Biološka aktivnost fenilboronične kiseline

Kemura, Miran

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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:167:305676

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

BIOLOŠKA AKTIVNOST FENILBORONIČNE KISELINE

ZAVRŠNI RAD

MIRAN KEMURA

MATIČNI BROJ: 91

Split, Rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ: KEMIJSKE TEHNOLOGIJE

SMJER:PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

BIOLOŠKA AKTIVNOST FENILBORONIČNE KISELINE

ZAVRŠNI RAD

MIRAN KEMURA

MATIČNI BROJ: 91

Split, Rujan 2021.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY

BIOLOGICAL ACTIVITY OF PHENYLBORONIC ACID

MIRAN KEMURA

PARENT NUMBER: 91

Split, September 2021

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćena na 6. Elektronskoj sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta održanoj 15. i 16. prosinca 2020.

Mentor: Prof.dr.sc. Mladen Miloš

BIOLOŠKA AKTIVNOST FENILBORONIČNE KISELINE

Miran Kemura,91

Sažetak:

Cilj ovog završnog rada bio je istražiti literaturu koja se bavi biološkom aktivnosti fenilboronične kiseline. Fenilboronična kiselina je spoj koji ima mnogo pozitivnih svojstava, koja ju čine korisnim farmaceutskim sredstvom za liječenje raka. U završnom radu se navodi kako fenilboronična kiselina može utjecati na migraciju određenih staničnih linija raka. Jedan od problema tijekom liječenja pacijenata od raka je ta što određeni lijekovi mogu negativno utjecati na zdrave stanice i organe, a u završnom radu će navesti, kako fenilboronična kiselina utječe na zdrave stanice te postoji li mogućnost da fenilboronična kiselina ima bolju selektivnost tijekom liječenje od ostalih lijekova.

Također uz pomoć dostupne literature i raznih istraživanja utvrdilo se da inhibitori koji sadrže fenilboroničnu kiselinu imaju bolje antivirusno djelovanje od derivata karboksilne kiseline. Svi ovi navodi će biti pobliže objašnjeni u završnom radu.

Ključne riječi: Fenilboronična kiselina, biološka aktivnost, migracija, inhibiranje, antiproliferativnost

Rad sadrži: 37 stranica**,** 14 slika, 4 tablice, 86 literaturne reference, 3 reakcije

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:

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-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: Biotechical sciences
Scientific field: Food Technology
Thesis subject

Mentor: Ph. D. Mladen Miloš, full prof.
Technical assistance:

BIOLOGICAL ACTIVITY OF PHENYLBORONIC ACID

Miran Kemura, 91

Abstract:
The aim of this thesis was to investigate the literature dealing with the biological activity of phenylboronic acid. Phenylboronic acid is a compound that has many positive properties, which makes it a useful pharmaceutical agent for the treatment of cancer. In this bachelor thesis states how phenylboronic acid can affect the migration of certain cancer cell lines. One of the problems during the treatment of cancer patients is that certain drugs can adversely affect healthy cells and organs, and in the final paper they will state how phenylboronic acid affects healthy cells and whether there is a possibility that phenylboronic acid has better selectivity during treatment than other drugs. .

Also with the help of the available literature and various studies, it was found that inhibitors containing phenylboronic acid have better antiviral activity than carboxylic acid derivatives. All these allegations will be explained in more detail in the this thesis..

Keywords: Phenylboronic acid, biological acitivity, migration, inhibition, antiproliferative

Thesis contains: 37 pages, 14 figures, 86 references, 4 tables, 3 reactions
Original in: Croatian

Defence committee:

1. Ph. D. Milan Radan – associate prof. – chair person

2. Ph. D. Franko Burčul – assis. prof - member

3. Ph. D. Mladen Miloš - full prof. - supervisor

Defence date:

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

Završni rad je izrađen u Zavodu za biokemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Mladen Miloš tijekom srpnja 2021.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svome mentoru prof. dr. sc. Mladenu Milošu i ostalima članovima komisije izv.prof.dr.sc. Mila Radan i doc.dr.sc. Franko Burčul na pristupačnosti i zavidnom strpljenju tijekom izrade završnog rada.

Također se zahvaljujem svojim prijateljima koji su tu bili u dobrim i teškim trenutcima, kao i mojoj dragoj obitelji koja je bila tu uz mene kada su mi najviše trebali, ali najveća zahvala ide onima kojih nema više sa mnom, nadam se da sam vas učinio ponosnima.

Job Not Finished !

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak završnog rada je bio istražiti literature te opisati kakav utjecaj fenilboronična kiselina ima na migraciju stanica raka.

Također su istražene literature koje opisuju kako fenilboronična kiselina može biti snažni inhibitor proteaze HIV-1.

SAŽETAK

Cilj ovog završnog rada bio je istražiti literaturu koja se bavi biološkom aktivnosti fenilboronične kiseline. Fenilboronična kiselina je spoj koji ima mnogo pozitivnih svojstava, koja ju čine korisnim farmaceutskim sredstvom za liječenje raka. Postoje razna saznanja da fenilboronična kiselina može smanjiti migraciju stanica raka te unaprijediti daljne terapije za liječenje oboljelih od raka.

Također uz pomoć dostupne literature i raznih istraživanja utvrdilo se da inhibitori koji sadrže fenilboroničnu kiselinu imaju bolje antivirusno djelovanje od derivata karboksilne kiseline. Svi ovi navodi će biti pobliže objašnjeni u završnom radu.

Ključne riječi: Fenilboronična kiselina, biološka aktivnost, inhibiranje, migracija, antiproliferativnost

SUMMARY

The aim of this work was to investigate the literature dealing with the biological activity of phenylboronic acid. Phenylboronic acid is a compound that has many positive properties, which makes it a useful pharmaceutical agent for the treatment of cancer. There are various findings that phenylboronic acid can reduce the migration of cancer cells and improve further therapies for the treatment of cancer patients.

Also with the help of the available literature and various studies, it was found that inhibitors containing phenylboronic acid have better antiviral activity than carboxylic acid derivatives. All these allegations will be explained in more detail in this bachelor thesis.

Keywords: Phenylboronic acid, biological activity, inhibition, inhibition, antiproliferative

SADRŽAJ:

1. OPĆI DIO 1
1.1. Struktura fenilboronične kiseline 1
1.2. Kemijska i fizikalna svojstva fenilboronične kiseline 1
1.3. Uporaba fenilboronične kiseline 2
1.4. Sinteza fenilboronične kiseline ($PhB(OH)_2$) 2
1.5. Reakcije fenilboronične kiseline 2
2. EKSPERIMENTALNI DIO 4
3. REZULTATI I RASPRAVA 5
3.1 Biološka aktivnost fenilboronične kiseline 5
3.1.1. Karcinom → uzroci i posljedice 5
3.1.2. Utjecaj boronične i fenilboronične kiseline na inhibiranje migracije stanica raka dojke i prostate 9
3.1.2.1. Eksperimentalni dokazi utjecaja boronične i fenilboronične kiseline na inhibiciju migracija stanica raka dojke i prostate 10
3.1.3. Biološka učikovitost fenilboronične kiseline na adenokarcinom dojke 4T1 miševa i stanice SCCVII skvamoznog karcinoma 15
3.1.3.1. Eksperimentalni dokazi antitumorskog učinka fenilboronične kiseline na adenokarcinom dojke 4T1 miševa i stanice SCCVII skvamoznog karcinoma 16
3.1.4. Biološka dostava lijekova do stanica raka uz posredovanje boroničnih kiselina 18
3.1.5. Snažni inhibitori proteaze HIV-1 koji sadrže karboksilne i borne kiseline: utjecaj na inhibiciju enzima i antivirusnu aktivnost te rendgenske strukturne studije proteina-liganda. 21
3.1.6. Otkrivanje jednostavnih derivata fenilboronične kiseline i benzoksaborola za eksperimentalnu onkologiju-induktori apoptoze specifični za fazni ciklus u stanicama raka jajnika A2780 25
4. ZAKLJUČAK 30
5. Bibliografija 31

UVOD

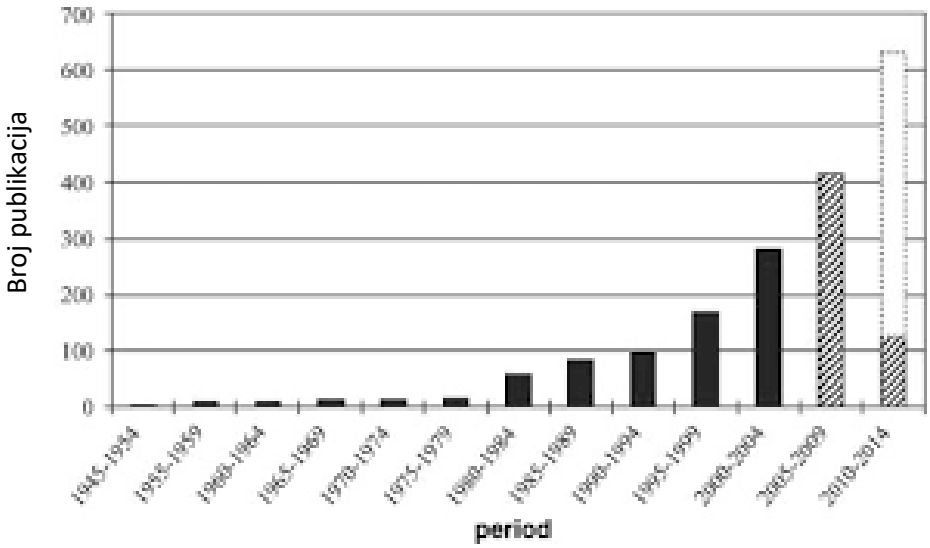
Iako je engleski znanstvenik Edward Frankland prvi izolirao boroničnu kiselinu 1860. godine, sve do 80-ih godina prošlog stoljeća vrlo malo je objavljenih spoznaja vezanih uz njene biološke aktivnosti, a posebno njenih derivata. Početkom 1980. godine došlo je do naglog preokreta gdje su otkriveni brojni spojevi u kojima je prisutna boronična kiselina i pokazane njene biološke aktivnosti.

Borna kiselina i njeni esteri su široko rasprostranjeni te imaju sposobnost transformacije organoborovih vrsta u nove sintetske spojeve zbog svestranosti veze C-B . Koriste se kao reagensi za modernu organsku sintezu i vrlo su cijenjeni. Borna kiselina je trovalentna vrsta koja sadrži bor i ima blago kiselu Lewisovu prirodu. Boronična kiselina sadrži elektrofilni atom bora, koji ima mogućnost stvaranja i stabiliziranja hidroksiboratnog aniona. Borna kiselina je kruta tvar, ne reagira na zraku i stabilna je dulje vrijeme. Boronična kiselina ima tendenciju da postoji kao smjesa anhidrida slobodne kiseline i oligomernih kiselina, posebno cikličkih šesteročlanih boraksima, kao rezultat dehidracije borne kiseline tijekom priprave. Izmjena liganda (izmjena hidroksilnih supstituenata za druge ligande) i disproporcija (odgovarajućem trialkilboranu i bornoj kiselini) termodinamički su nepovoljni, što je jedan od razloga stabilnosti boroničnih kiselina i njihovih estera. Da bi stvorili borni ester, treba upotrijebiti postupak dehidracije.

Tijekom vremena, fenilboronična kiselina i njeni derivati su pronašli različite primjene. Jedno od najznačajnijih otkrića je derivat boronične kiseline VELCADE (Bortezomib) koji je prvi otkriveni inhibitor proteasoma koji se koristi u medicinske svrhe. Vrlo je učikovit za liječenje mnogih malignih bolesti kao što su: rak prostate, rak gušterače, rak debelog crijeva, itd.

Boronična kiselina zajedno sa svojim esterskim derivatima može se koristit kao blaga i stabilna Lewisova kiselina, a što je važno jer omogućuje razvoj katalizatora koji služi za određene reakcijske procese među kojima su asimetrične transformacije raznih kemijskih spojeva. Također, boronična kiselina može tvoriti reverzibilne kovalentne spojeve s diolskim jedinicama i to može biti iskorišteno za razvoj receptora na staničnoj membrani za razne ugljikohidratne jedinice.

Također je poznato da boronična kiselina i njeni derivati imaju antibakterijsku, antikancerogenu, antivirusnu i antifungalnu primjenu. Danas se još uvijek vrlo malo zna o antiproliferativnom djelovanju fenilboronične kiseline i benzoksaborola.

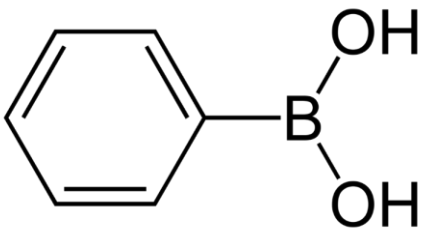


Slika 1: Graf količine objavljenih znanstvenih radova u vezi boronične kiseline kroz određeni vremenski period.

1. OPĆI DIO

1.1. Struktura fenilboronične kiseline

Fenilboronična kiselina spada u derivate borne kiseline. Ona se sastoji od fenilnog supstituenta na jednoj hidroksilnoj skupini i dvije slobodne hidroksilne skupine polazne borne kiseline. Rettig i Trotter su prvi izvijestili o redgenskoj kristalnoj strukturi fenilboronične kiseline čiji kristali su ortorombični.[1] Na dvije slobodne hidroksilne skupine mogu se vezati različite molekule, a veza je tada koplanarna s prstenom benzena. Wuest i suradnici su proučavajući strukturno ponašanje fenilboronične kiseline, koja ima sklonost stvaranja dimera vezanih na vodik, objavili kako izgleda dizajn čvrstih dijelova, koji su slični dijamantu iz kristalizacije tetraboronične kiseline koja je u obliku tetraedra. Kod fenilboronične kiseline B-O udaljenost poprilično je kratka i kreće se u rasponu od 1,35 do 1.38 Å. [2]



Slika 2: Shema fenilboronične kiseline

1.2. Kemijska i fizikalna svojstva fenilboronične kiseline

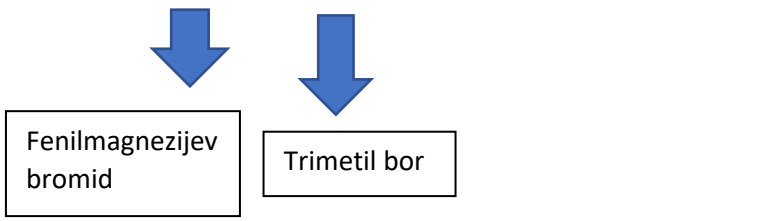
Fenilboronična kiselina topljiva je u većini polarnih organskih otapala, ali je slabo topljiva u heksanu i ugljičnom tetrakloridu. Temperatura tališta joj iznosi 219 ^{o}C. Usklađena je s velikim brojem organskih supstituenata kao što su esteri, ketoni, alkoholi i ostali. Umjereno je toksična ako dođe do gutanja, a u kontaktu s kožom je otrovna. Iznos pKa fenilboronične kiseline je 8.8 u vodi i ima manji pKa od borne kiseline koji iznosi 9.8.

1.3. Uporaba fenilboronične kiseline

Fenilboronična kiselina se često koristi pri organskoj sintezi raznih farmaceutskih proizvoda, a zajedno sa svojim derivatima, ima sposobnost vezanja na ugljikohidratne jedinice i druge diolne spojeve. Pri tim reakcijama vezanja nastaju ciklički boronatni 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 faramceutske svrhe.

1.4. Sinteza fenilboronične kiseline ($PhB(OH)_2$)

Dobivanje $PhB(OMe)_2$ preko fenilmagnezija bromida i trimetil-bora je jedna od najčešćih sinteza:



Reakcija 1: Dobivanje $PhB(OMe)_2$[3]

Nakon sinteze, dolazi do hidrolize $PhB(OMe)_2$ u proizvod, dolazi do hidrolize $PhB(OMe)_2$ u proizvod:

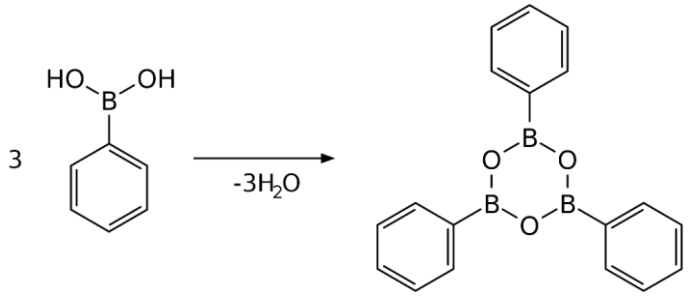
$$PhB(OMe)_2 + H_2O \rightarrow PhB(OH)_2 + MeOH$$

Reakcija 2: Hidroliza $PhB(OH)_2$[3]

Također fenilboronična kiselina se 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 transmetalirati s BBr_3 te zatim hidrolizirati u fenilboroničnu kiselinu. [3]

1.5. Reakcije fenilboronične kiseline

Boroksini se dobivaju reakcijom dehidratacije borovih kiselina, koji su trimerni anhidridi fenilboronične kiseline. Reakcije dehidratacije mogu biti termičke ili ponekad sa sredstvom za dehidrataciju. [4]



Reakcija 3: Dobivanje boroksina reakcijom dehidratacije fenilboronične kiseline [4]

Fenilboronična kiselina može biti dio mnogih reakcija unakrsnog spajanja gdje služi kao izvor fenilne skupine. U takve reakcije spada Suzukijeva reakcija, kod koje su uz prisutnost Pd katalizatora i baze, fenilboronična kiselina i vinil halogenid povezuju tako da se dobije fenil alkin. Fenilboronična kiselina također se može koristiti kao i reagens kod stvaranja C-C veza.

Fenilboronična kiselina služi za generiranje arilazida i nitroaromata, a također se može regioselektivno halodeboronirati uz pomoć vodene otopine broma, joda ili klora.

Fenilboronična kiselina se upotrebljava kao zaštitna skupina za diole i diamin, pri reakciji kondezacije bornih kiselina s alkoholima:[5]

$$PhB(OH)_2 + 2ROH \rightarrow PhB(OR)_2 + 2H_2O$$

Reakcija 7: Kondezacija fenilboronične kiseline s alkoholom[5]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

Pregledom literature istražena je biološka aktivnost fenilboronične kiseline i njezin pozitivan utjecaj na inhibiciju rasta karcinoma i virusa HIV-a.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1 Biološka aktivnost fenilboronične kiseline

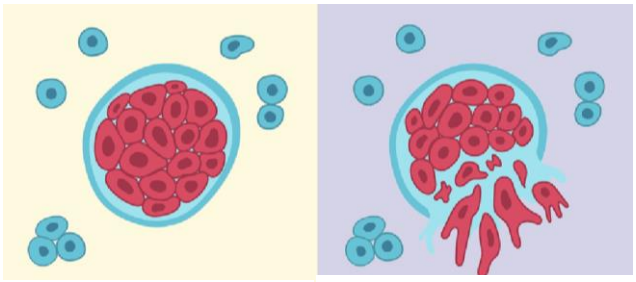
3.1.1. Karcinom → uzroci i posljedice

Karcinom se smatraju abnormalne nakupine stanica, koje su opasne jer rastu izvan kontrole i napadaju druga tkiva. Stanice postaju kancerogene jer dolazi do nakupljanja mutacija u njihovom DNA. Karcinom je genetska bolest jer je uzorkovan promjenama u genima. Do promjene u genima dolazi: pri dijeljenju stanica, ako smo neko duže vrijeme izloženi određenim štetnim tvarima iz okoliša, onečišćenom zraku ili ultraljubičastim zrakama sunca te također karcinom može biti nasljedna bolest od roditelja. Dok smo mladi, tijelo ima sposobnost da uklanja stanice koje imaju oštećen DNA, ali kako starimo, tako se ta sposobnost organizma smanjuje i zato je veća vjerovatno od nastanka karcinoma u kasnijoj životnoj dobi. Metastaski karcinom ima isti naziv kao njegov primarni karcinom. Kada se stavi pod mikroskop, metastaski karcinom izgleda isto kao njegov primarni karcinom. Glavni cilj liječenja metastatskog karcinoma je da ublaži njegove simptome i kontrolira rast. Nažalost, metastatski karcinom uzrokuje brojna oštećenja, a ljudi koji umru od karcinoma, najčešće umru od metastatskog karcinoma.[6]

Tumor se dijeli na dvije vrste: a) benigne

b) maligne

Benigni tumori spadaju u dobroćudne tumore, koji rastu lokalno i ne šire se. Upravo zbog toga se ne smatraju rakom, ali mogu biti opasni, posebno ako pritišću vitalne organe. Za razliku od benignih tumora, maligni tumori se šire i napadaju druga tkiva. Metastaza je proces u kojem dolazi do oslobađanja stanica raka te one odlaze prema drugim tkivima.



Slika 3: Osnovna razlika između benignog i malignog tumora

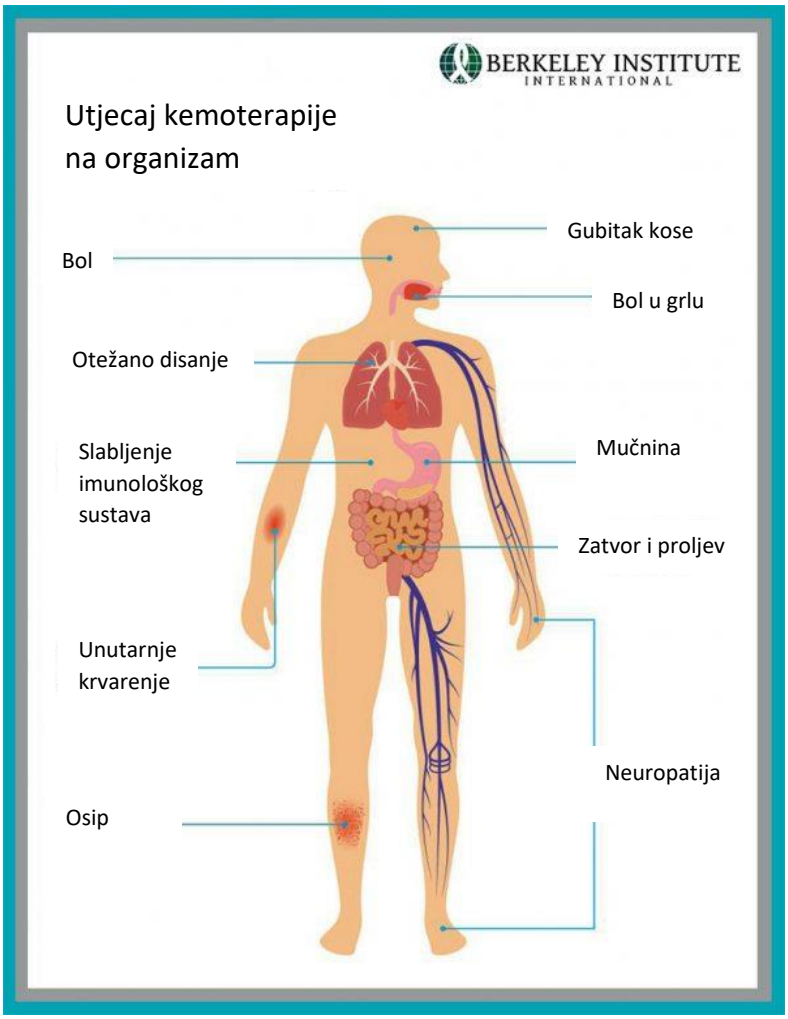
Danas se zna za oko 100 vrsta karcinoma, koji ime dobivaju po organima ili tkivima koje zahvaćaju. Postoji nekoliko kategorija raka, a to su: Karcinom, sarkoma (karcinom započinje u kostima i mekim tkivima), limfom (karcinom započinje u limfocitima), multipli mijelom (karcinom počinje u plazmi stanica) , melanoma (karcinom počinje u stanicama koje postaju melanociti) , tumori mozga i leđne moždine.[6]

Ovisno o vrsti raka, postoje različiti načina liječenja:

- Kemoterapija – kod kemoterapije se koriste različiti lijekovi koji uništavaju stanice raka. Koristi se za zaustavljanje ili usporavanja rasta stanica raka, koje mogu brzo rasti i razmnožavati se.
- Terapija hormonima – hormonska terapija se koristi da se uspori ili zaustavi rast raka kao što su rak prostate i dojke. Ima dva načina primjene: za ublažavanje simptoma raka i za liječenje raka. Tretman liječenja raka smanjuje mogućnost vračanja raka i usporava njegov rast, dok tretman za ublažavanje simptoma raka se koristi kod ljudi koji ne mogu koristiti radioaktivno zračenje kao tretman liječenja raka.
- Imunoterapija – pomaže imunološkom sustavu u borbi protiv raka. Koriste se tvari iz živih organizama. Imunološki sustav otkriva i uništava stanice raka te na taj način sprječava njegov rast.
- Radioaktivna terapija – koriste se visoke doze radijacije za sprječavanja rasta raka tako što se uništava njegov DNA. Nakon smrti staničnih linija raka, tijelo ih uklanja iz organizma. Tretman traje dok se DNA raka ne ošteti iako stanicama raka treba više vremena da nestanu.

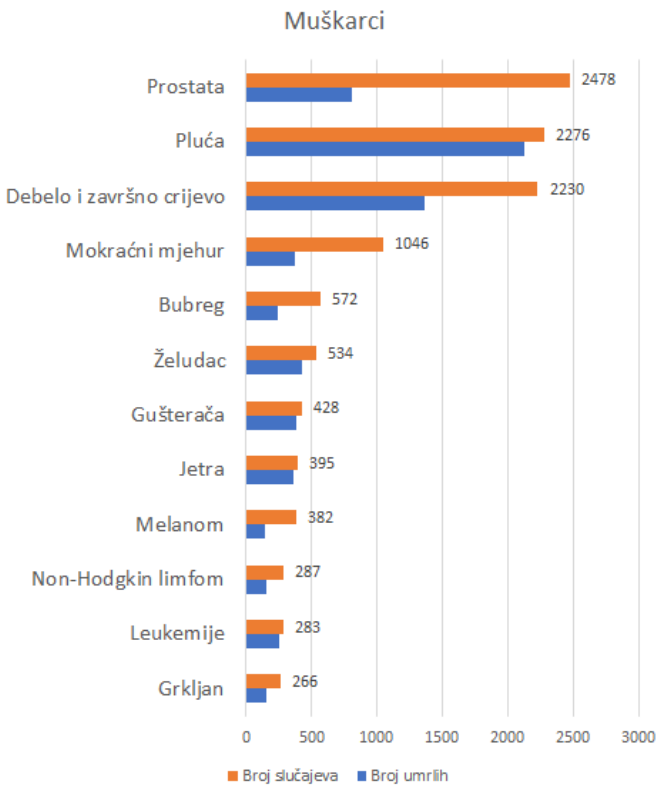
- Transplatacija matičnih stanica – obnavljaju se stanice koje su oštećene tijekom liječenja raka radioaktivnom terapijom. Proces započinje ubrizgavanjem matičniih stanica u krv, gdje putuju na oštećeno mjesto. Iako ne djeluju izravno na većinu rakova, kod pacijenata koji su oboljeli od leukemije može izravno utjecati na rak.
- Operacija – postupak kojim se operativnim zahvatom uklanja rak iz organizma. Tijekom operativnog zahvata koristi se anestezija, da bi se spriječila bol.
- Ciljana terapija – utječe na proteine koji kontroliraju rast raka.

Kod nekih ljudi se koristi samo jedan način liječenja, dok kod većeg broja ljudi je to kombinacija više postupaka, kao što su npr. kemoterapija i operativni zahvat. [7]

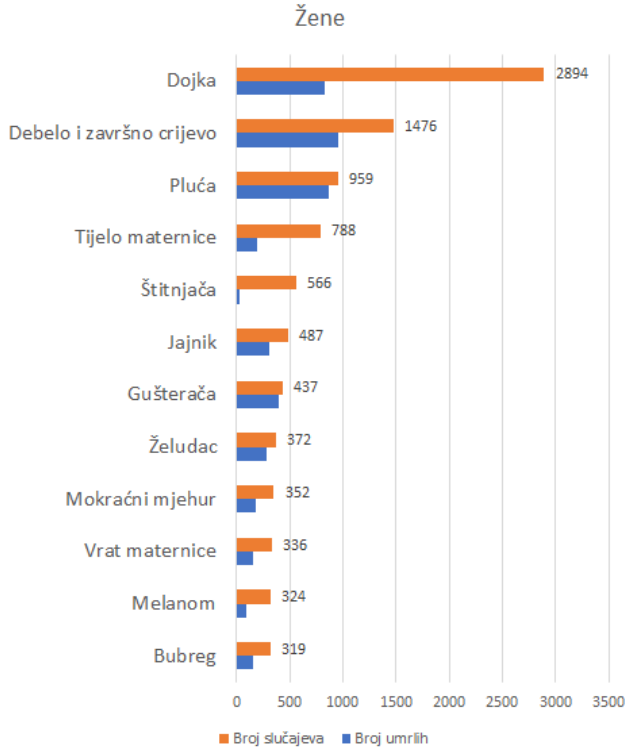


Slika 4: Moguće nuspojave tijekom liječenja kemoterapijom.[8]

2015. godine rak je bio uzročnik 8.7 mil. smrtnih slučajeva, što ga stavlja odma izad kardiovaskularnih bolesti kada se gleda broj umrlih. U Republici Hrvatskoj je iste godine umrlo 14 012 osoba. Najčešće vrste raka kod muškaraca u Republici Hrvatskoj su rak dišnog sustava, rak prostate i rak debelog crijeva, dok kod žena su rak dojke, dišnog sustava i debelog crijeva. Iako ove brojke pokazuju da borba protiv raka nije ni blizu završenoj, ali otkrivanjem novih metoda se broj smrtnih slučajeva polako smanjuje, što nam razlog za optimizam.[9]



Slika 5: Broj oboljelih i umrlih muškaraca od pojedine vrste karcinoma u RH.[10]



Slika 6: Broj oboljelih i umrlih žena od pojedine vrste karcinoma u RH. [10]

3.1.2. Utjecaj boronične i fenilboronične kiseline na inhibiranje migracije stanica raka dojke i prostate

Migracija stanica raka počinje u trenutku kada transformirane stanice napadnu stromu domaćina (stroma je dio tkiva koji ima vezivnu funkciju i nalazi se oko primarne citoplazme). U trenutku kada tumor uđe u stromu, dolazi do širenja i metastaziranja jer nakon toga ulazi u žile i samim time se širi do sljedećih organa, odnosno tkiva. Navedeni proces se ne može dogoditi prije nego što tumorska stanica prijeđe iz stacionarnog u migracijski fenotip.[11]

Nakon napada migracijskih stanica na cirkulacijski sustav, stanice se moraju vratiti u adhezivni fenotip jer se jedino tako mogu spojiti s endotelom i migrirati izvan cirkulacije, pri čemu dolazi do stvaranja sekundarnog tumora.[12]

Pomoću inhibitora može se u bilo kojoj fazi ovog procesa spriječiti napredovanje metastaza.

Veliki broj današnjih lijekova koji se koriste za liječenje raka, kontroliraju širenje, odnosno proliferaciju (proces umnožavanja čestica koje proizvode iste ili sebi slične čestice) primarnih tumorskih stanica te mogu imati negativne nuspojave kao što su: mučnina, nagli gubitak tjelesne mase, umore te slabljenje imunološkog sustava.[13-16]

Cilj današnjih istraživanja je pronaći nove spojeve koji će unaprijediti daljnje terapije za liječenje raka, koje će biti usmjerene na aktivne migrirajuće tumorske stanice, dok će zdrave stanice ostati netaknute. Među novootkrivene elemente i spojeve koji se mogu iskoristiti u terapijske svrhe spadaju bor i njegovi derivati. Izvori bora su voće, povrće i voda za piće. Dnevni unos boronične kiseline trebao bi biti oko 15 μM, pa postoje čak neke spoznaje, o vezi između niskog unosa bora i povećanog rizika od raka prostate.[17-25]

Pri ispitivanju utjecaja boronične kiseline na rak prostate kod miša, utvrđeno je da boronična kiselina smanjuje veličinu tumora. Nova istraživanja pokazuju da je fenilboronična kiselina snažniji i selektivniji inhibitor migracije stanice raka. Fenilboronična kiselina ima mnogo pozitivnih svojstava koje ju čine korisnim farmaceutskim sredstvom za liječenje raka.[26-28]

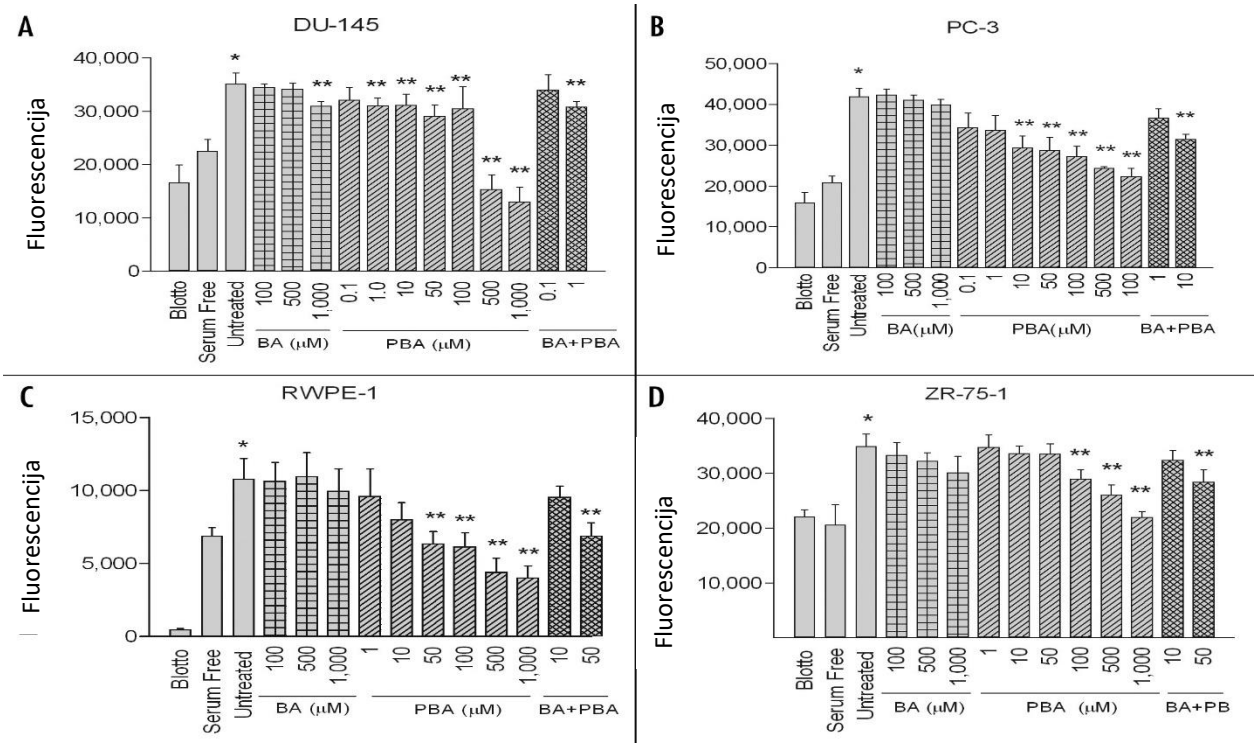
Do danas postoje ispitivanje, koja su se jedino bavila istraživanjem kako boronična kiselina utječe na inhibiranje migracija stanica raka prostate. Nakon što je izvršeno istraživanje koje je proučvalo kako boronična kiselina utječe na više staničnih linija, organe, zdrave i tumorgene uzorke, došlo se do spoznaje da izloženost boroničnoj i fenilboroničnoj kiseline može učinkovito zaustaviti migracije stanica raka. Tijekom istraživanja dokazano je da su zdrave stanice oko 5 puta manje osjetljive na fenilboroničnu kiselinu. To sugerira da bi se u bliskoj budućnosti, fenilboronična kiselina mogla koristiti kao efektivan lijek protiv raka.[29]

Fenilboronična kiselina se uspoređuje s *in vitro* svojstvima drugih spojeva, kao što su: Migrastatin, karboksiamid-triazol, za koje postoje dokazi da selektivno inhibiraju proliferaciju stanica raka i prostate *in vivo* i tumorske metastaze kod miševa. Postoje saznanja da karboksiamid-triazol selektivno inhibira rak dojke i migraciju raka prostate *in vitro.* Njegovo ispitivanje došlo je do klinički ispitivane faze III.[30-32]

Zbog činjenice da fenilboronična kiselina dijeli svojstva s drugim spojevima koji služe kao lijek protiv raka, postoji mogučnost da bi fenilboronična kiselina mogla biti efikasnija od boronične kiseline u liječenju raka.[30-32]

3.1.2.1. Eksperimentalni dokazi utjecaja boronične i fenilboroničnе kiseline na inhibiciju migracija stanica raka dojke i prostate

Proveden je eksperiment koji je pokazao *in vitro* učinak boronične kiseline u odnosu na fenilboroničnu kiselinu, na migraciju staničnih linija raka prostate i dojke te na tumorgene stanice iz istih tkiva. Ispitivanje je trajalo 24 sata, gdje je pokazano da je fenilboronična kiselina u koncentraciji od 1 μM znatno inhibirala migraciju stanica raka te nije utjecala na ne-tumorgene stanice, dok s druge strane, boronična kiselina nije inhibirala kemotaksiju na fibronektinu u bilo kojoj staničnoj liniji. [37]



Slika 7: Inhibiranje migracija stanica raka prostate i dojke uz dodavanje boronične (BA) i fenilboronične kiseline (PBA).[37] (DU-145 i PC-3-visoka metastatska stanična linija raka prostate, RWPE-1-tkivo prostate koje nije zahvaćeno rakom,ZR-75-1-visoke metastatske stanice raka dojke)

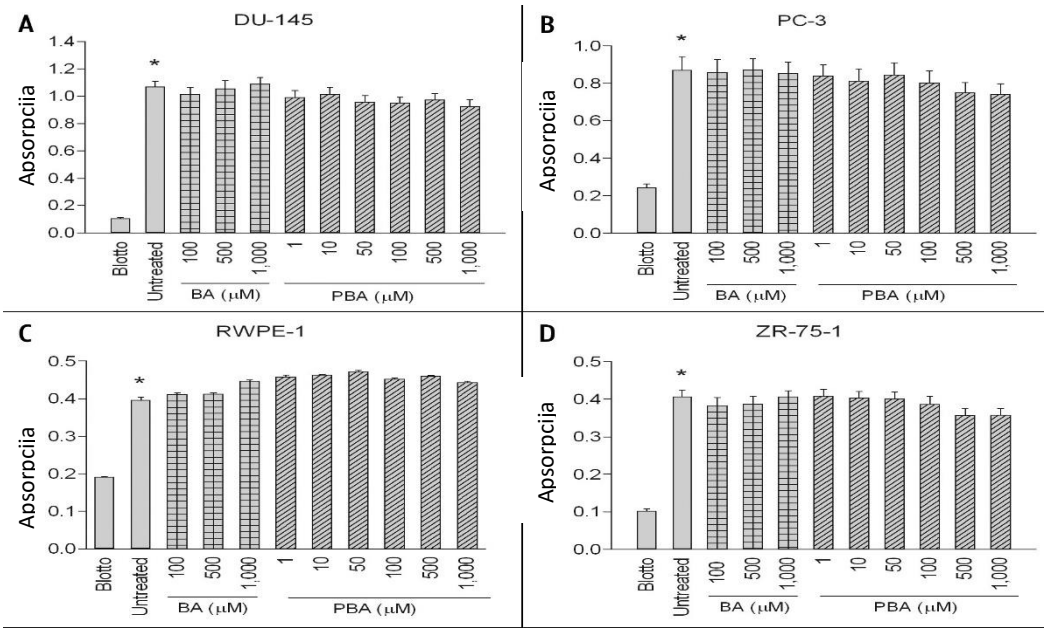
Slika 7 se sastoji od 5 grafova, koji na y-osi sadrže količinu migrirajućih stanica, dok na x-osi se nalazi koncentracija boronične i fenilboronične kiseline koja se dodala u uzorak te dvije negativne kontrole. Svaki graf sa slike predstavlja jedan uzorak koji je uzet pri istraživanju, odnosno stanice koje su nanesene na nd-blotto i koje migriraju prema 10%-serumu i stanice koje su nanesene na fibrionektinom obložene filtre te koji migriraju prema mediju bez seruma.

Na prvom grafu je uzet uzorak DU-145 (visoka metastatska stanična linija raka prostate). Iz grafa možemo očitati da boronična kiselina počinje inhibirati stanice raka tek kad se doda koncentracija od 1000 μM, što je otprilike oko 100 puta iznad prosječne serumske razine boronične kiseline kod ljudi. Kod fenilboronične kiseline možemo očitati da inhibira migraciju stanica raka od 1-1000 μM i ako dodajemo veću koncentraciju, to će inhibacija biti veća.

Na drugom grafu je uzet uzorak PC-3, kod kojeg je potrebna koncentracija fenilboronične kiseline, koja je jednaka ili veća od 10 μM.

Za treći graf uzet je uzorak RWPE-1, odnosno tkivo prostate koje nije zahvaćeno rakom. Da bi se inhibirala migracija stanica raka kod datog uzorka, potrebna nam je koncentracija fenilboronične kiseline od 50 μM, što je najmanje 5 puta veća količina od učinkovitih doza za odgovarajuće tumorske stanice prostate.

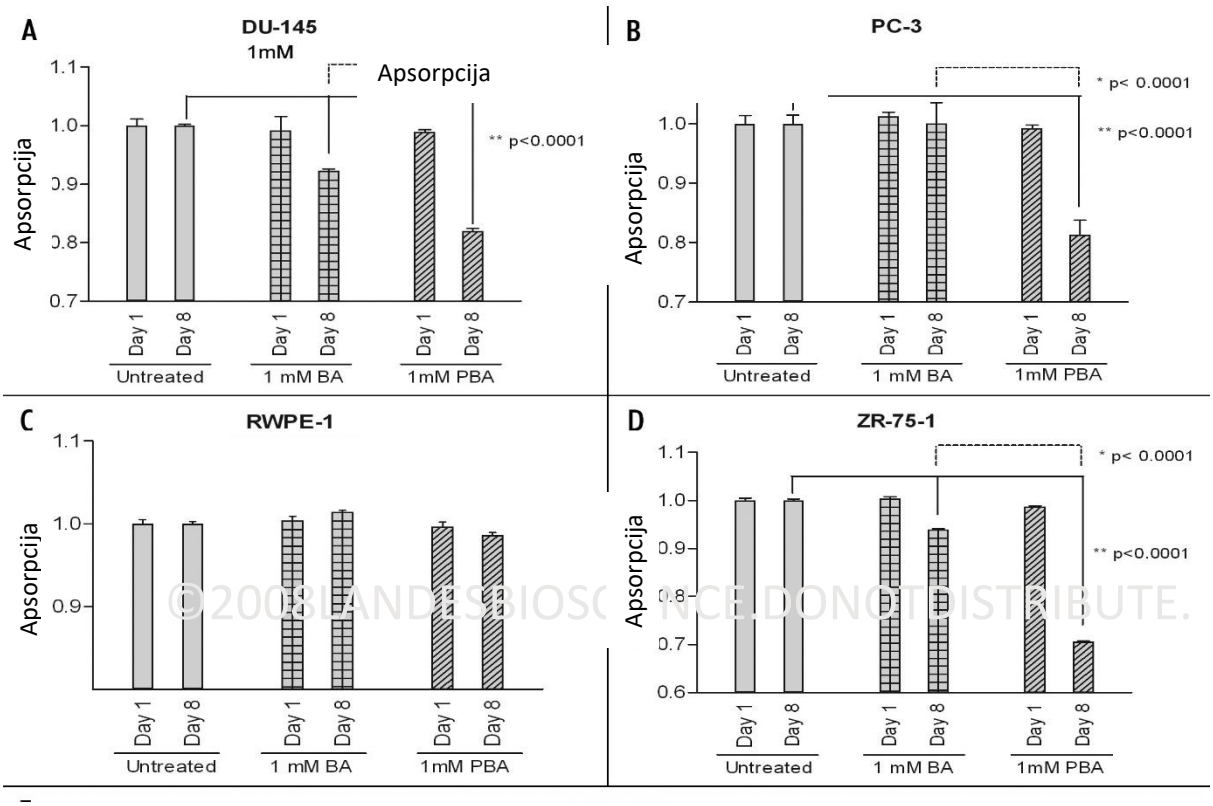
Četvrti graf sadrži najmanje promjene količine migrirajućih stanica raka. Kao uzorak je uzet ZR-75-1, koji predstavlja visoke metastatske stanice raka dojke. Potrebna je koncentracija od 100-1000 μM fenilboronične kiseline, ali to su najmanje osjetljive linije raka te niti jedna doza nije značajno smanjila migraciju.



Slika 8: Ovisnost adhezije stanica raka prostate i dojke o koncentraciji dodane boronične (BA) i fenilboronične kiseline (PBA).[37] (DU-145 i PC-3-visoka metastatska stanična linija raka prostate, RWPE-1-tkivo prostate koje nije zahvaćeno rakom,ZR-75-1-visoke metastatske stanice raka dojke)

Na slici 8, nalaze se grafovi koji nam predstavljaju ovisnost adhezije stanica raka na fibrionektin (vrsta glikoproteina), pri dodavanju različitih koncentracija boronične i fenilboronične kiseline. Iz svih gafova možemo očitati da dodavanje bilo koje koncentracije boronične i fenilboronične kiseline ne utječe na adheziju stanica raka na fibrionektin.

Unutar 24 sata boronična kiselina i fenilboronična kiselina nisu imali nikakav utjecaj na adheziju, odnosno na „vitalnost“ stanica, ali je došlo do promjene morfologije; oba spoja su smanjila „vitalnost“ stanica raka u periodu od osam dana.



Slika 9: Ovisnost vitalnosti stanica raka prostate i dojke o koncentraciji dodane boronične (BA) i fenilboronične kiseline (PBA).[37] (DU-145 i PC-3-visoka metastatska stanična linija raka prostate, RWPE-1-tkivo prostate koje nije zahvaćeno rakom,ZR-75-1-visoke metastatske stanice raka dojke)

Na slici 9 se nalazi prikaz smanjenja vitalnosti s obzirom na dodanu koncentraciju boronične i fenilboronične kiseline. U grafu se nalaze rezultati istraživanja za svaki od 5 uzoraka unutar 24 sata i unutar 8 dana. Nakon 8 dana fenilboronična kiselina je smanjila vitalnost stanicaraka

za svaki uzorak, dok je boronična kiselina smanjila vitalnost kod uzoraka U-145 i ZR-75-1 (objašnjeno na prvoj slici), ali mnogo manje u odnosu na fenilboroničnu kiselinu.

Vrlo je važno da niti jedan spoj nije imao značajan utjecaj na održivost odgovarajuće normalne stanične linije.

Ova ispitivanja nam sugeriraju da je fenilboronična kiselina snažnija od boronične kiselina pri ciljanju metastatskih i proliferativnih svojstava stanica raka.

3.1.3. Biološka učikovitost fenilboroničnе kiseline na adenokarcinom dojke 4T1 miševa i stanice SCCVII skvamoznog karcinoma

Veliki broj lijekova koji su se do sad otkrili, kontroliraju brzu proliferaciju primarnih tumorskih stanica, ali glavni problem je što lijekovi nisu dovoljni selektivni za stanice koje su zahvaćene tumorom. Selektivnost je vrlo važna, jer se tako sprječava oštećenje zdravih tkiva i liječenje bi se isključivo fokusiralo na tumorske stanice.[38]

Upravo zbog toga, znanstvenicima je vrlo važno da identificiraju visoko selektivne i netoksične spojeve. *In vitro* studije koje su izvršene na životinjama su otkrile da bi se boronična kiselina mogla koristiti kao kemoterapeutski agens. [39-41]

Kao što je navedeno u prošlom poglavlju, fenilboronična kiselina ima sposobnost da selektivno inhibira migraciju stanica raka prostate i dojke kod ljudi te utječe na smanjenje vitalnosti stanica raka. Dokazano je da nanočestice koje su obogaćene fenilboroničnom kiselinom, imaju vrlo dobru učinkovitost pri usporavanju rasta karcinoma i produljenje životnog vijeka miševa, u odnosu na standardne lijekove. [42-45]

3.1.3.1. Eksperimentalni dokazi antitumorskog učinka fenilboronične kiseline na adenokarcinom dojke 4T1 miševa i stanice SCCVII skvamoznog karcinoma

Provedena su istraživanja, utjecaja fenilboronične kiseline na adenokarcinom 4T1 (maligni karcinom dojke koji se javlja u žljezdastom tkivu) i stanica SCCVII skvamoznog karcinoma.

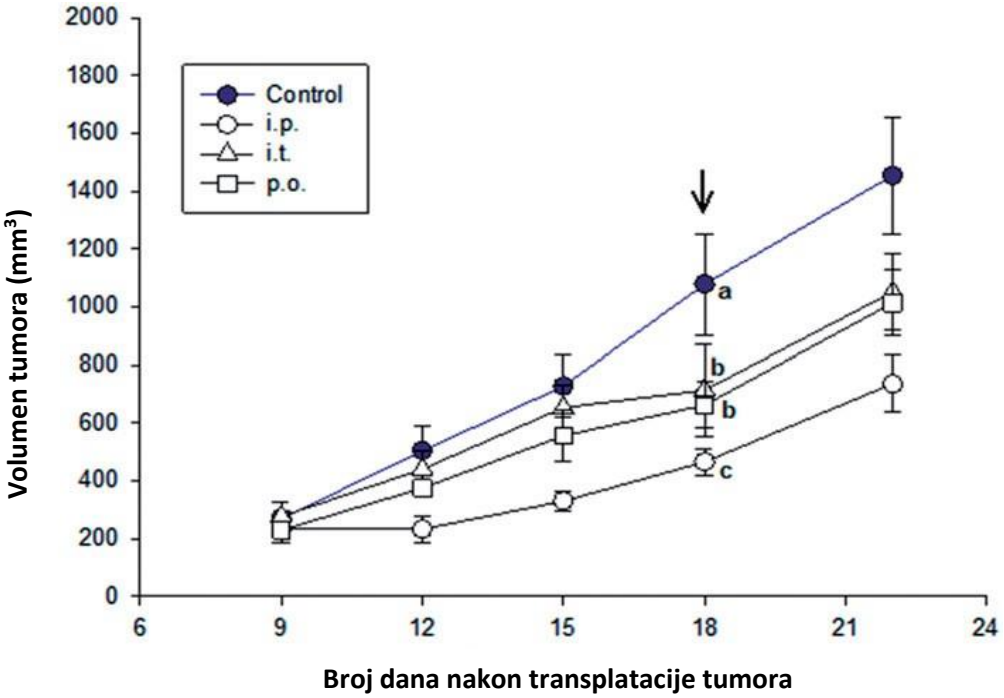
In vivo eksperimenti, imaju tri načina primjene:

- → intra-peritonealni
- → intra-tumorsko
- → per-oralno

Liječenje miševa započeto je 9. dan nakon što se karcinom transplantira te dosegne volumen od 250-300 mm^3. Miševi su podijeljeni u četiri skupine, odnosno sedam miševa po skupini i fenilboronična kiselina je primjenjena 3 puta: intra-peritonealno, intra-tumorsko i per-oralno.

Sva testiranja zdravih i karcinomom zahvaćenih stanica pokazali su da je 10 mg/Ml fenilboronične kiseline značajno smanjilo broj stanica zahvaćenih karcinomom u usporedbi s kontrolnom skupinom.

Kod *in vivo* eksperimenta, korišteni su isti uvjeti kao i kod *in vitro*. Eksperimentom je pokazano da je fenilboronična kiselina značajno smanjila rast adenokarcinoma 4T1 kod sva tri načina primjene.



Slika 10: Ovisnost veličine karcinom o vremenu nakon upotrebe tri načina primjene. [49]

Parametri su pokazali, da fenilboronična kiselina ima protutumorsko djelovanje u obe stanične linije, a posebno kada se primjenjuje intra-peritonealni način primjene. Rezultat pokazuje da je karcinom nakon 9. dana iznosio 613 mm^3, što rezultira sedmodnevnom odgodom rasta karcinoma, odnosno 57 % inhibicije. Mehanizmi pri kojima fenilboronična kiselina inhibira rast stanica *in vitro* i *in vivo*, je i dalje nepoznat.

Rezultati istraživanja također dokazuju da se fenilboronična kiselina ne metabolizira nakon oralne primjene, odnosno da njeni metaboliti imaju sličan utjecaj na stanice koje su zaražene karcinomom. Vjeruje se da fenilboronična kiselina nema unutarnju toksičnost, odnosno da je krajnji proizvod netoksičan za ljude.[46]

Opisano istraživanje nam ukazuje da je fenilboronična kiselina visoko citotoksična na tumorske stanice te da su je miševi dobro podnosili čak i u velikim količinama. Navedena činjenica je obećavajuća za njenu moguću primjenu kao lijek protiv karcinoma.[47,48]

3.1.4. Biološka dostava lijekova do stanica raka uz posredovanje boroničnih kiselina

Jedan od glavnih izazova i problema tijekom liječenja zloćudnih bolesti je kako lijek što bolje i jednostavnije „dostaviti“ do ciljanog mjesta. Jedan od prvih načina, da se smanji ograničenje „dostave“ lijekova na aktivno mjesto je uporaba kationskih domena, peptidnih (npr. HIV-TAT, penetratin i nona arginin) ili ne peptidnih „nosača“ (npr. PAMAM dendrimeri i polietilenimin).[49-51]

Pomoću kationskih domena, povećava se privlačnost između kemoterapeutskog sredstva i površine anionskih stanica. Za olakšavanje stanične dostave, također se koriste prirodni ligandi kao što su: folna kiselina, tri peptid RGD, itd. Ove metode su poboljšale staničnu dostavu, ali i dalje se radi na dodatnim strategijama. Svaka stanica ima svoj glikokaliks, odnosno gustu „šumu“ polisaharida. Znanstvenici su došli do spoznaje, da se ciljanjem terapijskih sredstava na glikokaliks poboljšava njihovu staničnu isporuku.

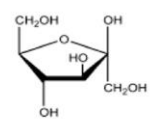
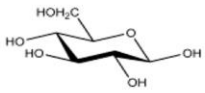
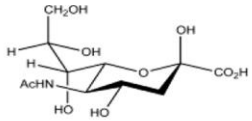
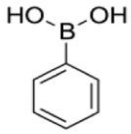
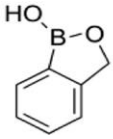
Boronične kiseline imaju mogućnost tvorbe boroničnih estera s 1,2- i 1,3-dioli saharida, uključujući i one što se nalaze u glikokaliksu. Osim što je boronična kiselina kompatibilna s ljudskom fiziologijom, također se pokazalo da konjugirana na polietilenimin ima mogućnost pojačavanja transfekcije (unos nukleinskih kiselina u stanicu) DNA.

Ribonukleaza je mali, dobro karakterizirani enzim koji može poslužiti kao savršen model za procjenu isporuke proteina u citosol, zbog toga što se njenim pristupom u RNA, koja se nalazi u citosolu, može dovesti do stanične smrti jer ima izuzetnu katalitičku aktivnost.

Vrlo važan spoj, koji se nalazi u velikim količinama u glikokaliksu (tanki glikoproteinski ili polisaharidni omotač vanjske površine stanične membrane koji ima ulogu difuzijske barijere i stvaranja selektivne mikro okoline stanice) stanica raka je sijalinska kiselina. Fenilboronična kiselina ima sposobnost vezanja većim afinitetom na sijalinsku kiselinu, nego na ostale piranozne saharide, što nam ukazuje da bi jednostavnije boronične kiseline mogle omogućiti selektivno „napadanje“ karcinoma kemoterapijskim sredstvom.

Hidroksimetilfenilboronična kiselina ili benzoksaborol bi mogao biti idealan boronat za isporuku lijeka jer ima najveći afinitet prema piranoznim saharidima, koji se nalaze u glikokaliksu.

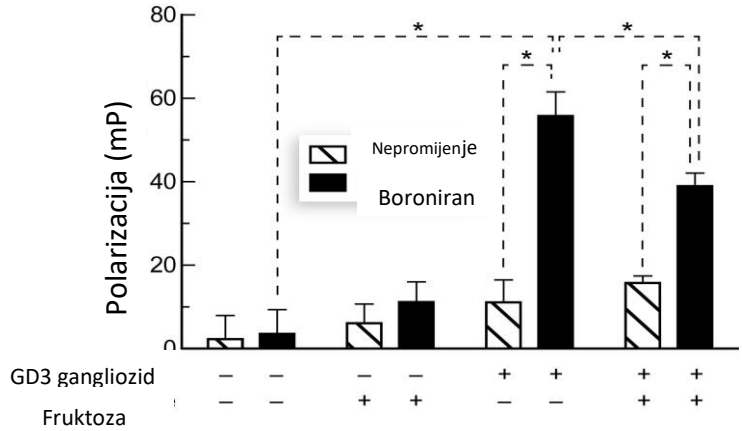
Da bi se procijenio afinitet fenilboronične kiseline i benzoksaborola za fruktozu, glukozu i *N*-acetilneuraminsku kiselinu (Neu5Ac), koja u svojoj strukturi ima ostatke sijalinske kiseline, koristi se ^{1}H-NMR spektroskopija.

	 D-fruktoze	 D-glukoze	 Neu5Ac
	128 ± 20	5 ± 1	13 ± 1
	336 ± 43	28 ± 4	43 ± 5

Tablica 1: Konstanta (Ka) nakon primjene H-NMR spektroskopije.[43]

Rezultati Ka koji se nalazi u gornjoj tablici, pokazuju da benzoksaborol ima veći afinitet od fenilboronične kiseline za svaki korišteni saharid te da benzoksaborol, kao i fenilboronična kiselina, imaju veći afinitet za Neu5Ac, [nego za glukozu.

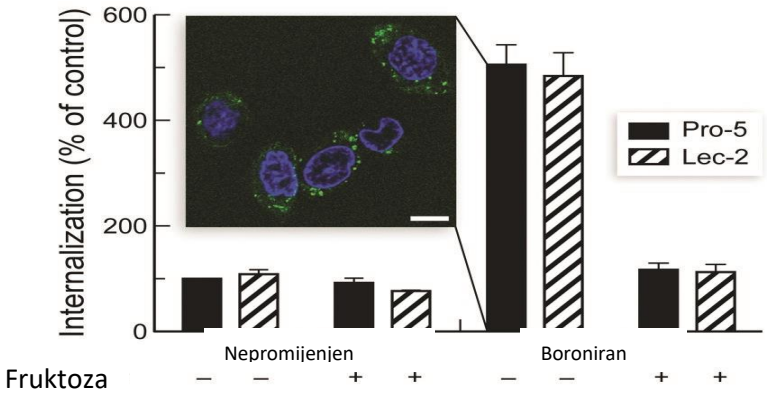
Jedna od čestih hipoteza je da boronacija povećava afinitet proteina za disaharide. Da bi se ova teza dokazala, odrađeno je nekoliko eksperimenata. Utvrđeno je koliko dugo se zadržava boronirana i neboronirana rnaza A na koloni heparina (fiziološki polisaharid), odnosno da se boronirana Rnaza A duže zadržava na koloni.



Slika 11: Zadržavanje boronirane i neboronirane rnaze A na koloni heparina.[53]

Također se mjerio afinitet RNaze za gangliozid GD3 unutar 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfokolin liposoma jer se na taj način procijenio povećani afinitet boronirane Rnaze A za oligosaharide. Uz pomoć polarizacije, došlo se do spoznaje da je boronizacija povećala afinitet proteina za gangliozid.

Boronizacija RNaze A može utjecati i poboljšati apsorpciju Lec-2 4-5 puta. Da bi dokazali ovu hipotezu, kao uzorak u eksperimentu su uzete stanične linije jajnika kineskog hrčka (Lec-2) jer on sadrži manje razine sijalinske kiseline u svom glikokaliksu, u odnosu na svoju matičnu liniju (Pro-5).[52]



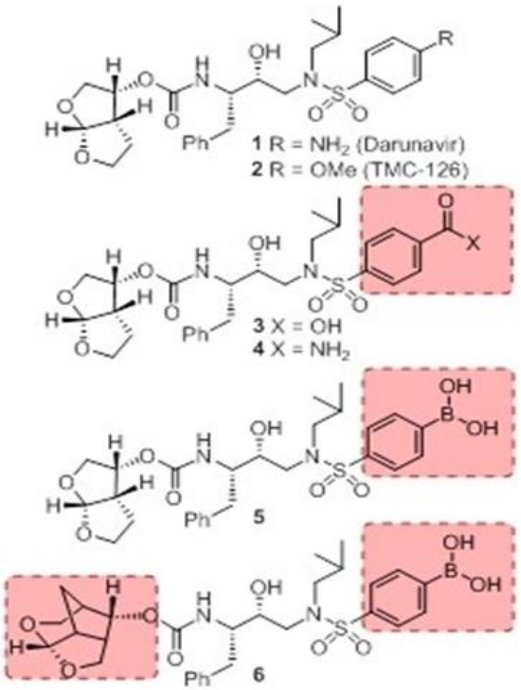
Slika 12: Utjecaj boroniranja na apsorpciju Lec-2. [53]

Dodavanjem fruktoze smanjuje se apsorpcija Lec-2. Boroniranje uz to što omogućuje lakši stanični unos proteina, također poboljšava njegovu isporuku u citosol. Danas se mnoge bolesti povezuju s promjenom glikozilacije na površini stanice te postoje očekivanja da derivati boronične kiseline imaju specifičnosti za određene glikane te da bi se mogli koristiti kao osnovni dio za određene strategije isporuke ljekovitih spojeva preko stanične membrane.

3.1.5. Snažni inhibitori proteaze HIV-1 koji sadrže karboksilne i borne kiseline: utjecaj na inhibiciju enzima i antivirusnu aktivnost te rendgenske strukturne studije proteina-liganda.

Najuspješnija i široko korištena strategija pri pretkliničkom razvoju lijekova postala je molekularni dizajn temeljen na strukturi. Zbog razvoja ove strategije, zadnjih godina je došlo do otkrivanja mnogih lijekova koji spadaju u 1. klasu po kvaliteti i uspješnosti liječenja. Strategija molekularnog dizajna temeljenog na strukturi doveo je do razvoja lijekova koje inhibiraju HIV-1 proteazu (enzim koji je uključen u hidrolizu peptidne veze u retrovirusima, uzročnik AIDS-a, odnosno side). [54-57]

Antiretrovirusna terapija (ART) je odgovorna za produljenje životnog vijeka i smanjenja broja smrtnih slučajeva ljudi koji su oboljeli od HIV/AIDS-a. Vrlo važna komponenta antiretrovirusne terapije su inhibitori HIV-1 proteaze. Proteaza asparaginske kiseline ima vrlo važnu ulogu pri replikaciji virusa, a inhibitori HIV-1 proteaze dovode do blokiranja replikacije HIV-1 proteaze i stvaraju virione koji su morfološki nezreli i nezarazni. [57-59]

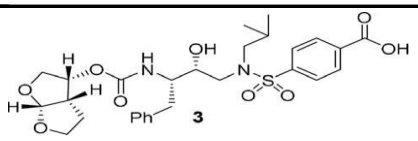
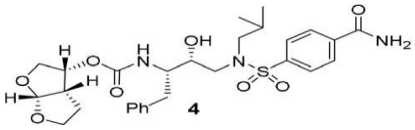
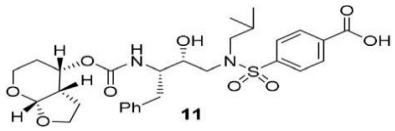
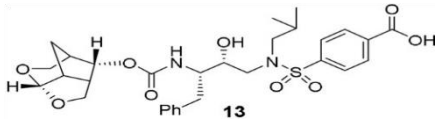
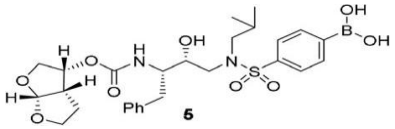
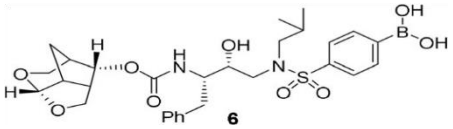
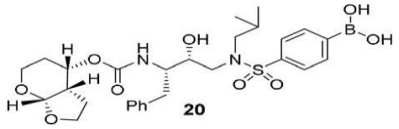
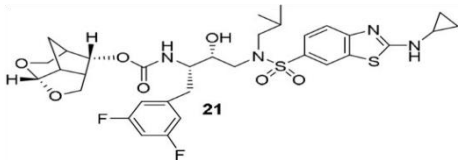


Slika 13: Modificirani inhibitori [50]

Najnoviji inhibitor odobren od agencije za hranu i lijekove (*engl. Food and Drug Admistration, FDA)* naziva se Darunavir (DRV). Darunavir je vrlo učinkovit pri suzbijanju replikacije HIV-1 i daje vrlo dobre rezultate pri kliničkom liječenju pacijenata oboljelih od HIV-1/AIDS virusa. On ima dvostruki mehanizam djelovanja jer može inhibirati HIV-1 proteazu te inhibira dimerizaciju monomera HIV-1 proteaze. Nažalost, današnje varijante HIV-1 virusa, postale su otporne na darunavir, pa je potrebna brza intervencija pri razvoju novih lijekova koji će utjecati i na nove varijante HIV-1 virusa. Novim istraživanjima došlo se do spoznaje, da bi se možda moglo zamijeniti jednu od dvije kristalografske molekule vode s karboksilnom kiselinom ili s karboksamidnom skupinom. Modificirani ligandi bi uz to što mogu održavati jake vodikove veze, također mogli formirati vodikove veze uz pomoć derivata karboksilne kiseline. Takvi modificirani inhibitori **(3)** i **(4)** pokazuju vrlo snažnu inhibitorsku aktivnost enzima. [61-67]

Inhibitor 3, koji je izveden iz karboksilne kiseline, ne pokazuje neko značajnije antivirusno djelovanje u stanicama MT-2, dok inhibitor 4 s derivatom karboksamida pokazuje značajnije antivirusno djelovanje u stanicama MT-2.[68]Grupa znanstvenika, među kojima je i Ronald T.Ranes je otkrila inhibitor proteaze HIV-1 **(5)** u kojem se fenilboronična kiselina nalazi kao P2“ligand. Rendgenska kristalna struktura inhibitora **(5)** je pokazala da je boronična kiselina jedan od razloga pojačane interakcije vezivanja vodika, koja također uključuje povezivanje vodika posredovano vodom s Gly48“. Iako je inhibitor **(5)**, koji sadrži fenilboroničnu kiselinu, pokazao da ima snažnu inhibitorsku aktivnost enzima, njegova antivirusna aktivnost

još nije istražena. Raznima eksperimentima i istraživanjima utvrđeno je da derivat boronične kiseline **(5)** ima bolju antivirusnu vrijednost IC_{50} (polovica maksimalne inhibitorske koncntracije, odnosno pokazatelj kolika koncentracija neke tvari je potrebna da bi se određena komponenta inhibirala za 50 %) , dok derivati karboksila **(3)** i **(4)** imaju manju vrijednost. [69]

Entry	Inhibitor	K [pm][a]	IC_{50} [nm][c]
1	 **3**	12.9	> 1000
2	 **4**	8.9	93
3	 **11**	7.6	> 1000
4	 **13**	3.2	> 1000
5	 **5**	0.5 [b]	48.9
6	 **6**	15.5	37.7
7	 **20**	2.1	120
8	 **21**	14	0.017

Tablica 2: Prikaz antivirusne vrijednosti pojedinog modificiranog inhibitora.[60]

Pacijenti koji su tek oboljeli od HIV/AIDS, klinički se mogu liječiti s DRV, ali pacijenti s velikim iskustvom antivirusne terapije(ART) pokazali su neuspješno liječenje pomoću DRV. Upravo zbog toga, odrađena su istraživanja koje pokazuju da inhibitor odobren od strane FDA(agencija za hranu i lijekove),LPV(Lopinavir) nije u mogućnosti blokirati replikaciju visoko otpornih virusa na DRV, dok inhibitor **(5)**, koji sadrži fenilboroničnu kiselinu umjesto amina u DRV, pokazuje relativno snažniju antivirusnu aktivnost protiv spomenutih virusa. Recimo u tablici 3, može se vidjeti da je inhibitor **(5)** izgubio na svojoj aktivnosti samo 4 puta na vrijednost IC_{50} u odnosu na HIV-1WT, dok je DRV pokazao 164-struki gubitak antivirusne aktivnosti.[70,71]

	LPV	1 (DRV)	5	6	21 (GRL-14213)
$cHIV_L^{WT}$	13	3.2	48.9	37.7	0.017
$HIV_{DR_R}^{P20}$	>1000(>77)	525.8 (164)	219.3 (4)	71.2(2)	0.0024
$HIV_{DR_R}^{P30}$	>1000(>77)	601 (187)	946.4 (19)	532.3 (14)	0.14
HIV_{DR}^{P51}	>1000(>77)	5429.7 (1696)	>1000	>1000	1.3

Tablica 3: Prikaz djelovanja novo otkrivenih inhibitora na visoko otporne HIV-1 varijante.(Svi brojevi u zagradama predstavljaju kratke promjene vrijednosti IC_{50} za svaki izolat u odnosu na IC_{50} za divlji tip cHIV. Svi su testovi provedeni u tri primjerka, a podaci su srednje vrijednosti (1 standardna devijacija) izvedene iz rezultata tri neovisna pokusa. DRV, Darunavir; LPV, Lopinavir.)[60]

Inhibitor **(5)** i DRV nisu pokazali značajnije aktivnosti antivirusne tvari protiv najsnažnije varijante HIV-1, dok inhibitor **(6)** koji sadrži THF(tetrahidro furan) kao P2-ligand ima bolju antivirusnu aktivnost od inhibitora **(5)**. [72,73]

Nakon što su izvršena razna istraživanja, pokazano je da inhibitori koji sadrže boroničnu kiselinu imaju bolju antivirusno djelovanje od derivata karboksilne kiseline.

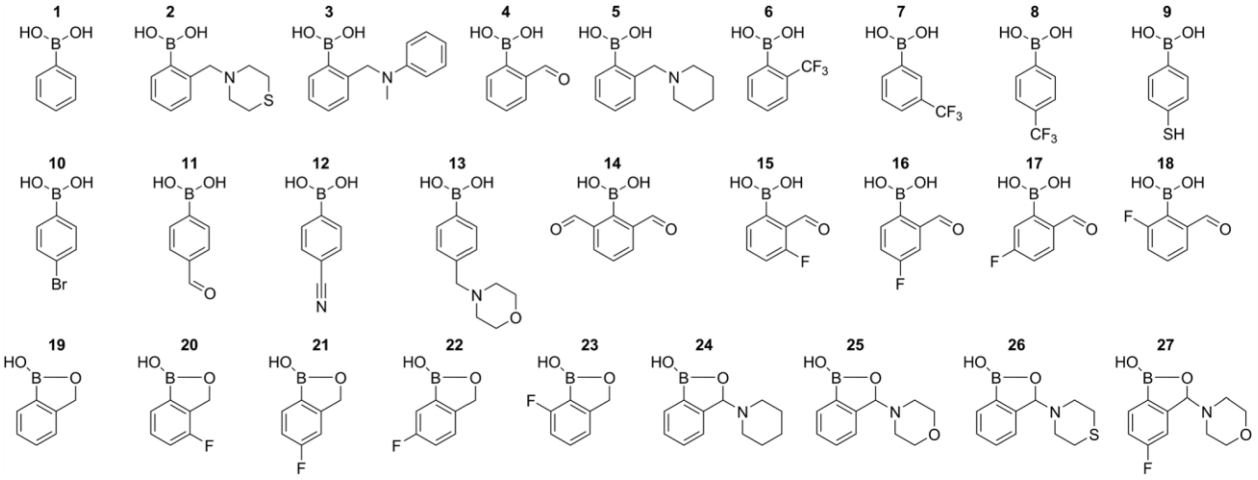
3.1.6. Otkrivanje jednostavnih derivata fenilboronične kiseline i benzoksaborola za eksperimentalnu onkologiju-induktori apoptoze specifični za fazni ciklus u stanicama raka jajnika A2780

Poznato je da se boronična kiselina i njeni derivati upotrebljavaju se u organskoj sintezi, biologiji, medicini, kemiji materijala i supermolekularnoj kemiji, a geometrija bora u boroničnoj kiselini vrlo je slična kao tetraedarsko prijelazno stanje supstrata koji je kataliziran enzimima.

Prvi inhibitor koji je nastao iz boronične kiseline (1970.godine) se koristio za inhibiranje kimotripsina (probavni enzim gušterače). Protugljivični lijek koji je FDA (agencija za hranu i lijekove) već odobrila za primjenu na ljudima naziva se tavaborolom. Zajedno sa njim, kao posebno zanimljiva klasa pojavio se benzoksaborol (ciklički unutarnji ester fenilboronične kiseline). Također, u zadnje vrijeme sve se veća pozornost pridaje diboroničnoj kiselini i njenim derivatima. [74-79]

U istraživanjima[80] koja su već provedena, dokazano je da fenilboronična kiselina ima ograničenu aktivnost u modelima raka prostate i mliječne žlijezde, dok spojevi koji su nastali iz benzoksaborola, kao što je 6-aminobenzoksaborol pokazali su antiproliferativno djelovanje, dok neki drugi derivati nisu prikazali takav potencijal. [81-85]

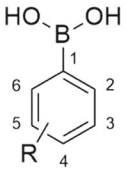
U dosadašnjim istraživanjima koristilo se nekoliko različitih staničnih linija raka koje pokrivaju spektar malignih bolesti koji se danas najčešće dijagnosticiraju kod ljudi: leukemije (MV-4-11), dojke (MCF7), mokraćnog mjehura (5637), pluća (A-549) i jajnika (A 2780). Strukture spojeva koji su se koristili u ovom istraživanju, prikazani su na slici 14



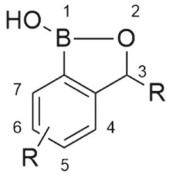
Slika 14: Spojevi i derivati fenilboronične kiseline i benzoksaborola koji se upotebljavaju u istraživanju.[86]

U izabranim staničnim linijama raka, fenilbornična kiselina, kao i derivati benzoksaborola pokazuju visoku antiproliferativnu aktivnost. U tablici se nalazi serija od 18 derivata fenilboronične kiseline i devet derivata benzoksaborola. Iz tablice može se očitati antiproliferativno djelovanje tih spojeva na pet staničnih linija raka. Fenilboronična kiselina je gotovo potpuno neaktivna u svim staničnim linijama raka koje su korištene, osim u slučaju kada se formilni dio uvede na 2-položaj te onda taj spoj postaje jedini koji povećava biološku aktivnost. Iz toga proizlazi da položaj supstituenta utječe na antiproliferacijski potencijal derivata. Također postoje saznanja, da je merkapto [82] skupina najjači pojačivač aktivnosti među para-modificarnim derivatima u svim staničnim linijama raka.

Jedini spoj koji je izveden iz fenilboronične kiseline, a pokazao je određenu antiproliferativnu aktivnost u staničnoj liniji MCF7 (rak dojke) je spoj **(9)**. Uvođenje fluora i nastajanje 2-fluoro-6-formilfenilboronične kiseline, dobije se spoj koji je pokazao visoko antiproliferativno djelovanje u MV-4-11, 5637 i A2780. [83-85]



Compds 1-18



Compds 19-27

Compd	R	IC_{50}^{72h} ± SD [µM]									
		MV-4-11		MCF7		5637		A2780		A-549	
1	-	[28.5]^a	± 4.9	[10.9]^a	± 0.2	[3.8]^a	± 1.8	[19.2]^a	± 15.3	[8.6]^a	± 3.5
2	2-(thiomorpholin-1-ylmethyl)	[18.7]^a	± 1.2	[-3.1]^a	± 4.1	[12.5]^a	± 5.5	[0.5]^a	± 6.6	[1.5]^a	± 1.1
3	2-(*N*-(*N*-methylanilino)methyl)	**122.5**	± 24.7	[38.7]^a	± 5.6	[26.6]^a	± 6.0	**154.3**	± 6.8	**176.8**	± 14.7
4	2-CHO	**87.6**	± 9.2	**120.2**	± 22.8	**69.9**	± 7.0	**46.2**	± 9.7	**44.6**	± 9.8
5	2-(piperidin-1-ylmethyl)	[25.4]^a	± 0.8	[17.5]^a	± 5.5	[5.2]^a	± 2.0	[6.2]^a	± 6.1	[4.1]^a	± 8.5
6	2-CF_3	[30.7]^a	± 5.3	[15.1]^a	± 5.9	[11.6]^a	± 0.9	[9.0]^a	± 9.7	[10.3]^a	± 4.4
7	3-CF_3	**122.6**	± 23.9	**166.7**	± 47.7	**118.7**	± 3.9	**102.2**	± 9.4	**185.4**	± 7.1
8	4-CF_3	**111.7**	± 15.4	**127.4**	± 12.4	**106.3**	± 17.1	**110.1**	± 8.0	**115.0**	± 7.8
9	4-SH	**29.7**	± 1.8	**41.6**	± 5.5	**43.3**	± 11.9	**33.0**	± 2.7	**40.0**	± 5.3
10	4-Br	**115.8**	± 2.0	**202.7**	± 3.8	**160.5**	± 30.0	**123.8**	± 19.1	**163.5**	± 11.7
11	4-CHO	**105.0**	± 7.2	**123.2**	± 7.4	**74.8**	± 10.0	**106.9**	± 11.8	**60.5**	± 18.0
12	4-CN	[26.4]^a	± 7.9	[33.3]^a	± 4.0	[22.9]^a	± 6.6	[34.3]^a	± 7.6	[20.6]^a	± 4.4
13	4-(morpholin-1-ylmethyl)	**82.3**	± 34.4	**114.4**	± 18.3	**106.8**	± 3.6	**106.9**	± 5.6	**120.9**	± 7.5
14	2-CHO, 6-CHO	**87.9**	± 8.0	**127.5**	± 6.0	**93.0**	± 8.7	**49.6**	± 2.8	**175.2**	± 1.8
15	2-CHO, 3-F	**42.5**	± 9.0	**131.9**	± 28.3	**86.1**	± 16.2	**20.9**	± 3.0	**79.3**	± 11.6
16	2-CHO, 4-F	**40.2**	± 7.6	**85.2**	± 20.0	**37.9**	± 13.2	**14.8**	± 1.1	**52.9**	± 12.6
17	2-CHO, 5-F	**84.5**	± 14.3	**165.9**	± 12.4	**124.7**	± 7.5	**113.6**	± 20.6	**122.2**	± 22.4
18	2-CHO, 6-F	**22.9**	± 5.0	**101.0**	± 30.7	**27.4**	± 7.1	**11.2**	± 0.7	**64.9**	± 9.7

19	**-**	**128.6**	± 14.7	**50.9**	± 8.0	**49.6**	± 5.3	**58.5**	± 9.4	**46.4**	± 12.2
20	**4-F**	[43.9]ª	± 3.6	[28.4]ª	± 4.1	[26.6]ª	± 3.1	[39.6]ª	± 10.1	[30.8]ª	± 14.6
21	**5-F**	**92.2**	± 5.5	**35.2**	± 3.9	**30.2**	± 1.1	**41.1**	± 8.7	**25.9**	± 3.1
22	**6-F**	**195.8**	± 12.9	**151.9**	± 14.7	[42.6]ª	± 8.2	**173.8**	± 51.0	[40.6]ª	± 15.4
23	**7-F**	[36.4]ª	± 9.9	[37.3]ª	± 3.1	[28.0]ª	± 1.7	[34.3]ª	± 6.9	[25.6]ª	± 8.8
24	**3-piperidin**	**105.1**	± 14.2	**156.7**	± 16.8	**104.6**	± 15.2	**55.5**	± 6.0	**64.2**	± 14.5
25	**3-morpholin**	**79.4**	± 10.5	**142.4**	± 34.6	**79.9**	± 8.5	**45.6**	± 11.2	**44.3**	± 6.4
26	**3-thiomorpholin**	**74.5**	± 20.9	**150.3**	± 24.3	**81.2**	± 19.2	**48.8**	± 6.3	**51.2**	± 9.7
27	**3-morpholin, 5-F**	**28.9**	± 8.6	**94.1**	± 26.3	**39.4**	± 5.1	**14.8**	± 3.2	**46.4**	± 10.7

Tablica 4: Antiproliferativna aktivnost spojeva fenilboronične kiseline i benzoksaborola te njihovih derivata.[86]

Tvrdnju da položaj supstituenta utječe na antiproliferacijski potencijal spoja može se najbolje objasniti pomoću tablice. U tablici se može očitati da spoj 16 s fluorom na položaju 4 ima gotovo jednaku aktivnost kao spoj **(18)**, dok spoj **(15)** s fluorom na položaju 3 ima mnogo nižu aktivnost, posebno u 5637 stanicama. Kod spojeva dobivenim benzoksaborolom može se očitati da spoj **(21)**, kojemu je supstituent na 5. mjestu, imaju najveću aktivnost prema svim staničnim linijama. [86]

Kod daljnjeg istraživanja mehanizma djelovanja spojeva **(18)** i **(27)**, koji su kao što je navedeno, najaktivniji predstavnici fenilboronične kiseline, odnosno benzoksaborola, utvrđeno je da oba spoja pokazuju pro-apoptotička svojstva ovisno o dozi. Spoj **(18)** je najaktivniji pri koncentraciji od 25 μM.

Također se istraživao utjecaj ova dva spoja na proteine koji imaju ključnu ulogu u mikrotubulama mitoze, a to su: β-tubulin, p21 i ciklin BI. Najveći porast, koji je ovisan o dozi, primijećen je pri tretiranju stanica s spojem **(18)**, pri koncentraciji od 25 μM, dok je spoj **(27)** imao nešto manje povećanje proteina p21, ali isto je ovisan o dozi. B-tubulin se nije previše promijenio, bez obzira na dodanu količinu. [86]

Zbog svega navedenog u ovom odlomku, znanstvenici sve više istražuju spojeve koji sadržavaju bor, koji bi mogli po svim novim saznanjima, postati vrlo korisni u medicinskoj kemiji. Antikancerogena svojstva fenilboronične kiseline su korisna za inhibiciju rasta i

migracije stanica raka, ali su za biološki učinak tih spojeva ipak bile potrebne vrlo velike koncentracije. U odlomku je pokazano, da se uvođenjem jednostavnih supstituenata, može dovesti do visoko aktivnih spojeva fenilboronične kiseline, kao što su **(9)**, **(16)** i **(18)**. Također je prikazana ovisnost o položaju supstituenta i aktivnosti, ističući veliki utjecaj vrste i položaja supstituenta. Neke stanice su bile vrlo osjetljive, kao što su stanice raka jajnika (A2780) i leukemije(MV-4-11), dok su stanice raka dojke MCF7 prepoznate kao rezistentne. Mehanizmi koji uzrokuju povećanje proteina p21 su i dalje nepoznati te će se buduća istraživanja zasigurno usredotočiti na rješavanju tog pitanja. Velika mogućnost za daljnje izmjene čine fenilboroničnu kiselinu i derivate benzoksaborola obećavajućom, novom klasom lijekova protiv raka.[86]

4. ZAKLJUČAK

Fenilboronična kiselina je spoj koji spada u derivate boronične kiseline i sastoji se od jednog fenilnog supstituenta i dvije hidroksilne skupine vezane na bor ($PhB(OH)_2$). U ovom završnom radu posebno sam se dotaknuo njene biološke aktivnosti te sam uz pomoć raznih prethodnih istraživanja, došao do saznanja da je fenilboronična kiselina snažan i efektivan inhibitor migracije stanica raka te saznanja da su zdrave stanice oko 5 puta manje osjetljivije na fenilboroničnu kiselinu od stanica raka. Fenilboronična kiselina je snažniji inhibitor od boronične kiseline pri ciljanju metastatskih i migracijskih stanica raka. Iz dostupne literature je vidljivo da su izvršeni eksperimenti na miševima koji su „oboljeli od raka dojke“ te se istražio utjecaj fenilboronične kiseline na njihov organizam. Došlo se do zaključka da je fenilboronična kiselina visoko citotoksična za tumorske stanice, a da su je miševi dobro podnosili i preživljavali pri velikim dozama.

Pri istraživanju inhibitora protiv virusa HIV-1 proteaze, utvrđeno je da inhibitori koji sadrže fenilboroničnu kiselinu umjesto amina u Darunaviru, pokazuju snažniju antivirusnu aktivnost protiv virusa HIV-1 proteaze. Zbog svega iznesenog u završnom radu i potvrđene činjenice da znanstvenici sve više istražuju spojeve bora, među kojima i fenilboroničnu kiselinu. Vjerujem da će ovaj interesantan spoj, radi svojih bioloških aktivnosti, u bližoj budućnosti postati vrlo koristan u farmaceutskim i medicinskim svrhama, zbog svojih antikancerogenih, antivirusnih i drugih primjena.

5. Bibliografija

[1] S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 3071–3075.

[2] O. C. Ho, R. Soundararajan, J. Lu, D. S. Matteson, Z. Wang, X. Chen, M. Wei, R. D. Willett, *Organometallics,* **1995**, *14*, 2855–2860.

[3] Washburn RM., Levens E., Albright CF,Biling FA, *Org. Synth.,**1963,** 4,* 68.

[4] Snyder H.R., Kuck J.A., Johnson J.R., *J. Am. Chem. Soc.,***1938,** *60,* 105-111.

[5] Hall D.G., *WILEY-VCH,* 2005.

[6] URL: https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer (16.9. 2021)

[7] URL: https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types (16.9.2021)

[8] URL: https://berkeley-institute.com/what-are-the-side-effects-of-chemotherapy/ (16.9.2021)

[9] URL: https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2018/03/Bilten_2015_rak_final.pdf (16.9. 2021)

[10] URL: https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevencija-nezaraznih-bolesti/incidencija-i-mortalitet-od-raka-u-eu-27-zemljama-za-2020-godinu/ (16.9. 2021)

[11] Langley RR, Fidler IJ., *Endocr. Rev*., **2007,** *4***,** 448.

[12] PS., Steeg., *Nat. Med*., **2006**, *12,* 895.

[13] Devi GR., *Cur.r Opin. Mol. Ther.*, **2002,** *4,* 138.

[14] Theobal DE., *Clin Cornerstone*, **2004,** *6,* 15.

[15] Mattox TW*., Nutr. Clin. Pract.*, **2005**, *20,* 400.

[16] Fallowfield LJ., *Eur. J. Oncol. Nurs.*, **2004,** *8, 75.*

[17] Perez-Tomas R., *Curr. Med. Chem.*, **2006,** *6, 15.*

[18] Lehnert M., *J Neurooncol*, **1994,** *22, 294.*

[19] Nielsen FH., *Nutrition*, **2000,** *16, 512.*

[20] Woods WG*. Environ. Health Perspect*., **1994**, *102, 5.*

[21] Meacham SL, Hunt CD*., Biol. Trace. Elem. Res*., **1998,** *66, 65.*

[22] Rainey CJ, Nyquist LA, Christensen RE, Strong PL, Culver BD, Coughlin JR., *J. Am. Diet. Assoc.*, **1999,** *90*, 335.

[23] Cui Y, Winton MI, Zhang ZF, Rainey C, Marshall J, De Kernion JB, Eckhert CD.,Oncol. Rep., **2004,** *11,* 887.

[24] Gallardo-Williams MT, Chapin RE, King PE, *Toxicol. Pathol*., **2004,** *32*, 73-8.

[25] Gallardo-Williams MT, Maronpot RR, Wine RN, Brunssen SH, Chapin RE, *Prostate*, **2003**, *54, 44.*

[26] Groziak MP., *Am. J. Ther.* , **2001**, *8, 321.*

[27] Barranco WT, Eckhert CD, Br. J. Cancer, **2006**, *94, 884.*

[28] Shan D, Chen L, Njardarson JT, Gaul C, Ma X, Danishefsky SJ, Huang XY,*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2005,** *102,* 3772.

[29] Johnson EA, Marks RS,Mandrekar SJ, Hillman SL, Hauge MD, Bauman MD,*Lung Cancer*, **2007**,*60, 200.*

[30] Rust WL, Huff JL, Plopper GE,*. Anal. Biochem*., **2000,** *280,11.*

[31] Sinha S, Jain S,*Prog. Drug. Res.,* **1994**, *42,* 53.

[32] Parkinson DR, Arbuck SG, Moore T, Pluda JM, Christian MC*,* Stem Cells, **1994**, *12*,30.

[33] Ram VJ, Kumari S, *Drug News Perspect.*, **2001,** *14*, 465.

[34] Gordaliza M.,*Clin. Transl. Oncol.,* **2007**,*9, 767.*

[35] Tiffany M. Bradke, Casey Hall, Stephen W. Carper, and George E. Plopper, *Cell Adhes.Migr.*, **2008,** *3, 153.*

[36] Fallowfield LJ*., Eur. J. Oncol. Nurs.,* **2004**, *8*, 75.

[37] Barranco WT, Hudak PF, Eckhert CD, *Cancer Causes Control*, **2007**, *18*, 71.

[38] Gallardo-Williams MT, Chapin RE, King PE, Moser GJ, Goldsworthy TL, Morrison JP, *Toxicol. Pathol*., **2004**, *32*, 73.

[39] Bradke TM, Hall C, Carper SW, Plopper GE,*Cell. Adhes. Migr*., **2008,** *3,* 153*.*

[40] McAuley EM, Bradke TA, Plopper GE, *Cell. Adh. Migr*., **2011**, *5*, 382.

[41] Wang X, Li X, Zeng YN, *Int. J. Mol. Med*., **2016,** *6*, 1378.

[42] Wang J, Wu W, Jiang X, Nanomedicine, **2015**, *10*, 1149.

[43] Yang WQ, Gao X, Wang B*H, Wiley-VCH*, **2005**, 481.

[44] Galic B., *Pat. US*, **2012,** *8, 278.*

[45] Ivankovic S, Stojkovic R, Galic Z, et al*,. J. Enzyme Inhib. Med. Chem*., **2015***, 30, 354.*

[46] Siddhesh D. Patil, David G. Rhodes & Diane J. Burgess.,*AAPS J*, **2005,** *7, 61.*

[47]Dhirendra Kumar Malik, Sanjula Baboota, Alka Ahuja, Sohail Hasan, Javed Ali, *Curr. Drug Deliv.*, **2007,** 4, 141.

[48] Min Suk Shim, Young Jik Kwon, *FEBS J*, **2010,** *23,* 4814.

[49] S L Deutscher, N Nuwayhid, P Stanley, E I Briles, C B Hirschberg, *C.B.Cell*, **1984**, *2, 295.*

[50] Gregory A. Ellis, Michael J. Palte, and Ronald T. Raines, *J. Am.Chem. Soc* , **2019**, *8, 3631.*

[51] A. K. Ghosh, S. Gemma, *Wiley-VCH*, **2014**, 337.

[52] R. E. Hubbard, *RSC Publishing,* **2006,** *59,.*

[53] A. K. Ghosh, H. L. Osswald, G. Prato*, J. Med. Chem.,* **2016**.,*59, 5172.*

[54] A. Edmonds, M. Yotebieng, J. Lusiama, Y. Matumona, F. Kitetele, S. Napravnik, S. R. Cole, A. Van Rie, F. Behets*, PLoS Med*., **2011**, *8,*100.

[55] N. E. Kohl, E. A. Emini, W. A. Schleif, L. J. Davis, J. C. Heimbach, R. A.Dixon, E. M. Scolnick, I. S. Sigal, *Proc. Natl. Acad. Sci.,* **1988,** *85, 4686.*

[56] Broder,*Antiviral Res.*, **2010,** *85, 1.*

[57] Arun K. Ghosh, Zilei Xia, Satish Kovela, William L. Robinson, Megan E. Johnson,Daniel W. Kneller, Yuan-Fang Wang, Manabu Aoki,Yuki Takamatsu, Irene T. Weber,and Hiroaki Mitsuya, *ChemMedChem*, **2019**, *21,* 1863 – 1872.

[58] A. K. Ghosh, Z. L. Dawson, H. Mitsuya*, Bioorg. Med. Chem*., **2007**, *15 ,* 7576.

[59] M. P. de Bethune, V. Sekar, S. Spinosa-Guzman, M. Vanstockem, S. DeMeyer, P. Wigerinck, E. Lefebvre,John Wiley & Sons, **2011**, 31.

[60] H. Hayashi, N. Takamune, T. Nirasawa, M. Aoki, Y. Morishita, D. Das, Y.Koh, A. K. Ghosh, S. Misumi, H. Mitsuya, *Proc. Natl. Acad. Sci*., **2014**, *111, 12234.*

[61] G. Sterrantino, M. Zaccarelli, G. Colao, F. Baldanti, S. Di Giambenedetto,T. Carli, F. Maggiolo, M. Zazzi, *Infection*, **2012,** *40,* 311.

[62] S. De Meyer, E. Lathouwers, I. Dierynck, E. De Paepe, B. Van Baelen, T.Vangeneugden, S. Spinosa-Guzman, E. Lefebvre, G. Picchio, M.-P. de Bethune B*., AIDS*, **2009,** *49, 2314.*

[63] A. Y. Kovalevsky, F. Liu, S. Leshchenko, A. K. Ghosh, J. M. Louis, R. W. Harrison, I. T. Weber, *J. Mol. Biol.*, **2006**, 363, 161.

[64]Patrick G. Hoggard, Andrew Owen, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2003,** *51, 493.*

[65] Ravikiran S. Yedidi, Kenji Maeda, W. Sean Fyvie, Melinda Steffey, David A. Davis, Ira Palmer, Manabu Aoki. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2013,** *57, 4921.*

[66]I. W. Windsor, M. J. Palte, J. C. Lukesh III, B. Gold, K. T. Forest, R. T. Raines,*J. Am. Chem*.Soc., **2018,** *140, 14015.*

[67]De Meyer, Sandraa, i dr,AIDS, **2009**, *23, 1829.*

[68] Yasuhiro Koh, Masayuki Amano, Tomomi Towata, Matthew Danish, Sofiya Leshchenko-Yashchuk, Debananda Das, Maki Nakayama, Yasushi Tojo, Arun K. Ghosh, and Hiroaki Mitsuya, *J. Virol*., **2020**,

[69] Shin-ichiro Hattori, Hironori Hayashi, Haydar Bulut, Kalapala Venkateswara Rao, Prasanth R. Nyalapatla, Kazuya Hasegawa, Manabu Aoki, Arun K. Ghosh, and Hiroaki Mitsuya. Antimicrob. Agents and Chemother., **2019,** *6.*

[70] Fu H, Fang H, Sun J,Wang H, Liu A, Sun J, Wu Z, *Curr. Med. Chem.*, **2014**, *21, 3271.*

[71] Lienhard GE, Koehler KA,Biochemistry, **1971**, *10, 2477.*

[72] Adamczyk-WoŸniak A, Blrys KM, Sporzyński A, *Chem Rev*., **2015,** *115*, 5224.

[73] Saunders J, Maki K, Koski R, Nybo SE, *J. Pharm. Pract*., **2017,** *30, 621.*

[74]Sporzyński A, Adamczyk-Woźniak A., I*n: Wythers MC (ed) Advances in materials science research*., **2018,** *32, 201.*

[75] ZJ Leśnikowski, *Expert Opin. Drug Discovery*, **2016,** *11, 569.*

[76] Marasovic M, Ivankovic S, Stojkovic R, Djermic D, Galic B, Milos M., *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2017,** *32,* 1299.

[77] Trippier PC, McGuigan C. MedChemComm, **2010**.

[78] DG, Hall. Wiley-VCH, , **2011.**

[79] Bradke T, Hall C, Carper S, Plopper G., Cell Adh Migr, **2008**, *2,* 153.

[80] Suman P, Patel BP, Kasibotla AV, Solano LN, Jonnalagadda SC,*. J. Organomet. Chem.*, **2015**, *798*, 125.

[81] Sravan Kumar J, Alam MA, Gurrapu S, Nelson G, Williams M,Corsello MA, Johnson JL, Jonnalagadda SC, Mereddy VR., *SJ Heterocyclic Chem*., **2013**, 50, 814.

[82] Wietrzyk, Mateusz Psurski & Agnieszka Łupicka-Słowik & Agnieszka Adamczyk-Woźniak & Joanna, *Invest. New Drugs*, **2018,** *1, 35.*