

ACTA CHEMO- THERAPEUTICA

ISSN 1335-0579

ROČNÍK 21
VOLUME

1-3/2012

Časopis Slovenskej chemoterapeutickej spoločnosti SLS (SCHS)
SCHS je členom European federation (FESCI) a International Society of Chemotherapy (ISC)

Obsah:

EDITORIAL	5
NEJNOVĚJŠÍ POZNATKY V MEDIKAMENTÓZNI LÉČBĚ POKROČILÉHO HEPATOCELULÁRNÍHO KARCINOMU JITKA ABRAHÁMOVÁ.....	7
SOUČASNÝ POHLED NA LÉČBU ANEMIE CHRONICKÝCH CHOROB U PACIENTŮ SE ZHOUBNÝM NÁDOREM PETRA TESAŘOVÁ.....	12
GYNEKOLOGICKÉ MALIGNITY U PACIENTIEK PO TRANSPLANTÁCII OBLIČKY V ROKOCH 2004-2012 NA I. GYNEKOLOGICKO-PŔODNÍCKEJ KLINIKE LF UPJŠ A UNLP V KOŠICIACH SUCHÁNEK P., MURÍN B., MATTA M., URDZÍK P., RICHNAVSKÝ J.	17
VYUŽITIE PROBIOTÍK V ONKOLÓGII SUCHÁNEK P., MURÍN B., MATTA M., URDZÍK P., STROJNÝ L., RICHNAVSKÝ J.	20
POUŽITIE METÓD ANALÝZY PREŽÍVANIA PRI VYHODNOCOVANÍ RETROSPETÍV- NYCH ÚDAJOV O PACIENTOCH S NEMALOBUNKOVÝM KARCINÓMOM PEŮC CINGELOVÁ S., LABUDOVÁ V., JURGA E.M.	27
NOVÝ POHLED NA ÚLOHU MATRICOVÝCH METALOPROTEINÁZ A ADAMALYZÍNŮV V PROCESE KARCINOGENÉZY ČIŽMÁRIKOVÁ M., VARINSKÁ L.	34
CT DIAGNOSTIKA KARCINÓMU OBLIČKY HAKO R., HAKOVÁ H., GULOVÁ I.	40
DUKTÁLNÝ KARCINÓM IN SITU - DIAGNOSTIKA A LIEČBA GREŠOVÁ, A, TÓTH, R., VALIGUROVÁ, J., LAZÁR, I.	48
IZOFLAVÓNY PRÍTOMNÉ V SÓJI A ICH VÝZNAM V PREVENCII NÁDOROVÝCH OCHORENÍ DRUTOVIČ D., PILÁTOVÁ M., CHRIPKOVÁ M., MOJŽIŠ J.	53

ÁCH	
PIOVARČID,	58
.....	64
K., OSTRÓ A.....	69
MIÁLNE	
.....	74
NÍ O STRATÉGI	
.....	82
OSTRÓ A.....	86
RLINE TYP	
.....	91
ELEZA	
.....	94
H NÁDOROVÝCH	
.....	99
.....	105
Y	
.....	112
APIE NÁDOROV	
.....	117
.....	127
UZÁLNYCH ŽIEN	
.....	134
.....	140
.....	146
NOMU PRSU	
.....	152
U PRSNÍKA	
.....	156
IVOTA	
.....	169
PREČO A ČO ĎALEJ?	
.....	177

Mimoriadne vydanie

pri príležitosti

XVI. Košických chemoterapeutických dní

NOVINKY V ANTINEOPLASTICKEJ A ANTIINFEKČNEJ CHEMOTERAPII, CIELENEJ LIEČBE, MOLEKULÁRNEJ BIOLÓGII A PODPORNEJ LIEČBE

Hostujúci editor:

Doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc.

Technická spolupráca:

RNDr. Ján Končík

CYTOTOXICKÝ ÚČINOK ORGANOKOVÝCH KOMPLEXOV ŽELEZA

¹Mojžišová, G., ²Vašková, J.

¹Ústav experimentálnej medicíny, LF UPJŠ Košice,

²Ústav lekárskej chémie, biochémie, klinickej biochémie a LABMED LF UPJŠ, Košice

Abstrakt

Aj keď poznatky o príčinách onkologických ochorení a ich manažmente sú veľmi rozsiahle, mortalita v tejto oblasti nemá v súčasnosti klesajúcu tendenciu. Z toho dôvodu je nevyhnutná systematická a dlhodobá implementácia stratégie orientovanej na prevenciu týchto závažných ochorení. Pri hľadaní nových možností v prevencii ale aj terapii nádorových ochorení sa okrem iného zvýšil záujem o látky prírodného pôvodu pre ich možné protinádorové účinky.

V našej práci sme sa zamerali na štúdium cytotoxického a antiproliferatívneho účinku organokovových komplexov železa Q-603, Q-616/1 a Q-820 na vybraných nádorových bunkových líniiach. Zistili sme, že niektoré z týchto novosyntetizovaných látok signifikantne redukovali prežívanie buniek Jurkat a v menšej miere aj buniek HeLa, MCF7, A549 a MDA. Dlhodobá kultivácia HeLa buniek s uvedenými látkami viedla k signifikantnej blokade tvorby kolónií nádorových buniek.

Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že prírodné látky s obsahom železa disponujú potenciálne protinádorovou aktivitou. Tieto výsledky však bude potrebné potvrdiť aj v *in vivo* experimentoch.

Príučové slová: železo, cytotoxicita, nádorové bunky

Abstract

Although knowledge about the causes of cancer and the management are very extensive, mortality in this area is not currently declining. It is therefore important to implement a long-term strategy that would aim to prevent these serious diseases. In search of new possibilities in the prevention as well as treatment of cancer, among other things, there is an increased interest in the naturally occurring substances for their potential anti-cancer effects. In our work, we focused on the study of the cytotoxic and antiproliferative effects of organometallic complexes of iron Q-603, Q-616/1 and Q-820 in selected tumor cell lines. We found that some of these substances significantly reduced Jurkat cell survival and to a lesser extent, HeLa, MCF7, A549 and MDA cells. Long-term culture of HeLa cells with these agents resulted in a significant blockade of tumor cell colonies.

Based on the obtained results it can be concluded that natural substances containing iron have potential antitumor activity. However, these results will be confirmed in *in vivo* experiments.

Key words: iron, cytotoxicity, cancer cells

Úvod

Výskyt nádorových ochorení je vo veľkej miere ovplyvnený vekovou štruktúrou populácie. Až na výnimky sú ochoreniami ľudí vo vyšších vekových skupinách s vrcholom okolo 55. až 60. roku života. Vzhľadom na degresný charakter vývoja populácie a nárastom počtu osôb vo vyšších vekových skupinách je reálne ďalšie zvyšovanie výskytu zhubných nádorov (Hughes a kol. 2006; Foltán a kol. 2008; Tirpáková a kol. 2012).

Včasná detekcia a náležitá liečba onkologických ochorení zohráva významnú úlohu pri znižovaní miery ich výskytu a úmrtnosti. V snahe nájsť čo najefektívnejšiu liečbu sa vedci intenzívne zaoberajú vývojom nových liečiv a inšpiráciu častokrát hľadajú v prírode. Mnohé dnes farmaceuticky významné

ú veľmi rozsiahle, mor-
tevyhnutná systematická
ch ochorení. Pri hľadani
ho zvýšil záujem o látky

neho účinku organoko-
ých bunkových líniah.
ovali prežívanie buniek
kultivácia HeLa buniek
ých buniek.

obsahom železa dispo-
né potvrdiť aj *in vivo*

ery extensive, mortality
long-term strategy that
the prevention as well
the naturally occurring
ie study of the cytotoxic
616/1 and Q-820 in se-
reduced Jurkat cell sur-
a culture of HeLa cells

ontaining iron have po-
experiments.

ukturou populácie. Až
1 okolo 55. až 60. roku
osôb vo vyšších vekohes
a kol. 2006; Foltán

ú úlohu pri znižovaní
ci intenzívne zaoberajú
maceuticky významné

látky boli izolované z rastlín, živočíchov, húb, morských organizmov a mikroorganizmov (Altaner, 2004).

Perspektívny zdroj nových protinádorových zlúčenín predstavujú látky obsahujúce vo svojej štruktúre kov. Terapeutické úspechy s cisplatinou upriamili pozornosť aj na mnohé iné zlúčeniny s kovmi, ktoré sú v súčasnosti podrobené výskumu a to za účelom ich využitia v protinádorovej chemoterapii (Rafique a kol., 2010). V snahe vyvinúť účinnejšie protinádorové lieky syntéza organokovových zlúčenín ponúka nové možnosti v terapii nádorových ochorení. Jednou z oblastí, ktorej sa výskum venuje je aj potenciálne antiproliferatívny účinok zlúčenín železa, kde bolo zistené, že organokovové zlúčeniny môžu mať lepšie chemické a farmakologické vlastnosti v porovnaní s čisto organickými liečivami (Quirante a kol., 2011).

V našej práci sme sa zamerali na štúdium antiproliferatívneho účinku novosyntetizovaných zlúčenín železa Q-603, Q-616/1 a Q-820. Výber látok do nášho experimentu ovplyvnila skutočnosť, že protinádorový účinok prírodných látok s obsahom železa bol študovaný iba okrajovo.

Materiál a metodiky

V našich experimentoch boli použité nasledovné nádorové bunkové línie: Jurkat (leukemické bunky), HeLa (nádor krčka maternice), MCF-7 (adenokarcinóm mliečnej žľazy), A549 (pľúcne nádorové bunky) a MDA (bunková línia z nádorov prsníka). Tieto bunkové línie boli obdržané darom od Dr. Hajducha (Olomouc, Česká republika). Bunky Jurkat a HeLa sme kultivovali v médiu RPMI 1640. MCF-7, A549 a MDA v médiu obohatenom o glukózu DMEM. RPMI aj DMEM obsahovali 10% fetálneho séra a prídavok antibiotík (penicilin - 100 IU/ml a streptomycin - 100 µg/ml) (Invitrogen, USA). Bunky boli kultivované pri teplote 37 °C, v atmosfére obsahujúcej 5% CO₂. Pred každým experimentom boli bunky testované na viabilitu použitím trypanovej modrej (viabilita pred každým experimentom bola väčšia ako 95 %).

Testované látky Q-603 (C₂₀ H₁₆ FeO₂), Q-616/1 (C₁₈ H₂₆ Fe₂O) a Q-820 (C₁₄ H₂₀ N₂ Fe) boli získané darom od Prof. Perjesiho (Pécs, Maďarsko).

MTT test:

Na sledovanie viability a proliferácie nádorových buniek (Jurkat, HeLa a MCF-7, A549 a MDA) po aplikácii Q 603, 616/1, a Q 820 sme využili MTT kolorimetrický test (Mosmann, 1983). Bunky sme inkubovali v 96-jamkových platničkách s testovanými látkami po dobu 72 hodín pri 37°C v 95% atmosfére s 5% CO₂. Po inkubácii sme pridali k bunkám rozpustnú tetrazóliovú soľ – MTT a následne po 4 hodinách 10% SDS. Princíp metódy spočíva v premene nitrotetrazóliovej modrej na tmavomodrý formazán žijúcimi bunkami. Intenzita modrého zafarbenia sa meria na spektrofotometri pri vlnovej dĺžke 450 nm a vyjadruje množstvo prežívajúcich buniek v kontrole (neovplyvnené bunky) ako aj buniek exponovaných študovanými látkami. Výsledky sú vyjadrené ako % inhibície, pričom absorbancia kontroly je 100%.

Colony formation assay (CFA):

Schopnosť študovaných látok ovplyvniť tvorbu kolónií HeLa bunkami sme stanovili pomocou senzitivity metódy (CFA). HeLa bunky (500 buniek/jamka) sme kultivovali na 6 jamkových platničkách po dobu 12 dní s Q 603, 616/1 a Q 820 v koncentráciách 10⁻⁴- 10⁻¹⁰ mol.l⁻¹. Po ukončení inkubácie sme bunky fixovali 4% formaldehydom a po opláchnutí (PBS) sme navrstvili 0,1% kryštáľviolet (1ml/jamka). Po opätovnom opláchnutí (PBS) sme platničky vysušili a sfotili. Keďže v našich výsledkoch uvádzame % prežívania HeLa buniek, do každej jamky sme pridali 1 ml 10% kys. octovej. Platničky sme nechali trepať na trepačke 15-40 min., až do odfarbenia buniek. Po odfarbení sme obsah preniesli do 96 jamkovej platne a zmerali na spektrofotometri (Dynatech Elisa Reader) pri vlnovej dĺžke 450 nm. Vypočítali sme percentuálne prežívanie buniek HeLa. Ako kontrola (100%) nám slúžili bunky, ktoré boli inkubované bez prítomnosti študovaných látok.

Výsledky

Q 603 v MTT testoch vykazoval o niečo vyšší cytotoxický účinok ako Q 616/1 a Q 820. Inkubácia nádorových buniek Jurkat, HeLa, MCF-7, A549 a MDA s Q 603 v koncentrácii 10^{-6} mol.l⁻¹ po 72h spôsobila 59,89; 77,66; 67,30; 92,20 a 91,50 prežítie buniek v závislosti od nádorovej línie. Q 603 aj v koncentrácii 10^{-7} mol.l⁻¹ signifikantne znižoval prežítie buniek Jurkat (Tab. 1.). Cytotoxicita Q 616/1 bola dávkovo závislá a inkubácia buniek Jurkat, HeLa, MCF-7, A549 a MDA s Q 616/1 v koncentrácii 10^{-5} mol.l⁻¹ po 72h spôsobila 65,96; 34,53; 57,70; 55,71 a 95,90% redukciu bunkového prežítia. Q 616/1 signifikantne znižoval prežítie MCF-7 a A549 buniek a to aj v koncentrácii 10^{-6} mol.l⁻¹. Podobný, o niečo slabší cytotoxický účinok vykazoval Q 820. Inhibičný účinok študovaných látok bol zaznamenaný aj metódou CFA. Vplyv Q 603, Q 616/1 a Q 820 na proliferáciu HeLa buniek je znázornený v Tab. 3. U 616/1 a Q 820 sme zistili schopnosť signifikantne blokovať tvorbu kolónií v koncentrácii 10^{-8} mol.l⁻¹ a u Q 603 dokonca v koncentrácii 10^{-9} mol.l⁻¹.

Tab. 1. Vplyv Q 603 na prežítie nádorových buniek (v %)

Q 603 (mol.l ⁻¹)	Jurkat	HeLa	MCF-7	A549	MDA
10^{-4}	16,98***	33,48***	31,21***	37,05***	35,63***
10^{-5}	18,8***	38,00***	55,89**	71,37*	82,37
10^{-6}	59,89**	77,66*	67,30*	92,20	91,50
10^{-7}	71,28*	87,80	84,20	95,80	95,09
10^{-8}	86,33	91,70	99,68	99,90	100
10^{-9}	99,81	92,40	100	100	100

*p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 vs. kontrola

Tab. 2. Vplyv Q 616/1 na prežítie nádorových buniek (v %)

Q 616/1 (mol.l ⁻¹)	Jurkat	HeLa	MCF-7	A549	MDA
10^{-4}	30,23***	21,23***	54,07**	51,35**	88,10
10^{-5}	65,96**	34,53***	57,70**	55,71**	95,90
10^{-6}	89,90	84,12	72,23*	70,97*	96,53
10^{-7}	92,50	100	90,94	99,66	96,93
10^{-8}	97,50	100	100	99,90	100
10^{-9}	100	100	100	100	100

*p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 vs. kontrola

Tab. 3. Vplyv Q 820 na prežítie nádorových buniek (v %)

Q 820 (mol.l ⁻¹)	Jurkat	HeLa	MCF-7	A549	MDA
10^{-4}	22,71***	55,78**	54,93**	53,75**	93,00
10^{-5}	35,53***	57,43**	73,12*	74,17*	95,71
10^{-6}	76,33*	71,56*	89,63	80,80	97,72
10^{-7}	87,21	87,80	91,12	84,33	99,43
10^{-8}	93,83	91,70	99,69	91,60	100
10^{-9}	100	100	100	100	100

*p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 vs. kontrola

l a Q 820. Inkubácia
i 10^{-6} mol.l⁻¹ po 72h
l nádorovej línie. Q
(Tab. 1.). Cytotoxi-
19 a MDA s Q 616/1
redukcii bunkového
to aj v koncentracii
oičný účinok študo-
ia proliferáciu HeLa
tne blokovat' tvorbu

	MDA
*	35,63***
	82,37
	91,50
	95,09
	100
	100

<0,001 vs. kontrola

	MDA
	88,10
	95,90
	96,53
	96,93
	100
	100

<0,001 vs. kontrola

	MDA
	93,00
	95,71
	97,72
	99,43
	100
	100

<0,001 vs. kontrola

Tab. 4. Vplyv Q 603, Q 616/1 a Q 815 na proliferáciu HeLa buniek

	Q 603	Q 616/1	Q 820
Koncent. (mol.l ⁻¹)	% prežívania buniek		
10^{-4}	4,1***	5,2***	7,2***
10^{-5}	6,0***	11,4***	15,3***
10^{-6}	19,9***	25,7***	28,3***
10^{-7}	45,5***	50,9**	61,9**
10^{-8}	60,8**	70,4*	76,6*
10^{-9}	71,3*	89,6	91,5
10^{-10}	81,5	100	100

*p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 vs. kontrola

Diskusia a záver

V predloženej práci sme zistili, že študované zlúčeniny u vybraných bunkových línií signifikantne znižujú ich proliferáciu a vo veľmi nízkych koncentráciách (10^{-9} mol.l⁻¹) taktiež blokujú klónogennú aktivitu nádorových buniek. Podobné účinky komplexov železa zistili aj ďalší autori. Woldemariam a Mandal (2008) skúmali vodorozpustný komplex železa a salénu a študovali jeho vplyv na DNA u ľudských bunkových línií. Došli k záveru, že tento komplex indukoval tvorbu VR a poškodzoval DNA. Komplex železa a salénu v koncentracii 10 μ M inicioval u buniek morfológické zmeny, fragmentáciu DNA, kondenzáciu chromatinu, čo sú typické znaky apoptózy. Uvoľnenie cytochrómu c z mitochondrií bolo spojené so zvýšenou permeabilitou mitochondriálnej membrány. Tieto výsledky preukázali, že uvedený komplex nielen poškodzuje DNA ale aj indukuje apoptózu pravdepodobne prostredníctvom mitochondriálnej cesty.

Zaujímavé výsledky publikovali Jaouen a kol. (2004) a Michard a kol. (2008) s ferocifénom (ferocénom modifikovaný tamoxifén), ktorý vykazoval výrazný antiproliferatívny účinok u hormón dependentných ale aj u hormón independentných nádorových buniek mliečnej žľazy.

Wenzel a kol. (2010) zistili, že nové antimalarikum ferochín má pomerne vysokú protinádorovú aktivitu zapríčinenú interferenciou s DNA, čo poukazuje na možnú spojitosť medzi účinkom proti malárii a proti nádorovým bunkám.

Antiproliferatívny účinok ferocénových analógov F168 a F169 na ľudských malígnych Hep2 bunkách a na myšacej F10 melanómovej bunkovej línií študoval Ferle-Vidović v spolupráci s kolektívom (2000). Ako kontrolu použili ľudské HEF a myšacie L929 fibroblasty. Testované látky a to najmä F169 vykázali vysokú aktivitu voči malígnym bunkovým líniám, so súčasne nízkou antiproliferatívnu aktivitou voči nenádorovým fibroblastom.

Zaujímavé antiproliferatívne účinky zlúčenín s obsahom železa dokumentovali Poljak-Blaži a kol. (2000). Zistili, že netoxický komplex železa, sorbitolu a citrátu (FSCC) inhiboval proliferáciu malígnych buniek, avšak výrazne neovplyvnil nenádorové bunky. Zvýšený počet buniek v G1 a S fáze poukazuje na skutočnosť, že nadbytok železa blokuje bunkový cyklus pred syntézou DNA a pravdepodobne indukuje tvorbu voľných radikálov (VR). Autori sa domnievajú, že VR poškodzujú lipidy bunkovej membrány, proteíny a DNA a môžu indukovať apoptózu alebo aj iné formy bunkovej smrti.

Na základe doteraz získaných poznatkov je možné poukázať na skutočnosť, že význam výskumu a vývoja nových liekov je nespochybniteľný. Inovatívne liečivá v posledných rokoch prispeli k zmene života miliónov ľudí. Pomohli predĺžiť život, zvýšiť priemernú dĺžku života a tak isto znížiť mieru úmrtnosti na ochorenia akými sú napríklad aj nádorové ochorenia. Dôsledkom narastajúceho výskytu

spomínaných ochorení, ale aj počtu multirezistentných mikroorganizmov je nevyhnutnou potrebou humánnej medicíny disponovať novými a účinnejšími terapeutikami. Z toho dôvodu sme v našich experimentoch upriamili pozornosť na na novosyntetizované látky Q 603, 616/1, a Q 820.

Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať, že Q 603, 616/1 a Q 820 disponujú potenciálne antiproliferatívnou aktivitou, čo poukazuje na opodstatnenosť výskumu zaoberajúceho sa štúdiom nových organokovových látok v protinádorovej prevencii a terapii. Avšak tieto výsledky bude potrebné potvrdiť v ďalších *in vitro* ale aj v *in vivo* experimentoch.

Pod'akovanie

This work was supported by the grant VEGA 1/0751/12, VEGA 1/1236/12 and partially supported by the Agency of the Slovak Ministry of Education for the Structural Funds of the EU, under project ITMS: 26220220104 (15%), ITMS: 26220120058 (15%) and ITMS: 26220220152 (15%).

Literatúra

1. Altaner, Č.: Vplyv stravy na vznik a prevenciu nádorového ochorenia. Liga proti rakovine SR, GoodPrint!, spol. s . r . o., 2004, 1-29. – 2. Ferle-Vidovič, A., Poljak-Blaži, M., Rapič, V., Skare, D.: Ferrocenes (F168, F169) and fero-sorbitol-citrate (FSC): potential anticancer drugs. *Cancer Biother Radiopharm* 2000, 15, 617-624. – 3. Foltán, V., Dubajová, V., Tesař, T.: Spotreba onkologických liekov-minulosť, prítomnosť, budúcnosť. *Onkológia* 2008, 3, 20-23. – 4. Hughes, E., McCracken, M., Roberts, H., Mokdad, A. H., Valluru, B., Goodson, R., Dunn, E., Elam-Evans, L., Giles, W., Jiles, R.: Surveillance for certain health behaviors among states and selected local areas-behavioral risk factor surveillance system, United States, 2004. *MMWR Surveill Summ* 2006, 55, 1-124. – 5. Jaouen, G., Top, S., Vessières, A., Leclercq, G., McGlinchey, M. J.: The first organometallic selective estrogen receptor modulators (SERMs) and their relevance to breast cancer. *Curr Med Chem* 2004, 11, 2505-2517. – 6. Michard, Q., Jaouen, G., Vessieres, A., Bernard, B. A.: Evaluation of cytotoxic properties of organometallic ferrocifens on melanocytes, primary and metastatic melanoma cell lines. *J Inorg Biochem* 2008, 102, 1980-1985. – 7. Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983, 65, 55-63. – 8. Poljak-Blaži, M., Kralj, M., Popovic, M., Ija, H., Žiž arkovic, N., Žiž arkovic, K., Waeg, G.: Involvement of lipid peroxidation, oncogene expression and induction of apoptosis in the antitumorous activity of ferric-sorbitol-citrate. *Cancer Biother Radiopharm* 2000, 15, 286-293. – 9. Quirante, J., Dubar, F., González, A., Polez, C., Cascante, M., Cortés, Forfar, I., R., Pradines, B., Biot, C.: Ferrocene-indole hybrids for cancer and malaria therapy. *J Organomet Chem* 2011, 696, 1011-1017. – 10. Rafique, S., Idrees, M., Nasim, A., Kabar, H., Athar, A.: Transition metal complexes as potential therapeutic agents. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews* 2010, 5, 38-45. – 11. Tirpáková, M., Kimáková, T., Bernadič, M.: Faktory v etiológii onkologických ochorení v detskej populácii. *Monitor medicíny SLS* 2012, 1, 23-28. – 12. Wenzel, N. I., Chavain, N., Wang, Y., Friebolin, W., Maes, L., Pradines, B., Lanzer, M., Yardley, V., Brun, R., Herold-Mende, C., Biot, C., Tóth, K., Davioud-Charvet, E.: Antimalarial versus cytotoxic properties of dual drugs derived from 4-aminoquinolines and Mannich bases: interaction with DNA. *J Med Chem* 2010, 53, 3214-3226. – 13. Woldemariam, G. A., Mandal, S. S.: Iron(II)-salen damages DNA and induces apoptosis in human cell via mitochondrial pathway. *J Inorg Biochem* 2008, 102, 740-747.