

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET



Mihajlo J. Krunić

SINTEZA, *IN VITRO* I *IN SILICO* ISPITIVANJE NOVIH
HETEROCIKLIČNIH SISTEMA KAO POTENCIJALNIH
TERAPEUTSKIH INHIBITORA HOLINESTERAZA

doktorska disertacija

Beograd, 2024.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF CHEMISTRY



Mihajlo J. Krunić

SYNTHESIS, *IN VITRO* AND *IN SILICO* ANALYSIS OF
NOVEL HETEROCYCLIC SYSTEMS AS POTENTIAL
THERAPEUTIC CHOLINESTERASE INHIBITORS

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024.

Mentori:

dr Milovan D. Ivanović, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu
– Hemijski fakultet

dr Ivana I. Jevtić, naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu – Institut
za hemiju, tehnologiju i metalurgiju – Institut od nacionalnog
značaja za Republiku Srbiju

Članovi komisije:

dr Deana B. Andrić, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu –
Hemijski fakultet

dr Veselin R. Maslak, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu –
Hemijski fakultet

dr Jelena Z. Penjišević, viši naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu
– Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju – Institut od
nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

dr Vladimir B. Šukalović, naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu –
Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju – Institut od
nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

dr Ljiljana T. Suručić, docent, Univerzitet u Banjoj Luci – Medicinski
fakultet

Datum odbrane:

Zahvalnica

Izrada ove disertacije je realizovana u laboratorijama za organsku hemiju i biohemiju, Hemijskog fakulteta i Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Centra za hemiju u Beogradu.

Ovom prilikom želim da se zahvalim svima koji su mi pomogli u izradi ove disertacije.

Posebno bih se zahvalio mentorima, dr Milovanu D. Ivanoviću i dr Ivani I. Jevtić, na dugogodišnjoj saradnji i prenesenom teroijskom i praktičnom znanju tokom izrade doktorske disertacije.

Članovima komisije dr Deani B. Andrić, dr Veselinu R. Maslaku, dr Jeleni Z. Penjišević, dr Vladimiru B. Šukaloviću i dr Ljiljani T. Suručić se zahvaljujem na svim savetima, pomoći i podršci tokom izrade i pisanja disertacije.

Zahvaljujem se i dr Slađani Kostić-Rajačić, naučnom savetniku Univerziteta u Beogradu – Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, na podršci tokom izrade ove disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem kolegama iz Centra za instrumentalnu analizu, čijim je trudom i radom omogućena spektroskopska analiza jedinjenja sintetisanih u okviru ove doktorske disertacije.

Ogromnu zahvalnost dugujem svojoj porodici i prijateljima, čija je podrška i podsticaj za mene bila neizmerna.

IZVOD

SINTEZA, *IN VITRO* I *IN SILICO* ISPITIVANJE NOVIH HETEROCIKLIČNIH SISTEMA KAO POTENCIJALNIH TERAPEUTSKIH INHIBITORA HOLINESTERAZA

U okviru ove disertacije dizajnirano je 45 jedinjenja koja se mogu smatrati derivatima donepezila i/ili takrina, poznatih inhibitora acetilholin-esteraze i butirilholin-esteraze. Razvijen je sintetički put za njihovo dobijanje, a sintetisana jedinjenja se mogu podeliti u tri grupe. U okviru prve grupe sintetisana su 3 jedinjenja koja su u širem smislu strukturni analozi takrina i donepezila. Ova jedinjenja predstavljaju novu klasu heterocikličnih jedinjenja i sadrže tetrahidrohinoksalinski i *N*-benzilpiperidinski strukturni motiv. Druga serija obuhvata 18 analoga donepezila, gde je *N*-benzilpiperidinska farmakofora povezana za *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinski strukturni motiv aminskim ili karboksamidnim linkerom. U okviru treće serije sintetisano je 24 derivata takrina, gde je takrinsko jezgro povezano za arilpirazolski strukturni motiv preko diaminskog mosta različitih dužina.

Ispitana je *in vitro* inhibitorna aktivnost svih novosintetisanih jedinjenja prema holinesterazama. Nađeno je da jedinjenja iz prve grupe nisu inhibitori ovih enzima, dok su 13 liganada druge serije selektivni inhibitori acetilholin-esteraze ($IC_{50} = 2,3\text{--}20,0 \mu\text{M}$). Sva jedinjenja iz treće grupe pokazala su inhibiciju holinesteraza u mikromolarnom i nanomolarnom opsegu koncentracija ($IC_{50} = 0,135\text{--}3,0 \mu\text{M}$ za acetilholin-esterazu i $0,122\text{--}7,0 \mu\text{M}$ za butirilholin-esterazu).

Za jedinjenja koja poseduju inhibitornu aktivnost prema holinesterazama, urađena je doking analiza i *in silico* predviđanje farmakokinetičkih parametara.

Ključne reči: sinteza, heterociklična hemija, Buchwald-Hartwig kuplovanje, Alchajmerova bolest, acetilholin-esteraza, butirilholin-esteraza, molekularni doking

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Organska hemija

ABSTRACT

SYNTHESIS, *IN VITRO* AND *IN SILICO* ANALYSIS OF NOVEL HETEROCYCLIC SYSTEMS AS POTENTIAL THERAPEUTIC CHOLINESTERASE INHIBITORS

This PhD thesis encompasses the design of 45 compounds that can be considered derivatives of donepezil and/or tacrine, well-known inhibitors of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. A synthetic route has been developed for their synthesis, and these compounds can be divided into three groups. In the first group, 3 compounds that can broadly be considered structural analogues of tacrine and donepezil were synthesized. These compounds represent a new class of heterocyclic compounds and contain a tetrahydroquinoxaline and *N*-benzylpiperidine structural motif. The second group consists of 18 analogues of donepezil, where the *N*-benzylpiperidine pharmacophore is linked to an arylpiperazine structural motif via an amine or carboxamide linker. In the third group, 24 derivatives of tacrine were synthesized, where the tacrine core is linked to an arylpyrazole structural motif via diamine bridges of varying lengths.

The *in vitro* inhibitory activity of all compounds against cholinesterases was examined. It was found that compounds from the first group do not possess inhibitory activity toward these enzymes, while 13 ligands from the second group are selective inhibitors of acetylcholinesterase ($IC_{50} = 2,3\text{--}20,0 \mu\text{M}$). In the third group, all compounds exhibited inhibition of cholinesterases in the micromolar and nanomolar concentration range ($IC_{50} = 0,135\text{--}3,0 \mu\text{M}$ for acetylcholinesterase and $0,122\text{--}7,0 \mu\text{M}$ for butyrylcholinesterase).

For compounds that exhibited inhibitory activity against cholinesterases, molecular docking analysis and *in silico* prediction of pharmacokinetic parameters were performed.

Keywords: synthesis, heterocyclic chemistry, Buchwald-Hartwig coupling, Alzheimer's disease, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, molecular docking

Scientific field: Chemistry

Scientific discipline: Organic chemistry

Lista skraćenica

5-HT	5-hidroksitriptamin
AB	Alchajmerova bolest
Ac	acetil
ACh	acetilholin
AChE	acetilholin-esteraza
eeAChE	AChE poreklom iz električnih jegulja (<i>electrophorus electricus</i>)
hAChE	AChE humanog porekla
ADME	adsorpcija, desorpcija, metabolizam i ekskrecija
Ar	aril
ATCC CCL-185	ćelije humanog karcinoma pluća CCL-185
ATCI	acetiltioholin-jodid
APP	A β prekursor protein
Aβ	beta-amiloid
BACE-1	β -sekretaza (<i>beta-site APP cleaving enzyme</i>)
hBACE-1	BACE-1 humanog porekla
BBB	krvno-moždana barijera (<i>Blood-Brain Barrier</i>)
BINAP	[1,1'-binaftalen]-2,2'-diil)bis(difenilfosfan)
Bn	benzil
Br. S	prošireni singlet (<i>broad singlet</i>)
BTCI	butiriltioholin-jodid
BuChE	butirilholin-esteraza
eqBuChE	butirilholin-esteraza poreklom iz konjskog seruma (<i>equine</i>)
hBuChE	butirilholin-esteraza humanog porekla
cAMP	ciklični adenzin-monofosfat
CAN	cerijum-amonijum-nitrat
ChE	holinesteraze
ChEI	inhibitori holinesteraza
CNS	centralni nervni sistem
DIAD	diizopropil azodikarboksilat
DIBAL	diizobutilaluminijum hidrid
DIPEA	diizopropiletilamin
DL	Sličnost leku (<i>Drug-Likeness</i>)
DM	uticaj na razvoj bolesti (<i>disease-modifying</i>)
DMA	<i>N,N</i> -dimetilanilin
DMAP	<i>N,N</i> -dimetilaminopiridin
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
DTNB	5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoeva) kiselina
EMME	dietil-etoksimetilenmalonat
Et	etil
Fab	antigen vezujući fragment (<i>fragment antigen-binding</i>)
FDA	Uprava za hranu i lekove (<i>Food and Drug administration</i>)
GSK-3β	glikogen-sintaza-kinaza 3 β
hGSK-3β	GSK-3 β humanog porekla
HATU	heksafluorfosfat azabenzotriazol tetrametil uronijum
HBA	akceptori vodonične veze (<i>Hydrogen Bond Acceptor</i>)
HBD	donori vodonične veze (<i>Hydrogen Bond Donor</i>)
HEK 293	humane embrionalne ćelije bubrega HEK 293
HepG2	humane zdrave ćelije jetre HepG2

HL 7702	ćelije humanog karcinoma jetre HL 7702
HRMS	masena spektrometrija visoke rezolucije (<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>)
IC₅₀	koncentracija liganada pri kojoj je inhibirano 50% ispitivanog enzima
KAM	katalitički aktivno mesto
LogP	koeficijent raspodele između vode i oktanol
LP5	pravilo "pet" po Lipinskom (<i>Lipinski's rule of five</i>)
MAO	monoamin-oksidaza
Me	metil
MTDL	multidirekcionni ligandi (<i>Multi Target Directed Ligands</i>)
MW	molekulska masa (<i>Molecular Weight</i>)
NBA	N-bromacetamid
NFT	neurofibrilarne petlje (<i>NeuroFibrillary Tangles</i>)
NIH3T3	zdravi mišji fibroblasti NIH3T3
NMDA	N-metil-D-aspartat
PAM	periferno anjonsko mesto
PC12	PC12 ćelije pacovskog feohromocitoma
PDB	protein data-banka (<i>Protein Data Bank</i>)
PDE4D	fosfodiesteraza 4D
Ph	fenil
PPAA	ciklični anhidrid propilfosfonske kiseline (<i>PropanePhosphonic Acid Anhydride</i>)
PSA	polarna površina molekula (<i>Polar Surface Area</i>)
ROS	reaktivne kiseonične vrste (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
SAR	odnos strukture i aktivnosti (<i>Structure-Activity Relationship</i>)
SH-SY5Y	SH-SY5Y ćelije humanog neuroblastoma
S_NAr	nukleofilna aromatična supstitucija
Tau	grupa proteina povezana sa mikrotubulama (<i>Tubulin associated unit</i>)
t-Bu	terc-butil
THF	tetrahidrofuran
THLE2	humane zdrave ćelije jetre THLE2
TLC	tankoslojna hromatografija (<i>Thin Layer Chromatography</i>)
TMS	tetrametilsilan
TMSI	jodtrimetilsilan

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	2
2.1 Alchajmerova bolest	2
2.1.1. Odobreni lekovi koji se koriste u terapiji Alchajmerove bolesti	7
2.2. Derivati takrina kao inhibitori holinesteraza	8
2.2.1. Takrinski derivati kao inhibitori holinesteraza i A β agregacije	11
2.2.2. Derivati takrina kao inhibitori holinesteraza i fosfodiesteraze 4D (PDE4D)	14
2.2.3. Takrinski derivati kao inhibitori holinesteraza, BACE-1, MAO-B, A β agregacije	15
2.3. Analozi donepezila kao inhibitori holinesteraza	17
2.3.1. Analozi donepezila kao inhibitori holinesteraza i A β agregacije	18
2.3.2. Analozi donepezila kao inhibitori holinesteraza, A β agregacije, i/ili tau agregacije i BACE-1	20
2.3.3. Analozi donepezila kao inhibitori holinesteraza, i GSK-3 β	22
2.3.4. Analozi donepezila kao inhibitori holinesteraza i ligandi 5-HT $_6$ receptora	23
3. NAŠI RADOVI	25
3.1. Dizajn i sinteza	26
3.1.1. Sinteza tetrahidrohinoksalin/piperidinskog kombinovanog tricikličnog sistema kao hibrida takrina i donepezila	26
3.1.2. Sinteza <i>N</i> -benzilpiperidin/ <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ⁴ -di-arilpiperazinskih analoga donepezila	37
3.1.3. Sinteza arilpirazolskih derivata takrina	41
3.2. Farmakološka ispitivanja	45
3.2.1 <i>In vitro</i> ispitivanje inhibitorne aktivnosti novosintetisanih jedinjenja prema holinesterazama	45
3.3. In silico ispitivanje	52
3.3.1 Doking analiza novosintetisanih analoga donepezila 146–152 i 156–162	52
3.3.2 Doking analiza novosintetisanih derivata takrina 209–232	53
3.3.3 <i>In silico</i> analiza farmakokinetičkih parametara novosintetisanih jedinjenja	60
4. EKSPERIMENTALNI DEO	62
4.1 Sinteza i spektroskopski podaci	62
4.1.1. Opšta procedura A	62
4.1.2. Opšta procedura B	63
4.1.3. Opšta procedura C	64
4.1.4. Opšta procedura D	66
4.1.5. Opšta procedura E	67
4.1.6. Opšta procedura F	70
4.1.7. Opšta procedura G	71
4.1.8. Dobijanje metil-1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksilata (143)	72
4.1.9. Dobijanje 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-ona (142)	73

4.1.10. Dobijanje hidrohlorida 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksilne kiseline (144)	73
4.1.11. Opšta procedura H	73
4.1.12. Opšta procedura I	75
4.1.13. Opšta procedura J	77
4.1.14. Opšta procedura K	81
4.1.15. Dobijanje 9-hlor-1,2,3,4-tetrahidroakridina (180).....	84
4.1.16. Opšta procedura L	84
4.1.17. Opšta procedura M	86
4.1.18. Opšta procedura N	87
4.1.19. Opšta procedura O	96
4.2 Farmakološko ispitivanje	104
4.2.1. Procedura za <i>in vitro</i> ispitivanje inhibitorne aktivnosti na acetilholin-esterazi i butirilholin-esterazi.....	104
4.2.2. Procedura za <i>in vitro</i> ispitivanje kinetike na acetilholin-esterazi.....	105
4.3 Doking analiza	105
5. ZAKLJUČAK	106
6. LITERATURA	108

1. UVOD

Nekovalentni inhibitori holinesteraza predstavljaju najčešće korišćen tip terapije kod lečenja Alchajmerove bolesti, čime se postiže poboljšanje kognitivnih i bihevioralnih funkcija kod obolelih. Iako je ova vrsta terapije simptomatska i ne utiče na uzroke i razvoj bolesti i dalje je predmet velikog broja istraživanja usmerenih ka dobijanju novih jedinjenja sa poboljšanim i/ili izmenjenim farmakološkim profilom.

U okviru ove disertacije sintetisano je ukupno 45 novih jedinjenja koja predstavljaju analoge takrina, prvog komercijalnog leka u terapiji Alchajmerove bolesti i/ili donepezila, trenutno najčešće primenjivanog leka u terapiji Alchajmerove bolesti.

U *Opštem delu* je dat pregled literature koji se odnosi na holinergičku hipotezu i sintezu novih takrinskih i donepezilskih derivata u svrhu lečenja Alchajmerove bolesti.

U *Našim radovima* je prikazan razvoj sintetičkog puta za dobijanje novih derivata donepezila i takrina, i njihova karakterizacija spektroskopskim metodama. Predstavljeni su i rezultati farmakoloških ispitivanja ovih jedinjenja kao i doking analiza za jedinjenja koja su pokazala farmakološku aktivnost.

U *Eksperimentalnom delu* prikazan je detaljan opis procedura za sintezu naših jedinjenja i spektroskopski podaci korišćeni za karakterizaciju. Takođe su date metode primenjene za farmakološko ispitivanje i doking analizu.

Na kraju disertacije dat je zaključak i spisak korišćene literature, kao i prilog u vidu CD-a koji sadrži spektre jedinjenja sintetisanih u okviru ove disertacije.

2. OPŠTI DEO

2.1 Alchajmerova bolest

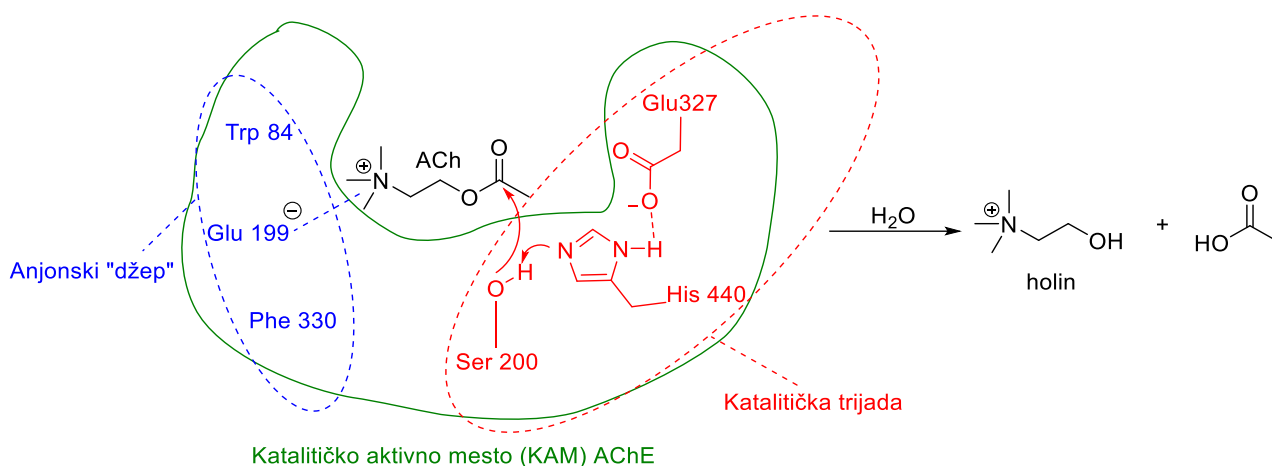
Alchajmerova bolest (AB) je progresivna, ireverzibilna, neurodegenerativna bolest sa smrtnim ishodom.¹ Od svih oblika demencije, AB se najčešće javlja čineći 60-70% slučajeva^{2,3} i procenjuje se da je trenutno u svetu od ove bolesti obolelo preko 50 miliona ljudi.^{3,4} Alchajmerova bolest je karakterisana postepenim propadanjem neurona što vodi do smanjenja kognitivnih i bihevioralnih funkcija, od kojih su najznačajnije gubitak pamćenja, sposobnosti učenja i donošenja odluka, apatija, anksioznost i depresija.^{5,6} AB se najčešće javlja kod starijih ljudi i predstavlja veliko društveno-ekonomsko opterećenje. Usled složene etiopatogeneze bolesti (uzrok i razvoj bolesti) koja nije potpuno identifikovana i dalje je šire dostupna jedino simptomatska terapija kojom se postiže poboljšanje kognitivnih funkcija kod obolelih.⁷⁻¹⁵

Tri velike hipoteze koje se odnose na glavne patološke promene kod AB su: holinergička, amiloidna i tau hipoteza.¹⁶⁻¹⁸ Veliki broj literaturnih navoda ukazuju na međusobnu povezanost patoloških procesa na kojima su zasnovane ove tri hipoteze.^{19,20} Pored njih, u patogenezi AB takođe važnu ulogu imaju i dishomeostaza biometala (tj. odstupanje od normalne koncentracije metala, najčešće Cu^{2+} , Fe^{2+} i Zn^{2+}), oksidativni stres i neuroinflamacija, zbog čega se u literaturi mogu naći podaci kod kojih se uticaj ovih patoloških promena razmatra u okviru zasebnih hipoteza.^{21,22}

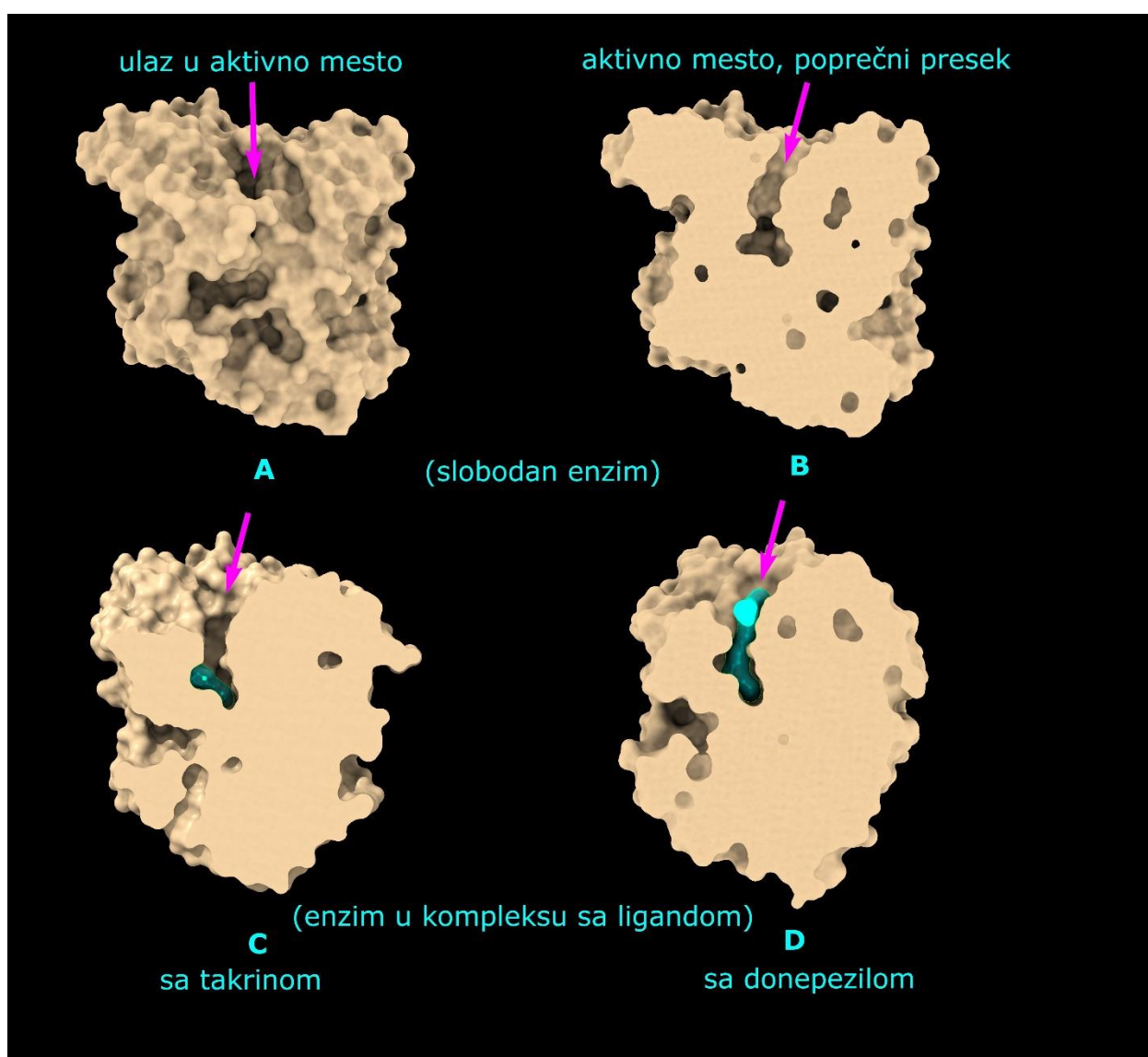
Holinergička hipoteza je najranije ustanovljena kao pokušaj da se objasne patološke promene u CNS-u obolelih od Alchajmerove bolesti. Naime, nađeno je da tokom AB dolazi do smanjenja količine acetilholina (ACh), važnog neurotransmitera u sinapsama nervnih ćelija mozga, koji je uključen u regulaciju kognitivnih procesa.²³⁻²⁵ Pretpostavljeno je da povećanje nivoa acetilholina u sinaptičkom prostoru, može dovesti do poboljšanja kognitivnih funkcija kod pacijenata obolelih od AB.

Nivo ACh u mozgu regulisan je uz pomoć dva enzima i to: acetilholin-esteraze (AChE) – glavne holinesteraze (ChE) u mozgu, i manje specifične butirilholin-esteraze (BuChE). Tokom progresije AB, aktivnost AChE opada i do 60% u odnosu na prvobitnu vrednost, dok BuChE postepeno preuzima ulogu glavne holinesteraze (njena aktivnost raste i do 120% u odnosu na normalne vrednosti).²⁶⁻³¹ Pošto se inhibicijom ovih enzima može povećati nivo ACh u mozgu oni su poslužili kao meta za razvoj potencijalnih lekova u terapiji Alchajmerove bolesti. U literaturi su opisani primeri razvoja selektivnih inhibitora AChE ili BuChE, ili neselektivnih inhibitora holinesteraza. Aktuelna istraživanja zastupaju stav da je dizajn jedinjenja koja mogu da inhibiraju oba enzima efikasniji pristup u razvoju novih lekova.^{29,32-43}

AChE i BuChE spadaju u serin-hidrolaze i dele 65% aminokiselinske sekvence, a katalizuju reakciju hidrolize acetilholina do holina i sirćetne kiseline (slika 1).^{44,45} Oba enzima imaju katalitički aktivno mesto (KAM) i periferno anjonsko mesto (PAM) razdvojeno uskim "grlom" dužine 20 Å. Broj i sastav amino-kiselina u uskom grlu se znatno razlikuju između ova dva enzima. AChE poseduje aromatične aminokiselinske ostatke, dok su kod BuChE ove amino-kiseline zamenjene manjim alifatičnim ostacima, ostavljajući više prostora u KAM-u za vezivanje liganada.^{46,47} Ove razlike u strukturi enzima su razlog njihove različite selektivnosti prema supstratima. Aktivno mesto se kod oba enzima sastoji od katalitičke trijade (Ser, His, Glu). Na slici 2 dat je pojednostavljen prikaz 3D kristalne strukture kompleksa AChE i poznatih inhibitora holinesteraza, donepezila i takrina.



Slika 1. Pojednostavljena shema hidrolize ACh u aktivnom mestu AChE

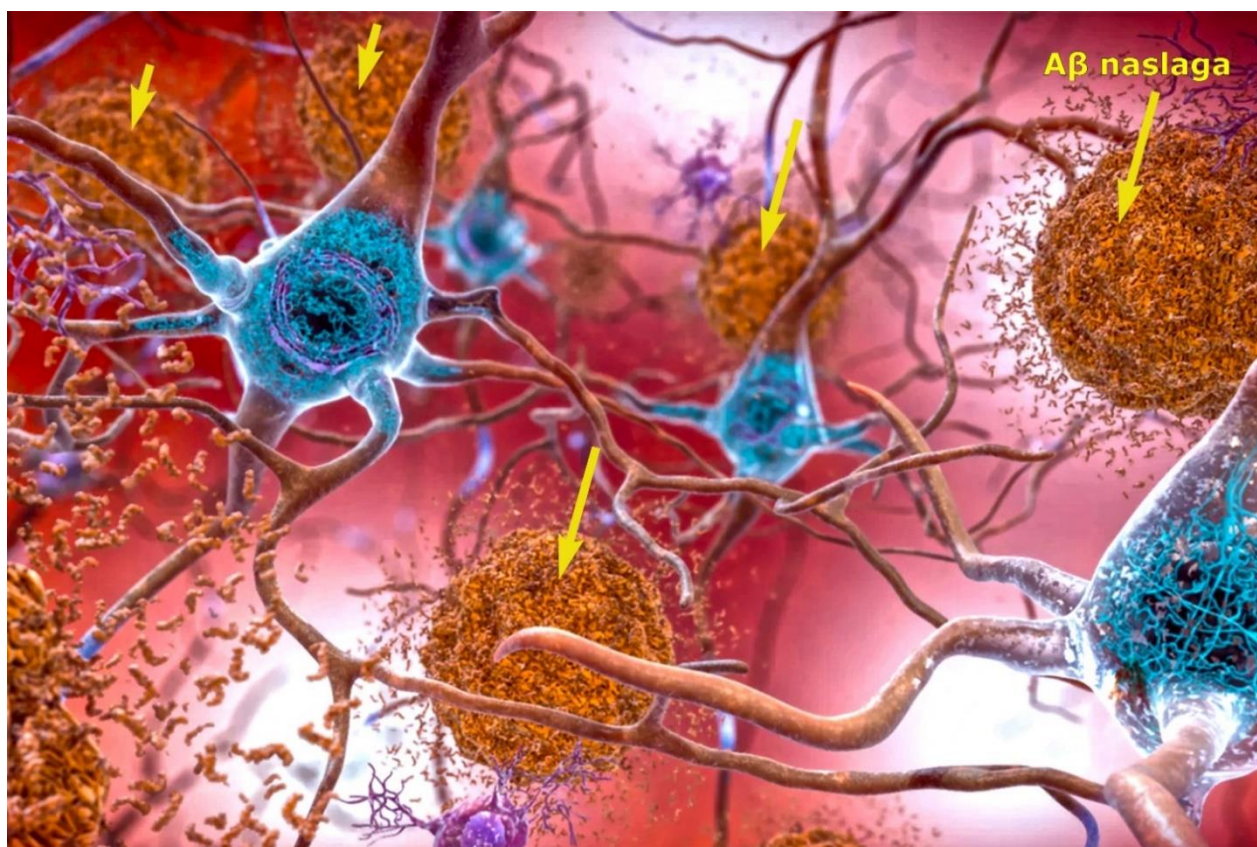


Slika 2. Pojednostavljeni prikaz 3D strukture enzima ljudske acetilholin-esteraze dobijene X-ray kristalografijom i deponovane u protein data-banci (PDB). Enzim je prikazan bez liganda, A i B (PDB: 7E3D), u kompleksu sa takrinom, C (PDB: 7XN1), i sa donepezilom, D (PDB: 7E3H).

Izvor: <https://doi.org/10.1016/ijbiomac.2022.05.009>

Zanimljiv podatak je da aminokiselinski ostaci koji se nalaze u perifernom mestu vezivanja AChE učestvuju u formiranju kompleksa između enzima i beta-amiloida ($A\beta$), a utiču i na nastajanje $A\beta$ agregata koji ispoljavaju neurotoksično delovanje.⁴⁸⁻⁵⁵ Histochemijskim i *in vivo* studijama potvrđeno je i da je BuChE uključen u proces formiranja $A\beta$ naslaga.^{30,31} Iz gore navedenih razloga, inhibitori koji se vezuju i u PAM i u KAM AChE, takozvani "dual binding site" inhibitori, mogu uticati na smanjenje nastajanja štetnih $A\beta$ naslaga u mozgu, i potencijalno biti efikasniji u lečenju AB od onih inhibitora koji samo interaguju sa KAM-om.⁵⁶⁻⁵⁸ Zahvaljujući toj činjenici, simptomatska terapija se potencijalno može promeniti u terapiju koja utiče i na razvoj bolesti, tzv. „disease-modifying” (DM) terapija. Iz ovog razloga se kod inhibitora holinesteraza često proverava i njihova mogućnost inhibiranja $A\beta$ agregacije.^{21,59-70}

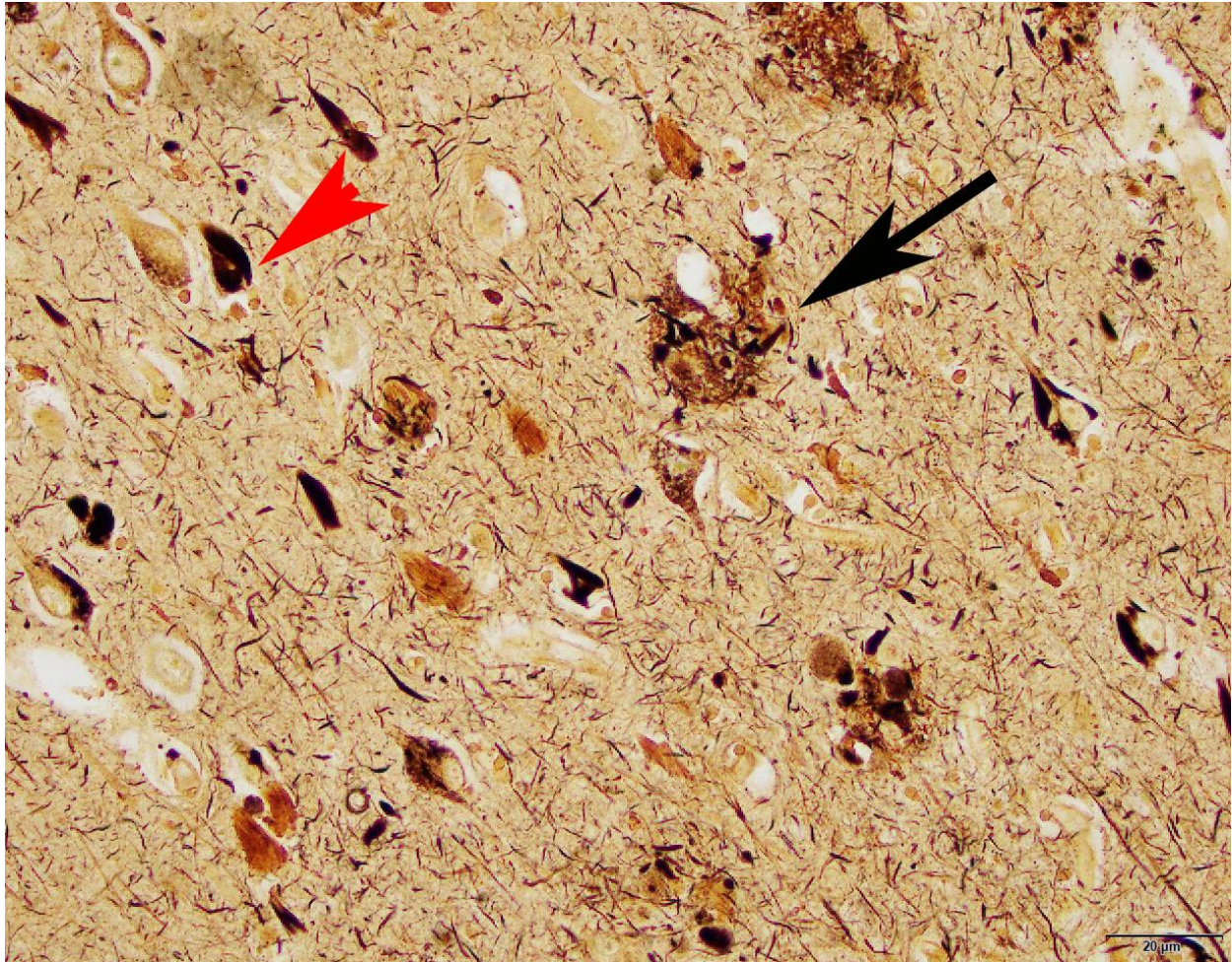
Ekstracelularno taloženje $A\beta$ naslaga je jedan od ključnih faktora u patologiji AB i ovom patološkom promenom se bavi amiloidna hipoteza (slika 3).⁷¹ $A\beta$ naslage su agregati peptida, koji se uglavnom sastoje od 37-43 amino-kiselina, čije su najčešće izoforme $A\beta_{1-40}$ i $A\beta_{1-42}$.⁷² Nađeno je da $A\beta_{1-42}$ izoforma dovodi do brže agregacije, slabije je rastvorna i neurotoksičnija u odnosu na $A\beta_{1-40}$ izoformu.⁵² Pored onih jedinjenja koja interaguju sa PAM-om AChE i/ili BuChE, značajna su i drugačija jedinjenja, koja mogu uticati na agregaciju $A\beta$, tako što direktno interaguju sa ovim peptidima. Na taj način se sprečava njihova spontana agregacija, i stoga su od potencijalno velikog značaja za razvoj novih terapeutika koji bi uticali na sam razvoj bolesti (DM terapija). $A\beta$ peptidi su takođe važni biomarkeri u dijagnozi AB.¹⁵



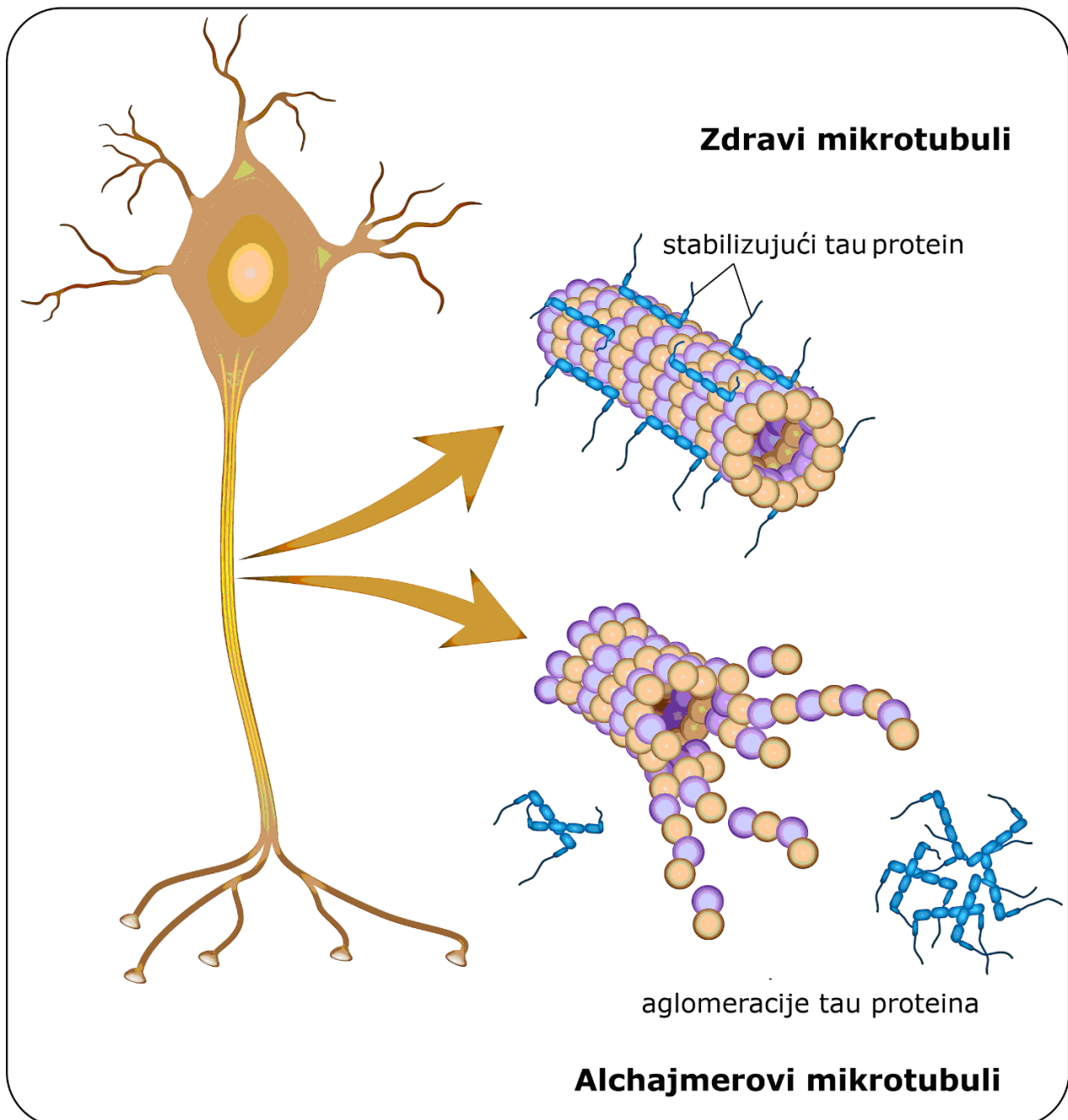
Slika 3. Prikaz ekstracelularnih $A\beta$ naslaga (*amyloid plaques*) u mozgu, u citosolu, između neurona.
Izvor originalne slike: National Institute of Aging

Tau-proteini (*Tubulin Associated Unit*) su sastavni deo mikrotubula aksona, i imaju važnu ulogu u održavanju njihove stabilnosti. Tau hipoteza govori o hiperfosforilaciji tau-proteina i njihovoj agregaciji u neurofibrilarne petlje (*neurofibrillary tangles*, NFT). Ova pojava, pored narušenosti holinergičke funkcije i nastajanja $A\beta$ naslaga u mozgu obolelih od AB, predstavlja

jednu od ključnih patoloških promena u AB patogenezi (slika 4). Pored toga, formiranje NFT u citoplazmi neurona, dovodi do destabilizacije mikrotubula i ometa aksonalni transport kod nervnih ćelija, što na kraju dovodi do smrti ćelije (slika 5). Stoga je razvoj lekova koji bi uticali na formiranje NFT od velikog značaja za dobijanje novih DM terapija.^{64,72-76}



Slika 4. Fotomikrografija moždanog tkiva AB pacijenta. A β naslage su označene crnom strelicom a neurofibrilarne petlje crvenom strelicom. Izvor: <http://www.columbianeuroresearch.org/taub/res-featured-9-2015.html>, Andrew F. Teich, MD, PhD



Slika 5. Shematski prikaz zdravih mikrotubula sa stabilizujućim tau proteinima kao i oštećenih mikrotubula sa aglomeratima tau proteina (NFT). Izvor originalne slike: <https://alzheimersnewstoday.com/news/tau-protein-leads-to-neuronal-death-in-alzheimers>

Dishomeostaza biometala, najčešće bakra, cinka i gvožđa, bitan je faktor u patogenezi AB. Distribucija ovih metala povezana je sa metabolizmom A β peptida i tau-proteina, i sa oksidativnim stresom. Gvožđe i bakar potencijalno mogu dovesti do nastajanja reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) koje oštećuju nervne ćelije. Cink i bakar različitim mehanizmima utiču na nastajanje toksičnih A β oligomera, dok za cink takođe postoje i dokazi da doprinosi hiperfosforilaciji tau proteina.^{22,77} Imajući u vidu ove činjenice, poželjno je da jedinjenja koja se razvijaju kao terapeutici za lečenje AB, takođe imaju sposobnost heliranja ovih metala.^{21,28,62-64,68,78,79}

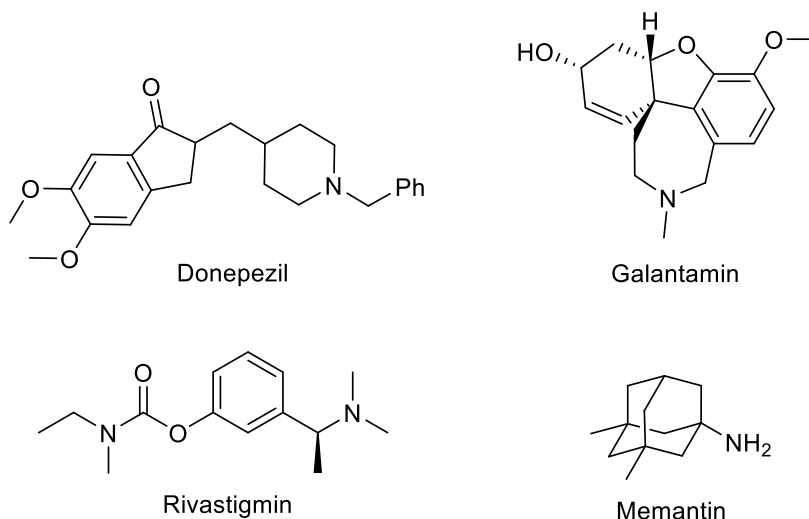
Oksidativni stres karakteriše nastajanje ROS (kao što su vodonik-peroksid, azot-monoksid, superoksid i hidroksil-radikali) i nađeno je da doprinosi oštećenju nervnih ćelija tokom Alchajmerove bolesti. Antioksidansi koji mogu eliminisati ROS su od značaja za lečenje AB. Zato se često kod jedinjenja koja inhibiraju holinesteraze testira i njihova antioksidativna aktivnost.^{21,28,59,63,64,80,81}

Iz svega navedenog i na osnovu opsežnih literaturnih podataka može se zaključiti da je dizajn novih jedinjenja koja bi potencijalno delovala na više od jedne mete u patogenezi AB od izuzetnog značaja za razvoj nove terapije.

2.1.1. Odobreni lekovi koji se koriste u terapiji Alchajmerove bolesti

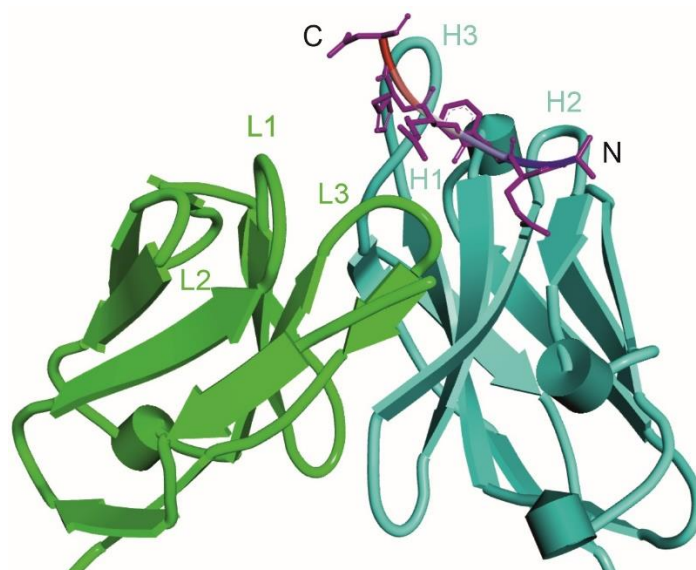
Kao što je već rečeno, inhibitori holinesteraza se koriste isključivo u simptomatskoj terapiji AB, bez uticaja na progresiju bolesti. Tri od šest lekova trenutno odobrenih od strane FDA (*Food and Drug Administration, SAD*) su inhibitori holinesteraza i to: donepezil, rivastigmin i galantamin (slika 6). Zajedničke osobine za navedene inhibitore su ograničena efikasnost i prouzrokovanje nuspojava karakterističnih za holinergičku toksičnost kao što su mučnina, povraćanje, dijareja i anoreksija.⁸²⁻⁸⁵ Jedan od načina za dobijanje jedinjenja sa poboljšanim farmakološkim profilom je dizajn multidirekcionih liganada (*Mutli Target Directed Ligands, MTDL*). Cilj ovog pristupa zasniva se na sintezi molekula koji mogu interagovati sa više meta u patologiji bolesti, što je pogotovo važno u slučaju kada bolest ima složenu etiopatogenezu. Ovaj pristup se uglavnom svodi na sintezu molekulskih hibrida koji se sastoje iz farmakofora specifičnih za pojedinačne mete u patologiji AB. Iz tog razloga se na ovoj vrsti liganada vrše opsežna farmakološka ispitivanja.^{67,78,86-93}

Pored inhibitora holinesteraza, u upotrebi je i memantin, (slika 6) koji se koristi često u kombinaciji sa ChEI, potovo u kasnijim stadijumima bolesti. Memantin je antagonist NMDA (*N*-metil-D-aspartat) receptora, i utiče na smanjenje neurotoksičnosti izazvane ekscitatornim amino-kiselinama u sinaptičkom prostoru.^{85,94}



Slika 6. Strukture lekova odobrenih od strane FDA

U skorije vreme, FDA je po prvi put odobrila „*disease-modifying*” terapiju za AB i to u vidu dva monoklonalna antitela. Adukanumab (monoklonalno antitelo ljudskog porekla, slika 7, odobren 2021.) i lekanemab (modifikovano monoklonalno antitelo poreklom iz miševa, odobren 2023.) dovode do smanjenja A β naslaga u mozgu^{95,96} što bi trebalo da utiče na razvoj bolesti. Ipak, ovi lekovi još uvek nisu odobreni u svim zemljama zbog nedovoljno podataka o efikasnosti i bezbednosti.⁹⁷

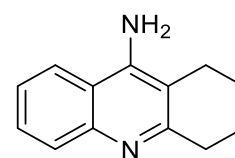


Slika 7. Trodimenzionalni prikaz kristalne strukture kompleksa Fab (antigen vezujući fragment) regije adukanumaba predstavljene zelenom i plavom bojom i $A\beta_{1-11}$ peptida koji je predstavljen ljubičastom bojom⁹⁶

S obzirom na to da su predmet istraživanja ove disertacije dizajn i sinteza novih heterocikličnih jedinjenja, pre svega derivata takrina i donepezila kao inhibitora holinesteraza, u daljem tekstu će biti dat pregled primera modifikacija ova dva jedinjenja u cilju dobijanja inhibitora holinesteraza i multidirekcionih liganada sa poboljšanim farmakološkim profilom. Za pojedine ligande će, pored pregleda rezultata dobijenih farmakološkim ispitivanjima, biti predstavljen i sintetski put za njihovo dobijanje.

2.2. Derivati takrina kao inhibitori holinesteraza

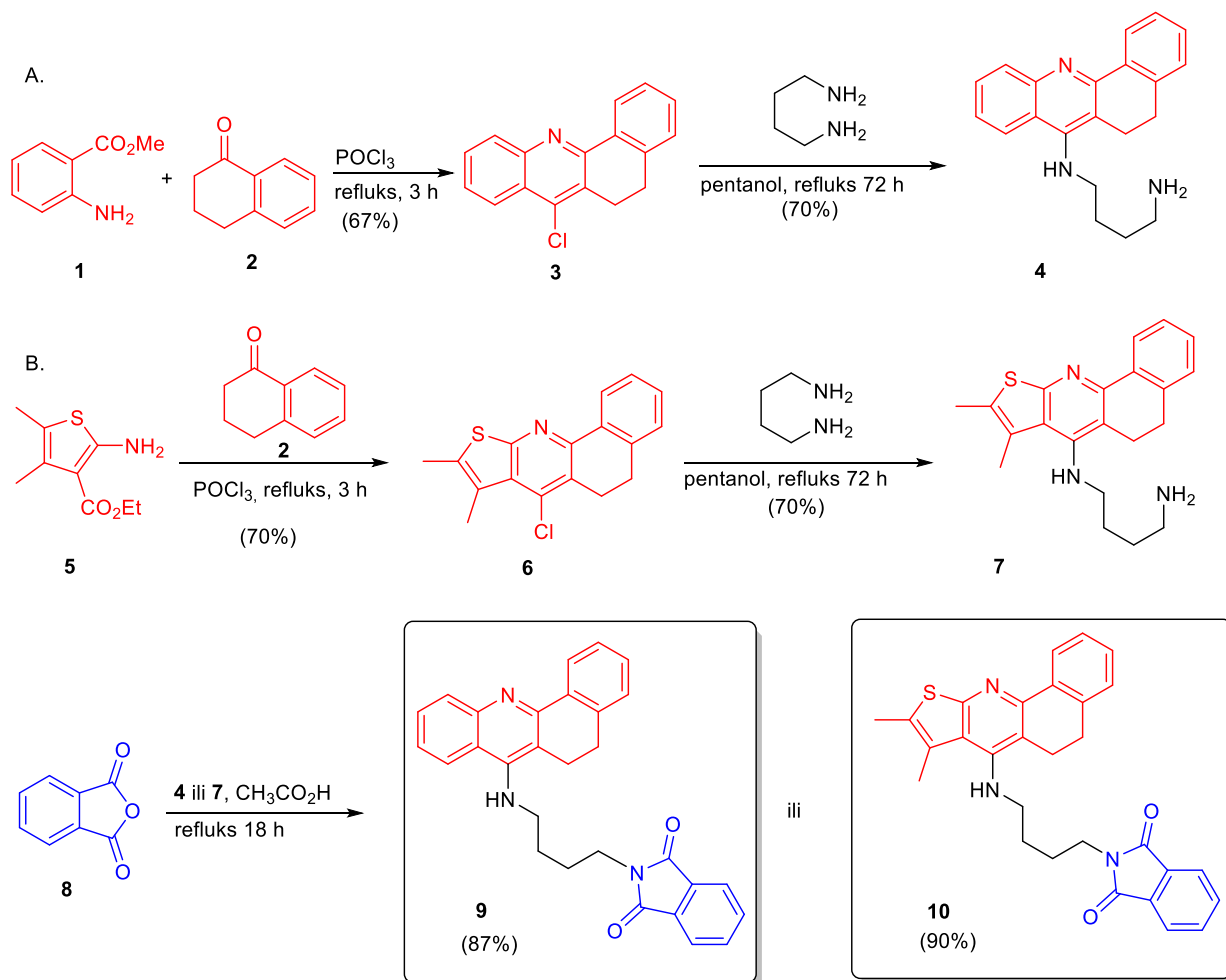
Takrin (slika 8) je bio prvi inhibitor AChE i BuChE koji se koristio u terapiji AB.⁹⁸ Razvijen je 1945. godine,⁹⁹ a od strane FDA odobren je 1993.^{69,100-102} ali je 2013. godine isključen iz upotrebe zbog neželjenih dejstava, pogotovo hepatotoksičnosti.^{103,104} Ipak, jednostavan sintetički pristup za dobijanje i jak afinitet za vezivanje u aktivno mesto AChE i BuChE i dalje čine takrinsko jezgro često korišćenom farmakoforom u sintezi novih ChEI.^{21,59,60,69,70,98,105-112} Tome u prilog ide i podatak da razni derivati takrina, bilo da su dimeri ili hibridni molekuli često ne ispoljavaju hepatotoksičnost kao sam takrin.¹⁰⁰ Zbog ovih osobina se i dalje razvijaju razni derivati takrina kao MTDL-i, sintezom hibridnih molekula takrina i različitih drugih farmakofora, koje pokazuju aktivnost prema drugim metama u AB.^{21,59,60,69,70,86,106,107,112}



Slika 8. Struktura takrina

U pokušaju dobijanja derivata sa poboljšanim farmakološkim profilom, El-Malah i dr. (2014) su dizajnirali seriju jedinjenja u kojima su takrin ili izmenjeno takrinsko jezgro spojili sa ftalimidom, farmakoforom prisutnom u ranije razvijenom inhibitoru AChE.¹⁰⁸ Za povezivanje ove dve farmakofore izabran je alkilenski most dužine 2-4 metilenske jedinice. Ideja ovog dizajna bila je da se postigne vezivanje jedinjenja u KAM i PAM enzima i da se poveća broj interakcija koje takrinsko jezgro ostvaruje u KAM-u. Dva farmakološki najaktivnija jedinjenja iz serije **9** i **10**, posedovala su izmenjeno takrinsko jezgo povezano sa ftalimidnim prstenom pomoću mosta dužine četiri metilenske jedinice. Jednostavan sintetski put za dobijanje ovih derivata, prikazan je na primeru jedinjenja **9** i **10** (shema 1). U prvoj fazi, Friedländer-ovom reakcijom¹¹³ metil estra antranilne kiseline **1** i tetralona **2** dobijen je hlorid **3** u dobrom prinosu.

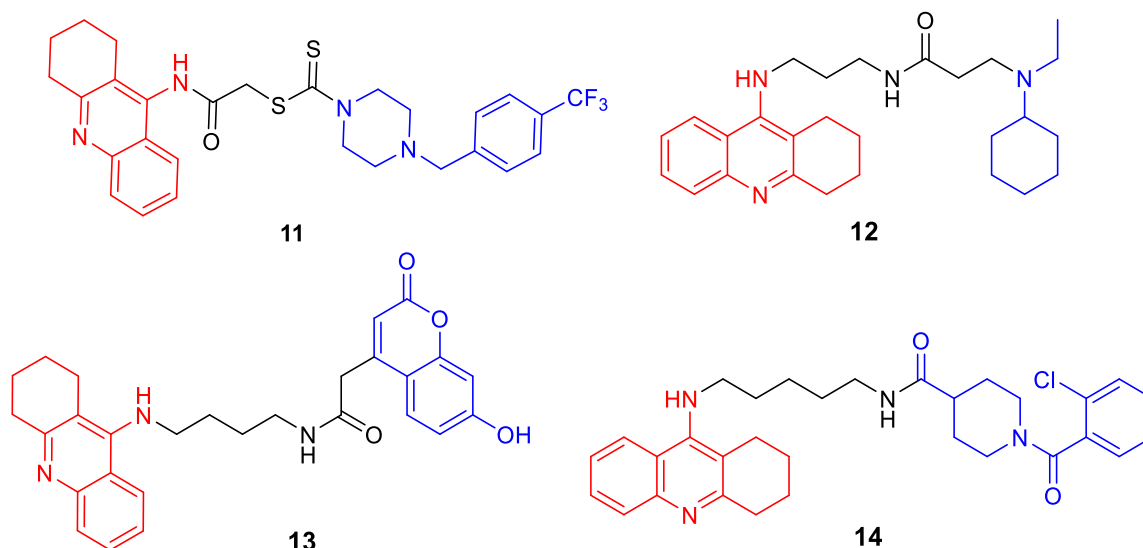
Diamin **4** je zatim dobijen S_NAr supstitucijom hlorida **3** 1,4-diaminobutanom u visokom prinosu. Istom sekvencom reakcija dobijen je diamin **7** gde je umesto estra antranilne kiseline u prvoj fazi, korišćen amino-estar **5**. Daljom reakcijom anhidrida ftalne kiseline **8** sa diaminima **4** i **7** dobijeni su krajnji proizvodi **9** i **10** u visokom prinosu.



Shema 1. Sinteza takrinskih analoga sa ftalimidnom grupom **9** i **10**

U farmakološkom ispitivanju, jedinjenja **9** i **10** pokazala su najbolju inhibitornu aktivnost prema AChE izolovanoj iz homogenata mozga pacova (36,99 % i 46,25 %), i veću od takrina koji je korišćen kao standard (28,74 %).

S obzirom na važnost BuChE u regulaciji acetilholina, pogotovo u kasnijim stadijumima bolesti, Hussein i dr. (2018) pokušali su da dobiju jedinjenja koja su visoko aktivna prema BuChE. Koristeći se saznanjima ranijih istraživanja sintetisali su seriju takrinskih derivata povezanih (tiokarbamoilto)acetamidnim mostom sa različitim heterocikličnim grupama.¹⁰⁹ Od svih jedinjenja iz serije, najbolju farmakološku aktivnost pokazalo je jedinjenje **11** (slika 9) kod koga je takrinsko jezgro povezano sa odgovarajućim *N*-benzilpiperazinom.



Slika 9. Strukture derivata takrina sa ChE inhibitornom aktivnošću

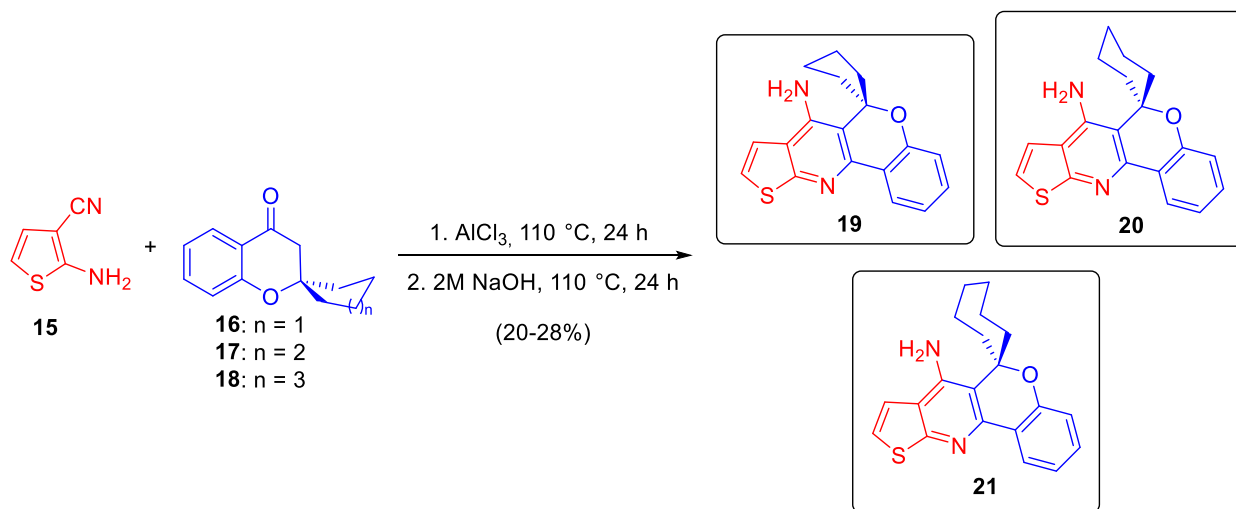
Jedinjenje **11** je pokazalo ~3000 puta veću inhibitornu aktivnost prema BuChE ($IC_{50} = 0,014 \mu M$, *h*BuChE i $0,015 \mu M$, *eq*BuChE) u odnosu na AChE ($IC_{50} = 41,129 \mu M$, *h*AChE i $45,945 \mu M$, *ee*AChE). Analizom odnosa strukture i aktivnosti (SAR) ustanovljeno je da je CF_3 -grupa na benzenovom prstenu benzilpiperazinskog dela, značajna za visoku aktivnost jedinjenja **11**. Izmenom heterocikličnog sistema, u ovom slučaju piperazina, morfolinom ili piperidinom nije imalo veliki uticaj na aktivnost. Autori su predložili da je razlog selektivnosti prema BuChE prisustvo sterno zahtevnih grupa, koje će se lakše vezivati za BuChE, jer ovaj enzim poseduje veću dostupnu površinu za vezivanje u KAM-u, nego AChE. U ispitivanju citotoksičnosti, jedinjenje **11** nije pokazalo toksičnost prema NIH3T3 ćelijama.

Kumarinski strukturni motiv je sastavni deo mnogih farmakološki aktivnih jednjena, a Hamulakova i dr. (2014) su pored kumarina upotrebili i različite sekundarne amine za dobijanje derivata sa visokom ChE inhibitornom aktivnošću.¹¹¹ U navedenoj seriji, najvišu inhibitornu aktivnost su pokazala jedinjenja **12** i **13** (slika 9). Oba jedinjenja sadrže most sa 4 metilenske jedinice koji spaja takrinski prsten sa drugom farmakoforom. Povezivanje je izvršeno acilovanjem primarne amino grupe odgovarajućim kiselinskim ostatkom, koji sadrži sekundarnu cikloheksilamino-grupu (struktura **12**) odn. kumarinsku grupu (struktura **13**). Variranje dužine mosta je pokazalo najveću aktivnost u slučaju 4 metilenske grupe. Izmerene inhibitorne aktivnosti iznose, za *h*AChE: $IC_{50} = 0,0263 \mu M$, odn. $0,0154 \mu M$, respektivno, a za *h*BuChE : $IC_{50} = 0,267 \mu M$ odn. $0,328 \mu M$. Oba jedinjenja pokazala su dosta veću inhibitornu aktivnost prema *h*AChE u odnosu na takrin ($IC_{50} = 0,5 \mu M$).

ChE inhibitorna aktivnost postignuta je i povezivanjem takrinskog strukturnog motiva sa aromatičnim piperidin-4-karboksamidima.¹⁰⁶ Most dužine pet metilenskih grupa između farmakofora obezbedio je optimalnu orijentaciju molekula u vezivnom mestu oba enzima (AChE i BuChE), gde se takrinska jedinica vezala u KAM, a piperidin-4-karboksamidni deo molekula u PAM. Sva jedinjenja u ovoj seriji pokazala su inhibitornu aktivnost prema *ee*AChE i *eq*BuChE u nanomolarnom opsegu i nisku citotoksičnost prema SH-SY5Y ćelijama. Derivat **14** (slika 9), koji sadrži 2-hlorbenzoil grupu, pokazao je najbolji farmakološki profil ($IC_{50} = 156,0$ nM za *ee*AChE i $82,5$ nM *eq*BuChE) a takođe i neuroprotektivni i antioksidativni potencijal prema SH-SY5Y ćelijama tretiranim $A\beta_{1-42}$ peptidima i H_2O_2 .

Interesantan primer hibridnih derivata takrina u kojima je takrinski sistem kondenzovan sa spirohromenom, nastao je u pokušaju poboljšanja farmakološkog profila takrina

(shema 2).¹⁰⁵ Spirohromanoni **16**, **17** i **18** su iskorišćeni u sintezi krajnjih proizvoda **19**, **20** i **21** Friedländer-ovom reakcijom sa amino-nitrilom **15** (shema 2).

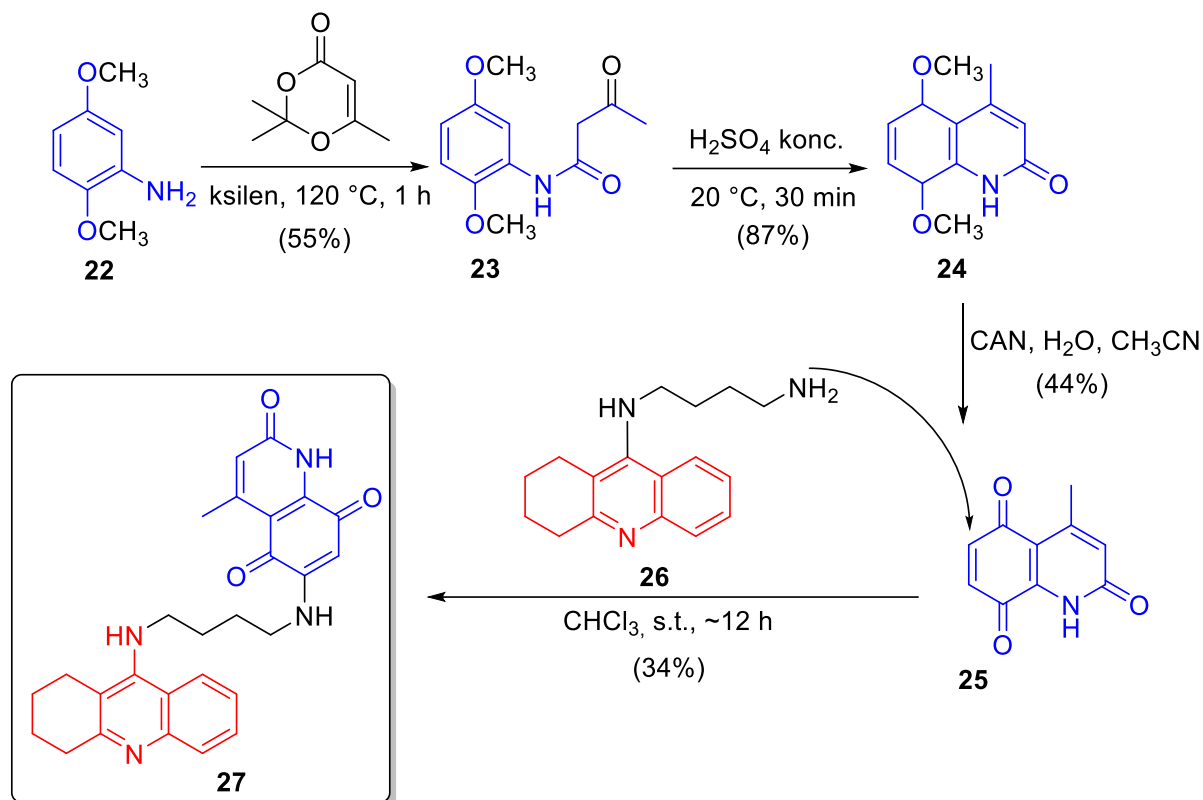


Shema 2. Sinteza tiofenskih analoga takrina sa spirohromenskim strukturama **19–21**

Kondenzacija funkcionalizovanog tiofenskog prstena aromatičnim ketonima **16–18** imala je nepovoljan uticaj na aktivnost jedinjenja u seriji. Tri farmakološki najaktivnija jedinjenja **19–21**, posedovala su ciklopentansku, cikloheksansku i cikloheptansku spirohromensku strukturu respektivno, kondenzovanu sa tiofenskim analogom takrina, dok na tiofenskom prstenu nije prisutna dodatna kondenzacija kao kod derivata sa manjim aktivnostima. Jedinjenja **19–21** pokazala su značajnu aktivnost i selektivnost prema inhibiciji *h*BuChE (76-83%), dok prema *h*AChE nisu pokazala inhibitornu aktivnost u značajnoj meri.

2.2.1. Takrinski derivati kao inhibitori holinesteraza i A β agregacije

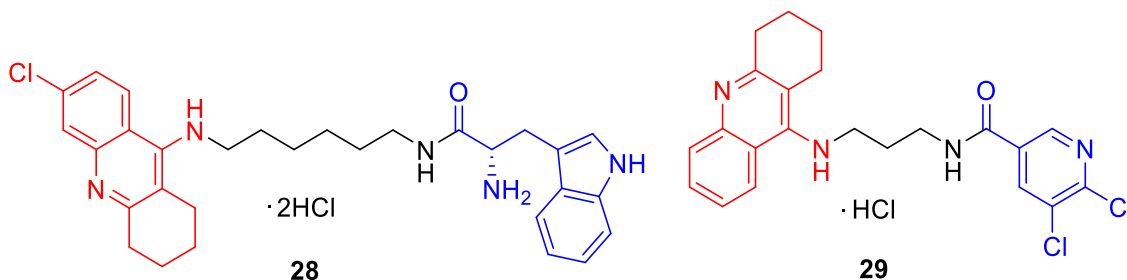
Noviji primer iz literature predstavljaju i derivati sa takrinskim i hinolintrionskim strukturnim motivom.^{49,59} Predlog za dizajn ovih jedinjenja potiče od ideje da se iskoristi anti A β i antioksidativni potencijal hinolintrionske grupe u kombinaciji sa takrinom kao jakim ChE inhibitorom, čime bi se dobijeni derivati potencijalno mogli smatrati multidirekcionim ligandima. Jedinjenje **27** (shema 3) kod koga je nesupstituisano takrinsko jezgro spojeno sa hinolintrionskim delom, preko mosta dužine četiri metilenske jedinice, pokazalo je najbolji farmakološki profil. Na primeru jedinjenja **27** predstavljen je sintetski put za dobijanje ove klase jedinjenja (shema 3). U prvoj fazi acetoacilovanjem dimetoksianilina **22**, *in situ* generisanim acetilketenom (retro oksa-Diels-Alder-ovom reakcijom dioksinonskog derivata), dobijen je β -keto anilid **23** koje je zatim Knorr-ovom ciklizacijom prevedeno u konjugovani laktam **24** u visokom prinosu. Oksidativnim demetilovanjem jedinjenja **24** pomoću cerijum-amonijum-nitrata (CAN) dobijen je hinolintrion **25**. Reakcijom takrinskog diamina **26** i hinolintriona **25**, dobijen je krajnji proizvod **27** u niskom prinosu (reakcija obuhvata 1,4-aza Michael-ovu adiciju, a zatim spontanu re-oksidaciju do aminohinolina).



Shema 3. Sinteza derivata takrina i hinolintriona **27**

Pored visoke ChE inhibitorne aktivnosti ($IC_{50} = 58,3$ nm, *hAChE* i 109 nm, *hBuChE*) jedinjenje **27** pokazalo je značajnu inhibiciju $A\beta_{1-42}$ samoagregacije (33,4%) slično kurkuminu (34,5%) koji je korišćen kao standard. Jedinjenje **27** takođe je ispoljilo antioksidativna svojstva prema SH-SY5Y ćelijama čiji je oksidativni stres indukovano menadionom. Nažalost, jedinjenje **27** je pokazalo veću hepatotoksičnost u odnosu na takrin na HepG2 ćelijama.

Chalupova i dr. (2019) takođe su pokušali da dobiju derivate takrina koji bi osim ChE inhibitorne aktivnosti imali i potencijal inhibiranja agregacije $A\beta$. U tu svrhu, takrinsko jezgro je povezano sa triptofanom alkilenskim mostom dužine 2-8 metilenskih jedinica.⁷⁰ U ovom istraživanju je nađeno da dužina alkilenskog lanca, supstitucija takrinskog jezgra i stereochemija utiču značajno na farmakološku aktivnost u ovoj seriji jedinjenja. Najbolju inhibitornu aktivnost prema *hAChE* i *hBuChE* ($IC_{50} = 6,3$ nM i $9,1$ nM respektivno) pokazalo je jedinjenje **28** (slika 10), koje se sastoji od takrinskog jezgra supstituisanog hlorom u položaju C-6, spojenim amidnom vezom sa triptofanom mostom dužine šest metilenskih jedinica. Dok kod inhibicije *hAChE* nije bilo značajne promene izmenom stereochemije, kod *hBuChE* je neočekivano nađeno da *S*-enantiomer ima čak 15 puta veću IC_{50} vrednost u odnosu na *R*-enantiomer ($9,1$ nM u odnosu na 140 nM).

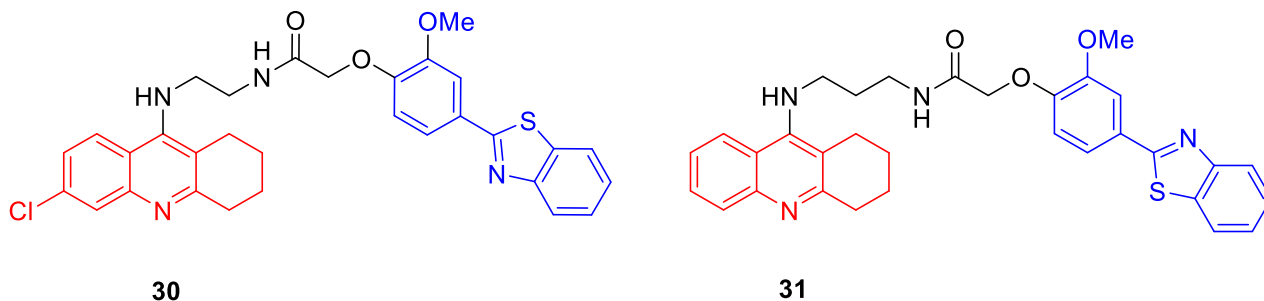


Slika 10. Strukture takrinskih derivata triptofana i dihloronikotinske kiseline

Za jedinjenje **28** je takođe utvrđeno da se vezuje za PAM i KAM enzima i da inhibira A β ₄₂ samoagregaciju kao i hAChE-indukovanu A β ₄₀ agregaciju (58,6% i 48,3% respektivno) jače od takrina koji je korišćen kao standard (<5% i 8,1% respektivno), zatim da ima veću hepatotoksičnost ali dvostruko manju akutnu toksičnost u odnosu na takrin. U *in vivo* testovima na genetski modifikovanim pacovima sa skopolamin-indukovanim kognitivnim deficitom, jedinjenje **28** je pokazalo da ima potencijal za poboljšanje kognitivnih sposobnosti.

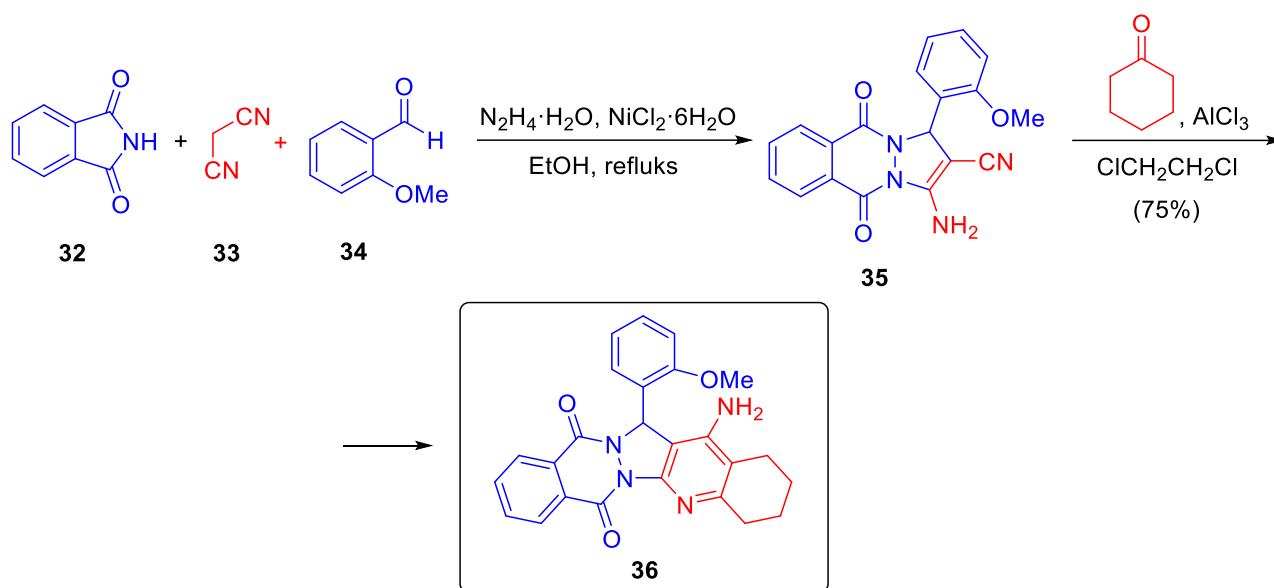
Povezivanje takrinskog jezgra sa dihlornikotinskom kiselinom mostom dužine 2-9 metilenskih jedinica, još jedan je primer jedinjenja koja pored ChE inhibitorne aktivnosti utiču i na agregaciju A β .⁶⁹ Jedinjenje **29** (slika 10) sa tri metilenske jedinice u mostu koji povezuje dve farmakofore, pokazalo je izuzetno visoku inhibitornu aktivnost prema *ee*AChE (IC₅₀ = 1,02 nM) osamdeset puta veću u odnosu na takrin (IC₅₀ = 84,7 nM), dok je prema *eq*BuChE pokazalo nižu aktivnost (IC₅₀ = 159,74 nM). Jedinjenje **29** je takođe testirano prema inhibiciji A β ₁₋₄₂ agregacije, pokazujući inhibitornu aktivnost (46,63%). Testiranjem citotoksičnosti jedinjenja **29** prema ATCC CCL-185 ćelijama, **29** se pokazalo netoksično.

Rajeshwari i dr. (2019) dizajnirali su seriju jedinjenja kod kojih je takrinsko jezgro povezano sa fenilbenzotiazolom, različitim mostovima tj. linkerima.⁶⁰ Ideja za ovakav dizajn bila je dobijanje jedinjenja koja bi bolje inhibirala AChE i uticala na druge mete AB, kao što je agregacija A β peptida. Iako su svi derivati u ovoj seriji pokazali aktivnost prema *ee*AChE u submikromolarnom opsegu (IC₅₀ = 0,06–0,27 μ M), veću od takrina (IC₅₀ = 0,30 μ M), jedinjenja **30** i **31** (slika 11) imala su najbolje rezultate farmakoloških ispitivanja, gde su pokazala inhibitornu aktivnost prema *ee*AChE (IC₅₀ = 0,06 μ M i 0,15 μ M respektivno) i prema A β ₁₋₄₂ samoagregaciji (27,0 % i 33,7 %) koja je veća od takrina koji je korišćen kao standard (11%). Ovi derivati su takođe pokazali neuroprotektivni efekat prema SH-SY5Y ćelijama tretiranim A β ₁₋₄₂ peptidima ili askorbat/gvožđem (Fe(II)).



Slika 11. Strukture derivata takrina i fenilbenzotiazola

Zanimljivom strukturnom modifikacijom takrina, dobijena je serija analoga u kojim je benzenov prsten iz takrina zamenjen heterocikličnim sistemom pirazoloftalazinskog tipa.¹⁰⁷ Jedinjenje sa najboljim farmakološkim karakteristikama **36**, posedovalo je kondenzovano takrinsko i pirazoloftalazinsko jezgro sa 2-metoksifenil grupom vezanom za centralni prsten (shema 4). Sintetski put za dobijanje ovih derivata, prikazan na primeru jedinjenja **36**, započinje multikomponentnom reakcijom ftalimida **32**, malononitrila **33**, benzaldehida **34** i hidrazina u prisustvu NiCl₂·6H₂O kao katalizatora, čime se dobija pirazoloftalazin **35** (shema 4). Friedländer-ovom reakcijom jedinjenja **35** i cikloheksanona dobijen je krajnji proizvod **36** u visokom prinosu.



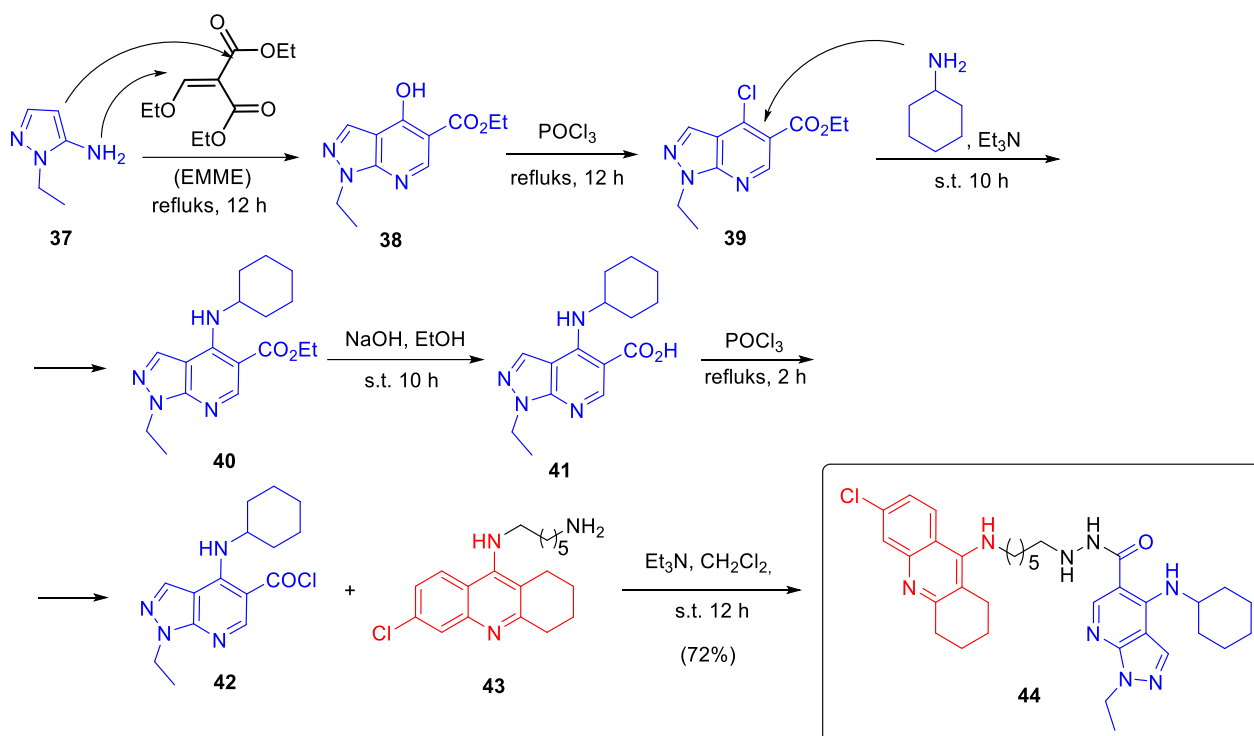
Shema 4. Sinteza derivata takrina i pirazoloftalazina **36**

Kao i ostala jedinjenja iz ove serije, jedinjenje **36** je pokazalo inhibitornu aktivnost prema *ee*AChE ($IC_{50} = 0,049 \mu\text{M}$), dok prema *eq*BuChE nije pokazalo aktivnost. Takođe, jedinjenje **36** je pokazalo veću inhibitornu aktivnost prema $A\beta_{1-42}$ samoagregaciji i *ee*AChE indukovanoj agregaciji $A\beta_{1-40}$ (25,5 % i 32 %) u odnosu na donepezil (15,4% i 25%). Jedinjenje **36** ispoljava značajno manju hepatotoksičnost u odnosu na takrin prema HepG2 ćelijama i takođe ispoljava mogućnost neuroprotekcije prema PC12 ćelijama, čije je oštećenje indukovano primenom H_2O_2 .

2.2.2. Derivati takrina kao inhibitori holinesteraza i fosfodiesteraze 4D (PDE4D)

PDE4D enzim je primarna specifična cAMP-hidrolaza. cAMP je sekundarni unutarćelijski glasnik, i samim tim ima važnu ulogu u prenosu ćelijskih signala unutar mozga i perifernog nervnog sistema. U prekliničkim studijama pokazano je da inhibitori ovog enzima poboljšavaju kognitivne sposobnosti kod osoba obolelih od neurodegenerativnih oboljenja, čineći ih jednom od mogućih meta za razvijanje multidirekcionih liganada u terapiji AB.^{90,112}

Pan i dr. (2019) su sintetisali seriju jedinjenja gde je takrinsko jezgro spojeno sa pirazolopiridinskom strukturom (koja pokazuje visoku i selektivnu inhibiciju PDE4D enzima)¹¹⁴ alkilenskim mostom različitih dužina, sa ciljem da se postigne poboljšana inhibicija i vezivanje u KAM i PAM holinesteraza a takođe i inhibicija PDE4D enzima.¹¹² Jedinjenje **44** sa najboljim farmakološkim karakteristikama posedovalo je takrinsko jezgro sa hlorom u položaju C-6 spojeno sa pirazolopiridinskom strukturom, pomoću mosta dužine 6 metilenskih jedinica. Jednostavan sintetski put za dobijanje ovih derivata, prikazan je na primeru jedinjenja **44** (shema 5). Reakcijom amino-pirazola **37** i dietil-etoksimetilenmalonata (EMME) dobijeno je jedinjenje **38**, a zatim je fenolna hidroksilna grupa prevedena u aril hlorid **39**, primenom POCl_3 . Cikloheksilamino grupa uvedena je $S_N\text{Ar}$ supstitucijom, struktura **40**, a sinteza finalnog proizvoda **44** je izvedena trivijalnim sintetičkim transformacijama, preko intermedijera **41-43**.



Shema 5. Sinteza derivata takrina i pirazolopiridina **44**

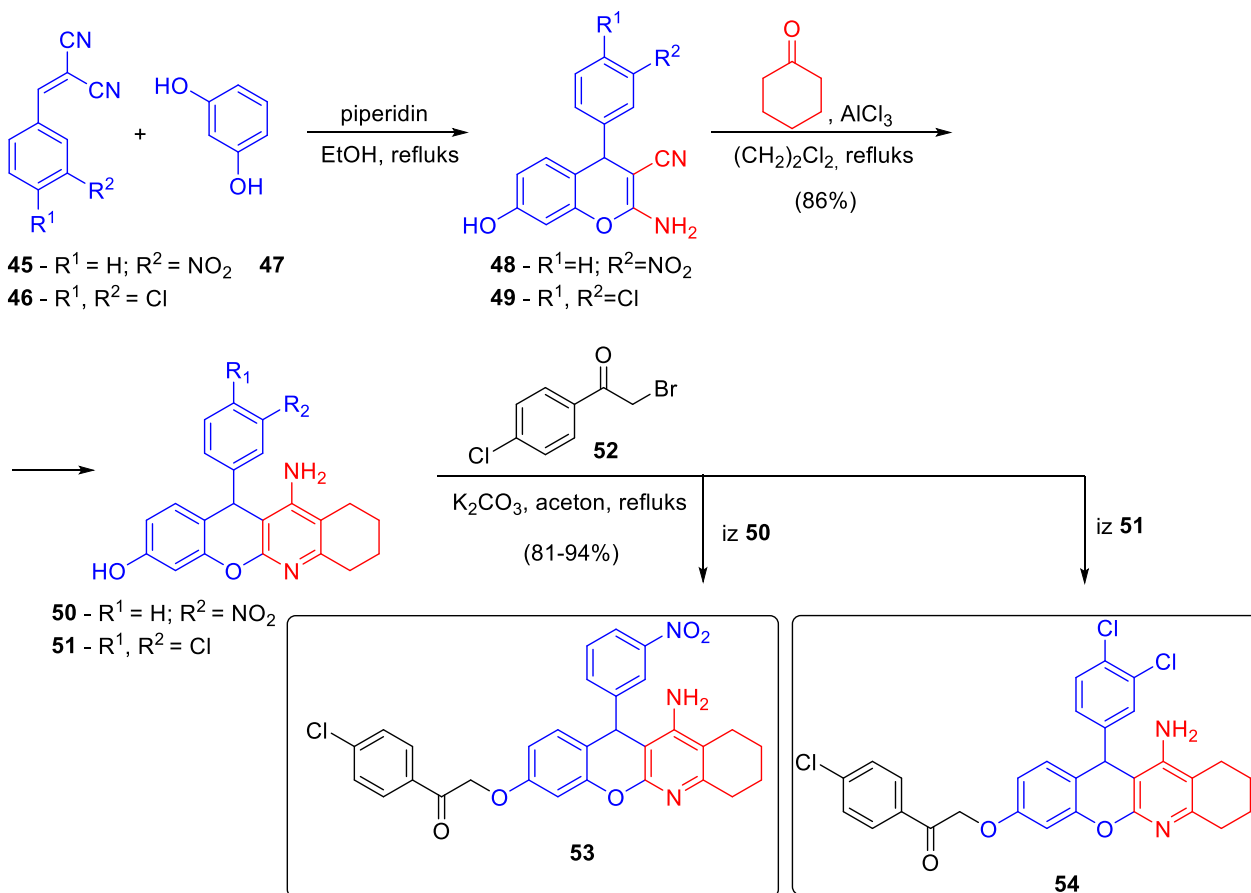
Jedinjenje **44** je pokazalo najbolji odnos aktivnosti prema *ee*AChE, *eq*BuChE i PDE4D2 sa IC₅₀ vrednostima 0,125 μ M, 0,449 μ M i 0,271 μ M respektivno. Ovi rezultati ukazuju da jedinjenje **44** može poslužiti kao polazno jedinjenje u razvoju novih multidirekcionih liganada za lečenje AB.

2.2.3. Takrinski derivati kao inhibitori holinesteraza, BACE-1, MAO-B, A β agregacije

BACE-1 (*beta*-site APP cleaving enzyme), tj. β -sekretaza spada u aspartat-proteaze i ima bitnu ulogu u formiranju mijelinskog omotača u perifernim nervnim ćelijama, dok je γ -sekretaza unutarmembranska proteaza u ćelijama čija je uloga proteoliza transmembranskih proteina. A β peptidi se formiraju cepanjem proteina označenog kao A β prekursor protein (APP), čije je razlaganje katalizovano pomenutim enzimima, tj. β -sekretazom i γ -sekretazom.^{72,115} Inhibicijom ovih enzima može se uticati na spontanu agregaciju A β peptida, koja je kao što je već pomenuto, jedna od važnih patoloških promena kod AB. Iz ovog razloga β -sekretaza i γ -sekretaza često predstavljaju jednu od meta u razvoju novih multidirekcionih liganada za lečenje AB.^{21,66,76,116-122}

Monoamin-oksidadaza (MAO) je u skorije vreme postala meta u razvoju novih, potencijalnih lekova u terapiji AB.^{21,87,92,123-126} MAO enzimi katalizuju oksidaciju fizioloških monoamina kao što su dopamin, serotonin, norepinefrin i epinefrin, tj. inaktivaciju navedenih monoaminskih neurotransmitera, čineći ih bitnim faktorima u mnogim psihijatrijskim i neurološkim bolestima. Postoje dve izoforme, MAO-A i MAO-B, koje se razlikuju po strukturi, ćelijskoj distribuciji i selektivnosti prema različitim monoaminskim neurotransmiterima. Nađeno je da se aktivnost MAO-B izoforme enzima povećava sa progresijom AB i da povećanje aktivnosti ovog enzima dovodi do porasta nivoa H₂O₂, bitnog intermedijera u formiranju slobodnih radikala.¹¹⁵ Slobodni radikali izazivaju oksidativni stres i oštećuju nervne ćelije, čime doprinose samoj patologiji AB. Postoje dokazi da MAO enzimi dovode i do povećane ekspresije β -sekretaze i γ -sekretaze, čime doprinose A β agercaciji.^{115,127} Zbog ovih razloga je inhibicija MAO-B od značaja u razvoju novih terapeutika.

U pokušaju dobijanja multidirekcionih liganada, Fares i dr. (2023) su dizajnirali seriju jedinjenja gde je takrinsko jezgro kondenzovano sa hromenom. Ideja ovog dizajna bila je da se iskoristi takrinsko jezgro za inhibiciju ChE, dok bi hromenski deo služio kao farmakofora za inhibiciju MAO-B i BACE-1. Celokupna struktura molekula bi imala potencijala za interakciju sa PAM-om AChE i inhibiciju A β agregacije.²¹ Jednostavan sintetski put ove serije derivata, prikazan je na primeru jedinjenja **53** i **54** (shema 6). U prvoj fazi, ciklokondenzacijom ariliden-malononitrila **45** odn. **46** i rezorcinola **47** dobijena su jedinjenja **48** i **49**. Heterociklični sistem je proširen za još dva prstena Friedländer-ovom reakcijom sa cikloheksanonom, dajući jedinjenja **50** i **51** u visokom prinosu. Selektivnim *O*-alkilovanjem jedinjenja **50** i **51** bromoacetofenonom **52**, dobijeni su krajnji proizvodi **53** i **54** u visokom prinosu.



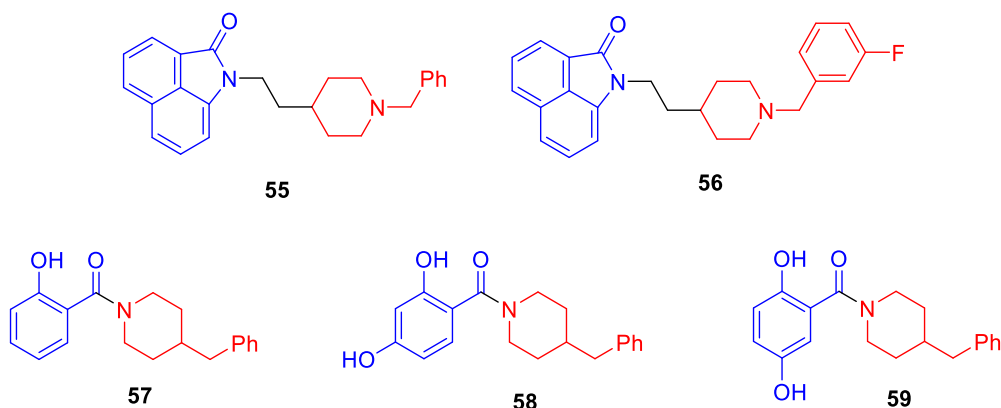
Shema 6. Sinteza takrinsko-hromenskih hibrida **53** i **54**

Jedinjenja **53** i **54** kod kojih je takrin-hromensko jezgro vezano za *p*-hloracetofenon, a nekondenzovan benzenov prsten supstituisan atomima hlora ili nitro-grupom imala su najbolje farmakološke karakteristike. Tako su inhibitorne aktivnosti prema holinestrazama (*h*AChE, IC₅₀ = 0,44 μM i 0,25 μM respektivno; *h*BuChE, IC₅₀ = 0,08 μM i 0,14 μM respektivno) i BACE-1 (IC₅₀ = 0,38 i 0,44 μM respektivno) bile u submikromolarnim opsegu, a prema MAO-B u mikromolarnom opsegu (IC₅₀ = 5,15 i 2,42 μM respektivno). Oba jedinjenja inhibirala su samoagregaciju A β ₁₋₄₂ (59 % i 76%) i to jače od kurkumina koji je korišćen kao standard (44%), a pokazala su i antioksidativni potencijal i mogućnost helatacije Zn⁺², Cu⁺² i Fe⁺². Testirana je i njihova hepatoksičnost prema HepG2 ćelijama i neurotoksičnost prema SH-SY5Y ćelijama, gde su se u oba slučaja pokazali kao netoksični, što ih čini dobrim kandidatima za dalja istraživanja.

2.3. Analizi donepezila kao inhibitori holinesteraza

Donepezil (slika 6) je reverzibilni, selektivni inhibitor AChE, i najčešće primenjivan lek u terapiji AB. Razvijen je 1983. godine u Japanu od strane Sugimoto-ove istraživačke grupe,¹²⁸ a od strane FDA odobren je 1996. godine kao drugi lek za terapiju AB, posle takrina. Sastoji se od indanonskog prstena povezanog alkilenskim mostom za *N*-benzilpiperidin. Analizom kristalne strukture AChE enzima u kompleksu sa donepezilom, nađeno je da se indanonski prsten vezuje u periferno anjonsko mesto dok se *N*-benzilpiperidinski deo molekula vezuje u katalitički aktivno mesto.¹²⁹ U literaturi se može naći veliki broj strukturnih analoga donepezila, razvijanih za lečenje AB.^{28,46,61-66,74,86,119,122,130-135} U derivatima donepezila, najčešće je zadržan *N*-benzilpiperidinski deo, dok se indanonski deo zamenjuje drugim farmakoforama u cilju poboljšanja farmakološkog profila i/ili ostvarivanja interakcija sa drugim metama važnim u patologiji AB. Jedan od nedostataka donepezila je to što ne inhibira BuChE u značajnom procentu, što ga čini više efikasnim samo u ranim stadijumima bolesti, kada je aktivnost AChE još uvek visoka. Zato je jedan od najčešćih ciljeva kod strukturne modifikacije donepezila da se dobiju jedinjenja koja bi inhibirala obe holinesteraze.

U pokušaju dobijanja jedinjenja koja bi inhibirala AChE i BuChE, Wang i dr. (2023) su spojili benzoindolon i različito supstituisane *N*-benzilpiperidine. Za povezivanje ove dve farmakofore, izabrani su mostovi dužine 1-2 metilenske jedinice.¹³² Sterno-elektronski efekti supstituenata aromatičnog prstena *N*-benzilpiperidina, uticali su značajno na aktivnost ove serije jedinjenja prema holinesterazama. Tako su nesupstituisani *N*-benzilpiperidinski (55) i *N*-(3-fluorbenzil)piperidinski derivat (56) imali najpovoljnije farmakološke karakteristike u seriji (slika 12) sa inhibitornom aktivnošću prema *ee*AChE ($IC_{50} = 0,16 \mu M$ i $0,23 \mu M$, respektivno) i *eq*BuChE ($IC_{50} = 5,61$ i $5,37 \mu M$, respektivno). Za jedinjenje 55 urađena su i kinetička testiranja *ee*AChE inhibicije gde je nađeno da ligand ispoljava mešoviti tip inhibicije, što prema tvrdnji autora ukazuje da se verovatno vezuje i za PAM i KAM *ee*AChE. Oba jedinjenja su se pokazala kao netoksična prema SH-SY5Y, HepG2 i HL-7702 ćelijama.



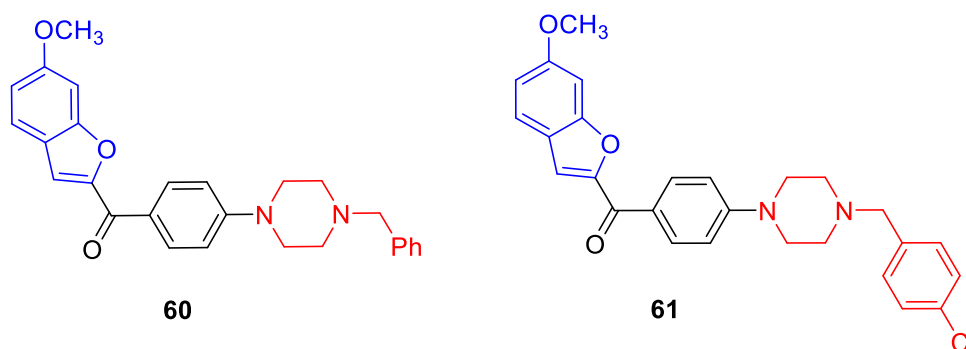
Slika 12. Strukture analoga donepezila 55-59, koje pokazuju ChE inhibitornu aktivnost

U drugom istraživanju, He i dr. (2023) su dizajnirali analoge donepezila, spajanjem derivata salicilne kiseline i raznih *N*-heterocikličnih prstenova baziranih na *N*-benzilpiperidinskom motivu donepezila.²⁸ Cilj spajanja ove dve farmakofore bio je da se dobiju inhibitori sa neuroprotektivnim, antioksidativnim, antiinflamatornim dejstvom i sposobnošću da grade helate sa metalima. Tri jedinjenja sa najboljim farmakološkim karakteristikama 57-59, posedovali su benzilpiperidinski prsten i salicilnu kiselinu ili hidroksi-derivate salicilne kiseline, povezane karboksamidnom grupom (slika 12). Iako su sva jedinjenja pokazala aktivnost prema obe holinesteraze, zanimljivo je da su jedinjenja 57 i 59 u većoj meri inhibirala

eqBuChE ($IC_{50} = 7,9 \mu\text{M}$ i $30,6 \mu\text{M}$ za *eeAChE*; $0,29 \mu\text{M}$ i $0,82 \mu\text{M}$ za *eqBuChE* respektivno), dok je jedinjenje **58** bilo jači *eeAChE* inhibitor ($IC_{50} = 0,77 \mu\text{M}$ za *eeAChE*; $5,8 \mu\text{M}$ za *eqBuChE*). Za sva tri jedinjenja je nađeno da mogu selektivno da heliraju Cu^{2+} jon, a jedinjenja **57** i **58** su takođe uspešno helirala i Al^{3+} jon. U skladu sa očekivanjima autora, jedinjenja **57–59** su zaista pokazala i antioksidativnu i antiinflamatornu aktivnost, a i značajan efekat neuroprotekcije na PC12 ćelijama. Analizom ovih rezultata, može se zaključiti da se ova tri jedinjenja mogu smatrati potencijalnim multidirekcionim ligandima.

2.3.1. Analози donepezila kao inhibitori holinesteraza i A β agregacije

Kako bi dobili inhibitore ChE, koji bi mogli da inhibiraju i A β agregaciju, Sahin i dr. (2022) su dizajnirali analoge donepezila, koji se sastoje iz benzofuranskog prstena spojenog sa aril-piperazinskim ili benzil-piperazinskim strukturnim motivom.⁶¹ Ideja za dizajn liganada zasnovana je na SAR analizi donepezila. Skoro sva jedinjenja ove serije su se pokazala kao selektivni inhibitori prema *hAChE* bez značajne aktivnosti prema *eqBuChE*. Derivati sa metoksi-grupom na benzofuranskom prstenu pokazali su veću aktivnost prema *hAChE*, u odnosu na derivate sa hlorom i nesupstituisane derivate. Takođe, *N*-benzilpiperazinski derivati pokazali su bolju aktivnost u odnosu na *N*-arilpiperazinske derivate, najverovatnije zbog mogućnosti protonovanja benzilamino-grupe, čime se ostvaruju slične interakcije sa KAM-om kao i kod donepezila. Dva jedinjenja sa najboljim farmakološkim karakteristikama **60** i **61** posedovala su 6-metoksibenzofuranski prsten, spojen preko acetofenonske strukture za *N*-benzilpiperazin i *N*-(4-hlorbenzil)piperazin, respektivno (slika 13).



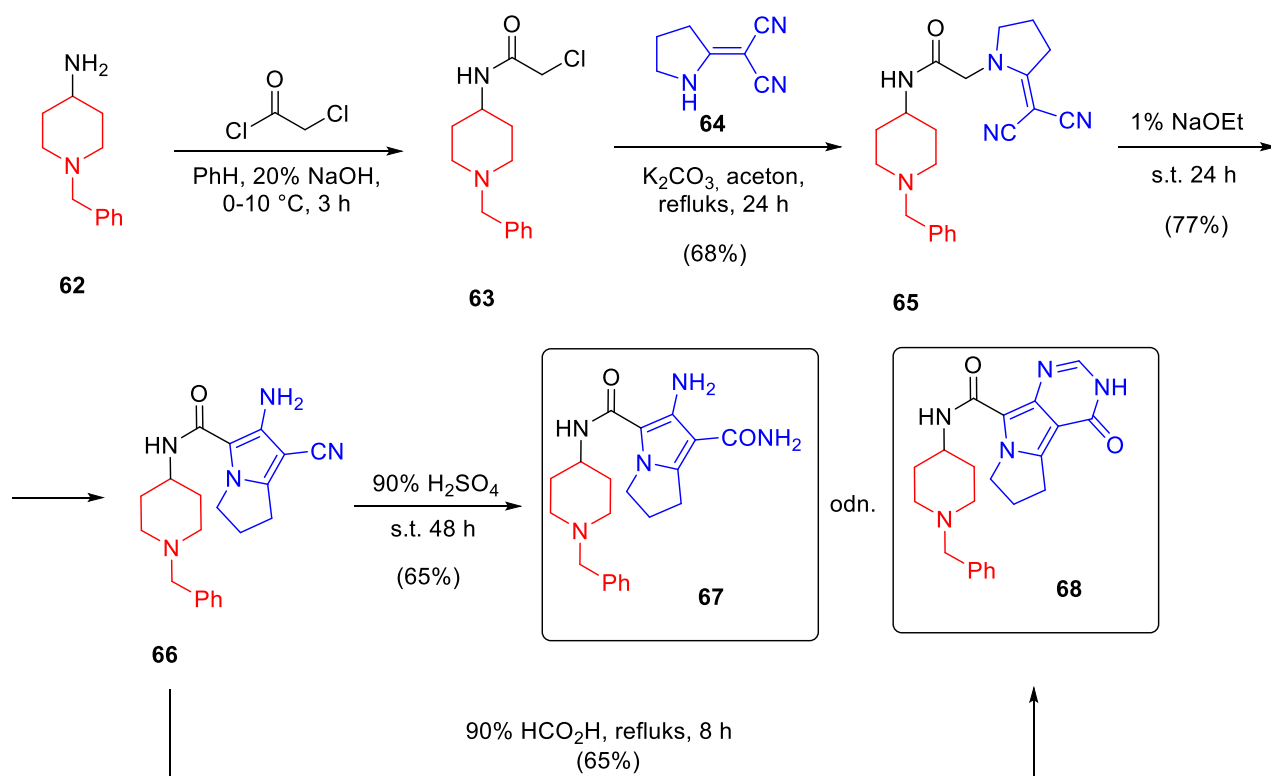
Slika 13. Strukture benzofuranskih/*N*-arilpiperazinskih analoga donepezila

Jedinjenja **60** i **61** su pored inhibitorne aktivnosti prema *hAChE* ($IC_{50} = 1,07 \mu\text{M}$ i $0,98 \mu\text{M}$ respektivno) takođe inhibirala i A β_{1-40} agregaciju (60,1% i 76,1%) gde je rifampicin korišćen kao standard (71,6%), a pokazala su i nisku citotoksičnost na HEK 293 ćelijama.

Da bi ispitali uticaj pirolizinskog strukturnog motiva na ChE inhibiciju, El-Sayed i dr. (2019) dizajnirali su analoge donepezila, spajanjem pirolizinskog prstena sa *N*-arilpiperazinom ili *N*-benzilpiperidinom.⁶⁵ Sintetski put za dobijanje ovih derivata prikazan je na primerima **67** i **68** (shema 7). Acilovanjem *N*-benzilpiperidin-4-amina **62** hloracetil-hloridom, a zatim kondenzacijom dobijenog karboksamida **63** i malononitrila **64** dobijen je intermedijer **65** u dobrom prinosu. Intramolekulskom ciklizacijom jedinjenja **65** pomoću natrijum-etoksida, dobijen je glavni intermedijer **66** u visokom prinosu. Selektivnom adicijom vode na nitril **66**, dejstvom konc. H_2SO_4 dobijen je krajnji proizvod **67** u dobrom prinosu. Alternativno, ciklizacijom jedinjenja **66** u prisustvu mravlje kiseline dobijen je krajnji proizvod **68** u dobrom prinosu. Većina jedinjenja u ovoj seriji jače su inhibirala *hAChE* nego *hBuChE*. Zamena karboksamidne grupe pirolizinskog prstena nitrilnom-grupom, nepovoljno je uticala na ChE inhibitornu aktivnost ovih derivata. *N*-benzilpiperidinski derivati su pokazali su znatno bolju

aktivnost prema *hAChE* u poređenju sa *N*-arilpiperazinskim i *N*-benzilpiperazinskim derivatima. Dva jedinjenja sa najboljim farmakološkim karakteristikama **67** i **68** (shema 7), posedovala su *N*-benzilpiperidin spojen karboksamidnom vezom za pirolizinski strukturni motiv.

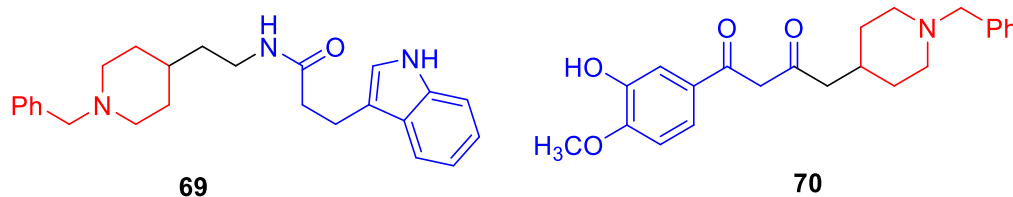
Jedinjenje **67** kod koga su za pirolizinski strukturni motiv vezane primarna amino-grupa i karboksamidna grupa, se pokazalo kao selektivan inhibitor *hAChE* ($IC_{50} = 4,17 \mu M$), dok je jedinjenje **68** kod koga je pirolizinski prsten kondenzovan sa pirimidinonskim prstenom, bilo jak inhibitor obe holinesteraze ($IC_{50} = 0,73 \mu M$, *hAChE* i $0,74 \mu M$, *hBuChE*).



Shema 7. Sintaza pirolizinskih analoga donepezila **67** i **68**

Kinetičkom karakterizacijom svih derivata nađeno je da su kompetitivni ChE inhibitori. U ispitivanju inhibicije $A\beta_{1-42}$ samoagregacije, oba jedinjenja su pokazala visoku aktivnost ($IC_{50} = 0,42 \mu M$ za **67** i $1,67 \mu M$ za **68**). Dodatno, jedinjenja **67** i **68** pokazala su sličnu ili nižu toksičnost prema SH-SY5Y i THLE2 ćelijama u poređenju sa donepezilom, a u *in vivo* testovima oba jedinjenja su poboljšala kognitivnu sposobnost miševa tretiranih skopolaminom.

U cilju istraživanja multidirekcionih liganada kao inhibitora holinesteraza, Wang i dr. (2016) su dizajnirali analoge donepezila spajanjem indol-3-propionskog strukturnog motiva (derivata melatonina) i različito supstituisanih *N*-benzilpiperidina.⁶² Ideja ovog dizajna bila je da se postigne vezivanje u PAM i KAM enzima, i da se iskoristi antioksidativni i neuroprotektivni potencijal melatonina. Za povezivanje ove dve farmakofore izabrani su različiti karboksamidni linkeri. Sva jedinjenja iz ove serije pokazala su visoku aktivnost prema *eeAChE* i *eqBuChE* u submikromolarnom i nanomolarnom opsegu. Većina jedinjenja je ispoljavala nešto veću aktivnost prema *eqBuChE*. Promena dužine i orijentacija mosta je značajno uticala na inhibiciju *eeAChE*, za razliku od supstituenata na indolskom i benzenovom prstenu. Jedinjenje **69** (slika 14) sa najboljim farmakološkim karakteristikama, posedovalo je indol-3-propionsku strukturu povezanu sa *N*-benzilpiperidinom, karboksamidnim mostom sa dve metilenske grupe.



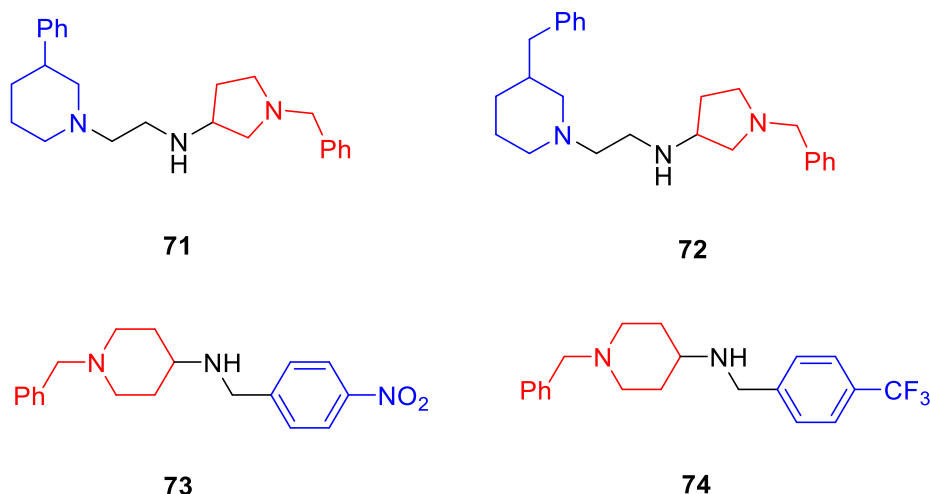
Slika 14. Strukture indol-3-propionskih i kurkuminskih analoga donepezila

Iako je nešto jači *eqBuChE* inhibitor, jedinjenje **69** je pokazalo visoku aktivnost prema obe holinesteraze ($IC_{50} = 0,193 \mu\text{M}$, *eeAChE* i $0,073 \mu\text{M}$, *eqBuChE*). Kinetičkom karakterizacijom jedinjenja **69** nađeno je da ispoljava mešoviti tip inhibicije prema *eeAChE*, što po tvrdnji autora ukazuje da se najverovatnije vezuje u PAM i KAM enzima. Za *eqBuChE* je nađeno da ima kompetitivan tip inhibicije, što znači da se vezuje za KAM kompetitivno sa supstratom u ovom slučaju ACh. Jedinjenje **69** je takođe imalo inhibitornu aktivnost prema $A\beta_{1-42}$ samoagregaciji (56,3 %) veću u odnosu na kurkumin (43,5%) i rezervatol (45,2%) koji su korišćeni kao standardi. Dodatno je ispitana mogućnost građenja kompleksa sa biometalima, gde je nađeno da jedinjenje **69** helira jone Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} i Zn^{2+} . Jedinjenje **69** je pokazalo dobru antioksidativnu aktivnost, netoksičnost prema PC12 ćelijama i neuroprotektivni potencijal prema PC12 ćelijama čije je oštećenje indukovano H_2O_2 . Za jedinjenje **69** je *in vitro* testovima nađeno da prolazi kroz krvnomoždanu barijeru što je od posebne važnosti za jedinjenja koja svoju farmakološku aktivnost treba da ispolje u CNS-u.

Spajanjem funkcionalizovane kurkuminske (*curcumin*) i *N*-benzilpiperidinske farmakofore dobijena je serija jedinjenja kao potencijalnih multidirekcionih liganada koji bi pored ChE inhibicije, inhibirali i $A\beta$ agregaciju, imali antioksidativnu aktivnost i sposobnost građenja helata sa metalima, usled prisustva kurkuminskog strukturnog motiva.⁶³ Dužina alkilenskog mosta između dikarbonilnog i *N*-benzilpiperidinskog fragmenta, i supstitucija benzenovog prstena oba fragmenta imala je uticaj na aktivnost prema ChE u ovoj seriji. Najbolje rezultate ispitivanja farmakološkog profila dalo je jedinjenje **70** (slika 14) kod kog je *N*-benzilpiperidin vezan za kurkuminski fragment sa hidroksilnom i metoksi-grupom na benzenovom prstenu. Jedinjenje **70** je oko 70 puta jače inhibiralo *eeAChE* nego *eqBuChE* ($IC_{50} = 0,187 \mu\text{M}$, *eeAChE* i $12,4 \mu\text{M}$ *eqBuChE*). Kinetičkom karakterizacijom *eeAChE* inhibicije nađeno je da jedinjenje **70** ispoljava mešoviti tip inhibicije. Dodatno, nađeno je da jedinjenje **70** inhibira $A\beta_{1-42}$ spontanu agregaciju (45,3 %) gde je kurkumin korišćen kao standard (54,9%), da helira Cu^{2+} jon, i ima dobru antioksidativnu aktivnost. *In vitro* testom nađeno je da jedinjenje **70** prolazi kroz krvnomoždanu barijeru. Dobijeni rezultati ukazuju da ovaj ligand ima potencijala za dalja pretklinička testiranja.

2.3.2. Analози donepezila kao inhibitori holinesteraza, $A\beta$ agregacije, i/ili tau agregacije i BACE-1

Struktura donepezila poslužila je i za dobijanje jedinjenja koja bi pored inhibicije holinesteraza i nastajanja $A\beta$ agregacije, delovala i na agregaciju tau-proteina. Tako su Wichur i dr. (2020) dizajnirali analoge donepezila, spajanjem *N*-benzilpirolidina sa različitim derivatima *N*-arilpiperidina i *N*-arilpiperazina.^{64,67} Većina njih, pokazala su veću inhibitornu aktivnost prema *eqBuChE* u odnosu na *eeAChE*. Ligandi sa običnim aminskim mostom su jače inhibirali *eqBuChE* u odnosu na one sa karboksamidnim mostom. Piperidinski ligandi pokazali su veću inhibitornu aktivnost u odnosu na piperazinske derivate. Dva jedinjenja sa najboljim farmakološkim karakteristikama **71** i **72** posedovala su *N*-benzilpirolidinski deo vezan za 3-fenilpiperidin i 3-benzilpiperidin, alkilenskim mostom dužine dve metilenske grupe (slika 15).



Slika 15. Strukture *N*-benzilpiperidinskih i *N*-benzilpiperidinskih analoga donepezila

Jedinjenja **71** i **72** pokazala su selektivnu inhibitornu aktivnost prema *eq*BuChE ($IC_{50} = 2,39 \mu\text{M}$ i $1,94 \mu\text{M}$ respektivno) a uspešno su inhibirali i agregaciju $A\beta_{42}$ (44,9% i 49,2% respektivno) i tau-proteina (53,5% i 54,3% respektivno). Za oba jedinjenja je nađeno da selektivno heliraju Cu^{2+} jon, i da imaju antioksidativnu aktivnost. Ovim rezultatima se može pretpostaviti da oba derivata potencijalno mogu usporiti razvijanje AB, imajući uticaja na biološke mete koje su opisane u prethodno navedenim hipotezama ove bolesti.

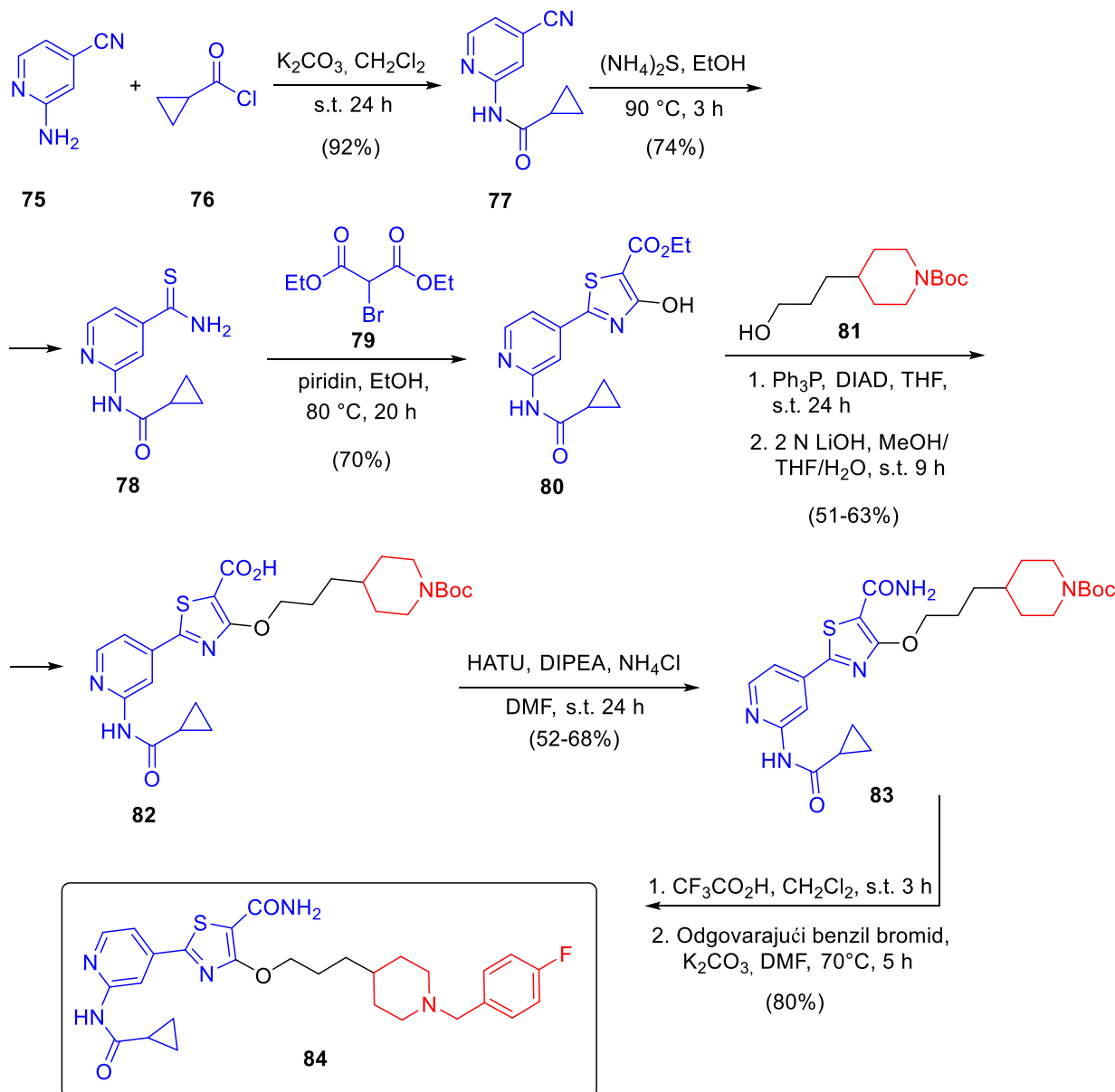
U sličnom istraživanju, Sharma i dr. (2019) su dizajnirali jednostavne analoge donepezila, spajanjem *N*-benzilpiperidina sa različito supstituisanim benzenovim prstenovima sa ciljem da se postignu poboljšane interakcije sa ChE i BACE-1, kao i vezivanje dobijenih derivata u PAM AChE.⁶⁶ Sva jedinjenja u seriji pokazala su veću aktivnost prema *h*AChE nego prema *h*BuChE. Supstitucijom benzenovog prstena elektron-donorskim grupama nepovoljno je uticalo na ChE inhibitornu aktivnost. Dva jedinjenja koja su imala najbolje farmakološke karakteristike **73** i **74**, posedovala su *N*-benzipepidin vezan za 4-nitrobenzen i 4-trifluormetilbenzen, metilenaminskim mostom (slika 15). Jedinjenja **73** i **74** su pokazala oko 10 odn. 30 puta veću inhibitornu aktivnost prema *h*AChE nego prema *h*BuChE ($IC_{50} = 0,72 \mu\text{M}$ i $0,11 \mu\text{M}$ za *h*AChE; $7,8 \mu\text{M}$ i $3,0 \mu\text{M}$ za *h*BuChE respektivno). Na osnovu rezultata u testu izmeštanja propidium-jodida, zaključeno je da se jedinjenja **73** i **74** vezuju u PAM enzima. Oba jedinjenja pokazala su jaku inhibiciju prema *h*BACE-1 ($IC_{50} = 0,43 \mu\text{M}$ za **73** i $0,22 \mu\text{M}$ za **74**) i ispoljavala su inhibitornu aktivnost prema $A\beta$ samogregaciji i $A\beta$ -*h*AChE indukovanoj agregaciji (**73**: 18,5-44,1%; **74**: 26,1-50,1% za samoindukovanu $A\beta$ agregaciju; **73**: 31,0-69,3%; **74**: 61,1-89,0% za $A\beta$ -*h*AChE indukovanu) u odnosu na donepezil koji je korišćen kao standard (16,7-41,6% za samoindukovanu $A\beta$ agregaciju, 28,5-62,8% za $A\beta$ -*h*AChE indukovanu). Oba jedinjenja su bila netoksična prema SH-SY5Y ćelijama, a u *in vivo* ispitivanju povoljno su uticala na kognitivne sposobnosti kod miševa tretiranih skopolaminom. U daljim *in vivo* testovima, jedinjenje **74** je uticalo na poboljšanje kognitivne sposobnosti miševa kod kojih je prisutan povišen nivo $A\beta_{1-42}$. *In vitro* testovima, nađeno je i da oba jedinjenja imaju visoku permeabilnost kroz krvnomoždano barijeru. Dodatno, za jedinjenje **74** urađena je i farmakokinetička analiza gde je pokazalo značajnu bioraspoloživost kad se uzima oralnim putem. Analizom ovih rezultata, može se zaključiti da jedinjenje **74** ima odlične karakteristike kao vodeće jedinjenje u razvoju novih MTDL za lečenje AB.

2.3.3. Analози donepezila kao inhibitori holinesteraza, i GSK-3 β

Glikogen-sinteza-kinaza 3 β (GSK-3 β) je podtip GSK-3 enzima koji pripada kategoriji serin/treonin-kinaza. Enzimi iz ove grupe regulišu metabolizam glukoze, zatim signalizaciju ćelija a takođe učestvuju u rastu i diferencijaciji ćelija. Pored ovoga, enzim GSK-3 β katalizuje hiperfosforilaciju tau-proteina. Hiperfosforilovani tau-proteini se odvajaju od mikrotubula i formiraju neurofibrilarne petlje (NFT), kao što je ranije već opisano. Poznato je da u toku AB dolazi do povećane ekspresije i povećane aktivnosti ovog enzima. Takođe je nađeno da povećana aktivnost GSK-3 β utiče i na formiranje A β naslaga, regulacijom γ -sekretaze.¹³⁶ Stoga GSK-3 β predstavlja jednu od važnih meta za razvoj novih multidirekcionih liganada u terapiji AB.^{117,118,120,121,136-138}

U sklopu svog istraživanja, Jiang i dr. (2021) su dizajnirali seriju analoga donepezila u kojima je piridintiazolski strukturni motiv povezan sa različitim funkcionalizovanim piperidinima etarskim mostom dužine do dve metilenske grupe.⁷⁴ Ideja ovog dizajna bila je da se postignu poboljšane interakcije sa AChE, i ostvari inhibicija GSK-3 β uvođenjem piridintiazolske farmakofore za koju je poznato da inhibira ovaj enzim. Sintetski put za dobijanje ovih derivata prikazan je na primeru jedinjenja **84** (shema 8). Posle acilovanja amino-piridina **75** kiselinom hloridom **76**, nitrilna grupa u nastalom karboksamidu **77** je prevedena u tiokarboksamid **78** (reakcija predstavlja adiciju H₂S na nitrilnu grupu, analogno hidrataciji). Specifična reaktivnost tiokarboksamidne grupe omogućava tandemsku reakciju sa brommalonom **79**, što uključuje prvo, S-alkilovanje, a zatim intramolekularno N-acilovanje, tako da postaje tiazolski prsten **80**. Zatim, reakcijom fenolne hidroksilne grupe dobijenog intermedijera **80** sa primarnom hidroksilnom grupom reaktanta **81**, pod uslovima Mitsunobu-ove reakcije, formira se etarska veza, a zatim, baznom estarskom hidrolizom, nastaje karboksilna kiselina **82**. Konačni proizvod **84** sintetisan je trivijalnim sintetičkim transformacijama, preko primarnog karboksamida **83**, a zatim, sukcesivnim, kiselo-katalizovanim razlaganjem Boc grupe i N-alkilovanjem postalog slobodnog piperidna pomoću 4-fluor benzilbromida.

Sva jedinjenja u ovoj seriji pokazala su se kao izuzetno jaki inhibitori hGSK-3 β i umereno jaki inhibitori holinesteraza. Dužina mosta između dve farmakofore je bitno uticala na aktivnost prema hAChE gde su derivati sa kraćim alkilenskim mostom pokazali manju aktivnost. Primarna karboksamidna grupa na tiazolskom prstenu je takođe bitno uticala na aktivnost; derivati kod kojih je ova grupa zamenjena metilkarboksamidom imali su znatno manju aktivnost prema hAChE. Jedinjenje **84** sa najboljim farmakološkim karakteristikama, posedovalo je N-(4-fluorbenzil)piperidin, povezan etarskim mostom dužine tri metilenske grupe, za piridintiazolski prsten koji na piridinskom prstenu sadrži ciklopropilkarboksamidnu grupu, a na tiazolskom prstenu primarnu karboksamidnu grupu. Prateći trend cele serije, jedinjenje **84** pokazalo je veoma visoku inhibitornu aktivnost prema hGSK-3 β (IC₅₀ = 0,003 μ M), a umereno visoku inhibiciju prema holinesterazama (IC₅₀ = 0,31 μ M za hAChE; 3,41 μ M hBuChE). Pored toga jedinjenje **84** je pokazalo nisku citotoksičnost i visoku permeabilnost kroz krvnomoždanu barijeru. Takođe, poseduje i antiinflamatorna i neuroprotektivna svojstva. *In vivo* testovima na miševima je utvrđeno da jedinjenje **84** poseduje značajnu oralnu bioraspoloživost i moždanu izloženost. Jedinjenje **84** je pokazalo da ima potencijal kao vodeće jedinjenje, u razvoju dualnih inhibitora AChE i GSK-3 β za terapijske svrhe.



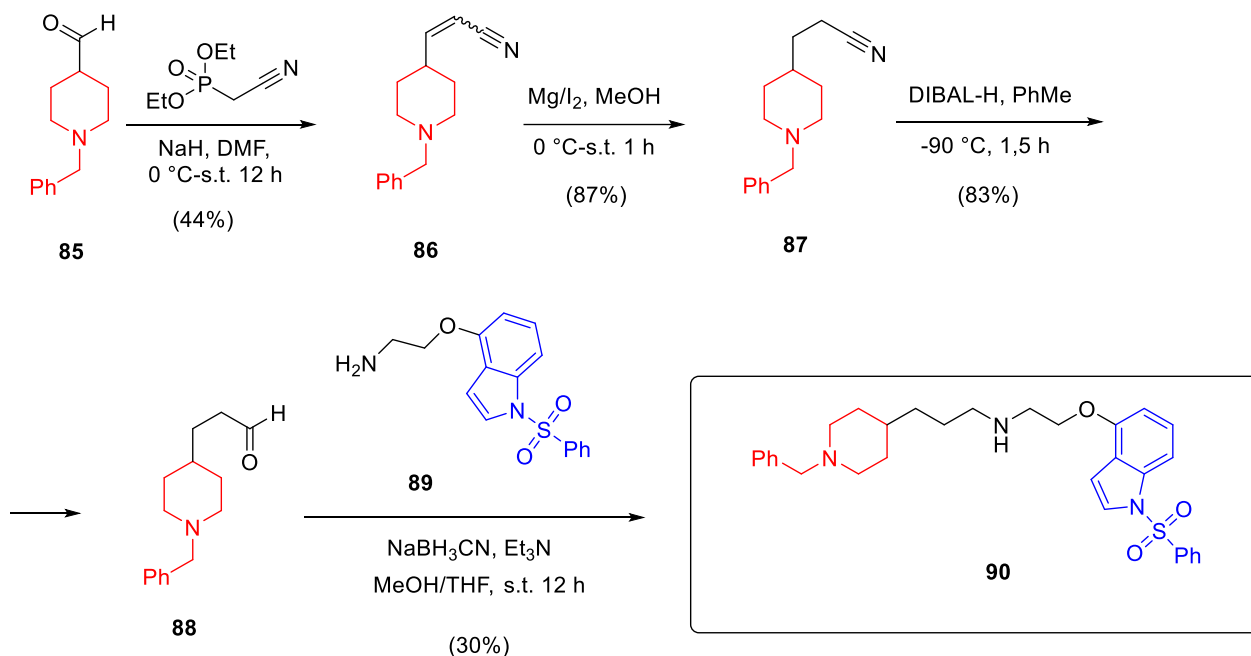
Shema 8. Sinteza piridintiazolskog analoga donepezila **84**

2.3.4. Analozi donepezila kao inhibitori holinesteraza i ligandi 5-HT₆ receptora

5-HT₆ je podtip 5-hidroksitriptaminskog (5-HT) receptora, za koji se vezuje neurotransmiter serotonin. 5-HT₆ receptori se uglavnom nalaze u neuronima mozga, i to u regionima striatuma, hipokampusa i cerebralnog korteksa, dakle onim koji su odgovorni za memoriju i učenje. Ovi receptori utiču na kognitivne funkcije, anksioznost i depresiju, koji kao što je rečeno predstavljaju važne simptome kod pacijenata obolelih od AB. Pored toga, postoje i dokazi da antagonisti 5-HT₆R receptora mogu imati efekat na smanjenje agregacije Aβ proteinskih naslaga.^{67,134,139} Stoga, antagonisti ovog receptora su u skorije vreme našli ulogu u razvoju potencijalnih, multidirekcionih terapeutika za lečenje AB.

Więckowski i dr. (2022) dizajnirali su analoge donepezila spajanjem *N*-benzilpiperidina i *N*-fenilsulfonylindola ili *N*-benzilbenzimidazolinona sa idejom da se dobiju jedinjenja koja bi bila farmakološki aktivna prema ChE i 5-HT₆R, korišćenjem derivata 2-aminoetoksi-supstituisanih indola koji su poznati kao 5-HT₆R antagonisti.¹³⁴ Jedinjenje **90** sa najboljim farmakološkim karakteristikama, sadrži *N*-fenilsulfonylindolski prsten vezan za *N*-benzilpiperidin,

propilaminoetiletoxi-linkerom. Sintetski pristup prikazan je na primeru dobijanja jedinjenja **90** (shema 9). U prvoj fazi Horner-Wadsworth-Emmons reakcijom aldehida **85** i dietilcijanometil-fosfonata, dobijen je akrilonitril **86**, a zatim je konjugovana dvostruka veza selektivno redukovana metalnim magnezijom do nitrila **87** u visokom prinosu. Redukcijom nitrila **87** pomoću DIBAL-a dobijen je aldehyd **88** u visokom prinosu. Reduktivnim aminovanjem aldehida **88** sa aminom **89** dobija se krajnji proizvod **90**.



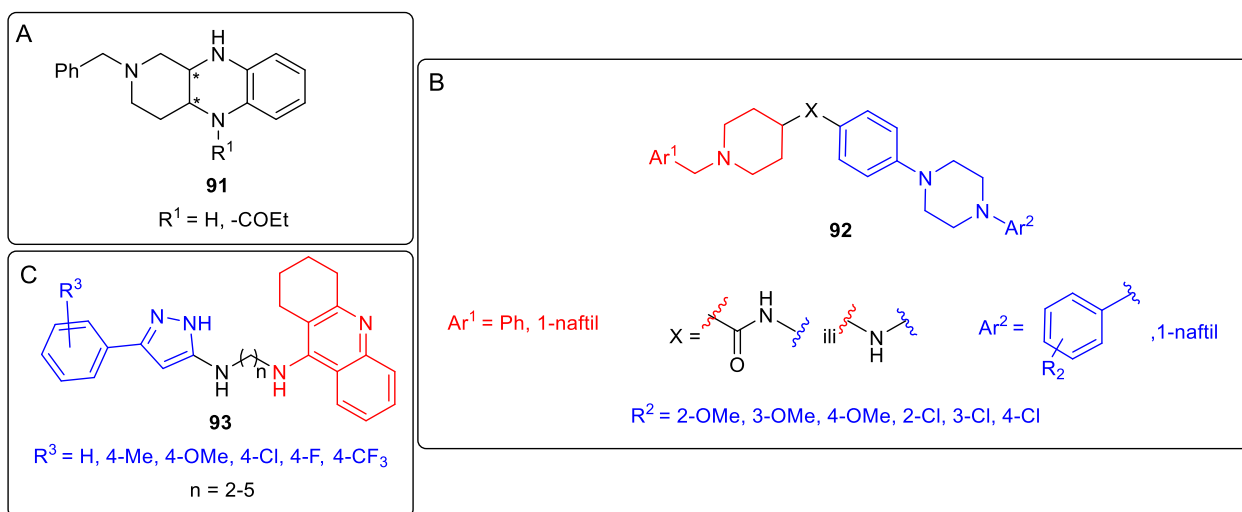
Shema 9. Sinteza fenilsulfonilindolskog analoga donepezila **90**

Većina jedinjenja u ovoj seriji pokazala su sličnu aktivnost prema *hAChE* i *hBuChE*, osim jedinjenja **90** koje je pokazalo selektivnost i visoku aktivnost prema *hBuChE* ($IC_{50} = 0,930 \mu M$ za *hAChE* i $0,016 \mu M$ za *hBuChE*). SAR analizom nađeno je da je povećanje dužine mosta u ovoj seriji imalo pozitivan uticaj na inhibitornu aktivnost prema oba enzima. Jedinjenje **90** je pokazalo visok afinitet prema 5-HT₆R receptoru ($K_i = 22nM$), i antoksidativnu aktivnost. U *in vitro* ispitivanjima na mikrozomima jetre pacova i čoveka, nađeno je da je jedinjenje **90** metabolički stabilno. Dodatno, jedinjenje **90** se pokazalo kao netoksično u testovima citotoksičnosti prema HepG2 ćelijama. Ove povoljne farmakološke karakteristike čine jedinjenje **90** vodećom strukturom za dalja pretklinička ispitivanja u razvoju dualnih ChE/5-HT₆R liganada.

3. NAŠI RADOVI

Osnovni cilj ovog istraživanja je dizajn i sinteza novih derivata takrina i donepezila, kao potencijalnih inhibitora holinesteraza, kao i *in vitro* ispitivanje njihove inhibitorne aktivnosti. Takođe je planirana doking analiza radi utvrđivanja interakcija koje ova jedinjenja ostvaruju sa enzimima i objašnjenja dobijenih farmakoloških rezultata. Tokom istraživanja, osmišljena je sinteza tri serije novih jedinjenja:

1. U okviru prve grupe jedinjenja, planirano je dobijanje novih heterocikličnih sistema opšte strukture **91**, koji predstavljaju derivate tetrahidrohinoksalina. Zbog strukturne sličnosti sa tricikličnim takrinskim jezgrom i zbog toga što poseduju *N*-benzilpiperidinski strukturni motiv prisutan u donepezilu, ova jedinjenja se u širem smislu mogu smatrati analogima takrina i donepezila (slika 16A).
2. U okviru druge grupe jedinjenja je planirano dobijanje derivata donepezila opšte strukture **92**, kod kojih su *N*-arilpiperidinski i *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinski strukturni motivi povezani karboksamidnim ili aminskim linkerom (slika 16B). Planirano je da piperidinski azot bude povezan sa benzil-grupom ili naftalen-1-ilmetil-grupom, dok bi sekundarna amino grupa u piperazinu trebalo da bude povezana sa fenil-grupom, 1-naftil-grupom ili regioizomernim metoksifenil- i hlorfenil-grupama.
3. U trećoj grupi jedinjenja planirana je sinteza derivata takrina i arilpirazola, opšte strukture **93** (slika 16C). Kod ovih jedinjenja planirano je da takrinsko jezgro bude spojeno sa fenil-, 4-metilfenil-, 4-metoksifenil-, 4-hlorfenil-, 4-fluorfenil- i 4-(trifluormetil)fenil-pirazolom preko aminskog linkera dužine dve do pet metilenskih jedinica.



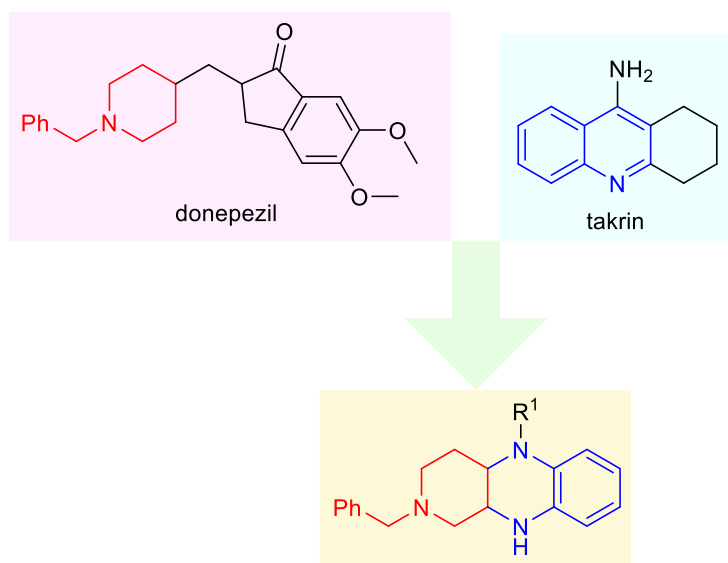
Slika 16. Novi derivati takrina i donepezila za koje je planirana sinteza i *in vitro* ispitivanje farmakološke aktivnosti u okviru ove disertacije

Sva krajnja jedinjenja sintetisana u okviru ove disertacije bila bi u širem ili užem smislu derivati poznatih inhibitora ChE, donepezila ili takrina. Samim tim bilo je očekivano da sintetisana jedinjenja pokažu inhibitornu aktivnost prema jednom ili oba enzima (AChE i/ili BuChE). Jedinjenja su dizajnirana kao potencijalni „*dual-binding site*” ligandi, što znači da bi trebalo se vezuju za periferno anjonsko mesto (PAM) i katalitički aktivno mesto (KAM) enzima i planirano je da se doking analizom dobiju podaci o interakcijama koje ova jedinjenja ostvaruju sa vezivnim mestom oba enzima.

3.1. Dizajn i sinteza

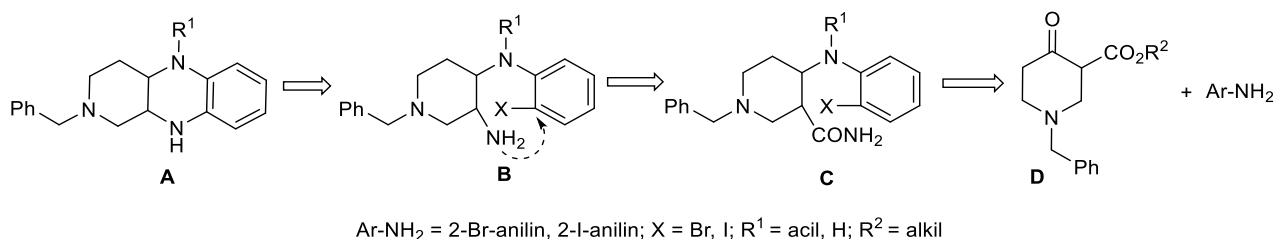
3.1.1. Sinteza tetrahidrohinoksalin/piperidinskog kombinovanog tricikličnog sistema kao hibrida takrina i donepezila

Dizajn novih heterocikličnih i poliheterocikličnih jedinjenja oduvek je privlačio pažnju hemičara koji se bave organskom sintezom i medicinskom hemijom zbog potencijalnih farmakoloških svojstava. U okviru ove disertacije sintetisana su tri jedinjenja opšte strukture **91**, (slika 16A) koja poseduju novi heterociklični sistem i mogu se u širem smislu smatrati hibridima takrina i donepezila. Novosintetisana jedinjenja sadrže *N*-benzilpiperidinski deo kondenzovan sa izmenjenim takrinskim jezgrom. *N*-benzilpiperidinski ostatak je često prisutan u derivatima donepezila i važan je strukturni motiv prepoznat kao farmakofora za acetilholin-esterazu, jer je u donepezilu odgovoran za ostvarivanje interakcija sa katalitičkim aktivnim mestom kod ovog enzima. Tetrahidrohinoksalinski deo molekula može se smatrati modifikovanim takrinskim jezgrom, označenim plavom bojom (slika 17). Ovaj strukturni motiv prisutan je u raznim jedinjenjima koja imaju farmakološku aktivnost, kao što su antagonisti prostaglandin D₂ receptora,¹⁴⁰ inhibitori transport proteina holesteril-estra,¹⁴¹ antitumorski agensi¹⁴² i drugi.¹⁴³⁻¹⁴⁵ Tri nova jedinjenja su dizajnirana sa ciljem da se ispita njihova inhibitorna aktivnost prema holinesterazama, prisustvo tri amino-grupe koje se mogu ortogonalno funkcionalizovati u različitim reakcionim koracima, moglo bi biti značajno u sintezi novih derivata sa ovim heterocikličnim jezgrom koje bi moglo poslužiti kao farmakofora za razne mete u organizmu.



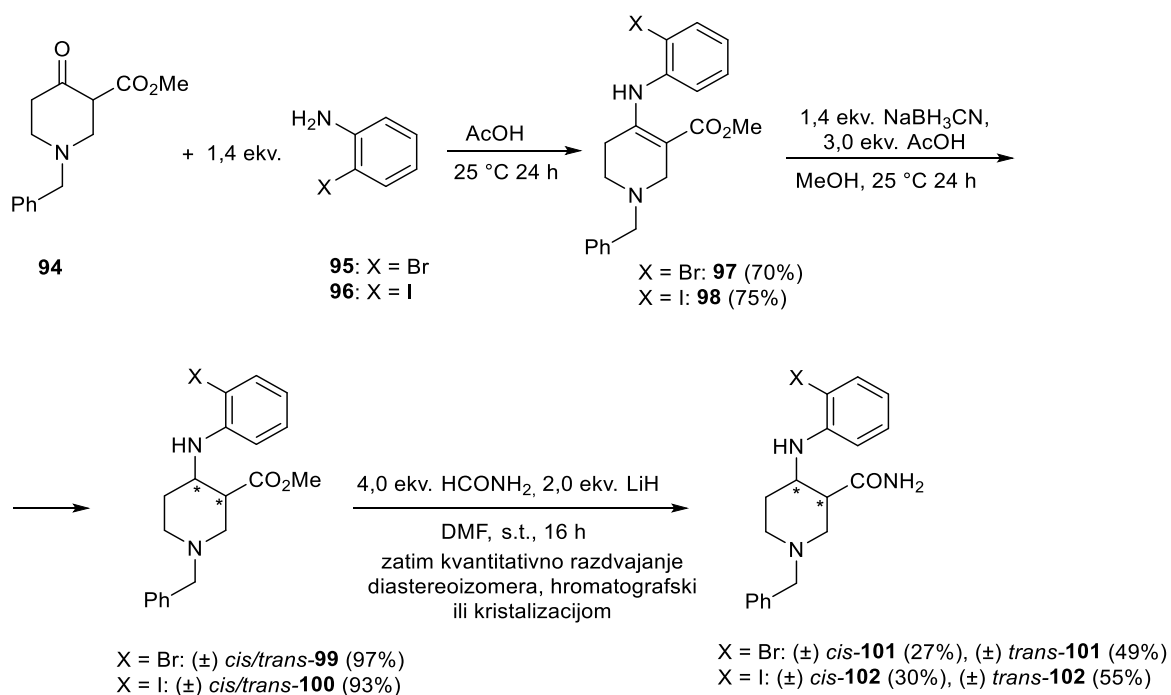
Slika 17. Racionalni dizajn jedinjenja koji sadrže kondenzovani tetrahidrohinoksalin i piperidin

Modifikacijom prethodno razvijene sinteze 3-aminofentanila opšte strukture **B** (shema 10), gde je X vodonik,^{146,147} zamišljeno je da analozi kod kojih je X jod ili brom, ciklizacijom reakcijom daju novi triciklični sistem opšte strukture **A** (**91**, slika 16).¹⁴⁸ Retrosintetički put za dobijanje ovog tricikličnog sistema polazi od β -ketoestra **D** (shema 10). Plan je bio da sintetički put bude sličan optimizovanom postupku za dobijanje 3-aminofentanila,^{146,147} s tom razlikom što bi umesto nesupstituisanog anilina bili korišćeni 2-bromanilin ili 2-jodanilin. Intramolekulskim Buchwald-Hartwig-ovim kuplovanjem ključnog intermedijera **B** nastao bi novi triciklični sistem **A**.



Shema 10. Retrosintetički put za dobijanje novog tricikličnog sistema

U prvom reakcionom koraku, 2-haloanilini **95** ili **96** kondenzovani su sa β -ketoestrom **94** čime su dobijeni stabilni enamini **97** i **98** u visokom prinosu (shema 11). β -Ketoestar **94**, iako komercijalno dostupan, sintetisan je u multigramskoj količini prema prethodno objavljenoj proceduri.¹⁴⁹ Redukcijom enamina **97** i **98** dobijeni su *cis/trans* anilinoestri **99** i **100** u skoro kvantitativnom prinosu (shema 11). Zanimljivo je da je ispitivanjem sirove smeše anilinoestra **99** i **100** pomoću ¹H NMR-a, nađeno da odnos diastereoizomera približno iznosi 3:2 u korist *cis*-diastereoizomera. Razlog formiranja *cis*-diastereoizomera u višku nije dalje ispitivan u okviru ove disertacije. Smeša *cis/trans* diastereoizomera **99** i **100** je korišćena u narednom koraku bez hromatografskog razdvajanja. Aminolizom *cis/trans* anilinoestra **99** i **100** pomoću formamida, reakcijom koja je ranije optimizovana u našoj laboratoriji,¹⁴⁶ dobijeni su karboksamidi **101** i **102** u visokom prinosu.



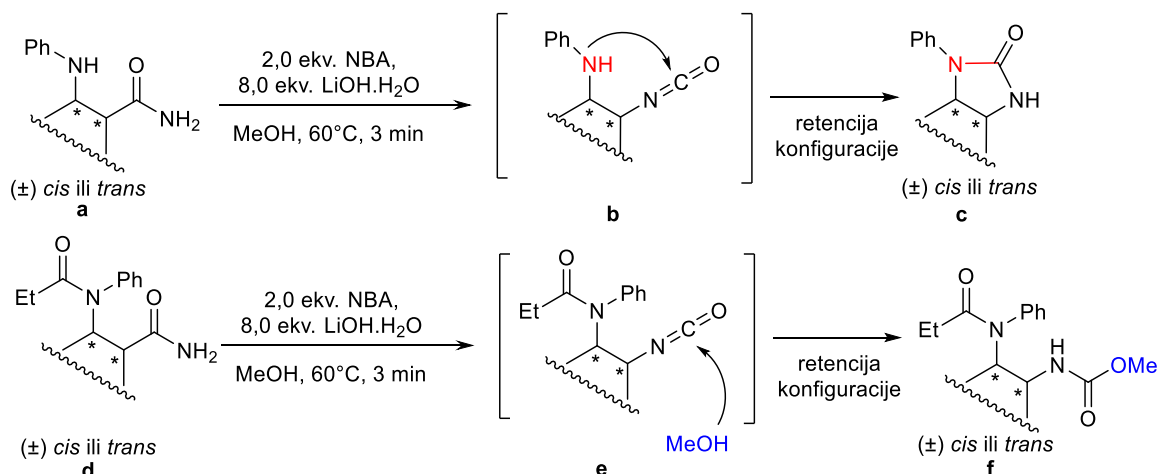
Shema 11. Sintetski put za dobijanje karboksamida **101** i **102**

Poznato je od ranije da u ovom reakcionom koraku dolazi do bazno-katalizovane epimerizacije gde odnos *cis/trans* diastereoizomera može varirati.¹⁴⁶ Odnos diastereoizomera karboksamida **101** i **102** okvirno je iznosio 2:1 gde je *trans*-diastereoizomer nastao u višku, najverovatnije iz sternih razloga, kao termodinamički stabilniji izomer. Dobijene smeše diastereoizomera kvantitativno su razdvojene hromatografijom ili kristalizacijom iz izopropanola čime su dobijeni karboksamidi *cis*-**101**, *trans*-**101**, *cis*-**102** i *trans*-**102**.

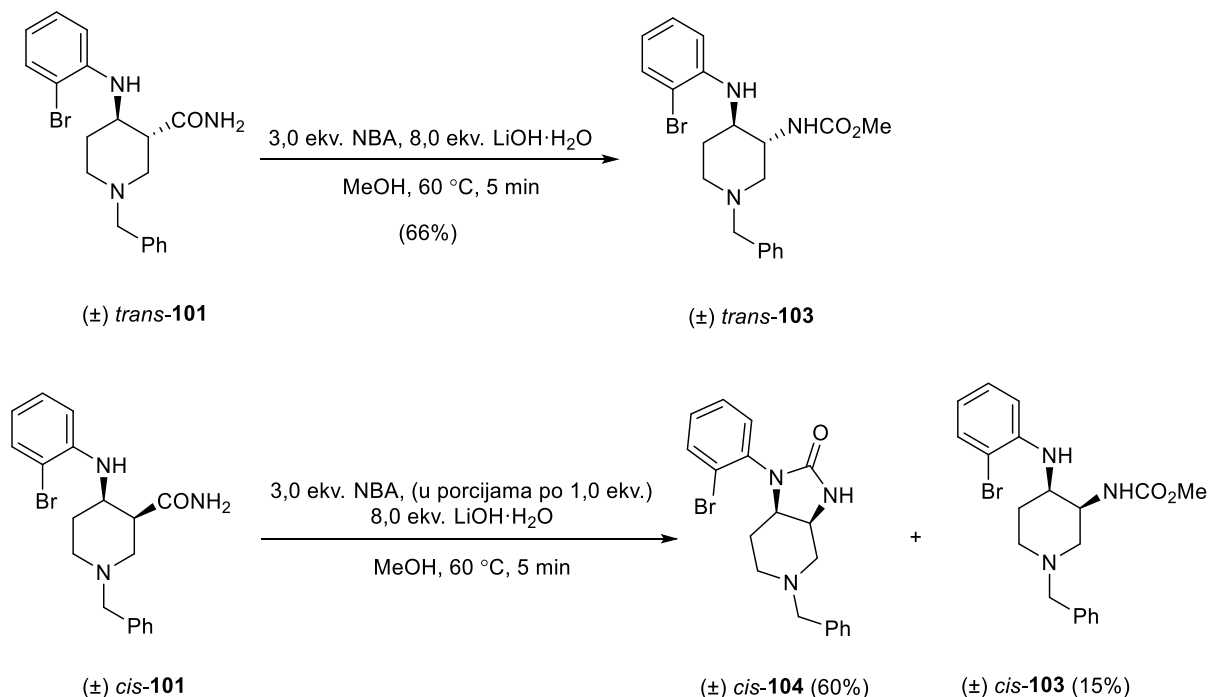
Kao deo retrosintetičkog plana, u sledećoj fazi istraživanja ispitano je dobijanje amina **B** (shema 10) pod uslovima Hofmann-ovog premeštanja. U okviru našeg prethodnog istraživanja, razvijena je jednostavna metoda za Hofmann-ovo premeštanje pod blagim uslovima uz pomoć

N-bromacetamida (NBA), LiOH · H₂O u MeOH (shema 12A).¹⁵⁰ Ova metoda se pokazala naročito pogodnom za Hofmann-ovo premeštanje karboksamida koji sadrže različite funkcionalne grupe i za uvođenje primarne amino-grupe u položaj C-3 piperidinskog prstena kod anilidopiperidina. Nađeno je da pod ovim uslovima kod anilinopiperidina bez supstituenata na fenilamino-grupi **a** Hofmann-ovim premeštanjem kao glavni proizvod nastaju ciklične uree **c** kao rezultat intramolekulskog nukleofilnog napada anilino-grupe na intermedijerni izocijanat **b**, dok su kod anilidopiperidina **d** intermolekulskim napadom MeOH na izocijanat **e** dobijeni karbamati **f** (shema 12A). U prethodnom istraživanju, ciklične uree nisu bile očekivani proizvod, jer pod tim uslovima uobičajeno nastaju karbamati.¹⁵⁰

A Prethodno istraživanje



B

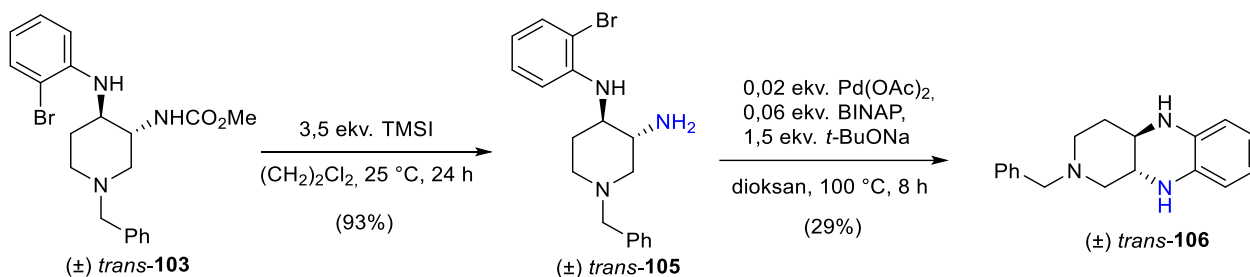


Shema 12. Ispitivanje Hofmann-ovog premeštanja na karboksamidu **101**

U sklopu ovog istraživanja, reakcija je prvo ispitana na anilinkarboksamidima *cis* i *trans*-**101** (shema 12B). Zanimljivo je da je u reakciji sa *trans*-**101** anilinopiperidinom nije dobijena ciklična urea, već je dobijen odgovarajući karbamat *trans*-**103** kao rezultat intermolekulske adicije MeOH na intermedijerni izocijanat. Pretpostavka je da zbog prisustva broma u orto položaju, iz sterno-elektronskih razloga ne nastaje ciklizacioni proizvod. Daljim

ispitivanjem ovog reakcionog koraka na karboksamidu *cis*-**101**, nađeno je da dolazi do formiranja dva proizvoda (shema 12B). U ovom slučaju pored karbamata *cis*-**103** koji je nastao u prinosu od 15% nastala je i ciklična urea *cis*-**104** i to u znatno većoj količini u odnosu na karbamat. Najverovatnije da je ovde sterni faktor najviše uticao na ishod reakcije, pa je zbog povoljnog položaja anilino-grupe i izocijanata u *cis* diastereoizomeru brže dolazilo do ciklizacije, nego do intermolekulske adicije MeOH i nastajanja karbamata. Analizom reakcionih uslova primećeno je da se u slučaju Hofmann-ovog premeštanja karboksamida *cis*-**101**, dodavanjem NBA u malim porcijama, smanjuje količina primesa i povećava prinos oba proizvoda. Kod karboksamida *trans*-**101** dodavanje NBA u porcijama nije imalo značajan uticaj na ishod reakcije.

Amin *trans*-**105** je zatim dobijen uklanjanjem karbamatne grupe iz karbamata *trans*-**103** u reakciji sa trimetilsilil-jodidom (TMSI), pod blagim uslovima i zaštićenom od svetlosti. Poslednji korak predstavljao je intramolekulsko Buchwald-Hartwig-ovo kuplovanje između primarne amino grupe u položaju C-3 piperidinskog prstena i 2-bromo anilina, pri čemu je formiran novi šestočlani prsten. Reakcija je izvedena pod standardnim reakcionim uslovima gde je Pd(OAc)₂ korišćen kao katalizator uz [1,1'-binaftalen]-2,2'-diil)bis(difenilfosfan), BINAP kao ligand i natrijum *tert*-butoksid (*t*-BuONa) kao baza u dioksanu. Krajnje jedinjenje *trans*-**106** dobijeno je u prinosu od 29% (shema 13). *Cis*-diastereoizomer nažalost nije mogao biti dobijen na ovaj način, jer je u reakciji *cis*-**103** sa TMSI nastajala smeša proizvoda u kojoj se nije mogao odrediti željeni amin. *Trans*-**106** predstavlja u osnovi novu klasu heterocikličnih jedinjenja i prvi hibrid takrina i donepezila ovog tipa. Iako ovo jedinjenje poseduje dve sekundarne amino-grupe u piperazinskom prstenu, koje bi se mogle dalje derivatizovati u cilju dobijanja novih struktura, selektivna derivatizacija bi u ovoj fazi bila teška. Da bi se pojednostavilo dobijanje funkcionalizovanih tetrahidrohinoksalinskih derivata ovog tipa, ispitane su modifikacije i funkcionalizacije u ranijim sintetskim koracima.

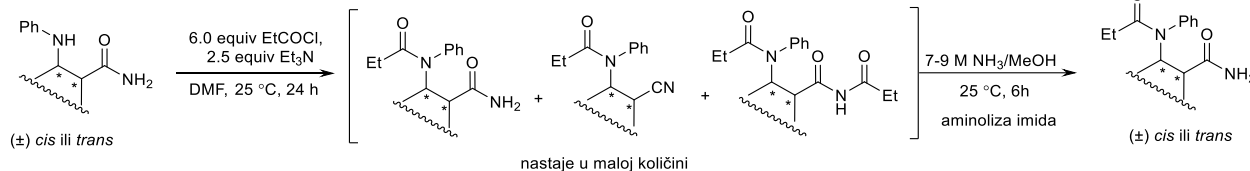


Shema 13. Dobijanje krajnjeg proizvoda *trans*-**106**

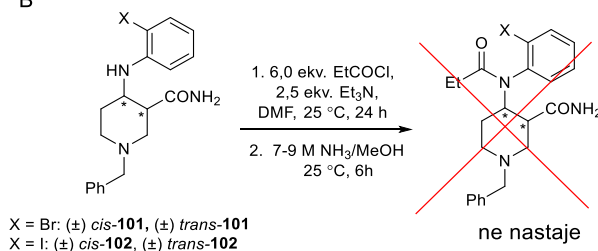
Alkanoilovanje anilinskog azota kod intermedijera **101** i **102** bio je jedan od mogućih načina za funkcionalizovanje ovog heterocikličnog sistema u ranijim fazama sinteze. Prethodno je na nesupstituisanim anilinopiperidinima optimizovana reakcija alkanoilovanja, jer se pokazalo da je zbog sterno–elektronskih smetnji anilinska amino-grupa u ovakvim strukturama značajno manje nukleofilna. Tako je nađeno da se alkanoilovanje u ovom slučaju efikasno izvodi samo uz pomoć propionil-hlorida kao acilujućeg reagensa i trietil-amina kao baze u *N,N*-dimetilformamidu kao rastvaraču (shema 14A).¹⁴⁶ U reakciji je pored odgovarajućeg karboksamida, nastajao i imid, kao proizvod neselektivnog alkanoilovanja anilino-grupe i karboksamido-grupe, ali u maloj meri i nitril, kao proizvod dehidratacije primarne karboksamidne grupe. Aminolizom rastvorom amonijaka u metanolu u sledećoj fazi, imid je preveden u željeni karboksamid, dok je nitril uklonjen “dry-column flash” hromatografijom.¹⁴⁶ U okviru ove disertacije, reakcija alkanoilovanja ispitana je na anilinopiperidinima **101** i **102** ali je nađeno da pod ovim uslovima ne dolazi do reakcije (shema 14B). Najverovatnije je prisustvo elektron-privlačnih halogena (Br i I) u *orto* položaju arilamino-grupe dodatno uticalo

na smanjenu nukleofilnost anilinske amino-grupe (shema 14B). Kako bi se ovaj problem prevazišao ispitan je uticaj različitih acilujućih reagenasa i baza kao i dodatak katalizatora (tabela 1). Sve reakcije su izvođene u DMF kao polarnom aprotičnom rastvaraču koji je u našem ranijem istraživanju sa sličnim jedinjenjima dao najbolje rezultate.

A Prethodno istraživanje



B


Shema 14. Neuspešan pokušaj alkanoilovanja anilinopiperidina **101** i **102**

Zamena EtCOCl acetil-hloridom (MeCOCl), kao jačim acilujućim reagensom, nije imala značajan uticaj na ishod reakcije pod ovim uslovima (tabela 1, red 2). Primenom elektrofilnijeg propionil-bromida (EtCOBr), primećeno je nastajanje manje količine očekivanog proizvoda **107**. Upotreba *N,N*-dimetilaniлина (*N,N*-DMA) kao baze nije imala uticaja na poboljšanje reakcije sa EtCOBr, čak ni sa povećanjem temperature na 50 °C (tabela 1, red 4 i 5). Uz piridin kao bazu, nije primećeno nastajanje proizvoda **107**, dok je K₂CO₃ imao isti efekat kao Et₃N (tabela 1, red 6 i 7). Najzad, dodatkom katalitičke količine 4-dimetilaminopiridina (DMAP) uz piridin kao bazu, došlo je do potpune konverzije polaznog jedinjenja **101**. Ispitana je i stehiometrijska količina DMAP-a ali se nije mogao lako ukloniti iz reakcione smeše. Istovetno prethodno razvijenom sintetskom postupku¹⁴⁶ i ovde je primećeno nastajanje imida **109** i **110** koji nisu izolovani ali su detektovani tankoslojnom hromatografijom (TLC, *Thin layer chromatography*) nakon prve faze reakcije (shema 15). Nastajanje nitrila kao sporednih proizvoda u ovom slučaju nije primećeno.

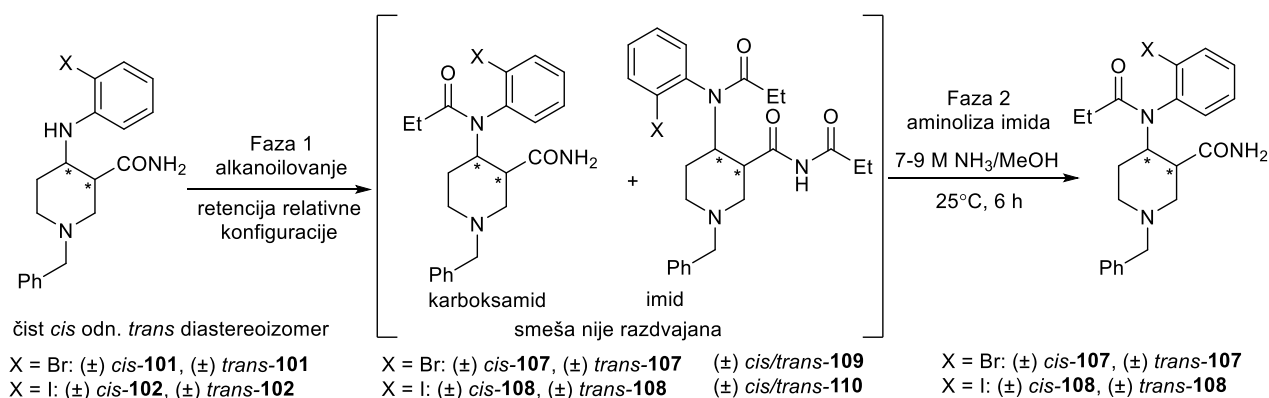

Shema 15. Alkanoilovanje anilinopiperidina **101** i **102**

Tabela 1. Optimizacija reakcije alkanoilovanja karboksamida **101** i **102**

Red	Acilijući reagens	Baza	katalizator	Rastvarač	Temperatura (°C)	Tok reakcije ^{a,b}	Konverzija reaktanata ^c
1	EtCOCl	Et ₃ N	/	DMF	25	nema reakcije	0%
2	MeCOCl	Et ₃ N	/	DMF	25	nema reakcije	0%
3	EtCOBr	Et ₃ N	/	DMF	25	nepotpuna reakcija	50%
4	EtCOBr	<i>N,N</i> -DMA	/	DMF	25	nepotpuna reakcija	50%
5	EtCOBr	<i>N,N</i> -DMA	/	DMF	50	nepotpuna reakcija	50%
6	EtCOBr	piridin	/	DMF	25	nema reakcije	0%
7	EtCOBr	K ₂ CO ₃	/	DMF	25	nepotpuna reakcija	50%
8	EtCOBr	piridin	DMAP	DMF	25	potpuna reakcija	100%

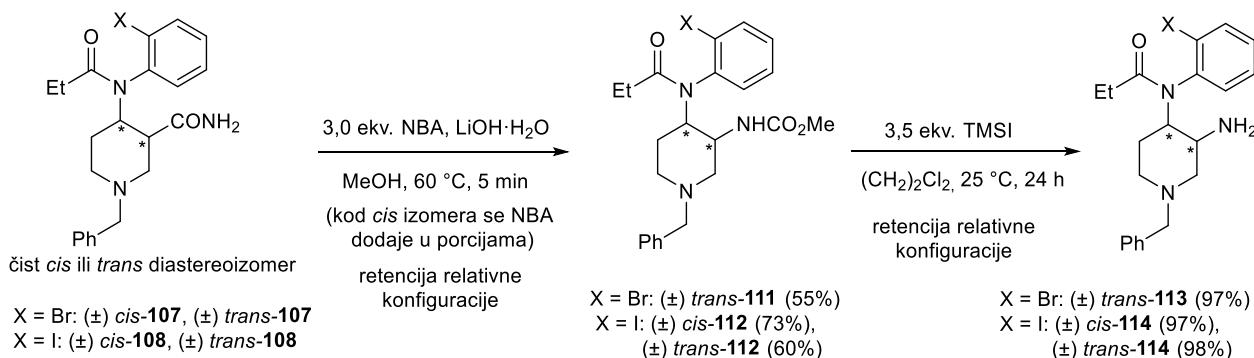
^a Sve reakcije su izvedene u vremenskom opsegu od 24 h, zatim je izvršena aminoliza postale smeše pomoću NH₃/MeOH.

^b Svi uslovi su testirani na *cis/trans*-**101** smeši, i tok reakcije praćen je TLC hromatografijom.

^c Procenjeno uz pomoć tankoslojne hromatografije.

U sledećoj fazi imido-grupa je prevedena u karboksamidnu grupu uz pomoć rastvora amonijaka u metanolu (shema 15). Nukleofilnom adicijom NH₃ na bilo koju karbonilnu grupu imida **109** i **110** udaljava se propanamid, i dobijeni su karboksamidi **107** i **108** u kvantitativnom prinosu dok je ukupan prinos dobijenih karboksamida nakon alkanoilovanja i aminolize imida iznosio od 78 do 94% (shema 15). Ova reakcija pokazuje punu hemoselektivnost, jer su imidi (posebno aciklični) daleko reaktivniji od bilo kog karboksamida, zbog čega nema sporednih reakcija odn. proizvoda, kao npr. hipotetične aminolize propionanilidne grupe.

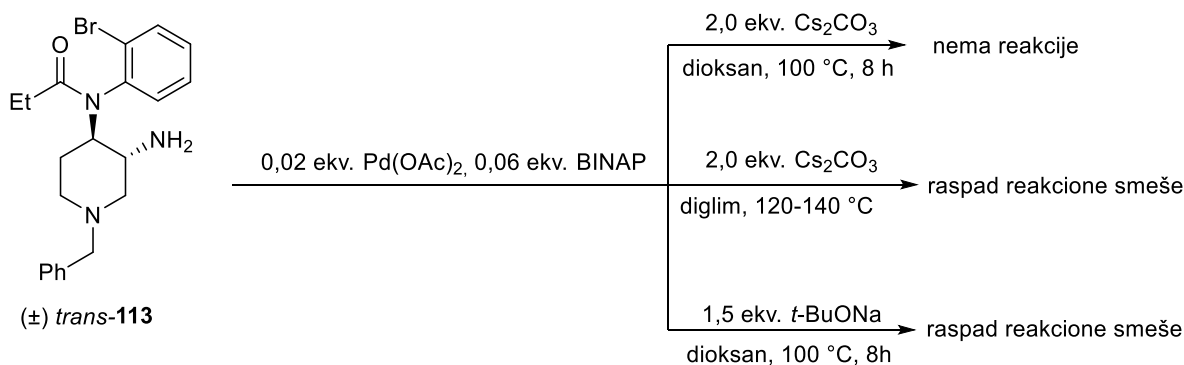
U nastavku sintetskog puta planirano je Hofmann-ovo premeštanje karboksamida **107** i **108** (shema 16). U ovoj reakciji dobili su se slični rezultati kao kod Hofmann-ovog premeštanja karboksamida *cis/trans*-**101**. Tako su iz karboksamida *trans*-**107** i **108** dobijeni karbamati *trans*-**111** i **112** pod ranije optimizovanim uslovima, dok je za Hofmann-ovo premeštanje *cis*-diastereoizomera **108** bilo neophodno dodavati NBA u porcijama, jer dodavanje cele količine NBA od jednom pretežno dovodi do raspada reakcione smeše. *Cis*-karbamat **111** nije sintetisan jer je u međuvremenu pretragom literature nađeno da 2-jod derivati lakše podležu intramolekulskom Buchwald-Hartwig-ovom kuplovanju.


Shema 16. Dobijanje anilidopiperidina *trans*-**113**, *trans*-**114** i *cis*-**114**

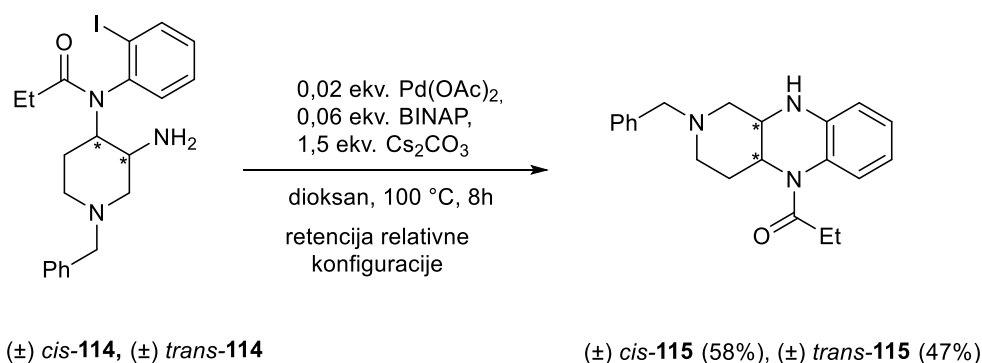
Selektivnim uklanjanjem karbamatne grupe pod prethodno opisanim uslovima dobijeni su diamini *trans*-**113**, *trans*-**114** i *cis*-**114** u skoro kvantitativnom prinosu (shema 16).

Poslednji reakcioni korak bio je intramolekulsko Buchwald-Hartwig kuplovanje anilidopiperidina **113** i **114**. Za početak je ova reakcija ispitivana na anilidopiperidinu *trans*-**113**, prema poznatim literaturnim metodama. Dok uz prisustvo Cs₂CO₃ kao baze, u ključalom dioksanu nije bilo reakcije, promenom rastvarača i povećavanjem temperature, kao i upotrebom jače baze (*t*-BuONa), dolazilo je do raspada reakcione smeše (shema 17A). Menjanje količine BINAP-a i Pd(OAc)₂ nije imalo uticaja na ishod reakcije. Iz literature je poznato da aril-jodidi bolje reaguju u intramolekulskoj Buchwald-Hartwig-ovoj reakciji¹⁵¹ pa se to pokazalo i u slučaju anilidopiperidina *cis*-**114** i *trans*-**114** kod kojih je brom zamenjen jodom. Novi heterociklični sistemi *cis*-**115** i *trans*-**115** dobijeni su pod umerenim uslovima i u zadovoljavajućem prinosu, uz retenciju konfiguracije (shema 17B).

A



B



Shema 17. Dobijanje krajnjih proizvoda *trans*-**115** i *cis*-**115**

Jedinjenja *cis*-**115** i *trans*-**115** predstavljaju još dva primera nove klase heterocikličnih jedinjenja. Dobijanje oba diastereoizomera je od značaja, jer prikazuje primenljivost sintetičkog puta, pogotovo kod reakcije ciklizacije. Takođe, ovi heterociklični derivati su pogodno funkcionalizovani za dalje modifikacije, i kao takvi mogu biti prekursori potencijalnih farmakološki aktivnih supstanci. Piperidinski azot zaštićen benzil grupom može se deprotektovati i iskoristiti kao reaktivna sekundarna amino grupa. Jedan od piperazinskih azota je slobodan i može se nezavisno acilovati ili alkilovati, dok je drugi piperazinski azot zaštićen u sklopu karboksamidne grupe.

Struktura intermedijera i krajnjih proizvoda iz prve serije određena je uz pomoć IR, 1D i 2D NMR spektroskopije, pored toga, za krajnja jedinjenja, bruto formula je dokazana masenim spektrima visoke rezolucije (HRMS), sa zadovoljavajućom tačnošću (greška ± 5 ppm).

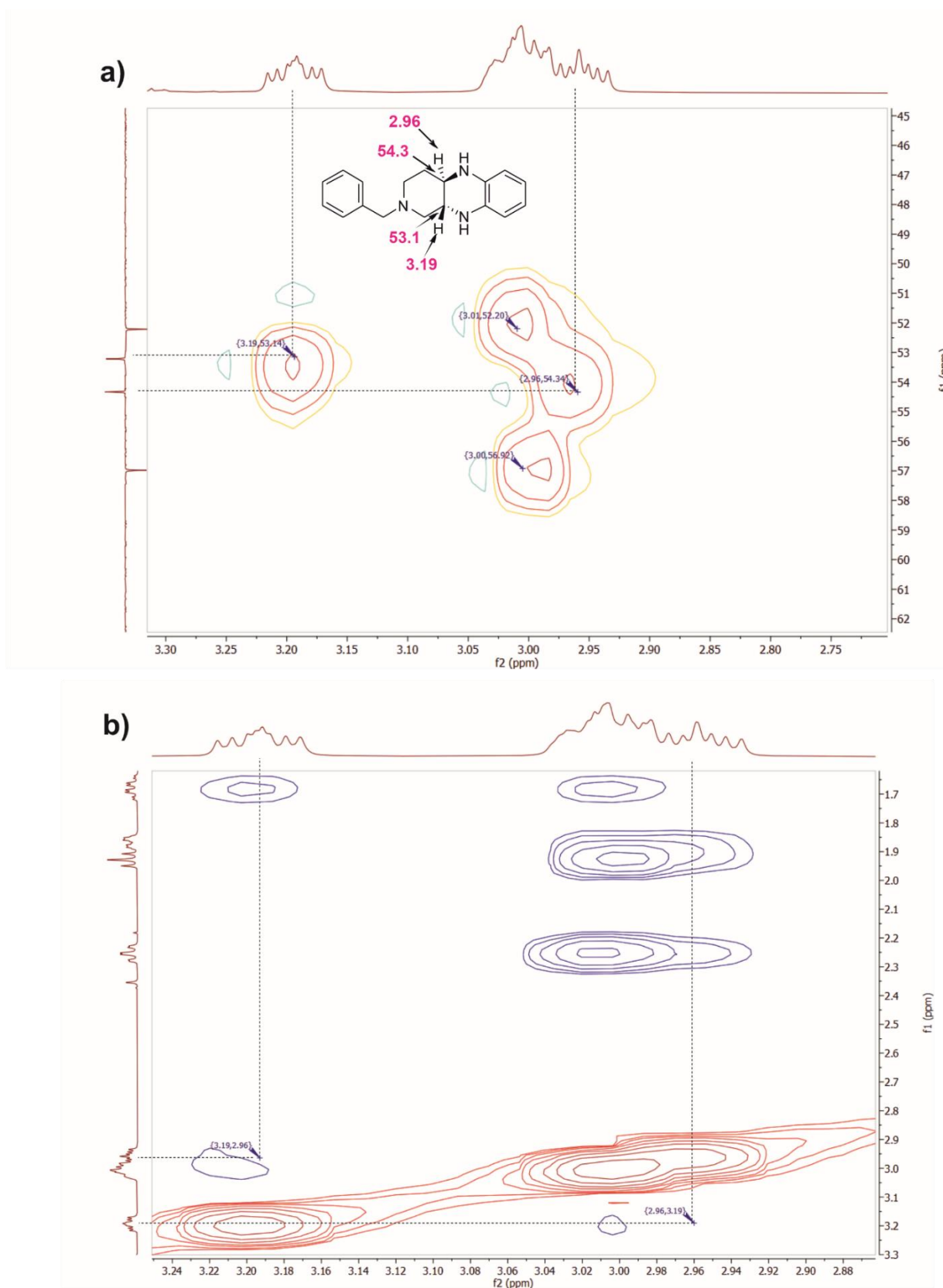
HSQC eksperimentima određeno je kuplovanje C i H atoma preko jedne veze. Za jedinjenja *trans-115* i *cis-115* izvedeni su HSQC-DEPT eksperimenti, koji daju istu informaciju kao i DEPT135 eksperimenti, gde su korelacije koje potiču od CH i CH₃ grupa na spektrima obeležene plavim izohipsama a CH₂ grupe crvenim kod jedinjenja *trans-115*, dok su kod *cis-115* korelacije koje potiču od CH i CH₃ grupa na spektrima obeležene crvenim izohipsama a CH₂ grupe plavim. Kod sva tri jedinjenja u HSQC spektrima jasno se uočava C-H korelacija signala. Za jedinjenje *trans-106* urađen je klasičan HSQC eksperiment gde su korelacije različitih C-H signala prikazane izohipsama jedne (crvene) boje.

Za određivanje relativne konfiguracije na položajima C-3 i C-4 piperidinskog prstena korišćeni su NOESY eksperimenti. U NOESY spektrima, korelacije između susednih, vicinalnih H atoma zavise od njihove prostorne blizine. Na osnovu intenziteta kuplovanja susednih H atoma na C-3 i C-4 položajima piperidina i poređenjem, ako postoje, oba diastereoizomera određena je relativna *cis/trans* konfiguracija jedinjenja **106** i **115**.

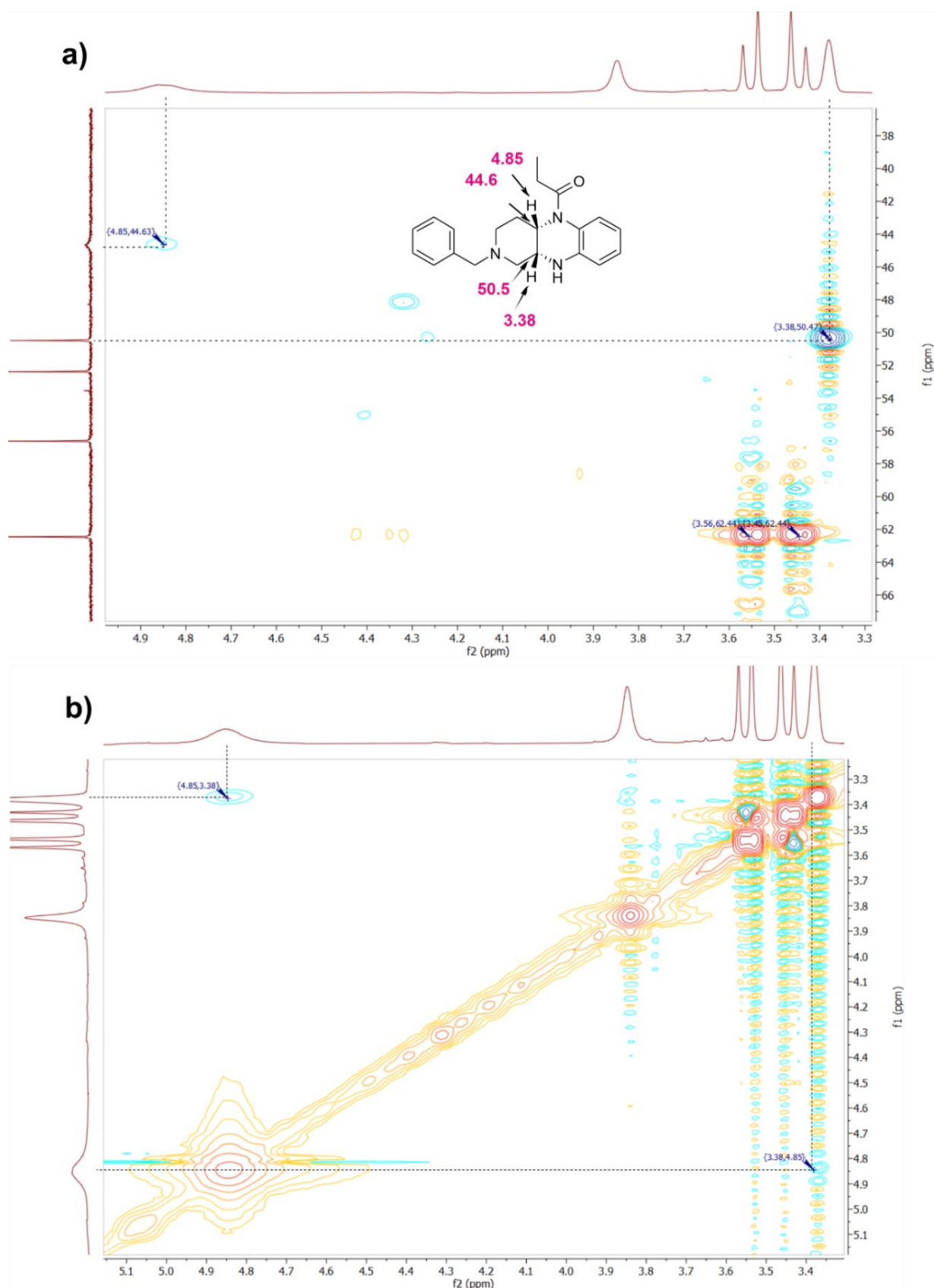
NOESY spektar jedinjenja *trans-106* nije bilo moguće uporediti sa spektrom *cis*-izomera, jer to jedinjenje nije sintetisano. Međutim, pošto je od ranije poznato u kojim sintetičkim koracima dolazi do retencije konfiguracije, i uzimajući u obzir slabe međusobne interakcije H atoma na C-3 i C-4, sa velikom sigurnošću se može zaključiti da relativna konfiguracija zaista i jeste *trans* kod *trans-106* (slika 18).

Kod *cis-115*, H atomi na C-3 i C-4 nalaze se sa iste strane piperidinskog prstena i prostorno su bliski, dok su kod *trans*-diastereoizomera orijentisani na suprotne strane prstena i prostorno udaljeni jedan od drugog. Iz ovog razloga su korelacije H atoma na C-3 i C-4 kod *cis*-izomera u NOESY spektru jače nego kod *trans*-izomera (slike 19 i 20).

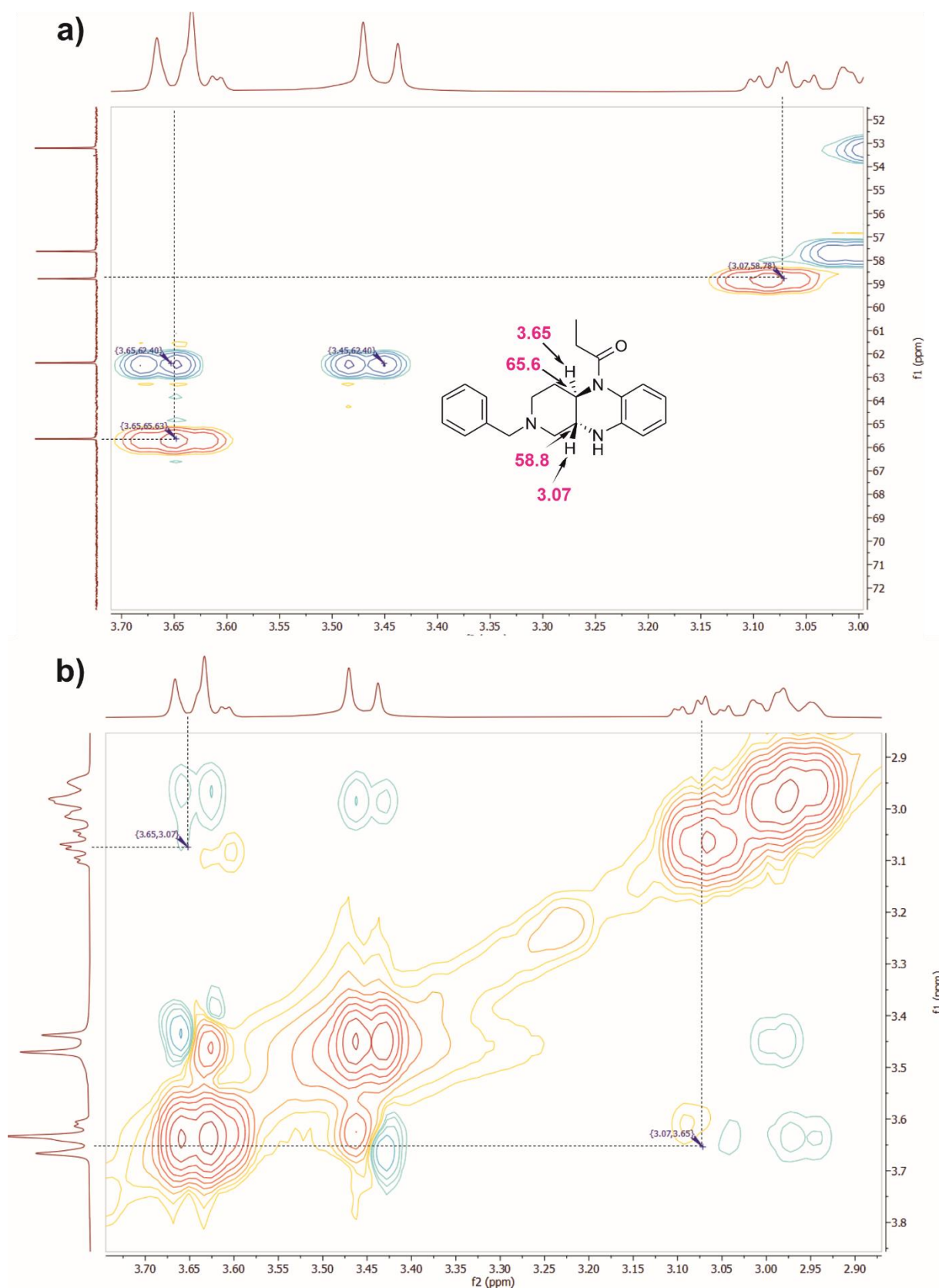
U daljem tekstu prikazani su regioni HSQC i NOESY spektara koji su relevantni za određivanje relativnih konfiguracija krajnjih jedinjenja *trans-106*, *trans-115* i *cis-115* (Slike 18-20). Prikazane su i približne proračunate konformacije za jedinjenja *trans-115* i *cis-115* na kojima su obeleženi susedni H-atomi (H_{C3} i H_{C4}) koji definišu *cis/trans* konfiguraciju (slika 21).



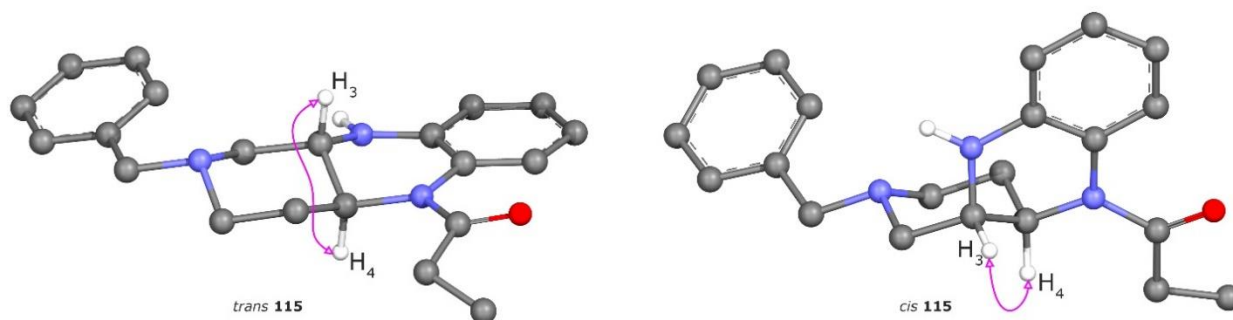
Slika 18. a) Region HSQC spektra koji prikazuje korelacije C-H signala relevantnih za određivanje konfiguracije (C-3 i H_{C3}, C-4 i H_{C4}); b) Deo NOESY spektra koji potvrđuje *trans* relativnu konfiguraciju jedinjenja *trans*-106. Korelacija između H_{C3} (3,19 ppm) i H_{C4} (2,96 ppm) izuzetno je slaba, što ukazuje na *trans* konfiguraciju.



Slika 19. a) Deo HSQC spectra koji prikazuje korelacije C-H signala relevantnih za određivanje konfiguracije (C-3 i H_{C3}, C-4 i H_{C4}); b) Deo NOESY spektra koji potvrđuje *cis* relativnu konfiguraciju jedinjenja *cis*-115. Korelacija između H_{C3} (3,38 δ) i H_{C4} (4,85 δ) prikazana je plavim izohipsama.



Slika 20. a) Region HSQC spektra koji prikazuje korelacije C-H signala relevantnih za određivanje konfiguracije (C-3 i H_{C3}, C-4 i H_{C4}); b) Deo NOESY spektra koji potvrđuje *trans* relativnu konfiguraciju jedinjenja *trans*-115. Korelacija između H_{C3} (3.07 ppm) i H_{C4} (3.65 ppm) izuzetno je slaba, što ukazuje na *trans* konfiguraciju.

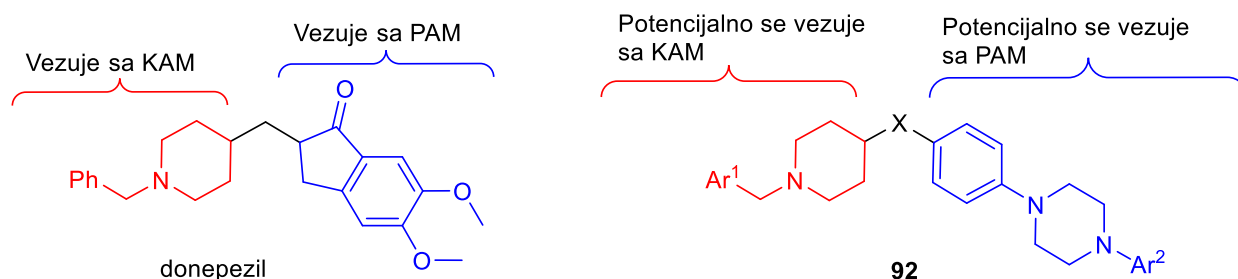


Slika 21. Približne, proračunate konformacije za *trans*-115 i *cis*-115 (prikazani su samo H atomi u četvorovima prstena kao i N-H)

3.1.2. Sinteza *N*-benzilpiperidin/*N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinskih analoga donepezila

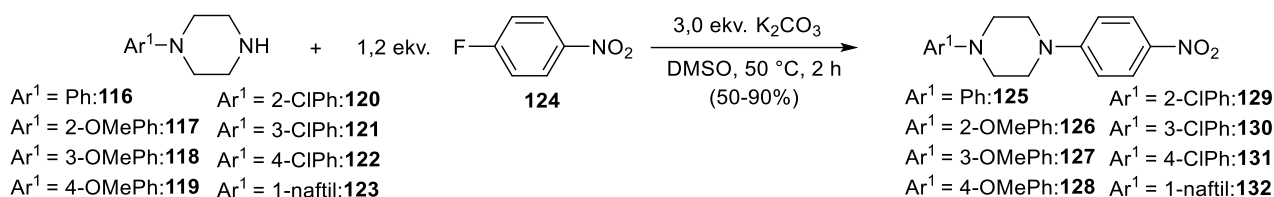
Kao što je naglašeno u uvodnom delu, istraživanja su pokazala da je poželjno da se inhibitori holinesteraza vezuju u PAM i KAM enzima. Na taj način se može ostvariti više interakcija sa vezivnim mestom enzima i potencijalno uticati i na druge mete u patologiji AB, kao što je na primer agregacija β -amiloida. Donepezil je komercijalno dostupan ChE inhibitor koji se koristi u terapiji AB i za njega je kristalografskom analizom utvrđeno da se vezuje u PAM i KAM AChE (slika 22).¹²⁹ Veliki broj istraživanja se i danas bavi razvojem novih derivata donepezila, radi poboljšanja farmakološkog profila. Kod ovih jedinjenja najčešće je zadržan *N*-benzilpiperidinski deo molekula, koji se vezuje u KAM enzima, dok se indanonski deo molekula zamenjuje različitim aromatičnim strukturnim motivima. Ovakav pristup potencijalno omogućava poboljšane interakcije sa PAM-om AChE, kao i ciljanje drugih meta u patologiji AB.

S druge strane arilpiperazini su čest strukturni motiv u mnogim biološki aktivnim jedinjenjima, često prisutni u antipsihoticima i α -adrenergičkim antagonistima.^{152,153} U skorijim istraživanjima našli su ulogu i u inhibiciji holinesteraza.^{67,133,154} U pregledu literature nije pronađeno da su jedinjenja, kod kojih su *N*-benzilpiperidinska i *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinska farmakofora povezane, ispitana na metama u patologiji Alchajmerove bolesti. Na osnovu toga, u okviru ovog istraživanja sintetisana je serija analoga donepezila, opšte strukture **92** (slika 22) kod kojih je bilo očekivano da se *N*-benzilpiperidinski i *N*-metilnaftilpiperidinski strukturni motivi vezuju u KAM, kao i kod donepezila, dok bi *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinska farmakofora ostvarila interakcije sa PAM-om enzima.¹⁵⁵

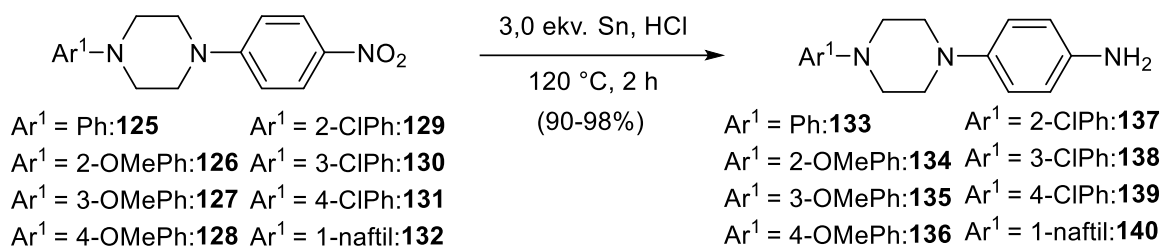


Slika 22. Racionalni dizajn *N*-benzilpiperidin/*N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinskih analoga donepezila

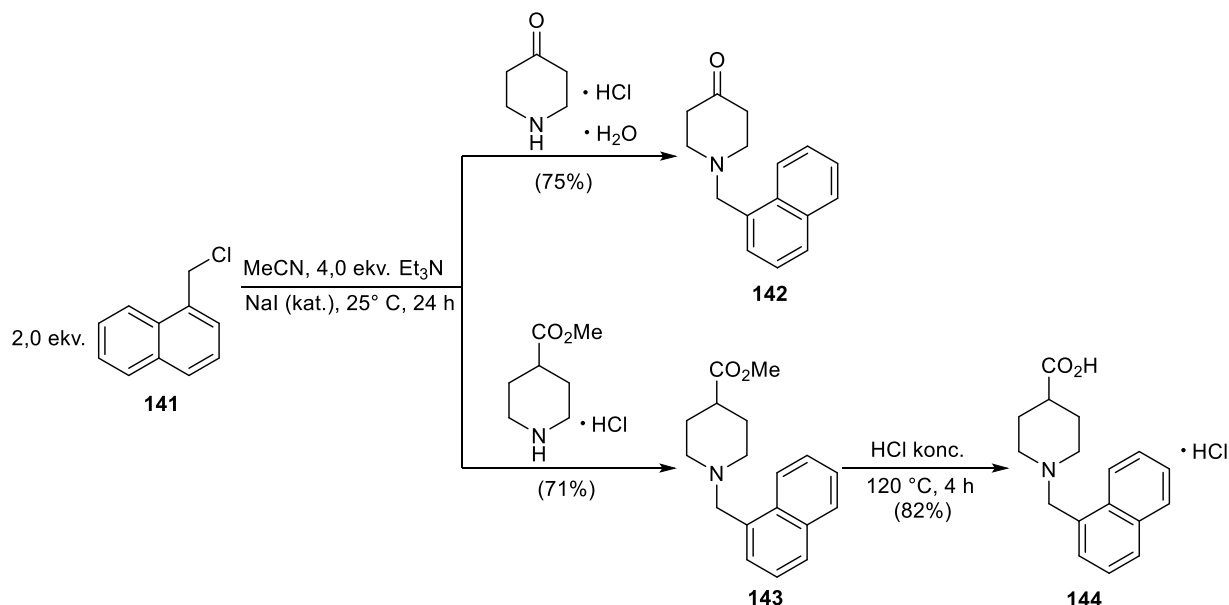
*N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinski gradivni blok sintetisan je u dva reakciona koraka. Prvo su u reakciji nukleofilne aromatične supstitucije (S_NAr), komercijalno dostupnih *N*-arilpiperazina **116–123** i 1-fluor-4-nitrobenzena **124**, dobijeni intermedijeri sa nitro-grupom **125–132** koji su od ranije poznati u literaturi¹⁵⁶ (shema 18). Pod blagim reakcionim uslovima, poznatim od ranije u literaturi, jedinjenja **125–132** su nastala u umerenom do visokom prinosu.¹⁵⁶


Shema 18. Dobijanje nitro-intermedijera **125–132**

U drugom koraku izvedena je redukcija nitro-grupe uz pomoć elementalnog kalaja, u ključaloj HCl, po već poznatoj proceduri (shema 19), a amini **133–140** koji su od ranije poznati u literaturi dobijeni su u visokom prinosu.¹⁵⁶

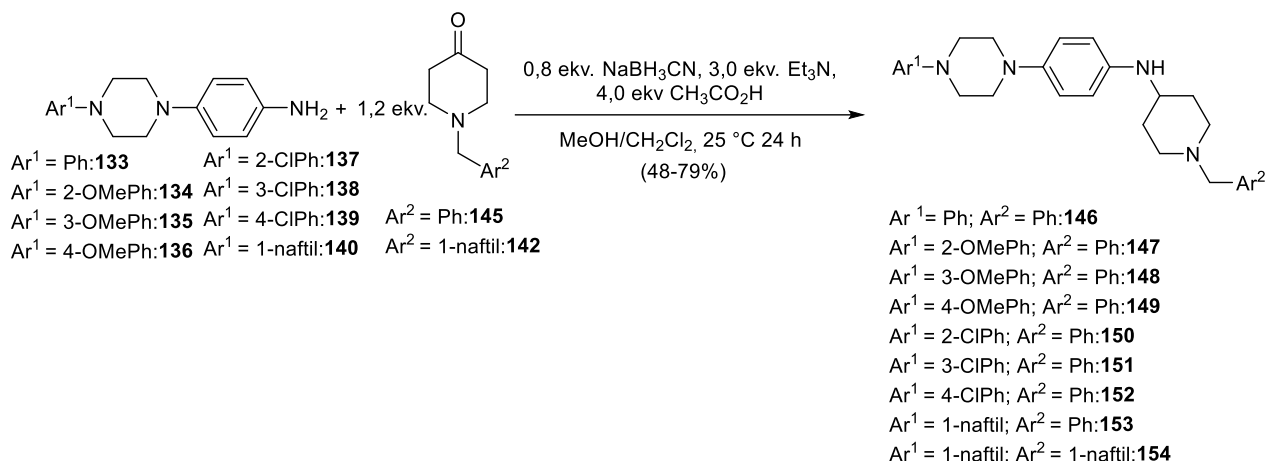

Shema 19. Dobijanje amina **133–140**

Kao *N*-benzilpiperidinski gradivni blok korišćeni su komercijalno dostupni *N*-benzilpiperidon i *N*-benzilpiperidin-4-karboksilna kiselina, a sintetisani su i analozi kod kojih je fenil-grupa zamenjena naftil-grupom (shema 20). *N*-metilnaftalenpiperidon **142** sintetisan je direktnim alkilovanjem 4-piperidona u visokom prinosu, a *N*-metilnaftalen-4-karboksilna kiselina **144** dobijena je u dva koraka. U prvom koraku alkilovanjem metil estra izonipekotinske kiseline, pod uslovima istim kao i kod alkilovanja 4-piperidona, dobijen je estar **143** u visokom prinosu. Hidrolizom estra u ključaloj hlorovodoničnoj kiselini dobijena je *N*-metilnaftalen-4-karboksilna kiselina **144** u visokom prinosu.


Shema 20. Dobijanje *N*-metilnaftalenpiperidona **142** i *N*-metilnaftalen-4-karboksilne kiseline **144**

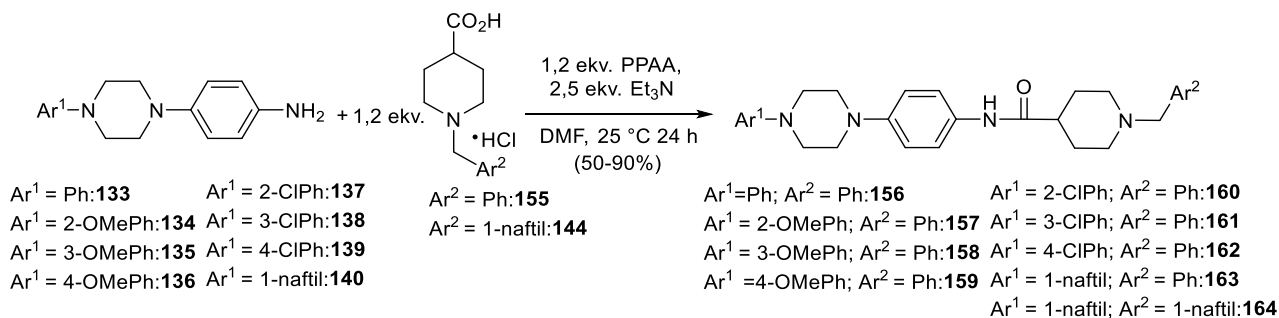
Spajanjem dva gradivna bloka preko amino-grupe ili karboksamidne grupe dobijene su dve grupe jedinjenja u ovoj seriji. Prva grupa jedinjenja, kod kojih su *N*-benzil i *N*-naftilmetilpiperidinski strukturni motiv povezani sa *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinima preko

amino-grupe, dobijeni su reakcijom reduktivnog aminovanja prethodno dobijenih *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinskih amina **133–140** i *N*-benzilpiperidona **145** ili *N*-metilnaftalenpiperidona **142** (shema 21). Iako se u reakcijama reduktivnog aminovanja najčešće koristi MeOH kao rastvarač, u ovom slučaju je zbog slabe rastvorljivosti međuproizvoda koji nastaju, korišćena smeša rastvarača MeOH/CH₂Cl₂. Radi održavanja optimalne pH vrednosti reakcione smeše (pH = 6–7) korišćen je puferski sistem Et₃N i CH₃CO₂H. Pod ovim reakcionim uslovima krajnji proizvodi **146–154** dobijeni su u umerenom do visokom prinosu. Pod ovim reakcionim uslovima većina krajnjih proizvoda je dobijena u prinosu od 48-79% pri čemu razlika u prinosima nije mogla da se objasni različitim uticajem supstituenata na aromatičnim ostacima *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazina ili *N*-arilpiperidona.



Shema 21. Dobijanje analoga donepezila **146–154**

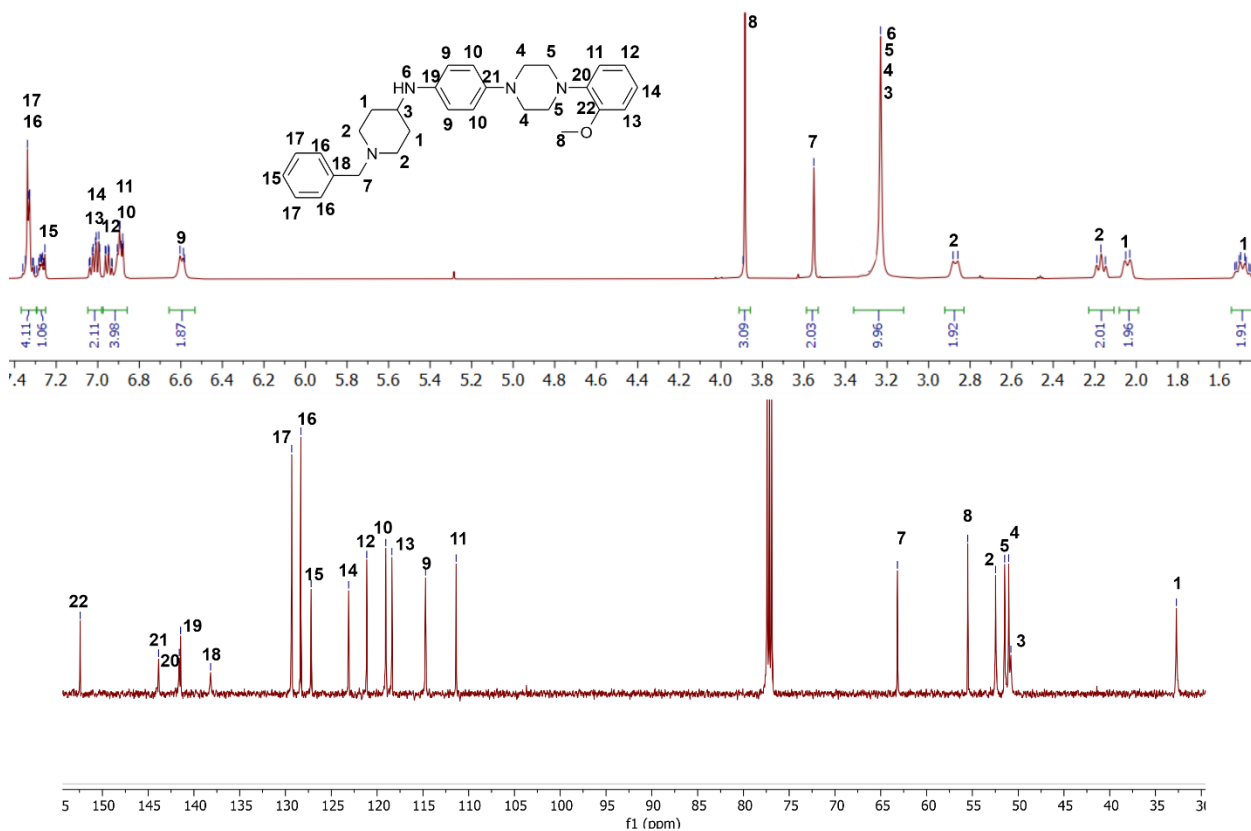
Druga grupa jedinjenja iz ove serije, kod kojih su *N*-benzil- i *N*-naftilmetilpiperidinski strukturni motiv povezani sa *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinima preko karboksamidne grupe, dobijeni su reakcijom kuplovanja prethodno dobijenih *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinskih amina **133–140** i *N*-benzil-4-karboksilne kiseline **155** ili *N*-metilnaftalen-4-karboksilne kiseline **144** (shema 22). Kao kuplujući reagens u ovom slučaju korišćen je ciklični anhidrid propilfosfonske kiseline (PPAA). Ovaj reagens za kuplovanje se pokazao efikasnim kod ove vrste reakcija jer obezbeđuje visok prinos proizvoda uz nastajanje sporednih proizvoda koji se rastvaraju u vodi i nisu toksični, pa je sama obrada reakcije pojednostavljena. Drugi reagensi za kuplovanje nisu ispitivani u okviru ovog istraživanja. Pod ovim reakcionim uslovima krajnji proizvodi **156–161** i **164** dobijeni su u visokom prinosu (74-90%) dok su u nešto nižem prinosu nastala jedinjenja **162** i **163** (65% i 50% respektivno).



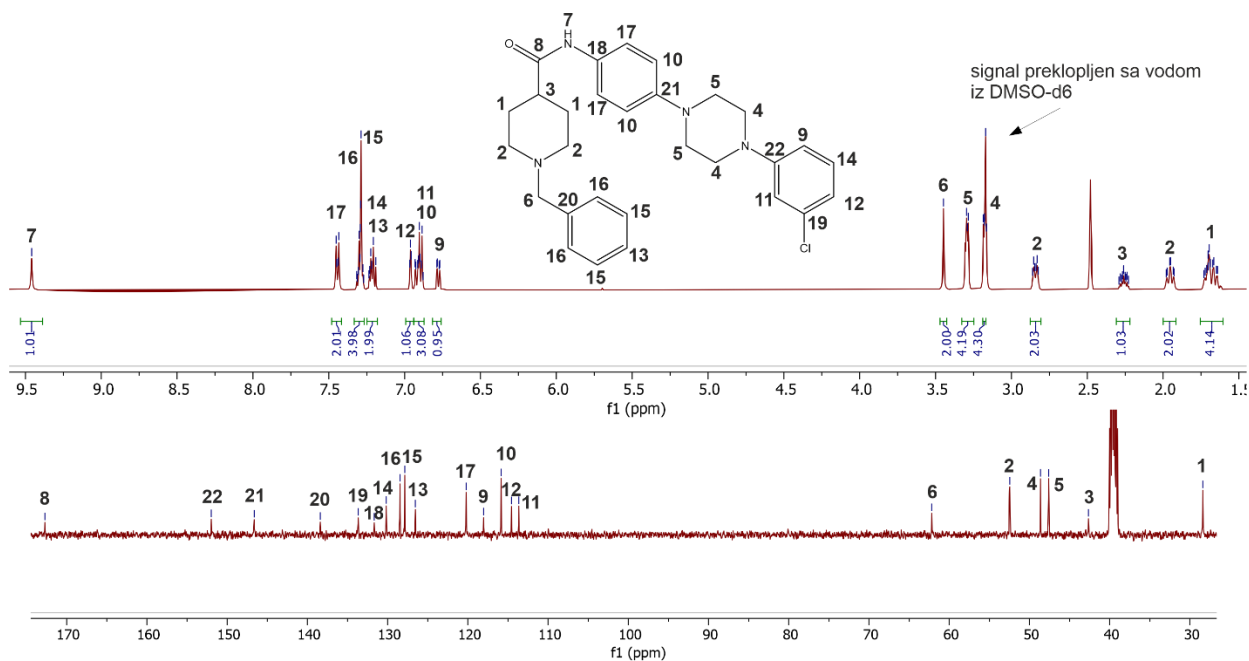
Shema 22. Dobijanje analoga donepezila **156–164**

Strukture svih jedinjenja iz ove serije potvrđene su pomoću IR, 1D i 2D NMR spektroskopije, a bruto formule krajnjih jedinjenja su dokazane masenim spektrima visoke rezolucije (HRMS).

Predstavljena je asignacija hemijskih pomeranja u ^1H -NMR i ^{13}C -NMR spektrima za jedinjenja **147** i **161** kao predstavnika ove serije (slike 23 i 24).



Slika 23. ^1H -NMR i ^{13}C -NMR spektri jedinjenja **147**



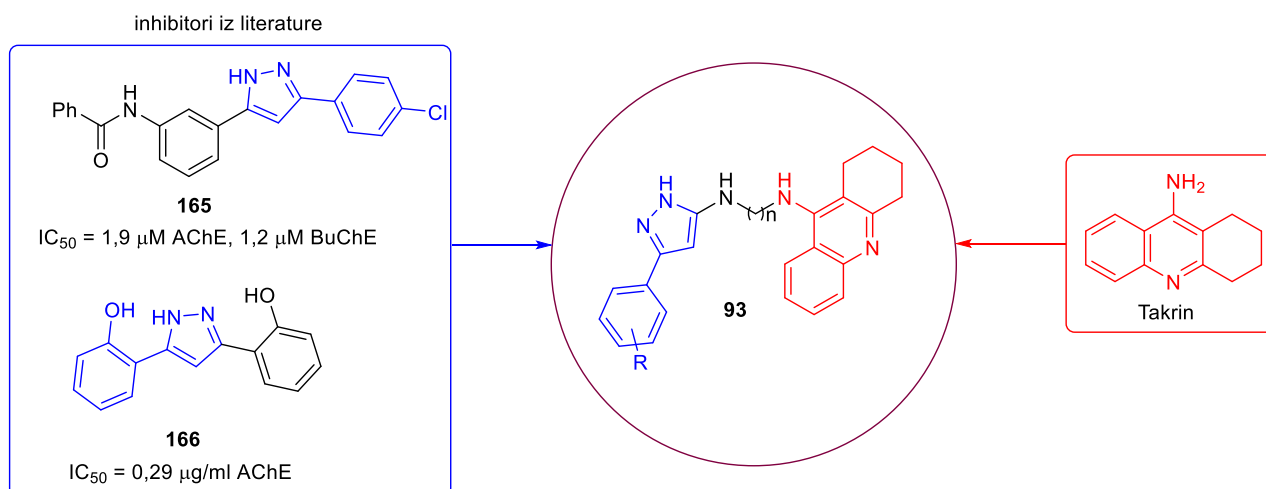
Slika 24. ^1H -NMR i ^{13}C -NMR spektri jedinjenja **161**

3.1.3. Sinteza arilpirazolskih derivata takrina

Kao što je već rečeno u uvodu, takrin je jak ChE inhibitor i predstavlja bitan strukturni motiv u sintezi novih multidirekcionih liganada sa poboljšanim farmakološkim profilom. Čest pristup je kombinacija ovog jezgra sa različitim farmakoforama koje mogu uticati na druge bitne mete u patologiji AB. Takođe, pošto se takrin vezuje samo u KAM enzima, modifikacijom se mogu dobiti strukture koje se vezuju i u katalitičko aktivno i u periferno anjonsko mesto.

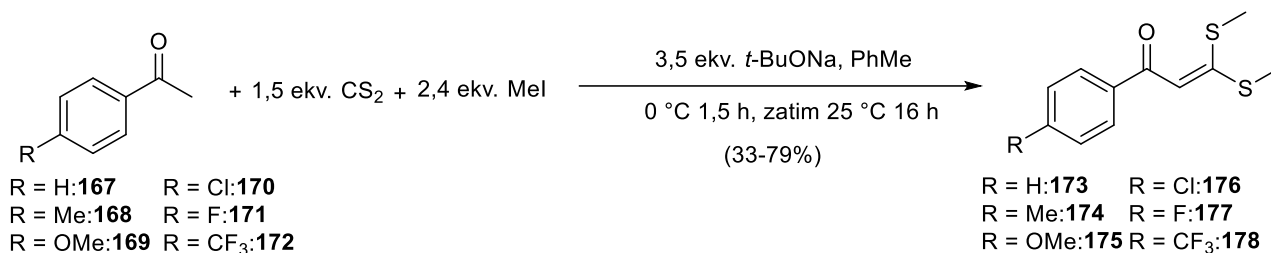
Pirazol je petočlani ciklični, aromatični sistem koji se sastoji od dva azota u susednom (vicinalnom) položaju, i strukturni je motiv koji se može naći kod brojnih lekova–jedinjenja sa širokim spektrom bioloških svojstava, kao što su antiinflamatorna, antiviralna, neuroprotektivna aktivnost i druge.¹⁵⁷ U literaturi je navedena i njihova primena kao inhibitora holinesteraza, predstavljeno na primeru jedinjenja **165**,¹⁵⁸ **166**¹⁵⁹ (slika 25).¹⁶⁰⁻¹⁶²

U okviru ove disertacije dizajnirana je treća serija jedinjenja opšte strukture **93** u kojima je takrinsko jezgro povezano sa različito funkcionalizovanim arilpirazolima (slika 25). Bilo je očekivano da se takrinski strukturni motiv veže u KAM enzima, dok bi arilpirazolski deo molekula mogao ostvariti različite aromatične i vodonične interakcije sa PAM-om enzima. Za povezivanje ove dve farmakofore su iskorišćeni diaminski mostovi različitih dužina, kako bi se ispitaio SAR i odredila dužina mosta koja je najoptimalnija za farmakološku aktivnost. U literaturi nisu nađeni slični primeri derivata takrina. Osim toga, zbog prisustva pirazolskog strukturnog motiva, ova jedinjenja bi potencijalno mogla delovati na još jednu važnu metu u patologiji AB i to GSK-3 β , ali ispitivanje farmakološke aktivnosti prema ovom enzimu izlaze iz opsega ove doktorske disertacije.



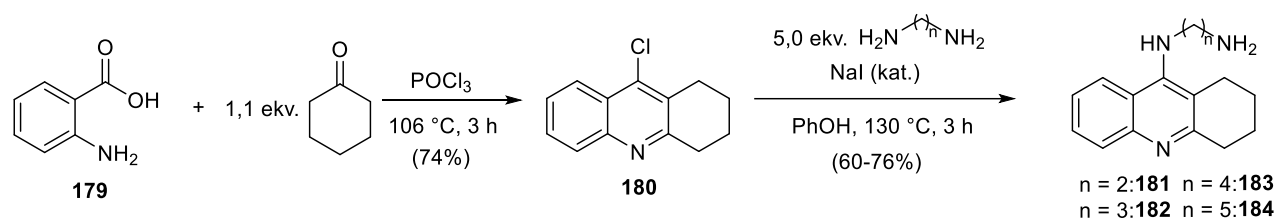
Slika 25. Racionalni dizajn pirazolskih derivata

Prvi korak u sintezi pirazolskog fragmenta je bila sinteza ketenditioacetala **173–178**, polazeći od komercijalno dostupnih acetofenona **167–172**, u trokomponentnoj reakciji sa ugljen-disulfidom i metil-jodidom (shema 23). Ketenditioacetali predstavljaju važne intermedijere u organskoj sintezi, pomoću kojih se mogu dobiti razni heterociklični sistemi kao što su kumarini, pirazoli, izoksazoli, piridini i drugi.¹⁶³ Reakcija je izvedena pod standardnim uslovima opisanim u literaturi.¹⁶⁴⁻¹⁶⁶ Kao baza je korišćen *t*-BuONa, pri čemu su ditioacetali dobijeni u umerenom do visokom prinosu.



Shema 23. Dobijanje ketenditioacetala **173–178**

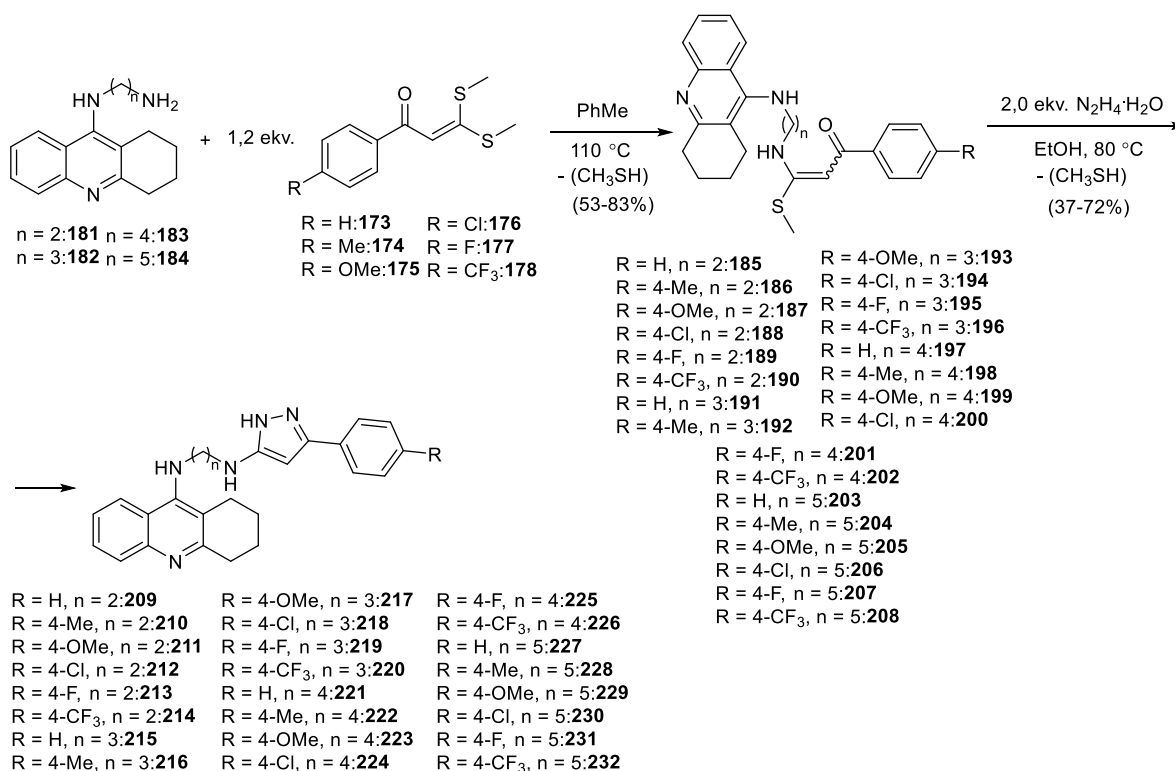
Za dobijanje takrinskog jezgra se u literaturi najčešće navodi modifikacija Friedländer-ove reakcije, gde antranilna kiselina **179** reaguje sa cikloheksanonom u ključalom fosfor-oksikloridu i dobija se tetrahidroakridinski prstven **180** (shema 24).¹⁶⁷ S_NAr reakcijom dobijenog hlorida i različitih terminalnih diamina, dobijeni su diamino derivati takrina **181–184** u dobrim prinosima (shema 24). Za ovaj tip S_NAr reakcije je nađeno da se najbolje odvija u fenolu na 130 °C uz katalitičku količinu NaI.^{168,169}



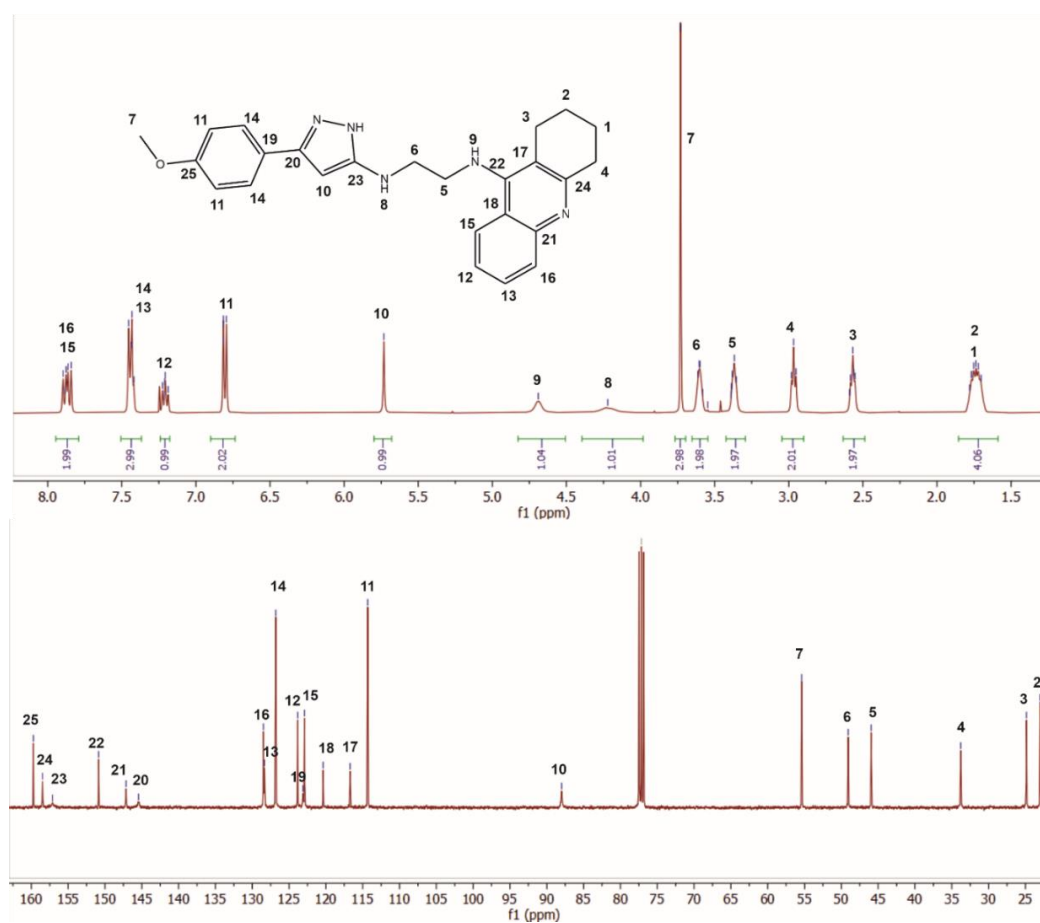
Shema 24. Dobijanje diamino derivata takrina **181–184**

Grativni blokovi su zatim spojeni u dva reakciona koraka. Prvo su adiciono-eliminacionom reakcijom amina **181–184** i ketenditioacetala **173–178** dobijeni N,S -acetali **185–208** u umerenom prinosu od 53-83% (shema 25). Iako za dobijene keten N,S -acetale stereochemija dvostruke veze nije utvrđena, pretragom literature je primećeno da u ovim reakcijama uglavnom nastaju *E*-izomeri. U sledećem koraku su reakcijom ciklizacije N,S -acetala pomoću hidrazina dobijeni krajnji proizvodi **209–232** u prinosu od 37-72% (shema 25). U oba reakciona koraka, razlika u prinosima pojedinih jedinjenja nije mogla biti objašnjena uticajem vrste supstituenata sa aromatičnog prstena ditioacetala ili dužine diaminskog linkera. Što se tiče dužine trajanja reakcije, primećeno je da derivati sa metil-supstituentima i metoksi-supstituentima reaguju sporije u odnosu na ostala jedinjenja u reakciji ciklizacije. Prisustvo elektron-donirajuće metil-grupe i metoksi-grupe smanjuje elektrofilnost reaktivnih centara N,S -acetala, što je najverovatnije uzrok njihove sporije reakcije u ovoj fazi. Za ovu reakcionu sekvencu se u literaturi često može naći da se izvodi u jednom koraku, prvo reakcijom ketenditioacetala i odgovarajućeg amina, zatim naknadnim dodatkom hidrazina.¹⁶⁶ Međutim, u okviru ovog istraživanja reakcija je izvedena u dva koraka sa razlogom da se izoluju i spektroskopski okarakterišu dobijeni N,S -acetali, jer predstavljaju nova jedinjenja, a takođe i zbog lakšeg prečišćavanja krajnjih proizvoda.

Strukture svih jedinjenja potvrđene su IR, 1D i 2D NMR spektroskopijom, a bruto formule krajnjih jedinjenja su dokazane masenim spektrima visoke rezolucije (HRMS). Predstavljena je asignacija hemijskih pomeranja u $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ spektrima za jedinjenja **211** i **218** kao predstavnika ove serije (slike 26 i 28).

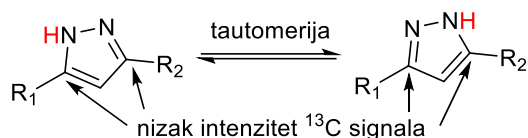


Shema 25. Dobijanje derivata takrina i pirazola 209–232

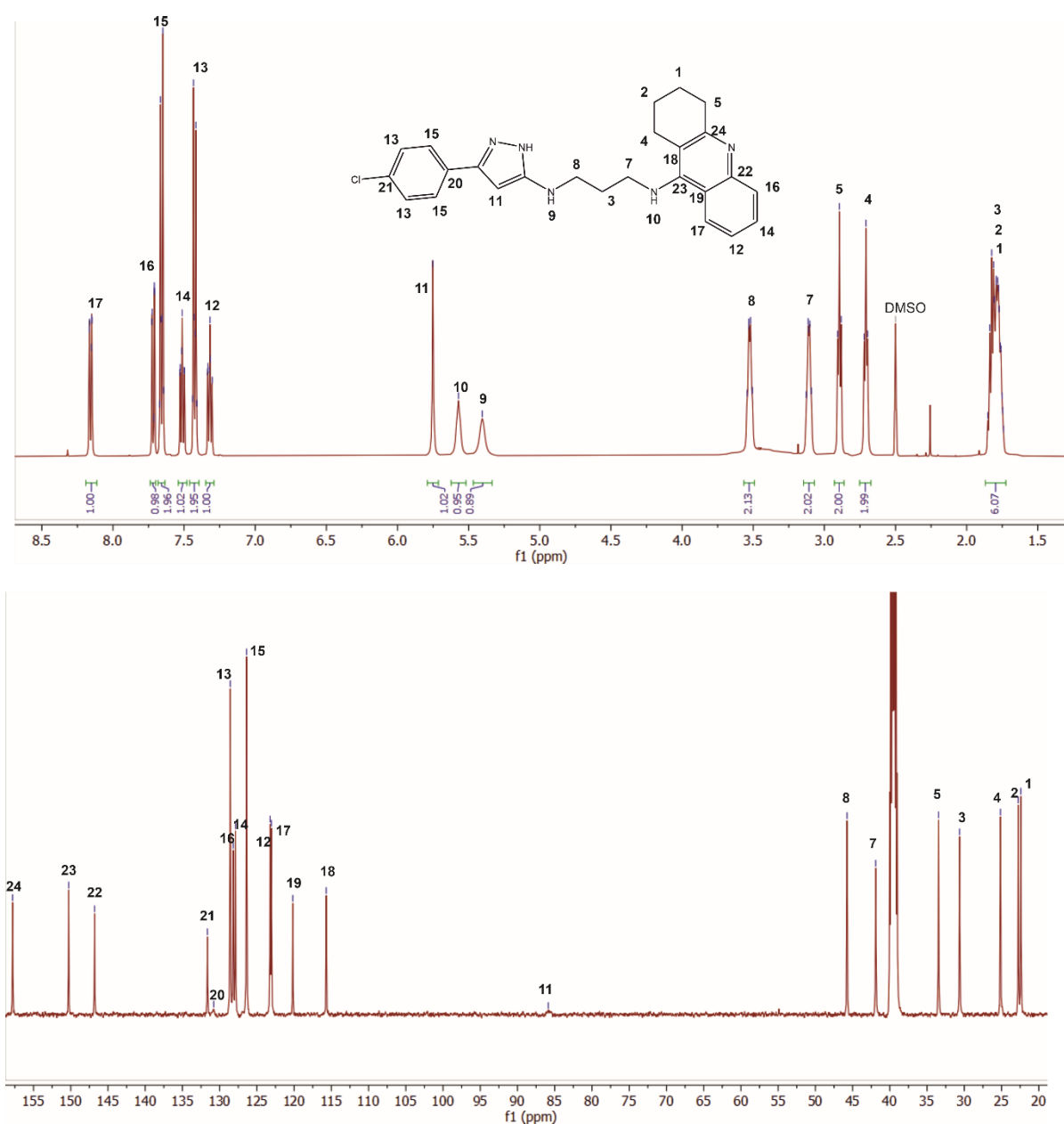


Slika 26. ¹H-NMR i ¹³C-NMR spektri jedinjenja 211

Interesantno je da kod ove serije sintetisanih jedinjenja, signali koji potiču od kvaternernih ugljenikovih atoma pirazolskog prstena imaju vrlo nizak intenzitet u skoro svim snimljenim ^{13}C -NMR spektrima (slika 26), a kod jedinjenja **218** (slika 28) ovi signali nisu ni detektovani. Usporena relaksacija ugljenikovih atoma najverovatnije potiče od tautomerije pirazolskog prstena koja je prisutna kod ovih struktura, što može objasniti izostanak ili slab intenzitet kvaternernih C atoma (slika 27).



Slika 27. Tautomerija pirazolskog prstena



Slika 28. ^1H -NMR i ^{13}C -NMR spektri jedinjenja **218**

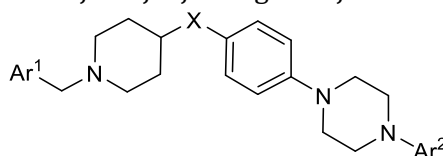
3.2. Farmakološka ispitivanja

3.2.1 *In vitro* ispitivanje inhibitorne aktivnosti nosintetisanih jedinjenja prema holinesterazama

Za sva jedinjenja sintetisana u okviru ove disertacije određena je inhibitorna aktivnost prema holinesterazama *in vitro*, modifikovanom Ellman-ovom metodom.¹⁷⁰ Dodatno, za jedinjenja **152** i **162**, koja su pokazala najbolji farmakološki profil u drugoj seriji, određen je i tip inhibicije kinetičkim testovima prema AChE. Za jedinjenja koja su pokazala inhibitornu aktivnost prema ChE, urađena je i doking analiza radi ispitivanja tipa interakcija koje ostvaruju sa aminokiselinskim ostacima u vezivnom mestu enzima. Rezultati *in vitro* ispitivanja i doking analize prikazani su u tabeli 2 i tabeli 3, dok su rezultati doking analize detaljnije objašnjeni u odeljku 3.3.

Tetrahidrohinoksalinski derivati **106** i **115**, iz prve serije, nisu pokazali inhibitornu aktivnost prema holinesterazama kao ni četiri analoga donepezila iz druge serije **153**, **154**, **163** i **164**, kod kojih je naftil-grupa vezana za piperidinski i/ili piperazinski deo molekula. Ostali arilpiperazinski derivati donepezila, sintetisani u okviru druge serije jedinjenja pokazali su mikromolarnu inhibitornu aktivnost prema AChE, dok ne inhibiraju BuChE. Kao standard za ovu seriju, korišćen je donepezil (tabela 2). Svi arilpirazolski derivati takrina iz treće serije pokazali su nanomolarnu aktivnost prema oba enzima, AChE i BuChE u poređenju sa takrinom kao standardnim jedinjenjem (tabela 3).

Tabela 2. Eksperimentalno određena AChE i BuChE inhibitorna aktivnost, i parametri proračunati doking analizom za jedinjenja druge serije **146–152** i **156–162**



Jedinjenje	Ar ¹ Ar ² X	IC ₅₀ (μM ± SD)		Energija vezivanja (kcal/mol)	Aminokiselinski ostaci AChE koji ostvaruju interakcije sa ligandom ^b
		<i>ee</i> AChE	<i>eq</i> BuChE		
146	Ph Ph NH	3,4 ± 0,5	n.a. ^a	-11.95	Asp74 Gly121 Gly122 Ser125 Ser293 Trp286 Trp86 Tyr337 Tyr341
147	2-OMePh Ph NH	10,0 ± 0,9	n.a.	-11.6	Asp74 Gly121 Ser125 Ser293 Trp286 Trp86 Tyr337 Tyr341
148	3-OMePh Ph NH	>50	n.a.	-10.52	Asp74 Gln291 Leu289 Ser125 Ser293 Trp286 Trp86 Tyr124 Tyr337 Tyr341
149	4-OMePh Ph NH	4,0 ± 0,8	n.a.	-10.85	Asn87 Asp74 Leu289 Ser125 Ser293 Trp286 Trp86 Tyr124 Tyr341
150	2-ClPh Ph NH	11,0 ± 1	n.a.	-9.69	Ser125 Trp286 Tyr124 Tyr337 Tyr341 Tyr72
151	3-ClPh Ph NH	20,0 ± 1,2	n.a.	-12,33	Asp74 Gly121 Ile365 Ser125 Ser293 Trp286 Trp86 Tyr337 Tyr341
152	4-ClPh Ph NH	2,3 ± 0,4	n.a.	-11,33	Asn87 Asp74 Leu289 Ser125 Ser293 Trp286 Trp86 Tyr124 Tyr341
156	Ph Ph CONH	11,0 ± 0,9	n.a.	-10,23	Asp74 Leu289 Trp286 Tyr124 Tyr341

157	2-OMePh Ph CONH	9,9 ± 0,6	n.a.	-8,87	Glu292 Ser293 Tyr341	Gly342 Ser293 Val340	Phe346 Trp286 Val343
158	3-OMePh Ph CONH	11,0 ± 0,4	n.a.	-10,48	Asp74 Trp86 Tyr341	Leu289 Tyr124	Ser293 Tyr337
159	4-OMePh Ph CONH	10,0 ± 1	n.a.	-9,47	Asn87 Ser293 Tyr341	Asp74 Trp286	Leu76 Tyr124
160	2-ClPh Ph CONH	10,0 ± 0,2	n.a.	-9,79	Leu76 Tyr341	Thr75 Tyr72	Trp286
161	3-ClPh Ph CONH	10,0 ± 0,5	n.a.	-11,35	Asp74 Trp286 Tyr341	Leu289 Trp86	Ser293 Tyr124
162	4-Cl Ph CONH	4,0 ± 0,3	n.a.	-11,18	Asp74 Trp86	Ser293 Tyr124	Trp286 Tyr341
Donepezil		0,066 ± 0,002		1,26 ± 0,02			

^anije aktivan; ^bplavom bojom označene su ključne interakcije liganda sa enzimom

Kao što je napomenuto, sva jedinjenja iz druge serije osim **153**, **154**, **163** i **164** pokazala su inhibitornu aktivnost prema AChE u mikromolarnom opsegu ($IC_{50} = 2,3\text{--}20,0 \mu\text{M}$). Jedinjenje **148** pokazalo je nisku inhibitornu aktivnost prema AChE sa vrednošću $IC_{50} > 50 \mu\text{M}$. U ovom ispitivanju, sva jedinjenja iz druge serije bila su slabiji AChE inhibitori od donepezila ($IC_{50} = 0,066 \mu\text{M}$), ali kao i donepezil, svi derivati su ispoljili veoma bitnu osobinu svojstvenu donepezilu, a to je selektivnost prema AChE u odnosu na BuChE.

U okviru ispitivanja odnosa strukture i aktivnosti testiranih jedinjenja, analiziran je uticaj supstituenata na arilpiperazinskom delu molekula na inhibiciju AChE.

Nađeno je da u serijiaminskih jedinjenja **146–154**, uvođenje hlora ili metoksi-grupe u *orto* i *meta* položaje jedinjenja **147**, **148**, **150** i **151** nepovoljno utiče na inhibitornu aktivnost u poređenju sa nesupstituisanim derivatom **146**. U slučaju *meta* derivata, posebno je izražen pad u inhibitornom potencijalu za sedam do deset puta u odnosu na **146**, dok je kod *orto* analoga pad nesto manje izražen, oko tri puta.

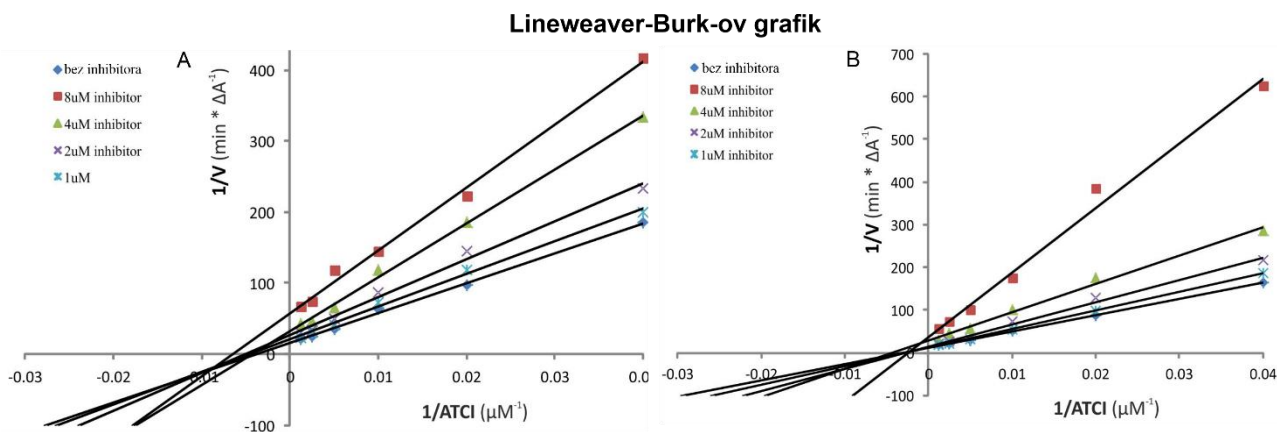
Kod jedinjenja **152**, uvođenje hlora-supstituenta u *para* položaj dovelo je do blagog porasta inhibicije enzima u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **146**, dok kod jedinjenja **149** prisustvo metoksi-grupe u *para* položaju nije uticalo na inhibitorni potencijal u poređenju sa **146**. Kako *orto* i *para* supstituenti dele sličan elektronski efekat, negativan uticaj sternih efekata očigledno je veći u slučaju *orto* supstituisanih analoga.

U seriji **156–164**, gde je fleksibilniaminski linker koji povezuje dve farmakofore zamenjen rigidnom i planarnom karboksamidnom grupom, gotovo su sva jedinjenja pokazala sličnu inhibitornu aktivnost prema AChE, nezavisno od supstitucije. Jedini izuzetak bio je derivat **162**, sa hlorom u *para* položaju, koji je inhibirao enzim u većem procentu u poređenju sa nesupstituisanim analogom **156**. Verovatno je zbog rigidnosti karboksamidnog linkera, ograničen uticaj supstituenata na inhibiciju, jer ovi derivati nisu u stanju da ostvare ključne interakcije sa aminokiselinskim ostacima u vezivnom mestu enzima, sa izuzetkom jedinjenja **162**.

Najizraženiji uticaj na inhibitornu aktivnost u obe serije pokazali su derivati koji su imali hlor supstituent u *para* položaju, tačnije jedinjenja **152** i **162**. Kako uvođenje hlora u *para* položaj izmešta negativno naelektrisanje iz benzenovog prstena i produžava molekul, može se zaključiti da dužina molekula i smanjenje elektronske gustine aril-dela molekula doprinose

povećanju inhibitorne aktivnosti. U obe serije, prisustvo naftil-grupe rezultiralo je izostankom aktivnosti prema oba enzima, što vrlo verovatno potiče od sterne prirode molekula.

Za dva najaktivnija jedinjenja **152** i **162** određen je tip inhibicije ispitivanjem kinetike prema AChE. Za oba liganda je nađeno da ispoljavaju mešoviti tip inhibicije (slika 29), što je posledica interakcije sa slobodnim enzimom i sa kompleksom enzim-supstrat. Kako PAM spada u alosterno vezivno mesto, može se pretpostaviti da dobijeni tip inhibicije ukazuje na to da se jedinjenja vezuju i za PAM i za KAM AChE.



Slika 29. Kinetička ispitivanja mehanizma inhibicije AChE jedinjenjem **152** (A) i **162** (B)

U tabeli 3 dati su podaci dobijeni testiranjem inhibitorne aktivnosti takrinskih derivata **209–232**, kao i rezultati proračunati doking analizom. Jedinjenja u ovoj seriji pokazala su aktivnost u mikromolarnom i nanomolarnom opsegu prema AChE i BuChE ($IC_{50} = 0,135\text{--}3,0\ \mu\text{M}$ za AChE i $0,122\text{--}7,0\ \mu\text{M}$ za BuChE), gde je jedinjenje **211** ($IC_{50} = 0,135\ \mu\text{M}$) imalo veću inhibitornu aktivnost prema AChE u odnosu na takrin ($IC_{50} = 0,153\ \mu\text{M}$).

Ispitivanjem odnosa strukture i aktivnosti testiranih jedinjenja, analiziran je uticaj supstituenata na arilpirazolskom delu molekula na inhibiciju AChE.

Povezivanjem takrinskog jezgra sa arilpirazolskim sistemom, linkerom dužine dve metilenske jedinice, dobijeni su derivati **209–214**. Uvođenje-metil grupe kod jedinjenja **210** dovelo je do blagog povećanja inhibicije u poređenju sa nesupstituisanim derivatom **209**. Zamena metil-grupe metoksi-grupom kod liganda **211** rezultiralo je značajnim porastom inhibitorne aktivnosti, sedam puta u odnosu na nesupstituisani analog **209**. Uvođenje hlora kod derivata **212** je imalo pozitivan uticaj na inhibiciju u odnosu na nesupstituisani analog **209**, ali u manjoj meri u poređenju sa metoksi-derivatom **211**. Prisustvo fluora ili trifluormetil-grupe kod jedinjenja **213** i **214** respektivno, dovelo je do pada inhibitorne aktivnosti u odnosu na nesupstituisani analog **209**.

Produženjem diaminskog mosta sa dve metilenske jedinice na tri, dobijeni su derivati **215–220**. Uvođenje metil-grupe, hlora ili trifluormetil-grupe, kod jedinjenja **216**, **218** i **220** respektivno, smanjilo je inhibitornu aktivnost, dok uvođenje metoksi-grupe i fluora, kod liganada **217** i **219** respektivno, nije uticalo na inhibiciju u odnosu na nesupstituisani analog **215**.

Daljim produženjem linkera na četiri metilenske jedinice, nastali su derivati **221–226**. Uticaj supstitucije bio je vrlo sličan uticaju koji je primećen i kod analoga sa dužinom linkera od tri metilenske jedinice. Metil-grupa, hlor i trifluormetil-grupa, kod jedinjenja **222**, **224** i **226** respektivno, dovela je do pada inhibitorne aktivnosti, dok je uticaj fluora i metoksi-grupe, kod derivata **225** i **223** respektivno, minimalan u poređenju sa nesupstituisanim analogom **221**.

Na kraju, uvođenjem mosta dužine pet metilenskih jedinica između farmakofora formirani su ligandi **227–232**. Supstitucija fluorom kod jedinjenja **231** nije imala značajan uticaj na aktivnost, dok je uvođenje ostalih supstituenata dovelo do značajnog pada u inhibitornoj aktivnosti u odnosu na nesupstituisani ligand **227**.

Supstitucija benzenovog prstena arilpirazola uglavnom je rezultovala smanjenjem inhibitorne aktivnosti prema AChE. Izuzetak je derivat **211** sa metoksi-grupom koji je imao najbolju inhibitornu aktivnost u celoj seriji. Analizom ovih rezultata može se primetiti da elektronski efekat supstitucije nije imao bitan uticaj na razliku u inhibiciji, iz čega se može zaključiti da u ovoj seriji jedinjenja presudan uticaj na inhibitornu aktivnost ima oblik i veličina molekula. Najizraženija aktivnost prema inhibiciji AChE metoksi-derivata sa dve metilenske jedinice **211**, najverovatnije potiče od rigidnosti molekula sa najkraćim linkerom, gde je uvođenjem metoksi-grupe postignuta optimalna veličina molekula.

Ispitivanjem odnosa strukture i aktivnosti testiranih jedinjenja, analiziran je uticaj supstituenata na arilpirazolskom delu molekula na inhibiciju BuChE.

Kod derivata sa mostom dužine dve metilenske jedinice između farmakofora (**209–214**), prisustvo metil-grupe kod jedinjenja **210**, dovelo je do blagog porasta u inhibiciji u odnosu na nesupstituisani derivat **209**. Uvođenje svih ostalih supstituenata kao rezultat je dalo nižu vrednost inhibitorne aktivnosti u odnosu na jedinjenje **209**.

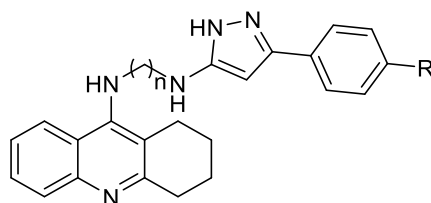
Analizom liganada sa diaminskim mostom dužine tri metilenske jedinice (**215–220**), supstitucija metil-grupom kod jedinjenja **216** rezultovala je vrlo blagim padom inhibitorne aktivnosti, dok je prisustvo ostalih supstituenata doprinelo dosta slaboj inhibiciji enzima u odnosu na nesupstituisani analog **215**.

Kod jedinjenja sa linkerom dužine četiri metilenske jedinice (**221–226**), supstitucija arilpirazolskog prstena je dovela da pada inhibitorne aktivnosti kod svih derivata u odnosu na nesupstituisani ligand **221**.

Sagledavanjem derivata sa linkerom dužine pet metilenskih jedinica (**227–232**), slično kao i u prethodno opisanom slučaju, uvođenje supstituenata u molekul dovelo je do pada inhibitornog potencijala ka AChE u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **227**.

Aril-jezgra, sem u slučaju metil-supstituisanih aril-jezgra, nisu dovela do željenog povećanja inhibicije ka BuChE u poređenju sa nesupstituisanim ligandima.

Nesupstituisani ligandi (**209, 215, 221 i 227**) i ligandi supstituisani metil-grupom (**210, 216, 222 i 228**) pokazuju selektivnost ka BuChE, dok ostali analozi iz serije inhibiraju oba enzima u sličnom procentu. Značajno bolja inhibicija BuChE u odnosu na AChE kod nesupstituisanih i liganada supstituisanih metil-grupom, nezavisno od dužine diaminskog mosta, najverovatnije potiče od strukture samih enzima. Kako aktivno mesto BuChE ima veću zapreminu u odnosu na AChE, ligandi mogu zauzeti povoljniju konformaciju čime ostvaruju više interakcija.

Tabela 3. Eksperimentalno određena AChE i BuChE inhibitorna aktivnost, i parametri proračunati doking analizom za jedinjenja treće serije **209–232**

Jedinjenje	n R	IC ₅₀ (μM ± SD)		Energija vezivanja (kcal/mol)		Aminokiselinski ostaci koji ostvaruju interakcije sa ligandom ^a	
		eeAChE	eqBuChE	AChE	BuChE	AChE	BuChE
209	2 H	0,95 ± 0,02	0,179 ± 0,020	-9,00	-12,06	Trp86 Tyr337 Phe297 Phe295 Trp286	Trp82 His438 Thr120 Phe329
210	2 Me	0,75 ± 0,02	0,122 ± 0,013	-10,12	-12,48	Trp86 Tyr337 Tyr124 Trp286	Trp82 His438 Phe329
211	2 OMe	0,135 ± 0,011	0,31 ± 0,02	-16,02	-10,30	Trp86 Tyr337 Tyr124 Asp74 Trp286	Trp82 His438 Phe329
212	2 Cl	0,59 ± 0,03	0,70 ± 0,03	-10,64	-9,21	Trp86 Tyr337 Asp74 Phe297 Phe295 Trp286	Trp82 His438 Phe329
213	2 F	2,0 ± 0,1	0,90 ± 0,04	-7,56	-8,21	Trp86 Tyr337 Tyr124	Trp82 His438 Phe329
214	2 CF ₃	1,1 ± 0,1	1,7 ± 0,1	-8,60	-5,28	Trp86 Tyr337 Phe297 Trp286	Trp82 His438
215	3 H	0,33 ± 0,02	0,127 ± 0,014	-15,93	-12,22	Trp86 Tyr337 Tyr124 Ser293 Phe295 Trp286	Trp82 His438 Ser198
216	3 Me	0,56 ± 0,03	0,157 ± 0,011	-10,49	-12,15	Trp86 Tyr337 Tyr124 Arg296 Phe295 Trp286	Trp82 His438 Phe329
217	3 OMe	0,40 ± 0,01	0,65 ± 0,01	-11,80	-9,35	Trp86 Tyr337 Tyr124 Ser293 Phe295 Trp286	Trp82 His438 Phe329
218	3 Cl	1,0 ± 0,3	1,4 ± 0,1	-8,80	-6,30	Trp86 Tyr337 Tyr124 Phe295 Trp286	Trp82 His438
219	3 F	0,35 ± 0,05	0,43 ± 0,04	-15,54	-10,10	Trp86 Tyr337 Asp74 Tyr124 Ser293 Phe295 Trp286	Trp82 His438 Trp231
220	3 CF ₃	0,68 ± 0,08	1,0 ± 0,2	-10,69	-8,01	Trp86 Tyr337 Tyr124 Phe295 Arg296 Trp286	Trp82 His438
221	4 H	0,42 ± 0,04	0,30 ± 0,02	-11,64	-10,76	Trp86 Tyr337 Asp74 Tyr124 Ser293 Phe295 Arg296 Trp286	Trp82 His438 Trp231
222	4 Me	0,88 ± 0,09	0,51 ± 0,02	-9,38	-9,76	Trp86 Tyr337 Phe295 Arg296 Trp286	Trp82 His438 Ser287

223	⁴ OMe	0,48 ± 0,03	0,92 ± 0,05	-11,32	-8,68	Trp86 Tyr337 Asp74 Ser293 Phe295 Arg296 Trp286	Trp82 His438
224	⁴ Cl	1,8 ± 0,3	1,0 ± 0,1	-7,82	-8,10	Trp86 Tyr337 Ser293 Phe295	Trp82 His438
225	⁴ F	0,43 ± 0,02	1,0 ± 0,1	-11,79	-8,74	Trp86 Tyr337 Asp74 Ser293 Phe295 Arg296 Trp286	Trp82 His438 Tyr332
226	⁴ CF ₃	0,92 ± 0,12	0,89 ± 0,04	-9,90	-8,57	Trp86 Tyr337 Phe295 Arg296	Trp82 His438
227	⁵ H	0,47 ± 0,05	0,23 ± 0,01	-11,28	-10,96	Trp86 Tyr337 Asp74 Ser293 Phe295 Arg296 Trp286	Trp82 His438 Trp231
228	⁵ Me	2,0 ± 0,3	0,45 ± 0,01	-7,45	-9,59	Trp86 Tyr337 Tyr431 Arg296	Trp82 His438 Trp231 Phe329
229	⁵ OMe	0,81 ± 0,07	0,57 ± 0,02	-9,56	-9,69	Trp86 Tyr337 Ser293 Phe295 Trp286	Trp82 His438 Ser287
230	⁵ Cl	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	-8,81	-7,96	Trp86 Tyr337 Arg296 Ser293 Phe295	Trp82 His438
231	⁵ F	0,44 ± 0,01	0,61 ± 0,06	-11,69	-9,32	Trp86 Tyr337 Asp74 Phe295 Arg296 Trp286	Trp82 His438 Trp231
232	⁵ CF ₃	3,0 ± 0,1	7,0 ± 0,4	-6,71	-3,47	Trp86 Tyr337 Arg296	Trp82 His438
Takrin		0,153 ± 0,007	0,052 ± 0,003				

^aplavom bojom označene su ključne interakcije liganda sa enzimom

Ispitivanjem odnosa strukture i aktivnosti testiranih jedinjenja, analiziran je uticaj dužine diaminskog mosta, koji povezuje arilpirazolski strukturni motiv sa takrinskim jezgrom, na inhibiciju AChE.

Kod nesupstituisanih liganda (**209**, **215**, **221** i **227**), derivati sa tri (**215**), četiri (**221**) i pet metilenskih jedinica (**227**) su posedovali međusobno sličnu inhibitornu aktivnost ka AChE, i ona je nešto veća nego u slučaju **209**.

Kod jedinjenja supstituisanih metil-grupom (**210**, **216**, **222** i **228**), derivat sa diaminskim mostom dužine tri metilenske jedinice **216** imao je blago povećanu inhibitornu aktivnost u poređenju sa derivatom sa dve metilenske jedinice **210** za razliku od derivata sa četiri (**222**) i pet (**228**) metilenskih jedinica u diaminskom linkeru.

Jedinjenja koja sadrže metoksi-grupu (**211**, **217**, **223** i **229**) i hlor (**212**, **218**, **224** i **230**) kao supstituente u arilpirazolskom delu molekula, sa porastom dužine mosta pokazuju sličan trend u padu inhibitorne aktivnosti ka AChE.

Kada je u *para* položaju prisutan fluor (jedinjenja **213**, **219**, **225** i **231**), najmanju inhibitornu aktivnost imao je derivat sa linkerom dužine dve metilenske jedinice **213**. Povećanjem dužine diaminskog mosta rezultovalo je značajnim porastom aktivnosti u odnosu na jedinjenje **213**, i ovi derivati su u sličnom procentu inhibirali enzim.

Kod derivata sa trifluormetil-grupom (**214**, **220**, **226** i **232**) jedinjenje **220**, sa diaminskim mostom dužine tri metilenske jedinice, pokazalo je bolju inhibiciju u odnosu na derivat sa dve metilenske jedinice **214**. Ligand sa linkerom dužine četiri metilenske jedinice **226** je

demonstrirao sličnu inhibitornu aktivnost kao i derivat sa mostom dužine dve metilenske jedinice **214**, dok je jedinjenje sa linkerom dužine pet metilenskih jedinica **232** prikazalo značajno nižu inhibiciju u poređenju sa jedinjenjem **214**.

Produženje mosta je uglavnom imalo negativan uticaj na inhibiciju AChE, osim kod nesupstituisanih derivata i derivata supstituisanih fluorom, gde su najmanju aktivnost imali derivati sa najkraćim mostom. Razlog tome može poticati od povećane rigidnosti molekula sa kraćim linkerom. Obzirom da je u takvim slučajevima smanjenja fleksibilnost molekula, teže se postiže optimalna konformacija u vezivnom mestu enzima. Sličan efekat, ali u manjoj meri, je primećen kod derivata sa metil-grupom i trifluormetil-grupom, produženjem linkera sa dve metilenske jedinice na tri metilenske jedinice.

Ispitivanjem odnosa strukture i aktivnosti testiranih jedinjenja, analiziran je uticaj dužine diaminskog mosta, koji povezuje arilpirazolski strukturni motiv sa takrinskim jezgrom, na inhibiciju BuChE.

Svi nesupstituisani derivati (**209**, **215**, **221** i **227**) u sličnom procentu su inhibirali enzim nezavisno od dužine diaminskog linkera, iz čega se može zaključiti da veličina molekula u ovom sistemu ne utiče na inhibiciju enzima.

Kod jedinjenja supstituisanih metil-grupom (**210**, **216**, **222** i **228**), jedinjenje sa diaminskim mostom dužine tri metilenske jedinice **216**, imalo je sličnu inhibitornu aktivnost kao i derivat sa mostom dužine dve metilenske jedinice **210**. Dalje produženje diaminskog mosta dovelo do pada inhibicije u odnosu na derivat sa najkraćim diaminskim mostom **210**.

Produženjem mosta kod metoksi-derivata (**211**, **217**, **223** i **229**) rezultovalo je padom inhibitorne aktivnosti, kao i kod liganda supstituisanih hlorom (**212**, **218**, **224** i **230**) u poređenju sa analogima sa najkraćim diaminskim mostom **211** i **212** respektivno.

Analizom jedinjenja supstituisanih fluorom (**213**, **219**, **225** i **231**) ligand sa diaminskim mostom dužine tri metilenske jedinice **219**, imao je skoro dvostruko veću inhibitornu aktivnost u odnosu na derivat sa mostom dužine dve metilenske jedinice **213**. Derivat sa mostom dužine četiri metilenske jedinice **225** imao je sličnu inhibitornu aktivnost, dok je derivat sa mostom dužine pet metilenskih jedinica **231** imao veću inhibitornu aktivnost u poređenju sa derivatom **213**.

Kod liganada supstituisanih trifluormetil-grupom (**214**, **220**, **226** i **232**), derivati sa mostom dužine tri metilenske jedinice i četiri metilenske jedinice **220** i **226** respektivno, pokazali su bolju inhibiciju u poređenju sa ligandom koji sadrži diaminski most dužine dve metilenske jedinice **214**. Derivat **232** sa mostom dužine pet metilenskih jedinica, imao je dosta nižu inhibitornu aktivnost u poređenju sa derivatom **214**.

Produženje diaminskog mosta imalo je uglavnom negativan uticaj na inhibiciju BuChE u poređenju sa derivatima sa najkraćim lancem. Kod liganada supstituisanih fluorom i trifluormetil-grupom inhibitorna aktivnost je porasla povećanjem linkera sa dve na tri metilenske jedinice, što se može objasniti uticajem fleksibilnosti molekula.

Variranjem dužine diaminskog mosta, nesupstituisani ligandi i derivati supstituisani metil-grupom u svim slučajevima pokazali su nižu inhibitornu aktivnost prema AChE u odnosu na BuChE. Kod ostalih derivata nije uočen trend uticaja promene dužine linkera na odnos inhibicije AChE i BuChE.

Najizraženiju aktivnost prema AChE, kao što je već spomenuto, u arilpirazolskoj seriji imalo je jedinjenje **211** ($IC_{50} = 0,135 \mu M$) sa metoksi-supstituentom u *para* položaju benzenovog

prstena arilpirazola i mostom dužine dve metilenske jedinice. Najbolju inhibitornu aktivnost prema BuChE pokazalo je jedinjenje **210** ($IC_{50} = 0,122 \mu M$), sa metil-supstuentom u *para* položaju benzenovog prstena arilpirazola i mostom dužine dve metilenske jedinice i **215** ($IC_{50} = 0,127 \mu M$), sa nesupstituisanim benzenovim prstenom arilpirazola i mostom dužine tri metilenske jedinice. Jedinjenja **211** i **215** imala su najbolji odnos aktivnosti prema AChE i BuChE ($IC_{50} = 0,31 \mu M$ za AChE i $0,33 \mu M$ za BuChE respektivno), čineći ih potencijalnim vodećim strukturama za dalje modifikacije.

Iz svega izloženog, može se zaključiti da je optimalna dužina linkera ove serije liganada dve do tri metilenske jedinice. Supstitucija je imala uglavnom negativan uticaj na inhibiciju oba enzima, sa izuzetkom jedinjenja **211** i **210**.

3.3. In silico ispitivanje

3.3.1 Doking analiza nosintetisanih analoga donepezila **146–152** i **156–162**

Molekulski doking je kompjuterska metoda koja se često koristi za predviđanje interakcija dva ili više molekula, obično proteina (receptor, enzim) i liganda. Ovom metodom se mogu proceniti vrsta i jačina interakcija koje ligand ostvaruje sa enzimom, kao i konformacija koju zauzimaju ligand i protein. Važno je napomenuti da je molekulski doking aproksimacija zasnovana na kompjuterskim proračunima, ali se često primenjuje za predviđanje interakcija u razvijanju farmakološki aktivnih jedinjenja kao potencijalnih lekova.

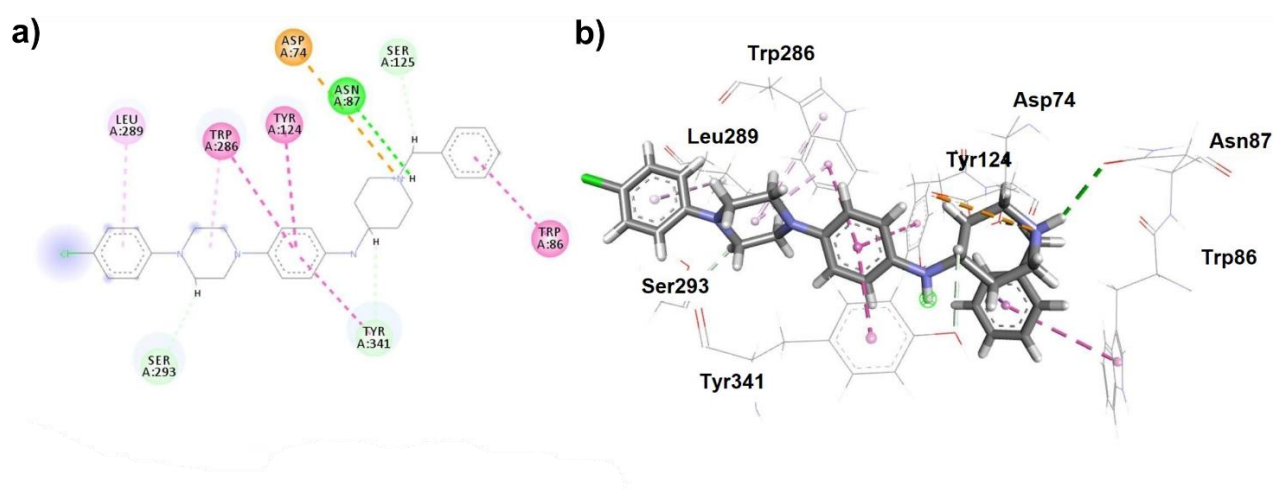
U okviru ove disertacije urađena je doking analiza za sva nosintetisana jedinjenja koja su pokazala aktivnost prema ChE, da bi se utvrdio način na koji se ova jedinjenja vezuju u aktivno mesto AChE i BuChE. U tabelama 2 i 3 dat je pregled aminokiselinskih ostataka enzima koji su ostvarili interakcije sa ispitivanim jedinjenjima kao i energije vezivanja u kcal/mol. Za jedinjenja koja su pokazala najveću inhibitornu aktivnost rezultati doking analize su predstavljeni 2D i 3D prikazom doking poza.

Za doking analizu jedinjenja **146–152** i **156–162** korišćena je kristalna struktura AChE izolovana iz električnih jegulja (*eeAChE*) bez liganda, iz PDB databaze (PDB:1C2B¹⁷¹).

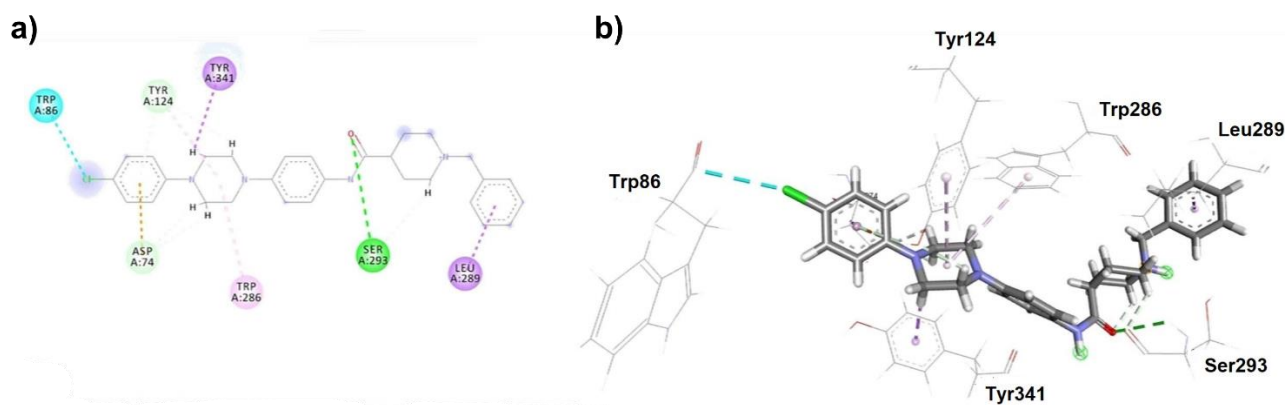
Analizom dostupne literature, može se zaključiti da aminokiselinski ostaci Asp74, Ser293, Tyr124, Tyr337, Trp86 i Trp286 igraju važnu ulogu u interakcijama sa inhibitorima kod AChE. Prethodna istraživanja su identifikovala Asp74 kao bitan aminokiselinski ostatak u aktivnom mestu AChE,¹⁷² odgovoran za vezivanje acetilholina i pokretanje katalitičkog procesa, dok su Ser293 i Trp86 takođe vrlo važni aminokiselinski ostaci za ostvarivanje stabilnih kompleksa u KAM-u.¹⁷³ Trp286 se ističe kao bitan aminokiselinski ostatak u PAM-u AChE koji dodatno stabilizuje komplekse sa inhibitorima.^{129,174} U tabeli 2, dat je pregled interakcija svih jedinjenja iz druge serije – analoga donepezila sa vezivnim mestom AChE, a radi preglednosti ključne interakcije su naznačene plavom bojom.

Sva ispitivana jedinjenja iz druge serije pokazala su energiju vezivanja u rasponu od -8,87 do -12,33 kcal/mol (tabela 2). Nađeno je da većina jedinjenja sa aminskim mostom uspostavlja vodonične veze sa aminokiselinama u aktivnom mestu enzima. Konkretno, Asp74 (za **146**, **147** i **151**) i Asn87 (za **149** i **152**) aminokiselinski ostaci su interagovali sa aminskom serijom na opisan način. Međutim, kompleksi AChE sa **148** i **150** nisu pokazali stabilizaciju putem vodoničnih veza. Što se tiče jedinjenja sa karboksamidnim mostom između dve farmakofore, vodonične veze su uspostavljene kod kompleksa enzima sa **157** preko Phe346, sa **160** preko Thr75 i kod **157**, **159** i **162** putem interakcija sa Ser293, dok jedinjenja **156**, **158** i **161** nije primećen ovakav vid interakcija sa AChE.

Svi ligand-enzim kompleksi su dodatno stabilizovani putem brojnih aromatičnih interakcija (π - π , π -alkil i π -anjon interakcija, kao i privlačnih interakcija). Treba naglasiti da su sva ispitivana jedinjenja uspostavila hidrofobne interakcije sa Trp286, koji je ključni aminokiselinski ostatak u PAM-u enzima, bitan za katalitičku aktivnost. Takođe, aminokiselinski ostatak Trp86, koji je značajan deo aktivnog mesta, uspostavlja interakcije sa jedinjenjima iz ove serije. Dvodimenzionalni i trodimenzionalni prikazi doking pozicija najaktivnijih jedinjenja, **152** i **162**, dati su na slikama 30 i 31. Na slici 30 se može primetiti da se jedinjenje **152** orijentiše u vezivnom mestu AChE sa piperazinskim delom molekula usmerenim ka PAM-u, dok se *N*-benzilpiperidinski deo usmerava ka KAM-u, uspostavljajući π - π interakcije sa Trp86 slično donepezilu. Svi derivati sa aaminskim mostom iz ove serije pokazuju sličan način vezivanja. Iznenadujuće, u kompleksima jedinjenja sa karboksamidnim mostom (**156–162**) kod kojih je energija vezivanja za enzim bila najpovoljnija, ligandi su orijentisani suprotno od aaminskih analoga, gde je piperazinski prsten usmeren ka KAM-u enzima. Za ligand **162**, ta orijentacija je stabilizovana privlačnim interakcijama sa Trp86 KAM-a (slika 31).



Slika 30. a) 2D prikaz, i b) 3D prikaz ključnih interakcija AChE i jedinjenja **152** dobijenih doking analizom; kod 2D prikaza privlačne jonske interakcije su obojene narandžasto, vodonične veze su obojene zeleno, aromatične interakcije roze



Slika 31. a) 2D prikaz, i b) 3D prikaz ključnih interakcija AChE i jedinjenja **162** dobijenih doking analizom; kod 2D prikaza privlačne interakcije su obojene plavo, vodonične veze su obojene zeleno, aromatične interakcije ljubičasto

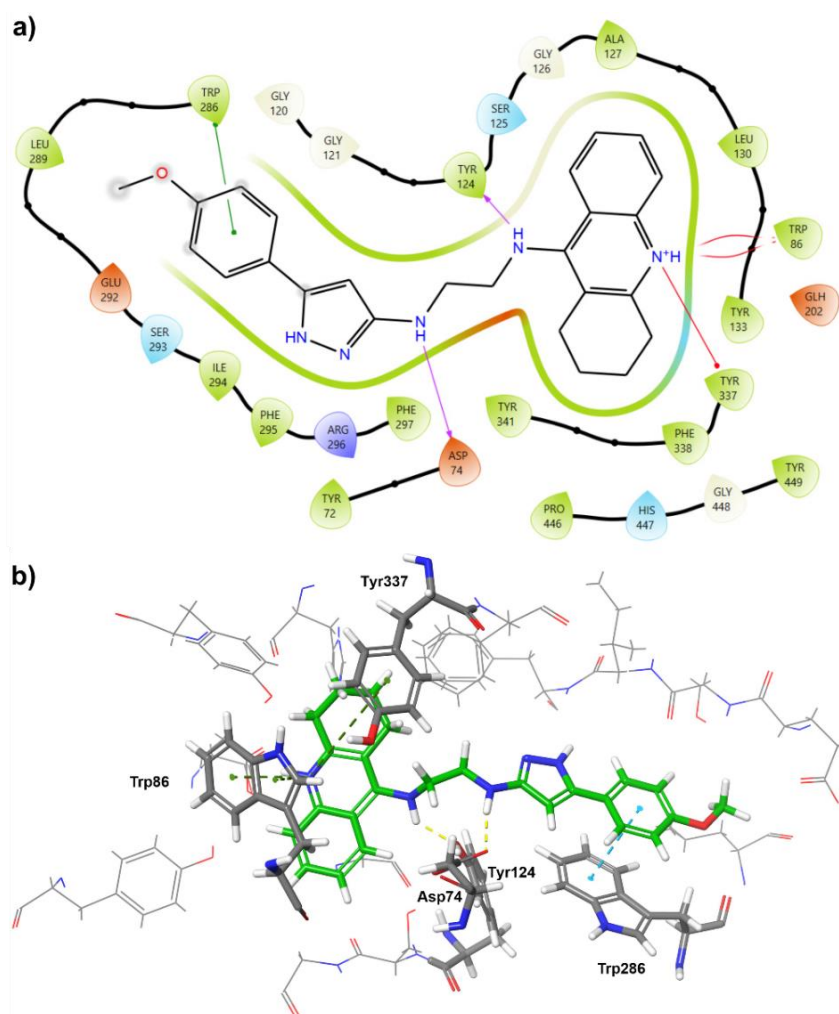
3.3.2 Doking analiza nosintetisanih derivata takrina **209–232**

Za doking analizu jedinjenja **209–232** korišćene su kristalne strukture (PDB:1C2B¹⁷¹ i PDB:4BDS¹⁷⁵) iz PDB databaze. 4BDS predstavlja kristalnu strukturu ljudske BuChE (*h*BuChE)

kristalisane u kompleksu sa inhibitorom, takrinom. U tabeli 3, dat je pregled interakcija svih jedinjenja iz treće serije sa vezivnim mestom AChE i BuChE, a ključne interakcije su naznačene plavom bojom.

Sva ispitivana jedinjenja pokazala su energiju vezivanja sa AChE u rasponu od -6,71 do -16,02 kcal/mol (tabela 3). Kompleksi stabilizovani vodoničnim vezama uspostavljeni su kod svih derivata, osim jedinjenja **214**. Aminokiselinski ostaci u vezivnom mestu AChE koji su ostvarivali interakcije ovog tipa najčešće su bili: Asp74, Tyr124, Ser293, Phe295 i Arg296. Treba spomenuti da jedinjenja koja imaju visoku aktivnost, uspostavljaju ove interakcije sa Asp74 i/ili Tyr124.

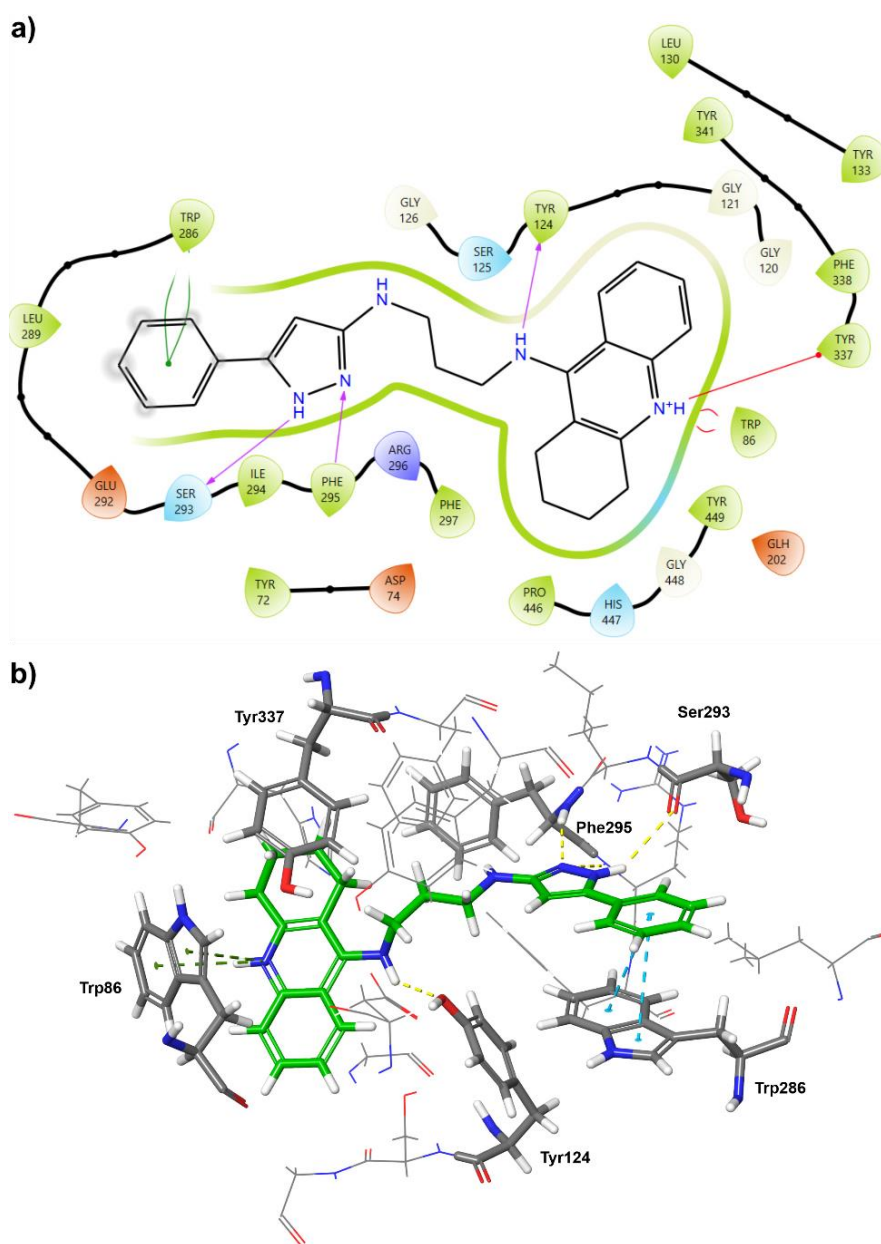
Iz doking analize se još može videti da su kompleksi enzima i jedinjenja dodatno stabilizovani putem brojnih aromatičnih interakcija. Slično prethodnoj seriji, ispitana jedinjenja uspostavila su aromatične interakcije sa Trp86, ključnim aminokiselinskim ostatkom u katalitičkom aktivnom mestu AChE. Dodatno, sva jedinjenja ostvarila su interakcije i sa Tyr337 u KAM-u enzima. Takođe, kod većine jedinjenja primećene su interakcije sa Trp286, osim derivata **213**, **224**, **226**, **228**, **230** i **232** koje karakteriše uglavnom niža aktivnost u odnosu na ostale ($IC_{50} > 1,0 \mu m$). Dvodimenzionalni i trodimenzionalni prikazi doking položaja najaktivnijeg jedinjenja u seriji prema AChE, **211** i derivata sa najboljim odnosom aktivnosti prema oba enzima, **215** dati su na slikama 32 i 33, respektivno.



Slika 32. a) 2D prikaz, i b) 3D prikaz ključnih interakcija AChE i jedinjenja **211** dobijenih doking analizom; kod 2D prikaza elektrostatičke interakcije su obojene crveno, vodonične veze su obojene ljubičasto, aromatične interakcije zeleno

Može se primetiti da se jedinjenje **211** orijentiše u aktivno mesto AChE sa takrinskim delom molekula usmerenim ka KAM-u, gde ostvaruje elektrostatičke interakcije sa Trp86 i Tyr337, dok se arilpirazolski deo usmerava ka PAM-u, uspostavljajući preko benzenovog prstena aromatične interakcije sa Trp286. Jedinjenje **211**, preko oba azota iz diaminskog mosta uspostavlja i dodatne vodonične veze sa Asp74 i Tyr124 (slika 32).

Slično kao i ligand **211**, derivat **215** uspostavlja elektrostatičke interakcije u aktivnom mestu sa Trp86 i Tyr337 takrinskim delom molekula, dok u perifernom anjonskom mestu, preko benzenovog prstena arilpirazola uspostavlja aromatične interakcije sa Trp286. Takođe, kompleks enzima i jedinjenja **215** je stabilizovan vodoničnom vezom između sekundarnog amina vezanog za takrinsko jezgro i Tyr124, kao i kod jedinjenja **211**. Pored ovih interakcija, derivat **215** je dodatno stabilizovan vodoničnim vezama, koje grade oba azota iz pirazolskog prstena sa Phe295 i Ser293 (slika 33).

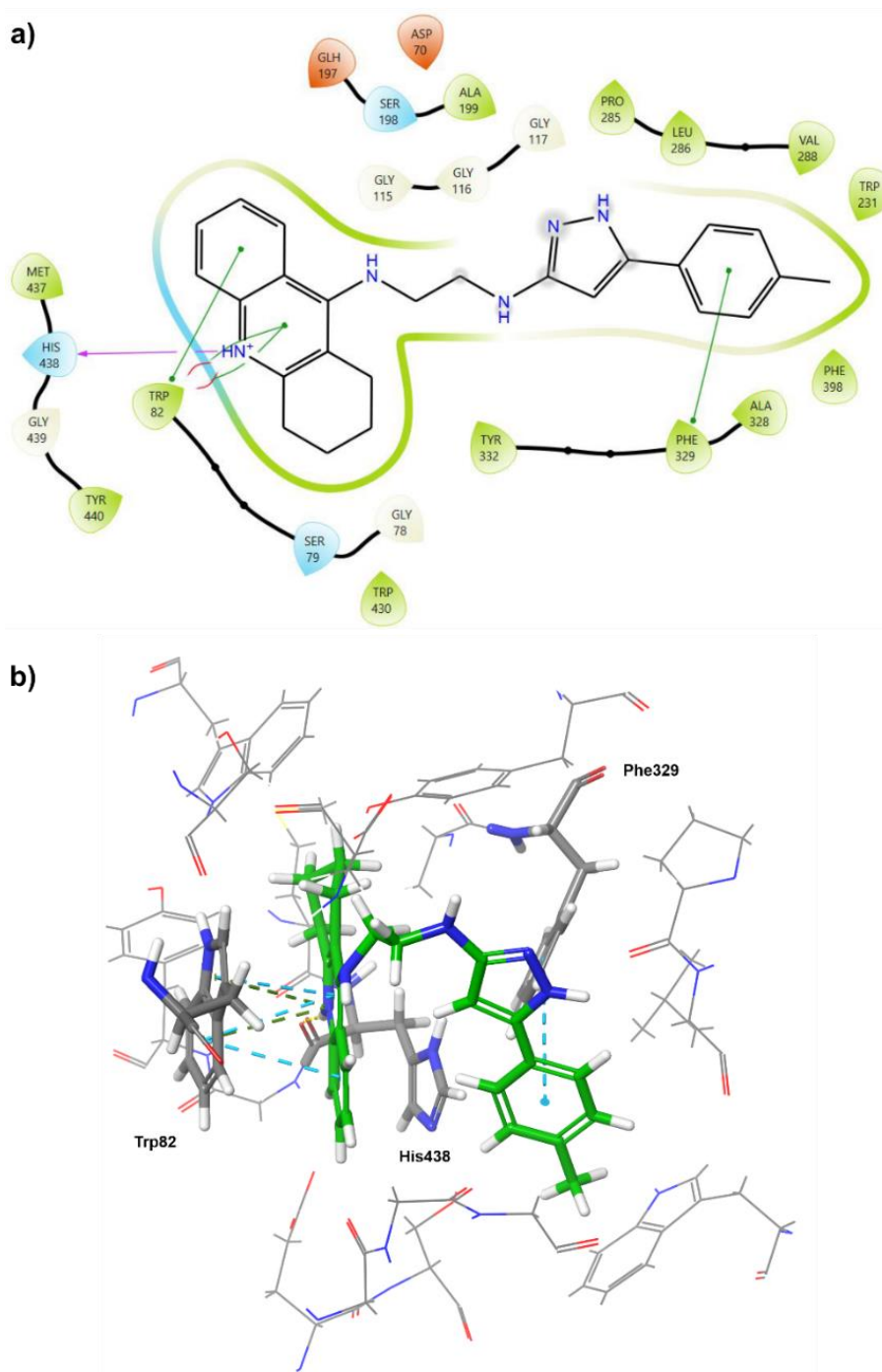


Slika 33. a) 2D prikaz, i b) 3D prikaz ključnih interakcija AChE i jedinjenja **215** dobijenih doking analizom; kod 2D prikaza elektrostatičke interakcije su obojene crveno, vodonične veze su obojene ljubičasto, aromatične interakcije zeleno

Pretragom literature, nađeno je da su aminokiselinski ostaci Asp70, Tyr332, Phe329, Trp231, Trp82 i His438 važni kod ostvarivanja interakcija sa inhibitorima BuChE. Trp82 identifikovan je kao značajan aminokiselinski ostatak za uspostavljanje stabilnih kompleksa u aktivnom mestu BuChE, kao i His438 koji je sastavni deo katalitičke trijade BuChE.^{29,38} Trp231, aminokiselinski ostatak koji je prisutan u mestu za vezivanje acil-grupe enzima u KAM-u, može dodatno stabilizovati komplekse inhibitora i enzima.³⁸ Bitni aminokiselinski ostaci perifernog anjonskog mesta BuChE, koji mogu dodatno stabilizovati komplekse sa inhibitorima, su Asp70, Tyr332 i Phe329.^{43,176}

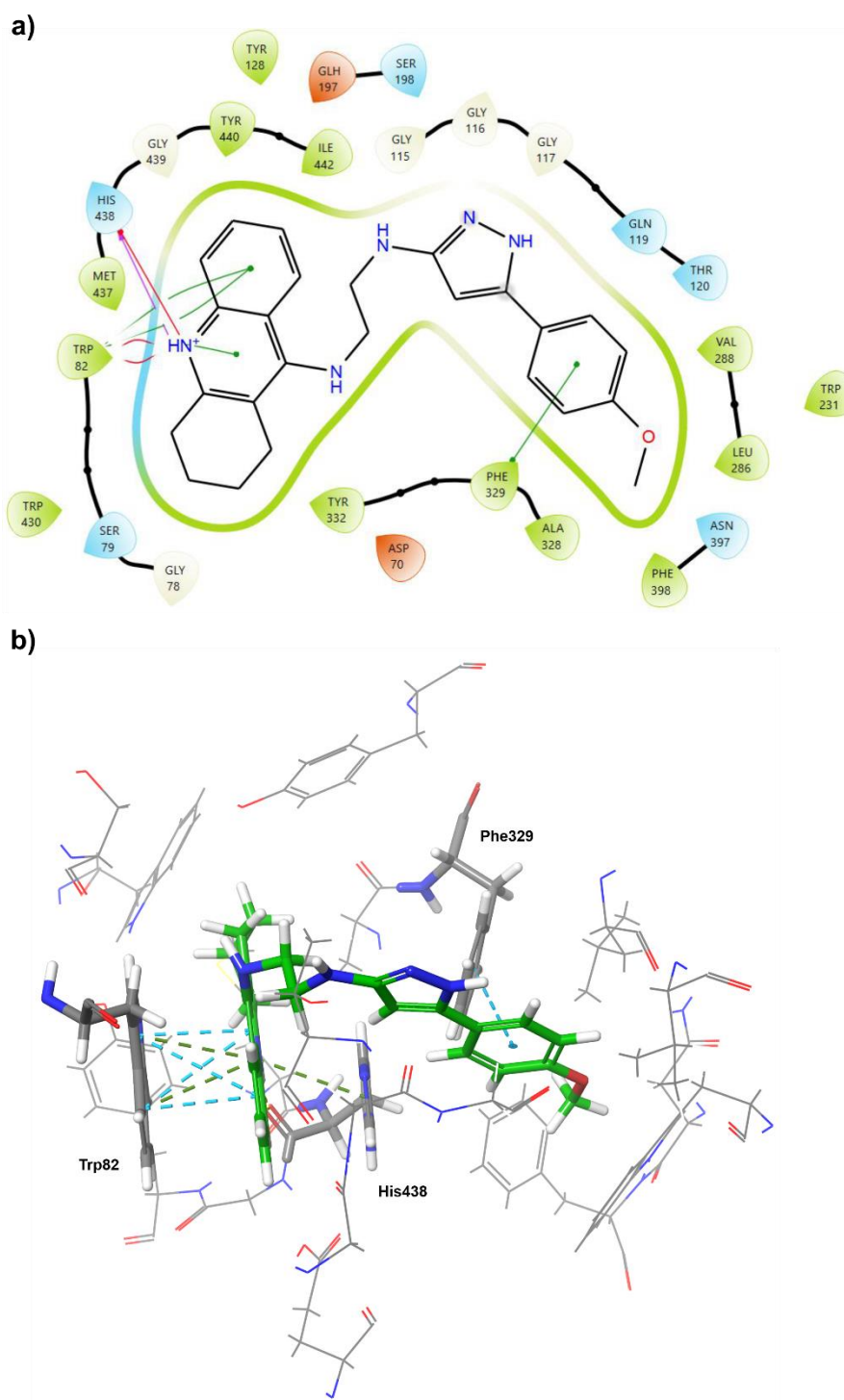
Sva ispitivana jedinjenja pokazala su energiju vezivanja sa BuChE u rasponu od -3,47 do -12,48 kcal/mol (tabela 3). Kompleksi stabilizovani vodoničnim vezama uspostavljeni su kod svih derivata, osim jedinjenja **216** i **217**. Interakcije ovog tipa poticale su od aminokiseline His438, a kod par primera dodatno i od Thr120 i Ser287. Svi ligandi su takrinskim delom molekula interagovali sa Trp82 iz KAM-a, vezujući se za isto mesto kao i sam takrin koji je kristalisan u kompleksu sa BuChE.¹⁷⁵ Primećeno je da na povećanje inhibitorne aktivnosti utiču dodatne interakcije sa Phe329, Trp231 i Tyr332. Dvodimenzionalni i trodimenzionalni prikazi doking položaja najaktivnijeg jedinjenja u seriji prema BuChE **210**, i jedinjenja sa najboljim odnosom inhibicije prema oba enzima **211** i **215** predstavljeni su na slikama 34–36.

Može se videti da je takrinski deo liganda **210** smešten u KAM BuChE, gde interaguje sa Trp82 aromatičnim i elektrostatičkim interakcijama i uspostavlja vodoničnu vezu sa His438. Takođe ostvaruje dodatnu aromatičnu interakciju sa Phe329 iz PAM-a, preko benzenovog prstena arilpirazolskog dela molekula (slika 34).



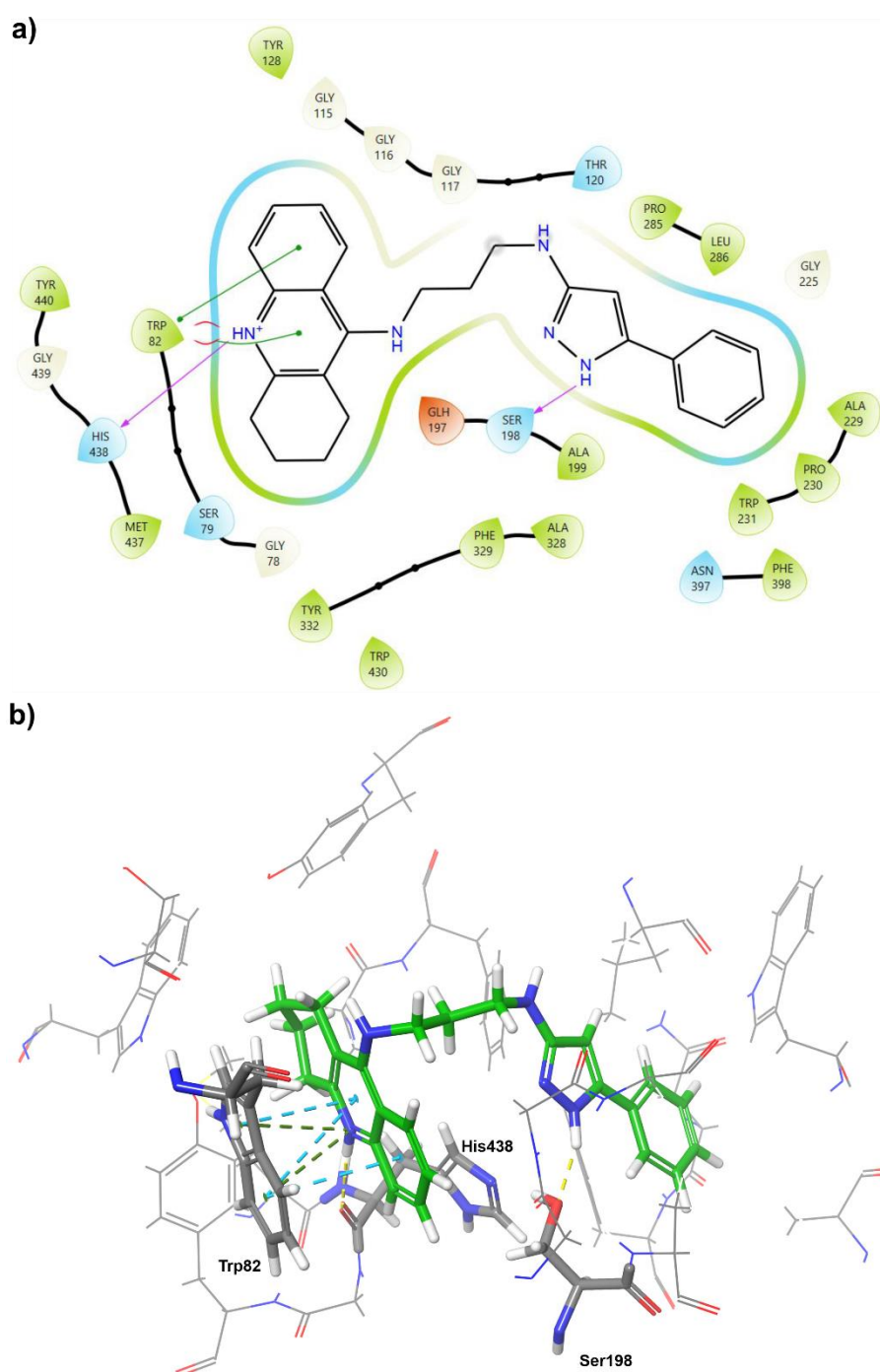
Slika 34. a) 2D prikaz, i b) 3D prikaz ključnih interakcija BuChE i jedinjenja **210** dobijenih doking analizom; kod 2D prikaza elektrostatičke interakcije su obojene crveno, vodonične veze su obojene ljubičasto, aromatične interakcije zeleno

Ligand **211** pokazuje vrlo sličan način vezivanja kao i derivat **210**, uspostavljajući elektrostatičke interakcije i aromatične interakcije takrinskim delom sa Trp82 i elektrostatičke interakcije i vodoničnu vezu sa His438. I ovde se kao i kod derivata **210** javljaju aromatične interakcije između Phe329 iz PAM-a i benzenovog prstena arilpirazolskog dela (slika 35).



Slika 35. a) 2D prikaz, i b) 3D prikaz ključnih interakcija BuChE i jedinjenja **211** dobijenih doking analizom; kod 2D prikaza elektrostatičke interakcije su obojene crveno, vodonične veze su obojene ljubičasto, aromatične interakcije zeleno

Kod jedinjenja **215** kao i kod prethodna dva primera, uspostavljene su interakcije takrinskog jezgra i KAM-a BuChE gde takrinsko jezgro interaguje sa Trp82 aromatičnim i elektrostatičkim interakcijama, dok sa His438 uspostavlja vodoničnu vezu. Interesantno, za razliku od prethodna dva derivata, jedinjenje **215** nije uspostavilo interakcije sa Phe329 iz PAM-a, već je dodatno stabilizovano vodoničnom vezom između azota pirazolskog prstena i Ser198 iz katalitičke trijade (slika 36).



Slika 36. a) 2D prikaz, i b) 3D prikaz ključnih interakcija BuChE i jedinjenja **215** dobijenih doking analizom; kod 2D prikaza elektrostaticke interakcije su obojene crveno, vodonične veze su obojeno ljubičasto, aromatične interakcije zeleno

Analizom rezultata dobijenih dokingom jedinjenja **209–232** može se zaključiti sledeće:

- Takrinski motiv je krucijalan za vezivanje u aktivno mesto oba enzima;
- Diaminski most dodatno stabilizuje kompleks inhibitora sa AChE, uspostavljanjem vodoničnih veza;
- Prisustvo arilpirazolskog strukturnog motiva je od značaja za interakcije liganada sa PAM-om AChE i BuChE čime se uspostavlja stabilniji kompleksi i povećava inhibitorna aktivnost;

- Interakcije liganda sa Asp74 i/ili Tyr74 su ključne u postizanju visoke inhibitorne aktivnosti prema AChE;
- Interakcije sa nekim od sledećih aminokiselinskih ostataka su ključne u postizanju visoke inhibitorne aktivnosti prema BuChE u čitavoj seriji: Phe329, Trp231 i Tyr332.

3.3.3 *In silico* analiza farmakokinetičkih parametara novosintetisanih jedinjenja

Određivanje fizičko-hemijskih karakteristika koje su u osnovi farmakokinetičkih svojstava kao što su adsorpcija, distribucija, metabolizam i ekskrecija (ADME), je važan korak u ranim fazama razvoja novih lekova. U tu svrhu često se koriste kompjuterske metode, a poslednjih godina popularne su internet platforme za predviđanje farmakokinetičkih svojstava novih jedinjenja, od kojih se u literaturi često spominju: Molsoft, SwissADME, CBLigand i dr. Često primenjavano pravilo za procenu da li supstanca poseduje karakteristike lekova (*Drug-Likeness*, DL) je pravilo "pet" po Lipinskom (*Lipinski's rule of five*, LR5), koje se zasniva na pretpostavci da su lekovi namenjeni oralnoj upotrebi mali, umereno lipofilni molekuli. Po ovom pravilu, da bi jedinjenja imala osobine leka i bila pogodna za oralnu primenu, molekulaska masa (MW) treba da bude manja od 500 Da, da imaju manje od 10 grupa koje su akseptori vodonične veze (HBA), manje od 5 grupa koje su donori vodonične veze (HBD) i vrednost koeficijenta raspodele između vode i oktanol (LogP) manju od 5. Kod jedinjenja koja deluju na mete u CNS-u od velike je važnosti lipofilnost, odnosno permeabilnost krvno-moždane barijere (*Blood-Brain Barrier*, BBB). Pored ovih parametara, za određivanje lipofilnosti treba imati u vidu i polarnu površinu molekula (PSA). Da bi jedinjenja bila BBB permeabilna, PSA bi trebalo da bude manja od 90 Å.^{177,178} Za sva novosintetisana jedinjenja u okviru ove disertacije koja su pokazala inhibitornu aktivnost prema holinesterazama urađeno je *in silico* predviđanje farmakokinetičkih parametara uz pomoć Molsoft platforme¹⁷⁹ (tabela 4).

Analizom dobijenih parametara može se primetiti da ispitana jedinjenja ispunjavaju sva ili većinu Lipinski pravila. Odstupanje od pravila javlja se kod jedinjenja koja imaju LogP malo veći od 5 (tabela 4, vrednosti koje odstupaju obojene su narandžastom bojom). Odstupanje od jednog Lipinski pravila je često prihvatljivo u razvoju novih lekova; više od 30% odobrenih lekova poslednjih godina, imalo je bar jedno odstupanje od LR5.¹⁸⁰ Predviđene PSA vrednosti koje su manje od 90 Å, sugerišu da bi ispitana jedinjenja trebalo da budu dovoljno lipofilna da bi nesmetano prošla kroz krvno-moždanu barijeru. Tome u prilog ide i predviđena BBB permeabilnost koja ima visoku vrednost kod svih jedinjenja i uporediva je sa vrednošću dobijenom za donepezil i takrin. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da sva ispitana jedinjenja ispunjavaju farmakokinetičke uslove neophodne da bi jedinjenja mogla biti razmatrana u svojstvu kandidata za nove lekove.

Tabela 4. *In silico* predviđanje farmakokinetičkih parametara

J-nje	MW	HBA	HBD	LogP	PSA (Å)	BBB ^a	LR5 ^b
146	426,28	1	1	5,01	20,45	4,60	1
147	456,29	2	1	5,11	27,78	4,70	1
149	456,29	2	1	5,11	28,00	4,70	1
150	460,24	1	1	5,74	20,15	4,53	1
151	460,24	1	1	5,58	20,45	4,53	1
152	460,24	1	1	5,75	20,45	4,53	1
156	454,27	2	1	4,47	33,77	4,75	0
157	484,28	3	1	4,57	41,10	4,55	0
158	484,28	3	1	4,53	41,32	4,55	0
159	484,28	3	1	4,57	41,32	4,55	0
160	488,23	2	1	5,20	33,47	4,70	1
161	488,23	2	1	5,04	33,77	4,70	1
162	488,23	2	1	5,21	33,77	4,70	1
209	383,21	2	3	4,56	52,08	4,16	0
210	397,23	2	3	5,12	52,08	4,13	1
211	413,22	3	3	4,63	59,62	3,82	0
212	417,17	2	3	5,27	52,08	4,14	1
213	401,20	2	3	4,74	52,08	4,13	0
214	451,20	2	3	5,61	52,08	4,03	1
215	397,23	2	3	4,81	52,08	4,13	0
216	411,24	2	3	5,37	52,08	4,10	1
217	427,24	3	3	4,88	59,62	3,80	0
218	431,19	2	3	5,52	52,08	4,11	1
219	415,22	2	3	4,99	52,08	4,10	0
220	465,21	2	3	5,86	52,08	3,99	1
221	411,24	2	3	4,92	52,08	4,10	0
222	425,26	2	3	5,49	52,08	4,06	1
223	441,25	3	3	5,00	59,62	3,78	0
224	445,20	2	3	5,63	52,08	4,07	1
225	429,23	2	3	5,10	52,08	4,06	1
226	479,23	2	3	5,98	52,08	3,95	1
227	425,26	2	3	5,43	52,08	4,06	1
228	439,27	2	3	5,99	52,08	4,02	1
229	455,27	3	3	5,50	59,62	3,75	1
230	459,22	2	3	6,14	52,08	4,03	1
231	443,25	2	3	5,61	52,08	4,03	1
232	493,25	2	3	6,49	52,08	3,91	1
donepezil	379,21	4	0	4,46	32,39	5,29	0
Tarkin	198,12	1	2	2,89	29,38	5,48	0

^a Predviđena BBB permeabilnost (od 0=niska BBB permeabilnost do 6=visoka BBB permeabilnost); ^b Odstupanje od LR

4. EKSPERIMENTALNI DEO

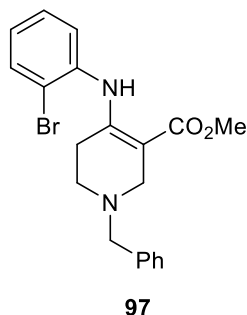
^1H i ^{13}C NMR spektri su snimani na Bruker Avance III spektrofotometru, na 500 MHz za proton (^1H), a na 126 MHz za ugljenik (^{13}C) i na Varian/agilent spektrofotometru na 400 MHz za proton (^1H), a na 101 MHz za ugljenik (^{13}C) u CDCl_3 , DMSO-d_6 i CD_3OD . Hemijska pomeranja su data u ppm, a kao interni standard korišćen je tetrametilsilan (TMS). Konstante kuplovanja (J) su date u Hz. HRMS je snimana na heated ESI (HESI)-Orbitrap spektrometru. IR spektri su snimani na Thermo Scientific Nicolet 6700 Fourier-transform spektrofotometru u ATR modu. Tačke topljenja su određivane na Boetius PHNK aparatu, pri brzini zagrevanja $4\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ i nisu korigovane. TLC je rađena na staklenim pločicama sa SiO_2 (tip 60, Merck) i aluminijumskim pločicama sa Al_2O_3 (Fluka Chemie). "Dry-column flash" hromatografija je rađena pomoću SiO_2 18-32 μm , ICN-Woelm. Za ispitivanje inhibitorne aktivnosti acetilholin-esteraze i butirilholin-esteraze, i određivanje tipa inhibicije acetilholin-esteraze korišćen je UV-VIS spektrofotometar (Thermo Fisher). 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoeva) kiselina (DTNB), acetiltioholin-jodid (ATCI) i butiriltioholin-jodid (BTCl) korišćeni u ispitivanju inhibitorne aktivnosti acetilholin-esteraze (izolovane iz električnih jegulja; *eeAChE* 367 IU/mg proteina) i butirilholin-esteraze (izolovane iz konjskog seruma; *eqBuChE* 238 IU/mg proteina), kao i sami enzimi nabavljeni su od strane proizvođača Sigma-Aldrich.

4.1 Sinteza i spektroskopski podaci

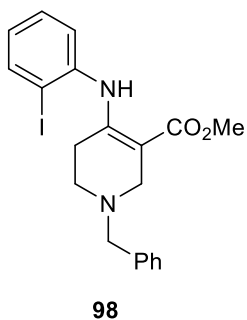
4.1.1. Opšta procedura A

U jednogrlom balonu od 50 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor metil-1-benzil-4-oksopiperidin-3-karboksilata **94** (1,0 ekv.) u sirćetnoj kiselini (20 ml) i 2-bromanilina **95** ili 2-jodanilina **96** (1,4 ekv.). Smeša se meša na $25\text{ }^\circ\text{C}$ i reakcija se prati pomoću TLC na SiO_2 pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača *n*-heksana i EtOAc u odnosu 8:2. Nakon 24 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Doda se vodeni rastvor Na_2CO_3 (1,5 M) do $\text{pH} \sim 12$ i smeša se ekstrahuje pomoću EtOAc (3 x 50 ml). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava prekrizacijom iz *i*-PrOH.

4.1.1.1. Metil-1-benzil-4-((2-bromfenil)amino)-1,2,5,6-tetrahidropiridin-3-karboksilat (**97**)



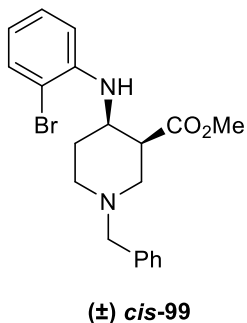
Primenom opšte procedure **A**, polazeći od metil-1-benzil-4-oksopiperidin-3-karboksilata **94** (4,93 g, 19,94 mmol), i 2-bromanilina **95** (4,80 g, 27,92 mmol), dobijeno je jedinjenje **97** (5,60 g, 70%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = $87\text{--}88\text{ }^\circ\text{C}$; **Rf** = 0,37 (SiO_2 ; *n*-heksan/EtOAc, 9:1). **IR** (ATR): 3239, 3027, 2947, 2807, 2763, 1664, 1615, 1490, 1440, 1367, 1250, 1117, 1059, 738 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3) δ = 10,53 (br. s, 1H, NH); 7,62 – 7,55 (m, 1H, ArH); 7,39 – 7,29 (m, 4H, ArH); 7,29 – 7,24 (m, 1H, ArH); 7,25 – 7,20 (m, 1H, ArH); 7,20 – 7,14 (m, 1H, ArH); 7,02 – 6,95 (m, 1H, ArH); 3,72 (s, 3H, OCH_3); 3,64 (s, 2H, CH_2); 3,36 – 3,33 (m, 2H, CH_2); 2,50 (t, J = 5,7 Hz, 2H, CH_2); 2,39 (t, J = 5,6 Hz, 2H, CH_2) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3) δ = 169,5; 153,9; 138,4; 138,2; 133,2; 129,2; 128,4; 127,8; 127,2; 126,8; 126,1; 120,3; 93,4; 62,5; 52,1; 50,9; 48,6; 28,7 ppm.

4.1.1.2. Metil-1-benzil-4-((2-jodfenil)amino)-1,2,5,6-tetrahidropiridin-3-karboksilat (**98**)

Primenom opšte procedure **A**, polazeći od metil-1-benzil-4-okso-piperidin-3-karboksilata **94** (4,98 g, 20,14 mmol), i 2-jodanilina **96** (6,18 g, 28,20 mmol), dobijeno je jedinjenje **98** (6,77 g, 75%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 106–108 °C; **Rf** = 0,37 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 9:1). **IR** (ATR): 3130, 3027, 2950, 2791, 2742, 1652, 1606, 1494, 1446, 1364, 1243, 1149, 1060, 776 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 10,34 (br. s, 1H, NH); 7,87 – 7,80 (m, 1H, ArH); 7,37 – 7,28 (m, 4H, ArH); 7,28 – 7,21 (m, 2H, ArH); 7,18 – 7,11 (m, 1H, ArH); 6,89 – 6,80 (m, 1H, ArH); 3,71 (s, 3H, OCH₃); 3,62 (s, 2H, CH₂); 3,36 – 3,30 (m, 2H, CH₂); 2,48 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H, CH₂); 2,27 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 169,5; 154,1; 141,4; 139,5; 138,4; 129,2; 128,8; 128,4; 127,2; 127,1; 127,0; 98,2; 93,0; 62,5; 52,0; 50,9; 48,6; 28,6 ppm.

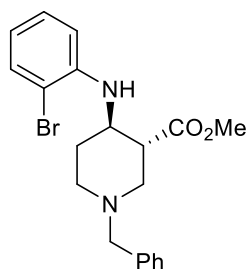
4.1.2. Opšta procedura **B**

U jednogrlom balonu od 250 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor enamina (**97**, **98**) (1,0 ekv.) u MeOH (65 ml), NaBH₃CN (1,4 ekv.) i AcOH (3,0 ekv.). Smeša se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača *n*-heksana i EtOAc u odnosu 8:2. Nakon 24 h, u smešu se doda konc. HCl do pH ~ 1 i višak rastvarača se ukloni uparavanjem pod sniženim pritiskom. Ostatak se neutrališe vodenim rastvorom K₂CO₃ (1,5 M) do pH ~ 11 i ekstrahuje se pomoću EtOAc (3 x 50 ml). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Diastereoizomeri se razdvajaju "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist *n*-heksan, zatim je postepeno dodavan EtOAc do odnosa *n*-heksan/EtOAc = 7:3) za spektroskopsku analizu, ali se smeša *cis/trans* diastereizomera koristi u sledećem koraku, bez prečiščavanja.

4.1.2.1. Metil-(±)-*cis*-1-benzil-4-((2-bromfenil)amino)piperidin-3-karboksilat ((±) *cis*-**99**)

Primenom opšte procedure **B**, polazeći od enamina **97** (4,01 g, 10,00 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *cis*-**99** (2,45 g, 61%); bezbojna, viskozna supstanca; **Rf** = 0,39 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 9:1). **IR** (ATR): 3392, 3027, 2949, 2804, 1730, 1594, 1510, 1435, 1321, 1215, 1020, 741 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,47 – 7,41 (m, 1H, ArH); 7,38 – 7,29 (m, 4H, ArH); 7,32 – 7,25 (m, 1H, ArH); 7,21 – 7,12 (m, 1H, ArH); 6,71 – 6,65 (m, 1H, ArH); 6,61 – 6,53 (m, 1H, ArH); 5,24 (br. s, 1H, NH); 3,87 – 3,74 (m, 1H, CH); 3,67 (s, 3H, OCH₃); 3,64 (d, *J* = 13,4 Hz, 1H, CH₂-H); 3,50 (d, *J* = 13,3 Hz, 1H, CH₂-H); 3,11 – 2,99 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,99 – 2,92 (m, 1H, delimično preklopljen, CH); 2,78 – 2,63 (m, 1H, CH₂-H); 2,60 – 2,46 (m, 1H, CH₂-H); 2,46 – 2,35 (m, 1H, CH₂-H); 2,14 – 2,03 (m, 1H, CH₂-H); 1,93 – 1,83 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 172,9; 144,0; 138,3; 132,8; 128,9; 128,4; 128,3; 127,2; 117,9; 112,0; 110,8; 62,8; 53,3; 51,7 (2C); 50,1; 44,7; 28,9 ppm.

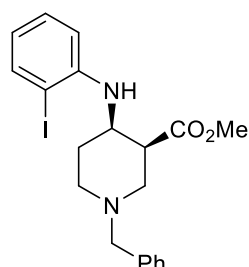
4.1.2.2. Metil-(±)-trans-1-benzil-4-((2-bromfenil)amino)piperidin-3-karboksilat ((±) trans-99)



(±) trans-99

Primenom opšte procedure **B**, polazeći od enamina **97** (4,01 g, 10,00 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *trans*-**99** (1,44 g, 36%); bezbojna, viskozna supstanca; **R_f** = 0,53 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 9:1). **IR** (ATR): 3398, 3027, 2924, 2807, 1735, 1596, 1511, 1437, 1320, 1197, 1020, 743 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,44 – 7,38 (m, 1H, ArH); 7,37 – 7,32 (m, 4H, ArH); 7,33 – 7,26 (m, 1H, ArH); 7,20 – 7,11 (m, 1H, ArH); 6,75 – 6,69 (m, 1H, ArH); 6,60 – 6,53 (m, 1H, ArH); 4,31 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, NH); 3,74 – 3,68 (m, 1H, CH); 3,61 (s, 2H, CH₂); 3,59 (s, 3H, OCH₃); 3,01 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H, CH₂-H); 2,93 – 2,86 (m, 1H, CH₂-H); 2,80 – 2,71 (m, 1H, CH); 2,47 (t, *J* = 10,8 Hz, 1H, CH₂-H); 2,30 (t, *J* = 11,3 Hz, 1H, CH₂-H); 2,22 – 2,13 (m, 1H, CH₂-H); 1,66 – 1,55 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 173,3; 143,8; 137,3; 132,7; 129,2; 128,5; 128,5; 127,5; 118,3; 112,5; 110,5; 62,5; 54,1; 52,5; 52,0; 51,8; 48,5; 31,5 ppm.

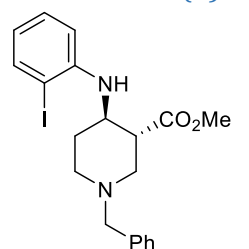
4.1.2.3. Metil-(±)-cis-1-benzil-4-((2-jodfenil)amino)piperidin-3-karboksilat ((±) cis-100)



(±) cis-100

Primenom opšte procedure **B**, polazeći od enamina **98** (4,2 g, 9,37 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *cis*-**100** (2,41 g, 57%); bezbojna, viskozna supstanca; **R_f** = 0,39 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 9:1). **IR** (ATR): 3381, 3026, 2804, 1733, 1588, 1508, 1454, 1319, 1215, 1005, 742, 700 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,66 – 7,61 (m, 1H, ArH); 7,32 – 7,25 (m, 4H, ArH); 7,26 – 7,21 (m, 1H, ArH); 7,18 – 7,12 (m, 1H, ArH); 6,59 – 6,54 (m, 1H, ArH); 6,44 – 6,37 (m, 1H, ArH); 5,01 (br. s, 1H, NH); 3,87 – 3,73 (m, 1H, CH); 3,64 (s, 3H, OCH₃); 3,61 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H, CH₂-H); 3,58 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H, CH₂-H); 3,04 – 2,93 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,95 – 2,87 (m, 1H delimično preklopljen, CH); 2,71 – 2,60 (m, 1H, CH₂-H); 2,59 – 2,47 (m, 1H, CH₂-H); 2,44 – 2,32 (m, 1H, CH₂-H); 2,09 – 1,98 (m, 1H, CH₂-H); 1,87 – 1,78 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 172,8; 146,3; 139,5; 138,3; 129,4; 129,0; 128,3; 127,2; 118,9; 113,9; 111,3; 86,6; 62,8; 53,2; 51,7 (2C); 50,6; 44,8; 28,8 ppm.

4.1.2.4. Metil-(±)-trans-1-benzil-4-((2-jodfenil)amino)piperidin-3-karboksilat ((±) trans-100)



(±) trans-100

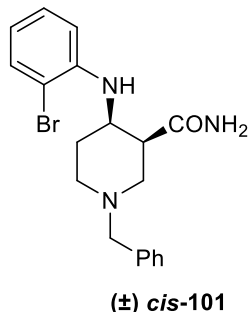
Primenom opšte procedure **B**, polazeći od enamina **98** (4,2 g, 9,37 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *trans*-**100** (1,52 g, 36%); bezbojna, viskozna supstanca; **R_f** = 0,53 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 9:1). **IR** (ATR): 3385, 2950, 2807, 1735, 1589, 1510, 1454, 1318, 1197, 1005, 743, 700 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,66 – 7,58 (m, 1H, ArH); 7,37 – 7,27 (m, 4H, ArH); 7,30 – 7,21 (m, 1H, ArH); 7,21 – 7,12 (m, 1H, ArH); 6,68 – 6,61 (m, 1H, ArH); 6,46 – 6,37 (m, 1H, ArH); 4,14 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, NH); 3,75 – 3,66 (m, 1H, CH); 3,59 (s, 3H, OCH₃); 3,55 (d, *J* = 5,4 Hz, 2H, CH₂); 2,94 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H, CH₂-H); 2,89 – 2,79 (m, 1H, CH₂-H); 2,70 (td, *J*₁ = 9,5; *J*₂ = 3,6 Hz, 1H, CH); 2,43 (t, *J* = 10,6 Hz, 1H, CH₂-H); 2,31 – 2,20 (m, 1H, CH₂-H); 2,19 – 2,12 (m, 1H, CH₂-H); 1,60 – 1,49 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 173,4; 146,1; 139,3; 138,2; 129,5; 129,1; 128,4; 127,3; 119,1; 111,9; 86,5; 62,7; 54,2; 52,8; 52,0; 48,5; 31,5 ppm.

4.1.3. Opšta procedura C

U jednogrlom balonu od 25 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor anilinoestra (**99**, **100**) (1,0 ekv.) u DMF-u (8 ml), LiH (2,0 ekv.) i HCONH₂ (4,0 ekv.). Smeša se meša na 25 °C, i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5. Nakon 24 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Ostatak se razblaži vodom (100 ml) i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). Organski slojevi se spoje i upari višak rastvarača pod

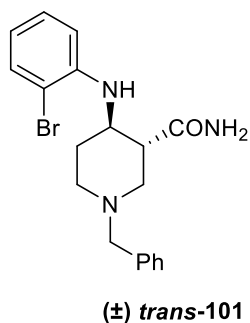
snižanim pritiskom. Prečišćavanjem "dry-column flash" hromatografijom dobijeni su *cis*- i *trans*-diastereoizomeri (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do odnosa CH₂Cl₂/MeOH = 95:5), i koriste se u sledećoj reakciji kao razdvojeni diastereoizomeri.

4.1.3.1. (±)-*cis*-1-benzil-4-((2-bromfenil)amino)piperidin-3-karboksamid ((±) *cis*-101)



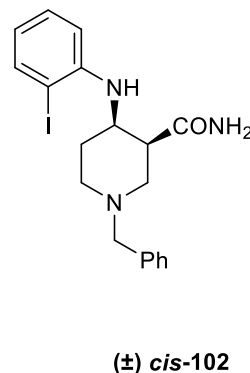
Primenom opšte procedure **C**, polazeći od smeše *cis/trans*-anilinoestra **99** (1,73 g, 4,30 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *cis*-**101** (0,45 g, 27%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 185–187 °C; **Rf** = 0,45 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3377, 3331, 3186, 2954, 2820, 1664, 1597, 1507, 1427, 1316, 745 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,50 (br. s, 1H, NH₂-H); 7,43 – 7,37 (m, 1H, ArH); 7,39 – 7,27 (m, 3H, ArH); 7,28 – 7,22 (m, 2H, ArH); 7,16 – 7,07 (m, 1H, ArH); 6,57 – 6,46 (m, 2H, ArH); 6,09 (br. s, 1H, NH₂-H); 5,61 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H, NH); 3,59 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H, CH₂-H); 3,56 – 3,48 (m, 1H, CH); 3,47 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H, CH₂-H); 3,17 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H, CH₂-H); 3,01 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH₂-H); 2,79 – 2,72 (m, 1H, CH); 2,30 (dd, *J*₁ = 12,2; *J*₂ = 2,9 Hz, 1H, CH₂-H); 2,21 (td, *J*₁ = 12,0; *J*₂ = 2,8 Hz, 1H, CH₂-H); 2,09 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H, CH₂-H); 1,66 (qd, *J*₁ = 12,3; *J*₂ = 4,0 Hz, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 175,2; 143,9; 137,1; 132,9; 129,3; 128,7; 128,3; 127,8; 117,3; 110,8; 110,1; 63,0; 54,3; 52,4; 51,5; 44,8; 28,1 ppm.

4.1.3.2. (±)-*trans*-1-benzil-4-((2-bromfenil)amino)piperidin-3-karboksamid ((±) *trans*-101)

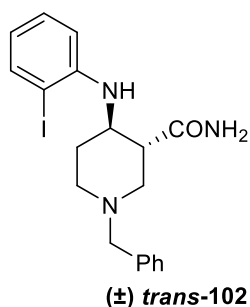


Primenom opšte procedure **C**, polazeći od smeše *cis/trans*-anilinoestra **99** (1,73 g, 4,30 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *trans*-**101** (0,84 g, 49%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 124–126 °C; **Rf** = 0,40 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3327, 3175, 2954, 2811, 1667, 1593, 1516, 1410, 1326, 736 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 7,39 (br. s, 1H, NH₂-H); 7,38 – 7,31 (m, 1H, ArH); 7,35 – 7,20 (m, 5H, ArH); 7,15 – 7,06 (m, 1H, ArH); 6,85 (br. s, 1H, NH₂-H); 6,79 – 6,72 (m, 1H, ArH); 6,52 – 6,43 (m, 1H, ArH); 4,46 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, NH); 3,52 – 3,43 (m, 3H, preklopljen CH₂, CH i H₂O); 2,83 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H, CH₂-H); 2,76 (d, *J* = 12,3 Hz, 1H, CH₂-H); 2,58 (td, *J*₁ = 10,6; *J*₂ = 3,8 Hz, 1H, CH); 2,14 (t, *J* = 11,1 Hz, 1H, CH₂-H); 2,11 – 2,03 (m, 1H, CH₂-H); 2,02 – 1,92 (m, 1H, CH₂-H); 1,30 (qd, *J*₁ = 12,2; *J*₂ = 3,9 Hz, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-d₆) δ = 173,8; 144,0; 138,2; 132,3; 128,9; 128,7; 128,2; 127,0; 117,3; 112,2; 108,8; 61,7; 55,3; 51,9; 51,7; 48,5; 31,0 ppm.

4.1.3.3. (±)-*cis*-1-benzil-4-((2-jodfenil)amino)piperidin-3-karboksamid ((±) *cis*-102)



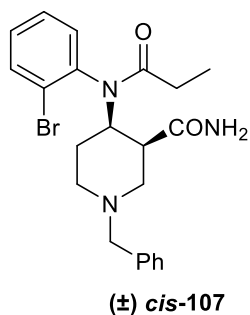
Primenom opšte procedure **C**, polazeći od smeše *cis/trans*-anilinoestra **100** (3,90 g, 8,67 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *cis*-**102** (1,13 g, 30%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 197–199 °C; **Rf** = 0,45 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3410, 3334, 3273, 2951, 2804, 1637, 1582, 1510, 1313, 746, 649 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,48 (br. s, 1H, NH₂-H); 7,68 – 7,60 (m, 1H, ArH); 7,38 – 7,21 (m, 5H, ArH); 7,19 – 7,09 (m, 1H, ArH); 6,49 – 6,42 (m, 1H, ArH); 6,42 – 6,33 (m, 1H, ArH); 5,85 (br. s, 1H, NH₂-H); 5,44 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H, NH); 3,59 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H, CH₂-H); 3,57 – 3,48 (m, 1H, CH); 3,47 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H, CH₂-H); 3,17 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H, CH₂-H); 3,00 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H, CH₂-H); 2,80 – 2,73 (m, 1H, CH); 2,30 (dd, *J*₁ = 12,2; *J*₂ = 2,9 Hz, 1H, CH₂-H); 2,20 (td, *J*₁ = 11,9; *J*₂ = 2,8 Hz, 1H, CH₂-H); 2,09 (dd, *J*₁ = 13,7; *J*₂ = 3,4 Hz, 1H, CH₂-H); 1,65 (qd, *J*₁ = 12,2; *J*₂ = 4,0 Hz, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 175,0; 146,3; 139,7; 137,1; 129,3; 129,2; 128,8; 127,9; 118,3; 110,3; 85,5; 63,0; 54,3; 52,5; 52,0; 44,8; 28,1 ppm.

4.1.3.4. (\pm)-*trans*-1-benzil-4-((2-jodfenil)amino)piperidin-3-karboksamid ((\pm) *trans*-**102**)

Primenom opšte procedure **C**, polazeći od smeše *cis/trans*-anilinoestra **100** (3,90 g, 8,67 mmol), dobijeno je jedinjenje (\pm) *trans*-**102** (2,08 g, 55%); bela, kristalna supstanca; T.t. = 118–120 °C; **Rf** = 0,40 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3383, 3324, 3206, 2943, 2801, 1682, 1671, 1589, 1508, 1452, 1321, 735, 702 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 7,59 – 7,52 (m, 1H, ArH); 7,43 (br. s, 1H, NH₂-H); 7,33 – 7,18 (m, 5H, ArH); 7,16 – 7,07 (m, 1H, ArH); 6,86 (br. s, 1H, NH₂-H); 6,69 – 6,62 (m, 1H, ArH); 6,38 – 6,29 (m, 1H, ArH); 4,15 (d, J = 8,3 Hz, 1H, NH); 3,53 – 3,42 (m, 3H, preklopljen CH₂ i CH); 2,82 (d, J = 9,3 Hz, 1H, CH₂-H); 2,74 (d, J = 11,7 Hz, 1H, CH₂-H); 2,55 (td, J_1 = 10,4; J_2 = 3,7 Hz, 1H, CH); 2,14 (t, J = 11,2 Hz, 1H, CH₂-H); 2,13 – 2,01 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,03 – 1,92 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 1,33 – 1,22 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-d₆) δ = 173,7; 146,2; 138,8; 138,2; 129,4; 128,8; 128,2; 127,0; 118,3; 111,5; 85,6; 61,7; 55,2; 52,3; 51,6; 48,7; 31,1 ppm.

4.1.4. Opšta procedura **D**

U jednogrlom balonu od 25 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor anilinkarboksamida (**101**, **102**) (1,0 ekv.) u DMF-u (8 ml), piridina (3,0 ekv.), DMAP-a (0,3 ekv.) i propionil-bromida (10,0 ekv.). Smeša se meša na 25 °C, i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5. Nakon 24 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Ostatak se neutrališe vodenim rastvorom Na₂CO₃ do pH ~ 11 i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). Organski slojevi se spoje i upari se višak rastvarača pod sniženim pritiskom. Reakciona smeša se rastvori u metanolnom amonijaku (8 M, 30 ml) i meša na 25 °C. Reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5. Nakon 24 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom i sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do odnosa CH₂Cl₂/MeOH = 95:5).

4.1.4.1. (\pm)-*cis*-1-benzil-4-(*N*-(2-bromfenil)propionamido)piperidin-3-karboksamid ((\pm) *cis*-**107**)

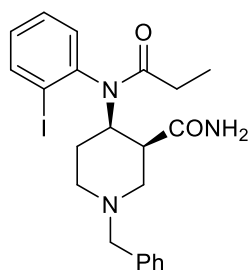
Primenom opšte procedure **D**, polazeći od anilinkarboksamida (\pm) *cis*-**101** (0,427 g, 1,10 mmol), dobijeno je jedinjenje (\pm) *cis*-**107** (0,38 g, 78%); bela, kristalna supstanca; T.t. = 189–191 °C; **Rf** = 0,54 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3378, 3176, 2939, 2761, 1681, 1646, 1472, 1384, 1267, 729, 699 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,65 (br. s, 1H, NH₂-H); 7,60 – 7,53 (m, 1H, ArH); 7,55 – 7,48 (m, 1H, ArH); 7,34 – 7,12 (m, 7H, ArH); 5,65 (br. s, 1H, NH₂-H); 4,50 (dt, J_1 = 13,3; J_2 = 4,9 Hz, 1H, CH); 3,58 – 3,53 (m, 1H, CH); 3,43 (q, J = 12,8 Hz, 2H, CH₂); 3,07 (d, J = 12,2 Hz, 1H, CH₂-H); 2,86 (d, J = 9,6 Hz, 1H, CH₂-H); 2,37 (dd, J_1 = 12,3; J_2 = 3,1 Hz, 1H, CH₂-H); 2,09 (td, J_1 = 11,8; J_2 = 2,9 Hz, 1H, CH₂-H); 1,93 – 1,77 (m, 2H, CH₂); 1,47 – 1,37 (m, 1H, CH₂-H); 1,30 (qd, J_1 = 12,9; J_2 = 4,2 Hz, 1H, CH₂-H); 1,02 (t, J = 7,4 Hz, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 175,6; 174,2; 139,4; 137,2; 133,2; 133,1; 129,9; 129,2; 128,7; 128,6; 127,7; 126,9; 62,7; 55,6; 54,2; 52,6; 43,0; 28,7; 25,6; 9,3 ppm.

4.1.4.2. (\pm)-*trans*-1-benzil-4-(*N*-(2-bromfenil)propionamido)piperidin-3-karboksamid ((\pm) *trans*-**107**)

Zbog prisutnih primesa koje nisu mogle da se prečiste prekrizacijom i hromatografijom, struktura jedinjenja (\pm) *trans*-**107** je utvrđena poređenjem spektroskopskih

podataka sirovog proizvoda sa spektrima jedinjenja (\pm) *trans*-**108**, i izvođenjem dalje reakcije Hoffmann-ovog premeštanja koja daje odgovarajući karbamat (\pm) *trans*-**111**.

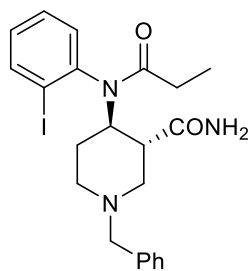
4.1.4.3. (\pm)-*cis*-1-benzil-4-(*N*-(2-jodfenil)propionamido)piperidin-3-karboksamid (\pm) *cis*-**108**



(\pm) *cis*-**108**

Primenom opšte procedure **D**, polazeći od anilinokarboksamida (\pm) *cis*-**102** (0,490 g, 1,13 mmol), dobijeno je jedinjenje (\pm) *cis*-**108** (0,522 g, 94%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 173–175 °C; **Rf** = 0,54 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3379, 3059, 2934, 2817, 1661, 1638, 1465, 1379, 1283, 745, 676 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,61 (br. s, 1H, NH₂-H), 7,79 (dd, J = 7,9, 1,4 Hz, 1H, ArH); 7,52 – 7,45 (m, 1H, ArH); 7,35 – 7,26 (m, 1H, ArH); 7,29 – 7,16 (m, 3H, ArH); 7,17 – 7,10 (m, 2H, ArH); 7,03 – 6,94 (m, 1H, ArH); 5,73 (br. s, 1H, NH₂-H); 4,44 (dt, J_1 = 13,3; J_2 = 4,8 Hz, 1H, CH); 3,63 – 3,55 (m, 1H, CH); 3,49 – 3,43 (m, 2H, CH₂); 3,06 (d, J = 12,3 Hz, 1H, CH₂-H); 2,88 – 2,80 (m, 1H, CH₂-H); 2,35 (dd, J_1 = 12,3; J_2 = 3,2 Hz, 1H, CH₂-H); 2,07 (td, J_1 = 11,9; J_2 = 2,9 Hz, 1H, CH₂-H); 1,92 – 1,73 (m, 2H, CH₂); 1,42 – 1,35 (m, 1H, CH₂-H); 1,26 (qd, J_1 = 12,9; J_2 = 4,2 Hz, 1H, CH₂-H); 1,02 (t, J = 7,4 Hz, 3H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 175,5; 173,9; 142,9; 139,3; 137,2; 132,6; 129,8; 129,5; 129,1; 128,6; 127,7; 105,1; 62,7; 55,5; 54,2; 52,6; 42,7; 29,3; 26,1; 9,3 ppm.

4.1.4.4. (\pm)-*trans*-1-benzil-4-(*N*-(2-jodfenil)propionamido)piperidin-3-karboksamid (\pm) *trans*-**108**



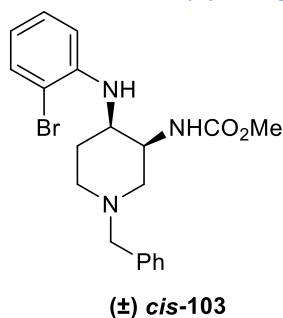
(\pm) *trans*-**108**

Primenom opšte procedure **D**, polazeći od anilinokarboksamida (\pm) *trans*-**102** (0,527 g, 1,21 mmol), dobijeno je jedinjenje (\pm) *trans*-**108** (0,530 g, 89%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 205–208 °C; **Rf** = 0,32 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3385, 3183, 3064, 2939, 2811, 1651, 1465, 1368, 1259, 733, 697 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,00 – 7,86 (m, 1H, ArH); 7,47 – 7,38 (m, 1H, ArH); 7,41 – 7,34 (m, 1H, ArH); 7,27 – 7,20 (m, 3H, ArH); 7,20 – 7,14 (m, 3H, ArH); 7,09 – 7,01 (m, 1H, ArH); 6,78 (br. s, 1H, NH₂-H); 5,67 (br. s, 1H, NH₂-H); 5,10 (td, J_1 = 11,9; J_2 = 4,1 Hz, 1H, CH); 3,48 – 3,36 (m, 2H, CH₂); 3,25 – 3,14 (m, 1H, CH₂-H); 2,67 (td, J_1 = 11,5; J_2 = 3,7 Hz, 1H, CH); 2,32 – 2,23 (m, 1H, CH₂-H); 2,16 (t, J = 11,1 Hz, 1H, CH₂-H); 2,12 – 2,00 (m, 2H, CH₂); 1,87 – 1,75 (m, 1H, CH₂-H); 1,19 (dd, J_1 = 12,3; J_2 = 4,2 Hz, 1H, CH₂-H); 0,98 (t, J = 7,4 Hz, 3H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 175,4; 174,9; 140,9; 140,6; 137,6; 131,4; 130,2; 130,1; 129,1; 128,4; 127,3; 103,8; 62,5; 57,2; 54,0; 52,6; 50,7; 29,1; 28,5; 9,7 ppm.

4.1.5. Opšta procedura **E**

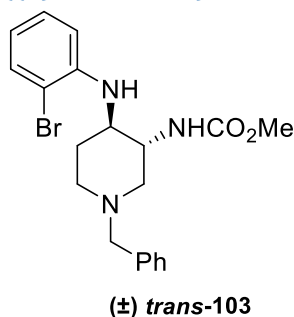
U jednogrlom balonu od 25 ml, opremljenim povratnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor karboksamida (**101**, **107**, **108**) (1,0 ekv.) u MeOH (8 ml) i LiOH·H₂O (8,0 ekv.) na 25 °C. Doda se NBA (3,0 ekv.) u tri porcije (od po 1,0 ekv.) dok se smeša meša na 60 °C u mraku. Reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača *n*-heksana i EtOAc u odnosu 6:4. Nakon 5 minuta upari se višak rastvarača. Ostatak se pomeša sa vodenim rastvorom NaOH (1,0 M), i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je *n*-heksan, zatim je postepeno dodavan EtOAc do odnosa *n*-heksan/EtOAc = 6:4).

4.1.5.1. Metil-(±)-cis-[1-benzil-4-((2-bromfenil)amino)piperidin-3-il]karbamat ((±) cis-103)

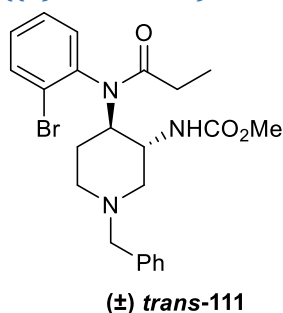


Primenom opšte procedure **E**, polazeći od karboksamida (±) **cis-101** (0,388 g, 1,00 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) **cis-103** (0,063 g, 15%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,90 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 6:4). **IR** (ATR): 3407, 2949, 2808, 1722, 1595, 1503, 1457, 1323, 1217, 1088, 742 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,43 – 7,36 (m, 1H, ArH); 7,36 – 7,23 (m, 5H, ArH); 7,17 – 7,08 (m, 1H, ArH); 6,66 – 6,58 (m, 1H, ArH); 6,58 – 6,49 (m, 1H, ArH); 5,49 (br. s, 1H, NH); 4,69 (br. s, 1H, NH); 4,24 – 3,97 (m, 1H, CH); 3,67 (s, 2H, CH₂); 3,51 (s, 3H, OCH₃); 3,45 – 3,37 (m, 1H, CH); 2,94 – 2,66 (m, 2H, CH₂-H); 2,51 – 2,30 (m, 1H, CH₂-H); 2,24 – 2,09 (m, 1H, CH₂-H); 2,02 – 1,84 (m, 1H, CH₂-H); 1,75 – 1,50 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 157,1; 144,0; 138,0; 132,8; 129,0; 128,5; 128,4; 127,4; 118,0; 111,9; 110,6; 62,6; 57,2; 52,6; 52,4; 51,5; 49,1; 27,7 ppm.

4.1.5.2. Metil-(±)-trans-[1-benzil-4-((2-bromfenil)amino)piperidin-3-il]karbamat ((±) trans-103)

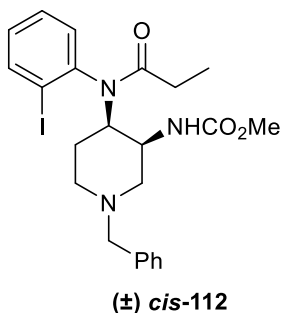


Primenom opšte procedure **E**, polazeći od karboksamida (±) **trans-101** (0,392 g, 1,00 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) **trans-103** (0,280 g, 66%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,86 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 6:4). **IR** (ATR): 3388, 2947, 2809, 1718, 1595, 1506, 1457, 1322, 1239, 1066, 739 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,5 – 7,4 (m, 1H, ArH); 7,4 – 7,3 (m, 5H, ArH); 7,3 – 7,2 (m, 1H, ArH); 7,1 – 6,9 (m, 1H, ArH); 6,7 – 6,5 (m, 1H, ArH); 5,4 (br. s, 1H, NH); 4,6 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, NH); 3,9 – 3,9 (m, 1H, CH); 3,7 (s, 3H, OCH₃); 3,6 – 3,5 (m, 3H, preklapljen CH₂ i CH); 2,9 – 2,7 (m, 1H, CH₂-H); 2,7 – 2,6 (m, 1H, CH₂-H); 2,5 – 2,4 (m, 2H, CH₂); 2,3 – 2,2 (m, 1H, CH₂-H); 1,7 – 1,6 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 156,8; 143,6; 138,0; 132,5; 129,1; 128,5; 127,4; 118,0; 112,0; 110,0; 62,9; 54,5; 52,3; 49,6 (3C); 28,0 ppm.

4.1.5.3. Metil-(±)-trans-[1-benzil-4-(*N*-(2-bromfenil)propionamido)piperidin-3-il]karbamat ((±) trans-111)

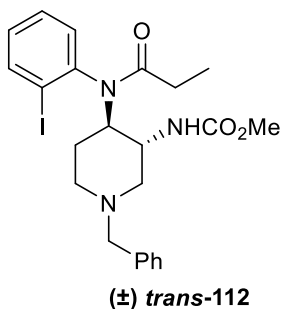
Primenom opšte procedure **E**, polazeći od karboksamida (±) **trans-107** (0,444 g, 1,00 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) **trans-111** (0,260 g, 55%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 129–134 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 6:4). **IR** (ATR): 3367, 2937, 2871, 1719, 1657, 1513, 1455, 1377, 1253, 1035, 743, 700 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,67 – 7,61 (m, 1H, ArH); 7,45 – 7,39 (m, 2H, ArH); 7,28 – 7,16 (m, 6H, ArH); 5,44 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, NH); 4,68 (td, *J*₁ = 12,0; *J*₂ = 4,0 Hz, 1H, CH); 3,89 – 3,76 (m, 1H, CH); 3,63 (s, 3H, OCH₃); 3,52 (d, *J* = 13,3 Hz, 1H, CH₂-H); 3,37 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H, CH₂-H); 3,16 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H, CH₂-H); 2,72 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H, CH₂-H); 2,11 – 1,98 (m, 2H, CH₂); 1,94 (t, *J* = 10,6 Hz, 3H, CH₂-H); 1,89 – 1,80 (m, 1H, CH₂-H); 0,99 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 176,2; 157,1; 138,1; 137,7; 133,9; 131,7; 130,1; 129,4; 129,1; 128,3; 127,2; 126,0; 62,3; 59,0; 56,0; 53,0; 52,1; 51,8; 28,4; 27,2; 9,8 ppm.

4.1.5.4. Metil-(±)-cis-[1-benzil-4-(N-(2-jodfenil)propionamido)piperidin-3-il]karbamat ((±) cis-112)



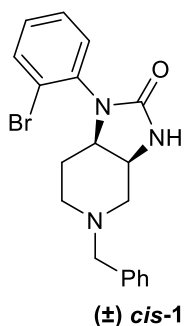
Primenom opšte procedure **E**, polazeći od karboksamida (±) *cis*-**108** (0,418 g, 0,85 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *cis*-**112** (0,322 g, 73%); žuta, amorfna supstanca; **Rf** = 0,60 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 6:4). **IR** (ATR): 3422, 3027, 2938, 1729, 1667, 1501, 1465, 1375, 1259, 1088, 734, 701 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 7,95 – 7,83 (m, 1H, ArH); 7,51 – 7,39 (m, 1H, ArH); 7,36 – 7,27 (m, 2H, ArH); 7,27 – 7,19 (m, 2H, ArH); 7,21 – 7,12 (m, 2H, ArH); 7,14 – 7,05 (m, 1H, ArH), 6,80 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H, NH); 4,50 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H, CH); 4,07 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H, CH); 3,57 (s, 3H, OCH₃); 3,44 – 3,31 (m, 2H, CH₂); 2,65 (d, *J* = 11,1 Hz, 2H, CH₂-H); 2,20 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H, CH₂-H); 1,90 (t, *J* = 11,4 Hz, 1H, CH₂-H); 1,69 – 1,56 (m, 2H, CH₂); 1,33 – 1,17 (m, 1H, CH₂-H); 1,08 – 0,94 (m, 1H); 0,84 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-d₆) δ = 172,3; 156,7; 142,6; 139,1; 138,3; 131,4; 129,9; 129,4; 128,5; 128,0; 126,8; 105,4; 61,3; 56,7; 55,7; 52,1; 51,5; 46,7; 28,5; 24,5; 9,2 ppm.

4.1.5.5. Metil-(±)-trans-[1-benzil-4-(N-(2-jodfenil)propionamido)piperidin-3-il]karbamat ((±) trans-112)



Primenom opšte procedure **E**, polazeći od karboksamida (±) *trans*-**108** (0,177 g, 0,36 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *trans*-**112** (0,114 g, 60%); žuta, amorfna supstanca; **Rf** = 0,58 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc, 6:4). **IR** (ATR): 3310, 3054, 2937, 1722, 1650, 1543, 1495, 1464, 1391, 1274, 1046, 742, 698 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,9 – 7,9 (m, 1H, ArH); 7,5 – 7,4 (m, 2H, ArH); 7,3 – 7,2 (m, 2H, ArH); 7,2 – 7,1 (m, 3H, ArH); 7,1 – 7,0 (m, 1H, ArH); 5,5 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, NH); 4,7 (td, *J*₁ = 11,9; *J*₂ = 4,0 Hz, 1H, CH); 3,9 – 3,8 (m, 1H, CH); 3,6 (s, 3H, OCH₃); 3,5 (d, *J* = 13,1 Hz, 1H, CH₂-H); 3,4 (d, *J* = 13,1 Hz, 1H, CH₂-H); 3,2 – 3,1 (m, 1H, CH₂-H); 2,8 – 2,7 (m, 1H, CH₂-H); 2,1 – 2,0 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,0 – 2,0 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 2,0 – 1,9 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂-H); 1,9 – 1,8 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 1,0 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 176,3; 157,1; 141,5; 140,4; 137,6; 130,9; 130,4; 130,1; 129,2; 128,3; 127,3; 104,0; 62,3; 58,9; 56,1; 53,2; 52,2; 51,8; 29,1; 27,5; 9,9 ppm.

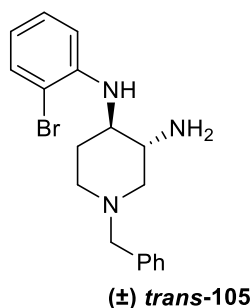
4.1.5.6. (±)-cis-5-Benzil-1-(2-bromfenil)oktahidro-2H-imidazo[4,5-c]piridin-2-on ((±) cis-104)



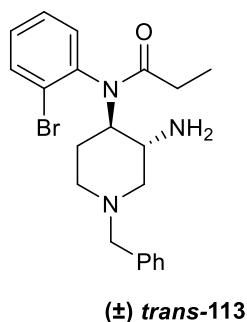
Primenom opšte procedure **E**, polazeći od karboksamida (±) *cis*-**101** (0,388 g, 1,00 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *cis*-**104** (0,232 g, 60%); žuta, amorfna supstanca; **Rf** = 0,35 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3238, 2943, 2814, 1709, 1479, 1403, 1157, 737, 700 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,66 – 7,59 (m, 1H, ArH); 7,35 – 7,27 (m, 5H, ArH); 7,28 – 7,20 (m, 2H, ArH); 7,20 – 7,11 (m, 1H, ArH); 5,50 (br. s, 1H, NH); 4,38 – 4,29 (m, 1H, CH); 3,84 – 3,74 (m, 1H, CH); 3,52 (q, *J* = 13,1 Hz, 2H, CH₂); 2,90 – 2,82 (m, 1H, CH₂-H); 2,54 – 2,44 (m, 1H, CH₂-H); 2,41 – 2,29 (m, 2H, CH₂-H); 1,86 – 1,73 (m, 1H, CH₂-H); 1,70 – 1,61 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 161,0; 138,0; 136,3; 134,0; 130,0; 129,1; 129,1; 128,4; 128,3; 127,3; 124,2; 62,9; 56,1; 55,3; 50,1; 48,7; 25,6 ppm.

4.1.6. Opšta procedura F

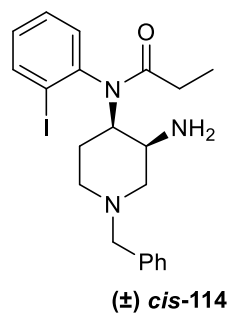
U jednogrlom balonu od 10 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor karbamata ((±) *trans*-**103**, (±) *trans*-**111**, **112**) (1,0 ekv.) u dihloretanu (2 ml) i Me₃SiI (3,5 ekv.). Smeša se meša na 25 °C u mraku i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5. Nakon 24 h doda se višak MeOH i reakciona smeša se meša 15 minuta na 25 °C. Višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom i ostatak se pomeša sa vodenim rastvorom HCl (1,0 M). Reakciona smeša se neutrališe dodavanjem vodenog rastvora Na₂CO₃ (1,5 M) i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se koristi u sledećem koraku bez prečišćavanja.

4.1.6.1. (±)-*trans*-1-Benzil-N⁴-(2-bromfenil)piperidin-3,4-diamin ((±) *trans*-**105**)

Primenom opšte procedure F, polazeći od karbamata (±) *trans*-**103** (0,092 g, 0,22 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *trans*-**105** (0,074 g, 93%); braon, viskozna supstanca; **Rf** = 0,25 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3357, 3027, 2924, 2805, 1595, 1508, 1458, 1320, 1124, 1016, 743 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,44 – 7,39 (m, 1H, ArH); 7,36 – 7,28 (m, 4H, ArH); 7,30 – 7,23 (m, 1H, ArH); 7,18 – 7,11 (m, 1H, ArH); 6,77 – 6,71 (m, 1H, ArH); 6,59 – 6,52 (m, 1H, ArH); 4,20 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, NH₂); 3,54 (q, *J* = 13,1 Hz, 2H, CH₂); 3,14 – 3,05 (m, 1H, CH); 2,98 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H, CH₂-H); 2,90 (td, *J*₁ = 8,9; *J*₂ = 4,0 Hz, 1H, CH); 2,85 – 2,79 (m, 1H, CH₂-H); 2,21 – 2,13 (m, 1H, CH₂-H); 2,13 – 2,04 (m, 1H, CH₂-H); 2,00 (t, *J* = 10,1 Hz, 1H, CH₂-H); 1,74 (br. s, 2H, NH₂); 1,56 – 1,44 (m, 1H, CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 144,7; 138,3; 132,7; 129,2; 128,6; 128,4; 127,3; 118,1; 112,4; 110,7; 62,8; 60,1; 58,0; 53,4; 52,3; 31,0 ppm.

4.1.6.2. (±)-*trans*-N-(3-Amino-1-benzilpiperidin-4-il)-N-(2-bromfenil)propionamid ((±) *trans*-**113**)

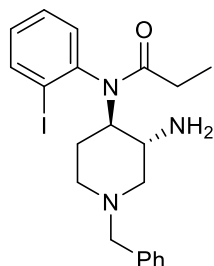
Primenom opšte procedure F, polazeći od karbamata (±) *trans*-**111** (0,104 g, 0,22 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *trans*-**113** (0,089 g, 97%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,2 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 2934, 2807, 1655, 1581, 1471, 1374, 1259, 1028, 734, 699 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,69 – 7,61 (m, 2H, ArH); 7,45 – 7,36 (m, 1H, ArH); 7,30 – 7,18 (m, 6H, ArH); 4,80 – 4,69 (m, 1H, CH); 3,68 (br. s, 2H, NH₂); 3,57 – 3,48 (m, 2H, CH₂); 3,16 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H, CH₂-H); 3,08 (td, *J*₁ = 10,4; *J*₂ = 4,2 Hz, 1H, CH); 2,84 – 2,76 (m, 1H, CH₂-H); 2,25 – 2,11 (m, 2H, CH₂); 2,09 – 1,96 (m, 3H, preklapljen, CH₂ i CH₂-H); 1,21 – 1,11 (m, 1H, CH₂-H); 1,04 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 176,1; 137,9; 136,9; 134,0; 132,3; 130,2; 129,4; 129,2; 128,4; 127,6; 126,1; 62,3; 60,3; 58,1; 52,2; 51,8; 28,6; 27,2; 9,6 ppm.

4.1.6.3. (±)-*cis*-N-(3-Amino-1-benzilpiperidin-4-il)-N-(2-jodfenil)propionamid ((±) *cis*-**114**)

Primenom opšte procedure F, polazeći od karbamata (±) *cis*-**112** (0,250 g, 0,48 mmol), dobijeno je jedinjenje (±) *cis*-**114** (0,216 g, 97%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,2 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3375, 3059, 3027, 2931, 2808, 1659, 1577, 1466, 1377, 1274, 733, 700 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,92 – 7,85 (m, 1H, ArH); 7,85 – 7,78 (m, 1H, ArH); 7,43 – 7,34 (m, 1H, ArH); 7,30 – 7,21 (m, 4H, ArH); 7,22 – 7,17 (m, 1H, ArH); 7,06 – 6,98 (m, 1H, ArH); 4,10 (dt, *J*₁ = 13,3; *J*₂ = 3,9 Hz, 1H, CH); 3,94 – 3,87 (m, 1H, CH); 3,52 – 3,33 (m, 4H, preklapljen CH₂ i NH₂); 2,86 (dt, *J*₁ = 11,7; *J*₂ = 2,9 Hz, 1H, CH₂-H); 2,79 – 2,71 (m, 1H, CH₂-H); 2,35 (dd, *J*₁ = 11,8; *J*₂ = 1,9 Hz, 1H, CH₂-H); 2,03 – 1,95 (m, 1H, CH₂-H); 1,87 (q, *J* = 7,4 Hz, 2H, CH₂); 1,50 – 1,36 (m, 1H, CH₂-

H); 1,31 – 1,22 (m, 1H, CH₂-H); 1,00 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H, CH₃) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) $\delta = 174,7; 144,0; 139,5; 138,1; 132,6; 129,8; 129,4; 129,1; 128,4; 127,3; 104,2; 62,4; 59,5; 58,9; 52,8; 47,6; 29,6; 24,7; 9,3$ ppm.

4.1.6.4. (\pm)-*trans*-N-(3-Amino-1-benzilpiperidin-4-il)-N-(2-jodfenil)propionamid ((\pm) *trans*-114)



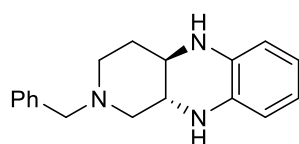
(\pm) *trans*-114

Primenom opšte procedure **F**, polazeći od karbamata (\pm) *trans*-112 (0,143 g, 0,27 mmol), dobijeno je jedinjenje (\pm) *trans*-114 (0,123 g, 98%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,2 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3366, 3059, 3027, 2935, 2805, 1658, 1577, 1467, 1376, 1260, 749, 700 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) $\delta = 7,95 - 7,88$ (m, 1H, ArH); 7,59 – 7,52 (m, 1H, ArH); 7,45 – 7,37 (m, 1H, ArH); 7,29 – 7,15 (m, 5H, ArH); 7,09 – 7,00 (m, 1H, ArH); 4,75 – 4,64 (m, 1H, CH); 3,46 (s, 2H, CH₂); 3,03 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H, CH₂-H); 2,87 (td, $J_1 = 10,4; J_2 = 4,3$ Hz, 1H, CH); 2,79 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H, CH₂-H); 2,61 (br. s, 2H, NH₂); 2,18 – 2,10 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,10 – 1,98 (m, 3H, preklopljen CH₂ i CH₂-H); 1,99 – 1,86 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 1,17 – 1,08 (m, 1H, CH₂-H); 1,05 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) $\delta = 175,7; 141,5; 140,5; 137,6; 131,4; 130,0; 129,9; 129,3; 128,4; 127,3; 104,2; 62,5; 61,7; 58,8; 52,6; 52,1; 29,2; 27,9; 9,7$ ppm.

4.1.7. Opšta procedura **G**

U jednogrlom balonu od 10 ml, opremljenim povratnim kondenzatorom i pod atmosferom argona, pomeša se rastvor amina ((\pm) *trans*-105 ili 114) (1,0 ekv.) u dioksanu (2 ml) i *t*-BuONa (1,5 ekv.) ili CS₂CO₃ (2,0 ekv.). Nakon 5 min. pod strujom argona doda se Pd(OAc)₂ (0,02 ekv.) i BINAP (0,06 ekv.). Smeša se meša na temperaturi refluksa i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5. Nakon 8 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Ostatak se razblaži vodom i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3 x 10 ml). Organski slojevi se spoje i upare pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do odnosa CH₂Cl₂/MeOH = 95:5).

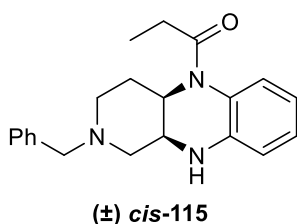
4.1.7.1. (\pm)-*trans*-2-benzil-1,2,3,4,4a,5,10,10a-oktahidropirido[3,4-*b*]hinoksalin ((\pm) *trans*-106)



(\pm) *trans*-106

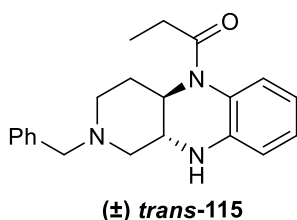
Primenom opšte procedure **G**, polazeći od amina (\pm) *trans*-105 (0,061 g, 0,17 mmol), gde je kao baza korišćen *t*-BuONa, dobijeno je jedinjenje (\pm) *trans*-106 (0,014 g, 29%); braon, viskozna supstanca; **Rf** = 0,47 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) **IR** (ATR): 3353, 2926, 2853, 2806, 1599, 1505, 1462, 1368, 1303, 742 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) $\delta = 7,39 - 7,33$ (m, 4H, ArH); 7,33 – 7,26 (m, 1H, ArH); 6,64 – 6,58 (m, 2H, ArH); 6,56 – 6,52 (m, 1H, ArH); 6,52 – 6,48 (m, 1H, ArH); 3,69 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H, CH₂-H); 3,58 (d, $J = 13,1$ Hz, 1H, CH₂-H); 3,51 (br. s, 2H, NH); 3,23 – 3,15 (m, 1H, CH); 3,05 – 2,96 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,99 – 2,92 (m, 1H, delimično preklopljen, CH); 2,25 (td, $J_1 = 12,1; J_2 = 2,7$ Hz, 1H, CH₂-H); 1,93 (t, $J = 10,5$ Hz, 1H, CH₂-H); 1,91 – 1,83 (m, 1H, CH₂-H); 1,69 (td, $J_1 = 12,1; J_2 = 4,0$ Hz, 1H, CH₂-H) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) $\delta = 137,7; 133,9; 133,7; 129,3; 128,5; 127,5; 119,2; 119,2; 115,1; 115,1; 62,7; 56,9; 54,3; 53,1; 52,2; 30,7$ ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₁₈H₂₁N₃ [M+H]⁺ 280,18082; nađeno 280,18112.

4.1.7.2. (\pm)-cis-1-(2-benzil-2,3,4,4a,10,10a-heksahidropirido[3,4-b]hinoksalin-5(1H)-il)propan-1-on ((\pm) cis-115)



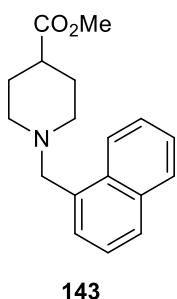
Primenom opšte procedure **G**, polazeći od amina (\pm) cis-114 (0,060 g, 0,13 mmol), gde je kao baza korišćen Cs₂CO₃, dobijeno je jedinjenje (\pm) cis-115 (0,026 g, 58%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,5 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3357, 2934, 2808, 1649, 1502, 1379, 1318, 745 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,37 – 7,14 (m, 6H, ArH); 7,04 – 6,93 (m, 1H, ArH); 6,76 – 6,61 (m, 2H, ArH); 4,85 (br. s, 1H, CH); 3,85 (br. s, 1H, NH); 3,55 (d, J = 13,2 Hz, 1H, CH₂-H); 3,45 (d, J = 13,2 Hz, 1H, CH₂-H); 3,38 (br. s, 1H, CH); 2,88 (d, J = 12,5 Hz, 1H, CH₂-H); 2,85 – 2,77 (m, 1H, CH₂-H); 2,70 – 2,56 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,58 – 2,44 (m, 1H, delimično preklopljen, CH₂-H); 2,35 (dd, J_1 = 12,5; J_2 = 2,2 Hz, 1H, CH₂-H); 2,14 (td, J_1 = 11,6; J_2 = 3,6 Hz, 1H, CH₂-H); 1,51 – 1,35 (m, 2H, CH₂); 1,13 (t, J = 7,4 Hz, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 173,4; 138,2; 134,9; 129,0; 128,5; 127,4; 126,2; 125,5; 121,9; 116,9; 115,3; 62,5; 56,6; 52,4; 50,5; 44,6, 28,1; 24,8; 10,2 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₁H₂₅N₃O [M+H]⁺ 336,20704; nađeno 336,20618.

4.1.7.3. (\pm)-trans-1-(2-benzil-2,3,4,4a,10,10a-heksahidropirido[3,4-b]hinoksalin-5(1H)-il)propan-1-on ((\pm) trans-115)



Primenom opšte procedure **G**, polazeći od amina (\pm) trans-114 (0,123 g, 0,27 mmol), gde je kao baza korišćen Cs₂CO₃, dobijeno je jedinjenje (\pm) trans-115 (0,043 g, 47%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,5 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3310, 2928, 2803, 1654, 1501, 1368, 1281, 746 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,32 – 7,26 (m, 4H, ArH); 7,27 – 7,20 (m, 1H, ArH); 7,10 – 7,03 (m, 1H, ArH); 7,00 – 6,91 (m, 1H, ArH); 6,79 – 6,71 (m, 1H, ArH); 6,66 – 6,59 (m, 1H, ArH); 3,70 – 3,58 (m, 2H, preklopljen CH₂-H i CH); 3,45 (d, J = 13,1 Hz, 2H, preklopljen CH₂ i NH); 3,07 (td, J_1 = 10,4; J_2 = 3,6 Hz, 1H, CH); 3,04 – 2,92 (m, 2H, CH₂-H); 2,61 – 2,50 (m, 1H, CH₂-H); 2,53 – 2,40 (m, 1H, CH₂-H); 2,41 – 2,30 (m, 1H, CH₂-H); 2,26 (td, J_1 = 11,9; J_2 = 2,7 Hz, 1H, CH₂-H); 2,09 (t, J = 10,1 Hz, 1H, CH₂-H); 1,94 (qd, J_1 = 12,1; J_2 = 3,9 Hz, 1H, CH₂-H); 1,04 (t, J = 7,3 Hz, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 175,6; 142,9; 138,5; 129,1; 129,0; 128,4; 127,3; 125,6; 125,5; 118,9; 115,8; 65,6; 62,4; 58,8; 57,6; 53,2; 30,3; 29,0; 9,8 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₁H₂₅N₃O [M+H]⁺ 336,20704; nađeno 336,20703.

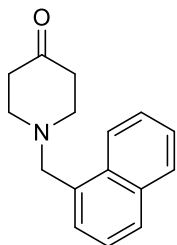
4.1.8. Dobijanje metil-1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksilata (**143**)



U jednogrlom balonu od 50 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor metil-piperidin-4-karboksilat hidrohlorida (1,50 g, 8,35 mmol, 1,0 ekv.) u MeCN (12 ml), Et₃N (4,7 ml, 33,40 mmol, 4,0 ekv.), 1-(hlormetil)naftalena **141** (2,5 ml, 16,70 mmol, 2,0 ekv.) i NaI (0,13 g, 0,84 mmol, 0,1 ekv.). Smeša se meša na 25 °C, i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača *n*-heksana i EtOAc u odnosu 9:1. Nakon 24 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Ostatak se razblaži vodenim rastvorom Na₂CO₃ (1,5 M) do pH ~ 10 i ekstrahuje pomoću EtOAc (3 x 40 ml). Spojeni organski slojevi se upare pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist *n*-heksan, zatim je postepeno dodavan EtOAc do odnosa *n*-heksan/EtOAc = 8:2) čime je dobijeno jedinjenje **143** (1,70 g, 71%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 58–60 °C; **Rf** = 0,90 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 2956, 2805, 1727, 1439, 1336, 1288, 1236, 783 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,33 – 8,22 (m, 1H, ArH); 7,87 – 7,80 (m,

1H, ArH); 7,79 – 7,72 (m, 1H, ArH); 7,53 – 7,44 (m, 2H, ArH); 7,42 – 7,35 (m, 2H, ArH); 3,87 (s, 2H, CH₂); 3,65 (s, 3H, OCH₃); 2,95 – 2,85 (m, 2H, CH₂); 2,39 – 2,24 (m, 1H, CH); 2,15 – 2,04 (m, 2H, CH₂); 1,91 – 1,80 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,80 – 1,67 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ = 175,9; 134,5; 134,0; 132,7; 128,5; 128,0; 127,3; 125,8; 125,7; 125,2; 125,0; 61,5; 53,3; 51,7 (2C); 41,4; 28,5 (2C) ppm.

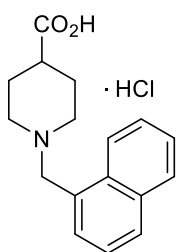
4.1.9. Dobijanje 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-ona (**142**)



142

U jednogrlom balonu od 25 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor piperidon-hidrohlid monohidrata (1,00 g, 6,51 mmol, 1,0 ekv.) u MeCN (10 ml), Et₃N (3,6 ml, 26,04 mmol, 4,0 ekv.), 1-(hlormetil)naftalena **141** (1,9 ml, 13,02 mmol, 2,0 ekv.) i NaI (0,10 g, 0,65 mmol, 0,1 ekv.). Smeša se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača *n*-heksana i EtOAc u odnosu 9:1. Nakon 24 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Ostatak se razblaži vodenim rastvorom Na₂CO₃ (1,5 M) do pH ~ 10 i ekstrahuje pomoću EtOAc (3 x 40 ml). Spojeni organski slojevi se upare pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist *n*-heksan, zatim je postepeno dodavan EtOAc do odnosa *n*-heksan/EtOAc = 8:2) čime je dobijeno jedinjenje **142** (1,17 g, 75%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 82–85 °C; **Rf** = 0,87 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 2971, 2796, 1712, 1470, 1342, 1220, 802 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,37 – 8,29 (m, 1H, ArH); 7,89 – 7,82 (m, 1H, ArH); 7,83 – 7,76 (m, 1H, ArH); 7,57 – 7,46 (m, 2H, ArH); 7,46 – 7,37 (m, 2H, ArH); 4,00 (s, 2H, CH₂); 2,81 (t, *J* = 6,1 Hz, 4H, CH₂); 2,43 (t, *J* = 6,0 Hz, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 209,5; 134,0; 132,6; 128,6; 128,4; 127,4; 126,0; 125,8; 125,2; 124,8; 60,3; 53,2 (2C); 41,4 (2C) ppm.

4.1.10. Dobijanje hidrohlorida 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksilne kiseline (**144**)



144

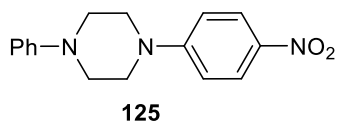
U jednogrlom balonu od 50 ml, opremljenim povratnim kondenzatorom, pomeša se rastvor metil-1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksilata **143** (1,00 g, 3,53 mmol, 1,0 ekv.) u konc. HCl (15 ml). Smeša se meša uz refluks i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača *n*-heksana i EtOAc u odnosu 8:2. Nakon 4 h, reakciona smeša se ohladi do sobne temperature, i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom, čime je dobijen sirovi proizvod **144** koji se koristi bez prečišćavanja u sledećem koraku (0,89 g, 82%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 241–242 °C; **Rf** = 0,21 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH/HCO₂H, 95:5:1). **IR** (ATR): 2924, 2631, 2569, 1731, 1462, 1396, 1204, 782 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 12,48 (br. s, 1H, OH); 10,60 (br. s, 1H, N⁺H); 8,40 – 8,33 (m, 1H, ArH); 8,04 – 7,89 (m, 3H, ArH); 7,65 – 7,51 (m, 3H, ArH); 4,83 – 4,66 (m, 2H, CH₂); 3,46 – 3,19 (m, 3H, preklopljen CH₂ i CH₂-H); 3,18 – 2,98 (m, 2H, CH₂); 2,11 – 2,01 (m, 1H, delimično preklopljen, CH); 2,01 – 1,79 (m, 3H, preklopljen CH₂ i CH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-d₆) δ = 174,6; 133,4; 132,2; 131,6; 130,3; 128,8; 127,0; 126,2; 125,9; 125,3; 124,0; 55,1; 50,9; 38,1; 25,0 ppm.

4.1.11. Opšta procedura H

U jednogrlom balonu od 50 ml, opremljenim vazдушnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor *N*-arilpiperazina (**116–123**) (1,0 ekv.) u DMSO-u (18 ml), 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (1,2 ekv) i K₂CO₃ (3,0 ekv.). Smeša se meša na 50 °C i

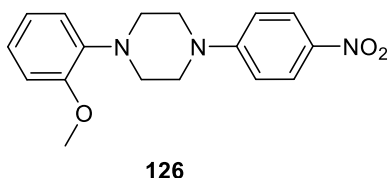
reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćen CH₂Cl₂. Nakon 2 h, reakciona smeša se ohladi do sobne temperature, razblaži vodom i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 75ml). Spojeni organski slojevi se isperu sa zasićenim rastvorom NaCl i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava prekrizacijom iz smeše CHCl₃ i *n*-heksana.

4.1.11.1. 1-(4-Nitrofenil)-4-fenilpiperazin (125)



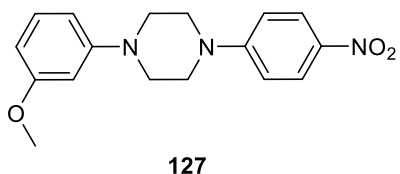
Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **116** (1,1 ml, 6,98 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,90 ml, 8,54 mmol), dobijeno je jedinjenje **125** (1,430 g, 71%); žuta, kristalna supstanca; **T.t** = 190–194 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2833, 1590, 1489, 1326, 1228 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,17 – 8,11 (m, 2H, ArH); 7,35 – 7,26 (m, 2H, ArH); 6,99 – 6,87 (m, 3H, ArH); 6,89 – 6,83 (m, 2H, ArH); 3,62 – 3,54 (m, 4H, CH₂); 3,38 – 3,31 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 154,8; 150,8; 138,8; 129,4; 126,1; 120,6; 116,4; 112,9; 49,0 (2C); 47,2 (2C) ppm.

4.1.11.2. 1-(2-Metoksifenil)-4-(4-nitrofenil)piperazin (126)



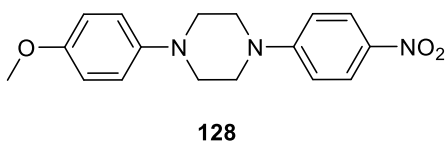
Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **117** (1,227 g, 6,38 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,81 ml, 7,64 mmol), dobijeno je jedinjenje **126** (1,600 g, 80%); žuta, kristalna supstanca; **T.t** = 160–163 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2840, 1591, 1500, 1324, 1238 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,19 – 8,09 (m, 2H, ArH); 7,10 – 6,99 (m, 1H, ArH); 6,96 – 6,93 (m, 2H, ArH); 6,92 – 6,84 (m, 3H, ArH); 3,89 (s, 3H, OCH₃); 3,63 – 3,55 (m, 4H, CH₂); 3,25 – 3,17 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 155,1; 152,4; 140,7; 138,7; 126,1; 123,8; 121,2; 118,4; 112,9; 111,6; 55,6; 50,4 (2C); 47,5 (2C) ppm.

4.1.11.3. 1-(3-Metoksifenil)-4-(4-nitrofenil)piperazin (127)

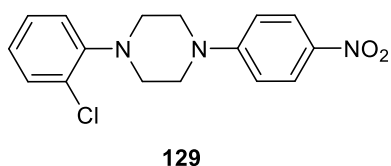


Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **118** (1,010 g, 5,25 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,67 ml, 6,31 mmol), dobijeno je jedinjenje **127** (1,200 g, 73%); žuta, kristalna supstanca; **T.t** = 142–144 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2839, 1591, 1489, 1323, 1237 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,17 – 8,10 (m, 2H, ArH); 7,25 – 7,16 (m, 1H, ArH); 6,88 – 6,81 (m, 2H, ArH); 6,59 – 6,52 (m, 1H, ArH); 6,51 – 6,43 (m, 2H, ArH); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 3,60 – 3,53 (m, 4H, CH₂); 3,38 – 3,30 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 160,8; 154,8; 152,2; 138,8; 130,2; 126,1; 112,9; 109,1; 105,1; 102,9; 55,4; 48,8 (2C); 47,1 (2C) ppm.

4.1.11.4. 1-(4-Metoksifenil)-4-(4-nitrofenil)piperazin (128)

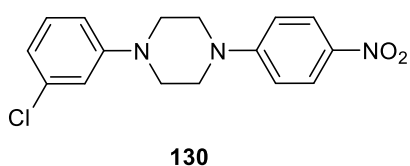


Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **119** (1,001 g, 5,21 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,66 ml, 6,22 mmol), dobijeno je jedinjenje **128** (1,340 g, 82%); žuta, kristalna supstanca; **T.t** = 191–193 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2826, 1590, 1489, 1332, 1240 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,16 – 8,10 (m, 2H, ArH); 6,97 – 6,89 (m, 2H, ArH); 6,89 – 6,83 (m, 4H, ArH); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,59 – 3,54 (m, 4H, CH₂); 3,23 – 3,18 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 154,9; 154,6; 145,2; 138,8; 126,1; 118,9; 114,7; 113,0; 55,7; 50,7 (2C); 47,4 (2C) ppm.

4.1.11.5. 1-(2-Hlorfenil)-4-(4-nitrofenil)piperazin (**129**)

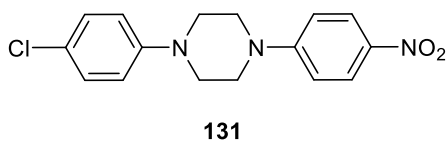
Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **120** (0,995 g, 5,06 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,64 ml, 6,03 mmol), dobijeno je jedinjenje **129** (0,804 g, 50%); narandžasta, kristalna supstanca; **T.t** = 145–147 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2845, 1588, 1481, 1317, 1229, 827 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,17 – 8,10 (m, 2H, ArH); 7,42 – 7,35 (m, 1H, ArH); 7,29 – 7,20 (m, 1H, ArH); 7,08 – 6,98 (m, 2H, ArH); 6,91 – 6,83 (m, 2H, ArH); 3,62 – 3,55 (m, 4H, CH₂); 3,23 – 3,16 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ = 155,1; 148,7; 138,9; 130,9; 129,1; 127,9; 126,1; 124,5; 120,5; 113,0; 51,0 (2C); 47,6 (2C) ppm.

4.1.11.6. 1-(3-Hlorfenil)-4-(4-nitrofenil)piperazin (**130**)

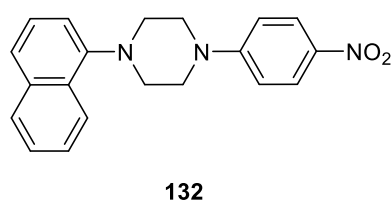
Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **121** (0,563 g, 2,86 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,36 ml, 3,39 mmol), dobijeno je jedinjenje **130** (0,500 g, 55%); narandžasta, kristalna supstanca; **T.t** = 149–151 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2850, 1591, 1486, 1318, 1228, 824 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,17 – 8,10 (m, 2H, ArH); 7,24 – 7,15 (m, 1H, ArH); 6,91 – 6,77 (m, 5H, ArH); 3,61 – 3,53 (m, 4H, CH₂); 3,39 – 3,32 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ = 154,7; 151,8; 139,0; 135,3; 130,4; 126,1; 120,1; 116,1; 114,2; 112,9; 48,4 (2C); 47,0 (2C) ppm.

4.1.11.7. 1-(4-Hlorfenil)-4-(4-nitrofenil)piperazin (**131**)

Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **122** (1,237 g, 6,29 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,80 ml, 7,54 mmol), dobijeno je jedinjenje **131** (1,320 g, 66%); žuta, kristalna supstanca; **T.t** = 212–216 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2857, 1593, 1496, 1325, 1231, 832 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,17 – 8,09 (m, 2H, ArH); 7,26 – 7,20 (m, 2H, ArH); 6,90 – 6,82 (m, 4H, ArH); 3,61 – 3,53 (m, 4H, CH₂); 3,34 – 3,27 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ = 154,8; 149,4; 139,0; 129,3; 126,1; 125,5; 117,6; 113,0; 49,0 (2C); 47,1 (2C) ppm.

4.1.11.8. 1-(Naftalen-1-il)-4-(4-nitrofenil)piperazin (**132**)

Primenom opšte procedure **H**, polazeći od *N*-arilpiperazina **123** (0,403 g, 1,90 mmol), i 1-fluor-4-nitrobenzena **124** (0,24 ml, 2,26 mmol), dobijeno je jedinjenje **132** (0,570 g, 90%); žuta, kristalna supstanca; **T.t** = 199–202 °C; **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂). **IR** (ATR): 2819, 1597, 1485, 1316, 1250, 781 cm⁻¹.

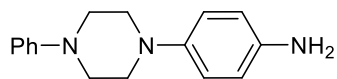
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,26 – 8,20 (m, 1H, ArH); 8,19 – 8,12 (m, 2H, ArH); 7,89 – 7,80 (m, 1H, ArH); 7,64 – 7,55 (m, 1H, ArH); 7,54 – 7,46 (m, 2H, ArH); 7,44 – 7,38 (m, 1H, ArH); 7,14 – 7,07 (m, 1H, ArH); 6,95 – 6,86 (m, 2H, ArH); 3,87 – 3,45 (m, 4H, CH₂); 3,37 – 3,16 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ = 155,2; 149,0; 138,9; 134,9; 128,9; 128,7; 126,2; 126,1; 125,9; 125,8; 124,4; 123,3; 115,0; 113,0; 52,7 (2C); 47,8 (2C) ppm.

4.1.12. Opšta procedura I

U jednogrlom balonu od 50 ml, opremljenim povratnim kondenzatorom, pomeša se rastvor 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina (**125–132**) (1,0 ekv.) u konc. HCl (12 ml) i elementalnog kalaja (3,0 ekv.). Smeša se meša uz konstantno refluktovanje i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 97:3. Nakon 2 h,

reakciona smeša se ohladi do sobne temperature, pomeša sa vodenim rastvorom KOH (1,5 M) i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). Spojeni organski slojevi se suše nad Na₂SO₄ i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se koristi bez prečišćavanja u sledećem koraku.

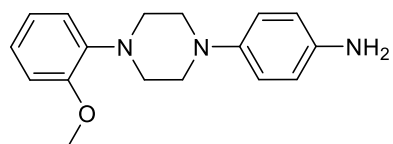
4.1.12.1. 4-(4-Fenilpiperazin-1-il)anilin (133)



133

Primenom opšte procedure I, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **125** (0,499 g, 1,76 mmol), dobijeno je jedinjenje **133** (0,405 g, 91%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 147–149 °C; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3357, 2827, 1599, 1518, 1230 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,33 – 7,25 (m, 2H, ArH); 7,02 – 6,95 (m, 2H, ArH); 6,93 – 6,83 (m, 3H, ArH); 6,71 – 6,64 (m, 2H, ArH); 3,40 – 3,29 (m, 5H, preklopljen CH₂ i NH₂-H); 3,28 – 3,11 (m, 5H, preklopljen CH₂ i NH₂-H) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 151,4; 144,5; 144,4; 140,6; 129,3; 120,0; 119,0; 116,4; 116,3; 51,3 (2C); 49,6 (2C) ppm.

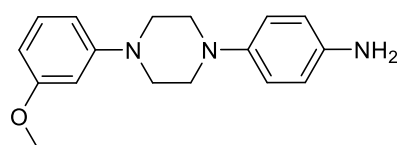
4.1.12.2. 4-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)anilin (134)



134

Primenom opšte procedure I, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **126** (1,592 g, 5,08 mmol), dobijeno je jedinjenje **134** (1,410 g, 98 %); braon, amorfna supstanca; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3346, 2821, 1594, 1515, 1241 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,05 – 6,96 (m, 2H, ArH); 6,97 – 6,90 (m, 1H, ArH); 6,93 – 6,82 (m, 3H, ArH); 6,70 – 6,63 (m, 2H, ArH); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 3,41 (br. s, 2H, NH₂); 3,27 – 3,17 (m, 8H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 152,5; 144,8; 141,5; 140,3; 123,2; 121,2; 118,9; 118,4; 116,4; 111,4; 55,5; 51,4 (2C); 51,0 (2C) ppm.

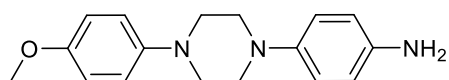
4.1.12.3. 4-(4-(3-Metoksifenil)piperazin-1-il)anilin (135)



135

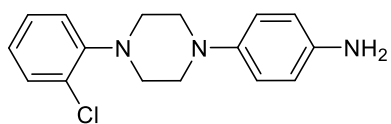
Primenom opšte procedure I, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **127** (1,175 g, 3,75 mmol), dobijeno je jedinjenje **135** (0,957 g, 90 %); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 141–143 °C; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3355, 2829, 1621, 1510, 1221 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,23 – 7,14 (m, 1H, ArH); 6,90 – 6,81 (m, 2H, ArH); 6,71 – 6,64 (m, 2H, ArH); 6,62 – 6,55 (m, 1H, ArH); 6,54 – 6,48 (m, 1H, ArH); 6,47 – 6,40 (m, 1H, ArH); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 3,44 (br. s, 2H, NH₂); 3,36 – 3,29 (m, 4H, CH₂); 3,22 – 3,14 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 160,8; 152,9; 144,5; 140,6; 129,9; 119,0; 116,4; 109,2; 104,8; 102,8; 55,3; 51,3 (2C); 49,6 (2C) ppm.

4.1.12.4. 4-(4-(4-Metoksifenil)piperazin-1-il)anilin (136)



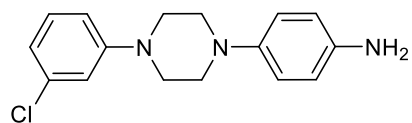
136

Primenom opšte procedure I, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **128** (1,209 g, 3,86 mmol), dobijeno je jedinjenje **136** (0,995 g, 91%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 189–193 °C; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3355, 2829, 1621, 1510, 1221 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 6,97 – 6,90 (m, 2H, ArH); 6,90 – 6,81 (m, 4H, ArH); 6,70 – 6,63 (m, 2H, ArH); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,48 (br. s, 2H, NH₂); 3,26 – 3,18 (m, 4H, delimično preklopljen, CH₂); 3,20 – 3,16 (m, 4H, delimično preklopljen, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 154,1; 145,9; 144,6; 140,5; 119,0; 118,5; 116,4; 114,6; 55,7; 51,4 (2C); 51,1 (2C) ppm.

4.1.12.5. 4-(4-(2-Hlorfenil)piperazin-1-il)anilin (**137**)

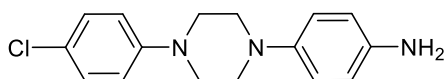
137

Primenom opšte procedure **I**, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **129** (0,772 g, 2,43 mmol), dobijeno je jedinjenje **137** (0,644 g, 92%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 120–122 °C; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3368, 2829, 1621, 1516, 1221, 824 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,40 – 7,33 (m, 1H, ArH); 7,27 – 7,19 (m, 1H, ArH); 7,12 – 7,05 (m, 1H, ArH); 7,02 – 6,93 (m, 1H, ArH); 6,91 – 6,83 (m, 2H, ArH); 6,72 – 6,63 (m, 2H, ArH); 3,42 (br. s, 2H, NH₂); 3,28 – 3,15 (m, 8H, CH₂). ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 149,4; 144,7; 140,4; 130,8; 129,0; 127,7; 123,9; 120,6; 118,9; 116,4; 51,6 (2C); 51,4 (2C) ppm.

4.1.12.6. 4-(4-(3-Hlorfenil)piperazin-1-il)anilin (**138**)

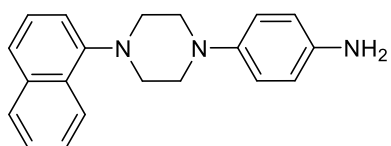
138

Primenom opšte procedure **I**, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **130** (0,480 g, 1,51 mmol), dobijeno je jedinjenje **138** (0,410 g, 94%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 119–121 °C; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3359, 2828, 1596, 1518, 1233, 837 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,22 – 7,12 (m, 1H, ArH); 6,95 – 6,88 (m, 1H, ArH); 6,89 – 6,78 (m, 4H, ArH); 6,70 – 6,62 (m, 2H, ArH); 3,44 (br. s, 2H, NH₂); 3,35 – 3,29 (m, 4H, CH₂); 3,20 – 3,12 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 152,5; 144,4; 140,7; 135,1; 130,2; 119,6; 119,1; 116,4; 116,1; 114,2; 51,2 (2C); 49,2 (2C) ppm.

4.1.12.7. 4-(4-(4-Hlorfenil)piperazin-1-il)anilin (**139**)

139

Primenom opšte procedure **I**, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **131** (0,502 g, 1,58 mmol), dobijeno je jedinjenje **139** (0,428 g, 94%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 184–188 °C; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3371, 2830, 1616, 1514, 1227, 825 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,24 – 7,19 (m, 2H, ArH); 6,91 – 6,82 (m, 4H, ArH); 6,70 – 6,64 (m, 2H, ArH); 3,45 (br. s, 2H, NH₂); 3,32 – 3,25 (m, 4H, CH₂); 3,20 – 3,12 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 150,1; 144,4; 140,7; 129,1; 124,8; 119,1; 117,6; 116,3; 51,2 (2C); 49,6 (2C) ppm.

4.1.12.8. 4-(4-(Naftalen-1-il)piperazin-1-il)anilin (**140**)

140

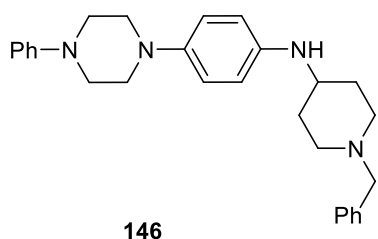
Primenom opšte procedure **I**, polazeći od 1-(4-nitrofenil)-4-arilpiperazina **132** (0,560 g, 1,68 mmol), dobijeno je jedinjenje **140** (0,494 g, 97%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 125–128 °C; **Rf** = 0,42 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 97:3). **IR** (ATR): 3355, 2822, 1592, 1518, 1230, 776 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,30 – 8,18 (m, 1H, ArH); 7,88 – 7,77 (m, 1H, ArH); 7,59 – 7,52 (m, 1H, ArH); 7,52 – 7,43 (m, 2H, ArH); 7,45 – 7,36 (m, 1H, ArH); 7,18 – 7,09 (m, 1H, ArH); 6,98 – 6,85 (m, 2H, ArH); 6,73 – 6,64 (m, 2H, ArH); 3,44 – 3,12 (m, 10H, preklopljen NH₂ i CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 149,7; 144,7; 140,4; 134,9; 129,0; 128,6; 126,0; 126,0; 125,5; 123,7; 123,7; 118,9; 116,4; 114,9; 53,3 (2C); 51,7 (2C) ppm.

4.1.13. Opšta procedura **J**

U jednogrlom balonu od 20 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina (**133–140**) (1,0 ekv.) u MeOH (4 ml), CH₂Cl₂ (4 ml), 1-benzilpiperidin-4-ona **145** ili 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-ona **142** (1,2 ekv.), Et₃N (3,0 ekv.), CH₃CO₂H (4,0 ekv.) i

NaBH₃CN (0,8 ekv.). Smeša se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5. Nakon 24 h, doda se HCl (6 M) do pH ~ 2 i smeša se koncentruje pod sniženim pritiskom. Ostatak se neutrališe vodenim rastvorom K₂CO₃ (1,5 M) do pH ~ 10 i smeša se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 30 ml). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do odnosa CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

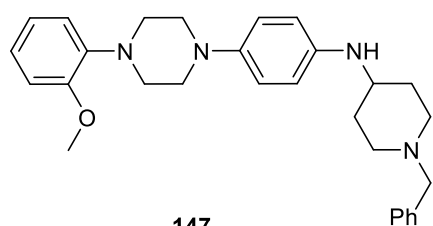
4.1.13.1. 1-Benzil-N-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (146)



146

Primenom opšte procedure J, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **133** (0,149 g, 0,59 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,134 g, 0,71 mmol), dobijeno je jedinjenje **146** (0,128 g, 51%); bela, kristalna supstanca; **T.t** = 167–169 °C; **Rf** = 0,30 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3344, 2951, 2826, 2765, 1596, 1512, 1264, 1224, 1173 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,38 – 7,26 (m, 7H, ArH); 7,02 – 6,97 (m, 2H, ArH); 6,95 – 6,84 (m, 3H, ArH); 6,66 – 6,56 (m, 2H, ArH); 3,57 (s, 2H, CH₂); 3,38 – 3,31 (m, 4H, CH₂); 3,25 (br. s, 1H, delimično preklopljen, NH); 3,25 – 3,08 (m, 5H, preklopljen CH₂ i CH); 2,95 – 2,84 (m, 2H, CH₂); 2,19 (t, *J* = 11,3 Hz, 2H, CH₂); 2,05 (d, *J* = 12,6 Hz, 2H, CH₂); 1,59 – 1,46 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 151,5; 143,6; 141,8; 129,4; 129,3; 128,4; 127,3; 120,0; 119,2; 116,4; 114,8; 63,2; 52,4 (2C); 51,4 (2C); 50,7; 49,7 (2C); 32,6 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₈H₃₄N₄ [M+H]⁺ 427,28562; nađeno 427,28730.

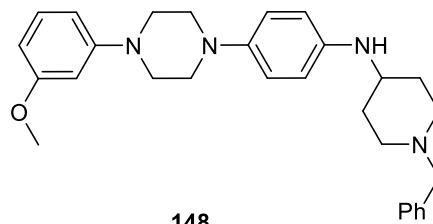
4.1.13.2. 1-Benzil-N-(4-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (147)



147

Primenom opšte procedure J, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **134** (0,145 g, 0,51 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,115 g, 0,61 mmol), dobijeno je jedinjenje **147** (0,150 g, 64%); bela, kristalna supstanca; **T.t** = 117–119 °C; **Rf** = 0,36 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3395, 2939, 2817, 2759, 1595, 1515, 1265, 1241, 1228, 1147 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,37 – 7,30 (m, 4H, ArH); 7,29 – 7,25 (m, 1H, ArH); 7,05 – 6,98 (m, 2H, ArH); 6,97 – 6,86 (m, 4H, ArH); 6,66 – 6,53 (m, 2H, ArH); 3,88 (s, 3H, OCH₃); 3,55 (s, 2H, CH₂); 3,23 (br. s, 10H, preklopljen CH₂, CH i NH); 2,87 (d, *J* = 11,4 Hz, 2H, CH₂); 2,17 (t, *J* = 10,2 Hz, 2H, CH₂); 2,04 (d, *J* = 9,7 Hz, 2H, CH₂); 1,55 – 1,41 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 152,4; 143,9; 141,6; 141,4; 138,2; 129,3; 128,3; 127,2; 123,1; 121,1; 119,0; 118,4; 114,7; 111,4; 63,2; 55,5; 52,5 (2C); 51,5 (2C); 51,0 (2C); 50,8; 32,7 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₉H₃₆N₄O [M+H]⁺ 457,29619; nađeno 457,29843.

4.1.13.3. 1-Benzil-N-(4-(4-(3-metoksifenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (148)

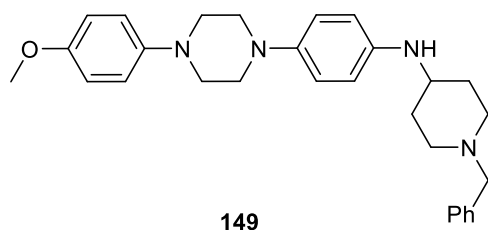


148

Primenom opšte procedure J, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **135** (0,150 g, 0,53 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,121 g, 0,64 mmol), dobijeno je jedinjenje **148** (0,160 g, 66%); bela, kristalna supstanca; **T.t** = 110–112 °C; **Rf** = 0,34 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3409, 2941, 2821, 2762, 1607, 1515, 1258, 1230, 1213, 1161 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,38 – 7,31 (m, 4H, ArH); 7,32 – 7,26 (m, 1H, ArH); 7,23 – 7,17 (m, 1H, ArH); 6,96 – 6,82 (m, 2H, ArH); 6,67 – 6,56 (m, 3H, ArH); 6,55 – 6,50 (m, 1H, ArH); 6,48 – 6,42 (m, 1H, ArH); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 3,56 (s, 2H, CH₂); 3,38 – 3,31 (m, 4H, CH₂); 3,25 (br. s, 1H, NH); 3,18 (br. s, 5H, preklopljen CH₂ i CH); 2,95 – 2,83 (m, 2H, CH₂); 2,18 (t, *J* = 11,3 Hz, 2H, CH₂); 2,05 (d, *J* = 10,5 Hz, 2H, CH₂); 1,58 – 1,45 (m, 2H, CH₂)

ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) $\delta = 160,7; 152,9; 143,6; 141,8; 129,9; 129,4; 128,4; 127,3; 119,2; 114,7; 109,1; 104,7; 102,8; 63,2; 55,3; 52,5$ (2C); 51,4 (2C); 50,7; 49,6 (2C); 32,7 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 457,29619; nađeno 457,29799.

4.1.13.4. 1-Benzil-N-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (149)

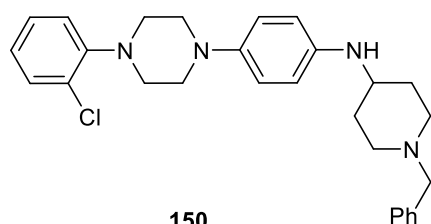


149

Primenom opšte procedure J, polazeći od 4-(4-aryl-piperazin-1-il)anilina **136** (0,150 g, 0,53 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,121 g, 0,64 mmol), dobijeno je jedinjenje **149** (0,117 g, 48%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 189–192 °C; **Rf** = 0,31 (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95:5). **IR** (ATR): 3355, 2949, 2817, 2764, 1613, 1511, 1265, 1243, 1223, 1147 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500

MHz, CDCl_3) $\delta = 7,36 - 7,30$ (m, 4H, ArH); 7,30 – 7,24 (m, 1H, ArH); 6,99 – 6,92 (m, 2H, ArH); 6,91 – 6,83 (m, 4H, ArH); 6,64 – 6,53 (m, 2H, ArH); 3,78 (s, 3H, OCH_3); 3,55 (s, 2H, CH_2); 3,29 – 3,20 (m, 6H, delimično preklopljen, CH_2); 3,21 – 3,09 (m, 4H, preklopljen CH_2 , CH i NH); 2,86 (d, $J = 11,0$ Hz, 2H, CH_2); 2,16 (t, $J = 11,2$ Hz, 2H, CH_2); 2,04 (d, $J = 12,9$ Hz, 2H, CH_2); 1,55 – 1,44 (m, 2H, CH_2) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) $\delta = 154,1; 145,9; 143,6; 141,8; 129,3; 128,4; 127,2; 119,1; 118,5; 114,7; 114,6; 63,2; 55,7; 52,5$ (2C); 51,5 (2C); 51,1 (2C); 50,8; 32,8 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 457,29619; nađeno 457,29845.

4.1.13.5. 1-Benzil-N-(4-(4-(2-hlorfenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (150)

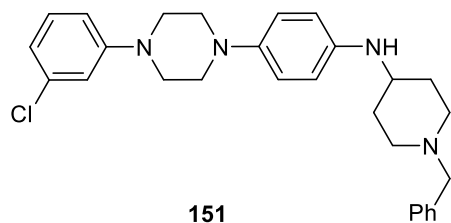


150

Primenom opšte procedure J, polazeći od 4-(4-aryl-piperazin-1-il)anilina **137** (0,150 g, 0,52 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,117 g, 0,62 mmol), dobijeno je jedinjenje **150** (0,143 g, 60%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 133–135 °C; **Rf** = 0,36 (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95:5). **IR** (ATR): 3385, 2940, 2824, 2747, 1617, 1516, 1252, 1224, 1124, 735 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) $\delta = 7,41 - 7,32$ (m, 5H, ArH),

7,31 – 7,26 (m, 1H, ArH), 7,27 – 7,21 (m, 1H, ArH); 7,13 – 7,07 (m, 1H, ArH); 7,03 – 6,96 (m, 1H, ArH); 6,95 – 6,84 (m, 2H, ArH); 6,69 – 6,54 (m, 2H, ArH); 3,58 (s, 2H, CH_2); 3,22 (s, 10H, preklopljen CH_2 , CH i NH); 2,94 – 2,86 (m, 2H, CH_2); 2,20 (t, $J = 11,3$ Hz, 2H, CH_2); 2,11 – 2,00 (m, 2H, CH_2); 1,57 – 1,46 (m, 2H, CH_2) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) $\delta = 149,4; 143,8; 141,7; 130,8; 129,4; 129,0; 128,4; 127,7; 127,4; 123,9; 120,5; 119,1; 114,8; 63,1; 52,5$ (2C); 51,6 (2C); 51,5 (2C); 50,9; 32,6 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{ClN}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 461,24665; nađeno 461,24854.

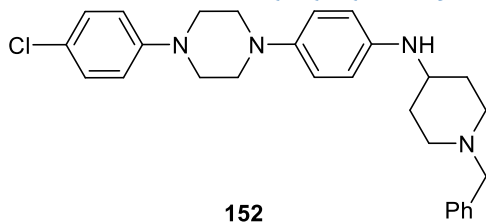
4.1.13.6. 1-Benzil-N-(4-(4-(3-hlorfenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (151)



151

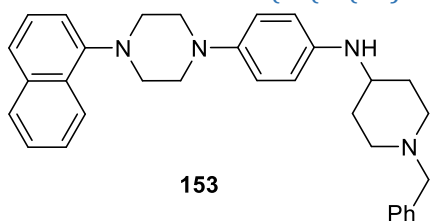
Primenom opšte procedure J, polazeći od 4-(4-aryl-piperazin-1-il)anilina **138** (0,150 g, 0,52 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,117 g, 0,62 mmol), dobijeno je jedinjenje **151** (0,120 g, 50%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 148–150 °C; **Rf** = 0,38 (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95:5). **IR** (ATR): 3410, 2946, 2820, 2764, 1594, 1513, 1255, 1226, 1114, 813 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) $\delta = 7,36 - 7,31$

(m, 4H, ArH); 7,30 – 7,26 (m, 1H, ArH); 7,21 – 7,15 (m, 1H, ArH); 6,95 – 6,90 (m, 1H, ArH); 6,89 – 6,86 (m, 2H, ArH); 6,86 – 6,80 (m, 2H, ArH); 6,62 – 6,56 (m, 2H, ArH); 3,56 (s, 2H, CH_2); 3,35 – 3,30 (m, 4H, CH_2); 3,29 – 3,20 (m, 2H, preklopljen CH i NH); 3,20 – 3,12 (m, 4H, CH_2); 2,91 – 2,85 (m, 2H, CH_2); 2,18 (t, $J = 11,4$ Hz, 2H, CH_2); 2,09 – 1,99 (m, 2H, CH_2); 1,56 – 1,44 (m, 2H, CH_2) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) $\delta = 152,5; 143,4; 142,0; 138,0; 135,1; 130,2; 129,4; 128,4; 127,3; 119,6; 119,3; 116,1; 114,7; 114,2; 63,2; 52,4$ (2C); 51,3 (2C); 50,7; 49,2 (2C); 32,7 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{ClN}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 461,24665; nađeno 461,24860.

4.1.13.7. 1-Benzil-N-(4-(4-(4-hlorfenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (**152**)**152**

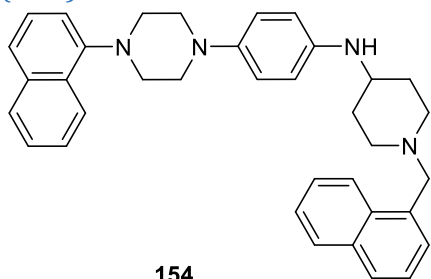
Primenom opšte procedure **J**, polazeći od 4-(4-aryl-piperazin-1-il)anilina **139** (0,150 g, 0,52 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,117 g, 0,62 mmol), dobijeno je jedinjenje **152** (0,162 g, 67%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 183–186 °C; **Rf** = 0,33 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3344, 2943, 2824, 2760, 1592, 1512, 1263, 1223, 1146, 826 cm⁻¹. **¹H NMR** (500

MHz, CDCl₃) δ = 7,37 – 7,29 (m, 4H, ArH); 7,31 – 7,24 (m, 1H, ArH); 7,25 – 7,19 (m, 2H, ArH); 6,92 – 6,84 (m, 4H, ArH); 6,66 – 6,52 (m, 2H, ArH); 3,55 (s, 2H, CH₂); 3,31 – 3,27 (m, 4H, CH₂); 3,21 (br. s, 2H, preklopljen CH i NH); 3,19 – 3,10 (m, 4H, CH₂); 2,92 – 2,83 (m, 2H, CH₂); 2,17 (t, J = 10,8 Hz, 2H, CH₂); 2,03 (d, J = 12,6 Hz, 2H, CH₂); 1,55 – 1,43 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 150,1; 143,4; 141,9; 129,4; 129,1; 128,4; 127,3; 124,8; 119,3; 117,5; 114,7; 63,2; 52,5 (2C); 51,3 (2C); 50,8; 49,7 (2C); 32,7 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₈H₃₃ClN₄ [M+H]⁺ 461,24665; nađeno 461,24832.

4.1.13.8. 1-Benzil-N-(4-(4-(naftalen-1-il)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-amin (**153**)**153**

Primenom opšte procedure **J**, polazeći od 4-(4-aryl-piperazin-1-il)anilina **140** (0,109 g, 0,36 mmol), i 1-benzilpiperidin-4-ona **145** (0,081 g, 0,43 mmol), dobijeno je jedinjenje **153** (0,137 g, 79%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 133–136 °C; **Rf** = 0,34 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3336, 2947, 2805, 2752, 1593, 1513, 1260, 1225, 1141, 829

cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,32 – 8,19 (m, 1H, ArH); 7,87 – 7,79 (m, 1H, ArH); 7,60 – 7,53 (m, 1H, ArH); 7,52 – 7,45 (m, 2H, ArH); 7,46 – 7,37 (m, 1H, ArH); 7,36 – 7,30 (m, 4H, ArH); 7,29 – 7,24 (m, 1H, ArH); 7,18 – 7,10 (m, 1H, ArH); 7,00 – 6,89 (m, 2H, ArH); 6,67 – 6,58 (m, 2H, ArH); 3,55 (s, 2H, CH₂); 3,40 – 3,19 (m, 10H, preklopljen CH₂, CH i NH); 2,96 – 2,79 (m, 2H, CH₂); 2,24 – 2,11 (m, 2H, CH₂); 2,10 – 2,00 (m, 2H, CH₂); 1,58 – 1,42 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 149,7; 143,8; 141,6; 138,1; 134,9; 129,4; 129,0; 128,5; 128,4; 127,3; 126,0; 126,0; 125,5; 123,7; 119,0; 114,8; 114,8; 63,2; 53,3 (2C); 52,5 (2C); 51,7 (2C); 50,8; 32,7 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₃₂H₃₆N₄ [M+H]⁺ 477,30127; nađeno 477,30171.

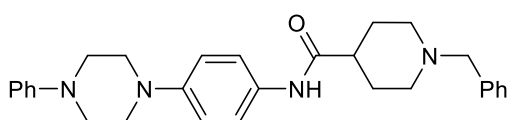
4.1.13.9. N-(4-(4-(Naftalen-1-il)piperazin-1-il)fenil)-1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-amin (**154**)**154**

Primenom opšte procedure **J**, polazeći od 4-(4-aryl-piperazin-1-il)anilina **140** (0,118 g, 0,39 mmol), i 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-ona **142** (0,112 g, 0,47 mmol), dobijeno je jedinjenje **154** (0,141 g, 68%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 149–152 °C; **Rf** = 0,34 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3393, 2939, 2812, 2758, 1593, 1513, 1258, 1226, 1142, 816 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,36 – 8,29 (m, 1H, ArH); 8,29 – 8,22 (m, 1H, ArH);

7,89 – 7,80 (m, 2H, ArH); 7,82 – 7,75 (m, 1H, ArH); 7,61 – 7,54 (m, 1H, ArH); 7,55 – 7,45 (m, 4H, ArH); 7,46 – 7,38 (m, 3H, ArH); 7,17 – 7,08 (m, 1H, ArH); 6,98 – 6,89 (m, 2H, ArH); 6,68 – 6,58 (m, 2H, ArH); 3,93 (s, 2H, CH₂); 3,43 – 3,18 (m, 10H, preklopljen CH₂, CH i NH); 3,01 – 2,81 (m, 2H, CH₂); 2,29 – 2,19 (m, 2H, CH₂); 2,09 – 1,99 (m, 2H, CH₂); 1,57 – 1,38 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 155,5; 149,8; 143,8; 141,7; 134,9; 134,5; 134,0; 132,7; 129,0; 128,5; 128,0; 127,4; 126,0; 126,0; 125,8; 125,7; 125,5; 125,3; 124,9; 123,7; 119,0; 114,8; 114,8; 61,3; 53,4 (2C); 52,8 (2C); 51,7 (2C); 51,0; 32,9 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₃₆H₃₈N₄ [M+H]⁺ 527,31692; nađeno 527,31942.

4.1.14. Opšta procedura K

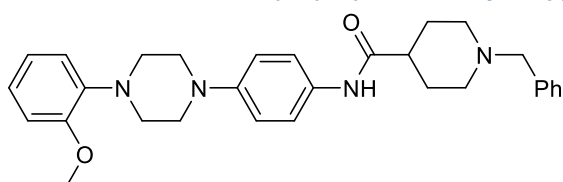
U jednogrlom balonu od 20 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina (**133–140**) (1,0 ekv.) u DMF-u (5 ml), 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** ili 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksilne kiseline **144** (1,2 ekv.), Et₃N (2,5 ekv.) i 50% rastvora PPAA u DMF-u (1,2 ekv.). Smeša se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5. Nakon 24 h, smeša se izlije u smešu leda i vode i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 30ml). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do odnosa CH₂Cl₂/MeOH = 95:5).

4.1.14.1. 1-Benzil-N-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**156**)

156

Primenom opšte procedure K, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **133** (0,149 g, 0,59 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,182 g, 0,71 mmol), dobijeno je jedinjenje **156** (0,205 g, 76%); bela, kristalna supstanca; T.t. = 220–225 °C; Rf = 0,48 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). IR (ATR):

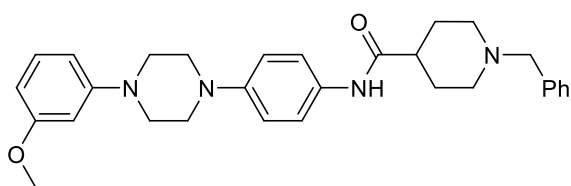
3347, 2935, 2823, 2766, 1646, 1599, 1515, 1228 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 9:1) δ = 7,42 – 7,34 (m, 2H, ArH); 7,30 – 7,24 (m, 4H, ArH); 7,24 – 7,18 (m, 3H, ArH); 6,94 – 6,89 (m, 2H, ArH); 6,89 – 6,83 (m, 2H, ArH); 6,85 – 6,78 (m, 1H, ArH); 3,55 (s, 2H, CH₂); 3,27 – 3,21 (m, 4H, delimično preklopljen, CH₂); 3,22 – 3,17 (m, 4H, delimično preklopljen, CH₂); 3,01 – 2,92 (m, 2H, CH₂); 2,32 – 2,23 (m, 1H, CH); 2,15 (t, J = 11,0 Hz, 2H, CH₂); 1,88 – 1,75 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 9:1) δ = 173,6; 150,9; 147,8; 135,6; 131,0; 129,5; 128,9; 128,2; 127,5; 121,3; 120,1; 116,8; 116,3; 62,6; 52,4 (2C); 49,7 (2C); 49,3 (2C); 43,1; 27,8 (2C) ppm. HRMS (HESI-OT): izračunato za C₂₉H₃₄N₄O [M+H]⁺ 455,28054; nađeno 455,28256.

4.1.14.2. 1-Benzil-N-(4-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**157**)

157

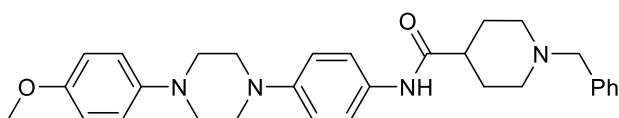
Primenom opšte procedure K, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **134** (0,096 g, 0,34 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,105 g, 0,41 mmol), dobijeno je jedinjenje **157** (0,129 g, 78%); bela, kristalna supstanca; T.t. = 208–211 °C; Rf = 0,43 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). IR (ATR): 3405, 2941, 2829,

2763, 1667, 1591, 1519, 1269, 1238, cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,44 – 7,37 (m, 2H, ArH); 7,35 – 7,28 (m, 4H, ArH); 7,29 – 7,22 (m, 1H, ArH); 7,14 (br. s, 1H, NH); 7,06 – 6,99 (m, 1H, ArH); 7,01 – 6,95 (m, 1H, ArH); 6,98 – 6,91 (m, 3H, ArH); 6,91 – 6,86 (m, 1H, ArH); 3,88 (s, 3H, OCH₃); 3,52 (s, 2H, CH₂); 3,36 – 3,29 (m, 4H, CH₂); 3,26 – 3,19 (m, 4H, CH₂); 2,97 (d, J = 11,8 Hz, 2H, CH₂); 2,27 – 2,17 (m, 1H, CH); 2,08 – 1,98 (m, 2H, CH₂); 1,94 – 1,82 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ = 173,2; 152,5; 148,6; 141,3; 138,4; 130,6; 129,2; 128,4; 127,2; 123,3; 121,4; 121,2; 118,4; 116,9; 111,4; 63,3; 55,6; 53,2 (2C); 50,8 (2C); 50,1 (2C); 44,4; 29,2 (2C) ppm. HRMS (HESI-OT): izračunato za C₃₀H₃₆N₄O₂ [M+H]⁺ 485,29110; nađeno 485,29337.

4.1.14.3. 1-Benzil-N-(4-(4-(3-metoksifenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**158**)**158**

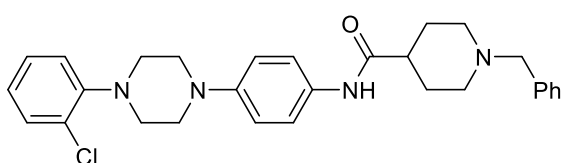
Primenom opšte procedure **K**, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **135** (0,150 g, 0,53 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,164 g, 0,64 mmol), dobijeno je jedinjenje **158** (0,214 g, 83%); roze, kristalna supstanca; **T.t.** = 189–192 °C; **Rf** = 0,44 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3280, 2948,

2825, 2772, 1644, 1586, 1525, 1272, 1247 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,45 – 7,40 (m, 2H, ArH); 7,38 – 7,29 (m, 4H, ArH); 7,30 – 7,25 (m, 1H, ArH); 7,23 – 7,16 (m, 1H, ArH); 6,95 – 6,88 (m, 2H, ArH); 6,62 – 6,56 (m, 1H, ArH); 6,53 – 6,49 (m, 1H, ArH); 6,48 – 6,42 (m, 1H, ArH); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 3,56 (s, 2H, CH₂); 3,35 – 3,28 (m, 4H, delimično preklopljen, CH₂); 3,29 – 3,22 (m, 4H, delimično preklopljen, CH₂); 3,00 (d, *J* = 11,6 Hz, 2H, CH₂); 2,35 – 2,22 (m, 1H, CH); 2,20 – 2,03 (m, 2H, CH₂); 2,00 – 1,84 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 173,2; 160,7; 152,7; 148,3; 130,8; 130,0; 129,4; 128,5; 127,4; 121,5; 117,0; 109,2; 104,9; 102,9; 63,1; 55,3; 52,9 (2C); 49,9 (2C); 49,4 (2C); 44,2; 28,8 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₃₀H₃₆N₄O₂ [M+H]⁺ 485,29110; nađeno 485,29330.

4.1.14.4. 1-Benzil-N-(4-(4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**159**)**159**

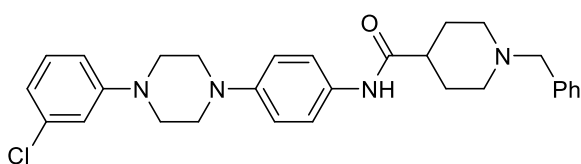
Primenom opšte procedure **K**, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **136** (0,150 g, 0,53 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,164 g, 0,64 mmol), dobijeno je jedinjenje **159** (0,232 g, 90%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 240–244

°C; **Rf** = 0,43 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3287, 2935, 2828, 2801, 1642, 1597, 1511, 1270, 1249 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 9:1) δ = 7,34 – 7,29 (m, 2H, ArH); 7,22 – 7,19 (m, 4H, ArH); 7,18 – 7,15 (m, 1H, ArH); 6,87 – 6,80 (m, 4H, ArH); 6,78 – 6,72 (m, 2H, ArH); 3,66 (s, 3H, OCH₃); 3,44 (s, 2H, CH₂); 3,19 – 3,13 (m, 4H, CH₂); 3,13 – 3,07 (m, 4H, CH₂); 2,91 – 2,84 (m, 2H, CH₂); 2,21 – 2,12 (m, 1H, CH); 2,02 – 1,94 (m, 2H, CH₂); 1,81 – 1,68 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 9:1) δ = 174,1; 154,4; 148,1; 145,6; 131,3; 130,3; 129,7; 128,5; 127,6; 121,6; 118,9; 117,1; 114,7; 63,3; 55,7; 53,0 (2C); 51,1 (2C); 50,2 (2C); 44,0; 28,4 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₃₀H₃₆N₄O₂ [M+H]⁺ 485,29110; nađeno 485,29321.

4.1.14.5. 1-Benzil-N-(4-(4-(2-hlorfenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**160**)**160**

Primenom opšte procedure **K**, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **137** (0,144 g, 0,50 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,153 g, 0,60 mmol), dobijeno je jedinjenje **160** (0,180 g, 74%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 185–187 °C; **Rf** = 0,38 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3287, 2948, 2813,

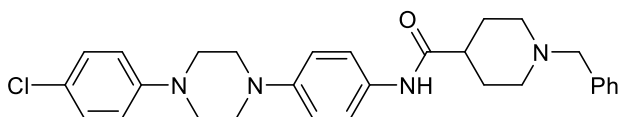
2767, 1648, 1590, 1516, 1226, 743 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,44 – 7,39 (m, 2H, ArH); 7,41 – 7,35 (m, 1H, ArH); 7,34 – 7,31 (m, 4H, ArH); 7,29 – 7,22 (m, 2H, ArH); 7,16 (br. s, 1H, NH); 7,11 – 7,05 (m, 1H, ArH); 7,03 – 6,96 (m, 1H, ArH); 6,95 – 6,91 (m, 2H, ArH); 3,52 (s, 2H, CH₂); 3,36 – 3,28 (m, 4H, CH₂); 3,23 – 3,18 (m, 4H, CH₂); 3,01 – 2,93 (m, 2H, CH₂); 2,27 – 2,18 (m, 1H, CH); 2,08 – 1,99 (m, 2H, CH₂); 1,94 – 1,85 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 173,2; 149,3; 148,5; 138,4; 130,8; 129,2; 129,0; 128,4; 127,8; 127,2; 124,0; 121,4; 120,5; 117,0; 63,3; 53,2 (2C); 51,4 (2C); 50,1 (2C); 44,4; 29,2 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₉H₃₃ClN₄O [M+H]⁺ 489,24157; nađeno 489,24309.

4.1.14.6. 1-Benzil-N-(4-(4-(3-hlorfenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**161**)

161

Primenom opšte procedure **K**, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **138** (0,150 g, 0,52 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,159 g, 0,62 mmol), dobijeno je jedinjenje **161** (0,212 g, 83%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 216–219 °C; **Rf** = 0,36 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3294, 2948,

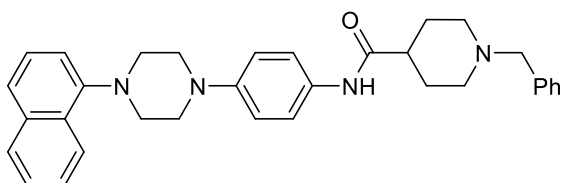
2810, 2771, 1644, 1596, 1523, 1227, 770 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 9,46 (br. s, 1H, NH); 7,48 – 7,41 (m, 2H, ArH); 7,34 – 7,26 (m, 4H, ArH); 7,25 – 7,17 (m, 2H, ArH); 7,00 – 6,94 (m, 1H, ArH); 6,94 – 6,88 (m, 3H, ArH); 6,81 – 6,75 (m, 1H, ArH); 3,45 (s, 2H, CH₂); 3,33 – 3,26 (m, 4H, CH₂); 3,21 – 3,16 (m, 4H, preklapljen CH₂ i DMSO); 2,90 – 2,80 (m, 2H, CH₂); 2,31 – 2,21 (m, 1H, CH); 2,01 – 1,90 (m, 2H, CH₂); 1,77 – 1,61 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 172,7; 152,0; 146,6; 138,4; 133,7; 131,7; 130,2; 128,5; 127,9; 126,5; 120,2; 118,0; 115,9; 114,6; 113,6; 62,2; 52,5 (2C); 48,6 (2C); 47,6 (2C); 42,6; 28,4 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₉H₃₃ClN₄O [M+H]⁺ 489,24157; nađeno 489,24314.

4.1.14.7. 1-Benzil-N-(4-(4-(4-hlorfenil)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**162**)

162

Primenom opšte procedure **K**, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **139** (0,144 g, 0,50 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,153 g, 0,60 mmol), dobijeno je jedinjenje **162** (0,160 g, 65%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 241–245

°C; **Rf** = 0,40 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3314, 2943, 2825, 2761, 1640, 1599, 1520, 1228, 827 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 9:1) δ = 7,32 – 7,26 (m, 2H, ArH); 7,21 – 7,15 (m, 4H, ArH); 7,15 – 7,11 (m, 1H, ArH); 7,10 – 7,05 (m, 2H, ArH); 6,83 – 6,73 (m, 4H, ArH); 3,40 (s, 2H, CH₂); 3,18 – 3,13 (m, 4H, delimično preklapljen, CH₂); 3,13 – 3,09 (m, 4H, delimično preklapljen, CH₂); 2,84 (d, *J* = 11,4 Hz, 2H, CH₂); 2,19 – 2,11 (m, 1H, CH); 2,00 – 1,90 (m, 2H, CH₂); 1,77 – 1,66 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 9:1) δ = 173,9; 149,6; 147,6; 131,1; 129,4; 128,7; 128,1; 127,2; 124,8; 121,3; 117,5; 116,8; 62,9; 52,6 (2C); 49,7 (2C); 49,2 (2C); 43,6; 28,0 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₉H₃₃ClN₄O [M+H]⁺ 489,24157; nađeno 489,24310.

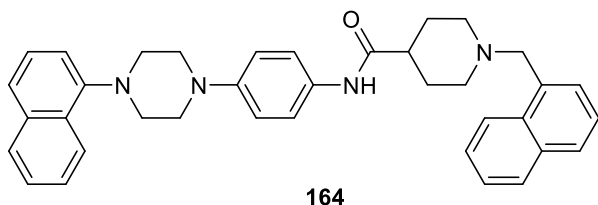
4.1.14.8. 1-Benzil-N-(4-(4-(naftalen-1-il)piperazin-1-il)fenil)piperidin-4-karboksamid (**163**)

163

Primenom opšte procedure **K**, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **140** (0,097 g, 0,32 mmol), i hidrohlorida 1-benzilpiperidin-4-karboksilne kiseline **155** (0,097 g, 0,38 mmol), dobijeno je jedinjenje **163** (0,081 g, 50%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 178–182 °C; **Rf** = 0,40 (SiO₂;

CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3288, 2953, 2816, 2768, 1659, 1593, 1517, 1229, 781 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,27 – 8,17 (m, 1H, ArH); 7,85 – 7,78 (m, 1H, ArH); 7,60 – 7,53 (m, 1H, ArH); 7,51 – 7,37 (m, 5H, ArH); 7,36 – 7,28 (m, 4H, ArH); 7,29 – 7,21 (m, 1H, ArH); 7,21 (br. s, 1H, NH); 7,15 – 7,08 (m, 1H, ArH); 7,02 – 6,92 (m, 2H, ArH); 3,52 (s, 2H, CH₂); 3,47 – 3,33 (m, 4H, CH₂); 3,32 – 3,19 (m, 4H, CH₂); 2,97 (d, *J* = 11,1 Hz, 2H, CH₂); 2,30 – 2,15 (m, 1H, CH); 2,10 – 1,97 (m, 2H, CH₂); 1,95 – 1,80 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 173,2; 149,6; 148,5; 134,9; 130,6; 129,3; 129,0; 128,6; 128,4; 127,2; 126,0; 126,0; 125,6; 123,9; 123,6; 121,5; 116,9; 114,8; 63,3; 53,1 (4C); 50,3 (2C); 44,3; 29,1 (2C) ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₃₃H₃₆N₄O [M+H]⁺ 505,29619; nađeno 505,29611.

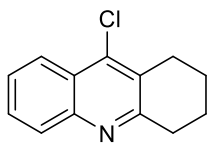
4.1.14.9. *N*-(4-(4-(Naftalen-1-il)piperazin-1-il)fenil)-1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksamid (**164**)

**164**

Primenom opšte procedure **K**, polazeći od 4-(4-arilpiperazin-1-il)anilina **140** (0,109 g, 0,36 mmol), i hidrohlorida 1-(naftalen-1-ilmetil)piperidin-4-karboksilne kiseline **144** (0,131 g, 0,43 mmol), dobijeno je jedinjenje **164** (0,150 g, 75%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** =

150–154 °C; **Rf** = 0,40 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **IR** (ATR): 3281, 2943, 2810, 1649, 1575, 1512, 1226, 776 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 8,37 – 8,28 (m, 1H, ArH); 8,26 – 8,18 (m, 1H, ArH); 7,86 – 7,80 (m, 2H, ArH); 7,80 – 7,74 (m, 1H, ArH); 7,60 – 7,53 (m, 1H, ArH); 7,55 – 7,44 (m, 4H, ArH); 7,46 – 7,36 (m, 5H, ArH); 7,20 (br. s, 1H, NH); 7,14 – 7,07 (m, 1H, ArH); 6,99 – 6,90 (m, 2H, ArH); 3,90 (s, 2H, CH₂); 3,51 – 3,33 (m, 4H, CH₂); 3,31 – 3,17 (m, 4H, CH₂); 3,06 – 2,96 (m, 2H, CH₂); 2,30 – 2,17 (m, 1H, CH); 2,15 – 2,04 (m, 2H, CH₂); 1,95 – 1,77 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ = 173,3; 149,6; 148,5; 134,9; 134,3; 134,0; 132,7; 130,7; 129,0; 128,6; 128,5; 128,0; 127,4; 126,0; 126,0; 125,9; 125,7; 125,6; 125,2; 124,9; 123,8; 123,6; 121,5; 116,9; 114,8; 61,5; 53,4 (2C); 53,1 (2C); 50,3 (2C); 44,5; 29,2 (2C) ppm. **HRMS (ESI-OT)**: izračunato za C₃₇H₃₈N₄O [M+H]⁺ 555,31184; nađeno 555,31292.

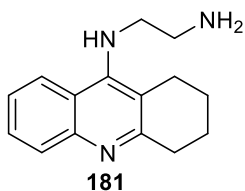
4.1.15. Dobijanje 9-hlor-1,2,3,4-tetrahidroakridina (**180**)

**180**

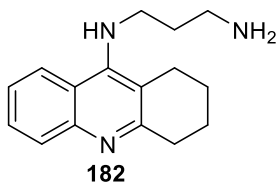
U dvogrlom balonu od 50 ml, opremljenim povratnim kondenzatorom, kapalicom i kalcijum-hloridnom cevi, odmeri se antranilna kiselina **179** (3,00 g, 21,88 mmol, 1,0 ekv.) i cikloheksanon (2,5 ml, 24,15 mmol, 1,1 ekv.), zatim se ukapava POCl₃ (20 ml). Nakon dodatka POCl₃, smeša se zagreje do refluksa. Nakon 2 h refluksa, upari se višak rastvarača pod sniženim pritiskom. Smeša se razblaži sa EtOAc i neutrališe vodenim rastvorom K₂CO₃ (1,5 M). Organski sloj se ispere sa zasićenim vodenim rastvorom NaCl i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava prekrizacijom iz acetona, čime je dobijeno jedinjenje **180** (3,50 g, 74%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** = 67–69 °C; **Rf** = 0,65 (SiO₂; n-heksan/EtOAc = 9:1). **IR** (ATR): 3050, 2938, 2669, 1579, 1482, 1427, 1309, 1253, 917, 768, 755, 633 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 8,16 – 8,09 (m, 1H, ArH); 7,99 – 7,93 (m, 1H, ArH); 7,68 – 7,59 (m, 1H, ArH); 7,55 – 7,46 (m, 1H, ArH); 3,10 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,98 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 1,99 – 1,85 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 159,6; 146,8; 141,5; 129,3; 128,9; 128,7; 126,5; 125,5; 123,8; 34,3; 27,6; 22,8; 22,7 ppm.

4.1.16. Opšta procedura **L**

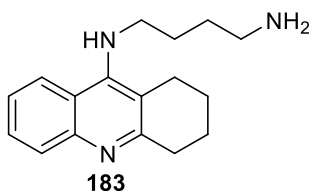
U jednogrlom balonu od 50 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom, pomeša rastvor 9-hlor-1,2,3,4-tetrahidroakridina **180** (1,0 ekv.) u fenolu (20,0 g) i zagreva se na 90 °C dok se ne formira homogen rastvor, zatim se doda NaI (0,1 ekv.) i odgovarajući diamin (5,0 ekv.). Smeša se meša na 130 °C i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i metanola u odnosu 95:5. Nakon 4 h, reakciona smeša se ohladi do sobne temperature i razblaži se 20% vodenim rastvorom NaOH i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do čistog MeOH, nakon čega je dodavan rastvor NH₃ u MeOH 4M).

4.1.16.1. *N*-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)etan-1,2-diamin (**181**)

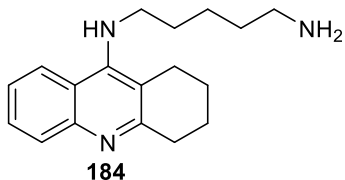
Primenom opšte procedure **L**, polazeći od 1,2,3,4-tetrahydroakridina **180** (0,512 g, 2,35 mmol), i etan-1,2-diamina (0,78 ml, 11,67 mmol) dobijeno je jedinjenje **181** (0,430 g, 76%); žuta, viskozna supstanca; *Rf* = 0,48 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 8 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3337, 2937, 1636, 1564, 1501, 1417, 1332, 1168, 761, 733, 620 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,98 – 7,91 (m, 1H, ArH); 7,89 – 7,83 (m, 1H, ArH); 7,51 – 7,42 (m, 1H, ArH); 7,32 – 7,22 (m, 1H, ArH); 4,78 (br. s, 1H, NH); 3,51 – 3,35 (m, 2H, CH₂); 3,06 – 2,94 (m, 2H, CH₂); 2,86 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H, CH₂); 2,73 – 2,65 (m, 2H, CH₂); 1,95 – 1,77 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,5; 151,0; 147,3; 128,4; 128,3; 123,6; 122,9; 120,4; 115,9; 50,9; 42,4; 33,8; 24,8; 23,0; 22,8 ppm.

4.1.16.2. *N*-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)propan-1,3-diamin (**182**)

Primenom opšte procedure **L**, polazeći od 1,2,3,4-tetrahydroakridina **180** (0,505 g, 2,32 mmol), i propan-1,3-diamina (0,96 ml, 11,50 mmol) dobijeno je jedinjenje **182** (0,356 g, 60%); žuta, viskozna supstanca; *Rf* = 0,48 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 8 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3347, 2934, 2861, 1614, 1563, 1501, 1422, 1358, 1297, 1129, 761, 680, 620 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,95 – 7,87 (m, 1H, ArH); 7,87 – 7,77 (m, 1H, ArH); 7,50 – 7,37 (m, 1H, ArH); 7,27 – 7,18 (m, 1H, ArH); 4,72 (br. s, 1H, NH); 3,49 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H, CH₂); 3,04 – 2,92 (m, 2H); 2,78 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H); 2,68 – 2,54 (m, 2H, CH₂); 2,10 (br. s, 2H, NH₂); 1,88 – 1,75 (m, 4H, CH₂); 1,74 – 1,63 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,4; 150,8; 147,4; 128,6; 128,1; 123,4; 122,9; 120,2; 115,8; 48,0; 40,4; 34,2; 34,0; 25,1; 23,0; 22,8 ppm.

4.1.16.3. *N*-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)butan-1,4-diamin (**183**)

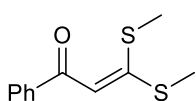
Primenom opšte procedure **L**, polazeći od 1,2,3,4-tetrahydroakridina **180** (0,512 g, 2,35 mmol), i butan-1,4-diamina (1,2 ml, 11,94 mmol) dobijeno je jedinjenje **183** (0,500 g, 72%); žuta, viskozna supstanca; *Rf* = 0,48 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 8 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3347, 3060, 2933, 2861, 1614, 1563, 1500, 1421, 1360, 1297, 1131, 763, 680, 621 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,97 – 7,85 (m, 2H, ArH); 7,56 – 7,47 (m, 1H, ArH); 7,34 – 7,27 (m, 1H, ArH); 4,12 (br. s, 1H, NH); 3,48 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH₂); 3,09 – 2,98 (m, 2H, CH₂); 2,77 – 2,62 (m, 4H, CH₂); 2,05 – 1,80 (m, 6H, preklapljen NH₂ i CH₂); 1,75 – 1,61 (m, 2H, CH₂); 1,59 – 1,46 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,3; 151,0; 147,3; 128,6; 128,5; 123,8; 122,9; 120,2; 115,9; 49,4; 41,9; 33,9; 31,0; 29,2; 25,0; 23,1; 22,8 ppm.

4.1.16.4. *N*-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)pentan-1,5-diamin (**184**)

Primenom opšte procedure **L**, polazeći od 1,2,3,4-tetrahydroakridina **180** (0,799 g, 3,67 mmol), i pentan-1,5-diamina (2,2 ml, 18,80 mmol) dobijeno je jedinjenje **184** (0,728 g, 70%); žuta, viskozna supstanca; *Rf* = 0,48 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 8 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3312, 2935, 2860, 1634, 1579, 1501, 1450, 1357, 1150, 762, 731, 679 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,95 – 7,84 (m, 2H, ArH); 7,55 – 7,46 (m, 1H, ArH); 7,35 – 7,26 (m, 1H, ArH); 3,91 (br. s, 1H, NH); 3,44 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂); 3,07 – 2,97 (m, 2H); 2,75 – 2,61 (m, 4H, CH₂); 1,95 – 1,82 (m, 4H, CH₂); 1,74 – 1,49 (m, 4H, preklapljen NH₂ i CH₂); 1,50 – 1,32 (m, 4H, delimično preklapljen, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,6; 150,7; 147,6; 128,9; 128,3; 123,6; 122,8; 120,4; 116,1; 49,5; 42,1; 34,2; 33,5; 31,7; 24,9; 24,3; 23,1; 22,9 ppm.

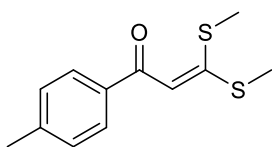
4.1.17. Opšta procedura **M**

U troglrom balonu od 250 ml, opremljenim uspravnim kondenzatorom, kapalicom, termometrom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša rastvor *t*-BuONa (3,5 ekv.) u PhMe (30 ml). Smeša se ohladi do 0 °C pomoću smeše leda i vode i ukapava se rastvor acetofenona (**167–172**) (1,0 ekv.) i CS₂ (1,5 ekv.) u PhMe (30 ml). Nakon 90 min. mešanja na 0 °C ukapava se rastvor MeI (2,4 ekv.) u PhMe (30 ml) tokom 10 min. na istoj temperaturi. Smeša se meša još 90 min na 0 °C, potom na 25 °C i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača *n*-heksana i EtOAc u odnosu 8:2. Nakon 24 h, reakciona smeša se izlije u smešu leda i vode, i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). Spojeni organski slojevi se suše nad Na₂SO₄ i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava prekristalizacijom iz *i*-PrOH.

4.1.17.1. 3,3-bis(Metiltio)-1-fenilprop-2-en-1-on (**173**)

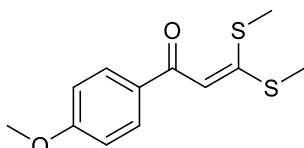
173

Primenom opšte procedure **M**, polazeći od acetofenona **167** (2,9 ml, 24,81 mmol), dobijeno je jedinjenje **173** (3,30 g, 60%); žuta, kristalna supstanca; **T.t.** = 90–92 °C; **Rf** = 0,65 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 7:3). **IR** (ATR): 2913, 1594, 1572, 1473, 1426, 1231, 1059, 761, 701, 619 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,94 – 7,86 (m, 2H, ArH); 7,52 – 7,46 (m, 1H, ArH); 7,45 – 7,40 (m, 2H, ArH); 6,76 (s, 1H, CH); 2,54 (s, 3H, SCH₃); 2,52 (s, 3H, SCH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,7; 166,5; 139,4; 131,8; 128,5; 127,8; 109,5; 17,4; 15,1 ppm.

4.1.17.2. 3,3-bis(Metiltio)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (**174**)

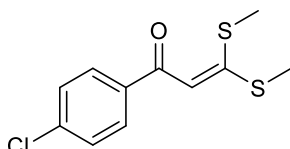
174

Primenom opšte procedure **M**, polazeći od acetofenona **168** (3,0 ml, 22,45 mmol), dobijeno je jedinjenje **174** (4,00 g, 75%); žuta, kristalna supstanca; **T.t.** = 101–104 °C; **Rf** = 0,65 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 7:3). **IR** (ATR): 2913, 1603, 1563, 1474, 1426, 1234, 1065, 776, 723, 590 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,84 – 7,76 (m, 2H, ArH); 7,25 – 7,17 (m, 2H, ArH); 6,74 (s, 1H, CH); 2,53 (s, 3H, SCH₃); 2,51 (s, 3H, SCH₃); 2,38 (s, 3H, CH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,5; 165,6; 142,4; 136,8; 129,2; 127,9; 109,6; 21,6; 17,4; 15,1 ppm.

4.1.17.3. 1-(4-Metoksifenil)-3,3-bis(metiltio)prop-2-en-1-on (**175**)

175

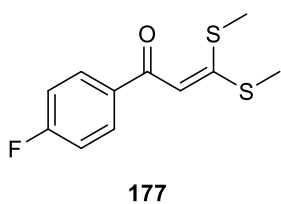
Primenom opšte procedure **M**, polazeći od acetofenona **169** (2,99 g, 19,89 mmol), dobijeno je jedinjenje **175** (4,00 g, 79%); žuta, kristalna supstanca; **T.t.** = 98–100 °C; **Rf** = 0,65 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 7:3). **IR** (ATR): 2916, 1595, 1470, 1427, 1231, 1164, 1015, 777, 726, 514 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,96 – 7,83 (m, 2H, ArH); 6,98 – 6,87 (m, 2H, ArH); 6,73 (s, 1H, CH); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 2,54 (s, 3H, SCH₃); 2,50 (s, 3H, SCH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 184,6; 164,9; 162,6; 132,2; 129,9; 113,7; 109,6; 55,5; 17,4; 15,2 ppm.

4.1.17.4. 1-(4-Hlorfenil)-3,3-bis(metiltio)prop-2-en-1-on (**176**)

176

Primenom opšte procedure **M**, polazeći od acetofenona **170** (2,99 g, 19,32 mmol), dobijeno je jedinjenje **176** (3,60 g, 72%); žuta, kristalna supstanca; **T.t.** = 106–108 °C; **Rf** = 0,65 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 7:3). **IR** (ATR): 2986, 1613, 1466, 1424, 1230, 1176, 1001, 848, 781, 630, 514 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,86 – 7,78 (m, 2H, ArH); 7,44 – 7,33 (m, 2H, ArH); 6,68 (s, 1H, CH); 2,54 (s, 3H, SCH₃); 2,51 (s, 3H, SCH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 184,3; 167,6; 138,0; 137,7; 129,2; 128,8; 108,9; 17,5; 15,2 ppm.

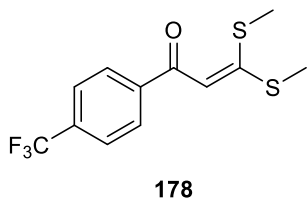
4.1.17.5. 1-(4-Fluorfenil)-3,3-bis(metiltio)prop-2-en-1-on (177)



177

Primenom opšte procedure **M**, polazeći od acetofenona **171** (2,6 ml, 21,41 mmol), dobijeno je jedinjenje **177** (3,50 g, 67%); žuta, kristalna supstanca; **T.t.** = 87–88 °C; **Rf** = 0,65 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 7:3). **IR** (ATR): 2987, 1617, 1468, 1428, 1221, 1152, 1013, 846, 777, 590 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,97 – 7,84 (m, 2H, ArH); 7,15 – 7,01 (m, 2H, ArH); 6,69 (s, 1H, CH); 2,54 (s, 3H, SCH₃); 2,51 (s, 3H, SCH₃) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 184,2; 167,0; 166,3; 163,7; 135,7; 135,7; 130,3; 130,2; 115,6; 115,4; 109,1; 17,4; 15,1 ppm.

4.1.17.6. 3,3-bis(metiltio)-1-(4-(trifluormetil)fenil)prop-2-en-1-on (178)



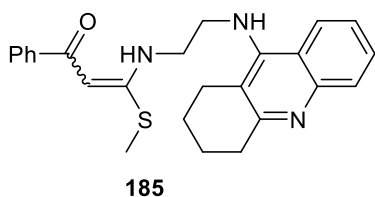
178

Primenom opšte procedure **M**, polazeći od acetofenona **172** (2,92 g, 15,53 mmol), dobijeno je jedinjenje **178** (1,50 g, 33%); žuta, kristalna supstanca; **T.t.** = 84–86 °C; **Rf** = 0,65 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 7:3). **IR** (ATR): 2921, 1623, 1482, 1432, 1324, 1232, 1166, 1016, 858, 788, 629 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,05 – 7,92 (m, 2H, ArH); 7,76 – 7,62 (m, 2H, ArH); 6,71 (s, 1H, CH); 2,57 (s, 3H, SCH₃); 2,54 (s, 3H, SCH₃) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 184,3; 169,0; 142,5; 133,5; 133,3; 133,0; 132,7; 128,1; 127,2; 125,6; 125,6; 125,6; 125,5; 125,0; 122,8; 120,7; 108,9; 17,5; 15,2 ppm.

4.1.18. Opšta procedura **N**

U jednogrlom balonu od 20 ml, opremljenim povratnim kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor diamina (**181–184**) (1,0 ekv.) u PhMe (7 ml) i odgovarajućeg ketenditioacetala (**173–178**) (1,2 ekv.). Smeša se meša na temperaturi refluktovanja i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5 uz dodatak 6 kapi rastvora amonijaka u metanolu (4 M). Nakon 21-71 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do čistog MeOH).

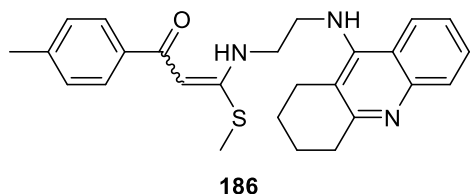
4.1.18.1. 3-(Metiltio)-1-fenil-3-((2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil)amino)prop-2-en-1-on (185)



185

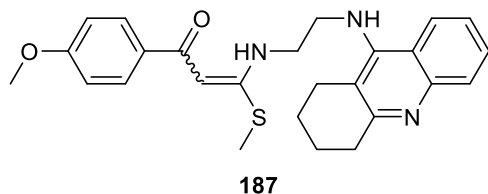
Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **173** (0,331 g, 1,48 mmol), i diamina **181** (0,297 g, 1,23 mmol), nakon 41 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **185** (0,370 g, 72%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3317, 2933, 2873, 1558, 1472, 1276, 767, 710, 642 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 12,07 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, NH); 7,95 – 7,88 (m, 2H, ArH); 7,87 – 7,82 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,50 (m, 1H, ArH); 7,46 – 7,38 (m, 3H, ArH); 7,36 – 7,30 (m, 1H, ArH); 5,66 (s, 1H, CH); 4,21 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H, NH); 3,70 (q, *J* = 6,3 Hz, 2H, CH₂); 3,55 (q, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH₂); 3,04 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,73 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 2,38 (s, 3H, SCH₃); 1,95 – 1,80 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,8; 169,8; 158,9; 149,3; 147,5; 140,5; 130,8; 129,0; 128,4; 127,0; 124,2; 122,4; 120,9; 118,2; 87,3; 48,2; 44,5; 34,2; 24,9; 23,1; 22,8; 14,4 ppm.

4.1.18.2. 3-(Metiltio)-3-((2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil)amino)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (186)



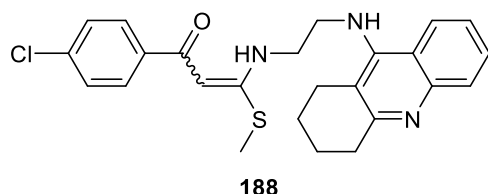
Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **174** (0,324 g, 1,36 mmol), i diamina **181** (0,273 g, 1,13 mmol), nakon 71 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **186** (0,327 g, 67%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3347, 2931, 2860, 1561, 1474, 1270, 760, 735, 598 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 12,04 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, NH); 7,96 – 7,87 (m, 2H, ArH); 7,79 – 7,72 (m, 2H, ArH); 7,58 – 7,50 (m, 1H, ArH); 7,38 – 7,30 (m, 1H, ArH); 7,25 – 7,18 (m, 2H, ArH); 5,66 (s, 1H, CH); 4,23 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H, NH); 3,72 (q, *J* = 6,3 Hz, 2H, CH₂); 3,56 (q, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH₂); 3,05 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,74 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 2,39 (br. s, 6H, preklopljen CH₃ i SCH₃); 1,97 – 1,80 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,8; 169,5; 159,0; 149,4; 147,5; 141,2; 137,7; 129,1; 129,0; 128,4; 127,1; 124,3; 122,5; 121,0; 118,2; 87,2; 48,3; 44,6; 34,2; 24,9; 23,1; 22,9; 21,6; 14,4 ppm.

4.1.18.3. 1-(4-Metoksifenil)-3-(metiltio)-3-((2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil)amino)prop-2-en-1-on (187)



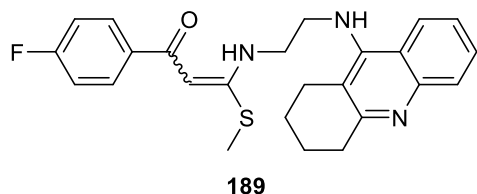
Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **175** (0,178 g, 0,70 mmol), i diamina **181** (0,140 g, 0,58 mmol), nakon 47 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **187** (0,151 g, 58%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3354, 2933, 2860, 1562, 1474, 1252, 1170, 771, 735, 605 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 11,98 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, NH); 7,96 – 7,88 (m, 2H, ArH); 7,87 – 7,80 (m, 2H, ArH); 7,59 – 7,50 (m, 1H, ArH); 7,38 – 7,30 (m, 1H, ArH); 6,98 – 6,85 (m, 2H, ArH); 5,64 (s, 1H, CH); 4,23 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H, NH); 3,85 (s, 3H, OCH₃); 3,72 (q, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 3,56 (q, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH₂); 3,04 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,74 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 2,39 (s, 3H, SCH₃); 1,96 – 1,81 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,1; 169,1; 161,9; 159,0; 149,5; 147,5; 133,0; 129,0; 128,9; 128,4; 124,3; 122,5; 121,0; 118,2; 113,6; 86,9; 55,5; 48,4; 44,6; 34,2; 24,9; 23,1; 22,9; 14,5 ppm.

4.1.18.4. 1-(4-Hlorfenil)-3-(metiltio)-3-((2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil)amino)prop-2-en-1-on (188)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **176** (0,246 g, 0,95 mmol), i diamina **181** (0,191 g, 0,79 mmol), nakon 39 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **188** (0,207 g, 58%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3359, 2933, 2861, 1561, 1471, 1270, 1091, 763, 735 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 12,06 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, NH); 7,95 – 7,88 (m, 2H, ArH); 7,81 – 7,74 (m, 2H, ArH); 7,60 – 7,52 (m, 1H, ArH); 7,40 – 7,37 (m, 2H, ArH); 7,37 – 7,33 (m, 1H, ArH); 5,61 (s, 1H, CH); 4,19 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, NH); 3,73 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,58 (q, *J* = 5,8 Hz, 2H, CH₂); 3,05 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 2,75 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,41 (s, 3H, SCH₃); 1,96 – 1,83 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 184,4; 170,3; 159,0; 149,4; 147,6; 138,9; 136,9; 129,1; 128,6; 128,5; 124,4; 122,4; 121,0; 118,3; 87,0; 48,3; 44,7; 34,3; 25,0; 23,2; 22,9; 14,5 ppm.

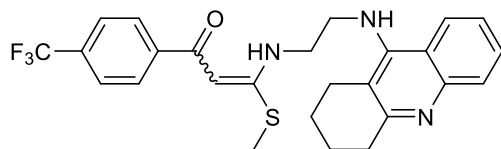
4.1.18.5. 1-(4-Fluorfenil)-3-(metiltio)-3-((2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil)amino)prop-2-en-1-on (**189**)

**189**

Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **177** (0,199 g, 0,82 mmol), i diamina **181** (0,164 g, 0,68 mmol), nakon 47 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **189** (0,198 g, 67%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3357, 2936, 2863, 1565, 1475,

1274, 1154, 768, 736, 596 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 12,03 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, NH); 7,96 – 7,89 (m, 2H, ArH); 7,88 – 7,81 (m, 2H, ArH); 7,60 – 7,52 (m, 1H, ArH); 7,40 – 7,32 (m, 1H, ArH); 7,13 – 7,04 (m, 2H, ArH); 5,61 (s, 1H, CH); 4,19 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, NH); 3,73 (q, *J* = 6,3 Hz, 2H, CH₂); 3,58 (q, *J* = 5,8 Hz, 2H, CH₂); 3,06 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 2,76 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,41 (s, 3H, SCH₃); 1,96 – 1,83 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 184,5; 170,0; 165,6; 163,6; 159,1; 149,4; 147,6; 136,7; 129,3; 129,2; 129,1; 128,5; 124,4; 122,5; 121,0; 118,3; 115,5; 115,3; 87,0; 48,3; 44,7; 34,3; 25,0; 23,2; 22,9; 14,5 ppm.

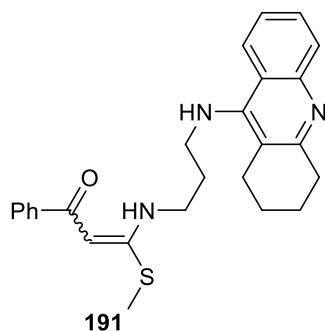
4.1.18.6. 3-(Metiltio)-3-((2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil)amino)-1-(4-(trifluorometil)fenil)prop-2-en-1-on (**190**)

**190**

Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **178** (0,354 g, 1,21 mmol), i diamina **181** (0,244 g, 1,01 mmol), nakon 26 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **190** (0,294 g, 60%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3358, 2935,

2863, 1562, 1479, 1279, 1126, 774, 737, 606 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 12,13 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H, NH); 7,96 – 7,88 (m, 4H, ArH); 7,70 – 7,65 (m, 2H, ArH); 7,60 – 7,52 (m, 1H, ArH); 7,39 – 7,33 (m, 1H, ArH); 5,64 (s, 1H, CH); 4,19 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, NH); 3,74 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,60 (q, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH₂); 3,06 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 2,76 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,42 (s, 3H, SCH₃); 1,97 – 1,82 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 184,1; 170,9; 159,1; 149,3; 147,6; 143,8; 132,4; 132,2; 129,1; 128,5; 127,3; 125,5; 125,4; 125,4; 125,2; 124,4; 123,0; 122,4; 121,0; 118,4; 87,4; 48,2; 44,8; 34,3; 25,0; 23,2; 22,9; 14,5 ppm.

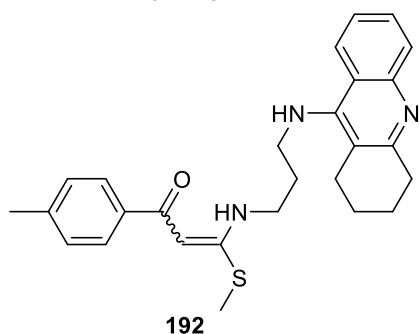
4.1.18.7. 3-(Metiltio)-1-fenil-3-((3-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)propil)amino)prop-2-en-1-on (**191**)

**191**

Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **173** (0,372 g, 1,66 mmol), i diamina **182** (0,352 g, 1,38 mmol), nakon 37 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **191** (0,494 g, 83%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3352, 2931, 2860, 1563, 1433, 1274, 762, 726, 642 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 11,98 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H, NH); 7,96 – 7,87 (m, 2H, ArH); 7,86 – 7,80 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,49 (m, 1H, ArH); 7,45 – 7,37 (m, 3H, ArH); 7,36 – 7,31 (m, 1H, ArH); 5,65 (s, 1H, CH); 4,04 (br. s, 1H, NH); 3,60 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH₂); 3,48 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,12 – 3,02 (m, 2H, CH₂); 2,78 – 2,68 (m, 2H, CH₂);

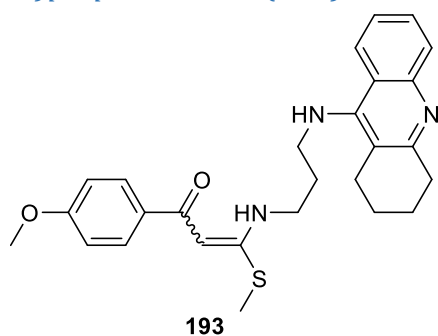
2,43 (s, 3H, SCH₃); 2,02 (p, *J*₁ = 6,9 *J*₂ = 6,8 Hz, 2H, CH₂); 1,96 – 1,83 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,6; 169,6; 158,7; 150,2; 147,4; 140,6; 130,7; 128,9; 128,4; 128,4; 127,0; 124,1; 122,5; 120,5; 116,9; 86,7; 46,4; 41,6; 34,1; 31,6; 25,0; 23,1; 22,8; 14,4 ppm.

4.1.18.8. 3-(Metiltio)-3-((3-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)propil)amino)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (192)



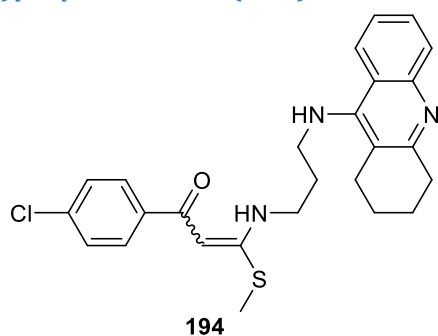
Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **174** (0,269 g, 1,13 mmol), i diamina **182** (0,240 g, 0,94 mmol), nakon 28 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **192** (0,256 g, 61%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3362, 2931, 2861, 1562, 1474, 1273, 760, 735, 597 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 11,95 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, NH); 7,95 – 7,84 (m, 2H, ArH); 7,80 – 7,69 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,49 (m, 1H, ArH); 7,37 – 7,30 (m, 1H, ArH); 7,24 – 7,16 (m, 2H, ArH); 5,64 (s, 1H, CH); 4,01 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H, NH); 3,59 (q, *J* = 6,6 Hz, 2H, CH₂); 3,48 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH₂); 3,08 – 3,02 (m, 2H, CH₂); 2,77 – 2,69 (m, 2H, CH₂); 2,43 (s, 3H, SCH₃); 2,38 (s, 3H, CH₃); 2,06 – 1,97 (m, 2H, CH₂); 1,95 – 1,84 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,5; 169,3; 158,8; 150,2; 147,6; 141,1; 137,8; 129,1; 129,0; 128,4; 127,0; 124,0; 122,5; 120,6; 116,9; 86,5; 46,4; 41,5; 34,2; 31,6; 25,1; 23,2; 22,9; 21,5; 14,4 ppm.

4.1.18.9. 1-(4-Metoksifenil)-3-(metiltio)-3-((3-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)propil)amino)prop-2-en-1-on (193)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **175** (0,163 g, 0,64 mmol), i diamina **182** (0,135 g, 0,53 mmol), nakon 48 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **193** (0,130 g, 53%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3360, 2933, 2861, 1562, 1474, 1252, 1169, 771, 734, 605 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 11,89 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, NH); 7,95 – 7,86 (m, 2H, ArH); 7,85 – 7,79 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,49 (m, 1H, ArH); 7,40 – 7,31 (m, 1H, ArH); 6,98 – 6,87 (m, 2H, ArH); 5,62 (s, 1H, CH); 4,02 (br. s, 1H, NH); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,65 – 3,57 (m, 2H, CH₂); 3,49 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 3,09 – 3,03 (m, 2H, CH₂); 2,81 – 2,70 (m, 2H, CH₂); 2,44 (s, 3H, SCH₃); 2,08 – 1,99 (m, 2H, preklapljen CH₂ i EtOAc); 1,96 – 1,86 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 184,9; 168,9; 161,9; 158,8; 150,2; 147,6; 133,2; 129,1; 128,8; 128,4; 124,1; 122,6; 120,6; 117,0; 113,6; 86,3; 55,5; 46,5; 41,6; 34,3; 31,7; 25,1; 23,2; 22,9; 14,5 ppm.

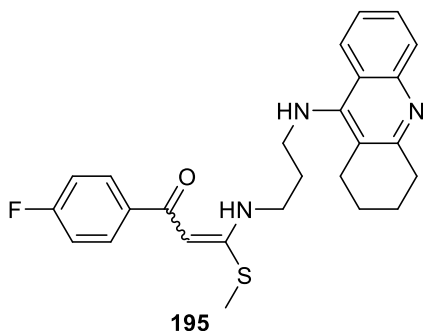
4.1.18.10. 1-(4-Hlorfenil)-3-(metiltio)-3-((3-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)propil)amino)prop-2-en-1-on (194)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **176** (0,212 g, 0,82 mmol), i diamina **182** (0,174 g, 0,68 mmol), nakon 48 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **194** (0,253 g, 80%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3365, 2935, 2862, 1562, 1471, 1285, 1091, 763, 702 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 11,96 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, NH); 7,94 – 7,87 (m, 2H, ArH); 7,80 – 7,73 (m, 2H, ArH); 7,56 – 7,50 (m, 1H, ArH); 7,42 – 7,30 (m, 3H, ArH); 5,58 (s, 1H, CH); 4,00 (br. s, 1H, NH); 3,66 – 3,55 (m, 2H, CH₂); 3,52 – 3,47 (m, 2H, preklapljen CH₂ i MeOH); 3,11 – 3,02 (m, 2H, CH₂); 2,82 – 2,68 (m, 2H, CH₂); 2,44 (s, 3H, SCH₃); 2,08 – 1,99 (m, 2H, CH₂); 1,94 – 1,86 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃):

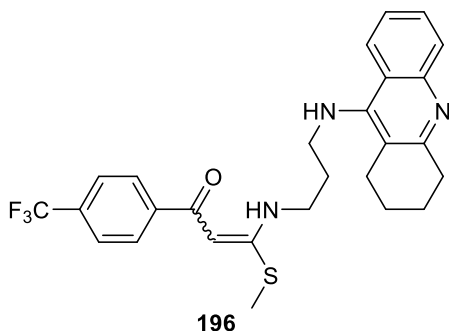
$\delta = 184,0; 170,1; 158,9; 150,2; 147,6; 139,0; 136,8; 129,0; 128,6; 128,4; 128,4; 124,1; 122,5; 120,6; 117,0; 86,4; 46,4; 41,7; 34,2; 31,6; 25,1; 23,2; 22,9; 14,4$ ppm.

4.1.18.11. 1-(4-Fluorfenil)-3-(metiltio)-3-((3-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)propil)amino)prop-2-en-1-on (195)



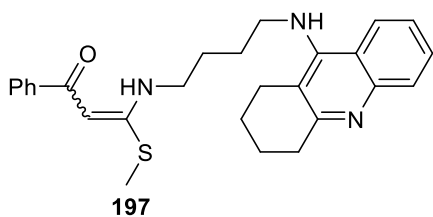
Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **177** (0,412 g, 1,70 mmol), i diamina **182** (0,363 g, 1,42 mmol), nakon 23 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **195** (0,485 g, 76%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3362, 2934, 2862, 1564, 1475, 1298, 1275, 1077, 767, 596 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 11,96 - 11,88$ (m, 1H, NH); 7,93 - 7,86 (m, 2H, ArH); 7,85 - 7,79 (m, 2H, ArH); 7,56 - 7,49 (m, 1H, ArH); 7,36 - 7,29 (m, 1H, ArH); 7,09 - 7,02 (m, 2H, ArH); 5,57 (s, 1H, CH); 3,99 (br. s, 1H, NH); 3,63 - 3,55 (m, 2H, CH₂); 3,51 - 3,44 (m, 2H, CH₂); 3,04 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 2,71 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH₂); 2,43 (s, 3H, SCH₃); 2,06 - 1,97 (m, 2H, preklopljen CH₂ i EtOAc); 1,93 - 1,84 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 184,1; 169,7; 16,4; 163,4; 158,8; 150,1; 147,6; 136,7; 136,7; 129,2; 129,1; 129,0; 128,4; 128,4; 124,0; 122,5; 120,6; 117,0; 115,3; 115,1; 46,3; 41,6; 34,2; 31,6; 25,1; 23,1; 22,9; 14,4$ ppm.

4.1.18.12. 3-(Metiltio)-3-((3-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)propil)amino)-1-(4-(trifluorometil)fenil)prop-2-en-1-on (196)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **178** (0,313 g, 1,07 mmol), i diamina **182** (0,227 g, 0,89 mmol), nakon 24 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **196** (0,276 g, 62%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3362, 2935, 2863, 1562, 1479, 1325, 1281, 1125, 1084, 774, 607 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 12,08 - 12,01$ (m, 1H, NH); 7,97 - 7,87 (m, 4H, ArH); 7,71 - 7,63 (m, 2H, ArH); 7,57 - 7,50 (m, 1H, ArH); 7,41 - 7,31 (m, 1H, ArH); 5,62 (s, 1H, CH), 3,99 (br. s, 1H, NH); 3,65 - 3,58 (m, 2H, CH₂); 3,51 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂); 3,10 - 3,03 (m, 2H, CH₂); 2,79 - 2,69 (m, 2H, CH₂); 2,46 (s, 3H, SCH₃); 2,10 - 2,01 (m, 2H, CH₂); 1,96 - 1,86 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 183,8; 170,6; 158,9; 150,1; 147,7; 143,9; 132,3; 132,1; 129,1; 128,5; 127,3; 125,4; 125,4; 124,1; 123,8; 123,0; 122,5; 120,7; 117,1; 86,8; 46,4; 41,8; 34,3; 31,6; 25,1; 23,2; 22,9; 14,5$ ppm.

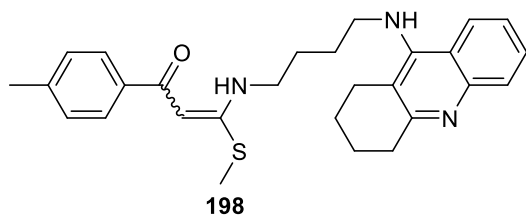
4.1.18.13. 3-(Metiltio)-1-fenil-3-((4-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)butil)amino)prop-2-en-1-on (197)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **173** (0,202 g, 0,90 mmol), i diamina **183** (0,202 g, 0,75 mmol), nakon 29 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **197** (0,244 g, 73%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3364, 2931, 2860, 1563, 1472, 1274, 763, 726, 642 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 11,96$ (t, *J* = 5,9 Hz, 1H, NH); 7,96 - 7,87 (m, 2H, ArH); 7,86 - 7,80 (m, 2H, ArH); 7,59 - 7,50 (m, 1H, ArH); 7,46 - 7,37 (m, 3H, ArH); 7,37 - 7,30 (m, 1H, ArH); 5,65 (s, 1H, CH); 3,94 (br. s, 1H, NH); 3,55 - 3,46 (m, 2H, CH₂); 3,45 - 3,37 (m, 2H, CH₂); 3,10 - 3,02 (m, 2H, CH₂); 2,82 - 2,68 (m, 2H, CH₂); 2,44 (s, 3H, SCH₃); 1,97 - 1,85 (m, 4H, CH₂); 1,84 - 1,74 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): $\delta =$

185,4; 169,6; 158,7; 150,5; 147,7; 140,7; 130,6; 129,0; 128,3; 128,3; 126,9; 123,8; 122,8; 120,5; 116,5; 86,4; 49,0; 43,7; 34,2; 29,1; 27,1; 25,0; 23,1; 22,9; 14,4 ppm.

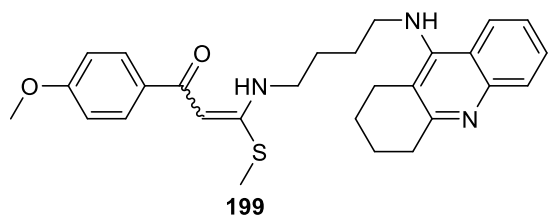
4.1.18.14. 3-(Metiltio)-3-((4-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)butil)amino)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (**198**)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **174** (0,303 g, 1,27 mmol), i diamina **183** (0,286 g, 1,06 mmol), nakon 46 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **198** (0,404 g, 83%); žuta, viskozna supstanca; **R_f** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3361, 2932, 2860, 1562, 1474, 1272, 761, 734, 598 cm⁻¹. **¹H NMR**

(400 MHz, CDCl₃): δ = 11,92 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, NH); 7,98 – 7,83 (m, 2H, ArH); 7,80 – 7,69 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,48 (m, 1H, ArH); 7,40 – 7,30 (m, 1H, ArH); 7,23 – 7,15 (m, 2H, ArH); 5,63 (s, 1H, CH); 3,94 (br. s, 1H, NH); 3,54 – 3,46 (m, 2H, CH₂); 3,44 – 3,36 (m, 2H, CH₂); 3,11 – 2,98 (m, 2H, CH₂); 2,77 – 2,67 (m, 2H, CH₂); 2,43 (s, 3H, SCH₃); 2,37 (s, 3H, CH₃); 1,96 – 1,85 (m, 4H, CH₂); 1,83 – 1,72 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,3; 169,3; 158,7; 150,5; 147,6; 141,0; 137,9; 129,0; 128,9; 128,3; 127,0; 123,8; 122,8; 120,5; 116,5; 86,2; 49,0; 43,6; 34,2; 29,1; 27,1; 25,0; 23,1; 22,9; 21,5; 14,3 ppm.

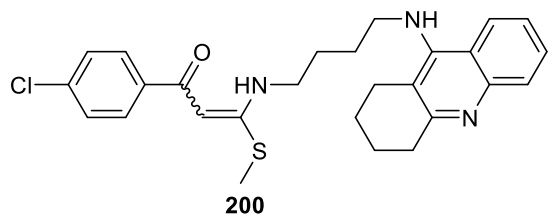
4.1.18.15. 1-(4-Metoksifenil)-3-(metiltio)-3-((4-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)butil)amino)prop-2-en-1-on (**199**)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **175** (0,188 g, 0,74 mmol), i diamina **183** (0,167 g, 0,62 mmol), nakon 46 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **199** (0,212 g, 72%); žuta, viskozna supstanca; **R_f** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3367, 2933, 2860, 1563, 1474, 1252, 1169,

770, 735, 605 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 11,87 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H, NH); 7,98 – 7,86 (m, 2H, ArH); 7,86 – 7,78 (m, 2H, ArH); 7,60 – 7,49 (m, 1H, ArH); 7,41 – 7,30 (m, 1H, ArH); 6,97 – 6,86 (m, 2H, ArH); 5,61 (s, 1H, CH); 3,94 (br. s, 1H, NH); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,56 – 3,47 (m, 2H, CH₂); 3,45 – 3,36 (m, 2H, CH₂); 3,12 – 2,99 (m, 2H, CH₂); 2,76 – 2,67 (m, 2H, CH₂); 2,44 (s, 3H, SCH₃); 1,95 – 1,85 (m, 4H, CH₂); 1,84 – 1,72 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 184,7; 169,0; 161,8; 158,7; 150,6; 147,7; 133,2; 129,0; 128,8; 128,4; 123,9; 122,8; 120,5; 116,5; 113,6; 85,9; 55,5; 49,1; 43,6; 34,2; 29,2; 27,2; 25,0; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

4.1.18.16. 1-(4-Hlorfenil)-3-(metiltio)-3-((4-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)butil)amino)prop-2-en-1-on (**200**)

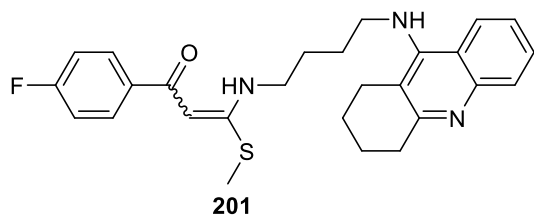


Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **176** (0,212 g, 0,82 mmol), i diamina **183** (0,183 g, 0,68 mmol), nakon 26 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **200** (0,189 g, 58%); žuta, viskozna supstanca; **R_f** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3368, 2934, 2861, 1562, 1471, 1271, 1091,

762, 735, 601 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 11,95 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H, NH); 7,95 – 7,85 (m, 2H, ArH); 7,81 – 7,74 (m, 2H, ArH); 7,58 – 7,50 (m, 1H, ArH); 7,40 – 7,30 (m, 3H, ArH); 5,59 (s, 1H, CH); 3,93 (br. s, 1H, NH); 3,54 – 3,47 (m, 2H, CH₂); 3,45 – 3,37 (m, 2H, CH₂); 3,09 – 3,04 (m, 2H, CH₂); 2,80 – 2,66 (m, 2H, CH₂); 2,45 (s, 3H, SCH₃); 1,95 – 1,85 (m, 4H, CH₂); 1,84 – 1,76 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 183,9; 170,1; 158,8; 150,5; 147,7; 139,1; 136,7;

129,0; 128,6; 128,5; 128,4; 123,9; 122,8; 120,5; 116,6; 86,2; 49,0; 43,8; 34,3; 29,2; 27,1; 25,0; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

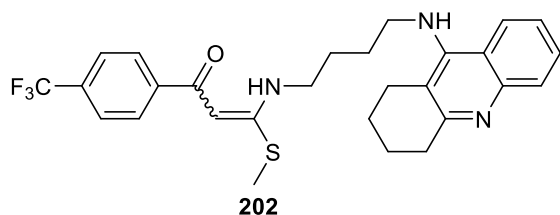
4.1.18.17. 1-(4-Fluorfenil)-3-(metiltio)-3-((4-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)butil)amino)prop-2-en-1-on (**201**)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **177** (0,274 g, 1,13 mmol), i diamina **183** (0,253 g, 0,94 mmol), nakon 26 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **201** (0,261 g, 60%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3362, 2934, 2861, 1565, 1476, 1273, 1153, 767, 735, 596 cm⁻¹. **¹H**

NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 11,90 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H, NH); 7,95 – 7,87 (m, 2H, ArH); 7,86 – 7,79 (m, 2H, ArH); 7,58 – 7,48 (m, 1H, ArH); 7,34 – 7,29 (m, 1H, ArH); 7,10 – 6,99 (m, 2H, ArH); 5,57 (s, 1H, CH); 3,93 (br. s, 1H, NH); 3,55 – 3,45 (m, 2H, CH₂); 3,44 – 3,37 (m, 2H, CH₂); 3,12 – 2,98 (m, 2H, CH₂); 2,74 – 2,62 (m, 2H, CH₂); 2,43 (s, 3H, SCH₃); 1,94 – 1,85 (m, 4H, CH₂); 1,83 – 1,73 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 184,0; 171,2; 169,8; 165,4; 163,4; 158,7; 150,5; 147,6; 136,8; 136,8; 129,1; 129,1; 129,0; 128,3; 123,8; 122,8; 120,5; 116,5; 115,3; 115,1; 86,1; 49,0; 43,7; 34,2; 29,1; 27,1; 25,0; 23,1; 22,9; 14,3 ppm.

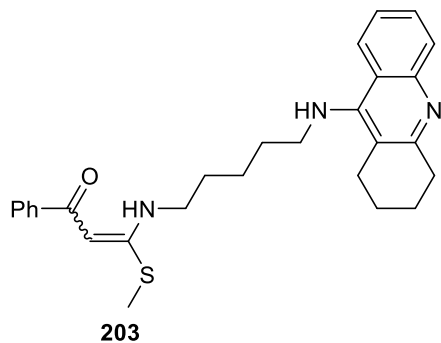
4.1.18.18. 3-(Metiltio)-3-((4-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)butil)amino)-1(4(trifluorometil)fenil)prop-2-en-1-on (**202**)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **178** (0,158 g, 0,54 mmol), i diamina **183** (0,121 g, 0,45 mmol), nakon 21 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **202** (0,127 g, 55%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3363, 2935, 2862, 1562, 1479, 1325, 1277,

1125, 774, 737, 607 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 12,02 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, NH); 7,97 – 7,87 (m, 4H, ArH); 7,73 – 7,62 (m, 2H, ArH); 7,58 – 7,51 (m, 1H, ArH); 7,38 – 7,31 (m, 1H, ArH); 5,62 (s, 1H, CH); 3,94 (br. s, 1H, NH); 3,56 – 3,49 (m, 2H, CH₂); 3,46 – 3,40 (m, 2H, CH₂); 3,09 – 3,03 (m, 2H, CH₂); 2,77 – 2,69 (m, 2H, CH₂); 2,46 (s, 3H, SCH₃); 1,96 – 1,86 (m, 4H, CH₂); 1,86 – 1,77 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 183,7; 170,7; 158,8; 150,5; 147,7; 144,0; 132,0; 129,1; 128,4; 127,3; 125,4; 125,4; 123,9; 123,1; 122,8; 120,6; 116,7; 86,6; 49,0; 43,9; 34,3; 29,2; 27,1; 25,1; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

4.1.18.19. 3-(Metiltio)-1-fenil-3-((5-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)pentil)amino)prop-2-en-1-on (**203**)

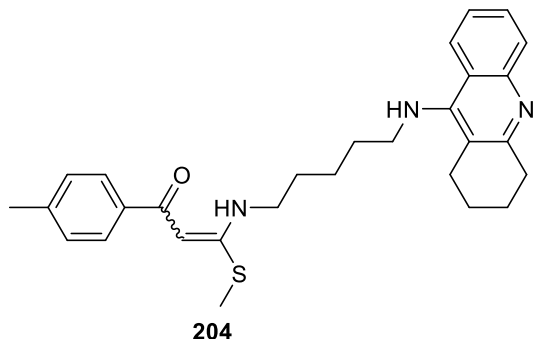


Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **173** (0,247 g, 1,10 mmol), i diamina **184** (0,261 g, 0,92 mmol), nakon 20 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **203** (0,233 g, 55%); žuta, viskozna supstanca; **Rf** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3369, 2933, 2860, 1563, 1472, 1275, 763, 726, 643 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 11,92 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, NH); 7,98 – 7,92 (m, 1H, ArH); 7,90 – 7,87 (m, 1H, ArH); 7,85 – 7,81 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,50 (m, 1H, ArH); 7,44 – 7,37 (m, 3H, ArH); 7,35 – 7,30 (m, 1H, ArH); 5,64 (s, 1H, CH); 3,96 (br.

s, 1H, NH); 3,49 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂); 3,38 (q, *J* = 6,4 Hz, 2H, CH₂); 3,09 – 3,00 (m, 2H, CH₂); 2,85 – 2,66 (m, 2H, CH₂); 2,45 (s, 3H, SCH₃); 1,95 – 1,84 (m, 4H, CH₂); 1,71 (h, *J*₁ = 7,1; *J*₂ = 7,1; *J*₃

= 6,9 Hz, 4H, CH₂); 1,59 – 1,48 (m, 2H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,3; 169,7; 158,7; 150,7; 147,6; 140,7; 130,6; 128,9; 128,4; 128,3; 126,9; 123,8; 122,9; 120,4; 116,3; 86,3; 49,3; 43,9; 34,2; 31,4; 29,3, 25,0; 24,4; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

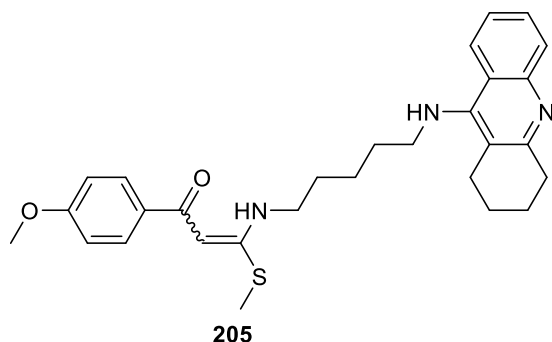
4.1.18.20. 3-(Metiltio)-3-((5-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)pentil)amino)-1-(p-tolil) prop-2-en-1-on (204)



Primenom opšte procedure N, polazeći od ketenditioacetala **174** (0,202 g, 0,85 mmol), i diamina **184** (0,201 g, 0,71 mmol), nakon 42 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **204** (0,252 g, 75%); žuta, viskozna supstanca; *R_f* = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). IR (ATR): 3366, 2930, 2858, 1563, 1475, 1273, 761, 707, cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 11,88 (t, *J* = 4,6 Hz, 1H, NH); 7,97 – 7,91 (m, 1H, ArH); 7,92 – 7,85 (m, 1H, ArH); 7,77 – 7,70 (m, 2H, ArH); 7,58 – 7,47 (m, 1H, ArH); 7,38 –

7,29 (m, 1H, ArH); 7,23 – 7,16 (m, 2H, ArH); 5,63 (s, 1H, CH); 3,96 (br. s, 1H, NH); 3,48 (m, 2H, CH₂); 3,37 (q, *J* = 6,4 Hz, 2H, CH₂); 3,10 – 2,99 (m, 2H, CH₂); 2,83 – 2,65 (m, 2H, CH₂); 2,44 (s, 3H, SCH₃); 2,37 (s, 3H, CH₃); 1,90 (m, 4H, CH₂); 1,71 (m, 4H, CH₂); 1,59 – 1,47 (m, 2H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ = 185,3; 169,3; 158,7; 150,7; 147,6; 140,9; 138,0; 129,0; 128,9; 128,3; 127,0; 123,8; 122,9; 120,4; 116,3; 86,1; 49,3; 43,8; 34,2; 31,4; 29,4; 25,0; 24,4; 23,2; 22,9; 21,5; 14,4 ppm.

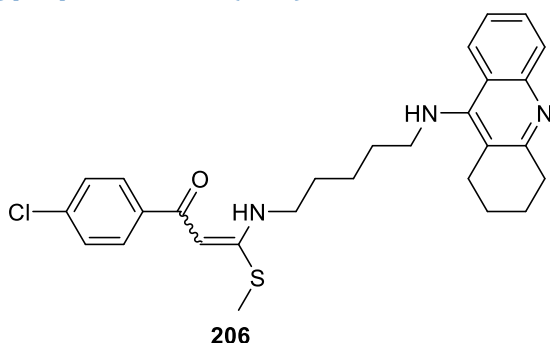
4.1.18.21. 1-(4-Metoksifenil)-3-(metiltio)-3-((5-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)pentil)amino)prop-2-en-1-on (205)



Primenom opšte procedure N, polazeći od ketenditioacetala **175** (0,193 g, 0,76 mmol), i diamina **184** (0,179 g, 0,63 mmol), nakon 42 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **205** (0,213 g, 69%); žuta, viskozna supstanca; *R_f* = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). IR (ATR): 3362, 2931, 2858, 1563, 1474, 1251, 1251, 1169, 771, 709, 605 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 11,82 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H, NH); 7,97 – 7,90 (m, 1H, ArH); 7,92 – 7,85 (m, 1H, ArH); 7,85 – 7,78 (m, 2H, ArH); 7,58 – 7,48 (m, 1H, ArH); 7,37 – 7,28 (m, 1H, ArH); 6,96 – 6,86 (m, 2H, ArH); 5,60 (s, 1H, CH); 3,96 (br. s, 1H, NH); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,49 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, CH₂); 3,37 (q, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 3,08 – 3,00 (m, 2H, CH₂); 2,75 – 2,63 (m, 2H, CH₂); 2,45 (s, 3H, SCH₃); 1,93 – 1,86 (m, 4H, CH₂); 1,77 – 1,65 (m, 4H, CH₂); 1,59 – 1,47 (m, 2H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ =

184,7; 169,0; 161,7; 158,7; 150,7; 147,7; 133,3; 128,9; 128,8; 128,3; 123,8; 122,9; 120,5; 116,3; 113,6; 85,8; 55,5; 49,3; 43,8; 34,3; 31,5; 29,4; 25,0; 24,4; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

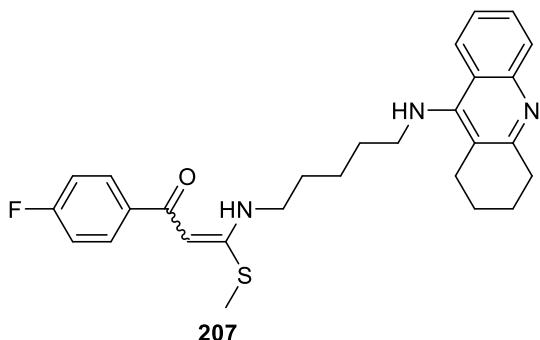
4.1.18.22. 1-(4-Hlorfenil)-3-(metiltio)-3-((5-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)pentil)amino)prop-2-en-1-on (206)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **176** (0,329 g, 1,27 mmol), i diamina **184** (0,300 g, 1,06 mmol), nakon 47 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **206** (0,304 g, 58%); žuta, viskozna supstanca; **R_f** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3364, 2934, 2860, 1563, 1472, 1286, 1091, 1012, 763 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 11,90 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H, NH); 7,93 (m, 1H, ArH); 7,89 (m, 1H, ArH); 7,79 – 7,73 (m, 2H, ArH); 7,53 (m, 1H, ArH);

7,39 – 7,29 (m, 3H, ArH); 5,58 (s, 1H, CH); 3,94 (br. s, 1H, NH); 3,48 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂); 3,38 (q, *J* = 6,6 Hz, 2H, CH₂); 3,09 – 3,02 (m, 2H, CH₂); 2,76 – 2,66 (m, 2H, CH₂); 2,45 (s, 3H, SCH₃); 1,95 – 1,84 (m, 4H, CH₂); 1,76 – 1,66 (m, 4H, CH₂); 1,58 – 1,49 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 183,8; 170,1; 158,7; 150,6; 147,7; 139,1; 136,6; 129,0; 128,5; 128,4; 128,3; 123,8; 122,8; 120,5; 116,4; 86,1; 49,3; 43,9; 34,3; 31,4; 29,3; 25,0; 24,4; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

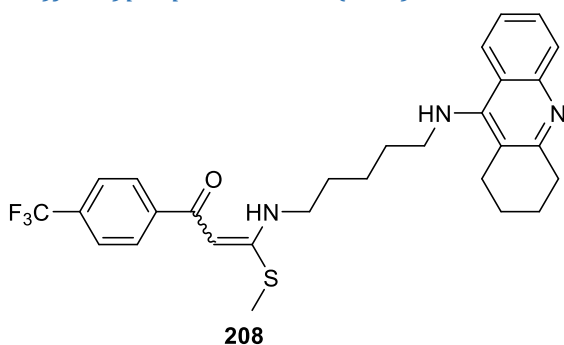
4.1.18.23. 1-(4-Fluorfenil)-3-(metiltio)-3-((5-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)pentil)amino)prop-2-en-1-on (207)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **177** (0,308 g, 1,27 mmol), i diamina **184** (0,300 g, 1,06 mmol), nakon 22 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **207** (0,278 g, 55%); žuta, viskozna supstanca; **R_f** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3364, 2933, 2859, 1565, 1475, 1274, 1226, 1154, 767, 736, 596 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 11,87 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H, NH); 7,96 – 7,91 (m, 1H, ArH); 7,92 – 7,86 (m, 1H, ArH); 7,86 – 7,81 (m, 2H, ArH);

7,57 – 7,50 (m, 1H, ArH); 7,36 – 7,29 (m, 1H, ArH); 7,10 – 7,03 (m, 2H, ArH); 5,57 (s, 1H, CH); 3,96 (br. s, 1H, NH); 3,49 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂); 3,38 (q, *J* = 6,6 Hz, 2H, CH₂); 3,08 – 3,02 (m, 2H, CH₂); 2,74 – 2,68 (m, 2H, CH₂); 2,45 (s, 3H, SCH₃); 1,95 – 1,84 (m, 4H, CH₂); 1,77 – 1,66 (m, 4H, CH₂); 1,59 – 1,48 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 184,0; 169,8; 165,4; 163,4; 158,7; 150,7; 147,7; 136,9; 129,2; 129,1; 129,0; 128,3; 123,8; 122,9; 120,5; 116,4; 115,3; 115,1; 86,0; 49,3; 43,9; 34,3; 31,5; 29,4; 25,0; 24,4; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

4.1.18.24. 3-(Metiltio)-3-((5-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)pentil)amino)-1(4(trifluormetil)fenil)prop-2-en-1-on (208)



Primenom opšte procedure **N**, polazeći od ketenditioacetala **178** (313 g, 1,07 mmol), i diamina **184** (0,252 g, 0,89 mmol), nakon 28 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **208** (0,305 g, 65%); žuta, viskozna supstanca; **R_f** = 0,72 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 2 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3370, 2934, 2861, 1562, 1479, 1325, 1279, 1125, 774, 737, 607 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 11,97 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H, NH); 7,96 – 7,86 (m, 4H, ArH); 7,67 – 7,57 (m, 2H, ArH); 7,56 – 7,48

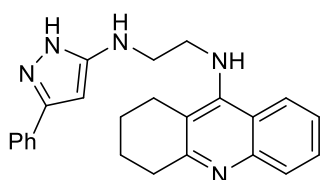
(m, 1H, ArH); 7,36 – 7,28 (m, 1H, ArH); 5,60 (s, 1H, CH); 3,94 (br. s, 1H, NH); 3,48 (t, *J* = 7,3 Hz,

2H, CH₂); 3,43 – 3,33 (m, 2H, CH₂); 3,07 – 2,97 (m, 2H, CH₂); 2,74 – 2,65 (m, 2H, CH₂); 2,45 (s, 3H, OCH₃); 1,96 – 1,83 (m, 4H, CH₂); 1,78 – 1,66 (m, 4H, CH₂); 1,61 – 1,48 (m, 2H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ = 183,5; 170,6; 158,7; 150,6; 147,7; 144,0; 132,2; 131,9; 129,0; 128,3; 127,2; 125,3; 125,3; 125,3; 123,8; 123,0; 122,8; 120,5; 116,4; 86,4; 49,3; 44,0; 34,2; 31,4; 29,2; 25,0; 24,4; 23,2; 22,9; 14,4 ppm.

4.1.19. Opšta procedura O

U jednogrlom balonu od 15 ml sa refluks kondenzatorom i kalcijum-hloridnom cevi, pomeša se rastvor *N,S*-acetala (**185-208**) (1,0 ekv.) u EtOH (7 ml) i N₂H₄·H₂O (2,0 ekv.). Reakciona smeša se meša na temperaturi refluksovanja i reakcija se prati pomoću TLC na SiO₂ pločicama; kao eluent je korišćena smeša rastvarača CH₂Cl₂ i MeOH u odnosu 95:5 uz dodatak 6 kapi rastvora amonijaka u metanolu (4 M). Nakon 21-96 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; početni eluent bio je čist CH₂Cl₂, zatim je postepeno dodavan MeOH do čistog MeOH).

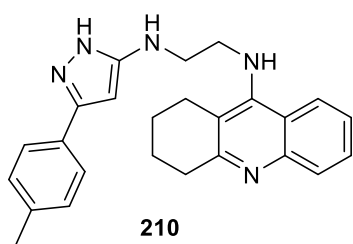
4.1.19.1. *N*¹-(3-Fenil-1*H*-pirazol-5-il)-*N*²-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)etan-1,2-diamin (**209**)



209

Primenom opšte procedure O, polazeći od *N,S*-acetala **185** (0,296 g, 0,71 mmol), nakon 62 h refluksovanja dobijeno je jedinjenje **209** (0,170 g, 62%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). IR (ATR): 3203, 2931, 2858, 1563, 1499, 1296, 757, 693, 618 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,94 – 7,83 (m, 2H, ArH); 7,59 – 7,49 (m, 2H, ArH); 7,48 – 7,41 (m, 1H, ArH); 7,32 – 7,18 (m, 4H, ArH); 5,83 (br. s, 1H, CH); 4,58 (s, 1H, NH); 4,18 (br. s, 1H, delimično preklopljen NH i EtOAc); 3,65 – 3,52 (m, 2H, CH₂); 3,42 – 3,28 (m, 2H, CH₂); 2,98 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 2,58 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 1,87 – 1,64 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,8; 157,1; 150,7; 147,4; 145,4; 130,3; 128,9; 128,6; 128,4; 128,3; 125,5; 123,8; 122,8; 120,5; 116,9; 88,6; 49,0; 46,0; 33,9; 24,9; 23,0; 22,8 ppm. HRMS (HESI-OT): izračunato za C₂₄H₂₅N₅ [M+H]⁺ 284,21827; nađeno 384,21740.

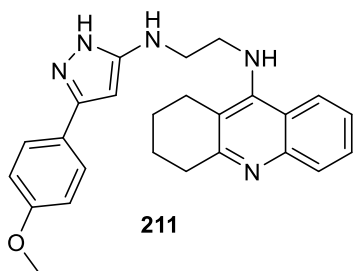
4.1.19.2. *N*¹-(1,2,3,4-Tetrahidroakridin-9-il)-*N*²-(3-(*p*-tolil)-1*H*-pirazol-5-il)etan-1,2-diamin (**210**)



210

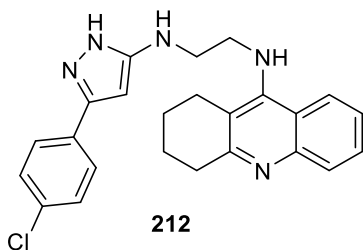
Primenom opšte procedure O, polazeći od *N,S*-acetala **186** (0,302 g, 0,70 mmol), nakon 45 h refluksovanja dobijeno je jedinjenje **210** (0,200 g, 72%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). IR (ATR): 3219, 2935, 2861, 1564, 1501, 1297, 761, 702, 621 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8,17 – 8,06 (m, 1H, ArH); 7,75 – 7,63 (m, 1H, ArH); 7,56 – 7,45 (m, 3H, ArH); 7,35 – 7,23 (m, 1H, ArH); 7,20 – 7,12 (m, 2H, ArH); 5,79 (s, 1H, CH); 5,55 – 5,49 (m, 1H, NH); 5,48 – 5,41 (m, 1H, NH); 3,65 – 3,55 (m, 2H, preklopljen CH₂ i H₂O); 3,32 – 3,23 (m, 2H, preklopljen CH₂ i H₂O); 2,91 – 2,82 (m, 2H, CH₂); 2,76 – 2,61 (m, 2H, CH₂); 2,27 (s, 3H, CH₃); 1,85 – 1,68 (m, 4H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 157,7; 156,2; 150,6; 146,8; 143,9; 136,8; 129,3; 128,1; 128,0; 124,7; 123,3; 123,3; 120,1; 115,8; 86,8; 48,4; 44,8; 33,5; 24,9; 22,8; 22,4; 20,8 ppm. HRMS (HESI-OT): izračunato za C₂₅H₂₇N₅ [M+H]⁺ 398,23392; nađeno 398,23332.

4.1.19.3. *N*¹-(3-(4-Metoksifenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*²-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)etan-1,2-diamin (**211**)



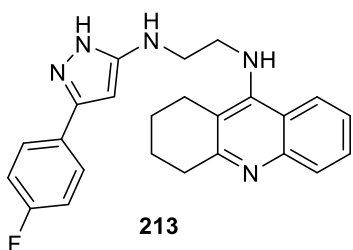
Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **187** (0,129 g, 0,29 mmol), nakon 94 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **211** 0,044 g (37%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3224, 2926, 2853, 1563, 1502, 1296, 1251, 1180, 835, 762, 680, 606 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,95 – 7,81 (m, 2H, ArH); 7,48 – 7,41 (m, 3H, ArH); 7,25 – 7,17 (m, 1H, ArH); 6,90 – 6,75 (m, 2H, ArH); 5,73 (s, 1H, CH); 4,69 (br. s, 1H, NH); 4,22 (br. s, 1H, NH); 3,73 (s, 3H, OCH₃); 3,65 – 3,52 (m, 2H, CH₂); 3,41 – 3,32 (m, 2H, CH₂); 2,97 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 2,61 – 2,53 (m, 2H, CH₂); 1,82 – 1,66 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 159,7; 158,5; 157,1; 150,9; 147,1; 145,5; 128,5; 128,3; 126,8; 123,8; 123,1; 122,9; 120,4; 116,7; 114,3; 88,0; 55,4; 49,1; 45,9; 33,8; 24,9; 23,0; 22,7 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₅H₂₇N₅O [M+H]⁺ 414,22884; nađeno 414,22809.

4.1.19.4. *N*¹-(3-(4-Hlorfenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*²-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)etan-1,2-diamin (**212**)



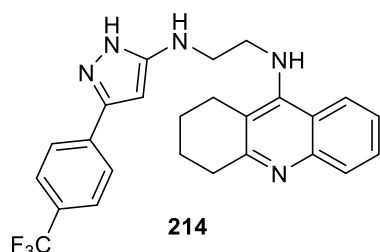
Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **188** (0,185 g, 0,41 mmol), nakon 64 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **212** (0,124 g, 72%); svetlo žuta, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3230, 2935, 2860, 1564, 1503, 1297, 1265, 1169, 1093, 834, 761, 738 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8,19 – 8,14 (m, 1H, ArH); 7,76 – 7,70 (m, 1H, ArH); 7,70 – 7,64 (m, 2H, ArH); 7,60 – 7,52 (m, 1H, ArH); 7,47 – 7,41 (m, 2H, ArH); 7,38 – 7,31 (m, 1H, ArH); 5,85 (s, 1H, CH); 5,72 (br. s, 1H, NH); 5,57 (br. s, 1H, NH); 3,72 – 3,60 (m, 2H, preklopljen CH₂ i H₂O); 3,34 – 3,25 (m, 2H, preklopljen CH₂ i H₂O); 2,94 – 2,86 (m, 2H, CH₂); 2,75 – 2,68 (m, 2H, CH₂); 1,86 – 1,74 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 156,9; 155,3; 151,1; 145,7; 143,9; 131,8; 130,4; 128,6; 128,5; 127,0; 126,5; 123,5; 123,4; 119,5; 115,3; 86,6; 48,2; 44,8; 32,8; 24,7; 22,6; 22,1 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₄H₂₄ClN₅ [M+H]⁺ 418,17930; nađeno 418,17908.

4.1.19.5. *N*¹-(3-(4-Fluorfenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*²-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)etan-1,2-diamin (**213**)



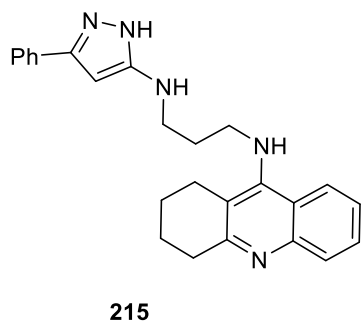
Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **189** (0,181 g, 0,42 mmol), nakon 27 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **213** (0,100 g, 60%); svetlo žuta, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3135, 2929, 2858, 1562, 1499, 1296, 1222, 1157, 954, 838, 757, 678, 597 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,93 – 7,85 (m, 1H, ArH); 7,86 – 7,79 (m, 1H, ArH); 7,56 – 7,46 (m, 2H, ArH); 7,46 – 7,37 (m, 1H, ArH); 7,24 – 7,15 (m, 1H, ArH); 7,02 – 6,91 (m, 2H, ArH); 5,74 (s, 1H, CH); 4,93 (br. s, 1H, NH); 4,46 (br. s, 1H, NH); 3,70 – 3,57 (m, 2H, CH₂); 3,44 – 3,31 (m, 2H, CH₂); 3,04 – 2,80 (m, 2H, CH₂); 2,59 – 2,45 (m, 2H, CH₂); 1,83 – 1,56 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 163,9; 161,4; 157,7; 156,5; 151,3; 146,2; 145,3; 128,8; 127,3; 127,2; 127,0; 124,0; 123,0; 119,9; 116,2; 116,0; 115,8; 88,1; 49,1; 45,8; 33,1; 24,8; 22,9; 22,5 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₄H₂₄FN₅ [M+H]⁺ 402,20885; nađeno 402,20830.

4.1.19.6. *N*¹-(1,2,3,4-Tetrahidroakridin-9-il)-*N*²-(3-(4-(trifluormetil)fenil)-1*H*-pirazol-5-il)etan-1,2-diamin (**214**)



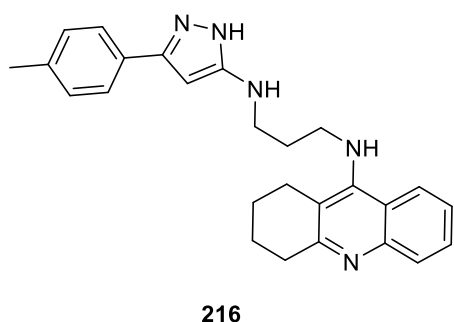
Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **190** (0,267 g, 0,55 mmol), nakon 66 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **214** (0,180 g, 72%); svetlo žuta, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3148, 2941, 2865, 1564, 1502, 1326, 1166, 1123, 848, 763, 739 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,92 – 7,78 (m, 2H, ArH); 7,72 – 7,60 (m, 2H, ArH); 7,60 – 7,48 (m, 2H, ArH); 7,46 – 7,38 (m, 1H, ArH); 7,24 – 7,15 (m, 1H, ArH); 5,87 (s, 1H, CH); 4,70 (br. s, 1H, NH); 4,46 (br. s, 1H, NH); 3,73 – 3,59 (m, 2H, CH₂); 3,44 – 3,34 (m, 2H, CH₂); 2,95 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,57 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 1,83 – 1,64 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,3; 156,2; 151,0; 146,9; 145,1; 134,3; 130,4; 130,1; 129,7; 129,4; 128,7; 128,2; 127,9; 125,9; 125,9; 125,8; 125,8; 125,6; 125,5; 124,0; 122,9; 122,8; 120,2; 120,1; 116,6; 88,5; 48,9; 46,1; 33,5; 24,9; 22,9; 22,6 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₅H₂₄F₃N₅ [M+H]⁺ 452,20566; nađeno 452,20484.

4.1.19.7. *N*¹-(3-Fenil-1*H*-pirazol-5-il)-*N*³-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)propan-1,3-diamin (**215**)

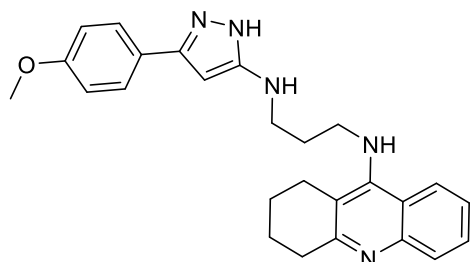


Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **191** (0,242 g, 0,56 mmol), nakon 22 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **215** (0,150 g, 68%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3057, 2932, 2860, 1562, 1499, 1421, 1134, 953, 756, 694 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,95 – 7,80 (m, 2H, ArH); 7,59 – 7,51 (m, 2H, ArH); 7,47 – 7,39 (m, 1H, ArH); 7,33 – 7,25 (m, 2H, ArH); 7,26 – 7,16 (m, 2H, ArH); 5,80 (s, 1H, CH); 4,61 (br. s, 1H, NH); 4,12 (br. s, 1H, NH); 3,58 – 3,47 (m, 2H, CH₂); 3,27 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, CH₂); 3,07 – 2,92 (m, 2H, CH₂); 2,66 – 2,50 (m, 2H, CH₂); 1,91 – 1,79 (m, 2H, CH₂); 1,80 – 1,69 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,2; 156,9; 150,9; 147,0; 145,8; 130,7; 128,9; 128,5; 128,2; 128,1; 125,5; 123,7; 122,9; 120,1; 116,0; 88,1; 47,1; 43,1; 33,7; 31,6; 25,0; 23,0; 22,7 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₅H₂₇N₅ [M+H]⁺ 398,23392; nađeno 398,23313.

4.1.19.8. *N*¹-(1,2,3,4-Tetrahidroakridin-9-il)-*N*³-(3-(*p*-tolil)-1*H*-pirazol-5-il)propan-1,3-diamin (**216**)

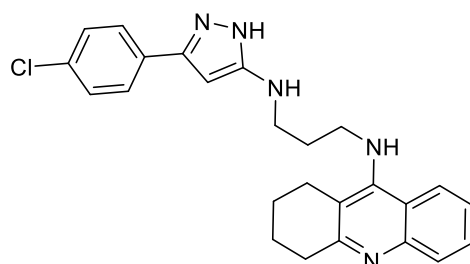


Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **192** (0,227 g, 0,51 mmol), nakon 96 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **216** (0,120 g, 57%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3059, 2928, 2857, 1580, 1502, 1423, 1113, 823, 761, 680 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,94 – 7,83 (m, 2H, ArH); 7,49 – 7,38 (m, 3H, ArH); 7,25 – 7,16 (m, 1H, ArH); 7,14 – 7,07 (m, 2H, ArH); 5,78 (s, 1H, CH); 4,68 (br. s, 1H, NH); 4,07 (br. s, 1H, NH); 3,61 – 3,48 (m, 2H, CH₂); 3,29 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, CH₂); 2,98 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H); 2,57 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 2,30 (s, 3H, CH₃); 1,86 (p, *J*₁ = 6,6; *J*₂ = 6,5 Hz, 2H, CH₂); 1,82 – 1,70 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,1; 157,1; 151,0; 146,9; 145,7; 138,2; 129,6; 128,5; 128,1; 127,7; 125,4; 123,7; 122,9; 120,1; 115,9; 88,0; 47,1; 43,1; 33,6; 31,7; 25,0; 23,0; 22,7; 21,3 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₆H₂₉N₅ [M+H]⁺ 412,24957; nađeno 412,24891.

4.1.19.9. *N*¹-(3-(4-Metoksifenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*³-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)propan-1,3-diamin (**217**)

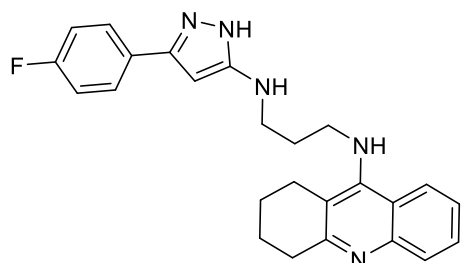
217

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **193** (0,115 g, 0,25 mmol), nakon 70 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **217** (0,060 g, 59%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3219, 2935, 2861, 1578, 1503, 1422, 1251, 1180, 836, 762, 737 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8,19 – 8,13 (m, 1H, ArH); 7,76 – 7,65 (m, 1H, ArH); 7,59 – 7,53 (m, 2H, ArH); 7,53 – 7,48 (m, 1H, ArH); 7,37 – 7,28 (m, 1H, ArH); 6,98 – 6,88 (m, 2H, ArH); 5,67 (s, 1H, CH); 5,61 (br. s, 1H, NH); 5,23 (br. s, 1H, NH); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,57 – 3,48 (m, 2H, CH₂); 3,14 – 3,05 (m, 2H, CH₂); 2,89 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,71 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH₂); 1,91 – 1,70 (m, 6H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 158,7; 157,8; 155,9; 150,3; 146,8; 144,0; 128,1; 127,9; 126,1; 123,2; 123,1; 120,1; 115,6; 114,1; 86,0; 55,1; 45,8; 41,8; 33,4; 30,8; 25,2; 22,8; 22,4 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₆H₂₉N₅O [M+H]⁺ 428,24449; nađeno 428,24370.

4.1.19.10. *N*¹-(3-(4-Hlorfenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*³-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)propan-1,3-diamin (**218**)

218

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **194** (0,233 g, 0,50 mmol), nakon 70 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **218** (0,124 g, 58%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3053, 2937, 2862, 1564, 1503, 1423, 1094, 1013, 834, 761, 738 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8,22 – 8,07 (m, 1H, ArH); 7,74 – 7,69 (m, 1H, ArH); 7,68 – 7,64 (m, 2H, ArH); 7,55 – 7,47 (m, 1H, ArH); 7,47 – 7,40 (m, 2H, ArH); 7,36 – 7,23 (m, 1H, ArH); 5,75 (s, 1H, CH); 5,57 (br. s, 1H, NH); 5,40 (br. s, 1H, NH); 3,61 – 3,45 (m, 2H, CH₂); 3,14 – 3,05 (m, 2H, CH₂); 2,89 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, CH₂); 2,71 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 1,88 – 1,70 (m, 6H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 157,8; 150,3; 146,8; 131,6; 130,8; 128,6; 128,2; 127,9; 126,4; 123,2; 123,1; 120,2; 115,7; 85,9; 45,8; 41,9; 33,5; 30,6; 25,1; 22,8; 22,4 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₅H₂₆ClN₅ [M+H]⁺ 432,19495; nađeno 432,19463.

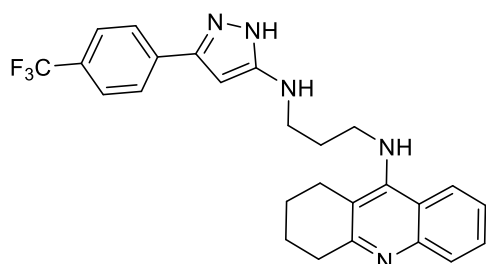
4.1.19.11. *N*¹-(3-(4-Fluorfenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*³-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)propan-1,3-diamin (**219**)

219

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **195** (0,436 g, 0,97 mmol), nakon 94 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **219** (0,235 g, 58%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3139, 2931, 2858, 1561, 1500, 1421, 1221, 1157, 838, 758, 679 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,92 – 7,80 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,48 (m, 2H, ArH); 7,46 – 7,38 (m, 1H, ArH); 7,23 – 7,15 (m, 1H, ArH); 7,03 – 6,90 (m, 2H, ArH); 5,73 (s, 1H, CH); 4,61 (br. s, 1H, NH); 4,21 (br. s, 1H, NH); 3,59 – 3,48 (m, 2H, CH₂); 3,27 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, CH₂); 2,96 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,55 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂); 1,92 – 1,80 (m, 2H, CH₂); 1,80 – 1,67 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 163,8; 161,4; 158,2; 151,0; 146,9; 145,5; 128,6; 128,0; 127,3;

127,2; 123,8; 122,9; 120,1; 115,9; 115,9; 115,7; 87,6; 47,0; 43,1; 33,6; 31,6; 25,0; 23,0; 22,6 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₅H₂₆FN₅ [M+H]⁺ 416,22450; nađeno 416,22365.

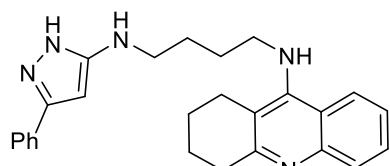
4.1.19.12. N¹-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)-N³-(3-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-pirazol-5-il)propan-1,3-diamin (**220**)



220

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **196** (0,250 g, 0,50 mmol), nakon 48 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **220** (0,126 g, 54%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3062, 2939, 2864, 1579, 1503, 1422, 1327, 1165, 1123, 848, 762 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,92 – 7,79 (m, 2H, ArH); 7,72 – 7,62 (m, 2H, ArH); 7,56 – 7,49 (m, 2H, ArH); 7,47 – 7,38 (m, 1H, ArH); 7,23 – 7,14 (m, 1H, ArH); 5,83 (s, 1H, CH); 4,54 (br. s, 1H, NH); 4,25 (br. s, 1H, NH); 3,60 – 3,47 (m, 2H, CH₂); 3,29 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, CH₂); 2,97 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH₂); 2,55 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH₂); 1,95 – 1,81 (m, 2H, CH₂); 1,82 – 1,67 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,3; 156,1; 150,9; 147,0; 145,5; 134,6; 130,3; 129,9; 129,6; 129,3; 128,6; 128,0; 125,9; 125,8; 125,8; 125,8; 125,6; 125,5; 123,8; 122,9; 122,8; 120,1; 120,1; 116,0; 88,0; 47,0; 43,2; 33,6; 31,6; 25,0; 23,0; 22,6 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₆H₂₆F₃N₅ [M+H]⁺ 466,22131; nađeno 466,22062.

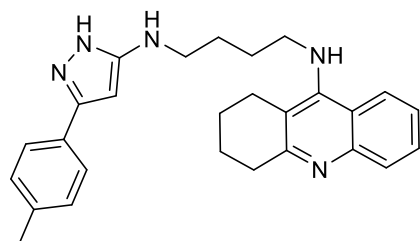
4.1.19.13. N¹-(3-Fenil-1H-pirazol-5-il)-N⁴-(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)butan-1,4-diamin (**221**)



221

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **197** (0,201 g, 0,45 mmol), nakon 60 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **221** (0,111 g, 60%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3144, 2932, 2859, 1578, 1498, 1296, 757, 693, 618 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,92 – 7,84 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,50 (m, 2H, ArH); 7,53 – 7,44 (m, 1H, ArH); 7,35 – 7,20 (m, 4H, ArH); 5,80 (s, 1H, CH); 3,95 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H, NH); 3,85 (s, 1H, NH); 3,50 – 3,36 (m, 2H, CH₂); 3,27 – 3,08 (m, 2H, CH₂); 3,08 – 2,94 (m, 2H, CH₂); 2,75 – 2,55 (m, 2H, CH₂); 1,90 – 1,76 (m, 4H, CH₂); 1,72 – 1,55 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,7; 157,1; 150,7; 147,6; 145,7; 130,7; 128,9; 128,8; 128,4; 128,2; 125,5; 123,7; 122,9; 120,4; 116,2; 88,1; 49,2; 45,0; 34,1; 29,3; 27,4; 24,9; 23,1; 22,8 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₆H₂₉N₅ [M+H]⁺ 412,24957; nađeno 412,24866.

4.1.19.14. N¹-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)-N⁴-(3-(*p*-tolil)-1H-pirazol-5-il)butan-1,4-diamin (**222**)

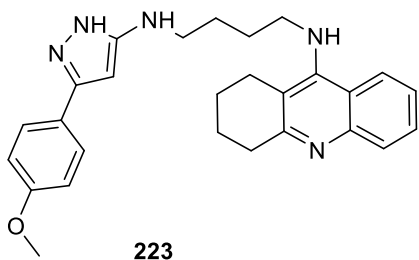


222

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **198** (0,368 g, 0,80 mmol), nakon 77 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **222** (0,170 g, 50%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3219, 2934, 2860, 1581, 1501, 1297, 762, 680, 621 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,94 – 7,81 (m, 2H, ArH); 7,52 – 7,43 (m, 1H, ArH); 7,46 – 7,39 (m, 2H, ArH); 7,30 – 7,22 (m, 1H, ArH); 7,16 – 7,05 (m, 2H, ArH); 5,76 (s, 1H, CH); 4,06 (br. s, 1H, NH); 3,49 – 3,39 (m, 2H, CH₂); 3,19 – 3,10 (m, 2H, CH₂); 3,06 – 2,95 (m, 2H, CH₂); 2,66 – 2,53 (m, 2H, CH₂); 2,29 (s, 3H, CH₃); 1,92 – 1,73 (m, 4H, CH₂); 1,71 – 1,58 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,3; 156,9; 150,9; 147,2; 145,8; 138,1; 129,6; 128,5; 128,4; 127,9;

125,3; 123,7; 122,9; 120,1; 115,9; 87,6; 49,2; 45,0; 33,8; 29,2; 27,4; 24,8; 23,0; 22,7; 21,3 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $C_{27}H_{31}N_5$ $[M+H]^+$ 426,26522; nađeno 426,26446.

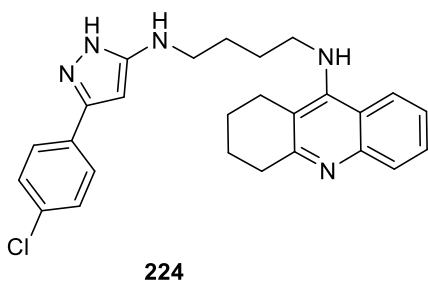
4.1.19.15. *N*¹-(3-(4-Metoksifenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*⁴-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)butan-1,4-diamin (**223**)



Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **199** (0,190 g, 0,40 mmol), nakon 72 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **223** (0,111 g, 63%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3234, 2935, 2859, 1563, 1502, 1251, 1180, 1031, 836, 763, 681, 604 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,93 – 7,77 (m, 2H, ArH); 7,50 – 7,40 (m, 3H, ArH); 7,29 – 7,17 (m, 1H, ArH); 6,85 – 6,70 (m, 2H, ArH); 5,69 (s, 1H, CH); 4,15 (br. s, 1H,

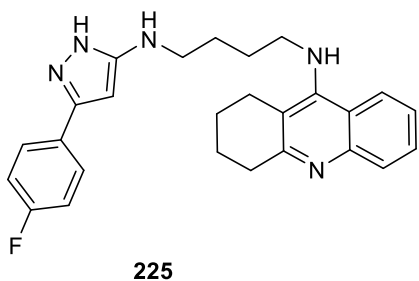
NH); 3,72 (s, 3H, OCH₃); 3,45 – 3,34 (m, 2H, preklapljen CH₂ i MeOH); 3,17 – 3,07 (m, 2H, CH₂); 3,03 – 2,93 (m, 2H, CH₂); 2,62 – 2,51 (m, 2H, CH₂); 1,86 – 1,71 (m, 4H, CH₂); 1,70 – 1,53 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 159,5; 158,0; 156,7; 151,1; 146,8; 145,8; 128,6; 128,0; 126,8; 123,7; 123,6; 123,0; 119,9; 115,7; 114,2; 87,1; 55,3; 49,1; 45,0; 33,5; 29,1; 27,3; 24,8; 22,9; 22,6 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $C_{27}H_{31}N_5O$ $[M+H]^+$ 442,26014; nađeno 442,25954.

4.1.19.16. *N*¹-(3-(4-Hlorfenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*⁴-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)butan-1,4-diamin (**224**)



Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **200** (0,168 g, 0,35 mmol), nakon 21 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **224** (0,109 g, 71%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3134, 2929, 2857, 1563, 1500, 1357, 1295, 1092, 1012, 953, 833, 758, 679, 506 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,91 – 7,82 (m, 2H, ArH); 7,53 – 7,45 (m, 2H, ArH); 7,46 – 7,40 (m, 1H, ArH); 7,27 – 7,17 (m, 3H, ArH); 5,71 (s, 1H, CH); 4,28 (br. s, 2H, NH); 3,53 – 3,40 (m, 2H, CH₂); 3,13 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, CH₂); 3,01 – 2,91 (m, 2H, CH₂); 2,61 – 2,51 (m, 2H, CH₂); 1,82 – 1,73 (m, 4H, CH₂); 1,72 – 1,57 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 157,7; 155,9; 151,3; 146,4; 145,7; 133,7; 129,9; 128,9; 128,8; 127,5; 126,7; 123,9; 123,1; 119,7; 115,5; 87,1; 49,0; 45,0; 33,2; 29,1; 27,2; 24,8; 22,9; 22,5 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $C_{26}H_{28}ClN_5$ $[M+H]^+$ 446,21060; nađeno 446,20996.

4.1.19.17. *N*¹-(3-(4-Fluorfenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*⁴-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)butan-1,4-diamin (**225**)

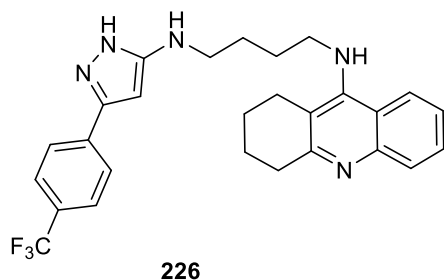


Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **201** (0,223 g, 0,48 mmol), nakon 42 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **225** (0,120 g, 58%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3141, 2928, 2855, 1561, 1498, 1357, 1221, 1155, 953, 838, 757, 678, 596 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,91 – 7,80 (m, 2H, ArH); 7,55 – 7,46 (m, 2H, ArH); 7,48 – 7,40 (m, 1H, ArH); 7,29 – 7,19 (m, 1H, ArH); 7,00 – 6,89 (m, 2H, ArH); 5,69

(s, 1H, CH); 4,21 (br. s, 1H, NH); 3,53 – 3,37 (m, 2H, CH₂); 3,13 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, CH₂); 3,03 – 2,91 (m, 2H, CH₂); 2,66 – 2,49 (m, 2H, CH₂); 1,83 – 1,73 (m, 4H, CH₂); 1,72 – 1,56 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 163,8; 161,3; 157,9; 156,2; 151,2; 146,6; 145,7; 128,7; 127,8; 127,5; 127,3; 127,2; 123,8; 123,0; 119,9; 115,9; 115,7; 87,2; 49,1; 45,0; 33,4; 29,1; 27,3; 24,8;

22,9; 22,6 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $C_{26}H_{28}FN_5$ $[M+H]^+$ 430,24015; nađeno 430,23944.

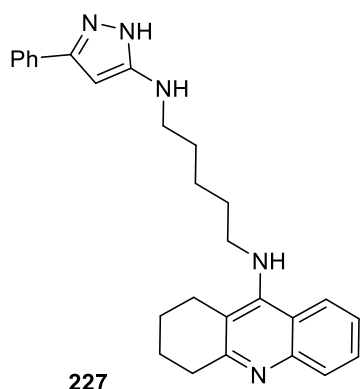
4.1.19.18. *N*¹-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)-*N*⁴-(3-(4-(trifluorometil)fenil)-1*H*-pirazol-5-il)butan-1,4-diamin (**226**)



226

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **202** (0,108 g, 0,21 mmol), nakon 43 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **226** (0,038 g, 37%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3224, 2938, 2863, 1563, 1502, 1326, 1165, 1122, 1068, 848, 761, 737 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,97 – 7,84 (m, 2H, ArH); 7,74 – 7,65 (m, 2H, ArH); 7,61 – 7,53 (m, 2H, ArH); 7,52 – 7,43 (m, 1H, ArH); 7,32 – 7,23 (m, 1H, ArH); 5,83 (s, 1H, CH); 4,12 (br. s, 2H, NH); 3,57 – 3,42 (m, 2H, CH₂); 3,18 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, CH₂); 3,07 – 2,94 (m, 2H, CH₂); 2,79 – 2,56 (m, 2H, CH₂); 1,90 – 1,78 (m, 4H, CH₂); 1,78 – 1,63 (m, 4H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,3; 155,9; 151,0; 147,0; 134,7; 130,0; 129,7; 128,7; 128,2; 125,9; 125,9; 125,8; 125,8; 125,6; 125,5; 123,9; 122,9; 122,8; 120,1; 116,0; 87,9; 49,1; 45,0; 33,7; 29,2; 27,3; 24,9; 23,0; 22,7 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $C_{27}H_{28}F_3N_5$ $[M+H]^+$ 480,23696; nađeno 480,23631.

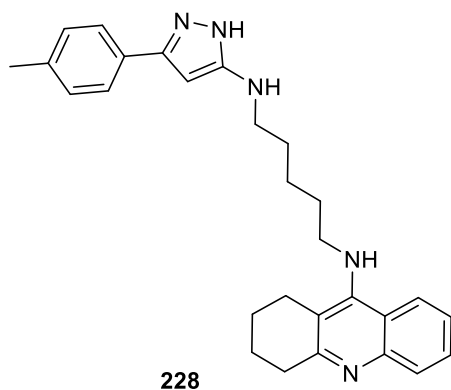
4.1.19.19. *N*¹-(3-Fenil-1*H*-pirazol-5-il)-*N*⁵-(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)pentan-1,5-diamin (**227**)



227

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **203** (0,211 g, 0,46 mmol), nakon 27 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **227** (0,084 g, 43%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3136, 2928, 2856, 1562, 1497, 1296, 757, 693, 618 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,95 – 7,78 (m, 2H, ArH); 7,58 – 7,52 (m, 2H, ArH); 7,53 – 7,45 (m, 1H, ArH); 7,34 – 7,25 (m, 3H, ArH); 7,28 – 7,19 (m, 1H, ArH); 5,79 (s, 1H, CH); 3,94 (br. s, 1H, NH); 3,41 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH₂); 3,11 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH₂); 3,06 – 2,96 (m, 2H, CH₂); 2,68 – 2,58 (m, 2H, CH₂); 1,89 – 1,78 (m, 4H, CH₂); 1,67 – 1,57 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,60 – 1,50 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,46 – 1,34 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,5; 156,9; 150,9; 147,4; 145,9; 130,9; 128,9; 128,6; 128,4; 128,1; 125,5; 123,7; 122,9; 120,3; 116,0; 87,8; 49,4; 45,2; 33,9; 31,6; 29,7; 24,9; 24,4; 23,1; 22,8 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za $C_{27}H_{31}N_5$ $[M+H]^+$ 426,26522; nađeno 426,26440.

4.1.19.20. *N*¹-(1,2,3,4-Tetrahydroakridin-9-il)-*N*⁵-(3-(*p*-tolil)-1*H*-pirazol-5-il)pentan-1,5-diamin (**228**)

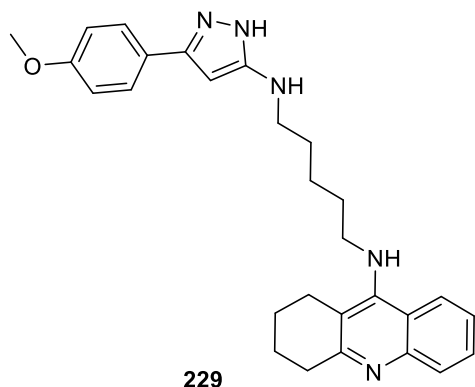


228

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **204** (0,227 g, 0,48 mmol), nakon 94 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **228** (0,153 g, 72%); bela, amorfna supstanca; **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3216, 2933, 2859, 1563, 1500, 1296, 824, 762, 701, 621 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,94 – 7,84 (m, 2H, ArH); 7,53 – 7,44 (m, 1H, ArH); 7,46 – 7,40 (m, 2H, ArH); 7,33 – 7,24 (m, 1H, ArH); 7,17 – 7,07 (m, 2H, ArH); 5,76 (s, 1H, CH); 4,00 (br. s, 1H, NH); 3,42 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH₂); 3,12 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂); 3,05 – 2,98 (m, 2H, CH₂); 2,68 – 2,58 (m, 2H, CH₂); 2,30 (s, 3H, CH₃); 1,90 – 1,78

(m, 4H, CH₂); 1,69 – 1,50 (m, 4H, CH₂); 1,47 – 1,35 (m, 2H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,3; 157,0; 151,0; 147,2; 145,8; 138,0; 129,5; 128,5; 128,4; 128,0; 125,4; 123,7; 123,0; 120,2; 115,9; 87,6; 49,4; 45,2; 33,8; 31,6; 29,7; 24,8; 24,4; 23,1; 22,8; 21,3 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₈H₃₃N₅ [M+H]⁺ 440,28087; nađeno 440,28007.

4.1.19.21. N¹-(3-(4-Metoksifenil)-1H-pirazol-5-il)-N⁵-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)pentan-1,5-diamin (**229**)

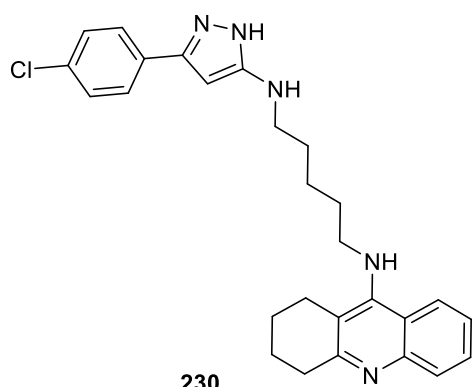


229

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **205** (0,191 g, 0,39 mmol), nakon 28 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **229** (0,120 g, 68%); bela, amorfna supstanca; **R_f** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3216, 2934, 2858, 1579, 1502, 1250, 1179, 1031, 835, 763, 702, 605 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,95 – 7,85 (m, 2H, ArH); 7,54 – 7,40 (m, 3H, ArH); 7,33 – 7,25 (m, 1H, ArH); 6,91 – 6,79 (m, 2H, ArH); 5,72 (s, 1H, CH); 4,01 (br. s, 1H, NH); 3,76 (s, 3H, OCH₃); 3,47 – 3,39 (m, 2H, CH₂); 3,13 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂); 3,04 – 2,97 (m, 2H, CH₂); 2,70 – 2,56 (m, 2H, CH₂);

1,90 – 1,78 (m, 4H, CH₂); 1,70 – 1,52 (m, 4H, CH₂); 1,50 – 1,36 (m, 2H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ = 159,7; 158,4; 157,1; 151,0; 147,3; 145,7; 128,5; 126,8; 123,8; 123,6; 123,0; 120,2; 116,0; 114,3; 87,4; 55,4; 49,4; 45,2; 33,9; 31,6; 29,8; 24,9; 24,4; 23,1; 22,8 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₈H₃₃N₅O [M+H]⁺ 456,27579; nađeno 456,27521.

4.1.19.22. N¹-(3-(4-Hlorfenil)-1H-pirazol-5-il)-N⁵-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)pentan-1,5-diamin (**230**)

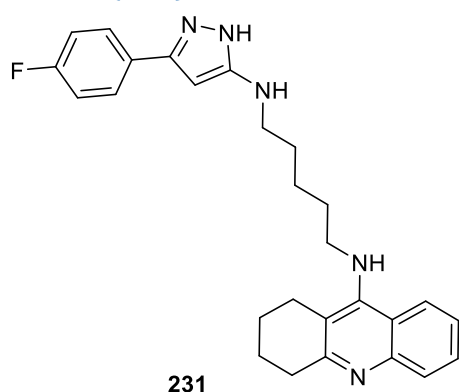


230

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **206** (0,282 g, 0,57 mmol), nakon 65 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **230** (0,181 g, 69%); bela, amorfna supstanca; **R_f** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3137, 2928, 2855, 1562, 1498, 1355, 1091, 1012, 953, 833, 758, 679, 508 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,93 – 7,82 (m, 2H, ArH); 7,52 – 7,42 (m, 3H, ArH); 7,31 – 7,26 (m, 1H, ArH); 7,25 – 7,20 (m, 2H, ArH); 5,72 (s, 1H, CH); 3,95 (br. s, 1H, NH); 3,42 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH₂); 3,08 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH₂); 3,04 – 2,96 (m, 2H, CH₂); 2,67 – 2,58 (m, 2H, CH₂); 1,93 – 1,77 (m, 4H, CH₂);

1,67 – 1,57 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,58 – 1,48 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,45 – 1,33 (m, 2H, CH₂) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,5; 156,2; 151,0; 147,3; 145,7; 133,8; 129,8; 129,0; 128,5; 128,5; 126,7; 123,8; 122,9; 120,2; 116,0; 87,4; 49,3; 45,2; 33,9; 31,6; 29,7; 24,9; 24,4; 23,1; 22,8 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₇H₃₀ClN₅ [M+H]⁺ 460,22625; nađeno 460,22567.

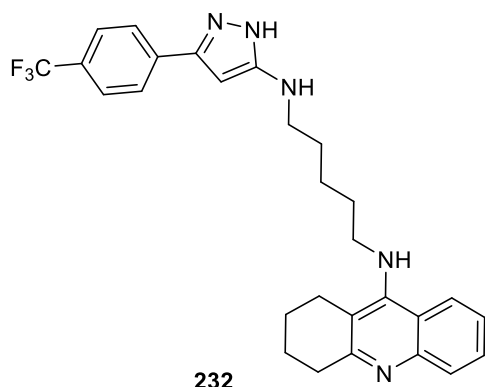
4.1.19.23. *N*¹-(3-(4-Fluorfenil)-1*H*-pirazol-5-il)-*N*⁵-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)pentan-1,5-diamin (**231**)



231

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **207** (0,200 g, 0,38 mmol), nakon 24 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **231** (0,125 g, 67%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3140, 2929, 2856, 1579, 1499, 1356, 1221, 1156, 954, 839, 759, 679, 596 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,97 – 7,84 (m, 2H, ArH); 7,60 – 7,43 (m, 3H, ArH); 7,36 – 7,26 (m, 1H, ArH); 7,07 – 6,91 (m, 2H, ArH); 5,73 (s, 1H, CH); 4,01 (br. s, 2H, NH); 3,45 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH₂); 3,12 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH₂); 3,07 – 2,99 (m, 2H, CH₂); 2,74 – 2,61 (m, 2H, CH₂); 1,91 – 1,81 (m, 4H, CH₂); 1,70 – 1,59 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,62 – 1,52 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,51 – 1,35 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 163,9; 161,4; 158,4; 156,4; 151,0; 145,6; 128,6; 128,4; 127,5; 127,3; 127,2; 123,8; 123,0; 120,2; 116,0; 115,9; 115,7; 87,4; 49,3; 45,2; 33,8; 31,6; 29,7; 24,9; 24,4; 23,1; 22,8 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₇H₃₀FN₅ [M+H]⁺ 444,25580; nađeno 444,25502.

4.1.19.24. *N*¹-(1,2,3,4-Tetrahidroakridin-9-il)-*N*⁵-(3-(4-(trifluormetil)fenil)-1*H*-pirazol-5-il)pentan-1,5-diamin (**232**)



232

Primenom opšte procedure **O**, polazeći od *N,S*-acetala **208** (0,269 g, 0,51 mmol), nakon 46 h refluktovanja dobijeno je jedinjenje **232** (0,164 g, 65%); bela, amorfna supstanca; *R_f* = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5 + 3 kapi 4 M MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3150, 2937, 2861, 1580, 1502, 1326, 1165, 1122, 1068, 848, 762, 737 cm⁻¹. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,93 – 7,85 (m, 2H, ArH); 7,74 – 7,64 (m, 2H, ArH); 7,57 – 7,50 (m, 2H, ArH); 7,53 – 7,45 (m, 1H, ArH); 7,34 – 7,28 (m, 1H, ArH); 5,81 (s, 1H, CH); 3,97 (br. s, 2H, NH); 3,45 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH₂); 3,11 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂); 3,07 – 2,99 (m, 2H, CH₂); 2,74 – 2,58 (m, 2H, CH₂); 1,97 – 1,81 (m, 4H, CH₂); 1,70 – 1,60 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,62 – 1,51 (m, 2H, delimično preklopljen, CH₂); 1,48 – 1,35 (m, 2H, CH₂) ppm. **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ = 158,5; 155,9; 151,0; 147,3; 145,8; 135,0; 130,2; 129,9; 129,6; 129,3; 128,6; 128,4; 125,8; 125,8; 125,8; 125,7; 125,6; 125,6; 123,8; 123,0; 122,8; 120,2; 116,0; 87,6; 49,3; 45,3; 33,8; 31,6; 29,6; 24,9; 24,4; 23,1; 22,8 ppm. **HRMS (HESI-OT)**: izračunato za C₂₈H₃₀F₃N₅ [M+H]⁺ 480,23696; nađeno 480,23631.

4.2 Farmakološko ispitivanje

4.2.1. Procedura za *in vitro* ispitivanje inhibitorne aktivnosti na acetilholin-esterazi i butirilholin-esterazi

Za ispitivanje inhibitorne aktivnosti ChE enzima korišćena je modifikovana Ellman-ova metoda za 96-well mikrotitar ploče.¹⁰⁶ Napravljeni su rastvori enzima (AChE, 0,5 IU/ml; BuChE, 0,25 IU/ml), 2,14 mM, 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoeve) kiseline (DTNB) u 0,1 M fosfatnom puferu pH = 8, dok su 8,4 mM rastvor acetiltholin-jodida (ATCI) i 5,12 mM rastvor butirilholin-jodida (BTCl) pripremljeni u dejonizovanoj vodi. Osnovne koncentracije testiranih jedinjenja (10⁻² M) dobijene su rastvaranjem liganada u DMSO ili EtOH. Njihovim

razblaživanjem fosfatnim puferom, do željene koncentracije (u opsegu od 10^{-5} – 10^{-9} M), dobijeni su radni rastvori.

U 100 μ L fosfatnog pufera, dodato je 40 μ L rastvora DTNB-a, 20 μ L rastvora testiranih jedinjenja različitih koncentracija i 20 μ L rastvora AChE ili BuChE. Smeša je inkubirana 10 minuta na 37 °C, nakon čega je započeta enzimaska reakcija dodatkom 20 μ L ATCI ili BTCl. Proizvod enzimske reakcije tioholin-jodida u reakciji sa DTNB, daje žuto obojeno jedinjenje 5-tio-2-nitrobenzoevu kiselinu (TNB²⁻), čije se nastajanje prati spektrofotometrijski na talasnoj dužini 412 nM. Absorbanca je merena tokom 10 minuta inkubiranja na 37 °C. Ukupna zapremina reakcione smeše je bila 200 μ L.

Slepa proba nije sadržavala enzim. Kontrola (20 μ L rastvora fosfatnog pufera umesto rastvora testiranog jedinjenja) predstavlja vrednost dobijene absorbance koja odgovara maksimalnoj količini TNB²⁻ koja se može formirati u rastvoru. Kao standardna jedinjenja korišćeni su donepezil i takrin. Rezultati inhibicije enzima su izraženi preko IC₅₀ vrednosti, koje su izračunate obradom dobijenih podataka korišćenjem GraphPad prism 9 programa.¹⁸¹ Svi eksperimenti su rađeni u triplikatu

4.2.2. Procedura za *in vitro* ispitivanje kinetike na acetilholin-esterazi

Katalitička merenja su izvedena poštujući proceduru opisanu u odeljku 4.2.1. Testiranja su rađena koristeći pet različitih koncentracija supstrata ATCI (25–800 μ M) u prisustvu i bez prisustva inhibitora. Vreme inkubacije nakon početka enzimatske reakcije iznosilo je 30 minuta. Vrednosti maksimalne brzine (V_{max}) i Michaelis-Mentenove konstante K_m izračunate su obradom dobijenih podataka u GraphPad prism 9 programu.¹⁸¹ Grafičkim predstavljanjem zavisnosti recipročne vrednosti V_{max} (1/V_{max}) u funkciji recipročne vrednosti koncentracije supstrata (1/ATCI), dobijen je Lineweaver-Burk grafik.

4.3 Doking analiza

Kristalne strukture enzima AChE i BuChE su preuzete iz PDB databaze¹⁸² (pod PDB šiframa 1C2B¹⁷¹ i 4BDS¹⁷⁵, respektivno). Korišćena doking metoda je *Induced fit docking*, programskog paketa Schrödinger Glide verzija 2024-1 (Schrödinger, Inc.).¹⁸³ Protein je pripremljen u skladu "Protein preparation" protokolom, uz podrazumevane vrednosti. Ligandi su pripremljeni koristeći "Ligprep" protokol, protonovani su na pH = 8 i generisane su njihove 3D strukture za doking. Vezivno mesto je definisano prema literaturnim podacima.^{171,175} Doking je izvršen tako što je fleksibilni ligand vezan u polufleksibilno vezivno mesto proteina (samo aminokiseline koje su bile u bliskom kontaktu sa ligandom su bile fleksibilne). Generisano je do deset struktura (koristeći podrazumevane parametre), od kojih su odabrane najbolje strukture na osnovu tipa i broja interakcija i vrednosti doking rezultata.

Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno i u vidu 2D dijagrama.

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove disertacije sintetisano je i farmakološki testirano 45 jedinjenja, koja se u širem ili užem smislu mogu smatrati derivatima donepezila i/ili takrina. Sva jedinjenja mogu se podeliti u tri grupe:

Sintetisana su tri nova derivata tetrahidrohinoksalina u okviru prve grupe. Dva od tri liganda predstavljaju *cis*- i *trans*-diastereoizomere propionilovanog tetrahidrohinoksalinskog jezgra kondenzovanog sa *N*-benzilpiperidinskim prstenom, dok je treći ligand nesupstituisani *trans*-diastereoizomer. Sva tri molekula predstavljaju novu klasu heterocikličnih sistema i mogu se smatrati analogima donepezila i takrina u širem smislu.

U okviru druge grupe sintetisano je 18 novih analoga donepezila. Ova jedinjenja sadrže različito supstituisanu *N*-arilpiperidinsku i *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinsku farmakoforu, povezane aminskim ili karboksamidnim linkerom.

Trećoj grupi jedinjenja pripadaju 24 nova derivata takrina. Kod ovih jedinjenja, takrinski strukturni motiv je povezan sa različito supstituisanim arilpirazolima preko diaminskih mostova različitih dužina.

Razvijeni su optimizovani sintetički putevi za dobijanje ovih liganada. Modifikacije i optimizacije poznatih sintetičkih metoda koje su izvedene u okviru ove disertacije, delom su publikovane u originalnim naučnim radovima i podrazumevaju:

1. Alkanoilovanje anilinskog azota anilinopiperidina **101** i **102**.
2. Hoffman-ovo premeštanje anilinopiperidina **101** i anilidopiperidina **107** i **108**.
3. Buchwald-Hartwig-ovo intramolekulsko kuplovanje anilidopiperidina *trans*-**105** i *cis/trans*-**114**.

Za sva novosintetisana jedinjenja urađena je potpuna karakterizacija spektroskopskim metodama: 1D i 2D NMR-HSQC, IR i HRMS. Kod sva tri molekula iz prve serije, određena je relativna konfiguracija diastereoizomera pomoću 2D NMR-NOESY eksperimenata.

Inhibitorna aktivnost svih 45 novosintetisanih liganada prema acetilholin-esterazi i butirilholin-esterazi ispitana je *in vitro* Ellman-ovom metodom. Testirana jedinjenja (izuzev **106**, **115**, **153**, **154**, **163** i **164**) poseduju inhibitornu aktivnost prema jednoj ili obe holinesteraze, sa IC₅₀ vrednostima u mikromolarnom i nanomolarnom opsegu. Analogi donepezila pokazali su selektivnost prema acetilholin-esterazi. Najbolju aktivnost prema AChE u ovoj seriji, iako dosta nižu u poređenju sa donepezilom (IC₅₀ = 0,066 μM), pokazala su jedinjenja **152** i **162** (IC₅₀ = 2,3 μM i 4,0 μM respektivno), sa hlorom u *para* položaju benzenovog prstena na arilpiperazinskom delu molekula povezanim sa *N*-benzilpiperidinom preko aminskog i karboksamidnog linkera respektivno. Za oba jedinjenja je nađeno da ispoljavaju mešoviti tip inhibicije.

Od jedinjenja iz treće grupe, najbolju inhibitornu aktivnost prema acetilholin-esterazi, malo veću od takrina (IC₅₀ = 0,153 μM), imao je derivat **211** (IC₅₀ = 0,135 μM). Jedinjenje **210** imalo je najbolju inhibitornu aktivnost prema BuChE (IC₅₀ = 0,122 μM), ali oko dva puta nižu u odnosu na takrin (IC₅₀ = 0,052 μM). Od svih testiranih derivata, najbolji odnos aktivnosti prema acetilholin-esterazi i butirilholin-esterazi imali su **211** (IC₅₀ = 0,135 μM za AChE i 0,31 μM za BuChE) i **215** (IC₅₀ = 0,33 μM za AChE i 0,127 μM za BuChE).

Doking analizom nađeno je da jedinjenja **152** i **162** interaguju sa aktivnim i perifernim anjonskim mestom acetilholin-esteraze. Jedinjenje **152** vezuje se slično kao donepezil,

uspostavljajući ključne interakcije sa aktivnim mestom preko *N*-benzilpiperidinskog dela molekula, dok *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinski deo ostvaruje ključne interakcije sa perifernim anjonskim mestom. Jedinjenje **162** se suprotno orijentiše u vezivnom mestu AChE u odnosu na derivat **152** ali takođe ostvaruje ključne interakcije sa aktivnim i perifernim anjonskim mestom. Doking analiza liganada **211** i **215** pokazala je da oni ostvaruju ključne interakcije sa aktivnim mestom AChE preko takrinskog dela molekula, kao i sa perifernim anjonskim mestom preko arilpirazolskog dela. Ovi kompleksi sa enzimom su dodatno stabilizovani vodoničnim vezama. Doking analizom vezivanja jedinjenja **210**, **211** i **215** sa butirilholin-esterazom nađeno je da uspostavljaju ključne interakcije sa aktivnim mestom enzima preko takrinskog dela molekula, dok jedinjenja **210** i **211** takođe ostvaruju ključne interakcije sa perifernim anjonskim mestom arilpirazolskim delom molekula.

In silico analizom farmakokinetičkih parametara nađeno je da sva jedinjenja koja pokazuju aktivnost prema acetilholin-esterazi i/ili butirilholin-esterazi ispunjavaju farmakokinetičke uslove neophodne da bi bila razmatrana kao kandidati za nove lekove.

Jedinjenja sintetisana u okviru ove disertacije, a posebno sam sintetički put, imaju značaja za organsku i medicinsku hemiju. Ligandi prve grupe predstavljaju prve poznate heterociklične sisteme ovog tipa. Razvijeni sintetički put je od značaja za sintezu drugih, funkcionalizovanih piperidina. Jedinjenja druge i treće serije predstavljaju nove derivate donepezila i takrina sa *N*¹,*N*⁴-di-arilpiperazinskim i arilpirazolskim strukturnim motivima respektivno. Od svih 45 novosintetisanih liganada, **211** i **215** ispoljavaju najbolje inhibitorne aktivnosti prema holinesterazama, shodno tome planirana je dodatna farmakološka karakterizacija kako bi se ispitaio njihov potencijal kao terapeutika u lečenju Alchajmerove bolesti.

6. LITERATURA

1. *Alzheimer's Dement.* **2020**, *16*, 391-460.
2. Weller J.; Budson A. *F1000Research* **2018**, *31*, 7.
3. Gustavsson A.; Norton N.; Fast T.; Frölich L.; Georges. J.; Holzapfel D.; Kirabali T.; Krolak-Salmon P.; Rossini P.M.; Ferretti M.T.; Lanman L.; Chadha A.S.; vand der Flier W.M. *Alzheimer's Dement.* **2023**, *19*, 658-670.
4. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
5. Kaloni D.; Negi A. *Int. J. Neurodegener. Dis.* **2019**, *2*, 010.
6. Sharma K. *Mol. Med. Rep.* **2019**, *20*, 1479-1487.
7. Pavlović D.M.; Pavlović A.M.; Žugić S. *Vojnosanit. Pregl.* **2007**, *64*, 765-772.
8. García-Morales V.; Gonzáles-Acedo A.; Melguizo-Rodríguez L.; Pardo-Moreno T.; Costela-Ruiz V.J.; Montier-Troya M.; Ramos-Rodríguez J.J. *Biomedicines* **2021**, *9*, 1910.
9. Kumar A.; Ekavali A.S.; *Pharmacol. Rep.* **2015**, *67*, 195-203.
10. Querfurth H.W.; LaFerla F.M. *N. Engl. J. Med.* **2010**, *362*, 329-344.
11. Bondi M.W.; Edmonds E.C.; Salmon D.P. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* **2017**, *23*, 818-831.
12. Sultzer D.L. *Brain* **2018**, *141*, 622-628.
13. Nwadiugwu M.; Shen H.; Deng. H.W. *Biology* **2023**, *12*, 602.
14. Abubakar M.B.; Sanusi K.O.; Ugusman A.; Mohamed W.; Kamal H.; Ibrahim N.H.; Khoo C.S.; Kumar J. *Front. Aging Neurosci.* **2022**, *14*, 742408.
15. Peng Y.; Jin H.; Xue Y.; Chen Q.; Yao S., Du M.; Liu S. *Front. Aging Neurosci.* **2023**, *15*, 1206572.
16. Breijyeh Z.; Karaman R.; *Molecules*, **2020**, *25*, 5789.
17. Andrade-Guerrero J.; Santiago-Balmaseda A.; Jeronimo-Aguilar P.; Vargas-Rodríguez I.; Cadena-Suárez A.R.; Sánchez-Garibay C.; Pozo-Molina G.; Méndez-Catalá C.F.; Cardenas-Aguayo M.C.; Diaz-Cintra S.; Pacheco-Herrero M.; Luna-Muñoz J.; Soto-Rojas L.O. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 3754.
18. Singh M.; Kaur M.; Kukreja H.; Chugh R.; Silakari O.; Singh D. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *70*, 165-188.
19. Motawi T.M.K.; Abdel-Nasser Z.M.; Shanin N. *ACS Chem. Neurosci.* **2020**, *11*, 3386-3397.
20. Onder S.; Biberoglu K.; Yuksel M.; Tacal O. *Chem. Biol. Interact.* **2022**, *366*, 110126.
21. Fares S.; El Husseiny W.M.; Selim K.B.; Massoud M.A.M. *ACS Omega* **2023**, *8*, 26012-26034.
22. Lewis. F.W.; Tétard D. *Biometals in Neurodegenerative Diseases*, Elsevier, Inc., **2017**, Chapter 20.
23. Chen Z.R.; Huang J.B.; Yang S.L.; Hong F.F. *Molecules* **2022**, *27*, 1816.
24. Liston D.R.; Nielsen J.A.; Villalobos A.; Chapin D.; Jones S.B.; Hubbard S.T.; Shalaby I.A.; Ramirez A.; Nason D.; White W.F. *Eur. J. Pharmacol.* **2004**, *486*, 9-17.
25. Contestabile A. *Behav. Brain. Res.* **2011**, *221*, 334-340.
26. Perry E.K.; Perry R.H.; Blessed G.; Tomlinson B.E. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **1978**, *4*, 273-277.
27. Xing S.; Li Q.; Xiong B.; Chen Y.; Feng F.; Liu W.; Sun H. *Med. Res. Rev.* **2020**, *41*, 858-901.
28. He Y.; Rao Z.; Liu Z.; Mi J.; Yang J.; Zhou Y.; Yin Z.; Chen P.; Liu W.; Zeng N.; Sang Z. *Med Chem Res.* **2023**, *32*, 355-368.
29. Yu D.; Yang C.; Liu Y.; Lu T.; Li L.; Chen G.; Liu Z.; Li Y. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 4877.
30. Reid G.A.; Darvesh S. *Neuroscience.* **2015**, *298*, 424-435.
31. Maurice T.; Strehaiano M.; Siméon N.; Bertrand C.; Chatonnet A. *Behav. Brain Res.* **2016**, *296*, 351-360.

32. Bouzina A.; Djemel A.; Sekiou O.; Kadi I.; Bouone Y.O.; Mansouri R.; Aouf Z.; Ibrahim-ouali M.; Aouf N.E. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1285*, 135527.
33. Su J.; Wu W.; Dong C.E.; Yang S.; Feng Y.; Qin T.; Chen K.; Qian J.; Zou J.; Liu Y.H.; Liu S.; Liu W.W.; Shi D.H. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1274*, 134391.
34. Taha M.; Sadia H.; Rahim F.; Khan M.I.; Hayat S.; Iqbal N.; Nawaz F.; Ullah H.; Zada H.; Shah S.A.A.; Wadood A.; Farooq R.K.; Khan K.M. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1285*, 135530.
35. Silva J.G.; Borgati T.F.; Lopes S.M.G.; Heise N.; Hoenke S.; Csuk R.; Barbosa L.C.A. *Bioorg. Chem.* **2023**, *130*, 106249.
36. Gao H.; Jiang Y.; Zhan J.; Sun Y. *Bioorg. Chem.* **2021**, *114*, 105149.
37. Wu J.; Pistolozzi M.; Liu S.; Tan W. *Bioorg. Med. Chem.* **2020**, *28*, 115324.
38. Bosak A.; Opsenica D.M.; Šinko G.; Zlatar M.; Kovarik Z. *Chem.-Biol. Interact.* **2019**, *308*, 101-109.
39. Chaichompoo W.; Rojsitthisak P.; Pabuprapap W.; Siriwattanasathien Y.; Yotmanee P.; Suksamrarn A. *Phytochemistry* **2023**, *205*, 113473.
40. Baréa P.; dos Santos Yamazaki D.A.; de Souza Lima D.; Vicente Seixas F.A.; da Costa W.F.; de Freitas Gauze G.; Sarragiotto M.H. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1273*, 134291.
41. Yoon Y.K.; Ali M.A.; Wei A.C.; Choon T.S.; Khaw K.Y.; Murugaiyah V.; Osman H.; Masand V.H. *Bioorg. Chem.* **2013**, *49*, 33-39.
42. Li Q.; Yang H.; Chen Y.; Sun H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *132*, 294-309.
43. Noori M.; Dastyafteh N.; Safapoor S.; Ghomi M.K.; Tanideh R.; Zomorodian K.; Hamedifar H.; Dara M.; Zare S.; Irajie C.; Javanshir S.; Rastegar H.; Panahi N.; Larijani B.; Mahdavi M.; Hajimiri M.H.; Irajie A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2023**, *253*, 127392.
44. Lane R.M.; Potkin S.G.; Enz A. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2006**, *9*, 101-124.
45. Čolović M.B.; Krstić D.Z.; Lazarević-Pašti T.D.; Bondžić A.M.; Vasić V.M. *Curr. Neuropharmacol.* **2013**, *11*, 315-335.
46. Sepheri S.; Saeedi M.; Larijani B.; Mahdavi M. *Front. Chem.* **2022**, *10*, 936240.
47. Basiri A.; Razik B.M.A.; Ezzat M.O.; Kia Y.; Kumar R.S.; Almansour A.I.; Arumugam N.; Murugaiyah V. *Bioorg. Chem.* **2017**, *75*, 210-216.
48. Alvarez A.; Opazo C.; Alarcón R.; Garrido J.; Inestrosa N.C. *J. Mol. Biol.* **1997**, *272*, 348-361.
49. Nepovimova E.; Uliassi E.; Korabecny J.; Peňa-Altamira L.E.; Samez S.; Pesaresi A.; Garcia G.E.; Bartolini M.; Andrisano V.; Bergamini C.; Fato R.; Lamba D.; Roberi M.; Kuca K.; Monti B.; Bolognesi M.L. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8576-8589.
50. Ghanei-Nasab S.; Khoobi M.; Hadizadeh F.; Marjani A.; Moradi A.; Nadri H.; Emami S.; Foroumadi A.; Shafiee A. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *121*, 40-46.
51. Hosseini S.; Pourmousavi S.A.; Mahdavi M.; Taslimi P. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1255*, 132229.
52. Lan J.S.; Hou J.W.; Liu Y.; Ding Y.; Zhang Y.; Li L.; Zhang T. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2017**, *32*, 776-788.
53. Tripathi M.K.; Bhardwaj B.; Waiker D.K.; Tripathi A.; Shrivastava S.K. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1286*, 135517.
54. Chortani S.; Hajlaoui A.; Jlizi S.; Harrath A.H.; Jannet H.B.; Romdhane A. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1268*, 133693.
55. El-Hussieny M.; ElMansy M.F.; Ewies E.F.; El-Rashedy A.A.; Ibrahim A.Y.; El-Sayed N.F. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1272*, 134214.
56. Tanoli S.T.; Ramzan M.; Hassan A.; Sadiq A.; Jan M.S.; Khan F.A.; Ullah F.; Ahmad H.; Bibi M.; Mahmood T.; Rashid U. *Bioorg. Chem.* **2019**, *83*, 336-347.
57. Wang J.; Wang C.; Wu Z.; Li X.; Xu S.; Liu J.; Lan Q.; Zhu Z.; Xu J. *Chem. Biol. Drug Des.* **2018**, *91*, 756-762.

58. Zueva I.; Dias J.; Lushchekina S.; Semenov V.; Mukhamedyarov M.; Pashirova T.; Babaev V.; Nachon F.; Petrova N.; Nurullin L.; Zakharova L.; Ilyn V.; Masson P.; Petrov K. *Neuropharmacology* **2019**, *155*, 131-141.
59. Uliassi E.; Bergamini C.; Rizzardì N.; Naldi M.; Cores A.; Bartolini.; Menéndez J.C.; Bolognesi M.L.; *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *91*, 117419.
60. Rajeshwari R.; Chand K.; Candeias E.; Cardoso S.M.; Chaves S.; Santos M.A. *Molecules* **2019**, *24*, 587.
61. Sahin Z.; Biltekin S.N.; Yurttas L.; Berk B.; Küçükkılınç T.T.; Demirayak S.; *J. Mol. Struct.* **2022**, *1264*, 133193.
62. Wang J.; Wang Z.M.; Li X.M.; Li H.; Wu J.J.; Kong L.Y.; Wang X.B.; *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 4324-4338.
63. Yan J.; Hu J.; Liu A.; He L.; Li X.; Wei H. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 2946-2955.
64. Wichur T.; Więckowska A.; Więckowski K.; Godyń J.; Jończyk J.; del Río Valdivieso A.; Panek D.; Pasięka A.; Sabaté R.; Knez D.; Gobec S.; Malawska B. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *18711*, 1916.
65. El-Sayed N.A.E.; El-Said Farag A.; Ezzat M.A.F.; Akincioglu H.; Gülçin İ.; Abou-Seri S.M. *Bioorg. Chem.* **2019**, *93*, 103312.
66. Sharma P.; Tripathi A.; Tripathi P.N.; Prajapati S.K.; Seth A.; Tripathi M.K.; Srivastava P.; Tiwari V.; Krishnamurthy S.; Shrivastava K. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *167*, 510-524.
67. Więckowska A.; Wichur T.; Godyń J.; Bucki A.; Marcinkowska M.; Siwek A.; Więckowski K.; Zaręba P.; Knez D.; Głuch-Lutwin M.; Kazek G.; Latacz G.; Mika K.; Kołaczkowski M.; Korabecny J.; Soukup O.; Benkova M.; Kieć-Kononowicz K.; Gobec S.; Malawska B. *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, *9*, 1195-1214.
68. Yang A.; Zhang H.; Hu C.; Wang X.; Shen R.; Kou X.; Wang H. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1268*, 133747.
69. Czarnecka K.; Chufarova N.; Halczuk K.; Maciejewska.; Girek M.; Skibiński R.; Jończyk J.; Bajda M.; Kabziński J.; Majsterek I.; Szymański P. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *145*, 760-769.
70. Chalupova K.; Korabecny J.; Bartolini M.; Monti B.; Lamba D.; Caliandro R.; Pesaresi J.; Brazzolotto X.; Gastellier A.J.; Nachon F.; Pejchal J.; Jarosova M.; Hepnarova V.; Jun D.; Hrabínova M.; Dolezal R.; Karasova J.Z.; Mzik M.; Kristofikova Z.; Misik J.; Muckova L.; Jost.; Soukup O.; Benkova M.; Setnicka V.; Habartova L.; Chvojkova M.; Kleteckova L.; Vales K.; Mezeiova E.; Uliassi E.; Valis M.; Nepovimova E.; Bolognesi M.L.; Kuca K. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *168*, 491-514.
71. Roberson M.R.; Harrell L.E.; *Brain Res. Rev.* **1997**, *25*, 50-69.
72. Hardy J.A.; Higgins G.A.; *Science* **1992**, *256*, 184-185.
73. Reiss A.B.; Muhieddine D.; De Leon A.Z.; Voloshyna I.; Gomolin I.H.; Pinkhasov A. *SN Compr. Clin. Med.* **2022**, *4*, 7.
74. Jiang X.; Wang Y.; Liu C.; Xing C.; Wang Y.; Lyu W.; Wang S.; Li Q.; Chen T.; Chen Y.; Feng F.; Liu W.; Sun H. *Bioorg. Med. Chem.* **2021**, *30*, 115940.
75. Femminella G.D.; Thayanandan T.; Calsolaro V.; Komici K.; Rengo G.; Corbi G.; Ferrara N. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3702.
76. Panek D.; Więckowska A.; Jończyk J.; Godyń J.; Bajda M.; Wichur T.; Pasięka A.; Knez D.; Pišlar A.; Korabecny J.; Soukup O.; Sepsova V.; Sabaté R.; Kos J.; Gobec S.; Malawska B. *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, *9*, 1074-1094.
77. Liu Y.; Nguyen M.; Robert A.; Meunier B. *Acc. Chem. Res.* **2019**, *52*, 2026-2035.
78. Rodríguez-Rodríguez C.; Telpoukhovskaia M.; Orvig C.; *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 2308-2332.
79. Wu W.L.; Wen Z.Y.; Qian J.J.; Zou J.P.; Liu S.M.; Yang S.; Qin T.; Yang Q.; Liu Y.H.; Liu W.W.; Wang J.; Shi L.Y.; Shi D.H. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1257*, 132498.

80. Anwar F.; Saleem U.; Ahmad B.; Ashraf M.; Rehman A.U.; Froeyen M.; Kee L.Y.; Abdullah I.; Mirza M.U.; Ahmad S. *Comput. Biol. Chem.* **2020**, *89*, 107378.
81. Barnham K.J.; Masters C.L.; Bush A.I.; *Nat. Rev.* **2004**, *3*, 205-214.
82. Anand P.; Singh B. *Arch. Pharm. Res.* **2013**, *36*, 375-399.
83. Schneider L.S. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2000**, *2*, 111-128.
84. Zuin M.; Cherubini A.; Volpato S.; Ferrucci.; Zuliani. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 12214.
85. Marucci G.; Buccioni.; Dal Ben D.; Lambertucci C.; Volpini R.; Amenta F. *Neuropharmacol* **2021**, *190*, 108352.
86. Ismaili L.; Refouvelet B.; Bencheekroun M.; Brogi S.; Brindisi M.; Gemma S.; Campiani G.; Filipic S.; Agbaba D.; Esteban G.; Unzeta M.; Nikolic K.; Butini S. *Prog. Neurobiol.* **2016**, *151*, 4-34.
87. Reis J.; Cagide F.; Estrada Valencia M.; Teixeira J.; Bagetta D.; Pérez C.; Uriarte E.; Oliveira P.J.; Ortuso F.; Alcaro S.; Rodríguez-Franco M.I.; Borges F. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *158*, 781-800.
88. Guzior N.; Więckowska A.; Panek D.; Malawska B. *Curr. Med. Chem.* **2015**, *22*, 373-404.
89. Zhang H.; Wang Y.; Wang Y.; Li X.; Wang S.; Wang Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, *240*, 114606.
90. Zhang P.; Xu S.; Zhu Z.; Xu J. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *176*, 228-247.
91. Beato A.; Gori A.; Boucherle B.; Peuchmaur M.; Haudecoeur R. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 1392-1422.
92. Basri R.; Fatima S.; Jalil S.; Imran A.; Fatima N.; Syed A.; Bahkali A.H.; Iqbal J.; Shafiq Z. *Arch. Pharm.* **2023**, *356*, 2300430.
93. Geldenhuys W.J.; Youdim M.B.H.; Carroll R.T.; Van der Schyf C.J. *Prog. Neurobiol.* **2011**, *94*, 347-359.
94. Giacobini E. *Pharmacol. Res.* **2004**, *50*, 433-440.
95. Van Dyck C.H.; Swanson C.J.; Aisen P.; Bateman R.J.; Chen C.; Gee M.; Kanekiyo M.; Li D.; Reyderman L.; Cohen S.; Froelich L.; Katayama S.; Sabbagh M.; Vellas B.; Watson D.; Dhadda S.; Irizarry M.; Kramer L.D.; Iwatsubo T. *N. Engl. J. Med.* **2023**, *388*, 9-21.
96. Arndt J.W.; Qian F.; Smith B.A.; Quan C.; Kilambi K.P.; Bush M.W.; Walz T.; Pepinsky R.B.; Bussiére T.; Hamann S.; Cameron T.O.; Weinreb P.H. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 6412.
97. Reardon S. *Nature.* **2023**, *613*, 227-228.
98. McKenna M.T.; Proctor G.R.; Young L.C.; Harvey A.L. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3516-3523.
99. Lee A.R.; Rigden P.J. *J. Soc. Chem. Ind., London, Trans. Commun.* **1945**, *64*, 153-188.
100. Eckroat T.J.; Manross D.L.; Cowan S.C. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 5965.
101. Sameem B.; Saeedi.; Mahdavi M.; Shafiee A. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *128*, 332-345.
102. Ansari F. Niazi A.; Ghasemi J. *Med. Chem.* **2020**, *16*, 155-168.
103. Watkins P.B.; Zimmerman H.J.; Knapp M.J.; Gracon S.I.; Lewis K.W. *J. Am. Med. Assoc.* **1994**, *271*, 992-998.
104. Lou Y.H.; Wang J.S.; Dong G.; Guo P.P.; Wei D.D.; Xie S.S.; Yang M.H.; Kong L.Y.; *Toxicol. Res.* **2015**, *4*, 1465-1478.
105. Kappenberg Y.G.; Nogara P.A.; Stefanello F.; Moretto L.H.; Santos P.M.; Rocha J.B.T.; Zanatta N.; Martins M.A.P.; Bonacorso H.G. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1266*, 133485.
106. Jevtić I.I.; Suručić R.V.; Tovilović G.; Zogović N.; Kostić-Rajačić S.V.; Andrić D.B.; Penjišević J.Z. *Bioorg. Med. Chem.* **2024**, *101*, 117649.
107. Jalili-Baleh L.; Nadri N.; Moradi A.; Nasir S.; Bukhari A.; Shakibaie M.; Jafari M.; Golshani M.; Moghadam F.H.; Firoozpour L.; Asadipour A.; Emami S.; Khoobi M.; Foroumadi A. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *139*, 280-289.
108. El-Malah A.; Gedawy E.M.; Kassab A.E.; Abdel Salam R.M. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2014**, *347*, 96-103.

109. Hussein W.; Sağlık B.N.; Levent S.; Korkut B.; Işgin S.; Özkay Y.; Kaplancikli Z.A. *Molecules* **2018**, *23*, 2033.
110. Girek M.; Szymański P. *Chem. Pap.* **2019**, *73*, 269-289.
111. Hamulakova S.; Janovec L.; Hrabínova M.; Spilovská K.; Korabecny J.; Kristian P.; Kuca K.; Imrich J. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 7073-7084.
112. Pan T.; Xie S.; Zhou Y.; Hu J.; Luo H.; Li X.; Huang L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 2150-2152.
113. Marco-Contelles J.; Perez-Mayoral E.; Samadi A.; do Carmo Carreiras M.; Soriano E. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2652-2671.
114. Hamblin J.N.; Angel T.D.R.; Ballantine S.P.; Cook C.M.; Cooper A.W.J.; Dawson J.; Delves C.J.; Jones P.S.; Lindvall M.; Lucas F.S.; Mitchell C.J.; Neu M.Y.; Ranshaw L.E.; Solanke Y.E.; Somers D.O.; Wiseman J.O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4237-4241.
115. Cai Z. *Mol. Med. Rep.* **2014**, *9*, 1533-1541.
116. Ferreira J.P.S.; Albuquerque H.M.T.; Cardoso S.M.; Silva A.M.S.; Silva V.L.M. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *221*, 113492.
117. Liu W.; Wu L.; Liu W.; Tian L.; Chen H.; Wu Z.; Wang N.; Liu X.; Qiu J.; Feng X.; Xu Z.; Jiang X. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, *242*, 114689.
118. Costa G.P.; Baldinotti R.S.M.; Fronza M.G.; Nascimento J.E.R.; Dias I.F.C.; Sonego M.S.; Seixas F.K.; Collares T.; Perin G.; Jacob R.G.; Savegnago L.; Alves D. *ChemMedChem*, **2020**, *15*, 610-622.
119. Constanzo P.; Cariati L.; Desiderio D.; Sgammato.; Lamberti A.; Arcone R.; Salerno R.; Nardi M.; Masullo M.; Oliverio M. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7*, 470-475.
120. Paudel P.; Seong S.H.; Zhou Y.; Park H.J.; Jung H.A.; Choi J.S. *ACS Omega* **2019**, *4*, 12259-12270.
121. Paudel P.; Seong S.H.; Zhou Y.; Ha M.T.; Sun Min B.; Ah Jung H.; Sue Choi J. *ACS Omega* **2019**, *4*, 6283-6294.
122. Green K.D.; Fosso M.Y.; Garneau-Tsodikova S. *Molecules*, **2018**, *23*, 3252.
123. Xu R.; Xiao G.; Li Y.; Liu H.; Song Q.; Zhang X.; Yang Z.; Zheng Y.; Tan Z.; Deng Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 1885-1895.
124. El-Damasy A.K.; Park J.E.; Kim H.J.; Lee J.; Bang E.K.; Kim H.; Keum G. *Pharmaceuticals*, **2023**, *16*, 83.
125. Khan B. A.; Hamdani S.S.; Alsouk B.A.; Ejaz S.A.; Aziz M.; Channar P.A.; Deniz F.S.S.; Orhan I.E.; Hameed S.; Saeed A.; Jalil S.; Iqbal J. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1271*, 134138.
126. Thomas T. *Neurobiol. Aging* **2000**, *21*, 343-348.
127. Schedin-Weiss S.; Inoue M.; Hromadkova L.; Teranishi Y.; Yamamoto N.G.; Wiehager B.; Bogdanovic N.; Winblad B.; Sandebring-Matton A.; Frykman S.; Tjernberg L.O. *Alzheimer's Res. Ther.* **2017**, *9*, 57.
128. Sugimoto H.; Ogura H.; Arai Y.; Limura Y.; Yamanishi Y. *Jpn. J. Pharmacol.* **2002**, *89*, 7-20.
129. Cheung J.; Rudolph M.J.; Burshteyn F.; Cassidy M.S.; Gary E.N.; Love J.; Franklin M.C.; Height J.J. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 10282-10286.
130. Kareem R.T.; Abedinifar F.; Mahmood E.A.; Ebadi A.G.; Rajabi F.; Vessally E. *RSC Adv.* **2021**, *11*, 30781-30797.
131. ul Amin Mohsin N.; Ahmad M. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2020**, *9*, 57.
132. Wang J.; Zhou H.; Li Y.; Mu Y.; Li J.; Hong C.; Luo W. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1285*, 135511.
133. Sahin Z.; Biltekin S.N.; Bülbül E.F.; Yurttas L.; Berk B.; Demirayak S. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2021**, *196*, 283-293.
134. Więckowski K.; Szalaj N.; Gryzlo B.; Wichur T.; Goral I.; Slugocka E.; Snieciowska J.; Latacz G.; Siek A.; Godyn J.; Bucki A.; Kolackowski M.; Więckowska A. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 9443.
135. Junaid M.; Islam N.; Hossain M.K.; Ullah M.O.; Halim M.A. *PLoS One* **2019**, *14* (2).

136. Yan N.; Xie P.; Tang L.Q.; Wang D.F.; Li X.; Liu C.; Liu Z.P. *Bioorg. Chem.* **2023**, *138*, 106663.
137. Jabir N.R.; Shakil S.; Tabrez S.; Khan M.S.; Rehman T.; Ahmed B.A. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2021**, *39*, 5083-5092.
138. Jiang X.Y.; Chen T.K.; Zhou J.T.; He S.Y.; Yang H.Y.; Chen Y.; Qu W.; Feng F.; Sun H.P. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 171-176.
139. Shelie Y.I.; Snider B.J.; Beer J.C.; Seok D.; Fagan A.M.; Suckow R.F.; Lee J.M.; Waligorska T.; Korecka M.; Aselcioglu I.; Morris J.C.; Shaw L.M.; Cirrito J.R. *Neurology* **2020**, *95* (19).
140. Torisu K.; Kobayashi K.; Iwahashi M.; Nakai Y.; Onoda T.; Sugimoto I.; Okada Y.; Matsumoto R.; Nanbu F.; Ohuchida S.; Nakai H.; Toda. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5361-5378.
141. Eary C.T.; Jones Z.S.; Groneberg R.D.; Burgess L.E.; Mareska D.A.; Drew M.D.; Blake J.F.; Laird E.R.; Balachari D.; O'Sullivan M.; Allen A.; Marsh V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2608-2613.
142. Veligeti R.; Madhu R.B.; Anireddy J.; Pasupuleti V.R.; Avula V.K.R.; Ethiraj K.S.; Uppalanchi S.; Katsuri S.; Perumal Y.; Anantaraju H.S.; Polkam N.; Guda M.R.; Vallela S.; Zyryanov G.V. *Sci. Rep.* **2010**, *10*, 20720
143. Morissette G.; Fortin J.P.; Otis S.; Bouthillier J.; Marceau F. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *311*, 1121-1130.
144. Ohtake Y.; Naito A.; Hasegawa H.; Kawano K.; Morizono D.; Taniguchi T.; Tanaka Y.; Matsukawa H.; Naito K.; Oguma T.; Ezure Y.; Tsuruya Y. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1247-1254.
145. Chen J.J.; Qian W.; Biswas K.; Viswanadhan V.N.; Askew B.C.; Hitchcock S.; Hungate R.W.; Arik L.; Johnson E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4477-4481.
146. Jevtić I.I.; Došen-Mićović Lj.; Ivanović E.R.; Todorović N.M.; Ivanović M.D. *Synthesis*, **2017**, *49*, 3126-3136.
147. Jevtić I.I.; Savić Vujović K.; Srebro D.; Vučković S.; Ivanović M.D.; Kostić-Rajačić S.V. *Pharmacol. Rep.* **2020**, *72*, 1069-1075.
148. Krunić M.J.; Jevtić I.I.; Penjišević J.Z.; Kostić-Rajačić S.V. *J. Serb. Chem. Soc.* **2021**, *87*, 169-179.
149. Popović-Đorđević J.; Stepanović S.; Došen-Mićović Lj.; Ivanović E.; Ivanović M.D. *Green Chem. Lett. Rev.* **2016**, *9*, 61-68.
150. Jevtić I.I.; Došen-Mićović Lj.; Ivanović E.R.; Ivanović M.D. *Synthesis*, **2016**, *48*, 1550-1560.
151. Dorel R.; Grugel C.P.; Haydl A. *Angew. Chem.* **2019**, *58*, 17118-17129.
152. Partyka A.; Kurczab R.; Canale V.; Satała G.; Marciniak K.; Pasierb A.; Jastrzebska-Wiesek M.; Pawłowski M.; Wesołowska A.; Bojarski A.J.; Zajdel P. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 3638-3648.
153. Manetti F.; Corelli F.; Strappaghetta G.; Botta M. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 1303-1321.
154. Mathew B.; Min Oh J.; Baty R.S.; Batiha G.E.S.; Parambi D.G.T.; Gambacorta N.; Nicolotti O.; Kim H. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, *28*, 38855-38866.
155. Krunić M.J.; Penjišević J.Z.; Suručić R.V.; Šegan S.; Kostić-Rajačić S.V.; Jević I.I. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1276*, 134809.
156. Khatri M.; Rai S.K.; Alam S.; Tiwari M. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1890-1897.
157. Naim M.J.; Alam O.; Nawaz F.; Alam J.; Alam P. *J. Pharm. Bioallied Sci.* **2016**, *8*, 2-17.
158. Gutti G.; Kumar D.; Paliwal P.; Ganeshpurkar A.; Lahre K.; Kumar A.; Krishnamurthy S.; Kumar Singh S. *Bioorg. Chem.* **2019**, *90*, 103080.
159. Zia M.; Hameed S.; Nadeem H.; Ali K.A.; Dege N.; Paracha R.Z.; Arshad I.; Naseer M.M. *Bioorg. Chem.* **2022**, *121*, 105658.

160. Genest D.; Rochais C.; Lecoutey C.; Sopkova-de Oliveira Santos J.; Ballandonne C.; Butt-Gueulle S.; Legay R.; Since M.; Dallemagne P. *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 925-931.
161. Li X.; Yu Y.; Tu Z. *Molecules*, **2021**, *26*, 1202.
162. Durgun M.; Akocak S.; Lolak N.; Topal F.; Koçyiğit U. M.; Türkeş C.; Işık M.; Beydemir Ş. *Chem. Biodiversity*, **2024**, *21*, e202301824.
163. Pan L.; Bi X.; Liu Q. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1251-1286.
164. Mahata P.K.; Syam Kumar U.K.; Sriram V.; Ila H.; Junjappa H. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 2631-2639.
165. Sunduru N.; Agarwal A.; Katiyar S.B.; Nishi.; Goyal N.; Gupta S.; Chauhan M.S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7706-7715.
166. Kuettel S.; Zambon A.; Kaiser M.; Brun R.; Scapozza L.; Perozzo R. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5833-5839.
167. Hu M.K.; Wu L.J.; Hsiao G.; Yen M.H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2277-2282.
168. Spilovska K.; Korabecny J.; Kral J.; Horova A.; Musilek K.; Soukup O.; Drtinova L.; Gazova Z.; Siposova K.; Kuca K. *molecules*, **2013**, *18*, 2397-2418.
169. Chand K.; Rajeshwari.; Candeias E.; Cardoso S.M.; Chaves S.; Santos M.A. *Metallomics*, **2018**, *10*, 1460-1475.
170. Oliveira C.; Bagetta D.; Cagide F.; Teixeira J.; Amorim R.; Silva T.; Garrido J.; Remiao F.; Uriarte E.; Oliveira P.J.; Alcaro S.; Ortuso F.; Borges F. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *174*, 116-129.
171. Bourne Y.; Grassi J.; Bougis P.E.; Marchot P. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 30370-30376.
172. Mallender W.D.; Szegletes T.; Rosenberry T.L. *Biochemistry*, **2000**, *39*, 7753-7763.
173. Zhang L.; Li D.; Cao F.; Xiao W.; Zhao L.; Ding G.; Wang Z.Z. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2018**, *21*, 41-49.
174. Jin H.; Nguyen T.; Go M.L. *Med. Chem.* **2014**, *4*, 688-696.
175. Nachon F.; Carletti E.; Ronco C.; Trovaslet M.; Nicolet Y.; Jean N.; Renard P.Y. *Biochem J.* **2013**, *453*, 393-399.
176. Macdonald I.R.; Martin E.; Rosenberry T.L.; Darvesh S. *Biochemistry*, **2012**, *51*, 7046-7053.
177. Clark D.E. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 807-814.
178. Clark D.E. *Drug Discov. Today*, **2003**, *8*, 927-933.
179. <https://molsoft.com/mprop/>
180. Pathania S.; Singh P.K. *Expert Opin. Metab. Toxicol.* **2021**, *17*, 351-354.
181. <https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>
182. <https://www.rcsb.org>
183. Kirkpatrick P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3*, 299.

Biografski podaci o kandidatu:

Mihajlo Krunić rođen je u Beogradu 26. jula 1993. godine. Osnovnu i srednju školu završio je u Beogradu.

Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je školske 2012/13. godine kao redovan student na studijskom programu Hemičar za životnu sredinu. Osnovne akademske studije završio je 2016. godine sa prosečnom ocenom 8,32, a završni rad pod naslovom „Poređenje akumulacije metala u izdancima i četinama tise, jele, i crnog bora tokom 2016. godine” odbranio je pri katedri za primenjenu hemiju 29.9.2016. godine pod mentorstvom prof. dr Ivana Gržetića.

Master akademske studije na studijskom programu Hemija životne sredine upisao je školske 2016/17. godine na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu. Studije je završio prosečnom ocenom 9,25, a master rad pod naslovom „Analiza tri- i tetracikličnih aromatičnih ugljovodonika u vazduhu Beograda primenom četina Atlantskog kedra (*cedrus atlantica*) kao pasivnih uzorkivača”, izrađen pod mentorstvom prof. dr Ivana Gržetića odbranio je 28.9.2018.

Školske 2018/19. godine upisao je doktorske studije na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu. Položio je sve ispite predviđene programom doktorskih studija sa prosečnom ocenom 9,67. Odlukom Veća naučnih oblasti prirodnih nauka od 24.6.2021. godine, prihvaćena je tema doktorske disertacije pod nazivom „Sinteza, *in vitro* i *in silico* ispitivanje novih heterocikličnih sistema kao potencijalnih terapeutskih inhibitora holinesteraza”.

Od 2016. do 2018. godine radio je kao tehnički saradnik na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu, na Katedri za organsku hemiju.

Od 2018. do 2021. godine radio je kao istraživač pripravnik na Univerzitetu u Beogradu – Institutu za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Centar za hemiju.

Od 2021. do danas radi kao istraživač saradnik na Univerzitetu u Beogradu – Institutu za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Centar za hemiju.

Paralelno sa naučno-istraživačkim radom, bio je angažovan u nastavi-držao je vežbe pri Katedri za organsku hemiju Hemijskog fakulteta od marta 2020. godine do juna 2023. godine iz predmeta Organska hemija za – FFH i od marta 2021. godine do juna 2021. godine iz predmeta Organska hemija za – BF.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora **Mihajlo Krunic**

Broj indeksa **DH16/2018**

Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom

**Sinteza, *in vitro* i *in silico* ispitivanje novih heterocikličnih sistema kao potencijalnih
terapeutskih inhibitora holinesteraza**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora **Mihajlo Krunić**

Broj indeksa **DH16/2018**

Studijski program **Hemija**

Naslov rada **Sinteza, *in vitro* i *in silico* ispitivanje novih heterocikličnih sistema kao potencijalnih terapijskih inhibitora holinesteraza**

Mentor **dr Milovan D. Ivanović, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta**

Mentor **dr Ivana I. Jevtić, naučni saradnik Univerziteta u Beogradu – Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju – Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju**

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Sinteza, *in vitro* i *in silico* ispitivanje novih heterocikličnih sistema kao potencijalnih terapeutskih inhibitora holinesteraza

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju, pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

Potpis autora

U Beogradu, _____

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.