkel való kombinálása, mint a ciszplatin és a gemcitabin, hatásosan csökkentette a sejt proliferációt, növelte a sejthalált és csökkentette a daganat növekedését a hasnyálmirigyrák különböző fajtáiban mind az in vitro, mind pedig az in vivo modellekben. Az izoflavon kezelés a PC-3 prosztaták rák sejtekben növelte ezeknek a sejteknek a fogékonyságát a sugárkezelésre mind in vitro, mind pedig in vivo, csökkentette a daganat növekedését és a metasztázist a para-aortikus nyirokcsomókban [lágyéki nyirokcsomó], miközben növelte a Bax kifejeződését és a PARP hasítást és csökkentette a Bcl-xL és a survivin szintjeit.

A folyamatban levő és már befejezett klinikai kísérletek a polifenolokról, mint rákellenes ágensekről azt közölték, hogy azok biztonságosak és hatásosak. A klinikai kísérletek jelenleg a flavonoid-flavonoid/polifenol és a flavonoid/rákellenes gyógyszerek kombinációit vizsgálják az ígéretes pre-klinikai adatok miatt, amelyek rendelkezésre állnak ezekkel a kombinációkkal kapcsolatban. Egy I. fázisban levő kutatás kimutatta a muskotály

szőlőhéj kivonat (amely ellaginsavat, kvercetin és rezveratrolt tartalmaz) hatásosságát, biztonságosságát és tolerálhatóságát biokémiaileg visszatérő prosztatarákkal rendelkező férfiaknál. Sugárterápiát kapó mellrákos betegeknél a kapszulás EGCG (400 mg, naponta háromszor szájon át) beadása csökkentette a VEGF és a HGF szintjeit a szérumban és elnyomta az MMP-2 és az MMP-9 aktiválódását, valamint gátolta a mellrák progressziójával és metasztázisával összefüggő faktorokat. Továbbá, az MDA-MB-231 sejtek kitétele olyan mellrákos betegek szérumának, akik az EGCG és a sugárterápia kombinációját kapták, elnyomta az MDA-MB-231 sejt életképességét, a G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> sejtciklus leállást okozott és apoptózis révén bekövetkező sejthalált indukált.

A különböző rákfajták kezelésére kvercetin, genisteint, EGCG-t és a különböző más flavonoidokat alkalmazó befejezett és folyamatban levő klinikai kísérletek részletei az alábbi helyen találhatóak: <https://clinicaltrials.gov-on>.

A gyógyszer-kombinációk alkalmazásai az egyetlen gyógyszer alkalmazásával szemben jótékony hatásúnak bizonyultak a következőkben: (1) a használt gyógyszer dózisának/koncentrációjának a csökkentése, (2) a biológiai hasznosulás javulása, (3) a rezisztencia legyőzése, ami kialakulhat a gyógyszerrel szemben, (4) a kemoterápiára/sugárterápiára rezisztens rákfajták szenzitizálása a kezelésre, (5) a ráksejt metasztázis és invázió csökkentése, (6) a visszaesés esélyének csökkentése és (7) a rákkezelés általános hatásosságának javítása. Továbbá kutatásokra van szükség annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a biológiai hasznosulást, a hatásosságot, a biztonságosságot, a toleranciát és a gyógyszer szállítási opciókat azokra a flavonoidokra, amelyeket a rák kezelése során használnak.

## Rövidítések

---

$\Delta\Psi_m$	Mitokondriális membrán potenciál
5-FU	5-Fluorouracil
AIF	Apoptózist indukáló faktor
Akt	Fehérje kináz B
AMPK	Adenozin monofoszfát-aktiválta protein kináz
APAF-1	Apoptotikus proteáz aktiváló faktor-1
Bad	Bcl-2-asszociált halál promóter
Bak	Bcl-2 antagonist/ölő
Bax	Bcl-2-asszociált X protein
Bcl-2	B-sejtes limfóma 2 protein
Bcl-xL	B sejt limfóma – extra nagy
BH3	Bcl-2 homológ 3
Bim	Bcl-2-szerű protein 11
BIR	Bakulovirális IAP ismétlődő domének
CAT	Kataláz
c-Flip	Kaspáz FLICE-szerű inhibitor protein
CHOP	C/EBP homológ protein
c-IAP	Az apoptotikus protein celluláris gátlója

Cox-2	Ciklooxygenáz 2
DISC	Halált indukáló jelátvivő komplex
DR	Halál receptor
EGCG	Epigallokatekin gallát
EndoG	Endonukleáz G
ER	Endoplazmás retikulum
ESC	Nyelőcső laphámsejtes karcinómája
FADD	Fas-asszociált haláldomén
FasL	Fas ligandum
GPx	Glutation peroxidáz
GRP	Glükózzal kapcsolt fehérje
GSH	Glutation
HCC	Hepatocelluláris karcinóma
Her2	Humán epidermális növekedési faktor
HSP	Hősokk fehérje
MAPK	Mitogén-aktivált protein kináz
Mcl-1	Mieloid sejt leukémia 1
MDR	Több gyógyszerrel szembeni rezisztencia
MMP	Mátrix metalloproteináz
MOMP	Mitochondriumok külső membránjának átjárhatósága
mTOR	a rapamycin célpontja emlősökben
NAC	N acetil cisztein
NF-κB	Nukleáris faktor kappa béta útvonal
N-IAP	Neuronális apoptózist gátló fehérje
NSLC	Nem-kissejtes tüdő karcinóma
Omi/HtrA2	magas hőmérsékleti igényű szerin-proteáz A2
PARP	Poli (ADP-ribóz) polimeráz
PI3K	Foszfatidilinozitol 3 kináz
PUMA	Az apoptózis p53 által felülszabályozott modulátora
RCC	Vesesejt karcinóma
ROS	Reaktív oxigén fajták
Smac/DIABLO	Az apoptózis kötő kaszpáz/direkt gátló második mitochondriumból származó aktivátora alacsony izoelektromos ponttal
SOD	Szuper oxid dizmutáz
t-Bid	Csonka Bid
TNF	Tumor nekrozis faktor
TRADD	TNF-hez kapcsolt apoptózist indukáló ligandum
TRIAL	A haláldoménon keresztül a TNFRSF1A-val asszociált
uPA	Urokináz plazminogén
VDAC	Feszültségfüggő anion csatorna
VEGF	Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor
x-IAP	Az apoptózis X-kapcsolt gátlója

