

Sinteza i evaluacija konjugata fenilboronične i cimetne kiseline

Pavić, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:032902>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-05**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**SINTEZA I EVALUACIJA KONJUGATA FENILBORONIČNE I CIMETNE
KISELINE**

ZAVRŠNI RAD

**PETRA PAVIĆ
Matični broj: 84**

Split, rujan 2022.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ: KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**SINTEZA I EVALUACIJA KONJUGATA FENILBORONIČNE I CIMETNE
KISELINE**

ZAVRŠNI RAD

**PETRA PAVIĆ
Matični broj: 84**

Split, rujan 2022.

**UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**

**SYNTHESIS AND EVALUATION OF PHENYLBORONIC AND CINNAMIC
ACID CONJUGATES**

BACHELOR THESIS

**PETRA PAVIĆ
Parent number: 84**

Split, September 2022.

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu
Studij: Preddiplomski studij prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada: je prihvaćena na 25. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta.

Mentor: dr.sc. Mladen Miloš, red.prof.

Pomoć pri izradi:

SINTEZA I EVALUACIJA KONJUGATA FENILBORONIČNE I CIMETNE KISELINE
Petra Pavić, 84

Sažetak

Cilj rada je prikazati sintezu i evaluaciju konjugata fenilboronične i cimetine kiseline. Fenilboronična kiselina pripada derivatima borne kiseline. Poznata je po svojim mogućim medicinskim svojstvima te je istraživana kao sredstvo u liječenje raka. Cimetna kiselina je široko zastupljena u biljnom svijetu, a izvor je većine derivata hidroksicimetine kiseline poput kumarinske, kafeinske, ferulinske i sinapinske kiseline. U ovom radu opisane su fenilboronična i cimetna kiselina općenito, njihova kemijaska svojstva i strukture, upotreba njihovih derivata, te konačno sinteza fenilboronične i cimetine kiseline. Za potrebe rada korištena je relevantna literatura koja se odnosi na stručne članke i knjige koji su u skladu sa temom rada.

Ključne riječi: fenilboronična kiselina, cimetna kiselina, struktura, sinteza, konjugati.

Rad sadrži: 31 strana, 28 slika, 9 tablica, 64 literaturne reference

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Mila Radan - predsjednik
2. Doc. dr. sc. Franko Burčul - član
3. Prof. dr. sc. Mladen Miloš – član - mentor

Datum obrane: 22. rujna 2022.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology
Undergraduate Study of Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food Technology

Thesis subject: was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 25.

Mentor: Ph. D. Mladen Miloš, full professor

SYNTHESIS AND EVALUATION OF PHENYLBORONIC AND CINNAMIC ACID CONJUGATES

Petra Pavić, 84

Abstract

The aim of this work is to present the synthesis and evaluation of the conjugate of phenylboronic acid and cinnamic acid. Phenylboronic acid belongs to the derivatives of boric acid. It is known for its potential medicinal properties and has been explored as a treatment for cancer. Cinnamic acid is widely distributed in the plant world and is the source of most hydroxycinnamic acid derivatives such as coumarin, caffeic acid, ferulic acid, and sinapic acid. In this paper, phenylboronic and cinnamic acids in general, their chemical properties and structures, the use of their derivatives and finally the synthesis of phenylboronic and cinnamic acids are described. Relevant literature was consulted for the paper, referring to technical articles and books corresponding to the subject of the paper.

Key words: phenylboronic acid, cinnamic acid, structure, synthesis, use.

The paper contains: 31 pages, 28 figures, 9 tables, 64 references

Original language: Croatian

Defense committee:

1. Ph. D. Mila Radan, associate professor – chair person
2. Ph. D. Franko Burčul, assistant professor - member
3. Ph. D. Mladen Miloš, full professor – supervisor

Defence date: September 22nd, 2022.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za biokemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Mladen Miloš, u razdoblju od srpnja do rujna 2022. godine.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svome mentoru prof. dr. sc. Mladenu Milošu i ostalima članovima komisije na pristupačnosti i zavidnom strpljenju tijekom izrade završnog rada. Također se zahvaljujem svojim prijateljima koji su bili tu uz mene, kao i mojoj dragoj obitelji koja je bila uz mene kada su mi najviše trebali.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak završnog rada je bio istražiti literaturu te opisati mogućnost sinteze i konjugacije fenilboronične i cimetne kiseline.

SADRŽAJ

1. OPĆI DIO	1
1.1. Fenilboronična kiselina.....	1
1.1.1. Struktura fenilboronične kiseline.....	1
1.1.2. Fizikalno - kemijska svojstva fenilboronične kiseline.....	1
1.1.3. Upotreba fenilboronične kiseline.....	2
1.1.4. Sinteza fenilboronične kiseline.....	2
1.2. Cimetna kiselina	5
1.2.1. Struktura cimetne kiseline	6
1.2.2. Fizikalno-kemijska svojstva cimetne kiseline	7
1.2.3. Upotreba cimetne kiseline i njenih derivata	7
1.2.4. Sinteza cimetne kiseline.....	25
2. EKSPERIMENTALNI DIO.....	26
2.1. Kemikalije.....	26
2.2. Sinteza 3-aminofenilboronične i cimetne kiseline.....	26
3. REZULTATI I RASPRAVA	28
3.1. Ispitivanje citotoksičnosti na ljudskim stanicama raka vrata grlića maternice	28
4. ZAKLJUČAK.....	31
5. LITERATURA.....	32

SAŽETAK

Cilj rada je prikazati sintezu i evaluaciju konjugata fenilboronične i cimetne kiseline. Fenilboronična kiselina pripada derivatima borne kiseline. Poznata je po svojim mogućim medicinskim svojstvima te je istraživana kao sredstvo u liječenju raka. Cimetna kiselina je široko zastupljena u biljnom svijetu, a izvor je većine derivata hidroksicimetne kiseline poput kumarinske, kafeinske, ferulinske i sinapinske kiseline. U ovom radu opisane su fenilboronična i cimetna kiselina općenito, njihova kemijska svojstva i strukture, upotreba njihovih derivata, te konačno sinteza fenilboronične i cimetne kiseline. Za potrebe rada korištena je relevantna literatura koja se odnosi na stručne članke i knjige koji su u skladu sa temom rada.

Ključne riječi: fenilboronična kiselina, cimetna kiselina, struktura, sinteza, konjugati.

ABSTRACT

The aim of this work is to present the synthesis and evaluation of the conjugate of phenylboronic acid and cinnamic acid. Phenylboronic acid belongs to the derivatives of boric acid. It is known for its potential medicinal properties and has been explored as a treatment for cancer. Cinnamic acid is widely distributed in the plant world and is the source of most hydroxycinnamic acid derivatives such as coumarin, caffeic acid, ferulic acid, and sinapic acid. In this paper, phenylboronic and cinnamic acids in general, their chemical properties and structures, the use of their derivatives and finally the synthesis of phenylboronic and cinnamic acids are described. Relevant literature was consulted for the paper, referring to technical articles and books corresponding to the subject of the paper.

Key words: phenylboronic acid, cinnamic acid, structure, synthesis, conjugates

UVOD

Fenilboronična kiselina ili benzenboronska kiselina (skraćeno PBA) je borna kiselina koja sadrži fenilni supstituent i dvije hidroksilne skupine vezane za bor. Fenilboronična kiselina je bijeli prah i često se koristi u organskoj sintezi. Boronske kiseline su blage Lewisove kiseline koje su općenito stabilne i jednostavne za rukovanje, što ih čini pristupačnim za organsku sintezu.

Topljiva je u većini polarnih organskih otapala, a slabo je topljiva u heksanu i ugljičnom tetrakloridu. Ovaj planarni spoj ima idealiziranu molekularnu simetriju. Atom bora je sp²-hibridiziran i sadrži praznu p-orbitalu. Ortorombični kristali koriste vodikovu vezu kako bi formirali jedinice sastavljene od dvije molekule. Ove dimerne jedinice se kombiniraju kako bi se dobila proširena mreža vezana vodikovom vezom. Molekula je ravna s manjim zavojima oko C-B veze od 6,6° i 21,4°. Dehidracijom fenilboronične kiseline nastaju boroksini, trimerni anhidridi fenilboronične kiseline. Reakcija dehidracije pokreće se termički, ponekad uz pogodno sredstvo za dehidraciju.¹

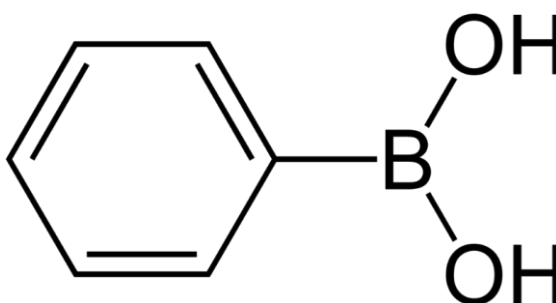
Cimetna kiselina je organski spoj formule C₆H₅ - CH = CH - COOH. To je bijeli kristalni spoj koji je slabo topljiv u vodi, a lako topljiv u mnogim organskim otapalima. Klasificirana je kao nezasićena karboksilna kiselina i postoji kao *cis*- i kao *trans*-izomer. U prirodi se javlja kao sastojak u brojnim biljkama. Cimetna kiselina je središnji međuprodukt u biosintezi bezbroj prirodnih proizvoda uključujući lignole (prekursore lignina i lignoceluloze), flavonoide, izoflavonoide, kumarine, aurone, stilbene, katehin i fenilpropanoide. Njena biosinteza uključuje djelovanje enzima fenilalanin-amonijakliaze (PAL) na fenilalanin. Dobiva se iz ulja cimeta, ili iz balzama kao što je storax (*Liquidambar orientalis* ili *Liquidambar styraciflua*). Također se nalazi u shea maslacu. Cimetna kiselina ima miris poput meda; te je uz hlapljiviji etil ester (etil cinamat) komponenta su arome u eteričnom ulju cimeta, u kojem je srodni cinamaldehyd glavni sastojak.²

1. OPĆI DIO

1.1. Fenilboronična kiselina

1.1.1. Struktura fenilboronične kiseline

Fenilboronična kiselina je jedan od derivata borne kiseline. Sastoji se od fenilnog supstituenta na jednoj hidroksilnoj skupini i dvije slobodne hidroksilne skupine polazne borne kiseline (Slika 1.). Rettig i Trotter su prvi otkrili i objavili vijest o kristalnoj strukturi fenilboronične kiseline ortorombične strukture.³ Na dvije slobodne hidroksilne skupine mogu se vezati različite molekule, a veza je tada komplanarna s benzenskim prstenom. Wuest i suradnici su proučavanjem strukture fenilboronične kiseline objavili kako izgleda dizajn čvrstih djelova. Kod fenilboronične kiseline B-O udaljenost je prilično kratka, u rasponu od 1,35 do 1,38 Å.⁴



Slika 1. Shema fenilboronične kiseline

1.1.2. Fizikalno - kemijska svojstva fenilboronične kiseline

Fenilboronična kiselina topljiva je u većini polarnih organskih otapala, ali je slabo topljiva u heksanu i ugljičnom tetrakloridu. Temperatura tališta fenilboronične kiseline je 219 °C. Usklađena je s velikim brojem organskih supstituenata kao što su esteri, ketoni, alkoholi i ostali. Umjereno je toksična ako dođe do gutanja, a treba izbjegavati i kontakt s kožom. Iznos pKa fenilboronične kiseline je 8.8 u vodi i ima manji pKa od borne kiseline koji iznosi 9.8. Ostala bitna fizikalno – kemijska svojstva navedena su u tablici 1.⁵

Tablica 1. Fiziklano – kemijska svojstva fenilboronične kiseline

Molekulska formula	C ₆ H ₇ BO ₂
Reletivna molekulska masa	121,93 g mol ⁻¹
Izgled	Bijeli do žuti prah
Talište	219 °C
Topljivost u vodi	10 g L ⁻¹
Kiselost (pKa)	8,83

1.1.3. Upotreba fenilboronične kiseline

PBA se koristi za proizvodnju velikog broja farmaceutskih proizvoda. PBA, kao i njeni derivati, ima sposobnost vezanja na ugljikohidratne jedinice i druge dipolne spojeve. Pri takvim reakcijama vezanja nastaju ciklički boronadni esteri koji su uglavnom nositelji negativnih naboja. Njena sposobnost vezanja na ugljikohidratne jedinice na površini živih stanica omogućava različite uporabe fenilboronične kiseline u medicinske i farmaceutске svrhe.

1.1.4. Sinteza fenilboronične kiseline

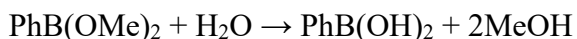
Dobivanje fenilboronične kiseline (PhB(OH)₂) preko fenil-magnezij bromida i trimetil-bora je jedan od najčešćih načina sinteze:

Reakcija 1: Dobivanje PhB(OMe)₂ ⁶



Nakon sinteze, dolazi do hidrolize PhB(OMe)₂ u proizvod:

Reakcija 2: Hidroliza PhB(OH)₂



Fenilboronična kiselina se također može dobiti i na druge načine, koji zahtijevaju elektrofilne borate. Elektrofilni borati hvataju fenilmetalne međuprodukte iz fenilhalogenida ili iz usmjerene orto-metalacije. Fenilsilani i fenilstanani se mogu transmetilirati s BBr₃ te zatim hidrolizirati u fenilboroničnu kiselinu.

1.1.4.1. Jednostavna sinteza PBA koja sadrži BODIPY boje: novi funkcionalni i modularni fluorescentni alati za vezanje glikanske domene antitijela

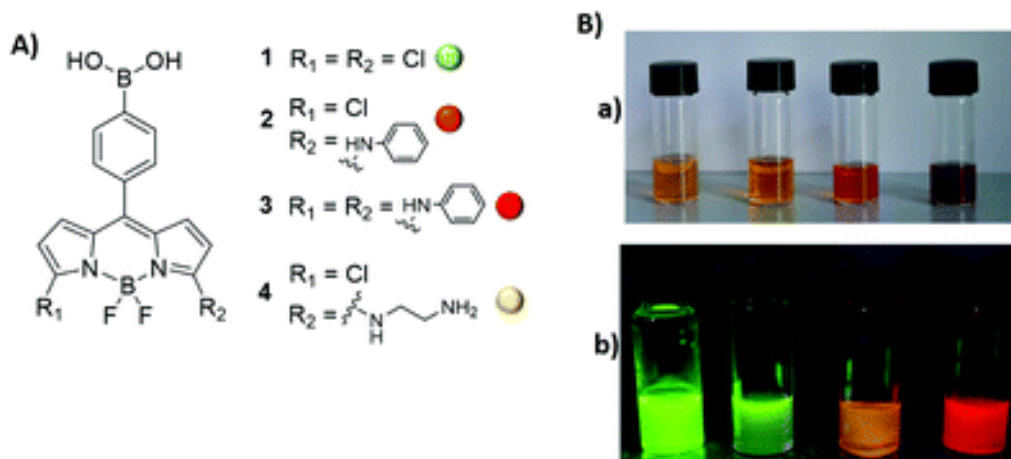
Organski fluorofori visokih performansi (npr. veliki molarni koeficijent ekstinkcije, visok kvantni prinos, visoka foto-stabilnost, veliki Stokesov pomak) predstavljaju temu istraživanja u procvatu, sa širokim rasponom primjena u rasponu od materijala do znanosti o životu.⁷ U ovom okviru, modularne i funkcionalne sonde postale su vrlo tražene, a pažnja istraživača je uglavnom usmjerena na fino podešavanje optičkih svojstava i nove funkcionalnosti za vrlo svestrano povezivanje. Međutim, unatoč ogromnom trudu na ovom polju, samo nekoliko fluorofora ispunjava sve navedene teorijske tvrdnje.⁸ Štoviše, dostupnost prikladnih sintetičkih protokola u nekoliko koraka povezanih s dobrim ukupnim prinosom jedno je od glavnih pitanja koja je potrebno odgovoriti kako bi se osigurala uspješna široka primjenjivost ovih sondi.⁹

Sjajan primjer svestranog fluorofora je boja koja apsorbira UV zračenje 4,4'-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen, poznata kao BODIPY, koja pokazuje visok kvantni prinos i izvrsna foto-stabilnost. Strateške strukturne modifikacije BODIPY-jeve molekularne arhitekture nude neusporedivu priliku za podešavanje njegovih spektroskopskih značajki, a do sada su predložene i neke, komercijalizirane, uspješne funkcionalne i bioaktivne sonde slične BODIPY-ju. 3,5-dikloro-BODIPY boje su jedni od najnovijih sintetskih analoga čiju su potencijalnu svestranost demonstrirali Dehaen i Boens.¹⁰ Pokazali su da su odgovarajući supstituenti na 3,5-položaju pirolnog prstena pomaknuli pojaseve ekscitacije/emisije odgovarajućih supstituiranih BODIPY derivata. Dakle, 3,5-dikloro-BODIPY boje daju pristup, nukleofilnom supstitucijom, nizu simetričnih i nesimetričnih BODIPY-a s nekoliko primjena uključujući označavanje, senzor, kazetu za prijenos energije.

Zatim su derivati 3,5-dikloro-BODIPY izravno korišteni za selektivnu detekciju, u *in vitro* modelima, metabolita koji sadrže sumpor.¹¹ Nedavno su vrijedna svojstva drugih BODIPY bojila korištena za detekciju saharida pomoću ostatka PBA uvedene na *mezo* poziciju BODIPY jezgre.¹² Značajno je da se dinamička kovalentna interakcija između borne kiseline i saharida proučava od pionirskog rada Loranda i sur. sposobnost PBA da veže 1,2- i 1,3-*cis*-diol motive ugljikohidrata korištena je za razvoj sintetskih 'bor-lektina', u posljednje vrijeme i za lov glikoproteina iz složenih smjesa, za imobilizaciju antitijela usmjerenu na mjesto i za biortogonalne konjugacije.¹³ Međutim, nekoliko primjera PBA-BODIPY sondi je zabilježeno do danas i oni su ograničeni na 3,5-dimetil-BODIPY

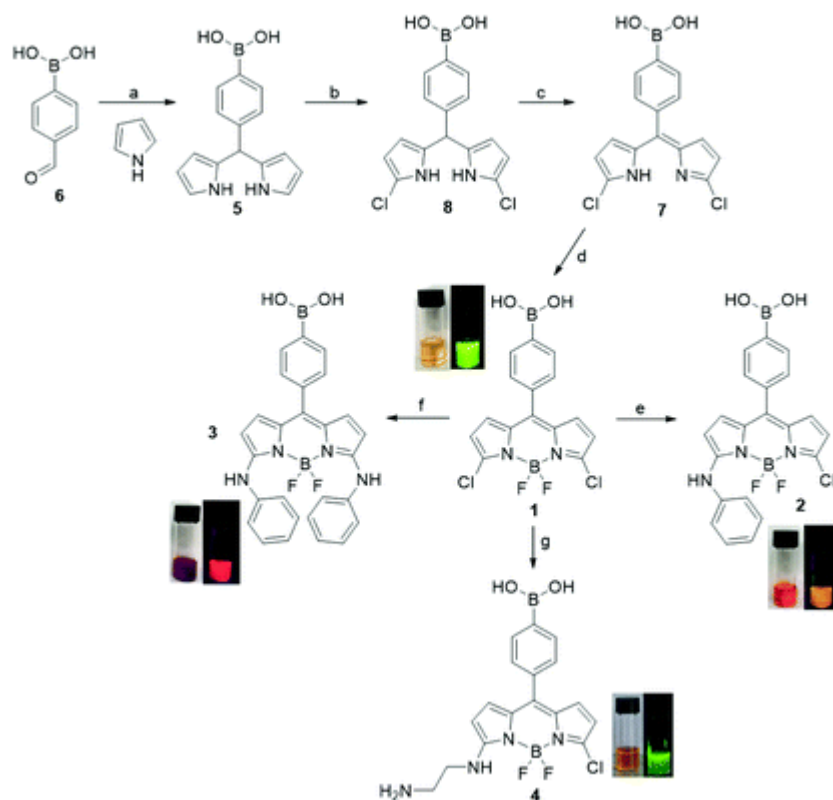
derivate koji zahtijevaju posebne protokole za daljnju funkcionalizaciju.

Također, u tom kontekst opisan je sintetski put za dobivanje funkcionalne i modularne boje **1** koja sadrži PBA te naknadnu modifikaciju strukture **1**. Na ovaj način je dobivena mala obitelj derivata PBA-BODIPY s rasponom emisije 'semafora'. Stoga, sadašnji pristup ima za cilj izvanredno spajanje svestranosti 3,5-dikloro-BODIPY boja s prisutnošću funkcionalnog PBA na *mezo* poziciji BODIPY jezgre.



Slika 2. (A) Struktura derivata PBA-BODIPY. (B) Otopina ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ u MeOH) derivata PBA-BODIPY (s lijeva na desno PDA-BODIPY **1**, **4**, **2**, **3**) (a) pod bijelim svjetlom i (b) pod UV-svjetlom ($\lambda_{ex} = 364 \text{ nm}$).

BODIPY-jezgra tradicionalno je dostupna nakon nekoliko koraka sintetičke strategije, međutim, glavne zabrinutosti odnose se na niske ukupne prinose nekih sintetičkih koraka i na malu dostupnost BODIPY derivata zbog nestabilne prirode pirola. Bor dipirometanska boja **1** (Slika 2.) pripremljena je slijedeći sintetičku strategiju koja se obično navodi za sintezu 3,5-dikloro-BODIPY boja korištenjem komercijalno dostupnih derivata na bazi pirola i *p*-supstituirani benzaldehid kao polazni materijala.¹⁴



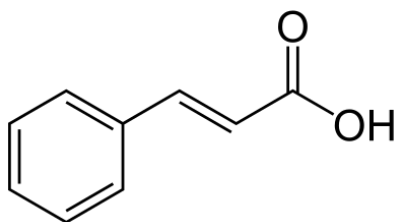
Slika 3. *Sinteza PBA-BODIPY-a 1–4 . (a) $CF_3 COOH$, $0\text{ }^\circ C \rightarrow$ sobna temperatura, 15 minuta, 74%; (b) NCS , THF , $-78\text{ }^\circ C \rightarrow -20\text{ }^\circ C$, 18 h; (c) DDQ , CH_2Cl_2 , sobna temperatura, 16 h, 75% u dva koraka ; (d) BF_3Et_2O , CH_2Cl_2 , sobna temperatura, 2 h, 75%; (e) anilin, CH_2Cl_2 , $60\text{ }^\circ C$, 48 h, 58%; (f) anilin, $140\text{ }^\circ C$, 0,5 h; (g) etilendiamin, sobna temperatura, 45 minuta, 44%.*

1.2. Cimetna kiselina

Cimetna kiselina je prva molekula u fenilpropanoidnom sintetskom putu i izvor je većine derivata hidroksicimetne kiseline poput kumarinske, kafeinske, ferulinske i sinapinske kiseline koje su normalno prisutne u biljnom materijalu bilo u obliku estera ili glikozida.

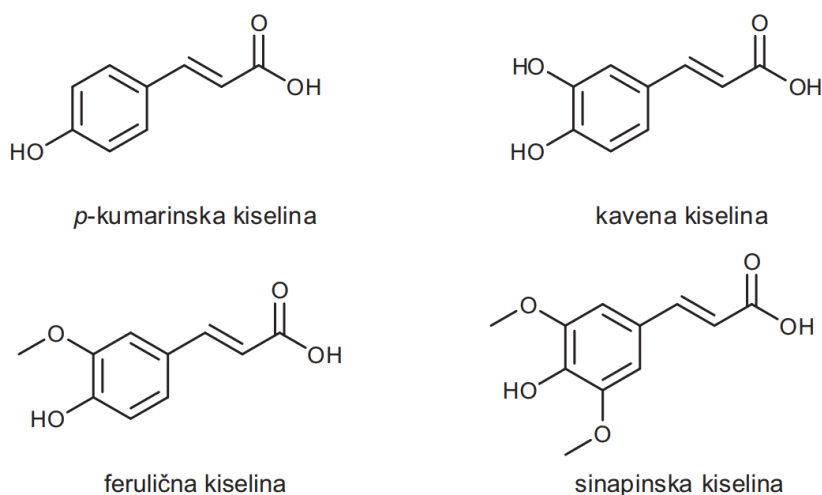
1.2.1. Struktura cimetne kiseline

Cimetna kiselina (3-fenilprop-2-enska ili fenilakrilna kiselina) i njeni derivati široko su rašireni u biljnom svijetu. Naziv je dobila po biljnim vrstama iz roda *Cinnamomum* iz porodice Lauraceae u kojima je prisutna u značajnim količinama.¹⁵ Najvažniji predstavnik roda je *Cinnamomum verum*. Nekoliko vrsta iz roda *Cinnamomum* uzgaja se komercijalno za dobivanje začina cimeta.



Slika 4. Shema cimetne kiseline

Cimetna kiselina pripada skupini biljnih hormona auksina koji reguliraju rast i diferencijaciju stanica. Biosinteza cimetne kiseline polazi iz aminokiseline L-fenilalanina, a njenom hidroksilacijom nastaju njeni fenolni derivati (Slika 5.): *p*-kumarinska, kavena, ferulična i sinapinska kiselina.¹⁶



Slika 5. Sheme derivata cimetne kiseline

1.2.2. Fizikalno-kemijska svojstva cimetne kiseline

Cimetna kiselina je nezasićena aromatska kiselina. Može postojati kao *cis*- i *trans*-stereoizomer, a u prirodi je više zastupljen *trans*-izomer. Bijela je kristalinična tvar, slabo topljiva u vodi, a dobro topljiva u mnogim organskim otapalima. Miriše po medu. Njena osnovna fizikalno-kemijska svojstva navedana su u tablici 2.¹⁷

Tablica 2. *Fizikalno – kemijska svojstva cimetne kiseline*

Molekulska formula	C ₉ H ₈ O ₂
Relativna molekulska masa	148,16
Izgled	Bijeli monoklinski kristali
Gustoća	1,247 g cm ⁻³
Talište	133 °C
Vrelište	300 °C
Topljivost u vodi	500mg L ⁻¹
Kiselost (pKa)	4,44

1.2.3. Upotreba cimetne kiseline i njenih derivata

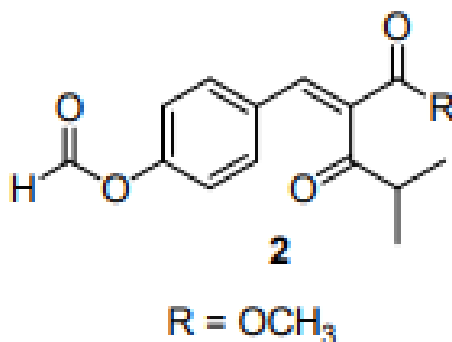
Derivati cimetne kiseline koriste se u velikim količinama u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Prvenstveno se koriste kao dodatak pekarskim proizvodima, bezalkoholnim napitcima, žvakaćim gumama, zubnim pastama i sredstvima za privlačenje insekata. Nadalje, koriste se u proizvodnji sapuna, parfema, šampona, dekorativnih kozmetičkih proizvoda te pripravaka za zaštitu od sunca i vjetra.¹⁸ Osim toga, cimetna kiselina važna je sirovina za sintezu L-fenilalanina iz kojeg se proizvodi zaslađivač aspartam.

1.2.3.1. Derivati cimetne kiseline i njihova biološka učinkovitost

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) prepoznaje zarazne bolesti uzrokovane bakterijama, viruse i gljivice kao globalnu prijetnju zdravlju, posebno u zemljama u razvoju i siromašnim zemljama. Oko 3,5 milijuna ljudi godišnje umire od zaraznih bolesti.¹⁹ U 2018. SZO je izvijestio o 37,9 milijuna ljudi koji žive s virusom humane imunodeficijencije (HIV) u cijelom svijetu sa 770.000 umrlih od bolesti povezanih s AIDS-om.²⁰

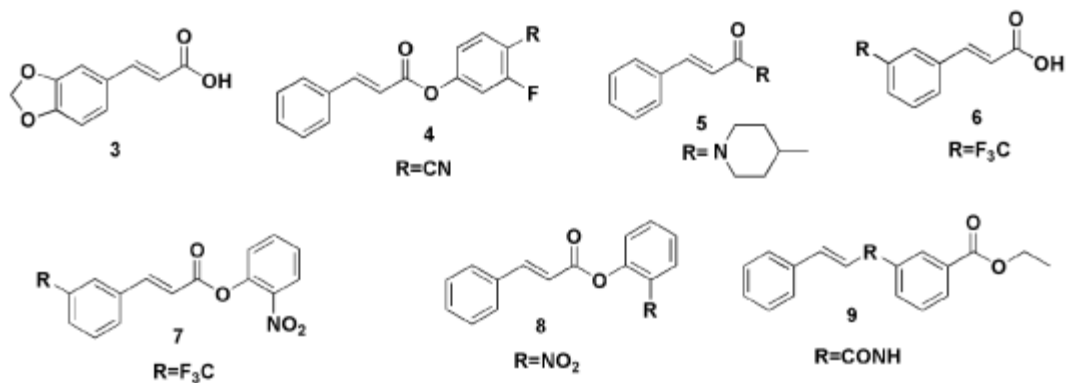
Globalna tuberkuloza (TB) za 2019. prijavila je procijenjenih 10,0 milijuna TB infekcija i 1,2 milijuna smrtnih slučajeva u 2018. Od slučajeva tuberkuloze 8,6% su bili ljudi koji žive s HIV-om.²¹ Pojava mikrobnih sojeva otpornih na lijekove dovela je do poteškoća u liječenju bolesti poput tuberkuloze i malarije. Derivati cimetine kiseline poznati su po svom antimikrobnom djelovanju, a istraživači su u potrazi za antimikrobnim sredstvima koja su učinkovitija od trenutno korištenih standardnih lijekova.²²

Deng i sur. su ekstrahirali derivat 4-hidroksicimetine kiseline, metil 2-{(E)-2-[4-(formiloksi)fenil]etenil}-4-metil-3-oksopentanoat (**2**) (Slika 6.) iz biljne endofitske gljive *Pyronema* sp. Biološka aktivnost spoja procijenjena je *in vitro* na netuberkuloznoj mikobakteriji, *Mycobacterium marinum*, odgovornoj za infekcije kože. Spoj je pokazao dobar inhibicijski učinak s IC₅₀ od 64 μM.²³



Slika 6. Kemijska struktura derivata 4-hidroksicimetine kiseline (**2**)

Korosec i sur. Ispitali su antifungalno djelovanje različitih sintetiziranih derivata cimetine kiseline.²⁴ Antifungalna aktivnost temeljila se na ciljanju CYP53A15, jedinstvenog enzima gljivica za koji je poznato da igra ulogu u demetiliranju lanosterola, što potom potiče rast gljivica.²⁵ Derivati (**3** - **9**) (slika 7.) inhibirali su enzimsku aktivnost CYP53A15 protiv tri gljive (*Cochliobolus lunatus*, *Aspergillus niger* i *Pleurotus ostreatus*) čime se otkriva potencijal antifungalne aktivnosti derivata cimetine kiseline.



Slika 7. Kemijske strukture derivata cimetine kiseline s antifungalnim djelovanjem (3–9)

Na temelju tablice 3, spojevi **3** i **4** bili su najbolji inhibitori rasta *C. lunatus*. Postotak rasta gljivica povećao se od spojeva **3** do **9**, otkrivajući slabu antifungalnu aktivnost nekih od spojeva. Antifungalna aktivnost spoja **4** je izrazita na *A. Niger*. S druge strane, spoj **6** nije učinkovit u inhibiciji rasta *P. ostreatus*. Spoj **5** ima izrazito široko antifungalno djelovanje na sve tri vrste gljivica. Mogućnost povlačenja elektronskih skupina na fenilnom prstenu pojačava antifungalno djelovanje odgovarajućih derivata. Vrsta fenilnog prstena, supstituent i njegov položaj također igraju važnu ulogu. Spoj **5** je pokazao najbolju inhibiciju na CYP53A15 aktivnost što ga čini dobrim kandidatom za daljnji razvoj antifungalnih lijekova.

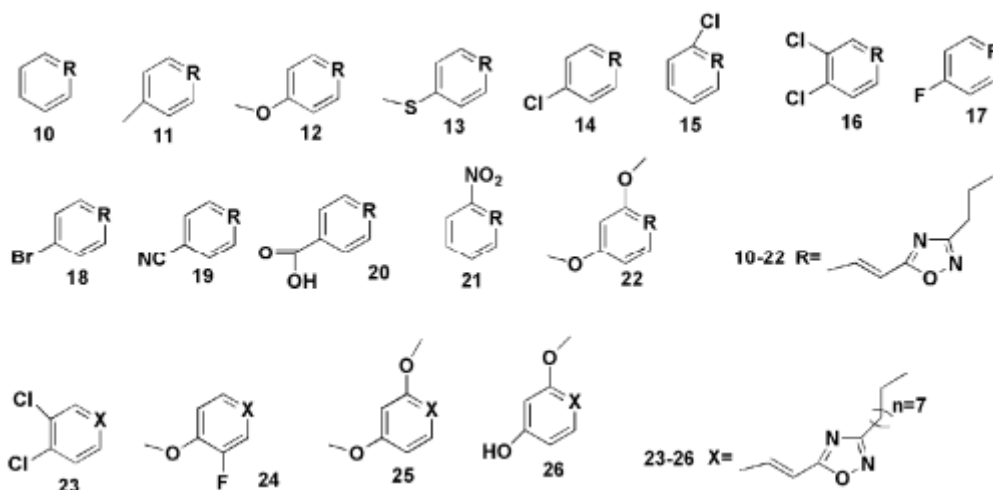
Tablica 3. Usporedba postotka rasta triju gljivica kada su tretirane s 0,5 mmol/L derivata cimetine kiseline (3-9)

Spojevi	% rasta gljivica tretiranih s 0.5 mmol/L inhibitora		
	<i>C.lunatus</i>	<i>A.niger</i>	<i>P.ostreatus</i>
3	22	85	38
4	25	66	43
5	30	28	29
6	34	109	00
7	42	84	62
8	58	60	67
9	63	50	53
Kontrola	90	109	55

Atmaram Upare i sur.²⁶ sintetizirali su derivate cimetne kiseline (**10** - **26**) (Slika 8.) u kojima je karboksilna skupina zamijenjena bioizosterom 1,2,4-oksadiazola nakon čega je slijedila supstitucija fenila prstena cimetne kiseline što rezultira nizom novih stiril oksadiazola. Spojevi su testirani *in vitro* 8 dana zbog njihove antituberkularne aktivnosti protiv H37Ra soja *Mycobacterium tuberculosis* (Tablica 4). Spoj **10** bio je 20 puta manje aktivan u usporedbi s cimetnom kiselinom.

Spojevi supstituenti koji daju elektron na para-položaju fenilnog prstena (**11-13**) (Slika 8.) bili su neaktivni s $IC_{50} > 30 \mu\text{g/mL}$.²⁷ Za spojeve s halogenim supstitutima na fenilnom prstenu, položaj, broj supstituenti i vrsta halogena utjecali su na biološku aktivnost spojeva. Para-supstituiran kloro-spoj **14** ($IC_{50} = 4,54 \mu\text{g/mL}$) bio je aktivniji u usporedbi s orto-supstituiranim spoj **15** ($IC_{50} = 9,91 \mu\text{g/mL}$), što sugerira da prisutnost klora na para poziciji pojačano antibakterijsko djelovanje spoja.²⁸

Spoj **17** s 4-fluoro fenil prstenom supstitucija je bila najaktivnija od svih spojeva koji sadrže fluor s $IC_{50} = 0,36 \mu\text{g/mL}$ što ukazuje da je supstitucija fluorom pogodovala anti-tuberkuloznoj aktivnosti sintetiziranog spoja.



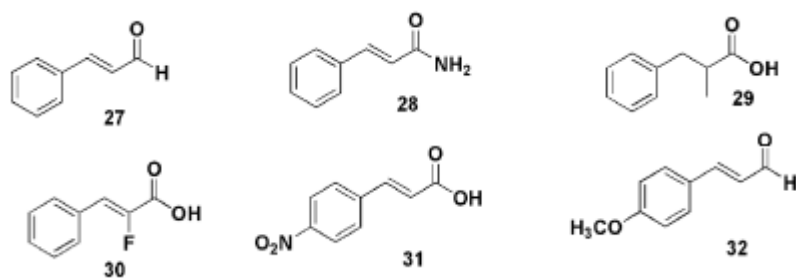
Slika 8. Kemijske strukture sintetiziranih novih stiril oksadiazola

Tablica 4. *In vitro* antituberkulozna aktivnost spojeva 10 - 26 protiv *M. tuberculosis* u trajanju od 8. dana

Spoj	IC ₅₀ (µg/mL)	Spoj	IC ₅₀ (µg/mL)
1	0.06	18	>30
10	1.42	19	11.01
11	>30	20	0.045
12	>30	21	0.56
13	>30	22	>30
14	4.53	23	0.56
15	9.91	24	>30
16	2.35	25	>30
17	0.36	26	1.56

Uvođenje skupine za povlačenje elektrona poboljšalo je njihovo antibakterijsko djelovanje (tj. spojevi **20** i **21**). Izvanredno, spoj **20** s karboksilnom kiselinom na para poziciji pokazao je snažno anti-TB djelovanje (IC₅₀ = 0,045 µg/mL) u usporedbi s cimetnom kiselinom.

Dakle, općenito, prisutnost grupe koja povlači elektrone na para položaju fenilnog prstena pogodovala je značajnoj anti-TB aktivnosti.²⁹ Spojevi sa skupinama za povlačenje elektrona pokazali su poboljšanu aktivnost (spoj **23** s IC₅₀ = 0,56 µg/mL bio je aktivniji od spoja **16** s IC₅₀ = 2,35 µg/mL) dok spojevi sa supstituentima koji daju elektron na fenilnom prstenu nisu pokazali značajnu anti-TB aktivnost. Malheiro i sur. Sintetizirali su derivate cimetne kiseline modificiranjem karboksilne skupine, alkena i fenilnog prstena (**27–32**) (Slika 9.) i proučavali njihove učinke, zajedno s odabranim fitokemikalijama, na suzbijanju planktonske *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Enterococcus hirae*. Fitokemikalije i derivati također su uspoređeni s uobičajeno korištenim biocidima kao što su natrijev hipoklorit, triklosan, vodikov peroksid itd. Spoj **27** je najučinkovitiji na sve tri vrste bakterija, s boljom učinkovitošću od natrijevog hipoklorita (Slika 9., Tablica 5.).



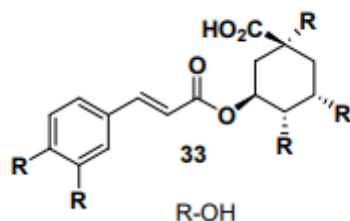
Slika 9. Kemijske strukture spojeva, 27–32

Općenito, spojevi **28-30** nisu značajno inhibirali rast bakterija na sve tri vrste u usporedbi s kontrolom (Tablica 5). Međutim, spoj **27** ima antibakterijski učinak značajan na ispitivanom soju bakterija *S. aureus* u usporedbi s kontrolom (natrijev hipoklorit). Rezultati spojeva pokazali su da modifikacije na alkenjskoj skupini, fenil prstenu i funkcionalne skupine karboksilne kiseline utječu na biološku aktivnost spojeva.

Tablica 5. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) reprezentativnih biocida i derivata protiv *E. coli*, *S. aureus* i *E. Hirae*

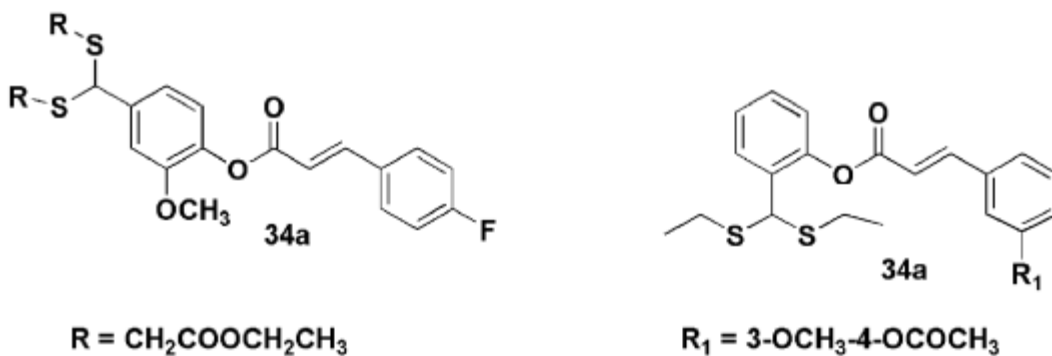
Spojevi	<i>E. coli</i> (mM)	<i>S. aureus</i> (mM)	<i>E. hirae</i> (mM)
Natrijev hipoklorit	5	8	5
Triklosan	0.003	0.003	0.02
27	3	3 – 5	5 – 8
28	20 – 25	>25	>25
29	15 – 20	15 – 20	20 – 25
30	15 – 20	15 – 25	18 – 25
31	>13	>13	>13
32	>25	>25	>25

Antimikrobno djelovanje klorogenske kiseline (spoj **33**) (Slika 10.) uključuje antibakterijsko djelovanje aktivnosti protiv bakterija rezistentnih na više lijekova, antifungalna i antivirusna aktivnost protiv HSV-1 i HSV-2, adenovirus, ebola i HIV. Antifungalni učinci spoja **33** poznati su jer je učinkovit protiv *Candida albicans* djelovanjem na staničnu membranu. Djelotvoran je protiv *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* i *Klebsiella pneumonia*, među ostalim bakterijama. Ima široku primjenu u hrani zbog svoje neosjetljivosti na probiotske bakterije.



Slika 10. Kemijska struktura klorogenske kiseline (**33**)

Wang i sur. određivali su aktivnosti sintetizirane cimetine kiseline protiv virusa mozaika duhana (TMV). Samo **34a** i **34b** (Slika 11.) pokazuju aktivnosti od 82,6% odnosno 83,5%, što je značajno u usporedbi s ribavirinom (70,3%) i ksiangkaoliusobingmom (71,7%), korištenim kao kontrola.³⁰

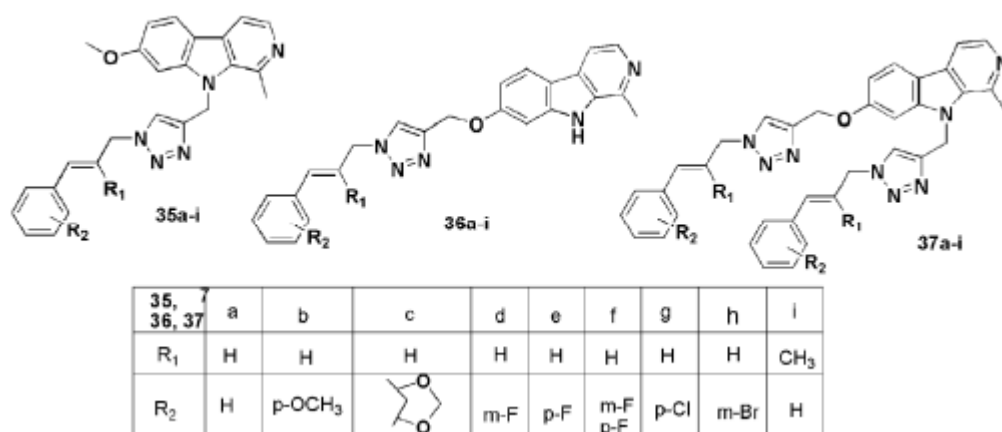


Slika 11. Derivati cimetine kiseline s ditioacetalnim dijelovima (**34a** i **34b**)

Antivirusno djelovanje spojeva **34a** i **34b** bilo je usporedivo s djelovanjem ningnanmicina (85,2%) korištenim kao kontrola. Tretman TMV čestica s **34b** uzrokovao je ozbiljna oštećenja i prijelom. Rezultati molekularnog spajanja pokazali su da se **34b** izvrsno veže s aminokiselinskim ostacima GLN34, THR37, ARG90 i ARG46 proteina TMV omotača putem vodikovih veza.³¹ Unatoč nekoliko izvješća o derivatima cimetine kiseline, spojevi s snažnim antimikrobnim djelovanjem su **3 - 5** (Slika 7., Tablica 3.) koji su bili učinkoviti protiv sojeva gljivica kao što su *C. lunatus*, *A. niger* i *P. Ostreatus* u usporedbi s cimetnom kiselinom. Nadalje, spojevi s visokim antibakterijskim djelovanjem su **20** (Slika 8., Tablica 4.) koji je pokazao snažno anti-TB djelovanje u usporedbi s cimetnom kiselinom i spojem **27** (Slika 9., Tablica 5.) koji je bio učinkovit na *E. coli*, *S. aureus* i *E. hirae* u usporedbi s natrijevim hipokloritom (Tablica 5.).³²

1.2.3.2. Derivati cimetne kiseline s antikancerogenim djelovanjem

SZO je 2018. izvijestio o 18,1 milijun novih slučajeva raka i 9,6 milijuna smrtnih slučajeva, što rak čini jednim od vodeći uzroka smrti.³³ Veliki broj ljudi koji umiru od raka potaknuo je istraživače na neprekidno ulaganje napora za razvoj sigurnih i učinkovitih antitumorskih sredstava. Učinkovitost većine trenutno korištenih kemoterapijskih sredstava ozbiljno je ograničena rezistencijom na lijekove. Većina lijekova ne uspije tijekom invazije i metastaziranja karcinoma zbog čega pacijenti podlegnu bolesti.³⁴ Derivati cimetne kiseline imaju antikancerogene učinke i učinkoviti su protiv širokog spektra karcinoma (dojke, debelog crijeva, pluća itd.).³⁵ Derivati cimetne kiseline, kao što je cinamaldehyd, između ostalog koriste apoptozu načine uništavanja kancerogenih stanica. Perković i sur. Sintetizirali su hibride harmicina i cimetne kiseline (**35–37**) (Slika 12). *In vitro* citotoksičnost hibrida na staničnoj liniji hepatocelularnog karcinoma jetre (HepG2) ovisila je o vrsti harmicina i supstituentu u derivatu cimetne kiseline. Spojevi **36d**, **36e** i **36f** su bili najučinkovitiji spojevi protiv HepG2 stanične linije s IC₅₀ vrijednostima od 3,11; 2,19 i 0,74 μM, u usporedbi s harmicinom s IC₅₀ većim od 250 μM.³⁶ Povećana citotoksičnost spojeva **36d**, **36e** i **36f** pripisuje se *O*-harmicinima, dok su ostali *N*-harmicini i *N,O*-bis-harmicini.



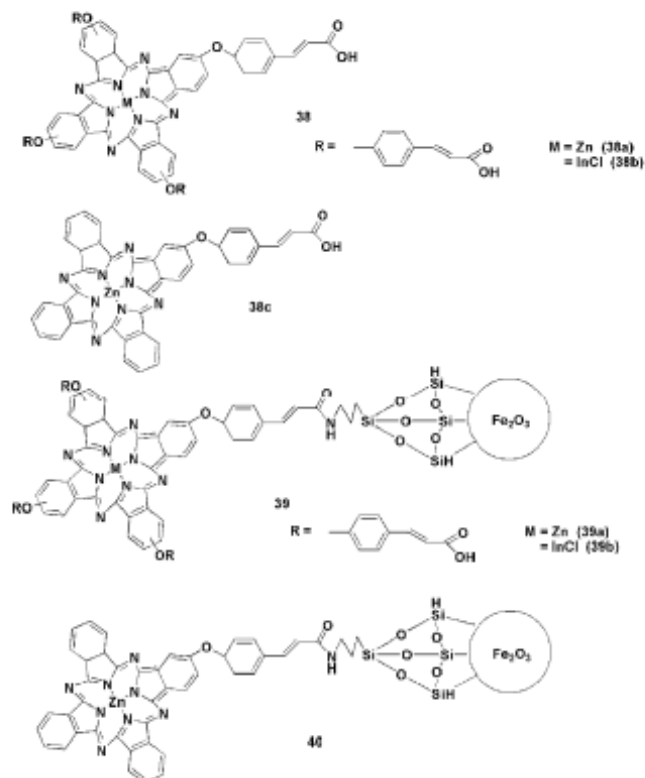
Slika 12. Strukture hibrida cimetna kiselina-harmicin (35 - 37)

Pellerito i sur. sintetizirali su derivat ferulata, tributilkositar(IV) ferulat. *In vitro* studije na debelom crijevu stanice raka, HCT116, Caco-2 i HT-29 pokazali su da ferulinska kiselina nije promijenila vitalnost bilo kojeg od tri stanične linije čak i do koncentracije od 1 μM, dok je tributilkositar(IV) ferulat pokazao izvanredno smanjenje vitalnosti stanica na 400 nM (-78,9% za HCT116, -64,1% za Caco-2 i -57,5% za HT-29).

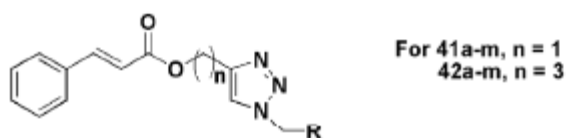
Tributilkositar(IV) ferulat inducira autofagičnu smrt stanica i zaustavlja stanični ciklus čime se smanjuje održivost stanica raka debelog crijeva. Dakle, osim što pokazuje izvanrednu vitalnost stanice u odnosu na testiranu stanicu linijama, također je pokazao vrlo značajan učinak pri vrlo niskim dozama što je stvorilo novi derivat ferulne kiseline obećavajući kandidat za terapiju raka debelog crijeva.

Matlow i sur. sintetizirali su komplekse ftalocijanina (Pc) tetra cimetne kiseline cinka i indija (**38-40**) koji su kovalentno povezani amidnom vezom s amino-funkcionaliziranim magnetske nanočestice (AMNP).³⁷ Cimetna kiselina bila je povezana s nanočesticama zbog svog antitumorskog djelovanja. Spojevi **38a – c** uspoređeni su sa spojevima **39a – c** (Slika 13.) za fotodinamiku terapija i *in vitro* citotoksičnosti protiv staničnih linija humanog adenokarcinoma dojke. Kvantni prinos tripleta **39a**, **38b** i **39b**) poboljšan je nakon povezivanja na AMNP, ali se smanjio za **39c** (0,65) i **38c** (0,73) zbog fotoizomerizacije na alkensoj dvostrukoj vezi cimetne kiseline.³⁸ Kvantni prinosi kisika također se povećao u prisutnosti AMNP-a za **38a** i **39a**.

Svih šest spojeva pokazalo je vrlo niske *in vitro* citocidne učinke sa spojem **38c** koji pokazuju najmanju vitalnost stanica na 78 % pri 80 µg/mL. To ukazuje da korišteni lijek ima nisku citotoksičnost. Fotodinamička aktivnost (PDT) spojeva **38a – c** na stanicama karcinoma dojke (MCF-7) stanicama se povećavala s primjenom koncentracije lijeka s 5-80 µg/mL, a smrt stanica procijenjena je na temelju stanične konfluencije održivih stanica. PDT je smanjena za spojeve **39a – c** (Slika 13.) od fotoaktivnosti ftalocijanina smanjena nakon povezivanja s AMNP-ima zbog agregacije ftalocijaninskog kompleksa. Spoj **38b** nadmašio **38a** i **38c** zbog spin-orbitnog spajanja i učinkovitog prijenosa energije u osnovno stanje molekularnog kisika, što mu daje značajnu citocidnu aktivnost protiv tumorogenih stanica. Lima i sur. sintetizirali su derivate cimetne kiseline koji imaju 1,2,3-triazolni dio (**41a – m** i **42a – m**) (Slika 14) i ocijenili njihovu antimetastatsku aktivnost. Pri 100 µmol/L, spojevi **41a**, **41b**, **41f**, **41h – j**, **41l**, **41m**, **42a – e**, **42g – I** i **42k – m** (Slika 14.) značajno su potisnuli migraciju stanica modela melanoma (B16-F10) u usporedbi sa stanicama tretiranim s 0,4% DMSO. Spoj **42a** bio je najučinkovitiji sa supresijom migracije stanica od 86% u usporedbi s kontrolom. Proliferacija stanica B16-F10 također je bila značajno narušena spojem **42a**. Došlo je do smanjenja invazije i adhezije stanica B16-F10 nakon tretmana spojem **42a** tijekom 24 sata koji je potvrdio antimetastatsko djelovanje derivata cimetne kiseline protiv karcinoma debelog crijeva i stanica humanog adenokarcinoma pluća.³⁹



Slika 13. Kemijske strukture kompleksa ftalocijanina (Pc) tetra cimetne kiseline cinka i indijum kovalentno povezan s amino-funkcionaliziranim magnetskim nanočesticama (AMNP)



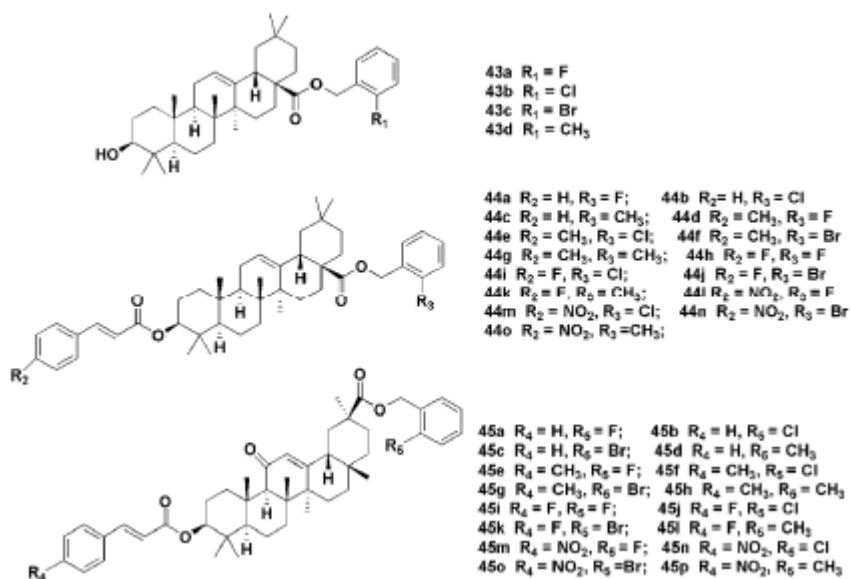
R= (a) phenyl; (b) 2,5-dichlorophenyl; (c) 4-iodophenyl; (d) 4-nitrophenyl; (e) 4-bromophenyl; (f) 4-chlorophenyl; (g) 3,4-difluorophenyl; (h) 4-fluorophenyl; (i) 4-trifluoromethoxyphenyl; (j) 4-trifluoromethylphenyl; (k) 4-methoxyphenyl; (l) 2,4,6-trichlorophenyl; (m) 2-bromophenyl

Slika 14. Kemijske strukture spojeva 41a–m i 42m

Kolonije B16-F10 stanica smanjene su kada su tretirane različitim koncentracijama spoja **42a** na 12,5 $\mu\text{mol/L}$ (25,5%), 25 $\mu\text{mol/L}$ (20,6%) i 50 $\mu\text{mol/L}$ (93,1%) u usporedbi s kontrolom. Budući da su proliferacija stanica, migracija, invazija, adhezija i kolonizacija središnji koraci u in vivo procesu metastaziranja⁴⁰, pozitivni rezultati spoja **42a** ukazuju na njegovu učinkovitost u smanjenju metastatskog potencijala stanica B16-F10. Vero i fibroplast (NIH3T3) stanice su donekle pojavile osjetljivost na spoj **42a** pri 100 $\mu\text{mol/L}$ i bez hemolize nije bila značajna pri različitim koncentracijama. Predviđanje molekularnog vezanja pokazalo je da je inhibicijska sposobnost spoja **42a** posljedica njegove interakcije

s MMP-9 i MMP-2, enzimi koji su izravno uključeni u progresiju melanoma Heteroatomi u spoju **42a** imaju sposobnost formiranja vodikovih veza s proteinima čime inhibiraju dva enzima.

Wang i sur. dizajnirali su i sintetizirali nove derivate estera oleanolne kiseline (OA)-cimetne kiseline (**43a–d** i **44a–o**) i derivate estera gliciretinske kiseline (GA)-cimetne kiseline (**45a–p**) (Slika 15.) i procijenili njihovu in vitro citotoksičnost protiv MCF-7 (rak dojke), HeLa (rak vrata maternice) i L-O2 (normalne jetrene stanice).⁴¹



Slika 15. *Kemijske strukture novih derivata estera oleanolne kiseline (OA)-cimetne kiseline (43a–d i 44a–o) i derivati estera gliciretinske kiseline (GA)-cimetne kiseline (45a–p)*

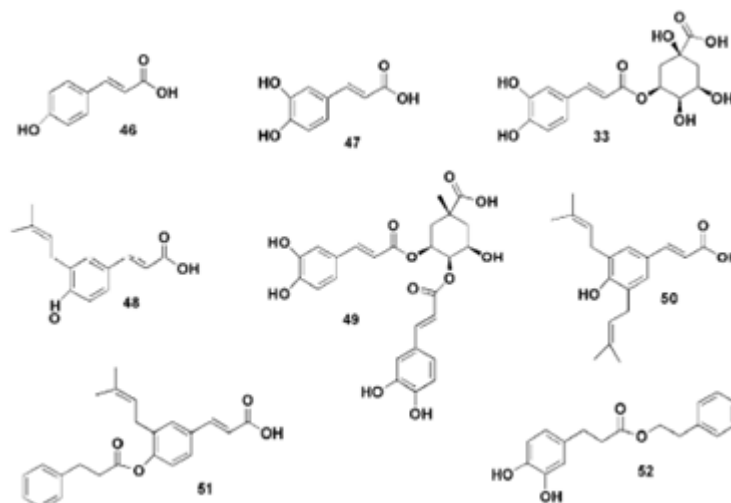
Na temelju tablice 6. s odabranim spojevima, spoj **45c** je pokazao najznačajniji citotoksičnost na L-O2 stanice. Snažna inhibitorna aktivnost (1,79 μM) protiv stanica MCF-7 prikazala je da spoj **44e** sugerira da povezivanje 4-metilcimetne kiseline na C-OH položaj OA-2-klorobenzila ester ima sposobnost značajno poboljšati inhibiciju MCF-7 stanica. Spoj **44o** je bio najsnažniji spoj protiv HeLa stanica s IC₅₀ od 1,35 μM, blizu kontrolne, gefitinib (1,28 μM).⁴²

Tablica 6. IC_{50} vrijednosti oleanolne kiseline (OA), gliciretinske kiseline (GA) i prema normalnim jetrenim stanicama (L-O2), stanicama raka dojke (MCF-7) i stanicama vrata maternice (HeLa)

Spojevi	IC_{50} (μ M)			Spojevi	IC_{50} (μ M)		
	L-O2	MCF-7	HeLa		L-O2	MCF-7	HeLa
OA	32.9	>100	>100	44m	>100	38.89	56.29
GA	>100	64.16	98.99	44o	>100	>100	1.35
43d	>100	32.49	1.55	45c	10.19	>100	>100
43a	>100	>100	>100	45e	>100	36.84	>100
43e	>100	1.79	>100	45f	>100	>100	>100
44h	>100	>100	>100	45i	>100	46.53	>100

Spojevi **44a**, **44h** i **44f** (Slika 15.) nisu mogli inhibirati nijednu od tri stanične linije. Struktura – aktivnost odnosi nisu pokazali jasan trend ni kada je supstituent na benzilu GA bio doniranje ili povlačenje elektrona. Međutim, skupina koja daje elektron (-CH₃) na *orto* položaj benzilne skupine na OA povećala je inhibitorski učinak spojeva na HeLa stanice. Spojevi **43d** i **44o** su dalje evaluirani zbog njihovog citotoksičnog učinka na HeLa stanicama i utvrđeno je da induciraju apoptozu i povećane razine reaktivnih vrsta kisika na način ovisan o dozi. Spojevi **43d** i **44o** inducirali su autofagiju u HeLa stanicama.⁴³

Endo i sur. ispitivali su aktivnost derivata cimetine kiseline u brazilskoj zelenoj boji koja inducira autofagiju propolis: *p*-kumarinska kiselina (**46**), kafeinska kiselina (**47**), klorogenska kiselina (**33**), drupanin (**48**), 3,4-kafeoilkinska kiselina (3,4-CQA) (**49**), artemillin C (ArtC) (**50**), bakarini (**51**) i fenetil ester kafeinske kiseline (CAPE) (**52**) podvrgavajući ih stanicama raka prostate otpornima na kastraciju (CRPC) CWR22R1. Spojevi **33**, **46**, **47** i **48** bili su manje citotoksični, ali spojevi **49-52** (Slika 16.) značajno su smanjili rak prostate.⁴⁴



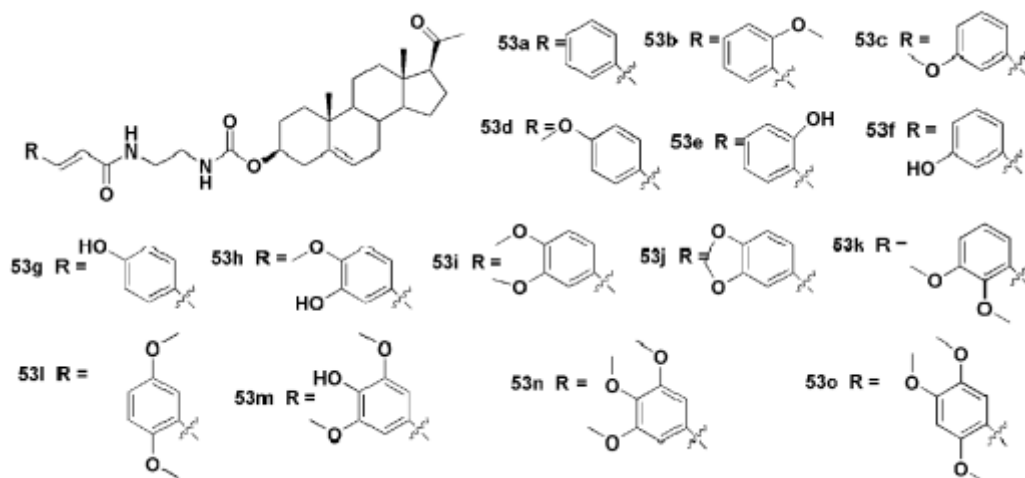
Slika 16. Kemijske strukture derivata cimetne kiseline u komponentama propolisa

Vijabilnost stanica CWR22Rv1 nakon 24 sata tretmana pokazala je da je spoj **52** (Slika 16.) najmoćniji, čak ubija 90% stanica pri dozi od 30 μM . Spojevi **50** i **51** (Slika 16.) značajno povećavaju LC3-II (standardni marker za autofagosome) razine, pokazujući visoku aktivnost induciranja autofagije, a spoj **50** (Slika 16.) bio je jači od **51**. Daljnja ispitivanja su pokazala da spoj **46** inducira autofagiju kroz različite mehanizme od inhibicije lizosomskih enzima.⁴⁵ Choudhari i sur. također su izvijestili o *in vitro* potencijalu Indijskog pčelinjeg propolisa bez uboda kao sredstva protiv raka.⁴⁶ Tretman A549 stanica spojem **52** (50 μM) značajno je smanjio, na način ovisan o dozi, ekspresiju kladina-2, proteina visoko izraženog u većini stanica raka.

Spoj **52** povećao je osjetljivost stanica na agense protiv raka. Shimizu i Suzuki prijavili su tu sposobnost spoja **52** za smanjenje faze upale u makrofagima, podržavajući rezultate Endo i njegovih suradnika.⁴⁷ Zabilježeni su pozitivni rezultati za bioraspodivnost i farmakokinetički spoj **52** kod glodavaca, ali oni i dalje ostaju nejasni kod ljudi.

Obrada stanica CWR22Rv1 spojem **50** i wortmaninom ili U0126, koji su inhibitori autofagije, uvelike su smanjili vitalne stanice i značajno povećali laktozu oslobađanja dehidrogenaze u usporedbi s liječenjem samo spojem **50** što ukazuje na poboljšanje citotoksične snage spoja **50** inhibicijom autofagije. Autori su također izvijestili o uključivanju nekroptoze u staničnu smrt kada se liječi spojem **50** i inhibitorom autofagije. Stoga, na temelju njihovih otkrića, spoj **50** inducira autofagiju i apoptozu u stanicama CWR22Rv1 i što je najvažnije, inhibicija autofagije dodatno povećava apoptozu i inducira nekrozu.⁴⁸

Ge i sur. dizajnirani su i sintetizirali novi hibrid cimetne kiseline i progenona (**53a–o**) (Slika 17.) i ocijenili njihovu biološku aktivnost kao potencijalnih antiproliferativnih agenasa protiv A549, H157, HepG2, MCF-7 i HL-60 stanične linije (Tablica 7).⁴⁹



Slika 17. Kemijske strukture dizajniranih i sintetiziranih novih hibrida cimetna kiselina-progenon (**53a–o**)

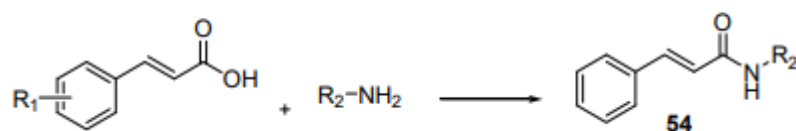
Spojevi **53f** i **53g** (Slika 17.) bili su najsnažniji spojevi protiv svih pet staničnih linija raka. Na temelju vrijednosti IC_{50} spojeva **53b–53g** (Tablica 7.), 3-OH ili 4-OH povećali su snagu spojeva dok je metilacija hidroksila ili promjena njegovog položaja smanjila aktivnosti spoja posebno prema A549 i HL-60 staničnim linijama raka. Antiproliferativna aktivnost također je smanjena nakon uvođenja druge metoksilne skupine (**53h**) ili dialkilacije hidroksila (**53i–53l**) što ukazuje na ulogu koju imaju 3-OH i 4-OH na fenilnom prstenu na aktivnost spoja koja je uočena u **53m** je aktivniji od **53n** i **53o** (Tablica 7.).

Tablica 7. *In vitro* antiproliferativna aktivnost spojeva **53a–o** kao IC_{50} (μM)

SPOJ	MCF-7	A549	H157	HepG2	HL-60	SPOJ	MCF-7	A549	H157	HepG2	HL-60
53a	>50	>50	>50	>50	>50	53i	>50	>50	>50	>50	>50
53b	>50	>50	3.72	5.46	>50	53j	>50	>50	>50	>50	10.19
53c	4.16	>50	24.50	6.55	>50	53k	>50	>50	>50	>50	>50
53d	8.85	30.98	21.33	22.59	15.68	53l	>50	>50	>50	5.5	>50
53e	>50	>50	24.54	3.81	>50	53m	6.55	36.20	30.67	>50	11.26
53f	4.91	3.22	4.28	3.45	6.87	53n	>50	>50	>50	>50	>50
53g	6.46	5.16	3.77	8.86	3.51	53o	>50	>50	>50	3.10	>50
53h	6.11	>50	17.98	5.22	25.64	Dox	1.51	0.31	0.48	1.82	0.91

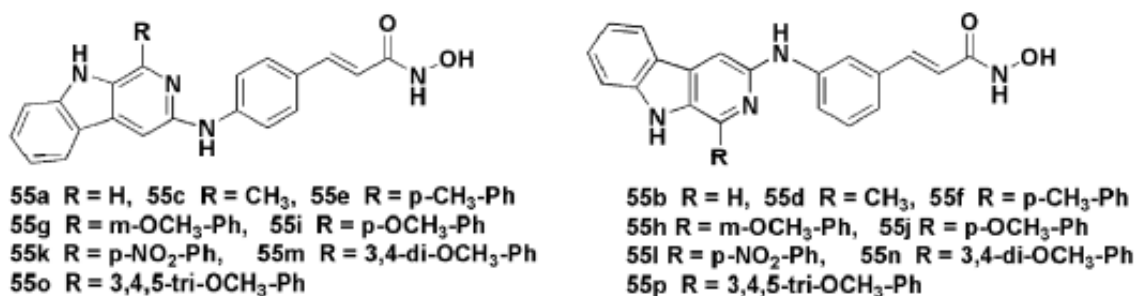
Pri 50 μM , svi spojevi su pokazali inhibiciju manju od 50% na dvije ne-tumorske stanične linije, BEAS2B i MCF-10A, pa se smatralo da su hibridi selektivno toksični prema stanici linije raka u usporedbi s netumorskim stanicama. Rezultati staničnog ciklusa pokazali su da je **53f** zaustavio progresiju stanice u G1 faze i pojačao apoptozu u stanicama A549.⁵⁰ Nakon pregleda nekoliko cinamamida i njihovih odnosa strukture i aktivnosti u aktivnosti antikancerogenih lijekova, Gaikwad i sur. zaključili da su spojevi aktivniji kada je orto skupina ostala nesupstituirana, ali skupine koje daju elektron su tolerirane. Skupine za povlačenje elektrona kao što su NO_2 , CN i CF_3 na para poziciji bili su važni za potenciju i selektivnost.

Prisutnost skupina koje doniraju elektrone kao što su OCH_3 , vinil i NH-R na meta položaju je bio poželjan za djelovanje protiv raka. Za R_2 supstituciju, heterociklički i aromatski amini značajno povisuju antikancerogenu aktivnost, dok su alifatski amini pokazali relativno nisku snagu.⁵¹



Slika 18. Opći sintetički put za cinamamid. Reagensi i uvjeti: POCl_3 , TEA , DCM , 0°C

Većina pacijenata koji se bore protiv raka i koji koriste lijekove za liječenje hepatocelularnog karcinoma pati od rezistencije na lijekove. Kako bi prevladali rezistenciju na lijekove, Ling i sur. razvili su β -karbolin i N -hidroksicinamid spojeve (**55a–p**).⁵² Svi spojevi, **55a–p**, inhibirali su histon deacetilazu 1 (HDAC1), ključni HDAC podtip prikazan u diferencijaciji i proliferaciji stanica raka. Spoj **55p** pokazao je najbolju potenciju s IC_{50} od 1,3 Nm u usporedbi sa suberoilanilidom hidroksamskom kiselinom (SAHA) ($\text{IC}_{50} = 142 \text{ nM}$), odobreni inhibitor HDAC. Prisutnost skupine koja daruje elektrone kao što je R skupina kao što je metoksil (**55g–j**) ili više od jedne metoksilne skupine (**5m–p**) imaju pojačanu inhibitornu moć u usporedbi sa spojevima s vodikom (**55a,b**) ili metilom (**55c,d**).



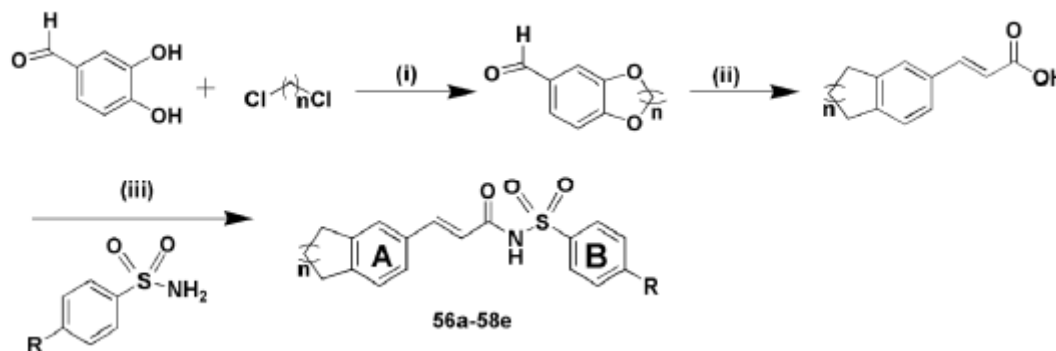
Slika 19. Kemijske strukture spojeva 55a–p

Antiproliferativno djelovanje spojeva protiv stanica raka debelog crijeva (HCT116), stanice ljudskog hepatocelularnog karcinoma (HCC) (HepG2 i SMMC-7721) i ljudskog raka pluća (H1299) pokazale su da **55e**, **55g–I** i **55o,p** (Slika 19.) ($IC_{50} = 0,41–4,29 \mu M$) pokazuju bolju antiproliferaciju potenciju u usporedbi sa SAHA ($IC_{50} = 4,79–7,02 \mu M$). Spoj **55p** pokazao se najbolji antiproliferativni učinak protiv Bel7402 osjetljivog na lijekove i Bel7402/5-FU otpornog na lijekove s vrijednostima IC_{50} od 0,85 i 2,09 μM , respektivno. Spoj **55p** inducirao je bolju apoptozu stanica Bel7402/5-FU nego SAHA zajedno s aktivnošću autofagnog toka u stanicama Bel7402/5-FU smanjenjem p62 i LC3-1 i pojačanim reguliranjem proteina LC3-II, što ga čini potencijalnim kandidatom za razvoj lijekova protiv raka.

Tablica 8. IC_{50} vrijednosti spojeva 55g,h, 55k,l i 55o,p protiv HCC Bel7402 osjetljivog na lijekove i stanice HCC Bel7402/5-FU otporne na lijekove

Spojevi	IC_{50} (μM)	
	Bel7402	Bel7402/5-FU
SAHA	4.72	9.83
5-FU	15.6	61.7
55g	1.03	2.17
55h	2.15	2.90
55k	3.24	4.38
55l	2.71	3.06
55o	1.97	3.66
55p	0.85	2.09

Sintetizirani su supstituirani derivati cimethnog acil sulfonamida (**56a–58e**) (Slika 20.) i testirani na njihovo antiproliferativno djelovanje na MCF-7 ljudskim stanicama raka dojke. Na temelju tablice 9., spoj **56a** pokazao je najbolju aktivnost ($IC_{50} = 0,17 \mu\text{g/mL}$) u usporedbi s kontrolnim, kolhicinom.⁵³



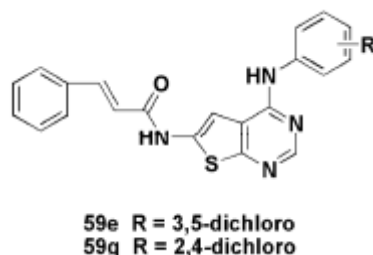
Slika 20. Opća sinteza derivata sulfonamida cimethne kiseline (**56a–58e**). Reagensi i uvjeti: (i) K_2CO_3 , aceton, refluks, 29 h; (ii) piperidin, piridin, $80–90^\circ\text{C}$, 24 h; (iii) supstituiran benzen-sulfonamidi, diklormetan (DCM), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid (EDCI), 4-dimetilaminopiridin (DMAP), preko noći.

Spoj **56a** nije imao supstituent na B fenilnom prstenu, ali je imao benzdioksansku skupinu na A prstenu što znači da je prisutnost supstituenta na B fenilnom prstenu smanjila antiproliferativno djelovanje spoja. Test polimerizacije tubulina pokazao je da je spoj **56a** naj snažniji spoj koji inhibira polimerizaciju tubulina *in vitro*. Molekularno spajanje otkrilo je taj spoj **56a** formirao jednu vodikovu vezu i Van der Waalove sile s tubulinom.⁵⁴

Tablica 9. Antiproliferativno djelovanje i antitubulinsko djelovanje 56a-58e protiv stanica MCF-7

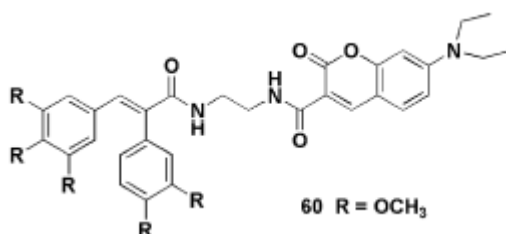
SPOJ	n	R	MCF-7 IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	ITP IC_{50} (μM)	SPOJ	n	R	MCF-7 IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	ITP IC_{50} (μM)
56a	1	H	0.17	0.88	57d	2	Cl	51.31	87.92
56b	1	CH_3	48.95	40.85	57e	2	Br	>100	>100
56c	1	F	74.05	76.90	58a	3	H	53.87	49.01
56d	1	Cl	47.27	94.72	58b	3	CH_3	>100	>100
56e	1	Br	89.01	51.59	58c	3	F	>100	>100
57a	2	H	2.16	5.47	58d	3	Cl	>100	>100
57b	2	CH_3	>100	93.33	58e	3	Br	>100	>100
57c	2	F	52.13	27.46	Colchicine			0.33	1.36

Toolabi i sur. sintetizirali su 6-cinamoil-4-arilaminotienopirimidini i spojeve **59e** i **59g** (Slika 21.) koji su bili vrlo učinkoviti protiv A549 i HeLa staničnih linija.⁵⁵



Slika 21. Struktura spojeva 59e i 59g

Yang i sur. sintetizirali su niz derivata cimetine kiseline i pronašli samo spoj **60** (Slika 22.) koji je pokazao 25,78% vitalnosti stanica kada je testiran na stanicama leukemije (HL-60) pri 20 μ M tijekom 48 sati. Odnos strukture i citotoksične aktivnosti otkrio je prisutnost skupina trimetoksila na fenilnom prstenu, etilendiamin linker, umetanje aril supstituta na C- α poziciju i prisutnost α,β -nezasićenog keton karbonilnog supstituenta koji su korisni za citotoksičnost spoja. Spoj **60** pokazao je bolji unos u HL-60 stanicama nego u normalnim stanicama, s mitohondrije kao glavno mjesto nakupljanja. Pri 10 i 15 μ M, spoj **60** je uglavnom inducirao apoptozu dok je pri 20 μ M izazvao nekrozu stanica HL-60.⁵⁶



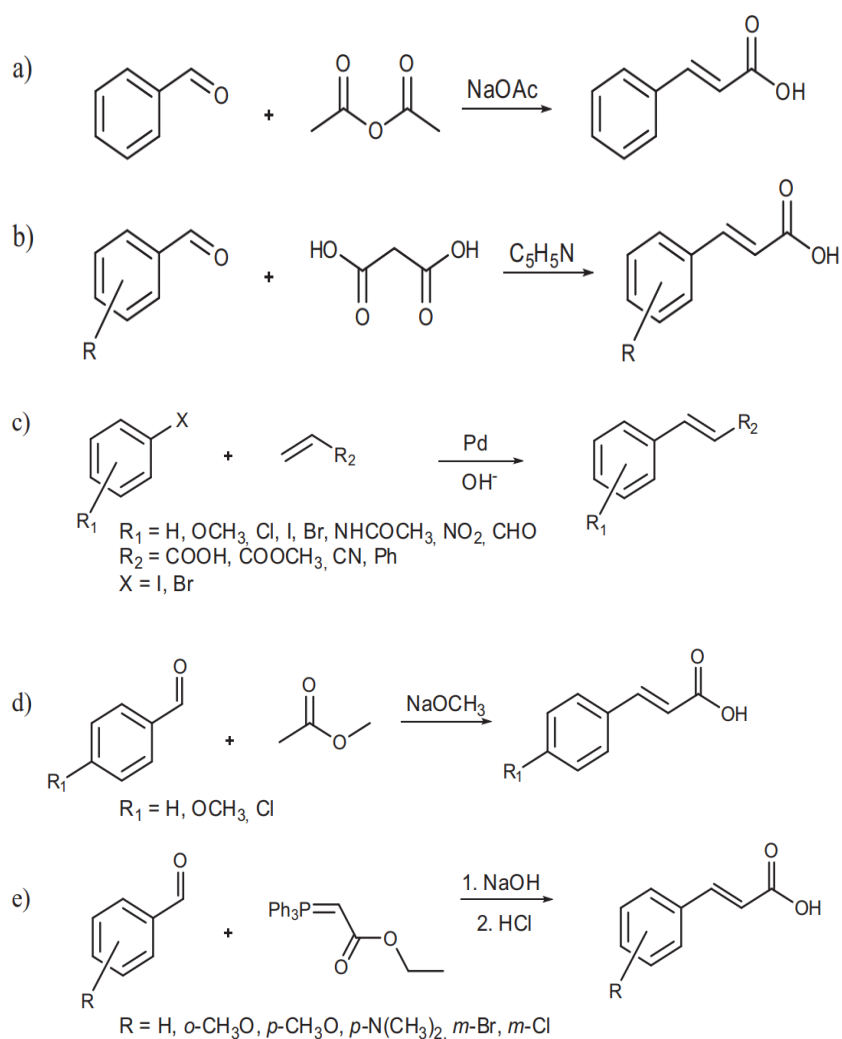
Slika 22. Kemijska struktura spoja 60

Potencijalni derivati s antikancerogenim djelovanjem koji zahtijevaju daljnje studije su **36d**, **36e**, **36f**, **43e**, **56a**, **43d**, **44o**, **55e** i **55g**. Derivati cimetine kiseline sa snažnim antikancerogenim djelovanjem na jetru rak su spojevi **36d**, **36e** i **36f**. Spojevi **43e** i **56a** bili su moćni na MCF-7 staničnim linijama *in vitro* i spojevi **43d**, **44o**, **55e** i **55g** bili su aktivni protiv staničnih linija raka vrata maternice u usporedbi s drugim derivatima koji su testirani. Spojevi **55g–55p** bili su učinkoviti na staničnoj liniji humanog hepatocelularnog karcinoma otpornih na lijekove.⁵⁷

1.2.4. Sinteza cimetne kiseline

Godišnja proizvodnja i potrošnja cimetne kiseline i njenih derivata kreće se od 1–10 tisuća tona.⁵⁸

Na slici 23. prikazane su najvažnije metode njihove sinteze koje koriste: a) Perkinovu reakciju,^{59,60} b) Knoevenagel-Hansovu kondenzaciju,⁶¹ c) Heckovu sintezu,⁶² d) Claisen-Schmidtovu kondenzaciju⁶³ ili e) Wittigovu reakciju.⁶⁴



Slika 23. Najvažnije metode sinteze cimetne kiseline i njenih derivata

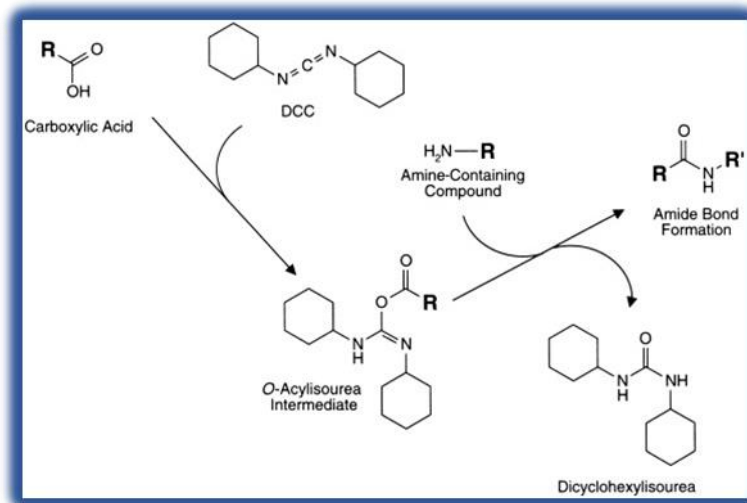
2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Kemikalije

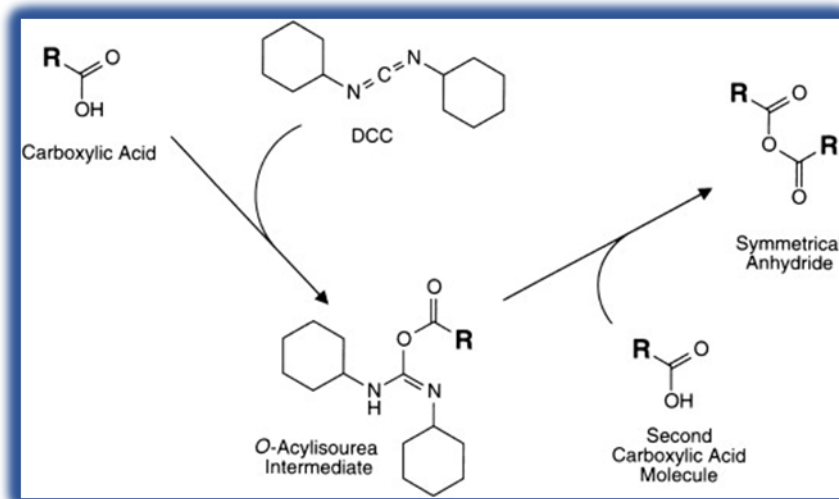
Potrebne kemikalije za eksperimentalni dio su aminofenilboronična kiselina, cimetna kiselina, DCC, dietileter (Sigma Aldrich, Njemačka).

2.2. Sinteza 3-aminofenilboronične i cimetne kiseline

Da bi uopće omogućilo spajanje 3-aminofenilboronične i cimetne kiseline, nužno je sredstvo za spajanje tj. sredstvo koje potiče stvaranje amidnih veza. U ovom slučaju, kao aktivni intermedijer koristio se DCC (dicikloheksil karbodiimid). Reakcijom karboksilne kiseline (cimetne) i DCCa uz dodatak 3-aminofenilboronične kiseline moguća su 2 slučaja. Slika 24. prikazuje nastajanje amidne veze uz izdvajanje čistog konjugata (a taj konjugat je naš "novi" sintetizirani spoj), dok Slika 25. prikazuje nastajanje smjese simetričnog anhidrida i konjugata, a u oba slučaja dolazi i do nastanka nusproizvoda diciklouree.



Slika 24. Nastajanje amidne veze uz izdvajanje čistog konjugata



Slika 25. Nastajenje nepoželjnog simetričnog anhidrida

U 1. slučaju (Slika 24.) dolazi do reakcije između OH skupine i NH₂ skupine te nastaje amidna veza, a u drugom slučaju (Slika 25.) reagiraju OH skupina iz jedne molekule cimetine kiseline s OH skupinom druge molekule cimetine kiseline pa nastaje simetrični anhidrid.

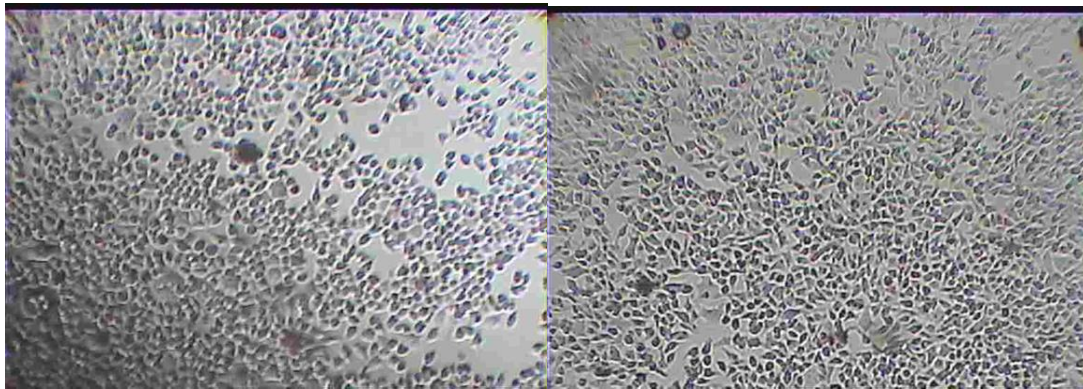
Sam eksperiment se sastoji od otapanja navedenih komponenti u dietileteru uz pomoć magnetne miješalice. Već u prvih nekoliko minuta moglo se uočiti nastajanje bijelog taloga (diciklouree) koji predstavlja nusproizvod, a samim time smo znali da je reakcija sinteze započela. Diciklourea ne predstavlja problem jer nije topljiva u dietileteru stoga je moguće njeno odvajanje filtracijom. Nakon odvajanja diciklouree, uzorak je ispitan na tekućinskom kromatografu spregnutom s trostrukim kvadrupolom (LC-MS/MD, Ultimate 3000 - TSQ Quantis, ThermoFischer Scientific, SAD), na kojem je utvrđeno da se uzorak sastoji od smjese 85% simetričnog anhidrida i 15% konjugata (navedena reakcija je prikazana na Slici 25.). Nakon toga slijedilo je uklanjanje dietiletera (s obzirom da je dietileter lako hlapljiva komponenta i da se u ovom eksperimentu radilo o izrazito malim količinama, dovoljno je bilo ostavljanje uzorka na sobnoj temperaturi i dietileter je u potpunosti ispario tijekom 24 sata).

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Ispitivanje citotoksičnosti na ljudskim stanicama raka vrata grlića maternice

Ispitivanje citotoksičnosti sintetiziranog konjugata aminofenilboronične i cimetine kiseline provedeno je na ljudskim stanicama raka vrata grlića maternice na institutu Ruđera Boškovića u Zagrebu.

Za potrebe eksperimenta i bolje objašnjavanje citotoksičnosti stvorenog konjugata aminofenilboronične i cimetine kiseline, ispitana je i citotoksičnost aminofenilboronične i cimetine kiseline u čistom stanju (Slika 26.). Iz prikazanog grafa (Slika 27.) može se uočiti kako obje komponente u čistom stanju imaju blago svojstvo citotoksičnosti.

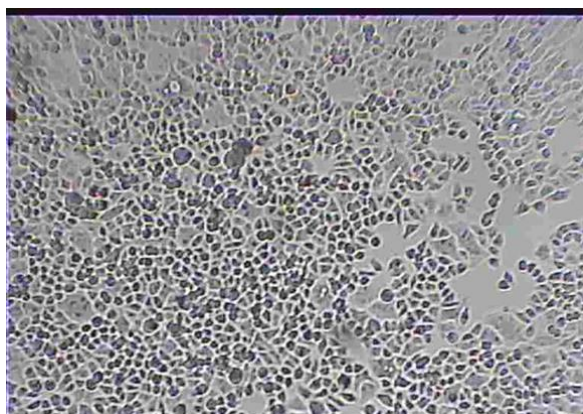


a)

b)

Slika 26. a) Stanice karcinoma tretirane čistom 3-aminofenilboroničnom kiselinom
b) Stanice karcinoma tretirane čistom cimmetnom kiselinom

Također, obzirom da se nastala smjesa sastoji od anhidrida cimetine kiseline ispitana je i citotoksičnost čistog anhidrida, a iz slike 27. je uočljivo kako i sam anhidrid uništava stanice karcinoma u većoj mjeri nego čista cimmetna kiselina (Slika 26.) Na slici 27. može se odmah uočiti da sintetizirani konjugat, odnosno smjesa od 85 % anhidrida i 15 % dobivenog konjugata znatno pojačava uništavanje stanica karcinoma u odnosu na čisti anhidrid.



a)



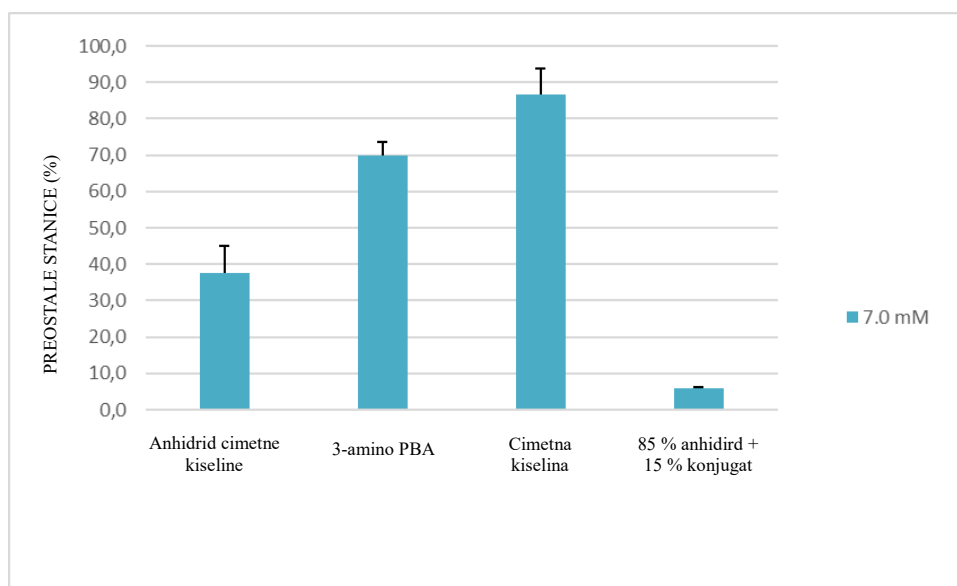
b)



c)

Slika 27. Prikaz citotoksičnog učinka;

- a) Netretirane stanice karcinoma (kontrola)*
- b) Stanice karcinoma tretirane anhidridom cimetine kiseline*
- c) Stanice karcinoma tretirane smjesom 85 % anhidrida i 15 % konjugata*



Slika 28. Grafički prikaz preostalih stanica karcinoma nakon tretiranja pojedinim spojem.

Na x osi dane su citotoksičnosti svake pojedine komponente, dok je na y osi prikazana funkcijska ovisnost životnog vijeka stanica karcinoma. Iz priloženog grafa (Slika 28.) uočava se da cimetna kiselina smanjuje rast i razvoj stanica karcinoma na 87 %, aminofenilboronična na 70 %, anhidrid cimetine kiseline na 38 %, a konjugat (15 %) i anhidrid cimetine kiseline (85 %) na svega 8 % što bi značilo da je ovim dobivenim spojem uništeno više od 90 % stanica karcinoma.

Možemo zaključiti da aminofenilboronična i cimetna kiselina imaju svojstvo citotoksičnosti, ali iz prikazanih rezultata uočava se da se to svojstvo znatno povećava povezivanjem tih dviju kiselina. Također je vidljivo da već relativno mali postotak (15%) konjugata značajno pojačava citotoksičnost ljudskih stanica raka grlića maternice. Stoga, ovo otkriće otvara nove mogućnosti u pripravi terapijskih sredstava za liječenje ove zloćudne bolesti.

4. ZAKLJUČAK

Fenilboronična kiselina je jedan od derivata borne kiseline, koji se sastoji od fenilnog supstituenta na jednoj hidroksilnoj skupini i dvije slobodne hidroksilne skupine polazne borne kiseline, te ima sposobnost vezanja za ugljikohidratne jedinice i druge dipolne spojeve.

Cimetna kiselina je prva molekula u fenilpropanoidnom biosintetskom putu i izvor je većine derivata hidroksicimetne kiseline poput kumarinske, kafeinske, ferulinske i sinapinske kiseline koje su uobičajeno prisutne u biljnom materijalu bilo u obliku estera ili glikozida. Derivati cimetne kiseline koriste se u velikim količinama u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji.

Na osnovu dobivenih rezultata u ovom radu, da se zaključiti da aminofenilboronična i cimetna kiselina pokazuju citotoksična svojstva te da korištenje ove dvije kiseline utječe na smanjenje stanica raka grlića maternice kod žena. Poseban interes predstavlja mogućnost njihovog povezivanja u konjugat fenilboronične i cimetne kiseline koji pokazuje zatno jaču citotoksičnost. Ta činjinica sugerira da se i druge kiseline mogu vezati za fenilboroničnu i na taj način stvoriti lepezu novih potencijalnih lijekova za prevenciju i liječenje ove zloćudne bolesti.

5. LITERATURA

1. URL: <https://zir.nsk.hr/islandora/object/kfst:945/datastream/PDF/view> (14.09.2022.)
2. K. Pavić; B. Zorc: Cimetna kiselina i njeni derivati; Farmaceutski glasnik, 2018, 74, 415 - 428
3. S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* 1977, 55, 3071–3075.
4. O. C. Ho, R. Soundararajan, J. Lu, D. S. Matteson, Z. Wang, X. Chen, M. Wei, R. D. Willett, *Organometallics*, 1995, 14, 2855–2860.
5. O. C. Ho, R. Soundararajan, J. Lu, D. S. Matteson, Z. Wang, X. Chen, M. Wei, R. D. Willett, *Organometallics*, 1995, 14, 2855–2860
6. O. C. Ho, R. Soundararajan, J. Lu, D. S. Matteson, Z. Wang, X. Chen, M. Wei, R. D. Willett, *Organometallics*, 1995, 14, 2855–2860
7. K.-N. Wang , X.-J. Chao , B. Liu , D.-J. Zhou , L. He , X.-H. Zheng , Q. Cao , C.-P. Tan , C. Zhang and Z.-W. Mao , *Chem. Commun.*, 2018, 54 , 2635.
8. J. O. Escobedo , O. Rusin , S. Lim and R. M. Strongin , *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2010, 14 , 64 CrossRef . B. Tang , F. Lv , K. Chen , L. Jiao , Q. Liu , H. Wang and E. Hao , *Chem. Commun.*, 2019, 55 , 4691 RSC .
9. L. Jean-Gérard , W. Vasseur , F. Scherninski and B. Andrioletti , *Chem. Commun.*, 2018, 54 , 12914 RSC .
10. Y. A. Volkova , B. Brizet , P. D. Harvey , A. D. Averin , C. Goze and F. Denat , *Eur. J. Org. Chem.*, 2013, 4270 CrossRef CAS .
11. B. Liu , N. Novikova , M. C. Simpson , M. S. M. Timmer , B. L. Stocker , T. Sohnel , D. C. Ware and P. J. Brothers , *Org. Biomol. Chem.*, 2016, 14 , 5205 RSC
12. X.-T. Zhang , G.-J. Liu , Z.-w. Ning and G.-w. Xing , *Carbohydr. Res.*, 2017, 452 , 129 CrossRef CAS .
13. A. M. Azavedo , A. G. Gomes , L. Borlido , I. F. S. Santos , D. M. F. Prazeres and M. R. Aires-Barros , *J. Mol. Recognit.*, 2010, 23 , 569 CrossRef .
14. M. Regueiro-Figueroa , K. Djanashvili , D. Esteban-Gómez , A. de Blas , C. Platas-Iglesias and T. Rodríguez-Blas , *Eur. J. Org. Chem.*, 2010, 3237 CrossRef CAS
15. Guzman JD. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. *Molecules*. 2014; 19:292–349.
16. De P, Baltas M, Bedos-Belval F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents – a review. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18:1672–1703.
17. De P, Baltas M, Bedos-Belval F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents – a review. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18:1672–1703.
18. Sharma PJ. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *Chem. Pharm. Res.* 2011; 3:403–423.

19. Mancilla-Montelongo, G.; Castañeda-Ramírez, G.S.; de JesúsTorres-Acosta, J.F.; Sandoval-Castro, C.A.; Borges-Argáez, R. Evaluation of Cinnamic Acid and Six Analogues against Eggs and Larvae of *Haemonchus Contortus*. *Vet. Parasitol.* 2019, 270, 25–30.
20. UNAIDS. Global HIV and AIDS Statistics 2019 Fact Sheet; UNAIDS: Geneva, Switzerland, 2019; Volume 1, pp. 1–6
21. World Health Organisation. Global Tuberculosis Report; WHO: Geneva, Switzerland, 2019; pp. 1–297.
22. Guzman, J.D. Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. *Molecules* 2014, 19, 19292–19349
23. Deng, Z.; Li, C.; Luo, D.; Teng, P.; Guo, Z.; Tu, X.; Zou, K.; Gong, D. A New Cinnamic Acid Derivative from Plant-Derived Endophytic Fungus *Pyronema Sp.* *Nat. Prod. Res.* 2017, 31, 2413–2419
24. Korošec, B.; Sova, M.; Turk, S.; Kraševc, N.; Novak, M.; Lah, L.; Stojan, J.; Podobnik, B.; Berne, S.; Zupanec, N.; et al. Antifungal Activity of Cinnamic Acid Derivatives Involves Inhibition of Benzoate 4-Hydroxylase (CYP53). *J. Appl. Microbiol.* 2014, 116, 955–966
25. Podobnik, B.; Stojan, J.; Lah, L.; Krasevec, N.; Seliskar, M.; Rizner, T.L.; Rozman, D.; Komel, R. CYP53A15 of *Cochliobolus lunatus*, a target for natural antifungal compounds. *J. Med. Chem.* 2008, 51, 3480–3486.
26. Atmaram Upare, A.; Gadekar, P.K.; Sivaramakrishnan, H.; Naik, N.; Khedkar, V.M.; Sarkar, D.; Choudhari, A.; Mohana Roopan, S. Design, Synthesis and Biological Evaluation of (E)-5-Styryl-1,2,4-Oxadiazoles as Anti-Tubercular Agents. *Bioorg. Chem.* 2019, 86, 507–512
27. Atmaram Upare, A.; Gadekar, P.K.; Sivaramakrishnan, H.; Naik, N.; Khedkar, V.M.; Sarkar, D.; Choudhari, A.; Mohana Roopan, S. Design, Synthesis and Biological Evaluation of (E)-5-Styryl-1,2,4-Oxadiazoles as Anti-Tubercular Agents. *Bioorg. Chem.* 2019, 86, 507–512.
28. Gaikwad, N.; Nanduri, S.; Madhavi, Y.V. Cinnamamide: An Insight into the Pharmacological Advances and Structure–Activity Relationships. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 181, 1–24
29. Gaikwad, N.; Nanduri, S.; Madhavi, Y.V. Cinnamamide: An Insight into the Pharmacological Advances and Structure–Activity Relationships. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 181, 1–24
30. Wang, Y.; He, F.; Wu, S.; Luo, Y.; Wu, R.; Hu, D.; Song, B. Design, Synthesis, Anti-TMV Activity, and Preliminary Mechanism of Cinnamic Acid Derivatives Containing Dithioacetal Moiety. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2020, 1–7.
31. Wang, Y.; He, F.; Wu, S.; Luo, Y.; Wu, R.; Hu, D.; Song, B. Design, Synthesis, Anti-TMV Activity, and Preliminary Mechanism of Cinnamic Acid Derivatives Containing Dithioacetal Moiety. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2020, 1–7.

32. Malheiro, J.F.; Maillard, J.Y.; Borges, F.; Simões, M. Evaluation of Cinnamaldehyde and Cinnamic Acid Derivatives
33. World Health Organisation. Latest Global Cancer Data <https://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf>
34. Ling, Y.; Gao, W.J.; Ling, C.; Liu, J.; Meng, C.; Qian, J.; Liu, S.; Gan, H.; Wu, H.; Tao, J. β -Carboline and N-Hydroxycinnamamide Hybrids as Anticancer Agents for Drug-Resistant Hepatocellular Carcinoma. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 168, 515–526
35. Ge, Y.X.; Wang, Y.H.; Zhang, J.; Yu, Z.P.; Mu, X.; Song, J.L.; Wang, Y.Y.; Yang, F.; Meng, N.; Jiang, C.S. New Cinnamic Acid-Pregnenolone Hybrids as Potential Antiproliferative Agents: Design, Synthesis and Biological Evaluation. *Steroids* 2019, 152, 1–9.
36. Perković, I.; Raić-Malić, S.; Fontinha, D.; Prudêncio, M.; Pessanha de Carvalho, L.; Held, J.; Tandarić, T.; Vianello, R.; Zorc, B.; Rajić, Z. Harmicines—Harmine and Cinnamic Acid Hybrids as Novel Antiplasmodial Hits. *Eur. J. Med. Chem.* 2020, 187, 1–16
37. Matlou, G.G.; Oluwole, D.O.; Nyokong, T. Evaluation of the Photosensitizing Properties of Zinc and Indium Tetra Cinnamic Acid Phthalocyanines Linked to Magnetic Nanoparticles on Human Breast Adenocarcinoma Cells. *J. Lumin.* 2019, 205, 385–392
38. Kaupp, G. Organic Solid-State Reactions. In *Encyclopedia of Physical Organic Chemistry*, 1st ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2017; pp. 1–79
39. Tsai, C.M.; Yen, G.C.; Sun, F.M.; Yang, S.F.; Weng, C.J. Assessment of the Anti-Invasion Potential and Mechanism of Select Cinnamic Acid Derivatives on Human Lung Adenocarcinoma Cells. *Mol. Pharm.* 2013, 10, 1890–1900
40. Pijuan, J.; Barceló, C.; Moreno, D.F.; Maiques, O.; Sisó, P. In Vitro Cell Migration, Invasion, and Adhesion Assays: From Cell Imaging to Data Analysis. *Front. Cell Dev. Biol.* 2019, 7, 1–16.
41. Wang, S.R.; Yang, W.; Fan, Y.; Dehaen, W.; Li, Y.; Li, H.; Wang, W.; Zheng, Q.; Huai, Q. Design and Synthesis of the Novel Oleanolic Acid-Cinnamic Acid Ester Derivatives and Glycyrrhetic Acid-Cinnamic Acid Ester Derivatives with Cytotoxic Properties. *Bioorg. Chem.* 2019, 88, 1–15
42. Wang, S.R.; Yang, W.; Fan, Y.; Dehaen, W.; Li, Y.; Li, H.; Wang, W.; Zheng, Q.; Huai, Q. Design and Synthesis of the Novel Oleanolic Acid-Cinnamic Acid Ester Derivatives and Glycyrrhetic Acid-Cinnamic Acid Ester Derivatives with Cytotoxic Properties. *Bioorg. Chem.* 2019, 88, 1–15
43. Wang, S.R.; Yang, W.; Fan, Y.; Dehaen, W.; Li, Y.; Li, H.; Wang, W.; Zheng, Q.; Huai, Q. Design and Synthesis of the Novel Oleanolic Acid-Cinnamic Acid Ester Derivatives and Glycyrrhetic Acid-Cinnamic Acid Ester Derivatives with Cytotoxic Properties. *Bioorg. Chem.* 2019, 88, 1–15

44. Endo, S.; Hoshi, M.; Matsunaga, T.; Inoue, T.; Ichihara, K.; Ikari, A. Autophagy Inhibition Enhances Anticancer Efficacy of Artepillin C, a Cinnamic Acid Derivative in Brazilian Green Propolis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018, 497, 437–443
45. Endo, S.; Hoshi, M.; Matsunaga, T.; Inoue, T.; Ichihara, K.; Ikari, A. Autophagy Inhibition Enhances Anticancer Efficacy of Artepillin C, a Cinnamic Acid Derivative in Brazilian Green Propolis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018, 497, 437–443
46. Choudhari, M.K.; Haghniaz, R.; Rajwade, J.M.; Paknikar, K.M. Anticancer Activity of Indian Stingless Bee Propolis: An In Vitro Study. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2013, 2013, 928280
47. Shimizu, Y.; Suzuki, T. Brazilian Propolis Extract Reduces Intestinal Barrier Defects and Inflammation in a Colitic Mouse Model. *Nutr. Res.* 2019, 69, 30–41.
48. Endo, S.; Hoshi, M.; Matsunaga, T.; Inoue, T.; Ichihara, K.; Ikari, A. Autophagy Inhibition Enhances Anticancer Efficacy of Artepillin C, a Cinnamic Acid Derivative in Brazilian Green Propolis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018, 497, 437–443.
49. Ge, Y.X.; Wang, Y.H.; Zhang, J.; Yu, Z.P.; Mu, X.; Song, J.L.; Wang, Y.Y.; Yang, F.; Meng, N.; Jiang, C.S. New Cinnamic Acid-Pregenolone Hybrids as Potential Antiproliferative Agents: Design, Synthesis and Biological Evaluation. *Steroids* 2019, 152, 1–9.
50. Ge, Y.X.; Wang, Y.H.; Zhang, J.; Yu, Z.P.; Mu, X.; Song, J.L.; Wang, Y.Y.; Yang, F.; Meng, N.; Jiang, C.S. New Cinnamic Acid-Pregenolone Hybrids as Potential Antiproliferative Agents: Design, Synthesis and Biological Evaluation. *Steroids* 2019, 152, 1–9.
51. Gaikwad, N.; Nanduri, S.; Madhavi, Y.V. Cinnamamide: An Insight into the Pharmacological Advances and Structure–Activity Relationships. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 181, 1–24
52. Ling, Y.; Gao, W.J.; Ling, C.; Liu, J.; Meng, C.; Qian, J.; Liu, S.; Gan, H.; Wu, H.; Tao, J. β -Carboline and N-Hydroxycinnamamide Hybrids as Anticancer Agents for Drug-Resistant Hepatocellular Carcinoma. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 168, 515–526
53. Luo, Y.; Zhou, Y.; Song, Y.; Chen, G.; Wang, Y.X.; Tian, Y.; Fan, W.W.; Yang, Y.S.; Cheng, T.; Zhu, H.L. Optimization of Substituted Cinnamic Acyl Sulfonamide Derivatives as Tubulin Polymerization Inhibitors with Anticancer Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2018, 28, 3634–3638
54. Luo, Y.; Zhou, Y.; Song, Y.; Chen, G.; Wang, Y.X.; Tian, Y.; Fan, W.W.; Yang, Y.S.; Cheng, T.; Zhu, H.L. Optimization of Substituted Cinnamic Acyl Sulfonamide Derivatives as Tubulin Polymerization Inhibitors with Anticancer Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2018, 28, 3634–3638
55. Toolabi, M.; Moghimi, S.; Bakhshaiesh, T.O.; Salarinejad, S.; Aghcheli, A.; Hasanvand, Z.; Nazeri, E.; Khalaj, A.; Esmaeili, R.; Foroumadi, A. 6-Cinnamoyl-4-

Arylaminothienopyrimidines as Highly Potent Cytotoxic Agents: Design, Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies. *Eur. J. Med. Chem.* 2020, 185, 1–13.

56. Yang, K.; Li, Y.; Tang, Q.; Zheng, L.; He, D. Synthesis, Mitochondrial Localization of Fluorescent Derivatives of Cinnamamide as Anticancer Agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 170, 45–54.

57. Ling, Y.; Gao, W.J.; Ling, C.; Liu, J.; Meng, C.; Qian, J.; Liu, S.; Gan, H.; Wu, H.; Tao, J. β -Carboline and N- Hydroxycinnamamide Hybrids as Anticancer Agents for Drug-Resistant Hepatocellular Carcinoma. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 168, 515–526

58. Sharma PJ. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *Chem. Pharm. Res.* 2011; 3:403–423.

59. Sharma PJ. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *Chem. Pharm. Res.* 2011; 3:403–423.

60. Clayden J, Greeves N, Warren S. *Organic Chemistry*. New York: Oxford University Press Inc., 2012

61. Kolb KE, Field KW, Schatz PF. A one-step synthesis of cinnamic acids using malonic acid: The Verley-Doebner modification of the Knoevenagel condensation. *J. Chem. Educ.* 1990; 67:A304.

62. Wall VM, Eisenstadt A, Ager DJ, Laneman A. The Heck reaction and cinnamic acid synthesis by heterogeneous catalysis. *Platinum Metals Rev.* 4; 43:138–145.

63. Hatsuda M, Kuroda T, Seki M. An improved synthesis of (E)-cinnamic acid derivatives via the Claisen-Schmidt condensation. *Synth. Commun.* 2003; 33:427– 434

64. Thiemann T, Elshorbagy MW, Salem MHDA, al-Suaibi MAM, al-Hindawi B. One pot reaction of benzaldehydes to cinnamic acids and arylpropionic acids in aqueous medium. 14th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry, 2010.