

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Katarina B. Komatović

**SINTEZA HIBRIDA AMINOHINOLINA I
ADAMANTANA I NJIHOVA *IN VITRO*
INHIBITORNA AKTIVNOST NA ENZIME OD
ZNAČAJA ZA SIMPTOMATSKU TERAPIJU
ALCHAJMEROVE BOLESTI**

doktorska disertacija

Beograd, 2025

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Katarina B. Komatović

**SYNTHESIS OF AMINOQUINOLINE AND
ADAMANTANE HYBRIDS AND THEIR *IN VITRO*
INHIBITORY ACTIVITY AGAINST ENZYMES OF
IMPORTANCE IN SYMPTOMATIC TREATMENT
OF ALZHEIMER'S DISEASE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2025

Mentori:

dr Mario V. Zlatović, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu –
Hemijski fakultet

dr Dejan M. Opsenica, naučni savetnik, Univerzitet u Beogradu –
Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Institut od nacionalnog
značaja za Republiku Srbiju

Članovi komisije:

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

dr Zorana B. Ferjančić, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu –
Hemijski fakultet

dr Anita Bosak, naučni savetnik, Institut za medicinska istraživanja i
medicinu rada, Zagreb, Hrvatska

Datum odbrane:

Ova teza izrađena je u sklopu projekta HrZZ-IP-2020-02-9343 („Razvoj bioaktivnih molekula za tretman neurodegenerativnih bolesti”) pod vodstvom dr. sc. Anite Bosak

Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za organsku hemiju, Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta i delom u istraživačkoj grupi dr Anite Bosak u Zavodu za toksikologiju, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu, a u okviru projekta „Razvoj bioaktivnih molekula za tretman neurodegenerativnih bolesti” (HrZZ-IP-2020-02-9343).

Zahvaljujem se mentorima, dr Mariju Zlatoviću i dr Dejanu Opsenici, na saradnji ispunjenoj korisnim savetima i pruženoj podršci tokom izrade i pisanja disertacije. Iskreno hvala dr Dejanu Opsenici na prenetom znanju, produktivnim diskusijama i udruženom prevazilaženju izazova eksperimentalnog rada.

Posebno bih se zahvalila dr Dušanu Sladiću, mentoru studija, na uvek spremnim vrednim savetima.

Hvala članovima Komisije, dr Deani Andrić, dr Zorani Ferjančić i dr Aniti Bosak, na sugestijama i savetima koji su unapredili ovu disertaciju.

Upućujem zahvalnost kolegama sa Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu, dr Aniti Bosak, dr Ani Matošević i Mariji Bartolić na prilici da učestvujem u izvođenju testova sa holinesterazama i pomoći koju su mi pružile tom prilikom, dr Suzani Žunec na rezultatima antioksidativnog potencijala i dr Nikoli Marakoviću na molekulskim doking-studijama, čiji je deo uradio i dr Mario Zlatović.

Zahvaljujem se dr Sandri Šegan na urađenim eksperimentima određivanja lipofilnosti i, iznad svega, izuzetno prijatnoj saradnji.

Hvala kolegicama dr Nataši Terzić-Jovanović i Andriani Stoilković za prvenstveno prijateljsku, a zatim i radnu atmosferu u laboratoriji 468 i pruženu pomoć i podršku uvek kada je bilo potrebno. Takođe, dr Nataši Terzić-Jovanović veliko hvala na ustupljenim jedinjenjima i uvođenju u hemiju adamantana.

Želela bih da se zahvalim saradnicima Centra za instrumentalnu analizu na svim snimljenim spektrima i urađenim analizama.

Najveću zahvalnost zaslužuje moja porodica. Hvala vam, posebno najmlađem članu, na razumevanju, strpljenju, brizi, veri i ljubavi.

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem baka Ici, nastavila sam niz.

SINTEZA HIBRIDA AMINOHINOLINA I ADAMANTANA I NJIHOVA *IN VITRO* INHIBITORNA AKTIVNOST NA ENZIME OD ZNAČAJA ZA SIMPTOMATSKU TERAPIJU ALCHAJMEROVE BOLESTI

SAŽETAK

Multifaktorska priroda Alchajmerove bolesti, neizlečivog neurodegenerativnog poremećaja, ukazala je na potrebu za razvojem višedirekcionih liganada. Cilj ovog rada je bio ispitivanje hibrida 4-aminohinolina i adamantana kao liganada usmerenih prema više meta značajnih u terapiji bolesti.

Tokom izrade ove doktorske disertacije dizajnirano je i sintetisano 29 hibrida 4-aminohinolina i adamantana, primenom reakcija opisanih u literaturi i optimizacijom sintetskog puta. Modifikacije hibrida su izvršene promenom strukture linkera, supstituenta u položaju C(7) na hinolinu, okruženja terminalne amino-grupe i funkcionalizacijom adamantana. Uz ustupljene hibride, ukupno 38 jedinjenja je ispitano kao višedirekциони ligandi. Sva testirana jedinjenja su reverzibilno *in vitro* inhibirala holinesteraze. Najaktivniji inhibitori su **41** ($K_i = 0,075 \mu\text{M}$ za *hAChE*; $K_i = 0,091 \mu\text{M}$ za *hBChE*) i **67** ($K_i = 0,097 \mu\text{M}$ za *hAChE*; $K_i = 0,082 \mu\text{M}$ za *hBChE*). Hibrid **49** je pokazao dobar *in vitro* antioksidativni kapacitet, dok su **47**, **48**, **61** i **67** blagi antioksidanti. Prilikom ispitivanja sposobnosti helatacije biometala odabranih hibrida, **71** je kompleksirao jone Cu, Zn i Fe, a **41**, **62**, **67**, **72** i **73** su kompleksirali jone Cu i Fe. Molekulskim dokingom **41** predviđen je dualni način vezivanja za obe holinesteraze. Kod **72**, **73** i **74** se predviđa da supstituent na adamantil-grupi specifičnim interakcijama određuje način vezivanja za acetilholin-esterazu. Prema *in silico* izračunatim fizičko-hemijskim svojstvima svih ispitivanih hibrida, njih devet se smatra oralno aktivnim i poseduje umeren potencijal prolaska kroz krvno-moždanu barijeru.

U okviru ove disertacije izdvojili su se inhibitori **41** i **67** kao najperspektivniji hibridi koji poseduju višedirekcionu aktivnost.

Ključne reči: Alchajmerova bolest, hibridi, 4-aminohinolini, adamantan, holinesteraze, antioksidativni potencijal, helatacija, molekulski doking, fizičko-hemijska svojstva

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Organska hemija

SYNTHESIS OF AMINOQUINOLINE AND ADAMANTANE HYBRIDS AND THEIR *IN VITRO* INHIBITORY ACTIVITY AGAINST ENZYMES OF IMPORTANCE IN SYMPTOMATIC TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

ABSTRACT

The multifactorial nature of Alzheimer's disease, an incurable neurodegenerative disorder, has highlighted the need for the development of multi-target directed ligands. The aim of this work was to investigate 4-aminoquinoline and adamantane hybrids as ligands directed towards multiple important targets in disease therapy.

During the work on this PhD, 29 4-aminoquinoline and adamantane hybrids were designed and synthesised, using the literature reactions and optimising the synthetic route. The hybrids were modified by changing the linker structure, the C(7) substituent on quinoline, the terminal amino group encirclement and adamantane functionalisation. Along with the assigned hybrids, a total of 38 compounds were examined as multi-target directed ligands. All of the tested compounds reversibly inhibited cholinesterases *in vitro*. The most active inhibitors are **41** ($K_i = 0.075 \mu\text{M}$ for hAChE; $K_i = 0.091 \mu\text{M}$ for hBChE) and **67** ($K_i = 0.097 \mu\text{M}$ for hAChE; $K_i = 0.082 \mu\text{M}$ for hBChE). Hybrid **49** showed good *in vitro* antioxidant capacity, while **47**, **48**, **61** and **67** are mild antioxidants. In the biometal chelation study of the selected hybrids, **71** complexed Cu, Zn and Fe ions, and **41**, **62**, **67**, **72** and **73** complexed Cu and Fe ions. Molecular docking predicts that **41** is a dual binding site inhibitor of both cholinesterases. For **72**, **73** and **74**, it is predicted that the adamantyl group substituent determines the mode of binding to acetylcholinesterase through specific interactions. According to the *in silico* calculated physicochemical properties of all tested hybrids, nine of them are considered orally active with a moderate potential to pass the blood-brain barrier.

Within this dissertation, inhibitors **41** and **67** were singled out as the most promising multi-target directed hybrids.

Key words: Alzheimer's disease, hybrids, 4-aminoquinolines, adamantane, cholinesterases, antioxidative potential, chelation, molecular docking, physicochemical properties

Scientific field: Chemistry

Scientific subfield: Organic Chemistry

LISTA SKRAĆENICA

4AQ	4-aminohinolin
4,7-DCQ	4,7-dihlorhinolin
7CF34CQ	4-hlor-7-(trifluormetil)hinolin
AB	Alchajmerova bolest
ACh	acetilholin
AChE	acetilholin-esteraza
ACN	acetonitril
Ad	adamantan
APP	amiloid prekursor protein („ amyloid precursor protein “)
ATCh	acetiltioholin
Aβ	β -amiloid
BACE1	β -sekretaza
hBACE1	humana β -sekretaza
BChE	butirilholin-esteraza
BHT	butilovani hidroksitoluen
Bn	benzil
Boc	<i>tert</i> -butiloksikarbonil
CAS	katalitičko aktivno mesto („ catalytic active site “)
Ch	holin
ChAT	holin-acetiltransferaza
ChE	holinesteraze
ChEI	inhibitor holinesteraza
CNS	centralni nervni sistem
CNS MPO	„ CNS multiparameter optimized algorithm “
CoA	koenzim A
DCE	1,2-dihloretnan
DCM	dihlormetan
DF	<i>dry-flash</i> hromatografija na stubu
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	dimetil-sulfoksid
DNK	dezoksiribonukleinska kiselina
DTNB	5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoeva kiselina
EA	etil-acetat
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid
eeAChE	AChE iz električne jegulje (<i>Electrophorus electricus</i>)
EMA	Evropska agencija za lekove („ European Medicines Agency “)
eqBChE	BChE iz konjskog seruma („ equine serum “)
FDA	Uprava za hranu i lekove („ Food and Drug Administration “)
FRAP	„ ferric reducing antioxidant power “
Gly	glicin
hAChE	humana acetilholin-esteraza
HBA	akceptor vodonične veze
hBChE	humana butirilholin-esteraza
HBD	donor vodonične veze
hMAO	humana monoamin-oksidaza
HOBt	hidroksibenzotriazol
HRMS	masena spektrometrija visoke rezolucije

IC₅₀	koncentracija inhibitora potrebna za inhibiciju enzima od 50%
K_a	konstanta disocijacije kiseline
K_i	konstanta disocijacije kompleksa enzim-ligand (konstanta inhibicije)
K_{i,app}	prividna konstanta inhibicije
K_s	konstanta disocijacije kompleksa enzim-supstrat
LAH	litijum-aluminijumhidrid
log D	logaritamski koeficijent distribucije pri određenoj pH
log P	logaritamski particioni koeficijent 1-oktanol/voda
L-Pro	L-prolin
L-Trp	L-triptofan
M1	muskarinski acetilholinski receptor
MAO	monoamin-oksidaža
MTDL	višedirekcionni ligandi („ multi-target directed ligands “)
Mw	molarna masa
nAChR	nikotinski acetilholinski receptor
NFK	neurofibrilarna klubad
NMDA	N-metil-D-aspartat
NMDAR	NMDA receptor
PAS	periferno anjonsko mesto („ peripheral anionic site “)
PCC	piridinijum-hlorhromat
PDB	Proteinska banka podataka („ Protein Data Bank “)
Ph	fenil
RB	rotabilna veza
RNK	ribonukleinska kiselina
ROS	reaktivne kiseonične vrste („ reactive oxygen species “)
SZO	Svetska zdravstvena organizacija
tcAChE	AChE iz pacifičke električne raže (<i>Torpedo californica</i>)
TCh	tioholin
TFA	trifluorsirćetna kiselina
THF	tetrahirdofuran
TLC	tankoslojna hromatografija
TPSA	topološka ukupna polarna površina
TPTZ	tripiridiltriazin
%Akt	procenat aktivnosti
%Inh	procenat inhibicije

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	2
2.1. ALCHAJMEROVA BOLEST	2
2.1.1. Patogeneza Alchajmerove bolesti	3
<i>Amiloidna hipoteza</i>	3
<i>Tau-hipoteza</i>	4
<i>Holinergička hipoteza</i>	5
<i>Dishomeostaza biometala</i>	6
<i>Oksidativni stres</i>	7
<i>Ekscitotoksičnost</i>	7
<i>Neuroinflamacija</i>	7
2.1.2. Terapija Alchajmerove bolesti	7
2.2. RAZVOJ VIŠEDIREKCIONIH LEKOVA ZA ALCHAJMEROVU BOLEST	8
<i>Inhibicija ChE i Aβ-agregacije</i>	9
<i>Inhibicija ChE i MAO</i>	10
<i>Inhibicija ChE i Aβ-agregacije i antioksidativna aktivnost</i>	11
<i>Inhibicija ChE i Aβ-agregacije i helatacija biometala</i>	12
<i>Inhibicija ChE i antiinflamacija</i>	12
<i>Inhibicija ChE i NMDA receptora</i>	13
2.3. HINOLIN – PRIVILEGOVANA FARMAKOFORA	14
2.3.1. Razvoj derivata hinolina za primenu u terapiji Alchajmerove bolesti	14
3. NAŠI RADOVI	17
3.1. SINTEZA	19
3.1.1. Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana različitih struktura bočnog niza	19
<i>Jedinjenja normalnog i račvastog alkil-niza</i>	20
<i>Jedinjenja sa prstenom u bočnom nizu</i>	20
3.1.2. Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana sa <i>n</i> -oktilenskim bočnim nizom	24
<i>Jedinjenja sa dodatnim supstituentom na terminalnoj amino-grupi</i>	25
<i>Jedinjenja sa funkcionalizovanom adamantanskom jedinicom</i>	27
3.1.3. Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana sa amidnom funkcionalnom grupom u bočnom nizu	29
3.2. ISPITIVANJE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI	33
3.2.1. Određivanje <i>in vitro</i> inhibitorne aktivnosti prema holin-esterazama	33
<i>Hibridi aminohinolina i adamantana različitih struktura bočnog niza</i>	33
<i>Hibridi aminohinolina i adamantana sa n-oktilenskim bočnim nizom</i>	38
<i>Hibridi aminohinolina i adamantana sa amidnom funkcionalnom grupom u bočnom nizu</i>	42

3.2.2. Određivanje <i>in vitro</i> antioksidativnog potencijala	43
3.2.3. Ispitivanje sposobnosti helatacije biometala	44
3.3. MOLEKULSKO MODELOVANJE INTERAKCIJA ENZIM–SUPSTRAT	46
3.3.1. Molekulski doking jedinjenja 41 u strukturu AChE i BChE	46
3.3.2. Molekulski doking jedinjenja 72 , 73 i 74 u strukturu AChE	47
3.4. ANALIZA FIZIČKO-HEMIJSKIH SVOJSTAVA	49
3.4.1. Izračunavanje pKa i zastupljenost protonovanih vrsta	49
3.4.2. Ispitivanje potencijala primene kao leka („druglikeness”)	50
3.4.3. Predviđanje prolaska kroz krvno–moždanu barijeru	52
3.4.4. Hromatografsko određivanje lipofilnosti	53
4. EKSPERIMENTALNI DEO	55
4.1. PROCEDURE ZA SINTEZU I SPEKTRALNI PODACI	56
4.1.1. Opšte procedure	56
4.2. PROTOKOLI ZA BIOLOŠKO ISPITIVANJE	88
4.2.1. Inhibicija humanih holin-esteraza	88
4.2.2. Antioksidativna aktivnost	89
4.2.3. Helatacija biometala	90
4.3. MOLEKULSKE DOKING-STUDIJE	90
4.4. ODREĐIVANJE LIPOFILNOSTI	90
5. ZAKLJUČAK	92
6. LITERATURA.....	94
7. PRILOG I	100

1. UVOD

Alchajmerova bolest je fatalno, neurodegenerativno oboljenje, sa sve bržim porastom broja obolelih. Zahtevna nega pacijenata, praćena fiziološkim, socijalnim i ekonomskim izazovima, označila je Alchajmerovu bolest kao jedan od najznačajnijih svetskih zdravstvenih problema. Od četiri odobrena leka koja se koriste u simptomatskoj terapiji, tri su inhibitori acetilholin-esteraze, te je pomenut enzim favorizovana meta u tretmanu bolesti. Složena etiopatogeneza istakla je značaj višedirekcionu strategiju i razvoja hibridnih jedinjenja, u borbi sa ovim poremećajem.

Predmet istraživanja ove doktorske disertacije je racionalni razvoj novih hibrida 4-aminohinolina i adamantana. Postavljeni ciljevi su sinteza jedinjenja i ispitivanje njihove *in vitro* biološke aktivnosti prema više meta od značaja za simptomatsku terapiju Alchajmerove bolesti, zatim molekulska modelovanje i analiza fizičko-hemijskih osobina.

Ova doktorska disertacija je podeljena na tri dela:

- ❖ **Opšti deo**, sa predstavljenim aktuelnim podacima o Alchajmerovoj bolesti, opisom patogeneze i pregledom literature koja se odnosi na višedirekcionu pristup u terapiji.
- ❖ **Naši radovi**, u kojima je izloženo sledeće: 1) prikaz sinteze hibrida 4-aminohinolina i adamantana; 2) rezultati ispitivanja biološke aktivnosti *in vitro* (inhibitorna aktivnost prema holinesterazama, antioksidativni potencijal i sposobnost helatacije biometala); 3) molekulska modelovanje interakcija enzim-supstrat (najpotentnijih inhibitora); 4) analiza *in silico* izračunatih fizičko-hemijskih svojstava i eksperimentalno određene lipofilnosti.
- ❖ **Eksperimentalni deo**, gde su detaljno opisane procedure za sintezu i dati spektralni podaci jedinjenja sintetisanih tokom izrade disertacije, kao i primenjeni protokoli za biološko ispitivanje i molekulska modelovanje.

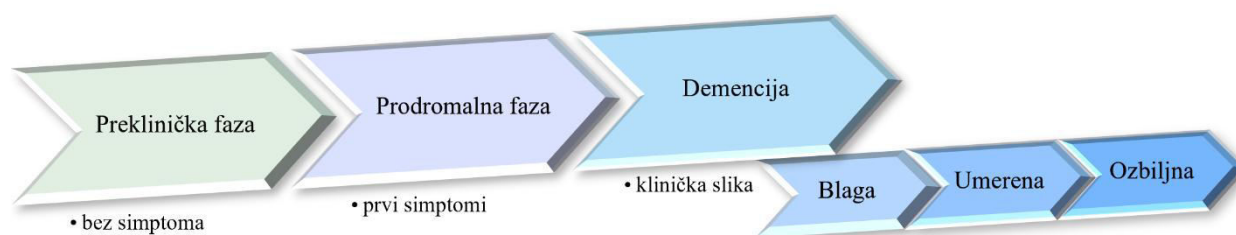
Završni deo disertacije obuhvata **zaključak** i **spisak literature** koja je korišćena, nakon čega slede **Prilog I**, u kom su sadržani dodatni podaci, i **Prilog II**, u obliku CD-a sa spektrima svih sintetisanih jedinjenja.

2. OPŠTI DEO

2.1. ALCHAJMEROVA BOLEST

Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO), više od 55 miliona ljudi je pogođeno demencijom, koja se smatra sedmim po redu uzrokom smrti širom sveta.¹ Demencija je posledica različitih bolesti, čija su zajednička obeležja razvoj progresivne neurodegeneracije i pad kognitivnih sposobnosti. Jedna od njih je Alchajmerova bolest (AB), kojoj se pripisuje 60–80% svih slučajeva demencije.¹

Alchajmerova bolest je multifaktorsko i fatalno oboljenje. Odlikuju je promene u moždanom tkivu, koje tokom napredovanja bolesti dovode do oštećenja ili smrti nervnih ćelija. Kada su zahvaćeni delovi mozga odgovorni za kognitivne funkcije, i godinama nakon početka bolesti, javljaju se klinički simptomi kao što su: gubitak pamćenja, otežana konverzacija, dezorijentisanost, konfuzija, promene u ponašanju, depresija, a kasnije i problemi sa govorom, gutanjem i hodaњem.² Kontinuum Alchajmerove bolesti predstavlja vremenski okvir u kome se oboljenje razvija, od promena u mozgu, neprimetnih za obolelu osobu – preklinička faza, preko blagog kognitivnog oštećenja – prodromalna faza, do promena koje dovode do poremećaja pamćenja i na kraju fizičke nesposobnosti – demencija različitog stepena (slika 1).³ Trajanje svake faze je kod pacijenata individualno i, između ostalog, zavisi od godina starosti, genetike, pola.⁴ Ključan stadijum za terapijsku intervenciju jeste prodromalna faza, kada se, sa pojavom ranih simptoma blagog kognitivnog oštećenja, može blagovremeno izvršiti dijagnostika i potencijalno sprečiti dalji napredak bolesti.⁵



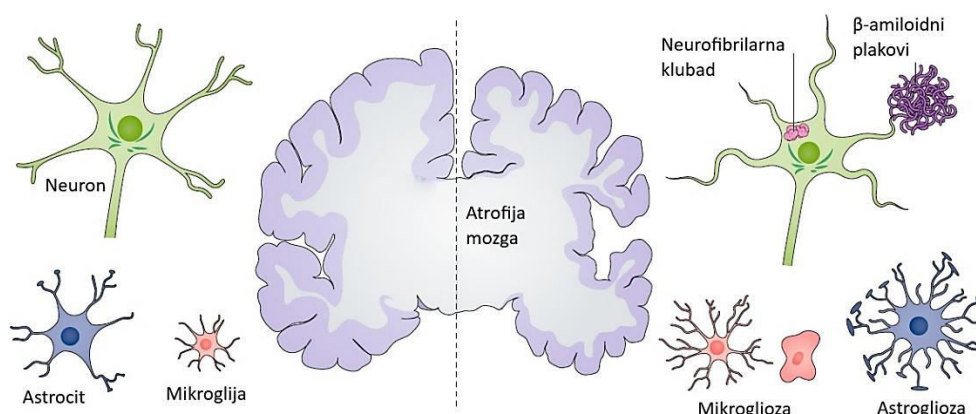
Slika 1. Kontinuum Alchajmerove bolesti. Prilagođeno iz: Alzheimer's Association Report. 2021 Alzheimer's Disease Facts and Figures, *Alzheimer's Dementia* **2021**, 17, 327-406.

Kao glavni faktori rizika za razvoj Alchajmerove bolesti izdvajaju se starije životno doba, genetske promene i slučajevi obolelih u porodici. Činioci koji mogu uticati na razvoj kardiovaskularnih oboljenja se takođe dovode u vezu sa povećanim rizikom za pojavu demencije.⁶ S druge strane, primeri faktora rizika na koje se može uticati su fizička, socijalna i mentalna aktivnost, zatim ishrana i edukacija.⁷

Zbog sve bržeg porasta broja zabeleženih slučajeva i kompleksne zdravstvene nege koja je neophodna pacijentima, AB predstavlja značajan svetski problem, kako socijalne, tako i ekonomske prirode. Do danas nije razvijena terapija koja deluje na uzroke bolesti ili koja može dovesti do potpunog izlečenja. Lekovi koji su trenutno u upotrebi su ograničeni na usporavanje progresije bolesti ili ublažavanje simptoma.³ Shodno tome, poznavanje patogeneze predstavlja ključ za razvoj novih terapijskih sredstava i uspešne borbe sa ovom bolešću.⁵

2.1.1. Patogeneza Alchajmerove bolesti

Multifaktorska priroda Alchajmerove bolesti se ogleda u nekoliko identifikovanih patoloških obeležja, koja se smatraju odgovornim za progresiju bolesti (slika 2). Ekstracelularno formiranje β -amiloidnih plakova i intracelularna akumulacija hiperfosforilovanog tau-proteina u neurofibrilarnu klubad, glavne su patohistološke promene, koje na kraju dovode do oštećenja sinapsi i gubitka neurona.^{5,8} Posledice različitih promena u biohemijskim procesima su smanjenje koncentracije neurotransmitera acetilholina, zatim narušena homeostaza biometala, oksidativni stres, neuroinflamacija i drugo.⁸ Glavno obeležje bolesti na anatomskom nivou jeste atrofija mozga. Ipak, tačan uzrok pojave ovog oboljenja nije pouzdano utvrđen. Zbog složene i nerazjašnjene etiologije, razvijeno je više različitih hipoteza o nastanku bolesti. U nastavku će biti opisane hipoteze čiji mehanizmi uključuju favorizovane mete, kako u trenutnoj terapiji, tako i u razvoju novih lekova.



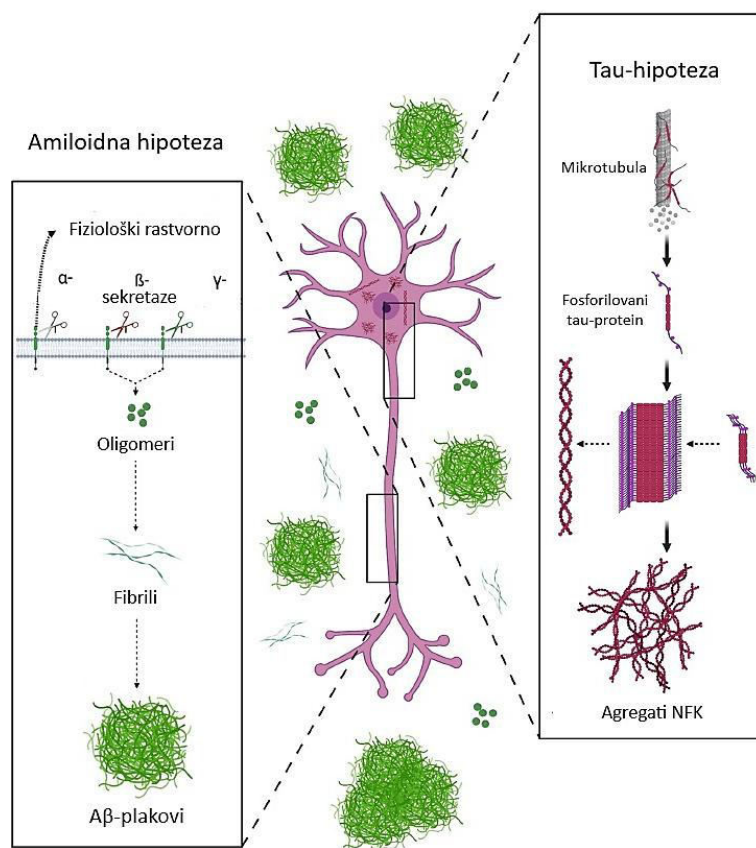
Slika 2. Patološka obeležja Alchajmerove bolesti: atrofija mozga, neuroinflamacija i pojava neurofibrilarne klubadi i β -amiloidnih plakova. Izvor originalne slike: Congdon E.E., Sigurdsson E.M., *Nat. Rev. Neurol.* **2018**, 14, 399-415. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0013-z>.

Amiloidna hipoteza

β -Amiloidni ($A\beta$) peptidi nastaju sekvencionim dejstvom β - sekretaza i γ -sekretaza, koje vrše proteolizu transmembranskog proteina APP („amyloid precursor protein”), najviše prisutnog u sinapsama nervnih ćelija.⁸ Kod AB dominira navedena hidroliza APP-a, sa najzastupljenijim izoformama $A\beta_{40}$ i $A\beta_{42}$, a produkcija veće količine $A\beta$ -peptida nego što se uklanja iz organizma, posledično dovodi do neravnoteže.⁵ Njihovim nakupljanjem dolazi do procesa samoagregacije, koji započinje konformacionim promenama u monomerima i nastavlja se formiranjem oligomera, zatim fibrila i na kraju plakova (slika 3).⁸ Nataloženi toksični $A\beta$ -plakovi u ekstracelularnom prostoru se vide kao histološke lezije u moždanom tkivu, što je karakteristično kod obolelih, i prvobitno su se smatrali ključnim uzročnikom Alchajmerove bolesti.⁹ Istraživanja su zatim preusmerila pažnju na rastvorne $A\beta$ -oligomere, rasprostranjene u mozgu, koji interakcijom sa različitim receptorima mogu podstaći zapaljenske procese, proizvodnju reaktivnih kiseoničnih vrsta („reactive oxygen species”, ROS) ili hiperfosforilaciju tau-proteina, te su prepoznati kao važan patološki agens.^{10,11} Danas se smatra da je više formi $A\beta$ -peptida odgovorno za pojavu demencije.

Na osnovu amiloidne hipoteze, favorizovana meta dugo su bili amiloidni plakovi, a kandidati za lekove su razvijani sa ciljem razlaganja i uklanjanja formiranih plakova. Međutim, nijedan od malih molekula kandidata nije pokazao klinički značajne rezultate.¹² Drugi pristupi podrazumevaju razvoj inhibitora agregacije i različite tipove imunoterapije – antitela, u čijem razvoju je nedavno

postignut uspeh, i vakcine.¹⁰ Još jedna obećavajuća meta delovanja lekova je β -sekretaza (BACE1), enzim od koga zavisi nastanak A β -peptida.¹³



Slika 3. Shematski prikaz amiloidne i tau-hipoteze. Izvor originalne slike: Esquer A., Blanc F., Collongues N., *Neurol. Ther.* **2023**, 12, 1883-1907. <https://doi.org/10.1007/s40120-023-00541-1>.

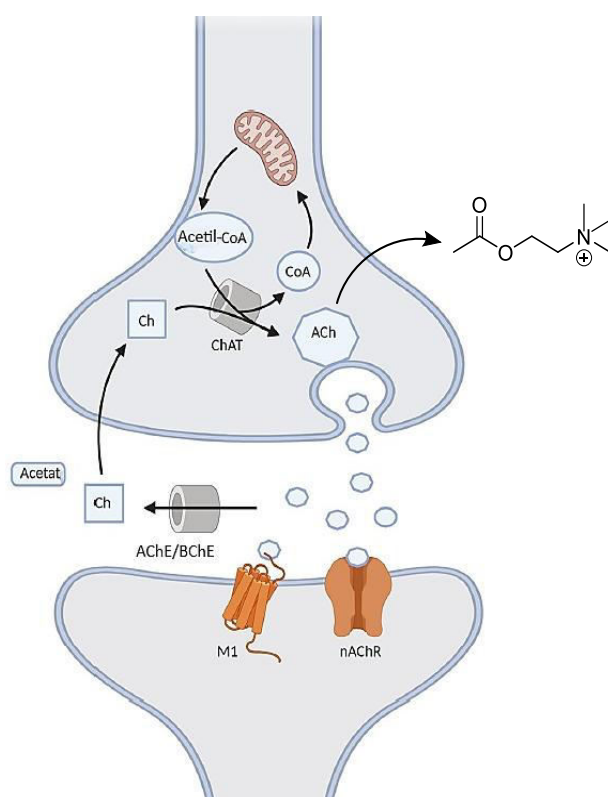
Tau-hipoteza

Tau-protein je rasprostranjen u aksonima neurona i ima ključnu ulogu u stabilizaciji mikrotubula, važnih činioca citoskeleta.¹⁴ Nađeno je da je ovaj protein, u neprirodno fosforilovanom obliku, prisutan u nekoliko puta višim koncentracijama kod pacijenata obolelih od AB, nego u zdravom moždanom tkivu i označen je kao biohemijski marker u neurofibrilarnoj patologiji oboljenja.¹⁵ Hiperfosforilacijom se menja konformacija tau-proteina, čime on gubi svoju funkciju vezivanja za mikrotubule i podleže agregaciji, gradeći nerastvornu neurofibrilarnu klubad (NFK) unutar neurona (slika 3).¹⁶ Ovo je drugi tip neuropatoloških lezija u kliničkoj slici. Posledice su disfunkcija i smrt nervnih ćelija, potom pojava neurodegeneracije i na kraju demencija.^{8,12b} Nakon razvoja tau-teorije, postavilo se pitanje stvarne povezanosti A β -peptida sa tau-proteinom, koji je ubrzo stavljen u centar patogeneze AB.^{12b}

Tau-protein je postao perspektivna terapijska meta, gde se otvaraju mogućnosti delovanja u fazi agregacije, zatim na stabilizaciju mikrotubula ili uticanja na kinaze i fosfataze, koje diriguju modifikacije tau-proteina.¹⁶

Holinergička hipoteza

Holinergički sistem je uključen u procese kao što su pažnja, učenje, pamćenje, budnost, spavanje i odgovor na stres. Činioci holinergičke transmisije su prikazani na slici 4. U presinaptičkom neuronu, dejstvom enzima holin-acetiltransferaze (ChAT), nastaje neurotransmiter acetilholin (ACh), koji se dolaskom nervnog impulsa oslobađa u sinaptičku pukotinu i zatim vezuje za holinergičke receptore postsinaptičkog neurona (muskarinski acetilholinski receptori, M1 i nikotinski acetilholinski receptori, nAChR). Time se nastavlja prenos nervnog impulsa, a potom vrši hidroliza prisutanog ACh u sinaptičkoj šupljini, pomoću enzima acetilholin-esteraze (AChE).¹⁷ Kod Alchajmerove bolesti je primećen veliki gubitak holinergičkih neurona, kao i smanjena aktivnost ChAT, čije su posledice nedostatak ACh u moždanom tkivu obolelih i dalja progresija demencije.¹⁸ Smanjenoj količini ACh doprinosi i pojačana aktivnost AChE, koja je zabeležena u regionima oko amiloidnih plakova i NFK.¹⁹ Takođe se smatra da, osim gubitka holinergičkih neurona i anomalije u sintezi, transportu i otpuštanju ACh i ekspresiji holinergičkih receptora, utiču na pojavu psihičkih poremećaja i poremećaja u ponašanju, karakterističnih kod obolelih.^{8,18}



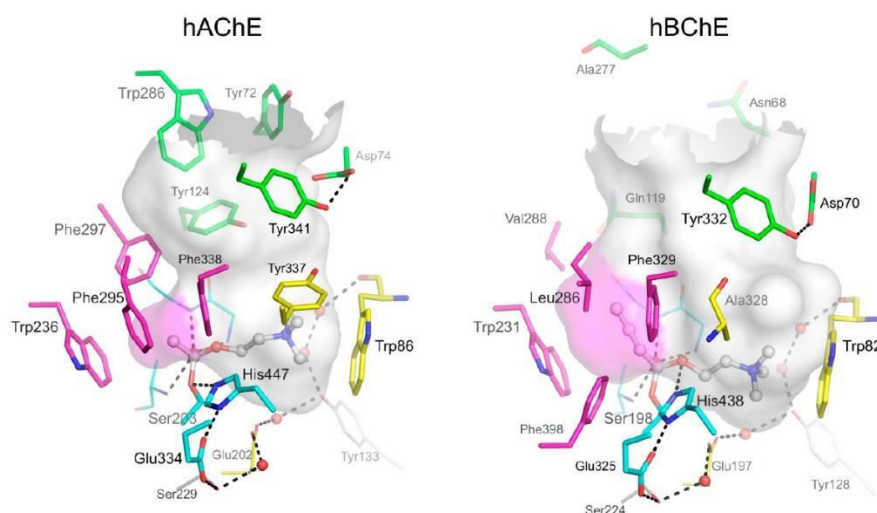
Slika 4. Shematski prikaz procesa transmisije u holinergičkoj sinapsi. Izvor originalne slike: Pozzi F.E., Conti E., Appollonio I., Ferrarese C., Tremolizzo L., *Front. Neurosci.* **2022**, *16*, 998224. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.998224>

Istraživanja su pokazala da AChE, pored funkcije u holinergičkim sinapsama, promoviše β -amiloidnu agregaciju. Uočeno je difuzno taloženje ovog enzima zajedno sa $A\beta$ -peptidima, što upućuje na zaključak da rastvorne forme AChE i $A\beta$ -peptida interaguju u ranoj fazi formiranja amiloidnih plakova. Ovo je u skladu sa činjenicom da je u mozgu obolelih smanjena koncentracija ćelijske AChE, dok je izlučeni enzim akumuliran u plakovima.²⁰ Dodatna svojstva nagrađenih $A\beta$ -AChE kompleksa su veća neurotoksičnost i veće dimenzije nego samih $A\beta$ -fibrila.²¹

U centralnom nervnom sistemu (CNS) čoveka prisutna je, u dosta nižim koncentracijama, i druga holinesteraza – butirilholin-esteraza (BChE). Iako ovaj enzim ima sposobnost da hidrolizuje ACh, njegov specifični fiziološki supstrat nije pronađen, te tačna uloga BChE u organizmu ostaje nepoznata.²² Smatra se da deluje kao rezerva za AChE u sinaptičkoj transmisiji i da pruža zaštitu od holinergičkih toksina u krvnoj plazmi. Studije su pokazale da BChE može preuzeti ulogu u hidrolizi ACh, kada je AChE inhibirana ili kada je prisutna neurodegeneracija.^{23,24} Pored toga, zabeležen je neprekidan porast aktivnosti BChE tokom progresije AB.²⁵

Kroz aktivno mesto AChE je raspoređeno 14 aromatičnih amino-kiselina, koje određuju prostor u kome se ostvaruju interakcije sa supstratom ili nekim drugim ligandom. Kod BChE je prisutno 8 aromatičnih i 6 alifatičnih amino-kiselina, te je zapremina aktivnog mesta značajno veća nego kod AChE.²² Aktivno mesto oba enzima čine četiri domena (slika 5): 1) katalitičko aktivno mesto („catalytic active site“, CAS) – sastoji se iz katalitičke trijade, odgovorne za katalizu i oksianjonske šupljine, koja stabilizuje tetraedarsko prelazno stanje; 2) mesto vezivanja holina – usmerava supstrat i stabilizuje pozitivno naelektrisanje kvaternerne amino-grupe; 3) acilni džep –

smešta acilnu grupu holina tokom katalize; 4) periferno anjonsko mesto („peripheral anionic site“, PAS) – pozicionirano na obodu šupljine, reguliše ulazak supstrata i učestvuje u alosternoj inhibiciji.^{8,22}



Slika 5. Aktivno mesto humane acetilholin-esteraze (*hAChE*; PDB ID: 4EY4) i humane butirilholin-esteraze (*hBChE*; PDB ID: 1P0I) sa modelovanim prelaznim stanjem molekulâ supstrata – acetilholina i butirilholina. Plavom bojom je označeno CAS, mesto vezivanja holina je obeleženo žutom bojom, acilni džep ljubičastom, dok je PAS obeležen zelenom bojom. Proteinska banka podataka („Protein Data Bank“, PDB). Izvor slike: Rosenberry T.L., Brazzolotto X., Macdonald I.R., Wandhammer M., Trovaslet-Leroy M., Darvesh S., Nachon F. *Molecules* **2017**, *22*, 2098. <https://doi.org/10.3390/molecules22122098>.

Inhibicija holinesteraza (ChE) je postala osnovni pristup u tretmanu AB. Danas je aktuelan razvoj inhibitora AChE sa dualnim načinom vezivanja, u CAS i PAS. Na taj način, osim povećanja nivoa dostupnog ACh, može se sprečiti i nastanak kompleksa sa A β -peptidima, koji se specifično vezuju upravo preko PAS.^{8,17} S druge strane, inhibitori BChE imaju značajnu ulogu u kasnijim fazama bolesti. Stoga, potencijal leži u što boljem odnosu inhibicije dve holinesteraze, kako bi se povećala terapijska efikasnost.²²

Dishomeostaza biometala

Poremećena homeostaza prirodno prisutnih biometala je odlika AB. U mozgu obolelih je zabeležena povećana koncentracija bakra, cinka i gvožđa, naročito u A β -plakovima.²⁶ A β -peptidi su metaloproteini sa visokim afinitetom prema bakru, nešto nižim afinitetom prema cinku i, u slabo kiselj sredini karakterističnoj za zapaljenske procese, mogu vezati gvožđe.²⁷ Nastali kompleksi dalje promovisu formiranje oligomera i plakova.^{27,28} Takođe, A β -peptidi imaju sposobnost redukcije redoks-aktivnih metala – Cu(II) i u nešto manjoj meri Fe(III), pri čemu se generišu ROS.²⁹ Istraživanja su otkrila složenu ulogu APP i tau-proteina u homeostazi biometala. Ekspresija APP-a, kao i hiperfosforilacija tau-proteina su povezane sa jonima Cu²⁺, Zn²⁺ i Fe²⁺ različitim signalnim putevima i zavise od njihove koncentracije.^{27,28}

Očuvanje homeostaze biometala može predstavljati dodatnu osobinu leka u terapiji. Pored sposobnosti helatacije jona metala, da bi helator efikasno delovao, potrebno je da uspešno prođe kroz krvno-moždanu barijeru, da je specifičan i da ne utiče na normalan metabolizam biometala.³⁰

Oksidativni stres

Mozak je podložniji dejstvu oksidativnog stresa u poređenju sa drugim organima, kako zbog velike potrošnje kiseonika, tako i zbog smanjene antioksidativne aktivnosti.⁸ Oksidativno oštećenje mozga se najvećim delom manifestuje u obliku peroksidacije lipida, jer su nezasićene masne kiseline u moždanom tkivu posebno sklone napadu slobodnih radikala.³¹ Isto tako, dolazi do oksidacije proteina, DNK i RNK, a dodatni faktori pojave oksidativnog oštećenja su A β -agregacija i prekomerno prisustvo pojedinih metala.³² Oksidativno oštećenje se javlja rano u mozgu obolelih i pretpostavlja se da, zajedno sa disfunkcijom mitohondrija, igra ulogu u patogenezi AB.³³ Otkriveno je više signalnih puteva, kojim oksidativni stres utiče na tau i APP proteine.^{33,34} Ishod dejstva oksidativnog stresa je smrt neurona i konačno pojava demencije.

Enzim monoamin-oksidadza (MAO) je odgovoran za oksidativnu deaminaciju monoaminskih neurotransmitera, koja je praćena oslobađanjem hidrogen-peroksida – činioca oksidativnog stresa. U moždanom tkivu obolelih je zabeležena povećana aktivnost izoenzima MAO-B.³⁵ Kasnijim istraživanjima je uočena veza između MAO-B i γ -sekretaza u neuronima.³⁶ Stoga, u okviru hipoteze oksidativnog stresa, pored razvoja lekova sa antioksidativnom aktivnošću, uočen je i MAO-B kao terapijska meta u borbi protiv neurodegeneracije.

Ekscitotoksičnost

Glutamat je najznačajniji ekscitatorni neurotransmiter koji, kada je vezan za jonotropne *N*-metil-D-aspartatne (NMDA) receptore, kontroliše ulazak jona Ca²⁺ u neurone. Kod Alchajmerove bolesti je primećeno povećano prisustvo glutamata u glutamatergičkim sinapsama i prekomerna stimulacija NMDA receptora, što dovodi do pojačanog influksa Ca²⁺ jona. Nakupljanje intracelularnog kalcijuma inicira procese kao što su: proizvodnja ROS, ometanje funkcije mitohondrija, remećenje nervne transmisije, a krajnji rezultat je ekscitotoksično oštećenje neurona.^{8,17} Hipoteza ekscitotoksičnosti izazvane glutamatom još jednom je istakla važnost regulacije neurotransmitera, kao jedan od važnih vidova terapije kognitivnih simptoma.¹⁷

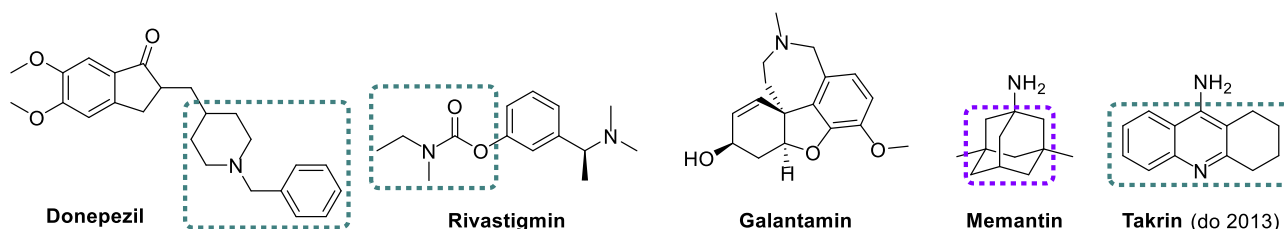
Neuroinflamacija

Zapaljenje nervnog tkiva je značajna odlika Alchajmerove bolesti. Primećeno je da su amiloidni plakovi i NFK okruženi aktiviranim mikroglijama i reaktivnim astrocitima, koji učestvuju u inflamatornom odgovoru.³⁷ Kada mikroglije, imunske ćelije CNS-a koje deluju kao inicijalna odbrana, detektuju stimulišuće signale, morfološki se transformišu i započinju inflamatorni proces.¹⁷ Pojava patoloških faktora u ranoj fazi AB, kao što su A β -peptidi i oksidativni stres, aktivira mikroglije i dolazi do oslobađanja antiinflamatornih medijatora. Kako bolest napreduje, dodatno se promoviše aktivacija mikroglija, one se nakupljaju, postaju disfunkcionalne i oslobađaju proinflamatorne neurotoksične medijatore.³⁷ Istraživanja su ukazala na povezanost neuroinflamacije i sa tau patologijom, a nove studije su usmerene na ispitivanje uticaja crevnog mikrobioma na ovaj proces.¹⁷ Poslednjih godina, u klinička ispitivanja su svrstani i lekovi sa antiinflamatornim dejstvom.^{38,39}

2.1.2. Terapija Alchajmerove bolesti

Ne postoji lek za Alchajmerovu bolest. Terapija koja se danas primenjuje ne dovodi do potpunog izlečenja, već omogućava kvalitetniji života pacijenata, tako što usporava tok bolesti ili pruža simptomatsko olakšanje. Medicinski tretman simptoma je usmeren ka poboljšanju kognitivnih funkcija i lečenju poremećaja bihevioralne i psihičke prirode, koji prate demenciju.⁴⁰ Uprava za hranu i lekove („Food and Drug Administration“, FDA) i Evropska agencija za lekove („European

Medicines Agency“, EMA) su odobrile četiri medikamenta za kliničku upotrebu, koji privremeno ublažavaju simptome povezane sa pamćenjem i razmišljanjem. To su donepezil, rivastigmin, galantamin i memantin (slika 6).^{41,42} Tokom 2024. godine, FDA je odobrila i peti lek za simptomatsku terapiju – benzgalantamin, prolek za galantamin sa blažim neželjenim dejstvom na gastrointestinalni sistem.⁴³ Memantin deluje kao antagonist NMDA receptora (NMDAR), dok ostali navedeni lekovi predstavljaju inhibitore AChE. Treba napomenuti da je prvi odobren inhibitor AChE u terapiji AB bio takrin (slika 6), koji je 2013. godine povučen iz upotrebe zbog hepatotoksičnosti.⁴²

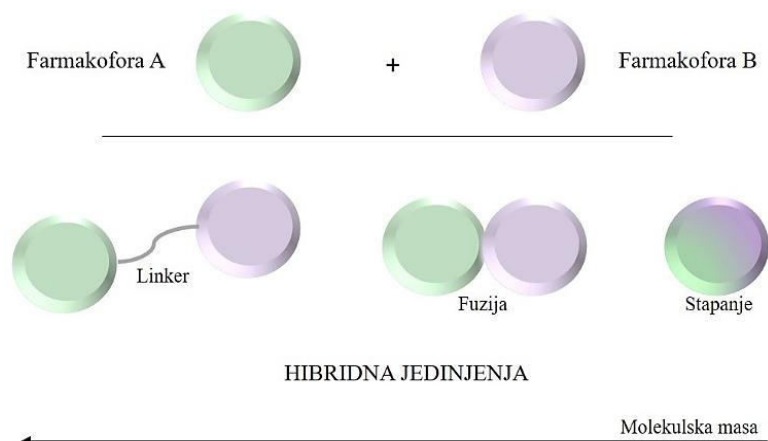


Slika 6. Strukture odobrenih lekova u terapiji Alchajmerove bolesti. Istaknuti fragmenti se smatraju farmakoforama odgovornim za inhibitornu aktivnost prema AChE (obeleženo plavom bojom) i antagonizam NMDAR (obeleženo ljubičastom bojom).⁴⁴

Prvi odobren lek, koji usporava tok bolesti, jeste monoklonsko A β antitelo adukanumab. Nakon što je prošao ubrzanu proceduru FDA 2021. godine, EMA nije dala saglasnost za njegovu upotrebu, da bi kasnije matična farmaceutska kompanija obustavila proizvodnju.⁴² Danas se u terapiji koriste dva nova monoklonska A β antitela – lekanemab, koji je pokazao afinitet prema rastvornim A β -agregatima (odobrenje FDA 2023. godine i EMA 2024. godine) i donanemab, koji se specifično vezuje za A β -plakove (odobrenje FDA 2024. godine).^{41,42} Terapija antitelima je skupa i primenjuje se kod blagog oblika demencije.⁴⁵ Iako su monoklonska antitela pokazala sposobnost razlaganja plakova i usporavanja kognitivnog pada, potrebne su nove i duže kliničke studije, kako bi se dodatno ispitala bezbednost i potvrdila dugoročna efikasnost.⁴²

2.2. RAZVOJ VIŠEDIREKCIONIH LEKOVA ZA ALCHAJMEROVU BOLEST

Savremen pristup u lečenju oboljenja složene etiopatogeneze podrazumeva razvoj hibrida – jedinjenja koja objedinjuju više različitih farmakofora u jednu strukturu. Hibridna jedinjenja mogu interagovati sa više meta („multi-target directed ligands“, MTDL) koje su uključene u patologiju bolesti. Izazovi koje treba prevazići u razvoju hibridnih lekova su porast veličine molekula, koja ima uticaj na bioraspoloživost, mogućnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru i lipofilnost, kao i postizanje zadovoljavajuće aktivnosti prema svakoj od meta.⁴⁶ Različiti pristupi u dizajnu višedirekcionih lekova su prikazani na slici 7. Farmakofore mogu biti povezane bočnim nizom (linker), čime njihova struktura ostaje očuvana, ali dolazi do značajnog povećanja molekulske mase



Slika 7. Pristupi u dizajnu višedirekcionih lekova sa dve farmakofore. Prilagođeno iz: F. Mesiti, D. Chavarria, A. Gaspar, S. Alcaro, F. Borges, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *181*, 111572 i M. M. Martins, P. S. Branco, L. M. Ferreira, *ChemistrySelect*, **2023**, *8*, e202300461.

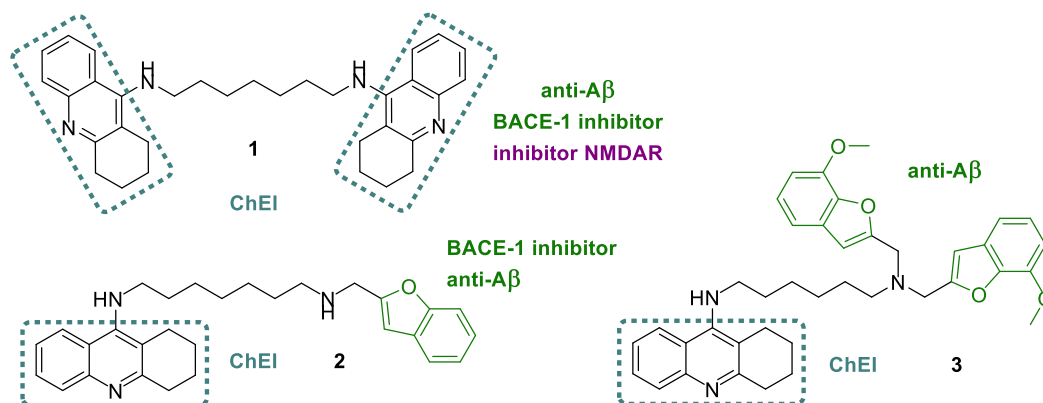
hibridnih jedinjenja. Ona se može smanjiti direktnim spajanjem farmakofora (fuzija) i tada su u nastalom hibridu prisutni odabrani strukturni delovi polaznih bioaktivnih molekula. Konačno, farmakofore se mogu preklopiti (stapanje), tako da rezultujući hibrid sadrži samo značajne fragmente polaznih jedinjenja, što s druge strane najmanje utiče na molekulsku masu.^{44,47} Ciljevi terapijske upotrebe MTDL su povećanje efikasnosti, produženje dejstva i smanjenje doze leka. Dodatno, u odnosu na kombinovanu terapiju, umanjio bi se broj neželjenih dejstava i izbegle moguće interakcije između više lekova.¹⁷

U borbi protiv Alchajmerove bolesti, višedirekciona strategija omogućava razvoj lekova koji bi istovremeno uticali na više identifikovanih patoloških mehanizama ovog multifaktorskog poremećaja. U nastavku, sledi pregled reprezentativnih primera sintetičkih hibrida, zasnovanih na strukturi klinički odobrenih inhibitora holinesteraza (ChEI), u kombinaciji sa strukturnim motivima čija je biološka aktivnost takođe od značaja u tretmanu AB. Iako više nije u upotrebi, i takrin predstavlja značajan polazni motiv za dizajn novih hibrida, sa akcentom na poboljšanje farmakološkog profila.⁴⁸

Inhibicija ChE i Aβ-agregacije

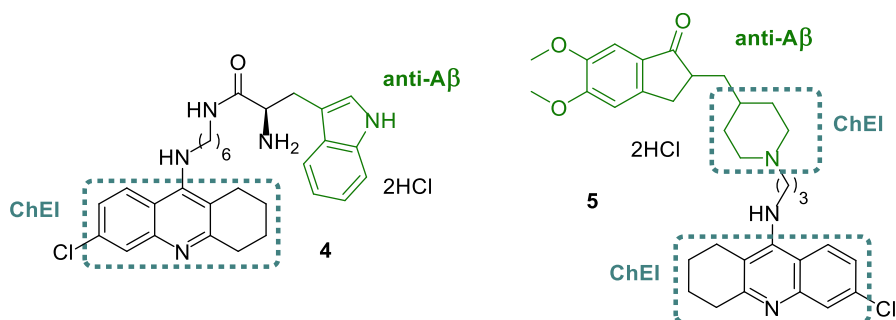
Najzastupljeniji pravac u istraživanjima MTDL predstavlja razvoj hibrida, koji pored inhibitornog dejstva prema ChE, mogu delovati protiv Aβ-agregacije indukovane AChE, protiv samoagregacije Aβ-peptida ili sprečavati nastanak Aβ-peptida inhibirajući BACE1.⁴⁷ Potencijal ovakvog pristupa se ogleda u kombinaciji simptomatske terapije i modifikacije toka bolesti. Nakon otkrića višestruke neuroprotektivne uloge molekula bis(7)-takrina (**1**, slika 8), i to kao inhibitora AChE sa dualnim načinom vezivanja, čime je ostvaren i uticaj na Aβ-agregaciju, zatim kao inhibitora BACE1 i NMDAR, razvijen je veliki broj heterodimera takrina.⁴⁹

Jedan od primera je serija hibridnih jedinjenja, dobijena povezivanjem takrina i benzofurana, koja poseduje inhibitorni potencijal prema humanim (*h*) ChE.⁵⁰ Hibrid **2** (slika 8) se pokazao kao najaktivniji inhibitor *h*AChE ($IC_{50} = 0,86$ nM; $K_i = 0,72$ nM), sa sposobnošću inhibicije *h*BACE1 ($IC_{50} = 1,35$ μM), Aβ-agregacije indukovane *h*AChE (58,4% za $[I] = 100$ μM), kao i samoagregacije Aβ-peptida (61,3% za $[I] = 10$ μM). Takođe, hibrid **2** je pokazao manju hepatotoksičnost u poređenju sa takrinom, kao i *in vivo* aktivnost u miševima, poboljšavajući njihove kognitivne performanse. Među ispitivanim jedinjenjima ove serije, izdvojio se i bis-benzofuranski derivat **3** (slika 8), kao najpotentniji inhibitor *h*BACE1 ($IC_{50} = 0,19$ μM) i jedan od najaktivnijih i najselektivnijih inhibitora *h*BChE ($IC_{50} = 0,48$ nM), ali sa manjim potencijalom inhibicije samoagregacije Aβ-peptida (44,6% za $[I] = 10$ μM).



Slika 8. Strukture hibrida 1-3, inhibitora ChE i A β -agregacije.

Na osnovu istraživanja koja su pokazala da je L-triptofan (L-Trp) važan strukturni fragment u razvoju anti-A β agenasa, sintetisana je serija 6-hlortakrin-Trp heterodimera.⁵¹ Hibrid **4** (slika 9) je označen kao najperspektivniji inhibitor *hAChE* (IC_{50} = 6,3 nM), *hBChE* (IC_{50} = 9,1 nM), samoagregacije A β -peptida (58,6% za [I] = 50 μ M) i A β -agregacije indukovane *hAChE* (48,3% za [I] = 100 μ M). U *in vitro* uslovima je utvrđeno da ovo jedinjenje poseduje kapacitet prolaska kroz krvno-moždanu barijeru, dok je u *in vivo* testovima u pacovima uočen povoljan prokognitivni efekat.



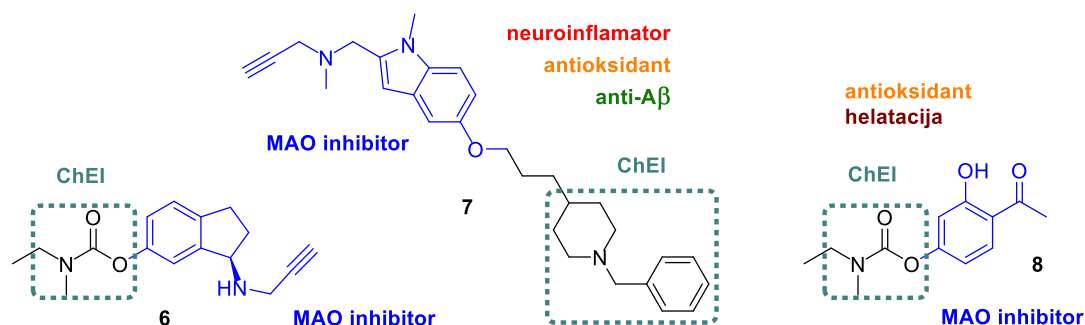
Slika 9. Strukture hibrida **4** i **5**, inhibitora ChE i A β -agregacije.

Jedan od pristupa u dizajnu hibridnih jedinjenja podrazumeva povezivanje farmakofora različitih lekova koji su već u terapijskoj upotrebi. Donepezil, klinički odobren inhibitor AChE, karakteriše dualni način vezivanja i shodno tome mogućnost inhibicije A β -agregacije indukovane ovim enzimom.⁵² Među heterodimerima 6-hlortakrina i donepezila, istakao se hibrid **5** (slika 9), kao izuzetno aktivan i selektivan dualni inhibitor *hAChE* (IC_{50} = 0,27 nM), inhibitor *hBChE* (IC_{50} = 66,3 nM) i inhibitor A β -agregacije indukovane *hAChE* (46,1% za [I] = 100 μ M), što ga čini potentnijim u poređenju sa oba jedinjenja na osnovu kojih je razvijen.⁵³

Inhibicija ChE i MAO

Ladostigil (**6**, slika 10) je hibrid nastao fuzijom farmakofora rivastigmina – AChE inhibitora, i rasagilina – MAO-B inhibitora, za koji je završena faza II kliničkih ispitivanja, sa zaključkom da poseduje potencijal za usporavanje progresije AB.¹⁷ Tokom daljeg istraživanja, razvijen je hibrid **7** (slika 10), sa *N*-benzilpiperidinskim fragmentom iz donepezila i *N*-propargilaminom, koji predstavlja standardni strukturni motiv odgovoran za inhibiciju MAO-B.⁵⁴ Pored inhibitorne aktivnosti prema *hAChE* (IC_{50} = 0,81 μ M) i *hBChE* (IC_{50} = 1,82 μ M), zatim prema *hMAO-A* (IC_{50} = 5,44 nM) i *hMAO-B* (IC_{50} = 177 nM), jedinjenje **7** je pokazalo sposobnost inhibicije A β -agregacije,

antioksidativnu aktivnost i povoljno terapijsko dejstvo na neuroinflamaciju i kognitivne sposobnosti u *in vivo* testovima.

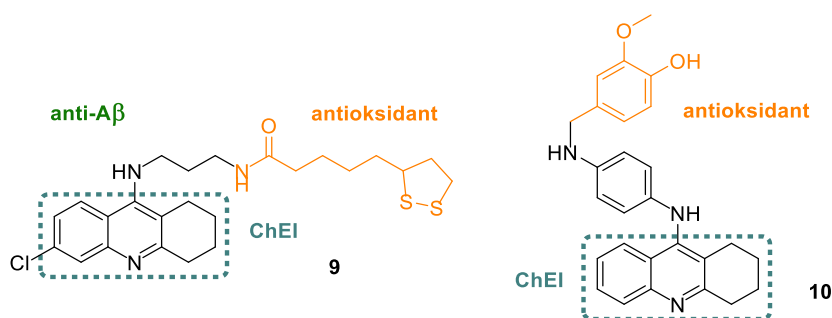


Slika 10. Strukture hibrida 6-8, inhibitora ChE i MAO.

Istraživanja su pokazala da je 2-acetilfenol obećavajući strukturni motiv za dizajn inhibitora MAO-B.⁵⁵ Kombinujući ovaj fragment sa karbamatnom grupom iz rivastigmina, sa ciljem inhibicije obe ChE, dobijen je hibrid **8** (slika 10).⁵⁶ Razvijeno jedinjenje se pokazalo kao selektivan inhibitor *hAChE* ($IC_{50} = 8,7 \mu M$) u odnosu na *hBChE* ($IC_{50} = 35,1 \mu M$) i kao bolji inhibitor *hMAO-B* ($IC_{50} = 2,9 \mu M$) u odnosu na *hMAO-A* ($IC_{50} = 7,3 \mu M$). Dodatno, hibrid **8** je ispoljio antioksidativnu aktivnost i sposobnost helatacije metala.

Inhibicija ChE i Aβ-agregacije i antioksidativna aktivnost

Kombinacija inhibitornog dejstva prema ChE, sa vezivanjem u PAS, i antioksidativnih osobina ostvarena je povezivanjem takrina i liponske kiseline, univerzalnog antioksidanta. Hibrid sa propilenskim nizom u linkeru je lipokrin (**9**, slika 11), čiji je inhibitorni potencijal prema *hAChE* ($IC_{50} = 0,253 nM$) i *hBChE* ($IC_{50} = 10,8 nM$) veći od takrina. Poredeći sposobnost inhibicije formiranja ROS-a (64% za $[I] = 50 \mu M$), aktivniji je od liponske kiseline.⁵⁷ Takođe, lipokrin (**9**) je inhibirao Aβ-agregaciju indukovanu *hAChE* ($IC_{50} = 45,0 \mu M$).

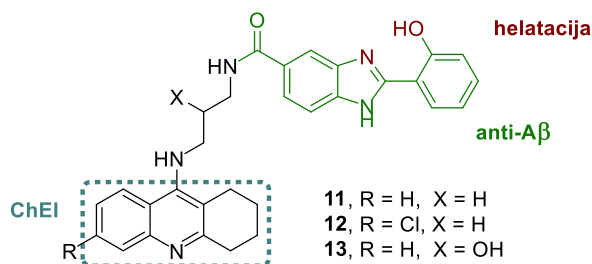


Slika 11. Strukture hibrida 9 i 10, inhibitora ChE i Aβ-agregacije, sa antioksidativnom aktivnošću.

Primenom iste strategije, osmišljen je hibrid **10** (slika 11), izveden iz prirodnog antioksidanta vanilina i takrina, koji je u testovima pokazao veliki antioksidativni potencijal, kao i sposobnost inhibicije *Electrophorus electricus* (*ee*) AChE ($IC_{50} = 2,13 \mu M$) i samoagregacije Aβ-peptida (77,1% za $[I] = 10 \mu M$).⁵⁸

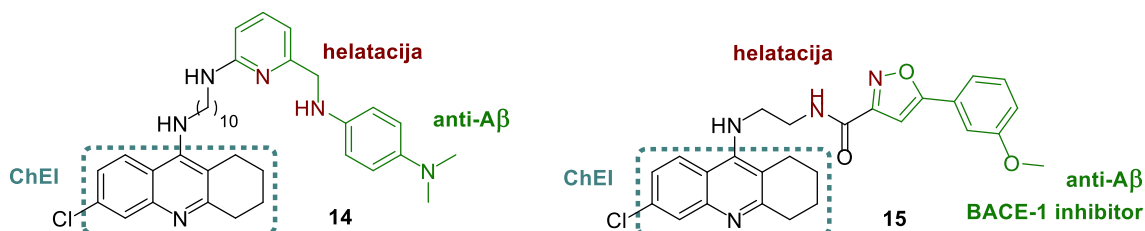
Inhibicija ChE i A β -agregacije i helatacija biometala

Ispitivanjem višestruke biološke aktivnosti serije hibrida takrina i (hidroksifenil)benzimidazola, utvrđeno je da jedinjenja **11-13** (slika 12) inhibiraju *Torpedo californica* (tc) AChE (IC₅₀ od 16,8 nM do 30,9 nM) i samoagregaciju A β -peptida (od 50,8% do 74,6% za [I] = 80 μ M), ali i A β -agregaciju uzrokovanu prisustvom jona bakra (od 55,8% do 77,3% za [I] = 80 μ M).⁵⁹ Sposobnost helatacije metala pripisana je aromatičnom *N,O*-fragmentu. Zabeležen je i efekat zaštite od oksidativnog oštećenja neurona u *in vitro* testovima.



Slika 12. Strukture hibrida **11-13**, inhibitora ChE i A β -agregacije, sa sposobnošću helatacije biometala.

Još jedan primer hibrida koji pokazuje nanomolarnu inhibitornu aktivnost, nastao je kombinovanjem 6-hlortakrina i derivata 2-pikolilamina, za koji je utvrđeno da poseduje osobine helatora metala i A β -modulatora.⁶⁰ Među ispitanim hibridima, najaktivniji analog **14** (slika 13) je inhibirao *ee*AChE (IC₅₀ = 2,37 nM), BChE iz konjskog seruma („equine serum“, *eq*; IC₅₀ = 2,01 nM) i kompleksirao jone Cu²⁺ i Zn²⁺. Dodatno, utvrđena je sposobnost hibrida **14** da kontroliše agregaciju A β -peptida i transformiše prethodno formirane A β -agregate. U oba navedena testa, dobijeni su isti rezultati bez prisustva jona metala i kada su indukovani jonima metala.



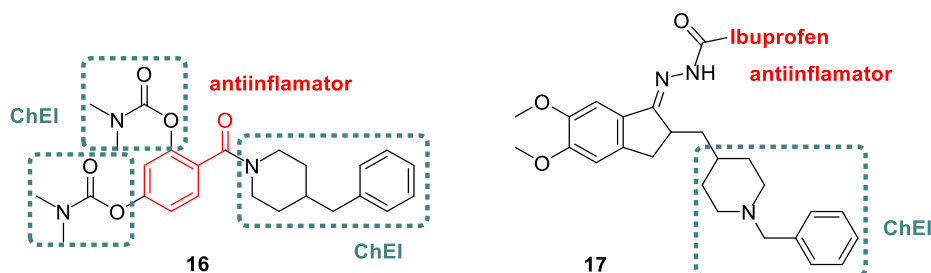
Slika 13. Strukture hibrida **14** i **15**, inhibitora ChE i A β -agregacije, sa sposobnošću helatacije biometala.

U drugom istraživanju, dizajniran je hibrid 6-hlortakrina i aril-izoksazola **15** (slika 13), za koji je utvrđena inhibitorna aktivnost prema sledećim metama: *ee*AChE (IC₅₀ = 0,050 μ M; *K*_i = 0,035 μ M), *eq*BChE (IC₅₀ = 0,413 μ M), BACE1 (IC₅₀ = 1,65 μ M), samoagregaciji A β -peptida (79,4%) i A β -agregaciji indukovanoj AChE (71,4%). Hibrid **15** je efikasan helator jona Cu²⁺, Fe²⁺ i Zn²⁺, a pokazao je i poboljšanje kognitivnog deficita u *in vivo* eksperimentima.⁶¹

Inhibicija ChE i antiinflamacija

Nova serija hibrida dizajnirana je spajanjem farmakofora donepezila i rivastigmina sa salicilnom kiselinom, lekom sa protivupalnim dejstvom.⁶² Među ispitivanim, istaklo se jedinjenje **16** (slika 14), za koje je utvrđeno da selektivno inhibira *eq*BChE (IC₅₀ = 0,53 μ M) u odnosu na *ee*AChE

($IC_{50} = 7,8 \mu M$), poseduje dobru antiinflamatornu aktivnost i ostvaruje povoljan efekat na kognitivnu disfunkciju kod miševa.



Slika 14. Strukture hibrida **16** i **17**, inhibitora ChE, sa antiinflamatornim dejstvom.

Slične rezultate su pokazali hibridi donepezila i različitih nesteroidnih antiinflamatornih lekova.⁶³ Hibrid sa ibuprofenom **17** (slika 14) je bio najpotentniji inhibitor *eeAChE* ($IC_{50} = 0,015 \mu M$) i *eqBChE* ($IC_{50} = 0,80 \mu M$), pokazao je izraženu antiinflamatornu aktivnost i štitio je neurone od toksičnosti izazvane $A\beta$ -peptidima u *in vitro* uslovima.

Inhibicija ChE i NMDA receptora

Kombinacija lekova kojom se utiče na holinergički i glutamatergički sistem istovremeno, predstavlja standard u terapiji AB i važnu strategiju u razvoju MTDL.⁴⁸ Pored poznate inhibitorne aktivnosti prema AChE, utvrđeno je da galantamin štiti od neurotoksičnog dejstva glutamata posredstvom nikotinskih ACh receptora.⁶⁴ Povezivanjem galantaminske strukture sa molekulom memantina, jedinog antagoniste NMDAR u kliničkoj upotrebi, sintetisana je serija novih hibrida.⁶⁵ Jedinjenje sa *n*-heksilenskim linkerom **18** (slika 15) je pokazalo obećavajući višedirekcionni profil – kao inhibitor AChE iz pacova ($IC_{50} = 1,16 nM$) sa dualnim načinom vezivanja, zatim modulator NMDAR iz pacova ($K_i = 4,6 \mu M$) i inhibitor ćelijske toksičnosti uzrokovane NMDA ($IC_{50} = 0,28 nM$).



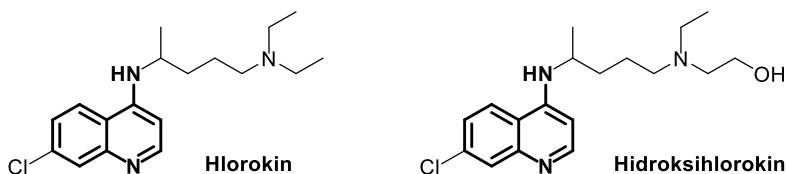
Slika 15. Strukture hibrida **18** i **19**, inhibitora ChE i NMDA receptora.

Na osnovu prethodno opisanog hibrida sa memantinom, dizajniran je 6-hlortakrin-memantin heterodimer **19** (slika 15), koji je pokazao veću sposobnost inhibicije AChE ($IC_{50} = 9,41 nM$) u poređenju sa 6-hlortakrinom i sličnu aktivnost prema NMDAR ($IC_{50} = 1,80 \mu M$) kao memantin.⁶⁶ Takođe, za hibrid **19** je predviđen prolazak kroz krvno-moždanu barijeru u *in vitro* testu.

2.3. HINOLIN – PRIVILEGOVANA FARMAKOFORA

Više od dva veka, hinolinsko jezgro je model za dizajn i razvoj lekova, a njegovi derivati su do danas pokazali širok spektar biološke aktivnosti.⁶⁷

Istraživanja o hlorokinu (slika 16), najuspešnijem leku sa 4-aminohinolinskim (**4AQ**) strukturnim motivom, počinje modifikacijom do tada najefikasnijeg antimalarika mepakrina, zamenom akridinskog jezgra upravo hinolinskim prstenom.⁶⁸ Hlorokin se nalazi na Listi esencijalnih lekova SZO za lečenje i prevenciju malarije i kao lek u terapiji reumatoidnog artritisa,⁶⁹ dok njegov derivat hidroksihlorokin (slika 16), ima status esencijalnog leka SZO za tretman autoimune bolesti lupus.⁷⁰ Mnoga sprovedena istraživanja ukazala su, između ostalog, na antivirusnu, antibakterijsku, antifungalnu i antitumorsku aktivnost hlorokina i hidroksihlorokina.⁷¹

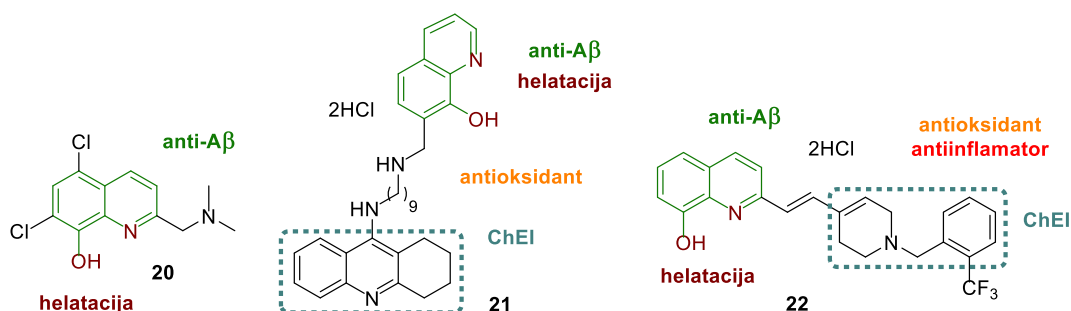


Slika 16. Strukture molekula hlorokina i hidroksihlorokina.

2.3.1. Razvoj derivata hinolina za primenu u terapiji Alchajmerove bolesti

Poslednjih decenija, hinolinska farmakofora je privukla pažnju kao potencijalni aktivni agens u CNS-u, što je od značaja u terapiji neurodegenerativnih oboljenja. Za derivat 8-hidroksihinolina **PBT2 (20)**, slika 17) je utvrđeno da kao $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ jonofora utiče na proces $\text{A}\beta$ -oligomerizacije koji je posredovan jonima ova dva metala. Na životinjskim modelima je primećeno značajno poboljšanje kognitivnih osobina, što se pripisuje uklanjanju toksičnih $\text{A}\beta$ -oligomera, te je jedinjenje **20** podvrgnuto ispitivanju kliničke efikasnosti.⁷² Nakon sprovedene faze II kliničkog testiranja za Alchajmerovu bolest, dalje aktivnosti nisu objavljene.⁷³ Ova saznanja su podstakla dizajn novih MTDL sa 8-hidroksihinolinskim fragmentom.

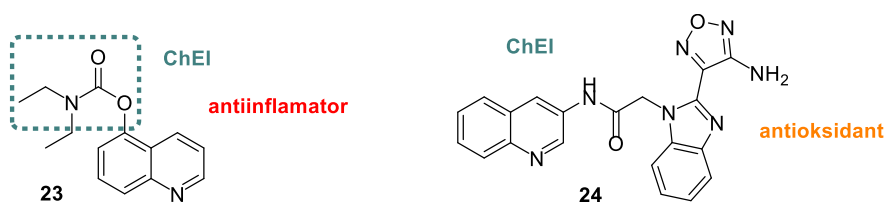
Ispitivanjem serije takrin-8-hidroksihinolin heterodimera sa *n*-alkandil linkerom, izdvojio se hibrid **21** (slika 17).⁷⁴ On je posedovao višestruku biološku aktivnost: inhibicija *h*AChE ($\text{IC}_{50} = 5,5$ nM), sa dualnim načinom vezivanja, inhibicija *h*BChE ($\text{IC}_{50} = 20$ nM), antioksidativna aktivnost i selektivno kompleksiranje jona Cu^{2+} . U *in vivo* testovima hibrid **21** je pokazao značajno smanjenje $\text{A}\beta$ -naslaga i neuroprotektivne osobine kod miševa.⁷⁵



Slika 17. Višedirekcionni inhibitori ChE sa 8-hidroksihinolinskim strukturnim motivom.

Kombinovanjem farmakofore donepezila i 8-hidroksihinolina dobijena je nova serija hibrida, u okviru koje je derivat **22** (slika 17) bio najaktivniji inhibitor *eeAChE* ($IC_{50} = 0,11 \mu M$), sa dualnim načinom vezivanja.⁷⁶ Hibrid **22** je pokazao i sposobnost helatacije jona metala (Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Al^{3+}), inhibicije A β -agregacije indukovane, kako *eeAChE*, tako i prisustvom bakra, i sprečavao je nastanak intracelularnog ROS-a ($IC_{50} = 213 \text{ nM}$). Takođe, ovaj hibrid je značajno poboljšavao kognitivne funkcije u mišjim modelima i smanjivao proizvodnju proinflammatory citokina u *in vivo* testu.

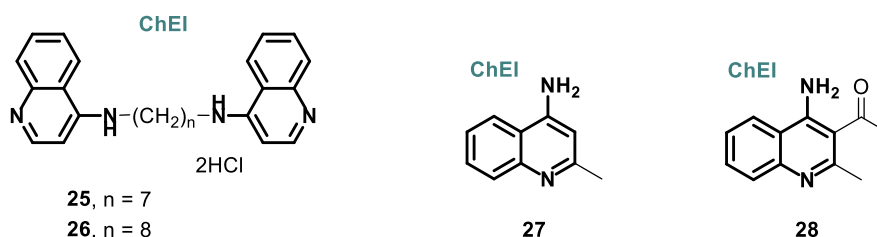
Fuzijom hinolina i rivastigmina dizajnirani su novi hibridi, kod kojih je za hinolinski prsten vezana karbamatna farmakofora.⁷⁷ Hibrid **23** (slika 18) je bio najpotentniji inhibitor *eeAChE* ($IC_{50} = 1,3 \mu M$), *eqBChE* ($IC_{50} = 0,81 \mu M$) i *hAChE* ($IC_{50} = 5,6 \mu M$), *hBChE* ($IC_{50} = 2,3 \mu M$) – aktivniji od rivastigmina. Ovo jedinjenje je pokazalo dobru antiinflatamatornu aktivnost i štitilo je neurone od toksičnosti izazvane A β -peptidima.



Slika 18. Višedirekcioni inhibitori ChE sa hinolinskim strukturnim motivom.

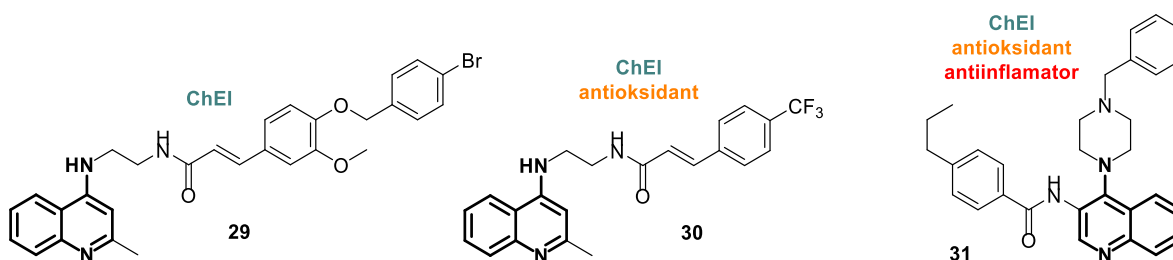
Derivati 3-aminohinolina sa benzimidazolskim i oksadiazolskim jezgrom su identifikovani kao visokoselektivni inhibitori BChE.⁷⁸ U okviru nove strukturne klase istaklo se jedinjenje **24** (slika 18), sa najvećim inhibitornim potencijalom prema *hBChE* ($IC_{50} = 0,016 \mu M$), sposobnošću prolaska kroz krvno-moždanu barijeru u *in vitro* uslovima, zatim antioksidativnom aktivnošću i zaštitnim efektom prema neurotoksičnosti indukovanoj vodonik-peroksidom, glutamatom i A β -peptidima. Dodatno, jedinjenje **24** je pokazalo neuroprotektivne osobine i sposobnost poboljšanja kognitivnih funkcija u *in vivo* testovima.

Zabeležene su i inhibitorne aktivnosti molekula hlorokina prema istaknutim enzimima u simptomatskoj terapiji AB.^{79,80} Tako je i porodica 4-aminohinolina postala jedan od perspektivnih strukturnih motiva za razvoj novih aktivnih jedinjenja. Posebno treba istaći strukturnu sličnost 4-aminohinolinske farmakofore sa molekulom takrina. Serija dimera **4AQ** u obliku bis-hidrohlordnih soli (slika 19) je pokazala sposobnost inhibicije ChE izolovanih iz pacova, sa najaktivnijim derivatima **25** – AChE ($IC_{50} = 87,8 \text{ nM}$), BChE ($IC_{50} = 1,8 \mu M$) i **26** – AChE ($IC_{50} = 94,3 \text{ nM}$), BChE ($IC_{50} = 1,06 \mu M$),⁸¹ dok je drugo istraživanje obuhvatilo supstituisane **4AQ** (slika 19), među kojima su najpotentniji inhibitori bila jedinjenja **27** – *eeAChE* ($IC_{50} = 0,72 \mu M$) i **28** – *eeAChE* ($IC_{50} = 0,57 \mu M$).⁸²



Slika 19. Inhibitori ChE sa 4-aminohinolinskim strukturnim motivom.

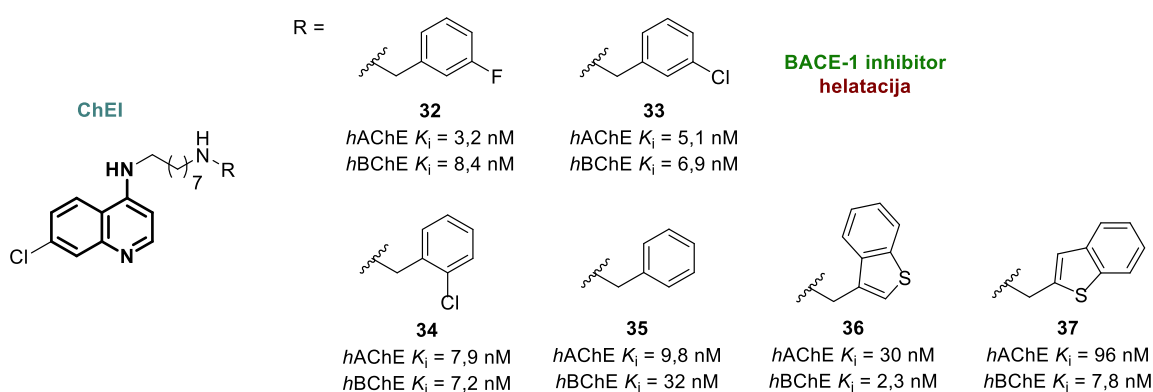
Sa ciljem poboljšanja fizičko-hemijskih parametara višedirekcionih hibrida takrin-ferulinska kiselina⁸³ i takrin-cimetna kiselina,⁸⁴ takrinsko jezgro je zamenjeno 4-aminohinolinom.⁸⁵ Reprezentativna jedinjenja sa novim hemotipom, hibridi **4AQ** sa ferulinskom kiselinom **29** (slika 20) i cimetnom kiselinom **30** (slika 20), potentni su inhibitori *ee*AChE ($IC_{50} = 0,62 \mu M$, $IC_{50} = 3,28 \mu M$, redom) i *eq*BChE ($IC_{50} = 1,18 \mu M$, $IC_{50} = 0,93 \mu M$, redom), sa dualnim načinom vezivanja. Oba jedinjenja su pokazala umerenu zaštitu ćelija od oksidativnog oštećenja izazvanog vodonik-peroksidom, dok je za jedinjenje **30** utvrđena niža hepatotoksičnost u poređenju sa takrinom i antioksidativna aktivnost.



Slika 20. Višedirekциони inhibitori ChE sa supstituisanim 4-aminohinolinskim strukturnim motivom.

U daljem razvoju novih MTDL na bazi **4AQ**, dizajnirana je serija 4-benzilpiperazinhinolina.⁸⁶ Nakon optimizacije, identifikovano je jedinjenje **31** (slika 20) kao najaktivniji i najselektivniji inhibitor *h*BChE ($IC_{50} = 0,162 \mu M$), sa neuroprotektivnim i antioksidativnim karakteristikama *in vitro*, dok je u *in vivo* testovima pokazao dobar farmakokinetički profil, posedovao antiinflamatorno dejstvo i ublažio kognitivna oštećenja kod miševa.

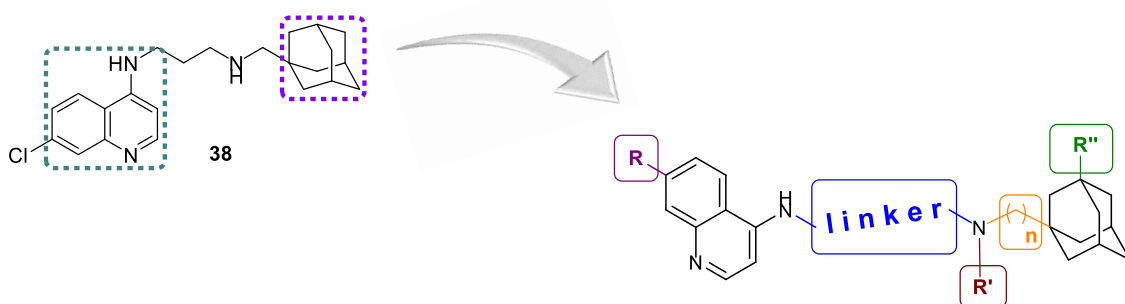
U seriji **4AQ** derivata sa *n*-oktilenskim linkerom i različitim supstituentima na terminalnoj amino-grupi, kao najbolji inhibitori *h*ChE istakla su se jedinjenja sa benzil-grupom, supstituisanom benzil-grupom i benzotiofenom, povezanim preko metilenske jedinice u položaju C(3) i C(2) (slika 21).⁸⁷ Najpotentnije inhibitore *h*AChE, jedinjenja **32** i **33**, odlikuje i inhibitorna aktivnost prema BACE1 (14% i 15% za $[I] = 1 \mu M$), kao i sposobnost helatacije biometala (Cu, Fe, Zn).



Slika 21. Višedirekциони inhibitori ChE sa 4-amino-7-hlorhinolinskim strukturnim motivom.

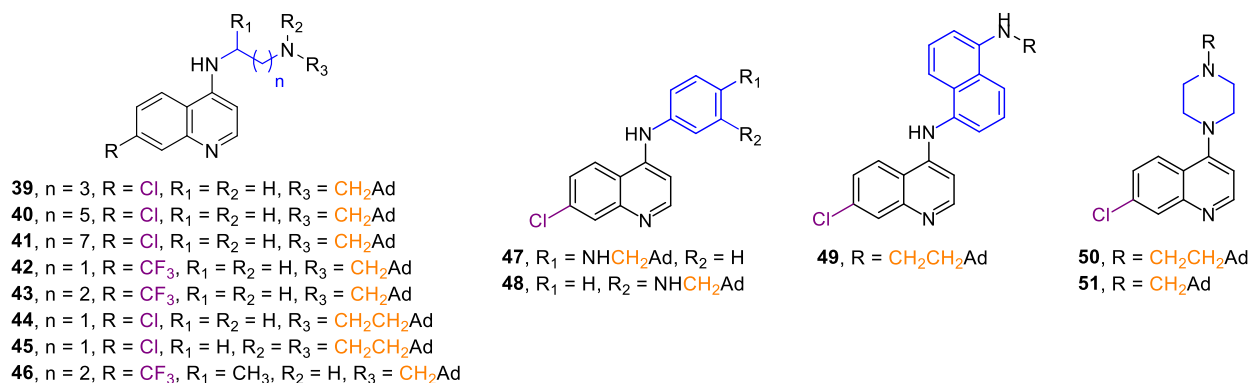
3. NAŠI RADOVI

U saradnji sa grupom dr Bosak opisana je inhibitorna aktivnost hibrida **4AQ** i adamantana (**Ad**), **38** (slika 22), prema AChE i BChE.⁸⁸ Rezultat molekulskog modelovanja interakcija AChE i **38** (molekulski doking), pokazao je postojanje interakcija adamantil-fragmenta sa aminokiselinskim grupama u perifernom anjonskom mestu, kojima se dodatno stabilizuje formiran kompleks jedinjenja sa enzimom.⁸⁸ Na osnovu rezultata inhibicije i molekulskog dokinga zaključeno je da ovakva struktura poseduje značajan kapacitet za dalji razvoj novih aktivnih inhibitora. U molekulu **38** je identifikovano pet delova strukture, koji omogućavaju dizajn novih jedinjenja. Na osnovu toga, u ovom istraživanju su razvijeni, sintetisani i testirani novi hibridi aminohinolina i adamantana, sa ciljem da se dalje ispita potencijal ovog tipa jedinjenja kao reverzibilnih inhibitora ChE.



Slika 22. Struktura jedinjenja **38**, prvog hibrida **4AQ-Ad** kao inhibitora ChE, i planirana mesta modifikacije.

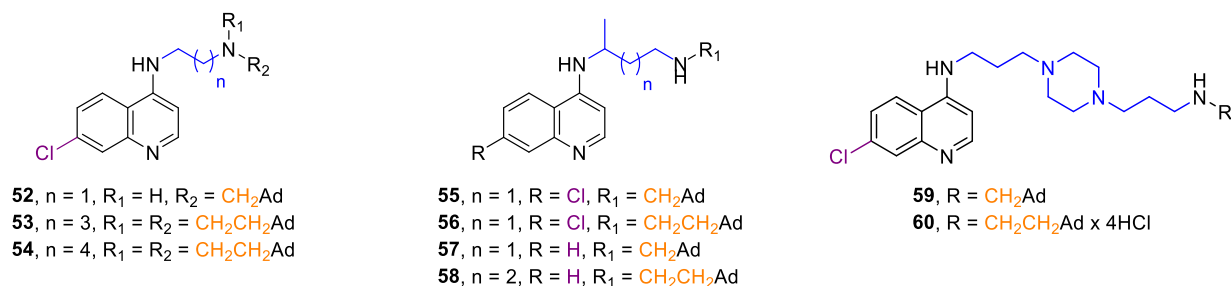
Prva serija jedinjenja je podrazumevala promenu strukture linkera, koji povezuje **4AQ** i **Ad** (slika 23). Cilj promene je bio da se ispita uticaj dužine niza, konformacione fleksibilnosti, sternih faktora, elektronske gustine i baznih osobina na sposobnost inhibicije holinesteraza novim derivatima.



Slika 23. Strukture sintetisanih jedinjenja prve serije hibrida aminohinolina i adamantana.

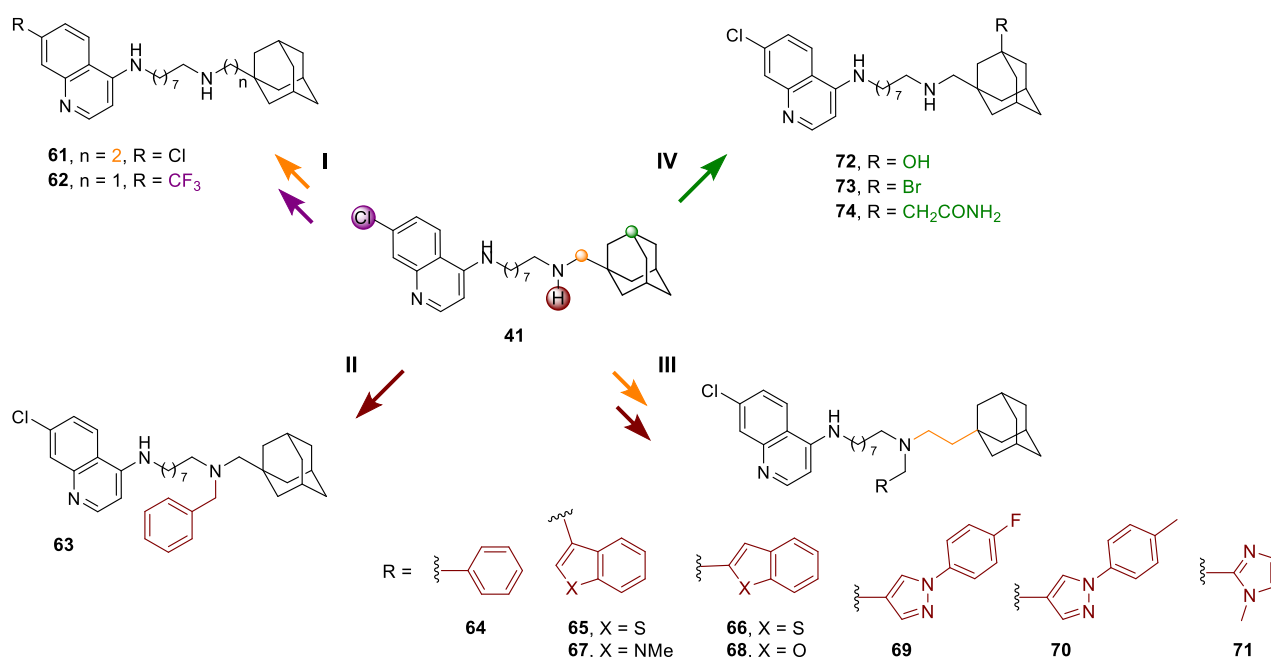
U tu svrhu osmišljena su jedinjenja sa normalnim alkil-nizom od 4, 6 i 8 C-atoma između aminohinolina i adamantil-fragmenta, zatim jedinjenja sa $-\text{CF}_3$ supstituentom umesto $-\text{Cl}$ na hinolinskom jezgru, potom derivati sa jednom ili dve etilen-adamantanske grupe na terminalnom azotu, dok je predstavnik račvastog alkil-niza kao linker sadržao 1,3-butilensku jedinicu. Potom su bočni nizovi, koje odlikuje visok stepen konformacione slobode, zamenjeni rigidnim strukturama, kao što su 1,4- diaminobenzen i 1,3-diaminobenzen, 1,5-diaminonaftalen i piperazinski prsten.

Kako bismo što bolje ispitali uticaj strukture linkera na inhibitornu aktivnost, opisani set jedinjenja dopunili smo dodatnim derivatima (slika 24), od kojih je jedan deo objavljen u literaturi.^{89,90} Jedinjenja predstavljaju strukturne analoge derivata **38**. To su 4-aminohinolinski derivati sa adamantanom, koji imaju normalan alkil-niz, račvast alkil-niz i derivati sa piperazinskim prstenom u linkeru. Navedena jedinjenja nisu sintetisana, već su bila ustupljena za biološko testiranje. U okviru ove doktorske disertacije prvi put im je ispitana inhibitorna aktivnost prema AChE i BChE.



Slika 24. Strukture ustupljenih jedinjenja, kao dopuna prve serije hibrida aminohinolina i adamantana.

Nakon dobijenih rezultata biološkog testiranja prve serije, dizajnirana je druga serija hibrida **4AQ-Ad**, čiji je zajednički motiv n -oktilenski linker. Derivat **41** je modifikovan, prvo zamenom metilen-adamantanske grupe etilen-adamantanskom, a zatim uvođenjem $-CF_3$ supstituenta umesto $-Cl$ na hinolinskom prstenu (**I**, slika 25).



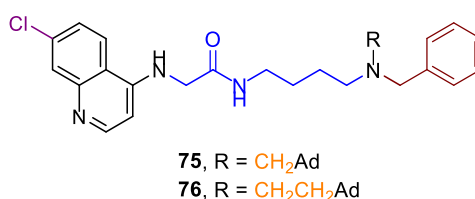
Slika 25. Dizajn i strukture jedinjenja druge serije hibrida aminohinolina i adamantana.

Na osnovu dobijenih rezultata i rezultata srodnih jedinjenja,⁸⁷ osmišljen je nastavak druge serije jedinjenja, koji uključuje izmene u neposrednom okruženju terminalne amino-grupe hibrida **4AQ-Ad** sa n -oktilenskim linkerom. Ovo je ostvareno uvođenjem benzil-grupe kao dodatnog supstituenta na terminalnom azotu (**II**, slika 25). Dalje modifikacije su podrazumevale vezivanje benzenovog i benzotiofenskog prstena, zatim benzofuranskog i indolskog prstena, i dodatno,

vezivanje dva nova heterociklična jezgra – supstituisanih pirazola i imidazola za terminalni azot, preko metilenske grupe (**III**, slika 25).

Na kraju, ovaj set jedinjenja je proširen derivatima koji u položaju 3 na adamantil-grupi imaju supstituent, -OH, -Br ili -CH₂CONH₂ (**IV**, slika 25). Cilj ovih promena je bio da ispitamo da li navedeni supstituenti, različitih fizičko-hemijskih osobina, mogu da ostvare interakcije sa aminokiselinskim grupama enzima i time utiču na inhibitorni potencijal jedinjenja.

Poslednja dva sintetisana jedinjenja sadrže amidnu grupu u linkeru (slika 26). Na terminalnoj amino-grupi se nalaze benzilni supstituent i adamantil-fragment, povezan preko metilenske grupe ili etilenske grupe, po uzoru na prve sintetisane derivate sa trisupstituisanim terminalnim azotom. Prisustvo amidne grupe povećava polarnost linkera. Primaran cilj ovakvog pristupa je ispitivanje pozitivnog uticaja na lipofilnost, kao značajno fizičko-hemijsko svojstvo jedinjenja za primenu kao leka.



Slika 26. Struktura hibrida aminohinolina i adamantana sa amidnom grupom u linkeru.

Nakon uspešnih postupaka dobijanja, za sva sintetisana i ustupljena hibridna jedinjenja aminohinolina i adamantana određena je *in vitro* inhibitorna aktivnost prema humanim holinesterazama. Molekul **38** je priključen narednim eksperimentima i analizama kao referentno jedinjenje. Izmerena je *in vitro* antioksidativna aktivnost, a za odabrane inhibitore je ispitana sposobnost helatacije biometala. U nastavku, urađen je molekulski doking najpotentnijih inhibitora u aktivno mesto enzima i potom su, primenom *in silico* metoda, izračunate fizičko-hemijske karakteristike važne za predviđanje sličnosti jedinjenja sa osobinama koje poseduju lekovi aktivni u CNS-u. Naposljetku, radi važnosti prolaska kroz krvno-moždanu barijeru, lipofilnost svih jedinjenja određena je i eksperimentalno.

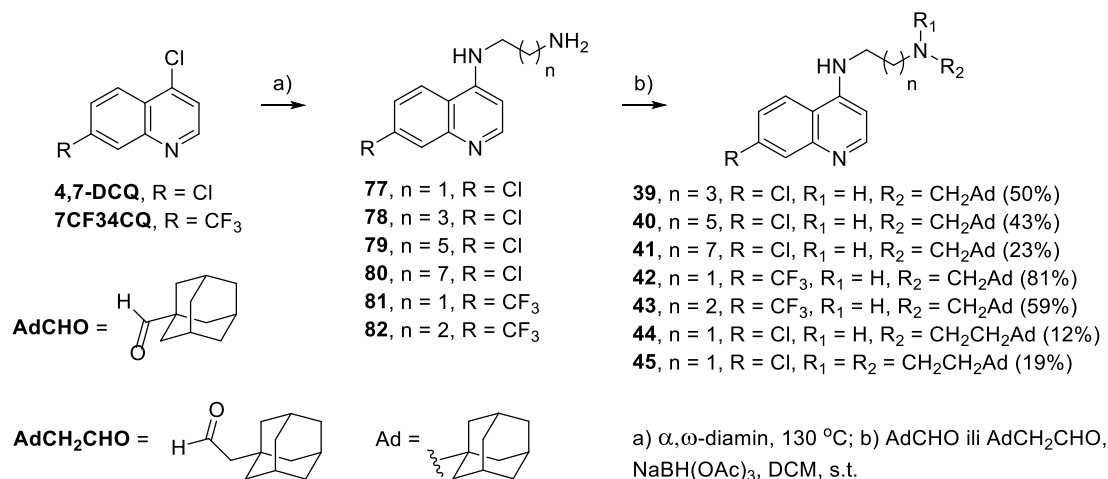
3.1. SINTEZA

3.1.1. Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana različitih struktura bočnog niza

Prva serija sintetisanih jedinjenja obuhvata hibridna jedinjenja koja sadrže različite linkere između 4-aminohinolina i adamantana, sa supstituentom na hinolinskom jezgru u položaju C(7) (-Cl ili -CF₃), a kod kojih je adamantil-grupa vezana za terminalnu amino-grupu preko jedne ili dve metilenske jedinice. Prema strukturi linkera, jedinjenja se mogu podeliti na derivate sa normalnim i račvastim alkil-nizom (od 2 do 8 C-atoma) i derivate sa aromatičnim ili heterocikličnim prstenom (benzen, naftalen ili piperazin).

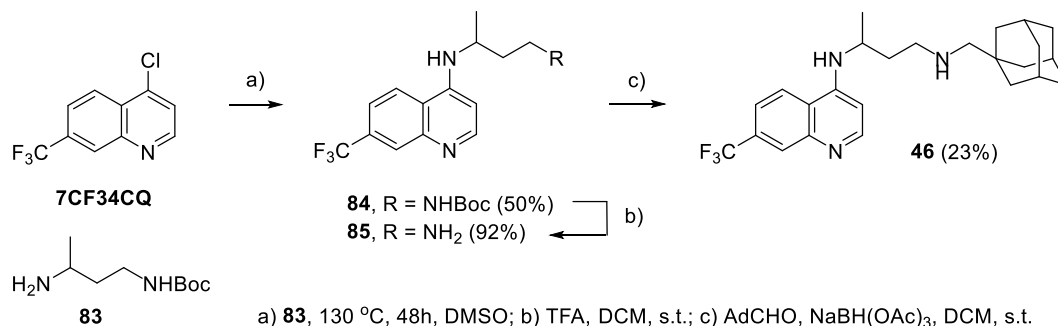
Jedinjenja normalnog i račvastog alkil-niza

Postupak za sintezu prve grupe 4-aminohinolinskih derivata adamantana prikazan je na shemi 1. Polazeći od 4,7-dihlorhinolina (**4,7-DCQ**) ili 4-hlor-7-(trifluormetil)hinolina (**7CF34CQ**), koji su komercijalno dostupni, primenom postupka opisanog u literaturi sa odgovarajućim α,ω -diaminima, stapanjem na povišenoj temperaturi, u inertnoj atmosferi, izolovani su 4-aminohinolinski **77–82**.^{91,92} U narednom koraku,⁹³ u reakciji amina **77–82** i adamantan-1-karbaldehida (**AdCHO**) ili 1-adamantanacetaldehida (**AdCH₂CHO**), u uslovima reduktivnog aminovanja, koristeći $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ kao redukciono sredstvo, dobijeni su derivati **39–45**. Jedinjenja **39, 44** i **45** su poznata i prethodno opisana.^{89,93}



Shema 1. Sinteza jedinjenja **39–45**.

Primenom postupka navedenog u literaturi, polazeći od 1,3-dibrombutana, koji je komercijalno dostupan, dobijen je zaštićeni amin **83** i njegovi spektralni podaci su bili u skladu sa publikovanim.⁹⁴ U reakciji **4,7-DCQ** sa 1,5 ekv. **83**, stapanjem reaktanata u dimetil-sulfoksidu (DMSO) na povišenoj temperaturi, dobijen je proizvod **84**. Posle uklanjanja zaštitne grupe dobijeni amin **85** je primenom reakcije reduktivnog aminovanja pomoću $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ i **AdCHO** u dihlormetanu (DCM) preveden u **46** (shema 2).⁹⁴

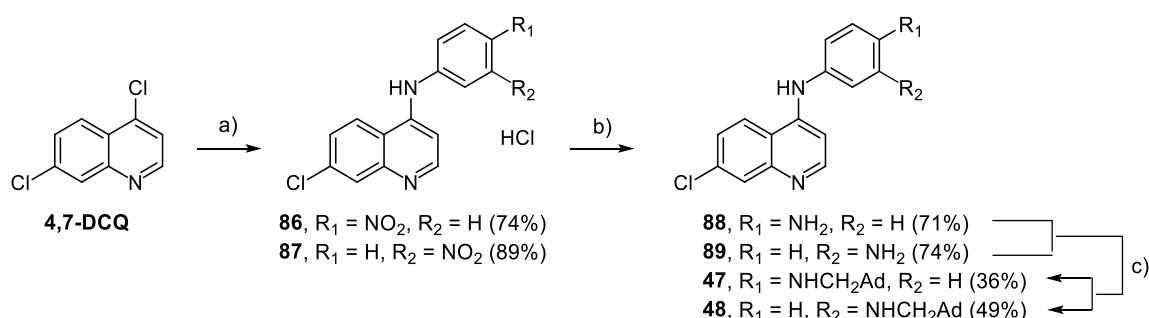


Shema 2. Sinteza jedinjenja **46**.

Jedinjenja sa prstenom u bočnom nizu

Sinteza hibrida kod kojih su hinolinski i metil-adamantanski deo molekula povezani preko benzenovog prstena u *p*- i *m*-položaju ostvarena je postupkom koji je prikazan na shemi 3. Za sintezu ključnih intermedijera **88** i **89**, umesto odgovarajućih diaminobenzena, korišćeni su komercijalno

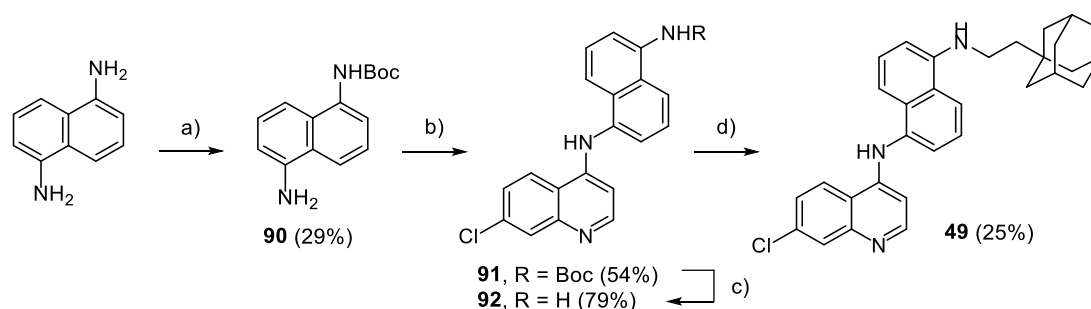
dostupni 4-nitroanilin i 3-nitroanilin, da bi se izbegla mogućnost nastajanja sporednih proizvoda dvostruke nukleofilne supstitucije. Polazeći od **4,7-DCQ** i 4-nitroanilina ili 3-nitroanilina u etanolu,⁹⁵ na temperaturi ključanja i uz katalitičku količinu 37% HCl, dobijeni su intermedijeri **86** i **87** u obliku hidrohloridnih soli, čiji su spektralni podaci bili u skladu sa ranije objavljenim.⁹⁶ Analizom ¹H NMR spektra **86**, utvrđeno je da proizvod sadrži 7% polaznog 4-nitroanilina, koji se nije video na TLC hromatogramu nakon obrade reakcione smeše. Ispitano je nekoliko drugih postupaka sa ciljem da se dobije čist željeni proizvod, kao što su zagrevanje polaznih reagenasa u DMSO-u, izvođenje reakcije u DMSO-u uz dodatak 1 ekv. kalijum-jodida i reakcija u kojoj je kao rastvarač korišćen fenol.⁹³ U svim slučajevima su dobijene složenije reakcione smeše koje sadrže dodatne proizvode koji otežavaju izolovanje **86**. Iz tih razloga, za dalji rad je korišćen **86** dobijen prvim postupkom i utvrđene NMR čistoće od 93%. Redukcija nitro-grupa je izvršena pomoću kalaj(II)-hlorida u ključalom etanolu⁹⁵ i dobijeni su proizvodi **88** i **89**, čiji su spektralni podaci bili u skladu sa publikovanim.⁹⁷ Krajnja jedinjenja **47** i **48** su sintetisana ranije korišćenim postupkom reduktivnog aminovanja, upotrebom NaBH(OAc)₃ u DCM-u, na sobnoj temperaturi.



a) 4-nitroanilin ili 3-nitroanilin, EtOH/HCl, Δ; b) SnCl₂, HCl/EtOH, 80 °C; c) AdCHO, NaBH(OAc)₃, DCM, s.t.

Shema 3. Sintaza jedinjenja **47** i **48**.

Na shemi 4 prikazan je postupak sinteze derivata **49**, sa naftalenskim prstenom kao linkerom.



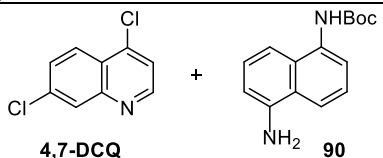
a) Boc₂O, DMF, 50 °C; b) **4,7-DCQ**, EtOH, Δ; c) TFA, DCM, s.t.; d) AdCH₂CHO, NaBH(OAc)₃, DCM, s.t.

Shema 4. Sintaza jedinjenja **49**.

Na početku je izvršena zaštita jedne od dve amino-grupe 1,5-diaminonaftalena, koristeći Boc₂O, reakcijom u *N,N*-dimetilformamidu (DMF) i zagrevanjem na 50 °C.⁹⁸ Dobijeni spektralni podaci Boc-zaštićenog diamina **90** su bili u skladu sa literaturnim.⁹⁹ Za kuplovanje **4,7-DCQ** i **90** ispitano je nekoliko metoda, u kojima su menjani rastvarači i prisustvo baze, primenjene reakcije Ullmann-ovog tipa uz CuI,¹⁰⁰ kao i izvođenje reakcija na različitim temperaturama. Pregled ispitanih

reakcija i njihovi ishodi prikazani su u tabeli 1. U svim reakcijama korišćena je ekvimolarna količina reaktanata.

Tabela 1. Probe reakcije **4,7-DCQ** i **90**.

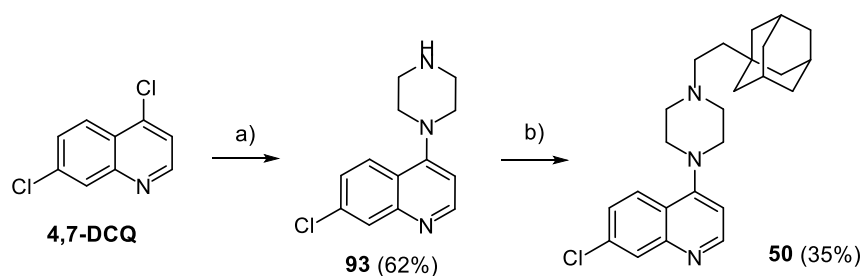
				
Broj	Katalizator / Baza	Rastvarač	Temperatura	Ishod reakcije
1	-	DMSO	130 °C	Tragovi 91 ^a
2	Et ₃ N	<i>i</i> PrOH	refluks	Nema reakcije ^a
3	Et ₃ N	dioksan	refluks	Nema reakcije ^a
4	CuI, 20mol%	EtOH	80 °C	DF, prinos 91 28% ^b
5	CuI, 20mol%	MeO(CH ₂) ₂ OH	80 °C	DF, prinos 91 28% ^b
6	CuI, 10mol%	DMSO	120 °C	Složena reakciona smeša
7	CuI, 15mol% / K ₂ CO ₃	EtOH	80 °C	Smeša 91 i reaktanata ^a
8	-	EtOH	80 °C	Prinos 91 54% ^b

^a Izgled TLC hromatograma kada više nisu primećene promene u reakcionoj smeši; ^b Prinos izračunat na osnovu izmerene mase izolovanog proizvoda.

Za dalji rad odabran je postupak **8**, u ključalom etanolu, zbog najvišeg prinosa i lake obrade reakcione smeše, nakon koje se proizvod **91** koristi u narednom koraku bez dodatnog prečišćavanja.

Poslednja dva reakciona koraka su opisana u okviru prethodnih postupaka. Ukratko, nakon deprotekcije amino-grupe (TFA/DCM), proizvod **92** u reakciji sa **AdCH₂CHO**, u prisustvu NaBH(OAc)₃ u dihlormetanu, preveden je u derivat **49**. Prilikom reakcije **92** sa **AdCHO** nije dobijen odgovarajući proizvod, verovatno zbog sternih smetnji.

Molekul **50**, kod koga su hinolinski i adamantanski deo povezani preko piperazinskog prstena, dobijen je u dva reakciona koraka. Polazeći od **4,7-DCQ** i piperazina (3 ekv), u prisustvu Et₃N na povišenoj temperaturi dobijen je intermedijer **93**,¹⁰¹ koji je u narednom koraku pomoću **AdCH₂CHO** i NaBH(OAc)₃ u dihlormetanu na sobnoj temperaturi preveden u jedinjenje **50** (shema 5).



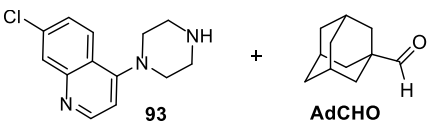
a) piperazin, Et₃N, 80 °C do 130 °C; b) **AdCH₂CHO**, NaBH(OAc)₃, DCM, s.t.

Shema 5. Sintaza jedinjenja **50**.

Pokušana je sinteza strukturnog analoga **51**, polazeći od piperazinskog amina **93** i **AdCHO** pod istim reakcionim uslovima. Nakon prečišćavanja dobijene reakcione smeše *dry-flash* hromatografijom na stubu, izolovana je smeša koja sadrži polazni **93**, proizvod **51** i sporedni proizvod

1-adamantanmetanol. Promenom uslova prečišćavanja nije bilo moguće izolovati čist željeni proizvod. Verovatno je, usled sternih smetnji, reakcija reduktivnog aminovanja značajnije sporija u poređenju sa reakcijom sinteze **50**, zbog čega dolazi do redukcije **AdCHO** u odgovarajući alkohol. Takođe, slična polarnost navedenih jedinjenja dodatno doprinosi otežanom izolovanju proizvoda. Iz tih razloga, pokušana je optimizacija reakcije reduktivnog aminovanja upotrebom različitih reagenasa, rastvarača i katalizatora. Primenjeni uslovi i dobijeni rezultati su navedeni u tabeli 2.

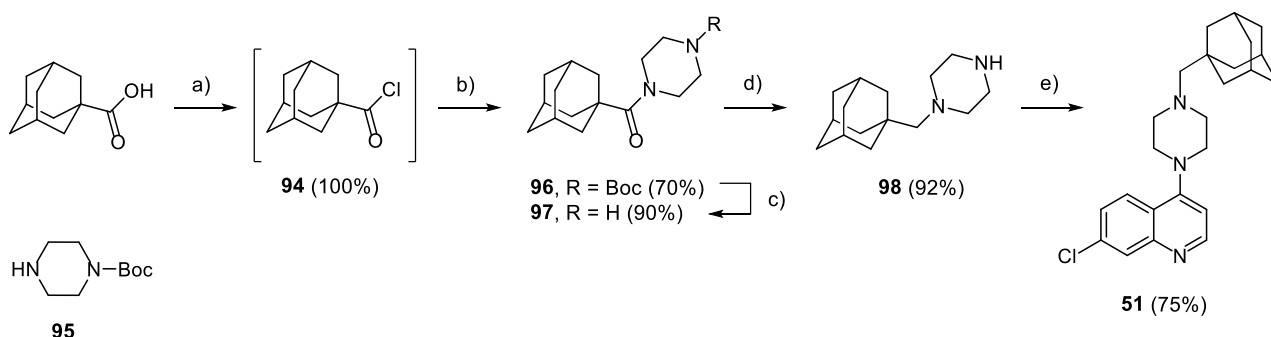
Tabela 2. Probe reakcije **93** i **AdCHO**.

				
Broj	Redukciono sredstvo	Rastvarač	Kiselina / Katalizator	Sastav reakcione smeše ^a
1	NaBH ₄	DCM / MeOH	AcOH	93 i više proizvoda
2	NaBH(OAc) ₃ / NaBH ₃ CN	DCM → MeOH ^b	-	Dominira 93
3	NaBH ₃ CN	MeOH ^b	AcOH	Složena smeša proizvoda
4	NaBH(OAc) ₃ / NaBH ₄	DCM / MeOH	-	93 i više proizvoda
5	NaBH(OAc) ₃	DCE ^b	-	93 i više proizvoda
6	NaBH ₃ CN	MeOH	ZnCl ₂	Složena smeša proizvoda
7	NaBH ₄	<i>i</i> PrOH / EtOH	Ti(O <i>i</i> Pr) ₄	93 i više proizvoda
8	NaBH ₄	MeOH ^b	TFA	93 i više proizvoda
9	NaBH ₃ CN	MeOH ^b	Molekulska sita	Dominira 93

^a Izgled TLC hromatograma kada više nisu primećene promene u reakcionoj smeši; ^b s. t. → 70 °C.

Nijedna proba reduktivnog aminovanja nije dala bolje rezultate. U većini reakcija zaostajao je neizreagovali **93** i zabeležen je nastanak više različitih UV-aktivnih proizvoda.

Zbog navedenog, za dobijanje derivata **51** planirali smo nov pristup sintezi, u kome ključni korak predstavlja reakcija nukleofilne aromatične supstitucije **4,7-DCQ** i prethodno sintetisanog kompletnog bočnog niza. Nov postupak sinteze jedinjenja **51**, sa jednom metilenskom jedinicom do adamantil-grupe, prikazan je na shemi 6.



a) (COCl)₂, DMF, DCM, 0 °C - s.t.; b) **95**, Et₃N, DCM, s.t.; c) TFA, DCM, s.t.; d) LAH, THF, Δ; e) **4,7-DCQ**, PhOH, Ar, 130 °C.

Shema 6. Sinteza jedinjenja **51**.

Kako bi 1-Boc-piperazin (**95**) nagradio amidnu vezu sa adamantanom, prvo je sintetisan hlorid kiseline **94**. Prilagođenim postupkom iz literature,¹⁰² iz 1-adamantankarboksilne kiseline, koristeći oksalil-hlorid u suvom dihlormetanu i uz katalitički dodatak DMF-a, dobijen je hlorid kiseline, koji je odmah nakon izolovanja stavljen u reakciju sa aminom **95**, u prisustvu Et₃N i u istom rastvaraču. Spektralni podaci nastalog amida **96** odgovarali su publikovanim.¹⁰³ U sledećem koraku je uklonjena zaštita pod uobičajenim uslovima (TFA/DCM), čime je dobijen derivat **97**,¹⁰⁴ koji je redukcijom pomoću litijum-aluminijumhidrida (LAH) u suvom tetrahidrofuranu (THF), u inertnoj atmosferi i na temperaturi ključanja rastvarača, preveden u adamantil-piperazin **98**.¹⁰⁵ U poslednjem reakcionom koraku pokušano je kuplovanje bočnog niza **98** sa **4,7-DCQ**, zagrevanjem u etanolu, sa dodatkom katalitičke količine 37% HCl, ali taj postupak se nije pokazao uspešnim. Posle obrade reakcione smeše i nakon prečišćavanja, primenom NMR spektroskopije potvrđeno je da je formiran 4-etoksi-7-hlorhinolina (**99**) kao jedini proizvod. Uspešna sinteza derivata **51** je ostvarena stapanjem reaktanata na 130 °C, u fenolu i u inertnoj atmosferi.

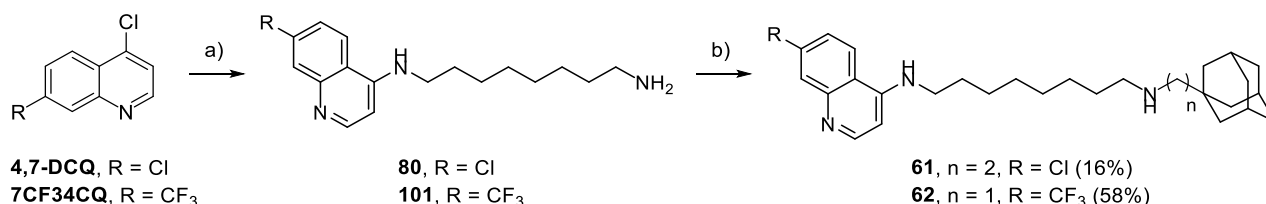
Kako bi se utvrdilo da li se optimizovan reakcioni put za sintezu jedinjenja **51**, može primeniti i prilikom sinteze derivata sa naftalenom u linkeru (shema 7), postavljena je reakcija **94** i **90** u identičnim uslovima (Et₃N, DCM), ali nakon 48 h, na osnovu TLC hromatograma, u heterogenoj reakcionoj smeši dominira polazni **90**. Rezultat reakcije se nije promenio ni primenom THF-a kao rastvarača i zagrevanjem na 50 °C, preko noći. Promena rastvarača i povećanje temperature je samo delimično uticalo na rastvorljivost amina **90**, pa smo od ove sinteze za sada odustali.



Shema 7. Pokušaj sinteze jedinjenja **100**.

3.1.2. Sintaza hibrida aminohinolina i adamantana sa *n*-oktilenskim bočnim nizom

Druga serija derivata izvedena je iz strukture jedinjenja **41**, koji sadrži *n*-oktilenski niz kao linker. Serija je započeta sintezom dva strukturna analoga, predstavljena na shemi 8. Polazeći od **4,7-DCQ**, odnosno **7CF34CQ**, primenom prethodno navedenih uslova za dobijanje derivata normalnog alkil-niza, u dva reakciona koraka sintetisana su jedinjenja **61** i **62**. U poređenju sa jedinjenjem **41**, prvi dobijeni analog **61** ima niz od dve metilenske grupe do adamantana, dok drugi analog **62** poseduje trifluormetil-grupu na hinolinskom jezgru u položaju C(7) umesto atoma hlora.



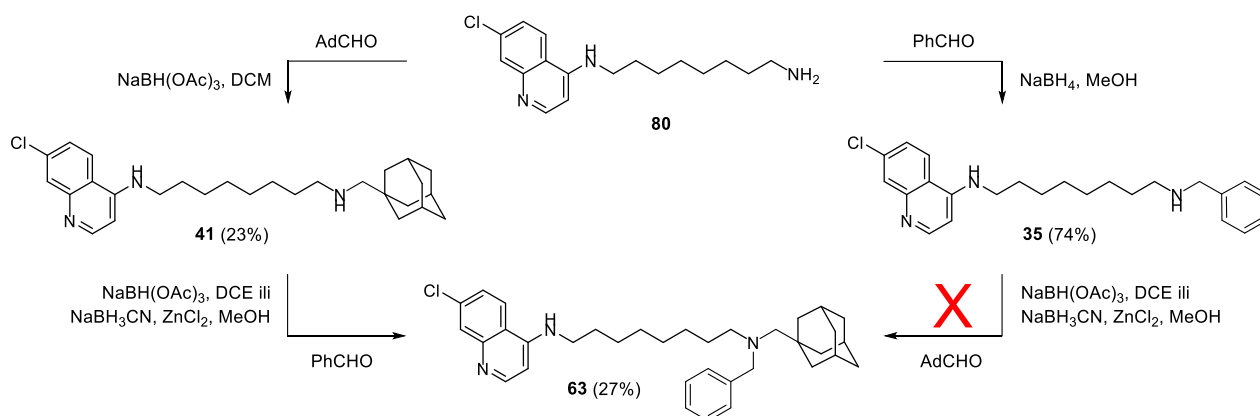
a) 1,8-diaminooctan, 130 °C; b) AdCH₂CHO ili AdCHO, NaBH(OAc)₃, DCM, s.t.

Shema 8. Sintaza jedinjenja **61** i **62**.

Jedinjenja sa dodatnim supstituentom na terminalnoj amino-grupi

U nastavku, cilj daljih modifikacija je bio da se u strukturu uvede dodatni supstituent, aromatičan ili heterocikličan, vezivanjem za azot amino-grupe koja je bliža adamantanskoj jedinici. Prisustvo jedne ili dve metilenske grupe dirigovano je sternim smetnjama. Stoga je, kao model za ispitivanje takve promene, korišćen **80** za sintezu planiranog derivata **63**. Benzil-grupa kao supstituent nije toliko sterno zahtevna, a ponašanje benzaldehida kao reaktanta u reakciji reduktivnog aminovanja nam je poznato iz prethodnog istraživanja.

Sinteza jedinjenja **63** planirana je primenom dve uzastopne reakcije reduktivnog aminovanja, polazeći od jedinjenja **80** (shema 9).



Shema 9. Sinteza jedinjenja **63**.

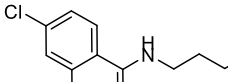
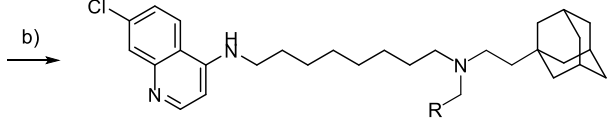
Zbog očekivanog niskog prinosa u reakciji kojom se dobija proizvod **41**, prvo je izvršena sinteza amina **35** u dobrom prinosu, ranije opisanim postupkom.¹⁰⁶ Zatim je ispitana reakcija proizvoda sa **AdCHO** pod sledećim reakcionim uslovima: a) $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ u 1,2-dihloretanu (DCE) ili b) NaBH_3CN , ZnCl_2 u metanolu. Obe reakcije su izvođene na sobnoj temperaturi. Prateći tok reakcija nije primećeno nastajanje željenog proizvoda. Zbog toga je primenjen obrnut redosled reakcija. Derivat **41** je dobijen kao što je prethodno opisano. Zatim, reakcijom sa benzaldehidom i NaBH_3CN , uz prisustvo ZnCl_2 , u metanolu, dobijen je čist željeni proizvod **63**.

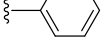
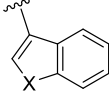
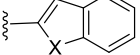
Nakon sinteze derivata **63** usledili su pokušaji uvođenja indolskog sistema reakcijom **41** i indol-3-karbaldehida. U tabeli 3 navedeni su isprobani reakcioni uslovi i ishodi reakcija.

Tabela 3. Probe reakcije **41** i indol-3-karbaldehida.

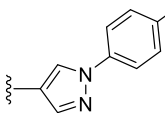
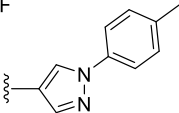
Broj	Redukcionosredstvo	Rastvarač	Kiselina / Katalizator	Sastav reakcione smeše posle 24 h ^a
1	NaBH_4	MeOH	-	Bez promena u reakcionoj smeši
2	NaBH_4	MeOH	AcOH	Dominiraju polazni reaktanti
3	$\text{NaBH}(\text{OAc})_3$	DCM	-	Dominiraju polazni reaktanti
4	NaBH_3CN	MeOH	ZnCl_2	Dominiraju polazni reaktanti
5	NaBH_3CN	THF	ZnCl_2	Komplikovana smeša proizvoda

^a Određen analizom TLC hromatograma.

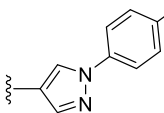
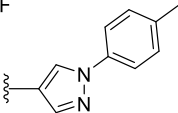
80 $\xrightarrow{\text{a)}$  $\xrightarrow{\text{b)}$ 

R =   

35 (74%) **36**, X = S (49%) **37**, X = S (77%)
102, X = NMe (51%) **103**, X = O (48%)

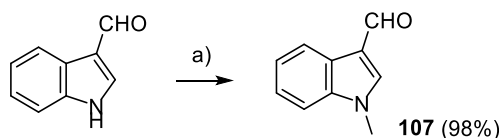
104 (80%) **105** (65%) **106** (74%)

69 (75%) **70** (73%) **71** (69%)

Shema 10. Sinteza jedinjenja 64–71.

Prateći opisan sintetski postupak, pokušana je sinteza indolskog derivata u reakciji amina **80** i indol-3-karbaldehida. Iz odgovarajućih reakcionih smeša, posle intenzivnog prečišćavanja najbolji prinos ciljnog proizvoda je bio 9%. Dobijen derivat u reakciji sa **AdCH₂CHO** ne daje, ni posle prečišćavanja, čist proizvod. Uočeno je da tokom prečišćavanja, nastaju novi proizvodi koji onemogućavaju izolovanje čistog krajnjeg jedinjenja. S obzirom na to da je cilj bio da se uvede segment sličan indolskom prstenu i ispita njegov doprinos ciljanoj aktivnosti, umesto indolskog sistema uveden je *N*-metilindolski. Ovo je postignuto reakcijom **80** i 1-metilindol-3-karbaldehida (**107**, sheme 10 i 11). Prekursor **107** je sintetisan u visokom prinosu postupkom poznatim u literaturi, upotrebom MeI i NaH, u suvom THF-u (shema 11), a njegovi spektralni podaci su bili u skladu sa objavljenim.¹⁰⁷



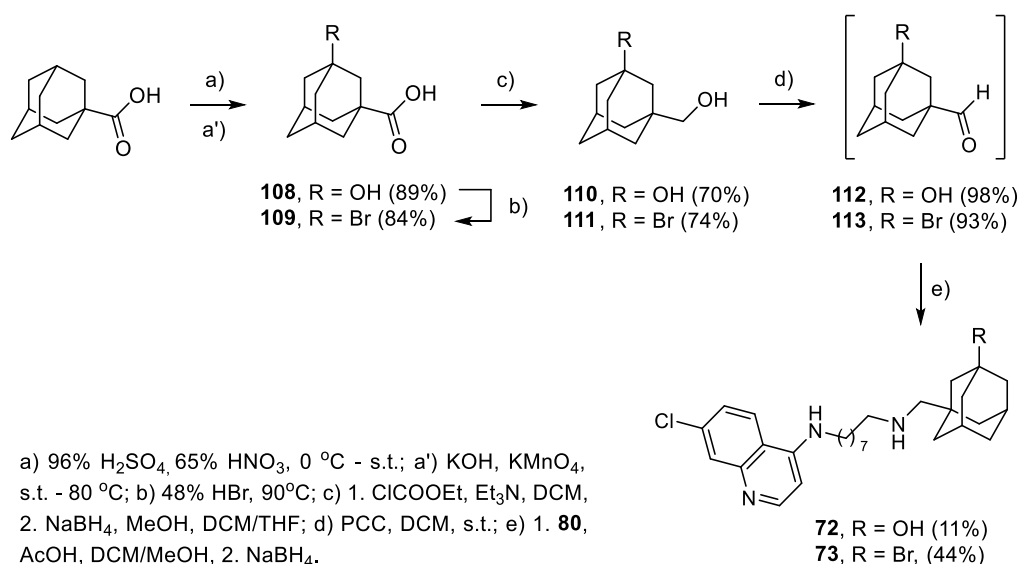
a) NaH, MeI, THF, 0 °C - s.t.

Shema 11. Sinteza jedinjenja **107**.

Jedinjenja sa funkcionalizovanom adamantanskom jedinicom

Sintetski put za dobijanje hibrida sa dodatnim supstituentom na adamantil-grupi (**72**, **73** i **74**), osmišljen je tako da se u poslednjem koraku reakcijom reduktivnog aminovanja prethodno sintetisani modifikovani adamantan-1-karbaldehidi, povežu sa aminom **80**. Planirano je da nova jedinjenja sadže -Br, -OH ili -CH₂CONH₂ kao supstituent u položaju 3 adamantil-fragmenta.

Sinteza prva dva derivata sa funkcionalizovanom adamantil-grupom, jedinjenja **72** i **73**, prikazana je na shemi 12.

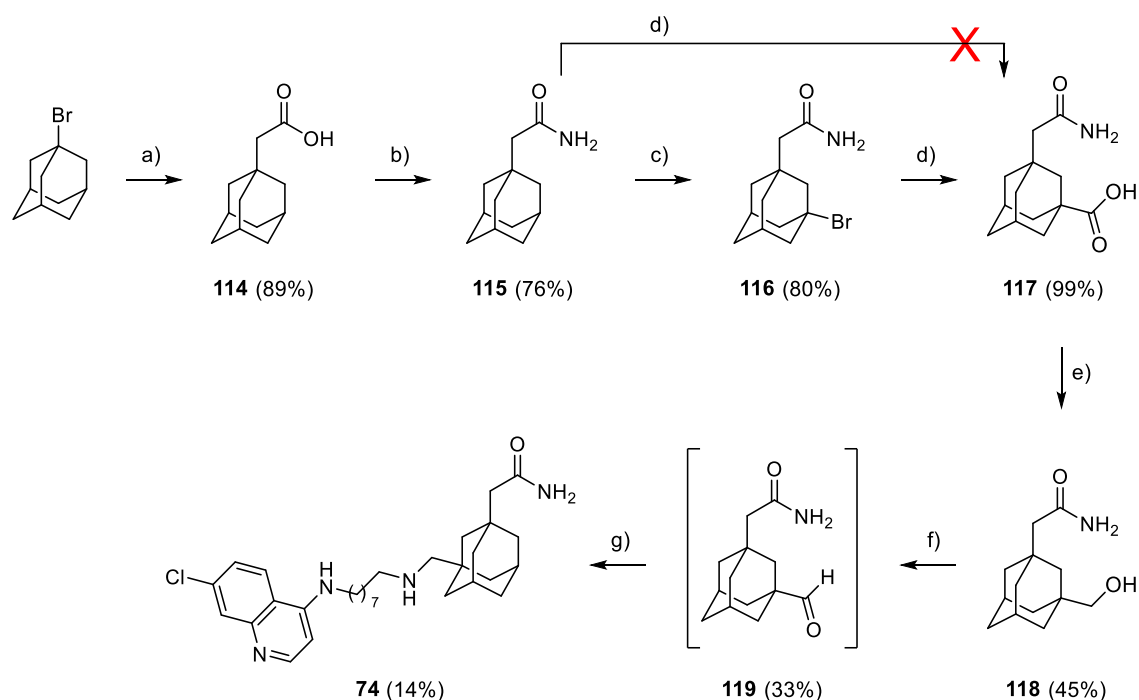


Shema 12. Sinteza jedinjenja **72** i **73**.

Prvi korak predstavlja hidroksilaciju komercijalno dostupne 1-adamantan-1-karbonske kiseline, pri čemu nastaje **108**. Za sintezu su ispitana dva postupka. Prema prvom,¹⁰⁸ korišćena je smeša 96% H₂SO₄ i 65% HNO₃, uz hlađenje na 0 °C, a zatim je reakciona smeša mešana na sobnoj temperaturi. Prema drugom postupku, kao oksidaciono sredstvo korišćen je kalijum-permanganat u vodenom rastvoru kalijum-hidroksida,¹⁰⁹ i tada je dobijen proizvod manje čistoće i u nižem prinosu (67%). U narednoj reakciji hidroksilna grupa je supstituisana bromom, upotrebom 48% vodenog rastvora HBr na 90 °C, i dobijen je proizvod **109**.¹¹⁰ Kiseline **108** i **109** su zatim, pod istim uslovima, prevedene u mešovite anhidride koristeći etil-hlorformijat i Et₃N, koji su *in situ* pomoću NaBH₄ u metanolu redukovani do diola **110**, odnosno alkohola **111**. Nakon prekidanja reakcije, izlivanjem u smešu led/razbl. HCl, sirov **111** je izolovan ekstrakcijom pomoću dihlormetana. S druge strane, sirov **110** je efikasno izolovan iz vodenog rastvora ekstrakcijom pomoću etil-acetata, tek nakon podešavanja pH vrednosti rastvora na 7, pomoću zasićenog vodenog rastvora NaHCO₃. Oba jedinjenja, **110**¹¹¹ i **111**¹¹², su poznata u literaturi i dobijeni spektralni podaci su bili u skladu sa publikovanim. U poslednjim koracima, alkoholi **110** i **111** su oksidovani do odgovarajućih aldehida **112** i **113**, koristeći piridinium-hlorhromat (PCC), koji su nakon prečišćavanja odmah korišćeni

dalje. Oni su u reakciji sa **80**, u smeši DCM/MeOH (1:2, V/V) uz dodatak sirćetne kiseline i upotrebu NaBH₄ u višku,⁹⁴ prevedeni u krajnje proizvode **72** i **73**.

Postupak sinteze jedinjenja **74** započinje sintezom 1-adamantansirćetne kiseline (**114**) iz 1-bromadamantana (shema 13).^{113,114} Ispitano je nekoliko postupaka opisanih u literaturi i rezultati su prikazani u tabeli 4, sa navedenim reakcionim uslovima, kojima su podvrgnuti 1-bromadamantan i 1,1-dihloreten.



a) 96% H₂SO₄, CH₂=CCl₂, 10 - 20 °C b) 1. ClCOOEt, Et₃N, DCM, 2. NH₃ (aq), DCM/THF; c) tBuBr, 96% H₂SO₄, CCl₄, 10 °C - s.t.; d) 96% H₂SO₄, HCOOH, heksan, 0 °C; e) 1. ClCOOEt, Et₃N, DCM, 2. NaBH₄, MeOH, DCM/THF; f) PCC, DCM, s.t.; g) 1. **80**, AcOH, DCM/MeOH, 2. NaBH₄.

Shema 13. Sinteza jedinjenja **74**.

Tabela 4. Optimizacija sinteze jedinjenja **114**.

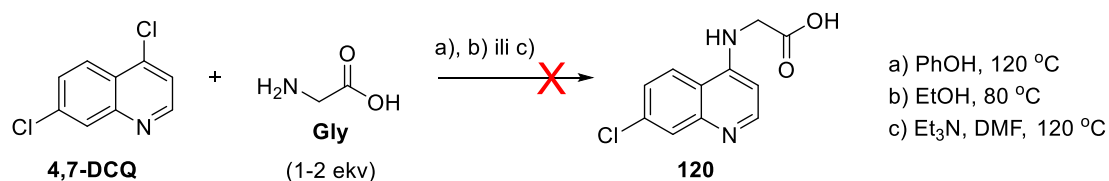
Broj	Reakcioni uslovi	Prinos (%)
1	90% H ₂ SO ₄ , 10-20 °C	77
2	BF ₃ ×Et ₂ O (0,2 ekv), 90% H ₂ SO ₄ , 10-20 °C	73
3	96% H ₂ SO ₄ , 10-20 °C	89

Za dalji sintetski put odabrana je reakcija **3** sa 96% H₂SO₄, u kojoj je **114** dobijen u najvišem prinosu.

U nastavku sinteze, kako bi se u kasnijim fazama izbegle sporedne reakcije, kiselina **114** je prvo prevedena u amid **115**, primenom opisane procedure,¹¹⁵ reakcijom sa etil-hlorformijatom u prisustvu Et₃N i zatim, u drugom koraku, reakcijom nastalog mešovitog anhidrida i 30% vodenog rastvora amonijaka. Dobijeni spektralni podaci amida **115** bili su identični literaturnim.¹¹⁶ Primenom drugih metoda, upotrebom HOBt i EDC u dihlormetanu, i koristeći NH₄Cl i Et₃N za formiranje amonijaka u reakcionoj smeši (DCM/DMF = 3:1, V/V) nastala je složena smeša, koja otežava izolovanje proizvoda. Takođe, u pokušaju sinteze iz hlorida 1-adamantankarboksilne kiseline i amonijačnog rastvora u tetrahidrofuranu,¹¹⁷ nije dobijen željeni proizvod. U daljem sintetskom putu za uvođenje karboksilne funkcionalne grupe u molekul **115**, odabrana je Koch-Haaf-ova reakcija. U literaturi se nalaze primeri adamantana i njegovih derivata, kao supstrata u ovoj transformaciji, koja se odvija u smeši 96% H₂SO₄ i HCOOH, za *in situ* generisanje ugljen-monoksida.^{118,119} Međutim, primenom ovih uslova nije došlo do reakcije karboksilacije **115**, što sugerise da prisutna amidna grupa ometa reakciju. Iz tog razloga smo odlučili da sintetišemo odgovarajući 3-bromo-derivat, koji će kasnije stupiti u Koch-Haaf-ovu reakciju. Za dobijanje 3-brom-1-adamantansirćetne kiseline u literaturi je opisan postupak sa *t*-butil-bromidom u ugljen-tetrahloridu uz prisustvo 96% H₂SO₄, na 10-20 °C.¹²⁰ Primenom ovog postupka uveden je brom i sintetisan je derivat **116** (shema 13). U narednom koraku je ponovljena reakcija karboksilacije – 96% H₂SO₄, HCOOH, u heksanu, na 0 °C,¹¹⁹ sada na disupstituisanom adamantanu **116**, nakon čega je dobijeno jedinjenje **117** u odličnom prinosu. Posebnu pažnju trebalo je obratiti na obradu reakcione smeše. Reakcija je prekinuta izlivanjem na led. Ekstrakcijom pomoću dihlormetana, iz vodenog rastvora čiji je pH = 1, uklonjene su uglavnom nečistoće, ali je nakon ekstrakcije pomoću etil-acetata, uz mali dodatak THF-a, izolovan proizvod u obliku etil-estra. Ovakva sporedna reakcija je izbegnuta kada je pH vrednost vodenog rastvora podešena na 3, koristeći vodeni rastvor NaOH, nakon čega je uz hlađenje u ledu došlo do taloženja željenog proizvoda. Transformacija kiseline **117** do alkohola **118** je izvršena redukcijom odgovarajućeg mešovitog anhidrida, prema postupku opisanom za dobijanje alkohola **110**. Završni korak u sintezi – oksidacija alkohola do aldehida **119** i zatim reakcija sa aminom **80**, izveden je prema prethodno opisanom reakcionom postupku. Koliko je nama poznato, dobijanje 1,3-disupstituisanih adamantana **116**, **117** i **118** do sada nije objavljeno.¹²¹

3.1.3. Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana sa amidnom funkcionalnom grupom u bočnom nizu

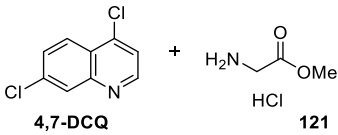
Postupak dobijanja dva nova derivata, koji sadrže amidnu funkcionalnu grupu u linkeru, započet je pokušajima kuplovanja **4,7-DCQ** i glicina (**Gly**). U literaturi je zabeležena reakcija pri kojoj nastaje *N*-(7-hlor-4-hinolinil)glicin (**120**, shema 14).¹²² Ponovljen je postupak u kojem su korišćena 2 ekv. **Gly**, a kuplovanje se odvijalo u fenolu na povišenoj temperaturi. Međutim, nakon obrade reakcione smeše i konačnog podešavanja pH vrednosti rastvora na 5 i zatim na 6, izolovana je mala količina složene smeše koju nije bilo moguće prečistiti. Sinteza je pokušana primenom dva dodatna postupka. U prvom, reaktanti su mešani u ključalom etanolu tokom 24 h, ali nije došlo do promene u reakcionoj smeši. U drugom pokušaju, posle zagrevanja smeše reaktanata i Et₃N u DMF-u i posle obrade, u smeši je dominirao polazni **4,7-DCQ**.



Shema 14. Pokušaj sinteze jedinjenja **120**.

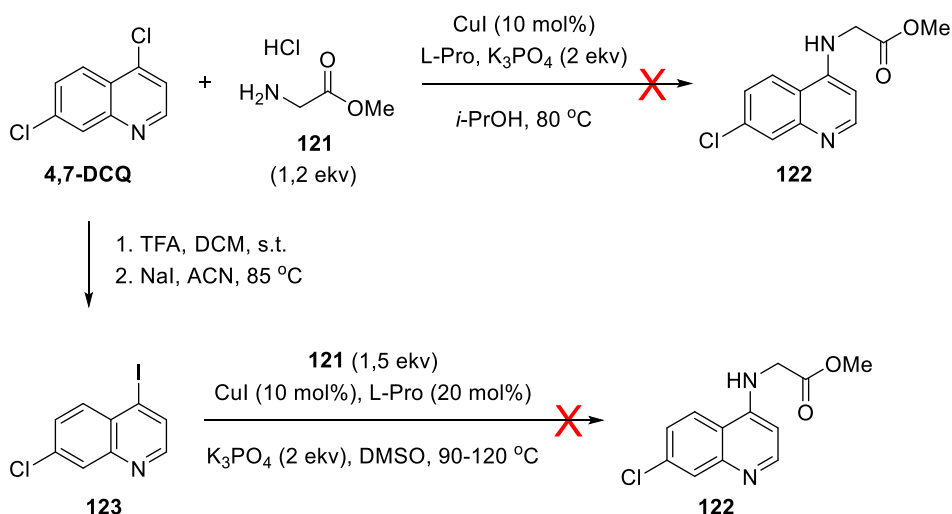
Nov pristup se zasniva na sintezi polazeći od metil-glicinat-hidrohlorida (**121**). U tabeli 5 su prikazani različiti reakcioni uslovi pod kojima su izvedene probne reakcije i njihov ishod. Pri navedenim reakcionim uslovima, ovaj pristup se pokazao kao neodgovarajući.

Tabela 5. Probe reakcije **4,7-DCQ** i **121**.

				
Broj	Kiselina / Baza	Rastvarač	Temperatura	Ishod reakcije
1 ¹²³	HCl	EtOH	80 °	4,7-DCQ i 99 ^a
2	-	EtOH	80 °	99 ^b
3	Et ₃ N	DMF	s.t.–120 °C	7-hlor- <i>N,N</i> -dimetilhinolin-4-amin ^b
4	-	PhOH	120 °C	DF, 40% 4,7-DCQ i dva nepoznata proizvoda ^c
5	Et ₃ N	DMSO	120 °C	Izolovana mala količina smeše više proizvoda ^a
6 ¹²⁴	NaHCO ₃	EtOH	85 °C	4,7-DCQ i tragovi 99 ^a
7	K ₂ CO ₃	EtOH	85 °C	Nema promena u reakcionoj smeši ^a
8 ¹²⁵	Et ₃ N	ACN	85 °C	Složena smeša proizvoda ^a

^a Izgled TLC hromatograma kada više nisu primećene promene u reakcionoj smeši ili nakon obrade reakcije, proizvodi su identifikovani na osnovu *R_F* vrednosti; ^b Strukture proizvoda određene pomoću NMR spektroskopije; ^c Prinos izračunat na osnovu izmerene mase izolovanog proizvoda.

U narednom pokušaju sinteze, odabrana je Ullmann-ova reakcija. Prva proba je izvedena u inertoj atmosferi, uz zagrevanje na 80 °C, koristeći bakar(I)-jodid, L-prolin (L-Pro) kao ligand, kalijum-fosfat kao bazu i *i*PrOH kao rastvarač (shema 15). Praćenjem reakcije tokom 18 h, nisu uočene promene u sastavu reakcione smeše.



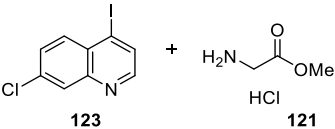
Shema 15. Pokušaj sinteze jedinjenja **122**.

Kako bi se olakšala reakcija kuplovanja, sintetisan je 7-hlor-4-jodhinolin (**123**). U reakciji prethodno formirane 4,7-dihlorhinolinijum-soli trifluorsirćetne kiseline, pomoću natrijum-jodida, u

acetonitrilu (ACN), na temperaturi ključanja i u atmosferi argona, dobijen je derivat **123**.¹²⁶ On je potom podvrgnut reakciji Ullmann-ovog kuplovanja (shema 15), prema publikovanom postupku,¹²⁷ ali nakon obrade reakcione smeše u njoj je identifikovan samo polazni hinolin.

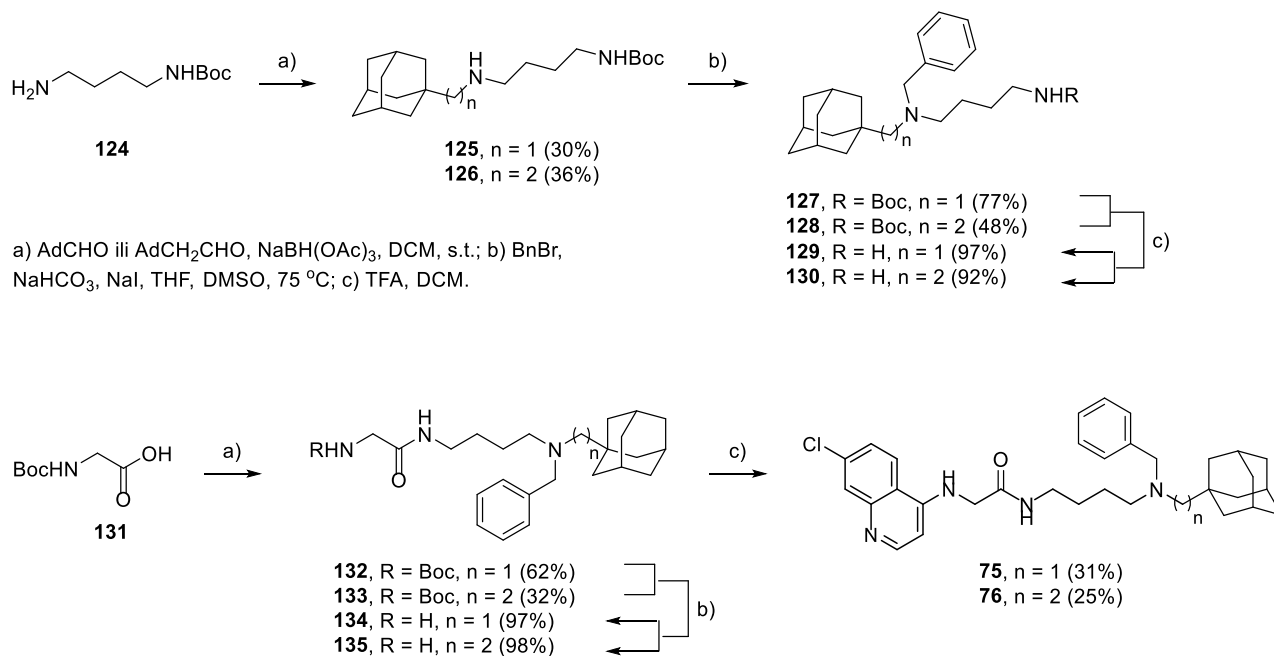
Optimizacija uslova reakcije Ullmann-ovog tipa, između **123** i **121** (1,5 ekv), u prisustvu bakar(I)-jodida (10 mol%) i kalijum-karbonata (3,5 ekv), u DMSO-u na 120 °C, prikazana je u tabeli 6.

Tabela 6. Probe reakcije **123** i **121**.

			
Broj	Ligand (20 mol%)	Obrada reakcije	Ishod reakcije
1	L-prolin	Ekstrakcija	Složena smeša proizvoda posle obrade ^a
2	L-prolin	Uklonjen DMSO, ekstrakcija	Složena smeša proizvoda posle obrade ^a
3	L-prolin	Uklonjen DMSO	Složena smeša proizvoda ^a
4	<i>N,N</i> -dimetilglicin	Uklonjen DMSO	Sličan sastav smeše kao proba 3 ^a
5	2- <i>i</i> -butirilcikloheksanon	Uklonjen DMSO	GCMS – nađena četiri sporedna proizvoda

^a Određen na osnovu izgleda TLC hromatograma.

Pokušaji kuplovanja koji su ostali bez rezultata, preusmerili su postupak dobijanja jedinjenja sa amidnom vezom u linkeru na drugačiji sintetski put kao što je prikazano na shemi 16.



a) 1. ClCOOEt, Et₃N, DCM, 2. **129** ili **130**, DCM; b) TFA, DCM, s.t.; c) **4,7-DCQ**, PhOH, 120 °C.

Shema 16. Sinteza jedinjenja **75** i **76**.

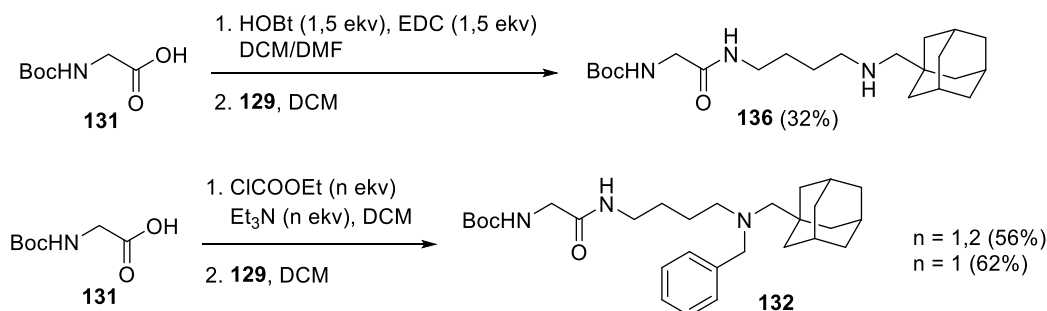
Postupak započinje zaštitom 1,4-diaminobutana pomoću Boc_2O u dihlormetanu čime je dobijen mono-Boc diamin **124**.^{128,129} Usledila je reakcija zaštićenog diamina sa **AdCHO**, u uslovima reduktivnog aminovanja. Postavljene su tri probe u sistemima koji su navedeni u tabeli 7.

Tabela 7. Optimizacija sinteze jedinjenja **125**.

$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc} \xrightarrow{\text{AdCHO}}$				
124 (1-1,2 ekv) 125				
Broj	Redukciono sredstvo	Rastvarač	Kiselina / Katalizator	Prinos (%)
1	NaBH_4	DCM / MeOH	AcOH	27
2	$\text{NaBH}(\text{OAc})_3$	DCM	-	30
3	NaBH_4	EtOH / THF	$\text{Ti}(\text{OiPr})_4$	26

Prema sva tri postupka proizvod se dobija u bliskom prinosu i prednost je data reakciji **2**, sa $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, zbog lakšeg prečišćavanja. Zatim je, polazeći od zaštićenog diamina **124** i **AdCH₂CHO**, ponavljanjem ovih reakcionih uslova, sintetisan i analog **126**. U narednoj reakciji je uvedena benzil-grupa, alkilovanjem alifatičnog azota pomoću benzil-bromida, u prisustvu NaHCO_3 i katalitičke količine NaI .¹³⁰ Povećanjem upotrebljene količine benzil-bromida, od 1 do 3 ekv, prinos proizvoda **127** je povišen sa 53% na 77%. Optimizovani reakcioni uslovi su primenjeni i na sintezu **128**, sa namerom da se takođe dobije u visokom prinosu. Međutim, analizom NMR spektara glavnog proizvoda, zaključeno je da je došlo do vezivanja dve benzil-grupe i nastanka kvaternernog amonijum-jona. Dodatna metilenska jedinica do adamantana je uticala na smanjenje sternih smetnji, a time i na povećanje reaktivnosti alifatičnog azota. Zbog toga je željeni proizvod **128** uspešno dobijen korišćenjem 1,1 ekv. benzil-bromida, u reakciji koja se odvijala u većem razblaženju.

U sledećem koraku je skinuta Boc-zaštita sa amino-grupe u derivatima **127** i **128** (TFA/DCM), a dobijeni amini **129** i **130** su, bez prethodnog izolovanja stavljeni u reakciju sa *N*-Boc-glicinom (**131**). Zaštićeni Gly je sintetisan opisanim postupkom – Boc_2O , NaOH (1 M) u dioksanu.¹³¹ U narednom koraku ispitana su dva postupka formiranja amidne veze između **131** i intermedijera **129**, za potrebe sinteze amida **132** (shema 17). Nakon reakcije formiranja amida u prisustvu HOBt i EDC, kao glavni proizvod je izolovan **136** i utvrđeno je da je tokom postupka došlo do skidanja benzil-grupe. Prema drugom postupku, kada je korišćen etil-hlorfomijat u malom višku, takođe je uočeno nastajanje **136**, ali u manjoj količini. Upotrebom etil-hlorfomijata u ekvimolarnoj količini u odnosu na **129** izolovan je željeni proizvod **132**, bez nastanka **136**. Pod istim uslovima, **131** i amin **130** prevedeni su u amid **133**.



Shema 17. Optimizacija sinteze jedinjenja **132**.

U poslednjoj fazi sinteze, posle deprotekcije derivata **132** i **133** uobičajenim postupkom (TFA/DCM), pristupilo se reakciji izolovanih amina **134**, odnosno **135**, koji nisu dodatno prečišćavani i okarakterisani, sa **4,7-DCQ**. Stapanjem reaktanata amina (1,2 ekv) i **4,7-DCQ**, u fenolu na visokoj temperaturi, sintetisana su krajnja jedinjenja **75** i **76**. Pokušaj kuplovanja **4,7-DCQ** i **134**, odnosno **135** u ključalom etanolu uz dodatak katalitičke količine 37% HCl nije bila odgovarajuća metoda, jer je utvrđeno nastajanje jedinjenja **99** kao jedinog proizvoda.

3.2. ISPITIVANJE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI

Predmet ovog istraživanja je racionalni razvoj novih hibrida aminohinolina i adamantana i ispitivanje njihove *in vitro* aktivnosti prema više identifikovanih meta u simptomatskoj terapiji Alchajmerove bolesti. Iz tog razloga, za prikazane hibride **4AQ-Ad** je određena *in vitro* inhibitorna aktivnost prema *hChE*, izvršeno je merenje *in vitro* antioksidativne aktivnosti i ispitana je njihova sposobnosti helatacije biometala.

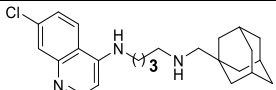
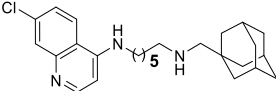
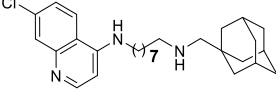
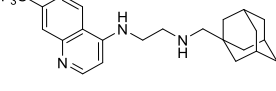
3.2.1. Određivanje *in vitro* inhibitorne aktivnosti prema holinesterazama

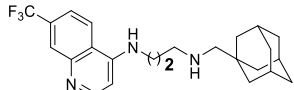
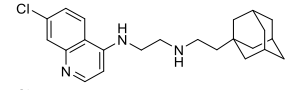
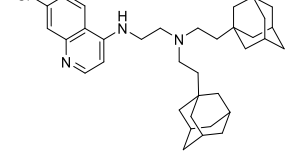
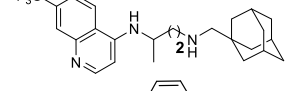
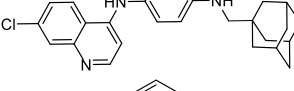
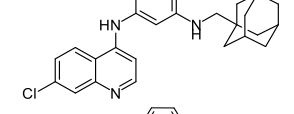
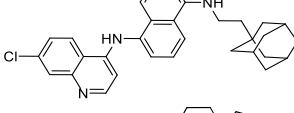
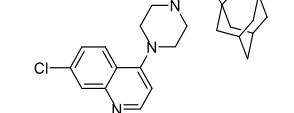
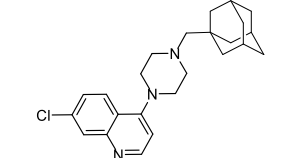
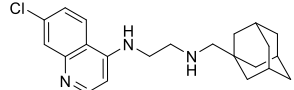
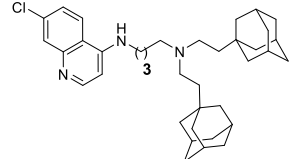
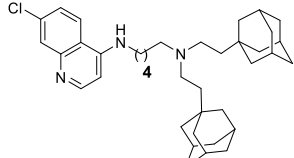
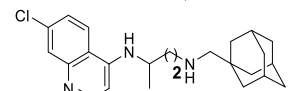
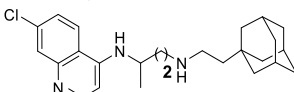
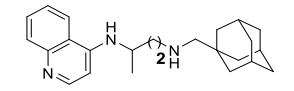
Hibridnim jedinjenjima aminohinolina i adamantana, opisanim u ovom istraživanju, ispitana je inhibitorna aktivnost prema rekombinantnoj *hAChE* i *hBChE* u *in vitro* uslovima. Za obe serije jedinjenja urađen je skrining inhibitorne aktivnosti pri jednoj koncentraciji supstrata, pri čemu su određeni procenti inhibicije (%Inh). Za prvu seriju hibrida odabrana je koncentracija inhibitora kod koje je %Inh bio u rasponu od 20–80 %. Kod druge serije hibrida odabrane su 1 μ M i 10 μ M koncentracija inhibitora. U nastavku istraživanja, za prvu seriju hibrida određene su i konstante disocijacije kompleksa enzim-ligand (K_i), dok je za drugu seriju hibrida određena K_i najaktivnijeg derivata.

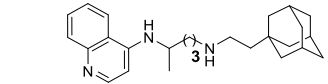
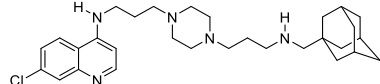
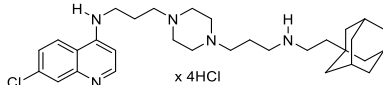
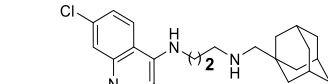
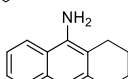
Hibridi aminohinolina i adamantana različitih struktura bočnog niza

Vrednosti inhibitorne aktivnosti hibrida prve serije, izražene u procentima, date su u tabeli 8.

Tabela 8. Inhibicija *hAChE* i *hBChE* prvom serijom hibrida **4AQ-Ad** (**39–60**) izražena u obliku procenta inhibicije ($\pm$ SD).

Jedinjenje	% inhibicije $\pm$ SD ^a			
	μ M ^b	<i>hAChE</i>	μ M ^b	<i>hBChE</i>
39 	1	48 $\pm$ 1	1	50 $\pm$ 3
40 	1	51 $\pm$ 1	1	52 $\pm$ 1
41 	0,1	47 $\pm$ 1	0,1	44 $\pm$ 1
42 	1	55 $\pm$ 5	10	70 $\pm$ 1

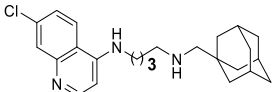
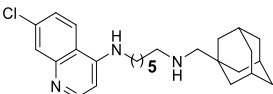
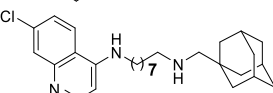
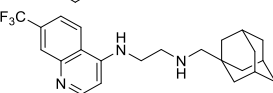
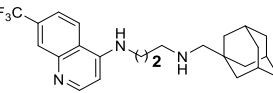
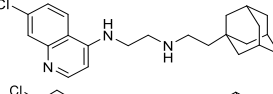
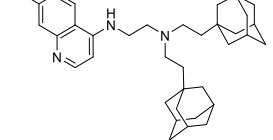
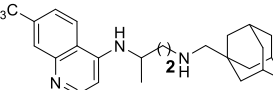
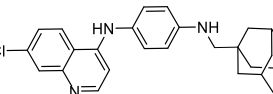
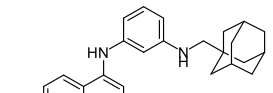
43		1	78 ± 1	10	77 ± 1
44		1	50 ± 13	1	47 ± 4
45		10	70 ± 4	1	60 ± 4
46		1	45 ± 2	1	31 ± 2
47		10	65 ± 2	10	35 ± 1
48		10	46 ± 3	10	59 ± 2
49		10	29 ± 1	20	29 ± 2
50		1	48 ± 4	10	52 ± 4
51		10	48 ± 2	10	27 ± 2
52		1	45 ± 9	1	33 ± 10
53		10	72 ± 8	1	49 ± 5
54		1	44 ± 6	1	53 ± 6
55		1	32 ± 4	1	44 ± 4
56		1	29 ± 6	0,1	70 ± 4
57		1	51 ± 2	1	53 ± 3

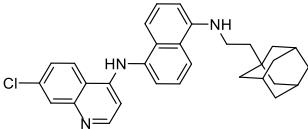
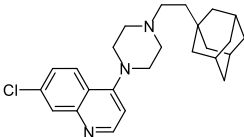
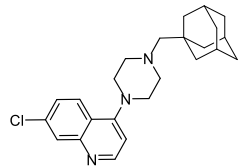
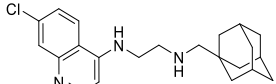
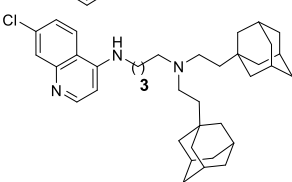
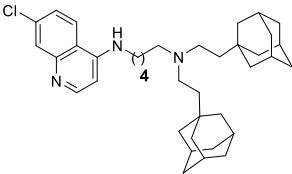
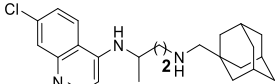
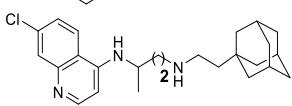
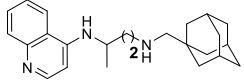
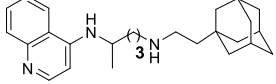
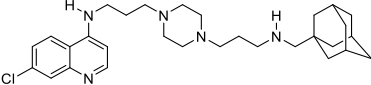
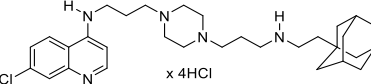
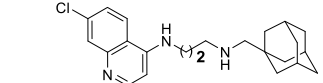
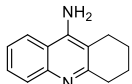
58		1	68 ± 4	1	66 ± 3
59		1	31 ± 6	10	69 ± 4
60		1	53 ± 4	10	77 ± 7
38 ^c		1	58 ± 2	2	40 ± 2
Takrin		0,1	32 ± 3	0,01	40 ± 5

^a Koncentraciji supstrata ATCh je 0,10 mM u svim merenjima, SD – standardna devijacija; ^b Koncentracija testiranog jedinjenja (inhibitora); ^c *Chem.-Biol. Interact.* **2019**, 308 101-109.

U narednim eksperimentima određene su konstante inhibicije i prikazane u tabeli 9.

Tabela 9. Inhibicija *hAChE* i *hBChE* prvom serijom hibrida **4AQ-Ad (39–60)** izražena u obliku konstante disocijacije kompleksa enzim-ligand ($K_i \pm SD$).

	Jedinjenje	K_i (μ M) $\pm$ SD ^a		IS ^b
		<i>h</i> AChE	<i>h</i> BChE	
39		1,0 $\pm$ 0,0 (n)	0,92 $\pm$ 0,04 (m)	0,9
40		0,67 $\pm$ 0,02 (m)	0,76 $\pm$ 0,06 (m)	1,1
41		0,075 $\pm$ 0,006 (m)	0,091 $\pm$ 0,007 (m)	1,2
42		1,2 $\pm$ 0,1 (n)	3,5 $\pm$ 0,3 (m)	2,9
43		1,1 $\pm$ 0,0 (n)	2,6 $\pm$ 0,2 (c)	2,4
44		1,6 $\pm$ 0,1 (n)	0,92 $\pm$ 0,07 (m)	0,6
45		5,2 $\pm$ 0,2 (n)	1,5 $\pm$ 0,2 (c)	0,3
46		0,91 $\pm$ 0,05 (m)	1,8 $\pm$ 0,3 (c)	1,5
47		3,3 $\pm$ 0,4 (m)	2,5 $\pm$ 0,5 (m)	0,8
48		9,0 $\pm$ 0,8 (m)	5,5 $\pm$ 0,6 (m)	0,6

49		$3,8 \pm 0,3$ (c)	22 ± 2 (c)	5,8
50		$2,1 \pm 0,4$ (m)	$5,6 \pm 0,6$ (m)	2,7
51		$9,4 \pm 0,4$ (c)	25 ± 1 (c)	2,7
52		$1,2 \pm 0,1$ (c)	$2,1 \pm 0,2$ (m)	1,8
53		$2,4 \pm 0,2$ (n)	$1,0 \pm 0,1$ (n)	0,4
54		$0,33 \pm 0,01$ (m)	$0,82 \pm 0,04$ (c)	2,5
55		$0,56 \pm 0,02$ (m)	$1,2 \pm 0,1$ (c)	2,1
56		$1,9 \pm 0,1$ (m)	$0,15 \pm 0,01$ (m)	0,1
57		$0,74 \pm 0,03$ (m)	$0,65 \pm 0,04$ (m)	0,9
58		$0,52 \pm 0,02$ (c)	$0,38 \pm 0,03$ (m)	0,7
59		$0,69 \pm 0,02$ (c)	$3,3 \pm 0,2$ (c)	4,8
60		$0,44 \pm 0,09$ (c)	$1,8 \pm 0,2$ (m)	4,1
38 ^b		$0,77 \pm 0,09$ (m)	$3,2 \pm 0,4$ (m)	4,2
Takrin		$0,040 \pm 0,006$ (m)	$0,0063 \pm 0,0010$ (m)	0,2

^a SD – standardna devijacija; ^b $IS = K_{i(BChE)}/K_{i(AChE)}$; ^b *Chem.-Biol. Interact.* **2019**, 308 101-109; c – kompetitivni (competitive), n – nekompetitivni (non-competitive) i m – mešoviti (mixed) tip inhibicije.

Na osnovu rezultata u tabeli 9 može se videti da su vrednosti K_i za AChE u opsegu od 0,075 μ M do 9,4 μ M. Poređenjem derivata sa linkerom normalnog niza i metiladamantanom, može se

zaključiti da produženjem niza, od 2 do 6 C-atoma (**38–40** i **52**), ne dolazi do značajnije promene inhibitorne aktivnosti i vrednosti K_i su u intervalu 0,67–1,2 μM . Uvođenjem *n*-oktilenskog niza (**41**) značajno je porasla sposobnost inhibicije ($K_i = 0,075 \mu\text{M}$), gotovo 9 puta u poređenju sa derivatom koji poseduje *n*-heksilenski bočni niz (**40**). Ovaj rezultat ukazuje na to da je ovakva dužina linkera posebno povoljna za ostvarivanje inhibicije enzima i blokiranje njegovog aktivnog mesta (CAS).

Poredeći aktivnosti jedinjenja **52** i **38**, sa vrednostima njihovih analoga **42** i **43** koji sadrže trifluormetil-grupu u položaju C(7) na hinolinskom prstenu, može se uočiti da prisustvo elektron-privlačnije i voluminoznije $-\text{CF}_3$ grupe, umesto $-\text{Cl}$, ne utiče na jačinu inhibicije AChE.

Zamenom metilen-adamantanske grupe (**52**) etilen-adamantanskom (**44**) ne dolazi do značajnije promene inhibitorne aktivnosti. S druge strane, kada se jedinjenje **44** uporedi sa jedinjenjem **45**, koje sadrži dodatnu etilen-adamantansku grupu na terminalnom azotu, uočava se povećanje konstante inhibicije, sa 1,6 μM na 5,20 μM . Produženje alkil-niza kod derivata sa bis(etilen-adamantanskim) strukturnim motivom (**53** i **54**), na četiri i na pet metilenskih grupa, znatno povećava inhibitorne aktivnosti u poređenju sa **45**. Tako je, jedinjenje **54** bilo 16 puta potentnije u odnosu na **45**. Uprkos voluminoznosti dva supstituenta, molekul sa linkerom od 5 C-atoma i dva adamantanska supstituenta (**54**), ipak uspeva da se efikasnije pozicionira u aktivnu šupljinu AChE u poređenju sa derivatima sa *n*-butilenskim i *n*-heksilenskim bočnim nizom (**39** i **40**). Izmerena K_i iznosila je 0,33 μM , što je niža vrednost nego za dva pomenuta jedinjenja.

Bliske vrednosti konstanti inhibicije utvrđene su za jedinjenja sa račvastim bočnim nizom, koji se razlikuju u C-7 supstituentu hinolinskog prstena (**46**, **55** i **57**). Nije uočena pravilnost prilikom produženja niza. Tako, jedinjenje sa najdužim linkerom (**58**) odlikuje gotovo ista vrednost K_i kao i jedinjenje **55**. Dodatno, kod strukturnog analoga **55**, sa dodatnom metilenskom jedinicom do adamantil-grupe (**56**), primećeno je trostruko smanjenje potencijala inhibicije.

Kod jedinjenja koja imaju aromatičan prsten u linkeru, zabeležena je smanjena sposobnost inhibicije aktivnosti AChE, pa se izvodi zaključak da je uvođenje rigidnog linkera nepovoljno za vezivanje sa enzimom. Derivati *p*-diaminobenzena i 1,5-diaminonaftalena (**47** i **48**) su se pokazali oko 2,5 puta aktivnijim u odnosu na *m*-diaminobenzenov derivat (**48**). Na osnovu toga, može se pretpostaviti da je bitan međusobni prostorni položaj hinolinskog i adamantanskog dela molekula, koji dolazi do izražaja u sistemima sa malom konformacionom slobodom.

Rezultati aktivnosti piperazinskih derivata su u skladu sa prethodnim zaključkom da produženje alkil-niza i povećanje fleksibilnosti linkera dovode do porasta inhibitorne moći. To se može dobro uočiti kod jedinjenja **50** i **51**. Kao slabiji inhibitor se pokazao **51**, dok je jedinjenje **50**, sa jednom metilenskom grupom više, bilo 4,5 puta potentnije. Uvođenjem propil-niza između hinolinskog jezgra i piperazina i piperazina i adamantil-grupe, kod derivata **59** postignut je porast inhibitorne moći skoro 14 puta u poređenju sa **51**, odnosno 5 puta poredeći sposobnost inhibicije koju su pokazala jedinjenja **50** i **60**. Dodatno se može uočiti da zamena metilen-adamantanskog motiva etilen-adamantanskim više utiče na aktivnost kod rigidnih struktura (**50** i **51**), nego kod konformaciono slobodnijih linkera (**59** i **60**).

Ispitivana jedinjenja inhibiraju BChE, sa K_i vrednostima u opsegu od 0,091 μM do 25 μM . Kod jedinjenja sa linkerom normalnog niza i metilen-adamantanskom grupom (**38–41** i **52**), jačina inhibicije primetno raste, počevši od analoga sa 4 i 6 C-atoma u nizu, da bi najbolju inhibitornu moć ponovo pokazao *n*-oktilenski derivat. Njegova inhibitorna moć je bila 8, odnosno 10 puta veća od dva pomenuta analoga sa kraćim linkerom.

Za derivate sa trifluormetil supstituentom (**42** i **43**), konstante inhibicije se nisu mnogo razlikovale od onih određenih za analoge sa hlorom (**52** i **38**). Sva četiri jedinjenja su lošiji inhibitori BChE, u poređenju sa inhibitornom aktivnošću koju su pokazali prema AChE, čime se stiče utisak da se derivati koji poseduju etilenski i trimetilenski bočni niz slabije vezuju u aktivno mesto BChE.

Zamena metilen-adamantanske strukture u molekulu **52**, etilen-adamantanskim motivom kod derivata **44**, 2 puta je povećala njegovu sposobnost inhibicije. Uvođenje druge etilen-adamantanske grupe pratilo je isti trend kao kod inhibicije AChE, ali sa manjim razlikama u promeni inhibitorne moći prema BChE. Jedinjenje **44** je bilo 1,6 puta potentnije u odnosu na analog sa dodatnim etilen-adamantanskim supstituentom **45**. Zatim je sposobnost inhibicije bis(etilen-adamantanskih) derivata (**45**, **53** i **54**) blago rasla sa produženjem niza.

Od jedinjenja sa istim račvastim bočnim nizom (**46**, **55** i **57**), derivat bez supstituenta na hinolinskom jezgru **57** se pokazao kao najaktivniji. Sposobnost inhibicije je dodatno porasla produženjem linkera. Uvođenje po jedne metilenske jedinice u niz sa obe strane terminalne amino-grupe kod jedinjenja **58** ($K_i = 0,38 \mu\text{M}$) dovelo je do duplog porasta aktivnosti u poređenju sa **57** ($K_i = 0,65 \mu\text{M}$). Najpotentniji inhibitor u ovom setu bilo je jedinjenje **56** ($K_i = 0,15 \mu\text{M}$), u kom je prisustvo dodatne metilenske grupe do adamantana 8 puta povećalo inhibitornu sposobnost u odnosu na strukturni analog **55**.

Jedinjenja sa najmanjom konformacionom slobodom, koja imaju aromatičan linker, slabije su inhibirala BChE. Promene njihovih inhibitornih sposobnosti su bile iste kao za AChE – *p*-diaminobenzenov derivat **47** je potentniji u poređenju sa *m*-diaminbenzenskim jedinjenjem **48**, a u odnosu na njih, jedinjenje sa naftalenskim prstenom **49** je 9, odnosno 4 puta manje aktivno.

Od svih testiranih jedinjenja, derivat **51** je najslabiji inhibitor BChE. Produženje niza između terminalnog azota i adamantil-grupe (**50**) i povećanje fleksibilnosti uvođenjem trimetilenskih lanaca (**59** i **60**), dovelo je do značajnog povećanja inhibitorne moći, sa razlikom od 14 puta između **51** i **60**. Može se uočiti da je trend promena aktivnosti sličan kao za AChE, ali su vrednosti K_i za BChE više.

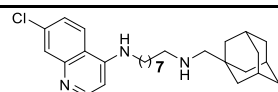
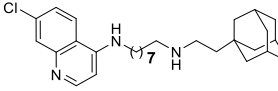
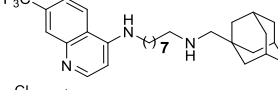
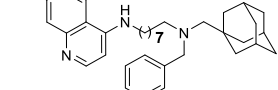
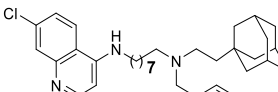
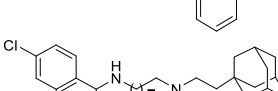
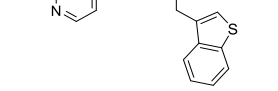
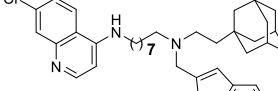
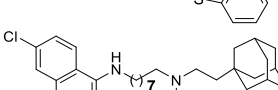
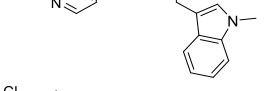
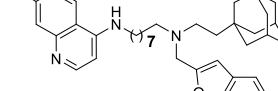
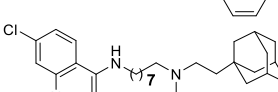
Poredeći vrednosti indeksa selektivnosti (IS), nije uočena posebna selektivnost testiranih jedinjenja prema jednoj od dve ChE. Kao najselektivniji mogu se izdvojiti derivati **49** i **56**, od kojih je prvi pokazao 5,8 puta veću selektivnost prema AChE, dok je drugi bio 10 puta selektivniji prema BChE.

Svi testirani derivati su reverzibilno inhibirali aktivnost oba enzima. Na osnovu izgleda grafika sa koga je određena vrednost K_i i načina na koji inhibicija zavisi od koncentracije supstrata utvrđen je tip inhibicije (tabela 9). Razlikujemo tri tipa: 1) kompetitivni – inhibitor i supstrat se vezuju u isto mesto; 2) nekompetitivni – inhibitor se ne vezuje u CAS; 3) mešoviti – kombinacija prethodna dva modela inhibicije. Za testirana jedinjenja nije uočena povezanost stukture inhibitora i tipa inhibicije, odnosno načina na koji se vezuju za enzim, u CAS i/ili PAS. Jedinjenje **41**, koje predstavlja najaktivniji inhibitor AChE i BChE u prvoj seriji, odlikuje mešoviti tip inhibicije oba enzima.

Hibridi aminohinolina i adamantana sa n-oktilenskim bočnim nizom

Procenti inhibicije *h*AChE i *h*BChE jedinjenjima druge serije su predstavljeni u okviru tabele 10.

Tabela 10. Inhibicija *hAChE* i *hBChE* drugom serijom hibrida **4AQ-Ad** (**61–74**) izražena u obliku procenta inhibicije ($\pm$ SD).

Jedinjenje	% inhibicije $\pm$ SD ^a				
	<i>hAChE</i>		<i>hBChE</i>		
	10 μ M ^b	1 μ M ^b	10 μ M ^b	1 μ M ^b	
41		47 $\pm$ 1 (0,1 μ M) ^c		44 $\pm$ 1 (0,1 μ M) ^c	
61		98 $\pm$ 0,4	82 $\pm$ 0,5	95 $\pm$ 1	50 $\pm$ 5
62		102 $\pm$ 0,2	92 $\pm$ 1	98 $\pm$ 0,3	72 $\pm$ 6
63		84 $\pm$ 1	44 $\pm$ 6	71 $\pm$ 1	8 $\pm$ 7
64		63 $\pm$ 2	22 $\pm$ 3	59 $\pm$ 8	7 $\pm$ 1
65		96 $\pm$ 0,4	74 $\pm$ 2	71 $\pm$ 10	13 $\pm$ 3
66		53 $\pm$ 3	15 $\pm$ 2	42 $\pm$ 2	12 $\pm$ 1
67		99 $\pm$ 1	98 $\pm$ 1	100 $\pm$ 0	98 $\pm$ 0,5
		48 $\pm$ 5 (0,1 μ M) ^c		61 $\pm$ 6 (0,1 μ M) ^c	
68		59 $\pm$ 3	19 $\pm$ 0,2	72 $\pm$ 0	22 $\pm$ 11
69		87 $\pm$ 2	75 $\pm$ 3	93 $\pm$ 1	40 $\pm$ 4
70		83 $\pm$ 0,4	72 $\pm$ 3	93 $\pm$ 1	40 $\pm$ 4
71		99 $\pm$ 1	88 $\pm$ 0	89 $\pm$ 3	17 $\pm$ 6

72		99 ± 0,5	88 ± 0,5	98 ± 0,3	75 ± 3
73		99 ± 1	92 ± 1	91 ± 3	60 ± 0,1
74		99 ± 0,2	89 ± 1	95 ± 1	69 ± 5
Takrin		32 ± 3 (0,1 μM) ^c		40 ± 5 (0,01 μM) ^d	

^a Koncentracija supstrata ATCh je 0,10 mM u svim merenjima, SD – standardna devijacija; ^b Koncentracija testiranog jedinjenja (inhibitora); ^c Merenja su vršena pri koncentraciji 0,1 μM; ^d Merenje je vršeno pri koncentraciji 0,01 μM.

Svi ispitivani hibridi, koji kao zajednički deo strukture imaju *n*-oktilenski bočni niz, pokazali su se kao vrlo jaki inhibitori AChE od 53% do 100% pri koncentraciji inhibitora od 10 μM, odnosno od 15% do 98% pri koncentraciji 1 μM.

Jedinjenja **61** i **62**, analozi najaktivnijeg inhibitora iz prve serije **41** sa najmanjim strukturnim razlikama, skoro potpuno su inhibirala enzim, a visok procenat inhibicije se zadržao i pri nižim koncentracijama inhibitora.

Uvođenjem benzil-grupe kao dodatnog supstituenta (**63** i **64**) dolazi do značajnog smanjenja inhibicije u odnosu na **41** i **61**, redom. Derivat **63** inhibira aktivnost AChE u skoro istom procentu kao jedinjenje **41**, ali pri 10 puta višoj koncentraciji inhibitora. Uvođenjem dodatne metilenske grupe kod jedinjenja **64** aktivnost nastavlja da opada, kako u poređenju sa analogom bez benzil-grupe **61**, tako i u odnosu na jedinjenje **63**. Pad potencijala inhibicije je naročito izražen pri koncentraciji inhibitora od 1 μM, kada je %Inh **64** 3,7 puta manji u poređenju sa **61**, odnosno 2 puta manji u odnosu na **63**.

Osim uticaja *N*-benzil grupe kao dodatnog supstituenta na sposobnost inhibicije, ispitan je i uticaj različitih heterocikličnih sistema. Utvrđeno je da njihovo prisustvo značajno utiče na vrednost %Inh. Pri 10 μM koncentraciji inhibitora, %Inh je veći od 80%, osim za derivate sa 2-benzotiofenskim (**66**) i 2-benzofuranskim (**68**) supstytutentom. Kod podgrupe jedinjenja **65–68** može se uočiti da veći uticaj na aktivnost ima mesto supstitucije na dodatnom heterocikličnom prstenu (C(2) ili C(3)), nego vrsta heteroatoma (S, N ili O). Tako, viši %Inh kao 10 μM pokazuje jedinjenje **65** u odnosu na strukturni izomer **66** – 96% naspram 53%, redom. Visoku aktivnost je pokazao i *N*-metilindolski derivat **67** (99%). Istovremeno, derivati **66** i **68** imaju bliske inhibitorne aktivnosti. Među jedinjenjima sa diazolskim prstenovima, najaktivniji je derivat *N*-metilimidazola **71** (99%), dok derivati *N*-supstituisanog pirazola (**69** i **70**) poseduju malo niže i međusobno slične vrednosti %Inh. Kod jedinjenja **67** i **71**, sa *N*-metil-3-indolskim, odnosno *N*-metilimidazolskim jezgrom, nije došlo do smanjenja inhibitorne aktivnosti u poređenju sa jedinjenjem bez trećeg supstituenta (**61**). Naveden rezultati ukazuju da polarnost i specifične elektronske osobine dodatnog supstituenta značajno utiču na inhibitornu aktivnost. Pri nižim koncentracijama inhibitora (1 μM) kod većine jedinjenja je primećeno smanjenje inhibicije. Ovo ukazuje na kompetitivni ili mešoviti tip inhibicije. To je naročito izraženo za **66** i **68**, kod kojih je %Inh pao na 15%, odnosno 19%. Izuzetak jeste jedinjenje **67** sa %Inh od 98% za 1 μM koncentraciju što upućuje na slučaj nekompetitivne inhibicije.

Jedinjenja koja sadrže dodatni supstituent na adamantil-grupi (**72–74**) su gotovo u potpunosti inhibirala aktivnost AChE pri 10 μM koncentraciji, a pri koncentraciju inhibitora od 1 μM, %Inh bio

je u opsegu 88-92%. Visoka inhibitorna aktivnost sugerise da uvedene funkcionalne grupe ne ometaju vezivanje za enzim. Na osnovu prikazanih rezultata nije uocen specifičan doprinos neke od tri funkcionalne grupe.

Testirana jedinjenja druge serije pokazala su se takođe kao vrlo jaki inhibitori BChE sa %Inh u opsegu od 42% do 100% pri koncentraciji inhibitora od 10 μ M, dok su vrednosti %Inh bile u intervalu 8–98% za koncentraciju inhibitora 1 μ M.

Derivati **61** i **62** su pri 10 μ M koncentraciji skoro potpuno inhibirali BChE.

Kao i kod AChE, uvođenjem benzil-grupe (**63** i **64**) dolazi do opadanja inhibitorne sposobnosti jedinjenja u poređenju sa **41** i **61**, redom. S obzirom na to da je pri nižoj koncentraciji inhibitora %Inh ova dva derivata ispod 10%, oni su se izdvojili kao najmanje aktivni u celoj seriji.

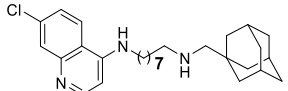
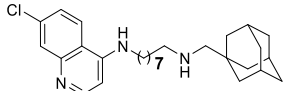
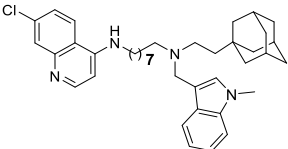
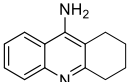
Kod preostalih jedinjenja, pri 10 μ M koncentraciji, uticaj dodatnog supstituenta na terminalnoj amino-grupi na aktivnost je nešto drugačiji, u poređenju sa uticajem na inhibiciju AChE. Derivati sa benzotiofenskim (**65** i **66**) i 2-benzofuranskim prstenom (**68**) su manje aktivni u poređenju sa jedinjenjem **61**. Takođe, ne može se uočiti pravilnost u vrednostima %Inh u zavisnosti od položaja vezivanja benzotiofenskog i benzofuranskog prstena. Jedinjenja sa *N*-supstituisanim pirazolskim (**69** i **70**) i *N*-metilimidazolovim jezgrom (**71**) odlikuje procenat inhibicije koji je približan hibridu **61**. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da prisustvo trećeg supstituenta nepovoljno utiče na sposobnost jedinjenja da inhibiraju BChE. Suprotno tome, najveću inhibitornu moć je pokazalo jedinjenje **67**, sa 100%Inh, što se može pripisati specifičnosti *N*-metil-3-indolskog supstituenta. Smanjenje koncentracije inhibitora na 1 μ M je dovelo do značajnog smanjenja sposobnosti inhibicije, u zavisnosti od jedinjenja, od 2 do čak 5 puta. Isto kao kod inhibicije AChE, izuzetak predstavlja inhibitor **67**, sa nepromenjenim potencijalom inhibicije.

Kod jedinjenja sa funkcionalizovanom adamantil-grupom (**72–74**) može se uočiti da je sposobnost inhibicije BChE ovih jedinjenjima manja u poređenju sa **41**, koji nema supstituent na adamantil-grupi.

Hibridi sa trećim supstituentom na azotu, izuzev jedinjenja **66–68**, pri koncentraciji 1 μ M, pokazali su selektivnost prema AChE, u odnosu na BChE. Takođe, pri istoj koncentraciji inhibitora, jedinjenja **61** i **62** i jedinjenja koja imaju dodatni supstituent na adamantil-fragmentu (**72–74**) pokazuju manju aktivnost prema BChE, nego prema AChE.

U okviru druge serije, jedinjenje **67** ima najvišu vrednost %Inh prema oba enzima, koja se zadržava na istom nivou i pri 10 puta nižoj koncentraciji inhibitora. Iz tog razloga je izmerena njegova aktivnost pri još nižoj koncentraciji od 0,1 μ M, kako bi se izvršilo direktno poređenje sa **41** i takrinom (tabela 10). Na osnovu rezultata, može se uočiti da jedinjenja **41** i **67** imaju jednaku inhibitornu aktivnost prema AChE, sa procentima inhibicije od 47%, odnosno 48%, redom. Takođe, **67** je pokazao bolji procenat inhibicije BChE (61%), nego **41** (44%). Za jedinjenje **67** su određene konstante inhibicije *h*ChE i vrednosti su prikazane u tabeli 11. Bliskost određenih K_i ukazuje da derivati **41** i **67** poseduju blizak potencijal inhibicije oba enzima.

Tabela 11. Inhibicija *hAChE* i *hBChE* jedinjenjima **41** i **67** izražena u obliku konstante disocijacije kompleksa enzim-ligand ($K_i \pm SD$).

Jedinjenje		$K_i (\mu M) \pm SD^a$		IS ^b
		<i>hAChE</i>	<i>hBChE</i>	
41		$0,075 \pm 0,06$ (m)	$0,091 \pm 0,007$ (m)	1,2
67		$0,097 \pm 0,006$ (c)	$0,082 \pm 0,007$ (n)	0,8
Takrin		$0,040 \pm 0,006$ (m)	$0,0063 \pm 0,0010$ (m)	0,2

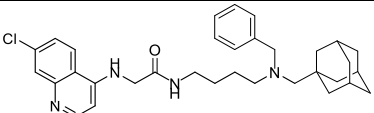
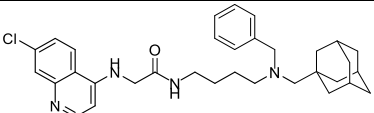
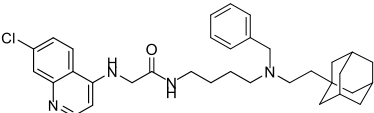
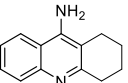
^a SD – standardna devijacija; ^b IS = $K_{i(BChE)}/K_{i(AChE)}$; c – kompetitivni (competitive), n – nekompetitivni (non-competitive) i m – mešoviti (mixed) tip inhibicije.

Inhibitorna moć najpotentnijih jedinjenja **41** i **67** prema *hAChE* je oko 2 puta slabija od takrina i nalazi se između inhibitornih potencijala donepezila ($K_i = 0,024 \mu M$) i galantamina ($K_i = 0,520 \mu M$).¹³² Inhibitorna sposobnost derivata **41** i **67** prema *hBChE* je 13 do 14 puta manja nego takrina, dok je veća u poređenju sa galantaminom ($K_i = 1,08 \mu M$) i donepezilom ($K_i = 2,33 \mu M$).¹³² Jedinjenje **67** je pokazalo kompetitivni tip inhibicije AChE i nekompetitivni tip inhibicije BChE. Na osnovu dobijene vrednosti IS može se videti da **67** ne pokazuje izraženu selektivnost ni prema jednom od enzima, što ukazuje na potencijal primene ovakvog jedinjenja i u ranim i u kasnim fazama razvoja AB.

Hibridi aminohinolina i adamantana sa amidnom funkcionalnom grupom u bočnom nizu

Vrednosti %Inh *hAChE* i *hBChE* jedinjenjima koja imaju amidnu vezu u linkeru prikazane su u tabeli 12.

Tabela 12. Inhibicija *hAChE* i *hBChE* jedinjenjima **75** i **76** izražena u obliku procenta inhibicije ($\pm SD$).

Jedinjenje		% inhibicije $\pm SD^a$			
		<i>hAChE</i>		<i>hBChE</i>	
		10 μM^b	1 μM^b	10 μM^b	1 μM^b
75		58 ± 5	28 ± 4	84 ± 3	41 ± 4
76		83 ± 2	52 ± 5	99 ± 0	87 ± 3
Takrin		32 ± 3 (0,1 μM) ^c		40 ± 5 (0,01 μM) ^d	

^a Koncentracija supstrata ATCh je 0,10 mM u svim merenjima, SD – standardna devijacija; ^b Koncentracija testiranog jedinjenja (inhibitora); ^c Merenja su vršena pri koncentraciji 0,1 μM ; ^d Merenje je vršeno pri koncentraciji 0,01 μM .

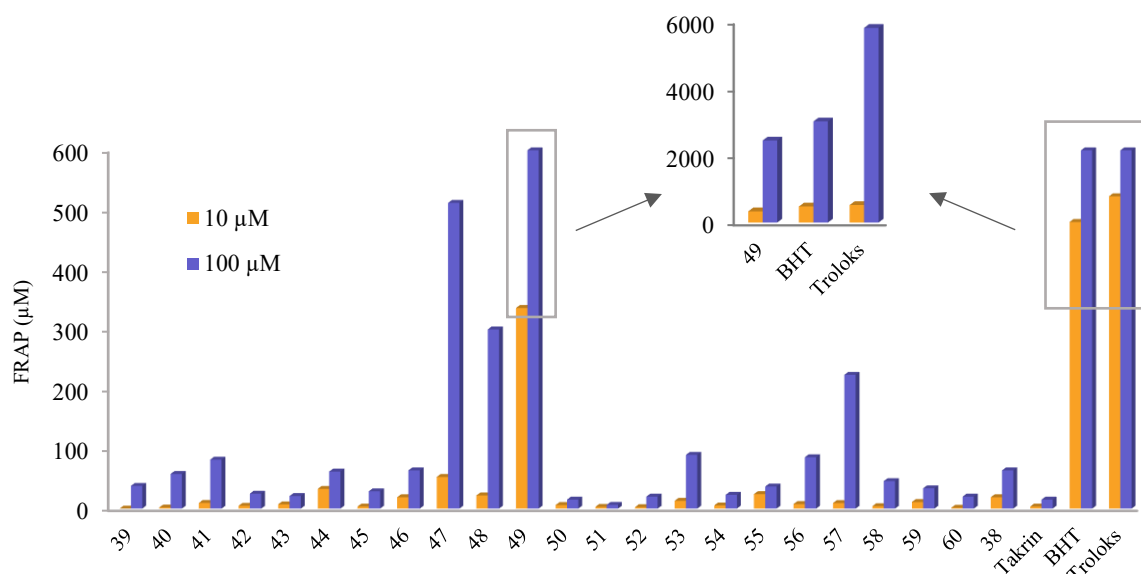
Derivat **76** sa etilen-adamantanskim nizom je pokazao bolju inhibitornu sposobnost prema obe ChE u poređenju sa metilen-adamantanskim analogom **75**. Pri nižim koncentracijama inhibitora razlika u aktivnosti je veća, tako da je **76** dva puta aktivniji od **75**. Oba jedinjenja su pokazala blagu selektivnost prema BChE. Poredeći aktivnosti jedinjenja sa amidnim fragmentom u bočnom nizu sa aktivnostima najbližih strukturnih analoga **63** i **64**, može se zaključiti da amidna grupa povoljno utiče na potencijal inhibicije hBChE. Međutim, uticaj na inhibiciju aktivnosti hAChE je različit – **75** pokazuje manju aktivnost u poređenju sa **63**, dok je jedinjenje **76** aktivnije u poređenju sa **64**. Na osnovu rezultata može se zaključiti da uvođenje polarne amidne grupe u linker predstavlja perspektivan put za dalji razvoj novih reverzibilnih inhibitora ChE.

Iako se ne može predvideti dosledna zavisnost između dobijenih vrednosti %Inh i K_i , korišćenje rezultata %Inh kao skrininga za selekciju prilikom određivanja K_i kod druge serije jedinjenja, pokazalo se opravdanim. To se može videti i kod vrednosti %Inh i K_i prve serije jedinjenja, gde postoji sličan trend odnosa dva parametra potencijala inhibicije.

3.2.2. Određivanje *in vitro* antioksidativnog potencijala

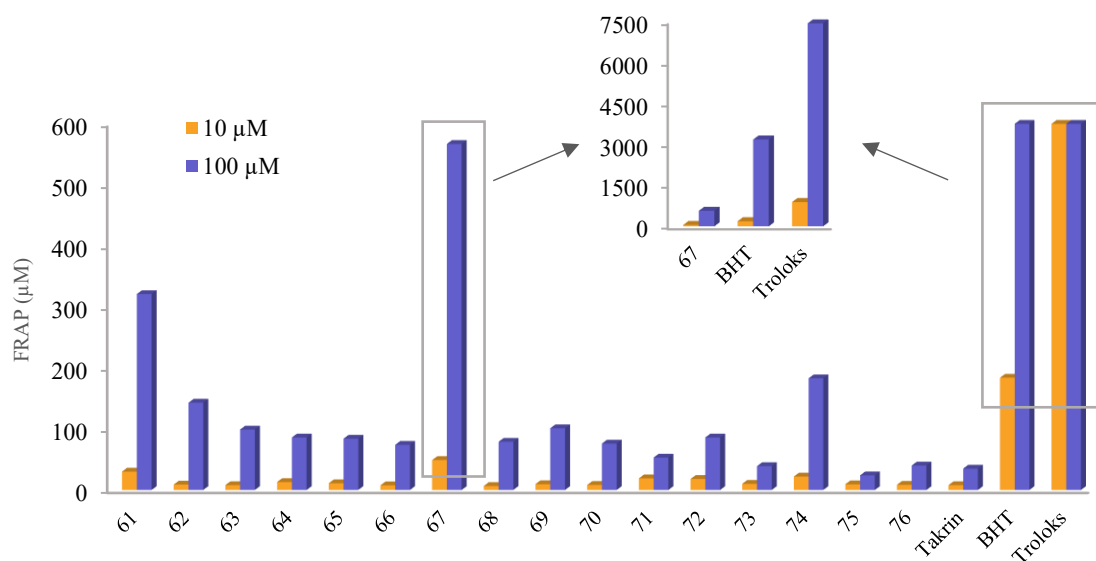
S obzirom na to da promene u mozgu obolelih mogu biti posledica oksidativnog oštećenja, i da oksidativni stres različitim signalnim putevima utiče i na proteine od značaja u patogenezi Alchajmerove bolesti, antioksidativna aktivnost jedinjenja je poželjna osobina prilikom njihovog razvoja kao novih lekova.

Antioksidativni potencijal testiranih **4AQ-Ad** hibrida je određen pri koncentracijama jedinjenja od 10 μM i 100 μM i izražen u obliku FRAP („ferric reducing antioxidant power“) vrednosti, koja se odnosi na redukcioni kapacitet jedinjenja i izračunava se na osnovu kalibracione prave dobijene za $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$. Kao standardni antioksidanti korišćeni su troloks (analog vitamina E rastvoran u vodi) i butilovani hidroksitoluen (BHT). Većina ispitanih jedinjenja je pokazala slabu antioksidativnu aktivnost. Izuzetak predstavljaju jedinjenja **47–49** (tabela P1 u Prilogu I, slika 27) i jedinjenja **61** i **67** (tabela P2 u Prilogu I, slika 28).



Slika 27. Antioksidativna aktivnost hibrida **38–60** izražena u obliku FRAP vrednosti, za 10 μM (stubovi obojeni narandžastom bojom) i 100 μM (stubovi obojeni ljubičastom bojom) koncentraciju jedinjenja.

Antioksidativni kapacitet derivata naftalena **49** je upola manji od izmerenog za troloks, ali približan vrednosti koju je pokazao BHT, te se ovo jedinjenje može smatrati dobrim antioksidantom. Derivati sa benzenovim prstenom u linkeru **47** i **48** su blagi antioksidanti, čiji je potencijal 6 do 10 puta manji u poređenju sa BHT, odnosno 10 do 20 puta manji nego potencijal troloksa. Umeren antioksidativni kapacitet poseduju i hibridi **61**, sa najdužim nizom između hinolinskog i adamantanskog dela molekula, i **67**, koji sadrži *N*-metilindolski prsten. Jedinjenje **67** je pokazalo 4 do 6 puta manju aktivnost u poređenju sa BHT i 13 do 18 puta manju nego troloks, u zavisnosti od koncentracije. Jedinjenje **61** je imalo sličan antioksidativni potencijal kao **47** i **48**.



Slika 28. Antioksidativna aktivnost hibrida **61–76** izražena u obliku FRAP vrednosti, za 10 μM (stubovi obojeni narandžastom bojom) i 100 μM (stubovi obojeni ljubičastom bojom) koncentraciju jedinjenja.

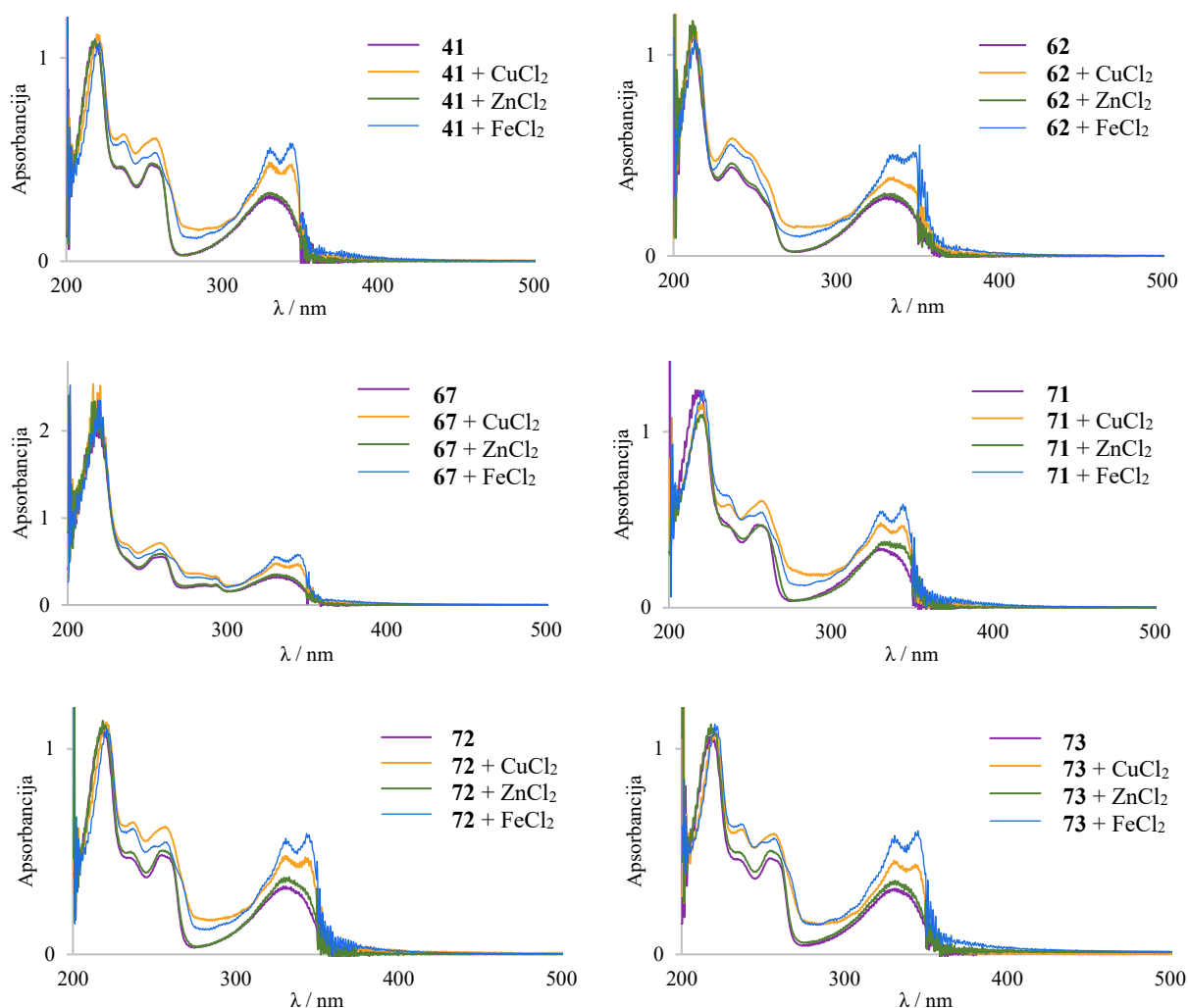
Na osnovu dobijenih rezultata, zaključuje se da prisustvo aromatičnog prstena u linkeru i *N*-metilindolskog jezgra kao trećeg supstituenta na terminalnoj amino-grupi doprinose antioksidativnoj aktivnosti. Referentno jedinjenje takrin je posedovalo zanemarljiv antioksidativni kapacitet.

3.2.3. Ispitivanje sposobnosti helatacije biometala

Dokazana uloga jona biometala u etiologiji Alchajmerove bolesti označila je ispitivanje sposobnosti jedinjenja da vrše helataciju metala kao dodatni kriterijum u proceni njihovog potencijala za korišćenje u terapiji kao MTDL lekova. Kako je prethodno opisano, povećane koncentracije jona Cu^{2+} , Zn^{2+} i Fe^{2+} , kod pacijenata obolelih od Alchajmerove bolesti, dovode se u vezu sa formiranjem toksičnih metal- $\text{A}\beta$ -plakova, kao i sa procesima koji dovode do oksidativnog stresa.

Za ispitivanje helatacione sposobnosti izabrana su dva najaktivnija inhibitora ChE – **41** i **67** kao i jedinjenja koja pokazuju visok procenat inhibicije AChE – **62**, sa CF_3 -grupom umesto atoma Cl, jedinjenje **71**, koje sadrži imidazolov prsten, i jedinjenja sa -OH i -Br supstituentima na adamantanskoj jedinici – **72** i **73**. Navedeni strukturni delovi mogu da učestvuju u kompleksiranju sa jonima metala i smatrano je potrebnim ispitati sposobnost testiranih jedinjenja da se kompleksiraju sa jonima Cu^{2+} , Zn^{2+} i Fe^{2+} .

Sposobnost kompleksiranja ispitana je Job-ovom metodom, poređenjem odgovarajućih UV-Vis apsorpcionih spektara samih jedinjenja i hloridnih soli jona metala, i kada su oni u smeši. Svi spektri su snimljeni u intervalima od 1, 30, 60 i 120 minuta posle mešanja organskih jedinjenja i rastvora soli metala. Svaka razlika u spektrima smeše jedinjenje/so u odnosu na spektar samog jedinjenja i same soli, predstavlja dokaz nastanka kompleksa. Kompleksiranje metala je uočeno u spektrima već nakon 1 minuta, a kod većine testiranih jedinjenja dodatne blage promene su zabeležene i u 120. minutu. Zbog toga su za analizu izabrani apsorpcioni spektri snimljeni posle 120 minuta inkubacije (slika 29).



Slika 29. UV-Vis apsorpcioni spektri ispitivanih jedinjenja (ljubičasta boja) i smeše sa CuCl_2 (žuta boja), ZnCl_2 (zeleno boja) i FeCl_2 (plava boja) nakon 120 min inkubacije.

Analizom UV-Vis apsorpcionih spektara smeša jedinjenje/ CuCl_2 i jedinjenje/ FeCl_2 , uočene su razlike, kako u vrednosti apsorpcije, tako i u obliku apsorpcionih traka, što je dokaz formiranja odgovarajućih kompleksa jedinjenje-jon metala. Sva testirana jedinjenja pokazala su sposobnost kompleksiranja jona Cu^{2+} i Fe^{2+} . Uporednom analizom spektara, utvrđeno je da derivati **41**, **62** i **67** ne koordiniraju jone Zn^{2+} . S druge strane, postojanje promena vrednosti apsorpcije za dve apsorpcione trake, na 220 nm i 345 nm, u spektru smeše **71**/ ZnCl_2 potvrđuje da molekul, koji sadrži prsten imidazola, kompleksira i jon Zn^{2+} . U preostalim spektrima, za smeše **72**, odnosno **73** i ZnCl_2 , primećen je mali porast vrednosti apsorpcije, te se ne može sa sigurnošću pretpostaviti da li u ovim slučajevima dolazi do formiranja kompleksa.

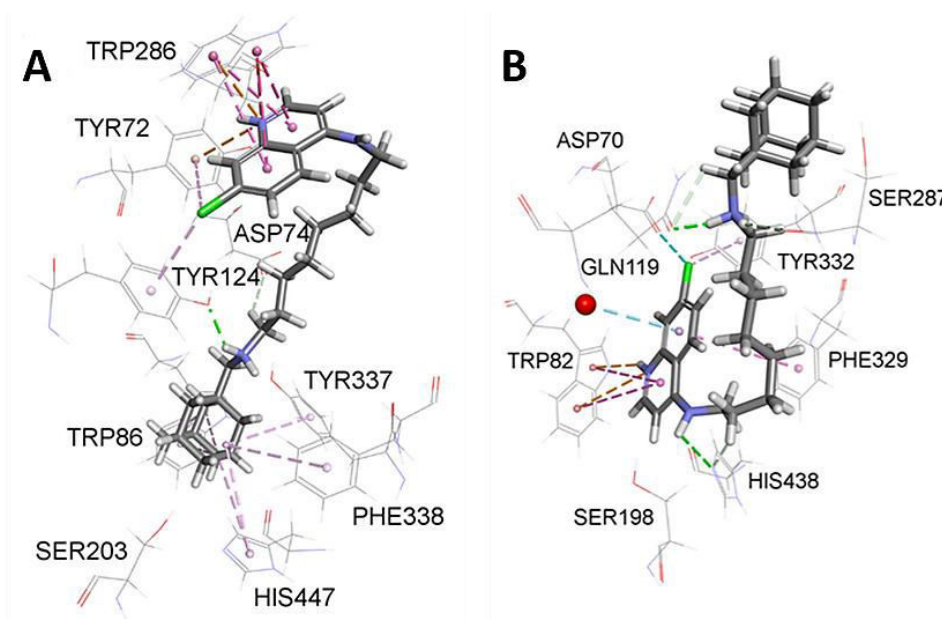
3.3. MOLEKULSKO MODELOVANJE INTERAKCIJA ENZIM-SUPSTRAT

Radi racionalizacije dobijenih rezultata biološke aktivnosti, u nastavku istraživanja je urađeno molekulsko modelovanje interakcija enzim-supstrat (molekulski doking). Na osnovu dobijenih rezultata, predložen je način vezivanja inhibitora u strukturu enzima. Za doking sa AChE i BChE odabran je hibrid **41**, kao jedan od najaktivnijih inhibitora. Takođe, odabrani su i inhibitori koji sadrže dodatni supstituent na adamantil-fragmentu, **72–74**, kako bi se proverila pretpostvaka da supstituenti ostvaruju dodatne interakcije sa aminokiselinskim ostacima u poređenju sa nesupstituisanim analogom **41**. Strukture enzima su pripremljene za molekulsko modelovanje polazeći od kristalnih struktura slobodnih rekombinantne *h*AChE (PDB ID: 4EY4)¹³³ i *h*BChE (PDB ID: 1P0I)¹³⁴, dok su prilikom pripreme liganada jonizabilna mesta protonovana u skladu sa proračunima za pH 7,4.

3.3.1. Molekulski doking jedinjenja **41** u strukturu AChE i BChE

Rezultati dobijeni određivanjem K_i inhibitora **41** ukazuju na to da jedinjenje inhibira aktivnost ChE mešovitim tipom inhibicije, što ukazuje na mogućnost ostvarivanja interakcija sa aminokiselinskim delovima istovremeno u CAS i PAS, i da kao ligand postiže dvostruko vezivanje za enzime („dual-binding site ligand”) (slika 30).

U dobijenom kompleksu AChE-**41** (slika 30A), ligand je orijentisan tako da se aminohinolinski deo molekula nalazi u PAS, dok je adamantanski deo smešten u CAS. Protonovan hinolinski prsten ostvaruje interakcije sa bočnim nizom dve amino-kiseline u regionu PAS – hidrofobne π - π interakcije slaganja (steking) sa Trp286 i dodatne elektrostatičke π -katjon interakcije sa Tyr72. Istovremeno, adamantil-fragment učestvuje u građenju hidrofobnih π -alkil interakcija sa ostacima amino-kiselina u CAS – Trp86, Tyr337 i Phe338, koji okružuju vezivno mesto holina i His447 iz katalitičke trijade. Doking liganda **41** u aktivno mesto AChE predviđa i formiranje dve vodonične veze sa Asp74 i Tyr124, kao i prisustvo interakcija između atoma hlora i Tyr72 i Tyr124.



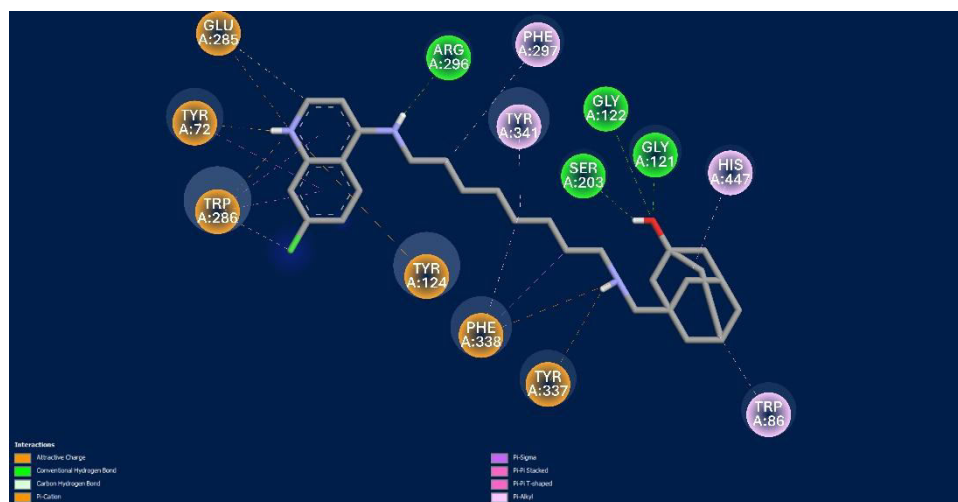
Slika 30. Aktivno mesto model-kompleksa (A) *h*AChE-**41** i (B) *h*BChE-**41**.

Model-kompleks BChE-**41** (slika 30B) predviđa suprotnu orijentaciju liganda. U CAS, blizu mesta vezivanja holina, smešta se aminohinolinski deo, dok se u manje definisanom regionu PAS nalazi adamantil-fragment. Protonovan aminohinolinski prsten ostvaruje višestruke hidrofobne π - π interakcije sa Trp82 i Phe329, kao i dodatne elektrostatičke π -katjon interakcije sa Trp82 u CAS. Prisustvo vodoničnih veza, različite prirode, uočeno je između liganda **41** i bočnih nizova His438, Gln119 i Ser287. Dodatno, hlono- supstituent na hinolinu ostvaruje interakcije sa Tyr332 i Asp70.

Brojne interakcije, koje doprinose stabilnosti formiranog kompleksa enzim-**41**, odgovaraju rezultatima inhibitorne aktivnosti, prema kojima ovaj molekul poseduje veliku sposobnost inhibiranja ChE. Mešoviti tip inhibicije koji pokazuje jedinjenje **41** potvrđeno je doking-analizom, kojom se predviđa osvarivanje interakcija u CAS i PAS obe holinesteraze.

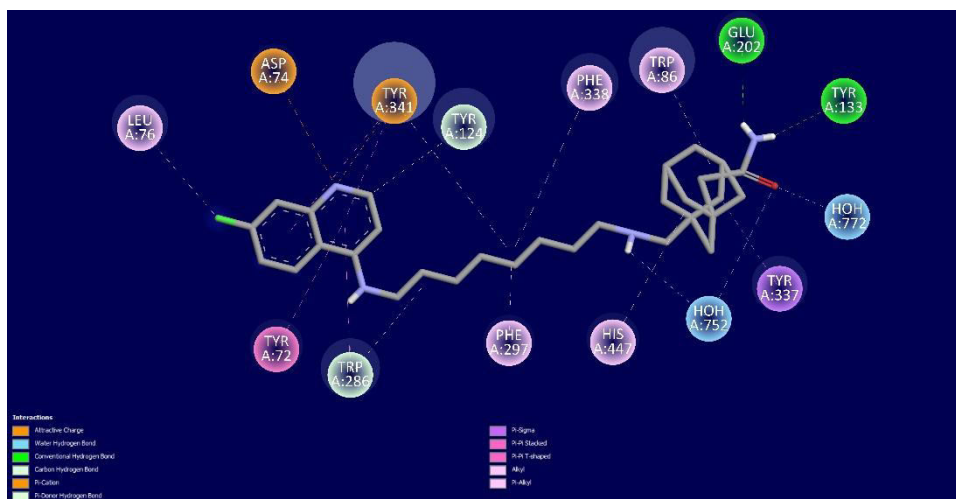
3.3.2. Molekulski doking jedinjenja 72, 73 i 74 u strukturu AChE

Za sva tri ispitana jedinjenja, dokingom sa AChE je predviđeno građenje interakcija istovremeno sa amino-kiselinama u CAS i PAS. Za jedinjenja **72** i **73** molekulsko modelovanje predviđa protonovan prsten hinolina, dok jedinjenje **74** odlikuje neutralno hinolinsko jezgro.



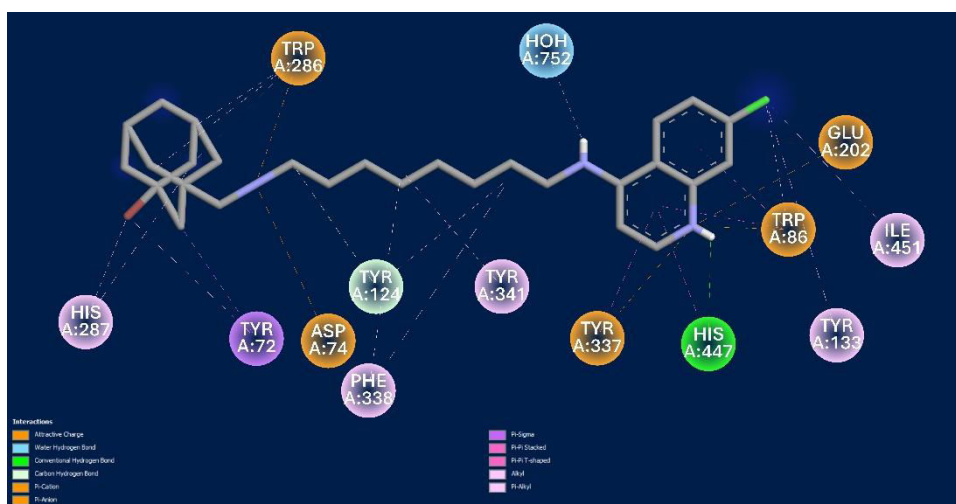
Slika 31. Mapa interakcija jedinjenja **72** sa hAChE.

Kod derivata **72** i **74** (slike 31 i 32) adamantil-grupa je orijentisana prema unutrašnjosti enzima i ostvaruje interakcije u CAS i vezivnom mestu holina sa Ser203, His447, Trp86 i Tyr337. Aminohinolinski fragmenti oba molekula su orijentisani prema PAS, ostvarujući hidrofobne interakcije sa Tyr72 i Trp286. Stabilizaciji formiranog kompleksa AChE-**74** dodatno doprinose i interakcije aminohinolinskog jezgra sa Asp74, Tyr 124 i Tyr341 unutar PAS, koje nisu zabeležene kod derivata **72**. Opisan položaj molekula **72** i **74** u aktivnom mestu AChE može se pripisati i postojanju višestrukih vodoničnih veza između hidroksilne grupe i Gly121, Gly122 i Ser203, odnosno amidne grupe i Tyr133 i Glu202.



Slika 32. Mapa interakcija jedinjenja **74** sa *hAChE*.

Položaj liganda **73** u šupljini enzima je drugačiji u poređenju sa jedinjenjima **72** i **74** (slika 33). Aminohinolinski prsten je orijentisan prema CAS i učestvuje u građenju višestrukih π - π interakcija slaganja sa Trp86, Tyr337 i His447, kao i elektrostatičkim interakcijama sa His447. Takođe, između bočnog niza ove amino-kiseline i protonovanog hinolinskog azota formira se vodonična veza. Atom broma u jedinjenju **73** ostvaruje interakcije slaganja hidrofobnog tipa sa Tyr72, Trp286 i His287 u PAS, koje potencijalno utiču na celokupnu orijentaciju ovog liganda u aktivnom mestu enzima.



Slika 33. Mapa interakcija jedinjenja **73** sa *hAChE*.

Dobijeni rezultati molekulskog dokinga su u skladu sa visokim procentima inhibicije aktivnosti AChE jedinjenjima **72–74** i pretpostavkom da -OH, -Br i -CH₂CONH₂ supstituenti na adamantil-grupi mogu ostvariti dodatne interakcije sa ostacima amino-kiseline u aktivnom mestu enzima. Vrlo verovatno, ove interakcije značajno doprinose orijentaciji liganada.

3.4. ANALIZA FIZIČKO-HEMIJSKIH SVOJSTAVA

Neizostavan korak prilikom predviđanja sličnosti jedinjenja sa lekovima („druglikeness”) je određivanje fizičko-hemijskih osobina testiranih molekula. Njihove vrednosti za oralno aktivna jedinjenja su definisane pravilima Lipinskog.¹³⁵ Kada su u pitanju jedinjenja, čija aktivnost treba da se ispolji u centralnom nervnom sistemu, od posebne važnosti je i predviđanje mogućnosti savladavanja krvno-moždane barijere. Ispitivanje ovih osobina se uvodi u početnoj fazi razvoja biološki aktivnih jedinjenja, kako bi se smanjili troškovi razvoja novih lekova. Dobijene vrednosti se koriste kao kriterijum za selekciju struktura koje će ući u dalje faze kliničkih studija. U ranim fazama istraživanja za dobijanje najvažnijih fizičko-hemijskih svojstava koriste se *in silico* procenjene vrednosti koje su danas dostupne preko različitih platformi. U okviru ovog istraživanja za dobijanje potrebnih parametara korišćeni su platforma Chemicalize 2022¹³⁶ i CNS MPO algoritam.^{137,138} Dodatno, hromatografskim metodama je eksperimentalno određena lipofilnost izražena u obliku koeficijenta distribucije na pH 0,5 ($\log D_{\text{exp}}$).

3.4.1. Izračunavanje pK_a i zastupljenost protonovanih vrsta

Vrednosti svih konstanti disocijacije kiseline, pK_a za testirana jedinjenja su izračunate koristeći platformu Chemicalize 2022 i podaci su navedeni u tabeli 13.¹³⁶

Sva testirana jedinjenja imaju hinolinski azot i terminalnu amino-grupu kao mesta jonizacije, a dodatna mesta jonizacije predstavljaju prisutne funkcionalne grupe, koje sadrže atome azota ili kiseonika. Analizom dobijenih rezultata, može se zaključiti da pri fiziološkim uslovima (pH 7,4) kod većine ispitanih jedinjenja postoji ravnoteža između jednostruko (samo terminalna amino-grupa) i dvostruko protonovanih (terminalna amino-grupa i hinolinsko jezgro) vrsta. U ravnoteži je zastupljeno preko 60% diprotonovanih struktura. Izuzetak predstavljaju jedinjenja **47–49** sa udelom neutralnog oblika od 75% i derivati **57** i **58** kod kojih dominira dvostruko naelektrisana struktura sa više od 90% zastupljenosti. Jedinjenja **59**, **60** i **71** sadrže dodatna jonizabilna mesta. Kod njih su pri fiziološkim uslovima prisutne različito jonizovane vrste, a onih koje sadrže protonovan hinolin je zbirni udeo u ravnoteži preko 60%.

Tabela 13. *In silico* izračunate vrednosti pK_a testiranih jedinjenja.

Jedinjenje	pK_{a1} (hinolin)	pK_{a2} (terminalna amino-grupa)	pK_{a3}/pK_{a4} (bočni niz)	Jedinjenje	pK_{a1} (hinolin)	pK_{a2} (terminalna amino-grupa)	pK_{a3}/pK_{a4} (bočni niz)
39	7,71	11,45	-	59	7,71	10,12	1,77/8,76
40	7,71	11,46	-	60	7,71	10,05	1,76/8,75
41	7,71	11,46	-	61	7,71	11,38	-
42	7,88	9,93	-	62	7,71	11,46	-
43	7,93	10,55	-	63	7,71	10,24	-
44	7,71	9,85	-	64	7,71	9,65	-
45	7,71	9,21	-	65	7,71	9,62	-
46	7,71	10,58	-	66	7,71	9,65	-
47	7,71	5,61	-	67	7,71	9,71	-
48	7,71	4,43	-	68	7,71	9,85	-
49	7,71	4,66	-	69	7,71	8,61	0,45
50	7,71	9,12	-	70	7,71	8,61	0,45
51	7,71	9,23	-	71	7,71	7,29	3,52
52	7,71	9,93	-	72	7,71	11,15	14,74
53	7,71	10,68	-	73	7,71	11,45	-
54	7,71	10,68	-	74	7,71	11,45	1,39
55	7,71	10,58	-	75	7,71	9,93	1,62/15,4
56	7,71	10,50	-	76	7,71	9,35	1,62/15,42
57	7,71	10,59	-	38	7,71	10,55	-
58	7,71	11,38	-	Takrin	7,71	-	-

3.4.2. Ispitivanje potencijala primene kao leka („druglikeness”)

Fizičko-hemijski parametri koji su važni za oralnu bioraspoloživost i utiču na pasivni transport do CNS-a su: molarna masa (M_w), broj rotabilnih veza (RB), broj akceptora vodonične veze (HBA), broj donora vodonične veze (HBD), topološka ukupna polarna površina (TPSA) i lipofilnost izražena particionim koeficijentom 1-oktanol/voda ($\log P$). Molekuli se smatraju oralno aktivnim kod ljudi ukoliko ispunjavaju najmanje pet od šest preporučenih kriterijuma: $180 \leq M_w \leq 500$, $RB \leq 10$, $HBA < 10$, $HBD < 5$, $TPSA < 120$, $3 < \log P < 5$.¹³⁹

Navedeni fizičko-hemijski parametri ispitivanih jedinjenja su izračunati na platformi Chemicalize 2022¹³⁶ i prikazani u tabeli 14.

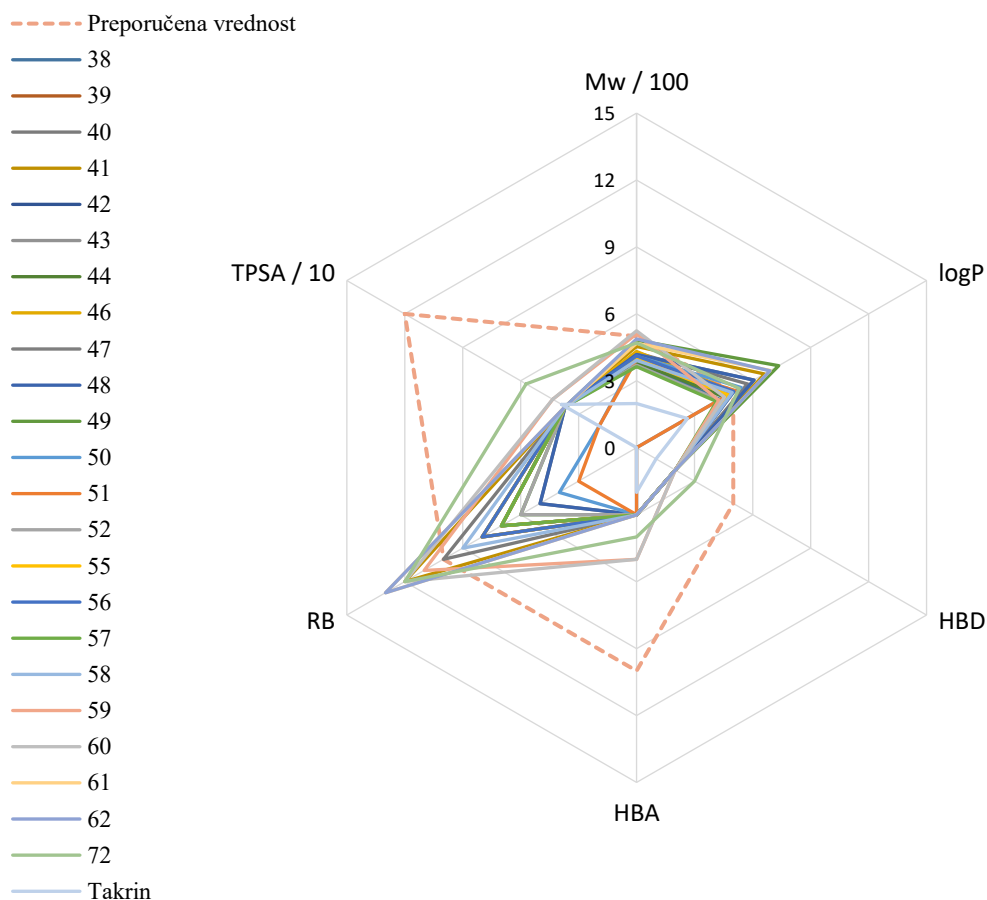
Od ukupno 39 ispitivanih jedinjenja, kod 18 jedinjenja (46%) molarna masa prelazi kriterijum od 500 g/mol. Dodatno, za 28 jedinjenja je prekršeno pravilo lipofilnosti, sa većim $\log P_{calc}$ vrednostima. Zbog toga se ne može smatrati da ta jedinjenja imaju osobine slične lekovima čije je mesto delovanja u CNS-u. Kada je u pitanju odstupanje od predviđenog broja rotabilnih veza, mora se uzeti u obzir da je za uspešnu inhibiciju oba enzima i ostvarivanje interakcija sa CAS i PAS neophodna određena konformaciona sloboda liganda. Sva jedinjenja poseduju broj akceptora i donora vodoničnih veza, kao i vrednosti za TPSA u skladu sa pravilima Lipinskog.

Tabela 14. *In silico* izračunati fizičko-hemijski parametri testiranih jedinjenja.

Jedinjenje	Mw (g/mol)	RB	HBA	HBD	TPSA (Å ²)	log <i>P</i> _{calc}	Odstupanje od pravila ^a	log <i>D</i> _{calc} (pH 7,4)
39	397,99	8	3	2	36,95	4,847	-	1,22
40	426,05	10	3	2	36,95	5,736	1	2,11
41	454,10	12	3	2	36,95	6,625	2	3,00
42	403,49	7	3	2	36,95	4,543	-	1,55
43	417,52	8	3	2	36,95	4,603	-	1,13
44	383,96	7	3	2	36,95	4,558	-	1,76
45	546,24	10	3	1	28,16	7,655	2	5,46
46	431,55	8	3	2	36,95	5,020	1	1,54
47	417,98	5	3	2	36,95	6,074	1	5,96
48	417,98	5	3	2	36,95	6,074	1	5,97
49	482,07	6	3	2	36,95	7,352	1	7,25
50	410,00	4	3	0	19,37	5,405	1	3,37
51	395,98	3	3	0	19,37	5,116	1	2,96
52	369,94	6	3	2	36,95	4,269	-	1,41
53	574,29	12	3	1	28,16	8,233	3	4,71
54	588,32	13	3	1	28,16	8,677	3	5,16
55	397,99	7	3	2	36,95	4,746	-	1,41
56	412,02	8	3	2	36,95	5,034	1	1,74
57	363,55	7	3	2	36,95	4,142	-	0,28
58	391,60	9	3	2	36,95	4,948	-	0,82
59	510,17	11	5	2	43,43	4,255	2	-0,13
60	524,19	12	5	2	43,43	4,544	2	0,22
61	468,13	13	3	2	36,95	6,913	2	3,30
62	487,66	13	3	2	36,95	6,899	2	3,14
63	544,22	14	3	1	28,16	8,732	3	5,54
64	558,25	15	3	1	28,16	9,021	3	6,36
65	614,33	15	3	1	28,16	9,897	3	7,26
66	614,33	15	3	1	28,16	10,029	3	7,36
67	611,32	15	3	1	33,09	9,343	3	6,62
68	598,27	15	3	1	41,30	9,100	3	6,25
69	642,30	16	4	1	45,98	9,250	3	7,62
70	638,34	16	4	1	45,98	9,620	3	8,00
71	562,24	15	4	1	45,98	7,199	3	6,40
72	470,10	12	4	3	57,18	5,310	2	1,74
73	533,00	12	3	2	36,95	6,850	3	3,23
74	511,15	14	4	3	80,04	5,242	3	1,62
75	545,17	12	4	2	57,26	5,849	3	2,96
76	559,20	13	4	2	57,26	6,137	3	3,80
38	383,96	7	3	2	36,95	4,329	-	0,99
Takrin	198,27	0	2	1	38,91	2,628	-	1,05

^a Broj parametara, od šest važnih za oralnu aktivnost, za koji su prekršene preporučene vrednosti; Crvenom bojom su označene vrednosti koje odstupaju od preporučenih.

Jedinjenja koja ispunjavaju sve Lipinski parametre ili odstupaju samo od jednog Lipinski parametra, prikazana su na radarskom grafikonu (slika 34). Jedinjenja za koja je utvrđeno da odstupaju od dva pravila, a jedno od njih je broj rotabilnih veza, takođe su prikazana.



Slika 34. Radarski grafikon sa *in silico* izračunatim fizičko-hemijskim parametrima odabranih jedinjenja. Isprekidana linija predstavlja preporučene vrednosti Mw (molarna masa), log *P* (particioni koeficijent 1-oktanol/voda), HBD (broj donora vodonične veze), HBA (broj akceptora vodonične veze), RB (broj rotabilnih veza) i TPSA (topološka ukupna polarna površina).

3.4.3. Predviđanje prolaska kroz krvno-moždanu barijeru

Particioni koeficijent za sistem 1-oktanol/voda (log *P*), se određuje ili izračunava za neutralan oblik molekula. On nije dovoljan kao parametar za predviđanje ukupnih karakteristika onih jedinjenja koja sadrže funkcionalne grupe koje na fiziološkoj vrednosti pH mogu biti jonizovane. Kod takvih jedinjenja neophodno je uključiti i parameter koeficijent distribucije (log *D*), koji izražava lipofilnost jonizabilnih molekula i njegova vrednost zavisi od pH vrednosti sredine. Iz tog razloga smo, za ispitivanja potencijala primene testiranih derivata u CNS-u, uključili još jednu metodu, koja se zasniva na CNS MPO algoritmu („CNS multiparameter optimized algoritm”).^{137,138} Taj algoritam uzima u obzir četiri osnovne fizičko-hemijske osobine – clog *P*, Mw, TPSA, HBD, log *D*_{calc}, kao i vrednosti *pK*_a najvažnije grupe. Izračunata vrednost svakog pojedinačnog parametra se algoritmom prevodi u brojčanu vrednost između 0 i 1. Svi parametri podjednako doprinose ukupnom zbiru, koji se nalazi u opsegu od 0 do 6, i predstavlja CNS MPO vrednost. Poređenjem CNS MPO vrednosti za jedinjenja u bazi podataka, utvrđeno je da 77% lekova ima vrednost u opsegu $3 < \text{CNS MPO} \leq 5$.¹³⁷

Korišćenjem fizičko-hemijskih svojstava (tabele 13 i 14) izračunati su CNS MPO parametri svih testiranih derivata (tabela P3 u Prilogu I), koji su zatim razvrstani u kategorije i rezultati su predstavljeni u tabeli 15.

Tabela 15. Izračunati CNS MPO parametri za testirana jedinjenja.

	CNS MPO rezultat (r)			
	I: $r \leq 2$	II: $2 < r \leq 3$	III: $3 < r \leq 4$	IV: $r > 5$
Jedinjenje	63, 53, 54, 64, 66, 65, 76, <u>67</u> , 45, 73, 62, 68, 61, 75	74, <u>41</u> , 72, 50, 49, 69, 70, 51, 60, 40, 71, 46, 59, 47, 48, 56	43, 58, 39, 55, 42, 44, 38, 52, 57	Takrin

Jedinjenja koja imaju CNS MPO rezultat ≤ 2 odlikuju visoke vrednosti nekoliko parametara, pre svega $\log P_{\text{calc}}$ i Mw, a zatim $\log D_{\text{calc}}$ (pH 7,4) i pK_a . U grupi I su neki od najmanje aktivnih derivata, ali i nekoliko potentnih inhibitora, među kojima je **67**. Najviše jedinjenja ulazi u kategoriju II, koji imaju $\log P_{\text{calc}}$ veće od preporučene vrednosti i granične vrednosti Mw. Rezultat pojedinih derivata smanjuje i dvocifrena vrednost pK_a , kao što je kod **41** (tabela 1). Za jedinjenja u kategorijama I i II, čije su vrednosti CNS MPO ispod 3, ne može se očekivati da će proći kroz krvno-moždanu barijeru. Kod derivata koji se nalaze u grupi III vrednosti Mw su bliske preporučenoj, dok su vrednosti $\log P_{\text{calc}}$, iako ispod 5, i dalje izvan strožeg optimuma ($\leq 3^{138}$) za aktivnost u CNS-u. Za primenjen protokol preporučene vrednosti za pK_a su ≤ 8 ,¹³⁸ a veći deo testiranih jedinjenja imaju $pK_a > 9,8$ najbaznije grupe, što je dodatno uticalo da CNS MPO ostane ispod 4 i da pokažu umeren potencijal za aktivnost u CNS-u. Za takrin, izračunat CNS MPO parametar je veći od 5. Dobijeni rezultat je u skladu sa činjenicom da je takrin dugo korišćen kao lek za tretman pacijenata obolelih od AB i da poseduje sposobnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru.

Na osnovu rezultata *in silico* određivanja fizičko-hemijskih parametara i urađene analize, ostvaren je uvid u potencijal primene testiranih jedinjenja. Na osnovu toga dobijene su smernice u kom pravcu bi trebalo izvršiti dalje modifikacije njihovih struktura. Razvoj najaktivnijih derivata trebalo bi usmeriti na smanjenje vrednosti parametara $\log P$ i $\log D$, odnosno povećanje polarnosti jedinjenja, ali vodeći računa o uticaju ovakvih promena na preostala ključna fizičko-hemijska svojstva.

3.4.4. Hromatografsko određivanje lipofilnosti

Lipofilnost, izražena u obliku koeficijenta distribucije na pH 0,5 ($\log D_{\text{exp}}$), određena je reversnofaznom tankoslojnom hromatografijom. Stacionarnu fazu je predstavljao C₁₈ modifikovan silika-gel, dok je mobilnu fazu činila smeša MeOH/H₂O/HCl = 70/25/5. U tabeli 16 su prikazane dobijene vrednosti $\log D_{\text{exp}}$ (pH 0,5) ispitivanih jedinjenja i hlorokina, strukturno najbližnjeg molekula od upotrebljenih standarda.

Kako je pri fiziološkoj pH vrednosti, kod većine ispitivanih jedinjenja utvrđeno prisustvo ravnoteže između jednostruko i dvostruko protonovanog oblika (Poglavlje 3.4.1), određivanje $\log D_{\text{exp}}$ na pH 7,4 primenom reversnofazne tankoslojne hromatografije nije bilo moguće. Zbog toga je opisanom metodom dobijen $\log D_{\text{exp}}$ (pH 0,5), koji je korišćen za analizu odnosa lipofilnosti i strukture jedinjenja, dok je prilikom ispitivanja fizičko-hemijskih osobina korišćen $\log D_{\text{calc}}$ (pH 7,4) izračunat *in silico* metodama (Poglavlje 3.4.2).

Tabela 16. Vrednosti particionog koeficijenta $\log D_{\text{exp}}$ (pH 0,5) testiranih jedinjenja.

Jedinjenje	$\log D_{\text{exp}}$ (pH 0,5)	Jedinjenje	$\log D_{\text{exp}}$ (pH 0,5)
39	-7,68	59	-9,09
40	-6,71	60	-7,68
41	-5,20	61	1,11
42	-7,68	62	-1,88
43	-7,68	63	1,67
44	-6,47	64	4,56
45	8,19	65	8,33
46	-7,20	66	8,33
47	-7,92	67	8,33
48	-6,96	68	6,78
49	-4,12	69	6,78
50	-7,92	70	10,50
51	-8,62	71	-1,88
52	-8,62	72	-7,89
53	8,19	73	-2,56
54	8,19	74	-7,89
55	-7,68	75	-2,56
56	-5,20	76	-0,75
57	-7,92	38	-8,39
58	-7,20	Hlorokin	-12,84

Najniža vrednost $\log D_{\text{exp}}$ od -9,1 određena je za derivat piperazina **59**. U grupu najpolarnijih jedinjenja dalje se ubrajaju jedinjenja normalnog bočnog niza do 4 C-atoma sa metilen-adamantanskom grupom (**38**, **39**, **42**, **43** i **52**), zatim jedinjenja sa linkerom račvastog niza (**46**, **55**, **57** i **58**), preostali derivati piperazina (**50**, **51** i **60**), jedinjenja sa dodatnim supstituentom na adamantil-fragmentu (**72** i **73**), kao i jedinjenja sa benzenovim prstenom u linkeru (**47** i **48**). Njihove vrednosti $\log D_{\text{exp}}$ se nalaze u opsegu od -8,6 do -7,0. Prema porastu lipofilnosti slede jedinjenje sa *n*-heksilenskim linkerom (**40**), onda jedinjenje sa dve etilenske jedinice između terminalne amino-grupe i hinolinskog, odnosno adamantanskog dela molekula (**44**), zatim jedinjenja sa *n*-oktilenskim bočnim nizom (**41**), te sa račvastim linkerom i etilen-adamantanskim supstituentom (**56**). Veću vrednost $\log D_{\text{exp}}$ od -4 poseduje i naftalenski derivat (**49**). Sličnu lipofilnost, sa $\log D_{\text{exp}}$ od -2,6 do -1,9, pokazala su sledeća strukturno različita jedinjenja: derivat sa -Br supstituentom na adamantanu (**73**), jedno od dva jedinjenja sa amidnom vezom u linkeru (**75**), derivat imidazola (**71**) i jedinjenje sa *n*-oktilenskim linkerom i -CF₃ grupom na hinolinskom prstenu (**62**). Nešto viša vrednost $\log D_{\text{exp}}$ određena je za drugo jedinjenje sa amidnom vezom u linkeru (**76**), što je još jedan primer povećanja lipofilnosti sa uvođenjem dodatne metilenske jedinice do adamantil-grupe. Ovaj trend se uočava i kod najbližeg analoga jedinjenja **41** (**61**) sa $\log D_{\text{exp}}$ od 1,1 i takođe poredeći *N*-benzil derivate (**63** i **64**), gde je uvođenjem etilen-adamantanske jedinice vrednost $\log D_{\text{exp}}$ porasla sa 1,7 na 4,6. Velika lipofilnost, sa $\log D_{\text{exp}}$ u intervalu 6,8–8,3, odlikuje većinu jedinjenja sa dodatnim supstituentom na terminalnom azotu (**65**, **66**, **67**, **68** i **69**) i bis(etilen-adamantanske) derivate (**45**, **53** i **54**). Najlipofilnije jedinjenje je jedan od dva pirazolska derivata, **70**, čiji $\log D_{\text{exp}}$ iznosi 10,5.

U predstavljenoj analizi, zabeležen je širok raspon lipofilnosti ispitivanih jedinjenja. Kako je ovaj parametar važna karakteristika biološki aktivnih molekula, uočeni trendovi zavisnosti struktura-lipofilnost mogu značajno doprineti dizajnu i razvoju novih efikasnijih inhibitora.

4. EKSPERIMENTALNI DEO

Sve hemikalije, reagensi i rastvarači su kupljeni iz komercijalnih izvora.

Tok reakcija je praćen koristeći tankoslojnu hromatografiju (TLC, ploče SiO₂ i RP-18). Za prečišćavanje *dry-flash* hromatografijom na stubu korišćen je SiO₂ (40–63 μm), za preparativnu tankoslojnu hromatografiju korišćen je SiO₂ (GF254 ili PF254) i za *flash* hromatografiju na stubu korišćen je Biotage SP1 sistem, sa UV detektorom.

Tačke topljenja su određivane na instrumentima Boetius PMHK i Electrothermal melting point apparatus (1428 6/4 457, Engleska) i nisu korigovane.

IR spektri su snimani na Thermo-Scientific Nicolet 6700 FT-IR diamond crystal i FT-IR 1725X (*Perkin-Elmer*, Waltham, MA 02451, SAD) spektrofotometrima. Oznake intenziteta apsorpcionih traka u IR spektrima su: sl – slaba, sr – srednja, j – jaka.

¹H NMR i ¹³C NMR spektri su snimani na Varian/Agilent (*Agilent Technology*, Santa Clara, CA 95051, SAD, na 400 MHz i 100 MHz) i na Bruker Ultrashield Advance III (*Bruker Scientific Instruments*, Billerica, MA 01821, SAD, na 500 MHz i 125 MHz) spektrometrima, u navedenom rastvaraču, uz TMS kao interni standard. Hemijska pomeranja su izražena u ppm, a multiplicitet signala označen kao: s – singlet, ps – proširen singlet, d – dublet, dd – dublet dubleta, t – triplet, dt – dublet tripleta, q – kvartet, quint – kvintet, hep – heptet, m – multiplet.

TOF-HRMS spektri su snimljeni na 4800 Plus MALDI TOF/TOF Analyzer (*Applied Biosystems*, US instrument, Mundelein, SAD) u pozitivnom jon-modu (fixed laser intensity 4280) koristeći ACN/H₂O gradijent sa 0,2% HCOOH kao nosećim rastvaračem uzorka. Uzorci su rastvarani u MeOH (HPLC čistoće) u smeši sa CHCA (α-Cijano-4-hidroksicimetna kiselina).

ESI-HRMS spektri su snimljeni na Agilent Technologies 6210 time-of-flight LC–MS instrumentu u pozitivnom jon-modu koristeći ACN/H₂O gradijent sa 0,2% HCOOH kao nosećim rastvaračem uzorka. Uzorci su rastvarani u MeOH (HPLC čistoće).

GC/MS analiza: Agilent Technologies 7890A gasni hromatogram, 5975 MSD i FID detektor, DB-5 MS kolona (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Kao noseći gas korišćen je He, temperatura je linearno programirana. Injekciona zapremina je bila 1 μL, a temperatura 220 °C. Temperatura FID detektora je bila 300 °C. EI maseni spektri su snimani u opsegu 30–550 m/z.

UPLC/MS analiza: ACQUITY UPLC H-Class LC instrument, ACQUITY UPLC BEH C18 kolona (50 mm x 2,1 mm x 1,7 μm) i Waters ACQ-TQD MS instrument. Eluent: A = H₂O, B = ACN. Gradijent-protokol: 0,0 – 1 min (5% B), 1 – 10 min (5% → 95% B), 10 – 11 min (95% B), 11 – 12 min (95% → 5% B), 12 – 13 min (5% B). Metod jonizacije: ESI.

Čistoća (HPLC) jedinjenja je određivana pomoću Agilent 1260 Infinity HPLC sistema opremljenog sa Quat Pump (G1311B), Injector (G1329B) 1260 ALS, TCC 1260 (G1316A) i Detector 1260 DAD VL+ (G1315C) (*Agilent*, Santa Clara, CA 95051 SAD). Jedinjenja su rastvorena u MeOH, konačne koncentracije su bile ~0,5 mg/mL. Brzina protoka iznosila je 0,5 mL/min. Jedinjenja su eluirana koristeći gradijent: 0–1 min 95% A, 1–6 min 95% A → 5% A, 6–11 min 5% A, 11–14 min 5% A → 95% A, 14–15 min 95% A. Analize su vršene na UV maksimumu jedinjenja da bi se postigla maksimalna selektivnost. HPLC analize su rađene prema četiri različite metode:

- *Metoda I* - Zorbax Eclipse Plus C18 4,6 x 100mm, 1,8 μ je korišćen kao stacionarna faza. Eluent se sastojao iz sledećih rastvarača: rastvarač A = 0,2% HCOOH u dejonizovanoj vodi i rastvarač B = ACN;

- *Metoda II* - Zorbax Eclipse Plus C18 4,6 x 100mm, 1,8 μ je korišćen kao stacionarna faza. Eluent se sastojao iz sledećih rastvarača: rastvarač A = 0,2% HCOOH u dejonizovanoj vodi i rastvarač B = MeOH;
- *Metoda III* - Zorbax Eclipse Plus C18 4,6 x 150mm, 1,8 μ , S.N. USWKY01594 je korišćen kao stacionarna faza. Eluent se sastojao iz sledećih rastvarača: rastvarač A = 0,2% HCOOH u dejonizovanoj vodi i rastvarač B = ACN;
- *Metoda IV* - Zorbax Eclipse Plus C18 4,6 x 150mm, 1,8 μ , S.N. USWKY01594 je korišćen kao stacionarna faza. Eluent se sastojao iz sledećih rastvarača: rastvarač A = 0,2% HCOOH u dejonizovanoj vodi i rastvarač B = MeOH.

Tokom izrade teze, sintetisane su nove količine **80**, **81** i **101**, dok su **77**, **78**, **79** i **82** korišćeni iz dostupnih laboratorijskih zaliha. Strukture svih amina su poznate i prethodno publikovane.^{91, 92}

terc-Butil(3-aminobutil)karbamat (**83**) je dobijen postupkom opisanim u literaturi, polazeći od komercijalno dostupnog 1,3-dibrombutana, i spektralni podaci su bili u skladu sa publikovanim.⁹⁴

4.1. PROCEDURE ZA SINTEZU I SPEKTRALNI PODACI

4.1.1. Opšte procedure

Dobijanje 4-AQ

AQ:⁹¹ Atmosfera u balonu, u kome su odmereni derivat 4-hlorhinolina (1 ekv) i diaminoalkan (7 ekv), izmeni se argonom, potom stavi čep i uroni u uljano kupatilo zagrejano na 130–140 °C. Reakcija se prekida posle 6–22 h od stapanja reaktanata, izlivanjem u smešu led/voda i ostavi u frižideru preko noći. Formiran talog se procedi, dobro ispere vodom i suši na vazduhu. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu.

Reakcije reduktivnog aminovanja

A (NaBH(OAc)₃, DCM):⁹⁴ U rastvor aldehida **AdCHO** ili **AdCH₂CHO** (1 ekv) i odgovarajućeg amina (1 ekv) u DCM, doda se NaBH(OAc)₃ (2–3,7 ekv) i reakciona smeša ostavi da se meša na sobnoj temperaturi tokom 18–72 h. Reakcija se prekida dodatkom vodenog rastvora NaOH (1 M) i proizvod ekstrahuje tri puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu i/ili preparativnom tankoslojnom hromatografijom.

B (NaBH₄, AcOH, DCM/MeOH):⁹⁴ U balonu, u atmosferi argona, odgovarajući aldehyd (1 ekv) i amin **80** (1–1,2 ekv) se rastvore u smeši DCM/MeOH = 1/2. Zatim se ukapa glacijalna AcOH (1,5–2 ekv) i reakciona smeša meša na sobnoj temperaturi. Nakon 17–20 h pažljivo se doda NaBH₄ (6 ekv) i mešanje nastavi još 24–96 h. Rastvarači se uklone na vakuum-uparivaču, a ostatak u balonu prenese u levak za odvajanje pomoću DCM i NH₃(aq) (2 M). Organski sloj se odvoji, ispere vodom, potom zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suši iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu i preparativnom tankoslojnom hromatografijom.

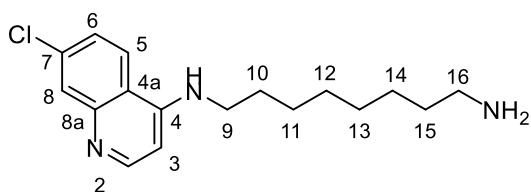
C (NaBH_4 , MeOH):¹⁰⁶ Rastvor amina **80** (1 ekv) i odgovarajućeg aldehida (1,5 ekv) u suvom MeOH se meša na sobnoj temperaturi, u atmosferi argona. Posle 2–3 h u reakcionu smešu se doda NaBH_4 (3 ekv), u porcijama. Mešanje se nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 20–24 h. Po isteku ovog vremena, rastvarač se upari pod sniženim pritiskom, a suvom ostatku u balonu se doda zasićen vodeni rastvor NaHCO_3 i proizvod ekstrahuje tri puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu i preparativnom tankoslojnom hromatografijom.

D ($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, DCE): Rastvoru aldehida **AdCH₂CHO** (2 ekv) i odgovarajućeg amina (1 ekv) u DCE, u atmosferi argona, doda se $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3 ekv) i reakciona smeša ostavi da se meša na sobnoj temperaturi tokom 2–26 h. Reakcija se prekida dodatkom zasićenog vodenog rastvora NaHCO_3 i proizvod ekstrahuje tri puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu ili preparativnom tankoslojnom hromatografijom.

Deprotekcija amina zaštićenih Boc-grupom

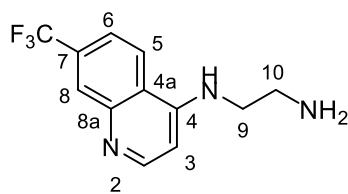
E:⁹⁴ Rastvor Boc-zaštićenog amina u DCM, u koji je dodata TFA, meša se na sobnoj temperaturi tokom 5–30 h. Reakcija se prekida dodatkom vodenog rastvora NaOH (2,5 M) i proizvod ekstrahuje dva puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Izolovan proizvod se koristi dalje bez dodatnog prečišćavanja.

N-(7-Hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (**80**)⁹¹

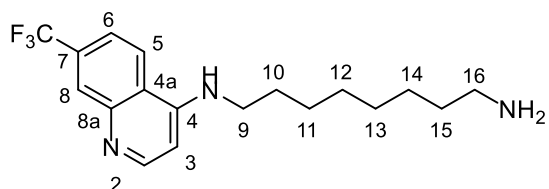


Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **AQ**, jedinjenje **80** je dobijeno iz 4,7-dihlorhinolina (2,2 g, 11,1083 mmol) i 1,8-diaminooktana (11 g, 76,2512 mmol, 7 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do MeOH). Prinos 2,6513 g (78%). Žućkasta amorfna

supstanca, topi se na 104–108 °C. IR (ATR): 3324sr, 3260sr, 3175sr, 2928j, 2851j, 1612sr, 1576j, 1536sr, 1476sr, 1463sr, 1450sr, 1428sr, 1391sr, 1369sr, 1328sr, 1281sl, 1251sl, 1218sl, 1199sl, 1166sl, 1133sr, 1079sl, 1026sl, 981sl, 954sl, 925sl, 903sl, 875sl, 853sr, 812sr, 796sl, 770sl, 727sl, 648sl, 622sl, 597sl, 527sl, 495sl, 441sl cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , δ): 8,33 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H, H-2), 8,08 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-5), 7,76 (s, 1H, H-8), 7,40 – 7,34 (m, 1H, H-6), 6,47 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, H-3), 3,35 – 3,28 (m, 2H, H-9, preklapa se sa CD_3OD), 2,61 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-16), 1,73 (quint, $J = 7,3$ Hz, 2H, H-10), 1,51 – 1,28 (m, 10H, H-(11–15)). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD , δ): 152,71; 152,38; 149,68; 136,23; 127,56; 125,86; 124,31; 118,75; 99,54; 44,02; 42,50; 33,67; 30,56; 30,47; 29,37; 28,20; 27,96.

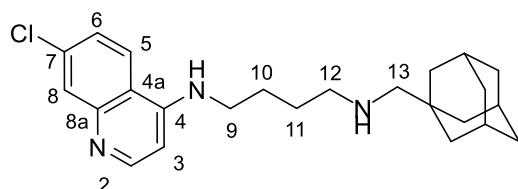
N-[7-(Trifluormetil)hinolin-4-il]etan-1,2-diamin (81) ⁹¹

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **AQ**, jedinjenje **81** je dobijeno iz 4-hlor-7-trifluormetilhinolina (2 g, 8,6356 mmol) i 1,2-diaminoetana (4,3 mL, 64,4176 mmol, 7 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do MeOH). Prinos 534,6 mg (24%). Žućkasta amorfna supstanca, topi se na 100–110 °C. IR (ATR): 3285j, 2962sr, 2906sr, 1594j, 1545j, 1472sr, 1432sr, 1377sr, 1325j, 1284sr, 1206sl, 1161j, 1126j, 1072sr, 1035sl, 959sl, 912sl, 898sl, 869sl, 820sl, 777sl, 739sl, 684sl, 620sl, 568sl, 500sl, 477sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,46 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-2), 8,32 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-5), 8,08 (s, 1H, H-8), 7,63 (dd, *J*₁ = 8,8 Hz, *J*₂ = 1,9 Hz, 1H, H-6), 6,67 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-3), 3,48 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, H-9), 3,01 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, H-10). ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD, δ): 152,92; 152,67; 148,26; 132,19 (d, *J* = 32,5 Hz); 126,38 (q, *J* = 4,4 Hz); 125,08 (d, *J* = 270,6 Hz); 124,31; 122,23; 120,78 (q, *J* = 3,2 Hz); 100,78; 46,14; 40,68.

N-[7-(Trifluormetil)hinolin-4-il]oktan-1,8-diamin (101) ⁹¹

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **AQ**, jedinjenje **101** je dobijeno iz 4-hlor-7-trifluormetilhinolina (1,4 g, 6,0449 mmol) i 1,8-diaminooktana (6,1 g, 42,2848 mmol, 7 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1

do MeOH, DCM/MeOH/NH₃(aq) = 9/1/1). Prinos 1,7888 g (87%). Bledožuta praškasta supstanca, topi se na 80–83 °C. IR (ATR): 3273sr, 3076sr, 3032sr, 2933j, 2852j, 1588j, 1546j, 1470j, 1433sr, 1373j, 1327j, 1279j, 1188sr, 1158j, 1112j, 1073j, 1026sl, 968sl, 934sl, 912sr, 878sl, 859sr, 829sl, 807sr, 781sl, 765sl, 739sl, 685sl, 634sl, 568sl, 524sl, 500sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,44 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-2), 8,30 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-5), 8,07 (s, 1H, H-8), 7,61 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 1,9 Hz, 1H, H-6), 6,59 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H, H-3), 3,37 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-9), 2,61 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-16), 1,76 (quint, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-10), 1,53 – 1,29 (m, 10H, H-(11–15)). ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD, δ): 152,86; 152,60; 148,29; 132,12 (d, *J* = 32,5 Hz); 126,34 (d, *J* = 4,4 Hz); 124,26; 124,21 (d, *J* = 269,7 Hz); 122,18; 120,62 (d, *J* = 3,3 Hz); 100,61; 44,11; 42,53; 33,75; 30,56; 30,47; 29,30; 28,20; 27,96.

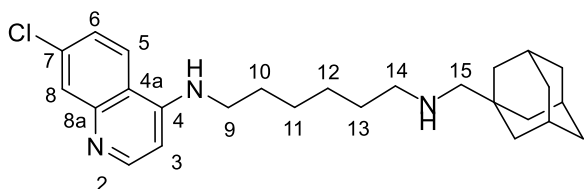
N¹-(1-Adamantilmetil)-N⁴-(7-hlor-4-hinolinil)-1,4-butandiamin (39) ⁸⁹

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **39** je dobijeno iz **78** (120 mg, 0,4805 mmol) i **AdCHO** (78,9 mg, 0,4804 mmol) u 10 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (203,7 mg, 0,9611 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od

95/5 do 8/2, zatim DCM, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od 100/2 do 9/1). Prinos 95,7 mg (50%). Svetložuto ulje. IR (ATR): 3235sr, 3140sl, 3099sl, 3058sl, 3004sl, 2901j, 2844j, 2807sr, 2778sl, 2741sl, 2656sl, 1608sr, 1572j, 1540sr, 1472sl, 1451sr, 1434sr, 1369sr, 1327sr, 1344sl, 1285sl, 1251sl, 1215sl, 1196sl, 1168sl, 1100sl, 1056sl, 1017sl, 905sl, 875sl, 851sl, 826sl, 804sl, 765sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 8,32 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-2), 8,07 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,76 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,36 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 6,47 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-3), 3,41 – 3,33 (m, 2H, H-9), 2,66 – 2,56 (m, 2H, H-12), 2,22 (s, 2H, H-13), 1,98 – 1,88 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,81 – 1,56 (m, 10H, H-(10–11) i 3× -CH₂(Ad)), 1,51 (d, *J* = 2,9 Hz, 6H, 3× -

$\text{CH}_2(\text{Ad})$). ^{13}C NMR (125 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 , δ): 151,21; 150,91; 148,27; 134,90; 126,27; 124,56; 122,81; 117,38; 98,21; 62,25; 50,05; 42,38; 40,44; 36,73; 32,78; 28,36; 26,19; 25,61. TOF-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{ClN}_3+\text{H}]^+$ 398,2363, nađeno 398,2350. HPLC čistoća: Metoda I: RT 8,657, površina 97,49%; Metoda II: RT 11,190, površina 97,94%.

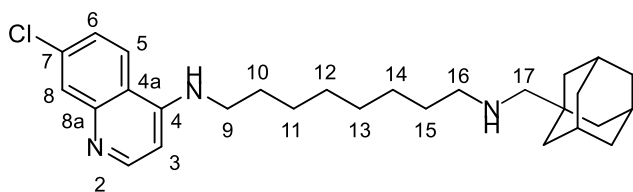
N^1 -(1-Adamantimetil)- N^6 -(7-hlor-4-hinolinil)-1,6-heksandiamin (40)



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **40** je dobijeno iz **79** (95,4 mg, 0,3434 mmol) i **AdCHO** (56,4 mg, 0,3434 mmol) u 7 mL DCM, koristeći $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (145,6 mg, 0,6870 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent DCM,

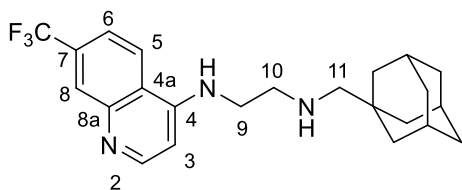
$\text{DCM}/(\text{MeOH}/\text{NH}_3(\text{aq})) = 9/1$) gradijent od 100/2 do 8/2, zatim Hex, Hex/EA = 1/1, EA, EA/MeOH gradijent od 8/2 do MeOH). Prinos 62,7 mg (43%). Bledožuto ulje. IR (ATR): 3238sr, 3060sr, 2900j, 2847j, 1609sr, 1575j, 1540sr, 1452sr, 1431sr, 1368sr, 1333sr, 1281sl, 1249sl, 1207sl, 1136sl, 1098sl, 180sl, 899sl, 874sl, 850sl, 808sl, 768sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ): 8,41 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H, H-2), 8,16 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-5), 7,84 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, H-8), 7,45 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,2$ Hz, 1H, H-6), 6,56 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H, H-3), 3,42 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-9), 2,60 (dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 6,7$ Hz, 2H, H-14), 2,27 (s, 2H, H-15), 2,08 – 1,95 (m, 3H, $3 \times -\text{CH}(\text{Ad})$), 1,90 – 1,69 (m, 8H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$ i H-10), 1,67 – 1,51 (m, 10H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$ i H-11 i H-13), 1,51 – 1,47 (m, 2H, H-12). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ): 151,56; 151,23; 148,56; 135,08; 126,45; 124,71; 123,12; 117,61; 98,40; 62,67; 50,73; 42,73; 40,69; 36,99; 33,02; 28,77; 28,70; 28,09; 26,97; 26,88. TOF-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{ClN}_3+\text{H}]^+$ 426,2676, nađeno 426,2677. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,684, površina 95,07%; Metoda II: RT 8,729, površina 95,02%.

N^1 -(1-Adamantimetil)- N^8 -(7-hlor-4-hinolinil)-1,8-oktandiamin (41)



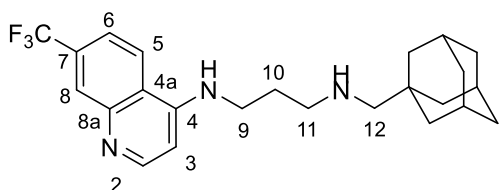
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **41** je dobijeno iz **80** (93,1 mg, 0,3044 mmol) i **AdCHO** (50 mg, 0,3044 mmol) u 7 mL DCM, koristeći $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (129 mg, 0,6087 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent

DCM, $\text{DCM}/(\text{MeOH}/\text{NH}_3(\text{aq})) = 9/1$) gradijent od 100/4 do 8/2, zatim Hex, Hex/EA = 1/1, EA, EA/MeOH gradijent od 8/2 do MeOH, zatim DCM, $\text{DCM}/\text{MeOH} = 9/1 + \text{Et}_3\text{N}$ gradijent od 0,5% do 1%, zatim DCM, $\text{DCM}/\text{EtOH} = 9/1 + \text{Et}_3\text{N}$ gradijent od 0,2% do 0,6%). Prinos 31,7 mg (23%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3277sr, 3064sl, 2905j, 2849j, 1610sr, 1581j, 1541sl, 1453sr, 1368sl, 1332sr, 1282sl, 1250sl, 1137sl, 878sl, 851sl, 806sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 , δ): 8,31 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, H-2), 8,07 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-5), 7,75 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, H-8), 7,35 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,3$ Hz, 1H, H-6), 6,45 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, H-3), 3,35 – 3,28 (m, 2H, H-9, preklapa se sa CD_3OD), 2,64 – 2,52 (m, 2H, H-16), 2,29 (s, 2H, H-17), 2,02 – 1,88 (m, 3H, $3 \times -\text{CH}(\text{Ad})$), 1,79 – 1,60 (m, 8H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$ i H-10), 1,60 – 1,18 (m, 16H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$ i H-(11-15)). ^{13}C NMR (125 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 , δ): 151,31; 150,93; 148,28; 134,84; 126,19; 124,48; 122,89; 117,36; 98,13; 61,76; 50,27; 42,59; 40,20; 36,60; 32,58; 29,03; 28,95; 28,33; 27,92; 27,89; 26,78; 26,71. TOF-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{ClN}_3+\text{H}]^+$ 454,2989, nađeno 454,2987. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,855, površina 95,0 %; Metoda II: RT 8,573, površina 95,08%.

***N*¹-(1-Adamantilmetil)-*N*²-(7-(trifluormetil)-4-hinolinil)-1,2-etandiamin (42)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **42** je dobijeno iz **81** (120 mg, 0,4701 mmol) i **AdCHO** (77,2 mg, 0,4700 mmol) u 10 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (199,3 mg, 0,9404 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od 95/5 do 8/2). Prinos

152,9 mg (81%). Svetložuto ulje. IR (ATR): 3339sr, 3080sl, 2904j, 2848j, 2677sl, 1591j, 1542sr, 1457sl, 1377sr, 1328j, 1277sl, 1204sl, 1161sr, 1131j, 1072sl, 903sl, 812sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 8,47 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H, H-2), 8,28 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H-5), 8,09 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H, H-8), 7,63 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz, 1H, H-6), 6,68 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-3), 3,52 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, H-9), 2,94 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, H-10), 2,32 (s, 2H, H-11), 2,01 – 1,86 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,79 – 1,60 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,56 (d, *J* = 2,9 Hz, 6H, 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 151,48; 151,13; 146,80; 130,75 (q, *J* = 32,6 Hz); 125,41 – 124,66 (m); 124,0 (q, *J* = 268,7 Hz); 122,69; 120,75; 119,54 – 119,21 (m); 99,41; 62,09; 48,14; 41,59; 40,37; 36,70; 32,92; 28,41. TOF-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₃H₂₈F₃N₃+H]⁺ 404,2314, nađeno 404,2294. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,529, površina 96,01%; Metoda II: RT 8,137, površina 95,78%.

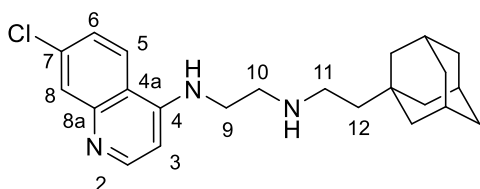
***N*¹-(1-Adamantilmetil)-*N*³-(7-(trifluormetil)-4-hinolinil)-1,3-propandiamin (43)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **43** je dobijeno iz **82** (120 mg, 0,4456 mmol) i **AdCHO** (73,2 mg, 0,4457 mmol) u 10 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (188,9 mg, 0,8913 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od

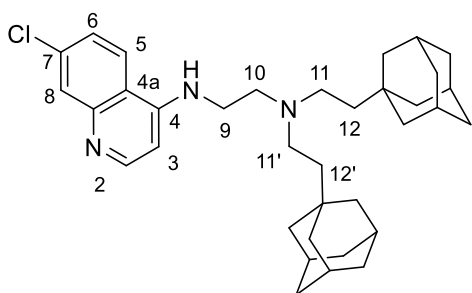
95/5 do 8/2). Prinos 112 mg (59%). Svetložuto ulje. IR (ATR): 3358sr, 3079 sl, 2903j, 2848j, 2677sl, 1597j, 1573sr, 1557sl, 1454sl, 1373sr, 1327j, 1282sr, 1244sl, 1201sl, 1152j, 1113j, 1066sl, 900sl, 858sl, 823sl, 803sl, 739sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 8,48 – 8,43 (m, 1H, H-2), 8,31 – 8,26 (m, 1H, H-5), 8,08 (ps, 1H, H-8), 7,65 – 7,56 (m, 1H, H-6), 6,67 – 6,61 (m, 1H, H-3), 3,49 – 3,41 (m, 2H, H-9), 2,79 – 2,71 (m, 2H, H-11), 2,30 – 2,24 (m, 2H, H-12), 2,03 – 1,87 (m, 5H, H-10 i 3× -CH(Ad)), 1,79 – 1,58 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,54 (ps, 6H, 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 151,46; 151,07; 146,81; 130,70 (q, *J* = 32,5 Hz); 124,94 (q, *J* = 3,7 Hz); 123,95 (q, *J* = 282,5 Hz); 122,82; 120,73; 119,30 – 119,12(m); 99,27; 62,32; 48,39; 41,07; 40,37; 36,65; 32,75; 28,30; 26,97. TOF-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₄H₃₀F₃N₃+H]⁺ 418,2470, nađeno 418,2465. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,654, površina 96,16%; Metoda II: RT 8,246, površina 96,34%.

***N*¹-(1-Adamantilmetil)-*N*²-(7-hlor-4-hinolinil)-1,2-etandiamin (44) i *N*¹,*N*¹-Bis(2-(1-adamantiletil))-*N*²-(7-hlor-4-hinolinil)-1,2-etandiamin (45) ⁹³**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenja **44** i **45** su dobijena iz **77** (110 mg, 0,4962 mmol) i **AdCH₂CHO** (88,4 mg, 0,4959 mmol) u 10 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (210,3 mg, 0,9923 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od 95/5 do 85/15, zatim DCM, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od 100/2 do 9/1), zatim *flash* hromatografijom na stubu (Biotage SP, kolona NH, 12+M, eluent Hex/EA gradijent od 7/3 do EA).

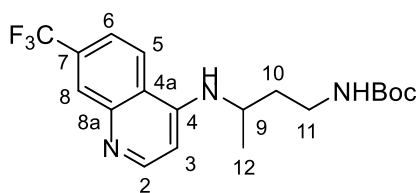


44: Prinos 23 mg (12%). Svetložuto ulje. IR (ATR): 3300sr, 3114sr, 3068sr, 2904j, 2846j, 2677sl, 1612sr, 1583j, 1543sr, 1451sr, 1430sl, 1402sl, 1372sl, 1332sl, 1282sl, 1250sl, 1142sl, 1081sl, 902sl, 877sl, 850sl, 808sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ): 8,40 – 8,38 (m, 1H, H-2), 8,14 – 8,06 (m, 1H, H-5), 7,81 – 7,75 (m, 1H, H-8), 7,45 – 7,38 (m, 1H, H-6), 6,62 – 6,55 (m, 1H, H-3), 3,61 (t, $J=6,3$ Hz, 2H, H-9), 3,11 (t, $J=6,3$ Hz, 2H, H-10), 2,87 – 2,78 (m, 2H, H-11), 1,92 (d, $J=2,1$ Hz, 3H, $3\times -\text{CH}(\text{Ad})$), 1,77 – 1,60 (m, 6H, $3\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,52 (d, $J=3,3$ Hz, 6H, $3\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,41 – 1,33 (m, 2H, H-12). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ): 151,13; 150,90; 148,03; 135,12; 126,07; 124,83; 122,98; 117,40; 98,37; 46,35; 43,37; 41,95; 32,92; 40,60; 36,58; 31,32; 28,57. TOF-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClN}_3+\text{H}]^+$ 384,2207, nađeno 384,2221. HPLC čistoća: Metoda III: RT 1,986, površina 95,97%; Metoda IV: RT 3,308, površina 97,79%.

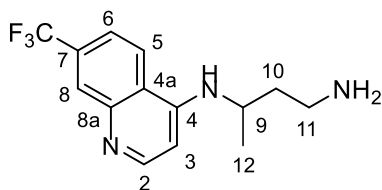


45: Prinos 51 mg (19%). Svetložuto ulje. IR (ATR): 3241sl, 3109sl, 3067sl, 3010sl, 2898j, 2843j, 2675sl, 1612sr, 1577j, 1547sr, 1492sl, 1471sl, 1450sr, 1377sl, 1331sl, 1310sl, 1280sl, 1253sl, 1199sl, 1103j, 1080sl, 1013sl, 965sl, 910sl, 880sl, 849sl, 811sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 , δ): 8,35 (d, $J=5,6$ Hz, 1H, H-2), 7,90 (dd, $J_1=9,0$ Hz, $J_2=1,9$ Hz, 1H, H-5), 7,80 (d, $J=2,2$ Hz, 1H, H-8), 7,37 (dd, $J_1=9,1$ Hz, $J_2=2,2$ Hz, 1H, H-6), 6,42 (d, $J=5,6$ Hz, 1H, H-3), 3,37 (t, $J=6,0$ Hz, 2H, H-9), 2,79 (t, $J=6,0$ Hz, 2H, H-10), 2,60 – 2,50 (m, 4H, H-(11-11')), 1,95 – 1,82 (m, 6H, $6\times -\text{CH}(\text{Ad})$), 1,73 – 1,54 (m, 12H, $6\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,46 (d, $J=2,8$ Hz, 12H, $6\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,28 – 1,18 (m, 4H, H-(12-12')). ^{13}C NMR (125 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 , δ): 150,91; 150,80; 148,03; 135,29; 126,66; 125,19; 122,27; 117,32; 98,56; 51,51; 43,43; 42,34; 40,04; 39,89; 36,86; 31,61; 28,51. TOF-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{ClN}_3+\text{H}]^+$ 546,3615, nađeno 546,3633. HPLC čistoća: Metoda I: RT 7,273, površina 95,17%; Metoda II: RT 9,427, površina 96,03%.

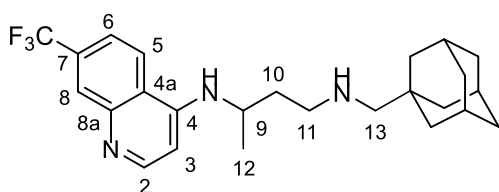
terc-Butil-(3-((7-(trifluormetil)hinolin-4-il)amino)butil)karbamat (84)



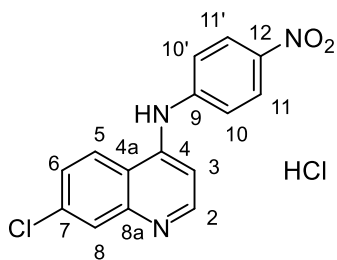
U balonu se napravi smeša 4-hlor-7-trifluometilhinolina (96,7 mg, 0,4175 mmol) i **83** (117,9 mg, 0,6262 mmol, 1,5 ekv) u 0,2 mL DMSO. Atmosfera se izmeni argonom, stavi čep i sadržaj balona zagreva na uljanom kupatilu na 130 °C, tokom 16 h 30 min. Reakciona smeša se zatim ohladi do sobne temperature, doda voda i proizvod ekstrahuje tri puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent Hex, Hex/EA gradijent od 8/2 do EA). Prinos 80,3 mg (50%). Svetlosmeđe ulje. IR (ATR): 3320sr, 3199sr, 2969sr, 2931sr, 1681j, 1590j, 1546j, 1456sl, 1435sl, 1373sr, 1326j, 1285j, 1253sl, 1231sl, 1157j, 1125j, 1019sl, 955sl, 903sl, 867sl, 812sl, 776sl, 739sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ): 8,59 (d, $J=5,4$ Hz, 1H, H-2), 8,25 (s, 1H, H-8), 7,99 (d, $J=8,7$ Hz, 1H, H-5), 7,57 (dd, $J_1=8,6$ Hz, $J_2=1,9$ Hz, 1H, H-6), 6,48 (d, $J=5,4$ Hz, 1H, H-3), 5,56 (ps, -NH), 4,83 (ps, 1H, -NH), 3,80 (hep, 1H, H-9), 3,40 – 3,16 (m, 2H, H-11), 1,96 – 1,83 (m, 2H, H-10), 1,45 (s, 9H, $3\times -\text{CH}_3(\text{Boc})$), 1,36 (d, 3H, H-12). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ): 156,21; 152,09; 148,83; 147,83; 131,42 – 130,31 (m); 127,52 (m); 124,0 (q, $J=270,0$ Hz); 121,19; 120,62; 119,96; 100,05; 79,75; 46,53; 37,45; 36,75; 28,35; 20,07. ESI-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2+\text{H}]^+$ 384,1893, nađeno 384,1909.

***N*³-(7-(Trifluorometil)hinolin-4-il)butan-1,3-diamin (85)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri E, jedinjenje **85** je dobijeno iz **84** (134 mg, 0,3495 mmol) u 3,2 mL DCM, uz dodatak 0,32 mL TFA. Proizvod nije dodatno prečišćavan. Prinos 91,5 mg (NMR čistoća: prisutno 15% nečistoće). Žuto ulje. IR (ATR): 3337j, 2994j, 2180sr, 2103sr, 1982sl, 1798sl, 1682j, 1632sr, 1591j, 1544j, 1473sr, 1454sr, 1434sr, 1384sr, 1328sr, 1290sr, 1191j, 1106j, 950sl, 921sl, 891sl, 837sr, 816sl, 796sl, 722sl, 682sl, 575sl, 509sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ): 8,49 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H, H-2), 8,43 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H-5), 8,10 (ps, 1H, H-8), 7,68 (dd, $J_1 = 8,9$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, 1H, H-6), 6,75 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H, H-3), 4,04 (hep, 1H, H-9), 3,15 – 3,01 (m, 2H, H-11), 2,22 – 1,89 (m, 2H, H-10), 1,41 (d, 3H, H-12). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ): 151,02; 150,47; 147,83; 131,85 – 131,74 (m); 124,24 – 123,82 (m); 123,19; 123,87 (q, $J = 270,0$ Hz); 120,62; 119,79; 99,77; 46,09; 36,57; 33,57; 18,44. ESI-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3+\text{H}]^+$ 284,1369, nađeno 284,1372.

***N*¹-(1-Adamantilmetil)-*N*³-(7-(trifluorometil)hinolin-4-il)butan-1,3-diamin (46)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri A, jedinjenje **46** je dobijeno iz **85** (91 mg, 0,3212 mmol) i **AdCHO** (56,3 mg, 0,3464 mmol) u 6,5 mL DCM, koristeći $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (136,2 mg, 0,6356 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent DCM, $\text{DCM}/(\text{MeOH}/\text{NH}_3(\text{aq}) = 9/1)$ gradijent od 95/5 do 8/2, zatim DCM, $\text{DCM}/(\text{MeOH}/\text{NH}_3(\text{aq}) = 9/1)$ gradijent od 98/2 do 1/1). Prinos 38,1 mg (23%). Bledožuto ulje. IR (ATR): 3726sr, 3271sl, 3078sl, 2900j, 2845j, 2182sr, 2032sr, 1583j, 1541j, 1451sl, 1376sr, 1325j, 1277sl, 1203sl, 1156j, 1125j, 1070sl, 902sl, 854sl, 810sl, 737sl, 683sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ): 8,45 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H, H-2), 8,37 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, H-5), 8,08 (s, 1H, H-8), 7,61 (d, $J_1 = 8,9$ Hz, $J_2 = 1,9$ Hz, 1H, H-6), 6,70 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, H-3), 3,94 (hep, 2H, H-9), 2,76 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H, H-11), 2,28 (s, 2H, H-13), 2,02 – 1,84 (m, 5H, $3 \times -\text{CH}(\text{Ad})$ i H-10), 1,76 – 1,56 (m, 6H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,50 (ps, 6H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,36 (d, 3H, H-12). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ): 152,61; 151,60; 148,14; 132,49 – 131,31 (m); 126,21 – 125,91 (m); 124,12; 124,07; 123,04 (q, $J = 270$ Hz); 120,32; 100,71; 63,32; C-9 i C-11 se preklapaju sa CD_3OD ; 43,39; 37,72; 35,65; 39,89; 29,47; 19,99. TOF-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{N}_3+\text{H}]^+$ 432,2627, nađeno 432,2645. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,833, površina 96,16%; Metoda II: RT 8,312, površina 95,53%.

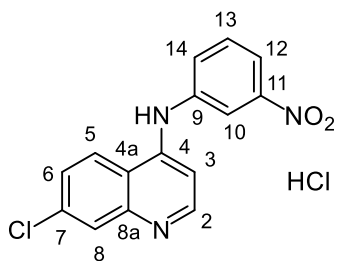
7-Hlor-*N*-(4-nitrofenil)hinolin-4-amin-hidrohlorid (86) ⁹⁶

Smeša 4,7-dihlorhinolina (250 mg, 1,2623 mmol) i 4-nitroanilina (174,3 mg, 1,2619 mmol) u 10 mL EtOH, u koju se doda katalitička količina 37% HCl, se intenzivno meša i zagreva tako da reflukuje tokom 2h. Nakon isteka ovog vremena, sadržaj balona se ohladi do sobne temperature i formiran talog procedi. Ispiranjem taloga hladnim MeOH i sušenjem pod sniženim pritiskom, dobija se proizvod u obliku hidrohloridne soli. Prinos 312,6 mg (74%, NMR čistoća: prisutno 7% polaznog 4-nitroanilina). Jarkožuta praškasta supstanca. IR (ATR):

3195sr, 3087sr, 3003sr, 1619sr, 1581j, 1542j, 1501j, 1447sr, 1377sl, 1344j, 1299sr, 1238sr, 1209sr, 1177sr, 1093sr, 1000sl, 917sl, 854sl, 811sl, 744sl, 693sl, 647sl cm^{-1} . ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ): 11,46 (ps, 1H, $-\text{NH}$), 8,92 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H, H-5), 8,68 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H, H-2), 8,36 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H-(11-11')), 8,22 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, H-8), 7,89 (dd, $J_1 = 9,2$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, 1H, H-6), 7,78

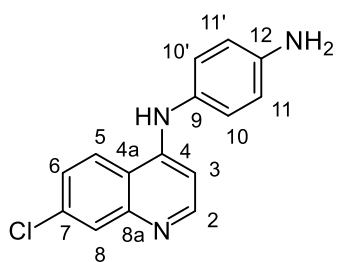
(d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-(10-10')), 7,21 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-3). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ): 154,12; 145,22; 144,78; 144,40; 139,93; 139,01; 128,21; 126,90; 125,79; 124,85; 120,04; 117,42; 102,62.

7-Hlor-*N*-(3-nitrofenil)hinolin-4-amin-hidrohlorid (**87**)⁹⁶



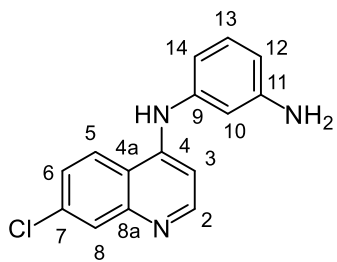
Prateći proceduru za dobijanje **86**, jedinjenje **87** je sintetisano iz 4,7-dihlorhinolina (250 mg, 1,2623 mmol) i 3-nitroanilina (174,3 mg, 1,2619 mmol), u 10 mL EtOH i uz katalitičku količinu 37% HCl. Prinos 377,9 mg (89%). Jarkožuta praškasta supstanca. IR (ATR): 3195sl, 3072j, 2980j, 2884j, 2698j, 1602j, 1536j, 1518j, 1444j, 1354j, 1237sr, 1210sr, 1171sr, 1094sr, 1060sl, 972sl, 909sl, 886sl, 851sl, 814sr, 776sl, 736sl, 719sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, smeša $\text{DMSO}-d_6$ i CD_3OD , δ): 8,75 – 8,64 (m, 1H, H-2), 8,60 – 8,49 (m, 1H, H-5), 8,35 – 8,29 (m, 1H, H-10), 8,26 – 8,19 (m, 1H, H-12), 8,08 – 8,00 (m, 1H, H-8), 7,95 – 7,89 (m, 1H, H-6), 7,89 – 7,76 (m, 2H, H-(13-14)), 7,06 – 6,97 (m, 1H, H-3). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ): 157,08; 151,07; 146,05; 141,37; 141,19; 140,48; 133,49; 130,06; 127,92; 124,14; 122,15; 121,60; 118,46; 102,94.

*N*¹-(7-Hlorhinolin-4-il)benzen-1,4-diamin (**88**)⁹⁷



Suspencija **86** (35 mg, 0,1168 mmol) i SnCl_2 (110,7 mg, 0,5838 mmol, 5 ekv) u 1,3 mL EtOH se ohladi na 0 °C i zatim doda 0,03 mL 37% HCl u kapima. Heterogena reakciona smeša se onda zagreje u uljanom kupatilu, tako da blago ključa. Posle 1 h, rastvarač se ukloni na vakuum-uparivaču, a ostatku u balonu doda vodeni rastvor Na_2CO_3 (1 M). Proizvod se ekstrahuje tri puta pomoću EA i spojeni organski slojevi isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 96/4 do MeOH). Prinos 22,5 mg (71%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3377j, 3194j, 1613j, 1578j, 1541j, 1515j, 1440sr, 1416sr, 1374sr, 1332sr, 1251sr, 1201sl, 1171sl, 1118sl, 1084sl, 944sl, 915sl, 868sl, 824sl, 767sl, 760sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , δ): 8,24 – 8,13 (m, 2H, H-2 i H-5), 7,75 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, H-8), 7,40 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, 1H, H-6), 7,09 – 6,98 (m, 2H, H-(11-11')), 6,81 – 6,72 (m, 2H, H-(10-10')), 6,53 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, H-3). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD , δ): 151,94; 150,50; 148,25; 146,30; 135,65; 129,40; 126,44; 125,94; 125,23; 125,23; 117,67; 116,08; 100,41.

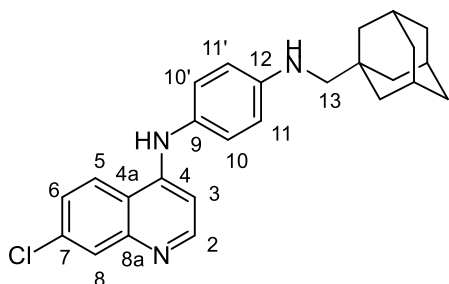
*N*¹-(7-Hlorhinolin-4-il)benzen-1,3-diamin (**89**)⁹⁷



Prateći proceduru za dobijanje **88**, jedinjenje **89** je sintetisano iz **87** (150 mg, 0,4462 mmol), koristeći SnCl_2 (423 mg, 2,2308 mmol, 5 ekv) i 0,11 mL 37% HCl u 5 mL EtOH. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 96/4 do 1/1). Prinos 88,8 mg (74%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3472sr, 3380sr, 3171sr, 3053sr, 3009sr, 2937sr, 1610j, 1566j, 1540j, 1491j, 1457sr, 1418sr, 1371sr, 1328sr, 1282sr, 1246sr, 1198sr, 1160sr, 1115sl, 1082sl, 993sl, 960sl, 906sl, 882sl, 854sl, 820sl, 761sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 , δ): 8,35 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H, H-2), 8,28 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H, H-5), 7,86 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, H-8), 7,49 (dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,2$ Hz, 1H, H-6), 7,18 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-10), 6,95 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, H-3), 6,75 (t, $J = 2,1$ Hz, 1H, H-13), 6,69 (dd, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H, H-14), 6,62 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, 1H, H-12). ^{13}C NMR (125 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 ,

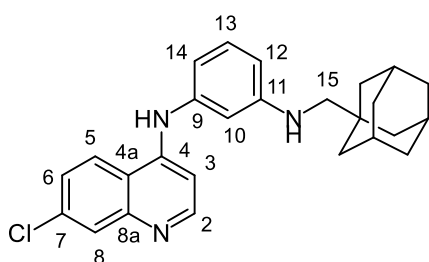
δ): 151,53; 151,38; 149,96; 149,19; 141,29; 136,70; 130,90; 126,93; 126,43; 124,48; 119,07; 114,05; 113,33; 111,25; 102,56.

*N*¹-(1-Adamantilmetil)-*N*²-(7-hlorhinolin-4-il)benzen-1,4-diamin (47)



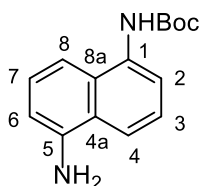
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri A, jedinjenje 47 je dobijeno iz **88** (52,6 mg, 0,1950 mmol) i **AdCHO** (32 mg, 0,1948 mmol) u 4 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (82,6 mg, 0,3897 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 98/2 do 9/1). Prinos 29,3 mg (36%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3420sl, 3277sl, 3192sl, 3095sl, 3051sl, 2898j, 2844j, 1613j, 1581j, 1517j, 1449sr, 1425sr, 1370sr, 1315sr, 1283sr, 1169sr, 1116sr, 914sl, 867sl, 819sl, 777sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 8,28 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H, H-2), 8,19 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,89 (ps, 1H, H-8), 7,43 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 7,13 – 7,05 (m, 2H, H-(11-11')), 6,78 – 6,69 (m, 2H, H-(10-10')), 6,61 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H, H-3), 2,83 (s, 2H, H-13), 2,06 – 1,97 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,83 – 1,67 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,67 – 1,60 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 152,04; 150,65; 148,46; 148,31; 135,85; 127,80; 126,68; 126,31; 125,49; 123,28; 117,73; 113,35; 100,69; 56,64; 40,77; 37,16; 34,22; 28,64. TOF-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₆H₂₈ClN₃+H]⁺ 418,2050, nađeno 418,2055. HPLC čistoća: Metoda I: RT 8,408, površina 95,13%; Metoda II: RT 9,757, površina 95,94%.

*N*¹-(1-Adamantilmetil)-*N*²-(7-hlorhinolin-4-il)benzen-1,3-diamin (48)



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri A, jedinjenje 48 je dobijeno iz **89** (49,1 mg, 0,1820 mmol) i **AdCHO** (29,9 mg, 0,1820 mmol) u 4 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (77,1 mg, 0,3638 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH = 98/2). Prinos 37,2 mg (49%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3374j, 3073sr, 2903j, 2847j, 2658sr, 1613j, 1588j, 1544j, 1496j, 1450j, 1370sr, 1314sr, 1245sl, 1215sl, 1192sl, 1163sl, 1135sr, 1099sr, 1056sr, 992sl, 898sl, 844sl, 817sl, 770sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 8,40 – 8,29 (m, 2H, H-2 i H-5), 8,01 (ps, 1H, H-8), 7,55 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H, H-6), 7,20 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-10), 6,89 (d, 2H, H-3), 6,66 – 6,54 (m, 3H, H-(12-14)), 2,80, (ps, 2H, H-15), 2,01 (ps, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,81 – 1,64 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,64 – 1,56 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 153,51; 150,92; 144,11; 138,60; 138,12; 130,12; 127,13; 124,42; 121,30; 115,87; 111,71; 110,42; 108,72; 100,57; 55,95; 40,54; 36,91; 33,92; 28,25. TOF-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₆H₂₈ClN₃+H]⁺ 418,2050, nađeno 418,2059. HPLC čistoća: Metoda I: RT 7,246, površina 98,49%; Metoda II: RT 9,408, površina 97,05%.

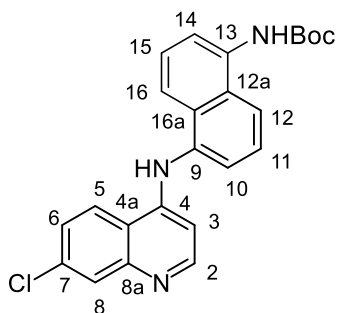
tert-Butil-(5-amino-1-naftil)karbamat (90) ⁹⁹



U rastvor 1,5-diaminonaftalena (25 mg, 0,1580 mmol) u 0,63 mL DMF, ukapava se rastvor Boc₂O (34,5 mg, 0,1581 mmol) u 0,315 mL DMF, na sobnoj temperaturi, tokom 45 min, nakon čega se nastala smeša zagreje na 50 °C. Posle 3 dana mešanja, dodaju se NH₂OH×HCl i Et₃N, mešanje nastavi još neko vreme, a zatim rastvarač upari pod sniženim pritiskom. Suvi ostatak u balonu se rastvori u MeOH, ukapa se hladna voda i smeša ohladi u ledenom kupatilu. Nakon što se formira talog, procedi se na Büchner-ovom levku i osuši. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu

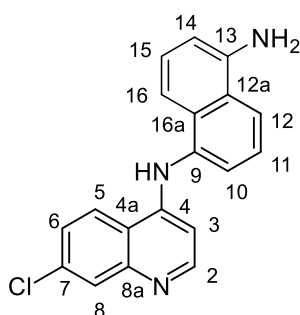
(SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH = 98/2, zatim Hex, Hex/EA gradijent od 9/1 do 6/4 ponovljen ovaj sistem). Prinos 11,7 mg (29%). Smeđa praškasta supstanca. IR (ATR): 3451j, 3373j, 3321j, 3076sl, 2976j, 2939sr, 2877sl, 1723j, 1624j, 1595sl, 1540j, 1502j, 1429j, 1391sr, 1366sr, 1343sr, 1290sl, 1236j, 1151j, 1069sr, 1022sr, 876sr, 853sr, 761j, 717sl, 618sr, 504sl, 444sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 7,89 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H-4), 7,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-8), 7,38 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-2), 7,31 – 7,24 (m, 2H, H-7 i H-3), 6,81 (ps, 1H, -NH), 6,74 (dd, *J*₁ = 5,9 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz, 1H, H-6), 4,34 (ps, 2H, -NH₂), 1,51 (s, 9H, 3× -CH₃(Boc)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 154,50; 143,93; 134,53; 128,27; 127,60; 125,83; 125,27; 119,41; 117,95; 112,01; 110,92; 81,68; 29,48.

terc-Butil-{5-[(7-hlorhinolin-4-il)amino]-1-naftil}karbammat (91)

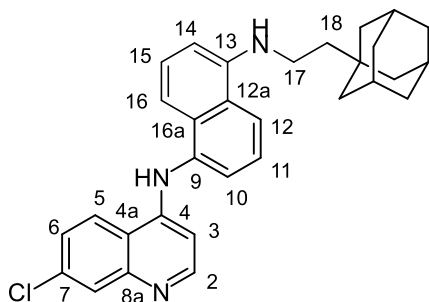


Suspencija 4,7-dihlorhinolina (103,6 mg, 0,5231 mmol) i **90** (135,2 mg, 0,5234 mmol) u 5 mL EtOH, se meša i zagreva, tako da blago ključa, tokom 48 h. Nakon isteka ovog vremena, smeša se ohladi, prvo do sobne temperature, a zatim ostavi u frižideru, do pojave taloga. Talog se procedi i suši pod sniženim pritiskom. Prinos 119,8 mg (54%). Smeđa amorfná supstanca, topi se na 238-240 °C. IR (ATR): 3476sl, 3169j, 3090sr, 3054j, 2975j, 2876sr, 2766j, 1986sl, 1713j, 1630j, 1606j, 1562sr, 1538j, 1498j, 1446j, 1414j, 1365j, 1333sr, 1244j, 1207sr, 1164j, 1101sl, 1080sr, 1048sl, 1025sl, 957sl, 913sl, 886sr, 819sr, 791j, 688sr, 602sr, 580sl, 468sl, 421sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 8,72 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H, H-2), 8,25 – 8,20 (m, 2H, H-16 i H-5), 7,99 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, H-8), 7,82 (dd, *J*₁ = 9,1 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 7,75 – 7,65 (m, 3H, H-10 i H-14 i H-12), 7,62 (dd, *J*₁ = 7,3 Hz, *J*₂ = 1,2 Hz, 1H, H-15), 7,51 (dd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7,5 Hz, 1H, H-11), 6,29 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H, H-3), 1,57 (s, 9H, 3× -CH₃(Boc)). ¹³C NMR (125 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 157,37; 155,20; 142,64; 140,38; 139,30; 134,82; 132,85; 130,13; 129,89; 128,14; 127,07; 125,65; 125,03; 124,99; 123,93; 122,27; 119,36; 118,92; 115,71; 100,88; 80,20; 27,57. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₄H₂₂ClN₃O₂+H]⁺ 420,1473, nađeno 420,1482.

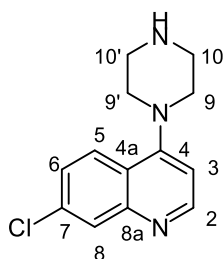
N-(7-Hlorhinolin-4-il)naftalen-1,5-diamin (92)



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **E**, jedinjenje **92** je dobijeno iz **91** (105,5 mg, 0,2512 mmol) u 2,1 mL DCM, uz dodatak 0,21 mL TFA. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 98/2 do 9/1). Prinos 63,7 mg (79%). Žuto ulje. IR (ATR): 3390sr, 3308sr, 3206sr, 3051sr, 2921sr, 2851sr, 1903sl, 1636sr, 1609sr, 1570j, 1512j, 1472sr, 1450sr, 1472sr, 1409sr, 1370j, 1324sr, 1280sr, 1254sl, 1212sl, 1162sl, 1118sr, 1077sr, 942sl, 885sr, 848sl, 828sr, 809j, 772j, 639sl, 572sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 8,27 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 8,08 (d, *J* = 5,7 Hz, H-2), 7,89 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-10), 7,80 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, H-8), 7,47 – 7,33 (m, 3H, H-6 i H-12 i H-16), 7,23 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-11), 7,13 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-15), 6,77 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H, H-14), 6,05 (d, *J* = 5,5, 1H, H-3). ¹³C NMR (125 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 151,64; 150,54; 148,34; 143,44; 135,49; 135,44; 131,09; 126,96; 126,52; 125,49; 125,08; 124,29; 124,25; 123,10; 120,74; 117,47; 113,13; 110,21; 101,76. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₁₉H₁₄ClN₃+H]⁺ 320,0949, nađeno 320,0961.

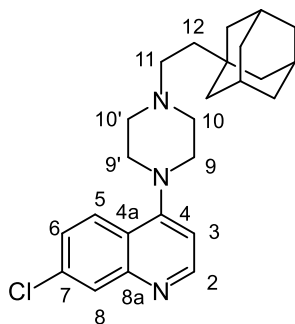
***N*-[2-(1-Adamantil)etil]-*N'*-(7-hlorhinolin-4-il)naftalen-1,5-diamin (49)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **49** je dobijeno iz **92** (51,5 mg, 0,1610 mmol) i **AdCH₂CHO** (28,7 mg, 0,1610 mmol) u 4,2 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (126,3 mg, 0,5959 mmol, 3,7 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 98/2 do 9/1, zatim DCM, DCM/MeOH gradijent od 99,5/0,5 do 9/1). Prinos 19,6 mg (25%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3385sr, 3336j, 3046sl, 2892j, 2840j, 2658sl, 1893sl, 1604sr, 1579j, 1531j, 1509j, 1467j, 1408sr, 1365sr, 1318j, 1277sr, 1212sr, 1156sr, 1112j, 1072sl, 850sr, 876sr, 813sr, 776j, 644sl, 606sl, 555sl, 479sl, 432sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,41 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 8,05 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H-8), 8,00 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 7,52 – 7,42 (m, 3H, H-6 i H-12 i H-16), 7,38 – 7,31 (m, 1H, H-11), 7,27 – 7,22 (m, 1H, H-15, preklapa se sa CDCl₃), 6,66 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H-14), 6,40 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 3,35 – 2,25 (m, 2H, H-17), 2,05 – 1,97 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,80 – 1,65 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,65 – 1,60 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,60 – 1,55 (m, 2H, H-18). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 151,80; 149,40; 149,30; 144,48; 135,36; 135,25; 130,55; 128,92; 127,76; 125,98; 124,60; 124,31; 123,05; 121,21; 118,98; 117,54; 110,62; 104,80; 102,71; 43,94; 42,68; 38,90; 37,08; 32,13; 28,65. TOF-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₁H₃₂ClN₃+H]⁺ 482,2363, nađeno 482,2344. HPLC čistoća: Metoda I: RT 8,904, površina 95,10%; Metoda II: RT 10,141, površina 95,85%.

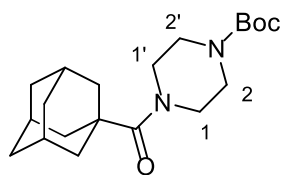
7-Hlor-4-(piperazin-1-il)hinolin (93) ¹⁰¹

Balon, u kome su odmereni 4,7-dihlorhinolin (100 mg, 0,5049 mmol), piperazin (130,5 mg, 1,5150 mmol, 3 ekv) i Et₃N (0,07 mL, 0,5050 mmol), se uroni u uljano kupatilo i reakciona smeša zagreva 1 h na 80 °C, a zatim 6 h na 130 °C. Nakon hlađenja do sobne temperature, doda se DCM, smeša prebaci u levak za odvajanje i ispere vodenim rastvorom NaHCO₃ (5%), zatim vodom in a kraju zasićenim vodenim rastvorom NaCl. Odvojen organski sloj se suši iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do MeOH). Prinos 77,5 mg (62%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3252j, 3068sl, 2996sl, 2942sr, 2880sr, 2830j, 2804sr, 2749sr, 2639sl, 1980sl, 1667sl, 1606sr, 1569j, 1495sr, 1456sr, 1423j, 1375j, 1326sl, 1292sr, 1246sr, 1228sr, 1192sl, 1147sr, 1129sr, 1106sr, 1075sr, 1019sr, 944sl, 913sl, 869j, 840j, 820j, 771sl, 712sl, 647sl, 565sl, 514sl, 499sl, 451sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 8,66 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H, H-2), 8,08 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,94 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,53 (dd, *J*₁ = 9,1 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 7,02 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H, H-3), 3,29 – 3,21 (m, 4H, H_{eq}-(9-9') i H_{eq}-(10-10')), 3,17 – 3,09 (m, 4H, H_{ax}-(9-9') i H_{ax}-(10-10')). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 158,35; 151,73; 149,44; 135,32; 127,15; 126,17; 125,96; 121,97; 109,12; 52,83; 46,21.

4-{4-[2-(1-Adamantil)etil]piperazin-1-il}-7-hlorhinolin (50)

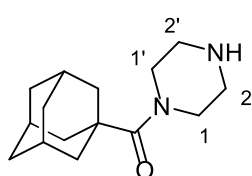


Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri A, jedinjenje **50** je dobijeno iz **93** (75 mg, 0,3028 mmol) i **AdCH₂CHO** (54 mg, 0,3029 mmol) u 7,3 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (128,4 mg, 0,6058 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 98/2 do 9/1, zatim Hex, Hex/EA gradijent od 1/1 do EA, EA/MeOH = 9/1). Prinos 43,4 mg (35%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3369sl, 3034sl, 2902j, 2844j, 2681sl, 1606sr, 1575j, 1498sr, 1451j, 1425j, 1379j, 1299j, 1252sr, 1192sl, 1135j, 1071sl, 1007sr, 928sl, 874j, 825j, 736sr, 630sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,70 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H, H-2), 8,02 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,92 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,39 (dd, *J*₁ = 8,8 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 6,81 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, H-3), 3,30 – 3,17 (m, 4H, H_{eq}-(9-9') i H_{eq}-(10-10')), 2,78 – 2,65 (m, 4H, H_{ax}-(9-9') i H_{ax}-(10-10')), 2,49 – 2,42 (m, 2H, H-11), 1,97 – 1,91 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,74 – 1,58 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,56 – 1,46 (d, *J* = 2,9 Hz, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,37 – 1,29 (m, 2H, H-12). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 157,07; 151,96; 150,07; 134,88; 128,78; 126,05; 125,24; 121,90; 108,90; 53,25; 52,82; 52,19; 42,58; 41,01; 37,14; 31,79; 28,66. TOF-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₄H₃₀N₃Cl+H]⁺ 396,2207, nađeno 396,2216. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,944, površina 98,01%; Metoda II: RT 8,980, površina 97,38%.

terc-Butil-4-(1-adamantilkarbonil)piperazin-1-karboksilat (96)¹⁰³

U atmosferi Ar, u rastvor adamantan-1-karboksilne kiseline (460 mg, 2,5522 mmol) u 10 mL suvog DCM, kome je dodata katalitička količina DMF, ukapa se oksalil-hlorid (0,44 mL, 5,0437 mmol, 2 ekv), na 0 °C. Mešanje se nastavi na sobnoj temperaturi još 4h, a zatim se rastvarač ukloni pomoću vakuum-uparivača. Dobijeni hlorid kiseline **94** (507 mg; 100%), u obliku bezbojnog ulja, se odmah koristi dalje.

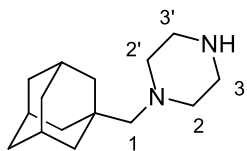
U spaljenom balonu, u atmosferi Ar, napravi se rastvor **95** (57,7 mg, 0,3098 mmol, 1,3 ekv) u 0,9 mL suvog DCM. Nakon dodatka Et₃N (0,07 mL, 0,5029 mmol, 2 ekv), smeša se ohladi u ledenom kupatilu i ukapava rastvor **94** (47,3 mg, 0,2381 mmol) u 0,3 mL suvog DCM, tokom 10 min. Posle završenog ukapavanja, smeša se meša 20 h na sobnoj temperaturi. Reakcija se prekida dodatkom zasićenog vodenog rastvora NaHCO₃ i odvoje se slojevi. Vodeni sloj se ekstrahuje tri puta pomoću DCM, svi organski slojevi se spoje, isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent Hex, Hex/EA gradijent od 9/1 do 7/3). Prinos 57 mg (70%). Bledožuto ulje. IR (ATR): 3064sl, 3003sl, 2975sr, 2908j, 2852j, 2676sl, 1685j, 1618j, 1450sr, 1414j, 1362sr, 1285sr, 1238j, 1169j, 1120sr, 1070sr, 1046sl, 1021sr, 996sr, 939sr, 863sr, 771sr, 729sr, 650sl, 564sr, 532sl, 492sl, 462sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 3,68 – 3,58 (m, 4H, H_{eq}-(1-1') i H_{eq}-(2-2')), 3,42 – 3,35 (m, 4H, H_{ax}-(1-1') i H_{ax}-(2-2')), 2,06 – 1,99 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,99 – 1,93 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,76 – 1,64 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,44 (ps, 3× -CH₃(Boc)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 175,98; 154,65; 80,12; 45,18; 41,69; 39,04; 39,65; 36,56; 36,41; 28,40; 28,36.

1-(1-Adamantilkarbonil)piperazin (97)¹⁰⁴

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri E, jedinjenje **97** je dobijeno iz **96** (55 mg, 0,1578 mmol) u 1,4 mL DCM, uz dodatak 0,14 mL TFA. Proizvod nije dodatno prečišćavan. Prinos 35,4 mg (90%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3490sr, 3302sr, 3052sl, 2906j, 2852j, 2744sl, 2678sl, 1617j, 1448sr, 1416j, 1365sl, 1342sl, 1320sl, 1259j, 1227j, 1181sl, 1141sl, 1103sl, 1049sl, 1023sr, 831sl cm⁻¹.

¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 3,70 – 3,57 (m, 4H, H_{eq}-(1-1') i H_{eq}-(2-2')), 2,85 – 2,78 (m, 4H, H_{ax}-(1-1') i H_{ax}-(2-2')), 2,04 – 1,97 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,97 – 1,94 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,88 (s, 1H, -NH), 1,74 – 1,62 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 175,71; 46,53; 46,38; 41,61; 42,07; 39,01; 36,61; 28,45.

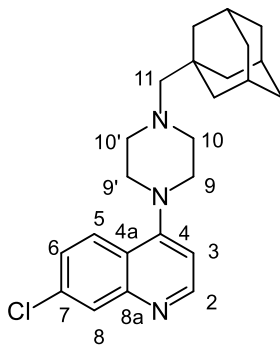
1-(1-Adamantilmetil)piperazin (98) ¹⁰⁵



U spaljenom balonu, u atmosferi Ar, napravi se suspenzija LiAlH₄ (61,1 mg, 1,6100 mmol, 2 ekv) u 2,8 mL suvog THF i ohladi na 0 °C. Na ovoj temperaturi se ukapa rastvor **97** (200 mg, 0,8053 mmol) u 4,3 mL suvog THF, a zatim reakciona smeša refluktuje 4 h. Nakon hlađenja do sobne temperature doda se vodeni rastvor NaOH (2 M) i proizvod ekstrahuje tri puta pomoću DCM. Spojeni

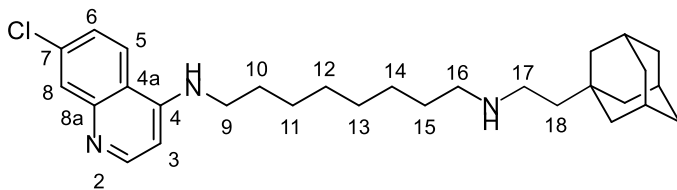
organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Proizvod nije dodatno prečišćavan. Prinos 174,7 mg (92%). Žuto ulje. IR (ATR): 3375sr, 3306sr, 3218sr, 2904j, 2844j, 2813sr, 2677sl, 1628sl, 1543sl, 1454sr, 1425sl, 1361sr, 1323sl, 1275sr, 1162sr, 1129sr, 1107sl, 1011sr, 856sl, 811sl, 791sl, 739sl, 603sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 2,84 – 2,76 (m, 4H, H_{eq}-(2-2') i H_{eq}-(3-3')), 2,51 – 2,38 (m, 4H, H_{ax}-(2-2') i H_{ax}-(3-3')), 1,95 – 1,88 (m, 5H, 3× -CH(Ad) i H-1), 1,74 – 1,58 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,53 – 1,43 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (100 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 71,57; 56,18; 45,31; 40,78; 36,99; 34,73; 28,46.

4-[4-(1-Adamantilmetil)piperazin-1-il]-7-hlorhinolin (51)



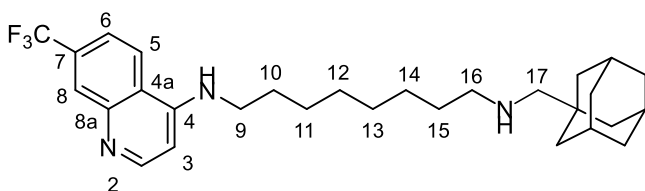
Smeša 4,7-dihlorhinolina (16,6 mg, 0,084 mmol) i **98** (19,7 mg, 0,084 mmol) u fenolu (24,0 mg, 0,2550 mmol, 3 ekv) se zagreva 24 h na 130 °C, u atmosferi Ar. Zatim se ohladi do sobne temperature, rastvori u DCM i prenese se u levak za odvajanje. Organski sloj se prvo ispere tri puta vodenim rastvorom NaOH (10%), onda zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suši iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent 98/2 do 9/1). Prinos 25,2 mg (75%). Bledožuto ulje. IR (ATR): 2908j, 2890j, 2807sr, 2769sl, 2681sl, 1605sr, 1578j, 1564sr, 1497sr, 1454sr, 1423j, 1382j, 1359sr, 1334sr, 1324sl,

1300sr, 1287sl, 1200sl, 1189sl, 1166sl, 1152sl, 1130sr, 1098sl, 1069sl, 1025sl, 1011sr, 953sl, 940sl, 928sl, 913sl, 882sl, 872j, 819j, 773sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, smeša CD₃OD i CDCl₃, δ): 8,67 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, H-2), 8,0 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H-8), 7,92 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,38 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 6,79 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, H-3), 3,22 – 3,14 (m, 4H, H_{eq}-(9-9') i H_{eq}-(10-10')), 2,79 – 2,70 (m, 4H, H_{ax}-(9-9') i H_{ax}-(10-10')), 2,06 (s, 2H, H-11), 1,99 – 1,90 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,75 – 1,56 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,54 – 1,45 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 157,27; 151,86; 150,12; 134,76; 128,75; 125,91; 125,36; 121,98; 108,86; 71,40; 56,28; 53,03; 41,0; 37,23; 35,10; 28,48. TOF-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₄H₃₀ClN₃+H]⁺ 396,2207, nađeno 396,2201. HPLC čistoća: Metoda I: RT 9,948, površina 97,30%; Metoda II: RT 8,994, površina 95,55%.

***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (61)**

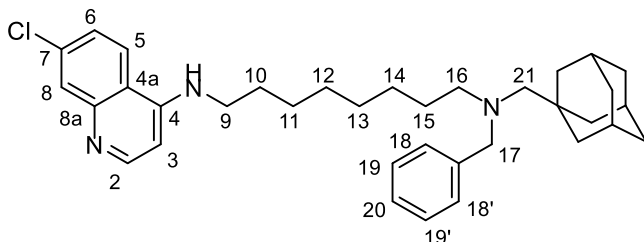
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **61** je dobijeno iz **80** (153 mg, 0,5003 mmol) i **AdCH₂CHO** (89,2 mg, 0,5004 mmol) u 11,5 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (212,1 mg, 1,0008 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash*

hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od 9/1 do 8/2), zatim preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, EA/MeOH/NH₃(aq) = 9/1/1, zatim EA/MeOH = 7/3 + 2% NH₃(aq), zatim EA/MeOH = 6/4). Prinos 36,4 mg (16%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3278sr, 2904j, 2848j, 1611sr, 1581j, 1541sr, 1451sr, 1428sl, 1368sr, 1332sl, 1282sl, 1203sl, 1137sl, 1080sl, 901sl, 878sl, 852sl, 806sl, 768sl, 738sl, 646sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,52 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H, H-2), 7,95 (s, 1H, H-8), 7,67 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,35 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-6), 6,40 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,07 (s, 1H, Ar-NH), 3,29 (q, *J* = 6,7 Hz, 2H, H-9), 2,67 – 2,53 (m, 4H, H-16 i H-17), 1,93 (s, 3H, 3 × -CH(Ad)), 1,79 – 1,58 (m, 8H, 3 × -CH₂(Ad) i H-10), 1,54 – 1,40 (m, 10H, 3 × -CH₂(Ad) i H-15 i H-11), 1,40 – 1,24 (m, 8H, H-18 i H-(12-14)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 152,17; 149,83; 149,22; 134,90; 128,90; 125,32; 121,02; 117,22; 99,17; 50,33; 44,71; 44,48; 43,37; 42,75; 37,26; 31,96; 30,15; 29,55; 29,38; 28,97; 28,78; 27,44; 27,19. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₉H₄₂ClN₃+H]⁺ 468,3140, nađeno 468,3141. HPLC čistoća: Metoda III: RT 8,407, površina 98,07%; Metoda IV: RT 9,894, površina 95,34%.

***N*¹-(1-Adamantimetil)-*N*⁸-(7-(trifluormetil)hinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (62)**

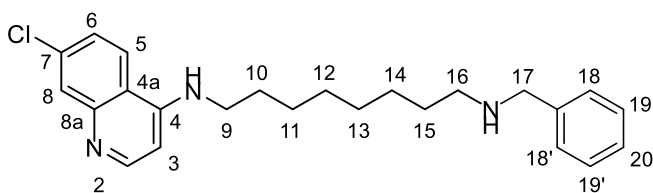
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **A**, jedinjenje **62** je dobijeno iz **101** (105,4 mg, 0,3105 mmol) i **AdCHO** (51 mg, 0,3105 mmol) u 7,5 mL DCM, koristeći NaBH(OAc)₃ (131,6 mg, 0,6209 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od

95/5 do 8/2). Prinos 88,3 mg (58%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3274sr, 3077sl, 2902j, 2848j, 2677sl, 1590j, 1575j, 1546sr, 1467sr, 1432sr, 1373sr, 1327j, 1275sr, 1204sr, 1186sl, 1159j, 1129j, 1071sr, 903sr, 855sl, 829sl, 811sr, 779sl, 739sr, 685sl, 627sl, 568sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,62 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H, H-2), 8,26 (s, 1H, H-8), 7,86 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H-5), 7,58 (dd, *J*₁ = 8,8 Hz, *J*₂ = 1,7 Hz, 1H, H-6), 6,50 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,11 (t, *J* = 4,1 Hz, 1H, Ar-NH), 3,36 – 3,29 (m, 2H, H-9), 2,63 – 2,55 (m, 2H, H-16), 2,26 (s, 2H, H-17), 2,00 – 1,93 (m, 3H, 3 × -CH(Ad)), 1,81 – 1,61 (m, 8H, H-10 i 3 × -CH₂(Ad)), 1,55 – 1,43 (m, 10H, H-15, H-11 i 3 × -CH₂(Ad)), 1,43 – 1,30 (m, 6H, H-(12-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 152,45; 149,64; 147,85; 131,06 (d, *J* = 32,7 Hz); 127,87 (d, *J* = 3,9 Hz); 124,14 (d, *J* = 272,8 Hz); 120,82; 120,53; 120,18 (d, *J* = 3,1 Hz); 100,21; 63,03; 51,16; 43,46; 41,06; 37,31; 33,41; 29,78; 29,54; 29,39; 28,94; 28,58; 27,36; 27,20. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₉H₄₀F₃N₃+H]⁺ 488,3249, nađeno 488,3249. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,952, površina 95,54%; Metoda II: RT 9,831, površina 95,99%.

***N*¹-(1-Adamantimetil)-*N*¹-benzil-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (63)**

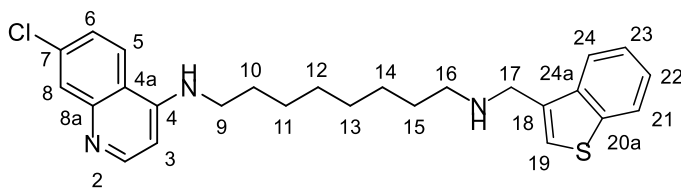
U rastvor **41** (64 mg, 0,1409 mmol) i benzaldehida (30 μ L, 0,2954 mmol, 2,1 ekv) u 1,7 mL suvog MeOH, doda se NaBH₃CN (9,7 mg, 0,1544 mmol, 1,1 ekv) i ZnCl₂ (9,6 mg, 0,0704 mmol, 0,5 ekv) u 1,7 mL suvog MeOH. Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi tokom 24 h. Rastvarač se upari pod sniženim

pritiskom, a suvom ostatku u balonu doda zasićen vodeni rastvor NaHCO₃. Proizvod se ekstrahuje tri puta pomoću DCM, spojeni organski slojevi isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent Hex, Hex/EA gradijent od 1/1 do 4/6), zatim preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, EA/MeOH = 98/2), zatim *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH = 95/5, MeOH). Prinos 20,7 mg (27%). Žuto ulje. IR (ATR): 3261sl, 3062sl, 3026sl, 2904j, 2848j, 1611sr, 1581j, 1540sr, 1492sl, 1452sr, 1368sr, 1332sr, 1282sl, 1247sl, 1205sl, 1137sl, 1100sl, 1081sl, 1028sl, 983sl, 902sl, 877sl, 852sl, 806sl, 768sl, 736sl, 698sl, 645sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,51 – 8,46 (m, 1H, H-2), 7,95 (d, J = 1,9 Hz, 1H, H-8), 7,68 (dd, J_1 = 9,0 Hz, J_2 = 3,3 Hz, 1H, H-5), 7,38 (d, J = 7,3 Hz, 2H, H-18 i H-18'), 7,36 – 7,32 (m, 1H, H-6), 7,29 (t, J = 7,5 Hz, 2H, H-19 i H-19'), 7,21 (t, J = 7,3 Hz, 1H, H-20), 6,38 (dd, J_1 = 5,4 Hz, J_2 = 1,9 Hz, 1H, H-3), 5,33 – 5,17 (m, 1H, Ar-NH), 3,58 (s, 2H, H-17), 3,28 (q, J = 7,1 Hz, 2H, H-9), 2,34 – 2,26 (m, 2H, H-16), 2,13 (s, 2H, H-21), 1,97 – 1,90 (m, 3H, 3 $\times$ -CH(Ad)), 1,76 – 1,58 (m, 8H, H-10 i 3 $\times$ -CH₂(Ad)), 1,51 (d, J = 2,2 Hz, 6H, 3 $\times$ -CH₂(Ad)), 1,45 – 1,37 (m, 4H, H-11 i H-15), 1,35 – 1,28 (m, 2H, H-14), 1,27 – 1,18 (m, 4H, H-(12-13)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 151,42; 150,25; 148,49; 141,14; 135,27; 128,68; 128,30; 128,14; 126,64; 125,51; 121,22; 117,09; 99,06; 68,21; 62,10; 56,45; 43,47; 41,60; 37,44; 35,17; 29,59; 29,45; 28,96; 28,74; 27,70; 27,37; 27,22. ESI-HRMS (m/z): izračunato za [C₃₅H₄₆ClN₃+H]⁺ 544,3953, nađeno 544,3456. HPLC čistoća: Metoda I: RT 7,150, površina 95,52%; Metoda II: RT 10,034, površina 95,30%.

***N*¹-Benzil-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (35) ¹⁰⁶**

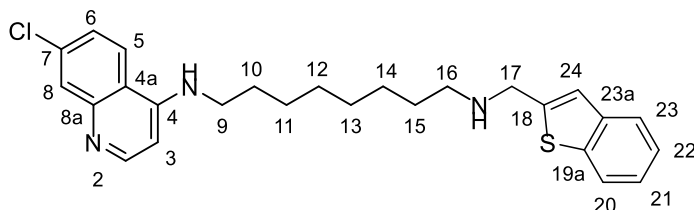
Rastvor **80** (87,5 mg, 0,2861 mmol) i benzaldehida (35 μ L, 0,3446 mmol, 1,2 ekv) u 9 mL suvog MeOH se meša na sobnoj temperaturi tokom 2 h i 30 min, nakon čega se doda NaBH₄ (32,5 mg, 0,8591 mmol, 3 ekv). Reakciona smeša se meša još dodatna 3 h i

zatim upari do suva. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH/NH₃(aq) gradijent od 21/1/1 do 12/1/1). Prinos 84,1 mg (74%). Bledožuta amorfnu supstancu, topi se na 61-65 °C. IR (ATR): 3315sr, 2927j, 2852j, 1580j, 1452sr, 1367sr, 1241sr, 1212sr, 1158sr, 1134sr, 1081sr, 1026sl, 899sl, 875sl, 850sl, 804sr, 754sr, 697sr, 598sl, 525sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,32 (d, J = 5,7 Hz, 1H, H-2), 8,11 (d, J = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,76 (d, J = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,44 – 7,38 (m, 6H, H-6 i H-(18-20)), 6,53 (d, J = 5,8 Hz, 1H, H-3), 4,08 (s, 2H, H-17), 3,37 (t, J = 7,2 Hz, 2H, H-9), 2,94 – 2,87 (m, 2H, H-16), 1,74 (quint, J = 7,2 Hz, 2H, H-10), 1,69 – 1,58 (m, 2H, H-15), 1,49 – 1,34 (m, 8H, H-(11-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 153,34; 151,32; 148,51; 136,84; 134,04; 130,71; 130,22; 130,13; 126,67; 126,23; 124,59; 118,54; 99,58; 52,68; 44,07; 30,22; 30,16; 29,29; 28,05; 27,66.

N^1 -(Benzo[*b*]tiofen-3-ilmetil)- N^8 -(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (36) ¹⁰⁶

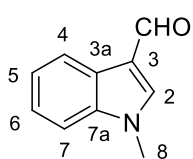
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **C**, jedinjenje **36** je dobijeno iz **80** (200 mg, 0,6539 mmol) i benzo[*b*]tiofen-3-karbaldehid (159,1 mg, 0,9808 mmol, 1,5 ekv) u 20 mL suvog MeOH, koristeći NaBH₄ (74,2 mg, 1,9614 mmol, 3 ekv). Sirov

proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do 1/1). Prinosa 146,1 mg (49%). Žućkasta amorfná supstanca, topi se na 90-94 °C. IR (ATR): 3227sr, 3107sl, 3062j, 3026sl, 2927j, 2849j, 2806sr, 2757sl, 1610sr, 1578j, 1544j, 1487sr, 1460sr, 1448sr, 1425sr, 1364sr, 1330sr, 1280sr, 1248sr, 1230sr, 1208sr, 1167sr, 1150sr, 1133sr, 1114sr, 1079sr, 1018sl, 962sl, 933sl, 897sr, 864sr, 846sr, 834sr, 808sr, 756sr, 724sr, 639sr, 580sl, 558sl, 481sl, 445sl, 420sl, 410sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,51 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,95 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, H-8), 7,85 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-21), 7,81 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-24), 7,66 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,41 – 7,30 (m, 4H, H-6, H-19 i H-(22-23)), 6,39 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,08 (ps, 1H, Ar-NH), 4,04 (s, 2H, H-17), 3,28 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H, H-9), 2,71 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-16), 1,73 (quint, *J* = 7,3 Hz, 2H, H-10), 1,59 – 1,49 (m, 2H, H-15), 1,49 – 1,29 (m, 8H, H-(11-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 151,96; 149,96; 149,05; 140,83; 138,52; 135,20; 135,03; 128,78; 125,40; 124,48; 124,13; 123,12; 123,04; 121,82; 121,06; 117,21; 99,17; 49,79; 47,70; 43,40; 30,06; 29,51; 29,39; 28,98; 27,35; 27,19.

 N^1 -(Benzo[*b*]tiofen-2-ilmetil)- N^8 -(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (37) ¹⁰⁶

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **C**, jedinjenje **37** je dobijeno iz **80** (200 mg, 0,6539 mmol) i benzo[*b*]tiofen-2-karbaldehid (159,1 mg, 0,9808 mmol, 1,5 ekv) u 20 mL suvog MeOH, koristeći NaBH₄ (74,2 mg, 1,9614 mmol, 3 ekv).

Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 95/5 do MeOH). Prinosa 228 mg (77%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3294sl, 3244sr, 3061sl, 2927sr, 2854sr, 2814sl, 1611sr, 1580j, 1542sr, 1459sr, 1366sr, 1332sr, 1281sl, 1252sl, 1202sl, 1141sr, 1082sl, 898sl, 869sl, 851sl, 808sr, 765sl, 741sl, 725sl, 682sl, 641sl, 554sl, 425sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,49 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, H-2), 7,94 (s, 1H, H-8), 7,78 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-20), 7,72 – 7,66 (m, 2H, H-5 i H-23), 7,35 – 7,24 (m, 3H, H-6 i H-(21-22), preklapa se sa CDCl₃), 7,14 (s, 1H, H-24), 6,38 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H, H-3), 5,23 (ps, 1H, Ar-NH), 4,08 (s, 2H, H-17), 3,29 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-9), 2,68 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, H-16), 1,74 (quint, *J* = 7,3 Hz, 2H, H-10), 1,58 – 1,30 (m, 10H, H-(11-15)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 151,56; 150,18; 148,64; 145,50; 139,93; 139,78; 135,20; 128,41; 125,47; 124,28; 123,97; 123,21; 122,47; 121,35; 121,23; 117,14; 99,11; 49,25; 49,21; 43,43; 30,02; 29,49; 29,36; 28,94; 27,27; 27,17.

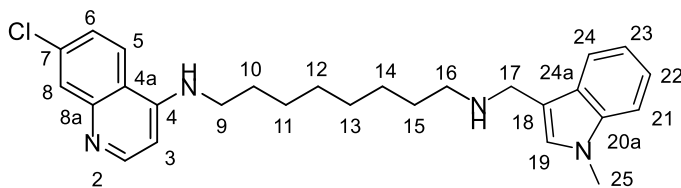
1-Metil-1*H*-indol-3-karbaldehid (107) ¹⁰⁷

Balon, u kome je rastvoren 1*H*-indol-3-karbaldehid (350 mg, 2,4111 mmol) u 1,5 mL THF, se uroni u ledeno kupatilo i polako ukapa NaH (60% disperzija u mineralnom ulju; 241 mg, 6,0250 mmol, 2,5 ekv) u 1,5 mL THF. Reakciona smeša se meša 15 min, nakon čega se doda MeI (0,2 mL, 3,2126 mmol, 1,33 ekv) i mešanje nastavi na sobnoj temperaturi. Posle 22 h i 30 min pažljivo se ukapa 96% EtOH, na

0 °C, do prestanka izdvajanja mehurića gasa. Smeša se upari pomoću vakuum-uparivača, doda se

voda i proizvod ekstrahuje tri puta pomoću EA. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Prinos 376,1 mg (98%). Braon ulje. IR (ATR): 3566sl, 3108sl, 3053sl, 2939sl, 2807sl, 2750sl, 1656j, 1616sl, 1578sl, 1537j, 1472sr, 1424sl, 1399sr, 1382sr, 1367sr, 1333sl, 1257sl, 1195sl, 1162sl, 1127sr, 1075sr, 1034sl, 1013sl, 787sr, 749sr cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 9,97 (s, 1H, -CHO), 8,32 – 8,28 (m, 1H, H-4), 7,66 (s, 1H, H-2), 7,37 – 7,30 (m, 3H, H-(5-7)), 3,86 (s, 3H, H-8). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 184,55; 139,35; 137,99; 125,38; 124,14; 123,06; 122,15; 118,17; 109,97; 33,81.

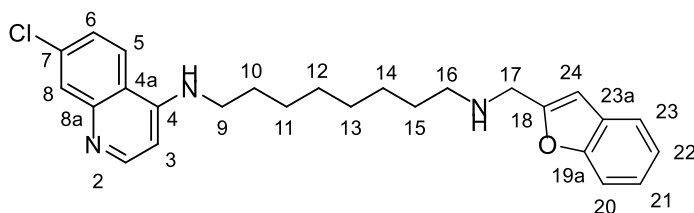
N¹-(7-hlorhinolin-4-il)-N⁸-((1-metil-1*H*-indol-3-il)metil)oktan-1,8-diamin (**102**)



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri C, jedinjenje **102** je dobijeno iz **80** (268,8 mg, 0,8789 mmol) i **107** (210 mg, 1,3192 mmol, 1,5 ekv) u 27,7 mL suvog MeOH, koristeći NaBH₄ (99,7 mg, 2,6355 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash*

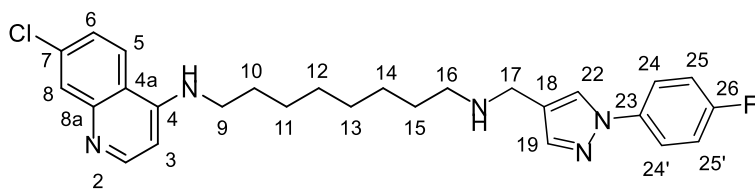
hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do MeOH). Prinos 200,8 mg (51%). Žuto ulje. IR (ATR): 3266sr, 3056sr, 2926j, 2853sr, 1611sr, 1578j, 1539sr, 1472sr, 1451sr, 1425sr, 1368sr, 1329sr, 1280sr, 1245sr, 1201sl, 1156sl, 1134sr, 1078sl, 1012sl, 966sl, 900sl, 877sl, 851sl, 807sr, 767sl, 738sr, 645sl, 623sl, 567sl, 428sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,51 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,93 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,76 – 7,61 (m, 2H, H-21 i H-24), 7,35 – 7,10 (m, 5H, H-(5-6), H-19 i H-(22-23), preklapa se sa CDCl₃), 6,37 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,26 – 5,16 (m, 1H, Ar-NH), 4,06 (s, 2H, H-17), 3,74 (s, 3H, H-25), 3,26 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H, H-9), 2,73 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, H-16), 1,76 – 1,57 (m, 4H, H-10 i H-15), 1,44 – 1,25 (m, 8H, H-(11-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 152,07; 149,97; 149,15; 137,04; 134,94; 128,88; 128,76; 128,71; 127,71; 125,31; 121,99; 121,32; 119,55; 118,72; 117,26; 109,59; 99,13; 48,28; 43,54; 43,32; 32,90; 29,23; 29,17; 28,82; 28,75; 27,09; 27,05. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₇H₃₃ClN₄+H]⁺ 449,2467, nađeno 449,2467.

N¹-(Benzofuran-2-ilmetil)-N⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (**103**)¹⁰⁶



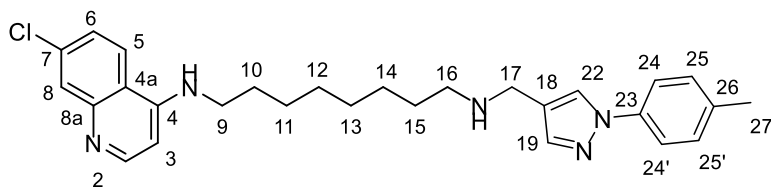
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri C, jedinjenje **103** je dobijeno iz **80** (200 mg, 0,6539 mmol) i benzofuran-2-karbaldehid (0,12 mL, 0,9936 mmol, 1,5 ekv) u 20 mL suvog MeOH, koristeći NaBH₄ (74,2 mg, 1,9614 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na

stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do 1/1). Prinos 136,7 mg (48%). Žuto ulje. IR (ATR): 3273sr, 3064sl, 2928sr, 2854sr, 1611sr, 1580j, 1540sr, 1454sr, 1428sl, 1368sr, 1332sr, 1281sl, 1254sr, 1203sl, 1170sl, 1137sl, 1080sl, 1008sl, 942sl, 901sl, 878sl, 852sl, 806sr, 751sr, 646sl, 431sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,48 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, H-2), 7,95 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,73 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,54 – 7,49 (m, 1H, H-23), 7,46 – 7,41 (m, 1H, H-20), 7,33 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 7,26 – 7,16 (m, 2H, H-(21-22)), 6,59 – 6,54 (m, 1H, H-24), 6,39 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, H-3), 5,36 (ps, 1H, Ar-NH), 3,94 (s, 2H, H-17), 3,29 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, H-9), 2,66 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-16), 1,74 (quint, *J* = 7,3 Hz, 2H, H-10), 1,57 – 1,48 (m, 2H, H-15), 1,47 – 1,30 (m, 8H, H-(11-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 156,77; 155,05; 151,31; 150,32; 148,41; 135,31; 128,56; 128,19; 125,52; 123,91; 122,76; 121,37; 120,82; 117,11; 111,19; 103,95; 99,07; 49,25; 46,79; 43,44; 30,00; 29,48; 29,35; 28,92; 27,27; 27,17.

N^1 -((1-(4-fluorfenil)-1*H*-pirazol-4-il)metil)- N^8 -(7-Hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (104**)**

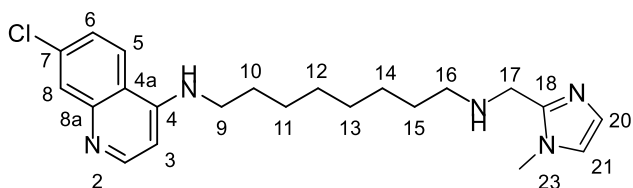
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **C**, jedinjenje **104** je dobijeno iz **80** (210 mg, 0,6866 mmol) i 1-(4-fluorfenil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehid (195,8 mg, 1,0296 mmol, 1,5 ekv) u 21 mL suvog MeOH, koristeći NaBH₄

(77,9 mg, 2,0592 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 1/1 do MeOH), zatim preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, DCM/MeOH = 1/1). Prinos 263,5 mg (80%). Žućkasta amorfna supstanca, topi se na 84–87 °C. IR (ATR): 3289sr, 3065sl, 2929j, 2854j, 1611sr, 1581j, 1537sr, 1516j, 1452sr, 1428sl, 1401sl, 1368sr, 1332sl, 1281sl, 1229sr, 1155sl, 1136sl, 1097sl, 1080sl, 1036sl, 1015sl, 955sl, 901sl, 877sl, 836sl, 808sl, 768sl, 656sl, 606sl, 522sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 8,31 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-2), 8,09 (s, 1H, H-22), 8,07 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,75 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,72 – 7,67 (m, 3H, H-19 i H-(24-24')), 7,35 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 7,22 – 7,16 (m, 2H, H-(25-25')), 6,45 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H, H-3), 3,71 (s, 2H, H-17), 3,33 – 3,28 (m, 2H, H-9, preklapa se sa CD₃OD), 2,63 – 2,57 (m, 2H, H-16), 1,71 (quint, *J* = 7,4 Hz, 2H, H-10), 1,57 – 1,49 (m, 2H, H-15), 1,46 – 1,31 (m, 8H, H-(11-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 162,60 (d, *J* = 244,8 Hz); 152,76; 152,39; 149,70; 142,23; 137,85; 136,27; 128,43; 127,58; 125,89; 124,31; 122,55; 122,16 (d, *J* = 8,5 Hz); 118,77; 117,19 (d, *J* = 23,2 Hz); 99,57; 49,88; 44,01; 43,88; 30,52; 30,37; 30,18; 29,35; 28,30; 28,15. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₇H₃₁ClFN₅+H]⁺ 480,2325, nađeno 480,2332.

 N^1 -(7-Hlorhinolin-4-il)- N^8 -((1-(*p*-tolil)-1*H*-pirazol-4-il)metil)oktan-1,8-diamin (105**)**

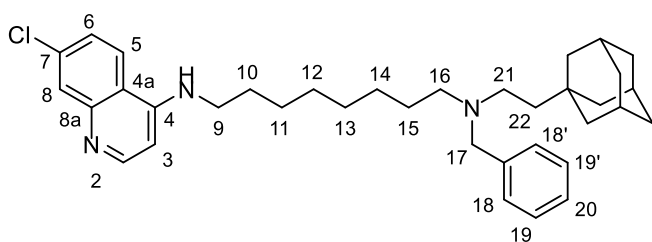
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **C**, jedinjenje **105** je dobijeno iz **80** (210 mg, 0,6866 mmol) i 1-(*p*-tolil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehid (191,8 mg, 1,0300 mmol, 1,5 ekv) u 21 mL suvog MeOH, koristeći NaBH₄

(77,9 mg, 2,0592 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 7/3 do MeOH), zatim preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, DCM/MeOH = 1/1). Prinos 213,5 mg (65%). Žućkasta amorfna supstanca, topi se na 58–60 °C. IR (ATR): 3288sl, 3064sl, 2927sr, 2854sr, 1611sr, 1581j, 1520j, 1451sr, 1427sr, 1401sr, 1368sr, 1331sr, 1281sl, 1250sl, 1204sl, 1169sl, 1136sl, 1079sl, 1038sl, 1015sl, 956sr, 900sl, 878sl, 852sr, 812sr, 768sl, 737sr, 703sl, 657sl, 624sl, 518sl, 431sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 8,31 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-2), 8,09 – 8,05 (m, 2H, H-5 i H-22), 7,75 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,66 (s, 1H, H-19), 7,56 – 7,52 (m, 2H, H-(24-24')), 7,35 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 7,27 – 7,22 (m, 2H, H-(25-25')), 6,44 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H-3), 3,70 (s, 2H, H-17), 3,31 – 3,27 (m, 2H, H-9, preklapa se sa CD₃OD), 2,62 – 2,56 (m, 2H, H-16), 2,34 (s, 3H, H-27), 1,74 – 1,67 (m, 2H, H-10), 1,56 – 1,48 (m, 2H, H-15), 1,45 – 1,31 (m, 8H, H-(11-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 152,72; 152,38; 149,69; 141,83; 139,09; 137,81; 136,24; 131,01; 128,18; 127,59; 125,87; 124,31; 122,34; 120,20; 118,76; 99,56; 49,86; 44,01; 43,94; 30,51; 30,37; 30,22; 29,34; 28,30; 28,15; 20,90. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₈H₃₄ClN₅+H]⁺ 476,2576, nađeno 476,2578.

***N*¹-(7-Hlorhinolin-4-il)-*N*⁸-((1-metil-1*H*-imidazol-2-il)metil)oktan-1,8-diamin (106)**

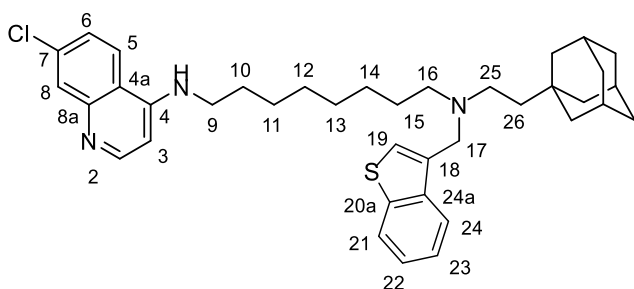
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **C**, jedinjenje **106** je dobijeno iz **80** (210 mg, 0,6866 mmol) i 1-metil-1*H*-imidazol-2-karbaldehid (113,4 mg, 1,0299 mmol, 1,5 ekv) u 21 mL suvog MeOH, koristeći NaBH₄ (77,9 mg, 2,0592 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash*

hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do 1/1). Prinos 202,1 mg (74%). Žućkasta amorfna supstanca, topi se na 59–61 °C. IR (ATR): 3268sr, 3108sl, 2928sr, 2854sr, 1611sr, 1581j, 1541sl, 1501sl, 1452sr, 1428sl, 1368sr, 1332sl, 1283sl, 1251sl, 1203sl, 1137sl, 1080sl, 900sl, 878sl, 851sl, 808sl, 770sl, 737sl, 646sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 8,35 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H, H-2), 8,11 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,78 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,39 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 7,02 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H, H-21), 6,88 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H, H-20), 6,50 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H, H-3), 3,82 (s, 2H, H-17), 3,71 (s, 3H, H-23), 3,37 – 3,33 (m, 2H, H-9, preklapa se sa CD₃OD), 2,63 – 2,57 (m, 2H, H-16), 1,78 – 1,71 (m, 2H, H-10), 1,54 – 1,33 (m, 10H, H-(11-15)). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 152,87; 152,23; 149,52; 147,48; 136,36; 127,43; 127,14; 125,94; 124,36; 122,87; 118,74; 99,58; 50,14; 45,05; 44,04; 33,08; 30,49; 30,39; 30,36; 29,36; 28,24; 28,15. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₂H₃₀ClN₅+H]⁺ 400,2263, nađeno 400,2264.

***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*¹-benzil-*N*⁸-(7-hlorohinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (64)**

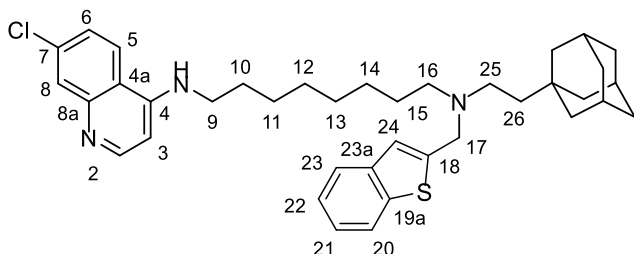
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **64** je dobijeno iz **35** (18,3 mg, 0,0462 mmol) i AdCH₂CHO (16,5 mg, 0,0926 mmol, 2 ekv) u 1,5 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (29,4 mg, 0,1387 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, DCM/MeOH = 9/1). Prinos 20,2 mg (78%). Tamnožuto ulje. IR

(ATR): 3263sl, 3062sl, 3026sl, 2904j, 2847j, 1611sr, 1580j, 1540sr, 1492sl, 1451sr, 1368sr, 1332sr, 1281sl, 1249sl, 1203sl, 1136sl, 1101sl, 1080sl, 1028sl, 968sl, 902sl, 877sl, 852sl, 806sl, 768sl, 737sr, 699sl, 645sl, 623sl, 430sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,51 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,95 (s, 1H, H-8), 7,68 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,38 – 7,18 (m, 6H, H-6 i H-18 i H-18' i H-19 i H-19' i H-20), 6,39 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,14 (s, 1H, -NH), 3,57 (s, 2H, H-17), 3,29 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H, H-9), 2,51 – 2,37 (m, 4H, H-16 i H-21), 1,90 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,78 – 1,56 (m, 8H, 3× -CH₂(Ad) i H-10), 1,50 – 1,25 (m, 18H, 3× -CH₂(Ad) i H-(11-15) i H-22). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 151,91; 149,97; 148,97; 139,54; 135,00; 129,09; 128,68; 128,22; 126,90; 125,36; 121,10; 117,18; 99,12; 58,43; 53,69; 47,57; 43,39; 42,64; 40,43; 37,28; 31,99; 29,51; 29,41; 28,95; 28,78; 27,42; 27,19; 26,92. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₆H₄₈ClN₃+H]⁺ 558,3610, nađeno 558,3611. HPLC čistoća: Metoda III: RT 8,709, površina 95,53%; Metoda IV: RT 10,558, površina 97,76%.

***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*¹-(benzo[*b*]tiofen-3-ilmetil)-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (65)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **65** je dobijeno iz **36** (126,3 mg, 0,2794 mmol) i **AdCH₂CHO** (99,6 mg, 0,5587 mmol, 2 ekv) u 8,8 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (177,6 mg, 0,8380 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 95/5 do 92/8, zatim Hex, Hex/EA gradijent od 1/1 do EA). Prinos 119,5 mg (70%).

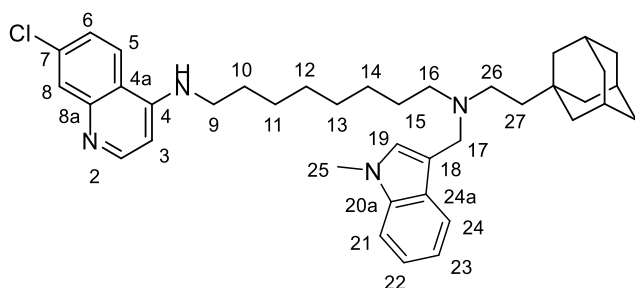
Žuto ulje. IR (ATR): 3257sl, 3062sl, 2903j, 2847j, 1611sr, 1580j, 1538sr, 1451sr, 1427sr, 1368sr, 1332sr, 1281sl, 1264sl, 1252sl, 1202sl, 1136sl, 1099sl, 1079sl, 1053sl, 1019sl, 970sl, 900sl, 878sl, 852sl, 807sl, 766sl, 733sr, 645sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,51 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,99 – 7,90 (m, 2H, H-8 i H-21), 7,82 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-24), 7,64 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,38 – 7,24 (m, 4H, H-6, H-19 i H-(22-23), preklapa se sa CDCl₃), 6,38 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,13 – 5,01 (m, 1H, -NH), 3,77 (s, 2H, H-17), 3,26 (q, *J* = 6,6 Hz, 2H, H-9), 2,56 – 2,40 (m, 4H, H-16 i H-25), 1,89 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,76 – 1,26 (m, 26H, H-(10-15), H-26 i 6× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 151,86; 149,99; 148,92; 140,75; 139,73; 139,12; 135,05; 128,66; 125,40; 124,28; 123,80; 123,67; 122,80; 122,76; 121,03; 117,16; 99,13; 53,95; 52,99; 48,05; 43,42; 42,69; 40,59; 37,31; 32,00; 29,46; 29,43; 28,98; 28,82; 27,42; 27,19; 27,17. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₈H₄₈ClN₃S+H]⁺ 614,3330, nađeno 614,3330. HPLC čistoća: Metoda I: RT 7,383, površina 95,95%; Metoda II: RT 10,280, površina 95,53%.

***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*¹-(benzo[*b*]tiofen-2-ilmetil)-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (66)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **66** je dobijeno iz **37** (139 mg, 0,3075 mmol) i **AdCH₂CHO** (109,6 mg, 0,6148 mmol, 2 ekv) u 9,7 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (195,5 mg, 0,9224 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 98/2 do 9/1, zatim Hex, Hex/EA gradijent od 7/3 do EA). Prinos 151,8 mg (80%).

Žuto ulje. IR (ATR): 3259sl, 3060sl, 2904j, 2847j, 1611sr, 1580j, 1539sr, 1451sr, 1368sr, 1332sr, 1281sl, 1264sl, 1201sl, 1137sl, 1102sl, 1080sl, 1015sl, 966sl, 901sl, 878sl, 853sl, 809sl, 743sr, 728sl, 706sl, 645sl, 559sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,50 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,95 (s, 1H, H-8), 7,77 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-20), 7,70 – 7,60 (m, 2H, H-5 i H-23), 7,37 – 7,21 (m, 3H, H-6 i H-(21-22), preklapa se sa CDCl₃), 7,11 (s, 1H, H-24), 6,38 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,08 (ps, 1H, -NH), 3,84 (s, 2H, H-17), 3,27 (q, *J* = 6,7 Hz, 2H, H-9), 2,59 – 2,42 (m, 4H, H-16 i H-25), 1,91 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,77 – 1,27 (m, 26H, H-(10-15), H-26 i 6× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 151,81; 150,01; 148,86; 145,70; 140,08; 139,95; 135,07; 128,62; 125,40; 124,05; 123,70; 123,02; 122,38; 121,46; 121,05; 117,15; 99,12; 53,72; 53,58; 47,88; 43,44; 42,71; 40,88; 37,31; 32,03; 29,54; 29,42; 28,98; 28,82; 27,37; 27,31; 27,20. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₈H₄₈ClN₃S+H]⁺ 614,3330, nađeno 614,3332. HPLC čistoća: Metoda I: RT 7,410, površina 95,80%; Metoda II: RT 10,392, površina 96,20%.

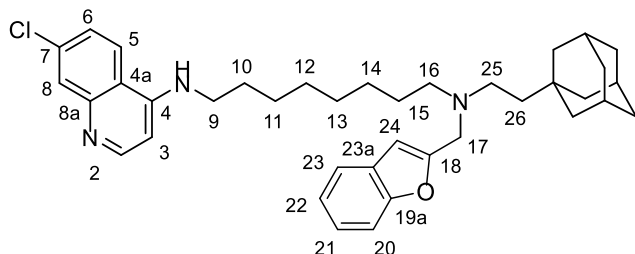
***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)-*N*¹-((1-metil-1*H*-indol-3-il)metil)oktan-1,8-diamin (67)**



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **67** je dobijeno iz **102** (155 mg, 0,3452 mmol) i **AdCH₂CHO** (129,9 mg, 0,7287 mmol, 2 ekv) u 11 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (219,5 mg, 1,0357 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 98/2 do 1/1). Prinos 120,5 mg (57%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3265sl, 3056sl,

2903j, 2847j, 1612sr, 1580j, 1539sr, 1470sr, 1450sr, 1425sr, 1368sr, 1329sr, 1280sl, 1264sl, 1243sl, 1199sl, 1157sl, 1133sr, 1100sl, 1079sl, 1011sl, 970sl, 900sl, 878sl, 851sl, 807sr, 739sr, 703sl, 645sl, 623sl, 569sl, 428sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,52 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H, H-2), 7,95 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,71 – 7,61 (m, 2H, H-5 i H-24), 7,33 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 7,28 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-21, preklapa se sa CDCl₃), 7,23 – 7,17 (m, 1H, H-22), 7,13 – 7,07 (m, 1H, H-23), 7,00 (s, 1H, H-19), 6,39 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 4,99 (ps, 1H, -NH), 3,83 – 3,71 (m, 5H, H-17 i H-25), 3,31 – 3,24 (m, 2H, H-9), 2,57 – 2,40 (m, 4H, H-16 i H-26), 1,90 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,76 – 1,25 (m, 26H, H-(10-15), H-26 i 6× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 152,20; 149,83; 149,28; 137,11; 134,91; 128,98; 128,60; 128,50; 128,46; 125,33; 121,55; 120,99; 119,68; 118,93; 117,24; 109,20; 99,19; 53,52; 49,03; 47,57; 43,39; 42,70; 40,69; 37,31; 32,82; 32,06; 29,52; 29,40; 28,97; 28,81; 27,51; 27,17; 27,11. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₉H₅₁ClN₄+H]⁺ 611,3875, nađeno 611,3892. HPLC čistoća: Metoda I: RT 7,353, površina 95,34%; Metoda II: RT 10,243, površina 96,58%.

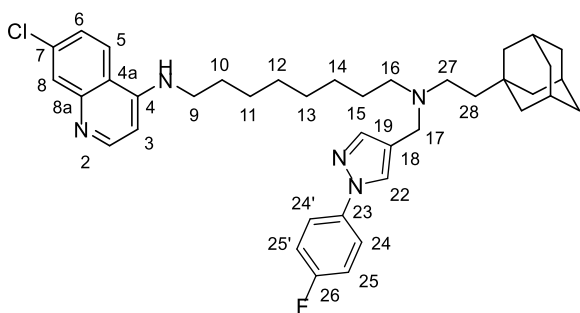
***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*¹-(benzofuran-2-ilmetil)-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (68)**



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **68** je dobijeno iz **103** (116,4 mg, 0,2670 mmol) i **AdCH₂CHO** (95,2 mg, 0,5340 mmol, 2 ekv) u 8,4 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (169,8 mg, 0,8012 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 98/2 do 95/5, zatim

Hex, Hex/EA gradijent od 7/3 do EA). Prinos 106,8 mg (67%). Žuto ulje. IR (ATR): 3270sl, 3064sl, 2905j, 2848j, 1611sr, 1580j, 1540sr, 1453sr, 1369sr, 1332sr, 1254sr, 1201sl, 1168sl, 1136sl, 1102sl, 1081sl, 1009sl, 955sl, 878sl, 852sl, 805sr, 740sr, 705sl, 645sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,50 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,95 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, H-8), 7,66 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,52 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, H-23), 7,45 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-20), 7,33 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 7,25 – 7,16 (m, 2H, H-(21-22), preklapa se sa CDCl₃), 6,55 (s, 1H, H-24), 6,37 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, H-3), 5,18 (ps, 1H, -NH), 3,78 (s, 2H, H-17), 3,27 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, H-9), 2,60 – 2,45 (m, 4H, H-16 i H-25), 1,92 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,77 – 1,28 (m, 26H, H-(10-15), H-26 i 6× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 155,92; 155,09; 151,62; 150,14; 148,68; 135,17; 128,57; 128,44; 125,45; 123,78; 122,65; 121,13; 120,71; 117,13; 111,30; 105,27; 99,08; 54,05; 50,52; 48,02; 43,44; 42,71; 40,71; 37,31; 32,03; 29,52; 29,41; 28,98; 28,82; 27,49; 27,20; 27,14. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₈H₄₈ClN₃O+H]⁺ 598,3559, nađeno 598,3561. HPLC čistoća: Metoda I: RT 7,402, površina 95,29%; Metoda II: RT 10,29, površina 95,17%.

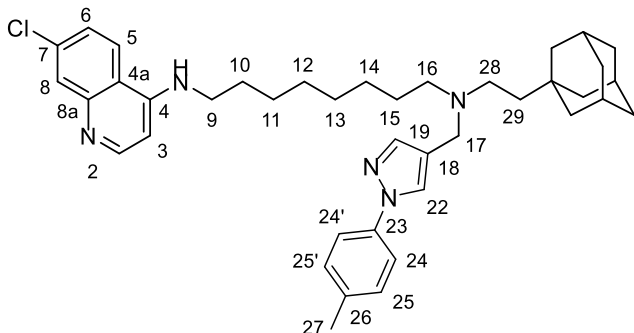
***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*¹-((1-(4-fluorfenil)-1*H*-pirazol-4-il)metil)-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (69)**



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **69** je dobijeno iz **104** (22,4 mg, 0,0467 mmol) i **AdCH₂CHO** (16,6 mg, 0,0931 mmol, 2 ekv) u 1,5 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (29,7 mg, 0,1401 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 95/5 do 9/1). Prinos 22,6 mg (75%). Žuto ulje. IR (ATR): 3281sr, 3066sl, 2925j, 2849j, 1612sr, 1581j, 1540sr, 1516j, 1452sr,

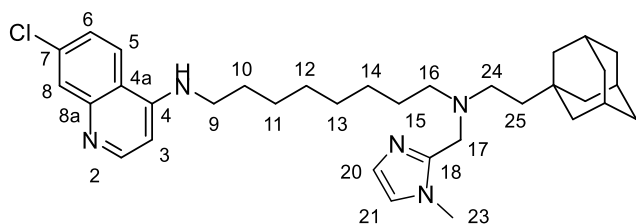
1399sl, 1368sr, 1332sl, 1282sl, 1230sr, 1154sl, 1137sl, 1098sl, 1037sl, 954sl, 836sl, 807sl, 768sl, 606sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,51 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 8,00 – 7,90 (m, 2H, H-8 i H-22), 7,73 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,67 – 7,60 (m, 3H, H-19 i H-(24-24')), 7,35 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 7,16 – 7,10 (m, 2H, H-(25-25')), 6,40 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,22 (ps, 1H, -NH), 3,68 (s, 2H, H-17), 3,29 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, H-9), 2,64 – 2,43 (m, 4H, H-16 i H-27), 1,93 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,78 – 1,53 (m, 10H, H-10, H-15 i 3× -CH₂(Ad)), 1,52 – 1,29 (m, 16H, H-(11-14), H-28 i 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 161,22 (d, *J* = 245,9 Hz); 151,84; 150,07; 148,95; 141,97; 136,56; 135,09; 128,68; 127,27; 125,42; 121,23; 120,83 (d, *J* = 8,3 Hz); 117,22; 116,36 (d, *J* = 22,9 Hz); 99,13; 53,16; 47,55; 47,13; 43,38; 42,67; 39,90; 37,21; 32,08; 29,84; 29,37; 28,91; 28,74; 27,34; 27,14; 26,50. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₉H₄₉ClFN₅+H]⁺ 642,3733, nađeno 642,3742. HPLC čistoća: Metoda III: RT 8,807, površina 95,17%; Metoda IV: RT 10,200, površina 95,03%.

***N*¹-(2-(1-Adamantil)etil)-*N*⁸-(7-hlorhinolin-4-il)-*N*¹-((1-(*p*-tolil)-1*H*-pirazol-4-il)metil)oktan-1,8-diamin (70)**



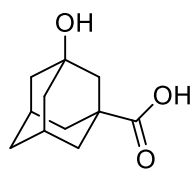
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **70** je dobijeno iz **105** (75,4 mg, 0,1584 mmol) i **AdCH₂CHO** (56,5 mg, 0,3169 mmol, 2 ekv) u 5 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (100,7 mg, 0,4751 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 95/5 do 8/2). Prinos 73,8 mg (73%). Svetložuto ulje. IR (ATR): 3281sr, 2904j, 2847j, 1612sr, 1580j, 1520sr, 1451sr, 1400sr, 1368sr, 1332sr,

1281sl, 1205sl, 1167sl, 1137sl, 1080sl, 1039sl, 1014sl, 955sl, 900sl, 877sl, 852sl, 812sr, 738sl, 658sl, 518sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,50 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 8,01 – 7,91 (m, 2H, H-8 i H-22), 7,75 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,62 (s, 1H, H-19), 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, H-(24-24')), 7,34 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 7,22 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H-(25-25')), 6,39 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, H-3), 5,29 (ps, 1H, -NH), 3,69 (s, 2H, H-17), 3,28 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H, H-9), 2,65 – 2,46 (m, 4H, H-16 i H-28), 2,36 (s, 3H, H-27), 1,93 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,77 – 1,53 (m, 10H, H-10, H-15 i 3× -CH₂(Ad)), 1,53 – 1,28 (m, 16H, H-(11-14), H-28 i 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 151,78; 150,12; 148,91; 141,65; 137,94; 136,43; 135,08; 130,07; 128,59; 127,12; 125,39; 121,35; 119,04; 117,24; 99,10; 53,07; 47,51; 47,17; 43,36; 42,65; 39,89; 37,21; 32,07; 29,30; 29,26; 28,86; 28,74; 27,28; 27,11; 26,42; 21,02. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₄₀H₅₂ClN₅+H]⁺ 638,3984, nađeno 638,3985. HPLC čistoća: Metoda III: RT 8,879, površina 95,76%; Metoda IV: RT 10,250, površina 96,06%.

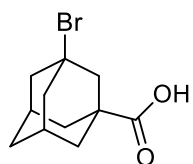
N^1 -(2-(1-Adamantil)etil)- N^8 -(7-hlorhinolin-4-il)- N^1 -((1-metil-1*H*-imidazol-2-il)metil)oktan-1,8-diamin (71**)**

Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **D**, jedinjenje **71** je dobijeno iz **106** (82,6 mg, 0,2065 mmol) i **AdCH₂CHO** (73,6 mg, 0,4128 mmol, 2 ekv) u 6,5 mL DCE, koristeći NaBH(OAc)₃ (131,3 mg, 0,6195 mmol, 3 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH

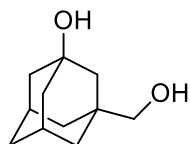
gradijent od 95/5 do 8/2). Prinos 79,8 mg (69%). Žuto ulje. IR (ATR): 3265sr, 3108sl, 2904j, 2847j, 1611sr, 1581j, 1542sr, 1501sr, 1451sr, 1368sr, 1331sr, 1283sr, 1138sl, 1080sl, 970sl, 878sl, 851sl, 806sl, 768sl, 736sl, 702sl, 647sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,50 – 8,44 (m, 1H, H-2), 7,98 – 7,92 (m, 1H, H-8), 7,84 – 7,76 (m, 1H, H-5), 7,34 (dt, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 6,94 – 6,88 (m, 1H, H-20), 6,85 – 6,78 (m, 1H, H-21), 6,41 – 6,36 (m, 1H, H-3), 5,77 – 5,59 (m, 1H, -NH), 3,69 (s, 3H, H-23), 3,63 (s, 2H, H-17), 3,31 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H, H-9), 2,50 – 2,33 (m, 4H, H-16 i H-24), 1,91 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,78 – 1,56 (m, 8H, H-10 i 3× -CH₂(Ad)), 1,45 – 1,18 (m, 18H, H-(11-15), H-25 i 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 150,91; 150,61; 148,04; 146,07; 135,44; 127,80; 126,84; 125,54; 121,70; 121,48; 117,10; 98,93; 53,85; 51,64; 48,11; 43,44; 42,62; 40,75; 37,28; 33,07; 31,92; 29,36; 28,84; 28,79; 27,38; 27,18; 26,67. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₄H₄₈ClN₅+H]⁺ 562,3671, nađeno 562,3670. HPLC čistoća: Metoda III: RT 8,566, površina 96,80%; Metoda IV: RT 10,751, površina 95,85%.

3-Hidroksiadamantan-1-karboksilna kiselina (108**)**¹⁰⁸

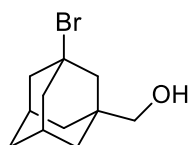
U smešu 4 mL 96% H₂SO₄ i 0,5 mL 65% HNO₃, ohlađenu na 0 °C, u porcijama se doda 1-adamantankarboksilna kiselina (1 g, 5,5478 mmol), tokom 20 min. Zatim se nastavi mešanje sadržaja u balonu uronjenog u ledeno kupatilo, tako da se spontano zagreje do sobne temperature. Reakcija se prekida posle 17 h, ukapavanjem 20 mL vode na 10 °C, pri čemu dolazi do stvaranja taloga proizvoda. Taloženje se upotpuni mešanjem dodatna 3 h na sobnoj temperaturi i potom stajanjem u frižideru. Izdvojeni talog se procedi na vakuumu, ispira vodom i suši na vazduhu. Prinos 970,1 mg (89%). Bela praškasta supstanca, topi se na 195-200 °C. IR (ATR): 3440j, 2949j, 2909j, 2862sr, 2809sr, 2640sr, 1708j, 1454sr, 1392sl, 1341sr, 1273j, 1248j, 1227sr, 1193sl, 1147sl, 1120sr, 1046sl, 1018sr, 978sl, 941sr, 915sr, 883sl, 724sr, 670sl, 564sl, 524sl, 439sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 2,25 – 2,19 (m, 2H, 2 -CH), 1,84 – 1,74 (m, 6H, 3× -CH₂), 1,73 – 1,65 (m, 4H, 2× -CH₂), 1,64 – 1,59 (m, 2H, -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 180,42; 68,72; 47,23; 45,05; 44,89; 39,01; 36,22; 31,71.

3-Bromadamantan-1-karboksilna kiselina (109**)**¹¹⁰

U staklenoj kiveti za reakcije pod pritiskom (Ace pressure tube), pomešaju se **108** (1,8264 g, 9,3068 mmol) i 48% HBr (18,42 mL, 162,8227 mmol, 17,5 ekv) i smeša zagreje na 90 °C. Nakon 6 h, ohlađena reakciona smeša se ostavi u frižideru, preko noći. Dobijeni talog se procedi na vakuumu, ispere hladnom vodom i suši na vazduhu. Prinos 2,0389 g (84%). Bela praškasta supstanca, topi se na 140-143 °C. IR (ATR): 2918j, 2862sr, 2654sl, 2327sl, 1690j, 1478sl, 1453sl, 1416sl, 1329sl, 1315sr, 1288sr, 1171sl, 1148sl, 1107sl, 1083sl, 956sl, 895sl, 831sl, 763sl, 746sl, 691sl, 671sl, 535sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 2,49 (s, 2H, -CH₂), 2,37 – 2,27 (m, 4H, 2× -CH₂), 2,25 – 2,20 (m, 2H, 2× -CH), 1,91 (d, *J* = 2,9 Hz, 4H, 2× -CH₂), 1,75 – 1,67 (m, 2H, -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 181,88; 63,29; 49,44; 48,15; 44,80; 37,01; 34,53; 31,73.

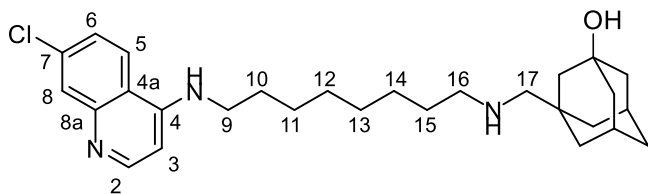
3-(Hidroksimetil)adamantan-1-ol (110) ¹¹¹

U balon se odmere redom **108** (380 mg, 1,9364 mmol), 10 mL DCM, Et₃N (0,32 mL, 2,3085 mmol, 1,2 ekv) i ClCOOEt (0,22 mL, 2,3007 mmol, 1,2 ekv). Reakcija se odvija na sobnoj temperaturi i prati tankoslojnom hromatografijom na SiO₂ pločicama. Kada se sva kiselina prevede u mešoviti anhidrid, reakciona smeša se upari do suva, pomoću vakuum-uparivača. Mešoviti anhidrid koji zaostaje u balonu se rastvori u 20 mL smeše DCM/THF = 3/1 i zatim se u dobijeni rastvor naizmenično dodaju NaBH₄ (293 mg, 7,7452 mmol, 4 ekv) i 6 mL MeOH u malim porcijama. Reakcija se prekida posle 21 h izlivanjem u smešu led/razblažena HCl. Odvoji se organski sloj i ispere zasićenim vodenim rastvorom NaHCO₃. Potom se pH vrednost vodenog sloja podesi na 7, pomoću zasićenog vodenog rastvora NaHCO₃, i ekstrahuje dva puta pomoću EA. Svi organski slojevi se spoje, isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent Hex, Hex/EA gradijent od 8/2 do EA). Prinos 245,8 mg (70%). Bela kristalna supstanca, topi se na 108-112 °C. IR (ATR): 3367j, 3302j, 2912j, 2850j, 2668sl, 1512sl, 1454sr, 1430sr, 1342sr, 1315sr, 1249sl, 1209sl, 1168sr, 1149sr, 1112sr, 1056j, 1026sr, 980sl, 959sl, 941sr, 920sl, 898sl, 833sl, 797sl, 774sl, 735sl, 708sl, 648sr, 618sl, 596sl, 549sl, 462sl, 430sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 3,17 (s, 2H, -CH₂OH), 2,21 – 2,15 (m, 2H, 2× -CH), 1,72 – 1,54 (m, 6H, 3× -CH₂), 1,47 – 1,39 (m, 6H, 3× -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 72,96; 69,30; 47,50; 45,61; 39,40; 39,07; 36,89; 31,87. GC/MS *m/z* (%): 182,1 (13) [M]⁺, 151,1 (100) [M - CH₂OH]⁺, 107,0 (16), 95,0 (36).

(3-Brom-1-adamantil)metanol (111) ¹¹²

U balon se odmere redom **109** (2,0389 g, 7,8679 mmol), 41,5 mL DCM, Et₃N (1,3 mL, 9,3784 mmol, 1,2 ekv) i ClCOOEt (0,9 mL, 9,4069 mmol, 1,2 ekv). Reakcija se odvija na sobnoj temperaturi i prati tankoslojnom hromatografijom na SiO₂ pločicama. Kada se sva kiselina prevede u mešoviti anhidrid, reakciona smeša se upari do suva, pomoću vakuum-uparivača. Mešoviti anhidrid koji zaostaje u balonu se rastvori u 81,3 mL smeše DCM/THF = 3/1 i zatim se u dobijeni rastvor naizmenično dodaju NaBH₄ (1,1906 g, 31,4724 mmol, 4 ekv) i 25 mL MeOH u malim porcijama. Reakcija se prekida posle 24 h izlivanjem u smešu led/razblažena HCl i proizvod se ekstrahuje dva puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaHCO₃, zatim zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent Hex, Hex/EA gradijent od 95/5 do 7/3). Prinos 1,4274 g (74%). Bledožuta kristalna supstanca, topi se na 73-77 °C. IR (ATR): 3426sr, 3320j, 2906j, 2854j, 1449sr, 1397sl, 1371sl, 1347sl, 1333sl, 1302sr, 1280sl, 1233sl, 1196sl, 1158sl, 1139sr, 1105sl, 1038j, 1016sr, 972sr, 945sl, 911sl, 813sr, 790sl, 735sl, 675sr, 657sl, 602sl, 482sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 3,26 (s, 2H, -CH₂OH), 2,37 – 2,25 (m, 4H, 2× -CH₂), 2,22 – 2,17 (m, 2H, 2× -CH), 2,15 (s, 2H, -CH₂), 1,75 – 1,61 (m, 2H, -CH₂), 1,58 – 1,49 (m, 4H, 2× -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 72,45; 65,92; 50,78; 48,90; 40,10; 37,30; 35,23; 32,22. GC/MS *m/z* (%): 213,0 (2) [M - CH₂OH]⁺, 165,1 (100) [M - Br]⁺, 147,1 (29), 105,1 (36), 91,1 (26).

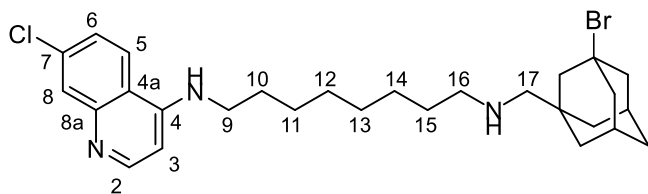
3-(((8-((7-Hlorhinolin-4-il)amino)oktil)amino)metil)adamantan-1-ol (72)



Rastvoru **110** (200 mg, 1,0973 mmol) u 15 mL suvog DCM se doda PCC (354,8 mg, 1,6459 mmol, 1,5 ekv) i nastavi mešanje na sobnoj temperaturi tokom 2 h i 30 min. Heterogena reakciona smeša se bez obrade prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent

DCM, DCM/MeOH = 48/2). Proizvod **112** (193,8 mg; 98%), u obliku žutog ulja, se odmah koristi dalje.

Aldehid **112** (197,8 mg, 1,0973 mmol) i amin **80** (335,6 mg, 1,0973 mmol), u 21 mL smeše DCM/MeOH = 1/2, daju jedinjenje **72**, prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **B**, koristeći glacijalnu AcOH (0,094 mL, 1,6436 mmol, 1,5 ekv) i NaBH₄ (249 mg, 6,5821 mmol, 6 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do MeOH). Prinos 57,1 mg (11%). Svetložuto ulje. IR (ATR): 3313sr, 2922j, 2850j, 1611sr, 1581j, 1540sr, 1453sr, 1428sr, 1368sr, 1333sr, 1312sl, 1282sl, 1204sl, 1161sl, 1137sr, 1114sl, 1080sl, 1049sl, 946sl, 901sl, 878sl, 852sl, 806sl, 768sl, 737sl, 704sl, 646sl, 553sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,52 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H, H-2), 7,95 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, H-8), 7,67 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,34 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 1,7 Hz, 1H, H-6), 6,40 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,06 (s, 1H, Ar-NH), 3,29 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-9), 2,57 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-16), 2,32 (s, 2H, H-17), 2,20 (s, 2H, 2× -CH(Ad)), 1,80 – 1,62 (m, 6H, 2× -CH₂(Ad) i H-10), 1,58 – 1,52 (m, 2H, -CH₂(Ad)), 1,50 – 1,30 (m, 16H, 3× -CH₂(Ad) i 5× -CH₂, H-(11-15)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 152,15; 149,84; 149,25; 134,90; 128,94; 125,32; 121,01; 117,24; 99,18; 69,00; 61,97; 51,15; 48,63; 45,06; 43,39; 39,73; 37,41; 35,82; 30,72; 30,07; 29,55; 29,41; 29,00; 27,33; 27,20. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₈H₄₀ClN₃O+H]⁺ 470,2933, nađeno 470,2939. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,615, površina 98,30%; Metoda II: RT 9,231, površina 97,51%.

N¹-((3- Brom-1-adamantil)metil)-N⁸-(7-hlorhinolin-4-il)oktan-1,8-diamin (73)

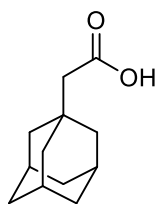
Rastvoru **111** (150 mg, 0,6118 mmol) u 8,2 mL suvog DCM se doda PCC (197,8 mg, 0,9176 mmol, 1,5 ekv) i nastavi mešanje na sobnoj temperaturi tokom 2 h. Heterogena reakciona smeša se bez obrade prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM).

Proizvod **113** (139 mg; 93%), u obliku bezbojnog ulja, se odmah koristi dalje.

Aldehid **113** (139 mg, 0,5717 mmol) i amin **80** (209,8 mg, 0,6860 mmol, 1,2 ekv), u 12 mL smeše DCM/MeOH = 1/2, daju jedinjenje **73**, prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **B**, koristeći glacijalnu AcOH (0,05 mL, 0,8743 mmol, 1,5 ekv) i NaBH₄ (129,8 mg, 3,4311 mmol, 6 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 95/5 do MeOH, DCM/(MeOH/NH₃(aq) = 9/1) gradijent od 9/1 do 1/1). Prinos 133,8 mg (44%). Žuto ulje. IR (ATR): 3267sl, 3064sl, 2928j, 2854sr, 1611sr, 1580j, 1540sr, 1453sr, 1368sr, 1332sr, 1304sl, 1282sl, 1250sl, 1203sl, 1138sl, 1080sl, 902sl, 878sl, 852sl, 813sl, 768sl, 738sl, 680sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,53 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,95 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-8), 7,67 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-5), 7,35 (dd, *J*₁ = 8,9 Hz, *J*₂ = 2,1 Hz, 1H, H-6), 6,41 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,04 (s, 1H, Ar-NH), 3,30 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, H-9), 2,57 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-16), 2,37 – 2,22 (m, 6H, H-17 i 2× -CH₂(Ad)), 2,21 – 2,10 (m, 4H, 2× -CH(Ad) i -CH₂(Ad)), 1,80 – 1,30 (m, 18H, 3× -CH₂(Ad) i H-(10-15)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 152,10; 149,88; 149,18; 134,97; 128,91; 125,38; 120,99; 117,23; 99,20; 66,62; 61,66; 52,48; 51,11; 48,96; 43,42; 39,13; 39,08; 35,26; 32,50; 30,00; 29,56; 29,43; 29,02; 27,34; 27,22. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₈H₃₉BrClN₃+H]⁺

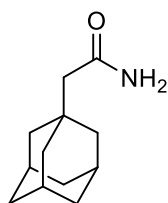
532,2089, nađeno 534,2072. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,901, površina 97,96%; Metoda II: RT 8,496, površina 98,01%.

1-Adamantansirćetna kiselina (**114**)¹¹³

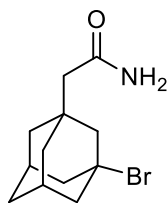


U balon se odmeri 20 mL 96% H₂SO₄, ohladi u ledenom kupatilu na 10 °C i uz mešanje se polako doda 1-bromadamantan (5 g, 23,2407 mmol). Onda se na balon stavi septum i kroz njega ukapava 1,1-dihloreten (17,6 mL, 221,1347 mmol, 9,5 ekv), tokom 1 h, a temperatura kupatila održava na 10 °C. Nakon završenog ukapavanja, mešanje se nastavi dodatna 3 h na istoj temperaturi, a zatim još 3 h na 20 °C. Reakciona smeša se izlije u čašu sa vodom i ledom, ostavi u frižideru preko noći i potom se ekstrahuje dva puta pomoću etra. Spojeni organski slojevi se vrte u levak za ekstrakciju i doda se vodeni rastvor NaOH pH vrednosti 9. Vodeni sloj se odvoji i zatim zakiseli do pH 3, pomoću koncentrovane HCl. Dolazi do izdvajanja prečišćenog proizvoda u obliku taloga, ali zbog otežanog ceđenja, vrši se ekstrakcija dva puta etrom, spojeni organski slojevi se isperu vodom, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača se ukloni pod sniženim pritiskom. Prinos 4,0170 g (89%). Bela praškasta supstanca, topi se na 123-130 °C. IR (ATR): 2905j, 2848j, 2661sr, 2191sl, 2167sl, 2106sl, 1707j, 1645sr, 1448sr, 1404sr, 1364sl, 1346sl, 1313sr, 1269j, 1203sl, 1145sr, 1097sl, 990sl, 907sr, 650sl, 630sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 2,10 (s, 2H, -CH₂COOH), 2,02 – 1,95 (m, 3H, 3× -CH), 1,74 – 1,61 (m, 12H, 6× -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 178,57; 48,89; 42,43; 36,83; 32,84; 28,74.

1-Adamantanacetamid (**115**)¹¹⁶

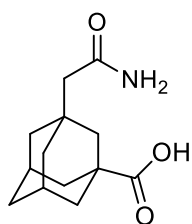


U balonu se napravi rastvor **114** (1,5 g, 7,7212 mmol) u 40 mL DCM, potom se doda Et₃N (1,28 mL, 9,2341 mmol, 1,2 ekv), smeša ohladi u ledenom kupatilu i ukapa ClCOOEt (0,89 mL, 9,3076 mmol, 1,2 ekv). Mešanje se zatim nastavi na sobnoj temperaturi. Reakcija se prati tankoslojnom hromatografijom na SiO₂ pločicama, dok ne izreaguje sva kiselina. Sadržaj u balonu se upari do suva, pomoću vakuum-uparivača, pri čemu zaostaje mešoviti anhidrid, koji se rastvori u 70,5 mL smeše DCM/THF = 3/1. U dobijeni rastvor se ukapa 7,25 mL NH₃(aq), tokom 15 min i mešanje heterogene reakcione smeše nastavi 1 h. Rastvarači se uklone pod sniženim pritiskom, a ostatak u balonu raspodeli između vode i EA. Vodeni sloj se ekstrahuje još jednom pomoću EA. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaHCO₃, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent Hex, Hex /EA gradijent od 6/4 do EA). Prinos 1,13 g (76%). Bela amorfnna supstanca, topi se na 168-170 °C. IR (ATR): 3372j, 3190sr, 2902j, 2849j, 2678sl, 1665j, 1626j, 1447sr, 1402sr, 1363sr, 1344sl, 1313sl, 1246sl, 1207sl, 1167sl, 1130sl, 1101sl, 987sl, 947sl, 887sl, 805sl, 749sl, 674sl, 601sl, 461sl, 418sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 5,72 – 5,27 (m, 2H, -NH₂), 2,02 – 1,95 (m, 5H, 2 -CH, -CH₂CONH₂), 1,75 – 1,62 (m, 12H, 6× -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 173,64; 51,24; 42,70; 36,86; 32,69; 28,76. GC/MS *m/z* (%): 193,1 (30) [M]⁺, 135,1 (100) [M - CH₂CONH₂]⁺, 93,1 (17), 79,1 (16).

3-Brom-1-adamantanacetamid (116)

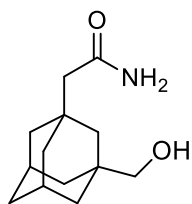
Smeša *t*-BuOH (7,5 mL, 78,9261 mmol) i LiBr (10,28 g, 118,3650 mmol, 1,5 ekv) se ohladi na 0 °C i u nju ukapava 17,8 mL 48% HBr, tokom 30 min. Ledeno kupatilo se ukloni i mešanje nastavi 3 h. Reakciona smeša se zatim prebaci u levak za odvajanje i odvoji gornji, organski sloj, koji se ispere vodom, suši iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Proizvod *t*BuBr (7,3142 g; 68%), u obliku žućkastog ulja, se odmah koristi dalje.

U balonu se pomešaju 14,8 mL CCl₄ i 19,7 mL 96% H₂SO₄ i zatim se, uz hlađenje na 10 °C, doda **115** (1,11 g, 5,7427 mmol). Održavajući temperaturu kupatila, u smešu se doda *t*BuBr (3,93 g, 28,6819 mmol, 5 ekv), uz intenzivno mešanje, koje se potom nastavi na sobnoj temperaturi tokom 2 h. Nakon isteka ovog vremena, reakciona smeša se izlije u čašu sa ledom. Proizvod se ekstrahuje dva puta pomoću DCM, organski slojevi se spoje i isperu vodom, zatim zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent Hex, Hex /EA gradijent od 1/1 do EA). Prinos 1,2414 g (80%). Smeđa kristalna supstanca, topi se na 104-110 °C. IR (ATR): 3486sr, 3369sr, 3167j, 2909j, 2853sr, 1675j, 1448sr, 1395sr, 1336sr, 1298sr, 1278sr, 1186sr, 1102sr, 1010sl, 976sr, 933sr, 894sl, 813sr, 711sr, 674sr, 604sr, 524sl, 482sr cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 5,58 (d, *J* = 153,4 Hz, 2H, -NH₂), 2,36 – 2,23 (m, 6H, 3× -CH₂), 2,21 – 2,15 (m, 2H, 2× -CH), 2,03 (s, 2H, -CH₂CONH₂), 1,72 – 1,61 (m, 6H, 3× -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 172,73; 65,38; 53,86; 49,68; 48,47; 40,55; 37,42; 34,76; 32,47. GC/MS *m/z* (%): 192,1 (100) [M - Br]⁺, 133,1 (23), 91,0 (23).

3-(2-Amino-2-oksoetil)adamantan-1-karboksilna kiselina (117)

U balonu se pomešaju **116** (1,2 g, 4,4088 mmol) i 22,2 mL 96% H₂SO₄, smeša ohladi na 0 °C, doda se 3,12 mL Hex i na kraju lagano ukapa 2,7 mL HCOOH. Balon se ostavi u ledenom kupatilu kako bi se sadržaj spontano zagrejao do sobne temperature. Nakon 22 h mešanja, reakcija se prekida pažljivim izlivanjem na led. Podešavanjem pH vrednosti na 3, koristeći vodeni rastvor NaOH, uz dodatno hlađenje u ledenom kupatilu, dolazi do taloženja proizvoda. Talog se procedi na Büchner-ovom levku i suši na vazduhu, a zatim u vakuum-sušnici. Prinos 1,04 g

(99%). Bela amorfna supstanca, topi se na 224-228 °C. IR (ATR): 3423j, 3340sr, 3203sr, 2926j, 2851sr, 2513sl, 2168sl, 1940sl, 1682j, 1645j, 1577sr, 1450sr, 1410sr, 1361sl, 1327sr, 1276j, 1164sr, 1026sl, 999sl, 744sl, 703sl, 672sl, 633sl, 610sl, 516sl, 469sl, 420sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 2,14 – 2,09 (m, 2H, 2× -CH), 2,04 (s, 2H, -CH₂CONH₂), 1,92 – 1,79 (m, 6H, 3× -CH₂), 1,74 – 1,62 (m, 6H, 3× -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 181,26; 176,51; 50,70; 44,86; 42,62; 42,47; 39,40; 36,77; 33,79; 29,93. UPLC/MS *m/z* (%): 473,71 (100) [2M - H]⁻, 236,41 (50) [M - H]⁻.

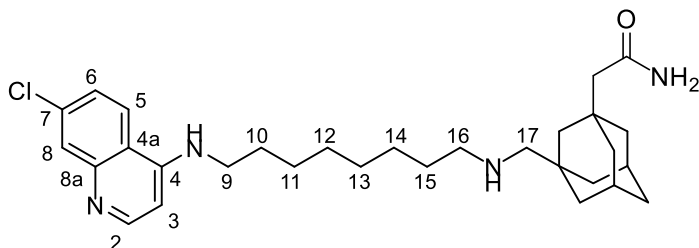
3-(Hidroksimetil)-1-adamantanacetamid (118)

U rastvor **117** (1,025 g, 4,3194 mmol) u 23,5 mL DCM, se doda Et₃N (0,72 mL, 5,1942 mmol, 1,2 ekv), smeša ohladi u ledenom kupatilu i zatim ukapa ClCOOEt (0,5 mL, 5,2290 mmol, 1,2 ekv). Mešanje se nastavi na sobnoj temperaturi, a reakcija prati pomoću tankoslojne hromatografije na SiO₂ pločicama, dok ne izreaguje sva kiselina. Reakciona smeša se upari do suva i mešoviti anhidrid, koji zaostaje u balonu, se rastvori u 42,1 mL smeše DCM/THF = 3/1. U dobijeni rastvor

naizmenično se dodaju NaBH₄ (653,6 mg, 17,2773 mmol, 4 ekv) i 12,7 mL MeOH u malim porcijama, uz hlađenje u ledenom kupatilu. Nakon 20 h reakcija se prekida izlivanjem u smešu led/razblažena HCl. Potom se u levku za odvajanje odvoje slojevi. Organski sloj se odbaci, a vodeni podesi na pH 7, koristeći zasićen vodeni rastvor NaHCO₃. Zatim se proizvod ekstrahuje tri puta

pomoću EA, organski slojevi se spoje, isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača se ukloni pod sniženim pritiskom. Prinos 434,1 mg (45%). Bela kristalna supstanca, topi se na 161–163 °C. IR (ATR): 3749sl, 3305j, 3181j, 2904j, 2847j, 1666j, 1626j, 1541sl, 1513sl, 1453sr, 1404sr, 1363sr, 1339sr, 1315sl, 1199sl, 1165sr, 1063sr, 1036sr, 608sr cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 3,13 (s, 2H, -CH₂OH), 2,09 – 2,01 (m, 2H, 2× -CH), 1,98 (s, 2H, -CH₂CONH₂), 1,70 – 1,33 (m, 12H, 6× -CH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, δ): 176,82; 73,60; 51,02; 45,30; 43,29; 39,53; 37,45; 36,54; 33,95; 30,18. GC/MS *m/z* (%): 223,1 (10) [M]⁺, 192,1 (100) [M - CH₂OH]⁺, 133,1 (27), 91,1 (28).

3-(((8-((7-Hlorhinolin-4-il)amino)oktil)amino)metil)-1-adamantanacetamid (74)

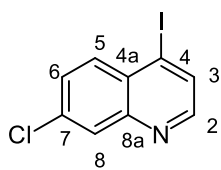


Rastvoru **118** (434,1 mg, 1,9438 mmol) u 27,7 mL suvog DCM se doda PCC (628,6 mg, 2,9161 mmol, 1,5 ekv) i nastavi mešanje na sobnoj temperaturi tokom 2 h i 30 min. Heterogena reakciona smeša se bez prethodne obrade prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/EA gradijent od 1/1 do EA,

DCM/MeOH gradijent od 95/5 do 9/1). Proizvod **119** (140,6 mg; 33%), u obliku žutog ulja, se odmah koristi dalje.

Aldehid **119** (140,6 mg, 0,6353 mmol) i amin **80** (233 mg, 0,7624 mmol, 1,2 ekv), u 15 mL smeše DCM/MeOH = 1/2, daju jedinjenje **74**, prema opštoj eksperimentalnoj proceduri **B**, koristeći glacialnu AcOH (0,073 mL, 1,2764 mmol, 2 ekv) i NaBH₄ (144,2 mg, 3,8118 mmol, 6 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO₂, eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do MeOH), zatim preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, razvijač 2× MeOH). Prinos 46 mg (14%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3337sr, 2927j, 2852sr, 1667sr, 1612sr, 1580j, 1541sl, 1452sr, 1369sl, 1333sl, 1282sl, 1138sl, 1081sl, 904sl, 879sl, 853sl, 808sl, 738sl, 647sl cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 8,53 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-2), 7,95 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H-8), 7,70 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-5), 7,36 (dd, *J*₁ = 8,8 Hz, *J*₂ = 2,2 Hz, 1H, H-6), 6,41 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H, H-3), 5,62 (ps, 2H, -NH₂), 5,15 – 5,06 (m, 1H, Ar-NH), 3,30 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, H-9), 2,58 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, H-16), 2,30 (s, 2H, H-17), 2,09 – 2,03 (m, 2H, 2× -CH(Ad)), 2,00 (s, 2H, -CH₂CONH₂), 1,75 (quint, *J* = 7,3 Hz, 2H, H-10), 1,63 – 1,41 (m, 16H, 6× -CH₂(Ad) i H-15 i H-11), 1,41 – 1,29 (m, 6H, 3× -CH₂, H-(12-14)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 173,48; 152,20; 149,89; 149,28; 134,93; 128,94; 125,35; 121,10; 117,27; 99,19; 62,39; 51,06; 50,82; 45,69; 43,38; 42,23; 40,20; 36,36; 34,26; 33,26; 29,52; 29,47; 29,34; 28,95; 28,85; 27,28; 27,16. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₃₀H₄₃ClN₄O+H]⁺ 511,3198, nađeno 511,3197. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,671, površina 96,98%; Metoda II: RT 9,297, površina 95,44%.

7-Hlor-4-jodhinolin (123) ¹⁴⁰

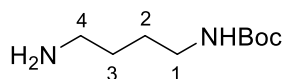


U rastvor 4,7-dihlorhinolina (450 mg, 2,2722 mmol) u 9 mL suvog DCM ukapa se TFA (1,05 mL, 13,7121 mmol, 6 ekv). Reakciona smeša se meša tokom 30 min, zatim upari na vakuum-uparivaču i zaostalo ulje ostavi da kristališe hlađenjem u frižideru preko noći. Nakon rastvaranja u 36 mL suvog ACN, doda se NaI (3,4059 g, 22,7227 mmol, 10 ekv), u atmosferi argona. Smeša se zagreje

na 85 °C, boja se menja iz žute u narandžastu. Nakon 6 h mešanja, rastvarač se ukloni pod sniženim pritiskom i doda DCM. Nastala suspenzija se tretira sa 4,5 mL 10% vodenog rastvora Na₂CO₃, zatim 6 mL 5% vodenog rastvora Na₂SO₃. Slojevi se odvoje u levku za odvajanje i organski sloj još jednom ispere na isti način. Spojeni organski slojevi se dodatno isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl,

suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača upari pod sniženim pritiskom. Izolovan proizvod se koristi dalje bez dodatnog prečišćavanja. Prinos 478,8 g (73%). Žućkast amorfni prah, topi se na 122-128 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8,44 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H, H-2), 8,05 (s, 1H, H-8), 8,02 – 7,91 (m, 2H, H-3 i H-5), 7,56 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-6). ^{13}C NMR (125 MHz, smeša CD_3OD i CDCl_3 , δ): 150,52; 147,81; 136,83; 133,32; 132,89; 129,33; 129,16; 128,36; 112,06.

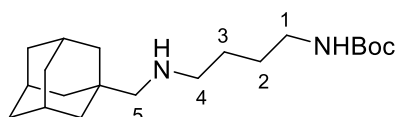
***tert*-Butil-(4-aminobutil)karbamat (124)** ¹²⁹



U balonu se napravi rastvor 1,4-diaminobutana (2,28 mL, 22,6836 mmol, 5 ekv) u 100 mL DCM, montira se kapalica sa prethodno pripremljenim rastvorom Boc_2O (990 mg, 4,5361 mmol) u 20 mL DCM i ukapavanje vrši

tokom 1 h i 30 min, na sobnoj temperaturi. Posle 24 h mešanja, rastvarač se ukloni pod sniženim pritiskom, a ostatak u balonu prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do 6/4). Prinos 601,9 mg (70%). Bezbojno ulje. IR (ATR): 3350sr, 2976j, 2933j, 2867sr, 1693j, 1527j, 1455sr, 1391sr, 1366sr, 1277sr, 1252sr, 1174j, 1042sl, 1007sl, 904sl, 867sl, 819sl, 781sl, 626sl cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4,78 (s, 1H, -NH-Boc), 3,20 – 3,03 (m, 2H, H-1, H-1), 2,72 (t, $J = 6,3$ Hz, 2H, H-4), 1,59 – 1,39 (m, 13H, H-(2-3) i $3 \times -\text{CH}_3(\text{Boc})$). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ): 156,14; 79,14; 41,69; 40,51; 30,55; 28,55; 27,55.

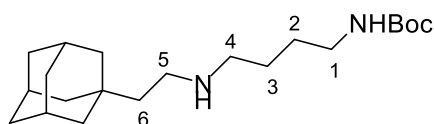
***tert*-Butil-(4-((1-adamantilmetil)amino)butil)karbamat (125)**



Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri A, jedinjenje **125** je dobijeno iz amina **124** (262,8 mg, 1,3959 mmol) i aldehida **AdCHO** (229,3 mg, 1,3961 mmol) u 30 mL DCM, koristeći $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (591,7 mg, 2,7918 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent DCM, DCM/MeOH

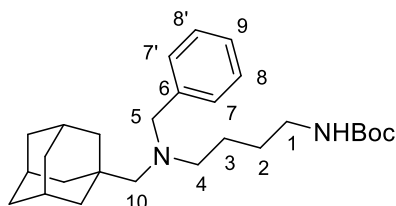
gradijent od 9/1 do 8/2), zatim tankoslojnom hromatografijom (SiO_2 , EA/MeOH = 7/3). Prinos 139,5 mg (30%). Žuto-smeđe ulje. IR (ATR): 3354sl, 2976sr, 2903j, 2848j, 2812sl, 2678sl, 1702j, 1525sr, 1453sr, 1391sl, 1365sr, 1346sl, 1273sr, 1251sr, 1174j, 1043sl, 1002sl, 870sl, 780sl cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 5,04 (s, 1H, -NH-Boc), 3,20 – 3,05 (m, 2H, H-1), 2,60 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H, H-4), 2,25 (s, 2H, H-5), 1,97 (s, 3H, $3 \times -\text{CH}(\text{Ad})$), 1,90 – 1,60 (m, 7H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$ i -NH), 1,57 – 1,41 (m, 19H, H-(2-3), $3 \times -\text{CH}_3(\text{Boc})$, i $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ): 156,20; 79,05; 62,93; 50,48; 41,03; 40,60; 37,32; 33,40; 28,59; 28,57; 27,90; 27,30.

***tert*-Butil-(4-((2-(1-adamantil)etil)amino)butil)karbamat (126)**



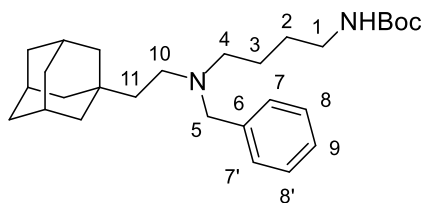
Prema opštoj eksperimentalnoj proceduri A, jedinjenje **126** je dobijeno iz amina **124** (264,1 mg, 1,4028 mmol) i aldehida **AdCH₂CHO** (250 mg, 1,4024 mmol) u 30 mL DCM, koristeći $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (594,4 mg, 2,8046 mmol, 2 ekv). Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent

DCM, DCM/MeOH gradijent od 9/1 do 3/7). Prinos 174,7 mg (36%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3352sl, 2975sr, 2904j, 2847j, 1712j, 1526sr, 1452sr, 1391sl, 1365sr, 1346sl, 1274sr, 1251sr, 1175j, 1041sl, 989sl, 870sl, 780sl cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4,96 (ps, 1H, -NH-Boc), 3,18 – 3,07 (m, 2H, H-1), 2,70 – 2,50 (m, 4H, H-(4-5)), 1,93 (s, 3H, $3 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,77 – 1,40 (m, 25H, H-(2-3), $3 \times -\text{CH}_3(\text{Boc})$, i $6 \times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,31 – 1,22 (m, 2H, H-6). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ): 156,17; 79,08; 49,90; 44,76; 44,43; 42,76; 40,61; 37,28; 31,98; 28,79; 28,58; 28,09; 27,62. ESI-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_2 + \text{H}]^+$ 351,3006, nađeno 351,3000.

tert-Butil-(4-((1-adamantilmetil)(benzil)amino)butil)karbamat (127)

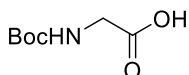
Amin **125** (96,2 mg, 0,2859 mmol) se rastvori u 1,1 mL THF, uz dodatak par kapi DMSO. Zatim se dodaju redom BnBr (0,1 mL, 0,8407 mmol, 3 ekv), NaHCO₃ (60 mg, 0,7142 mmol, 2,5 ekv) i na kraju NaI (17,1 mg, 0,1141 mmol, 0,4 ekv). Montira se povratni kondenzator, reakciona smeša zagreje na 75 °C i meša 21 h. Nakon isteka ovog vremena, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom, a ostatak u balonu prenese u levak za odvajanje pomoću

vode i EA. Proizvod se ekstrahuje dva puta koristeći EA, spojeni organski slojevi se dodatno isperu vodom, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, Hex/EA = 9/1). Prinos 94,4 mg (77%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3358sl, 3061sl, 3027sl, 2975sr, 2903j, 2846j, 2802sr, 1703j, 1512sr, 1452sr, 1391sr, 1365sr, 1249sr, 1173j, 1101sl, 1063sl, 1042sl, 1028sl, 985sl, 951sl, 869sl, 779sl, 735sr, 698sr, 616sl, 460sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,36 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, H-(7-7')), 7,32 – 7,17 (m, 3H, H-(8-9), preklapa se sa CDCl₃), 4,44 (ps, 1H, -NH₂Boc), 3,56 (s, 2H, H-5), 3,10 – 2,87 (m, 2H, H-1), 2,29 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-4), 2,11 (s, 2H, H-10), 1,99 – 1,86 (m, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,72 – 1,56 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,54 – 1,29 (m, 19H, H-(2-3), 3× -CH₃(Boc) i 3× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 156,06; 140,94; 128,64; 128,18; 126,73; 79,13; 68,22; 62,13; 56,02; 41,57; 40,68; 37,40; 35,15; 28,68; 28,56; 28,00; 25,09. ESI-HRMS (*m/z*): izračunato za [C₂₇H₄₂N₂O₂+H]⁺ 427,3319, nađeno 427,3319.

tert-Butil-(4-((2-(1-adamantil)etil)(benzil)amino)butil)karbamat (128)

Prateći proceduru za dobijanje **127**, amin **126** (248 mg, 0,7074 mmol) je preveden u jedinjenje **128**, koristeći BnBr (0,09 mL, 0,7567 mmol, 1,1 ekv), NaHCO₃ (148,6 mg, 1,7688 mmol, 2,5 ekv) i NaI (42,4 mg, 0,2829 mmol, 0,4 ekv), u 5 mL THF, uz dodatak nekoliko kapi DMSO. Sirov proizvod se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO₂, Hex/EA =

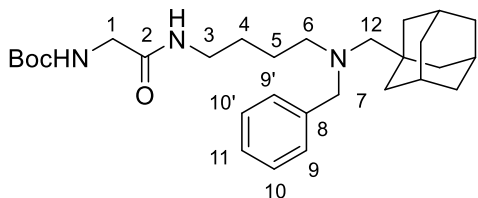
8/2). Prinos 150,3 mg (48%). Bezbojno ulje. IR (ATR): 3362sl, 3062sl, 3027sl, 2904j, 2847j, 2810sl, 1715j, 1512sr, 1452sr, 1391sr, 1366sr, 1346sl, 1251sr, 1174j, 1047sl, 1028sl, 911sl, 870sl, 736sl, 699sl, 623sl cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,34 – 7,18 (m, 5H, H-(7-9)), 3,55 (s, 2H, H-5), 3,00 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H, H-1), 2,50 – 2,36 (m, 4H, H-4 i H-10), 1,89 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,75 – 1,58 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,56 – 1,36 (m, 19H, H-(2-3), 3× -CH₃(Boc), i 3× -CH₂(Ad)), 1,32 – 1,22 (m, 2H, H-11). ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD, δ): 158,53; 139,75; 130,56; 129,21; 128,14; 79,78; 59,39; 54,37; 48,32; 43,63; 41,18; 41,09; 38,23; 32,97; 30,13; 28,99; 28,83; 24,72. UPLC/MS *m/z* (%): 441,78 (100) [M + H]⁺.

(tert-Butoksikarbonil)glicin (131) ¹³¹

U balonu se pomešaju glicin (762 mg, 10,1532 mmol), 10 mL vodenog rastvora NaOH (1 M) i 20 mL dioksana. Dobijena smeša se ohladi na 0 °C i doda se Boc₂O (2,2381 g, 10,2548 mmol, 1,01 ekv). Ledeno kupatilo se potom ukloni i reakcija meša na sobnoj temperaturi preko noći. Nakon 19 h, dioksan se upari pomoću vakuum-uparivača, a ostatak reakcione smeše zakiseli do pH 4, dodatkom zasićenog vodenog rastvora KHSO₄. Proizvod se ekstrahuje tri puta pomoću EA, zatim spojeni organski slojevi isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, suše iznad anhidrovanog Na₂SO₄ i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Izolovan proizvod se koristi dalje bez dodatnog prečišćavanja. Prinos 1,6114 g (90%). Bezbojno ulje koje kristališe, topi se na 83-93 °C. IR (ATR): 3405sr, 3340sr, 3109sr, 2976sr, 2938sr, 2732sl, 2533sl, 1740j, 1667j, 1531j, 1453sr, 1409j, 1368sr, 1336sl, 1298sr, 1279sr, 1255sr, 1197j, 1160j, 1056sr,

1032sl, 958sr, 882sr, 858sr, 780sl, 767sl, 734sl, 673sl, 585sr, 457sl cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , δ): 3,73 (s, 2H, $-\text{CH}_2$), 1,42 (s, 9H, $3\times -\text{CH}_3(\text{Boc})$). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD , δ): 173,85; 158,53; 80,55; 42,76; 28,69.

terc-Butil-(2-((4-((1-adamantilmetil)(benzil)amino)butil)amino)-2-oksoetil)karbamat (132)

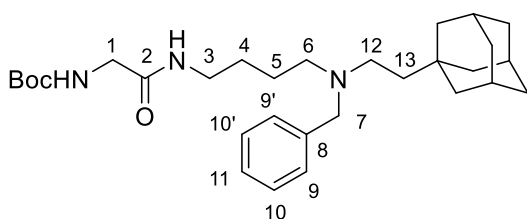


U rastvor **127** (72,8 mg, 0,1706 mmol) u 1,5 mL DCM ukapa se 0,15 mL TFA i mešanje nastavi na sobnoj temperaturi. Posle 18 h reakciona smeša se upari pod sniženim pritiskom. Suvi ostatak u balonu se prenese u levak za odvajanje pomoću DCM. Organski sloj se ispere dva puta vodenim rastvorom NaOH (2,5 M) i zatim vodom, potom suši iznad anhidrovanog

Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Proizvod **129** (54 mg; 97%), u obliku žućkastog ulja, se odmah dalje koristi.

U balonu se rastvori **131** (29 mg, 0,1655 mmol) u 1 mL suvog DCM. Nakon hlađenja na 0°C , doda se Et_3N (23 μL , 0,1659 mmol) i ukapa ClCOOEt (15,8 μL , 0,1652 mmol). Mešanje se nastavi na sobnoj temperaturi tokom 3 h i 30 min, a onda reakciona smeša upari pomoću vakuum-uparivača. Zatim se ostatku u balonu doda 1 mL suvog DCM i polako ukapa prethodno pripremljen rastvor **129** (54 mg, 0,1654 mmol) u 1,1 mL suvog DCM, na 0°C . Reakcija se prekida posle 20 h mešanja na sobnoj temperaturi, dodatkom vode. Proizvod se ekstrahuje dva puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaHCO_3 , suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO_2 , $\text{DCM}/\text{MeOH} = 9/1$). Prinosa 49,8 mg (62%). Žućkasto ulje. IR (ATR): 3318sr, 3084sl, 3062sl, 3027sl, 2975sr, 2903j, 2846j, 1660j, 1540sr, 1495sr, 1452sr, 1391sr, 1366sr, 1249sr, 1171j, 1101sl, 1050sl, 1028sl, 983sl, 948sl, 865sl, 735sr, 699sr cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , δ): 7,35 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, H-(9-9')), 7,27 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H, H-(10-10')), 7,19 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, H-11), 3,64 (s, 2H, H-1), 3,56 (s, 2H, H-7), 3,10 (t, $J = 6,3$ Hz, 2H, H-3), 2,34 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-6), 2,14 (s, 2H, H-12), 1,95 – 1,88 (m, 3H, $3\times -\text{CH}(\text{Ad})$), 1,78 – 1,59 (m, 6H, $3\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,57 – 1,38 (m, 19H, H-(4-5), $3\times -\text{CH}_3(\text{Boc})$, i $3\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD , δ): 172,31; 158,32; 141,80; 129,85; 129,07; 127,75; 80,66; 69,22; 62,96; 57,28; 44,61; 42,59; 40,33; 38,36; 36,02; 30,02; 28,69; 28,30; 26,07. ESI-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_3+\text{H}]^+$ 484,3534, nađeno 484,3534.

terc-Butil-(2-((4-((2-(1-adamantil)etil)(benzil)amino)butil)amino)-2-oksoetil)karbamat (133)

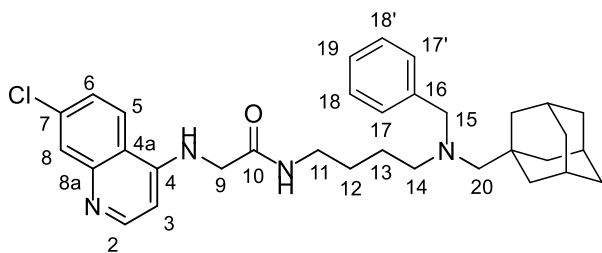


Prateći proceduru za dobijanje **132**, prvo je izvršena deprotekcija zaštićenog amina **128** (150,3 mg, 0,3411 mmol) u smeši 0,3 mL TFA i 3 mL DCM i dobijen **130** (107 mg; 92%), u obliku žutog ulja, koji je odmah dalje korišćen. Zatim je, proizvod reakcije **131** (55 mg, 0,3140 mmol), Et_3N (46 μL , 0,3318 mmol, 1,06 ekv) i ClCOOEt (32 μL , 0,3346 mmol, 1,06 ekv), u 2 mL suvog DCM,

reagovao sa **130** (107 mg, 0,3142 mmol), u 4 mL suvog DCM, i dobijeno jedinjenje **133**. Sirov proizvod se prečišćava *dry-flash* hromatografijom na stubu (SiO_2 , eluent Hex, Hex/EA gradijent od 1/1 do EA, EA/MeOH = 95/5). Prinosa 49,4 mg (32%). Žuto ulje. IR (ATR): 3334sr, 2906j, 2848sr, 2809sl, 1716j, 1670j, 1541sr, 1453sr, 1392sr, 1367sr, 1251sr, 1172sr, 1101sl, 1052sl, 1029sl, 947sl, 866sl, 737sr, 700sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ): 7,33 – 7,28 (m, 4H, H-(9-10')), 7,26 – 7,21 (m, 1H, H-11), 6,39 (ps, 1H, $-\text{NH}(\text{Boc})$), 3,74 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H, H-1), 3,55 (s, 2H, H-7), 3,22 (q, $J = 6,1$ Hz, 2H, H-3), 2,48 – 2,38 (m, 4H, H-6 i H-12), 1,91 (s, 3H, $3\times -\text{CH}(\text{Ad})$), 1,72 – 1,56 (m, 6H, $3\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,51 – 1,43 (m, 19H, H-(4-5), $3\times -\text{CH}_3(\text{Boc})$, i $3\times -\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,29 – 1,24 (m, 2H, H-13).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ): 169,30; 156,16; 139,60; 129,06; 128,27; 126,95; 80,26; 58,47; 53,29; 47,63; 44,49; 42,63; 40,48; 39,49; 37,27; 31,97; 28,76; 28,44; 27,50; 24,67.

***N*-(4-((1-Adamantilmetil)(benzil)amino)butil)-2-((7-hlorhinolin-4-il)amino)acetamid (75)**

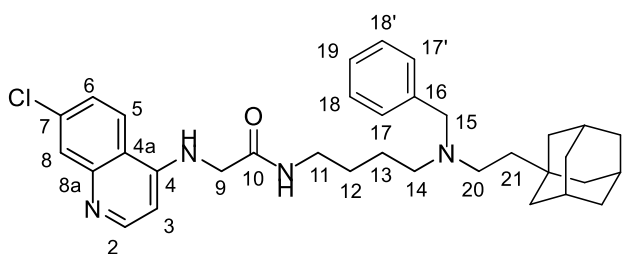


U rastvor **132** (49,8 mg, 0,1030 mmol) u 1 mL DCM ukapa se TFA (0,1 mL) i mešanje nastavi na sobnoj temperaturi. Posle 5 h reakciona smeša se upari pod sniženim pritiskom. Suvi ostatak u balonu se prenese u levak za odvajanje pomoću DCM. Organski sloj se ispere dva puta vodenim rastvorom NaOH (2,5 M) i zatim vodom, suši iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača ukloni pod

sniženim pritiskom. Proizvod **134** (38,4 mg; 97%), u obliku žutog ulja, se odmah dalje koristi.

U viali se odmere 4,7-dihlorhinolin (16,5 mg, 0,0833 mmol), **134** (38,4 mg, 0,1001 mmol, 1,2 ekv) i fenol (44,7 mg, 0,4750 mmol, 5,7 ekv), stavi čep i uroni u uljano kupatilo zagrejano na 120 °C. Reakcija se prekida posle 19 h, ukapavanjem 3,3 mL vodenog rastvora NaOH (0,25 M). Zatim se smeša prebaci u levak za odvajanje, doda voda i proizvod ekstrahuje dva puta pomoću DCM. Spojeni organski slojevi se isperu zasićenim vodenim rastvorom NaCl, potom suše iznad anhidrovanog Na_2SO_4 i višak rastvarača upari pod sniženim pritiskom. Sirov proizvod se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO_2 , DCM/MeOH = 9/1). Prinos 14,1 mg (31%). Žućkasta amorfna supstanca, topi se na 138-143 °C. IR (ATR): 3284sr, 3088sr, 3027sr, 2904j, 2847sr, 2804sl, 1658j, 1612sr, 1583j, 1566j, 1494sl, 1453sr, 1435sr, 1368sr, 1284sl, 1239sr, 1202sl, 1175sl, 1150sl, 1102sl, 1086sl, 1028sl, 987sl, 901sl, 876sl, 851sl, 801sl, 738sr, 699sl, 642sl, 562sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ): 8,53 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H, H-2), 7,97 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, H-8), 7,78 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H-5), 7,41 (dd, $J_1 = 8,9$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, 1H, H-6), 7,37 – 7,25 (m, 4H, H-(17-18')), preklapa se sa CDCl_3 , 7,20 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, H-19), 6,27 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H, H-3), 6,08 – 5,90 (m, 2H, 2× -NH), 3,90 (d, $J = 3,5$ Hz, 2H, H-9), 3,56 (s, 2H, H-15), 3,24 (q, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-11), 2,31 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-14), 2,11 (s, 2H, H-20), 1,93 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,72 – 1,58 (m, 6H, 3× -CH₂(Ad)), 1,52 – 1,36 (m, 10H, H-(12-13) i 3× -CH₂(Ad)). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ): 168,04; 151,96; 149,04; 148,98; 140,78; 135,50; 128,82; 128,72; 128,22; 126,85; 126,08; 121,30; 117,25; 99,81; 68,32; 62,17; 55,88; 46,50; 41,58; 39,78; 37,35; 35,12; 28,65; 27,28; 25,14. ESI-HRMS (m/z): izračunato za $[\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{ClN}_4\text{O}+\text{H}]^+$ 545,3042, nađeno 545,3039. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,902, površina 95,62%; Metoda II: RT 9,682, površina 95,06%.

***N*-(4-((2-(1-adamantil)etil)(benzil)amino)butil)-2-((7-hlorhinolin-4-il)amino)acetamid (76)**



Prateći proceduru za dobijanje **75**, prvo je izvršena deprotekcija zaštićenog amina **133** (47,2 mg, 0,0948 mmol) u smeši 0,09 mL TFA i 0,9 mL DCM i dobijen **135** (36,8 mg; 98%), u obliku žutog ulja, koji je odmah dalje korišćen. Zatim je 4,7-dihlorhinolin (15,3 mg, 0,0772 mmol) reagovao sa **135** (36,8 mg, 0,0926 mmol, 1,2 ekv), u fenolu (41,5 mg, 0,4410 mmol, 5,7 ekv), i

dobijeno je jedinjenje **76**. Sirov proizvod se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (SiO_2 , DCM/MeOH = 9/1). Prinos 11 mg (25%). Žućkasta supstanca nalik vosku. IR (ATR): 3281sr, 3086sr, 3026sr, 2902j, 2846j, 1734sl, 1658j, 1612sr, 1583j, 1566j, 1493sl, 1451sr, 1435sr, 1367sr, 1238sr, 1175sl, 1150sl, 1124sl, 1085sl, 1027sl, 987sl, 899sl, 875sl, 849sl, 800sl, 763sl, 734sl, 698sl, 640sl, 571sl cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ): 8,50 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H, H-2), 7,96 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-8), 7,78 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-5), 7,39 (dd, $J_1 = 8,9$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, 1H, H-6), 7,34 – 7,20 (m,

¹H, H-(17-19), preklapa se sa CDCl₃), 7,03 (ps, 1H, -NHCO), 6,18 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H, H-3), 6,04 (ps, 1H, Ar-NH), 3,85 – 3,75 (m, 2H, H-9), 3,54 (s, 2H, H-15), 3,35 – 3,25 (m, 2H, H-11), 2,51 – 2,37 (m, 4H, H-14 i H-20), 1,90 (s, 3H, 3× -CH(Ad)), 1,70 – 1,23 (m, 18H, H-(12-13), H-21 i 6× -CH₂(Ad)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ): 168,05; 152,01; 149,07; 149,02; 139,06; 135,36; 129,21; 128,78; 128,39; 127,22; 125,91; 121,44; 117,31; 99,70; 58,37; 53,50; 47,55; 46,31; 42,65; 40,12; 39,71; 37,21; 31,96; 28,72; 27,54; 24,92. ESI-HRMS (m/z): izračunato za [C₃₄H₄₃ClN₄O+H]⁺ 559,3198, nađeno 559,3198. HPLC čistoća: Metoda I: RT 6,947, površina 97,78%; Metoda II: RT 9,913, površina 96,77%.

4.2. PROTOKOLI ZA BIOLOŠKO ISPITIVANJE

4.2.1. Inhibicija humanih holinesteraza

Pufer, supstrati i reagensi

U eksperimentima je korišćen 0,1 M fosfatni pufer (pH 7,4). Pripremljen je titracijom 0,1 M rastvora Na₂HPO₄ (Kemika, Hrvatska) i NaH₂PO₄ (Kemika, Hrvatska), na 25 °C, upotrebom pH-metra SevenEasy pH sa InLab[®] 413 elektrodom (Mettler-Toledo GmbH, Švajcarska).

Supstrat je bio acetiltioholin-jodid (ATCh; Sigma Aldrich, SAD), čiji je početni rastvor 10 mM koncentracije pripreman u destilovanoj vodi. Kao tiolni reagens je korišćen 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoeva kiselina (DTNB; Sigma Aldrich, SAD), a početni 6 mM rastvor je pripreman u fosfatnom puferu. Testirana jedinjenja su rastvorena u DMSO i sva dalja razblaženja vršena su u destilovanoj vodi. Sve hemikalije su bile analitičke čistoće.

Izvori enzima

1. Izvori holinesteraza su bili rekombinantna hAChE i pročišćena hBChE, koje je ljubazno obezbedio dr Florian Nachon (Département de Toxicologie, Armed Forces Biomedical Research Institute, Brétigny-sur-Orge, Francuska). Koncentracije početnih rastvora enzima su bile: AChE: 0,20 μM; BChE: 5,6 μM.¹⁴¹ Enzimi su razblaživani u fosfatnom puferu sa dodatkom 0,1% BSA.

Merenje aktivnosti holinesteraza

Aktivnost enzima je merena spektrofotometrijski koristeći Ellman-ovu metodu. Dejstvom enzima ChE dolazi do hidrolize supstrata ATCh i nastanka tioholina (TCh). Oslobođeni TC hi tiolni DTNB reagens formiraju TNB⁻ jon, koji se detektuje u vidljivom delu spektra, dajući žuto obojenje. Porast apsorbancije TNB⁻ jona u vremenu je proporcionalan aktivnosti enzima (ΔA/min). Za AChE praćen je na talasnoj dužini od 436 nm, a za BChE na 412 nm.

Prilikom određivanja aktivnosti enzima, reakciona smeša se sastojala od fosfatnog pufera, DTNB-a, enzima i inhibitora, a neposredno pre merenja dodavan je supstrat. Kontrolna proba je sadržala vodu, fosfatni pufer, DTNB, enzim i supstrat, a slepa proba samo fosfatni pufer, supstrat i inhibitor. Finalna koncentracija DTNB je bila 0,3 mM. Krajnje razblaženje AChE bilo je 500–600 puta, u zavisnosti od uzorka, a BChE 300–400 puta.

Nisu zabeležene neenzimske reakcije testiranih jedinjenja. Krajnji udeo DMSO nije bio veći od 0,2%. Merenja su vršena na 25 °C, na čitačima mikroploča Infinite M200PRO (Tecan Austria GmbH, Salzburg, Austrija) i SpectraMax iD3 (Molecular Devices, San Jose, CA, SAD).

Određivanje procenta inhibicije^{142,143}

Aktivnosti enzima su merene pri koncentraciji ATCh od 0,10 mM, bez inhibitora (v_0) i u njihovom prisustvu (v_i), u opsegu koncentracija 0,01–20 μ M, zavisno od jedinjenja. Urađena su najmanje dva eksperimenta za svaku koncentraciju inhibitora. Procentat preostale aktivnosti enzima (%Akt) je računat jednačinom:

$$\%Akt = \frac{v_i}{v_0} \cdot 100\%$$

Zatim je procentat inhibicije (%Inh) enzima dobijen koristeći jednačinu:

$$\%Inh = 100\% - \%Akt.$$

Određivanje konstante inhibicije^{142,143,144}

Aktivnosti enzima su merene pri koncentracijama ATCh u opsegu 0,050–0,50 mM, bez inhibitora (v_0) i u njihovom prisustvu (v_i) u različitim koncentracijama (i), odabranim tako da aktivnost enzima bude inhibirana u obimu od 20% do 80% (0,001–50 μ M, zavisno od jedinjenja). Za svaku koncentraciju supstrata, korišćene su najmanje tri koncentracije inhibitora, u najmanje tri eksperimenta. Merenjem se dobija prividna konstanta inhibicije ($K_{i,app}$), koja je računata pomoću jednačine:

$$K_{i,app} = \frac{v_i}{v_0 - v_i} \cdot i$$

Dobijene vrednosti $K_{i,app}$ su nanete na grafik zavisnosti od koncentracije supstrata (s), sa sledećom jednačinom prave:

$$K_{i,app} = K_i + \frac{K_i}{K_s} \cdot s$$

Odsečak na y -osi predstavlja konstantu disocijacije kompleksa enzim-inhibitor, odnosno konstantu inhibicije (K_i), dok odsečak na x -osi određuje konstantu disocijacije kompleksa enzim-supstrat (K_s). Dodatno, na osnovu izgleda grafika određen je tip inhibicije: kompetitivni – kada je nagib prave veći od nule, nekompetitivni – kada je nagib prave blizu nule, dok je u slučaju mešovite inhibicije odnos $K_{i,app}$ i s odstupao od linearnosti.

4.2.2. Antioksidativna aktivnost

In vitro antioksidativna aktivnost je određena koristeći FRAP test. Standardni antioksidanti su bili troloks i BHT (*Sigma Aldrich*, SAD), dok je takrin (*Sigma Aldrich*, SAD) služio kao referentno jedinjenje. FRAP esej se zasniva na redukciji kompleksa gvožđa sa tripiridiltriazinom (TPTZ; *Fluka*, Švajcarska), Fe^{3+} -TPTZ u Fe^{2+} -TPTZ, dejstvom elektron-donora na niskoj pH vrednosti. Eksperiment je izveden prema objavljenoj proceduri,¹⁴⁵ koja je prilagođena za primenu na mikropločama.¹⁴⁶ FRAP reagens je pripremljen mešanjem 300 mL acetatnog pufera (pH 3,6), rastvora 10 mM TPTZ u 40 mM HCl i 20 mM $FeCl_3$ u zapreminskom odnosu 10/1/1. Smeša 240 μ L FRAP reagensa i 10 μ L rastvora uzorka se inkubira na 37 °C tokom 60 min. Zatim je merena apsorbancija na 593 nm, u odnosu na slepu probu, na čitaču mikroploča Infinite M200PRO (*Tecan Austria GmbH*, Salzburg, Austrija). Antioksidativna aktivnost je određena za 10 μ M i 100 μ M koncentracije uzoraka (standardi, referentno jedinjenje i ispitivana jedinjenja). Sva merenja su vršena u najmanje dva nezavisna eksperimenta. FRAP vrednosti su izračunate koristeći kalibracionu pravu dobijenu za $FeSO_4 \cdot 7H_2O$.

4.2.3. Helatacija biometala

Eksperiment ispitivanja sposobnosti helatacije biometala je izveden kao što je opisano u literaturi.⁸⁷ Korišćene su sledeće soli metala: $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 i $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$. Ispitivana jedinjenja i soli metala su rastvoreni u MeOH. Prilikom snimanja apsorpcionih spektara, koncentracija jedinjenja je bila 30 μM , jona metala 60 μM i isto toliko u smeši jedinjenje/metal (30/60 μM). Finalna zapremina rastvora jedinjenja, metala ili njihove smeše je iznosila 3 mL. Apsorpcioni spektri su snimani na UV-Vis spektrofotometru Cintra 6 (*GBC Scientific Eq. Pty Ltd*, Australija), u opsegu 200–800 nm, na 25 °C.

4.3. MOLEKULSKE DOKING-STUDIJE

Strukture enzima su pripremljene polazeći od kristalnih struktura slobodnih rekombinantne hAChE (PDB ID: 4EY4)¹³³ i hBChE (PDB ID: 1P0I).¹³⁴ Vezivno mesto za doking je bilo definisano kao centar aminokiselinskih ostataka, kojima je omogućena rotacija: Tyr72, Trp86, Tyr124, Tyr133, Ser203, Trp236, Trp286, Phe295, Phe297, Glu334, Tyr337, Phe338, Tyr341, His447 i Tyr449 kod AChE, odnosno Asn68, Asp70, Trp82, Gln119, Tyr128, Glu198, Ser198, Pro285, Leu286, Ser287, Trp231, Glu325, Phe329, Phe398 i His438 kod BChE.¹⁴⁷

Protokol za doking jedinjenja 41 u strukturu AChE i BChE

Ispitivani ligandi su kreirani i pripremljeni u programskom paketu ChemBio3D Ultra 13.0 (*PerkinElmer, Inc*, Waltham, MA, SAD), a doking je rađen koristeći protokole u okviru Biovia Discovery Studio Client v18.1. (*Dassault Systèmes*, Vélizy-Villacoublay, Francuska). Prilikom pripreme liganada u obzir su uzeta i različita protonovana stanja, izomeri i tautomeri na pH 7,4. Strukture liganada su zatim dokovane u enzim prema fleksibilnom doking-protokolu.¹⁴⁸

Protokol za doking jedinjenja 72, 73 i 74 u strukturu AChE

Ispitivani ligandi su pripremljeni koristeći Maestro iz Schrödinger Suite 2021-4,¹⁴⁹ a jonizabilna mesta su bila protonovana kako je predviđeno pK_a proračunima za pH 7,4. Ligandi su dokovani u aktivno mesto AChE prema InducedFit protokolu iz Schrödinger Suite 2021-4.¹⁵⁰

Prikazi aktivnog mesta model kompleksa enzim-supstrat i mape interakcija jedinjenja sa enzimom su napravljeni koristeći Discovery Studio Client v18.1. (*Dassault Systèmes*, Vélizy-Villacoublay, Francuska).

4.4. ODREĐIVANJE LIPOFILNOSTI

Reversnofaznom tankoslojnom hromatografijom je određena lipofilnost ispitivanih jedinjenja.¹⁰⁶ Korišćene su aluminijumske ploče 10×10 cm, sa slojem silika-gela RP-18W F254s (Art. 5559, *Merck*, Darmstadt, Nemačka). Ploče su razvijane u vertikalnoj komori (*CAMAG*, Muttensz, Švajcarska). Sastav mobilne faze je bio MeOH/H₂O/HCl = 70/25/5 (vol%), pH vrednosti 0,5. Individualne zone su detektovane na UV svetlosti (254 i 360 nm). Eksperimenti su izvođeni na sobnoj temperaturi (22 ± 2 °C). Kao standardi upotrebljeni su: hlorokin, oksazepam, klonazepam, 1-naftol,

2,4-dihlorfenol, lorazepam, fluoren, fenantren i antracen. Ispitivana jedinjenja i standardi su hromatografisani istovremeno. Nakon merenja R_F , izračunate su R_M vrednosti prema jednačini: $R_M = \log (1/R_F - 1)$. Na grafiku zavisnosti dobijenih R_M od poznatih $\log D$ vrednosti na pH 0,5 za korišćene standarde, metodom interpolacije određeni su koeficijenti distribucije, $\log D_{\text{exp}}$ na pH 0,5 za ispitivana jedinjenja.

5. ZAKLJUČAK

Tokom izrade disertacije sintetisano je ukupno 29 hibrida, od kojih su 26 nova jedinjenja, primenom metoda organske sinteze opisanih u literaturi. Sva jedinjenja su prečišćena, okarakterisana spektroskopskim metodama (FTIR, 1D NMR (^1H , ^{13}C), 2D NMR (COSY, HSQC), HRMS) i određena im je HPLC čistoća.

Modifikacije **4AQ-Ad** hibrida su vršene promenom strukture linkera, supstituenta u položaju C(7) na hinolinskom prstenu, dužine niza između terminalne amino-grupe i adamantana, izmenom okruženja terminalne amino-grupe i uvođenjem supstituenta na adamantil-fragment.

Set 29 dobijenih jedinjenja je u svrhu analize odnosa struktura-aktivnost dopunjen ustupljenim **4AQ-Ad** hibridima, te je za ukupno 38 jedinjenja prvi put određena *in vitro* inhibitorna aktivnost prema rekombinantnoj hAChE i pročišćenoj hBChE.

Svi **4AQ-Ad** hibridi su reverzibilno inhibirali oba enzima. Na osnovu dobijenih rezultata inhibicije holinesteraza uočeno je da: 1) sposobnost inhibicije raste produženjem linkera i povećanjem fleksibilnosti; 2) promena supstituenta u položaju C(7) hinolina (Cl, CF₃ ili H) nema značajan uticaj na aktivnost; 3) dodatni supstituent na terminalnoj amino-grupi značajno utiče na sposobnost inhibicije; 4) aktivnost derivata sa srodnim heterocikličnim sistemom je zavisila u većoj meri od položaja supstitucije, nego od vrste heteroatoma; 5) dodatni supstituent na adamantil-grupi doprinosi dobroj inhibiciji.

Kinetičkim ispitivanjima utvrđeni su kompetitivni, nekompetitivni i mešoviti tip inhibicije i nije uočena značajnija selektivnost ni prema jednom od enzima.

Najveću inhibitornu aktivnost su pokazali hibridi **41**, sa *n*-oktilenskim linkerom ($K_i = 0,075 \mu\text{M}$ za hAChE i $K_i = 0,091 \mu\text{M}$ za hBChE), koji pokazuje mešoviti tip inhibicije, i **67**, sa istim linkerom i *N*-metilindolskim jezgrom ($K_i = 0,097 \mu\text{M}$ za hAChE i $K_i = 0,082 \mu\text{M}$ za hBChE), koji pokazuje kompetitivni (hAChE) i nekompetitivni (hBChE) tip inhibicije.

Jedinjenja **41** i **67** poseduju oko 2 puta manju sposobnost inhibicije hAChE u poređenju sa takrinom, dok im se aktivnost nalazi između donepezila i galantamina. Inhibitorni potencijal prema hBChE je 13 do 14 puta manji nego takrina, ali su 12 do 13 puta aktivniji od galantamina i više od 20 puta aktivniji od donepezila.

Dobar *in vitro* antioksidativni potencijal je pokazalo jedinjenje **49**, sa naftalenskim prstenom u linkeru, derivati benzena **47** i **48**, **61**, sa najdužim nizom između hinolinskog i adamantanskog dela, i **67**, koji sadrži *N*-metilindolsko jezgro, blagi su antioksidanti, dok su ostali **4AQ-Ad** hibridi posedovali slabu antioksidativnu aktivnost.

Ispitivanjem sposobnosti helatacije biometala odabranih **4AQ-Ad** hibrida, zaključeno je da najaktivniji inhibitori holinesteraza, **41** i **67**, hibrid **62**, sa CF₃-grupom, kao i **72** i **73**, sa funkcionalizovanim adamantanom, kompleksiraju jone Cu²⁺ i Fe²⁺, a da jedinjenje **71**, koje sadrži imidazolovo jezgro, dodatno kompleksira i jone Zn²⁺.

Molekulski doking liganda **41** u aktivno mesto hAChE i hBChE predviđa istovremeno ostvarivanje interakcija u CAS i PAS, što upućuje na mogućnost dualnog načina vezivanja ovog hibrida za obe holinesteraze. Rezultati molekulskog dokinga jedinjenja **72**, **73** i **74** predviđaju njihovu različitu orijentaciju u aktivnom mestu hAChE usled specifičnih interakcija između supstituenta na adamantil-grupi i amino-kiselina u CAS i PAS.

Većina ispitivanih **4AQ-Ad** hibrida je pokazala slab potencijal primene kao leka, na osnovu analize *in silico* dobijenih fizičko-hemijskih parametara. Primenom metode zasnovane na pravilima Lipinskog, devet jedinjenja ne krši nijedno pravilo i mogu se označiti kao oralno aktivni. Ovih devet

jedinjenja je prema rezultatima CNS MPO algoritma, koji uzima u obzir i doprinos $\log D$ i pK_a najbazijske grupe, pokazalo umerenu sposobnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru. Najznačajnija smernica za dalju modifikaciju hibrida jeste povećanje njihove polarnosti.

U okviru ove doktorske disertacije identifikovana su dva perspektivna **4AQ-Ad** hibrida – **41** i **67**, koja su pokazala višedirekcionu aktivnost, kao potentni inhibitori holinesteraza sa sposobnošću kompleksiranja jona Cu^{2+} i Fe^{2+} . Hibrid **67** poseduje i umeren antioksidativni kapacitet. Molekulski doking predviđa dualni način vezivanja liganda **41** u aktivno mesto obe holinesteraze. Iako rezultati *in silico* proračuna ukazuju na nisku oralnu aktivnost i slab potencijal prolaska kroz krvno-moždanu barijeru, pre svega usled visoke lipofilnosti, oni su ujedno i putokazi za poboljšanje farmakološkog profila ciljanim strukturnim modifikacijama.

Potencijal za dalja ispitivanja i razvoj poseduju jedinjenja sa supstituisanim adamantil-fragmentom i amidnom grupom u linkeru.

6. LITERATURA

1. A blueprint for dementia research. Geneva: World Health Organization; **2022**, ISBN 978-92-4-005824-8.
2. Alzheimer's Association Report. 2021 Alzheimer's Disease Facts and Figures, *Alzheimer's Dement.* **2021**, *17*, 327–406.
3. Alzheimer's Association Report. 2024 Alzheimer's Disease Facts and Figures, *Alzheimers Dement.* **2024**, *20* (5).
4. Vermunt L., Sikkes S.A.M., van den Hout A., Handels R., Bos I., van der Flier W.M., Kern S., Ousset P.J., Maruff P., Skoog I., Verhey F.R.J., Freund-Levi Y., Tsolaki M., Wallin Å.K., Olde Rikkert M., Soininen H., Spuru L., Zetterberg H., Blennow K., Scheltens P., Muniz-Terrera G., Visser P.J.; Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative; AIBL Research Group; ICTUS/DSA study groups. *Alzheimers Dement.* **2019**, *15*, 888-898.
5. Pavlović D.M., Pavlović A.M., Žugić S. *Vojnosanitetski pregled* **2007**, *64*, 765-772.
6. Samieri C., Perier M.C., Gaye B., Proust-Lima C., Helmer C., Dartigues J.F., Berr C., Tzourio C., Empana J.P. *JAMA* **2018**, *320*, 657-664.
7. Livingston G., Huntley J., Sommerlad A., Ames D., Ballard C., Banerjee S., Brayne C., Burns A., Cohen-Mansfield J., Cooper C., Costafreda S.G., Dias A., Fox N., Gitlin L.N., Howard R., Kales H.C., Kivimäki M., Larson E.B., Ogunniyi A., Orgeta V., Ritchie K., Rockwood K., Sampson E.L., Samus Q., Schneider L.S., Selbæk G., Teri L., Mukadam N. *Lancet* **2020**, *396*, 413-446.
8. Sharma, P., Srivastava, P., Seth, A., Tripathi, P.N., Banerjee, A.G., Shrivastava, S.K. *Prog. Neurobiol.* **2019**, *174*, 53-89.
9. Hardy, J.A., Higgins, G.A. *Science*, **1992**, *256*, 184-185.
10. Chen G.-F., Xu T.-H., Yan Y., Zhou Y.-R., Jiang Y., Melcher K., Xu H.E. *Acta Pharmacol. Sin.* **2017**, *38*, 1205-1235.
11. Broersen K., Rousseau F., Schymkowitz J. *Alzheimer's Res. Ther.* **2010**, *2*, 12.
12. a) Zhang Y., Chen H., Li R., Sterling K., Song W. *Sig. Transduct. Target. Ther.* **2023**, *8*, 248; b) Giacobini E., Gold G. *Nat. Rev. Neurol.* **2013**, *9*, 677-686.
13. Moussa-Pacha N.M., Abdin S.M., Omar H.A., Alniss H., Al-Tel T.H. *Med. Res. Rev.* **2020**, *40*, 339-384.
14. Barbier P., Zejneli O., Martinho M., Lasorsa A., Belle V., Smet-Nocca C., Tsvetkov P.O., Devred F., Landrieu I. *Front. Aging. Neurosci.* **2019**, *11*, 204.
15. Khatoon S., Grundke-Iqbal I., Iqbal K. *FEBS Lett.* **1994**, *351*, 80-84.
16. Šimić G., Babić Leko M., Wray S., Harrington C., Delalle I., Jovanov-Milošević N., Bažadona D., Buee L., De Silva R., Di Giovanni G. *Biomolecules* **2016**, *6*, 6.
17. Zhang J., Zhang Y., Wang J., Xia Y., Zhang J., Chen L. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2024**, *9*, 211.
18. Ferreira-Vieira T.H., Guimaraes I.M., Silva F.R., Ribeiro F.M. *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, *14*, 101-115.
19. García-Ayllón M.-S., Small D.H., Avila J., Sáez-Valero J., *Front. Mol. Neurosci.* **2011**, *4*, 22.
20. Inestrosa N.C., Alvarez A., Perez C.A., Moreno R.D., Vicente M., Linker C., Casanueva O.I., Soto C., Garrido J. *Neuron* **1996**, *16*, 881-891.
21. Sharma P., Sharma S., Yadav Y., Shukla P., Sagar R. *Bioorg. Med. Chem.* **2024**, *113*, 117926.
22. Bosak A., Katalinić M., Kovarik Z. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **2011**, *62*, 175-190.
23. Mesulam M., Guillozet A., Shaw P., Quinn B. *Neurobiol. Dis.* **2002**, *9*, 88-93.
24. Mesulam M.-M., Guillozet A., Shaw P., Levey A., Duysen E.G., Lockridge O. *Neuroscience* **2002**, *110*, 627-639.
25. Giacobini E. *Neurochem. Res.* **2003**, *28*, 515-522.
26. Lovell M.A., Robertson J.D., Teesdale W.J., Campbell J.L., Markesbery W.R. *J. Neurol. Sci.* **1998**, *158*, 47-52.
27. Greenough M.A., Camakaris J., Bush A.I. *Neurochem. Int.* **2013**, *62*, 540-555.

28. Li Y., Jiao Q., Xu H., Du X., Shi L., Jia F., Grubbrucker A.M. *Front. Mol. Neurosci.* **2017**, *10*, 1-18.
29. Huang X., Moir R.D., Tanzi R.E., Bush A.I., Rogers, J.T. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2004**, *1012*, 153-163.
30. Wang L., Yin Y.-L., Liu X.-Z., Shen P., Zheng Y.-G., Lan X.-R., Lu C.-B., Wang J.-Z. *Transl. Neurodegener.* **2020**, *9*, 10.
31. Pratico D., Uryu K., Leight S., Trojanowski J.Q., Lee V.M. *J. Neurosci.* **2001**, *21*, 4183-4187.
32. Butterfield D.A., Drake J., Pocernich C., Castegna A. *Trends Mol. Med.* **2001**, *7*, 548-554.
33. Lin M.T., Beal M.F. *Nature* **2006**, *443*, 787-795.
34. Dhapola R., Beura S.K., Sharma P., Singh S.K., HariKrishnaReddy D. *Mol. Biol. Rep.* **2024**, *51*, 48.
35. Ramsay R.R., *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2016**, *69*, 81-89.
36. 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.
37. Kaur D., Sharma V., Deshmukh R. *Inflammopharmacology* **2019**, *27*, 663-677.
38. Liu P.P., Xie Y., Meng X.Y., Kang J.S. *Signal Transduct. Target Ther.* **2019**, *4*, 29.
39. V. Bhardwaj, S. Kumari, R. Dhapola, P. Sharma, S. K. Beura, S. K. Singh, B. Vellingiri, D. HariKrishnaReddy *Inflammopharmacology* **2025**, *33*, 679-702.
40. <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/treatments/navigating-treatment-options#symptoms> (pristupljeno 8.4.2025).
41. Alzheimer's disease EU-IN Horizon Scanning Report November **2024** EMA/540805/2024
42. Kim A.Y., Al Jerdi S., MacDonald R., Triggler C.R. *Front. Pharmacol.* **2024**, *15*, 1399121.
43. a) <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/treatments/medications-for-memory> (pristupljeno 11.4.2025); b) Bakker C., van der Aart J., Hart E.P., Klaassen E.S., Bergmann K.R., van Esdonk M.J., Kay D.G., Groeneveld G.J. *Alzheimer's Dement.* **2020**, *6*, e12093.
44. Mesiti F., Chavarria D., Gaspar A., Alcaro S., Borges F., *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *181*, 111572.
45. a) <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/treatments/donanemab> (pristupljeno 8.4.2025); b) <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/treatments/lecanemab-leqembi> (pristupljeno 8.4.2025).
46. Blaikie L., Kay G., Lin P.K.T. *Med. Chem. Commun.* **2019**, *10*, 2052-2072.
47. Martins M.M., Branco P.S., Ferreira L.M. *ChemistrySelect* **2023**, *8*, e202300461.
48. Agatonovic-Kustrin S., Kettle C., Morton D.W. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *106*, 553-565.
49. Romero A., Cacabelos R., Oset-Gasque M.J., Samadi A., Marco-Contelles J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 1916-1922.
50. Zha X., Lamba D., Zhang L., Lou Y., Xu C., Kang D., Chen L., Xu Y., Zhang L., De Simone A., Samez S., Pesaresi A., Stojan J., López M.G., Egea J., Andrisano V., Bartolini M. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 114-131
51. Chalupova K., Korabecny J., Bartolini M., Monti B., Lamba D., Caliandro R., Pesaresi A., Brazzolotto X., Gastellier A.-J., Nachon F., Pejchal J., Jarosova M., Hepnarova V., Jun D., Hrabanova M., Dolezal R., Zdarova Karasova J., Mzik M., Kristofikova Z., Misik J., Muckova L., Jost P., Soukup O., Benkova M., Setnicka V., Habartova L., Chvojikova 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.
52. Bartolini M., Bertucci C., Cavrini V., Andrisano V. *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *65*, 407-416.
53. Camps P., Formosa X., Galdeano C., Gómez T., Muñoz-Torrero D., Scarpellini M., Viayna E., Badia A., Clos M.V., Camins A., Pallàs M., Bartolini M., Mancini F., Andrisano V., Estelrich J., Lizondo M., Bidon-Chanal A., Luque F.J. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3588-3598
54. Marco-Contelles J., Unzeta M., Bolea I., Esteban G., Ramsay R.R., Romero A., Martínez-Murillo R., Carreiras M.C., Ismaili L. *Front. Neurosci.* **2016**, *10*, 294.
55. Legoabe L.J., Petzer A., Petzer J.P. *Drug. Des. Devel. Ther.* **2015**, *9*, 3635-3644.

56. Deng C., Mi J., Zhou Y., Li X., Liu Z., Sang Z., Li H., *Med. Chem. Res.* **2022**, *31*, 1035-1048.
57. Rosini M., Andrisano V., Bartolini M., Bolognesi M.L., Hrelia P., Minarini A., Tarozzi A., Melchiorre C. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 360-363.
58. Scipioni M., Kay G., Megson I., Kong Thoo Lin P. *Med. Chem. Commun.* **2019**, *10*, 764-777.
59. Hiremathad A., Keri R.S., Esteves A.R., Cardoso S.M., Chaves S., Santos M.A. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *148*, 255-267.
60. Kochi A., Eckroat T.J., Green K.D., Mayhoub A.S., Lim M.H., Garneau-Tsodikova S. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 4137-4145.
61. Rastegari A., Safavi M., Vafadarnejad F., Najafi Z., Hariri R., Bukhari S.N.A., Iraj A., Edraki N., Firuzi O., Saeedi M., Mahdavi M., Akbarzadeh T. *Mol. Divers.* **2022**, *26*, 409-428.
62. Zhou Y., He Y., Teng X., Mi J., Yang J., Wei R., Liu W., Ma Q., Tan Z., Sang Z. *Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2023**, *38*, 2231661.
63. Fang L., Shen S., Liu Q., Liu Z., Zhao J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2022**, *75*, 128976.
64. Takada-Takatori Y., Kume T., Sugimoto M., Katsuki H., Sugimoto H., Akaike A., *Neuropharmacology* **2006**, *51*, 474-486.
65. Simoni E., Daniele S., Bottegoni G., Pizzirani D., Trincavelli M.L., Goldoni L., Tarozzo G., Reggiani A., Martini C., Piomelli D., Melchiorre C., Rosini M., Cavalli A. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9708-9721.
66. Marotta G., Basagni F., Rosini M., Minarini A. *Molecules* **2020**, *25*, 4005.
67. Senerovic L., Opsenica D., Moric I., Aleksic I., Spasić M., Vasiljevic B. In: Donelli, G. (ed) *Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health. Advances in Experimental Medicine and Biology*, **2019**, *1282*, 37-69. *Springer, Cham*.
68. Krafts K., Hempelmann E., Skórska-Stania A. *Parasitol. Res.* **2012**, *111*, 1-6.
69. <https://list.essentialmeds.org/medicines/275> (pristupljeno 8.4.2025).
70. <https://list.essentialmeds.org/medicines/276> (pristupljeno 8.4.2025).
71. a) Akpovwa H. *Cell. Biochem. Funct.* **2016**, *34*, 191-196; b) Devaux C.A., Rolain J.M., Colson P., Raoult D. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2020**, *55*, 105938; c) Rolain J.M., Colson P., Raoult D. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2007**, *30*, 297-308; d) Varisli L., Cen O., Vlahopoulos S. *Immunology*, **2020**, *159*, 257-278.
72. Faux N.G., Ritchie C.W., Gunn A., Rembach A., Tsatsanis A., Bedo J., Harrison J., Lannfelt L., Blennow K., Zetterberg H., Ingelsson M., Masters C.L., Tanzi R.E., Cummings J.L., Herd C.M., Bush A.I.J. *Alzheimer's Dis.* **2010**, *20*, 509-516.
73. <https://www.alzforum.org/therapeutics/pbt2> (pristupljeno 31.3.2025).
74. Fernández-Bachiller M.I., Pérez C., González-Muñoz G.C., Conde S., López M.G., Villarroja M., García A.G., Rodríguez-Franco M.I. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4927-4937.
75. Antequera D., Bolos M., Spuch C., Pascual C., Ferrer I., Fernandez-Bachiller M.I., Rodríguez-Franco M.I., Carro E., *Neurobiol. Dis.* **2012**, *46*, 682-691.
76. Li X., Li T., Zhang P., Li X., Lu L., Sun Y., Zhang B., Allen S., White L., Phillips J., Zhu Z., Yao H., Xu J. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, *244*, 114841.
77. Chen H., Mi J., Li S., Liu Z., Yang J., Chen R., Wang Y., Ban Y., Zhou Y., Dong W., Sang Z. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2023**, *38*, 2169682.
78. Li Q., Chen Y., Xing S., Liao Q., Xiong B., Wang Y., Lu W., He S., Feng F., Liu W., Chen Y., Sun H. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 6856-6876.
79. Caporaso G.L., Gandy S.E., Buxbaum J.D., Greengard P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1992**, *89*, 2252-2256.
80. Katewa S.D., Katyare S. S. *Drug Chem. Toxicol.* **2005**, *28*, 467-482.
81. Han Y.F., Li C.P.-L., Chow E., Wang H., Pang Y.-P., Carlier P.R. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 2569-2575.
82. Chen Y., Bian Y., Sun Y., Kang C., Yu S., Fu T., Li W., Pei Y., Sun H. *PeerJ* **2016**, *4*, e2140.
83. Zhu J., Yang H., Chen Y., Lin H., Li Q., Mo J., Bian Y., Pei Y., Sun H. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2018**, *33*, 496-506.

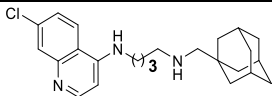
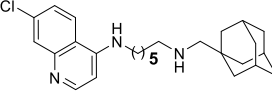
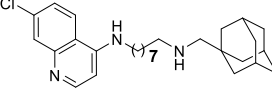
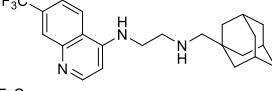
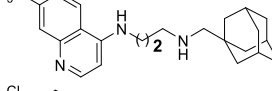
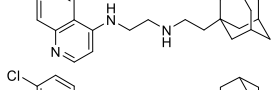
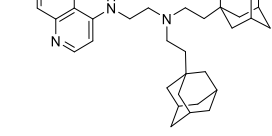
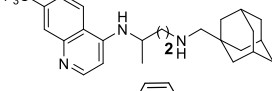
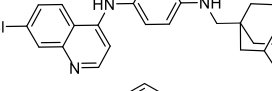
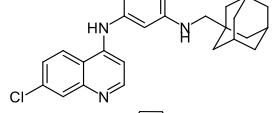
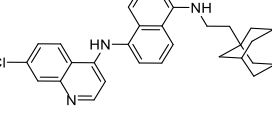
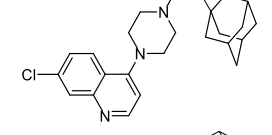
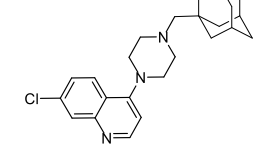
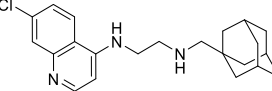
84. Chen Y., Lin H., Zhu J., Gu K., Li Q., He S., Lu X., Tan R., Pei Y., Wu L., Bian Y., Sun H. *RSC Adv.* **2017**, 7, 33851-33867.
85. Mo J., Yang H., Chen T., Li Q., Lin H., Feng F., Liu W., Qu W., Guo Q., Chi H., Chen Y., Sun H. *Bioorg. Chem.* **2019**, 93, 103310.
86. Chen Y., Zhang W., Li Q., Xie H., Xing S., Lu X., Lyu W., Xiong B., Wang Y., Qu W., Liu W., Chi H., Zhang X., Feng F., Sun H. *Eur. J. Med. Chem.* **2024**, 272, 116463.
87. Matošević A., Opsenica D.M., Spasić M., Maraković N., Zandona A., Žunec S., Bartolić M., Kovarik Z., Bosak A. *Chem.-Biol. Interact.* **2023**, 382, 110620.
88. Bosak A., Opsenica D.M., Šinko G., Zlatar M., Kovarik Z. *Chem.-Biol. Interact.* **2019**, 308, 101-109.
89. Terzić-Jovanović N., Derivati diaminoalkiladamantana sa supstituisanim hinolinima kao inhibitori parazita *Plasmodium falciparum* i botulinum neurotoksina, Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, **2017**.
90. Konstantinović J., Videnović M., Orsini S., Bogojević K., D'Alessandro S., Scaccabarozzi D., Terzić Jovanović N., Gradoni L., Basilico N., Šolaja B.A. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, 9, 629-634.
91. Aleksić I., Šegan S., Andrić F., Zlatović M., Moric I., Opsenica D.M., Senerovi L. *ACS Chem. Biol.* **2017**, 12, 1425-1434.
92. Solomon V.R., Pundir S., Lee, H. *Sci. Rep.* **2019**, 9, 6315.
93. Šolaja B.A., Opsenica D., Smith K.S., Milhous W.K., Terzić N., Opsenica I., Burnett J.C., Nuss J., Gussio R., Bavari S. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 4388-4391.
94. Terzić N., Konstantinović J., Tot M., Burojević J., Djurković-Djaković O., Srbijanović J., Štajner T., Verbić T., Zlatović M., Machado M., Albuquerque I.S., Prudêncio M., Sciotti R.J., Pecic S., D'Alessandro S., Taramelli D., Šolaja B.A. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 264-281.
95. Valente S., Liu Y., Schnekenburger M., Zwergel C., Cosconati S., Gros C., Tardugno M., Labella D., Florean C., Minden S., Hashimoto H., Chang Y., Zhang X., Kirsch G., Novellino E., Arimondo P.B., Miele E., Ferretti E., Gulino A., Diederich M., Cheng X., Mai A. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 701-713.
96. Otevrel J., Bobal P., Zadrazilova I., Govender R., Pesko M., Keltosova S., Kolečkarova P., Marsalek P., Imramovsky A., Coffey A., O'Mahony J., Kollar P., Cizek A., Kralova K., Jampilek J. *Molecules* **2013**, 18, 10648-10670.
97. Kumar A., Srivastava K., Kumar S.R., Siddiqi M.I., Puri S.K., Sexana J.K., Chauhan P.M.S. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 676-690.
98. Simanek E.E., Mammen M., Gordon D.M., Chin D., Mathias J.P., Seto C.T., Whitesides G.M. *Tetrahedron* **1995**, 51, 607-619.
99. Liu Y.-S., Zhao C., Bergbreiter D.E., Romo D. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 3471-3473.
100. Prabha K., Rajendra Prasad K.J. *Med. Chem. Commun.* **2013**, 4, 340-346.
101. Viswas R.S., Pundir S., Lee H. *J. Enz. Inh. Med. Chem.* **2019**, 34, 620-630.
102. Sen C., Sahoo T., Singh H., Suresh E., Ghosh S.C. *J. Org. Chem.* **2019**, 84, 9869-9896.
103. Ritu, Das S., Tian Y.-M., Karl T., Jain N., König B. *ACS Catal.* **2022**, 12, 10326-10332.
104. Webster S.P., Ward P., Binnie M., Craigie E., McConnell K.M.M., Sooy K., Vinter A., Seckl J.R., Walker B.R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 2838-2843.
105. Merck and Co. Inc., Lumma W.C.JR., Smith A.M., Sisko J.T. WO0051547A2, 8. Septembar **2000**.
106. Aleksić I., Jeremic J., Milivojević D., Ilić-Tomic T., Šegan S., Zlatović M., Opsenica D.M., Senerovic L. *ACS Chem. Biol.* **2019**, 14, 2800-2809.
107. Yang M.-R., Qin Y.-J., Chen C., Zhang Y.-L., Li B.-Y., Liu T.-B., Gong H.-B., Wang B.-Z., Zhu H.-L. *RSC Adv.* **2016**, 6, 30412-30424.
108. Li J., Jiang X., Gan R., Zhang M., Pan X., Hu X. *Res. Chem. Intermed.* **2016**, 42, 5709-5721.
109. Anderson G.L., Burks W.A., Harruna I.I. *Synth. Commun.* **1988**, 18, 1967-1974.
110. Harman D.G., Blanksby S.J. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 3495-3503.

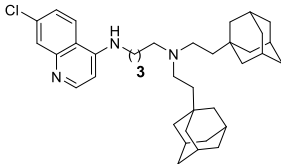
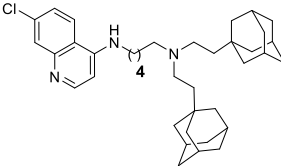
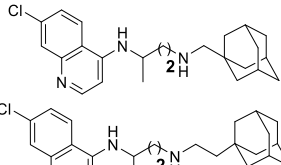
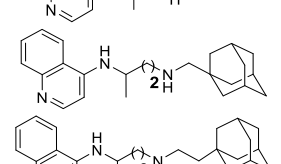
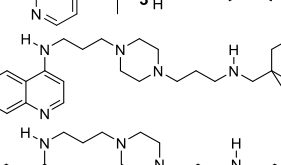
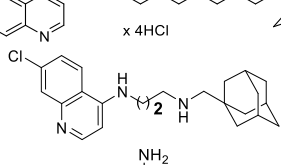
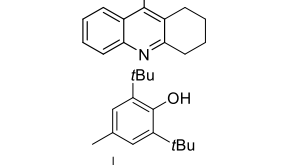
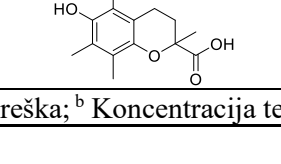
111. Kawamoto T., Fukuyama T., Ryu I. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 875-877.
112. Wang L., Doherty G.A., Judd A.S., Tao Z.-F., Hansen T.M., Frey R.R., Song X., Bruncko M., Kunzer A.R., Wang X., Wendt M.D., Flygare J.A., Catron N.D., Judge R.A., Park C.H., Shekhar S., Phillips D.C., Nimmer P., Smith M.L., Tahir S.K., Xiao Y., Xue J., Zhang H., Le P.N., Mitten M.J., Boghaert E.R., Gao W., Kovar P., Choo E.F., Diaz D., Fairbrother W.J., Elmore S.W., Sampath D., Levenson J.D., Souers A.J. *ACS Med. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 1829-1836.
113. Bott K. *Chem. Ber.* **1968**, *101*, 564-573.
114. Yamane H., Okada Y., Matsumoto N. JP2007153803A, 21. Jun **2007**.
115. Opsenica I., Terzić N., Opsenica D., Angelovski G., Lehnig M., Eilbracht P., Tinant B., Juranić Z., Smith K.S., Yang Y.S., Diaz D.S., Smith P.L., Milhous W.K., Doković D., Šolaja B.A. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3790-3799.
116. Bae H., Park J., Yoon R., Lee S., Son J. *RSC Adv.* **2024**, *14*, 9440-9444.
117. Fărcasiu D., Jähme J., Rüchardt C. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5717-5722.
118. Koch H., Haaf W. *Org. Synth.* **1973**, *Coll. Vol. 5*, 739.
119. Liu M., Chen Y., Fu N. *Synth. Commun.* **2013**, *43*, 1055-1062.
120. Šilhár P., Silvaggi N.R., Pellett S., Čapková K., Johnson E.A., Allen K.N., Janda K.D. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 1344-1348.
121. SciFinder; Chemical Abstracts Service: Columbus, OH; <https://scifinder.cas.org> (pristupljeno 2.4.2025).
122. Starčević K., Pešić D., Toplak A., Landek G., Alihodžić S., Herreros E., Ferrer S., Spaventi R., Perić M. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 365-378.
123. Aly E.I. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* **2011**, *49*, 59-66.
124. Goodacre S.C., Williams K., Price S., Dyke H.J., Montana J.G., Stanley M.S., Bao L., Lee W. WO2008067481A1, 5. Jun **2008**.
125. Ghalehshahi H.G., Balalaie S., Sohbaty H.R., Azizian H., Alavijeh M.S. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2019**, *352*, e1800247.
126. Hennig A.-L.K., Deodato D., Asad N., Herbivo C., Dore T.M. *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 726-744.
127. Ma D., Cai Q., Zhang H. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2453-2455.
128. Morrell A., Placzek M.S., Steffen J.D., Antony S., Agama K., Pommier Y., Cushman M. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2040-2048.
129. Milelli A., Marchetti C., Greco M.L., Moraca F., Costa G., Turrini E., Catanzaro E., Betari N., Calcabrini C., Sissi C., Alcaro S., Fimognari C., Tumiatti V., Minarini A. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *128*, 107-122.
130. Martin B., Possémé F., Le Barbier C., Carreaux F., Carboni B., Seiler N., Moulinoux J.-P., Delcros J.-G. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3653-3664.
131. Nandi N., Gayen K., Ghosh S., Bhunia D., Kirkham S., Sen S.K., Ghosh S., Hamley I.W., Banerjee A. *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 3621-3629.
132. Darvesh S., Walsh R., Kumar R., Caines A., Roberts S., Magee D., Rockwood K., Martin E. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **2003**, *17*, 117-126.
133. 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.
134. Nicolet Y., Lockridge O., Masson P., Fontecilla-Camps J.C., Nachon F. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 41141-41147.
135. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 4-17.
136. Chemaxon Calculation Module 2022; <https://chemicalize.com/> (pristupljeno 20.1.2025).
137. Wager T.T., Hou X., Verhoest P.R., Villalobos A. *ACS Chem. Neurosci.* **2016**, *7*, 767-775.
138. Wager T.T., Hou X., Verhoest P.R., Villalobos A. *ACS Chem. Neurosci.* **2010**, *1*, 435-449.
139. a) Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3-26; b) Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.-Y., Smith B.R., Ward K.W., Kopple K.D. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2615-2623.

-
140. Cheruku S.R., Maiti S., Dorn A., Scorneaux B., Bhattacharjee A.K., Ellis W.Y., Vennerstrom J.L. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 3166-3169.
141. Kovarik Z., Bosak A., Šinko G., Latas, T. *Croat. Chem. Acta* **2003**, 76, 63-67.
142. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.JR., Featherstone R.M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88-95.
143. Simeon-Rudolf V., Šinko G., Štuglin A., Reiner E., *Croat. Chem. Acta* **2001**, 74, 173-182.
144. Eyer P., Worek F., Kiderlen D., Sinko G., Stuglin A., Simeon-Rudolf V., Reiner E. *Anal. Biochem.* **2003**, 312, 224-227.
145. Benzie I.F., Strain, J.J. *Methods Enzymol.* **1999**, 299, 15-27.
146. Jalili-Baleh L., Nadri H., Forootanfar H., Küçükkılınç T.T., Ayazgök B., Sharifzadeh M., Rahimifard M., Baeeri M., Abdollahi M., Foroumadi A., Khoobi M. *DARU J. Pharm. Sci.* **2021**, 29, 23-38.
147. a) Xu Y., Colletier J.-P., Weik M., Jiang H., Moulton J., Silman I., Sussman J.L. *Biophys. J.* **2008**, 95, 2500-2511; b) Šinko G. *Chem.-Biol. Interact.* **2019**, 308, 216-223; c) Rosenberry T.L., Brazzolotto X., Macdonald I.R., Wandhammer M., Trovaslet-Leroy M., Darvesh S., Nachon F. *Molecules* **2017**, 22, 2098.
148. Koska J., Spassov V.Z., Maynard A.J., Yan L., Austin N., Flook P.K., Venkatachalam C.M. *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, 48, 1965-1973.
149. Schrödinger release 2021–4: Maestro. New York (NY): Schrödinger, LLC
150. Schrödinger release 2021–4: InducedFit protocol, Glide. New York (NY): Schrödinger, LLC; 2021.

7. PRILOG I

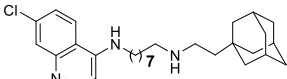
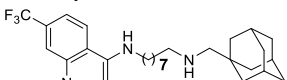
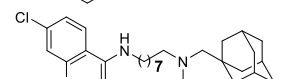
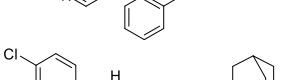
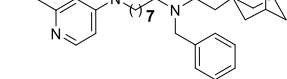
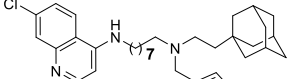
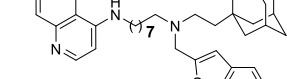
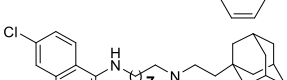
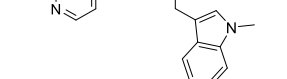
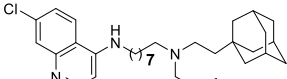
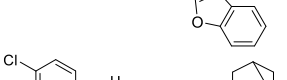
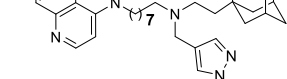
Tabela P1. FRAP vrednosti hibrida 38–60.

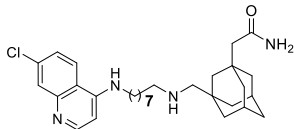
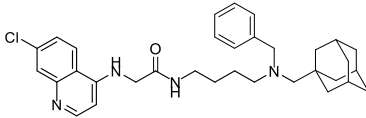
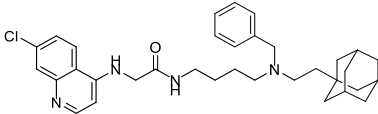
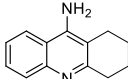
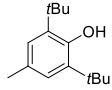
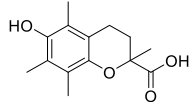
Jedinjenje		FRAP (μM) $\pm$ SG ^a	
		10 μM ^b	100 μM ^b
39		0	38 $\pm$ 6
40		1,9 $\pm$ 0,5	58 $\pm$ 10
41		9,5 $\pm$ 1,9	82 $\pm$ 4
42		4,6 $\pm$ 0,8	25 $\pm$ 6
43		7,1 $\pm$ 2,1	21 $\pm$ 7
44		33 $\pm$ 12	62 $\pm$ 7
45		3,4 $\pm$ 0,0	29 $\pm$ 6
46		19 $\pm$ 7	64 $\pm$ 5
47		53 $\pm$ 4	512 $\pm$ 117
48		22 $\pm$ 6	300 $\pm$ 32
49		336 $\pm$ 12	2450 $\pm$ 210
50		6,0 $\pm$ 2,0	15 $\pm$ 5
51		2,9 $\pm$ 1,1	6,3 $\pm$ 1,6
52		2,4 $\pm$ 1,3	20 $\pm$ 4

53		13 ± 4	90 ± 6
54		$5,3 \pm 1,4$	23 ± 4
55		$24,2 \pm 0,0$	37 ± 7
56		$7,6 \pm 2,3$	86 ± 8
57		$9,3 \pm 2,2$	224 ± 21
58		$4,1 \pm 0,4$	46 ± 4
59		11 ± 3	34 ± 8
60		$1,4 \pm 0,1$	20 ± 5
38		19 ± 2	64 ± 5
Takrin		$3,4 \pm 0,0$	15 ± 2
BHT		480 ± 33	3021 ± 117
Troloks		523 ± 8	5812 ± 68

^a SG – standardna greška; ^b Koncentracija testiranog jedinjenja.

Tabela P2. FRAP vrednosti hibrida 61–76.

Jedinjenje		FRAP (μM) $\pm$ SG ^a	
		10 μM ^b	100 μM ^b
61		30 $\pm$ 2	321 $\pm$ 5
62		8,8 $\pm$ 1,7	143 $\pm$ 4
63		7,9 $\pm$ 1,6	99 $\pm$ 1
64		13 $\pm$ 3	86 $\pm$ 5
65		11 $\pm$ 2	84 $\pm$ 5
66		7,7 $\pm$ 2,0	74 $\pm$ 7
67		49 $\pm$ 3	567 $\pm$ 23
68		6,5 $\pm$ 2,3	79 $\pm$ 7
69		9,5 $\pm$ 1,8	101 $\pm$ 4
70		8,2 $\pm$ 1,0	76 $\pm$ 5
71		19 $\pm$ 4	53 $\pm$ 4
72		18 $\pm$ 4	86 $\pm$ 8
73		10 $\pm$ 1,5	39 $\pm$ 2

74		22 ± 4	183 ± 4
75		$9,3 \pm 2,2$	24 ± 8
76		$8,4 \pm 1,7$	40 ± 3
Takrin		$7,9 \pm 1,3$	35 ± 1
BHT		184 ± 10	3175 ± 112
Troloks		886 ± 5	7417 ± 365

^a SG – standardna greška; ^b Koncentracija testiranog jedinjenja.

Tabela P3. Vrednosti CNS MPO parametra testiranih jedinjenja.

Jedinjenje	CNS MPO	Jedinjenje	CNS MPO
39	3,2	59	2,9
40	2,8	60	2,7
41	2,2	61	1,9
42	3,3	62	1,9
43	3,1	63	1,2
44	3,5	64	1,4
45	1,6	65	1,4
46	2,8	66	1,4
47	2,9	67	1,6
48	2,9	68	1,9
49	2,5	69	2,5
50	2,4	70	2,5
51	2,6	71	2,8
52	3,7	72	2,4
53	1,2	73	1,7
54	1,2	74	2,2
55	3,2	75	2,0
56	3,0	76	1,6
57	3,8	38	3,5
58	3,1	Takrin	5,1

BIOGRAFIJA AUTORA

Katarina Komatović (rođ. Bogojević) je rođena 20. novembra 1991. godine u Beogradu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Osnovne akademske studije na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu upisala je 2010. godine i završila 2014. godine sa prosečnom ocenom 9,77. Završni rad pod nazivom „Novi aminohinolinski derivati benzotiofena kao inhibitori botulinum neurotoksina serotipa A” odbranila je na Katedri za organsku hemiju sa ocenom 10 i stekla zvanje Diplomirani hemičar. Iste godine je upisala master akademske studije na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu i završila 2015. godine sa prosečnom ocenom 9,50. Diplomski rad pod nazivom „Dizajn i sinteza novih derivata benzotiofena kao potencijalnih inhibitora botulinum neurotoksina serotipa A” odbranila je na Katedri za organsku hemiju sa ocenom 10 i stekla zvanje Master hemičar.

Doktorske akademske studije, studijski program Hemija, upisala je 2015. godine na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu. Školske 2020/21. godine i 2021/22. godine bila je u statusu mirovanja. Položila je sve ispite predviđene planom i programom doktorskih akademskih studija, sa prosečnom ocenom 10.

Katarina Komatović je zaposlena na Katedri za organsku hemiju Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta od oktobra 2017. godine kao saradnik u nastavi – demonstrator. Od septembra 2018. godine zaposlena je kao asistent. Na istoj katedri bila je angažovana kao saradnik u nastavi na sledećim kursevima: Organska hemija za studente Biološkog fakulteta, Zelena hemija, Hemija heterocikličnih jedinjenja, Viši kurs organske hemije, Organske sinteze 1, Organske sinteze 2, Organska hemija 2 na smeru Biohemija i Organska hemija za studente Fakulteta za fizičku hemiju.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora **Katarina Komatović**

Broj indeksa **DH23/2015**

Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom

Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana i njihova *in vitro* inhibitorna aktivnost na enzime od značaja za simptomatsku terapiju Alchajmerove bolesti

- 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, 16.6.2025.



Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora **Katarina Komatović**

Broj indeksa **DH23/2015**

Studijski program **Hemija**

Naslov rada **Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana i njihova *in vitro* inhibitorna aktivnost na enzime od značaja za simptomatsku terapiju Alchajmerove bolesti**

Mentor **dr Mario V. Zlatović, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet**

Mentor **dr Dejan M. Opsenica, naučni savetnik, Univerzitet u Beogradu – Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju**

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjivanja 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, 16. 6. 2023.



Izjava o korišćenju

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

Sinteza hibrida aminohinolina i adamantana i njihova *in vitro* inhibitorna aktivnost na enzime od značaja za simptomatsku terapiju Alchajmerove bolesti

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima 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, 16.6.2025.



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.